รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การประเมินมาตรการการป้องกันและควบคุมเชื้อมัยโคพลาสมาในฟาร์มสุกรในประเทศไทย

Evaluation of routine control and preventive strategies of *Mycoplasma* sp. in Thai pig farms

โดย

ณุวีร์ ประภัสระกูล และคณะ

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก เงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล

ประจำปีงบประมาณ 2554

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจาก เงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2554 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ หน่วยแบคทีเรีย สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ และบุคคลากร ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และความสะดวกในการดำเนินการศึกษา

สัญญาเลขที่ GRB_APS_๑๗_๕๔_๓๑_๐๒

ชื่อโครงการวิจัย การประเมินมาตรการของการป้องกันและควบคุมเชื้อมัยโคพลาสมาในฟาร์มสุกรในประเทศไทย

Evaluation of routine control and preventive strategies of *Mycoplasma* sp. in Thai pig farms

ชื่อผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ณุวีร์ ประภัสระกูล[1]
ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช[2]
สัตวแพทย์หญิง เมตตา เมฆานนท์[1]
สัตวแพทย์หญิง พัชรี ทองคำคูน[3]

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2554 **จำนวนเงิน 800,000 บาท**
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี **ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2553 ถึง 1 ตุลาคม 2554**

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อการตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการตรวจเชื้อมัยโคพลาสมาจากสุกรและเพื่อประเมินปัจจัยเสี่ยงจาก การจัดการทั่วไป การทำวัคซีน การให้ยาปฏิชีวนะ ต่อการติดเชื้อระหว่างวิธีการตรวจตัวอย่างโดยตรงด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส (DP) กับวิธีการเพาะเชื้อก่อนการตรวจด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส (CPP) เพื่อตรวจเชื้อมัยโคพลาสมาจากเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน นำตัวอย่างจาก ปอด ทอนซิล และน้ำจากข้อต่อ จำนวนทั้งสิ้น 1024 ตัวอย่างจากสุกรอนุบาล สุกรขุน และสุกรในโรงเชือด เก็บข้อมูลด้านการจัดการ โปรแกรมการป้องกันโรคด้วยแบบสอบถาม ทำการตรวจหาเชื้อ มัยโคพลาสมา ไฮโยนิวโมเนีย (MH), มัยโคพลาสมา ไฮโอซินโนเวีย (MHS) และ มัยโคพลาสมา ไฮโอไรนิส (MHR) ด้วยทั้ง 2 วิธี ในภาพรวม ความชุกของเชื้อเท่ากับ63.5-82.8%, 7.7-15.6% and 1.5-7.9% ตามลำดับ **พบความสัมพันธ์ระหว่างรอยโรคที่ข้อต่อกับการตรวจพบเชื้อ MHR ด้วยวิธี DP แต่ไม่พบสำหรับการตรวจด้วย CPP สำหรับเชื้อ MHR และ MH ปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการพบเชื้อมัยโคพลาสมาที่ปอดได้แก่การคลุกหมูสาวกับสุกรแม่,ระบบการจัดการแบบ one site และ ระบบ non all in all out ในสุกรขุน ตรวจพบเชื้อ MHS ในทอนซิล และ MHR ที่ช่องจมูกเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับการทำวัคซีนป้องกันโรค PRRS ในสุกรสาว การทำวัคซีนป้องกัน MH สามารถลดการปรากฏของเชื้อ MH ที่ปอดได้ การให้ยาต้านจุลชีพในสุกรแม่และสุกรขุนจะช่วยลดการปรากฏของเชื้อ MHS ในทอนซิลได้ สรุปการวิจัยในครั้งนี้คืออัตราการตรวจพบเชื้อแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างและกระบวนการตรวจ การจัดการให้สุกรลดการสัมผัสโดยตรงด้วยกระบวนการจัดการที่เหมาะสมจะช่วยลดการติดเชื้อมัยโคพลาสมาที่ปอดได้ การให้ยาเพื่อป้องกันเชื้อสามารถช่วยลดการติดเชื้อที่ทอนซิลได้ และการทำวัคซีนสามารถควบคุมการติดเชื้อที่ปอดได้ในทางปฏิบัติ แต่ไม่มีผลข้ามสายพันธุ์ของมัยโคพลาสมา**

[1] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2218-9581 Email: Nuvee.P@chula.ac.th

[2] ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2218-9615

[3] สถาบันสุขภาพสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900 โทร 0-2579-8908-14

Abstract

The aim of this study was to investigate the accuracy of procedure for porcine mycoplasma detection and to evaluate the risk factors including management,vaccination and medication on the occurrence of porcine mycoplasmas. A total of 1024 samples obtained from lungs, tonsils or synovial fluids from of nursery, finisher pigs and slaughtered pigs were used. Data on management and prophylactic program were recorded by questionnaires. The rates of detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* (MH), *Mycoplasma hyosynoviae* (MHS) and *Mycoplasma hyorhinis* (MHR) using both procedures were evaluated. The overall prevalences of MH, MHS and MHR were 63.5-82.8%, 7.7-15.6% and 1.5-7.9%, respectively. There was a significant relationship between joint lesion and MHR detection by directed PCR, but not for MHS and MHR detected by culture prior to PCR (CPP). The factors related the increase of mycoplasmal detection from lungs were gilt acclimatization with sow donor the one-site management and no all-in all-out in the fattening unit. The occurrence of MHA (tonsils) and MHR (nasal swab) were increasingly detected at the practice of PRRSV vaccination in gilt acclimatization. MH vaccination reduced the occurrence of MH. The medication during sow and nursery period reduced the occurrence of MHR isolated from slaughtered lungs. The antimicrobial medication during sucking and fattening periods reduced the occurrence of MHS isolated from tonsils. In conclusions, the accuracy of mycoplasmal detection may depend upon the type of sample relevant to the detection procedure used. The management to avoid pig direct contact practically reduced the lung infection of *Mycoplasma* spp but not for heterologous species.

สารบัญเรื่อง

กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อ	ii
Abstract	iii
สารบัญเรื่อง	iv
สารบัญตาราง	v
สารบัญตารางในภาคผนวก	iv
บทนำ	1
อุปกรณ์และวิธีการ	6
ผลการทดลอง	9
บทวิจารณ์	21
สรุปผลการดำเนินการในภาพรวม	24
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก	30

1. แบบสอบถามด้านการจัดการฟาร์ม การใช้ชีวภัณฑ์และเวชภัณฑ์
2. เอกสารตีพิมพ์ในระดับนานาชาติ

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนและชนิดของตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองแยกตามฟาร์ม 7
ตารางที่ 2 การจัดการของฟาร์ม 9 ฟาร์มที่เก็บตัวอย่าง 10
ตารางที่ 3 ผลการเพาะเชื้อมัยโคพลาสมาจากอวัยวะของสุกร 11
ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยรอยโรคจากปอดและผลการตรวจเชื้อมัยโคพลาสมาที่เพาะได้ในฟาร์ม 9 ฟาร์ม 12
ตารางที่ 5 ผลการตรวจเชื้อมัยโคพลาสมาที่เพาะได้จากทอนซิล 13
ตารางที่ 6 ผลการตรวจอาการข้อบวมกับการพบเชื้อมัยโคพลาสมาที่เพาะจากน้ำในข้อของสุกรจากโรงฆ่า 14
ตารางที่ 7 ภาพรวมอุบัติการณ์ของเชื้อมัยโคพลาสมาที่แยกได้จากสุกรในแต่ละฟาร์มแบบการศึกษาระยะยาวต่อเนื่อง 15
ตารางที่ 8 เปรียบเทียบอุบัติการณ์ของเชื้อมัยโคพลาสมาทั้ง 3 ชนิดจากฟาร์ม B และ F ในแต่ละฤดูกาลที่การสำรวจ 16
ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงด้านข้อมูลทั่วไปต่อการพบเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกร 17
ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงด้านอาการและรอยโรคต่อการพบเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกร 18
ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงด้านการจัดการต่อการพบเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกร 19
ตารางที่ 12 การเปลี่ยนแปลงของจำนวน *M. hyorhinis* ในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง 20

สารบัญตารางในภาคผนวก

ตารางที่ 1 **ข้อมูลการใช้ยาปฏิชีวนะในสุกรแยกตามความแตกต่างของช่วงอายุ และวิธีการให้ยา** 30
ตารางที่ 2 วิธีใช้และชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในสุกรพันธุ์ 31
ตารางที่ 3 ข้อมูลยาปฏิชีวนะผสมอาหารและชนิดของยาที่ใช้ในสุกรขุน 32
ตารางที่ 4 ข้อมูลยาละลายน้ำ ยาฉีดและชนิดของยาที่ใช้ในสุกรขุนฟาร์ม 9 ฟาร์ม 34
ตารางที่ 5 ผลการตรวจอาการข้อบวมและเชื้อมัยโคพลาสมาที่เพาะจากช่องจมูก 35
ตารางที่ 6 ข้อมูลเปรียบเทียบ การจัดการและการใช้ยาปฏิชีวนะของฟาร์ม 2 ฟาร์มที่เก็บตัวอย่างต่อเนื่อง 36
ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงด้านการใช้วัคซีนและยาป้องกันโรคต่อการพบเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกร37
ตารางที่ 8 การเปลี่ยนแปลงของจำนวน *M. hyopneumoniae* ในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง 38
ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงของจำนวน *M. hyosynoviae* ในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง 39

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ม่าการวิจัย และทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

ปัญหาของปอดอักเสบจากเชื้อมัยโคพลาสมาเกิดจาก *Mycoplasma hyopneumoniae* เป็นปัญหาของระบบทางเดินหายใจที่สร้างความเสียหายมากที่สุดในฟาร์มสุกรเมื่อเทียบกับปัญหาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียอื่นๆเช่น *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis*, และ *Haemophilus parasuis* เป็นต้น การป้องกันโรคมัยโคพลาสมาในปัจจุบันทำได้โดยการฉีดวัคซีนป้องกันในสุกรขุนเป็นจำนวนมากถึง 65% ของสุกรขุนที่เลี้ยงทั้ง หมด คิดเป็นมูลค่าราว 124.8 ล้านบาท (Market Information, 2007, AHPA) นอกจากนี้ยังมีการใช้ยาปฏิชีวนะหลายชนิดในการรักษาและควบคุมโรคในฟาร์มที่มีการเลี้ยงอย่างหนาแน่น ในสหรัฐอเมริกาพบว่าเฉพาะค่าใช้จ่ายที่ต้องใช้เพื่อควบคุมโรคปอดอักเสบจากเชื้อ *Mycoplasma hyopneumoniae* ในฟาร์มสุกรสูงมีมูลค่าสูงถึง 1,000 ล้าน ดอลล่าร์สหรัฐฯ ต่อปี โรคปอดอักเสบจากมัยโคพลาสมาก่อให้เกิดโรคทางเดินหายใจซ้ำซ้อนหรือโรค พี อาร์ ดี ซี (Porcine Respiratory Disease Complex, PRDC) ที่คงอยู่มานานและมีการระบาดอย่างต่อเนื่อง การสร้างมาตรการในการควบคุมและกำจัดเชื้อเป็นไปได้ยากมาก เนื่องจากมีการติดต่อได้หลายทางโดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดต่อทางการหายใจ และเชื้อมีความคงทนเมื่ออยู่ในเศษอินทรีย์ในฟาร์ม ปัจจุบันการเกิดโรค PRDC มีความรุนแรงมากขึ้นและบางครั้งการทำวัคซีนไม่ได้ผลดี เนื่องมาจากมีการแพร่กระจายของไวรัสชนิด Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) ร่วมกัน การเกิดร่วมกันของ PRRS และมัยโคพลาสมานี้ทำให้เกิดความสูญเสียของฟาร์มสุกรในทุกขนาดฟาร์มมากขึ้น

ปัญหาจากมัยโคพลาสมาไม่ได้มีเพียงผลต่อระบบหายใจเท่านั้น ในหลายประเทศที่มีการเลี้ยงสุกรเชิงอุตสาหกรรม ได้แก่ เดนมาร์ก เบลเยี่ยม สหรัฐอเมริกา และไต้หวัน เป็นต้น มีการสำรวจพบมัยโคพลาสมาชนิดอื่นที่ก่อโรคและนำความเสียหายมาสู่ฟาร์มสุกร ได้แก่ *Mycoplasma hyosynoviae* และ *Mycoplasma hyorhinis* มัยโคพลาสมาชนิดอื่นๆ นี้ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาข้อบวมอักเสบในสุกรหย่านมถึงสุกรขุนและสุกรพันธุ์ โดยที่วัคซีนป้องกันมัยโคพลาสมาที่มีใช้ในปัจจุบัน ไม่ได้มีผลป้องกันเชื้อทั้งสองชนิดนี้

การเพาะแยกเชื้อมัยโคพลาสมาต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญ ตลอดจนเครื่องมือและอุปกรณ์พิเศษ เนื่องจากมัยโคพลาสมา เป็น เชื้อขนาดเล็กที่ไม่มีผนังเซล ต้องการอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะและสภาวะอากาศพิเศษในการเจริญเติบโต อีกทั้งเป็นเชื้อที่เจริญเติบโตช้า ทั้งๆที่เชื้อนี้ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจแต่ในประเทศไทยการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อนี้กลับมีไม่มากนัก อีกทั้งข้อมูลการติดเชื้อร่วมระหว่างมัยโคพลาสมาชนิดอื่นๆ เช่น *Mycoplasma hyosynoviae* และ *Mycoplasma hyorhinis* ยังไม่ปรากฏ ดังนั้นการจะลดปัญหาโรคในระบบทางเดินหายใจและกลุ่มอาการข้อบวมในสุกรแต่ละช่วงอายุ หรือการหาความสัมพันธ์ของอัตราการการเกิดโรคระบบทางเดินหายใจซ้ำซ้อนต่อระบบการเลี้ยง การให้ยาปฏิชีวนะ และโปรแกรมการทำวัคซีนได้ จำเป็นต้องมีการศึกษาอย่างลึกซึ้งถึงประสิทธิภาพของระบบการป้องกันละควบคุมโรคในฟาร์มในประเทศไทย ทั้งระบบอุตสาหกรรมการผลิตสุกรขนาดใหญ่ และระบบการเลี้ยงของเกษตรกรรายย่อยในประเทศไทย การวิเคราะห์ข้อมูลการเกิดโรค การจัดการทั้งหมด และการพิสูจน์ทางห้องปฏิบัติการทั้งหมดจะช่วยให้มีการพัฒนาอย่างยั่งยืนของการเลี้ยงสุกรในประเทศ และการสร้างมาตรการการป้องกันเชื้ออย่างเหมาะสมตามภูมิศาสตร์และแบบแผนการเลี้ยงของวิถีไทยอย่างแท้จริง

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาความชุกและความหลากหลายของเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกรแต่ละช่วงอายุ และพยาธิสภาพที่เกิดจากการติดเชื้อในธรรมชาติ

2.2 เพื่อศึกษารูปแบบการดื้อยาของเชื้อมัยโคพลาสมาที่ได้จากสุกรที่อายุต่างกันต่อยาปฏิชีวนะ 6 ชนิด

2.3 เพื่อประเมินระบบการจัดการฟาร์มที่มีผลต่อการควบคุมและป้องกันโรคที่เกิดจากมัยโคพลาสมา

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่นำผลวิจัยไปใช้ประโยชน์

การวิเคราะห์ประเมินมาตรการการควบคุมโรคที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน จะเป็นแนวทางในการวางมาตรการที่เหมาะสมอย่างแท้จริงของการเลี้ยงสุกรในประเทศไทย ผู้ที่ได้ประโยชน์จากงานวิจัยคือกลุ่มเกษตรกรที่เลี้ยงสุกร อุตสาหกรรมการผลิตสุกร ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลจะทำให้ทราบถึงสถานภาพของการติดเชื้อในฟาร์ม ประสิทธิภาพของยาที่ใช้อยู่ การเลือกใช้ยาอย่างเหมาะสม การจัดการที่มีอยู่เหมาะสมที่สุดหรือไม่ จะสามารถเพิ่มมูลค่าในการผลิตสุกรในระยะยาวได้

4. ทฤษฎี สมมติฐานหรือกรอบแนวความคิด (conceptual Framework) ของโครงการวิจัย

การขยายตัวของอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรเป็นไปอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะในเอเชียแปซิฟิกที่มีจำนวนสุกรส่งเข้าโรงเชือดต่อปีสูงถึง 55% ของสุกรทั่วโลก การเพิ่มขึ้นนี้ เพิ่มทั้งจำนวนสุกรและน้ำหนักก่อนส่งโรงฆ่า นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนฟาร์มรายย่อยลดลง ในขณะที่ฟาร์มขนาดใหญ่เพิ่มมากขึ้น และมีการเลี้ยงที่เป็นระบบอุตสาหกรรมมากขึ้น โดยสังเกตได้จากจำนวนสุกรที่ผลิตได้ในประเทศมาจากระบบฟาร์มในอุตสาหกรรมคิดเป็นสัดส่วนถึง 80% โดย 56% มาจากฟาร์มที่มีแม่สุกรเกิน 1000 แม่ (Cameron, 2000)

ในระบบการเลี้ยงเชิงอุตสาหกรรม สุกรจะมีการแบ่งช่วงอายุเพื่อให้ง่ายต่อการจัดการและการให้อาหาร โดยลูกสุกรหย่านมที่อายุ 3-4 สัปดาห์ เข้าสู่ระยะอนุบาลจนอายุ 10 สัปดาห์ จึงเข้าสู่ระยะขุนที่อายุ 11 สัปดาห์ถึงขายส่งโรงเชือดที่อายุ 24-25 สัปดาห์ ในระยะขุนที่อายุ 13-14 สัปดาห์แบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ ระยะสุกรเล็ก (อายุ 11-14 สัปดาห์) ระยะสุกรรุ่น (อายุ15-18 สัปดาห์) และระยะสุกรขุนใหญ่ (อายุ 19 สัปดาห์ขึ้นไป) ในแต่ละรุ่นจะมีการจัดการ อาหารและความเสี่ยงต่อโรคต่างกัน

โรคจากเชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นปัญหาต่อทางเดินหายใจสุกร ได้แก่ Enzootic Pneumonia (*Mycoplasma hyopneumoniae*), Pasteurellosis (*Pasteurella multocida* Type A, D, B_2), Porcine Pleuropneumonia (*Actinobacillus pleuropneumoniae*), Glassers Disease (*Haemophilus parasuis*), *Streptococcus* Meningitis (*Streptococcus suis* Type 2) (Cameron, 2000)

Mycoplasma hyopneumoniae เป็นเชื้อแบคทีเรีย ใน Class *Mollicutes* ที่มีขนาดเล็กที่สุด ไม่มีผนังเซลล์ มีลักษณะทั่วไปคล้ายแบคทีเรียแกรมบวก มักก่อปัญหาร่วมกับ PRRSV ทำให้เกิดปัญหาโรคทางเดินหายใจซ้ำซ้อน (Porcine Respiratory Disease Complex) สุกรที่ป่วยด้วย Enzootic Pneumonia จะมีอาการเรื้อรัง ไอ หายใจลำบาก การป่วยที่เกิดจากเชื้อก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจเนื่องจากอัตราการแลกเนื้อและอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่ามาตรฐาน เนื่องจากปอดอักเสบจาก *Mycoplasma* เป็นโรคเรื้อรังแต่มีการแพร่กระจายได้ง่าย (Cameron, 2000; Maes et al., 2008; Ross and Karmon, 1970 และ Thacker et al., 1999) แม้มีการทำวัคซีนป้องกันโรคแก่ลูกสุกร แต่ยังพบว่าสุกรที่ทำวัคซีนมีการพบเชื้อที่ปอดไม่ต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้ทำวัคซีนอย่างมีนัยสำคัญ (Guiterrez-Martin et al., 2006)

นอกจากปัญหาโรคทางเดินหายใจแล้ว ยังมีมัยโคพลาสม่าอื่นที่พบในสุกร ได้แก่ *Mycoplasma hyosynoviae* และ *Mycoplasma hyorhinis* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคข้ออักเสบในสุกร โดยมักพบในสุกรต่างอายุกัน คือ ก่อให้เกิดอาการ polyserositis and polyarthritis *M. hyorhinis* ในสุกรอายุน้อย ขณะที่พบ *M. hyosynoviae* ซึ่งทำให้เกิดข้ออักเสบในสุกรขุนอายุ 3 เดือนขึ้นไป (Hagedorn et al., 1999, Magnusson et al., 1998 และ Sokoloff, 1973) *M. hyosynoviae* เป็นเชื้อแบคทีเรีย ใน Class *Mollicutes* เช่นเดียวกับ *M. hyopneumoniae* แต่มีรายละเอียดบางประการที่แตกต่างกัน เช่น ลักษณะของโคโลนี แม้ว่าจะคล้ายกันกับมัยโคพลาสม่าอื่น แต่มีลักษณะพิเศษที่เกิด Film and Spot บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ลักษณะนี้จะทำให้มีรอบย่นเกิดขึ้นบริเวณรอบโคโลนี จากการทดลอง สุกรที่ถูกเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ *M. hyosynoviae* สามารถตรวจพบเชื้อได้จากเลือด ทอนซิล ข้อต่อและอวัยวะภายในต่างๆ เช่น ต่อม น้ำเหลือง ม้าม ปอดและไต เป็นต้น ทำให้ทราบว่าเชื้อนี้มีภาวะ systemic infection ซึ่งต่างจาก *M. hyopneumoniae* ที่มักพบในทางเดินหายใจเท่านั้น (Kobayashi et al., 1996 และ Ross and Kermon, 1970) ในเดนมาร์ก *M. hyosynoviae* ได้รับการยอมรับว่าเป็นตัวการสำคัญในการก่อ acute and severe lameness ในสุกรรุ่น-ขุน ในขณะที่มีข้อมูลการศึกษาใหม่ที่สามารถเหนี่ยวนำให้สุกรอายุเพียง 6 สัปดาห์(สุกรอนุบาล) เกิดอาการขาเจ็บได้ จากการฉีดเชื้อเข้าทางจมูก (Lauritsen et al., 2008)

การใช้ยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial medication) สำหรับการเลี้ยงสัตว์แบบอุตสาหกรรม ที่ต้องการผลผลิตออกสู่ตลาดตามเวลาที่กำหนด ในคุณภาพและจำนวนที่ตลาดต้องการ เป็นสิ่งที่มีความจำเป็น แม้ในบางประเทศจะมีการหยุดใช้ยาต้านจุลชีพ สำหรับสัตว์ที่เลี้ยงเพื่อการบริโภค (food animals) การควบคุมโรคที่ยังไม่แสดงอาการชัดเจนโดยใช้ยาต้านจุลชีพเป็นสิ่งที่ได้ปฏิบัติกันอยู่ทั่วไป โดยมักใช้ในรูปผสมอาหารเพื่อมุ่งเน้นประโยชน์ด้านการรักษา ดังเช่นในประเทศสหราชอาณาจักร องค์กร The British Pig Executive ได้มีการวางแผน Zoonoses Action Plan มีเป้าหมายเพื่อควบคุม *Salmonella* Typhimurium ซึ่งเป็นเชื้อที่แพร่สู่คนทางห่วงโซ่อาหารจากอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรได้ โดยการควบคุมโรคต่างๆในฟาร์มโดยการจัดการอย่างมีสุขอนามัย การดูแลด้านอาหาร การจัดการและการจัดการตามระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ ร่วมกับการใช้ยาอย่างชาญฉลาด(prudent use) ซึ่งมีผลทำให้สถานการณ์ของการดื้อยาไม่เพิ่มขึ้น และสามารถควบคุมโรคได้ (Burch, 2005 และ Phillips et al., 2004)

กรณีสำหรับเชื้อ *Mycoplasma* พบว่ามีการใช้ยาต้านจุลชีพหลากหลายกลุ่มเพื่อใช้แก้ปัญหาการติดเชื้อได้แก่ pleuromutilins (tiamulin และ valnemulin), tetracycline (chlortetracycline และ oxytetracycline), macrolides (tylosinและ tilmicosin), lincosamides (lincomycin), fluoroquinolones (enrofloxacin) เป็นต้น โดยใช้เดี่ยวๆ หรือใช้ร่วมกันตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป ตามระยะเสี่ยงต่อการติดโรค (Burch, 2005; Mae et al., 2008; Phillips et al., 2004 และ Stipkovit et al., 2001)

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาผลของความไวรับต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Mycoplasma* ในการศึกษาในปัจจุบัน พบรายงานการดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อ *Mycoplasma* ดังการศึกษาของ Vicca และคณะ (2004) ศึกษาความไวรับของ *Mycoplasma hyopneumoniae* จำนวน 21 เชื้อที่แยกได้

จากภาคสนามระหว่างปี 2000-2002 ต่อยาต้านจุลชีพ พบว่า มีการดื้อต่อ lincosamides (lincomycin), flouoroquinolones (enrofloxacin), และ macrolides (tilmicocin และ tylosin) ในขณะที่ไม่พบการดื้อต่อ spectinomycin, oxytetracycline, doxyxycline, gentamicin, florfenicol และ tiamulin ส่วนการศึกษาความไวรับของ *Mycoplasma hyorhinis* พบการดื้อยาต่อ macrolides เช่นกัน (Kobayashi et al., 1996 และ Vicca et al., 2004)

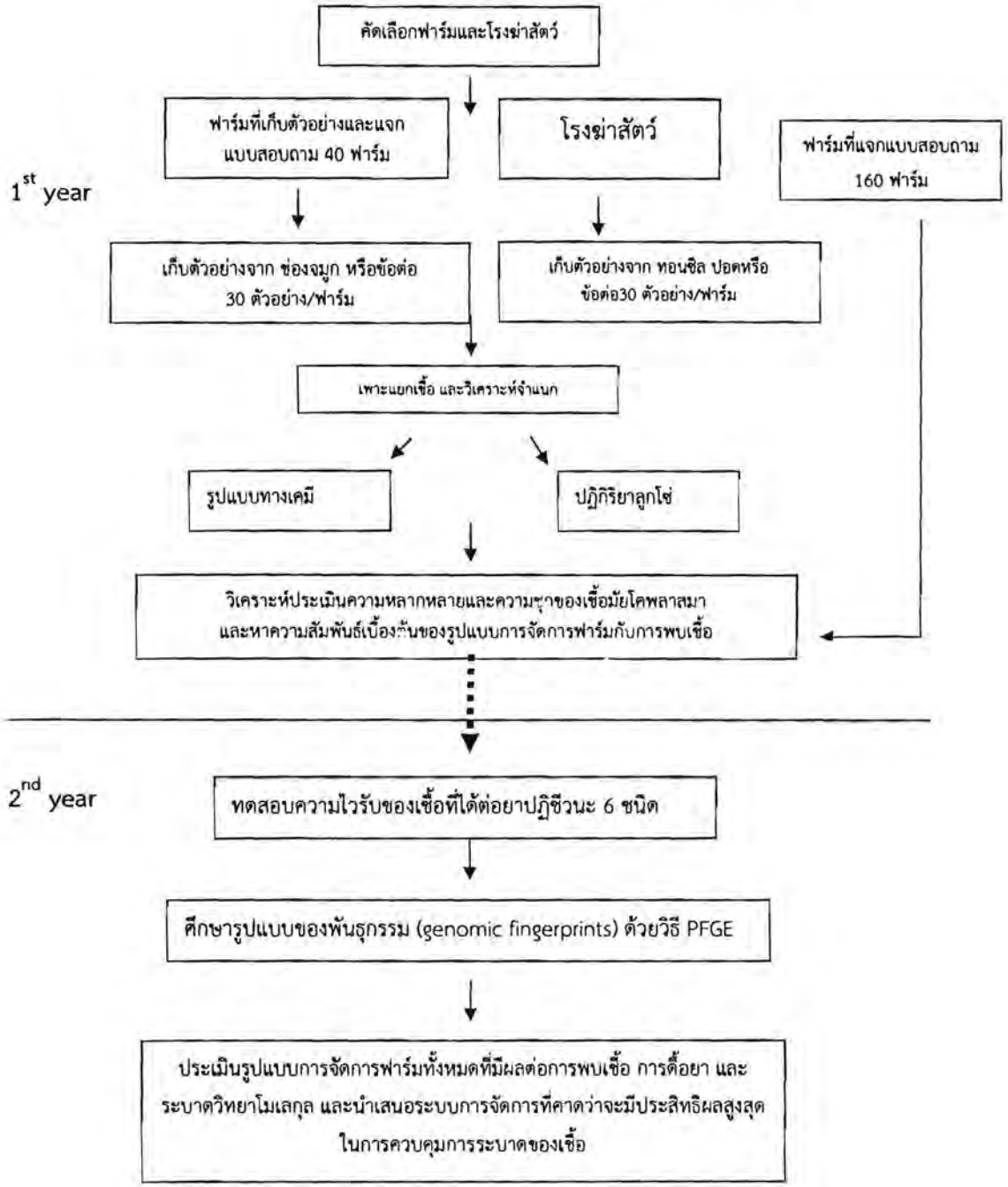
5. **ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ** เช่น การเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร ฯลฯ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์
   5.1 เพื่อนำข้อมูลความชุกและการดื้อยาของมัยโคพลาสม่าจากสุกรต่างอายุกันมาใช้ในการวางแผนการใช้ยาควบคุมโรคติดเชื้อมัยโคพลาสม่าในฟาร์มอย่างเหมาะสม
   5.2 เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาถึงการประเมินปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อมัยโค พลาสม่าในฟาร์มสุกรต่อไป

6. **แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย**
   การจัดอบรมและสัมมนา
   ใช้สื่อวารสารเกี่ยวข้องกับการเลี้ยงสัตว์และวารสารวิชาการ

7. **ระเบียบวิธีวิจัย**
   7.1 การคัดเลือกฟาร์มเป้าหมาย
   7.2 การสำรวจและเพาะแยกเชื้อจากสุกรต่างอายุในฟาร์มที่แสดงอาการปอดบวมหรือข้ออักเสบและสุกรจากโรงเชือด
   7.3 การทดสอบการดื้อยาของเชื้อจากสุกรในฟาร์ม โดยเปรียบเทียบ Minimum Inhibitory Concentration (MIC) จากเชื้อที่แยกได้จากสุกรต่างอายุ และตรวจสอบรูปแบบทางพันธุกรรม
   7.4 สรุปผล วิเคราะห์และเขียนรายงาน

8. **สถานที่ทำการวิจัย**
   ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย งานแบคทีเรีย สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โรงเชือดสุกร และฟาร์มสุกร

กรอบความคิดในการวิจัย (Conceptual Framework)



อุปกรณ์และวิธีการ

1. การคัดเลือกฟาร์มเป้าหมาย

คัดเลือกฟาร์มสุกรที่มีสุกรขุนในระบบจำนวนทั้งสิ้น 9 ฟาร์มใน ปี 2553-2554 ที่มีที่ตั้งในเขตภาคเหนือ จำนวน 3 ฟาร์ม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 ฟาร์ม ภาคตะวันตก จำนวน 2 ฟาร์ม และภาคตะวันออกจำนวน 1 ฟาร์ม โดยมีเงื่อนไขว่าจะมีการจัดการพื้นฐาน ดังต่อไปนี้ เป็นฟาร์มมาตรฐานตามระเบียบของกรมปศุสัตว์ หรือมีสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรดูแล, มีการจัดการเป็นระบบ All-In-All-Out ในโรงเรือนเดียวกัน, มีการส่งสุกรเข้าโรงฆ่าไม่ต่ำกว่า 30 ตัวต่อครั้ง, สามารถติดต่อกับโรงฆ่าเพื่อเก็บตัวอย่างได้ , มีประวัติเคยพบอาการปอดบวมหรือข้ออักเสบ และยินดีเข้าร่วมในโครงการวิจัยเจ้าของฟาร์ม

ก่อนการเก็บตัวอย่าง เจ้าของฟาร์มหรือผู้จัดการฟาร์มจะได้รับแบบสอบถามเพื่อเก็บข้อมูลที่ตั้ง ขนาดการจัดการฟาร์มและการป้องกันโรคในฟาร์มที่ใช้อยู่ใน.ช่วงที่มีการเก็บตัวอย่างดังรายละเอียดในข้อมูลภาคผนวก

การคัดเลือกฟาร์มเป้าหมาย

ฟาร์มที่จะใช้เข้าร่วมในโครงการวิจัยจะต้องมีลักษณะดังนี้

1. เป็นฟาร์มที่เลี้ยงเชิงอุตสาหกรรม
2. มีแม่สุกรตั้งแต่ 1,000 แม่ขึ้นไป
3. มีการเลี้ยงทั้งพ่อแม่พันธุ์และสุกรขุน
4. ฟาร์มตั้งอยู่ในเขตที่มีการเลี้ยงสุกรหนาแน่น
5. สามารถติดตามสุกรถึงโรงฆ่าได้ในจำนวนการฆ่าต่อครั้งไม่ต่ำกว่า 30 ตัว
6. การเดินทางจากฟาร์มหรือโรงฆ่าสามารถกลับได้ภายใน 24 ชั่งโมงหลังการเก็บตัวอย่าง โดยรถยนต์หรือเครื่องบิน
7. ได้รับการยินยอมจากเจ้าของฟาร์มให้เก็บตัวอย่างจากสุกรในฟาร์ม

2. การเก็บข้อมูล

ฟาร์มที่เลือกมีการผลิตหมูสาวทดแทนในฟาร์มเอง บันทึกลักษณะการเลี้ยงแบบสุกรขุนแบบอยู่บริเวณเดียวกับสุกรแม่ (one-site production system) หรือ มีการแยกคอกออกจากคอกสุกรแม่ (two-sites production system) มีมาตรการการควบคุมระบบความปลอดภัยที่ผ่านการรับรองจากกรมปศุสัตว์ มีการจำแนกลักษณะโรงเรือนเป็นแบบบรรยากาศธรรมชาติ หรือแบบใช้ระบบระเหยเพื่อลดความร้อน (evaporative cooling system) ฟาร์มที่คัดเลือกจะส่งสุกรขุนระยะท้ายสู่โรงฆ่าในบริเวณที่ใกล้เคียงกัน โดยมีน้ำหนักช่วงส่งขายอยู่ที่ 95-110 กิโลกรัม ระหว่างอายุ 21-25 สัปดาห์ สุกรในฟาร์มมีการจัดทำวัคซีนต่างๆ ได้แก่ ปากเท้าเปื่อย (foot-and-mouth disease virus;FMD), อหิวาค์สุกร (classical swine fever virus; CSFV), พิษสุนัขบ้าเทียม (Aujeszky's disease; ADV) และพาร์โวไวรัส (porcine parvovirus; PPV) ในช่วงอายุ 22 และ 30 สัปดาห์ นอกจากนี้บางฟาร์มยังทำวัคซีนในสุกรอื่นๆด้วย เช่น โรคไวรัสในกลุ่มอาการระบบทางเดินหายใจและระบบสืบพันธุ์ (porcine reproductive and respiratory virus; PRRSV), โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียต่างๆเช่น atrophic rhinitis, โรค mycoplasmosis และวัคซีนสำหรับ *Actinobacillosis pleuropneumoniae* บันทึกความแตกต่างของโปรแกรมวัคซีนที่ใช้ในแต่ละฟาร์ม เพื่อหาความสัมพันธ์ต่อการพอเชื้อ *Mycoplasma* spp.

3 การสำรวจและเพาะแยกเชื้อจากสุกรต่างอายุในฟาร์มที่แสดงอาการปอดบวมหรือข้ออักเสบและสุกรจากโรงเชือด

3.1 การเก็บตัวอย่าง แบ่งการเก็บตัวอย่างเป็นการเก็บจากสุกรมีชีวิตในฟาร์ม และเก็บจากอวัยวะของสุกรที่ตายทันที ณ โรงฆ่าสัตว์ เตรียมอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างดังนี้ แสดงข้อมูลจำนวนตัวอย่างในตารางที่ 1

ก. Nasal swab ใช้สำลีพันปลายไม้ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วบรรจุใน transport media (BHL) และสมุดจดบันทึกข้อมูลอาการทางคลินิก

ข. ปอดและทอนซิล ใช้ มีด ผ่าตัด กรรไกร ปากคีบเนื้อเยื่อ ถุงพลาสติก และสมุดจดบันทึกข้อมูลอาการทางคลินิก

ค. น้ำในข้อ ใช้หลอดฉีดยาขนาด 10 ซี.ซี. เข็มฉีดยาเบอร์ 18 ยาว 1.5 นิ้ว transport media (HAM) และตารางจดข้อมูลข้อบวม

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนและชนิดของตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองแยกตามฟาร์ม

ฟาร์ม	จำนวนตัวอย่าง	6-8 wks pigs	Slaughtered pigs		
		Nasal Swab	ปอด	ทอนซิล	น้ำในข้อ
PN	90	30	30	30	0
B	129	30	32	30	37
CC	105	30	30	30	15
D	108	30	26	26	26
E	112	30	30	30	22
F	122	30	31	31	30
G	118	30	31	29	28
H	120	30	30	30	30
I	120	30	30	30	30
รวม	1,024	270	270	266	218

3.1.1 สุกรระหว่างการเลี้ยง สุ่มตัวอย่าง 30 ตัวต่อรุ่น โดยใช่สำลีป้ายจมูก (nasal swabs) (3 ตัวอย่าง/ตัว) หรือเจาะน้ำในข้อต่อ (synovial fluid) จากสุกรป่วยที่มีอาการข้อบวม (1-2 มล./ตัว) เก็บตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับขนส่งชนิด mycoplasmal transport media

3.1.2 เก็บตัวอย่าง จากสุกรฟาร์มที่คัดเลือก ณ โรงฆ่าสัตว์ อวัยวะที่เก็บได้แก่ ปอด ทอนซิล และน้ำในข้อต่อจากข้อที่บวม เก็บตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับขนส่งชนิด mycoplasmal transport media โดยสุ่มจำนวน 30 ตัวอย่างต่อฟาร์ม ตัวอย่างในการจำแนกทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 360 ตัวอย่าง

4. การเพาะแยกเชื้อ

เพาะแยกเชื้อมัยโคพลาสม่า 3 ชนิดจากตัวอย่างที่เก็บได้ โดยใช้ media ดังต่อไปนี้

-Friis's หรือ BHL สำหรับ *Mycoplasma hyopneumoniae*

-Hayflick's+Arginine +Mucin(HAM) สำหรับ *Mycoplasma hyosynoviae*

-Hayflick's สำหรับ *Mycoplasma hyorhinis*

วิธีการเพาะแยกเชื้อมีขั้นตอนดังนี้

4.1 ตัวอย่างที่เป็นอวัยวะ เช่น ปอด หรือ ทอนซิล กดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง และป้ายเชื้อลงผิวหน้าของอาหาร ก่อนนำไปทำการตัดย่อย แช่และผสมใน 10 ml ของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว นำไปปั่นที่ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใสด้านบน (supernatant) ออกใส่ใน หลอดทดลองชนิดฝาเกลียวเพื่อเตรียมไว้สำหรับขั้นตอนต่อไป

4.2 ตัวอย่างที่เป็น nasal swab แช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เหมาะสมตามชนิดของเชื้อที่ต้องการแยก บ่มไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นดูดแยกอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ใส่หลอดทดลองชนิดฝาเกลียว เตรียมไว้สำหรับขั้นตอนต่อไป

4.3 ตัวอย่างที่เป็นน้ำจากข้อต่อ หยด 2-3 หยดลงบน อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งและป้ายเชื้อบนพื้นผิวอาหาร และหยดตัวอย่างที่เหลือลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 2 ml ในหลอดทดลองชนิดฝาเกลียว เตรียมไว้สำหรับขั้นตอนต่อไป

4.4 นำอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว จากขั้นที่ 4.1-4.3 มากรองผ่านแผ่นกรอง (membrane filter) ที่ขนาด 0.45 µm เพื่อแยกเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนออก

4.5 นำอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ที่ผ่านกรองหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว และทำการเจือจาง 3 ความเข้มข้น

4.6 นำจากเพาะเชื้อที่เขี่ยเชื้อลงแล้ว บ่มที่ 37°C ภายใต้สภาวะ CO_2 5% นาน 4 วัน ก่อนนำมาตรวจดู colony ที่ขึ้นด้วย กล้องส่องภาพสามมิติ (stereoscope) ถ้าพบโคโลนีของ mycoplasmas ทำการแยกเชื้อต่อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 3 ครั้ง เมื่อผ่านการพิสูจน์เชื้อโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (PCR) แล้วจึงเก็บเชื้อไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวอีกครั้ง ที่อุณหภูมิ -80°C

4.7 นำสารละลาย จากข้อ 4.5 มาอบที่ 37°C นาน 4 วัน หรือจน media เปลี่ยนสี หรือขุ่น นำไปพิสูจน์เชื้อโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (PCR) และ ทำการเพาะเชื้อต่ออีก 2-3 passages เพื่อให้ได้เชื้อที่แข็งแรงก่อน เพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง และทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ เพื่อเก็บเชื้อตามข้อ 4.6

4.8. เก็บรักษาเชื้อที่ได้เอาไว้ใช้ทดสอบ MICs ต่อไปในปีที่ 2

ผลการทดลอง

1. ข้อมูลแสดงสถานภาพในฟาร์ม

ก่อนการเก็บตัวอย่าง เจ้าของฟาร์มหรือผู้จัดการฟาร์มจะได้รับแบบสอบถามเพื่อให้ทราบข้อมูลที่ตั้ง ขนาด การจัดการฟาร์มและการป้องกันโรคในฟาร์มที่ใช้อยู่ในช่วงที่มีการเก็บตัวอย่าง ตารางที่ 2 แสดงรายละเอียดของข้อมูลการจัดการและการใช้ยาจาก 9 ฟาร์ม ประกอบด้วยฟาร์มจากภาคตะวันออก 1 ฟาร์ม ภาคเหนือ 3 ฟาร์ม ภาคตะวันตก 2 ฟาร์ม และตะวันออกเฉียงเหนือ 3 ฟาร์ม ทุกฟาร์มมีจำนวนแม่สุกรมากกว่า 1,000 ตัว และมี 5 ฟาร์ม เป็นฟาร์มขนาดมากกว่า 3,000 แม่ ทุกฟาร์มใช้ระบบการผลิตสุกรขุนแบบเข้าพร้อมกันและส่งโรงฆ่าพร้อมกันทุกตัว มีการผลิตสุกรสาวทดแทนเพื่อเป็นแม่พันธุ์ในฟาร์มเอง จากประวัติการตรวจเชื้อวัรสในฟาร์มพบเชื้อไวรัส porcine respiratory and reproductive syndrome (PRRS) ทุกฟาร์ม และฟาร์มที่มีประวัติการระบาดของไวรัส porcine circovirus (PCV) จำนวน 3 ฟาร์ม(ภาคผนวก, ตารางที่ 1)

ทำการเก็บข้อมูลการให้ยาปฏิชีวนะในฟาร์มตามชนิดของยา ปริมาณขนาดยา และรูปแบบการให้ยาเพื่อนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยง ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่ามีเพียงฟาร์มเดียวที่ใช้ยาปฏิชีวนะเพียง 2 ระยะคือ ฟาร์ม B ที่ให้ยาเฉพาะในสุกรเล็ก และสุกรรุ่น และฟาร์ม E ให้ในระยะลูกสุกร สุกรเล็ก และแม่พันธุ์ ส่วนในฟาร์มอื่นๆมีโปรแกรมที่คล้ายกับให้ยาที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันคือ"การให้ยาในเกือบทุกระยะยกเว้นระยะส่งขาย"

เก็บข้อมูลชนิดของยาที่ทำการสำรวจจำนวน 5 ชนิดได้แก่ tiamulin (100-150 ppm), tylosin 200-275 ppm), chlortetracycline (300-400 ppm), amoxicillin (200-300 ppm) และ sulfamethosazole (110 ppm) โดยแสดงขนาดและชนิดของยาแม่สุกรและสุกรทดแทนในตารางที่ 2 ของภาคผนวก ฟาร์ม D, F, G และ H ให้ยาในช่วงหลังคลอดหรือช่วงเลี้ยงลูกนานติดต่อกันเป็นเวลา 7-31 วัน แสดงวิธีการให้ยาปฏิชีวนะในช่วงลูกสุกร สุกรอนุบาล สุกรเล็ก สุกรรุ่น และสุกรขุน ในตารางที่ 3 ของภาคผนวก ฟาร์ม A และ B ไม่ผสมยาปฏิชีวนะลงในสูตรอาหารสำหรับลูกสกรและสุกรเล็ก ฟาร์ม F, G, H, และ I ผสมยาปฏิชีวนะมากกว่า 1 ชนิดในอาหารให้แก่ลูกสุกรหลังคลอดจนถึงสุกรขุน ชนิดของยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ที่เลือกใช้คือ tiamulin ขนาด 100-150 ppm และ amoxicillin ขนาด 200-300 ppm มีเพียงฟาร์ม A ที่ เลือกใช้ยาร่วมกันระหว่าง tiamulin และ chlortetracycline และ ฟาร์ม D และ H เลือกใช้เพียง tylosin

จากการสำรวจข้อมูลทั้ง 9 ฟาร์ม ฟาร์ม A และ ฟาร์ม I มีการให้ยาปฏิชีวนะด้วยวิธีการละลายน้ำ ที่อายุ 4 สัปดาห์ นาน 7 วัน และ 9-24 สัปดาห์ นาน 3 วันตามลำดับ โดยชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ได้แก่ tiamulin, oxytetracycline และ enrofloxacin

ตารางที่ 2 ข้อมูลการจัดการของฟาร์ม 9 ฟาร์มที่เก็บตัวอย่าง

ฟาร์ม	ภูมิภาค	ขนาด (จ.น. แม่)	Sites (1 หรือ 2 sites)	AIAO ในสุกรขุน	แหล่งสุกรทดแทน	การทำวัคซีน MH	Bio-security	โรคอื่นที่พบ
A	ตะวันออก	4,100	2 sites แบบมีอนุบาล	1wk	ภายใน	2 ครั้ง	ปานกลาง	PRRS
B	ตะวันออกเฉียงเหนือ	1,000	1 site	>1wk	ภายใน	2 ครั้ง	ปานกลาง	PRRS
C	เหนือ	1,280	1 site	>1wk	ภายใน	2 ครั้ง	ดี	PRRS
D	เหนือ	3,000	1 site	1wk	ภายใน	ไม่ทำ	ปานกลาง	PRRS
E	เหนือ	3,000	2 sites แบบมีอนุบาล	1wk	ภายใน	1 ครั้ง	ปานกลาง	PRRS
F	ตะวันตก	1,200	1 site	>1wk	ภายใน	1 ครั้ง	ปานกลาง	PRRS&PCV2
G	ตะวันตก	1,300	2 sites แบบมีอนุบาล	1wk	ภายใน	1 ครั้ง	ปานกลาง	PRRS&PCV2
H	ตะวันออกเฉียงเหนือ	5,400	2 site แบบ wean to finish	1wk	ภายใน	1 ครั้ง	ดี	PRRS&PCV2
I	ตะวันออกเฉียงเหนือ	4,300	1 site	1wk	ภายใน	1 ครั้ง	ดี	PRRS

2. ผลการตรวจเชื้อมัยโคพลาสมาด้วยการศึกษาแบบ cross sectional

เก็บตัวอย่างจากฟาร์มสุกร จำนวน 9 ฟาร์ม ที่มีการเลี้ยงสุกรเชิงอุตสาหกรรม ตั้งแต่ 1,000 แม่ขึ้นไป โดยเก็บตัวอย่างจากช่องจมูก (nasal swab) ของสุกรอนุบาล อายุ 6-8 สัปดาห์ และเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปอด ทอนซิล และน้ำในข้อของสุกรขุนที่โรงฆ่า ตามรายละเอียดในตารางที่ 3 พบว่า *M. hyopneumoniae* พบในตัวอย่างปอด 42 ตัวอย่าง และจากช่องจมูก 1 ตัวอย่าง เชื้อ *M. hyosynoviae* พบในตัวอย่างทอนซิลจำนวน 21 ตัวอย่าง ส่วนเชื้อ *M. hyorhinis* พบในตัวอย่างช่องจมูกจำนวน 165 ตัวอย่าง จากปอดจำนวน 49 ตัวอย่าง และจากทอนซิลจำนวน 169 ตัวอย่าง ไม่พบเชื้อมัยโคพลาสมาใดที่เพาะได้จากน้ำในข้อต่อเลย ดังแสดงในตารางที่ 3 จากการสำรวจพบว่าเชื้อ *M. hyorhinis* มีความชุกมากที่สุด โดยพบมากที่ทอนซิล ปอด และ ช่องจมูก แต่ไม่พบเชื้อนี้จากตัวอย่างน้ำในข้อต่อเลยเช่นกัน เชื้อ *M. hyopneumoniae* พบมากที่สุดที่ ปอด ทอนซิลเป็นอวัยวะเก็บเชื้อ *Mycoplasma* มีชีวิตที่สำคัญในร่างกายสุกร โดยสามารถตรวจพบความชุกของเชื้อ *M. hyosynoviae* และ เชื้อ *M. hyorhinis* ในระดับสูง

ตารางที่ 3 ผลการเพาะเชื้อมัยโคพลาสมาจากอวัยวะของสุกร

อวัยวะ	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนของตัวอย่างที่พบเชื้อมัยโคพลาสมา (%)		
		MH*	MHS**	MHR***
ปอด	270	42 (15.6)	0	49 (61.1)
ทอนซิล	266	0	21 (7.9)	169 (63.5)
น้ำในข้อ	218	0	0	0
ช่องจมูก	270	1 (0.4)	0	165 (61.1)
รวม	1,024	43 (4.2)	21 (2.1)	383 (37.4)

MH*= *M. hyopneumoniae*; MHS**= *M. hyosynoviae*; MHR***= *M. hyorhinis*

เพื่อหาความสัมพันธ์ของการพบเชื้อและรอยโรคที่พบโดยเฉพาะที่ปอดจากสุกรในโรงฆ่า ได้ทำการการบันทึกจำนวน และค่าเฉลี่ยของรอยโรคที่ปอดสุกร (lung scoring) โดยการคลำและสังเกต ค่ารอยโรคมีค่าตั้งแต่ 0-100% ของเนื้อปอด ตัวอย่างปอดจะนำมาเพาะแยกเชื้อมัยโคพลาสมา ผลรอยโรคและการแยกเชื้อจากปอดแสดงไว้ในตารางที่ 4 จากการสำรวจพบเชื้อ *M. hyopnuemoniae* จากปอดสุกรอยู่ในช่วง 0-61.54% และพบเชื้อ *M. hyorhinis* ในช่วง 0-45.16% โดยพบเชื้อ *M. hyorhinis* สูงที่สุดจากปอดของสุกรที่รับจากฟาร์ม F ซึ่งสอดคล้องกับสัดส่วนรอยโรคต่อจำนวนตัวอย่าง แต่ไม่พบผลบวกจากตัวอย่างใดใดจากการตรวจหาเชื้อ *M. hyosynoviae*

ค่ารอยโรคเฉลี่ยที่ปอดของสุกรจากทั้ง 9 ฟาร์มอยู่ที่ 6.43 ซึ่งเป็นค่าแสดงระดับความเสียหายของอวัยวะ สุกรจากฟาร์ม I มีรอยโรคที่ปอดสูงที่สุด (13.7) และต่ำที่สุดคือสุกรจากฟาร์ม H (1.10) หากพิจารณาที่จำนวนของปอดที่พบรอยโรคแล้วพบว่า ฟาร์ม F มีเปอร์เซนต์ของปอดที่ผิดปกติสูงที่สุด และสอดคล้องกับการพบเชื้อ *M. hyorhinis* สูงสุดเช่นกัน ในฟาร์ม D จำนวนของปอดที่พบรอยโรค กับจำนวนของการพบเชื้อ *M. hyopneumoniae* ที่ใกล้เคียงกัน ปอดจากสุกรที่มาจากฟาร์ม D เป็นฟาร์มที่พบเชื้อ *M. hyopnuemoniae* สูงที่สุดในการสำรวจครั้งนี้

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยรอยโรคจากปอดและผลการตรวจเชื้อมัยโคพลาสมาที่เพาะได้ในฟาร์ม 9 ฟาร์ม

ฟาร์ม	ค่าเฉลี่ยรอยโรคที่ปอด (%)	จำนวนปอดที่มีรอยโรค/จำนวนตัวอย่าง (%)	จำนวนตัวอย่างที่พบมัยโคพลาสมา (%)		
			MH*	MHS**	MHR***
A	2.43	21/30 (70)	0/30 (0)	0/30 (0)	3/30 (10)
B	6.03	23/32 (71.9)	4/32 (12.5)	0/32 (0)	11/32 (34.38)
C	8.93	23/30 (76.7)	10/30 (33.33)	0/30 (0)	7/30 (23.33)
D	6.23	17/26 (65.4)	*16/26 (61.54)*	0/26 (0)	3/26 (11.54)
E	6.30	18/30 (60)	5/30 (16.67)	0/30 (0)	5/30 (16.67)
F	8.13	*25/31 (80.6)*	6/31 (19.36)	0/31 (0)	*14/31 (45.16)*
G	4.97	21/31 (67.7)	0/31 (0)	0/31 (0)	1/31 (3.23)
H	1.10	14/30 (46.7)	0/30 (0)	0/30 (0)	0/30 (0)
I	13.70	22/30 (73.3)	1/30 (3.33)	0/30 (0)	5/30 (16.67)
รวม	6.43 $\pm$ 9.936	184/270 (68.1)	42/270 (15.56)	0/270 (0)	49/270 (18.15)

MH*= *M. hyopneumoniae*; MHS**= *M. hyosynoviae*; MHR***= *M. hyorhinis*

ทำการเก็บตัวอย่างจากทอนซิลจากสุกรที่โรงฆ่า เก็บโดยวิธีสุ่มจากหัวสุกรที่ตัดออกจากซากแล้ว จำนวน 30 ตัวอย่างนำมาเพาะแยกเชื้อมัยโคพลาสมาดังผลตามตารางที่ 5 ผลการตรวจเชื้อจากต่อมทอนซิล พบเชื้อมัยโคพลาสมา 2 ชนิด คือ *M. hyosynoviae* และ *M. hyorhinis* แต่ไม่พบเชื้อ *M. hyopneumoniae* จากตัวอย่างทั้ง 266 ตัวอย่าง พบเชื้อ *M. hyorhinis* จากทอนซิลของสุกรทุกฟาร์ม มีความชุกอยู่ระหว่าง 23.3-100% สุกรจากฟาร์ม A, D และ F ที่พบเชื้อมากกว่า 80% แต่ฟาร์ม I พบเชื้อน้อยที่สุด (7/30) และเชื้อ *M. hyosynoviae* จากสุกรที่มาจาก 2 ฟาร์ม คือ A (12/30) และ H (9/30)

ตารางที่ 5 ผลการตรวจเชื้อมัยโคพลาสมาที่เพาะได้จากทอนซิล

ฟาร์ม	จำนวนตัวอย่างที่พบมัยโคพลาสมา/ ตัวอย่างที่ตรวจ (%)		
	MH*	MHS**	MHR***
A	0/30 (0)	12/30 (40)	25/30 (83.33)
B	0/30 (0)	0/30 (0)	15/30 (50)
C	0/30 (0)	0/30 (0)	22/30 (73.33)
D	0/26 (0)	0/26 (0)	23/26 (88.46)
E	0/30 (0)	0/30 (0)	17/30 (56.67)
F	0/31 (0)	0/31 (0)	31/31 (100)
G	0/29 (0)	0/29 (0)	20/29 (68.97)
H	0/30 (0)	9/30 (0)	9/30 (30)
I	0/30 (0)	0/30 (0)	7/30 (23.33)
Total	0/266 (0)	21/266 (7.9)	169/266 (63.5)

MH*= *M. hyopneumoniae*; MHS**= *M. hyosynoviae*; MHR***= *M. hyorhinis*

การเก็บตัวอย่างจากน้ำในข้อที่ได้จากสุกรในโรงฆ่าสัตว์ จะมีการตรวจลักษณะอาการข้อขาบวม เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลร่วมกับการตรวจพบเชื้อมัยโคพลาสมา จากการสำรวจจำนวนตัวอย่างที่ได้มาจากสุกรของแต่ละฟาร์มจะไม่เท่ากัน น้ำในข้อสามารถเก็บได้จาก 8 ฟาร์ม แต่ฟาร์ม A ไม่สามารถเก็บตัวอย่างจากน้ำในข้อได้เนื่องจากไม่ได้รับอนุญาต ผลการตรวจข้อและเพาะเชื้อดังแสดงในตารางที่ 6 ฟาร์ม B และ C มีตัวอย่างสุกรข้อบวมถึง 100% ในขณะที่ฟาร์มอื่นๆมีเพียง 7.1-35.1% เท่านั้น การสำรวจนี้พบเพียงเชื้อ *M. hyorhinis* เพียงชนิดเดียว และเพาะเชื้อขึ้นทุกตัวอย่าง แต่ให้ผลลบต่อการทดสอบด้วย PCR เชื้อ *M. hyorhinis* ที่พบจากฟาร์ม B และ C มีพียง 13.3 และ 38.5 % ตามลำดับ ในฟาร์ม G พบรอยโรคข้อบวมน้อยที่สุดแต่กลับพบเชื้อ *M. hyorhinis* มาถึง 46.4% ดังนั้นเป็นที่น่าสังเกตว่าเชื้อ *M. hyorhinis* อาจไม่ใช่ปฐมเหตุของอาการข้อบวมของสุกรในฟาร์มภายใต้ระบบการเลี้ยงในประเทศไทย อย่างไรก็ตามด้วยความสามารถในการก่อโรคของเชื้อ *M. hyorhinis* เชื้อนี้ยังเป็นเชื้อก่อโรคร่วมที่สำคัญต่อระบบทางเดินหายใจและข้อต่อของสุกร ผู้วิจัยจึงได้พยายามหาแหล่งปนเปื้อนที่สำคัญต่อการแพร่กระจายของสุกรในฟาร์มด้วยการเก็บตัวอย่างจากช่องจมูกของสุกรอนุบาล อายุระหว่าง 6-8 สัปดาห์ และข้อมูลที่ได้มาประมวลร่วมกับอาการข้อบวมของฝูงที่สำรวจ พบว่าจากตัวอย่างช่องจมูกพบเชื้อ *M. hyorhinis* ได้มากกว่า 80% ในฟาร์ม F, G, H และ I แต่ไม่พบเชื้อเลยในฟาร์ม D พบเชื้อ *M. hyopneumoniae* จำนวนเพียง 1 เชื้อในฟาร์ม I และ ไม่พบเชื้อ *M. hyosynoviae* เลยจากทั้ง 270 ตัวอย่างที่สำรวจ แสดงให้เห็นถึงการกระจายของเชื้อทางระบบหายใจส่วนต้นเป็นช่องทางการติดต่อที่สำคัญในฝูงลูกสุกร แต่ยังไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างการพบเชื้อ และอาการข้อบวม (ภาคผนวก, ตารางที่ 5)

ตารางที่ 6 ผลการตรวจอาการข้อบวมกับการพบเชื้อมัยโคพลาสมาที่เพาะจากน้ำในข้อของสุกรจากโรงฆ่า

ฟาร์ม	จำนวนตัวอย่าง	ข้อบวม/ตัวอย่าง (%)	จำนวนตัวอย่างที่พบมัยโคพลาสมา (%)		
			MH*	MHS**	MHR***
B	37	13/37 (35.1)	0/37 (0)	0/37 (0)	10/37 (27.0)
C	15	15/15 (100)	0/15 (0)	0/15 (0)	2/15 (13.3)
D	26	26/26 (100)	0/26 (0)	0/26 (0)	10/26 (38.5)
E	22	2/22 (9.1)	0/22 (0)	0/22 (0)	6/22 (27.2)
F	30	6/30 (20)	0/30 (0)	0/30 (0)	9/30 (30.0)
G	28	2/28 (7.1)	0/28 (0)	0/28 (0)	13/28 (46.4)
H	30	10/30 (33.33)	0/30 (0)	0/30 (0)	13/30 (43.3)
I	30	6/30 (20)	0/30 (0)	0/30 (0)	7/30 (23.3)
Total	218	80/218 (36.7)	0/218 (0)	0/218 (0)	70/218 (32.1)

MH*= *M. hyopneumoniae*; MHS**= *M. hyosynoviae*; MHR***= *M. hyorhinis*

3. ผลการสำรวจเชื้อมัยโคพลาสมาจากสุกรด้วยการศึกษาแบบ Longitudinal cross-Sectional Survey

จากนั้นทำการคัดเลือกฟาร์ม 2 ฟาร์ม คือ B และ F เพื่อเป็นการติดตามในระยะยาวเป็นเวลา 1 ปี โดยเลือกจากการที่ฟาร์มทั้งสองมีขนาดใกล้เคียงกันแต่มีระบบการให้ยาปฏิชีวนะที่แตกต่างกัน ตั้งอยู่ในพื้นที่ต่างกัน คือ B อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และ F อยู่ในภาคตะวันตก เป็นฟาร์มที่เจ้าของให้ความร่วมมือในการวิจัย ซึ่งต้องเก็บตัวอย่างจากสุกรอนุบาลที่แสดงอาการป่วยทางเดินหายใจ และเก็บตัวอย่างปอดจากโรงฆ่าทุก 6 เดือน เป็นจำนวน 2 ครั้ง พร้อมตอบแบบสอบถามเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับเปรียบเทียบกับผลการเพาะเชื้อมัยโคพลาสมาทุกครั้งที่มีการเก็บตัวอย่าง โดยข้อมูลจากการเก็บตัวอย่างแบบ cross-sectional study ของ B และ F ได้ถูกนำมาวิเคราะห์ร่วมด้วย จึงเป็นการติดตาม จำนวน 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 4 เดือน รวมตัวอย่างเป็น 422 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ช่องจมูก 60 ตัวอย่าง, ปอด 130 ตัวอย่าง, ต่อมทอนซิล 99 ตัวอย่าง , ต่อมน้ำเหลือง 18 ตัวอย่าง, น้ำในข้อ 90 ตัวอย่าง และเยื่อหุ้มข้อ 25 ตัวอย่าง ข้อมูลจากแบบสอบถามของทั้งสองฟาร์ม แสดงไว้ในตารางที่ 7 ของภาคผนวก จะพบว่าในขนาดฟาร์มที่ใกล้เคียงกัน มีการจัดการหลักเป็นแบบไม่ใช่ all-in, all-out เช่นเดียวกัน แต่มีสถานภาพการติดเชื้อที่แตกต่างกัน และการใช้ยาและวัคซีนในแต่ละช่วงอายุของสุกรก็แตกต่างกันด้วย

แสดงผลการตรวจเชื้อมัยโคพลาสม่าทั้ง 3 ชนิด จากการเก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง ครั้งที่ 1 เป็นผลที่ได้จากการสำรวจแบบ cross-sectional ส่วนครั้งที่ 2 และ 3 เป็นข้อมูลที่ติดตามภายใน 1 ปี ตามระยะที่กำหนดข้างต้น ในภาพรวมพบความแตกต่างของอุบัติการณ์ในแต่ละช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่างแม้ว่าจะมาจากฟาร์มเดียวกัน โดยเฉพาะเชื้อ *M. hyorhinis* ซึ่งพบความแปรปรวนสูงสุด แต่ก็เป็นเชื้อที่พบได้ทุกช่วงฤดูกาลของประเทศไทย และเป็นเชื้อที่คงอยู่ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงโดยเฉพาะในช่องจมูกของลูกสุกรถึงระยะสุกรอนุบาลและที่ทอนซิลของสุกรที่โรงฆ่า รองลงมาคือ *M. hyopneumoniae* และ *M. hyosynoviae* ตามลำดับ เชื้อ *M. hyopneumoniae* พบเพียงในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 และไม่พบอีกเลยในตัวอย่างครั้งที่ 2 และ 3 แสดงว่าเชื้อนี้ไม่ได้วนเวียนอยู่ในฟาร์มอย่างถาวร สามารถกำจัดได้ด้วยระบบการจัดการที่ดีพอได้แก่ การให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสม และระบบระบายอากาศที่ดี ส่วนเชื้อ *M. hyosynoviae* เป็นเชื้อมัยโคพลาสมาที่พบน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาที่สำรวจซึ่งพบเพียง 3 เชื้อในสุกรจากฟาร์ม B ในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3 (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ภาพรวมอุบัติการณ์ของเชื้อมัยโคพลาสมาที่แยกได้จากสุกรในแต่ละฟาร์มแบบการศึกษาระยะยาว

ฟาร์ม	เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1			เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2			เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3		
	MH*	MHS**	MHR***	MH	MHS	MHR	MH	MHS	MHR
B	4/129	0/129	30/129	0/38	0/38	15/38	0/42	3/42	28/42
	(3.1)	(0)	(23.8)	(0)	(0)	(39.5)	(0)	(7.1)	(66.7)
F	6/122	0/122	70/122	0/50	0/50	29/50	0/41	0/41	15/41
	(4.9)	(0)	(57.4)	(0)	(0)	(58)	(0)	(0)	(36.6)
รวม	10/251	0/251	100/251	0/88	0/88	44/88	0/83	3/83	43/83
	(4)	(0)	(39.8)	(0)	(0)	(4.6)	(0)	(0.8)	(51.8)

MH*= *M. hyopneumoniae* ; MHS**= *M. hyosynoviae* ; MHR***= *M. hyorhinis*

จากนั้นจึงทำการแยกข้อมูลประชากรภายใน และชนิดของตัวอย่างการเก็บเพื่อให้เกิดความชัดเจน จากการสำรวจในช่วงฤดูหนาวของประเทศไทย (พฤศจิกายน-กุมภาพันธ์) ไม่พบเชื้อ *M. hyosynoviae* แต่พบ *M. hyorhinis* ในสุกรระยะอนุบาลและสุกรขุน โดยส่วนใหญ่แยกได้จากปอด และต่อมน้ำเหลือง ในขณะที่พบเชื้อ *M. hyopneumoniae* ได้จากปอดของสุกรขุนเท่านั้น ในกรณีที่ไม่มีสุกรป่วยหรือตายในช่วงเวลาที่เข้าไปสำรวจ จะทำให้ไม่ได้ตัวอย่างเยื่อหุ้มข้อ ปอด และทอลซิล และเจ้าของฟาร์มไม่อนุญาตให้เก็บตัวอย่างเหล่านั้นจากสุกรมีชีวิต แต่อนุญาตเพียงการเก็บด้วยสำลีป้ายจมูก

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบอุบัติการณ์ของเชื้อมัยโคพลาสมาทั้ง 3 ชนิดจากฟาร์ม B และ F ในแต่ละฤดูกาลที่การสำรวจ

ฟาร์ม	ฤดูกาล	Porcine mycoplasmas		
		MH*	MHS**	MHR***
B	หนาว	4/129	0/129	30/129 (23.8)
	ร้อน	0/38	0/38	15/38 (39.5)
	ฝน	0/42	3/42	28/42 (66.7)
F	หนาว	6/122	0/122	70/122 (57.4)
	ร้อน	0/50	0/50	29/50 (58.0)
	ฝน	0/41	0/41	15/41 (36.6)

MH*= *M. hyopneumoniae* ; MHS**= *M. hyosynoviae* ; MHR***= *M. hyorhinis*

ฤดูหนาว = เดือนพฤศจิกายน-กุมภาพันธ์ ฤดูร้อน = เดือนมีนาคม-มิถุนายน ฤดูฝน = กรกฎาคม-ตุลาคม

จากการเปรียบเทียบอุบัติการณ์ของเชื้อมัยโคพลาสมาทั้ง 3 ชนิดจากฟาร์ม B และ F ในแต่ละฤดูกาลพบเชื้อมัยโคพลาสมาทั้ง 3 ชนิดจากสุกรทั้ง 2 ฟาร์มดังแสดงในตารางที่ 8 อุบัติการณ์พบเชื้อ *M. hyorhinis* ของฟาร์ม B พบมากที่สุดในฤดูฝน แต่ในฟาร์ม F พบมากในฤดูร้อนและหนาวในสุกรระยะอนุบาลและสุกรขุน โดยส่วนใหญ่แยกได้จากปอด และต่อมน้ำเหลือง ในเปอร์เซนต์ที่สูงกว่าการเก็บครั้งแรก ส่วนเชื้อมัยโคพลาสมาชนิดอื่นๆพบไม่ถึง 3 % และข้อมูลไม่เพียงพอในการบอกความสัมพันธ์ของการพบเชื้อกับช่วงเวลาที่สำรวจ จากสภาพพื้นที่ของทั้ง 2 ฟาร์มนั้นมีอุณหภูมิที่ไม่ได้แตกต่างกันนักแสดงว่าภูมิอากาศของฟาร์มไม่ได้เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการระบาดของเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกร แต่อาจเกิดจากกการจัดการของแต่ละช่วงเวลาฟาร์มเป็นสำคัญ

4. **การวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงต่อมัยโคพลาสมา**

4.1 ปัจจัยเสี่ยงต่อมัยโคพลาสมาจากการศึกษาแบบ cross-sectional

หลังจากได้รวบรวมข้อมูลจากแบบสอบถามในแต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่างและเชื้อมัยโคพลาสมาที่เพาะได้จากอวัยวะต่างๆแล้ว ทำการประเมินความเสี่ยงที่จะพบเชื้อมัยโคพลาสมาจากอวัยวะต่างๆเปรียบเทียบกับการจัดการ อาการและรอยโรค โรคแทรกซ้อน การใช้วัคซีนและยาป้องกันโรคโดยใช้วิธีทางสถิติ ได้แก่ Chi-sqare โดยใช้นัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.05$ และวิเคราะห์ความเสี่ยงด้วย Odd ratio (95% confidence interval) ผลการประเมินความเสี่ยงจาก 9 ฟาร์มแรก จากการศึกษาแบบ cross-sectional แสดงในตารางที่ 9 แต่ละฟาร์มพบปริมาณที่ตัวอย่างแสดงผลบวกต่อเชื้อมัยโคพลาสมาที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เชื้อ *M. hyosynoviae* และ *M. hyorhinis* พบในฟาร์มเขตภาคตะวันออกมากที่สุด ส่วนปริมาณของเชื้อ *M. hyopneumoniae* พบมากที่สุดในฟาร์มเขตภาคเหนือ พบเชื้อมัยโคพลาสม่าทั้ง 3 ชนิดจากตัวอย่างสุกรฟาร์มในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เมื่อพิจารณาตามพื้นที่ที่สำรวจแล้วพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละภาค การเก็บตัวอย่างจากอวัยวะที่ต่างกันพบมัยโคพลาสมาที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่น nasal swab และ ทอนซิน เป็นตัวอย่างที่มีโอกาสพบเชื้อ *M. hyorhinis* ได้สูง ในขณะที่เชื้อ *M. hyopneumoniae* สามารถตรวจพบได้ที่ปอดเท่านั้น แต่จากการทดลองนี้ตรวจไม่พบมัยโคพลาสมาจากน้ำในข้อสุกรขุนที่โรงฆ่า ช่วงอายุที่พบความเสี่ยงในการพบเชื้อ *M. hyorhinis* คือสุกรอนุบาล (61.1%) รองลงมาคือสุกรขุน ซึ่งมีความเสี่ยงในการพบเชื้อมากกว่า 3.9 เท่า

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงด้านข้อมูลทั่วไปต่อการพบเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกร

ปัจจัยเสี่ยง	ข้อมูล	จำนวนตัวอย่างที่พบมัยโคพลาสมา (%)		
		MH*	MHS**	MHR***
ฟาร์ม	9 ฟาร์ม	43/1024 (4.2)	21/1024 (2.1)	383/1024 (37.4)
	P-value	<0.001	<0.001	<0.001
ภาค	เหนือ	31/325 (9.5)	0/325 (0)	108/325 (33.2)
	ตะวันออกเฉียงเหนือ	6/369 (1.6)	9/369 (2.4)	110/369 (29.8)
	ตะวันออก	0/90 (0)	12/90 (13.3)	46/90 (51.1)
	ตะวันตก	6/240 (2.5)	0/240 (0)	119/240 (37.4)
	P-value	<0.001	<0.001	<0.001
อวัยวะ	nasal swab	1/270 (0.4)	0/270 (0)	165/270 (61.1)
	ปอด	42/270 (15.6)	0/270 (0)	49/270 (18.1)
	ทอนซิล	0/266 (0)	21/266 (7.9)	169/266 (63.5)
	น้ำในข้อ	0/218 (0)	0/218 (0)	0/218 (0)
	P-value	<0.001	<0.001	<0.001
อายุ	อนุบาล	1/271 (0.4)	0.270 (0)	165/270 (61.1)
	ขุน	42/754 (5.6)	21/754 (2.8)	218/754 (28.9)
	P-value	<0.001	0.006	<0.001
	OR (95%CI)	15.9 (2.2-115.9)	-	3.9 (2.9-5.2)

MH*= *M. hyopneumoniae* ; MHS**= *M. hyosynoviae* ; MHR***= *M. hyorhinis*

จากการเก็บข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างการพบเชื้อกับรอยโรคร่วมกับรอยโรคที่สำคัญได้แก่อาการข้อขาบวม และรอยโรคที่ปอด (ตาราง 10) ยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการพบเชื้อ *M. hyopneumoniae* กับการมีรอยโรคที่ปอด กับอาการข้อขาบวม แต่กลับพบความสัมพันธ์ของเชื้อ *M. hyorhinis* กับกลุ่มอาการทั้ง 2 นอกจากนี้จากผลการตรวจเชื้อไวรัสที่ลดประสิทธิภาพระบบภูมิคุ้มกันได้แก่ เชื้อ PRRS และเชื้อ PCV2 แสดงให้เห็นว่าการมีเชื้อไวรัสหมุนเวียนในฟาร์ม มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *M. hyopneumoniae, M. hyorhinis* และ *M. hyosynoviae* ที่ 3.5, 1.5 และ 1.4 เท่าตามลำดับ

อาการข้อบวมในสุกรนั้นจะทำให้พบเชื้อ *M. hyorhinis* ในปริมาณที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่สำหรับเชื้อ *M. hyopneumoniae* กลับไม่มีความแตกต่างจากที่พบในปอดที่ไม่มีรอยโรค นั่นแสดงว่าน่าจะมีปัจจัยอื่นนอกเหนือจากการรอยโรค เช่น การที่สุกรมีการติดเชื้อ ไวรัส PRRS หรือไวรัสอื่นๆ

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงด้านอาการและรอยโรคต่อการพบเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกร

ปัจจัยเสี่ยง	ข้อมูล	จำนวนตัวอย่างที่พบมัยโคพลาสมา (%)		
		MH*	MHS**	MHR***
ข้อขาบวม	ไม่แสดงอาการ	1/240 (0.4)	0/240 (0)	56/240 (23.3)
	แสดงอาการ	0/248 (0)	0/248 (0)	109/248 (44)
	P-value	0.492	-	<0.001
	OR (95%CI)	-	-	2.6 (1.7-3.8)
รอยโรคที่ปอด	มีรอยโรค	10/86 (11.6)	0/86 (0)	9/86 (10.5)
	ไม่มีรอยโรค	32/184 (17.4)	0/86 (0)	40/184 (21.7)
	P-value	0.225	-	0.025
	OR (95%CI)	1.6 (0.8-3.4)	-	2.4 (1.1-5.2)
โรคไวรัสแทรกซ้อน	PRRSV	37/664 (5.6)	12/664 (1.8)	225/664 (33.9)
	PRRSV+อื่นๆ (PCV2,SIV)	6/360 (1.7)	9/360 (2.5)	158/360 (43.9)
	P-value	0.003	0.455	0.002
	OR (95%CI)	3.5 (1.5-8.3)	1.4 (0.6-3,3)	1.5 (1.2-1.9)

MH*= *M. hyopneumoniae* ; MHS**= *M. hyosynoviae* ; MHR***= *M. hyorhinis*

จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้านการจัดการมีผลต่อมัยโคพลาสมา ระบบการเลี้ยงแบบที่มีคอกแม่พันธุ์, แม่เลี้ยงลูก อยู่ในบริเวณเดียวกับคอกอนุบาลหรือสุกรขุน หรือระบบ two-site เป็นระบบที่เป็นการจัดการที่มีผลต่อเพิ่มการสัมผัสโดยตรง (direct contact) ระหว่างแม่สุกรและลูกสุกรหรือระหว่างสุกรขุนด้วยกัน โดยพบว่าการเลี้ยง จะมีโอกาสพบเชื้อ *M. hyorhinis* และ *M. hyosynoviae* ได้สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญซึ่งเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นเชื้อที่มักมีการส่งผ่านโดยการสัมผัสโดยตรง ในขณะที่ฟาร์มแบบ one-site จะพบการระบาดในวงกว้างของเชื้อที่แพร่กระจายทางระบบทางเดินหายใจอย่างเชื้อ *M. hyopnuemoniae* มากกว่า วิธีการจัดการทั่วไปที่ใช้ในฟาร์มเพื่อการลดการแพร่เชื้อในระบบทางเดินหายใจได้แก่ การทำวัคซีน และ การคลุกสุกร (acclimatization) เพื่อการปรับสภาพและระบบภูมิคุ้มโรคของสุกรสาวด้วยการเลี้ยงร่วมกับแม่นางปลดหรือแม่พันธุ์อายุมากในพื้นที่เดียวกัน การใช้แม่นางปลดเพื่อปรับสภาพจะพบ *M. hyopneumoniae* สูงกว่าการใช้ PRRS วัคซีนในการปรับสภาพสุกรสาวถึง 3.7 เท่า แต่การใช้วัคซีน PRRS ในฟาร์มมีการพบเชื้อ *M. hyorhinis* และ *M. hyosynoviae* สูงกว่าการใช้แม่นางปลดเพื่อปรับสภาพ จากการศึกษาในครั้งนี้ยืนยันระบบการจัดการแบบเข้าหมดออกหมด (all in, all out) สามารถควบคุมการระบาดของเชื้อ *M. hyosynoviae* ได้แต่ยังไม่สามารถในการลดปริมาณมัยโคพลาสมาชนิดอื่นๆลงได้อย่างมีนัยสำคัญ (**ตารางที่ 11**)

การทำวัคซีนป้องกันเชื้อ *M. hyopneumoniae* แก่สุกรหย่านม มีผลต่อการพบเชื้อ *M. hyopneumoniae* ที่ลดลงถึง 5.7 เท่าของฟาร์มที่ไม่ทำวัคซีน แสดงว่าประสิทธิภาพของวัคซีนสามารถป้องกันโรคได้อย่างเป็นรูปธรรม แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบปฏิกิริยาข้ามต่อการป้องกันการติดเชื้อ *M. hyorhinis* และ *M. hyosynoviae*

ระบบการให้ยาปฏิชีวนะในฟาร์มที่ได้บรรยายในหัวข้อที่กล่าวมาแล้วจะมีผลต่างกันไปตามอายุของสุกรและชนิดของมัยโคพลาสมาดังแสดงในตารางในภาคผนวกที่ 8 เมื่อพิจารณาทั้งในภาพรวม และแยกตามช่วงอายุของสุกรพบว่าการให้ยาปฏิชีวนะยังไม่สามารถลดการติดเชื้อได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นในด้านการลงทุนควรส่งเสริมความสำคัญด้านการจัดการที่ดีซึ่งสามารถลดการติดเชื้อได้มากกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะ

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงด้านการจัดการต่อการพบเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกร

ปัจจัยเสี่ยง	ข้อมูล	จำนวนตัวอย่างที่พบมัยโคพลาสมา (%)		
		MH*	MHS**	MHR***
Sites	one-site	38/584 (6.5)	0/584 (0)	210/584 (36)
	two-sites	5/440 (1.1)	21/440 (4.8)	173/440 (39.3)
	P-value	<0.001	<0.001	0.271
	OR (95%CI)	6.1 (2.4-15.6)	-	-
Acclimatization	ใช้แต่แม่นางปลด	32/462 (6.9)	0/462 (0)	140/462 (30.3)
	มีการใช้วัคซีนPRRS	11/562 (2)	21/562 (3.7)	243/562 (43.2)
	P-value	<0.001	<0.001	<0.001
	OR (95%CI)	3.7 (1.9-7.5)	-	-
Pig flow	ไม่ระบบ aiao	20/356 (5.6)	0/356 (0)	143/356 (40.2)
	มีระบบ aiao	23/668 (3.4)	21/668 (3.1)	240/668 (35.9)
	P-value	0.098	0.001	0.182
	OR (95%CI)	1.7 (0.9-3.1)	-	1.2 (1.9-1.6)

MH*= *M. hyopneumoniae* ; MHS**= *M. hyosynoviae* ; MHR***= *M. hyorhinis*
aiao = all in, all out

4.2 **ปัจจัยเสี่ยงต่อมัยโคพลาสมาจากการศึกษาแบบติดตามฟาร์มเดิม (longitudinal study)**

การติดตามต่อเก็บตัวอย่างในระยะยาวอีก 1 ปี ในฟาร์มที่คัดเลือก 2 ฟาร์ม (B และ F) แสดงผลในตารางที่ 9-11 ของภาคผนวก เพื่อเปรียบเทียบความเปลี่ยนแปลงของจำนวนมัยโคพลาสมาที่เพาะได้ภายใต้ปัจจัยต่างๆเมื่อเวลาเปลี่ยนไป และเพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี cross sectional

ในกรณีของเชื้อ *M. hyopneumoniae* ไม่สามารถเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของอุบัติการณ์การพบเชื้อในแต่ละช่วงกับการจัดการได้เนื่องจากไม่พบเชื้อในช่วงที่ 2 และ 3 (ภาคผนวก,ตารางที่ 9) เช่นเดียวกับกรณีของเชื้อ *M. hyosynoviae* ซึ่งพบอุบัติการณ์เพียงการเก็บในช่วงที่ 3 เท่านั้น (0-7.1%) (ตารางที่ 10 ในภาคผนวก)

ในช่วงการเก็บครั้งที่ 1 และ 2 การจัดการการลดเชื้อไวรัสต่างๆ โดยเฉพาะเชื้อ PRRS ด้วยวัคซีนป้องกัน PRRS และ วัคซีนป้องกันมัยโคพลาสมาแบบสองเข็ม จะสามารถลดอุบัติการณ์ของเชื้อ *M. hyorhinis* ได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเข้าสู่ช่วงฤดูฝนซึ่งเป็นการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3 พบว่าเกิดผลตรงกันข้ามกับข้อสรุปของ 2 ครั้งแรก ดังนั้นในช่วงฤดูฝนการใช้วัคซีนมัยโคพลาสม่า 2 เข็ม และวัคซีน PRRS อาจไม่ช่วยลดการติดเชื้อ *M. hyorhinis* ได้ (ตารางที่ 12) แต่ผลการทดลองอาจปรับใช้ได้เฉพาะในฟาร์มที่ศึกษาเท่านั้น

ตารางที่ 12 การเปลี่ยนแปลงของจำนวน *M. hyorhinis* ในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง

ปัจจัยเสี่ยง	รายละเอียด	จำนวนมัยโคพลาสมา (%) จากการเก็บตัวอย่าง			*P*-value
		ช่วงที่ 1	ช่วงที่ 2	ช่วงที่ 3	
โรคไวรัสแทรกซ้อน	PRRSV	26/99 (26.3)	15/38 (39.5)	28/42 (66.7)	<0.001
	PRRSV+อื่นๆ (PCV2,SIV)	74/152 (48.7)	29/50 (58)	15/41 (36.6)	0.126
Acclimatization	ใช้แต่แม่นางปลด	30/129 (23.3)	15/38 (39.5)	28/42 (66.7)	<0.001
	มีการใช้วัคซีน PRRS	70/122 (57.4)	29/50 (58)	15/41 (36.6)	0.053
MH vaccination	one-shot	70/122 (57.4)	29/50 (58)	15/41 (36.6)	0.053
	two-shots	30/129 (23.3)	15/38 (39.5)	28/42 (66.7)	<0.001
การให้ยาปฏิชีวนะ	ลูกสุกรดูดนม	70/122 (57.4)	44/88 (50)	43/83 (51.8)	0.531
	อนุบาล	70/122 (57.4)	44/88 (50)	43/83 (51.8)	0.531
	สุกรเล็ก	100/251 (39.8)	44/88 (50)	43/83 (51.8)	0.002
	สุกรรุ่น	100/251 (39.8)	44/88 (50)	43/83 (51.8)	0.002
	สุกรขุน	-	15/38 (39.5)	28/42 (66.7)	0.024
	สุกรสาว	70/122 (57.4)	44/88 (50)	43/83 (51.8)	0.531
	แม่สุกร	70/122 (0)	29/50 (58)	15/41 (36.6)	0.053

ตัวเลขในวงเล็บคือเปอร์เซนต์ของการพบเชื้อ

บทวิจารณ์

ในเบื้องต้นผู้วิจัยได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบวิธีการและขั้นตอนการตรวจเพื่อให้ได้ผลการทดลองที่น่าเชื่อถือที่สุด โดยทั่วไปแล้วด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (PCR) ไม่ได้เป็นวิธีที่จะแบ่งได้ว่าสาย DNA ที่ให้ผลบวกนั้นได้มาจากเชื้อเป็นหรือเชื้อตาย ในขณะที่การเพาะเชื้อจะสามารถตรวจได้เฉพาะเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่เท่านั้น (Dussurget and Roulland-Dussoix, 1994). การศึกษานี้เราใช้กลุ่มควบคุมลบและบวก (positive และ negative controls) เพื่อการ ควบคุมความถูกต้องของการตรวจทั้งแบบ PCR และการเพาะเชื้อโดยตรง การตรวจเชื้อมัยโคพลาสมาทั้ง 3 ชนิดนี้ถือเป็นครั้งแรกของการศึกษาในประเทศไทย จากการศึกษาที่ผ่านมามีการศึกษาทางด้านซีรัมวิทยาของเชื้อ *M. hyopneumoniae* จากสุกรในโรงเชือดที่ประเทศเยอรมันพบว่าให้ผลบวกที่เป็น seropositive เพียงแค่ 8-13% (Holmgren et al., 1999; Maes et al., 1999) การตรวจด้วยวิธีการเพาะเชื้อ *M. hyopneumoniae* และยืนยันด้วยวิธี PCR (culture prior to PCR; CPP) ถือเป็นวิธีมาตรฐานของการตรวจ(Thacker, 2004) อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ให้ผลการตรวจที่ต่ำกว่าการตรวจตัวอย่างด้วย PCR โดยตรง (direct PCR; DP) การตรวจจากเนื้อเยื่อปอดด้วยวิธี DP เป็นวิธีที่ให้ความถูกต้องมากกว่า ดังนั้นจึงสามารถแนะนำให้ใช้ตรวจเพื่อคัดกรองพาหะและสัตว์อมโรคในฟาร์มได้อย่างถูกต้อง (Kurth et al., 2002) Kurth et al., 2002)

สำหรับการตรวจเชื้อ *M. hyosynoviae* ในทอนซิลด้วยทั้ง 2 วิธี ให้ผลที่ใกล้เคียงกัน แต่การตรวจพบเชื้อในทอลซิลซึ่งเป็นอวัยวะเก็บเชื้อตามหน้าที่ของต่อมน้ำเหลือง ไม่ได้แสดงสถานภาพการติดเชื้อในปัจจุบันเหมือนกับการพบเชื้อที่ปอด หรือ น้ำในข้อต่อ (Nielsen et al., 2005) โดยอาจพบว่าเชื้อจะไม่ปรากฏในส่วนดังกล่าวหลังจากที่ติดเชื้อได้ 3 สัปดาห์ หรืออยู่ในระยะเรื้อรังก็จะพบคงทนอยู่ในทอนซิลเท่านั้น ดังนั้นการพิจารณาควรร่วมกับอาการทางคลินิกหรือรอยโรคของสุกร (Hagedorn-Olsen et al., 1999a) นอกจากนี้เชื้อโรคอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับอาการข้อต่ออักเสบควรนำมาร่วมพิจารณาด้วยได้แก่ *Erysipelothrix rhusiopathiae, Streptococcus suis, Actinomyces pyogenes, Mycoplasma hyorhinis,* staphylococci, และ*Streptococcus* spp. (Hariharan et al., 1992; Thacker, 2004) แต่ไม่อยู่ในขอบเขตงานวิจัยในการศึกษานี้

การตรวจ *M. hyorhinis* จากน้ำในข้อต่อ และทอนซิล ด้วยวิธี DP และ CPP ตามลำดับ ให้ผลสอดคล้องกับอาการข้อบวม ส่วนการตรวจเชื้อ *M. hyorhinis* ที่ปอดสามารถใช้วิธีใดก็ได้ในการตรวจ อย่างไรก็ตามอวัยวะอื่นๆเคยมีรายงานการตรวจที่ไม่สอดคล้องสำหรับการตรวจจากทั้ง 2 วิธีคือ ม้าม และเยื่อหุ้ม (Kim et al., 2010; Palzer et al., 2006) จากการตรวจอวัยวะสุกรจากโรงเชือดพบว่าตัวอย่างที่เป็นตัวอย่างน้ำจากร่างกายสัตว์ที่อยู่ในการติดเชื้อระยะเรื้อรังไม่เหมาะสมสำหรับการเพาะเชื้อมัยโคพลาสมา แต่แนะนำว่าควรเก็บจากสัตว์ที่ป่วยในระยะเฉียบพลัน และกึ่งเฉียบพลัน (Kobisch and Friis, 1996) ดังนั้นการเลือกชนิดของตัวอย่างและวิธีการคตรวจที่เหมาะสมจะช่วยให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง (Assuncao et al., 2005; Lin et al., 2006; Nielsen et al., 2001b; Thacker, 2004).

ความแตกต่างของการจัดการฟาร์มและการให้ยาและเวชภัณฑ์มีผลต่อการปรากฏของ เชื้อมันโคพลาสมาจากช่องจมูกและอวัยวะภายในที่ส่งตรวจ เชื้อ *M. hyorhinis* ที่ตรวจได้จากปอดของสุกรจากโรงเชือด ที่มีลักษณะ แสดงให้เห็นว่าไม่ใช่เพียง เชื้อ *M. hyopneumoniae* ที่เป็นสาเหตุสำคัญของภาวะปอดอักเสบเรื้อรัง แต่เชื้อ *M. hyorhinis* ก็เป็นสาเหตุร่วมที่สำคัญด้วย (Buddle and O'Hara, 2005; Kobisch and Frey, 2003; Sibila et al., 2004).

ด้วยวิธีการจัดการแบบนำสุกรแม่ลงไปเลี้ยงกับสุกรสาวเพื่อให้เกิดจากสัมผัสกันโดยตรง (gilt acclimatization) ระบบนี้จะทำให้พบเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในปอดของสุกรในโรงเชือดมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับมูลเหตุของการที่สุกรแม่เป็นแหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญในฟาร์มเป็นระยะเวลานาน (Fablet et al., 2010; Maes et al., 2008). โดยแม่สุกรจะส่งผ่านเชื้อด้วยการสัมผัสและเป็นสาเหตุของการหมุนเวียนของเชื้อ *M. hyopneumoniae* ในฟาร์ม แต่ผลการสัมผัสโดยตรงแบบนี้จะทำให้ลดการตรวจพบเชื้อ *M. hyosynoviae* และ *M. hyorhinis* ที่บริเวณทอนซิล ซึ่งให้ผลดีกว่ามาตรการการทำวัคซีนป้องกัน PRRS และ *M. hyopneumoniae* อย่างไรก็ตามการพิจารณาผลของวัคซีนชนิดใด ก็ควรให้ความสำคัญกับการลดลงของเชื้อที่ทำวัคซีนนั้นๆ ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบการทำวัคซีนกับการทำ gilt acclimatization การทำวัคซีนให้ผลในการลดการพบเชื้อ *M. hyopneumoniae* ได้มากกว่า ในการเลี้ยงแบบอุตสาหกรรมของประเทศไทยเป็นระบบที่มีการเลี้ยงอย่างหนาแน่นและเป็นระบบที่ก่อให้เกิดความเครียดต่อสัตว์ ซึ่งทำให้เกิดการแทรกผ่านของเชื้อ *M. hyosynoviae* และ *M. hyorhinis* ที่ระบบทางเดินหายใจส่วนต้นเข้าสู่กระแสโลหิต นอกจากภาวะความเครียดที่กดภูมิคุ้มกันแล้วภาวะการติดเชื้อไวรัส PRRS ก็เป็นสาเหตุที่สำคัญในการกดภูมิคุ้มกันได้เช่นกัน (Hagedorn-Olsen et al., 1999a; Magnusson et al., 1998; Ross and Karmon, 1970; Sokoloff, 1973).

ระบบการจัดการแบบนำสุกรขุนเข้าฟาร์มพร้อมกันและส่งขายทั้งชุดพร้อมกันหรือ all in, all out เป็นระบบที่สามารถลดการติดเชื้อของ *M. hyorhinis* ในปอดได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่สามารถลดการติดเชื้อมัยโคพลาสมาชนิดอื่นๆได้ ดังนั้นแม้ว่าจะใช้การจัดการแบบ all in, all out สำหรับสุกรแล้วก็ไม่เพียงพอต่อการลดการติดเชื้อ *Mycoplasma* spp. ได้ โดยเฉพาะในช่วงการระบาดในคอกสุกรอนุบาล และอวัยวะที่สำคัญที่เป็นบริเวณส่งผ่านเชื้อคือจมูก และมีทอนซิลเป็นแหล่งเก็บเชื้อที่สำคัญ อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าระบบ all in, all out เป็นระบบทีสามารถลด seroprevalence ของการเชื้อ *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) และ PRRS ได้ (Fraile et al., 2010). แต่การศึกษาด้านซีรัมวิทยาไม่สามารถระบุภาวะการติดเชื้อในปัจจุบันได้ทั้งหมด ซึ่งอาจเป็นภาวะที่เคยได้รับเชื้อและหายป่วยแล้ว หรืออาจมีผลบวกลวงจากการสร้างภูมิคุ้มกันที่คล้ายกันได้

การวิเคราะห์เปรียบเทียบตามระบบจัดการการเลี้ยงแบบ และ two site พบว่าระบบ two site เป็นระบบที่สามารถลดการติดเชื้อมัยโคพลาสมาในปอดโดยเฉพาะ *M. hyopneumoniae* ได้ดีกว่าระบบ one site อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของการลดการแพร่กระจายในระบบทางเดินหายใจ และการสัมผัสโดยตรงระหว่างฝูง โดยใช้ระบบ multiple sites management (Sibila et al., 2009) แต่สำหรับอวัยวะส่วน ทอนซิล และช่องจมูก ของสุกรอนุบาลถึงสุกรขุน วิธีการจัดการแบบ two site ไม่ได้ลดการปรากฏของเชื้อเมื่อเทียบกับ one site management นั้นอาจแสดงถึงภาวะการส่งผ่านของเชื้อที่อยู่ในระดับที่เท่ากันทั้งสองระบบ แต่ระบบ two site น่าจะดีกว่าเพราะพบเชื้อที่อวัยวะเป้าหมายได้น้อยกว่า

ช่วงเวลาที่พบการถ่ายทอดเชื้อมัยโคพลาสมาไปสู่ลูกสุกรคือช่วงเวลาก่อนหย่านม ดังนั้นในระบบการจัดการแบบ multiple sites โดยการแยกเล้าสุกรพันธุ์ กับพื้นที่ของสุกรขุนก็ไม่อาจช่วยลดการติดเชื้อ เพราะเชื้อมัยโคพลาสมาได้อยู่ในตัวสุกรตั้งแต่ช่วงก่อนหย่านม และสุกรที่ติดเชื้อก็ยังเป็นพาหะไปจนถึงช่วงขุน (Friis and Feenstra, 1994).

จากการตรวจน้ำจากข้อต่อ การพบเชื้อ *M. hyorhinis* มีความสัมพันธ์กับอาการข้อต่ออักเสบในสุกรอนุบาล จึงยืนยันได้ว่าการตรวจน้ำจากข้อต่อด้วยวิธี PCR เป็นวิธีที่น่าเชื่อถือและสอดคล้องกับอาการและรอยโรค (Friis and Feenstra, 1994; Nielsen et al., 2001a).

จากรายงานที่ผ่านมาแนะนำให้มีการทำวัคซีนป้องกันการติดเชื้อมัยโคพลาสมาชนิด *M. hyopneumoniae* 2 ครั้ง ในลูกสุกรช่วงก่อนและหลังหย่านมพบว่าไม่สามารถลดการส่งผ่านและการติดเชื้อ แต่พบว่าสามารถลดรอยโรคในปอดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Chae, 2011; Djordjevic et al., 1997; Haesebrouck et al., 2004; Maes et al., 2008; Sibila et al., 2008; Sibila et al., 2009; Thacker et al., 2000; Villarreal et al., 2011). โดยวัคซีนจะไปช่วยสุกรด้วยการลดการสร้าง tumor necrosis factor (TNF)-α level, เซลล์อักเสบ และ การรวมกลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-cells ดังนั้น รอยโรคที่ปอดจึงลดลงตามลำดับ (Okada et al., 2000; Okada et al., 1999; SheldrBe, 1990; Sibila et al., 2007). อย่างไรก็ตาม ไม่พบการป้องกันข้ามกลุ่มต่อเชื้อ *M. hyorhinis*

นอกจากวัคซีนแล้วการป้องกันการติดเชื้อมัยโคพลาสมายังจำเป็นต้องอาศัยยาปฏิชีวนะ (Maes et al., 2008). จากข้อมูลการสำรวจในครั้งนี้โปรแกรมการให้ยามีความแตกต่างกันตามช่วงอายุของสุกร การให้ยาในแม่สุกรตั้งท้องและลูกสุกรอนุบาลมีผลต่อการลดลงของจำนวนสุกรที่ติดเชื้อมัยโคพลาสม่าชนิด *M. hyorhinis* ที่พบในปอดและน้ำจากข้อต่อ แต่ไม่ได้ลดลงช่องจมูกและทอนซิล ดังนั้นจึงเป็นข้อยืนยันว่าการพิจารณาบริเวณที่มีการพบเชื้อที่สามารถแปลความได้ว่ามีนัยสำคัญต่อการวางแผนควบคุมและป้องกันคือเชื้อจากอวัยวะเป้าหมายเท่านั้น ไม่ใช้แหล่งเก็บเชื้ออย่างทอนซิล หรือการปนเปื้อนจากช่องจมูก การให้ยาแก่สุกรในฟาร์มทุกช่วงอายุ ไม่ได้ช่วยลดจำนวนผลบวกของการตรวจ *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis* จากปอดได้ แต่การให้ยาจะช่วยลดการเป็นพาหะของ *M. hyosynoviae* ที่พบในทอนซิลของลูกสุกรดูดนมและสุกรขุน อย่างมีนัยสำคัญ ผลจากโปรแกรมการให้ยาสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการควบคุมเชื้อ *M. hyosynoviae* ในฝูงพ่อแม่พันธุ์เพื่อลดการอักเสบของข้อต่อได้ (Hagedorn-Olsen et al., 1999a; Hagedorn-Olsen et al., 1999b).

สรุปผลการดำเนินการในภาพรวม

ทีมผู้วิจัยได้รับความร่วมมือจากฟาร์มที่เข้าข่ายเพื่อการศึกษารวมถึงโรงฆ่าสัตว์ที่อยู่ในบริเวณของฟาร์มนั้น โดยสามารถกระจายพื้นที่เพื่อการศึกษาได้ครอบคลุม ยกเว้นในส่วนของจังหวัดภาคใต้ซึ่งมีฟาร์มที่เข้าข่ายน้อยมากและส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่ที่ไม่ปลอดภัยในการเดินทาง ลักษณะการจัดการและข้อมูลทางด้านมาตรการควบคุมโรค ได้ทำการเก็บข้อมูลทั้งหมดตามรายละเอียดปรากฏในแบบสอบถาม ในเบื้องต้นได้ตัวอย่างสุกรจากฟาร์มและโรงฆ่าสัตว์ทั้งสิ้น 270 ตัว แยกได้เป็น ตัวอย่างจาก 754 ตำแหน่ง ได้แก่ ทอนซิน ปอด และน้ำในข้อต่อ ฟาร์มในประเทศไทยและทุกพื้นที่ที่สำรวจพบเชื้อมัยโคพลาสมาทั้ง 3 ชนิด โดยทำการตรวจด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โดยตรวจจากตัวอย่าง (direct PCR, DP) และวิธีการเพาะเชื้อก่อนแล้วจึงยืนยันผลด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่ (culture prior to PCR, CCP) ในเบื้องต้นผู้วิจัยได้ทำการประมวลผลการทดสอบในแต่ละชนิดของเชื้อกับชนิดของตัวอย่างที่ส่งตรวจ โดยเปรียบเทียบกระบวนการของการตรวจทั้ง 2 แบบ ซึ่งพบว่าในกรณีที่ต้องการตรวจเชื้อ *M. hyopneumoniae* จากปอดที่สงสัย วิธี DP ให้ความแม่นยำมากกว่า ในขณะที่วิธี CCP เหมาะสำหรับการตรวจเชื้อ *M. hyorhinis* และวิธี CCP เหมาะสำหรับการตรวจหาเชื้อมัยโคพลาสมาจากทอนซิล แต่วิธีนี้ไม่เหมาะสำหรับการเพาะเชื้อจากน้ำในข้อต่อ ผลการเพาะเชื้อจากสุกรขุนระยะท้ายและสุกรในโรงฆ่าสัตว์พบเชื้อ *M. hyopneumoniae, M. hyosynoviae* และ *M. hyorhinis* ที่ความชุก 40.3, 12.3 และ 64.6 % ตามลำดับ

ในด้านปัจจัยเสี่ยงต่อมัยโคพลาสมา สามารถแยกได้เป็น cross-sectional และ longitudinal studies ในการเก็บตัวอย่างรอบแรก (cross-sectional) พบว่า ปัจจัยการจัดการมีผลต่อจำนวนมัยโคพลาสมา คือ การจัดการที่มีผลต่อการลดหรือเพิ่ม direct contact ระหว่างแม่สุกรและลูกสุกร หรือระหว่างสุกรขุนด้วยกัน หรือในช่วงที่มีการปรับสภาพสุกรสาวซึ่งพบว่าการใช้แม่นางปลดเป็น donor จะพบ *M. hyopneumoniae* สูงกว่าการใช้ PRRS วัคซีนในการปรับสภาพสุกรสาว แต่ในการจัดแบ่งสุกรขุนแบบเข้าหมดออกหมด (all in all out) ยังไม่เพียงพอในการลดปริมาณมัยโคพลาสมาลงอย่างมีนัยสำคัญ โรคแทรกซ้อนจากไวรัสมีผลต่อจำนวน *M. hyopneumoniae* และ *M. hyorhinis* จากอวัยวะต่างๆอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) การทำวัคซีน *M. hyopneumoniae* แก่สุกรหย่านม มีผลต่อ *M. hyopneumoniae* แต่ไม่มีผลต่อเชื้อมัยโคพลาสมาชนิดอื่น ส่วนการให้ยาจะมีผลต่างกันไปตามอายุของสุกรและชนิดของมัยโคพลาสมาดังตารางข้างต้น จากการติดตามเก็บตัวอย่างแบบ longitudinal study จึงพบว่าจำนวนของมัยโคพลาสมามีการเปลี่ยนแปลงได้เมื่อเวลาแตกต่างไป

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ถูกต้องที่สุด จึงต้องใช้จำนวนตัวอย่างที่มากพอ อีกทั้งยังเป็นการตรวจถึง 3 เชื้อ ซึ่งแต่ละวิธีต้องใช้ความชำนาญและต้นทุนสูงในการทำงาน ด้วยข้อจำกัดของงบประมาณจึงอาจต้องใช้วิธีการขอข้อมูลบางส่วนจากสถาบันสุขภาพสัตว์ ที่ได้ตัวอย่างจากพื้นที่บางจุดของประเทศเพิ่มเติม

เอกสารอ้างอิง

Assuncao, P., De la Fe, C., Kokotovic, B., Gonzalez, O., Poveda, J.B., 2005. The occurrence of mycoplasmas in the lungs of swine in Gran Canaria (Spain). Vet Res Commun 29, 453-462.

Buddle, J.R., O'Hara, A.J., 2005. Enzootic pneumonia of pigs--a diagnostic dilemma. Australian Veterinary Journal 83, 134-139.

Burch, D. 2005. Problems of antibiotic resistance in pigs in the UK. In Practice, 27:37-43-1.

Cameron R.D.A. 2000. A Review of The Industrialisation of Pig Production Worldwide with Particular Reference to The Asian Region. Animal Health and Area-wide Integration. http://birdflubook.com/resources/cameron1pdf.pdf

Carrou, J.L., Laurentie, M., Kobisch, M., and Gautier-Bouchardon, A.V. 2006. Persistence of *Mycoplasma hyopneumoniae* in Experimentally Infected Pigs after Marbofloxacin Treatment and Detection of Mutation in the *par*C Gene. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 50(6):1959-1966.

Chae, C., 2011. Vaccinating pigs against Mycoplasma hyopneumoniae infection: failure to prevent transmission. The Veterinary Journal 188, 7-8.

Djordjevic, S.P., Eamens, G.J., Romalis, L.F., Nicholls, P.J., Taylor, V., Chin, J., 1997. Serum and mucosal antibody responses and protection in pigs vaccinated against Mycoplasma hyopneumoniae with vaccines containing a denatured membrane antigen pool and adjuvant. Australian Veterinary Journal 75, 504-511.

Dussurget, O., Roulland-Dussoix, D., 1994. Rapid, sensitive PCR-based detection of mycoplasmas in simulated samples of animal sera. Appl Environ Microbiol 60, 953-959.

Fablet, C., Marois, C., Kobisch, M., Madec, F., Rose, N., 2010. Estimation of the sensitivity of four sampling methods for Mycoplasma hyopneumoniae detection in live pigs using a Bayesian approach. Veterinary Microbiology 143, 238-245.

Fraile, L., Alegre, A., Lopez-Jimenez, R., Nofrarias, M., Segales, J., 2010. Risk factors associated with pleuritis and cranio-ventral pulmonary consolidation in slaughter-aged pigs. The Veterinary Journal 184, 326-333.

Friis, N.F., Feenstra, A.A., 1994. Mycoplasma hyorhinis in the etiology of serositis among piglets. Acta Veternaria Scandinavica 35, 93-98.

Gutierrez-Martin, C., del Blanco, N.C., Blanco, M., Navas, J., and Rodriguez-Ferri, E. 2006. Change in antimicrobial susceptibility of Actinbacillus pleuropneumoniae isolated from pigs in Spain during the last decade. Veterinary Microbiology, 115:218-222.

Haesebrouck, F., Pasmans, F., Chiers, K., Maes, D., Ducatelle, R., Decostere, A., 2004. Efficacy of vaccines against bacterial diseases in swine: what can we expect? Veterinary Microbiology 100, 255-268.

Hagedorn-Olsen, T., Nielsen, N.C., Friis, N.F., 1999a. Induction of arthritis with Mycoplasma hyosynoviae in pigs: clinical response and re-isolation of the organism from body fluids and organs. Zentralbl Veterinarmed A 46, 317-325.

Hagedorn-Olsen, T., Nielsen, N.C., Friis, N.F., Nielsen, J., 1999b. Progression of Mycoplasma hyosynoviae infection in three pig herds. Development of tonsillar carrier state, arthritis and antibodies in serum and synovial fluid in pigs from birth to slaughter. Zentralbl Veterinarmed A 46, 555-564.

Hariharan, H., MacDonald, J., Carnat, B., Bryenton, J., Heaney, S., 1992. An investigation of bacterial causes of arthritis in slaughter hogs. J Vet Diagn Invest 4, 28-30.

Holmgren, N., Lundeheim, N., Wallgren, P., 1999. Infections with Mycoplasma hyopneumoniae and Actinobacillus pleuropneumoniae in fattening pigs. Influence of piglet production systems and influence on production parameters. Zentralbl Veterinarmed B 46, 535-544.

Kim, B., Lee, K., Han, K., Kim, D., Ha, Y., Kim, C.H., Oh, Y., Kang, I., Lee, J., Chae, C., 2010. Development of in situ hybridization for the detection of Mycoplasma hyorhinis in formalin-fixed paraffin-embedded tissues from naturally infected pigs with polyserositis. J Vet Med Sci 72, 1225-1227.

Kobayashi, H., Morozumi, T., Munthali, G., Mitani, K., Ito, N., and Yamamoto, K., 1996, Macrolides Susceptibility of *Mycoplasma hyorhinis* Isolated from Piglets, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 40(4), 1030-1032.

Kobisch, M., Frey, J., 2003. Detection of *Mycoplasma hyponeumoniae* from clinical samples and air. Methods Mol Biol 216, 247-256.

Kobisch, M., Friis, N.F., 1996. Swine mycoplasmoses. Rev Sci Tech 15, 1569-1605.

Kurth, K.T., Hsu, T., Snook, E.R., Thacker, E.L., Thacker, B.J., Minion, F.C., 2002. Use of a *Mycoplasma hyopneumoniae* nested polymerase chain reaction test to determine the optimal sampling sites in swine. J Vet Diagn Invest 14, 463-469.

Lauritsen, K.T., Hagedorn-Olsen, T., Friis, N.F., Lind, P., and Jungersen, G., 2008, Absence of strictly age-related resistance to *Mycoplasma hyosynoviae* infection in 6-week-old pigs, Veterinary Microbiology, 130, 385-390.

Lin, J.H., Chen, S.P., Yeh, K.S., Weng, C.N., 2006. Mycoplasma hyorhinis in Taiwan: diagnosis and isolation of swine pneumonia pathogen. Vet Microbiol 115, 111-116.

Maes, D., Deluyker, H., Verdonck, M., Castryck, F., Miry, C., Vrijens, B., de Kruif, A., 1999. Risk indicators for the seroprevalence of Mycoplasma hyopneumoniae, porcine influenza

viruses and Aujeszky's disease virus in slaughter pigs from fattening pig herds. Zentralbl Veterinarmed B 46, 341-352.

Maes, D., Segales, J., Meyns, T., Sibila, M., Pieters, M., Haesebrouck, F., 2008. Control of Mycoplasma hyopneumoniae infections in pigs. Veterinary Microbiology 126, 297-309.

Magnusson, U., Wilkie, B., Mallard, B., Rosendal, S., Kennedy, B., 1998. Mycoplasma hyorhinis infection of pigs selectively bred for high and low immune response. Veterinary Immunology and Immunopathology 61, 83-96.

Moorkamp, L., Nathues, H., Spergser, J., Tegeler, R., Beilage, E.G., 2008. Detection of respiratory pathogens in porcine lung tissue and lavage fluid. Vet J 175, 273-275.

Meyns, T., Maes, D., Calus, D., Ribbens, S., Dewulf, J., Chiers, K., de Kruif, A., Cox. E., Decostere, A., and Haesebrouck, F. 2007. Interactions of highly and low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* with the respiratory tract in pigs. Veterinary Microbiology. 120:87-95.

Momynaliev, K.T. and Govorun, V.M. 2001. Mechanisms of Genetic Instability in Mollicutes (Mycoplasmas). Russian Journal of Genetics. 37(9):979-992.

Nielsen, E.O., Lauritsen, K.T., Friis, N.F., Enoe, C., Hagedorn-Olsen, T., Jungersen, G., 2005. Use of a novel serum ELISA method and the tonsil-carrier state for evaluation of Mycoplasma hyosynoviae distributions in pig herds with or without clinical arthritis. Vet Microbiol 111, 41-50.

Nielsen, E.O., Nielsen, N.C., Friis, N.F., 2001a. Mycoplasma hyosynoviae arthritis in grower-finisher pigs. Journal of Veterinary Medicine Series A Physiology Pathology Clinical Medicine 48, 475-486.

Nielsen, E.O., Nielsen, N.C., Friis, N.F., 2001b. Mycoplasma hyosynoviae arthritis in grower-finisher pigs. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med 48, 475-486.

Okada, M., Asai, T., Ono, M., SBano, T., Sato, S., 2000. Cytological and immunological changes in bronchoalveolar lavage fluid and histological observation of lung lesions in pigs immunized with Mycoplasma hyopneumoniae inactivated vaccine prepared from broth culture supernate. Vaccine 18, 2825-2831.

Okada, M., SBano, T., Senna, K., Maruyama, T., Murofushi, J., Okonogi, H., Sato, S., 1999. Evaluation of Mycoplasma hyopneumoniae inactivated vaccine in pigs under field conditions. Journal of Veterinary Medical Science 61, 1131-1135.

Palzer, A., Ritzmann, M., Hafner-Marx, A., Wolf, G., Heinritzi, K., 2006. [Detection of Haemophilus parasuis and Mycoplasma hyorhinis in swine and association of those pathogens with clinical and pathological-anatomic findings]. Dtsch Tierarztl Wochenschr 113, 227-230.

Phillips, I., Casewell, M., Cox, T., De Groot, B., Friis, C., Jones, R., Nightingale, C., Preston, R., and Waddell, J. 2004. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to

human health? A critical review of published data. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 53: 28-52.

Ross, R., Karmon, J., 1970. Heterogeneity among strains of *Mycoplasma granularum* and identification of *Mycoplasma hyosynoviae*, sp.n. . Journal of Bacteriology 103, 707-713.

SheldrBe, R.F., 1990. Ig A immune responses in the respiratory tract of pigs. Research in Veterinary Science 49, 98-103.

Sibila, M., Bernal, R., Torrents, D., Riera, P., Llopart, D., Calsamiglia, M., Segales, J., 2008. Effect of sow vaccination against Mycoplasma hyopneumoniae on sow and piglet colonization and seroconversion, and pig lung lesions at slaughter. Veterinary Microbiology 127, 165-170.

Sibila, M., Calsamiglia, M., Segales, J., Rosell, C., 2004. Association between Mycoplasma hyopneumoniae at different respiratory sites and presence of histopathological lung lesions. Vet Rec 155, 57-58.

Sibila, M., Nofrarias, M., Lopez-Soria, S., Segales, J., Valero, O., Espinal, A., Calsamiglia, M., 2007. Chronological study of Mycoplasma hyopneumoniae infection, seroconversion and associated lung lesions in vaccinated and non-vaccinated pigs. Veterinary Microbiology 122, 97-107.

Sibila, M., Pieters, M., Molitor, T., Maes, D., Haesebrouck, F., Segales, J., 2009. Current perspectives on the diagnosis and epidemiology of Mycoplasma hyopneumoniae infection. The Veterinary Journal 181, 221-231.

Sokoloff, L., 1973. Animal model: arthritis due to Mycoplasma in rats and swine. American Journal of Pathology 73, 261-264.

Stipkovit, L., Miller, D., Glavits, R., Fodor, L., and Burch, D. 2001. Treatment of pigs experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, and *Actinobacillus pleuropneumoniae* with various antibiotics. The Canadian Journal of Veterinary Research. 65:213-222.

Thacker, E., Halbur, P.G., Ross, R., Thanawongnuwech, R., and Thacker, B.J. 1999. *Mycoplasma hyopneumoniae* Potentiation of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus-Induced Pneumonia. Journal of Clinical Microbiology. 37(3):620-627.

Thacker, E.L., 2004. Diagnosis of Mycoplasma hyopneumoniae. Anim Health Res Rev 5, 317-320.

Thacker, E.L., Thacker, B.J., Kuhn, M., Hawkins, P.A., Waters, W.R., 2000. Evaluation of local and systemic immune responses induced by intramuscular injection of a Mycoplasma hyopneumoniae bacterin to pigs. American Journal of Veterinary Research 61, 1384-1389.

Thusfield, M. 2005. Veterinary Epidemiology (UK, Blackwell Science), 305-330.

Villarreal, I., Meyns, T., Dewulf, J., Vranckx, K., Calus, D., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Maes, D., 2011. The effect of vaccination on the transmission of Mycoplasma hyopneumoniae in pigs under field conditions. The Veterinary Journal 188, 48-52.

Vicca, J., StBenborg, Maes, D., Butaye, P., Peeters, J., de Kruif, A. and Haesebrouck, F. 2004. In Vitro Susceptibilities of *Mycoplasma hyopneumoniae* Field Isolates. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 48:4470-4472.

ตารางที่ 1 ข้อมูลการใช้ยาปฏิชีวนะในสุกรแยกตามความแตกต่างของช่วงอายุ และวิธีการให้ยา

ฟาร์ม	ทางให้ยา	อายุสุกร						
		แม่พันธุ์	สุกรสาวทดแทน	ลูกสุกร	อนุบาล	สุกรเล็ก	สุกรรุ่น	สุกรขุน
A	อาหาร	√	√			√		
	น้ำ				√			
B	อาหาร					√	√	
C	อาหาร	√	√		√	√	√	√
D	อาหาร	√	√	√	√	√		
E	อาหาร	√		√	√			
F	อาหาร	√	√	√	√	√	√	
G	อาหาร	√	√	√	√	√	√	
H	อาหาร	√	√	√	√			
I	อาหาร	√	√	√	√	√	√	
	ฉีด		√		√			√

ตารางที่ 2 วิธีใช้และชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในสุกรพันธุ์

สุกร	ฟาร์ม	ยาผสมอาหาร	อายุ (สัปดาห์) หรือช่วงเลี้ยง	ระยะเวลา (วัน)	Tiamulin (ppm)	Tylosin (ppm)	CTC (ppm)	Amoxicillin (ppm)	Tylosin+Sulfa (ppm)
แม่สุกร	A	ยาร่วม	-	14	150	-	400	-	-
	B	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	C	ยาเดี่ยว	-	14	100	-	-	-	-
	D	ยาเดี่ยว	เลี้ยงลูก	26	100	-	-	-	-
	E	ยาเดี่ยว	-	7	150	-	-	-	-
	F	ยาร่วม	เลี้ยงลูก	31	150	-	-	300	-
	G	ยาร่วม	เลี้ยงลูก	31	150	-	-	300	-
	H	ยาร่วม	เลี้ยงลูก	7	-	275	-	-	-
	I	ยาร่วม	-	10	-	-	300	200	-
สุกรทดแทน	A	ยาร่วม	-	14	150	-	400	-	-
	B	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	C	ยาเดี่ยว	10	21	-	200	-	-	-
	D	ยาร่วม	-	5	-	-	-	-	110
	E	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	F	ยาร่วม	24	60	150	-	-	300	-
	G	ยาร่วม	24	60	150	-	-	300	-
	H	ยาร่วม	10	35	150	-	-	300	-
	I	ยาร่วม	33	14	150	-	-	300	-
	I	ยาเดี่ยว	33	3	√	-	-	-	-

ตารางที่ 3 ข้อมูลยาปฏิชีวนะผสมอาหารและชนิดของยาที่ใช้ในสุกรขุน

สุกร	ฟาร์ม	ยาผสมอาหาร	อายุ (สัปดาห์)	ระยะเวลา (วัน)	Tiamulin (ppm)	Tylosin (ppm)	CTC (ppm)	OTC (ppm)	Amoxicillin (ppm)
ลูกสุกร	A	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	B	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	C	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	D	ยาเดี่ยว	1	14	100	-	-	-	-
	E	ยาเดี่ยว	1	7	150	-	-	-	-
	F	ยาร่วม	1	14	200	-	-	-	300
	G	ยาร่วม	1	14	200	-	-	-	300
	H	ยาร่วม	1	14	150	-	-	-	300
	I	ยาร่วม	1	14	150	-	-	-	300
อนุบาล	A	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	B	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	C	ยาเดี่ยว	4	14	-	170	-	-	-
	D	ยาเดี่ยว	4	21	100	-	-	-	-
	E	ยาเดี่ยว	4	14	150	-	-	-	-
	F	ยาร่วม	4	35	150	-	-	-	300
	G	ยาร่วม	4	35	150	-	-	-	300
	H	ยาร่วม	6	28	150	-	-	-	300
	I	ยาร่วม	4	42	150	-	-	-	300
สุกรเล็ก	A	ยาร่วม	10	14	150	-	-	-	300
	B	ยาร่วม	11	28	150	-	-	-	250
	C	ยาเดี่ยว	10	21	-	200	-	-	-
	D	ยาเดี่ยว	10	14	100	-	-	-	-
	E	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	F	ยาร่วม	10	49	150	-	-	-	300
	G	ยาร่วม	10	49	150	-	-	-	300
	H	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	I	ยาร่วม	11	14	150	-	450	-	-
สุกรรุ่น	A	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-

สุกร	ฟาร์ม	ยาผสมอาหาร	อายุ (สัปดาห์)	ระยะเวลา (วัน)	Tiamulin (ppm)	Tylosin (ppm)	CTC (ppm)	OTC (ppm)	Amoxicillin (ppm)
	B	ยาร่วม	15	28	100	-	450	-	-
	C	ยาเดี่ยว	15	21	-	140	-	-	-
	D	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	E	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	F	ยาร่วม	17	28	150	-	-	-	300
	G	ยาร่วม	17	28	150	-	-	-	300
	H	ไม่ใช้	-	-	-	-	-	-	-
	I	ยาร่วม	17	-	150	-	-	-	200
สุกรขุน	C	ยาเดี่ยว	21	21	150	-	-	-	-

ตารางที่ 4 ข้อมูลยาละลายน้ำ ยาฉีดและชนิดของยาที่ใช้ในสุกรขุนฟาร์ม 9 ฟาร์ม

สุกร	ฟาร์ม	ยาละลายน้ำ	อายุ (สัปดาห์)	ระยะเวลา (วัน)	Tiamulin	Enrofloxacin	OTC
อนุบาล	A	ยาเดี่ยว	4	7	10 mg/kg bw	-	-
สุกร	ฟาร์ม	ยาฉีด	อายุ (สัปดาห์)	ระยะเวลา (วัน)	Tiamulin	Enrofloxacin	OTC
อนุบาล	I	ยาเดี่ยว	9	3	-	√	-
สุกรขุน	I	ยาร่วม	24	3	√	-	√

ตารางที่ 5 ผลการตรวจอาการข้อบวมและเชื้อมัยโคพลาสมาที่เพาะจากช่องจมูก

ฟาร์ม	จำนวนตัวอย่าง	ข้อบวม/ตัวอย่าง (%)	จำนวนตัวอย่างที่พบมัยโคพลาสมา (%)		
			MH*	MHS**	MHR***
A	30	30/30 (100)	0/30 (0)	0/30 (0)	18/30 (60%)
B	30	28/30 (93.3)	0/30 (0)	0/30 (0)	4/30 (13.3)
C	30	8/30 (26.7)	0/30(0)	0/30 (0)	14/30 (46.7)
D	30	3/30 (10)	0/30 (0)	0/30 (0)	0/30 (0)
E	30	25/30 (83.3)	0/30 (0)	0/30 (0)	17/30 (56.7)
F	30	30/30 (100)	0/30 (0)	0/30 (0)	25/30 (83.3)
G	30	16/30 (53.3)	0/30 (0)	0/30 (0)	28/30 (93.3)
H	30	25/30 (83.33)	0/30 (0)	0/30 (0)	30/30 (100)
I	30	3/30 (10)	1/30 (3.3%)	0/30 (0)	29/30 (96.7)
Total	270	168/270 (62.2)	1/270 (0.3)	0/270 (0)	165/270 (61.1)

MH*= *M. hyopneumoniae*; MHS**= *M. hyosynoviae*; MHR***= *M. hyorhinis*

ตารางที่ 6 ข้อมูลเปรียบเทียบ การจัดการและการใช้ยาปฏิชีวนะของฟาร์ม 2 ฟาร์มที่เก็บตัวอย่างต่อเนื่อง

การจัดการ	ครั้งที่เก็บตัวอย่าง	ฟาร์ม B	ฟาร์ม F
all in all out ในสุกรขุน	1-3	ไม่ all in all out	ไม่ all in all out
การปรับสภาพสุกรสาว	1-3	ใช้แม่นางปลด	ใช้แม่นางปลด+วัคซีน PRRSV
วัคซีน MH	1-3	ทำ 2 ครั้ง (2-shots)	ทำครั้งเดียว (1-shot)
โรคแทรกซ้อนอื่น	1	PRRSV	PRRSV+PCV2
	2	PRRSV	PRRSV+PCV2+SIV
	3	PRRSV	PRRSV+PCV2+SIV
การใช้ยาปฏิชีวนะ			
-แม่สุกร	1-3	ไม่ใช้	ใช้
-สุกรทดแทน	1	ไม่ใช้	ใช้
	2-3	ใช้	ใช้
-ลูกสุกร	1	ไม่ใช้	ใช้
	2-3	ใช้	ใช้
-อนุบาล	1	ไม่ใช้	ใช้
	2-3	ใช้	ใช้
-สุกรเล็ก	1-3	ใช้	ใช้
-สุกรรุ่น	1-3	ใช้	ใช้
-สุกรขุน	1	ไม่ใช้	ไม่ใช้
	2-3	ใช้	ไม่ใช้

PRRSV: porcine reproductive and respiratory virus

PCV2: porcine circovirus

SIV: swine influenza virus

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงด้านการใช้วัคซีนและยาป้องกันโรคต่อการพบเชื้อมัยโคพลาสมาในสุกร

ปัจจัยเสี่ยง	ข้อมูล	จำนวนตัวอย่างที่พบมัยโคพลาสมา (%)		
		MH*	MHS**	MHR***
MH vaccination	ไม่ทำวัคซีน	16/108 (4.2)	0/108 (0)	26/108 (24.1)
	ทำวัคซีน	27/916 (2.9)	21/916 (2.3)	357/916 (39)
	P-value	<0.001	0.112	0.002
	OR (95%CI)	5.7 (3-11)	-	2.0 (1.3-3.2)
การให้ยาปฏิชีวนะ				
ลูกสุกรดูดนม	ไม่ให้ยา	14/324 (4.3)	*12/324 (3.7)*	119/324 (36.7)
	ให้ยา	29/700 (4.1)	*9/700 (1.3)*	264/700 (37.7)
	P-value	0.895	*0.011*	0.762
	OR (95%CI)	1.1 (0.5-2)	3.0 (1.2-7.1)	1.0 (0.8-1.4)
อนุบาล	ไม่ให้ยา	4/129 (3.1)	0/129 (0)	30/129 (23.3)
	ให้ยา	39/895 (4.4)	21/895 (2.3)	353/895 (39.4)
	P-value	0.506	0.096	<0.001
	OR (95%CI)	1.4 (0.5-4.1)	-	2.2 (1.4-3.3)
สุกรเล็ก	ไม่ให้ยา	5/232 (2.2)	*9/232 (3.9)*	78/232 (33.6)
	ให้ยา	38/792 (4.8)	*12/792 (1.5)*	305/792 (38.5)
	P-value	0.078	*0.034*	0.176
	OR (95%CI)	2.3 (0.9-5.9)	2.6 (1.1-6.3)	1.2 (0.9-1.7)
สุกรรุ่น	ไม่ให้ยา	21/430 (4.9)	*21/430 (4.9)*	150/430 (34.9)
	ให้ยา	22/594 (3.7)	*0/594 (0)*	233/594 (39.2)
	P-value	0.353	*<0.001*	0.156
	OR (95%CI)	1.3 (0.7-2.5)	-	1.2 (0.9-1.6)
สุกรขุน	ไม่ให้ยา	31/799 (3.9)	*21/799 (2.6)*	299/799 (37.4)
	ให้ยา	12/225 (5.3)	*0/225 (0)*	84/225 (37.3)
	P-value	0.337	*0.007*	0.981
	OR (95%CI)	1.4 (0.7-2.8)	-	1.0 (0.7-1.4)
สุกรสาว	ไม่ให้ยา	9/241 (3.7)	*0/241 (0)*	69/241 (28.6)
	ให้ยา	34/783 (4.3)	*21/783 (2.7)*	314/783 (40.1)
	P-value	0.681	*0.007*	0.001
	OR (95%CI)	1.2 (0.6-2.5)	-	1.7 (1.2-2.3)
แม่สุกร	ไม่ให้ยา	4/129 (3.1)	0/129 (0)	30/129 (23.3)
	ให้ยา	39/895 (4.4)	21/895 (2.3)	353/895 (39.4)
	P-value	0.506	0.096	<0.001
	OR (95%CI)	1.4 (0.5-4.1)	-	2.2 (1.4-3.3)

MH*= *M. hyopneumoniae* ; MHS**= *M. hyosynoviae* ; MHR***= *M. hyorhinis*

ตารางที่ 8 การเปลี่ยนแปลงของจำนวน *M. hyopneumoniae* ในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง

ปัจจัยเสี่ยง	รายละเอียด	จำนวนมัยโคพลาสมา (%) จากการเก็บตัวอย่าง			*P*-value
		ช่วงที่ 1	ช่วงที่ 2	ช่วงที่ 3	
โรคไวรัสแทรกซ้อน	PRRSV	4/99 (4)	0/38 (0)	0/42 (0)	0.191
	PRRSV+อื่นๆ (PCV2,SIV)	6/152 (3.9)	0/50 (0)	0/41 (0)	0.153
Acclimatization	ใช้แต่แม่นางปลด	4/129 (3.1)	0/38 (0)	0/42 (0)	0.282
	มีการใช้วัคซีน PRRS	6/122 (23.3)	0/50 (0)	0/41 (0)	0.100
MH vaccination	one-shot	6/122 (23.3)	0/50 (0)	0/41 (0)	0.100
	two-shots	4/129 (3.1)	0/38 (0)	0/42 (0)	0.282
การให้ยาปฏิชีวนะ	ลูกสุกรดูดนม	6/122 (4.9)	0/88 (0)	0/83 (0)	0.014
	อนุบาล	6/122 (4.9)	0/88 (0)	0/83 (0)	0.014
	สุกรเล็ก	10/251 (4)	0/88 (0)	0/83 (0)	0.031
	สุกรรุ่น	10/251 (4)	0/88 (0)	0/83 (0)	0.031
	สุกรขุน	-	0/38 (0)	0/42 (0)	-
	สุกรสาว	6/122 (4.9)	0/88 (0)	0/83 (0)	0.014
	แม่สุกร	6/122 (4.9)	0/50 (0)	0/41 (0)	0.100

ตัวเลขในวงเล็บคือเปอร์เซนต์ของการพบเชื้อ

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงของจำนวน *M. hyosynoviae* ในแต่ละช่วงของการเก็บตัวอย่าง

ปัจจัยเสี่ยง	รายละเอียด	จำนวนมัยโคพลาสมา (%) จากการเก็บตัวอย่าง			*P*-value
		ช่วงที่ 1	ช่วงที่ 2	ช่วงที่ 3	
โรคไวรัสแทรกซ้อน	PRRSV	0/99 (0)	0/38 (0)	3/42 (7.1)	0.007
	PRRSV+อื่นๆ (PCV2,SIV)	0/152 (0)	0/50 (0)	0/41 (0)	-
Acclimatization	ใช้แต่แม่นางปลด	0/129 (0)	0/38 (0)	3/42 (7.1)	0.002
	มีการใช้วัคซีนPRRS	0/122 (0)	0/50 (0)	0/41 (0)	-
MH vaccination	one-shot	0/122 (0)	0/50 (0)	0/41 (0)	-
	two-shots	0/129 (0)	0/38 (0)	3/42 (7.1)	0.002
การให้ยา	ลูกสุกรดูดนม	0/122 (0)	0/88 (0)	3/83 (3.6)	0.022
	อนุบาล	0/122 (0)	0/88 (0)	3/83 (3.6)	0.022
	สุกรเล็ก	0/251 (0)	0/88 (0)	3/83 (3.6)	0.002
	สุกรรุ่น	0/251 (0)	0/88 (0)	3/83 (0)	0.002
	สุกรขุน	-	0/38 (0)	3/42 (0)	0.242
	สุกรสาว	0/122 (0)	0/88 (0)	3/83 (3.6)	0.022
	แม่สุกร	0/122 (0)	0/50 (0)	0/41 (0)	0.531

ตัวเลขในวงเล็บคือเปอร์เซนต์ของการพบเชื้อ

แบบสอบถามงานวิจัย

ลักษณะทางพันธุศาสตร์และความไวรับต่อยาด้านจุลชีพของเชื้อมัยโคพลาสมาที่แยกได้จากสุกรในประเทศไทย

แบบสอบถามแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1. ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม (General Background)
2. มาตรการสำหรับการป้องกันโรค (Prevention)

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม (General Background)

1. สถานที่ตั้งฟาร์ม อำเภอ_____จังหวัด_____

2. ชนิดของสุกรในฟาร์ม

☐ 2.1 แม่สุกร จำนวน_____ตัว

☐ 2.2 พ่อสุกร_____ตัว

☐ 2.3 สุกรสาวทดแทน_____ตัว

แหล่งที่มาของสุกรสาวทดแทน

☐ เป็นสุกรที่ผลิตได้ในฟาร์ม ☐ นำเข้ามาจากแหล่งอื่น

☐2.4 สุกรอนุบาล_____ตัว

☐ 2.5 สุกรขุน จำนวน_____ตัว

แหล่งสุกรขุน

☐ เป็นสุกรที่ผลิตได้ในฟาร์ม ☐ นำเข้ามาจากแหล่งอื่น

3. สถานที่เลี้ยง (Sites)การจัดการสุกรอนุบาล-ขุน

☐ สุกรขุนเลี้ยงรวมอยู่กับฟาร์มสุกรพ่อ-แม่พันธุ์ (one-site)

☐ เลี้ยงแยกสุกรขุนและสุกรพ่อ-แม่พันธุ์ (2-sites)

- ☐ สุกรขุนแยกกับฟาร์มแม่พันธุ์ตั้งแต่หย่านมและเลี้ยงในโรงเรือนเดียวถึงขาย (Wean to Finish)
- ☐ โรงเรือนอนุบาลอยู่กับฟาร์มแม่พันธุ์แต่โรงเรือนขุนแยกออกไป
- ☐ โรงเรือนอนุบาลอยู่ที่ฟาร์มสุกรขุน

4. การไหลของสุกร(Pig Flow)

☐ เข้าหมดออกหมดในโรงเรือนเดียวกัน (All-in-all-out) อายุต่างกันไม่เกิน 1 สัปดาห์

☐ มีสุกรอายุต่างกัน 1-2 สัปดาห์อยู่ในโรงเรือนเดียวกัน

☐มีสุกรต่างอายุเกินกว่า 2 สัปดาห์อยู่ในโรงเรือนเดียวกัน

ส่วนที่ 2 มาตรการสำหรับการป้องกันโรค (Prevention)

นิยาม มาตรการสำหรับการป้องกันโรค (Prevention) หมายถึง การปฏิบัติที่ใช้เพื่อการป้องกันก่อนสุกรเกิดอาการป่วย

มาตรการทั่วไป (Biosecurity)

6. การตรวจสอบคุณภาพอาหาร หรือ วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ซื้อเข้าฟาร์ม

☐ มีการตรวจทุกชุดที่นำเข้า อย่างน้อยทางกายภาพ เช่น กลิ่น สี ความสะอาด การปนปลอม

☐ไม่มีการตรวจเป็นประจำ

☐ไม่เคยตรวจเลย

7. การตรวจสอบคัดเลือกสุกรพันธุ์ที่นำเข้าฟาร์ม หรือสุกรที่ส่งมาจากหน่วยผลิตในฟาร์ม

☐ มีการตรวจทุกชุดที่นำเข้าไม่นำสุกรที่มีอาการป่วยเข้าฝูง

☐ ตรวจเฉพาะสุกรที่นำเข้าจากภายนอกฟาร์ม

☐ ไม่เคยตรวจเลย

8. การตรวจสอบคัดเลือกสุกรขุนที่นำเข้าฟาร์ม หรือสุกรที่ส่งมาจากหน่วยผลิตในฟาร์ม

☐ มีการตรวจทุกชุดที่นำเข้า ไม่นำสุกรที่มีอาการป่วยเข้าฝูง

☐ ตรวจเฉพาะสุกรที่นำเข้าจากภายนอกฟาร์ม

☐ไม่เคยตรวจเลย

9. ระยะห่างระหว่างโรงเรือนขุน

☐ น้อยกว่า 10 เมตร

☐ ตั้งแต่ 10 เมตรขึ้นไป

10. พื้นที่ต่อสุกรขุน 1 ตัว

☐ น้อยกว่า 1 ตารางเมตร

☐ ตั้งแต่ 1 ตารางเมตรขึ้นไป

11.การควบคุมคนภายนอกเข้าออกฟาร์ม

☐ ไม่มีมาตรการใดๆ

☐ มีมาตรการชัดเจน เช่น จำกัดจำนวนคน อาบน้ำเปลี่ยนเสื้อผ้าที่ฟาร์มจัดไว้ให้

☐ ไม่อนุญาตคนภายนอกเข้าฟาร์มเลย

12.การควบคุมคนงานเข้าออกฟาร์ม

☐ ไม่มีมาตรการใดๆ

☐ มีมาตรการชัดเจน เช่น อาบน้ำเปลี่ยนเสื้อผ้าที่ฟาร์มจัดไว้ให้

13. การพ่นยาฆ่าเชื้อในโรงเรือนระหว่างการเลี้ยง

☐ ไม่มี

☐ มีเป็นประจำแต่น้อยกว่าวันละครั้ง (ระบุ)_____วัน/ครั้ง

☐ มีเป็นประจำวันละครั้ง หรือมากกว่า

☐ มีบ้างแต่ไม่เป็นประจำ

การป้องกันเฉพาะโรคมัยโคพลาสมา

15. การใช้ยาในอาหารเพื่อควบคุมมัยโคพลาสมาในปัจจุบัน

15.1 การใช้ยาผสมอาหาร

☐ไม่ใช้

☐ใช้ โปรดระบุรายละเอียดการใช้ยา

อายุสุกร	ชื่อยา	ขนาดการใช้	ระยะเวลา(วัน)
☐พ่อแม่พันธุ์			
☐เลียราง			
☐อนุบาลอายุ___สัปดาห์			
☐สุกรเล็กอายุ___สัปดาห์			
☐สุกรรุ่นอายุ___สัปดาห์			
☐สุกรขุนอายุ___สัปดาห์			
☐สุกรทดแทนอายุ___ สัปดาห์			

15.2 การใช้ยาละลายน้ำ

☐ไม่ใช้

☐ใช้ โปรดระบุรายละเอียดการใช้ยา

อายุสุกร	ชื่อยา	ขนาดการใช้	ระยะเวลา(วัน)
☐พ่อแม่พันธุ์			
☐อนุบาลอายุ___ สัปดาห์			
☐ขุนอายุ___สัปดาห์			
☐ทดแทนอายุ___ สัปดาห์			

15.3 การใช้ยาฉีด

☐ไม่ใช้

☐ใช้ โปรดระบุรายละเอียดการใช้ยา

อายุสุกร	ชื่อยา	ขนาดการใช้	ระยะเวลา(วัน)
☐พ่อแม่พันธุ์			
☐อนุบาลอายุ___ สัปดาห์			
☐ขุนอายุ___สัปดาห์			
☐ทดแทนอายุ___ สัปดาห์			

การสร้างภูมิคุ้มกันต่อมัยโคพลาสมา

16. การใช้วัคซีนป้องกันมัยโคพลาสมา ไฮโอนิวมอเนีย

☐ไม่ใช้

☐ใช้ โปรดระบุรายละเอียดการใช้วัคซีน

อายุสุกร	ชื่อวัคซีน	ขนาดการใช้ (ซีซี/ตัว)	อายุที่ฉีดครั้งที่ 1	อายุที่ฉีดครั้งที่ 2 (ถ้ามี)
☐พ่อแม่พันธุ์				
☐ลูกดูดนม				
☐อนุบาล				
☐ขุน				
☐ทดแทน				

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการตอบแบบสอบถามครั้งนี้