

การประเมินรอยโรค Mycoplasma-like lesion โดยใช้โปรแกรมการ
ประมวลผลจากภาพถ่ายปอดของซากสุกร

ASSESSMENT OF MYCOPLASMA-LIKE LESIONS FROM LUNG OF PIG
CARCASS BY IMAGE PROCESSING PROGRAM



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2567
KMITL-2024-AG-M-031-422

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ASSESSMENT OF MYCOPLASMA-LIKE LESIONS FROM LUNG OF
PIG CARCASS BY IMAGE PROCESSING PROGRAM



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
2024

KMITL-2024-AG-M-031-422

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2024

SCHOOL OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|-----------------------------|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | การประเมินรอยโรค Mycoplasma-like lesion โดยใช้โปรแกรมการประมวลผลจากภาพถ่ายปอดของซากสุกร |
| นักศึกษา | นางสาวอุตมลักษณ์ สวนาการณ |
| รหัสประจำตัว | 63604028 |
| ปริญญา | วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต |
| สาขาวิชา | สัตวศาสตร์ |
| พ.ศ. | 2567 |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ | ผศ.ดร.น.สพ. จำลอง มิตรชาวไทย |

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อผลิตต้นแบบของระบบตรวจสอบรอยโรค Mycoplasma-like lesion (MLL) ที่ปอดของซากสุกรโดยการประยุกต์ใช้แอปพลิเคชัน ในการวิเคราะห์รอยโรคจากภาพถ่าย ดำเนินการทดลองโดยใช้ปอดจากซากสุกรขุนเลือดผสม 3 สายพันธุ์ (ดอร์ค็อก x แลนด์เรซ x ลาร์จไวท์) คละเพศที่เข้าเชือด และชำแหละที่โรงชำแหละสุกรมาตรฐานแห่งหนึ่ง ในจังหวัดชลบุรี ดำเนินการสุ่มประเมินปอดที่ปกติ และที่มีรอยโรค MLL ที่พบบริเวณปอดของซากสุกร รวมจำนวน 500 ตัวอย่างของปอด ซึ่งเป็นประเมินจากด้านบนของปอด ทั้งปอดข้างซ้าย และขวา โดยแต่ละข้างประกอบด้วย apical, middle และ caudal lobe (พู) และประเมินจากด้านล่างของปอดสำหรับ accessory lobe จากการประเมินรอยโรคที่ปอดดำเนินการโดยผู้เชี่ยวชาญ (On-site by expert method; Ose) บันทึกผลการประเมินเป็นร้อยละของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรค MLL ต่อพื้นที่ทั้งหมดของแต่ละพู จากนั้นดำเนินการเก็บภาพถ่ายของปอดที่ตรวจประเมินแล้วโดยผู้เชี่ยวชาญ ทั้งด้านบนและด้านล่างของปอด แบบรายตัวอย่างปอด โดยจัดวางปอดลงบนพื้นผิวระนาบ และจัดวางปอดให้สามารถมองเห็นปอดได้ทุกพูจากภาพถ่าย จากนั้นนำภาพถ่ายที่บันทึกไว้มาประเมินรอยโรคที่พบบริเวณปอดโดยผู้เชี่ยวชาญ (Image by expert method; Ime) และโดยการใช้ออปติเคชันสำเร็จรูป (Image by application method; Ima) ใช้หลักการประเมินเป็นร้อยละของพื้นที่ เหมือนกับการประเมินปอดโดยวิธี Ose ดำเนินการวิเคราะห์ และเปรียบเทียบผลการประเมินรอยโรคจากทั้ง 3 วิธีดังกล่าว ผลการศึกษาพบว่า ความชุกของรอยโรค MLL คิดเป็นร้อยละ 52.2, 43.2 และ 46.6 จากการตรวจประเมินด้วยวิธี Ose, Ime และ Ima ตามลำดับ และยังพบว่าวิธี Ime กับ Ima มีค่าความสอดคล้อง (Kappa coefficient) กันมากที่สุด โดยอยู่ในระดับดีเยี่ยม ($Kappa = 0.951$) ค่าเฉลี่ยร้อยละของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรค MLL ของปอดแต่ละพู จากการประเมินทั้ง 3 วิธี พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ยกเว้น Caudal lobe ของปอดข้างซ้าย ที่ถูกประเมินด้วยวิธี Ose มีร้อยละของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรคสูงกว่าวิธี Ime และ วิธี Ima ($P < 0.05$) เมื่อคำนวณคะแนนโดยใช้

ระบบการให้คะแนนรอยโรคที่ปอด (lung scoring system) ที่เป็นระบบมาตรฐานและยอมรับกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำมาใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า การประเมินด้วยวิธี Ime มีแนวโน้มของการมีค่าคะแนนต่ำที่สุด ($P < 0.05$) แต่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างวิธีการประเมินทั้ง 3 วิธี อยู่ในระดับสูง เมื่อวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) ของระบบการให้คะแนนแต่ละระบบเทียบกับระบบการให้คะแนน European Pharmacopoeia พบว่า การประเมินรอยโรคที่ปอด โดยวิธี Ose, Ime และ Ima มีค่าอยู่ในช่วง 0.962 – 0.997, 0.789 – 0.875 และ 0.852 – 0.905 ตามลำดับ ดังนั้นจึงมีโอกาสเป็นไปได้ในการนำเทคโนโลยีด้าน Image analysis มาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นแนวทางในการตรวจสอบรอยโรค MLL ที่ปอดจากซากสุกร โดยมีผู้เชี่ยวชาญช่วยคัดกรองจำแนกรอยโรคที่ปอดที่มีขนาดเล็กออกก่อน

คำสำคัญ: การประเมินรอยโรค Mycoplasma-like lesion ภาพถ่าย ปอด ซากสุกร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|-----------------------|--|
| Thesis | Assessment of Mycoplasma-like lesions from lung of pig carcass by image processing program |
| Student | Miss Oudomlug Sawanakarn |
| Student ID. | 63604028 |
| Degree | Master of Science |
| Program | Animal Science |
| Year | 2024 |
| Thesis Advisor | Asst. Prof. Dr. Jamlong Mitchaothai (D.V.M.) |

ABSTRACT

This study was aimed to develop a prototype for Mycoplasma-like lesion (MLL) evaluation system in lung obtained from pig carcasses, using an application designed for image-based lesion assessment. The experiment utilized lungs from crossbred pigs (Duroc × Landrace × Large White), both sexes, slaughtered at a standard pig slaughterhouse in Chonburi province. A total 500 lung samples were randomly assessed for normal and MLL found in the lungs of pig carcasses. The evaluation encompassed the dorsal and ventral aspects of both left and right lungs, comprising the apical, middle, and caudal lobes, and the accessory lobe. The assessment of lung lesions was conducted by an expert on-site (On-site by expert method; Ose), recording the percentage of lung area affected by MLL lesions per total area of each lobe. Images of the assessed lungs were subsequently taken, ensuring all lobes were clearly visible when laid flat on a surface. These images were then used for lesion assessment by experts (Image by expert method; Ime) and by using an available application (Image by application method; Ima). The evaluation criteria were based on the percentage of the affected lung area, comparable to the Ose assessment. Analysis and comparison of lesion assessment results from the three methods revealed MLL lesion prevalence rates of 52.2%, 43.2%, and 46.6% for the Ose, Ime, and Ima methods, respectively. It was also observed that all three assessment methods demonstrated substantial agreement (Kappa), with the Ime and Ima methods exhibiting the highest level of concordance (Kappa = 0.951). The average percentage of lung area affected by MLL lesions in each lobe did not statistically significant ($P > 0.05$) among the 3 assessment methods, except for the caudal lobe of the left lung, which showed a significantly higher percentage of affected lung area when assessed by the Ose method compared

เอกสารนี้เป็นเอกสารทบทวนเนื้อหาสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ภายนอก

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

to the lme and lma methods ($P < 0.05$). When calculating scores based on a standardized lung lesion scoring system, the lme method tended to yield the lowest scores but demonstrated a high correlation coefficient with the other methods. The coefficient of determination (R^2) analysis was used to compare the total score from each standardized scoring system. There were values ranging from 0.962–0.997, 0.789–0.875 and 0.852–0.905 for the Ose, lme and lma methods, respectively. Therefore, there is a possibility of applying image analysis technology as a method for examining MLL lesions in the lungs of pig carcasses. Experts will assist in pre-screening and identifying small lung lesions

Keywords: Assessment, Mycoplasma-like lesion, Image, Lung, Pig carcass



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การที่วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีนั้น ต้องขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.น.สพ. จำลอง มิตรชาวไทย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความรู้ คำชี้แนะ คำสอน และให้ความช่วยเหลือในการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ตลอดจนให้โอกาส ให้ความรู้ และให้ประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์เป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.รณชัย สิทธิไกรพงษ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร. กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ ผศ.ดร.น.สพ. ชนาธิป ธรรมการ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาสละเวลาอันมีค่า ที่ให้ความรู้เพิ่มเติม ให้คำแนะนำต่าง ๆ ตลอดจนข้อชี้แนะอันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ทั้งในเรื่องของความถูกต้องและความสมบูรณ์ของเนื้อหาทางวิชาการอย่างครบถ้วน

ขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับการสนับสนุนให้ทุนยกเว้นค่าธรรมเนียมการศึกษาแก่ข้าพเจ้า ทำให้ได้รับโอกาสในการศึกษาต่อในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณความกรุณาจากบริษัท ไทยฟู้ดส์ สโวน์ อินเทอร์เน็ตชั่นแนล จำกัด ซึ่งเป็นบริษัทในเครือ บริษัทไทยฟู้ดส์ กรุ๊ป จำกัด (มหาชน) ที่อำนวยความสะดวก และสนับสนุนสถานที่ในการปฏิบัติงานวิจัยทำให้งานวิจัยประสบความสำเร็จ และขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 สำหรับโครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนา Application สำหรับการตรวจวัดคุณภาพซากสุกรจาก LSQ และรอยโรคของอวัยวะภายในสุกร” (รหัสโครงการ CRP6305032520)

ขอขอบคุณคุณสุदारัตน์ ผ่องแผ้ว นักศึกษาปริญญาโทที่ช่วยสนับสนุนตลอดระยะเวลาในการทดลอง อีกทั้งยังให้การช่วยเหลือและให้คำแนะนำ ตลอดจนการแลกเปลี่ยนความรู้ และขอขอบคุณเพื่อน นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาสัตวศาสตร์ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือในการทำวิจัย ช่วยให้คำปรึกษา ตลอดจนเป็นกำลังใจที่ดีให้เสมอมา

ขอขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัว ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้าจึงขอมอบคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้แก่ทุกท่านซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง อีกทั้งคุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบให้แก่ทุกท่านที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป

อุดมลักษณ์ สวนากากรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

| | หน้า |
|--|----------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | ค |
| กิตติกรรมประกาศ..... | จ |
| สารบัญ..... | ฉ |
| สารบัญตาราง..... | ณ |
| สารบัญภาพ..... | ญ |
| บทที่ 1 บทนำ..... | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... | 1 |
| 1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์..... | 3 |
| 1.3 สถานที่ดำเนินงาน..... | 3 |
| 1.4 ขั้นตอนการศึกษา..... | 4 |
| 1.5 ระยะเวลาการศึกษา..... | 4 |
| 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 4 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 5 |
| 2.1 ระบบทางเดินหายใจสุกร..... | 5 |
| 2.1.1 บทบาทและกลไกป้องกันการเกิดโรคในปอดสุกร..... | 5 |
| 2.1.2 ลักษณะของปอดที่ปกติ..... | 7 |
| 2.1.3 ลักษณะของปอดที่ผิดปกติ..... | 9 |
| 2.2 ปัญหาโรคระบบทางเดินหายใจที่มีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตสุกร..... | 10 |
| 2.3 โรคโรคติดเชื้อไมโคพลาสมา (<i>Mycoplasma spp.</i>) ที่ก่อโรคในสุกร..... | 11 |
| 2.3.1 ไมโคพลาสมา ไฮโอไรนิส (<i>M. hyorhinis</i>)..... | 12 |
| 2.3.2 ไมโคพลาสมา ซินโนวียี (<i>M. hyosynoviae</i>)..... | 12 |
| 2.3.3 ไมโคพลาสมา ไฮโอนิวโมนิเอ (<i>M. hyopneumoniae</i>)..... | 13 |
| 2.4 ผลกระทบจากการเกิดโรคติดเชื้อ <i>M. hyopneumoniae</i> | 14 |
| 2.5 เชื้อแบคทีเรีย <i>M. hyopneumoniae</i> และการก่อโรค ในระบบทางเดินหายใจ..... | 14 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

| | หน้า |
|---|-----------|
| 2.6 การวินิจฉัยโรคระบบทางเดินหายใจในสุกร..... | 17 |
| 2.7 เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction)..... | 18 |
| 2.8 ระบบตรวจสอบรอยโรคปอดสุกรหลังการเชือด (post-mortem)..... | 22 |
| 2.9 การพัฒนาระบบตรวจสอบรอยโรคที่ปอดของซากสุกรในโรงชำแหละ..... | 24 |
| 2.10 โปรแกรมประมวลผลภาพ IMAGE J [®] | 28 |
| 2.11 หลักการวัดและการวิเคราะห์ข้อมูลของ IMAGE J [®] | 30 |
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... | 31 |
| 3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง..... | 31 |
| 3.2 อุปกรณ์และสารเคมี..... | 31 |
| 3.2.1 อุปกรณ์ในการบันทึกภาพอวัยวะภายใน..... | 31 |
| 3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้เก็บข้อมูลสุกรและการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ..... | 31 |
| 3.2.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ..... | 32 |
| 3.2.4 สารเคมีที่ใช้สกัด DNA Extraction | 32 |
| 3.2.5 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ PCR สำหรับการตรวจหาเชื้อก่อโรค ระบบทางเดินหายใจ <i>M. Hyopneumoniae</i> | 33 |
| 3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย..... | 34 |
| 3.3.1 การประเมินรอยโรคที่ปอดโดยผู้เชี่ยวชาญ ณ โรงชำแหละ..... | 34 |
| 3.3.2 การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด | 35 |
| 3.3.3 การประเมินรอยโรคจากภาพถ่ายปอด โดยผู้เชี่ยวชาญ | 36 |
| 3.3.4 การประเมินรอยโรคจากแอปพลิเคชันโดยผู้เชี่ยวชาญ..... | 36 |
| 3.3.5 การประเมินรอยโรคโดยใช้เกณฑ์การประเมินจากระบบมาตรฐาน 6 ระบบ..... | 38 |
| 3.3.6 การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ..... | 40 |
| 3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ..... | 43 |
| บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... | 46 |
| 4.1 ผลการตรวจวิเคราะห์หาสารพันธุกรรมของ <i>M. hyopneumoniae</i> | 46 |

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

| | |
|---|-----------|
| 4.2 การเปรียบเทียบวิธีการประเมินรอยโรค (Scoring Method) โดยการจำแนกปอดชนิดพบและไม่พบรอยโรค (MLL)..... | 47 |
| 4.3 การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างวิธี Ose, lme และ lma โดยพิจารณาโดยรวมของทุกส่วนของปอดสุกร โดยการจำแนกประเภทปอดที่ปกติ และปอดพบ Mycoplasma-like lesion (MLL)..... | 48 |
| 4.4 การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการประเมินรอยโรค MLL ด้วยวิธี Ose, lme และ lma โดยพิจารณาจากปอดแต่ละพู (lobe) โดยการจำแนกประเภทปอดที่ปกติ (No MLL) และ ปอดที่พบรอยโรค MLL (MLL)..... | 50 |
| 4.4.1 ปอดส่วนบน (Apical Lobe) ทั้งด้านซ้าย และขวา..... | 50 |
| 4.4.2 ปอดส่วนกลาง (Middle Lobe) ทั้งด้านซ้าย และขวา..... | 53 |
| 4.4.3 ปอดส่วนท้าย(Caudal Lobe) ทั้งด้านซ้าย ด้านขวา..... | 55 |
| 4.4.4 ปอดส่วน Accessory Lobe ด้านล่าง (Ventral)..... | 57 |
| 4.5 ผลสัดส่วนของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรค MLL และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) จากการประเมินรอยโรค ทั้งหมด 3 วิธี..... | 59 |
| 4.6 การเปรียบเทียบคะแนนที่ได้จากระบบการให้คะแนนทั้ง 6 ระบบกับวิธีการประเมินที่แตกต่างกัน..... | 62 |
| 4.7. การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Determination coefficients; R ²)..... | 69 |
| บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... | 72 |
| 5.1 สรุปผลการวิจัย..... | 72 |
| 5.2 ข้อเสนอแนะ..... | 72 |
| บรรณานุกรม..... | 73 |
| ภาคผนวก..... | 82 |
| ภาคผนวก ก..... | 83 |
| ภาคผนวก ข..... | 87 |
| ประวัติผู้วิจัย..... | 92 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|---|------|
| 2.1 ตัวอย่างของผลกระทบที่เกิดจากรอยโรคปอดบวมจากโรค Enzootic Pneumonia..... | 15 |
| 3.1 สรุปสัดส่วนการให้คะแนนแต่ละพหูของปอดตามระบบเกณฑ์การประเมิน..... | 38 |
| 3.2 ระบบการให้คะแนนปอดเพื่อประเมินการรวมบริเวณปอดสวนหนาและด้านล่าง ของปอด (Cranioventral pulmonary)..... | 39 |
| 3.3 แสดงตัวแปรสำหรับแทนค่าในสูตรหาค่า Kappa Value | 44 |
| 4.1 แสดงจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อก่อโรคในสุกร..... | 47 |
| 4.2 แสดงจำนวนปอดและร้อยละของปอดที่ไม่พบและพบรอยโรค Mycoplasma-like lesion (MLL) จากวิธีประเมินรอยโรคโดยตรงที่โรงฆ่าและ โดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) ประเมินจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และประเมิน จากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)..... | 48 |
| 4.3 แสดงจำนวนและร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) โดยการเปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากซากปอดทุกส่วนโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)..... | 49 |
| 4.4 แสดงจำนวนและร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) โดยการเปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากปอดพู Apical ของซากสุกร ปอดโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)..... | 52 |
| 4.5 แสดงจำนวนและร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) โดยการเปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากปอดพู Middle ของซากสุกรโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)..... | 54 |

สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ | หน้า |
|---|------|
| 4.6 แสดงจำนวนและร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) โดยการเปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากปอดพู Caudal ของซากสุกรโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)..... | 56 |
| 4.7 แสดงจำนวนและร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) โดยการเปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากปอดพู Accessory ของซากสุกรโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)..... | 57 |
| 4.8 แสดงสัดส่วนของพื้นที่ปอดที่พบโรค Mycoplasma-like lesion (MLL) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของการวัดโดยวิธีประเมินโดยตรงที่โรงชำแหละ โดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) ประเมินจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และประเมินจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)..... | 61 |
| 4.9 แสดงผลรวมคะแนนที่ได้จากการประเมินรอยโรคร่วมกับระบบคะแนนรอยโรค ที่มีใช้กันทั่วไปในโรงชำแหละ Score Mycoplasma-like lesion และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของการวัดโดยวิธีประเมินโดยตรงที่โรงชำแหละ (Ose) ประเมินจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และประเมินจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima) โดยใช้ระบบการประเมินที่แตกต่างกัน..... | 63 |
| 4.10 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของคะแนนที่ได้จากระบบการให้คะแนน 6 ระบบ ภายใต้วิธีการ ประเมินรอยโรค 3 วิธี..... | 64 |
| 4.11 แสดงคะแนนการแยกแยะรอยโรคของปอดที่ไม่พบและพบรอยโรค MLL โดยวิเคราะห์จาก ระบบการประเมินรอยโรค MLL ภายใต้ระบบการให้คะแนนแต่ละระบบ..... | 65 |
| 4. 12 แสดงจำนวนปอด ที่เกิดการประเมินต่างกันโดยเปรียบเทียบวิธี Ime, Ima กับ Ose | 66 |

สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางที่ | หน้า |
|--|------|
| 4.13 แสดงค่าคะแนนประเมินรอยโรค MLL เฉลี่ย โดยใช้ระบบการให้คะแนนมาตรฐานจากการประเมินซากปอดจริงโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) ซึ่งจำแนกตามการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรค MLL โดยใช้วิธีการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญโดยตรง (Ose) ในระบบการให้คะแนน ของวิธีมาตรฐานอ้างอิง European Pharmacopoeia (2013)..... | 67 |
| 4.14 แสดงค่าคะแนนประเมินรอยโรค MLL เฉลี่ย โดยใช้ระบบการให้คะแนนมาตรฐานจากการประเมินภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) ซึ่งจำแนกตามการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรค MLL โดยใช้วิธีการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญโดยตรง (Ose) ในระบบการให้คะแนนของวิธีมาตรฐานอ้างอิง European Pharmacopoeia (2013)..... | 67 |
| 4.15 แสดงค่าคะแนนประเมินรอยโรค MLL เฉลี่ย โดยใช้ระบบการให้คะแนนมาตรฐานจากการประเมินภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima) ซึ่งจำแนกตามการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรค MLL โดยใช้วิธีการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญโดยตรง (Ose) ในระบบการให้คะแนนของวิธีมาตรฐานอ้างอิง European Pharmacopoeia (2013)..... | 68 |
| 4.16 สมการ Regression และสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Determination coefficients; DC) ระหว่างระบบการให้คะแนนมาตรฐาน(โดยผู้เชี่ยวชาญโดยตรง) และระบบการให้คะแนนมาตรฐานอื่นๆที่ได้จากกวีตโดยตรง (Ose) จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)..... | 70 |

สารบัญภาพ

| ภาพที่ | หน้า |
|---|------|
| 2.1 Ciliated pseudostratified epithelium ซึ่งเป็นลักษณะของระบบทางเดินหายใจ..... | 6 |
| 2.2 ส่วนปลายของท่อทางเดินหายใจ (lung alveolus)..... | 7 |
| 2.3 ลักษณะของเม็ดเลือดขาวที่ถูกลดปอด (alveolar macrophages) ติดเชื้อ PRRSV..... | 7 |
| 2.4 ระบบทางเดินหายใจ (Respiratory system)..... | 8 |
| 2.5 ลักษณะปอดสุกรปกติด้านหน้า (Dorsal view)..... | 8 |
| 2.6 ลักษณะปอดสุกรปกติด้านหลัง (Ventral view)..... | 9 |
| 2.7 ปอดที่มีรอยโรค macroscopic enzootic pneumonia-like lesions..... | 9 |
| 2.8 โรคปอดบวมจากเชื้อ <i>M. hyopneumoniae</i> | 13 |
| 2.9 แผนผังของ PCR ปฏิกริยา PCR เกิดขึ้นใน Thermo cycler แต่ละรอบ PCR..... | 21 |
| 2.10 เครื่องมือ Ceva® Lung Program..... | 26 |
| 2.11 อุปกรณ์แท็บเล็ตที่มีน้ำหนักเบา ทนทานต่อการใช้งาน..... | 26 |
| 2.12 ภาพรวมของแบบจำลองเทคโนโลยี..... | 27 |
| 2.13 โปรแกรมที่สามารถใส่คำอธิบายประกอบได้ และสามารถวิเคราะห์รอยโรคปอด..... | 28 |
| 2.14 รูปแบบแอปพลิเคชัน Image J® และเมนูหน้าแรกของโปรแกรม..... | 29 |
| 2.15 ฟังก์ชันการใช้งาน (Usability)..... | 30 |
| 3.1 ลักษณะการวางอวัยวะปอดในตำแหน่งที่สามารถถ่ายภาพปอดได้อย่างชัดเจน..... | 35 |
| 3.2 การแบ่งสัดส่วนพื้นที่ของปอดตามระบบมาตรฐาน Madec and Kobisch (1982)..... | 35 |
| 3.3 สังเกตปอดที่พบความผิดปกติ มีรอยโรค MLL หรือสุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อ <i>M. hyopneumoniae</i> | 36 |
| 3.4 แสดงการนำเข้าภาพปอดเพื่อวัดพื้นที่รอยโรค และพื้นที่ปอดทั้งหมด..... | 36 |
| 3.5 แสดงการตั้งค่า หน่วยที่ต้องการวัดพื้นที่ โดยอ้างอิงขนาดตามหน่วยการวัดความยาวใน ระบบเมตริก (Metric system)..... | 37 |
| 3.6 แสดงการวัดพื้นที่แต่ละพูของปอด และพื้นที่ที่พบรอยโรค..... | 37 |
| 3.7 แสดงการส่งออกข้อมูล การวัดพื้นที่ปอด..... | 38 |
| 4.1 แสดงกลุ่มตัวอย่างปอดที่ถูกประเมินด้วยวิธี Ose แล้วพบรอยโรค MLL และในทางตรงกันข้ามเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี Ime หรือ Ima ให้ผลไม่พบรอยโรค MLL..... | 68 |
| 4.2 แสดงกลุ่มตัวอย่างปอดที่ถูกประเมินด้วยวิธี Ose แล้วไม่พบรอยโรค MLL และในทางตรงกันข้ามเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี Ime หรือ Ima ให้ผลพบรอยโรค..... | 69 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพภาคผนวกที่ | หน้า |
|--|------|
| ก.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพ และเพื่อเก็บตัวอย่างปอด..... | 84 |
| ก.2 การทำความสะอาดผิวอวัยวะปอด และการจัดตำแหน่งเพื่อบันทึกภาพถ่าย..... | 84 |
| ก.3 การประเมินรอยโรค และการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด..... | 84 |
| ก.4 การนำหลอดสารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ PCR เข้าสู่เครื่อง Thermocycler หรือ PCR machine เพื่อเพิ่มสารพันธุกรรม..... | 85 |
| ก.5 การเตรียม Agarose gel เพื่อตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ แยกสารพันธุกรรมในแนวนอน..... | 85 |
| ก.6 การผสม loading dye ให้เข้ากันได้กับตัวอย่าง และการปล่อยตัวอย่างลงในหลุมเจลที่เตรียมไว้..... | 85 |
| ก.7 การรันเจล และการย้อมเจล (Staining) และสุดท้ายตรวจสอบด้วยการนำไปส่องภายใต้ UV Transilluminator..... | 86 |
| ข.1 ผลการศึกษา RNA ของตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด เพื่อตรวจหาเชื้อก่อโรค Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) โดยใช้ PCR primer 3 คู่ มีขนาดดังนี้ (1) Common primer ขนาด 255 bp. (2) European primer ขนาด 186 bp. และ (3) North American primer ขนาด 107 bp..... | 88 |
| ข.2 ผลการศึกษา RNA ของตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด เพื่อตรวจหาเชื้อก่อโรค Porcine circovirus 2 (PCV2) โดยใช้ primer 1 คู่ คือ PCV2-f1 และ PCV2-r1 ขนาด 702 bp..... | 89 |
| ข.3 ผลการศึกษา RNA ของตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด เพื่อตรวจหาเชื้อก่อโรค <i>Mycoplasma spp.</i> โดยใช้ primer 2 คู่ คือ (1) <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> ขนาด 430 bp. (2) <i>Mycoplasma hyorhinis</i> ขนาด 346 bp..... | 90 |
| ข.4 ผลการศึกษา RNA ของตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด เพื่อตรวจหาเชื้อก่อโรค <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> โดยใช้ primer 1 คู่ คือ apxlVA1 และ apxlVA3 ขนาด 418 bp..... | 91 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคระบบทางเดินหายใจในสุกรมักเป็นปัญหาสุขภาพที่พบบ่อยในการผลิตสุกรทั่วโลก แม้ว่าจะมีความก้าวหน้าอย่างมากในด้านการศึกษา การควบคุม และการป้องกันโรค โดยปัญหาดังกล่าวสร้างความสูญเสียด้านเศรษฐกิจของฟาร์มเลี้ยงสุกร เนื่องจากอัตราการสูญเสียสุกรที่เพิ่มขึ้น เกิดต้นทุนการรักษาที่สูง จากการใช้ยาปฏิชีวนะที่เพิ่มขึ้นเพื่อรักษา และป้องกันการติดเชื้อ (Jorquera *et al.*, 2021) มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตช้าลง มีอัตราการเปลี่ยนอาหารสัตว์เป็นเนื้อ และต้องใช้ยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานเพื่อควบคุมความรุนแรงของโรค ทั้งนี้ผลกระทบของโรคระบบทางเดินหายใจ มักพบในสุกรขุน หรือสุกรที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่นสูง (Trachtman *et al.*, 2020) เมื่อสุกรได้รับเชื้อโรค จะทำให้สุกรเกิดรอยโรคในปอด มักเกี่ยวข้องกับระบบการผลิตที่ไม่เหมาะสม ซึ่งบ่งชี้ถึงปัญหาสุขภาพ และสวัสดิภาพสุกรในฟาร์ม ซึ่งอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ได้รับผลกระทบทางอ้อมจากการสูญเสีย หรือประสิทธิภาพการทำงานของอวัยวะภายในลดลง พร้อมซากสุกรที่ลดลงหลังกระบวนการฆ่า (Harley *et al.*, 2012) ตลอดจนจำเป็นต้องลดความเร็วในกระบวนการฆ่า เพื่อการตรวจสอบซากสัตว์ต้องสงสัยอย่างละเอียดยิ่งขึ้น และการเรียกคืนซากหรืออวัยวะที่ไม่เหมาะสมเพื่อการตรวจสอบสำหรับผู้บริโภค (Teixeira *et al.*, 2016) ดังนั้นสัตวแพทย์หรือผู้ตรวจสอบ จำเป็นต้องมีความรู้ ความชำนาญในการประเมินคุณภาพซากและรอยโรคที่โรงชำแหละ รวมทั้งการตรวจวินิจฉัยตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการ การตรวจรอยโรคที่โรงชำแหละจึงถือเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์สำหรับการติดตาม และเฝ้าระวังสถานการณ์ของโรคภายในฟาร์มได้ โดยเฉพาะรอยโรคในระบบทางเดินหายใจที่มักพบได้บ่อย และตรวจพบได้ที่โรงชำ (Leneveu *et al.*, 2005) เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของการตรวจสอบเนื้อสัตว์อย่างเป็นทางการ โดยอิงจากการตรวจสอบที่ถูกต้อง มีรูปแบบการประเมินที่เรียบง่าย และเป็นมาตรฐาน (Steinmann *et al.*, 2014)

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสารสนเทศในการบันทึกข้อมูลเชิงปริมาณ พร้อมกับการตรวจประเมินรอยโรคโดยผู้เชี่ยวชาญ จะทำให้สามารถบันทึกข้อมูลได้อย่างครบถ้วนต่อเนื่อง และลดปัญหาที่อาจเกิดขึ้นภายในโรงชำสัตว์ได้ เช่น โรงชำขนาดเล็กอาจไม่มีผู้เชี่ยวชาญในการประเมินคุณภาพ หรือขั้นตอนการวัดอาจขัดขวางการทำงานทำให้ล่าช้า ทั้งนี้การใช้เทคโนโลยีทันสมัยในกลุ่ม Computer Vision, Image segmentation, Image classification โดยการประยุกต์ใช้กระบวนการทางโครงข่าย

ประสาทเทียม เช่น Convolution Neural Network (CNN) สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้ โดยการ พัฒนา Algorithm เพื่อสร้าง Application สำหรับอุปกรณ์เคลื่อนที่ (Mobile device – Tablet) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงด้านการประมวลผล และการถ่ายรูปรูปเพื่อการวิเคราะห์ ทำให้สามารถพัฒนาการ วินิจฉัยโรคให้เป็นกระบวนการอัตโนมัติได้ โดยทั่วไปลักษณะปอดที่ติดเชื้อแบคทีเรีย จะมีขอบเขตของ รอยโรคที่ชัดเจนโดยเฉพาะบริเวณปอดส่วนหน้าตอนล่าง (Cranioventral pneumonia) ในขณะที่ การติดเชื้อไวรัส จะแสดงรอยโรคที่ปอดจะเป็นแบบกระจาย (Diffuse pneumonia) สามารถแบ่ง ตามอาการที่สามารถพบได้ คือ โรคทางเดินหายใจแบบเฉียบพลัน (acute pneumonia) โรคทางเดิน หายใจแบบเรื้อรัง (chronic pneumonia) (Paz-Sánchez *et al.*, 2021) จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจ วิจารณ์รอยโรคปอดในโรงฆ่าหมู เพราะการเกิดโรคทางเดินหายใจเรื้อรังในสุกร ไม่สามารถทราบ ได้หากสุกรยังมีชีวิต เนื่องจากสุกรไม่แสดงอาการป่วย ทั้งนี้โรคที่พบบ่อย และทำให้เกิดปัญหาที่ปอด ดังกล่าวข้างต้น เช่น โรคสเตรปโตคอคโคซิส (Streptococcosis) โรคพาสเจอร์ลโลซิส (Pasteurellosis) โรคเกลสเซอร์ (Glasser's disease) โรคเอ็นซูติกนิวโมเนีย (Enzootic pneu- monia) หรือโรคติดเชื้อไมโคพลาสมา (*Mycoplasma hyopneumoniae*) และโรคปอดและเยื่อหุ้ม ปอดอักเสบ (Actinobacillosis) ซึ่งในปี 2558 พบว่ามีความชุกของโรคปอดและเยื่อหุ้มปอดอักเสบ ประมาณ 29% (จำนวน 62/214 ตัวอย่าง) โดยขึ้นอยู่กับปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง (พรชลิต อัครว ชีพ, 2559) โรคปอดบวมหรือปอดอักเสบจึงเป็นหนึ่งในรอยโรคปอดที่พบบ่อยที่สุดในสุกรที่โรงฆ่าสัตว์ โดยมีความชุกตั้งแต่ 19% ถึง 79% (Fablet *et al.*, 2012)

โรคเอ็นซูติกนิวโมเนีย (Enzootic pneumonia) โรคนี้มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Mycoplasma hyopneumoniae* ส่งผลให้เกิดรอยโรคที่มีลักษณะจำเพาะ คือ Mycoplasma-like lesions พบการบวมอักเสบของปอด หากสุกรติดเชื้อชนิดนี้เสี่ยงก่อให้เกิดโรกระบบทางเดินหายใจ แบบซับซ้อนในสุกร (PRDC) ซึ่งเป็นการติดเชื้อไมโคพลาสมา ร่วมกับการติดเชื้อแบคทีเรีย หรือไวรัส อื่น ๆ เช่น ไวรัสพาร์อาร์เอส (PRRSV) ในต่างประเทศมีการระบาดของโรคประจำถิ่น (Endemic) ขณะเดียวกันประเทศไทยก็มีการระบาดของโรคเดียวกันในหลายพื้นที่ รอยโรคที่พบสามารถตรวจสอบ ด้วยการผ่าซาก จะพบความจำเพาะของลักษณะรอยโรคในปอด (Mycoplasma-like lesion) ด้วย ภาวะปอดบวมน้ำ ในกรณีมีการติดเชื้อเฉียบพลัน สีเนื้อปอดเปลี่ยนแปลงเป็นสีแดงเข้มขึ้น (red hepatization) และในกรณีมีการติดเชื้อแบบเรื้อรัง (chronic) เนื้อปอดมีสีซีด คล้ายเนื้อต้มสุก (grey hepatization) อย่างไรก็ตามรายงานทางวิชาการในประเทศไทย ด้านการตรวจสอบทางกายภาพของ รอยโรค Mycoplasma-like lesion ยังมีไม่มากนัก ดังการสำรวจวิจารณ์ของปอดสุกรในปี 2545-2546 ตรวจพบวิจารณ์ของปอดสุกรตลอดทั้งปี โดยพบปอดบวม 18 % ซึ่งสุกรที่พบวิจารณ์ ไม่แสดงอาการป่วย ในขั้นตอนการตรวจสัตว์ก่อนการชำแหละ (ยงยุทธ จงเสถียร, 2546) และในการตรวจหาเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

M. hyopneumoniae จากตัวอย่างปอดสุกรในประเทศไทยโดยการเพาะเชื้อ และพีซีอาร์ (PCR, Polymerase chain reaction) สรุปได้ว่าอัตราการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในประเทศไทยมีร้อยละ 73.5 และจากการเปรียบเทียบผลการตรวจทั้งสามวิธีพบว่า การตรวจหารอยโรคด้วยตาเปล่า และจุลพยาธิวิทยามีความไว ร้อยละ 96.6 ความจำเพาะ ร้อยละ 5.7 การเพาะเชื้อมีความไว ร้อยละ 51 มีความจำเพาะ ร้อยละ 100 ส่วนวิธีพีซีอาร์มีความไว และความจำเพาะ ร้อยละ 88.4 และร้อยละ 96.2 ตามลำดับ วิธีพีซีอาร์น่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการสำหรับตรวจการติดเชื้อ (พัชรี ทองคำคุณ, 2542)

จากการติดเชื้อแบบเรื้อรัง หรือการที่สุกรไม่แสดงอาการที่ชัดเจน ส่งผลให้ประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยโรคกระทำได้ลำบาก การเฝ้าระวังโรคโดยการตรวจวัดรอยโรคที่โรงฆ่าจึงเป็นวิธีหนึ่งที่มีกนำมาใช้ เพื่อตรวจหาปัญหาของโรคในระบบทางเดินหายใจของสุกร โดยเฉพาะรอยโรค Mycoplasma-like lesion แต่อย่างไรก็ตามด้วยปริมาณสุกรที่ส่งเข้ามาในแต่ละรอบมีจำนวนมาก และข้อจำกัดเรื่องเวลาดำเนินการฆ่าโดยเฉพาะช่วงกลางคืนหรือเช้ามืด ส่งผลให้ต้องใช้ความรวดเร็วในการตรวจวัด และการจัดการเวลาในการตรวจประเมินรอยโรคให้สอดคล้องกับช่วงเวลาทำงานปกติกระทำได้ลำบากมากยิ่งขึ้น ดังนั้นการประเมินรอยโรคของปอดโดยใช้ภาพถ่ายจึงน่าจะเป็นการแก้ไขปัญหาดังกล่าวข้างต้น

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาแนวทาง และวิธีการในการการใช้โปรแกรมการประมวลผลภาพ (Image Analysis) จากภาพถ่ายปอดสุกร เพื่อการประเมินและตรวจสอบรอยโรค Mycoplasma-like lesion (MLL)

1.3 สถานที่ดำเนินงาน

1.3.1 โรงงานฆ่าหาละสุกร บริษัท ไทยฟู้ดส์ สโวน์ อินเตอร์ เนชั่นแนล จำกัด {ซึ่งเป็นบริษัทในเครือบริษัท บริษัทไทยฟู้ดส์ กรุ๊ป จำกัด (มหาชน)} ตำบลบ่อขวางทอง อำเภอบ่อทอง จังหวัดชลบุรี

1.3.2 ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์โมเลกุล และเทคโนโลยีชีวภาพระดับเซลล์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1. ทำการประเมินรอยโรค *Mycoplasma*-like lesions ที่บริเวณปอด โดยผู้เชี่ยวชาญ หรือสัตวแพทย์ผู้มีประสบการณ์ (Onsite-expert; Ose) พร้อมกับการรวบรวมตัวอย่างปอดสุกรที่ปกติ และตัวอย่างปอดที่เกิดโรครอยโรค นำมาถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัล
2. เตรียมการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด บริเวณที่มีรอยโรค และไม่มีรอยโรค เพื่อนำมาตรวจหาเชื้อก่อโรคปอดอักเสบโดยใช้วิธีการ Polymerase chain reaction-PCR
3. ทำการประเมินภาพถ่ายจากปอดที่ได้ ด้วยผู้เชี่ยวชาญ หรือสัตวแพทย์ (Image-expert; Ime)
4. ทำการประเมินภาพถ่ายจากปอดที่ได้ โดยใช้แอปพลิเคชัน (Image-application; Ima) ในการหาสัดส่วนคะแนน และเพื่อเปรียบเทียบกับวิธีการประเมินรอยโรคด้วยวิธีอื่น ๆ ข้างต้น
5. ดำเนินการวิเคราะห์หาความสอดคล้องจากการประเมินรอยโรคปอดจากซากสุกรโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) การประเมินรอยโรคปอดจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) การประเมินรอยโรคปอดจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)

1.5 ระยะเวลาการศึกษา

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ.2564 จนเสร็จสิ้นการทดลองที่เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 รวมใช้ระยะเวลาในการศึกษาทั้งสิ้น 1 ปี

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.6.1 ทราบถึงปริมาณความผิดปกติของปอดสุกรในโรงชำแหละ
- 1.6.2 การประเมินปอดสามารถทำได้ง่ายขึ้น และสะดวกขึ้น สามารถปรับใช้ได้โรงชำแหละ
- 1.6.3 เป็นข้อมูลสารสนเทศในการตัดสินใจดำเนินการแก้ไขปัญหาด้านโรคฟาร์มสุกรได้ดี และรวบรวมข้อมูลได้เร็วยิ่งขึ้น
- 1.6.4 มีความเป็นไปได้ในการใช้ Application ในการประมวลภาพถ่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ระบบทางเดินหายใจสุกร

สัณฐานวิทยาของระบบทางเดินหายใจทางเดินหายใจเริ่มต้นที่จมูก และสิ้นสุดที่ถุงลมส่วนปลาย แบ่งเป็นสองส่วนคือ ทางเดินหายใจส่วนบนและส่วนล่างซึ่งแยกจากกันโดย คอหอย (pharynx) ทางเดินหายใจส่วนบนประกอบด้วย จมูก (nose) โพรงจมูก และช่องจมูก (nasopharynx) ทางเดินหายใจส่วนล่าง เริ่มต้นด้วยกล่องเสียง (larynx) และหลอดลม (trachea) ปอด (lungs) ส่วนต่าง ๆ ของปอด และมีกระดูกอ่อนหรือกระดูกช่วยพยุง สำหรับผนังทางเดินหายใจและป้องกันการล่มสลายของทางเดินหายใจเหล่านี้ระหว่างการหายใจ (Krejci *et al.*, 2013) หน้าที่ของอวัยวะภายในระบบทางเดินหายใจ คือ จมูกใช้เพื่อเป็นทางเข้าของอากาศ มีหน้าที่ในการดักจับฝุ่นละออง และเพิ่มความชุ่มชื้นของอากาศ โพรงจมูกและช่องคอ จะช่วยเพิ่มอุณหภูมิ ดักจับเชื้อโรค และเพิ่มความชุ่มชื้นของอากาศ ฝาปิดกล่องเสียง ทำหน้าที่กั้นไม่ให้อาหารที่กลืนตกลงสู่ระบบทางเดินหายใจ กล่องเสียงใช้ในการสร้างเสียง และเป็นทางเดินหายใจ หลอดคอ หลอดลม และ หลอดลมฝอย ทำหน้าที่ลำเลียงอากาศ ดักจับเชื้อโรค และกำจัดเชื้อโรค จากนั้นถุงลมในปอดจะแลกเปลี่ยนแก๊ส ระหว่างอากาศที่ลำเลียงมา กับเส้นเลือดฝอยที่ล้อมรอบ บทบาทหลักของระบบทางเดินหายใจคือการดักจับออกซิเจนจากอากาศรวมทั้งกำจัด CO₂ จากการสลายตัวของเนื้อเยื่อในสุกร

2.1.1 บทบาทและกลไกป้องกันการเกิดโรคในปอดสุกร

ปอดมีหน้าที่สำคัญในการหายใจ ในการนำก๊าซออกซิเจนเข้าสู่ร่างกาย แล้วเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกไป อากาศที่หายใจเข้าไป มีส่วนประกอบมากมาย เช่น จุลชีพ เชื้อโรค ฝุ่นละออง สารอินทรีย์ และอนินทรีย์ต่าง ๆ ดังนั้นระบบทางเดินหายใจจึงต้องมีกลไกป้องกันเพื่อให้ร่างกายปลอดภัยจากสิ่งเป็นพิษ อย่างไรก็ตามกลไกการป้องกันดังกล่าวอาจมีความผิดปกติที่ทำให้ร่างกายเป็นอันตรายจากสิ่งแวดล้อม กลไกการป้องกันของปอด นอกจากจะป้องกันเชื้อโรค หรือสารเป็นพิษจากสิ่งแวดล้อมภายนอกแล้ว กลไกดังกล่าว อาจมีผลเสียในการทำลายเนื้อปอด และทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ดังนี้

ส่วนแรกของระบบทางเดินหายใจ เริ่มจากโพรงจมูกไปจนถึงส่วนท้ายของหลอดลม รวมไปถึงช่องจมูกและกล่องเสียง โครงสร้างท่อทั้งหมดเรียงรายไปด้วยชั้นเยื่อ หรือ ซูโดสเตรทิฟายด์ และซีเลีย (ciliated pseudostratified epithelium) ส่วนเซลล์ที่ทำหน้าที่เป็นต่อมหลังสาร เรียกว่า

Goblet cell อยู่กระจายทั่วไปในชั้นของเนื้อเยื่อนี้เพื่อทำหน้าที่หลั่งเมือก ยังเป็นส่วนสำคัญในระบบเอกซากรีนเป็นเอกซากรีนที่สว่นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ป้องกันของเยื่อเมือกทางเดินหายใจ โดยกำจัดอนุภาคที่เข้ามาทางอากาศที่สุดเข้าไป โดยจะมีการหลั่งสารเหลวใส ที่มีความหนืดต่ำ และอุดมไปด้วย โปรตีน ซึ่งเป็นตัวกลางที่ส่งเสริมการเคลื่อนที่ของซีเลียขึ้นด้านบน เมื่อกำลังออกมาจาก Globlet cell จะถูกสะสมอยู่บนตา และช่วยให้อนุภาคที่สุดเข้าไปทางจมูก เกาะติดได้ภายใน โดยการเคลื่อนไหวขึ้น-ลงของตา จะดันน้ำมูกไปทางเดินหายใจส่วนบน จากนั้นน้ำมูกสามารถกลืน และผ่านเข้าไปในทางเดินอาหาร ซึ่งจะถูกล่อยหรือขับออกทางปาก และโพรงจมูก ยกตัวอย่างเช่น *Mycoplasma hyopneumoniae* ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสีย Cilia หรือหากติดเชื้อไวรัส เช่น ไข้หวัดหมู (Swine influenza) หรือโคโรนาไวรัส (Corona Virus) ในทางเดินหายใจสุกรจะทำให้เกิดการทำลายเซลล์เยื่อบุผิว ดำเนินการก่อโรคโดยการทำลายระบบป้องกันนี้ (สมเกียรติ วงษ์ทิม, 1987)

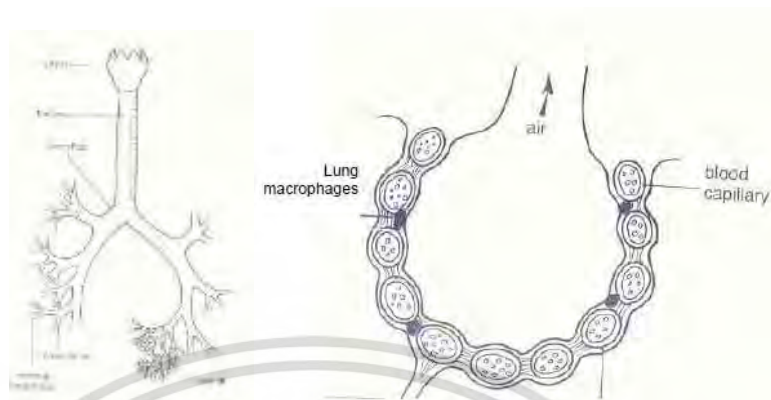


ภาพที่ 2.1 Ciliated pseudostratified epithelium ซึ่งเป็นลักษณะภายในระบบทางเดินหายใจ ที่มา: Pallares, (2020)

แมคโครฟาจ (Macrophages) ในปอด เป็นอีกกลไกการป้องกันปอดที่สำคัญ ซึ่งนอกจาก Alveolar macrophages ที่อยู่ใน Alveolar lumen ยังสามารถพบ Macrophages ในเส้นเลือดในปอด ที่อยู่ภายในเส้นเลือดฝอย และ interstitial macrophages ที่พบใน interstitium ของผนังกันทางเดินอาหาร โดยวิธีแรกปกป้องลูเมนของถุงลม ด้วยการทำลายจุลินทรีย์ และอนุภาคที่สุดคมเข้าไป ในขณะที่อีกแบบหนึ่งมีหน้าที่กำจัดอนุภาคหรือเชื้อโรคที่เข้าถึงปอดผ่านทางกระแสเลือด จำนวนแมคโครฟาจในปอด เป็นตัวแปรหลักในการผลิตสารชักนำการอักเสบ (inflammatory chemical mediators) เช่น ไซโตไคน์ (Cytokines) และ คีโมไคน์ (Chemokines) ซึ่งสามารถหลั่งออกมาจากเซลล์ประเภทอื่นได้เช่นกัน หน้าที่หลักของโมเลกุลเหล่านี้คือการดึงดูดเซลล์ที่มีการอักเสบ เช่น นิวโทรฟิล (neutrophils) และลิมโฟไซต์ (lymphocytes) ไปยังบริเวณที่เกิดการบาดเจ็บ ซึ่งทำหน้าที่เป็น “ระบบการสื่อสาร” ระหว่างเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ ยกตัวอย่างไวรัส เช่น porcine reproductive and breathing syndrome (PRRSV) ซึ่งเซลล์เป้าหมายคือ alveolar macrophages เมื่อมีการติดเชื้อ เกิดเปลี่ยนแปลงการทำงานของพื้นฐานของ phagocytosis เกิดการทำงานของแอนติเจน และการผลิตไซโตไคน์ และส่งผลให้เซลล์เหล่านี้ตายในที่สุด ด้วยการทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวเองของเซลล์ (apoptosis) ซึ่งอาศัยการปรับตัวการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดความล่าช้าในการเกิดการตอบสนองที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงเป็นเหตุให้เกิดการติดเชื้อทุติยภูมิได้ง่ายขึ้น



ภาพที่ 2.2 ส่วนปลายของท่อทางเดินหายใจ และลักษณะของ lung alveolus

ที่มา : White (2009)

ภาพที่ 2.3 ลักษณะของเม็ดเลือดขาวที่ถูกลดทอน (alveolar macrophages) ติดเชื้อ PRRSV

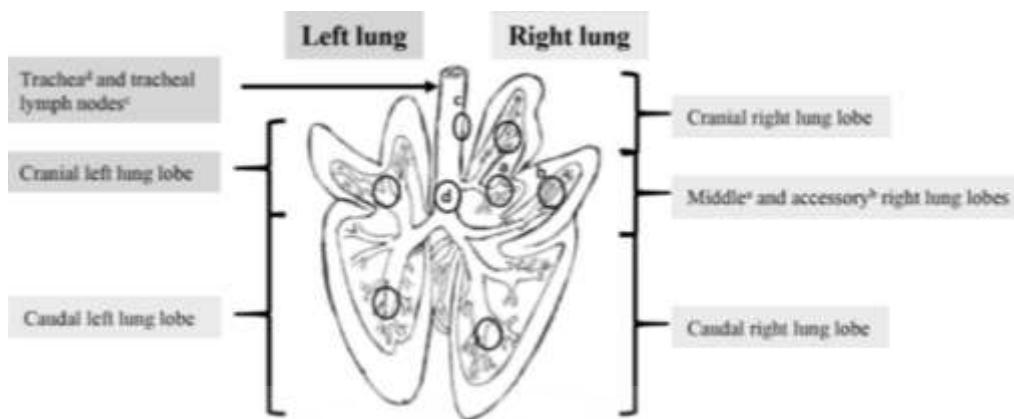
ที่มา: White (2009)

2.1.2 ลักษณะปอดสุกรที่ปกติ

มีลักษณะนี้ม เนื้อสัมผัสจะมีความยืดหยุ่นคล้ายฟองน้ำ เนื่องจากมีอากาศในปอดนั่นเอง ร่างกายจึงมีกระดูกซี่โครง คอยปกป้องปอดไว้อีกชั้นหนึ่ง ปอดแต่ละข้างจะมีถุงบาง ๆ 2 ชั้นหุ้มอยู่ เรียกว่า เยื่อหุ้มปอด เยื่อหุ้มปอดที่เป็นถุงบาง ๆ 2 ชั้นนี้เรียกว่า เยื่อหุ้มปอดชั้นใน และเยื่อหุ้มปอดชั้นนอก ปอดข้างซ้ายนั้นมีขนาดเล็กกว่าปอดข้างขวา เพราะปอดข้างซ้ายต้องเว้นที่เอาไว้ให้หัวใจอยู่ในทรวงอกด้วยกันด้วย โดยแบ่งปอดสุกรออกเป็น 7 กลีบ ด้านขวา 4 กลีบ คือ กลีบหน้า (apical, anterior lobe) กลีบกลาง (cardiac, middle lobe) กลีบท้าย (caudal, diaphragmatic lobe) กลีบพิเศษ (intermediate lobe) อยู่ด้าน ventral จะเห็นจากด้านล่างเท่านั้น ด้านซ้าย 3 กลีบ คือ

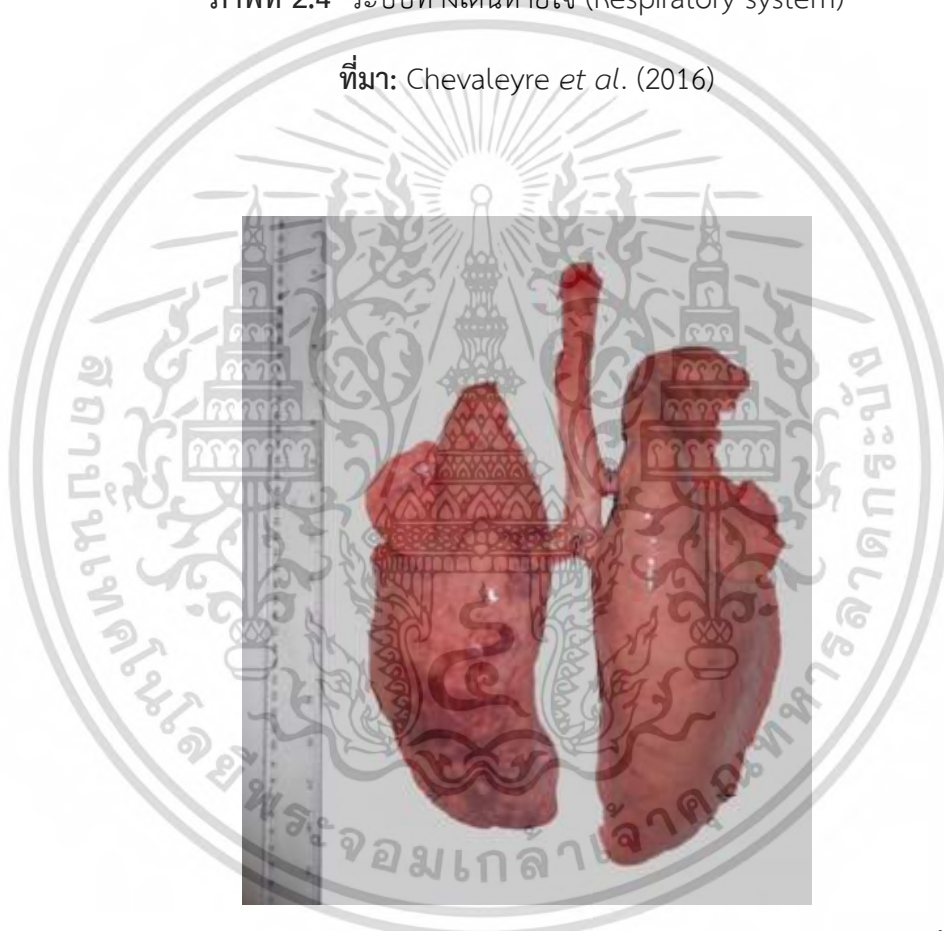
กลีบหน้า กลีบกลาง กลีบท้าย (ภาณุวัฒน์ แยมสกุล, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการแข่งขันเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 ระบบทางเดินหายใจ (Respiratory system)

ที่มา: Chevaleyre *et al.* (2016)



ภาพที่ 2.5 ลักษณะปอดสุกรปกติด้านหน้า (Dorsal view) (อายุประมาณ 22 สัปดาห์ น้ำหนัก 105 กิโลกรัม)

ที่มา: Judge *et al.* (2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

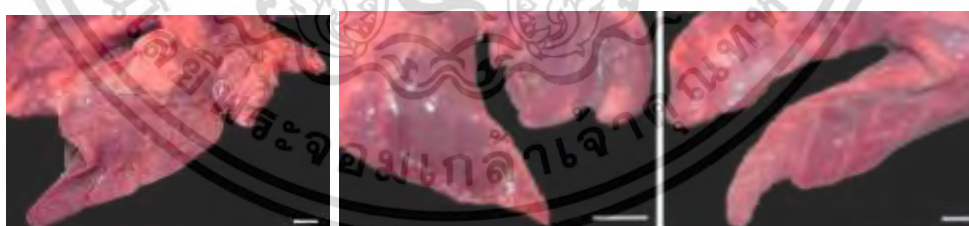


ภาพที่ 2.6 ลักษณะปอดสุกรปกติด้านหลัง (Ventral view)

ที่มา: Geilen *et al.* (2022)

2.1.3 ลักษณะของปอดที่ผิดปกติ

เนื้อปอดเกิดการอักเสบ มีความแน่น และหนักกว่าปกติ สีเข้มขึ้น อาจมีจุดเลือดออก จับแล้วไม่ยืดหยุ่นคล้ายยาง บางครั้งเจอฝี หรือเนื้อตายที่ปอดร่วมด้วย หากปอดอักเสบจากเชื้อแบคทีเรีย พบการอักเสบที่มีขอบเขตชัดเจน มักพบที่ปอดหน้าส่วนล่าง ปอดจะแข็งไม่ยืดหยุ่นเพราะมีพวกลิวโคไซต์ อักเสบ สารคัดหลั่งหรือพวกหนองเข้ามาที่ทางเดินหายใจ ทำให้อากาศไม่สามารถเข้าไปได้เต็มที่ พอตัดปอดมาลอยน้ำก็จะจม ปอดอักเสบจากไวรัส พบการอักเสบกระจายทั่วไป เนื่องจากผนังถุงลมหนาตัว และเกิดพิษในกระแสเลือด มีความหนาแน่นยืดหยุ่นคล้ายยาง



(ก)

(ข)

(ค)

ภาพที่ 2.7 (ก) ปอดที่มีรอยโรค macroscopic enzootic pneumonia-like lesions (MaEPL)

ชนิดเริ่มแรก (สีแดงถึงสีแดงเข้มหลายกลีบ ซึ่งมีผลกระทบน้อยกว่า 50% ของกลีบ), (ข) ปอดที่มี MaEPL ชนิดปลาย (สีม่วงอ่อนจนถึงสีเทา แสดงให้เห็นการหดตัวของเนื้อเยื่อ และภาวะ atelectasis), (ค) ปอดที่มี MaEPL ชนิดปลายมีมากกว่า (ข) พังผืดเด่นชัด

ที่มา: Linhares *et al.* (2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ปัญหาโรกระบบทางเดินหายใจ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตสุกร

โรกระบบทางเดินหายใจของสุกรเป็นปัญหาสุขภาพที่พบบ่อยที่สุดในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรทั่วโลก เพราะตั้งแต่กำเนิดโรคพอร์คไอร่าเอสในประเทศไทย พบว่าอัตราการป่วย หรือความเสียหายที่เกิดจากโรกระบบทางเดินหายใจเพิ่มขึ้น ซึ่งถือว่ารอยโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบ และปอดอักเสบเป็นสิ่งที่พบบ่อยที่สุดในโรงฆ่าสุกร โดยเกิดจากการติดเชื้อโรคในระบบทางเดินหายใจ ตั้งแต่จมูก คอ หลอดลม ไปจนถึงปอด ปัจจัยของการเกิดโรคในสุกร เกิดได้จากตัวสุกร เชื้อโรค สิ่งแวดล้อม และการจัดการ หากปัจจัยเหล่านี้มีสภาพที่เอื้อต่อกัน ปัญหาเรื่องโรคจะเกิดขึ้น เชื้อโรคที่ก่อโรคในสุกรส่วนใหญ่มาจากเชื้อแบคทีเรีย และไวรัส โดยมักจะพบเป็นการติดเชื้อแบบร่วมกัน (Co-infection) เช่น สุกรติดเชื้อไวรัสก่อน แล้วเชื้อไวรัสชนิดอื่น หรือเชื้อแบคทีเรียติดร่วมกันได้ เมื่อสุกรติดเชื้อ สุกรจะสร้างภูมิคุ้มกัน แต่หากสุขภาพสุกรไม่ดีอยู่แล้ว พร้อมกับสภาพแวดล้อมและการจัดการภายในฟาร์มที่แย่มากสามารถเอื้อให้สุขภาพสุกรแย่ลงได้นอกจากนี้ความรุนแรงของเชื้อโรค มีผลสร้างความเสียหายต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน และความสามารถในการกำจัดเชื้อ (Saade *et al.*, 2020)

การติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจเป็นสาเหตุหลักที่สร้างความเสียหายในสุกรอนุบาล 47.3% และในสุกรขุน 75.1% ของความเสียหายทั้งหมด โรกระบบทางเดินหายใจส่งผลให้ผู้เลี้ยงเสียหายได้จากสุกรป่วยและตายเพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตลดลง เพิ่มต้นทุนอาหารสัตว์ เพิ่มค่าใช้จ่ายในการรักษา ทั้งค่ายา วัคซีน และค่าแรงงาน (Jeffrey *et al.*, 2019) โรกระบบทางเดินหายใจในสุกรส่วนใหญ่สามารถแบ่งออกเป็นโรคปอดบวม และโรคจมูกอักเสบซึ่งเกิดจากเชื้อโรคเข้าสู่ทางเดินหายใจส่วนบน และปอดบวมเกิดขึ้นเมื่อระบบทางเดินหายใจส่วนล่างติดเชื้อ (Lee *et al.*, 2017) เชื้อที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรกระบบทางเดินหายใจในสุกรมีอยู่อย่างมากมาย ทั้งเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อไวรัส โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ได้แก่ Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS), Swine influenza (SI), Porcine respiratory coronavirus (PRCV), Porcine circovirus type 2 (PCV2) and Aujeszky's disease (AD) แบคทีเรียก่อโรคที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อทางเดินหายใจในสุกร ได้แก่ *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus parasuis* (Glasser's disease), *Mycoplasma hyopneumoniae* (Enzootic pneumonia), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (pleuropneumonia), *Streptococcus suis* and *Pasteurella multocida* ทั้งนี้เชื้อก่อโรคที่พบบ่อยที่สุดคือ PRRSV, SIV, PCV2 และ Pseudorabies virus (PRV) (Prodanov-Radulović *et al.*, 2020)

การศึกษาผลของความรุนแรงจากรอยโรคปอดสุกรต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ตัวชี้วัดทางชีวเคมี (biochemical indicators) และคุณภาพเนื้อ พบว่าสุกรที่ไม่มีรอยโรคในปอด มีระดับอัลบูมิน โครเดียมและคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้น ส่วนของน้ำหนักรายวัน น้ำหนักซากร้อน น้ำหนักซากเย็น พื้นที่หน้าตัด เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัน (loin thickness) ปริมาณเนื้อส่วนที่ไม่มีไขมัน (carcass lean content) เพิ่มขึ้นเช่นกัน และผลของระดับ haptoglobin, CK และ LDH ลดลง และยังผลิตเนื้อแดงได้ในเปอร์เซ็นต์สูงสุด ไม่มีสารเจือปน แต่ในทางกลับกัน สุกรที่มีรอยโรคปอดอย่างรุนแรง ตรวจพบพร้อมกับเชื้อ SIV, PRRSV, PCV-2, PRCV, APP และ *M. hyopneumoniae* ผลแสดงพบการลดลงของระดับแลคเตท กลูโคส โซเดียม คลอไรด์ และอัลบูมิน น้ำหนักรายวัน น้ำหนักซากร้อน น้ำหนักซากเย็น loin thickness, carcass lean content ลดลง และเพิ่มระดับ CK, LDH และ haptoglobin บ่งบอกถึงการอักเสบในสุกรที่พบรอยโรครุนแรง และส่งผลต่อคุณภาพเนื้อสุกรโดยเพิ่มค่า pH ของเนื้อสัตว์ แต่ลดค่า drip, thawing และ cooking losses ค่า L* และ b* ต่ำ ซึ่งทำให้เกิดเนื้อหมูลักษณะเนื้อมีสีคล้ำ มีสีแดงอมม่วงและอาจคล้ำจนเกือบเป็นสีดำได้ และมีผิวสัมผัสที่แข็งกระด้าง (Dark, Firm and Dry; DFD) อย่างไรก็ตามหากพบรอยโรคปอดเพียงเล็กน้อยในสุกรยังส่งผลให้ค่า pH ของเนื้อสัตว์ลดลง และค่า drip, thawing and cooking losses ค่า L* และ b* เพิ่มขึ้นสูงขึ้น ซึ่งนำไปสู่การเกิดเนื้อหมู ลักษณะของเนื้อมีสีซีด เนื้อนิ่ม มีน้ำเยิ้ม (Pale Soft Exudative; PSE) (Cobanovic *et al.*, 2021) โดยการศึกษาที่ดำเนินการในบราซิล ระบุว่าสุกรพบโรคมากกว่า 10% จะมีการเจริญเติบโตลดลง 9.3% อัตราการแลกเนื้อ (FCR) ของสุกรเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ รอยโรคเหล่านี้สามารถลดอัตราการเจริญเติบโตของสุกรได้มากถึง 7% ของสุกรในโรงฆ่าสัตว์ทั้งหมด (Pagot *et al.*, 2007)

ดังนั้นคะแนนปอดบวมที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้น้ำหนักสุกรมีชีวิตลดลงในช่วงเวลาที่ฆ่า และอาจส่งผลเสียต่อคุณภาพเนื้อสุกรโดยนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงค่า pH ความสามารถในการกักเก็บน้ำ สี รสชาติ และการสูญเสียคุณภาพในการปรุงอาหาร (cooking quality loss) (Dailidavičienė *et al.*, 2009) ในการทดลองของ Permentier *et al.* (2015) พบว่ารอยโรคที่ปอดเป็นปัจจัยเสี่ยงในการตรวจพบเนื้อ PSE (เนื้อซีด เหลว) เนื่องจากค่า pH เปลี่ยนแปลงไป และการปรากฏของรอยโรคส่งผลให้สัตว์ลดศักยภาพการผลิต สร้างผลกระทบต่อระบบการผลิตสุกร การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มคะแนนรอยโรคปอด กับน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวันลดลงเฉลี่ย 1.8 กรัม ทุกกลุ่มมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่มีรอยโรคที่ปอด (Ferraz *et al.*, 2020)

2.3 โรคติดเชื้อไมโคพลาสมา (*Mycoplasma spp.*) ที่ก่อโรคในสุกร

เกิดจากการติดเชื้อ *Mycoplasma spp.* ซึ่งเป็นโรคติดต่อเรื้อรัง ที่ติดต่อได้มาก มีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของระบบทางเดินหายใจ ส่งผลให้สุกรอ่อนแอลง ง่ายต่อการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นร่วมด้วย เป็นผลให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่อผู้ผลิต (Yang *et al.*, 2020) โรคติดเชื้อไมโคพลาสมา (*Mycoplasma spp.*) ที่ก่อโรคในสุกร แบ่งออกเป็นเชื้อ 3 ชนิดคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 *M. hyorhinis* โดยทั่วไปจะได้รับผลกระทบคือสุกรอายุ 3 ถึง 10 สัปดาห์ อาการแสดง ประมาณ 1 สัปดาห์หลังจากการติดเชื้อ อาการเฉียบพลันคือความง่วง เบื่ออาหาร หายใจลำบาก อ่อนแอ และมิใช่ 40-40.6 องศาเซลเซียส อาการเหล่านี้จะหายไปในเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ แต่อาการข้อต่อบวมอาจคงอยู่เป็นเวลาหลายเดือน เชื้อจะแพร่กระจายอย่างรวดเร็วผ่านละออง หรือการสัมผัสโดยตรงกับสารคัดหลั่งจากจมูก และโดยทั่วไปจะไม่ทำให้ตาย แต่ถ้าสัตว์เครียด ความเครียดจะทำให้เกิดภาวะโลหิตเป็นพิษ และเกิดรอยโรค อาการทางคลินิก และรอยโรคที่เกิดจาก *M. hyorhinis* พบบ่อยในหมู 3-10 สัปดาห์ พบอาการซึม ขนหยาบ ข้อบวม นิมิติน กระเพาะปัสสาวะ หายใจลำบาก บางตัวเดินหยุกไปข้างใดข้างหนึ่ง มีหนองในข้อ ถุงหุ้มหัวใจอักเสบ เยื่อช่องอกช่องท้องอักเสบ หนอง ไพบรินปกคลุมเยื่อช่องอกช่องท้อง พบอาการเดินกระเผลก ข้อบวม ไม่ค่อยมีผลต่อการเจริญเติบโต ในระยะเฉียบพลัน มักพบน้ำในข้อสึคล้ายน้ำล้างเนื้อ โดยผลการชันสูตรพบเยื่อหุ้มปอดอักเสบ เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ โรคข้ออักเสบเพิ่มขึ้น และเยื่อหุ้มไขข้อสีเหลืองแดงบวม มีรายงานว่าสารนี้ทำให้เกิดหูชั้นกลางอักเสบในสุกร มักพบเชื้อในจมูกของลูกหมู โดยสุกรที่มีการติดเชื้อ *M. hyorhinis* ร่วมกับ PRRSV พบว่าทำให้เกิดรอยโรคที่ปอดอย่างรุนแรงกับระบบทางเดินหายใจแม้ว่าอัตราการตายจะต่ำ และโดยทั่วไปจะน้อยกว่า 25% อาการทางคลินิกจะทำให้สับสนกับโรคหัวใจ และโรคหลอดเลือด เพราะทำให้เกิดเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ เยื่อหุ้มปอดอักเสบ และเยื่อช่องอกช่องท้องอักเสบ (Labur *et al.*, 2002)

2.3.2 *M. hyosynoviae* เป็นเชื้อไมโคพลาสมาที่ก่อให้เกิดข้ออักเสบในสุกรขุนช่วงอายุ ประมาณ 3 เดือนขึ้นไปถึงช่วงใกล้ขาย (12-24 สัปดาห์) ทำให้สุกรขุนแสดงอาการขากระเผลก และเดินขาแข็ง ในลักษณะของการเกิดโรคที่ คอนขาเฉียบพลัน

การติดต่อผ่านทางหายใจ แต่แม่สุกรจะเป็นตัวแพร่โรคที่สำคัญ โดยแม่สุกรจะไม่แสดงอาการผิดปกติให้เห็น เนื่องจากมีความต้านทานโรคจากการสัมผัสเชื้อหรือป่วยในช่วงที่เป็นสุกรเล็ก หรือสุกรรุ่น ลูกสุกรมีโอกาสติดเชื้อตลอดที่อยู่ในคอกคลอดจากแม่สุกรที่แพร่เชื้อออกมาทางลมหายใจ โดยเฉพาะในช่วงหลังคลอดใหม่ ๆ

การป้องกัน ทำได้โดยการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อลดการแพร่เชื้อจากแม่สุกรไปยังลูกและลดการแพร่เชื้อของลูกสุกรด้วยกันในช่วงอนุบาล โดยใช้ยาปฏิชีวนะผสมในอาหารแม่สุกรเลี้ยงลูกตั้งแต่ 1 สัปดาห์ ก่อนคลอดต่อเนื่องถึงหลังคลอด 1-2 สัปดาห์ รวมเป็น 2-3 สัปดาห์ติดต่อกัน หรืออาจตลอดช่วงการเลี้ยงลูก และผสมในอาหารลูกสุกรให้กินต่อเนื่อง จนถึง 2 สัปดาห์หลังหย่านม อายุประมาณ 6 สัปดาห์ ชนิดยาปฏิชีวนะที่นิยมใช้ ได้แก่ ไทโลซิน (tylosin) กลุ่มยาเตตราไซคลิน (tetracyclines) ลินโคมายซิน (lincomycin) สไปรามัยซิน (spiramycin) ไทอะมูลิน (tiamulin) และโจซามัยซิน

(josamycin) และการให้วัคซีน ฉีดแม่สุกรพันธุ์ก่อนคลอด 2 สัปดาห์และฉีดให้ ลูกสุกร 2 ครั้ง ที่อายุครบ 1 และ 3 สัปดาห์

2.3.3 *M. hyopneumoniae* เมื่อสุกรติดเชื้อ มีระยะฟักตัว 10-16 วัน อาการไอแห้งนาน 2-4 สัปดาห์ ถ้าแบบรุนแรงจะพอมแห้ง มีไข้สูง หายใจลำบาก โตช้า พบบ่อยในหมูขุน 3-6 เดือน มีไข้ หายใจมีเสียง นอนหมอบคว่ำก้น

กรณีผ่าซากพบปอดอักเสบเป็นสีเข้มที่ปอดพู่หน้าด้านล่าง โรคนี้อาจหายได้ในประมาณ 85 วัน ถ้าไม่โดนเชื้อตัวอื่นแทรกซ้อน การติดต่อโดยการสัมผัสหมูป่วย สิ่งคัดหลั่ง หรือทางอากาศ (ประมาณ 5 กิโลเมตร) จะรุนแรงถ้าติดร่วมกับเชื้ออื่นๆ เช่น PRRS, PCV2, APP, Swine Influenza หรือเรียกว่า โรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจซับซ้อน (Porcine Respiratory Disease Complex; PRDC) เพื่อควบคุม และรักษาโรคระบบทางเดินหายใจจากการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในสุกร มักใช้ tetracyclines และ macrolides ส่วนยาต้านจุลชีพที่อาจออกฤทธิ์ต่อ *M. hyopneumoniae* ได้แก่ lincosamides, pleuromutilins, fluoroquinolones, florfenicol, aminoglycosides และ aminocyclitols ซึ่ง Fluoroquinolones และ aminoglycosides มีฤทธิ์ทำให้เซลล์แตก และตายทันที เนื่องจากสิ่งมีชีวิตที่ขาดผนังเซลล์ จะไม่ไวต่อยาปฏิชีวนะ β -lactams เช่น penicillins และ cephalosporins (Maes *et al.*, 2008) ในบรรดาเชื้อไมโคพลาสมาทั้งสามชนิด เชื้อไมโคพลาสมาไฮโอเนอริโมนีอี เป็นตัวสำคัญที่สุด เพราะก่อให้เกิดโรคเอนซูติกนิวมเนีย (Enzootic pneumoniae) ซึ่งจัดเป็นโรคติดต่อที่สำคัญที่สุดในระบบทางเดินหายใจของสุกร และมีการระบาดแพร่หลายในฝูงสุกรทั้งในประเทศ และต่างประเทศ



ภาพที่ 2.8 โรคปอดบวมจากเชื้อ *M. hyopneumoniae* การเกิด Cranioventral ที่ 40% ถึง 50% ของ pulmonary parenchyma (C) มีอาการบวมน้ำของเนื้อเยื่อปอด (interlobular-septa) และ (N) คือปอดปกติ

ที่มา: López *et al.* (2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ผลกระทบจากการเกิดโรคติดเชื้อ *M. hyopneumoniae*

โรคเอ็นซุติคนิวโมเนียพบได้บ่อย และแพร่กระจายอย่างกว้างขวางซึ่งเกิดขึ้นตลอดทั้งปี มักจะปรากฏชัดเจนมากขึ้นในรูปแบบเรื้อรัง ในกรณีที่มีสภาพการเลี้ยงและสภาพแวดล้อมไม่ดี เชื้อ *M. hyopneumoniae* อาจก่อให้เกิดโรคที่ค่อนข้างเฉียบพลันและรุนแรงในสุกรที่ไม่มีภูมิคุ้มกันในระบบ แยกอายุอาจส่งผลกระทบต่อสุกรในช่วงต้นหลังหย่านม ซึ่งเป็นช่วงที่ภูมิคุ้มกันบกพร่อง แต่มักเกิดขึ้นในช่วงสุกรขุน โรคปอดบวมจากเชื้อ *M. hyopneumoniae* มักมีปฏิกิริยา และก่อให้เกิดโรคทางเดินหายใจอื่น ๆ และมีโอกาสสูงในการเกิดโรคระบบทางเดินหายใจซับซ้อนในสุกร (PRDC) และการติดเชื้อแบคทีเรียระยะทุติยภูมิได้ แม้ว่าการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* จะสูงมากตั้งแต่ 38% ถึง 100% ของพื้นที่การผลิตสุกรทั่วโลกเกือบทั้งหมด แต่ยังคงมีความคลาดเคลื่อนในกลุ่มเชื้อที่ก่อโรคในสุกร (Yue *et al.*, 2018) ซึ่งจากการชันสูตรซากสุกรพบรอยโรคปอดอย่างรุนแรง ประมาณ 85 % โดยเชื้อก่อโรค *M. hyopneumoniae* มักพบบนผิวเยื่อเมือกของหลอดลม และหลอดลมฝอย โดยสร้างผลกระทบจากการทำลาย cilia บนพื้นผิวเยื่อเมือก ส่งผลให้สุกรมีอาการเจ็บป่วยสูง และอัตราการตายต่ำ ทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมากต่ออุตสาหกรรมสุกร (Maes *et al.*, 2018) ภาณุวัฒน์ แยมสกุล (2556) ได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างรอยละของรอยโรคที่ปรากฏบนผิวปอดเมื่อมีความรุนแรงมากขึ้น ส่งผลให้การเจริญเติบโตต่ำลง ดังตารางที่ 2.1

2.5 เชื้อแบคทีเรีย *M. hyopneumoniae* และการก่อโรคทางเดินหายใจ

เป็นแบคทีเรียขนาดเล็กที่มีขนาดใกล้เคียงไวรัส แกรมลบ (gram negative) มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว (single cell) ไม่มีผนังเซลล์ มีรูปร่างหลากหลาย (pleomorphic) มีขนาดเซลล์ประมาณ 0.3-0.9 ไมครอน เกาะอยู่บนพื้นผิวด้านนอกของเยื่อเซลล์ชั้นนอก (extra epithelial cell lining) ของระบบทางเดินหายใจของสุกร และก่อโรคโดยทำให้เยื่อเซลล์ชั้นนอกไม่ทำงาน (ciliostasis) หรือทำให้เกิดความเสียหายของเยื่อเซลล์ชั้นนอก ส่งผลให้สุกรติดเชื้อแทรกซ้อนต่าง ๆ ของระบบทางเดินหายใจได้ง่ายขึ้น (Maes *et al.*, 2018) เมื่อเซลล์เม็ดขาวแทรกตัวอยู่รอบ ๆ เส้นเลือดในเนื้อเยื่อปอดมากขึ้นอย่างช้าๆ เป็นระยะเวลาอันยาวนานส่งผลให้เนื้อปอดแน่น และแข็งขึ้น ไม่มีอากาศผ่านได้ทำให้ปอดจึงเปลี่ยนเป็นสีเทาจนถึงสีม่วงจางได้ มักเริ่มจากปอดส่วนหน้า (Apical lobe) ลุกลามมาเนื้อปอดส่วนข้างหัวใจ (Cardiac lobe) และปอดส่วนที่ติดกับกระบังลม (Diaphragmatic lobe) รอยโรคจะเกิดทั้งสองข้าง (bilateral) รอยโรคแบ่งแยกอย่างมีขอบเขต ชัดเจน จากปอดปกติ การก่อโรคเกิดได้ทั้งแบบ primary infection และ secondary infection ส่งผลให้เกิดการติดเชื้อร่วมกับเชื้อแบคทีเรียเชื้อไวรัส หรือเชื้อราอื่นๆ ที่ก่อโรคทางเดินหายใจทำให้มีอาการแยลงเรื่อย ๆ เช่น PRRSV, SFV, *S. suis*, APP, PCV2, *P. Multicoda* และ *H. parasuis* ทั้งนี้ยังมีเชื้อไมโคพลาสมาที่ทำให้เกิดโรคได้อีก

หลายชนิด ได้แก่ *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinae*, *M. hyosynoviae*, *M. flocculare* และ *M. suis* (Petersen *et al.*, 2019)

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของผลกระทบที่เกิดจากรอยโรคปอดบวมจากโรค Enzootic Pneumonia ในสุกร น้ำหนักเฉลี่ย 35-100 kg

| %ของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรค | ADG | FCR |
|---------------------------|-----|------|
| 0 | 750 | 2.75 |
| 5 | 731 | 2.8 |
| 10 | 713 | 2.85 |
| 15 | 694 | 2.95 |
| 20 | 675 | 3.05 |

ที่มา: ภาณุวัฒน์ แยมสกุล (2556)

M. hyopneumoniae สามารถสังเกตได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์บนเยื่อหุ้มของ trachea, bronchi และ bronchioles การแพร่กระจายของรอยโรคในปอด เกิดรอยโรคในหลอดลมด้วยการตกตะกอนของสารหลังที่เยื่อหุ้มสมอง และช่องท้อง เนื่องจากอวัยวะเยื่อเมือกเสียหาย ปัจจัยความรุนแรงนั้น เกิดจากโปรตีนเยื่อหุ้มชั้นนอกของ *M. hyopneumoniae* ทำลายกลไกการป้องกันระบบทางเดินหายใจหลายอย่าง และอำนวยความสะดวกการติดเชื้อได้โดยง่าย ซึ่งเยื่อหุ้มเซลล์แสดงตำแหน่งจำเพาะของแอนติเจน ที่แอนติบอดีจะเข้าจับ และมีการอำพราง protective antigens ส่งผลให้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันไม่มีประสิทธิภาพ รวมถึงคุณภาพอากาศที่ไม่ดี (ฝุ่นหรือก๊าซพิษ) อาจทำให้ทางเดินหายใจเกิดการระคายเคือง และเพิ่มความไวต่อการสัมผัส

แผลเริ่มแรกคือหลอดลมอักเสบ และหลอดลมฝอยอักเสบ มีเซลล์หลังเมือกมากเกินไปในเยื่อเมือกและมีการสูญเสียซีเลียจากเซลล์เยื่อหุ้มจำนวนมากในทางเดินหายใจ ปฏิกริยาการอักเสบจะแพร่กระจายไปยังถุงลมโดยรอบทำให้เกิดถุงลมอักเสบ โรคปอดบวม ทางเดินหายใจอุดตัน และภาวะ atelectasis เมื่อเวลาผ่านไปเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณทางเดินหายใจ และหลอดเลือดที่อยู่ติดกันจะเกิดการขยายตัวของเนื้อเยื่อต่อน้ำเหลืองอย่างเห็นได้ชัด จากเมือกที่เพิ่มขึ้นในทางเดินหายใจ โรคซิลิไอสตาซิส และแรงกดดันของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองที่อยู่รอบ ๆ จะรบกวนการไหลเวียนของเมือก และสารหลังในปอด การติดเชื้อแบคทีเรียทุติยภูมิ มีส่วนสำคัญและเป็นสาเหตุของโรคปอดบวม และการเสียชีวิตอย่างรุนแรง (Leal Zimmer *et al.*, 2020) ระบาดวิทยา โดยสุกรเป็นพาหะของการติดเชื้อที่พบบ่อยที่สุด เนื่องจาก *M. hyopneumoniae* ไม่สามารถอยู่รอดได้เป็นเวลานานในสิ่งแวดล้อม โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อชนิดนี้จะคงอยู่ในปอดของสุกรที่ติดเชื้อได้เป็นเวลาหลายเดือน รวมทั้งลูกสุกรพันธุ์ด้วย แต่ไม่มีหลักฐานที่บ่งชี้ถึงการติดเชื้อ หรือการแพร่กระจายในสายพันธุ์อื่น สุกรที่ติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* ที่ถ่ายทอดจากการอาศัยรวมกลุ่ม หรือการสัมผัสกับสุกรตัวอื่นสามารถติดต่อผ่านสารคัดหลั่งจากจมูกบ่อยครั้ง ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะแพร่เชื้อโดยการสัมผัสทางจมูก และการไอ ถูกส่งผ่านละอองเช่นกัน สามารถเกิดขึ้นได้ในระยะหลายไมล์ สถานะที่ปราศจากไมโคพลาสมาของฝูงอาจเป็นเรื่องยากที่จะรักษา

อาการทางคลินิกที่สำคัญ พบอาการไอเรื้อรัง และรอยโรคที่พบสามารถตรวจสอบได้จากการผ่าซาก เมื่อสุกรถูกฆ่าประมาณ 30-70% จะพบอาการบวมน้ำ มีเมือก และเซลล์อักเสบ ปรากฏขึ้นในระบบทางเดินหายใจ สารคัดหลั่ง (mucopurulent) มักจะไหลออกจากทางเดินหายใจจนลงสู่ปอด โดยสภาวะปอดบวมน้ำ (bronchopneumonia) สามารถตรวจสอบได้จากการตัดชิ้นส่วนของปอดมาแช่น้ำ และจะพบว่าปอดมีสภาวะจมน้ำ สีเนื้อปอดเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีที่เข้มขึ้น รอยโรคปอดที่เกิดจากเชื้อ *M. hyopneumoniae* นั้นสามารถจำแนกได้ชัดเจนบริเวณปอดส่วนหน้าด้านล่าง (Cranioventral) ซึ่งเกี่ยวข้องกับส่วนปลาย ตรงกลาง และกลีบเสริม (apical, middle และ accessory lobes) และในกรณีที่รุนแรงแผลสามารถขยายไปยัง caudal lobes ได้ (Tonni *et al.*, 2021)

รอยโรคที่พบจากการผ่าซากพบปอดอักเสบเป็นสีเข้ม โรคนี้จะหายได้ในประมาณ 85 วัน ถ้าไม่โดนเชื้อตัวอื่นแทรกซ้อน แต่จะรุนแรงถ้าติดร่วมกับเชื้ออื่น ๆ เช่น PRRS, PCV2, APP, SIV หรือที่เรียกกันว่า โรคระบบทางเดินหายใจซับซ้อนในสุกร (Porcine respiratory disease complex., PRDC) การแพร่เชื้อ *M. hyopneumoniae* มักมีระยะฟักตัว 2 ถึง 8 สัปดาห์ก่อนทำการรักษา เกิดขึ้นจากการสัมผัสโดยตรงกับสุกรที่ได้รับผลกระทบ มีการถ่ายทอดจากแม่สุกรสู่ลูกสุกรเพียงเล็กน้อย สุกรที่มีอายุมากกว่า 6 สัปดาห์ส่วนใหญ่จะได้รับผลกระทบจากการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* มักพบการติดเชื้อไวรัสอื่น ๆ ร่วมด้วย โดยเฉพาะ PRRS และ PCV2 และการติดเชื้อแบคทีเรีย *P. multocida*, *B. bronchiseptica*, *S. suis*, *H. parasuis*, *A. pyogenes* ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโรคระบบทางเดินหายใจซับซ้อนในสุกร (PRDC) ได้รับอิทธิพลจากภูมิคุ้มกัน และปัจจัยจากการจัดการ เช่น พื้นที่แออัด การระบายอากาศ ความเข้มข้นของก๊าซพิษในอากาศ (แอมโมเนีย และไฮโดรเจนซัลไฟด์) ความชื้นสัมพัทธ์ ความผันผวนของอุณหภูมิ และแหล่งน้ำต่าง ๆ (López *et al.*, 2017)

ทั้งนี้การควบคุมการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* สามารถทำได้หลายวิธี กล่าวคือโดยการเพิ่มประสิทธิภาพของวิธีปฏิบัติในการจัดการและสภาพที่อยู่อาศัย การป้องกันโดยลดความเครียดที่จะเกิดกับสุกรทุกประเภท การควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และการหลีกเลี่ยงการขนส่ง การใช้จ่ายด้านจุลชีพ

และการฉีดวัคซีน มาตรการเหล่านี้สามารถลดระดับการติดเชื้อในฝูงและจำนวนสิ่งมีชีวิตในปอด และปรับปรุงสภาพสุขภาพของสัตว์ได้ แต่ไม่รับประกันว่าจะไม่พบเชื้อ *M. hyopneumoniae* การกำจัดจุลินทรีย์ในระดับฝูงตามอายุและการใช้ยาเป็นไปไม่ได้ แต่มีความเสี่ยงถาวรสำหรับการติดเชื้อซ้ำ จำเป็นต้องมีความพยายามเพิ่มเติมสำหรับการพัฒนาวัคซีนและกลยุทธ์การฉีดวัคซีนที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น

2.6 การวินิจฉัยโรกระบบทางเดินหายใจในสุกร

สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรกระบบทางเดินหายใจในสุกรสามารถทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปสามารถทำได้โดยการสืบประวัติ สังเกตอาการทางคลินิก การผ่าซาก เพื่อการตรวจโดยสายตา ของรอยโรคในปอด และการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติม ซึ่งเป็นแนวทางในการบ่งบอกถึงเชื้อสาเหตุที่ก่อโรค เช่น การตรวจหาซีโรไทป์ (serotype) ของเชื้อก่อโรค การเพาะแยกเชื้อจากปอด โดยทำให้เชื้อบริสุทธิ์ และเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (sub-cultivation: chocolate agar, MacConkey agar, BHI agar and broth) (Pascu *et al.*, 2019) นอกจากนี้การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ *A. Pleuropneumoniae* (apxIVA gene) สามารถปฏิบัติได้ด้วยเทคนิค Real-time PCR (Polymerase chain reaction) (Yue *et al.*, 2021)

เทคนิค Real-time PCR (Real Time polymerase chain reaction) หรือ quantitative PCR (qPCR) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาอย่างจำเพาะและสามารถติดตามวัดปริมาณการเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอเป้าหมายได้ในทุก ๆ รอบของการเพิ่มจำนวนในขณะที่ปฏิกิริยากำลังดำเนินอยู่ ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสิ้นสุดปฏิกิริยา (real-time detection) โดยใช้ดีเอ็นเอต้นแบบ (Primer) 1 คู่ ร่วมกับตัวตรวจจับ (probe) ที่ถูกออกแบบเป็นสายสั้นๆ ให้มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อเป้าหมายที่ต้องการตรวจ สำหรับ probe จะมีการติดสี Fluorescence เทคนิคนี้อาศัยการตรวจวัดสัญญาณสารเรืองแสงที่ถูกปล่อยออกมา ปริมาณแสงที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นจากปฏิกิริยาในแต่ละรอบ ทั้งนี้เทคนิค Real-time PCR มีความจำเพาะเจาะจงสูง รวดเร็ว และสามารถดัดแปลงเพื่อตรวจหาเชื้อโรคหลายชนิดพร้อมกันได้ (Giles *et al.*, 2017) และยังสามารถนำมาใช้ในการระบุเชื้อโรคที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ หรือเชื้อที่เติบโตได้ช้า เนื่องจากอัตราการตรวจพบที่รวดเร็ว เมื่อเทียบกับการรอการเพาะเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งอาจใช้เวลาหลายวันถึงหลายสัปดาห์ (Kim *et al.*, 2016) โดยพบว่าวิธีการนี้สามารถตรวจจับแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคได้พร้อมกัน คือ *A. pleuropneumoniae* , *M. hyopneumoniae* , *Bordetella bronchis* (Bb), *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis* (S.s), *Haemophilus parasuis* และ *M. hyorhinis* โดยไม่มี

ปฏิกิริยาข้ามกับสายพันธุ์อื่น ๆ (Wu *et al.*, 2021) เมื่อสังเกตจากประวัติ และอาการของสุกรที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นตามการ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่อนข้างชัดเจน ทำให้การวินิจฉัยโรคเป็นไปได้โดยง่าย บางกรณีอาจพบการติดเชื้ออื่น ๆ ร่วมด้วย ดังนั้น การวินิจฉัยโรคจึงจำเป็นต้องมีการตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยทุกครั้ง

จากการศึกษาโดยการสำรวจโรงฆ่าสัตว์ พบว่าเยื่อหุ้มปอดอักเสบ และรอยโรคที่ปอดสุกรที่เกิดจากเชื้อ *M. hyopneumoniae* มีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อประเมินแอนติบอดี (antibody) ต่อ *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* และใช้เทคนิค multiplex PCR ในการตรวจหา DNA ที่จำเพาะต่อเชื้อก่อโรค *P. multocida*, *S. suis*, *H. parasuis*, *A. pleuropneumoniae* และ *M. Hyopneumoniae* และวิธี Multiplex PCR and Microarray สามารถตรวจพบเชื้อก่อโรคระบบทางเดินหายใจได้ เชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด และเชื้อไวรัส 4 ชนิด พร้อมกันได้ (Olaniyi *et al.*, 2020) หรือการใช้เทคนิค immunohistochemical (IHC) สำหรับการแยกชนิดของเซลล์ และเนื้อเยื่อ โดยอาศัยหลักการปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน และแอนติบอดี (antigen-antibody, interactions) โดยมี เอนไซม์ และ Chromogen ที่เหมาะสม ทำปฏิกิริยาให้เกิดสีขึ้น จนสามารถมองเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Lung *et al.*, 2017) ตลอดจนใช้วิธีการ nasal swabs เพื่อตรวจสอบเชื้อ *M. hyopneumoniae* และตรวจสอบตัวอย่างเนื้อเยื่อปอดด้วย RT-PCR เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรค ถึงแม้ว่า Real-time PCR จะเป็นวิธีที่ใช้แพร่หลาย แต่ยังคงอาศัยเครื่องมือจำเพาะ เช่น เครื่องสกัดสารพันธุกรรม เครื่องทำปฏิกิริยา Real-time PCR และระดับความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการที่เหมาะสมในที่สุดท้ายคือเก็บตัวอย่างเสริม เพื่อนำไปทำการทดสอบ anti-Mhp antibodies (IgG) โดยใช้ชุดอุปกรณ์ ELISA ที่มีจำหน่ายทั่วไป (*M. hyopneumoniae* Antibody Test Kit: IDEXX, Westbrook, ME) (Lee *et al.*, 2021) อีกทั้งยังมีรายงานการเปรียบเทียบประเภทตัวอย่าง และวิธีการวินิจฉัยการตรวจหา *M. hyopneumoniae* ในระยะแรกของการติดเชื้อโดยวิธีการ Laryngeal swabs, Nasal swabs, Tracheo-bronchial lavage fluid, Oral fluid พบว่าสามารถตรวจจับเชื้อ *M. hyopneumoniae* ได้ดีตามลำดับที่กล่าวไป (Pieters *et al.*, 2019)

2.7 เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction)

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส หรือที่รู้จักกันในชื่อ พีซีอาร์ (PCR : Polymerase chain reaction) เป็นเทคนิคที่ถูก พัฒนาขึ้นโดย แครี มุลลิส (Kary Mullis) ในปี ค.ศ. 1983 และได้จดทะเบียนลิขสิทธิ์เมื่อปี ค.ศ. 1987 ในระยะแรกใช้ Heat-Labile DNA Polymerase Enzyme ในการทำ PCR ซึ่งทำให้ผลไม่ดีนัก เนื่องจากต้องเติม Polymerase Enzyme ทุก ๆ cycle ของการทำ PCR และอุณหภูมิของการทำ PCR ต่ำเกินไปทำให้เกิด Non-specific Binding ของ PCR Primers ต่อ Target DNA ต่อมาได้มีการใช้ Heat-Stable Taq Polymerase Enzyme ในการทำ PCR ทำให้ไม่จำเป็นต้องเติม Enzyme ใหม่อีกในขณะทำ PCR และสามารถทำปฏิกิริยา ได้ในอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้สามารถลด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Non-Specific Binding ได้ (เมธี ศรีประพันธ์, 2557) เทคนิค PCR ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในการเพิ่มปริมาณของยีน หลังจากนั้นก็มีกระบวนการประยุกต์ใช้เทคนิค PCR อย่างกว้างขวาง เนื่องจากเทคนิค PCR ให้ความไวสูงในการตรวจหา DNA ในระยะเวลาอันสั้น สามารถเพิ่มปริมาณของ DNA ที่ต้องการศึกษาขึ้นได้เป็นหลายล้านเท่า โดยปริมาณ DNA ต้นแบบที่ใช้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงทำให้มีการนำเทคนิคมาใช้งานต่าง ๆ (Varavud and Mutirangura, 1994) ปัจจุบันเทคนิค PCR ได้เข้ามามีบทบาทในงานทางด้านเทคนิคการสัตวแพทย์ไม่ว่าจะเป็นการใช้ตรวจหาเชื้อก่อโรคต่าง ๆ เช่น แบคทีเรีย รา หรือไวรัส โดยส่วนมากใช้ในการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ เพราะเทคนิค PCR ต้องการตัวอย่างดีเอ็นเอที่ใช้ตรวจจำนวนน้อย ใช้ระยะเวลาในการทดสอบน้อย และใช้ได้ในตัวอย่างดีเอ็นเอที่มีสภาพไม่สมบูรณ์ เทคนิคในการเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอที่ต้องการได้เป็นล้านๆเท่าในหลอดทดลอง ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมาย ซึ่งอยู่ในสารละลายร่วมกับดีเอ็นเออื่น ๆ ในเวลาเพียง 2-3 ชั่วโมงเท่านั้น เทคนิค PCR นี้มีข้อดีที่ว่า ไม่จำเป็นต้องทำให้ชิ้นดีเอ็นเอดังกล่าวให้บริสุทธิ์ก่อน สามารถแยกส่วนของดีเอ็นเอที่สนใจได้โดยไม่ต้องนำไปขยายเพิ่มปริมาณในเซลล์ หรือนำไปโคลน

Barate *et al.* (2012) ศึกษาการปรับปรุง PCR แบบมัลติเพล็กซ์ที่ใช้สำหรับการวินิจฉัยและการแยกความแตกต่างของเชื้อ *Mycoplasma hyopneumoniae* และ *Mycoplasma hyorhinis* โดยการตรวจจับ และการแยกความแตกต่างของ *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis* เพื่อให้มีความไวที่ดีขึ้น สามารถตรวจจับได้แม้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น เมื่อการประยุกต์ใช้วิธี PCR แบบมัลติเพล็กซ์กับเชื้อภาคสนามพบว่า *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis* มีอยู่ในตัวอย่างปอด 29% (107 จาก 370 ตัวอย่าง) และตรวจไม่พบไมโคพลาสมาในปอดของสุกรฆ่า 56% (208 จาก 370) ในระดับฟาร์มตรวจพบ *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis* ใน 34 จาก 36 ฟาร์ม (94.4%) สรุปได้ว่าการตรวจวิเคราะห์นี้พิสูจน์ตัวเองว่ามีคุณค่า เป็นเครื่องมือสำหรับติดตามการติดเชื้อไมโคพลาสมาเหล่านี้ ที่มีการแพร่หลายในฝูงสุกรของประเทศเกาหลีทั้ง *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis* ดังนั้นการทำ PCR คือการสังเคราะห์ดีเอ็นเอโดยใช้เอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรสซ้ำๆกัน หลายรอบ เพื่อให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นทวีคูณจำเป็นต้องมีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอไพรเมอร์ (DNA primer) 2 ชนิด ซึ่งเป็นโอลิโกนิวคลีโอไทด์ขนาดสั้น ๆ ยาวประมาณ 20-24 เบส โดยที่ไพรเมอร์นี้จะต้องมีลำดับเบสที่เป็นเบสคู่สม (complementary base) กันในตำแหน่งหัว (ปลาย 3') และตำแหน่งส่วนท้าย (ปลาย 5') ของดีเอ็นเอเป้าหมาย และเป็นการกำหนดความยาวของการจำลองโมเลกุลดีเอ็นเอให้อยู่ในช่วงเฉพาะ ที่ไพรเมอร์หัวท้ายนี้เท่านั้น

ประโยชน์ของการเพิ่มจำนวนยีนด้วยเทคนิค PCR สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้อย่างแพร่หลายไม่ว่าจะเป็นทางด้านทางการแพทย์ ด้านการศึกษาวิจัย ทางวิทยาศาสตร์ ด้านอุตสาหกรรมและการเกษตร ด้านการศึกษาวิจัยทางด้านวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต ด้านนิติ วิทยาศาสตร์ เป็นต้น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อกำหนดในการทำ PCR คือต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอบริเวณที่ต้องการเพิ่ม ปริมาณ ซึ่งอาจทราบลำดับเบสทั้งหมดหรือทราบเฉพาะส่วนปลายก็ได้เพื่อการออกแบบสังเคราะห์ โพรเมอร์มาใช้ในปฏิกิริยาต่อไป บริเวณ หรือส่วนดีเอ็นเอที่เกิดการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณขึ้น จะมีขนาดความยาวเท่ากับชิ้นดีเอ็นเอจากปลาย 5' ของโพรเมอร์หนึ่ง ถึงปลาย 5' ของโพรเมอร์อีกชนิดหนึ่ง (เมธี ศรีประพันธ์, 2557) กระบวนการของปฏิกิริยา PCR เป็นเทคนิคที่ใช้ในการสร้างสาย DNA โดยใช้หลักการการแบ่งตัวของสาย DNA (DNA Replication) ในบริเวณที่ต้องการศึกษาหลายๆครั้ง ทำให้ปริมาณของ DNA บริเวณนั้น เพิ่มขึ้นหลายล้านเท่า มีองค์ประกอบที่สำคัญ ที่ใช้ในกระบวนการ PCR ดังนี้

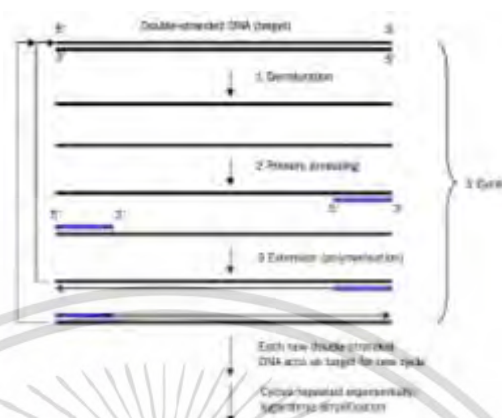
- (1) DNA ต้นแบบ (Template)
- (2) Oligonucleotide (Primer) 2 Primers โดยที่ Primer ทั้ง 2 สามารถจับกับสาย DNA ต้นแบบ และมีทิศทางจากปลาย 5' สู่ปลาย 3' ที่ชี้เข้าหากัน
- (3) DNA Polymerase เป็น Enzyme ที่สร้างสาย DNA จาก Primer โดยสร้างสาย DNA ที่ Compliment กับ DNA ต้นแบบ Polymerase ที่นิยมใช้คือ Taq Polymerase เนื่องจาก สามารถทนต่อความร้อนได้สูง (Heat Stable)
- (4) dNTP สาร Deoxyribonucleotide Triphosphate ซึ่งประกอบด้วย Base 4 ชนิดคือ Adenine, Guaninen, Cytosine, และ Thymidine (A, G, C, T ตามลำดับ) สาร dNTP นี้เป็นสารประกอบของสาย DNA

กระบวนการของ PCR นี้ เกิดขึ้นได้โดยอาศัย DNA ต้นแบบ ซึ่งจะจับกับ Primer 2 Primers และมีการขยายต่อสาย DNA จาก primer โดยอาศัย DNA Polymerase สร้าง Complementary Stand สาย DNA ที่ถูกสร้างขึ้นมาหลายล้านเท่าจากของเดิม โดยทั่วไป ขั้นตอนในการทำ PCR มี 3 ขั้นตอน ดังนี้

- (1) Denaturation step เป็นขั้นตอนแยกสาย DNA template สายคู่ให้เป็นสายเดี่ยวโดยใช้ อุณหภูมิสูงประมาณ 90-95 องศาเซลเซียส
- (2) Annealing step เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลง เพื่อให้ primers ในปฏิกิริยา PCR เข้าจับกับ DNA template ในตำแหน่งที่จำเพาะ เพื่อเตรียมที่จะสร้าง PCR product ใหม่ ขั้นตอนนี้จะใช้อุณหภูมิในช่วงประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิในช่วงนี้จะขึ้นกับค่า Tm ของ primers ที่ใช้ โดยทั่วไป annealing temperature จะมีค่าต่ำกว่า Tm เฉลี่ยของ primers ทั้งสองประมาณ 3-5 องศาเซลเซียส
- (3) Extension step เป็นขั้นตอนการสร้าง DNA สายใหม่โดยเริ่มจากจุดต้นของ primers ใน DNA template แต่ ละข้างโดยการนำ dNTPs ต่าง ๆ มาต่อกันในลักษณะที่คู่สมกับ DNA template ซึ่งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase โดยจะต้องใช้อุณหภูมิให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ ยกตัวอย่างเช่นการใช้ Taq DNA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

polymerase จะใช้อุณหภูมิในช่วงที่เหมาะสมคือ 70-75 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่นิยมใช้คือ 72 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2.9 แผนผังของ PCR ปฏิบัติการ PCR เกิดขึ้นใน Thermo cycler แต่ละรอบ PCR ประกอบด้วยสามขั้นตอนหลัก (1) Denaturation step, (2) Annealing step, (3) Extension step

ที่มา Yang and Rothman (2004)

การแยกขนาดดีเอ็นเอโดยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis of DNA) อิเล็กโทรโฟรีซิสเป็นเทคนิคที่ใช้แยกโมเลกุลของสารที่มีประจุออกจากกันโดยใช้กระแสไฟฟ้า โดยให้สารที่มีประจุนั้นเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางชนิดหนึ่งในสารละลาย สารที่มีประจุต่างกันจะเคลื่อนที่ไปในทิศทางตรงกันข้าม นอกจากประจุแล้วอัตราการเคลื่อนที่ก็ยังขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่างโมเลกุล แรงเคลื่อน ไฟฟ้า โมเลกุลของดีเอ็นเอประกอบด้วยหมู่ฟอสเฟตจำนวนมาก สารละลายของดีเอ็นเอจึงมีประจุเป็นลบเมื่อ pH เป็นกลาง เมื่ออยู่ในสนามไฟฟ้าโมเลกุลของดีเอ็นเอจะเคลื่อนที่จากขั้วลบไปสู่ขั้วบวก เมื่อดีเอ็นเอที่เกิดจากปฏิกิริยา PCR ในหลอดทดลองไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ ดังนั้นเพื่อตรวจหาดีเอ็นเอผลผลิตจะต้องนำตัวอย่างที่ทำ PCR มาแยกหาดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า agarose gel electrophoresis ซึ่งเป็นการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นวุ้น (Agarose gel) โดยระยะทางที่ดีเอ็นเอสามารถเคลื่อนที่ไปได้จะขึ้นอยู่กับขนาดของดีเอ็นเอ และกระแสไฟฟ้าที่ใช้ ดีเอ็นเอที่แยกโดยวิธีนี้สามารถมองเห็นได้เมื่อย้อมด้วยสีพิเศษ ซึ่งจะเรืองแสงเมื่อเจอกับแสงอัลตราไวโอเล็ต ซึ่งจะเห็นแถบ DNA ที่แยกบนแผ่นวุ้นโดยวิธี agarose gel electrophoresis ที่ย้อมด้วยสี Ethidium bromide ถ่ายภาพภายใต้แสง ultraviolet เพื่อดูลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบการแยกขนาดเทียบกับ DNA marker วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็วที่สุด ถ้าหากเป็นชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดมากกว่า 500 bp นิยมใช้ 2% (w/v) agarose gel หรือ 5% (w/v) acrylamide (Barate *et al.*, 2012)

2.8 ระบบตรวจสอบรอยโรคปอดสุกรหลังการเชือด (post-mortem)

การตรวจสอบภายในโรงฆ่าสัตว์ใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อประเมินภาวะสุขภาพทางเดินหายใจที่ไม่แสดงอาการของสุกร การให้คะแนนรอยโรคปอดในสุกรที่ถูกเชือด เป็นกระบวนการที่ใช้เวลานานและมีค่าใช้จ่ายสูง ควรพิจารณาความผันแปรที่เกี่ยวข้องกับโรงฆ่าสัตว์และผู้ประเมิน เพื่อเป็นมาตรฐานของขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Van Staveren *et al.*, 2016) และสามารถใช้เพื่อกำหนดอุบัติการณ์หรือความรุนแรงของปัญหาในระบบทางเดินหายใจในสุกรได้ มีการพัฒนาวิธีการให้คะแนนรอยโรคหลายวิธีในอดีตมาจนถึงปัจจุบัน เทคโนโลยีการตรวจสอบสุกรยังอยู่ในขั้นตอนการสำรวจและพัฒนาเพื่อประเมินผลกระทบของโรคในสุกรที่แม่นยำ (Garcia-Morante *et al.*, 2016) โดยปอดที่ตรวจต้องมีจำนวนตัวอย่างมากพอเหมาะสมให้พิจารณาลักษณะของเยื่อหุ้มปอดที่ปกติจะบาง ใส เป็นมันลื่น หากมีภาวะเยื่อหุ้มปอดอักเสบ จะกลายเป็นสีขาวขุ่น หนาตัวขึ้น จนถึงมีการยึดติดกันเองของเยื่อหุ้มปอดระหว่างพู หรือยึดติดกับผนัง ช่องอก ซีโครง ที่มักพบการฉีกขาดของเยื่อหุ้มปอดเมื่อดึงปอดออกจากช่องอก ซึ่งอาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรียบางชนิด

ในประเทศไทยส่วนใหญ่จะใช้วิธีประเมินรอยโรคปอดในการพิจารณาหรือวินิจฉัยปัญหาโรคระบบทางเดินหายใจ รอยโรคที่พบจะต้องเป็นลักษณะสีแดง หรือสีคล้ำเนื้อตัมสุก โดยวิธีการแบ่งคะแนนปอดตามรอยโรคที่พบ โดยจะแบ่งแบ่งปอดเป็น 7 lobes คือส่วน Apical lobe, Middle lobe, Caudal lobe ของแต่ละข้าง และส่วน Intermediate (accessory) lobe โดยการกำหนดผู้ประเมินในการตรวจสอบโดยใช้การคำนวณจำนวนปอดในการสุ่มตรวจ โดยโรคที่ก่อให้เกิดปอดอักเสบ ใช้วิธี SPES และรอยโรคปอดบวมสามารถใช้วิธี Straw's Grid หรือ Madec's Grid (ภาณุวัฒน์ แยมสกุล. 2556) โดยการประเมินด้วยวิธี Straw's grid เพื่อตรวจสอบโรคปอดบวม (pneumonia) โดยทั่วไปปอดที่ติดเชื้อแบคทีเรียจะมีรอยโรคที่มีขอบเขตชัดเจน โดยเฉพาะบริเวณปอดส่วนหน้าตอนล่าง (cranioventral pneumonia) ในขณะที่การติดเชื้อไวรัส รอยโรคที่ปอดจะเป็นแบบกระจาย (diffuse pneumonia) รวมคะแนนที่ได้จากทั้ง 7 lobes เป็นคะแนนรอยโรคปอดของสุกรตัวนั้น (Garcia-Morante *et al.*, 2016) สังเกตอาการปอดบวมของสุกรมีพัฒนาการในระยะเริ่มชุน อย่างไรก็ตามควรสังเกตอุบัติการณ์ปอดบวมที่โรงฆ่าสัตว์เพื่อป้องกันปัญหาโรคที่ส่งผลกระทบต่อปอด (Fablet *et al.*, 2012)

Garcia-Morante *et al.* (2016) ได้ศึกษาระบบที่ใช้ในการประเมินโรคปอดบวม (Pneumonia) โดยนำไปใช้กับปอดสุกร 76 ตัว ที่เป็นโรคติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* เพื่อสามารถกระทำซ้ำได้หลายๆครั้งอย่างเหมาะสม เพื่อออกแบบการศึกษา และสามารถอำนวยความสะดวกด้านสถิติได้ จากการพิจารณาระบบการให้คะแนนรอยโรคในปอดทั้งหมด จากงานวิจัยดังนี้ Goodwin *et al.* (1969), Madec and Kobisch (1982), Straw *et al.* (1986), Morrison *et al.* (1985), Christensen *et al.* (1999) และ European Pharmacopoeia (2013) เพื่อพิจารณาความแตกต่างแต่ละระบบการประเมินรอยโรค Mycoplasma-like lesion โดยรายงานฉบับนี้ใช้ระบบการประเมินรอยโรคจากเภสัชตำรับของยุโรปเป็น reference method (European Pharmacopoeia; Ph. Eur. เป็นการกำหนดมาตรฐานคุณภาพทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมเภสัชกรรมในยุโรป) ได้รับความข้อมูลสำหรับระบบการประเมินรอยโรคปอดบวม โดยการวิเคราะห์จากอัตราการเจริญเติบโต/ตัว/วัน (ADWG) ร่วมกับอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักปอดต่อน้ำหนักสุกร (LW/BW) เพื่อการประเมินรอยโรคในแต่ละพู (Lobe) ผ่านการกำหนดร้อยละของรอยโรคโดยผู้เชี่ยวชาญด้วยสายตา โดยทั่วไปของการประมาณขอบเขตรอยโรคปอดบวมจากสัดส่วนของพื้นที่ผิวของปอดที่ได้รับผลกระทบอย่างเดียว ซึ่งมีความแม่นยำต่ำ เนื่องจากมิได้พิจารณาในรูปแบบสามมิติ (Three-dimensional) ของรอยโรคร่วมด้วย ซึ่งกระบวนการในอดีตนิยมใช้ในรูปแบบสองมิติ (Two-dimensional) เพราะเป็นการประมาณสัดส่วนของพื้นที่ผิวปอดที่ได้รับผลกระทบ โดยมีความแตกต่างกันที่เกณฑ์การให้คะแนน มีทั้งการคำนวณขอบเขตของรอยโรคเป็นเปอร์เซ็นต์ (Goodwin *et al.*, 1969) การกำหนดขอบเขตของรอยโรคด้วยระบบจุดของทุกส่วนกลีบละเท่าๆ กัน (Madec and Kobisch., 1982) และในบางระบบจะคำนึงถึงขนาดแต่ละพูของปอด และผลกระทบด้วยพื้นผิวกลีบที่ได้รับการประเมินโดยใช้ขนาดสัมพัทธ์ของแต่ละกลีบ (Straw *et al.*, 1986) คะแนนปอดทั้งหมดจากระบบที่ได้กล่าวข้างต้นจะได้รับหลังจากการบวกคะแนนสำหรับแต่ละพูแล้ว และนำมาประเมินในรูปแบบเกรดตามเกณฑ์ที่ตั้งไว้ มีความต่างกับการประเมินในแนวทางสามมิติ โดยพิจารณาจากสัดส่วนของพื้นที่ปอดที่ได้รับผลกระทบ คุณด้วยน้ำหนักสัมพัทธ์ของแต่ละพู (Lobe) และขอบเขตของรอยโรคแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักของเนื้อเยื่อที่ได้รับผลกระทบ โดยระบบที่ใช้หลักการนี้ คือ Morrison *et al.* (1985), Christensen *et al.* (1999) และ European Pharmacopoeia (2013) แต่มีความแตกต่างบางประการเกี่ยวกับน้ำหนักสัมพัทธ์ของแต่ละพูที่ต่างกันของผู้วิจัยนั้น ๆ ซึ่งกระบวนการคำนวณเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่แม่นยำของเนื้อเยื่อปอดที่ได้รับผลกระทบ จากการผ่า และการชั่งน้ำหนักรอยโรค เนื่องจากวิธีการเชิงปริมาตรนี้จำเป็นต้องใช้เวลานาน อุปกรณ์ที่ดี และความแม่นยำเป็นอย่างมาก นอกจากนี้ระบบดังกล่าวยังขึ้นอยู่กับ การวัดปริมาณน้ำหนักของรอยโรคที่ได้ โดยประเมินค่าสูง ไปความรุนแรงของรอยโรค MLL โดยนำไปใช้ในโรงชำแหละเพื่อตรวจสอบ เช่น มีการติดเชื้อทุติยภูมิอาจส่งผลให้น้ำหนักปอดเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oba *et al.* (2021) ได้ทำการทดลองโดยใช้ขั้นตอนการให้คะแนนรอยโรคในปอด เพื่อให้มั่นใจถึงความถูกต้องของข้อมูล เมื่อปอดติดเชื้อแสดงอาการปอดบวม สัดส่วนของพื้นผิวปอดจะเห็นได้อย่างชัดเจน จึงประมาณค่าได้จากพื้นผิวปอด โดยพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบอย่างรุนแรงจากโรคปอดบวม ได้กำหนดคะแนนเชิงปริมาณ คือ ค่าคะแนนสำหรับพื้นที่ปอดที่ได้รับผลกระทบจากโรคปอดบวม อยู่ในช่วง จาก 0 ถึง 100% ส่วนรอยโรคสำหรับคะแนนเยื่อหุ้มปอดอักเสบจะมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 2 โดยสรุปมีการคำนวณพารามิเตอร์ต่อไปนี้

$$(1) \text{ Percent of lung surface affected by pneumonia} = \frac{\text{Total area affect}}{100}$$

$$(2) \text{ Percent prevalence of pneumonia} = \frac{\text{Number of lungs affected by pneumonia}}{\text{Total number of lungs examined}} \times 100$$

2.9 การพัฒนาระบบตรวจสอบรอยโรคที่ปอดของซากสุกรในโรงชำแหละ

โรงฆ่าสัตว์เป็นสถานที่ที่มีประโยชน์อย่างยิ่งในการติดตามสถานะสุขภาพของปศุสัตว์ เหมาะสำหรับการเฝ้าติดตามอุบัติการณ์และความรุนแรงของรอยโรค (Meyns *et al.*, 2011) ด้วยการใช้ระบบประเมินรอยโรคตามเกณฑ์ที่ง่ายสะดวก และอนุญาตให้มีการประเมินตามความเร็วของการชำแหละเป็นการประเมินอย่างมีมาตรฐาน และทำซ้ำได้ง่าย ควรให้ผลลัพธ์ที่สามารถตีความได้ง่าย และสามารถวิเคราะห์ทางสถิติได้มีการพัฒนาวิธีการในประเทศต่าง ๆ เพื่อกำหนดขอบเขตและลักษณะปรากฏของโรคปอดบวม เยื่อหุ้มปอดอักเสบ และโรคปอดอื่น ๆ

จากการประเมินความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนของปอดบวม และการวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ สำหรับโรคปอดบวมสุกรในโรงฆ่าสัตว์สาธารณสุขรัฐเกาหลี เพื่อพัฒนาระบบตรวจสอบการฆ่าสัตว์ในประเทศที่มีความทันสมัยของอุตสาหกรรมสุกร การประเมินรอยโรคปอดเป็นส่วนสำคัญของระบบตรวจสอบหลังการฆ่า การศึกษาครั้งนี้ได้ดำเนินการรวบรวมข้อมูลภาพปอดในโรงชำแหละ และการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด การวิเคราะห์ภาพปอดจะใช้ Madec's grid เพื่อประเมินคะแนนรอยโรคปอด และการตรวจวินิจฉัยทางจุลพยาธิวิทยาเพื่อจำแนกรอยโรคเป็นปอดบวมบริเวณหลอดลม (bronchopneumonia) หรือปอดบวมในผนังถุงลม (interstitial pneumonia) ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อปอดสุกรทั้งหมด 66 ชิ้น รอยโรค Interstitial pneumonia คิดเป็น 69.7% และ bronchopneumonia คิดเป็น 30.3% ของรอยโรคปอดบวมทั้งหมด คะแนนของรอยโรคปอดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง ($p < 0.001$) และมีความจำเพาะ 77.3% การทดสอบคะแนน

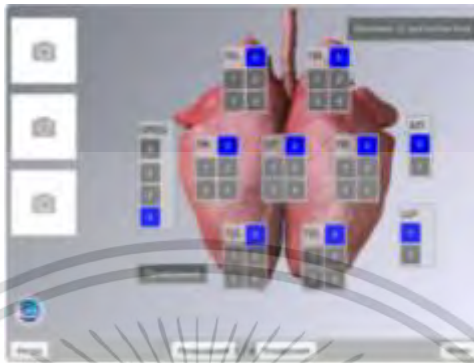
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รอยโรคที่ปอด ได้รับการประเมินความแตกต่างในการวินิจฉัยโดยการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์ สำหรับการวินิจฉัยโรคในปอดอาจเป็นประโยชน์ในการตรวจคัดกรองปอดบวม (Lee *et al.*, 2017)

Bottacini *et al.* (2021) ได้ศึกษาและดำเนินการตรวจสอบรอยโรคปอดด้วยสายตา ร่วมกับการคลำอวัยวะด้วยมือ แล้วบันทึกคะแนนโดยใช้เครื่องบันทึกเสียงสำหรับการวิเคราะห์ และประเมินถึงภาวะปอดบวม และเยื่อหุ้มปอดอักเสบ (pleuritis) ทั้งนี้การใช้ข้อมูลจากโรงฆ่าสัตว์ เช่น ประวัติรอยโรคจากฟาร์มประกอบ สามารถช่วยวิเคราะห์ และจัดการฟาร์มได้ แก้ไขปัญหาสุขภาพและแจ้งมาตรการวินิจฉัยรอยโรคได้เช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Hammond *et al.* (2017) มีการสร้าง และพัฒนาเทคโนโลยีที่สามารถใช้ให้เกิดประโยชน์ในการตรวจสอบรอยโรคปอดได้ โดยการใช้โปรแกรม Ceva Lung Program (CLP) (ภาพที่ 2.10) ช่วยประเมินสภาพของเนื้อเยื่อปอด และช่วยในการกำหนดการวินิจฉัยโรคระบบทางเดินหายใจของสุกรได้อย่างถูกต้อง เทคนิคนี้ช่วยให้ทราบถึงแม้กระทั่งโรคที่ไม่แสดงอาการของสัตว์ ซึ่งเป็นการคัดแปลงของโรงฆ่าสัตว์ เพื่อประเมินรอยโรคของปอด โดยใช้ซอฟต์แวร์เพื่อแสดง หรือแบ่งปันข้อมูลที่มีข้อมูลจำนวนมาก และสามารถเปรียบเทียบด้วยคำมัลฐานได้ วิธีการนี้ยังสามารถใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของมาตรการการป้องกันเชื้อ *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* ด้วยโปรแกรมการประเมินสุขภาพปอดนี้ จะช่วยวิเคราะห์สถานการณ์โรคระบาดในฟาร์มได้ ดัชนีที่คำนวณได้เป็นเปอร์เซ็นต์ของรอยโรคปอดบวม และพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบ โดยอาศัยการประเมินความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาตามเกณฑ์การประเมินของ Madec ที่แก้ไขช่วยให้ประเมินขอบเขตและความรุนแรงของอาการทางคลินิกของ mycoplasmosis ได้อย่างชัดเจน (Cvjetkovic *et al.*, 2018) สอดคล้องกับการศึกษาของ Sipos *et al.* (2018) ได้ดำเนินการโดยอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการตรวจปอด และคนที่สองรับผิดชอบการประเมินโดยใช้เครื่องมือ CLP เครื่องมืออิเล็กทรอนิกส์ที่ช่วยให้ผู้ทำคะแนนบันทึกโรคปอดได้แบบเรียลไทม์ที่โรงฆ่าสัตว์ เนื่องจากต้องใช้ความเร็วในกระบวนการฆ่าโดยประมาณ 500–800 ตัว/ชั่วโมง (Leneveu *et al.*, 2005) ขณะเดียวกันการศึกษาที่ผ่านมา ทำการบันทึกโรคทางพยาธิวิทยาที่จำเพาะต่อโรคระบบทางเดินหายใจ เพื่อใช้เป็นแนวทางสำหรับการวิเคราะห์และการจำแนกประเภทของรอยโรค ด้วยเครื่องมือที่เบาและทนทานต่อสิ่งแวดล้อมในโรงฆ่าสัตว์ นั่นคือแท็บเล็ต (ภาพที่ 6) ประยุกต์ใช้บันทึกโรคในระหว่างมีการผลิต มีการแสดงผลบันทึกโรคที่ต้องการวิเคราะห์ เช่น pneumonia, pleuropneumonia, hepatitis, hepatosis, nephosis, dermatitis เป็นต้น และเมื่อเปรียบเทียบการตรวจสอบด้วยภาพอย่างเดียวกับการตรวจสอบแบบเดิม ผลพบว่าไม่แตกต่างระหว่างสองระบบ การใช้การตรวจสอบด้วยภาพมีประสิทธิภาพมากกว่าการตรวจสอบแบบเดิม ๆ (Ghidini *et al.*, 2018) โดยระยะห่างระหว่างซากอวัยวะภายในและกล้องส่งผลต่อขนาดที่ปรากฏของรอยโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปอดบวม ตามปริมาณโดยการนับจำนวนฟิกเซล ดังนั้นขนาดของรอยโรคที่คล้าย Enzootic pneumonia (EP) จะถูกแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยการคำนวณอัตราส่วน



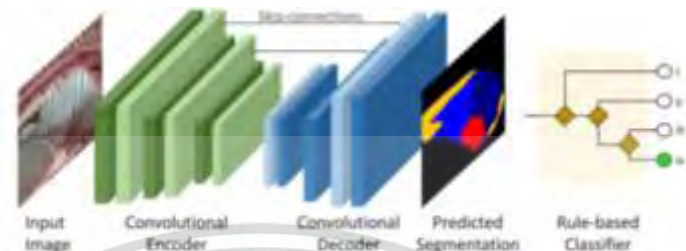
ภาพที่ 2.10 เครื่องมือ Ceva® Lung Program แสดงภาพรวมของรอยโรคในปอดที่เกิดจากเชื้อ *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*
ที่มา: Sipos *et al.* (2021)



ภาพที่ 2.11 อุปกรณ์แท็บเล็ตที่มีน้ำหนักเบา ทนทานต่อการใช้งาน น้ำหนัก 420 กรัม กว้าง 24 ซม. สูง 25 ซม. หน้า 1 ซม. สามารถเชื่อมต่อกับคอมพิวเตอร์ผ่าน USB
ที่มา: Ghidini *et al.* (2018)

จากการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีระบบโครงข่ายประสาทเทียม (convolutional neural network-based system) (ภาพที่ 2.12) เพื่อให้คะแนนเยื่อหุ้มปอดอักเสบในสุกรที่ถูกฆ่าโดยอัตโนมัติ ระบบอัตโนมัติของกระบวนการดังกล่าว จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการตรวจสอบสุกรในโรงฆ่าเหละอย่างเป็นระบบ โดยรวมแล้ว ข้อมูลบ่งชี้ว่าระบบสามารถแยกแยะซากสุกรครึ่งซากที่เป็นโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบจากเยื่อหุ้มปอดได้ดี ความแม่นยำโดยรวม 85.5% ระบบสามารถรับรู้ซากที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้รับผลกระทบอย่างรุนแรงได้ดี (Trachtman *et al.*, 2020) ซึ่งเทคโนโลยีที่ได้กล่าวข้างต้น สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบรอยโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย และไวรัสได้ ทั้งนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป



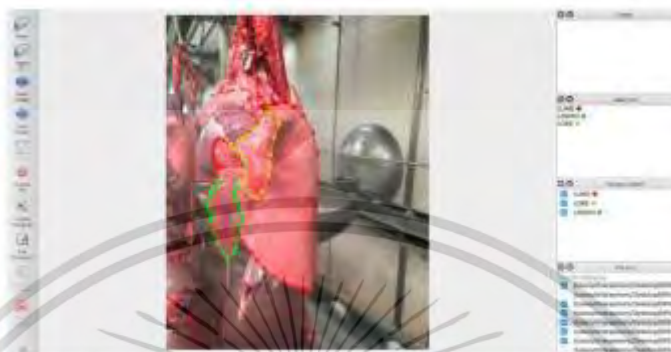
ภาพที่ 2.12 ภาพรวมของแบบจำลองเทคโนโลยี convolutional neural network (CNN) - based system

ที่มา: Trachtman *et al.* (2020)

จากการศึกษาของ Bonicelli *et al.* (2021) พบว่าการให้คำแนะนำรอยโรคในสุกรสามารถเป็นประโยชน์ในหลายด้าน แม้ว่าการบันทึกรอยโรคอย่างเป็นระบบ จะเป็นเรื่องที่ซับซ้อนและใช้เวลานาน แต่การใช้ปัญญาประดิษฐ์ (AI) ในการช่วยแก้ปัญหาที่ซ้ำซากจำเจ เช่น ดำเนินการโดยสัตวแพทย์ที่การตรวจซากสุกรในโรงฆ่าสัตว์ที่มีปริมาณงานสูง และเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลจำนวนมากอย่างสม่ำเสมอ ในปัจจุบันพบว่าการตรวจโรค Enzootic pneumonia สามารถตรวจพบ และวัดปริมาณได้อย่างมีประสิทธิภาพผ่านระบบ AI ดำเนินวิธีการภายใต้กระบวนการฆ่าตามปกติ โดยวิธีการนี้สามารถระบุและให้คำแนะนำที่คล้ายกับโรคปอดบวมจากการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* ได้อย่างเหมาะสม โดยไม่รบกวนขั้นตอนของการฆ่าตามกฎหมายของยุโรป การใช้วิธีการดังกล่าวช่วยลดความเสี่ยงการจัดการกับซาก และอวัยวะโดยตรง ลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนของจุลินทรีย์โดยการเก็บภาพ และตัวอย่างจากสุกร การตรวจสอบได้ดำเนินการในโรงฆ่าสัตว์ที่แตกต่างกันสามแห่ง และมีปริมาณงานสูง (ความเร็วในการฆ่า = 6–8 ตัว/นาที) โรงฆ่าสัตว์สองแห่งตั้งอยู่ในอิตาลีและโรงฆ่าสัตว์ตั้งอยู่ในสเปนอีกหนึ่งแห่ง โรงฆ่าสัตว์ในอิตาลี ใช้สุกรที่มีน้ำหนักโดยประมาณ 160 กก. อายุเฉลี่ย 9-10 เดือน และโรงฆ่าสัตว์ในสเปนใช้สุกรที่มีน้ำหนัก 90 กก. อายุ 5 เดือน มีการถ่ายภาพโดยสัตวแพทย์ ภายใต้การฆ่าตามปกติ โดยใช้กล้องสมาร์ทโฟน (Apple iPhone SE, Apple iPhone XS Max, Xiaomi Redmi Note 8T, Xiaomi Realme 7 pro) สัตวแพทย์ทุกคนที่เกี่ยวข้องในการศึกษาครั้งนี้ ชำนาญด้านพยาธิวิทยาาระบบทางเดินหายใจของสุกร และสามารถคลำปอดเพื่อยืนยัน/ควบคุม

ปอดบวม ปอดแต่ละข้างถูกถ่ายภาพในลักษณะที่พื้นผิวภายนอก ในอนาคตข้างหน้า วิธีการที่ใช้ AI เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถตอบสนองความต้องการนี้ได้เหมาะสม ทำให้สามารถคุณภาพในด้านการตรวจสอบอาหาร การสนับสนุนสัตวแพทย์อย่างเป็นทางการและเพิ่มประสิทธิภาพของ การจัดการทรัพยากรมนุษย์โดยเฉพาะในโรงฆ่าสัตว์ที่มีปริมาณงานสูง



ภาพที่ 2.13 โปรแกรมที่สามารถใส่คำอธิบายประกอบได้
ที่มา: Bonicelli *et al.* (2021)

2.10 โปรแกรมประมวลผลภาพ IMAGE J®

ImageJ® เป็นชุดซอฟต์แวร์ที่พัฒนาโดยสถาบันสุขภาพแห่งชาติ (NIH) เดิมชื่อ NIH Image แต่เดิมได้รับการพัฒนาสำหรับระบบคอมพิวเตอร์ McIntosh อย่างไรก็ตามขณะนี้ยังมีให้บริการสำหรับ Windows และ Linux ซอฟต์แวร์ได้รับการพัฒนาเพื่อให้สามารถวิเคราะห์และปรับปรุงภาพได้ดีขึ้น ซอฟต์แวร์สามารถสร้างกราฟจากข้อมูลแสดงและปรับปรุงภาพ มักใช้ในการวิเคราะห์ภาพจากกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง การวิเคราะห์จุด การวัดพื้นที่ การนับอนุภาค การแบ่งส่วน และการวัดลักษณะเชิงพื้นที่ หรือองค์ประกอบทางชีววิทยา และอื่น ๆ ดังภาพที่ 2.14 คุณลักษณะเหล่านี้มีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับนักวิจัยในการวิเคราะห์ภาพถ่าย อีกทั้งเทคโนโลยีในกล้องจุลทรรศน์มีความก้าวหน้าอย่างรวดเร็ว ทำให้สามารถถ่ายภาพทางชีวการแพทย์เชิงปริมาณได้ในราคาประหยัด รวดเร็ว และแม่นยำยิ่งขึ้น ซึ่งจำเป็นต้องใช้เทคนิคการประมวลผล และวิเคราะห์ภาพขั้นสูงที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบ (Schindelin *et al.*, 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.14 รูปแบบแอปพลิเคชัน Image J® และ เมนูหน้าแรกของโปรแกรม

ที่มา : Gao (2016)

สำหรับการศึกษา Histomorphometric เพื่อสร้างความน่าเชื่อถือทางวิทยาศาสตร์มากขึ้นกับข้อมูลจากภาพถ่ายที่ได้ โดยเทคนิคการใช้ซอฟต์แวร์ ImageJ® มีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์ใช้การประมวลผลภาพดิจิทัล (PDI) สามารถกำหนดการคำนวณ หรือวิเคราะห์บนภาพที่ถ่ายได้ สำหรับการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อปลา เป็นการประยุกต์ใช้กับภาพจากกล้องจุลทรรศน์ในการวิเคราะห์หาตัวแปรของความยาว ความกว้าง พื้นที่เนื้อเยื่อ และจำนวนเซลล์หรือโมเลกุล ดูลักษณะทางจุลชีววิทยาของเนื้อเยื่อ (histomorphometry) แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการประเมินโครงสร้างเนื้อเยื่อของลำไส้ของปลาที่เสริมด้วยโปรไบโอติก มีส่วนช่วยในการปรับปรุงเทคนิคการวิเคราะห์ภาพของแบบจำลองเนื้อเยื่อสัตว์ให้ใช้งานได้ง่าย และวิเคราะห์ได้ถูกต้อง ตลอดจนอำนวยความสะดวกเพื่อปรับปรุงและรับข้อมูลได้ไม่จำกัด (Curvo *et al.*, 2020)

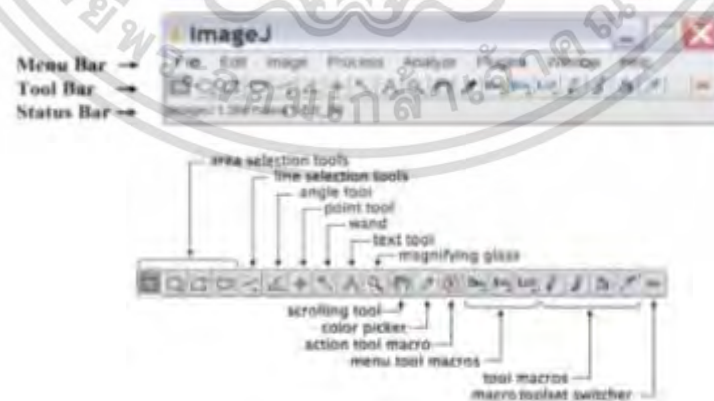
จากการศึกษาการวัดพื้นที่ของแผลในหลอดเลือดดำโดยใช้โปรแกรมซอฟต์แวร์สองโปรแกรมเปรียบเทียบพื้นที่การวัดของแผลในหลอดเลือดดำโดยใช้ซอฟต์แวร์ AutoCAD (r) และ Image J วัดขนาดแผล โดยใช้โปรแกรมซอฟต์แวร์ทั้งสองวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีความสอดคล้องกัน โดยการใช้โปรแกรมซอฟต์แวร์ทั้งสองโปรแกรมมีความเหมาะสมสำหรับการวัดแผลในหลอดเลือดดำ ดูเหมือนว่าจะแม่นยำกว่าเมื่อใช้วัดพื้นที่แผล $> 10 \text{ cm}^2$ (Eberhardth *et al.*, 2016) ด้วยความก้าวหน้าในด้านฮาร์ดแวร์ ซอฟต์แวร์ และแอปพลิเคชัน จึงทำให้เกิดความเป็นไปได้หลายประการสำหรับการใช้การประมวลผลภาพดิจิทัล

Selcuk *et al.* (2020) ได้ใช้วิธีการนับคะแนนที่มักใช้ในการประเมินพารามิเตอร์ทางสัณฐานวิทยา เช่น พื้นที่และปริมาตร การเปรียบเทียบเชิงตัวเลขของตัวแปรที่เป็นไปได้ในภาคตัดขวางสามารถทำได้ โดยใช้ฟังก์ชันกริดของโปรแกรม Image J® ในการคำนวณ พื้นที่ผิวของส่วนต่าง ๆ ระยะห่างระหว่างจุดสองจุดถูกเลือกเป็น 1 มม. บนมาตราส่วนการวัดพื้นที่จุดที่ใช้ มีการเลือกเครื่องหมายที่แตกต่างกันสำหรับแต่ละพื้นที่ที่น่าสนใจ และคะแนนที่ตกในพื้นที่แยกกัน ผลกระทบของขั้นตอนการย้อมสีต่อพื้นที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 หลักการวัดและการวิเคราะห์ข้อมูลโดย Image J® (Measurement and data analysis)

การประมวลผลภาพดิจิทัลซึ่งเป็นส่วนสำคัญ ในการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีนี้กับภาพจากกล้องที่ล้ำสมัย มีการพัฒนาอัลกอริทึม ด้านการวิเคราะห์เชิงลึกควบคู่ไปกับผลลัพธ์ของการทดลองที่เฉพาะเจาะจง เหมาะกับงานทางวิทยาศาสตร์ การประมวลผลภาพครอบคลุมถึงการแปลงภาพ และการแสดงภาพ การวัดและการจำแนกวัตถุ การโฟกัสภาพอัตโนมัติ และการส่องสว่างที่โครงสร้างภาพ (ภาพที่ 2.14) และผลการทดลองที่นำมาจากตัวอย่างโดยเน้นที่ด้านการคำนวณ และอัลกอริทึมของการประมวลผลภาพขั้นสูงบนเรขาคณิต การประมวลผลจากภาพการเรืองแสง ภาพกล้องจุลทรรศน์แบบสามมิติ แบบ Timelapse และการปรับปรุงภาพกล้องจุลทรรศน์ (Rueden *et al.*, 2017) การจัดการข้อมูลภาพ ขึ้นอยู่กับประเภทการเลือกคำนวณและแสดงสถิติพื้นที่ ความยาวเส้น และมุม หรือพิกัดจุด สถิติพื้นที่จะถูกคำนวณ (Reinking, 2007) ดังแสดงในภาพที่ 2.15 โดยสามารถวัดเชิงพื้นที่ การวัดระยะทาง และปริมาตร สิ่งเหล่านี้เกี่ยวข้องกับสองมิติแรกของภาพ คือความกว้างและความสูง การวัดความหนาแน่น คือ การวัดทั้งสามมิติ และส่วนของค่าพิกเซล (Pixel) สามารถแสดงระดับความสูง ความหนาแน่นของประชากร หรือปรากฏการณ์ใด ๆ ก็ตามที่หาปริมาณได้ หากมีการเลือกใช้หนึ่งในสี่เครื่องมือแรกในแถบเครื่องมือ ในการคำนวณความยาว และมุมของเส้น และสามารถบันทึกพิกัด หากมีการกำหนดจุดหนึ่งจุดขึ้นไปโดยใช้เครื่องมือการเลือกจุด เพื่อระบุสถิติพื้นที่ที่ต้องการบันทึก (Michael *et al.*, 2004) โดย Image J® สามารถคำนวณ Fraction Area หรือสัดส่วนพื้นที่ และสามารถหาพื้นที่ที่ต้องการได้ สามารถตั้งค่า ในการแปลงหน่วยพื้นที่ของวัตถุบนภาพถ่ายได้ เช่น ตารางมิลลิเมตร หรือ ในหน่วย pixel ของรูปนั้น ๆ สามารถจัดทำค่าต่าง ๆ ในรูปสถิติได้ วัดระยะ ความยาวของเซลล์ วัดความหนาของรูปภาพแล้วแสดงในรูปแบบแผนภูมิแท่งหรือ Histograms และยังสามารถสนับสนุน Function ต่าง ๆ และตัว Plugin ในโปรแกรมได้ (ชัยญา ชื่นอารมย์, 2558)



ภาพที่ 2.15 ฟังก์ชันการใช้งาน (Usability)

ที่มา : Reinking, (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

อวัยวะปอดของซากสุกร ณ โรงงานชำแหละสุกร บริษัท ไทยฟู้ดส์ สโวน์ อินเตอร์เนชั่นแนล จากสุกรขุน เลือดผสม 3 สายพันธุ์ (ดูรีอค × แลนด์เรซ × ลาร์จไวท์) คณะแพทยที่เข้าเชือด โดยดำเนินการศึกษา ระหว่างขั้นตอนการล้างอวัยวะภายในช่องอก เพื่อตรวจประเมินรอยโรคที่ปอด โดยประกอบด้วยปอดปกติที่ไม่พบรอยโรค และปอดที่พบรอยโรค จำนวนรวมทั้งหมด 500 ตัวอย่าง ในกรณีที่ปอดของสุกรมีรอยโรคสัมพันธ์กับโรคเอนไซติกนิวโมเนีย (Enzootic pneumonia) หรือพบลักษณะ Mycoplasma-like lesion (MLL) ดำเนินการสุ่มเก็บเนื้อเยื่อปอดบริเวณที่มีรอยโรคร่วมกับ ส่วนเนื้อเยื่อปอดบริเวณที่พบรอยโรค MLL แต่หากไม่พบรอยโรคและปอดมีลักษณะปกติ ดำเนินการสุ่มเก็บเนื้อเยื่อปอดบริเวณส่วนปลายของพูใดพูหนึ่ง

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์ในการบันทึกภาพอวัยวะภายใน

- 3.2.1.1 แขนถ่ายภาพ พร้อมฐานตั้งกล้อง
- 3.2.1.2 กล้องถ่ายภาพ (Galaxy Tab S7 :13 MP)
- 3.2.1.3 ไม้บรรทัด
- 3.2.1.4 แร็บพลาสติก
- 3.2.1.5 หลอดไฟ และคอมไฟ
- 3.2.1.6 ปลั๊กไฟ
- 3.2.1.7 ถาดวางอวัยวะภายใน
- 3.2.1.8 ผ้าเช็ด สำหรับซับคราบเลือด
- 3.2.1.9 สติกเกอร์บ่งชี้

3.2.2 . อุปกรณ์ที่ใช้เก็บข้อมูลและการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ

- 3.2.2.1 กระจกตัดเนื้อเยื่อ
- 3.2.2.2 คีมหนีบ
- 3.2.2.3 ถุงซิปล็อคใส่ ใส่ตัวอย่าง
- 3.2.2.4 ตารางบันทึกคะแนนรอยโรคปอด

3.2.3. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของโรงเรียนการศึกษานานาชาติ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.2.3.1 Micropipette (Scilogex; USA)
- 3.2.3.2 Pipette tips 1-200 μ l (T-200-Y; Axygen; USA)
- 3.2.3.3 Microtube 1.5 ml.
- 3.2.3.4 Vortex Mixer (Labnet; USA)
- 3.2.3.5 Microplate Mixer (MX-M; DLAB; China)
- 3.2.3.6 DNA extraction machine (NPA-32P- Bioer; Hangzhou; China)
- 3.2.3.7 Micro spectrophotometer (Nano-300; Allsheng; China)
- 3.2.3.8 Thermal cycler (ITEM 19695; Biometra; USA)
- 3.2.3.9 Enduro Gel Electrophoresis System (E0160-230V; Labnet; USA)
- 3.2.3.10 FluoroBox (1NS-FLB-001 BCM; Neo science; Korea)
- 3.2.3.11 Chest freezer -20°C (SHN-0303; Sanden Intercool; Thailand)
- 3.2.3.12 Biohazard safety cabinet (VS-1400LSN; Vision Scientific; Korea)
- 3.2.3.13 Portable Balances Max. 300g (ELB300; Shimadzu; Japan)
- 3.2.3.14 Agarose comb block
- 3.2.3.15 PCR Kit (BIO-21047; Bioline; UK)
- 3.2.3.16 PCR Tubes Flat cap ขนาด 0.2 ml.
- 3.2.3.17 Microwave
- 3.2.3.18 Computer

3.2.4 สารเคมีที่ใช้สกัดดีเอ็นเอ และ อาร์เอ็นเอ

ใช้ MagaBio plus Virus DNA/RNA Purification Kit II ชุดที่ BSC71S1B (Bioer; Hangzhou, China) ใน 1 ชุดประกอบด้วย

- 3.2.4.1 Proteinase K (PK) 0.5 ml.
- 3.2.4.2 Lysis Buffer 30 ml.
- 3.2.4.3 Wash Buffer I 24 ml.
- 3.2.4.4 Wash Buffer II 12 ml. x2
- 3.2.4.5 Elution Buffer 10 ml.
- 3.2.4.6 MagaBio Reagent 1.25 ml.
- 3.2.4.7 DEPC Water
- 3.2.4.8 สารละลายเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffered Saline, PBS)

3.2.5 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ PCR สำหรับการตรวจหาเชื้อก่อโรคทางเดินหายใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเชื้อที่สามารถก่อโรคทางเดินหายใจ คือ Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) , Porcine Circovirus type2 (PCV2) virus, *Mycoplasma spp.*(*M. hyorhinis* and *M.hypopneumoniae*) และ *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP)

3.2.5.1 5x DNA Loading buffer (BIO-37045; Bionline; UK)

3.2.5.2 Neogreen DNA staining Reagent Agarose 10mg/ml. (GR107; Neoscience; Korea)

3.2.5.3 HyperLadder 100 bp (Bionline)

3.2.5.4 ddH₂O (Bioer; Hangzhou; China)

3.2.5.5 2x Bioready Taq Mix (Bioer; Hangzhou; China)

3.2.5.6 Primers (Macrogen; Korea) (Barate *et al.*, 2012)

MhpF-1 (5'-ACTAGATAGGAAATGCTCTAG-3')

MhpR-2 (5'-ATACTACTCAGGCGGATCATTTAAC-3')

MhrF-3 (5'-GTAGTCAAGCAAGAGGATGT-3')

MhrR-4 (5'-GCTGGAGTTATTATAACCAGGA-3')

3.2.5.7 Primers (Macrogen; Korea) (Jittimanee *et al.*, 2011)

PCV2-f1 (5'-CCATGCCCTGAATTTCCATA-3')

PCV2-r1 (5'-ACAGCGCACTTCTTTTCGTTT-3')

3.2.5.8 Primers (Macrogen; Korea) (Zhou *et al.*, 2008)

apxIVA1 (5'-TTATCCGAACTTTGGTTTAGCC-3')

apxIVA3 (5'-CATATTTGATAAAACCATCCGTC-3')

3.2.5.9 Primers (Macrogen; Korea) (วรวิทย์ วิชชวัลคุ และคณะ, 2544)

PRRS_Common-F (5'-CCTCCTGTATGAACTTGC-3')

PRRS_Common-R (5'-AGGTCCTCGAACTTGAGCTG-3')

PRRS_EU-F (5'-GTATGAACTTGCAGGATG-3')

PRRS_EU-R (5'-GCCGACAATACCATGTGCTG-3')

PRRS_North_US-F (5'-GGCGCAGTGACTAAGAGA-3')

PRRS_North_US-R (5'-GTAAGTGAACACCATATGCTG-3')

3.2.5.10 TBE Buffer (ใช้ 1X เตรียมจาก 10X)

3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย

การดำเนินการทดลองประกอบด้วย 4 กระบวนการ ได้แก่

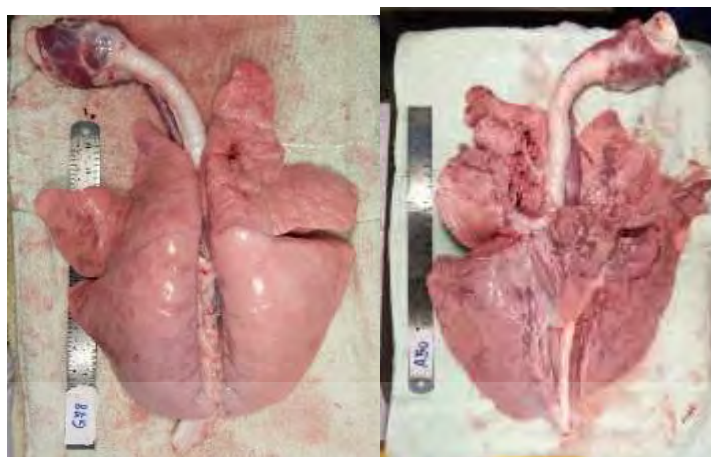
3.3.1 การประเมินรอยโรคจากซากปอดจริงโดยผู้เชี่ยวชาญ ณ โรงชำแหละสุกร (On site by expert; Ose)

เริ่มดำเนินการหลังจากขั้นตอนการล้างอวัยวะภายในเสร็จสิ้น โดยสุ่มเลือก และตัดแยกอวัยวะปอดที่ต้องการ จากนั้นทำความสะอาดด้วยผ้าให้ทั่วบริเวณผิวปอดทั้งด้านหน้า และด้านหลังโดยการเช็ดคราบเลือด และสารคัดหลั่งต่าง ๆ ออก เพื่อให้ภาพผิวปอดแสดงสีชัดเจนที่สุด แล้วจึงจัดวางในตำแหน่งที่เหมาะสม โดยการจัดเรียงให้บริเวณปลายกลีบไม่ทับซ้อนกัน (ภาพที่ 3.1) โดยระบุเลขที่บ่งชี้ปอดให้ชัดเจน และจัดวางไม้บรรทัดมาตรฐานส่วนเทียบกับเคียงข้างบริเวณปอด และดำเนินการเก็บข้อมูลดังนี้

3.3.1.1 ผู้เชี่ยวชาญดำเนินการประเมินรอยโรค MLL เป็นสัตวแพทย์ผู้มีประสบการณ์ในการประเมินรอยโรคที่ปอดของสุกรในโรงชำแหละสุกรมาอย่างน้อย 5 ปี โดยผู้เชี่ยวชาญจะเริ่มประเมินรอยโรค โดยใช้วิธีคาดการณ์ร้อยละของรอยโรคที่ปรากฏขึ้น จากการประมาณการพื้นที่ทั้งหมดของแต่ละพู (1 Lobe=100 %) ทั้งนี้หากปอดที่ปกติหรือไม่พบรอยโรค MLL จะมีบันทึกผลการประเมินรอยโรคเป็นร้อยละ 0 ของปอดนั้น ๆ รวมทั้งหมด 7 lobe ดังนี้

- (1) ปอดด้านซ้าย ส่วนบน (Left Apical lung lobe)
- (2) ปอดด้านซ้าย ส่วนกลาง (Left Middle lung lobe)
- (3) ปอดด้านซ้าย ส่วนท้าย (Left Caudal lung lobe)
- (4) ปอดด้านขวา ส่วนบน (Right Apical lung lobe)
- (5) ปอดด้านขวา ส่วนกลาง (Right Middle lung lobe)
- (6) ปอดด้านขวา ส่วนท้าย (Right Caudal lung lobe)
- (7) ปอดด้านล่าง ส่วนพิเศษ (Right Accessory lung lobe)

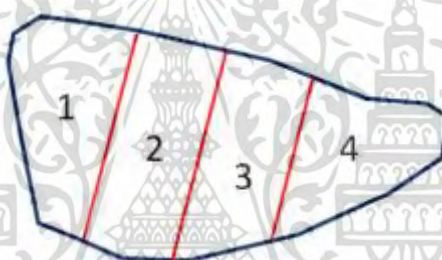
3.3.1.2 หลังจากการประเมินคะแนนเรียบร้อยแล้ว ให้บันทึกภาพถ่ายโดยกำหนดตำแหน่งกล้องที่เหมาะสม และควบคุมให้ตำแหน่งตรงกันทุกภาพทั้งมุมมองด้านหน้า และด้านหลัง ทั้งหมด 500 ตัวอย่าง เพื่อลดปัจจัยเสี่ยงด้านแสงกระทบบนผิวปอด หรือปัจจัยมีผลต่อคุณภาพของภาพถ่าย



(1)

(2)

ภาพที่ 3.1 ลักษณะการวางอวัยวะปอดในตำแหน่งที่สามารถถ่ายภาพปอดได้อย่างชัดเจน ทั้ง (1) ด้านหน้า (Dorsal) และ (2) ด้านหลังของปอด (Ventral)



ภาพที่ 3.2 การแบ่งสัดส่วนพื้นที่ของปอดตามระบบมาตรฐาน Madec and Kobisch (1982) ที่มา: Hattab *et al.* (2023)

3.3.2 การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด

การเก็บตัวอย่างปอดควรตัดเนื้อปอดให้มีบริเวณที่ปกติ และบริเวณเชื่อมต่อกับรอยโรค อยู่ในชิ้นเนื้อเดียวกัน และเก็บทันทีหลังจากการประเมินรอยโรคของผู้เชี่ยวชาญ จากนั้นนำชิ้นเนื้อประมาณ 5–10 กรัม โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทั้งหมดประมาณร้อยละ 10 ของตัวอย่างปอดทั้งหมดที่ทำการศึกษา แล้วติดฉลากและระบุข้อมูลให้ชัดเจน แล้วจึงแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ก่อนนำตัวอย่างไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธี PCR



ภาพที่ 3.3 ตัวอย่างปอด และการประเมินปอดที่ไม่พบ หรือพบรอยโรค MLL

3.3.3 การประเมินรอยโรคจากภาพถ่ายปอดโดยผู้เชี่ยวชาญ (Image by expert; Ime)

นำภาพถ่ายทั้งหมด 500 ตัวอย่าง (จากมุมมองด้านบน และด้านล่างของปอด) ที่บันทึกไว้ ดังตัวอย่างในภาพที่ 3.1 มาประเมินสัดส่วนร้อยละของรอยโรค MLL ที่เกิดขึ้น ซึ่งดำเนินการเช่นเดียวกับการประเมินปอดโดยตรง ณ โรงชำแหละ (Ose) ดังกล่าวข้างต้น

3.3.4 การประเมินรอยโรคจากภาพถ่ายปอดโดยแอปพลิเคชัน (Image by expert; Ima)

เมื่อได้ภาพถ่ายดิจิทัลจากมุมมองด้านบนและด้านล่างของปอด รวมปอดทั้งหมด 500 ตัวอย่าง นำข้อมูลภาพถ่ายดังกล่าวเข้าสู่โปรแกรมสำเร็จรูป คือ ImageJ[®] เพื่อวัดขนาดพื้นที่โดยรวมของปอด แต่ละส่วนควบคู่กับการวัดขนาดของรอยโรคที่เกิดขึ้น ที่มีรูปร่างไม่แน่นอน โดยขั้นตอนการใช้งานโปรแกรมมีดังนี้

3.3.4.1 Image acquisition คือ การนำเข้าภาพที่ต้องการวัดพื้นที่ โดยการเลือก File โดยไปที่ File > Open และเลือกภาพตัวอย่างปอดที่ต้องการวิเคราะห์ (ภาพที่ 3.4)



ภาพที่ 3.4 แสดงการนำเข้าภาพปอดเพื่อวัดพื้นที่รอยโรค และพื้นที่ปอดทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4.2 Scale Setting คือ การตั้งค่า Scale ตามขนาดจริง โดยอ้างอิงจากหน่วยของภาพเพื่อเทียบอัตราส่วนของขนาดภาพ โดยใช้เครื่องมือ Magnifying glass เพื่อขยายภาพ จากนั้นใช้เครื่องมือ Straight line selection แล้วลากเส้นทับบนไม้บรรทัดให้ได้ 10 mm ตามขนาดจริงที่ภาพแสดง จากนั้นไปที่ Analyze > Set Scale ใส่ค่า Known Distance: 10 และใส่หน่วย Unit of Length: mm จากนั้นเลือก Global แล้วกด OK (ภาพที่ 3.5)



ภาพที่ 3.5 แสดงการตั้งค่า หน่วยที่ต้องการวัดพื้นที่ โดยอ้างอิงขนาดตามหน่วยการวัดความยาวในระบบเมตริก (Metric system)

3.3.4.3 Measure the threshold area คือ การวัดพื้นที่ที่ผู้ใช้งานกำหนดขึ้นโดยเลือก Function > Polygon selection ในการกำหนดพื้นที่ที่ต้องการโดยเลือกวัดพื้นที่โดยรวมของปอด แต่ละส่วนก่อน Analyze > Measure > Data Area (ภาพที่ 3.6)



ภาพที่ 3.6 แสดงการวัดพื้นที่แต่ละพูของปอด และพื้นที่ที่พบรอยโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4.4 Output of data area คือ การส่งออกข้อมูลที่วัดได้ ตามความต้องการของผู้ใช้งาน Result> File> Save as จากนั้นจะได้ข้อมูลที่อยู่ใน Excel ซึ่งสามารถนำไปวิเคราะห์ข้อมูลต่อได้ (ภาพที่ 3.7)

| | Area | Mean | StdDev | Min | Max | Circ | Median | %Area | AR | Round | Solidity |
|---|----------|---------|--------|-----|-----|-------|--------|-------|-------|-------|----------|
| 1 | 3570.222 | 86.398 | 19.831 | 19 | 255 | 0.691 | 85 | 0 | 1.238 | 0.808 | 0.908 |
| 2 | 8104.574 | 115.937 | 33.135 | 19 | 255 | 0.612 | 118 | 0 | 1.515 | 0.66 | 0.875 |

ภาพที่ 3.7 แสดงการส่งออกข้อมูล การวัดพื้นที่ปอด

3.3.5 การประเมินรอยโรคโดยใช้เกณฑ์การประเมินจากระบบมาตรฐาน 6 ระบบ

ระบบที่ใช้ประเมินรอยโรคที่ยกมาเป็นตัวอย่างในการประเมินคะแนนรอยโรคปอด ดังนี้ Goodwin *et al.* (1969), Madec and Kobisch (1982), Straw *et al.* (1986), Morrison *et al.* (1985), Christensen *et al.* (1999), Christensen *et al.* (1999), European Pharmacopoeia (2013) โดยแต่ละวิธีมีเกณฑ์การให้คะแนนแต่ละ Lobe แตกต่างกันดังตารางที่ 3.1 โดยผู้เชี่ยวชาญจะประเมินรอยโรคโดยใช้เกณฑ์ดังกล่าวตามคะแนนที่กำหนดดังตารางที่ 3.2 จากนั้นบันทึกข้อมูลผลการประเมินตัวอย่างปอด ตามวิธีที่กำหนดขึ้น คือ (1) On site by expert; Ose (2) Image by expert; lme (3) Image by expert; lma

ตารางที่ 3.1 สรุปสัดส่วนการให้คะแนนแต่ละพูของปอดตามระบบเกณฑ์การประเมิน

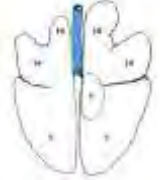





| Scoring system | Left | | | Right | | | Accessory Lobe | Total score |
|----------------------------------|------|----|-------|-------|----|-------|----------------|-------------|
| | A | M | C | A | M | C | | |
| Goodwin <i>et al.</i> (1969) | 10 | 10 | 5 | 10 | 10 | 5 | 5 | 55 (points) |
| Madec and Kobisch (1982) | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 28 (points) |
| Straw <i>et al.</i> (1986) | 10 | 10 | 25 | 10 | 10 | 25 | 10 | 100 (%) |
| Morrison <i>et al.</i> (1985) | 7 | 7 | 32 | 12 | 7 | 30 | 5 | 100 (%) |
| Christensen <i>et al.</i> (1999) | 5 | 5 | 5, 25 | 10 | 10 | 5, 30 | 5 | 100 (%) |
| European Pharmacopoeia (2013) | 5 | 6 | 29 | 11 | 10 | 34 | 5 | 100 (%) |

หมายเหตุ : A = Apical lobe, M = Middle lobe, C = Caudal lobe

ที่มา : ดัดแปลงจาก Garcia-Morante *et al.* (2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 ระบบการให้คะแนนปอดเพื่อประเมินปอดบริเวณสวนหน้า และด้านล่าง
(Cranioventral pulmonary)

| Approach | Reference | Maximum total score (unit) | Scoring representation (maximum score per lobe) |
|-------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---|
| Two-dimensional (area) | Goodwin et al. (1969) | 55 (points) |  |
| Two-dimensional (area) | Madec and Kobisch (1982) | 28 (points) |  |
| Two-dimensional (area) | Straw et al. (1986) | 100 (percentage) |  |
| Three-dimensional (volume) | Morrison et al. (1985) | 100 (percentage) |  |
| Three-dimensional (volume) | Christensen et al. (1999) | 100 (percentage) |  |
| Three-dimensional (volume) | European Pharmacopoeia (2013) | 100 (percentage) |  |

ที่มา : ดัดแปลงจาก Garcia-Morante *et al.* (2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6 การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

3.3.6.1 การสกัดสารพันธุกรรม (DNA/RNA extraction) โดยมีขั้นตอนโดยสังเขปดังนี้

- (1) เตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ได้จากการเก็บตัวอย่างปอด 54 ชิ้น ใส่ลงไปหลอดทดลองที่มี PBS 300 μ l และทำการผสมตัวอย่างเนื้อเยื่อให้เข้ากับสารละลาย PBS ด้วยเครื่อง Vortex mix
- (2) ทำการเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อก่อน โดยย้าย liquid sample ที่เตรียมไว้ในสารละลาย PBS ในข้อ 1. ลงใน microtube ขนาด 1.5 ml.
- (3) เติม PK Solution ปริมาณ 10 μ l
- (4) เติม Lysis Buffer ปริมาณ 600 μ l ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex Mixer เป็นเวลา 20 วินาที
- (5) ทำการบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
- (6) จากนั้นเตรียม Plate แกะแผ่นพลาสติกที่เคลือบออก
- (7) เติม Binding Buffer ปริมาณ 600 μ l และ ตัวอย่างปริมาณ 300 μ l และ Proteinase K 10 μ l ที่ช่อง 1 และ 7
- (8) เติม WB1 Buffer ปริมาณ 700 μ l ที่ช่อง 2 และ 8
- (9) เติม Wash Buffer ปริมาณ 700 μ l ที่ช่อง 3, 4, 9 และ 1
- (10) เติม Elution Buffer ปริมาณ 80 μ l ที่ช่อง 5 และ 11
- (11) เติม DEPC water ปริมาณ 175 μ l และ MegaBio Reagent 25 μ l ที่ช่อง 6 และ 12
- (12) จากนั้นทำการตั้งค่าเครื่อง Automate DNA/RNA extraction machine ตามโปรแกรมของชุดสกัดสำเร็จรูป (MagaBio plus virus DNA/RNA purification Kit II)
- (13) ทำการเก็บ DNA ที่ได้ จากช่อง 5 และ 11
- (14) วัดปริมาณ DNA/RNA ที่ได้จากการสกัดโดยเครื่อง Microspectrophotometer และ เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.3.6.2 การวิเคราะห์ PCR สำหรับตรวจหา RNA / DNA ของเชื้อก่อโรคทางเดินหายใจ ได้แก่ PRRSV, PCV2 (ใช้เทคนิค Reverse transcription PCR), *M.hyo pneumoniae* (ใช้เทคนิค Multiplex PCR) และ, *A. pleuropneumoniae* (ใช้เทคนิค conventional PCR)

- (1) นำตัวอย่างดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอของเชื้อทั้งหมด 4 ชนิดที่สกัดแล้ว เก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาทำการละลายที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเตรียมเข้าสู่กระบวนการทำ PCR
- (2) เตรียม PCR Tubes Flat cap ขนาด 0.2 ml และ Mastermix สำหรับการทำ PCR เพื่อการวิเคราะห์แต่ละเชื้อ คือ PRRSV, *M.hyo pneumoniae*, PCV2 และ APP
- (3) จากนั้นดำเนินการวิเคราะห์หาแต่ละเชื้อ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สำหรับตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ PRRSV (54 ตัวอย่าง)

PCR Tubes จะประกอบด้วย Enzyme reverse ปริมาณ 0.25 μ l Ribosafe R Nase ปริมาณ 0.5 μ l DEPC water ปริมาณ 0.75 μ l จากนั้นใส่ PRRS_Common-F ปริมาณ 1 μ l PRRS_Common-R ปริมาณ 1 μ l PRRS_EU-F ปริมาณ 1 μ l PRRS_EU-R ปริมาณ 1 μ l PRRS_North_US-F ปริมาณ 1 μ l PRRS_North_US-R ปริมาณ 1 μ l และ 2x My Taq ปริมาณ 12.5 μ l แล้วจึงเติมตัวอย่าง RNA Template ปริมาณ 5 μ l ลงไปแล้วผสมให้เข้ากัน และดำเนินการต่อในข้อ (4)

- สำหรับตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ PCV2 (54 ตัวอย่าง)

PCR Tubes จะประกอบด้วย ddH₂O ปริมาณ 4.5 μ l จากนั้นใส่ PCV2-f1 ปริมาณ 1.5 μ l PCV2-r1 ปริมาณ 1.5 μ l และ 2x Bioready Taq Mix ปริมาณ 12.5 μ l จากนั้นเติมตัวอย่าง DNA Template ปริมาณ 5 μ l ลงไปแล้วผสมให้เข้ากันและดำเนินการต่อในข้อ (4)

- สำหรับตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ APP (54 ตัวอย่าง)

เตรียม ddH₂O ปริมาณ 4.5 μ l จากนั้นใส่ apxIVA1 ปริมาณ 1.5 μ l apxIVA3 ปริมาณ 1.5 μ l และ 2x Bioready Taq Mix ปริมาณ 12.5 μ l จากนั้นเติมตัวอย่าง DNA Template ปริมาณ 5 μ l ลงไปแล้วผสมให้เข้ากัน และดำเนินการต่อในข้อ (4)

- สำหรับตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *M.hypopneumoniae* (54 ตัวอย่าง)

เตรียม ddH₂O ปริมาณ 1.5 μ l จากนั้นใส่ MhpF-1 ปริมาณ 1.5 μ l MhpR-ปริมาณ 1.5 μ l MhrF-1 ปริมาณ 1.5 μ l MhrR-1 ปริมาณ 1.5 μ l และ 2x Bioready Taq Mix ปริมาณ 12.5 μ l จากนั้นเติมตัวอย่าง DNA Template ปริมาณ 5 μ l ลงไปแล้วผสมให้เข้ากัน และดำเนินการต่อในข้อ (4)

(4) นำตัวอย่างทั้งหมดใส่ลงในเครื่อง Thermal cycler และทำการตั้งค่าเครื่อง โดยกำหนดการทำปฏิกิริยา PCR จำนวน 40 รอบ โดยในแต่ละรอบของปฏิกิริยากำหนดอุณหภูมิและเวลา ของแต่ละเชื้อดังนี้

- สำหรับเชื้อ PRRSV Denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 วินาที Annealing ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที

- สำหรับเชื้อ PCV2 Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที Annealing ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที

- สำหรับเชื้อ APP Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที Annealing ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สำหรับเชื้อ *M.hypopneumoniae* Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที Annealing ที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที

3.3.6.3 การตรวจสอบ PCR product ด้วยวิธี Gel Electrophoresis

(1) เตรียมเจล Agarose 1.5 % สำหรับขบวนการ Electrophoresis โดยการเตรียมผง Agarose 0.6 กรัม ผสมกับ 1% TBE ปริมาณ 40 ml. ปิดด้วยพลาสติกแรป นำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ จนเป็นเนื้อเดียวกัน และรอจนอุณหภูมิของเจลประมาณ 55 -56 องศาเซลเซียส

(2) หยดสีเขียวมตีเอ็นเอ (Neogreen) ปริมาณ 2 μ l ลงในเจล Agarose ที่ละลายแล้ว ผสมให้เข้ากัน และเทเจลลงใน Comb block ให้ทั่ว รอให้เจลที่ได้อุ่นแข็งตัวประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และนำ Gel comb ออก

(3) นำแผ่นเจลที่ได้ วางลงในอุปกรณ์สำหรับทำ Electrophoresis โดยให้ส่วนที่ใส่ตัวอย่าง อยู่ทางขั้วลบ จากนั้นเท Buffer ให้ท่วมเจลขึ้นมาเล็กน้อย

(4) หยด DNA Loading buffer ปริมาณ 1 μ l และตัวอย่าง (RNA/DNA) ปริมาณ 4 μ l บนพาราฟิล์มผสมให้เข้ากัน

(5) ปลดตัวอย่างลงในแต่ละหลุมเจลที่เตรียมไว้โดยหลุมแรกจะเป็น Hyperladder 5 μ l

(6) เมื่อใส่ตัวอย่างครบทุกหลุมแล้ว ตั้งค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ใช้แยก ขนาด DNA ที่ 100 โวลต์ ตั้งเวลาที่ 25-30 นาที นำเจลที่ได้ไปถ่ายรูปโดยใช้เครื่อง FluoroBox และใช้โปรแกรม Gene ปรับขนาดของภาพ ความคมชัดของภาพ ความสว่างของภาพ จากนั้นหน้าจอจะปรากฏ Band ของ DNA ขึ้น และทำการบันทึกภาพ จากนั้นทำการเปรียบเทียบ แถบ Band ของ DNA

- ถ้าหากแถบ Band ขึ้นที่ Common 255 bp/ European 186 bp/ North 107 bp จะพบว่าเป็น Positive ถ้าไม่ขึ้นแถบ Band พบว่าเป็น Negative ต่อเชื้อ PRRSV

- ถ้าหากแถบ Band ขึ้นที่ 702 bp จะพบว่าเป็น Positive ถ้าไม่ขึ้นแถบ Band พบว่าเป็น Negative ต่อเชื้อ PCV2

- ถ้าหากแถบ Band ขึ้นที่ 418 bp จะพบว่าเป็น Positive ถ้าไม่ขึ้นแถบ Band พบว่าเป็น Negative ต่อเชื้อ APP

- ถ้าหากแถบ Band ขึ้นที่ 430 bp, 346 bp จะพบว่าเป็น Positive ถ้าไม่ขึ้นแถบ Band พบว่าเป็น Negative ต่อเชื้อ *M.hypopneumoniae*, *M.hyorhinis* ตามลำดับ

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ดำเนินการวิจัยเชิงปริมาณ (Qualitative research) โดยใช้การสังเกตร่วม Participation Observational เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Comparison เป็นการศึกษาระยะสั้น (Cross-sectional) โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละของพื้นที่ปอดและคะแนนรวมเฉลี่ยของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรค Mycoplasma-like lesions โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) และวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; r) ระหว่างวิธีการประเมินรอยโรค (Evaluation method) โดยใช้ร้อยละของพื้นที่รอยโรค และคะแนนจากระบบการให้คะแนนรอยโรค (Scoring System) รวมทั้งการวิเคราะห์ความสอดคล้อง (Kappa Coefficient) และสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (Determination coefficient) โดยการวิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS (28.0 for Windows)

การคำนวณหาระดับความสอดคล้อง (Strength of Agreement) ของผลการประเมินรอยโรคในปอดทั้ง 3 วิธี จากตัวอย่างปอด 500 ตัวอย่าง โดยนำมาคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ความสอดคล้องระหว่างวิธีการทดสอบ (Kappa coefficient) ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 โดยหากค่า Kappa > 0.8 แสดงว่ามีความสอดคล้องกันดีมาก ซึ่งมักใช้ในการประมาณความน่าเชื่อถือ หรือความเที่ยงระหว่างผู้ประเมิน (Intra-rater Reliability) สามารถนำไปใช้ในบริบทของการทดสอบซ้ำได้ ตามสูตรคำนวณดังนี้ (Cohen, 1960)

$$\text{Kappa coefficient} = \frac{2 \times \{(TP \times TN) - (FN \times FP)\}}{(TP+FP) \times (FP+TN) + (TP+FN) \times (FN+TN)}$$

เมื่อ TP หมายถึง ผลบวกจริง (True positive)

TN หมายถึง ผลลบจริง (True negative)

FP หมายถึง ผลบวกหลวง (False positive)

FN หมายถึง ผลลบหลวง (False negative)

โดย TP, TN, FP และ FN เป็นสัดส่วนของจำนวนนับตามเหตุการณ์ต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.3 แสดงตัวแปรสำหรับแทนค่าในสูตรหาค่า Kappa Value

| Predicted | Actual | |
|-----------|---------------------|---------------------|
| | Yes | No |
| Yes | True Positive (TP) | False Positive (FP) |
| No | False Negative (FN) | True Negative (TN) |

ที่มา : อรุณ จีรวัดน์กุล (2560)
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากแนวทางของ Landis and Koch (1977) ที่ได้รับความนิยมในการวิจัยที่ต้องใช้ในการตัดสินใจในประเด็นที่มีความละเอียดอ่อน เช่น การวินิจฉัยโรค ซึ่งได้กำหนดระดับความสอดคล้องของสถิติแคปปาดังนี้ (ประสพชัย พสุนนท์, 2558)

<0.00 คือ มีระดับความสอดคล้อง แย่ (Poor)

0.00-0.20 คือ มีระดับความสอดคล้อง เล็กน้อย (Slight)

0.21-0.40 คือ มีระดับความสอดคล้อง พอใช้ (Fair)

0.41-0.60 คือ มีระดับความสอดคล้อง ปานกลาง (Moderate)

0.61-0.80 คือ มีระดับความสอดคล้อง ดี (Substantial)

0.81-1.00 คือ มีระดับความสอดคล้อง ดีมาก/ค่อนข้างสมบูรณ์ (Almost perfected)

โดยทั่วไปเรามักจะคาดหวังไว้วิธีการตรวจวินิจฉัยที่พัฒนาขึ้นมีทั้ง Sensitivity และ Specificity สูงสุด แต่มักเป็นไปได้ไม่ได้เมื่อเพิ่ม Sensitivity ให้สูงขึ้น การตรวจนั้นมักมี Specificity ลดลง ในทางตรงกันข้าม การตรวจที่มี Specificity สูงขึ้นมักมี Sensitivity ต่ำ โดยการประเมินค่าความจำเพาะ (Specificity) และการประเมินค่าความไว (Sensitivity) จากการทดสอบทั้ง 3 วิธี ประเมินประสิทธิภาพของการทดสอบ (Carvajal and Rowe, 2010)

ค่าความไว (sensitivity) คือสัดส่วนของผลบวกที่แท้จริง เมื่อเทียบกับผลทดสอบจากวิธีมาตรฐาน หรือวิธีอื่น

$$\%Sensitivity = [TP/(TP+FN)] \times 100$$

เมื่อ TP หมายถึง ผลบวกจริง (True positive)

FN หมายถึง ผลลบลง (False negative)

ความจำเพาะ (specificity) คือสัดส่วนของผลลบที่เป็นจริงสำหรับภาวะนั้น ๆ (เช่น สัดส่วนของการตรวจไม่พบโรคในผู้ที่ไม่ป่วย) รวมทั้ง อัตราผลลบจริง (true negative rate)

$$\%Specificity = [TN/(FP+TN)] \times 100$$

เมื่อ TN หมายถึง ผลลบจริง (True negative)

FP หมายถึง ผลบวกลง (False positive)

ในขณะที่ค่า Sensitivity และ Specificity ของการตรวจใด ๆ จะมีค่าคงที่ส่วนค่า predictive value กลับขึ้นอยู่กับความชุกของเหตุการณ์ที่สนใจในประชากรนั้นๆ สำหรับการทดสอบวินิจฉัยเดียวกัน ยิ่งความชุกของโรคต่ำ ค่าพยากรณ์เชิงลบก็จะยิ่งสูงขึ้น ในทางกลับกันยิ่งความชุกของโรคสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าพยากรณ์เชิงบวกก็จะยิ่งสูงตามไปด้วย และนอกจากนั้นความชุกของโรคยังอาจผันแปรตามกลุ่ม
 สุกกรที่เข้าหาละตามโรงงานต่าง ๆ และปัจจัยอื่น ๆ การแปลผลค่า Predictive values คือ

Positive predictive value (PPV) คือ ความน่าจะเป็นที่จะพบผลบวก โดยเป็นผลบวกที่
 แท้จริง จากการทดสอบโดยวิธีการที่สนใจ เทียบกับวิธีมาตรฐานหรือวิธีอื่น เช่น โอกาสหรือความ
 น่าจะเป็นของการพบรอยโรค MLL ที่แท้จริง จากการตรวจโดยวิธี Ime เทียบกับวิธีมาตรฐาน Ose

$$\% \text{Positive Predictive Value (PPV)} = [\text{TP}/(\text{TP}+\text{FP})] \times 100$$

เมื่อ TP หมายถึง ผลบวกจริง (True positive)

FP หมายถึง ผลบวกหลง (False positive)

Negative predictive value (NPV) คือ ความน่าจะเป็นที่จะพบผลลบโดยเป็นผลลบที่แท้จริง
 จากการทดสอบโดยวิธีการที่สนใจ เทียบกับวิธีการมาตรฐาน หรือวิธีอื่น เช่น โอกาสหรือความน่าจะเป็น
 เป็นของการไม่พบรอยโรค MLL ที่แท้จริง จากการตรวจโดยวิธี Ime เทียบกับวิธีมาตรฐาน Ose

$$\% \text{Negative Predictive Value (NPV)} = [\text{TN}/(\text{FN}+\text{TN})] \times 100$$

เมื่อ TN หมายถึง ผลลบจริง (True negative)

FN หมายถึง ผลลบหลง (False negative)

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการตรวจวิเคราะห์หาสารพันธุกรรมของเชื้อที่ก่อรอยโรคในปอดสุกร

ดำเนินการสุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่พบ และไม่พบรอยโรค หรือพบความผิดปกติต่าง ๆ จำนวน 54 ตัวอย่าง เพื่อนำมาตรวจวินิจฉัยแยกโรค เนื่องจากบางครั้งอาจมีการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อก่อโรคมามากกว่า 1 ชนิด ทั้งนี้เพื่อยืนยันผลการประเมินจากการตรวจสอบรอยโรคจากปอดของซากสุกรโดยผู้เชี่ยวชาญในโรงชำแหละ (On-site by expert) โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลที่มีมาตรฐานในการตรวจวินิจฉัยโรค โดยพิจารณาเลือกตามความเหมาะสมกับเชื้อโรคที่น่าจะเป็นสาเหตุของรอยโรค โดยเชื้อสาเหตุของโรคที่มีโอกาสก่อให้เกิดรอยโรคดังกล่าวที่สำคัญ คือ เชื้อ Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) และเชื้อ Porcine Circovirus type 2 (PCV2) ใช้เทคนิค RT-PCR เชื้อ *Mycoplasma spp.* (*M. hyorhinis* และ *M. hyopneumoniae*) ใช้เทคนิค Multiplex PCR และลำดับสุดท้ายเชื้อ *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) ใช้เทคนิค conventional PCR โดยผลการตรวจพบเชื้อ *M. hyopneumoniae* จำนวน 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 29.63 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด และพบเชื้อ PCV2 จำนวน 2 ตัวอย่าง โดยมี 1 ตัวอย่างที่แสดงรอยโรค MLL ในขณะที่ตรวจไม่พบเชื้อ PRRSV และ APP (ตารางที่ 4.1) ซึ่งเมื่อเทียบกับการประเมินรอยโรคปอดโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) เนื้อเยื่อปอดที่แสดงอาการของรอยโรค MLL หรือให้ผลบวกต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* อยู่ที่ 18 ตัวอย่าง ความสามารถของผู้ประเมินในการตรวจพบรอยโรคร้อยละ 83.33 (15/18) ของตัวอย่างทั้งหมดที่พบรอยโรคคล้ายไมโคพลาสมา (Mycoplasma-like lesion; MLL) แต่อย่างไรก็ตามการเก็บตัวอย่างตรวจทางห้องปฏิบัติการครั้งนี้มีการสุ่มเก็บตัวอย่างมาในสัดส่วนที่น้อย จึงไม่สามารถบ่งบอกสถานการณ์ของโรคได้ แต่ช่วยยืนยันว่ารอยโรคที่ปรากฏของการติดเชื้อ *Mycoplasma spp.* สอดคล้องกับผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการมาก จากการประเมินรอยโรคโดยผู้เชี่ยวชาญซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Luehrs *et al.* (2017) และ Pallares *et al.* (2021) ที่รายงานว่า การตรวจรอยโรค Mycoplasma-like lesion ที่โรงชำแหละร่วมกับการตรวจวินิจฉัยเพิ่มเติม ส่งผลให้พบความชุกของโรคมากขึ้น และแสดงผลเป็นบวกต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ร้อยละ 78.30 และร้อยละ 78.17 ตามลำดับ โดยหากเพิ่มจำนวนตัวอย่างส่งตรวจมากขึ้นในการศึกษาครั้งนี้ น่าจะส่งผลให้ได้ค่าที่ใกล้เคียงกับรายงานก่อนหน้านี้มากยิ่งขึ้น แต่อย่างไรก็ตามผลการตรวจนี้ช่วยบ่งบอกได้ว่า การตรวจประเมินรอยโรค MLL ที่โรงชำแหละโดยผู้เชี่ยวชาญในการศึกษาครั้งนี้ มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับที่รายงานก่อนหน้านี้ ซึ่งยังช่วยยืนยัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศักยภาพของผู้เชี่ยวชาญในการประเมินรอยโรค MLL จากปอดของซากสุกรที่โรงชำแหละของผู้เชี่ยวชาญ

นอกเหนือจากการศึกษาการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* โดยสำรวจจากการปรากฏของแอนติบอดีในซีรัม ยังมีวิธีการอื่นทางห้องปฏิบัติการ ที่สามารถทำได้ เช่น การเก็บสิ่งคัดหลั่งจากทางเดินหายใจ เพื่อเพาะเชื้อ และ/หรือการตรวจหาสารพันธุกรรม ของเชื้อด้วยปฏิกิริยา ELISA การเพาะเชื้อ *M. hyopneumoniae* ทำได้ค่อนข้างยาก เพราะเชื้อดังกล่าวเจริญได้ไม่ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Cook *et al.*, 2016) และ การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง การศึกษาการปรากฏของแอนติบอดีเป็นวิธีที่นิยมในปัจจุบันที่ใช้เพื่อศึกษาการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* (Sibila *et al.*, 2009)

ตารางที่ 4.1 แสดงจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อก่อโรคในสุกร

| Pathogen | Characteristics of lung sample positive | | | | | | | Total |
|----------|---|-------------|------------------|------------|--------------|-----|------|-------|
| | Postmortem change before/after death | | | | Gross lesion | | | |
| | Normal | Atelectasis | Blood aspiration | Congestion | Pleurisy | MLL | Hemo | |
| | 6 | 5 | 9 | 8 | 6 | 18 | 2 | 54 |
| | amount | | | | | | | |
| PRRSV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| PCV2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| Mh | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 15 | 0 | 16 |
| APP | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

หมายเหตุ: PRRS; Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV), PCV2; Porcine Circovirus type2 (PCV2) virus, Mh; *Mycoplasma M. hyopneumoniae*, APP; *Actinobacillus pleuropneumoniae*, MLL= Mycoplasma-like lesion, Hemo; Petechial hemorrhage

4.2 การเปรียบเทียบวิธีการประเมินรอยโรค (Evaluation method) โดยการจำแนกปอดชนิดไม่พบ และพบรอยโรค MLL

จากการนำข้อมูลคะแนนรอยโรคที่ได้ประเมินจาก วิธี Ose, Ime และ Ima พบว่าวิธีการประเมินทั้ง 3 วิธีเพื่อจำแนกรอยโรค MLL (พบ และไม่พบ) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยการประเมินโดยวิธี Ime และ Ima พบสัดส่วนของตัวอย่างปอดที่พบรอยโรค (ร้อยละ 43.20 และ 46.60 ตามลำดับ) ซึ่งพบในสัดส่วนที่ต่ำกว่าวิธี Ose อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

แต่ไม่พบความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) ระหว่างการประเมินรอยโรค MLL ด้วยวิธี Ime และ Ima

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ตารางที่ 4.2) ซึ่งสาเหตุน่าจะเป็นผลมาจากการประเมินโดยผู้เชี่ยวชาญโดยตรงที่โรงฆ่าและสามารถตรวจประเมินเพิ่มเติมได้ เช่น สามารถจับคลำลักษณะของเนื้อปอดได้ พลิกตัวอย่างปอดเพื่อตรวจประเมินได้ทุกทิศทางที่ต้องการ ประเมินความผิดปกติของปอดตำแหน่งอื่น ๆ ร่วมด้วย เป็นต้น ซึ่งไม่สามารถกระทำได้ในกรณีประเมินรอยโรคจากภาพถ่าย และส่งผลให้สัดส่วนของการประเมินรอยโรค MLL ที่โรงฆ่าและ มีโอกาสพบได้มากกว่าการประเมินรอยโรค MLL จากภาพถ่ายสอดคล้องกับ Lisgara *et al.* (2022) ที่ได้ศึกษาความถี่ และความรุนแรงของรอยโรคที่คล้ายรอยโรคปอดอักเสบ (enzootic pneumonia-like lesion) ในฝูงสุกรในแถบประเทศกรีซ ซึ่งพบว่าโดยปกติแล้วมักพบ EP-like lesion ใน apical, cardiac และ accessory lobe เนื้อเยื่อที่ได้รับผลกระทบจะแบ่งเขตจากเนื้อเยื่อปกติได้ชัดเจน

ตารางที่ 4.2 แสดงจำนวนปอดและร้อยละของปอดที่ไม่พบและพบรอยโรค Mycoplasma – like lesion (MLL) จากวิธีประเมินรอยโรคโดยตรงที่โรงฆ่าโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) ประเมินจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และประเมินจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)

| Evaluation method | Number of lungs (%) | | |
|-------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| | No MLL | MLL | Total |
| Ose | 239 (47.80%) ^a | 261 (52.20%) ^b | 500 |
| Ime | 284 (56.80%) ^b | 216 (43.20%) ^a | 500 |
| Ima | 272 (54.40%) ^b | 228 (46.60%) ^a | 500 |

หมายเหตุ: ^{ab} ร้อยละที่มีตัวอักษรยกต่างกันในแนวแถว มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

4.3 การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการประเมินรอยโรค MLL ด้วยวิธี Ose, Ime และ Ima โดยพิจารณาโดยรวมของทุกส่วนของปอดสุกร โดยการจำแนกประเภทปอดที่ปกติ และปอดพบ Mycoplasma-like lesion (MLL)

จากการประเมินรอยโรคจากตัวอย่างปอด ทั้งหมดจำนวน 500 ตัวอย่าง ($n=500$) ด้วย 3 วิธีที่แตกต่างกัน คือ Ose, Ime และ Ima จากนั้นนำผลที่ทำการคัดแยกจำนวนตัวอย่าง ระหว่างปอดที่ไม่พบรอยโรค MLL (No MLL) และปอดที่พบรอยโรค MLL (MLL) โดยมีหลักเกณฑ์ คือ หากพบรอยโรค MLL อย่างน้อย 1 พู (จากทั้งหมด 7 พู) ถือว่าให้ผลพบรอยโรค MLL (MLL) ผลการศึกษา (ตารางที่ 4.3, 4.4 และ 4.5) พบว่าระดับความสอดคล้อง ระดับความสอดคล้อง (Landis and Koch, 1977) ระหว่างการประเมินด้วยวิธี Ose กับ Ime, Ose กับ Ima และ Ime กับ Ima มีค่าเป็น 0.678 (ระดับดี), 0.725 (ระดับดี) และ 0.951 (ระดับดีมาก) และเพื่อประเมินประสิทธิภาพ และความแม่นยำของวิธีการประเมิน จึงได้พิจารณา ค่าความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) ค่า

PPV (โอกาสที่ผลตรวจประเมินเป็นบวก แล้วตรงกับผลบวกจริง หรือค่าทำนายผลบวก) และค่า NPV (โอกาสที่ผลตรวจประเมินเป็นลบ แล้วตรงกับผลลบจริง หรือค่าทำนายผลลบ) และค่า NPV ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(โอกาสที่ผลตรวจประเมินเป็นลบ แล้วตรงกับผลลบจริง หรือค่าทำนายผลลบ) ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบระหว่างวิธี Ime กับ Ima ผลพบว่าให้ค่าดังกล่าวสูงสุด ซึ่งเป็นวิธีประเมินคะแนนรอยโรคจากภาพถ่ายปอดเหมือนกัน แต่ต่างกันเพียงการวัดโดยผู้เชี่ยวชาญ และแอปพลิเคชันตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการประเมินของด้วยแอปพลิเคชันสามารถทำได้ดี เมื่อเทียบกับการประเมินโดยผู้เชี่ยวชาญจากภาพ โดยการประเมินด้วยวิธี Ima สามารถให้คะแนนได้ละเอียดมากกว่าวิธี Ose ด้วย เมื่อสังเกตค่าความไว ความจำเพาะ ค่า PPV, NPV เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง Ima กับ Ose มีความสอดคล้องได้ในระดับดี (Kappa=0.73) ทั้งนี้การคัดแยกรอยโรคด้วยวิธี Ose ถือว่าเป็นวิธีมาตรฐาน และให้ผลการพบโรคได้มากกว่าการประเมินด้วย วิธี Ime, Ima (ตารางที่ 4.3) ซึ่งสอดคล้อง หรือสนับสนุนผลการศึกษาร้อยละของจำนวนตัวอย่างปอดสุกรที่พบรอยโรค MLL (ในหัวข้อเรื่อง 4.2)

ตารางที่ 4.3 แสดงจำนวน และร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) โดยการเปรียบเทียบระหว่างวิธีการประเมินรอยโรค MLL คือ จากผู้เชี่ยวชาญ (Ose) จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากแอปพลิเคชันโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ima)

| | Ose ^Y vs. Ime | Ose ^Y vs. Ima | Ime ^Y vs. Ima |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| True Positive (TP) | 198 | 210 | 216 |
| True Negative (TN) | 221 | 221 | 272 |
| False Positive (FP) | 18 | 18 | 12 |
| False Negative (FN) | 63 | 51 | 0 |
| Sensitivity (%) | 75.86 | 80.46 | 100 |
| Specificity (%) | 92.47 | 92.47 | 95.77 |
| Predictive Values | | | |
| PPV (%) | 91.67 | 92.11 | 94.74 |
| NPV (%) | 77.82 | 81.25 | 100 |
| Kappa coefficient | 0.68*** | 0.73*** | 0.95*** |

หมายเหตุ: PPV = Positive predictive value, NPV= Negative predictive value , vs. = versus

^Y วิธีมาตรฐานที่ใช้สำหรับการเปรียบเทียบ

*** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง (P<0.001)

จากรายงานของ Ghidini *et al.* (2023) ที่พบความสอดคล้องระหว่างการประเมินโดยใช้สายตา และการสัมผัส (Visual-palpation) กับการประเมินด้วยสายตาอย่างเดียว (Visual-only) มีความสอดคล้องกัน (Kappa) ในระดับดี (Kappa = 0.698) โดยการประเมินด้วยสายตาอย่างเดียว พบสัดส่วนปอดที่ปกติสูงกว่าการประเมินโดย Visual-palpation ในขณะที่พบสัดส่วนปอดที่มีรอยโรคต่ำ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กว่า และได้สรุปว่าการประเมินโดยใช้สายตาอย่างเดียว ส่งผลดีในการลดความเสี่ยงของการปนเปื้อน เชื้อจากการสัมผัสปอดระหว่างกระบวนการประเมิน และเหมาะสมกับการตรวจประเมินในโรงฆ่าขนาดใหญ่ที่มีจำนวนซากสุกรจำนวนมากในสายการผลิต

4.4 การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการประเมินรอยโรค MLL ด้วยวิธี Ose, Ima และ Ima โดยพิจารณาจากปอดแต่ละพู (lobe) โดยการจำแนกประเภทปอดที่ปกติ (No MLL) และ ปอดที่พบรอยโรค MLL (MLL)

การเกิดรอยโรค MLL เป็นที่ทราบกันดีว่า มักพบรอยโรค MLL ที่ปอดพูทางด้านหน้า และ ด้านล่างของพูปอด โดยส่วนมากมักส่งผลกระทบต่อปอดส่วน Apical lobe, Middle lobe และ บางส่วนของ Caudal lobe ดังนั้นพูของปอด (lobe) อาจส่งผลกระทบต่อผลการประเมินรอยโรค MLL จึงได้วิเคราะห์ระดับความสอดคล้อง (Strength of agreement) พร้อมกับการประเมินค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) เพื่อการขยายผลการเปรียบเทียบวิธีการประเมิน รอยโรค MLL เพื่อยืนยันความสอดคล้องในการจำแนกลักษณะปอดโดยแบ่งปอดออกเป็นด้านซ้าย และด้านขวา ซึ่งมี Apical, Middle, Caudal Lobe และส่วนด้านหลัง Accessory lobe รวมเป็น 7 ส่วน ดังนี้

4.4.1 ปอดส่วนบน (Apical Lobe) ทั้งด้านซ้าย และขวา

จากการวิเคราะห์ จำนวน และร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด (No MLL, MLL) เปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากซากปอด apical lobe โดยผู้เชี่ยวชาญ และจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose กับ Ima) ผลพบว่าการประเมินรอยโรคจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ima) มีค่า sensitivity 86.30%, specificity 93.91% เมื่อเทียบกับวิธีการประเมินด้วย Ose ซึ่งผลใกล้เคียงกันเมื่อเทียบกับด้านขวาเล็กน้อยที่ sensitivity 94.7%, specificity 98.84% และพบว่าค่า การยอมรับทางสถิติ (Kappa value) ทั้งด้านซ้าย และขวา พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.735 และ 0.879 ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีระดับความสอดคล้อง (Strength of agreement) อยู่ในระดับดี และดีมาก ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ จำนวน และร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ระหว่างผล การประเมินรอยโรค MLL จากปอดส่วน apical lobe โดยผู้เชี่ยวชาญและการประเมินจากแอปพลิเคชันโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose กับ Ima) ผลพบว่าการประเมินรอยโรคปอดด้านซ้ายด้วยวิธี Ima มีค่า Sensitivity 84.21% specificity 94.10% ในทำนองเดียวกัน ด้านขวามีค่า sensitivity 93.38 % และค่า specificity 94.27% ซึ่งอธิบายได้ว่า วิธี Ima มีความไวในการตรวจพบรอยโรคใกล้เคียงกับ Ose เช่นเดียวกัน และพบว่าค่าการยอมรับทางสถิติ (Kappa value) ทั้งด้านซ้าย และขวา เท่ากับ 0.732 และ 0.86 ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีขนาดความสอดคล้อง (Strength of agreement) อยู่ในระดับ ดี และดีมากตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ จำนวน และร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด เปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากภาพปอด apical lobe โดยผู้เชี่ยวชาญ และจากแอปพลิเคชันโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime กับ Ima) ผลพบว่าการประเมินค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของทั้งด้านซ้าย มีค่า Sensitivity 96.05% Specificity 100% ในทางเดียวกันพบว่าด้านขวามีค่า sensitivity 98.68% และค่า Specificity 99.43% และเมื่อนำผลเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มวิธีการประเมิน Ima กับ Ose นำมาคำนวณเพื่อหาค่าการยอมรับทางสถิติ (Kappa value) ทั้งด้านซ้าย และขวา พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.976 และ 0.981 ซึ่งถือว่ามีความสอดคล้อง (Strength of agreement) อยู่ในระดับดีมาก almost perfect agreement

ทั้งนี้จากผลการเปรียบเทียบระหว่างวิธี Ose กับ Ime, Ose กับ Ima, Ime กับ Ima พบว่าการประเมินค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) มีค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง Ime กับ Ima โดยพบความสอดคล้องของผลการทดสอบ (Kappa value) ที่ระดับดีมาก ซึ่งพบความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกับหัวข้อเรื่องที่ 4.3 เป็นการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการประเมินรอยโรคด้วย 3 วิธี โดยพิจารณาภาพรวมของปอดสุกรซึ่งพบค่าความสอดคล้องในระดับดีมาก

ตารางที่ 4.4 แสดงจำนวนและร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) โดยเปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากปอดพู Apical ของซอกสูกร โดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose), จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)

| | Left Apical Lung Lobe | | | Right Apical Lung Lobe | | |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Ose ^γ vs. Ime | Ose ^γ vs. Ima | Ime ^γ vs. Ima | Ose ^γ vs. Ime | Ose ^γ vs. Ima | Ime ^γ vs. Ima |
| True Positive (TP) | 63 | 64 | 73 | 143 | 141 | 149 |
| True Negative (TN) | 401 | 399 | 424 | 331 | 329 | 347 |
| False Positive (FP) | 10 | 12 | 3 | 8 | 10 | 2 |
| False Negative (FN) | 26 | 25 | 0 | 18 | 20 | 2 |
| Sensitivity (%) | 70.79 | 71.91 | 100.00 | 88.82 | 87.58 | 98.68 |
| Specificity (%) | 97.57 | 97.08 | 99.30 | 97.64 | 97.05 | 99.43 |
| Predictive Values | | | | | | |
| PPV | 86.30 | 84.21 | 96.05 | 94.70 | 93.38 | 98.68 |
| NPV | 93.91 | 94.10 | 100.00 | 94.84 | 94.27 | 99.43 |
| Kappa coefficient | 0.74*** | 0.73*** | 0.98*** | 0.88*** | 0.86*** | 0.98*** |

หมายเหตุ: PPV = Positive predictive value, NPV= Negative predictive value , vs. = versus

^γ วิธีมาตรฐานที่ใช้สำหรับการเปรียบเทียบ

*** มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งยวด (P<0.001)

4.4.2 ปอดส่วนกลาง (Middle Lobe) ทั้งด้านซ้าย และขวา

จากการวิเคราะห์ จำนวน และร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากซากปอด Middle lobe โดยผู้เชี่ยวชาญ และจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose กับ Ime) การประเมินค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของทั้ง 2 ด้านของปอด พบว่าด้านซ้ายมีค่า Sensitivity 80.11% Specificity 93.73% ใกล้เคียงกับด้านขวาที่มีค่า sensitivity 89.27% และค่า Specificity 96.90% และเมื่อนำผลเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มวิธีการประเมิน Ose กับ Ime นำมาคำนวณเพื่อหาค่าการยอมรับทางสถิติ (Kappa value) ทั้งด้านซ้าย และขวา พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.75 และ 0.87 ซึ่งถือว่ามีความสอดคล้อง (Strength of agreement) อยู่ในระดับดี และระดับดีมาก ตามลำดับ

กรณีการเปรียบเทียบวิธีการประเมินรอยโรค MLL จากส่วน Middle lobe ของปอดด้านซ้าย และขวา โดยผู้เชี่ยวชาญ และจากแอปพลิเคชันโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose กับ Ima) พร้อมการประเมินค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของทั้ง 2 ด้านของปอด พบว่าด้านซ้ายมีค่า Sensitivity 79.56% Specificity 93.42% ใกล้เคียงกับด้านขวาที่มีค่า sensitivity 88.70% และค่า Specificity 96.28% และเมื่อนำมาคำนวณเพื่อหาค่าการยอมรับทางสถิติ (Kappa value) ทั้งด้านซ้ายและขวา พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.74 และ 0.86 ซึ่งถือว่ามีความสอดคล้อง (Strength of agreement) อยู่ในระดับดี และดีมาก ตามลำดับ

กรณีวิเคราะห์ จำนวน และร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากภาพปอด Middle lobe โดยผู้เชี่ยวชาญ และจากแอปพลิเคชันโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime กับ Ima) ผลพบว่าการประเมินตัวอย่างปอดด้านซ้ายมีค่าความไว (Sensitivity) 98.79% และค่าความจำเพาะ (Specificity) 99.40% ซึ่งใกล้เคียงกันมากกับด้านขวาที่มีค่า sensitivity 99.40% และค่า Specificity 99.40% และเมื่อนำผลเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มวิธีการประเมิน Ima กับ Ime พบค่าการยอมรับทางสถิติ (Kappa value) ทั้งด้านซ้ายและขวา มีค่าเท่ากับ 0.982 และ 0.987 ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีความสอดคล้อง (Strength of agreement) อยู่ในระดับดีมากเหมือนกัน (Almost perfect agreement) ทั้งด้านซ้าย และขวา

ดังนั้นจากการเปรียบเทียบวิธีการประเมินรอยโรค MLL ของปอดส่วน Middle lobe ทั้งด้านซ้าย และด้านขวาแสดงให้เห็นว่าวิธีการประเมิน Ima มีความสอดคล้องกันมากเมื่อเทียบกับวิธี Ime ทั้งนี้ผลที่ได้มีความสัมพันธ์กับผลวิเคราะห์ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงจำนวนและร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) เปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากปอดพู่ Middle ของซากสุกรโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose), จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)

| | Left Middle Lung Lobe | | | Right Caudal Lung Lobe | | | |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|
| | Ose ^γ vs. Ime | Ose ^γ vs. Ima | Ime ^γ vs. Ima | Ose ^γ vs. Ime | Ose ^γ vs. Ima | Ime ^γ vs. Ima | |
| True Positive (TP) | 145 | 144 | 163 | True Positive (TP) | 158 | 157 | 167 |
| True Negative (TN) | 299 | 298 | 333 | True Negative (TN) | 313 | 311 | 330 |
| False Positive (FP) | 20 | 21 | 2 | False Positive (FP) | 10 | 12 | 2 |
| False Negative (FN) | 36 | 37 | 2 | False Negative (FN) | 19 | 20 | 1 |
| Sensitivity (%) | 80.11 | 79.56 | 98.79 | Sensitivity (%) | 89.27 | 88.70 | 99.40 |
| Specificity (%) | 93.73 | 93.42 | 99.40 | Specificity (%) | 96.90 | 96.28 | 99.40 |
| Predictive Values | | | | Predictive Values | | | |
| PPV | 87.88 | 87.27 | 98.79 | PPV | 94.05 | 92.90 | 98.82 |
| NPV | 89.25 | 88.96 | 99.40 | NPV | 94.28 | 93.96 | 99.70 |
| Kappa coefficient | 0.75*** | 0.74*** | 0.98*** | Kappa coefficient | 0.87*** | 0.86*** | 0.9***9 |

หมายเหตุ: PPV = Positive predictive value, NPV= Negative predictive value , vs. = versus

^γ วิธีมาตรฐานที่ใช้สำหรับการเปรียบเทียบ

*** มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งยวด (P<0.001)

4.4.3 ปอดส่วนท้าย (Caudal Lobe) ทั้งด้านซ้าย ด้านขวา

จากการวิเคราะห์ จำนวน และร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากซากปอด Caudal lobe โดยผู้เชี่ยวชาญ และจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose กับ Ime) พร้อมการประเมินค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของทั้ง 2 ด้านของปอด พบว่าด้านซ้ายมีค่า Sensitivity 51.92% Specificity 97.54% ใกล้เคียงกับด้านขวา ที่มีค่า sensitivity 68.49% และค่า Specificity 98.59% และเมื่อนำผลเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มวิธีการประเมิน Ose กับ Ime นำมาคำนวณเพื่อหาค่าความสอดคล้อง (Kappa value) ด้านซ้าย Kappa=0.56 ซึ่งถือว่ามีความสอดคล้องในระดับปานกลาง (moderate agreement) และส่วนด้านขวาถือว่ามีความสอดคล้องดีกว่าเล็กน้อย Kappa=0.74 สอดคล้องกันในระดับดี

เมื่อเปรียบเทียบผลการประเมินรอยโรค MLL จากซากปอดส่วน Caudal lobe โดยผู้เชี่ยวชาญ และจากแอปพลิเคชันโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose กับ Ima) ผลพบว่าตัวอย่างปอดด้านซ้าย พบว่าการประเมินค่าความไว (Sensitivity) เท่ากับ 51.92 % และความจำเพาะ (Specificity) 97.54 % ใกล้เคียงกับด้านขวาที่มีค่า sensitivity 67.12% และค่า Specificity 97.19% และเมื่อนำผลเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มวิธีการประเมิน Ose กับ Ima มาคำนวณเพื่อหาค่าความสอดคล้อง (Kappa value) ทั้งด้านซ้าย และขวา พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.56 และ 0.69 ซึ่งถือว่ามีความสอดคล้อง (Strength of agreement) อยู่ในระดับดี substantial agreement

กรณีวิเคราะห์เปรียบเทียบ จำนวน และร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากภาพปอด Middle lobe โดยผู้เชี่ยวชาญ (Ima) และจากแอปพลิเคชันโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) การประเมินค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของทั้ง 2 ด้านของปอด พบว่าด้านซ้ายมีค่า Sensitivity 100% Specificity 99.30% ใกล้เคียงกับด้านขวาที่มีค่า sensitivity 98.21% และค่า Specificity 98.65% และค่าความสอดคล้อง (Kappa value) ทั้งด้านซ้าย และขวา พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.98 และ 0.93 ซึ่งถือว่ามีความสอดคล้อง (Strength of agreement) อยู่ในระดับดีมาก (substantial agreement)

จากผลที่เปรียบเทียบวิธีการประเมินทั้ง 3 วิธีคือ Ose, Ime และ Ima ของจำนวนการตรวจประเมินรอยโรค โดยการคัดแยกรอยโรคปอดที่พบ และไม่พบรอยโรค แต่ละส่วนของปอดนั้นพบว่า ทั้งด้านซ้ายและขวา ให้ผลความสอดคล้องกันในระดับดี ส่งผลให้มีค่าความไว และค่าความจำเพาะที่ใกล้เคียงกัน และพบว่าค่าความสอดคล้องระหว่างวิธีการประเมิน Ose กับ Ime และ Ose กับ Ima ให้ผลต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง Ime กับ Ima เนื่องจากการประเมินรอยโรค MLL ทั้งสองวิธี เป็นการประเมินจากภาพเดียวกัน (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 แสดงจำนวนและร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) เปรียบเทียบระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากซากปอดพู Caudal ของซากสุกรโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) และจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และ จากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)

| | Left Caudal Lung Lobe | | | Right Caudal Lung Lobe | | | |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|
| | Ose ^γ vs. Ime | Ose ^γ vs. Ima | Ime ^γ vs. Ima | Ose ^γ vs. Ime | Ose ^γ vs. Ima | Ime ^γ vs. Ima | |
| True Positive (TP) | 27 | 27 | 73 | True Positive (TP) | 50 | 49 | 55 |
| True Negative (TN) | 437 | 437 | 424 | True Negative (TN) | 421 | 415 | 438 |
| False Positive (FP) | 11 | 11 | 3 | False Positive (FP) | 6 | 12 | 6 |
| False Negative (FN) | 25 | 25 | 0 | False Negative (FN) | 23 | 24 | 1 |
| Sensitivity (%) | 51.92 | 51.92 | 100.00 | Sensitivity (%) | 68.49 | 67.12 | 98.21 |
| Specificity (%) | 97.54 | 97.54 | 99.30 | Specificity (%) | 98.59 | 97.19 | 98.65 |
| Predictive Values | | | Predictive Values | | | | |
| PPV | 71.05 | 71.05 | 96.05 | PPV | 89.29 | 80.33 | 90.16 |
| NPV | 94.59 | 94.59 | 100.00 | NPV | 94.82 | 94.53 | 99.77 |
| Kappa coefficient | 0.56*** | 0.56*** | 0.98*** | Kappa coefficient | 0.74*** | 0.69*** | 0.93*** |

หมายเหตุ: PPV = Positive predictive value, NPV= Negative predictive value , vs. = versus

^γ วิธีมาตรฐานที่ใช้สำหรับการเปรียบเทียบ

*** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งยวด (P<0.001)

4.4.4 ปอดด้านล่าง (Ventral) ส่วน Accessory Lobe

จากการพิจารณา อวัยวะปอดสุกร ในทางสัณฐานวิทยา ได้ระบุไว้ว่า ส่วนของปอดด้านขวา จะมีทั้งหมด 4 Lobe คือ Apical, Middle, Caudal, และ Accessory Lobe จึงนำมาคำนวณ จำนวน และร้อยละของการตรวจพบ หรือไม่พบรอยโรค MLL จากปอด และคำนวณความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) ของการเปรียบเทียบวิธีการ ประเมินรอยโรค MLL ด้วย Ose กับ Ime ซึ่งมีค่า Sensitivity 83.05% Specificity 97.91% และมีความสอดคล้อง (Strength of agreement) เท่ากับ 0.84 ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับดีมาก (almost perfect agreement) ซึ่งค่าใกล้เคียงกับการเปรียบเทียบจากวิธี Ose กับ Ima ให้ผลค่า Sensitivity 81.36%, ค่า Specificity 97.91% และมีขนาดความสอดคล้อง (Strength of agreement) ที่ 0.83 ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับดีมาก และลำดับสุดท้ายความสัมพันธ์ระหว่างวิธี Ima กับ Ime มีค่า Sensitivity 97.17%, ค่า Specificity 99.75% และมีขนาดความสอดคล้อง (Strength of agreement) 0.98 ซึ่งอยู่ในระดับดีมาก (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 แสดงจำนวน และร้อยละของการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรคจากปอด ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความสอดคล้อง (Kappa coefficient) ระหว่างผลการประเมินรอยโรค MLL จากปอดพู Accessory ของซากสุกร โดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) และจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)

| Accessory lobe of right lung | | | |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Ose ^γ vs. Ime | Ose ^γ vs. Ima | Ime ^γ vs. Ima |
| True Positive (TP) | 98 | 96 | 103 |
| True Negative (TN) | 374 | 374 | 393 |
| False Positive (FP) | 8 | 8 | 1 |
| False Negative (FN) | 20 | 22 | 3 |
| Sensitivity (%) | 83.05 | 81.36 | 97.17 |
| Specificity (%) | 97.91 | 97.91 | 99.75 |
| Predictive Values | | | |
| PPV (%) | 92.45 | 92.31 | 99.04 |
| NPV (%) | 94.92 | 94.44 | 99.24 |
| Kappa coefficient | 0.84*** | 0.83*** | 0.98*** |

หมายเหตุ: PPV = Positive predictive value, NPV= Negative predictive value , vs. = versus

^γ วิธีมาตรฐานที่ใช้สำหรับการเปรียบเทียบ

*** มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งยวด (P<0.001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งนี้จากรายงานข้างต้น เห็นได้ว่า ปอดด้านล่าง (Ventral) ส่วน Accessory Lobe ให้ผลสูงสุด เมื่อเทียบกับ Lobe อื่น ๆ เนื่องจากการเปรียบเทียบแต่ละวิธีมีความสอดคล้องกันมากที่สุด อาจเกิดจากมุมมองจากภาพที่สามารถมองเห็นได้ใกล้เคียง กับการประเมินจากปอด ณ โรงชำแหละโดยตรง ทำให้การประเมินออกมาได้ง่าย

ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์ จำนวน และร้อยละ ทั้ง 7 Lobe แสดงให้เห็นว่าแต่ละพู ของทั้ง ด้านซ้ายและขวา ไม่มีผลต่อการประเมินรอยโรค MLL ทั้ง 3 วิธี คือ Ose, Ime และ Ima โดยค่าความไว ค่าความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก (PPV) ค่าทำนายผลลบ (NPV) และค่าความสอดคล้อง มีค่าสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างวิธี Ime กับ Ima ซึ่งเป็นวิธีประเมินจากภาพถ่ายเดียวกัน การประเมินจึงสอดคล้องกันมากที่สุด แต่ในทางตรงกันข้ามระดับความสอดคล้อง และค่าต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น มีค่าต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง Ose กับ Ime และ Ose กับ Ima ซึ่งหมายความว่าพูปอด (lobe) มิได้ส่งผลกระทบต่อประเมินทั้งสามวิธี แต่มีความเป็นไปได้ที่จะขึ้นอยู่กับปริมาณการปรากฏของ รอยโรคบริเวณแต่ละพูปอด ที่มีผลต่อความสามารถในการประเมิน หากพบในปริมาณที่น้อย หรือ แสดงอาการที่คล้ายคลึงกับรอยโรคชนิดอื่น ดังการศึกษาของ นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย และคณะ (1994) ได้รายงานระดับความรุนแรงของรอยโรค และจำนวนการกระจายของรอยโรค ในกลุ่มควบคุม (control) เมื่อวิเคราะห์แยกตาม Lobe พบว่า middle Lobe แสดงรอยโรคปอดสูงสุด รองลงมา ได้แก่ apical lobe , accessory lobe และ caudal lobe แต่ไม่พบความแตกต่างของการปรากฏ รอยโรคปอดในแต่ละข้าง ซึ่งช่วงระดับความรุนแรงของรอยโรคที่พบเป็นส่วนใหญ่ ช่วงความรุนแรง 0-30% ซึ่งจะเห็นได้ว่าปอดส่วน Apical และ Middle Lobe จะพบผลกระทบจากการติดเชื้อ *Mycoplasma hyopneumoniae* เป็นส่วนมาก แต่ Caudal Lobe มักจะได้รับผลกระทบจากรอยโรคน้อยกว่าส่วนอื่นๆ เนื่องจากตามหลักการทางกายวิภาคของปอดสุกร (Anatomy) การแสดงรอยโรคที่เกิดจากเชื้อ *M. hyopneumoniae* มักจะเกิดด้านบนของปอดก่อน โดยทำลาย Cilia ในระบบทางเดินหายใจ และมักเป็นสาเหตุให้เกิดการสร้างสิ่งขับหลัง อุดภายในหลอดลม และถุงลมฝอยทำให้ปอดอักเสบ จากนั้นไหลลงจากทางเดินหายใจส่วนบน ลงมาตามทางเดินหายใจจนถึงส่วนล่าง ส่งผลให้เกิดรอยโรคช่วงด้านบนก่อน และการที่ Caudal Lobe ที่มีขนาดใหญ่ การประเมินอาจจะชัดเจนได้ไม่มากเท่า lobe อื่น ๆ และอาจตีความอีกนัยหนึ่งได้เช่นกันว่า การประเมิน Ime กับ Ima อาจมี Error ที่คล้ายกัน ส่งผลให้คะแนนสอดคล้องกันมากที่สุด อย่างไรก็ตามจึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านระบบประเมินที่นำมาใช้ เพื่อหาปัจจัยที่อาจส่งผลให้เกิดความผิดพลาดได้เพิ่มเติม

4.5 ผลสัดส่วนของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรค MLL และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) จากการประเมินรอยโรค ทั้งหมด 3 วิธี

จากการดำเนินการตรวจประเมินรอยโรค Mycoplasma-like lesions ที่บริเวณปอดของซากสุกรจำนวน 500 ตัวอย่าง พบรอยโรคที่บริเวณ apical และ middle lobe เป็นส่วนใหญ่ โดยปอดข้างซ้ายพบรอยโรคที่ตำแหน่ง Apical และ Middle lobe จำนวน 101 และ 201 ตัวอย่าง ตามลำดับ ในทางเดียวกันกับปอดด้านขวาที่พบรอยโรค MLL จำนวนมากในตำแหน่ง Apical และ Middle Lobe จำนวน 171 และ 190 ตัวอย่าง ทั้งนี้ผลเปรียบเทียบวิธีการประเมินระหว่าง Ose, Ime และ Ima มีสัดส่วนของรอยโรค MLL ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ยกเว้นการประเมินรอยโรค MLL ของปอดด้านซ้ายส่วน Caudal Lobe ได้รับการประเมินรอยโรค MLL ด้วยวิธี Ose, Ime และ Ima แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยพบว่าผลการประเมินรอยโรคดังกล่าวด้วยวิธี Ose, Ime และ Ima ให้คะแนนเฉลี่ยที่ 4.86, 2.67 และ 2.48 ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสัดส่วนของปอดด้านท้าย (Caudal lobe) มีขนาดใหญ่กว่าผู้อื่น ๆ และมักปรากฏ MLL ในสัดส่วนน้อยกว่าผู้อื่น ๆ เนื่องจากกลไกการเกิดรอยโรค MLL เกิดจากสารคัดหลั่งเกิดขึ้น จากการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในตอนต้นของระบบทางเดินหายใจ จากนั้นไหลลงในปอดทางด้านหน้าส่วนบน ก่อนลงสู่ตอนล่างของปอดตามแรงโน้มถ่วงของโลก โดยจะส่งผลกระทบต่อปอดทางด้านท้าย (Caudal lobe) เมื่อสารคัดหลั่งล้นจาก Apical lobe และ Middle lobe แล้วจึงไหลเข้าสู่ Caudal lobe การพบสัดส่วนพื้นที่ของรอยโรคในปริมาณที่สูงของ Caudal lobe นี้ มักสัมพันธ์กับการติดเชื้อชนิดอื่น เช่น *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Lium *et al.*, 1991)

โดยการศึกษาครั้งนี้พบว่าผลการประเมินรอยโรค MLL เป็นร้อยละของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรคส่วนท้าย (caudal lobe) ของปอดข้างขวา ร้อยละ 6.58, 5.44 และ 5.57 จากการประเมินรอยโรคปอดทั้ง 3 วิธี Ose, Ime และ Ima ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามมีโอกาสเป็นไปได้ที่หากพื้นที่ได้ปรากฏรอยโรคมากขึ้น ส่งผลให้การประเมินโดยตรงจากซาก และภาพถ่าย มีความใกล้เคียงกันมากขึ้น และจากการพบการปรากฏของรอยโรคที่ค่อนข้างน้อย ส่งผลให้ผลการประเมินคะแนนที่ต่ำลงจากสัดส่วนพื้นที่ของรอยโรค ซึ่งเป็นผลมาจากกลไกการเกิดรอยโรคภายในปอด ดังที่ Christensen *et al.* (1999) ได้ให้เกณฑ์คะแนนของปอดส่วน caudal Lobe ที่สูงถึงช่วง 30-35% ซึ่งด้านซ้าย และด้านขวาโดยที่มีค่าแต่ละด้านไม่เท่ากัน ซึ่งสอดคล้องกับการให้คะแนนของ Morrison *et al.* (1985) อยู่ที่ 30-32% ของพื้นที่ปอดทั้งหมดรวมทั้งซ้ายและขวา ถือว่ามีพื้นที่ถึง 60-70% ของพื้นที่ปอดทั้งหมด

การประเมินความสัมพันธ์ของวิธีการประเมินรอยโรค ในทุกส่วนของปอด พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างวิธีการประเมินโดยตรงจากซาก (Ose) การประเมินจากภาพ (Ime) และการประเมินจากแอปพลิเคชัน (Ima) และมีความสัมพันธ์มาก (very strong) ในเชิงวิทยาการทางการแพทย์ (Akoglu, 2018) ของการประเมินรอยโรคจากภาพทั้ง 3 วิธี ($r = 0.939 - 0.995$) ยกเว้นการเปรียบเทียบวิธีการประเมิน Ose กับ Ime และ Ose กับ Ima บริเวณพื้นที่ของ Caudal Lobe มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ต่ำ ($r = 0.105, r = 0.110$ ตามลำดับ) และพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เกิดจากสัดส่วนของรอยโรคที่ถูกประเมินคะแนนบริเวณที่มีขนาดใหญ่อย่าง Caudal lobe ส่งผลให้การประเมินด้วยวิธี Ose ที่ไม่สอดคล้องกับ Ima และ Ime อย่างไรก็ตามยังพบความสัมพันธ์ระดับสูงมาก เมื่อเปรียบเทียบการประเมินรอยโรคระหว่างวิธี Ime กับ Ima ($r = 0.984$) ของบริเวณปอดดังกล่าว ซึ่งอธิบายได้ว่า มีโอกาสที่จะพบคะแนนปอดใกล้เคียงกันระหว่าง 2 วิธีดังกล่าว ทั้งนี้ น่าจะเป็นผลมาจากการปฏิบัติงานโดยใช้วิธี Ose ที่ต้องอาศัยทักษะในการประเมินรอยโรคที่มีขนาดไม่แน่นอน ทั้งยังมีขนาดเล็ก พื้นที่ไม่แน่นอน เป็น lobe ที่ต้องอาศัยการสังเกตลักษณะ 3 มิติพร้อมด้วย จึงเห็นได้ว่าการประเมินภาพจึงจำเป็นต้องศึกษาต่อด้านการพัฒนาการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี และต้องอาศัยจำนวนตัวอย่างของปอดสุกรจากโรงชำแหละมากขึ้น จึงจะมีโอกาสสร้างโมเดล หรือแบบจำลองแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจจากปอดจริงและจากภาพปอดได้ เพื่อทำนายผลการประเมินได้ดียิ่งขึ้น แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้การประเมินรอยโรคที่โรงชำแหละมีเวลาสำหรับการประเมินต่อซากค่อนข้างจำกัด จึงน่าจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการประเมินรอยโรคลดลง แต่ความถูกต้องของการประเมินรอยโรคมีโอกาสมากกว่าการประเมินรอยโรคจากภาพถ่าย เนื่องจากสามารถตรวจสอบสัมผัสหรือเปลี่ยนมุมมองบนตัวอย่างได้ นอกจากนี้หากปรับการประเมินรอยโรคที่โรงชำแหละโดยให้ผู้ประเมินมองซากในทิศทางตั้งฉากกับระนาบของปอด น่าจะช่วยลดความแตกต่างของการประเมินรอยโรคจากภาพได้ระดับหนึ่ง

ตารางที่ 4.8 แสดงสัดส่วนของพื้นที่ปอดที่พบโรค Mycoplasma-like lesion (MLL) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของการวัดโดยวิธีประเมินโดยตรงที่โรงฆ่าและโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) ประเมินจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และประเมินจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)

| Lung lobe | Number (n) | Area proportion of MLL | | | | Correlation coefficient (r) | | | |
|--------------|------------|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|
| | | Ose | Ime | Ima | SEM | Ose ^γ vs. Ime | Ose ^γ vs. Ima | Ime ^γ vs. Ima | |
| Left side | Apical | 101 | 15.26 | 17.21 | 17.17 | 1.033 | 0.944** | 0.935** | 0.987** |
| | Middle | 201 | 23.46 | 26.96 | 27.44 | 0.870 | 0.940** | 0.932** | 0.986** |
| | Caudal | 63 | 4.86 ^b | 2.67 ^a | 2.48 ^a | 0.309 | 0.105 | 0.110 | 0.984** |
| Right side | Apical | 171 | 20.04 | 22.20 | 22.55 | 0.797 | 0.939** | 0.930** | 0.993** |
| | Middle | 190 | 23.71 | 26.84 | 27.05 | 0.803 | 0.954** | 0.949** | 0.995** |
| | Caudal | 89 | 6.58 | 5.44 | 5.57 | 0.533 | 0.924** | 0.906** | 0.981** |
| Intermediate | 124 | 35.44 | 33.70 | 33.48 | 1.383 | 0.963** | 0.958** | 0.992** | |

หมายเหตุ : ^{ab} ตัวอักษรยกในแถวเดียวกันที่ต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

^γ วิธีมาตรฐานที่ใช้สำหรับการเปรียบเทียบ

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01)

4.6 การเปรียบเทียบคะแนนที่ได้จากระบบการให้คะแนนทั้ง 6 ระบบ กับวิธีการประเมินที่แตกต่างกัน

จากการประเมินความแตกต่างระหว่างวิธีการประเมิน (Evaluation method) ภายใต้ระบบการให้คะแนน (Scoring system) ผลการศึกษา (ตารางที่ 4.9) พบว่าคะแนนที่ได้จากวิธี Ime มีค่าต่ำที่สุด ($P < 0.05$) โดยวิธี Ima มักได้คะแนนที่สูงขึ้นมา และโดยวิธี Ima มักได้คะแนนสูงสุด ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับผลการประเมิน (ไม่ได้แสดงผล) โดยวิธี Ose ที่มีสัดส่วนพื้นที่ที่พบรอยโรค MLL ต่างจากค่าที่วัดได้จากวิธี Ime และ Ima โดยน่าจะมีความเสี่ยงจากการวัดโดยวิธี Ose ดำเนินการวัดภายใต้ข้อจำกัดด้านเวลาที่ต้องเร่งประเมินรอยโรค เพื่อไม่ให้เกิดการชะงักหรือห้วงการไหลของตัวอย่างไปตามสายการผลิตในโรงฆ่าแหละ ประกอบกับความละเอียดในการประเมินรอยโรค MLL โดยวิธี Ose มักมีค่าประเมินในช่วงห่างร้อยละ 10 ในขณะที่การประเมินโดยวิธี Ime มักมีค่าประเมินในช่วงห่างร้อยละ 5 และการประเมินโดยวิธี Ima มีค่าประเมินในทุกช่วงห่างของร้อยละ เนื่องจากเกิดจากการคำนวณสัดส่วนของพื้นที่รอยโรค MLL ดังนั้นการประเมินรอยโรค MLL โดยใช้แอปพลิเคชัน จะได้ค่าของสัดส่วนของพื้นที่รอยโรค MLL ที่ละเอียดมากกว่าวิธีการ Ose และ Ime จากตารางที่ 4.10 แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่ามากกว่า 0.8 หรือ มีค่าเข้าใกล้ 0.8 ซึ่งบ่งชี้ถึงระดับความสัมพันธ์มาก (very strong) ในเชิงวิทยาการทางการแพทย์ (Akoglu, 2018) โดยสอดคล้องกับ Garcia-Morante *et al.* (2016) ได้รายงานการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระบบการประเมินรอยโรค MLL โดยพบค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ($r > 0.9$) ระหว่างระบบ Morrison *et al.* (1985) Straw *et al.* (1986), Christensen *et al.* (1999) และ European Pharmacopoeia (2013) และจากตารางที่ 4.11 ประเมินรอยโรค MLL โดยใช้ร่วมระบบการให้คะแนนของเภสัชตำรับ (European Pharmacopoeia, 2013) เพื่อเป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง (Gold standard) เนื่องจากไม่มีวิธีที่เป็นที่ยอมรับในระดับสากลในการประเมินขอบเขตการอักเสบของเนื้อเยื่อปอดได้เท่าความเท่าเทียมกันระหว่างระบบที่แนะนำโดย European Pharmacopoeia ซึ่งได้รายงานความสัมพันธ์ของน้ำหนักกลีบปอด โดยมีวิธีการคำนวณร้อยละของน้ำหนักที่แม่นยำยิ่งขึ้น ทั้งนี้การเปรียบเทียบประสิทธิภาพร่วมกับวิธีการประเมิน MLL คือ Ose, Ime และ Ima พบว่าค่าคะแนนที่ได้จากระบบการให้คะแนนทั้ง 6 ระบบ ภายใต้วิธีการประเมินแบบเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงยิ่ง ($P < 0.001$) ระหว่างคะแนนของกลุ่มตัวอย่างที่ไม่พบรอยโรค MLL และคะแนนของกลุ่มตัวอย่างที่พบรอยโรค MLL ดังนั้นระบบการให้คะแนนทั้ง 6 ระบบที่ทำการศึกษานำมาใช้ในการประเมินให้คะแนนรอยโรคได้ทั้ง 3 วิธีการประเมิน สำหรับกรณีกลุ่มที่ไม่พบรอยโรคในปอด ที่มีคะแนนเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.02-0.06 เป็นผลมาจากผลการประเมินรอยโรค MLL ที่แตกต่างจากการประเมินรอยโรค MLL จากซากโดยตรง และจากภาพถ่าย ซึ่งบ่งชี้ว่าขนาดพื้นที่ของรอยโรคมีขนาดเล็ก ซึ่งน่าจะส่งผลให้ประสิทธิภาพของการประเมินรอยโรค MLL จากภาพถ่ายลดลง

ตารางที่ 4.9 แสดงผลรวมคะแนนที่ได้จากการประเมินรอยโรคร่วมกับระบบคะแนนรอยโรคที่มีใช้กันทั่วไปในโรงชำแหละ (Scoring system) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของการวัดโดยวิธีประเมินโดยตรงที่โรงชำแหละ (Ose) ประเมินจากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และประเมินจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima) โดยใช้ระบบการประเมินที่แตกต่างกัน

| Scoring System | Average score | | | | Correlation Coefficient (r) | | |
|----------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Ose | Ime | Ima | SEM | Ose ^γ vs. Ime | Ose ^γ vs. Ima | Ime ^γ vs. Ima |
| Goodwin <i>et al.</i> (1969) | 3.3676 ^c | 1.9427 ^a | 2.7889 ^b | 0.11136 | 0.907 ^{**} | 0.960 ^{**} | 0.945 ^{**} |
| Madec and Koblish (1982) | 1.5591 ^c | 0.9332 ^a | 1.2768 ^b | 0.05167 | 0.904 ^{**} | 0.965 ^{**} | 0.938 ^{**} |
| Straw <i>et al.</i> (1986) | 4.1699 ^b | 3.0176 ^a | 3.8134 ^b | 0.15829 | 0.882 ^{**} | 0.901 ^{**} | 0.926 ^{**} |
| Morrison <i>et al.</i> (1985) | 3.3247 ^c | 2.4330 ^a | 3.0297 ^{ab} | 0.13091 | 0.830 ^{**} | 0.910 ^{**} | 0.849 ^{**} |
| Christensen <i>et al.</i> (1999) | 3.0133 ^c | 2.2531 ^a | 2.8095 ^{ab} | 0.12942 | 0.804 ^{**} | 0.886 ^{**} | 0.795 ^{**} |
| European Pharmacopoeia (2013) | 3.4003 ^b | 2.4229 ^a | 3.1187 ^b | 0.14237 | 0.789 ^{**} | 0.852 ^{**} | 0.782 ^{**} |

หมายเหตุ : ^{abc} ตัวอักษรยกในแถวเดียวกันต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

^γ วิธีมาตรฐานที่ใช้สำหรับการเปรียบเทียบ

^{**} มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$)

ตารางที่ 4.10 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของคะแนนที่ได้จากระบบการให้คะแนน 6 ระบบ ภายใต้วิธีการประเมินรอยโรค 3 วิธี

| Evaluation method | Scoring system | Evaluation method & Scoring system | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|-------------------------------|------------------------------------|--------------------|---------------------|------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------------|--------------------|---------------------|------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------------|--------------------|---------------------|------------------------|---------------------------|
| | | Ima | | | | | | Ime | | | | | | Ose | | | | |
| | | Goodwin et al. (1969) | Madec and Koblisch | Straw et al. (1986) | Morrison et al. (1985) | Christensen et al. (1999) | Ph. Eur. (2013) | Goodwin et al. (1969) | Madec and Koblisch | Straw et al. (1986) | Morrison et al. (1985) | Christensen et al. (1999) | Ph. Eur. (2013) | Goodwin et al. (1969) | Madec and Koblisch | Straw et al. (1986) | Morrison et al. (1985) | Christensen et al. (1999) |
| Ima | Madec and Koblisch (1982) | 0.989** | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Straw et al. (1986) | 0.945** | 0.946** | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Morrison et al. (1985) | 0.937** | 0.924** | 0.991** | | | | | | | | | | | | | | |
| | Christensen et al. (1999) | 0.861** | 0.850** | 0.972** | 0.982** | | | | | | | | | | | | | |
| | European Pharmacopoeia (2013) | 0.857** | 0.844** | 0.970** | 0.981** | 1.000** | | | | | | | | | | | | |
| Ime | Goodwin et al. (1969) | 0.945** | 0.906** | 0.930** | 0.933** | 0.885** | 0.888** | | | | | | | | | | | |
| | Madec and Koblisch (1982) | 0.976** | 0.938** | 0.896** | 0.905** | 0.820** | 0.819** | 0.962** | | | | | | | | | | |
| | Straw et al. (1986) | 0.955** | 0.917** | 0.901** | 0.907** | 0.837** | 0.835** | 0.936** | 0.974** | | | | | | | | | |
| | Morrison et al. (1985) | 0.906** | 0.871** | 0.851** | 0.849** | 0.781** | 0.777** | 0.878** | 0.926** | 0.985** | | | | | | | | |
| | Christensen et al. (1999) | 0.891** | 0.856** | 0.852** | 0.854** | 0.795** | 0.790** | 0.862** | 0.908** | 0.978** | 0.997** | | | | | | | |
| | European Pharmacopoeia (2013) | 0.881** | 0.846** | 0.843** | 0.844** | 0.786** | 0.782** | 0.850** | 0.897** | 0.973** | 0.996** | 1.000** | | | | | | |
| Ose | Goodwin et al. (1969) | 0.960** | 0.956** | 0.918** | 0.911** | 0.841** | 0.836** | 0.907** | 0.936** | 0.915** | 0.866** | 0.854** | 0.844** | | | | | |
| | Madec and Koblisch (1982) | 0.952** | 0.965** | 0.928** | 0.910** | 0.846** | 0.840** | 0.882** | 0.904** | 0.887** | 0.839** | 0.829** | 0.820** | 0.991** | | | | |
| | Straw et al. (1986) | 0.940** | 0.951** | 0.926** | 0.910** | 0.852** | 0.846** | 0.883** | 0.895** | 0.882** | 0.835** | 0.826** | 0.817** | 0.982** | 0.994** | | | |
| | Morrison et al. (1985) | 0.924** | 0.921** | 0.910** | 0.910** | 0.854** | 0.850** | 0.880** | 0.898** | 0.883** | 0.830** | 0.824** | 0.815** | 0.968** | 0.971** | 0.987** | | |
| | Christensen et al. (1999) | 0.910** | 0.908** | 0.920** | 0.926** | 0.886** | 0.882** | 0.864** | 0.876** | 0.863** | 0.804** | 0.804** | 0.794** | 0.965** | 0.963** | 0.961** | 0.962** | |
| | European Pharmacopoeia (2013) | 0.905** | 0.904** | 0.904** | 0.904** | 0.856** | 0.852** | 0.867** | 0.875** | 0.859** | 0.804** | 0.799** | 0.789** | 0.962** | 0.967** | 0.985** | 0.997** | 0.964** |

หมายเหตุ : **มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01)

ตารางที่ 4.11 แสดงคะแนนการแยกแยะรอยโรคของปอดที่ไม่พบและพบรอยโรค MLL โดยวิเคราะห์จากระบบการประเมินรอยโรค MLL ภายใต้ระบบการให้คะแนนแต่ละระบบ

| Reference scoring system | Evaluation Method | Score | |
|----------------------------------|-------------------|-------------|-------------|
| | | No MLL | MLL |
| Goodwin <i>et al.</i> (1969) | Ose*** | 0.00 ± 0.00 | 6.45 ± 0.34 |
| | Ime*** | 0.04 ± 0.01 | 3.69 ± 0.23 |
| | Ima*** | 0.05 ± 0.01 | 5.29 ± 0.30 |
| Madec and Koblisch (1982) | Ose*** | 0.00 ± 0.00 | 2.99 ± 0.16 |
| | Ime*** | 0.02 ± 0.01 | 1.77 ± 0.10 |
| | Ima*** | 0.02 ± 0.01 | 2.43 ± 0.14 |
| Straw <i>et al.</i> (1986) | Ose*** | 0.00 ± 0.00 | 7.99 ± 0.43 |
| | Ime*** | 0.06 ± 0.02 | 5.73 ± 0.38 |
| | Ima*** | 0.05 ± 0.01 | 7.26 ± 0.47 |
| Morrison <i>et al.</i> (1985) | Ose*** | 0.00 ± 0.00 | 6.37 ± 0.35 |
| | Ime*** | 0.04 ± 0.01 | 4.62 ± 0.36 |
| | Ima*** | 0.05 ± 0.01 | 5.76 ± 0.38 |
| Christensen <i>et al.</i> (1999) | Ose*** | 0.00 ± 0.00 | 5.77 ± 0.34 |
| | Ime*** | 0.04 ± 0.01 | 4.28 ± 0.35 |
| | Ima*** | 0.04 ± 0.01 | 5.35 ± 0.41 |
| European Pharmacopoeia (2013) | Ose*** | 0.00 ± 0.00 | 6.51 ± 0.35 |
| | Ime*** | 0.04 ± 0.01 | 4.61 ± 0.39 |
| | Ima*** | 0.04 ± 0.01 | 5.94 ± 0.46 |

หมายเหตุ : *** มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งยวด (P<0.001)

ทั้งนี้จากข้อมูลการประเมินผล MLL ทั้งหมด ทำให้เห็นถึงช่วงผลคะแนนจากการตรวจรอยโรค MLL ไม่สอดคล้องกันระหว่างวิธีการประเมินด้วย Ose, Ime กับ Ima จึงได้พิจารณาจำนวนที่มีความเห็นไม่ตรงกัน หรือการแสดงข้อมูลเพื่อใช้สืบหาสาเหตุ และนำไปสู่คำอธิบายได้ ผลพบว่าการประเมินโดย Ose ถือเป็น Gold Standard ที่สามารถเชื่อถือได้ โดยพบว่า ผลการตรวจพบ MLL มีอยู่ทั้งหมด 239 ตัวอย่าง ซึ่งจากการประเมินด้วยวิธี Ime, Ima ผลการประเมินที่ต่างไปด้วยจำนวนเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18 และ 18 ตัวอย่าง ตามลำดับ ในกลุ่มตัวอย่างที่ประเมินด้วยวิธี Ose ตรวจไม่พบ MLL จำนวน 261 ตัวอย่าง ผลตรวจด้วยวิธี Ime Ima มีความเห็นต่าง ที่จำนวน 63 และ 51 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 4.12 จึงควรพิจารณาปอดที่มีการประเมินต่างกันนี้เพื่อทราบถึงการปรากฏของรอยโรค MLL และเหตุผลของการประเมินที่ต่างกัน

ตารางที่ 4.12 แสดงจำนวนปอดที่เกิดการประเมินต่างกันโดยเปรียบเทียบวิธี Ime, Ima กับ Ose จากจำนวนปอดทั้งหมด 500 ตัวอย่าง

| ผลการตรวจ MLL | วิธีการประเมินรอยโรค MLL | | |
|---------------|--------------------------|---------|---------|
| | Ose(n) | Ime (n) | Ima (n) |
| พบ MLL (+) | 239 | 221 | 221 |
| ไม่พบ MLL (-) | 0 | 18 | 18 |
| พบ MLL (+) | 0 | 63 | 51 |
| ไม่พบ MLL (-) | 261 | 198 | 210 |

จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของผลการประเมินรอยโรค MLL ด้วยวิธี Ose Ime และ Ima ร่วมกับการใช้ระบบการให้คะแนนต่าง คือ Goodwin *et al.* (1969) Madec and Kobisch (1982) Straw *et al.* (1986) Morrison *et al.* (1985) Christensen *et al.* (1999) European Pharmacopoeia (2013) พบว่ามีส่วนเห็นต่างกันในแต่ละระบบ และแต่ละวิธี แสดงถึงการประเมินที่มีความไม่สอดคล้องกันอยู่ จึงควรวิเคราะห์ผลคะแนนการประเมินรอยโรคที่ต่างกันนั้น เพื่อพิจารณาสาเหตุที่อาจส่งผลกับการประเมินรอยโรค โดยนำข้อมูลที่ได้จากการประเมินรอยโรคด้วยระบบ European Pharmacopoeia (2013) ร่วมกับการประเมินด้วยวิธีการประเมินรอยโรคโดยตรงที่โรงฆ่าห่าน (Ose) ซึ่งถือว่าเป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง (Gold standard) นำมาเปรียบเทียบระบบการประเมินต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น ผลพบว่าวิธีการประเมินรอยโรค MLL ด้วยวิธี Ime และ Ima ซึ่งเป็นวิธีประเมินจากภาพถ่ายมีบางตัวอย่างที่มีคะแนนไม่สอดคล้องกับการประเมินด้วยวิธี Ose โดยสังเกตส่วนที่ตรวจพบไม่ตรงกัน มีคะแนนรวมเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.00-0.75 ($P < 0.05$) ซึ่งต่ำกว่าคะแนนช่วง 5 คะแนน (ตารางที่ 4.13, 4.14 และ 4.15) ซึ่งบ่งชี้ถึงขนาดรอยละพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจาก Mycoplasma-like lesion; MLL ที่มีขนาดเล็ก ส่งผลให้มีโอกาสเป็นไปได้สูงที่จะทำให้การประเมินรอยโรคพบหรือไม่พบ MLL จากการประเมินภาพ มีผลการประเมินที่ไม่สอดคล้องกัน การประเมินจากภาพถ่ายจะมีข้อจำกัดที่มากกว่า เช่น ความคมชัดของภาพ มุมมองของภาพ การไม่ได้คลำสัมผัสตัวอย่างโดยตรง เป็นต้น

ตารางที่ 4.13 แสดงค่าคะแนนประเมินรอยโรค MLL เฉลี่ย โดยใช้ระบบการให้คะแนนมาตรฐานจากการประเมินซากปอดจริงโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose) ซึ่งจำแนกตามการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรค MLL โดยใช้วิธีการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญโดยตรง (Ose) ในระบบการให้คะแนนของวิธีมาตรฐาน European Pharmacopoeia (2013)

| Scoring system | European Pharmacopoeia (2013) by Ose | | | | SEM |
|----------------------------------|--------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|
| | No MLL | | MLL | | |
| | No MLL by Ose | MLL by Ose | No MLL by Ose | MLL by Ose | |
| Goodwin <i>et al.</i> (1969) | 0.00 ^a | 0.00 ^a | 1.42 ^b | 8.05 ^c | 0.23 |
| Madec and Kobisch (1982) | 0.00 ^a | 0.00 ^a | 0.79 ^b | 3.69 ^c | 0.11 |
| Straw <i>et al.</i> (1986) | 0.00 ^a | 0.00 ^a | 2.31 ^b | 9.79 ^c | 0.29 |
| Morrison <i>et al.</i> (1985) | 0.00 ^a | 0.00 ^a | 1.81 ^b | 7.82 ^c | 0.23 |
| Christensen <i>et al.</i> (1999) | 0.00 ^a | 0.00 ^a | 1.28 ^a | 7.20 ^b | 0.22 |
| European Pharmacopoeia (2013) | 0.00 ^a | 0.00 ^a | 1.97 ^b | 7.96 ^c | 0.23 |

หมายเหตุ : ^{abc} ตัวอักษรยกในแถวเดียวกันที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ตารางที่ 4.14 แสดงค่าคะแนนประเมินรอยโรค MLL เฉลี่ย โดยใช้ระบบการให้คะแนนมาตรฐานจากการประเมินภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) ซึ่งจำแนกตามการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรค MLL โดยใช้วิธีการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญโดยตรง (Ose) ในระบบการให้คะแนนของวิธีมาตรฐานอ้างอิง European Pharmacopoeia (2013)

| Scoring system | European Pharmacopoeia (2013) by Ose | | | | SEM |
|----------------------------------|--------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|
| | No MLL | | MLL | | |
| | No MLL by Ime | MLL by Ime | No MLL by Ime | MLL by Ime | |
| Goodwin <i>et al.</i> (1969) | 0.00 ^a | 0.50 ^a | 0.00 ^a | 4.86 ^b | 0.14 |
| Madec and Kobisch (1982) | 0.00 ^a | 0.26 ^a | 0.00 ^a | 2.33 ^b | 0.07 |
| Straw <i>et al.</i> (1986) | 0.00 ^a | 0.75 ^a | 0.00 ^a | 7.55 ^b | 0.24 |
| Morrison <i>et al.</i> (1985) | 0.00 ^a | 0.56 ^a | 0.00 ^a | 6.09 ^b | 0.21 |
| Christensen <i>et al.</i> (1999) | 0.00 ^a | 0.49 ^a | 0.00 ^a | 5.65 ^b | 0.21 |
| European Pharmacopoeia (2013) | 0.00 ^a | 0.52 ^a | 0.00 ^a | 6.07 ^b | 0.23 |

หมายเหตุ : ^{ab} ตัวอักษรยกในแถวเดียวกันที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 แสดงค่าคะแนนประเมินรอยโรค MLL เฉลี่ย โดยใช้ระบบการให้คะแนนมาตรฐานจากการประเมินภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima) ซึ่งจำแนกตามการตรวจไม่พบหรือพบรอยโรค MLL โดยใช้วิธีการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญโดยตรง (Ose) ในระบบการให้คะแนนของวิธีมาตรฐานอ้างอิง European Pharmacopoeia (2013)

| Scoring | European Pharmacopoeia (2013) by Ose | | | | SEM |
|----------------------------------|--------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|
| | No MLL | | MLL | | |
| | No MLL by Ima | MLL by Ima | No MLL by Ima | MLL by Ima | |
| Goodwin <i>et al.</i> (1969) | 0.00 ^a | 0.70 ^a | 0.37 ^a | 6.86 ^b | 0.19 |
| Madec and Kobisch (1982) | 0.00 ^a | 0.28 ^a | 0.30 ^a | 3.11 ^b | 0.09 |
| Straw <i>et al.</i> (1986) | 0.00 ^a | 0.72 ^a | 0.74 ^a | 9.33 ^b | 0.29 |
| Morrison <i>et al.</i> (1985) | 0.00 ^a | 0.65 ^a | 0.37 ^a | 7.48 ^b | 0.23 |
| Christensen <i>et al.</i> (1999) | 0.00 ^a | 0.50 ^a | 0.37 ^a | 6.93 ^b | 0.25 |
| European Pharmacopoeia (2013) | 0.00 ^a | 0.57 ^a | 0.37 ^a | 7.71 ^b | 0.27 |

หมายเหตุ : ^{ab} ตัวอักษรยกในแถวเดียวกันที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

จากผลการประเมินที่ไม่สอดคล้องกัน สามารถอธิบายด้วยภาพถ่ายปอด ที่ถูกประเมินด้วยวิธี Ose Ima และ Ima ดังภาพที่ 4.1, 4.2 พบว่า ลักษณะปอด ผนัง หลอด และภาพปอดที่บันทึกได้ อาจมีข้อจำกัดในการประเมินผล จึงส่งผลให้การประเมินผลมีความแตกต่างกันออกไป



ภาพที่ 4.1 แสดงกลุ่มตัวอย่างปอดที่ถูกประเมินด้วยวิธี Ose แล้วพบรอยโรค MLL และในทางตรงกันข้ามเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี Ima หรือ Ima ให้ผลไม่พบรอยโรค MLL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 แสดงกลุ่มตัวอย่างปอดที่ถูกประเมินด้วยวิธี Ose แล้วไม่พบรอยโรค MLL และในทางตรงกันข้ามเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี Ime หรือ Ima ให้ผลพบรอยโรค

4.7 การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Determination coefficients; R^2)

การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ โดยใช้สมการ Regression ซึ่งกำหนดให้ค่าคะแนนรวมที่ได้จากระบบการให้คะแนนมาตรฐานอ้างอิง European Pharmacopoeia (2013) และวิธีการประเมินรอยโรคอ้างอิง (Ose) เป็นตัวแปรค่าทำนายคะแนนรอยโรค (Y) และใช้ค่าคะแนนจากระบบการให้คะแนนมาตรฐาน 6 ระบบ และวิธีการประเมินรอยโรค 3 วิธี มาเป็นตัวแปรทำนาย (X) ตามแนวทางการวิเคราะห์ของ Garcia-Morante *et al.* (2016) รายงานค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจอยู่ในช่วง 0.789-0.997 ซึ่งเป็นระดับที่ยอมรับได้ คือ สูงกว่า 0.65 (สำหรับการศึกษาทั่วไปทางวิทยาศาสตร์) โดยมีสมการ Regression สำหรับการทำนายค่าดังแสดงในตารางที่ 4.16 ดังนั้นสามารถนำสมการ Regression ไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นสมการในการทำนายค่าคะแนนรอยโรคจากระบบการให้คะแนนมาตรฐานทั้ง 6 ระบบ และรวมถึงระบบการให้คะแนนรอยโรคที่ปอดอื่น ๆ ที่มีหลักการพื้นฐานการคิดคะแนนมาจากสัดส่วนของพื้นที่ปอดที่เกิดรอยโรค ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในกระบวนการพัฒนาแอปพลิเคชันเพื่อการตรวจวัดรอยโรค MLL ที่ปอดในอนาคตได้

ตารางที่ 4.16 สมการ Regression และสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ระหว่างระบบการให้คะแนนมาตรฐาน (โดยผู้เชี่ยวชาญโดยตรง) และระบบการให้คะแนนมาตรฐานอื่น ๆ ที่ได้จากการวัดโดยตรง (Ose), จากภาพโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ime) และจากภาพโดยแอปพลิเคชัน (Ima)

| Scoring method | Ose | | Ime | | Ima | |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | Y | R ² | Y | R ² | Y | R ² |
| Goodwin et al. (1969) | 0.996X + 0.045 | 0.962 | 1.420X + 0.867 | 0.867 | 1.099X + 0.335 | 0.905 |
| Madec and Kobisch (1982) | 0.996X + 0.045 | 0.967 | 3.107X + 0.875 | 0.875 | 2.382X + 0.360 | 0.904 |
| Straw et al. (1986) | 0.996X + 0.045 | 0.985 | 0.852X + 0.859 | 0.859 | 0.723X + 0.644 | 0.904 |
| Morrison et al. (1985) | 0.996X + 0.045 | 0.997 | 0.885X + 0.804 | 0.804 | 0.905X + 0.657 | 0.904 |
| Christensen et al. (1999) | 0.996X + 0.045 | 0.964 | 0.912X + 0.799 | 0.799 | 0.819X + 0.856 | 0.856 |
| European Pharmacopoeia (2013) | - | - | 0.819X + 0.789 | 0.789 | 0.733X + 0.852 | 0.852 |

หมายเหตุ Y = ค่าทำนายคะแนนรอยโรค MLL ที่ปอดโดยวิธีมาตรฐาน European Pharmacopoeia (2013) จากการประเมินรอยโรคโดยผู้เชี่ยวชาญ (Ose)

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ Cobanovic *et al.* (2021) ได้ตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างความรุนแรงของรอยโรคในปอด และการมีอยู่ของแอนติบอดีของเชื้อโรคทางเดินหายใจต่าง ๆ และผลกระทบของความรุนแรงของรอยโรคในปอด ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต มีรายงานความสัมพันธ์ในเชิงลบระหว่างคะแนนรอยโรค MLL ต่อการเจริญเติบโตของสุกร แสดงถึงการพบความรุนแรงของรอยโรคสูง ส่งผลให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตต่ำ ดังนั้นการตรวจวัดสัดส่วนพื้นที่ปอดที่มีรอยโรค MLL โดยการใช้แอปพลิเคชัน ช่วยให้สามารถตรวจวัดค่าได้ละเอียดมากขึ้น ซึ่งจะช่วยให้สามารถนำผลที่วัดได้ ไปวิเคราะห์สภาวะของโรค Enzootic pneumonia ในระดับฝูงได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งจะนำไปสู่มาตรการการจัดการฟาร์มและนโยบายของการผลิตสุกรที่ดียิ่งขึ้น

จากผลการศึกษาทั้งหมดในการศึกษานี้ พบประเด็นสำคัญของวิธีการประเมินรอยโรค MLL ที่ปอดของซากสุกร ที่สำคัญ 2 ประเด็น คือ 1) การตรวจประเมินโดยตรงมีประสิทธิภาพในการแยกปอดที่ปกติ (ไม่พบรอยโรค MLL) ได้ดีกว่าการประเมินดังกล่าวจากภาพถ่ายของปอด และ 2) ความละเอียดของการประเมินรอยโรค MLL จากภาพถ่ายโดยใช้แอปพลิเคชัน ช่วยให้ได้สัดส่วนพื้นที่ปอดที่พบรอยโรค MLL ที่ละเอียดและถูกต้องมากขึ้น ดังนั้นการพัฒนาต้นแบบของระบบตรวจสอบรอยโรค Mycoplasma-like lesion (MLL) ที่ปอดของซากสุกรโดยการประยุกต์ใช้แอปพลิเคชันจึงมีโอกาเป็นไปได้ โดยมีแนวทางในช่วงแรกของการพัฒนาคือ การใช้ผู้เชี่ยวชาญเป็นผู้พิจารณาแยกปอดที่ปกติ (ไม่พบรอยโรค MLL) ออกจากปอดที่พบรอยโรค เนื่องจากจะสามารถแยกปอดได้ดีกว่าการใช้ภาพ ซึ่งหากต้องการใช้ภาพอาจจะต้องมีการพัฒนาเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น จากนั้นใช้เทคโนโลยีเกี่ยวกับการประมวลผลภาพถ่าย (Image analysis and processing) ใช้สำหรับตัววัด

ระดับคะแนนของรอยโรค MLL ที่มีความละเอียดในการตรวจวัดสูงขึ้น เพื่อได้ผลของระดับคะแนน
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นประโยชน์ในการนำ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รอยโรคที่มีความแม่นยำและถูกต้องมากขึ้น ซึ่งจะนำไปสู่การวิเคราะห์สถานการณ์ของโรค และ
มาตรการในการป้องกัน-ควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาเกี่ยวกับการประเมินรอยโรค *Mycoplasma-like lesion* (MLL) จากปอดของซากสุกรที่ชำแหละ โดยใช้ปอดจำนวน 500 ตัวอย่าง การประเมินรอยโรคที่ปอดโดยผู้เชี่ยวชาญที่โรงชำแหละ (On-site by expert method; Ose) จากนั้นเก็บภาพถ่ายของปอดเพื่อนำมาประเมินโดยผู้เชี่ยวชาญ (Image by expert method; Ime) และ โดยการใช้แอปพลิเคชันสำเร็จรูป (Image by application method; Ima) ผลการศึกษาพบว่า ความชุกของรอยโรค MLL คิดเป็นร้อยละ 47.8, 56.8 และ 54.4 จากการตรวจประเมินด้วยวิธี Ose, Ime และ Ima ตามลำดับ วิธีการวัดทั้ง 3 วิธี มีความสอดคล้องกัน (Kappa) โดยวิธี Ime และ Ima มีค่าความสอดคล้องกันมากที่สุด โดยอยู่ในระดับดีเยี่ยม (Kappa = 0.951) ร้อยละของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรค MLL เฉลี่ยของปอดแต่ละพู จากการวัดทั้ง 3 วิธี พบว่าไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ยกเว้น Caudal lobe ของปอดข้างซ้าย ที่ถูกประเมินด้วยวิธี Ose มีร้อยละของพื้นที่ปอดที่พบรอยโรคสูงกว่า ($P < 0.05$) วิธี Ime และ วิธี Ima เมื่อคำนวณคะแนนตามระบบการให้คะแนนรอยโรคที่ปอด (lung scoring system) ที่เป็นระบบมาตรฐาน และเป็นที่ยอมรับ พบว่าการประเมินด้วยวิธี Ime มีแนวโน้มของการมีค่าคะแนนต่ำที่สุด แต่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างวิธีการประเมินทั้ง 3 วิธี อยู่ในระดับสูง เมื่อวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) ของระบบการให้คะแนนแต่ละระบบเทียบกับระบบการให้คะแนน European Pharmacopoeia พบว่าการประเมินรอยโรคที่ปอด โดยวิธี Ose, Ime และ Ima มีค่าอยู่ในช่วง 0.962 – 0.997, 0.789 – 0.875 และ 0.852 – 0.905 ตามลำดับ ดังนั้นจึงมีโอกาสเป็นไปได้ในการนำเทคโนโลยีด้าน Image analysis มาประยุกต์ใช้เพื่อการตรวจสอบรอยโรค MLL ที่ปอดจากซากสุกร โดยในช่วงแรกของการพัฒนาการตรวจสอบรอยโรค อาจจำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญช่วยในการการคัดกรองและแยกปอดที่พบรอยโรค MLL ขนาดเล็กออกจากปอดที่ปกติก่อน จากนั้นจึงดำเนินการตรวจวัดการปรากฏของรอยโรค MLL โดยใช้แอปพลิเคชันในลำดับถัดไป

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรพัฒนาเทคโนโลยีภาพถ่ายในการการตรวจวัดรอยโรค MLL ให้เป็นระบบอัตโนมัติ เช่น การประยุกต์ใช้โครงข่ายประสาทเทียม ((Artificial neural networks: ANN) เป็นต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิผลในการตรวจวัดรอยโรค MLL และสะดวกในการทำงานมากยิ่งขึ้น

5.2.2 ควรนำไปประยุกต์หรือปรับใช้กับปอดที่แขวนหรือติดอยู่กับซากของสุกรในโรงชำแหละ ด้วย เพื่อให้สอดคล้องกับสถานการณ์จริง และมีโอกาสใช้งานได้กว้างขวางมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- ชัยญา ชื่นอารมย์. 2558. **ImageJ 1: โปรแกรม ImageJ คืออะไร.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://comdigest.blogspot.com/2015/10/imagej.html>.
- นิวัตร จันท์ศิริพรชัย และคณะ. 1994. การศึกษาผลการใช้วัคซีนป้องกันโรคปอดบวมในสุกรพันธุ์ **เวชสารสัตวแพทย์.** 24(3): 193-204.
- ประสพชัย พสุนนนท์. 2558. การประเมินความเชื่อมั่นระหว่างผู้ประเมิน โดยใช้สถิติแคปปา. **วารสารวิชาการศิลปะศาสตร์ประยุกต์.** 8(1) 3-20.
- พรชลิต อัสวชีพ. 2559. **นักวิชาการแนะ โรค APP ทำอย่างไรไม่ให้เป็นอีก.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.Swine-thailand.com>.
- พัชรี ทองคำคุณ. 2542. การตรวจหาเชื้อ มัยโคพลาสมา ไฮโอนิวโมนีอี จากตัวอย่างปอดสุกรในประเทศไทย โดยการเพาะเชื้อและพีซีอาร์ (PCR, Polymerase chain reaction). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.thaithesis.org/detail.php?id=1082542001209>.
- ภาณุวัฒน์ แยมสกุล. การตรวจสอบรอยโรคในระบบทางเดินหายใจในสุกร. เชียงใหม่: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2556.
- เมธี ศรีประพันธ์. 2557. **Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.mtc.or.th/pdf_que/pdf1_14.pdf.
- ยงยุทธ จงเสถียร. 2546. **ผลการสำรวจวิธีการของปอดสุกรในโรงฆ่าสัตว์บางแค พ.ศ. 2545-2546.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://jkv.vet.ku.ac.th/new/images/journal/14-3/01.pdf>.
- วรวิทย์ วัชชวัลคุ และคณะ. 2544. การแยกสายพันธุ์ของไวรัส Porcine reproductive and respiratory syndrome โดยเทคนิค multiplex polymerase chain reaction (PCR) ในประเทศไทย. หน้า 482-486 ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาสัตวแพทยศาสตร์.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมเกียรติ วงษ์ทิม. 1987. กลไกการป้องกันของปอด. **จุฬาลงกรณ์เวชสาร.** 31(7) 573-582
- อรุณ จิรวัดน์กุล. 2560. วิธีการทางสถิติที่ใช้วัดความสอดคล้อง. **วารสารวิชาการสาธารณสุข.** 26(2):1-2.
- Akoglu H. 2018. User's guide to correlation coefficients. **Turkish journal of emergency medicine.** 18(3): 91-93.
- Barate, A.K., Lee, H.Y., Jeong, H.W., Truong, Q.L., Joo, H.G. and Hahn, T.W. 2012. An improved multiplex PCR for diagnosis and differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis*. **Korean Journal of Veterinary Research.** 52(1): 39-43.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Bonicelli, L., Trachtman, A.R., Rosamilia, A., Liuzzo, G., Hattab, J., Mira Alcaraz, E., Del Negro, E., Vincenzi, S., Capobianco Dondona, A., Calderara, S. and Marruchella, G. 2021. Training Convolutional Neural Networks to Score Pneumonia in Slaughtered Pigs. **Animals**. 11(11): 3290.
- Bottacini, M., Scollo, A., Contiero, B., Mazzoni, C., Pace, V. and Gottardo, F. 2021. Prevalence of fibrinous pericarditis in heavy pigs (170 kg) and its association with other pluck lesions at slaughter inspection. **The Veterinary Journal**. 273: 105680.
- Carvajal, D. N. and Rowe, P. C. 2010. Research and statistics: Sensitivity, specificity, predictive values, and likelihood ratios. **Pediatrics in review**. 31(12): 511-513.
- Chevaleyre, C., Riou, M., Bréa, D., Vandebrouck, C., Barc, C., Pezant, J., Melo, S., Olivier, M., Delaunay, R., Boulesteix, O., Berthon, P., Rossignol, C., Burlaud Gaillard, J., Becq, F., Gauthier, F., Si-Tahar, M., Meurens, F., Berri, M., Caballero-Posadas, I. and Attucci, S. 2016. The Pig: A Relevant Model for Evaluating the Neutrophil Serine Protease Activities during Acute *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection. **PLoS ONE**. 11(12).
- Christensen, G., Sorensen, V. and Mousing, J. 1999. **Diseases of the respiratory system**. 8th. ed. USA: Iowa State University Press.
- Čobanović, N., Stajković, S., Kureljušić, J., Žutić, J., Kureljušić, B., Stanković, S. D. and Karabasil, N. 2021. Biochemical, carcass and meat quality alterations associated with different degree of lung lesions in slaughtered pigs. **Preventive Veterinary Medicine**. 188: 105269.
- Cohen J. A. 1960. Coefficient of agreement for nominal scales. **Educational & Psychological Measurement**. 20(1): 37-46.
- Cook, B.S., Beddow, J.G., Manso-Silván, L., Maglennon, G.A. and Rycroft, A. N. 2016. Selective medium for culture of *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Veterinary microbiology**. 195: 158-164.
- Curvo, L.R.V., Ferreira, M.W., Costa, C.S., Barbosa, G.R.C., Uhry, S.A., Silveira, U.S.D., Silva, A.R.D. and Andrade, G.B.D. 2020. Techniques using ImageJ for histomorphometric studies. **Research Society and Development**. 9(11).
- Cvjetković, V., Sipos, S., Szabó, I. and Sipos, W. 2018. Clinical efficacy of two vaccination strategies against *Mycoplasma hyopneumoniae* in a pig herd suffering from respiratory disease. **Porcine Health Management**. 4:17.

- Dailidavičiene, J., Januškevičiene, G., Milius, J., Mieželiene, A. and Alenčiokiene, G., 2009. Influence of lung pathology on pig carcasses microbiological quality and sensory parameters. **Veterinary Institute in Pulawy**. 53(3): 433–438.
- Eberhardt, T.D., Lima, S., Beatriz, S., Lopes, L.F.D., Borges, E.L., Weiller, T.H. and Fonseca, G.G.P. 2016. Measurement of the area of venous ulcers using two software programs. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**. 24(0).
- Enago Academy. **Analyze and Process Your Images in Seconds With ImageJ!**. [Online]. Available: <https://www.enago.com/academy/analyze-and-process-your-images-in-seconds-with-imagej/>.
- European Pharmacopoeia. 2013. **Porcine enzootic pneumonia vaccine (inactivated)**. 8th ed. France: Strasbourg.
- Fablet, C., Marois, C., Dorentor, V., Eono, F., Eveno, E., Jolly, J.P., Devendec, L., Kobisch, M., Madec, F. and Rose, N. 2012. Bacterial pathogens associated with lung lesions in slaughter pigs from 125 herds. **Research in Veterinary Science**. 93(2): 627-630.
- Ferraz, M.E.S., Almeida, H.M.S., Storino, G.Y., Sonálio, K., Souza, M.R., Moura, C.A.A., Costa, W.M.T., Lunardi, L., Linhares, D.C.L. and De Oliveira, L.G. 2020. Lung consolidation caused by *Mycoplasma hyopneumoniae* has a negative effect on productive performance and economic revenue in finishing pigs. **Preventive Veterinary Medicine**. 182: 105091.
- Gao, W. 2016. **The Fabrication of Structurally Coloured Textile Materials Using Uniform Spherical Silica Nanoparticles**. Ph.D.Thesis of The University of Manchester.
- Garcia-Morante, B., Segalés, J., Fraile, L., de Rozas, A.P., Maiti, H., Coll, T. and Sibila, M. 2016. Assessment of *Mycoplasma hyopneumoniae*-induced pneumonia using different lung lesion scoring systems: a comparative review. **Journal of Comparative Pathology**, 154(2-3): 125-134.
- Geilen, J., Kainz, M., Zapletal, B., Geleff, S., Wissner, W., Bohle, B., Schweiger, T., Schultz, M. J. and Tschernko, E. 2022. Unilateral acute lung injury in pig: a promising animal model. **Journal of translational medicine**. 20(1): 548.
- Ghidini, S., Zanardi, E., Di Ciccio, P.A., Borrello, S., Belluzi, G., Guizzardi, S. and Ianieri, A. 2018. Development and test of a visual-only meat inspection system for heavy pigs in Northern Italy. **BMC Veterinary Research**. 14(1): 1-11.

- Giles, T.A., Belkhiri, A., Barrow, P.A. and Foster, N. 2017. Molecular approaches to the diagnosis and monitoring of production diseases in pigs. **Research in Veterinary science**. 114: 266–272.
- Goodwin, R.F.W., Hodgson, R.G., Whittlestone, P. and Woodhams, R.L. 1969. Some experiments relating to artificial immunity in enzootic pneumonia of pigs. **Epidemiology & Infection**. 67(3): 465-476.
- Hammond, E., Newell, J.D., Dilger, S.K.N., Stoyles, N., Morgan, J., Sieren, J.P., Thedens, D.R., Hoffman, E.A., Meyerholz, D.K. and Sieren, J.C. 2016. Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging for Longitudinal Characterization of Lung Structure Changes in a Yucatan Miniature Pig Silicosis Model. **Toxicologic pathology**. 44(3): 373–381.
- Harley, S., More, S., Boyle, L., Connell, N.O. and Hanton, A. 2012. Good animal welfare makes economic sense: potential of pig abattoir meat inspection as a welfare surveillance tool. **Irish Veterinary Journal**. 65: 1-12.
- Hattab, J., Porrello, A., Romano, A., Rosamilia, A., Ghidini, S., Bernabò, N., Capobianco Dondona, A., Corradi, A. and Marruchella, G. 2023. Scoring Enzootic Pneumonia-like Lesions in Slaughtered Pigs: Traditional vs. Artificial-Intelligence-Based Methods. **Pathogens**. 12(12): 1460.
- Jeffrey, J.Z., Lock A.K., Alejandro R., Kent J.S., Gregory, W.S. and Zhang J. 2019. **Diseases of swine**. 11th. Hoboken: John Wiley and Son.
- Jittimaneer, S., Na Ayudhya, S. N., Kedkovid, R., Teankum, K. and Thanawongnuwech, R. 2011. Genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 in Thai pigs with porcine circovirus associated diseases (PCVAD) during 2007-2010. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**. 41(2): 163-170.
- Jorquera-Chavez, M., Fuentes, S., Dunshea, F.R., Warner, R.D., Poblete, T., Unnithan, R.R., Morrison, R.S. and Jongman, E.C. 2021. Using imagery and computer vision as remote monitoring methods for early detection of respiratory disease in pigs. **Computers and Electronics in Agriculture**. 9: 187.
- Judge, E. P., Hughes, J. M., Egan, J. J., Maguire, M., Molloy, E. L. and O'Dea, S. 2014. Anatomy and bronchoscopy of the porcine lung. A model for translational respiratory medicine. **American journal of respiratory cell and molecular biology**. 51(3): 334–343.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kim, B., Hur, J., Lee, J.Y., Choi, Y. and Lee, J.H. 2016. Molecular serotyping and antimicrobial resistance profiles of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in South Korea. **The Veterinary Quarterly**. 36(3): 137–144.
- Krejci, J., Nechvatalova, K., Blahutkova, M. and Faldyna, M., 2013. The respiratory tract in pigs and its immune system: a review. **Veterinarni Medicina**. 58, 206–220.
- Laber, K.E., Whary, M.T., Bingel, S.A., Goodrich, J.A., Smith, A.C. and Swindle, M.M. 2002. Biology and Diseases of Swine. **Laboratory Animal Medicine**. 615–673.
- Landis, J.R. and Koch, G.G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**. 33(1): 159–174.
- Leal Zimmer, F.M., Paes, J.A., Zaha, A. and Ferreira, H.B. 2020. Pathogenicity & virulence of *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Virulence**. 11(1): 1600–1622.
- Lee, H.S., Kim, M.C., Kim, N.Y., Hwang, S.H., Ji, S., Park, Y.K. and Kim, Y. 2017. Evaluation of the correlation between gross lung score and microscopic diagnosis for swine pneumonia in Korean slaughterhouses. **Korean Journal of Veterinary Research**. 57(4): 227–233.
- Lee, S.L., Jeong C.G., Mattoo, S.S., Nazki, S., Agenja, R.P., Kim, S.C., Khatun, A., Oh, Y., Noh, S.H., Lee, S.M. and Kim, W.I. 2021. Protective immunity induced by concurrent intradermal injection of porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* inactivated vaccines in pigs. **Vaccine**. 39(45): 6691–6699.
- Leneveu, P., Robert, N., Keita, A., Pagot, E., Pommier, P. and Tessier, P. 2005. Lung lesions in pigs at slaughter: A2-Year epidemiological study in France. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**. 3(3): 259–265.
- Linhares, M.B., Belloy, L., Origi, F.C., Lechner, I., Segner, H. and Ryser-Degiorgis, M. P. 2015. Investigating the role of free-ranging wild boar (*Sus scrofa*) in the re-emergence of enzootic pneumonia in domestic pig herds: A pathological, prevalence and risk-factor study. **PLoS One**. 10(3).
- Lisgara, M., Poulaki, K., Kalogeropoulos, L., Skampardonis, V. and Katsafadou, A.I. 2022. Frequency and severity of enzootic pneumonia-like lesions in Greek swine herds and their association with different vaccination protocols against *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Journal of Applied Animal Research**. 50: 540–547.
- López, A. and Martinson, S.A. 2017. Respiratory System, Mediastinum, and Pleurae. **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 471–560.

- Luehrs, A., Siegenthaler, S., Grützner, N., Grosse Beilage, E., Kuhnert, P. and Nathues, H. 2017. Occurrence of *Mycoplasma hyorhinis* infections in fattening pigs and association with clinical signs and pathological lesions of Enzootic Pneumonia. **Veterinary Microbiology.** 203: 1-5.
- Lung, O., Ohene-Adjei, S., Buchanan, C., Joseph, T., King, R., Erickson, A., Detmer, S. and Ambagala, A. 2017. Multiplex PCR and Microarray for detection of swine respiratory pathogens. **Transboundary and Emerging Diseases.** 64(3): 834–848.
- Madec, F. and Kobisch, M. 1982. Bilan lésionnel des poumons de porcs charcutiers à l'abattoir. **Journal Research Porcine.** 14: 405–412.
- Maes, D., Boyen, F., Haesebrouck, F. and Gautier-Bouchardon, A.V. 2020. Antimicrobial treatment of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections. **The Veterinary Journal.** 259: 105474.
- Maes, D., Sibila, M., Kuhnert, P., Segales, J., Haesebrouck, F. and Pieters, M. 2018. Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: knowledge gaps for improved disease control. **Transboundary and Emerging Diseases.** 65(1): 110-124.
- Meyns, T., Van Steelant, J., Rolly, E., Dewulf, J., Haesebrouck, F. and Maes, D. 2011. A cross-sectional study of risk factors associated with pulmonary lesions in pigs at slaughter. **Veterinary Journal.** 187(3): 388–392.
- Michael D.A., Paulo J.M. and Sunanda J.R. 2004. **Image Processing with ImageJ Biophotonics International.** [Online]. Available: <https://imagescience.org/meijering/publications/download/bio2004.pdf>.
- Morrison, R.B., Hilley, H.D. and Leman, A.D. 1985. Comparison of methods for assessing the prevalence and extent of pneumonia in market weight Swine. **Canadian Veterinary Journal.** 26(12): 381-384.
- Oba, P., Dione, M. M., Wieland, B., Mwiine, F. N. and Erume, J. 2021. Correlations between lung pneumonic lesions and serologic status for key respiratory pathogens in slaughtered pigs in northern Uganda. **Porcine health management.** 7(1): 1-10.
- Olaniyi, M.O., Awoyomi, O.J., Akinniyi, O., Adebisi, A.A., Alaka, O.O., Ajayi, O.L., Jubril, A.J., Jarikre, T.A. and Emikpe, B.O. 2020. Retrospective study of swine respiratory diseases in Ogun and Oyo States, Nigeria: Immunohistochemical detection of

- Mycoplasma hyopneumoniae*. **Sokoto Journal of Veterinary Science**. 18(2): 72-82.
- Pagot, E., Pommier, P. and Keïta, A. 2007. Relationship between growth during the fattening period and lung lesions at slaughter in swine. **Revue de Medecine Veterinaire**. 158, 253.
- Pallares, F.J. 2020. **The pig's respiratory system and its defense mechanisms**. [Online]. Available: https://www.pig333.com/articles/the-pigs-respiratory-system-and-its-defense-mechanisms_15891/.
- Pallares, F.J., Añón, J.A., Rodríguez-Gómez, I.M., Gómez-Laguna, J., Fabrè, R., Sánchez-Carvajal, J. M Ruedas-Torres, I. and Carrasco, L. 2021. Prevalence of mycoplasma-like lung lesions in pigs from commercial farms from Spain and Portugal. **Porcine Health Management**. 7(1): 1-8.
- Pascu, C., Herman, V., Costinar, L. and Iancu, I. 2019. Antimicrobial susceptibility of pathogenic bacteria isolated from swine lungs. **Romanian Biotechnological Letters**. 24(3): 506-512.
- Paz-Sánchez, Y., Herráez, P., Quesada-Canales, Ó., Poveda, C.G., Díaz-Delgado, J., Quintana-Montesdeoca, M.D.P., Plamenova Stefanova, E. and Andrada, M. 2021. Assessment of Lung Disease in Finishing Pigs at Slaughter: Pulmonary Lesions and Implications on Productivity Parameters. **Animals**. 11(12): 3604.
- Permentier, L., Maenhout, D., Deley, W., Broekman, K., Vermeulen, L., Agten, S., Verbeke, G., Aviron, J. and Geers, R. 2015. Lung lesions increase the risk of reduced meat quality of slaughter pigs. **Meat Science**. 108: 106–108.
- Petersen, A.C., Clampitt, J.M. and Minion, F.C. 2019. Analysis of swine antigen-specific antibody responses to *Mycoplasma hyopneumoniae* infection determined by protein microarray. **Veterinary Microbiology**. 230: 195-201.
- Pieters M.G. and Maes D. 2019. **Diseases of Swine**. New York: John Wiley and Son.
- Prodanov-Radulović, J., Vučićević, I., Polgek, V. and Aleksić-Kovačević, S. 2020. Current swine respiratory diseases morphology in intensive swine production in Serbia. **Acta Veterinaria-Beograd**. 70 (1): 1-36.
- Reinking, L. 2007. **Examples of Image Analysis Using ImageJ**. [Online]. Available: <https://imagej.nih.gov/ij/docs/pdfs/examples.pdf>.

- Rueden, C.T., Schindelin, J., Hiner, M.C., DeZonia B.E., Walter A.E., Arena E.T. and Eliceiri K. W. 2017. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. **BMC Bioinformatics**. 18(1): 529.
- Saade, G., Deblanc, C., Bougon, J., Marois-Créhan, C., Fablet, C., Auray, G., Belloc, C., Leblanc-Maridor, M., Gagnon, C. A., Zhu, J., Gottschalk, M., Summerfield, A., Simon, G., Bertho, N. and Meurens, F. 2020. Coinfections and their molecular consequences in the porcine respiratory tract. **Veterinary research**. 51(1), 80.
- Schindelin, J., Rueden, C.T., Hiner, M.C. and Eliceiri, K. 2015. The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. **Molecular Reproduction and Development**. 82: 518-529.
- Selçuk, M.L. and Çolakoğlu, F. 2020. Distinction of gray and white matter for some histological staining methods in New Zealand rabbit's brain. **International Journal of Current Research and Review**. 12: 11-17.
- Sibila, M., Pieters, M., Molitor, T., Maes, D., Haesebrouck, F. and Segalés, J. 2009. Current perspectives on the diagnosis and epidemiology of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. **The Veterinary Journal**. 181(3): 221-231.
- Sipos. W., Cvjetković, V., Cobrokes, B. and Sipos, S. 2021. Evaluation of the efficacy of a vaccination program against *Actinobacillus pleuropneumoniae* caused on lung-scoring at slaughter. **Animals**. 11(10): 2778.
- Steinmann, T., Blaha, T. and Meemken, D. 2014. A simplified evaluation system of surface-related lung lesions of pigs for official meat inspection under industrial slaughter conditions in Germany. **BMC veterinary research**. 10: 1-12.
- Straw, B.E., Backstrom, L., Leman, A.D. 1986. Examination of swine at slaughter. II. Findings at slaughter and their significance. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**. 8: 106-112.
- Teixeira, D.L., Harley, S., Hanlon, A., O'Connell, N.E., More, S.J., Manzanilla, E.G. and Boyle, L.A. 2016. Study on the Association between tail lesion score, cold carcass weight, and viscera condemnations in slaughter pigs. **Frontiers in Veterinary Science**. 3-24.
- Tonni, M., Boniotti, B.M., Gasparrini, S., Guarner, F., Formenti, N., Pieters, M., Pasquali, P. and Alborali, L.G. 2021. Genomic variability of *Mycoplasma hyopneumoniae* within pig lung lobes. **Porcine Health Management**. 7(1): 14.

- Trachtman, A.R., Bergamini, L., Palazzi, A., Porrello, A., Capobianco, D.A., Negro, D.E., Paolini, A., Vignola G., Calderara, S. and Marruchella, G. 2020. Scoring pleurisy in slaughtered pig using convolutional neural networks. **Veterinary research**. 51: 1-9.
- Van Staavaren, N., Vale, P.A., Manzanilla, G.E., Teixeira. L.D., Leonard, C.F., Hanlon A. and Boyle, A.L. 2016. Relationship between tail lesions and lung health in slaughter pigs. **Preventive Veterinary Medicine**. 127: 21–26.
- Varavud, N. and Mutirangura, A. 1994. Polymerase chain reaction in oncology. **Chulalongkorn Medical Journal**. 38(5): 243-254.
- White, M. 2009. **Acute Respiratory Disease**. [Online]. Available: <https://www.nadis.org.uk/disease-a-z/pigs/respiratory-disease-in-growing-pigs-module/part-1-acute-respiratory-disease/>.
- Wu, J., Nan, W., Huang, J., Peng, G. and Hu, H. 2021. Multiplex fluorescence quantitative PCR for the detection of eight bacterial pathogens of porcine respiratory disease complex (PRDC). **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**. 45(3): 447-456.
- Yang S. and Rothman R.E. 2004. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. **Lancet Infectious Diseases**. 4(6):337-348.
- Yang, S., Oh, T., Park, K.H., Cho, H., and Chae, C. 2020. A Dual Swine Challenge With Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) and *Mycoplasma hyopneumoniae* used to compare a combination of mixable monovalent PCV2 and Monovalent *M. hyopneumoniae* vaccines with a ready-to use PCV2 and *M. hyopneumoniae* bivalent vaccine. **Frontiers in Veterinary Science**. 7: 579.
- Yue, W., Liu, Y., Meng, Y., Ma, H. and He, J. 2021. Prevalence of porcine respiratory pathogens in slaughterhouses in Shanxi Province, China. **Veterinary Medicine and Science**. 7(4): 1339–1346.
- Zhou, L., Jones, S.C., Angen, Ø., Bossé, J.T., Nash, J.H., Frey, J., Zhou, R., Chen, H.C., Kroll, J.S., Rycroft, A. NLangford, P.R. 2008. Multiplex PCR that can distinguish between immunologically cross- reactive serovar 3, 6, and 8 *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains. **Journal of clinical microbiology**. 46(2): 800–803.

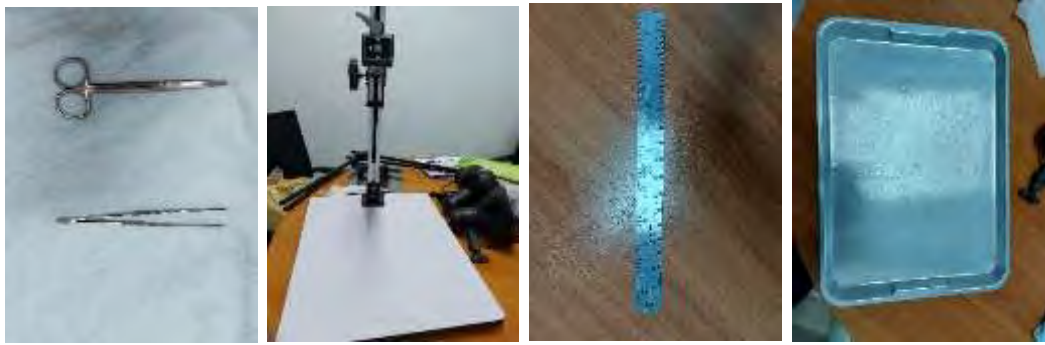


ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ ก 1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพ และเพื่อเก็บตัวอย่างปอด



ภาคผนวกที่ ก 2 การทำความสะอาดผิวอวัยวะปอด และการจัดตำแหน่งเพื่อบันทึกภาพถ่าย



ภาคผนวกที่ ก 3 การประเมินรอยโรค และการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ ก 4 การนำหลอดสารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ PCR เข้าสู่เครื่อง Thermocycler หรือ PCR machine เพื่อเพิ่มสารพันธุกรรม



ภาคผนวกที่ ก 5 การเตรียม Agarose gel เพื่อตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยเครื่องแยกวิเคราะห์สารพันธุกรรมในแนวนอน



ภาคผนวกที่ ก 6 การผสม loading dye ให้เข้ากันได้กับตัวอย่าง และการปล่อยตัวอย่างลงในหลุมเจลที่เตรียมไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ ก 7 การรันเจล และการย้อมเจล (Staining) และสุดท้ายตรวจสอบด้วยการนำไปส่องภายใต้ UV Transilluminator



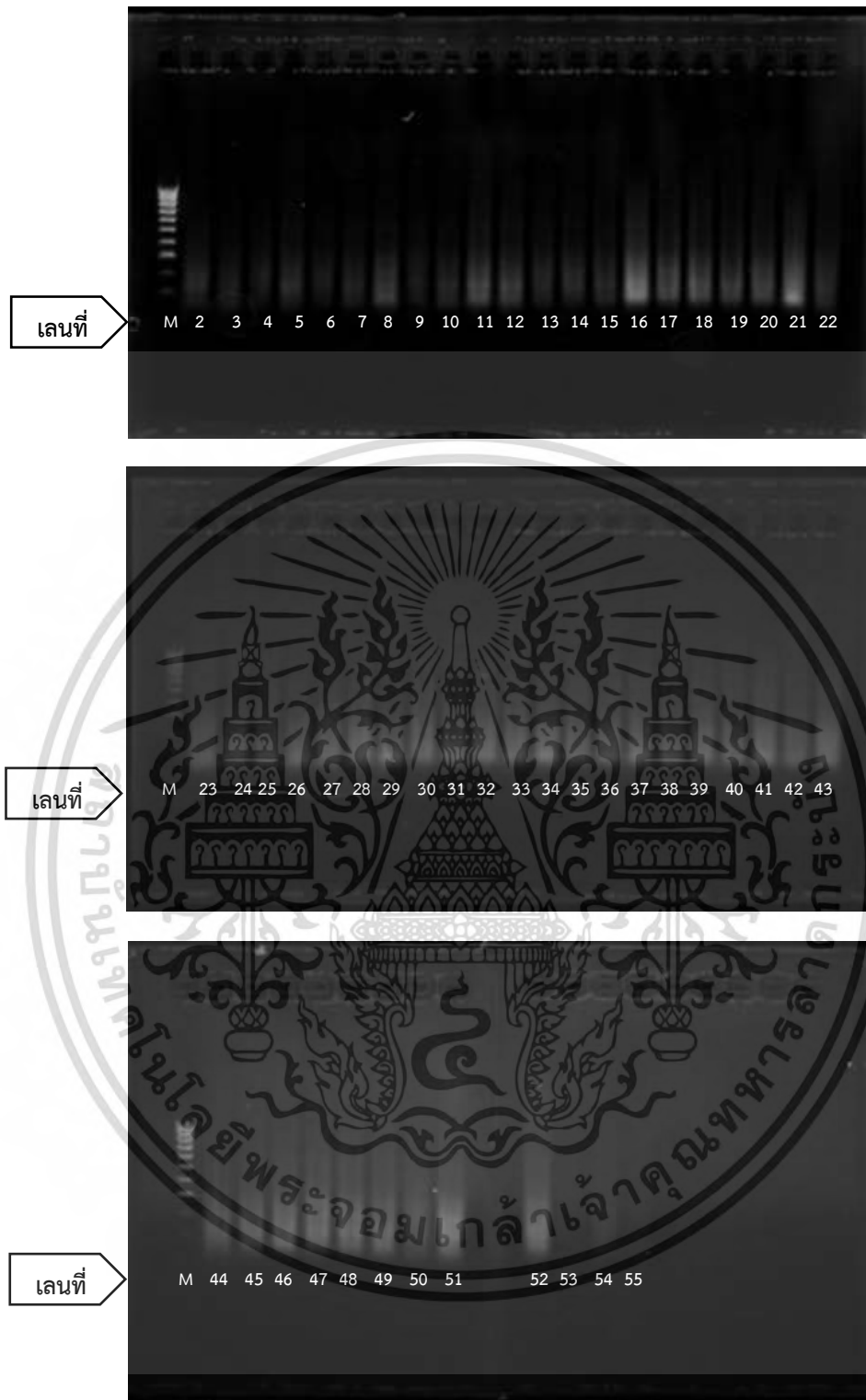
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ข

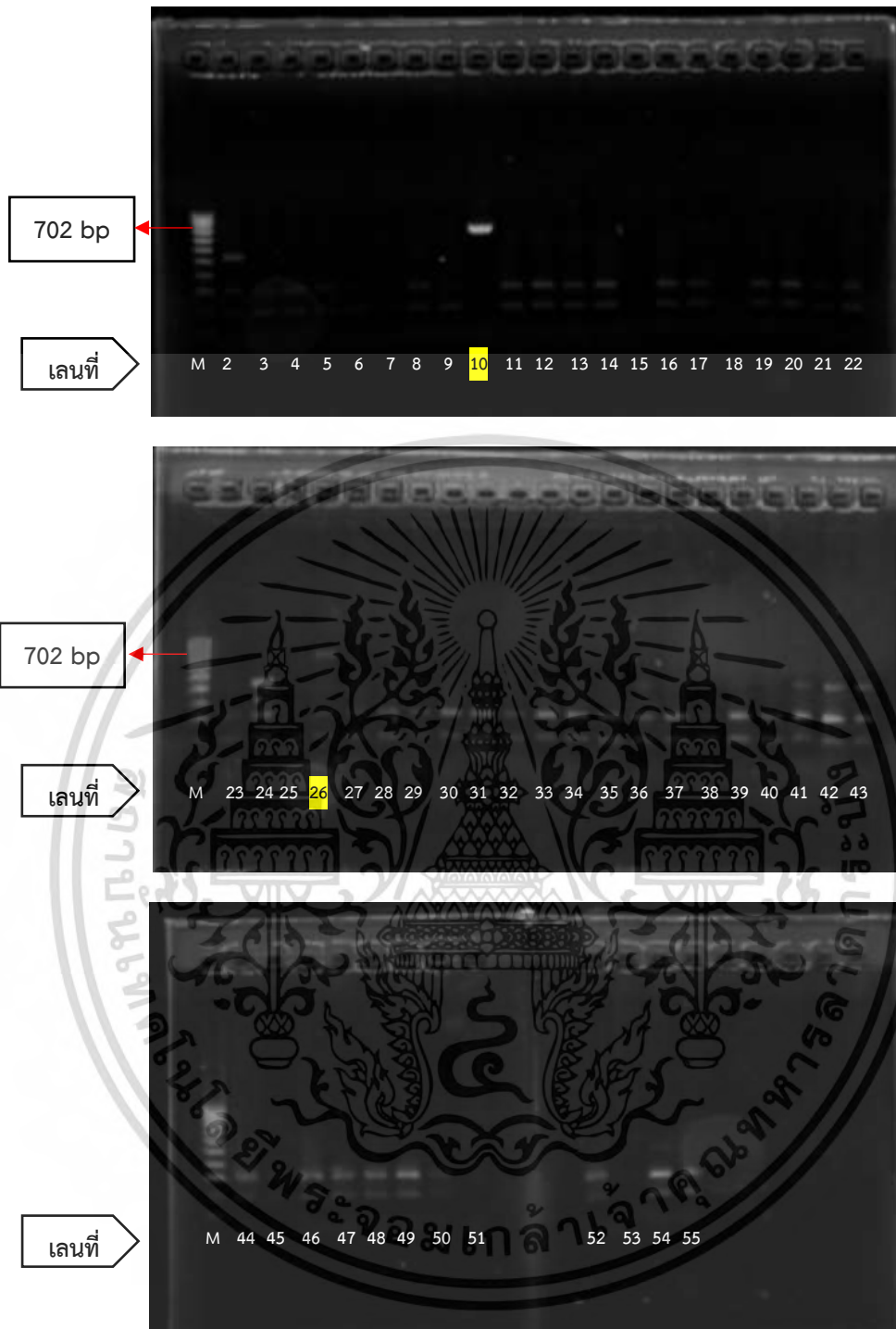
ผลการเพิ่มปริมาณ DNA/RNA ด้วยเทคนิค PCR และตรวจสอบด้วยวิธี Agarose Gel Electrophoresis ของตัวอย่างปอด เพื่อตรวจหาเชื้อก่อโรกระบบทางเดินหายใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



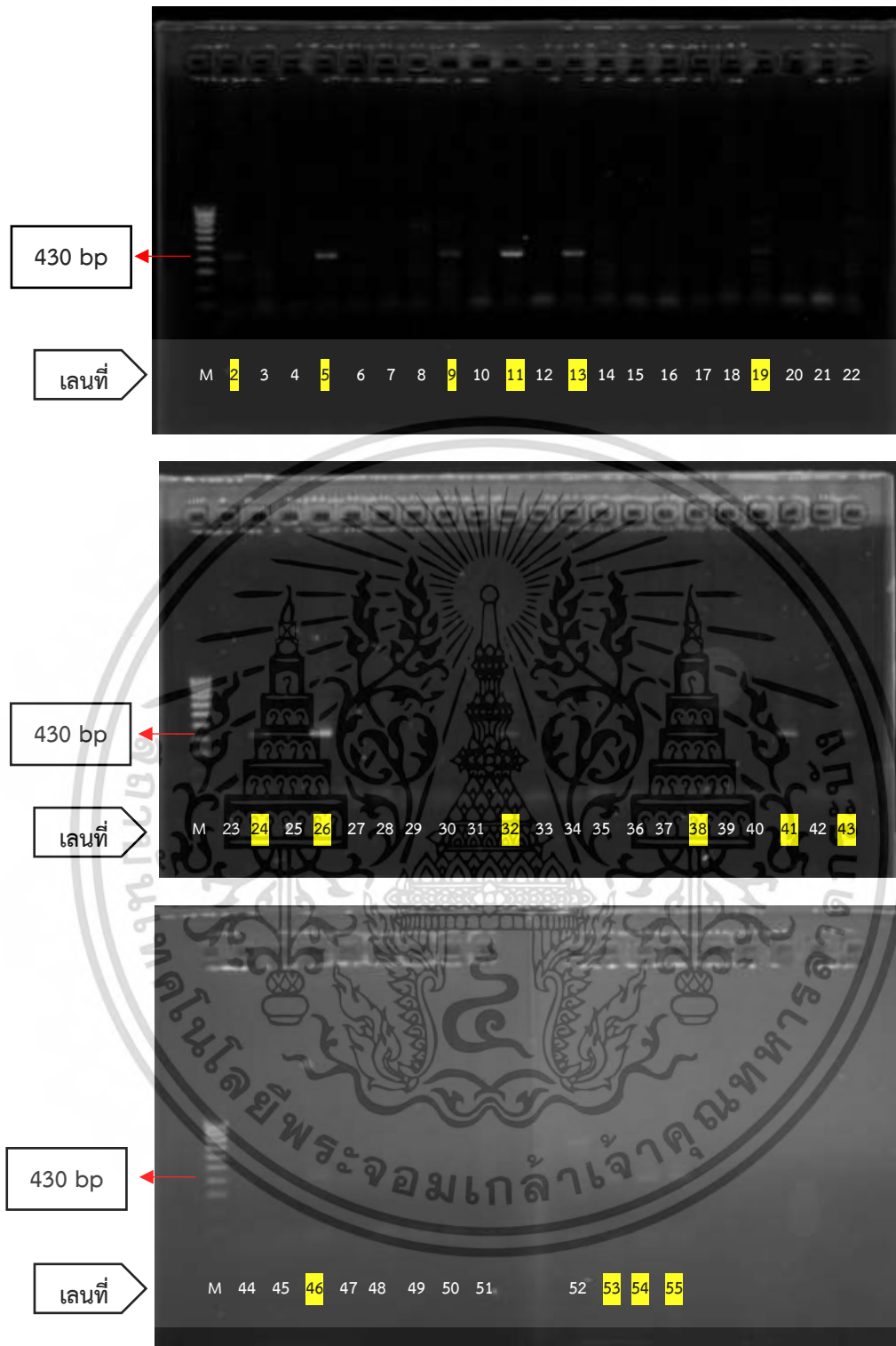
ภาคผนวกที่ ข 1 ผลการศึกษา RNA ของตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด เพื่อตรวจหาเชื้อก่อโรค Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) โดยใช้ PCR primer 3 คู่ มีขนาดดังนี้ (1) Common primer ขนาด 255 bp. (2) European primer ขนาด 186 bp. และ (3) North American primer ขนาด 107 bp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



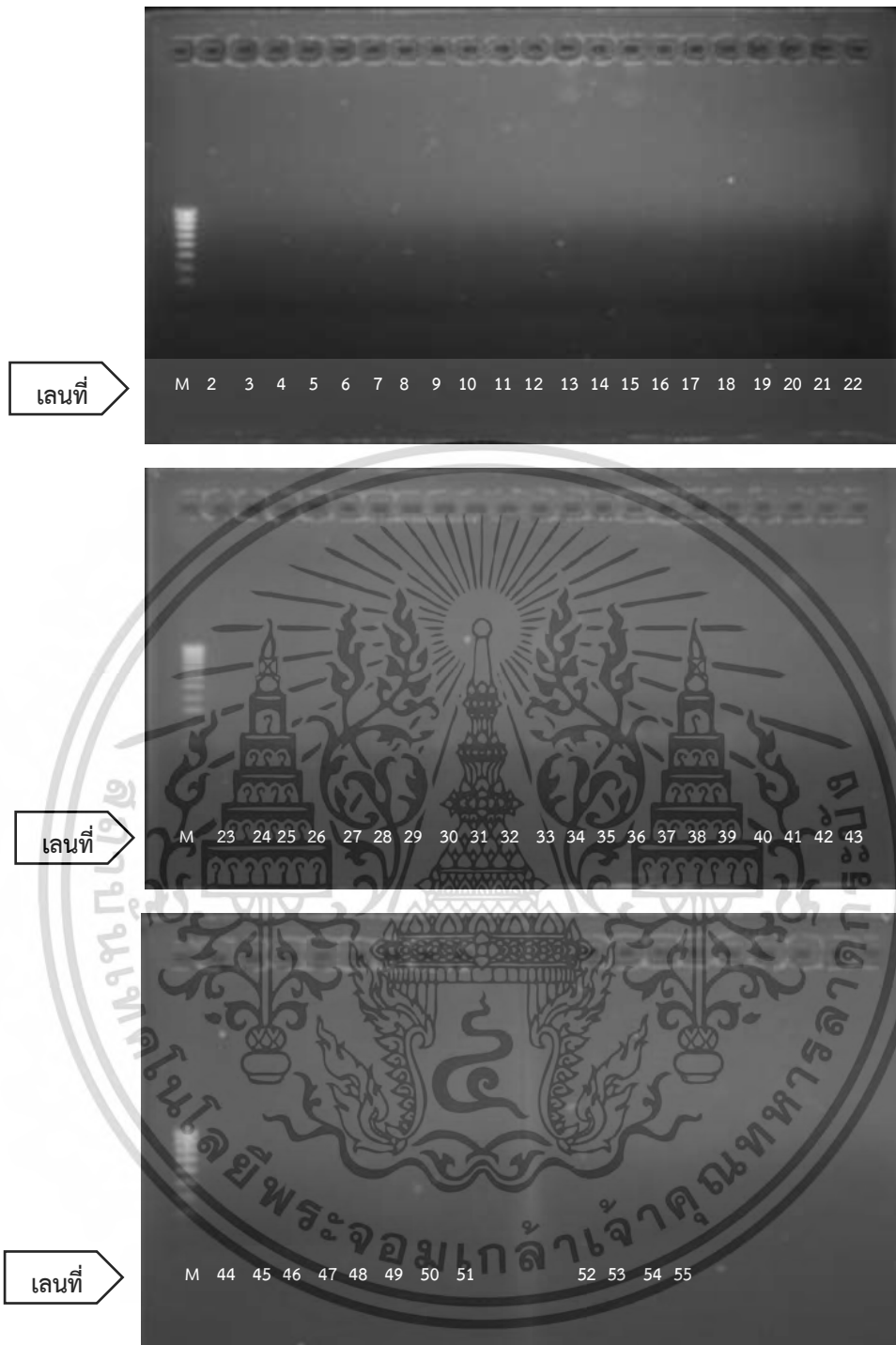
ภาพผนวกที่ ข 2 ผลการศึกษา RNA ของตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด เพื่อตรวจหาเชื้อก่อโรค Porcine circovirus 2 (PCV2) โดยใช้ primer 1 คู่ คือ PCV2-f1 และ PCV2-r1 ขนาด 702 bp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ ข 3 ผลการศึกษา RNA ของตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด เพื่อตรวจหาเชื้อก่อโรค *Mycoplasma* spp. โดยใช้ primer 2 คู่ คือ (1) *Mycoplasma hyopneumoniae* ขนาด 430 bp. (2) *Mycoplasma hyorhinis* ขนาด 346 bp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ ข 4 ผลการศึกษา RNA ของตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด เพื่อตรวจหาเชื้อก่อโรค *Actinobacillus pleuropneumoniae* โดยใช้ primer 1 คู่ : apxIVA1 และ apxIVA3 ขนาด 418 bp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้วิจัย

| | |
|------------------|---|
| ชื่อ-นามสกุล | นางสาวอุดมลักษณ์ สวนนาการณ์ |
| วัน เดือน ปีเกิด | 5 กุมภาพันธ์ 2541 |
| ที่อยู่ | 16 หมู่ 3 ตำบลบางช้าง อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม 73110 |
| ประวัติการศึกษา | - 2559 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมารีย์อุปถัมภ์ - 2563 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง - 2566 หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง |
| ผลงานทางวิชาการ | อุดมลักษณ์ สวนนาการณ์ และคณะ. 2566. การประเมินรอยโรค <i>Mycoplasma</i> -like lesions จากปอดของซากสุกรในโรงฆ่าด้วยวิธีการต่างกัน: การศึกษาเบื้องต้น. หน้า 144-149. ในการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ครั้งที่ 14. กรุงเทพฯ: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร. |
| ประวัติการทำงาน | หัวหน้างานฝ่ายวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์เลี้ยง บริษัทไทย ออซิม จำกัด พ.ศ. 2565 - 2567 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้