การศึกษาการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกร

THE STUDY OF COMBINATION VACCINES AGAINST PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2 AND *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* IN SWINE

ณัฏฐณิชา ทองสุกใส

NATTANICHA THONGSUKSAI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2568

KMITL-2025-AG-M-031-452

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE STUDY OF COMBINATION VACCINES AGAINST PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2 AND *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* IN SWINE

NATTANICHA THONGSUKSAI

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

2025

KMITL-2025-AG-M-031-452

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2025

SCHOOL OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกร
นักศึกษา	นางสาวณัฏฐณิชา ทองสุกใส
รหัสประจำตัว	63604027
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์
พ.ศ.	2568
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.น.สพ.ชนาธิป ธรรมการ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร.น.สพ.จำลอง มิตรชาวไทย

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 (Porcine circovirus type 2: PCV2) เป็นโรคที่ก่อให้สุกรเกิดกลุ่มอาการซูบผอมเรื้อรังหลังหย่านม (Post weaning multisystemic wasting syndrome: PMWS) ทำให้สุกรป่วย แคระแกร็น เจริญเติบโตช้า น้ำหนักน้อย ใช้วันเลี้ยงยาวนานขึ้น และเป็นโรคที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจซับซ้อน (Porcine respiratory disease complex: PRDC) และจะเพิ่มความรุนแรงของโรคเมื่อเกิดการติดเชื้ออื่นๆ แทรกซ้อน เช่น *Mycoplasma hyopneumoniae* โรคติดเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ก่อให้เกิดความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกร แม้การระบาดจะไม่รุนแรงแต่ทำให้ผลผลิตที่ได้มีปริมาณลดลง ดังนั้นการทำวัคซีนจึงเป็นสิ่งสำคัญ การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิตที่มีองค์ประกอบต่างกันพร้อมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกร โดยศึกษาในลูกสุกรอายุ 4 สัปดาห์ ซึ่งจะได้รับวัคซีน 3 ชนิด ได้แก่ วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ PCV2 ชนิดซับยูนิตที่มี ORF2 antigen 1.0-3.75 RP/ml (วัคซีน A), ORF2 antigen ไม่น้อยกว่า 200 Units (วัคซีน B) และวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* ที่มีแอนติเจนไม่น้อยกว่า 1 RP/ml (วัคซีน C) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized; CRD) แบ่งการทดลองเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 7 ตัว ได้แก่ กลุ่มการทดลองที่ 1: ได้รับวัคซีน A และ C แบบผสมวัคซีนก่อนฉีด (T1-ACMix) กลุ่มการทดลองที่ 2: ได้รับวัคซีน B และ C แบบฉีดพร้อมกันแต่แยกตำแหน่งฉีด (T2-BCSeparate) กลุ่มการทดลองที่ 3: ได้รับวัคซีน B และ C แบบผสมวัคซีนก่อนฉีด (T3-BCMix) และกลุ่มการทดลองที่ 4 (T4-PBS) ได้รับ Phosphate buffered saline ทำการเก็บเลือดสุกรก่อนเริ่มการทดลองและที่อายุ 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ เพื่อตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ PCV2 และ *M. hyopneumoniae* ด้วยวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA) และ Polymerase chain reaction (PCR) ผลการทดลองพบว่าก่อนเริ่มการทดลองที่อายุ 4 สัปดาห์ สุกรในทุกกลุ่มการทดลองก่อนฉีดวัคซีนมีระดับแอนติบอดีที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่มีระดับค่า S/P ratio ≥ 0.5 (Cut-off point) ซึ่งแสดงว่ามีระดับแอนติบอดีเป็น Positive ต่อเชื้อ PCV2 ในทุกกลุ่มการทดลอง และเมื่อสุกรได้รับวัคซีนพบว่าการตอบสนองทางภูมิคุ้มต่อเชื้อ PCV2 ที่เกิดขึ้นนั้นส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นจากภาวะ Viremia ซึ่งตรวจพบในสุกรกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 4 ตั้งแต่อายุ 6 สัปดาห์ และตรวจพบในสุกรกลุ่มการทดลองที่ 2 ที่อายุ 8 สัปดาห์ ทำให้เห็นว่ามีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 3 ตรวจไม่พบเชื้อ PCV2 ในกระแสเลือด สำหรับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* พบว่าสุกรในทุกกลุ่มการทดลองมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ไม่ดี ดังนั้นหากมีความจำเป็นจำเป็นต้องทำวัคซีนทั้ง 2 ชนิดนี้ร่วมกัน การเลือกใช้วัคซีน B ร่วมกับวัคซีน C แบบผสมรวมกันจึงเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	The study of combination vaccines against Porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* in swine
Student	Miss Nattanicha Thongsuksai
Student ID.	63604027
Degree	Master of Science
Program	Animal Science
Year	2023
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Chanathip Thammakarn
Thesis Co-advisor	Asst. Prof. Dr. Jamlong Midchaothai

ABSTRACT

Porcine circovirus type 2 (PCV2) Infection is recognized as the primary etiological agent responsible for post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS), a condition that leads to clinical manifestations in pigs including chronic emaciation, stunted growth, reduced body weight, prolonged fattening periods, and diminished production performance. Additionally, PCV2 infection plays a key role in the pathogenesis of porcine respiratory disease complex (PRDC) and exacerbates disease severity in the presence of concurrent infections, particularly *Mycoplasma hyopneumoniae*. Although outbreaks may present with subclinical or mild symptoms, the cumulative impact results in substantial economic losses in the swine industry due to decreased productivity. Therefore, effective vaccination strategies are critical for disease prevention and control. This study aimed to evaluate the immunogenic efficacy of different subunit PCV2 vaccines in combination with a vaccine against *M. hyopneumoniae* in 4-week-old piglets. The study utilized three types of vaccines, subunit PCV2 vaccine containing ORF2 antigen at 1.0-3.75 RP/ml (vaccine A). A subunit PCV2 vaccine containing ORF2 antigen at no less than 200 Units (vaccine B). A *M. hyopneumoniae* vaccine containing antigen at no less than 1 RP/ml (vaccine C). The experiment was arranged in a Completely Randomize Design (CRD) with vaccines administered intramuscularly to pigs at 4 weeks of age, divided into four groups of six

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pigs each. Group 1 (T1-ACMix): received vaccine A and C, mixed before injection. Group 2 (T2-BCSeparate): received vaccine B and C, injected simultaneously but at separate injection sites. Group 3 (T3-BCMix): received vaccine B and C, mixed before injection. Group 4 (T4-PBS): received phosphate-buffered saline as a control. Blood samples were collected before the experiment and at 6, 8, 12, and 16 weeks of age to determine immune responses against PCV2 and using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Polymerase Chain Reaction (PCR) methods. The results indicated that at 4 weeks of age, prior to vaccination, pigs in all groups showed significantly different antibody levels ($P \leq 0.05$), but all had an S/P ratio ≥ 0.5 (the cut-off point), indicating a positive antibody response to PCV2 across all groups. Following vaccination, the immune response to PCV2 was largely associated with viremia. Viremia was detected in Groups 1 and 4 at 6 weeks of age and in Group 2 at 8 weeks of age. Notably, viremia was not detected in pigs in Group 3 throughout the study period. In contrast, the antibody response to *M. hyopneumoniae* was generally poor across all experimental groups, suggesting limited immunogenicity. Regarding *M. hyopneumoniae* immunity, all groups showed poor immune responses. Therefore, if both vaccines need to be administered together, the best option is to use Vaccine B combined with Vaccine C in a mixed formulation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ต้องขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.น.สพ.ชนาธิป ธรรมการ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผศ.ดร.น.สพ.จำลอง มิตรชาวไทย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้ความรู้ คำชี้แนะ คำสอน และให้ความช่วยเหลือในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนให้โอกาส ให้ความรู้ และให้ประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. รณชัย สิทธิไกรพงษ์ รศ.ดร.กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ และผศ.ดร. อัจฉรา ลักขณานุกูล ประธานและกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาสละเวลาอันมีค่า ที่ให้ความรู้เพิ่มเติม ให้คำแนะนำต่างๆ ตลอดจนข้อชี้แนะอันเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ทั้งในเรื่องของความถูกต้อง และความสมบูรณ์ของเนื้อหาทางวิชาการอย่างครบถ้วน

ขอขอบพระคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ทำให้ได้รับโอกาสในการศึกษาต่อในครั้งนี้ และขอขอบพระคุณความกรุณาจาก บริษัท ยูเนียน อกรีฟาร์ จำกัด ที่มอบทุนในการสนับสนุนงานวิจัย ทั้งในส่วนของสารเคมีและอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ จนทำให้งานวิจัยประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณนางสาวสวรรยา อำพนพิศลย์ นางสาวณชนก ไวยสุตรา และนักศึกษาปริญญาโทร่วมชั้นที่ช่วยสอนวิธีการทำแลป การใช้ห้องแลป และอุปกรณ์ต่างๆ อีกทั้งยังให้การช่วยเหลือและให้คำแนะนำตลอดจนการแลกเปลี่ยนความรู้ และขอขอบคุณน้องๆ นักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และวิยาศาสตร์เนื้อสัตว์ ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือในการทำวิจัย ตลอดจนเป็นกำลังใจที่ดีให้เสมอมา

ขอขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัว ตลอดจนครูบาอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้าจึงขอมอบคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้แด่ทุกท่านซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง อีกทั้งคุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบให้แด่ทุกท่านที่สามารถนำไปใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อไป

นางสาวณัฏฐณิชา ทองสุกใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III
กิตติกรรมประกาศ.....V
สารบัญ.....VI
สารบัญตาราง.....IX
สารบัญภาพ.....X
บทที่ 1 บทนำ.....1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์.....2
1.3 สถานที่ดำเนินงาน.....2
1.4 ขั้นตอนการศึกษา.....3
1.5 ระยะเวลาการศึกษา.....3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....4
2.1 สุกรอนุบาลและสุกรขุน.....4
2.2 สถานการณ์สินค้าสุกรของประเทศไทยในปัจจุบัน.....8
2.3 ระบบภูมิคุ้มกัน (Immunity).....10
2.4 รูปแบบและการพัฒนาวัคซีน.....14
2.4.1 ชนิดของวัคซีน.....14
2.4.2 วิธีการให้วัคซีนหรือยาในสุกร.....16
2.4.3 การเลือกวัคซีนตามความสำคัญในการเลือกใช้.....18
2.4.4 ปฏิกิริยาจากการได้รับวัคซีน (Vaccine reaction).....19
2.4.5 ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการให้วัคซีนในสุกร.....19
2.5 โรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 (Porcine circovirus type 2).....23
2.5.1 Porcine circovirus type 2 (PCV2).....24
2.5.2 วิทยาภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อของโรค PCV2.....26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6 โรคปอดอักเสบจากเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกร....28
2.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในประเทศไทย....29
2.7 การตรวจวินิจฉัยโรคและการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน....30
2.7.1 การตรวจสอบระดับภูมิคุ้มกันด้วยวิธี ELISA....31
2.7.2 การสกัดสารพันธุกรรม (Nucleic Acid Isolation)....34
2.7.3 เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction)....36
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย....40
3.1 สัตว์ทดลอง....40
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี....40
3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงสุกร....40
3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ภายในโรงเรือน....40
3.2.3 อุปกรณ์ที่ใช้เก็บข้อมูลสุกรและเก็บตัวอย่างเลือด....41
3.2.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ....41
3.2.5 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจระดับภูมิคุ้มกันด้วยเทคนิค ELISA....42
3.2.6 สารเคมีที่ใช้สกัด DNA Extraction....43
3.2.7 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ PCR สำหรับตรวจ PCV2....43
3.2.8 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ PCR สำหรับตรวจ *M. hyopneumoniae* 44
3.2.9 วัคซีนที่ใช้ในการทดลอง....44
3.3 การดำเนินดารทดลอง....45
3.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลองและการให้วัคซีน....45
3.3.2 การบันทึกข้อมูล....46
3.3.3 การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ....46
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล....54
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง....55
4.1 การศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเติบโต....55
4.2 ผลการประเมินประสิทธิภาพของระดับภูมิคุ้มกัน....56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.1 ประสิทธิภาพการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2.....56

4.2.2 ผลการศึกษาโดยวิธี PCR ต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2.....56

4.2.3 ประสิทธิภาพการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า.....69

4.2.4 ผลการศึกษาโดยวิธี PCR ต่อโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า.....76

4.2.5 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอส.....76

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....79

5.1 สรุปผลการวิจัย.....79

5.2 ข้อเสนอแนะ.....80

บรรณานุกรม.....81

ภาคผนวก.....88

ภาคผนวก ก.....89

ภาคผนวก ข.....93

ภาคผนวก ค.....98

ประวัติผู้วิจัย.....104

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ความต้องการโภชนะอาหารพลังงาน โปรตีน แคลเซียม ฟอสฟอรัสของสุกรในแต่ละช่วงอายุ.....6
2.2 โปรแกรมวัคซีนสำหรับลูกสุกรแบบที่ 1.....6
2.3 โปรแกรมวัคซีนสำหรับลูกสุกรแบบที่ 2.....7
2.4 โปรแกรมวัคซีนสำหรับลูกสุกรแบบที่ 3.....7
2.5 ปริมาณ Immunoglobulin จากน้ำนมของแม่สุกรหลังคลอด.....13
3.1 แสดงกลุ่มการทดลอง ชนิดวัคซีน และลักษณะการฉีดวัคซีน.....45
3.2 การตั้งค่าโปรแกรมสกัด DNA.....51
4.1 อัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการให้อาหาร (Mean ± SD).....56
4.2 ประสิทธิภาพการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดต่างๆ และวิธีการให้ที่แตกต่างกัน (Mean ± SD).....58
4.3 จำนวนสุกรที่มีค่า Cut-off point ที่ S/P ratio ≥ 0.05 แสดงระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ในแต่ละกลุ่มการทดลอง.....59
4.4 เปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดต่างๆ และวิธีการให้ที่แตกต่างกัน (Mean ± SD).....63
4.5 จำนวนสุกรที่แสดงผลว่าเป็น Positive ต่อเชื้อ PCV2.....64
4.6 ประสิทธิภาพการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในวิธีการให้ที่แตกต่างกัน (Mean ± SD).....70
4.7 จำนวนสุกรที่มีค่า Cut-off point ที่ S/P ratio > 0.04 แสดงระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในแต่ละกลุ่มการทดลอง.....70
4.8 เปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าชนิดต่างๆ และวิธีการให้ที่แตกต่างกัน (Mean ± SD).....75
4.9 การตอบสนองทางภูมิคุ้มต่อโรคพีอาร์อาร์เอส (Mean ± SD).....76

ตารางผนวกที่

ค 1 วัดปริมาณ DNA โดยเครื่อง Micro spectrophotometer ของกลุ่มทดลองที่ 1.....99
ค 2 วัดปริมาณ DNA โดยเครื่อง Micro spectrophotometer ของกลุ่มทดลองที่ 2.....100
ค 3 วัดปริมาณ DNA โดยเครื่อง Micro spectrophotometer ของกลุ่มทดลองที่ 3.....101
ค 4 วัดปริมาณ DNA โดยเครื่อง Micro spectrophotometer ของกลุ่มทดลองที่ 4.....102
ค 5 เปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นต่อโรคพีอาร์อาร์เอส (Mean ± SD).....103

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายเมื่อได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน....12
2.2 แสดงการตอบสนองของร่างกายต่อกระบวนการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกาย....12
2.3 การป้อนวัคซีนโดยการกิน (Oral route)....16
2.4 การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ....17
2.5 ลักษณะของเชื้อ PCV2....24
2.6 สุกรที่มีลักษณะผอมทรุดโทรมจากกลุ่มอาการ PMWS....25
2.7 เชื้อ PCV2 ที่มแฝงตัวอยู่ในเซลล์แมคโครฟาจ....27
2.8 ลูกสุกรที่มีอาการไอ....28
2.9 รูปแบบและหลักการ ELISA....32
2.10 กราฟการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยเทคนิค Real-time PCR....37
2.11 หลักการทำงานของเทคนิค PCR....39
4.1 ระดับภูมิคุ้มกันเฉลี่ยในสุกรต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ที่มีการให้วัคซีนที่แตกต่างกันที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ โดย T1-ACMix = กลุ่มการทดลองที่ 1 (Ingelvac CircoFLEX ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด), T2-BCSeparate = กลุ่มการทดลองที่ 2 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบแยกฉีด), T3-BCMix = กลุ่มการทดลองที่ 3 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด) และ T4-PBS = กลุ่มการทดลองที่ (PBS)....56
4.2 ขั้นตอนการผสมกันระหว่าง Ingelvac CircoFLEX รวมกับ Ingelvac MycoFLEX....57
4.3 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 1 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2....61
4.4 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 2 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2....61
4.5 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 3 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2....62
4.6 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 4 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2....62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

4.7 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 1, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control....65
4.8 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 1, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control....65
4.9 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 1 และ 2, Lane 18-21 = Positive control; Lane 22 = Negative control....66
4.10 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 2, Lane 19 และ 21 = Positive control; Lane 20 และ 22 = Negative control....66
4.11 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3, Lane 19 =Positive control; Lane 20 = Negative control....67
4.12 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 3, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control....67
4.13 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 3 และ 4, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control....68
4.14 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 4, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control....68
4.15 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-13 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 4, Lane 15 = Positive control; Lane 16 = Negative control....69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

4.16 ระดับภูมิคุ้มกันเฉลี่ยในสุกรต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าที่มีการให้วัคซีนที่แตกต่างกันที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ โดย T1-ACMix = กลุ่มการทดลองที่ 1 (Ingelvac CircoFLEX ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด), T2-BCSeparate = กลุ่มการทดลองที่ 2 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบแยกฉีด), T3-BCMix = กลุ่มการทดลองที่ 3 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด) และ T4-PBS = กลุ่มการทดลองที่ 4 (PBS).....69
4.17 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 1 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า.....72
4.18 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 2 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า.....73
4.19 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 3 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า.....73
4.20 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 4 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า.....74
4.21 ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการฉีดวัคซีน Ingelvac MycoFLEX.....75

ภาพผนวกที่

ก 1 วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต (IngelvacCircoFLEX; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.; USA).....90
ก 2 วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต (PRO-VAC CIRCOMAS -TER ONE-SHOT; Komipharm International Co. Ltd.; Korea).....90
ก 3 วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า (IngelvacMycoFLEX; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.; USA).....90
ก 4 วัคซีนที่สามารถผสมร่วมกันได้ตามคำแนะนำของผู้ผลิต ได้แก่ Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) และ *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhp).....91
ก 5 สุกรจะถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 7 ตัว อาศัยในคอกขังรวม.....91
ก 6 สุกรจะได้รับอาหารสำเร็จรูป และน้ำสะอาดตลอดการทดลอง.....91
ก 7 ถังอาหาร และอาหารสำเร็จรูป สำหรับเตรียมให้สุกร.....92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

ก 8 เก็บตัวอย่างเลือดสุกรที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 20 สัปดาห์.....92
ก 9 เก็บเยื่อบุโพรงจมูก (Nasal swab) ที่อายุ 8 สัปดาห์.....92
ข 1 ชุดตรวจทางการค้า Porcine Circovirus type2 Antibody test kit (SK105; BioChek; UK).....94
ข 2 ชุดตรวจทางการค้า *M. Hyopneumoniae* Antibody test kit (IDEXX; USA).....94
ข 3 ชุดตรวจทางการค้า PRRSV Antibody test kit (Pigtype; Germany).....94
ข 4 MagaBio plus Virus DNA/RNA Purification Kit III ชุดที่ BSC86S1E (Bioer; Hangzhou, China).....95
ข 5 ขั้นตอนการทำ ELISA เพื่อวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อ PCV2.....95
ข 6 ขั้นตอนการทำ ELISA เพื่อวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อ PRRS.....95
ข 7 ขั้นตอนการล้างด้วย Wash buffer ด้วย Microplate washer.....96
ข 8 อ่านผลด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่นตามชุดปฏิบัติการ.....96
ข 9 ตัวอย่างเยื่อบุโพรงจมูก (Nasal swab).....96
ข 10 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) ตัวอย่างซีรั่มเลือดสุกรสัปดาห์ที่ 4, 6, 8, 12 และ 16 และตัวอย่าง Nasal swab สุกรที่สัปดาห์ที่ 8 สัปดาห์.....97
ข 11 การวิเคราะห์ Conventional PCR สำหรับตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 และการวิเคราะห์ multiplex PCR PCR สำหรับตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis* ด้วย Thermal cycler.....97
ข 12 ขบวนการ Electrophoresis และอ่านค่าถ่ายรูปโดยใช้เครื่อง FluoroBox.....97
ค 1 ระดับภูมิคุ้มกันเฉลี่ยในสุกรต่อโรคพีอาร์อาร์เอส ที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ โดย T1-ACMix = กลุ่มการทดลองที่ 1 (Ingelvac CircoFLEX ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด), T2-BCSeparate = กลุ่มการทดลองที่ 2 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบแยกฉีด), T3-BCMix = กลุ่มการทดลองที่ 3 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด) และ T4-PBS = กลุ่มการทดลองที่ 4 (PBS).....103

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สุกรเป็นสัตว์เลี้ยงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง เนื่องจากเนื้อสุกรเป็นอาหารที่นิยมบริโภคกันมากและปริมาณการบริโภคมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ทำให้มีความต้องการในการเพิ่มกำลังการผลิตเนื้อสุกร จึงก่อเกิดอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรขนาดใหญ่ โดยการเลี้ยงสุกรนั้นต้องให้ความสำคัญกับการจัดการต้นทุนการผลิต ทำอย่างไรเพื่อให้ต้นทุนการผลิตต่ำ และยังคงได้ผลผลิตสูงสุด โดยอุตสาหกรรมสุกรการเลี้ยงสุกรส่วนใหญ่มักพบปัญหาในเรื่องของโรคระบาด อาทิเช่น โรคพีอาร์อาร์เอส (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome: PRRS) โรคอหิวาต์สุกร (Classical Swine Fever: CSF) โรคปากเท้าเปื่อย (Foot and mouth disease: FMD) โรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 (Porcine circovirus type 2: PCV2) และโรคที่มีการระบาดอยู่ขณะนี้ ได้แก่ โรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร (African swine fever: ASF) โรคเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและระบบต่างๆ ของร่างกาย อาทิเช่น ระบบทางเดินหายใจ และระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งสร้างความเสียหายเรื่องการสูญเสียเป็นอย่างมาก ดังนั้นอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรจึงมีความจำเป็นต่อการใช้โปรแกรมวัคซีนที่มีประสิทธิภาพมาเป็นส่วนหนึ่งของการจัดการ

สำหรับโรค PCV2 ปัจจุบันสามารถพบได้ทั่วโลก แต่จะสร้างปัญหาเมื่อมีการติดเชื้อร่วมกับจุลชีพก่อโรคอื่นๆ เช่น โรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า (*Mycoplasma hyopneumoniae*) ซึ่งจัดเป็นโรคที่พบร่วมกันในอุตสาหกรรมสุกรอยู่เสมอ ซึ่งพบมากรองลงมาจากโรค PRRS (Gillespie *et al.,* 2009) โดยที่โรค PCV2 ถูกระบุว่าเป็นสาเหตุของกลุ่มอาการที่ก่อให้เกิดความเสียหายของสุกรหลังหย่านม ซึ่งเรียกว่า Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) โรค PCV2 มีการพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1991 ในฝูงสุกรที่เลี้ยงแบบปลอดโรคในประเทศแคนาดา (Harding and Clark, 1997) เกิดจากเชื้อไวรัสที่มีขนาดเล็กที่สุดในบรรดาเชื้อไวรัสที่ก่อโรคในสัตว์ ที่อยู่ใน Family Circoviridae และอยู่ในจีนัส *Circovirus* เป็นดีเอ็นเอไวรัสที่ไม่มีเปลือกหุ้มมีลักษณะทางพันธุกรรมเป็นวงสายเดี่ยว และมีโครงสร้างภายนอกเป็นแบบ Icosahedral nonenveloped (Tischer *et al.,* 1982) ซึ่ง PCV2 จะทำให้พบปัญหา ได้แก่ PMWS ความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ในแม่สุกร กลุ่มอาการผิวหนังอักเสบและไตเสื่อม รวมทั้งอาการสั่น และจะเพิ่มความรุนแรงของโรคเมื่อเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน (รุ่งโรจน์ ธนาวงศ์นุเวช และคณะ, 2548) ในส่วนของโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า สามารถเรียกอีกชื่อได้ว่าโรคเอ็นซูติกนิวโมเนีย (Enzootic pneumonia; EP) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *M. hyopneumoniae* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มักเกาะอยู่บนพื้นผิวด้านนอกของเยื่อบุเซลล์ขนอ่อนของระบบทางเดินหายใจในสุกร โดยที่โรคนี้ทำให้เยื่อบุเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนอ่อนไม่ทำงาน หรือทำให้เกิดความเสียหายของเยื่อบุเซลล์ขนอ่อนส่งผลให้สุกรติดเชื้อแทรกซ้อนต่างๆของระบบทางเดินหายใจได้ง่ายขึ้น (Maes *et al.*, 2008) สุกรที่เป็นโรคนี้มักมีอาการไอลึก หายใจลำบาก ไม่กินอาหาร มีอาการไข้สูงถึง 105-107 องศาฟาเรนไฮต์ อีกทั้งสุกรจะมีอาการหอบ อัตราการเจริญเติบโตที่ไม่ดี และจะส่งผลรุนแรงมากขึ้นหากมีการติดเชื้อร่วมกับเชื้ออื่นๆ (Shlomo, 2003) โดยทั้ง 2 โรคนี้มักพบคู่กันและพบมาตลอดจนถึงในปัจจุบัน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าอาการจากโรคดังกล่าวก่อให้เกิดความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยด้วย แม้ว่าบางอาการหรือการระบาดอาจจะดูไม่มีความรุนแรงมาก แต่ทำให้ผลผลิตที่ได้มีปริมาณที่ลดลง อีกทั้งยังไปเพิ่มต้นทุนในด้านการรักษาอีกด้วย ทำให้ในปัจจุบันอุตสาหกรรมสุกรและเกษตรกรหลายรายมีความสนใจในเรื่องของวัคซีนที่สามารถป้องกันเชื้อ PCV2 และ *M. hyopneumoniae* โดยมีการนำวัคซีนดังกล่าวเข้าสู่โปรแกรมการทำวัคซีนให้แก่สุกร เป็นผลทำให้เกิดการผลิตวัคซีนทางการค้าหลายชนิดทั้งผลิตภายในประเทศ และนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งวัคซีนทางการค้าแต่ละชนิดนั้นก็จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมและป้องกันโรคที่แตกต่างกัน ซึ่งวัคซีนดังกล่าวนั้นสามารถกระทำได้ตามคำแนะนำของผู้ผลิต โดยการให้วัคซีนนั้นสามารถให้ควบคู่กันหรือพร้อมกันได้ เพื่อช่วยลดระยะเวลาให้การให้วัคซีน รวมถึงต้นทุนค่าใช้จ่าย แรงงาน และที่สำคัญคือลดผลกระทบต่อตัวสัตว์ ลดสภาวะความเครียดที่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิตสุกร อีกทั้งในปัจจุบันพบว่ามีเกษตรกรจำนวนไม่น้อยเลือกใช้โปรแกรมวัคซีนที่มีการทำวัคซีนทั้งสองชนิดพร้อมกัน จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนแต่ละชนิด และการให้วัคซีนทั้งสองชนิดพร้อมกัน เพื่อเปรียบเทียบระดับของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นในสุกร รวมทั้งผลกระทบที่มีต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต เพราะการเลือกใช้วัคซีนและโปรแกรมวัคซีนที่เหมาะสมจะเป็นแนวทางสำคัญในการควบคุมการเกิดโรคในสุกรได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิตที่มีองค์ประกอบต่างกันพร้อมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกร

1.3 สถานที่ดำเนินงาน

1. ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์โมเลกุลและเทคโนโลยีชีวภาพระดับเซลล์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2. ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมด้านการเลี้ยงสัตว์ หลักสูตรเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการศึกษา

1. วางแผนการทดลองโดยใช้สุกรขุน 3 สายพันธุ์ (Duroc jersey x Large white x Lanrace) อายุ 4 สัปดาห์ จำนวน 28 ตัว โดยแบ่งสุกรออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 7 ตัว

2. สุกรในกลุ่มที่ 1-3 จะได้รับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิตที่มีองค์ประกอบต่างกัน พร้อมกันกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า ซึ่งเป็นสูตรไขว้และวิธีการให้วัคซีนต่างกัน และสุกรกลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มควบคุมจะได้รับ Phosphate Buffered Saline

3. ทำการเก็บเลือดสุกรเป็นรายตัวในแต่ละกลุ่มทดลองที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ เพื่อใช้ในการตรวจระดับภูมิคุ้มกันจากการได้รับวัคซีนด้วยวิธี ELISA และตรวจหาการเกิดภาวะการติดเชื้อในกระแสเลือดด้วยวิธี PCR

4. ชั่งน้ำหนักสุกรก่อนการทดลองที่อายุ 4 สัปดาห์ และสิ้นสุดการทดลองที่อายุ 20 สัปดาห์ เพื่อคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) เพื่อประเมินถึงผลของการใช้วัคซีนในกลุ่มต่างๆที่มีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสุกร

1.5 ระยะเวลาการศึกษา

ใช้ระยะเวลาในการทดลอง เดือน

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. การเลือกใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า ที่สามารถกระตุ้นภูมิกันได้อย่างมีประสิทธิภาพในสุกร

2. วิธีการให้ที่เหมาะสมสำหรับการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สุกรอนุบาลและสุกรขุน

ในอดีตคนไทยมักเลี้ยงสุกรไว้ในบริเวณบ้านเพื่อเป็นอาหารในครัวเรือน ก่อนจะพัฒนาสู่การเลี้ยงสุกรเพื่อการค้าขาย ซึ่งในระยะแรกๆ ยังเป็นการเลี้ยงในครัวเรือนเป็นคอกและฟาร์มขนาดเล็ก ก่อนจะมีการขยายเป็นอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรขนาดใหญ่ พร้อมกับระบบการเลี้ยงที่ได้มาตรฐาน โดยสายพันธุ์สุกรที่นิยมเลี้ยงในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ลูกผสม 2 หรือ 3 สายเลือด เพราะสุกรลูกผสมจะถูกพัฒนาสายพันธุ์ให้เลี้ยงง่าย โตเร็ว และทนต่อสภาพแวดล้อม สภาพอากาศของประเทศไทยมากกว่าสุกรพันธุ์แท้สายเลือดเดียว ปัจจุบันสายพันธุ์สุกรที่นิยมเลี้ยงกันคือ สายพันธุ์แลนด์เรซ (Landrace) มีถิ่นกำเนิดที่ประเทศเดนมาร์ก สายพันธุ์ลาร์จไวต์ (Large White) มีถิ่นกำเนิดที่ประเทศอังกฤษ และสายพันธุ์ดูร็อค (Duroc) มีถิ่นกำเนิดที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำให้การผลิตสุกรกลายเป็นอุตสาหกรรมหลักที่ทำให้เกิดรายได้แก่เกษตรกร และเจ้าของฟาร์ม โดยที่สุกรจะมีราคาขายต่อหน่วยสูง ดังนั้นในการผลิตสุกรจะต้องยึดถือหลักสำคัญ ได้แก่ ตองผลิตให้มีประสิทธิภาพสูง ต้องผลิตให้ต้นทุนต่ำ ต้องผลิตให้มีคุณภาพดี และเป็นที่ต้องการของตลาด

การเลี้ยงดูลูกสุกรหลังหย่านมนั้น การหย่านมลูกสุกรขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของลูกสุกร อีกทั้งยังขึ้นอยู่กับความสามารถของผู้เลี้ยง รวมไปถึงคุณภาพของอาหารที่ใช้เลี้ยงลูกสุกรด้วย ผู้เลี้ยงสุกรในประเทศไทยนิยมหย่านมลูกสุกรที่มีอายุระหว่าง 3-6 สัปดาห์ โดยลูกสุกรที่หย่านมเมื่ออายุยังน้อยหรือน้ำหนักตัวน้อย มักจะอ่อนแอ และถ้าการเลี้ยงดูไม่ดีพอ อาจทำให้ลูกสุกรแคระแกร็น หรืออาจถึงตายได้ โดยลูกสุกรควรเมื่อหย่านมควรมีน้ำหนักไม่ต่ำกว่า 5 กิโลกรัม ควรมีคอกหรือโรงเรือนสำหรับไว้เลี้ยงดูสุกรอนุบาลแยกเป็นสัดส่วน ทั้งนี้ก็เพื่อความสะดวกในการจัดการ อีกทั้งยังให้ผลดีในแง่การจัดการสุขภาพ และการป้องกันโรคได้ดีเนื่องจากฝูงสุกรที่เลี้ยงมีภูมิคุ้มกันและสุขภาพใกล้เคียงกัน สุกรระยะนี้จัดเป็นช่วงวิกฤติของชีวิตทั้งนี้ก็เพราะว่าต้องพบกับเหตุการณ์ความเครียดหลายอย่าง เช่น การเปลี่ยนแปลงอาหาร สถานที่ และพฤติกรรมการรวมคอก เป็นต้น ประกอบกับเป็นระยะที่ภูมิคุ้มกันในร่างกายที่ได้รับการถ่ายทอดมาจากแม่ผ่านทางน้ำนมเหลืองเริ่มหมดไป รวมทั้งการสร้างภูมิคุ้มกันของตัวสุกรเองก็ยังไม่พัฒนาสมบูรณ์เต็มที่ดังนั้นสุกรในระยะนี้จึงเสี่ยงต่อการสูญเสียได้ง่ายมาก ในส่วนของอาหารและน้ำควรมีการให้ลูกสุกรบ่อยๆครั้งละน้อยๆ จะช่วยให้ลูกสุกรกินอาหารได้มากขึ้น อาหารที่ใช้ต้องมีคุณค่าทางพลังงาน โปรตีน กรดอะมิโน ที่สำคัญรวมถึงวิตามิน แร่ธาตุครบสมบูรณ์ ในส่วนของน้ำต้องเป็นน้ำสะอาดที่ต้องมีให้ลูกสุกรได้กินตลอดเวลา อุปกรณ์ที่ให้น้ำอยู่ในสภาพพร้อมใช้งานและลูกสุกรสามารถกินได้อย่างสะดวก เพราะการขาดน้ำนั้นจะทำให้ลูกสุกรกิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารน้อยลง โดยการเลี้ยงสุกรหย่านมนั้นจะต้องมีอุณหภูมิที่เหมาะสม มีอากาศถ่ายเทได้สะดวก สภาพแวดล้อมไม่อับทึบขัดขวางต่อการระบายลม ในสัปดาห์แรกของการหย่านมควรจัดไฟกกเพื่อความอบอุ่น ในส่วนการจัดการสุขภาพและภูมิคุ้มกัน หลังจากลูกสุกรหย่านมได้ราว 2-3 สัปดาห์ ควรให้ลูกสุกรกินยาถ่ายพยาธิ และใช้ยาปฏิชีวนะผสมอาหารที่ออกฤทธิ์กว้างพอควบคุมโรคระบบทางเดินหายใจและทางเดินอาหาร หลังจากที่ลูกสุกรหย่านมแล้ว อายุ 3-4 สัปดาห์ขึ้นไปผู้เลี้ยงสามารถฉีดวัคซีนให้กับลูกสุกรตามโปรแกรมวัคซีนที่เหมาะสม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของลูกสุกรและควรฉีดวัคซีนกับลูกสุกรที่สมบูรณ์เท่านั้น

การเลี้ยงดูสุกรขุนโดยทั่วไปจะเลี้ยงลูกสุกรให้อยู่ในคอกอนุบาลจนอายุประมาณ 8 สัปดาห์ ก็จะย้ายสุกรเหล่านี้ออกไปคอกสุกรขุนซึ่งน้ำหนักประมาณ 14-18 กิโลกรัม โดยโรงเรือนและอุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงนั้นต้องมีการทำความสะอาดและตรวจสอบให้อยู่ในสภาพที่พร้อมใช้งาน เมื่อมีการรับสุกรขุนเข้าเลี้ยงควรจะมีการจัดกลุ่มสุกรใหม่โดยพิจารณาขนาดและน้ำหนักเพื่อให้สุกรที่อยู่ในคอกเดียวกันมีความสม่ำเสมอกันมากที่สุด ซึ่งวิธีการจัดกลุ่มสุกรต้องคำนึงถึงความต้องการพื้นที่ของสุกรในแต่ละช่วงน้ำหนักอีกด้วย ในส่วนของการให้อาหารนั้นควรจะเริ่มให้อาหารแกลูกสุกรหลังจากที่รับเข้ามา 12-24 ชั่วโมง โดยปริมาณอาหารที่ให้ในวันแรกควรเริ่มให้แต่น้อยแล้วจึงเพิ่มให้เต็มที่ในวันที่สาม ในส่วนของการควบคุมและป้องกันโรคสำหรับสุกรขุนมีความจำเป็นที่จะต้องทำวัคซีนเพื่อป้องกันโรคบางชนิดเช่นเดียวกับสุกรหย่านม ส่วนการเสริมยาปฏิชีวนะในอาหารเพื่อปรับปรุงสุขภาพ และความสามารถของสุกรนั้นไม่มีความจำเป็นถ้าในฟาร์มมีการจัดการที่ดีแล้ว เพราะผลตอบสนองต่อยาปฏิชีวนะจะน้อยไม่คุ้มค่ากับการเพิ่มต้นทุน แต่การเสริมปฏิชีวนะอาจจะได้ผลบ้างในบางกรณี

การเจริญเติบโตและพัฒนาร่างกายของสุกรในระยะแรกจะเป็นการเจริญเติบโตทางด้านโครงสร้างของร่างกายและกล้ามเนื้อ แต่ในระยะหลังจะเป็นการสะสมไขมัน ดังนั้นความต้องการโภชนะอาหารของสุกรก็จะเปลี่ยนแปลงไปตามช่วงระยะการเจริญเติบโต โดยอาหารที่จะให้แก่สุกรก็จะต้องให้ตามความต้องการของแต่ละระยะเพื่อให้เพียงพอตามความต้องการของขนาดและอายุของสุกร การเปลี่ยนอาหารแต่ละครั้งก็ควรจะระมัดระวังให้มากอย่าเปลี่ยนอย่างกะทันหัน เพราะอาจมีผลทำให้สุกรเกิดความเครียดและไม่กินอาหาร หรือกินน้อยลงกว่าปกติ จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของสุกรได้ โดยการเปลี่ยนสูตรอาหารนั้นควรจะใช้อาหารสูตรใหม่ผสมกับอาหารสูตรเกา โดยค่อย ๆ ลดอาหารสูตรเก่าลงแล้วเพิ่มอาหารสูตรใหม่เข่าแทนที่ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 3-4 วัน ทั้งนี้การเลี้ยงสุกรขุนจะต้องมีการบันทึกรายงานเพื่อควบคุมการผลิตให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ จำเป็นที่จะต้องมีการบันทึกข้อมูลต่างๆ อาทิเช่น การผลิต ประสิทธิภาพ ต้นทุนการผลิต กำไรขาดทุน และจัดทำรายงานสรุปผลการดำเนินการผลิตว่าได้ผลเป็นอย่างไร มีปัญหาข้อบกพร องอะไรบ้างที่จะต้องแกไข (อาวุธ วณิชาติ และไพบูลย์ เจียมเรืองจรัส, 2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ความต้องการโภชนะอาหารพลังงาน โปรตีน แคลเซียม และฟอสฟอรัสของสุกร ในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

โภชนะอาหาร	น้ำหนักตัว (กก.)			
	หย่านม - 15	15 - 30	30 - 60	60 -100
พลังงานใช้ประโยชน์ได้(กิโลแคลอรี่/กก.)	3,300	3,170	3,150	3,150
โปรตีน (%)	22	16	14	13
แคลเซียม (%)	0.8	0.65	0.5	0.5
ฟอสฟอรัส (%)	0.6	0.50	0.4	0.4

ที่มา : สุชีพ รัตนสาร (2522)

เราจะเห็นได้ว่าการเลี้ยงสุกรตั้งแต่หย่านมจนถึงสุกรขุนนั้นนอกจากสายพันธุ์สุกรที่ดี อาหารที่ใช้เลี้ยงดีแล้ว เรื่องของการจัดการและสุขภาพของสุกรจัดว่าสำคัญอย่างมากในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกร แม้ว่าในปัจจุบันเทคโนโลยีการเลี้ยงสุกรในประเทศไทยจะพัฒนาไปค่อนข้างมาก ทั้งด้านประสิทธิภาพการผลิต ระบบการจัดการดูแลสุขภาพสุกร รวมถึงมาตรฐานในการป้องกันเชื้อโรคเข้าสู่ภายในฟาร์ม แต่ยังคงพบปัญหาโรคระบาดวนเวียนในหลายพื้นที่ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการเลี้ยงสุกร โดยที่โรคบางชนิดสร้างความเสียหายเป็นวงกว้าง ดังนั้นการมีระบบการจัดการฟาร์มที่ดีนั้นสามารถลดการเกิดโรคได้ รวมทั้งการใช้วัคซีนก็สามารถควบคุมและป้องกันการระบาดของโรค ทำให้อุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรส่วนใหญ่จึงออกแบบโปรแกรมวัคซีนสำหรับสุกร โดยวัคซีนที่สำคัญและจำเป็นซึ่งเป็นวัคซีนพื้นฐาน ได้แก่ วัคซีนอหิวาต์สุกร วัคซีนพิษสุนัขบ้าเทียม และวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ส่วนวัคซีนสำหรับโรคอื่นๆ ถ้ามีการระบาดหรือพบปัญหาก็สามารถพิจารณาทำได้ โดยที่โปรแกรมวัคซีนสำหรับสุกรส่วนใหญ่จะถูกออกแบบตามพื้นที่การเลี้ยงและประวัติการระบาดของโรค

ตารางที่ 2.2 โปรแกรมวัคซีนสำหรับลูกสุกรแบบที่ 1

อายุสุกร	**ชนิดของวัคซีน**
2 สัปดาห์	วัคซีนเซอร์โคไวรัส + วัคซีนมัยโคพลาสม่าเข็มที่ 1
3 สัปดาห์	วัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่ 1
5 สัปดาห์	วัคซีนมัยโคพลาสม่าเข็มที่ 2
6 สัปดาห์	วัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่ 2
7 สัปดาห์	วัคซีนพิษสุนัขบ้าเทียมเข็มที่ 1
9 สัปดาห์	วัคซีนพิษสุนัขบ้าเทียมเข็มที่ 2
10 สัปดาห์	วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเข็มที่ 1
13 สัปดาห์	วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเข็มที่ 2

ที่มา : ซีพีเอฟ ฟีด (2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 โปรแกรมวัคซีนสำหรับลูกสุกรแบบที่ 2

อายุสุกร	ชนิดของวัคซีน
3 สัปดาห์	วัคซีนมัยโคพลาสม่าเข็มที่ 1 + วัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่ 1
4 สัปดาห์	วัคซีนพิษสุนัขบ้าเทียมเข็มที่ 1
5 สัปดาห์	วัคซีนมัยโคพลาสม่าเข็มที่ 2 + วัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่ 2
6 สัปดาห์	วัคซีนพิษสุนัขบ้าเทียมเข็มที่ 2
8 สัปดาห์	วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเข็มที่ 1
10 สัปดาห์	วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเข็มที่ 2

ที่มา : ซีพีเอฟ ฟีด (2555)

ตารางที่ 2.4 โปรแกรมวัคซีนสำหรับลูกสุกรแบบที่ 3

อายุสุกร	ชนิดของวัคซีน
5 สัปดาห์	วัคซีนอหิวาต์สุกรเข็มที่
8 สัปดาห์	วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเข็มที่ 1
	วัคซีนพิษสุนัขบ้าเทียมเข็มที่ 1
12 สัปดาห์	วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยเข็มที่ 2
	วัคซีนพิษสุนัขบ้าเทียมเข็มที่ 2

ที่มา : ซีพีเอฟ ฟีด (2555)

วิวัฒน์ ชวนะนิกุล (2557) ได้กล่าวว่าในส่วนของการประเมินอัตราการเจริญเติบโตสำหรับการผลิตในฟาร์มสุกรขุน จะเป็นการประเมินตัวเลขที่เกี่ยวข้องกับสมรรถภาพการเจริญเติบโตและตัวเลขที่แปลผลต่อไปเป็นตัวเงินเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ อัตราการเจริญเติบโต (Average Daily Gain: ADG) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate: FCR) เป็นต้น โดยที่ ADG คิดจากสุกรทุกตัวทั้งที่มีชีวิต และที่ตายระหว่างการเลี้ยงโดยมีสูตรการคิดคำนวณ คือ

$$\frac{\text{น้ำหนักสุกรทั้งหมดชั่งครั้งสุดท้าย (รวมที่ตายด้วย)} - \text{น้ำหนักสุกรทั้งหมดชั่งครั้งแรก}}{\text{จำนวนวันระหว่างการชั่ง 2 ครั้ง}}$$

ในส่วนของ FCR มีสูตรคิดคำนวณ คือ

$$\frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักสุกรที่เพิ่มขึ้น (เฉพาะสุกรมีชีวิต)}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สถานการณ์สินค้าสุกรของประเทศไทยในปัจจุบัน

สมาคมผู้เลี้ยงสุกรแห่งชาติ (2567) กล่าวว่าปี 2562-2566 การผลิตเนื้อสุกรของโลกเพิ่มขึ้นในอัตราร้อยละ 4.45 ต่อปี โดยในปี 2566 การผลิตเนื้อสุกรของโลกปริมาณรวม 115.498 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจาก 114.533 ล้านตัน ของปี 2565 ร้อยละ 0.84 ซึ่งประเทศจีนยังคงเป็นผู้ผลิตสุกรอันดับ 1 ของโลกปริมาณ 56.50 ล้านตัน รองลงมาได้แก่ สหภาพยุโรป 21.50 ล้านตัน สหรัฐอเมริกา 12.385 ล้านตัน และบราซิล 4.60 ล้านตัน โดยแนวโน้มการผลิตของจีน สหรัฐอเมริกา และบราซิล เพิ่มขึ้นจากปี 2565 ร้อยละ 1.97 ร้อยละ 1.09 และร้อยละ 5.75 ตามลำดับในขณะที่สหภาพยุโรปมีการผลิตลดลงจากปี 2565 ร้อยละ 3.49 ปี ส่วนในประเทศไทยปี 2566 มีปริมาณการผลิตสุกร 17.471 ล้านตัว เพิ่มขึ้นจาก 15.815 ล้านตัว ของปี 2565 ร้อยละ 10.47 เนื่องจากการฟื้นของสถานการณ์ ASF ทำให้ปริมาณแม่พันธุ์เพิ่มมากขึ้น ในส่วนของความต้องการบริโภค ในปี 2562-2566 ความต้องการบริโภคเนื้อสุกรของโลกเพิ่มขึ้นในอัตราร้อยละ 4.59 ต่อปี โดยในปี 2566 การบริโภคเนื้อสุกรของโลกมีปริมาณรวม 115.005 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจาก 113.239 ล้านตันของปี 2565 ร้อยละ 1.56 ซึ่งจีนมีการบริโภคเนื้อสุกรมากที่สุด ปริมาณ 58.683 ล้านตัน รองลงมา ได้แก่ สหภาพยุโรป 18.40 ล้านตัน และสหรัฐอเมริกา 9.839 ล้านตัน โดยแนวโน้มการบริโภคเนื้อสุกรของจีน และสหภาพยุโรปเพิ่มขึ้นจากปี 2565 ร้อยละ 2.17 และร้อยละ 0.96 ตามลำดับ ในขณะที่สหรัฐอเมริกามีการบริโภคเนื้อสุกรลดลงจากปี 2565 ร้อยละ 1.19 ส่วนในประเทศไทยปี 2562-2566 ความต้องการบริโภคเนื้อสุกรมีแนวโน้มลดลง ซึ่งสุกรที่ผลิตได้นั้นใช้บริโภคภายในประเทศเป็นหลัก โดยในปี 2566 มีปริมาณการบริโภคสุกร 1.317 ล้านตัน เพิ่มจาก 1.128 ล้านตัน ของปี 2565 ร้อยละ 16.76 เนื่องจากปริมาณผลผลิตออกสู่ตลาดเพิ่มขึ้นทำให้ผู้บริโภคเข้าถึงได้มากขึ้น หากพูดในส่วนของการนำเข้าปี 2562-2566 การนำเข้าเนื้อสุกรของโลกลดลงในอัตราร้อยละ 0.91 ต่อปี โดยในปี 2566 การนำเข้าเนื้อสุกรปริมาณรวม 9.641 ล้านตัน ลดลงจาก 9.797 ล้านตัน ของปี 2565 ร้อยละ 1.59 ซึ่งจีนเป็นประเทศผู้นำเข้าเนื้อสุกรรายใหญ่ของโลกปริมาณ 2.275 ล้านตัน รองลงมา ได้แก่ ญี่ปุ่น 1.490 ล้านตัน และเม็กซิโก 1.310 ล้านตัน โดยจีนและเม็กซิโกมีการนำเข้าเนื้อสุกรเพิ่มขึ้นจากปี 2565 ร้อยละ 7.06 และร้อยละ 0.85 ตามลำดับ ขณะที่ญี่ปุ่น มีการนำเข้าเนื้อสุกรลดลงจากปี 2565 ร้อยละ 2.17 ส่วนในประเทศไทย ปี 2562-2566 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรลดลงในอัตราร้อยละ 9.35 และร้อยละ 3.71 ต่อปี ตามลำดับ โดยในปี 2566 ไทยนำเข้าผลิตภัณฑ์เนื้อสุกรปริมาณ 250 ตันมูลค่า 85 ล้านบาทลดลงจากปริมาณ 264 ตัน มูลค่า 87 ล้านบาท ของปี 2565 ร้อยละ 5.30 และร้อยละ 2.30 ตามลำดับโดยนำเข้าจากประเทศในสหภาพยุโรปได้แก่ อิตาลี สเปน และเดนมาร์ก รวมถึงชิ้นส่วนอื่นๆ ที่บริโภคได้ของสุกร อาทิเช่น หนัง ตับ และเครื่องใน ลดลงเช่นเดียวกัน โดยประเทศไทยนำเข้าส่วนอื่นๆ ที่บริโภคได้ของสุกรปริมาณ 26,275 ตัน มูลค่า 435 ล้านบาท ลดลงจากปริมาณ 29,887 ตัน มูลค่า 555 ล้านบาทของปี 2565 ร้อยละ 12.09 และร้อยละ 21.62 ตามลำดับ โดยนำเข้าจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศในสหภาพยุโรป ได้แก่ เนเธอร์แลนด์ สเปน และเดนมาร์ก และในแง่ของการส่งออกปี 2562-2566 การส่งออกเนื้อสุกรของโลกลดลงในอัตราร้อยละ 1.83 ต่อปี โดยในปี 2566 การส่งออกเนื้อสุกรมีปริมาณรวม 10.144 ล้านตัน ลดลงจาก 10.940 ล้านตัน ของปี 2565 ร้อยละ 7.28 ซึ่งสหภาพยุโรปมีการส่งออกเนื้อสุกรมากที่สุด ปริมาณ 3.20 ล้านตัน รองลงมา ได้แก่สหรัฐอเมริกา 3.067 ล้านตันและแคนาดา 1.310 ล้านตัน โดยการส่งออกของสหภาพยุโรปและแคนาดา ลดลงจากปี 2565 ร้อยละ 23.32 และร้อยละ 7.42 ตามลำดับ ขณะที่สหรัฐอเมริกา มีการส่งออกเพิ่มขึ้นจากปี 2565 ร้อยละ 6.57 ส่วนในประเทศไทยในปี 2562-2566 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกสุกรพันธุ์ ลดลงในอัตราร้อยละ 63.46 และร้อยละ 52.71 ต่อปี ตามลำดับ โดยในปี 2566 ไทยส่งออกสุกรพันธุ์ปริมาณ 55,737 ตัว มูลค่า 479 ล้านบาทเพิ่มขึ้นจากปริมาณ 4,608 ตัว มูลค่า 102 ล้านบาท ของปี 2565 คิดเป็น 11 เท่า และ 3.70 เท่า ตามลำดับ ในส่วนของปริมาณและมูลค่าการส่งออกสุกรมีชีวิตอื่นๆ ลดลงในอัตราร้อยละ 5.09 และร้อยละ 1.05 ต่อปี ตามลำดับโดยในปี 2566 ไทยส่งออกสุกรมีชีวิตปริมาณ 142,792 ตัวมูลค่า 896 ล้านบาท ลดลงจากปริมาณ 80,228 ตัวมูลค่า 5,842 ล้านบาท ของปี 2565 คิดเป็นร้อยละ 82.59 และร้อยละ 84.66 ตามลำดับ ในส่วนของปริมาณและมูลค่าการส่งออกและสุกรแช่เย็นแช่แข็ง ลดลงในอัตราร้อยละ 44.62 และร้อยละ 40.13 ต่อปี ตามลำดับ โดยในปี 2566 ไทยส่งออกเนื้อสุกรแช่เย็นแช่แข็งปริมาณ 1,771 ตัน มูลค่า 250 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปริมาณ 1,178 ตัน มูลค่า 189 ล้านบาท ของปี 2565 ร้อยละ 50.34 และร้อยละ 32.48 ตามลำดับโดยตลาดส่งออกสำคัญได้แก่ ฮ่องกง เมียนมาร์ และ สปป.ลาว และลำดับสุดท้ายปริมาณและมูลค่าการส่งออกเนื้อสุกรแปรรูป ลดลงในอัตราร้อยละ 18.81 และร้อยละ 18.05 ต่อปี ตามลำดับ โดยในปี 2566 ไทยส่งออกเนื้อสุกรแปรรูป ปริมาณ 3,733 ตัน มูลค่า 917 ล้านบาท ลดลงจากปริมาณ 4,716 ตัน มูลค่า 1,162 ล้าน ของปี 2565 ร้อยละ 20.84 และร้อยละ 21.08 โดยตามลำดับโดยตลาดส่งออกสำคัญได้แก่ ญี่ปุ่น กัมพูชา ฮ่องกง และสปป.ลาว และในส่วนของปี 2567 คาดว่าการผลิตเนื้อสุกรของโลกจะมีปริมาณ ค่อนข้างทรงตัว รวมถึงความต้องการบริโภคเนื้อสุกรของโลกลดลงเล็กน้อย เนื่องจากประเทศที่บริโภคเนื้อสุกรที่สำคัญของโลกได้แก่ จีน และสหภาพยุโรป มีปริมาณการบริโภคเนื้อสุกรลดลงจากปี 2566 แต่ในแง่ของการส่งออกเนื้อสุกรมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยสหภาพยุโรปมีการส่งออกมากที่สุด รองลงมาคือสหรัฐอเมริกา และแคนาดา ในส่วนของประเทศที่มีการนำเข้าเนื้อสุกรนั้นคาดว่าจะเป็นประเทศจีนและญี่ปุ่นเป็นหลัก สำหรับเทศไทยคาดว่าการผลิตสุกรมีปริมาณ 18.155 ล้านตัว เพิ่มขึ้นจาก 17.471 ล้านตัว ของปี 2566 ร้อยละ 3.91 เนื่องจากการฟื้นตัวของโรค ASF

นิพนธ์ พัวพงศกร และคณะ (2565) ได้รายงานผ่านว่าเมื่อปลายปี 2562 พบข่าวการตายของสุกรในฟาร์มสุกรขนาดเล็กในจังหวัดเชียงรายที่อยู่ใกล้ประเทศพม่าซึ่งเป็นที่มาของการแพร่ระบาดของโรค ASF ต่อมาเกิดการแพร่ระบาดของโรค ASF ขยายเป็นวงกว้างไปสู่แหล่งเลี้ยงสุกรสำคัญในภาคเหนือทั้งเชียงใหม่และลำพูน โดยระยะแรกของการแพร่ระบาดไม่มีใครทราบข้อมูล เนื่องจากผู้ที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมสุกรตัดสินใจไม่เปิดเผยข้อมูลเพราะมั่นใจว่าจะสามารถควบคุมโรคได้ ต่อมาพบว่าเชื้อไวรัส ASF สามารถติดต่อได้ง่ายโดยอาศัยพาหะอย่างแมลงวัน คนงานในฟาร์มสุกร รถขนส่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุกร และโรงฆ่าสัตว์ ทำให้เกิดปัญหาคือการควบคุมและการป้องกันการระบาดของโรคไม่มีประสิทธิภาพและประสิทธิผล ในที่สุดช่วงต้นปี 2564 โรค ASF ก็ระบาดเข้าสู่จังหวัดในภาคตะวันตกที่เป็นแหล่งเลี้ยงสุกรใหญ่ที่สุดของประเทศรวมถึงจังหวัดในภาคตะวันออก ซึ่งเป็นแหล่งที่ตั้งของฟาร์มสุกรขนาดใหญ่ ผลจากการระบาดทำให้จำนวนแม่สุกรลดลงมากกว่าครึ่งจากปี 2562 อีกทั้งฟาร์มจำนวนมากต้องหยุดการเลี้ยงสุกรโดยสิ้นเชิง มีการประมาณการว่าความสูญเสียจากการเสียชีวิตของสุกรน่าจะมีมูลค่าขั้นต่ำ 1.5 แสนล้านบาท ในปี 2564 ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ราคาเนื้อสุกรจึงพุ่งสูงขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ช่วงกลางปี 2564 เกิดภาวการณ์ขาดแคลนเนื้อสุกรเพื่อบริโภคภายในประเทศ และสำหรับการส่งออก ทำให้รัฐบาลและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต้องปรึกษาหารือเรื่องแนวทางแก้ไขควบคุมและป้องกันการระบาดของโรค ASF และมีนโยบายที่สำคัญคือ การลงทุนสร้างระบบป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคที่เข้มข้น รวมถึงการพัฒนางานวิจัยด้านต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นด้านการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดี การพัฒนายา รวมไปถึงการคิดค้นวัคซีนเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกันให้แก่สุกรเพื่อจะทำให้อุตสาหกรรมสุกรไทยมีโอกาสกลับมาเริ่มต้นเลี้ยงสุกรใหม่อีกครั้ง ภายใต้การจัดการที่เหมาะสม มาตรการการป้องกันโรค และระบบความปลอดภัยด้านชีวภาพ ดังนั้นในการกลับมาผลิตสุกรที่ดีจะต้องยึดถือหลักสำคัญ ได้แก่ ตองผลิตให้มีประสิทธิภาพสูง ต้องผลิตให้ต้นทุนต่ำ ต้องผลิตให้มีคุณภาพดี เป็นที่ต้องการของตลาด นอกจากยึดถือหลักสำคัญได้แล้วจะต้องอาศัยพันธุ์สุกรที่ดี การจัดการที่ดี เพื่อช่วยลดต้นทุนการผลิตให้ต่ำลงได้ด้วยการประหยัดอาหาร ประหยัดเวลา ให้ผลผลิตสูง และคุณภาพดี

2.3 ระบบภูมิคุ้มกัน (Immunity)

สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2563) ได้กล่าวว่าระบบภูมิคุ้มกันประกอบขึ้นจากเครือข่ายของการทำงานของอวัยวะน้ำเหลือง เซลล์ และโปรตีนชนิดต่างๆภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต มีหน้าที่สำคัญในการเฝ้าระวัง และป้องกันการบุกรุกของสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคจากสิ่งแวดล้อม รวมไปถึงการตรวจตรากำจัดเซลล์ที่ผิดปกติภายในร่างกาย เช่น เซลล์มะเร็ง หรือเซลล์ที่ตายจากความผิดปกติภายในร่างกาย เป็นต้น เพื่อให้สิ่งมีชีวิตนั้นสามารถดำเนินชีวิตไปได้อย่างปกติ โดยไม่เสียสภาวะสมดุล (Homeostasis)

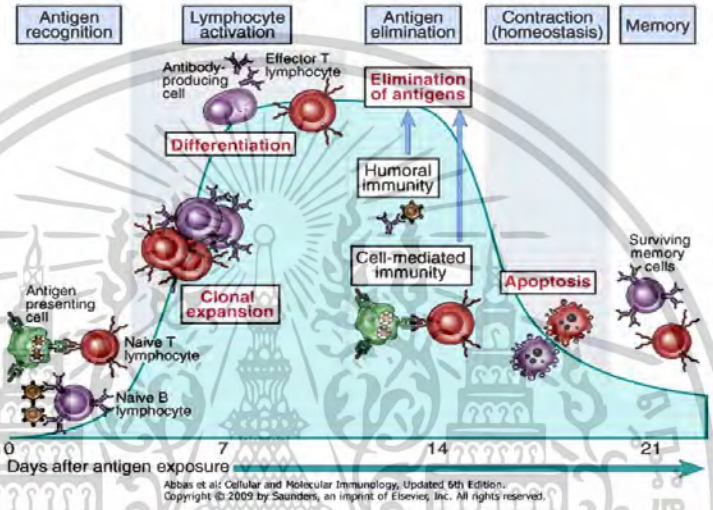
สันนิภา สุรทัตต์ (2561) ร่างกายมีกระบวนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาโดยเป็นการทำงานร่วมกันของเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกายเพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอม ออกไปจากร่างกายเพื่อให้ปลอดภัยจากการคุกคามของเชื้อโรค อันได้แก่ แบคทีเรีย ไวรัส ปรสิต รา เป็นต้น โดยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมีสองแบบ คือ ภูมิคุ้มกันแบบธรรมชาติหรือภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (Innate immunity) เกิดขึ้นได้ในขั้นตอนแรก เมื่อมีสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคเข้ามาในร่างกาย ภูมิคุ้มกันชนิดนี้มีลักษณะการทำลายสิ่งแปลกปลอมอย่างไม่จำเพาะนักเป็นปราการด่านแรกที่ป้องกันการเข้ามาของเชื้อโรค ส่วนประกอบสำคัญของภูมิคุ้มกันนี้ ได้แก่ สรีระของร่างกาย เช่น ผิวหนัง น้ำตา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

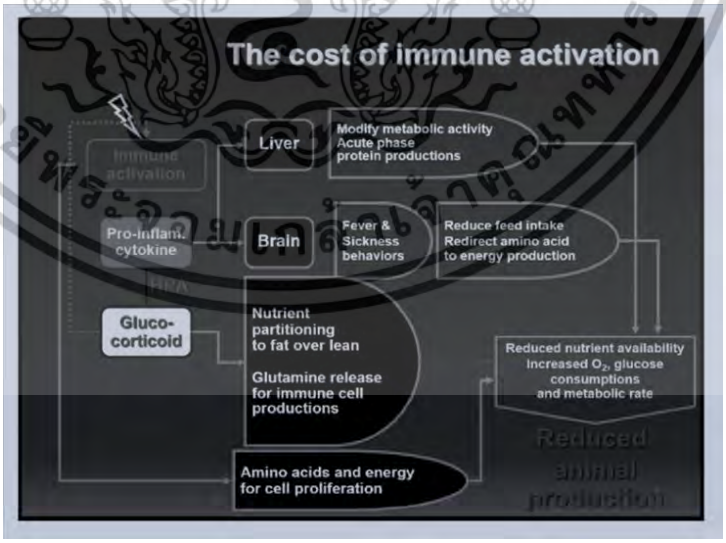
เยื่อเมือกในบริเวณทางเดินหายใจและในทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังมีเซลล์จำพวกเม็ดเลือดขาวที่สามารถเข้ามากำจัดและทำลายเชื้อโรคได้อย่างรวดเร็วด้วยกระบวนการฟาโกไซโทซิส (Phagocytosis) จากนั้นจะพัฒนาสู่ขั้นตอน การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Adaptive immunity) ซึ่งเกิดขึ้นในระยะเวลาต่อมาหลังจากเกิดการทำลายเชื้อโรคด้วยเม็ดเลือดขาว ลักษณะที่สำคัญของภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Specific immunity) คือมีการตอบสนองต่อเชื้อโรคอย่างจำเพาะเจาะจงมีประสิทธิภาพ และมีความสามารถจดจำสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคที่เคยเข้ามาในร่างกายแล้ว ดังนั้นจึงสามารถตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เคยรู้จักมาก่อนอย่างรวดเร็วและรุนแรงกว่าครั้งแรก เช่น การสร้างแอนติบอดี (Antibody) โดยกระบวนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะนี้จะมีการพัฒนา และเชื่อมต่อมาจากการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด โดยเฉพาะเซลล์ซึ่งทำหน้าที่ย่อยและนำเสนอแอนติเจนให้กับ T cell ได้แก่ แมคโครฟาจ เดนดริติริก เป็นต้น ลักษณะของภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะแบ่งออกเป็นสองชนิด คือ การตอบสนองทางสารน้ำ (Humoral immune response: HI) และการตอบสนองต่อเซลล์ (Cell-mediated immune response: CMR) ซึ่งเซลล์ที่มีความสำคัญของภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ คือ เซลล์จำพวกลิมโฟไซต์ เนื่องจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเป็นระบบที่ต้องอาศัยการสื่อสารระหว่างเซลล์ มีการใช้พลังงานและทรัพยากรเพื่อสร้างโปรตีน และเซลล์กลุ่มใหม่ขึ้นภายหลังจากที่ได้รับเชื้อโรคหรือแอนติเจนเป็นจำนวนมาก ดังนั้นต้องพึงระลึกไว้เสมอว่าการสร้างภูมิคุ้มกันต้องใช้เวลาและพลังงาน หากต้องการให้เกิดกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันอย่างมีประสิทธิภาพ สุขภาพโดยรวมของสุกรจึงเป็นพื้นฐานสำคัญต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน รวมไปถึงการตอบสนองต่อการให้วัคซีน ต้องพิจารณาถึงความต้องการพื้นฐานของร่างกาย เช่น การได้รับสารอาหาร น้ำที่มีปริมาณเหมาะสม และมีคุณภาพเพียงพอต่อความต้องการพื้นฐานในแต่ละช่วงชีวิต รวมถึงปัจจัยสำคัญในการดำรงชีพอื่นๆ ซึ่งหมายรวมถึงสภาพการจัดการสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม ล้วนแต่มีความสำคัญต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทั้งสิ้น นอกจากนี้เนื่องจากเซลล์ต่างๆ ต้องใช้เวลาในการพัฒนาและเพิ่มจำนวน ดังนั้นจึงต้องให้เวลากับระบบในการสร้างภูมิคุ้มกันอย่างเหมาะสมและเพียงพอ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วร่างกายจะใช้เวลาอย่างน้อย 1-2 สัปดาห์ภายหลังจากการได้รับแอนติเจนครั้งแรกในการพัฒนาการทำงานของกลไกทางภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ ทั้งภูมิคุ้มกันแบบ CMR และ HI ดังนั้นการให้วัคซีนภายหลังจากเกิดโรคหรือได้รับเชื้อแล้วจะไม่สามารถช่วยอะไรได้มากนัก เนื่องจากไม่มีเวลาเพียงพอในการสร้างภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้เชื้อหลายชนิดมีอิทธิพลในการทำลายหรือรบกวนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันอย่างรุนแรง นอกจากนี้การกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทุกครั้งต้องใช้พลังงาน ดังนั้นจึงต้องแลกกับพลังงานที่สัตว์จะสามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตหรือสร้างผลผลิต ดังจะสังเกตได้ว่า ในช่วงที่มีการให้วัคซีนหลายชนิดในช่วงเวลาใกล้กัน สุกรมักจะมีการเจริญเติบโตที่ช้าลงกว่าที่ควรจะเป็นยิ่งฉีดมากยิ่งโตช้า หรือสุกรที่มีการติดเชื้อเรื้อรังมักมีสภาพร่างกาย และ Body score ที่ไม่ได้มาตรฐาน ดังนั้นหากมองในมุมของประสิทธิภาพในการใช้อาหารและการสร้างผลผลิต การกระตุ้นภูมิคุ้มกันจึงเป็นเสมือนดาบสองคม จำเป็นต้องพิจารณาถึงความจำเป็นในการให้วัคซีนเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน รวมถึงการวางโปรแกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัคซีนอย่างเหมาะสมกับสถานการณ์การระบาดของโรคในแต่ละท้องที่และฟาร์มนั้นๆ เพื่อให้สุกรมีสุขภาพที่สมบูรณ์แข็งแรงและสร้างผลผลิตได้สูงสุดตามศักยภาพของสายพันธุ์ ซึ่งการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทำให้เราเห็นว่าเมื่อภูมิคุ้มกันถูกกระตุ้นก่อให้เกิดความเสียหายแก่ร่างกายสัตว์ไม่มากก็น้อย สัตว์จะโตช้าลง อัตราการแลกเปลี่ยนเนื้อจะมีคุณภาพลดลง และรวมถึงคุณภาพซาก ซึ่งการให้วัคซีนก็เป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเช่นกัน ดังนั้นการให้วัคซีนจึงต้องทำอย่างเหมาะสมและไม่มากจนเกินไป



ภาพที่ 2.1 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายเมื่อได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน
ที่มา : สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2563)



ภาพที่ 2.2 แสดงการตอบสนองของร่างกายต่อกระบวนการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกาย
ที่มา : สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุวรรณา พรหมทอง (2558) ได้อธิบายไว้ว่าภูมิคุ้มกันของลูกสุกรแรกเกิดนั้นจะได้จากการดูดน้ำนมเหลืองจากแม่ โดยภูมิคุ้มกันที่ได้จากแม่จะเรียกว่า Passive immunity ที่ผ่านทางน้ำนมเหลือง ภูมิคุ้มกันโรคเหล่านี้จะมีผลคุ้มกันได้ในระยะ 1-2 สัปดาห์ จากนั้นจะลดลงเรื่อยๆ โดยภูมิคุ้มกันนี้จะมีผลคุ้มกันโรคในช่วงสัปดาห์แรกของชีวิตได้อย่างสมบูรณ์หรือไม่ ขึ้นอยู่กับแอนติบอดีที่เหมาะสมของแม่สุกร โดยเราจะต้องจัดเตรียมภูมิคุ้มกันโรคในแม่สุกรไว้อย่างน้อย 4 สัปดาห์ก่อนคลอด เพื่อสามารถผลิตแอนติบอดีในน้ำนมเหลือง โดยแอนติบอดีดังกล่าวจะค่อยๆ ลดปริมาณลงจนหมดไปใน 8-12 สัปดาห์หลังคลอด ดังนั้นลูกสุกรควรได้รับน้ำนมเหลืองจากแม่ในปริมาณที่เพียงพอ หรือมากที่สุดเท่าที่จะรับได้ภายใน 12-24 ชั่วโมงหลังคลอดเท่านั้น เนื่องจากในระยะเวลานั้นร่างกายลูกสุกรแรกเกิดมีความสามารถยินยอมให้ Immunoglobulin ชนิดต่างๆ ซึมผ่านจากผนังลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือดได้โดยไม่ถูกย่อย แต่ถ้านานกว่านั้นร่างกายลูกสุกรจะผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีน (Proteinase) ย่อยสลาย Immunoglobulin ที่เป็นโปรตีนให้เป็น Polypeptide หรือกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ซึ่งจะหมดคุณสมบัติการเป็นภูมิคุ้มกันโรค มีคุณค่าเป็นเพียงโภชนตัวหนึ่ง เช่นเดียวกับโปรตีนทั่วไปจากน้ำนม (Casein) เมื่อแม่สุกรหยุดผลิตน้ำนมเหลืองเปลี่ยนเป็นผลิตนมธรรมดาจะมี IgA ที่เป็นแอนติบอดีที่ไม่ถูกดูดซึมจะช่วยลูกสุกรในการต่อต้านเชื้อโรคที่เยื่อบุผิวทางเดินอาหาร ป้องกันโรคที่เกี่ยวกับลำไส้ เป็น Mucosal immunity มีความสำคัญในการป้องกันโรคต่อเนื่องจากแอนติบอดีจากน้ำนมเหลืองที่ลดลง โดยระบบภูมิคุ้มกันของของลูกสุกรจะยังไม่ทำงานจนกว่าจะอายุ 21 วัน แต่ถ้าลูกสุกรมีการสัมผัสกับเชื้อโรคอ่อนๆ ในสภาพแวดล้อมหรือได้รับวัคซีนป้องกันโรคจะกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันเฉพาะโรคขึ้นได้ก่อนอายุ 21 วัน ซึ่งเป็น Active immunity ชนิด Humoral immunity แต่ยังทำงานได้ไม่ดีนักในช่วงอายุ 3-4 สัปดาห์ และจะทำงานได้ดีเมื่อสุกรอายุ 7-8 สัปดาห์

ตารางที่ 2.5 ปริมาณ Immunoglobulin จากน้ำนมของแม่สุกรหลังคลอด

ชนิดน้ำนมแม่สุกร	**Ig: มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร**			
	G_1	G_2	M	A
น้ำนมเหลือง	6,180	4,030	320	960
น้ำนมวันที่ 1	1,180	800	180	380
น้ำนมวันที่ 2	820	500	180	270
น้ำนมวันที่ 3-7	190	130	120	340
น้ำนมวันที่ 8-35	140	150	90	305

ที่มา : สุวรรณา พรหมทอง (2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 รูปแบบและการพัฒนาวัคซีน (Vaccine)

วัคซีนคือชีววัตถุหรือแอนติเจนที่ผลิตมาจากเชื้อโรคหรือพิษของเชื้อโรคที่ถูกทำให้ไม่สามารถก่อโรคได้แต่ยังคงกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีหรือภูมิคุ้มกันได้ อีกทั้งวัคซีนหมายถึงการให้เชื้อหรือส่วนหนึ่งของเชื้อเข้าไปในร่างกายเพื่อกระตุ้นให้มีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคหรือแอนติบอดี ซึ่งการสร้างภูมิคุ้มกันโรคอาจทำได้อีกวิธีหนึ่ง โดยการให้ภูมิต้านทานสำเร็จหรือที่เรียกว่า อิมมูโนโกลบูลิน เข้าไปในร่างกายและสามารถต่อต้านเชื้อโรคได้ทันที (ไพบูลย์ ปิยะบัณฑิตกุล, 2562) วัคซีนเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพและความคุ้มทุนสูงที่สุดในการป้องกัน ควบคุม และกำจัดโรคระบาดอันเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ ไวรัส แบคทีเรีย รวมทั้งโปรโตซัวหรือพยาธิต่างๆ นอกจากนี้วัคซีนมีบทบาทการเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการป้องกันควบคุมและกำจัดโรคระบาดสัตว์ ดังนั้นการให้วัคซีนสัตว์จึงเป็นกิจกรรมหนึ่งของแผนปฏิบัติการควบคุมโรคของกรมปศุสัตว์ ซึ่งมีหน้าที่ในด้านการปศุสัตว์ของประเทศรับผิดชอบทั้งการป้องกันกำจัดโรคระบาดสัตว์ที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจและการเพิ่มผลผลิตปศุสัตว์อย่างมีคุณภาพเพื่อให้เพียงพอแก่การบริโภคของประชากรภายในประเทศและสามารถส่งไปจำหน่ายต่างประเทศได้ อีกทั้งตัววัคซีนเองจัดเป็นผลิตภัณฑ์หรือสินค้าชนิดหนึ่งที่มีมูลค่าซึ่งประเทศไทยมีการใช้วัคซีนสัตว์ทั้งที่มีการผลิตในประเทศและที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ (รัชนี อัตถิ, 2562)

2.4.1 ชนิดของวัคซีน

2.4.1.1 วัคซีนเชื้อเป็น (Live-attenuated vaccine) คือ วัคซีนที่ใช้เชื้อจุลชีพที่ทำให้อ่อนกำลังลงเป็นแอนติเจนของวัคซีน เชื้อจุลชีพที่ถูกทำให้อ่อนกำลังลงยังคงสามารถเพิ่มจำนวนในตัวสัตว์ วัคซีนเชื้อเป็นที่ดีต้องไม่ก่อโรคหรือทำให้เกิดการเจ็บป่วย และสามารถใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อย่างปลอดภัย การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีนเชื้อเป็นจึงคล้ายกับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากการติดเชื้อทางธรรมชาติเพียงแต่สัตว์ไม่แสดงอาการป่วยเหมือนได้รับเชื้อชนิดก่อโรครุนแรง โดยทั่วไปวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสามารถเพิ่มจำนวน และสร้างแอนติเจนได้ภายในตัวสัตว์ที่ได้รับวัคซีน วัคซีนเหล่านี้จึงสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพเหนือกว่าวัคซีนเชื้อตาย และสามารถให้ความคุ้มโรคได้ดีกว่าวัคซีนเชื้อตายโดยเฉพาะในกรณีที่จำเป็นต้องใช้การทำงานของกลไกทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ในการป้องกันการเกิดโรค ข้อดีในด้านอื่นๆ ของวัคซีนเชื้อเป็น ได้แก่ การใช้ปริมาณเชื้อต่อโด๊ส ที่น้อยกว่าวัคซีนเชื้อตาย จุดประสงค์ของการให้วัคซีนชนิดเชื้อเป็น คือ ต้องการให้เชื้อในวัคซีนเข้าไปเพิ่มจำนวนในสัตว์ที่ได้รับวัคซีนได้เอง ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องใส่เชื้อในปริมาณมากนักต่อการให้วัคซีนในแต่ละครั้ง นอกจากนี้วัคซีนในกลุ่มนี้ยังสามารถกระตุ้นการทำงานของ Innate immunity ได้ดีอีกด้วย ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องเติมสารเสริมฤทธิ์ (Adjuvants) ในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ลดโอกาสที่จะกระตุ้นภาวะภูมิไวเกิน (Hypersensitivity) ซึ่งอาจเกิดจากการใช้สารเสริมฤทธิ์ หรือสารเสริมอื่นๆ ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกินไป (การแพ้วัคซีน) ในสัตว์ได้อย่างไรก็ตามวัคซีนชนิดเชื้อเป็นอาจมีความยุ่งยากในเรื่องของการเก็บรักษามากกว่าวัคซีนเชื้อตาย เนื่องจากต้องเก็บรักษาในที่มีอุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้อาจมีโอกาสที่เชื้อในวัคซีนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางแอนติเจน หรือผสมรวมแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนทางพันธุกรรมกับเชื้อที่อยู่ในท้องที่จนเกิดเป็นเชื้อสายพันธุ์ใหม่ที่สามารถก่อโรครุนแรงใหม่ได้ใหม่ เรียกกระบวนการนี้ว่า Vaccine reversion วัคซีนชนิดเชื้อเป็นนี้ยังอาจก่อให้เกิดปัญหาการเจ็บป่วยอันไม่พึงประสงค์ได้ ในกรณีที่ให้แก่สัตว์ที่มีการทำงานของภูมิคุ้มกันที่ไม่เต็มประสิทธิภาพ (Immunocompromised) เช่น สัตว์ตั้งท้อง สัตว์ที่อยู่ในสภาวะเครียด หรือติดเชื้อโรคอื่นอยู่ก่อนแล้ว

2.4.1.2 วัคซีนเชื้อตาย (Inactivated vaccine) คือ วัคซีนที่ใช้จุลชีพที่ทำให้ตายหรือหมดฤทธิ์ในห้องปฏิบัติการหรือส่วนประกอบของเชื้อที่เป็นแอนติเจนของวัคซีน และต้องอาศัยสารเสริมฤทธิ์ เพื่อให้กระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยทั่วไปแล้ววัคซีนเชื้อตายให้ความคุ้มโรคได้ไม่ดีเท่าวัคซีนเชื้อเป็น โดยเฉพาะในด้านการกระตุ้นการทำงานของกลไกทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (CMI) และอาจจำเป็นต้องให้ซ้ำหลายครั้งเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกระตุ้นความคุ้มโรคจึงทำให้มีโอกาสเกิดปัญหาภูมิคุ้มกันไวเกินได้สูงขึ้น อย่างไรก็ตามวัคซีนเชื้อตายก็มีข้อดีคือ มีความปลอดภัยสูง และมีความเสี่ยงของการเกิดโรคจากการใช้วัคซีนน้อย เพราะเชื้อได้ถูกทำให้ตายจนหมด นอกจากนี้วัคซีนเชื้อตายส่วนใหญ่สามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้องทำให้ง่ายต่อการเก็บรักษาการใช้งานค่อนข้างง่าย และสะดวกกว่าวัคซีนเชื้อเป็น

2.4.1.3 วัคซีนทอกซอยด์ (Toxoid vaccine) วัคซีนชนิดนี้เตรียมจากการนำพิษที่เชื้อโรคสร้างหรือหลั่งออกมา มาทำให้หมดพิษหรือฤทธิ์อ่อนลง แต่ยังคงความสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้าง แอนติบอดีได้ เรียกว่า ทอกซอยด์ (Toxoid) ใช้ในการป้องกันโรคที่เกิดจากพิษของเชื้อ แต่ไม่ได้เกิดจากเชื้อโรคเอง โดยข้อดีของวัคซีนทอกซอยด์ คือค่อนข้างปลอดภัย โดยมีข้อเสีย คือทำให้เกิดภูมิคุ้มกันระยะสั้นต้องมีการฉีดกระตุ้นซ้ำเป็นระยะๆ เช่น วัคซีนป้องกันโรคบาดทะยัก

2.4.1.4 วัคซีนซับยูนิต (Subunit vaccine) หมายถึง วัคซีนที่ใช้องค์ประกอบเพียงบางส่วนของจุลชีพมาเป็นแอนติเจนของวัคซีน จัดเป็นวัคซีนเชื้อตายประเภทหนึ่งภูมิคุ้มกันที่ได้ส่วนใหญ่เป็นแบบสารน้ำ เช่นเดียวกับวัคซีนเชื้อตาย (สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย, 2563)

2.4.1.5 วัคซีนดีเอ็นเอ/อาร์เอ็นเอ (DNA/mRNA vaccine) เป็นวัคซีนที่ใช้เทคโนโลยีใหม่สังเคราะห์สารพันธุกรรมที่เฉพาะเจาะจงกับเชื้อไวรัส วัคซีนจะทำหน้าที่พา mRNA เข้าเซลล์ และกำกับให้เซลล์ผลิตสารโปรตีนสไปค์ของเชื้อไวรัส ซึ่งโปรตีนนี้จะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้สร้างแอนติบอดีขึ้นมาต่อต้านเชื้อ มีอาการข้างเคียงน้อยเนื่องจากไม่มีส่วนประกอบของอนุภาคไวรัสในตัววัคซีนโดยอยู่ในระยะวิจัยและพัฒนาวัคซีนในสุกร

2.4.1.6 วัคซีนที่ใช้ไวรัสเป็นพาหะ (Viral vector vaccine) เป็นวัคซีนที่สกัดไวรัสให้อ่อนฤทธิ์หรือไม่สามารถแบ่งตัวได้อีก ผ่านกระบวนการตัดแต่งพันธุกรรมเพื่อใช้ไวรัสเป็นพาหะ เมื่อนำเข้าสู่ร่างกายจะสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี เนื่องจากเลียนแบบการติดเชื้อที่ใกล้เคียงกับการติดเชื้อตามธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.7 วัคซีนคอนจูเกต (Conjugate vaccine) วัคซีนโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide vaccine) เป็นวัคซีนที่ผลิตจากส่วนประกอบของเชื้อโรค อาจผลิตจากโมเลกุลน้ำตาลบนผนังเซลล์หรือส่วนหนึ่งของโปรตีนจำเพาะจากเชื้อโรค (สถาบันวัคซีนแห่งชาติ, 2566)

2.4.2 วิธีการให้วัคซีนหรือยาในสุกร

2.4.2.1 การกิน (Oral route) ให้เมื่อต้องการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ เช่น ลำไส้ และมักเป็นวัคซีนเชื้อเป็น โดยการให้วัคซีนทางปากนั้นควรระวังอย่าให้วัคซีนลงปอด เพราะทำให้เกิดอาการปอดบวมแทรกซ้อนตามมา การออกฤทธิ์ของวัคซีนจะช้ากว่าแต่สามารถอยู่ได้ยาวนานกว่า และปริมาณวัคซีนที่ใช้จะมากกว่าการฉีด เนื่องจากวัคซีนที่ให้กินจะถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารผ่านเข้าสู่กระแสเลือดไปยังตับก่อนแล้วถูกส่งเข้าสู่กระแสเลือดไปทั่วร่างกาย วัคซีนบางส่วนจะถูกทำลายที่ตับปริมาณวัคซีนที่ผ่านเข้าสู่กระแสเลือดจึงน้อยลง และการให้วัคซีนทางปากปลอดภัยกว่าการให้วัคซีนโดยการฉีด เพราะว่าดูดซึมได้ช้ากว่า

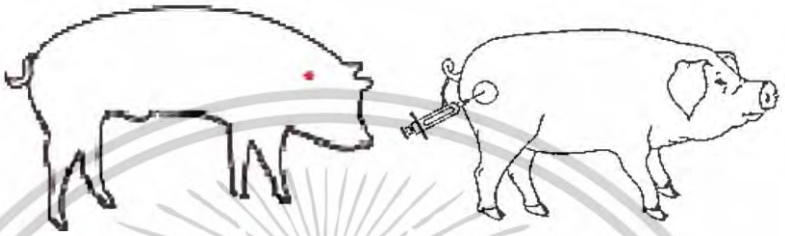
ภาพที่ 2.3 การป้อนวัคซีนโดยการกิน (Oral route)
ที่มา : สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2563)

2.4.2.2 การฉีดเข้าชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutaneous route) เป็นตำแหน่งที่วัคซีนกระจายได้ช้าที่สุด มักให้ในกรณีที่ไม่ต้องการให้วัคซีนกระจายและออกฤทธิ์เร็วเกินไป จึงมักใช้กับวัคซีนป้องกันโรคชนิดต่างๆ เพราะต้องการให้การดูดซึมเกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยวัคซีนจะกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันโรคได้สูง อย่างไรก็ตามการฉีดวัคซีนเข้าใต้ผิวหนังไม่ควรเป็นวัคซีนที่มีการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อของสุกร เพราะอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อต้านการสร้างเยื่อหุ้มรอบยาเกิดเป็นก้อนแข็งใต้ผิวหนังได้ ตำแหน่งสำหรับฉีดใต้ผิวหนังได้แก่บริเวณหลังใบหูห่างออกไป 1-2 นิ้ว รักแร้ ซอกขาหลัง หรือบริเวณผิวหนังบางและเห็นรอยย่นของผิวหนังได้ชัดเจน และเมื่อฉีดวัคซีนหรือยาเข้าไปใต้ผิวหนังแล้วจะสังเกตได้ว่ามีก้อนนูนเกิดขึ้นบริเวณที่ฉีดซึ่งจะคงอยู่ระยะหนึ่งและหายไปในเวลาไม่นาน

2.4.2.3 การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (Intramuscular route) เป็นการฉีดวัคซีนหรือยาเข้าไปในกล้ามเนื้อ หากกล้ามเนื้อบริเวณที่ฉีดนั้นมีเส้นเลือดมาเลี้ยงมากทำให้วัคซีนถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็วกว่าการฉีดใต้ผิวหนังแต่ยังคงออกฤทธิ์ช้ากว่าฉีดเข้าเส้นเลือดดำ การฉีดเข้ากล้ามนั้นใช้ปริมาณที่ไม่มากนักแต่ให้ผลในการรักษาที่ยาวนาน โดยตำแหน่งที่ฉีดวัคซีนนั้นหากเป็นสุกรขนาดใหญ่จะฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณสามเหลี่ยมหลังกกหูเยื้องไปทางลำตัวหรือกล้ามเนื้อสะโพก หากเป็นสุกรขนาดเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณคอหรือกล้ามเนื้อโคนขาหลังด้านใน การฉีดต้องระวังอย่าให้โดนเส้นประสาท และเส้นเลือด ควรตรวจสอบจนแน่ใจว่าไม่ถูกเส้นเลือดจึงเดินยา โดยการแทงเข็มเข้าไปแล้วให้ดึงก้านสูบออกมาเล็กน้อย ถ้ามีเลือดไหลตามมาให้เปลี่ยนตำแหน่งไปเข็มใหม่ ซึ่งความยาวของเข็มให้เลือกที่เหมาะสมสำหรับสุกรแต่ละช่วงวัย สำหรับสุกรขนาดใหญ่ใช้ขนาด 1-1.5 นิ้ว สุกรขนาดเล็กควรใช้ขนาด 0.5-1 นิ้ว



ภาพที่ 2.4 การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (Intramuscular route)
ที่มา : สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2563)

2.4.2.4 การฉีดเข้าเส้นเลือดดำ (Intravenous injection) มักใช้กับการฉีดยาไม่ใช่การฉีดวัคซีน มักใช้กับรายฉุกเฉินและต้องการเวลาในการรักษาสั้น เช่น การฉีดยาบำรุง การให้แคลเซียม น้ำเกลือ กลูโคส และอิเล็คโทรไลท์ หรือในกรณีที่ต้องการขนาดยาที่แน่นอนระดับหนึ่งในเลือด เช่น ยาสลบการออกฤทธิ์ของยาที่ให้โดยวิธีนี้เร็วที่สุด ซึ่งการฉีดยาเข้าเส้นเลือดมีความยุ่งยากและอันตราย ดังนั้นผู้ฉีดต้องมีความชำนาญในการฉีดเข้าเส้นเลืออดดำ โดยสุกรขนาดใหญ่ฉีดตรงเส้นเลือดดำใบหู (Ear vein) หรือเส้นเลือดดำใหญ่เข้าสู่หัวใจบริเวณคอ (Subclavian vein) นอกจากนี้การแทงเข็มเข้าเส้นเลือดดำอาจใช้ในกรณีที่ต้องการดูดเลือดออกมาจำนวนมากเพื่อตรวจสอบโรค

2.4.2.5 การฉีดยาเข้าเยื่อบุช่องท้อง (Intraperitoneal injection) จะถูกเลือกใช้เมื่อเราต้องการให้ยาในปริมาณที่มาก การออกฤทธิ์ของยาและผลในการรักษาไม่แน่นอน โดยยาที่ให้เข้าไปในเยื่อบุช่องท้องจะต้องผ่านตับก่อนเข้าสู่กระแสเลือดและจะกระจายไปทั่วร่างกายทำให้ยาบางส่วนถูกทำลาย ซึ่งตำแหน่งที่ฉีดยาจะอยู่ในแนวเดียวกับสะดือ ขนานกับเส้นแบ่งกลางหน้าท้อง (Linea alba) การฉีดยาเข้าช่องท้องอาจก่อให้เกิดอันตรายแก่สัตว์ เพราะอาจไปทำลายเนื้อเยื่อบริเวณนั้น ทำให้เกิดโรคเยื่อบุช่องท้องอักเสบและตายในที่สุด หรือหากร้ายแรงที่สุดคือการฉีดยาเข้าอวัยวะอื่นในช่องท้องโดยเฉพาะตับและไต อาจทำให้สุกรเกิดความเจ็บปวดและช็อคตายได้

ดังนั้นการฉีดยาที่ตำแหน่งต่างกันจะให้ผลในการรักษาช้าเร็วต่างกัน ถ้าต้องการให้ยาออกฤทธิ์เร็วที่สุดควรฉีดเข้าเส้นเลือดดำเข้าสู่หัวใจโดยตรง รองลงมาคือการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ เข้าเยื่อบุช่องท้อง และเข้าใต้ผิวหนังตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 การเลือกวัคซีนตามความสำคัญในการเลือกใช้

2.4.3.1 วัคซีนที่จำเป็นต้องใช้ (Essential vaccine) หมายถึงวัคซีนที่มีความจำเป็นอย่างยิ่งในการควบคุมและการป้องกันโรคในสุกร หรือวัคซีนที่กฎหมายกำหนดให้ต้องฉีดให้กับสุกร โดยวัคซีนดังกล่าวเป็นวัคซีนที่ควบคุมโรคระบาดที่สามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว หรือมีผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศ เช่น วัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อย และวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สุกร หรือเป็นวัคซีนที่มีจำเป็นในการป้องกันโรคในสุกรบางกลุ่ม เช่น วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเทียม (Aujeszky's Disease: AD) ในฝูงแม่พันธุ์ หรือวัคซีนป้องกันโรคพาร์โวไวรัส (Porcine parvovirus: PPV) ในสุกรสาวทดแทน เป็นต้น

2.4.3.2 วัคซีนที่สำคัญในฟาร์มนั้นๆ (Important vaccine) หมายถึงวัคซีนที่ใช้ในการควบคุมและป้องกันโรคที่สำคัญในแต่ละพื้นที่ แต่ละฟาร์ม หรือในแต่ละช่วงอายุ หรือเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงในระดับฟาร์ม โดยจะต้องกำหนดให้มีโปรแกรมวัคซีนดังกล่าว ตัวอย่างวัคซีนที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ วัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส ที่ต้องใช้ในฟาร์มที่มีโรค PRRS เป็นโรคประจำถิ่น โดยการตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการ วัคซีนป้องกันโรคปอดและเยื่อหุ้มปอดอักเสบ (Actinobacillus pleuropneumonia: APP) จะใช้ในฟาร์มที่พบอาการทางคลินิก และตรวจพบเชื้อ APP ทางห้องปฏิบัติการ วัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 จะใช้ในฟาร์มที่พบอาการทางคลินิก และตรวจพบเชื้อ PCV2 ทางห้องปฏิบัติการ

2.4.3.3 วัคซีนที่ไม่จำเป็นแต่อาจต้องใช้ (Nice to have vaccine) หมายถึงวัคซีนที่ไม่จำเป็นจะต้องใช้ในการควบคุมและป้องกันโรคในระดับฟาร์ม แต่หากใช้แล้วอาจทำให้การป้องกันโรคดังกล่าวดีขึ้น โดยอาจเป็นโรคที่สามารถใช้การจัดการอื่นๆ ในการแก้ไขปัญหาได้ หรือวัคซีนที่อาจให้ผลในการป้องกันโรคที่ไม่สมบูรณ์ ทั้งนี้การกำหนดการใช้วัคซีนกลุ่มนี้จะขึ้นกับดุลยพินิจของสัตวแพทย์ โดยพิจารณาถึงความคุ้มค่าที่จะได้รับตัวอย่างวัคซีนที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ วัคซีนป้องกันโรคโพรงจมูกอักเสบ (Atrophic rhinitis: AR) สามารถใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคได้ วัคซีนป้องกันโรคท้องร่วงติดต่อในสุกร (Porcine epidemic diarrhea: PED) ที่สามารถใช้การจัดการภายในฟาร์มได้ วัคซีนป้องกันโรคเอ็นซูติคนิวโมเนียในสุกร หรือ *M. hyopneumoniae* ในกลุ่มสุกรขุนที่ปลอด PRRS หรือ PCV2

2.4.3.4 วัคซีนอื่น ๆ ที่มีในท้องตลาดได้แก่ วัคซีนป้องกันโรคฉี่หนู (Leptospirosis) วัคซีนป้องกันโรคสเตรปโตคอกโคซิส (*Streptococcosis*) วัคซีนป้องกันโรคเกลสเซอร์ (Glasser's disease) วัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ในสุกร (Swine influenza) วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ *Lawsonia intracellularis* วัคซีนป้องกันโรคลำไส้อักเสบจากเชื้อคลอสทริเดียม (*Clostridium perfringens*) วัคซีนป้องกันโรคพาสเจอเรลโลซิส (Pasteurellosis) วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ *Bordetella bronchiseptica* (สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย, 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 ปฏิกิริยาจากการได้รับวัคซีน (Vaccine reaction)

Zent *et al.* (2002) กล่าวว่าวัคซีนที่มีจำหน่ายและใช้อยู่ในปัจจุบัน แม้ว่าจะผ่านกระบวนการตรวจสอบความปลอดภัยมาแล้วก็ตาม แต่ก็สามารถก่อให้เกิดอาการแพ้ (Allergic reaction) ได้เช่นเดียวกับการแพ้ยา การแพ้วัคซีนส่วนใหญ่เกิดจากการแพ้ส่วนประกอบที่อยู่ในวัคซีน อาการแพ้ที่เกิดขึ้นภายหลังจากได้รับวัคซีนอาจเป็นผลมาจากตัวของเชื้อ (แอนติเจน) หรือสารประกอบที่อยู่ในวัคซีนหรืออาจเกิดจากปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วย ซึ่งเป็นกลไกที่ซับซ้อน อาการแพ้วัคซีนมีหลายระดับอาจเป็นระดับอ่อนๆ (Mild allergic reaction) หรือเป็นอันตรายต่อชีวิต ส่วนประกอบที่อยู่ในวัคซีนที่เกี่ยวข้องกับอาการแพ้วัคซีน ได้แก่ สารเสริมฤทธิ์ แอนติเจนที่ใช้ในการผลิตเป็นวัคซีน สารคงสภาพ (Preservative) สารคงรูป (Stabilizer) หรือสารที่เป็นส่วนประกอบของแบคทีเรีย อาหารเลี้ยงเชื้อ หรืออาจเป็นการปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการผลิตวัคซีนชนิดนั้นๆ เป็นต้น ซึ่งส่วนประกอบทั้งหมดที่กล่าวมาอาจเป็นสาเหตุของอาการแพ้วัคซีนได้ทั้งสิ้น กลไกในการเกิดอาการแพ้วัคซีนเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน (Immune-mediated reaction) โดยมีปัจจัยมาจากส่วนประกอบของภูมิคุ้มกันอย่างใดอย่างหนึ่งเป็นหลัก ซึ่งอาการแพ้วัคซีนส่วนมากเป็นการตอบสนองแบบปฏิกิริยาภูมิแพ้ (Type I hypersensitivity) ซึ่งเป็นการตอบสนองที่เหนี่ยวนำจากแอนติบอดีชนิด IgE ต่อส่วนประกอบของวัคซีน อาการผิดปกติที่เกิดขึ้นที่พบได้ในการแพ้ชนิดนี้ได้แก่ ตัวแดง มีไข้ อาการของโรคลมพิษ และอาการบวมใต้ผิวหนัง ร่วมกับอาการคัดจมูก มีน้ำมูก อาการไอ การหายใจลำบากเนื่องจากทางเดินหายใจตีบตัน หายใจด้วยช่องท้อง เจ็บเกร็งในช่องท้อง อาเจียน ท้องเสีย และ ความดันโลหิตสูง หากมีอาการแพ้เฉียบพลันอย่างรุนแรง จะเรียกว่า Anaphylaxis ซึ่งเป็นอาการแพ้ที่เกิดขึ้นกับอวัยวะหลายระบบของร่างกายพร้อมๆ กันและอาจทำให้เสียชีวิตได้หากไม่ได้รับการรักษาอย่างรวดเร็ว โดยจะแสดงอาการทางผิวหนังมากที่สุด รองลงมาได้แก่ระบบทางเดินหายใจ ระบบหัวใจและหลอดเลือด และระบบทางเดินอาหารตามลำดับ อาการทางผิวหนังที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ ผื่นลมพิษ และ อาการบวมใต้ ผิวหนัง

2.4.5 ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการให้วัคซีนในสุกร

Suradhat (2007) ความสำเร็จของการป้องกันและควบคุมโรคนอกจากจะขึ้นอยู่กับโปรแกรมการฉีดวัคซีนที่เหมาะสมแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆด้วย เช่น สภาพแวดล้อมในการจัดการสุขภาพโดยรวมของสุกร ความรู้และความเข้าใจของสัตวแพทย์และเกษตรกรผู้เลี้ยงในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับโรคและการจัดการในการควบคุมโรคอย่างเหมาะสม และความปลอดภัยทางชีวภาพ (Biosecurity) ผู้ที่ทำงานเกี่ยวข้องกับการผลิตสุกรควรระลึกไว้เสมอว่า วัคซีนเป็นเพียงเครื่องมือชิ้นหนึ่งที่นำมาใช้เป็นตัวช่วยในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของฝูงได้ในสถานการณ์ที่เหมาะสม แต่การให้วัคซีนเพียงอย่างเดียวอาจจะไม่สามารถช่วยแก้ปัญหาได้ ถ้าไม่มีการปรับเปลี่ยนระบบการจัดการอย่างเหมาะสมร่วมด้วย ในฟาร์มสุกรมีหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความสำเร็จในการให้วัคซีนในสุกร แบ่งออกได้เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5.1 ปัจจัยจากตัวเชื้อธรรมชาติของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค ความเข้าใจในเรื่องโรคและชนิดของเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุหลักของปัญหาสุขภาพในฟาร์มเป็นสิ่งสำคัญเป็นอันดับต้นๆ ในการวางแผนควบคุมและป้องกันโรคก่อนการตัดสินใจใช้วัคซีนใดๆ โดยเราควรมีความรู้ว่าเชื้อโรคที่ต้องการให้วัคซีนนั้นเป็นสาเหตุหลักของการก่อปัญหาสุขภาพในสุกรจริงหรือไม่ โดยอาศัยข้อมูลทางห้องปฏิบัติการและการชันสูตรโรคมาประกอบการพิจารณา บ่อยครั้งที่ปัญหาการเจ็บป่วยของสัตว์เกิดจากสาเหตุที่เป็นปัจจัยร่วมหลายชนิดในเวลาเดียวกัน ซึ่งมีผลในการกดหรือรบกวนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ถ้าปัญหาที่พบเกิดจากการติดเชื้อหลายๆชนิดร่วมกัน และหรือการติดเชื้ออื่นๆ ที่ยังวินิจฉัยไม่ได้มาสมทบ การใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคใดโรคหนึ่งก็อาจไม่ให้ผลในการแก้ปัญหาทางสุขภาพที่พบในสัตว์ได้ จึงจำเป็นจะต้องมีความเข้าใจในเรื่องธรรมชาติของเชื้อ โดยความเข้าใจในธรรมชาติของเชื้อก่อโรคมีบทบาทสำคัญในการวิจัยและพัฒนาวัคซีน เชื้อบางกลุ่มมีคุณสมบัติความเป็นแอนติเจนที่ใกล้เคียงกัน วัคซีนที่พัฒนาจากเชื้อสายพันธุ์นั้นๆ ก็สามารถให้ภูมิคุ้มโรคข้ามสายพันธุ์ได้ เช่นเชื้อที่ก่อโรค CSF, AD, PCV2, *M. hyopneumoniae* และ PPV เป็นต้น ในขณะเชื้อบางกลุ่มมีความหลากหลายในเชิงความเป็นแอนติเจนสูงมาก วัคซีนจากเชื้อสายพันธุ์หนึ่ง อาจไม่มีผลในการให้ความคุ้มโรคข้ามสายพันธุ์อื่นๆ ได้ เช่น เชื้อที่ก่อโรค FMD, PRRS, และ *Leptospira* spp. เป็นต้น ดังนั้นในการวางแผนการให้วัคซีนจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทราบถึงลักษณะของเชื้อในท้องที่และข้อมูลทางระบาดวิทยาของแต่ละโรคร่วมด้วย เนื่องจากในแต่ละประเทศหรือท้องที่อาจมีการระบาดของเชื้อสายพันธุ์ที่ต่างกัน อีกทั้งความเข้าใจในธรรมชาติของเชื้อที่เกี่ยวกับวงชีวิตภายในโฮสต์ การแพร่กระจายของเชื้อ และวงจรการระบาด ล้วนมีความสำคัญต่อการพัฒนาและเลือกใช้วัคซีนเป็นอย่างมาก เช่น เชื้อไวรัสที่มีวงชีวิตอยู่ในเซลล์เป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ CSFV และ AD จำเป็นต้องใช้กลไกทางภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ ผ่านการกระตุ้นการทำงานของ Cytotoxic T lymphocytes (CTL) ร่วมกับการสร้างแอนติบอดี จึงจะสามารถควบคุมการติดเชื้อและกำจัดเชื้อโดยสมบูรณ์ได้ ในขณะที่เชื้อกลุ่มแบคทีเรียส่วนมากและไวรัสบางกลุ่ม เช่น PCV2 และ FMDV ที่มีช่วงชีวิตที่อยู่นอกเซลล์ การให้วัคซีนที่กระตุ้นการสร้างแอนติบอดีเป็นหลัก ก็อาจเพียงพอต่อการควบคุมการเกิดโรคหรือสร้างภูมิคุ้มโรคได้ หรือบางกรณีการเกิดโรคเกิดขึ้นจากการได้รับ Toxin ของเชื้อจุลชีพที่สร้างขึ้นมามากกว่าตัวเชื้อเอง เช่น APP และ AR การพัฒนาวัคซีนจึงจะต้องมุ่งเน้นการสร้างภูมิคุ้มกันเพื่อต่อต้านและทำให้หมดฤทธิ์ไปมากกว่าการสร้างภูมิคุ้มกันต่อตัวเชื้อเอง

2.4.5.2 ปัจจัยจากวัคซีน กลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และชนิดของวัคซีน เนื่องจากการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่ร่างกายเป็นไปได้ค่อนข้างยาก ดังนั้นวัคซีนที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันจะเป็นกลุ่มที่ใช้เพื่อป้องกันการเกิดโรค เช่น CSF, AD, PCV2 และ FMD เป็นต้น หรือในบางกรณีมีเพียงเพื่อช่วยลดรอยโรคเท่านั้น เช่น *M. hyopneumoniae* เป็นต้น วัคซีนที่ใช้ในสุกรมีหลายชนิดและหลายรูปแบบ ต่างมีข้อได้เปรียบและเสียเปรียบที่แตกต่างกัน ดังนั้นหลักการเลือกชนิดของวัคซีนจึงจำเป็นต้องมีความเข้าใจในเรื่องธรรมชาติของเชื้อเสียก่อนเพื่อกำหนดกลไกทางภูมิคุ้มกันที่ต้องการก่อนแล้วจึงมาพิจารณาว่าวัคซีนที่ต้องการเลือกใช้สามารถกระตุ้นกลไกทางภูมิคุ้มกันที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องการได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่ เพราะวัคซีนแต่ละชนิดมีความสามารถในการกระตุ้นกลไกการทำงานที่แตกต่างกัน แม้ว่าวัคซีนส่วนมากจะสามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้เป็นที่น่าพอใจ แต่ความสามารถในการกระตุ้น CMR จะขึ้นกับความสามารถของแอนติเจนวัคซีนที่ให้กับเซลล์แต่ละชนิด หรือวัคซีนที่มีความสามารถเข้าไปสร้างโปรตีนภายในเซลล์ได้ จะส่งผลให้เกิดการกระตุ้นกลไกทางภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ได้ครอบคลุมทั้งหมด ในขณะที่วัคซีนเชื้อตายหรือวัคซีนซับยูนิตโปรตีนจะไม่สามารถเข้าไปเพิ่มจำนวนหรือสร้างโปรตีนเพิ่มเติมในตัวสัตว์ได้ จะเห็นได้ว่าวัคซีนแต่จะชนิดจะมีความสามารถในการกระตุ้นกลไกทางภูมิคุ้มกันที่แตกต่างกัน ดังนั้นความรู้และความเข้าใจถึงวงชีวิตของเชื้อแต่ละชนิดจะเป็นตัวแปรสำคัญ ที่จะกำหนดการเลือกวัคซีนที่มีความเหมาะสม ตัวอย่างเช่น การป้องกันโรคอหิวาต์สุกรซึ่งมีวงชีวิตอยู่ภายในเซลล์เป็นหลัก จำเป็นต้องใช้กลไกทางภูมิคุ้มกันทั้ง CMR และ HI ในการควบคุมการติดเชื้อและกำจัดเชื้อออกจากร่างกาย ดังนั้นการให้วัคซีนเชื้อเป็นซึ่งมีคุณสมบัติกระตุ้นได้ทั้ง CTL และ Neutralizing antibody (Nab) จึงมีประสิทธิภาพดีกว่าวัคซีนชนิดซับยูนิตซึ่งเน้นการกระตุ้นการสร้าง NAb เพียงอย่างเดียว และถือเป็นทางเลือกหลักในประเทศที่ยังมีการระบาดของโรคอยู่ ขณะที่บางประเทศซึ่งสามารถกำจัดโรคอหิวาต์สุกรได้หมดแล้ว หากต้องการสร้างภูมิคุ้มกันโรคแบบฉุกเฉินการเลือกใช้วัคซีนชนิดซับยูนิตจึงอาจเป็นทางเลือกที่ดีกว่า เพื่อป้องกันการนำเอาเชื้อมีชีวิตเข้าสู่พื้นที่ และความรวดเร็วในการกลับเข้าสู่สถานะ Disease free-zone นอกจากนี้การเลือกชนิดของวัคซีนอาจยังขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการให้วัคซีนอีกด้วย อาทิเช่น วัคซีน AD ซึ่งในปัจจุบันมีใช้ทั้งสองรูปแบบเชื้อคือเป็นและเชื้อตาย โดยจะเลือกใช้วัคซีนเชื้อเป็นเพื่อกระตุ้น Active immunity ในลูกสุกร โดยหวังผลให้มีการกระตุ้นกลไกทางภูมิคุ้มกันที่ครอบคลุมทั้ง CMR และ HI อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่วัคซีนเชื้อตายมีไว้ใช้เพื่อกระตุ้น Maternal-derived antibody (MDA) ในแม่สุกรอุ้มท้อง เนื่องจากในกรณีนี้แม่สุกรมีภูมิคุ้มกันต่อโรคอยู่แล้ว เพียงแต่เราต้องการกระตุ้น Anamnestic antibody response เพื่อเพิ่มระดับแอนติบอดีในกระแสเลือดของแม่สุกรเพื่อส่งต่อให้แก่ลูกทางนมน้ำเหลือง (Colostrum) นอกจากนี้ยังมีประเด็นในด้านความปลอดภัยเนื่องจากการใช้วัคซีนเชื้อเป็นบางชนิด ในสัตว์อุ้มท้องอาจส่งผลเสียแก่สุขภาพของแม่และลูกสุกรได้ ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงหรือพิจารณาถึงความจำเป็นในแต่ละกรณี

2.4.5.3 ปัจจัยภายในของตัวสุกร ความล้มเหลวอันเกิดจากตัววัคซีนและปัจจัยภายในของสุกร อาจเกิดจากสาเหตุที่เป็นปัจจัยภายในของสุกรโดยตรง ได้แก่ สุขภาพโดยรวม อายุ ความพร้อมของระบบภูมิคุ้มกัน ระดับภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่ การติดเชื้ออื่นที่มีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน หรือการได้รับเชื้อมาก่อนการให้วัคซีนแล้ว เป็นต้น

- อายุและความพร้อมของระบบภูมิคุ้มกัน (Immunocompetence) การทำงานของวัคซีนขึ้นอยู่กับปัจจัยภายในตัวของสุกรเป็นหลัก ดังนั้นสุขภาพโดยรวมของสุกรจึงมีผลต่อความสามารถในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และความสำเร็จในการสร้างภูมิคุ้มกันโดยวัคซีนเป็นที่ยอมรับโดยทั่วกันว่าในลูกสุกรเกิดใหม่จะมีการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันไม่ดีเท่ากับสุกรที่มีอายุมาก โดยจำเป็นต้องใช้เวลาประมาณ 4 สัปดาห์ ในการพัฒนาศักยภาพของระบบภูมิคุ้มกันให้สมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่าเทียมสุกรทั่วไป ดังนั้นหากมีการให้วัคซีนในสุกรที่อายุต่ำกว่า 4 สัปดาห์ควรระลึกไว้ว่า การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันอาจไม่ดีเท่าเทียมสุกรที่โตแล้ว นอกจากนี้การให้วัคซีนในสัตว์ที่มีอายุน้อยมากๆ ยังอาจพบกับปัญหาในด้าน Vaccine adverse reaction และยิ่งไปกว่านั้นอาจพบกับปัญหาการรบกวนการทำงานของวัคซีนโดยภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่ (MDA) โดยถือเป็นปัจจัยรบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันในลูกสัตว์ที่มีความสำคัญเป็นลำดับต้นๆ ซึ่งจะนำไปสู่ความล้มเหลวในการสร้างภูมิคุ้มกันในลูกสุกรในที่สุด ภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่ (MDA) โดยปกติแล้วลูกสุกรจะรับ MDA ผ่านทางการกิน Colostrum ภายในช่วง 24 ชั่วโมงแรกหลังคลอด โดยระดับ MDA ในกระแสเลือดของลูกภายหลังการได้รับ Colostrum จะมีความใกล้เคียงกับระดับแอนติบอดีไตเตอร์ในกระแสเลือดของแม่สุกร และจะมีระดับลดลงเรื่อยตามค่า Half-life ของแอนติบอดี ซึ่งอาจมีระยะแตกต่างกันไปตามแต่ชนิดของโรค ในช่วงต้น MDA อาจมีระดับสูงมากพอที่จะป้องกันการเกิดโรคในลูกสุกรได้แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไประดับ MDA ที่ลดลงจะไม่สามารถป้องกันการเกิดโรคได้ แต่จะยังสามารถรบกวนการสร้างภูมิในลูกสุกร โดยจะต้องรอให้ระดับ MDA ลดต่ำลงไปจนถึงระดับที่จะกระตุ้นภูมิคุ้มโรคได้ เรียกช่วงระยะวิกฤตนี้ว่า Window of susceptibility โดยทั่วไป แล้วสัตวแพทย์สามารถประเมินระดับ MDA ในลูกเพื่อวางโปรแกรมการให้วัคซีนแก่ลูกสุกรในช่วงอายุที่เหมาะสม (ภายหลังจากที่ระดับ MDA ได้ลดลงจนถึงระดับที่สามารถตอบสนองต่อการให้วัคซีนได้) โดยการประเมินจากระดับภูมิคุ้มกันในฝูงแม่สุกร สัตวแพทย์ที่ทำงานในท้องที่ระบาดพึงระลึกไว้เสมอว่า ฝูงแม่สุกรที่ได้รับวัคซีนหลายครั้ง และมีการสร้างภูมิคุ้มโรคมาอย่างดีแล้ว อาจไม่แสดงอาการทางคลินิกใดๆ เมื่อมีการติดเชื้อในธรรมชาติ หากแต่ระดับแอนติบอดีในกระแสเลือดจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และจะส่งไปให้กับลูกที่เกิดในครอกถัดไป หากไม่มีการปรับโปรแกรมการให้วัคซีนให้เหมาะสม ก็จะนำไปสู่ความล้มเหลวในการให้วัคซีนในฝูงลูกสุกรได้ กรณีนี้ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของการตรวจวัดสถานภาพภูมิคุ้มกันฝูง (Herd immunity) ที่ต้องทำอย่างเป็นระบบและสม่ำเสมอ

- การติดเชื้ออื่น และ/หรือ การได้รับปัจจัยเชิงลบที่มีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเนื่องจากการทำงานของวัคซีนอยู่ภายใต้ปัจจัยภายในของสุกร ดังนั้นหากมีปัจจัยใดที่ทำลายหรือรบกวนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ก็ย่อมจะมีผลต่อประสิทธิภาพในการสร้างภูมิคุ้มกันของวัคซีนโดยตรง เชื้อโรคที่การระบาดวนเวียนในฝูงสุกรส่วนมาก มักมีกลไกในการรบกวนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเพื่อความอยู่รอดของเชื้อ โดยเชื้อแต่ละชนิดอาจมีกลไกที่รบกวนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันมากกว่าหนึ่งกลไก และมักรบกวนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ในหลายระดับในคราวเดียวกัน โดยจะส่งผลให้เกิดการกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันโดยรวมนำไปสู่ภาวะ Secondary immunodeficiency ซึ่งมีผลต่อความสามารถในการตอบสนองต่อวัคซีนและการติดเชื้อของสุกรในที่สุด นอกจากนี้ภาวะความเครียดในทุกรูปแบบ การเลี้ยงดูที่ไม่เหมาะสม การได้รับสารพิษเชื้อราหรือสารเคมีที่เป็นพิษอื่นๆ ล้วนแล้วแต่มีผลรบกวนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ทั้งสิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

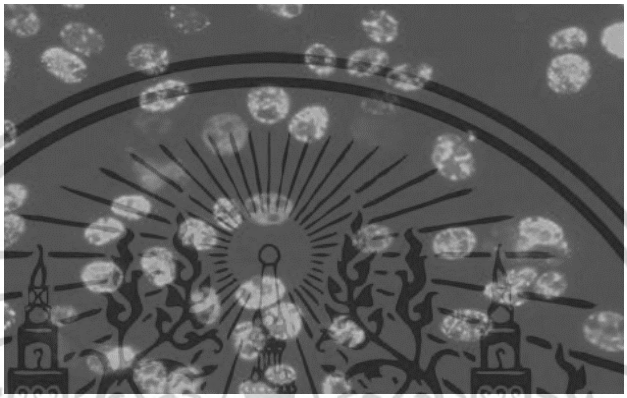
2.4.5.4 ปัจจัยจากการบริหารวัคซีน ความล้มเหลวอันเกิดจากการบริหารวัคซีนอาจเกิดจากผู้ฉีดวัคซีน เช่น การฉีดวัคซีนผิดวิธีผิด Route ให้ไม่ครบโด๊ส หรือจำนวนครั้งที่มีการแนะนำโดยบริษัทผู้ผลิต การใช้วัคซีนที่หมดอายุแล้ว หรือมีการขนส่งและเก็บรักษาที่ไม่ดีพอจนทำให้มีการเสื่อมสภาพของวัคซีนก่อนการนำไปใช้ นอกจากนี้ความล้มเหลวในการฉีดวัคซีนอาจมีสาเหตุจากข้อผิดพลาดในการวางโปรแกรมในการสร้างภูมิคุ้มกัน เช่น การวางแผนผิดพลาดทำให้สัตว์ไม่ได้รับวัคซีนเป็นประจำสม่ำเสมอ หรือละเลยการฉีดวัคซีนในช่วงที่ไม่มีโรคหรือเศรษฐกิจตกต่ำ ซึ่งจะมีผลต่อสถานภาพภูมิคุ้มกันฝูงโดยรวมได้ เป็นต้น

2.5 โรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 (Porcine circovirus type 2)

เชื้อเซอร์โคไวรัส (Porcine circovirus: PCV) สามารถพบได้ทั่วไปโดยมีรายงานการพบเชื้อ PCV ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1974 จนถึงปัจจุบันพบทั้งในทวีปยุโรป อเมริกา เอเชีย รวมทั้งประเทศไทย โดยมีการค้นพบเชื้อ Porcine circovirus type 1 (PCV1) ครั้งแรกในปี ค.ศ 1974 และพบ Porcine circovirus type 2 (PCV2) ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1997 ในฝูงสุกรประเทศแคนาดา PCV จัดเป็นเชื้อไวรัสที่อยู่ใน Family Circoviridae และอยู่ในจีนัส *Circovirus* เป็นดีเอ็นเอไวรัสที่ไม่มีเปลือกหุ้ม และมีลักษณะทางพันธุกรรมเป็นวงสายเดี่ยว (Nonenveloped single-stranded circular DNA) ตัว Virion โครงสร้างภายนอกมีลักษณะเป็นแบบ Icosahedral nonenveloped ดังภาพที่ 2.5 (Tischer *et al*., 1982) เป็นไวรัสที่มีขนาดเล็กที่สุดในบรรดาเชื้อไวรัสที่ก่อโรคในสัตว์ โดยเส้นผ่านศูนย์กลางมีขนาดเฉลี่ย 17 นาโนเมตร มีการศึกษาองค์ประกอบทางโครงสร้างทางพันธุกรรมของเชื้อ PCV1 และ PCV2 พบว่า PCV2 มีขนาดของสารพันธุกรรมรวมทั้งสิ้นประมาณ 1,767 นิวคลีโอไทด์ ประกอบด้วย 11 Open reading frame (ORF) ซึ่งพบว่า ORF1 มีขนาดประมาณ 945 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นส่วนของ Rep gene แสดงออกได้เป็น Replicase protein มีขนาด 35.7 กิโลดาลตัน เป็นโปรตีนที่มีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับกระบวนการการเพิ่มจำนวน (Replication) ของไวรัส (Mankertz *et al.,* 2004) ส่วน ORF2 มีขนาดประมาณ 702 นิวคลีโอไทด์ เป็นส่วนของ Cap gene ที่แสดงออกได้เป็น Capsid protein มีน้ำหนักประมาณ 30 กิโลดาลตัน เป็นโปรตีนโครงสร้างเพียงชนิดเดียวที่ห่อหุ้มไวรัสเอาไว้ และ ORF3 ซึ่งซ้อนอยู่บน ORF1 มีขนาดประมาณ 315 นิวคลีโอไทด์ แสดงออกได้เป็นโปรตีนที่เชื่อว่ามีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการตายแบบ Apoptosis ของเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส (Liu *et al.,* 2006) และเมื่อทำการเปรียบเทียบความแปรปรวนของลำดับเบสระหว่าง ORF1 และ ORF2 พบว่า ORF2 มีความแปรปรวนของลำดับเบส (93-100%) มากกว่า ORF1 (97-100%) ซึ่งอาจบ่งบอกได้ถึงความสัมพันธ์ระหว่างความแปรปรวนของ Capsid protein กับกระบวนการก่อโรคของเชื้อ PCV2 โดยอาจมีการเปลี่ยนแปลงส่วน Viral capsid protein เพื่อให้สามารถอยู่ในเนื้อเยื่อได้และเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาระหว่างเชื้อไวรัสกับโฮสต์ (Virus-host interaction) (Larochelle *et al.,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2002) และในเวลาต่อมาปี ค.ศ. 2016 ได้มีการรายงานว่าพบเชื้อ PCV3 ครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับเชื้อเซอร์โคไวรัสที่พบก่อนหน้า โดยเกิดจากการกลายพันธุ์ในกรดอะมิโนลำดับที่ 24 และ 27 ของ Cap protein ตามรายงานเบื้องต้นที่รายงานเกี่ยวกับเชื้อ PCV3 ถูกตรวจพบในฝูงที่มีอาการทางคลินิก ได้แก่ ปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ อาการไข้ สมองอักเสบและกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบในลูกสุกร และโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ เป็นต้น (Arruda *et al.,* 2019)



ภาพที่ 2.5 ลักษณะของเชื้อ PCV2
ที่มา : Segalés (2011)

2.5.1 Porcine circovirus type 2 (PCV2)

PCV2 เป็นหนึ่งในเชื้อไวรัสที่ก่อโรคในสุกร โดยลักษณะอาการที่เกิดจากการติดเชื้อจะมีความเกี่ยวข้องกับช่วงเวลาที่ได้รับเชื้อ โดยช่วงแรกจะพบว่ามีปัญหาเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ คือการแท้งหรือตายคลอด หลังจากนั้นจะพบกลุ่มอาการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจซับซ้อน (Porcine respiratory disease complex: PRDC) กลุ่มอาการผิวหนังและไตอักเสบ (Porcine dermatitis and nephropathy syndrome: PDNS) ที่มีรอยโรคลักษณะผิวหนังเป็นสีแดงถึงม่วง ซึ่งพบได้มากกว่ากลุ่มอาการสุกรทรุดโทรมหลังหย่านม (Post weaning multisystemic wasting syndrome: PMWS) นอกจากนี้เชื้อ PCV2 ยังทำให้เกิดอาการต่อมน้ำเหลืองอักเสบแบบมีเนื้อตาย (Necrotizing lymphadenitis) และผิวหนังอักเสบแบบมีหนอง (Exudative epidermitis) โดยในปัจจุบันเรียกกลุ่มอาการทั้งหมดนี้ว่า Porcine circovirus type 2 associated disease (PCVAD) ซึ่งส่วนใหญ่จะส่งผลกระทบต่อลูกสุกรที่มีอายุ 7-16 สัปดาห์ (McKeown *et al.,* 2005)

Harm (2002) ได้นิยามกลุ่มอาการของ PMWS ว่าต้องประกอบไปด้วยลักษณะ 3 ประการ ได้แก่ 1) สุกรหลังหย่านมที่ป่วยจะแสดงอาการป่วยอย่างชัดเจน คือ มีลักษณะผอมทรุดโทรม แคระแกร็น เนื่องจากสูญเสียน้ำหนักอย่างรุนแรง ขนหยาบ มีอาการป่วยด้วยโรคระบบทางเดินอาหาร (ท้องเสีย) หรือป่วยด้วยโรคทางระบบหายใจ ผิวหนังมีสีซีดจากภาวะเลือดจางหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีเหลืองจากภาวะดีซ่านจากตับอักเสบ และมีการขยายใหญ่ของต่อมน้ำเหลืองโดยเฉพาะบริเวณขาหนีบ เป็นต้น 2) มีลักษณะที่บ่งชี้ทางพยาธิสภาพของโรคในการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา เช่น มีการลดลงของเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (Lymphoid depletion) การพบก้อน Intracytoplasmic inclusion body การอักเสบแบบ Granulomatous inflammation ในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่าง ๆ และการเกิดปอดอักเสบแบบ Interstitial pneumonia เป็นต้น และ 3) ตรวจพบแอนติเจนหรือ DNA ของเชื้อ PCV2 ในเนื้อเยื่อของสุกรที่มีการแสดงอาการป่วย

ภาพที่ 2.6 สุกรที่มีลักษณะผอมทรุดโทรมจากกลุ่มอาการ PMWS
ที่มา : Segalés (2011)

การติดต่อของเชื้อ PCV2 สามารถติดต่อได้โดยตรง (Nose to nose contact) หรือโดยการกิน (Fecal-oral exposure) ทางรก (Trans placental infection) โดยเราพบว่าการติดเชื้อทางรกนั้นพบรอยโรคเป็นอาการกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบในลูกสุกรที่แท้งและตายคลอด (West *et al.,* 1999) และจากการเก็บตัวอย่างน้ำนมเหลืองและซีรั่มจากแม่สุกรและลูกสุกรพบว่าน้ำนมเหลืองมีปริมาณ DNA ของเชื้อ PCV2 สูงเช่นเดียวกับในซีรั่มของแม่สุกรและลูกสุกร (Shen *et al.,* 2010) อีกทั้งเชื้อไวรัสจะแพร่ออกมาผ่านสารคัดหลั่งทางระบบทางเดินหายใจ ช่องปาก ปัสสาวะ และอุจจาระของสุกรที่ติดเชื้อ อีกทั้งพบว่าน้ำอสุจิเป็นแหล่งของการติดเชื้อ PCV2 ได้ เนื่องจากพบการแพร่เชื้อหลังจากการผสมเทียม ซึ่งสื่อหรือสิ่งคัดหลั่งเหล่านี้จะมีอนุภาคของไวรัสซึ่งสามารถแพร่กระจายเชื้อไปสู่สุกรที่อยู่ร่วมกันหรือที่ใกล้ชิดสัมผัสกันได้ (Krakowka *et al.,* 2000) และสามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสได้ ทั้งในเซลล์แมคโครฟาจ เซลล์เดนไดรติก (Dendritric cells) เซลล์ตับ (Hepatocytes) และเซลล์เยื่อบุท่อไต (Renal tubular epithelium cells) (Pogranichny *et al.,* 2002) กระบวนการวินิจฉัยการติดเชื้อ PCV2 สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การผ่าชันสูตรซากร่วมกับผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ซึ่งพบลักษณะต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ทั่วร่างกาย รอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาพบปอดอักเสบ การลดลงของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองต่างๆ เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมน้ำเหลือง ม้าม ต่อมน้ำเหลืองตามลำไส้เล็กส่วนปลาย และพบการอักเสบแบบ Granulomatous inflammation โดยอาจพบก้อนอินคลูชันภายในไซโตพลาสมาของเซลล์แมคโครฟาจ ทั้งนี้การยืนยันผลการตรวจอาจทำได้โดยการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี (Immunohistochemistry) การตรวจด้วยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน การทำ Indirect immunofluorescence (IFA) หรือการตรวจด้วยวิธีทางซีรัมวิทยา ได้แก่ ELISA เป็นต้น (กฤษฎากรณ์ พริ้งเพราะ และสมพร เตชะงามสุวรรณ, 2550)

สำหรับประเทศไทยมีการพบปัญหาจากโรค PCV2 ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2542 ซึ่งยืนยันโดยการตรวจทางอาการป่วยทางพยาธิวิทยา จุลพยาธิวิทยา การตรวจทางอิเล็คตรอนไมโครสโคป และการตรวจวินิจฉัย ซึ่งพบ Intracytoplasmic inclusion bodies และอนุภาคของไวรัสที่มีขนาด 17 นาโนเมตร (รชฎ ตันติเลิศเจริญ และคณะ, 2542) ทำให้มีการพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อด้วยวิธี PCR เพื่อเทียบลำดับเบสของสายพันธุ์ในประเทศไทยกับฐานข้อมูลเพื่อยืนยันการพบเชื้อ PCV2 ในประเทศ รวมถึงการตรวจพบด้วยวิธี PCR จากลูกสุกรที่ป่วยด้วยอาการ PMWS (Kiatipattanasakul *et al*., 2002)

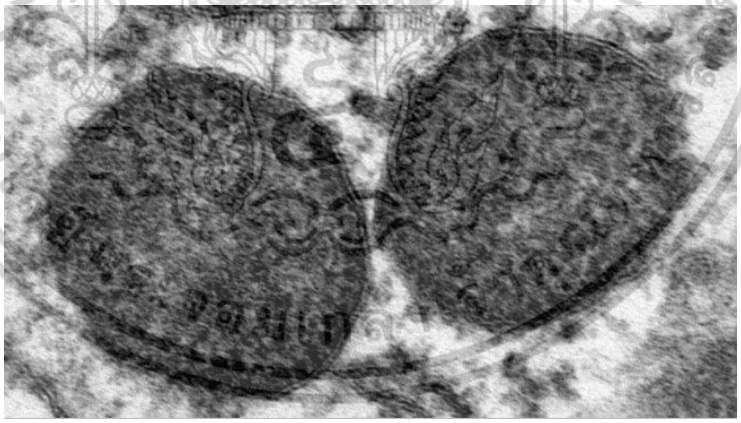
2.5.2 วิทยาภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อของโรค PCV2

หลังจากที่สุกรได้รับเชื้อ PCV2 จะเกิดอาการป่วยและทรุดโทรมหลังหย่านม โดยพบการขยายใหญ่ของต่อมน้ำเหลืองทั่วร่างกาย เมื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยาแล้วจะพบว่ามีการลดลงของเนื้อเยื่อน้ำเหลือง และการเข้ามาของเซลล์ในกลุ่ม Monocytic cell มากขึ้น ทั้งยังมีภาวะการลดลงของเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือด (Leucopenia) ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในสุกรที่ติดเชื้อจากธรรมชาติในช่วงวันที่ 7-10 หลังการติดเชื้อ ในส่วนของความเป็นไปได้ของภาวะการลดลงของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองในสุกรที่เชื้อ PCV2 มีด้วยกันหลายสาเหตุ อาจเกิดเนื่องจากการติดเชื้อโดยตรงเข้าไปในเซลล์ของเชื้อไวรัส หรืออาจเกิดเนื่องจากการเหนี่ยวนำให้เกิดการตาย (Apoptosis) ของเซลล์ลิมโฟไซท์ชนิดบี (Shibahara *et al*., 2000) ซึ่งนอกจากการลดลงของเซลล์ชนิดนี้ในสุกรที่ติดเชื้อ PCV2 ยังพบว่ามีการลดลงของเซลล์ลิมโฟไซท์ชนิดอื่นร่วมด้วย โดยมีสัดส่วนแปรผันตรงสุกรที่มีปริมาณของเชื้อมากมักพบว่ามีภาวะของการลดลงของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองมากตามไปด้วย จึงน่าจะเป็นผลให้เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดลดลง และมีเซลล์เม็ดเลือดขาวในกลุ่ม Monocytic cell เข้ามาในเลือดสูงขึ้น (Pogranichny *et al*., 2002) นอกจากการเกิดลักษณะของการลดลงของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองแล้วยังพบว่าสุกรที่มีภาวะของกลุ่มอาการทรุดโทรมหลังหย่านม ยังพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาอย่างอื่นร่วมด้วย อีกทั้งยังมีผลในการลด CD4 T cell หรือ Helper T cell ซึ่งเป็นเซลล์หลักในการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย จึงเป็นที่มาของการลดความสามารถของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายด้วย (Vincent *et al.,* 2003) ในส่วนของกลไกในการหลบเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันของเชื้อ PCV2 นั้นถือว่าเป็นเชื้อที่มีความสามารถในการดำรงอยู่ในร่างกายของสัตว์เป็นระยะเวลานาน โดยที่สัตว์ไม่แสดงอาการป่วยให้เห็น ทำให้ในปัจจุบันมีการศึกษาถึงพยาธิกำเนิดของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PCV2 พบว่าเชื้อสามารถเข้าไปอยู่อาศัยในเซลล์และแบ่งตัวได้ในหลายๆ อวัยวะ โดยเฉพาะในเซลล์ลิมโฟไซท์ที่พบในต่อมน้ำเหลืองใกล้กับอวัยวะที่ได้รับเชื้อ (Yu *et al*., 2007) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อไวรัสดังกล่าวสามารถเข้าไปอยู่อาศัยได้ในเซลล์แมคโครฟาจและเซลล์เดนไดรติก ซึ่งเป็นเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันในระยะแรกๆ ที่เข้ามาตอบสนองต่อการติดเชื้อและเป็นเซลล์ที่นำเสนอแอนติเจนที่สำคัญอย่างหนึ่งของ Helper T cell แต่อย่างไรก็ตามในภาวะของการติดเชื้อ PCV2 ที่สามารถตรวจพบแอนติเจนของเชื้อได้ตลอดระยะเวลา แสดงให้เห็นว่าเชื้อ PCV2 น่าจะมีกลไกในการเข้าไปอยู่อาศัยภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์เหล่านี้โดยที่ไม่ถูกทำลายโดยเอนไซม์ไลโซโซม (Lysosome) ภายในเซลล์ (Gilpin *et al*., 2003)

Segales (2011) ได้กล่าวถึงความสำคัญของการติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการของโรค PCV2 แต่พบรอยโรคได้ในสุกรกลุ่มอาการ PMWS ซึ่งพบได้ในเนื้อเยื่อน้ำเหลือง และจากการวิจัยในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาก็ช่วยตอกย้ำและบ่งชี้ว่า PMWS เป็นโรคทางระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งโดยปกติแล้วสุกรที่มีการติดเชื้อ PCV2 จะมีเพียง 4-10% เท่านั้นที่แสดงอาการทางคลินิกของกลุ่มอาการ PMWS ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสัดส่วนของการติดเชื้อที่ไม่แสดงอาการจึงมีมากกว่าสุกรที่แสดงอาการทางคลินิกจากการติดเชื้อออกมา และจากข้อมูลของโรค PCV2 ที่มีก็แทบจะไม่ทราบระยะเวลาที่แน่นอนของการเปลี่ยนแปลงทางระบบภูมิคุ้มกันในการติดเชื้อ ซึ่งการศึกษาทดลองแสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการของโรค PCV2 มีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของสุกรด้วย โดยสุกรที่ติดเชื้อจะมีการพัฒนาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะทั้งในด้านการตอบสนองแบบ HI และ CMR



ภาพที่ 2.7 เชื้อ PCV2 ที่แฝงตัวอยู่ในเซลล์แมคโครฟาจ
ที่มา : Mankertz (2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 โรคปอดอักเสบจากเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกร

โรคปอดอักเสบจากเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกร หรือโรคเอ็นซูติกนิวโมเนีย (Enzootic pneumonia: EP) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Mycoplasma hyopneumoniae* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) อยู่ใน Phylum: Mycoplasmatota อยู่ใน Class: Mollicutes และอยู่ใน Genus: *Mycoplasma* ที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว (Single cell) ไม่มีผนังเซลล์มีรูปร่างหลากหลาย (Plemorphic) มีขนาดเซลล์ประมาณ 0.3-0.9 ไมครอน มักเกาะอยู่บนพื้นผิวด้านนอกของเยื่อบุเซลล์ขนอ่อน (Extra epithelial cell lining) ของระบบทางเดินหายใจในสุกร โดยโรคนี้ทำให้เยื่อบุเซลล์ขนอ่อนไม่ทำงาน หรือทำให้เกิดความเสียหายของเยื่อบุเซลล์ขนอ่อนส่งผลให้สุกรติดเชื้อแทรกซ้อนต่างๆ ในระบบทางเดินหายใจได้ง่ายขึ้น (Maes *et al.,* 2008) โรคเอ็นซูติกนิวโมเนียเป็นโรคติดต่อที่สำคัญของระบบทางเดินหายใจของสุกรซึ่งพบมากในช่วงสุกรขุน (Sibila *et al.,* 2009) สุกรที่เป็นโรคนี้มักมีอาการไอลึก หายใจลำบาก ไม่กินอาหาร มีอาการไข้สูงถึง 105-107 องศาฟาเรนไฮต์ อีกทั้งสุกรจะมีอาการหอบ โตช้า อัตราการเจริญเติบโตไม่ดี และจะส่งผลรุนแรงมากขึ้นหากมีการติดเชื้อร่วมกับเชื้ออื่นๆ อาทิเช่น PRRSV, PCV2 และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร เป็นต้น โดยเชื้อ *M. hyopneumoniae* พบมากในฟาร์มที่มีการเลี้ยงสุกรหนาแน่นและมีการจัดการเรื่องการระบายอากาศภายในโรงเรือนที่ไม่เหมาะสม (Shlomo, 2003) การติดต่อของโรคเกิดได้ทั้งจากแม่สู่ลูก (Vertical transmission) และการติดต่อจากสุกรตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งที่เลี้ยงรวมในคอกเดียวกัน (Horizontal transmission) โดยการติดต่อทางการหายใจ อย่างไรก็ตามไม่มีรายงานการติดต่อของเชื้อนี้โดยผ่านทางมดลูก นมน้ำเหลืองรวมทั้งน้ำนมปกติ สุกรที่ติดเชื้อ *M .hyopneumoniae* จะเริ่มสร้างแอนติบอดีภายใน 3-4 สัปดาห์หลังการติดเชื้อ และแอนติบอดีจะคงอยู่นานตลอดช่วงชีวิตของสุกรขุน ในปัจจุบันมีวัคซีนป้องกันโรคเอ็นซูติกนิวโมเนียใช้ในเชิงพาณิชย์ ซึ่งจะฉีดให้กับสุกรพ่อแม่พันธ์ และ/หรือลูกสุกรดูดนม-อนุบาล ซึ่งสุกรจะสร้างแอนติบอดีหลังได้รับวัคซีนไปแล้วประมาณ 2-4 สัปดาห์ และแอนติบอดีนั้นสามารถคงอยู่ได้นานตลอดชีวิตของสุกรขุน

ภาพที่ 2.8 ลูกสุกรมีอาการไอ
ที่มา : Shlomo (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในประเทศไทย

วศิน เจริญตัณธนกุล และคณะ (2560) ได้ศึกษาความชุกของสุกรที่มีแอนติบอดีต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในเขตอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้การตรวจหาแอนติบอดีในซีรัม ใช้การสำรวจสุกรทั้งหมด 8 ฟาร์ม โดยมี 2 ฟาร์ม ที่ฉีดวัคซีน *M .hyopneumoniae* เป็นประจำจึงใช้เป็นกลุ่มควบคุมในการศึกษา และอีก 6 ฟาร์ม ที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน *M. hyopneumoniae* ใช้วิธีการตรวจแบบ ELISA ที่จำเพาะต่อ *M. hyopneumoniae* โดยผลการทดลองมีดังนี้ สุกรของฟาร์มที่ได้รับการฉีดวัคซีนมาก่อนนั้นมีการสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อดังกล่าว โดยสัดส่วนของสุกรในฟาร์มที่ 1 ตรวจพบแอนติบอดีต่อ *M. hyopneumoniae* คิดเป็นร้อยละ 71.4 โดยสุกรที่ศึกษามีอายุ 10 สัปดาห์ ให้ผลบวกมีค่า S/P ratio ไม่สูงมากที่บ่งชี้การตอบสนองในการสร้างแอนติบอดี แต่ในขณะที่สัดส่วนของสุกรในฟาร์มที่ 2 ที่ได้รับวัคซีนเฉพาะแม่สุกรหลังคลอด ตรวจพบแอนติบอดีต่อ *M. hyopneumoniae* คิดเป็นร้อยละ 40-100 โดยพบว่าสุกรอายุมากกว่า 8 สัปดาห์ ให้ผลบวกและโดยเฉพาะอายุ 14-17 สัปดาห์ มีค่า S/P ratio สูง บ่งชี้มีการติดเชื้อในฟาร์ม ส่วนสุกรในฟาร์มที่ไม่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน ตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อ *M. hyopneumoniae* อีกครั้งเราสามารถอธิบายได้ว่าการที่สุกรไม่เคยได้รับวัคซีน *M. hyopneumoniae* มาก่อนตรวจพบแอนติบอดีต่อ *M. hyopneumoniae* นั้นอาจเกิดขึ้นได้จาก 2 กรณี ได้แก่ เป็นแอนติบอดีที่ได้รับการถ่ายทอดจากแม่ผ่านทางน้ำนมเหลือง หรือเป็นแอนติบอดีที่เกิดจากการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae* ของสุกรเอง ในกรณีนี้จะตรวจพบแอนติบอดีได้ตั้งแต่แรกคลอดจนถึงสุกรอายุประมาณ 8 สัปดาห์ และในกรณีหลังจากตรวจพบแอนติบอดีหลังจากสุกรติดเชื้อไปแล้วประมาณ 3-4 สัปดาห์ ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าการที่ตรวจไม่พบแอนติบอดีในสุกรจากฟาร์มที่ไม่ได้รับวัคซีน อาจบ่งบอกเลยว่าสุกรเหล่านี้เกิดจากแม่ที่ไม่เคยสัมผัสเชื้อ *M. hyopneumoniae* หรือสัมผัสในระดับที่ต่ำมาก ซึ่งแอนติบอดีที่ถ่ายทอดสู่ลูกอาจหมดไปก่อนอายุที่ทำการศึกษา แต่อย่างไรก็ตามการตรวจไม่พบแอนติบอดีนั้น ไม่สามารถบ่งชี้ได้ว่าสุกรเหล่านี้ไม่เคยติดเชื้อ เพราะสุกรต้องใช้เวลาประมาณ 3-4 สัปดาห์ ในการสร้างแอนติบอดี สุกรเหล่านี้อาจกำลังติดเชื้อในระยะเริ่มต้นซึ่งยังไม่สร้างแอนติบอดีในระดับสูงพอที่จะวัดค่าได้

สุสิชล สิทธินันทน์ และคณะ (2557) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนมัยโคพลาสม่าในการควบคุมโรคในฟาร์มสุกรขุนที่ทำการเลี้ยงในระบบหย่านมถึงขาย จำนวน 3 ฟาร์ม โดยแยกสุกรในแต่ละฟาร์มเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุมไม่ได้รับวัคซีน และกลุ่มที่ได้รับวัคซีน *M. hyopneumoniae* ที่อายุ 10-14 วัน สุกรได้รับการตรวจการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* โดยวิธี ELISA โดยการติดตามในสุกรตัวเดิมที่อายุ 2, 7, 12, 17 และ 22 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุกรได้รับการตรวจรอยโรคที่ปอด และตรวจสอบหาสารพันธุกรรมของเชื้อ *M. hyopneumoniae* จากเนื้อเยื่อปอดโดยวิธี PCR โดยมีผลการทดลองดังนี้ ผลการตรวจสอบการตอบสนองของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ด้วยวิธี ELISA มีลักษณะเหมือนกันทั้ง 3 ฟาร์ม คือในช่วงอายุ 2 และ 7 สัปดาห์ ค่าเฉลี่ย S/P ratio ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ทำวัคซีน แต่พบความแตกต่างของค่าระดับภูมิคุ้มกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่อายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12, 17 และ 22 สัปดาห์ อีกทั้งยังพบว่าระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในลูกสุกรอายุ 2 สัปดาห์ อยู่ในระดับที่สูงซึ่งแสดงถึงการมีภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่ในระดับสูง และระดับแอนติบอดีค่อยๆ ลดลงจนหมดไปเมื่ออายุประมาณ 7-12 สัปดาห์ ในฟาร์มที่ 1 พบว่าค่า S/P ratio ในช่วงอายุ 22 สัปดาห์ มีค่าเพิ่มขึ้นประมาณ 1.76 เท่าของค่าที่พบในช่วงอายุ 17 สัปดาห์ ซึ่งเมื่อพิจารณาจากรอยโรคที่ปอดและอัตราการตรวจพบสารพันธุกรรมที่สูง คือมีรอยโรค Mycoplasma liked lesion ที่ 7.48% และพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในทุกตัวอย่างซึ่งแตกต่างจากการพบรอยโรคในฟาร์มที่ 2 และ 3 อีกทั้งยังพบว่าสุกรในโรงเรือนที่ 1 เริ่มแสดงอาการไอในช่วงอายุ 19-20 สัปดาห์ และมีอาการไอเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงอายุที่จะส่งโรงฆ่า ในขณะที่โรงเรือนที่ 2 และ 3 พบอาการไอเริ่มต้นในช่วงท้ายของการเลี้ยง ซึ่งอาการไอนี้บ่งบอกว่าสุกรในฟาร์มที่ 1 มีอายุติดเชื้อก่อนฟาร์มที่ 2 และ 3 ในส่วนของการตรวจสอบหาสารพันธุกรรมของเชื้อ *M. hyopneumoniae* ด้วยวิธี Nested-PCR ในสุกรทั้ง 2 กลุ่ม พบสารพันธุกรรมของเชื้อ *M. hyopneumoniae* แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำให้สรุปได้ว่าสุกรยังมีระดับของภูมิคุ้มกันจากแม่ในระดับที่สูง และพบระดับของภูมิคุ้มกันมีการเพิ่มขึ้นหลังจากติดเชื้อในธรรมชาติ โดยระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอยากมีนัยยะสำคัญ แต่ไม่พบความแตกต่างของรอยโรค Mycoplasma liked lesion รวมทั้งการพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *M. hyopneumoniae* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับวัคซีน สรุปได้ว่าการทำวัคซีนสามารถกระตุ้นให้สุกรมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน แต่ประสิทธิภาพในการคุ้มโรคของวัคซีนไม่แตกต่างกัน

2.7 การตรวจวินิจฉัยโรคและการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน

โรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 และโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกรเป็นโรคที่สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจแก่ผู้เลี้ยงสุกรเป็นอย่างมาก การวินิจฉัยโรคที่ถูกต้องรวดเร็วจะช่วยให้การควบคุมกำจัดโรคเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพและสามารถลดความสูญเสียเนื่องจากการตายของสุกรได้เป็นอย่างมาก การวินิจฉัยโรคติดเชื้อดังกล่าวสามารถแบ่งได้เป็นการตรวจวินิจฉัยโรคเบื้องต้นและการวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ โดยการวินิจฉัยเบื้องต้นเป็นการอาศัยข้อมูลทางด้านการระบาดวิทยาร่วมกับการสังเกตอาการ การตรวจลักษณะภายนอกและการผ่าซากเพื่อตรวจดูรอยโรคของอวัยวะภายใน อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยโรคเบื้องต้น โดยการสังเกตอาการและตรวจดูรอยโรคนั้นอาจทำให้สับสนกับโรคชนิดอื่นได้ จึงต้องมีการวินิจฉัยเพิ่มเติมทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาสาเหตุที่แท้จริง รวมถึงระดับของภูมิคุ้มกันจากการติดเชื้อโดยธรรมชาติ หรือจากการฉีดวัคซีนเพื่อป้องกันโรค ซึ่งมีหลากหลายวิธี ได้แก่ Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) อีกทั้งยังมีการตรวจหาเชื้อก่อโรคด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล ซึ่งปัจจุบันวิธีที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากเนื่องจากรวดเร็วใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบทั้งไวรัสและแบคทีเรียนั้นได้แก่ การสกัดสารพันธุกรรม (Nucleic Acid Isolation) และเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction)

2.7.1 การตรวจสอบระดับภูมิคุ้มกันด้วยวิธี ELISA มีหลักการคือการใช้แอนติบอดี (Antibody) หรือ แอนติเจน (Antigen) เคลือบที่พื้นผิวของ Elisa Plate จากนั้นเติมเอนไซม์ของเชื้อที่ต้องการวิเคราะห์ลงบนแอนติเจนหรือแอนติบอดี จากนั้นเมื่อเติมสารตั้งต้นการเกิดปฏิกิริยาลงไป เอนไซม์ก็จะทำปฏิกิริยาและเปลี่ยนสีเพื่อแสดงผลการทดสอบ การวัดผลของค่าสีที่เกิดขึ้นจะใช้วิธีอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลท (Microplate Reader) สามารถตรวจสอบในเชิงปริมาณและคุณภาพของสารที่ต้องการทดสอบได้อย่างแม่นยำ โดยหลักการ ELISA นี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการทดลองที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาเชิงปริมาณ เชิงคุณภาพของแอนติเจนและแอนติบอดี เช่น วินิจฉัยโรคติดเชื้อจุลชีพ แบคทีเรีย ไวรัส ปรสิต เชื้อรา สารพิษจากจุลชีพ และ ยา อีกทั้ง ELISA นั้นจัดอยู่ในกลุ่มการทดสอบแบบ Enzyme immunoassay heterogeneous หรือ Heterogeneous EIA ซึ่งมีหลักการคือเมื่อให้แอนติเจนและแอนติบอดีทำปฏิกิริยากันแล้วจะแยกแอนติเจนที่จับอยู่กับแอนติบอดี (Antigen-antibody complex) ออกจากแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่อยู่เป็นอิสระแล้ววัดปริมาณเอนไซม์ที่อยู่ในส่วนใดส่วนหนึ่งที่แยกออกจากกัน โดยอาศัยดูการทำหน้าที่ของเอนไซม์ดังกล่าวในการเปลี่ยนแปลงซับสเตรต (นภาธร บานชื่น, 2536) ซึ่งมีการแบ่งตามลักษณะของกลไกการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีที่เกิดในการทดสอบได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

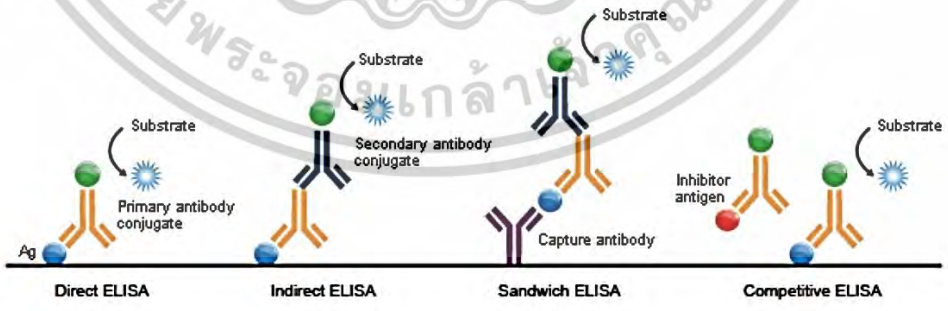
- Competitive ELISA เป็นวิธีการที่มักใช้ในการตรวจหาแอนติเจนซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลน้อย (Avrameas, 1983) โดยอาศัยการใช้แอนติเจนที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (Antigen-enzyme conjugate) หรือใช้แอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (Antibody-enzyme conjugate) เป็นตัวกระทำ (Reagent) ในการทดสอบก็ได้ ซึ่งมีหลักการคือทำการเคลือบ Solid phase ได้แก่ หลุมในถาดพลาสติกด้วยแอนติเจนหรือแอนติบอดีปริมาณคงที่ปริมาณหนึ่ง จากนั้นเติมแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่จำเพาะกันและที่ได้ติดฉลากด้วยเอนไซม์แล้วลงไปเพียงอย่างเดียว หรือเติมพร้อมตัวอย่างที่ต้องการตรวจหาปริมาณแอนติเจนหรือแอนติบอดี หรือเติมพร้อมแอนติเจนมาตรฐานซึ่งทราบว่าจำเพาะกับแอนติบอดีนั้นเช่นเดียวกันแต่ไม่ได้ติดฉลากด้วยเอนไซม์ลงไป เมื่อทิ้งไว้ให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นจนถึงสภาพคงที่แล้ว จึงทำการล้างส่วนเกินที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากันออกไป จากนั้นเติมซับสเตรตแล้วดูการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น จะพบว่าในหลุมที่มีแอนติเจนมาตรฐานหรือแอนติเจนที่ต้องการหาปริมาณมีการเปลี่ยนแปลงของซับสเตรตน้อยกว่า เนื่องจากแอนติเจนดังกล่าวแย่งจับกับแอนติบอดีที่เคลือบอยู่ ทำให้แอนติเจนที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์จับกับแอนติบอดีนั้นได้น้อยลง เป็นสัดส่วนกลับกับปริมาณของแอนติเจนในตัวอย่างหรือแอนติเจนมาตรฐานที่เติมลงไป (นภาธร บานชื่น, 2536)

- Non-competitive ELISA เป็นวิธีที่สามารถใช้ในการตรวจหาได้ทั้งแอนติเจนและแอนติบอดีในตัวอย่าง สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Direct ELISA มีหลักการคือทำการเคลือบ Solid phase ด้วยแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่ต้องการตรวจหาในตัวอย่าง เมื่อเติมตัวอย่างที่มีแอนติเจนหรือแอนติบอดีลงไป จะทำให้เกิดการจับกันของแอนติเจนและแอนติบอดีดังกล่าว จากนั้นทำการล้างส่วนเกินที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากันออก แล้วเติมแอนติเจนหรือแอนติบอดีตัวที่สองซึ่งมีความจำเพาะต่อแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่ต้องการตรวจในตัวอย่างที่ได้ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (Conjugate) ลงไป ทำให้คอนจูเกตทำปฏิกิริยากับแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่จับอยู่กับแอนติเจนหรือแอนติบอดีตัวแรก แล้วล้างส่วนเกินที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากันออก จากนั้นทำการเติมซับสเตรต ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของซับสเตรตจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่ต้องการหาในตัวอย่าง โดยวิธีนี้อาจเรียกว่า Sandwich assay ก็ได้ (Engvall, 1980)

2. Indirect ELISA เป็นวิธีที่มักใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีในตัวอย่าง โดยมีการดัดแปลงมาจากวิธี Direct ELISA มีหลักการคือทำการเคลือบ Solid phase ด้วยแอนติเจน จากนั้นเติมตัวอย่างที่ต้องการตรวจหาแอนติบอดีลงไป แล้วทำการตรวจดูการทำปฏิกิริยากันของแอนติบอดีกับแอนติเจนด้วยแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (Conjugate) โดยดูการเปลี่ยนแปลงของซับสเตรตที่เติมในขั้นตอนสุดท้าย ซึ่งจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณแอนติบอดีที่มีในตัวอย่าง (Engvall, 1980) ส่วนการตรวจหาแอนติเจนมีการเพิ่มเติมโดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะตัวที่สองที่ไม่ได้ติดฉลากด้วยเอนไซม์ และใช้แอนติบอดีที่จำเพาะและติดฉลากด้วยเอนไซม์ (Conjugate) มาเป็นตัวกระทำเพิ่มเติมเพื่อวัดปริมาณแอนติบอดีตัวที่สองที่จับกับแอนติเจนที่ต้องการตรวจหาในตัวอย่าง ทางอ้อม โดยอาจเรียกอีกอย่างว่า Double antibody sandwich antiglobulin ELISA (Voller *et al*., 1978) ซึ่งโดยปกติแล้ววิธี Indirect ELISA นี้ให้ผลในเรื่องของความไว (Sensitivity) ในการตรวจมากกว่าวิธี Direct ELISA (Avrameas, 1983)



ภาพที่ 2.9 รูปแบบและหลักการ ELISA

ที่มา : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นภาธร บานชื่น (2536) ได้กล่าวว่าปัจจัยที่มีผลต่อ ELISA นั้นต้องคำนึงถึงคุณสมบัติของการทดสอบ ได้แก่ เรื่องของความไว (Sensitive) ความจำเพาะ (Specificity) และ Reproducibility โดยหลักการแล้วคุณสมบัติเหล่านี้ของ ELISA ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ คือ Solid phase ที่ใช้สำหรับยึดแอนติเจนหรือแอนติบอดี เอนไซม์ที่ใช้ติดฉลาก และประสิทธิภาพของแอนติเจนหรือแอนติบอดีกับเอนไซม์ที่ติดฉลากซึ่งใช้ในการตรวจสอบนั้น

- วัสดุสำหรับยึดแอนติเจนหรือแอนติบอดี (Solid phase) มีความสำคัญมากต่อผลการทดลอง ถ้าแอนติเจนหรือแอนติบอดีจับกับวัสดุนั้นไม่ดีพอจะมีผลทำให้การทดสอบมีความไวลดลง อีกทั้งในกรณีการจับของแอนติเจนหรือแอนติบอดีกับวัสดุนั้นเกิดขึ้นยังไม่สม่ำเสมอ จะเป็นเหตุให้ Reproducibility ของการทดลองลดลง ความน่าเชื่อถือของการทดสอบนั้นลดลงด้วย วัสดุที่ใช้ยึดจับแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ พวกที่อยู่ในรูป Microplate อีกทั้งยังพบว่าการเลือกใช้ Plate ชนิดใดก็แล้วแต่ควรจะใช้ Plate ชนิดเดียวไปตลอดการทดลอง เพื่อให้การทดสอบนั้นมีมาตรฐานที่ดี

- ขั้นตอนการล้างในระหว่างการทดลอง โดยการทำ ELISA จำเป็นต้องมีการล้างเอาตัวกระทำส่วนเกินออกในระหว่างการทดลองแต่ละขั้นตอน ตั้งแต่หลังจากเคลือบผิวด้วยวัสดุด้วยแอนติเจนหรือแอนติบอดี หลังจากบ่มกับสิ่งที่ต้องการทดสอบและการใช้ Conjugate ซึ่งในขั้นตอนการล้างจะต้องระมัดระวังอย่าให้มีการปนเปื้อนจากขั้นตอนหนึ่งไปยังอีกขั้นตอนหนึ่ง ถ้าวัสดุที่ใช้อยู่ในรูป Plate การล้างจะทำได้ง่าย เพียงแค่คว่ำเอาตัวที่กระทำที่ใช้ในขั้นตอนนั้นออกให้หมด และเติมสารละลายที่ใช้สำหรับล้างลงไปให้เต็มทุกหลุมทิ้งไว้เป็นเวลา 3-5 นาที และคว่ำเพื่อเทสารละลายนั้นทิ้งให้หมด ปัจจุบันมีเครื่องมือสำหรับล้าง Plate อัตโนมัติ

- แอนติบอดีและสิ่งส่งตรวจ ในการใช้ ELISA เพื่อตรวจหาแอนติเจนหรือแอนติบอดีในสิ่งส่งตรวจ ขั้นตอนที่สำคัญของการทดลองอย่างหนึ่ง คือ ขั้นตอนของการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีจำเพาะ ในกรณีที่ใช้ Indirect ELISA สำหรับการตรวจหาแอนติเจนนั้นแอนติบอดีที่ใช้สำหรับยึดติดกับ Solid phase ควรจะเป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะสูง

- Conjugate ที่ใช้ในกระบวนการ ELISA อาจเป็นนอิมมูโนโกลบูลินที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ โดยเอนไซม์ที่ดีเหมาะสำหรับการใช้ติดฉลากควรเป็นเอนไซม์ที่มีความคงทน และมีความไวในการทำปฏิกิริยาสูง Conjugate ที่เตรียมขึ้นจากเอนไซม์นั้นจะต้องมีความคงทน นอกจากนี้เอนไซม์ที่จะนำมาใช้ควรเป็นชนิดที่ไม่มีอยู่ในสารน้ำต่างๆ ของร่างกาย ปัจจุบันเอนไซม์ที่นิยมใช้กันมาก คือ Alkaline phosphatase และ Horseradish peroxidase

- Substrate คือส่วนที่ช่วยให้สามารถตรวจเอนไซม์ใน Conjugate ได้ไว ส่วนใหญ่จะใช้ Chromogenic substrate ซึ่งเดิมไม่มีสีและเมื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์แล้วจะให้สีเข้ม Substrate ที่ดีจะต้องให้ผลิตผลที่ละลายได้หมด และมี Extinction coefficient สูง คือแต่ละหน่วยของ Substrate ที่เปลี่ยนแปลงนั้นจะเกิดสีเข้มชัดเจน นอกจากนี้ควรมีราคาถูก ปลอดภัย และใช้ง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากขั้นตอน ELISA เราจะตรวจวัดระดับแอนติเจนหรือแอนติบอดี โดยการใช้เครื่อง Microplate reader วัดค่าแสงที่ถูกดูดกลืน (Absorbance) ซึ่งจะได้ค่าจากเครื่องเรียกว่า Optical density: OD ซึ่งจะสัมพันธ์กับปริมาณสารที่จับได้ใน Plates เช่น แอนติเจน แอนติบอดี ปฏิกิริยาของเอนไซม์กับสารตั้งต้น ทำให้เกิดสี และสามารถวัดเป็นค่า OD ได้ แต่อย่างไรก็ตามค่า OD ไม่ได้มีหน่วยมาตรฐาน (Unitless) และขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น เวลาที่เอนไซม์ทำปฏิกิริยา Batch ของสารตั้งต้น ความสว่างของเครื่องอ่าน และรุ่นของเครื่องอ่าน รวมทั้งการทำ ELISA แบบเดียวกัน ใช้ Plates เดียวกันแต่อ่านคนละช่วงเวลา หรือเปลี่ยน Plates แต่ใช้ตัวอย่างเดียวกัน ค่า OD ที่ได้ก็จะแตกต่างกัน ดังนั้นค่า OD จึงไม่สามารถเอามาเปรียบเทียบข้าม Plates หรือข้ามชุดการทดสอบได้ จึงมีการใช้อัตราส่วนของค่าตัวอย่างต่อค่าควบคุมบวก (Sample to Positive ratio: S/P ratio เข้ามาแก้ไขปัญหาดังกล่าว และเรียกค่า S/P ratio ว่าเป็น Normalization ของ OD โดยมีสูตรมาตรฐาน ดังนี้

$$\text{S/P ratio} = \frac{\text{OD sample} - \text{OD negative control}}{\text{OD positive control} - \text{OD negative control}}$$

โดยการใช้ S/P ratio สามารถชดเชยผลของ Background (OD ของ Negative control) ทำให้ผล OD เป็นมาตรฐานอยู่ในช่วงเดียวกับ Positive control ได้ และได้ค่าที่แม่นยำมากขึ้น อีกทั้งสามารถเปรียบเทียบผลข้าม Plates หรือต่างวันการทดสอบได้ และสามารถนำไปเป็น Metric ที่นิยมไปวิเคราะห์ทางสถิติ หรือคำนวณ %Positivity

และสำหรับชุดทดสอบบางชนิด อาทิเช่น PCV2 ELISA ไม่แสดงค่า S/P ratio โดยตรง แต่จะแปลงผลเป็น Antibody titer เพื่อให้ง่ายต่อการแปลผลและเปรียบเทียบ โดย Titer ที่แปลงจาก S/P ratio จะใช้ Calibration curve หรือ Conversion table ซึ่งสามารถเปรียบเทียบผลระหว่างตัวอย่าง หรือในช่วงเวลาต่างๆได้ง่ายกว่า ทำให้สัมพันธ์กับระดับภูมิคุ้มกันในสัตว์จริง โดยที่ Titer มักจะสื่อถึงระดับภูมิคุ้มกันที่มีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพของวัคซีนหรือการติดเชื้อจริงในฟาร์ม โดยการคำนวณ Titer นั้นจะขึ้นอยู่กับซอฟต์แวร์ของบริษัทผู้ผลิตชุดตรวจนั้นๆ

2.7.2 การสกัดสารพันธุกรรม (Nucleic Acid Isolation)

ตวงพร สุทธิพงษ์ชัย (2542) ได้กล่าวไว้ว่านับตั้งแต่ Friederich Miescher สกัด DNA เป็นครั้งแรกในปี 1869 ค้นพบว่ามีสารอยู่ภายในเซลล์ที่ตกตะกอนจากสารละลาย มีความเป็นกรด และละลายในสารละลายด่าง ซึ่งได้เรียกว่านิวคลีอิน (Nuclein) เพราะอยู่ภายในนิวเคลียส จนถึงปี 1953 มีคำอธิบายโครงสร้างของ DNA ได้ และจากนั้นก็เป็นช่วงเวลาที่กระบวนการแยก DNA เริ่มเกิดขึ้น และต่อมาในช่วงระหว่างปี 1960-1970 นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการแยกชิ้นส่วนของเซลล์ออกมา และได้ค้นพบ RNA ที่มีรูปแบบและการทำงานที่หลากหลาย ดังนั้นไม่เพียงพอที่จะแยก DNA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้บริสุทธิ์โดยการแยกแคโปรตีนและสารละลายเกลือที่ปนเปื้อนมายังจำเป็นที่จะต้องกำจัด RNA ที่ปนเปื้อนอีกด้วย ในขณะเดียวกันนักวิทยาศาสตร์เริ่มให้ความสนใจในการสกัดเฉพาะ messenger RNA (mRNA) และจากนั้นไม่นานก็กลายเป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องสกัดให้บริสุทธิ์ ไม่เพียงแต่ DNA เท่านั้น แต่ยังมี RNA ที่มีรูปแบบต่างๆ อีกด้วย วิธีการทำให้บริสุทธิ์ด้วยกรดนิวคลีอิกในช่วงแรกอาศัยการแยกแบบเกรเดียนต์ของความหนาแน่น (Density gradient separation) ต่อมาใช้การสกัดด้วย Guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform ซึ่งใช้ประโยชน์จากความสามารถในการละลายที่ต่างกันของส่วนประกอบแต่ละอย่างของเซลล์ เนื่องจากแตกต่างกันในการละลายในสารละลายอินทรีย์หรือในน้ำ เมื่อความเข้าใจเกี่ยวกับลักษณะทางเคมีของกรดนิวคลีอิกมีความลึกซึ้งมากขึ้น นักวิจัยหลายคนเห็นประโยชน์ของการแยกและศึกษาองค์ประกอบทางพันธุกรรม โดยมีเครื่องมือใหม่ๆพัฒนาออกมา เช่น Solid-phase centrifugation columns คอลัมน์เหล่านี้ใช้ประโยชน์จากการเลือกจับอย่างจำเพาะต่อกรดนิวคลีอิกที่มีประจุลบ แล้วอาศัยความเข้มข้นของเกลือและค่า pH เพื่อแยกกรดนิวคลีอิกออกมา และเมื่อไม่นานนี้เอง อนุภาคนาโนซุปเปอร์พาราแมกเนติก (Superparamagnetic nanoparticles) ได้ถูกนำมาใช้สำหรับการสกัดกรดนิวคลีอิกให้บริสุทธิ์โดยการใช้แรงแม่เหล็กในการแยกสารพันธุกรรม ขั้นตอนการสกัด DNA แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. การทำให้เซลล์แตก (Cell lysis) ขั้นตอนแรกในการแยกกรดนิวคลีอิก คือการแยกผนังเซลล์ และ/หรือเยื่อหุ้มเซลล์ออกเพื่อให้สารพันธุกรรมหลุดออกมา สามารถทำได้ด้วยการใช้ Lysis buffer, Homogenizer, ลูกบด bead mill, การแช่แข็งสลับละลาย (Freeze thaw cycles) หรือการใช้คลื่นเสียง (Sonication) ซึ่ง Lysis buffer ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิวที่จะไปสลายเยื่อหุ้มเซลล์และมีเอนไซม์เช่น Protease K สำหรับย่อยส่วนประกอบโปรตีน ส่วนเครื่องบด Homogenizer และ Bead mill ทำให้เนื้อเยื่อและเซลล์ถูกทำลาย การสลายตัวของเซลล์ทำให้ทุกส่วนของเซลล์ปนกันในรูปสารละลาย ดังนั้น DNAases และ RNAases ที่มีอยู่จะเริ่มย่อยสารพันธุกรรม ซึ่งเราใช้สาร EDTA ในการยับยั้งการทำงานของ DNAase โดยการเข้าไปจับไอออนที่จำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์ DNAase ส่วน RNAases จะถูกทำลายด้วย Beta-mercaptoethanol สุดท้ายเพื่อลดโอกาสของการปนเปื้อนด้วยในกระบวนการ สิ่งสำคัญคือต้องใช้น้ำและบัฟเฟอร์ที่ได้รับการบำบัดด้วยสาร DEPC โดยผู้ปฏิบัติงานจะต้องสวมถุงมือและต้องรักษาพื้นที่ทำงานให้สะอาด

2. การกำจัดโปรตีน กรดนิวคลีอิกประเภทอื่นๆ เกลือ และเอนไซม์ย่อย DNA และ RNA (DNAase, RNAase) ที่ปนเปื้อน แบ่งได้ดังนี้

- การสกัดด้วย Guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform

เทคนิคการทำให้บริสุทธิ์เบื้องต้นนี้ใช้ประโยชน์จากการเลือกจับอย่างจำเพาะความสามารถในการละลายที่แตกต่างกันในตัวทำละลายอินทรีย์หรือในน้ำ และความไวต่อความเข้มข้นของเกลือการเติมฟีนอลและคลอโรฟอร์มในเซลล์ที่แตกตัวแล้วทำให้สารละลายตกในเฟสที่ไม่ละลายน้ำ (Hydrophobic phase) และเฟสที่ละลายน้ำ (Hydrophilic phase) กรดนิวคลีอิกจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังคงอยู่ในเฟสที่ละลายในน้ำ ในขณะที่โปรตีนจะอยู่ในเฟสที่ไม่ละลายในน้ำ อีกทั้ง Guanidinium thiocyanate เป็นสารก่อความวุ่นวายที่ขัดขวางการเกิดพันธะไฮโดรเจน ดังนั้นเมื่อใช้ Guanidinium thiocyanate ในการสกัดฟีนอล-คลอโรฟอร์มจะช่วยแยก RNA และ DNA ออกจากกันโดยอยู่ในชั้นน้ำที่แตกต่างกัน หลังจากการปั่นแยก RNA จะละลายอยู่ในชั้นน้ำด้านบน โดยมี DNA อยู่ด้านล่าง และโปรตีนจะอยู่ในชั้นที่ไม่ชอบน้ำอินทรีย์ที่ด้านล่าง นอกจากนี้ Guanidinium thiocyanate ยังยับยั้งโปรตีนรวมถึง RNAases อีกด้วย

- การตกตะกอนด้วยเอทานอลและคอลัมน์โซลิดเฟส (Solid phase column)

กรดนิวคลีอิกสามารถแยกออกมาได้โดยวิธีการตกตะกอนด้วยเอทานอล เทคนิคนี้ต้องใช้ Solid phase ได้แก่ Spin column ซึ่งเป็นระบบที่พัฒนาขึ้น คอลัมน์เป็นแบบ Static แล้วสารละลายจะถูกเทลงไป ภายใต้ความเข้มข้นของเกลือและค่า pH ที่เหมาะสม กรดนิวคลีอิกจะจับกับคอลัมน์ขณะที่สารปนเปื้อนอื่นไหลผ่าน ขั้นตอนนี้อาศัยขั้นตอนหลายขั้นตอนและใช้การปั่นเหวี่ยงเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนก่อนที่จะทำการชะ DNA หรือ RNA ที่ต้องการในตอนท้าย

3. การชะ DNA หรือ RNA ที่จับคอลัมน์หรือแม่เหล็กดูดกลับมา (Recovery) การสกัดกรดนิวคลีอิกด้วยแม่เหล็ก (Magnetic nucleic acid purification) เมื่อเร็วๆนี้เองได้มีการใช้อนุภาค Superparamagnetic และการใช้สนามแม่เหล็กเพื่อจับกรดนิวคลีอิก ประโยชน์ของวิธีนี้คืออนุภาคต่างๆ มีอิสระที่จะเคลื่อนที่ไปรอบๆ ในการละลายซึ่งช่วยเพิ่มการดูดซับกรดนิวคลีอิกและเพิ่มประสิทธิภาพในการดักจับได้มากขึ้น และโดยธรรมชาติของ Superparamagnetic จะถูกแรงดึงดูดของแม่เหล็กที่มากระทำภายนอกและตรึงกรดนิวคลีอิกไว้ ในขณะที่โปรตีนและเกลือที่ปนเปื้อนจะถูกชะล้างออกไป ระบบแม่เหล็กนี้สามารถใช้ความเข้มข้นของเกลือและการตกตะกอนของเอทานอลก็ได้ หรือจะใช้สารเคมีที่ซับซ้อนมากขึ้นก็ได้ เพื่อดึงหรือแยก DNA และ RNA ในแบบเฉพาะเจาะจงหรือไม่เฉพาะเจาะจงก็ได้

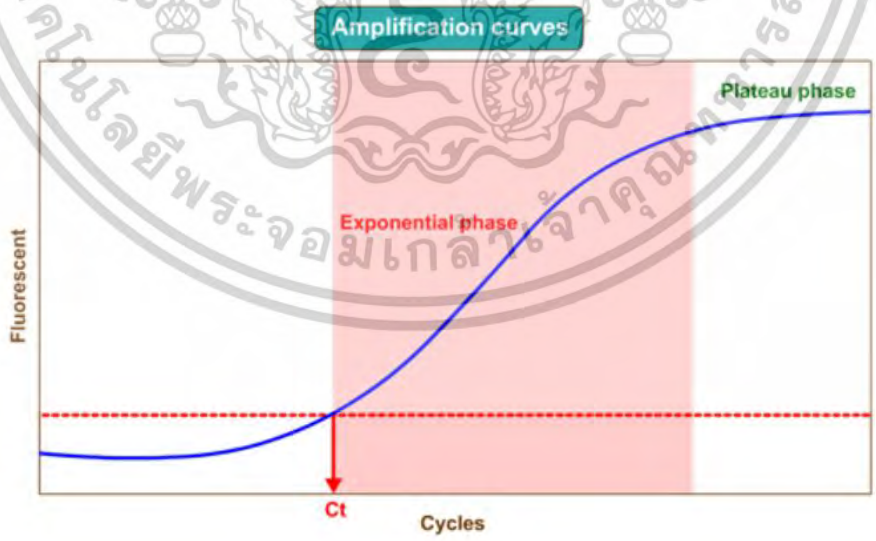
2.7.3 เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส (Polymerase chain reaction)

อโณทัย โภคาธิกรณ์ (2549) กล่าวว่า Polymerase chain reaction หรือ (PCR) เป็นเทคนิคสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัยหลักการ DNA Replication ซึ่งเป็นการสังเคราะห์สาย DNA สายใหม่จาก DNA ต้นแบบในหลอดทดลองภายในระยะเวลาอันสั้น และได้ดี DNA สายใหม่เกิดขึ้นเป็นล้านเท่า เทคนิคนี้พัฒนาขึ้นเมื่อปี พ.ศ. 2528 โดย Kary Mullis และคณะแห่งบริษัท Cetus Corporation จุดเด่นของเทคนิค PCR คือ สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ได้อย่างเฉพาะเจาะจง โดยมีขั้นตอนการทำงานน้อยและใช้เวลาน้อย จนถึงปัจจุบันนี้เทคนิค PCR ได้รับการปรับปรุงและพัฒนาในหลายๆ ด้านจนกระทั่งได้รับการยอมรับว่าเป็นเทคโนโลยีที่สำคัญมากต่องานด้านอณูชีวโมเลกุล สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งกับงานวิจัยทางชีวโมเลกุลและพันธุวิศวกรรม เช่น การเพิ่มปริมาณยีน (Gene cloning) การวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน (Gene sequencing) การสร้าง DNA ติดตาม (DNA probe) และการวิจัยประยุกต์ เช่น การศึกษาการแสดงออกของยีนจาก mRNA การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างยีนกลายพันธุ์ (In vitro mutagenesis) การบ่งชี้ตำแหน่งกลายพันธุ์บนยีน (Point mutations and deletions) เป็นต้น โดยส่วนประกอบของ PCR ได้แก่ 1) Template คือต้นฉบับของ DNA ที่เราต้องการจะเพิ่มจำนวน 2) Primers คือสาย DNA ที่เป็น Single strand ที่จับคู่ได้กับปลายของ Template ทั้งสองด้าน โดยจะมีด้าน 3’ เป็น Hydroxyl group ที่จะสามารถต่อกับ Nucleotides อื่นได้ 3) Polymerase คือเอนไซม์ที่จะใช้เพื่อการต่อสายของ DNA 4) PCR machine คือเครื่องมือที่ใช้สำหรับปรับเปลี่ยนอุณหภูมิไปมา

ในส่วนของ Real-time PCR (Real time polymerase chain reaction) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน DNA ที่ต้องการศึกษาอย่างจำเพาะ และสามารถติดตามวัดปริมาณการเพิ่มจำนวนของ DNA เป้าหมายได้ในทุกๆรอบของการเพิ่มจำนวนในขณะที่ปฏิกิริยากำลังดำเนินอยู่ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสิ้นสุดปฏิกิริยา โดยใช้ DNA ต้นแบบ (Primer) 1 คู่ ร่วมกับตัวตรวจจับ (Probe) ที่ถูกออกแบบเป็นสายสั้นๆ ให้มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อเป้าหมายที่ต้องการตรวจ สำหรับ Probe จะมีการติดสี Fluorescence เทคนิคนี้อาศัยการตรวจวัดสัญญาณสารเรืองแสงที่ถูกปล่อยออกมา ปริมาณแสงที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ DNA ที่เพิ่มขึ้นจากปฏิกิริยาในแต่ละรอบ โดยทั่วไป DNA ที่เพิ่มจากการทำปฏิกิริยา PCR จะเพิ่มเป็นลักษณะกราฟรูปตัว S (Sigmoid หรือ Exponential curve) โดยแกน Y แสดงสัญญาณการเรืองแสง และแกน X แสดงจำนวนรอบของการเพิ่มจำนวน การทำ Real-time PCR เพื่อที่จะให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องแม่นยำ การตรวจวัดผลผลิต PCR ในเวลาที่เกิดขึ้นจะทำเฉพาะในช่วง Exponential phase ซึ่งเป็นช่วงที่ระดับสัญญาณสารเรืองแสงสูงเหนือระดับ Threshold และมีแนวโน้มการเพิ่มจำนวนแบบทวีคูณ (Exponential) เท่านั้น



ภาพที่ 2.10 กราฟการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยเทคนิค Real-time PCR

ที่มา : อโณทัย โภคาธิกรณ์ (2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในส่วนของความแตกต่างระหว่าง PCR แบบธรรมดา (Conventional PCR) และ Real-time PCR นั้นพบว่า PCR แบบธรรมดาเราจะไม่สามารถรู้ได้ว่าเกิดอะไรขึ้นระหว่างทาง เราต้องประมาณเอาว่าต้องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิกี่รอบ จึงจะได้ Product ที่เพียงพอต่อการตรวจวัด และต้องมีการ Run gel electrophoresis เพื่อตรวจสอบดูทั้งปริมาณและขนาดของ Product เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา ในขณะที่ระบบของ Real-time PCR เราสามารถติดตามดูปฏิกิริยาได้ทุกระยะระหว่างที่กำลังดำเนินอยู่ และสามารถกำหนดจุดที่จะเก็บข้อมูลเพื่อนำมาวิเคราะห์ในภายหลังได้ นอกจากนั้นเรามีวิธีพิสูจน์ตรวจสอบ Product ได้โดยใช้วิธีดู Melting curve หลังปฏิกิริยา โดยไม่ต้องนำมา Run gel electrophoresis

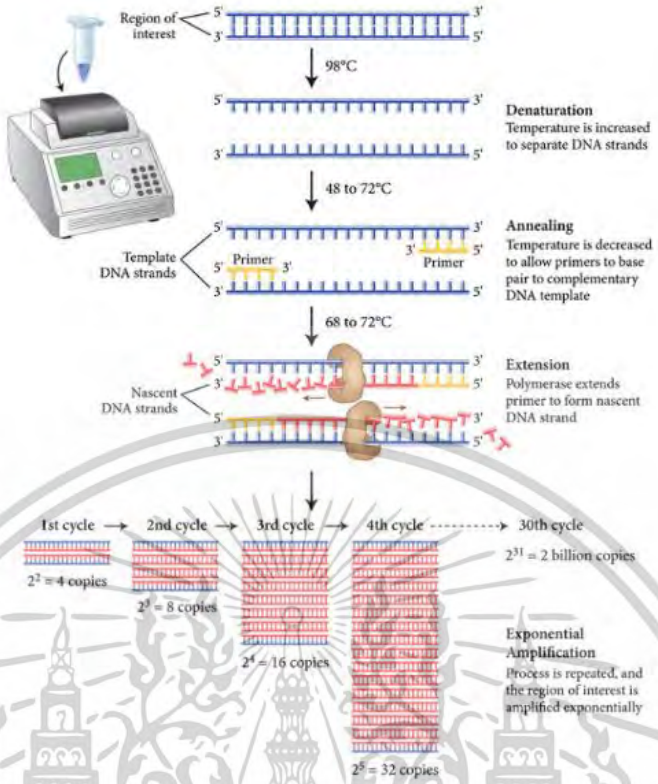
อโณทัย โภคาธิกรณ์ (2549) กล่าวว่าหลักการทำงานของเทคนิค PCR ใช้หลักการพื้นฐานในการเพิ่ม DNA ด้วยการจำลอง DNA สายใหม่จากสาย DNA ที่เป็นต้นแบบหนึ่งสาย ด้วยเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (DNA polymerase) โดยใช้ DNA เริ่มต้นหรือไพรเมอร์ (Primer) 1 คู่ ทำให้สังเคราะห์ DNA ได้คราวละ 2 สายพร้อมกัน ประกอบด้วยปฏิกิริยาสำคัญ 3 ขั้นตอน และหมุนเวียนต่อเนื่องกันไปภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน

1. การแยกสาย DNA เกลียวคู่ออกจากกัน (Denaturation) ใช้อุณหภูมิประมาณ 94 องศาเซลเซียส เมื่อเริ่มต้น DNA แม่แบบจะอยู่ในลักษณะที่เป็นเกลียวคู่ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิถึงประมาณ 94 องศาเซลเซียส จะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบสของ DNA ถูกทำลาย ทำให้เส้น DNA แยกออกจากกัน

2. การจับของไพร์เมอร์กับ DNA แม่แบบ (Annealing) ใช้อุณหภูมิประมาณ 40-62 องศาเซลเซียส เมื่อแยกสาย DNA ออกจากกันแล้วจะลดอุณหภูมิลงเหลือ 40-62 องศาเซลเซียส เพื่อให้ DNA สังเคราะห์ขนาดสั้นประมาณ 15-25 เบส ที่เรียกว่า Primer เข้ามาจับบริเวณที่มีลำดับเบสคู่สมกัน ในการสังเคราะห์ DNA ไม่สามารถที่จะเริ่มจากศูนย์ได้เนื่องจากเอ DNA polymerase ต้องการปลาย -OH ทางด้าน 3 ’เพื่อนำนิวคลีโอไทด์ตัวต่อมาต่อซึ่งในสิ่งมีชีวิตจะมีเอ็นไซม์ที่มีชื่อว่า ไพรเมส (Primase) เป็นตัวสร้างอาร์เอ็นเอไพรเมอร์ขึ้น

3. การสังเคราะห์ DNA สายใหม่ต่อจากไพรเมอร์ (Extension) ใช้อุณหภูมิประมาณ 68-72 องศาเซลเซียส ในขั้นตอนนี้จะเป็นการสร้างสาย DNA ต่อจากไพร์เมอร์ โดยอุณหภูมิที่ใช้จะพอเหมาะกับการทำงานของ Taq DNA polymerase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.11 หลักการทำงานของเทคนิค PCR
ที่มา : อโณทัย โภคาธิกรณ์ (2549)

จากขั้นตอนที่ 1-3 ซึ่งนับเป็นจำนวน 1 รอบ ให้ผลผลิตเป็น DNA สายคู่ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สม (หรือเข้ากัน) กับ DNA ที่เป็นต้นแบบเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า และเมื่อจัดให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่จากขั้นที่ 1 ถึง 3 หมุนเวียนไปอีกหลาย ๆ รอบ จะเพิ่มปริมาณ DNA ได้จำนวนมาก ประมาณว่าปฏิกิริยา 30-40 รอบ สามารถเพิ่มปริมาณสาร DNA ได้ไม่น้อยกว่าพันล้านเท่า ดังนั้นแม้ตัวอย่างที่นำมาศึกษามีปริมาณสารพันธุกรรมน้อยมาก เราก็ใช้เทคนิค PCR เพิ่มจำนวนได้หลายเท่าทวีคูณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง

ลูกสุกรขุนสามสายพันธุ์ (Duroc jersey x Large white x Landrace) อายุ 4 สัปดาห์ น้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันที่ 6.84 กิโลกรัม จำนวน 28 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 7 ตัว โดยการทดลองนี้ได้รับการอนุญาตให้ดำเนินการโดยคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เลขที่หนังสือรับรอง ACUC-KMITL-RES/2023/008 และดำเนินงานวิจัย ณ ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมด้านการเลี้ยงสัตว์ หลักสูตรเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และวิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงสุกร

3.2.1.1 คอกเลี้ยงสุกรขุนขังรวม
3.2.1.2 รางอาหาร
3.2.1.3 ก๊อกน้ำสะอาด
3.2.1.4 ถังใส่อาหาร
3.2.1.5 ที่ตักอาหาร
3.2.1.6 อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด

3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ภายในโรงเรือน

3.2.2.1 รองเท้าบูท (สำหรับเข้าโรงเรือนสุกร)
3.2.2.2 เสื้อคลุม
3.2.2.3 หมวกคลุมผม
3.2.2.4 ปูนขาว (สำหรับฆ่าเชื้อ)
3.2.2.5 น้ำยาฆ่าเชื้อ
3.2.2.6 ถังผ่าซีกสำหรับใส่น้ำยาฆ่าเชื้อ (สำหรับจุ่มรองเท้าบูทก่อนเข้าโรงเรือน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 อุปกรณ์ที่ใช้เก็บข้อมูลสุกรและการเก็บตัวอย่างเลือด

3.2.3.1 ตาชั่งดิจิตอล (สำหรับชั่งอาหาร)

3.2.3.2 ตาชั่ง (สำหรับชั่งสุกร)

3.2.3.3 เชือก (สำหรับมัดปากสุกร)

3.2.3.4 Latex free syringe 5 แล 10 ml. (Nipro; Thailand)

3.2.3.5 Hypodermic needle 18G x 1.5 in (Nipro; Thailand)

3.2.3.6 Cryogenic vials 2.0 ml. (GB-818204; Bioline; UK)

3.2.3.7 Cotton swab sterile (Thai gauze; Thailand)

3.2.3.8 Centrifuge tube (Labsister; Thailand)

3.2.3.9 ตารางบันทึกน้ำหนักสุกรแต่ละสัปดาห์

3.2.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

3.2.4.1 Micropipette (Scilogex; USA)

3.2.4.2 Multi-channel pipettors (Scilogex; USA)

3.2.4.3 Pipette tips 1-200 µL (T-200-Y; Axygen; USA)

3.2.4.4 Microtube 1.5 ml.

3.2.4.5 Centrifuge (GB-801500; Bioline; UK)

3.2.4.6 Refrigerated centrifuge (Combi R515; Hanil; Korea)

3.2.4.7 Vortex mixer (Labnet; USA)

3.2.4.8 Microplate mixer (MX-M; DLAB; China)

3.2.4.9 DNA extraction machine (NPA-32P- Bioer; Hangzhou; China)

3.2.4.10 Micro spectrophotometer (Nano-300; Allsheng; China)

3.2.4.11 Real-time PCR (FQD-48A- Bioer; Hangzhou; China)

3.2.4.12 Microplate reader (AMR-100; Allsheng; China)

3.2.4.13 Microplate washer (APW-200; Allsheng; China)

3.2.4.14 Incubator (Medcenter Incucell V 222 Comfort Incubator; Fisher cientific; Sweden)

3.2.4.15 Thermal cycler (ITEM 19695; Biometra; USA)

3.2.4.16 Enduro gel electrophoresis system (E0160-230V; Labnet; USA)

3.2.4.17 FluoroBox (1NS-FLB-001 BCM; Neo science; Korea)

3.2.4.18 Chest freezer -20˚C (SHN-0303; Sanden Intercool; Thailand)

3.2.4.19 Biohazard safety cabinet (VS-1400LSN; Vision Scientific; Korea)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4.20 Dry bath incubator (MK2000-1; Allsheng; China)

3.2.4.21 Portable balances Max. 300g (ELB300; Shimadzu; Japan)

3.2.4.22 UltraPure™ 10X TBE Buffer (15581-044; Invitrogen; USA)

3.2.4.23 Autoclave (SA-232; Sturdy Apex Group; Taiwan)

3.2.4.24 Flask ขนาด 500 และ 100 ml.

3.2.4.25 Agarose comb block

3.2.4.26 PCR Kit (BIO-21047; Bioline; UK)

3.2.4.27 PCR Tubes flat cap ขนาด 0.2 ml.

3.2.4.28 Microwave

3.2.4.29 Computer

3.2.5 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจระดับภูมิคุ้มกันด้วยเทคนิค ELISA

3.2.5.1 ชุดตรวจทางการค้า Porcine circovirus type2 Antibody test kit (SK105; BioChek; UK) ใน 1 ชุดประกอบด้วย

(1) Coated plates (Inactivated PCV2 antigen)

(2) Conjugate reagent (Anti swine: Alkaline phosphatase ใน Tris buffer)

(3) Substrate tablets (p-Nitrophenyl phosphate, pNPP)

(4) Substrate buffer (Diethanolamine buffer)

(5) Stop solution (Sodium hydroxide ใน Diethanolamine buffer)

(6) Sample diluent reagent

(7) Wash buffer (ผง PBS-Tween)

(8) Negative control

(9) Positive control

3.2.5.2 ชุดตรวจทางการค้า *M. hyopneumoniae* Antibody test kit (IDEXX; USA) ใน 1 ชุดประกอบด้วย

(1) Coated plates (Inactivated *M.hyo* antigen)

(2) Conjugate reagent (Anti porcine: HRPO conjugate; preserved with gentamicin)

(3) TMB Substrate

(4) Stop solution

(5) Sample diluent reagent

(6) Wash concentrate (10X: Phosphate buffer, Preserved with gentamicin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(7) Negative control

(8) Positive control

3.2.5.3 ชุดตรวจทางการค้า PRRSV Antibody test kit (Pigtype; Germany) ใน 1 ชุดประกอบด้วย

(1) Test plate (Coated with recombinant, inactivated EU and NA-Specific PRRSV antigens)

(2) Conjugate

(3) TMB Substrate

(4) Stop solution

(5) Sample diluent reagent

(6) Wash concentrate (10X concentrate)

(7) Negative control

(8) Positive control

3.2.6 สารเคมีที่ใช้สกัด DNA Extraction

MagaBio plus Virus DNA/RNA Purification Kit III ชุดที่ BSC86S1E (Bioer; Hangzhou, China) ใน 1 ชุดประกอบด้วย

(1) Lysis buffer

(2) Wash buffer I

(3) Wash buffer II

(4) Elution buffer

(5) MagaBio reagent

3.2.7 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ Conventional PCR สำหรับตรวจ PCV2

(1) Agarose (SeaGar® 28500; P2 Innovation; UK)

(2) 5x DNA Loading buffer (BIO-37045; Bioline; UK)

(3) Neogreen DNA staining reagent 10mg/ml. (GR107; Neo science; Korea)

(4) 2x Bioready taq mix (Bioer; Hangzhou; China)

(5) ddH_2O (Bioer; Hangzhou; China)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(6) Primers (HO00328842; Macrogen; Korea)

- PCV2-f1

5’- CCA TGC CCT GAA TTT CCA TA -3’ (20mer)

- PCV2-r1

5’ – ACA GCG CAC TTC TTT CGT TT -3’ (20mer)

(7) TBE (Tris-borate)

(8) HyperLadder 802 bp (Takahagi *et al.,* 2008)

3.2.8 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ multiplex PCR สำหรับตรวจ *M. hyopneumoniae* และ *Mycoplasma hyorhinis*

(1) Agarose (SeaGar® 28500; P2 Innovation; UK)

(2) 5x DNA Loading buffer (BIO-37045; Bioline; UK)

(3) Neogreen DNA staining reagent 10mg/ml. (GR107; Neo science; Korea)

(4) 2x Bioready taq mix (Bioer; Hangzhou; China)

(5) ddH_2O (Bioer; Hangzhou; China)

(6) Primers (OG191030-261; Macrogen; Korea) (Lin *et al.,* 2006)

- MhpF-1

5’- ACT AGA TAG GAA ATG CTC TAG -3’ (21mer)

- MhpR-2

5’ - ATA CTA CTC AGG CGG ATC ATT TAA C -3’ (25mer)

(7) Primers (OG191030-261; Macrogen; Korea) (Caron *et al.,* 2000)

- MhpF-3

5’- GTA GTC AAG CAA GAG GAT GT -3’ (20mer)

- MhpR-4

5’ – GCT GGA GTT ATT ATA CCA GGA -3’ (21mer)

(8) TBE (Tris-borate)

(9) HyperLadder 430 bp และ 346 bp (Barate *et al.,* 2012)

3.2.9 วัคซีนที่ใช้ในการทดลอง

3.2.9.1 วัคซีน A : วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต (Ingelvac CircoFLEX; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.; USA) ส่วนประกอบใน 1 ml. ประกอบด้วย Porcine circovirus type 2 ORF2 1.0-3.75 RP. (Relative potency) และ Carbomer 1 mg/ml.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.9.2 วัคซีน B : วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT; Komipharm International Co. Ltd.; Korea) ส่วนประกอบใน 1 ml. ประกอบด้วย Porcine circovirus type2 ORF2 protein antigen ไม่น้อยกว่า 200 Units และ Carbomer 4 mg/ml.

3.2.9.3 วัคซีน C : วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า ชนิดเชื้อตาย (Ingelvac MycoFLEX; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.; USA) ส่วนประกอบใน 1 ml. ประกอบด้วยแบคทีเรีย *M. hyopneumoniae* ที่มีโปรตีนแอนติเจนไม่น้อยกว่า 1.0 RP. และ Carbomer 1 mg/ml.

3.2.9.4 สารละลายเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffered Saline: PBS)

3.3 การดำเนินการทดลอง

การดำเนินการทดลองประกอบด้วย 3 กระบวนการ ได้แก่

3.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลองและการให้วัคซีน

3.3.1.1 ทำการจัดกลุ่มลูกสุกรขุนลูกผสมสามสายพันธุ์ (Duroc jersey x Large white x Landrace) อายุ 4 สัปดาห์ ที่มีสุขภาพดีน้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันที่ 6.84 กิโลกรัม จำนวน 28 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่มการทดลอง เลี้ยงภายในโรงเรือนปิด (Evaporative cooling system) โดยใช้ลักษณะคอกเป็นคอกขังรวม

3.3.1.2 ทำการชั่งน้ำหนักลูกสุกรขุนก่อนการทดลอง (อายุ 4 สัปดาห์) และชั่งน้ำหนักอีกครั้งเมื่อสุกรขุนอายุ 20 สัปดาห์ โดยอาหารที่ใช้เลี้ยงสุกรเป็นอาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด ตลอดการทดลอง มีการบันทึกการให้อาหารอย่างสม่ำเสมอ รวมทั้งการชั่งอาหารเหลือ

3.3.1.3 ทำการฉีดวัคซีนให้กับลูกสุกรขุนอายุ 4 สัปดาห์ 1 ครั้ง ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 3.1 แสดงกลุ่มการทดลอง ชนิดวัคซีน และลักษณะการฉีดวัคซีน

กลุ่ม	ชนิดของวัคซีน	ปริมาณวัคซีน (ml.)	วิธีการเตรียมวัคซีน
1 (T1-ACMix)	A + C	2	ผสมวัคซีนเข้าด้วยกันแล้วฉีด
2 (T2-BCSeparate)	B + C	2	แยกฉีดชนิดละ 1 ml.
3 (T3-BCMix)	B + C	2	ผสมวัคซีนเข้าด้วยกันแล้วฉีด
4 (PBS)	PBS	1	ฉีดสารละลายโดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.4 ทำการเก็บเลือดสุกรเป็นรายตัวในแต่ละกลุ่มทดลองที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ โดยเลือดที่ได้จะถูกจัดเก็บในรูปแบบของซีรั่ม เพื่อใช้ในการตรวจระดับภูมิคุ้มกันจากการได้รับวัคซีน

3.3.1.5 ทำการ Swab เยื่อเมือกจากจมูกสุกรที่อายุ 8 สัปดาห์ โดยใช้ Sterile cotton swab ในการ Swab และบรรจุใน Centrifuge tube แยกเป็นรายตัวในแต่ละกลุ่มทดลอง

3.3.2 การบันทึกข้อมูล

ทำการบันทึกข้อมูล น้ำหนักตัว ปริมาณการกินอาหาร และอาหารที่เหลือ โดยการชั่งน้ำหนักสุกรขุนรายตัว และปริมาณอาหารเหลือเพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต เพื่อดูสมรรถภาพการเจริญเติบโตในสุกร โดยมีวิธีการคำนวณดังนี้

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต (ADG)} = \frac{\text{น้ำหนักสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง}}$$

$$\text{ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่ม}}$$

3.3.3 การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

3.3.3.1 การเก็บตัวอย่างเลือด เลือดสุกรที่ได้จากการเก็บในแต่ละสัปดาห์นั้น จะถูกปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็ว 6,500 ×g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นซีรั่มจะถูกดูดเก็บในหลอดทดลอง และจัดเก็บในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมใช้ในการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA และ PCR ต่อไป

3.3.3.2 การเก็บตัวอย่าง Swab เยื่อเมือกจากจมูกสุกรเก็บได้จากการ Sterile cotton swab บรรจุใน Centrifuge Tube และจัดเก็บในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมใช้ในการสกัดดีเอ็นเอและการทำ PCR ต่อไป

3.3.3.3 การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันของโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 โดยวิธี ELISA ด้วยชุดตรวจทางการค้า Porcine circovirus type 2 Antibody test kit มีวิธีการตรวจดังนี้

(1) ศึกษาทำความเข้าใจคู่มือการปฏิบัติการ วิธีการ และลำดับขั้นตอนในการปฏิบัติงาน และจัดเตรียมซีรัมที่ใช้ในการทดลอง และทำการวางแผนคำนวนจำนวนตัวอย่างซีรั่ม

(2) นำ Plate ที่ใช้ในการทดลองออกจากตู้ทำความเย็น เพื่อปรับสภาพให้อยู่ในอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

(3) นำ Negative control ปริมาณ 100 µl ใส่ลงไปใน Plate ช่อง A1 และ B1 และนำ Positive control ปริมาณ 100 µl ใส่ลงไปใน Plate ช่อง C1 และ D1 (โดยไม่ต้องเจือจาง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(4) ทำการเจือจางตัวอย่างซีรั่มที่ต้องการตรวจในแต่ละหลุมด้วย Sample diluent reagent ที่อัตราส่วน 1:50 (5 : 245 µl) นำไปผสมให้เข้ากันด้วย Microplate mixer ประมาณ 30-60 วินาที เคลือบปิดแผ่นพลาสติกแรปแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

(5) เตรียม Wash buffer โดยนำ ผง PBS-T ที่ให้มากับชุดตรวจ 1 ซอง ใส่ในน้ำบริสุทธิ์ Type 1 ปริมาณ 1 ลิตร และผสมให้เข้ากัน

(6) แกะแผ่นเคลือบพลาสติกแรป เทสารออกจากหลุม และทำการล้างด้วย Wash buffer ปริมาณ 350 µl ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้ง ด้วย Microplate washer

(7) เติม Conjugate ปริมาณหลุมละ 100 µl ให้ครบทุกหลุมการทดลอง ปิดเคลือบด้วยแผ่นพลาสติกแรป และทำการบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

(8) เตรียม Substrate reagent โดยนำเม็ด pNPP ที่ให้มากับชุดตรวจ 1 เม็ด (ห้ามหยิบด้วยมือเปล่า) ละลายใน Substrate buffer ของชุดตรวจ ในปริมาณ 5.5 มล. ผสมกันจนกระทั่งละลายหมด (เก็บไว้ให้พ้นแสง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อละลายใช้แล้วสามารถเก็บได้เป็นเวลา 1 สัปดาห์)

(9) ทำวิธีการเดิมซ้ำตามข้อที่ 6.

(10) เติม Substrate reagent ปริมาณหลุมละ 100 µl ให้ครบทุกหลุมการทดลอง ปิดเคลือบด้วยแผ่นพลาสติกแรป และทำการบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

(11) เติม Stop solution ปริมาณหลุมละ 100 µl ให้ครบทุกหลุมการทดลอง

(12) นำไปอ่านผลภายใน 30 นาที ด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 405 nm ซึ่งจะได้ค่าการดูดกลืนแสง (Optical density: OD)

(13) นำค่า OD ที่ได้มาคำนวณหาค่า S/P ratio และ Titer เพื่อดูค่าปริมาณแอนติบอดีจากตัวอย่างซีรั่ม ซึ่งมีสูตรคำนวณดังนี้

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

$$\text{Titer} = \text{Log}_{10}\text{Titer} = 1.1 \times \text{Log}_{10}(\text{S/P ratio}) + 3.361$$

$$\text{Antilog} = \text{Titer}$$

(14) นำค่า S/P ratio และ Titer ที่ได้มาดูค่าจุดตัด (Cut-off point) โดยหากมีค่า S/P ratio ที่น้อยกว่า 0.49 แสดงว่ามีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในช่วง Negative และหากมีค่า S/P ratio ที่มากกว่า 0.50 แสดงว่ามีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในช่วง Positive ส่วนค่า Titer ที่น้อยกว่า 1,070 แสดงว่ามีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในช่วง Negative และหากมีค่า Titer ที่มากกว่า 1,071 แสดงว่ามีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในช่วง Positive

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.4 การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันของโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในสุกร โดยวิธี ELISA ด้วยชุดตรวจทางการค้า *M. hyopneumoniae* Antibody test kit มีวิธีการตรวจดังนี้

(1) ศึกษาทำความเข้าใจคู่มือการปฏิบัติการ วิธีการ และลำดับขั้นตอนในการปฏิบัติงาน และจัดเตรียมซีรัมที่ใช้ในการทดลอง และทำการวางแผนคำนวนจำนวนตัวอย่างซีรั่ม

(2) นำ Plate ที่ใช้ในการทดลองออกจากตู้ทำความเย็น เพื่อปรับสภาพให้อยู่ในอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

(3) นำ Negative control ปริมาณ 100 µl ใส่ลงไปใน Plate ช่อง A1 และ B1 และนำ Positive control ปริมาณ 100 µl ใส่ลงไปใน Plate ช่อง C1 และ D1 (โดยไม่ต้องเจือจาง)

(4) ทำการเจือจางตัวอย่างซีรั่มที่ต้องการตรวจในแต่ละหลุมด้วย Sample diluent reagent ที่อัตราส่วน 1:40 (10 : 390 µl) และนำมาใช้ปริมาณ 100 µl ผสมให้เข้ากันด้วย Microplate mixer ประมาณ 60 วินาที เคลือบปิดแผ่นพลาสติกแรปแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

(5) เตรียม Wash solution โดยนำ Wash ที่ให้มากับชุดตรวจปริมาณ 100 ml. ใส่ในน้ำบริสุทธิ์ Type 1 ปริมาณ 900 ml. และผสมให้เข้ากัน

(6) แกะแผ่นเคลือบพลาสติกแรป เทสารออกจากหลุม และทำการล้างด้วย Wash buffer ปริมาณ 350 µl ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้ง ด้วย Microplate washer

(7) เติม Conjugate ปริมาณหลุมละ 100 µl ให้ครบทุกหลุมการทดลอง ปิดเคลือบด้วยแผ่นพลาสติกแรป และทำการบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

(8) ทำวิธีการเดิมซ้ำตามข้อที่ 6.

(9) เติม TMB substrate ปริมาณหลุมละ 100 µl ให้ครบทุกหลุมการทดลอง ปิดเคลือบด้วยแผ่นพลาสติกแรป และทำการบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

(10) เติม Stop solution ปริมาณหลุมละ 100 µl ให้ครบทุกหลุมการทดลอง

(11) นำไปอ่านผลภายใน 30 นาที ด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 650 nm. ซึ่งจะได้ค่าการดูดกลืนแสง (Optical density: OD)

(12) นำค่า OD ที่ได้มาคำนวณหาค่า S/P ratio เพื่อดูค่าปริมาแอนติบอดีจากตัวอย่างซีรั่ม ซึ่งมีสูตรคำนวณดังนี้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(13) นำค่า S/P ratio ที่ได้มาดูค่าจุดตัด (Cut-off point) โดยหากมีค่า S/P ratio ที่น้อยกว่า 0.30 แสดงว่ามีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในช่วง Negative หากมีค่า S/P ratio ที่มากกว่า 0.40 แสดงว่ามีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในช่วง Positive และหากมีค่า S/P ratio น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.30-0.40 จะเรียกว่า Suspect

3.3.3.5 การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันของโรคพีอาร์อาร์เอส โดยวิธี ELISA ด้วยชุดตรวจทางการค้า pigtype PRRSV Antibody test kit มีวิธีการตรวจดังนี้

(1) ศึกษาทำความเข้าใจคู่มือการปฏิบัติการ วิธีการ และลำดับขั้นตอนในการปฏิบัติงาน และจัดเตรียมซีรัมที่ใช้ในการทดลอง และทำการวางแผนคำนวนจำนวนตัวอย่างซีรั่ม

(2) นำ Plate ที่ใช้ในการทดลองออกจากตู้ทำความเย็น เพื่อปรับสภาพให้อยู่ในอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส)

(3) นำ Negative control ปริมาณ 100 µl ใส่ลงไปใน Plate ช่อง A1 และ B1 และนำ Positive control ปริมาณ 100 µl ใส่ลงไปใน Plate ช่อง C1 และ D1 (โดยไม่ต้องเจือจาง)

(4) ทำการเจือจางตัวอย่างซีรั่มที่ต้องการตรวจในแต่ละหลุมด้วย Sample diluent reagent ที่อัตราส่วน 1:40 (2.5 : 97.5 µl) นำไปผสมให้เข้ากันด้วย Microplate mixer ประมาณ 30-60 วินาที เคลือบปิดแผ่นพลาสติกแรปแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

(5) เตรียม Wash buffer โดยนำ Wash Buffer 100 ml. ผสมน้ำบริสุทธิ์ Type 1 ปริมาณ 900 ml. และผสมให้เข้ากัน

(6) แกะแผ่นเคลือบพลาสติกแรป เทสารออกจากหลุม และทำการล้างด้วย Wash buffer ปริมาณ 300 µl ต่อหลุม จำนวน 5 ครั้ง ด้วย Microplate washer

(7) เติม Conjugate ปริมาณหลุมละ 100 µl ให้ครบทุกหลุมการทดลอง ปิดเคลือบด้วยแผ่นพลาสติกแรป และทำการบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

(8) ทำวิธีการเดิมซ้ำตามข้อที่ 6.

(9) เติม TMB Substrate ปริมาณหลุมละ 100 µl ให้ครบทุกหลุมการทดลอง ปิดเคลือบด้วยแผ่นพลาสติกแรป และทำการบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

(10) เติม Stop solution ปริมาณหลุมละ 100 µl ให้ครบทุกหลุมการทดลอง

(11) นำไปอ่านผลภายใน 20 นาที ด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 450 nm ซึ่งจะได้ค่าการดูดกลืนแสง (Optical density: OD)

(12) นำค่า OD ที่ได้มาคำนวณหาค่า S/P ratio เพื่อดูค่าปริมาณแอนติบอดีจากตัวอย่างซีรั่ม ซึ่งมีสูตรคำนวณดังนี้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(13) นำค่า S/P ratio ที่ได้มาดูค่าจุดตัด (Cut-off point) โดยหากมีค่า S/P ratio น้อยกว่า 0.40 แสดงว่ามีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในช่วง Negative และหากมีค่า S/P ratio มีค่ามากกว่าเท่ากับ 0.40 แสดงว่ามีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในช่วง Positive

3.3.3.6 การคำนวณ % การเพิ่มขึ้นของระดับภูมิคุ้มกัน (Immunity growth)

(1) เมื่อได้ค่าระดับภูมิคุ้มกัน S/P ratio ที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ ในแต่ละครั้งจะนำมาคำนวณ % ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้น โดยกำหนดอายุที่ 4 สัปดาห์ คิดเป็น 0% (ตัวเลขตั้งต้น) โดยเราจะใช้ค่า S/P ratio ของสุกรตัวนั้นๆ ห้ามสลับตัวกันตลอดการคิดคำนวณด้วยสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ Immunity growth} = \frac{R1 - R2 \times 100}{R2}$$

ดังนั้นระดับภูมิคุ้มกันที่อายุ 4 สัปดาห์ คิดเป็น 0% จึงคำนวณได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$\frac{\text{S/P ratio สุกรตัวที่ 1 อายุ 4 สัปดาห์} - \text{S/P ratio สุกรตัวที่ 1 อายุ 4 สัปดาห์} \times 100}{\text{S/P ratio สุกรตัวที่ 1 อายุ 4 สัปดาห์}}$$

(2) ที่อายุ 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ จะนำค่า S/P ratio ที่ได้ในแต่ละครั้งมาคำนวณ % ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้น โดยใช้ค่า S/P ratio ของสุกรตัวนั้นๆ โดยไม่สลับตัวกันตลอดการคิดคำนวณ ด้วยสูตรดังต่อไปนี้

$$\frac{\text{S/P ratio สุกรตัวที่ 1 อายุ N สัปดาห์} - \text{S/P ratio สุกรตัวที่ 1 อายุ 4 สัปดาห์} \times 100}{\text{S/P ratio สุกรตัวที่ 1 อายุ 4 สัปดาห์}}$$

(3) หลังจากการคำนวณจะได้เป็นตัวเลข % โดยเราจะเทียบภูมิคุ้มกันว่าเพิ่มขึ้นหรือลดลงจาก % ภูมิคุ้มกันของสุกรตัวนั้นๆที่อายุ 4 สัปดาห์ หากมีค่า % เช่น 20% จะแปลได้ว่าสุกรมีระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้น 20% จากอายุ 4 สัปดาห์ หรือ -20% จะแปลได้ว่าสุกรมีระดับภูมิคุ้มกันที่ลดลง 20% จากอายุ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.7 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) จากซีรั่ม

(1) เตรียมตัวอย่างซีรั่มที่ได้จากเลือดสุกรสัปดาห์ที่ 4, 6, 8, 12 และ 16 และตัวอย่าง Swab เยื่อเมือกจมูกสุกรสัปดาห์ที่ 8 สัปดาห์ มาทำการสกัดดีเอ็นเอ โดยการเตรียมตัวอย่าง Swab นั้นจะนำ Sterile cotton swab ที่ได้จากการเก็บเยื่อเมือกใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มี PBS และทำการเขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer แล้วจึงทำการแยก Cotton swab ออกจากหลอดทดลอง และนำสารละลาย PBS ดังกล่าวไปทำการสกัดดีเอ็นเอต่อไป

(2) วางแผนการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างซีรั่มและสารละลาย PBS จาก Swab อยู่ในรูป Liquid sample โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป

(3) นำ Plate ที่ใช้ในการทดลองออกจากตู้ทำความเย็นและเคาะ Plate เพื่อให้สารต่างๆตกลงไปก้นคอลัมน์ และแกะแผ่นเคลือบพลาสติกแรปออก

(4) เติม Liquid sample ที่เตรียมไว้ ปริมาณ 300 µl ใส่ลงไปในคอลัมน์ที่ 1 และ 7

(5) ทำการตั้งค่าเครื่อง DNA extraction machine ตามโปรแกรมของชุดสกัด ดังนี้

ตารางที่ 3.2 การตั้งค่าโปรแกรมสกัด DNA

Step	Well	Name	Waiting Time (min: ss)	Mixing Time (min: ss)	Magnet Time (min: ss)	Adsorption	Speed	Volume (µl)
1	1	Lysis	00 : 00	02 : 00	00 : 00	Normal	F	700
2	6	Beads	00 : 00	00 : 15	00 : 15	Strong	F	200
3	1	Bind	00 : 00	03 : 00	00 : 45	Strong	F	700
4	2	Wash 1	00 : 00	00 : 30	00 : 30	Strong	F	500
5	3	Wash 2	00 : 00	00 : 30	00 : 30	Strong	F	500
6	4	Wash 3	00 : 00	00 : 30	00 : 30	Strong	F	500
7	5	Elution	02 : 00	02 : 30	00 : 30	Normal	F	70
8	6	Discard	00 : 00	00 : 15	00 : 00	Normal	F	200

(6) ทำการตั้งอุณหภูมิ Lysis temperature: 80°C, Lysis heating ends at Step 2 และ Elution temperature: 80°C, Elution starts heating at Step 7

(7) เมื่อเสร็จเรียบร้อยแล้วจะเก็บดีเอ็นเอ คอลัมน์ที่ 5 และ 11

(8) วัดปริมาณ DNA ที่ได้จากการสกัดโดยเครื่อง Micro spectrophotometer และเก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.8 การวิเคราะห์ Conventional PCR สำหรับตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2

(1) นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากซีรั่มซึ่งเก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาทำการละลายที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเตรียมเข้าสู่กระบวนการทำ Conventional PCR โดยมีขั้นตอนโดยสังเขปตามข้อ 2.-13.

(2) เตรียม PCR Tubes flat cap และ Master mix สำหรับการทำ PCR

(3) PCR Tubes จะประกอบไปด้วย ddH_2O ปริมาณ 4.5 µl จากนั้นใส่ PCV2-f1 ปริมาณ 1 µl PCV2-r1 ปริมาณ 1 µl และ 2x Bioready Taq Mix (Bioer; Hangzhou; China) ปริมาณ 12.5 µl

(4) จากนั้นเติมตัวอย่าง DNA ปริมาณ 5 µl ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer

(5) นำตัวอย่างทั้งหมดใส่ลงไปในเครื่อง Thermal cycler และทำการตั้งค่าเครื่องโดยกำหนดการทำปฏิกิริยา PCR จำนวน 40 รอบ โดยในแต่ละรอบของปฏิกิริยากำหนดอุณหภูมิและเวลาดังนี้ Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที Annealing ที่อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที (Jittimanee *et al.,* 2011)

(6) เตรียมเจล Agarose 2 % สำหรับขบวนการ Electrophoresis โดยการเตรียมผง Agarose 0.40 กรัม ผสมกับ 1% TBE ปริมาณ 20 ml. ปิดด้วยพลาสติกแรป นำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ จนเป็นเนื้อเดียวกัน และรอจนอุณหภูมิของเจลประมาณ 55 -56 องศาเซลเซียส

(7) หยดสีย้อมดีเอ็นเอ (Neogreen) ปริมาณ 1 µl ลงในเจล Agarose ที่ละลายแล้วและเทเจลลงใน Comb block ให้ทั่ว รอให้เจลที่ได้แข็งตัวประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และนำ Gel comb ออก

(8) นำแผ่นเจลที่ได้วางลงในอุปกรณ์สำหรับทำ Electrophoresis โดยให้ส่วนที่ใส่ตัวอย่างอยู่ทางขั้วลบ จากนั้นเท Buffer ให้ท่วมเจลขึ้นมาเล็กน้อย

(9) หยด DNA Loading buffer ปริมาณ 1 µl และตัวอย่างปริมาณ 4 µl บนพารา-ฟิล์มผสมให้เข้ากัน

(10) ปล่อยตัวอย่างที่ผสมเข้ากันลงในแต่ละหลุมเจลที่เตรียมไว้ โดยหลุมแรกจะเป็น Hyperladder 3 µl

(11) เมื่อใส่ตัวอย่างครบทุกหลุมแล้ว ตั้งค่าความต่างศักดิ์ไฟฟ้าที่ใช้แยกขนาด DNA ที่ 100 โวลล์ ตั้งเวลาที่ 35 นาที

(12) นำเจลที่ได้ไปถ่ายรูปโดยใช้เครื่อง FluoroBox และใช้โปรแกรม Gene ปรับขนาดของภาพ ความคมชัดของภาพ ความสว่างของภาพ จากนั้นหน้าจอจะปรากฏ Band ของ DNA ขึ้น และทำการบันทึกภาพ

(13) จากนั้นทำการเปรียบเทียบแถบ Band ของ DNA ถ้าหากแถบ Band ขึ้นที่ 802 bp จะพบว่าเป็น Positive ถ้าไม่ขึ้นแถบ Band พบว่าเป็น Negative (Jittimanee *et al.,* 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.9 การวิเคราะห์ Multiplex PCR สำหรับตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis*

(1) นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดจากซีรั่มซึ่งเก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาทำการละลายที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเตรียมเข้าสู่กระบวนการทำ multiplex PCR โดยมีขั้นตอนโดยสังเขปตามข้อ 2.-13.

(2) เตรียม PCR Tubes Flat cap ขนาด 0.2 ml. และ Master mix ทั้งหมด

(3) PCR Tubes จะประกอบไปด้วย ddH_2O ปริมาณ 5.5 µl จากนั้นใส่ MhpF-1 ปริมาณ 1.5 µl MhpR-1 ปริมาณ 1.5 µl MhpF-3 ปริมาณ 1.5 µl MhpR-4 ปริมาณ 1.5 µl และ 2x Bioreading Taq Mix ปริมาณ 12.5 µl

(4) จากนั้นเติมตัวอย่าง DNA ปริมาณ 5 µl ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer

(5) นำตัวอย่างทั้งหมดใส่ลงไปในเครื่อง Thermal cycler และทำการตั้งค่าเครื่องโดยกำหนดการทำปฏิกิริยา PCR จำนวน 35 รอบ โดยในแต่ละรอบของปฏิกิริยากำหนดอุณหภูมิและเวลาดังนี้ Denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที Annealing ที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ Extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที (Barate *et al.,* 2012)

(6) เตรียมเจล Agarose 1.5 % สำหรับขบวนการ Electrophoresis โดยการเตรียมผง Agarose 0.60 กรัม ผสมกับ 1% TBE ปริมาณ 40 ml. ปิดด้วยพลาสติกแรป นำไปให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟ จนเป็นเนื้อเดียวกัน และรอจนอุณหภูมิของเจลประมาณ 55 -56 องศาเซลเซียส

(7) หยดสีย้อมดีเอ็นเอ (Neogreen) ปริมาณ 2 µl ลงในเจล Agarose ที่ละลายแล้วและเทเจลลงใน Comb block ให้ทั่ว รอให้เจลที่ได้แข็งตัวประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และนำ Gel comb ออก

(8) นำแผ่นเจลที่ได้วางลงในอุปกรณ์สำหรับทำ Electrophoresis โดยให้ส่วนที่ใส่ตัวอย่างอยู่ทางขั้วลบ จากนั้นเท Buffer ให้ท่วมเจลขึ้นมาเล็กน้อย

(9) หยด DNA Loading buffer ปริมาณ 2 µl และตัวอย่างปริมาณ 8 µl บนพารา-ฟิล์มผสมให้เข้ากัน

(10) ปล่อยตัวอย่างที่ผสมเข้ากันลงในแต่ละหลุมเจลที่เตรียมไว้ โดยหลุมแรกจะเป็น Hyperladder 5 µl

(11) เมื่อใส่ตัวอย่างครบทุกหลุมแล้ว ตั้งค่าความต่างศักดิ์ไฟฟ้าที่ใช้แยกขนาด DNA ที่ 100 โวลล์ ตั้งเวลาที่ 25-30 นาที

(12) นำเจลที่ได้ไปถ่ายรูปโดยใช้เครื่อง FluoroBox และใช้โปรแกรม Gene ปรับขนาดของภาพ ความคมชัดของภาพ ความสว่างของภาพ จากนั้นหน้าจอจะปรากฏ Band ของ DNA ขึ้น และทำการบันทึกภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(13) จากนั้นทำการเปรียบเทียบแถบ Band ของ DNA ถ้าหากแถบ Band ขึ้นที่ 430 bp จะพบว่าเป็น Positive ถ้าไม่ขึ้นแถบ Band พบว่าเป็น Negative ของเชื้อ *M. hyopneumoniae* และถ้าหากแถบ Band ขึ้นที่ 346 bp จะพบว่าเป็น Positive ถ้าไม่ขึ้นแถบ Band พบว่าเป็น Negative ของเชื้อ *M. hyorhinis* (Barate *et al.,* 2012)

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการศึกษาระดับภูมิคุ้มกันต่อ PCV2 และ MH คือค่า S/P ratio นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบวัดซ้ำ (Repeated Measure) และทดสอบ Pairwise comparison และค่า % ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นจะนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ทั้ง 2 การศึกษาคำนวณด้วยโปรแกรม SPSS เพื่อหาความแตกต่างของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการทำวัคซีนด้วยวิธีที่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกลุ่มการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

การศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเติบโต พบว่าน้ำหนักสุกรเริ่มต้นที่อายุ 4 สัปดาห์ (Initial weight) ของแต่ละกลุ่มทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) โดยกลุ่มที่มีน้ำหนักมากที่สุด ได้แก่กลุ่มการทดลองที่ 2 เท่ากับ 8.69 ± 1.21 ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 1, 4 และ 3 เรียงตามลำดับดังนี้ 6.75 ± 0.87, 6.22 ± 1.62 และ 5.70 ± 0.39 และเมื่อจบการทดลองที่อายุ 20 สัปดาห์ (Final weight) พบว่าน้ำหนักของสุกรทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่มการทดลองที่ 4 มีน้ำหนักมากที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับดังนี้ 69.57 ± 9.13, 68.71 ± 10.39, 65.79 ± 6.21 และ 63.43 ± 5.71 ในส่วนของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Body weight gain) พบว่าน้ำหนักของสุกรทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่มการทดลองที่ 4 มีน้ำหนักเพิ่มมากที่สุด รองลงมาเป็นกลุ่มการทดลองที่ 1, 3 และ 2 ตามลำดับดังนี้ 63.35 ± 8.34, 61.96 ± 10.15, 57.73 ± 5.41 และ 57.09 ± 5.38 ในส่วนของการเก็บผลข้อมูลน้ำหนักและปริมาณอาหารที่กินได้นั้น นำมาคำนวณ ADG และ FCR พบว่าสุกรทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีค่า ADG ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เรียงลำดับได้ดังนี้ กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่า ADG เท่ากับ 0.55 ± 0.09 กก./วัน กลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่า ADG เท่ากับ 0.51 ± 0.05 กก./วัน กลุ่มการทดลองที่ 3 มีค่า ADG เท่ากับ 0.52 ± 0.05 กก./วัน และกลุ่มการทดลองที่ 4 มีค่า ADG เท่ากับ 0.57 ± 0.08 กก./วัน แต่ในความจริงค่า ADG ในช่วงของการผลิตสุกรขุนที่น้ำหนัก 25-105 กิโลกรัมนั้น ค่า ADG มักจะอยู่ที่ 700-900 กรัม/วัน หรือราวๆ 750 กรัม/ตัว/วัน (วิวัฒน์ ชวนะนิกุล, 2557) เช่นเดียวกับ FCR ในการทดลองทั้ง 4 กลุ่มการทดลองพบว่า กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่า FCR เท่ากับ 2.38 กลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่า FCR เท่ากับ 1.86 กลุ่มการทดลองที่ 3 มีค่า FCR เท่ากับ 1.98 และกลุ่มการทดลองที่ 4 มีค่า FCR เท่ากับ 2.15 ซึ่งช่วงการผลิตสุกรขุนที่น้ำหนัก 25-105 กิโลกรัมนั้นจะต้องดีกว่า 2.60 (วิวัฒน์ ชวนะนิกุล, 2557) (ตารางที่ 4.1) ดังนั้นการประเมินค่า ADG และ FCR ในการทดลองทั้ง 4 กลุ่มที่ได้นั้นเป็นการเฉลี่ยรวมของการเลี้ยงสุกรแบบคอกขังรวมกัน และกินอาหารร่วมกันในถังอาหารเดียวกัน ตั้งแต่เริ่มการทดลองจนสิ้นสุดการทดลองดังกล่าว อีกทั้งยังมีปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วยในระหว่างการทดลอง อาทิเช่น สภาพโรงเรือน อุณหภูมิความสม่ำเสมอในโรงเรือน และผู้ปฏิบัติงานสำหรับการให้อาหาร อาจทำให้ตัวเลขไม่ถึงเป้าหมายที่ควรจะเป็นได้ แต่สามารถบอกได้ว่าการให้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดต่างๆ ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในรูปที่แตกต่างกัน ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต เพราะทุกกลุ่มการทดลองมีตัวเลขไปในทิศทางเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

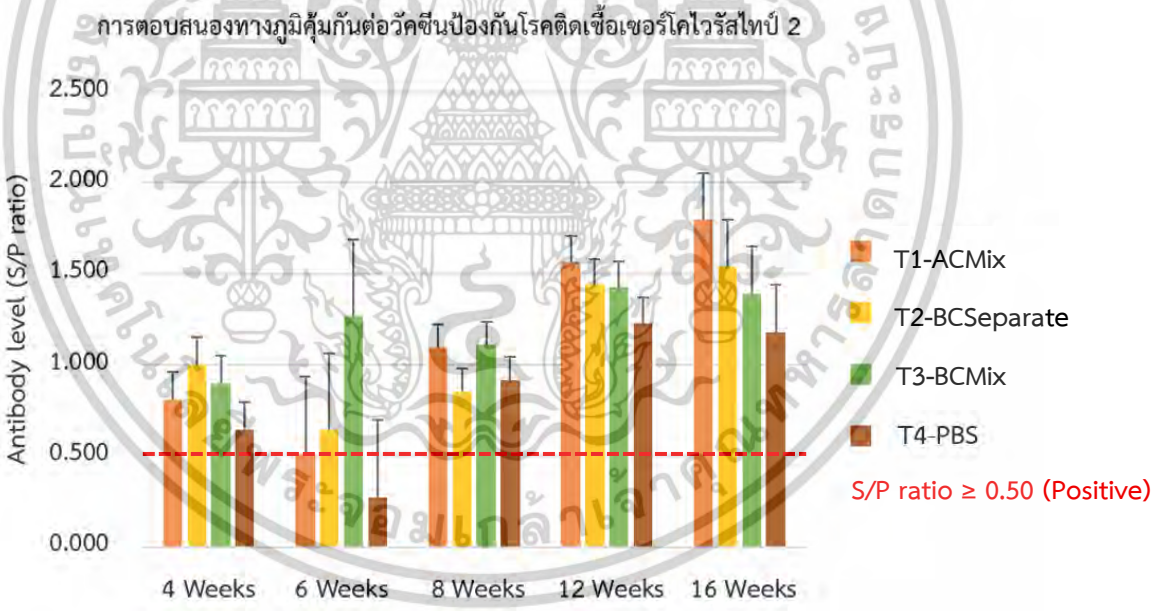
ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการให้อาหาร (Mean ± SD)

Item	Group				P-value
	1	2	3	4	
Initial weight (kg)	6.75 ± 0.87[b]	8.69 ± 1.21[a]	5.70 ± 0.39[b]	6.22 ± 1.62[b]	0.001
Final weight(kg)	68.71 ± 10.39	65.79 ± 6.21	63.43 ± 5.71	69.57 ± 9.13	0.483
BWG (4-20 Weeks)	61.96 ± 10.15	57.09 ± 5.38	57.73 ± 5.41	63.35 ± 8.34	0.346
ADG (kg/day)	0.55 ± 0.09	0.51 ± 0.05	0.52 ± 0.05	0.57 ± 0.08	0.346
FCR	2.38	1.86	1.98	2.15	-

หมายเหตุ [a, b] ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสุกรที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05), BWG = Body weight gain, ADG = Average daily gain, FCR = Feed conversion ratio

4.2 ผลการประเมินประสิทธิภาพของระดับภูมิคุ้มกัน

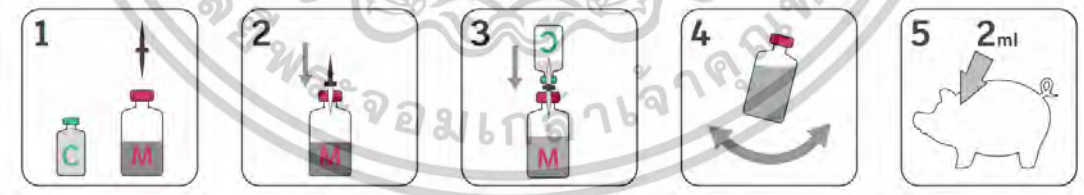
4.2.1 ประสิทธิภาพการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2



ภาพที่ 4.1 ระดับภูมิคุ้มกันเฉลี่ยในสุกรต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ที่มีการให้วัคซีนที่แตกต่างกันที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ โดย T1-ACMix = กลุ่มการทดลองที่ 1 (Ingelvac CircoFLEX ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด), T2-BCSeparate = กลุ่มการทดลองที่ 2 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบแยกฉีด), T3-BCMix = กลุ่มการทดลองที่ 3 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด) และ T4-PBS = กลุ่มการทดลองที่ 4 (PBS)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.1 เป็นการศึกษาผลของการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดต่างๆ ในรูปแบบที่แตกต่างกันในสุกรอายุ 4-16 สัปดาห์ ที่เฉลี่ยรวมกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง จำนวน 4 กลุ่ม แบ่งได้ดังนี้ กลุ่มการทดลองที่ 1 ที่ใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต ส่วนประกอบใน 1 ml. ประกอบด้วย Porcine circovirus type 2 ORF2 1.0-3.75 RP. และ Carbomer 1 mg/ml. (วัคซีน A) ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า ส่วนประกอบใน 1 ml. ประกอบด้วยแบคทีเรีย *M. hyopneumoniae* ที่มีโปรตีนแอนติเจนไม่น้อยกว่า 1.0 RP. และ Carbomer 1 mg/ml. (วัคซีน C) โดยการผสมวัคซีนรวมกัน และฉีดให้สุกรปริมาณ 2 ml. กลุ่มการทดลองที่ 2 ที่ใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต ส่วนประกอบใน 1 ml. ประกอบด้วย Porcine circovirus type 2 ORF2 protein antigen ไม่น้อยกว่า 200 Units และ Carbomer 4 mg/ml. (วัคซีน B) ร่วมกับวัคซีน C โดยการฉีดแยกเข็มให้กับสุกรอย่างละ 1 ml. กลุ่มการทดลองที่ 3 ที่ใช้วัคซีน B ร่วมกับวัคซีน C โดยการผสมวัคซีนรวมกัน และฉีดให้สุกรปริมาณ 2 ml. และกลุ่มการทดลองที่ 4 ที่เป็นกลุ่มควบคุมฉีดสารละลายเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) ปริมาณ 1 ml. ดังตารางที่ 3.1 โดยการทดลองได้รับการออกแบบให้กลุ่มการทดลองที่ 1 มีการผสมวัคซีนเข้าด้วยกัน ซึ่งวิธีการใช้ดังกล่าวได้รับคำแนะนำโดยผู้ผลิต ซึ่งในขณะนี้ได้จัดทำผลิตภัณฑ์เป็นวัคซีนรวมขึ้นเพื่อจัดจำหน่ายระหว่าง Ingelvac CircoFLEX จำนวน 1 หน่วย รวมกับ Ingelvac MycoFLEX จำนวน 1 หน่วย และใช้ชื่อว่า FLEXcombo ซึ่งเป็นวัคซีนที่สามารถป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 และโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าได้ในเวลาเดียว อีกทั้งยังถูกระบุว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อย่างรวดเร็ว คุ้มโรค PCV2 ได้อย่างน้อย 4 เดือน และ *M. hyopneumoniae* อย่างน้อย 26 สัปดาห์ ด้วยการเทผสมรวมกันและฉีดในสุกรปริมาณ 2 ml. ตามภาพที่ 4.2 (Boehringer Ingelheim Animal Health, 2023)



ภาพที่ 4.2 ขั้นตอนการผสมกันระหว่าง Ingelvac CircoFLEX รวมกับ Ingelvac MycoFLEX
ที่มา : Boehringer Ingelheim Animal Health (2023)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองดังกล่าวจึงนำซีรั่มที่ได้มาตรวจหาระดับแอนติบอดีด้วยวิธี Indirect ELISA พบว่าสุกรที่อายุ 4 สัปดาห์ ก่อนฉีดวัคซีนทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง มีระดับปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยกลุ่มการทดลองที่ 2 มีระดับแอนติบอดีสูงที่สุดมีค่า S/P ratio ที่ 1.004 ± 0.18 ซึ่งไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 3 และ 1 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.898 ± 0.27 และ 0.811 ± 0.08 ตามลำดับ แต่ทว่ากลุ่มการทดลองที่ 1 นั้นไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 4 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.643 ± 0.15 ในขณะที่กลุ่มการทดลองที่ 4 แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 2 และ 3 (ตารางที่ 4.2) แต่ถ้าหากพิจารณาผลการทดลองควบคู่ไปกับตารางที่ 4.3 ที่แสดงจำนวนสุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 พบว่าสุกรทุกตัวในกลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 3 มีค่า S/P ratio ≥ 0.50 (Cut-off point) ซึ่งแสดงว่ามีระดับแอนติบอดีเป็น Positive ต่อเชื้อ PCV2 คิดเป็น 100% ในทุกกลุ่มการทดลอง มีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 4 สุกรมีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive จำนวน 6 ใน 7 ตัว คิดเป็น 86% ซึ่งจะเห็นได้ว่าลูกสุกรที่เกิดจากแม่สุกรที่ฉีดวัคซีน PCV2 ก่อนคลอด จะมีภูมิคุ้มกันต่อโรค PCV2 ในระดับที่สูงขึ้น ซึ่งเป็นภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่ (Maternal immunity) ผ่านทางน้ำนมเหลือง (Colostrum) และน้ำนม ซึ่งถือว่าเป็น Passive immunity ภูมิคุ้มกันนี้จะช่วยป้องกันลูกสุกรจากการติดเชื้อ PCV2 ในช่วงแรกหลังคลอดซึ่งเป็นช่วงที่ลูกสุกรมีความเสี่ยงสูง อีกทั้งถ้าในแม่สุกรได้รับวัคซีนอย่างถูกต้องและเวลาที่เหมาะสม อาทิเช่น ฉีดวัคซีน 2-4 สัปดาห์ก่อนคลอด ลูกสุกรแรกเกิดมักมีระดับค่า S/P ratio ที่ ≥ 1.0-2.5 ในช่วงอายุ 1-3 วันแรก และจะลดลงเหลือ < 0.40 ภายใน 3-6 สัปดาห์ ขึ้นอยู่กับชนิดวัคซีนที่ใช้ในฟาร์ม (Boixaderas *et al.*, 2022) เมื่อเทียบกับการทดลองพบว่าที่อายุ 4 สัปดาห์ ลูกสุกรในทุกกลุ่มการทดลองยังคงมีระดับแอนติบอดีที่สูงอาจเป็นเพราะการทำวัคซีนในแม่สุกรซึ่งอาจเป็นผลทำให้มีโอกาสในการหักล้างกันของแอนติบอดีและวัคซีนได้

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดต่างๆ และวิธีการให้ที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

Time	S/P ratio				P-Value
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	
4 Weeks	0.811 ± 0.08^{Dab}	1.004 ± 0.18^{Ba}	0.898 ± 0.27^{Ca}	0.643 ± 0.15^{Cb}	0.009
6 Weeks	0.512 ± 0.12^{Ebc}	0.642 ± 0.14^{Cb}	1.268 ± 0.40^{ABa}	0.273 ± 0.08^{Dc}	0.001
8 Weeks	1.094 ± 0.25^{C}	0.854 ± 0.25^{BC}	1.108 ± 0.28^{BC}	0.918 ± 0.34^{B}	0.270
12 Weeks	1.568 ± 0.15^{Ba}	1.442 ± 0.13^{Aa}	1.428 ± 0.09^{Aa}	1.231 ± 0.15^{Ab}	0.001
16 Weeks	1.796 ± 0.10^{Aa}	1.541 ± 0.13^{Aab}	1.393 ± 0.18^{Abc}	1.179 ± 0.39^{Ac}	0.001

หมายเหตุ $^{A, B, C, D, E}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) $^{a, b, c}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 จำนวนสุกรที่มีค่า Cut-off point ที่ S/P ratio ≥ 0.50 แสดงระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ในแต่ละกลุ่มการทดลอง

Time	% of Positive pig at trial week (Positive/Total)			
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
4 Weeks	7/7 (100%)	7/7 (100%)	7/7 (100%)	6/7 (86%)
6 Weeks	3/7 (43%)	6/7 (86%)	6/7 (86%)	0/7 (0%)
8 Weeks	7/7 (100%)	7/7 (100%)	7/7 (100%)	5/7 (71%)
12 Weeks	7/7 (100%)	7/7 (100%)	7/7 (100%)	7/7 (100%)
16 Weeks	7/7 (100%)	7/7 (100%)	7/7 (100%)	6/7 (86%)

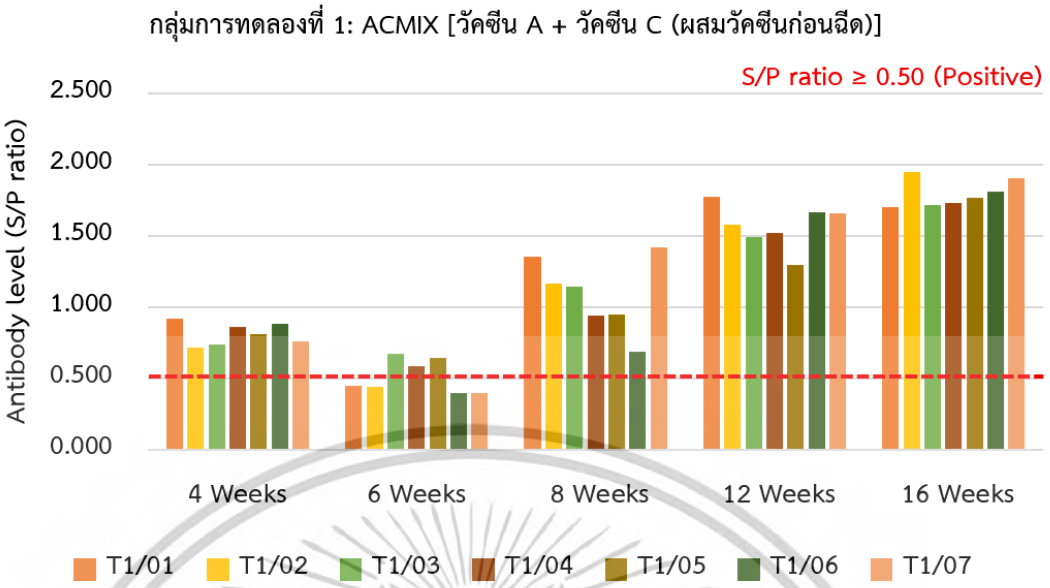
เมื่อสุกรอายุ 6 สัปดาห์ (2 สัปดาห์หลังฉีดวัคซีน) สุกรมีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) โดยกลุ่มการทดลองที่ 3 มีระดับแอนติบอดีสูงที่สุดมีค่า S/P ratio ที่ 1.268 ± 0.40 แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 4 โดยกลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.642 ± 0.14 ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 1 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.512 ± 0.12 และกลุ่มการทดลองที่ 1 ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 4 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.273 ± 0.08 (ตารางที่ 4.2) แต่หากพิจารณาผลการทดลองควบคู่ไปกับตารางที่ 4.3 ที่แสดงจำนวนสุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 พบว่าสุกรในกลุ่มการทดลองที่ 2 และ 3 จำนวน 6 ใน 7 ตัว มีค่า S/P ratio ≥ 0.50 ซึ่งแสดงว่ามีระดับแอนติบอดีเป็น Positive ต่อเชื้อ PCV2 คิดเป็น 86% ส่วนกลุ่มการทดลองที่ 1 จำนวน 3 ใน 7 ตัว คิดเป็น 43% และกลุ่มการทดลองที่ 4 จำนวน 0 ใน 7 ตัว คิดเป็น 0% จะเห็นได้ว่าในกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 2 เกิดการลดลงของระดับแอนติบอดีซึ่งเกิดจากการหักล้างกัน (Neutralization) ระหว่างแอนติเจนของวัคซีนและแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ (Fraile *et al.,* 2012) ซึ่ง Neutralization หรือการหักล้างกันระหว่างแอนติเจนและภูมิคุ้มกันเป็นกระบวนการของแอนติบอดีหรือภูมิคุ้มกันชนิดอื่นๆ เข้าไปจับยับยั้งและขัดขวางการทำงานของสิ่งแปลกปลอมทำให้ไม่สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อหรือโรคได้ หรือเป็นกระบวนการที่แอนติบอดีจับกับแอนติเจนของเชื้อโรคหรือวัคซีน ทำให้แอนติเจนนั้นหมดฤทธิ์ไม่สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อหรือกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ (Lois Zoppi, 2021) ในขณะที่กลุ่มการทดลองที่ 4 ที่ไม่ได้รับวัคซีนมีค่า S/P ratio ≤ 0.49 แสดงว่ามีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในช่วง Negative ทุกตัวในกลุ่มการทดลอง ซึ่งเป็นระดับของภูมิคุ้มกันที่ลดลงตามระยะเวลา และไม่ได้ถูกกระตุ้นโดยการฉีดวัคซีน ฉะนั้นมีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 3 เท่านั้นที่มีระดับแอนติบอดีที่เพิ่มขึ้น นอกจากรับการถ่ายทอดแอนติบอดีจากแม่แล้ว ยังมีการสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นเองจะเรียกว่า Specific immunity (Vargas *et al.,* 2021)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

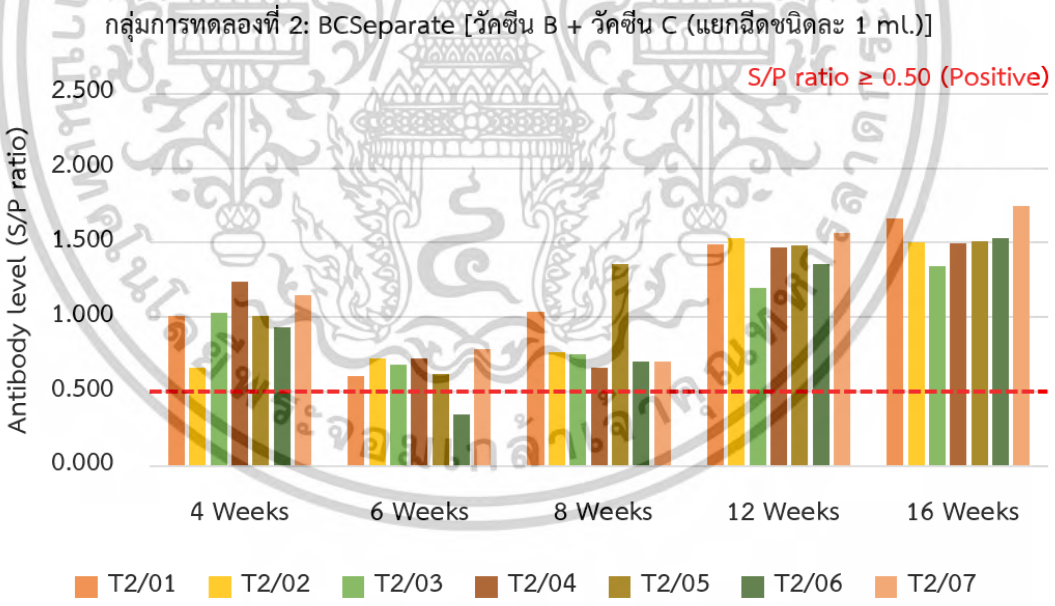
เมื่อสุกรอายุ 8 สัปดาห์ สุกรมีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) โดยเรียงจากกลุ่มที่มีค่า S/P ratio มากที่สุดไปหาน้อยที่สุด ได้ดังนี้ กลุ่มการทดลองที่ 3 มีค่า S/P ratio เท่ากับ 1.108 ± 0.28 กลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่า S/P ratio เท่ากับ 1.094 ± 0.25 กลุ่มการทดลองที่ 4 มีค่า มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.918 ± 0.34 และกลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.854 ± 0.25 (ตารางที่ 4.2) แต่ถ้าหากดูผลการทดลองควบคู่ไปกับตารางที่ 4.3 ที่แสดงจำนวนสุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 พบว่าสุกรทุกตัวในกลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 3 มีค่า S/P ratio ≥ 0.50 ซึ่งแสดงว่ามีระดับแอนติบอดีเป็น Positive ต่อเชื้อ PCV2 คิดเป็น 100% ในทุกกลุ่มการทดลอง มีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 4 ที่เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ได้รับวัคซีนแต่สุกรกลับมีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive จำนวน 5 ใน 7 ตัว คิดเป็น 71% ซึ่งอาจบ่งบอกว่าสุกรในกลุ่มการทดลองดังกล่าวอาจเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (Viremia) เพื่อต้องการยืนยันความคาดคะเนดังกล่าวจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องตรวจสอบและวินิจฉัยการติดเชื้อภายในฝูงด้วยวิธี PCR ซึ่งแสดงผลการตรวจสอบในตารางที่ 4.5

เมื่อสุกรอายุ 12 สัปดาห์ สุกรมีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) โดยกลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 3 มีระดับแอนติบอดีที่ไม่แตกต่างกัน และเรียงลำดับค่า S/P ratio ตามลำดับได้ดังต่อไปนี้ 1.568 ± 0.15, 1.442 ± 0.13 และ 1.428 ± 0.09 ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 4 มีค่า S/P ratio เท่ากับ 1.231 ± 0.15 (ตารางที่ 4.2) แต่ถ้าหากดูผลการทดลองควบคู่ไปกับตารางที่ 4.3 ที่แสดงจำนวนสุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 พบว่าสุกรทุกตัวในกลุ่มการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่า S/P ratio ≥ 0.50 ซึ่งแสดงว่ามีระดับแอนติบอดีเป็น Positive ต่อเชื้อ PCV2 คิดเป็น 100% ในทุกกลุ่มการทดลอง และที่อายุ 16 สัปดาห์ สุกรมีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) โดยกลุ่มการทดลองที่ 1 มีระดับแอนติบอดีสูงที่สุดมีค่า S/P ratio ที่ 1.796 ± 0.10 ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 2 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 1.541 ± 0.13 โดยที่กลุ่มการทดลองที่ 2 ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 3 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 1.393 ± 0.18 และกลุ่มการทดลองที่ 3 ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 4 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 1.179 ± 0.39 (ตารางที่ 4.2) แต่ถ้าหากดูผลการทดลองควบคู่ไปกับตารางที่ 4.3 ที่แสดงจำนวนสุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 พบว่าสุกรทุกตัวในกลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 3 มีค่า S/P ratio ≥ 0.50 ซึ่งแสดงว่ามีระดับแอนติบอดีเป็น Positive ต่อเชื้อ PCV2 คิดเป็น 100% ในทุกกลุ่มการทดลอง มีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 4 สุกรมีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive จำนวน 6 ใน 7 ตัว คิดเป็น 86% และแสดงกราฟแจกแจงระดับปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 แบบรายตัวในกลุ่มการทดลองที่ 1-4 เพื่อให้เปรียบเทียบได้ง่ายและชัดเจนขึ้นในภาพที่ 4.3 – ภาพที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

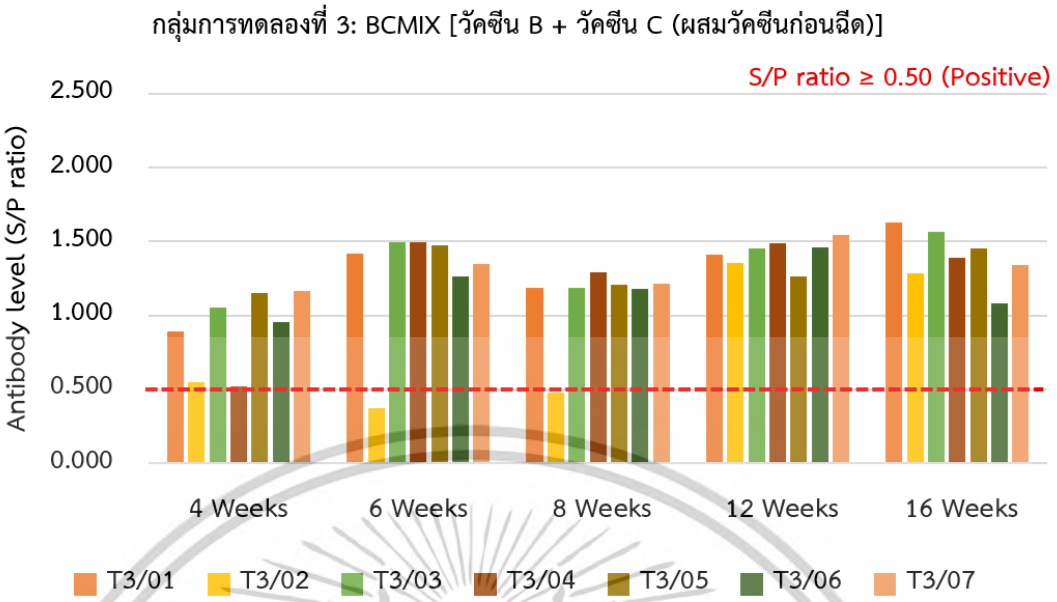


ภาพที่ 4.3 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 1 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2

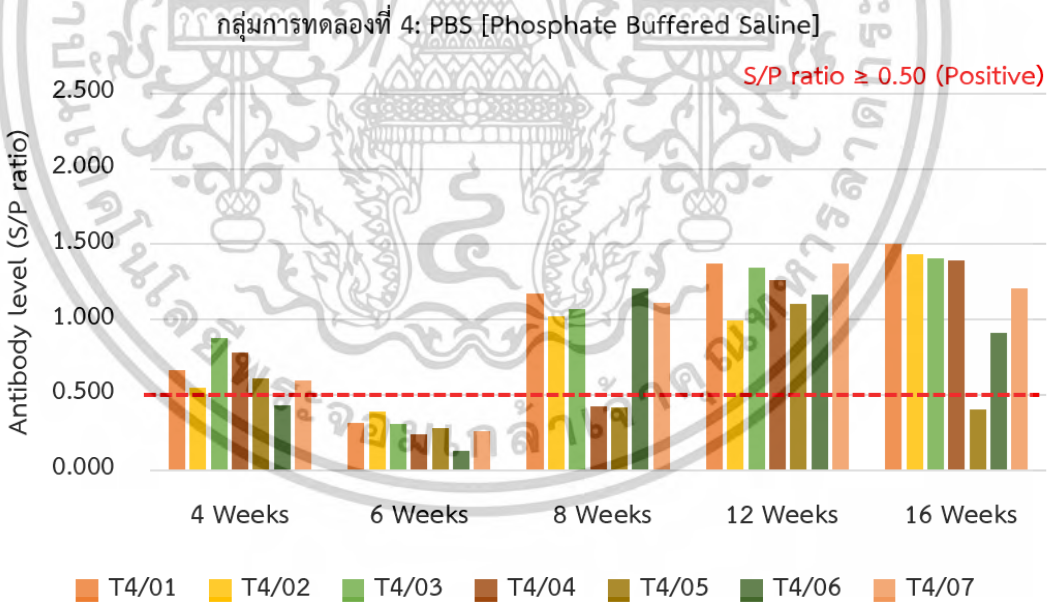


ภาพที่ 4.4 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 2 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 3 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2



ภาพที่ 4.6 แสดงระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 4 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดต่างๆ และวิธีการให้ที่แตกต่างกัน (% Mean)

Time	% Immunity growth			
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
4 Weeks	0.00^{E}	0.00^{B}	0.00^{B}	0.00^{B}
6 Weeks	-36.16^{Db}	-34.02^{Cb}	47.70^{ABa}	-56.69^{Cb}
8 Weeks	36.95^{Cab}	-11.92^{BCb}	30.74^{ABab}	53.78^{Aa}
12 Weeks	94.58^{B}	49.06^{A}	75.32^{A}	98.15^{A}
16 Weeks	123.98^{Aa}	58.54^{Ab}	69.66^{Aab}	86.89^{Aab}

หมายเหตุ กำหนดให้ที่อายุ 4 สัปดาห์ คิดเป็น 0% และสัปดาห์อื่นๆ คิด % เพิ่มขึ้นหรือลดลงโดยเทียบกับอายุ 4 สัปดาห์ $^{A, B, C, D, E}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) $^{a, b, c}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

เมื่อนำค่า S/P ratio ที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงของระดับภูมิคุ้มกัน (% Immunity growth) ในตารางที่ 4.4 โดยกำหนดให้ที่อายุ 4 สัปดาห์ เป็นการเริ่มต้นการทดลอง ค่าระดับภูมิคุ้มกันที่ได้จากการคำนวณ S/P ratio คิดเริ่มต้น 0% และที่อายุ 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ คิด % เพิ่มขึ้นหรือลดลงโดยเทียบกับอายุ 4 สัปดาห์ พบว่าที่อายุ 4 สัปดาห์ ก่อนการฉีดวัคซีน สุกรทุกกลุ่มการทดลองมีค่าเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันเท่ากับ 0 และหลังจากฉีดวัคซีน 2 สัปดาห์ที่อายุ 6 สัปดาห์ สุกรมีเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ PCV2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) โดยพบว่ากลุ่มการทดลองที่ 3 มีระดับเปอร์เซ็นต์แอนติบอดีที่เพิ่มขึ้น 47.70% แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 4 ที่มีระดับเปอร์เซ็นต์ของแอนติบอดีลดลงเรียงลำดับได้ดังต่อไปนี้ -36.16, -34.02% และ -56.69% ซึ่งจากการระดับเปอร์เซ็นต์ดังกล่าวทำให้เห็นได้ชัดว่ามีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 3 ที่สามารถสร้างแอนติบอดีได้หลังได้รับวัคซีนเพียง 2 สัปดาห์ สอดคล้องกับตารางที่ 4.2 และ 4.3 ที่อายุ 8 สัปดาห์ สุกรมีเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ PCV2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยพบว่ากลุ่มการทดลองที่ 4 มีระดับเปอร์เซ็นต์แอนติบอดีที่เพิ่มขึ้น 53.78% ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 3 แต่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 2 โดยกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 3 มีระดับแอนติบอดีที่เพิ่มขึ้น 36.95 และ 30.74 ตามลำดับ โดยกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 3 ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 2 มีระดับเปอร์เซ็นต์ของแอนติบอดีลดลงที่ -11.92% แต่ทว่าที่อายุ 12 สัปดาห์ สุกรในทุกกลุ่มการทดลองที่ระดับเปอร์เซ็นต์แอนติบอดีที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) โดยเรียงลำดับกลุ่มการทดลองที่มีระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์แอนติบอดีที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุดไปหากลุ่มที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดได้แก่ กลุ่มการทดลองที่ 4 สูงที่สุดเท่ากับ 98.15% รองลงมาได้แก่กลุ่มการทดลองที่ 1 เท่ากับ 94.58% กลุ่มการทดลองที่ 3 เท่ากับ 75.32% และกลุ่มการทดลองที่ 2 เท่ากับ 49.06% และที่อายุ 16 สัปดาห์ สุกรมีเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ PCV2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยพบว่ากลุ่มการทดลองที่ 1 มีระดับเปอร์เซ็นต์แอนติบอดีที่เพิ่มขึ้น 123.98% ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 3 และ 4 แต่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 2 โดยกลุ่มการทดลองที่ 3 และ 4 มีระดับแอนติบอดีที่เพิ่มขึ้น 69.66 และ 86.89 ตามลำดับ โดยกลุ่มการทดลองที่ 3 และ 4 ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 2 มีระดับเปอร์เซ็นต์ของแอนติบอดีที่เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเท่ากับ 58.54 เมื่อเรานำเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ PCV2 ของแต่ละกลุ่มการทดลองแต่ละสัปดาห์มาเปรียบเทียบกันพบว่ามีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 3 ที่มีเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นในทุกๆสัปดาห์ที่นำมาเปรียบเทียบ ถึงแม้ว่าที่อายุ 16 สัปดาห์ กลุ่มการทดลองที่ 1 จะมีระดับเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุดและไปในทิศทางที่ดีก็ตาม การวิเคราะห์ดังกล่าวก็ยังต้องดูควบคู่ไปกับตารางที่ 4.2, 4.3 และ 4.5

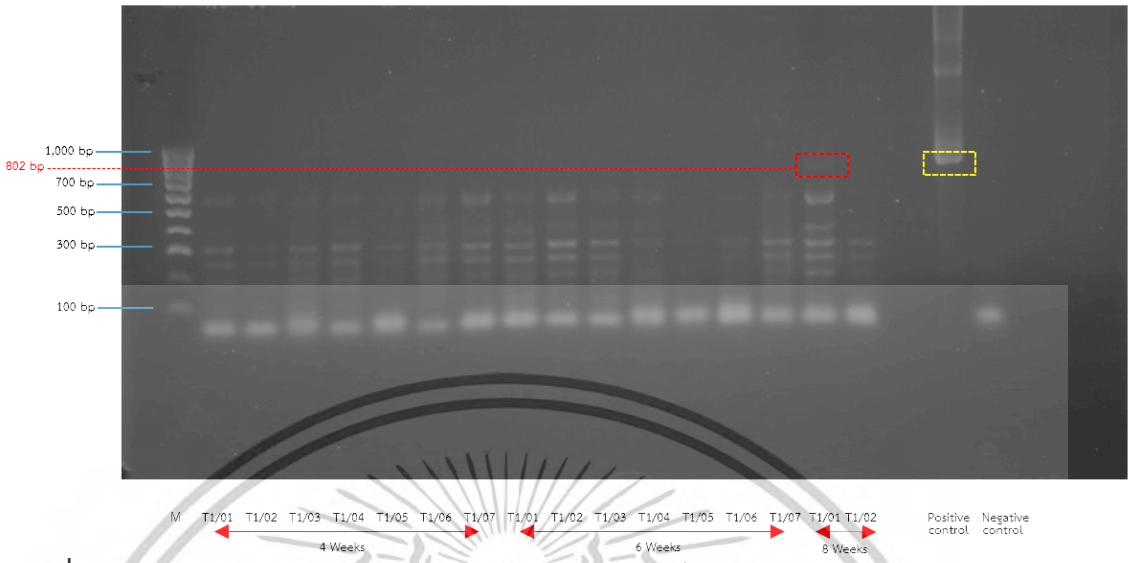
4.2.2 ผลการศึกษาโดยวิธี PCR ต่อโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2

จากการทดลองดังกล่าวใช้การตรวจหาดีเอ็นเอของ PCV2 ที่ได้จากซีรั่มสุกรที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ ด้วยวิธี Conventional PCR เพื่อตรวจยืนยันการปลอดเชื้อของฝูงสุกรทดลอง โดยนำดีเอ็นเอที่ได้เพิ่มจำนวนจากปฏิกิริยาลูกโซ่มาตรวจสอบผลผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซีส โดยเทียบกับเลนส์ M ที่เป็น Marker 100 bp เลนส์ของ Positive control ที่แสดงช่วงลำดับ 802 bp และเลนส์ของ Negative control โดยแบ่งการอ่านผลออกเป็น 9 ครั้ง ตามภาพที่ 4.7 - ภาพที่ 4.15 และสรุปจำนวนสุกรที่ติดเชื้อในทุกกลุ่มการทดลองในตารางที่ 4.5

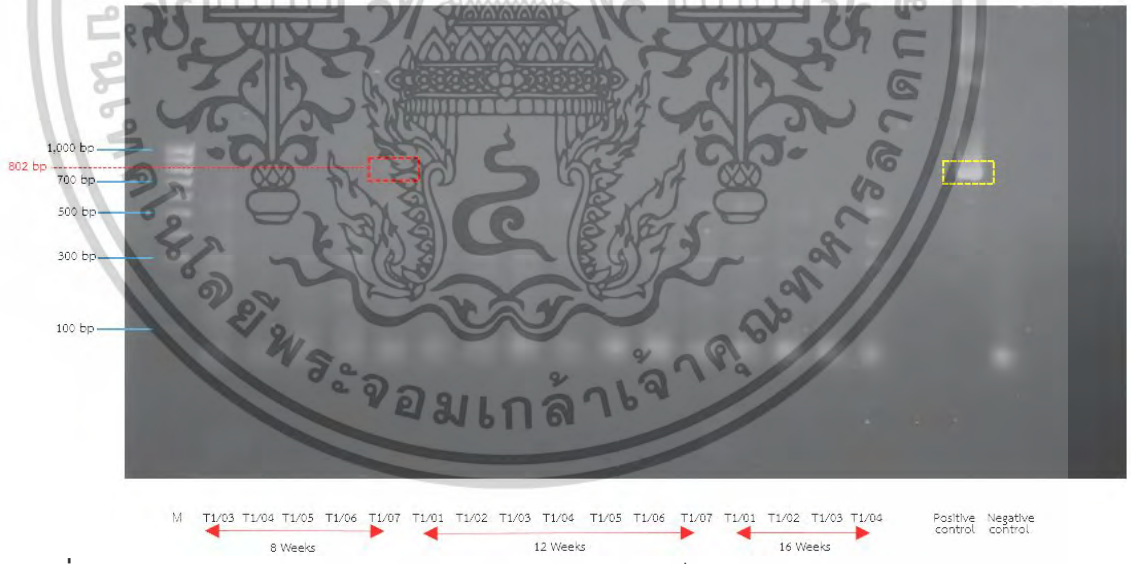
ตารางที่ 4.5 จำนวนสุกรที่แสดงผลว่าเป็น Positive ต่อเชื้อ PCV2

Age	Number of positive results			
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
4 Weeks	0/7	0/7	0/7	0/7
6 Weeks	1/7	0/7	0/7	1/7
8 Weeks	1/7	1/7	0/7	0/7
12 Weeks	0/7	1/7	0/7	0/7
16 Weeks	0/7	0/7	0/7	0/7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

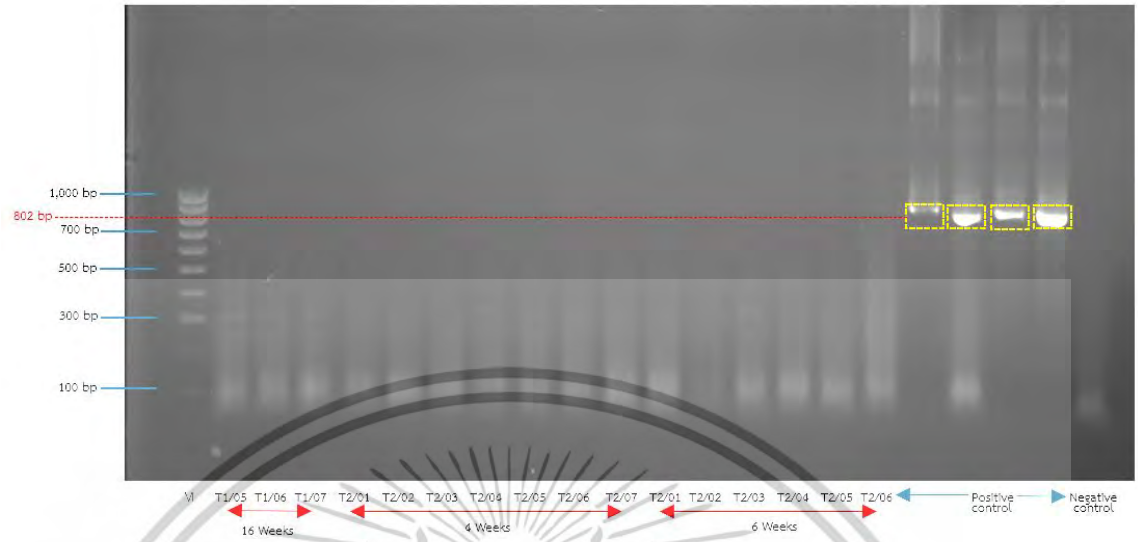


ภาพที่ 4.7 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 1, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control



ภาพที่ 4.8 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 1, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control

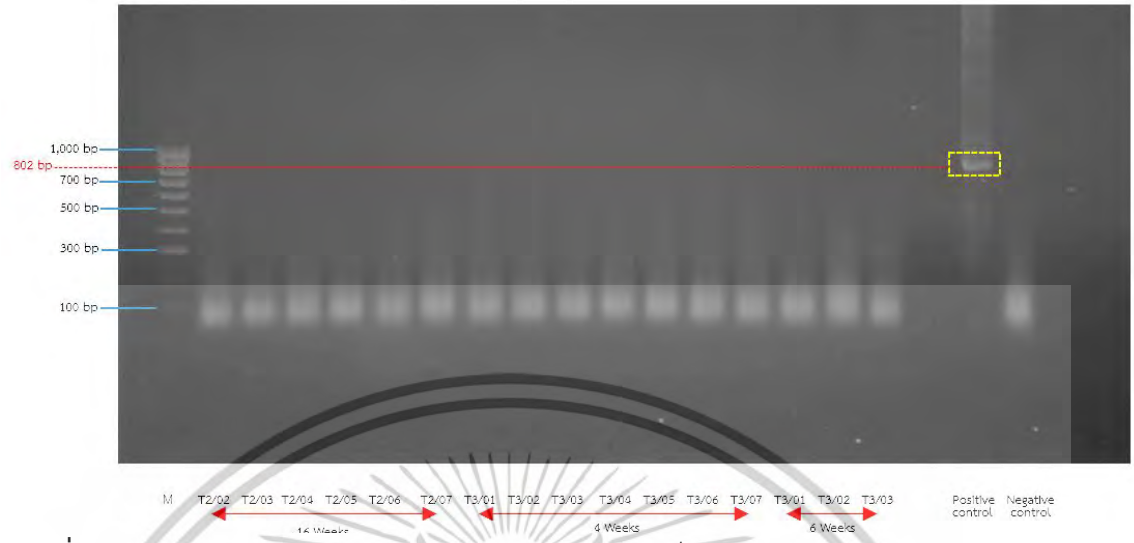
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 1 และ 2, Lane 18-21 = Positive control; Lane 22 = Negative control

ภาพที่ 4.10 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 2, Lane 19 และ 21 = Positive control; Lane 20 และ 22 = Negative control

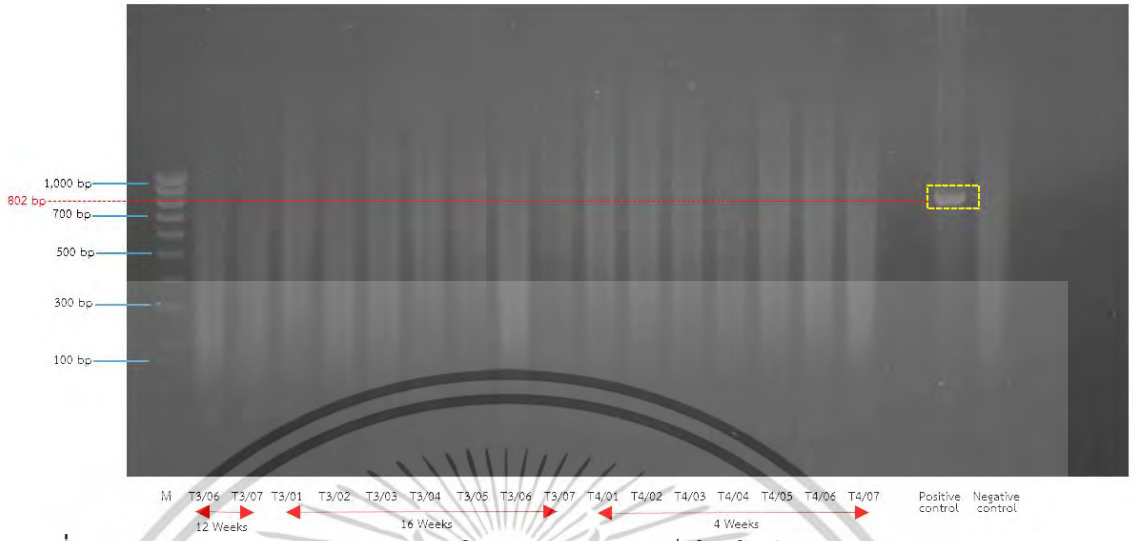
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



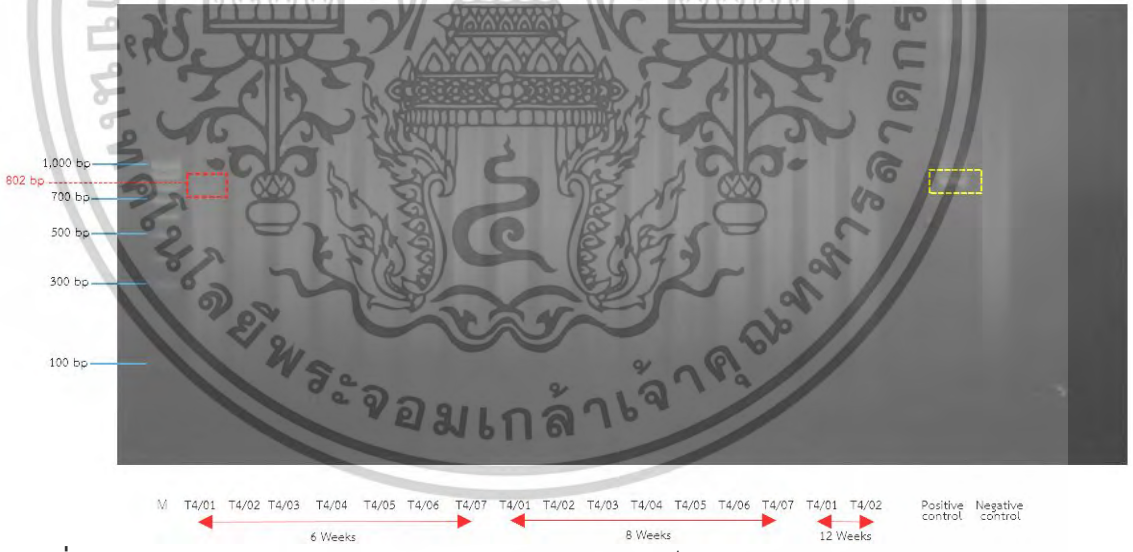
ภาพที่ 4.11 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control

ภาพที่ 4.12 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 3, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

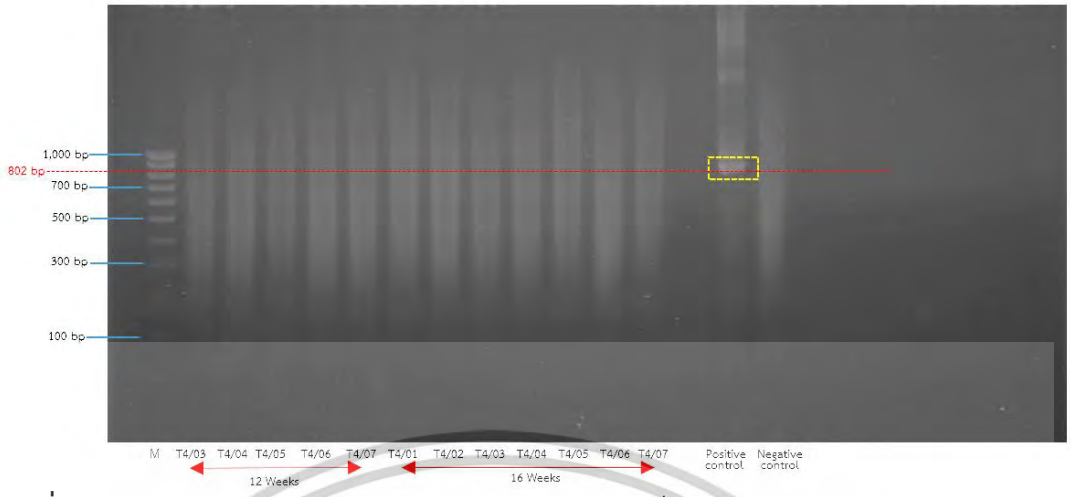


ภาพที่ 4.13 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 3 และ 4, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control



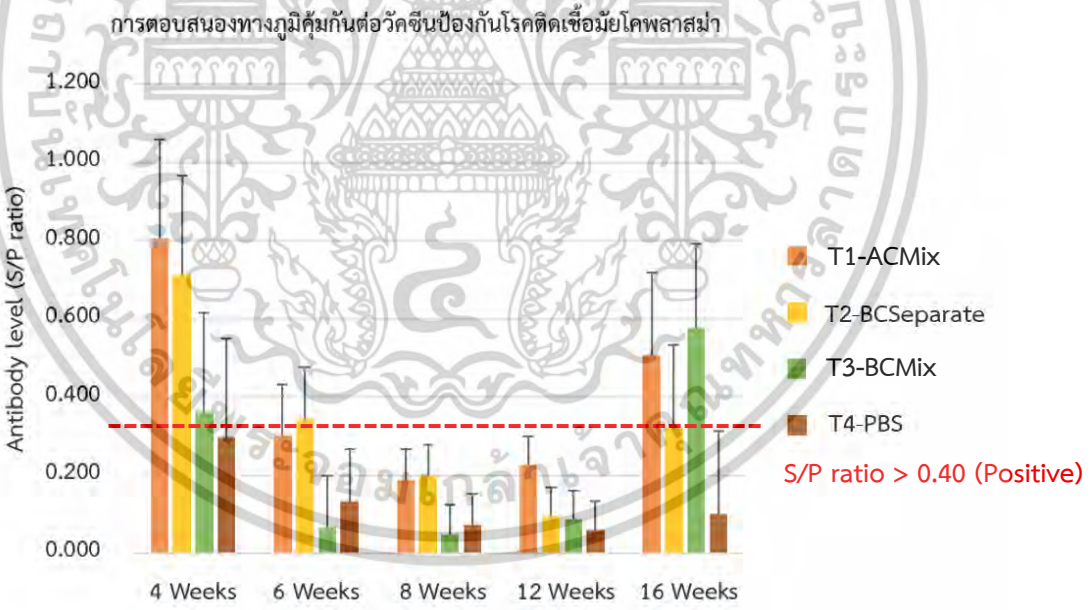
ภาพที่ 4.14 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-17 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 4, Lane 19 = Positive control; Lane 20 = Negative control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.15 ผลจากการตรวจปฏิกิริยาลูกโซ่แสดงผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส Lane 1 (M) = Marker 100 bp; Lane 2-13 = DNA ตัวอย่างจากกลุ่มทดลองที่ 4, Lane 15 = Positive control; Lane 16 = Negative control

4.2.3 ประสิทธิภาพการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า



ภาพที่ 4.16 ระดับภูมิคุ้มกันเฉลี่ยในสุกรต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าที่มีการให้วัคซีนที่แตกต่างกันที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ โดย T1-ACMix = กลุ่มการทดลองที่ 1 (Ingelvac CircoFLEX ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด), T2-BC Separate = กลุ่มการทดลองที่ 2 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบแยกฉีด), T3-BCMix = กลุ่มการทดลองที่ 3 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด) และ T4-PBS = กลุ่มการทดลองที่ 4 (PBS)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ประสิทธิภาพการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในวิธีการให้ที่แตกต่างกัน (Mean ± SD)

Time	S/P ratio				P-Value
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	
4 Weeks	0.805 ± 0.04^{Aa}	0.713 ± 0.13^{Aa}	0.362 ± 0.13^{Ab}	0.298 ± 0.07^{Ab}	0.001
6 Weeks	0.301 ± 0.04^{Ca}	0.343 ± 0.16^{Ba}	0.065 ± 0.06^{Bb}	0.134 ± 0.03^{Bb}	0.001
8 Weeks	0.189 ± 0.05^{Da}	0.199 ± 0.08^{Ca}	0.049 ± 0.04^{Bb}	0.074 ± 0.03^{Bb}	0.001
12 Weeks	0.225 ± 0.15^{CDa}	0.096 ± 0.03^{Db}	0.086 ± 0.05^{Bb}	0.060 ± 0.04^{Bb}	0.005
16 Weeks	0.506 ± 0.13^{Ba}	0.320 ± 0.21^{Bb}	0.578 ± 0.13^{Aa}	0.100 ± 0.03^{Bc}	0.001

หมายเหตุ $^{A, B, C, D, E}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) $^{a, b, c}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

ตารางที่ 4.7 จำนวนสุกรที่มีค่า Cut-off point ที่ S/P ratio > 0.40 แสดงระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในแต่ละกลุ่มการทดลอง

Time	% of Positive pig at trial week (Positive/Total)			
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
4 Weeks	7/7 (100%)	7/7 (100%)	3/7 (43%)	1/7 (14%)
6 Weeks	0/7 (0%)	2/7 (29%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)
8 Weeks	0/7 (0%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)
12 Weeks	1/7 (14%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)	0/7 (0%)
16 Weeks	5/7 (71%)	2/7 (29%)	7/7 (100%)	0/7 (0%)

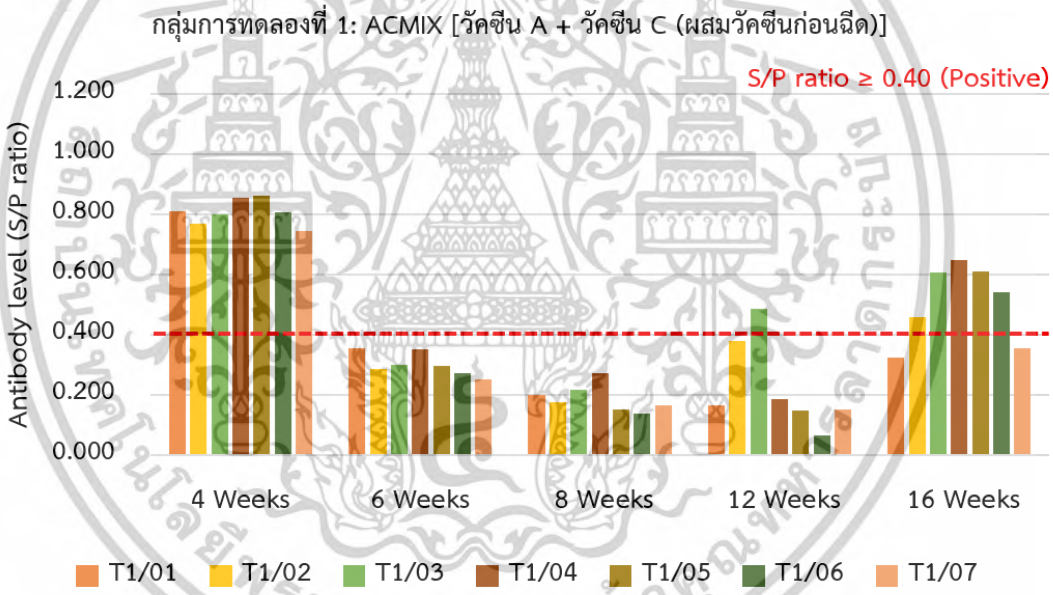
จากภาพที่ 4.16 เป็นการศึกษาผลของการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าที่ใช้ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ในรูปแบบที่แตกต่างกันในสุกรอายุ 4-16 สัปดาห์ โดยวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าที่เลือกใช้นั้นปริมาณ 1 ml. ประกอบด้วยแบคทีเรีย *M. hyopneumoniae* ที่มีโปรตีนแอนติเจนไม่น้อยกว่า 1.0 RP. และ Carbomer 1 mg/ml. เมื่อจบการทดลองดังกล่าวจึงนำซีรั่มที่ได้มาตรวจหาระดับแอนติบอดีด้วยเทคนิค Indirect ELISA แสดงผลในตารางที่ 4.6 พบว่าสุกรที่อายุ 4 สัปดาห์ ก่อนฉีดวัคซีนทั้ง 4 กลุ่มการทดลอง มีระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) โดยกลุ่มการทดลองที่ 1 มีระดับแอนติบอดีสูงที่สุดมีค่า S/P ratio ที่ 0.805 ± 0.04 ซึ่งไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 2 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.713 ± 0.13 แต่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 3 และ 4 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.362 ± 0.13 และ 0.298 ± 0.07 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) แต่ถ้าหากดูผลการทดลองควบคู่ไปกับตารางที่ 4.7 ที่แสดงจำนวนสุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า พบว่าสุกรทุกตัวในกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 2 มีค่า S/P ratio มากกว่า 0.40 (Cut-off point) ซึ่งแสดงว่ามีระดับแอนติบอดีเป็น Positive ต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* คิดเป็น 100% ส่วนกลุ่มการทดลองที่ 3 จำนวน 3 ใน 7 ตัว คิดเป็น 43% และกลุ่มการทดลองที่ 4 จำนวน 1 ใน 7 ตัว คิดเป็น 14% เมื่อสุกรอายุ 6 สัปดาห์ (2 สัปดาห์หลังฉีดวัคซีน) พบว่าสุกรในแต่ละกลุ่มทดลองมีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) โดยกลุ่มการทดลองที่ 2 มีระดับแอนติบอดีสูงที่สุดมีค่า S/P ratio ที่ 0.343 ± 0.16 ซึ่งไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 1 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.301 ± 0.04 แต่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 3 และ 4 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.065 ± 0.06 และ 0.134 ± 0.03 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) แต่ถ้าหากดูผลการทดลองควบคู่ไปกับตารางที่ 4.7 ที่แสดงจำนวนสุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันเป็น Positive ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าพบว่ามีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 2 ที่มีสุกรจำนวน 2 ใน 7 ตัว ที่แสดงค่าเป็น Positive คิดเป็น 29% และกลุ่มการทดลองที่ 1, 3 และ 4 นั้นสุกรแสดงค่าเป็น Negative ซึ่งจะเห็นว่าระดับภูมิคุ้มกันของสุกรลดลงอย่างเห็นได้ชัดในทุกกลุ่มการทดลองซึ่งอาจเกิดจากระดับแอนติบอดีที่หักล้างกัน (Neutralizing) ระหว่างแอนติเจนของวัคซีนและแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ (Fraile *et al.,* 2012) หรือกลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันที่ลดลง เพราะวัคซีนบางชนิดมีการออกฤทธิ์ที่รบกวนกันทำให้ประสิทธิภาพของวัคซีนบางตัวลดลง และระดับแอนติบอดีก็ลดลงอย่างต่อเนื่องถึงอายุ 8 สัปดาห์ พบว่าที่อายุดังกล่าวสุกรมีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) เช่นกัน โดยกลุ่มการทดลองที่ 2 มีระดับแอนติบอดีสูงที่สุดมีค่า S/P ratio ที่ 0.199 ± 0.08 ซึ่งไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 1 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.189 ± 0.05 แต่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 3 และ 4 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.049 ± 0.04 และ 0.074 ± 0.03 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) ซึ่งไปในทิศทางเดียวกันกับตารางที่ 4.7 ที่แสดงจำนวนสุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าเป็น Negative ในทุกกลุ่มการทดลอง เมื่อสุกรอายุ 12 สัปดาห์ พบว่าสุกรในแต่ละกลุ่มทดลองมีระดับปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยกลุ่มการทดลองที่ 1 มีระดับแอนติบอดีสูงที่สุดมีค่า S/P ratio ที่ 0.225 ± 0.15 แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.096 ± 0.03, 0.086 ± 0.05 และ 0.060 ± 0.04 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) ซึ่งไปในทิศทางเดียวกันกับตารางที่ 4.7 มีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 1 ที่มีสุกรจำนวน 1 ใน 7 ตัว ที่แสดงค่า S/P ratio > 0.40 ซึ่งเป็น Positive คิดเป็น 14% และกลุ่มการทดลองที่ 1, 3 และ 4 นั้นสุกรแสดงค่าเป็น Negative และที่อายุ 16 สัปดาห์

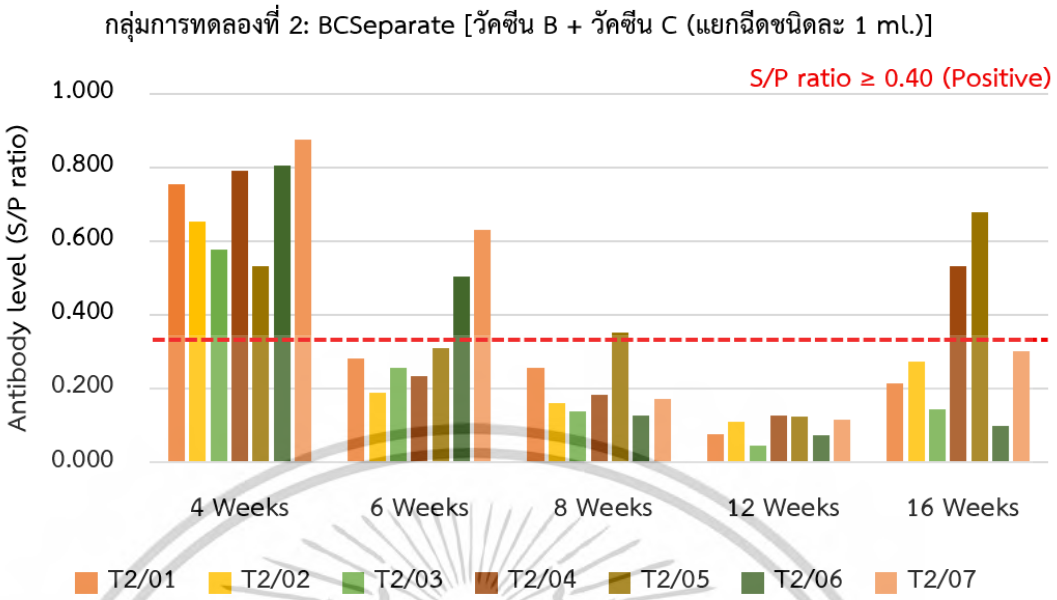
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าสุกรในแต่ละกลุ่มทดลองมีระดับปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.001) โดยกลุ่มการทดลองที่ 3 มีระดับแอนติบอดีสูงที่สุดมีค่า S/P ratio ที่ 0.578 ± 0.13 ไม่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 1 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.506 ± 0.13 แต่แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 2 และ 4 ที่มีค่า S/P ratio เท่ากับ 0.320 ± 0.21 และ 0.100 ± 0.03 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) แต่ถ้าหากดูผลการทดลองควบคู่ไปกับตารางที่ 4.7 นั้นพบว่าไปในทิศทางเดียวกัน เพราะในกลุ่มการทดลองที่ 3 นั้นสุกรทั้ง 7 ตัว มีค่า S/P ratio > 0.40 คิดเป็น 100% และกลุ่มการทดลองที่ 1 จำนวน 5 ใน 7 ตัว คิดเป็น 71% ส่วนในกลุ่มการทดลองที่ 2 จำนวน 2 ใน 7 ตัว คิดเป็น 29% และกลุ่มการทดลองที่ 4 คิดเป็น 0% และแสดงกราฟแจกแจงระดับปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* แบบรายตัวในกลุ่มการทดลองที่ 1-4 เพื่อให้เปรียบเทียบได้ง่ายและชัดเจนขึ้นในภาพที่ 4.17 – ภาพที่ 4.20

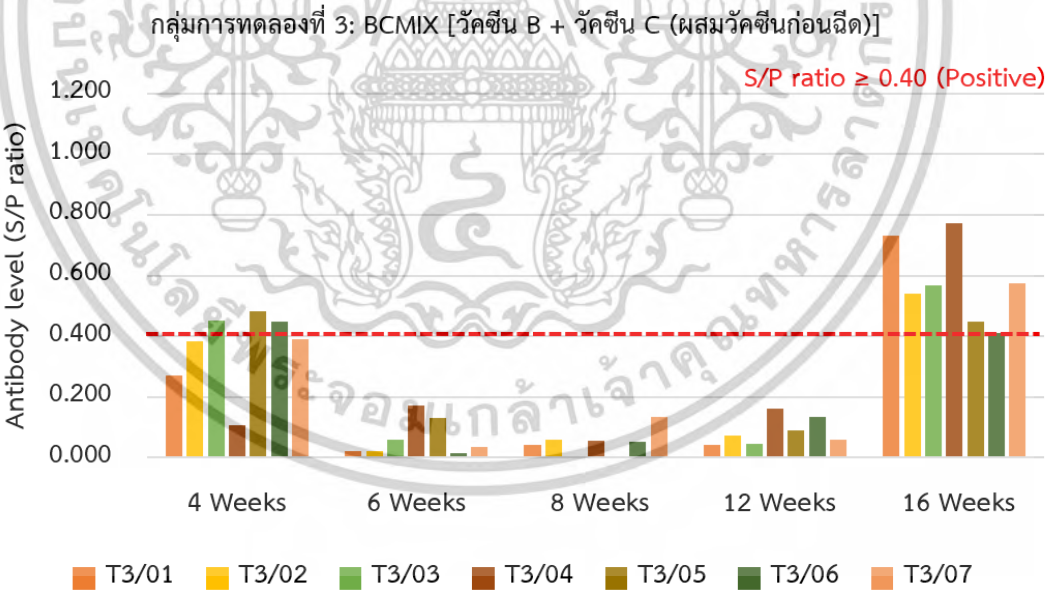


ภาพที่ 4.17 กราฟรวมของระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 1 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

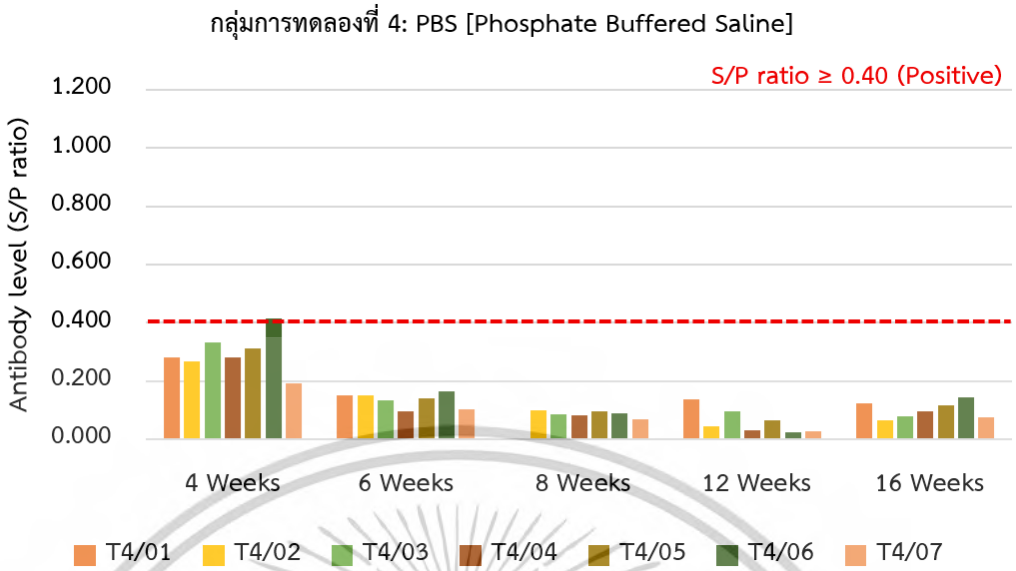


ภาพที่ 4.18 กราฟรวมของระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 2 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า



ภาพที่ 4.19 กราฟรวมของระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 3 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.20 กราฟรวมของระดับภูมิคุ้มกันสุกรรายตัวของแต่ละกลุ่มการทดลองที่ 4 ต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า

เมื่อนำค่า S/P ratio ที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงของระดับภูมิคุ้มกัน (% Immunity growth) ในตารางที่ 4.8 โดยกำหนดให้ที่อายุ 4 สัปดาห์ เป็นการเริ่มต้นการทดลอง ค่าระดับภูมิคุ้มกันที่ได้จากการคำนวณ S/P ratio คิดเริ่มต้น 0% และที่อายุ 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ คิด % เพิ่มขึ้นหรือลดลงโดยเทียบกับอายุ 4 สัปดาห์ พบว่าที่อายุ 4 สัปดาห์ ก่อนการฉีดวัคซีน สุกรทุกกลุ่มการทดลองมีค่าเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันเท่ากับ 0 และหลังจากฉีดวัคซีน 2 สัปดาห์ที่อายุ 6 สัปดาห์ สุกรในทุกกลุ่มการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) โดยพบว่าในกลุ่มการทดลองมีระดับเปอร์เซ็นต์แอนติบอดีที่ลดลง โดยกลุ่มการทดลองที่ 2 ลดลงน้อยที่สุดเท่ากับ -52.51% รองลงมาเป็นกลุ่มการทดลองที่ 4 เท่ากับ -54.10% กลุ่มการทดลองที่ 1 เท่ากับ -62.62% และกลุ่มการทดลองที่ 3 ลดลงมากที่สุดเท่ากับ -67.50% ต่อมาที่อายุ 8 สัปดาห์ สุกรในทุกกลุ่มการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) โดยพบว่าในทุกกลุ่มการทดลองมีระดับเปอร์เซ็นต์แอนติบอดีที่ลดลง โดยกลุ่มการทดลองที่ 2 ลดลงน้อยที่สุดเท่ากับ -70.35% รองลงมาเป็นกลุ่มการทดลองที่ 4 เท่ากับ -74.53% กลุ่มการทดลองที่ 1 เท่ากับ -76.62% และกลุ่มการทดลองที่ 3 ลดลงมากที่สุดเท่ากับ -81.75% ต่อมาที่อายุ 12 สัปดาห์ สุกรในทุกกลุ่มการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) โดยพบว่าในทุกกลุ่มการทดลองมีระดับเปอร์เซ็นต์แอนติบอดีที่ลดลง โดยกลุ่มการทดลองที่ 3 ลดลงน้อยที่สุดเท่ากับ -62.80% รองลงมาเป็นกลุ่มการทดลองที่ 1 เท่ากับ -71.78% กลุ่มการทดลองที่ 4 เท่ากับ -79.34% และกลุ่มการทดลองที่ 2 ลดลงมากที่สุดเท่ากับ -86.26% และที่อายุ 16 สัปดาห์ สุกรในทุกกลุ่มการทดลองมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

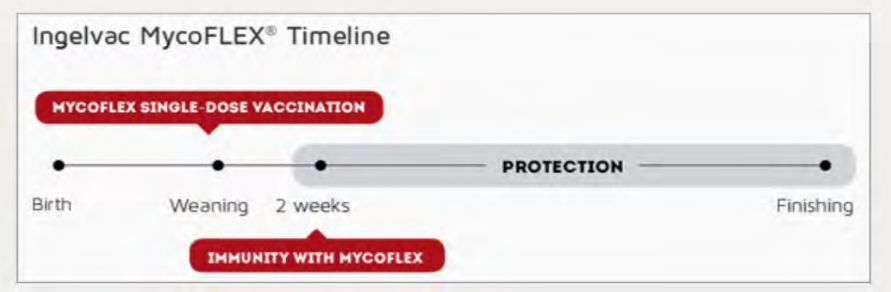
เปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยกลุ่มการทดลองที่ 3 มีระดับเปอร์เซ็นต์แอนติบอดีที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุดเท่ากับ 128.68 แตกต่างกับกลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 4 ที่มีเปอร์เซ็นต์ของระดับแอนติบอดีที่ลดลงดังต่อไปนี้ -37.54, -52.01 และ -66.18 ตามลำดับ ซึ่งการประเมินระดับเปอร์เซ็นต์ภูมิคุ้มกันดังกล่าวต้องดูควบคู่ไปกับตารางที่ 4.6 และ 4.7

ตารางที่ 4.8 เปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นต่อวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าชนิดต่างๆ และวิธีการให้ที่แตกต่างกัน (%Mean)

Time	% Immunity growth			
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
4 Weeks	0.00^{A}	0.00^{A}	0.00^{B}	0.00^{A}
6 Weeks	-62.62^{B}	-52.51^{B}	-67.50^{B}	-54.10^{B}
8 Weeks	-76.62^{C}	-70.35^{BC}	-81.75^{B}	-74.53^{CD}
12 Weeks	-71.78^{BC}	-86.26^{C}	-62.80^{B}	-79.34^{D}
16 Weeks	-37.54^{Ab}	-52.01^{Bb}	128.68^{Aa}	-66.18^{Cb}

หมายเหตุ กำหนดให้ที่อายุ 4 สัปดาห์ คิดเป็น 0% และสัปดาห์อื่นๆคิด % เพิ่มขึ้นหรือลดลงโดยเทียบกับอายุ 4 สัปดาห์ $^{A, B, C, D, E}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05) $^{a, b, c}$ ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่มีตัวอักษรแตกต่างในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05)

แต่อย่างไรก็ตามการทำวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่ายังคงมีการใช้แบบชนิดเดียว โดยวัคซีน C (Ingelvac MycoFLEX) ได้ระบุไว้ว่าสามารถใช้ในขนาด 1 ml. ให้สุกรที่มีอายุมากกว่า 3 สัปดาห์ขึ้นไปเพื่อให้เหมาะสมกับโปรแกรมวัคซีน สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อย่างรวดเร็ว และคงอยู่ยาวนานอย่างน้อย 26 สัปดาห์ (Boehringer Ingelheim Animal Health, 2025)



ภาพที่ 4.21 ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการฉีดวัคซีน Ingelvac MycoFLEX

ที่มา : Boehringer Ingelheim Animal Health (2025)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 ผลการศึกษาโดยวิธี PCR ต่อโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า

จากการทดลองดังกล่าวใช้การตรวจหาดีเอ็นเอของ *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis* ที่ได้จาก Nasal swab ของสุกรที่อายุ 8 ด้วยวิธี Multiplex PCR เพื่อตรวจยืนยันการปลอดเชื้อของฝูงสุกรทดลอง โดยนำดีเอ็นเอที่ได้เพิ่มจำนวนจากปฏิกิริยาลูกโซ่มาตรวจสอบผลผ่านเจลอิเล็กโตรโฟรีซีส โดยเทียบกับเลนส์ M ที่เป็น Marker 100 bp เลนส์ของ Positive control ของเชื้อ *M. hyopneumoniae* ที่แสดงช่วงลำดับ 430 bp เลนส์ของ Positive control ของเชื้อ *M. hyorhinis* ที่แสดงช่วงลำดับ 346 bp และเลนส์ของ Negative control พบว่าที่อายุ 8 สัปดาห์นั้น สุกรทุกตัวในทุกกลุ่มการทดลองมีผลเป็น Negative

4.2.5 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอส

ยุทธพล เทียมสุวรรณ (2558) ได้กล่าวไว้ว่าโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 เป็นโรคที่ก่อให้เกิดกลุ่มอาการ PMWS และ PRDC ซึ่งส่งผลไปยังระบบภูมิคุ้มกัน สุกรที่ติดโรคดังกล่าวจะแสดงอาการเนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองโต มีอาการอักเสบภายใน และมีการเสื่อมตายของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลือง โดยเฉพาะเม็ดเลือดขาวที่ลดลงจำนวนมาก ทั้งชนิด T cell และ B cell ซึ่งเซลล์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญมากในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเมื่อติดเชื้อ นั่นหมายความว่าสุกรที่ติดเชื้อ PCV2 อาจจะมีสภาวะกดภูมิคุ้มกันทำให้ไวต่อการรับเชื้อโรคอื่นได้ง่ายขึ้น จึงจำเป็นที่จะต้องตรวจระดับภูมิคุ้มกันของโรคพีอาร์อาร์เอส เพื่อให้มั่นใจว่าโรคดังกล่าวไม่ได้เข้ามารบกวนระบบภูมิคุ้มกันของสุกรในทุกกลุ่มการทดลอง ทำให้พบว่าสุกรในทุกกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ มีระดับปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ PRRS น้อยกว่า Cut-off point ที่ S/P ratio ≥ 0.50 สุกรจึงมีระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอสเป็น Negative ในทุกกลุ่มการทดลอง ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 การตอบสนองทางภูมิคุ้มต่อโรคพีอาร์อาร์เอส (Mean ± SD)

Time	S/P ratio			
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
4 Weeks	0.067 ± 0.03	0.028 ± 0.01	0.016 ± 0.01	0.076 ± 0.04
6 Weeks	0.037 ± 0.01	0.036 ± 0.01	0.028 ± 0.02	0.045 ± 0.02
8 Weeks	0.023 ± 0.01	0.026 ± 0.01	0.120 ± 0.21	0.028 ± 0.02
12 Weeks	0.046 ± 0.02	0.073 ± 0.07	0.053 ± 0.03	0.033 ± 0.03
16 Weeks	0.046 ± 0.02	0.075 ± 0.06	0.056 ± 0.03	0.047 ± 0.04

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองในครั้งนี้เป็นการใช้วัคซีนสำหรับการป้องกันโรคแบบเฉพาะเจาะจง โดยวัคซีน PCV2 สำหรับการป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 และ วัคซีน *M. hyopneumoniae* สำหรับการป้องกันการติดเชื้อมัยโคพลาสม่า ซึ่งเป็นวัคซีนที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อป้องกันโรคดังกล่าวโดยเฉพาะ แต่ด้วยการระบาดของโรคทั้ง 2 ชนิด มักพบคู่กันภายในฟาร์มเลี้ยงสุกร ปัจจุบันจึงมีการพัฒนาวัคซีนดังกล่าวให้สามารถใช้พร้อมกันหรือร่วมกันได้ ซึ่งมีหลายบริษัททางการค้าได้ออกแบบให้เป็นวัคซีนชนิดรวมในขวดเดียวกันได้รับความนิยม และทำการทดลองอย่างแพร่หลาย

Witvliet *et al*. (2015) ได้ศึกษาประสิทธิภาพและความปลอดภัยของวัคซีนผสม Porcine circovirus และ *M. hyopneumoniae* ในสุกรขุน โดยใช้วัคซีนทางการค้าชื่อว่า Porcilis® PCV M Hyo ทดลองในสุกรอายุ 3 สัปดาห์ พบว่าสุกรที่ได้รับวัคซีนมีระดับภูมิคุ้มกันต่อ PCV2 เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วที่ 2 สัปดาห์หลังได้รับวัคซีน และสามารถคงอยู่ได้นานถึงอายุ 22 สัปดาห์ สำหรับ *M. hyopneumoniae* พบว่ามีการตอบสนองหลังฉีดวัคซีนที่ 4 สัปดาห์ และคงอยู่ได้นานถึงอายุ 21 สัปดาห์ อีกทั้งวัคซีนสามารถลดปริมาณเชื้อ PCV2 ในซีรั่ม เนื้อเยื่อน้ำเหลือง และปอดได้อย่างมีนัยสำคัญ รวมถึงรอยโรคในปอดที่เกิดจากเชื้อ *M. hyopneumoniae* อีกทั้งยังพิสูจน์ได้ว่าความรุนแรงของรอยโรคจาก *M. hyopneumoniae* สามารถกระตุ้นความรุนแรงของไวรัส PCV2 ในเลือดได้ ดังนั้นผลกระทบของการติดเชื้อพร้อมกันนั้นมีผลต่อประสิทธิภาพของสัตว์ และรุนแรงกว่าการติดเชื้อเพียงอย่างเดียว แต่อย่างไรก็ตามการฉีดวัคซีนป้องกันเชื้อก่อโรคชนิดใดชนิดหนึ่งในสองชนิดเพียงอย่างเดียว ไม่ช่วยลดความรุนแรงของการติดเชื้อของเชื้อก่อโรคอีกชนิดหนึ่งได้ ดังนั้นการฉีดวัคซีนป้องกันเชื้อก่อโรคชนิดใดชนิดหนึ่งในสองชนิดเพียงอย่างเดียว ไม่เพียงพอที่จะป้องกันสัตว์จากการติดเชื้อทั้งสองชนิดร่วมกัน ซึ่งเน้นย้ำถึงความจำเป็นและประโยชน์ของวัคซีน PCV2 + *M. hyopneumoniae* ร่วมกัน

Jeong *et al*. (2016) ได้ศึกษาการใช้วัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ร่วมกับวัคซีน *Mycoplasma hyopneumoniae* ชนิดฉีดครั้งเดียวชนิดใหม่ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันและเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโต โดยใช้ผลิตภัณฑ์ทางการค้าชื่อว่า Fostera® Gold PCV MH ในประเทศเกาหลีใต้ โดยมีการคัดเลือกฟาร์มทั้งหมด 3 แห่ง ใช้สุกรอายุ 3 สัปดาห์ ฟาร์มละ 80 ตัว สำหรับการทดลอง พบว่าสุกรกลุ่มที่ได้รับวัคซีนแสดงให้เห็นถึงการลดลงของ PCV2 ในกระแสเลือดลดลง และ *M. hyopneumoniae* จาก Nasal swab การฉีดวัคซีนช่วยลดคะแนนโรคปอด และต่อมน้ำเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในประเทศเกาหลีใต้ ผู้ผลิตสุกรนิยมใช้วัคซีนชนิดสองสายพันธุ์โดสเดียวมากกว่าวัคซีนชนิดเดียวโดสเดียว เนื่องจากช่วยลดต้นทุนแรงงานและลดสภาวะการเครียดที่น้อยลงของสุกร อีกทั้งยังมีการศึกษาตรวจพบแอนติบอดีต่อ PCV2 และ *M. hyopneumoniae* ในสุกรที่อายุได้ 3 สัปดาห์ ซึ่งบ่งชี้ว่าแอนติบอดีที่ตรวจพบเป็นแอนติบอดีที่มาจากแม่ดังนั้น สุกรจึงอาจเผชิญกับการรบกวนจาก Maternal-derived antibodies (MDAs) ที่มีอยู่ในช่วงเวลาที่ฉีดวัคซีน แม้จะมี MDAs อยู่ด้วยก็ตามจะกระตุ้นให้เกิด Neutralizing antibody (NA) และ Interferon gamma spot-forming cells (IFN-g-SC) ที่จำเพาะต่อ PCV2 เหนี่ยวนำภูมิคุ้มกันที่เกิดจากเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และการลดปริมาณไวรัสในซีรั่มและปริมาณมัยโคพลาสมาในสารคัดหลั่งจากจมูก ดังนั้น การรบกวน MDA จึงไปขัดขวางประสิทธิภาพของวัคซีนสองสายพันธุ์ของ PCV2 และ *M. hyopneumoniae* อย่างมีนัยสำคัญ อาจจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อพิจารณาการรบกวนที่อาจเกิดขึ้นจากระดับ MDA ที่สูงต่อ PCV2 และ *M. hyopneumoniae* ที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาของการฉีดวัคซีนเพื่อกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน เป็นต้น

ในปี 2564 สวทช. (Biotec) ได้กล่าวไว้ว่าในแต่ละปีประเทศไทยนำเข้าวัคซีน PCV2 ไม่ต่ำกว่า 590 ล้านบาท โดยที่วัคซีนเซอร์โคไวรัสในสุกรปัจจุบันมีต้นแบบมาจากเซอร์โคไวรัสสายพันธุ์ 2a แต่ในปัจจุบันไวรัสที่ระบาดในพื้นที่ส่วนใหญ่ทั่วโลก รวมถึงประเทศไทยได้มีการกลายพันธุ์ไปถึงสายพันธุ์ 2d ซึ่งมีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากสายพันธุ์วัคซีนที่มีขายในท้องตลาด จึงได้จัดตั้งโครงการ พัฒนาศักยภาพในการผลิตชีวภัณฑ์และวัคซีนสำหรับสัตว์ในประเทศไทยและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ หรือ GCRF เป็นความร่วมมือระหว่างสถาบันวิจัยในสหราชอาณาจักรและประเทศไทย โดยทีมวิจัยไวรัสวิทยาและเซลล์เทคโนโลยี ไบโอเทค เพื่อพัฒนาศักยภาพในการผลิตสารชีวภัณฑ์มูลค่าสูงจากรีคอมบิแนนท์โปรตีน เช่น วัคซีนสำหรับเซอร์โคในสุกรชนิดที่ 2 PCV2d ชนิดใหม่ เพื่อการใช้ประโยชน์ในประเทศไทยและภูมิภาคอาเซียน ต้นแบบของวัคซีน PCV2d ชนิดใหม่ โดยใช้การหมักแบคทีเรียและกระบวนการทำบริสุทธิ์ขั้นตอนเดียว โดยสามารถขยายขนาดได้ถึง 30 ลิตร โดยให้ผลคงที่ทั้งในห้องปฏิบัติการที่อังกฤษและไทย และอยู่ในระหว่างการทดลองประสิทธิภาพในสุกร หลังจากมีผลสามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในสัตว์เล็ก (กระต่ายและหนูทดลอง) ซึ่งตรงนี้อาจเป็นความก้าวหน้าอย่างหนึ่งสำหรับการผลิตวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ภายในประเทศ (พี จารุอำพรพรรณ, 2564)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ผลของการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในสุกร พบว่าสุกรในทุกกลุ่มการทดลองก่อนฉีดวัคซีนส่วนใหญ่ได้รับการถ่ายทอดแอนติบอดีจากแม่ระดับที่สูง (Maternal immunity) เมื่อได้รับวัคซีนที่อายุ 4 สัปดาห์ เกิดการลดลงของระดับแอนติบอดีซึ่งเกิดจากการหักล้างกัน (Neutralizing) ระหว่างแอนติเจนของวัคซีนและแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่

สำหรับการตอบสนองทางภูมิคุ้มต่อเชื้อ PCV2 นั้นส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นจากภาวะที่มีไวรัสอยู่ในกระแสเลือด ที่เรียกว่า Viremia ซึ่งตรวจพบในสุกรกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 4 ตั้งแต่อายุ 6 สัปดาห์ และตรวจพบในสุกรกลุ่มการทดลองที่ 2 ที่อายุ 8 สัปดาห์ ทำให้เห็นว่ามีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 3 ที่ใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต (วัคซีน B) ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า (วัคซีน C) ด้วยการผสมวัคซีนรวมกัน และฉีดให้สุกรปริมาณ 2 ml. ที่ไม่พบการติดเชื้อ PCV2 ตลอดการทดลอง

สำหรับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *M. hyopneumoniae* พบว่าสุกรในทุกกลุ่มการทดลองมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ล่าช้า ซึ่งอาจเป็นเพราะวัคซีนทั้ง 2 ชนิดมีการรบกวนกัน ทำให้ประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าลดลง โดยการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันครั้งแรกหลังจากฉีดวัคซีนนั้น เริ่มตรวจพบที่อายุ 12 สัปดาห์ ในกลุ่มการทดลองที่ 1 และตรวจพบการตอบสนองในกลุ่มอื่นๆ ที่อายุ 16 สัปดาห์ และมีเพียงกลุ่มการทดลองที่ 3 ที่สุกรมีการตอบสนองครบทุกตัว

แต่อย่างไรก็ตามการทำวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าให้ผลต่อการตอบสนองภูมิคุ้มกันได้ไม่ดี หากมีความจำเป็นต้องทำวัคซีนร่วมกันอาจพิจารณาเลือกชนิด และวิธีการทำวัคซีนตามรูปแบบกลุ่มที่ 3 ขึ้นอยู่กับภาวะการระบาดของโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 และโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าของแต่ละฟาร์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

สำหรับการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต ควรพิจารณาเพิ่มกลุ่มการทดลอง ได้แก่ กลุ่มการทดลองที่ใช้วัคซีน A + วัคซีน C แบบแยกชนิดกันฉีดปริมาณ 1 ml. เพื่อสามารถนำผลมาพิจารณาร่วมกันกับการทดลองที่ผ่านมา หรือในปัจจุบันมีบริษัททางการค้าหลายแห่งได้มีการผลิตวัคซีนชนิดรวม (PCV2 + *M. hyopneumoniae*) สำเร็จรูป และกลุ่มควบคุมที่ควรฉีดวัคซีนชนิดเดียว ก็สามารถนำวัคซีนเหล่านี้เข้าร่วมพิจารณาในกลุ่มการทดลองได้ และในการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมในครั้งต่อไปนั้นอาจพิจารณาเก็บตัวอย่างซีรั่มไปถึงอายุ 20-24 สัปดาห์ รวมถึง Nasal swab ควรมีการเก็บควบคู่กันไปในทุกช่วงอายุของการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2562. **การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019.** หน้า 12 กรุงเทพฯ: กระทรวงสาธารณสุข.

กฤษฎากรณ์ พริ้งเพราะ และสมพร เตชะงามสุวรรณ. 2550. วิทยาภูมิคุ้มกันของการติดเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 (PCV2) ในสุกร. **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร.** 5(1): 71-80.

ซีพีเอฟ ฟีด. 2555. **คู่มือการเลี้ยงสุกรของเครือเจริญโภคภัณฑ์.** กรุงเทพฯ:

นภาธร บานชื่น. 2536. **ELISA ทฤษฎีและปฏิบัติ.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: หมอชาวบ้าน.

นิพนธ์ พัวพงศกร อรรณพ คุณาวงษ์กฤต และอุไรรัตน์ จันทรศิริ. 2565. **ข้อเสนอแนวทางการรับมือกับปัญหาการระบาดของโรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกรในประเทศไทย.** [Online]. Available: https://tdri.or.th/2022/02/afs-recommendations-preventioncontrol.

ตวงพร สุทธิพงษ์ชัย. 2542. การสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก การถอดรหัส และการสังเคราะห์โปรตีน. หน้า 7-18 . ใน **เอกสารประกอบการอบรมเรื่อง ดีเอ็นเอเทคโนโลยี ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์.** นครปฐม: มหาวิทยาลัยมหิดล.

พี จารุอำพรพรรณ. 2564. **วัคซีนสำหรับไวรัสเซอร์โคในสุกรชนิดที่ 2 (PCV2).** [Online]. Available: https://www.nstda.or.th/nac/2021/2021/03/17/vaccine05-porcine-circo-virus-pcv2/index.html.

ไพบูลย์ ปิยะบัณฑิตกุล. 2562. **วัคซีนหลากหลายเรื่องน่ารู้**. [Online]. Available: http://www.khonkaenram.com/th/services/healthinformation/healtharticles/vaccine.

ยุทธนา เทียมสุวรรณ. 2558. **เซอร์โคไวรัสในสุกรแรงร้ายลึก.** [Online]. Available: https://www.swinethailand.com/15363955.

รชฎ ตันติเลิศเจริญ วิจิตร เกียรติพัฒนสกุล และรุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช. 2542. รายงานการตรวจพบการติดเชื้อ Circovirus ในสุกรในประเทศไทย. **เวชชสารสัตวแพทย์.** 29(3): 73-83.

รัชนี อัตถิ. 2562. **บทบาทวัคซีนสัตว์ต่อการปศุสัตว์โดย UNION CASTAP.** [Online]. Available: https://www.unioncastap.co.th.

รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช ปิยะ วงศ์ญาณิน อมรรัตน์ ทัศนกิจ และทัดดาว ไทยวงษ์. 2548. **การพัฒนาชุดตรวจสอบ ELISA สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อโรคระบบทางเดินหายใจสุกร.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาพยาธิชีววิทยาทางสัตวแพทย์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วศิน เจริญตัณธนกุล วิลาวรรณ เรือนสิทธิ์ ประภาพร ผาวันดี ณภัทชา อุทิศสาร ปีวรา กันทา และจำรูญ มณีวรรณ. 2560. รายงานเบื้องต้นความชุกของสุกรที่มีแอนติบอดีต่อเชื้อ *Mycoplasma hyopnemoniae* ในเขตอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่. **วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร.** 34(3): 24-30.

วิวัฒน์ ชวนะนิกุล. 2557. **ตัวชี้วัดที่ใช้ในการประเมินประสิทธิภาพการผลิตในฟาร์มสุกรขุน.** [Online]. Available: https://www.vincithai.com/Files/Name2/CONTENT588871df26f5341500b3cf630813238669200475.pdf.

สถาบันวัคซีนแห่งชาติ. 2566. **ประเภทวัคซีนตามการผลิต.** [Online]. Available: http://guruvaccine.com/.

สมาคมผู้เลี้ยงสุกรแห่งชาติ. 2567. **สถานการณ์สินค้าสุกร และแนวโน้มปี 2568.** [Online]. Available: https://www.swinethailand.com/.

สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย. 2563. **แนวทางการปฏิบัติงานทางคลินิกการใช้วัคซีนสำหรับสุกร.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ.

สันนิภา สุรทัตต์. 2561. **วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์ภาคปฏิบัติ.** กรุงเทพฯ: บริษัท โอเมก้า พริ้นติ้ง จำกัด.

สุชีพ รัตรสาร. 2537. การจัดการฟาร์มสุกรพ่อแม่พันธุ์. หน้า 14-93. ใน **การผลิตสุกรเชิงอุตสาหกรรม เล่ม 1.** นครปฐม: ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กำแพงแสน.

สุวรรณา พรหมทอง, (ผู้รวบรวม). 2558. **การทำฟาร์มสุกร รายวิชา AT328.** กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

สุสิชล สิทธินันทน์ พรทิพภา เล็กเจริญสุข และสุนันท์ พินิตเกียรติสกุล. 2557. ประสิทธิภาพของวัคซีน *Mycoplasma hyopneumoniae* ในการควบคุมโรคเอ็นซูติกนิวโมเนีย. หน้า 332-339. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52**. กรุงเทพฯ.

อโณทัย โภคาธิกรณ์. 2549. Introduction to Real time-PCR and its applications. ใน **เอกสารประกอบประชุมเชิงปฏิบัติการ ภาควิชาพยาธิวิทยา.** สงขลา: คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อาวุธ วณิชาติ และไพบูลย์ เจียมเรืองจรัส. 2526. การจัดการสุกรขุน. ใน **The first AHTSO Training course, Swine Session, Animal Health and Technical Service Operation**. กรุงเทพฯ.

Arruda, B., Piñeyro, P., Derscheid, R., Hause, B., Byers, E., Dion, K., Long, D., Sievers, C., Tangen, J., Williams, T. and Schwartz, K. 2019. PCV3-Associated Disease in the United States Swine herd. **Emerging Microbes and Infections.** 8(1): 684-698.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Avrameas, S. 1983. Enzyme Immunoassays and Related Techniques: Development and Limitations. **Current Topics in Microbiology and Immunology.** 104 : 93-99.

Barate, A.K., Lee,H.Y., Jeong, H.W., Truong, L.Q., 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.

Boehringer Ingelheim Animal Health. 2023. **FLEXcombo® Porcine circovirus vaccine type 2, Killed baculovirus vector *Mycoplasma hyopneumoniae* Bacterin.** [Online]. Available: https:// docs.boehringeringelheim.com/AH/FLEXcombo_ Reference_Sheet.

Boehringer Ingelheim Animal Health. 2025. **Ingelvac MycoFLEX® *Mycoplasma hyopneumoniae* Vaccine.** [Online]. Availble: https:// bi-animalhealth.com/ swine/products/flex/ingelvac-mycoflex.

Boixaderas, N.M., Moreno, L.G., Sibila, M. and Segalés, J. 2022. Impact of Maternally Derived Immunity on Immune Responses Elicited by Piglet Early Vaccination Against the Most Common Pathogens Involved in Porcine Respiratory Disease Complex. **Porcine Health Management.** 8: 11.

Caron, J., Ouardani, M. and Dea, S. 2000. Diagnosis and Differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* Infections in Pigs by PCR Amplification of the p36 and p46 Genes. **Journal of Clinical Microbiology 2000.** 38: 1390-1396.

Engvall, E. 1980. Enzyme Immunoassay ELISA and EMIT. **Methods in Enzymology.** 70: 419-439.

Fraile, L., Sibila, M., Nofrarias, M., Jimenez, R., Huerta, E., Llorens, A., Soria, S., Perez, D. and Segales, J. 2012. Effect of Sow and Piglet Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Vaccination on Piglet Mortality, Viraemia, Antibody Titer and Production Parameters. **Veterinary Microbiology.** 28: 161(1-2): 229-34.

Gillespie, J., Opriessnig, T., Meng, X. J., Pelzer, K. and Buechner-Maxwell, V. 2009. Porcine Circovirus Type 2 and Porcine Circovirus-Associated Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine.** 23: 1151-1163.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gilpin, D. F., McCullough, K. and Meehan, B. M. 2003. In Vitro Studies on the Infection and Replication of Porcine Circovirus Type 2 in Cells of the Porcine Immune System. **Veterinary Immunology and Immunopathology.** 94: 149-161.

Harding, J.C. and Clark, E. 1997. Recognizing and Diagnosing Post Weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS). **Journal of Swine Health and Production.** 5: 201–203.

Harms, P.A. 2002. Post Weaning Multisystemic Wasting Syndrome and Porcine Circovirus: A United State Perspective. pp. 291-295. in Morilla, A., Yoon, K. J. and Zimmerman, J. (editors). **Trends in enmerging viral infections of swine.** Iowa State Press.

Jittimanee, S., Na Ayudhya, S.N., Kedkovid, R., Teankum K. and Thanawongnuwech, B. 2011. Genetic Characterization and Phylogenetic Analysis of Porcine Circovirus Type 2 in Thai Pigs with Porcine Circovirus Associated Diseases (PCVAD) during 2007-2010. **Thai Journal of Veterinary Medicine**. 41(2): 163-169.

Jeong, J., Park, C., Choi, K. and Chae, C. 2016. A New Single-Dose Bivalent Vaccine of Porcine Circovirus Type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* Elicits Protective Immunity and Improves Growth Performance under Field Conditions. **Veterinary Microbiology.** 182: 178-186.

Kiatipattanasakul, B.W., Tantilertcharoen, R., Suzuki, K. Albarenque, S. Thanawongnuwech, R., Nakayama, H. and Doi, K. 2002. Detection of Porcine Circovirus 2 (PCV2) DNA by Nested PCR from Formalin-Fixed Tissue of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) Pigs in Thailand. **Journal of Veterinary Medical Science.** 64(5): 449-452.

Krakowka, S., Ellis, J. A., Meehan, B., Kennedy, S., McNeilly, F. and Allan, G. 2000. Viral Wasting Syndrome of Swine: Experimental Reproduction of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome in Gnotobiotic Swine by Coinfection with Porcine Circovirus 2 and Porcine Parvovirus. **Veterinary Pathology.** 37: 254-263.

Larochelle, R., Magar, R. and D'Allaire, S. 2002. Genetic Characterization and Phylogenetic Analysis of Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Strains from Cases Presenting Various Clinical Conditions. **Virus Research.** 90: 101–112.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lin, J.H., Chen, S.P., Yeh, K.S. and Weng, C.N. 2006. *Mycoplasma hyorhinis* in Taiwan: Diagnosis and Isolation of Swine Pneumonia Pathogen. **Veterinary Microbiology**. 115: 111-116.

Liu, J., Chen, I., Du, Q., Chua, H. and Kwang, J. 2006. The ORF3 Protein of Porcine Circovirus Type 2 is Involved in Viral Pathogenesis in Vivo. **Journal of Virology.** 80 : 5065–5073.

Lois Zoppi, B.A. 2021. **What are Neutralizing Antibodies?** [Online]. Available: https://www.news-medical.net/health/What-are-Neutralizing-Anitibodies.aspx.

Maes, D., Segalet, J., Meyns. T., Sibila, M., Pieters, M. and Haesebrouck. 2008. Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* Infection in Pigs. **Veterinary Microbiology.** 26: 297-309.

Mankertz, A., Caliskan, R., Hattermann, K., Hillenbrand, B. and Kurzendoerfer, P. 2004. Molecular Biology of Porcine Circovirus: Analyses of Gene Expression and Viral Replication. **Veterinary Microbiology.** 98: 81–88.

McKeown, N., Opriessnig, E., Thomas, T., Guenette, P. and Elvinger, F. 2005. Effects of Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Maternal Antibodies on Experimental Infection of Piglets with PCV2. **Clinical and Vaccine Immunology.** 12: 1347–1351.

Pogranichniy, R.M., Yoon, K.J., Harms, P.A., Sorden, S.D. and Daniels, M. 2002. Case-Control Study on the Association of Porcine Circovirus Type 2 and Other Swine Viral Pathogens with Post Weaning Multisystemic Wasting Syndrome. **The Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.** 14: 449–456.

Segalés, J. 2011. **The importance of porcine circovirus type 2 (PCV2) subclinical infection.** [Online]. Available: https://www.pig333.com/articles/the-importancie-of-porcine-circovirus-type-2-pcv2-subclinical-infecti_4052/.

Shen, H., Wang, C., Madson, D.M. and Opriessnig, T. 2010. High Prevalence of Porcine Circovirus Viremia in Newborn Piglets in Five Clinically Normal Swine Breeding herds in North America. **Preventive Veterinary Medicine.** 97: 228–236.

Shibahara, T., Sato, K. Ishikawa, Y. and Kadota, K. 2000. Porcine Circovirus Induces B Lymphocyte Depletion in Pigs with Wasting Disease Syndrome. **Journal of Veterinary Medical Science.** 62: 1125-1131.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shlomo, R. 2003. Interaction of Mycoplasmas with Host Cells. **Physiological Review** 83: 417-432.

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.

Suradhat, S., Damrongwatanapokin, S. and Thanawongnuwech, R. 2007. Factors Critical for Successful Vaccination Against Classical Swine Fever in Endemic Areas. **Veterinary Microbiology.** 119: 1-9.

Takahagi, Y., Nishiyama, Y., Toki, S., Yonekita, T., Morima, F. and Murakami, H. 2008 Genotypic Change of Porcine Circovirus Type 2 on Japanese Pig Farms as Revealed by Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis. **Journal of Veterinary Medical Science.** 70(6): 603-606.

Tischer, I., Gelderblom, H., Vettermann, W. and Koch, M. A. 1982. A Very Small Porcine Virus with Circular Single-Stranded DNA. **Nature.** 295: 64-66.

Vargas, C.V., Taylor, L.P., Foss, D.L., Godbee, T.K., Philip, R. and Bandrick, M. 2021. Cellular and Humoral Immunity Following Vaccination with Two Different PCV2 Vaccines (Containing PCV2a or PCV2a/PCV2b) and Challenge with Virulent PCV2d. **Vaccine 39 (2021).** 5616-5625.

Vincent, I.E., Carrasco, C.P., Herrmann, B., Meehan, B.M. and Allan, G.M. 2003. Dendritic Cells Harbour Infectious Porcine Circovirus Type 2 in the Absence of Apparent Cell Modulation or Replication of the Virus. **Journal of Virology.** 77: 13288–13300.

West, K.H., Bystrom, J.M., Wojnarowicz, C., Shantz, N., Jacobson, M., Allan, G.M., Haines, D.M., Clark, E.G., Krakowka, S., McNeilly, F., Konoby, C., Martin, K. and Ellis, J.A. 1999. Myocarditis and Abortion Associated with Intrauterine Infection of Sows with Porcine Circovirus 2. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.** 11: 530-532.

Witvliet, M., Holtslag, H., Nell, T., Segers, R. and Fachinger, V. 2015. Efficacy and Safety of a Combined Porcine Circovirus and *Mycoplasma hyopneumoniae* Vaccine in Finishing Pigs. **Trials in Vaccinology.** 4: 43-49.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yu, S., Opriessnig, T., Kitikoon, P., Nilubol, D., Halbur, P. G. and Thacker, E. 2007. Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Distribution and Replication in Tissues and Immune Cells in Early Infected Pigs. **Veterinary Immunology and Immunopathology.** 15(115): 261-272.

Zent, O., Arras-Reiter, C., Broeker, M. and Hennig, R. 2002. Immediate Allergic Reactions After Vaccinations: A Post-Marketing Surveillance Review. **European Journal of Podiatry.** 161:21-25.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมงานทดลองในฟาร์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ก 1 วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต (IngelvacCircoFLEX; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.; USA)

ภาคผนวกที่ ก 2 วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ชนิดซับยูนิต (PRO-VAC CIRCO-MASTER ONE-SHOT; Komipharm International Co. Ltd.; Korea)

ภาคผนวกที่ ก 3 วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า (IngelvacMycoFLEX; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.; USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ก 4 วัคซีนที่สามารถผสมร่วมกันได้ตามคำแนะนำของผู้ผลิต ได้แก่ Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) และ *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhp)

ภาคผนวกที่ ก 5 สุกรจะถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 7 ตัว อาศัยในคอกขังรวม

ภาคผนวกที่ ก 6 สุกรจะได้รับอาหารสำเร็จรูป และน้ำสะอาดตลอดการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ก 7 ถังอาหาร และอาหารสำเร็จรูป สำหรับเตรียมให้สุกร

ภาคผนวกที่ ก 8 เก็บตัวอย่างเลือดสุกรที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 20 สัปดาห์

ภาคผนวกที่ ก 9 เก็บเยื่อบุโพรงจมูก (Nasal swab) ที่อายุ 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
ขั้นตอนในห้องปฏิบัติการเพื่อวัดระดับภูมิคุ้มกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

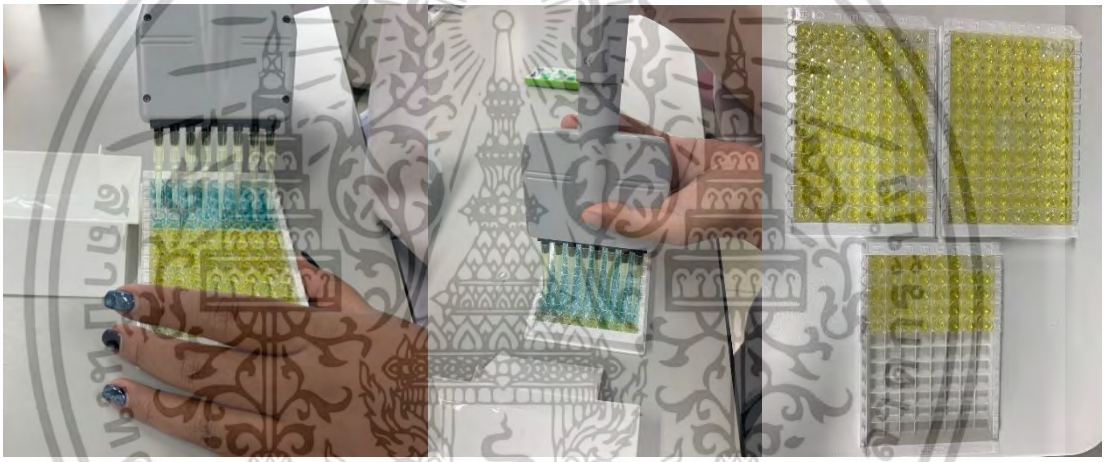
ภาคผนวกที่ ข 1 ชุดตรวจทางการค้า Porcine Circovirus type2 Antibody test kit (SK105; BioChek; UK)

ภาคผนวกที่ ข 2 ชุดตรวจทางการค้า *M. Hyopneumoniae* Antibody test kit (IDEXX; USA)

ภาคผนวกที่ ข 3 ชุดตรวจทางการค้า PRRSV Antibody test kit (Pigtype; Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

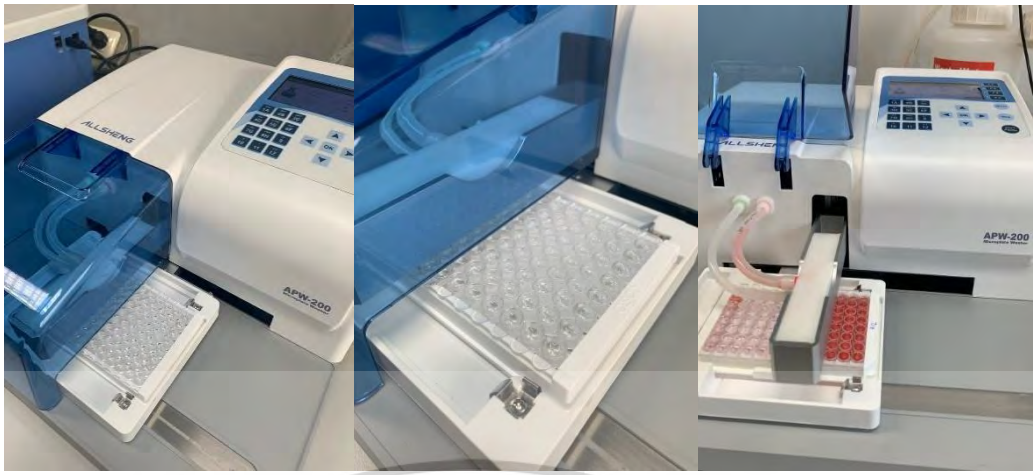
ภาคผนวกที่ ข 4 MagaBio plus Virus DNA/RNA Purification Kit III ชุดที่ BSC86S1E (Bioer; Hangzhou, China)



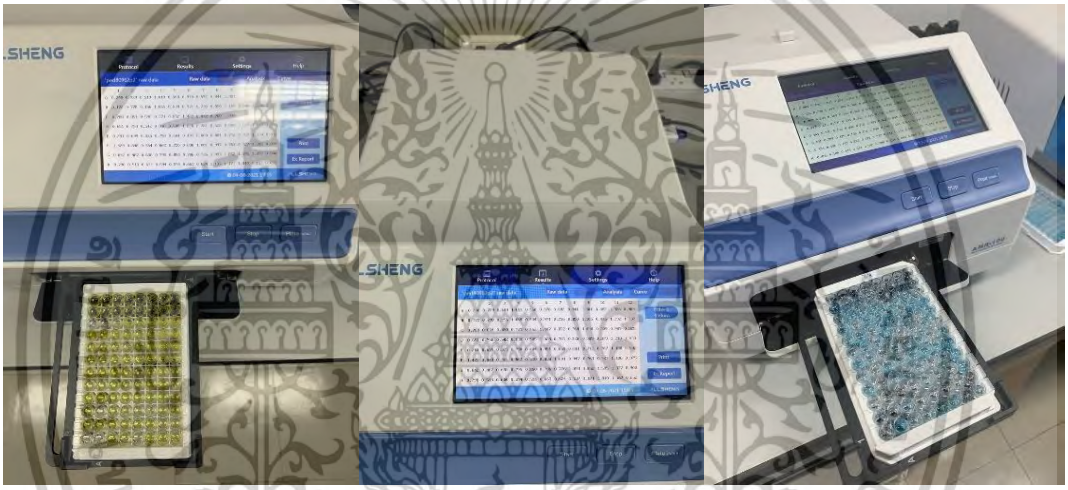
ภาคผนวกที่ ข 5 ขั้นตอนการทำ ELISA เพื่อวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อ PCV2

ภาคผนวกที่ ข 6 ขั้นตอนการทำ ELISA เพื่อวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อ PRRS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ ข 7 ขั้นตอนการล้างด้วย Wash buffer ด้วย Microplate washer

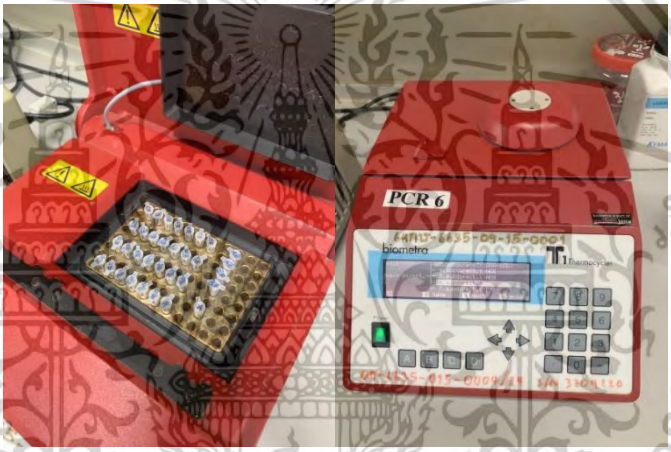


ภาคผนวกที่ ข 8 อ่านผลด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่นตามชุดปฏิบัติการ

ภาคผนวกที่ ข 9 ตัวอย่างเยื่อบุโพรงจมูก (Nasal swab)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ข 10 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) ตัวอย่างซีรั่มเลือดสุกรสัปดาห์ที่ 4, 6, 8, 12 และ 16 และตัวอย่าง Nasal swab สุกรที่สัปดาห์ที่ 8 สัปดาห์



ภาคผนวกที่ ข 11 การวิเคราะห์ Conventional PCR สำหรับตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 และการวิเคราะห์ multiplex PCR PCR สำหรับตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis* ด้วย Thermal cycler

ภาคผนวกที่ ข 12 ขบวนการ Electrophoresis และอ่านค่าถ่ายรูปโดยใช้เครื่อง FluoroBox

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ข้อมูลเพิ่มเติมในผลการทดลอง

ตารางภาคผนวก ค 1 วัดปริมาณ DNA โดยเครื่อง Micro spectrophotometer ของกลุ่มทดลองที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ตัวที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย
T1-4W-01	342.112	394.815	368.464	**T1-12W-01**	292.5	293.536	293.018
T1-4W-02	277.026	277.583	277.305	**T1-12W-02**	285.904	285.306	285.605
T1-4W-03	330.464	331.883	331.174	**T1-12W-03**	319.429	319.603	319.516
T1-4W-04	295.434	362.628	329.031	**T1-12W-04**	321.323	320.667	320.995
T1-4W-05	335.816	337.599	336.708	**T1-12W-05**	331.417	311.295	321.356
T1-4W-06	278.164	341.103	309.634	**T1-12W-06**	241.486	241.958	241.722
T1-4W-07	318.984	321.569	320.277	**T1-12W-07**	298.118	298.706	298.412
T1-6W-01	221.708	221.926	221.817	**T1-16W-01**	278.384	278.132	278.258
T1-6W-02	303.08	343.441	323.261	**T1-16W-02**	247.619	254.921	251.270
T1-6W-03	281.747	278.064	279.906	**T1-16W-03**	228.163	227.115	227.639
T1-6W-04	235.709	232.324	234.017	**T1-16W-04**	270.405	274.143	272.274
T1-6W-05	281.941	278.811	280.376	**T1-16W-05**	239.575	361.31	300.443
T1-6W-06	230.698	231.339	231.019	**T1-16W-06**	223.844	288.83	256.337
T1-6W-07	321.923	322.43	322.177	T1-16W-07	246.453	301.051	273.752
T1-8W-01	291.702	293.401	292.552				
T1-8W-02	295.932	299.188	297.560				
T1-8W-03	405.542	408.133	406.838				
T1-8W-04	257.445	256.081	256.763				
T1-8W-05	354.528	352.699	353.614				
T1-8W-06	167.202	117.047	142.125				
T1-8W-07	295.922	297.299	296.611				

ตารางภาคผนวก ค 2 วัดปริมาณ DNA โดยเครื่อง Micro spectrophotometer ของกลุ่มทดลองที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ตัวที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย
T2-4W-01	336.342	335.034	335.688	**T2-12W-01**	346.473	344.544	345.509
T2-4W-02	306.053	303.502	304.778	**T2-12W-02**	323.257	317.401	320.329
T2-4W-03	266.147	265.101	265.624	**T2-12W-03**	368.943	363.67	366.307
T2-4W-04	301.864	302.024	301.944	**T2-12W-04**	351.35	336.912	344.131
T2-4W-05	115.965	348.63	232.298	**T2-12W-05**	344.996	346.943	345.970
T2-4W-06	337.224	337.896	337.560	**T2-12W-06**	326.219	316.526	321.373
T2-4W-07	347.837	350.901	349.369	**T2-12W-07**	316.526	311.817	314.172
T2-6W-01	307.056	311.709	309.383	**T2-16W-01**	323.15	321.669	322.410
T2-6W-02	298.734	291.935	295.335	**T2-16W-02**	384.387	232.457	308.422
T2-6W-03	326.174	323.749	324.962	**T2-16W-03**	217.898	314.374	266.136
T2-6W-04	303.765	304.722	304.244	**T2-16W-04**	320.991	326.967	323.979
T2-6W-05	301.055	303.136	302.096	**T2-16W-05**	312.568	314.624	313.596
T2-6W-06	257.784	254.546	256.165	**T2-16W-06**	308.161	313.806	310.984
T2-6W-07	373.128	367.4	370.264	**T2-16W-07**	329.233	307.17	318.202
T2-8W-01	294.108	291.874	292.991				
T2-8W-02	326.775	328.099	327.437				
T2-8W-03	334.788	332.512	333.650				
T2-8W-04	326.582	330.973	328.778				
T2-8W-05	308.417	297.811	303.114				
T2-8W-06	306.307	301.165	303.736				
T2-8W-07	272.441	270.674	271.558				

ตารางภาคผนวก ค 3 วัดปริมาณ DNA โดยเครื่อง Micro spectrophotometer ของกลุ่มทดลองที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

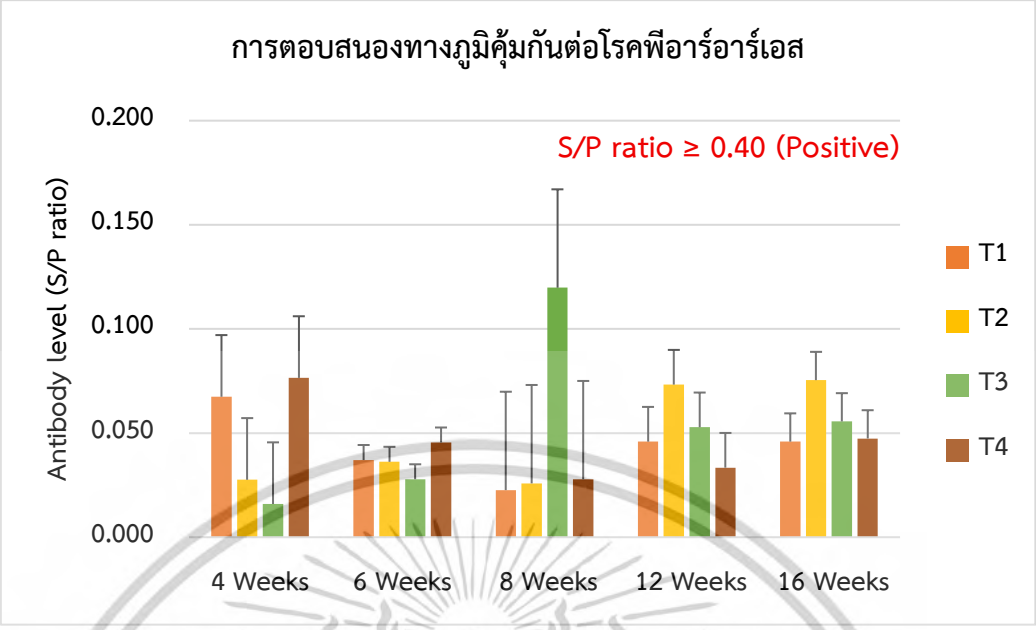
ตัวที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ตัวที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย
T3-4W-01	307.17	319.024	313.097	**T3-12W-01**	357.715	360.474	359.095
T3-4W-02	341.528	344.838	343.183	**T3-12W-02**	329.633	331.704	330.669
T3-4W-03	393.493	391.984	392.739	**T3-12W-03**	347.841	351.327	349.584
T3-4W-04	328.52	328.301	328.411	**T3-12W-04**	346.646	347.653	347.150
T3-4W-05	763.941	749.923	756.932	**T3-12W-05**	348.444	360.425	354.435
T3-4W-06	365.083	357.394	361.239	**T3-12W-06**	339.723	341.49	340.607
T3-4W-07	657.414	652.697	655.056	**T3-12W-07**	286.923	284.309	285.616
T3-6W-01	156.498	152.657	154.578	**T3-16W-01**	392.525	391.446	391.986
T3-6W-02	87.214	77.647	82.431	**T3-16W-02**	330.003	327.864	328.934
T3-6W-03	303.994	299.176	301.585	**T3-16W-03**	313.349	313.701	313.525
T3-6W-04	259.513	259.757	259.635	**T3-16W-04**	385.64	384.307	384.974
T3-6W-05	322.703	323.871	323.287	**T3-16W-05**	294.453	293.738	294.096
T3-6W-06	368.609	364.292	366.451	**T3-16W-06**	391.922	386.126	389.024
T3-6W-07	310.489	308.369	309.429	**T3-16W-07**	387.115	280.049	333.582
T3-8W-01	358.041	356.348	357.195				
T3-8W-02	166.594	155.608	161.101				
T3-8W-03	298.623	298.95	298.787				
T3-8W-04	319.12	319.616	319.368				
T3-8W-05	321.509	319.356	320.433				
T3-8W-06	365.842	356.16	361.001				
T3-8W-07	330.878	333.516	332.197				

ตารางภาคผนวก ค 4 วัดปริมาณ DNA โดยเครื่อง Micro spectrophotometer ของกลุ่มทดลองที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ตัวที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ค่าเฉลี่ย
T4-4W-01	268.054	271.04	269.547	**T4-12W-01**	266.797	264.534	265.666
T4-4W-02	293.188	291.99	292.589	**T4-12W-02**	257.185	255.518	256.352
T4-4W-03	365.000	362.941	363.971	**T4-12W-03**	24.564	23.713	24.139
T4-4W-04	292.196	292.843	292.520	**T4-12W-04**	28.628	28.402	28.515
T4-4W-05	281.685	284.088	282.887	**T4-12W-05**	27.006	27.138	27.072
T4-4W-06	318.836	326.719	322.778	**T4-12W-06**	25.344	26.369	25.857
T4-4W-07	162.938	164.294	163.616	**T4-12W-07**	36.988	37.402	37.195
T4-6W-01	314.173	313.552	313.863	**T4-16W-01**	31.177	31.867	31.522
T4-6W-02	299.131	295.34	297.236	**T4-16W-02**	39.691	38.108	38.900
T4-6W-03	300.881	299.181	300.031	**T4-16W-03**	40.934	41.381	41.158
T4-6W-04	314.320	312.996	313.658	**T4-16W-04**	26.239	27.447	26.843
T4-6W-05	347.722	344.643	346.183	**T4-16W-05**	26.489	27.139	26.814
T4-6W-06	320.973	320.797	320.885	**T4-16W-06**	16.569	16.961	16.765
T4-6W-07	145.439	145.211	145.325	**T4-16W-07**	23.993	24.533	24.263
T4-8W-01	268.167	269.558	268.863				
T4-8W-02	299.379	303.354	301.367				
T4-8W-03	285.167	282.794	283.981				
T4-8W-04	340.143	339.09	339.617				
T4-8W-05	324.232	321.506	322.869				
T4-8W-06	288.933	284.677	286.805				
T4-8W-07	278.619	275.693	277.156				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ ค 1 ระดับภูมิคุ้มกันเฉลี่ยในสุกรต่อโรคพีอาร์อาร์เอส ที่อายุ 4, 6, 8, 12 และ 16 สัปดาห์ โดย T1-ACMix = กลุ่มการทดลองที่ 1 (Ingelvac CircoFLEX ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด), T2-BCSeparate = กลุ่มการทดลองที่ 2 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบแยกฉีด), T3-BCMix = กลุ่มการทดลองที่ 3 (PRO-VAC CIRCOMASTER ONE-SHOT ร่วมกับ Ingelvac MycoFLEX แบบผสมก่อนฉีด) และ T4-PBS = กลุ่มการทดลองที่ 4 (PBS)

ตารางภาคผนวก ค 5 เปอร์เซ็นต์ของระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นต่อโรคพีอาร์อาร์เอส (%Mean)

Time	% Immunity growth			
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
4 Weeks	0.00	0.00	0.00	0.00
6 Weeks	-17.27	77.18	114.75	-28.65
8 Weeks	-55.86	17.09	533.45	-60.02
12 Weeks	-6.79	348.17	258.82	-59.94
16 Weeks	-13.44	331.84	354.59	-30.66

หมายเหตุ กำหนดให้ที่อายุ 4 สัปดาห์ คิดเป็น 0% และสัปดาห์อื่นๆคิด % เพิ่มขึ้นหรือลดลงโดยเทียบกับอายุ 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวณัฏฐณิชา ทองสุกใส
วัน เดือน ปีเกิด	12 มีนาคม 2541
ที่อยู่	12 หมู่ 1 ตำบลกะเปอร์ อำเภอกะเปอร์ จังหวัดระนอง 85120
ประวัติการศึกษา	- 2559 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนบรมราชินีนาถราชวิทยาลัย - 2562 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง - 2568 หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	ณัฏฐณิชา ทองสุกใส จำลอง มิตรชาวไทย อำพล กล่อมปัญญา สวรรยา-อำพนพิศลย์ มณีรัตน์ แผ้วปราบเสี้ยน และชนาธิป ธรรมการ “ผลของการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสไทป์ 2 ร่วมกับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่า ต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในสุกร.” **การประชุมวิชาการระดับชาติ IAMBEST ครั้งที่ 10. Vol.1** : 32-40. (ได้รับรางวัลการนำเสนอผลงานวิจัยภาคบรรยายยอดเยี่ยมด้านเกษตร-ศาสตร์ และวิทยาศาสตร์ ในงาน IAMBEST 2025)
ประวัติการทำงาน	- ปัจจุบันดำรงตำแหน่ง แผนกวิจัยและสนับสนุนวิชาการ บริษัท ยูเนียน อกรีฟาร์ จำกัด พ.ศ. 2566 - ปัจจุบัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้