การเฝ้าระวังเชิงรุกโรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกรจากผลิตภัณฑ์แปรรูปที่ลักลอบนำเข้ามาในพื้นที่ภาคตะวันออก ประเทศไทย

Active surveillance of African Swine fever from smuggling illegal processed products imported to Eastern region, Thailand

จิระวุฒิ จันทร์งาม*
Jirawut Janngam*

ABSTRACT

Background: African swine fever disease caused by viral organisms, severely contagious disease and highly impact on production and economy. The eastern region of Thailand is a high density of pig farms and is connected to neighboring countries, virus-contaminated products can be smuggled into this area. Therefore, the active surveillance of African swine fever virus from smuggling processed products imported to the Eastern region will be the surveillance to reduce risks of African swine fever disease introduction into the country.

Method: Total 472 samples of smuggling processed products were collected from December 2018 to December 2020 from provincial quarantine stations in Eastern region of Thailand. DNA extraction was performed using an extraction kit, the virus was detected by Real-time PCR method. The first positive sample was sent for sequencing and the phylogenetic tree was performed and analyzed. The data of smuggling processed products was analyzed to explain descriptive statistics and mapping using Quantum Geographic Information System Program.

Result: Viral genetic was detected 7.2% (34/472). These positive samples include Chinese sausage 25.53% (24/49), fermented pork sausage 16.67% (3/18) and sausage 4.02% (7/174). Positive samples were from Trat animal quarantine station 30.43% (14/46), Chanthaburi 10.5% (17/162) and Chonburi 1.23% (3/244). The result was found that there was no virus detected in December 2018. But virus can be detected in 2019 and 2020 was 2.99% (11/368) and 29.49% (23/78), respectively. Moreover, phylogenetic tree analysis based on VP72 gene found the first positive sample in this study was in Genotype II and in the same clade as detected virus in China, Vietnam, Indonesia, and Timor-Leste which was 100 % similar of nucleotide sequence to result in this study.

Conclusion: viral detected products were from animal quarantine stations in Eastern region and increased from 2018 to 2020. Therefore, Thailand should perform the surveillance of smuggling processed pork products from outbreak areas to prevent disease which will impact both production and economy related to processed products exportation.

Keywords: African swine fever, processed products, Eastern region, Thailand, Active surveillance

Veterinary research and development center (Upper northern region) 221 M.6 Waingtan, Hangchat, Lampang 52190 Thailand
*Corresponding author: Tel. 054-830178-9 Fax 054-830179 E-mail: jirawutjan@gmail.com
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนบน 221 ม.6 ต.เวียงตาล อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง 52190 ประเทศไทย
*ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ: โทร 054-830178-9 โทรสาร 054-830179 E-mail: jirawutjan@gmail.com

บทคัดย่อ

ที่มาของการศึกษา: โรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร เกิดจากเชื้อไวรัส เป็นโรคติดต่อที่ร้ายแรงในสุกร ก่อให้เกิดความเสียหายกับการปศุสัตว์และเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก พื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทยเป็นพื้นที่ที่มีความเสี่ยงที่จะมีการลักลอบนำผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่มีการปนเปื้อนเชื้อไวรัสเข้ามาในประเทศ ดังนั้น การสำรวจและเฝ้าระวังผลิตภัณฑ์แปรรูปที่ลักลอบนำเข้ามาภายในพื้นที่ จะเป็นการเฝ้าระวังเพื่อลดความเสี่ยงในการแพร่ระบาดของโรคภายในประเทศอีกทางหนึ่ง

วิธีการ: เก็บตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกร จำนวน 472 ตัวอย่าง ที่ลักลอบนำเข้าจากด่านกักกันสัตว์ของกรมปศุสัตว์ในพื้นที่ภาคตะวันออก ระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561–ธันวาคม พ.ศ. 2563 นำตัวอย่างมาสกัดสารพันธุกรรมด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูปและตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส ด้วยวิธี Real-time PCR จากนั้นนำตัวอย่างแรกที่ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส ส่งหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรม และสร้างแผนภูมิ Phylogenetic tree เพื่อศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการ จากนั้นนำข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์แปรรูปมาอธิบายข้อมูลต่าง ๆ ด้วยสถิติเชิงพรรณนา และสร้างแผนที่ด้วยโปรแกรม Quantum Geographic Information System

ผล: พบสารพันธุกรรมของเชื้ออหิวาต์แอฟริกาในสุกร 7.2% (34/472) แบ่งตามชนิดของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ กุนเชียง 25.53% (24/94) หมูยอ 16.67% (3/18) และไส้กรอก 4.02% (7/174) จากสถานกักกันสัตว์ตราด 30.43% (14/46) จันทบุรี 10.5% (17/162) และชลบุรี 1.23% (3/244) เมื่อจำแนกตามระยะเวลาพบว่า ในเดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2561 ตรวจไม่พบเชื้อ โดยตรวจพบเชื้อในปี พ.ศ. 2562 และ พ.ศ. 2563 คิดเป็น 2.99% (11/368) และ 29.49% (23/78) ตามลำดับ และผลจากการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการจากยีน VP72 จากตัวอย่างแรกที่ตรวจพบเชื้อในการศึกษานี้ พบว่าอยู่ใน Genotype II ซึ่งอยู่ในกลุ่มเดียวกับเชื้อที่ตรวจพบในประเทศจีน เวียดนาม อินโดนีเซีย และติมอร์-เลสเต ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกัน 100%

สรุป: พบสารพันธุกรรมของเชื้ออหิวาต์แอฟริกาในสุกรจากผลิตภัณฑ์แปรรูปสุกรจากผลิตภัณฑ์ที่ตรวจยึดจากด่านกักกันสัตว์ในพื้นที่ภาคตะวันออก และเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2561 ถึง พ.ศ. 2563 ดังนั้นประเทศไทยจึงต้องมีการเฝ้าระวังการนำเข้าผลิตภัณฑ์แปรรูปสุกรจากประเทศที่มีการระบาดของโรค เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของโรคเข้ามาในประเทศ ซึ่งอาจจะก่อให้เกิดความเสียหายทั้งการปศุสัตว์และทางเศรษฐกิจ

คำสำคัญ: โรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร ผลิตภัณฑ์แปรรูป ภาคตะวันออก ประเทศไทย การเฝ้าระวังเชิงรุก

บทนำ

โรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร (ASF) เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ African swine fever virus (ASFV) ในวงศ์ *Asfarviridae* สกุล *Asfivirus* มีสารพันธุกรรมชนิดดีเอ็นเอ เป็นไวรัสขนาดใหญ่ที่มีรูปร่างแบบ icosahedral โดยมีขนาดตั้งแต่ 170-190 กิโลเบส และเพิ่มจำนวนในไซโตพลาสซึมของโฮสต์ จากการวิเคราะห์ยีน VP72 ซึ่งเป็นยีนสังเคราะห์โปรตีนแคบซิด (Capsid protein) ด้วยเทคนิค restriction fragment length polymorphism (RFLP) สามารถจำแนกเชื้อไวรัสออกเป็น 24 จีโนไทป์ (Njau *et al.*, 2021) โรค ASF เป็นโรคที่ติดต่อทั้งสุกรและสุกรป่า โดยสุกรป่ามักจะไม่แสดงอาการของโรค หรืออาจมีการแสดงอาการของโรคแบบเฉียบพลันแต่ไม่ถึงตาย หลังจากนั้นอาการจะหายไป สามารถส่งผ่านเชื้อไวรัสไปสู่สุกรทางการสัมผัสโดยตรงหรือผ่านเห็บอ่อน ได้แก่ *Ornithodoros moubata* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่พบในทวีปแอฟริกา และ *O.erraticus* เป็นสายพันธุ์ที่พบในทวีปยุโรป เมื่อสุกรได้รับเชื้อ ASFV จะมีอาการไข้สูง ร่วมกับการกินอาหารได้น้อยลง มีรอยแดงที่บริเวณใบหู ท้อง และขา อาเจียน มีเลือดออกทางจมูกและทวารหนัก อาจพบอาการท้องเสียร่วมด้วย และตายภายใน 2-10 วัน โดยอาจพบอัตราการตายสูงถึง 100% โรคนี้ยังไม่มียารักษาและวัคซีนที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นหากเกิดการระบาดภายในประเทศ จะก่อให้เกิดความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจโดยเฉพาะต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรเป็นอย่างมาก

พบรายงานการเกิดโรค ASF ครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2453 ในสุกรป่าที่ประเทศเคนยา ทวีปแอฟริกา (Montgomery, 1921) จากนั้นเริ่มระบาดเข้าสู่ทวีปยุโรปตอนกลาง และประเทศรัสเซีย ต่อมาจึงเข้าสู่ทวีปเอเชีย การระบาดในครั้งนี้เริ่มตั้งแต่ปลายปี พ.ศ. 2561 ต่อมาในปี พ.ศ. 2562 พบการระบาดครั้งแรกของโรคในหลายประเทศของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศเวียดนาม กัมพูชา ลาว เมียนมาร์ ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย จากนั้นในปี พ.ศ. 2563 พบการระบาดในประเทศที่อยู่ในภูมิภาคเอเชียใต้ ได้แก่ ประเทศอินเดีย ภูฏาน และบังคลาเทศ (OIE, 2021) เชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารได้นานถึง 8-291 วัน พบว่าที่อุณหภูมิ -20°C เชื้อจะสามารถมีชีวิตได้นานถึง 2 ปี และถูกยับยั้งได้ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 30 นาที (Scheuer *et al.,* 2021) ด้วยเหตุนี้ทำให้เชื้อไวรัสจึงสามารถมีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้เป็นอย่างดี และส่งผลต่อการแพร่กระจายเชื้อ (Fischer *et al*., 2020) มีการศึกษาปัจจัยเสี่ยงเพื่อเฝ้าระวังการระบาดของโรค ASF ที่ประเทศสหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น พบว่าเกิดจากการลักลอบนำเข้าผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรผ่านทางอากาศยาน (Jurado *et al*., 2019; Ito *et al*., 2020) แม้ว่าประเทศไทยได้มีประกาศชะลอการนำเข้าผลิตภัณฑ์แปรรูปจากประเทศที่มีการระบาดของโรค แต่ยังมีการลักลอบนำเข้าผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกร เช่น กุนเชียง ไส้กรอก ซาลามี หนังสุกร และหมูยออย่างต่อเนื่อง และตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV จากผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่มีการลักลอบนำเข้ามายังประเทศไทย (Dokphut *et al*., 2021)

ภาคตะวันออกของประเทศไทยเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงสุกรจำนวนมาก อีกทั้งมีชายแดนติดต่อกับประเทศเพื่อนบ้าน ได้แก่ ประเทศกัมพูชา และยังเป็นที่ตั้งของท่าอากาศยานอู่ตะเภา และท่าเรือแหลมฉบัง ทำให้มีการเดินทางเข้ามาของนักท่องเที่ยวและแรงงานต่างด้าว ซึ่งอาจจะนำผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่มีการปนเปื้อนเชื้อ ASFV เข้ามาภายในประเทศ อาจก่อให้เกิดการระบาดของโรค ASF ได้ ดังนั้นการสำรวจและเฝ้าระวังเชื้อ ASFV จากผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่ลักลอบนำเข้าจากการจับยึดของด่านกักกันสัตว์ของกรมปศุสัตว์ในพื้นที่เขตภาคตะวันออก เพื่อลดความเสี่ยงในการแพร่ระบาดของโรค ASF ภายในประเทศ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่ลักลอบนำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 472 ตัวอย่าง ซึ่งตรวจยึดได้จากด่านกักกันสัตว์ในจังหวัดจันทบุรี ชลบุรี ตราด และสระแก้ว ระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2563 ได้แก่ ไส้กรอก 174 ตัวอย่าง กุนเชียง 94 ตัวอย่าง ซาลามี 59 ตัวอย่าง เนื้อหมูปรุงรส 56 ตัวอย่าง หนังหมูแช่แข็ง 33 ตัวอย่าง หมูยอ 18 ตัวอย่าง ไส้กรอกเลือด 8 ตัวอย่าง แหนม 4 ตัวอย่าง แคบหมู 4 ตัวอย่าง กากหมู 3 ตัวอย่าง ขนมปังไส้หมู 2 ตัวอย่าง และผลิตภัณฑ์อื่น ๆ 17 ชนิด ๆ ละ 1 ตัวอย่าง ได้แก่ ข้าวต้มมัดหมู เนื้อหมูตากแห้งเนื้อหมูรมควัน เนื้อหมูหมัก ผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมู ผลิตภัณฑ์ปรุงสุกหมูหัน ผลิตภัณฑ์แปรรูป มันหมูปรุงรส หมูแดง หมูแดดเดียว หมูต้มสุก หมูทรงเครื่อง หมูทอดกรอบ หมูบดปรุงรส หมูหยอง หมูอบ และแฮม

การสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

สกัดสารพันธุกรรมด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics GmbH, Germany) เตรียมตัวอย่างโดยตัดตัวอย่างเป็นชิ้นเล็ก ๆ ให้ได้น้ำหนัก 50 mg โดยหลีกเลี่ยงบริเวณที่เป็นไขมันและแป้ง และใส่ Tissue Lysis Buffer 200 µL และ Proteinase K 40 µL บ่มที่ 56°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนกว่าเนื้อเยื่อจะถูกย่อยจนหมด จากนั้นทำตามขั้นตอนของชุดสกัด

เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธี Real-time PCR ตามวิธีของ King *et al*. (2003) โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Primers และ Probe ตามตารางที่ 1 ใช้ชุดน้ำยา FastStart Essential DNA Probes Master (Roche Diagnostics GmbH, Germany) โดยใช้เครื่อง Real-time PCR รุ่น LightCycler® 480 Instrument II (Roche Diagnostics GmbH, Germany) โดยใช้สภาวะในการทำปฏิกิริยา Real-time PCR ดังนี้ Pre-denaturation ที่

อุณหภูมิ 95°C เวลา 10 นาที ตามด้วยปฏิกิริยา 45 รอบ ที่ Denaturation ที่ 95°C เวลา 15 วินาที และ Annealing 58°C เวลา 1 นาที โดยจะแปลผลด้วยค่า threshold cycle (Ct) ที่ได้ หากค่า Ct ต่ำกว่า 40 ให้ผลบวก โดย PCR product มีขนาด 250 bp

การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรม (DNA Sequencing)

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ให้ผลบวกต่อสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV เป็นตัวอย่างแรก ไปสกัด และเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ Forward 5'-GGCACAAGTTCGGACATGT-3' และ Reverse 5'-GTACTGTAACGCAGCACAG-3' ตามวิธีของ Bastos *et al*. (2003) โดย PCR product ที่เกิดขึ้นเป็นส่วนหนึ่งของยีน VP72 มีขนาดประมาณ 478 bp จากนั้นนำ PCR product ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่กลุ่มไวรัสวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree)

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมที่ได้ไปเปรียบเทียบกับ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยโปรแกรม BLASTn เพื่อยืนยันจีโนไทป์ จากนั้นดาวน์โหลดลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV จากฐานข้อมูล GenBank มาจัดเรียงและเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ที่ได้จากการศึกษานี้ โดยใช้โปรแกรม ClustalW (Higgins *et al*., 1994) จากนั้นนำมาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ ด้วยวิธี Maximum likelihood โดยใช้โปรแกรม MEGA X version 10.2 (Kumar *et al*., 2018) โดยทดสอบความเชื่อมั่นด้วยค่า Bootstrap ที่จำนวน 1000 ซ้ำ

การวิเคราะห์ทางผลสถิติ และการสร้างแผนที่ด้วยโปรแกรม Quantum Geographic Information System (QGIS)

นำข้อมูลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ มาวิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนา และสร้างแผนภาพการนำเข้าผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรผ่านช่องทางชายแดนจังหวัดต่าง ๆ ในภาคตะวันออก

ตารางที่ 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Primers และ Probe (ดัดแปลงจาก King *et al*., 2003)

ชื่อ	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5' 3')	ยีน
Probe	FAM-CCACGGGAGGAATACCAACCCAGTG-BHQ1	VP72
Sense primer	CTGCTCATGGTATCAATCTTATCGA	
Anti-sense primer	GATACCACAAGATCRGCCGT*	

หมายเหตุ * คือ IUPAC ambiguity codes เบส A หรือ G

ผลและวิจารณ์

พบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV จำนวน 34 ตัวอย่าง โดยวิธี Real-time PCR คิดเป็น 7.2% (34/472) ได้แก่ กุนเชียง 5.09% (24/472) หมูยอ 0.64% (3/472) และไส้กรอก 1.48% (7/472) และตรวจไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่น กากหมู ขนมปังไส้หมู ข้าวต้มมัดหมู แคบหมู ซาลามี เป็นต้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Kim *et al*. (2019) จากประเทศเกาหลีใต้ ที่พบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV จากผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่ลักลอบนำเข้าประเทศมากับนักท่องเที่ยว ได้แก่ ไส้กรอกเลือด 2 ตัวอย่าง ไส้กรอกและเกี๊ยว อย่างละ 1 ตัวอย่าง และ Wang *et al*. (2019) ได้รายงานการพบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในประเทศไต้หวัน ระหว่างพ.ศ. 2561-2562 จำนวน 62 ตัวอย่างจาก 1,667 ตัวอย่าง ของผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่ลักลอบนำเข้าจากนักท่องเที่ยว ได้แก่ ไส้กรอก หมูแดดเดียว หมูกระเทียม และแฮม

ในช่วงที่ทำการศึกษาพบว่าในปี พ.ศ. 2562 และ พ.ศ. 2563 ตรวจพบสารพันธุกรรมในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่ลักลอบนำเข้าจากนักท่องเที่ยว 2.99% (11/368) และ 29.49% (23/78) ตามลำดับ ในขณะที่ปี พ.ศ. 2561 ตรวจไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว (ตารางที่ 2) จากรายงานการระบาดของโรค ASF พบว่าตั้งแต่ปลายปี พ.ศ. 2561-พ.ศ. 2563 พบการระบาดของโรคในประเทศจีน ประเทศของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และประเทศที่อยู่ในภูมิภาคเอเชียใต้

เช่น ประเทศเวียดนาม อินโดนีเซีย อินเดีย และบังคลาเทศ (OIE, 2021) สอดคล้องกับการศึกษานี้ที่ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในผลิตภัณฑ์แปรรูปที่ลักลอบนำเข้าจากต่างประเทศในช่วงเดือนกุมภาพันธ์-สิงหาคม พ.ศ. 2562 และเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563

พบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในผลิตภัณฑ์แปรรูปที่ถูกตรวจยึดที่ด่านกักกันสัตว์ตราด จำนวน 14 ตัวอย่าง คิดเป็น 30.43% (14/46) ด่านกักกันสัตว์จันทบุรี จำนวน 17 ตัวอย่าง คิดเป็น 10.5% (17/162) ด่านกักกันสัตว์ชลบุรี จำนวน 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 1.23% (3/244) ส่วนด่านกักกันสัตว์สระแก้วไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกร ดังแสดงในตารางที่ 3 และรูปที่ 1 จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรถูกตรวจยึดได้จากด่านกักกันสัตว์ตราดมากที่สุด อาจเนื่องจากการที่มีเส้นทางเชื่อมต่อกับประเทศกัมพูชาทั้งทางบก ทางน้ำ และทางอากาศ ทำให้มีนักท่องเที่ยวเข้ามาในพื้นที่จำนวนมาก ทำให้มีการลักลอบนำเข้าผลิตภัณฑ์แปรรูปสุกร สอดคล้องกับในหลายประเทศ ได้แก่ ประเทศสเปน คิวบา บราซิล มอริเชียส ประเทศในแถบคอเคซัส และประเทศในกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป (Costard *et al*., 2013)

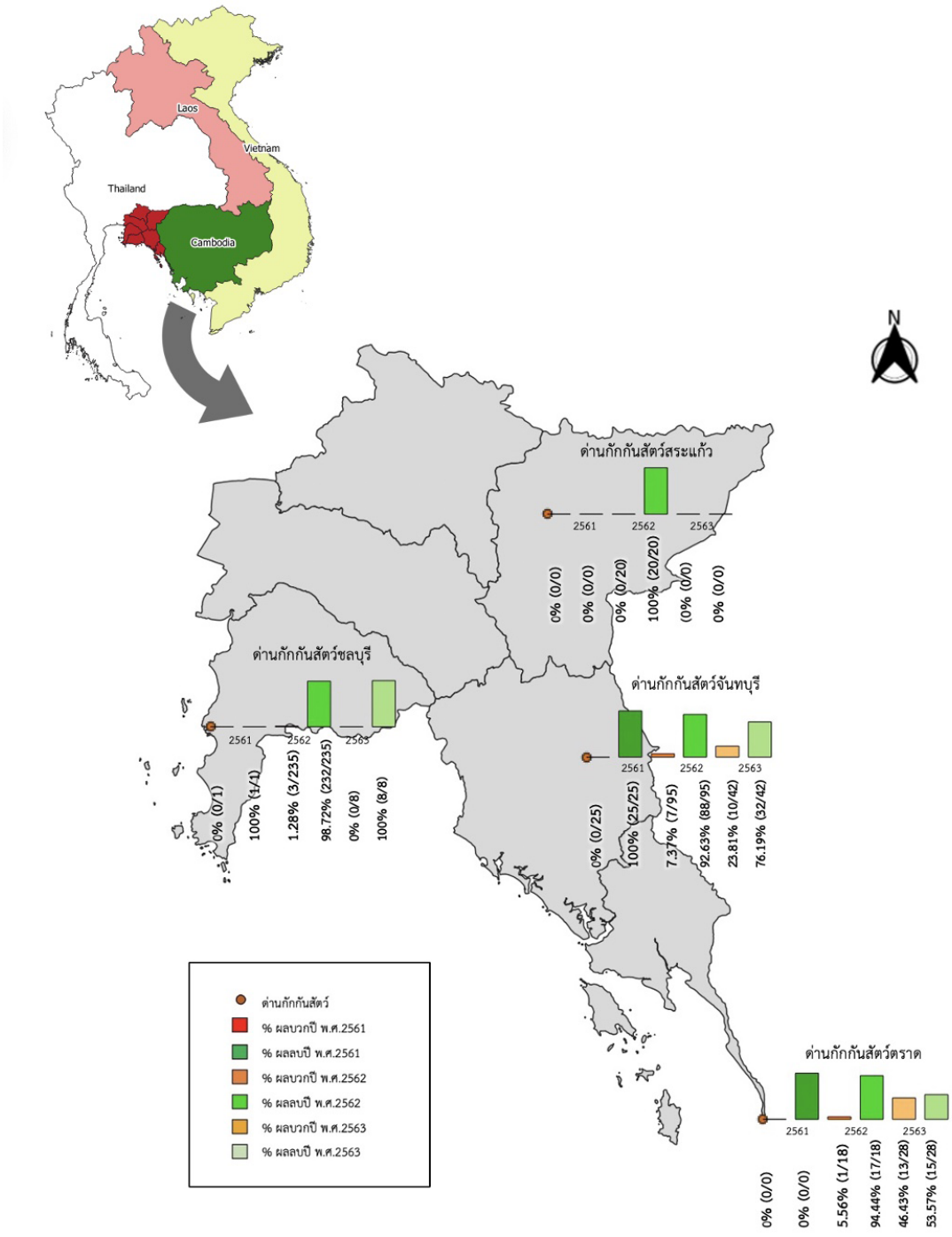
จากรูปที่ 1 เมื่อแยกผลการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในปี พ.ศ. 2562 และ พ.ศ. 2563 พบว่า ด่านกักกันสัตว์จันทบุรี และด่านกักกันสัตว์ตราดพบผลบวกเพิ่มขึ้น เนื่องจากในช่วงเวลาดังกล่าวมีการระบาดที่เพิ่มขึ้นในแถบประเทศเพื่อนบ้าน (OIE, 2021) ร่วมกับการเพิ่มความเข้มงวดในการเฝ้าระวังโรคแถบชายแดน จึงมีการเก็บตัวอย่างที่ลักลอบนำเข้าเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ (Kong *et al*., 2020) เกี่ยวกับการประเมินความเสี่ยงของเชื้อ ASFV จากเนื้อสุกรในประเทศกัมพูชา พบตัวอย่างจากซุปเปอร์มาเก็ตให้ผลบวก 67% (6/9) และตัวอย่างจากตลาดสดให้ผลบวก 75% (15/20) ดังนั้นจึงมีความเสี่ยงหากมีการลักลอบนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเข้าประเทศไทยผ่านแถบชายแดน ในขณะที่ด่านกักกันสัตว์ชลบุรีตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรเฉพาะในปี พ.ศ. 2562 เนื่องจากมีการส่งตัวอย่างเฉพาะในปี พ.ศ. 2562 และตรวจพบในช่วงเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม ซึ่งเป็นช่วงเทศกาลตรุษจีน

ตารางที่ 2 ผลการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้ออหิวาต์แอฟริกาในสุกร โดยวิธี Real-time PCR (King *et al*., 2003) ในช่วงปี พ.ศ. 2561-2563

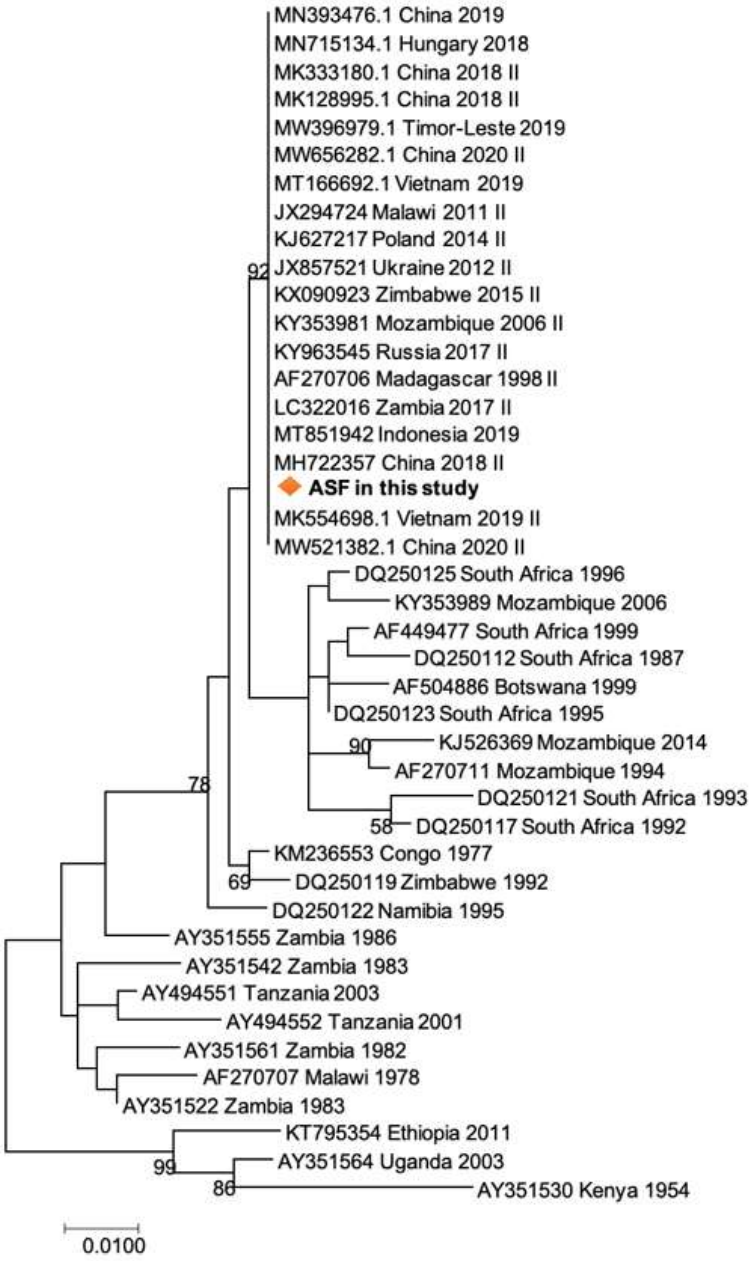
ปี	ตัวอย่างทั้งหมด	เปอร์เซ็นต์ของผลบวก	เปอร์เซ็นต์ของผลิตภัณฑ์แปรรูปที่พบผลบวก			
			ไส้กรอกหมู	กุนเชียง	หมูยอ	อื่น ๆ
ธันวาคม 2561	26	0 (0/26)	0 (0/12)	0 (0/0)	0 (0/3)	0 (0/11)
2562	368	2.99 (11/368)	4.70 (7/149)	5.88 (3/51)	11.11 (1/9)	0 (0/159)
2563	78	29.49 (23/78)	0 (0/13)	48.84 (21/43)	33.33 (2/6)	0 (0/16)
รวม	**472**	**7.2 (34/472)**	**4.02 (7/174)**	**25.53 (24/94)**	**16.67 (3/18)**	**0 (0/186)**

ตารางที่ 3 แสดงผลการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้ออหิวาต์แอฟริกาในสุกรที่พบในผลิตภัณฑ์จากแปรรูปจากสุกร และชนิดของผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกร แยกตามพื้นที่

หน่วยงานที่ตรวจยึด (ด่านกักกันสัตว์)	ตัวอย่างทั้งหมด	% ของผลบวก	เปอร์เซ็นต์ของผลิตภัณฑ์แปรรูปที่พบผลบวก %			
			ไส้กรอกหมู	กุนเชียง	หมูยอ	อื่น ๆ
ตราด	46	30.43 (14/46)	0 (0/1)	35.48 (11/31)	33.33 (3/9)	0 (0/5)
จันทบุรี	162	10.5 (17/162)	6.82 (6/88)	22.45 (11/49)	0 (0/6)	0 (0/19)
ชลบุรี	244	1.23 (3/244)	1.28 (1/78)	20 (2/10)	0 (0/0)	0 (0/156)
สระแก้ว	20	0 (0/20)	0 (0/7)	0 (0/4)	0 (0/3)	0 (0/6)
รวม	**472**	**7.20 (34/472)**	**4.02 (7/174)**	**25.53 (24/94)**	**16.67 (3/18)**	**0 (0/186)**



รูปที่ 1 แสดงสัดส่วนการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้ออหิวาต์แอฟริกาในสุกรจากผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรตามปีที่ทำการศึกษาโดยแยกตามสถานที่



รูปที่ 2 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) จากส่วนหนึ่งของยีน VP72 ของเชื้ออหิวาต์แอฟริกาในสุกรที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่ลักลอบเข้ามายังภาคตะวันออกของประเทศไทย เทียบกับฐานข้อมูล NCBI สร้างแผนภูมิด้วยวิธี Maximum likelihood โดยการวิเคราะห์ข้อมูลของ Tamura 3+G-parameter Model มีค่าความเชื่อมั่นของ Bootstrap ที่ 1000 โดยใช้โปรแกรม MEGA-X ในการสร้าง Phylogenetic tree

จากตัวอย่างที่ให้ผลบวกโดยวิธี Real-time PCR จำนวน 34 ตัวอย่าง เลือกตัวอย่างที่พบเป็นตัวอย่างแรกซึ่งเป็นตัวอย่างผลิตภัณฑ์กุนเชียง ที่ตรวจยึดโดยด่านกักกันสัตว์ชลบุรี มาตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV พบว่ามีความยาว 478 bp เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยโปรแกรม BLASTn พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมเหมือนกับเชื้อ ASFV ที่พบในหลาย ๆ กลุ่มประเทศ เช่น อินโดนีเซีย (MT851942) ติมอร์-เลสเต (MW396979.1) เวียดนาม (MK554698.1-MT166692.1) จีน (MW521382.1-MN393476.1) โปแลนด์ (KJ627217) ฮังการี (MN715134.1) ยูเครน (JX857521) และรัสเซีย (KY963545) เป็นต้น โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ 100% จากนั้นดาวน์โหลดลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ ASFV จากฐานข้อมูล GenBank มาจัดเรียงและเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV ที่ได้จากการศึกษานี้ นำไปสร้างแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ พบว่าเชื้อที่ทำการศึกษาจัดอยู่ในกลุ่ม Genotype II ซึ่งเป็นชนิดเดียวกันกับเชื้อ ASFV ที่ระบาดในประเทศจีน เวียดนาม และประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (รูปที่ 2)

สรุปและข้อเสนอแนะ

ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ ASFV จากตัวอย่างผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่ลักลอบนำเข้า จำนวน 7.2% (34/472 ตัวอย่าง) โดยวิธี Real-time PCR แสดงให้เห็นความเสี่ยงของการแพร่กระจายเชื้อจากการลักลอบนำเข้าผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่มีการปนเปื้อนเชื้อ ASFV เข้าสู่ประเทศ เมื่อนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ และความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ พบว่าเป็นเชื้อที่อยู่ใน Genotype 2 เช่นเดียวกับเชื้อที่ระบาดในประเทศจีน เวียดนาม และประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะมีการลักลอบนำเข้าผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรจากประเทศดังกล่าว ดังนั้นการตรวจเฝ้าระวังโรคในพื้นที่ ที่ติดกับประเทศที่มีการระบาดของโรค รวมถึงการตรวจยึดผลิตภัณฑ์แปรรูปจากสุกรที่มาจากการลักลอบนำเข้าอย่างผิดกฎหมายจากประเทศอื่น จึงเป็นสิ่งที่ต้องให้ความสำคัญ เนื่องจากจะเป็นมาตรการควบคุมโรคไม่ให้เกิดการระบาดในประเทศได้ดีที่สุด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเฝ้าระวังการระบาดของโรคจากบริเวณพื้นที่ชายแดน เพื่อเป็นการป้องกันการระบาดไปทั่วประเทศ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์เก็บรวบรวมข้อมูลและตัวอย่างจากเจ้าหน้าที่จากด่านกักกันสัตว์ทุกด่านในเขตในภาคตะวันออก ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก จ.ชลบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง และเจ้าหน้าที่กลุ่มไวรัสวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรม

เอกสารอ้างอิง

Bastos, A.D.S., Penrith, M.-L., Crucière, C., Edrich, J.L., Hutchings, G., Roger, F., Couacy-Hymann, E. and Thomson, G.R. 2003. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterisation. *Arch. Virol.* 148 (4): 693-706.

Costard, S., Jones, B.A., Martinez-Lopez, B., Mur, L., Torre, A., Martinez, M., Sanchez-Vizcaino, F., Sanchez-Vizcaino, J., Pfeiffer, D.U. and Wieland, B. 2013. Introduction of African Swine Fever into the European Union through Illegal Importation of Pork and Pork Products. *PLoS One*. 8 (4): e61104.

Dokphut, A., Boonpornprasert, P., Songkasupa, T. and Tangdee, S. 2021. Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of African swine fever. *Vet. Integr. Sci.* 19 (1): 87-100.

Fischer, M., Huhr, J., Blome, S., Coonraths, F.J. and Probst, C. 2020. Stability of African Swine Fever Virus in Carcasses of Domestic Pigs and Wild Boar Experimentally Infected with the ASFV "Estonia 2014" Isolate. *Viruses.* 12: 1118.

Higgins, D., Thompson, J., Gibson, T., Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673-4680.

Ito, S., Jurado, C., Sanchez-Vizcaino, J. and Isoda, N. 2020. Quantitative risk assessment of African swine fever virus introduction to Japan via pork products brought in air passengers' luggage. *Transbound. Emerg. Dis.* 67: 894–905.

Jurado, C., Mur, L., Aguirreburualde, M.S.P., Cadenas-Fernandez, E., Martinez-Lopez, B., Sanchez-Vizcaino, J.M. and Perez, A. 2019. Risk of African swine fever virus introduction into the United States through smuggling of pork in air passenger luggage. *Sci. Rep.* 9: 14423.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35: 1547-1549.

Kim, H.J., Lee, M.J., Lee, S.K., Kim, D.Y., Seo S.J., Kang, H.E. and Nam, H.M. 2019. African Swine Fever Virus in Pork Brought into South Korea by Travelers from China, August 2018. *Emerg. Infect. Dis.* 25 (6): 1231-1233.

King, D.P., Reid, S.M., Hutchings, G.H., Grierson, S.S., Wilkinson, P.J., Dixon, L.K., Bastos, A.D.S. and Drew, T.W. 2003. Development of a TaqMan® PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *J. Virol. Met.* 107: 53-61.

Kong, V., Sum, P., Mol, P., Chan, K., Ratha, S., Laut, S. and Venn, V. 2020. Risk Assessment of African Swine Fever Virus in Pork in Phnom Penh, Cambodia. I. J. E. R. D. 11 (1): 146-152.

Montgomery, R.E. 1921. On a form of swine fever occurring in British east Africa (Kenya Colony). *J. Comp. Pathol. Ther.* 34: 159–191.

Njau, E.P., Entfellner, J.B.D., Machuka, E.M., Bochere, E.N., Cleaveland, S., Shirima, G.M. and Okoth, E.A. 2021. The first genotype II African swine fever virus isolated in Africa provides insight into the current Eurasian pandemic. *Sci. Rep.* 11 (1): 1-13.

OIE. (World Organisation for Animal Health). 2021. "OIE situation reports for African Swine Fever." Online]. Available: https://www.oie.int/en/disease/african-swine-fever/#ui-id-2. Accessed January 2, 2022.

Scheuer, C., Boot, E., Carse, N., Clardy, A., Gallagher, J., Heck, S., Marron, S., Martinez-Alvarez, L., Masarykova, D., Mcmillan, P., Murphy, F., Steel, E., Ekdom, H. van and Vecchione, H. 2021. Disentangling inclusion in physical education lessons: Developing a resource toolkit for teachers. *In*: Physical Education and Sport for Children and Youth with Special Needs Researches – Best Practices – Situation. Edited by G. Balint, B. Antala, C. Carty, J-M. A. Mabieme, I. B. Amar and A. Kaplanova. Slovak Scientific Society for Physical Education and Sport and FIEP. p. 343-354.

Wang, W.H., Lin, C,Y., Chang Ishcol, M.R., Urbina, A.N., Assavalapsakul, W., Thitithanyanont, A., Lu, P.L., Chen, Y.H. and Wang, S.F. 2019. Detection of African swine fever virus in pork products brought to Taiwan by travelers. *Emerg. Microb. Infect*. 8 (1): 1000-1002.