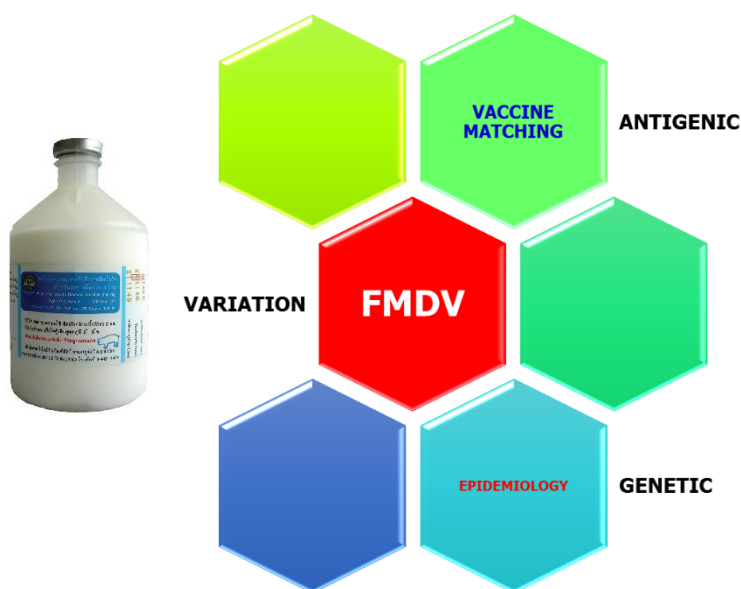




แนวทางการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อไวรัสที่ใช้ในการ ผลิตวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยจาก ข้อมูลทางระบาดวิทยาในประเทศไทย



สัตวแพทย์หญิง ดร. กิ่งกานต์ บุญสุยา สีโอ
ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

แนวทางการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อไวรัสที่ใช้ในการผลิตวัคซีนป้องกันโรคปาก
และเท้าเปื่อยจากข้อมูลทางระบาดวิทยาในประเทศไทย

Guideline for Selection of Foot and Mouth Disease Vaccine
Seed Virus from Epidemiological Data in Thailand

รหัสมาตรฐานสากลประจำหนังสือ: 978-616-608-765-9

ISBN 978-616-608-765-9

ชื่อหนังสือ: แนวทางการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อไวรัสที่ใช้ในการผลิตวัคซีนป้องกันโรคปาก
และเท้าเปื่อยจากข้อมูลทางระบาดวิทยาในประเทศไทย

จัดทำโดย: สัตวแพทย์หญิง ดร. กิ่งกานต์ บุญสุยา สีโอ
ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ครั้งที่พิมพ์: ครั้งที่ 1 จำนวน 30 เล่ม

ปีที่พิมพ์: พ.ศ. 2567

พิมพ์ที่: หจก. เลิศศิลป์ สาส์ณ โฮลดิ้ง

คำนำ

คู่มือแนวทางการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อไวรัสที่ใช้ในการผลิตวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยจากข้อมูลทางระบาดวิทยาในประเทศไทยฉบับนี้ ผู้เขียนรวบรวมข้อมูลจากประสบการณ์งานประจำ เอกสารวิชาการทั้งในและต่างประเทศ จากนั้นนำมาเรียบเรียงองค์ความรู้เกี่ยวกับการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อไวรัสที่ใช้ในการผลิตวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยจากข้อมูลทางระบาดวิทยา โดยเนื้อหาประกอบด้วยความรู้ทั่วไปและความเป็นมาของการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในประเทศไทย แนวทางวิธีการขั้นสูงและตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย สถานการณ์การระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในประเทศไทยในระหว่างปี 2545-2565 การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางแอนติเจนและพันธุกรรมของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในประเทศไทย และแนวทางการคัดเลือกไวรัสที่เหมาะสมสำหรับการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยในประเทศไทย โดยผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าหนังสือคู่มือเล่มนี้จะมีประโยชน์ต่อบุคลากรในวงการปศุสัตว์และผู้สนใจ เป็นประโยชน์ต่อการสนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยในวงกว้าง

ผู้เขียนขอขอบคุณบุคลากรของศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ผู้บังคับบัญชา ผู้เชี่ยวชาญ เครือข่ายห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ผู้เกษียณอายุราชการทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุน คำชี้แนะ และเป็นกำลังใจเสมอมา สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบคุณบุพการี ครูบาอาจารย์ ครอบครัวและกัลยามิตรทุกท่าน ในทุกเส้นทางของชีวิตการทำงานราชการและมีส่วนสำคัญทำให้คู่มือฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

กิ่งกานต์ บุญสุยา ลีโย

สารบัญ

หน้า

คำนำ	i
สารบัญ	ii
สารบัญตาราง	iv
สารบัญรูป	v
นิยามและคำย่อ	vii
บทที่ 1	1
บทนำ ข้อมูลทั่วไป	1
โครงสร้างหลักของโปรตีน	2
วงจรชีวิตของ FMDV ในเซลล์	7
การแพร่กระจายของการติดเชื้อ FMDV	7
การติดต่อกับเชื้อ FMDV	10
อาการของโรคปากและเท้าเปื่อย	15
บทที่ 2	18
สถานการณ์การระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย	18
การแพร่กระจายของไวรัส FMD	21
ข้อมูลซีโรไทป์และ Topotype ในพื้นที่ระบาด	24
บทที่ 3	31
วิธีการชันสูตรและตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย	31
บทที่ 4	42
การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางแอนติเจนและพันธุกรรมของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย	42
การเปลี่ยนแปลงของแอนติเจน	43
โครงสร้างแอนติเจนของเชื้อ FMDV	44
บทที่ 5	49
การคัดเลือกไวรัสที่เหมาะสมสำหรับผลิตวัคซีน	49

การจับคู่แอนติเจน	51
การทดสอบการจับคู่วัคซีนในร่างกายสัตว์	53
แนวทางทางเลือกสำหรับการทดสอบ Vaccine matching	56
การคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีน	58
วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย	66
วัคซีนโรค FMD ในปัจจุบัน	66
ข้อจำกัดของวัคซีน FMD ในปัจจุบัน	67
การทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีน	68
แนวโน้มการปรับปรุงวัคซีนโรค FMD	68
วัคซีนในอนาคต	69
การปรับปรุงวัคซีน FMD และแนวโน้มในอนาคต	70
ข้อสรุปและเสนอแนะ	71
บรรณานุกรม	74

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แนวทางการแพร่ของเชื้อ FMDV ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ	8
ตารางที่ 2 ระยะฟักตัวโดยประมาณของ FMD ในสัตว์แต่ละประเภท	9
ตารางที่ 3 รายละเอียดของปริมาณเชื้อ FMDV ขั้นต่ำในแต่ละชนิดสัตว์และช่องทางการติดเชื้อ (TCID ₅₀) ...	15
ตารางที่ 4 แสดงการแพร่กระจายของโรคปากและเท้าเปื่อยประจำถิ่น 7 กลุ่มที่พบทั่วโลก	19
ตารางที่ 5 แสดงค่าประมาณการแพร่เชื้อของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย	26
ตารางที่ 6 วิธีทดสอบที่ใช้สำหรับการวินิจฉัยโรค FMD และวัตถุประสงค์	41

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 ภาพแสดงโครงสร้างโปรตีนแคปซิดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย	2
รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างโปรตีนของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย	3
รูปที่ 3 การประกอบอนุภาค FMDV.....	5
รูปที่ 4 การผลิตและกระบวนการสร้างโปรตีน FMDV.....	5
รูปที่ 5 วงจรชีวิตของ FMDV ในเซลล์โฮสต์.....	7
รูปที่ 6 วงจรของแบบจำลองการติดเชื้อ FMDV และการแพร่กระจายในปศุสัตว์ ดังรายละเอียด ต่อไปนี้ Susceptible; S (อ่อนแอ), Exposed; E (สัมผัสเชื้อ) Infected; I (ติดเชื้อ) และ Recovered; R (รักษาภาพ คืน)	10
รูปที่ 7 แสดงพื้นที่ที่มีรายงานการพบโรคปากและเท้าเปื่อย	18
รูปที่ 8 แสดงประเทศสมาชิก WOAHP ที่ได้รับการรับรองอย่างเป็นทางการว่าปลอดจากโรค FMD.....	19
รูปที่ 9 การแพร่กระจายของโรคปากและเท้าเปื่อยประจําถิ่น 7 กลุ่มที่พบทั่วโลกของซีโรไทป์เชื้อ FMDV.....	20
รูปที่ 10 แสดงรายงานการพบการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย (รายงาน ณ เดือนกรกฎาคม 2566).....	20
รูปที่ 11 ตัวอย่างการกระจายเชิงพื้นที่ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ปี 2016	28
รูปที่ 12 แสดงการระบาดของ FMD ระหว่างปี 2007-2018.....	30
รูปที่ 13 แสดงสถิติการเกิดโรคระบาดของ FMD รายเดือนระหว่าง 2017-2018	30
รูปที่ 14 กราฟแสดงแนวทางการวินิจฉัยจาก Diagnostic windows	32
รูปที่ 15 ตัวอย่างการแสดงโครงสร้าง 3 มิติของซีโรไทป์ O1 BFS ของตำแหน่งแอนติเจนที่ทำให้เกิดความเป็น กลางจำนวน 5 ตำแหน่ง VP1 (สีแดง), VP2 (สีเขียว), VP3 (สีน้ำเงิน) และ VP4 (สีฟ้า) โดย Amino acid residues ที่สำคัญของตำแหน่งแอนติเจนจะแสดงเป็นทรงกลม (สีเหลือง)	51
รูปที่ 16 แสดง Phylogenetic trees ที่มีการจำแนก Topotype ของซีโรไทป์ O.....	59
รูปที่ 17 แผนภูมิความร้อนและการวิเคราะห์การจัดกลุ่มของ VNT titers ของไวรัส 74 ซีโรไทป์ O พร้อม Anti serum 5 ตัว ไวรัสมิติด้านกำเนิดทั่วโลกและรวมตัวกันตามโปรไฟล์การทำให้เป็นกลางตามแนวแกนตั้ง ในทำนอง เดียวกัน แอนติซีรัมจะถูกจัดเรียงตามความสามารถในการต่อต้านแผลงไวรัสตามแนวแกนนอน A1: O/BFS, A2: O/Manisa, A3: O/Kaufbeuren, A4: O/UKG, A5: O/PanAsia-2 สีเข้มหมายถึงระดับ VNT ที่สูงขึ้น.....	60
รูปที่ 18 ค่าความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาของแอนติเจน (ค่า r_1) ของไวรัส FMDV ซีโรไทป์ O จำนวน 85 ตัวอย่างในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เทียบกับไวรัสวัคซีน 5 ชนิด ภายใต้ข้อกำหนดเกณฑ์ในช่วง < 0.3= Poor, 0.3– 0.5= Moderate และ 0.5– 1= Good.....	61
รูปที่ 19 แสดง Phylogenetic trees ที่มีการจำแนก Topotype ของซีโรไทป์ A.....	62
รูปที่ 20 (a) แสดง Phylogenetic trees ของไวรัส FMDV ซีโรไทป์ A-Iran-05 และ (b) แสดงค่า r_1 เทียบกับ ไวรัสวัคซีนของ A22/Iraq (สีขาว) และ A/TUR/2006 (สีดำ) พื้นฐานของลำดับ VP1.....	63

รูปที่ 21 ค่าความสัมพันธ์แอนติเจน (ค่า r_1) ของ 57 สายพันธุ์ A ของแอฟริกาตะวันออก แสดงการทดสอบ Vaccine matching ทางซีรัมวิทยา (ค่า r_1) ในช่วง < 0.3 และ > 0.3 สำหรับวัคซีนทั้ง 7 สายพันธุ์.....	64
รูปที่ 22 แสดง Phylogenetic trees ที่มีการจำแนก Topotype ของซีโรไทป์ Asia1.....	65
รูปที่ 23 แนวทางเลือกในการผลิตวัคซีน FMDV ใหม่ ปลอดภัย.....	69
รูปที่ 24 คุณสมบัติของวัคซีน FMD ในอุดมคติ	70
รูปที่ 25 การนำเสนอแผนผังแสดงการพัฒนำวัคซีนแบบดั้งเดิมและแบบใหม่ที่กำหนดเป้าหมาย FMD	71

นิยามและคำย่อ

3'UTR	=	Three prime Untranslated Region
5'UTR	=	Five prime Untranslated Region
A	=	Adenine
AGID	=	Agar gel immunodiffusion
ATP	=	Adenosine triphosphate
BHK	=	Baby Hamster Kidney
BTY	=	Bovine Thyroid
C	=	Cytosine
Ca	=	antigen control
CaCl ₂	=	Calcium Chloride
CCS	=	Circular Consensus Sequence
cDNA	=	Complementary Deoxyribonucleic Acid
CFT	=	complement fixation test
cre	=	Cis-acting Replication Element
DNA	=	Deoxyribonucleic Acid
DPC	=	Days Post Contact
dsDNA	=	Double Stranded Deoxyribonucleic Acid
EDTA	=	Ethylenediaminetetra acetic Acid
eIF4G	=	Eukaryotic translation Initiation Factor 4G
ELISA	=	enzyme linked immunosorbent assay
EU	=	European Union
FMD	=	Foot-and-mouth disease
FMDV	=	Foot-and-mouth disease virus
FMDV – NS	=	Non Structural Protein of Foot and Mouth Disease Virus
HRP	=	Horseradish peroxidase
KCl	=	Potassium Chloride
LFD	=	lateral flow device
Igs	=	Immunoglobulin
MAbs	=	Monoclonal antibodies
MgSO ₄	=	Magnesium Sulphate
NaCl	=	Sodium Chloride

NaH ₂ PO	=	Sodium Hydrogen Phosphate
NCR	=	Non-coding region
NGS	=	Next Generation Sequencing
Nf H ₂ O	=	Nuclease Free Water (H ₂ O)
NSP	=	Non Structural Protein
NSP AbELISA	=	ELISA for antibodies against nonstructural proteins
OD	=	optical density
OP	=	Oesophageal Pharyngeal
OIE	=	Office International des Épizooties
ORF	=	Open reading frame
PB	=	Probang
PBS	=	Phosphate Buffered Saline
PBSa	=	Phosphate Buffered Saline (calcium and magnesium free)
PBS-BSA	=	Phosphate Buffered Saline containing Bovine Serum Albumin
PCR	=	Polymerase Chain Reaction
PI	=	Percentage of inhibition
PP	=	Percentage of Positivity
RdRP	=	RNA dependant RNA polymerase
RGD	=	Arginine-Glycine-Aspartic Acid RNA Ribonucleic Acid
RNA	=	Ribonucleic Acid
rRNA	=	Ribosomal Ribonucleic Acid
RT	=	Reverse Transcription
RT-PCR	=	Reverse Transcription with Polymerase Chain Reaction
qPCR	=	Quantitative Polymerase Chain Reaction
SAM	=	Sequence Alignment Map
SAT	=	Southern African Territories
SD	=	Standard Deviation
SE	=	Standard Error
SEAFMD	=	Southeast Asia Foot and Mouth Disease Campaign
SMRT	=	Single Molecule Real Time
SNP	=	Single Nucleotide Polymorphism
SP AbELISA	=	ELISA for antibodies against structural proteins
T	=	Thymine

TPB	=	Tryptose Phosphate Broth
TRIS-HCL	=	TRIS (hydroxymethyl) aminomethane Hydrochloride
U	=	Uracil
USDA	=	United State Department of Agriculture
SAT	=	Southern African Territories
VP1	=	Viral protein One
Vpg Viral	=	Genomic protein
VI	=	Virus Isolation
VNT	=	Virus neutralisation test
WRL	=	World Reference Laboratory

บทที่ 1

บทนำ ข้อมูลทั่วไป

โรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and Mouth Disease, FMD) เป็นโรคไวรัสที่มีความรุนแรงและติดต่อได้สูงในปศุสัตว์ พบการติดต่อแพร่กระจายอย่างรวดเร็วในสัตว์กบคู่ทุกชนิด เช่น โค กระบือ แพะ แกะ และสุกร รวมถึงสัตว์ป่าอีกกว่า 70 ชนิด เช่น กวาง ยีราฟ ช้าง อูฐ และสัตว์ป่าเคี้ยวเอื้องกับคู่ชนิดอื่นๆ เป็นต้น การแพร่กระจายของโรคอย่างรวดเร็วไปยังสัตว์ที่อ่อนแออาจเป็นไปได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยลักษณะของการติดเชื้อที่พบบ่อยที่สุด คือ การสัมผัสโดยตรงระหว่างสัตว์ที่ติดเชื้อไปยังสัตว์ที่อ่อนแอ อย่างไรก็ตามโรค FMD ไม่แสดงความรุนแรงในสัตว์โตเต็มวัย แต่ในสัตว์อายุน้อยจะพบว่ามีอัตราการตายสูง (Grubman and Baxt, 2000) ซึ่งโรค FMD ส่งผลกระทบทางเศรษฐกิจด้านการค้าปศุสัตว์อย่างมากเนื่องจากการระบาดทำให้เกิดการทำลายสัตว์เป็นจำนวนหลายล้านตัวในประเทศที่ปลอดจากโรค

โรค FMD ถือได้ว่าเป็นโรคสัตว์ข้ามพรมแดน (Transboundary Animal Disease; TAD) ที่ร้ายแรงที่สุดโรคหนึ่ง (Geering and Lubroth, 2002) นอกจากจะส่งผลกระทบอย่างมากต่อการผลิตปศุสัตว์แล้วยังส่งผลกระทบต่อเนื่องเกี่ยวกับการกีดกันทางการค้าด้านการปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์ทางปศุสัตว์ในระดับภูมิภาคอีกด้วย ซึ่งโรค FMD เป็นโรคติดต่อโรคแรกที่ World Organisation for Animal Health (WOAH, founded as OIE) ให้การรับรองสถานะการปลอดโรค โดยการกำหนดรายชื่อประเทศที่มีสถานะปลอดโรคอย่างเป็นทางการและจำแนกประเภทของสถานะปลอดโรคหรือไม่ปลอดโรคเป็นโซนต่างๆ ดังรายละเอียดในรูปที่ 1 (WOAH, 2022) จากข้อมูลดังกล่าวที่ผ่านมาคาดว่าโรค FMD มีการแพร่ระบาดสูงถึง 77% จากประชากรปศุสัตว์ทั่วโลกทั้งในทวีปแอฟริกา ตะวันออกกลาง และเอเชีย รวมทั้งในบางส่วนของทวีปอเมริกาใต้ โดยปัจจุบันประเทศที่ปลอดโรค FMD แบบไม่ฉีดวัคซีนต้องเสียค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนถึง 75 % เพื่อการควบคุมและป้องกันโรคเนื่องจากผลการประเมินความเสี่ยงต่อการแพร่ระบาดของโรค FMD โดยเฉพาะประเทศในแถบแอฟริกาและยูเรเชียต้องเสียค่าใช้จ่ายมาตรการควบคุมและป้องกันโรคถึง 33-50% ของค่าใช้จ่ายทั้งหมด (WOAH, 2022)

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของเชื้อ FMDV

โรค FMD มีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and mouth disease virus: FMDV) ในสกุล (Genus) *Aphthovirus* จัดอยู่ในวงศ์ (Family) *Picornaviridae* ซึ่งเป็น RNA ไวรัสสายเดี่ยว (Single-stranded RNA) มีความยาวประมาณ 8,400 นิวคลีโอไทด์ (nt) ไม่มีผนังหุ้มเซลล์ (Non-enveloped) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25-30 นาโนเมตร ประกอบด้วย Structural protein และ Non-structural protein ทำให้สามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมได้ง่าย (Reid *et al.*, 2014) ทั่วโลกพบความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อได้ทั้งหมด 7 ซีโรไทป์ คือ O, A, Asia1, C, SAT1, SAT2 และ SAT3 จากการศึกษาในระดับเซลล์พบว่ากระบวนการแปลรหัสจะต้องอาศัย Polyprotein ที่อยู่ด้านข้างของปลายสายของจีโนม คือ 5' UTR (ประมาณ 1300 nt) และ 3' UTR (ประมาณ 90 nt) ซึ่งกลไกการเกิดการติดเชื้อเริ่มจากเชื้อไวรัสจะเดินทางเข้าไปในไซโตพลาสซึมของเซลล์ โดยเริ่มจากจีโนม RNA จะทำหน้าที่เหมือน Messenger RNA (mRNA) ในการนำส่งข้อมูลของรหัสพันธุกรรมเพื่อสร้าง Polyprotein ของกรดอะมิโนประมาณ 2,300 ตัว

โครงสร้างหลักของโปรตีน

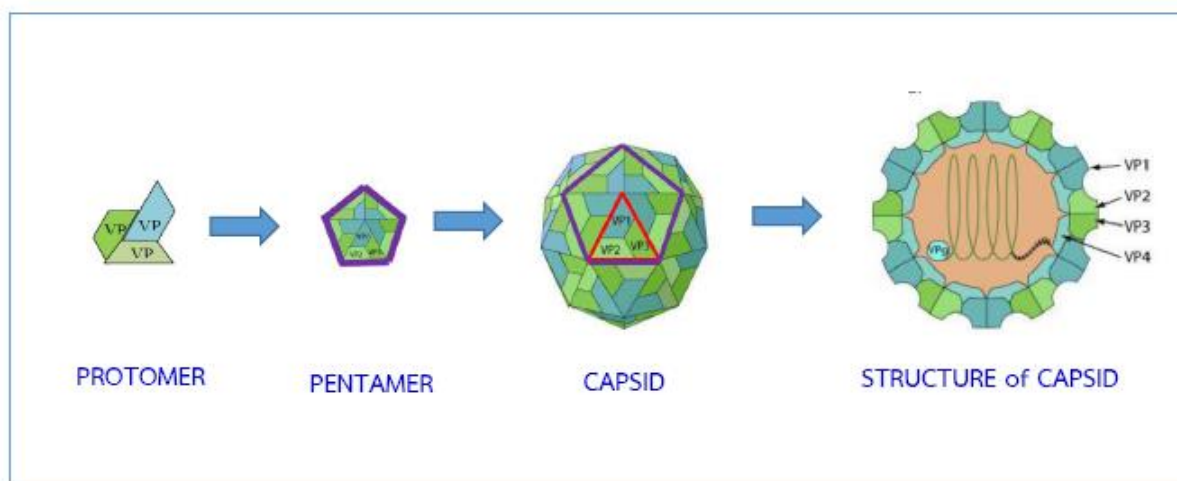
โครงสร้างของเชื้อ FMDV มีขนาดประมาณ กิโลเบส 3.8 ประกอบด้วยจีโนมของไวรัสซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่บรรจุอยู่ในโปรตีนแคปซิด (capsid) (Clavijo *et al.*, 2004) โดยแต่ละแคปซิดประกอบด้วยแคปโซเมอร์ (capsomer) จำนวน 60copy แต่ละ Copy ประกอบด้วยโปรตีนโครงสร้างหลัก (Viral Protein; VP) จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ VP1, VP2, VP3, และ VP4 (Rodriguez and Gay, 2011)

สำหรับการจำแนกองค์ประกอบโครงสร้างโปรตีนของเชื้อ FMDV มีองค์ประกอบดังนี้ คือ (รูปที่ 1)

- VP1-VP3 เป็นโปรตีนโครงสร้างที่อยู่ บริเวณพื้นผิวภายนอกของแคปซิด โดยป็นการเรียงตัวของ VP1, VP2, และ VP3 มีน้ำหนักโมเลกุลของแต่ละตัวโดยประมาณ 24 kDa และมีโครงสร้างที่ค่อนข้างคล้ายคลึงกัน คือ มีลักษณะรูปทรงกระบอกแปดเหลี่ยมคล้ายลิ้น

- VP4 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 8.5 kDa เป็นโปรตีนโครงสร้างที่อยู่พื้นผิวภายใน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 26 นาโนเมตร (Jamal and Belsham, 2013)

การประกอบโครงสร้างแคปซิดเป็นการรวมตัวกันของโครงสร้างพื้นผิวภายใน คือ การเรียงตัวของ VP4 และโครงสร้างพื้นผิวภายนอก คือ การเรียงตัวของ VP1-VP3 ที่จะประกอบกันเป็น Protomer และจากนั้น Protomer จำนวน 5 ตัว จึงจะ 5ประกอบขึ้นเป็นหนึ่ง Pentamer และจาก Pentamer หลายตัวจึงจะรวมเป็นโปรตีนแคปซิดต่อไป



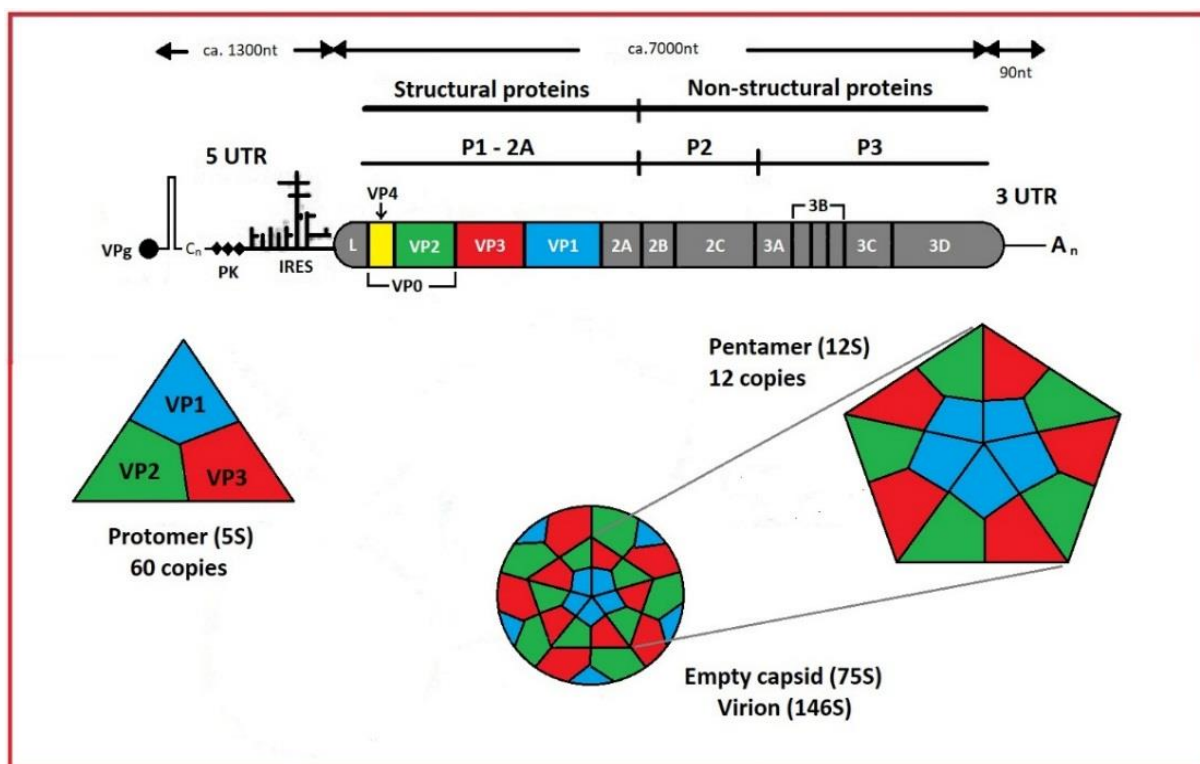
รูปที่ 1 ภาพแสดงโครงสร้างโปรตีนแคปซิดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

ที่มา: ดัดแปลงจาก Clavijo *et al.*, (2004)

โครงสร้างโปรตีนของ FMDV

โครงสร้างโปรตีนของเชื้อ FMDV ที่สมบูรณ์มีองค์ประกอบที่แตกต่างกันจำนวน 15 ชนิด ได้แก่ Lab, Lb, VP4, VP2, VP3, VP1, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B1, 3B2, 3B3, 3C และ 3D ซึ่งจะมีการรวมตัวกันเป็นโปรตีน

โครงสร้างที่สำคัญที่แตกต่างอีก 4 ชนิด คือ VP1, VP2, VP3 และ VP4 จากนั้นจึงจะมีการก่อตัวเป็นแคปซิดของไวรัสต่อไป (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างโปรตีนของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

ที่มา: Jamal and Belsham (2013)

สามารถแยกรายละเอียดโครงสร้างตามองค์ประกอบดังต่อไปนี้

1. โปรตีนโครงสร้าง (Structural protein; SPs)

เป็นส่วนที่เรียกว่า สารตั้งต้นโปรตีนแคปซิด อยู่บริเวณส่วนปลายของหมู่ Carboxyl ของกรดอะมิโน (C-terminal) ซึ่ง SPs สามารถแยกย่อยได้เป็น 2A, VP1, VP3, และ VP0 (กระบวนการแยกตัวของ VP0 จะได้แยกได้เป็น VP2 และ VP4 โดยจะเกิดขึ้นหลังจาก genome RNA ถูกบรรจุเข้าไปในแคปซิด) (Buenz and Howe, 2006)

โครงสร้าง SPs เริ่มตั้งแต่ส่วนของปลายสายของ 5' UTR คือ L-protein และส่วนต่อจากบริเวณนี้เรียกว่า P1 คือส่วนที่ประกอบด้วยกลุ่มของ VP1-VP4 ซึ่งเป็นส่วนที่จะมีการเข้ารหัสของสารตั้งต้นสำหรับกระบวนการสร้างโปรตีนแคปซิด ดังนั้นโปรตีนแคปซิดที่สมบูรณ์ประกอบด้วย SPs 4 ชนิด คือ VP4, VP2, VP3 และ VP1 โดยสามารถแยกออกจากกันได้ด้วย Leader Proteinase (Lpro) ของไวรัส

2. โปรตีนที่ไม่ใช่โครงสร้าง (Non-structural protein; NSPs)

สำหรับกลุ่ม NSPs ประกอบด้วยโปรตีนไวรัสจำนวน 11 ชนิด โดยจำแนกโครงสร้างย่อยได้เป็น 2 ส่วน คือ

- ส่วน P2 ประกอบด้วยโปรตีนไวรัส 3 ชนิด คือ 2A, 2B และ 2C ซึ่งส่วน P2 ที่ตำแหน่ง

P1-2A

- 2B (P2-2B) จะทำหน้าที่ในการเข้ารหัสโปรตีน สำหรับส่วน 2A และ 2C จะอยู่ที่ส่วนขยายของบริเวณ C-terminal ของ P1
- ส่วน P3 ประกอบด้วยโปรตีนไวรัส 4 ชนิด ได้แก่ 3A, 3B, 3Cpro และ 3Dpol โดยส่วนของ 3B จะสามารถแยกย่อยออกเป็น 3 ชนิด คือ 3B1, 3B2 และ 3B3 ซึ่งสายเปปไทด์สั้นๆ ทั้ง 3 ชนิดนี้หรือ เรียกอีกอย่างว่า Viral protein (VPg) ซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะโควาเลนต์กับส่วนปลายด้าน 5' UTR ของ RNA ของไวรัสที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่ โดย VPg แต่ละตัวสามารถทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของกระบวนการ Uridylyzation เพื่อสร้าง VPgpUpU หรือ 3BpUpU ซึ่งจะมีหน้าที่เป็น Primer สำหรับการสังเคราะห์ RNA 3C protease (3Cpro) ที่ทำให้เกิดการสร้างสายไวรัสใหม่ขึ้นมา สำหรับโปรตีน 3D เป็น RNA polymerase หรือที่เรียกว่า 3Dpol ทำหน้าที่ในการเข้ารหัสไวรัสต่างๆ และทำหน้าที่ตรวจสอบความถูกต้องอย่างละเอียดเพื่อไม่ให้มีการทำซ้ำของการเข้ารหัสนั้นๆ

การประกอบโครงสร้างอนุภาคของเชื้อ FMDV

อนุภาคแคปซิดโปรตีนแต่ละอนุภาคมีจำนวน 60 copy ทำหน้าที่ช่วยปกป้อง RNA ของไวรัสขณะที่ไวรัสอยู่นอกเซลล์ และช่วยอำนวยความสะดวกในการส่ง RNA ของไวรัสไปยังไซโตพลาสซึมของเซลล์ใหม่ ซึ่งทำให้เกิดการติดเชื้อรอบใหม่ได้ โดยเมื่อไวรัสจับกับตัวรับคือ Integrin ที่บริเวณผิวเซลล์และเข้าสู่ภายในโฮสต์เซลล์ด้วยกระบวนการ Endocytosis จากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไวรัสด้วยวิธีการสลายองค์ประกอบของแคปซิดจากการทำงานของกรดอ่อนภายใน Endosome จากนั้น RNA ของไวรัสจะถูกปล่อยออกมาและเกิดกระบวนการเพิ่มจำนวนต่อไป

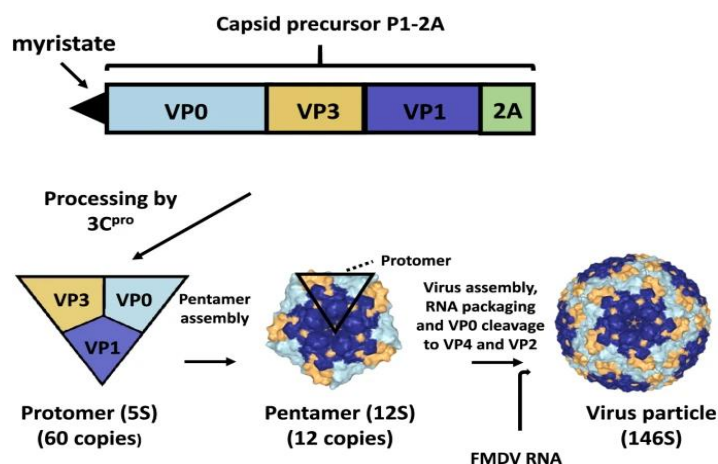
จากการวิเคราะห์การประกอบอนุภาค FMDV โดยการระบุคุณลักษณะด้วยวิธีการตกตะกอนเทคนิค sucrose gradient (sedimentation characteristics) พบว่าสารตั้งต้นของแคปซิดในส่วน P2-1A จะถูกแก้ไของค์ประกอบของรหัสข้อมูลบริเวณ N-terminus ด้วยการเพิ่มหมู่ myristate (C (14จากกระบวนการ Myristoylation ของโปรตีนแคปซิด ส่งผลทำให้สารตั้งต้นของโปรตีนแคปซิด P2-1A แยกตัวออกมาจากกันด้วยการทำงานของ 3 C protease (3Cpro) เพื่อให้เหลือเป็น VP1, VP3, และ VP0 ซึ่งเป็นการแยกตัวออกมาจากการรวมกันกับ 2A โดยปกติแล้ว VP2-1A จะสามารถเปลี่ยนแปลงได้ถ้าหากว่ามีการแก้ไขตำแหน่งที่มีการแยกตัวของโปรตีนแคปซิด (รูปที่ 3)

ในการประกอบโครงสร้างอนุภาคของเชื้อ FMDV จะเป็นรวมกันของ Protomer จำนวน ตัว 5 (5S) จนกลายเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า Pentamer (12S) และต่อจากนั้น Pentamer จำนวนตัว จะมารวมตัว 12 กันเพื่อสร้างเป็นอนุภาคไวรัสที่สมบูรณ์ (146S) โดยในระหว่างขั้นตอนการประกอบขั้นสุดท้ายนี้ VP จะถูก 0 แยกออกเป็น VP และ 4VP ซึ่งโปรตีนแคปซิดของไวรัส 2 ที่มี RNA อยู่ภายในจะทำให้เกิดเป็นอนุภาคไวรัสที่สามารถติดเชื้อได้ เรียกว่า “146S”

สำหรับอนุภาคแคปซิดเปล่าที่ไม่สามารถติดเชื้อได้ เรียกว่า “70S” ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้แต่จะไม่มี RNA ของไวรัสอยู่ภายใน โครงสร้างดังกล่าวยังพบว่ามี VP4 อยู่ภายในอนุภาคแคปซิด โดยอนุภาค 70S ที่ถูกสร้างขึ้นจะยังคงมี VP2 ในกระบวนการผลิตอนุภาคดังกล่าวด้วย โดยมีข้อสังเกตเกี่ยวกับความแตกต่างของอนุภาค 70S ในแต่ละสายพันธุ์ของไวรัส เช่น ซีโรไทป์ A พบว่าอนุภาค 70S สามารถเกิดขึ้นได้ง่ายภายในเซลล์

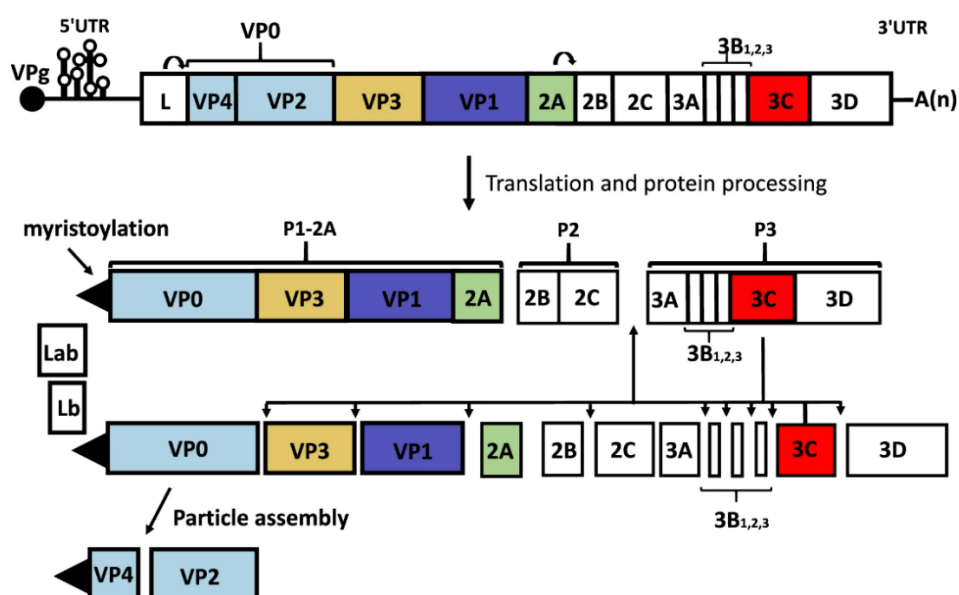
ที่ติดเชื้อ FMDV แต่กรณีซีโรไทป์ O มีอนุภาค 70S ในปริมาณที่น้อยมาก ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวอาจแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการสร้างอนุภาค 70S ของแต่ซีโรไทป์ที่แตกต่างกันได้

สำหรับอนุภาค 146S ที่แสดงให้เห็นว่ามีผลต่อการกระตุ้นระดับภูมิคุ้มกันที่มาก ซึ่งสามารถเป็นข้อบ่งชี้ที่สำคัญของกระบวนการผลิตวัคซีนที่จำเป็นต้องมีอนุภาค 146S ในระดับที่สูง รวมถึงกระบวนการเก็บรักษาภายใต้สภาวะที่เหมาะสม (การพิจารณาประสิทธิภาพของระบบห่วงโซ่ความเย็นของการจัดการวัคซีน) และระบบการทดสอบการเฝ้าระวังเพื่อตรวจหาปริมาณการคงอยู่ของอนุภาค 146S (บางซีโรไทป์) ที่ควรมีการจัดการอย่างสม่ำเสมอ



รูปที่ 3 การประกอบอนุภาค FMDV

ที่มา: Belsham, G.B. (2020)



รูปที่ 4 การผลิตและกระบวนการสร้างโปรตีน FMDV

ที่มา: <https://doi.org/10.1186/s13028-020-00519-1>

จากรูปที่ 4 เป็นการจำลองการผลิตและกระบวนการสร้างโปรตีน FMDV มีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

- แฉกบนสุดเป็นการแสดงการแปลรหัสของ polyprotein (P1-2A, P2 และ P3)
- แฉกกลางเป็นการแสดงการประมวลผลระหว่างการแปลรหัสของสารตั้งต้น
- แฉกล่างเป็นการแสดงการประมวลผลหลังการแปลรหัสของสารตั้งต้น (P1-2A, P2 และ P3)

โดยผลผลิตส่วนใหญ่จะมาจากการทำงานของ Protease 3C ที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางของกระบวนการ Myristoylation ที่ตำแหน่ง N-terminal ของสารตั้งต้นของโปรตีน ซึ่งส่วน P1-2A ที่เกิดขึ้นจะสามารถแยกส่วนของ VP0 ให้ได้เป็น VP4 และ VP2 ต่อไป โดยกระบวนการนี้เกิดขึ้นระหว่างการประกอบอนุภาคด้านนอก โดยจะมี Leader Protease จำนวน 2 ชนิด คือ Lab และ Lb ทำหน้าที่ในการแยกโครงสร้างออกมาจากสารตั้งต้นของโปรตีนแคปซิดที่ส่วน 5' UTR ที่บริเวณทางเข้าสู่ไรโบโซมภายใน (Internal ribosome entry site; IRES) ซึ่งจำเป็นสำหรับการเริ่มต้นสังเคราะห์โปรตีนบน RNA ของไวรัส

จากการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างของ VP1 พบว่ามีลักษณะโครงสร้างในรูปแบบการยึดเกาะกันของสายโปรตีนไวรัส ที่เรียกว่า Icosahedral มีลักษณะเป็นสายโปรตีนไวรัสแบบยาวพันกันเป็นเกลียวจำนวนห้ารอบ ซึ่งบริเวณดังกล่าวนี้จะแสดงคุณลักษณะทางเป็นแอนติเจนมากที่สุด โดยการแปลรหัสจะเกิดขึ้นบริเวณที่ติดกับส่วนของ 5'UTR โดยบริเวณนี้จะเป็นส่วนของ P1 ที่ประกอบด้วยยีน 1D, 1B, 1C และ 1A ที่จะถูกแปลรหัสไปเป็นโปรตีนโครงสร้างต่อไป นั่นคือ VP1, VP2, VP3, และ VP4 ตามลำดับ

สำหรับโปรตีนโครงสร้าง VP1 จะมีส่วนที่เรียกว่า “G-H loop” หรือที่เรียกว่า “FMDV Loop” (residues 140-160) ซึ่งเป็นบริเวณที่ epitope มีความจำเพาะต่อแอนติบอดี ทำให้สามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันที่สูงขึ้น (Fry *et al.*, 2005) ดังนั้น G-H loop จึงมีความสำคัญต่อระบบทางภูมิคุ้มกันและถือว่าเป็นจุดที่สำคัญที่สุดจุดหนึ่งบนโปรตีนไวรัสที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาความเป็นกลางระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี (Neutralization) (Logan *et al.*, 1993)

จากการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ (Phylogenetic analysis) สำหรับ VP1 ของเชื้อ FMDV นั้นได้ถูกนำมาใช้เพื่อกำหนดความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างเชื้อ FMDV ที่แยกได้ และแสดงการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของสายพันธุ์เชื้อและจีโนไทป์ได้ ดังนั้น VP1 จึงมีส่วนสำคัญในการช่วยสร้างความเชื่อมโยงระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมและลักษณะการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของ Topotype ของเชื้อ FMDV ในพื้นที่ที่พบการระบาด จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการนำข้อมูลด้านโมเลกุลมาใช้ในการวิเคราะห์เพื่อสืบย้อนไปถึงแหล่งที่มาของการระบาดได้ (Sahle *et al.*, 2004)

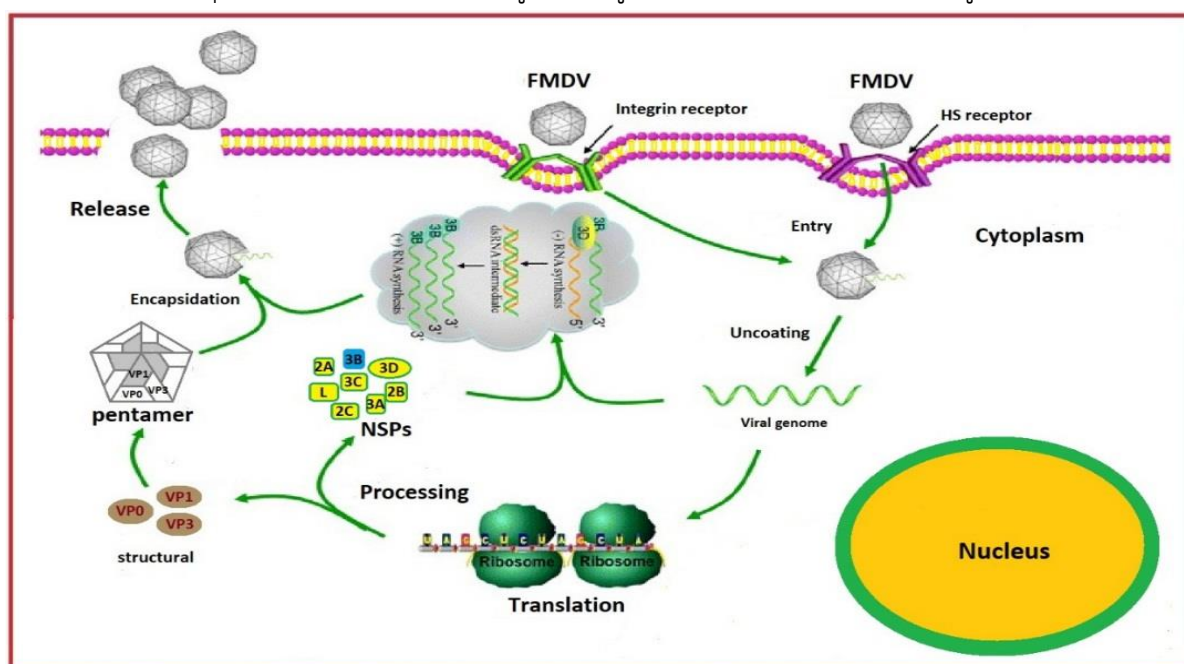
ดังนั้นจึงได้มีการจัดกลุ่ม Topotype โดยกำหนดให้มีการจำแนกแยกตามภูมิศาสตร์ประกอบกับการพิจารณาข้อมูลทางพันธุกรรมตามเอกลักษณ์ของนิวคลีโอไทด์ที่มีค่าความใกล้เคียงกัน โดยค่าที่มากกว่า 85% สำหรับซีโรไทป์ O, A, C และ Asia 1 ซึ่งค่าที่มากกว่า 80% สำหรับซีโรไทป์ SAT1, SAT2 และ SAT3 จากการวิเคราะห์ข้อมูลจาก VP1 (Gelagay *et al.*, 2009)

สำหรับโครงสร้างของ VP2 และ VP3 มีลักษณะเป็นสายเกลียวพันทบกันสองและสามรอบตามลำดับ ซึ่งส่วนต่อขยายของปลายกรดอะมิโนของโปรตีนในส่วน VP1, VP2, และ VP3 นั้น จะมีการก่อดัวกันเป็นโครงสร้างเครือข่ายที่ค่อนข้างซับซ้อนบนผิวด้านนอกของแคปซิด

สำหรับโครงสร้างของ VP4 เป็นส่วนประกอบที่พบด้านในของแคปซิด โดยมีหมู่ myristyl เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแบบโควาเลนต์ให้ติดอยู่กับหัว N-terminal โดยโปรตีน myristylated ของ VP4 ที่อยู่พื้นผิวด้านในของแคปซิดอาจจะสัมผัสกับ RNA ได้ (Longjam and Tajo, 2011)

วงจรชีวิตของ FMDV ในเซลล์

FMDV เมื่อเข้าสู่ host cell มีเป้าหมายเพื่อการยึดติดกับตัวเซลล์และทำลาย โดยอนุภาคไวรัสจะเข้ามายึดเกาะบนพื้นผิวเซลล์โดยอาศัยส่วน receptor binding site ของอนุภาคไวรัสในการทำหน้าที่สำรวจหาจุดยึดเกาะ ซึ่งเป็นตำแหน่ง Receptor ที่มีความจำเพาะ (integrin) เพื่อให้อนุภาคไวรัสสามารถเกาะจับกับเซลล์เป้าหมายได้ เมื่อไวรัสยึดเกาะกับผิวเซลล์เป้าหมายแล้วจะทำการเหนี่ยวนำให้เกิดกลไก receptor mediated endocytosis ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ยุบตัวลงจนมีลักษณะคล้ายถุง (endosome) และทำให้ไวรัสสามารถหลุดเข้าไปภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ โดยภายใน endosome มีสภาพเป็นกรดส่งผลทำให้เปลือกหุ้มไวรัสสลายตัว และส่วนปลาย hydrophobic ของ VP1 สามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้ม endosome เพื่อเปิดทางให้สายพันธุกรรม (genomic RNA) ได้ถูกปล่อยสู่ไซโตพลาสซึมของเซลล์ต่อไป (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 วงจรชีวิตของ FMDV ในเซลล์โฮสต์

ที่มา: Gao *et al.* (2016)

การแพร่กระจายของการติดเชื้อ FMDV

การแพร่กระจายเชื้อ FMDV สามารถติดต่อได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม สำหรับทางตรงสามารถแพร่ได้จากสารคัดหลั่งและสิ่งขับถ่ายที่มีเชื้อ รวมทั้งน้ำอสุจิและน้ำนม สำหรับทางอ้อมแพร่กระจายโดยอาศัยพาหะที่สามารถนำเชื้อโรคได้ เช่น คน ม้า สุนัข แมว นก อุปกรณ์ภายในฟาร์มยานพาหนะ เป็นต้น สำหรับตัวอย่างใน

กรณีของสัตว์ป่าพบว่าในปี 1989 มีรายงานการเกิดโรค FMD ในช้างที่เลี้ยงในสวนสัตว์แห่งหนึ่งของจังหวัด นครปฐม ซึ่งในครั้งนั้นการตรวจสอบพบว่าช้างมีการติดเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ O (จิต และประทีป, 2536)

สำหรับช่องทางการแพร่เชื้อ FMDV ได้แก่ ทางหายใจ ทางกิน ทางบาดแผลที่ผิวหนังหรือเยื่อเมือก และยังสามารถแพร่ทางอากาศหรือน้ำได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้เทคนิคการผสมเทียมก็เป็นอีกช่องทางหนึ่งที่มีความเสี่ยงในการแพร่เชื้อไวรัสได้เช่นเดียวกัน รวมถึงอาหารสัตว์ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ FMDV ที่นำเข้ามาภายในฟาร์ม เป็นต้น

ในปี 1981 จากการศึกษาข้อมูลการแพร่กระจายของเชื้อ FMDV ในสุกรพบว่าสามารถแพร่เชื้อไวรัสได้มากกว่าโคถึง 3,000 เท่า โดยในโคที่อ่อนแอจะได้รับเชื้อจากการแพร่มากับละอองลอยในอากาศ ซึ่งเชื้อ FMDV สามารถลอยไปตามกระแสลมได้ไกลถึง 250 กิโลเมตร จากเมือง Brittany ประเทศฝรั่งเศสไปยังเมือง Isle of Wight สหราชอาณาจักร ส่งผลกระทบอย่างร้ายแรงต่อปศุสัตว์ในพื้นที่ดังกล่าวเกิดการสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจอย่างมากจากการแพร่กระจายเชื้อผ่านมากับกระแสลม แต่อย่างไรก็ตามโดยปกติการแพร่กระจายทางกระแสลมจะไปได้ไม่เกิน 10 กิโลเมตร

การแพร่เชื้อ FMDV ของสัตว์ที่ติดเชื้อที่สำคัญอีกประการ คือ การขนย้ายผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ปนเปื้อน และการแพร่กระจายโดยนำพาไปกับสิ่งของหรือวัตถุที่ไม่มีชีวิต เช่น อุปกรณ์ที่ใช้ภายในฟาร์ม เสื้อผ้า เป็นต้น สำหรับพาหะที่มาจากมนุษย์ถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถทำหน้าที่เป็นพาหะเชิงกลของ เชื้อ FMDV โดยจะนำพาเชื้อไวรัสติดไปบนเสื้อผ้าหรือผิวหนังโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มจำนวนใน vector ดังกล่าว

ตารางที่ 1 แนวทางการแพร่ของเชื้อ FMDV ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ

	การ ขั บ เชื้อ FMDV		การปนเปื้อนของเชื้อ FMDV		ช่องทางการติดต่อ
สัตว์ที่ไวต่อ การเกิด การติดเชื้อ	การหายใจ	➡	อากาศ	➡	การสัมผัสโดยตรงทางอากาศผ่านระบบทางเดินหายใจ
	การขั บ สั ง คั ด ห ลั ง แล ะ ก าร ขั บ ถ่ ย	➡	คนยานพาหนะ , อุปกรณ์, อาหาร, เส้นทางการสัญจร, อื่น ๆ	➡	การสัมผัสโดยตรงและการสัมผัสโดยอ้อมกับละอองลอยทุติยภูมิ (เชื้อที่อยู่ในละอองหรือการแขวนลอย) หรือผ่านการถลอก/การกิน
	ผลิตภัณฑ์สัตว์	➡	น้ำนม, เนื้, ซากสัตว์	➡	การสัมผัสโดยอ้อมทางอากาศผ่านระบบทางเดินหายใจทุติยภูมิ

ที่มา: Paton et al. (2018)

ระยะการฟกตัวของโรค

ระยะฟกตัวของ FMD ประมาณ 2-8 วัน โดยจะมีความแปรผันและขึ้นอยู่กับตัวสัตว์ สภาพแวดล้อม ช่องทางการติดต่อ การสัมผัสเชื้อ ปริมาณของเชื้อไวรัสและสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส โดยระยะเวลาหลังจากการติดเชื้อ FMDV โดยเฉลี่ยดังรายละเอียด ตารางที่ 3 จากการรวบรวมข้อมูลเพิ่มเติมพบว่าสายพันธุ์ของเชื้อไวรัส รวมถึงความไวในการติดเชื้อของสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ดังมีรายละเอียด ดังนี้

- ในโคและกระบือจะอยู่ในช่วงระหว่าง 2-14 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อที่ได้รับ
- ในสุกร พบว่าระยะฟกตัวของโรคโดยทั่วไปอยู่ที่ 2 วัน หรือมากกว่าอาจนานถึง 14 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ ยกเว้นซีโรไทป์ O Cathay ที่พบการระบาดในไต้หวัน ปี ค.ศ.1997 สามารถสังเกตอาการของโรคได้ภายใน 18 ชั่วโมงและสุกรที่มีการสัมผัสเชื้อโดยตรงในปริมาณมากๆ อาจพบระยะฟกตัวของโรค สั้นเพียง 24 ชั่วโมง

- สำหรับในแพะและแกะระยะฟกตัวโดยทั่วไปอยู่ในช่วงระหว่าง 3-8 วัน แต่อาจสั้นเพียง 24 ชั่วโมง และอาจยาวนานถึง 12 วัน ขึ้นอยู่กับความไวในการติดเชื้อของสัตว์แต่ละตัว อย่างไรก็ตามปริมาณของเชื้อที่ได้รับและช่องทางในการติดต่อมีความสำคัญต่อระยะฟกตัวและการแสดงอาการทางคลินิกของสัตว์ (Kitching and Hughes, 2002; Kitching and Alexandersen, 2002)

ตารางที่ 2 ระยะฟกตัวโดยประมาณของ FMD ในสัตว์แต่ละประเภท

ชนิดสัตว์	ระยะฟกตัว	หมายเหตุ
แกะ แพะ	1-12 วัน	การติดเชื้อมากที่สุดในช่วง 2-8 วัน
สุกร	1-3 วัน หรืออาจนานถึง 14 วันในบางซีโรไทป์	สายพันธุ์สุกรที่โฮสต์ปรับตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเชื้อที่สัมผัส
โคเลี้ยง	24 ชม. ถึง 7 วัน แต่โดยปกติ 3-6 วัน และสูงสุด 11-14 วัน	
หมูป่า	4 วัน	
กวางเอลก์	2-3 วัน	
อูฐแบคเทเรียน	2-14 วัน	
กระบือ	ตั้งแต่วันที่ 2 นานถึง 21 วัน	ติดเชื้อจากการสัมผัสโดยตรง

ที่มา: Alexanderson *et al.* (2003); Fiebre Aftosa (2014)

ในกรณีสุกรที่มีความเสี่ยงจากการสัมผัสทางกายภาพกับสิ่งขับถ่ายหรือสารคัดหลั่งที่มีเชื้อ FMDV จากของเหลวภายในตุ่มหรือเยื่อตุ่มที่มีเชื้อ FMDV ในปริมาณที่ค่อนข้างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มสัตว์ที่มีบาดแผลบริเวณผิวหนัง ซึ่งส่วนมากมักจะมีสาเหตุมาจากการเลียสุกรบนพื้นคอนกรีตหรือภายใต้สภาวะที่สัมผัสเสี่ยงต่อความรุนแรงเนื่องจากการต่อสู้กันเองของสัตว์ เป็นต้น

ในกรณีของโคที่พบมักเกิดจากการกินอาหารที่ปนเปื้อนของวัสดุคัมหรือมีหนามแหลมทำให้เกิดบาดแผลภายในเนื้อเยื่อของปาก นอกจากนี้ในกรณีโคนมพบว่าเกิดจากเครื่องรีดนมบริเวณจุกนมเกิดความเสียหาย

สำหรับในแกะที่เป็นโรค FMD พบการแพร่เชื้อในรูปแบบทางอ้อมซึ่งทำให้ยากต่อการระบุปริมาณเชื้อได้

สำหรับในประเทศที่มีมาตรการการห้ามการเคลื่อนย้ายอย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเผชิญกับการระบาดของโรค FMD การสัมผัสไวรัสจากสัตว์ที่ติดเชื้ออาจเกิดขึ้นทางอ้อม เช่น ผ่านตัวบุคคล ยานพาหนะ สภาพแวดล้อมในฟาร์มและอุปกรณ์ทุกประเภทที่ปนเปื้อน กิจกรรมต่างๆ เช่น การตัดขน ถ่ายพยาธิหรือการตรวจทางคลินิกและการเก็บตัวอย่างเลือด ที่เพิ่มความเสี่ยงของการแพร่กระจายทางอ้อมของไวรัสและการเข้าสู่ผิวหนังชั้นนอกที่ได้รับบาดเจ็บได้ (Alexandersen and Donaldson, 2002; Alexandersen *et al.*, 2002a)

นอกจากนี้ในการศึกษาในกระบือป่าแอฟริกัน (*Syncerus caffer*) ที่เป็นโรค FMD อาจเป็นสาเหตุต้นกำเนิดที่สำคัญของการเป็นแหล่งกักเก็บเชื้อ ซึ่งจากการศึกษาสามารถเก็บตัวอย่างสายพันธุ์แอฟริกาตอนใต้ของเชื้อ FMDV ได้ 3 สายพันธุ์ (SAT 1-3) แม้ว่าประชากรกระบือป่าแอฟริกันจะมีปริมาณค่อนข้างน้อยและมักดำรงชีวิตอยู่เดี่ยวๆ ก็ตาม (Casey *et al.*, 2014) จากข้อมูลดังกล่าวเป็นแนวทางในการพิจารณาถึงช่องทางการติดต่อของเชื้อและปัจจัยด้านอื่นๆที่เกี่ยวข้องต่อไป

2. การติดต่อทางอากาศ

การแพร่ทางอากาศเป็นการติดต่อของเชื้อ FMDV ทางระบบทางเดินหายใจช่องทางหนึ่งที่สำคัญ แต่ยังไม่ทราบกลไกการปล่อยไวรัสที่ชัดเจน ซึ่งการติดต่อทางเดินหายใจของสัตว์ที่สัมผัสกับไวรัสมีปัจจัยที่สำคัญ ได้แก่

- ระยะห่างระหว่างสัตว์ผู้รับกับแหล่งที่มาของไวรัสในอากาศ
- ขนาดของละอองหยดขนาดใหญ่ประกอบกับผลจากแรงโน้มถ่วง กรณีอนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 6 มม. มักจะไม่ได้รับผลกระทบจากแรงโน้มถ่วงมากนัก จึงทำให้สามารถแพร่กระจายไปได้ในระยะทางที่ค่อนข้างไกลภายใต้สภาพภูมิอากาศที่แน่นอน (Gloster *et al.*, 1982)
- ความแปรปรวนในอากาศมีแนวโน้มที่จะส่งผลให้เชื้อตกลงอย่างรวดเร็วในอากาศนี้ พบว่าอัตราการร่วงหล่นของละอองหยดที่ค่อนข้างสูง เนื่องจากละอองหยดมักจะลอยหยุดนิ่งนานขึ้น
- สำหรับกรณีการส่งผ่านละอองหยดในระยะที่สั้นอาจพบว่าสามารถเปลี่ยนไปเป็นการส่งผ่านทางอากาศในระยะไกลได้ โดยอาศัยปัจจัยสำคัญของการแพร่ทางอากาศ ได้แก่ แหล่งที่มาของการติดเชื้อ เช่น สุกร เนื่องจากเป็นโฮสต์ที่สามารถขับปล่อยไวรัสในอากาศได้ในปริมาณมากที่สุดในบรรดาสายพันธุ์สัตว์เลี้ยง

(Sellers and Parker, 1969; Donaldson *et al.*, 1970; Donaldson and Ferris, 1980; Alexandersen and Donaldson, 2002; Alexandersen *et al.*, 2002a)

จากประเด็นเกี่ยวกับสาเหตุของการสัมผัสเชื้อโดยการแพร่กระจายทางอากาศในระยะไกล อาจเป็นไปได้ว่ามีแนวโน้มจะเกิดขึ้นเฉพาะในสถานการณ์การติดเชื้อที่มากับเสื้อผ้าของบุคคลทั้งในแง่ชีวภาพและกายภาพ แต่อาจพบได้น้อยและจำเป็นต้องมีองค์ประกอบด้านอื่นควบคู่ด้วย เช่น ความพร้อมของสภาพภูมิอากาศและภูมิประเทศที่เฉพาะเจาะจง นอกจากนี้ยังต้องมีความชื้นสัมพัทธ์ที่ 55% ขึ้นไป ร่วมกับสภาพอากาศที่มีความแปรปรวน การพาความร้อน และสภาพความเร็วลมที่ค่อนข้างคงที่อย่างต่อเนื่อง รวมทั้งสภาวะปกคลุมของเมฆและลักษณะภูมิประเทศที่จำเพาะเจาะจง จึงจะสามารถทำให้มีการแพร่กระจายทางอากาศได้ไกล (Donaldson *et al.*, 2001; Alexandersen and Donaldson, 2002; Donaldson and Alexandersen, 2002)

รูปแบบส่วนใหญ่ของการแพร่กระจายของ FMD ทางอากาศจากสุกรสู่โคและแกะตามสภาพการผันแปรของอากาศนั้น พบว่าโคจะติดเชื้อได้ง่ายกว่าแกะโดยทางอากาศเนื่องจากมีขนาดตัวที่ใหญ่กว่า ทำให้โคสามารถสูดอากาศเข้าไปได้มากกว่าในช่วงเวลาที่เท่ากัน นอกจากนี้เชื้อ FMDV ที่แยกได้จะมีปริมาณที่แตกต่างกันมากตามระยะห่างที่อาจเกิดการแพร่กระจายในอากาศได้ ตัวอย่าง เช่น เชื้อ FMDV ซีโรไทป์ O/UK 2001 แพร่กระจายทางอากาศไปไกลไม่เกินกว่า 20 กิโลเมตร แม้ว่าสุกรที่ติดเชื้อจำนวนมากจะเป็นแหล่งที่มาที่มากตาม (Donaldson *et al.*, 2001; Alexandersen and Donaldson, 2002; Donaldson and Alexandersen, 2002) แต่ในกรณีของเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ C/Noville พบว่าสามารถแพร่กระจายไปได้ไกลถึง 300 กิโลเมตรทางอากาศ (Gloster *et al.*, 1981, 1982; Donaldson *et al.*, 1982 b; Sorensen *et al.*, 2000, 2001) ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวมีความสำคัญทางระบาดวิทยาในการวิเคราะห์หาแนวทางการควบคุมและป้องกันโรคที่สัมพันธ์กับสภาพความแปรปรวนของอากาศ

สำหรับกรณีสุกรที่มีการติดเชื้อที่สัมพันธ์กับละอองลอยขนาดที่แตกต่างกัน ได้แก่ ละอองลอยอนุภาคขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก ที่มีการขับออกมาเป็นหยดละอองลอยและนิวเคลียสของหยดละอองลอยในลมหายใจนั้น พบว่า

- 35-70% ของการติดเชื้อ FMDV สัมพันธ์กับละอองลอยอนุภาคขนาดใหญ่ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร)
- 20-40% ของการติดเชื้อ FMDV สัมพันธ์กับละอองลอยอนุภาคขนาดกลาง (เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-6 มิลลิเมตร)
- 10-25% ของการติดเชื้อ FMDV สัมพันธ์กับละอองลอยอนุภาคขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร)

สำหรับการับเชื้อ FMDV ของสัตว์เคี้ยวเอื้องพบว่าปริมาณไวรัสในลมหายใจน้อยกว่าสุกร ซึ่งบ่งชี้ว่าในสุกรมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อทางเดินหายใจมากกว่า ดังนั้นจากการศึกษาทางห้องปฏิบัติการในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่เกิดจากการติดเชื้อโดยสัมผัสกับอากาศ จึงพบว่ามีปริมาณไวรัสที่ทำให้เซลล์เพาะเลี้ยงครึ่งหนึ่งเกิดติดเชื้อเป็น 10^1 TCID₅₀ แต่ในขณะที่สุกรพบว่าตรวจพบปริมาณไวรัสที่ทำให้เซลล์เพาะเลี้ยงครึ่งหนึ่งเกิดติดเชื้อ

มากกว่าถึง 10^3 TCID₅₀ นอกจากนี้ในสุกรที่ติดเชื้อจำเป็นจะต้องให้ปริมาณที่มีความเข้มข้นสูงอย่างสม่ำเสมอด้วยจึงจะสามารถติดเชื้อได้ (Donaldson *et al.*, 1970; Donaldson and Ferris, 1980; Donaldson, 1986; Gibson and Donaldson, 1986; Donaldson *et al.*, 1987; Donaldson and Alexandersen, 2001; Alexandersen and Donaldson, 2002; Alexandersen *et al.*, 2002a)

การศึกษาเกี่ยวกับเรื่องสัดส่วนของการหายใจที่รับเอาเชื้อโรคเข้าไปตามขนาดอนุภาคที่สัมพันธ์กับตำแหน่งของระบบทางเดินหายใจที่สะสมโดยพิจารณาจากเส้นผ่านศูนย์กลางและมวลของอนุภาคเป็นหลักมีรายละเอียด ดังนี้

- อนุภาคขนาดใหญ่จะสะสมอยู่ในทางเดินหายใจส่วนบน
- อนุภาคขนาดกลางพบในส่วนของระบบทางเดินหายใจส่วนกลางถึงส่วนบน (คอหอย หลอดลม หลอดลม)
- อนุภาคขนาดเล็กพบบริเวณส่วนล่างซึ่งอยู่ที่หลอดลมและถุงลมขนาดเล็ก (Hatch and Gross, 1964; Sellers and Parker, 1969; Donaldson *et al.*, 1970, 1987; Donaldson and Ferris, 1980; Alexandersen, unpublished)

สำหรับกลไกการติดเชื้อของอนุภาคที่มีเชื้อ FMDV ในปริมาณสูงมักจะพบการสะสมอยู่บริเวณระบบทางเดินหายใจส่วนบนและส่วนกลางถึงส่วนบน และเมื่อมีอนุภาคไวรัสเข้ามาตกลงบริเวณทางเดินหายใจส่วนบนมักจะถูกขับให้ถอยหลังไปทางคอหอยตามการเลื่อนไหลของเยื่อเมือก โดยในทำนองเดียวกันสำหรับอนุภาคขนาดเล็กที่ตกลงบริเวณหลอดลมจะถูกพาขึ้นไปทางคอหอย ซึ่งการสะสมและความเข้มข้นของไวรัสในช่องคอจึงพิจารณาด้วยขนาดของอนุภาค โดยพบว่าหลังจากเชื้อ FMDV ในช่องคอจะแพร่กระจายผ่านระบบน้ำเหลืองไปสู่การไหลเวียนทั่วไปในสัตว์ที่มีการติดเชื้อโดยการสัมผัสกับละอองลอยที่มีขนาดอนุภาคขนาดเล็ก (3 มม.) ส่วนมากพบการติดเชื้อเริ่มแรกที่ผนังของระบบทางเดินหายใจส่วนล่างแล้วจึงแพร่กระจายไปสู่การระบบหมุนเวียนของปอดและการหมุนเวียนโดยทั่วไปภายในร่างกาย ซึ่งคาดว่าเป็นรูปแบบหนึ่งที่จะทำให้เกิดการติดเชื้อในลักษณะการกระจายไปยังพื้นที่ที่ห่างไกลได้ (Donaldson *et al.*, 1987)

3. การติดต่อทางการกิน

จากรายงานการแพร่เชื้อทางการกิน ได้แก่ การระบาดของ FMD ที่ทวีปแอฟริกาใต้ในปี 2000 และสหราชอาณาจักรปี 2001 ซึ่งพบว่ามีสาเหตุมาจากการให้อาหารขยะที่ไม่ผ่านความร้อนแก่สุกร และในปี 2000 พบการระบาดในประเทศญี่ปุ่นเนื่องจากการให้อาหารสัตว์ที่ปนเปื้อน (Knowles *et al.*, 2001) จากสาเหตุดังกล่าวเป็นต้นกำเนิดของการแพร่ระบาดของโรค FMD ในประเทศที่ปลอดจากโรค FMD ซึ่งปกติมักจะระบุสาเหตุได้ค่อนข้างยากแต่อย่างไรก็ตามการระบาดล่าสุด พบว่ามีความเชื่อมโยงกับการเข้ามาของไวรัสที่มีการปนเปื้อนในวัสดุต่างๆ ซึ่งถ่ายทอดผ่านส่งต่อมายังสัตว์เลี้ยงอีกที

อย่างไรก็ยังมี การตั้งข้อสังเกตว่าสัตว์เหล่านี้ไม่ค่อยไวต่อการติดเชื้อจากการทดลองทางการกินเท่าที่ควร โดยกรณีศึกษาในสุกรพบว่าต้องให้เชื้อประมาณ $10^4 - 10^5$ TCID₅₀ และสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องพบว่าต้องให้เชื้อประมาณ $10^5 - 10^6$ TCID₅₀ จึงจะสามารถทำให้เกิดแพร่เชื้อได้ (Sellers, 1971) แต่อย่างไรก็ตาม

ปริมาณเชื้อเหล่านี้ก็ยังคงสูงกว่าปริมาณที่ต้องใช้ในการแพร่เชื้อทางอากาศและสำหรับสัตว์ที่มีรอยถลอกของเยื่อผิวภายในและรอบๆ ปากอาจได้รับการติดเชื้อในปริมาณที่น้อยกว่า (Donaldson, 1987)

4. การให้วัคซีนทางจมูก/การพ่นจมูก

การศึกษาเกี่ยวกับการติดเชื้อทางอากาศ ซึ่งช่องทางนี้น่าจะเป็นในส่วนของคอหอย โดยพบว่าหลังจากการหยอดยาทางจมูกจะพบว่ามีปริมาณยาเพียงเล็กน้อยเท่านั้นที่จะเดินทางไปถึงคอหอย เนื่องจากส่วนใหญ่จะถูกกลืนเข้าไปหรือจะออกทางเดินหายใจส่วนต้น จากศึกษายังไม่ทราบถึงความไวของสุกรต่อการหยอดจมูก แต่ความต้านทานที่สูงของสุกรต่อการติดเชื้อในอากาศทำให้พบการติดเชื้อที่ค่อนข้างต่ำ สำหรับการศึกษานี้ในโคและแกะตั้งแต่เริ่มการติดเชื้อโดยการให้เชื้อด้วยวิธีการหยอดจมูกมากกว่าการให้ในรูปแบบละอองลอย คือประมาณ $10^4 - 10^5$ TCID₅₀ (McVicar และ Suttmoller, 1976)

สำหรับสุกรค่อนข้างมีความไวต่อการติดเชื้อ FMDV โดยทางช่องปาก จึงเป็นไปได้ที่ไวรัสจะมีการฝังตัวอยู่ภายในจมูกที่มาจากการติดเชื้อทางปากได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีรอยถลอกในช่องปากอยู่ก่อนแล้ว และมีการตั้งสมมติฐานเกี่ยวกับตำแหน่งเฉพาะที่ปอดว่าเป็นส่วนที่สำคัญในการนำเข้าสู่และขยายจำนวนของไวรัส (Eskildsen, 1969; Suttmoller และ McVicar, 1976; Brown *et al.*, 1996) ซึ่งการติดเชื้อที่เป็นไปได้อาจเริ่มต้นจากการที่ละอองลอยไวรัสที่สะสมอยู่ในปอดหรือภายหลังการนำไวรัสเข้าสู่หลอดลมหรือหลอดลมฝอยโดยตรง แต่จากการศึกษาการนำไวรัสเข้าสู่ระบบการไหลเวียนโดยตรง พบว่าไม่มีการขยายจำนวนหลังจากเริ่มการติดเชื้อที่ตำแหน่งเป้าหมาย เมื่อพิจารณาโรคในปอดพบว่าข้อมูลทางจุลพยาธิวิทยาไม่สอดคล้องเกี่ยวข้องกับโรค FMD ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าวจึงไม่พบข้อบ่งชี้ถึงการขยายจำนวนของเชื้อ FMDV ของสุกรที่ติดเชื้อโดยทางอากาศที่ปอดอย่างมีนัยสำคัญ (โดยละอองลอยตามธรรมชาติจากสุกรที่ติดเชื้อหรือโดยการสัมผัสโดยตรงกับสุกรที่ติดเชื้อ) (Alexandersen *et al.*, 2001) ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาในโคที่ติดเชื้อจากเข็มฉีดยาวัคซีนไม่พบข้อบ่งชี้จากการจำลองแบบของไวรัสในปอด และจากการศึกษาอื่นๆ ไม่พบหลักฐานที่สนับสนุนว่าปอดเป็นบริเวณที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อและการแพร่กระจายเชื้อในระยะเริ่มแรกเช่นเดียวกัน (Burrows *et al.*, 1981)

นอกจากนี้ในระยะเฉียบพลันของโรค FMD จากการตรวจสอบพบว่าสามารถพบเชื้อ FMDV ได้ในอวัยวะแทบทุกส่วนรวมถึงปอดด้วย ซึ่งเป็นผลมาจากปริมาณไวรัสในเลือดมีระดับที่สูง ด้วยเหตุนี้ในการพิจารณาเกี่ยวกับการจำลองแบบของเชื้อ FMDV ที่อวัยวะต่างๆ มีความเป็นไปได้ว่าจะพบความเข้มข้นของไวรัสหรือ RNA ของไวรัสสูงกว่าที่พบในตัวอย่างเลือดในช่วงเวลาเดียวกัน จากการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับรายละเอียดของปริมาณเชื้อ FMDV ขั้นต่ำในแต่ละชนิดสัตว์และช่องทางการติดเชื้อ โดยการพิจารณาจากค่า TCID₅₀ โดยรายละเอียดที่ได้มีการรวบรวมมาแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 รายละเอียดของปริมาณเชื้อ FMDV ขั้นต่ำในแต่ละชนิดสัตว์และช่องทางการติดเชื้อ (TCID₅₀)

ชนิดสัตว์	ทางการหายใจ	ทางผิวหนัง	เข้ากล้ามเนื้อ	การหยอดจมูก	ทางปาก
โค	10	100	10 ⁴	10 ⁴ -10 ⁵	10 ⁵ -10 ⁶
แกะ	10	100	10 ⁴	10 ⁴ -10 ⁵	10 ⁵ -10 ⁶
สุกร	800	100	10 ⁴	Unknown	10 ⁴ -10 ⁵

ที่มา: Alexandersen *et al.* (2003)

5. การฉีดทางหลอดเลือด (เข้าผิวหนัง ฉีดเข้าเส้นเลือดดำ และเข้ากล้ามเนื้อ)

ในการศึกษาทดลองเกี่ยวกับการติดเชื้อที่มีสาเหตุจากการใช้อุปกรณ์ที่ปนเปื้อนเชื้อ เช่น การฉีดสารสกัดต่อมได้สมองที่ปนเปื้อนเชื้อ FMDV และการให้วัคซีน FMD ที่มีไวรัสที่ยังมีชีวิตอยู่อันเป็นผลมาจากการใช้สารยับยั้งเชื้อจากกระบวนการผลิตวัคซีนที่ไม่เหมาะสม (Beck และ Strohmaier, 1987) โดยจากรายงานที่ผ่านมาพบว่าปริมาณขั้นต่ำที่สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อเป็นสาเหตุของโรคทางคลินิกและยังถือว่าเป็นค่าประมาณจากการทดลองต่างๆ ซึ่งการฉีดเข้าทางหลอดเลือดจะพิจารณาจากค่า TCID₅₀ ซึ่งข้อมูลที่น่าสังเกตสำหรับการฉีดวัคซีนเข้าผิวหนังและกล้ามเนื้อในปริมาณที่ต่ำกว่า 5 ถึง 10 เท่าอาจเป็นไปได้ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อได้แต่ไม่มีรายละเอียดการรายงานที่ชัดเจนในระบบการทดสอบที่ใช้ (Sellers, 1971)

อาการของโรคปากและเท้าเปื่อย

อาการของโรคปากและเท้าเปื่อย พบว่าหลังจากสัตว์ได้รับเชื้อเข้าร่างกายจะมีการกระจายของเชื้อไวรัสไปทั่วร่างกายผ่านทางกระแสเลือด

ในระยะแรก หลังจากได้รับเชื้อ FMDV ประมาณ 2 - 8 วัน ซึ่งในช่วงนี้สัตว์แสดงอาการป่วยและมีไข้สูง ซึม เบื่ออาหาร หลังจากนั้นเชื้อไวรัสจะไปแพร่กระจายไปที่บริเวณเยื่อของปาก เหงือก จมูก หูนม และไทรกีบ ทำให้มีตุ่มน้ำเกิดขึ้นตามอวัยวะดังกล่าว โดยพบเม็ดตุ่มใสที่เยื่อภายในช่องปาก ลิ้น เหงือก จากนั้นตุ่มใสจะแตกและเนื้อเยื่อจะหลุดลอก ส่งผลให้สัตว์เจ็บปาก กินอาหารลำบากจนกระทั่งกินอาหารไม่ได้

ในระยะที่สอง เชื้อจะเข้าสู่กระแสโลหิตและแพร่กระจายไปทั่วร่างกาย ผิวหนังที่บริเวณเท้าจะบวมแต่มิมีน้ำเหลืองขังอยู่ภายในแล้วแตกออกเป็นแผล มักพบบริเวณไทรกีบหรือซอกกีบ ซึ่งอาจเปื่อย ลอกคราบ อาจทำให้สัตว์มีอาการเจ็บที่บริเวณเท้าไม่สามารถเดินได้ตามปกติได้ ซึ่งสภาวะการเพิ่มจำนวนไวรัสในเนื้อเยื่อบริเวณกีบนั่น ทำให้หยุดการสร้างเนื้อกีบในระยะที่มีการอักเสบ พบการบิดของผนังกีบและก่อให้เกิดการแยกของรอยต่อที่ผนังและพื้นกีบของโคหลังจากเกิดการติดโรค FMD ได้

อาการแสดงทางคลินิก

อาการหลักของโรคจะพบได้ในสัตว์กีบคู่ โดยจะพบอาการตุ่มใสที่ปากและเท้า ซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญของสัตว์ที่เป็นโรค FMD หลังจากได้รับเชื้อไวรัสไปแล้วประมาณ 2-8 วัน จะเป็นระยะฟักตัวของโรค สัตว์จะมีอาการ ไข้ ซึม เบื่ออาหาร เกิดเม็ดตุ่มใสที่เยื่อภายในช่องปาก ลิ้น เหงือก เต้านม กีบ หลังจากนั้นประมาณ

2-3 วัน ตุ่มจะแตกและเกิดการหลุดลอกของเนื้อเยื่อ ส่งผลให้สัตว์มีอาการเจ็บบริเวณปาก ไม่กินอาหาร น้ำลายไหลยืดเป็นฟอง

ผลกระทบที่พบได้แก่ กรณีในโคนมจะหยุดให้นมในที่สุด ส่วนในสัตว์ที่ท้องอาจทำให้เกิดการแท้งและมีปัญหาการผสมไม่ติด สำหรับในโคเนื้อและสุกรจะทำให้ น้ำหนักลด ส่งผลกระทบต่อการเลี้ยงและการเจริญเติบโต หากพบแผลที่เต้านมก็ทำให้รีดนมไม่ได้ อัตราการให้นมจะลดลง สำหรับอาการที่พบบริเวณเท้า มักจะพบรอยโรคบริเวณไรกีบหรือซอกกีบ ในรายที่เป็นมากๆ อาจพบอาการกีบหลุดได้ (House, 1999) โรคนี้พบอัตราการป่วยค่อนข้างสูง แต่อัตราการตายค่อนข้างต่ำ มักพบการตายในลูกสัตว์ซึ่งเกิดจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตาย แต่อย่างไรก็ตามอาการดังกล่าวขึ้นอยู่กับระดับภูมิคุ้มกันของสัตว์แต่ละตัวและชนิดของสัตว์ ดังรายละเอียดแยกตามชนิดสัตว์ ต่อไปนี้ คือ

อาการในโค

ในโคที่ไม่มีภูมิคุ้มกันหรือไม่ได้รับการฉีดวัคซีนจะมีอาการแสดงออกอย่างชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศที่ไม่มีการระบาดของโรคหรือที่มีการระบาดของโรคเป็นบางครั้ง แต่สำหรับโคที่มีภูมิคุ้มกันหรือได้รับการฉีดวัคซีน โดยเฉพาะประเทศที่มีการระบาดของโรคอยู่เป็นประจำ (endemic) มักไม่แสดงอาการหรือมีอาการไม่ชัดเจน อาจทำให้เกิดการหมุนเวียนของโรค เป็นสาเหตุที่ทำให้ยากแก่การดำเนินการเฝ้าระวังโรคใด (Kitching, 2002)

โคที่มีการติดเชื้อเฉียบพลันมักจะมีอาการน้ำลายไหล โคมักจะแสดงอาการเลียริมฝีปาก มีน้ำมูกเหนียวข้นจนกระทั่งเป็นหนองโดยเกิดหลังจากพบตุ่มน้ำใสที่ลิ้น เพดานปาก เหงือก ริมฝีปาก ซึ่งตุ่มใสที่ปากจะแตกภายใน 24 ชั่วโมง และทิ้งร่องรอยของการหลุดลอกไว้ นอกจากนี้จะพบตุ่มน้ำบริเวณรอยต่อของกีบและรองกีบเท้าจะคงอยู่ได้นาน 2-3 วันก่อนที่จะแตกออกหรืออาจแสดงอาการป่วย 5 วัน และอาจพบตุ่มใสที่หัวนมของแม่โคที่ให้นม ถ้าตุ่มใสดังกล่าวแตกออกและอาจเสี่ยงต่อการเกิดเต้านมอักเสบตามมาได้ ส่วนใหญ่โคมักมักมีอาการไข้ อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 39.5-41 องศาเซลเซียส สามารถตรวจพบได้ก่อนที่จะแสดงอาการตุ่มใสและอาจแสดงอาการไขวานาน 3-4 วัน ดังนั้นการแสดงอาการดังกล่าวทำให้โคมีอาการเบื่ออาหาร น้ำนมลดลง และอาจพบอาการรุนแรงที่สังเกตได้ คือ ลิ้นบวมและยื่นลิ้นออกมานอกปาก คล้ายการหายใจหอบ

สำหรับลูกโคที่ได้รับเชื้ออาจตายก่อนพบตุ่มใสเนื่องมาจากเชื้อ FMDV จะเข้าไปทำลายเซลล์ของกล้ามเนื้อหัวใจทำให้เกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ (myocarditis) และตายในที่สุดจากภาวะ myocardial necrosis เมื่อทำการผ่าซากเพื่อชันสูตรจะพบว่า มีลักษณะรอยโรคที่ผนังหัวใจเป็นสีขาวซีด ซึ่งเรียกลักษณะนี้ว่า “tiger heart” (Musser, 2004) อย่างไรก็ตามขึ้นอยู่กับความรุนแรงซีโรไทป์และสายพันธุ์ของไวรัสด้วย

อาการในสุกร

ในสุกรที่โตเต็มวัยและสุกรขุนจะแสดงอาการป่วย แต่จะพบอัตราการตายที่สูงในกลุ่มลูกสุกร โดยการเกิดตุ่มใสมักจะเกิดที่บริเวณรอยต่อระหว่างกีบ สันเท้า จมูก บริเวณขากรรไกรกลางและลิ้น ซึ่งตุ่มใสบริเวณรอยต่อระหว่างกีบเป็นบริเวณที่พบได้บ่อยกว่าตำแหน่งอื่นๆ สำหรับตุ่มใสที่ลิ้นส่วนใหญ่จะพบที่ตำแหน่งโคนลิ้น ส่วนตุ่มใสขนาดเล็กที่พบบริเวณปลายลิ้นมักจะลอกหลุดได้ง่าย นอกจากนี้ในแม่สุกรที่ให้นมมักพบตุ่มใสที่เต้านมด้วย โดยรอยโรคจากสุกรแสดงอาการ 2 วันและจะลอกหลุดไปหลัง 4 วัน ซึ่งสุกรที่ป่วยอาจมีอาการไข

สูงถึง 42 องศาเซลเซียส อาจไม่แน่นอน กรณีสุกรที่มีอาการของโรครุนแรงอาจมีอุณหภูมิต่ำกว่าช่วงปกติ แต่อาการของสุกรส่วนใหญ่จะซึมและเบื่ออาหารเป็นหลัก (Kitching and Alexandersen, 2002)

อาการในแพะและแกะ

ในกรณีอาการที่พบในแพะและแกะโตเต็มวัยส่วนใหญ่จะแสดงอาการเพียงเล็กน้อยหรืออาจไม่ปรากฏอาการแสดงทางคลินิกใดๆ เลย แต่ในลูกสัตว์พบว่าเชื้อ FMDV เป็นสาเหตุของการตายสูง โดยพบว่ามีอาการตุ่มใสที่บริเวณรองกีบ ส้นเท้าและรอยต่อระหว่างกีบของแพะและแกะ ซึ่งจะแตกและหายไปอย่างรวดเร็วโดยเฉลี่ยน้อยกว่า 3 วัน หรืออาจไม่สามารถสังเกตได้ หรืออาจแสดงรวมกับการเกิด foot rot ได้

โดยปกติอาการขาเจ็บที่พบในแพะและแกะเป็นอาการเริ่มแรกที่บ่งบอกว่าสัตว์เป็น FMD โดยมีตุ่มใสที่อาจพบได้บริเวณปาก เหงือกที่ติดกับฟัน ลิ้น เพดานปากและริมฝีปาก นอกจากนี้อาจพบตุ่มใสที่หัวนมซึ่งจะส่งผลทำให้ได้ผลผลิตน้ำนมลดลง และการพบตุ่มใสที่บริเวณอวัยวะเพศเมีย (vulva) และถุงหุ้มอวัยวะเพศผู้ได้เช่นกัน (Kitching and Hughes, 2002)

อาการในคน

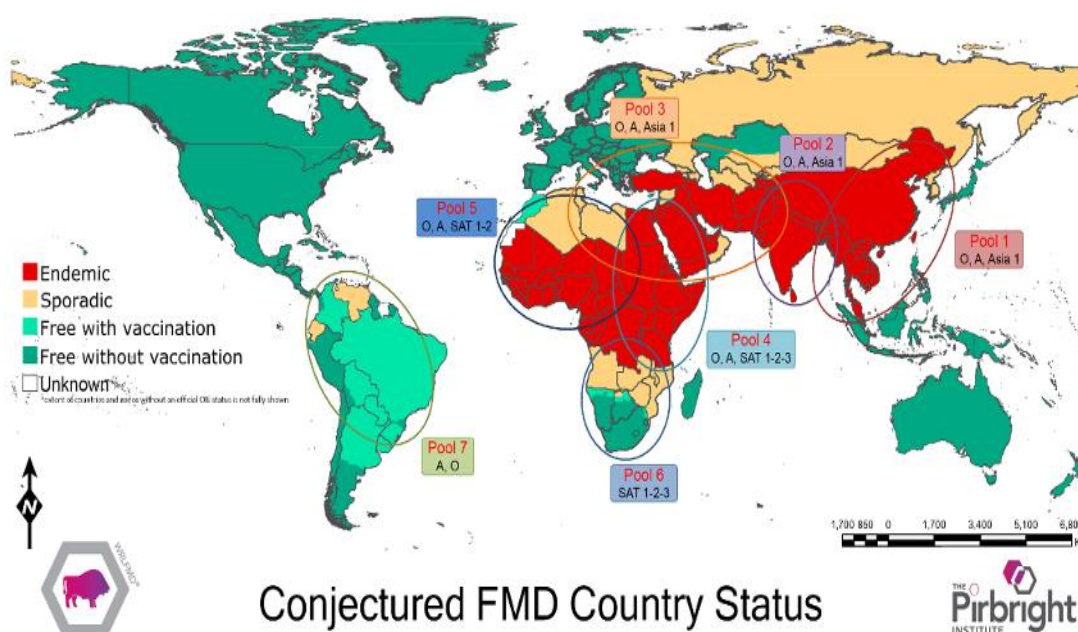
สำหรับ FMD ถือว่าเป็นโรคติดต่อระหว่างสัตว์ ซึ่งกรณีของคนพบว่าไม่ได้มีความสำคัญเนื่องจากเกิดขึ้นได้ยากและอาการแสดงไม่รุนแรง ถึงแม้ว่า FMD จะไม่ถือเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขในคน แต่ก็ยังมีรายงานยืนยันจากห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับผู้ที่ทำงานในห้องปฏิบัติการวัคซีน FMD ที่ตรวจพบว่ามีระดับแอนติบอดีต่อไวรัส โดยระหว่างปี 1969-1971 มีรายงานอาการเจ็บป่วยทางคลินิกที่พบในคน คือมีอาการเป็นตุ่มน้ำใสที่ปากและเท้า ร่วมกับอาการคล้ายไข้หวัดใหญ่ แต่พบช่วงอาการที่สั้นและไม่รุนแรง (Donaldson, 1994) นอกจากนี้ยังมีรายงานในคนเมื่อ ปี ค.ศ. 1966 ที่สหราชอาณาจักรเกี่ยวกับการจำแนกซีโรไทป์ที่แยกได้ในคนพบว่า เป็นซีโรไทป์ O รองลงมา คือ ซีโรไทป์ C ซึ่งมีระยะฟักตัวของโรคในคนอยู่ในช่วง 2-6 วัน (Prempeh *et al.*, 2001)

ดังนั้นอาการที่แสดงในคนที่สำคัญ คือ อาการตุ่มพองที่มีที่มือ เท้าและในปาก รวมทั้งที่ลิ้น ซึ่งตุ่มพองดังกล่าวจะแห้งภายใน 2-3 วันและลอกหลุดไปพร้อมกับอาการไข้สูงประมาณ 39.5 องศาเซลเซียส ปวดศีรษะ เจ็บคอและอาจมีตุ่มพองชุดที่ 2 เกิดขึ้นใหม่และอยู่ได้นานถึง 5 วันด้วย (Bauer, 1997)

บทที่ 2

สถานการณ์การระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย

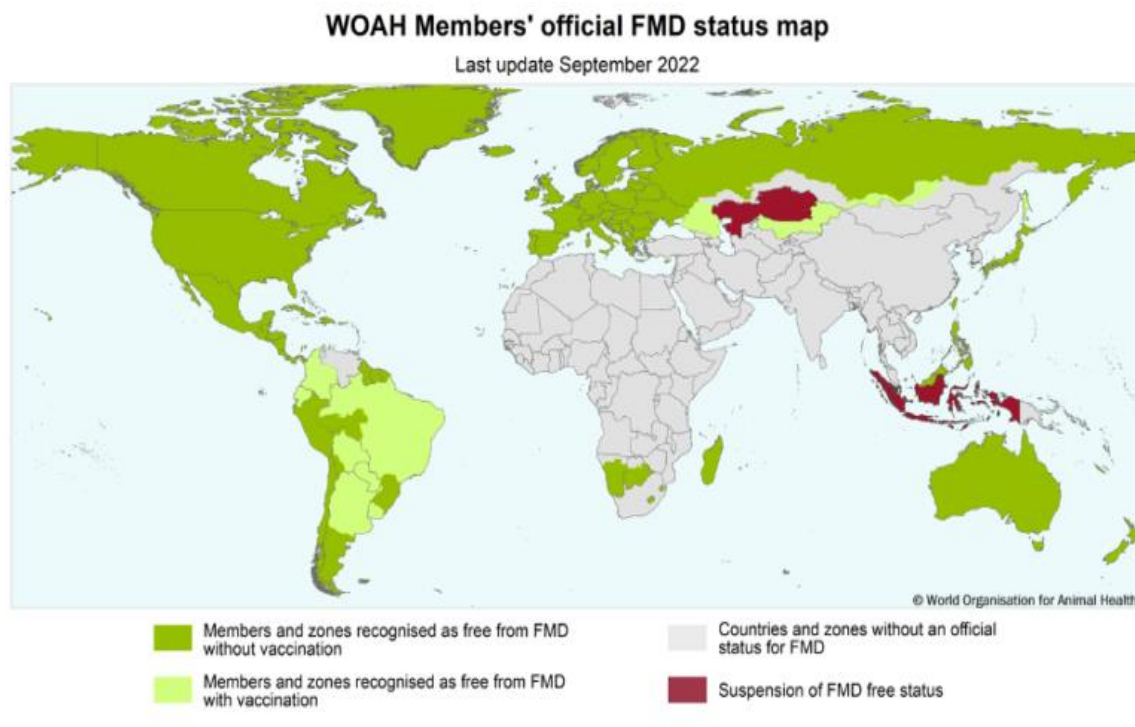
โรค FMD เป็นโรคระบาดประจำถิ่นในบางประเทศ ซึ่งมาตรการป้องกันที่สำคัญอันหนึ่ง คือ การป้องกันข้ามระหว่างซีโรไทป์ ดังนั้นสัตว์ที่ติดเชื้อหรือฉีดวัคซีนด้วยซีโรไทป์หนึ่งก็ยังคงมีความเสี่ยงสูงต่อการติดเชื้อจากซีโรไทป์อื่นๆได้ เนื่องจากความหลากหลายของเชื้อ FMDV แม้จะอยู่ในซีโรไทป์เดียว โดยสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนด้วยไวรัสสายพันธุ์หนึ่งอาจไม่สามารถป้องกันจากการติดเชื้อไวรัสอีกสายพันธุ์หนึ่งภายในซีโรไทป์เดียวกันได้ ดังนั้นหากจะเลือกใช้วัคซีนจึงจำเป็นต้องทำการทดสอบการจับคู่วัคซีน (vaccine matching) เทียบกับสายพันธุ์ไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในพื้นที่ ดังนั้นแต่ละซีโรไทป์ต้องใช้วัคซีนเฉพาะเพื่อสร้างภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์ โดยพื้นที่ที่พบการระบาดของเชื้อ FMDV มักจะเป็นซีโรไทป์ที่มีความแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาค เช่น ทวีปยุโรปบางส่วนพบเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ O และ A, ทวีปเอเชียพบซีโรไทป์ O, A และ Asia1, ทวีปแอฟริกาพบซีโรไทป์ O, A, SAT1, SAT2 และ SAT3 เป็นต้น (WOAH, 2022) (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 แสดงพื้นที่ที่มีรายงานการพบโรคปากและเท้าเปื่อย

ที่มา: OIE/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease (2015)

จากข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบร้ายแรงเนื่องจากการแพร่ระบาดของโรค FMD ในภูมิภาคต่างๆ ทั่วโลก ทำให้มีการกำหนดขอบเขตของกลุ่มภูมิภาค (Pool) ตามพื้นที่การระบาด แต่ยังไม่ได้ระบุอย่างจำเพาะเจาะจง เป็นเพียงการระบุตามลักษณะการเกิดระบาดของโรค FMD ในแต่ละภูมิภาคแบบไดนามิก (รูปที่ 9 และตารางที่ 4) นอกจากนี้ยังมีการกำหนดกลุ่มพื้นที่ในภูมิภาคที่ปลอดจากโรค FMD และพื้นที่ในภูมิภาคที่ยังพบการระบาดของโรค FMD ดังแสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 8 แสดงประเทศสมาชิก WOAH ที่ได้รับการรับรองอย่างเป็นทางการว่าปลอดจากโรค FMD
ที่มา: WOAH (2022)

ตารางที่ 4 แสดงการแพร่กระจายของโรคปากและเท้าเปื่อยประจำถิ่น 7 กลุ่มที่พบทั่วโลก

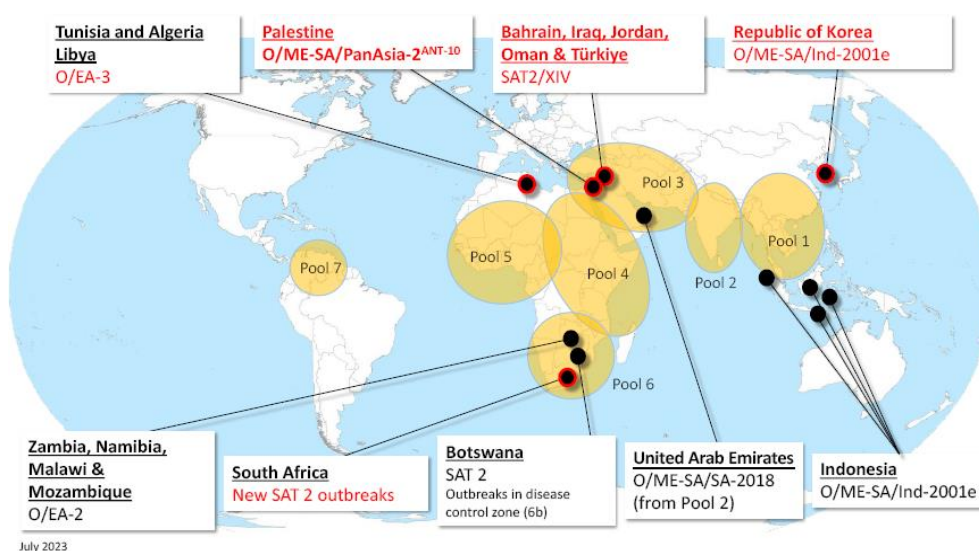
Pool	ซีโรไทป์
1: East Asia	O, A, Asia1
2: South Asia	O, A, Asia1
3: West Eurasia	O, A, Asia1
4: East Africa	O, A, SAT1, SAT2, SAT3
5: West Africa	O, A, SAT1, SAT2
6: Southern Africa	SAT1, SAT2, SAT3
7: South America	O, A

ที่มา: OIE/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease (2023)



รูปที่ 9 การแพร่กระจายของโรคปากและเท้าเปื่อยประจำถิ่น 7 กลุ่มที่พบทั่วโลกของซีโรไทป์เชื้อ FMDV
ที่มา: OIE/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease (2023)

จากการแพร่กระจายและวิวัฒนาการของเชื้อ FMDV ในแต่ละภูมิภาคที่แตกต่างกัน ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับการจัดการด้านวัคซีนที่แตกต่างเช่นเดียวกัน เพื่อให้เหมาะสมกับการระบาดในแต่ละภูมิภาคของโลก นอกจากนี้เชื้อไวรัสยังมีการแพร่กระจายอย่างต่อเนื่องระหว่าง Pool รวมทั้งมีความเสี่ยงที่อาจแพร่กระจายไปยังภูมิภาคที่ปลอดโรคและประเทศที่มีเขตพื้นที่เชื่อมต่อกันระหว่าง Pool (เช่น ในแอฟริกาเหนือและเอเชียกลาง) อย่างไรก็ตามยังพบว่ามักจะประสบปัญหาการระบาดของโรค FMD จากแหล่งที่มาของภูมิภาคอื่นๆที่แตกต่างกัน เช่น ในภูมิภาคแอฟริกาปัจจุบันมีกลุ่มไวรัส FMD จำนวน 3 กลุ่มคร่าวๆ คือ แอฟริกาตะวันออก (Pool 4) แอฟริกาตะวันตก (Pool 5) และแอฟริกาตอนใต้ (Pool 6) แต่พบว่ามี การทับซ้อนกันระหว่าง Pool 4 และ 5 โดยได้มีการมีการแนะนำให้ขยายพื้นที่ภายใน Pool 4 ไปทางทิศใต้เพื่อรวมประเทศแทนซาเนียและทำข้อตกลงในการกำหนด Pool 6 เพื่อแยกประเทศอื่นๆ ออกมา เป็นต้น (รูปที่ 10)



รูปที่ 10 แสดงรายงานการพบการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย (รายงาน ณ เดือนกรกฎาคม 2566)
ที่มา: FAO (2023)

การแพร่กระจายของไวรัส FMD

เชื้อ FMDV มีจำนวน 7 ซีโรไทป์ที่แตกต่างกัน (A, O, C, Asia 1, SAT1, SAT2 และ SAT3) โดยแต่ละซีโรไทป์มีหลายสายพันธุ์และมีการพัฒนาตัวเองอย่างต่อเนื่อง จากข้อมูลพบว่าซีโรไทป์ O มีการแพร่กระจายเป็นบริเวณกว้างและเกิดขึ้นบ่อยที่สุดในโลก แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่าซีโรไทป์ A มีการแพร่กระจายในแต่ละภูมิภาคเป็นบริเวณกว้างในหลายภูมิภาคเช่นเดียวกัน (Belsham GJ, 2020) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ FMDV มีความหลากหลายอย่างมีนัยสำคัญภายในซีโรไทป์เดียวกันเอง โดยในแต่ละซีโรไทป์จะมีการจำแนกออกเป็น topotype ที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และความสัมพันธ์กับการกระจายทางภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกัน เช่น กรณีเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ SAT และ Asia 1 ที่มีลักษณะการเกิดแบบจำกัดทางภูมิศาสตร์อย่างชัดเจน (ตามชื่อที่ระบุ) อย่างไรก็ตามพบการแพร่กระจายของโรค FMD ได้มีการแพร่ออกไปจากพื้นที่ปกติที่มักจะพบการระบาดได้ เช่น กรณีการรายงานการพบเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ Asia 1 ที่ประเทศกรีซและการรายงานการพบเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ SAT 2 ที่ประเทศอียิปต์ เป็นต้น

ทวีปยุโรปและอเมริกา

ในช่วงทศวรรษปี 1950 และ 1960 พบการระบาดของโรค FMD จำนวนมากในทวีปยุโรป โดยประเทศภายในภูมิภาคพยายามพัฒนาระบบการบริการด้านสัตวแพทย์ ปรับปรุงการจัดการและมีการใช้วัคซีนที่ครอบคลุม (ในบางประเทศ) ทำให้สถานการณ์ดีขึ้นเป็นอย่างมาก

ในช่วงทศวรรษ 1970 จำนวนการระบาดของโรค FMD ในทวีปยุโรปลดจำนวนลงมาก ด้วยเหตุนี้ในช่วงต้นทศวรรษ 1990 สหภาพยุโรป (EU) จึงได้มีมาตรการห้ามการฉีดวัคซีนป้องกันโรค FMD แต่อนุญาตให้ฉีดวัคซีนฉุกเฉินได้เมื่อเผชิญกับการระบาด ผลลัพธ์หนึ่งของมาตรการดังกล่าวทำให้ประชากรปศุสัตว์ในยุโรปมีความเสี่ยงต่อโรคสูงขึ้น อย่างไรก็ตามมาตรการดังกล่าวก็เป็นประโยชน์ในแง่การเพิ่มโอกาสทางการค้าปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์เป็นอย่างมาก

โดยในปี 2001 พบสถานการณ์ระบาดครั้งใหญ่ในสหราชอาณาจักรเนื่องจากไม่มีมาตรการการให้วัคซีนเพื่อควบคุมการระบาดของโรค จากผลกระทบที่เกิดขึ้นพบการแพร่กระจายไปยัง 4 ประเทศในทวีปยุโรป ส่งผลกระทบให้สหราชอาณาจักรต้องสูญเสียมูลค่าทางด้านเศรษฐกิจถึงประมาณถึง 1 พันล้านปอนด์ โดยในปีเดียวกันประเทศเนเธอร์แลนด์ก็เป็นหนึ่งในประเทศที่ประสบปัญหาการระบาดของโรค FMD ซึ่งประเทศเนเธอร์แลนด์ยังคงนำการฉีดวัคซีนมาใช้เป็นมาตรการควบคุมเพื่อจำกัดการแพร่กระจายของโรค และหลังจากนั้นสัตว์ที่ได้รับวัคซีนทั้งหมดจะถูกทำลายต่อมา ซึ่งจากการแพร่กระจายของเชื้อ FMDV จากสหราชอาณาจักรส่งผลให้ต้องทำลายปศุสัตว์ถึงประมาณ 200,000 ตัว (Sangare *et al.*, 2001 ; Samuel and Knowles, 2001; Pluimers, *et al.*, 2002) และจากการระบาดส่งผลกระทบต่อสถานประกอบการปศุสัตว์ประมาณ 2,000 แห่ง นำไปสู่การทำลายสัตว์มากกว่า 6 ล้านตัว และกินระยะเวลาประมาณ 8 เดือน โดยพบว่ายังมีการแพร่กระจายจากสหราชอาณาจักรไปยังประเทศไอร์แลนด์ ฝรั่งเศส และเนเธอร์แลนด์ด้วย

สำหรับข้อมูลในทวีปอเมริกาจากข้อมูลที่ผ่านมาของสถานการณ์โรค FMD พบว่าในอเมริกาใต้ได้มีการมาตรการการควบคุมป้องกันที่ดีขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้ไม่มีรายงานอาการของโรคทางคลินิกระหว่างการระบาดของโรคในปี 2013 ในเวเนซุเอลาและปี 2017 ในโคลัมเบีย แต่ยังคงมีมาตรการฉีดวัคซีนให้ครอบคลุม

ในหลายประเทศของภูมิภาคอเมริกาใต้ ซึ่งคาดว่าจะสามารถขัดขวางการไหลเวียนของเชื้อ FMDV ในภูมิภาคได้อย่างเป็นรูปธรรม

ทวีปเอเชียและภูมิภาคอื่นๆ

จากการรวบรวมข้อมูลการแพร่กระจายของโรค FMD ในภูมิภาคทวีปเอเชียที่ผ่านมา พบว่าการแสดงลักษณะการเกิดโรคเป็นแบบประจำถิ่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (South East Asia; SEA) พบว่าซีโรไทป์ที่ระบาด ได้แก่ ซีโรไทป์ O และ A แต่สำหรับซีโรไทป์ Asia 1 นั้นไม่พบการระบาดตั้งแต่ปี 1999 (Blacksell *et al.*, 2019) โดยในภูมิภาค SEA ประชากรปศุสัตว์ส่วนใหญ่เป็นโค กระบือ สุกร และพบรายงานการระบาดของประเทศในภูมิภาค ได้แก่ กัมพูชา สปป. ลาว มาเลเซีย เมียนมาร์ ไทย เวียดนาม สำหรับในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศมองโกเลีย ฮองกง และจีน สำหรับประเทศเกาหลีใต้มีรายงานการระบาดของโรค FMD ในปี 2010 โดยตั้งแต่นั้นมาก็ประสบกับปัญหาการระบาดของโรคเรื่อยมา

การระบาดของโรค FMD ในภูมิภาค SEA และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบมากถึง 60% โดยสาเหตุที่พบมากที่สุดมาจากซีโรไทป์ O ซึ่ง topotype หลักที่พบ คือ Cathay และ SEA ส่วนอีกหนึ่ง topotype จากภูมิภาคตะวันออกเฉียงใต้ คือ ME-SA (สายพันธุ์ PanAsia) ซึ่งทำให้เกิดการระบาดอย่างมากในประเทศญี่ปุ่น เกาหลีใต้ จีน ไต้หวัน และรัสเซียในช่วงระหว่างปี 2000-2002 โดยพบว่ายังคงมีการหมุนเวียนของเชื้อในภูมิภาค SEA นอกจากนี้ยังมีข้อมูลการแพร่กระจายของสายพันธุ์ Pan-Asia จากทวีปเอเชียไปยังทวีปแอฟริกาใต้ในปี 2000 อีกด้วย และพบว่าในปี 1997 พบการระบาดของโรค FMD ในประเทศไต้หวันส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจด้านปศุสัตว์ ทำให้ไม่สามารถส่งออกผลิตภัณฑ์สัตว์ไปยังประเทศญี่ปุ่นและเกาหลีได้ ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจโดยประมาณ 4 พันล้านเหรียญสหรัฐ (Perry and Randolph, 2003)

ในช่วงปี 2000 มีรายงานการระบาดของโรค FMD ในประเทศญี่ปุ่นระหว่างวันที่ 25 มีนาคม-11 พฤษภาคม 2000 ที่จังหวัดมิยาซากิและจังหวัดฮอกไกโด โดยทางประเทศญี่ปุ่นได้ดำเนินการควบคุมและกำจัดโรคอย่างรวดเร็ว จนกลับสู่สถานะประเทศปลอดโรค FMD โดยไม่ใช้วัคซีนอีกครั้งในเดือนกันยายน 2000 ซึ่งการเกิดโรค FMD ครั้งนั้น ส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการผลิตเนื้อโค พบว่ามูลค่าความเสียหายสูงถึง 5 แสนล้านเยนหรือ 4.8 พันล้านเหรียญสหรัฐ ซึ่งในสถานการณ์ปกติแล้วประเทศญี่ปุ่นจะสามารถส่งออกเนื้อโคปีละ 500 ตัน แต่เมื่อเกิดการระบาดส่งผลให้มีการระงับการส่งออกและยังส่งผลเสียต่อเนื่องไปยังการผลิตเนื้อโคเนื่องจากปัญหาการทำลายโคพ่อแม่พันธุ์เป็นจำนวนมาก รวมทั้งในช่วงเวลานั้นการทำลายสัตว์ที่ติดเชื้อเป็นไปอย่างล่าช้าจึงทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรค FMD เป็นไปอย่างรวดเร็วและต่อเนื่องต่อมาในเดือนเมษายนปี 2010 มีรายงานการเกิดโรค FMD ในจังหวัดมิยาซากิขึ้นอีก ซึ่งการระบาดในครั้งนั้นได้มีมาตรการดำเนินการทำลายโคในฟาร์มต้นเหตุและควบคุมการเคลื่อนย้ายสัตว์ในรัศมี 10 กิโลเมตร รวมถึงการออกใบรับรองสำหรับการส่งออกโค สุกรและผลิตภัณฑ์ทางปศุสัตว์ ตั้งแต่เดือนเมษายน 2010 จนถึงเดือน พฤษภาคม 2010 ซึ่งคาดว่าจะมีสัตว์ที่ถูกทำลายสูงถึง 300,000 ตัว (ที่มา: สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2010)

จากการศึกษาการเกิดโรค FMD ในโคและกระบือของประเทศอินเดีย ส่งผลกระทบโดยทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจในด้านผลผลิตน้ำนมร้อยละ 49.83 ถัดลงมาเป็นการสูญเสียโอกาสทางเศรษฐกิจคิดเป็นร้อยละ 16.15 และสามารถคำนวณกลับเป็นความสูญเสียที่เกิดขึ้นกับโคนม 1 ตัว คือ 12,532 รูปี คิดเป็นเงิน 6,057 บาท (Singh *et al.*, 2013)

ในปี 2014 มีการศึกษาผลการเกิดโรค FMD ในเมือง KARS ประเทศตุรกี โดยการสัมภาษณ์ฟาร์มโคนม 82 ฟาร์มที่มีการติดโรค FMD พบว่ามีโคนมป่วยและแสดงอาการคิดเป็นร้อยละ 29.37 และในฟาร์มที่ติดเชื้อมีต้นทุนการรักษาโคนมเพิ่มขึ้น และมีการเก็บข้อมูลเพิ่มเติมในโคนมที่กำลังให้ผลผลิตและติดเชื้อโรค FMD พบว่ามีผลผลิตลดลงเฉลี่ยร้อยละ 35.28 ในระยะเวลา 60 วัน (Pinar Demir *et al.*, 2017) ในทวีปแอฟริกามีการศึกษาในประเทศเคนยาพบว่าแมโคติดเชื้อและแสดงอาการโรค FMD จะให้ผลผลิตน้ำนมดิบลดลงร้อยละ 15 ในวงจรการให้นมนี้ (Nicholas A. Lyons *et al.*, 2015)

ในปี 2015 พบว่ามีรายงานการเกิดโรค FMD หลากหลายซีโรไทป์กระจายในแต่ละภูมิภาค เช่น พบซีโรไทป์ O ในประเทศปากีสถาน เกาหลีใต้ มองโกเลีย แอลจีเรีย โมร็อกโก และอิสราเอล, พบซีโรไทป์ A ในประเทศอิหร่าน ตุรกี ซาอุดีอาระเบีย และจีน, พบซีโรไทป์ SAT1 และ SAT 2 ในประเทศบอตสวานา, พบซีโรไทป์ SAT2 ในประเทศนามิเบีย, พบซีโรไทป์ SAT3 ในทวีปแอฟริกาใต้, พบซีโรไทป์ Asia1 ในประเทศปากีสถาน เป็นต้น

ในปี 2016 มีรายงานการตรวจพบเชื้อ FMDV ในประเทศเกาหลีใต้ มาลาวี และประเทศอาร์มีเนีย แต่ไม่มีรายงานการจำแนกซีโรไทป์ และไม่มีรายงานการเกิดโรค FMD ในประเทศภูมิภาคอเมริกาเหนือ อเมริกากลาง ออสเตรเลีย และบางประเทศในแถบสแกนดิเนเวีย (FAO, 2016)

ในปี 2022 มีรายงานการระบาดของโรค FMD ที่ประเทศอินโดนีเซีย จากข้อมูลที่ผ่านมาประเทศอินโดนีเซียถือว่าเป็นประเทศที่ปลอดโรคปากและเท้าเปื่อยมากกว่า 30 ปี จนกระทั่งมีรายงานการแพร่ระบาดของโรค FMD ซึ่งการระบาดในครั้งนั้นส่งผลกระทบอย่างมากต่อการเฉลิมฉลองเทศกาล “อีดีลอัฎฮา” (Eid al-Adha) ของชาวมุสลิม โดยในเทศกาลดังกล่าวชาวมุสลิมจะไปซื้อสัตว์จากโรงฆ่าสัตว์เพื่อนำไปฆ่าเชือดและแจกจ่ายเนื้อให้กับคนยากจน หรือเรียกว่า “ฟิธิรฺบาน” โดยทางการประเทศอินโดนีเซียประกาศจะจัดหาวัคซีนป้องกันโรค FMD จำนวน 28.7 ล้านโดส ภายในสิ้นปี 2022 และจำกัดการขนส่งปศุสัตว์ระหว่างภูมิภาค เนื่องจากการติดเชื้อโรค FMD ได้แพร่กระจายอย่างรวดเร็วใน 19 จังหวัด จากจำนวน 34 จังหวัดของประเทศ พบจำนวนปศุสัตว์ที่ติดเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก 20,000 ตัวในเดือนพฤษภาคม เป็นกว่า 232,000 ตัวภายในระยะเวลาไม่กี่สัปดาห์

สำหรับประเทศในภูมิภาค SEA ที่ยังคงสถานะการปลอดจากโรค FMD โดยไม่ฉีดวัคซีน ได้แก่ สิงคโปร์ และบรูไน ซึ่งรวมถึงประเทศฟิลิปปินส์ที่ไม่มีการรายงานการระบาดของโรคมาตั้งแต่ปี 2005 จนกระทั่งได้รับการประกาศให้ปลอด FMD โดยไม่ฉีดวัคซีนจากการรับรองของ WOAH ในปี 2011 เช่นเดียวกับประเทศที่ปลอดโรค FMD อื่นๆ เช่น ประเทศญี่ปุ่น เป็นต้น

ดังนั้นจากข้อมูลทางระบาดวิทยาของการเกิดโรค FMD ในพื้นที่อย่างต่อเนื่องและความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อที่แยกได้ ส่งผลต่อการพิจารณาการคัดเลือกวัคซีนให้เหมาะสมเนื่องจากวัคซีนที่ใช้อยู่ไม่สามารถให้ความคุ้มโรค FMD ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการศึกษาการจับคู่ของวัคซีน (vaccine matching) เพื่อหาความสัมพันธ์และระบุลักษณะทางแอนติเจนร่วมกับการศึกษาคุณลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสที่แพร่ระบาดอย่างต่อเนื่อง จึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งต่อการควบคุมและป้องกันโรค FMD (Bari *et al.*, 2015)

● ข้อมูลซีโรไทป์และ Topotype ในพื้นที่ระบาด

สำหรับซีโรไทป์ O ของกลุ่ม topotype SEA ที่โดดเด่น คือ O/SEA/Mya-98 โดยส่วนใหญ่จะพบเฉพาะในประเทศ SEA จนกระทั่งในระหว่างปี 2010-2011 พบว่าสายพันธุ์นี้เกิดแพร่ระบาดครั้งใหญ่ไปยังประเทศปลอดโรค FMD ได้แก่ ญี่ปุ่นและเกาหลีใต้ ส่งผลให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจสูง โดยได้มีการใช้วัคซีน O1/Manisa เพื่อควบคุมโรค จากการรายงานโรคตั้งแต่ปี 2014 เป็นต้นมาของประเทศเกาหลีใต้ยังคงไม่สามารถป้องกันอาการทางคลินิกได้อย่างเต็มรูปแบบ แม้ว่าจะมีการณรงค์ให้ฉีดวัคซีนภาคบังคับแล้วก็ตาม ทำให้เกิดคำถามเกี่ยวกับประสิทธิผลของการฉีดวัคซีนในสุกรและความเป็นไปได้หลายประการ จึงเป็นที่มาของการศึกษา Vaccine matching เพื่อพิจารณาหาสาเหตุที่ส่งผลต่อการควบคุมและป้องกันโรค FMD โดยการฉีดวัคซีนนั้นๆ โดยการศึกษาดังกล่าวของหน่วยงาน World Reference Laboratory (WRL) เมือง Pirbright สหราชอาณาจักร จากตัวอย่างไวรัสที่ระบาดในประเทศเกาหลีใต้ ช่วงปี 2010 และ 2011 ผลการศึกษาพบว่า มีเพียง 60% ของเชื้อที่ระบาดให้ผล good matching กับวัคซีน O1/Manisa ในการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ (<http://www.wrlfmd.org/>) จึงเป็นการยืนยันความสำคัญของการศึกษาความสัมพันธ์ทางแอนติเจนด้วยวิธีการทดสอบ Vaccine matching เพื่อคัดเลือก Seed vaccine ที่เหมาะสมต่อไป

สำหรับซีโรไทป์ O ของกลุ่ม topotype ME-SA สายพันธุ์ O-Ind-2001d ที่มีต้นกำเนิดจากอนุทวีปอินเดีย พบว่ามีการแพร่กระจายไปยังพื้นที่ใหม่และทำให้เกิดการระบาด โดยในช่วงแรกของการระบาดของไวรัส O-Ind-2001d พบเฉพาะในอนุทวีปอินเดีย แต่ต่อมาได้มีการตรวจพบเชื้อไวรัสกลุ่มนี้ในภูมิภาคตะวันออกกลางและแอฟริกาเหนือในปี 2013 โดยในปี 2015 มีการตรวจพบเชื้อไวรัส O-Ind-2001d ใน สปป. ลาว และต่อมาได้แพร่กระจายไปยังประเทศในภูมิภาคและประเทศเพื่อนบ้านอื่น ๆ เช่น เวียดนาม เมียนมาร์ ไทย และเกาหลีใต้ ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากการเชื่อมโยงทางการค้ากับอนุทวีปอินเดีย หรืออาจเกิดจากการเคลื่อนย้ายของสัตว์ระหว่างประเทศในภูมิภาค SEA นอกจากนี้ในปี 2016-2017 ยังตรวจพบสายพันธุ์ดังกล่าวในรัสเซียและจีน (Mahapatra *et al.*, 2017)

● ชนิดสัตว์ที่ได้รับผลกระทบจากโรคปากและเท้าเปื่อย

FMD เป็นโรคไวรัสที่ติดต่อกันง่ายในสัตว์กบฏ เช่น โค สุกร แกะ แพะ และสัตว์ป่าอีกประมาณ 70 สายพันธุ์ ในกรณี โค กระบือ แพะและแกะ หลังติดเชื้อมีระยะเฉียบพลัน พบว่ามีสัดส่วนที่สูงในโคถึงประมาณ 50% และอาจพบการติดเชื้อมาอย่างต่อเนื่องโดยมีเชื้อไวรัสในระดับที่ต่ำอยู่บริเวณคอหอยซึ่งสัตว์

เหล่านี้ เรียกว่า "พาหะ" ซึ่งหมายถึง “การคงสภาพของไวรัสในสัตว์ไว้นานกว่า 28 วันหลังการติดเชื้อ” สำหรับสายพันธุ์ของสัตว์ประเภทต่างๆ ที่สามารถเป็นพาหะของไวรัส FMD ได้นานหลายเดือน เช่น แกะ หรือกรณีหลายปี เช่น โคและกระบือ เป็นต้น จากข้อมูลทางระบาดวิทยาเกี่ยวกับสถานะพาหะยังคงมีการหาข้อพิสูจน์แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานการแพร่เชื้อจากกระบือหรือโคโดยการสัมผัสจากการถ่ายของเหลวในช่องปากโดยตรง ซึ่งเชื้อ FMDV ที่มีการสะสมบริเวณคอหอยของโคที่เป็นพาหะจะสามารถแพร่ไปยังโคที่ไร้ภูมิคุ้มกัน ส่งผลให้เกิดการติดเชื้อได้ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าโคสามารถเป็นพาหะที่มีความเสี่ยงอย่างแท้จริงในการแพร่เชื้อไวรัส แม้ว่าความเสี่ยงนั้นจะค่อนข้างต่ำก็ตาม (Jackson *et al.*, 2021)

โคนม

การแสดงอาการของโรค FMD ในโคนมที่มีการติดเชื้อบริเวณหัวนมส่งผลให้ไม่สามารถรีดนมได้เนื่องจากโคไม่ยอมให้รีดนมและเพิ่มความเสี่ยงต่อภาวะเต้านมอักเสบได้อีกด้วย และการติดเชื้อที่บริเวณไรก็บยังส่งผลต่อการเดินและการยืนทำให้สัตว์กินได้น้อยลง ซึ่งกระทบโดยตรงต่อสุขภาพองค์รวมของโคนม ทั้งนี้ด้วยมาตรการควบคุมโรคตามพระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ทำให้เกษตรกรไม่สามารถส่งนมหรือขายน้ำนมดิบให้กับสหกรณ์หรือศูนย์รวมนมได้ จึงเป็นปัญหาหลักที่ทำให้ฟาร์มโคนมสูญเสียรายได้จากการส่งน้ำนมดิบ รวมถึงสุขภาพโคนมที่แย่งทำให้อัตราการให้นมลดลงและจะหยุดให้นมในที่สุด จากข้อมูลการศึกษาในฟาร์มโคนมขนาดเล็กพบว่า ค่าเฉลี่ยรายได้สุทธิ 3 เดือนหลังการระบาดของโรคลดลงถึงร้อยละ 28.46 เมื่อเทียบกับช่วงเดือนเดียวในปีที่ไม่มีการระบาดของโรค หากมองในภาพรวมของทั้งประเทศ พบว่าเป็นผลกระทบที่รุนแรงต่อการส่งออกโคมีชีวิต ผลิตภัณฑ์เนื้อโคและน้ำนมดิบด้วย

จากตัวอย่างการระบาดของโรค FMD ในช่วงปี 2007-2011 ในขณะที่ยังมีข้อมูลการระบาดของโรค FMD ในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน พบว่าสัตว์ที่เกิดการระบาดบ่อยครั้งที่สุดคือโคเนื้อคิดเป็น 41.46% รองลงมาได้แก่ โคนมคิดเป็น 34.15% ในขณะที่สุกรมีรายงานการเกิดโรคคิดเป็น 12.20% โดยซีโรไทป์ที่ระบาดบ่อยครั้งที่สุดคือ ซีโรไทป์ O คิดเป็น 46.34% และไม่สามารถระบุซีโรไทป์ของเชื้อได้คิดเป็น 43.90% ส่วนใหญ่เกิดจากเจ้าหน้าที่ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้ และจากข้อมูลการสอบสวนโรคพบว่าสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการระบาด คือ การเคลื่อนย้ายสัตว์คิดเป็น 53.66% รองลงมาได้แก่ การนำยานพาหนะจากภายนอกเข้าฟาร์มคิดเป็น 19.51% ซึ่งจากข้อมูลการระบาดดังกล่าวจะเห็นได้ว่าระบบความปลอดภัยทางชีวภาพมีส่วนสำคัญอย่างมากในการป้องกันโรค รวมถึงระบบการแจ้งเตือนการเกิดโรคเร็วผ่านเครือข่ายการเฝ้าระวังโรค ซึ่งจะช่วยให้การควบคุมโรคมีประสิทธิภาพมากขึ้น (เทิดศักดิ์ และคณะ, 2556)

จากตัวอย่างการระบาดของโรค FMD ในโคนมของอำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี ส่งผลทำให้มีโคล้มตาย ซึ่งสาเหตุของการระบาดจากการสอบสวนโรค FMD ในโคนมช่วงนั้น คาดว่าเกิดจากสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลง รวมถึงสถานการณ์ภัยแล้งที่ส่งผลให้หญ้าขาดแคลน โคจึงกินอาหารไม่เพียงพอ สุขภาพอ่อนแอและติดเชื้อได้ง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการกินฝุ่นข้าวโพดที่มากจนเกินไปส่งผลต่อการย่อยของโค อีกทั้งอำเภอมวกเหล็กมีประชากรโคนมที่หนาแน่น ดังนั้นเมื่อมีโคนมป่วยประกอบกับยังมีการเคลื่อนย้ายสัตว์ ชากสัตว์ มูลสัตว์ น้ำนม อาหารสัตว์ ตลอดเวลาจึงทำให้การควบคุมโรคเป็นไปอย่างลำบาก อีกทั้งการแจ้งโรคต่อเจ้าหน้าที่รัฐล่าช้า (อ้างอิง:ข้อมูลข่าวจาก สำนักข่าวไทย)

โคเนื้อ

กรณีของโคเนื้อที่มีการติดเชื้อสามารถติดต่อได้จากการสัมผัสโดยตรง โดยจะมีการปล่อยเชื้อไวรัส ออกมากับลมหายใจ น้ำลาย น้ำนม ปัสสาวะ อุจจาระ น้ำเชื้อ น้ำคร่ำ รวมถึงการติดต่อทางอากาศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสัมผัสโดยตรงจากตุ่มน้ำแตกที่บริเวณผิวหนังและตามมาด้วยการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน ซึ่งจะส่งกระทบต่อสุขภาพโดยรวมของโค ส่วนการติดต่อโดยผ่านสื่อกลาง เช่น คน อุปกรณ์ภายในฟาร์ม หรือ ยานพาหนะ ถือว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมโรคอย่างยากลำบาก เนื่องจากเชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ในระบบทางเดินหายใจของมนุษย์ได้ถึง 24-48 ชั่วโมง และในโคที่หายจากโรคหรือมีการติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ นั้นสามารถแพร่เชื้อต่อไปได้นานถึง 28 วัน นอกจากนี้ผลจากการเกิดการระบาดของโรค FMD ทำให้ต้องมี มาตรการระงับการเคลื่อนย้ายโค กระบือ และปิดตลาดนัดโค-กระบือ ส่งผลเสียต่อการค้าขายสัตว์ในพื้นที่ โดยรอบ

สุกร

สำหรับสุกรที่มีการติดเชื้อมีผลให้สัตว์น้ำหนักลด ทำให้เกษตรกรสูญเสียทั้งเงินและเวลาในการเลี้ยง และหากเกิดในสัตว์ที่กำลังตั้งท้องอาจทำให้สัตว์เกิดการแท้ง อาจส่งผลต่อการผสมไม่ติดตามมาได้อีก ในกรณีของการติดเชื้อในลูกสัตว์พบว่าเชื้อไวรัสสามารถทำให้เกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายนำไปสู่การเสียชีวิต จากภาวะหัวใจล้มเหลวในลูกสัตว์ได้ และในรายที่อาการหนักอาจจะมีการหลุดของกีบเท้าและนำไปสู่การคัต หักได้หลังจากการเกิดตุ่มน้ำในอวัยวะต่างๆ

ตารางที่ 5 แสดงค่าประมาณการแพร่เชื้อของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

ชนิดสัตว์	จำนวนค่าประมาณการแพร่ (ต่อ 24 ชั่วโมง)	ช่องทางขับเชื้อ
โค-กระบือ	$10^{6.7}$ TCID ₅₀	น้ำนม
โค-กระบือ	$10^{5.1}$ TCID ₅₀	ทางเดินหายใจ
สุกร	$10^{5.8-7.6}$ TCID ₅₀	ทางเดินหายใจ
แกะ	$10^{4.3}$ TCID ₅₀	ทางเดินหายใจ

หมายเหตุ: TCID₅₀ = 50 percent tissue culture infectious dose

ที่มา:

https://www.aphis.usda.gov/animal_health/emergency_management/downloads/sop/sop_fm d_e-e.pdf

● การกระจายเชิงพื้นที่ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

จากข้อมูลสถานการณ์ของโรค FMD ในประเทศไทยระหว่างปี 2002-2022 พบว่าในช่วงระยะเวลา ยี่สิบปีที่ผ่านมา พบการผันแปรอย่างต่อเนื่องจากสถานการณ์การระบาดของโรค FMD

ตัวอย่างสถานการณ์ของโรค FMD ในพื้นที่ภาคเหนือ

จากข้อมูลการระบาดของโรค FMD ในเขตพื้นที่จังหวัดภาคเหนือช่วงปี 2007-2011 พบว่าในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา พื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูนเกิดการระบาดของโรค FMD ทั้งหมด 41 ครั้ง โดยเกิดมากที่สุดในปี 2009 ถึง 15 ครั้ง และจากข้อมูลพบว่าจังหวัดลำพูนมีการเกิดโรคมากกว่าจังหวัดเชียงใหม่ถึง 23 ครั้ง คิดเป็น 56.10% ของการระบาดทั้งหมด หากพิจารณาเป็นรายเดือนพบว่าช่วงตั้งแต่เดือนตุลาคมจนถึงเดือนมกราคมของปีถัดไป มักจะมีการระบาดของโรคอยู่เป็นประจำซึ่งเป็นช่วงฤดูหนาว

ตัวอย่างสถานการณ์ของโรค FMD ในพื้นที่ภาคใต้

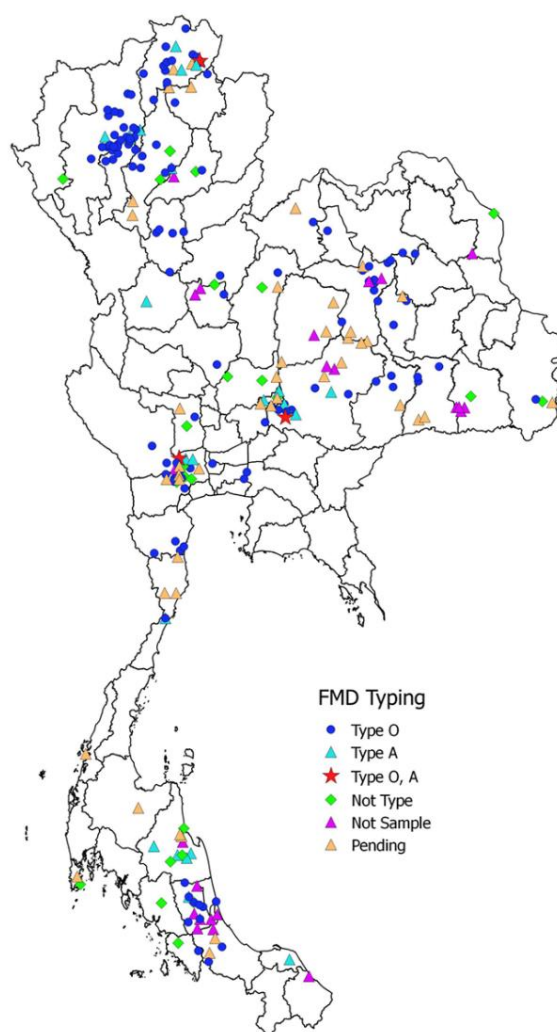
พบการระบาดของโรค FMD ในโคและสุกรเป็นส่วนมาก โดยเฉพาะในปี 2019 ที่มีความรุนแรงชัดเจนในพื้นที่ภาคใต้ 5 จังหวัด ซึ่งได้มีการประกาศเขตโรคระบาดและเขตภัยพิบัติกรณีฉุกเฉินในสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรค FMD ครั้งนั้น โดยพบว่ามี การระบาดที่ขยายวงกว้างไปหลายจังหวัดและไม่สามารถควบคุมได้ในขณะนั้น โดยเริ่มพบการระบาดในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือไปภาคกลางและรุนแรงสุดที่ภาคใต้ ซึ่งมีแนวโน้มรุนแรงกว่าทุกปีที่ผ่านมา ทำให้มีการประกาศกำหนดเขตโรคระบาดชั่วคราว ตาม พ.ร.บ.โรคระบาดสัตว์ 2017 และห้ามเคลื่อนย้ายสัตว์ในพื้นที่ใกล้เคียง จากข้อมูลการระบาดพบว่าในเขตจังหวัดพัทลุงพบสถานการณ์ระบาดยาวนานกว่า 3 เดือน ซึ่งค่อนข้างรุนแรงและการควบคุมโรคเป็นไปได้ยาก โดยพบโคและสุกรทยอยตายต่อเนื่องและยังพบการระบาดในหลายพื้นที่ในทุกอำเภอของจังหวัดพัทลุง โดยจากข้อมูลของทางจังหวัดถือว่าเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงโคเนื้อ โคนม โคพื้นบ้าน ในระดับต้นๆ ของภาคใต้ โดยเฉพาะโคเนื้อมีการเลี้ยงกว่า 130,000 ตัว จากสถานการณ์ระบาดส่งผลกระทบอย่างมากเนื่องจากจังหวัดพัทลุงเป็นตลาดค้าโครายใหญ่ของพื้นที่จังหวัดภาคใต้ที่มีพ่อค้ามาจากทั้งฝั่งอ่าวไทย และฝั่งอันดามัน รวมถึงจังหวัดชายแดนภาคใต้ที่เกี่ยวข้องกับการส่งโคออกสู่ตลาดต่างประเทศต้องยุติลงทั้งหมด

นอกจากนี้ยังพบว่ามี การแพร่กระจายโรคไปยังจังหวัดตรัง เนื่องด้วยพบโคป่วยจำนวน 100 ตัว และลูกกระบือตาย 10 ตัว ซึ่งจากการสอบสวนโรคทำให้ทราบว่าติดโรค FMD มาจากสนามกีฬาชนโคของจังหวัดพัทลุง ส่งผลให้จังหวัดใกล้เคียงเช่น จังหวัดนครศรีธรรมราชเร่งฉีดวัคซีนป้องกันการแพร่ระบาดของโรค FMD อย่างเร่งด่วนทั้งโค กระบือ แพะ โดยห้ามการเคลื่อนย้ายส่งผลกระทบต่อการตลาดค้าโคในพื้นที่ (ที่มา: ประชาชาติธุรกิจ)

สำหรับข้อมูลสถานการณ์ของโรค FMD พบว่าเชื้อ FMDV มีการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ของซีโรไทป์ต่างๆทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทยและประเทศในภูมิภาค SEA คือ ซีโรไทป์ O และ A โดยการแพร่กระจายเป็นวงกว้างในภูมิภาค สำหรับซีโรไทป์ Asia-1 มักจะพบจำกัดอยู่ในทวีปเอเชียจนกระทั่งมีการตรวจพบที่ประเทศกรีซจำนวน 2 ครั้ง คือ ปี 1984 และ ปี 2000 นอกจากนี้ข้อมูลทางพันธุกรรมของยีน VP1 ได้ระบุว่าพื้นที่แผ่นดินใหญ่ในภูมิภาค SEA เป็นแหล่งที่มาของ FMDV ซีโรไทป์ O และ A ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และยังมีการตรวจพบในสัตว์ป่าที่ให้ผลบวกต่อโรค FMD ในช่วงที่เกิดการระบาดในปศุสัตว์อีกด้วย

จากการศึกษาวงกว้างในแต่ละภูมิภาคมีแนวโน้มและโอกาสในการแพร่กระจายของเชื้อ FMDV ไปสู่ภูมิภาคใหม่ๆ จากข้อมูลการเปรียบเทียบลำดับยีน VP1 ของไวรัสเพื่อวิเคราะห์ พบว่าในช่วงเวลาหลายปีที่ผ่านมาแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของไวรัสที่คล้ายกันจะเกิดขึ้นซ้ำๆในพื้นที่เดิมที่เคยเกิด (Knowles and Samuel,

2003; Rweyemamu *et al.*, 2008) ดังนั้นระดับความจำเพาะทางนิเวศวิทยาและการปรับตัวของเชื้อ FMDV จากการนำเทคนิคทางภูมิศาสตร์สารสนเทศสำหรับวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของโรค FMD ในโคนมมาศึกษาด้วยการวิเคราะห์รูปแบบการกระจายตัวของโรค FMD ในโคนมเชิงพื้นที่และความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ก่อโรค FMD ในโคนมได้ ซึ่งการนำเทคนิคทางภูมิศาสตร์สารสนเทศมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการศึกษาทางระบาดวิทยาโดยการนำข้อมูลตำแหน่งฟาร์มโคนมจากเครื่องระบุตำแหน่งบนพื้นผิวโลก (GPS) มาวิเคราะห์การประมาณค่าเชิงพื้นที่แบบจุด เพื่อให้ทราบรูปแบบการกระจายตัวของโรคและปัจจัยก่อโรค ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และระยะทางจากถนน รวมทั้งการตรวจหารายละเอียดทางภูมิศาสตร์จากภาพถ่ายดาวเทียม Landsat 8 กับการหาความสัมพันธ์เกี่ยวกับปัจจัยที่ศึกษากับการกระจายตัวของโรค FMD ผลการศึกษาพบว่าการกระจายตัวของโรค FMD มีความสัมพันธ์กับรูปแบบการกระจายตัวของโรคและปัจจัยก่อโรคได้



รูปที่ 11 ตัวอย่างการกระจายเชิงพื้นที่ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ปี 2016

ที่มา: กลุ่มโรคสัตว์เคี้ยวเอื้อง สำนักควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์ ข้อมูล ณ วันที่ 22 ธันวาคม 2016

● ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคปากและเท้าเปื่อย

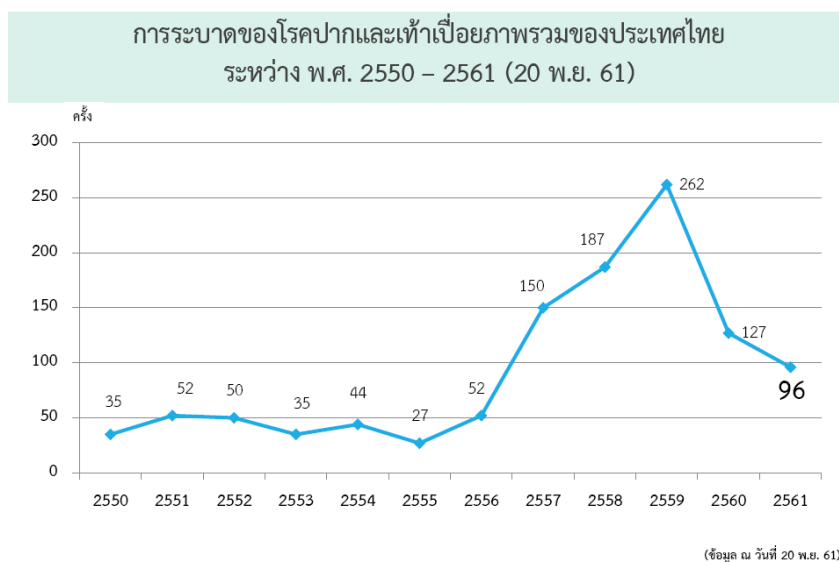
ในการเกิดโรค FMD ในสัตว์กีบคู่ส่งผลกระทบต่อในเชิงเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นอย่างมาก เนื่องด้วยเชื้อ FMDV มีอัตราการกลายพันธุ์อย่างรวดเร็วโดยการแปรผันในเชิงโมเลกุลของแอนติเจน ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเชื้อ FMDV จะแสดงความแปรปรวนทางพันธุกรรมและแอนติเจนในระดับสูง (Domingo *et al.*, 2002) ดังนั้นในทางระบาดวิทยาของเชื้อ FMDV จึงได้นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนแคปซิดมาศึกษาข้อมูลอย่างละเอียด (Samuel and Knowles, 2001)

นอกจากความแปรปรวนทางพันธุกรรมจากลำดับกรดอะมิโนในระดับที่สูงแล้ว พบว่าในตำแหน่งของ VP1 เกิดปฏิกิริยาข้ามที่ค่อนข้างต่ำจากการพิจารณาในซีโรไทป์ต่างๆของเชื้อ FMDV เช่น การศึกษาของสายพันธุ์ A22/IRQ/24/64 เกี่ยวกับความแปรผันของแอนติเจนในพื้นที่ที่ระบาดสามารถนำไปสู่การพัฒนาและการคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีนโรค FMD เนื่องจากความแตกต่างของสายพันธุ์ในพื้นที่เมื่อเทียบกับสายพันธุ์วัคซีนที่ใช้ในปัจจุบัน ดังนั้นการศึกษาความแปรผันของสายพันธุ์ไวรัสในภูมิภาคหนึ่งๆ ที่มีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม แต่พบว่ามี ความแตกต่างกันทางแอนติเจน โดยวิธีการเปรียบเทียบระยะห่างของแอนติเจนที่ถูกวัดจากแผนผังแอนติเจนที่ลำดับกรดอะมิโนทั้งหมดของโปรตีนแคปซิด (VP1) ซึ่งสามารถใช้ระบุตำแหน่งการแทนที่ของกรดอะมิโนเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับแอนติเจนที่ไม่สัมพันธ์กันระหว่างไวรัสในพื้นที่และสายพันธุ์ไวรัสวัคซีนต้นแบบที่ใช้กันทั่วไป (Anna *et al.*, 2014)

ดังนั้นการแปรปรวนของแอนติเจนในระดับที่สูงอาจมีสาเหตุจากหลายประการ เช่น อัตราการกลายพันธุ์สูง การรวมตัวกันใหม่ของยีน และการหมุนเวียนอย่างต่อเนื่องของไวรัสในพื้นที่

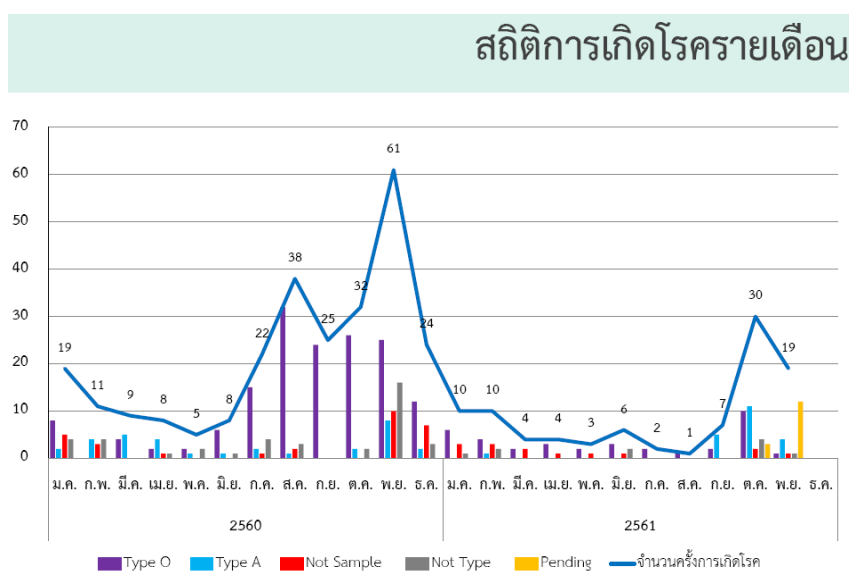
● ภาพรวมการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย

จากข้อมูลที่ศึกษามากมายเกี่ยวกับโรค FMD ในปศุสัตว์ที่ติดเชื้อและสามารถกลายเป็นตัวพาหะ โดยไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนและเกิดการกลายพันธุ์ได้อย่างต่อเนื่อง ส่งผลกระทบโดยตรงต่อธุรกิจปศุสัตว์ของประเทศไทย คือ ทำให้ไม่สามารถส่งออกสัตว์กีบคู่ ได้แก่ สุกร โค กระบือ แพะ แกะ ทั้งที่มีชีวิต เนื้อสัตว์ รวมถึงผลิตภัณฑ์ไปยังต่างประเทศที่ปลอดโรคได้ ซึ่งตลอดระยะเวลาหลายสิบปีที่ผ่านมาการระบาดของโรค FMD ในประเทศไทยมักจะพบการระบาดในระดับสูงในช่วงปลายปีต่อเนื่องไปถึงต้นปีถัด (รูปที่ 12 และ 13) โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีการเปลี่ยนแปลงทางแอนติเจนซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพวัคซีนที่ใช้ในการควบคุมโรค โดยพื้นที่การระบาดที่มักจะพบในช่วงหลายปีที่ผ่านมาในหลายจังหวัดของประเทศไทย เช่น สระบุรี ประจวบคีรีขันธ์ เชียงใหม่ ลพบุรี นครราชสีมา กระบี่ เป็นต้น ดังนั้นการป้องกันการระบาดของโรค FMD ในฟาร์มจึงมีความสำคัญร่วมกับการนำระบบป้องกันทางชีวภาพ (biosecurity system) เพื่อลดความเสี่ยงในการเกิดโรคอย่างเป็นบูรณาการรวมถึงมาตรการอื่นๆ ที่ใช้ในการป้องกันและควบคุมโรค เพื่อไม่ให้โรคจากภายนอกฟาร์มที่ติดมากับมนุษย์และอาจหมายรวมถึงปัจจัยอื่น ๆ เช่น ยานพาหนะ เครื่องมือ สัตว์พาหะ เข้าสู่ภายในฟาร์มและโรงเรือนเลี้ยงสัตว์ อย่างไรก็ตาม Biosecurity system จัดเป็นส่วนหนึ่งในมาตรฐานฟาร์มปศุสัตว์ รวมทั้งต้องมีระบบการป้องกันโรคให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นจากการประเมินความเสี่ยง (risk assessment) เพื่อใช้เป็นแนวทางในการป้องกันโรคตั้งแต่กระบวนการนำเข้าจนถึงกระบวนการสุดท้ายในการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ



รูปที่ 12 แสดงการระบาดของ FMD ระหว่างปี 2007-2018

ที่มา: กลุ่มโรคสัตว์เคี้ยวเอื้อง สำนักควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์ ข้อมูล ณ วันที่ 22 พฤศจิกายน 2018



รูปที่ 13 แสดงสถิติการเกิดโรคระบาดของ FMD รายเดือนระหว่าง 2017-2018

ที่มา: กลุ่มโรคสัตว์เคี้ยวเอื้อง สำนักควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์ ข้อมูล ณ วันที่ 22 พฤศจิกายน 2018

บทที่ 3

วิธีการชันสูตรและตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย

โรค FMD เป็นโรคติดต่อร้ายแรงในสัตว์กีบคู่ มาตรการการควบคุมโรคอย่างมีประสิทธิภาพจำเป็นต้องมีเครื่องมือในการวินิจฉัยที่ถูกต้อง ละเอียด เฉพาะเจาะจง รวดเร็ว และแม่นยำเพื่อสนับสนุนกลยุทธ์การควบคุมและป้องกันโรค FMD ดังมีรายละเอียดในคู่มือ WOA (WOAH, 2022) โดยการชันสูตรโรค FMD เพื่อวินิจฉัยในเบื้องต้นทำได้โดยสังเกตจากอาการและรอยโรค (lesion) แต่ก็ยังไม่สามารถบ่งชี้ได้ชัดเจนว่าเกิดจากโรค FMD เนื่องจากเป็นเพียงการวินิจฉัยทางกายภาพในเบื้องต้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้การทดสอบเพื่อชันสูตรทางห้องปฏิบัติการในการยืนยันการเกิดโรค FMD และจำแนกออกจากโรคอื่นที่มีอาการคล้ายกัน เช่น swine vesicular disease, vesicular stomatitis หรือ vesicular exanthema ซึ่งการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการในการระบุซีโรไทป์ของไวรัสที่เกี่ยวข้องกับการระบาดของโรคถือเป็นสิ่งสำคัญ โดยการวินิจฉัยโรคขึ้นอยู่กับ การแสดงอาการทางคลินิก เช่น มีไข้สูง น้ำลายไหลมากเกินไป การเกิดตุ่มน้ำบนเยื่อเมือกในช่องปาก บริเวณจมูก รวมถึงบริเวณช่องว่างระหว่างกีบและหลอดเลือดฝอยที่กีบด้วย

การตรวจวินิจฉัยโรค FMD จะแตกต่างกันไปตามระยะของโรคและวัตถุประสงค์ของการตรวจวินิจฉัย โดยในสัตว์ที่ติดเชื้อเฉียบพลันสามารถพบแอนติเจนหรือ RNA ได้ในตัวอย่างที่หลากหลาย ได้แก่ ของเหลวภายในตุ่ม เนื้อเยื่อผิวหนัง สารคัดหลั่งในจมูกและปาก ของเหลวในหลอดอาหาร คอหอย เลือด น้ำนม และในตัวอย่างเนื้อเยื่อ เช่น กล้ามเนื้อหัวใจตายที่เก็บจากการชันสูตรซากสัตว์ โดยแนวทางการวินิจฉัยสามารถอธิบายตามช่วงเวลา โดยสามารถแบ่งได้เป็น 3 ช่วง ดังนี้

ช่วงแรก คือ การพบเชื้อ FMDV ในเลือด ซึ่งเป็นการเฝ้าระวังในสัตว์ที่ติดเชื้อแต่ยังไม่แสดงอาการทางคลินิกหรือก่อนคลินิก

ช่วงที่สอง คือ การพบรอยโรคทางคลินิกเป็นการยืนยันและตรวจสอบอย่างรวดเร็ว

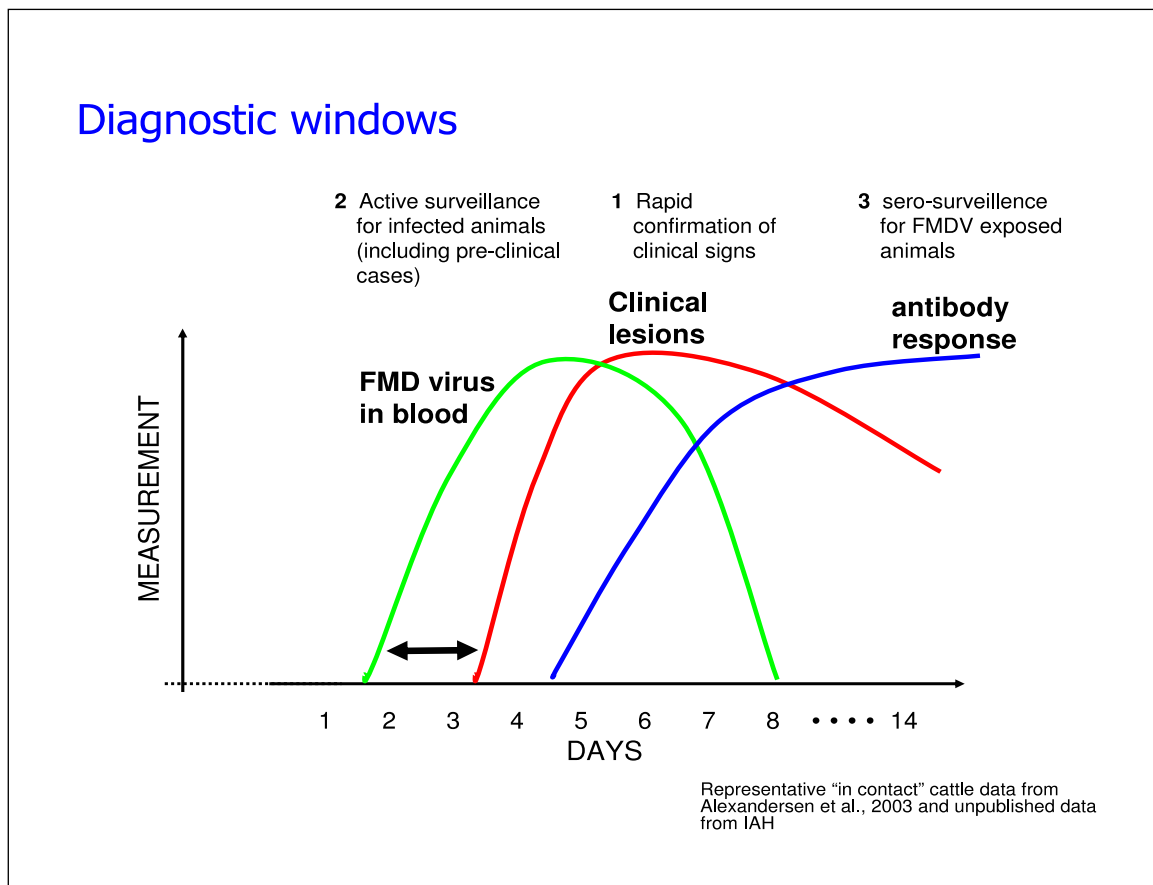
ช่วงที่สาม คือ การตรวจสถานะตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเพื่อการเฝ้าระวังซีโรไทป์สำหรับสัตว์ที่มีการสัมผัสเชื้อ FMDV (รูปที่ 14)

หลักการวินิจฉัยที่ WOA แนะนำ

ในการเก็บตัวอย่างจากพื้นที่เพื่อนำส่งไปยังห้องปฏิบัติการที่เหมาะสมตาม ควรพิจารณาเลือกตัวอย่างในระยะที่พบเยื่อผิวหนังมีรอยโรคเป็นตุ่มที่ยังไม่แตกหรือแตกใหม่หรือของเหลวจากตุ่มดังกล่าว

หลักของการวินิจฉัยตามวัตถุประสงค์

ในการทดสอบโรค FMD เพื่อวินิจฉัยเป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ โดยแบ่งการทดสอบหลัก เป็น 2 ประเภท ได้แก่ การตรวจหาแอนติเจน และการตรวจหาแอนติบอดี เป็นต้น



รูปที่ 14 กราฟแสดงแนวทางการวินิจฉัยจาก Diagnostic windows

ที่มา: Alexandersen *et al.* (2003)

แนวทางการวินิจฉัยโรค FMD

1. การวินิจฉัยในพื้นที่

การตรวจร่างกายในสัตว์เพื่อวินิจฉัยในเบื้องต้นของโรค FMD มักจะพบอาการน้ำลายไหลและอาการขาเจ็บเกิดขึ้นพร้อมๆ กัน เมื่อเห็นอาการหรือสงสัยว่ามีรอยโรคที่มีลักษณะตุ่มน้ำร่วมกับการมีไข้ ซึ่งโดยปกติมักจะเกิดขึ้นก่อนอาการทางคลินิก ซึ่งอาการทางคลินิกที่พบในสัตว์จะเริ่มจากมีอาการน้ำลายไหล น้ำมูกไหล

อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยทางคลินิกอาจพบปัญหาหลายสาเหตุเนื่องจากการติดเชื้อไวรัสในเยื่อเมือกมักทำเป็นอาการทางคลินิกที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันของหลายโรค ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการวินิจฉัยที่ละเอียดเพื่อแยกแยะจากโรคอื่นๆ ที่มีอาการคล้ายคลึงกับโรค FMD เช่น โรค vesicular stomatitis, rinderpest, malignant catarrhal fever, bovine herpes infections, swine vesicular disease, vesicular exanthema of swine และ bluetongue (Radostitis *et al.*, 1994)

2. การวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ (WOAH, 2022)

การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อระบุการติดเชื้อและซีโรไทป์ของเชื้อ FMDV ต้องดำเนินการในห้องปฏิบัติการความปลอดภัยทางชีวภาพที่มีการจัดการที่เหมาะสมและปลอดภัย

2.1 ตัวอย่างและการเก็บตัวอย่างส่งตรวจ

2.1.1 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการโรค FMD คือ ของเหลวจากตุ่มน้ำซึ่งจะมีปริมาณไวรัสมากที่สุด และเยื่อผิวจากตุ่มน้ำเริ่มแรกและถุงน้ำที่แตกไม่นาน ถือได้ว่าเป็นตัวอย่างเนื้อเยื่อที่เหมาะสมสำหรับการแยกไวรัส (WOAH, 2009) นอกจากนี้เนื้อเยื่อผิวที่ไม่สามารถเก็บได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ติดโรคในช่วงแรกหรือกรณีสัตว์พักฟื้นหรือกรณีการติดเชื้อที่สงสัยแต่ไม่มีการแสดงอาการทางคลินิก สามารถใช้ตัวอย่างน้ำจากหลอดอาหาร-คอหอย (oesophageal-pharyngeal fluids; OP) ที่เก็บโดยใช้ Probang Cup แล้วนำตัวอย่างดังกล่าวไปเพิ่มปริมาณไวรัสเพื่อแยกเชื้อต่อไป (Asseged, 2005) สำหรับตัวอย่างอื่นๆ เช่น เลือดที่มีสารกันเลือดแข็ง ซีรัม ต่อมน้ำเหลือง ต่อมไทรอยด์ ต่อมหมวกไต ไต และหัวใจ ก็ถือว่าเป็นตัวอย่างที่ดีจากการชันสูตรซากได้เช่นกัน

ในการเก็บตัวอย่างที่ถูกรวบรวมและเหมาะสม หลังจากได้ตัวอย่างเพื่อการวินิจฉัยที่ต้องการแล้ว ควรรับนำส่งห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด รวมถึงการบรรจุหีบห่อตัวอย่างที่ถูกต้องตามหลักความปลอดภัยและความมั่นคงทางชีวภาพ (biosafety and biosecurity) และหีบห่อต้องอยู่ในสภาพสมบูรณ์ขณะขนส่งตั้งแต่ต้นทางจนถึงปลายทาง เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการรั่วไหลของไวรัสไปสู่บริเวณใกล้เคียงหรือสิ่งแวดล้อม โดยตัวอย่างที่เหมาะสมต่อการชันสูตรโรค FMD ควรมีความจำเพาะ ความไวและความแม่นยำสูง คือ ตัวอย่างที่เก็บจากเนื้อเยื่อบริเวณรอยโรคในช่วงเวลาการพบการติดเชื้อโดยเร็วที่สุด เช่นเดียวกับกรณีของสัตว์ป่วยหรือสัตว์ที่สงสัยว่าป่วยที่ควรมีการเก็บตัวอย่างซีรัมเพื่อประกอบการวินิจฉัยด้วยวิธีการอื่นที่เหมาะสม

โดยการวินิจฉัยโรค FMD สิ่งสำคัญต่อการวินิจฉัยโรค คือการเก็บตัวอย่างส่งตรวจให้ตรงกับวัตถุประสงค์ที่ต้องการ มีแนวทางการเก็บตัวอย่าง ดังนี้

- กรณีตัวอย่างของตุ่มน้ำที่เก็บได้จากสัตว์มักจะพบปริมาณแอนติเจน FMDV ค่อนข้างสูง โดยทั่วไปสามารถจำแนกและระบุเชื้อได้ด้วยวิธี ELISA หรือ RT-PCR แต่อย่างไรก็ตามกรณีที่ความเข้มข้นของไวรัสมีน้อยมาก พบว่าการทดสอบด้วยวิธี ELISA มีโอกาสการตรวจพบได้น้อย จึงจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนไวรัสด้วยวิธี Virus Isolation ในเซลล์เพาะเลี้ยงที่ไวต่อเชื้อ FMDV ได้แก่ การเพาะเลี้ยงในเซลล์ปฐมภูมิ เช่น เซลล์ต่อมไทรอยด์ของโคและเซลล์ไตของสุกรหรือแกะ หรือเซลล์เพาะเลี้ยงทุติยภูมิ เช่น BHK-21 หรือ IBRS2 หรือเซลล์ ZZR เป็นต้น ซึ่งถือได้ว่าเป็นความเหมาะสมสำหรับการแยกเชื้อ FMDV นอกจากนี้ในบางกรณีที่เชื้อ FMD ไม่สามารถเติบโตได้ในเซลล์ชนิดใดชนิดหนึ่ง หรือเจริญเติบโตไม่ชัดเจนไม่ได้รับประกันว่าจะไม่มีไวรัส ดังนั้นตัวอย่างที่เก็บมาจากการที่สงสัยว่าเป็นโรค FMD ควรสอบสวนต่อไป โดยใช้ระบบทดสอบอื่น ๆ เพิ่มเติมเพื่อยืนยันจนถึงที่สุด

- กรณีที่สัตว์ไม่แสดงอาการที่ผิวหนัง คือ ไม่พบการเกิดตุ่มน้ำหรือหลุดลอก WOAH ได้แนะนำให้เก็บตัวอย่างเลือด (ซีรัม) และของเหลวจากบริเวณคอหอย โดยใช้อุปกรณ์ Probang Cup ในการเก็บจากสัตว์เคี้ยวเอื้องและสุกร

- กรณีของสัตว์ที่สงสัยว่าเป็นพาหะ สามารถทำการศึกษาได้โดยการเก็บตัวอย่างของเหลวจากคอหอยโดยใช้อุปกรณ์ Probang Cup เพื่อทดสอบแยกไวรัส (Virus Isolation) โดยอาจจำเป็นต้องสุมตัวอย่างซ้ำ

เพื่อระบุภาวะการเป็นพาหะเนื่องจากปริมาณไวรัสมักจะปริมาณน้อยและค่อนข้างผันผวน ไม่แน่นอนในแต่ละตัว ซึ่งการจำแนกไวรัส มักใช้การตรวจด้วยวิธี ELISA และการตรวจหากรดนิวคลีอิกด้วยวิธี RT-PCR นอกจากนี้ยังมีการทดสอบด้วยชุดทดสอบเชิงพาณิชย์อื่นๆ ที่สามารถใช้ตรวจหาแอนติเจนได้ เช่น Lateral Flow Rapid Test ที่อาจพบวางจำหน่ายในบางประเทศ สำหรับการหาต้นกำเนิดของเชื้อ FMDV จะสามารถระบุได้ด้วยการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายพันธุ์ไวรัส เพื่อสับย้อนกลับไปถึงต้นกำเนิดและที่มาของไวรัสนั้นๆ

- การตรวจหาแอนติบอดีโดยการทดสอบทางซีรั่มวิทยาสามารถนำมาใช้ในการเฝ้าระวัง การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน โดยการเก็บซีรั่มจากสัตว์ที่ต้องการทดสอบมาตรวจทางห้องปฏิบัติการโดยวิธี ELISA และการทดสอบ Serum Neutralisation (SN) ซึ่งในการทดสอบต้องใช้เชื้อ FMDV ซีโรไทป์ที่จำเพาะในการทำให้เป็นกลาง (neutralized) ด้วยแอนติบอดีที่อยู่ในซีรั่ม โดยการตัดสินและวิเคราะห์ผลการทดสอบอาจแตกต่างกันไปตามวัตถุประสงค์ของการทดสอบและข้อมูลทางระบาดวิทยา ซึ่งมีวัตถุประสงค์ในการทดสอบดังนี้

- เพื่อการรับรองสัตว์กรณีการส่งออกสัตว์
- เพื่อยืนยันกรณีต้องสงสัยระหว่างการระบาด
- เพื่อแยกระหว่างการติดเชื้อหรือการฉีดวัคซีน
- เพื่อประเมินระดับภูมิคุ้มกันภายหลังการฉีดวัคซีน
- เพื่อการทดสอบ vaccine matching ระหว่างสายพันธุ์วัคซีนกับสายพันธุ์ในพื้นที่ได้

2.1.2 วิธีเก็บตัวอย่างเชื้อ

สำหรับการเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวินิจฉัย บริเวณที่สามารถเก็บเชื้อได้ คือ แผลที่ลิ้น, เยื่อภายในช่องปาก, แผลที่กีบ และไรกีบในโค กระบือ แพะ แกะ หากพบว่าสัตว์แสดงอาการเดินเชยๆ แสดงว่าเชื้อแพร่กระจายไปถึงเท้าแล้วและไม่สามารถเก็บเยื่อลิ้นได้ ควรเก็บเชื้อจากบริเวณไรกีบ ซอกกีบ หรืออุ้งกีบแทน โดยทำความสะอาดบริเวณนั้นด้วยน้ำสะอาดก่อน ขนาดของเนื้อเยื่อควรเก็บตัวอย่างไม่น้อยกว่า 1 กรัม ถ้าหากว่าเนื้อเยื่อจากสัตว์ตัวหนึ่งได้ปริมาณน้อย ก็ควรเก็บจากตัวอื่นๆ ในบริเวณเดียวกันไปด้วย โดยทำการแยกตัวอย่างใส่ขวดเป็นตัวอย่างไป สำหรับการเก็บรักษาเนื้อเยื่อเพื่อส่งห้องปฏิบัติการควรบรรจุลงในขวดที่มีน้ำยา 50% กลีเซอรินบัฟเฟอร์ เขย่าให้น้ำท่วมเนื้อเยื่อ ปิดจุกให้แน่นแล้วจึงปิดทับด้วยเทปกันน้ำยารั่วไหล ทำเครื่องหมายขวดให้ชัดเจน ใช้น้ำยาฆ่าเชื้อทำความสะอาดภายนอก และพิจารณาเรื่องการกันกระแทกของขวดตัวอย่างเพื่อป้องกันการแตกเสียหายก่อนนำส่งห้องปฏิบัติการ

สำหรับการนำส่งตัวอย่างเนื้อเยื่อหรือน้ำเหลืองที่ได้ต้องทำการฆ่าเชื้อบริเวณภายนอกภาชนะแล้วจึงใส่ลงในภาชนะอีก 1 ชั้น เพื่อป้องกันการขวดแตก จากนั้นห่อหุ้มด้วยกระดาษหรือวัสดุกันกระแทกหลายๆชั้น แล้วจึงบรรจุกล่องหรือภาชนะที่ไม่แตกง่าย เพื่อให้มั่นใจในสภาพที่เหมาะสมตามหลักความปลอดภัยทางชีวภาพ พร้อมบันทึกประวัติสัตว์ผู้ป่วยและรับนำส่งทันที หรือในกรณีจำเป็นต้องเก็บไว้ก่อนควรเก็บในตู้เย็นหรือกระติกน้ำแข็ง ซึ่งสภาพที่เหมาะสมในการนำส่งที่ดีที่สุด คือ นำส่งในสภาพแช่เย็นและปริมาณ

น้ำแข็งที่เพียงพอจนถึงห้องปฏิบัติการ ในกรณีไม่สามารถนำส่งในสภาพแช่เย็น ก็อาจต้องพิจารณานำส่งทางไปรษณีย์ด้วยวิธี EMS และต้องประสานกับปลายทางในการเตรียมรับตัวอย่างต่อไป

2.2 การแยกเชื้อไวรัส (Virus Isolation; VI)

ในกรณีที่ไม่สามารถจำแนกระบุชนิดของเชื้อ FMDV ได้โดยวิธี ELISA จากตัวอย่างตั้งต้นได้ จำเป็นต้องทำการแยกและเพิ่มปริมาณไวรัส (Virus Isolation; VI) เพื่อใช้ในการตรวจและพิสูจน์การมีอยู่ของเชื้อ FMDV ที่มีชีวิตต่อไป โดยเซลล์เพาะเลี้ยงที่นำมาใช้ในระบบการแยกเชื้อ FMDV ได้แก่

เซลล์ประเภทที่ 1 คือ เซลล์ปฐมภูมิ เป็นเซลล์ที่มีความไวในการตรวจสอบ แต่มีความบอบบาง ต้องใช้ความพยายามในการดูแลรักษา เช่น เซลล์ต่อมไทรอยด์ของโค (primary bovine thyroid; BTY) (Snowdon, 1966), เซลล์ไตของแกะ (Lamb kidney cells) (House and House, 1989)

เซลล์ประเภทที่ 2 คือ เซลล์ทุติยภูมิ เป็นเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้ง่ายกว่าและมีความคงตัว แต่มีความไวน้อยกว่า ส่วนใหญ่จะใช้เซลล์ทุติยภูมิของสุกร (Pig cell lines) เช่น IBRS-2, PK15 หรือ SK6 หรือเซลล์ไตของหนูแฮมสเตอร์ (Baby hamster kidney cell line; BHK-21) สำหรับเซลล์ทุติยภูมิที่ใช้จะต้องมีความไวเพียงพอที่จะแยกเชื้อ FMDV ออกจากตัวอย่างที่มาจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน โดยพบว่าเซลล์สุกรไม่เหมาะสำหรับการแยก FMDV ที่มาจากแพะหรือแกะ ซึ่งพบว่ามี การจับไวรัสในปริมาณน้อยมาก (Bouma *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตามถือว่าความไวของระบบเซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้ต่อมไทรอยด์ของแพะ (Fetal Goat Tongue Cell Line; BTY) เป็นตัวหลักที่นำมาใช้ในการทดสอบ แต่การเตรียมและการดูแลเพื่อนำมาวินิจฉัยทำได้ยากและมีราคาแพง (Ferris *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังมีการนำเซลล์ลิ้นของตัวอ่อนแพะ (Fetal Goat Tongue Cell Line) มาใช้ได้เช่นเดียวกัน (Brehm *et al.*, 2009)

โดยกระบวนการเริ่มจากการนำสารแขวนลอยของตัวอย่างจากพื้นที่ที่สงสัยว่ามีไวรัส FMD มาเพาะเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง บ่มที่อุณหภูมิ 37°C และตรวจหาผลการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (Cytopathic Effect; CPE) ในช่วงระหว่าง 24 ถึง 48 ชั่วโมงหลังจากการติดเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง ซึ่งการแยกไวรัสเป็นวิธีการที่ละเอียดอ่อนมาก ต้องใช้ความพยายาม มีราคาต้นทุนสูงและมีความเสี่ยงในการแพร่กระจายไวรัสออกสู่สิ่งแวดล้อม (Kitching *et al.*, 1989) ดังนั้นในการแยกเชื้อ FMDV ด้วยวิธี VI จำเป็นอย่างยิ่งต้องใช้เทคนิคอย่างระมัดระวัง ปลอดภัยและมีความพร้อมของห้องปฏิบัติการ ซึ่งผลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการวินิจฉัยโรค FMD ต่อไป

2.3 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

ELISA เป็นหนึ่งในเทคนิคทางชีววิทยาที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด หลักการของ ELISA คือ การใช้แอนติบอดี (Antibody) หรือ แอนติเจน (Antigen) เคลือบที่พื้นผิวของ ELISA Plate จากนั้นเติมเอนไซม์ของเชื้อที่ต้องการวิเคราะห์ลงบนแอนติเจนหรือแอนติบอดี จากนั้นเมื่อเติมสารตั้งต้นเพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยา โดยเอนไซม์จะทำปฏิกิริยาและเปลี่ยนสีเพื่อแสดงผลการทดสอบ ซึ่งการวัดผลจะแสดงผลการเกิดสีด้วยวิธีการอ่านค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่องอ่านไมโครเพลท (Microplate Reader)

หลักการ ELISA สามารถใช้ทดสอบทั้งทางเชิงปริมาณ เชิงคุณภาพของแอนติเจนและแอนติบอดี ได้อย่างแม่นยำ และยังเป็นวิธีการหนึ่งในการจำแนกและระบุโรค FMD (Crowther and Abu-El Zein, 1979) ซึ่งเทคนิค ELISA ที่นิยมนำมาตรวจสอบ ได้แก่

- เทคนิค Indirect Method โดยการใช้แอนติบอดีที่ทราบชนิดแล้วมาทดสอบกับแอนติเจนที่ทราบชนิดแล้ว ซึ่งเคลือบไว้ที่บนพื้นผิวของ Solid Phase จากนั้นจึงใช้ Anti-Human Immunoglobulin ที่ติดเอาไว้ด้วยเอ็นไซม์ทำปฏิกิริยาอีกขั้นหนึ่ง เพื่อระบุปริมาณตามความเข้มของสีที่เกิดจากแอนติบอดีที่ต้องการตรวจสอบ

- เทคนิค Double Antibody Sandwich Method จะทำการเคลือบแอนติบอดีบนพื้นผิวของ Solid Phase เพื่อทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่ต้องการตรวจสอบ หลังจากล้างสารส่วนเกินแล้วใช้แอนติบอดีที่ติดยึดด้วยเอ็นไซม์ (เป็นแอนติบอดีที่จำเพาะกับแอนติเจนที่ต้องการตรวจสอบ) ทำการล้างและเติม Substrate แล้ว จึงทำการวัดปริมาณความเข้มสีที่เกิดขึ้น

การทดสอบด้วยเทคนิค ELISA ได้แก่

- **Solid-Phase Competition Enzyme-linked immunosorbent assay (SPCE)**

เป็นการทดสอบด้วยเทคนิค Solid-phase ELISA ที่ได้รับการพัฒนาเพื่อวัดหาปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ FMDV และได้รับการทวนสอบความใช้ได้ของวิธีด้วยซีรัมหลากหลายชนิด โดยกระบวนการทดสอบจะใช้ Polyclonal antiserum และ antigen 146S บริสุทธิ์ ที่ถูกทำให้หมดฤทธิ์ของเชื้อ FMDV เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเทคนิค Liquid-phase ELISA และ Neutralization ในซีรัมหลายชุด พบว่ามีขีดจำกัดของการทดสอบด้วย Solid-phase ELISA ที่คล้ายคลึงกับการทดสอบ Liquid-phase ELISA เกี่ยวกับความไวที่ค่อนข้างต่ำกว่า (นั่นคือ สามารถตรวจจับแอนติบอดีในปริมาณที่ต่ำกว่า) และยังพบว่า Solid-phase ELISA มีความจำเพาะในการทดสอบ neutralization มากกว่าหรือเท่ากับ Liquid-phase ELISA แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบ Liquid-phase ELISA เป็นวิธีการที่ใช้งานง่าย ดังนั้นจึงควรมีการปรับปรุงรูปแบบการตรวจหาแอนติบอดีของเชื้อ FMDV โดยเทคนิค Solid-phase ELISA ซึ่งมีความจำเพาะมากกว่าแต่มีความไวเท่ากับ Liquid-phase ELISA (Mackay *et al.*, 2001)

สำหรับการพัฒนาซีรัมมาตรฐานและการทำงานแบบทุติยภูมิ (Goris and De Clercq 2005) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทดสอบโดยการนำ SPCE มาใช้ทดแทน Liquid Phase Blocking ELISA (LPBE) สำหรับการคัดกรองนั้น มีข้อบ่งชี้เกี่ยวกับความจำเพาะที่สูงกว่า, ความไวที่เทียบเท่าและความทนทานที่ดีกว่า (Mackay *et al.*, 2001) นอกจากนี้ยังสามารถใช้สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อ FMDV แต่ละสายพันธุ์จาก 7 สายพันธุ์ได้อีกทางหนึ่ง

โดยกระบวนการเตรียมเพื่อใช้ SPCE นั้นจำเป็นต้องใช้แอนติซีรัมของหนูตะเภาหรือกระต่ายที่สามารถผลิตเป็น MAbs ที่เหมาะสมมาเคลือบกับ ELISA plate เพื่อใช้เป็นแอนติบอดีในการจับกับ Conjugated แบบ Peroxidase เพื่อตรวจจับแอนติบอดี (Brocchi. *et al.*, 1990) โดยพบว่ามีชุดทดสอบเชิงพาณิชย์สำหรับทดสอบซีโรไทป์ O ที่มีความหลากหลายของ Subtype แต่สามารถให้ผลการจำแนก

คุณลักษณะจากปฏิกิริยาการจับแอนติเจนที่มีความแตกต่างของ Subtype ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพการทำงานที่คล้ายคลึงกัน (Chenard *et al.*, 2003)

- **Antibody detection by Liquid Phase Blocking ELISA (LPBE)**

การตรวจหาแอนติบอดีโดยวิธี LPBE เป็นการตรวจสอบการจับและวัดปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อ FMDV ในซีรัมของสัตว์ที่ติดเชื้อและสัตว์ที่ได้รับวัคซีน (Hamblin *et al.*, 1986) โดยพื้นฐานแล้วการทดสอบจะขึ้นอยู่กับการปิดกั้นเฉพาะของแอนติเจน FMDV ของเทคนิค LPBE ซึ่งเป็นการทดสอบแอนติบอดีในตัวอย่างซีรัมเริ่มจากการใช้ Anti-serum ของกระต่ายที่จำเพาะต่อซีโรไทป์ต่างๆ ของ FMDV โดยเคลือบไว้ที่ ELISA Plate หลังจากนั้นทำการผสมตัวอย่างซีรัมทดสอบกับแอนติเจน FMDV ที่เฉพาะเจาะจง ทำการบ่มไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำส่วนผสมของซีรัมและแอนติเจนทดสอบถ่ายโอนลง ELISA plate ที่เคลือบด้วย Anti-serum ก่อนหน้านี้ ซึ่งเป็นการตรวจหาระดับแอนติบอดีที่มีต่อเชื้อ FMDV ในตัวอย่างซีรัมนั้นๆ

โดยกระบวนการทำงานเป็นการหาปริมาณแอนติเจนอิสระที่เหลืออยู่หลังจากเกิดปฏิกิริยาการทำให้เป็นกลาง เริ่มจาก Anti-serum ของกระต่ายที่ถูกยึดไว้ลดปริมาณลดลง และ Anti-serum ของหนูตะเภาที่ตรวจจับแอนติบอดีที่ต่อต้าน FMDV จะลดน้อยลง โดยจะทำปฏิกิริยาในขั้นตอนถัดไปหลังจากการเติม Ig Conjugated ที่ต่อต้านหนูตะเภาที่มีฉลากเอนไซม์ (HRP) หลังจากนั้นเติมสารละลาย Substrate หรือ Chromogen ที่มี Hydrogen Peroxide (H_2O_2) และจะถูกหยุดปฏิกิริยาหลังจากผ่านไป 15 นาที ด้วยการเติมกรดซัลฟิวริก ในการพิจารณาการทดสอบจะดูจากการเปลี่ยนแปลงการเกิดสี แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ระดับค่าการดูดกลืนแสง 492 นาโนเมตร ในการแปลผลการทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแอนติเจน (Ca) ที่มีแอนติเจนอิสระ โดยเกณฑ์การตั้งค่าการยับยั้งที่ระดับ 50% (50% Percent Inhibition, PI) หากค่า PI ของซีรัมทดสอบมีค่ามากกว่า 50% แสดงว่าซีรัมทดสอบนั้นจะถือว่าเป็นบวก หากค่า PI ของซีรัมทดสอบมีค่าต่ำกว่า 50% แสดงว่า PI ซีรัมทดสอบจะถือเป็นลบ (Ferris, 2004)

- **Non-structural protein; NSP ELISA and DIVA based diagnostic approach**

การตรวจหาแอนติบอดีต่อ NSP ของเชื้อ FMDV เป็นวิธีการที่ละเอียดอ่อนและเฉพาะเจาะจงในการแยกความแตกต่างระหว่างการติดเชื้อและการฉีดวัคซีน (Clavijo *et al.*, 2004) โดยทั่วไปของการฉีดวัคซีนจะมีการติดตามแผนระวางการตรวจหา NSP อย่างต่อเนื่อง พบว่าอาจมีการพัฒนาแอนติบอดีต่อ NSP ที่จำเพาะ (Mackay *et al.*, 1998) โดยมีรายงานการปรับปรุงวิธีการผลิตวัคซีนที่เกี่ยวข้องกับส่วนประกอบของ NSP ให้มีปริมาณลดลงเหลือในระดับที่ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ seroconversion หลังการฉีดวัคซีนได้ (Doel, 2001)

สำหรับการทดสอบทางซีรัมวิทยาเพื่อตรวจหา NSP โดยหลักการเพื่อจะตรวจหาแอนติบอดีต่อโครงสร้างของไวรัสที่เหมือนกับแคปซิดของโปรตีน เนื่องจากวัคซีน FMD จะกระตุ้นให้มีการตอบสนองต่อการสร้างแอนติบอดีต่อโปรตีนโครงสร้างของไวรัส (SP) ดังนั้นการทดสอบในกลุ่มสัตว์ที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนเพื่อประเมินสถานการณ์สัมผัสเชื้อ FMDV จึงเป็นกระบวนการเพื่อคัดกรองสัตว์ที่มีการ

ตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันที่เชื่อมโยงกับการตรวจพบแอนติบอดีต่อ NSP ได้ อย่างไรก็ตามการทดสอบ NSP จะไม่ได้จำเพาะต่อซีโรไทป์และสามารถใช้ได้ทั้งในสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนและไม่ได้รับการฉีดวัคซีน แต่มีความไว้น้อยกว่าทำให้อาจตรวจไม่พบกรณีที่มีการจำลองไวรัสจำกัด รวมถึงสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนบางชนิดที่ติดเชื้อมาแล้ว จากข้อจำกัดดังกล่าวจึงใช้การทดสอบเพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อ NSP ในกรณีการประเมินระดับภูมิคุ้มกันภายหลังการฉีดวัคซีนโรค FMD ในระดับฝูงของแผนการควบคุมและป้องกันโรค

สำหรับการทดสอบดังกล่าวเป็นเทคนิคที่เรียกว่า Differentiate Infected from Vaccinated Animals; DIVA ซึ่งเป็นการทดสอบทางซีรัมวิทยาที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างแอนติบอดีที่เกิดจากวัคซีนและแอนติบอดีที่ต่อต้านไวรัสจากพื้นที่ จากเทคนิคดังกล่าวเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อ NSP จากกระบวนการลบยีน NSP (3ABC) ได้ถูกนำมาใช้ตามแนวทางของ DIVA สำหรับการตรวจสอบ FMD ด้วยรูปแบบ indirect ELISA ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสำรวจทางซีรัมวิทยาของฝูงปศุสัตว์ ในสถานการณ์หลังการระบาดในอนาคต นอกจากนี้การระบุ NSP ของ FMD โดยยีน 3ABC ดูเหมือนจะเป็นหนึ่งในวิธีการที่เชื่อถือของการจำลองแบบของไวรัส FMD (Grubman, 2005; Handerson, 2005) ซึ่งจากการนำเทคนิคด้านพันธุกรรมมาประกอบการจำแนกลักษณะเฉพาะทางซีรัมวิทยาเพื่อระบุแยกสัตว์ที่ทำวัคซีนออกจากสัตว์ที่ติดเชื้อโดยธรรมชาติได้ ทำให้ง่ายต่อการวางแผนป้องกันโรค ซึ่งในกระบวนการผลิตวัคซีนที่มีขั้นตอนการลบยีนออกจากเชื้อทำให้เกิดการพัฒนาของ "Marker vaccine" มาใช้ร่วมกับการตรวจวินิจฉัยที่เหมาะสม ส่งผลให้สามารถแยกแยะการติดเชื้อจากสัตว์ที่ได้รับวัคซีนโดยการสร้างความแตกต่างของการตอบสนองของแอนติบอดีที่เกิดจากวัคซีนด้วยยีนที่เกิดขึ้นกับแอนติบอดีที่เกิดขึ้นระหว่างการติดเชื้อไวรัสในธรรมชาติได้ (Uttenchal *et al.*, 2010)

ในกระบวนการทดสอบเพื่อตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะต่อเชื้อ FMDV ในตัวอย่างซีรัมจะมีรูปแบบเป็น Solid-phase ELISA โดยในขั้นตอนแรกตัวอย่างซีรัมจะจับกับแอนติเจน FMDV (NSP 3ABC) ที่เคลือบไว้ที่ ELISA plate จากนั้น Conjugated HRP ที่เติมเข้าไปในเวลาต่อมา จะก่อให้เกิดสารเชิงซ้อนกับแอนติบอดี FMDV และกรณีที่ไม่เกิดปฏิกิริยาการจับเกาะกัน เมื่อเติมสารละลาย Substrate ลงไปจะพบว่ามีสีฟ้า-เขียวเกิดขึ้น แล้วทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลายหยุดปฏิกิริยา ทำให้สามารถอ่านผลทดสอบได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 405 นาโนเมตร

นอกจากนี้พบว่า NSP ในส่วนของ 2C, 3AB และ 3ABC มีความสามารถในการแยกสัตว์ที่ติดเชื้อออกจากสัตว์ที่ฉีดวัคซีนหรือสัตว์ปกติได้ (Mezencio *et al.*, 1998) แต่ส่วนมากจะเป็นการศึกษาในส่วนของโปรตีนชนิด 3ABC (De Diego *et al.*, 1997) โดยในปัจจุบันการตรวจด้วยวิธีนี้ยังนิยมใช้อย่างกว้างขวาง ซึ่งมีการผลิตเป็นชุดทดสอบเชิงพาณิชย์ออกจำหน่าย แต่ยังคงพบว่าการทดสอบโรคโดยวิธีดังกล่าวยังให้ผลการทดสอบที่ความไวไม่ถึง 100% อย่างไรก็ตามวิธีนี้สามารถใช้ในการตรวจคัดกรองโรคได้ดี โดยเฉพาะในประเทศที่ยังใช้วัคซีนในการป้องกันและควบคุมโรค

- Indirect Sandwich ELISA

Crowther (1978) ได้รายงานเป็นครั้งแรกเกี่ยวกับการใช้ Indirect ELISA ในการคัดกรองโคเพื่อหาแอนติบอดีต่อเชื้อ FMDV และต่อมาได้มีการศึกษา ELISA แบบ Sandwich โดยใช้ภูมิโนโกลบูลินจากโค (Igs) ซึ่งเป็นการจับกับซีรัมที่ต่อต้านต่ออนุภาค 146S ที่เตรียมจากหนูตะเภาที่ได้รับการฉีด 146S เป็น Anti serum โดยพบว่าเหมาะสำหรับการตรวจและหาปริมาณเชื้อ FMDV ในของเหลวจากสารละลายเพาะเลี้ยงของเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อและตัวอย่างเนื้อเยื่อปม (Crowther and Abu-El Zein, 1979)

สำหรับการทดสอบซีรัมเพื่อตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธี ELISA โดยกระบวนการเตรียมส่วนผสมระหว่างแอนติเจนของ FMDV มาตรฐานกับซีรัมที่มีแอนติบอดีไว้วางหน้า ก่อนที่จะเติมลงใน ELISA plate ที่เคลือบด้วยแอนติบอดีที่ต่อต้าน FMD นั้น พบว่ากรณีที่มีปริมาณแอนติบอดีอยู่ในซีรัมตัวอย่างจะทำให้เกิดการ Neutralized FMDV มาตรฐาน ซึ่งจะทำให้ไม่สามารถจับกับแอนติบอดีที่เคลือบบน ELISA Plate ได้ ดังนั้นหากไม่มีแอนติบอดีจำเพาะต่อไวรัสในซีรัมตัวอย่าง ผลที่ได้ก็จะสามารถเกิดการจับตัวกันกับ FMDV มาตรฐานที่เคลือบไว้บน ELISA Plate ได้ ดังนั้นปฏิกิริยาการเกิดสีเป็นบวก จะแปลผลว่าการทดสอบเป็นลบ (Hamblin *et al.*, 1986a; Hamblin *et al.*, 1986b)

สำหรับการทดสอบด้วยเทคนิค Indirect Sandwich ELISA เพื่อตรวจสอบแอนติเจนเป็นมาตรฐานการทดสอบที่กำหนดไว้เพื่อยืนยันการมีอยู่ของแอนติเจน FMDV ในตัวอย่างเนื้อเยื่อ (Roeder and Le Blanc Smith 1987; Ferris and Dawson, 1988) โดยการทดสอบจะเคลือบ ELISA plate ด้วยแอนติซีรัมของกระต่ายที่จำเพาะสำหรับซีโรไทป์ต่างๆ ของ FMDV เมื่อเติมตัวอย่างทดสอบแอนติเจน (ถ้ามี) จะถูกดักจับโดยแอนติบอดีที่ตรึงไว้ จากนั้นจึงเติมแอนติบอดีจากซีรัมของหนูตะเภาที่จำเพาะซีโรไทป์เพื่อตรวจจับเชื้อ FMDV และเมื่อทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่ติดอยู่แล้ว แอนติบอดีของหนูตะเภาจะถูกตรวจพบโดย Anti serum ของกระต่ายที่ต่อต้านต่อ Anti serum ของหนูตะเภา และเมื่อทำปฏิกิริยากับ horseradish peroxidase โดยการเติมสารละลาย Substrate (Chromogene) จะแสดงให้เห็นการเกิดสีขึ้น โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อแปลผลการตรวจพบปริมาณแอนติเจนของตัวอย่างทดสอบ

2.4 Nucleic acid recognition method

วิธี RT-PCR ที่ใช้เป็นเครื่องมือวินิจฉัยเชื้อ FMDV โดยใช้ Primer จำเพาะได้รับการออกแบบเพื่อใช้จำแนกให้ได้ 7 ซีโรไทป์ โดยเทคนิคการผสมแบบ *in-situ* ที่ได้รับการพัฒนาเพื่อตรวจสอบ RNA ในตัวอย่างเนื้อเยื่อ (Woodbury *et al.*, 1995) จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าข้อมูลทางพันธุกรรมอยู่ในจีโนม RNA ของ FMDV ที่มีการจัดลำดับได้โดยตรง แต่เนื่องจาก RNA นั้นไม่เสถียรจึงทำการคัดลอกลงใน cDNA ก่อนทำการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ และเมื่อใช้เอนไซม์ reverse transcriptase (RT) ร่วมกับเทคนิค PCR ทำให้เกิดการพัฒนามาเป็นเทคนิคที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพมากขึ้นสำหรับการศึกษาลำดับจีโนม RNA ที่หลากหลาย ในปัจจุบันการศึกษาทางระบาดวิทยาของ FMDV ได้มีการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน VP1 อย่างกว้างขวางเพื่อระบุความสัมพันธ์ของเชื้อ FMDV ที่แยกได้ โดยเทคนิคนี้ยังใช้เป็นวิธีการทดสอบประจำเพื่อตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมและวิวัฒนาการของโมเลกุลในสัตว์พาหะ และสามารถระบุแหล่งที่มาของการติดเชื้อในสถานะที่มีการระบาด (Vosloo *et al.*, 2002)

นอกจากนี้ยังมีเทคนิคพิเศษที่ได้รับการพัฒนาขึ้นใหม่อื่นๆ ที่สามารถวินิจฉัยได้รวดเร็วและมีความไวสำหรับการตรวจจับและเฝ้าระวัง FMDV (Lau *et al.*, 2008) ได้แก่ วิธี Nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) ซึ่งเป็นการทดสอบการขยายลำดับกรดนิวคลีอิกเพื่อตรวจหา FMDV ซึ่งวิธีการ NASBA จำแนกได้เป็น 2 วิธี คือ NASBA electrochemiluminescence และ NASBA-enzyme linked oligonucleotide capture (NASBA-EOC)

2.6 Loop-mediated isothermal amplification; LAMP

LAMP เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม RNA และ DNA โดยไพรเมอร์ทดสอบจะเพิ่มปริมาณ template ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์รูปห่วงก้านยาว (long stem loop) ภายใต้สภาวะอุณหภูมิคงที่ โดยทั่วไป PCR product ที่ทดสอบ reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) จะได้รับการวิเคราะห์ด้วย agarose gel electrophoresis 2.5% โดยขึ้นอยู่กับขนาดของผลิตภัณฑ์ LAMP เพื่อสร้างการตรวจหาไวรัส FMD ที่มีความไวและรวดเร็ว และข้อดีประการหนึ่งของ RT-LAMP คือ สามารถดูผลิตภัณฑ์ได้โดยตรงด้วยตาเปล่า (Chen *et al.*, 2011)

ตารางที่ 6 วิธีทดสอบที่ใช้สำหรับการวินิจฉัยโรค FMD และวัตถุประสงค์

วิธีการ	วัตถุประสงค์					
	ยืนยันสถานะปลอดเชื้อ	เพื่อการเคลื่อนย้าย	มาตรการกำจัดโรค	กรณี การวินิจฉัยเพื่อยืนยัน	ความชุกของมาตรการเฝ้าระวังโรค	สถานะภูมิคุ้มกันในสัตว์ภูมิคุ้มกันภายหลังการได้รับวัคซีน
การระบุวิธีการ^(a)						
Virus Isolation	-	+	+++	+++	-	-
CFT	-	-	+	+	-	-
Antigen detection ELISA	-	-	+++	+++	-	-
LFD	-	-	+++	+++	-	-
Real-time-PCR	+	+	+++	+++	+	-
RT-PCR	+	+	+++	+++	+	-
การตรวจหาการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน						
NSP Ab ELISA	+++	++	+++	+++	+++	-
SP Ab ELISA ^(b)	++	++	+++	+++	++	+++
VNT ^(b)	++	++	+++	+++	++	+++
AGID ^(b)	+	+	+	+	+	-
หมายเหตุ:	+++	= วิธีที่แนะนำ ตรวจสอบตามวัตถุประสงค์ที่แสดงแล้ว				
	++	= วิธีการที่เหมาะสมแต่อาจต้องมีการตรวจสอบเพิ่มเติม				
	+	= อาจใช้ได้ในบางสถานการณ์ แต่มิได้ต้นทุน ความน่าเชื่อถือ หรือปัจจัยอื่น ๆ				
	-	= ไม่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์นี้				
	(a)	= จำเป็นต้องยืนยันเชื้อ FMDV หลังจากการแยกไวรัสโดยการทดสอบการตรวจหาแอนติเจนหรือการตรวจด้วยวิธีอื่น				
	(b)	= การทดสอบไม่สามารถแยกการติดเชื้อจากสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีน				

ที่มา: WOAHS Terrestrial Manual (2022)

บทที่ 4

การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางแอนติเจนและพันธุกรรมของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

● ความผันแปรของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

โรคปากและเท้าเปื่อยในเชิงเศรษฐกิจถือว่าเป็นโรคทางปศุสัตว์ที่สำคัญโรคหนึ่งในประเทศไทย ซึ่งส่งผลกระทบต่อสัตว์กับคู่ส่วนใหญ่ โดยเชื้อ FMDV มีความหลากหลายทางแอนติเจนสูงทำให้ควบคุมโรคได้ยาก สาเหตุมาจากสายพันธุ์วัคซีนที่ไม่เหมาะสมประกอบกับการผลิตวัคซีนสายพันธุ์ฉุกเฉินที่ไม่ทันท่วงทีในกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากการผลิตวัคซีนต้องใช้เวลาและโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้องมีความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยากับสายพันธุ์ที่ระบาดในพื้นที่ขณะนั้นด้วย

การแปรผันของแอนติเจนเป็นลักษณะเด่นของไวรัส FMD ซึ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงโปรตีนบนพื้นผิว เพื่อหลีกเลี่ยงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของโฮสต์ โดยการกลายพันธุ์มักจะเป็นการแทนที่กรดอะมิโนของโปรตีนไวรัส ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสามารถพบได้ทั้งในพื้นที่ระบาดหรือในห้องปฏิบัติการที่ทำให้เกิดการพัฒนาไวรัสสายพันธุ์ใหม่ที่แตกต่างออกไปจากสายพันธุ์เดิมที่มีอยู่ จากการกลายพันธุ์ส่งผลต่อประสิทธิภาพของสายพันธุ์วัคซีนที่ใช้ในการควบคุมโรคยากขึ้น ซึ่งความแปรปรวนที่พบในระดับสูงจะอยู่ที่ส่วน VP1 ของไวรัส ดังนั้นจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาข้ามที่ต่ำลง โดยสังเกตได้จากซีโรไทป์ต่างๆ ของเชื้อ FMDV ที่มีความแปรปรวนของแอนติเจนในระดับที่สูง อาจมีสาเหตุมาจากหลายประการ เช่น

- อัตราการกลายพันธุ์สูง
- การรวมตัวกันทางพันธุกรรม
- ลักษณะเหมือนของไวรัส
- การหมุนเวียนของไวรัสอย่างต่อเนื่องในพื้นที่

ซึ่งสาเหตุเหล่านี้ล้วนมีผลทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างรุนแรงในการผลิตปศุสัตว์ (Longjam and Tayo, 2011)

ในปัจจุบันประเทศไทยพบการระบาด 2 ซีโรไทป์ คือ O กับ A แต่ไม่มีรายงานการพบซีโรไทป์ Asia 1 ในประเทศตั้งแต่ปี 1998 จากการศึกษาที่ผ่านมาของเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ A ในประเทศไทย พบว่าการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจนอย่างต่อเนื่อง จากการตรวจสอบด้วยวิธี vaccine matching เพื่อหาค่า r-value โดยพิจารณาความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาระหว่างเชื้อที่ระบาดในพื้นที่เทียบกับเชื้อที่เป็น Seed vaccine ซึ่งได้ดำเนินการทดสอบอย่างสม่ำเสมอเป็นประจำทุกปี ดังรายละเอียดพอสังเขป ต่อไปนี้

- เชื้อ FMDV ในพื้นที่ของซีโรไทป์ A ที่ทำให้เกิดการระบาดในปี 1998-1997 พบว่ามีความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาอย่างใกล้ชิดกับวัคซีนสายพันธุ์ A/Sakolnakorn/97 (Linchongsubongkoch *et al*, 2000)
- สำหรับเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ A ที่ทำให้เกิดการระบาดระหว่างปี 2001-2007 และระหว่างปี 2008-2009 มีความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาอย่างใกล้ชิดกับวัคซีนสายพันธุ์ A118/87 (Seeyo *et al*, 2020)

- สำหรับเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ A ส่วนใหญ่ในปี 2010-2011 มีความความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาอย่างใกล้ชิดกับ A/Sakolnakorn/97 อีกครั้ง สิ่งที่น่าสนใจคือ ไวรัสซีโรไทป์ A ที่ทำให้เกิดการระบาดในช่วงปลายปี 2010-2011 มีการเปลี่ยนแปลงทางแอนติเจนจากทั้ง A/Sakolnakorn/97 และ A/118/87 ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีนในขณะนั้น จากการศึกษาการแพร่กระจายของไวรัสในพื้นที่ที่มีการระบาดและเพิ่มจำนวนขึ้นในสัตว์ที่อ่อนแอและปรากฏการณ์ที่แอนติเจนมีการแปรผันที่สูงโดยเบี่ยงเบนไปจากสายพันธุ์วัคซีน โดยผลการทดสอบ vaccine matching ให้ค่า r_1 -value ของไวรัสที่ลดลงบ่งชี้ว่าไม่มีความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาเมื่อเทียบกับสายพันธุ์วัคซีน A/sakolnakorn/97 และ A118/87 โดยการทดสอบด้วยเทคนิค ELISA เพื่อวิเคราะห์โปรไฟล์ของแอนติเจน (Seeyo *et al*, 2012) โดยจากผลการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อหา ค่า r_1 -value ของไวรัสชนิดเดียวกันพบว่า การทดสอบ vaccine matching เทียบกับ A22/Iraq/64 ให้ผลที่ดี (ค่า r_1 -value มากกว่า 0.40 เมื่อเทียบกับกับ A22/Iraq/64) (Linchongsubongkoch *et al.*, 2012) ซึ่งส่วนใหญ่สามารถบ่งชี้ว่าให้ค่า r_1 ที่สูงเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิง A22/Iraq/64 ซึ่งเป็นสายพันธุ์วัคซีนจาก World Reference Laboratory (WRL) (ข้อมูลไม่ได้รับการเผยแพร่) อย่างไรก็ตามต้องคำนึงถึงที่มาของไวรัสด้วย เนื่องจากเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ A จำนวนมากที่แยกได้ในขณะนั้นมาจากสายพันธุ์ท้องถิ่นของจังหวัดลพบุรีในปี 2012 และได้ทำการส่งไปตรวจยืนยันที่ WRL, Pirbright, United Kingdom (UK) เพื่อจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมโดยการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อสืบย้อนถึงต้นกำเนิดของไวรัสที่ทำให้เกิดการระบาดในพื้นที่ และจากผลการศึกษาการวิเคราะห์ Phylogenetic Tree เพื่อพิจารณาเกี่ยวกับสายวิวัฒนาการพบว่าลำดับวงศ์ตระกูลถูกกำหนดให้เป็น ASIA topotype และไม่ถือว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากเชื้อ FMDV ซีโรไทป์ A ก่อนหน้านี้ที่พบในประเทศไทย ดังนั้นจากการเปลี่ยนทางแอนติเจนโดยที่ไม่เปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมจึงเป็นที่มาของการเกิดสายพันธุ์ใหม่ของวัคซีน A/ลพบุรี/2012 ล่าสุด

นอกจากนี้ข้อมูลการศึกษาในภูมิภาคแอฟริกาตะวันออก พบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงเช่นเดียวกัน โดยพบการแพร่กระจายเป็นบริเวณกว้างและการแพร่กระจายข้ามพรมแดนของซีโรไทป์ A ทั้งภูมิภาคนี้ๆ จึงได้มีการแนะนำเกี่ยวกับการเฝ้าระวังไวรัสอย่างต่อเนื่อง ควบคู่ไปกับการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมและแอนติเจน เพื่อปรับปรุงกลยุทธ์การควบคุมในระดับภูมิภาค (Wekesa *et al.*, 2014) จากตัวอย่างของข้อมูลการศึกษาโรค FMD ในประเทศแซมเบียเกี่ยวกับการกระจายของการระบาดเชิงพื้นที่แบบชั่วคราวเพื่อประเมินกลุ่มและแนวทางการควบคุม พบว่ากลุ่มเป้าหมายที่ใช้ในการศึกษาในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูงต่อโรค FMD เนื่องจากอุบัติการณ์ของโรค FMD ซีโรไทป์ A มีความสัมพันธ์กับความแปรผันของแอนติเจน บ่งชี้ให้เห็นถึงแนวโน้มของการแปรผันแบบไดนามิกในภูมิภาคต่างๆ จากข้อมูลทางระบาดวิทยาที่อธิบายถึงปัจจัยความเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดโรค FMD (Sinkala *et al.*, 2014)

● การเปลี่ยนแปลงของแอนติเจน

ข้อมูลเกี่ยวกับแอนติเจนที่มีการผันแปรจนเกิดเป็นแอนติเจนใหม่ ซึ่งจากการแปรผันทางพันธุกรรมผ่านการกลายพันธุ์ การรวมตัวกันใหม่ และการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจนจนนำไปสู่คัดเลือกแอนติเจนที่เหมาะสม มีความสำคัญต่อการจัดเตรียมวัคซีนที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากวัคซีนยังเป็นมาตรการในการต่อต้านการติดเชื้อ หากประสิทธิภาพของวัคซีนต่ำอาจส่งผลทำให้ผลของการป้องกันและควบคุมโรคลดลง

สำหรับการขาดคุณสมบัติในการป้องกันข้ามระหว่างซีโรไทป์ของเชื้อ FMDV คือ การฉีดวัคซีนด้วยซีโรไทป์ที่มีแอนติเจนสายพันธุ์หนึ่งแต่ไม่สามารถปกป้องสัตว์จากไวรัสสายพันธุ์ที่แตกต่างกันได้ รวมถึงการไม่ป้องกันสายพันธุ์ภายในซีโรไทป์เดียวกันได้ (Sangare, 2002) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจนอาจเป็นกลยุทธ์การปรับตัวที่สำคัญของเชื้อ FMDV ที่อาจส่งผลให้ประสิทธิภาพของวัคซีนลดลงในพื้นที่ได้ ดังนั้นสิ่งสำคัญในการตรวจสอบลักษณะและการแพร่กระจายของไวรัสในพื้นที่ที่มีการแปรผัน จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีนที่เหมาะสมและจำเป็นต่อการรักษาประสิทธิผลของโปรแกรมการควบคุม FMD

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจนเป็นหนึ่งในลักษณะเฉพาะของเชื้อ FMDV ซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงโปรตีนบนพื้นผิวเพื่อหลีกเลี่ยงการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสัมพันธ์กับความแปรปรวนที่สูงในส่วน VP1 ของเชื้อ FMDV ทำให้เกิดปฏิกิริยาข้ามที่ต่ำนั่นเอง ในปัจจุบันการศึกษาความหลากหลายของแอนติเจนแสดงให้เห็นผลกระทบร้ายแรงในการออกแบบวัคซีน เนื่องจากวัคซีนสังเคราะห์จำเป็นต้องมี epitope อิสระหลายตัวเพื่อลดความน่าจะเป็นในการเลือกเชื้อ FMDV ที่สามารถต้านทานต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันได้ (Longjam *et al.*, 2011)

ดังนั้นจากทดสอบ Vaccine matching ระหว่างไวรัสในพื้นที่เทียบกับไวรัสวัคซีนจึงมีความจำเป็นเพื่อให้แน่ใจว่าวัคซีนที่ใช้อยู่มีประสิทธิภาพเพียงพอ ดังนั้นการศึกษาสายพันธุ์ใหม่ที่มีอยู่ในพื้นที่อย่างต่อเนื่องและสามารถจำแนกคุณลักษณะทางแอนติเจนได้ ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในการรู้เรียนสถานการณ์และการควบคุมโรค

● โครงสร้างแอนติเจนของเชื้อ FMDV

ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างตำแหน่งของแอนติเจนบนพื้นผิวของเชื้อ FMDV มีการระบุใน ซีโรไทป์ 5 จาก 7 ซีโรไทป์ของไวรัส (ยกเว้นเฉพาะ SAT1 และ SAT3) ซึ่งจากการศึกษาทางชีววิทยาสามารถแสดงซีโรไทป์ต่างๆ ของเชื้อ FMDV โดยบริเวณที่ทำให้เกิดการแปรผันที่สูงของส่วน VP1 ประกอบด้วย Residue 135 ถึง 155 ที่เป็นจุดสำคัญของแอนติเจน โดยพบว่า epitope ของ B-cell ที่มีลักษณะทับซ้อนกันหลายตัวจะอยู่ภายในตำแหน่งดังกล่าว และสามารถกระตุ้นการตอบสนองของแอนติบอดีทั้งรูปแบบเป็นกลางและไม่ทำให้เป็นกลางได้ (Strohmaier *et al.*, 1982)

VP1

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าส่วน VP1 จะมีระดับความแปรปรวนที่สูง ส่งผลทำให้เกิดปฏิกิริยาข้ามที่ต่ำ โดยการพิจารณาจากหลายซีโรไทป์ที่แตกต่างกัน (Cheung *et al.*, 1983) โดยส่วนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันคือ Loop ที่เชื่อมต่อกับส่วน Beta ของ G และ H ที่อยู่ในส่วน VP1 จึงมีการเรียกบริเวณนี้ว่า “G-H loop” (Acharya *et al.*, 1989)

จากการศึกษาเกี่ยวกับตำแหน่งภายในแอนติเจนของซีโรไทป์ A พบว่ามีแนวโน้มสูงที่จะเกิดการทดแทนกรดอะมิโน ส่งผลให้มีอัตราการกลายพันธุ์สูงในระหว่างการจำลองแบบ RNA โดยตำแหน่ง VP1 นี้จะมี Receptor RGD (Arg-Gly-Asp) ที่ทำหน้าที่ในการรับรู้และถือว่าเป็นตำแหน่งของแอนติเจนที่สำคัญสำหรับตำแหน่งแอนติเจนอื่นๆ ที่สำคัญของเชื้อ FMDV ในหลายซีโรไทป์ ได้แก่

- C-terminal ของ VP1 เมื่อรวมตัวกับ G-H Loop จะทำหน้าที่เป็นตัวกำหนดตำแหน่งแอนติเจนหลักของซีโรไทป์ O เป็นต้น (McCahon and Crowther, 1989)
- ตำแหน่งที่บริเวณ C-terminal ของ VP1
- ตำแหน่งที่บริเวณ B-B ของ VP3
- ตำแหน่งที่บริเวณ Loop B-C ของ VP2 ที่อยู่ใกล้กับแกนสามพับของแคปซิด เป็นต้น

● ความหลากหลายลำดับนิวคลีโอไทด์ของ FMDV

จากการเปรียบเทียบเชื้อ FMDV มากกว่า 100 สายพันธุ์ จากตัวแทนของทั้ง 7 ซีโรไทป์ (Carrillo *et al*, 2005) พบว่าที่ตำแหน่ง 5' UTR มีความจำเพาะของ nt โดยเฉลี่ยระหว่างซีโรไทป์ทั้งหมดมากกว่า 80% และสำหรับบริเวณที่มีการแปลรหัส Polyprotein ทั้งหมด (ประมาณ 7,000 nt) มีความจำเพาะของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างไวรัส 2 ตัวที่ใช้ในการแยกกัน คือ อย่างน้อย 73 % นอกจากนี้พบว่า VP1 (ประมาณ 639 nt) มีความแปรผันระหว่างสายพันธุ์มากกว่าบริเวณของ Polyprotein ส่วนใหญ่ จากค่าความจำเพาะของ nt พบว่าโดยประมาณจะอยู่ระหว่าง 50–70% ของซีโรไทป์ทั้งหมด ซึ่ง VP1 จะมีสัดส่วนของกรดอะมิโนที่คงที่น้อยสุด คือ 24% ในบรรดาโปรตีนชนิดต่างๆ ที่มาจาก Polyprotein

ในกรณีที่เกิดการเปลี่ยนแปลง (เช่น ในบริเวณ Loop ที่เชื่อมต่อองค์ประกอบโครงสร้างภายในโปรตีนแคปซิดที่สัมผัสพื้นผิว VP1, VP2 และ VP3) จะนำไปสู่การคัดเลือก Seed vaccine ซึ่งเป็นผลมาจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อลักษณะของอนุภาคไวรัสโปรตีน ส่วนของ VP4 ที่อยู่ภายในอนุภาคที่สมบูรณ์ของแคปซิดนั้นมีความแปรปรวนน้อยกว่ามาก (พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงถึง 81%)

อย่างไรก็ตามโปรตีนแคปซิดในส่วน VP1 ก็ยังมีความสามารถในการรักษาสภาพการคงอยู่ไว้ในระดับที่สูง เช่น ส่วนของ Standard RGD (Arg-Gly-Asp) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ใช้ในการโต้ตอบกับตัวรับ integrin ของเซลล์ ดังนั้นการนำไวรัสเข้าสู่เซลล์ที่มีการคงสภาพของ C-terminus ของ FMDV ในส่วน VP1 จึงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการประมวลผลสารตั้งต้นแคปซิด P1-2A ซึ่งเป็นการรักษาสภาพความเสถียรในระดับสูงระหว่างสกุล Picornavirus ที่แตกต่างกันนั่นเอง

● การจำลองแบบ RNA ของไวรัสที่มีข้อผิดพลาดได้ง่าย

นอกเหนือจากการทำหน้าที่เป็น mRNA แล้ว จีโนม FMDV ยังทำหน้าที่เป็นแม่แบบสำหรับการจำลองแบบ RNA ด้วย ดังนั้นอย่างน้อยในหนึ่งโมเลกุลแต่ละเซลล์ที่ติดเชื้อ พบว่ากระบวนการแปลรหัส RNA ของไวรัสต้องหยุดลงเพื่อให้สามารถสังเคราะห์ RNA เชิงลบได้ โดยในระหว่างการสังเคราะห์โปรตีนนั้น Ribosome จะเคลื่อนที่ไปตาม RNA ในทิศทาง 5' ถึง 3' และในขณะที่มีการจำลองแบบ RNA นั้น ในส่วนของ RNA polymerase จะเริ่มการสังเคราะห์ของเส้นเชิงลบที่ปลายทางด้าน 3' ของ RNA จากนั้นเส้นใยเชิงลบที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่จะถูกนำมาใช้เป็นแม่แบบสำหรับการผลิตสำเนา RNA เชิงบวกต่อไป และยังสามารถนำมาใช้สำหรับการแปลรหัส (สำหรับการผลิตโปรตีนของไวรัส) หรือเป็นแม่แบบสำหรับการผลิต RNA เชิงลบเพิ่มเติมหรือบรรจุเป็นอนุภาคไวรัสตัวใหม่ต่อไป

การจำลองแบบของ RNA ของไวรัสจะเกิดขึ้นในโครงสร้างที่ได้มาจากเยื่อหุ้มเซลล์ เรียกว่า Replication Complex ซึ่งประกอบด้วยโฮสต์และโปรตีนของไวรัสจำนวนหนึ่ง (2C และ 3Dpol) ที่จำเป็น

สำหรับกระบวนการจำลองแบบของ RNA ของไวรัส โดยพบว่าจะมีแนวโน้มที่จะเกิดข้อผิดพลาดได้ง่าย คือ นิวคลีโอไทด์ที่ไม่ถูกต้องจะรวมอยู่ในสำเนาของ RNA ดังนั้นการประเมินอัตราความผิดพลาดของ RNA polymerase โดยเฉลี่ยแล้ว จะพบข้อผิดพลาดเกิดขึ้นที่ประมาณ 1 ครั้งต่อทุกๆ 10,000 nt ที่ถูกสังเคราะห์ ซึ่งหมายความว่าจีโนม FMDV เกือบทุกจีโนมมีข้อผิดพลาดอย่างน้อยหนึ่งครั้งจากการคัดลอกประมาณ 17,000 nt เพื่อสร้างโมเลกุล RNA ของจีโนมใหม่

ในกรณีของประชากร RNA ของไวรัสทั้งหมดที่เกี่ยวข้องกันอย่างใกล้ชิดจะเรียกว่า “กิ่งสายพันธุ์” ซึ่งการปรับเปลี่ยนความถูกต้อง (อาจเพิ่มหรือลดอัตราข้อผิดพลาด) ในส่วน 3Dpol ของ picornaviruses มีผลต่อการลด “ความเหมาะสม” ของไวรัส ดังนั้นความสมดุลของการรักษาลำดับของ RNA ที่ทำงานได้อย่างสมบูรณ์และความสามารถปรับตัวให้เข้ากับสถานะใหม่ได้อย่างรวดเร็ว สามารถพบข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องทำให้จำนวนไวรัสมีการพัฒนาการอยู่เสมอ อย่างไรก็ตามการพิจารณาจากการคัดเลือกเชื้อ FMDV ที่มีการเปลี่ยนแปลงที่ 0.5–1.0% ของจีโนมต่อปี ซึ่งคิดเป็นประมาณ 40–80 nt ต่อปี หรือประมาณ 1–2 nt ของการเปลี่ยนแปลงต่อสัปดาห์นั้น อาจทำให้เกิดการปรับเปลี่ยนด้านชีววิทยาของไวรัสได้ (เช่น ในด้านแอนติเจนหรือความเร็วของการจำลองแบบ) ซึ่งถือว่ามีประโยชน์ในแง่การติดตามการแพร่กระจายของไวรัสในระหว่างการระบาดของโรคอีกด้วย โดยข้อผิดพลาดของ RNA polymerase จะเกิดขึ้นทั่วทั้งจีโนมของไวรัส และจากข้อมูลการวิเคราะห์ไวรัสสายเดี่ยวจากการระบาดในสหราชอาณาจักรเมื่อปี 2001 โดยได้มาจากแหล่งเดียวและแพร่กระจายในสัตว์ที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีน พบว่าการแทนที่ของ nt ภายในขอบเขตการแปลรหัสสำหรับ Polyprotein ทั้งหมด ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ปรับเปลี่ยนการทำงานของโปรตีนมักจะส่งผลเสียแต่อย่างไรก็ตามในบางตำแหน่งของจีโนมก็มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงมากกว่าส่วนอื่นๆ มาก โดยพบว่าในประชากรที่ได้รับการฉีดวัคซีน อาจมีการต่อต้านในการเลือกตัวแปรที่มีส่งผลต่อการปรับเปลี่ยนแอนติเจน

● ประเภทของการเปลี่ยนแปลงแอนติเจน

1. ความแปรผันของแอนติเจนในพื้นที่

การศึกษาในพื้นที่พบว่าความแปรผันของแอนติเจนเพิ่มขึ้นตามเวลาและอาจเป็นผลมาจากการต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันที่มีต่อไวรัส โดยสายพันธุ์โฮสต์ที่ติดเชื้อหรือที่ได้รับการฉีดวัคซีน การต่อต้านจากระบบภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการจำลองแบบของไวรัสในสัตว์ที่มีระดับแอนติบอดีที่เป็นกลางไม่มากเพียงพอ (Domingo *et al.*, 2003) โดยการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม พบว่ายังเกิดขึ้นระหว่างการติดเชื้อในสัตว์อย่างต่อเนื่อง (Gebauer *et al.*, 1988; Salt, 1993; Malirat *et al.*, 1994, Woodbury, 1995) ซึ่งข้อมูลนี้พบว่าไวรัสที่มีความแตกต่างกันจากการติดเชื้อมีกระบวนการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับของนิวคลีโอไทด์ของกรดอะมิโนสามารถเปลี่ยนคุณสมบัติของแอนติเจนและการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของตัวแอนติเจนของไวรัสได้

2. ความแปรปรวนของแอนติเจนที่เกิดขึ้นในกระบวนการขยายพันธุ์ในการเพาะเลี้ยงเซลล์

มีบางรายงานวิจัยพบว่าการแพร่กระจายและการจำลองแบบของไวรัสในการเพาะเลี้ยงเซลล์เพิ่มความเป็นไปได้ในการสร้างตัวแปรของแอนติเจน ตัวอย่างเช่น ในการผลิตวัคซีนพบว่าจำเป็นต้องมีการ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลาย Passage โดยตัวแปรของแอนติเจนดังกล่าวได้มีการพัฒนาตัวแอนติเจนขึ้นมาใหม่เอง จึงเป็นที่มาของข้อจำกัดในการผลิตวัคซีนในการเฝ้าระวังการกลายพันธุ์ (Sobrins *et al.*, 1983; Bolwell *et al.*, 1989)

- **สาเหตุของการแปรผันของแอนติเจน**

- 1. อัตราการกลายพันธุ์สูง**

เชื้อ FMDV มีอัตราการกลายพันธุ์ที่สูงมากเนื่องจากเป็น RNA ไวรัสที่ขาดกลไกการตรวจสอบข้อผิดพลาดในการจำลอง ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่ Base ของนิวคลีโอไทด์มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงระหว่าง 10^{-3} ถึง 10^{-5} ต่อตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ต่อการจำลองแบบ ซึ่งการขาดกลไกการแก้ไขข้อผิดพลาดนี้เป็นการบ่งชี้รูปแบบระหว่างการจำลองแบบ RNA (Holland *et al.*, 1982; Domingo and Holland., 1988; Drake and Holland., 1999) ซึ่งอัตราความผิดพลาดที่สูงนี้นำไปสู่ความแตกต่างของจีโนมไวรัส FMD ที่ถูกจำลองแบบจากจีโนมของไวรัสตั้งต้นเดิม โดยส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจน ดังนั้นสิ่งนี้อาจส่งผลให้เกิดความหลากหลายของไวรัสที่อาจเปลี่ยนแปลงได้ในองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ของยีนแคปซิดและสามารถตอบสนองต่อความแปรปรวนของแอนติเจนของไวรัสได้ (Lewis *et al.*, 1991; Meyer *et al.*, 1994)

- 2. การรวมตัวกันทางพันธุกรรม**

การศึกษาการรวมตัวกันทางพันธุกรรมใน RNA ของ FMDV เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างจีโนม RNA ที่ไม่มีการแบ่งตัวออกเป็น 2 ส่วน เป็นผลมาจาก Polymerase ในระหว่างการสังเคราะห์ RNA โดยการศึกษาการเปรียบเทียบไวรัส DNA กับ ไวรัส RNA นั้น พบไม่บ่อยนักในการรวมตัวกันอีกครั้ง (อาจเป็นเพราะไม่มีเอนไซม์โฮสต์สำหรับการรวมตัวกันของ RNA) ในกรณีของ Picornaviruses การแสดงรูปแบบของการรวมตัวใหม่มีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำมาก จากการศึกษาพบว่า การแสดงให้เห็นการรวมตัวกันอีกครั้ง มีแนวโน้มที่จะเกิดขึ้นภายใน 3 รอบครึ่งของการแปลรหัสจีโนมสำหรับ NSP และไม่ได้แสดงให้เห็นในยีนที่แปลรหัสแคปซิดของเชื้อ FMDV (King *et al.*, 1985, King, 1988) ซึ่งการกลายพันธุ์ด้วยการรวมตัวกันใหม่อาจส่งผลทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมที่อาจนำไปสู่การสร้างแอนติเจนสายพันธุ์ใหม่ และอาจทำให้เสี่ยงการตอบสนองจากระบบภูมิคุ้มกันของวัคซีนได้ (King *et al.*, 1982) นอกจากนี้มี การศึกษาที่บ่งชี้ให้เห็นว่าการรวมตัวกันของ RNA ที่เข้ารหัสแคปซิดของจีโนมอาจนำไปสู่ความหลากหลายทางพันธุกรรมในเชื้อ FMDV ที่แยกได้จากพื้นที่ (Wilson *et al.*, 1988)

ดังนั้นการแสดงการรวมตัวกันใหม่เพิ่มขึ้นด้วยการเพิ่มโครงสร้างส่วนรองในการเข้ารหัส NSP เมื่อเปรียบเทียบกับบริเวณการเข้ารหัส SP ของจีโนม เกี่ยวข้องกับการรวมตัวกันทางพันธุกรรมในไวรัส RNA ระหว่างสายพันธุ์ไวรัสที่มีซีโรไทป์เดียวกันและระหว่างซีโรไทป์ (Chibssa, 2006)

- 3. ลักษณะกึ่งสายพันธุ์ของไวรัส**

เชื้อ FMDV เป็นกึ่งสายพันธุ์ของไวรัสโดยธรรมชาติและมีความแปรปรวนสูง ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่มีส่วนในการเปลี่ยนแปลงของไวรัส โดยการแปรผันจะมีทั้งรูปแบบที่ต่อต้านหรืออาจไม่ต่อต้านการทำลายของระบบภูมิคุ้มกันนั้นๆ จากผลของวิวัฒนาการของไวรัสเอง (Borrego *et al.*, 1993; Doming *et al.*, 1993; Holguin *et al.*, 1997) ซึ่งแอนติเจนไวรัสที่มีการพัฒนาขึ้นมาใหม่จะมีความ

แตกต่างของต้นกำเนิด ซึ่งสาเหตุหนึ่งน่าจะมาจากกลไกและวิวัฒนาการของไวรัส RNA อันส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ (Lewis-Rogers *et al.*, 2008) ซึ่งการกลายพันธุ์ที่นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของ Codon และส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลง Phenotype ของไวรัสตามมา ดังนั้นระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ที่ติดเชื้อน่าจะเป็นปัจจัยหนึ่งในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพและเป็นปัจจัยสำคัญของวิวัฒนาการของไวรัส (Diez *et al.*, 1990)

4. การหมุนเวียนของไวรัสในพื้นที่อย่างต่อเนื่อง

การเพิ่มขึ้นของสายพันธุ์ใหม่เกิดจากการหมุนเวียนของไวรัสอย่างต่อเนื่องในพื้นที่และลักษณะกึ่งสปีชีส์ของจีโนม RNA (Domingo *et al.*, 2003; Haydon *et al.*, 2001) ซึ่งไวรัสที่มีการแพร่กระจายในพื้นที่ทำให้เกิดการติดเชื้อต่อโฮสต์ที่อ่อนแอและยังคงอยู่ในโฮสต์อย่างต่อเนื่อง โดยกระบวนการติดเชื้อต่อเนื่องนี้อาจเกิดจากการต้านทานของระบบภูมิคุ้มกันที่มีต่อไวรัส ไม่ว่าจะจากโฮสต์ที่ติดเชื้อหรือจากที่ได้รับการฉีดวัคซีน หรือโดยปัจจัยอื่นๆในสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจนของเชื้อ FMDV นอกจากนี้การจำลองแบบของไวรัสในสัตว์ที่มีระดับแอนติบอดีที่เป็นกลางไม่เพียงพอส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจนที่ทำให้เกิดจำนวนไวรัสแตกต่างจากที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะแอนติเจนพบว่าการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของแอนติเจน โดยพบว่าปัจจัยในการควบคุมและป้องกันโรค FMD จากการเปลี่ยนแปลงอาจมาจากการระบาดในพื้นที่หรือจากห้องปฏิบัติการ ซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาหรือการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของไวรัสสายพันธุ์ใหม่ได้ และจากข้อมูลความแปรผันของสายพันธุ์วัคซีนที่ใช้ในการควบคุมโรคร่วมกับอัตราความแปรปรวนที่สูงในส่วน VP ของ 1 เชื้อ FMDV อาจทำให้เกิดอัตราการแปรผันของแอนติเจนของไวรัสในระดับสูงได้

บทที่ 5

การคัดเลือกไวรัสที่เหมาะสมสำหรับผลิตวัคซีน

การฉีดวัคซีนเป็นมาตรการสำคัญในการควบคุมและป้องกันโรค FMD ซึ่งถือว่าเป็นโรคติดต่อร้ายแรงของปศุสัตว์ ดังนั้นการคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีนให้มีความเหมาะสมจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ ซึ่งจากการจำแนกของเชื้อ FMDV ออกเป็น 7 ซีโรไทป์และการแยกเป็นสายพันธุ์ย่อยอีกจำนวนมากภายในแต่ละซีโรไทป์ ประกอบกับการกระจายตัวของเชื้อในรูปแบบเชิงพื้นที่ (Spatiotemporal) ขนาดใหญ่ แสดงให้เห็นลักษณะการแพร่กระจายของเชื้อเป็นบริเวณกว้างในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ดังนั้นวัตถุประสงค์ที่สำคัญของการคัดเลือกสายพันธุ์ไวรัสวัคซีนเพื่อให้การควบคุมโรคเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและสามารถเก็บเป็นคลังแอนติเจนสำรองของวัคซีนต่อไป โดยหลักการคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีนที่เหมาะสมพิจารณาจากผลการทดสอบ vaccine matching ของตัวอย่างไวรัสจากพื้นที่ระบาดเทียบกับสายพันธุ์ไวรัสวัคซีนที่มีอยู่ ร่วมกับคุณลักษณะทางพันธุกรรม ประกอบการตัดสินใจ สำหรับการเตรียมความพร้อมและวางแผนการคัดเลือก Seed vaccine สามารถแบ่งระยะการดำเนินงานได้ดังต่อไปนี้ คือ

- **การจัดการระยะสั้น** เป็นการพิจารณาเกี่ยวกับเก็บตัวอย่าง โดยต้องมีการกำหนดเป้าหมายตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ สามารถจัดหาตัวอย่างได้เป็นระยะๆ และมีการดำเนินการทดสอบตามช่วงเวลาที่มีสัมพันธ์กับพื้นที่ของการระบาดของโรค

- **การจัดการระยะยาว** เป็นการพัฒนามาตรการควบคุม FMD โดยการสนับสนุน เสริมสร้างความเข้มแข็งของหน่วยงานบริการทางสัตวแพทย์และห้องปฏิบัติการในพื้นที่เชิงบูรณาการงานร่วมกัน เพื่อให้ได้วัคซีนที่มีคุณภาพสูง มีการบริหารวัคซีนอย่างมีประสิทธิภาพและปริมาณเพียงพอต่อความต้องการ อย่างไรก็ตามยังคงข้อจำกัดทางการค้าในแง่ของการเปิดเผยสายพันธุ์ที่ใช้สำหรับการผลิตวัคซีนและการจัดหาสารตรวจสอบที่เหมาะสมและตรงตามระบบมากที่สุด

● หลักการเลือกวัคซีน

หลักในการคัดเลือกวัคซีนที่เหมาะสมพิจารณาจากความสามารถในการป้องกันข้ามระหว่างซีโรไทป์ของเชื้อ FMDV เพื่อต่อต้านไวรัสที่มาจากพื้นที่ โดยการศึกษาทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาค่าความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาระหว่างเชื้อในพื้นที่กับเชื้อที่ใช้ผลิตวัคซีน ในการพิจารณาปฏิบัติการทำให้ไวรัสมีความเป็นกลาง ดังนั้นแนวทางในการคัดเลือกวัคซีนที่สำคัญ คือ ข้อมูลที่ช่วยสนับสนุนให้การตัดสินใจมีความถูกต้องและเหมาะสม โดยการพิจารณาหลักการสำคัญ 2 ประการ คือ

- 1) วัคซีนสามารถให้ความคุ้มกันโดยการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพเพียงพอ (potency)
- 2) วัคซีนมีความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาอย่างใกล้ชิดกับไวรัสในพื้นที่เพียงใด (Vaccine matching)

● ความหลากหลายของแอนติเจนของ FMDV และการเลือกวัคซีน

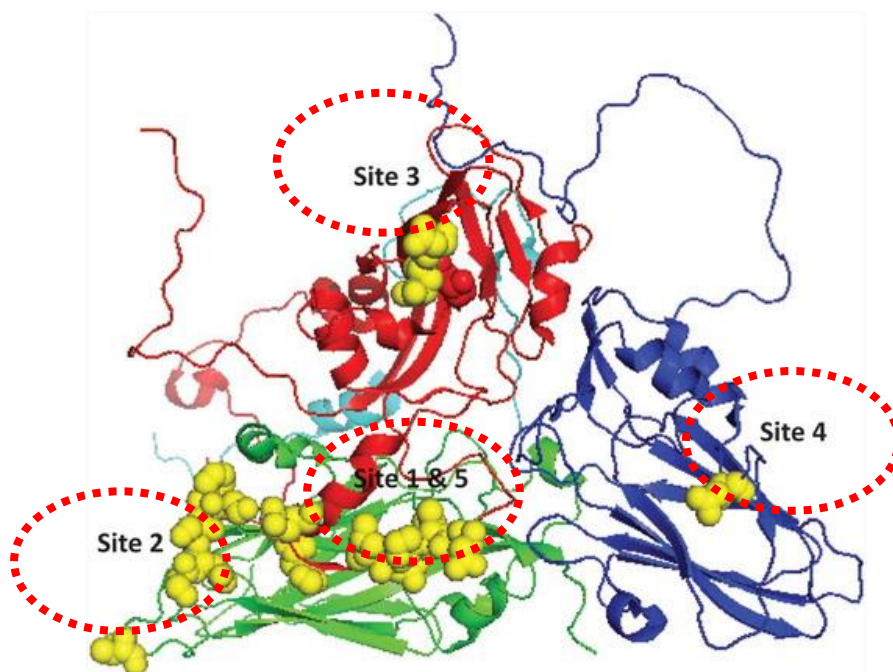
เชื้อ FMDV เป็นไวรัสที่ความเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับแนวทางการคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีน เพราะเป็นไวรัส RNA สายเดี่ยวเชิงบวก จากการศึกษาพบว่ามีความหลากหลายทั้งทางพันธุกรรมและทางแอนติเจนสามารถแสดงความแปรปรวนของจีโนมได้ดีมาก โดยพบความแปรปรวนของกรดอะมิโนภายในซีโรไทป์ 32-33% และความแปรปรวนของกรดอะมิโนระหว่างซีโรไทป์ 53% ซึ่งโปรตีนโครงสร้างที่สำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกัน คือ VP1, VP2, และ VP3 จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า VP1 มีความแปรปรวนในทุกซีโรไทป์ส่งผลให้ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกัน แต่ก็มีโอกาสที่วัคซีนอาจจะสามารถป้องกันไวรัสที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมกลุ่มใหญ่ภายในซีโรไทป์เดียวกันได้เช่นกัน เนื่องจากความหลากหลายทั้งทางพันธุกรรมของไวรัสทำให้มีการจำแนกแยกย่อยในแต่ละซีโรไทป์และยังมีการแบ่งออกได้กลุ่มใหญ่ขึ้นมา ที่เรียกว่า Topotype เนื่องจากความแตกต่างทางพันธุกรรมนั่นเอง

สำหรับคุณสมบัติทางแอนติเจนและความหลากหลายของแอนติเจนในทุกซีโรไทป์ พบว่ามีความสัมพันธ์กับตำแหน่งหลักของแอนติเจนที่สำคัญ คือ G-H Loop ของโปรตีน VP 1 ซึ่งหากเกิดความแปรปรวนสูงจะสามารถบ่งชี้การกลายพันธุ์ได้ด้วยวิธีการทดสอบกับ Monoclonal antibody (MAbs) จากกระบวนการ Titration ของปฏิกิริยาการทำให้เป็นกลางของไวรัส

● Neutralizing epitope ของเชื้อ FMDV

จากข้อมูลเกี่ยวกับโปรตีนโครงสร้างของเชื้อ FMDV ในส่วน VP 1 พบว่ามีบทบาทสำคัญต่อความจำเพาะของซีโรไทป์ โดยการทำหน้าที่ในการยึดเกาะของไวรัสกับเซลล์โฮสต์ที่ไวต่อการตอบสนองผ่านทางตัวรับ คือ integrin ซึ่งการทำงานเกี่ยวกับการตอบสนองภูมิคุ้มกันของ VP 1 โดยการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันส่วนใหญ่พบบริเวณ Loop ที่บริเวณพื้นผิวของโครงสร้างจำนวน 5 ตำแหน่งหลักของแอนติเจนที่สามารถทำให้มีความเป็นกลางได้ที่ตำแหน่งที่ 1-5 (รูปที่ 15) การศึกษาเกี่ยวกับการกลายพันธุ์โดยทดสอบกับ MAbs ที่สามารถต้านทานการถูก neutralized ทำให้สามารถจำแนกตำแหน่งแอนติเจนที่สำคัญได้ดังต่อไปนี้

- ตำแหน่งที่ 1 จะมีลักษณะเป็นแบบเส้นตรงและไวต่อ Tyrosine ซึ่งจะอยู่บริเวณโครงสร้าง G-H Loop ที่ปลายด้าน C-terminal ของ VP 1 เรียกว่า “แอนติเจนตำแหน่งที่ 1”
- ตำแหน่งที่ 2 จะอยู่บริเวณที่เกิด Amino acid residues บริเวณตำแหน่งที่ 70 –73, 75, 77 ของ VP 2 ซึ่งทำให้เกิดเป็น “แอนติเจนตำแหน่งที่ 2” และข้อมูลเพิ่มว่า Amino acid residues ที่บริเวณตำแหน่งที่ 134 และ 79 จะพบการยึดจับกันของแอนติเจนตำแหน่งที่ 2 ด้วย
- สำหรับ “แอนติเจนตำแหน่งที่ 3” จะอยู่บริเวณที่เกิด Amino acid residues ตำแหน่งที่ 44 และ 43B-C Loop ของ VP 1
- สำหรับ “แอนติเจนตำแหน่งที่ 4 และ 5” จะอยู่บริเวณที่เกิด Amino acid residues ตำแหน่งที่ 58 และ 56 VP 3 (Mahapatra and Parida, 2018)



รูปที่ 15 ตัวอย่างการแสดงโครงสร้าง 3 มิติของซีโรไทป์ O1 BFS ของตำแหน่งแอนติเจนที่ทำให้เกิดความเป็นกลางจำนวน 5 ตำแหน่ง VP1 (สีแดง), VP2 (สีเขียว), VP3 (สีน้ำเงิน) และ VP4 (สีฟ้า) โดย Amino acid residues ที่สำคัญของตำแหน่งแอนติเจนจะแสดงเป็นทรงกลม (สีเหลือง)

ที่มา: Mahapatra and Parida (2018)

- **การจับคู่แอนติเจน**

เนื่องจากความหลากหลายของแอนติเจนระหว่างซีโรไทป์และกลุ่ม topotype ที่มีความสำคัญต่อการพิจารณาการใช้วัคซีนให้เหมาะสม โดยบางครั้งอาจพบความล้มเหลวในการควบคุมโรคจากการฉีดวัคซีน ประกอบกับไวรัสสายพันธุ์ใหม่ยังคงเกิดขึ้นเป็นระยะๆ อย่างไรก็ตามความแปรปรวนของแอนติเจน FMD ที่เกิดขึ้นเป็นปัจจัยที่สำคัญ และจากความรู้ของการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในจีโนม RNA บางครั้งทำให้เกิดความพยายามในการหลีกเลี่ยงต่อระบบภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากวัคซีน และด้วยข้อกำหนดเกี่ยวกับสายพันธุ์ของวัคซีนที่แตกต่างกันตามซีโรไทป์และ topotype ของไวรัสที่เกิดขึ้นทำให้การเลือกวัคซีนต้องทำด้วยความระมัดระวัง ดังนั้นจำเป็นต้องตรวจสอบการจับคู่กันของเชื้อจากพื้นที่เพื่อดูความสัมพันธ์กับเชื้อที่ใช้ผลิตวัคซีนที่มีอยู่อย่างต่อเนื่อง โดยประเมินว่าวัคซีนที่ใช้อยู่สามารถให้การป้องกันเชื้อสายพันธุ์ใหม่หรือไม่ และแอนติเจนที่ไม่ตรงกันนี้เป็นหนึ่งในสาเหตุหลักของความล้มเหลวของการฉีดวัคซีนหรือไม่

สำหรับประเทศที่ปลอดจากโรค FMD มักจะจัดเก็บแอนติเจน FMDV สายพันธุ์ต่างๆ ไว้เป็นคลังสำรอง เพื่อเตรียมพร้อมวัคซีนได้ทันทั่วทั้งที่หากเกิดกรณีฉุกเฉินของการระบาดและเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์วัคซีนที่เก็บไว้ในคลังสำรองแอนติเจนหรือวัคซีนจะพิจารณาจากความครอบคลุมของประสิทธิภาพวัคซีนต่อเชื้อที่ระบาดในพื้นที่ที่แตกต่างกันทั่วโลก

● การจับคู่วัคซีน (Vaccine matching)

การทดสอบ vaccine matching เพื่อสนับสนุนการเลือกวัคซีนที่เหมาะสม มีทั้งการทดสอบในสัตว์ และการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ ดังนี้ คือ

1) การทดสอบในสัตว์ โดยเริ่มจากการทดลองฉีดวัคซีนให้กับสัตว์ จากนั้นจึงให้เชื้อพิษที่มาจากการระบาด ซึ่งการทดสอบนี้จะใช้เวลานานมากและมีราคาแพงในทางปฏิบัติ

2) การทดสอบทางห้องปฏิบัติการ เป็นการทดสอบการทำไวรัสมีสภาพเป็นกลางในหลอดทดลอง ด้วย Anti-serum ที่ได้จากการฉีดวัคซีน ซึ่งสามารถพิจารณาผลการทดสอบการต่อต้านเชื้อ FMDV ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Reeve *et al.*, 2010)

สำหรับการพิจารณาคุณลักษณะของแอนติเจนต้องพิจารณาทั้งแง่ปริมาณและคุณภาพของแอนติเจน โดยมีปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบ vaccine matching ได้แก่

1) การระบุปริมาณและคุณภาพของแอนติเจนในวัคซีนเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากมีผลต่อความปลอดภัยและประสิทธิภาพของวัคซีนที่ถูกใช้, สายพันธุ์ของแอนติเจน ความหลากหลายของสายพันธุ์ของแอนติเจนซึ่งมีผลต่อการป้องกันโรคในสัตว์, สารเสริมและการปรับเปลี่ยนสูตรผสมของวัคซีนอาจมีผลต่อประสิทธิภาพของการจับคู่แอนติเจน

2) การรวมชนิดย่อยของแอนติเจนและการกระตุ้นซ้ำเป็นการใช้แอนติเจนหลายชนิดในวัคซีนที่อาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการป้องกันโรคและการกระตุ้นซ้ำ เป็นการเพิ่มศักยภาพและขยายขอบเขตการครอบคลุมของแอนติเจนในวัคซีน

3) การทดสอบประสิทธิภาพในสัตว์ทดลอง เป็นมาตรฐานการทดสอบคุณภาพของวัคซีนในสัตว์ทดลอง เพื่อตรวจสอบการตอบสนองทางซีรั่มวิทยาโดยใช้ไวรัสที่คล้ายคลึงกันและการประมาณความแรงของวัคซีนจากตอบสนองทางซีรั่มวิทยา

4) การทดสอบ vaccine matching ในสิ่งมีชีวิต เป็นการวิเคราะห์การตอบสนองของแอนติบอดีต่อการฉีดวัคซีน โดยเปรียบเทียบปฏิกิริยาข้ามของซีรั่มที่เก็บจากสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีน ซึ่งต้องอาศัยความพร้อมของสารตรวจสอบสำหรับการทดสอบ

5) การทดสอบการจับคู่ในหลอดทดลอง เป็นการวัดปฏิกิริยาข้ามของซีรั่มหลังการฉีดวัคซีนในสัตว์ที่มีการระบาด และควรมีการทดสอบความคุ้มโรคในสัตว์ทดลองควบคู่กับการทดสอบการจับคู่ในหลอดทดลอง ซึ่งผลลัพธ์จะแสดงเป็นค่าความสัมพันธ์ของแอนติเจนเรียกว่า “ค่า r_1 ” หมายถึง อัตราส่วนของปฏิกิริยา Serum neutralization ต่อสายพันธุ์เชื้อในพื้นที่เทียบกับปฏิกิริยา Serum neutralization ต่อสายพันธุ์ของวัคซีน

ข้อจำกัดในการทดสอบ Vaccine matching ได้แก่

- ห้องปฏิบัติการที่สามารถทดสอบ Vaccine matching มีจำนวนค่อนข้างน้อยทั่วโลก
- ความยุ่งยากในการรวบรวมตัวอย่างไวรัสในพื้นที่และสายพันธุ์ไวรัสวัคซีน
- ปัจจัยเกี่ยวกับสารตรวจสอบที่เหมาะสมกับเชื้อในพื้นที่
- วิธีการที่ใช้ในการทดสอบ Vaccine matching ที่ไม่มีความสอดคล้องกันอย่างสมบูรณ์ ทำให้ไม่มีความสมดุลของผลลัพธ์ที่ได้
- การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการทดสอบ Vaccine matching ในอนาคต
- ปัญหาด้านเงินทุนและความเป็นผู้นำในการคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีน

ปัจจัยเหล่านี้จึงเป็นที่มาของการจัดตั้งเครือข่ายของห้องปฏิบัติการอ้างอิง FMD ของ WOAHP และ FAO โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประสานการทำงานอย่างมีประสิทธิภาพในการเสริมสร้าง ประสานงานในการทำงาน ร่วมกัน รวมถึงการรายงานผลการทดสอบในวงกว้าง เพื่อให้สามารถปรับปรุงการดำเนินงานจากข้อเสนอแนะในการเลือกสายพันธุ์วัคซีนที่เหมาะสม สนับสนุนระบบการเฝ้าระวังที่ดีและการปรับปรุงวัคซีนให้เหมาะสมกับการระบาดในพื้นที่อย่างทันท่วงที (Paton *et al.*, 2005)

การทดสอบการจับคู่วัคซีนในร่างกายสัตว์

การทดสอบการป้องกันข้ามภายในร่างกายสัตว์เป็นการทดสอบการจับคู่เชิงเปรียบเทียบ โดยการให้สัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนแล้วนำมาสัมผัสกับไวรัสที่มีการระบาดเพื่อประเมินการป้องกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่การฉีดวัคซีนและทดสอบสัตว์กับไวรัสที่มีชีวิตนั้นค่อนข้างใช้เวลานาน มีค่าใช้จ่ายสูงและจำเป็นต้องใช้ห้องปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยทางชีวภาพสูงเพื่อป้องกันการรั่วไหลของเชื้อ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ค่อนข้างยาก

จากการศึกษาในสัตว์ของทวีปอเมริกาใต้ที่ให้วัคซีนซีโรไทป์ O พบว่าให้การป้องกันที่เหมาะสมหลังการให้เชื้อไวรัสหัดแมว ค่า r_1 ที่ได้จะต่ำกว่าจุดตัดสินใจ และจากการศึกษาของ Nagendrakumar และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาการป้องกันข้ามโดยให้วัคซีน O1/Manisa ในสัตว์และให้เชื้อหัดด้วยไวรัส O1/Campos พบว่าค่า r_1 มีค่าความสัมพันธ์ที่ดี แต่ผลการทดสอบทางซีรัมวิทยากับผลการทดสอบการป้องกันข้ามในการทดลองกับตัวสัตว์ให้ผลไม่สอดคล้องกัน โดยได้มีการศึกษาต่อเนื่องเกี่ยวกับการป้องกันข้ามที่ใช้วัคซีนที่มีประสิทธิภาพสูงมาก โดยฉีดวัคซีน O1/Manisa ที่มีศักยภาพสูง ($> 10^6$ PD₅₀) จากนั้นให้เชื้อหัดด้วยไวรัส O/SEA/MYA-98 (O/SKR/2010) ผลการทดสอบในหลอดทดลองให้ค่า r_1 ที่ต่ำกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (< 0.3) และอีกกลุ่มการทดลองให้เชื้อหัดด้วยไวรัสจากพื้นที่สายพันธุ์ O/ME-SA/Ind-2001 แต่พบว่าให้ผลการคุ้มโรคจากการให้วัคซีนดังกล่าว และจากการศึกษาเพิ่มเติมในสุกรที่ได้รับการฉีดวัคซีน FMD O1/Manisa ที่มีศักยภาพสูง ($> 10^6$ PD₅₀) แล้วให้เชื้อหัดด้วยไวรัส O/SEA/MYA-98 (O/VIT/2010) พบว่ามีการป้องกันแม้จะไม่สมบูรณ์เท่าที่ควร

จากกรณีศึกษาเกี่ยวกับความแตกต่างกันของ Subtype ไวรัส FMDV ซีโรไทป์ A เพื่อหาค่า r_1 ในหลอดทดลองเทียบกับไวรัสวัคซีนที่มีความแรง 10^6 PD₅₀ ซึ่งเป็นวัคซีนฉุกเฉินเร่งด่วน พบว่ามีการตอบสนองที่ค่อนข้างดีมาก ดังนั้นจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวัคซีนฉุกเฉินที่มีความแรงค่อนข้างสูง สามารถให้การ

ป้องกันข้ามของชนิดย่อยที่แตกต่างกันของซีโรไทป์ A ได้ แม้ว่าค่า r_1 จะบ่งชี้ว่าวัคซีนไม่ค่อยจับคู่กันเท่าที่ควร (Brehm *et al.*, 2008)

ดังนั้นจากข้อมูลการศึกษาที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ของผลลัพธ์ระหว่างการทดสอบในหลอดทดลองและการทดสอบในสัตว์มีความไม่แน่นอน ดังนั้นในการออกแบบการศึกษาและทดลองจำเป็นต้องมีการตรวจสอบเพิ่มเติมอย่างต่อเนื่องเพื่อติดตามสถานการณ์ของโรค ซึ่งการใช้วัคซีนในการควบคุมโรค FMD จำเป็นอย่างยิ่งต้องมีการทดสอบทั้งในสัตว์เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบในห้องปฏิบัติการกับผลลัพธ์จริงที่มีการทดสอบความคุ้มโรคในสัตว์ ซึ่งช่วยให้ทราบถึงประสิทธิภาพและปลอดภัยของวัคซีนในสภาพสมมุติฐานที่ใกล้เคียงกับสภาพจริงมากที่สุด และเป็นสิ่งสำคัญในการพัฒนาและการเลือกใช้วัคซีนในสัตว์อย่างเหมาะสมในการควบคุมโรค

การทดสอบการจับคู่วัคซีนในหลอดทดลอง

การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายถือเป็นองค์ประกอบสำคัญในการป้องกันจากการติดเชื้อ วัคซีน FMD ในการพิจารณาปฏิกิริยาระหว่างซีรัมที่ต้านทานต่อเชื้อ FMDV จากการจับตัวกันระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนแล้วเกิดปฏิกิริยา Neutralization

ซึ่งการทดสอบเหล่านี้เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบวัคซีนเพื่อการประเมินการคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีนที่เหมาะสม โดยกำหนดค่าความสัมพันธ์ของแอนติเจนทางอ้อม ("ค่า r_1 ") ด้วยซีรัมอ้างอิงแต่ละสายพันธุ์และการเตรียมซีโรไทป์ที่ตรงกัน และต้องมีการปรับระดับไตเตอร์ให้เหมาะสมต่อการประเมินทางซีรัมวิทยาได้ โดยปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในกระบวนการทดสอบ คือ เซลล์เพาะเลี้ยง เนื่องจากปัจจัยดังต่อไปนี้ คือ

- ความแปรผันของสายพันธุ์เซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้มีความแตกต่างกันของแต่ละห้องปฏิบัติการ
- กรณีการเติบโตของไวรัสในเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ดีจากสาเหตุของ cell culture adapted

ซึ่งนำไปสู่การปรับสายพันธุ์ที่แยกได้ให้เข้ากับสายพันธุ์ของเซลล์ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ

ส่วนใหญ่ในการทดสอบกับเชื้อ FMDV มักจะใช้เซลล์ต่อมไทรอยด์ของโค (BTY), เซลล์ไตของสุกร (IBRS), เซลล์ไตของหนูแฮมสเตอร์ (BHK) ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้อาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับประเภทของเซลล์หุติภูมิที่ใช้ในการแยกหรือเพาะเชื้อไวรัส โดยไวรัสที่นำมาทดสอบอาจต้องใช้เวลา 2-3 Passage ในการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นอย่างน้อย เพื่อให้ได้ระดับไตเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบ โดยไวรัสเหล่านี้ยังต้องได้รับการทดสอบ Titration หลายครั้งเพื่อพิจารณาค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทดสอบทางซีรัมวิทยา แต่อย่างไรก็ตามการพัฒนาการทดสอบเหล่านี้จะไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกับอัตราการแพร่เชื้อตามธรรมชาติของเชื้อ FMDV ได้

การทดสอบ vaccine matching ทางห้องปฏิบัติการ (ทางอ้อม) แบ่งได้เป็นวิธี 3 คร่าวๆ ได้แก่

1. Virus neutralization test (VNT)

การทดสอบ VNT เพื่อหาปริมาณความสัมพันธ์ของแอนติเจนผ่าน "ค่า r_1 " โดยพิจารณาหาอัตราส่วนของการทดสอบ Titration ที่ต่างกันต่อระดับไตเตอร์ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นหนึ่งในการทดสอบมาตรฐานสำหรับปฏิกิริยาข้ามและถือว่าให้ผลลัพธ์ทางซีรัมวิทยาที่ชัดเจนที่สุด โดยซีรัมที่ใช้ในการทดสอบ Vaccine matching เตรียมจากโคที่มีการฉีดวัคซีนแล้วเก็บซีรัมมาทดสอบ ซึ่งจะต้องมีระดับไตเตอร์ของไวรัสที่

นำมาทดสอบกับซีรัมที่ 100 TCID₅₀ โดยถือว่าการทดสอบนี้เป็นวิธีที่ได้มาตรฐานที่สุดและเป็นที่ยอมรับมากกว่า LPBE หรือ CFT

สำหรับการทดสอบด้วยวิธี 2D-VNT เป็นการจัดรูปแบบ มิติ 2 โดยการใช้ไวรัสที่ความเข้มข้น 5 และคำนวณค่าการถดถอยเชิงเส้นในการไตเตรทตามตารางสี่เหลี่ยมสองมิติ ซึ่งวิธีนี้มีข้อดี คือ สามารถทำนายไตเตรทการทำให้เป็นกลางด้วยขนาดไวรัสคงที่ (100 TCID₅₀) อย่างไรก็ตามวิธีนี้ใช้แรงงานมากและใช้เวลานาน คือ 3 วัน ซึ่งผลลัพธ์ของการทดสอบหาค่า r_1 ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.3 บ่งชี้ว่าวัคซีนมีแนวโน้มที่จะป้องกันไวรัสในพื้นที่ที่เป็นปัญหาได้มากที่สุด ขึ้นอยู่กับความน่าเชื่อถือของ repeatability สำหรับกรณีค่า r_1 น้อยกว่า 0.3 บ่งชี้ว่าการจับคู่มิแนวโน้มที่ไม่เหมือนกันบ่งบอกถึงภาวะเร่งด่วนในการพัฒนาวัคซีนใหม่

2. Liquid Phase Blocking ELISA (LPBE)

เป็นการตรวจจับแอนติเจนที่เหลืออยู่หลังจากปฏิกิริยา Neutralization โดยการบ่มไว้ข้ามคืนระหว่างการเจือจางของซีรัมกับปริมาณไวรัสที่ปรับระดับด้วยการไตเตรทแล้ว (Kitching *et al.*, 1988) ซึ่งการทดสอบ vaccine matching ด้วยวิธีนี้มีข้อดี คือ การทดสอบทำได้รวดเร็ว (สามารถอ่านผลลัพธ์ได้ภายใน วันเทียบกับ 1VNT ใช้เวลา วัน 3) และใช้ซีรัมหลังการฉีดวัคซีนในปริมาณที่น้อยกว่า

สำหรับการแปลผล คือ ค่า r_1 ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.4 ถือเป็นการจับคู่วัคซีนที่ดี ค่า r_1 ที่อยู่ระหว่าง 0.2 ถึง 0.4 แสดงว่ามีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญจากสายพันธุ์วัคซีน แต่อาจมีระดับการป้องกันข้ามที่เพียงพอขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของวัคซีนและการจัดการ

แต่อย่างไรก็ตามมักจะไม่พบความแตกต่างที่มีนัยสำคัญระหว่างผลลัพธ์ VNT และ LPBE โดยผลลัพธ์ทั้งสองวิธีบางครั้งอาจไม่ตรงกันเป็นเพราะความสามารถในการทำให้เป็นกลางในซีรัมและการแบ่งตัวในเซลล์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเซลล์ (cytopathic effect, CPE) ในขณะที่วิธี LPBE จะวัดเพียงปฏิกิริยาการจับกันระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจน ดังนั้นกรณีของวิธี VNT และ LPBE ให้ผลลัพธ์ที่ไม่ค่อยสอดคล้องกันจึงเป็นการยากที่จะสรุปได้ว่าวิธีใดที่เป็นตัวบ่งชี้การป้องกันที่ดีที่สุดในโฮสต์ แม้ว่าวิธี VNT จะได้รับการพิจารณาว่าเป็นวิธีการที่เหมาะสมกว่าในการทำให้เป็นกลางในซีรัมก็ตาม

3. Complement fixation test (CFT)

สำหรับวิธี CFT เป็นการวัดความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์วัคซีนและสายพันธุ์ไวรัสในพื้นที่ โดยการทดสอบจะใช้แอนติซีรัมหนูตะเภาที่ฉีดสายพันธุ์วัคซีน โดยค่า $r_1 > 0.25$ บ่งชี้ว่าเชื้อในพื้นที่นั้นมีแอนติเจนใกล้เคียงกับสายพันธุ์ของวัคซีน ในปัจจุบันการทดสอบนี้มีข้อจำกัดและมีเฉพาะในบางประเทศที่ยังทดสอบอยู่ ซึ่งแนะนำให้ใช้เป็นการทดสอบเพื่อคัดกรอง

ปัจจุบัน VNT และ LPBE เป็นการทดสอบมาตรฐานที่ใช้สำหรับการทดสอบ Vaccine matching ของ FMDV อย่างไรก็ตาม Anti serum ที่ใช้มีราคาค่อนข้างแพงมากในการผลิตและความแปรผันของแอนติเจนในธรรมชาติค่อนข้างบ่อย จึงเป็นเรื่องยากมากที่จะสร้างมาตรฐานการทดสอบหรือความมั่นใจอย่างเต็มที่ในผลลัพธ์ที่ได้โดยไม่ต้องทำการทดลองซ้ำหลายครั้ง นอกจากนี้ข้อเสียอีกประการหนึ่งของการตรวจวิเคราะห์ด้วย VNT และ LPBE คือ อาจจะไม่สะท้อนถึงสิ่งที่จะเกิดขึ้นในร่างกายได้อย่างแม่นยำเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันของเซลล์ นอกจากนี้การทดสอบทางซีรัมวิทยามีความยุ่งยากในการทดสอบและระยะเวลาในการ

การดำเนินการ ซึ่งไม่เหมาะสมในสถานการณ์ที่ต้องมีการตอบสนองอย่างรวดเร็วและการใช้วัคซีนที่เหมาะสมในเวลาจำกัด จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาปรับปรุงวิธีการที่มีอยู่หรือพัฒนาวิธีการใหม่อย่างต่อเนื่องในการคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีน

- **แนวทางทางเลือกสำหรับการทดสอบ Vaccine matching**

1. ELISA ที่ใช้ Monoclonal antibody; MAbs

การทดสอบ Vaccine matching ด้วยวิธีทางซีรั่มวิทยา ได้แก่ VNT, ELISA, และ CFT แต่พบว่ามีปัจจัยหลายอย่างที่อาจส่งผลกระทบต่อผลลัพธ์ที่ได้รับจากการทดสอบในหลอดทดลองเหล่านี้ โดยมีที่มาของปัญหา ได้แก่

- มาตรฐานของ Polyclonal เพื่อต่อต้านไวรัสวัคซีน
- Anti serum ที่รวบรวมจากกลุ่มสัตว์เป้าหมายส่วนใหญ่เป็นโคที่ได้รับการฉีดวัคซีน
- Anti serum ที่ได้จากกระต่ายและหนูตะเภาเป็นแอนติบอดีในกระบวนการทดสอบด้วยวิธี LPBE หรือ CFT ซึ่งอาจมีความแปรผันเนื่องจากตัวสัตว์

- ความแปรผันของแอนติเจนแต่ละสายพันธุ์หรือแต่ละชุดการผลิต

ดังนั้นแนวทางการลดปัญหาเกี่ยวกับข้อจำกัดเหล่านี้ โดยการนำ MAbs มาใช้ในกระบวนการทดสอบ Vaccine matching เพื่อศึกษาโปรไฟล์ของแอนติเจน FMDV ที่ทำการทดสอบ โดยพบว่า MAbs ให้ผลที่ค่อนข้างชัดเจนขึ้น ซึ่งแนวทางการปรับปรุงที่เป็นไปได้ ได้แก่

- การนำ MAbs มาประกอบการทดสอบเพื่อเพิ่มโอกาสให้ผลการทดสอบมีความแม่นยำ
- การเพิ่ม MAbs มากกว่าหนึ่งขั้นตอนเพื่อเพิ่มโอกาสในการเกิดปฏิกิริยาการทดสอบ
- การใช้เป็นลิแกนด์มาตรฐานที่สามารถดักจับอนุภาคไวรัสได้
- การปรับปริมาณไวรัสที่ใช้ MAbs ที่จำเพาะต่อซีโรไทป์ ซึ่งอาจแตกต่างกันไป

2. การทดสอบ Antibody avidity test and isotype ELISA

การทดสอบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยพิจารณาจากการสังเคราะห์แอนติบอดีที่มีความแรงของการเชื่อมโยงระหว่างแอนติเจน-แอนติบอดีเพิ่มขึ้น ซึ่งความแข็งแรงของการรวมตัวของแอนติเจน-แอนติบอดีนี้ สามารถแสดงออกมาเป็นแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อโรค โดยการเหนี่ยวนำของแอนติบอดีที่มีความเข้มข้นสูงที่เป็นที่ต้องการ และสามารถแสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์ที่ดีกับแอนติบอดีที่ทำให้เป็นกลางของไวรัส

โดยมีการตั้งสมมติฐานว่าความต้องการ Isotype ของแอนติบอดีที่เกิดจากการฉีดวัคซีน FMDV อาจสัมพันธ์กับศักยภาพในการป้องกันของวัคซีน โดยปกติแล้วปริมาณแอนติบอดีจะเพิ่มขึ้นตามขนาดวัคซีน ซึ่งสัตว์ที่ไม่ได้รับการป้องกันจะแสดงให้เห็นว่ามีแอนติบอดีที่มีความเข้มข้นต่ำ ในทำนองเดียวกันสัตว์ที่ไม่ได้รับการป้องกันจะมีอัตราส่วน IgG/1IgG ที่ต่ำกว่าตามสัดส่วนเมื่อเทียบกับสัตว์ที่ได้รับการป้องกัน 2 โดยวัคซีน

3. การทำแผนที่ Cartography

สำหรับการคัดเลือกวัคซีนอีกหนึ่งวิธีที่สามารถทำได้คือ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาระหว่างไวรัสโดยใช้เทคนิคการทำแผนที่แอนติเจน และการแสดงภาพความสัมพันธ์ของแอนติเจนสายพันธุ์วัคซีนและไวรัสในพื้นที่บนแผนที่ที่มีสองมิติขึ้นไป โดยการอิงตามระยะห่างของแอนติเจนที่สร้างขึ้นจากข้อมูลทางซีรัมวิทยาที่ทำให้เป็นมาตรฐาน โดยคำนวณพิกัดในหลายมิติที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างกันของพันธะระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี ข้อดีของเทคนิคนี้คือ มีการเปิดเผยความสัมพันธ์หลายประการ สามารถเผยให้เห็นความคล้ายคลึงกันของแอนติเจนกับวัคซีนหลายสายพันธุ์

ปัจจุบันมีการทำแผนที่แอนติเจนใช้สำหรับการคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีนใช้หัดใหญ่ตามฤดูกาล และการระบาดใหญ่ในมนุษย์ ซึ่งมีส่วนช่วยให้เข้าใจการหมุนเวียนของไวรัสใช้หัดใหญ่ A (H3N2) ทั่วโลก โดยเทคนิคนี้สามารถตรวจจับความแปรผันที่เกิดขึ้นใหม่ จากการพิจารณาความแตกต่างระยะห่างของแอนติเจนร่วมกับการทำแผนที่แอนติเจนเพื่อเปรียบเทียบลำดับตำแหน่งแอนติเจนที่กำหนด โดยพบว่ามีรายงานการทำแผนที่แอนติเจนใน FMDV โดยวิธี VNT ในการประเมินซีโรไทป์ A (Ludi, 2012) ซึ่งคาดว่าจะสามารถขยายไปยังเชื้อ FMDV ซีโรไทป์อื่น ๆ ได้และอาจบ่งบอกถึงตัวเลือกที่เป็นไปได้สำหรับปฏิกิริยาข้ามของแอนติเจนที่กำหนด

4. วิธีการตามลำดับ Sequence based approaches

การคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีนตามลำดับ Sequence based เป็นการพัฒนาล่าสุดและอาจเป็นข้อมูลที่มีศักยภาพสำหรับการวิจัยเพิ่มเติม เนื่องจาก residue ทั้งหมดที่มีผลต่อความแปรปรวนและการหลบหนีจากการป้องกันของวัคซีนจะถูกกำหนดโดยข้อมูลของ “ค่า r_1 ” ที่ได้มาจากการเปลี่ยนแปลงของแอนติเจน ซึ่งผลที่มาจากวิวัฒนาการทางพันธุกรรมจะนำไปสู่การทดแทนกรดอะมิโน โดยสามารถนำมาใช้คาดการณ์ตำแหน่งแอนติเจนและการวิเคราะห์ที่เกี่ยวข้องสำหรับการตรวจจับตัวแปรที่เกิดขึ้นใหม่ แต่อย่างไรก็ตามการสร้างแบบจำลองการทำนายตามข้อมูลลำดับซีรัมวิทยาและแคปซิดอาจช่วยในการเลือกสายพันธุ์วัคซีนที่เหมาะสมได้อย่างรวดเร็ว

5. การเลือกสายพันธุ์วัคซีน FMD จากลำดับแคปซิด

ในแบบจำลองการทำนายของปฏิกิริยาข้ามของไวรัสจากการพิจารณาระยะห่างของแอนติเจนด้วยลำดับข้อมูลและประวัติสายวิวัฒนาการของเชื้อ FMDV โดยพบว่าการนำข้อมูลทางซีรัมวิทยามาใช้ประกอบในระยะแรกของการพัฒนาแบบจำลองการคัดเลือก และจากการป้อนลำดับข้อมูลของกรดอะมิโนที่แยกได้ใหม่มาใช้ในการคาดการณ์ว่าวัคซีนที่มีอยู่จะสามารถให้การป้องกันได้หรือไม่ โดยแบบจำลองอ้างอิงการเปลี่ยนแปลงของ residue ที่สำคัญในตำแหน่งของแอนติเจนหรือ epitopes จากเทคนิคนี้ ยังมีความเกี่ยวข้องกับการทำนาย epitopes ในภาพรวมของผลการทดสอบทางซีรัมวิทยาและการเปลี่ยนแปลงของลำดับกรดอะมิโนได้อีกวิธีหนึ่ง

ด้วยวิธีดังกล่าวนี้สอดคล้องกับตำแหน่งของแอนติเจนที่กำหนดก่อนหน้านี้ ดังนั้นในการศึกษาการกลายพันธุ์เป็นการระบุตำแหน่งของแอนติเจนที่สอดคล้องกับการคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีนเช่นกัน และที่สำคัญกรดอะมิโนที่คาดการณ์ไว้สามารถตรวจสอบได้ในหลอดทดลองโดยการถ่ายทอดทางพันธุกรรม

แบบย้อนกลับ เมื่อทดสอบและตรวจสอบแบบจำลองใหม่พบว่าสามารถช่วยคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีนที่เหมาะสมจากข้อมูลลำดับแคปซิดได้อย่างรวดเร็ว โดยไม่จำเป็นต้องดำเนินการทางซีรัมวิทยาใหม่กับวัคซีนที่มีอยู่นอกจากนี้ยังสามารถให้ข้อมูลที่มีความจำเป็นในการพัฒนาวัคซีนสายพันธุ์ใหม่จากการพิจารณาความเหมาะสมของตัวอย่างในพื้นที่เพื่อการปรับตัวการพัฒนาวัคซีนสายพันธุ์ใหม่

● การคัดเลือกสายพันธุ์วัคซีน

สายพันธุ์วัคซีนที่ใช้ในภูมิภาคตามลักษณะทางภูมิศาสตร์นั้น ขึ้นอยู่กับซีโรไทป์และ toptype ที่หมุนเวียนอยู่ในภูมิภาคเป็นหลัก จำแนกตามซีโรไทป์ ได้ดังนี้

ซีโรไทป์ O

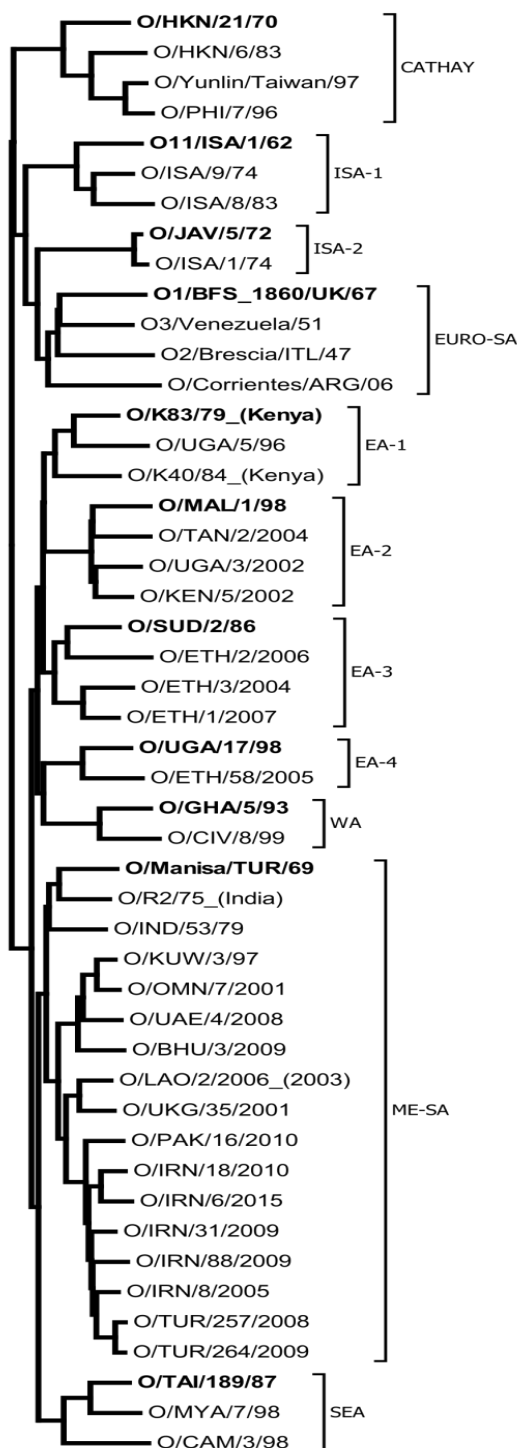
ข้อมูลการระบาดของซีโรไทป์ O พบมากกว่า 60% ทั่วโลก และมีลักษณะทางพันธุกรรมที่แยกได้เป็น toptype ที่แตกต่างกันทางพันธุกรรมแบ่งออกเป็น 11 toptype ได้แก่ ตะวันออกกลาง-เอเชียใต้ (ME-SA) เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (SEA) อินโดนีเซีย-1 (ISA-1) อินโดนีเซีย-2 (ISA-2), CATHAY, แอฟริกาตะวันตก (WA) แอฟริกาตะวันออก (EA-1, EA-2, EA-3 และ EA-4) และยุโรป-อเมริกาใต้ (Euro-SA) ดังรูปที่ 16 โดยพบว่า toptype SEA, toptype ของ Cathay และ toptype ME-SA ที่มีเชื้อสาย PanAsia และเชื้อสาย IND2001 พบว่าแพร่กระจายไปหลายประเทศรวมทั้งประเทศจีนในปัจจุบัน โดยปัจจุบันมีวัคซีนซีโรไทป์ O ดังนี้ คือ

- O/Campos (topotype Euro-SA) ได้รับการคัดเลือกและปรับให้สอดคล้องกันเพื่อใช้ในอเมริกาใต้
- O/Manisa หรือ O/PanAsia-2 (topotype SEA) ส่วนใหญ่ใช้ในตะวันออกกลาง เอเชีย รวมถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และในบางประเทศในแอฟริกา
- O/IND/R2/75 (topotype ME-SA) ส่วนใหญ่ใช้ในอินเดีย อเมริกาใต้ จีน และอินเดีย อนุญาตให้ผลิตและใช้เฉพาะวัคซีนสายพันธุ์ที่ได้รับอนุมัติซึ่งมีต้นกำเนิดจากประเทศหรือภูมิภาคของตนเท่านั้น
- O/Mya-98 (topotype SEA) ส่วนใหญ่ใช้ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และในบางประเทศ

โดยทั่วไปแล้ววัคซีนซีโรไทป์ O มีปฏิกิริยาข้ามในวงกว้าง ซึ่งมักจะแสดงการป้องกันภายนอกร่างกายต่อจีโนไทป์จำนวนหนึ่ง เช่น O/Manisa ถูกนำมาใช้อย่างมีประสิทธิภาพเป็นวัคซีนที่มีปฏิกิริยาในวงกว้างมานานกว่าห้าทศวรรษ แต่ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาไม่สามารถป้องกันไวรัสที่แพร่กระจายในตะวันออกกลางได้ ส่งผลให้มีการพัฒนาวัคซีน O/PanAsia-2 และในทำนองเดียวกันกับการใช้วัคซีน O/Manisa ในตะวันออกไกล (เกาหลีใต้และญี่ปุ่น) พบว่าไม่สามารถให้การป้องกันข้ามสายพันธุ์ได้เช่นกัน

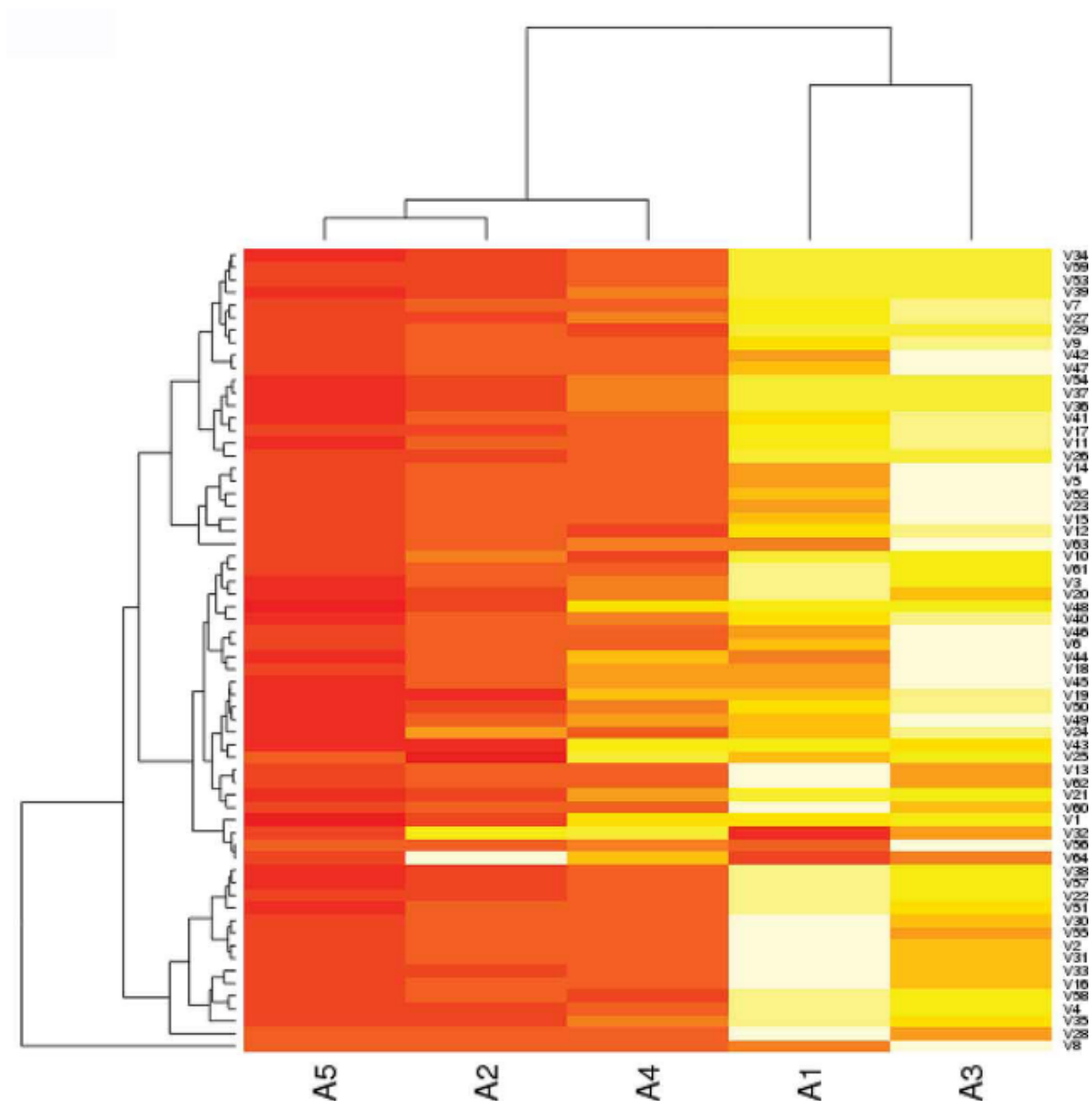
ข้อมูลในระดับภูมิภาคสังเกตได้ว่าวัคซีนซีโรไทป์ O จะมีปฏิกิริยาในวงกว้าง ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้โดยใช้ไวรัส 74 ซีโรไทป์ O ที่รวบรวมทั่วโลก แอฟริกา (n = 13), เอเชีย (n = 26), ยุโรป-อเมริกาใต้ (n = 20) และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (n = 15) เพื่อประเมินวัคซีนซีโรไทป์ O พบว่าที่ไวรัสวัคซีนที่ยังเป็นที่ยอมรับจำนวน 4 ชนิด คือ O/BFS, O/Kaufbeuren, O/Manisa, O/PanAsia-2 (รูปที่ 17) พบว่า O/PanAsia-2

เป็นวัคซีนที่ดีที่สุด รองลงมาคือ O/Manisa สำหรับในอเมริกาใต้พบว่าวัคซีน O/Campos ยังคงมีการนำมาใช้ในการฉีดวัคซีนเป็นประจํามานานกว่าห้าทศวรรษแล้วและให้ผลสอดคล้องกับไวรัสที่แพร่กระจายอยู่ในภูมิภาคนี้



รูปที่ 16 แสดง Phylogenetic trees ที่มีการจำแนก Topotype ของซีโรไทป์ O

ที่มา: <https://www.foot-and-mouth.org/FMDV-nomenclature-working-group/prototype-strains#o>

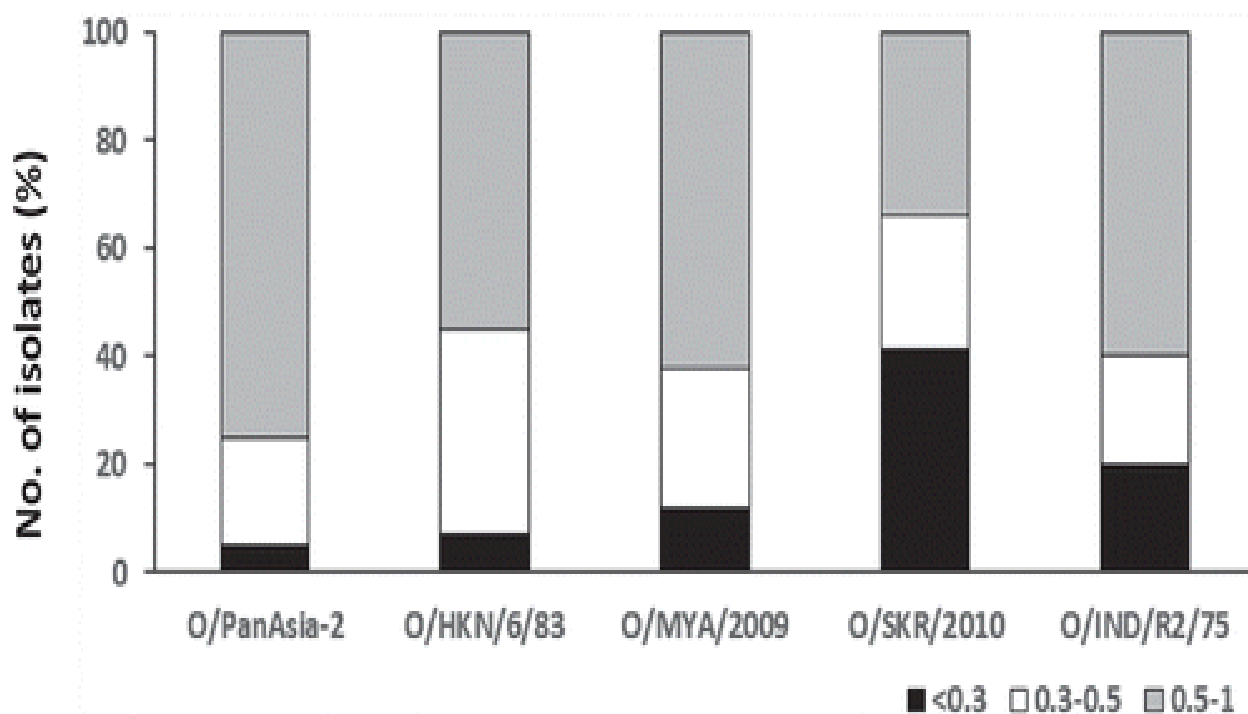


รูปที่ 17 แผนที่ความร้อนและการวิเคราะห์การจัดกลุ่มของ VNT titers ของไวรัส 74 ซีโรไทป์ O พร้อม Anti serum 5 ตัว ไวรัสมิติดันกำเนิดทั่วโลกและรวมตัวกันตามโปรไฟล์การทำให้เป็นกลางตามแนวแกนตั้ง ในทำนองเดียวกัน แอนติซีรัมจะถูกจัดเรียงตามความสามารถในการต่อต้านแผลงไวรัสตามแนวแกนนอน A1: O/BFS, A2: O/Manisa, A3: O/Kaufbeuren, A4: O/UKG, A5: O/PanAsia-2 สีเข้มหมายถึงระดับ VNT ที่สูงขึ้น
ที่มา: Mahapatra and Parida (2018)

ในการศึกษาวัคซีนแบบไวรัสเดี่ยวที่แยกได้จากพื้นที่ภูมิภาค SEA พบว่ามี topotype 3 ชนิด (SEA, ME-SA และ Cathay) โดยแสดงการป้องกันข้ามสายพันธุ์ในหลอดทดลองได้ จากผลการศึกษาไวรัส topotype ของ Cathay O/Taiwan แสดงค่า r_1 เฉลี่ย 0.3 (โดยเฉลี่ยจากจำนวน 2 ค่า คือ 0.35 และ 0.25) ซึ่งวัคซีนนี้อาจไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัส Cathay ได้ เว้นแต่มีแอนติเจนที่มีศักยภาพสูงรวมอยู่ในวัคซีนและมีการตอบสนองต่อการฉีดวัคซีน

นอกจากนี้ toposype ME-SA อีกสายพันธุ์หนึ่งคือ O-Ind-2001d ที่มีต้นกำเนิดจากอนุทวีปอินเดียได้แพร่กระจายไปยังพื้นที่ใหม่ๆและทำให้เกิดการระบาดครั้งใหม่ ทำให้สถานการณ์ทางระบาดวิทยาซับซ้อนขึ้น โดยได้มีการทดสอบ vaccine matching เพื่อสนับสนุนการควบคุมโรค FMD ที่เกี่ยวข้องกับไวรัส O-Ind-2001d ที่แยกได้จากอินเดียระหว่างปี 2009-2012 และจากผลการทดสอบพบว่าวัคซีน O/PanAsia-2 และ O/IND/R2/75 มีความสัมพันธ์ที่เข้ากันได้

จากการศึกษาการประเมินวัคซีน 4 ชนิด (O/HKN/6/83, O/IND/R2/75, O/SKR/2010 และ O/PanAsia-2) และวัคซีนสมมุติหนึ่งชนิด (O/MYA/2009) เทียบกับสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ คือ ไวรัส FMD ซีโรไทป์ O จำนวน 85 ตัวที่รวบรวมในช่วงระยะเวลา 20 ปีระหว่างปี 1993 ถึง 2012 จากภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เอเชียตะวันออก และตะวันออกไกล โดยการทดสอบการทำให้ไวรัสเป็นกลางนั้น พบว่ามีปฏิกิริยาข้ามในวงกว้าง (รูปที่ 22) โดยสายพันธุ์ O/PanAsia-2 พบว่ามีความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาที่เข้ากันได้ดีกับไวรัสมากกว่า 95% ตามด้วย O/HKN/6/83 (92%) และสายพันธุ์จำลอง O/MYA/2009 (89%) และนอกจากนี้พบว่าวัคซีน O/SKR/2010 มีปฏิกิริยาข้ามที่น้อยที่สุด ซึ่งให้ผลความสัมพันธ์ที่ไม่ใกล้เคียงถึง 41% ของเชื้อที่ใช้ในการศึกษา



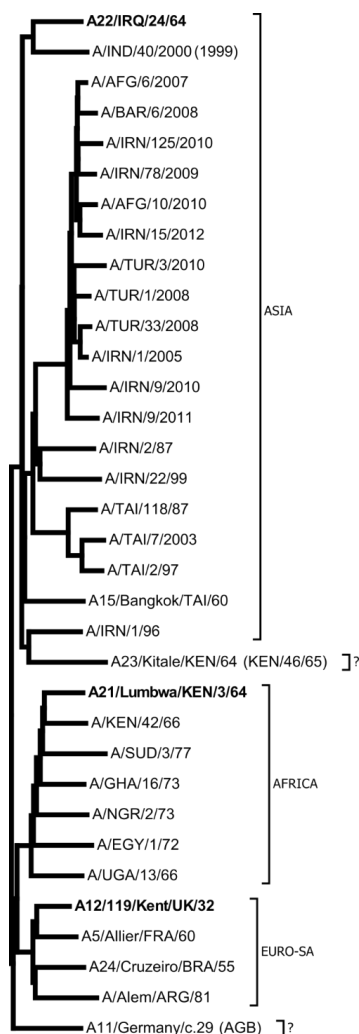
รูปที่ 18 ค่าความสัมพันธ์ทางซีรัมวิทยาของแอนติเจน (ค่า r_1) ของไวรัส FMDV ซีโรไทป์ O จำนวน 85 ตัวอย่างในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เทียบกับไวรัสวัคซีน 5 ชนิด ภายใต้ข้อกำหนดเกณฑ์ในช่วง < 0.3= Poor, 0.3– 0.5= Moderate และ 0.5– 1= Good

ที่มา: Mahapatra and Parida (2018)

ซีโรไทป์ A

ซีโรไทป์ A แบ่งออกเป็น 3 toptotype ได้แก่ AFRICA, ASIA และ EUROPE-SOUTH AMERICA (EURO-SA) ดังรูปที่ 18 จากการศึกษาที่ผ่านมาของซีโรไทป์ A พบว่ามีความหลากหลายทางแอนติเจนอย่างมากโดยมีการแยกย่อยสายพันธุ์มากกว่า 32 ชนิดและมีการเปลี่ยนแปลงเร็วกว่าซีโรไทป์ O ดังตัวอย่างรายละเอียดต่อไปนี้

- วัคซีน A22/Iraq เป็นวัคซีนที่ถูกเลือกใช้ในตะวันออกกลางมาเกือบสามทศวรรษ จนกระทั่งมี ยีน A-Iran-96 และ A-Iran-99 เกิดขึ้น ซึ่งส่งผลให้เกิดการพัฒนาวัคซีน A/Iran/96 และ A/Iran/ 99 ตามลำดับ ต่อมาในปี 2003 มี A-Iran-05 มีความแตกต่างกันทางแอนติเจนเกิดขึ้นส่งผลให้เกิดการพัฒนา วัคซีน A/TUR/2006 ไวรัส ARD-07, BAR-08, SIS-10 และ SIS-12 ที่หมุนเวียนในพื้นที่ และมีรายงานว่าแสดง ปฏิกริยาข้ามที่ต่ำกว่า Anti serum ของ A/TUR/2006

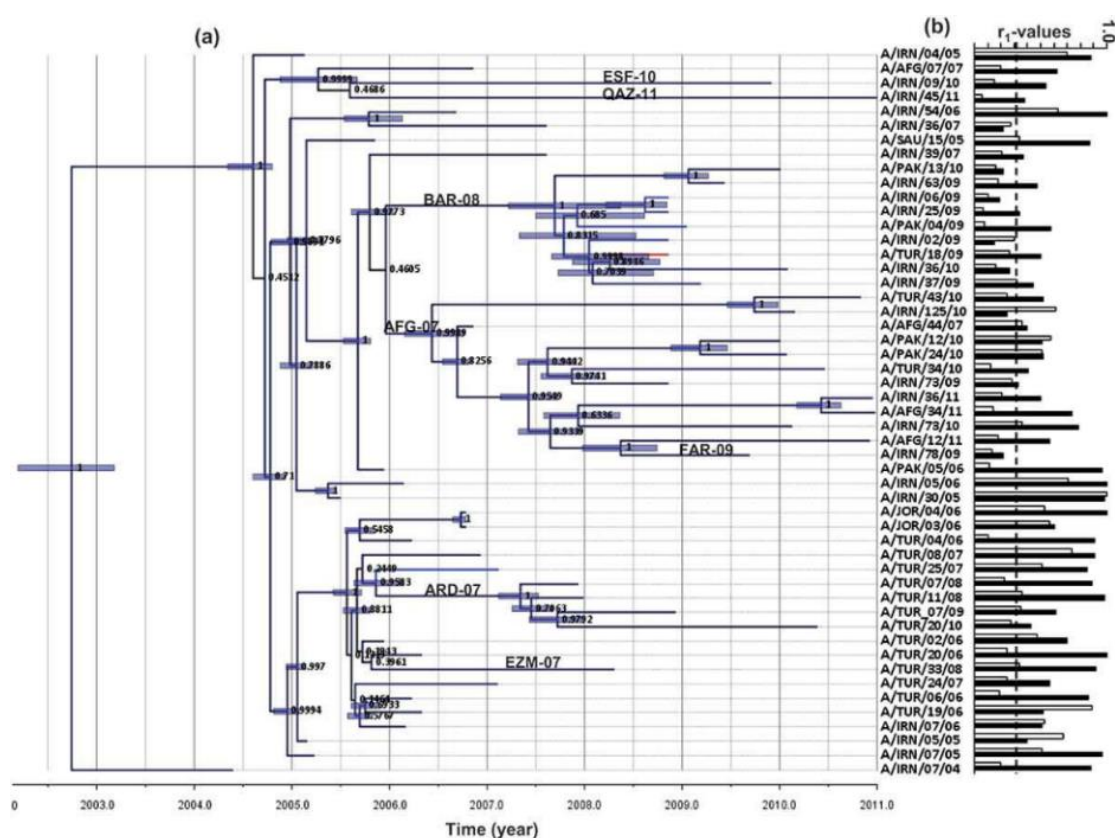


รูปที่ 19 แสดง Phylogenetic trees ที่มีการจำแนก Topotype ของซีโรไทป์ A

ที่มา: <https://www.foot-and-mouth.org/FMDV-nomenclature-working-group/prototype-strains#a>

สำหรับในอเมริกาใต้เกิดความแปรผันของแอนติเจนในปี 2001-2000นำไปสู่การพัฒนาวัคซีนสายพันธุ์ใหม่ A/ARG/2001 ในอาร์เจนตินา

ในภูมิภาคตะวันออกกลางพบการเกิดสายพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะแอนติเจนที่คล้ายคลึงกันหลายสายพันธุ์ในช่วง 5 ทศวรรษที่ผ่านมา ได้แก่ A22, A/Iran-87, A/Iran-96, A/Iran-99, A/Iran-05 ซึ่งทั้งหมดได้มีการพัฒนาวัคซีนสายพันธุ์ใหม่เพื่อควบคุมการระบาด จากการศึกษาเกี่ยวกับการประเมินสายพันธุ์วัคซีนซีโรไทป์ A จำนวน 2 สายพันธุ์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย (A22 และ A/TUR/2006) เทียบกับไวรัสซีโรไทป์ A57 ที่รวบรวมในช่วงระยะเวลา 16 ปี ระหว่างปี 1996 ถึง 2011 ในภูมิภาคที่ระบาดด้วยวิธี VNT พบว่าวัคซีน A22 ไม่ตรงกับไวรัสส่วนใหญ่ที่ใช้ในการศึกษานี้ แต่วัคซีน A/TUR/2006 สามารถเข้ากันได้ดีกับไวรัสส่วนใหญ่ ยกเว้นไวรัสที่อยู่ในเชื้อสายย่อย BAR-08 และ ARD-07 (รูปที่ 20)



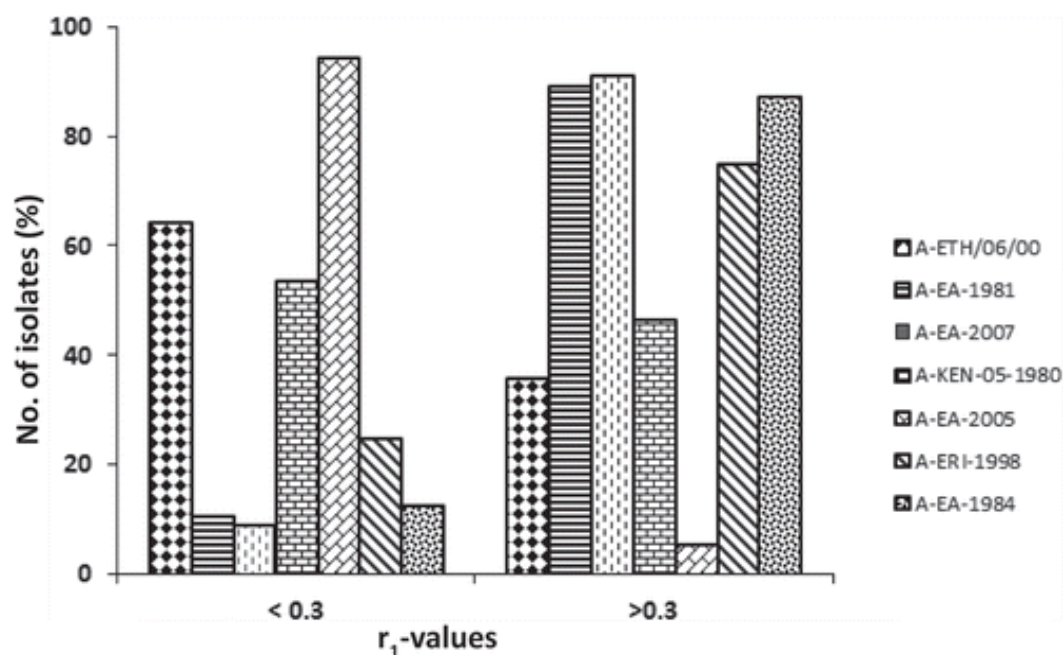
รูปที่ 20 (a) แสดง Phylogenetic trees ของไวรัส FMDV ซีโรไทป์ A-Iran-05 และ (b) แสดงค่า r_1 เทียบกับไวรัสวัคซีนของ A22/Iraq (สีขาว) และ A/TUR/2006 (สีดำ) พื้นฐานของลำดับ VP1

ที่มา: Mahapatra and Parida (2018)

มีการศึกษาเพิ่มเติมในปี 2016 เกี่ยวกับการประเมินวัคซีน 2 สายพันธุ์ คือ SIS-10 และ SIS-12 กับสายพันธุ์ในพื้นที่คือ FAR-09 จำนวน 15 ตัว (รวบรวมในปี 2012-2013) พบว่าไม่สามารถเข้ากันได้กับไวรัสวัคซีนสายพันธุ์ย่อย SIS-10 และ SIS-12 ซึ่งบ่งชี้ว่าสายพันธุ์วัคซีนที่มีอยู่ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการป้องกันเชื้อที่แยกจากเชื้อที่หมุนเวียนอยู่ โดยการประเมินสายพันธุ์จำลองอื่น A/IRN/07/2013 ที่เป็นของเชื้อ

สายย่อย SIS-10 โดยการแสดงผลการป้องกันในหลอดทดลองกับตัวอย่างที่แยกได้ในพื้นที่ที่ระบาด เป็นการย้ำถึงข้อกำหนดในการพัฒนาวัคซีนซีโรไทป์ A ใหม่ทุกๆ 5-10 ปีในภูมิภาค ดังนั้นการเฝ้าระวังและติดตามการระบาดอย่างต่อเนื่องควบคู่ไปกับการศึกษาการทดสอบ vaccine matching เป็นประจำสามารถระบุแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสายพันธุ์ไวรัสในพื้นที่ที่หมุนเวียนและการพัฒนาวัคซีนสายพันธุ์ใหม่ต่อไป

สำหรับ topotype AFRICA ปัจจุบันมี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ I, IV และ VII และ สายพันธุ์ของ 1 topotype ASIA คือ A-Iran-05 ที่พบว่ายังมีการหมุนเวียนในภูมิภาคแอฟริกาตะวันออก วัคซีนที่ผลิตในท้องถิ่นทั้งหมดเป็นไวรัสที่มีมานานและไม่ค่อยมีการทดสอบ vaccine matching ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาเพื่อวัดความสามารถของวัคซีน 3 สายพันธุ์ที่มีอยู่ (A-ERI-1998, A-ETH-06-2000 และ A-KEN-05-1980) และสายพันธุ์วัคซีน 4 สายพันธุ์ (A-EA-2007, A-EA-1984, A-EA-2005 และ A-EA-1981) ของซีโรไทป์ A เพื่อป้องกันข้าม (ในหลอดทดลอง) เทียบกับไวรัสที่หมุนเวียนจำนวน 56 ตัว (รวบรวมในช่วงระยะเวลา 14 ปีระหว่างปี 1998 ถึง 2012) ด้วยวิธี VNT ซึ่งสายพันธุ์วัคซีนมีปฏิกิริยาข้ามอยู่ระหว่าง 5–46% ของไวรัสที่ใช้ในการศึกษา โดยพบว่ามีค่า $r_1 \geq 0.3$ (รูปที่ 19) และ A-EA-2007 เป็นวัคซีนที่ดีที่สุด รองลงมาคือ A-EA-1981 และ A-EA-1984 แต่อย่างไรก็ตามไม่พบวัคซีนตัวใดที่เข้ากันได้ดีกับไวรัส A-Iran-05 ที่แพร่กระจายอยู่ในภูมิภาค ซึ่งบ่งชี้ว่าอาจจำเป็นต้องรวมสายพันธุ์หลายสายพันธุ์จากซีโรไทป์สายพันธุ์ที่แตกต่างกันอาจ , จำเป็นต้องรวมอยู่ด้วยในสูตรวัคซีนของประเทศต่างๆ ดังนั้นการพิจารณาอย่างรอบคอบและการตัดสินใจโดยทดสอบ Vaccine matching เป็นประจำถือเป็นสิ่งสำคัญต่อความสำเร็จของโครงการควบคุมโรค FMD ในภูมิภาค



รูปที่ 21 ค่าความสัมพันธ์แอนติเจน (ค่า r_1) ของ 57 สายพันธุ์ A ของแอฟริกาตะวันออก แสดงการทดสอบ Vaccine matching ทางซีรัมวิทยา (ค่า r_1) ในช่วง < 0.3 และ > 0.3 สำหรับวัคซีนทั้ง 7 สายพันธุ์

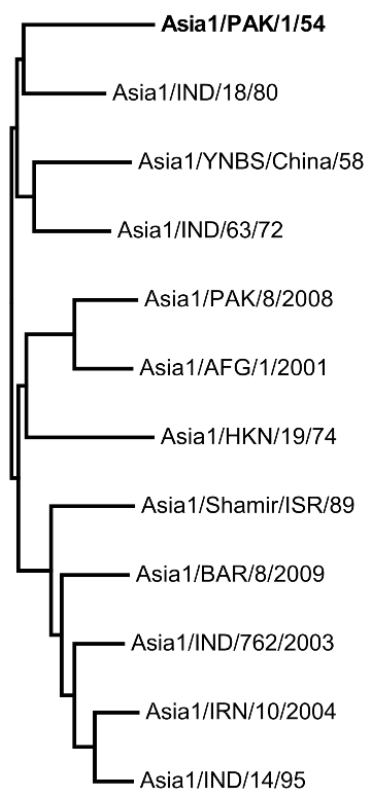
ที่มา: Mahapatra and Parida(2018)

ซีโรไทป์ Asia 1

ซีโรไทป์ Asia1 แบ่งออกเป็น 1 topotype คือ ASIA ดังรูปที่ 21

FMDV ซีโรไทป์ Asia1 ส่วนใหญ่จำกัดอยู่ในทวีปเอเชีย ซึ่งได้รับการพิจารณาว่ามีความหลากหลายทางแอนติเจนน้อยกว่าซีโรไทป์อื่นๆ โดยพบว่าจนถึงขณะนี้ตรวจพบ topotype ของไวรัสเพียงชนิดเดียวในพื้นที่ ปัจจุบันวัคซีนที่มีอยู่ ได้แก่ Asia 1 Shamir, Asia1-YNBS/58 และ Asia 1-IND 8/79; Asia 1 Shamir ถูกใช้ทั่วทั้งเอเชีย ในขณะที่การใช้ Asia 1-IND และ Asia1-YNBS/58 ส่วนใหญ่จะจำกัดอยู่ที่อนุทวีปอินเดียและจีน ตามลำดับ โดยยังไม่มีรายงานการทบทวนการทดสอบ Vaccine matching ของซีโรไทป์ Asia 1 สำหรับไวรัส Asia 1 ที่หมุนเวียนอยู่ในเอเชียในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการอ้างอิงในพื้นที่ได้เฝ้าระวังโดยการทดสอบ Vaccine matching อย่างจำกัดโดยใช้เชื้อแยกที่มีอยู่

โดยทั่วไปประเทศที่ปลอดจาก FMD จะมีการเตรียมความพร้อมของแอนติเจนและวัคซีนสำรองที่สามารถป้องกันไวรัสที่คิดว่าเป็นภัยคุกคามต่อประเทศของตนได้ ด้วยกระแสโลกาภิวัตน์ของการค้าและการอพยพของผู้คนที่เพิ่มมากขึ้น จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำเชื้อ FMDV สายพันธุ์ใหม่เข้าสู่ภูมิภาคอยู่เสมอ ดังนั้นวัคซีนสายพันธุ์ที่มีความครอบคลุมทางภูมิคุ้มกันในวงกว้างจึงเป็นที่ต้องการและเป็นสิ่งสำคัญในการประเมินความสามารถของไวรัสวัคซีนในการกระตุ้นการป้องกันข้ามสายพันธุ์ ที่มีประสิทธิภาพต่อสายพันธุ์ที่หมุนเวียนอยู่หลายชนิด รวมถึงตัวอย่างจากนอกทวีป



รูปที่ 22 แสดง Phylogenetic trees ที่มีการจำแนก Topotype ของซีโรไทป์ Asia1

ที่มา: <https://www.foot-and-mouth.org/FMDV-nomenclature-working-group/prototype-strains#asia-1>

● **วัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย**

ตามหลักการของวัคซีนมีจุดมุ่งหมายเพื่อให้สามารถป้องกันที่เป็นสากลต่อ FMD ทุกสายพันธุ์ ด้วยภูมิคุ้มกันที่ยั่งยืน นอกจากนี้วัคซีนเหล่านี้ควรมีราคาถูกในการผลิตและส่งมอบในลักษณะที่คุ้มค่าเป็นประโยชน์ จากความหลากหลายของแต่ละซีโรไทป์เนื่องจากไวรัสเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา วัคซีนจึงจำเป็นต้อง "จับคู่" กับสายพันธุ์ไวรัสที่มีการระบาดในพื้นที่ โดยไม่จำเพาะแค่ซีโรไทป์เท่านั้น ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันด้วยการฉีดวัคซีนที่มีความเหมาะสมและสามารถประสบความสำเร็จในการกำจัดโรค และวัคซีนสามารถป้องกันโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ระยะเวลาของภูมิคุ้มกันโรดยังพบว่าค่อนข้างจำกัด (ประมาณ เดือน) และการฉีดวัคซีนไม่ได้ให้ 6 ความคุ้มกันโรคแบบปลอดภัยหรือขัดขวางการพัฒนาของพาหะ หากพบว่าวัคซีนยังค่อนข้างไม่เสถียรเท่าที่ควรและยังมีความบกพร่องเรื่องห่วงโซ่ความเย็นในการรักษา ประสิทธิภาพของวัคซีน อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้โรคนี้เป็นโรคประจำถิ่น ดังนั้นการควบคุมโรคด้วยวัคซีนและระบบความปลอดภัยทางชีวภาพเป็นวิธีที่ดีและเป็นประโยชน์อย่างเป็นรูปธรรมต่อทุกประเทศ เนื่องจากช่วยลดความเสี่ยงของการแพร่ระบาดของไวรัสในพื้นที่ปลอดโรคต่อไป (Belsham, 2020)

สำหรับมาตรการในการฉีดวัคซีนโรค FMD ยังคงเป็นกลยุทธ์ที่มีประสิทธิภาพที่สุดในการควบคุมโรค FMD และวัคซีนในปัจจุบันนั้นทำจากการเตรียมไวรัสแบบเชื้อตาย ซึ่งจะต้องมีแคปซิดของไวรัสที่สมบูรณ์ในระดับสูงเพื่อกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตามสิ่งที่ควรระวังคือแคปซิดของเชื้อ FMDV จะแยกตัวออกทันทีภายใต้สภาวะที่เป็นกรดอ่อน ($\text{pH} < 7$ และที่อุณหภูมิ 7°C สูง $> 30^{\circ}\text{C}$) ดังนั้นประสิทธิภาพระหว่างการผลิตวัคซีนจะเพิ่มความไม่แน่นอนนี้ และปัญหาดังกล่าวเกี่ยวกับสภาวะเรื่องค่าความเป็นกรดต่างกับอุณหภูมิมีผลกระทบสอดคล้องข้อจำกัดของระบบห่วงโซ่เย็นและความแตกต่างของความเสถียรในแต่ละซีโรไทป์ (Jackson *et al.*, 2021)

● **วัคซีนโรค FMD ในปัจจุบัน**

ในปัจจุบันวัคซีนเชื้อตายโรค FMD มีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อ FMDV ได้ดี โดยได้ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการควบคุม กำจัด และป้องกันโรค FMD โดยการเลือกสายพันธุ์วัคซีนที่มีภูมิคุ้มกันและปฏิกิริยาข้ามมากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ นั่น ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับโปรแกรมการฉีดวัคซีนอย่างเป็นระบบเท่านั้น รวมถึงแอนติเจนสำรองที่สามารถยับยั้งการทำงานของเชื้อ FMDV ตามกลยุทธ์การควบคุมป้องกัน โดยการกำหนดสูตรวัคซีนอย่างรวดเร็วในกรณีฉุกเฉิน (เช่น คลังแอนติเจน) ซึ่งคลังเหล่านี้มีความสำคัญในประเทศที่ปลอดโรค FMD ที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีน เช่นเดียวกับในประเทศที่มีการฉีดวัคซีนซึ่งควรพิจารณาการจัดเก็บแอนติเจนจากสายพันธุ์ที่แตกต่างจากที่มีอยู่ในวัคซีนปัจจุบัน (Maradei *et al.*, 2014) แต่อย่างไรก็ตามมีข้อเสียที่สำคัญหลายประการที่เกี่ยวข้องกับวัคซีนโรค FMD เชื้อตายแบบดั้งเดิม รวมถึงข้อกำหนดการผลิตด้านความปลอดภัยทางชีวภาพในระดับสูง ความคงตัวความร้อนของแอนติเจนต่ำ ความเป็นไปได้ของการยับยั้งการทำงานที่ไม่สมบูรณ์และการรั่วไหลของไวรัสจากโรงงานผลิต และ NSP ที่ตกค้างซึ่งทำให้ยากต่อการแยกแยะระหว่างสัตว์ที่ติดเชื้อและสัตว์ที่ได้รับวัคซีน (DIVA) ดังนั้นจึงมีการศึกษาแนวทางการวิจัยมากมายเพื่อพัฒนาวัคซีนทางเลือกเพื่อแก้ไขข้อบกพร่องเหล่านี้

ในช่วง ปีที่ผ่านมา มีความพยายามในการผลิตวัคซีนตัวเล็กโดยอาศัยโปรตีนรีคอม 30 บีแนนท์ของ VP ที่ 1 อาศัยการทำงานเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) อย่างไรก็ตาม การศึกษาส่วนใหญ่แสดงให้เห็นการผลิตโปรตีนที่ไม่ใช้งานทางชีวภาพ ซึ่งต้องใช้กระบวนการ refolding ซึ่งจำเป็นต้องใช้ค่าใช้จ่ายและใช้เวลานานเพื่อนำโปรตีน VP ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลับคืนมา 1 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของรีคอมบีแนนท์โปรตีนที่มี epitope ซึ่งผลิตใน *E. coli* มีข้อดีมากกว่าแอนติเจนประเภทอื่นๆ หลายประการ ได้แก่

ประการแรก เนื่องจากไม่มีแหล่งที่มาของการติดเชื้อ จึงมีความปลอดภัยอย่างสมบูรณ์และทำหน้าที่เป็นวัคซีน DIVA

ประการที่สอง สามารถออกแบบได้อย่างง่ายดายเพื่อให้สามารถแยกแยะโมเลกุลของอิมมูโนเจนได้หลายแบบและแม่นยำ

ประการที่สาม ระบบการแสดงออกของเชื้อ *E. coli* เป็นแพลตฟอร์มการแสดงออกทางอุตสาหกรรมที่ได้รับการยอมรับและเป็นที่ยอมรับ โดยมีข้อกังวลด้านความปลอดภัยทางชีวภาพเพียงเล็กน้อย มีศักยภาพสูงในการขยายขนาดและต้นทุนการผลิตต่ำ

อย่างไรก็ตาม ปัญหาบางอย่างเกี่ยวข้องกับระบบการแสดงออกของ *E. coli* เช่น การสะสมของโปรตีนเป็นตัวแปรที่ไม่มีประสิทธิภาพจากการปนเปื้อนของ Protease และ Endotoxin ซึ่งการปรับปรุงการถอดรหัสให้เหมาะสมและการทำโปรตีนบริสุทธิ์โดยใช้โครมาโตกราฟีด้วยเทคนิคการแลกเปลี่ยนประจุลบขั้นสูงจะหลีกเลี่ยงข้อเสียเหล่านี้ได้ ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณาประกอบกับความคุ้มค่าทางด้านการจัดการ ด้านงบประมาณ และการประเมินผลการผลิต

โดยพบว่าทั่วโลกมีการใช้วัคซีนโรค FMD ประมาณ พันล้านโดสต่อปี ส่วนใหญ่อยู่ในจีนและ 5.2 อเมริกาใต้ ในปัจจุบันวัคซีนโรค FMD จะผลิตภายใต้สภาวะปลอดเชื้อที่สูง โดยการเจริญเติบโตของไวรัสติดเชื้อภายในเซลล์ไตของหนูแฮมสเตอร์ (BHK) ในการเพาะเลี้ยงสารแขวนลอย ซึ่งอนุภาคไวรัสจะถูกยับยั้งทางเคมีโดยใช้ binary ethyleneimine (BEI) เพื่อปรับเปลี่ยน RNA ของไวรัส จากนั้นทำให้บริสุทธิ์เพื่อกำจัด NSP ก่อนดำเนินการเตรียมวัคซีนโดยผสมกับสารเสริมเพื่อเป็นสื่อ (น้ำมันหรือในรูปน้ำที่มี aluminium hydroxide และ saponin)

● ข้อจำกัดของวัคซีน FMD ในปัจจุบัน

ตามที่ระบุไว้ข้างต้นวัคซีนได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีความมีประสิทธิภาพมากในการช่วยควบคุมโรคในทวีปยุโรปพร้อมกับมาตรการควบคุมอื่นๆ รวมถึงการควบคุมการเคลื่อนย้ายของสัตว์ แต่วัคซีนโรค FMD ในปัจจุบันยังห่างไกลจากความสมบูรณ์แบบ และนอกจากนี้การแพร่กระจายของไวรัสที่จำกัดโดยเฉพาะในช่องปากยังคงสามารถเกิดขึ้นได้ในสัตว์เหล่านี้ และเพียงพอที่จะทำให้สัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนติดเชื้อมาแล้วกลายเป็นพาหะได้เป็นเวลานาน

หากอนุภาคไวรัสถูกทำให้บริสุทธิ์โดยแยก NSP ออกในระหว่างการผลิตก็จะสามารถเป็นไปได้ที่จะแยกแยะระหว่างสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกัน FMD แต่ไม่ติดเชื้อมีสัตว์ที่ติดเชื้อมีไวรัสตามธรรมชาติได้จากแนวคิด DIVA นี้พบว่าทั้งการติดเชื้อมีไวรัสและวัคซีนเชื้อตายจะกระตุ้นให้เกิดการผลิตแอนติบอดีต่อโปรตีนแคปซิด แต่ในทางตรงกันข้ามแอนติบอดีต่อ NSP ควรสร้างขึ้นจากการติดเชื้อมีไวรัส (แม้ว่าการฉีดวัคซีน

บริษัทหลายครั้งอาจยังกระตุ้นการตอบสนองของ NSP ได้ แต่มีการตรวจวิเคราะห์ที่หลากหลายเพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อ NSPs อย่างไรก็ตามหากสัตว์ที่ได้รับวัคซีน (แม้ว่าจะไม่มีโรคก็ตาม) ระดับของการจำลองแบบของไวรัสในสัตว์พาหะเหล่านี้ อาจยังไม่เพียงพอที่จะสร้างการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อ NSP แม้ว่าสัตว์จะยังคงมีไวรัสติดเชื้อมีอยู่ก็ตาม ซึ่งข้อจำกัดบางประการของวัคซีน FMD ในปัจจุบันมีรายละเอียดเพิ่มเติมสะท้อนถึงธรรมชาติของวัคซีน ชีววิทยาของไวรัส และโดยเฉพาะอย่างยิ่งวิวัฒนาการที่รวดเร็ว รวมถึงการเบี่ยงเบนทางพันธุกรรมที่เพิ่มขึ้นและเหตุการณ์การรวมตัวกันที่รุนแรงมากขึ้น

● การทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีน

การทดสอบประสิทธิภาพตามปกติของวัคซีน FMD เกี่ยวข้องกับการฉีดวัคซีนให้กับสัตว์จำนวนเล็กน้อยด้วยขนาดวัคซีนที่แตกต่างกัน จากนั้นทำการทดสอบด้วยการเชื้อไวรัส ที่ วันหลังการฉีด 28 หรือ 21 วัคซีน ด้วยสายพันธุ์ไวรัสที่เหมาะสม แม้ว่าการทดสอบนี้จะมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์บางประการ แต่ในแง่ของมาตรฐานยังมีข้อจำกัดบางประการ เช่น การทดสอบที่ไม่ได้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับความสามารถของวัคซีนในการป้องกันสายพันธุ์ไวรัสที่ไม่คล้ายคลึงกัน หรือการป้องกันจากไวรัสสายพันธุ์อื่นๆ ที่มากกว่าปกติ เช่น การสัมผัสกับสัตว์ที่ติดเชื้อ ความแม่นยำที่ค่อนข้างจำกัดเนื่องจากเป็นสัตว์มีจำนวนน้อย

● แนวโน้มการปรับปรุงวัคซีนโรค FMD

จากการทบทวนวรรณกรรมได้อธิบายถึงความจำเป็นในการปรับปรุงวัคซีน FMD และสถานะปัจจุบันของการพัฒนาและการปรับปรุงวัคซีนโรค FMD โดยสรุปพบว่าแม้เพียงไม่กี่แนวทางหลักที่ยังคงให้ความสนใจในการศึกษาอย่างต่อเนื่อง มุ่งเน้นที่การผลิตอนุภาคคล้ายไวรัสที่แสดงสเปกตรัมของตำแหน่งแอนติเจนที่มีอยู่ในอนุภาคไวรัสนั้นเอง ความพยายามที่จะใช้โปรตีนแคปซิดหรือเปปไทด์สังเคราะห์แต่ละตัวเป็นวัคซีน พบว่าไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร จุดหลักสำคัญมี 3 ประเภท (รูปที่ 24) ได้แก่

1) การผลิตอนุภาคแคปซิดเปล่าที่ไม่ติดเชื้อ FMDV

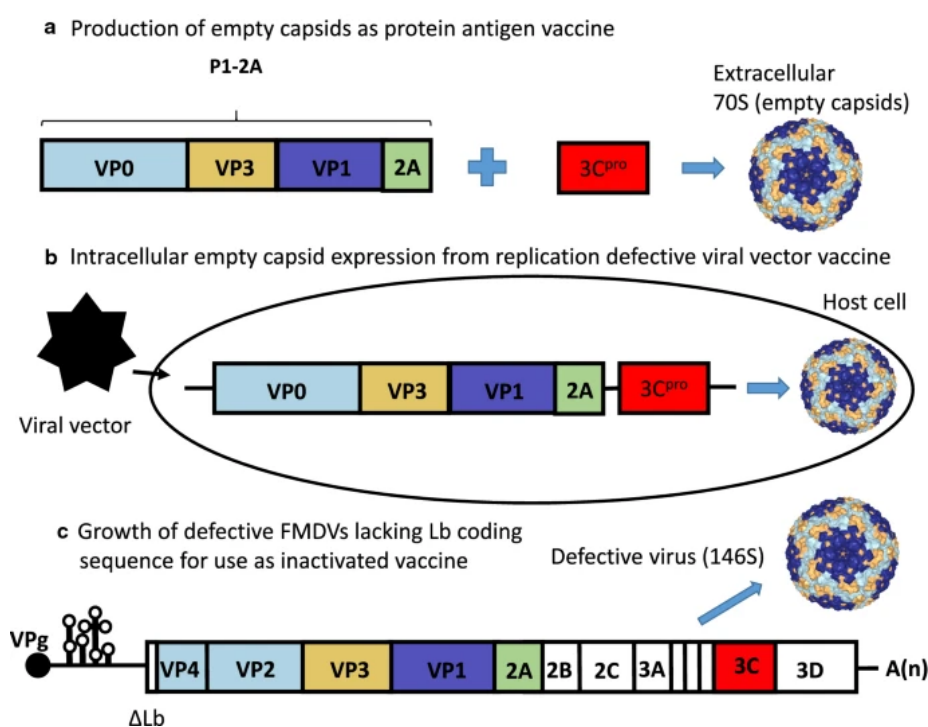
การผลิตอนุภาคแคปซิดเปล่า (70S) โดยสารตั้งต้นแคปซิด FMDV P2-1A รวมกับ 3Cpro โดยการ Expression ในไวรัส baculovirus และ vaccinia ที่ไม่ติดเชื้อและบริษัท ทำให้สามารถใช้เป็นวัคซีนได้ อย่างไรก็ตามดูเหมือนว่าวัคซีนที่ใช้ผลิตด้วยวิธีนี้จะยังคงประสบปัญหาเดียวกันกับวัคซีนเชื้อตายในปัจจุบัน เช่น ระยะภูมิคุ้มกันที่สั้น, ขาดการป้องกันการฆ่าเชื้อและมีความเป็นไปได้ในการผลิตสัตว์พาหะ

2) การใช้เวกเตอร์ไวรัสที่มีข้อบกพร่องในการจำลองเพื่อแสดงแคปซิดเปล่าของ FMDV

แนวทางนี้จะแตกต่างจากการผลิตอนุภาคแคปซิดเปล่าที่ไม่ติดเชื้อ FMDV ที่อธิบายไว้ข้างต้น ตรงที่พาหะของไวรัสที่มีข้อบกพร่องสามารถแพร่เชื้อไปยังเซลล์ภายในโฮสต์ได้ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ของ FMDV จะถูกสร้างขึ้นภายในเซลล์ของสัตว์ผู้รับ ซึ่งจะยอมให้โฮสต์มีช่วงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่กว้างกว่าที่ถูกสร้างขึ้นโดยแอนติเจนโปรตีนนอกเซลล์ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าระยะเวลาของภูมิคุ้มกันในการป้องกันก็ลดลงเช่นเดียวกัน หลังจากผ่านไปประมาณ เดือน 6ซึ่งอาจเป็นข้อจำกัดของวัคซีนประเภทนี้ ดังนั้นจึงเหมาะสมเฉพาะในกรณีฉุกเฉินเพื่อต่อสู้กับการระบาดในประเทศที่ปลอดโรค

3) การพัฒนาสายพันธุ์ FMDV ที่ได้รับการดัดแปลงซึ่งถูกทำให้อ่อนฤทธิ์เต็มที่ในสัตว์แต่สามารถเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเซลล์

FMDV ที่มีข้อบกพร่อง คือ การถูกลบลำดับของ Lb ที่ใช้ในการเข้ารหัสออกจากไวรัส FMDV โดยไม่สูญเสียความมีชีวิตภายในเซลล์ BHK ซึ่งไวรัสที่กลายพันธุ์เหล่านี้ ถูกทำให้อ่อนฤทธิ์ลงอย่างมากในสัตว์ และไม่สามารถกลับมาแสดงความรุนแรงได้ ดังนั้นไวรัส FMD ที่ถูกลดทอนความรุนแรงเหล่านี้จึงเป็นแหล่งแอนติเจน FMDV ที่ปลอดภัยกว่าสายพันธุ์วัคซีนในปัจจุบันอย่างมีนัยสำคัญ โดยคาดว่าไวรัสจะถูกยับยั้งก่อนที่จะใช้เป็นวัคซีนเช่นเดียวกับวัคซีนในปัจจุบัน แต่ข้อจำกัดที่คล้ายคลึงกันกับวัคซีนทั่วไป



รูปที่ 23 แนวทางเลือกในการผลิตวัคซีน FMDV ใหม่ ปลอดภัย

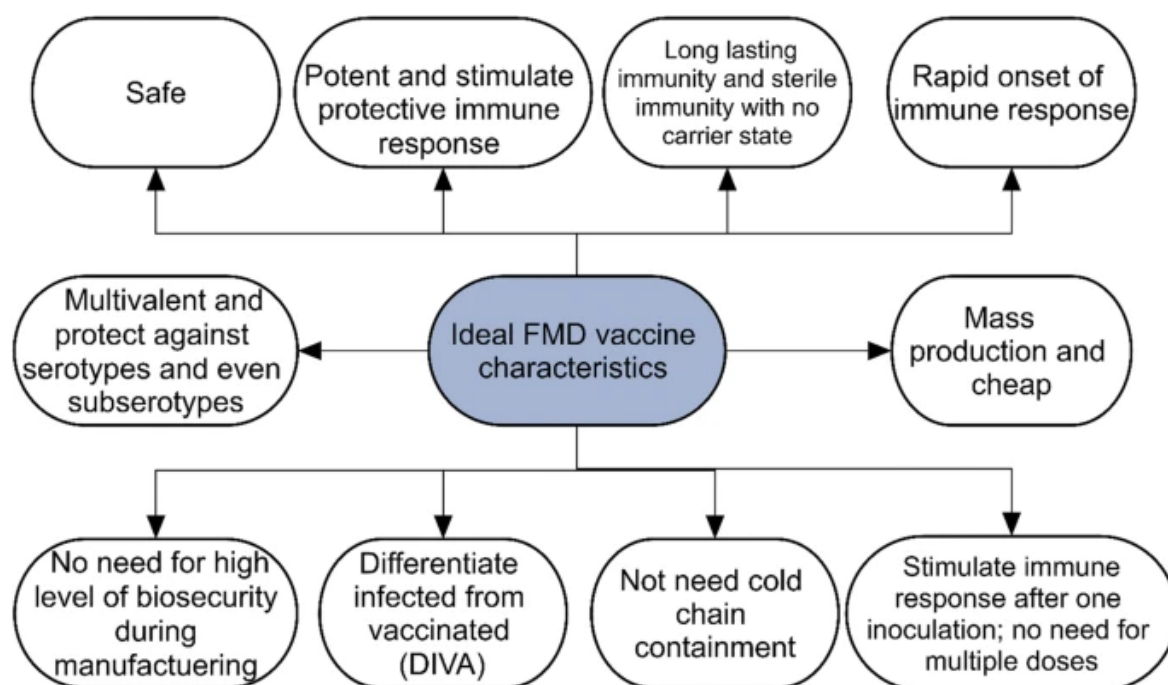
ที่มา: Graham J. Belsham (2020)

- **วัคซีนในอุดมคติ**

มีการศึกษามากมายเพื่อผลิตวัคซีนในอุดมคติที่มีลักษณะดังนี้ คือ มีความปลอดภัย กระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันในการฉีดวัคซีนครั้งเดียว กระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันที่รวดเร็วและยาวนาน มีค่าใช้จ่ายต่ำ และทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนและสัตว์ที่ติดเชื้อ (รูปที่ 25)

วัคซีนที่มีการพัฒนาใหม่หลายประเภท ได้แก่ วัคซีน DNA วัคซีนเปปไทด์ วัคซีนเวกเตอร์ที่มีชีวิต และอื่นๆ ได้รับการพัฒนาเพื่อเอาชนะข้อเสียของวัคซีนเชื้อตาย โดยวัคซีนแต่ละประเภทมีข้อดีและข้อจำกัดของตัวเอง จำเป็นอย่างยิ่งที่วัคซีนจะต้องมีความสามารถด้าน DIVA (การแยกการติดเชื้อจากสัตว์ที่ได้รับวัคซีน) เมื่อนำไปใช้กับกลยุทธ์ในการกำจัดและควบคุมโรค เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อย่างรวดเร็วจากการฉีดวัคซีนเพียงครั้งเดียวในกรณีของการฉีดวัคซีนฉุกเฉิน หรือวัคซีนสายพันธุ์ใหม่ส่วนใหญ่ ได้แก่ ชนิดที่ลดทอนเวกเตอร์ที่มีชีวิตของวัคซีน DNA และวัคซีนเปปไทด์ ซึ่งสามารถผลิตได้อย่างปลอดภัยและมีความสามารถด้าน DIVA

โดยพบว่าสัตว์ทั้งหมดไม่มีความเสี่ยงจากการได้รับการฉีดวัคซีน ยกเว้น ในกรณีวัคซีน DNA ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่ต่ำและข้อจำกัดในการรวมตัวกันกับจีโนมอื่นๆ โดยวัคซีนที่ถูกทำให้อ่อนฤทธิ์นี้มีโอกาสที่จะกลับไปสู่สถานะที่มีความรุนแรงได้ ซึ่งจากกลยุทธ์และกำหนดเวลาการฉีดวัคซีนจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์เชื้อ FMDV ที่พบในแต่ละภูมิภาคทั่วโลก ประกอบกับปัจจัยด้านการค้าระหว่างประเทศ ประชากรและการเคลื่อนย้ายของสัตว์จำนวนมาก ก่อให้เกิดภัยคุกคามต่อภูมิภาคที่นำเข้าสายพันธุ์ที่ไม่รวมอยู่ในสูตรวัคซีนได้



รูปที่ 24 คุณสมบัติของวัคซีน FMD ในอุดมคติ

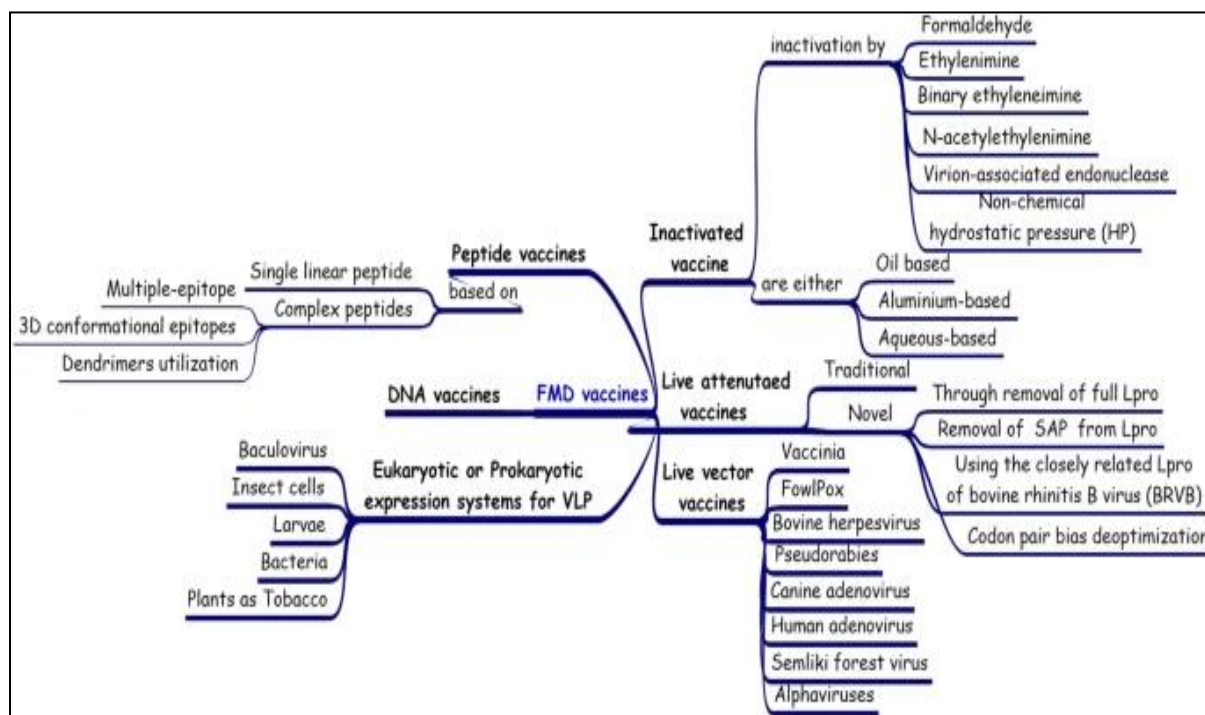
ที่มา: Kamel *et al* (2019)

● การปรับปรุงวัคซีน FMD และแนวโน้มในอนาคต

ความก้าวหน้าล่าสุดด้านพันธุศาสตร์ในรูปแบบ Reverse genetics คือ เริ่มจากยีนและลำดับเบสที่สนใจ (target gene) มีการแก้ไข ดัดแปลงยีน เพื่อนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของพีโนไทป์ และการนำเทคโนโลยีเกี่ยวกับการพัฒนารูปแบบการติดเชื้อของ cDNA ซึ่งจะนำไปสู่การปฏิบัติการออกแบบวัคซีน FMD อย่างมีเหตุผล (รูปที่ 26)

การบูรณาการความก้าวหน้าในปัจจุบันและความต่อเนื่องในด้านภูมิคุ้มกันวิทยาของไวรัสและการเกิดโรค ตลอดจนความเข้าใจที่ดีขึ้นเกี่ยวกับกระบวนการเหล่านี้ มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการปรับปรุงวัคซีนโรค FMD ให้มีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ สามารถทำได้โดยใช้เครื่องมือ Reverse genetics และชีววิทยาเชิงคำนวณ ซึ่งเป็นวิธีการที่อาจนำไปสู่การพัฒนาวัคซีนโรค FMD ใหม่ ๆ ที่มีความคงตัวของแคปซิดและเหมาะสมที่สุดต่อการจับคู่แอนติเจน ความสามารถด้าน DIVA และความปลอดภัยทางชีวภาพ นอกจากนี้มีการพัฒนาให้เกิดความก้าวหน้าทางพันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยี recombinant DNA technologies

ส่งผลให้มีการพัฒนา subunit vaccines ซึ่งจากการวิจัยขั้นสูงเกี่ยวกับ novel adjuvants และการรวมตัวของสารเหล่านี้ในวัคซีนโรค FMD สามารถปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกันและยังยืดระยะเวลาการป้องกันได้อีกด้วย



รูปที่ 25 การนำเสนอแผนผังแสดงการพัฒนาวัคซีนแบบดั้งเดิมและแบบใหม่ที่กำหนดเป้าหมาย FMD ที่มา: Kamel *et al.*, (2019)

• ข้อสรุปและเสนอแนะ

สำหรับมาตรการควบคุมโรค FMD เพื่อลดอุบัติการณ์ได้มีการดำเนินการมาอย่างเข้มงวดมาอย่างต่อเนื่องโดยตลอด โดยกรมปศุสัตว์มีมาตรการในด้านต่างๆ เพื่อควบคุมป้องกันโรคอย่างครอบคลุมต่อเนื่อง เช่น ระบบเฝ้าระวังโรคสามารถตรวจจับโรคได้อย่างรวดเร็ว โดยมีเครือข่ายและอาสาปศุสัตว์ทั่วประเทศ มีระบบการแจ้งและรายงานโรคออนไลน์ผ่านระบบ E-Smart Surveillance ดังนั้นหากเกษตรกรพบสัตว์แสดงอาการผิดปกติสามารถแจ้งโรคได้ทันที มีการรณรงค์ฉีดวัคซีนป้องกันโรค FMD ให้สัตว์กลุ่มเสี่ยง ซึ่งดำเนินการในโคนมปีละ 3 ครั้ง และโคเนื้อ กระบือ แพะ แกะ ปีละ 2 ครั้ง มีการตั้งด่านเพื่อตรวจคัดกรองอาการสัตว์ที่เคลื่อนย้าย ชะลอการเคลื่อนย้ายสัตว์ในพื้นที่ที่มีการพบโรคเพื่อลดการแพร่กระจาย รวมถึงโคที่ส่งออกไปยังประเทศคู่ค้าต่างๆ ต้องเป็นโคมาจากฟาร์มปลอดโรค ฉีดวัคซีนป้องกันโรค FMD และกักสัตว์เป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 21 วันก่อนการเคลื่อนย้าย การประชุมหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อกำหนดแนวทางป้องกันและควบคุมโรค ตลอดจนการประชาสัมพันธ์แจ้งเตือนภัย รณรงค์การทำลายเชื้อโรคจุดเสี่ยงต่างๆ เช่น ตลาดนัดค้าสัตว์ คอกกักสัตว์ โรงฆ่าสัตว์ ศูนย์รับนมและสหกรณ์โคนม การประสานหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อค้นหาสัตว์ป่วยและร่วมควบคุมโรค

การประเมินความเสี่ยงเกี่ยวกับการนำเข้าเชื้อ FMDV เข้าสู่โรงเรือนสุกรผ่านกลุ่มคน พบว่าโอกาสที่เชื้อจะเข้าสู่โรงเรือนเลี้ยงสุกรนั้น ขึ้นอยู่กับความชุกของโรคในพื้นที่และการเข้าฟาร์มที่เป็นโรค FMD ก่อนเข้าโรงเรือนเลี้ยงสุกร ถือว่าเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการทำให้ไวรัส FMD เข้าสู่ฟาร์มและโรงเรือนเลี้ยงสุกร โดยปัจจัยที่มีผลต่อการลดการนำเข้าของเชื้อ ได้แก่ การปฏิบัติตามมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพก่อนเข้าฟาร์มเพื่อลดการปนเปื้อนก่อนเข้าฟาร์มและเขตพื้นที่เลี้ยงสัตว์ กลุ่มคนที่มีความเสี่ยงในการปนเปื้อนเชื้อก่อนเข้าฟาร์มสามารถลดการนำเข้าเชื้อได้ด้วยการหลีกเลี่ยงการเข้าฟาร์มที่เกิดโรค FMD หรือสถานที่ที่มีความเสี่ยงในการมีไวรัส เช่น ฟาร์มเลี้ยงสัตว์กับคู่ ตลาดค้าสัตว์ โรงฆ่าสัตว์ เป็นต้น หรือควรมีระยะพักก่อนเข้าฟาร์มสุกรไม่น้อยกว่า 3 วัน และมีการปฏิบัติตามข้อกำหนดการปฏิบัติก่อนเข้าฟาร์ม หรือเขตเลี้ยงสัตว์ และขณะปฏิบัติงานในเขตเลี้ยงสัตว์ควรลดโอกาสไม่ให้คนที่ปฏิบัติงานในฟาร์ม การสัมผัสกับบุคคลที่มีความเสี่ยงในการนำโรค ดังนั้นการป้องกันการสูญเสียทางเศรษฐกิจจากโรค FMD ที่ดีที่สุด คือ การสร้างความปลอดภัยทางชีวภาพให้กับฟาร์มโคนมของตนเอง ได้แก่ การสร้างภูมิคุ้มกันให้กับโคนมโดยการทำวัคซีนป้องกันโรค FMD ตามรอบทุกๆ 4 เดือน ตามคำแนะนำของกรมปศุสัตว์ การสร้างระบบป้องกันเชื้อโรคเข้าฟาร์ม โดยการควบคุมบุคคล และยานพาหนะที่เข้าออกฟาร์ม การทำลายเชื้อโรคก่อนเข้าฟาร์ม การกักสัตว์ตัวใหม่ก่อนเข้ารวมฝูงเพื่อดูอาการ และในกรณีที่ฟาร์มเกิดโรค FMD ต้องดำเนินการควบคุมโรคไม่ให้กระจายไปยังฟาร์มอื่น การทำลายเชื้อโรคในฟาร์ม ควบคุมการเข้าออกฟาร์มอย่างเคร่งครัด และหัวใจสำคัญคือการรักษาโคนมที่ป่วยและแสดงอาการอย่างถูกต้องตามคำแนะนำของสัตวแพทย์

ในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนสากลที่สามารถป้องกันไวรัสได้ทุกซีโรไทป์ และไม่สามารถป้องกันข้ามสายพันธุ์ที่มีซีโรไทป์เดียวกันได้ ประกอบกับความแปรปรวนของแอนติเจน FMDV มีระดับสูง ดังนั้นการหาแนวทางป้องกันเพื่อแก้ไขปัญหาคำเป็นต้องมีการจัดการอย่างต่อเนื่องทั้งด้านระบาดวิทยาและการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการเตรียมความพร้อมด้านวัคซีน จึงทำให้มีการพัฒนาด้านวัคซีนทั้งคุณลักษณะทางแอนติเจนและทางพันธุกรรมควบคู่กันไป สำหรับด้านการผลิตวัคซีนมีการพัฒนาเกี่ยวกับสูตรผสมของวัคซีนที่แตกต่างกันของไวรัสด้วย โดยบางข้อมูลกล่าวว่าการฉีดวัคซีนที่มีหลายสายพันธุ์ไม่ส่งผลกระทบมากนักในการขยายการป้องกันที่ได้รับจากวัคซีนแต่ละชนิด แต่อย่างไรก็ตามได้รับการพิสูจน์แล้วว่าการเพิ่มประสิทธิภาพของวัคซีนจะทำให้ช่วยเรื่องการป้องกันที่เกิดจากการฉีดวัคซีนเพิ่มขึ้น ซึ่งการนำแนวทางนี้มาใช้เพื่อช่วยในการกำจัดไวรัสจากหลายพื้นที่ทั่วโลก และควรมีการติดตามการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้สายพันธุ์ของวัคซีนที่ทันสมัยอยู่เสมอ โดยวัคซีนมีความสามารถในการป้องกันโรคในระยะสั้นเท่านั้น (4-6 เดือน) ดังนั้นจำเป็นต้องมีการจัดการด้านการจัดส่งแบบห่วงโซ่เย็นนอกจากนี้ แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่ามีปัญหาอีกประการหนึ่ง คือ การสะสมของไวรัสที่คงอยู่ในบริเวณเยื่อผิวของคอกหอยในโคนมากกว่า 50% เนื่องจากการสัมผัสไวรัสมาก่อนแม้ว่าจะเป็นสัตว์ที่ได้รับวัคซีนแล้ว

ดังนั้นการจัดการด้านวัคซีนจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงของเชื้อไวรัสเพื่อเป็นข้อมูลในการคัดเลือก seed วัคซีนและที่สำคัญ คือ มีการแก้ปัญหาแบบยั่งยืน โดยพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพของวัคซีนให้ดียิ่งขึ้นและส่งเสริมการป้องกันโรคเข้าฟาร์ม ให้ปรับระบบการเลี้ยงสัตว์ให้มีมาตรฐาน เพื่อการรับรองการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีด้านปศุสัตว์ (Good Agricultural Practice ; GAP)

หรือการรับรองระบบการป้องกันโรคและการเลี้ยงสัตว์ที่เหมาะสม (Good Farming Management ; GFM) รวมถึงการรับรองสถานภาพฟาร์มปลอดโรคปากและเท้าเปื่อย โดยเฉพาะการสร้างพื้นที่ปลอดโรคปากและเท้าเปื่อยต้องทำให้มั่นใจได้ว่าโค กระบือ แพะ แกะ ในประเทศไทยมีโอกาสน้อยมากที่จะนำเข้าโรคปากและเท้าเปื่อยไปยังประเทศเพื่อนบ้าน

บรรณานุกรม

- กลุ่มโรคสัตว์เคี้ยวเอื้อง สำนักควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์ แหล่งที่มา: 22 ธันวาคม 2559
- กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2562ก). สถานการณ์โรคปากและเท้าเปื่อย. สถานการณ์โรคระบาดสัตว์. แหล่งที่มา : <http://164.115.23.68/vk8/dashboard2.aspx>, 20 มิถุนายน, 2562
- กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2560). สถานการณ์โรคปากและเท้าเปื่อย. สถานการณ์โรคระบาดสัตว์. แหล่งที่มา: ธันวาคม 2560
- เทิดศักดิ์ ญาโน, สุวิชัย โรจนเสถียร, ภาณุวัฒน์ แยมสกุล, สมปรียา กองแก้ว, ประภาส พันชี, ฉายสุรีย์ ศุภวิไล, สมพร พรวิเศษศิริกุล, ภักดี สุทธิพันธุ์กร. (2556). กรณีศึกษาการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย ในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ช่วงปี 2550-2554. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร, 11(3): 277-287
- ประชาชาติธุรกิจ. แหล่งที่มา: <https://www.prachachat.net/local-economy/news-404283>, 23 ธันวาคม 2562
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2553 (<https://warning.acfs.go.th/th/early-warning/view/?page=2555>). (1 ธันวาคม 2566)
- สำนักข่าว. <https://thainews.prd.go.th/th/news/detail/TCATG220706190025813>. (1 ธันวาคม 2566)
- สำนักข่าว. <https://doi.org/10.1186/s13028-020-00519-1>. (1 ธันวาคม 2566)
- Acharya R., Fry E., Stuart D., Fox G., Rowlands D., Brown F. 1989. The three-dimensional structure of foot-and-mouth disease virus at 2.9 Å resolution. *Nature* 337, 709–716 10.1038/337709a0
- Alexandersen, S. and Donaldson, A.I. 2002a. Further studies to quantify the dose of natural aerosols of foot-and-mouth disease virus for pigs. *Epidemiology and Infection* 128, 313–323.
- Alexandersen, S., Zhang, Z and Donaldson, A.I., 2002b. Aspects of the persistence of foot-and-mouth disease virus in animals – the carrier problem. *Microbes and Infection* 4, 1099–1110.
- Alexandersen, S., Zhang, Z., Donaldson, A.I., and Garland, A. J. M. 2003. The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. *Journal of comparative pathology*, 129(1), 1-36.
- Alexandersen, S., Oleksiewicz, M.B. and Donaldson, A.I. 2001. The early pathogenesis of foot-and-mouth disease in pigs infected by contact: a quantitative time-course study using TaqMan RT-PCR. *Journal of General Virology* 82, 747–755.
- Anna, L., D.L. Horton, Y. Li, M. Mahapatra, D.P. King, N.J. Knowles, C.A. Russell, D.J. Paton, J.L.N. Wood, D.J. Smith, and J.M. Hammond. 2014. Antigenic variation of foot-and-mouth disease virus serotype A. *Journal of General Virology*. 95: 384–392.

- Ao, D., H.C. Guo, S.Q. Sun, D.H. Sun, T.S. Fung, Y.Q. Wei, S.C. Han, X.P. Yao, S.Z. Cao, D.X. Liu, X.T. Liu. 2015. Viroporin Activity of the Foot-and-Mouth Disease Virus Non-Structural 2B Protein. *PLoS One*.10:e0125828. DOI:10.1371/journal.pone.0125828.
- Arzt, J., J.M. Pacheco, and L.L. Rodriguez. 2010. The early pathogenesis of foot-and-mouth disease in cattle after aerosol inoculation: identification of the nasopharynx as the primary site of infection. *Veterinary Pathology*. 47(6):1048–63. Epub 2010/ 07/ 01. 0300985810372509 [pii] DOI: 10.1177/0300985810372509 PMID: 20587691.
- Asseged, B. 2005. Review of foot and mouth disease: An indepth discourse of Global, Sub Saharan and Ethiopian status. Addis Ababa University Faculty of Veterinary Medicine, Research and Graduate studies. Debre Zeit, Ethiopia, 3–49.
- Asu Elzein, Z. M. E. and Crowther, J. R. 1978. Enzyme-labelled immunosorbent assay techniques in foot and-mouth disease virus research. *Journal of Hygiene* 80, 391-399.
- Bari, F.D., Parida S., Asfor A.S., Haydon D.T., Reeve R., Paton D.J., and Mahapatra M. 2015. Prediction and characterization of novel epitopes of serotype A foot-and-mouth disease viruses circulating in East Africa using site-directed mutagenesis. *Journal of Virology*. 6: 1033–1041.
- Baxt B., Vakharia V., Moore D. M., Franke A. J., and Morgan D. O. 1989. Analysis of neutralizing antigenic sites on the surface of type A₁₂ foot-and-mouth disease virus. *Journal of Virology*.63: 2143–2151.
- Bauer, K. 1997. Foot-and-mouth disease as zoonosis. In: Kaaden, OR., Czerny, CP., Eichhorn, W. (eds) *Viral Zoonoses and Food of Animal Origin*. Springer, Vienna. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6534-8_9.
- Beard, C.W., and P.W. Mason. 2000. Genetic determinants of altered virulence of Taiwanese foot-and-mouth disease virus. *Journal of Virology*. 74: 987-991.
- Beck, E. and Strohmaier, K. 1987. Subtyping of European foot-and mouth disease virus strains by nucleotide sequence determination. *Journal of Virology* 61, 1621–1629.
- Belsham G.J., Kristensen T., Jackson T. 2020. Foot-and-mouth disease virus: prospects for using knowledge of virus biology to improve control of this continuing global threat. *Virus Research*, 281:197909, 10.1016/j.virusres.2020.197909
- Blacksell, S.D., Siengsan-Lamont, J., Kamolsiripichaiporn, S., Gleeson, L.J., Windsor, P.A. 2019. A history of FMD research and control programmes in Southeast Asia: lessons from the past informing the future. *Epidemiol. Infect.* 147 (e171) , 1–13. <https://doi.org/10.1017/S0950268819000578>.

- Belsham, G. J. 2020. Towards improvements in foot- and- mouth disease vaccine performance. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 62: 20. <https://doi.org/10.1186/s13028-020-00519-1>
- Bolwell C. B., Clarke B. E., Parry N. R., Ouldrige E. J., Brown F., and D. J. 1989. Epitope mapping of foot- and- mouth disease virus with neutralizing Rowlands monoclonal antibodies. *Journal of General Virology*. 70: 59–68.
- Bouma A. , Elbers ARW, Dekker A. , de Koeijer A. , Bartels C. , Vellema P. , van der Wal P. , van Rooij E.M.A., Pluimers F.H., de Jong M.C.M. 2003. The foot-and-mouth disease epidemic in the Netherlands in 2001. *Preventive veterinary medicine*.57:155–66. 10.1016/S0167-5877(02)00217-9.
- Borrego, B. , Novella, I. S. , Andreu, D. , Giralt, E. , and Domingo, E. 1993. Distinct repertoire of antigenic variants of foot-and-mouth disease virus in the presence or absence of immune selection. *L V/re/*. 67~ 6071-6079.
- Brehm K.E., Ferris N.P., Lenk M., Riebe R., and Haas B. 2009. Highly sensitive fetal goat tongue cell line for detection and isolation of foot-and-mouth disease virus. *Journal of Clinical Microbiology* 47, 3156–3160.
- Brehm K. E., Kumar N., Thulke H. H., Haas B. 2008. High potency vaccines induce protection against heterologous challenge with foot-and- mouth disease virus. *Vaccine* 26, 1681–1687 ([doi:10.1016/j.vaccine.2008.01.038](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.01.038))
- Brocchi E. , De Simone F. , Bugnetti M. , Gamba D. and Capucci L. 1990. Application of a monoclonal antibody based competition ELISA to the measurement of anti- FMDV antibodies in animal sera. Report, Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot- and- Mouth Disease, Lindholm, Denmark, 24–25 June, 1990, Appendix 14.
- Brown, C.C., Piccone, M.E., Mason, P.W., McKenna, T.S., Grubman, M.J., 1996. Pathogenesis of wild-type and leaderless foot-and mouth disease virus in cattle. *J. Virol.* 70, 5638-5641
- Buenz E.J. and Howe C.L. 2006. Picornaviruses and cell death. *Trends in Microbiology*. 14:28–36.
- Burrows, R., Mann, J.A., Garland, A.J., Greig, A., Goodridge, D. 1981. The pathogenesis of natural and simulated natural foot-andmouth disease infection in cattle. *J. Comp. Path.* 91, 599-609.

- Casey, R. A., Loftus, B., Bolster, C., Richards, G. J., and Blackwell, E. J. 2014. Human directed aggression in domestic dogs (*Canis familiaris*): Occurrence in different contexts and risk factors. *Applied Animal Behavior Science*, 152, 52-63.
- Carrillo C., Tulman E.R., G. Delhon, Z. Lu, Carreno A., Vagnozzi A., Kutish G.F., Rock D.L. 2005. Comparative genomics of foot-and-mouth disease virus. *Journal of Virology*. 79: 6487–6504.
- Chen, T.H., Lee, F., Lin, Y.L., Dekker, A., Chung, W.B., Pan, C.H., Jong, M.H., Huang, C.C., Lee, M.C., and Tsai, H.J. 2011. Differentiation of foot-and-mouth disease-infected pigs from vaccinated pigs using antibody-detecting sandwich ELISA. *J Vet Med Sci* 73, 977-984.
- Chenard G., Miedema K., Moonen P., Schrijver R.S., and Dekker A. 2003. A solid-phase blocking ELISA for detection of type O foot-and-mouth disease virus antibodies suitable for mass serology. *Journal of Virology Methods*. 3; 107: 89–98. doi: 10.1016/S0166-0934(02)00196-9.
- Cheung A., DeLamarter J., Weiss S., and Kupper H. 1983. Comparison of the major antigenic determinants of different serotypes of foot-and-mouth disease virus. *Journal of Virology*. 8(2):451–459. doi: 10.1128/JVI.48.2.451-459.1983.
- Chibssa, T. R. 2006. Participatory Appraisal and Seroprevalence Study of Foot and Mouth Disease in Borana Pastoral System. M.Sc. Thesis, Addis Ababa University Debrezeit, Ethiopia. pp.5–23.
- Clavijo A., Wright P., and Kitching P. 2004. Developments in diagnostic techniques for differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease. *The Veterinary Journal*, 167:9–22.
- Cleland, P.C., Baldock F.C., Chamnanpood P., and Gleeson L.J. 1996. Village level risk factors for foot-and-mouth disease in Northern Thailand. *Preventive Veterinary Medicine*. 26: 253-261.
- Crowther, J.R. and Abu-El Zein, E.M.E. 1979. Detection and quantification of foot and mouth disease virus by enzyme labelled immunosorbent assay techniques. *Journal of General Virology* 42, 597–602.
- Crowther J. R., Farias S., Carpenter W. C., and Samuel A. R. 1993. Identification of a fifth neutralizable site on type O foot-and-mouth disease virus following characterization of single and quintuple monoclonal antibody escape mutants. *Journal of General Virology*. 74: 1547–1553.

- De Diego, M., Brocchi, E., Mackay, D., and Simone De, F. 1997. The non-structural polypeptide 3ABC of foot-and-mouth disease virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. *Arch. Virol.* 142: 2021-2033
- Doel T.R. 2003. FMD vaccine. *Virus research*, 91 (1):81-99.
- Domingo, E., E. Baranowski, C. Escarmis, and Sobrino F. 2002. Foot-and-mouth disease virus. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases.** 25: 297–308.
- Domingo, E., C. Escarmis, E. Baranowski, M. C. Ruiz-Jarabo, E. Carrillo, J. I. Nunez, and F. Sobrino. 2003. Evolution of foot-and-mouth disease virus. *Virus Research.* 91: 47–63.
- Domingo, E. and Holland, J.J. 1988. High error rates, population equilibrium, and evolution of RNA replication systems. In: Domingo, E., Holland, J.J. (Eds.), *RNA Genetics*. CRC Press, Boca Raton, Florida. 3–36.
- Domingo, E., J. Diez, M.A. Martinez, J.H. Hernandez, A. Holguin, B. Borrego and M.G. Mateu. 1993. New observations on antigenic diversification of RNA viruses. Antigenic variation is not dependent on immuneselection. *Journal of General Virology.* 74:2039– 2045.
- Donaldson A.I. 1994. Epidemiology of foot-and-mouth disease: the current situation and new perspectives. In: ACIAR (Australian Centre for International Agricultural Research) Proceedings No. 51, *Diagnosis and Epidemiology of Foot-and-Mouth Disease in Southeast Asia*. Copland J.W., Gleeson L.J. and Chamnanpood C., eds. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia, 9–15.
- Donaldson, A. I., Ierniman, K. A. J., Parker, J. and Settlers, R. F. 1970. Further investigations on the airborne excretion of foot-and-mouth disease virus. *Journal of Hygiene* 68, 557.
- Donaldson, A.I., Alexandersen, S., Sorensen, J.H. and Mikkelsen, T. 2001. Relative risk of the uncontrollable (airborne) spread of FMD by different species. *Vet. Rec.* 148, 602-604
- Donaldson A.I. and Alexandersen S. 2002. Predicting the spread of foot and mouth disease by airborne virus. *Revue Scientifique et Technique-Office International Des Épizooties* 21, 569–578.
- Donaldson, A. I., Gloster J., Harvey L. D. J., and Deans D. H. 1982. Use of prediction models to forecast and analyse airborne spread during the foot-and-mouth disease outbreaks in Brittany, Jersey and the Isle of Wight in 1981. *Veterinary Record.* 110:53–57.
- Donaldson, A. I., Ferris, N.P. 1980. Sites of release of airborne foot-and-mouth disease virus from infected pigs. *Research in Veterinary Science.* 29(3):315-9.

- Donaldson A.I., Gibson C.F., Oliver R., Hamblin C., and Kitching R.P. 1987. Infection of cattle by airborne foot and mouth disease virus: Minimal doses with O1 and SAT 2 strains. *Research in Veterinary Science*. 43:339- 46.
- Donaldson A.I. 1986. Aerobiology of foot and mouth disease (FMD): an outline and recent advances. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*. 5:2, 315-321.
- Drake, J. W. and Holland J. J. 1999. Mutation rates among RNA viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 96:13910-13913.
- Diez, J., Davila M., Escarmis C., Mateu M.G., Dominguez J., Pfirez J.J., Gmalt E., Melero J.A., and Domingo E. 1990. Unique amino acid substitutions in the capsid proteins of foot-and-mouth disease virus from a persistent infection in cell culture. *J. Virol.* 64:5519-5528.
- Eskildsen M. 1969. Experimental pulmonary infection of cattle with foot-and-mouth disease virus. *Nord Vet Med* 21:86–91.
- FADPREP_FMD_E&E_SOP. https://www.aphis.usda.gov/animal_health/emergency_management/downloads/sop/sop_fmd_e-e.pdf. (accessed 31 March 2023)
- Fry E.E., Stuart D.I., and Rowlands D.J. 2005. The structure of foot-and-mouth disease virus. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 288:71–101.
- Ferris N.P., King D.P., Reid S.M., Hutchings G.H., Shaw A.E., Paton D.J., Goris N., Haas B., Hoffmann B., Brocchi E. and Bugnetti M. 2006. Foot-and-mouth disease virus: a first inter-laboratory comparison trial to evaluate virus isolation and RT-PCR detection methods. *Veterinary Microbiology* 117, 130–140.
- Ferris N.P., King D.P., and Reid S.M. 2006. Comparisons of original laboratory results and retrospective analysis by real-time reverse transcriptase-PCR of virological samples collected from confirmed cases of foot-and-mouth disease in the UK in 2001. *Vet. Rec.* 159, 373-378.
- Ferris N.P. and Dawson M. 1988. Routine application of enzyme-linked immunosorbent assay in comparison with complement fixation for the diagnosis of foot-and-mouth and swine vesicular diseases. *Veterinary Microbiology*. 16, 201-209.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Foot-and-mouth disease Quarterly Report April-June 2023. <https://www.fao.org/3cc7859en/cc7859en.pdf> (accessed 31 March 2023)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations Monthly Report. Global Foot-and-Mouth Disease Situation.

- https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/docs/FMD_monthly_reports/2016/July2016.pdf
- Food and Agriculture Organization (FAO). ที่มา: <https://www.fao.org//3cc7859en/cc7859en.pdf>
- Gao, Y., Sun S.Q., and Guo H.C. 2016. The biological function of Foot-and-mouth disease virus non- structural proteins and non- coding elements. *Virology Journal*. 13: 107. DOI: 10.1186/s12985-016-0561-z.
- Geering, W.A. and Lubroth J. 2002. Preparation of foot-and-mouth disease contingency plans. *FAO Animal Health Manual*. 16: 1020–5187.
- Gebauer, F., de la Torre, J. C., Gomes, I., Mateu, M. G., Barahona, H., Tiraboschi, B., Bergmann, I., Auge de Mello, P. and Domingo, E. 1988. Rapid selection of genetic and antigenic variants of foot- and- mouth disease virus during persistence in cattle. *Journal of Virology*. 62:2041–2049.
- Gibson, C.F., Donaldson, A.I. 1986. Exposure of sheep to natural aerosols of foot-and-mouth disease virus. *Res. Vet. Sci*. 41, 45-49.
- Grubman, M.J. and Baxt, B. 2004. Foot-and-mouth disease. *Clinical Microbiology Review*. 17: 465–493.
- Grubman, M.J. 2005. Development of novel strategies to control foot-and-mouth disease: marker vaccines and antivirals. *Biologicals* 33, 227–234.
- Gleeson, L.J. 2002. A review of the status of foot and mouth disease in South-East Asia and approaches to control and eradication. *Revue Scientifique Et Technique*. 21: 465-475.
- Gloster, J., Sellers, R.F., and Donaldson, A.I. 1982. Long distance transport of foot-and-mouth disease virus over the sea. *The Veterinary Record*. 110, 47-52.
- Gullberg, M., Lohse, L., Bøtner, A., McInerney, G.M., Burman, A., Jackson, T., Polacek, C., Belsham, G.J. 2016. A Prime-Boost Vaccination Strategy in Cattle to Prevent Foot-and-Mouth Disease Using a “Single-Cycle” Alphavirus Vector and Empty Capsid Particles. *PLoS One* 13;11(6) e0157435. doi: 10.1371/journal.pone.0157435.
- Goris, N. and De Clercq, K. 2005. Quality assurance/quality control of foot and mouth disease solid phase competition enzyme-linked immunosorbent assay – Part I. Quality assurance: development of secondary and working standards. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 24, 995–1004.

- Holguin, A., Hernandez, J., Martinez, M. A., Mateu, M. G. and Domingo, E. 1997. Differential restrictions on antigenic variation among antigenic sites of foot-and-mouth disease virus in the absence of antibody selection. *Journal of General Virology*. 78: 601-609
- Henderson, L.M. 2005. Overview of marker vaccine and differential diagnostic test technology. *Biologicals*. 33, 203–209.
- Hatch, T. F. and Gross, P. 1964. *Pulmonary Deposition and Retention of Inhaled Aerosols*, Academic Press, London, pp. 45–68.
- House J.A, House CA. 1999. Vesicular disease. In: Straw BE, Allaire SD, Megeling WL, Taylor DJ, Editor. *Disease of swine*. Iowa: Iowa university Press.
- House, C. and House, J.A. 1989. Evaluation of techniques to demonstrate foot-and-mouth disease virus in bovine tongue epithelium: comparison of the sensitivity of cattle mice primary cell cultures cryopreserved cell cultures and established cell lines. *Veterinary Microbiology* 20, 99–109.
- Hamblin, C., Barnett, I.T. and Crowther, J.R. 1986. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot- and- mouth disease virus. II. Application. *Journal of Immunological Methods*, 93, 123–129. Hamblin, C., Barnett, I. T. and Hedger, R. S. (1986b). A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA. *Journal of Immunological Methods*, 93, 115–121.
- Holland, J., Spindler, K., Horodyski, F., Grabau, E., Nichol, S., Vande Pol, S. 1982. Rapid Evolution of RNA Genomes. *SCIENCE*. 215(4540):1577-1585. DOI: 10.1126/science.7041255.
- Haydon, D. T., Bastos A. D., Knowles N. J., and Samuel A. R. 2001. Evidence for positive selection in foot-and-mouth disease virus capsid genes from field isolates. *Genetics*. 157: 7–15.
- Jackson, T., King, A.M., Stuart, D., and Fry, E. 2003. Structure and receptor binding. *Virus Research*. 91: 33–46. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1702\(02\)00258-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1702(02)00258-7).
- Jackson, T., Clark, S., Berryman, S., Burman, A., Cambier, S., Mu D., Nishimura, S., and King, A.M. 2004. Integrin $\alpha\text{v}\beta 8$ function as a receptor for foot-and-mouth disease virus: role of β chain cytodomain in integrin-mediated infection. *Journal of Virology*. 78: 4533-4540. <http://dx.doi.org/10.1128/JVI.78.9.4533-4540.2004>.
- Jackson, B., Harvey, Y., Perez-Martin, E., Wilsden, G., Juleff, N., Charleston, B., and Seago, J. 2021. The selection of naturally stable candidate foot-and-mouth disease virus vaccine strains for East Africa. 39 (35): 5015-5024, 10.1016/j.vaccine.2021.07.001

- Jamal, S.M. and Belsham, G.B. 2013. Foot-and-mouth disease: past, present and future. *Veterinary research.*, 44 (1):1-14
- Kamel, M., El-Sayed A., Castañeda Vazquez H. 2019. Foot-and-mouth disease vaccines: recent updates and future perspectives. *Archives of Virology*. 164, 1501–1513. doi: 10.1007/s00705-019-04216-x.
- King, A.M.Q., McCahon, D., Slade, W.R., and Newman, J.W.I. 1982. Recombination in RNA. *Cell*, 29: 921–928.
- King, A. M. Q. , McCahon D. , Saunders K. , Newman J. W. I. , Slade W. R. 1985. Multiple sites of recombination within the RNA genome foot-and-mouth disease virus. *Virus Research.* , 3:373–384.
- King, A.M.Q. 1988. Recombination in positive strand RNA viruses. In *RNA Genetics*, 149- 165. Edited by E. Domingo, J. J. Holland and P. Ahlquist. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Kitching, P., Rendle, R., and Ferris, N.P. 1988. Rapid correlation between field isolates and vaccine strains of foot and mouth disease virus. AFRC Institute for Animal Health, Pirbright, Working, Surrey, UK.
- Kitching, R. P. and Alexandersen, S. 2002. Clinical variation in foot and mouth disease: pigs. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 21, 513–518.
- Kitching, R. P., Knowles, N. J., Samuel, A. R. and Donaldson, A. I. 1989. Development of foot-and-mouth disease virus strain characterisation—a review. *Tropical Animal Health and Production*, 21, 153–166.
- Kitching, R.P. and Hughes, G.J. 2002. Clinical variation in foot and mouth disease: sheep and goats. *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties* 21, 505–510.
- Knowles, N.J. and Samuel, A.R. 1998. RT-PCR and sequencing protocols for the molecular epidemiology of exotic virus diseases of animals. OIE/FAO World Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease, Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory, United Kingdom. [Online] . Available: Source: www.wrlfmd.org/fmd_genotyping/genotyping_protocol.pdf. Accessed March 9, 2017.
- Knowles, N. J., Samuel, A. R., Davies, P. R., Kitching, R. P. and Donaldson, A. I. 2001. Outbreak of foot-and-mouth disease virus serotype O in the UK caused by a pandemic strain. *Veterinary Record*, 148, 258–259.
- Knowles, N.J. and Samuel, A.R. 2003. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. *Virus Research*. 91(1): 65-80.

- Lewis-Rogers, N., McClellan, D.A., and Crandall, K.A. 2008. The evolution of foot-and-mouth disease virus: impacts of recombination and selection. *Infection, Genetics and Evolution*.8, 786-798
- Lewis, S.A., Morgan, D.O., and Grubman, M.J. 1991. Processing, and assembly of foot-and-mouth disease virus capsid structures in heterologous systems: induction of a neutralizing antibody response in guinea pigs. *Journal of Virology*. 65:6572–6580.
- Linchongsubongkoch, W., S. Rumlumdoan, S. Kamolsiripichaiporn, and T. Janukit. 2000. Antigenic variation of foot and mouth disease viruses from field outbreak in Thailand. pp. 207-214. *In Proceedings in 38th Kasetsart University Annual Conference*. Kasetsart University, Bangkok.
- Linchongsubongkoch, W., K.B. Seeyo, S. Petvanichakul, J. Samanit. 2012. Vaccine matching strain characterization of foot and mouth disease virus in South East Asia during 2010-2012. pp. 47-51. *In Proceedings the Thailand - Japan Joint Conference on Animal Health: The 25th Year Anniversary of NIAH*. NIAH, Bangkok.
- Logan D., Abu-Ghazaleh R., Blakemore W., Curry S., Jackson T., King A., Lewis S., Newman J., Longjam, N. and T. Tayo. 2011. Antigenic variation of foot-and-mouth disease virus - an overview. *Veterinary World*. 4(10): 475–479.
- Longjam, N., R. Deb, A.K. Sarmah, T. Tayo, V.B. Awachat, and V.K. Saxena. 2011. A Brief Review on Diagnosis of Foot-and-Mouth Disease of Livestock: Conventional to Molecular Tools. *Veterinary medicine international*. DOI: [10.4061/2011/905768](https://doi.org/10.4061/2011/905768)
- Lopez de Quinto, S. and E. Martinez-Salas. 2000. Interaction of the eIF4G initiation factor with the aphthovirus IRES is essential for internal translation initiation *in vivo*. *RNA*. 6: 1380–1392.
- Lu Z., Cao Y., Bao H., Qi S., Guo J., Shang Y., Jiang T., Zhang Q., Ma J, Liu Z., Liu X., Yin H., and Xie Q. 2008. Techniques development in China for foot-and-mouth disease diagnosis. *Transboundary Emerging Disease*, 55:196–199.
- Mackay, D., McCarty, L.S., and MacLeod, M. 2001. On the validity of classifying chemicals for persistence, bioaccumulation, toxicity, and potential for long-range transport. *Environ Toxicol Chem* 20:1491–1498.
- Mahapatra, M., Upadhyaya, S., Aviso S., Babu A., Hutchings G., and Parida S. 2017. Selection of vaccine strains for serotype O foot-and-mouth disease viruses (2007–2012) circulating in Southeast Asia, East Asia and Far East. 15; 51. 7154-7153.

- Malirat, V., De Mello, P. A., Tiraboschi, B., Beck, E., Gomes, I. and Bergmann, I. E. 1994. Genetic variation of foot-and-mouth disease virus during persistent infection in cattle. *Virus Research* 34(1): 31-48.
- Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 2017; Available source: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.08_FMD.pdf.
- Maradei, E., Malirat, V., Perez Beascochea, C., Oviedo Benitez, E., Pedemonte, A., and Seki, C. 2013. Characterization of a type O foot-and-mouth disease virus re-emerging in the year 2011 in free areas of the Southern cone of South America and cross protection studies with the vaccine strain in use in the region. *Veterinary Microbiology*.162:479–90.
- Mason P.W., Grubman M.J., and Baxt B. 2003. Molecular basis of pathogenesis of FMDV. *Virus Research*. 919–932. 10.1016/S0168-1702(02)00257-5.
- McCahon, D., Crowther, J.R., Belsham, G. J., Kitson, J. D. A., Duchesne, M., Have, P., Meloen, R. H., Morgan, D.O. and de Simone, F. 1989. Evidence for at least four antigenic sites on type O foot-and-mouth disease virus involved in neutralization; Identification by single and multiple-site monoclonal antibody-resistant mutants. *J. Gen. Virol.* 70: 638-644.
- McVicar, J.W. and Suttmoller, P. 1976. The growth of foot-and-mouth disease virus in the upper respiratory tract of non-immunized, vaccinated, and recovered cattle after intranasal inoculation. *Journal of Hygiene* 76, 467.
- Meyer, R. F. , Pacciarini, M. , Hilyard, E. J. , Ferrari S. , Vakharia, V. N. , Donini, G. , Brocchi, E. and Molitor, T.W. 1994. Genetic variation of foot and mouth disease virus from field outbreaks to laboratory isolation. *Virus Research*.32:299-312.
- Mezencio, J.M, Babcock, G.D., and Meyer, R.F. 1998. Differentiating foot-and-mouth disease virus- infected from vaccinated animals with baculovirus- expressed specific proteins. *Veterinary Quarterly*, 20 (Suppl 2) S11–S13.
- Musser, J.M. 2004. A practitioners primer on foot-and-mouth disease. *J. of the Amer. Vet. Med. Associ.* 224(8): 1261-1268.
- Nagendrakumar, S.B., Srinivasan, V.A., Madhanmohan, M., Yuvaraj, S., Parida, S., Antonello, D.N. 2011. Evaluation of cross-protection between O1 Manisa and O1 Campos in cattle vaccinated with foot-and-mouth disease virus vaccine incorporating different payloads of inactivated O1 Manisa antigen. *Vaccine*, 29(10):1906–12.

- Lyons, N.A., Alexander, N., Strk, K.D., Dulu, T.D., Rushton, J., Fine, P.E. 2015. Impact of foot-and-mouth disease on mastitis and culling on a large-scale dairy farm in Kenya. *Veterinary Research*. 41:46.
- OIE Terrestrial Manual. 2009. FOOT AND MOUTH DISEASE, CHAPTER 2.1.5. Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2009.
https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/2.01.05_FMD.pdf
- OIE/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease. 2023. https://www.foot-and-mouth.org/sites/foot/files/quick_media/WRLFMD_status.png
- Parry N., Rowlands D., Stuart D., Fry E. 1993. Structure of a major immunogenic site of foot and-mouth disease virus. *Nature (London)*, 362: 566-568.
- Paton, D.J., Nardo, A.D., Knowles, N.J., Wadsworth J., Pituco, E.M., Cosivi, O., Rivera, A.M., Kassimi, L.B., Brocchi, E., de Clercq, K., Carrillo, C., Maree, F.F., Singh, K.K., Vosloo, W., Park, M.K., Sumption, K.J., Ludi, A.B., and King D.P. 2021. The history of foot-and-mouth disease virus serotype C: the first known extinct serotype? *Virus Evol.* 2021. <https://doi.org/10.1093/ve/veab009>.
- Paton, D.J., Gubbins, S., and King, D.P.. 2018. Understanding the transmission of foot-and-mouth disease virus at different scales. *Current Opinion in Virology*. 28;85-91. Available online: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.11.013>
- Paton, D. J., Valarcher J.-F., Bergmann, I., Matlho, O. G., Zakharov, V. M., Palma, E. L., and Thomson, G. R. 2005. Selection of foot-and-mouth disease vaccine strains—a review. *The Scientific and Technical Review*. 24, 981–993.
- Perry, B.D., Randolph, T.F. 2003. The economics of foot-and-mouth disease, its control and its eradication. In: In: Dodet B., Vicari M., editors. *Foot-and-Mouth Disease: Control Strategies*. Éditions scientifiques et médicales, Elsevier, SAS; pp. 23–41.
- Pinar, A. D., Erol A., and Cemalettin, A. 2017. Estimation of the Economic Losses Related to Calf Mortalities Kars Province, in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25:3. DOI: 10.9775/kvfd.2018.20471
- Pluimers, F.H., Akkerman, A.M., van der Wal, P., Dekker, A., Bianchi, A. 2002. Lessons from the foot and mouth disease outbreak in The Netherlands in 2001. *The Scientific and Technical Review*. 21, 711–721.
- Porter, A.G., 1993. Picornavirus nonstructural proteins: emerging roles in virus replication and inhibition of host cell functions. *Journal of Virology*. 67(12): 6917-6921.

- Prempeh, H. , Smith, R. , and Müller, B. 2001. Foot and mouth disease: the human consequences. The health consequences are slight, the economic ones huge. *BMJ*;322(7286):565-6.
- Thompson D., P. Muriel, D. Russell, P. Osborne, A. Bromley, M. Rowland, S. Creigh-Type, and C. Brown. 2002. Economic costs of the foot and mouth disease outbreak in the United Kingdom in 2001. *Revue Scientifique et technique (OIE)*. 21: 675–687.
- Radostits, O.M., Blood, D.C. and Gay, C.C. 1994. *Veterinary Medicine, a Text Book of the Disease of Cattle, Sheep, Goats, Pigs and Horses*. 8th Edition, Bailliere, Tindall, London, 1015-1026.
- Reeve, R., Blignaut, B., Esterhuysen, J. J., Opperman, P., Matthews, L., Fry, E. E., de Beer, T. A., Theron, J., and Rieder E., 2010. Sequence-based prediction for vaccine strain selection and identification of antigenic variability in foot- and- mouth disease virus. *PLOS Computational Biology*;6:e1001027. doi: 10.1371/journal.pcbi.1001027.
- Réid, S.M., Mioulet, V., Knowles, N.J., Shirazi, N., Belsham, G.J. and King, D.P. 2014. Development of tailored real-time RT-PCR assays for the detection and differentiation of serotype O, A and Asia-1 foot and mouth disease virus lineages circulating in the Middle East. *Journal Virology Methods*. 207: 146-153.
- Roeder, P.L., and P.M. Le Blanc Smith. 1987. Detection and typing of foot and mouth disease virus by enzyme-linked immunosorbent assay: A sensitive, rapid and reliable technique for primary diagnosis. *Research in Veterinary Science*. 43: 225–232.
- Rojanasthien, S., P. Padungtod, P. Yamsakul, S. Kongkeaw, T. Yano. 2006a. Cross-sectional study of foot and mouth disease in cattle farms in northern Thailand. *In Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics*, Cairns, Queensland, Australia.
- Rojanasthien, S., P. Padungtod, P. Yamsakul, S. Kongkeaw, T. Yano. 2006b. Cross-sectional study of foot and mouth disease in pig farms in northern Thailand. *In Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics*, Cairns, Queensland, Australia.
- Rweyemamu, M., P. Roeder, D. Mackay, K. Sumption, J. Brownlie, Y. Leforban, J.F. Valarcher, N.J. Knowles, and V. Saraiva. 2008. Epidemiological patterns of foot-and-mouth disease worldwide. *Transboundary and Emerging Disease*. 55, 57-72.

- Sahle, M., Venter, E.H., Dwarka, R.M., and Vosloo, W. 2004. Molecular epidemiology of serotype O foot- and- mouth disease virus isolated from cattle in Ethiopia between 1979–2001. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*; 71:129–38.
- Salt, J. S. 1993. The carrier state in foot-and mouth disease–an immunological review. *British Vet. J.* 149:207–223.
- Samuel, A.R., E.J. Ouldrige, A.E. Arrowsmith, R.P. Kitching, and N.J. Knowles. 1990. Antigenic analysis of serotype O of foot and mouth disease virus isolates from the Middle East 1981- 1988. *Vaccine*. 8: 390-396.
- Samuel, A.R., Knowles, N.J. 2001. Foot-and mouth disease type O viruses exhibit genetically and geographically distinct evolutionary lineages (topotypes) . *Journal General Virology*. 82, 609-21. <http://dx.doi.org/10.1099/0022-1317-82-3-609>
- Sangare, O., Bastos, A.D.S., Marquardt, O., Venter, E.H., Vosloo, W., and Thomson, G.R. 2001. Molecular epidemiology of serotype O foot- and- mouth disease virus with emphasis on West and South Africa. *Virus Genes*; 22:345–51. 10.1023/A:1011178626292
- Sangaré, O. 2002. Study of the Molecular Epidemiology of Foot-and-mouth disease virus in West Africa. University of Pretoria, Pretoria, South Africa.
- Seeyo, K.B., J. Samaniti, and W. Linchongsabongkoch. 2012. FMD antigenic profiling ELISA. pp. 91-95. *In Proceedings the Thailand - Japan Joint Conference on Animal Health: The 25th Year Anniversary of NIAH*. NIAH, Bangkok.
- Seeyo, K.B., Nishi, T., Kawaguchi, R., Ungvanijban, S., Udon, R., Fukai, K., Yamakawa, M., Rukkwamsuk, T., 2020. Evolution of antigenic and genetic characteristics of foot-and-mouth disease virus serotype A circulating in Thailand, 2007-2019. 2020. *Virus Research*, 2020 Dec; 290:198166. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198166. Epub 2020 Sep 19.
- Sellers, R.F. and Parker, J. 1969. Airborne excretion of foot-and-mouth disease virus. *The Journal of Hygiene*. Dec; 67(4):671–7.
- Sellers, R.F., Herniman, K.A. and Donaldson, A.I. 1971. The effects of killing or removal of animals affected with foot-and-mouth disease on the amounts of airborne virus present in looseboxes. *British Veterinary Journal*. 127(8):358–65.
- Singh, B., Prasad, S., Sinha, D., and Verma, M.R., 2013. Estimation of economic losses due to foot and mouth disease in India. *Indian The Journal of Animal Science*. 83 (9), 964–970.
- Sinkala, Y., Simuunza, M., Muma, J.B., Pfeiffer, D.U., Kasanga, C.J., and Mweene, A.A. 2014. Foot and mouth disease in Zambia: spatial and temporal distributions of outbreaks,

- assessment of clusters and implications for control. The Onderstepoort Journal Veterinary Research.81:6 pages.
- Snowdon, W.A. 1966. Growth of foot-and mouth disease virus in monolayer cultures of calf thyroid cells. *Nature* 210:1079 –1080. [https://doi.org/ 10.1038/2101079a0](https://doi.org/10.1038/2101079a0).
- Sorensen, J.H., Mackay D.K.J., Jensen C.O., and Donaldson A.I. 2000. An integrated model to predict the atmospheric spread of foot-and-mouth disease virus. *Epidemiology and Infection*. 124: 577-590.
- Sorensen, J.H., Jensen, C.O., Mikkelsen, T., Mackay, D.K.J. and Donaldson, A.I. 2001. Modelling the atmospheric dispersion of foot- and- mouth disease virus for emergency preparedness. *physics and chemistry of the earth journal (B)*. 26: 93-97.
- Strohmaier, K., Franze, R., and Adam, K. H. (1982). Location and characterization of the antigenic portion of the FMDV immunizing protein. *J. Gen. Virol.*59(Pt.2), 295±306.
- Sutmoller, P., and McVicar, J. W. 1976. Pathogenesis of foot-and-mouth disease: Clearance of the virus from the circulation of cattle and goats during experimental viraemia. *J. Hygiene*77(2), 245±253.
- Uttenthal, Å., Parida, S., Rasmussen, T.B., Paton, D.J., Haas, B., and Dundon, W.G., 2010. Strategies for differentiating infection in vaccinated animals (DIVA) for foot and mouth disease, classical swine fever and avian influenza. *Expert Rev. Vaccines*. 9 (1), 73–87. <https://doi.org/10.1586/erv.09.130>.
- Vakharia, V.N. , M.A. Devaney, D.M. Moore, J.J. Dunn, and M.J. Grubman, 1987. **Proteolytic processing of foot-and-mouth disease virus polyproteins expressed in a cell-free system from clone-derived transcripts.** *Journal of Virology*. 61(10): 3199-3207.
- Vosloo, W., Boshoff, K., Dwarka, R., and Bastos, A. 2002. The possible role that buffalo played in the recent outbreaks of foot-and-mouth disease in South Africa. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 969, 187–190. doi: 10.1111/j.1749- 6632.2002.tb04376.x
- Wekesa, S.N., A. Namatovu, A.K. Sangula, M.T. Dhikusooka, V.B. Muwanika and K. Tjornehoj. 2014. A serological survey for antibodies against foot-and-mouth disease virus (FMDV) in domestic pigs during outbreaks in Kenya. **Tropical Animal Health and Production**. 46: 575-581.
- Wilson, V., Taylor P. and Desselberger U. 1988. Crossover regions in foot-and-mouth disease virus (FMDV) recombinants correspond to regions of high local secondary structure. *Archives of Virology*.102: 131–139.

- WOAH Terrestrial Manual. 2022. FOOT AND MOUTH DISEASE (INFECTION WITH FOOT AND MOUTH DISEASE VIRUS) . CHAPTER 3 . 1. 8.
https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.01.08_FMD.pdf
- World Organisation for Animal health. <https://www.woah.org/en/disease/foot-and-mouth-disease/> (accessed 31 March 2023)
- World Organisation for Animal health. <https://www.woah.org/app/uploads/2023/05/fmd-world-eng.png>. (accessed 31 March 2023)
- WOAH/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease. https://www.foot-and-mouth.org/sites/foot/files/quick_media/WRLFMD_status.png (accessed 31 March 2023)
- WOAH/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease.<https://www.foot-and-mouth.org/FMDV-nomenclature-working-group/prototype-strains#o> (accessed 31 March 2023)
- WOAH/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease.<https://www.foot-and-mouth.org/FMDV-nomenclature-working-group/prototype-strains#a>. (accessed 31 March 2023)
- WOAH/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease.<https://www.foot-and-mouth.org/FMDV-nomenclature-working-group/prototype-strains#asia-1>(accessed 31 March 2023)
- WOAH/FAO Reference Laboratory Network for Foot-and-Mouth Disease. <https://www.foot-and-mouth.org/#fmdv-pools>(accessed 31 March 2023)
- World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease.** <http://www.wrlfmd.org/>. (accessed 31 March 2023)
- Woodbury, E.L. 1995. A review of the possible mechanisms for the persistence of foot and-mouth disease virus. *Epidemiology and Infection*. 114:1–13.