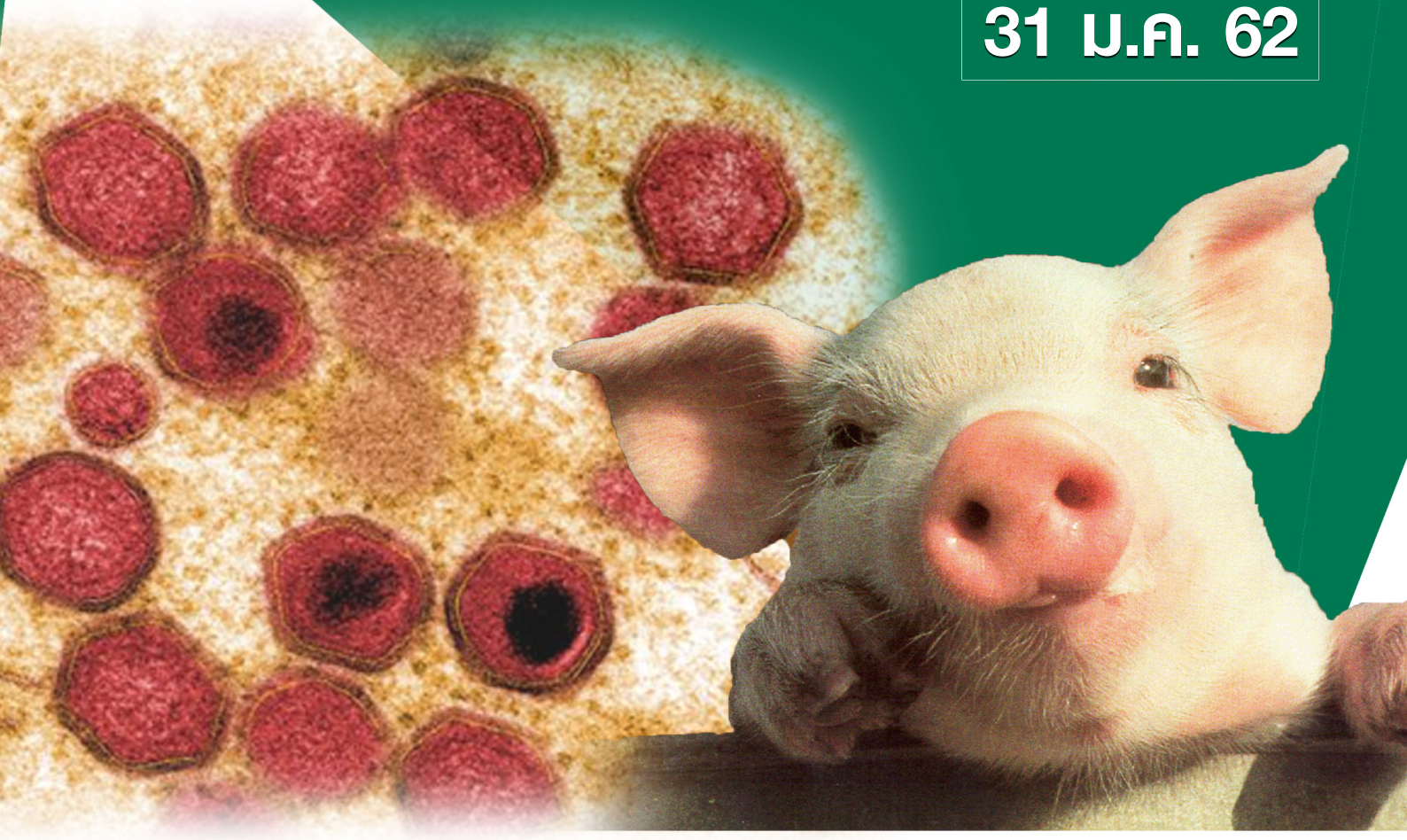
กรมปศุสัตว์

คู่มือห้องปฏิบัติการ โรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร

31 ม.ค. 62



สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
50/2 เกษตรกลาง แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
E-mail: niah@dld.go.th Website : niah.dld.go.th

คู่มือห้องปฏิบัติการในการตรวจโรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร

ตุลาคม 2561

ผู้จัดทำ :

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

นายสัตวแพทย์ฐปณัฐ สงคสุภา

นายสัตวแพทย์ประกิต บุญพรประเสริฐ

นางสาวชนกพร บุญศาสตร์

สารบัญ

บทนำ 3

ธรรมชาติของการเกิดโรค 4

นิยามสัตว์ป่วย 6

การเก็บตัวอย่างเลือดสุกร 8

การเก็บตัวอย่างม้าม 10

การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์และวัตถุดิบอาหารสัตว์ 11

ขั้นตอนและวิธีตรวจวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ 13

1. การเตรียมตัวอย่างตรวจ 13

2. การสกัดสารพันธุกรรม 18

3. การตรวจตัวอย่างด้วยวิธี qPCR 18

4. การกำจัดขยะและทำลายเชื้อ 21

การแจ้งสัตว์ป่วย และรายงานผลตรวจ 23

ภาคผนวก 25

เครือข่ายทางห้องปฏิบัติการ 26

คำแนะนำ :

การเก็บตัวอย่างสำหรับเจ้าหน้าที่ 29

การป้องกันโรคสำหรับฟาร์มสุกร 30

การทำลายเชื้อในวัตถุดิบ 31

เศษอาหารใช้เลี้ยงสุกร, เนื้อสุกร,

ไส้หมักเกลือ, ซากและมูลสุกร

การทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรค 33

บทนำ

องค์การโรคระบาดสัตว์โลก (OIE) รายงานการระบาดของโรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร ในสาธารณรัฐประชาชนจีน เป็นครั้งแรก เมื่อวันที่ 3 สิงหาคม 2561 ณ เมืองเสิ่นหยาง มณฑลเหลียวหนิง จากนั้นก็มีการระบาดต่อเนื่องมากกว่า 20 ครั้ง ในพื้นที่ 8 มณฑล ภายในระยะเวลา 2 เดือน โรคนี้เป็นโรคไวรัสติดต่อเฉพาะในสุกร มีผลกระทบอย่างรุนแรงต่อเศรษฐกิจและอุตสาหกรรมการผลิตสุกร เนื่องจากมีอัตราการป่วยตายสูง เชื้อมีความทนทานยากต่อการกำจัดให้หมดไป

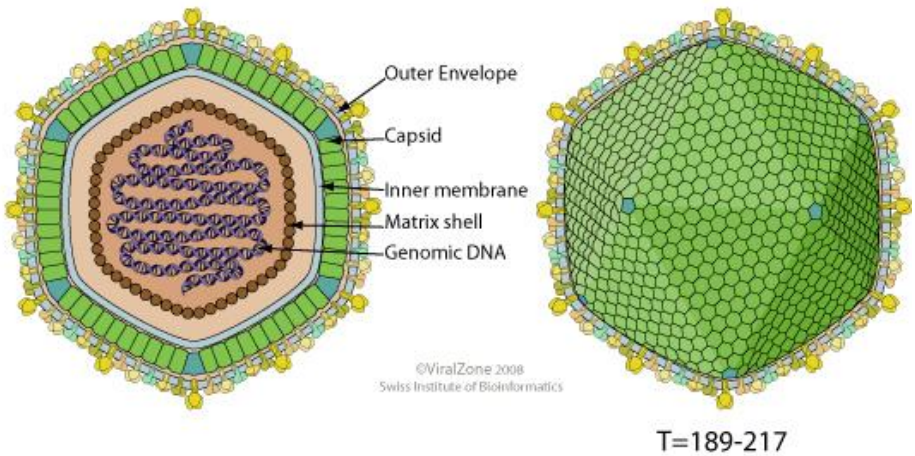
ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีความเสี่ยงต่อการระบาด เนื่องจากโรคนี้มีศักยภาพในการแพร่กระจาย มีการแพร่โรคได้หลายวิธี ทั้งจากการเคลื่อนย้ายสัตว์และซากสัตว์ การปนเปื้อนมากับคน อุปกรณ์ วัตถุดิบอาหารสัตว์ และในอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์สุกร กรมปศุสัตว์ประเมินว่าหากมีการระบาดของโรคนี้จะทำให้เกิดความเสียหายแก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรเป็นมูลค่านับหมื่นล้านบาท

คู่มือห้องปฏิบัติการในการตรวจโรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกรฉบับนี้ จัดทำขึ้นเพื่อเป็นแนวทางปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยและการประสานงานที่เกี่ยวข้องกับทุกภาคส่วน เพื่อให้ได้ผลตรวจที่ถูกต้อง รวดเร็ว นำไปสู่การควบคุม กำจัดโรคที่มีประสิทธิภาพต่อไป

ธรรมชาติของการเกิดโรค

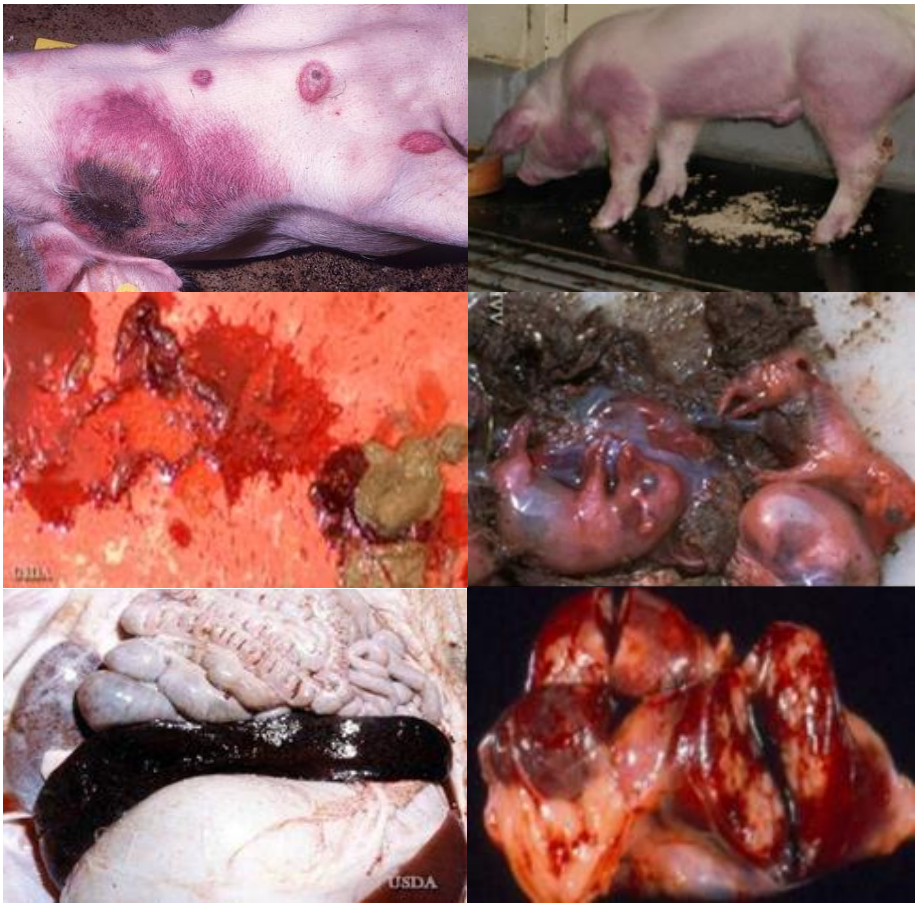
สาเหตุ เกิดจากเชื้อไวรัสอหิวาต์แอฟริกาในสุกร (African Swine Fever, ASF) เป็น double-stranded DNA มีเปลือกหุ้ม เชื้อไวรัสทำลายเม็ดเลือดขาวแมคโครฟาจและโมโนไซต์ เชื้อทนทานมากในสิ่งแวดล้อม อยู่ได้เป็นเวลานานในเลือด สารคัดหลั่ง เนื้อสุกร ซาก และผลิตภัณฑ์ เช่น ในเลือด (4°C) 18 เดือน, มูลสัตว์ (25°C) 11 วัน, คอกเลี้ยงสุกรปนเปื้อน 15 สัปดาห์, ใน แฮม ซาลามี่ เนื้อหมักเกลือ 120–180 วัน, ไส้หมักเกลือ 30 วัน, เนื้อสุกรแช่เย็น (4°C) 150 วัน และเนื้อสุกรแช่แข็ง 1,000 วัน

การติดต่อ โรคนี้ไม่ติดต่อระหว่างคนและสัตว์ พบเฉพาะในสัตว์ตระกูลสุกรทุกชนิด สุกรเลี้ยงจะมีความไวรับต่อโรคมาก ขณะที่สุกรป่าอาจไม่แสดงอาการ แต่จะเป็นพาหะนำโรคที่สำคัญ สุกรติดเชื้อได้โดยการกินอาหารที่มีเชื้อ การสัมผัสเลือดและสารคัดหลั่งจากสุกรป่วยหรือสุกรพาหะ การถูกกัดโดยเห็บอ่อน (*Ornithodoros* spp.) การปนเปื้อนอุปกรณ์ โรงเรือน ยานพาหนะสามารถนำเชื้อได้



รูปที่ 1 ลักษณะโครงสร้างเปลือกไวรัสอหิวาต์แอฟริกาในสุกร
ที่มา : https://viralzone.expasy.org

ระยะฟักตัวและอาการทางคลินิก การติดเชื้อตามธรรมชาติมีระยะฟักตัว 5-15 วัน สุกรมีไข้สูงมากกว่า 41°Cไม่กินอาหาร นอนแน่นิ่ง ไม่มีแรง พบผื่นแดงและจ้ำเลือดทั่วผิวหนังบริเวณปลายหู จมูก ขา อก และท้อง รวมถึงอวัยวะภายใน อาจพบอาการอาเจียน ท้องเสียมีเลือดปน และแท้งในแม่สุกร อัตราการตายสูงมากกว่า 95% มักตายภายใน 2-3 วัน หลังแสดงอาการป่วย



รูปที่ 2 อาการและพยาธิสภาพโรค: ปื้นเลือดออก แท้ง ถ่ายเหลวปนเลือด ม้ามโต จุดเลือดออกที่ต่อมน้ำเหลือง
ที่มา : CFSPH, PIADC, APHIS, FAO

นิยามสัตว์ป่วย

1. เกณฑ์การเฝ้าระวังโรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร

อาการป่วย

มีไข้สูง (>41 °C) นอนสุม ซึมเบื่ออาหาร ไม่ลุกเดิน ผิวหนังแดง มีจุดเลือดออกหรือรอยช้ำที่ผิวหนังตามใบหู ถ่ายเหลวมีเลือดปน แท้งทุกช่วงอายุ และตายเฉียบพลันภายใน 2-3 วัน หลังแสดงอาการ

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

เพาะเชื้อได้จากเลือด อวัยวะ สิ่งคัดหลั่งสัตว์ป่วย หรือให้ผลบวกต่อการตรวจหาเชื้อ ASFV ด้วยวิธี ELISA test for ASFV, polymerase chain reaction หรือ real–time PCR, DNA sequencing

2. สัตว์ป่วย

1) สัตว์ป่วยต้องสงสัย (suspected case) หมายถึง สุกรที่แสดงอาการป่วย รวมถึงสุกรที่มีข้อมูลระบาดวิทยาว่ามีโอกาสรับเชื้อ ได้แก่

- สุกรที่สงสัย และมีประวัติสัมผัสกับสัตว์ติดโรค
- สุกรที่มาจากแหล่งที่มีการระบาดของเชื้อ
- สุกรที่มีการใช้วัสดุอุปกรณ์ หรืออยู่ในสภาพแวดล้อมเดียวกัน
- สุกรที่กินเศษอาหารที่ไม่ผ่านความร้อนอย่างถูกวิธี หรือบริโภควัตถุดิบอาหารที่คาดว่าปนเปื้อนเชื้อ

2) สัตว์ป่วยที่ให้ผลบวก (presumptive positive case) หมายถึง สุกรป่วยที่ให้ผลบวกในการตรวจทดสอบทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธี PCR

3) สัตว์ป่วยยืนยัน (confirmed positive case)

หมายถึง สุกรป่วยที่ให้ผลบวกในการตรวจทดสอบด้วยวิธี sequencing ที่ห้องปฏิบัติการกรมปศุสัตว์

3. การรายงานสัตว์ป่วยตามระบบเฝ้าระวังโรค
   - เจ้าหน้าที่รายงานสัตว์ป่วยที่สงสัย ตามระเบียบกรมปศุสัตว์ ว่าด้วยการดำเนินการเฝ้าระวัง ป้องกัน และควบคุมโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2560

รูปที่ 3 สุกรตายเฉียบพลัน ในฟาร์มสุกรขุน สาธารณรัฐประชาชนจีน ที่มา: National Research Center for Exotic Animal Diseases

การเก็บตัวอย่างเลือดสุกร

อุปกรณ์

– กระบอกฉีดยาและเข็มฉีดยา

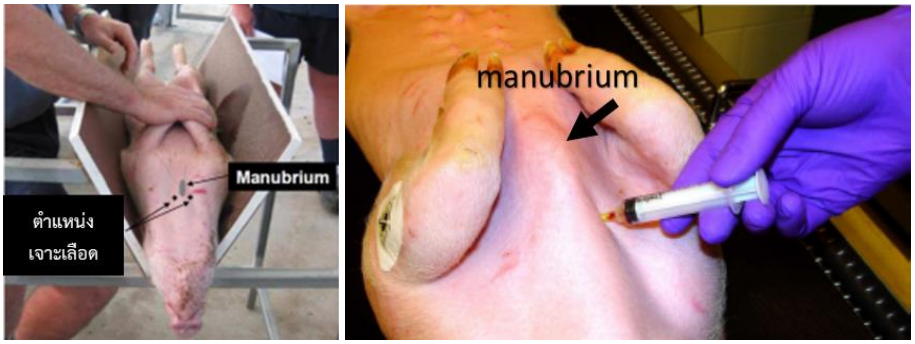
ชนิดสัตว์	ขนาดกระบอกฉีดยา (มล.)/เข็ม	เลือด (มล.)
ลูกสุกร <20 กก.	5/ 18Gx1” (1.2 x 25 มม.)	3-5
สุกรเล็ก 20-60 กก.	5–10/ 18Gx1½”(1.2 x 40 มม.)	5-10
สุกรขุน–พ่อแม่พันธุ์	5–10/ 18Gx1½”(1.2 x 40 มม.)	5-10

– หลอดเก็บเลือดมีสารป้องกันเลือดแข็งตัว ชนิด EDTA

– ถุงพลาสติก, น้ำแข็ง หรือ ice pack, กล่องโฟม หรือ กระติก

วิธีการ

1) เจาะเก็บเลือดสุกรป่วยจากหลอดเลือดดำ :– ลูกสุกรและสุกรขนาดเล็กที่ cranial vena cava หรือ external jugular vein, สุกรขุนเก็บเลือดท่ายืนที่ external jugular vein, สุกรเพิ่งตายให้เก็บเลือดจากหัวใจ
2) บรรจุเลือดลงในหลอดเก็บเลือด โดยถอดหัวเข็มออกจากกระบอกฉีดยา แล้วดันก้านกระบอกฉีดยาช้า ๆ ป้องกันไม่ให้เม็ดเลือดแดงแตก และกลับหลอดไปมาให้เข้ากัน
3) เขียนหมายเลขหลอดด้วยหมึกกันน้ำ และใบนำส่งระบุชื่อหรือรหัส ชนิดสัตว์ เพศ อายุ สถานที่ และวันเก็บตัวอย่าง
4) บรรจุหลอดเก็บเลือดในถุงพลาสติก 2 ชั้น และพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อบริเวณภายนอกถุง ใส่ในกล่องโฟมหรือกระติกแช่เย็นในน้ำแข็ง ปิดให้สนิท ส่งตรวจห้องปฏิบัติการทันที



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

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

รูปที่ 6 การเก็บเลือดจากหัวใจ กรณีสัตว์พึ่งตายใหม่
ที่มา: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
https://www.youtube.com/watch?v=AvIl1OltroU

การเก็บตัวอย่างม้าม

สำหรับซากสุกรซึ่งไม่สามารถเก็บเลือดได้ ให้เก็บตัวอย่างม้าม

อุปกรณ์

– มีดผ่าซาก

– ถุงพลาสติก, น้ำแข็ง หรือ ice pack, กล่องโฟม หรือกระติก

วิธีการ

1) ก่อนการเปิดผ่าซากสุกร ให้เตรียมการล้างฆ่าเชื้อ ทำลายซาก ป้องกันการแพร่กระจายเชื้อ สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล เช่น ถุงมือ รองเท้าบูท หน้ากากอนามัย ผ้ากันเปื้อน ฯลฯ
2) เปิดผ่าซากบริเวณด้านล่างชายโครง หลังซี่โครงซี่สุดท้าย เข้าสู่ช่องท้อง ตัดม้ามขนาด 1 ฝ่ามือ
3) บรรจุในถุงพลาสติกซิปล็อก 2 ชั้น และพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อภายนอกถุง แล้วใส่ในกล่องโฟมหรือกระติก พร้อมแช่เย็นในน้ำแข็ง ปิดให้สนิท ส่งตรวจห้องปฏิบัติการทันที

รูปที่ 7 แสดงตำแหน่งและวิธีการเปิดผ่าซากเก็บม้าม
ที่มา: Afrivet; คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
https://www.youtube.com/watch?v=AviI1OltroU

การเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์และวัตถุดิบอาหารสัตว์

1) ผลิตภัณฑ์สุกร เช่น เนื้อหมัก เนื้อรมควัน เนื้อแช่เย็น เนื้อแช่แข็ง ไส้กรอก ซาลามี ไส้สุกรหมักเกลือ หนังสุกร ฯลฯ
2) วัตถุดิบอาหารสัตว์ เช่น เนื้อและกระดูกป่น หรือ ผลิตภัณฑ์อาหารที่มาจากประเทศที่มีการระบาด

อุปกรณ์

– ภาชนะบรรจุภัณฑ์ ถุงพลาสติกซิปล็อก
– กล่องโฟม หรือ กระติกน้ำ

วิธีการ

1) การสุ่มเก็บตัวอย่างที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์ย่อย ได้แก่ อาหารกระป๋อง ผลิตภัณฑ์บรรจุซองพลาสติก ผลิตภัณฑ์บรรจุขวด เป็นต้น ให้เก็บตัวอย่างโดยวิธีสุ่มตามจำนวนหน่วยหรือปริมาณตามที่ต้องการ
2) การสุ่มเก็บตัวอย่างในกองรวม ได้แก่ อาหารปรุงสำเร็จ อาหารที่อยู่ในกระบวนการผลิต อาหารสด และวัตถุดิบอาหารสัตว์ เป็นต้น ให้สุ่มเก็บตัวอย่างหลาย ๆ จุด จุดละเท่า ๆ กัน เก็บตัวอย่างต่ำกว่าผิวหน้ากองประมาณ 1 นิ้ว เก็บตัวอย่างในปริมาณที่ต้องการ บรรจุภาชนะสะอาด ปิดสนิท ติดฉลากที่ภาชนะบรรจุทุกอัน และแยกภาชนะบรรจุวัตถุดิบต่างชนิดกัน
   สำหรับ**วัตถุดิบอาหารสัตว์บรรจุกระสอบ** ให้สุ่มเก็บตัวอย่างไม่น้อยกว่า 5 ตำแหน่ง รวมประมาณ 500 กรัม บรรจุใส่ในถุงพลาสติก หากเป็น**อาหารสัตว์กองรวม** ให้สุ่มเก็บรอบ ๆ กองอย่างน้อย 5 จุด และเก็บลึกเข้าไปในกองอย่างน้อย 1 เมตร อีก 3 จุด นำมาคลุกเคล้า

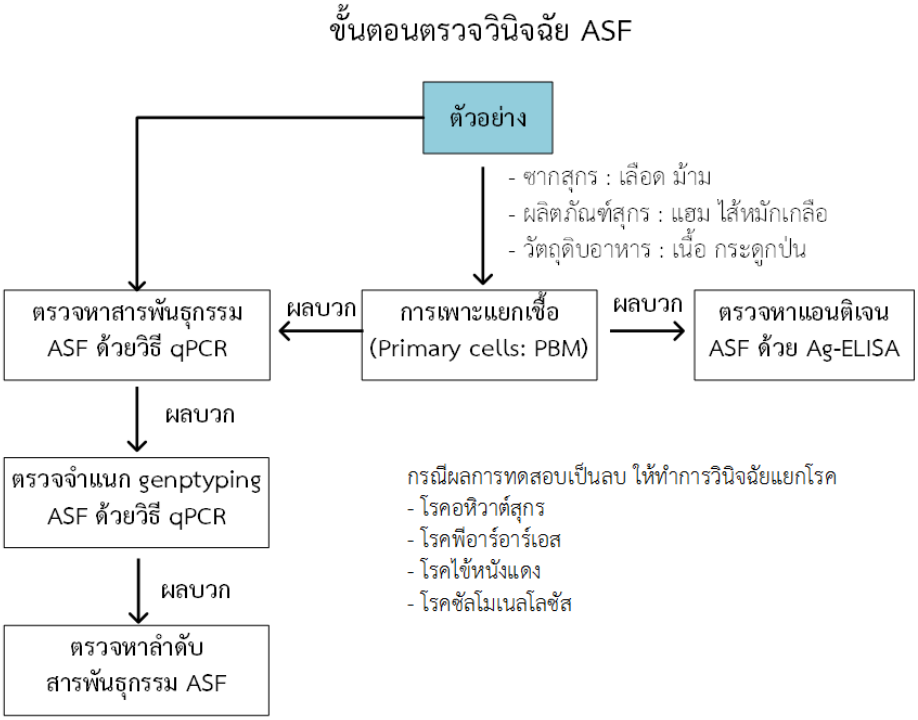
ให้เข้ากัน ให้ได้ตัวอย่างประมาณรวม 500 กรัมบรรจุใส่ในถุงพลาสติก

3) ตัวอย่างที่เสียหรือเสื่อมสภาพง่าย เช่น อาหารสดหรืออาหารปรุงสำเร็จ เมื่อทำการสุ่มเก็บตัวอย่างและติดฉลากเรียบร้อยแล้ว ควรนำภาชนะที่บรรจุตัวอย่างนั้นใส่ในถุงพลาสติกที่สะอาดอีกชั้นหนึ่ง ปิดผนึกถุงให้แน่น แช่น้ำแข็งเพื่อรักษาอุณหภูมิไว้ที่ประมาณ 4 °C นำส่งห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด

** การส่งตรวจตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากสุกร และวัตถุดิบอาหาร ควรติดต่อประสานงานกับสำนักงานปศุสัตว์จังหวัด หรือ ปศุสัตว์อำเภอในพื้นที่ก่อนนำส่ง

รูปที่ 8 ผลิตภัณฑ์สุกร :– หมูกี้ ไส้หมักเกลือ ซาลามี และ
วัตถุดิบอาหารสัตว์ :– เนื้อและกระดูกป่น ที่มา: กรมปศุสัตว์

ขั้นตอนและวิธีตรวจวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ



1. การเตรียมตัวอย่างตรวจ

1) เลือด

การเตรียม buffy coat extraction

– ปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน ด้วยเครื่อง refrigerated centrifuge ความเร็ว 1000xg เป็นเวลา 10 นาที

– เทส่วนใส (supernatant) ทิ้ง และใช้ปิเปตดูดเก็บเม็ดเลือดขาว จากบริเวณ buffy coat ใส่ในหลอด centrifuge tube ขนาด 15 มล.

– เติมน้ำกลั่นสะอาด ปริมาตร 5 มล. เขย่า 5-10 วินาที เพื่อทำให้เม็ดเลือดแดงแตก จากนั้นเติมสารละลาย 2x PBS buffer ปริมาตร 5 มล.

– ปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน ด้วยเครื่อง refrigerated centrifuge ความเร็ว 1000xg เป็นเวลา 10 นาที

– เทส่วนใส (supernatant) ทิ้ง และเติมสารละลาย 2% complete growth media (minimum essential media + 2% fetal bovine serum) ปริมาตร 0.2 - 0.5 มล. ผสมให้เข้ากัน และแยกใส่ในหลอด microcentrifuge ใหม่ พร้อมบ่งชี้หมายเลขตัวอย่าง
– นำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป หรือเก็บรักษาสภาพในตัวอย่างที่อุณหภูมิ –20 °C เพื่อเก็บรักษาเชื้อในระยะยาว

การเตรียม buffy coat extraction (Lymphoprep™)

– เตรียมสารละลาย Lymphoprep™ และเติมลงในหลอด centrifuge tube ตามอัตราส่วนตารางที่ 1
– เจือจางเลือดด้วยสารละลาย 2% complete growth media (MEM + 2% FBS) ด้วยปริมาตรที่เท่ากัน
– ดูดเลือดที่เจือจางแล้วด้วยปิเปต และนำปิเปตแตะด้านในหลอด แล้วค่อยๆ ปล่อยเลือดลงบนสารละลายที่เตรียมไว้ โดยไม่ให้สารละลายผสมกัน ดังรูปที่ 9
– ปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน ด้วยเครื่อง refrigerated centrifuge ความเร็ว 800xg เป็นเวลา 20 นาที
– เทส่วนใสทิ้ง พยายามไม่ให้กระทบชั้น Plasma : Lymphoprep™ interface และใช้ปิเปตดูดเก็บเม็ดเลือดขาว จากบริเวณ buffy layer ในชั้นนี้ใส่ในหลอด centrifuge tube ขนาด 15 มล.
– เติมสารละลาย complete growth media ในปริมาตรที่เท่ากัน
– ปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน ด้วยเครื่อง refrigerated centrifuge ความเร็ว 350xg เป็นเวลา 10 นาที

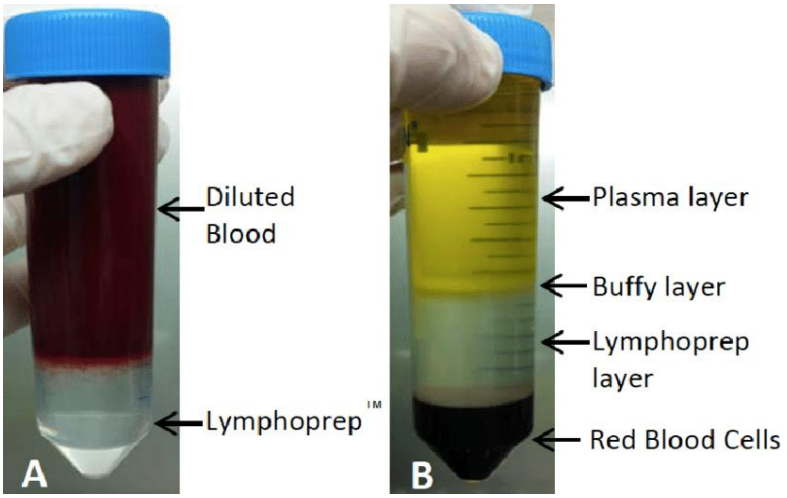
– เทส่วนใสทิ้ง และเติมสารละลาย complete growth media ปริมาตร 0.2–0.5 มล.
– นำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป หรือเก็บรักษาสภาพในตัวอย่างที่อุณหภูมิ –20 °C เพื่อเก็บรักษาเชื้อในระยะยาว

การเตรียมจากเลือด (whole blood)

– ใช้ชุดสกัดสารพันธุกรรม DNA จากเลือด
** กรณีตัวอย่างมีการแยกชั้น ให้นำซีรัมมาทดสอบแทน

ตารางที่ 1 ปริมาตรและขนาดหลอดที่แนะนำ

เลือด (มล.)	MEM + 2% FBS (มล.)	Lymphoprep™ (มล.)	ขนาดหลอด (มล.)
1	1	1.5	5
2	2	3	15
3	3	3	15
4	4	4	15
5	5	10	50
10	10	15	50



รูปที่ 9 ก่อนและหลังการปั่นเหวี่ยง Lymphoprep™
ที่มา: Cockshell and Bonder, 2016.

2) อวัยวะ

การเตรียม 10% (w/v) organ suspension

– นำตัวอย่างอวัยวะ หนักประมาณ 1 กรัม ตัดเป็นชิ้นเล็กด้วยกรรไกรสะอาด บดตัวอย่างให้ละเอียด
– เติมสารละลาย 1x PBS buffer ปริมาตร 10 มล.
– เทแบ่งตัวอย่างใส่หลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มล.
– ปั่นเหวี่ยงสารละลายด้วยเครื่อง refrigerated centrifuge ความเร็ว 10,000 rpm 10 นาที
– เทส่วนใสใส่หลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มล.
– กำจัดแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนโดยการกรองสารละลายด้วย syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน หรือเติมยาปฏิชีวนะ เช่น ampicillin แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
– นำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป หรือเก็บรักษาสภาพในตัวอย่างที่อุณหภูมิ –20 °C เพื่อรอการทดสอบ

3) ชิ้นเนื้อตัวอย่าง

– ทำการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับตัวอย่างอวัยวะ

4) ผลิตภัณฑ์สุกร และวัตถุดิบอาหารสัตว์

วิธีการเตรียมตัวอย่าง (1) [1]

สุ่มตัวอย่างสับเป็นชิ้นเล็กพอประมาณ และบดให้ละเอียด กรณีที่ไม่สามารถบดตัวอย่างได้ ให้นำตัวอย่างอาหารแช่ไนโตรเจนเหลว แล้วค่อยบดให้ละเอียด ให้ได้น้ำหนักรวม 50 กรัม

---

1. US FDA's Bacteriological Analytical Manual 26B: detection of hepatitis A virus in foods. https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm374006.htm

- เติมสารละลาย 0.75M Glycine Buffer (0.75M Glycine, 0.15M NaCl, pH 7.6) ปริมาตร 55 มล.
- บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
- เก็บสารละลายส่วนใสใส่ในหลอด centrifuge tube ขนาด 50 มล.
- ปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน ด้วยเครื่อง refrigerated microcentrifuge ความเร็ว 9,000xg ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 30 นาที
- เก็บสารละลายส่วนใสใส่ใหลอด ultracentrifuge tube ขนาด 50-70 มล.
- สมดุลน้ำหนักของสารละลายตัวอย่าง ด้วยสารละลาย Glycine Buffer ให้เท่ากัน
- ปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน ด้วยเครื่อง ultracentrifuge ความเร็ว 170,000xg ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 60 นาที
- เทสารละลายส่วนใส่ทิ้ง (ควรเห็นตะกอนที่ข้างหลอด) และตั้งหลอดทิ้งไว้ประมาณ 4-5 นาที เพื่อกำจัดของเหลวที่เหลือทิ้ง
- ละลายตะกอนที่ได้ด้วยสารละลาย Glycine Buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

วิธีการเตรียมตัวอย่าง (2) [2]

- บดตัวอย่างให้ละเอียด ให้ได้น้ำหนักรวม 25 กรัม
- เติมสาร TRIzol™ reagent ปริมาตร 8 มล. แล้วสกัด DNA ต่อไปตามขั้นตอนการสกัดด้วย TRIzol™ (Invitrogen, US)

---

2. Methods for virus detection in ready to eat (RTE) foods (Institute of Environmental Science and Research Limited)

2. การสกัดสารพันธุกรรม

– ชุดสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างโดยใช้ชุดทดสอบ High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, US)
– ชุดสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างโดยใช้ชุดทดสอบ QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, US)
– ชุดสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างโดยใช้ชุดทดสอบ GF-1 blood DNA Extraction Kit (Vivantis, Malaysia)
– ชุดสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างโดยใช้ชุดทดสอบ GF-1 viral nucleic acid Extraction Kit (Vivantis, Malaysia)
– เครื่องสกัด Automated MagMAX Pathogen RNA / DNA Extraction Kit
– เครื่องสกัด DNA Taco Automatic Extraction System

โดยปฏิบัติตามคู่มือวิธีสกัดของชุดทดสอบ จากนั้นนำ DNA ที่สกัดได้เก็บที่อุณหภูมิ –20 °C เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

3 การตรวจตัวอย่างด้วยวิธี qPCR

1. รายละเอียด Primer และ Probe (King et al,2003)[3]

ASF Forward	5’-CTGCT-CATGG-TATCA-ATCTT-ATCGA-3’
ASF Reward	5’-GATAC-CACAA-GATC(AG)- GCCGT-3’
ASFV Probe	[(FAM)]- CCACG-GGAGG-AATAC-CAACC-CAGTG-3’-TAMRA

3. King, D.P., Reid, S.M., Hutchings, G.H., Grierson, S.S., Wilkinson, P.J., Dixon, L.K., Bastos, A.D. and Drew, T.W., 2003. Development of a TaqMan® PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. Journal of virological methods, 107(1), pp.53-61.

2. การคำนวณปริมาตร Master mix (FastStart Essential DNA Probes Master)

	Master mix component	ปริมาตร 1x (µl)	ปริมาตร...x (µl)
1.	FastStart Essential DNA Probes Master, 2x concentrated	10	
2.	Water, PCR Grade	2.5	
3.	ASF Forward	1	
4.	ASF Reward	1	
5.	ASFV Probe	0.5	
6.	Template	5	
	Total reaction volume	20	

3. สภาวะเครื่อง qPCR

Step	Stage	Cycles	Temp. (°c)	Time
Hot start	2	1	95	10min
Amplification	3	40	95	15sec
			60	1min

4. การควบคุมคุณภาพผลการทดสอบด้วยวิธี qPCR

การตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี qPCR จำเป็นต้องมีการควบคุมคุณภาพผลการทดสอบ ตัวควบคุมบวก และตัวควบคุมลบในการทดสอบ โดยแบ่งได้ดังนี้

4.1 ตัวควบคุมการสกัด (Extraction control)

– Positive extraction control (E+) เพื่อควบคุมและสังเกตประสิทธิภาพของการสกัด โดยควรเป็นตัวอย่างที่ทราบค่าผลบวก เช่น ตัวอย่างที่ใส่ (spike) เชื้อไวรัส ASF ลงไป หรืออาจพิจารณาใช้

Internal positive extraction control (IPC) ใส่ลงไปในตัวอย่างจริงที่ต้องการตรวจแทน เพื่อประเมินประสิทธิภาพการสกัดและสังเกตผลของสารยับยั้ง (Inhibitors) ต่าง ๆ ในตัวอย่างทดสอบ

– Negative extraction control (E–) เพื่อควบคุมและสังเกตการปนเปื้อนระหว่างการสกัดตัวอย่าง โดยควรเป็นตัวอย่างชนิดเดียวสิ่งที่ต้องการสกัด แต่ในกรณีที่ไม่สามารถหาได้ ให้ใช้น้ำ DW molecular grade แทน

4.2 ตัวควบคุมสารผสมปฏิกิริยา (Master mix reaction control)

– Positive reaction control (R+) เช่น พลาสมิดที่มี DNA ของเชื้อไวรัส ASF เพื่อควบคุมและสังเกตการทำงานของสารผสมปฏิกิริยาว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส ASFได้หรือไม่

– Negative reaction control (R-) เช่น น้ำ DW molecular grade เพื่อควบคุมและสังเกตการปนเปื้อนของสารผสมปฏิกิริยา

5. การตรวจเพื่อยืนยันผล

กรณีตัวอย่างให้ผลเป็นบวกด้วยวิธี qPCR ให้ทำการตรวจเพื่อยืนยันผลด้วยวิธี Sequencing
กรณีที่ห้องปฏิบัติการไม่มีเครื่อง Sequencing ให้นำตัวอย่างส่งสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

– รายละเอียด Sequencing Primer สำหรับ Partial P72 gene (Bastos *et al.*, 2003)[4]

p72-U	5’-GGCACAAGTTCGGACATGT-3’
p72-D	5’-GTACTGTAACGCAGCACAG-3’

4. การกำจัดขยะและการทำลายเชื้อ

การลดการปนเปื้อนของเชื้อและการกำจัดขยะปนปื้อนในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการหลายวิธีควบคู่กัน เช่น

– แช่น้ำยาฆ่าเชื้อ เช่น sodium hypochlorite, phenolic compound, alcohol, iodine solution เป็นต้น โดยดำเนินการตามคำแนะนำของน้ำยาแต่ละชนิด
– ต้มในน้ำเดือด นานอย่างน้อย 5 นาที
– นึ่งในเครื่องอบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำความดันสูง (Autoclave)
– ทิ้งในถุงขยะติดเชื้อและกำจัดตามมาตรฐานขยะติดเชื้อ

ก่อนการกำจัดขยะ ควรแยกขยะออกเป็นกลุ่ม คือ

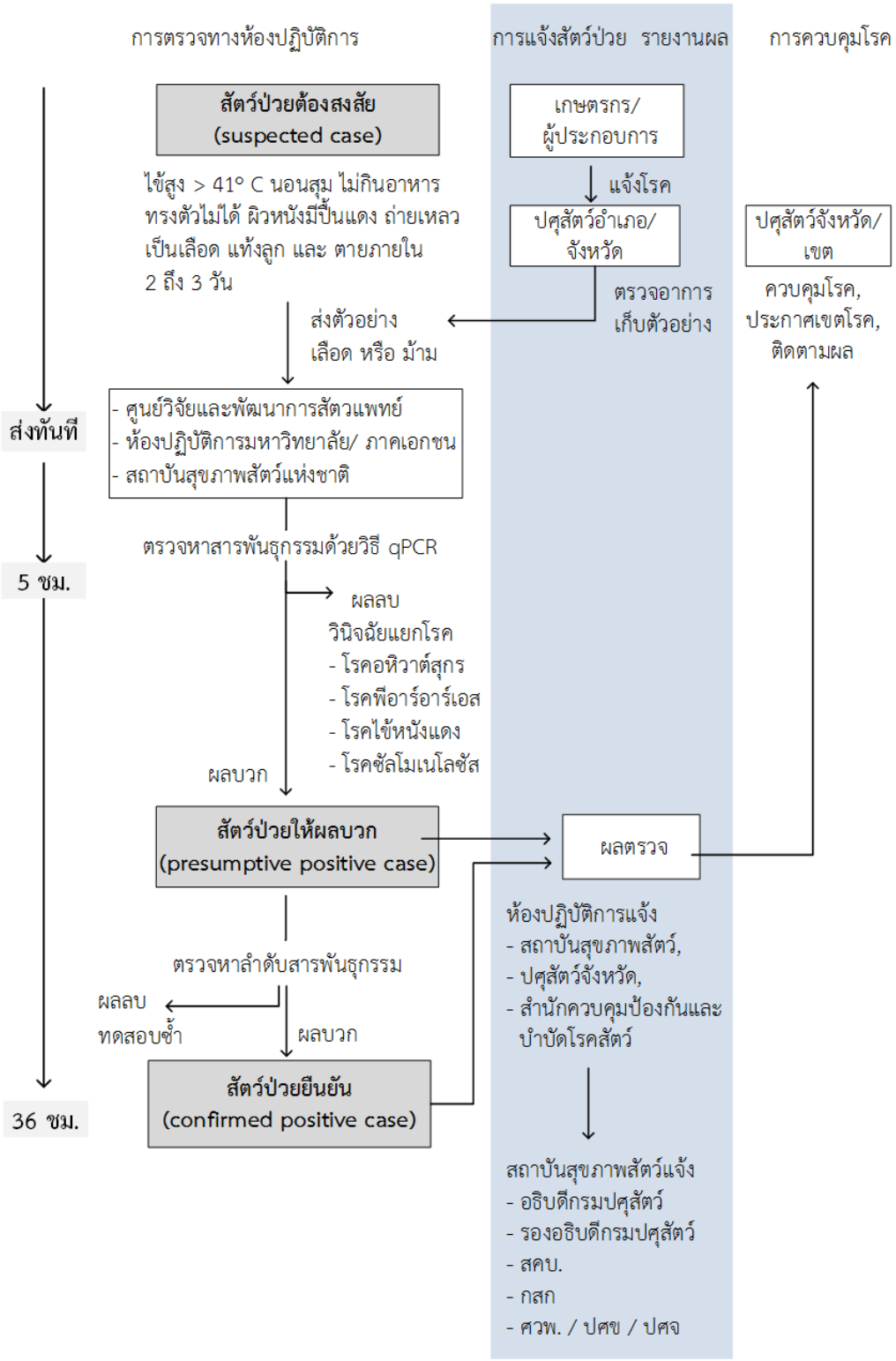
1. ขยะทั่วไป (general waste) หมายถึงขยะที่ไม่เกี่ยวของกับบริการการตรวจวินิจฉัยการดูแลรักษา เชน กระดาษ เศษอาหาร
2. ขยะติดเชื้อ (infectious waste) หมายถึง ขยะทางห้องปฏิบัติการซึ่งสงสัยวามีเชื้อโรค ขยะที่สัมผัสหรือสงสัยวาไดสัมผัสกับเลือดสารคัดหลั่งจากรางกาย อวัยวะจากสัตว์

4. Bastos, A.D., Penrith, M.L., Cruciere, C., Edrich, J.L., Hutchings, G., Roger, F., Couacy-Hymann, E.G.R.T. and Thomson, G.R., 2003. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterisation. Archives of virology, 148(4), pp.693-706.

1) ขยะที่เปนของเหลวหรือสารคัดหลั่ง
2) ขยะที่เปนอวัยวะหรือชิ้นสวนของอวัยวะจากการตรวจทางหองปฏิบัติการ ซากสัตว์ วัสดุที่สัมผัสระหวางการตรวจ
3) ขยะของมีคมติดเชื้อที่ใชแลว
4) ขยะจากกระบวนการเก็บและเพาะเชื้อ เชน เชื้อจากการเพาะเลี้ยง วัสดุอื่น และเครื่องมือที่ใชเพาะเชื้อแลว

3. กลุ่มขยะติดเชื้อ สำหรับนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วกลับมาใช้ใหม่ เช่น ขวดแก้ว เสื้อห้องปฏิบัติการ เป็นต้น
4. กลุ่มขยะติดเชื้อ สำหรับนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วกำจัดในที่เหมาะสมหรือเผา เช่น ซากสัตว์ เนื้อเยื่อของสัตว์ หมวก ถุงมือและหน้ากากอนามัย เป็นต้น

การแจ้งสัตว์ป่วย และรายงานผลตรวจ



ภาคผนวก

เครือข่ายทางห้องปฏิบัติการ

ชื่อที่อยู่หน่วยงาน	โทรศัพท์	ที่อยู่
กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์		
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กลุ่มไวรัสวิทยา	0-2579-8908-14 ต่อ 422	50/2 เกษตรกลาง ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ภาคเหนือตอนบน	0-5483-0195 0-5483-0196	221 ม.6 ถ.ลำปาง-เชียงใหม่ ต.เวียงตาล อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง 52190
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ภาคเหนือตอนล่าง	0-5531-3137-9	9 ม.15 ถ.พิษณุโลก-หล่มสัก ต.วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน	0-4326-2050	404 ม.15 ถ.มิตรภาพ ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40260
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง	0-4454-6104	291 ม.9 ถ.สุรินทร์-ปราสาท ต.นาบัว อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ภาคใต้	0-7577-0008-9 0-7577-0128-30	124/2 ม.7 ถ.ทุ่งสง-ห้วยยอด ต.ที่วัง อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช 80110
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ภาคตะวันออก	0-3874-2116-19	844 ม.9 ต.คลองกิ่ว อ.บ้านบึง จ.ชลบุรี 20220
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ภาคตะวันตก	0-3291-9575-6	126 ม.10 ต.เขาชะงุ้ม อ.โพธาราม จ.ราชบุรี 70150
กองสารวัตรและกักกัน กรมปศุสัตว์	0-4280-1067	ด่านกักกันสัตว์มุกดาหาร ต.คำอาฮวน อ.เมือง จ.มุกดาหาร 49000

ชื่อที่อยู่หน่วยงาน	โทรศัพท์	ที่อยู่
กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม		
สำนักอนุรักษ์และวิจัย องค์การสวนสัตว์ ในพระบรมราชูปถัมภ์	02-282-6125	71 ถ.พระราม 5 แขวงดุสิต เขตดุสิต กทม. 10300
ทบวงมหาวิทยาลัย		
หน่วยชันสูตรโรคสัตว์กลาง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	02-218-9604	39 ถ.อังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330
หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ โรงพยาบาลปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	034-270968-70	57 ม.1 ถ.ทหารบก ต.บ่อพลับ อ.เมือง จ.นครปฐม 73000
หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	034-351-9013	1 ม. 6 ต.กำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
ศูนย์เฝ้าระวังและติดตามโรคจากสัตว์ป่า สัตว์ต่างถิ่นและสัตว์อพยพ (MoZWE) คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล	02-441-5236	999 พุทธมณฑลสาย 4 ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170
หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ ศูนย์บริการสุขภาพสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	053-948041-2	155 ม.2 ถ.เลียบคันคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100
ห้องปฏิบัติการชันสูตรโรคทางปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	043-202283	123 อาคาร รพ.สัตว์ สัตววิทยรักษ์ ถ.มิตรภาพ ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

ชื่อที่อยู่หน่วยงาน	โทรศัพท์	ที่อยู่
ห้องปฏิบัติการทางสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	043-712832	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ถ.นครสวรรค์ ต.ตลาด อ.เมือง จ.มหาสารคาม 44000
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	074-289600 074-289608	15 อาคารจุฬาภรณการุณยรักษ์ ถ.ปุณณกัณฑ์ ต.คอหงส์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110
ห้องปฏิบัติการภาคเอกชน		
ศูนย์วินิจฉัยโรคสัตว์บก, บริษัทซีพีเอฟ จำกัด (มหาชน)	02-988-0671	29/2 ม.9 ถ.สุรินทวงศ์ แขวงลำผักชี เขตหนองจอก กทม. 10530
ศูนย์วิทยาศาสตร์เบทาโกร จำกัด	02-564-7932	136 ม.9 ถ.พหลโยธิน ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
ศูนย์วิทยาการวินิจฉัยโรคสัตว์, บริษัท ไทย ฟู้ดส์ รีเสิร์ช เซ็นเตอร์ จำกัด	089-901-1856	18 ม.16 ต.เลาขวัญ อ.เลาขวัญ จ.กาญจนบุรี 71210

คำแนะนำการเก็บตัวอย่างสำหรับเจ้าหน้าที่

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

คำแนะนำ 1 การเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ โรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร

- เจ้าหน้าที่ต้องสังเกตอาการสุกรป่วยเป็นตัวชี้นำก่อน แล้วเก็บตัวอย่างส่งตรวจห้องปฏิบัติการ
- วัตถุดิบจากแหล่งโรค ป้องกันโดยตรวจสอบทำลายวัตถุดิบที่สงสัย ส่งตรวจห้องปฏิบัติการ

อาการสัตว์ป่วย

มีไข้สูง (>41°C) นอนสุม ซึมเบื่ออาหาร ไม่ลุกเดิน ผิวหนังแดง มีจุดเลือดออก หรืออยเข้า เช่น ใบหู ถ่ายเหลวมีเลือดปน แท้งทุกช่วงอายุ และตายเฉียบพลันภายใน 2-3 วันหลังจากแสดงอาการทางคลินิก

ตายเฉียบพลัน มีไข้ นอนสุม ถ่ายปนเลือด แท้ง

ผิวหนังแดง ปื้นเลือดออก มีเลือดกำเดา

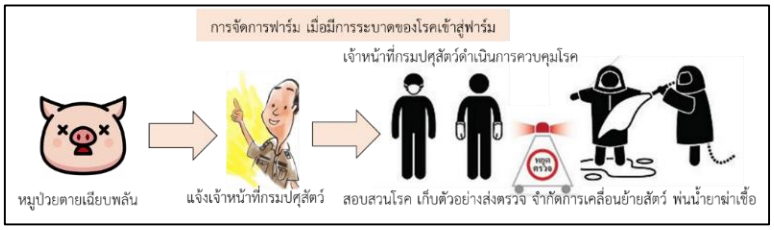
ที่มา: Plum Island Animal Disease Center (PIADC), USDA-Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)

สิ่งส่งตรวจ	วิธีการเก็บตัวอย่าง
• เลือด	• กรณีพบสัตว์ป่วยหรือตายใหม่ เก็บตัวอย่างเลือด 3-5 มล. ในหลอด EDTA (จุกสีม่วง)
• ม้าม	• กรณีเก็บเลือดไม่ได้ ให้ผ่าเปิดช่องท้องเก็บเฉพาะม้าม ขนาด 1 ฝ่ามือ
• เนื้อและผลิตภัณฑ์สุกร เช่น เนื้อแช่แข็ง เนื้อแช่เย็น ไส้หมักเหลือ ไส้กรอก ฯลฯ	• ตัดเก็บชิ้นเนื้อ 2x3 ซม. ประมาณ 5 กรัม
• วัตถุดิบอาหารสัตว์ เช่น เนื้อและกระดูกป่น	• สุ่มเก็บตัวอย่าง 5 ตำแหน่ง ประมาณ 500 กรัม

*** บรรจุถุงซิปปิดสนิท แช่เย็นในน้ำแข็ง ส่งตรวจทันที ***

แจ้งสัตว์ป่วย
สำนักงานปศุสัตว์จังหวัด และด่านกักกันสัตว์ ทุกแห่ง
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ และศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ประจำภูมิภาค
ที่อยู่ 50/2 เกษตรกลาง แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทร. 0 2 579 8908-14 โทรสาร 0 2 579 8918-19 E-mail: niah@dld.go.th Website : niah.dld.go.th

คำแนะนำการป้องกันโรคสำหรับฟาร์มสุกร



การทำลายเชื้อในวัตถุดิบ

เศษอาหารที่ใช้เลี้ยงสุกร (swill)

มีวิธีการทำให้เชื้อหมดฤทธิ์ได้หลายวิธี ได้แก่

1. ให้ความร้อน ต้มเศษอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ที่อุณหภูมิ 90 °C อย่างน้อย 60 นาที และทำการคนผสมตลอดเวลา
   หรือ
2. ให้ความร้อนภายใต้ความดัน ในเศษอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 3 บาร์ อย่างน้อย 10 นาที

เนื้อสุกร (meats)

มีวิธีการทำให้เชื้อหมดฤทธิ์ได้หลายวิธี ได้แก่

1. การทำลายเชื้อด้วยความร้อน
   เนื้อสัตว์ ทำได้ ดังนี้
   - สำหรับภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทป้องกันอากาศเข้าออก (hermetically sealed container) ให้ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่กำหนด โดยให้ค่า F0 (sterilization value) ที่เวลาไม่ต่ำกว่า 3 นาที หรือ
   - ให้ความร้อน ทำให้เนื้อสัตว์มีอุณหภูมิ 70 °C อย่างน้อย 30 นาที โดยให้ความร้อนทั่วถึงตลอดชิ้นเนื้อ
2. การทำลายเชื้อด้วยวิธีการหมักแห้ง
   - เนื้อสัตว์จะถูกหมักด้วยการใช้เกลือทาที่ผิวนอกหรือคลุกให้ทั่ววัตถุดิบ จากนั้นบ่มหมักเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 6 เดือน

ไส้หมักเกลือ (casings)

ให้หมักเกลือเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 30 วัน ด้วยผลึกเกลือโซเดียมคลอไรด์ (dry salt NaCl) หรือหมักในน้ำเกลืออิ่มตัวที่มีค่า Aw (water activity) น้อยกว่า 0.80 หรือหมักเกลือที่สารประกอบฟอสเฟต ประกอบด้วย 86.5% NaCl, 10.7% Na_2HPO_4 โดยน้ำหนัก และหมักที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 12 °C

ซากและมูลสุกร (litter and manure)

1. การทำลายเชื้อด้วยความร้อนชื้น อุณหภูมิ 55 °C อย่างน้อย 60 นาที
   หรือ
2. การทำลายเชื้อด้วยความร้อนชื้น อุณหภูมิ 70 °C อย่างน้อย 30 นาที

การทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรค (cleansing and disinfection procedure)

ความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosecurity) นั้นเป็นหัวใจสำคัญเพื่อควบคุมป้องกันโรคภายในฟาร์ม ให้เน้นลดการนำเข้าเชื้อเข้าสู่ฟาร์ม หรือ นำเชื้อออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกฟาร์ม ซึ่งหากดำเนินการฆ่าเชื้ออย่างถูกต้อง ย่อมลดโอกาสการระบาดของโรคเข้าสู่ฟาร์มได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ขั้นตอนต่าง ๆ ที่จำเป็นจะต้องดำเนินการ มีดังนี้

1. เตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อโรคที่ผสมน้ำตามอัตราส่วนที่กำหนด ได้แก่ เวอร์คอน คลอรีน (เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์) ไอโอดีน (เช่น เบตาดีน) โดยเลือกใช้ชนิดของน้ำยาฆ่าเชื้อให้เหมาะสมกับการใช้งาน
2. กำจัดสิ่งปฏิกูลออกจากยานพาหนะ หรือโรงเรือน
3. คัดแยกประเภทอุปกรณ์ โดยต้องทำการฆ่าเชื้อโรคอย่างดีก่อนทิ้งหรือนำกลับไปใช้อีก
4. ล้างทำความสะอาดด้วยสารซักล้าง (detergent) ขัดทำความสะอาด ล้างด้วยน้ำสะอาดหรือใช้ท่อความดันสูงฉีดน้ำพ่นล้าง
5. จากนั้นจึงพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อโรคให้ชุ่มโชก ปล่อยทิ้งไว้ 30 นาที แล้วจึงฉีดพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อโรคซ้ำอีกครั้ง

สารฆ่าเชื้อไวรัสอหิวาต์แอฟริกาในสุกร

Disinfectant	Field of application	Concentration	Exposure time
Sulfuric acid	surface disinfectant	1%	15 min
	liquid manure	1%	1 week
Formic acid	surface disinfectant	1%	15 min
	liquid manure	4%	1 week
Peracetic acid	surface disinfectant	2%	15 min
Formaldehyde	surface disinfectant	0%	15 min
	liquid manure	1%	1 week
	liquid manure	0.50%	> 4 days
Sodium dodecyl sulfate	surface disinfectant	3%	15 min
	liquid manure	3%	1 week
Glutaraldehyde solution	surface disinfectant	1%	30 min
	liquid manure	1%	1 week
	tissue	0.2 %	11 days
Sodium hydroxide solution	surface disinfectant	0.50%	30 min
	liquid manure	4%	1 week
	liquid manure	1%	150 s (4 °C)
	liquid manure	1%	30 min (4 °C)
Citric acid	surface disinfectant	2%	30 min (22 °C)
Caustic lime	dung pack		
Iodine		0,015 bis 0,0075% (potassium iodide)	
Ortho-phenylphenol		1%	1 h
Chloride, Hypochlorite	surface disinfectant	0,03 bis 0,0075 % sodium hypochloride	
	surface disinfectant	2,3 % Chlor	30 min
	surface disinfectant	0,15 % / 0,2 % als Natrium hypochloride	
Quarteray ammonium compounds	surface disinfectant	0.003%	
Lime Ca(OH)2	liquid manure	1%	150 s (4 °C)
	liquid manure	1%	30 min (4 °C)
Heat	pig slurry	65 °C	5 min

ที่มา : Alonso C. et al. African Swine Fever (ASF): Gap Analysis Workshop Report. 2018. Agricultural Research Service, Washington, D.C. USA. https://www.ars.usda.gov/GARA/reports.htm