บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคอหิวาต์สุกรหรือ Classical Swine Fever (CSF) เป็นโรคระบาดร้ายแรงที่ทำความเสียหายให้แก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรอย่างมาก เนื่องจากสุกรทุกอายุและสายพันธุ์เป็นโรคนี้ได้ สาเหตุของโรคนี้เกิดจากไวรัสอหิวาต์สุกร (CSFV) เป็น single stranded RNA จัดอยู่ในตระกูล Flaviviridae จีนัส Pestivirus (Francki et al., 1991) ซึ่งเชื้อในกลุ่มดังกล่าวยังรวมถึง Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) ในโค และ Border Disease Virus (BDV) ในแพะแกะ (Moennig, 1992) เนื่องจากเชื้อในกลุ่มนี้มีความคล้ายคลึงกันในด้านลักษณะ รูปร่าง และความเป็นแอนติเจน (Moennig, 1992) จึงทำให้มีความยุ่งยากในการแยก CSFV ออกจากไวรัสในกลุ่มนี้ ดังนั้นในการวินิจฉัยโรคจึงนิยมใช้ความจำเพาะของ Monoclonal Antibody (Mab) ในการวิเคราะห์ (Wensvoort et al., 1989; Edwards et al., 1991)

โรคอหิวาต์สุกรนี้ยังคงเป็นปัญหาและมีการแพร่ระบาดทุกปี ทั้งเชื้อที่เป็นชนิดรุนแรงและชนิดเรื้อรัง ซึ่งปัจจัยที่มีผลในการควบคุมและป้องกันโรคให้หมดไปนั้นมีหลายด้าน เช่น การศึกษาถึงแหล่งที่มา วิวัฒนาการ ระบาดวิทยาของเชื้อ และการชันสูตรโรคที่รวดเร็วถูกต้อง การวินิจฉัยโรคอหิวาต์สุกรสามารถแบ่งได้เป็น การวินิจฉัยโรคเบื้องต้น และการวินิจฉัยโรคในห้องปฏิบัติการ เมื่อเกิดการระบาดขึ้นการวินิจฉัยโรคเบื้องต้นต้องอาศัยข้อมูลทางด้านระบาดวิทยาร่วมกับการสังเกตอาการ การตรวจซากภายนอกและการผ่าซากดูรอยโรคของอวัยวะภายใน การวินิจฉัยโรคเบื้องต้นโดยการสังเกตอาการและรอยโรคนั้นอาจทำให้สับสนกับโรคอื่นได้เนื่องจากอาการที่พบดังกล่าวอาจเกิดจากการติดเชื้อแทรกซ้อนจากจุลชีพกลุ่มอื่นหรือจากการติดเชื้อจุลชีพอื่นที่มีอาการหรือให้รอยโรคคล้ายคลึงกัน ดังนั้นการตรวจหาสาเหตุของโรคจึงมักอาศัยวิธีทางห้องปฏิบัติการในการวินิจฉัย ซึ่งมักใช้การตรวจหาแอนติเจนของไวรัสโดยตรง หรือการเพาะแยกไวรัสโดยเพิ่มจำนวนในเซลล์เพาะเลี้ยงที่เหมาะสม หรือการตรวจหาระดับของแอนติบอดีต่อไวรัสอหิวาต์สุกรจากสิ่งส่งตรวจนั้น ๆ อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวอาจต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์ผลอย่างน้อย 1 สัปดาห์ และผลจากการตรวจหาระดับแอนติบอดีอาจบอกไม่ได้ว่าสุกรมีการติดเชื้อ เนื่องจากสุกรมักได้รับวัคซีน ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาเทคนิคที่มีความจำเพาะ และมีความรวดเร็วสูงมาใช้ในการวินิจฉัยแทน

วิธีการทางห้องปฏิบัติการที่มีการพัฒนาแพร่หลายอย่างมากอีกวิธีหนึ่งคือ Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) ซึ่งเป็นการตรวจวิเคราะห์หาสารพันธุกรรมของไวรัสโดยตรง โดยใช้หลักการของการเพิ่มจำนวนของสารพันธุกรรมเป้าหมายโดยการเลือก primer คู่ที่เหมาะสมและมีความจำเพาะในการตรวจสอบหา CSFV (Katz et al., 1993; Wirz et al., 1993; Harding et al., 1994; Vilcek et al., 1994; Harding et al., 1996) วิธีการ ตรวจด้วย RT-PCR นี้ให้ความไวและความแม่นยำสูง และสามารถทราบผลได้ภายในวันเดียว จึงมีประโยชน์ในการควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดของโรคอย่างมาก

การติดตามสถานภาพภูมิคุ้มกันต่อโรคอหิวาต์สุกรในฟาร์มนั้นเป็นสิ่งสำคัญอีกประการ หนึ่งที่จำเป็นในการควบคุมโรค แต่เนื่องจากในปัจจุบันการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อโรคนี้โดยวิธีทางซีรั่มวิทยาโดยใช้ polyclonal antibody นั้นยังไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการได้รับเชื้อตามธรรมชาติ และจากการได้รับวัคซีนได้ (Vilcek and Belak, 1998) ซึ่งอาจทำได้โดยการใช้ชุดของ monoclonal antibodies ที่เหมาะสมหลาย ๆ ตัวมาวิเคราะห์โครงสร้างแอนติเจน หรือ อาศัยข้อมูลในระดับโมเลกุลของสารพันธุกรรมมาประกอบในการวิเคราะห์ จึงควรที่จะทำการประยุกต์วิธี Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) ซึ่งอาศัยหลักการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ที่มีความจำเพาะมาใช้ในการแยกความแตกต่างของสารพันธุกรรม และตรวจสอบโดย gel electrophoresis ถ้าผลที่ได้นั้นเป็นไปตามที่คาดตามทฤษฎี วิธีการดังกล่าวก็จะสามารถแก้ปัญหานี้ได้ นอกจากนี้การแยกชนิดและวิเคราะห์ CSFV ที่แยกได้ในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศยังให้ประโยชน์ทางด้านข้อมูลทางระบาดวิทยา ซึ่งจะส่งผลให้การติดตามการแพร่กระจายของโรครวมทั้งการควบคุมและป้องกันโรคมีประสิทธิภาพมากขึ้น

งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการวินิจฉัยไวรัสอหิวาต์สุกรด้วยเทคนิค RT-PCR และทำการแยกชนิดและวิเคราะห์พันธุกรรมไวรัสอหิวาต์สุกรจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย รวมทั้งสายพันธุ์วัคซีน โดยวิธี RFLPs และพัฒนาวิธีการแยกความแตกต่างระหว่างไวรัสอหิวาต์สุกรที่แยกได้ในประเทศไทยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์วัคซีน