การสำรวจแอนไทบอดีของพาร์โวไวรัสในสุกรโดยวิธี hemagglutination inhibition test

SURVEY ON PORCINE PARVOVIRUS ANTIBODIES BY HEMAGGLUTINATION INHIBITION TEST

วัฒนา วัฒนวิจารณ์[1]

Wattana Wattanavijarn

เทอด เทศประทีป[2]

Ted Tesprateep

สุมิตรา วัฒโนดร[1]

Sumitra Wattanodorn

วราภรณ์ ศุกลพงศ์[1]

Varaporn Sukolapong

[1] หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กท. 10500

Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok Metropolis 10500

[2] ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กท. 10500

Pathology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok Metropolis 10500

Abstract

Sera of gilts and sows from commercial swine herds in Thailand were tested for evidence of porcine parvovirus infection using hemagglutination inhibition test. Swine had not been received any parvovirus vaccination. Positive result was found using this method. The information suggested porcine parvovirus infection occurred in swine in Thailand.

บทคัดย่อ

ได้นำซีรัมสุกรจากฟาร์มต่าง ๆ ในประเทศไทยมาหาแอนไทบอดีต่อพาร์โวไวรัสโดยวิธี hemagglutination inhibition test สุกรเหล่านี้ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนพาร์โวไวรัสมาก่อน พบว่าซีรัมสุกรให้ผลบวกต่อพาร์โวไวรัส ซึ่งชี้ให้เห็นว่ามีการติดเชื้อพาร์โวไวรัสอยู่ในฝูงสุกรของประเทศไทย

คำนำ

จากการศึกษาโดยการทดลองและสภาพที่เกิดขึ้นในท้องที่พบว่า พาร์โวไวรัสเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคทางระบบสืบพันธุ์ในสุกร[1] ซึ่งจะเห็นได้คือการเป็นสัดของสุกรช้าลง มีแท้งลูกกรอก ลูกสุกรที่คลอดมาอ่อนแอ และท้องเทียม (pseudo pregnancy) สุกรได้รับเชื้อไวรัสโดยการสัมผัสกับสิ่งที่ขับออกมาจากสัตว์ที่มีเชื้อนี้อยู่ ลูกสุกรแท้ง รก รวมทั้งน้ำเชื้อจากตัวผู้เป็นแหล่งที่แพร่เชื้อไวรัสนี้[2] ได้มีรายงานการติดเชื้อโดยทางปากใช้เวลา 23-32 วัน[3] ดังนั้นสุกรติดเชื้อนี้ได้โดยการกิน หายใจและสืบพันธุ์ สุกรที่ติดเชื้อนี้จะไม่มีอาการแสดงให้เห็น จะทราบก็ต่อเมื่อมีการผสมพันธุ์แล้วไม่ประสบผล (reproductive failures)

พาร์โวไวรัสพบได้ทั่วไปในเซลล์ต่าง ๆ ของลูกสุกรที่อยู่ในครรภ์ เนื่องจากมันต้องการเอนไซม์จากเซลล์ในขณะที่มีการเพิ่มจำนวนของ DNA ซึ่งจะพบได้ในขณะที่เซลล์กำลังแบ่งตัว ดังนั้นเซลล์ของลูกสุกรในครรภ์ที่กำลังแบ่งตัวจึงเป็นเป้าหมายของไวรัสตัวนี้

พาร์โวไวรัสในสุกรไม่มีปฏิกิริยาข้ามกับพาร์โวไวรัสในสัตว์ชนิดอื่น รวมทั้งไวรัสชนิดอื่น ๆ ในสุกร[4] ดังนั้นวิธี hemagglutination inhibition (HI) technique จึงเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้หาแอนไทบอดีของพาร์โวไวรัสในสุกร วิธีนี้ใช้แพร่หลายทั่วไปแต่ก็ยังมีข้อปลีกย่อยแตกต่างกันไปในแต่ละห้องปฏิบัติการ.

อุปกรณ์และวิธีการ

ซีรัมสุกร

ซีรัมสุกร ได้มาจากฟาร์มเลี้ยงสุกรในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย เช่น ระยอง ราชบุรี นครพนม ชลบุรี สิงห์บุรี ปทุมธานี ปราจีนบุรี สมุทรปราการ และ นครปฐม ซี-

รัมเหล่านี้ได้ทดสอบโรคบรูเซลโลซิส ซึ่งเป็นโรคหนึ่งที่ทำให้เกิดการแท้งในสุกร ปรากฏว่าให้ผลลบทั้งหมด สุกรเหล่านี้ยังไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนพาร์โวไวรัสมาก่อน ซีรัมสุกรที่มีและไม่มีแอนติบอดีต่อพาร์โวไวรัสซึ่งใช้เป็นตัวเปรียบเทียบตลอดการทดลอง ได้รับจาก Dr. Joseph Ritter แห่ง Salsbury International, Incorporation Iowa, U.S.A.

ไวรัส

พาร์โวไวรัสซึ่งใช้สำหรับการทดลองได้ซื้อจาก Salsbury International, Incorporation Iowa, U.S.A. ทำไวรัสให้เจือจางด้วย phosphate buffer saline (PBS) pH 7.2 ลงเหลือ 8 hemagglutinating units (AHU)/μl

Hemagglutination inhibition (HI) test

ได้ใช้วิธี Microtitration HI test for porcine parvovirus[5] สำหรับแอนติบอดีในซีรัมสุกร บอกค่า HI titer เป็นส่วนกลับของซีรัมที่ถูกเจือจางในหลุมสุดท้ายที่ยับยั้งไวรัส 8 HAU ได้ HI titer ที่ต่ำกว่า 8 จัดเป็นลบ

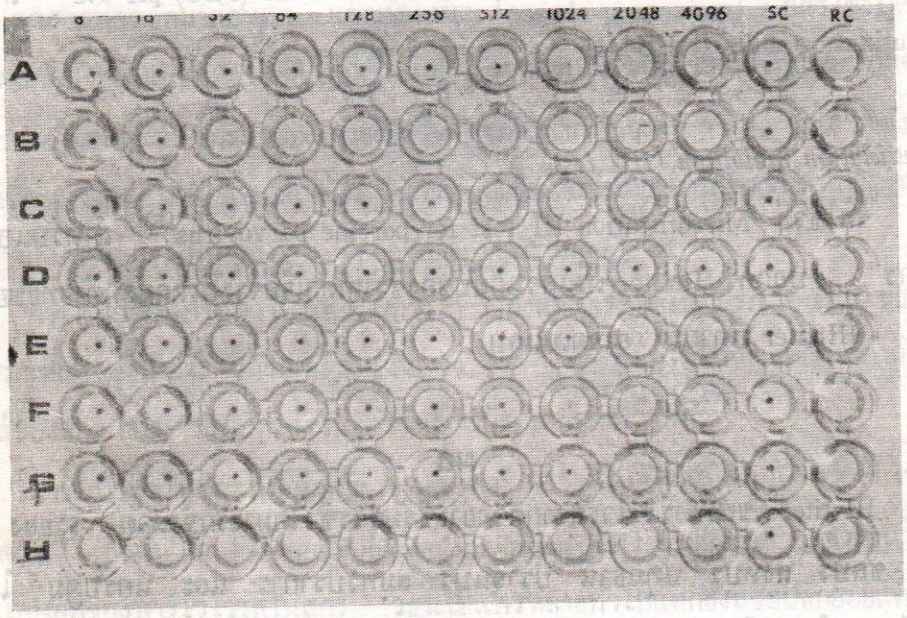
ผล

HI titer ของพาร์โวไวรัสจากตัวอย่างซีรัมสุกรซึ่งได้มาจากจังหวัด ระยอง ราชบุรี นครพนม ชลบุรี สิงห์บุรี ปทุมธานี ปราจีนบุรี สมุทรปราการ และ นครปฐม ให้ผลบวกทั้งนั้น ดังแสดงในรูปที่ 1 จากการสำรวจซีรัมสุกรจำนวนทั้งสิ้น 702 ราย พบว่าซีรัม 563 ราย ให้ผลบวกต่อพาร์โวไวรัส ดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 1

ตารางที่ 1 HI titer ของพาร์โวไวรัสในสุกรจากจังหวัดต่าง ๆของประเทศไทย (ธันวาคม 2524–กรกฎาคม 2526)

HI titer / อายุของสุกร	ผลลบ	8–32*	64–256*	512-2048*	> 4096*	รวม
5 เดือน-6ปี	139	13	92	315	143	702

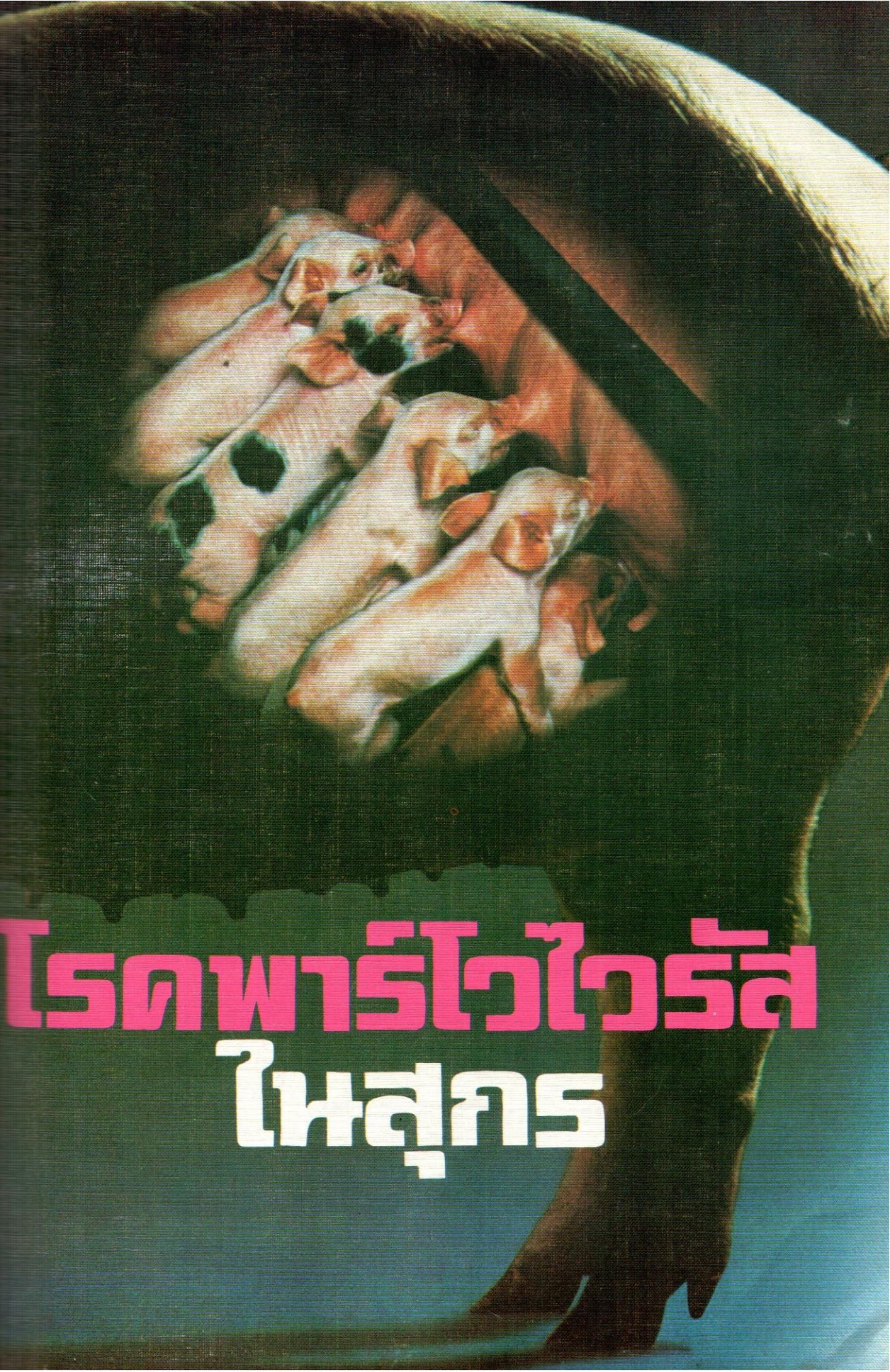
*ส่วนกลับของ HI titer



รูปที่ 1 HI titerของซีรัมสุกร

แนวราบ A, B, C, D, E และF มี HI titer 512, 16, 256, ≥ 4096, 1024 และ 512 ตามลำดับ C และ H คือซีรัมเปรียบเทียบที่มีและไม่มีแอนไทบอดีพาร์โวไวรัส

แนวตั้ง SC คือ serum control, RC คือ red blood cell control


โรคพาร์โวไวรัส
ในสุกร

ความผิดปกติที่เกิดขึ้นจากการเกิดโรค พาร์โวไวรัส ในสุกร

อาการของความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์ในแม่สุกรที่ได้รับ เชื้อโรคนี้ ได้แก่ ระยะการ เป็นสัดช้าออกไปกว่าปกติ, การแท้งลูก, จำนวนลูกกรอก เพิ่มมากขึ้น, ลูกอ่อนแอและลูกตายในท้อง หรือตายขณะคลอด ขั้นตอนของการ เปลี่ยนแปลงทางระบบสืบพันธุ์โดยปกติคือ สุกรจะ เป็นสัดในช่วง 19-23 วันหรือทุก 21 วัน โดย เฉลี่ย 38-42 ชม. หลังการแสดงการเป็นสัด จะ เกิดการตกไข่จำนวนไข่ที่ตก 15-20ใบ ในช่วง 4 ชม. ช่วงการ เป็นสัดจะหมดไป หลังจากการตกไข่ ถ้าไม่ได้รับการผสมหรือผสมไม่ติด คอปัส *(Corpus Luteum)* จะฝ่อตัวในวันที่ 16 ฟอลลิเกิล *(Follicle)* เจริญ เติบโต เต็มที่และสุกรจะ เข้าสู่การ เป็นสัดในวันที่ 21 ถ้าได้รับการผสม เกิดการปฏิสนธิ *(Fertilization)* ไข่ที่ถูกผสมแล้งจะแบ่งตัว เพิ่มจำนวน เซลล์ และขยายขนาดขึ้น โดยจะ เพิ่มจำนวน เป็น 4 เซลล์ในวันที่ 4 หลังการปฏิสนธิ ในวันที่ 6 ไข่ที่ผสมแล้ว *(Zygote)* จะแยกตัวจากผนังและ เคลื่อนตัว เข้าสู่มดลูก การฝังตัว *(Implantation)* เกิดขึ้นในวันที่ 13 หลังการปฏิสนธิ, วันที่ 30-35 การสะสมของแคล เซี่ยมที่กระดูกจะ เกิดขึ้น เมื่อตัวอ่อนอายุได้ 70 วัน จะ เกิดการยอมรับภูมิคุ้มโรคจากแม่ *(Immunological Competent)* และอายุได้ 114 วัน แม่สุกรก็คลอดลูก

ลักษณะของ SMEDI COMPL

ลักษณะของลูกกรอก

DETECTION OF PORCINE PARVOVIRUS IN THE CENTR
OF THAILAND

WATTANA WATTANAVIJARN DVM, MS. PH
SUMITTRA WATTANODORN BS.
VARAPORN SUKOLAPONG BS.
DIAGNOSTIC LABORATORY, CHULALONGKORN UNIVERSI
BANGKOK, THAILAND

SALSBURY LABORATORIES, INC.
Charles City, Iowa 50616, U.S.A.

การเปลี่ยนแปลงระบบสืบพันธุ์จากโรคพาร์โวไวรัส ในสุกร

ความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับตัพภะ (EMBRYO) จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอายุของตัวอ่อนที่ได้รับเชื้อพาร์โวไวรัส

ดังตาราง เปรียบ เทียบ

อายุของการตั้งท้องของแม่สุกร ที่ เกิดโรคพาร์โวไวรัส	อาการที่ เกิดขึ้น
1. เมื่อ เกิดโรคในช่วงก่อน 21-35 วันของการตั้งท้อง	การกลับ เป็นสัดของแม่สุกรจะช้าลง จะทำการผสมอีกครั้งได้ในวันที่ 26-35 (ปกติการกลับ เป็นสัดของสุกรจะ เกิดทุก 21 วัน)
2. เมื่อ เกิดโรคในช่วง 21-35 วันของการตั้งท้อง	1. ลูกสุกรจะตายในท้องทั้งหมด 2. การตั้งท้อง เทียม (*Pseudo pregnancy*)
3. เมื่อ เกิดโรคในช่วง 35-55 วันของการตั้งท้อง	1. เกิดลูกกรอก (*Mummification*) ลูกตายมาก 2. ลูกตายขณะคลอด
4. เมื่อ เกิดโรคในช่วง 55-80 วันของการตั้งท้อง	1. เกิดลูกกรอก (*Mummification*) 2. ลูกตายขณะคลอด 3. ลูกสุกรบางส่วนรอดตายและคลอดได้ตามปกติ อาจจะอ่อนแอและแพร่เชื้อไวรัสได้และมีภูมิคุ้มโรคในกระแส เลือด
5. เมื่อ เกิดโรคหลังการตั้งท้องได้ 80 วันขึ้นไป	ปัญหาที่ เกิดจะน้อยลงกว่าปกติ ลูกสุกรจะรอดตายหรือการคลอดแทบจะ เป็นปกติ

บริษัท เวลโนวน์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

วัคซีน พาร์โว-โปร
PARVO-PRO

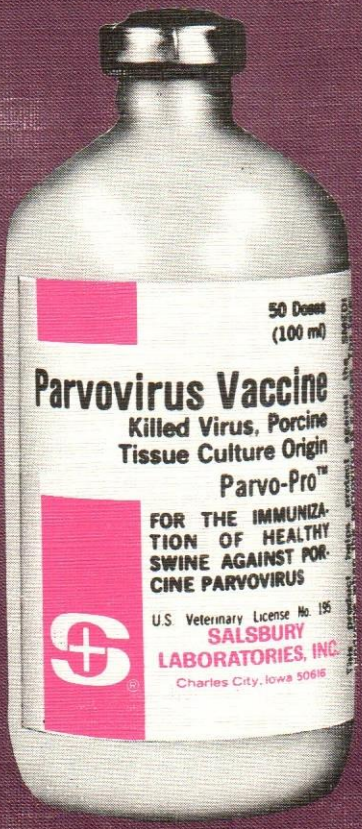
วัคซีน พาร์โว-โปร วัคซีนเชื้อตายของ พอร์ซีน พาร์โวไวรัส
ใช้สำหรับให้ภูมิคุ้มกันโรคในสุกร ซึ่งช่วยป้องกันกลุ่มอาการ
SMEDI, SYNDROME ดังนี้ ลูกสุกรตายขณะอยู่ในครรภ์
หรือระหว่างคลอด – ลูกสุกรตายขณะเป็นตัวอ่อน - เป็นหมัน

"ป้องกัน
พาร์โวไวรัสในสุกร
พ่อแม่พันธุ์"

ใช้สำหรับสุกร
โดยฉีดเข้ากล้ามหรือใต้ผิวหนัง
ครั้งละ 2 ml. ดังนี้

ในสุกรสาว และสุกรแม่พันธุ์
ฉีดวัคซีนให้ในระยะ 8-2 อาทิตย์
ก่อนการผสมพันธุ์แต่ละครั้ง

ในสุกรเพศผู้
ฉีดวัคซีนให้หลังจากสุกรอายุได้ 8 เดือน
เพื่อลดพาหะของเชื้อไวรัสในเลาสุกร
ให้วัคซีนซ้ำทุกๆ ปี



บริษัท เวลโนว์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

60 สุขุมวิท 52 กรุงเทพ 10110 โทร.3114177,3114805

วิจารณ์

จากการสำรวจแอนไทบอดีของพาร์โวไวรัสจากซีรัมสุกรชี้ให้เห็นว่า มีการติดเชื้อพาร์โวไวรัสในประเทศอังกฤษ สกอตแลนด์ เยอรมันนี ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และประเทศอื่น ๆ[4] มาแล้ว ส่วนการสำรวจซีรัมสุกรที่ทำใน Iowa และ Ohio พบว่าสุกรมีแอนไทบอดีต่อพาร์โวไวรัสสูงถึง 80-85%[2] ในประเทศไทยพบว่า 80.20% (563/702) ให้ผลบวก ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการติดเชื้อไวรัสนี้เป็นจำนวนค่อนข้างสูง การสูญเสียทางเศรษฐกิจของแต่ละฟาร์มแตกต่างกันไป มีตั้งแต่ 1% จนถึง 50%

วิธี HI test ยังคงนิยมใช้กันอยู่ทั่วไป เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก แต่สิ้นเปลืองเวลาในการกำจัด non-specific inhibitors ต่อ hemagglutination (HA) และ natural hemagglutinin ในซีรัมสุกร ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดความยุ่งยากในการแปลความหมายของ HI test นอกจากจะกำจัดได้หมดจริง ๆ อีกทั้งวิธีนี้ยังต้องใช้เลือดแดงจากหนูตะเภา ซึ่งจำเป็นจะต้องมีหนูตะเภาพร้อมอยู่ตลอดเวลาของการทดลอง ซึ่งทำให้สิ้นเปลืองค่าอาหาร ค่าจ้างผู้เลี้ยงดูและทำความสะอาด ดังนั้นวิธีพีไลสา (PELISA หรือ Paper-enzyme linked immunosorbent assay) ที่ทำบนกระดาษ หรือวิธีอีไลสา (ELISA หรือ Enzyme linked immunosorbent assay) น่าจะเหมาะกว่าวิธี HI test

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณต่อ Dr. Michael Elwell แห่ง Armed Forces Research Institute of Medical Sciences ที่ช่วยกรุณาให้คำแนะนำ รศ. น.สพ. ระบิล รัตนพานี คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ ที่กรุณาสนับสนุนงานวิจัย และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่กรุณาให้ทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช เพื่อดำเนินงานวิจัยนี้.

เอกสารอ้างอิง

1. Cartwright SF, Huck RA, 1967. Viruses isolated in association with herd infertility, abortion and stillbirths in pigs. Vet Rec 81:196

2. Bolin S, 1978. Porcine parvovirus. Presented at the 66th annual conference for veterinarians, Purdue.

3. Joo HS, Donalson-Wood CR, Johnson RH, 1976. Observations on the pathogenesis of porcine parvovirus infection. Archives of Virology 51:123-129.

4. Mengeling WL, 1981. Porcine parvovirus infection. In Disease of swine, fifth edition, Edited by Dunne HW and Leman AD, Iowa State University Press, Ames, Iowa.

5. Snyder M, Stewart W, Eernisse K, 1981. Microtitration inhibition test for porcine parvovirus, modified by Salsbury Laboratories, Incorporation.

พี่

◎ เป็นพี่ทำตนให้น้องเห็นว่าเป็นพี่
เอออารีพวกน้องน้องให้ผ่องใส
แนะแนวทางดำเนินชีวิตคิดการณ์ไกล
เมื่อเติบใหญ่น้องเป็นพี่ได้สังวร
◎ อย่าชิงโกรธโทษน้องกระทำผิด
จะต้องคิดให้อภัยและสั่งสอน
เป็นน้องก็อย่าได้แต่เล่นแง่งอน
พี่เกิดก่อนคงรู้ดีช่วยชี้ทาง

ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. เชื้อ วงส่งสาร