เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2550;5(1):29-49.

นิพนธ์ต้นฉบับ

ประสิทธิผลของวัคซีน พี อาร์ อาร์ เอส ชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปในสุกรหย่านม

ระพี ปัญญาทอง,[1] วีระศักดิ์ สะดะ,[2] กฤษฎากรณ์ พริ้งเพราะ,[3] สว่าง เกษแดงสกลวุฒิ,[4] สิทธิโชค ลาชโรจน์,[4] สันนิภา สุรทัตต์,[5] รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช[4]

[1]บริษัทกรุงเทพผลิตผลอุตสาหกรรมการเกษตรจำกัด มหาชน,
[2]คลินิกสำหรับสุกร คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร หนองจอก กรุงเทพ,
[3]สาขาวิชาคลินิกสัตว์บริโภค คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, [4]ภาควิชาพยาธิวิทยา,
[5]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพ

บทคัดย่อ ศึกษาประสิทธิผลของวัคซีน พี อาร์ อาร์ เอส ชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปต่อไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยทั้งสองสายพันธุ์ ในสุกรทดลองอายุ 3 สัปดาห์ จำนวน 5 กลุ่ม กลุ่ม I คือกลุ่มควบคุมลบ กลุ่ม II และกลุ่ม III คือกลุ่มควบคุมบวกได้รับเชื้อไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ยุโรป 02SB3 (EU genotype) และสายพันธุ์อเมริกา 01NP1 (US genotype) ตามลำดับ ส่วนกลุ่มทดลองวัคซีนคือกลุ่ม IV และกลุ่ม IV ได้รับวัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส เชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป 2 ครั้ง ณ วันที่ 0 และ 21 ก่อนได้รับเชื้อไวรัส 02SB3 และ ไวรัส 01NP1 ณ วันที่ 42 ของการทดลองหรือเมื่อสุกรอายุ 9 สัปดาห์ตามลำดับ หลังจากการฉีดเชื้อพิษทับ พบว่าสามารถตรวจพบไวรัสในเลือดจากสุกรทุกกลุ่ม ยกเว้นสุกรกลุ่ม IV โดยสุกรกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจะมีจำนวนตัวอย่าง ที่ให้ผลบวกและปริมาณไวรัสน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสุกรกลุ่มควบคุมบวก สุกรเริ่มมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันตั้งแต่ 7 วันหลังได้รับวัคซีนโดยการทดสอบด้วยวิธี อิไลซ่า และมีค่าเฉลี่ยอัตราส่วน S/P สูงสุดที่วันที่ 28 หลังจากทำวัคซีน แต่ไม่พบการตอบสนองแบบ anamnestic response ในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนซ้ำ ส่วนการทดสอบด้วยวิธี serum neutralization (SN) นั้น พบการตอบสนอง SN เมื่อทดสอบกับไวรัสวัคซีนเท่านั้น โดยเริ่มพบไตเตอร์เฉลี่ยมากกว่า 1:4 ณ วันที่ 42 หลังจากการฉีดวัคซีนครั้งแรกในสุกรทั้งสองกลุ่ม และเพิ่มขึ้นถึง 1:128 ในวันสุดท้ายของการทดลอง ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างที่ชัดเจนของประสิทธิภาพการผลิตจากการทดลองพบว่าการฉีดวัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส ชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป สามารถลดปริมาณไวรัสและระยะเวลาการปรากฏของไวรัสในเลือดได้ แม้ว่าจะเป็นการติดเชื้อซ้ำจากไวรัสสายพันธุ์ต่างกันอย่างไร ก็ตามไม่สามารถสรุปผลเรื่องการตอบสนองของค่า SN การลดรอยโรคปอดและผลต่อประสิทธิภาพการผลิตได้จากการใช้วัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส ชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปในการศึกษาครั้งนี้ได้ **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร** 2550;5(1):29-49.

คำสำคัญ: ไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส ประสิทธิผล วัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป สุกรหย่านม

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่: รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช, ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพ 10330; E-mail:roongroje.t@chula.ac.th

ได้รับบทความวันที่ 22 มีนาคม 2250

โรคพี อาร์ อาร์ เอส (porcine reproductive and respiratory syndrome: PRRS) มีรายงานการเกิดโรคครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 1987[1] และเนื่องจากขณะนั้นยังไม่สามารถพิสูจน์สาเหตุที่แท้จริงของโรคนี้ได้ จึงเรียกชื่อโรคนี้ว่า Mystery swine disease ต่อมาในปี ค.ศ. 1991 สามารถทำการแยกเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ได้สำเร็จในประเทศเนเธอร์แลนด์[2] และจากการศึกษาคุณสมบัติของไวรัส พบว่าเป็นไวรัสชนิดอาร์เอ็นเอ และถูกจัดอยู่ในกลุ่ม *Arterivirus* แบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ คือ สายพันธุ์ยุโรป และสายพันธุ์อเมริกา[3,4]

การติดเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ในสุกรจะก่อให้เกิดปัญหาในสองระบบ คือระบบสืบพันธุ์และระบบทางเดินหายใจ ในระบบสืบพันธุ์นั้นการติดเชื้อไวรัสในสุกรพ่อแม่พันธุ์จะส่งผลให้เกิดความสูญเสียต่อประสิทธิภาพการผลิต เนื่องจากการลดต่ำลงของคุณภาพน้ำเชื้อในพ่อสุกร ส่วนแม่สุกรจะพบการเพิ่มอัตราการกลับสัดแบบไม่ตรงรอบและการแท้งในทุกระยะของการตั้งท้อง โดยเฉพาะในระยะท้าย[5] ในระบบทางเดินหายใจไวรัสชนิดนี้เป็นสาเหตุสำคัญของโรคระบบทางเดินหายใจซับซ้อนในสุกรหรือโรคพี อาร์ ดี ซี (porcine respiratory disease complex: PRDC) เนื่องจากไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส จะลดประสิทธิภาพในการกลืนกินและการทำลายจุลชีพของมาโครฟาจในปอด (pulmonary macrophages)[6,7] ทำให้สุกรที่ติดเชื้อมีความไวต่อการติดเชื้อแทรกซ้อนชนิดอื่นๆ

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาย้อนหลังของ Damrongwatanapokin และคณะ[8] พบแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ในซีรั่มของสุกรจากการทดสอบด้วยวิธีอิไลซ่าในประเทศไทยตั้งแต่ปี ค.ศ. 1989 และสามารถแยกไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ได้เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1996[9] และจากรายงานการสำรวจทางซีรั่มวิทยาในปี ค.ศ. 1995 พบว่ามีสุกรที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ถึงร้อยละ 64 จากจำนวนตัวอย่าง 449 ตัวอย่างจากฟาร์มสุกรพ่อแม่พันธุ์จำนวน 15 ฟาร์มจากภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ[10] และมีรายงานการเพิ่มอัตราการแท้งลูกในฟาร์มสุกรที่มีความซุกต่อโรคพี อาร์ อาร์ เอส สูงในปี ค.ศ. 1995[11]

ปัจจุบันโรคพี อาร์ อาร์ เอส ยังเป็นปัญหาสำคัญในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรทั่วโลก รวมทั้งในเมืองไทย โดยยังคงพบรอยโรคและแยกเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ได้จากสุกรที่มีปัญหาโรคระบบทางเดินหายใจและระบบสืบพันธุ์อย่างต่อเนื่อง แต่ยังคงไม่มีคำแนะนำหรือการแก้ไขปัญหาโรคที่เหมาะสมที่สุด ข้อแนะนำที่ดีที่สุดสำหรับการแก้ปัญหาในปัจจุบัน ได้แก่ การปรับปรุงระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ และการปรับสภาพสุกรสาวทดแทน (gilt acclimatization) ให้มีสภาพภูมิคุ้มกันที่เหมาะสมเพื่อลดความเสียหายในห้องคลอด และคอกอนุบาล ซึ่งค่อนข้างยุ่งยากในทางปฏิบัติในการคัดเลือกสุกรติดเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ที่เหมาะสมมาใช้ในการปรับสภาพ[12] จึงเกิดความพยายามที่จะแก้ไขปัญหาในแนวทางอื่น เช่น การใช้วัคซีนเพื่อสร้างความสม่ำเสมอของ

ภูมิคุ้มกันในฝูงแม่สุกร โดยในปัจจุบันมีการทดลองใช้วัคซีนทั้งวัคซีนชนิดเชื้อตายและวัคซีนชนิดเชื้อเป็น ซึ่งผลการทดลองใช้วัคซีนแต่ละชนิดให้ผลแตกต่างกัน หรือแม้แต่การทดลองใช้วัคซีนชนิดเดียวกันกับไวรัสที่ใช้เป็นเชื้อพิษทับก็ให้ผลหลากหลายไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ส่วนการใช้ดีเอนเอวัคซีน (DNA vaccine) เป็นเพียงการวิจัยในห้องปฏิบัติการเพื่อวิจัยการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน[13] แม้ว่าวัคซีนชนิดเชื้อตายสามารถลดอาการทางคลินิก ระยะเวลาขับเชื้อ และความสูญเสียของประสิทธิภาพการผลิตในด้านระบบสืบพันธุ์ได้[14] แต่ยังเป็นที่ถกเถียงในแง่ของประสิทธิผลและความคุ้มค่าที่จะใช้งาน ส่วนการใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นอาจมีความเหมาะสมในแง่ของรูปแบบการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เนื่องจากสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดใช้เซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immunity) ได้ดี แต่อาจเกิดการกลับมามีความรุนแรงของตัวไวรัสวัคซีน (reversion) เนื่องจากการผ่าเหล่า (mutation) หรืออาจมีส่วนทำให้ไวรัสในสิ่งแวดล้อมมีการกลายพันธุ์ที่รวดเร็วขึ้น[15-17] นอกจากนี้ในการใช้งานไม่ว่าจะเป็นวัคซีนชนิดเชื้อตายหรือชนิดเชื้อเป็นก็อาจส่งผลเสียต่อภูมิคุ้มกัน เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ไม่ว่าจะเป็นไวรัสที่มีชีวิตหรือเป็นไวรัสที่ถูกทำให้เสียสภาพด้วยความร้อนก็ยังสามารถกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ด้วยการกระตุ้นให้ร่างกายสุกรสร้าง interleukin-10 (IL-10) ซึ่งปกติจะทำหน้าที่ลดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเมื่อสัตว์หายป่วยให้เกิดขึ้นมาเร็วกว่าปกติทำให้สุกรมีความบกพร่องต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่เหมาะสมในการกำจัดไวรัสออกจากร่างกาย[18,19] นอกจากนี้การตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการใช้วัคซีน ไม่สามารถป้องกันโรคพี อาร์ อาร์ เอส ข้ามสายพันธุ์ (cross protection) ได้ เนื่องจากสุกรที่ได้รับการฉีดวัคซีนยังคงสามารถติดเชื้อไวรัสซ้ำและป่วยจากไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อื่นได้ อย่างไรก็ตามมีบางรายงานพบว่าการกระตุ้นซ้ำด้วยวัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส อาจทำให้ลดปัญหาของโรคได้มากขึ้นและมีความพยายามปรับปรุงการใช้งานวัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส ในรูปแบบต่างๆ เช่น การใช้วัคซีนชนิดเชื้อตายกระตุ้นซ้ำในสุกรที่มีการติดเชื้อมาก่อน[20] หลังจากที่พบว่าการใช้วัคซีนชนิดเชื้อตายก่อนการติดเชื้อไม่สามารถป้องกันการขับเชื้อไวรัสได้[21,22]

การศึกษาในครั้งนี้ต้องการศึกษาประสิทธิผลของวัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส ชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป ในรูปแบบการกระตุ้นซ้ำด้วยวัคซีนชนิดเดิม โดยทำการศึกษาในด้านการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา ปริมาณและระยะเวลาที่มีไวรัสในกระแสเลือด การตอบสนองของแอนติบอดีต่อไวรัสด้วยวิธีอิไลซ่า (ELISA) และวิธี serum neutralization (SN) โดยทำการทดสอบแอนติบอดีที่เกิดขึ้นทั้งต่อไวรัสวัคซีน และต่อไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยทั้งสองสายพันธุ์ที่ใช้เป็นไวรัสสำหรับฉีดเชื้อพิษทับ รวมทั้งทำการศึกษาผลทางอ้อมด้วยการวัดประสิทธิภาพการผลิตของสุกรอนุบาลจนสิ้นสุดการศึกษา

วิธีการศึกษา

เซลล์เพาะเลี้ยง

เซลล์ MARC-145 ซึ่งเป็น African green monkey kidney cell line (ได้รับความอนุเคราะห์จาก Dr. Eileen Thacker, Iowa State University, Ames, Iowa, USA)

ไวรัส

เตรียมไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส 3 สายพันธุ์ คือ ไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกา (01NP1, US genotype) ไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ยุโรป (02SB3, EU genotype) และไวรัสวัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ยุโรป (v1)[23] โดยทำการเพิ่มจำนวนในเซลล์ MARC-145 ตามวิธีของ Thanawongnuwech และคณะ[24] เพื่อใช้ประโยชน์ในการเตรียมวัคซีน ประกอบการปฏิบัติงาน SN, virus titration, nested multiplex RT-PCR และเพื่อเป็นเชื้อพิษทับ (challenge virus) สำหรับการทดสอบประสทธิผลของวัคซีน

การเพิ่มจำนวนไวรัสโดยการเพาะเชื้อไวรัสขนาด 0.1 MOI (multiplicity of infection) ลงในเซลล์ MARC-145 ที่มีการกระจายตัวเต็มที่ร้อยละ 80 หลังจากนั้นจะทำการเก็บไวรัสเมื่อสังเกตเห็นการลอกหลุดของเซลล์ โดยใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน หลังการเพาะเชื้อไวรัส

การเก็บไวรัสโดยการทำให้เซลล์ MARC-145 แตกด้วยวิธีการแช่แข็งที่อุณหภูมิลบ 20 องศาเซลเซียส สลับกับการละลายที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 3 รอบ หลังจากนั้นทำการดูดสารละลายทั้งหมดมาปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บส่วนใส และปรับปริมาตรของไวรัสให้ได้ขนาด 10^5 $TCID_{50}$/mL ก่อนนำไปเก็บที่อุณหภูมิลบ 80 องศาเซลเซียส เป็นไวรัสที่พร้อมใช้งาน (stock virus)

วัคซีน

เตรียมวัคซีนจากไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ยุโรป (v1)[23] ให้มีปริมาตรไม่น้อยกว่า $10^{3.5}$ $TCID_{50}$/mL แล้วลดความรุนแรง โดยทำการเพาะเลี้ยงผ่านเซลล์ MARC-145 เป็นจำนวน 20 ครั้ง ใช้ฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณคอสุกร ณ วันที่ 0 และ 21 ของการทดลอง ในปริมาตร 2 มิลลิลิตรต่อตัว

สัตว์ทดลอง

สุกรทดลองอายุ 3 สัปดาห์ จำนวน 30 ตัว จากฟาร์มที่ไม่มีประวัติการระบาดของโรคอหิวาต์สุกร ปลอดจากโรคพิษสุนัขบ้าเทียม และโรคพี อาร์ อาร์ เอส สุกรทดลองจะต้องให้ผลลบต่อการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ด้วยวิธีอิไลซ่า (IDEXX, Westbrook, Maine, USA) และให้ผลลบต่อการตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ด้วยวิธี nested multiplex RT-PCR[24]ก่อนเริ่มการทดลอง การศึกษาครั้งนี้ได้รับการอนุญาตให้ใช้สัตว์ทดลองเลขที่ 18/2547 จากคณะกรรมการใช้สัตว์ทดลองให้เป็นไปตามจรรยาบรรณของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการแบ่งกลุ่ม สักเบอร์หู ฉีดยาปฏิชีวนะ Excenel® (Pfizer, USA) ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมติดต่อกัน 3 วัน และให้สุกรพักปรับตัว 3 วัน ก่อนเริ่มทำการทดลอง

วิธีการวิจัย

ทำการแบ่งสุกรทดลองอายุ 3 สัปดาห์ จำนวน 30 ตัวออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 6 ตัว กลุ่ม I เป็นกลุ่มควบคุมลบ กลุ่ม II เป็นกลุ่มควบคุมบวก ทำการให้เชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ยุโรป (02SB3) ณ วันที่ 42 ของการทดลองหรือเมื่อสุกรอายุ 9 สัปดาห์ กลุ่ม III เป็นกลุ่มควบคุมบวก ทำการให้เชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกา (01NP1) ณ วันที่ 42 ของการทดลอง กลุ่ม IV เป็นกลุ่มศึกษา (Vac+EU) ทำการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป (V1) ในวันที่ 0 และ 21 ของการทดลอง และให้เชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ยุโรป (02SB3) ณวันที่ 42 ของการทดลอง และกลุ่ม V เป็นกลุ่มศึกษา (Vac+US) ทำการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป (v1) ณ วันที่ 0 และ 21 ของการทดลอง และ ให้เชื้อไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกา (01NP1) ณ วันที่ 42 ของการทดลอง การฉีดวัคซีนจะฉีดเข้ากล้ามเนื้อในปริมาตร 2 มิลลิลิตร ($10^{3.5}$ $TCID_{50}$/mL) ต่อตัว ส่วนการให้เชื้อพิษของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส จะใช้วิธีหยอดใส่จมูก โดยจะใช้ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อตัว (10^{5} $TCID_{50}$/mL) ทำการวัดประสิทธิผลของวัคซีนด้วยวิธีไม่ระบุกลุ่ม (blind method) จากอาการทางคลินิก ภาวะมีไข้ ค่าโลหิตวิทยา รอยโรคทางมหพยาธิวิทยาของปอด ต่อมน้ำเหลืองขั้วปอด (tracheobronchial lymph nodes) และต่อมน้ำเหลืองขั้วลำไส้ (mesenteric lymph nodes) รอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของปอด การย้อมสีอิมมูนโนฮิสโตเคมีในเนื้อเยื่อปอด ต่อมน้ำเหลืองขั้วปอด ทอนซิล ลำไส้เล็ก ต่อมน้ำเหลืองขั้วลำไส้ และม้าม วัดปริมาณและสารพันธุกรรมของไวรัสในเลือดและเนื้อเยื่อปอดด้วยวิธี virus titration และ nested multiplex RT-PCR[24] การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยวิธีอิไลซ่า และ serum neutralization (SN) ต่อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอสทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ 01NP1 (US genotype) 02SB3 (EU genotype) และวัคซีนไวรัสชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป (v1) และวัดประสิทธิภาพการผลิตในแต่ละกลุ่ม โดยทำการให้คะแนนอาการทางคลินิก รอยโรคทางมหพยาธิวิทยา และรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา ตามวิธีของ Halbur และคณะ[25] และให้คะแนนผลการย้อมสีอิมมูนโนฮิสโตเคมีตามวิธีของ Halbur และคณะ[26]

ชั่งน้ำหนักสาร ณ วันเริ่มต้นการทดลอง และวันสิ้นสุด ตลอดจนน้ำหนักอาหาร เพื่อคำนวณหาค่าอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการแลกเนื้อ

ผลการศึกษา

จากการทดลองพบว่าสุกรกลุ่ม I กลุ่ม II กลุ่ม IV และกลุ่ม V ไม่แสดงอาการทางคลินิกที่บ่งบอกถึงการเกิดโรคพี อาร์ อาร์ เอส ไม่มีภาวะมีไข้ และไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาภายหลังการฉีดเชื้อพิษทับของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ยกเว้นสุกรกลุ่ม III กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการฉีดเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอสสายพันธุ์อเมริกา (01NP1) ที่มีอาการทางคลินิกในระดับ 1 ทุกตัว ภายหลังจากได้รับเชื้อไวรัส 1 วัน และแสดงอาการทางคลินิกเพียง 2 วันหลังจากได้รับการฉีดเชื้อพิษทับ นอกจากนี้ยังพบว่าสุกรกลุ่ม III เกิด

ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ (leucopenia) ทุกตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเทียบกับสุกรในกลุ่มอื่นๆ แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงในช่วงระยะเวลา 5 วัน หลังจากได้รับเชื้อไวรัสพีอาร์ อาร์ เอสสายพันธุ์อเมริกา (01NP1) (ข้อมูลไม่ได้แสดง)

รอยโรคทางมหพยาธิวิทยาพบว่าการเกิดรอยโรคของปอดมากที่สุดในกลุ่มสุกรที่ได้รับวัคซีนแล้วฉีดเชื้อพิษสายพันธุ์อเมริกาทับ (กลุ่ม V) รองลงไปเป็นกลุ่มที่ได้รับวัคซีนแล้วฉีดเชื้อพิษสายพันธุ์ยุโรปทับ (กลุ่ม IV) ซึ่งมีรอยโรคเฉลี่ยใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมบวก (กลุ่ม III) ที่ได้รับการฉีดเชื้อพิษสายพันธุ์อเมริกาทับเพียงอย่างเดียว ส่วนกลุ่มควบคุมลบ (กลุ่ม I) และกลุ่มควบคุมบวก (กลุ่ม II) ที่ได้รับการฉีดเชื้อพิษสายพันธุ์ยุโรปเพียงอย่างเดียว พบรอยโรคของปอดเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามคะแนนรอยโรคในปอดสุกรแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการเกิดการอักเสบของต่อมน้ำเหลืองที่พิจารณาจากค่าน้ำหนักสัมพัทธ์ พบว่าต่อมน้ำเหลืองขั้วลำไส้ไม่พบความแตกต่างในแต่ละกลุ่ม ซึ่งจะแตกต่างจากต่อมน้ำเหลืองที่ขั้วปอด ที่พบกลุ่มสุกรที่ได้รับไวรัสสายพันธุ์อเมริกา (01NP1) ทั้งสองกลุ่ม (กลุ่ม III และกลุ่ม V) มีการอักเสบของต่อมน้ำเหลืองมากกว่าสุกรกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (ตารางที่ 1) ส่วนผลการเพาะเชื้อแบคทีเรียจากปอดไม่พบเชื้อสำคัญต่อการก่อโรค เว้นแต่ *Hemophilus parasuis* ที่แยกได้จากสุกรหนึ่งในหกตัวจากกลุ่ม V ที่พบการติดเชื้อแทรกซ้อนหลังจากได้รับเชื้อไวรัสสายพันธุ์อเมริกา

ส่วนรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อปอด พบว่าสุกรทุกกลุ่มมีรอยโรคปอดชนิด interstitial pneumonia ที่มีระดับความรุนแรงตั้งแต่ mild degree จนถึง moderate degree (คะแนนเฉลี่ย

ตารางที่ 1. แสดงการเปลี่ยนแปลงรอยโรคทางมหพยาธิวิทยา

กลุ่ม	รอยโรคปอด (ร้อยละ)	น้ำหนักสัมพัทธ์*	
		ต่อมน้ำเหลืองปอด (%x10^{-3})**	ต่อมน้ำเหลืองลำไส้ (%x10^{-3})
I	0.60±0.89	0.17±0.06^{A}	1.75±0.38
II	0.67±0.82	0.20±0.05^{ABC}	1.60±0.34
III	1.60±1.14	0.28±0.08^{C}	1.77±0.12
IV	1.50±0.84	0.22±0.04^{AB}	1.63±0.24
V	2.92±2.87	0.28±0.08^{BC}	1.74±0.31

กลุ่มควบคุมลบ = กลุ่ม I **กลุ่มควบคุมบวก** สายพันธุ์ยุโรป = กลุ่ม II สายพันธุ์อเมริกา = กลุ่ม III **กลุ่มฉีดวัคซีนแล้วฉีดเชื้อพิษ** สายพันธุ์ยุโรป = กลุ่ม IV สายพันธุ์อเมริกา = กลุ่ม V

*น้ำหนักสัมพัทธ์คิดจาก น้ำหนักต่อมน้ำเหลือง/น้ำหนักตัวสุกร

**$^{A, B, C}$ สัญลักษณ์อักษรตามหลังตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

มากกว่า 1) รวมทั้งการพบรอยโรคในสุกรกลุ่มควบคุมลบซึ่งอาจเกิดจากผลบวกลวงจากภาวะปอดแฟบ (atelectasis) ของเนื้อเยื่อปอดภายหลังการตาย อย่างไรก็ตามสุกรกลุ่มควบคุมลบและสุกรกลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการฉีดเชื้อพิษ สายพันธุ์ยุโรปทับเพียงอย่างเดียวมีค่าเฉลี่ยคะแนนรอยโรคต่ำกว่าสุกรกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีพบว่าการย้อมส่วนใหญ่ปรากฏผลเป็นลบ และมีการย้อมติดสีในเซลล์มาโครฟาจที่ปอด ต่อมทอนซิล และต่อมน้ำเหลืองปอดในสุกรอย่างน้อย 1 ตัว ในสุกรในกลุ่ม II กลุ่ม IV และกลุ่ม V (n=6) โดยอวัยวะที่ย้อมให้ผลบวกทุกชิ้นจะมีคะแนนการกระจายของเชื้อไวรัสเท่ากับ 1 หรือมีเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อแอนติเจนของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส 1-10 เซลล์ต่ออวัยวะ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละกลุ่ม ทั้งนี้เนื่องจากสุกรได้รับเชื้อพิษทับเมื่ออายุ 9 สัปดาห์ และอาจเกิดจากสุกรส่วนใหญ่หายป่วยจากโรคแล้วเมื่อทำการชันสูตร (ตารางที่ 2)

จากการทดสอบหาปริมาณไวรัสในกระแสเลือดด้วยวิธี virus titration สามารถตรวจพบไวรัสในกระแสเลือดของสุกรทั้งสองกลุ่ม (กลุ่ม IV และกลุ่ม V) ที่ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป ภาย ใน 7 วันหลังจากการทำวัคซีนโดยให้ผลบวก 7 ตัวอย่างจากสุกรที่ทำวัคซีนทั้งหมด 12 ตัว และมีค่าเฉลี่ยไตเตอร์ในซีรั่มสูงสุดเท่ากับ $10^{2.7}$TCID$_{50}$/mL ในวันที่ 14 หลังจากได้รับวัคซีน หลังจากนั้นจะมีการลดลงของจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส และปริมาณค่าเฉลี่ยไตเตอร์ของไวรัสลดลงเรื่อยๆ โดยพบว่าการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นครั้งที่สองในวันที่ 21 ของการทดลองให้ผลบวกของจำนวนตัวอย่างเพียง 2 ตัวอย่าง (n=12) และมีค่าเฉลี่ยไวรัสไตเตอร์

ตารางที่ 2. แสดงการเปลี่ยนแปลงรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของปอด และผลการย้อมสีอิมมูนโนฮิสโตเคมี

กลุ่ม	รอยโรค ปอด*	ผลการย้อมสีอิมมูนโนฮิสโตเคมี**					
	(%)	ปอด	ต่อมน้ำเหลืองขั้วปอด	ทอนซิล	ม้าม	ลำไส้	ต่อมน้ำเหลืองลำไส้
I	1.60±0.55^{A}	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
II	2.33±0.82^{AB}	0.17±0.4	0.17±0.4	0.17±0.4	0.00	0.00	0.00
III	3.60±0.55^{C}	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
IV	3.00±0.63^{BC}	0.17±0.4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
V	2.83±0.75^{BC}	0.00	0.17±0.4	0.17±0.4	0.00	0.00	0.00

ดูตารางที่ 1 เพื่อดูรายละเอียดของการจำแนกกลุ่ม

*0 = ไม่พบรอยโรค, 1 = mild interstitial pneumonia, 2 = moderate multifocal interstitial pneumonia, 3 = moderate diffuse interstitial pneumonia 4 = severe interstitial pneumonia (Halbur et al., 1995)

**0 = ไม่พบเซลล์ที่ให้ผลบวก, 1 = มีเซลล์ที่ให้ผลบวก 1-10 เซลล์, 2 = มีเซลล์ที่ให้ผลบวก 11-30 เซลล์, 3 = มีเซลล์ที่ให้ผลบวก 31-100 เซลล์ 4 = มีเซลล์ที่ให้ผลบวกมากกว่า 100 เซลล์ (Halbur et al., 1996)

$^{A, B, C}$ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อตัวอักษรแตกต่างกัน

สูงสุดเท่ากับ 10^1TCID$_{50}$/mL ภายในวันที่ 7 หลังจากได้รับวัคซีนดังกล่าวครั้งที่สอง รวมระยะเวลาที่พบไวรัสวัคซีนในซีรั่มจากการทดสอบด้วยวิธี virus isolation นานถึง 28 วันหลังจากการฉีดเชื้อพิษทับ ณ วันที่ 42 ของการทดลอง และพบว่าสุกรกลุ่มควบคุมบวกทั้งสองสายพันธุ์ (กลุ่ม II และกลุ่ม III) และสุกรในกลุ่ม V สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ในกระแสเลือดได้ ยกเว้นสุกรกลุ่มที่ได้รับวัคซีนแล้วฉีดเชื้อพิษสายพันธุ์ยุโรปทับ (กลุ่ม IV) โดยสุกรทั้งสองกลุ่มที่ได้รับวัคซีนจะมีผลบวกของจำนวนตัวอย่างและปริมาณไวรัสน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสุกรกลุ่มควบคุมบวก (ตารางที่ 3)

การตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสในกระแสเลือดด้วยวิธี nested multiplex RT-PCR พบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการตรวจด้วยวิธี virus isolation แต่มีความไวที่สูงมากกว่า เนื่องจากให้จำนวนผลบวกของตัวอย่างที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี virus isolation โดยจากการทดสอบหลังจากการทำวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปพบว่าให้ผลบวกทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ภายในวันที่ 21 หลังจากทำวัคซีน และสามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ยุโรปในกระแสเลือดของสุกรกลุ่ม V ได้จนถึงวันที่ 63 ของการทดลอง ซึ่งวิธี virus isolation สามารถตรวจพบได้ถึงแค่วันที่ 48 ของการทดลองในสุกรกลุ่ม V (ตารางที่ 4 และตารางที่ 5)

ผลการตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ในอวัยวะต่างๆ พบว่าอวัยวะที่ให้ผลบวกมากที่สุดคือ ต่อมน้ำเหลืองขั้วปอด โดยให้ผลบวกรวม 7 ตัวอย่างจากสุกรที่ได้รับการฉีดเชื้อพิษทับ 23 ตัว ปอดให้ผลบวก 6 ตัวอย่างจาก 23 ตัว และทอนซิลให้ผลบวก 3 ตัวอย่างจาก 13 ตัว จากการเปรียบเทียบพบว่าสุกรกลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการฉีดเชื้อพิษทับอย่างเดียวจะให้สัดส่วนของผลบวกของการตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ในเนื้อเยื่อปอดมากกว่าสุกรกลุ่มที่ได้รับวัคซีนร่วมด้วย แต่สุกรที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจะมีสัดส่วนจำนวนสุกรที่ให้ผลบวกจากการตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสในต่อมน้ำเหลืองขั้วปอดมากกว่าสุกรกลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการฉีดเชื้อพิษทับอย่างเดียว (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 3. แสดงปริมาณไวรัสพี อาร์ อาร์ เอสในกระแสเลือดของสุกรด้วยวิธี virus titration

กลุ่ม	วันที่										
	0	7	14	21	28	42	48	54	60	66	72
I	0*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0	2 (1.8)	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0	6 (3.0)	5 (2.2)	0	0	0
IV	0	5 (2.0)	3 (2.2)	1 (1.8)	1 (1.0)	0	0	0	0	0	0
V	0	2 (2.3)	2 (2.7)	0	2 (1.0)	0	2 (2.5)	0	0	0	0

ดูตารางที่ 1 เพื่อดูรายละเอียดของการจำแนกกลุ่ม

*จำนวนสุกรที่ให้ผลบวกจากสุกร 6 ตัว (ค่าเฉลี่ย virus titer $\log_{10}$TCID$_{50}$/mL)

ตารางที่ 4. แสดงผลการตรวจหาไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ในกระแสเลือดของสุกรด้วยวิธี nested multiplex RT-PCR

กลุ่ม	วันที่													
	0	21	42	45	48	51	54	57	60	63	66	69	72	75
I	0*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0	2	1	2	0	0	0	0	0
III	0	0	0	1	4	5	4	3	2	0	0	0	0	0
IV	0	6	6	3	0	2	3	2	2	0	0	0	0	0
V	0	6	4	3	2	6	5	4	3	1	0	0	0	0

ดูตารางที่ 1 เพื่อดูรายละเอียดของการจำแนกกลุ่ม
*จำนวนสุกรที่ให้ผลบวกจากจำนวนสุกร 6 ตัว/กลุ่ม

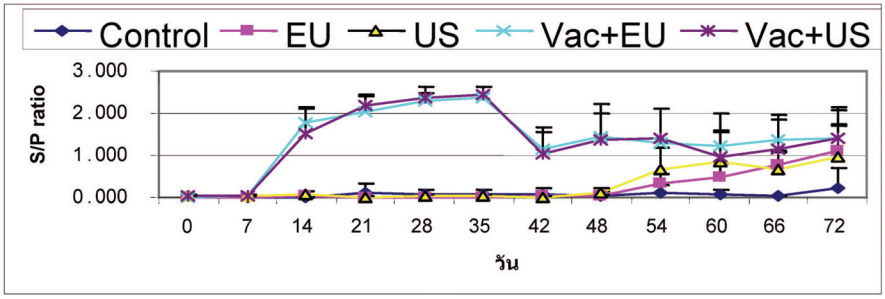
ตารางที่ 5. แสดงผลการตรวจหาไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของสุกรด้วยวิธี nested multiplex RT-PCR ณ วันที่ 75 ของการทดลอง

กลุ่ม	ปอด (ร้อยละ)	ต่อมน้ำเหลืองปอด	ต่อมทอนซิล
I	0/5 (0)*	0/5 (0)	0/5 (0)
II	2/6 (33)	1/6 (17)	0/4 (0)
III	3/5 (60)	1/5 (20)	1/2 (50)
IV	1/6 (17)	3/6 (50)	1/2 (50)
V	0/6 (0)	2/6 (33)	1/5 (20)

ดูตารางที่ 1 เพื่อดูรายละเอียดของการจำแนกกลุ่ม
*จำนวนสุกรที่ให้ผลบวก/จำนวนตัวอย่าง (%)

จากการทดลองสุกรที่ได้รับการฉีดวัคซีนจะเริ่มมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันภายใน 7 วัน โดยการทดสอบด้วยวิธีอิไลซ่าและมีค่าเฉลี่ยอัตราส่วน S/P สูงสุดที่ 28 วันหลังจากฉีดวัคซีน โดยสุกรที่ได้รับวัคซีนทั้งสองกลุ่ม (กลุ่ม IV และกลุ่ม V) มีแนวโน้มการตอบสนองทางอิไลซ่าไปในทิศทางเดียวกันและในระดับที่ใกล้เคียงกัน หลังจากการฉีดเชื้อพิษทับในสุกรทั้งสี่กลุ่ม พบมีการตอบสนองทางอิไลซ่าต่อการฉีดเชื้อพิษทับ 12 วันหลังจากได้รับเชื้อพิษ โดยสุกรสองกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมาก่อนมีค่าเฉลี่ยอัตราส่วน S/P ในตอนเริ่มต้นสูงกว่า แต่ในตอนท้ายการทดลองค่าเฉลี่ยอัตราส่วน S/P ของสุกรทั้งสี่กลุ่มที่ได้รับเชื้อพิษทับ1จะมีความใกล้เคียงกัน ซึ่งตลอดการทดลองสุกรในกลุ่มควบคุมลบยังคงไม่มีการตอบสนองต่อ การทดสอบด้วยวิธีอิไลซ่า (รูปที่ 1)

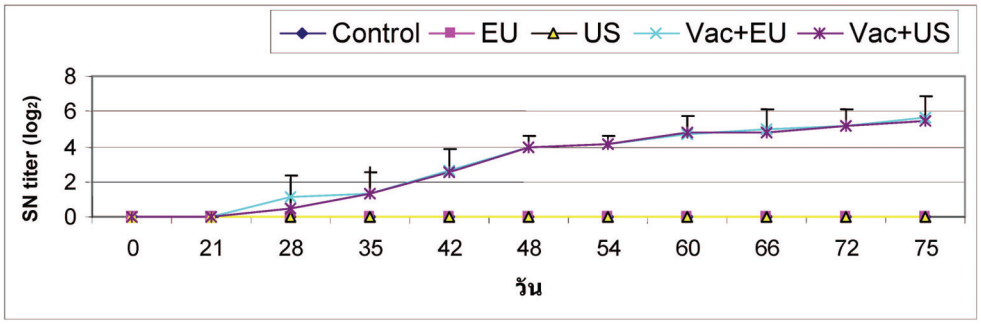
ในการทดสอบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยวิธี serum neutralization (SN) จะทำการทดสอบซีรั่มของสุกรกับไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ ไวรัสวัคซีนสายพันธุ์ยุโรป (V1) ไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกา (01NP1) และ ไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ยุโรป



รูปที่ 1. แสดงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของสุกรด้วยวิธีอิไลซ่า

(02SB3) เนื่องจากภูมิคุ้มกันชนิด neutralizing antibody มีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส พบว่าไม่มีการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันชนิด SN ต่อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ทั้งสองสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยตลอดการทดลอง (ข้อมูลไม่ได้แสดง) แต่พบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิด SN ต่อไวรัสวัคซีนสายพันธุ์ยุโรป (V1) เฉพาะในกลุ่มสุกรที่ได้รับวัคซีนมาก่อนทั้งสองกลุ่ม (กลุ่ม VI และกลุ่ม V) โดยเริ่มพบค่าเฉลี่ยไตเตอร์มากกว่า 1:4 ณ วันที่ 42 หลังจากการฉีดวัคซีนครั้งแรกในสุกรทั้งสองกลุ่มและปริมาณภูมิคุ้มกันเฉลี่ยจะมีการเพิ่มขึ้นจนสิ้นสุดการทดลอง โดยมีค่าเฉลี่ยไตเตอร์มากกว่า 1:128 ในวันสุดท้ายของการทดลอง ทั้งนี้ไม่พบการปรากฏของภูมิคุ้มกัน ชนิด SN ต่อไวรัสวัคซีนV1 ในสุกรกลุ่มควบคุมลบและสุกรกลุ่มควบคุมบวก (รูปที่ 2)

การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยในสุกรแต่ละกลุ่ม รวมทั้งอัตราแลกเนื้อ และอัตราการกินเฉลี่ย (ข้อมูลไม่ได้แสดง) ซึ่งข้อมูลในส่วนนี้มีข้อควรคำนึงเรื่องจำนวนประชากรสุกรและสภาพแวดล้อมในห้องทดลองที่ใช้เก็บข้อมูลที่ต่างจากสภาพแวดล้อมในฟาร์มสุกรทั่วไป โดยหากต้องการแปลผลข้อมูลในส่วนนี้เพิ่มเติม อาจต้องทำการเพิ่มจำนวนสุกรที่จะใช้ทดสอบ หรืออาจจำเป็นต้องทดลองในฟาร์มสุกร



รูปที่ 2. แสดงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วยวิธี Serum Neutralization โดยใช้ไวรัสวัคซีน v1

บทวิจารณ์

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิร่างกายสุกรหรือภาวะมีไข้ พบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสุกรทุกกลุ่มการทดลอง ซึ่งแตกต่างจาก Nilubol และคณะ[20] ที่มักพบภาวะมีไข้ของสุกรหลังจากได้รับเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากสุกรทดลองในการศึกษานี้มีอายุที่มากกว่าการทดลองทั่วไป[27] คืออายุประมาณ 9 สัปดาห์ เมื่อได้รับเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ณ วันที่ 42 ของการทดลอง และการไม่พบภาวะมีไข้ในสุกรหลังจากได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นในขณะที่สุกรมีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ อาจมีสาเหตุมาจากไวรัสวัคซีนสายพันธุ์พันธุ์ยุโรป (V1) ที่ใช้ในการศึกษา มีการลดความรุนแรงลงโดยการเพาะเลี้ยงผ่านเซลล์เพาะเลี้ยงมาก่อน ทำให้ไม่มีความรุนแรงทางคลินิกซึ่งสอดคล้องกับอาการทางคลินิกที่พบจากการศึกษาครั้งนี้ที่ไม่พบอาการทางคลินิกตลอดการทดลอง ยกเว้นในสุกรกลุ่มควบคุมบวก (กลุ่ม III) ที่ได้รับการฉีดเชื้อพิษทับด้วยไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกา (01NP1) เพียงอย่างเดียวที่พบสุกรมีอาการหายใจลำบากเล็กน้อยเป็นเวลา 2 วันหลังจากได้รับเชื้อไวรัสเนื่องจากไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกา (01NP1) ที่แยกได้ในประเทศไทยจัดเป็นไวรัสประเภทที่มีความรุนแรงปานกลาง[28] จึงทำให้ไม่เห็นความแตกต่างที่ชัดเจนของอาการทางคลินิกและภาวะมีไข้ ในสุกรอายุ 9 สัปดาห์ เมื่อทำการฉีดเชื้อพิษทับ เมื่อเปรียบเทียบกับสุกรอายุ 3 สัปดาห์[27]

ส่วนค่าทางโลหิตวิทยาพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าปริมาณเม็ดเลือดแดง ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และปริมาณฮีโมโกลบินในสุกรทุกกลุ่ม เนื่องจากไวรัสชนิดนี้มีกลุ่มเซลล์เป้าหมายหลักในการติดเชื้อเป็นกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโน-นิวเคลียเซลล์[26] ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ เฉพาะในสุกรกลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับการฉีดไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกา (01NP1) เพียงกลุ่มเดียว และเป็นช่วงสั้นๆ[29] เมื่อเปรียบเทียบกับสุกรกลุ่มที่ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปก่อนฉีดเชื้อพิษทับด้วยไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกาที่พบว่าไม่มีภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำเกิดขึ้นเลย แสดงให้เห็นว่าวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถลดการเกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำได้ในสุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์อเมริกา (01NP1)

เช่นเดียวกับรอยโรคทางมหพยาธิวิทยาที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของรอยโรคปอดทั้งในสุกรที่ได้รับวัคซีนและในสุกรกลุ่มควบคุมบวกเมื่อเปรียบเทียบกับสุกรในกลุ่มควบคุมลบ เนื่องจากวันที่ทำการชันสูตรซากในวันที่ 75 ของการทดลอง หรือ 33 วันหลังจากที่สุกรได้รับการฉีดไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยทั้งสองสายพันธุ์ ทำให้สุกรดังกล่าวหายป่วยและมีการฟื้นตัวจากการติดเชื้อแล้วร่วมกับสุกรทดลองยังมีอายุมากกว่าที่เคยมีการทดลองเมื่อทำการฉีดเชื้อพิษทับ สุกรดังกล่าวจึงมีความทนทานต่อโรคมากกว่าสุกรอายุน้อย [27,28] ทำให้ค่าเฉลี่ยรอยโรคปอดที่ได้ในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยของคะแนนรอยโรคปอดจากการติดเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส จะพบสูงสุด

ประมาณ 9-15 วันหลังจากได้รับเชื้อ[28] แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป (V1) ไม่สามารถลดการอักเสบของต่อมน้ำเหลืองขั้วปอดได้ ทั้งนี้ความแตกต่างทางสถิติของน้ำหนักสัมพัทธ์ของต่อมน้ำเหลืองเกิดจากความแตกต่างของสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสที่สุกรได้รับ โดยสุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสสายพันธุ์อเมริกาทั้งสุกรที่ได้รับและไม่ได้รับวัคซีนต่างเกิดการอักเสบและขยายใหญ่ของต่อมน้ำเหลืองทั้งสองกลุ่มและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทำการเปรียบเทียบกันเองระหว่างสุกรกลุ่มที่ทำวัคซีนและสุกรกลุ่มควบคุมบวกที่ไม่ได้ทำวัคซีน ส่วนต่อมน้ำเหลืองขั้วลำไส้เป็นส่วนที่ไม่มีความแตกต่างของน้ำหนักสัมพัทธ์ ถึงแม้จะเคยมีรายงานการพบสารพันธุกรรมของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ในอุจจาระมาก่อน[30] และการตรวจพบแอนติเจนของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส จากต่อมน้ำเหลืองขั้วลำไส้ในสุกรทดลองก็ตาม[26] เนื่องจากการพบแอนติเจนในบริเวณดังกล่าวมักพบในกรณีที่เนื้อเยื่อสุกรที่นำมาตรวจอยู่ในระยะมีไวรัสในกระแสเลือด หากพ้นระยะนี้ไปแล้วมักจะตรวจพบแอนติเจนเฉพาะอวัยวะที่เหมาะสม แก่การซ่อนตัวของไวรัส เช่น ต่อมน้ำเหลืองขั้วปอดและทอนซิล เป็นต้น ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับงานของ[31] ที่พบว่าการฉีดวัคซีนไม่สามารถลดการอักเสบของต่อมน้ำเหลืองได้

เช่นเดียวกับรอยโรคทางมหพยาธิวิทยา พบว่ารอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อปอดในสุกรทุกกลุ่มมีลักษณะเป็น interstitial pneumonia โดยสุกรส่วนใหญ่มีรอยโรคในระดับ mild to moderate interstitial pneumonia ส่วนสุกรกลุ่มควบคุมลบที่พบคะแนนรอยโรคอยู่ในระดับ mild interstitial pneumonia นั้นอาจมีผลมาจากภาวะปอดแฟบ (atelectasis) ที่ทำให้การอ่านค่ารอยโรคทางจุลพยาธิวิทยามีความแปรปรวนจากการปฏิบัติแบบไม่ระบุกลุ่มเมื่อทำการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ส่วนการย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อตรวจหาแอนติเจนของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส พบว่าการย้อมส่วนใหญ่ปรากฏผลเป็นลบ เนื่องจากทำการชันสูตรสุกรที่ได้รับเชื้อมากกว่า 4 สัปดาห์ที่เป็นระยะที่สุกรหายจากการป่วยแล้ว[26] อย่างไรก็ตามพบการย้อมติดของแอนติเจนของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอสที่ปอด ทอนซิลและต่อมน้ำเหลืองขั้วปอด โดยอวัยวะที่ย้อมให้ผลบวกทุกชิ้นจะมีคะแนนการกระจายของเชื้อไวรัสเท่ากับ 1 หรือมีเซลล์ที่ให้ผลบวก 1-10 เซลล์ต่ออวัยวะจะเห็นได้ว่าผลของการย้อมที่ให้ผลบวกของการย้อมติดสีอิมมูโนฮิสโตเคมีค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับงานของ Halbur และคณะ[26] เนื่องมาจากการทดลองนี้ เป็นการทดลองที่กระทำในสุกรอายุมากซึ่งมีความไวรับต่อการติดเชื้อลดลงและสุกรหายป่วยจากโรคแล้ว[27] ซึ่งต่างจากการทดลองอื่นๆ ที่ทำเพื่อศึกษาพยาธิวิทยาของโรคในสุกรอายุน้อยในช่วงที่สุกรแสดงอาการทางคลินิก[31-33] รวมทั้งงานของศศิวิมล และคณะ[28] ที่ทำการศึกษาในสุกรอายุน้อย ซึ่งเป็นช่วงอายุที่มีความรุนแรงของโรคมากที่สุด และการทดลองนี้ทำการเก็บตัวอย่าง ณวันที่ 75 ของการทดลอง หรือ 33 วันหลังจากได้รับเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ทำให้สุกรทดลองมีการ

ฟื้นตัวจากอาการป่วยปริมาณไวรัสในกระแสเลือดและในเนื้อเยื่ออาจถูกกำจัดโดยการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันไปแล้ว

การทดสอบปริมาณของไวรัสด้วยวิธี virus isolation และ virus titration พบว่าหลังจากการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป (V1) ครั้งที่ 1 สามารถตรวจพบไวรัสวัคซีนในกระแสเลือดจากสุกร 7 ตัวจาก 12 ตัว ณ วันที่ 7 หลังจากทำวัคซีน เป็นสิ่งที่ควรตระหนักของการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นว่าอาจสามารถพบการขับเชื้อไวรัสวัคซีนจากตัวสุกรได้ สอดคล้องกับข้อแนะนำของสมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย ปี พ.ศ.2549[12] แนะนำให้ฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นเฉพาะในสุกรในฝูงที่ติดเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส มาแล้ว และควรทำในพื้นที่ควบคุมที่กักโรคได้ เพื่อลดการแพร่กระจายของไวรัสวัคซีนไปยังสุกรไวรับ และพบว่า หลังจากการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป ครั้งที่ 2 พบว่าจำนวนสุกรที่ให้ผลบวกต่อการเพาะแยกเชื้อไวรัสและค่าเฉลี่ยของ virus titer มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการฉีดวัคซีนครั้งแรก เป็นผลมาจากสุกรเริ่มมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อไวรัสวัคซีนที่ได้ฉีดไปในครั้งที่ 1 โดยหากพิจารณาจากวันที่ 35 ของการทดลอง ที่สุกรทุกตัวขจัดเชื้อไวรัสวัคซีนออกจากกระแสเลือดได้ จะเห็นได้ว่าในวันที่ 35 นี้สุกรบางตัวเริ่มให้ภูมิคุ้มกันชนิดทำลายไวรัสจากการทดสอบ ด้วยวิธี serum neutralization (SN) โดยใช้ไวรัสวัคซีน (V1) ในการทดสอบ แต่หลังจากการให้ไวรัสสายพันธุ์รุนแรงทั้งสองสายพันธุ์สามารถตรวจพบไวรัสสายพันธุ์ที่ฉีดพิษทับดังกล่าวในกระแสเลือดสุกรเป็นเวลา 6 วันหลังจากให้ไวรัสในสุกรทุกกลุ่ม ยกเว้นในสุกรกลุ่ม IV ที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปมาก่อนแล้ว ทำการฉีดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ยุโรป 02SB3 ทับ ซึ่งอาจมีระยะขับเชื้อที่สั้นกว่า 3 วันและมีการปกป้องภายในกลุ่มสายพันธุ์เดียวกัน จึงไม่สามารถตรวจพบเชื้อไวรัส 02SB3 ในกระแสเลือดของสุกรกลุ่มดังกล่าวได้ จากการทดลองนี้หากพิจารณาเฉพาะผลการทดสอบด้วยวิธี virus isolation และ virus titration จะพบว่าสุกรที่ได้รับการฉีดวัคซีนมาก่อนจะมีจำนวนสุกรที่ให้ผลบวกต่อการเพาะแยกเชื้อและมีค่าเฉลี่ย virus titer ของไวรัสที่ใช้เป็นเชื้อพิษน้อยกว่าเมื่อเทียบกับสุกรกลุ่มควบคุมบวก ซึ่งแตกต่างกับผลการทดสอบด้วยวิธี SN ที่พบว่าการฉีดวัคซีนไม่ได้เพิ่มปริมาณหรือเร่งการตอบสนองการสร้างภูมิชนิด SN ต่อไวรัสสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยทั้งสองสายพันธุ์เลย แสดงว่าการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปดังกล่าวอาจให้ผลดีต่อภูมิคุ้มกันในรูปแบบอื่นที่ไม่ใช่ neutralizing antibody เช่น มี การทำงานของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific antibody) หรือมีการเพิ่มการตอบสนอง ทางภูมิคุ้มกันชนิดใช้เซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immunity) เป็นต้น และเมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อไวรัสในกระแสเลือดของสุกรหลังการให้เชื้อไวรัสสายพันธุ์รุนแรงกับงานวิจัยอื่นๆ พบว่าการศึกษาครั้งนี้มีปริมาณเชื้อไวรัส ในกระแสเลือดและมีระยะขับเชื้อที่ค่อนข้างต่ำ โดยเฉพาะในสุกร กลุ่มควบคุมบวกที่ได้รับเชื้อไวรัสสายพันธุ์

ยุโรป 02SB3 ทั้งๆ ที่ปริมาณไวรัสที่ใช้ในการฉีดเชื้อพิษทับจากการทดลองอื่นๆ ไม่แตกต่างกันมากนัก[20] ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากลักษณะที่จำเพาะของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ 01NP1 และ 02SB3 ของประเทศไทยที่มีความรุนแรงแตกต่างจากสายพันธุ์ต่างประเทศ หรือเนื่องจากการทดลองนี้เป็นการทดลองให้เชื้อไวรัสในสุกรที่ค่อนข้างอายุมาก (9 สัปดาห์) ซึ่งมีอายุมากกว่าการทดลองในรายงานอื่นๆ ที่ใช้สุกรหย่านม (3 สัปดาห์) เป็นต้น แบบทดสอบความรุนแรงของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ทำให้สุกรในการทดลองครั้งนี้มีความทนทานต่อเชื้อไวรัสดังกล่าวและขจัดเชื้อไวรัสออกไปได้เร็วกว่าปกติ ซึ่งเป็นข้อควรพิจารณาสำหรับการศึกษาต่อไปที่จะใช้สุกรอายุมากเป็นแบบในการทดสอบ ส่วนการตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสในกระแสเลือดด้วยวิธี nested multiplex RT-PCR ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับการตรวจด้วยวิธี virus isolation แต่การทดสอบหาสารพันธุกรรมจะให้จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกที่มากกว่าในช่วงเวลาเดียวกัน ยกเว้นแต่ในวันที่ 48 และ 54 ที่วิธี virus isolation ให้จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกที่สูงกว่าวิธี nested multuplex RT-PCR แต่โดย ภาพรวมแล้วถือว่า วิธี nested multuplex RT-PCR เป็นวิธีที่มีความไวที่สูง[24] และสามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส ในกระแสเลือดได้จนถึงวันที่ 63 ของการทดลอง หรือวันที่ 21 หลังจากได้รับเชื้อไวรัส ซึ่งวิธี virus isolation สามารถตรวจพบได้ถึงแค่วันที่ 54 ของการทดลองหรือ 12 วันหลังจากได้รับเชื้อไวรัส อย่างไรก็ตามถึงแม้วิธี virus isolation จะมีความไวต่ำกว่าวิธี nested multiplex RT-PCR การทดสอบ virus isolation ก็ยังคงมีความสำคัญต่อการศึกษาทางไวรัสวิทยาเนื่องจากสามารถบ่งบอกถึงคุณภาพของไวรัสที่มีความสามารถในติดเชื้อได้

ผลการตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธีอิไลซ่าเริ่มสังเกตเห็นการตอบสนอง ณวันที่ 7 หลังจากได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นครั้งแรก ซึ่งใกล้เคียงกับการตอบสนองต่อการได้รับไวรัสสายพันธุ์รุนแรงครั้งแรกในสุกรกลุ่มควบคุมบวก โดยมีการตอบสนองประมาณวันที่ 12 หลังจากการให้เชื้อ รูปแบบการตอบสนองจากการทดสอบด้วยวิธีอิไลซ่านี้ คล้ายคลึงกับงานในอดีต[20,31] โดยปกติจะสามารถตรวจพบได้นานถึง 12 เดือนหากไม่มีการกระตุ้นซ้ำ[34] ในการทดลองนี้ไม่พบการเพิ่มขึ้นของค่าอัตราส่วน S/P ซึ่งเป็นผลมาจากการกระตุ้นซ้ำด้วยการให้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นครั้งที่สอง แต่การกระตุ้นซ้ำด้วยการให้เชื้อไวรัสสายพันธุ์รุนแรงพบว่ามีการตอบสนองเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ไม่มีการตอบสนองแบบ anamnestic response เหมือนกับวัคซีนชนิดอื่นๆ อย่างไรก็ตามข้อควรคำนึงอย่างหนึ่งสำหรับการทดสอบด้วยวิธีอิไลซ่าก็คือการเพิ่มขึ้นของค่าอัตราส่วน S/P ไม่ได้หมายความว่าสุกรจะมีภูมิคุ้มกันต่อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สูงด้วยเสมอไป เนื่องจากปริมาณแอนติบอดีที่เกิดขึ้นอาจเป็นแอนติบอดีชนิดที่ไม่ทำลายไวรัส ดังนั้นหากต้องการวัดประสิทธิผลของการทำวัคซีนควรมีการทดสอบการเพิ่มขึ้นของภูมิคุ้มกันชนิดทำลาย ไวรัสหรือ SN ด้วย โดยจากผลการ

ทดสอบ SN โดยใช้ไวรัสวัคซีนจะเห็นว่าสุกรที่รับวัคซีนเป็นจำนวน 2 ครั้ง ณ วันที่ 0 และวันที่ 21 ของการทดลองจะเริ่มพบแอนติบอดีชนิด neutralizing (ปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 1:4) ณ วันที่ 42 ของการทดลอง หรือ 42 วันหลังจากการทำวัคซีนครั้งที่ 1 และ 21 วันหลังจากการทำวัคซีนครั้งที่ 2 ซึ่งถือว่าเป็นการตอบสนองที่ค่อนข้างช้า ซึ่งสาเหตุที่ทำ ให้เกิดการตอบสนองที่ล่าช้านี้อาจเกิดได้จากหลาย สาเหตุ เช่น การเพิ่มขึ้นของ IL-10 ก่อนเวลาอัน ควร[18,19] และจากการทดสอบ SN โดยใช้ไวรัส สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย คือ 01NP1 (US genotype) และ 02SB3 (EU genotype) ไม่พบแอนติบอดีชนิด neutralizing ต่อไวรัส ดังกล่าวเลยตลอดวันสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 75 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบ SN โดยใช้ ไวรัสวัคซีนที่เริ่มพบแอนติบอดีชนิด neutralizing ชัดเจนโดยเฉลี่ยในวันที่ 42 หลังจากได้รับไวรัสวัคซีนครั้งแรกเป็นต้นไป ซึ่งหากพิจารณาจากวันที่ สุกรได้รับไวรัส 01NP1 และ 02SB3 ในวันที่ 42 ของการทดลองจะเห็นว่ามีระยะเวลาเพียง 33 วันเท่านั้นจนสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 75 ซึ่งอาจ ไม่เพียงพอที่จะพบการตอบสนองต่อการให้เชื้อไวรัสสายพันธุ์ดังกล่าว ทั้งนี้ในส่วนของระยะเวลาที่ใช้ในการตอบสนองของแอนติบอดีชนิด neutralizing นี้มีรายงานในหลายๆ ลักษณะ ต่างๆ กันไป โดย Takikawa และคณะ[35] รายงานการเริ่มตรวจพบการตอบสนองชนิด SN ในช่วง 10-21 วันหลังจากได้รับเชื้อ โดยสามารถเพิ่มความไวของการทดสอบได้มากขึ้น ด้วยวิธี complement-requiring neutralizing antibody ซึ่งทำให้ตรวจพบได้เร็วขึ้น 2-3 วัน และ Botner และคณะ[36] ตรวจพบการตอบสนองที่ 14 วัน อย่างไรก็ตาม ผลสรุปที่ค่อนข้างแน่ชัดจากการศึกษาครั้งนี้ก็คือ แอนติบอดีที่เกิดขึ้นไม่สามารถทำลายไวรัสต่างสายพันธุ์ได้ และการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป อาจไม่ช่วยให้มีการตอบสนองชนิด SN ต่อไวรัสสายพันธุ์อื่นที่มากขึ้นหรือเร็วขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาครั้งนี้ อย่างไรก็ตาม มีหลายๆ รายงานที่พบว่าแอนติบอดีชนิด neutralizing สามารถคุ้มครองข้ามสายพันธุ์ หรือการฉีดวัคซีนสามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีชนิด neutralizing ได้ เช่น Botner และคณะ[36] ที่พบว่าการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์อเมริกา นอกจากจะทำให้เกิดแอนติบอดีชนิด neutralizing ต่อไวรัสสายพันธุ์อเมริกาแล้ว ยังสามารถกระตุ้นแอนติบอดีชนิด neutralizing ต่อไวรัสสายพันธุ์ยุโรปได้ในแม่สุกรที่เคยติดเชื้อสายพันธุ์ ยุโรปมาก่อน

เหตุผลที่การใช้งานวัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส ให้ผลไม่แน่นอน บางครั้งมีการคุ้มครองข้ามสายพันธุ์และบางครั้งอาจไม่มีการคุ้มครองเลย แม้กระทั่งภายในสายพันธุ์เดียวกัน อาจมีสาเหตุมาจากลักษณะความเป็นแอนติเจนของวัคซีนและไวรัสที่ติดเชื้อมีความแตกต่างกัน ทำให้แอนติบอดีที่เกิดจากการฉีดวัคซีนไม่มีการคุ้มครองข้ามสายพันธุ์ ซึ่งส่วน ORF5 หรือ E protein มีบทบาทหลักในส่วนนี้ เนื่องจากโปรตีนส่วนนี้เป็นส่วน neutralizing epitope แอนติบอดี

ที่เกิดต่อส่วนนี้สามารถลดความสามารถในการติดเชื้อของไวรัสได้ แต่พบว่า ORF5 เป็นส่วนที่มีความหลากหลายสูง จึงเป็นที่มาของความจำเพาะของภูมิคุ้มกันต่อตัวไวรัส จากการศึกษาพบว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นต่อไวรัสสามารถเกิดความคุ้มครองปกป้องข้ามสายพันธุ์ หากไวรัสอีกสายพันธุ์มีความคล้ายคลึงกันในส่วนของ ORF5 มากกว่าร้อยละ 98[37] ซึ่งอาจนำหลักการ ดังกล่าวมาทำนายความสามารถในการคุ้มโรคของวัคซีนที่จะนำไปใช้ในภาคสนามได้ โดยทำการเปรียบเทียบส่วน ORF5 ของไวรัสวัคซีนกับไวรัสที่พบในภาคสนาม ซึ่งจากการศึกษาของ Thanawongnuwech และคณะ[24] ที่ทำการเปรียบเทียบส่วน ORF5 ของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอสที่แยกได้ในประเทศไทยทั้งสองสายพันธุ์กับส่วน ORF5 ของไวรัสวัคซีนที่มีจำหน่ายในต่างประเทศ รวมทั้งไวรัสวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป[23] ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าไม่มีไวรัสวัคซีนใดเลยที่มีความเหมือนกันมากกว่าร้อยละ 98 ไม่ว่าจะทำการเปรียบเทียบกับ heterologous หรือ homologous strain ตัวใดของไทยก็ตาม ซึ่งชี้ให้เห็นถึงข้อจำกัดของการใช้วัคซีนที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

ถึงแม้มีหลายการทดลองพบว่าการฉีดวัคซีนสามารถลดอาการทางคลินิกได้[15-17,20,31-33,38-48] แต่ผลของการฉีดวัคซีนก็ยังให้ผลไม่แน่นอน สุกรที่ได้รับวัคซีนไม่ได้มีค่าเฉลี่ยรอยโรคลดลงและไม่พบประสิทธิภาพการผลิตที่ดีขึ้นเสมอไป ในการศึกษาครั้งนี้ภูมิคุ้มกันที่ได้จากการฉีดวัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส ชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปสามารถทำลายไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ที่ตรงกับชนิดของวัคซีนเท่านั้น แม้จะไม่มีการคุ้มครองข้ามสายพันธุ์ หรือแม้กระทั่งภายในสายพันธุ์เดียวกันเมื่อทดสอบด้วยวิธี SN แต่พบว่าการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปในการศึกษาครั้งนี้สามารถลดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำและลดปริมาณไวรัสในกระแสเลือดได้ แม้จะมีความต่างของสายพันธุ์ที่ได้รับ อย่างไรก็ตามหากพิจารณาจากสภาพความเป็นจริงในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทย ความเสียหายส่วนใหญ่ของการติดเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอสจะเกิดอย่างรุนแรงในสุกรหย่านม การพยายามใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นเพื่อการปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตสุกรขุนอาจเป็นเรื่องที่ไม่คุ้มค่าต่อการลงทุน เนื่องจากการพัฒนาภูมิคุ้มกันชนิด SN ที่ล่าช้า สุกรอนุบาลส่วนใหญ่มักมีการติดเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอสตามธรรมชาติและเกิดการป่วยจากการติดเชื้อแทรกซ้อนไปแล้ว หรือหากลักษณะของฝูงมีการติดเชื้อล่าช้าจริงๆ โดยมีการติดเชื้อหลังจากสุกรได้พัฒนาภูมิคุ้มกันจากวัคซีนไปแล้ว (ใช้เวลาประมาณ 42 วันโดยเฉลี่ยจากการทดลอง) จะเห็นได้ว่าในสุกรอายุมาก สุกรจะมีความทนทานต่อโรคได้แล้ว โดยจากการทดลองจะเห็นได้ว่ายิ่งสุกรมีอายุมากขึ้นความสามารถ ในการขจัดเชื้อจะค่อนข้างรวดเร็วและแทบไม่มีอาการป่วยจากการติดเชื้อไวรัสเลย[27] อย่างไรก็ตามหากมีความจำเป็นในการใช้วัคซีนพี อาร์ อาร์ เอส ชนิดเชื้อเป็นเพื่อลดความสูญเสีย ควรพิจารณาทำวัคซีนชนิด autogenous vaccine ที่ใช้ไวรัสจากในฟาร์มนั้นๆ มาใช้เป็นวัคซีน เพราะมีความใกล้เคียงกันของ

แอนติเจน ทำให้ เกิดความคุ้มโรคต่อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ดังกล่าวในฟาร์ม ทั้งนี้ การศึกษาเรื่องความเหมาะสมของการใช้วัคซีน พี อาร์ อาร์ เอส ยังคงต้องมีการศึกษาต่อไป รวมทั้งการศึกษาความปลอดภัยของการใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นในฝูงสุกร แม่พันธุ์

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก กองทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษาในสถาบันอุดมศึกษาของรัฐ ทบวงมหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2547 และจากบริษัท Hipra Laboratorios (Girona, Spain) คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ. น.สพ. ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์ ที่ให้คำแนะนำการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านสถิติ ผศ. สพ.ญ. ดร. นารีรัตน์ วิเศษกุล ที่ให้คำแนะนำเทคนิคการทำงานทางด้านอณูชีววิทยา คุณสมควร ชูวรรธนะปกรณ์ รองกรรมการผู้จัดการธุรกิจสุกร บริษัทเจริญโภคภัณฑ์ และฟาร์มท่าจาม ฉะเชิงเทรา ที่ให้ความอนุเคราะห์สุกรทดลอง หน่วยพยาธิวิทยา และหน่วยไวรัสวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา และหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทำการวิจัย สารเคมี อุปกรณ์ และเทคนิคในการทำงาน

เอกสารอ้างอิง

1. Keffaber KK. Reproductive failure of unknown etiology. Am Assoc Swine Pract Newsl 1989; 1:1-10.
2. Wensvoort G, Terpstra C, Pol JMA, ter Laak EA, Bloemraad M, de Kluyver EP, Broekhuijsen JM, et al. Mystery swine disease in the Netherlands: the isolation of Lelystad virus. Vet Q 1991;13:121–30.
3. Albina E. Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an overview. Vet Microbiol 1997;55:309-16.
4. Snijder EJ, Meulenberg JJM. The molecular biology of arteriviruses. J Gen Virol 1998;79: 961-79.
5. Prieto C, Castro JM. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in the boar: a review. Theriogenology 2004;63:1-16.
6. Thanawongnuwech R, Halbur PG, Thacker EL. The role of pulmonary intravascular macrophages in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. Anim Health Res Rev 2000a;1:95-102.
7. Thanawongnuwech R, Thacker EL, Halbur PG. Influence of pig age on virus titer and bactericidal activity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-infected pulmonary intravascular macrophages (PIMs). Vet Microbiol 2000b;63:177-87.
8. Damrongwatanapokin S, Arsayuth K, Kongkrong C, Parchariyanon S, Pinyochon W, Tantaswasdi U. Serological studies and isolation of porcine reproductive and respiraory syndrome(PRRS) virus in Thailand. J Thai Vet Med Assoc 1996a;47:19-31.
9. Damrongwatanapokin S, Patchimasiri T, Parchariyanon S, Pinyochon W, Tantaswasdi U. Experimental inoculation of porcine reproductive and and respiratory syndrome(PRRS) virus (local strain) in weaning pigs. J Thai Vet Med Assoc 1996b;47:23-34.
10. Oraveerakul K, Punarriwatana D, Luengyosluechakul S, Tuntasuparak W, Kunavongkrit A. The seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus among swine breeding farms in the central and north-eastern part of Thailand. J Thai Vet Med Assoc 1995;25:233-40.

11. Luengyosluechakul S, Kunavongkrit A, Oraveerakul K, Nuntaprasert A, Inchaisri C. An incidence of abortion in a PRRS positive breeding farm. J Thai Vet Med Assoc 1995; 25:244-50.
12. สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย. แนวทางการปฏิบัติงานทางคลินิกต่อปัญหาโรคพี อาร์ อาร์ เอส สำหรับฟาร์มสุกรในประเทศไทยครั้งที่ 2;2549.
13. Kwang J, Zuckermann F, Ross G, Yang S, Osorio F, Liu W, et al. Antibody and cellular immune responses of swine following immunization with plasmid DNA encoding the PRRS virus ORF's 4,5,6 and 7. Res Vet Sci 1999;67:199-201.
14. Plana-Duran J, Bastons M, Urniza A, Vayreda, M, Vila X. Mane H. Efficacy of an inactivated vaccine for prevention of reproductive failure induced by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Vet Microbiol 1998;55: 361-70.
15. Mengeling WL, Vorwald AC, Lager KM, Clouser DF, Wesley RD. Identification and clinical assessment of suspected vaccine-related field strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Am J Vet Res 1999b;60:334-40.
16. Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC. Safety and efficacy of vaccination of pregnant gilts against porcine reproductive and respiratory syndrome. Am J Vet Res 1999c;60:796-801.
17. Wesley RD, Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC, Roof MB. Evidence for divergence of restriction fragment length polymorphism patterns following in vivo replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Am J Vet Res 1999;60463-7.
18. Suradhat S, Thanawongnuwech R, Poovorawan Y. Upregulation of IL-10 gene expression in porcine peripheral blood mononuclear cells by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. J Gen Virol 2003;84:453-9.
19. Suradhat S, Thanawongnuwech R. Upregulation of interleukin-10 gene expression in the leukocytes of pigs infected with porcine reproductiove and respiratory syndrome virus. J Gen Virol 2003;84:2755-60.
20. Nilubol D, Platt KB, Halbur PG, Torremorell M, Harris DL. The effect of a killed porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine treatment on virus shedding in previously PRRSV infected pigs. Vet Microbiol 2004;102:11-8.
21. Swenson SL, Hill HT, Zimmerman JJ, Evans LE, Wills RW, Yoon KJ, et al. Preliminary assessment of an inactivated PRRS virus vaccine on the excretion of virus in semen. Swine Health Prod 1995;3:244-7.
22. Nielsen TL, Nielsen J, Have P, Baeko P, Jorgensen RH, Botner A. Examination of virus shedding in semen from vaccinated and from previously infected boars after experimental challenge with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Vet Microbiol 1997;54:101-1.
23. Mateu E, Martin M, Vidal D. Genetic diversity and phylogenetic analysis of glycoprotein 5 of European-type porcine reproductive and respiratory virus strains in Spain. J Gen Virol 2003;84:529-34.
24. Thanawongnuwech R, Amonsin A, Tatsanakit A, Damrongwatanapokin S. Genetics and geographic variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Thailand. Vet Microbiol 2004;101:9-21.

25. Halbur PG, Paul PS, Frey ML, Landgraf J, Eernisse K, Meng XJ, Lum MA, Andrews JJ, Rathje JA. Comparison of the pathogenicity of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. Vet Pathol1995;32: 648-60.
26. Halbur PG, Paul PS, Frey ML, Landgraf J, Eernisse K, Meng XJ, et al. Comparison of the antigen distribution of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. Vet Pathol 1996;33:159-70.
27. Thanawongnuwech R, Halbur PG, Ackermann MR, Thacker EL, Royer RL. Effect of low (modified-live virus vaccine) and high (VR-2385) virulence strains of porcine reproductive and respiratory virus (PRRSV) on pulmonary clearance of copper particles in pigs. Vet Pathol 1998;35:398-406.
28. ศศิวิมล ตะลุ่มมุข, จักรี รัตนารามิก, นิดา นพรัตน์ไกรลาส, สว่าง เกษแดงสกลวุฒิ, สุประดิษฐ์ หวังในธรรม, รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช. การศึกษาพยาธิกำเนิดของไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยในสุกรอนุบาล. เวชสารสัตวแพทย์ 2547;34:33-44.
29. Nielsen J, Botner A. Hematological and immunological parameters of 4 month old pigs infected with PRRS virus. Vet Microbiol 1997; 55:289-94.
30. Wagstrom EA, Chang CC, Yoon KJ, Zimmerman JJ. Shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in mammary secretions of sows. Am J Vet Res 2002;62:1876-80.
31. Mengeling WL, Lager KM, Vorwald AC, Koehler KJ. Strain specificity of the immune response of pigs following vaccination with various strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Vet Microbiol 2003;93:13-24.
32. Labarque G, Gucht SV, Reeth KV, Nauwynck H, Pensaert M. Respiratory tract protection upon challenge of pigs vaccinated with attenuated porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines. Vet Microbiol 2003;95:187-97.
33. Verheije MH, Kroese MV, van der Linden IFA, de Boer-Luijtze EA, van Rijn PA, Pol JMA, et al. Safety and protective efficacy of porcine reproductive and respiratory syndrome recombinant virus vaccines in young pigs. Vaccine 2003;21:2556-63.
34. Lopez OJ, Osorio FA. Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. Vet Immunol Immunopathol 2004;102:155-63.
35. Takikawa N, Kobayashi S, Ide S, Yamane Y, Tanaka Y, Higashihara M, et al. Early serodiagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of pigs by Detedetection of slow-reacting and complement-requiring neutralizing antibodyVet Med Sci 1997;59:31-4.
36. Botner A, Nielsen J, Oleksiewicz MB, Storgaard T. Heterologous challenge with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) vaccine virus: no evidence of reactivation of previous European-type PRRS virus infection. Vet Micribiol 1999;68:187-95.
37. Labarque G, Reeth KV, Nauwynck H, Drexler C, Gucht SV, Pensaert M. Impact of genetic diversity of European-type porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains on vaccine efficacy. Vaccine 2004;22:4183-90.
38. Dee SA, Joo H. Strategies to control PRRS: a summary of field and research experiences. Vet Microbiol 1997;55:347-53.

39. Hesse RA, Couture LP, Lau ML, Wasmoen TL. Efficacy of prime Pac PRRS in controlling PRRS respiratory disease: homologous and heterologous challenge. In: Proceeding of the 28th Ann. Meeting of Am Assoc Swine Pract Quebec City Que 1997;137-141.
40. Lager KM, Mengeling WL. Current status of vaccines and vaccination for porcine reproductive and respiratory syndrome. In: Proceeding of the 28th Ann Meeting of Am Assoc Swine Pract Quebec Canada 1997;443-6.
41. Christopher-Hennings J, Nelson EA, Nelson JK, Benfield DA, Hennings JC. Effects of a modified-live virus vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in boars. Am J Vet Res 1997;58:40-45.
42. Van Woensel PA, Liefkens K, Demaret S. European serotype PRRSV vaccine protects against European serotype challenge whereas an American serotype vaccine does not. Adv Exp Med Biol 1998; 440:713-8.
43. Osorio FA, Zuckermann F, Wills R, Meier W, Christian S, Galeota J, Doster A. PRRSV: comparison of commercial vaccines in their ability to induce protection against current PRRSV strains of high virulence. 1998 Allen D. Leman Swine Conference,1998:25:176-82.
44. Madsen KG, Hanse CM, Madsen ES, Strandbygaard B, Botner A, Sorensen KJ. Sequence analysis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus of the American type collected from Danish swine herds. Arch Virol 1998;142:1683-700.
45. Mavromatis L, Kritas SK, Alexopoulos C, Tsinas A, Kyriakis SC. Field evaluation of a live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in fattening pigs. Zentralbl Veterinarmed 1999;46:603-12.
46. Mengeling WL, Lager KM, Wesley RD, Clouser DF, Vorwald AC, Roof MB. Diagnostic implications of concurrent inoculation with attenuated and virulent strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Am J Vet Res 1999a;60:119-22.
47. Lager KM, Mengeling, Wesley RDWL. Strain predominance following exposure of vaccinated and naive pregnant gilts to multiple strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Can J Vet Res 2003;67: 121-7.
48. Dewey CE, Wilson S, Buck P, Leyenaar JK. Effects of porcine reproductive and respiratory syndrome vaccination in breeding-age animals. Prev. Vet Med 2004;62:299-307.