

การเก็บตัวอย่างส่งตรวจทาง ห้องปฏิบัติการ

ประวัติ บุณพรประเสริฐ

กลุ่มไวรัสวิทยา

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

China pig cull tops 20000 as African swine fever deepens farm crisis

By Deccan Chronicle [Twitter](#) [Email](#)

Posted on August 23, 2018



การเก็บตัวอย่างส่งตรวจทาง
ห้องปฏิบัติการ

ประกาศ บัญชีประเสริฐ

กลุ่มไวรัสวิทยา

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

หัวข้อบรรยาย

ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับโรคและวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

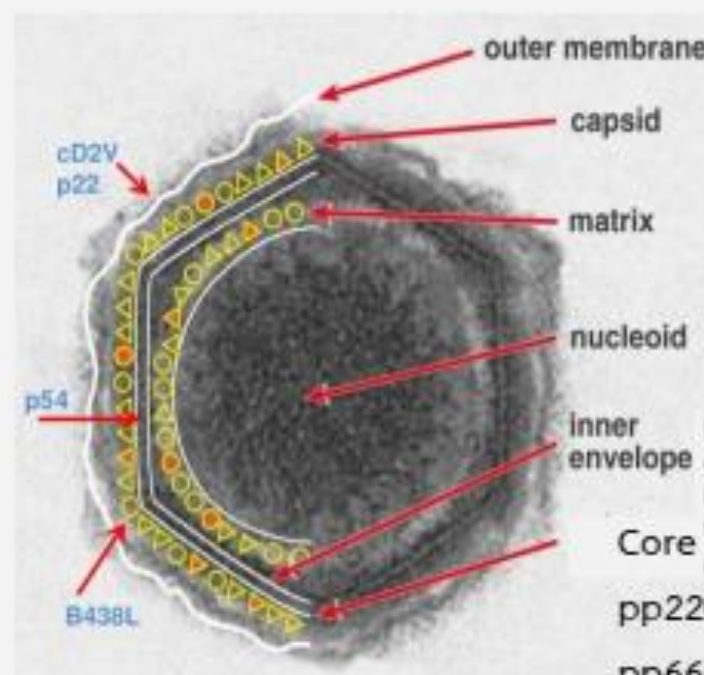
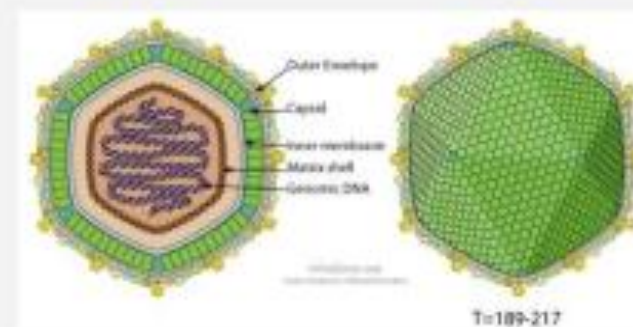
การเก็บตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ทางเลือกในการเก็บตัวอย่างเลือดในอนาคต

ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับโรคและวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

โรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร

- เชื้อไวรัสดีเอ็นเอขนาดใหญ่ มีเปลือกหุ้ม
- วงศ์: *Asfarviridae*; สกุล: *Asfivirus*
- ติดเชื้อเฉพาะในสุกร ไม่ติดต่อสู่คน
- เชื้อสามารถนำโดยเห็บอ่อน
- เพิ่มจำนวนในเม็ดเลือดขาว
- ไม่มีวัคซีน!!!!



P24, pE402R, P12
P72, pE120R, pB438L
P10, pA104L
P17, P54, pE248R, P12
Core shell
pp220: p150, p37, p34, p14
pp66: p35, p15
pS273R

โฮสต์

- สุนัขเลี้ยง
- สุนัขป่า
- เห็บอ่อน



Soft tick: *Ornithodoros* spp.



วิธีการแพร่เชื้อ

การสัมผัสโดยตรง

กินเศษอาหารเหลือที่ปนเปื้อนเชื้อ

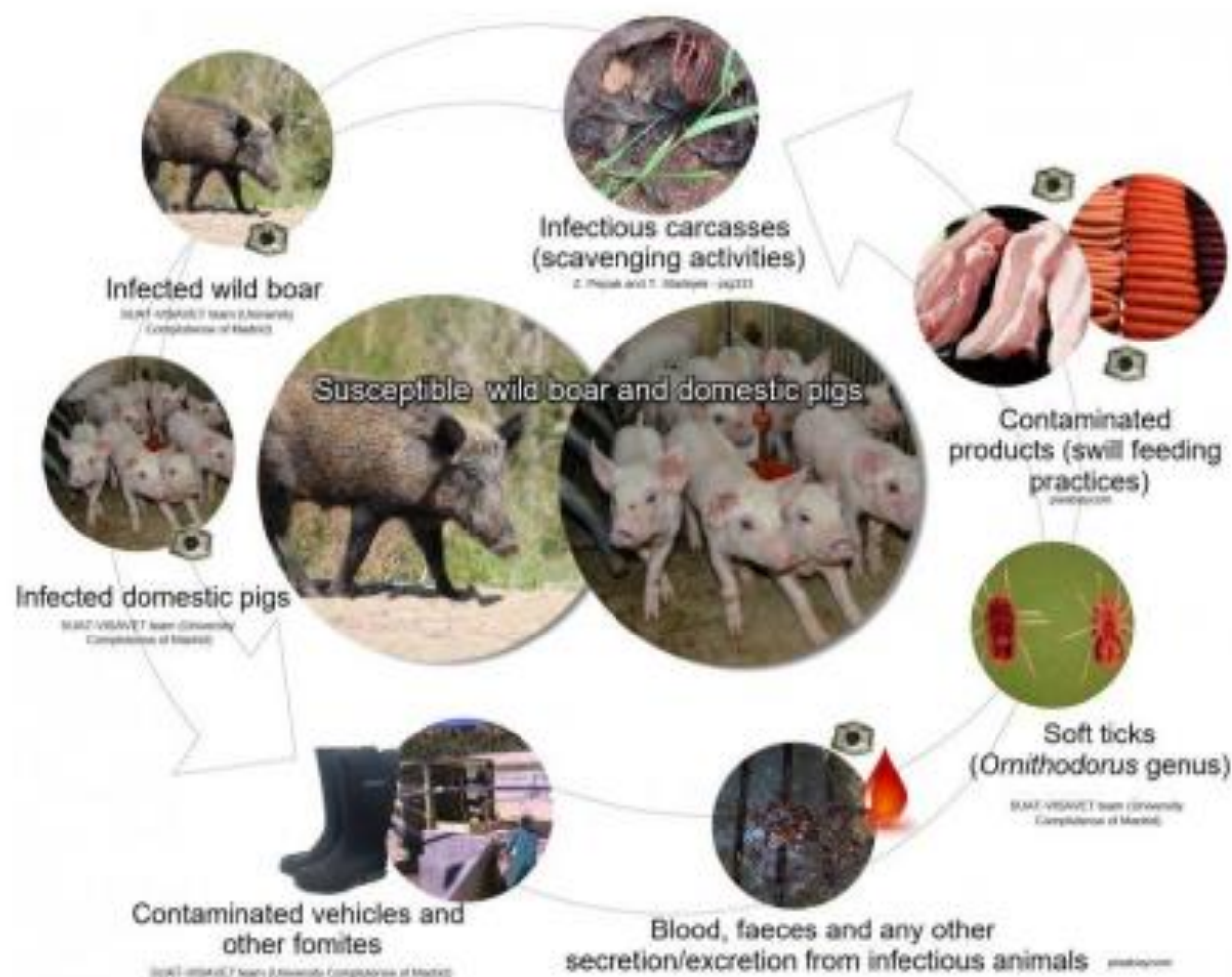
สัมผัสสัตว์ป่วย

เห็บกัด

การสัมผัสผ่านเครื่องมืออุปกรณ์ที่ปนเปื้อนเชื้อ
(เช่น เลือด)

ยานพาหนะ เสื้อผ้า

เครื่องมืออุปกรณ์ เข็มฉีดยา



ระบาวิตถยาของ เชื้อ ASF



Sylvatic cycle: สุนัขป่า - เห็บอ่อน.

Tick-pig cycle: เห็บอ่อน - สุนัขเลี้ยง.

Domestic cycle: สุนัขเลี้ยง และ ผลิตภัณฑ์

Wild boar-habitat cycle: สุนัขป่า ; สุนัขเลี้ยง
ผลิตภัณฑ์จากสุนัขป่าและซากสัตว์

ผิวหนังมีสีแดง และม่วงคล้ำ



ไข้สูง (>41°C) นอนสุมกัน.



ตายเฉียบพลัน, อัตราการป่วยตายสูง



Source: Carmina Gallardo - EURL (CISA-INIA)

Source: National Hog Farmer, US; Dr Xiaoxu FAN

ถ่ายเหลวมีเลือดปน



แท้ง



ม้ามโตมีสีคล้ำ



Spleen
-Hyperemic splenomegaly
(enlarged with rounded
edges, friable and dark red to black)



จุดเลือดออกที่ต่อมน้ำเหลือง

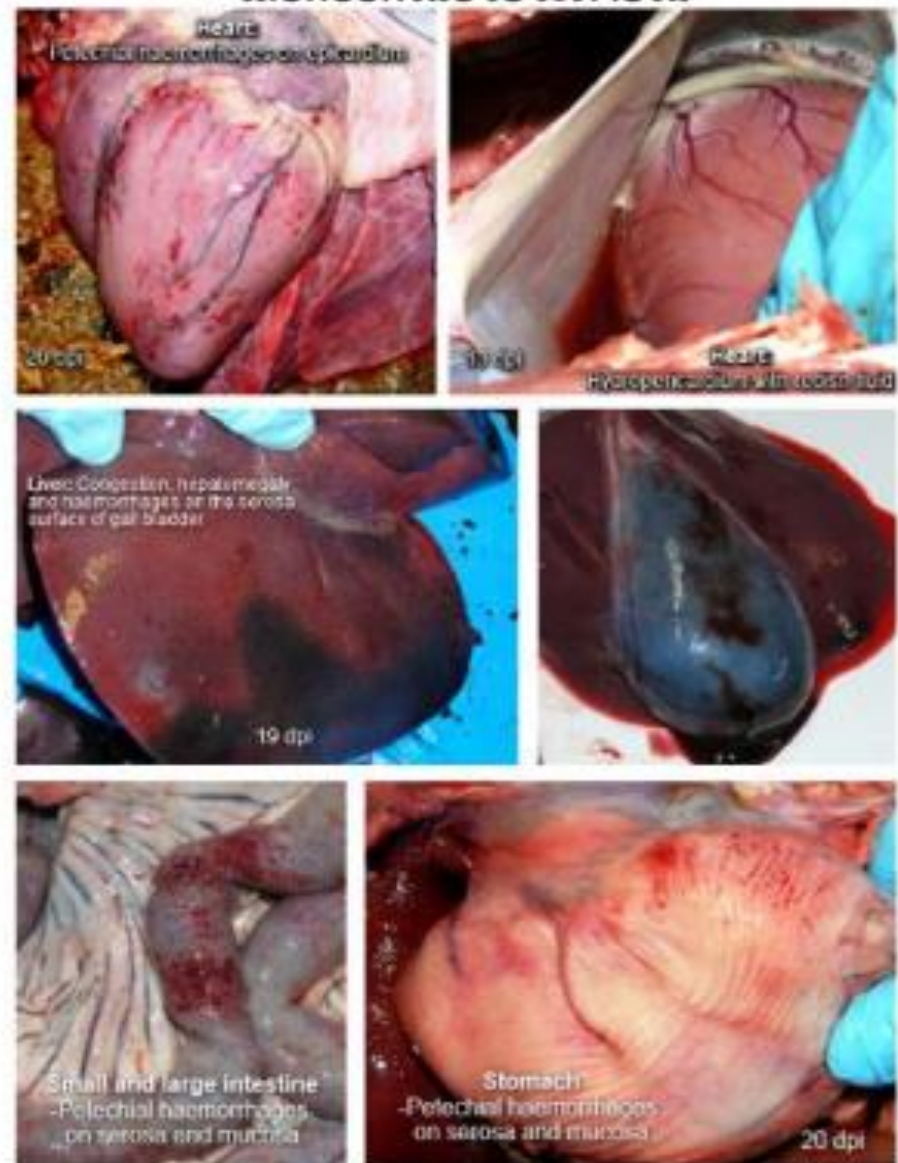
จุดเลือดออกที่ไต



ต่อมน้ำเหลืองมีเลือดออก



เลือดออกในอวัยวะภายใน



การวินิจฉัยแยกโรค

- Classical swine fever (hog cholera)
- Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS)
- Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS)
- Erysipelas
- Salmonellosis
- Eperythrozoonosis
- Actinobacillosis
- Glasser's disease
- Aujeszky's disease (pseudorabies)
- Thrombocytopenic purpura
- Warfarin poisoning
- Heavy metal toxicity

ASF DIAGNOSIS: KEY POINTS

(5)

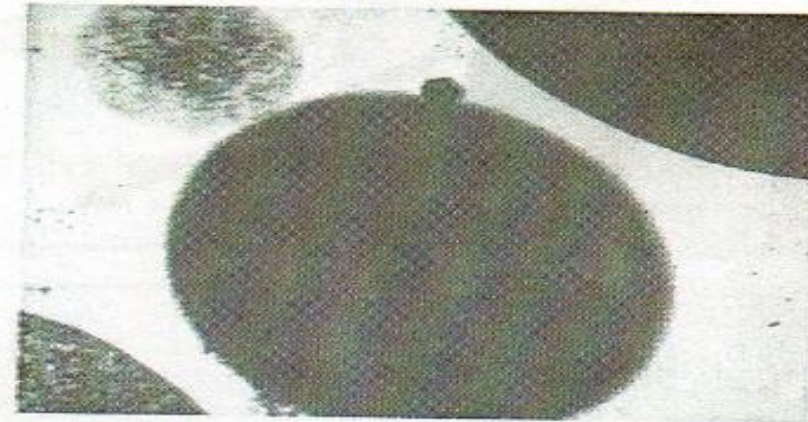
- **No Vaccine Available**



Antibodies = INFECTION

- **No Neutralizing Antibodies**

ASFV-specific antibodies do not neutralise virus in the classical concept of neutralization - only a partial neutralization "in vitro" has been demonstrated.



- **Viremia for Long period of Time**

- **Antibodies Persist During Month, Even Years**

Starting in the second week after the infection

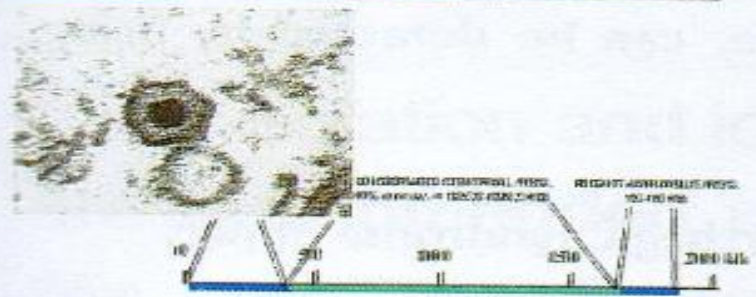
Abs good infectious marker

- **Antigen – Antibody Immunocomplex Formation**

Low sensitivity in the antigen detection techniques

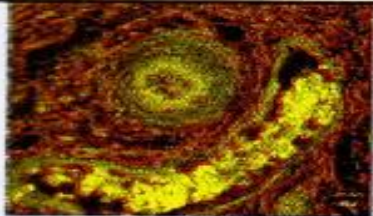
1

Virus detection techniques




(A) DETECTION OF VIRUS ANTIGENS

1. Direct immuno fluorescent test (DIFT)
2. ELISA for antigen detection



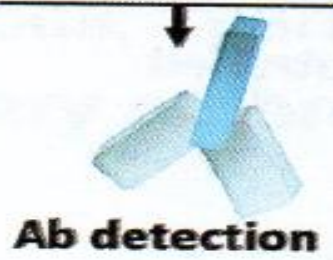
(B) VIRUS ISOLATION AND IDENTIFICATION BY THE HAEMADSORPTION TEST (HAD)



(C) DETECTION OF THE VIRUS GENOME


2

Antibody detection techniques



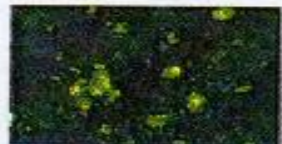
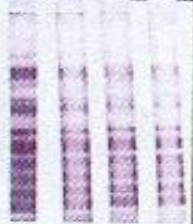

(A) SCREENING BY ELISA

1. OIE-ELISA (Indirect ELISA)
2. INGENASA-ELISA (Blocking ELISA)

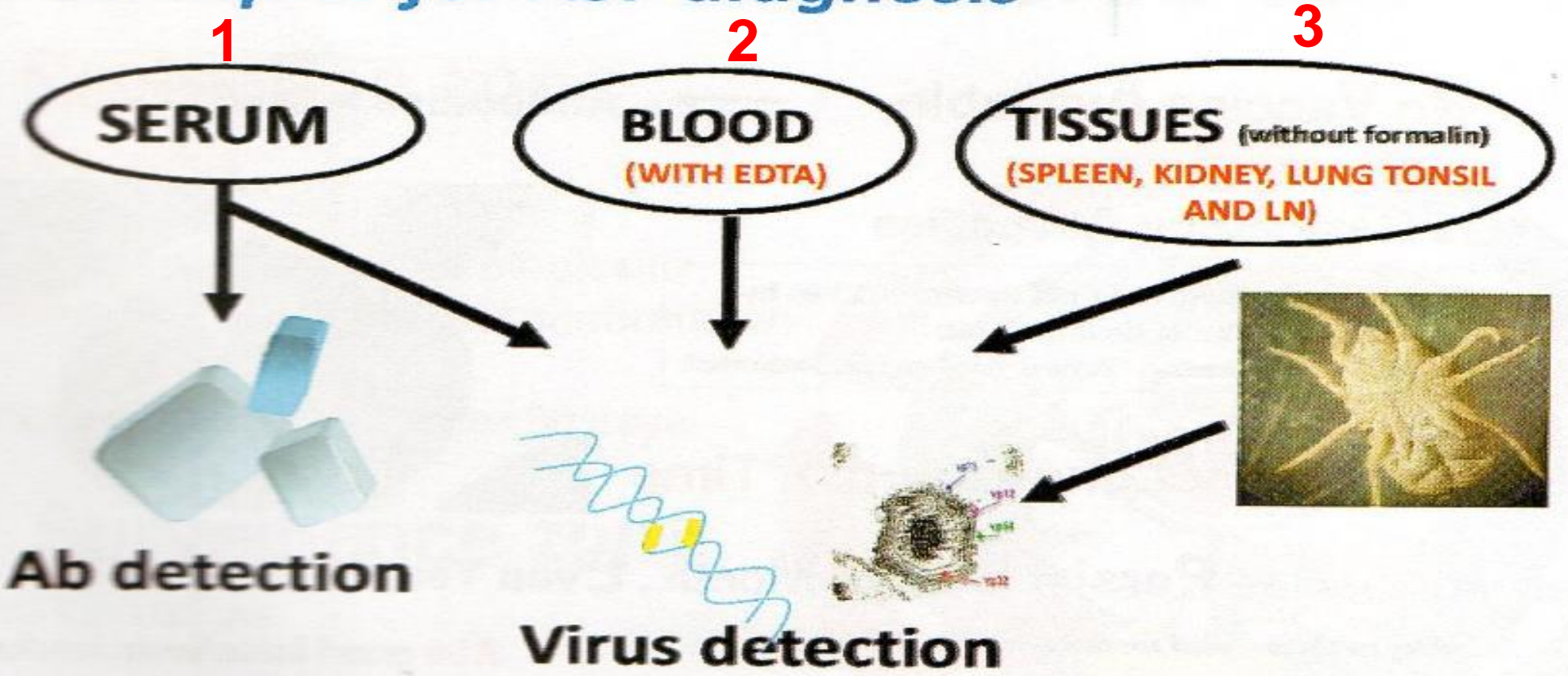


(B) CONFIRMATORY TESTS

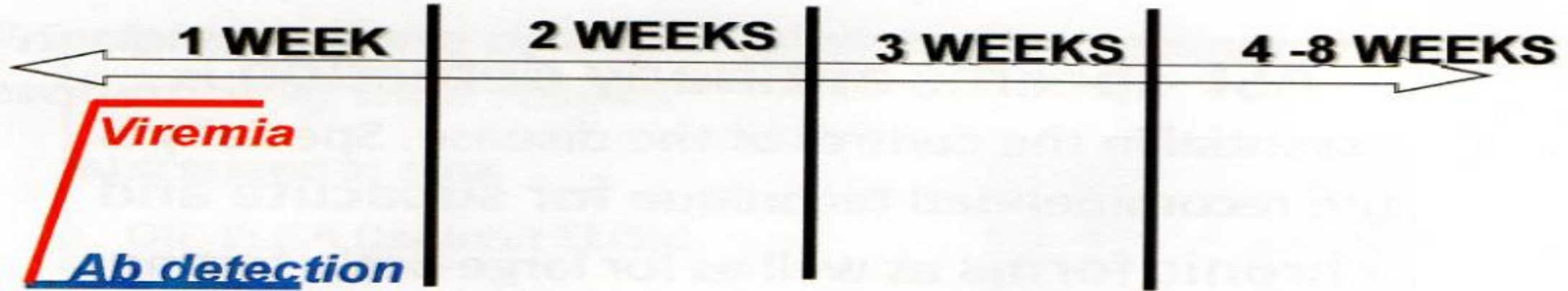
1. Immunoblotting test (IB) *x Best*
2. Immunoperoxidase test (IPT)
3. Indirect Immunofluorescence test (IFI)

Target samples for ASF diagnosis



It is not possible to make a good diagnosis if the samples are not in good conditions.



HIPERACUTE

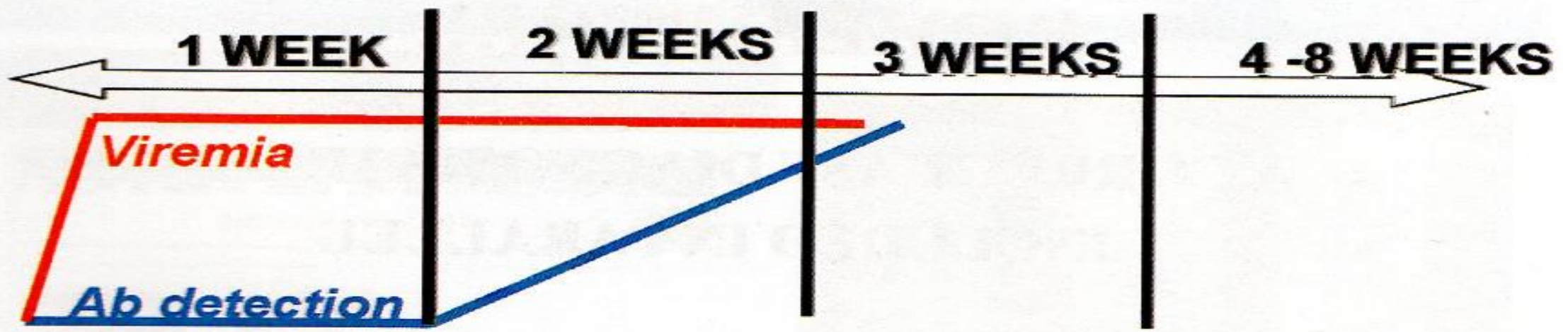


- ✓ **Death within 24-48h**
- ✓ **Caused by highly virulent virus**



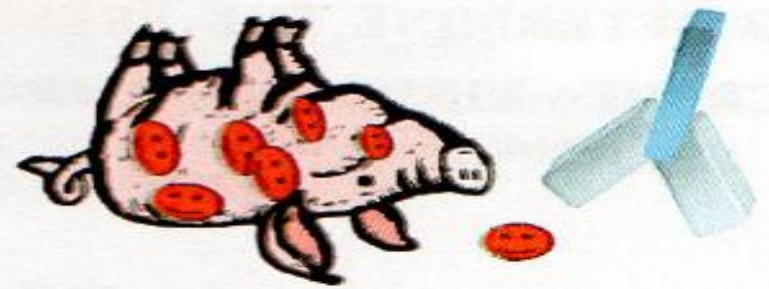
PCR / DIF
↓
VI (primary outbreak)

Carmina Gallardo, 2012



ACUTE

- ✓ caused by highly virulent virus
- ✓ death within 6-13 days, or up to 20 days



PCR

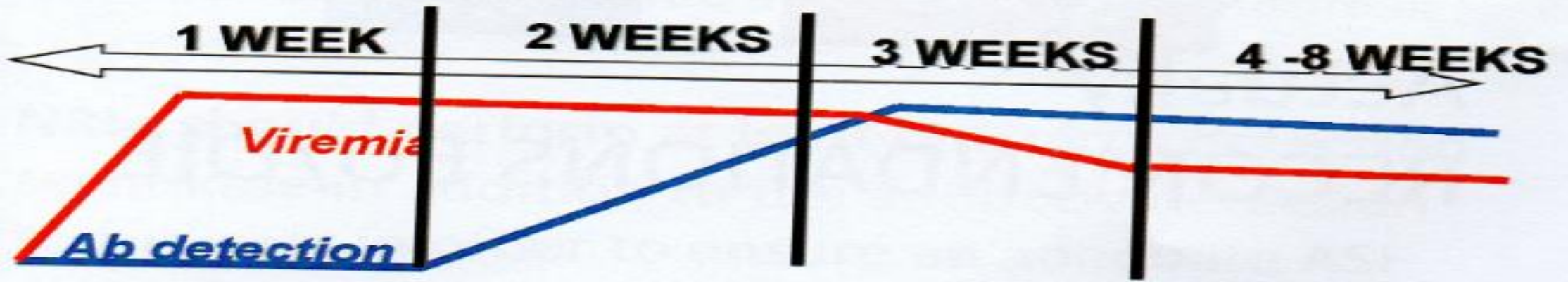
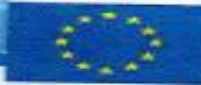
↓

VI (primary outbreak)

ELISA

↓

IB or IPT/IFI



SUBACUTE

- ✓ Caused by moderately virulent virus
- ✓ Death within 15-45 days
- ✓ Mortality 30-70%



PCR

↓

VI (primary outbreak)

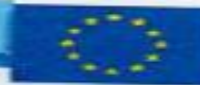


ELISA

↓

IB or IPT/IFI

Carmina Gallardo, 2012

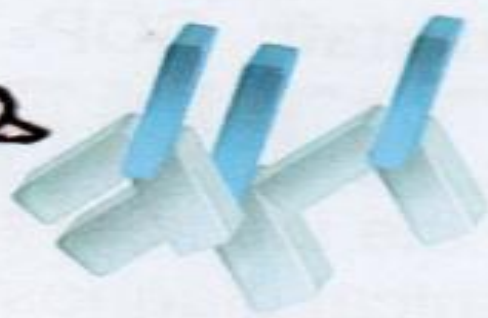




Ab detection

Viremia

**Chronic
Non-apparent (carriers)**



PCR



ELISA



IB or IPT/IFI

Surveillance programs

5. (Target samples for ASF diagnosis)



การเก็บตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

การเก็บตัวอย่าง

- **ระบาด !!! >>> สุกกรป่วย และสุกรตาย**
- **การเฝ้าระวังเชิงรุก >>> สุกกร และผลิตภัณฑ์สุกร**

ชนิดของตัวอย่าง

- เลือดเต็มส่วน >>> หลอดเลือด EDTA (ฟ้าม่วง)
- ซีรัม >>> หลอดเลือดฝาแดง
- อวัยวะ >>> ม้าม ต่อม้ำเหลืองดำ ตับ ไต ทอนซิล



การเก็บตัวอย่างเลือดสุกร

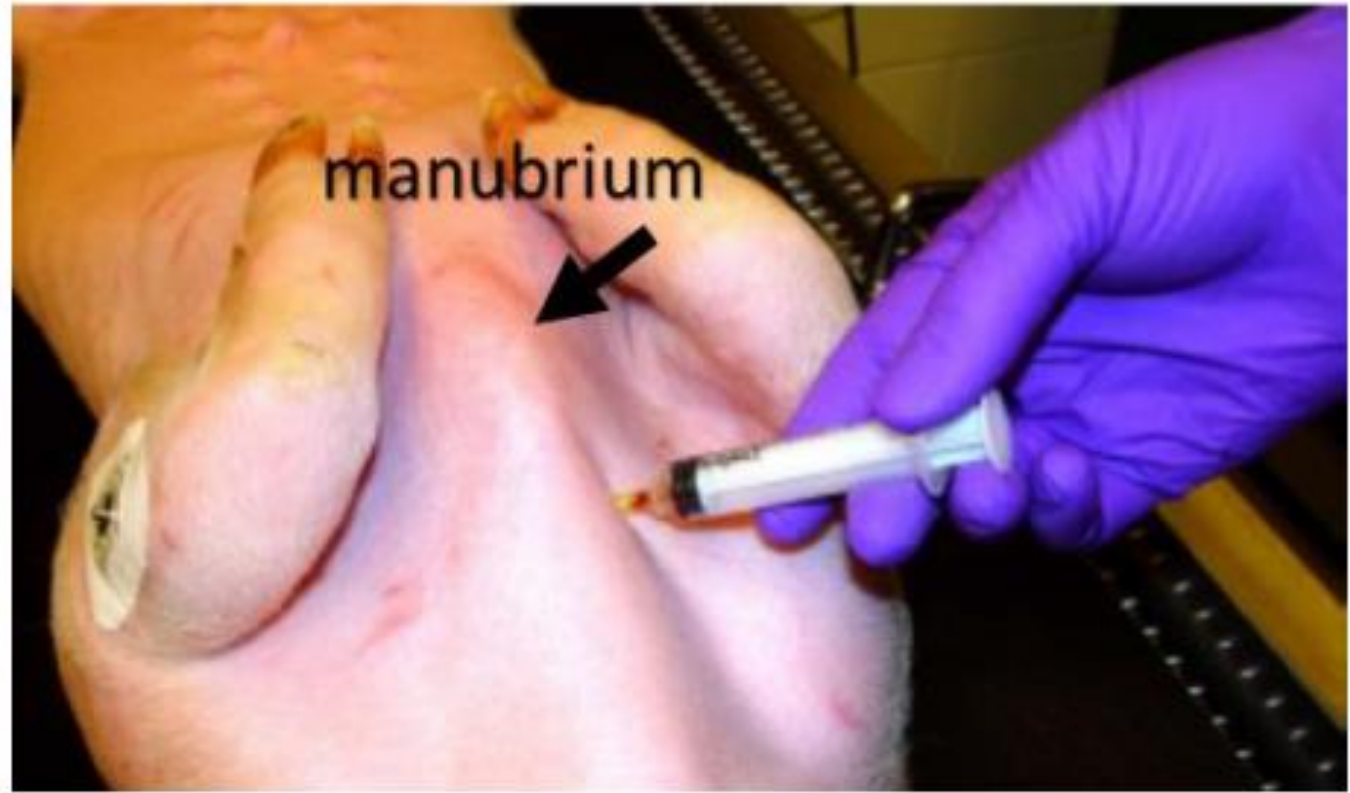
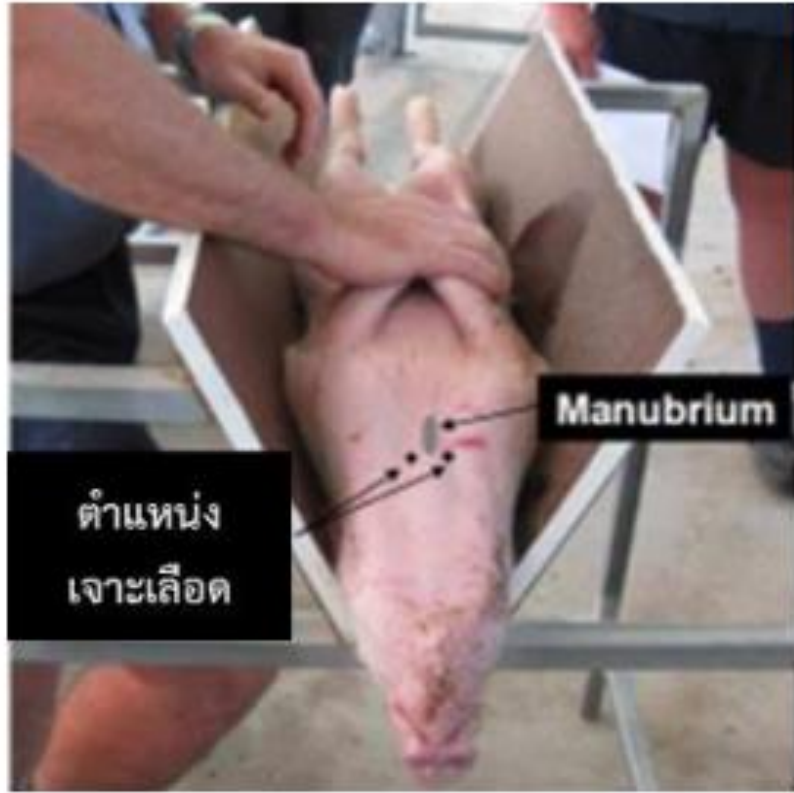
อุปกรณ์

- กระบอกฉีดยาและเข็มฉีดยา

ชนิดสัตว์	ขนาดกระบอกฉีดยา (มล.)/เข็ม	เลือด (มล.)
ลูกสุกร <20 กก.	5/ 18Gx1” (1.2 x 25 มม.)	3-5
สุกรเล็ก 20-60 กก.	5-10/ 18Gx1½”(1.2 x 40 มม.)	5-10
สุกรขุน-พ่อแม่พันธุ์	5-10/ 18Gx1½”(1.2 x 40 มม.)	5-10

- หลอดเก็บเลือดมีสารป้องกันการแข็งตัว ชนิด EDTA

- ถุงพลาสติก, น้ำแข็ง หรือ ice pack, กล่องโฟม หรือ กระติก



รูปที่ 4 การเก็บเลือดสุกรเล็ก (cranial vena cava)
ที่มา: James Cook University และ The Medical University of South Carolina



รูปที่ 5 การเก็บเลือดสุกรใหญ่ (external jugular vein)
ที่มา: Virginia Tech และ กรมปศุสัตว์



รูปที่ 5 การเก็บเลือดจากหัวใจ กรณีสัตว์เพิ่งตายใหม่

ที่มา: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเก็บตัวอย่างน้ำม

สำหรับซากสุกรป่วยตายซึ่งไม่สามารถเก็บเลือดได้

ให้เก็บตัวอย่างน้ำม

อุปกรณ์

- มีดผ่าซาก
- ถุงพลาสติก, น้ำแข็ง หรือ ice pack, กล่องโฟม หรือ กระติก



รูปที่ 6 แสดงตำแหน่งและวิธีการเปิดผ่าซากเก็บม้าม

ที่มา: Afrivet; คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

<https://www.youtube.com/watch?v=Avil1OltroU>

การเก็บตัวอย่าง



การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์และวัตถุดิบอาหารสัตว์

- 1) ผลิตภัณฑ์สุกร เช่น เนื้อหมัก เนื้อรมควัน เนื้อแช่เย็น เนื้อแช่แข็ง ไส้กรอก ซาลามี ไส้สุกรหมักเกลือ หนัງสุกร ฯลฯ
- 2) วัตถุดิบอาหารสัตว์ เช่น เนื้อและกระดูกป่น หรือผลิตภัณฑ์อาหารที่มาจากประเทศที่มีการระบาด

อุปกรณ์

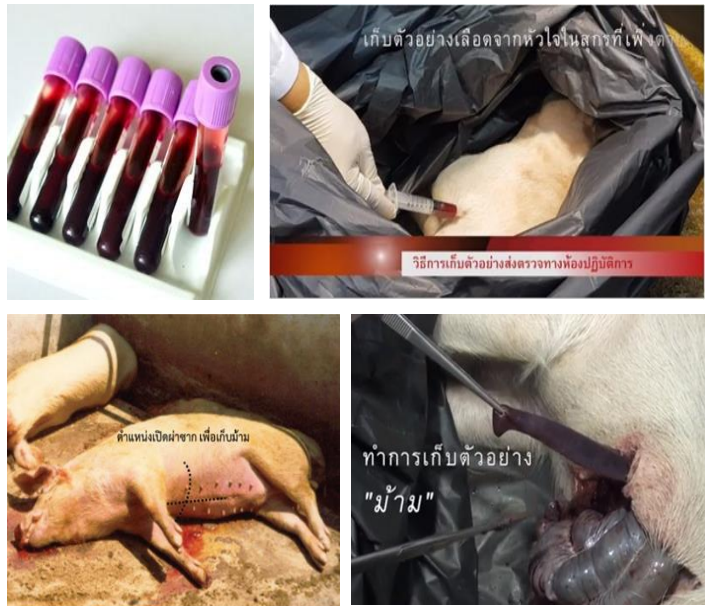
- ภาชนะบรรจุภัณฑ์ ถุงพลาสติกซีปล็อก
- กล่องโฟม หรือ กระติกน้ำ

ตัวอย่างเพื่อการวินิจฉัยยืนยันโรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกรทางห้องปฏิบัติการ

ชนิด	ปริมาณ	วิธีการตรวจ			วิธีการเก็บตัวอย่าง
		FAT	VI	PCR	
ตัวอย่างจากสุกรที่มีชีวิต หรือ เพิ่งตาย					
เลือด	3-5 มล.		✓	✓	ใช้หลอดชนิด EDTA (หลอดจุกสีม่วง) เก็บหากเก็บได้ถึง 5 มล. จะสามารถตรวจไวรัสชนิดอื่นๆ ได้ด้วย
ซีรัม	1-2 มล.			✓	แยกเก็บซีรัม โดยไม่ให้มี hemolysis และ lipidemia
ตัวอย่างจากสุกรตาย					
ม้าม	5 กรัม	✓	✓	✓	เปิดชั้นสูตรเก็บเฉพาะส่วน ภายใต้ความปลอดภัยทางชีวภาพ เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อสู่สิ่งแวดล้อม
ตัวอย่างวัตถุดิบอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์สุกร และวัตถุดิบอาหารสัตว์					
วัตถุดิบอาหาร	500 กรัม			✓	เก็บอย่างน้อย 5 จุดต่อชุดการผลิต ให้น้ำหนักรวมอย่างน้อย 500 กรัม

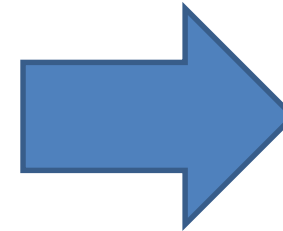
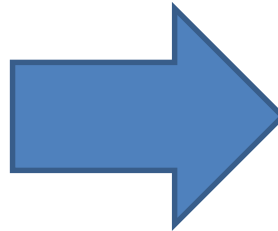


การเก็บตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ



ส่งทันที

ตรวจและรายงานผล



สคบ.
สสช.
ปศจ.
ปศอ.

ตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ตรวจวินิจฉัยโรค ASF ด้วย qPCR

ทันที

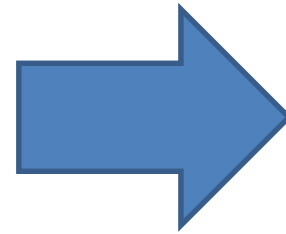
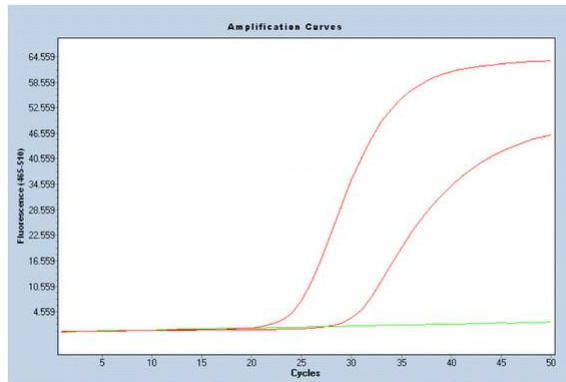
4ชม.



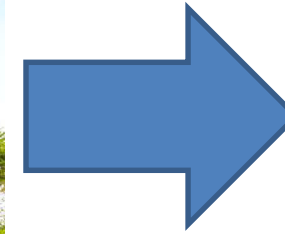
การเก็บตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

กรณีให้ผลบวก

รายงานผล



ส่งตรวจยืนยันที่สสช.

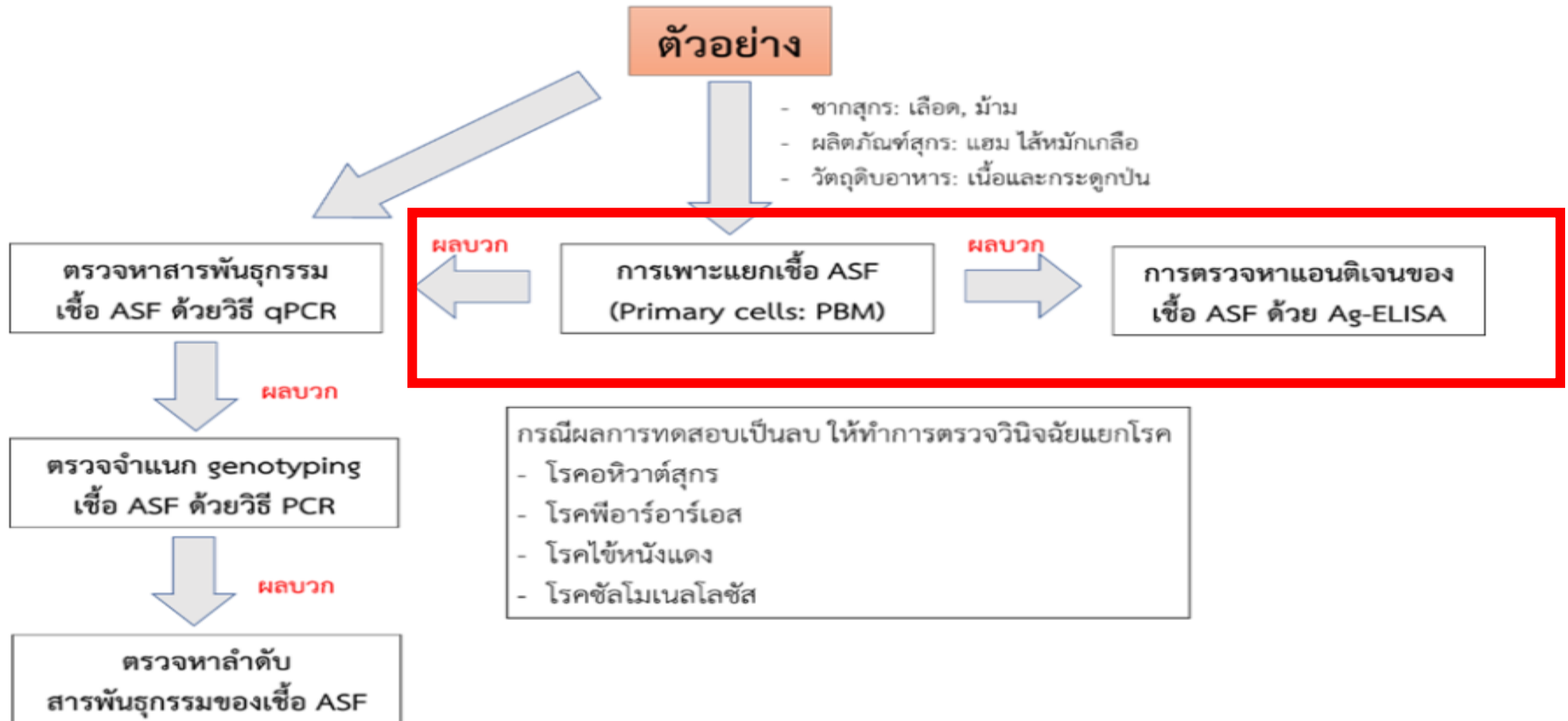


ศูนย์ปฏิบัติการ
เผชิญเหตุโรค
ASF

12ชม.

72ชม.

ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยโรคห้องปฏิบัติการ





เครือข่ายทางห้องปฏิบัติการ

สถาบันสุขภาพสัตว์
แห่งชาติ

ศูนย์วิจัยและ
พัฒนาการสัตวแพทย์

จุฬาฯ

ม.เกษตร

ม.มหิดล

ม.เชียงใหม่

ม.ขอนแก่น

ม.มหาสารคาม

ม.เทคโนโลยีมหานคร

ม.สงขลานครินทร์

ห้องปฏิบัติการ
เอกชน

ด่านกักกันสัตว์

องค์การสวนสัตว์

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
National Institute of Animal Health (NIAH)



เป็นองค์กรที่ให้การวิชาการด้านสุขภาพสัตว์ของประเทศที่ได้มาตรฐานสากล และเป็นศูนย์อ้างอิงด้านสุขภาพสัตว์ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

- ISO 17025 & 9001
- DLD Quality Award
- รางวัลหน่วยงานใสสะอาด
- รางวัลบริการภาครัฐแห่งชาติ
- รางวัลความเป็นเลิศทางปฏิบัติการ

หน้าแรก | แผนผังเว็บ | ข้อมูลองค์กร | การบริการ | องค์ความรู้ | แผนงาน-วิจัย | พัฒนางานองค์กร | บริหารจัดการ | ผลิต-งบประมาณ | สถิติ-รายงาน | ติดต่อ | English

บริการ
ตรวจ-ขั้นสูง
ทางห้องปฏิบัติการ

วารสาร
อิเล็กทรอนิกส์
eJournal

ISO 9001
report

จดหมายข่าว
Newsletter

ISO 17025
report

Biosafety
document

ขอแนะนำการ
เก็บ-ส่งตัวอย่าง

ความรู้ด้าน
โรคสัตว์

แบบฟอร์ม
รับตัวอย่าง

การป้องกัน
โรคสัตว์

แบบฟอร์ม
ทางราชการ

เตือนภัย
โรคสัตว์

What is your diagnosis?

PRRS free
ทางราชการกรมปศุสัตว์กรมปศุสัตว์
ปลอดโรคพริอาร์เอส

Spec 2562
วัสดุวิทยาศาสตร์

Spec 2561
ตรงกับวิทยาลัยสัตวศาสตร์-ธนบุรี

โรคสัตว์ปีก
NE
เอกสารวิชาการ

วิดีโอ
สัตวศาสตร์-สไลด์

ค้นหา.....search

หน้าแรก

ประกาศพนักงานราชการ

NE รับสมัครบุคคลเพื่อเลือกสรรเป็น

พนักงานราชการทั่วไป ตำแหน่งนัก
วิชาการสัตวบาล 1 อัตรา สังกัดสถาบัน
สุขภาพสัตว์แห่งชาติ (กรุงเทพฯ) สมัครงวัลที่
19 พศศจิกายน - 4 ธันวาคม 2561

ประกาศพัสดุ

NE สวพ. สาปาง ชื่อครุภัณฑ์
วิทยาศาสตร์ 15 รายการ ยื่นข้อ
เสนอวันที่ 27 พฤศจิกายน 2561

เอกสารวิชาการใหม่

คู่มือห้องปฏิบัติการ

โรคหิวขาดแอฟริกาในสุกร

งานการเงินและบัญชี ♥ งานแผนและงบประมาณ ♥ งานโสตทัศนูปกรณ์ ♥ งานคอมพิวเตอร์ ♥



ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ
โรคหิวขาดแอฟริกาในสุกร

ส่งตรวจ จำนวน 81 ตัวอย่าง ผลลบ จำนวน 81 ตัวอย่าง						
วันที่	ผู้ส่งตัวอย่าง	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	ผลการตรวจ	หมายเหตุ	
30-08-18	สุรินทร์	อวัยวะ	1	ลบ		
30-08-18	ด่านกักกันสัตว์ท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ	เนื้อสุกร	1	ลบ	ตรวจพบจากผู้โดยสาร	
31-08-18	ศรีสะเกษ	อวัยวะ	1	ลบ	ชายแดน	
31-08-18	กองสารวัตรและกักกัน	ซากสุกร	1	ลบ	ด่านชายแดน	

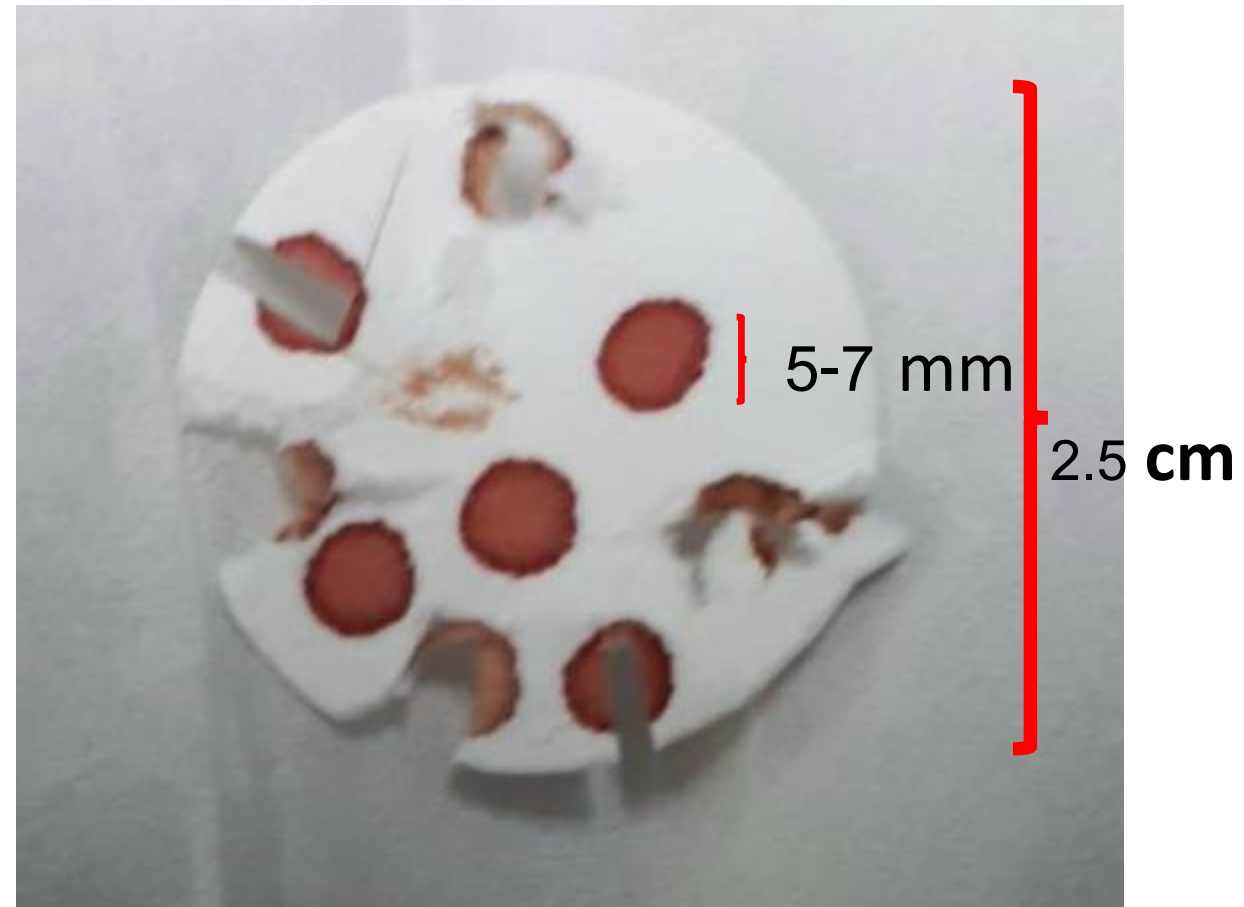
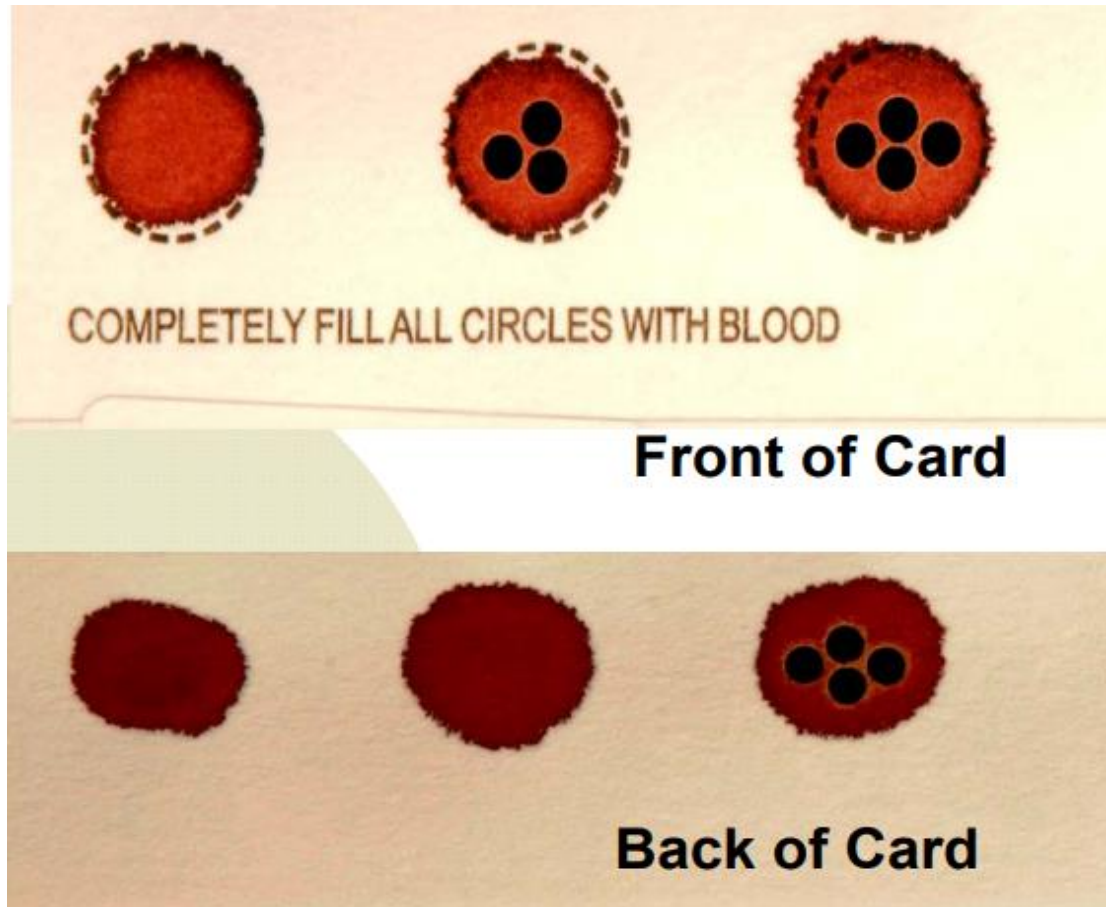


นายสัตวแพทย์
บรรจง จงรักษ์วัฒนา
ผู้อำนวยการ
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ



ทางเลือกในการเก็บตัวอย่างเลือดในอนาคต

ทางเลือกในการเก็บตัวอย่างเลือดในอนาคต





ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com



ScienceDirect

Journal of Virological Methods 146 (2007) 257–265



Journal of
Virological
Methods

www.elsevier.com/locate/jviromet

Long-term storage at tropical temperature of dried-blood filter papers for detection and genotyping of RNA and DNA viruses by direct PCR

V. Michaud^a, P. Gil^a, O. Kwiatek^a, S. Prome^a, L. Dixon^b, L. Romero^c, M.-F. Le Potier^d,
M. Arias^c, E. Couacy-Hymann^e, F. Roger^f, G. Libeau^a, E. Albina^{a,*}

^a CIRAD, UR Contrôle des Maladies, Montpellier F-34398, France

^b Institute for Animal Health, Ash Road, Pirbright, Woking, Surrey GU24 0NF, United Kingdom

^c Centro de Investigacion en Sanidad Animal, Ctra Valdeolmo-El Casar, 28130 Madrid, Spain

^d AFSSA, Laboratoire d'études et de recherches avicoles et porcines, Ploufragan F-22 440, France

^e Laboratoire Central de Pathologie Animale, BP 206 Bingerville, Côte-d'Ivoire

^f CIRAD, UR Epidémiologie, Montpellier F-34398, France

Received 7 December 2006; received in revised form 6 July 2007; accepted 10 July 2007

Available online 21 August 2007

REVIEW ARTICLE

African Swine Fever Diagnosis Adapted to Tropical Conditions by the Use of Dried-blood Filter Papers

T. Randriamparany^{1,*}, K. V. Kouakou^{2,*}, V. Michaud^{3,4}, J. Fernández-Pinero⁵, C. Gallardo⁵, M.-F. Le Potier⁶, R. Rabenarivahiny¹, E. Couacy-Hymann⁷, M. Raherimandimby⁸ and E. Albina^{4,9}

¹ Laboratoire National de Diagnostic Vétérinaire, Antananarivo, Madagascar

² Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole, Bingerville, Côte-d'Ivoire

³ CIRAD, UMR CMAEE, Montpellier, France

⁴ INRA, UMR1309 CMAEE, Montpellier, France

⁵ Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA), Valdeolmos, Spain

⁶ Anses, Laboratoire de Ploufragan, Unité Virologie Immunologie Porcines, Ploufragan, France

⁷ LANADA/Laboratoire Central de Pathologie Animale, Bingerville, Côte-d'Ivoire

⁸ Université d'Antananarivo, Antananarivo, Madagascar

Table 1. Detection limit of ASFV on 1.25-mm² 3-MM filter papers containing dried blood by direct (no nucleic acid extraction) conventional PCR, direct real-time UPL PCR and virus isolation compared to standard procedures. The virus was not isolated from blood

		Detection limit				
		3-MM filter papers containing dried blood			Blood	
Estimated virus titres (TCID ₅₀)	Dilution	Conventional PCR	UPL PCR (C _t value)	Virus isolation	Conventional PCR	UPL PCR (C _t value)
3 × 10 ^{4.8}	1/3	+	29.8	+	+	27.51
1 × 10 ^{4.8}	1/9	+	32.7	+	+	29.55
3 × 10 ^{3.8}	1/27	+	34.9	+	+	31.48
1 × 10 ^{3.8}	1/81	+	39.4	+	+	34.89
3 × 10 ^{2.8}	1/243	+	39.9	+	+	37.28
1 × 10 ^{2.8}	1/729	+	41.4	+	+	38.90
3 × 10 ^{1.8}	1/2187	–	No C _t	–	+	40.56

+ = detected.

– = non detected.

The End

A neon sign with the words "The End" mounted on a black metal frame. The word "The" is in a classic serif font, with "T" in pink, "h" in white, and "e" in orange. The word "End" is in a decorative, cursive font, with "E" in blue, "n" in yellow, and "d" in orange. The background is a dark blue gradient.