พลวัตของระดับแอนติบอดีในสุกรที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2

DYNAMICS OF ANTIBODY LEVELS IN VACCINATED PIGS AGAINST PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2

ณชนก ไวยสุตรา

NACHANOK WAIYASUTRA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2566

KMITL-2023-AG-M-031-414

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DYNAMICS OF ANTIBODY LEVELS IN VACCINATED PIGS AGAINST PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2

NACHANOK WAIYASUTRA

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN ANIMAL SCIENCE

SCHOOL OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2023

KMITL-2023-AG-M-031-414

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2023

SCHOOL OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	**พลวัตของระดับแอนติบอดีในสุกรที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2**
นักศึกษา	ณชนก ไวยสุตรา
รหัสประจำตัว	60604048
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2566
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.น.สพ.ชนาธิป ธรรมการ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร.น.สพ.จำลอง มิตรชาวไทย

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพลวัตและการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบดีต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 (PCV2) จากการทำวัคซีนป้องกันที่ต่างชนิดและต่างโปรแกรมการให้วัคซีน ในการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ 1 ศึกษาอิทธิพลของปริมาณแอนติเจนในวัคซีนต่อประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลูกสุกร โดยศึกษาในลูกสุกรอายุ 4 สัปดาห์แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว แบ่งกลุ่มการทดลองดังนี้ กลุ่ม1: ฉีดวัคซีนชนิดซับยูนิตที่ประกอบด้วย PCV2 ORF2 Antigen 400 mcg ต่อ Carbomer 8 มิลลิกรัม จำนวน 1 ครั้ง กลุ่ม2: ฉีดวัคซีนชนิดซับยูนิตที่ประกอบด้วย PCV2 ORF2 Antigen 200 mcg ต่อ Carbomer 4 มิลลิกรัม จำนวน 1 ครั้ง และกลุ่ม 3: กลุ่มควบคุมฉีดน้ำกลั่น ปริมาณ 1 ml. จำนวน 1 ครั้ง การทดสอบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการให้วัคซีนโดยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ผลการทดลองพบว่าก่อนเริ่มการทดลองและสัปดาห์ที่ 2 ลูกสุกรทั้ง 3 กลุ่มรวมถึงกลุ่มควบคุมมีระดับแอนติบอดีที่ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ทั้งนี้ เมื่อครบ 1 เดือนพบว่าระดับแอนติบอดีของกลุ่มที่ 1 สูงที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มที่ 2 และ 3 ($P<0.05$) แสดงให้เห็นถึงปริมาณของแอนติเจนมีผลต่อระดับแอนติบอดีของลูกสุกร โดยปริมาณแอนติเจนที่สูงจะลดโอกาสการหักล้างกันของแอนติเจนและแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ การทดลองที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสุกรจากการให้วัคซีนที่ต่างชนิดและต่างโปรแกรม โดยวัคซีนที่ใช้ประกอบด้วย วัคซีน A: วัคซีนชนิดซับยูนิต ใน 1 ml ประกอบด้วย PCV2 ORF2 protein antigen 200 mcg และ Carbomer 4 mg/ml วัคซีน B: วัคซีนชนิดซับยูนิต ใน 1 ml ประกอบด้วย PCV2 ORF2 protein antigen 100 mcg และ Aluminium hydroxide 2 mg/ml และวัคซีน C: วัคซีนชนิดเชื้อตาย ใน 2 ml ประกอบด้วย Porcine Circovirus type2 (CAKY98 strain) ไม่น้อยกว่า $10^{6.2}TCID_{50}$, Eungen 10% และ Formaldehyde ไม่เกิน 0.2% แบ่งกลุ่มลูกสุกรออกเป็น 7 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ตัว ลูกสุกรแต่ละกลุ่มจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้รับวัคซีนที่ต่างชนิดและต่างโปรแกรม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ฉีดวัคซีนชนิด A ปริมาณ 1 ml., กลุ่มที่ 2 ฉีดวัคซีนชนิด A ปริมาณ 0.5 ml., กลุ่มที่ 3 ฉีดวัคซีนชนิด A ปริมาณ 0.5 ml. เมื่อครบ 2 สัปดาห์ทำการฉีดวัคซีนชนิด A อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 0.5 ml., กลุ่มที่ 4 ฉีดวัคซีนชนิด B ปริมาณ 1 ml. เมื่อครบ 2 สัปดาห์ทำการฉีดวัคซีนชนิด B อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 1 ml. กลุ่มที่ 5 ฉีดวัคซีนชนิด C ปริมาณ 2 ml., กลุ่มที่ 6 ฉีดวัคซีนชนิด C ปริมาณ 1 ml. เมื่อครบ 2 สัปดาห์ทำการฉีดวัคซีนชนิด C อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 1 ml. และกลุ่มที่ 7 กลุ่มควบคุมฉีดน้ำกลั่น 1 ml. ผลการศึกษาพบว่าแอนติบอดีที่เกิดขึ้นจากการฉีดวัคซีนต่างชนิดและโปรแกรมมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) ในบางช่วงเวลาหลังจากได้รับวัคซีน แต่โดยภาพรวมแล้ววัคซีนแต่ละชนิดที่มีโปรแกรมการให้วัคซีนต่างกันมีพลวัตของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นในลักษณะเดียวกัน ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นอยู่ในระดับสูงตลอดการทดลองซึ่งครอบคลุมช่วงเวลาในการเลี้ยงสุกรขุนตั้งแต่ระยะหลังหย่านมจนถึงระยะส่งขายเพื่อบริโภค นอกจากนี้ชนิดและโปรแกรมการให้วัคซีนไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรแต่อย่างใด อย่างไรก็ตามการใช้วัคซีนชนิดซับยูนิตแบบเข็มเดียว (วัคซีน A) ตามคำแนะนำของผู้ผลิตมีแนวโน้มที่ให้ภูมิคุ้มกันที่มีเสถียรภาพมากที่สุดโดยให้แอนติบดีในระดับสูงตลอดระยะเวลาการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tittle	Dynamics of antibody levels in vaccinated pigs against porcine Circovirus type 2
Student	Miss Nachanok Waiyasutra
Degree	Master of Science
Program	Animal Science
Year	2023
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Chanathip Thammakarn
Thesis Co-advisor	Assoc. Prof. Dr. Jamlong Mitchaothai

ABSTRACT

This study aims to investigate the dynamics and changes in the antibody levels against Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) in response to different types and programs of vaccination. The study is divided into two experiments. In the first experiment, the influence of the antigen quantity in the vaccine on the efficacy of immune stimulation in piglets was examined. Piglets aged 4 weeks were divided into three groups: Group 1 received a vaccine with PCV2 ORF2 Antigen 400 mcg per Carbomer 8 mg as a single injection, Group 2 received a vaccine with PCV2 ORF2 Antigen 200 mcg per Carbomer 4 mg as a single injection, and Group 3 (control group) received an injection of distilled water (1 ml). The immune response was tested using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Before the experiment and at the 2^{nd} week, the antibody levels in all three groups, including the control group, showed no significant difference ($P>0.05$). However, at the end of the first month, the antibody levels in Group 1 were significantly higher than those in Groups 2 and 3 ($P<0.05$). This suggests that the antigen quantity influences the antibody levels in piglets, with higher antigen quantities reducing the chances of maternal antibodies being washed away. In the second experiment, the efficacy of immune stimulation in sows was studied using different types and programs of vaccination. The vaccines used were, Vaccine A: Subunit vaccine containing PCV2 ORF2 protein antigen 200 mcg and Carbomer 4 mg/ml in 1 ml. Vaccine B: Subunit vaccine containing PCV2 ORF2 protein antigen 100 mcg and Aluminium hydroxide 2 mg/ml in 1 ml. Vaccine C: Inactivated vaccine containing Porcine Circovirus type 2 (CAKY98 strain) not less than $10^{6.2}$ $TCID_{50}$, Eungen 10%, and Formaldehyde not

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

exceeding 0.2% in 2 ml. The piglets were divided into seven groups, and each group received a different vaccine and program as follows: Group 1: Injection of Vaccine A, quantity 1 ml. Group 2: Injection of Vaccine A, quantity 0.5 ml. After 2 weeks, another injection of Vaccine A, quantity 0.5 ml. Group 3: Injection of Vaccine A, quantity 0.5 ml. After 2 weeks, another injection of Vaccine A, quantity 0.5 ml. Group 4: Injection of Vaccine B, quantity 1 ml. After 2 weeks, another injection of Vaccine B, quantity 1 ml. Group 5: Injection of Vaccine C, quantity 2 ml. Group 6: Injection of Vaccine C, quantity 1 ml. After 2 weeks, another injection of Vaccine C, quantity 1 ml, and Group 7, the control group, was received an injection of distilled water, 1 ml. The results found statistically significant differences in antibody levels ($P<0.05$) at certain time points after vaccination. However, overall, all vaccine types exhibited a consistent high level of immunity throughout the experiment, covering the period from piglets rearing to the sale for consumption. Furthermore, the vaccine types and programs did not affect the production performance of the pigs. However, the use of a single-dose subunit vaccine (Vaccine A) according to the manufacturer's recommendations tended to provide the most stable and highest immunity over the experimental period.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาทดลองและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะผ่านลุล่วงไปไม่ได้หากขาด ผศ.ดร.น.สพ. ชนาธิป ธรรมการ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ประศาสน์วิชาความรู้ทั้งในตำราตลอดจนการใช้ชีวิต คอยชี้แนะ สนับสนุน ให้โอกาสทุกอย่าง รวมถึงผลักดันเคี่ยวเข็ญจนประสบความสำเร็จ และ ผศ.ดร.น.สพ. จำลอง มิตรชาวไทย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้คอยขัดเกลา ให้ความช่วยเหลือในการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอขอบพระคุณทั้ง 2 ท่าน ต่อความอนุเคราะห์ตลอดการศึกษาครั้งนี้เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์, รศ.ดร. กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ และ ผศ.ดร. น.สพ.จำลอง มิตรชาวไทย ประธานและกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาสละเวลาอันมีค่า ที่ให้ความรู้เพิ่มเติม ให้คำแนะนำต่าง ๆ ตลอดจนข้อชี้แนะอันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ทั้งในเรื่องของความถูกต้องและความสมบูรณ์ของเนื้อหาทางวิชาการอย่างครบถ้วน

ขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับการสนับสนุนทุนการศึกษาทดลอง ทุนการศึกษาดูงานที่ Tokyo university of Agriculture and Technology ณ ประเทศญี่ปุ่น รวมถึงยกเว้นค่าธรรมเนียมให้แก่ข้าพเจ้า ทำให้ได้รับโอกาสในการศึกษาต่อในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณความกรุณาจากบริษัท ยูเนียน อกรีฟาร์ จำกัด ที่มอบทุนสนับสนุนการวิจัย ทั้งในส่วนของสารเคมีและอุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ จนทำให้งานวิจัยประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณนางสาวสวรรยา อำพนพิศลย์ และนางสาวณัฏณิชา ทองสุกใส นักศึกษาปริญญาโท ที่ช่วยเหลือเป็นตลอดมา ทั้งให้คำแนะนำ ตลอดจนการแลกเปลี่ยนความรู้ต่างๆ และเป็นกำลังใจที่ดีเสมอ ขอขอบคุณเพื่อน พี่และน้องนักศึกษาปริญญาโท น้องนักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือในการทดลองและให้กำลังใจที่ดีให้เสมอมา

ขอขอบคุณมารดาและครอบครัว เพื่อนสนิทมิตรสหาย รุ่นพี่รุ่นน้อง ตลอดจนครูบาอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ให้วิชาความรู้ ถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้าจึงขอมอบคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้แด่ทุกท่านซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง อีกทั้งคุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบให้แด่ทุกท่านที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป

ณชนก ไวยสุตรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III

กิตติกรรมประกาศ V

สารบัญ VI

สารบัญตาราง IX

สารบัญภาพ X

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ 2

1.3 สถานที่ดำเนินงาน 2

1.4 ขั้นตอนการศึกษา 3

1.5 ระยะเวลาการศึกษา 3

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 สาเหตุที่ของโรค 4

2.2 การเพิ่มจำนวนของเชื้อ 4

2.3 ภูมิคุ้มกันต่อวิทยาของเชื้อ PCV2 5

2.4 กลุ่มอาการติดเชื้อ 6

2.4.1 กลุ่มอาการการติดเชื้อ PCV2 กลุ่มอาการหลักๆ 6

2.4.2 กลุ่มอาการอื่นๆ จากการติดเชื้อ PCV2 6

2.4.2.1 กลุ่มอาการ Congenital tremor หรือ Dancing pig 6

2.4.2.2 กลุ่มอาการ Necrotizing Lymphadenitis 7

2.4.2.3 กลุ่มอาการติดเชื้อ PCV2 ร่วมการเชื้ออื่นๆ 7

2.5 การวินิจฉัย 8

2.5.1 การวินิจฉัยอาการทางคลินิก 8

2.5.2 การวินิจฉัยด้วยวิธี Immunohistochemistry (IHC) 8

2.5.3 การวินิจฉัยด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่ Polymerase Chain Reaction (PCR) 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6 การควบคุมและการป้องกัน 8
2.7 วัคซีนป้องกันโรค 8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 10
3.1 สัตว์ทดลอง 10
3.2 วัคซีน 10
3.3 อุปกรณ์และสารเคมี 10
3.3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเลือดและซีรัม 10
3.3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR 11
3.3.3 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปฏิกิริยาลูกโซ่ Real-time PCR 12
3.3.4 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจระดับภูมิคุ้มกันด้วยเทคนิค ELISA 12
3.4 การทดลองที่ 1 12
3.4.1 สัตว์ทดลองและการให้อาหาร 12
3.4.2 วัคซีนที่ใช้ในการทดลอง 13
3.4.3 แผนการทดลอง 13
3.4.4 การเก็บตัวอย่าง 13
3.4.5 การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ 14
3.4.6 การวิเคราะห์ผลทางทางสถิติ 16
3.5 การทดลองที่ 2 17
3.5.1 สัตว์ทดลองและการให้อาหาร 17
3.5.2 วัคซีนและการให้วัคซีน 17
3.5.3 แผนการทดลอง 17
3.5.4 การเก็บตัวอย่าง 18
3.5.5 การวิเคราะห์ผลการห้องปฏิบัติการ 19
3.5.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ 20
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 21
4.1 การทดลองที่ 1 21
4.1.1 ผลการประเมินประสิทธิภาพของระดับภูมิคุ้มกัน 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.2 ผลการศึกษาโดยวิธี PCR 23

4.2 การทดลองที่ 2 23

4.2.1 ผลการประเมินประสิทธิภาพของระดับภูมิคุ้มกัน 24

4.2.2 ผลการศึกษาโดยวิธี Multiplex PCR 32

4.2.3 ผลการตรวจภาวะการณ์ติดเชื้อในกระแสเลือดด้วยวิธี real-time PCR 32

4.2.4 ผลของอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร 33

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 35

5.1 สรุปผลการวิจัย 35

5.2 ข้อเสนอแนะ 36

บรรณานุกรม 37

ภาคผนวก 42

ประวัติผู้วิจัย 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ PCV2 ที่พบในประเทศในช่วงปี พ .ศ. 2552-2558 5

2.2 วัคซีนทางการค้าป้องกันโรค Porcine circovirus type II 9

3.1 ข้อมูลโภชนาการและการให้อาหาร 18

4.1 ระดับภูมิคุ้มกันจากประสิทธิภาพการให้วัคซีนชนิดซับยูนิตแบบเข็มเดียวในลูกสุกร 21

4.2 ประสิทธิภาพการการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยการให้วัคซีนชนิดซับยูนิตและเชื้อตาย ตามคำแนะนำของผู้ผลิต 24

4.3 ประสิทธิภาพการการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยการให้วัคซีนชนิดซับยูนิตแบบ 1 เข็ม (วัคซีน A) ตามคำแนะนำของผู้ผลิตเทียบกับการให้วัคซีนแบบปรับปริมาณและ โปรแกรมการให้วัคซีน 25

4.4 ประสิทธิภาพการการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยการให้วัคซีนชนิดซับยูนิตแบบ 2 เข็ม (วัคซีน B) ตามคำแนะนำของผู้ผลิตเทียบกับกลุ่มควบคุม 27

4.5 ประสิทธิภาพการการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยการให้วัคซีนชนิดเชื้อตายตามคำแนะนำของผู้ผลิตเทียบกับการให้วัคซีนแบบปรับปริมาณและโปรแกรมการให้วัคซีน 28

4.6 อัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการให้อาหาร 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

3.1 แผนงานการทดลองที่ 1 14
3.2 การสกัด DNA จาก Clots Blood 14
3.3 ขั้นตอน ELISA 16
3.4 แผนงานการทดลองที่ 2 19
4.1 ระดับภูมิคุ้มกันในลูกสุกรที่ได้รับวัคซีนที่มีแอนติเจนต่างกัน 21
4.2 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส 23
4.3 ระดับภูมิคุ้มกันในสุกรที่ได้รับวัคซีนที่มีแอนติเจนต่างกัน 29
4.4 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส 30
4.5 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส 31
4.6 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส 31
4.7 ผลการตรวจซีรัมจากกระบวนการ Real-time PCR 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

นับตั้งแต่ในอดีตพบว่าอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรพบปัญหาในเรื่องของโรคระบาดเป็นอย่างมาก อาทิเช่น โรคปากเท้าเปื่อย (Foot and mouth disease: FMD) โรคพีอาร์อาร์เอส (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome: PRRS) โรคอหิวาต์สุกร (Classical Swine Fever: CSF) ฯลฯ ซึ่งนอกจากส่งผลทำให้ผู้เลี้ยงเกิดความเสียหายเนื่องจากผลผลิตไม่เป็นไปตามต้องการแล้วนั้น ยังส่งผลกระทบต่อความเชื่อมั่นในการส่งออกเนื้อสุกรสู่ตลาดโลกอีกด้วย ทำให้หลายครั้งเกิดภาวะสุกรล้นตลาด โดยหากกล่าวถึงโรคระบาดที่เป็นภัยเงียบอย่างโรคในระบบทางเดินหายใจ แม้ว่าเป็นที่ไม่ใช่โรคที่มีผลต่อระบบทางเดินอาหารโดยตรง แต่มีผลการศึกษา พบว่า วิการที่ปอดมีความสัมพันธ์ในทางลบกับการกินของสุกร ซึ่งจะสามารถทำให้ประสิทธิภาพการผลิตสุกรลดลง (ปรียพันธุ์ อุดมประเสริฐ, 2546) นอกจากนี้ปัญหาที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพสุกรในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาคงหนีไม่พ้นโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 (Porcine Circovirus type2: PCV2) (ยุทธพล เทียมสุวรรณ, 2558) ไวรัสชนิดนี้เป็นเชื้อที่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและระบบ ต่าง ๆ ของร่างกาย อาทิเช่น ระบบทางเดินหายใจ และระบบภูมิคุ้มกัน มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ Porcine circovirus type II (PCV2) มีการพบเชื้อในปี ค.ศ. 1991 จากฝูงสุกรที่เลี้ยงในระบบปลอดโรค (Specific Pathogen Free) ในประเทศแคนาดา (Harding *et al.,* 1998) มักพบในลูกสุกรหลังหย่านม หรือสุกรรุ่นช่วงอายุ 5-12 สัปดาห์ อัตราการป่วยเฉลี่ยร้อยละ 5-15 ตัว และอัตราการตายอยู่ที่ 5-20 ตัว (คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2555) เชื้อ PCV2 จัดได้ว่าเป็นเชื้อที่อาศัยและแบ่งตัวได้ในหลายอวัยวะ โดยเฉพาะ Lymphocyte ซึ่งเชื้อจะสร้างกลไกทำให้สามารถอยู่ในเซลล์ได้นานโดยที่ไม่มีการเพิ่มจำนวน ถือได้ว่าเป็นการหลบเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันร่างกายชนิดหนึ่ง สุกรบางตัวที่ติดเชื้อไม่แสดงอาการป่วย หรือรอยโรคให้เห็น ลักษณะการติดเชื้อเช่นนี้เรียกว่าการเกิดภาวะกดภูมิคุ้มกัน เกิดจากการลดลงของ Lymphocyte ในเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (Krakowka *et al.,* 2002) ส่งผลเป็นอย่างยิ่งต่ออัตราการเจริญเติบโตของสุกร (Shilbahara *et al.,* 2000) จากการศึกษาหาผลกระทบและคุณสมบัติการกลายพันธุ์ของไวรัสชนิดนี้ ปัจจุบันทำให้เกิดวัคซีนป้องกันเชื้อ PCV2 หลากหลายประเภทให้เลือกใช้ มีทั้งวัคซีนที่ผลิตในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมและป้องกันที่แตกต่างกัน

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสส่วนใหญ่เป็นวัคซีนชนิดเชื้อตาย แบ่งออกเป็น แบบ Whole virion vaccine และ แบบ Sub-unit vaccine ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตวัคซีนส่วนใหญ่มักจะเป็นประเภท Sub-unit vaccine ซึ่งวัคซีนประเภทนี้ทำมาจากส่วนของ Porcine circovirus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

type2 open reading frame2 protein antigen (Mclntosh *et al.,* 2005) แต่ละโปรแกรมในการให้วัคซีนจะแตกต่างตามปริมาณของ Open reading frame2 (ORF2) ซึ่งจะส่งผลต่อจำนวนครั้งในการให้วัคซีน (Seo *et al.,* 2014; Park *et al.,* 2017) หากเป็นประเภทจะต้องให้วัคซีน 2 ครั้ง พบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่มีความกังวลเป็นอย่างมาก เนื่องจากในการจับบังคับสุกรในการให้วัคซีนแต่ละครั้งนั้น จะส่งผลให้สุกรเกิดความเครียด มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของสุกร (อนันต์ ศนีปราโทช, 2545)

แม้ว่าในปัจจุบันจะมีเทคโนโลยีการผลิตวัคซีนจะมีความก้าวหน้ามาก และวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ก็ได้รับการยอมรับจากทั่วโลก มีการใช้วัคซีนเพื่อควบคุมป้องกันโรคอย่างกว้างขวาง แต่ก็ยังพบว่าโรคดังกล่าวนี้ยังคงมีการระบาดอยู่ทั่วทุกภูมิภาค ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากปัจจัยหลายอย่างภายในฟาร์ม รวมถึงคุณสมบัติและกระบวนการทำวัคซีนที่มีประสิทธิภาพ การศึกษาถึงกระบวนการทำวัคซีนในแง่ต่างๆ เช่น ปริมาณของ Antigen ที่สุกรได้รับ ชนิดของวัคซีนที่ใช้ และโปรแกรมการทำวัคซีน ฯลฯ จึงมีความสำคัญที่จะทำให้ได้ข้อมูลพลวัตของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากกระบวนการทำวัคซีนด้วยชนิดและโปรแกรมที่ต่างกัน อันจะเป็นแนวทางสำคัญในการควบคุมการเกิดโรคในสุกรขุนได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมไปถึงการปรับปรุงหรือคิดค้นโปรแกรมการให้วัคซีนแบบใหม่ที่อาจเป็นแนวทางที่ในการควบคุมโรคภายในฟาร์มได้ดีมากยิ่งขึ้นให้แก่ผู้เลี้ยง

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาพลวัตของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการทำวัคซีนป้องกันและไม่ทำวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2

1.2.2 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 จากการทำวัคซีนป้องกันที่ต่างชนิดและต่างโปรแกรมการให้

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของชนิดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ต่อสมรรถภาพการผลิตในสุกร

1.3 สถานที่ดำเนินงาน

1.3.1 ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมด้านการเลี้ยงสัตว์ หลักสูตรเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.3.2 ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์โมเลกุลและเทคโนโลยีชีวภาพระดับเซลล์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1.4.1 ศึกษาอิทธิพลของปริมาณแอนติเจนในวัคซีนต่อประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลูกสุกร

1.4.2 การศึกษาอิทธิพลของชนิดและปริมาณแอนติเจนในวัคซีนต่อประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสุกรขุนจากการให้วัคซีนที่ต่างชนิดกัน

1.5 ระยะเวลาการศึกษา

ใช้เวลาในการศึกษาทั้งสิ้น 8 เดือน เริ่มทำการทดลอง ตั้งแต่วันที่ 1 พฤศจิกายน 2562 เสร็จสิ้นการศึกษาวันที่ 30 มิถุนายน 2563

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ทราบถึงประสิทธิภาพของวัคซีนต่างชนิดและต่างโปรแกรมในการการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2

1.6.2 ทราบถึงผลของการใช้วัคซีนต่างชนิดและต่างโปรแกรมต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกร

1.6.3 ผลที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเลือกใช้ชนิดวัคซีนและโปรแกรมที่เหมาะสมในการควบคุมป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ในฟาร์มสุกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัส เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ Porcine circovirus type 2 (PCV2) ซึ่งจัดเป็นเชื้อที่อยู่ใน Family Circoviridae และอยู่ใน Genus circovirus มีเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้นที่พบในประเทศ (ตารางที่ 2.1) เป็นไวรัสชนิดที่ไม่มีเปลือกหุ้ม (Non-enveloped) มีขนาดประมาณ 17 นาโนเมตร มีโครงสร้างภายนอกเป็นลักษณะ Icosahedral ภายมีองค์ประกอบเป็นสายพันธุกรรมแบบเดี่ยว Single-stranded DNA) จัดเรียงตัวเป็นวงกลม (Wang *et al.,* 2018) มีขนาดรวมกันประมาณ 1,768 Nucleotide โดยแบ่ง Open reading frames (ORFs) ออกเป็น 3 ส่วนหลัก ได้แก่ (Liu *et al.,* 2005) ORF1 มีขนาดประมาณ 945 Nucleotide ซึ่งเป็นส่วนของ Rep gene แสดงออกได้เป็น Replicate protein มีน้ำหนักประมาณ 35.7 Kilodalton (kDa) มีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับกระบวนการเพิ่มจำนวน ORF2 มีขนาดประมาณ 702 Nucleotide ซึ่งเป็นส่วนของ Rep gene แสดงออกได้เป็น Capsid protein มีน้ำหนักประมาณ 27.8 kDa ประกอบด้วยกรดอะมิโน 22 ตัว (Nawagitgul *et al.,* 2000) ซึ่งโปรตีนในส่วนดังกล่าวนี้เป็นส่วนที่เป็นส่วนที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างแอนติบอดีที่สามารถป้องกันหรือกำจัดเชื้อออกจากร่างกาย (Fenaux *et al.,* 2004; Wang *et al.,* 2007; Fan *et al.,* 2008; Wang *et al.,* 2008; Teankum *et al.,* 2009) โปรตีนเพียงชนิดเดียวที่ห่อหุ้มไวรัสเอาไว้ ทำให้ Capsid protein นี้มีความสำคัญต่อการวินิจฉัยโรคอีกด้วย (Wu *et al.,* 2008) ORF3 มีขนาดประมาณ 315 Nucleotide เป็นส่วนที่ซ้อนอยู่บน ORF1 แสดงออกเป็นโปรตีนที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการตายแบบ Apoptosis ของเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส (Liu *et al.,* 2006)

2.1 สาเหตุของโรค

เชื้อ PCV2 เป็นเชื้อที่ทนต่อความเป็นกรดที่ pH3 ที่อุณหภูมิ 56-70˚C และสามารถคงอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นานถึง 18 เดือน ยาที่สามารถฆ่าเชื้อได้ อาทิเช่น Oxidizing agent, Quaternary ammonium compound, Phenol เป็นต้น เชื้อจะเจริญได้ดีใน Lymphocyte ทำให้เกิดผลกระทบต่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่าง ๆ การแพร่กระจายและติดเชื้อเกิดอย่างรวดเร็วจากการสัมผัสเชื้อโดยตรง ทั้งนี้ มีพาหะได้แก่ มูลของสุกร รองเท้าบู๊ท อุปกรณ์ต่าง ๆ ยานพาหะ นก หนู และน้ำเชื้อ หากลูกสุกรได้รับนมน้ำเหลืองน้อย หรือไม่ได้รับนมน้ำเหลือง มักจะติดเชื้อได้ง่ายในช่วงอายุ 3 สัปดาห์แรก และจะเริ่มแสดงอาการป่วยที่อายุ 4-6 สัปดาห์ (Mankertz *et al.,* 1998)

2.2 การเพิ่มจำนวนของโรค

Chae (2005) รายงานว่าการเพิ่มจำนวนของโรค หลังจากไวรัส PCV2 เข้าสู่ร่างกายสุกร ไวรัสจะเข้าไปเพิ่มจำนวนที่ต่อมน้ำเหลืองในบริเวณที่เกิดการติดเชื้อเป็นหลัก จากนั้นจะมีการแพร่กระจายของเชื้อไปตามเนื้อเยื่อต่างๆ ถ้าสุกรได้รับเชื้อผ่านทาง Intranasal route ไวรัสจะเริ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มจำนวนที่เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองบริเวณหลอดลมเป็นที่แรก และแพร่กระจายต่อไปที่ ส่วนต่างๆ เช่น ปอด ไต ตับ ม้าม ต่อมน้ำเหลืองบริเวณขาหนีบ เป็นต้น

ตารางที่ 2.1 ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ PCV2 ที่พบในประเทศในช่วงปี พ .ศ.2552-2558

ปี	Genotype PCV2			
	PCV2a	PCV2b	PCV2b_IM1	PCV2d
2552	พบ	พบ	ไม่พบ	พบ
2553	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
2554	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
2555	พบ	พบ	พบ	พบ
2556	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
2557	ไม่พบ	พบ	พบ	พบ
2558	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	พบ

ที่มา : Thangthamniyom *et al.* (2017)

การเพิ่มจำนวนของไวรัสในตัวสุกรจะเกิดขึ้นเป็นอย่างมากในช่วงประมาณ 14 วัน หลังการติดเชื้อ จากนั้นจะเริ่มลดการเพิ่มจำนวนลง แต่อาจพบการเพิ่มจำนวนของเชื้อยาวนานได้ถึง 21 วัน ต่อมน้ำเหลืองที่ได้รับการติดเชื้อเป็นที่แรกภายในร่างกายจะมีการเพิ่มจำนวนไวรัสได้อย่างต่อเนื่องและยาวนานที่สุด จากการศึกษาเพิ่มเติมของ Yu *et al.* (2007) แสดงในเห็นว่า ไวรัสชนิดนี้นอกจากจะใช้ต่อมน้ำเหลืองเป็นที่เพิ่มจำนวนแล้ว ไวรัสยังใช้เนื้อเยื่อนี้ในการเกิดการติดเชื้อแบบติดทนนาน (Persistent infection) นอกจากนี้มีรายงานจาก Kyriakis *et al.* (2002) พบว่า เซลล์ที่จัดเป็นเป้าหมายหลักที่ไวรัส PCV2 ใช้ในการเพิ่มจำนวน คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocytes และ B-lymphocytes และจากจากการศึกษาของ Carman *et al.* (2008) พบว่าสามารถตรวจพบ mRNA ของไวรัสได้เป็นจำนวนมากในเซลล์เหล่านี้เช่นกัน

2.3 ภูมิคุ้มกันต่อวิทยาของเชื้อ PCV2

การจดจำโมเลกุลของสาร หรือเซลล์ว่าสิ่งใดเป็นของตัวสัตว์ หรือเป็นสิ่งแปลกปลอม หรือเป็นเซลล์ที่ผิดปกติ ซึ่งจะก่อให้เกิดอันตรายและต้องกำจัดออกไป ความสามารถในการต่อต้านสิ่งแปลกปลอมนี้ คือ ภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยร่างกายสุกรจะประกอบไปด้วยกลไกการป้องกันตนเอง แบ่งได้ 2 แบบ คือ กลไกการป้องกันแบบไม่จำเพาะ Non-specific defense mechanism และกลไกการป้องกันแบบจำเพาะ Specific defense mechanism (Muirhead *et al.,* 2013)

จากรายงานของ Vincent *et al.* (2005) พบว่าเชื้อเซอร์โคไวรัสมีผลต่อระบบ Innate immune response จะมีผลให้ Dedritic cell ทำงานผิดปกติทำให้เชื้อ PCV2 เข้าสู่เซลล์ได้โดยไม่มีผลกระทบต่อเชื้อ กลไกที่สำคัญของไวรัส คือการติดเชื้อไวรัสของ Dedritic cell ที่ทำหน้าที่ในหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้าง IFN- α และ TNF- α (NIPC; Natural interferon producing cell) เชื้อ PCV2 จะรบกวนการทำงานของ Cytokine ให้มีการผลิตลดลง ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพของ Innate immunity ลดลง ผลการศึกษาด้าน In vitro ของ Kekarainen *et al.* (2008) พบว่า เชื้อไวรัส PCV2 จะเหนี่ยวนำให้เกิดการกดภูมิคุ้มกัน

นอกจากนี้การกดภูมิจากเชื้อ PCV2 ทำให้เกิดเชื้ออื่นๆ มากขึ้น เช่นเชื้อ Porcine testcho virus (PTV) โดยทั่วไปสุกรที่ติดเชื้อดังกล่าวจะไม่เกิดอาการทางระบบประสาท ในกรณีที่พบติดเชื้อร่วมกับ Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) จะส่งผลให้สุกรเกิดอาการทางระบบประสาทร่วมด้วย ซึ่งเสริมให้เกิด PTV ความรุนแรงมากขึ้น ลักษณะอาการนี้เกิดจากการเหนี่ยวนำของภาวะกดภูมิจากเชื้อ PCV2 (Takahashi *et al.,* 2008)

2.4 กลุ่มอาการติดเชื้อ

จากรายงานของ American Association of Swine Veterinaries (2014) ได้อธิบายถึงอาการของโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นกลุ่มอาการต่างๆดังนี้

2.4.1 กลุ่มอาการการติดเชื้อ PCV2 กลุ่มอาการหลักๆ จากการติดเชื้อแบ่งออกเป็น

กลุ่มอาการ Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) เป็นกลุ่มอาการที่สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรในหลายๆ พื้นที่ทั่วโลก สามารถเกิดได้ทั้งในรูปแบบ Endermic, Epidermic และ Sporadic โดยส่วนใหญ่จะพบการติดเชื้อร่วมกับเชื้ออื่น เช่น Porcine Reprodutive and Respiratory Syndrome (PRRS) หรือ Porcine Parvovirus (PPV) จะส่งผลให้ PMWS เกิดภาวะรุนแรงมากขึ้น ทำให้สุกรอายุ 4-8 สัปดาห์ มีลักษณะผอม แคระแกร็น เยื่อหุ้มตาอักเสบ น้ำตาไหล ตัวเหลืองซีด มีอาการซึม เบื่ออาหาร ท้องเสีย และหายใจลำบาก อัตราการป่วยอยู่ที่ร้อยละ 3-50 และร้อยละ 80 ของสุกรที่ป่วยมักจะตายจากการติดเชื้อแทรกซ้อนด้วยโรคกลาสเซอร์ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โรคปอดบวมและเยื่อหุ้มปอดอักเสบ 2. กลุ่มอาการ Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS) เป็นกลุ่มอาการที่พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1993 ที่ประเทศอังกฤษ มักพบในลูกสุกรอายุ 5-24 สัปดาห์ จะมีจุดเลือดออกลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-20 มิลลิเมตร เป็นสีแดงและสีน้ำตาลเข้มกระจายที่ผิวหนังบริเวณ ขา สะโพก และอาจจะไปถึงอกและหู สุกรมีอาการซึม เบื่ออาหาร น้ำหนักลด และตายอย่างรวดเร็ว อัตราการป่วยอยู่ร้อยละ 5 และร้อยละ 75 โดยส่วนใหญ่สุกรที่ป่วยในลักษณะนี้มักจะตาย

2.4.2 กลุ่มอาการอื่นๆ จากการติดเชื้อ PCV2 แบ่งออกเป็น

2.4.2.1 กลุ่มอาการ Congenital tremor หรือ Dancing pig เป็นกลุ่มอาการสั่นทันทีตั้งแต่แรกคลอด 1-2 ชั่วโมง ซึ่งลูกสุกรอาจจะสั่นบางส่วน หรือสั่นทั้งตัว โดยสาเหตุเกิดจากการเสื่อมสลายของเยื่อ Myelin ในสมอง และไขสันหลัง อัตราการตายสูงถึงร้อยละ 50 ส่วนใหญ่เกิดจากที่ไม่สามารถดูดนมแม่ได้ ทั้งนี้ ยังไม่มีการสรุปอย่างแน่ชัดว่า เชื้อ PCV2 สามารถเหนี่ยวนำให้ลูกสุกรป่วยในลักษณะอาการนี้ กลุ่มอาการล้มเหลวของระบบสืบพันธุ์ แต่เดิมมีการศึกษาว่าการติดเชื้อ PCV2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกี่ยวข้องกับความผิดปกติ และความล้มเหลวของระบบสืบพันธุ์ โดยเชื้อสามารถเพิ่มจำนวนได้ที่ทุกอายุของตัวอ่อน (Foetus) ทำให้ตัวอ่อนผิดปกติ หากเกิดการติดเชื้อในช่วงตั้งท้องจะทำให้แม่สุกรแท้งได้ เมื่อเกิดการแท้งในระยะกลางจะควบคู่กับการเกิดภาวะมัมมี่ ส่วนการแท้งระยะท้ายจะควบคู่กับสภาวะลูกสุกรตายแรกคลอด ลูกสุกรที่ตายแรกคลอด ภาวะมัมมี่ หรือลูกสุกรเกิดมาไม่แข็งแรง นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ PCV2 สามารถติดต่อผ่านจากแม่สุกรสู่ลูกสุกร และติดต่อผ่านน้ำเชื้อจากพ่อสุกรที่มีเชื้อ PCV2 ได้เช่นกัน กลุ่มอาการ Granulomatous Enteritis เป็นกลุ่มอาการที่มีอัตราการป่วยต่ำประมาณร้อยละ 10-20 แต่มีอัตราการตายสูงถึง 50-60 พบมาในช่วงอายุ 40-70 วัน จะมีลักษณะอาการถ่ายเหลวเป็นสีเหลืองถึงสีดำ และสุกรที่ป่วยมักไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ ซึ่งส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต

2.4.2.2 กลุ่มอาการ Necrotizing Lymphadenitis เป็นกลุ่มอาการใหม่สุกรที่ติดเชื้อจะมีลักษณะอาการโตช้า เนื่องจากท้องเสีย และมีไข้ (40.5-41.7˚C) บางตัวอาจตายเฉียบพลันโดยไม่แสดงอาการใดๆ ซึ่งจะพบรอยโรคที่เป็นจุดสีขาวที่ผิวต่อมน้ำเหลืองที่ขาหนีบ กลุ่มอาการ Exudative Epidermitis การอักเสบที่ผิวหนังแบบเป็นหนองมักเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และสุกรมักจะตายจากสาเหตุหลักด้วยเชื้อ Staphylococcus hyicus อย่างไรก็ตามพบว่ามีปัจจัยอื่นโน้มนำด้วย เช่น การติดเชื้อ PCV2 และ PPV ผิวหนังของสุกรที่ป่วยในกลุ่มอาการนี้จะสกปรก และชื้นแฉะ ผิวหนังปกคลุมด้วย Odoriferous exudate ของ Serum และ Sebum มักเกิดในสุกรอายุน้อยประมาณ 5-35 วัน สำหรับในสุกรอายุมากนั้น อาการของโรคจะไม่รุนแรง พบอัตราการป่วยได้ร้อยละ 10 และอัตราการตายร้อยละ 5

2.4.2.3 กลุ่มอาการติดเชื้อ PCV2 ร่วมการเชื้ออื่น ๆ (PCV2-Associated disease) จากการศึกษาเพิ่มเติม พบว่า เชื้อ PCV2 เป็นสาเหตุของการเกิดโรคได้น้อย ส่วนใหญ่ความรุนแรงของโรคมักเกิดขึ้นเมื่อมีการติดเชื้อร่วมกับเชื้อชนิดอื่น ๆ ร่วมด้วย ซึ่งมีรายงานการตรวจพบเชื้ออื่นๆ ร่วมกับเชื้อ PCV2 ดังนี้

PRRS	51.9	%
Mycoplasma hyopneumoniae	35.5	%
Bacterial Septicemia	14	%
Bacterial Pneumonia	7.6	%
Swine Influenza virus	5.4	%
Haemophilus parasuis	32.3	%

เมื่อเกิดการติดเชื้อ PCV2 โดยมากจะพบ PMWS ร่วมด้วยเสมอ และหากพบการติดเชื้อ PCV2 ร่วมกับ PRRS มักจะมีโอกาสพบ PMWS มากขึ้น ทั้งนี้ การเกิดกลุ่มอาการ Porcine Respiratory Disease Complex (PRDC) ที่ถูกเหนี่ยวนำจากการติดเชื้อ PCV2 ร่วมกับเชื้อโรคอื่น ๆ ภายในระบบหายใจ พบว่าร้อยละ 55 ของสุกรมักจะพบเชื้อ PCV2 และ PRRS ซึ่งส่งผลให้เกิดอาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางระบบหายใจ ไอเรื้อรัง หายใจลำบาก โตช้า ปอดอักเสบ และมักไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ อัตราการตายสูงขึ้นหากมีการติดเชื้อแบคทีเรียอื่น ๆ แทรกซ้อน

2.5 การวินิจฉัย

การวินิจฉัยมาตรฐานทั่วไปคือสุกรแสดงอาการอย่างใดอย่างหนึ่งของการติดเชื้อและสามารถพิสูจน์ได้ว่ามีเชื้อไวรัสอยู่ในเนื้อเยื่อ จะประกอบไปด้วย 3 อย่าง ได้แก่

2.5.1 การวินิจฉัยอาการทางคลินิก เช่น มีน้ำหนักลด ซูบผอม ซีด เป็นต้น รอยโรคทางพยาธิวิทยาทั้งการมีต่อมน้ำเหลืองบวมโต และมีการเสียหายของ Lymph Follicle เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรืออื่นๆ และพบ Antigen ของเซอร์โคไวรัส

2.5.2 การวินิจฉัยด้วยวิธี Immunohistochemistry (IHC) หรือตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยวิธี In situhybridization (ISH) ในบริเวณเนื้อเยื่อที่มีรอยโรค ซึ่งเนื้อเยื่อที่เหมาะสมในการวินิจฉัยด้วยวิธีนี้ ได้แก่ ต่อมน้ำเหลือง ม้าม ทอนซิล ไทมัส และลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum)

2.5.3 การวินิจฉัยด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่ Polymerase Chain Reaction (PCR) สามารถตรวจได้จาก Serum และเนื้อเยื่อน้ำเหลืองต่าง ๆ (Meerts *et al.*, 2005)

2.6 การควบคุมและการป้องกัน

มีการจัดระบบป้องกันทางชีวภาพที่เข้มแข็ง และเมื่อพบการระบาดของโรคในฟาร์มอาจใช้วัคซีนในการควบคุมโรค ทั้งนี้ โปรแกรมการฉีดวัคซีนควบคุมโรค PCVD ขึ้นอยู่กับชนิดของวัคซีนที่ใช้และรูปแบบของปัญหาที่พบในฟาร์ม ซึ่งภูมิคุ้มกันจากการฉีดวัคซีนจะสามารถลดปริมาณไวรัสในเลือดและลดโอกาสการเกิดโรค PCVD ได้

2.7 วัคซีนป้องกันโรค

Dai *et al.* (2019) รายงานว่า วัคซีนแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ 1. วัคซีนชนิดชีววิทยา (Biological type of vaccine) เป็นวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อที่ยังมีชีวิตหรือวัคซีนเชื้อเป็น (Living antigen vaccine หรือ Live attenuated vaccine) วัคซีนชนิดนี้เป็นวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อหรือจุลชีพที่ยังมีชีวิตซึ่งถูกนำมาทำให้หมดคุณสมบัติในการก่อโรค โดยอาจใช้ความร้อน สารเคมีในระดับที่ไม่ทำให้เชื้อนั้นตายหรือการลดความรุนแรงของเชื้อนั้น 2. วัคซีนที่เตรียมจากเชื้อที่ตายหรือวัคซีนเชื้อตาย (Non-living antigen vaccine หรือ Killed vaccine หรือ Inactivated vaccine) วัคซีนชนิดนี้เป็นวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อหรือจุลชีพที่ตายแล้ว โดยอาจใช้ความร้อน สารเคมีหรือส่วนประกอบของเชื้อที่ไม่สามารถเพิ่มจำนวนในร่างกายได้ 3. Toxiod เป็นวัคซีนที่ทำมาจาก Toxin ของแบคทีเรียที่ทำให้อ่อนฤทธิ์ลงแล้ว เหมาะกับโรคที่ทำให้เกิด Toxin วัคซีนชนิดชีวเคมี (Biological type of vaccine) 4. Component Vaccine เป็นวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียที่ประกอบด้วยส่วนสำคัญที่เกี่ยวข้องกับภูมิต้านทานต่อจุลชีพนั้นๆ ทำให้ร่างกายตอบสนองได้อย่างจำเพาะมากขึ้น 5. Subunit Vaccine เป็นวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อไวรัสที่เป็นส่วนสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดความต้านทาน 6. Synthetic Vaccine เป็นวัคซีนสังเคราะห์จากการเรียงตัวกันของ Amino acid ที่สำคัญในการสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภูมิคุ้มกันต่อจุลชีพบน Polypeptide chain 7. Recombinant Vaccine เป็นวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อไวรัสโดยการตัดเอา Gene หรือ DNA ของจุลชีพที่สร้างแอนติเจนมาต่อเข้าใน DNA ของเซลล์อื่นๆ เพื่อสร้างแอนติเจนนั้นๆ แล้วจึงนำมาทำให้บริสุทธิ์ก่อนมาทำเป็นวัคซีน

วัคซีนป้องกันโรคเชื้อ Porcine circovirus type 2 จากการทดลองของ Brunborng *et al.* (2004) พบว่าสุกรจะแสดงอาการอย่างชัดเจนเมื่อมีปริมาณไวรัสมากกว่า 106 genomic equivant of PCV2/mL ดังนั้นจึงเชื่อว่าการทำให้ปริมาณของไวรัสในร่างกายลดลงส่งผลให้ความรุนแรงของโรคลดลงด้วยเช่นกัน ส่งผลให้มีการคิดค้นและพัฒนาวัคซีนเพื่อควบคุมโรคอย่างต่อเนื่อง โดยวัคซีนที่พบเห็นในท้องตลาดมีด้วยกันหลากหลายชนิดซึ่งรายละเอียดแสดงอยู่ในตารางที่ 2.2 และจากการทดลองของ Kixmöller *et al.* (2008) พบว่า การใช้ Subunit vaccine ทำให้เกิดการรบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันจากแม่สู่ลูกได้น้อยกว่า ทั้งในด้านการสร้าง neutralizing antibody และสุขภาพโดยรวมของสุกร

ตารางที่ 2.2 วัคซีนทางการค้าป้องกันโรค Porcine circovirus type II

Vaccine	Antigen	Animals
Circovac	Inactivated PCV2	Sow
Circoflex	Capsid	Piglet
Circumvent	Capsid	Piglet
Porcillis PCV	Capsid	Piglet
Fostera PCV	Inactivated PCV1/2	Piglet
Pro-vac Circomaster	Inactivated PCV2	Sow/ Piglet
Pro-vac Circomaster one shot	Inactivated PCV2	Sow/ Piglet

ดัดแปลงจาก : Beach and Meng (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง

สุกรลูกผสมสามสายพันธุ์ (Large white x Landrace x Duroc) คละเพศ อายุ 4 สัปดาห์ จำนวนทั้งสิ้น 43 ตัว สุกรถูกซื้อจากฟาร์มสุกรเอกชนและถูกนำมาเลี้ยงภายในโรงเรือนเปิด เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ได้รับน้ำและอาหารเต็มที่ก่อนเริ่มการทดลอง

3.2 วัคซีน

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดต่างๆ ดังนี้

3.2.1 วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิด ซับยูนิต ใน 1 mL ประกอบด้วย Porcine Circovirus type2 ORF2 protein antigen 200 mcg และ Carbomer 4 mg/mL (PRO-VAC CIRCOMASTER ONESHOT; Komipharm International Co. Ltd.; Korea)

3.2.2 วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิด ซับยูนิต ใน 1 mL ประกอบด้วย Porcine Circovirus type2 ORF2 protein antigen 100 mcg และ Aluminium hydroxide 2 mg/mL (PRO-VAC CIRCOMASTER; Komipharm International Co. Ltd.; Korea)

3.2.3 วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิด วัคซีนเชื้อตาย ใน 2 mL ประกอบด้วย Porcine Circovirus type2 (CAKY98 strain) ไม่น้อยกว่า $10^{6.2}TCID_{50}$, Eungen 10% และ Formaldehyde ไม่เกิน 0.2% (SuiShot® Circo-ONE; ChoongAng Vaccine Laboratories Co. Ltd.; Korea)

3.3 อุปกรณ์และสารเคมี

3.3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเลือดและซีรัม

- Latex free Syringe 5 ml (Nipro, Thailand)
- Hypodermic Needle 18G x 1.5 in (Nipro, Thailand)
- Microcentrifuge Tubes 1.5 ml (GB-801500, Bioline, UK)
- Cryogenic Vials 2.0 ml (GB-818204, Bioline, UK)
- Pipette Tips 1-200 µl (T-200-Y, Axygen, USA)
- Micropipette 20-200 µl (AccuReady M, Life Real, China)
- Centrifuge Max. RPM: 13,500 (Microcentrifuge CF-10, Witeg, Germany)
- Hot air oven (FD-model, WTB Binder, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Single door cooler 2˚C-10˚C (SPE-0403D11A, Sanden Intercool, Thailand)
- Chest freezer -20˚C (SHN-0303, Sanden Intercool, Thailand)

3.3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR

- Trisure (BIO-38032, Bioline, UK)
- Sodium citrate tribasic dihydrate (32320, Riedel-de Haen, Germany)
- PCR Kit (BIO-21047, Bioline, UK)
- PCR Tubes Flat cap ขนาด 0.2 ml
- PCR Thermocycler
- Microcentrifuge Tubes 1.5 ml
- Pipette Tips 1-10 µl
- Pipette Tips 1-200 µl
- Micropipette 0.1-2.5 µl
- Micropipette 2-20 µl
- Centrifuge Max. RPM: 13,500 (Microcentrifuge CF-10, Witeg, Germany)
- pH Meter (TS-100, Suntex, Taiwan)
- DEPC-Treated Water (AM9915G, Ambion, USA)
- Vortex mixer (SO200-230V-EU, Labnet, USA)
- Portable Balances Max. 300g (ELB300, Shimadzu, Japan)
- Ethidium Bromide 10mg/mL (X328-10ML, VMR, USA)
- UltraPure™ 10X TBE Buffer (15581-044, Invitrogen, USA)
- Agarose (SeaGar® 28500, P2 Innovation, UK)
- Dry Bath Incubator (MK2000-1, Allsheng, China)
- Enduro Gel Xl Electrophoresis System (E0160-230V, Labnet, USA)
- UV Transilluminator (WUV-M20, Daihan, Korea)
- Microwave (MW71B, Samsung, Korea)
- Agarose comb block
- Primers (OG180404-210, Macrogen, Korea) (Cao et al., 2005)
  1) p1_(PCV-2): 5’-CAC GGA TAT TGT AGT CCT GGT-3’ (21mer)
     p2_(PCV-2): 5’-CGC ACC TTC GGA TAT ACT GTC-3’ (21mer)
  2) p3_(gD-PRV): 5’-CAC GGA AGA GAT GGG GCT-3’ (18mer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

p4_(gD-PRV): 5’-GTC GAC GCC CGC TTG AAG CT-3’ (18mer)

3) p5_(VP2-PPV): 5’-GCA GTA CCA ATT CAT CTT CT-3’ (20mer)

p6_(VP2-PPV): 5’-TGG TCT CCT TCT GTG GTA GG-3’ (20mer)

- 5x DNA Loading buffer (BIO-37045, Bioline, UK)
- HyperLadder 100bp (BIO-33054, Bioline, UK)
- เครื่องทำน้ำ Ultrapure Type 1
- Autoclave
- Flask ขนาด 1000 mL
- Flask ขนาด 500 mL

3.3.3 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปฏิกิริยาลูกโซ่ Real-time PCR

- MegaBio plus General Genomic DNA Purification Kit (BSC07S1E, Bioer, China) ใน 1 ชุดประกอบด้วย
  - Proteinase K (PK)
  - RNase A Solution
  - TES Buffer
  - Lysis Buffer
  - Binding Buffer
  - WB1 Buffer
  - Wash Buffer
  - MagaBio Reagent
- Automatic Nucleic Acid purification (NPA-32P, Bioer, China)
- RT-PCR Detection kit for PCV2 (BSC07S1E, Bioer, China) ใน 1 ชุด ประกอบด้วย
  - PCV2 PCR Buffer
  - PCV2 Positive control
  - PCV2 Negative control
- Real-time PCR Thermocycler (Bioer, China)

3.3.4 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจระดับภูมิคุ้มกันด้วยเทคนิค Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

- ELISA Porcine Circovirus type2 Antibody test Kit (SK105, BioChek, UK) ใน 1 ชุดประกอบด้วย
  - Coated Plates
  - Conjugate Reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Substrate Tablets
- Substrate Reagent
- Stop Solution
- Sample Diluent Reagent
- Wash Buffer Powder
- Negative Control
- Positive Control

- Multi-channel Micro pipette
- Pipette Tips 1-1000 µl
- Pipette Tips 1-200 µl
- Reservoir tray
- Microplate reader (APW-200, All sheng, China)

3.4 การทดลองที่ 1 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณแอนติเจนในวัคซีนต่อประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลูกสุกร

3.4.1 สัตว์ทดลองและการให้อาหาร

ทำการทดลองในสุกรลูกผสมสายพันธุ์ทางการค้าแบบคละเพศ ลูกสุกรถูกซื้อจากฟาร์มเอกชน อายุ 4 สัปดาห์ จำนวน 15 ตัว สุกรถูกเลี้ยงรวมกันภายในคอกขนาด 3 x 3 เมตร จำนวน 3 คอก คอกละ 5 ตัว ภายในโรงเรือนเปิด ได้รับน้ำประปาและอาหารที่ผลิตเป็นการค้า (HI-GRO550; โปรตีน>20%, ไขมัน>4%, กาก<3%, ความชื้น<13%) ตลอดเวลา (ad libitum) ลูกสุกรถูกเลี้ยงเพื่อปรับสภาพก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์

3.4.2 วัคซีนที่ใช้ในการทดลอง

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิด ซับยูนิต ใน 1 mL ประกอบด้วย Porcine Circovirus type2 ORF2 protein antigen 200 mcg และ Carbomer 4 mg/ml (PRO-VAC CIRCOMASTER ONESHOT; Komipharm International Co. Ltd.; Korea)

3.4.3 แผนการทดลอง

วางแผนการโดยแบ่งลูกสุกรเป็น 3 กลุ่มทดลอง กลุ่มละ 5 ตัว ลูกสุกรที่อยู่ในกลุ่มทดลองเดียวกันจะเลี้ยงรวมภายในคอกเดียวกัน ลูกสุกรแต่ละกลุ่มได้รับวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อบริเวณลำคอ (Intramuscular Injection; IM) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ลูกสุกรได้รับวัคซีนที่มีขนาด ORF2 antigen 400 mcg (PRO-VAC CIRCOMASTER ONESHOT 2 ml)

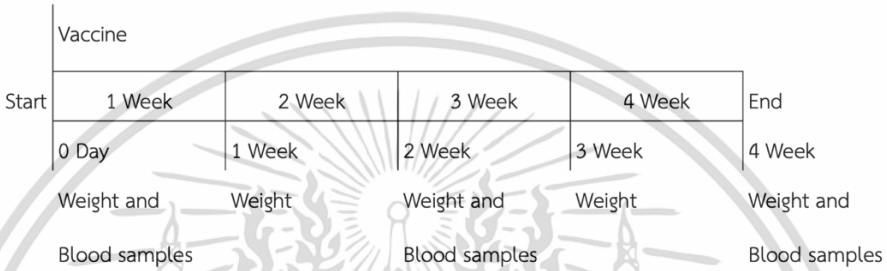
กลุ่มที่ 2 ลูกสุกรได้รับวัคซีนที่มีขนาด ORF2 antigen 200 mcg (PRO-VAC CIRCOMASTER ONESHOT 1 ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 3 ลูกสุกรได้รับน้ำกลั่น ปริมาณ 1 มิลลิลิตร (กลุ่มควบคุม)

3.4.4 การเก็บตัวอย่าง

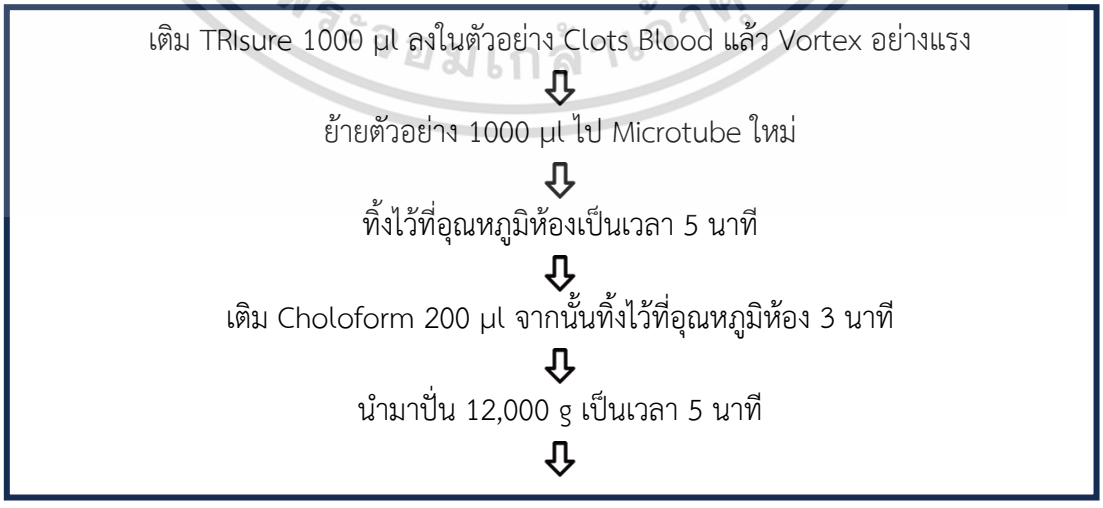
เก็บตัวอย่างเลือดจากบริเวณคอ (Jugular vein) ตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บในหลอด Microtube ขนาด 1.5 ml ที่ปราศจากสารป้องกันการแข็งตัว โดยจะทำการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 ก่อนได้รับวัคซีน (Day0) จากนั้นจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดหลังจากลูกสุกรได้รับวัคซีนในสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 4 นำตัวอย่างเลือดที่ได้ มาทำการปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 6,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำการแยกซีรัม (Serum) จากตัวอย่างเลือด ซีรัม และตะกอนเลือดถูกเก็บรักษาสภาพที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อทำการวิเคราะห์หาระดับภูมิคุ้มกันในลำดับต่อไป



ภาพที่ 3.1 แผนงานการทดลองที่ 1

3.4.5 การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลเพื่อคัดกรองการติดเชื้อที่อาจติดมากับตัวลูกสุกรตั้งแต่เริ่มการทดลอง 3 โรคได้แก่ PCV2, PRV และ PPV ซึ่งอาจมีผลต่อการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการทำวัคซีน โดยทำการตรวจหาดีเอ็นเอของด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (OG180404-210, Macrogen, Korea) จาก Clots Blood ที่ได้จากการปั่นแยกซีรัมของลูกสุกรทุกตัว การตรวจทำได้โดยนำแต่ละตัวอย่างมาสกัด DNA ด้วยชุดสกัด TRIsure ตามขั้นตอนต่างๆ (ภาพที่ 3.2)



ภาพที่ 3.2 การสกัด DNA จาก Clots Blood

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำส่วนใสออก จากนั้นเติม Ethanol 100% 300 µl ทิ้งไวที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที

⇩

นำมาปั่นที่ 12,000 g เป็นเวลา 5 นาที

⇩

เทของเหลวทิ้ง จากนั้นเติม 0.1M Sodium Citrate 1000 µl แล้วทิ้งไวที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

⇩

นำมาปั่นที่ 12,000 g เป็นเวลา 5 นาที

⇩

เทของเหลวทิ้ง จากนั้นเติม 0.1M Sodium Citrate 1000 µl แล้วทิ้งไวที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

⇩

นำมาปั่นที่ 12,000 g เป็นเวลา 5 นาที

⇩

เติม Ethanol 1500 µl แล้วนำไป vortex ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที

⇩

นำมาปั่นที่ 12,000 g เป็นเวลา 5 นาที

⇩

เทของเหลวทิ้งจากนั้น ทำการ Dry เป็นเวลา 15 นาที

⇩

เติม Elution buffer G 50 µl เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C

ภาพที่ 3.2 การสกัด DNA จาก Clots Blood (ต่อ)

จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้ไปทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสโดยมีอัตราส่วนของสารเคมีต่างๆ ในปฏิกิริยา ดังนี้

dNTP	1	µl
MgCl2	2	µl
10x Buffer	2.5	µl
Taq	0.5	µl
p1_PCV2	1	µl
p2_PCV2	1	µl
DEPC-Water	12	µl
Sample	5	µl
Total Volume	25	µl

โดยปฏิกิริยาดังกล่าวกระทำภายใต้สภาวะดังนี้ เริ่มจากที่ 95 °C เป็นเวลา 4 นาที 1 รอบ ตามด้วย 35 รอบของขั้นตอน Denature จำนวน 1 รอบที่ 94 °C เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นลด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิเป็น 57 °C เป็นเวลา 1 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 72 °C เป็นเวลา 1 นาที เมื่อครบ 35 รอบ แล้ว คงอุณหภูมิที่ 72 °C เป็นเวลา 10 นาที (ดัดแปลงจาก : Teankum *et al.,* 2009)

ทำการตรวจผลของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสด้วยกระบวนการElectrophoresis ด้วยเจลอากาโรส (Agarose gel) ที่ระดับความเข้มข้น 1.5% ด้วยกระแสไฟฟ้า 100 เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำมาอ่านค่าด้วยเครื่อง UV Transilluminator

ภาพที่ 3.3 ขั้นตอน ELISA

การตรวจการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 จากการใช้วัคซีนโดยเทคนิค Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA) ทำการตรวจด้วย Porcine Circovirus type2 Antibody test kit (SK105) (BioChek©, UK) โดยชุดตรวจจะประกอบไปด้วย Coated plates, Conjugate, Substrate tables, Substrate buffer, Sample diluent, Wash buffer และ Stop solution การตรวจกระทำตามกระบวนวิธีของผู้ผลิตชุดตรวจ ดังแสดงในภาพที่ 3.3

ผลการตรวจถูกวิเคราะห์ด้วย เครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่นแสง 405 nm และนำค่า Optimum density (OD) ที่ตรวจได้โดยคำนวณเป็นค่า sample to positive ratio (S/P ratio) ตามวิธีการต่อไปนี้

$$\text{S/P ratio} = \frac{\text{ค่า OD ของตัวอย่าง - ค่าเฉลี่ยของ Negative control}}{\text{ค่าเฉลี่ยของ Positive control - ค่าเฉลี่ยของ Negative control}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$Log_{10}\ Titre = (1.1 \times Log_{10}(S/P)) + 3.361$$

3.4.6 การวิเคราะห์ผลทางทางสถิติ

ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 (S/P ratio) ถูกวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เพื่อหาความแตกต่างของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการทำวัคซีนด้วยขนาดแอนติเจนที่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.5 การทดลองที่ 2 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณแอนติเจนในวัคซีนต่อประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสุกรจากการให้วัคซีนที่ต่างชนิดกัน

3.5.1 สัตว์ทดลองและการให้อาหาร

ทำการทดลองในสุกรลูกผสมสายพันธุ์ทางการค้าแบบคละเพศ ลูกสุกรถูกซื้อจากฟาร์มเอกชน อายุ 4 สัปดาห์ จำนวน 28 ตัว ลูกสุกรถูกเลี้ยงแบบขังแยกคอกละ 1 ตัว ภายในโรงเรือนเปิด ได้รับน้ำประปาและอาหารที่ผลิตเป็นการค้า (ตารางที่ 3.1) ตลอดเวลา (ad libitum) สุกรถูกเลี้ยงเพื่อปรับสภาพก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์

3.5.2 วัคซีนและการให้วัคซีน

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิด ซับยูนิต ใน 1 ml ประกอบด้วย Porcine Circovirus type2 ORF2 protein antigen 200 mcg และ Carbomer 4 mg/ml (PRO-VAC CIRCOMASTER ONESHOT; Komipharm International Co. Ltd.; Korea) ซึ่งกำหนดชนิดวัคซีนย่อว่า A

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิด ซับยูนิต ใน 1 ml ประกอบด้วย Porcine Circovirus type2 ORF2 protein antigen 100 mcg และ Aluminium hydroxide 2 mg/ml (PRO-VAC CIRCOMASTER; Komipharm International Co. Ltd.; Korea) ซึ่งกำหนดชนิดวัคซีนย่อว่า B

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิด วัคซีนเชื้อตาย ใน 2 ml ประกอบด้วย Porcine Circovirus type2 (CAKY98 strain) ไม่น้อยกว่า $10^{6.2}TCID_{50}$, Eungen 10% และ Formaldehyde ไม่เกิน 0.2% (SuiShot® Circo-ONE; ChoongAng Vaccine Laboratories Co. Ltd.; Korea) ซึ่งกำหนดชนิดวัคซีนย่อว่า C

3.5.3 แผนการทดลอง

สุ่มเลือกสุกรลูกผสมอายุ 4 สัปดาห์ที่มีน้ำหนักเท่า ๆ กัน จำนวน 28 ตัว จากนั้นแบ่งลูกสุกรออกเป็น 7 กลุ่ม ลูกสุกรจำนวน 24 ตัว จะได้รับการฉีดวัคซีนที่ใช้ในการทดสอบที่แตกต่างกัน ซึ่งลูกสุกรที่เหลือจะถูกจัดให้อยู่ในกลุ่ม Control (กลุ่มควบคุม) จะได้รับการฉีดน้ำกลั่นทดแทน โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 ฉีดวัคซีนชนิด A ปริมาณ 1 ml. = **A1**

กลุ่มที่ 2 ฉีดวัคซีนชนิด A ปริมาณ 0.5 ml. = **A0.5**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 3 ฉีดวัคซีนชนิด A ปริมาณ 0.5 ml. เมื่อครบ 2 สัปดาห์ ทำการฉีดวัคซีนชนิดอีก 1 ครั้ง ปริมาณ 0.5 ml. = **A0.5/0.5**

กลุ่มที่ 4 ฉีดวัคซีนชนิด B ปริมาณ 1 ml. เมื่อครบ 2 สัปดาห์ ทำการฉีดวัคซีนชนิด B อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 1 ml. (2 Shot) = **B1/1**

กลุ่มที่ 5 ฉีดวัคซีนชนิด C ปริมาณ 2 ml. = **C2**

กลุ่มที่ 6 ฉีดวัคซีนชนิด C ปริมาณ 1 ml. เมื่อครบ 2 สัปดาห์ทำการฉีดวัคซีนชนิด C อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 1 ml. = **C1/1**

กลุ่มที่ 7 ฉีด Distilled water 1 ml. = **Control**

3.5.4 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเลือดจากบริเวณคอ (Jugular vein) ตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บในหลอด Microtube ขนาด 1.5 ml ที่ปราศจากสารป้องกันการแข็งตัว โดยจะทำการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 ก่อนได้รับวัคซีน (Day0) จากนั้นจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดหลังจากลูกสุกรได้รับวัคซีนในสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 4 นำตัวอย่างเลือดที่ได้ มาทำการปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 6,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำการแยกซีรัม (Serum) จากตัวอย่างเลือด ซีรัม และตะกอนเลือดถูกเก็บรักษาสภาพที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$C จนกว่าจะทำการ วิเคราะห์ผล

ตารางที่ 3.1 ข้อมูลโภชนาการและการให้อาหาร

เบอร์อาหาร	น้ำหนัก	โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	ความชื้น
HIGRO-550	5-10 kg	ไม่น้อยกว่า 20%	ไม่น้อยกว่า 4%	ไม่มากกว่า3%	ไม่มากกว่า 13%
HIGRO-551	15 kg ขึ้นไป	ไม่น้อยกว่า 20%	ไม่น้อยกว่า 4%	ไม่มากกว่า3%	ไม่มากกว่า 13%
HIGRO-591	45 kg ขึ้นไป	ไม่น้อยกว่า 18%	ไม่น้อยกว่า 3%	ไม่มากกว่า4%	ไม่มากกว่า 13%
HIGRO-592	50 kg ขึ้นไป	ไม่น้อยกว่า 16%	ไม่น้อยกว่า 3%	ไม่มากกว่า 6%	ไม่มากกว่า 13%
HIGRO-593	60 kg ขึ้นไป	ไม่น้อยกว่า 14%	ไม่น้อยกว่า 3%	ไม่มากกว่า8%	ไม่มากกว่า 13%

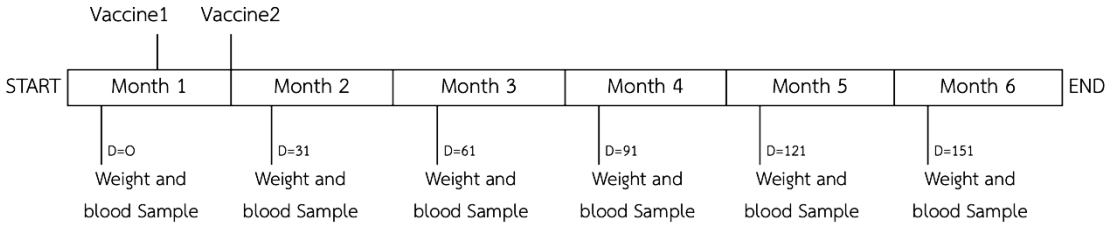
เก็บน้ำหนักลูกสุกรโดยทำการชั่งน้ำหนักลูกสุกรรายตัวก่อนเริ่มการทดลอง (Day 0) และทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์หลังจากได้รับวัคซีน น้ำหนักของสุกรที่บันทึกได้ถูกนำไปคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตรายวัน (Average Daily Gain; ADG) โดยเฉลี่ยรวมของสุกรในกลุ่มด้วยวิธีการคำนวณดังนี้

$$\text{Average Daily Gain (ADG)} = \frac{\text{Final weight} - \text{Initial weight}}{\text{Days}}$$

ปริมาณอาหารที่กิน โดยทำการบันทึกปริมาณน้ำหนักอาหารที่สุกรกินทั้งหมดในแต่ละกลุ่มตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังจากได้รับวัคซีน ปริมาณอาหารที่ลูกสุกรกินได้ถูกนำไปคำนวณหาประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Feed Conversion Ratio; FCR) ด้วยวิธีคำนวณดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{Feed Conversion Ratio (FCR)} = \frac{\text{Feed consumption}}{\text{Body weight gain}}$$



ภาพที่ 3.4 แผนงานการทดลองที่ 2

3.5.5 การวิเคราะห์ผลการห้องปฏิบัติการ

การตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลเพื่อตรวจหาการติดเชื้อ PCV2 ที่อาจติดในระยะเริ่มต้นการทดลองซึ่งอาจมีผลต่อการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการทำวัคซีน ทำการสกัดดีเอ็นเอจาก Clots Blood ของสุกรทุกตัวในช่วง Day 0, เดือนที่ 3 และเดือนที่ 6 ตามขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ (ภาพที่ 3.2) จากนั้นทำการตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 ด้วยเทคนิค Multiplex Polymerase Chain Reaction โดยปฏิกิริยาจะประกอบไปด้วย cDNA, dNTP, PCR buffer, Taq DNA และ Primer

dNTP	1	µl
MgCl2	2	µl
10x Buffer	2.5	µl
Taq	0.5	µl
p1_PCV2	1	µl
p2_PCV2	1	µl
p3_PPV	1	µl
p4_PPV	1	µl
p5_PRV	1	µl
p6_PRV	1	µl
DEPC-Water	8	µl
Sample	5	µl
Total Volume	25	µl

ใช้รูปแบบปฏิกิริยา เริ่มจากที่ 95 °C เป็นเวลา 4 นาที 1 รอบ ตามด้วย 35 รอบของขั้นตอน Denature จำนวน 1 รอบที่ 94 °C เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิเป็น 57 °C เป็นเวลา 1 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 72 °C เป็นเวลา 1 นาที เมื่อครบ 35 รอบแล้ว คงอุณหภูมิที่ 72 °C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำการตรวจหาด้วย Agarose Gel Electrophoresis เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำมาอ่านค่าด้วยเครื่อง UV Transilluminator (ดัดแปลงจาก : Cao *et al.,* 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลเพื่อตรวจหาการติดเชื้อ PCV2 นำซีรัมที่เก็บรักษาไว้ของแต่ละเดือน Pool เป็นกลุ่ม จากนั้นนำมาสกัดเป็น DNA ด้วยชุดสกัด MegaBio plus General Genomic DNA Purification Kit (BSC07S1E, Bioer, China) ผ่านเครื่อง Automatic Nucleic Acid purification (NPA-32P, Bioer, China) ตามคำแนะนำของคู่มือ จากนั้นนำ Pool DNA ทั้ง 7 กลุ่ม มาทำการเพิ่มจำนวนด้วยวิธี Real-time PCR ด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป RT-PCR Detection kit for PCV2 (Bioer, China) ปริมาณสารที่ใช้รวมทั้งสิ้น 20 µl ซึ่งประกอบไปด้วย PCV2 PCR Buffer 15 µl กลุ่มตัวอย่าง หรือ Positive และ Negative Control อย่างละ 5 µl ใช้รูปแบบปฏิกิริยา ที่เริ่มที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ ตามด้วยขั้นตอน 40 รอบ โดยมีอุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 5 วินาที จากนั้นต่อด้วยการลดอุณหภูมิเป็น 60 °C เป็นเวลา 10 วินาที จนครบวงรอบ อุปกรณ์จะอ่านค่า Fluorescence ที่อุณหภูมิ 60 °C

การตรวจการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัส ไทป์ 2 จากการใช้วัคซีนโดยเทคนิค Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA) ทำการตรวจด้วย Porcine Circovirus type2 Antibody test kit (SK105) (BioChek©, UK) โดยชุดตรวจจะประกอบไปด้วย Coated plates, Conjugate, Substrate tables, Substrate buffer, Sample diluent, Wash buffer และ Stop solution จะใช้เครื่อง ELISA Plate Reader ที่ความยาวคลื่นแสง 405 nm และนำค่า Optimum density (OD) ที่ตรวจได้โดยคำนวณเป็นค่า S/P ratio

การปฏิบัติการในการตรวจทั้งหมดจะดำเนินงานที่ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์และเทคโนโลยีระดับเซลล์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

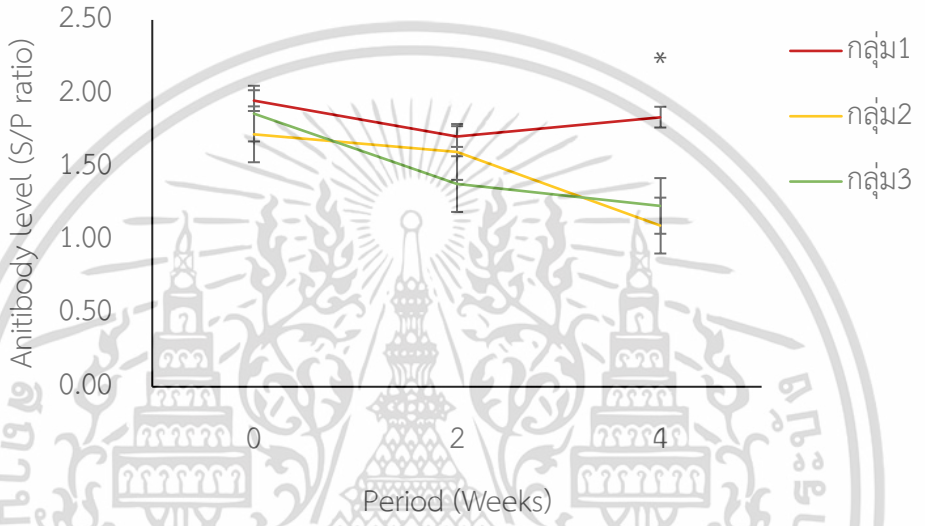
3.5.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 (S/P ratio) ถูกวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เพื่อหาความแตกต่างของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการทำวัคซีนด้วยขนาดแอนติเจนที่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณแอนติเจนในวัคซีนต่อประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลูกสุกร



ภาพที่ 4.1 ระดับภูมิคุ้มกันในลูกสุกรที่ได้รับวัคซีนที่มีแอนติเจนต่างกัน กลุ่มที่ 1 ลูกสุกรได้รับวัคซีนที่มี ORF2 antigen 400 mcg, กลุ่มที่ 2 ลูกสุกรได้รับวัคซีนที่มี ORF2 antigen 200 mcg และกลุ่มที่ 3 ลูกสุกรได้รับน้ำกลั่น ปริมาณ 1 มิลลิลิตร

ตารางที่ 4.1 ระดับภูมิคุ้มกันจากประสิทธิภาพการให้วัคซีนชนิดซับยูนิตแบบเข็มเดียวในลูกสุกร (Mean±SD)

Time	S/P ration			P-Value
	Group1	Group2	Group3	
Day 0	1.95±0.34	1.72±0.44	1.84±0.25	0.59
Week 2	1.70±0.17	1.60±0.44	1.10±0.57	0.50
Week 4	1.84±0.21[a]	1.10±0.57[b]	1.23±0.14[b]	0.00

หมายเหตุ [a, b] ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0. 05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1 ผลการประเมินประสิทธิภาพของระดับภูมิคุ้มกัน

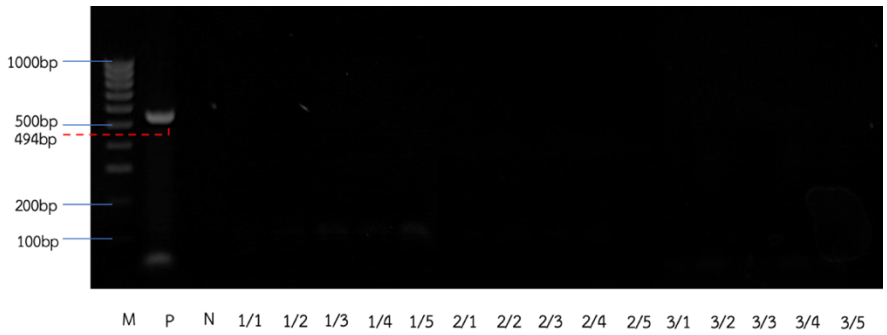
จากการศึกษาอิทธิพลการเพิ่มปริมาณแอนติเจนในการกระตุ้นประสิทธิภาพของระดับภูมิคุ้มกันของลูกสุกร เมื่อนำแต่ละกลุ่มมาเปรียบเทียบ ในระยะก่อนเริ่มทำการทดลองลูกสุกรทั้ง 3 กลุ่มมีระดับปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส PCV2 ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งผลของระดับภูมิคุ้มกันในสัปดาห์ที่ 2 พบว่า กลุ่มลูกสุกรที่ได้รับวัคซีนมีระดับภูมิคุ้มกันที่สูงขึ้น โดยลูกสุกรกลุ่มที่ 1 (ORF2 antigen 400 units) มีค่า S/P ratio 1.70±0.17 และกลุ่มที่ 2 (ORF2 antigen 200 units) มีค่า S/P ratio 1.60±0.44 ในขณะที่กลุ่มที่ 3 (กลุ่มควบคุม) มีค่า S/P ratio 1.10±0.57 แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า ลูกสุกรกลุ่มที่ 1 มีระดับภูมิคุ้มกันที่ดีที่สุด มีค่า S/P ratio 1.84±0.21 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากลูกสุกรกลุ่มที่ 2 ที่มีค่า S/P ratio ที่ 1.10±0.57 และกลุ่มที่ 3 มีค่า S/P ratio 1.23±0.14 (ภาพที่ 4.1, ตารางที่ 4.1)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในลูกสุกรที่ได้รับการถ่ายทอดแอนติบอดีจากแม่ในระดับที่สูงนั้นจะมีโอกาสเกิดการหักล้างกันของแอนติบอดีและวัคซีน ดังนั้นการเพิ่มปริมาณของแอนติเจนจึงมีผลอย่างมากในการลดการหักล้างดังกล่าว จากผลการทดลองที่ได้นี้สามารถนำไปปรับใช้ในโปรแกรมการทำวัคซีนได้ โดยเฉพาะในกรณีที่มีเหตุจำเป็นให้ต้องมีการทำวัคซีนที่เร็วขึ้น เช่น ในกรณีของการเกิดการระบาดของเชื้อ PCV2 ขึ้นภายในฟาร์ม เป็นต้น ซึ่งการทำวัคซีนที่มีแอนติเจนในปริมาณสูงจะช่วยให้ไม่มีการลดลงของแอนติบอดีและช่วยคุ้มครองลูกสุกรจากการติดเชื้อ PCV2 ในช่วงระยะหย่านม (Opriessnig *et al.*, 2008; Papatsiros *et al.*, 2023)

ก. ก่อนเริ่มการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. 2 สัปดาห์



ค. 4 สัปดาห์

ภาพที่ 4.2 ก., ข., ค.: ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = 100bp Marker; lane 2 (P) = PCV2 positive control; lane 3 (N) = Negative control; lane 4-15 = DNA จากกลุ่มตัวอย่าง

4.1.2 ผลการศึกษาโดยวิธี PCR

จากการนำดีเอ็นเอของลูกสุกรทุกตัวมาตรวจสอบหาเชื้อ PCV2 ด้วยวิธีพีซีอาร์ก่อนเริ่มการทดลองเพื่อยืนยันว่าลูกสุกรปลอดเชื้อตั้งแต่ก่อนเริ่มการทดลอง โดยนำดีเอ็นเอที่ได้เพิ่มจำนวนจากปฏิกิริยาลูกโซ่และตรวจสอบผลผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส เมื่อเทียบกับเลนส์ M คือ Marker 100 bp, เลนส์ P คือ PCV2 positive control ในช่วงลำดับ 494 bp และเลนส์ N คือ Negative control พบว่า ลูกสุกรที่ได้รับมาไม่มีการติดเชื้อ PCV2 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 4.2)

เนื่องด้วยผลการทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาในช่วงระยะเวลาที่สั้นซึ่งอาจไม่สามารถบ่งบอกถึงพลวัตของแอนติบอดีต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ที่ครอบคลุมตลอดระยะการเลี้ยงสุกรขุนได้ จึงได้ทำการศึกษาในการทดลองที่ 2 ซึ่งเป็นการศึกษาโดยใช้วัคซีนทางการค้าที่พบในประเทศไทย โดยเป็นวัคซีนต่างชนิดและต่างโปรแกรมการให้ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาดัดแปลงปริมาณและจำนวนครั้งในการให้วัคซีน เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพในการกกระตุ้นภูมิคุ้มกันชองวัคซีนให้มีความเหมาะสมและครอบคลุมตลอดระยะเวลาการเลี้ยงสุกรขุน โดยในการทดลองที่ 2 นั้น ไม่มีการเพิ่มปริมาณแอนติเจนของวัคซีนในการทดลอง เนื่องจากผลของการทดลองที่ 1 สามารถพิสูจน์ได้ว่าการเพิ่มปริมาณแอนติเจนสามารถช่วยลดปัญหาการหักล้างกันของแอนติเจนและแอนติบอดีจากแม่ส่งผลให้ลูกสุกรสามารสร้างแอนติบอดีได้สูงขึ้นอย่างชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณแอนติเจนนั้นส่งผลให้ต้นทุนในส่วนของค่าวัคซีนสูงขึ้น จึงไม่เหมาะในการใช้ในโปรแกรมวัคซีนปกติ ผู้วิจัยจึงได้พิจารณาไม่เลือกใช้ใช้วิธีการเพิ่มปริมาณแอนติเจนในการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี แต่เลือกวัคซีนในขนาดปกติมาปรับใช้เพื่อหวังผลให้มีระดับแอนติบอดีที่สูงและยาวนานที่สุดคลอบคลุมระยะเวลาในการเลี้ยงสุกรขุนตามรูปแบบของการใช้วัคซีนในการทดลองที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณแอนติเจนในวัคซีนต่อประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสุกรจากการให้วัคซีนที่ต่างชนิดและต่างโปรแกรม

4.2.1 ผลการประเมินประสิทธิภาพของระดับภูมิคุ้มกัน

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพการการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยการให้วัคซีนชนิดซับยูนิตและเชื้อตายตามคำแนะนำของผู้ผลิต (Mean±SD)

Time	S/P ration				P-Value
	Group1	Group4	Group5	Group7	
Day 0	1.42±0.05	1.38±0.02	1.40±0.05	1.46±0.12	0.340
Month 1	1.82±0.02	1.71±0.16	1.75±0.08	1.70±0.19	0.705
Month 2	1.46±0.16^{a}	1.74±0.21^{a}	1.32±0.23^{a}	0.73±0.54^{b}	0.008
Month 3	1.64±0.43^{a}	1.31±0.47^{ab}	0.82±0.05^{bc}	0.56±0.36^{c}	0.010
Month 4	1.31±0.49^{a}	0.90±0.51^{ab}	1.01±0.30^{ab}	0.40±0.09^{b}	0.049
Month 5	1.20±0.32^{a}	0.71±0.31^{ab}	0.99±0.42^{a}	0.30±0.10^{b}	0.008

หมายเหตุ $^{a, b}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

ผลของประสิทธิภาพการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากการให้วัคซีนตามคำแนะนำของผู้ผลิตโดยนำชนิดของวัคซีนมาเปรียบเทียบกัน จากการทดลองกลุ่มที่ 1 จะได้รับวัคซีนซับยูนิตชนิด A ปริมาณ 1 ml กลุ่มที่ 4 จะได้รับวัคซีนซับยูนิตชนิด B ปริมาณ 1 ml เมื่อครบ 2 สัปดาห์ทำการฉีดวัคซีนชนิด B อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 1 ml กลุ่มที่ 5 จะได้รับวัคซีนเชื้อตายชนิด C ปริมาณ 2 ml และกลุ่มที่ 7 จะได้รับน้ำกลั่นปริมาณ 1 ml (กลุ่มควบคุม) เมื่อนำซีรัมที่ได้มาตรวจหาระดับแอนติบอดีด้วยเทคนิค Indirect ELISA พบว่า ในเดือนที่ 0 (เริ่มต้นการทดลอง) ลูกสุกรมีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่มที่ 1, 4, 5 และ 7 มีระดับแอนติบอดีเรียงกันดังต่อไปนี้ 1.42±0.05, 1.38±0.02, 1.40±0.05 และ 1.46±0.12 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าลูกสุกรเกิดจากแม่สุกรที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ระดับภูมิคุ้มที่ตรวจพบนั้นเป็นภูมิคุ้มกันที่ได้รับมาจากแม่ หรือที่เรียกกันว่า Maternal immunity (Gourgues *et al.,* 2019; Boixaderas *et al., 2022*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำผลการศึกษาของระดับภูมิคุ้มกันของลูกสุกรในเดือนที่ 1 มาเปรียบเทียบกันนั้น ลูกสุกรทุกกลุ่มมีระดับแอนติบอดีที่ไม่แตกต่างกัน (P>0.05) ทั้งนี้ โดยกลุ่มที่ 1 ที่ได้รับวัคซีนชนิดซับยูนิตมีค่า S/P ratio อยู่ที่ 1.82±0.02 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ 4, 5 และ 7 ที่มาค่าอยู่ที่ 1.71±0.16, 1.75±0.08 และ 1.70±0.19 ตามลำดับ โดยระดับแอนติบอดีที่ของลูกสุกรที่เพิ่มขึ้นนั้น นอกจากได้ภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่แล้ว ยังมีการสร้างภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นเองเรียกว่า specific immunity (Vargas *et al.,* 2021) ภายในร่างกายร่วมด้วยซึ่งเป็นเหตุให้ที่พบว่า กลุ่มที่ได้รับวัคซีนและกลุ่มควบคุมมีระดับแอนติบอดีในระดับใกล้เคียงกัน

จากผลการทดลองในเดือนที่ 2 นั้น กลุ่มสุกรที่ได้รับวัคซีนกลุ่มที่ 1, 4, 5 มีระดับแอนติบอดีที่ได้ตามลำดับดังนี้ 1.46±0.16, 1.74±0.21, 1.32±0.23 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกลุ่มที่ 7 มีค่า S/P ratio 0.73±0.54 (P<0.01) แสดงให้เห็นว่าร่างกายสุกรกลุ่มที่ได้รับวัคซีนนั้นมีการกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ในร่างกาย (Li *et al,* 2015.) ในขณะที่สุกรกลุ่มควบคุมมีระดับภูมิคุ้มกันจำเพาะเริ่มลดลง

ในเดือนที่ 3 พบว่า ผลการทดลองระดับภูมิคุ้มกันของสุกรกลุ่มที่ 7 ซึ่งไม่ได้รับวัคซีน มีระดับ S/P ratio เท่ากับ 0.56±0.36 เทียบกับสุกรที่ได้รับวัคซีนทั้ง 3 กลุ่ม พบว่ามีระดับภูมิคุ้มกันที่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ 5 มีค่า 0.82±0.05 ที่ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อตาย ในขณะที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกลุ่มที่ได้รับวัคซีนแบบซับยูนิตที่ 1 และ 4 ที่มีระดับแอนติบอดีอยู่ที่ 1.64±0.43 และ 1.31±0.47 (P=0.01) อย่างไรก็จากข้อมูลยังแสดงให้เห็นว่า กลุ่มที่ 4 และกลุ่มที่ 5 มีปริมาณแอนดิบอดีที่ไม่แตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาระดับแอนติบอดีในเดือนที่ 4 นั้น กลุ่มที่ 1 ที่ได้รับวัคซีนชนิดซับยูนิต มีค่าเท่ากับ 1.31±0.49 ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีระดับภูมิคุ้มกันดีที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 7 ที่มีค่า S/P ratio 0.40±0.09 (P<0.05) แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 4 และ 5 ที่มีค่า 0.90±0.51 และ 1.01±0.30 ตามลำดับ ทั้งนี้ กลุ่มที่ 4 และ 5 นั้น มีระดับแอนติบอดีที่ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม ในเดือนนี้

และในเดือนสุดท้ายของการทดลองพบว่า กลุ่มที่ 1 และ 5 มีระดับภูมคุ้มกันที่ไม่แตกต่างกันอยู่ที่ 1.20±0.32 และ 0.99±0.42 โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกลุ่มที่ 7 มีค่า S/P ratio ที่ 0.30±0.10 (P<0.01) อย่างไรก็ตามกลุ่มที่ 4 ที่มีระดับแอนติบอดี 0.71±0.31 เป็นกลุ่มที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติทั้งกลุ่มที่ได้รับวัคซีนและกลุ่มควบคุม จากข้อมูลการเปรียบเทียบการให้วัคซีนตามคำแนะนำของผู้ผลิตแสดงให้เห็นวัคซีนที่นำมาใช้นั้น สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ PCV2 ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับซับยูนิตชนิด A มีระดับภูมิคุ้มกันที่มีระดับสูงที่สุดและลดลงตามระยะเวลาอย่างสม่ำเสมอตลอดระยะเวลาการเลี้ยงของสุกรขุน (อายุโดยรวมของสุกรขุนประมาณ 5 เดือน) ทั้งนี้ผลที่ได้สืบเนื่องมาจากการใช้วัคซีนที่ต่างชนิดและการใช้สารเสริมฤทธิ์ (Adjuvant) ในวัคซีนที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพการการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยการให้วัคซีนชนิดซับยูนิตแบบ 1 เข็ม (วัคซีน A) ตามคำแนะนำของผู้ผลิตเทียบกับการให้วัคซีนแบบปรับปริมาณและโปรแกรมการให้วัคซีน (Mean±SD)

Time	S/P ration				P-Value
	Group1	Group2	Group3	Group7	
Day 0	1.42±0.05^{ab}	1.32±0.03^{b}	1.34±0.03^{b}	1.46±0.12^{a}	0.046
Month 1	1.82±0.02^{a}	1.21±0.08^{c}	1.45±0.08^{bc}	1.70±0.19^{ab}	0.002
Month 2	1.46±0.16^{b}	1.29±0.20^{b}	1.99±0.12^{a}	0.73±0.54^{c}	0.001
Month 3	1.64±0.43^{a}	1.09±0.23^{ab}	1.61±0.65^{a}	0.56±0.36^{b}	0.015
Month 4	1.31±0.49^{a}	1.10±0.58^{ab}	0.90±0.47^{ab}	0.40±0.09^{b}	0.012
Month 5	1.20±0.32^{a}	0.88±0.36^{ab}	0.59±0.23^{bc}	0.30±0.10^{c}	0.003

หมายเหตุ $^{a, b}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

ผลของประสิทธิภาพการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากการให้วัคซีนชนิดซับยูนิต A ตามคำแนะนำของผู้ผลิตเปรียบเทียบกับการปรับเปลี่ยนปริมาณและจำนวนครั้งในการให้วัคซีน เพื่อคิดค้นการให้วัคซีนที่เหมาะสมและคงประสิทธิภาพภูมิคุ้มกันได้ครอบคลุมจนกระถึงระยะขาย จากการทดลองกลุ่มที่ 1 จะได้รับวัคซีนซับยูนิตชนิด A ปริมาณ 1 ml กลุ่มที่ 2 จะได้รับวัคซีนซับยูนิตชนิด A ปริมาณ 0.5 ml กลุ่มที่ 3 จะได้รับวัคซีนซับยูนิตชนิด A ปริมาณ 0.5 ml เมื่อครบ 2 สัปดาห์ทำการฉีดวัคซีนชนิด A อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 0.5 ml และกลุ่มที่ 7 จะได้รับน้ำกลั่นปริมาณ 1 ml (กลุ่มควบคุม) นำซีรัมที่ได้มาผ่านกระบวนการวัดปริมาณความเข้มข้นด้วยเทคนิค Indirect ELISA พบว่าในเดือนที่ 0 ก่อนเริ่มการทดลอง ลูกสุกรมีระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 โดยพบว่าลูกสุกรกลุ่มที่ 7 มีค่า S/P ratio 1.46±0.12 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 1 โดยมีค่าเท่ากับ 1.42±0.05 ซึ่งเมื่อนำกลุ่มที่ 1 มาเทียบกับกลุ่มที่ 2 และ 3 ที่ระดับแอนติบอดีตามลำดับ ดังนี้ 1.32±0.03 และ 1.34±0.03 พบว่าไม่มีความแต่ต่างกัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มที่ 7 ($P<0.05$)

หลังจากได้รับวัคซีนเป็นเวลา 1 เดือนพบว่าระดับภูมิคุ้มกันของกลุ่มที่ 2 ลดลง โดยมีค่าเท่ากับ 1.21±0.08 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกลุ่มที่ 1 และ 7 ค่า S/P ratio 1.82±0.02 และ 1.70±0.19 ตามลำดับ ($P<0.01$) ในขณะเดียวกันกลุ่มที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 3 มีค่า S/P ratio 1.45±0.08 นอกจากนี้ กลุ่มที่ 3 และ 7 ก็ไม่มีระดับแอนติบอดีที่แตกต่างกัน โดยภายในเดือนนี้ กลุ่มที่ 1 มีระดับแอนติบอดีสูง เนื่องจากลูกสุกรกลุ่มนี้ได้รับ ORF2 PCV2 antigen มากที่สุดประกอบกับสื่อที่มีประสิทธิภาพจึงช่วยลดปัญหาการเกิดการหักล้างกัน (neutralizing) ของแอนติเจนและแอนติบอดี้ที่ได้รับมาจากแม่ (Gamage *et al.*, 2012; Fraile *et al.*, 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเดือนที่ 2 หลังได้รับวัคซีนพบว่าระดับแอนติบอดีของกลุ่มที่ 3 สูงที่สุด เนื่องจากเป็นกลุ่มได้รับ booster vaccine ชนิด A 0.5 ml ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง (Papatsiros *et al.,* 2023) มีค่า 1.99±0.12 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) กับกลุ่มที่ 1, 2 และ 7 ที่มี S/P ratio ตามลำดับดังต่อไปนี้ 1.46±0.16, 1.29±0.20 และ 0.73±0.54 โดยกลุ่มควบคุมกลุ่มที่ 7 มีระดับภูมิคุ้มที่ต่ำ เนื่องจากภูมิคุ้มกันที่ได้รับมาจากแม่หมดไป (Opriessnig *et al.,* 2010) ทั้งนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกลุ่มที่ 1 และ 3 เช่นกัน

ระดับแอนติบอดีในเดือนที่ 3 หลังได้รับวัคซีนพบว่ากลุ่มที่ 1 และ 3 มีค่า S/P ratio 1.64±0.43 และ 1.61±0.65 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 7 (P<0.05) ที่มีระดับแอนติบอดีเท่ากับ 0.56±0.36 อย่างไรก็ตามพบว่า กลุ่มที่ 2 ที่มีการลดปริมาณเหลือเพียงครึ่งเดียว มีค่าเท่ากับ 1.09±0.23 ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 1, 3 และ 7

เดือนที่ 4 ผลการทดลองพบว่า กลุ่มที่ 1 มีระดับแอนติบอดีเท่ากับ 1.31±0.49 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) กับกลุ่มที่ควบคุมหรือกลุ่มที่ 7 ค่า S/P ratio 0.40±0.09 ทั้งนี้กลุ่มที่ 2 และ 3 ที่มีค่า 1.10±0.58 และ 0.90±0.47 ไม่มีความแตกต่างทั้งกลุ่มที่ 1 และ 7

ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพการการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยการให้วัคซีนชนิดซับยูนิตแบบ 2 เข็ม (วัคซีน B) ตามคำแนะนำของผู้ผลิตเทียบกับกลุ่มควบคุม (Mean±SD)

Time	S/P ration		P-Value
	Group4	Group7	
Day 0	1.38±0.02	1.71±0.16	0.226
Month 1	1.71±0.16	1.70±0.19	0.965
Month 2	1.74±0.21[a]	0.73±0.54[b]	0.013
Month 3	1.31±0.47[a]	0.56±0.36[b]	0.045
Month 4	0.90±0.51	0.40±0.09	0.104
Month 5	0.71±0.31[a]	0.30±0.10[b]	0.046

หมายเหตุ [a, b] ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05)

เมื่อนำระดับแอนติบอดีจากสุกรในเดือนที่ 5 มาเปรียบเทียบ พบว่ากลุ่มที่ 1 มี S/P ratio 1.20±0.32 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ กับกลุ่มที่ 7 ที่มีระดับแอนติบอดีน้อยที่สุด 0.30±0.10 (P<0.01) ทั้งนี้ ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 2 ที่มีค่าเท่ากับ 0.88±0.36 ในขณะที่กลุ่มที่ 3 นั้น มีระดับภูมิคุ้มกันที่ 0.59±0.23 ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 2 และ 7 เมื่อดูภาพรวมของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับภูมิคุ้มกันจำเพาะต่อเชื้อ PCV2 จากการให้รับวัคซีนตามคำแนะนำของผู้ผลิตกับการปรับเปลี่ยนปริมาณการให้วัคซีน รวมถึงการปรับเปลี่ยนโปรแกรม พบว่าการให้วัคซีนตามคำแนะนำจากผู้ผลิตมีประสิทธิภาพดีที่สุด ซึ่งในขณะเดียวกันการเปลี่ยนแปลงปริมาณและโปรแกรมการให้วัคซีนมีระดับภูมิคุ้มกันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง หรือจนกว่าจะถึงระยะขายเช่นกัน (ตารางที่ 4.3)

จากการทำวัคซีนชับยูนิตชนิด B ปริมาณ 1 ml เทียบกับกลุ่มที่ 7 ซึ่งให้เพียงนำกลั่นปริมาณ 1 ml พบว่า ก่อนเริ่มการทดลองและในเดือนที่ 1 พบว่า กลุ่มที่ 1 มีระดับ S/P ratio เรียงตามลำดับ 1.38±0.02 และ 1.71±0.16 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 7 ที่มีค่าเท่ากับ 1.71±0.16 และ 1.70±0.19 ตามลำดับกมีระดับภูมิคุ้มกันที่ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ช่วงเดือนที่ 2-3 ภายหลังจากสุกรได้รับวัคซีน พบว่า ในเดือนนี้กลุ่มที่ 4 มีค่า S/P ratio ตามลำดับดังนี้ 1.74±0.21 และ 1.31±0.47 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ที่มีค่าเท่ากับ 0.73±0.54 และ 0.56±0.36 ทั้งนี้ เมื่อดูเปรียบเทียบการทดลองในเดือนที่ 4 กลุ่มที่ 4 ที่มีระดับแอนติบอดี 0.90±0.51 กับกลุ่มที่ 7 ที่มีระดับภูมิคุ้มกันที่ลดลงอย่างต่อเนื่อง คือ 0.40±0.09 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามเมื่อนำผลของประสิทธิภาพภูมิคุ้มกันของเดือนที่ 5 มาเปรียบเทียบแสดงให้เห็นว่า กลุ่มที่ 4 มีค่าเท่ากับ 0.71±0.31 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 7 ซึ่งปริมาณแอนติบอดีอยู่ที่ 0.30±0.10 ($P<0.05$) ข้อมูลดังกล่าวกลุ่มที่ 4 ที่ได้รับวัคซีนชนิด B มีระดับค่าแอนติบอดีที่ลดลงอย่างต่อเนื่องซึ่งควบคุมกระทั่งสิ้นสุดการเลี้ยง (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพการการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยการให้วัคซีนชนิดเชื้อตายตามคำแนะนำของผู้ผลิตเทียบกับการให้วัคซีนแบบปรับปริมาณและโปรแกรมการให้วัคซีน (Mean±SD)

Time	S/P ration			P-Value
	Group5	Group6	Group7	
Day 0	1.40±0.05^{ab}	1.28±0.11^{b}	1.46±0.12^{a}	0.028
Month 1	1.75±0.08	1.64±0.08	1.70±0.19	0.490
Month 2	1.32±0.23^{ab}	1.61±0.32^{a}	0.73±0.54^{b}	0.041
Month 3	0.82±0.05	1.09±0.50	0.56±0.36	0.199
Month 4	1.01±0.30^{a}	1.35±0.29^{a}	0.40±0.09^{b}	0.002
Month 5	0.99±0.42^{a}	0.96±0.31^{a}	0.30±0.10^{b}	0.029

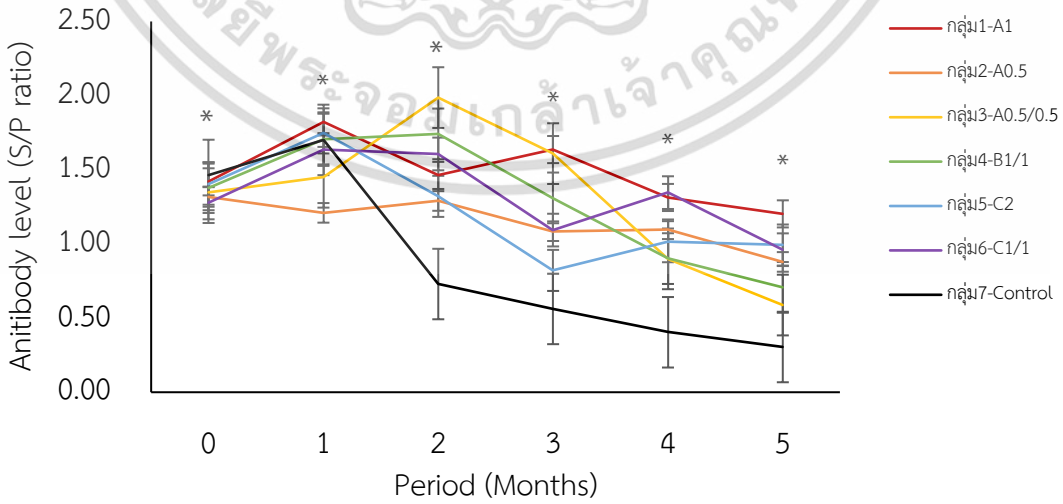
หมายเหตุ $^{a, b}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการนำผลของการใช้วัคซีนเชื้อตายชนิด C มีทำการเปรียบเทียบกันนั้น กลุ่มที่ 5 ได้รับวัคซีนตามคำแนะนำของผู้ผลิตปริมาณ 2 ml ในขณะที่กลุ่มที่ 6 มีการปรับปริมาณและโปรแกรมการให้วัคซีนเป็นปริมาณ 1 ml เมื่อครบ 2 สัปดาห์ทำการฉีดวัคซีนชนิด C อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 1 ml การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันในระยะก่อนเริ่มทำการทดลอง พบว่า ลูกสุกรกลุ่มที่ 7 มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 มีค่า S/P ratio 1.46±0.12 ในขณะที่กลุ่มที่ 6 มีระดับภูมิคุ้มกันทางที่น้อยกว่ามีค่าเท่ากับ 1.28±0.11 ทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งกลุ่มที่ 5 ที่มีค่า 1.40±0.05 ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 6 และ 7

ในเดือนแรกหลังจากได้รับวัคซีนลูกสุกรกลุ่มที่ 5, 6, 7 มีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยมีค่า S/P ratio 1.75±0.08, 1.64±0.08 และ 1.70±0.19 ตามลำดับ ผลการทดลองเดือนที่ 2 แสดงให้เห็นว่าสุกรกลุ่มที่ 6 มีค่า S/P ratio สูงที่สุด 1.61±0.32 มีความแตกต่างอย่างมีนัยกับกลุ่มที่ 7 มีระดับแอนติบอดีเท่ากับ 0.73±0.54 ($P<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 5 ที่มีค่า 1.32±0.23 ทั้งนี้ ในเดือนที่ 3 เมื่อนำข้อมูลจากกลุ่มที่ได้รับวัคซีนทั้งมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า กลุ่มที่ 5, 6 และ 7 มีระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัส PCV2 ที่ไม่แตกต่างกันโดยมีค่าอยู่ที่ 0.82±0.05, 1.09±0.50 และ 0.56±0.36 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 4 หลังได้รับวัคซีน พบว่ากลุ่มที่ 5 และ 6 มีค่า S/P ratio ที่ 1.01±0.30 และ 1.35±0.29 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ 7 ($P<0.01$) คือ 0.40±0.09 ซึ่งในเดือนที่ 5 นั้นก็เป็นเช่นเดียวกัน โดยกลุ่มที่ 5 และ 6 มีระดับแอนติเจน 0.99±0.42 และ 0.96±0.31 ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกลุ่มที่ 7 ที่มีค่าเท่ากับ 0.30±0.10 เมื่อดูภาพรวมของระดับภูมิคุ้มกันจำเพาะต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 แสดงให้เห็นว่า กลุ่มที่ 6 ที่มีการลดปริมาณการให้วัคซีนเป็น 1 ml และเพิ่มจำนวนครั้งการให้ ทำให้มีแอนติบอดีต่อเชื้อดีกว่ากลุ่มที่ 5 ที่ให้วัคซีนตามคำแนะนำของผู้ผลิต (ตารางที่ 4.5)

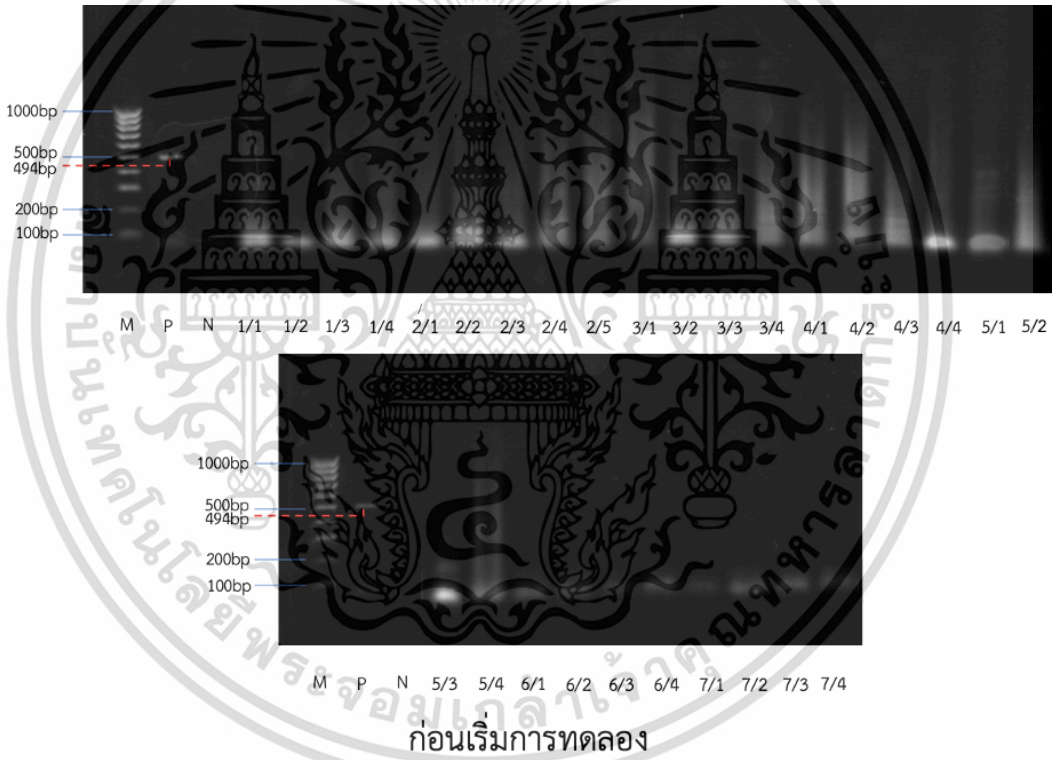


ภาพที่ 4.3 ระดับภูมิคุ้มกันในลูกสุกรที่ได้รับวัคซีนที่มีแอนติเจนต่างกัน กลุ่มที่ 1 วัคซีนชนิด A ปริมาณ 1 ml., กลุ่มที่ 2 วัคซีนชนิด A ปริมาณ 0.5 ml., กลุ่มที่ 3 วัคซีนชนิด A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

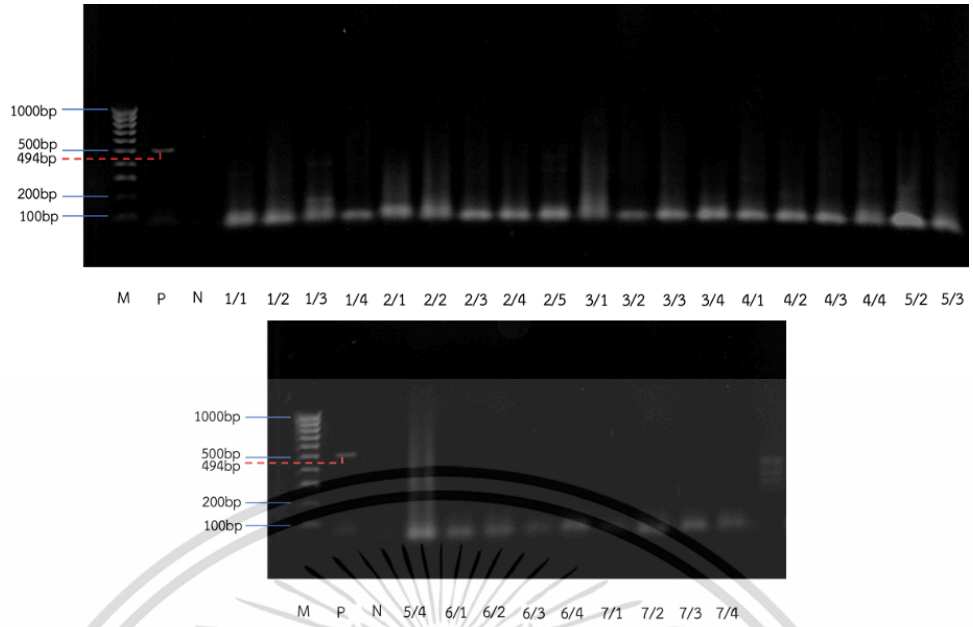
ปริมาณ 0.5 ml. เมื่อครบ 2สัปดาห์ ทำการฉีดวัคซีนชนิดอีก 1 ครั้ง ปริมาณ 0.5 ml., กลุ่มที่ 4 วัคซีนชนิด B ปริมาณ 1 ml. เมื่อครบ 2 สัปดาห์ ทำการฉีดวัคซีนชนิด B อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 1 ml. (2 Shot), กลุ่มที่ 5 วัคซีนชนิด C ปริมาณ 2 ml., กลุ่มที่ 6 วัคซีนชนิด C ปริมาณ 1 ml. เมื่อครบ 2 สัปดาห์ทำการฉีดวัคซีนชนิด C อีก 1 ครั้ง ปริมาณ 1 ml. และกลุ่มที่ 7 Distilled water 1 ml. (Control)

จากภาพที่ 4.3 เมื่อนำข้อมูลจากสุกรทั้ง 7 กลุ่มมาเปรียบเทียบกัน พบว่ากลุ่มที่ 1 ที่ได้รับวัคซีนชนิดซับแบบเข็มเดียว (วัคซีน A) ปริมาณ 1 ml เป็นกลุ่มที่มีระดับแอนติบอดีต่อโรคติดเชื้อ PCV2 ที่มีเสถียรภาพมากที่สุดโดยให้แอนติบดีในระดับสูงตลอดระยะเวลาการทดลอง แม้ว่าระดับแอนติบอดีจะลดลงตามช่วงเวลาแต่ก็เป็นการลดลงในรูปแบบที่เป็นไปตามธรรมชาติของระดับแอนตติบอดีหลังได้รับวัคซีน



ภาพที่ 4.4 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = 100bp Marker; lane 2 (P) = PCV2 positive control; lane 3 (N) = Negative control; lane 4-15 = DNA จากกลุ่มตัวอย่าง

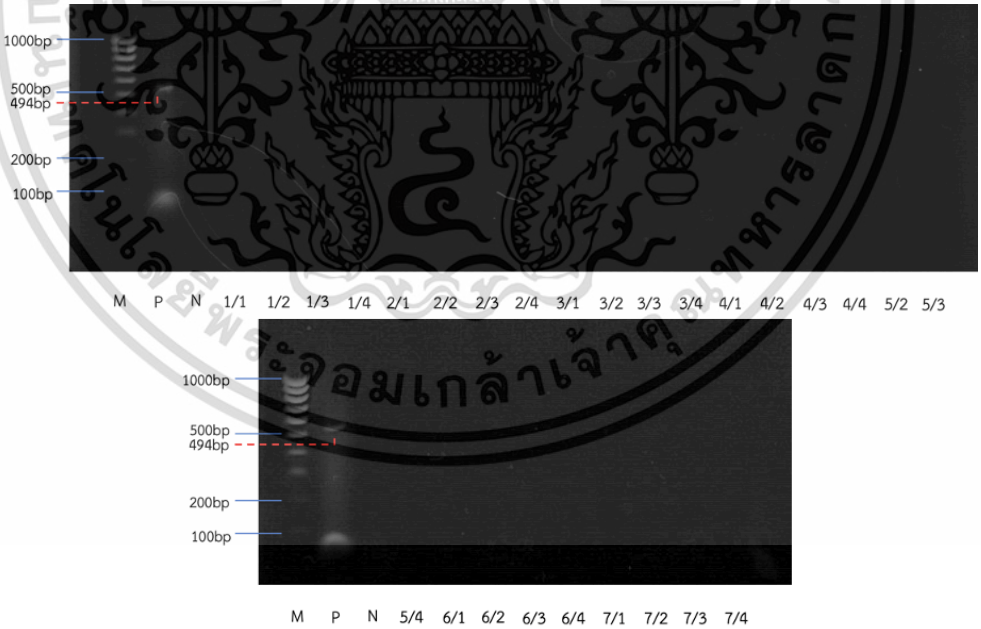
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



3 เดือน

ภาพที่ 4.5 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = 100bp Marker; lane 2 (P) = PCV2 positive control; lane 3 (N) = Negative control; lane 4-15 = DNA จากกลุ่มตัวอย่าง

หมายเหตุ; สุกรตัวที่ 5/1 ตายในเดือนที่ 2 หลังได้รับวัคซีน



6 เดือน

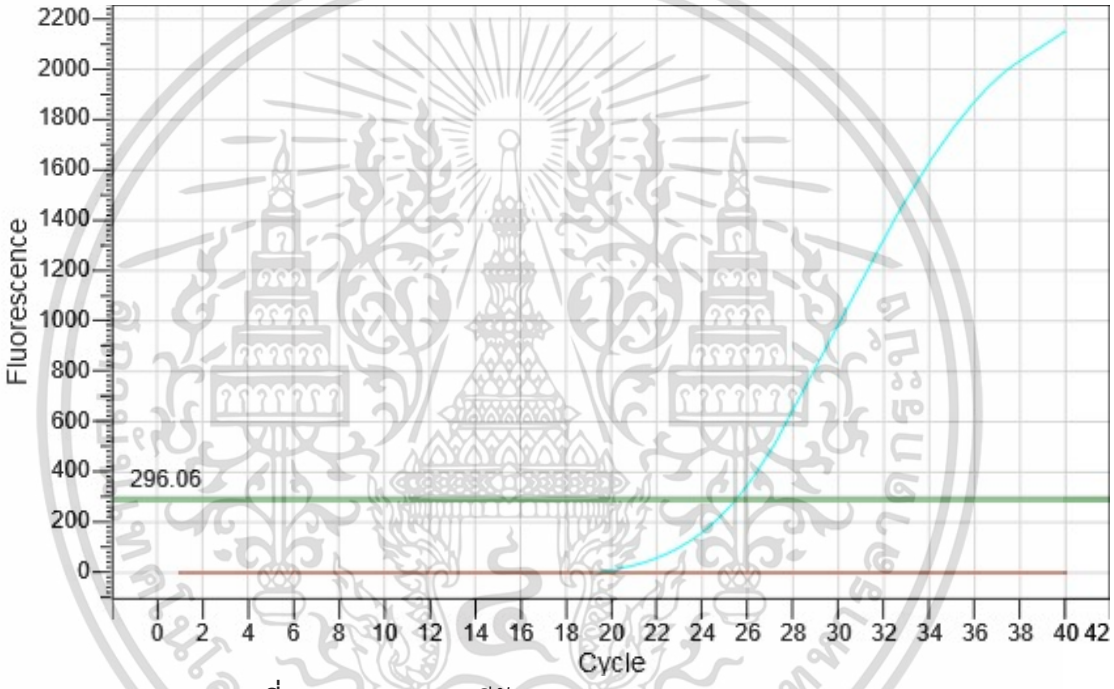
ภาพที่ 4.6 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = 100bp Marker; lane 2 (P) = PCV2 positive control; lane 3 (N) = Negative control; lane 4-15 = DNA จากกลุ่มตัวอย่าง

หมายเหตุ; สุกรตัวที่ 5/1 ตายในเดือนที่ 2 หลังได้รับวัคซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลการศึกษาโดยวิธี Multiplex PCR

จากการนำดีเอ็นเอของลูกสุกรทุกตัวมาตรวจสอบหาเชื้อ PCV2 ด้วยวิธีพีซีอาร์ก่อนเริ่มการทดลองเพื่อยืนยันว่าลูกสุกรปลอดเชื้อตั้งแต่ก่อนเริ่มการทดลอง โดยนำดีเอ็นเอที่ได้เพิ่มจำนวนจากปฏิกิริยาลูกโซ่และตรวจสอบผลผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส เมื่อเทียบกับเลนส์ M คือ Marker 100 bp, เลนส์ P คือPCV2 positive control ในช่วงลำดับ 494 bp และเลนส์ N คือ Negative control พบว่า ลูกสุกรที่ได้รับมาไม่มีการติดเชื้อ PCV2 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง รวมถึงเมื่อนำมาเทียบกับ Marker 100bp ไม่พบแถบ DNA ของเชื้อ Pseudorabies (PRV) ในลำดับที่ 217bp และ Porcine parvovirus (PPV) ในลำดับที่ 118bp เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 4.4, 4.5 และ 4.6)



ภาพที่ 4.7 ผลการตรวจซีรัมจากกระบวนการ Real-time PCR

4.2.3 ผลการตรวจภาวะการณ์ติดเชื้อในกระแสเลือดด้วยวิธี real-time PCR

จากการนำดีเอ็นเอจากซีรัมมาตรวจการติดเชื้อ PCV2 ทางกระแสเลือด (Viremia) ของสุกรทั้ง 7 กลุ่ม ตั้งแต่เดือนที่ 1 จนถึงสิ้นสุดการทดลองมาผ่านการด้วย Real-time PCR ตามคำแนะนำของชุดตรวจ จากภาพที่ แกน X แสดงจำนวนรอบของการเพิ่มจำนวน และแกน Y แสดงสัญญาณการเรืองแสง เส้นสีเขียวแสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาในครั้งนี้มีสัญญาการเรืองแสงอยู่ที่ 296.06 เมื่อสังเกตเส้นสีฟ้าที่มีลักษณะเป็นตัว S (Sigmoid) คือ เส้น Positive Control จากการทดลองพบว่ามีจุดตัดในช่วงสูงกว่าระดับ Threshold ในช่วง Exponential phase ค่า Ct. เท่ากับ 25.75 เมื่อมาดูที่เส้นบริเวณสีแดงที่อยู่บริเวณ 0 พบว่าไม่มีแนวโน้มการเพิ่มจำนวนที่อยู่บริเวณช่วงระดับสัญญาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเรืองแสง แสดงให้เห็นว่า สุกรทั้ง 7 กลุ่มไม่มีภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดของไวรัส PCV2 ในสุกรทุกตัวตลอดการทดลอง (ภาพที่ 4.7)

4.2.4 ผลของอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ผลการเก็บข้อมูลน้ำหนักและปริมาณอาหารที่กิน เมื่อนำมาคำนวณเป็น ADG และ FCR พบว่าสุกรจากกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม มี ADG และ FCR ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ตลอดการทดลอง (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 อัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการให้อาหาร (Mean±SD)

Period (months)	Items							P-Value
	Group1	Group2	Group3	Group4	Group5	Group6	Group7	
Average Daily Gain (ADG) (kg/pig/day)								
2 Week $_{0\text{-}16\ d}$	0.34±0.06	0.33±0.09	0.37±0.02	0.36±0.04	0.31±0.04	0.33±0.06	0.36±0.07	1.00
Month 1 $_{0\text{-}44\ d}$	0.52±0.06	0.48±0.04	0.49±0.04	0.46±0.04	0.46±0.11	0.52±0.04	0.48±0.05	0.9
Month 2 $_{0\text{-}54\ d}$	0.57±0.07	0.54±0.05	0.55±0.06	0.48±0.06	0.53±0.10	0.55±0.02	0.59±0.06	0.85
Month 3 $_{0\text{-}82\ d}$	0.58±0.08	0.55±0.04	0.56±0.05	0.53±0.05	0.56±0.05	0.62±0.05	0.61±0.03	0.46
Month 4 $_{0\text{-}111\ d}$	0.58±0.06	0.56±0.04	0.58±0.04	0.55±0.04	0.57±0.02	0.58±0.03	0.61±0.03	0.38
Month 5 $_{0\text{-}139\ d}$	0.58±0.04	0.56±0.03	0.58±0.04	0.55±0.02	0.57±0.03	0.59±0.04	0.59±0.02	0.58
Feed Conversion ratio (FCR)								
2 Week $_{0\text{-}16\ d}$	1.65±0.14	1.44±0.27	1.29±0.12	1.47±0.14	1.51±0.03	1.44±-.11	1.52±0.20	0.17
Month 1 $_{0\text{-}44\ d}$	1.44±0.10	1.46±0.07	1.36±0.11	1.40±0.02	1.60±0.27	1.47±0.11	1.54±0.12	0.24
Month 2 $_{0\text{-}54\ d}$	1.52±0.33	1.56±0.15	1.47±0.08	1.70±0.13	1.56±0.21	1.56±0.05	1.46±0.11	0.55
Month 3 $_{0\text{-}82\ d}$	2.10±0.29	2.22±0.19	2.12±0.11	2.23±0.20	2.18±0.19	1.96±0.15	1.98±0.09	0.28
Month 4 $_{0\text{-}111\ d}$	2.34±0.28	2.43±0.19	2.31±0.18	2.43±0.19	2.36±0.06	2.33±0.14	2.22±0.10	0.69
Month 5 $_{0\text{-}139\ d}$	2.42±0.18	2.51±0.13	2.34±0.09	2.51±0.08	2.42±0.13	2.38±0.16	2.37±0.08	0.36

จากผลการทดลองพบว่าสุกรหย่านมที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดมีระดับภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่ (maternal immunity) ที่ค่อนข้างสูงในทั้ง 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงผลของการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสในลูกสุกรที่มีระดับภูมคุ้มกันที่ได้รับจากแม่ที่มีระดับสูง รวมถึงอิทธิพลของปริมาณแอนติเจนในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในลูกสุกร โดยได้เลือกใช้วัคซีนชนิดซับยูนิตซึ่งทราบปริมาณแอนติเจนที่แน่นอนในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ซึ่งผู้วิจัยได้เลือกใช้วัคซีนชนิดเข็มเดียวซึ่งมีสื่อชนิด Carbomer ในขนาดปกติตามคำแนะนำของผู้ผลิต (200 mcg) และ ขนาด 2 เท่าของคำแนะนำจากผู้ผลิต (400 mcg) และศึกษาผลของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์หลังจากทำวัคซีน ผลที่ได้พบว่าการใช้วัคซีนในขนาดปกตินั้นสามารช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้สูงขึ้นได้ในระยะแรก (2 สัปดาห์) หลังจากนั้นระดับภูมิคุ้มกันจะปรับตัวลดลงในระดับที่ไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน (กลุ่มควบคุม) แต่ในทางกลับกันการให้แอนติเจนที่มีปริมาณมากกว่าขนาดที่ผู้ผลิตแนะนำ 2 เท่าให้ผลในกระกระตุ้นภูมิที่ดี โดยสามารถลดผลการหักล้างของภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่ได้ โดยให้ผลการตอบสนองภูมิคุ้มกันได้สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับแอนติเจนในขนาดปกติอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับวัคซีนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ดังนั้นในระยะสั้นการให้วัคซีนที่มีแอนติเจนสูงในกรณีนี้จะช่วยลดปัญหาการหักล้าง (neutralize) ของภูมิคุ้มกันจากแม่และแอนติเจนที่ได้รับจากวัคซีน อย่างไรก็ตามแม้ว่าการให้แอนติเจนในระดับที่สูงจะช่วยให้สามารถลดปัญหาการหักล้างกันของภูมิคุ้มกันได้ แต่ในทางปฏิบัติอาจต้องพิจารณาถึงปัจจัยอื่นๆในการใช้วัคซีน เช่น ต้นทุน ความสม่ำเสมอของภูมิคุ้มกันในระดับฝูง และภาวะแทรกซ้อนจากปัญหาการวนเวียนของเชื้อ PCV2 ภายในฟาร์ม (field challenge) ที่อาจทำให้เกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนและก่อให้เกิดการกระเพื่อมของภูมิคุ้มกัน (seroconversion) ก่อนการทำวัคซีนได้

ดังนั้นในการทดลองที่ 2 จึงได้มีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในระยะยาวที่ได้จากการทำวัคซีนในขนาดปกติของวัคซีนที่มีใช้ในประเทศไทย โดยได้เลือกใช้วัคซีนชนิดซับยูนิตทั้งชนิดเข็มเดียวและชนิด 2 เข็ม เปรียบเทียบกับวัคซีนเชื้อตายในแบบดั้งเดิม (whole virus) รวมถึงได้มีการปรับเปลี่ยนขนาดของการให้วัคซีนชนิดที่ใช้ในการทดลองที่ 1 (วัคซีน A) และวัคซีนชนิดใหม่ที่เพิ่มมาในการทดลอง (วัคซีน C) โดยได้ลดขนาดลงจากขนาดการใช้ตามคำแนะนำครึ่งหนึ่งรวมทั้งมีการปรับรูปแบบการใช้และแบ่งฉีดเป็น 2 เข็ม ห่างกัน 2 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการทำวัคซีนในทุกกลุ่มแบบมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน โดยในกลุ่มควบคุม (กลุ่ม 7) ซึ่งไม่ได้รับวัคซีนตลอดการทดลองนั้นจะมีระดับภูมิคุ้มกันที่ได้จากแม่ที่ลดลงอย่างต่อเนื่องตามลำดับและซึ่งแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากวัคซีนอย่างชัดเจน

ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองไม่พบภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือด (viremia) ซึ่งยืนยันได้โดยผลการตรวจทั้ง conventional และ real-time PCR ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการไม่พบภาวะการกระเพื่อมของภูมิคุ้มกันตลอดการทดลองซึ่งบ่งบอกให้เห็นถึงการไม่มีภาวะการรบกวนของเชื้อ PCV2 ภายในฟาร์มตลอดการทดลอง ดังนั้นพลวัตของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นนี้จึงเป็นรูปแบบของภูมิคุ้มกันภายใต้การเลี้ยงที่ปลอดจากเชื้อ PCV2

ในด้านสมรรถภาพการผลิตของสุกรนั้นพบว่าวัคซีน ขนาด และจำนวนครั้งของวัคซีนที่ใช้ในการทดลองไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิตทั้งในส่วนของ ADG และ FCR ซึ่งไม่แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับวัคซีนตลอดการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าในสภาพวะปกติที่ไม่มีการรบกวนของเชื้อ PCV 2 ภายในฟาร์ม การใช้วัคซีนทั้งชนิดซับยูนิตและชนิดเชื้อตายแบบดั้งเดิมแม้ว่าจะมีความแตกต่างของระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 บ้างในบางช่วงระยะเวลาหลังจากได้รับวัคซีน แต่โดยภาพรวมแล้วมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ไม่แตกต่างกัน ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นนี้มีรูปแบบและแนวโน้มในทิศทางเดียวกันทั้งในการให้ในขนาดปกติตามคำแนะนำของผู้ผลิตและการลดขนาดการใช้ (ในกรณีของวัคซีน A) หรือการลดขนาดการใช้แต่เพิ่มจำนวนครั้งในการให้วัคซีนเป็น 2 ครั้ง (ในกรณีของวัคซีน A แวะวัคซีน C) ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นอยู่ในระดับสูงตลอดการทดลองซึ่งคลอบคลุมช่วงเวลาในการเลี้ยงสุกรขุนตั้งแต่ระยะหลังหย่านมจนถึงระยะส่งขายเพื่อบริโภค นอกจากนี้ชนิดและขนาดของการให้วัคซีนไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรแต่อย่างใด

อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาพบว่าการใช้วัคซีนชนิดซับยูนิตแบบเข็มเดียว (วัคซีน A) ตามคำแนะนำของผู้ผลิตมีแนวโน้มที่ให้ภูมิคุ้มกันที่มีเสถียรภาพมากที่สุดโดยให้แอนติบดีในระดับสูงตลอดระยะเวลาการทดลอง แม้ว่าระดับแอนติบอดีจะลดลงตามช่วงเวลาแต่ก็เป็นการลดลงในรูปแบบที่เป็นไปตามธรรมชาติของระดับแอนตติบอดีหลังได้รับวัคซีน

นอกจากนี้จากผลการทดลองยังพบว่าในลูกสุกรที่ได้รับแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 จากแม่ในระดับที่สูงนั้น การให้วัคซีนชนิดซับยูนิตในขนาดปกติตามคำแนะนำของผู้ผลิตอาจมีผลทำให้เกิดการหักล้างกันของแอนติบอดีและแอนติเจนจากวัคซีน ส่งผลให้มีการลดลงของแอนติบอดีในช่วงแรกของการทดลองได้บ้าง การเพิ่มปริมาณของแอนติเจนในการทำวัคซีนจะช่วยลดปัญหาดังกล่าวนี้ได้ จึงอาจพิจารณาใช้เป็นทางเลือกในการทำวัคซีนในกรณีที่มีภาวะการระบาดของโรคติดเชื้อ PCV2 ภายในฟาร์มและจำเป็นต้องพิจารณาทำวัคซีนเร็วขึ้นเพื่อลดการสูญเสียภาในฟาร์ม

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาภายในฟาร์มที่ไม่มีการรบกวนของเชื้อ PCV2 ภายในฟาร์ม ดังนั้น จึงไม่พบการรบกวนของภูมิคุ้มกันอันเป็นผลมาจากการติดเชื้อของกลุ่มสุกรทดลอง นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาพลวัตของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นโดยไม่ได้มีการให้เชื้อพิษทับ (challenge) แม้ว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจะมีระดับที่น่าพอใจคลอบคลุมตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา แต่ไม่อาจที่จะบอกได้ถึงความสามารถในการป้องกันโรคของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการใช้วัคซีนชนิดและขนาดต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

สำหรับการศึกษาในอนาคตควรทำการทดลองฉีดพิษทับ (challenge) ในลำดับต่อไปเพิ่มเติม เพื่อดูระดับภูมิคุ้มกันต่อการได้รับเชื้อเปรียบเทียบกับภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการได้รับวัคซีน หรือการให้ความคุ้มโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2555. วิทยาภูมิคุ้มกันของการติดเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 (PCV2) ในสุกร. **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร**. 5(1):71-80.

ปรียพันธุ์ อุดมประเสริฐ. 2546. **การจัดการสุขภาพและผลผลิตในฟาร์มสุกร**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: อุดมสุข พริ้นแอนด์แพคเกจ.

ยุทธพล เทียมสุวรรณ. 2558. เซอร์โคไวรัสในสุกร แรง ร้าย ลึก. **วารสารโลกสุกร**. Vol.150.

อนันต์ ศรีปราโมช. 2545. **การเลี้ยงสุกร**. กรุงเทพฯ:หนังสือเกษตรชุมชน.

American Association of Swine Veterinarians. 2014. Surveillance for PRRSV, PCV and IAV in Vietnam. **Journal of Swine Health and Production**. 22(5).

Beach, N. M. and Meng, X. J. 2012. Efficacy and future prospects of commercially available and experimental vaccines against porcine circovirus type 2 (PCV2). **Virus Research**. 164:33–42.

Boixaderas, N. M. Moreno, L. G. Sibila, M. and Segalés, J. 2022. Impact of maternally derived immunity on immune responses elicited by piglet early vaccination against the most common pathogens involved in porcine respiratory disease complex. **Porcine Health Management**. 8:11.

Brunborg, I.M. Moldal, T. and Jonassen, C.M. 2004. Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR. **Journal of Virological Methods**. 122:171–178.

Cao, S. Chen, H. Zhao, J. Lu, J. Xiao, S. Jin, M. Guo, A. Wu, B. and He, Q. (2005). Detection of Porcine Circovirus Type2, Porcine Parvovirus and Pseudorabies Virus from Pigs with Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome by Multiplex PCR. **Veterinary Research Communication**. 29(3):263-269.

Carman, S. Cai, H.Y. DeLay, J. Youssef, S.A. McEwen, B.J. Gagnon, C.A. Tremblay, D. Hazlett, M. Lusis, P. Fairles, J. Alexander, H.S. and Dreumel. T. (2008). The emergence of a new strain of porcine circovirus-2 in Ontario and Quebec swine and its association with severe porcine circovirus associated disease – 2004–2006 **Canadian Journal Veterinary Research**. 72(3):259-268.

Chae, C. 2005. A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. **Veterinary Journal**. 169:326-336.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dai, X. Xiong, Y. Li, N. and Jian, C. 2019. **Vaccine-The History and Future: Vaccine Type**. China.

Fan, H. Pan, Y. Fang, L. Wang, D. Wang, S. Jiang, Y. Chen, H. and Xiao, S. 2008. Construction and immunogenicity of recombinant pseudotype baculovirus expressing the capsid protein of porcine circovirus type2 in mice. **Journal of Virological Methods**. 150:21-26.

Fraile, L. Sibila, M. Nofrarías, M. Jimenez, R. L. Huerta, E. Llorens, A. Soria, S. L. Pérez D. and Segalés, J. Effect of sow and piglet porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on piglet mortality, viraemia, antibody titre and production parameters. **Veterinary Microbiology**. 28;161(1-2):229-34.

Fenaux, M. Opriessnig, T. Halbur, P. G. Elvinger, F. and Meng, X. J. 2004. A chimeric porcine circovirus (PCV) with the immunogenic capsid gene of the pathogenic PCV type2 (PCV2) cloned into the genomic backbone of the nonpathogenic PCV1 induces protective immunity against PCV2 infection in pigs. **Journal of Virology**. 78:6297-6303.

Gamage, L.N. McIntosh, K.A. Parker, S. Harding, J. Krakowka, S. And Ellis, J. 2012. Efficacy of parenteral vaccination against porcine circovirus type 2 (PCV2) in seropositive piglets. **Canadian Journal Veterinary Research**.

Gourgues, S. F. Fraile, L. Segalés, J. Caravaca, I.H. Úbeda, R. L. Vázquez, F. A. G. Duran, O. G. and Liesner, B. G. 2019. Effect of Porcine circovirus 2 (PCV-2) maternally derived antibodies on performance and PCV-2 viremia in vaccinated piglets under field conditions. **Porcine Health Management**. 5:21.

Harding, J. Clark, E. Strokappe, J. Willson, P. and Ellis, J.A. 1998. Postweaning multisystemic wasting syndrome: Epidemiology and clinical presentation. **Journal of Swine Health and Production**. 6:249-254.

Kekarainen, T. Montoya, M. Mateu, E. Segalés, J. 2008. Porcine circovirus type 2-induced interleukin-10 modulates recall antigen responses. **Journal of General Virology**. 89:3.

Kixmöller, M. 2008. Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. **Vaccine**. 26:3443–3451.

Kyriakis, S. C. Saoulidis, K. Lekkas, S. Miliotis, CH. C. Papoutsis, P. A. and Kennedy, S. 2002. The effects of immuno-modulation on the clinical and pathological

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

expression of postweaning multisystemic wasting syndrome. **Journal of Comparative Pathology**. 126:38-46.

Li, J. Yu, T. Wang, X. Zhou, J. Gao, R. Zhang, F. Gao, X. Gao, S. and Liu, X. 2015. Comparative efficacy of experimental inactivated and live-attenuated chimeric porcine circovirus (PCV) 1-2b vaccines derived from PCV1 and PCV2b isolates originated in China. **Virology Journal**. 12:113.

Liu, J. Chen, I. and Kwang, J. 2005. Characterization of a previously unidentified viral protein in porcine circovirus type 2-infected cells and its role in virus-induced apoptosis. **Journal of Virology**. 79(13):8262–8274.

Liu, J. Chen, I. Du, Q. Chua, H. and Kwang, J. 2006. The ORF3 protein of porcine circovirus type 2 is involved in viral pathogenesis in vivo. **Journal of Virology**. 80(10):5065–5073.

Mankertz, A. Persson, F. Mankertz, J. Blaess, G. and Buhk, H.J. 1998. Mapping and characterization of the origin of DNA replication of porcine circovirus. **Journal of Virology**. 71:2562–2566.

McIntosh, K.A. Harding, J.C. Parker, S. Ellis, J.A. and Appleyard, G.D. 2006. Nested polymerase chain reaction detection and duration of porcine circovirus type 2 in semen with sperm morphological analysis from naturally infected boars. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. 18(4):380–384

Meerts, P. Van-Gucht, S. Cox, E. Vandebosch, A. and Nauwynck, H.J. 2005. Correlation between type of adaptive immune response against porcine circovirus type 2 and level of virus replication. **Viral Immunology**. 18:333–341.

Muirhead, M.R. Alexander, T.J.L. and Carr, J. 2013. **Managing Pig Health: A Reference for the Farm**. 2nd Edition. England:5mbooks.

Opriessnig, T. Patterson, A. R. Elsener, J. Meng, X. J. and Halbur, P. G. 2008. Influence of Maternal Antibodies on Efficacy of Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Vaccination to Protect Pigs from Experimental Infection with PCV2. **Clinical and Vaccine Immunology**. 15(3)397–401.

Opriessnig, T. Patterson, A. R. Madson, D. M. Pal, N. Ramamoorthy, S. Meng, X. J. and Halbur, P. G. 2010. Comparison of the effectiveness of passive (dam) versus active (piglet) immunization against porcine circovirus type 2 (PCV2) and impact of passively derived PCV2 vaccine-induced immunity on vaccination. **Veterinary Microbiology**. 142:177–183.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Papatsiros, V. Papakonstantinou, G. Meletis, El. Bitchava, D. and Kostoulas, P. 2023.Evaluation of porcine circovirus type 2 double vaccination in weaning piglets that reared for gilts under field conditions. **Veterinary Research Forum**. 14(1): 13-19.

Park, C.H. Jeong, J.W. Choi, K.H. Park, S.J. Kang, I.J. and Chae, C.H. 2017. Development of porcine circovirus 2 (PCV2) open reading frame 2 DNA vaccine with different adjuvants and comparison with commercial PCV2 subunit vaccine in an experimental challenge. **Canadian Journal Veterinary Research**. 81(3): 171–177.

Seo, H.W. Park, C. Han, K. and Chae, C. 2014. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on PCV2-viremic piglets after experimental PCV2 challenge. **Veterinary Research**. 45(13):1297.

Thangthamniyom, N. Sangthong, P. Poolperm, P. Thanantong, N. Boonsoongnern, A. Hansoongnern, P. Semkum, P. Petcharat, N. and Lekcharoensuk, P. 2017.Genetic diversity of porcine circovirus type2 (PCV2) in Thailand during 2009-2015. **Veterinary Microbiology**. September (208):239-246.

Takahashi, M. Seimiya, Y.M. Seki, Y. and Yamada, M. 2008. A piglet with concurrent polipencephalomyelitis due to porcine teschovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome. **Journal of Veterinary Medical Science**. 70:497-500.

Teankum, K. Kedkovid, R. Thanawongnuwech, R. Chaturavitwong, D. 2009. **Efficacy of a subunit vaccine against porcine circovirus type2 on immunological responses in pigs**. Ph.D. Thesis of Chulalongkorn University of Thailand.

Vargas, C.V. Taylor, L. P. Foss, D. L. Godbee, T. K. Philip, R. and Bandrick, M. 2021. Cellular and humoral immunity following vaccination with two different PCV2 vaccines (containing PCV2a or PCV2a/PCV2b) and challenge with virulent PCV2d. **Vaccine**. Vol.39(39):5615-5625.

Vincent, I.E. Carrasco, C.P. Guzylack-Piriou, L. Herrmann, B. McNeilly, F. Allan, G.M. Summerfield, A. and McCullough, K.C. 2005. Subset-dependent modulation of dendritic cell activity by circovirus type2. **Immunology**. 115:388-398.

Wang, F. Guo, X. Ge, X. Wang, Z. Chen, Y. Cha, Z. and Yang, H. 2018. Genetic variation analysis of Chinese strains of porcine circovirus type 2. **Virus Research**. 145:151–156.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wang, K. Huang, L. Kong, J. Zhang, X. 2008. Expression of the capsid protein of porcine circovirus type2 in Lactococcus lactis for oral vaccination. **Journal of Virological Methods**. 150:1-6.

Wang, X. Jiang, P. Li, Y. Jiang, W. and Dong, X. 2007. Protection of pigs against post-weaning multisystemic wasting syndrome by a recombinant adenovirus expressing the capsid protein of porcine circovirus type2. **Veterinary Microbiology**. 121:215-224.

Wu, P.C. Chien, M.S. Tseng, Y.Y. Lin, W.L. Yang, C.Y. Huang, C. 2008. Expression of the porcine circovirus typr2 capsid protein subunits and application to an indirect ELISA. **Journal of Biotechnology**. 133:58-64.

Yu, S. Opriessnig, T. and Kitikoon, P. 2007. Porcine circovirus type 2 (PCV-2) distribution and replication in tissues and immune cells in early infected pigs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. Vol.115:261-272.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ 1 PRO-VAC CIRCOMASTER ONESHOT (Komipharm International Co. Ltd.; Korea)

ภาคผนวกที่ 2 PRO-VAC CIRCOMASTER ONESHOT (Komipharm International Co. Ltd.; Korea)

ภาคผนวกที่ 3 SuiShot® Circo-ONE (ChoongAng Vaccine Laboratories Co. Ltd.; Korea)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ 4 คอกการเลี้ยงลูกสุกรในการทดลองที่ 2

ภาคผนวกที่ 5 คอกการเลี้ยงสุกรระยะขุน และการทำความสะอาดภายในโรงเรือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ 6 การเก็บตัวอย่างเลือด บริเวณ Jugular vein

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวณชนก ไวยสุตรา
วัน เดือน ปีเกิด	3 มกราคม 2537
ที่อยู่	21 แยก 13 สุขุมวิท62 บางจาก พระโขนง กทม. 10260
ประวัติการศึกษา	2554 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนพระโขนงพิทยาลัย 2558 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 2566 หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	ณชนก ไวยสุตรา, จำลอง มิตรชาวไทยและ ชนาธิป ธรรมการ. 2566. “การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของวัคซีนวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ในสุกร”. **วารสารสัตวศาสตร์**. Vol.4 (1) :590-598.
ประวัติการทำงาน	ผู้แทนขายเครือ Pet Focus บริษัท เบทาโกร จำกัด (มหาชน) ประเทศไทย พ.ศ. 2559-2561 ผู้จัดการและบัญชีประจำร้านอาหาร บริษัท วันศุกร์ จำกัด พ.ศ. 2561-2563 Target Data Analyst (Freelance) Voice TV Co., Ltd., พ.ศ. 2565-ปัจจุบัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้