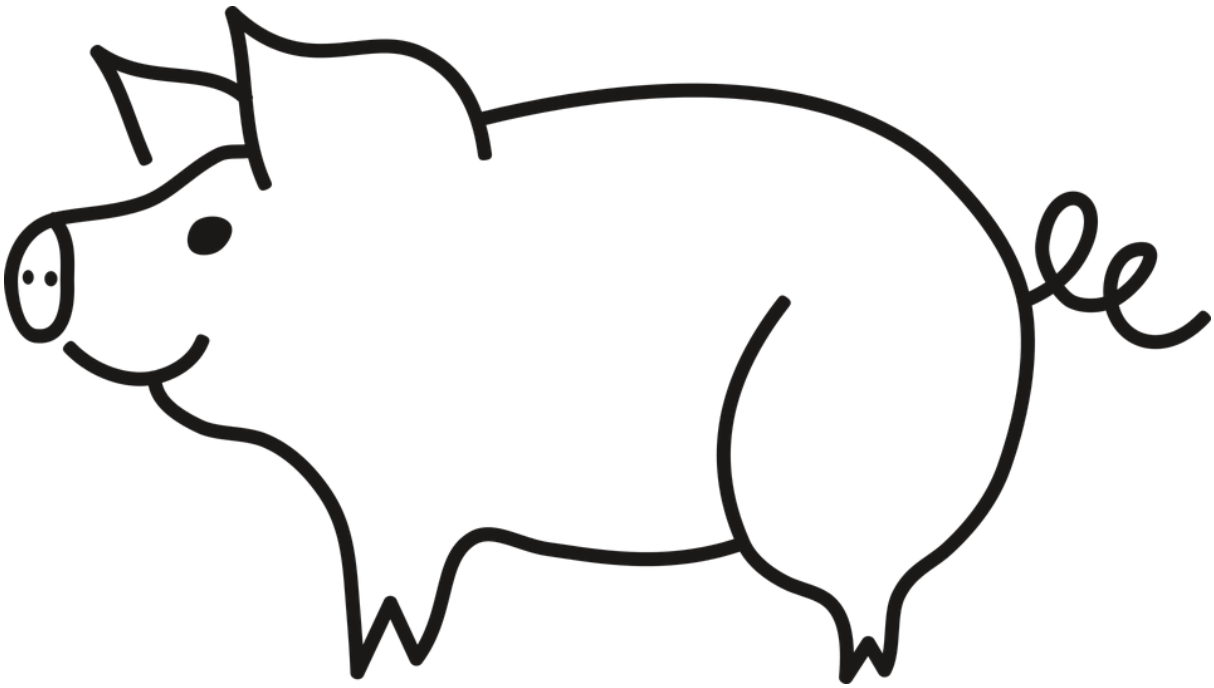
การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรในประเทศไทย

ฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรในประเทศไทย



ฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน
สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ชื่อหนังสือ การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรในประเทศไทย

ชื่อผู้แต่ง ฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน

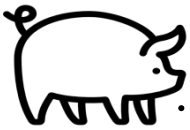
ปีที่พิมพ์ 2566

ครั้งที่พิมพ์ 1

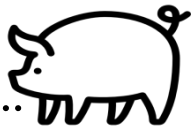
จัดทำโดย ฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน

สงวนลิขสิทธิ์

ISBN 978-616-604-690-8



คำนำ

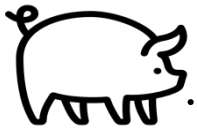


โรคอหิวาต์สุกร (Classical swine fever; Hog cholera) เกิดจากเชื้อไวรัส ตระกูล Flaviviridae สกุล Pestivirus เป็นโรคระบาดตามมาตรา 4 พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2558 มีความสำคัญต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงสุกรเป็นอย่างมาก เนื่องจากโรคนี้ทำความเสียหายแก่สุกรทุกอายุที่ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อโรค เมื่อสุกรป่วยมีอัตราการตายเกือบ 100% ไม่สามารถรักษาได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสุกรที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร โรคนี้เป็นเฉพาะสุกร โดยสุกรที่ป่วยแสดงอาการไข้สูง มีจุดเลือดออก หรือเป็นปื้น เป็นผื่นแดงทั่วร่างกาย ทั้งที่ผิวหนัง เยื่อบุต่างๆ และอวัยวะภายใน ในระยะท้ายๆ มีอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง มีปอดบวมและมีอาการทางประสาทร่วมด้วย มักพบโรคอื่นมาแทรกซ้อนเสมอ สุกรที่เป็นโรคอาจแสดงอาการป่วยและรอยโรคที่แตกต่างกันตามความรุนแรงของเชื้อและตามความต้านทาน สุกรที่ป่วยแบบไม่แสดงอาการเด่นชัด จะเป็นต้นเหตุแพร่โรคเมื่อนำไปรวมฝูงใหม่ เนื่องจากโรคนี้เกิดจากเชื้อไวรัสไม่มียารักษาโดยตรง เมื่อสงสัยว่าสุกรเป็นโรคต้องได้รับการวินิจฉัยโรคที่รวดเร็วและแม่นยำ เพื่อป้องกันไม่ให้โรคเกิดการแพร่กระจาย การจัดการทางสุขาภิบาลที่ดีจะช่วยป้องกันโอกาสติดโรคเข้าฟาร์ม และสามารถป้องกันโรคได้ด้วยการฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรตามโปรแกรมอย่างถูกต้อง โดยต้องฉีดให้กับสุกรที่มีอายุเหมาะสมและมีสุขภาพแข็งแรงสมบูรณ์ วัคซีนจึงเป็นเครื่องมือสำคัญในการสร้างภูมิคุ้มกัน และป้องกันการสูญเสียจากการเกิดโรค

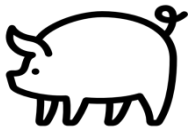
สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ เริ่มผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรตั้งแต่ พ.ศ. 2493 ซึ่งเป็นปีเดียวกันกับการพบการระบาดครั้งแรกของโรคอหิวาต์สุกรในประเทศไทย ตลอดระยะเวลา 70 ปีที่ผ่านมา สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ได้ผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรเพื่อป้องกันโรค รวม 3 ชนิด ได้แก่ ชนิดแรกเป็นวัคซีนเชื้อตาย ซึ่งให้ความคุ้มโรคต่ำ ผลิตนาน 3 ปี จึงหยุดผลิต แล้วเปลี่ยนเป็นชนิดที่สอง คือ วัคซีนเชื้อเป็นชนิดผ่านกระต่าย สเตรน SFA ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสวัคซีนที่ค่อนข้างรุนแรงและพบอาการแพ้วัคซีนในสุกรบางตัว จึงใช้เชื้อไวรัสวัคซีนชนิดนี้ผลิตอยู่กว่า 20 ปี จึงเปลี่ยนเป็นชนิดที่สาม คือ วัคซีนเชื้อเป็นผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า ซึ่งเริ่มผลิตออกจำหน่ายเมื่อปี พ.ศ. 2520 เป็นวัคซีนที่มีความปลอดภัยและให้ความคุ้มโรคสูง จึงผลิตวัคซีนชนิดนี้ต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน เป็นระยะเวลากว่า 40 ปี ในขณะเดียวกันก็มีการศึกษา วิจัย เพื่อนำผลการศึกษามาปรับปรุงวิธีการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร และได้ข้อมูลความรู้ที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งศึกษาวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดใหม่ที่เป็นวัคซีนชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง เพื่อรองรับการเปลี่ยนแปลงในอนาคต

ผู้เขียนจึงมีแนวคิดจัดทำหนังสือฉบับนี้ขึ้น โดยรวบรวมและเรียบเรียงองค์ความรู้ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับโรคอหิวาต์สุกร การผลิตวัคซีน การทดสอบคุณภาพวัคซีน การวิจัยและการพัฒนาวัคซีนอหิวาต์สุกร รวมทั้งการใช้วัคซีนอหิวาต์สุกรในการป้องกันและควบคุมโรค เพื่อเป็นประโยชน์ต่อนักวิชาการ บุคลากร เกษตรกร และผู้สนใจ สามารถใช้เป็นข้อมูลในการอ้างอิงหรือนำไปเป็นคู่มือในการปฏิบัติงานต่อไป

ฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน
กันยายน 2566



สารบัญ



		หน้า
บทที่ 1	โรคอหิวาต์สุกร	1
	• สาเหตุ	2
	• การติดต่อของโรค	5
	• ระบาดวิทยา	5
	• อาการ	6
	• พยาธิกำเนิด	10
	• วิการ	12
	• การวินิจฉัยโรค	16
	• การรักษาและการควบคุมโรค	21
	• การป้องกันโรค	21
บทที่ 2	การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร	23
	• การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรในอดีตถึงปัจจุบัน	24
	• การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรในอนาคต	36
บทที่ 3	การทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกร	39
	• การทดสอบคุณภาพวัคซีนในห้องปฏิบัติการ	40
	• การทดสอบคุณภาพวัคซีนในสัตว์ทดลอง	46
บทที่ 4	การวิจัยและพัฒนาวัคซีนอหิวาต์สุกร	49
บทที่ 5	การใช้วัคซีนอหิวาต์สุกรในการป้องกันและควบคุมโรค	65
บทที่ 6	ปัจจัยที่มีผลในการทำวัคซีน	69
เอกสารอ้างอิง		76
ภาคผนวก		83
Abbreviations		90

บทที่ 1
โรคอหิวาต์สุกร

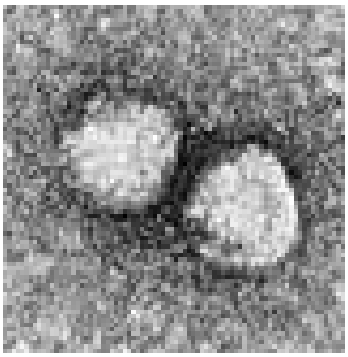
บทที่ 1
โรคอหิวาต์สุกร

โรคอหิวาต์สุกร (Classical swine fever; Hog cholera) จัดเป็นโรคติดต่อร้ายแรงที่สำคัญในสุกร และเป็นโรคระบาดตามมาตรา 4 พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2558 (พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์, 2558) ถือเป็นโรคระบาดที่ทุกคนให้ความสำคัญอยู่ในอันดับต้นๆ ของโรคสุกร เนื่องจากเป็นโรคที่ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจแก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรเป็นอย่างมาก เป็นโรคที่สามารถแพร่ระบาดได้ง่าย รวดเร็ว และทำให้เกิดโรคได้ในสุกรทุกสายพันธุ์และทุกกลุ่มอายุ ซึ่งการติดเชื้อของโรคนี้อาจเกิดได้ทั้งแบบรุนแรง แอบแฝง และเรื้อรัง ซึ่งทำให้ยากต่อการวินิจฉัย เพราะอาจแสดงอาการไม่เด่นชัด หรืออาจเกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนจากจุลชีพฉวยโอกาสชนิดอื่นๆ ลักษณะของอาการที่พบจะขึ้นกับความรุนแรงของไวรัส อายุ และระดับภูมิคุ้มกันของสุกร การวินิจฉัยโรคเบื้องต้นมักทำโดยการสังเกตอาการและรอยโรค ซึ่งอาจทำให้สับสนกับโรคอื่นได้ เนื่องจากอาการที่พบดังกล่าว อาจเกิดจากการติดเชื้อแทรกซ้อนจากจุลชีพกลุ่มอื่น หรือจากการติดเชื้อจุลชีพอื่นที่มีอาการหรือให้รอยโรคคล้ายคลึงกัน ดังนั้นการตรวจหาสาเหตุของโรคจึงมักอาศัยวิธีทางห้องปฏิบัติการในการวินิจฉัย ซึ่งมักใช้การตรวจหาแอนติเจนของไวรัสโดยตรง หรือการเพาะแยกไวรัสโดยเพิ่มจำนวนในเซลล์เพาะเลี้ยงที่เหมาะสม หรือการตรวจหาระดับของแอนติบอดีต่อโรคอหิวาต์สุกรจากสิ่งส่งตรวจนั้นๆ โรคนี้พบการระบาดครั้งแรก เมื่อปีพ.ศ. 2353 ในมลรัฐเทนเนสซี ประเทศสหรัฐอเมริกา (Moennig et al., 2013) สำหรับในประเทศไทยนั้นพบรายงานการระบาดครั้งแรกในปีพ.ศ. 2493 ถึงแม้จะมีการค้นพบโรคนี้มาเป็นเวลานานกว่า 200 ปีแล้ว แต่ประเทศส่วนใหญ่ก็ยังไม่สามารถกำจัดโรคนี้ออกไปได้ ยกเว้นประเทศออสเตรเลีย เบลเยี่ยม แคนาดา อังกฤษ นิวซีแลนด์ ประเทศในแถบสแกนดิเนเวียและประเทศสหรัฐอเมริกา

1.1 สาเหตุ

โรคอหิวาต์สุกรเกิดจากการติดเชื้อไวรัสใน Genus Pestivirus ซึ่งอยู่ใน Family Flaviviridae สำหรับ Pestivirus นี้มีสมาชิกอยู่ 3 สปีชีส์ (species) แบ่งตามชนิดของสัตว์ที่เป็นโฮสต์ของโรคนั่นคือ เชื้ออหิวาต์สุกร (Classical Swine Fever Virus; CSFV), Bovine Viral Diarhea Virus (BVDV) ซึ่งเป็นโรคท้องเสียในโคและ Border Disease Virus (BDV) เป็นโรคข้ออักเสบในแกะ (Moennig, 2000) เชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดมีคุณสมบัติทางด้าน antigenic ใกล้เคียงกัน เชื้อไวรัสมีขนาด 40-50 นาโนเมตร และมี nucleocapsid ขนาด 29$\pm$3 นาโนเมตร มีรูปร่างทรงกลม Pestivirus เป็นไวรัสที่มีลักษณะของอนุภาคเป็นทรงกลมที่มีเปลือกหรือ envelope บางๆ ห่อหุ้ม ที่ผิวของ virion[1] จะมีส่วนที่ยื่นออกมาคล้ายขนยาว 6-8 นาโนเมตร (Terpstra and Wensvoort, 1988; Vannier and Carnero, 1985; Wensvoort and Terpstra, 1988) (ภาพที่ 1)

[1] อนุภาคไวรัสซึ่งโตเต็มที่แล้วและสามารถ infect เซลสัตว์มีกระดูกสันหลังได้ ในกรณีของ enveloped viruses นั้น virion จะประกอบด้วย nucleocapsid และ envelop



ภาพที่ 1 เชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร (Classical Swine Fever Virus)

เชื้ออหิวาต์สุกรมีรหัสพันธุกรรมเป็น RNA ไวรัส ซึ่งมีสายเดี่ยว (single stranded RNA) มีความยาว 12.3 กิโลเบส (kilobase) และเป็นสายบวก (positive strand) (Moennig and Plagemann, 1992) ปัจจุบันเราทราบถึงลำดับเบสของเชื้อนี้อย่างสมบูรณ์แล้วโดยพบว่ามี Open Reading Frame (ORF)[2] เพียงหนึ่งเดียว โปรตีนขนาดประมาณ 3,900 กรดอะมิโนจะถูกสร้างจาก ORF นี้จากนั้นจะถูกตัดออกเป็นส่วนๆ โดย protease ซึ่งสร้างจากทั้งเซลล์ของโฮสต์และเซลล์ของไวรัสได้โปรตีนประมาณ 11 ถึง 12 ชนิด (ภาพที่ 2) เพื่อที่จะนำโปรตีนเหล่านั้นมาประกอบกันเป็นไวรัสที่ปลายทั้งสองด้านของ ORF จะมีเบสซึ่งไม่ถูกแปลรหัสเป็นโปรตีนอยู่โดยที่ทางด้านปลาย 5’ มีขนาด 400 นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ซึ่งเราเรียกว่า 5’ noncoding region และที่ปลายทางด้าน 3’ มีขนาด 200 นิวคลีโอไทด์ซึ่งเราเรียกว่า 3’noncoding region สำหรับลำดับของโปรตีน ซึ่งถูกแปลรหัสบน ORF นั้นมีดังภาพที่ 2 หน้าที่ของโปรตีนแต่ละตัวนั้นได้ถูกอธิบายไว้แล้วโดย Meyers and Thiel (1996)

ไกลโคโปรตีน E0 (glycoprotein E0) ซึ่งแต่เดิมเรียกว่า Erns เป็น envelope โปรตีนซึ่งอยู่ที่ผิวของ virion ในรูปของ homodimer[3] นอกจากนี้ยังถูกขับออกมาจากเซลล์ได้ด้วย E0 มีคุณสมบัติเป็น ribonuclease ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่เฉพาะตัวมากในบรรดาไวรัส ส่วนหน้าที่ของมันนั้นยังไม่ชัดเจนนัก โปรตีนตัวต่อมาคือ โปรตีน E1 หรือที่รู้จักในชื่อเดิมว่า gp33 ซึ่งจะอยู่บน envelope ของไวรัสในรูปของ E1-E2 heterodimer[4] สำหรับ E2 หรือที่รู้กันในชื่อเดิมว่า gp55 เป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการสร้างภูมิคุ้มกันได้ดีที่สุด นอกจากจะพบในรูปของ E1-E2 heterodimer แล้วยัง พบได้ในรูปของ E2 homodimer อีกด้วย ต่อมาเป็นโปรตีน p7 ซึ่งคาดว่าไม่ประกอบเป็นส่วนของ virion สำหรับโปรตีนที่เหลือถัดมาทาง C-terminal ของ ORF นั้นจะถูกถอดรหัสเป็น nonstructural protein ทั้งสิ้น

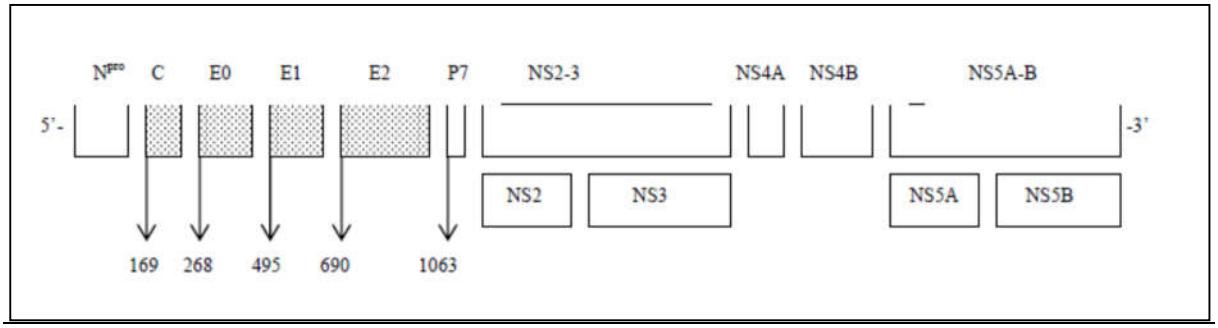
จากการวิเคราะห์ลำดับเบสของเชื้ออหิวาต์สุกรบริเวณ 5’noncoding region บริเวณ N-terminal ของ E2 และ บริเวณ NS5B พบว่าสามารถแยกเชื้อไวรัสนี้ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ภายในกลุ่มใหญ่ๆ นี้พบว่ามีความแตกต่างของแอนติเจน (antigenic variation) อยู่มาก แม้แต่เชื้อสายพันธุ์เดียวกันบางครั้งยังพบความแตกต่างของแอนติเจนได้ ส่วนใหญ่แล้วความแตกต่างของแอนติเจนดังกล่าวมักจะพบอยู่ในบริเวณ N-terminal ของ E2 และ E1

---

[2] ช่วงของสาย DNA ซึ่งสามารถถูกถอดรหัสออกมาเป็นกรดอะมิโน (amino acid) ได้

[3] การจับกันของสายโพลีเปปไตด์ (Polypeptide) ซึ่งเหมือนกัน

[4] การจับกันของสายโพลีเปปไตด์คนละชนิดกัน



ภาพที่ 2 การจัดตัวของจีโนมของ pestivirus ในกรอบซึ่งเป็นจุดแสดง structural proteins ในกรอบ ซึ่งไม่มีจุดแสดงถึง nonstructural protein ตัวเลขด้านล่างแสดงถึงตำแหน่งของโปรตีนโดยแสดงจากปลายทางด้าน N-terminal ตัวหนังสือแสดงชื่อของโปรตีน (ดัดแปลง จาก: Meyer and Thiel 1996)

ปัจจุบันพบความแตกต่างทั้งในด้านของแอนติเจนและทาง genetic ระหว่างเชื้ออหิวาต์สุกรกับ BVDV และ BDV ความแตกต่างดังกล่าวมักพบในส่วนของโปรตีน E2 เนื่องจาก mAb ส่วน ใหญ่ที่ใช้แยกเชื้ออหิวาต์สุกรออกจาก BVDV และ BDV นั้นจะจับโดยตรงที่บริเวณโปรตีน E2 อย่างไรก็ตามเชื้ออหิวาต์สุกรยังมีส่วนที่มีความเหมือนกับ pestivirus อื่นๆ เช่นกัน ดังจะเห็นได้จากการเกิด cross-reactions ในการทำ immunodiffusion, immunofluorescence หรือแม้แต่ในการทำ neutralization test ก็สามารถพบได้แอนติบอดี (antibody) ซึ่งได้จากเชื้ออหิวาต์สุกรบางสายพันธุ์ยังสามารถ neutralized BVDV ได้แอนติเจนส่วนที่เหมือนกันของ pestivirus นั้นมักจะ พบอยู่ในบริเวณ nonstructural protein NS2-3 ในระดับของกรดอะมิโนแล้วพบว่าเชื้ออหิวาต์สุกร จะเหมือนกับ BVDV ประมาณ 70% (Meyer et al., 1992)

ความทนทานของเชื้ออหิวาต์สุกรขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ทั้งสภาวะของสภาพแวดล้อม สายพันธุ์ของเชื้อ สิ่งที่เชื้ออาศัยอยู่ในขณะนั้น เช่น น้ำลาย น้ำมูก หรืออุจจาระ เป็นต้น พบว่าอุณหภูมิยิ่งสูงเท่าไรยิ่งทำลายเชื้อได้ดีและเร็วเท่านั้น เชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในช่วง pH ที่กว้างคือ อยู่ระหว่าง pH 5-10 เชื้อไวรัสอาจจะสามารถคงความสามารถในการติดเชื้อได้ 2-3 วัน แต่ในอุจจาระเหลวของสุกรเชื้อสามารถคงความสามารถในการติดเชื้อได้นาน 2 อาทิตย์ที่อุณหภูมิ 20°C และได้นานขึ้นที่ 4°C ในส่วนของเนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสุกรนั้นเชื้อจะสามารถคงอยู่ได้นานเป็นเดือนๆ เช่น อยู่ได้นานในเนื้อสุกรแช่เย็น 85 วัน ในเนื้อรมควัน 17-18 วัน ในของเสียจากฟาร์มสุกรที่อุณหภูมิ 4-17°C อยู่ได้นาน 10 สัปดาห์ (Edwards, 2000; Farez and Morley, 1997; Wijnker et al., 2008)

เปลือกที่ห่อหุ้มเชื้อไวรัสถูกทำลายได้ง่ายด้วยสารเคมี เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ และสารละลายไขมัน ทนต่อความเป็นกรดและด่างระหว่างค่า pH 5-10 เชื้อจะถูกทำลายได้ง่ายและรวดเร็วด้วยความร้อน และแสงอุลตราไวโอเลต การเน่าสลายตัวของซากสัตว์ เชื้อไวรัสจะถูกทำลายไปด้วย และที่ความร้อน 60°C สามารถทำลายเชื้อไวรัสในของเสียจากฟาร์มสุกรได้ภายในเวลา 3 นาที ยาฆ่าเชื้อที่ควรใช้ทำลายได้แก่ 2%NaOH, 2%cresal, และ 5%phenol เป็นต้น (Turner et al., 2000)

สำหรับในประเทศไทยนั้นข้อมูลเกี่ยวกับการคงความสามารถในการติดเชื้อเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมนั้นยังคงมีน้อย น่าที่จะได้มีการหาองค์ความรู้ต่างๆ เหล่านี้ขึ้นมา เนื่องจากสิ่งแวดล้อมในเมืองไทยนั้นต่างจากในยุโรปซึ่งเป็นที่มาของข้อมูลมากพอสมควร

1.2 การติดต่อของโรค

โรคอหิวาต์สุกรเป็นโรคระบาดร้ายแรงและทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจแก่ผู้เลี้ยงสุกรอย่างมาก เนื่องจากการติดเชื้อของโรคนี้อาจเกิดได้ทั้งแบบรุนแรง แอบแฝง และเรื้อรัง ซึ่งทำให้ยากต่อการวินิจฉัย เพราะอาจแสดงอาการไม่เด่นชัด หรืออาจเกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนจากจุลชีพฉวยโอกาสชนิดอื่นๆ ลักษณะของอาการที่พบจะขึ้นกับความรุนแรงของไวรัส อายุ และระดับภูมิคุ้มกันของสุกร พบว่าเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรในแม่สุกรสามารถติดต่อผ่านรก ทำให้เกิดการติดเชื้อในลูกอ่อนได้ ทำให้มีความสูญเสียอย่างมาก นอกจากนี้เชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรยังสามารถติดต่อได้ง่ายทั้งทางการสัมผัสสารคัดหลั่งโดยตรงและทางอ้อม ทั้งนี้พบว่าการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรนี้น่าจะมีสาเหตุหลักมาจากการนำเข้าสุกรที่ติดเชื้อเข้ามาในฝูง และการที่มีจำนวนสุกรในฟาร์มหนาแน่นเกินไป รวมทั้งระบบการจัดการของฟาร์มที่ไม่มีประสิทธิภาพดีพอก็จะช่วยส่งเสริมให้การแพร่กระจายของโรคเป็นไปอย่างรวดเร็วขึ้นด้วย ดังนั้นจึงควรมีการตรวจสอบ ติดตาม และเฝ้าระวังโรคให้มีประสิทธิภาพมากกว่าเดิม (Greiser-Wilke et al., 2000)

การระบาดของโรคอหิวาต์สุกรในช่วงที่ผ่านมา อาจมีสาเหตุจากความล้มเหลวของการใช้วัคซีน การจัดการที่ไม่เหมาะสม เช่น ปัจจัยเสี่ยงเนื่องจากขนาดของฟาร์ม พบว่าฟาร์มสุกรขนาดใหญ่มักมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคและการแพร่กระจายโรคอหิวาต์สุกรมากกว่าฟาร์มที่มีขนาดเล็ก ส่วนความหนาแน่นของสุกรในฟาร์ม อาจทำให้สัตว์มีความเครียดและมีโอกาสสัมผัสกันมากขึ้น ทำให้โรคแพร่กระจายไปได้อย่างรวดเร็ว พบว่าการสัมผัสกันโดยตรง (Direct contact) ทำให้เกิดการติดเชื้อในกลุ่มลูกสุกรหย่านมในจำนวนที่สูงมาก ส่วนการติดต่อผ่านทางอากาศ (Aerogenic transmission) จะเกิดขึ้นเมื่อลูกสุกรติดเชื้ออยู่ในสภาวะที่มีการติดเชื้อในระบบเลือด นอกจากนั้นการจัดการฟาร์มเลี้ยงสุกรแบบต่อเนื่อง (Continuous production system) มักเสี่ยงต่อการเกิดโรคอหิวาต์สุกรมากกว่าฟาร์มที่มีระบบการเลี้ยงแบบเข้าออกพร้อมกันทุกชุด (All-in/All-out production system) เนื่องจากมีการปะปนของลูกสุกรหลายช่วงอายุ สุกรที่มีอายุมากมักเป็นแหล่งแพร่กระจายเชื้อให้กับสุกรที่มีอายุน้อย นอกจากนี้ยังพบว่ามีการระบาดของโรคอหิวาต์สุกรในฝูงสุกรพันธุ์มากกว่าฝูงสุกรขุน การแพร่กระจายของเชื้อจากโรงเรือนหนึ่งไปยังอีกโรงเรือนหนึ่งหรือจากฟาร์มหนึ่งไปยังอีกฟาร์มหนึ่ง อาจเกิดขึ้นจากการปนเปื้อนของเชื้อไปกับเครื่องมืออุปกรณ์ บุคลากรที่ทำงานภายในฟาร์ม หรือแม้แต่สัตวแพทย์ นอกจากนี้สัตว์เลี้ยง นก หรือแมลงต่างๆ เช่น แมลงวันบ้าน แมลงวันคอก หรือยุง ก็อาจมีส่วนในการนำโรคแบบ Mechanical Transmission ได้ (Terpstra, 1987; Van Oirschot, 1999; Weesendorp et al., 2008; 2009)

1.3 ระบาดวิทยา

จากผลการศึกษาย้อนหลัง พบว่าโรคอหิวาต์สุกรเริ่มมีในประเทศไทยตั้งแต่ก่อนสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ซึ่งคาดว่าเกิดจากการนำเข้าสุกรจากต่างประเทศ แต่เนื่องจากการคมนาคมยังไม่สะดวก ทำให้การแพร่กระจายของโรคอยู่ในบริเวณจำกัด จนกระทั่งประมาณปีพ.ศ. 2493 พบการแพร่ระบาดของโรคอย่างมากในภาคกลาง เนื่องจากมีการเลี้ยงสุกรหนาแน่นมากขึ้นและเริ่มมีการแยกตัวอย่าง CSFV จากตัวอย่างสุกรที่ป่วยเป็นโรคได้ จึงเริ่มให้ความสนใจโรคอหิวาต์สุกรมากขึ้น ประกอบกับในระยะหลังคือช่วงปีพ.ศ. 2531-2534 ซึ่งพบการกระจายของโรคมากขึ้น และมีการแพร่ไปยังบริเวณตอนเหนือของประเทศไทยอีกด้วย เนื่องจากมีการซื้อขายสุกรที่ติดเชื้อจากภาคกลางไปยังภาคเหนือ (สละ, 2529)

สุกรเป็นโฮสต์ตามธรรมชาติเพียงชนิดเดียวและเป็นแหล่งแพร่กระจายโรคที่สำคัญ การสัมผัสเชื้อโดยตรงระหว่างสุกรที่ป่วยและสุกรปกติเป็นทางแพร่โรคที่พบเห็นได้บ่อยที่สุด สุกรที่ป่วยอาจจะขับเชื้อได้ตลอดระยะของการเป็นโรค เราจะสามารถพบเชื้ออหิวาต์สุกรได้จากสิ่งขับถ่ายจากร่างกายสุกร ได้แก่ น้ำลาย

น้ำตา น้ำมูก ปัสสาวะและอุจจาระ ในกรณีที่สุกรหายจากโรคจะยังคงสามารถขับเชื้อออกมาได้จนกว่าร่างกายจะสร้างแอนติบอดีจำเพาะต่อโรคขึ้นมา ในกรณีที่สุกรติดเชื้อสายพันธุ์ ซึ่งรุนแรงมากจะสามารถขับเชื้อจำนวนมากออกมาได้นานถึง 10-20 วัน ทำให้เกิดการกระจายของโรคอย่างรวดเร็วภายในฝูงและทำให้มีอัตราการป่วยที่สูง ถ้าหากสุกรติดเชื้อสายพันธุ์ซึ่งรุนแรงน้อย ก็จะขับเชื้อออกมาเพียงช่วงสั้นๆ เท่านั้น อัตราการป่วยจะต่ำทำให้มีลักษณะไม่เหมือนการป่วยด้วยโรคอหิวาต์สุกร ในสุกรซึ่งป่วยแบบเรื้อรังจะขับเชื้อไวรัสออกมาเป็นพักๆ หรือตลอดเวลาจนกว่าจะตาย ลักษณะที่สำคัญอีกอย่างก็คือการติดเชื้อในแม่สุกรตั้งท้องด้วย เชื้อไวรัสสายพันธุ์ ซึ่งรุนแรงต่ำจะทำให้สังเกตไม่ออกว่าเกิดการติดเชื้อขึ้นแล้ว จากนั้นเชื้อไวรัสจะแพร่กระจายเข้าสู่ตัวอ่อนในมดลูกทำให้เกิดการตายคลอด (Stillbirth) ร่วมกับลูกสุกรเกิดมาอ่อนแอและตายหลังการคลอดไม่นานนักหรืออย่างใดอย่างหนึ่ง ในช่วงของการคลอดนี้สามารถที่จะพบว่ามีการขับเชื้อไวรัสจำนวนมากออกมาพร้อมกับลูกสุกร สำหรับลูกสุกร ซึ่งเกิดมาแข็งแรง อาจจะกลายเป็นแหล่งแพร่กระจายโรคที่สำคัญก็ได้หากได้รับเชื้อสายพันธุ์ที่รุนแรงน้อย ในขณะที่อยู่ในท้องแม่ ลูกสุกรเหล่านี้บางตัวจะสามารถขับเชื้อออกมาได้ตลอดเวลาจนกว่าจะตาย โดยพบว่าสุกรซึ่งอยู่ในกลุ่มนี้จะตายภายใน 2-11 เดือน ความสำคัญก็คือเมื่อไม่สังเกตเห็นสุกรป่วยก็จะไม่ตระหนักว่าเกิดโรคขึ้นและไม่มีมาตรการในการป้องกันการแพร่กระจายของโรคในฟาร์ม ทำให้โรคนี้วนเวียนอยู่ภายในฟาร์มได้ การติดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ซึ่งรุนแรงต่ำจึงเป็นปัญหาที่สำคัญของฟาร์ม (Everett et al., 2010)

การนำโรคเข้าสู่ฟาร์มนั้นพบได้จากการซื้อสุกรใหม่ซึ่งดูจากภายนอกแล้วแข็งแรงดี แต่มีการติดเชื้อแฝงอยู่ในร่างกายเข้าสู่ฟาร์ม สุกรเหล่านี้อาจจะได้รับเชื้อจากฟาร์มที่เคยอยู่หรือจากสุกรอื่นๆ ซึ่งสัมผัสกันในระหว่าง การขนส่งหรือจากสิ่งคัดหลั่งซึ่งติดอยู่ตามรถขนส่ง นอกจากนี้ยังพบว่าฟาร์มซึ่งเลี้ยงสุกรด้วยเศษอาหารจากในครัวมีความเสี่ยงต่อการติดโรคค่อนข้างสูง หากเศษอาหารนั้นไม่ได้รับการต้มเสียก่อน ทั้งนี้เป็นเพราะเชื้อนี้สามารถที่จะคงอยู่ในเนื้อได้เป็นเวลาค่อนข้างนาน บุคคลซึ่งเข้าออกฟาร์มก็เป็นปัจจัยสำคัญอีกอันหนึ่งที่ช่วยในการแพร่กระจายโรค นอกจากนี้ยังพบรายงานว่าสัตว์เลี้ยง นก และแมลง อาจเป็นตัวนำโรคได้ สำหรับการแพร่โรคโดยลมนั้นมีผู้รายงานจากการทดลองอยู่บ้างแต่ในทางปฏิบัติแล้วยังไม่มีข้อพิสูจน์ สำหรับในต่างประเทศสุกรป่าเป็นแหล่งแพร่เชื้ออหิวาต์ที่สำคัญแหล่งหนึ่ง เนื่องจากมีสุกรป่าชุกชุม และเข้ามาสัมผัสสุกรในฟาร์มได้เป็นครั้งคราว แต่สำหรับเมืองไทยแล้วประเด็นนี้คงไม่มีความสำคัญเท่าใดนัก (Petrov et al., 2014)

ปัจจุบันหลายประเทศทั่วโลกได้วางโปรแกรมกำจัดโรคอหิวาต์สุกรออกจากประเทศของตนมาตรการดังกล่าวได้แก่การวินิจฉัยที่รวดเร็วและกำจัดสุกรทั้งหมดภายในฝูงที่เกิดปัญหาแต่ถึงแม้จะมีมาตรการดังกล่าวก็ยังไม่สามารถที่จะกำจัดโรคให้หมดไปได้

1.4 อาการ

โรคอหิวาต์สุกรที่ระบาดอยู่ทั่วไปมีความแตกต่างกันมากในด้านความรุนแรง ชนิดที่มีความรุนแรงสูงจะทำให้เกิดโรคเฉียบพลันในสุกรที่ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคมาก่อน มีอัตราการป่วยและการตายสูงถึง 100% ชนิดที่รุนแรงปานกลาง อาจทำให้เกิดโรคแบบเรื้อรังหรือพวกที่มีความรุนแรงต่ำทำให้เกิดโรคชนิดอ่อนหรือไม่แสดงอาการ แต่ทำให้เกิดการติดเชื้อจากแม่สุกรอุ้มท้องผ่านรกไปยังลูกสุกร ทำให้เกิดความผิดปกติของลูกหรือลูกกรอก ลูกตายแรกคลอดหรืออ่อนแอ และที่สำคัญคือการเกิด Congenital persistent infection ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการคงอยู่ของ CSFV ในฝูงสุกรความแตกต่างกันในด้านความรุนแรงของสเตรนที่พบนั้นไม่สามารถแยกได้ทางซีรัมวิทยาทั่วไป (Van Oirschot and Terpstra, 1989)

หลังจากที่เริ่มนำมาตรการควบคุมและป้องกันโรคอหิวาต์สุกร โดยการนำวัคซีนมาใช้ ทำให้รูปแบบของการเกิดโรคอหิวาต์สุกรในประเทศไทยเปลี่ยนแปลงไปมากจากลักษณะการเกิดโรคชนิดที่เป็นแบบฉับ

(Typical form) ซึ่งสุกรแสดงอาการป่วยแบบเฉียบพลันหรือกึ่งเฉียบพลัน อัตราการป่วยและอัตราการตายสูง มีรอยโรคแบบจุดเลือดออกตามผิวหนัง และอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกายอย่างเด่นชัด กลายเป็นชนิดที่ไม่เป็นแบบฉบับ (Atypical form) ซึ่งลูกสุกรแสดงอาการป่วยแบบเรื้อรัง มีอัตราการตายต่ำลงหรือไม่แสดงอาการ สุกรมีลักษณะแคระแกร็น โตช้า อาจติดเชื้อจากจุลชีพ และตายจากโรคแทรกซ้อนอื่นหรือไม่แสดงอาการชัดเจน แต่เป็นตัวแพร่เชื้อให้กับสุกรตัวอื่นๆ ในฝูง

อาการของอหิวาต์สุกรอาจแบ่งออกได้เป็น 5 ลักษณะคือ รุนแรงมาก (Peracute) รุนแรง (Acute) รุนแรงน้อย (Subacute) เรื้อรัง (Chronic) และ Late Onset และยังสามารถแบ่งตามระยะของการได้รับเชื้อได้ 2 แบบคือ ติดเชื้อก่อนการคลอด และติดเชื้อภายหลังการคลอด ลักษณะที่สำคัญๆ ของอหิวาต์สุกรแสดงสรุปและเปรียบเทียบไว้ในตารางที่ 1 ปัจจุบันลักษณะของโรคแบบรุนแรงมากไม่ค่อยพบแล้ว ลักษณะของโรคดังกล่าวนั้นเป็นผลเนื่องมาจากหลายปัจจัย เช่น ความรุนแรงของเชื้อเอง อายุของสุกร สายพันธุ์ของสุกร และปริมาณของเชื้อที่สุกรได้รับเชื้อ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่รุนแรงมาก มักจะก่อให้เกิดโรคแบบรุนแรงมาก หรือรุนแรงส่วนเชื้อซึ่งรุนแรงต่ำ มักจะทำให้เกิดโรคแบบรุนแรงน้อย หรือเรื้อรัง (Van Oirschot, 1999)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบลักษณะที่สำคัญของอหิวาต์สุกรแบบต่างๆ

ลักษณะที่สำคัญ	รุนแรง	เรื้อรัง	Late-Onset
ความรุนแรงของเชื้อไวรัส	สูง	ปานกลาง	ต่ำ
เวลาซึ่งเกิดการติดเชื้อ	ภายหลังการคลอด	ภายหลังการคลอด	ก่อนการคลอด
ช่วงเวลาของการป่วยและอาการ	ระยะฟักตัวสั้น รุนแรง สุกรซึม ไข้สูง เบื่ออาหาร เยื่อบุตาอักเสบ ท้องผูก ท้องเสีย ชัก โซเซ เลือดออกที่ผิวหนัง	ระยะฟักตัวสั้น มี 3 ช่วง คือ 1.ซึม มีไข้ เบื่ออาหาร 2.อาการดีขึ้น และ 3.ระยะสุดท้าย โรคกำเริบอีกครั้ง	ค่อยๆ ซึม เบื่ออาหาร อุณหภูมิร่างกายอาจจะเพิ่มหรือไม่ก็ได้ เยื่อบุตาอักเสบ ผิวหนังอักเสบ เคลื่อนไหวร่างกายลำบาก
Viremia	สูง	ลดลงชั่วคราวหรือหายไปเลย	คงอยู่ในระดับสูงตลอด
Leukomenia	เกิดขึ้นรวดเร็วมาก	รวดเร็วตามด้วย Leukocytosis	ช้า พบในช่วงท้าย
การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้ออหิวาต์สุกร	ไม่พบ	พบ	ไม่พบ
การตาย	10-20 วัน	1-3 เดือน	2-11 เดือน
วิการ	จุดเลือดออกทั่วไป โดยเฉพาะที่ต่อมน้ำเหลืองและไต พบเนื้อตายจากการขาดเลือดของม้าม	แผลหลุมที่ cecum และ colon เนื้อตายจากการขาดเลือดของม้าม พบวิการที่ซี่โครง	ต่อมน้ำเหลืองโตและไทมัสฝ่อ

ลักษณะที่สำคัญ	รุนแรง	เรื้อรัง	Late-Onset
วิการทางกล้องจุลทรรศน์	มีการเสื่อมของ endothelium เยื่อหุ้มสมองอักเสบ	มีการเสื่อมของ endothelium ขาด lymphocytes อย่างรุนแรง histocytic hyperplasia glomerlonephritis	มีการเสื่อมของ endothelium ขาด lymphocytes อย่างรุนแรง histocytic hyperplasia

การติดเชื้อภายหลังการคลอด

ติดเชื้อแบบรุนแรงมาก: สุกรจะไม่แสดงอาการป่วยที่เด่นชัด นอกจากมีไข้ (41°C) และตายภายใน 2-5 วันภายหลังจากได้รับเชื้อ

ติดเชื้อแบบรุนแรง: ภายหลังจากที่ได้รับเชื้อเข้าสู่ฝูงจะมีสุกรเพียงบางตัวเท่านั้นที่แสดงอาการของโรคโดยที่เริ่มแรกจะซึม ไม่อยากเคลื่อนไหว และอาจพบอาการหนาวสั่น นอกจากนี้สุกรจะเบื่อ อาหาร พบไข้สูงภายใน 6 วันหลังจากได้รับเชื้อ โดยอาจจะมีไข้สูงถึง 42°C ในช่วงที่มีไข้สูงนี้ จำนวนเม็ดเลือดขาว (leukocytes) จะลดลง โดยอยู่ระหว่าง 9,000-3,000 เซลล์ต่อซีซีของเลือด หากตรวจดู B-lymphocytes จะพบว่าลดลงมาก นอกจากนี้จะพบว่ามี young neutrophil เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก สุกรอาจจะมีเยื่อบุตาอักเสบ (conjunctivitis) ท้องผูกในช่วงแรกที่มีไข้และท้องเสียในเวลาต่อมา สุกรจะนอนสุมกันเนื่องจากมีไข้ (ภาพที่ 3) โดยทั่วไปจะพบอาเจียนสีเหลือง เกิด Hyperemia ของผิวหนัง พบอาการทางประสาท เช่น การชักในสุกรบางตัวและจะตายหลังจากนั้นไม่นาน ต่อมาสุกรตัวอื่นๆ ในฝูงจะแสดงอาการของโรคมากขึ้นเรื่อยๆ สำหรับตัวที่ป่วยก่อนจะผอม ซูบซีด และหมดแรง เดินโซเซ เนื่องจากมีการอ่อนแรงของขาหลัง ต่อจากนั้นสุกรจะเป็นอัมพาตของขาหลังตามมา ระยะนี้พบว่ามีผื่นสีม่วงกระจายอยู่ทั่วร่างกายตั้งแต่บริเวณหน้าท้อง ปลายจมูก ใบหู และบริเวณขา (ภาพที่ 4 และภาพที่ 5) ซึ่งถือว่าระยะนี้เป็นระยะท้ายๆ ของโรคแล้ว สุกรซึ่งป่วยด้วยอหิวาต์สุกรแบบรุนแรงนี้จะตายภายหลังการได้รับเชื้อภายใน 10-20 วัน

ภาพที่ 3 สุกรนอนสุมกัน เนื่องจากมีไข้

ภาพที่ 4 สุกรมีผื่นสีม่วงกระจายอยู่ทั่วร่างกาย

ภาพที่ 5 สุกรมีผื่นสีม่วงบริเวณใบหู

ติดเชื้อแบบรุนแรงน้อย: สุกรจะแสดงอาการคล้ายกับที่กล่าวไปแล้วในการติดเชื้อแบบรุนแรง แต่จะมีความรุนแรงน้อยกว่าและสุกรส่วนใหญ่จะตายภายในวันที่ 20-30 ภายหลังได้รับเชื้อ

ติดเชื้อแบบเรื้อรัง: ลักษณะของโรคแบบเรื้อรังนี้มีลักษณะที่สำคัญคือเป็นโรคที่ทำให้สุกรป่วยและตาย และมีระยะของโรคตั้งแต่ 30 วันขึ้นไป โดยเราสามารถแบ่งโรคแบบเรื้อรังนี้ได้เป็น 3 ระยะคือ ระยะที่ 1 ระยะเฉียบพลัน สุกรจะแสดงอาการป่วย เบื่ออาหาร ซึม ไข้สูง และมีเม็ดเลือดขาวต่ำ (leukopenia) หลังจากนั้น 1 หรือ 2 สัปดาห์ จะเข้าสู่ระยะที่ 2 ความอยากอาหารและสภาพทั่วไปของสุกรจะดีขึ้นอย่างชัดเจน อุณหภูมิร่างกายจะลดลง อาจจะอยู่ในระดับปกติหรือสูงกว่าปกติเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามเม็ดเลือดขาวจะยังคงต่ำอยู่ ระยะที่ 3 สุกรจะเริ่มไม่กินอาหารและซึมลงอีกครั้ง อุณหภูมิของร่างกายจะสูงขึ้นจนกระทั่งระยะสุดท้ายของชีวิต สุกรซึ่งป่วยด้วยโรคแบบเรื้อรังมักจะแคระแกรนมีวิการที่ผิวหนังและมักจะยืนตัวโก่ง (ภาพที่ 6)

ภาพที่ 6 สุกรซึ่งป่วยด้วยโรคแบบเรื้อรังมักจะแคระแกรนมีวิการที่ผิวหนัง

<u>การติดเชื้อก่อนการคลอด</u>

เชื้ออหิวาต์สุกรสามารถถ่ายทอดผ่านทางรกได้ ผลจากการติดเชื้อนั้นจะขึ้นอยู่กับว่าสุกรได้รับเชื้อในช่วงใดของการตั้งท้อง โดยพบว่าหากสุกรได้รับเชื้อก่อนวันที่ 41 ของการตั้งท้องจะทำให้แม่สุกรแท้ง มีมัมมี่หรือตัวอ่อนตายคลอด แต่หากมีการติดเชื้อหลังจากนั้นแต่ก่อนวันที่ 85 ของการตั้งท้อง ลูกสุกรจะคลอดออกมาปกติแต่จะมีเชื้อไวรัสอยู่ในกระแสเลือด ภายหลังวันที่ 85 ของการตั้งท้องหากตัวอ่อนได้รับเชื้ออาจจะคลอดออกมาปกติเพราะสามารถสร้างภูมิต้านทานต่อโรคได้แล้ว หรืออาจจะมีเชื้อไวรัสคงอยู่ในกระแสเลือดก็ได้ในทางปฏิบัติ แล้วเป็นไปได้ที่จะพบว่าลูกสุกรครอกเดียวกันแสดงลักษณะทั้งหมดที่ได้กล่าวไปแล้ว

ลูกสุกรซึ่งคลอดออกมามีเชื้อไวรัสอยู่ในกระแสเลือดดังกล่าวมักจะแสดงกลุ่มอาการที่เรียกว่า Late-Onset โดยเริ่มแรกสุกรจะไม่แสดงอาการป่วย หลังคลอด 1-2 เดือน ลูกสุกรจะเริ่มแสดงอาการเบื่ออาหาร ซึม เยื่อบุตาอักเสบ ผิวหนังอักเสบ ท้องเสีย และมีอาการทางประสาทจนถึงเป็นอัมพาตของขาหลังในที่สุด สุกรมักจะไม่มีไข้ และไม่พบวิการจุดเลือดออกตามผิวหนัง ลูกสุกรซึ่งป่วยแบบ Late-Onset นี้จะมีเชื้อไวรัสในกระแสเลือดตลอดเวลาและสามารถขับเชื้อไวรัส ออกมาได้จนกระทั่งตายระยะของโรคมักจะมากกว่า 6 เดือน บางตำราจัดการติดเชื้อแบบเรื้อรังและ Late-Onset ว่าเป็นการติดเชื้อแบบ persistence (Van Oirschot, 1999)

1.5 พยาธิกำเนิด

ในธรรมชาติส่วนใหญ่แล้วสุกรมักจะได้รับเชื้อทางจมูกและปาก (Oronasal) บางครั้งสุกร อาจจะได้รับเชื้อทางเยื่อบุตา ทางเยื่อเมือกของระบบสืบพันธุ์ หรือทางรอยถลอกของผิวหนังก็ได้ เมื่อเชื้ออหิวาต์สุกรเข้าสู่ร่างกายทางจมูกและปาก หรือทางอื่นๆ เชื้อจะเข้าสู่ต่อมทอนซิลภายใน 7 ชั่วโมงและจะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนที่ epithelial ของ tonsilar crypts จากนั้นจึงค่อยๆ แพร่เข้าสู่เนื้อเยื่อน้ำเหลืองรอบๆ ต่อมทอนซิล จากนั้นเชื้อจะไหลไปตามท่อน้ำเหลืองเข้าสู่ต่อมน้ำเหลือง ซึ่งรับน้ำเหลืองจากต่อมทอนซิล เมื่อเชื้อในต่อมน้ำเหลืองเหล่านี้เพิ่มจำนวนมากพอจะเข้าสู่กระแสเลือดและแพร่กระจายเข้าสู่ม้าม ไขกระดูก ต่อมน้ำเหลืองภายในช่องท้อง ระบบน้ำเหลืองที่บุด้านในของผนังลำไส้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด mononuclear จากนั้นเชื้อจะเพิ่มจำนวนและเข้าสู่กระแสเลือดทำให้ระดับของเชื้อไวรัสในกระแสเลือดสูง เชื่อกันว่าเชื้อไวรัสจะไม่เข้าสู่ parenchymatous

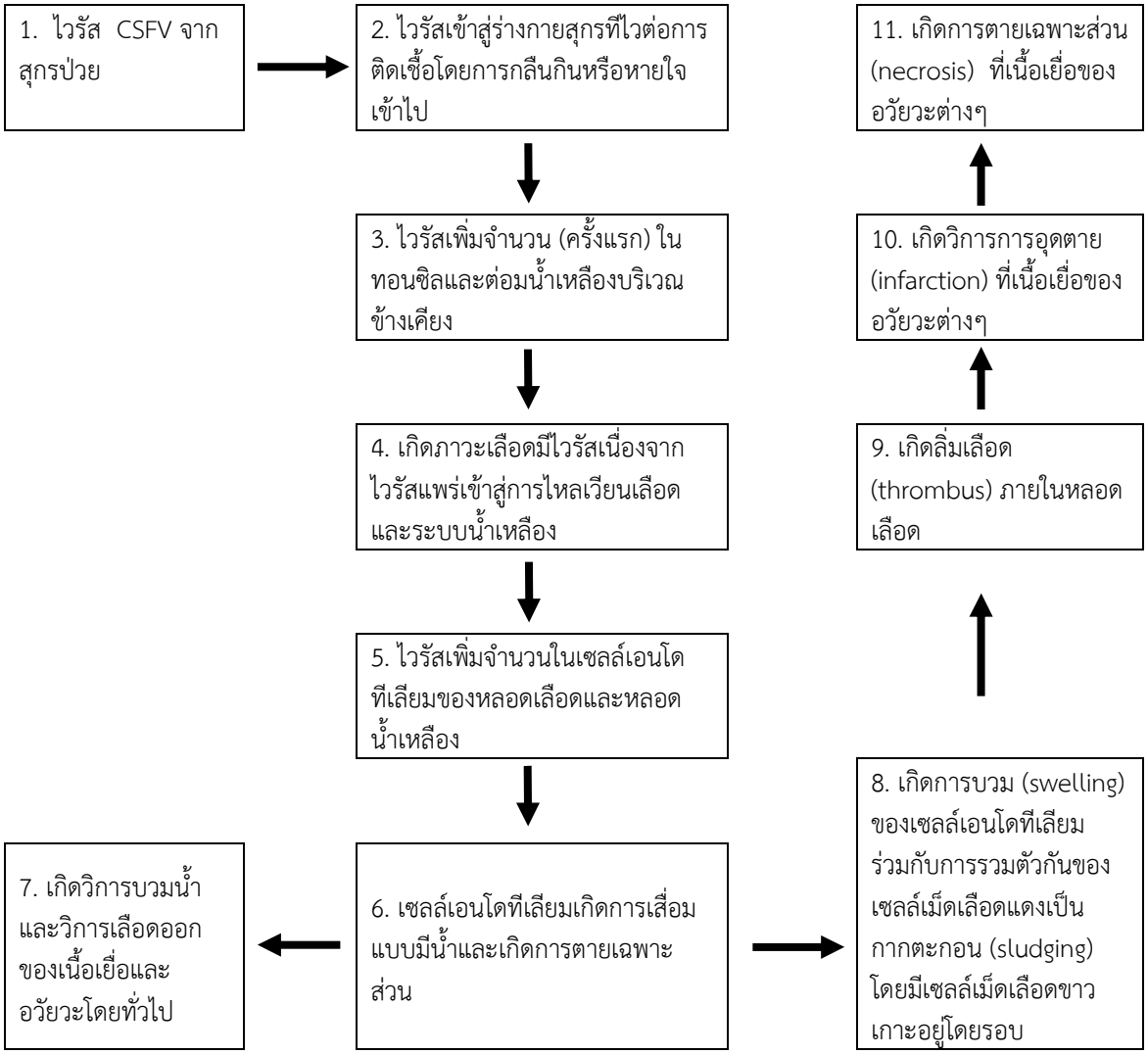
organs จนกว่าจะถึงช่วงท้ายๆ ภายหลังจากที่พบเชื้อไวรัสในกระแสเลือด (viremic phase) การแพร่กระจายของเชื้อดังกล่าวมักจะเกิดขึ้นได้ภายใน 5-6 วัน ภายหลังจากที่ได้รับเชื้อ (ภาพที่ 7)

การเกิดจุดเลือดออกที่ผิวหนังในกรณีที่เป็นโรคแบบรุนแรงนั้นเนื่องมาจากเกิดการเสื่อมของเซลล์บุผนังหลอดเลือดร่วมกับสภาพที่มีเกล็ดเลือดต่ำอย่างรุนแรงและเกิดกระบวนการขัดขวางการสร้างไฟโบรเจน (fibrogen) สาเหตุที่แท้จริงซึ่งทำให้สุกรตายนั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่การขัดขวางกระบวนการไหลเวียนของเลือดอย่างรุนแรงเป็นสาเหตุหลักสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สุกรตาย

ในระหว่างที่สุกรป่วยด้วยอหิวาต์สุกรชนิดรุนแรง การตอบสนองของภูมิคุ้มกันของสุกรต่อสิ่งกระตุ้นจะเปลี่ยนไปไม่ว่าจะเป็น T-lymphocytes หรือ B-lymphocytes นอกจากนี้ยังพบว่า B-lymphocytes จะหายไปจากระบบไหลเวียนของเลือดด้วย ในกรณีที่สุกรป่วยด้วยอหิวาต์สุกรแบบเรื้อรังนั้นกระบวนของโรคในระยะแรกจะคล้ายกับการป่วยแบบรุนแรงเพียงแต่การกระจายตัวของไวรัสจะช้ากว่าและระดับของไวรัสในซีรัมและอวัยวะต่างๆ จะต่ำกว่า ในช่วงที่สองซึ่งสุกรมีอาการดีขึ้นระดับของไวรัสในซีรัมจะต่ำลงมากหรืออาจจะตรวจหาไม่พบเลย ส่วนแอนติเจนของไวรัสนั้นจะพบจำกัดอยู่เฉพาะที่ epithelium ของต่อมทอนซิล ต่อมน้ำลาย ไอเลียม (ileum) และไต ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากมีการสร้างแอนติบอดีซึ่งจำเพาะต่อโรคขึ้น ในกรณีนี้เป็นไปได้มากที่จะพบว่าเกิด glomerulonephritis เนื่องจากเกิดการสะสมของแอนติเจน-แอนติบอดีคอมเพล็ก (antigen-antibody complex) ในช่วงที่สามซึ่งสุกรอาการทรุดลงอีกครั้งพบว่าไวรัสแพร่กระจายไปทั่วร่างกายสุกรอีกครั้ง เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันอ่อนแอลง ส่วนสาเหตุนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด

ในสุกรซึ่งป่วยแบบ Late-Onset นั้นส่วนใหญ่จะเกิดจากการที่ตัวอ่อนติดเชื้อสายพันธุ์ที่รุนแรงต่ำขณะอยู่ในท้องแม่ สุกรเหล่านี้จะมีเชื้อไวรัสในกระแสเลือดและตามอวัยวะต่างๆ ตลอดเวลา และไม่สามารถตรวจพบแอนติบอดีซึ่งจำเพาะต่อเชื้ออหิวาต์สุกรได้ อย่างไรก็ตามสุกรเหล่านี้ยังสามารถสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อชนิดอื่นๆ ได้ นอกจากนี้การตอบสนองของลิมโฟไซต์ (lymphocytes) ต่อการกระตุ้นด้วยไมโตเจน (mitogen) ยังคงพบได้ แม้จะด้อยลงเล็กน้อย

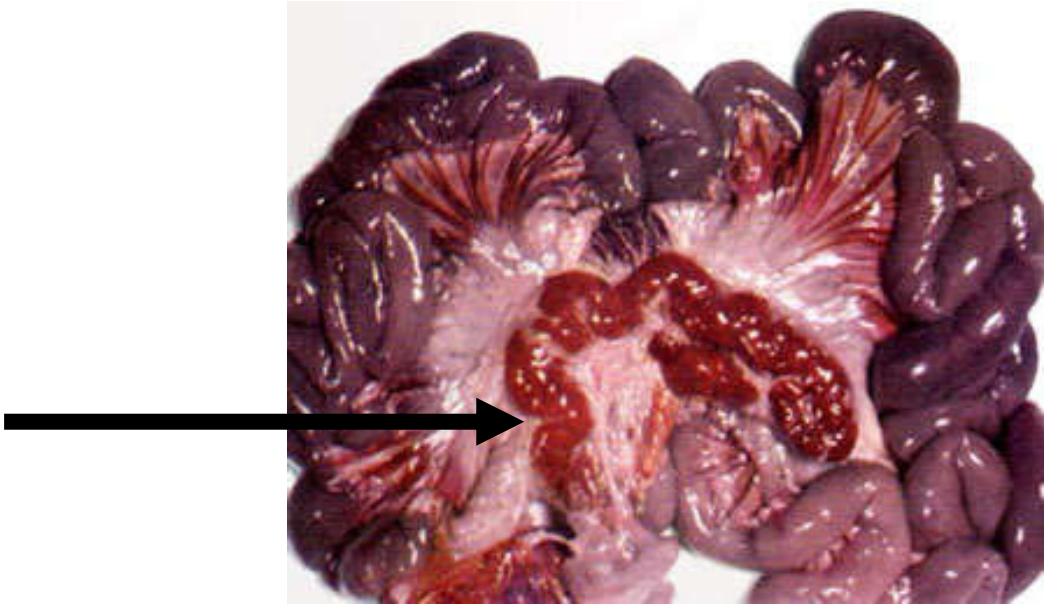
กระบวนของโรคในรายที่ติดเชื้อสายพันธุ์ซึ่งรุนแรงน้อยภายหลังการคลอด (postnatal) ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดนัก ดูเหมือนว่าเชื้อไวรัสจะถูกจำกัดอยู่แต่เฉพาะบริเวณต่อมทอนซิล และต่อมน้ำเหลืองรอบนอก แต่ก็ยังพบหลักฐานว่าเชื้อไวรัสยังคงแพร่ได้ทางกระแสโลหิต ดังเช่นที่เกิดขึ้นได้บ่อยในแม่สุกรที่ตั้งท้องและติดเชื้อสายพันธุ์ ซึ่งรุนแรงน้อย เชื้อจะผ่านทางรกเข้าสู่ตัวอ่อนในมดลูกเพียงหนึ่งจุดหรือหลายๆ จุดก็ได้ ในกรณีที่การถ่ายเชื้อเข้าสู่มดลูกเกิดที่จุดเดียวเชื้อจะกระจายจากตัวอ่อนตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งซึ่งอยู่ด้านข้าง ผลของการติดเชื้อจะเป็นเช่นใดนั้น ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อและอายุของตัวอ่อนที่ติดโรค โดยพบว่ายิ่งติดเชื้อในขณะตัวอ่อนอายุน้อยมากเท่าไร ความเสียหายก็จะยิ่งรุนแรงมากขึ้นเท่านั้น (กิจจา, 2535)



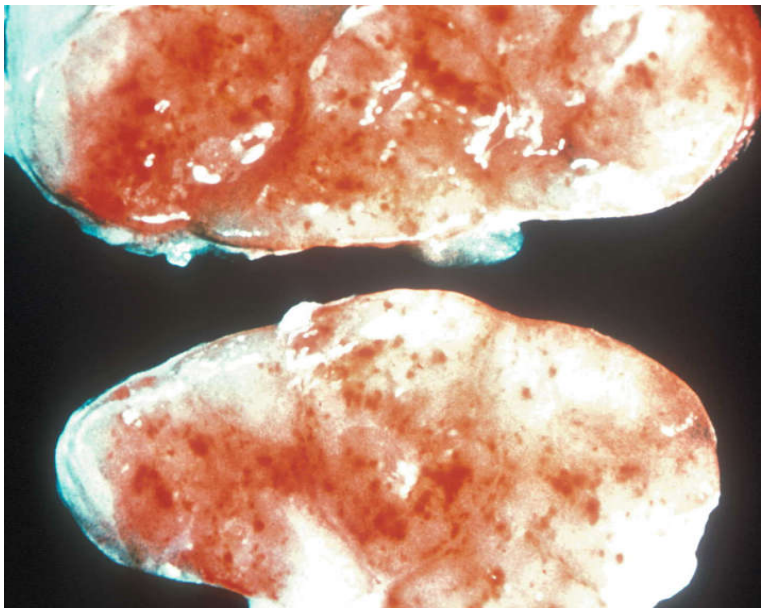
ภาพที่ 7 แผนภูมิแสดงกลไกการเกิดโรคอหิวาต์สุกร

1.6 วิการ

ในสุกรซึ่งป่วยแบบรุนแรงมากจะไม่สามารถตรวจพบวิการของโรคได้ ส่วนในรายที่ป่วยแบบรุนแรงและรุนแรงน้อยนั้นลักษณะของวิการจะคล้ายกับในรายที่เกิด septicemia โดยจะพบจุดเลือดออกขนาดต่างๆ ที่ร่างกาย เนื่องมาจากเซลล์ซึ่งบุผนังหลอดเลือดเสื่อมสภาพร่วมกับกระบวนการแข็งตัวของเลือดเกิดบกพร่อง นอกจากนี้ยังพบการอักเสบของทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจและระบบทางเดินปัสสาวะและสืบพันธุ์ การเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดเจนมักจะพบในต่อมน้ำเหลืองและไต โดยจะพบว่าต่อมน้ำเหลืองจะขยายขนาดขึ้น บวมน้ำ (ภาพที่ 8) และมีจุดเลือดออกกระจายอยู่ทั่ว (Strawberry lymph node) (ภาพที่ 9) ในทาง microscopic แล้ว จะพบว่าเกิดการขาดแคลนลิมโฟไซต์และ เกิด reticular hyperplasia

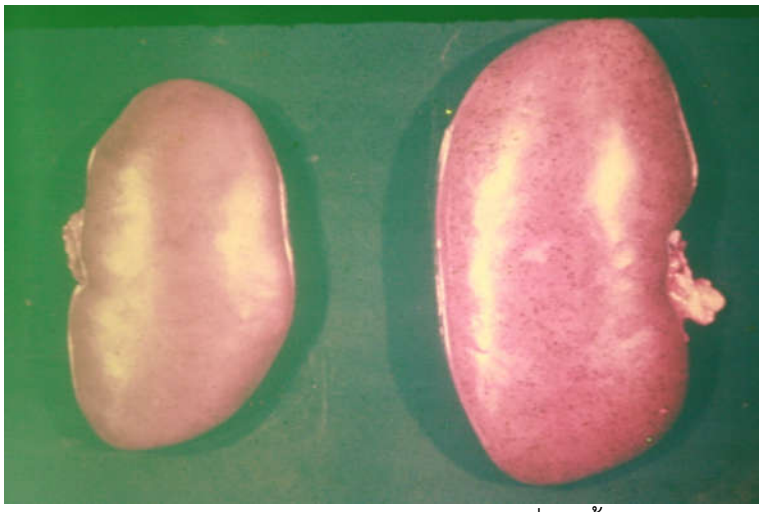


ภาพที่ 8 ต่อมน้ำเหลืองจะขยายขนาดขึ้นและบวมน้ำ



ภาพที่ 9 ต่อมน้ำเหลืองมีจุดเลือดออกกระจายอยู่ทั่ว

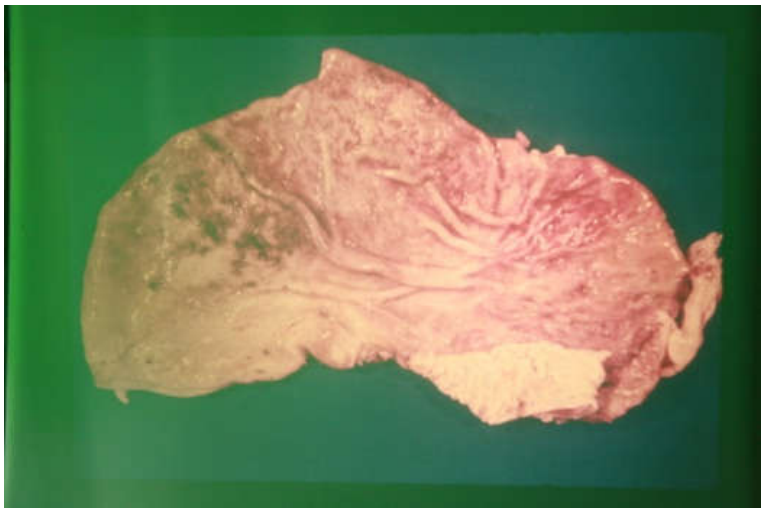
การเกิดจุดเลือดออกของไตนั้นมีอยู่หลายระดับจากน้อยมากแทบมองไม่เห็นไปจนแดงเกือบทั้งไต (ภาพที่ 10) จุดเลือดออกนี้มักจะพบเฉพาะบนคอร์เท็กซ์ (cortex) และพบน้อยในเม็ดดุลล่า (medullar) ปิรามิด (pyramids) และ ไฮรัส (hilus) การกระจายของจุดเลือดออกทั่วผิวของเปลือกไต จะทำให้ไตมีลักษณะที่เรียกว่า “turkey egg kidney”



ไตปกติ ไตที่ติดเชื้ออหิวาต์สุกร

ภาพที่ 10 ไตมีจุดเลือดออกทั่วผิวของเปลือกไต

การเกิดจุดเลือดดังกล่าวนี้สามารถพบได้ใน อวัยวะอื่น เช่นกัน เช่น กระเพาะปัสสาวะ (urinary bladder) (ภาพที่ 11) กล่องเสียง (larynx) และ อีพิกลอสติส (epiglottis) หัวใจ (ภาพที่ 12) เยื่อบุลำไส้ด้าน เยื่อเลื่อม (serous) เยื่อเมือก (mucous) และผิวหนัง บางครั้งจะพบซัยยาโนสิส (cyanosis) ที่ผิวหนังร่วมด้วย การเกิดเนื้อตายจากการขาดเลือด (infarction) เกิดเนื่องจากหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงอวัยวะจะอุดตันจากลิ่มโลหิต (thrombi) การเกิดเนื้อตายดังกล่าวหากเกิดที่ม้ามจะถือว่าเป็น pathognomonic lesion ของโรคอหิวาต์สุกร ลักษณะของเนื้อตายจะเป็นจุดหรือปื้นสีดำนูนสูงขึ้นมาจากบริเวณข้างเคียง โดยมากจะพบที่ขอบของม้าม (ภาพที่ 13) นอกจากนี้เราอาจพบเนื้อตายได้ที่กระเพาะปัสสาวะและทอนซิล

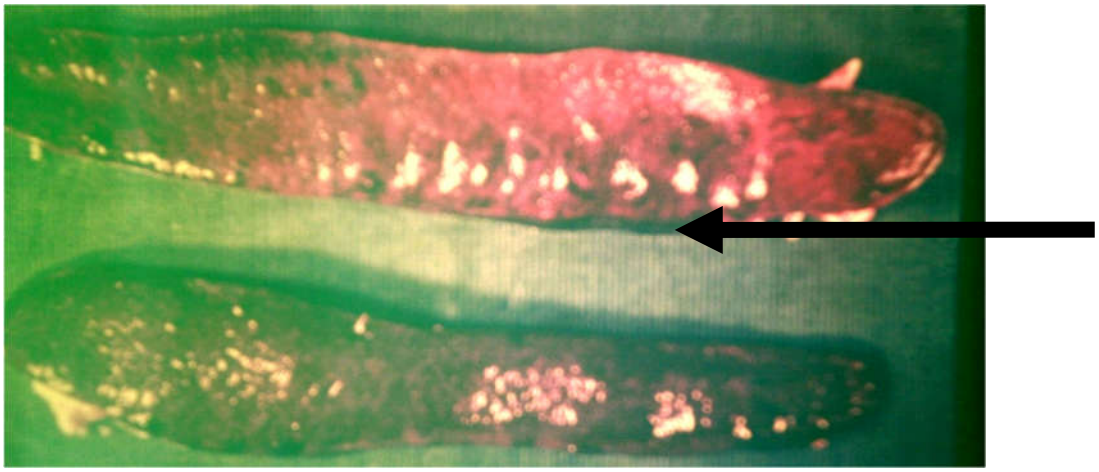


ภาพที่ 11 กระเพาะปัสสาวะมีจุดเลือดออก

ในสุกรซึ่งป่วยแบบรุนแรงและรุนแรงน้อยอาจจะพบเนื้อตายจากการขาดเลือดและจุดเลือดออกที่ปอด ซึ่งน่าจะเนื่องจากมีการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน หัวใจค่อนข้างจะเหลวและมีการคั่งของหลอดเลือด ในสุกรซึ่งตายจากอหิวาต์สุกรกระเพาะอาหารมักจะว่างหรือมีอาหารอยู่เพียงเล็กน้อย ในส่วนของฟันดัส (fundus) ของกระเพาะมักจะพบการคั่งของเลือดและพบจุดเลือดออกร่วมด้วย เยื่อเมือกของกระเพาะอาจจะมีการลอกเกิดขึ้น สำหรับลำไส้ก็จะพบว่ามีเนื้อตายเกิดขึ้นทั่วไป

หัวใจปกติ หัวใจที่ติดเชื้ออหิวาต์สุกร

ภาพที่ 12 หัวใจมีจุดเลือดออก

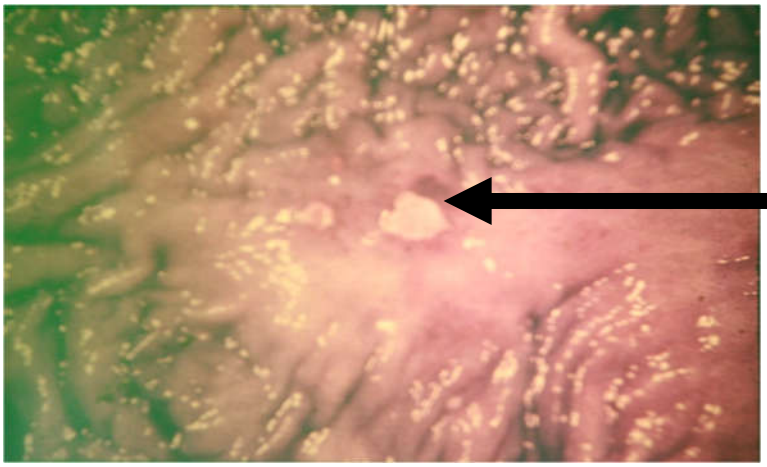


ภาพที่ 13 ม้ามเกิดเนื้อตายเป็นปื้นสีดำนูน มักพบที่ขอบของม้าม

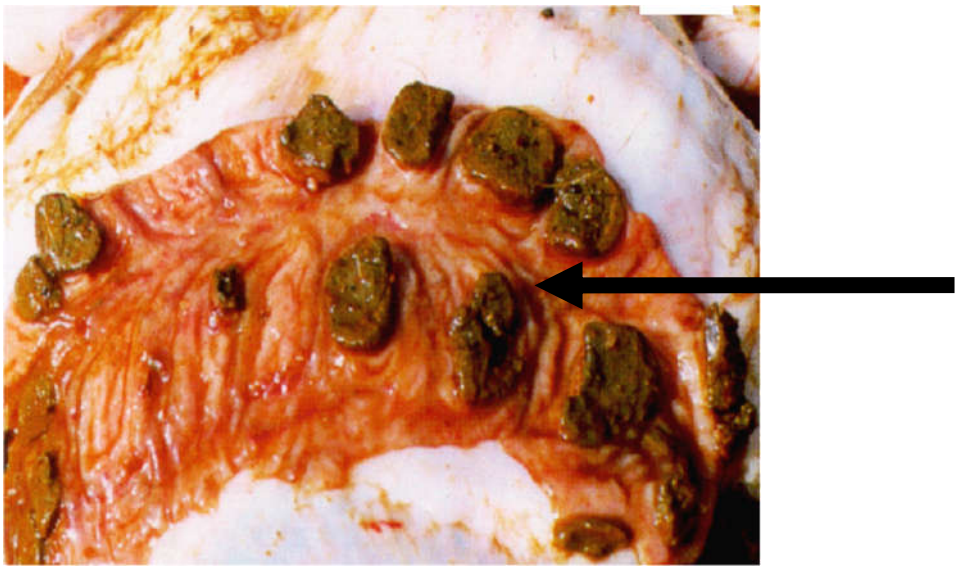
ที่สมองมักจะพบเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (encephalitis) หากตรวจทาง microscopic จะพบ perivascular cuffing, proliferation of endothelial cells, microgliosis

ที่เยื่อเมือกของกระพุ้งลำไส้ใหญ่ (cecum) และลำไส้ใหญ่ส่วนต้น (colon) อาจจะพบลักษณะแผลหลุมเป็นเม็ดกระดุม (button ulcer) ในสุกรที่ป่วยแบบเรื้อรังได้ (ภาพที่ 14 และภาพที่ 15)

แม่สุกรซึ่งติดเชื้อในขณะตั้งท้องอาจจะพบมีมัมมี่ ลูกตายคลอด และลูกมีรูปร่างผิดปกติ (malformation) ตัวอ่อนซึ่งตายคลอดนั้นจะพบว่ามีการบวมน้ำใต้ผิวหนัง ท้องมาน และมีน้ำอยู่ในช่องอก สำหรับรูปร่างซึ่งผิดปกตินั้น ได้แก่ ศีรษะ และขาผิดรูป ซีรีเบลลัม (cerebellum) และปอดขนาดเล็ก ในลูกสุกรซึ่งตายภายหลังการคลอดเล็กน้อยจะมีจุดเลือดออกที่ผิวหนังและอวัยวะภายใน (กิจจา, 2535)



ภาพที่ 14 เยื่อเมือกของกระพุ้งลำไส้ใหญ่ (cecum) พบลักษณะแผลหลุมเป็นเม็ดกระดุม



ภาพที่ 15 ลำไส้ใหญ่ส่วนต้น (colon) พบลักษณะแผลหลุมเป็นเม็ดกระดุม

1.7 การวินิจฉัยโรค

โรคอหิวาต์สุกรเป็นโรคระบาดที่ร้ายแรง ทำความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมากแก่ผู้เลี้ยงสุกร การวินิจฉัยโรคที่ถูกต้องและรวดเร็วจะช่วยในการกำจัดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพและลดความสูญเสียจากการตายของลูกสุกรได้อย่างมาก การวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรสามารถแบ่งได้เป็นการวินิจฉัยโรคเบื้องต้นและการวินิจฉัยโรคในห้องปฏิบัติการ เมื่อเกิดโรคระบาดขึ้นการวินิจฉัยโรคเบื้องต้นจะต้องอาศัยข้อมูลทางด้านระบาดวิทยาร่วมกับการสังเกตอาการ การตรวจซากภายนอกและการผ่าซากดูรอยโรคของอวัยวะภายใน การวินิจฉัยโรคเบื้องต้นโดยการสังเกตอาการและรอยโรคนั้น อาจทำให้สับสนกับโรคอื่นได้ อย่างไรก็ตามในการวินิจฉัยโรคมีการส่งตรวจวินิจฉัยเพิ่มเติมทางห้องปฏิบัติการ เพื่อการหาสาเหตุที่แท้จริง

การวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรในห้องปฏิบัติการประกอบด้วย การตรวจทางด้านจุลพยาธิวิทยาและการตรวจทางด้านไวรัสวิทยา ซึ่งเป็นการตรวจวินิจฉัยยืนยันโรคที่แน่นอน โดยการตรวจหาแอนติเจน (Antigen detection) จากอวัยวะเป้าหมาย ร่วมกับการดูการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาและขั้นตอนสุดท้ายโดยการแยกและพิสูจน์เชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง ขั้นตอนทั้งหมดกว่าจะทราบผลต้องใช้เวลาอย่างน้อยที่สุด 1-2 สัปดาห์

ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญในการวินิจฉัยที่ต้องการผลอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้การตรวจหาแอนติเจนและหรือการแยกเชื้อร่วมกับการดูการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยามักให้ผลลบในกรณีที่การติดเชื้อแบบเรื้อรังหรือการติดเชื้อแบบอ่อนๆ เนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพอย่างชัดเจน (บุศนีย์, 2534) และไม่สามารถแยกเชื้อได้ ทำให้ผลการวินิจฉัยผิดพลาดได้ผลลบปลอม (false negative) ดังนั้นการหาวิธีการวินิจฉัยโรคที่สะดวกรวดเร็วรวมทั้งมีความแม่นยำและน่าเชื่อถือ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อใช้ในการประกอบการวางแผนควบคุมและกำจัดโรคนี้

ในอดีตการแยกเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรจะใช้วิธีฉีดเข้าสุกรทดลอง แล้วสังเกตอาการ รอยโรคและการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ต่อมาได้มีการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงแทนสัตว์ทดลอง เช่น การใช้ primary kidney cell culture หรือ primary swine testicle cell culture (ST cell) เซลล์เหล่านี้จะต้องเตรียมจากไตสุกรหรืออัณฑะสุกร ซึ่งการเตรียมยุ่งยากและไม่สะดวก จึงได้มีการปรับปรุงเซลล์ที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงได้ไม่จำกัด พบว่าเซลล์ PK-15 ซึ่งได้มาจากไตสุกรเป็นเซลล์ที่มีคุณสมบัติที่ไวต่อเชื้ออหิวาต์สุกรมากกว่า primary cell และสามารถนำมาใช้เพาะแยกเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรได้ดี (Mengeling et al., 1963)

การวินิจฉัยโรคทางซีรัมวิทยาไม่ใช่เป็นวิธีวินิจฉัยโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับประเทศที่มีการระบาดของโรคเป็นประจำและมีการฉีดวัคซีนเพื่อป้องกันโรค เนื่องจากสามารถตรวจพบระดับภูมิคุ้มกันได้ภายหลังการติดเชื้อถึง 4 สัปดาห์ (Pearson, 1992) และวิธีการตรวจต่างๆ ที่ปฏิบัติใช้กันไม่สามารถแยกได้ว่าระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรที่ตรวจพบนั้นเกิดจากไวรัสพิษหรือไวรัสวัคซีน ประโยชน์ของวิธีการตรวจทางซีรัมวิทยามักใช้ในการเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์ของโรคในฟาร์มของประเทศที่มีโปรแกรมการกำจัดโรคและต้องการให้ปลอดจากโรค วิธีการตรวจที่เป็นมาตรฐานและนิยมใช้ในการวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกร ได้แก่ การตรวจหาเชื้อไวรัสหรือโปรตีนของไวรัส และการเพาะแยกและพิสูจน์เชื้อไวรัส

การเพาะแยกไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อหรือจากเลือดสุกรเป็นวิธีวินิจฉัยยืนยันโรคที่แน่นอนและเป็นวิธีมาตรฐานที่มีการระบุให้ใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรตามคู่มือปี 1996 (Terpstra, 1996) วิธีนี้เป็นวิธีตรวจวินิจฉัยที่มีความไวมากกว่าวิธี FAT แต่จะใช้เวลาในการตรวจที่นานกว่า อย่างไรก็ตามในการตรวจวินิจฉัย เพื่อใช้ผลการตรวจวางแผนควบคุมโรคควรได้มีการตรวจยืนยันด้วยวิธีนี้ทุกครั้ง (Pearson, 1992)

โดยปกติเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรจะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (Cytophatic effect; CPE) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีวิธีการพิสูจน์เชื้อไวรัสที่แยกได้ในเซลล์เพาะเลี้ยง ได้มีการพัฒนาวิธี Exalting of New castle Disease Virus (END) เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง โดยเพาะเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรในเซลล์ primary ST cell และใส่เชื้อไวรัสนิวคาสเซิลสเตรน Miyadera ซึ่งจะทำให้เกิด CPE การตรวจวิธีนี้ใช้เวลานานประมาณ 7-8 วัน จึงจะอ่านผลได้และผลการตรวจสามารถบ่งบอกถึงความรุนแรง (virulence) ของเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรแต่ละสเตรนได้ (Mengeling et al., 1963) แต่เนื่องจากระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจนานจึงไม่นิยมใช้เป็นวิธีตรวจวินิจฉัยประจำเพื่อชันสูตรโรคอหิวาต์สุกร โดยเฉพาะในกรณีที่ต้องการทราบผลเร่งด่วน เพื่อนำไปประกอบการวางแผนการควบคุมโรค ต่อมาได้นำการใช้วิธี Immunofluorescent ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วมาใช้ในการพิสูจน์เชื้อไวรัสที่แยกได้ การตรวจต้องส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงอุลตร้าไวโอเลต ดังนั้นวิธีการนี้เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมทางด้านอุปกรณ์ ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาใช้วิธี Immunoperoxidase (IP) ร่วมกับการใช้ Monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อเชื้ออหิวาต์สุกร เพื่อตรวจหาเชื้ออหิวาต์สุกรในเซลล์เพาะเลี้ยง วิธีการนี้เป็นวิธีที่นิยมปฏิบัติใช้ เนื่องจากสามารถอ่านผลได้ด้วย

ตาเปล่าหรืออาจใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดาตรวจดูได้ เป็นวิธีตรวจที่ถูกต้องแน่นอน เนื่องจากการใช้ Monoclonal antibody ที่จำเพาะ (Ganges et al., 2020)

การวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรในภาคสนามนั้น สามารถกระทำได้ระดับหนึ่งโดยใช้ประวัติ อาการและการผ่าซาก

<u>การซักประวัติ</u> ควรที่จะซักถามในประเด็นต่างๆ ดังต่อไปนี้

มีการซื้อสุกรเข้าฟาร์มในช่วงนี้หรือไม่ มีการระบาดของอหิวาต์สุกรในฟาร์มบริเวณใกล้เคียงหรือไม่ อาหารที่ให้เป็นเศษอาหารจากบ้านเรือนหรือไม่ มีบุคคลซึ่งทำงานคลุกคลีกับสุกรมาเข้าเยี่ยมชมฟาร์มหรือไม่

<u>อาการ</u>

อาการที่สังเกตได้ชัดเจนมักจะพบในรายที่เกิดโรคแบบรุนแรง สุกรทุกช่วงอายุจะป่วยและมีอัตราการตายสูงในช่วง 1-2 อาทิตย์ภายหลังจากที่เริ่มสังเกตพบอาการมักจะพบว่าสุกรมีเม็ดเลือดขาวต่ำตลอดเวลา

<u>การผ่าซาก</u>

วิการที่สำคัญซึ่งช่วยในการวินิจฉัยโรคคือ การมีจุดเลือดออกที่ต่อมน้ำเหลือง ไต และอวัยวะอื่นๆ และมีเนื้อตายจากการขาดเลือดที่ม้าม

เราจะต้องแยกวินิจฉัยอหิวาต์สุกรแบบรุนแรงนี้จากโรคซึ่งอาจแสดงวิการคล้ายกัน โรคดังกล่าว ได้แก่ African Swine Fever (AFS), Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS), Salmonellosis, Pasteurellosis, Streptococcosis, Erysipelas หรือ *Haemophilus suis*

ในกรณีที่สุกรป่วยด้วยอหิวาต์สุกรแบบรุนแรงน้อย แบบเรื้อรังหรือ Late-Onset จะไม่แสดงอาการชัดเจน ทำให้การวินิจฉัยจากอาการนั้นเป็นไปไม่ได้เลย อาการที่พบจะรุนแรงน้อยและเป็นๆ หายๆ หรือบางครั้งอาจจะ ไม่แสดงอาการใดๆ เลยก็ได้ นอกจากนี้การติดเชื้อแบบแฝงอาจจะพบเป็นเพียงบางตัวในฝูง การที่จะวินิจฉัยนั้นอาจใช้การตรวจนับเม็ดเลือดขาวช่วย บางครั้งอาจพบว่ามีการติดโรคอื่นๆ แทรกซ้อนทำให้บดบังลักษณะของอหิวาต์สุกร ลักษณะต่างๆเหล่านี้ทำให้การวินิจฉัยโรคทำได้ยากและช้ามาก สุกรซึ่งมีเชื้ออยู่ในร่างกายเหล่านี้จะเป็นแหล่งแพร่กระจายโรคที่สำคัญ

การตรวจวินิจฉัยอหิวาต์สุกรทางห้องปฏิบัติการจะอาศัยการตรวจหาแอนติเจน การแยกเชื้อไวรัส และการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ

<u>การตรวจหาแอนติเจน</u>

การใช้ Direct fluorescent antibody (FA) test ตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสบน frozen tissue sections เป็นวิธีที่แนะนำให้ใช้ในการตรวจ (เป็นวิธีที่เหมาะสม) ตัวอย่างที่ส่งตรวจควรเก็บจากสุกรที่ป่วยหรือตาย และส่งตัวอย่างสดๆ (ควรแช่เย็น) โดยไม่ต้องใส่สารป้องกันการเน่าสลายลงไปในตัวอย่าง อวัยวะที่ควรจะส่งตรวจเพื่อการนี้นั้น ได้แก่ ทอนซิล ม้าม ไต และ ไอเลี่ยมส่วนปลาย ทอนซิลเป็นเนื้อเยื่อที่สำคัญในการตรวจทาง FA เพราะเป็นส่วนแรกที่ตรวจแล้วให้ผลบวก ภายหลังจากที่สุกรได้รับเชื้อ ส่วนไอเลี่ยมนั้นมักจะพบว่าให้ผลบวกในระยะที่ติดเชื้ออหิวาต์สุกรมา เป็นเวลานานแล้วการที่ตรวจไม่พบแอนติเจนของเชื้ออหิวาต์สุกรในเนื้อเยื่อดังกล่าวนั้นไม่สามารถบอกได้แน่นอนว่าสุกรไม่ได้ติดเชื้ออหิวาต์สุกร ดังนั้นหากมีสิ่งโน้มนำให้สงสัยว่าสุกรอาจจะป่วยด้วยอหิวาต์สุกร การส่งตัวอย่างเพิ่มเพื่อตรวจเป็นสิ่งจำเป็น การตรวจด้วยวิธีนี้นั้นง่าย รวดเร็ว (เสร็จภายใน 2 ชั่วโมง) และเชื่อถือได้

ในการวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรทางห้องปฏิบัติการนั้นมีข้อควรระวังคือ เชื้ออหิวาต์สุกรนั้นมีแอนติเจนบางตัวที่เหมือนกับเชื้อซึ่งก่อให้เกิดโรค BVD และ BD ดังนั้นหากเราใช้ polyclonal antibody ต่อเชื้ออหิวาต์สุกรในการตรวจทางห้องปฏิบัติการจะไม่สามารถแยกได้ว่าผลบวกที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากเชื้อตัวใด ปัญหานี้

สามารถแก้ไขได้ง่ายๆ ด้วยการใช้ monoclonal antibody (mAb) ต่อ อี-พิโทป (epitope) เฉพาะของเชื้ออหิวาต์สุกรซึ่งไม่พบในเชื้อ BVD และ เชื้อ BD หาก ผลการตรวจด้วย mAb เป็นบวกก็จะบอกได้ทันทีเลยว่าเป็นบวกเนื่องจากเชื้ออหิวาต์สุกร

เนื่องจากโครงสร้างของโปรตีนที่บริเวณเปลือกหุ้มของไวรัสเหล่านี้มีความคล้ายคลึงกันมาก แม้จะมีส่วนประกอบและการเรียงตัวของกรดอะมิโนต่างกันก็ตาม (Yu et al., 2019) จึงทำให้มีความยุ่งยากในการแยกเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรออกจากไวรัสในกลุ่มเดียวกัน เนื่องจากการวินิจฉัยด้วยวิธีบางอย่างอาจให้ผลบวกปลอม (false positive) เพราะสามารถเกิดปฏิกิริยาข้าม (cross reaction) ระหว่างไวรัสในกลุ่มเดียวกันนี้ (Moormann et al., 1990) ดังนั้นในการแยกชนิดและวินิจฉัยเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร จึงต้องใช้วิธีที่มีความจำเพาะสูง เช่น การแยกชนิดโดยใช้ monoclonal antibody ที่มีความจำเพาะกับเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรเท่านั้น (Edwards et al., 2000; Wensvoort and Terpstra, 1985) หรืออาจใช้วิธี nested-PCR ซึ่งต้องอาศัยข้อมูลในระดับโมเลกุลของสารพันธุกรรมของไวรัสในแง่ความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์มาช่วยประกอบในการแยกเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรออกจากไวรัสต่างๆ ในกลุ่มดังกล่าว (Katz et al., 1993)

ในสุกรซึ่งทำวัคซีนด้วยเชื้ออหิวาต์สุกรสายพันธุ์ chinese (C strain) จะสามารถตรวจหาแอนติเจนของอหิวาต์สุกรได้จนถึง 2 สัปดาห์ภายหลังการทำวัคซีน ดังนั้นในบริเวณซึ่งมีการทำวัคซีนอหิวาต์สุกร เช่น ประเทศไทย การแยกวินิจฉัยโรคจึงควรจะต้องแน่ใจว่าผลบวกที่ได้เกิดจากการติดเชื้อไม่ได้เกิดจากการทำวัคซีน การแก้ปัญหานี้ประกอบด้วยการซักประวัติการได้รับวัคซีน หรืออาจใช้ mAb คู่หนึ่งใช้ในการตรวจสอบ โดยที่ mAb ตัวแรกจะจำเพาะต่ออีพิโทปของอหิวาต์สุกร ขณะที่ mAb อีกตัวหนึ่งจะจำเพาะกับอีพิโทปของอหิวาต์สุกรเกือบทั้งหมดยกเว้นวัคซีนไวรัส หากผลการตรวจพบว่า mAb ให้ผลบวกขณะที่ตัวที่ 2 ให้ผลลบจะน่าสงสัยว่าผลบวกที่ได้เกิดจาก ไวรัสวัคซีน

สำหรับในรายที่สุกรทำวัคซีนด้วยเชื้อสายพันธุ์ lapinized สามารถตรวจสอบได้จากคุณสมบัติที่ว่าเชื้อสายพันธุ์นี้สามารถทำให้กระต่ายเป็นไข้และสร้างแอนติบอดีต่อเชื้ออหิวาต์สุกร ภายหลังจากการถ่ายเชื้อให้กระต่ายทางกระแสเลือด

<u>การเพาะแยกเชื้อไวรัส</u>

เชื้ออหิวาต์สุกรสามารถถูกเพาะเลี้ยงได้บน Porcine Kidney (PK-15) Cells ผลการเพาะเลี้ยงสามารถตรวจได้ภายใน 24 ถึง 72 ชั่วโมง ภายหลังการ inoculate เชื้อลงบนเซลล์วิธีนี้เป็นวิธีที่ไว (sensitive) กว่า FA test มาก

การตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสอีกวิธี ซึ่งเป็นที่นิยมคือ การใช้ Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เนื่องจากเป็นวิธีที่รวดเร็ว มีเครื่องมือแบบอัตโนมัติตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจได้แก่ เลือดหรือเนื้อเยื่อของสุกร อย่างไรก็ตามวิธีนี้จะไวน้อยกว่าการเพาะแยกเชื้อไวรัสและยังจำเพาะ (specific) น้อยกว่าอีกด้วย

<u>การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้ออหิวาต์สุกร</u>

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อนั้นสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยได้อย่างไรก็ตาม หากมีการฉีดวัคซีนให้แก่สุกร การวินิจฉัยด้วยวิธีนี้จะถูกจำกัดลงอย่างมากเพราะไม่สามารถแยกแอนติบอดีเนื่องจากการติดโรคออกจากแอนติบอดีจากการทำวัคซีน

องค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (World Organisation for Animal Health; WOAH) ได้ให้วิธีในการวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรที่เหมาะสม ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 วิธีการวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรที่เหมาะสม

Method	Purpose					
	Population freedom from infection	Individual animal freedom from infection prior to movement	Contribute to eradication policies	Confirmation of clinical cases	Prevalence of infection-surveillance	Immune status in individual animals or populations post-vaccination
Agent identification[5]						
Virus isolation	-	+	-	+++	-	-
PCR	+	+	++	+++	++	-
ELISA (antigen)	++	+	+	+	-	-
FAT	-	-	+	+	-	-
Detection of immune response						
ELISA (antibody)	+++	+++	+++	-	+++	+++
VN (FAVN or NPLA)	+	+++	++	++	+++	+++

(WOAH, 2019)

++ = recommended method
++ = suitable method
+ = may be used in some situations, but cost, reliability, or other factors severely limits its application
- = not appropriate for this purpose

[5] A combination of agent identification methods applied on the same clinical sample is recommended

1.8 การรักษาและควบคุมโรค

การใช้ยารักษาพบว่าไม่ได้ผล เมื่อสงสัยว่าเป็นโรคต้องได้รับการวินิจฉัยโรคที่รวดเร็ว และแม่นยำเพื่อป้องกันไม่ให้โรคแพร่กระจาย การจัดการทางสุขาภิบาลที่ดีจะช่วยป้องกันโอกาสติดโรคเข้าฟาร์ม

1.9 การป้องกันโรค

มาตรการซึ่งใช้ในการป้องกันการแพร่กระจายของโรคอหิวาต์สุกรที่นิยมกันมาก คือ การฉีดวัคซีนให้แก่สุกร ส่วนอีกมาตรการหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมโรคของประเทศในกลุ่มยุโรป คือ การกำจัดสุกรที่เป็นโรครวมทั้งสุกรในกลุ่มที่มีอัตราเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อ (Moennig, 2000) ซึ่งวิธีดังกล่าวนี้มีค่าใช้จ่ายสูงมาก และมีผลกระทบต่อผู้เลี้ยงสุกรอย่างสูง จึงมีการใช้วิธีดังกล่าวนี้เฉพาะในบางประเทศเท่านั้น ในปี พ.ศ.2540 ที่ผ่านมาจนถึงในปัจจุบันยังคงพบการระบาดของโรคอหิวาต์สุกรในแหล่งที่มีการเลี้ยงสุกรหนาแน่น ทั้งในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เป็นการระบาดชนิดที่แตกต่างกันไปในเรื่องของความรุนแรง อัตราการป่วย อัตราการตาย นอกจากนี้ยังอาจพบปัญหาการติดเชื้อในแม่สุกรอุ้มท้อง ทำให้มีลูกแท้งหรือพบลูกกรอก แม้ในฟาร์มที่มีการฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรป้องกันอยู่เป็นประจำ ปัญหาการสูญเสียเหล่านี้รวมถึงการพบการระบาดของโรคในลักษณะดังกล่าวยังอธิบายไม่ได้ชัดเจน แต่อาจเป็นไปได้ว่าประสิทธิภาพประสิทธิผลจากวัคซีนมีระดับที่จำกัดหรือโปรแกรมวัคซีนที่ใช้กันอยู่ในแต่ละฟาร์มมีความหลากหลายมาก และไม่ได้มีการประเมินว่า โปรแกรมและวิธีการให้วัคซีนแบบใดจะได้ประสิทธิภาพการป้องกันโรคที่ดีที่สุด แต่ในขณะเดียวกันก็มีการตั้งประเด็นปัญหาว่า โรคอหิวาต์สุกรมิได้เป็นปัญหาในเชิงเดี่ยว แต่เป็นสาเหตุหลัก มักมีจุลชีพอื่นหรือปัจจัยอื่นเป็นองค์ประกอบร่วมด้วยเสมอทำให้โรคทวีความรุนแรงขึ้น Stoian et al. (2020) ตรวจพบไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในสุกรที่ป่วยด้วยโรคอหิวาต์สุกร สุพลและสุวรรณี (2532) พบว่าโรคริกเก็ตเซียน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้สุกรที่อายุต่างๆ สร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคอหิวาต์สุกรได้ไม่ดีพอหลังจากการได้รับการฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร ส่วนการศึกษาถึงกรณีปัญหาโรคสุกรอื่น เช่น โรค Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS), เซอร์โคไวรัส (circovirus) และโรคแบคทีเรียติดเชื้อระบบทางเดินอาหารและทางเดินหายใจ รวมทั้งสารพิษจากเชื้อราที่พบในอาหารสัตว์ ล้วนเป็นสาเหตุให้สุกรมีสุขภาพทรุดโทรมง่ายต่อการติดเชื้อ และทำให้การสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคไม่ดีเท่าที่ควร

การเฝ้าระวังและติดตามสถานภาพของภูมิคุ้มกันต่อโรคในฟาร์มสุกร รวมทั้งการติดตามประสิทธิภาพของการทำวัคซีนเป็นสิ่งจำเป็นอีกประการหนึ่งที่ควรมีการปฏิบัติอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้การควบคุมโรคเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งทำได้โดยการศึกษาและสำรวจระดับภูมิคุ้มโรคในซีรัม (Serological tests) ปัจจุบันมีการนำเทคนิค Neutralizing peroxidase-linked assay (NPLA) มาใช้เพื่อตรวจวัดระดับแอนติบอดีในซีรัมของสุกรในประเทศไทย (NIAH, 1998) แต่เนื่องจากวิธีการตรวจนี้ไม่สามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่าง passive และ active immunity ได้ ดังนั้นในกรณีที่ลูกสุกรที่ได้รับภูมิคุ้มจากแม่ ผลที่ได้รับจึงไม่สามารถบอกให้ทราบถึงสภาวะภูมิคุ้มกันที่สร้างโดยลูกสุกรอย่างแท้จริงได้ จึงควรมีการพัฒนาวิธีการวินิจฉัยโรคที่สามารถแก้ปัญหาตรงนี้ได้

วิธีการป้องกันโรคอหิวาต์สุกรมีอยู่ 2 กรณี คือ ในกรณีที่ประเทศนั้นปลอดจากโรคและกรณีที่ยังคงมีโรคอยู่ในประเทศ ประเทศซึ่งประกาศตัวว่าปลอดจากเชื้ออหิวาต์สุกรมักจะประกาศห้ามการทำวัคซีนอหิวาต์สุกรแก่สุกรในประเทศ แต่ใช้วิธีการป้องกันต่างๆ เช่น ห้ามการนำเข้าสุกรมีชีวิต เนื้อสุกรและผลิตภัณฑ์จากสุกรซึ่งไม่ผ่านกรรมวิธีอย่างเพียงพอจากประเทศที่ยังมีการระบาดของโรคนี้อยู่ ต้องทำความสะอาด machanical vector เช่น รถบรรทุกเพื่อป้องกันการนำเชื้อเข้าฟาร์ม ในกรณีที่มีการระบาดของอหิวาต์สุกรใน

ประเทศเหล่านั้น เจ้าหน้าที่ผู้มีอำนาจจะเข้ามาจัดการมาตรการต่างๆ เพื่อช่วยในการกำจัดเชื้อไวรัส เช่น กำจัดสุกรทุกตัวในฟาร์มและทำความสะอาดฟาร์มทิ้งไว้

ในประเทศซึ่งมีการทำวัคซีนอหิวาต์สุกร วิธีการป้องกันโรคที่ดีนั้น ได้แก่ วิธีทางสุขาภิบาล การทำวัคซีนแก่สุกรนั้นจะเป็นการเพิ่มระดับของภูมิคุ้มกันของสุกรต่อโรคอหิวาต์สุกร หากเกิดการระบาดจะทำให้การสูญเสียน้อยกว่า การทำวัคซีนในลูกสุกรนั้นจะทำที่สุกรอายุ 6-9 อาทิตย์ ส่วนสุกรสาวจะทำวัคซีนอีกครั้งเมื่ออายุ 6-7 เดือน เพื่อเพิ่มระดับของภูมิคุ้มกันของฟาร์ม

วัคซีนอหิวาต์สุกรในประเทศไทยนั้นมักจะใช้ C strain (สเตรนไชน่า) เชื้อไวรัสสายพันธุ์นี้จะเจริญอยู่เฉพาะบริเวณเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphoid tissue) โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อมทอนซิล เชื้อนี้สามารถแพร่ผ่านรก แต่ดูเหมือนว่าจะไม่ทำอันตรายแก่ตัวอ่อนและแม่ที่ตั้งท้อง นอกจากนี้ไวรัส C strain ยังสามารถแพร่จากสุกรตัวที่ได้รับวัคซีนไปยังตัวอื่นๆ ที่อยู่ใกล้เคียงได้

สุกรสามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคได้ภายใน 1 สัปดาห์ภายหลังจากได้รับเชื้อไวรัสและภูมิคุ้มกันสามารถคงอยู่ได้ 2-3 ปี หรือบางครั้งอาจจะนานตลอดชีวิต การทำวัคซีนนั้นไม่เพียงแต่ป้องกันการเกิดโรคในสุกรแต่ยังลดการแบ่งตัวของเชื้ออหิวาต์สุกร หากสุกรได้รับเชื้อในภายหลัง

ลูกสุกรจะได้รับภูมิคุ้มกันต่อโรคอหิวาต์สุกรจากแม่ผ่านทางนมน้ำเหลืองในช่วง 36-48 ชั่วโมงแรกภายหลังการคลอด ภูมิคุ้มกันนี้จะมีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 14 วัน ลูกสุกรที่เกิดจากแม่ที่ได้รับการทำวัคซีนจะสามารถป้องกันการตายจากโรคนี้ได้นาน 5-8 สัปดาห์ แต่ไม่สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อและขับเชื้อออกมาได้

ปัจจุบันมีการพัฒนาวัคซีนชนิดใหม่ขึ้นมาเรียกว่า marker vaccine ซึ่งมีเป้าหมายให้สามารถแยกแยะได้ระหว่างสุกรซึ่งติดโรคกับสุกรซึ่งได้รับวัคซีน วัคซีนดังกล่าวจะมีเฉพาะ E2 โปรตีนในแอดจูแวนท์ (adjuvant) ดังนั้นสุกรซึ่งได้รับวัคซีนจะสร้างแอนติบอดีเฉพาะต่อ E2 โปรตีนเท่านั้น แต่ในการตรวจนั้นเราใช้ชุดตรวจ ซึ่งตรวจหา E0 หากได้ผลบวกแสดงว่ามีการติดโรคขึ้น อย่างไรก็ตามวัคซีนใหม่นี้ยังไม่เป็นที่ยอมรับอย่างแพร่หลายนักเนื่องจากประสิทธิภาพยังไม่ดีเท่าวัคซีนแบบเก่า

บทที่ 2
การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร

บทที่ 2
การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร

การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรในประเทศไทย ดำเนินการโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (ชื่อเดิมคือ กองวัคซีน) ซึ่งเป็นแห่งเดียวของประเทศไทยในการผลิตวัคซีนสำหรับปศุสัตว์ สามารถผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรได้ครั้งแรกในปี พ.ศ.2493 เป็นวัคซีนชนิดเชื้อตาย และต่อมาผลิตวัคซีนชนิดผ่านกระต่าย ชนิด SFA และในปี พ.ศ.2518 ได้ไวรัสวัคซีนชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า จากประเทศฮังการี ซึ่งเริ่มผลิตออกจำหน่ายเมื่อปี พ.ศ. 2520 เป็นวัคซีนที่มีความปลอดภัยและให้ความคุ้มโรคสูง จึงผลิตวัคซีนชนิดนี้ต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน เป็นระยะเวลากว่า 40 ปี ในขณะเดียวกันก็มีการศึกษาวิจัย เพื่อนำผลการศึกษามาปรับปรุงวิธีการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร และได้ข้อมูลความรู้ที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งศึกษาวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดใหม่ที่เป็นวัคซีนชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง เพื่อรองรับการเปลี่ยนแปลงในอนาคต

2.1 การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรในอดีตถึงปัจจุบัน

2.1.1 วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเชื้อตาย (Inactivated vaccine) เป็นวัคซีนเชื้อตายโดยใช้ crystal violet เริ่มทำการศึกษา ทดลอง และผลิตที่กองวัคซีน อำเภอปากช่องในปีพ.ศ. 2493-2495 โดยผลิตจากเชื้อไวรัส American strain ทดลองทำการผลิตจำนวน 40 ชุด พบว่าวัคซีนที่ให้ความคุ้มโรคมีเพียง 11 ชุด คิดเป็นวัคซีนรวม 3,530 โด๊ส และในปีพ.ศ. 2496 ทดลองทำวัคซีนจำนวน 22 ชุด เมื่อทดสอบในสุกรพบว่าใช้ได้เพียง 3 ชุด คิดเป็นวัคซีนรวม 2,900 โด๊ส และในในปีพ.ศ. 2552 ได้ทดลองทำวัคซีนจากเชื้อไวรัส ซึ่งเก็บจากสุกรป่วยเป็นโรค อหิวาต์สุกรในเขตบางเขน ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสชนิด local strain แต่พบว่าวัคซีนชนิดเชื้อตายนี้ ให้ความคุ้มโรคต่ำ เช่นเดียวกัน

สรุปการทำวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเชื้อตายโดยใช้ crystal violet ได้ผลไม่คุ้มค่า เนื่องจากให้ความคุ้มโรคต่ำ ระยะเวลาคุ้มโรคสั้น ไม่เกิน 6 เดือน และได้วัคซีนไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงหยุดผลิต

2.1.2 วัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็นชนิดผ่านกระต่าย (Lapinized live classical swine fever virus vaccine) ซึ่งเป็น attenuated หรือ modified live vaccine ได้แก่

2.1.2.1 วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรน SFA : เชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรสเตรน SFA ได้รับจาก Dr. Hudson แห่ง Weybridge เมื่อ พ.ศ. 2496 เชื้อไวรัสได้ถูกผ่านในกระต่าย 80 ครั้ง เพื่อ attenuate มาแล้วแต่ยังมีความรุนแรง (virulent) ต่อสุกรจึงใช้ทำวัคซีนไม่ได้ ต้องผ่านในกระต่ายอีก 120 ครั้ง จนความรุนแรงของไวรัสลดลงตามลำดับ สามารถทำวัคซีนได้ตั้งแต่ พ.ศ. 2497 เป็นต้นมา แต่วัคซีนชนิดนี้ยังมีปฏิกิริยาหลังฉีด ต้องฉีด hyperimmune serum ควบคู่กับการฉีดวัคซีน ต่อมาได้ผ่านไวรัสวัคซีนเข้ากระต่ายอีกมากกว่า 700 ครั้ง ซึ่งก็ยังมีปฏิกิริยาหลังฉีดวัคซีน แต่คงใช้ต่อมามากกว่า 20 ปี คือตั้งแต่ พ.ศ. 2497 ถึง 2519 เป็นวัคซีนกว่า 8 ล้านโด๊ส (ตารางที่ 3)

วิธีผ่านเชื้อไวรัสในกระต่าย Dr. Hudson แนะนำให้ใช้ม้ามของกระต่ายที่ฉีดเชื้อไวรัสสเตรน SFA บดละเอียดผสมน้ำเกลือ (0.85% NaCl) เจือจางเป็น 10% ฉีดกระต่ายตัวละ 2 มล. เข้าเส้นเลือดที่ใบหู แต่พบว่ามีกระต่ายช็อกตาย จึงได้เปลี่ยนแปลงโดยใช้ defibrinated blood 9 ส่วน โดยปริมาตร ผสมกับม้ามและต่อมน้ำเหลืองที่เยื่อแขวนลำไส้ (mesentenic lymph node, MLN) 1 ส่วนโดยน้ำหนักแล้วผสมน้ำเกลือ 10% ฉีดเข้าเส้นเลือดกระต่ายตัวละ 1 มล. แล้วเก็บเชื้อไวรัสในวันที่ 3-5 หลังฉีด

ตารางที่ 3 ยอดการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรน SFA ตั้งแต่ปี พ.ศ 2497-2519 โดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์

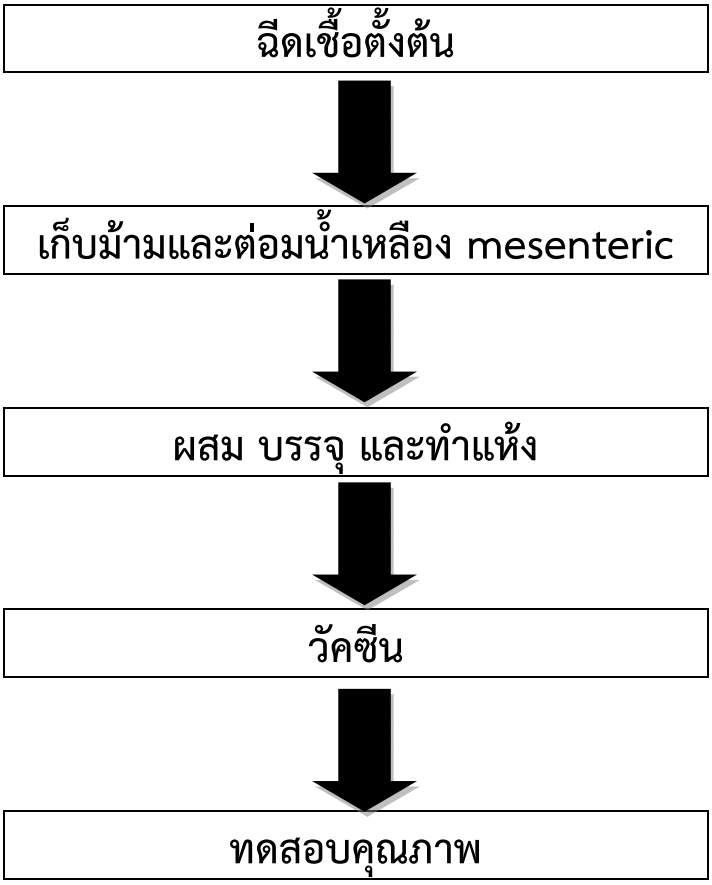
ปี พ.ศ.	จำนวนโด๊ส	ปี พ.ศ.	จำนวนโด๊ส
2497	71,860	2509	277,620
2498	121,880	2510	564,720
2499	124,260	2511	269,870
2500	126,220	2512	310,150
2501	199,460	2513	946,850
2502	313,200	2514	137,250
2503	247,940	2515	548,310
2504	197,460	2516	547,050
2505	242,760	2517	661,100
2506	275,280	2518	772,850
2507	134,560	2519	786,800
2508	213,660		
ยอดการผลิตวัคซีนรวมทั้งหมด 8,091,110 โด๊ส			

2.1.2.2 วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า ใน พ.ศ. 2518 สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ได้รับเชื้อไวรัสวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า จากสถาบันสัตวแพทย์ เมืองบูดาเบส ประเทศฮังการี ได้นำมาทำการทดลองผลิตวัคซีนและฉีดวัคซีนสุกรในท้องที่มากกว่า 1,000 ตัว พบว่าวัคซีนมีความปลอดภัยมากกว่าวัคซีนสเตรน SFA สุกรที่ได้รับการฉีดวัคซีน ไม่พบปฏิกิริยาหลังฉีด ให้ความปลอดภัยในลูกสุกร เชื้อไวรัสไม่แพร่ไปยังตัวอื่น และสามารถให้ความคุ้มโรคได้เร็วภายใน 4-7 วัน ภูมิคุ้มโรคอยู่ได้นานกว่า 1 ปี ซึ่งการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่าของกรมปศุสัตว์ ได้รับการศึกษา และปรับปรุงทางด้านการผลิตเพื่อให้มีคุณภาพและประสิทธิภาพ ที่ผ่านการทดสอบตามมาตรฐานในห้องปฏิบัติการและในสุกรทดลองก่อนออกจำหน่าย

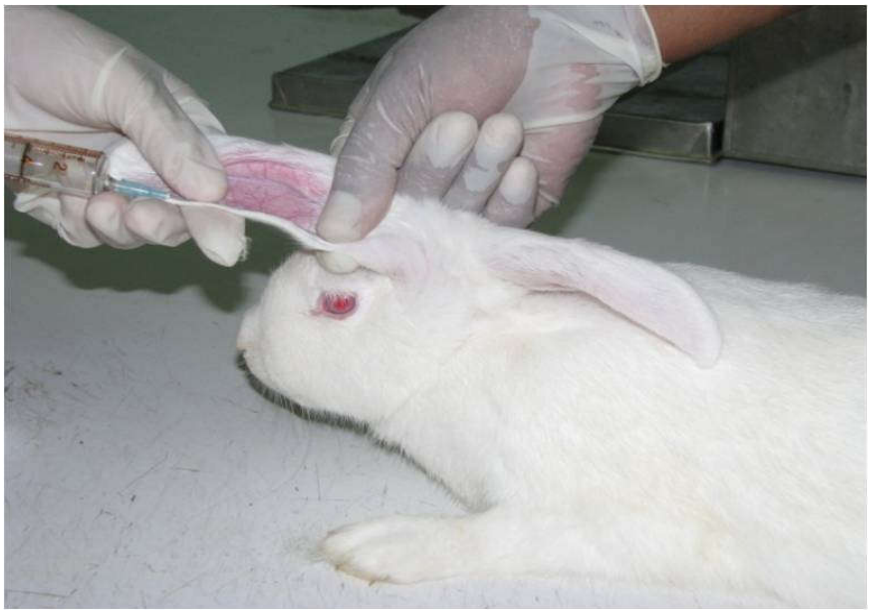
ขั้นตอนการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า มีดังนี้ (ภาพที่ 16)

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ทำการเพิ่มปริมาณไวรัสวัคซีน สเตรนไชน่า ในกระต่ายที่น้ำหนักมากกว่า 2 กิโลกรัม ด้วยการฉีดเข้าเส้นเลือดดำที่ใบหู (ear vein) ขนาดตัวละมากกว่า 10^4 Pig protection dose 50% (PD_{50}) นาน 3 วัน โดยวัดอุณหภูมิร่างกาย 3 วัน ซึ่งในวันที่ 2 จะสูงถึง 105-107°F จากนั้นลดลงสู่ปกติ (ภาพที่ 17)

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> ในวันที่ 3 ทำการเก็บไวรัสวัคซีน (harvest) โดยเจาะเลือดเพื่อเก็บ serum (ภาพที่ 18 และภาพที่ 19) จากนั้นเก็บแช่แข็งที่ -40^{0}C รอการใช้งาน เก็บม้าม (ภาพที่ 20) และ mesenteric lymph node (ภาพที่ 21 และภาพที่ 22)



ภาพที่ 16 แผนผังสรุปขั้นตอนการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า



ภาพที่ 17 การฉีดไวรัสวัคซีนเข้าเส้นเลือดดำที่ใบหู (ear vein)

ภาพที่ 18 การเก็บไวรัสวัคซีน (harvest) โดยเจาะเลือดเพื่อเก็บ serum

ภาพที่ 19 เลือดที่ได้จากการเก็บไวรัสวัคซีน (harvest)

ภาพที่ 20 การเก็บไวรัสวัคซีน (harvest) โดยการเก็บม้าม

ภาพที่ 21 การเก็บไวรัสวัคซีน (harvest) โดยการเก็บ mesenteric lymph node

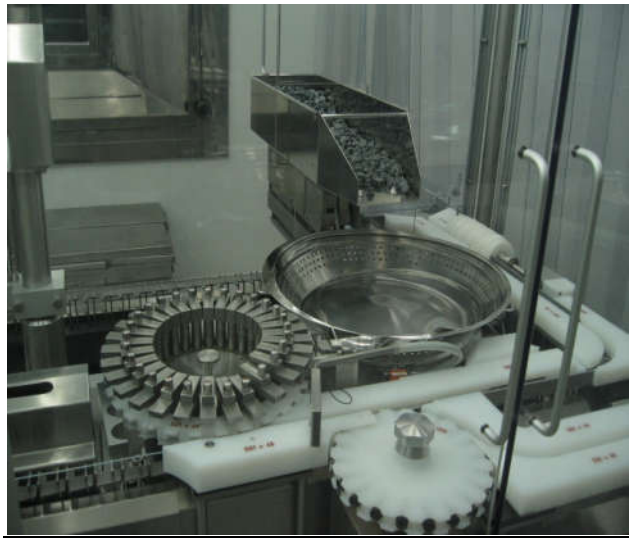
ภาพที่ 22 ม้ามและ mesenteric lymph node ที่ได้จากการเก็บไวรัสวัคซีน (harvest)

<u>ขั้นตอนที่ 3</u> นำม้ามและ mesenteric lymph node มาบดย่อย (ภาพที่ 23) และผสมเป็นน้ำวัคซีนพร้อมบรรจุ ซึ่งประกอบด้วย ม้ามและ MLN 2%, ซีรัม 10%, ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) 1% และสารคงตัว (stabilizer) 87% (ภาพที่ 24)

ภาพที่ 23 การบดย่อยม้ามและ mesenteric lymph node

ภาพที่ 24 น้ำวัคซีนพร้อมบรรจุ

ขั้นตอนที่ 4 ทำการบรรจุน้ำวัคซีนลงขวดดูดแห้งจำนวน 1 มล. ซึ่งมี 10 โด๊ส โดยนำน้ำวัคซีนเข้าเครื่องบรรจุและปิดจุกยาง (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 เครื่องบรรจุและปิดจุกยาง

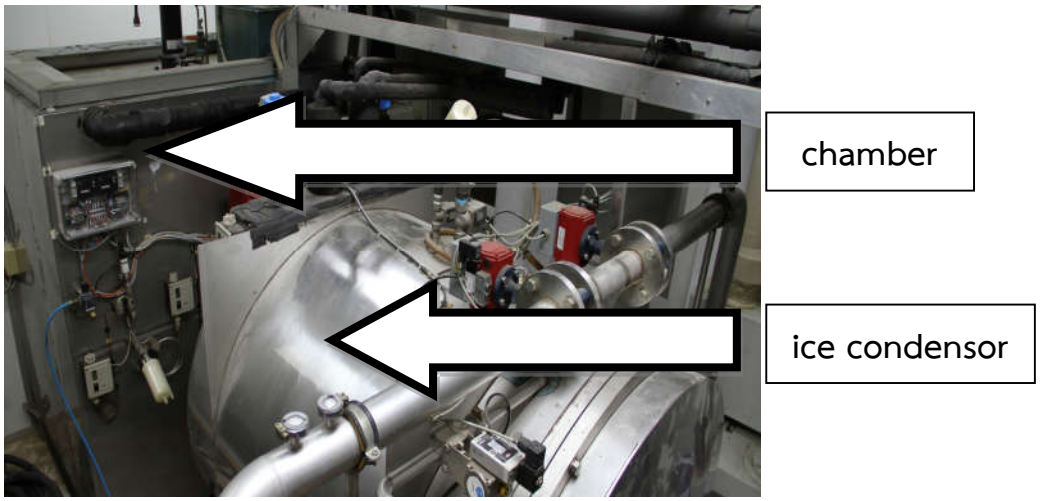
ขั้นตอนที่ 5 นำขวดดูดแห้งที่บรรจุด้วยน้ำวัคซีนเข้าเครื่องทำแห้ง (ภาพที่ 26 และภาพที่ 27) ใช้เวลาทำแห้ง 24-26 ชม.ได้วัคซีนชนิดทำแห้งสำเร็จรูป

เครื่องทำแห้งประกอบด้วย

1) ตัวเครื่องประกอบด้วย chamber (สำหรับใส่ขวดวัคซีนที่ต้องการทำแห้ง และ ice condenser (สำหรับจับความความชื้นที่ออกจากผลิตภัณฑ์) (ภาพที่ 28 และภาพที่ 29)
2) vacuum pump (สำหรับทำสภาพสุญญากาศ) (ภาพที่ 30)
3) compressor (สำหรับทำความเย็น) (ภาพที่ 31)
4) heater (สำหรับทำความร้อน)
5) controller (สำหรับความคุมการทำงานเครื่องทำแห้ง) (ภาพที่ 32)

ภาพที่ 26 เครื่องทำแห้ง (ด้านหน้า)

ภาพที่ 27 เครื่องทำแห้ง (ด้านหลัง)



ภาพที่ 28 ตัวเครื่องทำแห้งที่ประกอบด้าย chamber และ ice condensor

ภาพที่ 29 ภายใน chamber ซึ่งประกอบด้วย plate จำนวน 8 ชั้น

ภาพที่ 30 vacuum pump

ภาพที่ 31 compressor

ภาพที่ 32 controller

ซึ่งในการทำแห้งนี้ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1) การนำขวดที่บรรจุวัคซีนใส่เข้าใน chamber โดยวางขวดบน plate
2) controller สั่งให้ compressor ทำความเย็นให้กับ plate จนถึง -40^{0}C (ทำให้ตัวผลิตภัณฑ์ มีอุณหภูมิ -40^{0}C)
3) controller สั่งให้ compressor ทำความเย็นให้กับ ice condenser จนถึงอุณหภูมิ -70^{0}C
4) controller สั่งให้ vacuum pump ทำสภาพสุญญากาศใน ice condenser
5) controller สั่งให้เปิดวาล์วที่กั้นระหว่าง ice condenser และ chamber (ทำให้ ice condenser และ chamber มีสภาพสุญญากาศ)
6) controller สั่งให้ heater ทำความร้อนให้กับขวดที่บรรจุวัคซีนจากอุณหภูมิ -40 ถึง 25^{0}C ในขณะเดียวกัน controller สั่งให้ compressor ทำความเย็นคงที่ ที่อุณหภูมิ -70^{0}C ให้กับ ice condenser โดยที่ controllerจะสั่งให้ vacuum pump ทำสภาพสุญญากาศใน ice condenser และ chamber ตลอดการทำแห้ง
7) เมื่อการทำแห้งเสร็จสมบรูณ์ controller สั่งให้ chamber ปิดจุกยาง

สรุปการทำแห้ง กล่าวง่ายๆ คือการเอาน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ (ในที่นี้คือวัคซีน) โดยวิธีระเหิด (ภายใต้สภาวะสุญญากาศ) (ภาพที่ 33)

ภาพที่ 33 วัคซีนอหิวาต์สุกรที่ผ่านการทำแห้งแล้ว

ขั้นตอนที่ 5 นำขวดวัคซีนที่ผ่านการทำแห้งแล้วมาปิดฝาอลูมิเนียมด้วยเครื่องปิดฝาอลูมิเนียม (ภาพที่ 34)

ภาพที่ 34 เครื่องปิดฝาอลูมิเนียม

ขั้นตอนที่ 6 ทำการติดฉลากสติ๊กเกอร์ที่ขวดวัคซีนด้วยเครื่องติดฉลากขวดวัคซีน (ภาพที่ 35)

ภาพที่ 35 เครื่องติดฉลากขวดวัคซีน

ขั้นตอนที่ 7 นำวัคซีนบรรจุลงกล่องด้วยเครื่องบรรจุลงกล่อง (ภาพที่ 36) จะได้วัคซีนอหิวาต์สุกรพร้อมจำหน่ายต่อไป (ภาพที่ 37)

ภาพที่ 36 เครื่องบรรจุลงกล่อง

ภาพที่ 37 วัคซีนอหิวาต์สุกรพร้อมจำหน่าย

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ได้ผลิตวัคซีนสเตรนไชน่าตั้งแต่ พ.ศ. 2519 เป็นต้นมาจนถึงปัจจุบัน (พ.ศ. 2566) นานกว่า 40 ปี ได้จำนวนวัคซีนมากกว่า 200 ล้านโด๊ส (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ยอดการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2520-2566 โดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์

ปี พ.ศ.	จำนวนโด๊ส	ปี พ.ศ.	จำนวนโด๊ส
2520	516,290	2544	12,891,090
2521	990,270	2545	12,750,630
2522	1,079,970	2546	4,589,550
2523	1,242,380	2547	9,874,310
2524	1,479,000	2548	8,164,650
2525	1,608,650	2549	6,272,940
2526	2,883,920	2550	13,877,070
2527	3,156,550	2551	2,468,760
2528	3,093,500	2552	3,413,830
2529	1,514,140	2553	7,069,760
2530	2,078,580	2554	8,564,780
2531	4,411,810	2555	8,246,190
2532	5,559,040	2556	6,733,420
2533	5,783,170	2557	3,065,680
2534	7,848,040	2558	5,755,170
2535	6,213,610	2559	4,562,640
2536	8,360,640	2560	574,810
2537	10,824,370	2561	3,390,400
2538	8,208,040	2562	1,123,510
2539	6,949,800	2563	2,247,500
2540	8,184,350	2564	2,619,790
2541	7,518,000	2565	1,528,930
2542	9,929,890	2566	1,889,660
2543	12,905,770		
ยอดการผลิตวัคซีนรวมทั้งหมด 254,014,850 โด๊ส			

ถึงแม้ว่ากรมปศุสัตว์ได้ผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงสุกร แต่ก็มีเพียง 30% ของจำนวนที่ใช้ในประเทศไทย นอกนั้นเป็นการนำเข้าจากต่างประเทศ จากข้อมูลกองควบคุมอาหารและยา (Food and Drug Administration , 2003) มีวัคซีนนำเข้ากว่า 10 ชนิด จากหลายสเตรน (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 วัคซีนอหิวาต์สุกรในประเทศไทยที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ลำดับ	ชื่อ	ไวรัสวัคซีนสเตรน	ปริมาณไวรัสต่อโด๊ส	บริษัทผู้ผลิต (บริษัทผู้นำเข้า)
1	BSL-HC (Swine fever vaccine)	GPE^-	≥ $10^{2.3}$ $TCID_{50}$	Bestar Lab. ประเทศสิงคโปร์ (Wellab Inter.)
2	Freeze-Dried Lapinized Hog Cholera vaccine	LPC	≥ 10^3 $TCID_{50}$	Kaohsiung ประเทศจีน (Chanaphand In.)
3	Hog Cholera live Virus Vaccine (HC-VAC)	LOM	≥ 10^3 $TCID_{50}$	Choong Ang ประเทศเกาหลี (Diethelm Trading)
4	Hog Cholera vaccine (Tissue culture)	LOM	> 10^3 $TCID_{50}$	Green Cross Vet. ประเทศเกาหลี (Jark Martin)
5	Live Hog Cholera vaccine “KITASATO”	GPE^-	≥ 5 x $10^{2.3}$ $TCID_{50}$	Kitasato Inst. ประเทศญี่ปุ่น (Charoen Pokphand)
6	PESTIFFA	Chinese	100 PD_{50}	Merial ประเทศฝรั่งเศส (Charoen Pokphand)
7	PEST-VAC	China	> 100 PD_{50}	Fort Dodge Saude ประเทศบราซิล (Fort Dodge, Thailand)
8	PORCILIS CSF LIVE	GPE^-	≥ $10^{3.0}$ $TCID_{50}$	Matsuken Phar. ประเทศญี่ปุ่น (Intervet Int. Thailand)
9	PORCILIS PESTI	Sub-unit marker	>40 ELISA unit of E2	Intervet Int. ประเทศเนเธอร์แลนด์ (Intervet Int. Thailand)
10	PORKIRIN	China	100 PD_{50}	Lab. Ovejero, SA ประเทศสเปน (P. Vet.)
11	CEVA	Thiverval	≥ $10^{3.0}$ $TCID_{50}$	Coglapest ประเทศฮังการี (Sante animal)

2.2 การผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรในอนาคต

ปัจจุบันกรมปศุสัตว์ผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร สเตรนไชนีส เป็นวัคซีนเชื้อเป็นชนิดผ่านกระต่าย ซึ่งเป็นวัคซีนที่ให้ความคุ้มโรคได้ดี แต่การผลิตวัคซีนแต่ละชุดต้องใช้กระต่ายในการเพิ่มปริมาณไวรัสอย่างน้อยชุดละ 100 ตัว จึงจำเป็นต้องมีแหล่งเพาะเลี้ยงที่ผลิตกระต่ายได้อย่างต่อเนื่องและกระต่ายต้องมีสุขภาพสมบูรณ์ ซึ่งแหล่งเพาะเลี้ยงกระต่ายเพาะพันธุ์กระต่ายไม่ทันกับความต้องการของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ที่มีความต้องการปีละ 5,000-6,000 ตัว หรือบางแหล่งเลี้ยงกระต่ายที่สายพันธุ์ไม่ตรงตามความต้องการ เป็นกระต่ายที่เลี้ยงเพื่อความสวยงาม ทำให้ใช้ในงานผลิตวัคซีนค่อนข้างยาก เป็นผลให้ไม่สามารถผลิตวัคซีนได้อย่างสม่ำเสมอและเพียงพอ ต่อความต้องการใช้ภายในประเทศ เฉลี่ยปีละ 6.26 ล้านโด๊ส เมื่อพบปัญหากระต่ายไม่เพียงพอหรือไม่ตรงกับการใช้งาน จึงทำให้ปริมาณการผลิตลดลงไม่ทันกับความต้องการของเกษตรกร เสียดุลการค้ากับต่างประเทศในการนำเข้าวัคซีน

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ จึงได้ทำการศึกษาวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดใหม่ที่เป็นวัคซีนชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง (tissue culture classical swine fever vaccine) เพื่อรองรับการเปลี่ยนแปลงในอนาคตและเป็นการลดการใช้สัตว์ทดลอง ตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ด้วย (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2556)

การพัฒนาไวรัสอหิวาต์สุกรในเซลล์เพาะเลี้ยงมีการศึกษาโดยใช้เซลล์หลายชนิด เช่น ไตหนูตะเภา (ฉายและคณะ, 2529), SK-6 (Terpstra et al., 1990) และ PK-15 (Wu et al., 2013) เป็นต้น ปัจจุบันมีการผลิตวัคซีนจากเซลล์เพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย ซึ่งข้อดีของวัคซีนที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงคือ ควบคุมการผลิตได้อย่างสม่ำเสมอ ให้ความคุ้มโรคได้เช่นเดียวกันกับชนิดผ่านกระต่าย แต่ผลิตได้ปริมาณที่เพียงพอมากกว่า (Nath et al., 2016) ยี่ห้อที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เช่น Coglapest และ Green cross เป็นต้น

ในประเทศไทยการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงมีการดำเนินการอย่างต่อเนื่อง ในปี พ.ศ. 2515 ประเทศไทยได้รับความช่วยเหลือจากประเทศญี่ปุ่น โดย Dr. Minoru Sawada ผู้เชี่ยวชาญด้านการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร ได้นำเชื้อไวรัสวัคซีนสเตรน GPE^- มาทดลองผลิตเป็นวัคซีนชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงไตหนูตะเภาที่กองวัคซีน (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์) โดยการผลิตจำนวนน้อยและทดลองฉีดสุกรในท้องที่มากกว่า 3,000 ตัว พบว่าวัคซีนสเตรน GPE^- เป็นวัคซีนที่มีประสิทธิภาพดี แต่เนื่องจากวัคซีนชนิดนี้ใช้เซลล์ไตหนูตะเภาปฐมภูมิ (primary guinea pig kidney cell; 1^0 GPK) สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสวัคซีน ซึ่งต้องใช้ผู้ที่มีความสามารถและชำนาญ ในการเตรียมเซลล์และปัญหาทางด้านเทคนิคในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม จึงไม่ได้ผลิตวัคซีนชนิดนี้ออกจำหน่าย การผลิตวัคซีนชนิดนี้ต้องเพิ่มขยายเชื้อไวรัสสเตรน GPE^- ใน 1^0 GPK ซึ่งได้จากการฆ่าหนูตะเภาแล้วนำไตส่วน cortex มาตัดย่อยแล้วย่อยด้วย 0.25% trypsin ในตู้เย็นนาน 15-16 ชั่วโมงจากนั้นนำมากรองด้วยตะแกรงลวดชนิดละเอียด นำไปปั่นตกตะกอนเพื่อล้างเซลล์ 2 ครั้ง ทำการเพาะเซลล์ด้วยขนาด 0.5% ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ที่ 37^0C เป็นเวลา 5-7 วัน จึงเพาะไวรัสวัคซีน สเตรน GPE ด้วยขนาด 10^4 tissue culture infective dose 50% ต่อ มล. ($TCID_{50}$/มล.) นาน 6-7 วัน ที่ 37^0C จึงเก็บเชื้อไวรัสเป็น vaccine stock solution แล้วจึงนำไปผลิตวัคซีนทำแห้ง (สละ, 2529) ซึ่งการผลิต 1^0 GPK ค่อนข้างยุ่งยาก และต้องฆ่าหนูตะเภาเพื่อใช้ไตทุกครั้งที่ผลิต

วาสนาและคณะ (2544) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรนไชนีสชนิดผ่านกระต่ายในเซลล์เพาะเลี้ยงหลายชนิด พบว่าเชื้อไวรัสสามารถเจริญได้ในเซลล์ SK6 และเซลล์ FS-L3 ซึ่งเป็นเซลล์ไตสุกร รวมทั้งเซลล์กล้ามเนื้อโค (Bovine Fetal Muscle; BFM) จากนั้นจึงทดลองเพาะเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรนไชนีส ชนิดผ่านกระต่ายในเซลล์ FS-L3 ที่สภาวะอุณหภูมิต่ำ แล้วนำเชื้อไวรัสที่ได้มาทดสอบความปลอดภัยและความคุ้มโรคในสุกร พบว่าเชื้อไวรัสมีความปลอดภัยต่อสุกร ไม่พบเชื้อไวรัสในเลือด ไม่พบการแพร่เชื้อไวรัสไปยังสุกรที่นำมาเลี้ยงรวมกันและเป็นไวรัสวัคซีนที่ให้ความคุ้มโรคสูง สามารถนำไปพัฒนาผลิตเป็นวัคซีนชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงได้ (วาสนาและคณะ, 2548) ข้อดีของเซลล์ FS-L3 คือเพาะเลี้ยงได้โดยไม่ต้องใช้ซีรัมเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเซลล์ (Sakoda and Fukusho, 1998) ทำให้ลดค่าใช้จ่ายและลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้ออื่นๆ จากซีรัม

นลินีและละมูล (2566) ผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรนไชนีส ในระดับต้นแบบโดยเพาะเลี้ยงไวรัสอหิวาต์สุกร ในเซลล์ FS-L3 ในขวดเพาะเซลล์พลาสติกขนาด 225 ตารางเซนติเมตร ใช้อาหารเลี้ยงไวรัสที่มีซีรัมโค 10% บ่มที่ 37^{o}C นาน 12 วัน นำมาผสมกับสารคงสภาพประกอบด้วยโพลิไวนิลไพโรลิโดนและแลคโตส ผลิตเป็นวัคซีนชนิดดูดแห้ง 3 ชุด จำนวน 26,600, 33,870 และ 34,110 โด๊ส ตามลำดับ ปริมาณไวรัสเฉลี่ยก่อนทำแห้งและหลังทำแห้งเท่ากับ 6.83±0.58 log $TCID_{50}$/มล. และ 5.22±0.63 log$TCID_{50}$/โด๊ส ตามลำดับ ทดสอบความปลอดภัยพบว่าวัคซีนทุกชุดมีความปลอดภัยไม่พบอาการแพ้หรือผิดปกติบริเวณที่ฉีด องค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศกำหนดความคุ้มโรคของวัคซีนในสุกรต้องไม่น้อยกว่า 100 PD_{50}/โด๊ส ซึ่งการทดสอบความคุ้มโรควัคซีนระดับต้นแบบทั้ง 3 ชุด มีความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 319.890 PD_{50}/โด๊ส ทุกชุด จากผลการวิจัยสรุปได้ว่าวัคซีนอหิวาต์สุกร สเตรนไชนีส ชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงในระดับต้นแบบ ผ่านการทดสอบคุณสมบัติทั่วไปทางกายภาพในห้องปฏิบัติการ วัคซีนมีความปลอดภัยและมีความคุ้มโรคในสุกรตามมาตรฐานสากล สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตเป็นระดับอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคตได้

สำหรับการพัฒนาวัคซีนชนิด Subunit ซึ่งสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคอหิวาต์สุกรได้เช่นกัน แต่อาจใช้เวลานานกว่าและมีราคาสูง ยี่ห้อที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เช่น Porcilis Pesti (Coronado et al., 2021)

บทที่ 3

การทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกร

บทที่ 3
การทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกร

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ มีกระบวนการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยมีการทดสอบคุณภาพทั้งจากหน่วยงานทดสอบคุณภาพภายใน Internal quality control (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์) และหน่วยงานทดสอบคุณภาพภายนอก External quality control (ศูนย์ทดสอบและวิจัยชีววัตถุสำหรับสัตว์) และสามารถออกใบรับรองการตรวจวิเคราะห์ (Certificate of Analysis) ของชุดการผลิต เพื่อสร้างความเชื่อมั่นในคุณภาพของผลิตภัณฑ์

ในที่นี้จะกล่าวเฉพาะการทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกรของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์เท่านั้น ซึ่งการทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกรแบ่งเป็นการทดสอบในห้องปฏิบัติการและการทดสอบในสัตว์ทดลอง ดังนี้

3.1 การทดสอบคุณภาพวัคซีนในห้องปฏิบัติการ

3.1.1 การตรวจสอบคุณลักษณะทั่วไปและการละลาย (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2564ก)

- วิธีการ
  1) สังเกตลักษณะภายในขวดบรรจุวัคซีนและพิจารณาเนื้อวัคซีน (ภาพที่ 38)
  2) ละลายวัคซีน โดยดูดน้ำยาละลายวัคซีนด้วยกระบอกฉีดยา ขนาด 10 มล. จำนวน 10 มล. ต่อวัคซีน 1 ขวด จำนวน 5 ขวด (ภาพที่ 39)
  3) ทำการบันทึกผลในตารางที่ 6
- การอ่านผล

  เนื้อวัคซีนเป็นก้อนพองตัวดี สีเหลืองนวล และเมื่อละลายวัคซีนด้วยน้ำยาละลายวัคซีนควรละลายเป็นของเหลว เนื้อเดียวกัน ไม่มีสิ่งเจือปนอื่นใด ถือว่าการทดสอบผ่าน

ภาพที่ 38 การตรวจสอบคุณลักษณะทั่วไปของวัคซีนอหิวาต์สุกร

ภาพที่ 39 การทดสอบการละลายของวัคซีนอหิวาต์สุกร

ตารางที่ 6 บันทึกผลการตรวจสอบคุณลักษณะทั่วไปและการละลาย

ขวดที่	สภาพทั่วไป						ลักษณะทางกายภาพ					
	ป้าย/ฉลาก (ความถูกต้องครบถ้วน)		ขวดวัคซีน (ไม่ชำรุด)		จุกยาง/แค็ป (แน่นสนิท)		เนื้อวัคซีน (ไม่ฝ่อลีบ)		สีของเนื้อวัคซีน (เหลืองนวล สีสม่ำเสมอ)		ลักษณะของน้ำยาละลาย (ใสปราศจากสี ไม่มีตะกอน)	
	ถูกต้อง	ไม่ถูกต้อง	ถูกต้อง	ไม่ถูกต้อง	ถูกต้อง	ไม่ถูกต้อง	ถูกต้อง	ไม่ถูกต้อง	ถูกต้อง	ไม่ถูกต้อง	ถูกต้อง	ไม่ถูกต้อง
1												
2												
3												
4												
5												

<u>หมายเหตุ</u> หากผลไม่ถูกต้องให้แจ้งความผิดปกติด้วย

3.1.2 การทดสอบความเป็นกรด-ด่าง (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2565)

- วิธีการ
  1) นำตัวอย่างวัคซีน จำนวน 3 ขวด ไว้ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำมาตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง อย่างน้อย 30 นาที
  2) ละลายวัคซีน โดยดูดน้ำยาละลายวัคซีนด้วยกระบอกฉีดยา ขนาด 10 มล. จำนวน 10 มล. ต่อวัคซีน เขย่าสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน
  3) กลั้วหลอดเก็บตัวอย่างขนาด 15 มล. ด้วยตัวอย่างน้ำวัคซีนที่ผสมน้ำยาละลาย
  4) เทน้ำตัวอย่างวัคซีน ปริมาตร 2-3 มล. ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง
  5) จุ่มอิเล็กโทรดลงในตัวอย่างวัคซีน กด “read” วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ภาพที่ 40)
  6) เมื่อค่าที่วัดได้นิ่ง เครื่องจะอ่านค่าและพิมพ์ผลโดยอัตโนมัติตามที่ได้ตั้งค่าไว้
  7) ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้งโดยใช้กระดาษทิชชู จากนั้นวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างต่อไปจนครบทุกตัวอย่าง

- การอ่านผล

  ได้ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6-8

ภาพที่ 40 การทดสอบความเป็นกรด-ด่างของวัคซีนอหิวาต์สุกร

3.1.3 การทดสอบสภาพสุญญากาศในขวดบรรจุวัคซีน (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2564ข)

- วิธีการ

  1) ทดสอบสภาพสุญญากาศในขวดบรรจุวัคซีน ด้วยเครื่องวัดสภาพสุญญากาศ โดยใช้vacuum tester coil แตะที่ขวดบรรจุวัคซีน (ภาพที่ 41) โดยทำการทดสอบจำนวน 20 ขวด

  2) ขวดวัคซีนที่มีสภาพสุญญากาศจะเปล่งแสงสีม่วง/เขียว ภายในขวดบรรจุ

- การอ่านผล

  ทุกขวดต้องเป็นสุญญากาศ

ภาพที่ 41 การทดสอบสภาพสุญญากาศในขวดบรรจุวัคซีนอหิวาต์สุกร

3.1.4 การทดสอบหาปริมาณความชื้น (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2564ค)

- วิธีการ
  1) วอร์มเครื่องชั่งนาน 15-30 นาที
  2) ทำการ pre-titration เครื่องวัดความชื้นจนเครื่องขึ้นสถานะพร้อมใช้งาน
  3) ทดสอบการทำงานของเครื่องด้วยน้ำมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นหรือ sodium tartrate จำนวน 0.0500 กรัม
  4) ทดสอบตัวอย่างวัคซีนทำแห้ง โดยบดวัคซีนทำแห้งให้ละเอียดด้วย Forceps แล้วชั่งน้ำหนักขวดวัคซีน บันทึกค่าน้ำหนักที่ได้ลงในบันทึกการตรวจหาปริมาณความชื้น (ตารางที่ 7) เก็บเป็นข้อมูลสำหรับการปฏิบัติงาน
  5) นำวัคซีนที่บดแล้วใส่ลงไปในเครื่องวัดความชื้น (ภาพที่ 42) นำขวดวัคซีนกลับมาชั่งน้ำหนักอีกครั้งบันทึกค่าน้ำหนักและใส่ค่าน้ำหนักลงในเครื่องวัดความชื้น เพื่อคำนวณผล
  6) การไตเตรทหาปริมาณความชื้นของตัวอย่างวัคซีนทำแห้งแต่ละชุดทำจำนวน 3 ขวด และหาค่าเฉลี่ย โดยแต่ละขวดที่ได้ ไม่ควรต่างกันเกิน 0.40% ถ้าค่าปริมาณความชื้นในชุดตัวอย่างวัคซีนทำแห้งต่างกันเกิน 0.40% ให้ทำการวัดตัวอย่างเพิ่มอีกจำนวน 2 ขวด (รวมเป็นจำนวน 5 ขวด) แล้วหาค่าเฉลี่ย
- การอ่านผล
  ผลที่ได้ต้องมีปริมาณความชื้นของวัคซีนทำแห้งไม่เกิน 4.00%

ตารางที่ 7 บันทึกผลการตรวจหาปริมาณความชื้น

Description	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
Wt. Vial+Vaccine (g)					
Wt. Vial (g)					
Wt. Vaccine (g)					
KFR Reagent (ml)					
%Moisture					
Ppm Moisture					
Mg Moisture					

ภาพที่ 42 การทดสอบหาปริมาณความชื้น

3.1.5 การทดสอบความปลอดเชื้อของเชื้อราและแบคทีเรียของชีวภัณฑ์สำเร็จรูป (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2564ง)

- วิธีการ
  1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud 2% Dextrose Broth จำนวน 3 หลอด อาหารเลี้ยงเชื้อ Fluid Thioglycollate Medium และอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth จำนวน 6 หลอด ต่อวัคซีน 1 ชุด
  2) เช็ดฝาขวดวัคซีนและฝาขวดน้ำยาละลายด้วยแอลกอฮอล์ 70% ลนไฟเปิดฝาออก
  3) ใช้วัคซีนจำนวน 20 ขวด/ชุด ละลายด้วยน้ำยาละลายปริมาตร ขวดละ 10 มล. ผสมให้เข้ากัน รวมวัคซีนที่ละลายแล้วเข้าด้วยกัน ปริมาตร 200 มล.
  4) ดูดวัคซีนที่ละลายแล้วในข้อ 3) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Fluid Thioglycollate Medium อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth และอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud 2% Dextrose Broth โดยดูดวัคซีนปริมาตร 1 มล./อาหารเลี้ยงเชื้อ 1 หลอด
  5) แยกอาหารเลี้ยงเชื้อ Fluid Thioglycollate Medium และอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth จำนวน 3 หลอด บ่มเพาะเชื้อที่ตู้อบเพาะเลี้ยงเชื้ออุณหภูมิ 30-35°C เป็นเวลา 14 วัน และนำอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud 2% Dextrose Broth, Fluid Thioglycollate Medium และ Tryptic Soy Broth จำนวน 3 หลอด บ่มที่ตู้อบเพาะเลี้ยงเชื้ออุณหภูมิ 20-25°C เป็นเวลา 14 วัน
  6) ทำการบันทึกผลในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 บันทึกผลการทดสอบความปลอดเชื้อของเชื้อราและแบคทีเรียของชีวภัณฑ์สำเร็จรูป

วันที่	ผลการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ (Temp 30-35°C)						ผลการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ (Temp 20-25°C)						Inspected morphology	Gram stain
	Fluid Thioglycollate Medium			Tryptic Soy Broth			Sabouraud 2% Dextrose Broth			Fluid Thioglycollate Medium			Tryptic Soy Broth				
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11																	
12																	
13																	
14																	

- การอ่านผล
  1) ผลบวก + หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นและพบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
     ผลลบ - หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อใสและไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
  2) การทดสอบซ้ำ ในกรณีพบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
     การทดสอบซ้ำครั้งที่ 1 เพิ่มจำนวนตัวอย่างที่ใช้ทดสอบเป็น 2 เท่า ถ้าไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แสดงว่าการทดสอบผ่าน แต่ถ้าพบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ แสดงว่าวัคซีนไม่ผ่านการทดสอบ
  3) การจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในข้อ 1) ดังนี้
     3.1) ใช้ Loop เขี่ยเชื้อ จุ่มลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ขุ่นแล้วทำการ Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-35°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อแยกโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ (Isolted colonies)
     3.2) ตรวจดูลักษณะโคโลนี (Inspected morphology) ด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์
     3.3) การแปลผล ตามตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การแปลผลการพบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชนิดของเชื้อที่พบ	กล้องจุลทรรศน์	สังเกตด้วยตาเปล่า
1. พบเชื้อแบคทีเรีย	- เซลล์ขนาด 1-10 µm	- โคโลนี กลม นูน เจริญภายใน 24 ชม.
2. พบเชื้อยีสต์	- เซลล์ขนาดโต >10 µm บางครั้งอาจพบการแตกหน่อ	- โคโลนี กลม นูน เจริญภายหลัง 24 ชม.
3. พบเชื้อรา	- เซลล์มีรูปร่างเป็นแขนงคล้ายกิ่งไม้ อาจมีผนังกั้น (Septum)	- โคโลนีเป็นสายใย

3.1.6 การตรวจหาเชื้อ Mycoplasma (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2562)

- วิธีการ
  1) เติมตัวอย่างวัคซีนที่ต้องการทดสอบปริมาตร 20,000 µl ลงใน centrifuge tube แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1500 rpm (200 x g) เป็นเวลา 5 นาที
  2) ดูดตัวอย่าง (ส่วนใส) ปริมาตร 100 µl ใส่ลงใน Luminometer tube
  3) ดูด Negative control และ Positive control ปริมาตร 100 µl ใส่ลงใน Luminometer tube
  4) เปิดเครื่องวัดปริมาณสารเรืองแสง แล้วใส่ตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ เครื่องจะทำการวัดค่า Luminescence (Read A) และค่า Luminescence (Read B) (ภาพที่ 43)
  5) บันทึกและคำนวณหาค่า Ratio B/A ตามตารางที่ 10
  6) การแปลผล
     Ratio B/A > 1.2 contaminate มีการปนเปื้อนเชื้อ Mycoplasma ในตัวอย่างทดสอบ
     Ratio B/A < 0.9 clean ไม่มีการปนเปื้อนเชื้อ Mycoplasma ในตัวอย่างทดสอบ

Ratio B/A 1.0-1.2 borderline เฝ้าระวังและต้องนำตัวอย่างมาทดสอบอีกครั้งในอีก 24 ชั่วโมง

- การอ่านผล
  ตัวอย่างวัคซีนต้องปราศจากเชื้อ Mycoplasma

ภาพที่ 43 การตรวจหาเชื้อ Mycoplasma

ตารางที่ 10 บันทึกผลการตรวจหาเชื้อ Mycoplasma

	Luminescence measurement (Relative light units/s; RLU/s)			Result
	Read A	Read B	Ratio B/A	
Negative control				
Positive control				
Sample				

3.2 การทดสอบคุณภาพวัคซีนในสัตว์ทดลอง

3.2.1 การทดสอบความปลอดภัยของวัคซีนอหิวาต์สุกร (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2564จ)

- วิธีการ
  1) นำสุกรไม่จำกัดพันธุ์ที่มีสุขภาพดีและปลอดภูมิคุ้มกันโรคอหิวาต์สุกร อายุประมาณ 2 เดือน จำนวน 3 ตัว เลี้ยงไว้เป็นเวลา 7 วัน วัดอุณหภูมิวันละ 2 ครั้งเวลาเช้าและเย็น
  2) นำวัคซีนอหิวาต์สุกร จำนวน 5 ขวด ละลายวัคซีนด้วยน้ำยาละลายวัคซีน โดยดูดน้ำยาละลายวัคซีน ด้วยกระบอกฉีดยา ขนาด 10 มล. จำนวน 10 มล. ต่อวัคซีน 1 ขวด จำนวน 5 ขวด ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำวัคซีนที่ผสมกันแล้วฉีดเข้ากล้ามเนื้อสุกร ปริมาตร 10

มล. (ซึ่งคิดเป็น 10 เท่าของโด๊สปกติ) จำนวน 3 ตัว (ภาพที่ 44) เลี้ยงไว้เป็นเวลา 21 วัน วัดอุณหภูมิวันละ 2 ครั้ง เวลาเช้าและเย็น

- การอ่านผล

  สุกรทุกตัวต้องไม่แสดงอาการป่วยหรือตายด้วยโรคอหิวาต์สุกร และไม่พบความผิดปกติบริเวณที่ฉีดหรืออาการแพ้อื่นๆ

ภาพที่ 44 การทดสอบความปลอดภัยของวัคซีนอหิวาต์สุกร

3.2.2 การทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนของวัคซีนอหิวาต์สุกร (สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์, 2564ฉ)

- วิธีการ
  1) นำสุกรไม่จำกัดพันธุ์ที่มีสุขภาพดีและปลอดภูมิคุ้มกันโรคอหิวาต์สุกร อายุประมาณ 2 เดือน จำนวน 12 ตัว เลี้ยงไว้เป็นเวลา 7 วัน วัดอุณหภูมิวันละ 2 ครั้ง เวลาเช้าและเย็น
  2) นำวัคซีนอหิวาต์สุกร จำนวน 5 ขวด ละลายวัคซีนด้วยน้ำยาละลายวัคซีนในขนาดที่น้อยกว่าขนาดที่กำหนดใช้ในท้องที่ 1/40 และ 1/60 เท่าแล้วนำไปฉีดเข้ากล้ามเนื้อสุกร จำนวน 10 ตัว คือ Dilution ละ 5 ตัวๆ ละ 1 มล. เลี้ยงไว้เป็นเวลา 14 วัน วัดอุณหภูมิวันละ 2 ครั้ง เวลาเช้าและเย็น
  3) หลังจากฉีดวัคซีนเป็นเวลา 14 วัน นำสุกรไปคอกเชื้อพิษ เตรียมเชื้อพิษที่มีความรุนแรง 10^5 PD_{50}/มล. (50% protective dose) โดยการเจือจางด้วยสารละลาย PBS ด้วยวิธี Ten fold dilution เช่น เชื้อพิษเริ่มต้นมีปริมาณไวรัส 10^8 PD_{50}/มล. ให้เจือจางลง 10^3 เท่า โดยใช้เชื้อพิษ ปริมาตร 1 มล. และ PBS ปริมาตร 9 มล. (สำหรับ Dilution สุดท้ายใช้เชื้อพิษทับ ปริมาตร 5 มล. และ PBS ปริมาตร 45 มล.) ฉีดเชื้อพิษทับอหิวาต์สุกรที่ความรุนแรง 10^5 PD_{50}/มล. (ภาพที่ 45) ในสุกรกลุ่มฉีดวัคซีน จำนวน 10 ตัว และกลุ่มควบคุมจำนวน 2 ตัว ปริมาตรตัวละ 1 มล. เข้ากล้ามเนื้อ วัดอุณหภูมิวันละ 2 ครั้ง เวลา

เช้าและเย็น สังเกตอาการ 14 วัน นำข้อมูลสุกรที่แสดงอาการป่วย หรือตายด้วยโรคอหิวาต์สุกร ทั้ง 10 ตัว มาคำนวณด้วยวิธีการมาตรฐาน (Reed and Muench, 1938)

- การอ่านผล

ค่าความคุ้มโรคที่ได้ ต้องไม่น้อยกว่า 100 PD_{50} ส่วนสุกรกลุ่มควบคุม ต้องตายด้วยโรคอหิวาต์สุกร ภายใน 14 วัน หลังจากฉีดเชื้อพิษอหิวาต์สุกร

ภาพที่ 45 การทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกร

บทที่ 4

การวิจัยและพัฒนาวัคซีนอหิวาต์สุกร

บทที่ 4
การวิจัยและพัฒนาวัคซีนอหิวาต์สุกร

4.1 งานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย

4.1.1 การทดลองเปลี่ยนแปลงส่วนผสมของวัคซีนอหิวาต์สุกร (ฉายและกัญญา, 2529ก)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

  เพื่อทดลองปรับปรุงเปลี่ยนแปลงส่วนผสมของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า

- สรุปสาระสำคัญ

  เนื่องจากวัคซีนที่ผลิตโดยมีส่วนผสมของ defibrinated blood ที่ผ่านการทำแห้ง เมื่อนำไปใช้วัคซีนจะละลายยาก ทำการทดลองปรับปรุงเปลี่ยนแปลงส่วนผสมของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่าพบว่ามี 3 สูตรที่ละลายได้ง่าย มีความปลอดภัยและให้ความคุ้มโรคตามมาตรฐาน คือ 10^2 PD_{50}/โด๊ส ทั้ง 3 สูตร มีส่วนผสมที่เท่ากันคือ ม้ามและ MLN 1 ส่วน stabilizer 20 ส่วน AB 1% ที่ต่างกันคือ ซีรัมซึ่งใช้แทนเลือดโดยสูตรแรกมีซีรัมม้า 10 ส่วน สูตรที่สองมีซีรัม กระต่าย 10 ส่วนและสูตรที่สาม มีซีรัมม้า 4 ส่วน และซีรัมกระต่าย 5 ส่วน

- ประโยชน์ของการวิจัย

  การใช้ซีรัมในส่วนผสมของวัคซีนแทนเลือดจะทำให้วัคซีนละลายในน้ำยาละลายได้ง่าย

4.1.2 การทดลองลดจำนวนส่วนผสมของม้ามและ MLN ในวัคซีนอหิวาต์สุกร (ฉายและกัญญา, 2529ข)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

  เพื่อทดลองลดส่วนผสมของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า

- สรุปสาระสำคัญ

  การทดลองลดส่วนผสมของวัคซีนเนื่องจากขณะนั้นใช้ส่วนผสมม้าม และ MLN ไม่น้อยกว่า 3 % วัคซีนมีปริมาณไวรัสวัคซีน $10^{4.5}$ PD_{50}/โด๊ส ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานมาก จึงได้ทดลองลดอัตราส่วนของม้าม และ MLN คือใช้ 3%, 2.5%, 2%, 1.5% และ 1% ทั้ง 5 สูตร มีซีรัมกระต่าย 10% และ AB 1% เท่ากันและเติม stabilizer จนครบ 100% ซึ่งทุกสูตรได้ความปลอดภัย และได้ความคุ้มโรคตามมาตรฐาน

- ประโยชน์ของการวิจัย

  ในการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรสามารถเลือกใช้สูตรม้ามและ MLN 2%, ซีรัม 10%, AB 1% และ stabilizer 87% ซึ่งสามารถลดวัตถุดิบกระต่ายได้จำนวนหนึ่ง และได้วัคซีนที่ละลายได้ง่ายในน้ำยาละลายซึ่งสะดวกกับเกษตรกรผู้ใช้

4.1.3 ประสิทธิภาพของวัคซีน อหิวาต์สุกร ชนิดผ่านกระต่ายที่ผลิตโดยเก็บรักษาม้ามและต่อมน้ำเหลืองที่ -40 องศาเซลเซียส (ฤทธิ์ลือชัยและคณะ, 2548)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน อหิวาต์สุกรที่ผลิตจากม้ามและต่อมน้ำเหลืองของกระต่ายที่ได้รับการฉีดเชื้ออหิวาต์สุกร สเตรนไชน่า และเก็บรักษาที่ -40°C นาน 104 และ 118 วันก่อนนำมาผลิตเป็นวัคซีนสำเร็จรูป

- สรุปสาระสำคัญ

ในกระบวนการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ ใช้ม้ามและต่อมน้ำเหลืองของกระต่ายที่ได้รับเชื้อไวรัสวัคซีนอหิวาต์สุกรสเตรนไชน่า ถูกนำมาผลิตเป็นวัคซีนทันทีภายหลังจากการฉีดเชื้อไวรัสวัคซีน 3 วัน กระบวนการจะต่อเนื่องจนเป็นวัคซีนสำเร็จรูป การทดลองนี้ได้เก็บรักษาอวัยวะแช่แข็ง ก่อนนำมาผลิตเป็นวัคซีน โดยศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนที่ผลิตจากอวัยวะดังกล่าวหลังเก็บที่อุณหภูมิ -40^0C เป็นเวลา 104-118 วัน พบว่าค่า 50% protective dose (PD_{50}) เป็น $10^{3.5}$-$10^{3.83}$ PD_{50}/โด๊ส ซึ่งใกล้เคียงกับวัคซีนที่ผลิตแบบเดิมและผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน

- ประโยชน์ของการวิจัย

ผู้ผลิตสามารถฉีดเชื้อไวรัสแล้วเก็บรักษาอวัยวะที่ -40°C และเมื่อพร้อมผลิตก็สามารถนำมาผลิตวัคซีนได้ทันที

4.1.4 ประสิทธิภาพของวัคซีน อหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า เมื่อใช้ซีรั่มกระต่ายที่ฉีดเชื้อ 5% (ฤทธิ์ลือชัยและกัญญา, 2550)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาว่าเมื่อลดปริมาณ IRS เป็น 5% จะมีผลต่อคุณภาพและประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่าหรือไม่

- สรุปสาระสำคัญ

ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกร ชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า โดยใช้ซีรัมกระต่ายที่ฉีดเชื้อเป็นส่วนผสมของวัคซีน 5% เปรียบเทียบกับวัคซีนที่ใช้ในปัจจุบัน ซึ่งมีซีรัมกระต่ายที่ฉีดเชื้อเป็นส่วนผสมของวัคซีน 10% โดยเตรียมวัคซีนอหิวาต์สุกรอย่างละ 2 ชุด แล้วทดสอบประสิทธิภาพและคุณภาพของวัคซีนตามเกณฑ์มาตรฐาน ผลการทดสอบพบว่าวัคซีนที่มีซีรัม กระต่ายที่ฉีดเชื้อเป็นส่วนผสมของวัคซีน 5% และ 10% มีประสิทธิภาพและคุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐาน แต่ความคุ้มโรค 50% ของวัคซีนที่มีซีรัมกระต่ายที่ฉีดเชื้อ 5% จะต่ำกว่าวัคซีนที่มีซีรัมกระต่ายที่ฉีดเชื้อ 10% เท่ากับ 0.5-1 log

- ประโยชน์ของการวิจัย

ใช้ซีรัมกระต่ายที่ลดลง (5%) เป็นส่วนผสมในวัคซีนได้ เพื่อลดโอกาสการแพ้วัคซีนในสัตว์

4.2 งานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง

4.2.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสวัคซีนอหิวาต์สุกรสเตรนไชน่าชนิดผ่านกระต่ายในเซลล์ไลน์ (วาสนาและคณะ, 2544)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

  เพื่อทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสวัคซีนสเตรนไชน่าชนิดผ่านกระต่ายในเซลล์ FS-L_3 และ SK-6

- สรุปสาระสำคัญ

  ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสวัคซีนสเตรนไชน่าชนิดผ่านกระต่ายในเซลล์ FS-L_3 และ SK-6 โดยเพาะเลี้ยงแบบ stationary ทำการ absorb เชื้อไวรัสวัคซีนกับเซลล์นาน 2 ชม. และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37^0C สามารถตรวจเชื้อไวรัสวัคซีนในเซลล์ SK-6 ได้ในวันที่ 7 และ FS-L_3 ในวันที่ 12 หลังเพาะเลี้ยงเชื้อ เมื่อเพิ่มการ absorb นาน 4 วัน เปลี่ยนมีเดียใหม่ และเพาะเลี้ยงต่อสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสได้เร็วขึ้นจากเซลล์ SK-6 ในวันที่ 6 และ FS-L_3 ในวันที่ 8 เมื่อทดลองเพาะเชื้อไวรัสที่แยกได้จากเซลล์ FS-L_3 ลงในเซลล์ไลน์อื่นได้แก่ BEK (เซลล์ไตโค), BFM (เซลล์กล้ามเนื้อโค), HL (เซลล์ปอดแฮมเตอร์), MARC-145 (เซลล์ไตลิง) และ Vero (เซลล์ไตลิง) พบว่า BFM เป็นเซลล์ชนิดเดียวที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรสเตรนไชน่าได้ สรุปว่า เชื้อไวรัสวัคซีนสเตรนไชน่าชนิดผ่านกระต่ายสามารถปรับตัวให้เจริญในเซลล์เพาะเลี้ยง SK-6 และ FS-L_3 ได้

- ประโยชน์ของการวิจัย

  สามารถนำไปวิจัยเพื่อพัฒนา seed vaccine virus และผลิตเป็นวัคซีนชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรนไชน่า ทดแทนการใช้กระต่ายในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

4.2.2 การพัฒนาวิธีผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง (วาสนาและคณะ, 2545)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

  เพื่อทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสวัคซีนสเตรน GPE^- ในเซลล์ไลน์ FS-L_3

- สรุปสาระสำคัญ

  ทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสวัคซีนสเตรน GPE^- ในเซลล์ไลน์ FS-L_3 ซึ่งเป็นเซลล์ไตสุกร โดยในขั้นแรกได้ทดลองเพาะเซลล์เพื่อหาอัตราขยายเซลล์ในขวดเพาะเซลล์ พบว่าการขยายในอัตราส่วน 1:4 จะได้เซลล์เต็มพื้นผิวขวดภายใน 3-4 วัน ทำการทดสอบหาmediaที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อไวรัสวัคซีนในเซลล์โดยการปรับ pH ของมีเดีย ปริมาณซีรัมในมีเดีย และปริมาณของเชื้อไวรัสที่ทำให้การเจริญของเชื้อไวรัสได้สูงสุดในการผลิตวัคซีน

- ประโยชน์ของการวิจัย

  ได้เชื้อไวรัสวัคซีนที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ให้ชื่อสเตรน WPE^-/Th

4.2.3 การทดสอบความปลอดภัยและความคุ้มโรคของเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรสเตรนไชน่าที่พัฒนาในเซลล์เพาะเลี้ยง (วาสนาและคณะ, 2548ก)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

  เพื่อทดสอบความปลอดภัยและความคุ้มโรคของเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรสเตรนไชน่าที่ผ่านเซลล์ FS-L_3 passage ที่ 10

- สรุปสาระสำคัญ

ทดสอบความปลอดภัยของเชื้อไวรัสที่ผ่านเซลล์ FS-L_3 passage ที่ 10 โดยฉีดสุกรทดลองขนาด 6.5 log $TCID_{50}$/ตัว แล้วนำไปเลี้ยงรวมกับกลุ่มควบคุม เพื่อศึกษาการแพร่เชื้อไวรัสวัคซีน พบว่าไม่มีการแพร่เชื้อและทำการทดสอบหาความคุ้มโรคของเชื้อไวรัสวัคซีนโดยเจือจางเชื้อไวรัสวัคซีนจาก 10^{-1}-10^{-7} ฉีดสุกรทดลองภายหลังฉีดไวรัสวัคซีน 14 วัน ทำการฉีดเชื้อพิษพบว่าสุกรที่ได้รับการฉีดเชื้อไวรัสวัคซีนที่เจือจาง 10^{-3}-10^{-6} สามารถคุ้มโรคได้อย่างสมบูรณ์ โดยสุกรไม่แสดงอาการป่วย ไม่พบภาวะเม็ดเลือดต่ำ ไม่พบเชื้อไวรัส ในกระแสเลือด ส่วนกลุ่มที่ฉีดเชื้อไวรัสที่เจือจาง 10^{-7} หลังฉีดเชื้อพิษพบสุกรตาย 1 ตัว จาก 2 ตัว อีก 1 ตัวรอดชีวิตแต่ตรวจพบเชื้อไวรัสที่เป็นเชื้อพิษนาน 3-7 วัน หลังจากนั้นจะสร้างแอนติบอดีระดับสูง จากการคำนวณหาค่าของ PD_{50} ของเชื้อไวรัสวัคซีนพบว่ามีค่า 10^7 PD_{50}/ มล.

- ประโยชน์ของการวิจัย

สามารถนำไปพัฒนาผลิตเป็นวัคซีนอหิวาต์สุกรสเตรนไชน่าชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงได้

4.2.4 การปรับปรุงคุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE$^-$/Th (วาสนาและคณะ, 2548ข)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาปริมาณเชื้อไวรัสวัคซีนอหิวาต์สุกรสเตรน WPE$^-$/Th จากมีเดีย 4 ชนิด

- สรุปสาระสำคัญ

ศึกษาปริมาณเชื้อไวรัสวัคซีนจากมีเดีย 4 ชนิด คือ 1)อาหารสำเร็จรูป serum free medium (SFM) ที่ไม่มีซีรัม 2)เป็นชนิดที่ 1 ซึ่งมีซีรัมโค 1% 3)bacto peptone media (BP media) ซึ่งมีซีรัมโค 1% และ 4) BP media ซึ่งมีซีรัมโค 2% ผลการทดลองพบว่าการใช้อาหารสำเร็จรูป SFM ชนิดแรกได้เชื้อไวรัสวัคซีนไตเตอร์สูงกว่าชนิดที่ 2 และ3 แต่ใกล้เคียงกับชนิดที่ 4 คือ BP media ซึ่งมีซีรัมโค 2% จึงได้ทดลองผลิตวัคซีนจากการใช้อาหารสำเร็จรูป SFM ที่ไม่มีซีรัมจำนวน 2 ชุดๆ ละ 5,000 โด๊ส ทดสอบคุณภาพของวัคซีนทางห้องปฏิบัติการและในสุกรทดลอง วัคซีนผ่านมาตรฐานการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ มีความปลอดภัยและให้ความคุ้มโรคได้ดี เมื่อนำวัคซีนไปฉีดสุกรในระดับฟาร์ม จำนวน 5 ฟาร์ม ไม่พบการแพ้วัคซีน จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตสุกรและระดับแอนติบอดี ที่ตอบสนองต่อวัคซีน พบว่าไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มสุกรที่ฉีด
วัคซีนชนิดเดิมในสุกรทั้ง 5 ฟาร์ม

- ประโยชน์ของการวิจัย

ทราบว่าวัคซีนที่ผลิตจากมีเดียชนิด SFM ที่ไม่มีซีรัม มีคุณภาพดี มีความปลอดภัยสูง

4.2.5 การพัฒนาวิธีผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรน WPE$^-$/Th ในระดับอุตสาหกรรม (กัญญาและคณะ, 2548)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อทดลองผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE$^-$/Th ในระดับอุตสาหกรรม

- สรุปสาระสำคัญ

ทดลองผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE⁻/Th ในระดับอุตสาหกรรม เป็นการทดลองต่อยอดซึ่งใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปชนิดไม่มีซีรัม (SFM) โดยผลิตวัคซีนสำเร็จรูปชนิดดูดแห้งในระดับอุตสาหกรรม จำนวน 4 ชุด ซึ่งเตรียมโดยวิธีเพาะเลี้ยงเซลล์และเพาะเลี้ยงเชื้อในขวดเพาะเซลล์พลาสติก แบบ stationary ขนาด 225 ซม^2 จำนวน 2 ชุดๆ ละ 20 ขวด และแบบ roller ขนาด 850 ซม^2 จำนวน 2 ชุดๆ ละ 10 ขวด จะได้วัคซีนชุดละ 1 แสนโด๊ส นำวัคซีนไปทดสอบคุณภาพทางห้องปฏิบัติการพบว่าวัคซีนผ่านมาตรฐานการทดสอบ มีปริมาณเชื้อไวรัสวัคซีน 3.96, 4.0, 4.25 และ 4.3 log $TCID_{50}$/โด๊ส ตามลำดับ และทดสอบความปลอดภัยและความคุ้มโรคของวัคซีนพบว่าสุกรไม่แสดงอาการป่วย ไม่แพร่เชื้อไปยังตัวอื่น และให้ความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อพิษได้ดี

- ประโยชน์ของการวิจัย

สามารถผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE⁻/Th ในระดับอุตสาหกรรมให้มีคุณภาพตามมาตรฐานสากลได้

4.2.6 การปรับปรุงการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE⁻/Th เพื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรม (กัญญาและคณะ, 2551)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อปรับปรุงการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE⁻/Th ให้เหมาะสมกับการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

- สรุปสาระสำคัญ

เป็นการปรับปรุงการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE⁻/Th ให้เหมาะสมกับการผลิตในระดับอุตสาหกรรมจำนวน 3 ชุดๆ ละ 100,000 โด๊ส โดยการปรับเปลี่ยน 2 อย่างคือ สารอาหารที่เพาะเลี้ยงไวรัสวัคซีนจากการใช้สารอาหารสำเร็จรูป SFM และขั้นตอนการผลิตวัคซีนที่ต้องผ่านการ absorb ไวรัสวัคซีน นาน 2 ชั่วโมง ที่ 37^{0}C เป็นใช้สารอาหาร BP medium ที่มีซีรัมโค 1% และไม่ต้องทำการ absorb ไวรัสวัคซีน เมื่อใส่ไวรัสวัคซีน 0.1 MOI ใน BP medium มีซีรัม 1% แล้วเพาะเลี้ยงต่อที่ 30^{0}C วัคซีนสำเร็จรูปที่ได้จากการปรับปรุงการผลิตทั้ง 3 ชุด สามารถผ่านมาตรฐานการทดสอบในห้องปฏิบัติการและในสุกรทดลอง

- ประโยชน์ของการวิจัย

สามารถแก้ปัญหาการผูกขาดจากสารอาหารสำเร็จรูปที่ไม่รู้ส่วนประกอบมาเป็นความสะดวกในการเตรียมมีเดียเพื่อใช้เองได้รวมทั้งสามารถลดต้นทุนในการผลิตได้ส่วนหนึ่ง สำหรับการลดขั้นตอน absorb ได้จะมีประโยชน์ในการลดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนแบคทีเรียและเชื้อราเนื่องจากการปิด เปิดฝาขวดเพาะเซลล์จำนวนมากมีโอกาสเสี่ยงทุกครั้งและทุกขวด

4.2.7 การพัฒนาวัคซีนอหิวาต์สุกร สเตรนไชนีส ชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงในระดับต้นแบบ (นลินีและละมูล, 2566)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรนไชนีส ในระดับต้นแบบ (pilot scale) ให้ได้ตามมาตรฐานสากล

- สรุปสาระสำคัญ

ผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรนไชนีส ในระดับต้นแบบโดยเพาะเลี้ยงไวรัสอหิวาต์สุกร ในเซลล์ FS-L3 ในขวดเพาะเซลล์พลาสติกขนาด 225 ตารางเซนติเมตร ใช้อาหารเลี้ยงไวรัสที่มีซีรัมโค 10% บ่มที่ 37^0C นาน 12 วัน นำมาผสมกับสารคงสภาพประกอบด้วยโพลิไวนิล ไพโรลิโดนและแลคโตส ผลิตเป็นวัคซีนชนิดดูดแห้ง 3 ชุด จำนวน 26,600, 33,870 และ 34,110 โด๊ส ตามลำดับ ปริมาณไวรัสเฉลี่ยก่อนทำแห้งและหลังทำแห้งเท่ากับ 6.83±0.58 log $TCID_{50}$/มล. และ 5.22±0.63 log$TCID_{50}$/โด๊ส ตามลำดับ ทดสอบความปลอดภัยพบว่าวัคซีนทุกชุดมีความปลอดภัย ไม่พบอาการแพ้หรือผิดปกติบริเวณที่ฉีด องค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศกำหนดความคุ้มโรคของวัคซีนในสุกรต้องไม่น้อยกว่า 100 PD_{50}/โด๊ส ซึ่งการทดสอบความคุ้มโรควัคซีนระดับต้นแบบทั้ง 3 ชุด มีความคุ้มโรคไม่น้อยกว่า 319.890 PD_{50}/โด๊ส ทุกชุด

- ประโยชน์ของการวิจัย

ได้วัคซีนอหิวาต์สุกร สเตรนไชนีส ชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงในระดับต้นแบบ ที่ผ่านการทดสอบคุณสมบัติทั่วไปทางกายภาพในห้องปฏิบัติการ วัคซีนมีความปลอดภัยและมีความคุ้มโรคในสุกรตามมาตรฐานสากล สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตเป็นระดับอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคตได้

4.3 งานวิจัยเกี่ยวกับเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร

4.3.1 **การตรวจสอบหาไวรัสอหิวาต์สุกรสเตรนไชน่า ชนิดผ่านกระต่ายโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง** (กัญญาและอนุทิน, 2534ก)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อตรวจสอบหาเชื้อและไตเตอร์ของเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า

- สรุปสาระสำคัญ

ทำการตรวจสอบหาเชื้อและไตเตอร์ของเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่าโดยวิธี FACCT – 2 Steps เช่นเดียวกับสเตรน LPC โดยเพาะเลี้ยงไวรัสสเตรนไชน่าในเซลล์ไลน์อัณฑะสุกร นาน 96-120 ชม. แล้ว harvest เชื้อไวรัสเก็บที่ -20^0C แล้วนำมาเพาะเลี้ยงต่อในเซลล์ไลน์ PK-15 นาน 48-120 ชม. ทำการย้อมด้วย swine fever direct FA conjugate เซลล์ที่มีไวรัสวัคซีนสเตรน ไชน่าจะพบเรืองแสงใน cytoplasm

- ประโยชน์ของการวิจัย

ใช้ตรวจหาเชื้อไวรัสสเตรนไชน่า เช่นในงานวิจัยที่ต้องตรวจหาเชื้อไวรัสวัคซีน วิธีปฏิบัติในห้องปฏิบัติการสามารถทำได้แต่ค่อนข้างยุ่งยากต้องเพาะเลี้ยงเชื้อในเซลล์สองชนิด ต้องใช้ FA conjugate และอ่านผลด้วยกล้องฟลูออเรสเซนต์

4.3.2 ศึกษาการติดเชื้ออหิวาต์สุกรชนิดแอบแฝง (กัญญาและคณะ, 2539)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษากระบวนการเกิดพยาธิสภาพภูมิคุ้มกันโรคและประเมินผลวิธีการตรวจหาเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคอหิวาต์สุกรชนิดแอบแฝง

- สรุปสาระสำคัญ

ศึกษาการติดเชื้ออหิวาต์สุกรชนิดแอบแฝงโดยการทำให้ลูกอ่อน (fetus) ติดเชื้ออหิวาต์สุกรชนิดสเตรนไชน่าโดยเปิดช่องท้องฉีดเชื้อเข้าถุงน้ำคร่ำขณะสุกรท้องระยะแรก (40 วัน) ระยะกลาง (60 วัน) และระยะสุดท้าย (90 วัน) จากแม่สุกร 2 กลุ่มกลุ่มละ 8 ตัว คือ กลุ่มไม่มีภูมิคุ้มกันโรคอหิวาต์สุกร และกลุ่มมีภูมิคุ้มกัน หลังจากฉีดเชื้อได้ 14 วัน และ 28 วัน เปิดผ่าซากแม่สุกรและ fetus เพื่อตรวจพยาธิสภาพและเก็บตัวอย่าง นำมาตรวจหาเชื้อไวรัสโดยวิธีฟลูออเรสเซนต์แอนติบอดี (FACCT – 2 Steps) เจาะเลือดเก็บซีรัมเพื่อตรวจหาระดับแอนติบอดี แม่สุกรอีกส่วนหนึ่งปล่อยให้คลอดปกติ เพื่อติดตามเชื้อไวรัสในลูกสุกร พบว่าในแม่สุกรตรวจพบเชื้อไวรัสในสุกรที่ไม่มีภูมิคุ้มกันจำนวน 2 ตัว จากแม่ทั้งหมด 16 ตัว และแม่ทุกตัวมีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร ส่วน fetus หลังฉีดเชื้อนาน 14 และ 28 วัน พบเชื้อไวรัสเกือบทุกตัวและมีการแพร่ไปถึง fetus ตัวอื่นที่ไม่ได้ฉีดเชื้อ ตรวจพบจุดเลือดออกบริเวณหัวและจมูกใน fetus หลายตัว และพบลูกกรอกในบางแม่ ส่วนลูกที่คลอดตามปกติทั้ง 2 กลุ่ม ลูกสุกรกินนมน้ำเหลืองจากแม่ท้องระยะต้นและระยะกลาง พบแอนติบอดีไตเตอร์ <2 – 32 แต่ระยะสุดท้ายตรวจไม่พบ และมีอัตราการตายหลังคลอดสูงจากแม่ที่ไม่มีภูมิคุ้มกันในระยะแรกและระยะกลาง ส่วนลูกที่รอดชีวิตทุกตัวมีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่และมีสุขภาพดี แต่พบเชื้อไวรัสจนถึงอายุ 60 – 120 วัน อวัยวะที่ตรวจพบเชื้อไวรัสมากที่สุดคือ ตับ ปอด และม้าม

- ประโยชน์ของการวิจัย

ทราบข้อมูลว่าเชื้อไวรัสสามารถติดต่อผ่านทางรกได้ทุกระยะของการตั้งท้อง ทำให้ทราบถึงวิธีการแก้ปัญหาได้ดียิ่งขึ้น

4.3.3 การตรวจหาปริมาณไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า โดยวิธีฉีดกระต่าย (กัญญา, 2539)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อตรวจหาปริมาณไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า โดยวิธีฉีดกระต่าย

- สรุปสาระสำคัญ

เชื้อไวรัสสเตรนไชน่าได้จากการผ่านกระต่ายหลายร้อยครั้ง จนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในกระต่ายและคุณสมบัติที่ทำให้เกิดโรคหมดไป จากการที่กระต่ายได้รับเชื้อไวรัสสเตรนไชน่าแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีไข้สูงกว่าปกติประมาณ 3^0F ในวันที่ 2-3 หลังรับเชื้อและวันถัดไปจะลดสู่ปกติ ส่วนรอยโรคมี ที่ม้ามมีสีเข้ม และต่อมน้ำเหลืองที่ลำไส้ บวมใหญ่ซึ่งจะต่างจากเชื้อไวรัสที่เป็นโรคอหิวาต์สุกร จะไม่มีอาการผิดปกติใดๆ และกระต่ายจะสามารถสร้างภูมิคุ้มกันโดยเมื่อฉีดไวรัสสเตรนไชน่า ซ้ำอีกครั้งจะไม่มีไข้ ทำการตรวจหาปริมาณของเชื้อไวรัสสเตรนไชน่า โดยการเจือจางแบบ ten-fold แล้วฉีดเข้าเส้นเลือดดำที่หูกระต่าย กระต่ายที่มีเชื้อไวรัสวัคซีนสเตรนไชน่าจะมีอุณหภูมิที่สูงขึ้น หรือพบรอยโรคซึ่งเมื่อเทียบกับการหาปริมาณของเชื้อไวรัสโดยฉีดเข้าสุกรปลอดความคุ้มโรคอหิวาต์สุกรแล้วฉีดเชื้อพิษทับ การอ่านค่าไตเตอร์ได้ต่ำกว่าของการฉีดสุกร 2 log

- ประโยชน์ของการวิจัย

เป็นทางเลือกสำหรับการตรวจหาปริมาณไวรัสวัคซีนสเตรนไชน่า จากวิธีฉีดกระต่ายโดยไม่ต้องฆ่ากระต่าย แต่ต้องเป็นปริมาณไวรัสวัคซีนที่สูง

4.3.4 การตรวจหาเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรนไชน่าในสุกรที่ฉีดวัคซีน (กัญญาและกมลทิพย์, 2541)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อตรวจหาไวรัสสเตรนไชน่าในสุกรที่ฉีดวัคซีนนาน 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยใช้วิธี rabbit inoculation test, swine inoculation test, fluorescent antibody tissue section technique และ fluorescent antibody cell culture technique

- สรุปสาระสำคัญ

สุกรที่ได้รับการฉีดวัคซีนและตรวจหาเชื้อไวรัสวัคซีนเพื่อศึกษาว่าเชื้อไวรัสวัคซีนจะอยู่ในสุกรนานเพียงใด การศึกษาได้ฉีดวัคซีนขนาด 10 เท่าของโด๊สปกติ เจาะเลือดเพื่อหาเชื้อหลังฉีด 7, 14, 21 และ 28 วัน สุกรอีกกลุ่มผ่าซากและเก็บอวัยวะภายหลังฉีดเชื้อ 7, 14 และ 21 วันนำเลือดและอวัยวะไปตรวจหาเชื้อไวรัส การตรวจหาเชื้อไวรัสจากเลือดใช้วิธีฉีดเข้ากระต่าย และวิธีฉีดสุกรทดลอง ส่วนตัวอย่างอวัยวะตรวจหาเช่นเดียวกันและให้เพิ่มวิธีตรวจโดยฟลูออเรสเซนต์ (FATST) และเพาะแยกเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง (FACCT) การฉีดเข้ากระต่ายโดยการฉีดตัวอย่าง และฉีด Seed สเตรนไชน่า บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิทุกวัน ส่วนการฉีดสุกรทดลองใช้วิธีฉีดตัวอย่างหรือเลือดเข้าสุกรและฉีดเชื้อพิษหลังฉีด 14 วัน พบว่าวิธีฉีดสุกรมีความไวที่สุดพบจากเลือดและอวัยวะภายหลังฉีดนาน 7 วัน ได้ 100% และจากเลือดนาน 14 วัน ได้ 25% ขณะที่การฉีดกระต่ายพบ 75% ที่นาน 7 วัน ส่วนการตรวจหาเชื้อไวรัสวัคซีนจากอวัยวะสุกรฉีดวัคซีนเปรียบเทียบทั้ง 4 วิธี พบว่าวิธีฉีดสุกรให้ผลดีที่สุดโดยตรวจพบเชื้อไวรัสจากสุกรทุกตัวหลังฉีดวัคซีน 7 วัน ส่วนวันที่ 14 และ 21 ตรวจไม่พบ การตรวจอวัยวะสุกรโดยวิธีฟลูออเรสเซนต์ ให้ผลบวกหลังฉีดวัคซีนนาน 7 วัน ตรวจพบเฉพาะที่ทอนซิล และไม่สามารถแยกเชื้อไวรัสวัคซีนได้ด้วยการใช้เพาะเลี้ยงเซลล์

- ประโยชน์ของการวิจัย

ทราบว่าไวรัสจากวัคซีนจะอยู่ในร่างกายสุกรได้นานเท่าใด ทำให้การตรวจวินิจฉัยไม่สับสน

4.3.5 การเตรียมไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดรุนแรงจากเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด SK6 (กังวานและดิถี, 2562)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อเตรียมไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดรุนแรงจากเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด SK6 สำหรับ ใช้เป็น เชื้อพิษทับในการทดลองความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกร

- สรุปสาระสำคัญ

ศึกษาการเตรียมเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดรุนแรง สายพันธุ์บางเขนสำหรับเป็นเชื้อพิษทับในการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกร โดยเพาะเลี้ยงในเซลล์ SK6 เก็บไวรัสทุกวัน เป็นเวลา 16 วัน ตรวจหาปริมาณไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงและในสุกรทดลอง พบว่า วันที่ 10 หลังการเพาะไวรัสลงเซลล์เพาะเลี้ยง จะให้ปริมาณไวรัสสูงสุดเท่ากับ $10^{6.08}$ $TCID_{50}$/มิลลิลิตร และปริมาณไวรัสในสุกรทดลองเท่ากับ 10^{6} PID_{50}/มิลลิลิตร เมื่อนำไวรัสมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นาน 3, 9 และ 15 เดือน พบปริมาณไวรัสเท่ากับ 10^{6}, 10^{6} และ $10^{5.54}$ PID_{50}/มิลลิลิตร ตามลำดับ

- ประโยชน์ของการวิจัย

สามารถเตรียมไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดรุนแรงจากเซลล์ SK6 ซึ่งให้ปริมาณไวรัสเพียงพอกับการใช้เป็นเชื้อพิษทับในการทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกร คือ ไม่น้อยกว่า 10^5 PID_{50}/มิลลิลิตร และสามารถเก็บรักษาเพื่อใช้งานได้ อย่างน้อย 1 ปี

4.3.6 เปรียบเทียบผลการวัดระหว่างห้องปฏิบัติการของเทคนิค Immunoperoxidase และ Neutralizing peroxidase-linked assay ในการตรวจหาปริมาณไวรัสและแอนติบอดีต่อโรค อหิวาต์สุกร (ดิถีและคณะ, 2564)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบผลการวัดระหว่างห้องปฏิบัติการของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ (สทช.)และสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ (สสช.) ในการตรวจหาปริมาณไวรัสด้วยเทคนิค Immunoperoxidase (IP) และการตรวจระดับแอนติบอดีต่อโรคอหิวาต์สุกรด้วยเทคนิค Neutralizing peroxidase-linked assay (NPLA)

- สรุปสาระสำคัญ

ตรวจหาปริมาณไวรัสด้วยเทคนิค IP โดยใช้ตัวอย่างไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรนไชนีส ในเซลล์เพาะเลี้ยง จำนวน 20 ตัวอย่าง และตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสอหิวาต์สุกรด้วยเทคนิค NPLA โดยใช้ตัวอย่างซีรัมสุกรก่อนฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร จำนวน 3 ตัวอย่าง และซีรัมสุกรหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร ชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง จำนวน 3 ตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Independent Sample T-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสด้วยเทคนิค IP ของ สทช.และ สสช. มีค่าเฉลี่ย (Mean ± SD) เท่ากับ 5.90 ± 1.03 และ 6.10 ± 0.85 ตามลำดับ เมื่อนำมาคำนวณค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ผลการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสอหิวาต์สุกรด้วยเทคนิค NPLA จากตัวอย่างซีรัมสุกรก่อนฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร จำนวน 3 ตัวอย่าง และซีรัมสุกรหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร ชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง จำนวน 3 ตัวอย่าง ผลการทดสอบของ สทช. มีค่าเฉลี่ย (Mean ± SD) เท่ากับ 6.28 ± 2.98, 5.89 ± 2.01, 4.55 ± 0.96, 33.29 ± 11.37, 25.10 ± 11.94 และ 26.39 ± 17.28 ตามลำดับ ผลการทดสอบของ สสช. มีค่าเฉลี่ย (Mean ± SD) เท่ากับ 2.08 ± 0.71, 3.22 ± 2.11, 4.44 ± 2.11, 18.67 ± 12.22, 8.32 ± 2.84 และ 4.55 ± 0.96 ตามลำดับ เมื่อนำมาคำนวณค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

- ประโยชน์ของการวิจัย

ทราบผลการวัดระหว่างห้องปฏิบัติการในการตรวจหาปริมาณไวรัสด้วยเทคนิค IP และการตรวจระดับแอนติบอดีต่อโรคอหิวาต์สุกรด้วยเทคนิค NPLA แสดงถึงความพร้อมของห้องปฏิบัติการและบุคลากรของสทช. และสสช. ในการทดสอบคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกร ชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง แทนการใช้กระต่ายในการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกร

4.4 งานวิจัยเกี่ยวกับการทดสอบคุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกร

4.4.1 วัคซีนอหิวาต์สุกรกับการสร้างภูมิคุ้มกันในสุกร (ฉาย, 2529)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อทดสอบหาความคุ้มโรคภายหลังรับวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่าหลังฉีดวัคซีน 3 วัน 5 วัน และ 10 วัน

- สรุปสาระสำคัญ

ได้ทดลองฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่าให้สุกรทดลอง 6 กลุ่มคือเมื่อได้รับเชื้อพิษอหิวาต์สุกรมาแล้ว 5 วัน 3 วัน พร้อมกับฉีดวัคซีน หลังฉีดวัคซีน 3 วัน 5 วัน และ 10 วัน พบว่าถ้าได้รับเชื้อโรคอหิวาต์สุกรมาก่อนหรือพร้อมกันในวันฉีดวัคซีน วัคซีนไม่สามารถสร้างความคุ้มโรคได้ทัน ส่วนที่ได้รับวัคซีนมาก่อน เริ่มคุ้มโรคได้ 50% ในวันที่ 3 และวันที่ 5 และ 10 คุ้มได้ 100%

- ประโยชน์ของการวิจัย

เป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์กับผู้ใช้วัคซีนว่าสามารถให้ความคุ้มโรคได้สมบูรณ์ภายหลังรับวัคซีน 5 วัน

4.4.2 ประสิทธิภาพความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกรต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรที่แยกได้จากท้องที่ (Parchariyanon et al., 1990)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการให้ความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกรที่ใช้อยู่ในประเทศไทยต่อเชื้อไวรัสที่แยกได้ในท้องที่

- สรุปสาระสำคัญ

ศึกษาประสิทธิภาพการให้ความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกรที่ใช้อยู่ในประเทศไทยต่อเชื้อไวรัสที่แยกได้ในท้องที่ จึงได้ทดลองใช้วัคซีนอหิวาต์สุกร 5 ตัวอย่าง ได้แก่ วัคซีนเสตรนไชน่าชนิดผ่านกระต่ายผลิตโดยกรมปศุสัตว์ สเตรนไชน่าชนิดผ่านกระต่ายนำเข้า 2 ตัวอย่าง สเตรนไชน่าชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง 1 ตัวอย่าง และสเตรน GPE^- 1 ตัวอย่าง หลังจากฉีดวัคซีน 3, 6 และ 14 วัน ทำการฉีดเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดชนิดรุนแรงที่แยกได้จากท้องที่พบว่าวัคซีนอหิวาต์สุกรที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์และวัคซีนสเตรน GPE^- สามารถให้ความคุ้มอย่างสมบูรณ์ เร็วที่สุดภายใน 6 วัน หลังฉีดวัคซีนและวันที่ 14 หลังฉีดวัคซีน วัคซีนทั้ง 5 ตัวอย่างให้ความคุ้มโรคต่อการฉีดเชื้อพิษ

- ประโยชน์ของการวิจัย

แนะนำต่อเกษตรกรผู้ใช้วัคซีนทุกชนิดใช้ได้ผลแต่ต้องศึกษาปัจจัยอย่างอื่นด้วย เช่นการจัดการฟาร์ม การเลี้ยงสุกรหนาแน่น ภาวะโภชนาการ และสุขภาพสัตว์

4.4.3 ความปลอดภัยและความคุ้มโรคของสุกรก่อนหย่านม เมื่อได้รับวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย ไชน่าสเตรน (กัญญา, 2534)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาในสุกรก่อนหย่านมที่ไม่มี marternal immunity เมื่อได้รับวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย ไชน่า สเตรน ในขนาดที่กำหนดในท้องที่แล้ว ลูกสุกรจะเป็นอย่างไร

- สรุปสาระสำคัญ

ทำการศึกษาความปลอดภัยและความคุ้มโรคของสุกรทดลองจากแม่ที่ไม่เคยฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรมาก่อน อายุ 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน เมื่อฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่าในขนาดที่กำหนดให้ใช้และสังเกตอาการของลูกสุกรนาน 2 สัปดาห์ ทำการเจาะเลือดเพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้ออหิวาต์สุกรภายหลังฉีดวัคซีน 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน พบว่าวัคซีนให้ความปลอดภัยกับลูกสุกรทุกอายุ และสามารถสร้างภูมิคุ้มโรคได้สูงแม้ขณะเพียงอายุ 1 วัน

- ประโยชน์ของการวิจัย

สามารถใช้วัคซีนชนิดนี้ในลูกสุกรอายุ 1 วันได้อย่างปลอดภัย และสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อได้ดี

4.4.4 การศึกษาภูมิคุ้มกันโรคอหิวาต์สุกร และโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดไทป์โอ เมื่อให้วัคซีนทั้งสองชนิด พร้อมกัน (กัญญาและอดิลักษ์, 2534)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาภูมิคุ้มกันเชื้ออหิวาต์สุกร และเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดไทป์โอ ซึ่งเป็นผลจากการฉีดวัคซีนทั้งสองพร้อมกันในสุกร

- สรุปสาระสำคัญ

กรมปศุสัตว์ผลิตวัคซีนสำหรับสุกรสองชนิดคือวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า ซึ่งเป็นวัคซีนเชื้อเป็นและอีกชนิดหนึ่ง คือวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยที่เป็นวัคซีนเชื้อตายซึ่งมี 3 ไทป์ คือ โอ เอ และเอเชีย 1 แต่การศึกษาในครั้งนี้ใช้เพียงไทป์โอ การศึกษาได้ฉีดวัคซีนทั้งสองชนิดให้สุกรทดลอง อายุ 2 เดือน ในขนาดที่แนะนำให้ใช้ในท้องที่ พร้อมกัน แต่สำหรับวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ไทป์โอ ฉีดซ้ำอีกครั้งอีก 1 สัปดาห์ต่อมา แล้วทำการตรวจหาแอนติบอดีไตเตอร์ต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร และเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอทุกเดือนนาน 6 เดือน และแบ่งกลุ่มฉีดเชื้อพิษด้วยเชื้อไวรัสโรคอหิวาต์สุกรและเชื้อไวรัสปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ ภายหลังฉีดวัคซีนแล้ว 1 และ 6 เดือน ซึ่งพบว่าสุกรสร้างแอนติบอดีไม่ต่างจากสุกรที่ได้ฉีดวัคซีนเพียงชนิดเดียวแอนติดบอดีไตเตอร์ต่อเชื้ออหิวาต์สุกรสูงสุดในเดือนที่ 3 ส่วนโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอพบในเดือนแรก ความคุ้มโรคของสุกรที่ฉีดวัคซีนพร้อมกัน สามารถป้องกันได้ 100%

- ประโยชน์ของการวิจัย

เกษตรกรสามารถฉีดวัคซีนโรคอหิวาต์สุกรและโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดไทป์โอให้แก่สุกรที่มีสุขภาพดีพร้อมกันได้

4.4.5 **คุณภาพการเก็บรักษาของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย ไชน่าสเตรน** (กัญญาและอนุทิน, 2534ข)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน อหิวาต์สุกรในสภาพทำแห้งและที่ละลายด้วยน้ำยาละลายแล้ว เมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ

- สรุปสาระสำคัญ

คุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า ภายหลังการเก็บรักษาในสภาพทำแห้งไว้ที่อุณหภูมิ 37^0C, 4-8^0C, -20^0C และในอุณหภูมิห้อง 26-32^0C ทำการหาปริมาณไวรัสวัคซีนโดยวิธี pig protective dose ซึ่งปริมาณไวรัสก่อนทดลอง $10^{3.5}$ PD_{50}/โด๊ส พบว่า

ปริมาณไวรัสเป็น 10^3 PD_{50}/โด๊ส เมื่อเก็บในตู้อบ 37^0C นาน 7 วัน เก็บในตู้เย็น 4-8^0C นาน 18 เดือน เก็บในตู้แช่แข็ง -20^0C นาน 3½ ปี และที่เก็บในอุณหภูมิห้อง 26-32^0C นาน 22 วัน ให้ความคุ้มโรค 100% วัคซีนที่เก็บในสภาพถูกละลายด้วยน้ำเกลือ 0.85% แล้วเมื่อเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 18 ชั่วโมง และเก็บไว้ในตู้เย็นนาน 10 วัน สามารถให้ความคุ้มโรคได้ 100%

- ประโยชน์ของการวิจัย

  สามารถกำหนดอายุสภาพการเก็บรักษาวัคซีน เพื่อเป็นข้อแนะนำแก่เกษตรกรผู้ใช้วัคซีน

4.4.6 สถานภาพภูมิคุ้มกันหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรในพ่อแม่พันธุ์ (อธิภูและคณะ, 2535)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

  เพื่อศึกษาสถานภาพภูมิคุ้มกันของสุกรพ่อแม่พันธุ์หลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร ในฟาร์ม

- สรุปสาระสำคัญ

  ศึกษาสถานภาพภูมิคุ้มกันของสุกรพ่อแม่พันธุ์ที่ฟาร์มในจังหวัดชลบุรี มีโปรแกรมทำวัคซีนอหิวาต์สุกรสเตรนไชน่า ชนิดผ่านกระต่ายของกรมปศุสัตว์ ในลูกสุกรฉีดสองครั้งเมื่ออายุ 25 และ 38 วัน สุกรสาวทดแทนฉีดเมื่ออายุ 195 วัน แม่พันธุ์ฉีดช่วงตั้งท้อง 90 วัน และพ่อพันธุ์ฉีดปีละ 2 ครั้ง สุ่มเก็บตัวอย่าง 30% ผลการศึกษาระดับภูมิคุ้มกันเฉลี่ยในแม่พันธุ์ 67.4 $\pm$ 2.7 สุกรสาวมีระดับภูมิคุ้มกันต่ำ (1:2-1:32) เมื่อระดับครอกสูงขึ้นพบมีภูมิคุ้มกันระดับกลาง (1:64-1:128) ส่วนน้อยที่มีระดับสูง (1:256-1:512) ส่วนค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในพ่อพันธุ์เท่ากับ 51.5 $\pm$ 3.1 และไม่พบความแตกต่างระหว่างช่วงอายุที่เพิ่มขึ้นของทั้งแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์ ($P>0.05$)

- ประโยชน์ของการวิจัย

  เป็นข้อมูลระดับภูมิคุ้มกันในพ่อแม่พันธุ์ในท้องที่

4.4.7 **ประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายต่อลูกสุกรที่มีภูมิคุ้มกันจากแม่** (กัญญาและคณะ, 2536)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

  เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็นชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า ในลูกสุกรที่มีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่ในระดับต่างกัน

- สรุปสาระสำคัญ

  ศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็นชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่า ในลูกสุกรที่มีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่ในระดับต่างกัน โดยแยกสุกรเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ฉีดวัคซีนครั้งเดียวที่อายุ 3, 4, 5, 6, 7 หรือ 8 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับอีกกลุ่มซึ่งให้วัคซีนซ้ำที่อายุ 8 สัปดาห์ สุกรกลุ่มควบคุมเป็นสุกรที่เกิดจากแม่ที่ไม่มีภูมิคุ้มโรคแยกเป็นกลุ่มและฉีดวัคซีนเช่นเดียวกัน เจาะเลือดเก็บซีรัม ก่อนและหลังฉีดวัคซีน 1, 3 และ 4 เดือน ตรวจหาระดับแอนติดบอดีต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรโดย END method พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างเด่นชัดระหว่างลูกสุกรที่ได้รับวัคซีนครั้งเดียวหรือสองครั้ง แต่พบความแตกต่างระหว่างลูกสุกรที่มีภูมิคุ้มและไม่มีภูมิคุ้มจากแม่ ระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ที่สูงกว่า 1:32 มีผลไปลดประสิทธิภาพของวัคซีน ในขณะที่ลูกสุกรที่มีภูมิคุ้มจากแม่ต่ำกว่า 1:32 สามารถตอบสนองต่อการใช้วัคซีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

- ประโยชน์ของการวิจัย

ปรับปรุงคำแนะนำการใช้วัคซีนอหิวาต์สุกรของกรมปศุสัตว์ จากเดิมให้ฉีดเมื่ออายุ 1 เดือน ปรับปรุงเป็น ให้ฉีด 2 ครั้ง ครั้งแรกเมื่ออายุ 1½ เดือน และครั้งที่ 2 เมื่ออายุ 3 เดือน

4.4.8 ภูมิคุ้มกันต่อการฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรในลูกสุกร และระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันการเกิดโรคอหิวาต์สุกรก่อนการฉีดวัคซีน (สุจิราและคณะ, 2537)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาภูมิคุ้มกันต่อการฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรในลูกสุกร และระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันการเกิดโรคอหิวาต์สุกรก่อนการฉีดวัคซีน

- สรุปสาระสำคัญ

สำรวจระดับภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่ในลูกสุกรอายุ 1-6 สัปดาห์ จำนวน 745 ตัว ซึ่งเกิดจากแม่สุกรที่ฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรของกรมปศุสัตว์ปีละ 2 ครั้ง และไม่มีประวัติการระบาดของโรคอหิวาต์สุกร พบว่าลูกสุกรมีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดต่ำกว่า 1:32 มีจำนวน 84.5% ทำการคัดเลือกลูกสุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันถ่ายทอดต่างๆ กันนำไปฉีดพิษทับ พบว่าลูกสุกรทีมีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดระดับ 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 และ 1:256 – 1:512 ให้ผลป้องกันโรคเป็น 0, 25, 50, 60, 75 และ 100% ตามลำดับและทดลองศึกษาการตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนในลูกสุกรที่มีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดระดับต่างๆ พบว่าการฉีดวัคซีนในลูกสุกรที่มีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดต่ำกว่า 1:32 จึงจะตอบสนองต่อการฉีดวัคซีน

- ประโยชน์ของการวิจัย

เป็นข้อมูลเกี่ยวกับระดับภูมิคุ้มกันถ่ายทอดสำหรับผู้ใช้และผู้เกี่ยวข้อง

4.4.9 ความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดต่างๆ (จารุณีและคณะ, 2538)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน อหิวาต์สุกรชนิดต่างๆต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรและความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีน 3 วัน และ 7 วัน

- สรุปสาระสำคัญ

หาความคุ้มเริ่มแรกของวัคซีนอหิวาต์สุกร 4 ชนิด คือ สเตรนไชน่าชนิดผ่านกระต่ายของกรมปศุสัตว์ สเตรนไชน่าผ่านกระต่าย CR-20 สเตรน LOM ชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง และสเตรน Thiverval ชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงโดยการฉีดวัคซีนขนาดโด๊สปกติ แล้วฉีดพิษทับหลังฉีดวัคซีน 3 และ7 วัน พบว่าวัคซีนของกรมปศุสัตว์ และสเตรน LOM ให้ความคุ้ม 50% ภายหลังฉีด 3 วัน ส่วนอีกสองชนิดเมื่อ 3 วันยังไม่คุ้ม แต่ทุกชนิดให้ความคุ้มโรค 100% ในวันที่ 7 หลังฉีดวัคซีน

- ประโยชน์ของการวิจัย

ทราบว่าวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดต่างๆ กระตุ้นให้เกิดความคุ้มโรคต่อเชื้อไวรัสได้เร็วเพียงใด เป็นประโยชน์ต่อการป้องกันโรค

4.4.10 ประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรของกรมปศุสัตว์ต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรสายพันธุ์เชียงใหม่/98 (สุดารัตน์และคณะ, 2545)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการให้ความคุ้มโรคชองวัคซีนอหิวาต์สุกรที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ต่อเชื้อไวรัสกลุ่ม 2.2

- สรุปสาระสำคัญ

ศึกษาประสิทธิภาพในการให้ความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกรที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ต่อเชื้อไวรัสกลุ่ม 2.2 โดยฉีดวัคซีนขนาดโด๊สปกติและขนาด 10 เท่าของโด๊สปกติ หลังฉีดวัคซีน 2 สัปดาห์ ฉีดเชื้อพิษด้วยเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรสายพันธุ์เชียงใหม่/98 ซึ่งเป็นตัวแทนเชื้อไวรัสกลุ่ม 2.2 โดยฉีดขนาด $6x10^5$ log $TCID_{50}$/ตัว พบว่าวัคซีนอหิวาต์สุกรของกรมปศุสัตว์ให้ความคุ้มโรคทั้งขนาดโด๊สปกติ และขนาด 10 โด๊ส ได้อย่างสมบูรณ์

- ประโยชน์ของการวิจัย

เป็นข้อมูลความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า

4.4.11 การประเมินคุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรน WPE⁻/Th ในระดับฟาร์ม (สุดารัตน์ และคณะ, 2546)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาคุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรน WPE⁻/Th ในระดับฟาร์ม

- สรุปสาระสำคัญ

นำวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรน WPE⁻/Th โดยใช้media ที่เพาะเลี้ยงเชื้อมี 5% ซีรัมลูกโคที่ผลิตขนาดชุดทดลองนำไปฉีดสุกรในฟาร์มที่คัดเลือกเข้าร่วมโครงการจำนวน 5 ฟาร์ม โดยการฉีดตามโปรแกรมของฟาร์ม กลุ่มทดลองเป็นสุกรที่ฉีดวัคซีน WPE⁻/Th ส่วนกลุ่มควบคุมเป็นสุกรที่ฉีดวัคซีนชนิดเดิม โดยศึกษาการแพ้วัคซีนซึ่งพบว่ามีการแพ้วัคซีน 4-20% และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตสุกรจากอัตราของการเจริญเติบโต การแลกเนื้อและการสูญเสียสุกร จากการศึกษาซึ่งพบว่า ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ศึกษาการสร้างแอนติบอดี พบว่าการสร้างแอนติบอดี ในสุกรที่ขณะฉีดมีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดต่ำ แอนติบอดีจะสูงกว่าที่ฉีดขณะภูมิคุ้มกันถ่ายทอดสูง การฉีดวัคซีน WPE⁻/Th ครั้งเดียวเมื่ออายุ 5 สัปดาห์ ภายหลัง 1 สัปดาห์ ฉีดพิษทับ พบว่าวัคซีนให้ความคุ้มโรคอย่างสมบูรณ์ในสุกรกลุ่มที่มีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดต่ำ (≤ 5 log 2) ในวันที่ฉีดสุกรแสดงอาการป่วยและตาย 1 ตัว ส่วนการทดสอบความคุ้มโรคภายหลังฉีดวัคซีนนาน 18 สัปดาห์โดยการฉีดเชื้อพิษพบว่าวัคซีนให้ความคุ้มโรคอย่างสมบูรณ์ในกลุ่มที่มี active antibody ในระดับสูง (≥ 5 log 2) ส่วนกลุ่มที่มีระดับต่ำ (≤ 5 log 2) พบบางตัวแสดงอาการป่วยและตายด้วยโรคอหิวาต์สุกร

- ประโยชน์ของการวิจัย

ได้ทราบข้อมูลการประเมินคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรน WPE⁻/Th เมื่อทดสอบในระดับฟาร์ม

4.4.12 การทดสอบความปลอดภัยของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE⁻/Th ในลูกสุกรทดลอง (วาสนาและคณะ, 2546)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อทดสอบความปลอดภัยของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรน WPE⁻/Th ที่ผลิตโดยใช้media ที่เพาะเลี้ยงเชื้อมี 5% ซีรัมลูกโค ในลูกสุกร

- สรุปสาระสำคัญ

ศึกษาความปลอดภัยของวัคซีนสเตรน WPE⁻/Th ที่ผลิตโดยใช้media ที่เพาะเลี้ยงเชื้อมี 5% ซีรัมลูกโค ในลูกสุกรอายุ 4 สัปดาห์โดยเป็นสุกรที่ปลอดภูมิคุ้มโรคอหิวาต์สุกร โดยฉีดขนาดโด๊สปกติ จากนั้นทำการเจาะเลือดและผ่าซากลูกสุกรหลังฉีดวัคซีน 3, 5, 7, 10, 14 และ 21 วัน เพื่อตรวจภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ ตรวจหาเชื้อไวรัสวัคซีนในเลือด ตรวจหาระดับแอนติบอดีในซีรัม ทำการตรวจหาเชื้อไวรัสวัคซีนจากอวัยวะภายใน แยกเชื้อไวรัส ตรวจดูรอยโรคภายนอกและรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา ผลการทดลองพบว่าวัคซีนมีความปลอดภัยในลูกสุกรไม่พบอาการของโรค ไม่พบภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ หรือเชื้อไวรัสวัคซีนในซีรัมหรือ ในอวัยวะภายในยกเว้นที่ทอนซิล ในวันที่ 3 และ5 หลังฉีดวัคซีน รอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาพบ lymphoid depletion ในทอนซิล ต่อมน้ำเหลือง ม้าม และ Peyer'patch ของลำไส้เล็ก วัคซีนสามารถกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีได้ พบแอนติบอดีระดับต่ำในวันที่ 5 และจะเพิ่มขึ้นในวันที่ 10 และในวันที่ 14 หลังฉีดวัคซีนพบแอนติบอดีในสุกรทุกตัว

- ประโยชน์ของการวิจัย

วัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรน WPE⁻/Th มีความปลอดภัยในลูกสุกร

4.5 งานวิจัยเกี่ยวกับโรคอหิวาต์สุกร

4.5.1 เปรียบเทียบพยาธิสภาพของสุกรที่ป่วยด้วยโรคอหิวาต์สุกร และที่ฉีดเชื้ออหิวาต์สุกรชนิดรุนแรง (บุศนีย์, 2534)

- วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาพยาธิสภาพของสุกรที่ป่วยด้วยโรคอหิวาต์สุกรจากสุกรที่ส่งมาตรวจโรคที่สถาบันสุขภาพสัตว์ในระหว่าง 2529-2532 เปรียบเทียบกับสุกรทดลองฉีดเชื้ออหิวาต์สุกรชนิดรุนแรง

- สรุปสาระสำคัญ

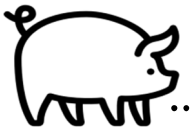
สุกรจำนวน 51 ตัวจากท้องที่ต่างๆ ที่มีการระบาดของโรคอหิวาต์สุกร ระหว่างปีพ.ศ. 2529-2532 โดยสุกรเหล่านี้ได้รับการตรวจยืนยันว่าเป็นโรคอหิวาต์สุกรแล้ว ได้นำมาศึกษาเปรียบเทียบวิการทางจุลพยาธิวิทยา โดยสุกรมีอายุตั้งแต่ 2 สัปดาห์จนถึง 6 เดือน แยกตามวิการความรุนแรงที่พบที่สมองเป็น 3 แบบ คือ วิการความรุนแรงอย่างอ่อน ซึ่งพบการเพิ่มจำนวนเซลล์บุผิวเส้นเลือดเล็กน้อย และ glia cell proliferation มีน้อยมาก แทบไม่พบวิการความรุนแรงปานกลาง พบการเพิ่มจำนวนเซลล์รอบๆ เส้นเลือด 1-2 ชั้น และพบมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์บุผิวเส้นเลือด และพบ glia cell proliferation เล็กน้อย วิการความรุนแรงมากพบว่ามีการเพิ่มจำนวนของเซลล์รอบๆ เส้นเลือดหลายชั้นและพบ glia cell proliferation เป็นหย่อมอยู่ทั่วไป ในสุกรที่มีความรุนแรงของวิการสมอง พบเนื้อตายที่ม้ามจำนวน 2 ตัว ที่ต่อมน้ำเหลือง 4 ตัว ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสุกรที่ฉีดเชื้อชนิดรุนแรง 10^4-10^5 MLD จำนวน 5 ตัว พบว่าทั้ง 5 ตัวมีเนื้อตายที่ม้าม

- ประโยชน์ของการวิจัย

ทราบว่าสุกรที่ติดเชื้อระหว่างปี 2529-2532 เป็นแบบ chronic ต้องมีการเลี้ยง การจัดการและการทำวัคซีนอย่างใกล้ชิด รวมทั้งมีโปรแกรมวัคซีนที่เหมาะสม

บทที่ 5

การใช้วัคซีนอหิวาต์สุกรในการป้องกันและควบคุมโรค



บทที่ 5
การใช้วัคซีนอหิวาต์สุกรในการป้องกันและควบคุมโรค

วัคซีนอหิวาต์สุกร ชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า เป็นวัคซีนไวรัสเชื้อเป็น ชนิดอ่อนความรุนแรง ไม่เป็นอันตรายต่อสุกรที่ได้รับวัคซีนนี้ แต่สามารถให้ความคุ้มโรคอหิวาต์สุกรได้ดี เป็นวัคซีนทำแห้งบรรจุในขวดภายใต้สุญญากาศ (ภาพที่ 46)

ภาพที่ 46 วัคซีนอหิวาต์สุกร ชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า พร้อมน้ำยาละลาย

5.1 สรรพคุณ

ใช้ฉีดป้องกันโรคอหิวาต์สุกร

5.2 ส่วนประกอบ

วัคซีน 1 โด๊ส ประกอบด้วยเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรนไชน่า ที่เพาะจากม้ามและต่อมน้ำเหลืองของกระต่าย มีปริมาณไวรัสไม่น้อยกว่า 10^2 PD_{50}

5.3 วิธีการใช้

5.3.1 ลูกสุกร

5.3.1.1 ในแม่ที่ไม่เคยฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร ฉีดครั้งเดียวที่อายุ 1 วัน

5.3.1.2 ในแม่ที่เคยฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร

ฉีดครั้งแรกเมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ฉีดครั้งที่ 2 เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ ซึ่งการฉีดครั้งนี้จะเป็นการเสริมสำหรับลูกสุกรบางตัวที่ฉีดครั้งแรกไม่ได้ผล เนื่องจากมีระดับภูมิคุ้มจากแม่สูง

5.3.2 สุกรพันธุ์

ใช้ตามโปรแกรมลูกสุกรและฉีดซ้ำปีละครั้ง

5.4 ขนาดฉีด

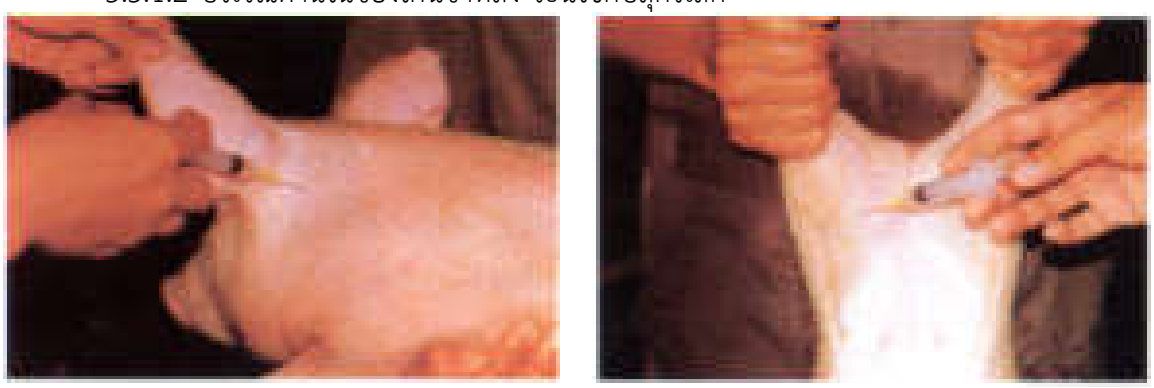
ใช้เข็มเบอร์ 20 ยาว 1 นิ้ว ฉีดตัวละ 1 มล. ในสุกรทุกอายุ

5.5 ตำแหน่งบนตัวสัตว์ที่จะใช้ฉีดวัคซีน

5.5.1 การฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อ (ภาพที่ 47)

5.5.1.1 บริเวณคอหลังใบหู แทงตั้งฉากกับบริเวณที่ฉีด

5.5.1.2 บริเวณด้านในของโคนขาหลัง วิธีนี้ใช้กับสุกรเล็ก



ภาพที่ 47 การฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อ

5.5.2 การฉีดวัคซีนเข้าใต้ผิวหนัง (ภาพที่ 48)

การฉีดวัคซีนเข้าใต้ผิวหนัง บริเวณเดียวกับ 5.5.1.1 แต่แทงปลายเข็มลงล่าง

ภาพที่ 48 การฉีดวัคซีนเข้าใต้ผิวหนัง

5.6 ความคุ้มโรค

5.6.1 สุกรจะมีความคุ้มโรคหลังจากฉีดวัคซีน 5 วัน และอยู่ได้นานอย่างน้อย 1 ปี

5.6.2 แม่สุกรที่มีความคุ้มโรค สามารถถ่ายทอดความคุ้มให้ลูกเมื่อลูกกินนมน้ำเหลืองหลังคลอด ภายใน 48 ชั่วโมง ความคุ้มที่ลูกได้รับนี้ จะคงอยู่ 5-8 สัปดาห์

5.7 การเก็บรักษา

5.7.1 เก็บในตู้แช่แข็ง (Deep freezer) -20^{0}C เก็บได้นาน 4 ปี

5.7.2 เก็บในตู้เย็น (Refrigerator) 2-8^{0}C เก็บได้นาน 1 ปี

5.8 ขนาดบรรจุ

ขวดละ 10 โด๊ส พร้อมน้ำยาละลาย 10 มล. ฉีดได้ 10 ตัว

5.9 ข้อควรระวัง

5.9.1 ห้ามวัคซีนถูกแสงแดด

5.9.2 ห้ามใช้สารเคมีฆ่าเชื้อที่กระบอกฉีดยาและเข็ม

5.9.3 วัคซีนที่ละลายแล้ว ต้องแช่เย็นตลอดเวลา และใช้ให้หมดภายใน 2 ชั่วโมง

5.9.4 หลังจากฉีดวัคซีนแล้ว นำเข็มและกระบอกฉีดยาไปต้มฆ่าเชื้อ ส่วนขวดบรรจุวัคซีนให้เปิดจุกออกก่อน แล้วเผาหรือต้มฆ่าเชื้อ ก่อนนำไปทิ้ง

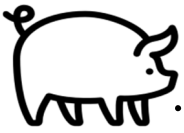
5.9.5 ฉีดวัคซีนให้สุกรที่มีสุขภาพแข็งแรงเท่านั้น

5.9.6 ห้ามฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรในแม่สุกรตั้งท้อง

5.9.7 กรณีที่จะฉีดวัคซีนก่อนระยะเวลาที่กำหนดไว้จะต้องคำนึงถึงระดับภูมิคุ้มกันที่ลูกได้รับจากนมน้ำเหลืองซึ่งจะมีผลรบกวนต่อการสร้างภูมิคุ้มกันของวัคซีน

5.9.8 ให้ใช้วัคซีนตามคำแนะนำอย่างเคร่งครัดและการจัดการฟาร์มที่ดี จะทำให้วัคซีนมีประสิทธิภาพสมบูรณ์

บทที่ 6
ปัจจัยที่มีผลในการทำวัคซีน



บทที่ 6
ปัจจัยที่มีผลในการทำวัคซีน

6.1 การฉีดวัคซีน

6.1.1 การฉีดวัคซีนในสุกร

ผู้ปฏิบัติงานต้องผ่านการฝึกอบรมและได้รับการมอบหมายจากสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์ม

6.1.2 การเตรียมตัวสุกร

- ฉีดวัคซีนให้กับสุกรที่มีสุขภาพแข็งแรงเท่านั้น
- ฉีดวัคซีนตามโปรแกรมที่กำหนด
- หากพบสุกรแสดงอาการป่วย ควรเลื่อนการฉีดวัคซีนออกไป
- ก่อนการฉีดวัคซีนควรทำความสะอาดสุกรและพื้นคอก

6.1.3 การเตรียมวัคซีน

- ต้องใช้วัคซีนที่มีทะเบียนถูกต้องเท่านั้น และยังไม่ถึงวันล่วงอายุ
- ต้องถูกเก็บในที่ที่เหมาะสมตามข้อกำหนดของวัคซีนนั้นๆ
- เตรียมปริมาณวัคซีนให้เพียงพอกับจำนวนสุกร

6.1.4 การเตรียมอุปกรณ์ที่ใช้ในการฉีดวัคซีน

- เตรียมเข็มฉีดยา และ syringe ที่สะอาดและผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อมาเรียบร้อยแล้ว
- ภาชนะบรรจุและถุงน้ำแข็งหรือถุงเย็น (ice pack) สำหรับบรรจุวัคซีนเพื่อรักษาความเย็น
- สำลีชุ่มด้วย 70% แอลกอฮอล์
- คีมหรืออุปกรณ์สำหรับปลดหัวเข็ม
- อุปกรณ์บังคับสัตว์ เช่น เชือกมัดปาก (snare) แผงกระดานหรือแผงเหล็ก หรืออุปกรณ์อื่นๆที่สามารถใช้สำหรับกั้นตัวสุกรโดยไม่ตัวสุกรได้รับบาดเจ็บได้
- อุปกรณ์ทำเครื่องหมายบนตัวสุกร เช่น สีพ่น ปากกาป้าย เป็นต้น
- ถุงขยะสำหรับทิ้งเศษวัสดุที่ใช้แล้วจากการทำวัคซีน
- ภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิดสำหรับใส่เข็มฉีดยาและ syringe ที่ผ่านการใช้งาน ชำรุด หรือปนเปื้อน เพื่อการตรวจสอบย้อนกลับ (traceability) และนำไปกำจัดอย่างถูกต้อง
- อุปกรณ์เสริมเพื่อทำงานง่ายขึ้นไม่ต้องเข้าออกจากคอกเช่น กระเป๋ารัดเอวไว้เก็บ เข็มและ syringe หรือ ตะกร้าใส่อุปกรณ์ในการหิ้วอุปกรณ์ที่ใช้ในการฉีดวัคซีน

6.1.5 การเบิก–คืน เข็มฉีดยาและการจดบันทึก

- การเบิกเข็มฉีดยาตามจำนวนและขนาดที่ต้องการใช้ให้เหมาะสมกับช่วงอายุของสุกร พร้อมกับลงบันทึกในแบบบันทึกการควบคุมการใช้เข็ม
- การคืนเข็มฉีดยา ต้องมีการจดบันทึกจำนวน และสภาพเข็มหลังการใช้งาน ว่า ปกติ งอ หรือหัก เป็นต้น
- ในกรณีที่มีความสูญหายของเข็ม ต้องตรวจสอบว่าอยู่ที่ใดและถ้าพบหรือคาดว่าตกหล่นในคอก หรือหักอยู่ที่ตัวสุกรให้ทำการบ่งชี้ไว้ให้ชัดเจน เช่น ทำป้าย หรือทำเครื่องหมายบนตัวสุกร หรือหน้าคอก

6.1.6 วิธีการฉีดวัคซีนแบบใช้เข็ม

- ตำแหน่งการฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อที่เหมาะสม คือ บริเวณหลังใบหูประมาณ 2 นิ้ว โดยแทงเข็มให้ตั้งฉากกับผิวหนัง และแทงเข็มให้ลึกเข้ากล้ามเนื้อ (นอกจากบริเวณหลังใบหูแล้ว อาจพิจารณาตำแหน่งอื่นตามความเหมาะสมหรือตามคำแนะนำการใช้วัคซีนชนิดนั้นๆและ ตามดุลยพินิจของสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มสุกร เช่น บริเวณกล้ามเนื้อต้นขา หรือสะโพก)
- ก่อนการฉีดวัคซีน ควรเช็ดฆ่าเชื้อผิวหนังบริเวณที่จะฉีดด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์
- เข็มที่ใช้ดูดวัคซีนกับเข็มที่ใช้ฉีดวัคซีนควรใช้แยกกัน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนลงไปในขวดวัคซีน หรือใช้ไซริงค์อัตโนมัติ (automatic syringe)
- การฉีดวัคซีนในสุกรพ่อพันธุ์ แม่พันธุ์ และสุกรทดแทน ควรพิจารณาเปลี่ยนเข็มฉีดยาทุกตัว
- การฉีดวัคซีนในลูกสุกรดูดนม สุกรอนุบาล และสุกรขุน ควรเปลี่ยนเข็มฉีดยาทุก 10-15 ตัว หรือทุกคอก
- ตรวจสภาพเข็มฉีดยาทุกครั้ง ในระหว่างการใช้งาน หากพบว่าเข็ม ที่อ–คด–งอ แม้เพียงเล็กน้อย ให้เปลี่ยนเข็มใหม่ทันที
- การฉีดด้วย automatic syringe ต้องมีการตรวจเช็คเป็นระยะว่ามีวัคซีนเข้ามาเต็ม syringe และปริมาณหรือจำนวนที่ใช้ไปกับจำนวนหมูอยู่เป็นระยะๆ

หมายเหตุ

การฉีดวัคซีนไม่ครบโด๊ส อาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของวัคซีน ควรทำการฉีดซ้ำทันที

6.1.7 อุปกรณ์ฉีดวัคซีนด้วย syringe อัตโนมัติ (automatic syringe)

การเตรียมและการทำความสะอาดอุปกรณ์ ให้ปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิต

6.1.8 อุปกรณ์ทำวัคซีนชนิดไร้เข็ม (needleless injector)

การเตรียมและการทำความสะอาดอุปกรณ์ ให้ปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิต

6.1.9 การจัดการเข็มฉีดยา syringe ขวดวัคซีน และอุปกรณ์ปนเปื้อน

ทำการฆ่าเชื้อ เข็มฉีดยา syringe และขวดวัคซีนที่ใช้แล้ว ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ จากนั้นส่งทำลายในรูปแบบขยะติดเชื้อ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม โดยสามารถประสานงานกับ

- บริษัทที่จำหน่ายวัคซีน
- หน่วยงานราชการ เช่น โรงพยาบาล สถานีอนามัยใกล้ฟาร์ม (ถ้ามี)
- บริษัทรับทำลายขยะติดเชื้อเอกชน ที่ผ่านการรับรองมาตรฐานการทำลายขยะติดเชื้อ

6.1.10 การเก็บรักษาวัคซีน

- วัคซีนทุกชนิดและน้ำยาทำละลายวัคซีนควรจัดเก็บไว้ในตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิ 2–8 องศาเซลเซียส หรือตามคำแนะนำในเอกสารกำกับยา
- ต้องมีตู้เย็นสำหรับเก็บวัคซีนโดยเฉพาะ และมีเทอร์โมมิเตอร์ Min-Max วางไว้ในตู้เย็น เพื่อทวนสอบกับตู้เย็นที่มีการบ่งบอกอุณหภูมิที่หน้าตู้ว่าตรงกันหรือไม่และอยู่ในอยู่ช่วงที่ควบคุมหรือไม่
- มีการตรวจสอบและบันทึกอุณหภูมิภายในตู้เย็นเป็นประจำทุกวัน
- หากกรณีเกิดไฟฟ้าดับนานเกิน 30 นาที ควรนำวัคซีนไปแช่ในภาชนะเก็บความเย็นที่ภายในบรรจุถุงน้ำแข็งหรือถุงเย็น ดังนั้น ฟาร์มหรือสำนักงานควรพิจารณามีเครื่องปั่นไฟฉุกเฉิน เนื่องจากถ้าเกิดไฟฟ้าดับกลางคืนจะไม่สะดวกในการเคลื่อนย้ายวัคซีน

- ไม่ควรเก็บวัคซีนไว้ที่ฝาตู้เย็น เพราะอุณหภูมิที่ฝาตู้จะเปลี่ยนแปลงได้อย่างรวดเร็วเมื่อเปิดฝาตู้เย็น
- วัคซีนควรเก็บไว้ในกล่องบรรจุเพื่อให้ตัวกล่องเป็นฉนวนกันความร้อนที่จะมากระทบขวดวัคซีนเมื่อเปิดตู้เย็น หรือในกรณีไฟฟ้าดับตัวกล่องจะยังคงเก็บรักษาความเย็นได้

หมายเหตุ

ไม่ควรเก็บวัคซีนในช่องแช่แข็งหรือช่องเก็บของใต้ช่องแช่แข็ง เพราะการแช่แข็งจะทำให้จุกยางหดตัวและความชื้นเล็ดลอดเข้าไปเกิดเป็นผลึกน้ำแข็งทำลายเชื้อในขวดวัคซีนได้ (สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย 2563)

6.2 ปฏิกิริยาจากการได้รับวัคซีน

วัคซีนที่มีจำหน่ายและใช้อยู่ในปัจจุบัน แม้ว่าจะผ่านกระบวนการตรวจสอบความปลอดภัยมาแล้วก็ตาม แต่ก็สามารถก่อให้เกิดอาการแพ้ (allergic reaction) ได้ เช่นเดียวกับการแพ้ยา การแพ้วัคซีนส่วนใหญ่เกิดจากการแพ้ส่วนประกอบที่อยู่ในวัคซีน อาการแพ้ที่เกิดขึ้นภายหลังจากได้รับวัคซีนอาจเป็นผลมาจากตัวของเชื้อ (antigen) หรือสารประกอบที่อยู่ในวัคซีนหรืออาจเกิดจากปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วย ซึ่งเป็นกลไกที่ซับซ้อน อาการแพ้วัคซีนมีหลายระดับอาจเป็นระดับอ่อนๆ (mild allergic reaction) หรือเป็นอันตรายต่อชีวิต ส่วนประกอบที่อยู่ในวัคซีนที่เกี่ยวข้องกับอาการแพ้วัคซีน ได้แก่ สารเสริมฤทธิ์ (adjuvant) 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 และ อาการบวมใต้ผิวหนัง ร่วมกับอาการคัดจมูก มีน้ำมูก อาการไอ การหายใจลำบากเนื่องจากทางเดินหายใจตีบตัน หายใจด้วยช่องท้อง เจ็บเกร็งในช่องท้อง อาเจียน ท้องเสีย และความดันโลหิตสูง หากมีอาการแพ้เฉียบพลันอย่างรุนแรง จะเรียกว่า anaphylaxis ซึ่งเป็นอาการแพ้ที่เกิดขึ้นกับอวัยวะหลายระบบของร่างกายพร้อมๆ กันและอาจทำให้เสียชีวิตได้หากไม่ได้รับการรักษาอย่างรวดเร็ว โดยจะแสดงอาการทางผิวหนังมากที่สุด รองลงมาได้แก่ระบบทางเดินหายใจ ระบบหัวใจและหลอดเลือด และระบบทางเดินอาหารตามลำดับ อาการทางผิวหนังที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ ผื่นลมพิษ และ อาการบวมใต้ผิวหนัง (Bohlke et al., 2003; Fritsche et al., 2010; Siegrist, 2007)

6.3 ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการทำวัคซีน

ความสำเร็จของการป้องกันและควบคุมโรคนอกจากจะขึ้นอยู่กับโปรแกรมการฉีดวัคซีนที่เหมาะสมแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆด้วยเช่น สภาพแวดล้อมในการจัดการ สุขภาพโดยรวมของสุกร ความรู้และความเข้าใจของสัตวแพทย์และเกษตรกรผู้เลี้ยงในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับโรคและการจัดการในการควบคุมโรคอย่างเหมาะสม และความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosecurity) นายสัตวแพทย์และผู้ที่ทำงานเกี่ยวข้องกับการผลิตสุกรควรระลึกไว้เสมอว่า วัคซีนเป็นเพียงเครื่องมือชิ้นหนึ่งที่นำมาใช้เป็นตัวช่วยในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของ

ฝูงได้ในสถานการณ์ที่เหมาะสม แต่การให้วัคซีนเพียงอย่างเดียวอาจจะไม่สามารถช่วยแก้ปัญหาได้ ถ้าไม่มีการปรับเปลี่ยนระบบการจัดการอย่างเหมาะสมร่วมด้วย

ในฟาร์มสุกรมีหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความสำเร็จในการให้วัคซีนในสุกร แบ่งออกได้เป็น

6.3.1 ปัจจัยจากตัวเชื้อ ธรรมชาติของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค และพยาธิกำเนิดของโรค

ความเข้าใจในเรื่องโรคและชนิดของเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุหลักของปัญหาสุขภาพในฟาร์มเป็นสิ่งสำคัญเป็นอันดับต้นๆ ในการวางแผนควบคุมและป้องกันโรค ก่อนการตัดสินใจใช้วัคซีนใดๆ นายสัตวแพทย์ควรมีความรู้ว่า เชื้อโรคที่ต้องการให้วัคซีนนั้นเป็นสาเหตุหลัก (primary cause) ของการก่อปัญหาสุขภาพในสุกรจริงหรือไม่ โดยอาศัยข้อมูลทางห้องปฏิบัติการและการชันสูตรโรคมาประกอบการพิจารณา บ่อยครั้งที่ปัญหาการเจ็บป่วยของสัตว์เกิดจากสาเหตุที่เป็นปัจจัยร่วมหลายชนิดในเวลาเดียวกัน (multi-factors) ซึ่งอาจเป็นได้ทั้งการติดเชื้อร่วมกับปัจจัยทางกายภาพและสภาพแวดล้อมอื่นๆ ที่มีผลในการกดหรือรบกวนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ถ้าปัญหาที่พบเกิดจากการติดเชื้อหลายๆ ชนิดร่วมกัน และ/หรือการติดเชื้ออื่นๆ ที่ยังวินิจฉัยไม่ได้มาสมทบ การใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรคใดโรคหนึ่งก็อาจไม่ให้ผลในการแก้ปัญหาทางสุขภาพที่พบในสัตว์ได้ นายสัตวแพทย์จึงจำเป็นจะต้องมีความเข้าใจในเรื่อง ธรรมชาติของเชื้อ รวมถึงพยาธิกำเนิดของโรค ซึ่งมีผลต่อการเลือกชนิดและการวางโปรแกรมวัคซีน

ความเข้าใจในธรรมชาติของเชื้อก่อโรคมีบทบาทสำคัญในการวิจัยและพัฒนาวัคซีน ตลอดจนการนำวัคซีนไปใช้ในฟาร์มสุกรเป็นอันมาก เชื้อบางกลุ่มมีคุณสมบัติในเชิงความเป็นแอนติเจนที่ใกล้เคียงกัน วัคซีนที่พัฒนาจากเชื้อสายพันธุ์ใดๆ ก็สามารถให้ภูมิคุ้มโรคข้ามสายพันธุ์ได้ทั้งหมด เช่น เชื้อที่ก่อโรคอหิวาต์สุกร (Classical swine fever; CSF), โรคพิษสุนัขบ้าเทียม (Aujeszky's Disease หรือ Pseudorabies; AD), โรคเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 (Porcine circovirus type 2; PCV2), โรคเอ็นซูติคนิวโมเนีย (Enzootic pneumonia) ในสุกร (*Mycoplasma hyopneumoniae*; Mh), โรคพาร์โวไวรัส (Porcine parvovirus) เป็นต้น ในขณะเชื้อบางกลุ่มมีความหลากหลายในเชิงความเป็นแอนติเจนสูงมาก วัคซีนจากเชื้อสายพันธุ์หนึ่ง อาจไม่มีผลในการให้ความคุ้มโรคข้ามสายพันธุ์อื่นๆ ได้ เช่น เชื้อที่ก่อโรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and mouth disease; FMD), โรคพีอาร์อาร์เอส (Porcine respiratory and reproductive syndrome; PRRS), โรคไข้หวัดใหญ่ในสุกร (Swine influenza), *Leptospira* spp. เป็นต้น ดังนั้นในการวางแผนการให้วัคซีนจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทราบถึงลักษณะของเชื้อในท้องที่และข้อมูลทางระบาดวิทยาของแต่ละโรคร่วมด้วย เนื่องจากในแต่ละประเทศหรือท้องที่ อาจมีการระบาดของเชื้อสายพันธุ์ ที่ต่างกัน และอาจมีการแพร่เชื้อใหม่เข้าสู่ท้องที่ผ่านกลไกการนำ โรคที่หลากหลาย นอกจากนี้นายสัตวแพทย์ควรให้ความสำคัญเกี่ยวกับข้อมูลการค้นพบโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำในสัตว์ ซึ่งอาจมีโอกาสก่อให้เกิดการติดเชื้อหรือการระบาดของโรคใหม่ในท้องที่ที่ดูแลได้ ตัวอย่างโรคอุบัติใหม่ในสุกรที่ก่อความสูญเสียในช่วงสิบปีผ่านมาในประเทศไทย เช่น Highly pathogenic-porcine reproductive and respiratory syndrome (HP-PRRS) และ Porcine Epidemic Diarrhea (PED) เป็นต้น

ความเข้าใจในธรรมชาติของเชื้อที่เกี่ยวกับวงชีวิตภายในโฮสต์ การแพร่กระจายของเชื้อ และวงจรการระบาด ล้วนมีความสำคัญต่อการพัฒนาและเลือกใช้วัคซีนเป็นอย่างมาก เช่น เชื้อไวรัสที่มีวงชีวิตอยู่ในเซลล์เป็นส่วนใหญ่ (CSFV, AD) จำเป็นต้องใช้กลไกทางภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ ผ่านการกระตุ้นการทำงานของ Cytotoxic T lymphocytes (CTL) ร่วมกับการสร้างแอนติบอดี (antibody;

Ab) จึงจะสามารถควบคุมการติดเชื้อและกำจัดเชื้อโดยสมบูรณ์ได้ ในขณะที่เชื้อกลุ่มแบคทีเรียส่วนมาก และไวรัสบางกลุ่ม (PCV-2, FMDV) ที่มีช่วงชีวิตที่อยู่นอกเซลล์ การให้วัคซีนที่กระตุ้นการสร้างแอนติบอดีเป็นหลัก ก็อาจเพียงพอต่อการควบคุมการเกิดโรคหรือภูมิคุ้มโรคได้ หรือบางกรณีการเกิดโรคเกิดจากการได้รับ toxin ของเชื้อจุลชีพที่สร้างขึ้นมา มากกว่าตัวเชื้อเอง (APP, AR) การพัฒนาวัคซีนจึงจะต้องมุ่งเน้นการสร้างภูมิคุ้มกันเพื่อต่อต้านและทำให้ toxin นั้นหมดฤทธิ์ไปมากกว่าการสร้างภูมิคุ้มกันต่อตัวเชื้อเอง

6.3.2 ปัจจัยจากวัคซีน กลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและชนิดของวัคซีน

โดยทั่วไปแล้วการป้องกันการเกิดโรคโดยการให้วัคซีนมีอยู่ 2 ระดับ ได้แก่

- การให้วัคซีนเพื่อหวังผลในการป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่ร่ายกาย (protection by against infection) และ
- การให้วัคซีนเพื่อหวังผลในการป้องกันการเกิดโรค (protection by against disease)

เนื่องจากการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อเข้าสู่ร่างกายเป็นไปได้ค่อนข้างยาก ดังนั้นวัคซีนทางสัตวแพทย์เกือบทั้งหมดที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน จะเป็นกลุ่มที่ใช้เพื่อป้องกันการเกิดโรค เช่น CSF, AD, PCV-2, FMD เป็นต้น หรือในบางกรณีมีเพียงเพื่อช่วยลดรอยโรคเท่านั้น เช่น SIV, *M.hyo* เป็นต้น วัคซีนที่มีใช้ในสุกรมีหลายชนิดและหลายรูปแบบ ต่างมีข้อได้เปรียบและเสียเปรียบที่แตกต่างกัน ดังนั้นหลักการเลือกชนิดของวัคซีน จึงจำเป็นต้องมีความเข้าใจในเรื่องธรรมชาติของเชื้อเสียก่อน เพื่อกำหนดกลไกทางภูมิคุ้มกันที่ต้องการก่อนแล้วจึงมาพิจารณาว่าวัคซีนที่ต้องการเลือกใช้สามารถกระตุ้นกลไกทางภูมิคุ้มกันที่ต้องการได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่ เช่น ถ้าเชื้ออยู่แต่เฉพาะส่วนเยื่อเมือกด้านนอกของร่างกาย เช่น TGE, PEDV เป็นต้น จำเป็นต้องใช้กลไกทางภูมิคุ้มกันที่เยื่อเมือกโดยเฉพาะการสร้าง antigen-specific IgA ในการป้องกันการเกิดโรคเป็นหลัก ดังนั้นวัคซีนที่จะใช้ก็ควรต้องกระตุ้นกลไกการตอบสนองที่เยื่อเมือกได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วย ซึ่งจะทำได้ต่อเมื่อมีการให้วัคซีนแอนติเจนเข้าทางเยื่อเมือก (mucosal vaccine) ด้วยเช่นกัน และการให้วัคซีนโดยการฉีดที่กระตุ้นเพียงแต่ systemic immunity ย่อมจะไม่ได้ผลดี เท่ากับให้เข้าทางผิวเยื่อเมือกโดยตรง

วัคซีนแต่ละชนิดมีความสามารถในการกระตุ้นกลไกการทำงานที่แตกต่างกัน แม้ว่าวัคซีนโดยส่วนมากจะสามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี ได้เป็นที่น่าพอใจ แต่ความสามารถในการกระตุ้น CMI (helper T- lymphocyte; Th และ CTL) จะขึ้นกับความสามารถในการนำเสนอวัคซีนแอนติเจนให้กับเซลล์แต่ละประเภท วัคซีนที่เป็นเชื้อมีชีวิต หรือวัคซีนที่มีความสามารถเข้าไปสร้างโปรตีนภายในเซลล์ได้ เช่น modified live vaccine (MLV), live recombinant virus, DNA vaccine มีความสามารถเข้าไปสร้างโปรตีนใหม่ภายในเซลล์ได้ จึงมีความสามารถในการนำส่งแอนติเจนเพื่อนำเสนอผ่านทาง Major histocompatibility complex (MHC) class I และ MHC class II molecule ได้ จึงส่งผลให้เกิดการกระตุ้นกลไกทางภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ได้ครอบคลุมทั้งหมด ได้แก่การกระตุ้นการสร้าง CTL ผ่านทาง endogenous pathway-MHC I และ Th ผ่านทาง exogenous pathway-MHC II ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่วัคซีนเชื้อตายหรือซับยูนิตวัคซีน โปรตีนจะไม่สามารถเข้าไปเพิ่มจำนวนหรือสร้างโปรตีนเพิ่มเติมในตัวสัตว์ได้ จึงมีคุณสมบัติเป็นเพียง exogenous antigen ที่นำเสนอผ่าน MHC II molecule และสามารถกระตุ้นได้เพียงแต่ Th ดังนั้นวัคซีน เชื้อตายจึงเน้นที่การกระตุ้นการสร้าง Ab และ Th เป็นหลัก

จะเห็นได้ว่าวัคซีนแต่จะชนิดจะมีความสามารถในการกระตุ้นกลไกทางภูมิคุ้มกันที่แตกต่างกัน ดังนั้นความรู้และความเข้าใจถึงวงชีวิตของเชื้อแต่ละชนิดจะเป็นตัวแปรสำคัญ ที่จะกำหนดการเลือกวัคซีนที่มีความเหมาะสม ตัวอย่างเช่น การป้องกันโรคอหิวาต์สุกร ซึ่งมีวงชีวิตอยู่ภายในเซลล์เป็นหลัก จำเป็นต้องใช้กลไกทางภูมิคุ้มกันทั้ง CMI (CTL) และ HI (neutralizing Ab; NAb) ในการควบคุมการติดเชื้อและกำจัดเชื้อออกจากร่างกาย ดังนั้น การให้วัคซีนเชื้อเป็นซึ่งมีคุณสมบัติกระตุ้นได้ทั้ง CTL และ NAb จึงมีประสิทธิภาพดีกว่าวัคซีนชนิดซับยูนิตซึ่งเน้นการกระตุ้นการสร้าง NAb เพียงอย่างเดียว และถือเป็นทางเลือกหลักในประเทศที่ยังมีการระบาดของโรคอยู่ อย่างไรก็ตามเนื่องจากสภาวะทางระบาดวิทยาของแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน ในต่างประเทศบางประเทศซึ่งสามารถกำจัด (eradicate) โรคอหิวาต์สุกรได้หมดแล้ว หากต้องการสร้างภูมิคุ้มกันโรคแบบฉุกเฉิน การเลือกใช้วัคซีนชนิดซับยูนิตจึงอาจเป็นทางเลือกที่ดีกว่า เพื่อป้องกันการนำเอาเชื้อมีชีวิตเข้าสู่พื้นที่ และความรวดเร็วในการกลับเข้าสู่สถานะ disease free-zone นอกจากนี้ยังมีประเด็นในด้านความปลอดภัย เนื่องจากการใช้วัคซีนเชื้อเป็นบางชนิด ในสัตว์อุ้มท้องอาจส่งผลเสียแก่สุขภาพของแม่และลูกสุกรได้ ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงหรือพิจารณาถึงความจำเป็นในแต่ละกรณี (สันนิภา, 2561; Suradhat et al., 2007)

6.3.3 ปัจจัยจากตัวสุกร

ความล้มเหลวอันเกิดจากตัววัคซีนและปัจจัยภายในของสุกร อาจเกิดจากสาเหตุที่เป็นปัจจัยภายในของสุกรโดยตรง ได้แก่ สุขภาพโดยรวม อายุ ความพร้อมของระบบภูมิคุ้มกัน ระดับภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่ การติดเชื้ออื่นที่มีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน หรือการได้รับเชื้อมาก่อนการให้วัคซีนแล้ว เป็นต้น

6.3.4 ปัจจัยจากการบริหารวัคซีน

ความล้มเหลวอันเกิดจากการบริหารวัคซีนอาจเกิดจากผู้ฉีดวัคซีน เช่น การฉีดวัคซีนผิดวิธี ผิด route ให้ไม่ครบโด๊ส หรือจำนวนครั้งที่มีการแนะนำโดยบริษัทผู้ผลิต การใช้วัคซีนที่หมดอายุแล้ว หรือมีการขนส่งและเก็บรักษาที่ไม่ดีพอจนทำให้มีการเสื่อมสภาพของวัคซีนก่อนการนำไปใช้ นอกจากนี้ความล้มเหลวในการฉีดวัคซีนอาจมีสาเหตุจากข้อผิดพลาดในการวางโปรแกรมในการสร้างภูมิคุ้มกัน เช่น การวางแผนผิดพลาดทำให้สัตว์ไม่ได้รับวัคซีนเป็นประจำสม่ำเสมอ หรือละเลยการฉีดวัคซีนในช่วงที่ไม่มีโรคหรือเศรษฐกิจตกต่ำ ซึ่งจะมีผลต่อสถานภาพภูมิคุ้มกันฝูงโดยรวมได้ เป็นต้น

สรุปสาเหตุทำไมใช้วัคซีนแล้วไม่คุ้มโรค

1. ใช้วัคซีนขณะสัตว์กำลังป่วย
2. สัตว์อายุน้อยยังมีภูมิคุ้มกันที่ได้รับถ่ายทอดจากแม่ซึ่งจะรบกวนต่อการสร้างภูมิคุ้มกันของวัคซีน
3. สัตว์ที่ได้รับวัคซีนมีสุขภาพไม่แข็งแรง เช่น ผอมมาก มีพยาธิทำให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันได้น้อย
4. วัคซีนที่นำมาใช้ ไม่ตรงกับสายพันธุ์ของโรคระบาด
5. บางโรคมีผลต่อการไม่สร้างภูมิคุ้มกัน เช่น โรคพีอาร์อาร์เอส โรคพิษสุนัขบ้าเทียมในสุกร
6. การเก็บรักษาวัคซีนไม่เป็นไปตามคำแนะนำ ทำให้เชื้อวัคซีนตายหรือเสื่อมสภาพ
7. ให้วัคซีนไม่ครบโด๊ส
8. ไม่ให้วัคซีนซ้ำตามโปรแกรมที่เหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

กังวาน จึงธีรพานิช และดิถี ประเสริฐสุวรรณ 2562 การเตรียมไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดรุนแรงจากเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด SK6 วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 28(1): 18-26

กัญญา สุวินทรากร 2534 ความปลอดภัยและความคุ้มโรคของสุกรก่อนหย่านม เมื่อได้รับวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย ไชน่าสเตรน วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 2(2): 20-24

กัญญา สุวินทรากร 2539 การตรวจหาปริมาณไวรัสอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายสเตรนไชน่าโดยวิธีฉีดกระต่าย ประมวลเรื่องการประชุมสัมมนาทางวิชาการ กองผลิตชีวภัณฑ์ ครั้งที่ 3 2-5 กรกฎาคม 2539 ณ โรงแรมกระรนวิลล่า จ.ภูเก็ต หน้า 67-74

กัญญา สุวินทรากร ฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน วาสนา ภิญโญชนม์ และ สุจิรา ปาจริยานนท์ 2551 การปรับปรุงการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE^{-}/Th เพื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรม 2551 รายงานความก้าวหน้าของการวิจัยชุดโครงการวิจัยเรื่องการปรับปรุงการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE^{-}/Th เพื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรมและการทดสอบในท้องที่ สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 30 พ.ค 2551 หน้า 1-9

กัญญา สุวินทรากร วาสนา ภิญโญชนม์ ฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน และพิงพันธ์ เจริญสุระสถล 2548 การพัฒนาวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE^{-}/Th ในระดับอุตสาหกรรม หนังสือรายงานการวิจัยการปรับปรุงคุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง สเตรน WPE^{-}/Th และการพัฒนาวัคซีนในระดับอุตสาหกรรม สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 32-68

กัญญา สุวินทรากร อนุทิน หาญวีระพล และวิมล ปริยกนก 2536 ประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่ายต่อลูกสุกรที่มีภูมิคุ้มกันจากแม่ เวชสารสัตวแพทย์ 23(2): 94-103

กัญญา สุวินทรากร และกมลทิพย์ ธัญพิมล 2541 การตรวจหาเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร สเตรนไชน่าในสุกรที่ฉีดวัคซีน วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 8(1): 28-36

กัญญา สุวินทรากร และอดิลักข์ เล็บนาค 2534 การศึกษาภูมิคุ้มกันโรคอหิวาต์สุกร และโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดไทป์โอ เมื่อให้วัคซีนทั้งสองชนิดพร้อมกัน วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 2(2): 25-33

กัญญา สุวินทรากร และอนุทิน หาญวีระพล 2534ก การตรวจสอบหาไวรัสอหิวาตุ์กรไชน่าสเตรนชนิด ผ่านกระต่ายโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง เวชชสารสัตวแพทย์ 21(2): 69-77

กัญญา สุวินทรากร และอนุทิน หาญวีระพล 2534ข คุณภาพการเก็บรักษาของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย ไชน่าสเตรน วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 2(2): 42-50

กัญญา สุวินทรากร อนุทิน หาญวีระพล สุจิรา ปาจริยานนท์ และวาสนา ภิญโญชนม์ 2539 การศึกษาการติดเชื้ออหิวาต์สุกรชนิดแอบแฝง วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 5(2): 17-28

กิจจา อุไรรงค์ 2535 โรคที่ทำให้ไข้สูงและมีผลทั่วกาย ใน แนวทางการวินิจฉัย รักษา และควบคุมโรคสุกร โรงพิมพ์สารมวลชน กรุงเทพฯ หน้า 13-27

จารุณี สาตรา อัตพงศ์ นาคะปักษิณ และสุนีจิต คงทน 2538 ความคุ้มโรคแรกเริ่มหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดต่างๆ วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 5(1): 25-33

ฉาย จอมเกาะ 2529 วัคซีนอหิวาต์สุกรกับการสร้างภูมิคุ้มกันในสุกรรายงานทางวิชาการ 2526-2529 กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ ที่ 2: 384-390

ฉาย จอมเกาะ สละ กองสมัคร มิโนรุ ซาวาดา 2529 การทดลองผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรเชื้อเป็นชนิดทิชชูคัลเจอร์ รายงานทางวิชาการ 2526 – 2529 กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ เล่มที่ 2 หน้า 357-365

ฉาย จอมเกาะ และกัญญา สุวินทรากร 2529ก การทดลองเปลี่ยนแปลงส่วนผสมของวัคซีนอหิวาต์สุกร รายงานทางวิชาการ 2526-2529 กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ 2: 354-356

ฉาย จอมเกาะ และกัญญา สุวินทรากร 2529ข การทดลองลดจำนวนส่วนผสมของต่อมในวัคซีนอหิวาต์สุกร รายงานทางวิชาการ 2526-2529 กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์ 2: 379-383

ดิถี ประเสริฐสุวรรณ นลินี หงษ์ชุมพล อารีรัตน์ สุดโต และละมูล โม้ลี 2564 เปรียบเทียบผลการวัดระหว่างห้องปฏิบัติการของเทคนิค Immunoperoxidase และ Neutralizing peroxidase-linked assay ในการตรวจหาปริมาณไวรัสและแอนติบอดีต่อโรคอหิวาต์สุกร วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 30(1-2): 6-16

นลินี หงษ์ชุมพล และละมูล โม้ลี 2566 การพัฒนาวัคซีนอหิวาต์สุกร สเตรนไชนีส ชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงในระดับต้นแบบ วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 31(1): 29-40

บุศนีย์ จันทร์ประเสริฐ 2534 เปรียบเทียบพยาธิสภาพของสุกรที่ป่วยด้วยโรคอหิวาต์สุกรและที่ฉีดเชื้ออหิวาต์สุกรชนิดรุนแรง วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 2(1): 14-19

พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2558 (2558, 2 มีนาคม) ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 ตอนที่ 14 ก หน้า 22-41

ฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน พิงพันธ์ เจริญสุระสถล และกัญญา สุวินทรากร 2548 ประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า ที่ผลิตโดยเก็บรักษาม้ามและต่อมน้ำเหลืองที่ -40 องศาเซลเซียส วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 15(2): 45-49

ฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน และกัญญา สุวินทรากร 2550 ประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดผ่านกระต่าย สเตรนไชน่า เมื่อใช้ซีรั่มกระต่ายที่ฉีดเชื้อ 5% วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 17(1): 37-43

วาสนา ภิญโญชนม์ กัญญา สุวินทรากร สุจิรา ปาจริยานนท์ สุดารัตน์ ดำรงค์วัฒนโภคิน และฤทธิ์ลือชัย ปู่สูงเนิน 2544 การเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรสเตรนไชนิสชนิดผ่านกระต่ายในเซลล์ไลน์ สัตวแพทยสาร 52(3) : 21-30

วาสนา ภิญโญชนม์ กัญญา สุวินทรากร สุจิรา ปาจริยานนท์ สุดารัตน์ ดำรงค์วัฒนโภคิน และสุรพงษ์ อุดมพันท์ 2548 การทดสอบความปลอดภัยและความคุ้มโรคของเชื้อไวรัสวัคซีนอหิวาต์สุกรสเตรนไชนีสที่พัฒนาในเซลล์เพาะเลี้ยง สัตวแพทยสาร 56(1): 45-56

วาสนา ภิญโญชนม์ สุดารัตน์ ดำรงค์วัฒนโภคิน สุจิรา ปาจริยานนท์ กัญญา สุวินทรากร ตวงทอง ปัจฉิมะศิริ และดุลยทัต คันธวร 2545 การพัฒนาวิธีผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง หนังสือรายงานการวิจัย การวิจัยและพัฒนาวิธีวินิจฉัย ควบคุม และป้องกันโรคอหิวาต์สุกรในประเทศไทย สำนักวิจัยและบริการวิชาการคณะสัตวแพทย์ศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า 179-215

วาสนา ภิญโญชนม์ สุดารัตน์ ดำรงค์วัฒนโภคิน สุจิรา ปาจริยานนท์ กัญญา สุวินทรากร สมโภชน์ ทับเจริญ บัณฑูรย์ ตระการวีระเดช วิวัฒน์ ชุณรักษา อภิเษก กองแก้ว และสมปรียา กองแก้ว 2548ข การปรับปรุงคุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE^{-}/Th หนังสือรายงานการวิจัยการปรับปรุงคุณภาพวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรนWPE^{-}/Th และการพัฒนาวัคซีนในระดับอุตสาหกรรม สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 6-30

วาสนา ภิญโญชนม์ สุดารัตน์ ดำรงค์วัฒนโภคิน สุจิรา ปาจริยานนท์ ตวงทอง ปัจฉิมะศิริ กัญญา สุวินทรากร และสุรพงษ์ อุดมพันท์ 2546 การทดสอบความปลอดภัยของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE⁻/Th ในลูกสุกรทดลอง หนังสือรายงานการวิจัย เรื่อง คุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE⁻/Th ในระดับฟาร์ม สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 59-77

สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย 2563 การฉีดวัคซีน ใน แนวทางการปฏิบัติงานทางคลินิกการใช้วัคซีนสำหรับสุกร บริษัท ดาด้า เปเปอร์ แอนด์ พริ้นท์ จำกัด กรุงเทพฯ หน้า 13-25

สละ กองสมัคร 2529 วัคซีนและสารวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรในประเทศไทย: 31-34

สันนิภา สุรทัตต์ 2561 วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์ภาคปฏิบัติ บริษัท โอเมก้า พริ้นติ้ง จำกัด กรุงเทพฯ 212 หน้า

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 2556 จรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ ในเวชยันต์ เฮงสุวนิช บรรณาธิการ คู่มือการประเมินผลข้อเสนอการวิจัยของหน่วยงานภาครัฐที่เสนอของบประมาณประจำปี พ.ศ. 2558 ตามมติคณะรัฐมนตรี บริษัท อาร์ตแอนด์พาร์ท อัพเดท จำกัด จ.สมุทรปราการ หน้า 136-145

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2562 มาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจหาเชื้อ Mycoplasma โดยวิธี MycoAlert™ SOP-QCR-019 หน้า 1-10

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2564ก มาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจสอบคุณลักษณะทั่วไปและการละลายของวัคซีนอหิวาต์สุกร SOP-QCSD-002 หน้า 1-4

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2564ข มาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การทดสอบสภาพสุญญากาศในขวดบรรจุวัคซีน SOP-QCP-033 หน้า 1-4

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2564ค มาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การทดสอบหาปริมาณความชื้น SOP-QCSD-004 หน้า 1-6

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2564ง มาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การทดสอบความปลอดเชื้อของเชื้อราและแบคทีเรียของชีวภัณฑ์สำเร็จรูป SOP-QCP-031 หน้า 1-7

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2564จ มาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน เรื่อง ทดสอบความปลอดภัยของวัคซีนอหิวาต์สุกร SOP-QCSD-011 หน้า 1-5

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2564ฉ มาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การทดสอบความคุ้มโรคของวัคซีนอหิวาต์สุกร SOP-QCSD-013 หน้า 1-6

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ 2565 วิธีการทดสอบ เรื่อง การตรวจวัดความเป็นกรด-ด่าง BVB-T-001 หน้า 1-12

สุจิรา ปาจริยานนท์ อุราศรี ตันตสวัสดิ์ วาสนา ภิญโญชนม์ และพวงทิพย์ เมธิยะพันธ์ 2537 ภูมิคุ้มกันเนื่องจากการฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกร II ภูมิคุ้มกันต่อการฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรและระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันการเกิดโรคอหิวาต์สุกรก่อนฉีดวัคซีน สัตวแพทยสาร 45(2): 37-45

สุดารัตน์ ดำรงค์วัฒนโภคิน ตวงทอง ปัจฉิมะศิริ สุจิรา ปาจริยานนท์ และวาสนา ภิญโญชนม์ 2545 ประสิทธิภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรของกรมปศุสัตว์ต่อเชื้อไวรัสอหิวาต์สุกรสายพันธุ์เชียงใหม่/98 สัตวแพทยสาร 53(1): 5-13

สุดารัตน์ ดำรงค์วัฒนโภคิน วาสนา ภิญโญชนม์ สันนิภา สุรทัตต์ กัญญา สุวินทรากร ตวงทอง ปัจฉิมะศิริ สุจิรา ปาจริยานนท์ สุรพงษ์ อุดมพันท์ อังสนา ฮ้อเจริญ บัณฑูรย์ ตระการวีระเดช พิทักษ์พงศ์ คุ้มศิริไชยยง กฤษณะเกรียงไกร และสมชาติ เขียวคลี่ 2546 การประเมินคุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE-/Th ในระดับฟาร์ม หนังสือรายงานการวิจัยคุณภาพของวัคซีนอหิวาต์สุกรชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงสเตรน WPE-/Th ในระดับฟาร์ม สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 12-57

สุพล เลื่องยศลือชากุล และสุวรรณี นิธิอุทัย 2532 การทดลองรักษาโรค Eperythrozoonosis ในสุกร ที่แสดงอาการทางคลีนิค ด้วยยา Imidocarb คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า 1-15

อธิภู นันทประเสริฐ พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป ราตรี วงศ์วัชรดำรง และทิวากร ศิริโชคชัชวาล 2535 สถานภาพภูมิคุ้มกันหลังฉีดวัคซีนอหิวาต์สุกรในพ่อแม่พันธุ์ เวชชสารสัตวแพทย์ 22(4): 81-91

Bohlke, K., Davis, R. L., Marcy, S. M., Braun, M. M., DeStefano, F., Black, S. B., Mullooly, J. P. and Thompson, R. S. 2003. Vaccine Safety Datalink Team. Risk of anaphylaxis after vaccination of children and adolescents. Pediatrics. 112(4): 815-820.

Coronado, L., Perera C.L., Rios L., Frias M.T., and Perez L.J. 2021. A critical review about different vaccines against classical swine fever virus and their repercussions in endemic regions. Vaccine. 9(2): 1-22.

Edwards, S. 2000. Survival and inactivation of classical swine fever virus. Vet. Microbiol. 73: 175–181.

Edwards, S., Fukusho, A., Lef`evre, P.C., Lipowski, A., Pejsak, Z., Roehe, P. and Westergaard, J., 2000. Classical swine fever: the global situation. Vet. Microbiol. 73: 103–119.

Everett, H., Salguero, F. J., Graham, S. P., Haines, F., Johns, H., Clifford, D., Nunez, A., La Rocca, S. A., Parchariyanon, S., Steinbach, F., Drew, T. and Crooke, H. 2010. Characterisation of experimental infections of domestic pigs with genotype 2.1 and 3.3 isolates of classical swine fever virus. Vet. Microbiol. 142(1-2): 26-33.

Farez, S. and Morley, R. S. 1997. Potential animal health hazards of pork and pork products. Rev. Sci. Tech. 16: 65–78.

Food and Drug Administration, 2003. Thai Veterinary Biological Index. 2nd Ed. Published by Food and Drug Administration, Drug control Division, Nontaburi, Thailand. p. 107-126.

Fritsche, P. J., Helbling, A. and Ballmer-Weber, B. K. 2010. Vaccine hypersensitivity: update and overview. Swiss. Med. Wkly. 140: 238–246.

Ganges, L., Crooke, H. R., Bohórquez, J. A., Postel, A., Sakoda, Y., Becher, P. and Ruggli, N. 2020 Classical swine fever virus: the past, present and future. Virus. Res. 289(80): 1-22.

Greiser-Wilke, I., Fritzemeier, J., Koenen, F., Vanderhallen, H., Rutili, D., M De Mia, G., Romero, L., Rosell, R., Sanchez-Vizcaino, J. M. and San Gabriel, A. 2000. Molecular epidemiology of a large classical swine fever epidemic in the European Union in 1997–1998. Vet. Microbiol. 77(1-2): 17–27.

Katz, J. B., Ridpath, J. F. and Bolin, S. R., 1993. Presumptive diagnostic differentiation of hog cholera virus from bovine viral diarrhea and border disease viruses by using a cDNA nested- amplification approach. J. Clin. Microbiol. 31: 565–568.

Mengeling, W. L., Pirtle, E. C. and Torrey, J. P. 1963. Identification of Hog Cholera Viral Antigen by Immunofluorescence. Application as a Diagnostic and Assay Method. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 27(10): 249-252.

Meyers, G. and Thiel, H. J. 1996. Molecular characterization of pestiviruses. Adv. Virus. Res. 47: 53-118.

Meyers, G., Tautz, N., Stark, R,. Brownlie, J., Dubovi, E. J. and Collett, M. S. 1992. Rearrangement of viral sequences in cytopathogenic pestiviruses. Virology. 191: 368-386.

Moennig, V., 2000. Introduction to classical swine fever: virus, disease and control policy. Vet. Microbiol. 73: 93–102.

Moennig, V. and Plagemann, P. G. 1992. The pestiviruses. Adv. Virus. Res. 41: 53-98.

Moennig, V., Becher, P. and Beer, M. 2013. Classical Swine Fever. In Vaccines and Diagnostics for Transboundary Animal Diseases, Roth J.A. Richt J.A. and Morozov I.A., eds. Dev. Biol. (Basel). Basel, Karger, Switzerland. Volume 135. pp. 167–174.

Moormann, R. J. M., Warmerdam, P. A. M., van der Meer, B., Schaaper, W. M. M., Wensvoort, G. and Hulst, M. M., 1990. Molecular cloning and nucleotide sequence of hog cholera virus strain brescia and mapping of the genomic region encoding envelope protein E1. Virology. 177: 184–198.

Nath, M.K., Sarma, D.K., Das, B.C., Deka, P., Kalita, D., Dutta, J.B., Mahato, G., Sarma, S., and Roychoudhury, P. 2016. Evaluation of specific humoral immune response in pigs vaccinated with cell culture adapted classical swine fever vaccine. Veterinary world, EISSN: 2231-0916. pp. 308-312.

National institute of Animal Health. 1998. Diagnostic technology for swine fever National institute of Animal Health. February 9-March 6, 1998. pp. 4-6.

Parchariyanon, S., Pinyochon, W., Methiyapun, P., Tantaswasdi, U. and Rujtikunporn, B. 1990. The Protective effect of swine fever vaccines against challenge with a field isolate. Proceedings of the 7th Congress of Federal of Asean Veterinary Associations. 5-7 November 1990, Pattaya, Thailand. p.534-541.

Pearson, J. E. 1992. Hog cholera diagnostic techniques. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 15: 231-239.

Petrov, A., Schotte, U., Pietschmann, J., Dräger, C., Beer, M., Anheyer-Behmenburg, H., Goller, K. V. and Blome, S. 2014. Alternative sampling strategies for passive classical and African swine fever surveillance in wild boar. Vet. Microbiol. 173(3-4): 360-365.

Reed, L. J., and Muench, H. 1938. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. Am. J. Hyg. 27(3): 493-497.

Sakoda, Y., and Fukusho, A. 1998. Establishment and characterization of a porcine kidney cell line, FS–L3, which forms unique multicellular domes in serum-free culture. In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim. 34:53-57.

Siegrist, C. A. 2007. Mechanisms underlying adverse reactions to vaccines. J. Comp. Pathol. 137(Suppl): S46-50.

Stoian, A. M. M., Petrovan, V., Constance, L. A., Olcha, M., Dee, S., Diel, D. G., Sheahan, M. A., Rowland, R. R. R., Patterson, G. and Niederwerder, M. C. 2020. Stability of classical swine fever virus and pseudorabies virus in animal feed ingredients exposed to transpacific shipping conditions. Transbound. Emerg. Dis. 67(4): 1623-1632.

Suradhat, S. , Damrongwatanapokin, S. , and Thanawongnuwech, R. 2 0 0 7 . Factors critical for successful vaccination against classical swine fever in endemic areas. Vet. Microbiol. 119:1-9.

Terpstra, C. 1987. Epizootiology of swine fever. Vet. Q. 9 (Suppl. 1), 50S–60S.

Terpstra, C. 1996. Hog cholera: an update of present knowledge. Br. Vet. J. 147**:** 397-406.

Terpstra, C. and Wensvoort, G. 1988. Natural infections of pigs with bovine viral diarrhoea virus associated with signs resembling swine fever. Res. Vet. Sci. 45: 137–142.

Terpstra, C., Woortmeyer, R., and Bartelling, S.J. 1990. Development and properties of a cell culture produced vaccine for hog cholera based on the Chinese strain. Deutsch Tieraztliche Wochenschrift. 97(2):77-79.

Turner, C., Williams, S. M. and Cumby, T. R. 2000. The inactivation of foot and mouth disease, Aujeszky's disease and classical swine fever viruses in pig slurry. J. Appl. Microbiol. 89(5): 760-767.

Vannier, P. and Carenro, R. 1985. Effets pour le porc d'un virus propagé par un vaccin contre la maladie d'Aujeszky. Point Vet. 17: 325–331.

Van Oirschot, J. T. 1999. Classial Swine Fever (Hog Cholera). In Straw, B. E., D'Allaire, S., Mengeling, W. L. and Taylor, D. J. (eds.) Diseases of Swine, 8th ed. Iowa State University Press. Ames. IA, USA. pp. 159–172.

Van Oirschot, J. T. and Terpstra, C. 1989. Hog Cholera Virus. In Infection of Vertebrates Virus. MB Pensaert, Elsevier, Amsterdam. pp. 113-130.

Weesendorp, E., Landman, W. J., Stegeman, A. and Loeffen, W. L. 2008. Detection and quantification of classical swine fever virus in air samples originating from infected pigs and experimentally produced aerosols. Vet. Microbiol. 127: 50–62.

Weesendorp, E., Stegeman, A. and Loeffen, W. L. 2009. Quantification of classical swine fever virus in aerosols originating from pigs infected with strains of high, moderate or low virulence. Vet. Microbiol. 135: 222–230.

Wensvoort, G. and Terpstra, C., 1985. Swine fever: a changing clinical picture. Tijdschr. 110: 263–269.

Wensvoort, G. and Terpstra, C. 1988. Bovine viral diarrhoea infections in piglets born from sows vaccinated against swine fever with contaminated vaccine. Res. Vet. Sci. 45:143–148.

Wijnker, J. J., Depner, K. R. and Berends, B. R. 2008. Inactivation of classical swine fever virus in porcine casing preserved in salt. Int. J. Food Microbiol. 128: 411–413.

World Organisation for Animal Health (WOAH). 2019. Classical swine fever (Infection with classical swine fever virus). *In* Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2019. WOAH. Paris, France. pp. 1-26.

Wu, S.C., Liau, M.Y., Lin, Y.C., Sun, C.J., and Wang, C.T. 2013. The feasibility of a novel bioreactor for vaccine production of classical swine fever virus. Vaccine. 31:867-872.

Yu, S., Yin, C., Song, K., Li, S., Zheng, G.L., Li, L.F., Wang, J., Li, Y., Luo, Y., Sun, Y. and Qiu, H.J., 2019. Engagement of cellular cholesterol in the life cycle of classical swine fever virus: its potential as an antiviral target. J. Gen. Virol. 100: 156–165.

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1
พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2558

หน้า ๒๒
เล่ม ๑๓๒ ตอนที่ ๑๔ ก ราชกิจจานุเบกษา ๒ มีนาคม ๒๕๕๘

พระราชบัญญัติ
โรคระบาดสัตว์
พ.ศ. ๒๕๕๘

ภูมิพลอดุลยเดช ป.ร.

ให้ไว้ ณ วันที่ ๒๕ กุมภาพันธ์ พ.ศ. ๒๕๕๘
เป็นปีที่ ๗๐ ในรัชกาลปัจจุบัน

พระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดช มีพระบรมราชโองการโปรดเกล้า ฯ ให้ประกาศว่า

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงกฎหมายว่าด้วยโรคระบาดสัตว์

จึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้า ฯ ให้ตราพระราชบัญญัติขึ้นไว้โดยคำแนะนำและยินยอมของสภานิติบัญญัติแห่งชาติ ดังต่อไปนี้

มาตรา ๑ พระราชบัญญัตินี้เรียกว่า “พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. ๒๕๕๘”

มาตรา ๒ พระราชบัญญัตินี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

มาตรา ๓ ให้ยกเลิก

(๑) พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. ๒๔๙๙

(๒) พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ (ฉบับที่ ๒) พ.ศ. ๒๕๔๒

มาตรา ๔ ในพระราชบัญญัตินี้

“สัตว์” หมายความว่า

(๑) ช้าง ม้า โค กระบือ ลา ล่อ แพะ แกะ กวาง สุกร หมูป่า สุนัข แมว กระต่าย ลิง ชะนี และให้หมายความรวมถึงน้ำเชื้อสำหรับผสมพันธุ์และเอ็มบริโอของสัตว์เหล่านี้ด้วย

(๒) สัตว์ปีกจำพวกนก ไก่ เป็ด ห่าน และให้หมายความรวมถึงน้ำเชื้อสำหรับผสมพันธุ์และไข่สำหรับใช้ทำพันธุ์ด้วย

(๓) สัตว์ชนิดอื่นตามที่รัฐมนตรีประกาศกำหนด และให้หมายความรวมถึงน้ำเชื้อสำหรับผสมพันธุ์เอ็มบริโอ และไข่สำหรับใช้ทำพันธุ์ของสัตว์ชนิดนั้นด้วย

“เอ็มบริโอ” หมายความว่า ตัวอ่อนของสัตว์ที่ยังไม่เจริญเติบโตจนถึงขั้นที่มีอวัยวะ และยังไม่ฝังตัวที่ผนังมดลูกของสัตว์นั้น

“ซากสัตว์” หมายความว่า ร่างกายหรือส่วนของร่างกายสัตว์ที่ตายแล้ว สิ่งใด ๆ ที่ได้จากสัตว์ที่มีชีวิตหรือสัตว์ที่ตายแล้ว และให้หมายความรวมถึงอาหารสุกที่ทำ ประกอบ หรือปรุงจากซากสัตว์หรือสิ่งประดิษฐ์สำเร็จรูปที่ทำจากซากสัตว์ตามที่รัฐมนตรีประกาศกำหนด

“โรคระบาด” หมายความว่า กาฬโรคเป็ด โรคไข้หวัดนก โรคแซลโมเนลลา โรคทริคิเนลลา โรคนิวคาสเซิล โรคบรูเซลลา โรคปากและเท้าเปื่อย โรคพิษสุนัขบ้า โรครินเดอร์เปสต์ โรคเลปโทสไปรา โรคโลหิตจางติดเชื้อในม้า โรควัวบ้า โรคสมองอักเสบนิปาห์ โรคอหิวาต์สุกร โรคแอนแทรกซ์ โรคเฮโมรายิกเซปทิซีเมีย วัณโรค และโรคอื่นตามที่รัฐมนตรีประกาศกำหนด

“พาหะของโรคระบาด” หมายความว่า

(๑) สัตว์ซึ่งไม่ปรากฏอาการของโรคระบาดแต่มีเชื้อโรคระบาด หรือมีเหตุอันควรสงสัยว่าได้รับเชื้อโรคระบาด ซึ่งอาจติดต่อคนหรือสัตว์อื่นได้

(๒) ซากสัตว์ของสัตว์ที่เป็นโรคระบาดหรือของสัตว์ตาม (๑)

(๓) ซากสัตว์ที่มีเหตุอันควรสงสัยว่ามีเชื้อโรคระบาด

“เขตควบคุมโรคระบาด” หมายความว่า ท้องที่ที่ดำเนินการป้องกันและควบคุมมิให้มีโรคระบาดหรือเชื้อโรคระบาดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิด เพื่อกำหนดเป็นเขตปลอดโรคระบาด

“เขตปลอดโรคระบาด” หมายความว่า เขตควบคุมโรคระบาดที่สามารถควบคุมมิให้มีโรคระบาดหรือเชื้อโรคระบาดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดในสัตว์หรือซากสัตว์

“เขตกันชนโรคระบาด” หมายความว่า ท้องที่ที่ดำเนินการป้องกันและควบคุมมิให้โรคระบาดหรือเชื้อโรคระบาดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดแพร่กระจายเข้าเขตปลอดโรคระบาดหรือเข้าในราชอาณาจักร

“เครื่องหมายประจำตัวสัตว์” หมายความว่า เครื่องหมายซึ่งพนักงานเจ้าหน้าที่ สารวัตร หรือสัตวแพทย์ทำหรือสั่งให้เจ้าของทำไว้ที่ตัวสัตว์หรือซากสัตว์ หรือยานพาหนะ อาคารสถานที่ ภาชนะ สิ่งห่อหุ้มหรือกักขัง เพื่อประโยชน์ในการจำแนกหรือตรวจสอบสัตว์หรือซากสัตว์

“เจ้าของ” หมายความว่า เจ้าของกรรมสิทธิ์และผู้ครอบครอง ในกรณีของสัตว์หากไม่ปรากฏเจ้าของหรือไม่สามารถหาเจ้าของได้ ให้หมายความรวมถึงผู้เลี้ยง ผู้ให้ที่อยู่อาศัยและผู้ควบคุมสัตว์ด้วย

“ด่านกักกันสัตว์” หมายความว่า ที่สำหรับกักสัตว์หรือซากสัตว์เพื่อตรวจโรคระบาดตามที่อธิบดีประกาศกำหนด

“อายัด” หมายความว่า ห้ามจำหน่าย จ่าย โอนหรือเคลื่อนย้าย

“สัตวแพทย์” หมายความว่า

(๑) นายสัตวแพทย์และสัตวแพทย์ของกรมปศุสัตว์

(๒) ผู้ซึ่งรัฐมนตรีแต่งตั้งให้เป็นสัตวแพทย์เพื่อปฏิบัติการตามพระราชบัญญัตินี้ และต้องมีคุณสมบัติตามที่รัฐมนตรีประกาศกำหนด

“สารวัตร” หมายความว่า ผู้ซึ่งรัฐมนตรีแต่งตั้งให้เป็นสารวัตรเพื่อปฏิบัติการตามพระราชบัญญัตินี้ และต้องมีคุณสมบัติตามที่รัฐมนตรีประกาศกำหนด

“นายทะเบียน” หมายความว่า ผู้ซึ่งรัฐมนตรีแต่งตั้งให้เป็นนายทะเบียน

“พนักงานเจ้าหน้าที่” หมายความว่า ผู้ซึ่งรัฐมนตรีแต่งตั้งเพื่อปฏิบัติการตามพระราชบัญญัตินี้

“ผู้ว่าราชการจังหวัด” หมายความรวมถึง ผู้ว่าราชการกรุงเทพมหานคร

“อธิบดี” หมายความว่า อธิบดีกรมปศุสัตว์

“รัฐมนตรี” หมายความว่า รัฐมนตรีผู้รักษาการตามพระราชบัญญัตินี้

มาตรา ๕ ให้รัฐมนตรีว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์รักษาการตามพระราชบัญญัตินี้ และให้มีอำนาจแต่งตั้งพนักงานเจ้าหน้าที่ นายทะเบียน สารวัตร และสัตวแพทย์ ออกกฎกระทรวงกำหนดค่าธรรมเนียมไม่เกินอัตราท้ายพระราชบัญญัตินี้ ยกเว้นค่าธรรมเนียม และกำหนดกิจการอื่นกับออกประกาศและระเบียบเพื่อปฏิบัติการตามพระราชบัญญัตินี้

กฎกระทรวง ประกาศและระเบียบนั้น เมื่อได้ประกาศในราชกิจจานุเบกษาแล้วให้ใช้บังคับได้

มาตรา ๖ ให้อธิบดีมีอำนาจออกประกาศและระเบียบเพื่อปฏิบัติการตามพระราชบัญญัตินี้

ประกาศและระเบียบนั้น เมื่อได้ประกาศในราชกิจจานุเบกษาแล้วให้ใช้บังคับได้

หมวด ๑
การป้องกันและควบคุมโรคระบาด

ส่วนที่ ๑
บททั่วไป

มาตรา ๗ เพื่อประโยชน์ในการป้องกันและควบคุมโรคระบาด ให้เจ้าของสัตว์ ดังต่อไปนี้ ปฏิบัติตามระบบการป้องกันและควบคุมโรคระบาด

(๑) ช้าง ม้า โค กระบือ แพะ แกะ กวาง สุกร หมูป่า

(๒) สุนัข แมว

(๓) นก ไก่ เป็ด ห่าน

(๔) สัตว์ชนิดอื่นตามที่รัฐมนตรีประกาศกำหนด

ระบบการป้องกันและควบคุมโรคระบาดตามวรรคหนึ่ง ให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขที่กำหนดในกฎกระทรวง ทั้งนี้ ในกฎกระทรวงดังกล่าวให้คำนึงถึงความเหมาะสมเกี่ยวกับสภาพของสัตว์และวัตถุประสงค์ของการเลี้ยงสัตว์แต่ละชนิด

ภาคผนวก 2
ข้อควรทราบก่อนใช้วัคซีนของกรมปศุสัตว์

ข้อควรทราบและปฏิบัติ

1. ใช้วัคซีนกับสัตว์ที่มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง และไม่เป็นโรคเท่านั้น
2. ศึกษารายละเอียด การเก็บรักษาและการใช้วัคซีน ตามคำแนะนำเฉพาะของวัคซีนแต่ละชนิด เพื่อให้วัคซีนมีประสิทธิภาพสูงสุด
3. ให้ใช้วัคซีนตามคำแนะนำของสัตวแพทย์เท่านั้นในกรณีเกิดโรคระบาดในท้องที่นั้นหรือใกล้เคียง
4. ต้องให้วัคซีนซ้ำเมื่อหมดระยะความคุ้มโรคของวัคซีนแต่ละชนิด
5. ห้ามนำวัคซีนที่เสื่อมสภาพ หมดอายุ มีการปนเปื้อน หรือสีของวัคซีนเปลี่ยน มาใช้
6. แม่พันธุ์ที่ได้รับวัคซีนก่อนผสม สามารถถ่ายทอดภูมิคุ้มกันให้ลูกหลังเกิดระยะหนึ่ง
7. ต้องทราบว่าวัคซีนใช้ป้องกัน**ก่อน**เกิดโรค มิใช่ยาที่รักษาเมื่อเป็นโรคแล้ว การป้องกันโรคจึงต้องมีการจัดการฟาร์มที่ดีด้วย

รูปแบบของวัคซีน

วัคซีนที่กรมปศุสัตว์ผลิตสำหรับป้องกันโรคต่างๆ มี 2 รูปแบบ คือ

1. วัคซีนบรรจุขวดแบบน้ำหรือน้ำมันพร้อมฉีด วัคซีนแบบนี้ก่อนใช้ให้เขย่าขวดจนวัคซีนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วใช้เข็มฉีดยาดูดออกมาใช้ได้ทันที
2. วัคซีนทำแห้ง วัคซีนแบบนี้จะมี 2 ส่วน คือ ตัววัคซีนลักษณะแห้งอยู่ในขวดสุญญากาศ และขวดน้ำยาละลายแยกต่างหาก เมื่อจะใช้ต้องนำมาผสมกัน

การปฏิบัติก่อนใช้วัคซีน

1. ต้มเข็มและกระบอกฉีดยาในน้ำสะอาดให้เดือดนาน 15 นาที แล้วคอยให้เย็น ห้ามแช่ในน้ำยาฆ่าเชื้อโรค หรือใช้เข็มและกระบอกฉีดยาพลาสติกปราศจากเชื้อสำเร็จรูปพร้อมใช้
2. ก่อนใช้ต้องเขย่าให้เข้ากันดีทั้งวัคซีนชนิดน้ำหรือน้ำมัน และวัคซีนทำแห้งที่ต้องละลายด้วยน้ำยาละลาย
3. ควรนำน้ำยาละลายวัคซีนแช่เย็นก่อนนำมาผสม ให้อุณหภูมิใกล้เคียงกับวัคซีน เพื่อให้วัคซีนมีประสิทธิภาพสูงสุด
4. ควรนำขวดวัคซีนชนิดน้ำมันออกจากตู้เย็นก่อนใช้ประมาณครึ่งชั่วโมงเพื่อฉีดได้ง่ายขึ้น
5. ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ เช็ดจุกยางและคอขวดวัคซีนและขวดน้ำยาละลายก่อนแทงเข็มเพื่อทำความสะอาดและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

การปฏิบัติหลังใช้วัคซีน

1. หลังจากใช้วัคซีนแล้ว นำเข็มและกระบอกฉีดยาไปต้มฆ่าเชื้อส่วนขวดบรรจุวัคซีนที่ใช้แล้วให้เปิดจุกแล้วนำไปต้ม หรือเผา หรือแช่น้ำยาฆ่าเชื้อ ก่อนนำไปทิ้ง
2. สัตว์บางตัวอาจเกิดการแพ้วัคซีนหลังฉีดวัคซีนจึงควรรอสังเกตอาการประมาณ 1 ชั่วโมง ภายหลังฉีดวัคซีนแล้ว ถ้ามีอาการแพ้ให้รักษาด้วยแอดรีนาลีน 0.5-1 มก. ต่อ น้ำหนัก 50 กก. หรือแอนติฮีสตามีน 0.5-1 มก. ต่อน้ำหนัก 1 กก.
3. ล้างมือให้สะอาดภายหลังทำวัคซีน

ข้อควรระวังที่สำคัญ

1. อย่าให้วัคซีนถูกความร้อนและแสงแดด
2. วัคซีนทำแห้งที่ต้องผสมกับน้ำยาละลาย เมื่อผสมแล้วต้องใช้ให้หมดภายใน 2 ชั่วโมง และแช่เย็นตลอดเวลา
3. ห้ามใช้วัคซีนชนิดน้ำมันที่มีการแยกชั้นของน้ำวัคซีนที่ก้นขวด
4. ควรระวังเรื่องความสะอาดของอุปกรณ์และตำแหน่งที่ฉีด
5. ระวังอย่าให้วัคซีนเข้าตาของคน

ภาคผนวก 3
การขนส่งวัคซีนอหิวาต์สุกรของกรมปศุสัตว์

สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์

↓

สำนักงานปศุสัตว์เขต 1-9

↓

สำนักงานปศุสัตว์จังหวัด

↓

สำนักงานปศุสัตว์อำเภอ

↓

ฟาร์มเกษตรกร

↓

สุกร

Abbreviations

คำย่อ	คำเต็ม
AB	Antibiotic
Ab	Antibody
AD	Aujeszky's Disease หรือ Pseudorabies
AFS	African Swine Fever
AR	Atrophic Rhinitis
BDV	Border Disease Virus
BP media	Bacto peptone media
BVDV	Bovine Viral Diarhea Virus
CMI	Cell-mediated immunity
CPE	Cytophatic effect
CSFV	Classical Swine Fever Virus
CTL	Cytotoxic T lymphocytes
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
END	Exalting of New castle Disease Virus
FACCT	Fluorescent antibody cell culture techniqne
FAT	Fluorescent antibody test
FATST	fluorescent antibody tissue section technique
FAVN	Fluorescent antibody virus neutralisation
FMD	Foot and mouth disease
HI	Humoral immunity
HP-PRRS	Highly pathogenic-porcine reproductive and respiratory syndrome
IP	Immunoperoxidase
mAb	monoclonal antibody
Mh	*Mycoplasma hyopneumoniae*
MHC	Major histocompatibility complex
MLN	mesentenic lymph node
MLV	Modified live vaccine
NAb	Neutralizing Antibody
NPLA	Neutralising peroxidase-linked assay
PBS	Phosphate-buffered saline

คำย่อ	คำเต็ม
PCR	Polymerase chain reaction
PCV2	Porcine circovirus type 2
PD_{50}	Protection dose 50%
PED	Porcine Epidemic Diarrhea
PID_{50}	50% Pig Infectious Dose
PRRS	Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome
SFM	serum free medium
SIV	Swine influenza virus
$TCID_{50}$	Tissue culture infective dose 50%
TGE	Transmissible gastroenteritis
Th	Helper T- lymphocyte
VN	Virus neutralisation
WOAH	World Organisation for Animal Health