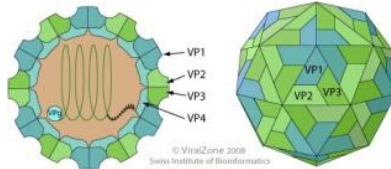
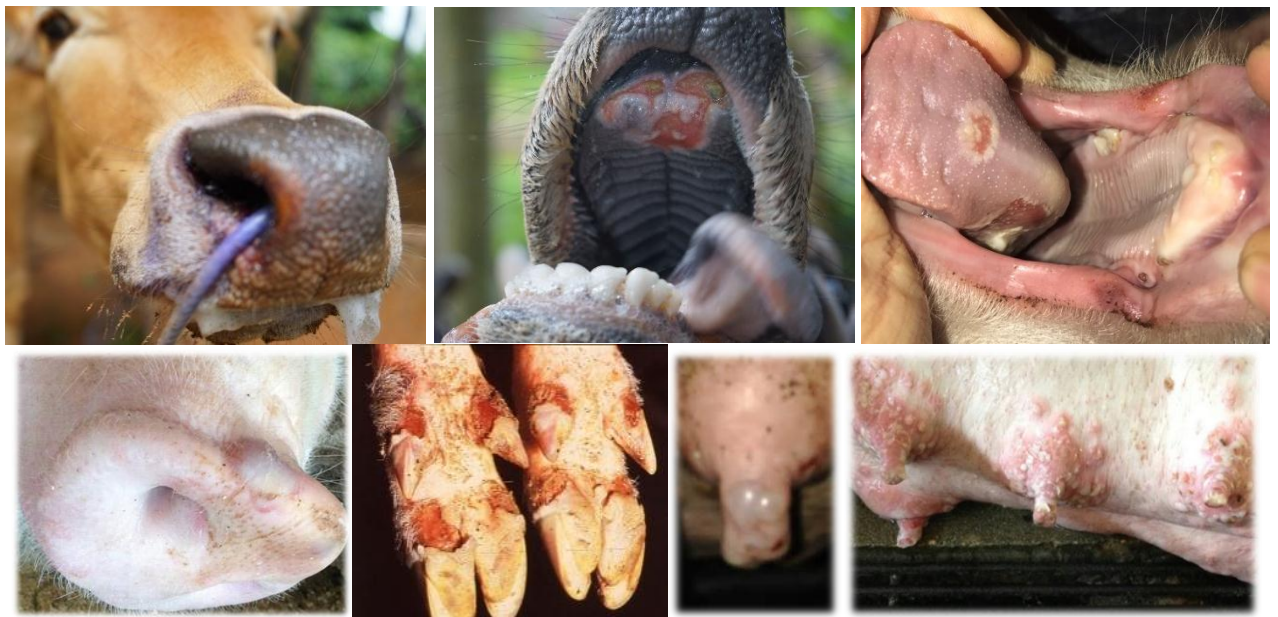




โรคปากและเท้าเปื่อย และการเก็บ-ส่งตัวอย่าง ชั้นสูง



FOOT-AND-MOUTH DISEASE AND SAMPLE COLLECTION - TRANSFER FOR DIAGNOSIS



สัตว์แพทย์หญิงปราณี รอดเทียน

ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคที่มีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วและก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก ดังนั้นความไวและความจำเพาะของการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ และการระบุชนิดของซีโรไทป์ของไวรัสที่ก่อให้เกิดการระบาดเป็นสิ่งที่จำเป็นที่ต้องทำอย่างรวดเร็วที่สุด โรคนี้สามารถบ่งชี้หรือวินิจฉัยเบื้องต้นได้จากการประมวลอาการทางคลินิก เช่น ไข้สูง น้ำลายไหลมากผิดปกติ เดินกะเผลก พบตุ่มพองที่บริเวณเยื่อช่องปาก เหงือก เพดานปาก ลิ้น ห้วนม เต้านม จมูก ไรกีบ อย่างไรก็ตามอาการทางคลินิกที่พบอาจคล้ายคลึงกับโรคไวรัสชนิดอื่นๆ ได้แก่ Vesicular stomatitis, Swine vesicular disease, Vesicular exanthema, Senecavirus เป็นต้น ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาสาเหตุของโรค จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง นอกจากนี้ยังพบว่าโรคปากและเท้าเปื่อยแต่ละซีโรไทป์จะไม่มีภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์กัน และอาการทางคลินิกที่พบในการระบาดแต่ละครั้ง ก็ไม่มีความจำเพาะของแต่ละซีโรไทป์ ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการจำแนกซีโรไทป์ของไวรัสที่พบการระบาดในแต่ละพื้นที่เพื่อประโยชน์ในการควบคุมโรค โดยเฉพาะการเลือกใช้วัคซีนที่เหมาะสมให้มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค

ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ กรมปศุสัตว์ มีบทบาทหน้าที่สำคัญในการให้บริการทางห้องปฏิบัติการในการตรวจชันสูตร ยืนยันและตรวจวิเคราะห์ ในฐานะเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ การที่จะได้มาซึ่งผลการตรวจที่มีความถูกต้องนั้นจะต้องขึ้นอยู่กับคุณภาพของตัวอย่างที่เจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ในพื้นที่ได้เก็บและจัดส่งมาตรวจ จึงมีความจำเป็นที่ผู้ส่งตัวอย่างต้องทราบข้อมูลที่ต้องชัดเจน โดยเฉพาะความรู้เกี่ยวกับโรคปากและเท้าเปื่อยในปศุสัตว์ กระบวนการเก็บตัวอย่าง ชนิดตัวอย่างที่เหมาะสมกับวิธีการทดสอบ จนถึงการนำส่งตัวอย่างให้ห้องปฏิบัติการอย่างถูกต้องเหมาะสม และปลอดภัย อย่างไรก็ตามการเก็บตัวอย่างที่มีคุณภาพ เจ้าหน้าที่ควรมีพื้นฐานความรู้เกี่ยวกับไวรัสและการก่อโรคจะทำให้เข้าใจเหตุผลและมีวิธีการปฏิบัติที่ดีในการเก็บ ดูแลรักษา และส่งตัวอย่างที่มีคุณภาพถึงห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวิเคราะห์ ทดสอบ ได้ถูกต้องแม่นยำ รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ ดังนั้น เอกสารวิชาการเรื่อง “โรคปากและเท้าเปื่อยและการเก็บ-ส่งตัวอย่างชันสูตร” ฉบับนี้ จึงถูกจัดทำขึ้นเพื่อเป็นแนวทางและข้อมูลให้เจ้าหน้าที่ผู้ส่งตัวอย่างและผู้เกี่ยวข้องนำไปเก็บและส่งตัวอย่าง

อนึ่ง ในฐานะเป็นศูนย์อ้างอิงฯ ระดับภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จึงได้รวบรวมขั้นตอนการรับส่งตัวอย่างระหว่างประเทศ ไว้ตอนท้ายเพื่อเป็นข้อแนะนำในการปฏิบัติสำหรับเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง

ขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องที่ให้คำแนะนำในการเรียบเรียง รวมทั้งผู้เอื้อเฟื้อข้อมูล รูปภาพประกอบสนับสนุนให้คู่มือฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ปราณี รอดเทียน

มิถุนายน พ.ศ 2560

ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้
ต.ปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

สารบัญเรื่อง

บทนำ.....	2
ตอนที่ 1. โรคปากและเท้าเปื่อย.....	6
ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย.....	6
ระบาดวิทยา.....	7
พยาธิวิทยา.....	8
ระยะฟักตัว.....	9
ชนิดสัตว์ที่ไวต่อการเป็นโรคปากและเท้าเปื่อย.....	10
อาการ.....	10
เหตุผลที่ต้องพิจารณาอายุของรอยโรค.....	13
ภูมิคุ้มกันโรคที่รับมาหรือติดตัวมาแต่กำเนิด.....	18
ภูมิคุ้มกันที่ก่อเองหรือเกิดขึ้นภายหลังกำเนิด.....	18
การขับและการแพร่กระจายของไวรัส.....	19
การกระจายของไวรัส.....	20
ปริมาณไวรัสที่ก่อโรค.....	23
ความทนทานหรือการคงชีพของไวรัสนอกตัวสัตว์.....	23
การคงชีพของไวรัสในผลิตภัณฑ์จากสัตว์.....	24
ภาวะอมเชื้อและการแพร่.....	25
ตอนที่ 2. การเก็บและส่งตัวอย่างขั้นสูง.....	26
จำนวนสัตว์ที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่าง.....	27
ชนิด ตำแหน่ง และปริมาณตัวอย่าง.....	28
การเก็บตัวอย่างซีรัมเพื่อตรวจระดับแอนติบอดี และ Non-structural Protein (NSP).....	30
การบ่งชี้และบันทึกรายละเอียดสิ่งส่งตรวจ.....	33
การจัดส่งตัวอย่างเพื่อตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย.....	33
แบบรายละเอียดสิ่งส่งตรวจโรคปากและเท้าเปื่อย.....	36
สิ่งส่งตรวจและห้องปฏิบัติการวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย.....	37
การรายงานผลการตรวจวินิจฉัย.....	37
กรณีในห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องปฏิเสธรับสิ่งส่งตรวจ.....	37
เอกสารอ้างอิง.....	39

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 อนุภาคไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย.....	6
2 โครงสร้างสารพันธุกรรม (genomic RNA).....	7
3 แผนที่แสดงการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย.....	7
4 แผนที่แสดงการกระจายของโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์ต่างๆ.....	8
5 แผนภูมิแสดงระยะเวลาในการวินิจฉัยไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย.....	9
6 อาการน้ำลายไหล ยืนซึ่ม ในระยะแรก.....	10
7 รอยโรคตุ่มพองหรือแผ่นพองที่ลิ้นแตกออก.....	10
8 แผลเย็บที่เหงือกหลุด.....	10
9 รอยโรคในช่องปากบริเวณเหงือกและลิ้น.....	10
10 รอยโรคเนื้อตายที่เหงือก ลักษณะคล้ายเนย.....	10
11 รอยโรคตุ่มพองที่ห้วนนมแม่โคนม.....	10
12 รอยโรคแผลตามชอกกีบ.....	10
13 ลูกโคที่มักตายเฉียบพลัน.....	10
14 ตำแหน่งรอยโรคตุ่มพองที่พบบ่อยในสุกรและโค.....	11
15 รอยโรคตุ่มพองขาวขุ่นที่ดั้งจมูกสุกร.....	12
16 รอยโรคตุ่มพองที่ห้วนนมและผื่นแดงตามราวนนมแม่สุกร.....	12
17 กีบหลุดในลูกสุกร.....	12
18 รอยโรคแถบปื้นเนื้อตายสีขาวบนกล่ำเนื้อหัวใจลูกสุกร.....	12
19 รอยโรคที่เพดานปาก เหงือก และแผลชอกกีบ ที่อาจพบได้ในแกะ.....	13
20 วันแรกของการติดไวรัส มักไม่พบรอยโรคใดๆ ที่เด่นชัดในช่องปาก เหงือกและลิ้น.....	14
21 รอยโรคที่สามวัน พบตุ่มพองชัดเจนบริเวณเหงือก ลิ้น ไรกีบและชอกกีบ.....	14
22 รอยโรคที่สามถึงเจ็ดวัน พบตุ่มพองแตก ขอบรอยโรคไม่ชัดเจน มีปื้นแดงที่เหงือกและลิ้น.....	15
23 รอยโรคที่เจ็ดวัน พบตุ่มพองแตกหลุดเป็นแผลหลุมตามเหงือก ลิ้น ไรกีบ และชอกกีบ.....	15
24 รอยโรคที่สิบวัน ไฟบรินสะสมตามขอบแผลบริเวณเหงือก ลิ้น และชอกกีบ.....	16
25 การสมานตัวของรอยโรคที่สิบสี่วัน พบลักษณะของแผลเป็นขอบนูนที่เหงือก ลิ้น ไรกีบ และชอกกีบ.....	16
26 การสมานตัวของรอยโรคที่สิบแปดวัน แผลตามเหงือก ลิ้น ชอกกีบ และไรกีบ สมานตัวอย่างสมบูรณ์.....	17
27 ปริมาณไวรัสที่ก่อโรคและปริมาณตรมหายใจในโค แกะ และสุกร.....	21
28 ปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ถูกขับจากโค แกะ และสุกร.....	21
29 การตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธีต่างๆ จากรอยโรค ตามระยะเวลาหลังเริ่มอาการ.....	26
30 แผนภูมิแสดงวิธีการวินิจฉัยโรค หลังโคติดเชื้อมถึงระยะที่หายป่วย.....	27
31 รอยโรคตุ่มพองที่จมูกสุกร.....	28
32 วิธีการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ.....	28
33 วิธีการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อแช่ใน 50% glycerin buffer.....	28
34 วิธีสวอปจากช่องจมูกสุกร.....	29
35 อุปกรณ์ Probang cup.สำหรับสัตว์ขนาดต่างๆ.....	29

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
36 วิธีการสอด Probang cup เก็บตัวอย่างในโค และการทำความสะอาดอุปกรณ์.....	30
37 การเก็บตัวอย่างเลือดในโคและกระบือ.....	31
38 การเก็บตัวอย่างเลือดในแพะและสุกร.....	31
39 วิธีการพลิกหลอดเก็บเลือดที่มีสารกันการแข็งตัวของเลือด.....	32
40 วิธีการแยกซีรัมให้ได้คุณภาพดี.....	32
41 วิธีการแยกซีรัมจากไซรินจ์.....	33
42 ขั้นตอนการแยกตัวอย่างซีรัมและการรักษาตัวอย่างระหว่างนำส่งห้องปฏิบัติการ.....	33
43 บันทึกข้อมูลสิ่งส่งตรวจ.....	33
44 ตัวอย่างเนื้อเยื่อ และภาชนะสำหรับบรรจุ อย่างน้อยสองชั้น ก่อนใส่ลงในบรรจุภัณฑ์มาตรฐาน.....	34
45 วิธีการบรรจุหลอดเก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกแยกรายตัวอย่างในกล่องภาชนะ.....	35
46 การบรรจุตัวอย่างซีรัมเรียงตามลำดับใส่ถุง.....	35
ภาคผนวกที่ 1 แบบรายละเอียดสิ่งส่งตรวจโรคปากและเท้าเปื่อย.....	36
ภาคผนวกที่ 2 สิ่งส่งตรวจและห้องปฏิบัติการวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย.....	37
ภาคผนวกที่ 3 ห้องปฏิบัติการวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย และสถานที่ตั้ง.....	38

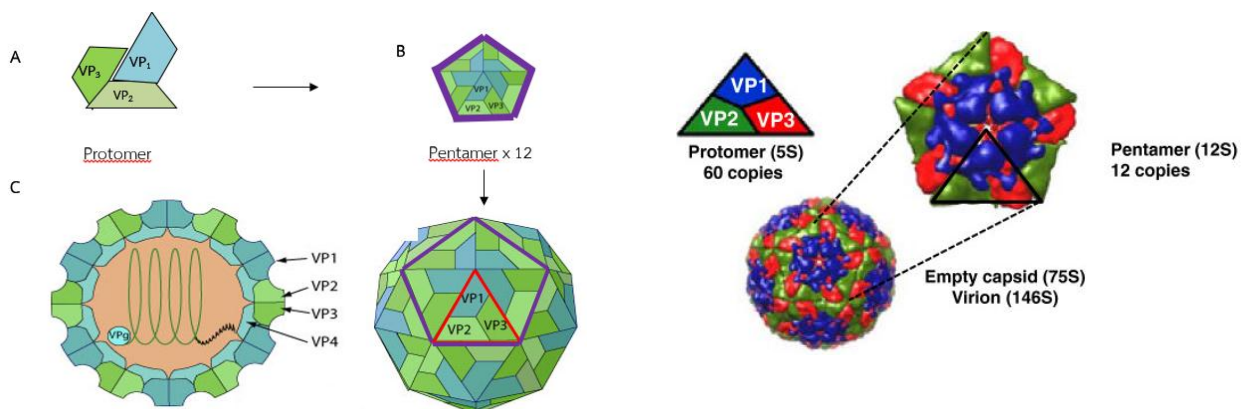
สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 รอยโรคที่ปรากฏในช่วงระยะเวลาที่พบอาการ.....	13
2 การคาดคะเนช่วงเวลาของการปล่อยไวรัสหลังพบรอยโรคครั้งแรกในสุกร โค และแพะ.....	13
3 ระยะเวลาการขับเชื้อในตัวอย่างต่างชนิดในสารคัดหลั่ง และสิ่งขับถ่าย.....	19
4 ความเข้มข้นและปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในตัวอย่างต่างชนิด.....	20
5 ปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยของแต่ละซีโรไทป์ที่ถูกขับออกในโค แพะ และสุกร.....	20
6 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในเขต 9.....	22
7 ปริมาณต่ำสุดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ก่อโรคในโค สุกร แพะ และแพะ.....	23
8 อัตราการป่วยในสัตว์แต่ละชนิด ที่ได้รับไวรัสด้วยวิธีและขนาดที่แตกต่างกันของแต่ละซีโรไทป์.....	23
9 ระยะเวลาคงชีพของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในสิ่งขับถ่ายจากสัตว์.....	24
10 ระยะเวลาคงชีพของ ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในอวัยวะสุกร.....	24
11 ระยะเวลาเป็นพาหะอมเชื้อ ในโค กระบือ แพะ และสุกร.....	25
12 ระยะเวลาและรอยโรค/อาการของโรคปากและเท้าเปื่อยในโค.....	26
13 ตำแหน่งและขนาดเข็มที่ใช้เก็บตัวอย่างเลือดสัตว์.....	31
14 ชนิดตัวอย่างที่เก็บและวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย.....	35

โรคปากและเท้าเปื่อย (Foot-and-Mouth Disease; FMD) เป็นโรคระบาดชนิดรุนแรง เฝ้ายพันธุ์ และแพร่กระจายได้รวดเร็วในสัตว์กับคู่ทุกชนิด โดยเฉพาะโค กระบือ สุกร แพะ แกะ และสัตว์ป่าอีกมากกว่า 70 ชนิด (Jamal and Belsham, 2013) มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจและสังคม โดยก่อให้เกิดความสูญเสียต่อผลผลิตและมีผลกระทบต่อ การส่งออกสินค้าปศุสัตว์คิดเป็นมูลค่ามหาศาล จึงถูกประกาศอยู่ในบัญชี A ขององค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (Office International des Epizooties: OIE) นับเป็นโรคที่เป็นอุปสรรคสำคัญต่อการสินค้าปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์ (trade barrier) ปัจจุบันพบการแพร่ระบาดของโรคนี้ในปศุสัตว์มากกว่า 100 ประเทศทั่วโลก ในหลายภูมิภาค โรคนี้มีอัตราการตายต่ำในสัตว์โตเต็มวัย อัตราการตายสูงในลูกสัตว์ (ร้อยละ 50) จากกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ ติดเชื้อแทรกซ้อนและจากการกินอาหารไม่ได้ สัตว์ที่เคยสัมผัสไวรัสสามารถเป็นพาหะนำโรคได้หลายปี

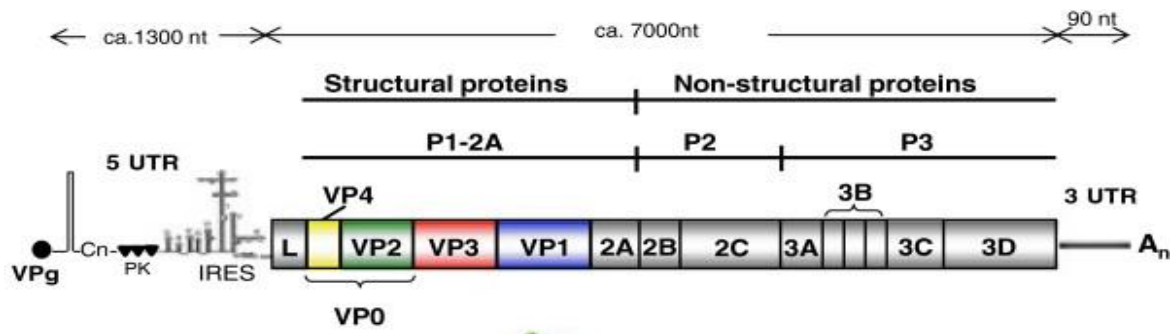
ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (Foot-and-Mouth Disease Virus: FMDV)

เป็นไวรัส RNA (ribonucleic acid) สายเดี่ยว (genus Aphthovirus, สกุล Picornaviridae “pico” คือ ขนาดเล็ก ส่วน “na” หมายถึง ribonucleic acid) มีความยาวประมาณ 8,400 nucleotides (nt) เป็นลูกบาศก์ทรงกลมแบบไม่สมมาตร (Icosahedral asymmetric unit) เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 30 นาโนเมตร (ภาพที่ 1) ประกอบจาก 60 protomers ของโครงสร้างโปรตีน (structural protein) “VP1-4” ซึ่ง VP1-3 เรียงตัวกันอยู่เป็นเปลือกหุ้ม (capsid) และ VP4 เกาะอยู่ด้านในเชื่อมต่อกับโครงสร้างที่ไม่ใช่โปรตีน (non-structural protein) ซึ่งอยู่ข้างในเปลือกหุ้ม



ภาพที่ 1. อนุภาคไวรัสปากและเท้าเปื่อย (146S) มีโครงสร้างพื้นฐานในส่วนที่เป็นโปรตีน (VP1-4) โดย VP1-3 เรียงตัว (A) กันเป็น protomer (5S) จาก protomers 5 ชุดประกอบกัน (B) เป็น pentamer (12S) ซึ่งเมื่อ 12 ชุดประกอบกัน (C) เป็น capsid (75S) โดยมี VP4 หลบอยู่ข้างในต่อเชื่อมโยงกับโครงสร้างในส่วนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-structural protein) (ที่มา: Clavijo et al., 2004; Jamal and Belsham, 2013)

ลำดับเบส (nucleotide sequences) ของรหัสพันธุกรรมโปรตีน VP1 แสดงคุณลักษณะสำคัญทางยีนของสายพันธุ์ไวรัส ในขบวนการเกาะติดและเข้าสู่เซลล์รวมทั้งกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และความจำเพาะต่อสายพันธุ์ของไวรัส (Jackson et al., 2003) อีกทั้งเกี่ยวข้องกับการก่อโรค (Mason et al., 1994; McKenna et al., 1995) จึงนิยมใช้ในการวิเคราะห์ phylogenetic tree เพื่ออนุมานวิวัฒนาการเปลี่ยนแปลง (evolutionary dynamics) และสัมพันธ์ภาพทางระบาดวิทยาในสายพันธุ์ (lineages) ตลอดจนติดตามแหล่งที่มาและการปรับเปลี่ยนของสายพันธุ์ไวรัสที่มีการระบาดในแต่ละท้องถิ่นได้อีกด้วย (Jamal and Belsham, 2013)



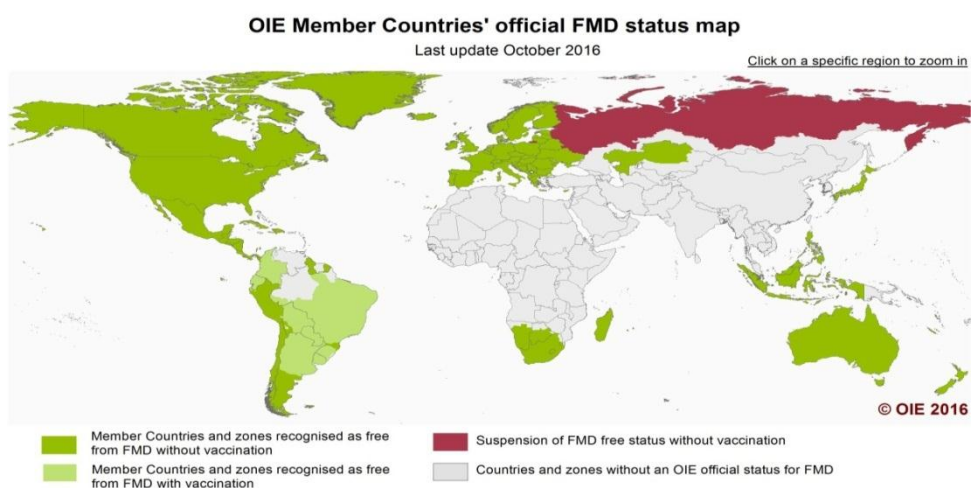
ภาพที่ 2. โครงสร้างสารพันธุกรรม (genomic RNA) และโปรตีนที่ได้จากการแปลรหัสบน genome ของ FMDV โดย viral RNA จะถูกแปลรหัสเป็นโปรตีนสายยาว (polyprotein) จากปลาย 5'UTR คือ L protein ตามด้วยกลุ่มโปรตีนโครงสร้างหรือ structural proteins (VP1-VP4) และกลุ่ม non-structural proteins (ที่มา: Buenz and Howe, 2006; Jamal and Belsham, 2013)

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย มีการปรับเปลี่ยนพันธุกรรมตลอดและรวดเร็ว ปัจจุบันสามารถจำแนกได้ 7 serotypes คือ O, A, C, Asia 1, SAT (Southern African Territories: SAT) 1, 2 และ 3 ที่มีปฏิกิริยาจำเพาะที่แตกต่างกัน (antigenic)

ระบาดวิทยา

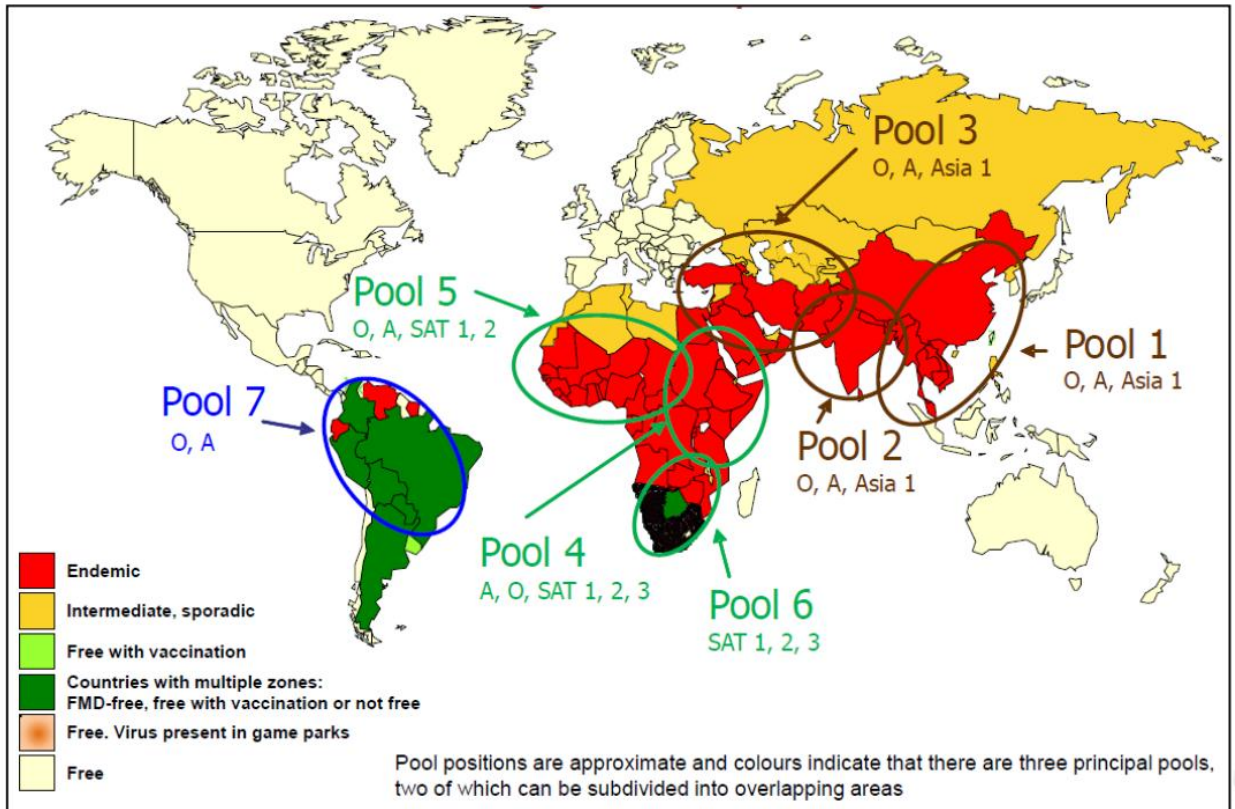
โรคปากและเท้าเปื่อยถูกพบครั้งแรกในประเทศอิตาลีเมื่อปี 1514 เมื่อ Fracastorius พบโคแสดงอาการเบื่ออาหาร เยื่อเมือกในปากแดงอักเสบ บางตัวพบตุ่มพองในช่องปากและบริเวณเท้า โคส่วนใหญ่ที่ติดเชืื่อนั้นสามารถหายป่วยได้เอง (Fracastorius, 1546) แต่มีรายงานอย่างเป็นทางการครั้งแรกของการค้นพบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในอีกประมาณ 400 ปีต่อมา (Loeffler and Frosch, 1897)

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคประจำถิ่น (endemic) ในหลายพื้นที่ของโลก เช่น ประเทศในแถบทวีปเอเชีย แอฟริกาใต้ และอเมริกาใต้ เป็นต้น อย่างไรก็ตามหลายประเทศ เช่น นิวซีแลนด์ ออสเตรเลีย กรีนแลนด์ ไอซ์แลนด์ และพื้นที่ของทวีปยุโรปและอเมริกาเหนือ ได้รับการปลอดโรคปากและเท้าเปื่อยโดยองค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3. แผนที่แสดงสถานภาพของโรคปากและเท้าเปื่อยจากข้อมูล OIE ในปี 2016, พื้นที่ไม่พบโรคโดยไม่ได้ฉีดวัคซีน (สีแดง), พื้นที่ปลอดโรคโดยไม่ได้ฉีดวัคซีน (สีเขียวแก่), พื้นที่ปลอดโรคโดยฉีดวัคซีน (สีเขียวอ่อน) และพื้นที่ที่ยังไม่ประกาศอย่างเป็นทางการโดย OIE สำหรับโรคปากและเท้าเปื่อย (สีเทา)

(ที่มา: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/official-disease-status/fmd/en-fmd-carte/>)



ภาพที่ 4. แผนที่แสดงการกระจายของโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์ต่างๆ โดยแยกกลุ่มสายพันธุ์ตามภูมิประเทศเป็น 7 กลุ่ม (ที่มา: Hammond, 2012)

ทั่วโลกได้มีการจัดกลุ่มการเกิดโรคปากและเท้าเปื่อยตามภูมิประเทศเป็น 7 กลุ่มหรือ pool (ภาพที่ 4) โดยประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศจีนถูกจัดอยู่ใน pool ที่ 1 ซึ่งมีการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยไทยจำนวน 3 ซีโรไทป์ คือ O, A และ Asia-1 (Hammond, 2012)

ในประเทศไทย ซีโรไทป์ A ถูกตรวจพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2496 และ Asia-1 ในปีพ.ศ. 2497 ทำให้โรคปากและเท้าเปื่อยเริ่มถูกประกาศในพระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ปีพ.ศ. 2499 ตราบจนปี พ.ศ. 2558 (สำนักงานคณะกรรมการกฤษฎีกา, 2558) เพื่อใช้เป็นเครื่องมือและมาตรการควบคุมโรค ศูนย์ปฏิบัติการโรคปากและเท้าเปื่อยได้รับการก่อตั้งขึ้นในปี พ.ศ. 2499 (Chaisrisongkram, 1993) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการตรวจยืนยันและแยกชนิดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ต่อมาปีพ.ศ. 2500 แยกพบซีโรไทป์โอ จากนั้นศูนย์ผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยได้ถูกก่อตั้งขึ้นในปี พ.ศ. 2503 และมีศักยภาพในการผลิตวัคซีน (สมใจ และนพดล, 2535)

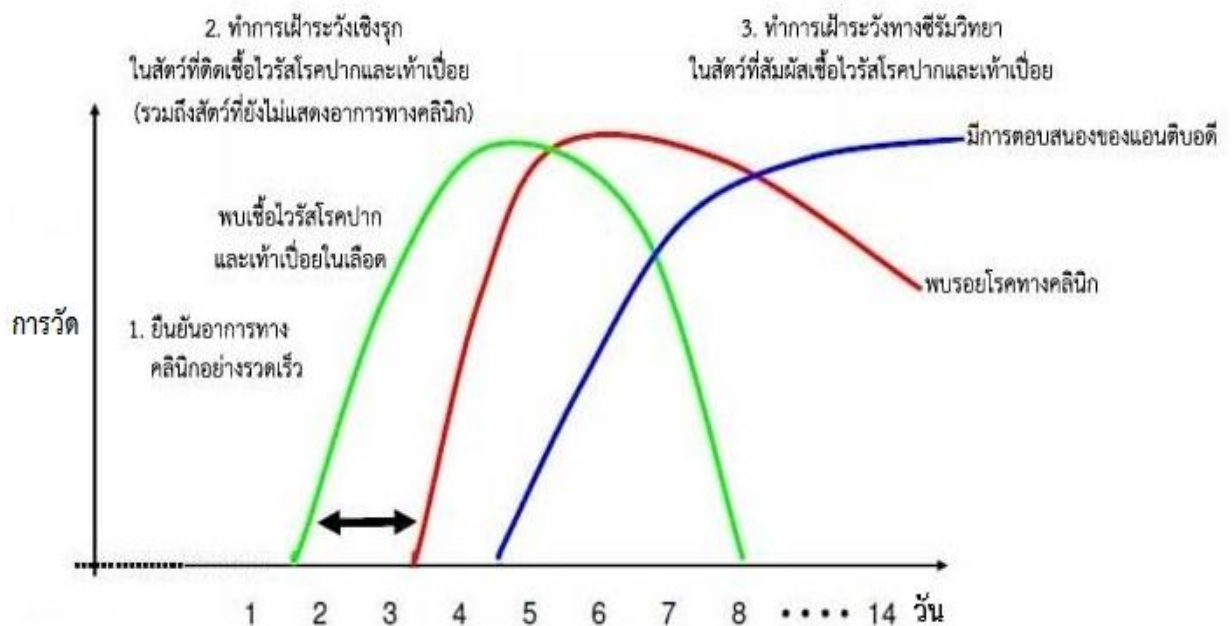
พยาธิวิทยา

ความรุนแรงของพยาธิสภาพอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ไวรัสและชนิดสัตว์ ส่วนใหญ่ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเข้าสู่ร่างกายสัตว์โดยการหายใจ หรือกินสิ่งปนเปื้อนไวรัส เช่น อาหารหรือน้ำ ไวรัสแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วที่เยื่อบุผิว (epithelium) เพดานอ่อน (soft palate) และคอหอย (pharynx) ซึ่งระยะแรกที่ติดเชื้อสามารถตรวจพบไวรัสที่บริเวณนี้ได้ภายใน 1-3 วัน กรณีที่ไวรัสเข้าสู่ร่างกายผ่านบาดแผลที่ผิวหนังหรือฉีดไวรัสเข้าที่ลิ้น ไวรัสจะเพิ่มจำนวนในบริเวณที่ติดไวรัสมาก่อนที่จะกระจายไปทางต่อมน้ำเหลืองและแพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นๆ ซึ่งจะแสดงรอยโรคอย่างเด่นชัด บริเวณเท้า รอยต่อของกีบ และร่องกีบเท้า (Alexandersen et al., 2001; Alexandersen et al., 2003)

ระยะฟักตัว

ส่วนใหญ่สัตว์แสดงอาการหลังสัมผัสไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเพียง 2-3 วัน แต่อาจนาน 7-10 วัน โค กระบือ เฉลี่ย 3-5 วัน สุกร 4-9 วัน แพะและแกะ 3-8 วัน ขึ้นกับสายพันธุ์ ชนิด ปริมาณและทางที่ได้รับไวรัส หากพบสัตว์ป่วยแสดงว่าสัตว์ต้องติดหรือสัมผัสไวรัสมาประมาณ 2-5 วันก่อน ซึ่งใช้เป็นหลักในการสอบสวนตามรอยโรค (tracing purpose) และหาแหล่งที่มาของการนำโรคย้อนหลังไปเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ (ระยะฟักตัวหนึ่งสัปดาห์) เพื่อคาดการณ์ถึงแหล่งที่มาของการปนเปื้อนหรือติดไวรัสได้ถูกต้อง และช่วยในการพิจารณาวางแผนระยะเวลาของการควบคุมโรค (regulation purpose) คือเมื่อเกิดอุบัติการณ์โรค จะเฝ้าสังเกตจนกระทั่งไม่พบสัตว์ป่วยใหม่เป็นเวลาอย่างน้อยสองสัปดาห์ (OIE, 2011)

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเข้าสู่ระบบไหลเวียนทั่วร่างกายภายใน 4-5 วันหลังการติดเชื้อ มีการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนในต่อมน้ำเหลือง เต้านม ต่อมน้ำลาย ต่อมไทรอยด์ ต่อมและต่อมหมวกไต โดยพบไวรัสมากที่สุดภายในของเหลวภายในรอยโรคตุ่มพอง และสามารถกระจายไปกับสิ่งคัดหลั่งและขับถ่าย ได้แก่ น้ำลาย น้ำนม ปัสสาวะ อุจจาระ และน้ำอสุจิ สัตว์ที่แสดงอาการป่วยจะขับไวรัสปริมาณมาก แต่สุกรขับไวรัสปริมาณออกสูงสุดก่อนแสดงอาการป่วย และจะตรวจพบแอนติบอดีในซีรัมอันเป็นผลจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายภายใน 4-7 วัน พร้อมกับปริมาณไวรัสในกระแสเลือดก็จะเริ่มลดลงภายในหนึ่งสัปดาห์หลังติดไวรัส โดยทั่วไปสามารถตรวจพบไวรัสจากรอยโรคที่พบไม่เกิน 5 วัน โอกาสน้อยมากที่จะตรวจพบไวรัสในรอยโรคที่ปรากฏหลังแสดงอาการมากกว่า 11 วัน ดังนั้นตัวอย่างที่เก็บตรวจเพื่อวินิจฉัยโรคควรมาจากรอยโรคระยะแรก เช่น vesicular fluid หรือรอยโรคที่ไม่เกินห้าวัน หลังจากนั้นต้องอาศัยการตรวจวินิจฉัยจากแอนติบอดีในสัตว์ที่สัมผัสไวรัส (ภาพที่ 5) แม้กระนั้นสัตว์อาจมีการขับไวรัสได้แม้ไม่แสดงอาการ สัตว์ที่มีภูมิคุ้มกันต้านไวรัสซีโรโพบีเดียวกันั้นอาจคงอยู่นาน 2-4 ปี



ภาพที่ 5. แผนภูมิแสดงระยะเวลาในการวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย 1) เบื้องต้นจากการยืนยันไวรัสในรอยโรค (เริ่มแรก) และอาการทางคลินิกในช่วงระยะสั้นๆ 2 ถึง 5 วัน ของการแสดงอาการเริ่มแรก 2) การเฝ้าระวังเชิงรุก สามารถตรวจพบไวรัสในตัวอย่างเลือดในสัตว์ที่ติดไวรัสแต่ยังไม่แสดงอาการ จากนั้นปริมาณไวรัสในกระแสเลือดก็จะเริ่มลดลงภายในหนึ่งสัปดาห์ (เส้นสีเขียว) 3) จำเป็นต้องเฝ้าระวังทางซีรัมวิทยาในสัตว์ที่สัมผัสไวรัสเกินกว่าหนึ่งสัปดาห์ (ที่มา: FAO, 2016)

ชนิดสัตว์ที่ไวต่อโรคปากและเท้าเปื่อย

ธรรมชาติของปศุสัตว์กับคู่ทุกชนิด (โค กระบือ แพะ แกะ สุกร) รวมทั้งสัตว์ป่ามากกว่า 70 ชนิด (เช่น อูฐ กวาง ละมั่ง กระตัง ช้าง รวมทั้งควายแอฟริกา) จะไวต่อการติดโรคปากและเท้าเปื่อย ในปี 2532 มีรายงานการเกิดโรคปากและเท้าเปื่อยในช้างที่เลี้ยงในสวนสัตว์แห่งหนึ่งที่จังหวัดนครปฐม ในครั้งนั้นมีการตรวจสอบพบว่าช้างมีการติดเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยซีโรไทป์โอ (ซีต และประทีป, 2536) ในขณะที่ม้าไม่เป็นโรคปากและเท้าเปื่อย สัตว์ชนิดอื่นอาจเป็นโรคในการทดลอง ได้แก่ หนูตะเภา กระต่าย ไก่และไขฟัก (Grubman and Baxt, 2004; Thomson et al., 2003)

โรคปากและเท้าเปื่อยในปศุสัตว์ไม่ถือว่าเป็นปัญหาทางสาธารณสุข ด้วยไวรัสของโรคนี้น่าที่จะก่อโรคในมนุษย์ ส่วนโรคมือเท้าปากในมนุษย์ (Hand foot mouth disease) เกิดจาก Coxsackie virus type A16 ซึ่งเป็นไวรัสใน Family Enteroviridae

อาการ



โคและกระบือ เกษตรกรมักสังเกตพบสัตว์ในฝูงหลายตัวแสดงอาการน้ำลายไหล (ภาพที่ 6) ยืนซึมในระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง ช่วงเวลาใกล้เคียงกัน ตามด้วยอาการขาเกะเขินแบบฉับพลัน ไม่อยากยืน หรือไม่ร่วมฝูง อาจมีไข้ ในโคนมมักพบสภาวะน้ำนมลด

ระยะแรก พบรอยโรคตุ่มพอง (มีของเหลวเต็มไปด้วยไวรัส) ตามตำแหน่ง (ภาพที่ 14) ได้แก่ ช่องปาก ลิ้น แก้ม เหงือก ริมฝีปาก เพดานปาก หูนม (ภาพที่ 11A, 11B) หรือเต้านม ตุ่มพองอาจขยายใหญ่ถึง 3 เซนติเมตร และอาจรวมตัวกันเป็นแผ่นพอง (blisters) แผ่นกว้างประมาณครึ่งหนึ่งของขนาดลิ้น แผ่นพองจะแตก (ภาพที่ 7) และเนื้อเยื่อจะหลุดได้ง่ายภายใน 24 ชั่วโมง เหลือแต่พื้นผิวของเยื่อชั้นล่าง (ภาพที่ 8, 9A, 9B) หากไม่มีการติดเชื้อ รอยโรคมักสมานตัวอย่างรวดเร็วในเวลาไม่กี่วัน อาจพบรอยโรคเป็นเนื้อตายสภาพคล้ายเนย (รูปที่ 10)



ภาพที่ 6. อาการน้ำลายไหล ยืนซึม ในระยะแรก



ภาพที่ 7. รอยโรคตุ่มพองหรือแผ่นพองที่ลิ้นแตกออก (2-3 วัน)



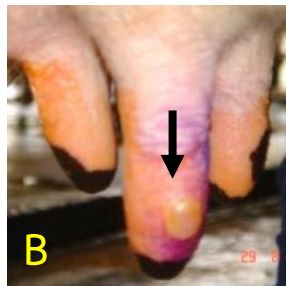
ภาพที่ 8. แผลเยื่อที่เหงือกหลุด



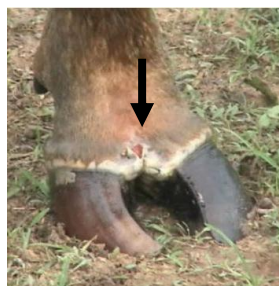
ภาพที่ 9. รอยโรคในช่องปากบริเวณเหงือก (A) ลิ้น (B) หลังจากตุ่มพองแตก



ภาพที่ 10. รอยโรคเนื้อตายที่เหงือก ลักษณะคล้ายเนย (4-5 วัน)



ภาพที่ 11. รอยโรคตุ่มพองที่ห้วนแมโคนม (A, B)



ภาพที่ 12. รอยโรคแผลตามซอกกีบ



ภาพที่ 13. ลูกโคมักตายเฉียบพลัน

อาการที่มักพบควบคู่กับน้ำลายไหล คือ มีไข้ 40–41°C ซึม กินอาหารน้อย เมื่อไวรัสลงกับอาจพบเยื่อเมือกเป็นสีขาวตามแนวไรกับเท้า (สังเกตพบในระยะแรก) แต่ส่วนใหญ่มักเป็นแผลที่ซอกกับ (ภาพที่ 12) สัตว์มักเดินกะเผลกหรือสะดุดเท้า ไม่อยากยืน แยกตัวออกจากฝูง หลังจากติดไวรัสเรื้อรัง 2–6 สัปดาห์ กีบอาจแตกหรือหลุดออกจากเนื้อเยื่อชั้นล่าง โคนมมักพบแต่มักอักเสบ น้ำนมลด โคที่อาจอาจแท้งลูก สัตว์โตเต็มวัยมีอัตราการตายต่ำจากภาวะแบคทีเรียแทรกซ้อน สัตว์มักมีสุขภาพทรุดโทรม น้ำหนักลด จากสภาพเจ็บปากเจ็บเท้าเดินไปกินอาหารไม่ได้ อัตราตายสูงในลูกสัตว์ถึงร้อยละ 50 (ภาพที่ 13) เนื่องจากกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบเฉียบพลัน โดยทั่วไปโคที่ติดเชื้อจะแสดงอาการป่วย แต่ในฝูงโคที่ฉีดวัคซีนและสัตว์พันธุ์พื้นเมืองในประเทศที่มีโรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคประจำถิ่น (endemic) อาจแสดงอาการเพียงเล็กน้อย จึงเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ไวรัสแพร่กระจายไปโดยไม่ทันสังเกตหรือพบอาการ (Kitching, 2002)



ภาพที่ 14. ตำแหน่งรอยโรคตุ่มพองที่พบบ่อยในสุกรและโคที่ป่วยด้วยโรคปากและเท้าเปื่อย

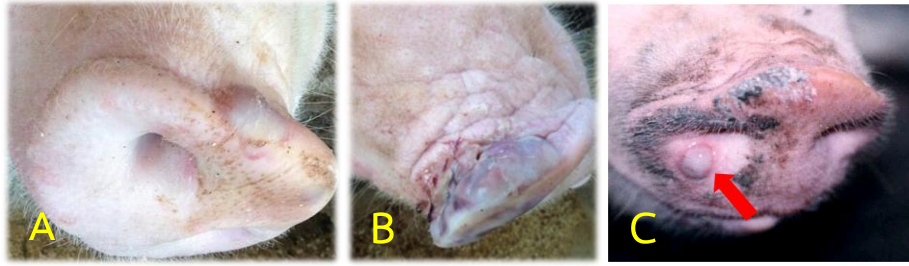
(ที่มา: <http://homepage.usask.ca/~vim458/virology/studpages2010/fmd/fmdsmppath/fmdsigns.html>)

 **สุกร** หลังติดไวรัสภายใน 24–48 ชั่วโมง ไวรัสจะเพิ่มจำนวนได้ดีบริเวณ palatine tonsil แล้วแพร่สู่ระบบน้ำเหลือง เซลล์ของเนื้อเยื่อบริเวณต่างๆ เช่น เนื้อเยื่อคอหอย ต่อม้ำน้ำเหลืองใต้คาง ม้าม และไรกับ ได้ชั้นผิวหนัง (dermal papillae) เปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพเกิดเป็นตุ่มพอง (vesicle) น้ำใสในรอยโรคตุ่มพองเป็นตัวอย่างที่เหมาะสมในการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งในระยะแรกสามารถตรวจพบ RNA ของไวรัสได้ และอาจตรวจไม่พบภายหลังติดเชื้อนาน 48–72 ชั่วโมง (Murphy et al., 2010)

โดยปกติการติดไวรัสวันแรกอาจสังเกตรอยโรคและอาการได้ยาก วันต่อมาสุกรอาจแสดงอาการซึม เบื่ออาหาร ไข้สูงถึง 40.5°C และอาจพบรอยโรคตุ่มพองน้ำใสเด่นชัด หรือเยื่อเมือกขาวช้ำที่ตึงจุก (ภาพที่ 15A, B, C) หรือริมฝีปาก ส่วนในช่องปากและลิ้นอาจเห็นได้ยาก รอยโรคพบบ่อยสุดคือที่เท้าและไรกับ (ภาพที่ 14) แม้สุกรเลี้ยงลูกมักพบตุ่มพองที่หัวนม (ภาพที่ 16A) ผื่นแดงตามราวนม (ภาพที่ 16B) มักส่งผลให้ลูกสุกรดูดนมติดไวรัสได้ง่ายและป่วยด้วยอัตราการตายสูงจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ

ตุ่มพองจะแตกออกภายใน 24 ชั่วโมง เนื้อเยื่อลอกหลุด หากมีเชื้อแทรกซ้อนจะเป็นบาดแผลรุนแรงถึงขั้นกีบหลุด (ภาพที่ 17) สุกรมักไม่ยอมลุกยืน เดินขาเคแผลก ส่งเสียงร้องเจ็บปวดมากเวลาเดิน มักยืนด้วยข้อเท้าเพื่อหลีกเลี่ยงการถ่ายน้ำหนักลงบนกีบ จึงพบแผลลอกตรงด้านหน้าของข้อขาหน้าและด้านหลังของข้อขาหลัง รอยโรคที่กีบอาจกินเวลาหลายสัปดาห์กว่าจะกลับสู่สภาพปกติ หลายวันหลังจากนั้นกีบจะงอกใหม่ แต่กีบที่งอกใหม่อาจบิดเบี้ยว อาจพบการแท้งได้ในแม่สุกรท้อง ส่วนใหญ่สุกรสามารถกำจัดไวรัสในร่างกายออกได้หมดภายใน 3–4 สัปดาห์ สุกรจึงไม่มีภาวะติดไวรัสแฝง หรือเป็นพาหะโรค (Arzt et al., 2011) ส่วนการแยกโรคจากรอยโรคตุ่มพอง

ของโรคปากและเท้าเปื่อยออกจากไวรัสที่ก่อโรคชนิดอื่นๆ เช่น Vesicular stomatitis และ Vesicular exanthema ในสุกรค่อนข้างยาก นอกจากการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ (Bachrach, 1968)

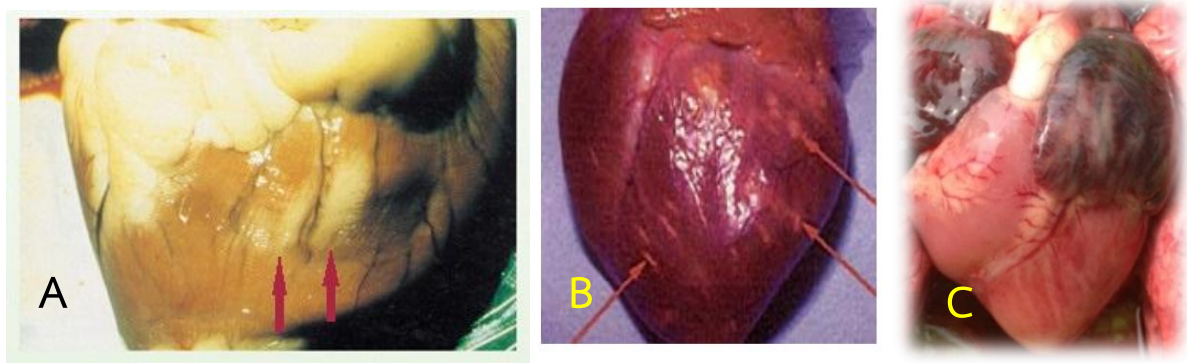


ภาพที่ 15. รอยโรคตุ่มพองขาวขุ่นที่จมูกสุกร (A, B, C)



ภาพที่ 16. รอยโรคตุ่มพองที่หัวนมแม่สุกร (A), และผื่นแดงตามราวนม (B); ภาพที่ 17 กีบดอกหลุดในลูกสุกร
ที่มา: นายสัตวแพทย์ประสิทธิ์ เชียงจิ่ง อำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี เอื้อเฟื้อภาพ

ในสัตว์อายุน้อย อาจพบผนังกล้ามเนื้อหัวใจเป็นลายขาว (tiger-heart) จากลักษณะเนื้อตายบนกล้ามเนื้อหัวใจ (ภาพที่ 18A-C)



ภาพที่ 18. รอยโรคแถบปื้นเนื้อตายสีขาว (ลูกศรสีแดง) ที่กล้ามเนื้อหัวใจ (tiger heart) (A, B)
(ที่มา: <http://www.osp.mans.edu.eg/elsawalhy/Inf-Dis/FMD.htm>)

หัวใจลูกสุกรป่วยตายด้วยโรคปากและเท้าเปื่อย (C)

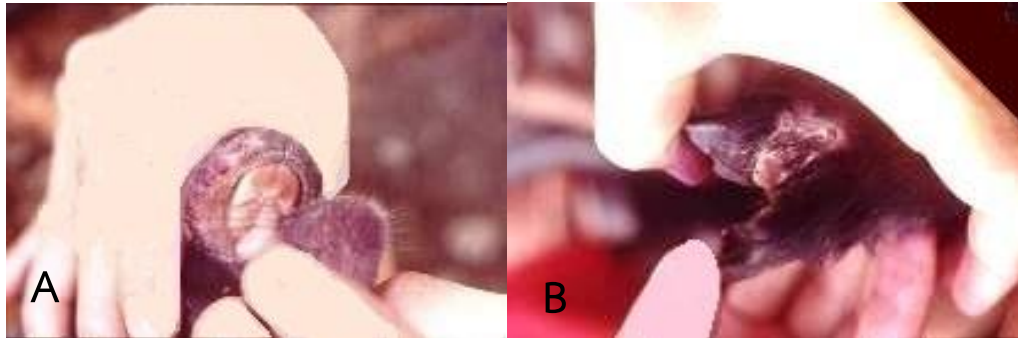
(ที่มา: นายสัตวแพทย์ประสิทธิ์ เชียงจิ่ง อำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี เอื้อเฟื้อภาพ)



แพะ มักไม่แสดงอาการ อาจพบเพียง อาการซึม ไม่กินอาหาร ตัวสั่น มีไข้ น้ำนมลด แท้งลูก คล้ายอาการป่วยทั่วไป แต่หากสังเกตในระยะเริ่มต้นอาจพบรอยโรคตุ่มพองที่ไรกกีบ ระหว่างกีบเท้าและสันเท้า หากรุนแรงรอยโรคตุ่มพองจะแตกออกและติดแบคทีเรียแทรกซ้อน ทำให้เกิดแผลหลุมที่เจ็บปวดมาก ไม่อยากยืนหรือเคลื่อนตัว เช่นเดียวกับในโคและกระบือ ถ้ามีรอยโรคในช่องปาก สัตว์อาจแสดงอาการเลียริมฝีปากและน้ำลายไหล เกิดหย่อมรอยโรคแดงที่ช่องปาก เหงือก ลิ้น เพดานปาก รอยโรคที่หัวนมก็อาจพบได้เช่นกัน ลูกแพะมักจะแสดงอาการที่ชัดเจนกว่า สังเกตได้จากอาการเดินกะเผลก จะพบรอยโรคที่กีบเท้ามากกว่าในช่องปาก (Smith and Sherman, 1994)



แกะ ไวต่อการติดและแพร่ไวรัสทางลมหายใจ แต่มักติดโดยสัมผัสกับสัตว์ป่วย พบอาการป่วยได้ยากและอาจพบรอยโรคเพียงแห่งเดียว รอยโรคตุ่มพองในช่องปากยากที่จะตรวจพบในระยะต้น มักแตกออกหรืออาจเหลือเพียงรอยโรคแผลหลุมตื้นที่ลิ้นและเหงือก (ภาพที่ 19A) ส่วนอาการชาจะแปลกมักพบรอยโรคที่ซอกกีบ (ภาพที่ 19B) อาการทั่วไปได้แก่ มีน้ำมูก ไข้ อาจพบน้ำนมแห้งในแม่แกะ และการตายของลูกแกะอายุน้อย (Hughes et al., 2002)



ภาพที่ 19. รอยโรคที่เพดานปาก เหงือก (A) และแผลซอกกีบ (B) ที่อาจพบได้ในแกะ

เหตุผลที่ต้องพิจารณาอายุของรอยโรค

การประมาณอายุของรอยโรค (estimating the age of lesions) (ตารางที่ 1) โดยเฉพาะรอยโรคที่เก่าสุด (oldest lesion) มีประโยชน์ในการสอบย้อนประวัติการสัมผัสไวรัสของสัตว์ป่วย ตลอดจนการรายงานทางระบาดวิทยา (Mann and Sellers, 1990)

ตารางที่ 1. รอยโรคที่ปรากฏในช่วงระยะเวลาที่พบอาการ

วันแรก	เยื่อบุผิวขาวขุ่น ก่อตัวเป็นตุ่มพองมีน้ำใสสีฟ้า
วันที่สอง	ตุ่มพองแตกกระยะแรก มีเยื่อบุผิวสด ขอบเขตชัดเจน และไฟบรินยังไม่เกาะ
วันที่สาม	ขอบรอยโรคไม่ชัดเจน มีสีภาวะอักเสบแดงและไฟบรินสะสม
วันที่สี่	ไฟบรินเด่นชัดและเยื่อบุผิวงอกใหม่รอบขอบรอยโรค
วันที่เจ็ด	เยื่อแผลหลุมก่อและสมานตัว ไฟบรินยังปรากฏฝังอยู่

การคาดคะเนวันที่สัมผัสเชื้อมีความสำคัญมาก สอบย้อนจากระยะเวลาฟักตัว 1-14 วัน โดยทั่วไป 2 – 5 วัน ก่อนพบรอยโรค ช่วยในการสอบสวนถึงแหล่งที่มาของการติดไวรัสในฟาร์มที่เกิดการระบาดของโรค ย้อนได้ถึงช่วงเวลาที่พบปริมาณของไวรัสที่ถูกขับออกมา (ตารางที่ 2) โดยปกติไวรัสสามารถถูกขับออกก่อนที่จะมีอาการจะปรากฏ เช่น สามารถตรวจพบไวรัสในน้ำนม 4 วันก่อนสังเกตเห็นรอยโรคหรือแสดงอาการป่วย ซึ่งบอกได้ว่าสัตว์ในฝูงสัมผัสไวรัสหรือมีการเคลื่อนย้ายพาหะที่ติดหรือปนเปื้อนเชื้อเข้ามาในฝูงในระยะเวลา 2-5 วันก่อนหน้านั้นเมื่อใด สามารถคาดเดาจากรอยโรคที่เปลี่ยนไปในช่วงหนึ่งถึงสองสัปดาห์ (ภาพที่ 20-26)

ตารางที่ 2. การคาดคะเนช่วงเวลา (วัน) ของการปล่อยไวรัสหลังพบรอยโรคครั้งแรกในสุกร โค และแกะ (ปริมาณไวรัสสูง: สีแดง, ปานกลาง: สีเหลือง และ ต่ำ: สีเหลืองอ่อน)

ชนิดสัตว์/วัน	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
สุกร																								
โค																								
แกะ																								

(ที่มา: http://slideplayer.com/slide/4686325/Pirbright%20outbreak%20investigation%20procedures_KenyaFMD.ppt)

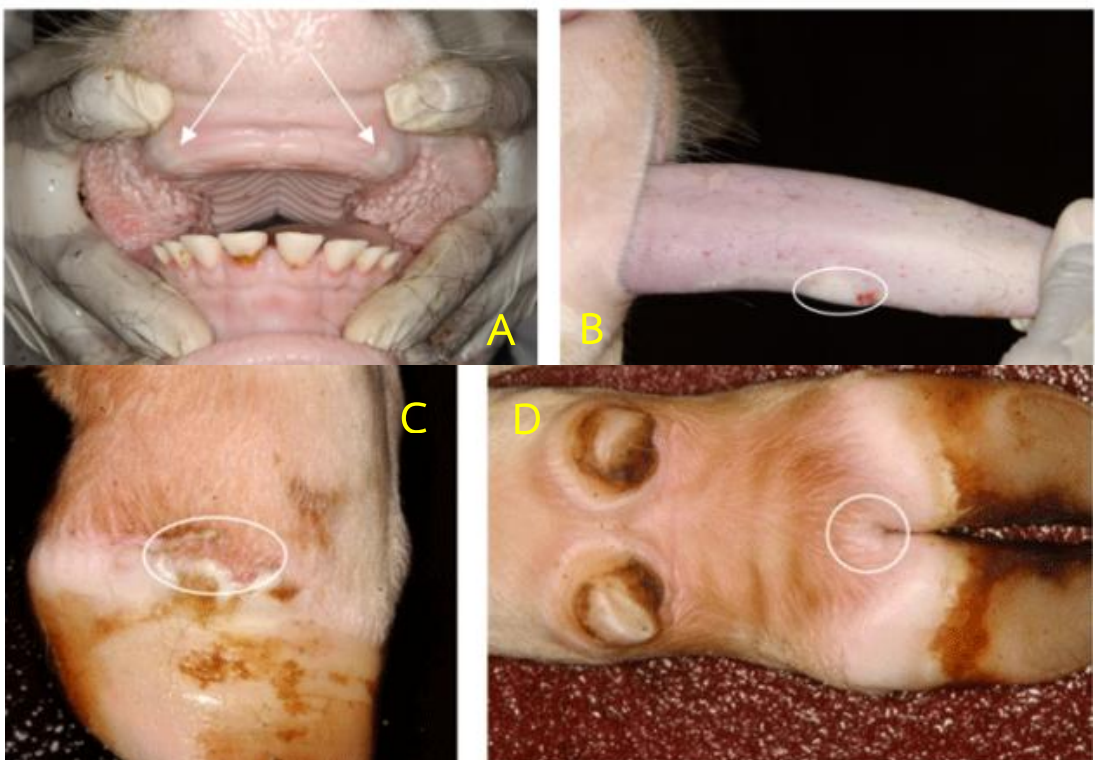
วันที่ 1: ปาก ลิ้น กีบ และส้นเท้า



ภาพที่ 20. วันแรกของการติดไวรัส มักไม่พบรอยโรคใดๆ ที่เด่นชัด ในช่องปาก เหงือก (A) และลิ้น (B) อาจพบ ร่องรอยหลุดลอกบริเวณโรกีบด้านข้าง (C) แต่ไม่พบรอยโรคด้านหลังกีบ (D)

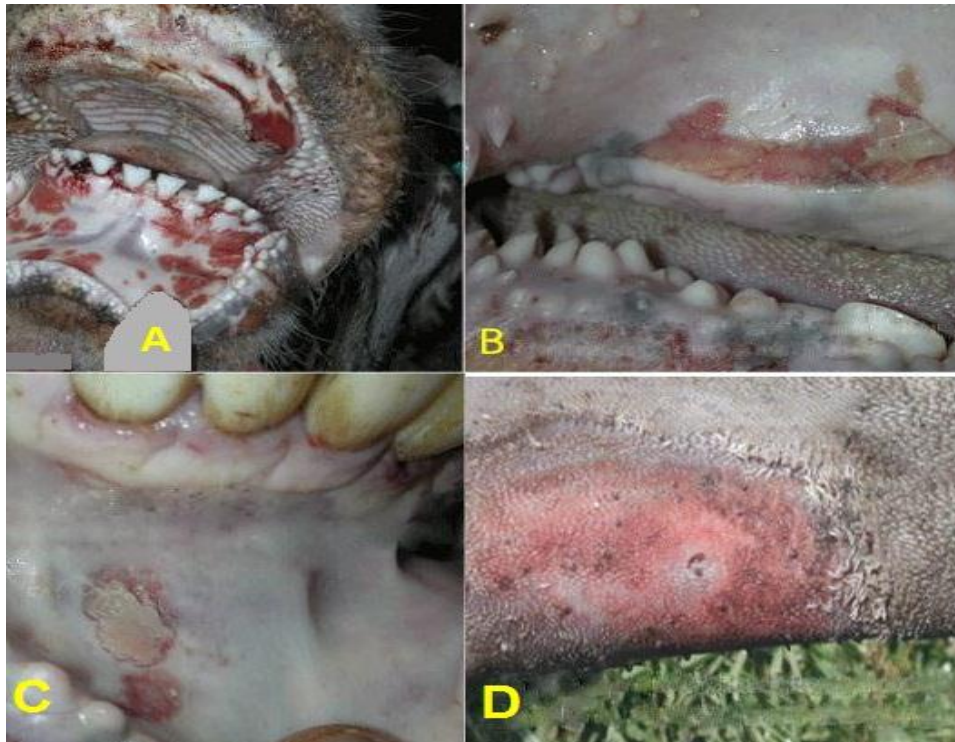
(ที่มา: <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/foot-and-mouth-disease-pocket-guide-cattle>)

วันที่ 3: เหงือก ลิ้น ไรกีบ และซอกกีบ



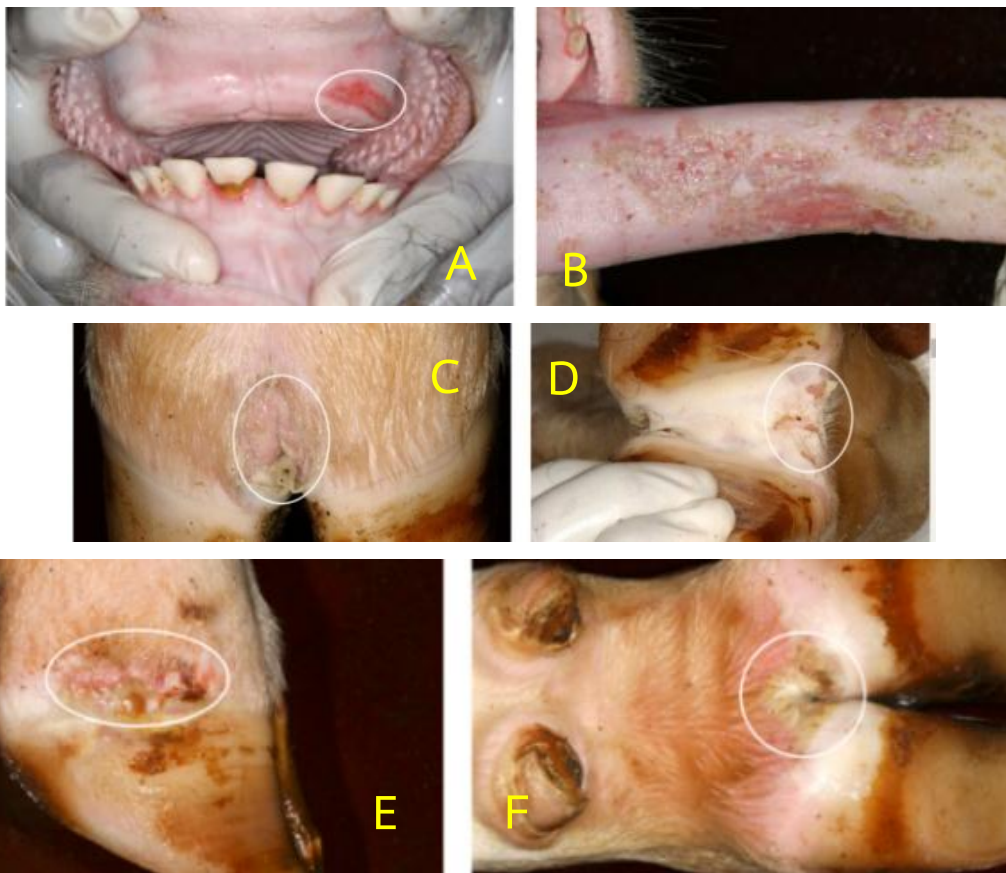
ภาพที่ 21. รอยโรคที่สามวัน พบตุ่มพองชัดเจนบริเวณเหงือก (A) ลิ้น (B) ไรกีบ (C) และซอกกีบ (D)

(ที่มา: <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/foot-and-mouth-disease-pocket-guide-cattle>)



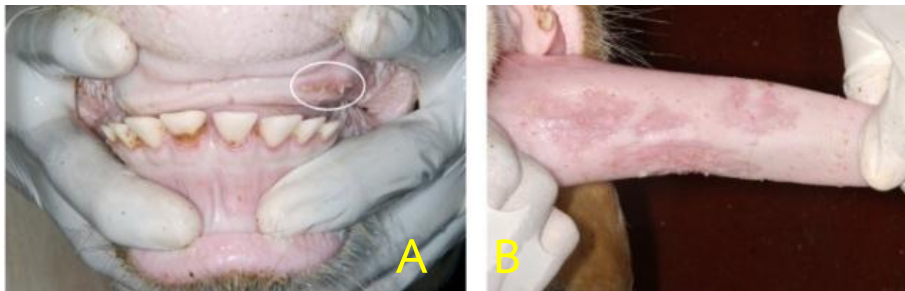
ภาพที่ 22. รอยโรคที่สามถึงเจ็ดวัน พบตุ่มพองแตก ขอบรอยโรคไม่ชัดเจน ปื้นแดงที่เหงือก (A, B, C) ลิ้น (D)
(ที่มา: <http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/fmd/about/clinical.htm>)

วันที่ 7: เหงือก ลิ้น ไรกีบ และชอกกีบ



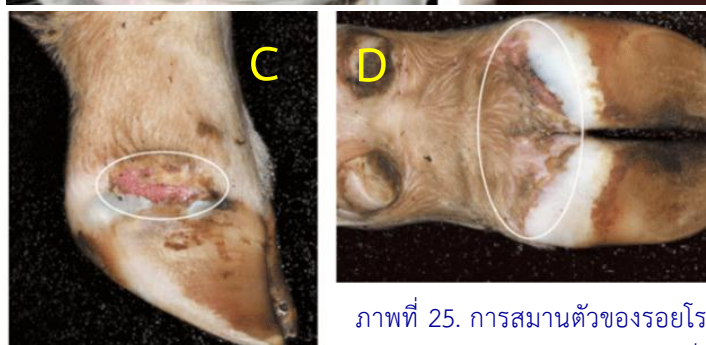
ภาพที่ 23. รอยโรคที่เจ็ดวัน พบตุ่มพองแตก ลอกหลุด เป็นแผลหลุมตามเหงือก (A), ลิ้น (B), ชอกกีบ (C, D, F) และ ไรกีบ (E)
(ที่มา: <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/foot-and-mouth-disease-pocket-guide-cattle>)

วันที่ 10: เหงือก ลิ้น และชอกกีบ



ภาพที่ 24. รอยโรคที่สัปดาห์ ไพบรินสะสมตาม
ขอบแผลบริเวณเหงือก (A) ลิ้น (B)
และชอกกีบ (C, D)

วันที่ 14: เหงือก ลิ้น ไรกีบ และชอกกีบ

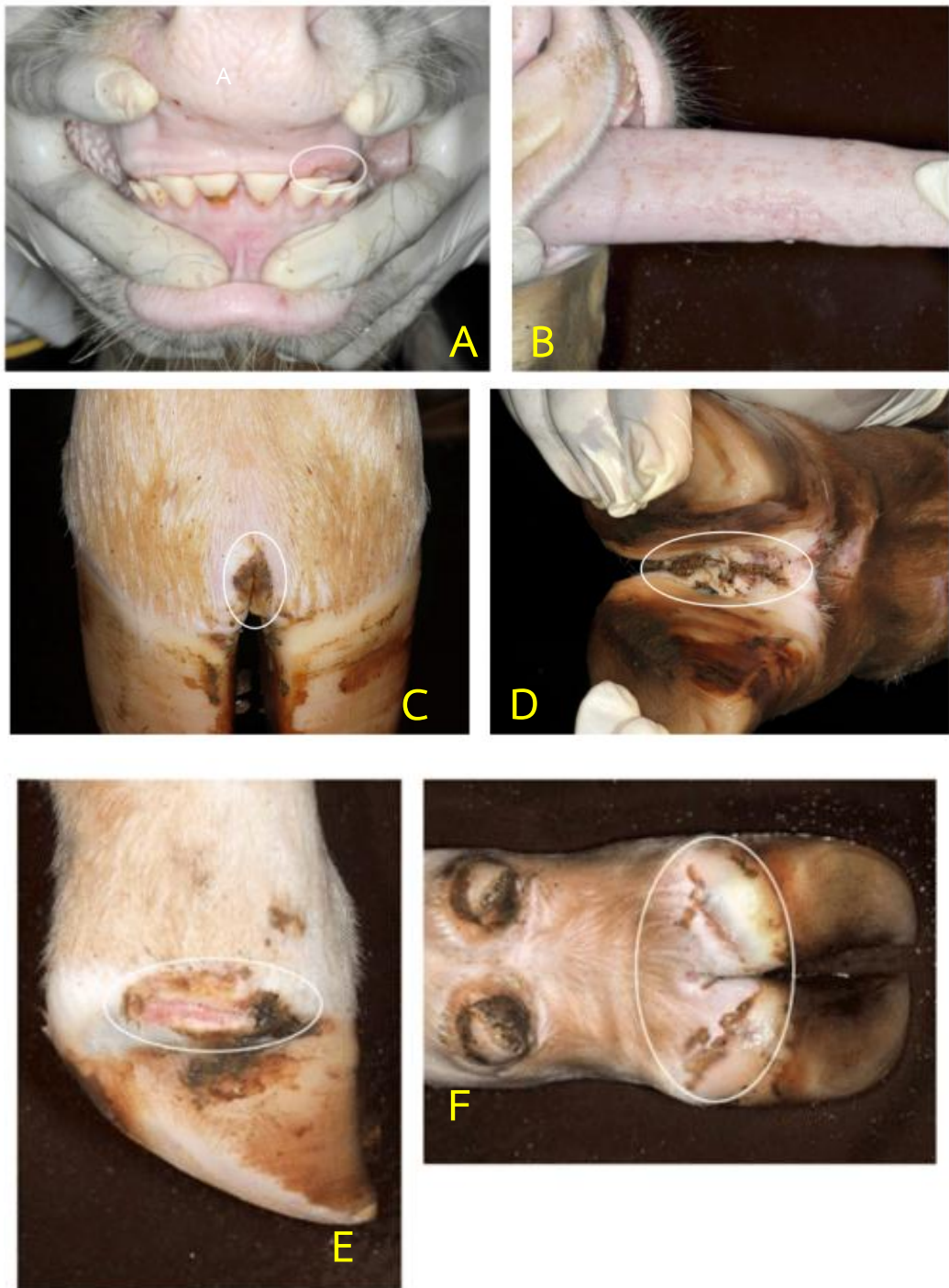


ภาพที่ 25. การสมานตัวของรอยโรคที่สัปดาห์
พบลักษณะของแผลเป็นขอบนูนที่
เหงือก (A) ลิ้น (B) ไรกีบ (C) และ
ชอกกีบ (D, E, F)



(ที่มา: <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/foot-and-mouth-disease-pocket-guide-cattle>)

วันที่ 18: เหงือก ลิ้น ไรกีบ และชอกกีบ



ภาพที่ 26. การสมานตัวของรอยโรคที่สับแปดวัน แผลตามเหงือก (A) ลิ้น (B) ชอกกีบ (C, D, F) และไรกีบ (E)
สมานตัวอย่างสมบูรณ์
(ที่มา: <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/foot-and-mouth-disease-pocket-guide-cattle>)

ภูมิคุ้มกันที่รับมา (Passive immunity) หรือติดตัวมาแต่กำเนิด (Innate Immunity)

ลูกสัตว์ที่ได้รับนมแม่หรือน้ำเหลืองจำนวนมากจากแม่ที่เคยสัมผัสเชื้อหรือวัคซีน จะมีภูมิคุ้มกันโดยธรรมชาติจากนมแม่หรือน้ำเหลืองของแม่ ซึ่งจะคงอยู่นาน 3-4 เดือน แต่ระดับภูมิคุ้มกันนี้อาจไม่เพียงพอต่อการป้องกันการติดไวรัส สัตว์อาจมีความไวสูงต่อการติดโรค และมีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันจากการฉีดวัคซีน อย่างไรก็ตามระดับภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่โคหรือแม่สุกรจะลดลงเหลือครึ่งหนึ่งในระยะ 21-22 วันหลังคลอด (Kitching and Salt, 1995) ดังนั้นการฉีดวัคซีนในลูกสัตว์อายุน้อยซึ่งยังมีภูมิคุ้มกันจากแม่อยู่ในระดับสูงจึงไม่เป็นผลดี วิธีที่เหมาะสมในการป้องกันโรคในลูกสัตว์คือ แยกตัวลูกออกจากแหล่งที่มีการติดไวรัส

ภูมิคุ้มกันที่ก่อเอง (Active immunity) หรือเกิดขึ้นภายหลังกำเนิด (Acquired Immunity)

เป็นภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นหลังจากการติดไวรัสหรือการฉีดวัคซีน สัตว์ที่ติดไวรัสสร้างกายจะสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ structural protein (SP) และ non-structural protein (NSP) ในขณะที่สัตว์ที่ได้รับวัคซีนซึ่งมีแต่ส่วนของ SP และถูกตัดส่วนของ NSP ออกไป ร่างกายก็จะสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ SP เท่านั้น สัตว์สามารถติดไวรัสได้หลายซีโรไทป์ การติดโรคปากและเท้าเปื่อยต่างสายพันธุ์มักไม่มีภูมิคุ้มกันข้ามซีโรไทป์ (no cross immunity)

ภูมิคุ้มกันจากการติดไวรัส

- **โค** หลังติดไวรัสเพียง 4 วันจะพบระดับแอนติบอดี IgM กลุ่มแรก และสูงสุดที่ 7-14 วัน แล้วค่อยๆ ลดลงจนตรวจไม่พบที่ 30 วัน ส่วน IgM จะ neutralize กับไวรัส หลังจากนั้นระดับแอนติบอดี IgG จะเริ่มสูงขึ้นที่ 10-14 วัน สูงสุดที่ประมาณ 28 วัน ภูมิคุ้มกันต่อไวรัสชนิดเดียวกันคงอยู่นานเต็มที่ 3-4 เดือน และลดลงเหลือเพียงบางส่วน จึงอาจติดไวรัสซ้ำได้แต่มักพบรอยโรคเฉพาะที่ บางตัวอาจมีภูมิคุ้มกันนานถึง 4.5 ปี การลดลงของภูมิคุ้มกันขึ้นกับอายุ และพันธุ์สัตว์ ตลอดจนโภชนาการ (Mann and Sellers, 1990)
- **สุกร** ระยะแรกจะพบแอนติบอดีกลุ่ม IgM ต่อมาที่ 14-25 วัน จึงตรวจพบกลุ่ม IgG ซึ่งมีความจำเพาะต่อซีโรไทป์ โดยพบปริมาณสูงสุดที่ประมาณ 28 วัน และลดลงในช่วง 5-7 เดือน ซึ่งอาจทำให้สุกรไวต่อการติดเชื้อซ้ำได้ สุกรที่ฟื้นจากโรคจะไม่เป็น carrier บ่งชี้ว่ากลไกของร่างกายในสุกรสามารถกำจัดไวรัสได้อย่างสมบูรณ์ (Mann and Sellers, 1989)
- **แพะ แกะ** ที่ติดไวรัสไม่แสดงอาการ จึงอาจมีความสำคัญในการเก็บและกระจายไวรัส (Ganter et al., 2001) ถ้าป่วยมักพบไวรัสทั่วร่างกายเพียงช่วงสั้นๆ (3-7 วัน) เฉลี่ยที่ 7 วันหลังติดไวรัส การแพร่กระจายของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยค่อนข้างช้า พบระดับแอนติบอดีในซีรัมแพะตั้งแต่วันที่ 6 หลังติดไวรัส ปริมาณสูงสุดที่ 14-16 วัน และคงอยู่นานไม่น้อยกว่า 120-140 วัน ในแกะตรวจพบแอนติบอดีได้รวดเร็วกว่า (3-7 วัน) และคงอยู่นาน ปริมาณแอนติบอดีโดยค่า SN titer ที่ 1.9-2.8 เป็นระดับที่ถือว่ามียาเสพติดไวรัสในแพะและแกะ (Smith and Sherman, 1994) ซึ่งช่วยในการค้นหาโรค (Hughes et al., 2002)

ภูมิคุ้มกันจากการฉีดวัคซีน

- **โค กระบือ และสุกร** ขึ้นกับชนิดของสื่อ (adjuvant) ที่ใช้ทำวัคซีน ปัจจุบันวัคซีนกรมปศุสัตว์ เป็นวัคซีนเชื้อตาย ใช้สื่อน้ำ (aqueous vaccines) สำหรับโคกระบือ และใช้สื่อน้ำมันอิมัลชัน (oil emulsion vaccines) สำหรับสุกร

วิไล และคณะ (2544) รายงานระดับภูมิคุ้มกันจากการทดสอบโดยวิธี ELISA จากการฉีดวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยชนิด Trivalent ที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ พบว่าในโคมีภูมิคุ้มกันต่อไพบี O, A และ Asia1 เท่ากับ

1.9 ± 0.6 (1:96), 2.3 ± 0.4 (1:214) และ 2.0 ± 0.5 (1:100) ตามลำดับ ในขณะที่ **สุกร** มีภูมิคุ้มกันต่อไทป์ O, A และ Asia1 เท่ากับ 1.9 ± 0.5 (1:84), 1.9 ± 0.4 (1:90) และ 1.8 ± 0.5 (1:72) ตามลำดับ

- **แพะและแกะ** ตอบสนองต่อวัคซีนโดยให้ค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีที่ต่ำกว่าในโคกระบือ การฉีดวัคซีนสองครั้งตามด้วยการฉีดซ้ำทุก 6 เดือนจะให้ผลตอบสนองดีที่สุด (Smith and Sherman, 1994) การฉีดสองครั้งจะมีระดับแอนติบอดีสูงกว่าการฉีดครั้งเดียว การฉีดด้วยขนาดต่างกันที่ 1, 1.5 และ 2 มิลลิลิตร จะมีระดับแอนติบอดีไม่แตกต่างกัน (สมเกียรติ และลักษณะ, 2542)

โดยทั่วไปพบว่าภูมิคุ้มกันจากการฉีดวัคซีนจะสั้นและมีความจำเพาะต่อซีโรไทป์น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับภูมิคุ้มกันจากการติดเชื้อหรือป่วยเป็นโรค (Salt, 1993)

การขับและแพร่กระจายของไวรัส

โดยธรรมชาติ ส่วนใหญ่การระบาดมักเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายสัตว์หรือพาหะที่ปนเปื้อนไวรัสจากแหล่งอื่นเข้ามาในพื้นที่

การแพร่กระจายของไวรัสโดยตรง ไวรัสที่ถูกขับจากการแตกของรอยโรคตุ่มพอง น้ำลาย ลมหายใจ น้ำนม อูจจาระ และปัสสาวะ (ตารางที่ 3) ซึ่งไวรัสคงอยู่และถูกขับออกในระยะเวลาที่แตกต่างกันไป พบว่าถูกขับทางน้ำลายยาวนานที่สุดถึง 11 วัน รองลงมาคือ ชีรมัน 10 วัน และสามารถแพร่กระจายไปกับสิ่งขับถ่ายทั้งมูลสัตว์และปัสสาวะ ดังนั้นการติดต่อจึงเกิดได้จากการรับเชื้อโดยตรงจากการ ไอ จาม การหายใจ หรือกินสารคัดหลั่งที่ปนไปกับน้ำและอาหาร

ตารางที่ 3. ระยะเวลาการขับเชื้อในตัวอย่างต่างชนิดในสารคัดหลั่ง และสิ่งขับถ่าย

สารคัดหลั่งและสิ่งขับถ่าย	ระยะเวลาที่ขับเชื้อ (วัน)
เลือด	5
ชีรมัน	10
ปัสสาวะ	7
น้ำนม	5
น้ำลาย	11
ละอองหายใจ	5
น้ำมูก	7
มูลสัตว์	5

(ที่มา: Sellers, 1971)

ปริมาณไวรัสในตัวอย่างและในสัตว์ต่างชนิดก็มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 4) อีกทั้งปริมาณไวรัสต่างซีโรไทป์ที่ขับออกในสัตว์ต่างชนิดก็ต่างกันไป โดยสุกรมีความสามารถในการขับเชื้อได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับโคและแกะ (ตารางที่ 5)

เชื้อไวรัสมีความคงทน สามารถคงอยู่นอกเซลล์ได้หลายชั่วโมง ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี โดยเฉพาะบรรยากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูง (มากกว่าร้อยละ 60) และอุณหภูมิเย็นที่เหมาะสม เมื่อละอองถูกขับออกจากกรไอ จาม ละอองขนาดใหญ่จะตกลงสู่พื้นภายในช่วงนาที ละอองที่เล็กระดับขนาดไมครอนจะมีการระเหยและขนาดลดลงใกล้เคียงกับไวรัส ทำให้แขวนลอยในอากาศได้เป็นชั่วโมง และจะกระจายไปในอากาศ (Kowalski and Bahnfleth, 1998)

ตารางที่ 4. ความเข้มข้นและปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในตัวอย่างต่างชนิดของโค สุกร และแกะ

ชนิดสัตว์	แหล่งไวรัส	ความเข้มข้นสูงสุดของไวรัส	ปริมาณไวรัสทั้งหมด* (log10 IU)
โค	เลือด 30 ลิตร	5.6 /มิลลิลิตร	10.1
	เยื่อปูด 100 กรัม	9.0 /กรัม	11.0
	ตับ 5.5 กิโลกรัม	3.6 /กรัม	7.3
	น้ำนมต่อวัน 15 ลิตร	5.5 /มิลลิลิตร	9.7
	ปัสสาวะต่อวัน 8.8-22 ลิตร	4.9 /มิลลิลิตร	9.7
	อุจจาระต่อวัน 15-45 กิโลกรัม	5.5 /กรัม	9.7-10.2
	ลมหายใจต่อวัน	3.7 /30 นาที	5.4
สุกร	เลือด 2.5 ลิตร	7.2 /มิลลิลิตร	10.6
	เยื่อผิวหนังกับเท้า 10 กรัม	9.6 /กรัม	10.6
	ตับ 2 กิโลกรัม	6.1 /กรัม	8.9
	อุจจาระต่อวัน 0.5-3 กิโลกรัม	2.9 /กรัม	5.6-6.4
	ลมหายใจต่อวัน	6.3 /30 นาที	8.0
แกะ	เลือด 1.5 ลิตร	105.0 /มิลลิลิตร	8.2
	อุจจาระต่อวัน 0.5-3 กิโลกรัม	2.7 /กรัม	6.2
	ลมหายใจต่อวัน	3.7 /30 นาที	5.4

* หน่วยวัดปริมาณไวรัสคือ log10 infectious unit (IU) โดย 1 log10 IU=1.4 TCID₅₀ (tissue culture infective dose หรือ ปริมาณไวรัสที่ทำให้เซลล์เพาะเลี้ยงครั้งหนึ่งติดไวรัส)
(ที่มา: Sellers, 1971)

ตารางที่ 5. ปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยของแต่ละซีโรไทป์ที่ถูกขับออก ในโค แกะ และสุกร

ซีโรไทป์	ปริมาณไวรัสที่ขับออก (log10 IU/นาที)		
	โค	แกะ	สุกร
O1	1.8	1.6	3.9
O2	0.6	0.1	3.2
A5	1.9	< 0	2.8
A22	0.8	< 0	2.3

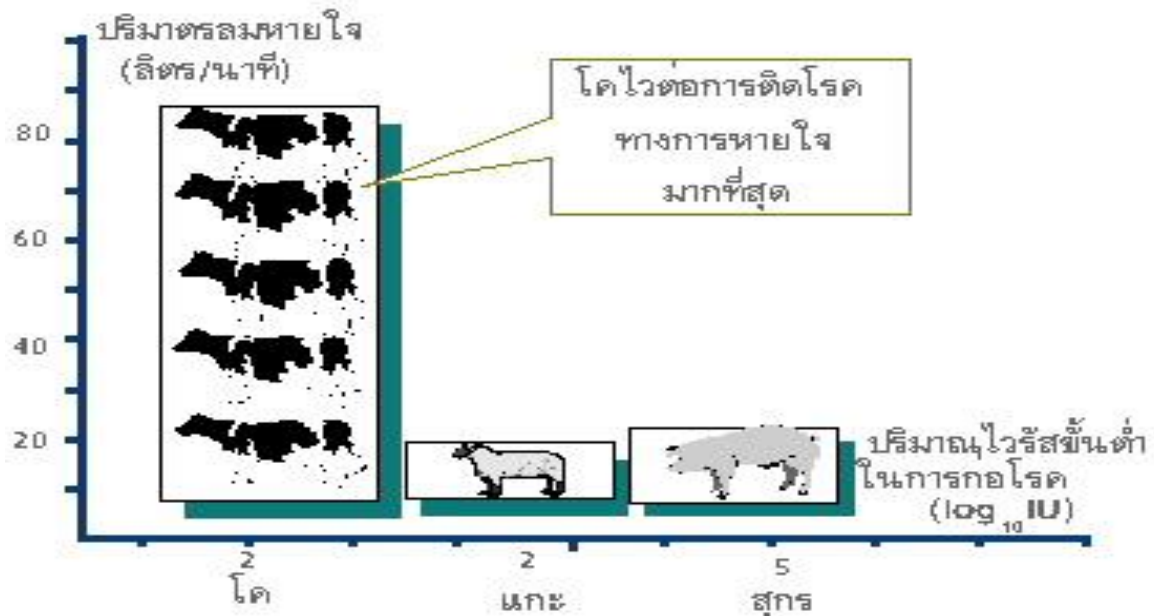
(ที่มา: AUSVETPLAN, 2000)

การกระจายของไวรัส

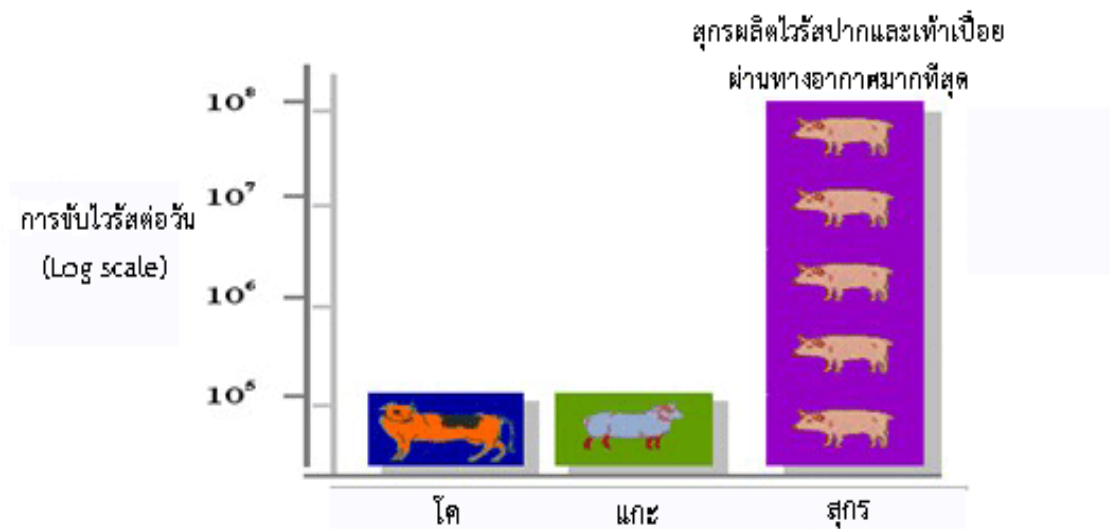
การกระจายของไวรัสในอากาศ (Bioaerosols)

โคและกระบือมีสภาพทางสรีระของปริมาตรลมหายใจต่อวันมากที่สุด (86-167 ลูกบาศก์เมตร/วัน) รองลงมาคือแกะ (7-10 ลูกบาศก์เมตร/วัน) ดังนั้นโคและกระบือ (ภาพที่ 27) จึงมักเป็นตัวเริ่มโรคและใช้ปริมาณไวรัสต่ำในการก่อโรค (1-2 log₁₀ IU) ส่วนสุกรมักติดไวรัสโดยการกินและขับไวรัสออกมาในอากาศ (2.8±108 IU

ต่อวัน) มากกว่าโค กระบือ และแกะ (มากที่สุดไนโคเพียง 1.8 ± 10^5 IU ต่อวัน หรือ 3–8 log₁₀ IU ต่อวัน) สุกรจึงเป็นตัวผลิตไวรัสทางระบบหายใจที่สามารถกระจายไวรัสได้มาก แต่เป็นสัตว์ที่ทนทานต่อการติดเชื้อทางการหายใจ (4–20 ลูกบาศก์เมตร/วัน) (Sellers, 1971; AVIS, 2002; Donaldson and Alexanderson, 2002) สุกรขับไวรัสปริมาณสูง 1,000 – 3,000 เท่าของโค ทำให้การควบคุมโรคปากและเท้าเปื่อยในสุกรยากกว่าสัตว์ชนิดอื่นๆ (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 27. ปริมาณไวรัสที่ก่อโรคและปริมาณลมหายใจโค แกะ และสุกร (ที่มา: AVIS, 2002)



ภาพที่ 28. ปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ถูกขับจากโค แกะ และสุกร (ที่มา: http://www.merial.co.th/SiteCollectionDocuments/LA_FMD_01-08-08.pdf)

การแพร่กระจายทางอากาศเกิดไม่ได้โดยลำพัง ต้องอาศัยการรวมตัวกับอนุภาคต่างๆ (particles) หรือละอองของเหลว (droplets) ที่ฟุ้งกระจาย ซึ่งเรียกรวมกันว่า “bioaerosols” หลายกิจกรรมที่สร้าง bioaerosols เช่น ล้างคอกโดยใช้น้ำฉีด พ่นสารเคมี/สารละลายแบบมีแรงดันสูง แม้ว่าไวรัสจะไม่เพิ่มจำนวนนอกเซลล์ แต่ก็สามารถถูกเคลื่อนย้ายทางอากาศ (Stetzenbach, 1997) และเมื่อโอกาสอำนวย เช่น ลม ฝน เป็นต้น อนุภาคขนาด

1–5 μm สามารถปลิวตามแนวกระแสลม ส่วนอนุภาคที่ใหญ่มีโมเมนตัมจะตกลงเกาะตามพื้นผิวร่างกายสัตว์ เป็นผลให้สัตว์ได้รับ droplet nuclei ของไวรัส (อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 5 μm) โดยการหายใจ (Sattar et al., 1997)

ไวรัสสามารถคงทนและมีโอกาสที่จะกระจายไปกับลมภายใต้สภาพภูมิอากาศเฉพาะ ในยุโรปมีสภาพอากาศเย็นทำให้ไวรัสสามารถกระจายไปได้ไกลถึง 10 กิโลเมตร เมื่อประกอบกับภูมิประเทศที่เป็นห้วยและเนินเขา จะทำให้ไวรัสกระจายได้ไกลยิ่งขึ้น (Mann and Sellers, 1989) แต่ในเขตร้อนการแพร่กระจายไปทางลมมีโอกาสน้อยที่จะเกิดขึ้น ไวรัสในอากาศจะถูกทำลายอย่างรวดเร็วเนื่องจากความร้อนและแสงแดด ดังนั้นการติดต่อโดยทางอากาศในพื้นที่เขตร้อนจึงไม่มีความสำคัญ (วีโล, 2545)

รูปแบบที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์ เช่น ชังในโรงเรือน มักมี Bioaerosols เป็นสื่อของไวรัสในปริมาณสูงกว่า การเลี้ยงในที่เปิดโล่ง อัตราการป่วยย่อมมากกว่า แต่การเลี้ยงในที่เปิดโล่งจะยากต่อการสังเกตสิ่งผิดปกติที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าสังเกตว่าการเกิดอุบัติการณ์ของโรคในแต่ละครั้ง อาจไม่ใช่จุดบัพฐภูมิ แต่เป็นการระบาดลูกกลมจากพื้นที่ข้างเคียง

การแพร่กระจายของไวรัสโดยทางอ้อม โดยผ่านคน (เช่น มือ เสื้อผ้า รองเท้า เป็นต้น) สัตว์พาหะ (สุนัข แมว หนู เป็ด ไก่ รวมทั้งแมลง) ยานพาหนะ อาหาร น้ำ และอุปกรณ์ สิ่งของที่ปนเปื้อนสารคัดหลั่งหรือสิ่งขับถ่าย (อุจจาระ มูลฝอย ปัสสาวะ น้ำลาย) ตลอดเส้นทางที่สัตว์ป่วยเดินผ่าน เช่น แปลงหญ้า เป็นต้น

คนที่สัมผัสสัตว์ป่วย สามารถนำไวรัสติดไปกับเส้นผม ผิวหนังและเสื้อผ้า ไวรัสสามารถอยู่ในจมูก ลำคอ และน้ำลาย โดยไม่แสดงอาการป่วย อาจตรวจพบไวรัสปริมาณ 100-1,000 IU ในคน บางรายสูงถึง 10,000 IU (Sutmoller et al., 2003) ในช่องจมูกของผู้ที่ตรวจอาการบริเวณหัวสุกรที่ป่วย และไวรัสอยู่ได้นานถึง 36 ชั่วโมง (Pharo, 2002) และที่ 48 ชั่วโมงอาจตรวจไม่พบไวรัส (Sutmoller et al., 2003) มีรายงานพบไวรัสปากและเท้าเปื่อยได้นาน 9 ถึง 14 สัปดาห์ (GAO, 2002) การสั่งน้ำมูกทิ้งแต่ละครั้งสามารถช่วยลดปริมาณไวรัสได้ 0.5 log₁₀ IU แต่ถึงจะสั่งน้ำมูกทิ้งถึง 10 ครั้งก็ยังอาจมีไวรัสหลงเหลือ ดังนั้นการใส่ผ้าปิดจมูก (surgical mask) ช่วยลดปริมาณไวรัสที่หายใจเข้าได้ 0.9 หรือ 0.8 log₁₀ IU นอกจากนี้แม้ไวรัสไม่มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในแมลง แต่อาจติดตัวแมลงได้ การกระจายของไวรัสอาจติดไปกับฝุ่นละอองที่ปลิวตามกระแสลม

อย่างไรก็ตาม พบว่ารูปแบบการเลี้ยงสัตว์ปล่อยปะเลื้อยในพื้นที่สาธารณะ หรือการเลี้ยงสัตว์รายย่อยอย่างหนาแน่นในหมู่บ้าน ทำให้มีโอกาสติดโรคจากพื้นที่ข้างเคียง รวมถึงการเคลื่อนย้ายสัตว์ก็มีความเสี่ยงสูงต่อการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในเขต 9

ปัจจัย	การระบาด: ครั้ง (ร้อยละ)
1. ติดโรคจากพื้นที่ข้างเคียง	10 (43.5 %)
2. การเคลื่อนย้ายสัตว์	7 (30.4 %)
สัตว์ลักลอบ	
โคชน	
เคลื่อนย้ายทั่วไป	
3. แห่ลงฆ่าสัตว์	2 (8.7 %)
4. ไม่ทราบสาเหตุ	4 (17.4 %)

(1) หมายถึงการติดโรคจากการระบาดลูกกลมจากพื้นที่ต่อเนื่องกัน

(2) หมายถึงการติดโรคจากการเคลื่อนย้ายสัตว์ข้ามพื้นที่เป็นระยะทางไกล

(ที่มา: วันทนีย์, 2541)

ปริมาณไวรัสที่ก่อโรค

ปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ก่อโรค (infectious dose) ในสัตว์แต่ละชนิดมีไม่เท่ากัน ขึ้นกับทางที่ได้รับไวรัสและชนิดของซีโรไทป์ (ตารางที่ 8) เช่น ปริมาณไวรัสในขนาดเพียง 1.1–2.6 log₁₀ IU เข้าทางลมหายใจเพียงเล็กน้อยสามารถทำให้โคทดลองร้อยละ 50 แสดงอาการป่วย ในแกะใช้ปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยใกล้เคียงกับโค (Gale, 2002) ส่วนสุกรจะต้องได้รับปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยทางลมหายใจมากกว่าโคประมาณ 1,000 เท่า จึงเกิดโรคได้ โดยทางลมหายใจสุกรจึงไวต่อโรคน้อยกว่าโค สุกร และแกะ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7. ปริมาณต่ำสุดของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยที่ก่อโรคในโค สุกร แพะ แกะ

ชนิดสัตว์	ปริมาณไวรัส (log ₁₀ IU)	
	การหายใจ	การกิน
โค	1.1 - 2.6	5.8
สุกร	4.1 - 5.6	6.0
แพะ	1 - 3	ไม่มีข้อมูล
แกะ	1.1 - 2.6	5.8

(ที่มา: Gale, 2002; AVIS, 2002)

ตารางที่ 8. อัตราการป่วยในสัตว์แต่ละชนิดที่ได้รับไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธีต่างๆ ในขนาดแตกต่างกันของแต่ละซีโรไทป์

สัตว์	วิธี	ซีโรไทป์	ขนาด (log ₁₀ IU)	อัตราการป่วย
โค	หายใจ	O1	1.0	1/1
		A	2.0	2/6
	กิน	O1	6.5	0/6
		A	4.0	2/2
สุกร	หายใจ	O	6.4	0/3
	กิน	O38	5.2	1/5
แกะ	หายใจ	O	4.0	3/4
		A	4.0	3/4

(ที่มา: AVIS, 2002)

ความทนทานหรือการคงชีพของไวรัสนอกตัวสัตว์

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยเป็นไวรัสที่ไม่ทนต่อแสงแดด ความร้อน ความแห้ง และสภาพกรดต่าง แต่คงชีพอยู่ได้ที่ pH ระหว่าง 7.4 ถึง 7.6 และทนปานกลางที่ pH 6.7–9.5 แต่ตายรวดเร็วที่ pH < 5 และที่ pH > 11 และที่แห้ง แต่คงชีพได้ดีในสภาวะอากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 ขึ้นไป ถ้าอุณหภูมิลดถึง 4°C หรือต่ำกว่าจะช่วยให้ไวรัสคงทนขึ้น 1 ปี และต่ำกว่าจุดเยือกแข็งไวรัสจะคงอยู่นานยิ่งขึ้น อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะลดระยะเวลาการรอดชีวิต โดยที่อุณหภูมิ 22°C อยู่ได้นาน 8-10 สัปดาห์ ที่ 37°C อยู่ได้นาน 10 วัน หากใช้ความร้อนที่ 56°C เป็นเวลา 30 นาที เพียงพอที่จะทำลายไวรัสส่วนใหญ่ (AVIS, 2002) ไวรัสถูกทำลายง่ายโดยโซดาไฟ (2% sodium hydroxide), ปูนขาว (calcium hydroxide), โซดาซักผ้า (soda ash หรือ 4% sodium carbonate), กรดมะนาว (citric acid), น้ำส้มสายชู (2% acetic acid), 3% sodium hypochlorite, potassium peroxymonosulfate, 1% sodium chloride และ chlorine dioxide หรือสารเคมีที่มีส่วนผสมของ formalin หรือ glutaraldehyde หรือ cresol หรือ iodine แต่กลุ่ม iodophores, quaternary ammonium compounds และ phenol จะมีฤทธิ์ทำลายไวรัสลดลงหากไวรัสอยู่ในสารอินทรีย์ (organic matter) เช่น เนื้อเยื่อ น้ำลาย เป็นต้น (OIE, 2013)

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยสามารถคงชีพในกองฟางนานถึง 20 สัปดาห์ มูลแห้งในหน้าร้อนนานสองสัปดาห์ และมูลเปียกในหน้าหนาวถึง 6 เดือน และดิน 3 วัน (ฤดูร้อน) ถึง 28 วัน (ฤดูหนาว) (Ashford, 2016) ซึ่งระยะเวลาในการคงชีพของไวรัสแตกต่างกันไปตามสภาพ อุณหภูมิ และความชื้น (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9. ระยะเวลาคงชีพของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในสิ่งขับถ่ายจากสัตว์

สภาพ	ระยะเวลาในการคงชีพ
ไต้กองสิ่งปฏิกูล 30 ชั่วโมง	< 6 วัน
กองสิ่งปฏิกูลเปียก	8 วัน
กองสิ่งปฏิกูลแห้ง	14 วัน
น้ำล้างคอก ที่ 17-21 °C	21 วัน
สิ่งปฏิกูลเหลว ที่ 12-22 °C	34-42 วัน
แผ่นไม้กระดาน โลหะที่ปนเปื้อนซีรั่ม เลือด เนื้อเยื่อ	35 วัน
ปัสสาวะ	39 วัน
น้ำ	50 วัน
ในแปลงหญ้า ที่ 8-18 °C และความชื้นสัมพัทธ์สูง	6 เดือน
ดิน กระสอบป่าน หญ้าแห้ง ฟางแห้ง (การเก็บและสภาพอากาศ)	26-200 วัน

(ที่มา: AUSVETPLAN, 2000)

การคงชีพของไวรัสในผลิตภัณฑ์จากสัตว์

เนื้อและอวัยวะ

ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเนื้อและกล้ามเนื้อหัวใจถูกทำลายอย่างรวดเร็วโดย pH จากซากสัตว์ที่ลดลง (ไวรัสจะคงชีพอยู่ได้หาก pH ไม่ลดต่ำกว่า 6.2) สภาพกรดจะไม่เกิดขึ้นจากเปลี่ยนแปลงสภาพซาก (rigor mortis) หากเนื้อสัตว์ได้รับการแช่แข็งอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อละลาย lactic acid จะเกิดขึ้นทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะต่อการคงชีพของไวรัส โดยที่ pH 6 และ pH 5 ไวรัสจะหมดฤทธิ์ภายในหนึ่งนาที่และหนึ่งวินาทีตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ไวรัสอยู่ได้นานในเลือด ต่อมเหงื่อ ไชกระดูก และเครื่องใน สัตว์ที่ติดไวรัสมีโอกาสก่อโรคได้มากแม้ถูกแช่แข็ง เพราะเนื้อเยื่อเหล่านี้ถูกแยกออกจากซากทำให้ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง pH ในกระบวนการ rigor mortis เป็นผลให้เกิด lactic acid ไม่อยู่ในระดับเดียวกับที่เกิดในกล้ามเนื้อ (ตารางที่ 10) นอกจากนี้ยังมีรายงานการคงชีพของไวรัสถึง 2 สัปดาห์ในขนแกะ นาน 4 สัปดาห์ในขนโคและ 11 สัปดาห์บนหนังสัตว์ (AUSVETPLAN, 2000)

ตารางที่ 10. ระยะเวลาคงชีพของ ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ในอวัยวะสุกร

สภาวะ	อวัยวะ	ระยะเวลาคงชีพ
แช่เย็น (chilled)	ปอด กระเพาะ ลิ้น ลำไส้	30 วัน
	ม้าม ตับ ไต	24 ชั่วโมง
แช่แข็ง (frozen)	ปอด ลำไส้ กระเพาะ ลิ้น ไต ม้าม ตับ	210 วัน
อุณหภูมิห้อง	ลิ้น	10 วัน
	กล้ามเนื้อ	1 วัน

(ที่มา: Gale, 2002)

น้ำนม

สามารถพบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในน้ำนม 4 วันก่อนสัตว์แสดงอาการป่วย (อาจมีไวรัสได้ถึง 106.6 TCID50 ต่อมิลลิลิตร) มีรายงานพบไวรัสปริมาณ 102.2 TCID50 ต่อมิลลิลิตรในถังน้ำนมรวมในฟาร์ม จากการระบาดของสหราชอาณาจักรเมื่อปี ค.ศ. 1981 การคงชีพของไวรัสในน้ำนมขึ้นกับอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียในถังนมที่ทำให้เกิดสภาพกรดหรือต่าง อย่างไรก็ตามการพาสเจอไรซ์น้ำนมที่ปนเปื้อนไวรัสที่อุณหภูมิ 61-65°C นาน 30 นาที หรือ 72-95°C เพียง 15-17 วินาที ก็ยังพบไวรัสหลงเหลือ ไขมันนมสามารถปกป้องไวรัสขณะโดนความร้อน ทั้งนี้ขึ้นกับกรรมวิธีในการฆ่าเชื้อที่ถูกต้อง แต่น้ำนมที่อุณหภูมิสูงกว่า 120°C ระยะเวลา 2-3 วินาทีหรือ ultra high temp หรือ sterilization หรือการปรุงอาหารที่อุณหภูมิ 80°C ขึ้นไปนาน 2-3 นาที หรือที่ 70°C นาน 25 นาที สามารถทำลายไวรัสได้ทั้งหมด (AUSVETPLAN, 1996; AVIS, 2002; Gale, 2002)

ภาวะอมเชื้อและการแพร่ (Carrier)

ในสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ติดไวรัสปากและเท้าเปื่อยในระยะเฉียบพลัน หากร่างกายสัตว์ไม่สามารถขจัดไวรัสได้หมด หรือสัตว์ได้รับการฉีดวัคซีนที่สร้างความคุ้มจะทนโรคได้ดีแม้ได้รับไวรัสปริมาณมาก โดยสัตว์อาจไม่แสดงอาการป่วย แต่สามารถขับไวรัสได้ (Donaldson and Kitching, 1989) ทั้งนี้ประเด็นดังกล่าวเป็นเพียงสมมติฐานเท่านั้น (Watkins, 2001; Geering et al., 1999) โดยทั่วไปแล้ว ปริมาณไวรัสในตัวสัตว์จะลดลงตามระยะเวลา จึงอาจไม่เพียงพอในการก่อโรค แม้บางสถานการณ์การระบาดมีรายงานบ่งชี้ว่าโคกระบือที่เคยป่วยเป็นโรคเป็นต้นนำไวรัสไปสู่สัตว์ที่ไวต่อโรค (Hughes et al., 2002) แต่ยังไม่สามารถพิสูจน์ได้จากการทดลอง มีเพียงตรวจยืนยันภาวะอมเชื้อโดยสามารถแยกไวรัสได้จากของเหลวในหลอดอาหาร-คอหอย (oesophageal-pharyngeal fluid) โดยทั่วไปสามารถแยกไวรัสออกมาได้ตั้งแต่วัย 28 วันหลังจากติดไวรัส (Sutmoller et al., 1968; Woodbury, 1995) และจากสัตว์ที่เคยป่วย (Mann and Sellers, 1990) ซึ่งยังให้ผลเพียงระดับหนึ่ง ยากที่จะพิสูจน์สาเหตุของอุบัติการณ์โรคจากสัตว์ที่เป็น carrier ได้แน่นอน แม้ตรวจภายในวันเดียวกัน (Hughes et al., 2002) อย่างไรก็ตาม สัตว์เครียดจากการเคลื่อนย้าย (shipping stress) หรือเครียดจากพฤติกรรมรวมฝูง (social stress) ของสัตว์ต่างแหล่งต่างสายพันธุ์กัน อาจทำให้สัตว์ไวต่อการรับและแพร่กระจายไวรัสได้อย่างรวดเร็ว (AVIS, 2002) ปริมาณแอนติบอดีในสัตว์ที่เป็นพาหะอมเชื้อ มักมีระดับที่สูงกว่าสัตว์ที่ได้รับวัคซีนปกติ ดังนั้นค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดี จึงอาจใช้บ่งบอกภาวะอมเชื้อและแพร่โรคในฝูง (Salt, 1993) ทั้งนี้ Mann and Sellers (1990) ได้รวบรวมรายงานพบว่า ไวรัสคงอยู่ในโคได้นาน 3.5 ปี กระบือที่อัฟริกันถึง 5 ปี และแพะแกะประมาณ 9 เดือน ในขณะที่สุกรไม่มีภาวะอมเชื้อ (Woodbury, 1995) ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11. ระยะเวลาเป็นพาหะอมเชื้อ ในโค กระบือ แพะ แกะ และสุกร

ชนิดสัตว์	ระยะเวลาเป็นพาหะอมเชื้อ (carrier)		
	ประมาณ	ร้อยละ 50*	บางส่วน**
โคกระบือ	2.5 ปี	9 เดือน	>2 ปี (3.5 – 5 ปี)
แพะแกะ	9 เดือน	9 สัปดาห์	9–11 เดือน
สุกร	1 เดือน	ไม่มีภาวะอมเชื้อ***	

*ร้อยละ 50 ของสัตว์ที่หายป่วยหรือเคยสัมผัสไวรัส

**บางส่วนของสัตว์หายป่วยหรือเคยสัมผัสไวรัส

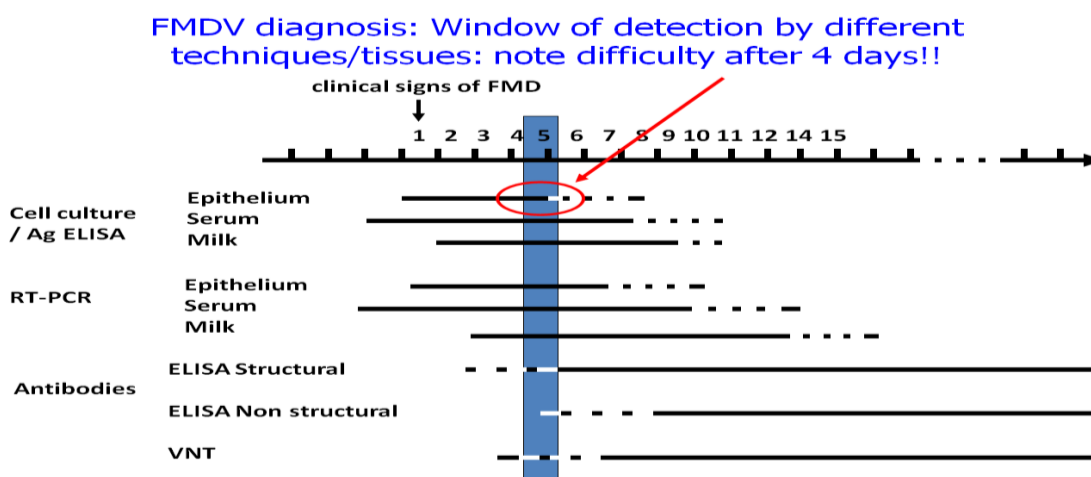
(ที่มา: Mann and Sellers, 1990; ***Woodbury, 1995)

ตอนที่ 2.

การเก็บและส่งตัวอย่างขั้นสูง

การตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อยทางห้องปฏิบัติการ สามารถจำแนกชนิดของไวรัสได้อย่างถูกต้อง จำเป็นต้องทำร่วมกับการสอบสวนโรคทางคลินิก การวินิจฉัยต้องแยกจากโรคอื่นๆ ที่มีอาการและรอยโรคคล้ายคลึงกัน โดยเฉพาะโรคในกลุ่มโรคตุ่มพอง (vesicular diseases) ผลจากการตรวจวินิจฉัย เช่น ชนิดของซีโรไทป์หรือสายพันธุ์ไวรัส ถือเป็นส่วนสำคัญในการเลือกใช้วัคซีนที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค ดังนั้นสิ่งที่สำคัญคือ การเก็บตัวอย่างต้องเหมาะสม ถูกวิธี มีข้อมูลของประวัติสัตว์ป่วย เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสอบสวนทางระบาดวิทยา และนำส่งห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด หีบห่อบรรจุตัวอย่างต้องเป็นไปตามหลักการความปลอดภัยและความมั่นคงทางชีวภาพ (biosafety and biosecurity) และอยู่ในสภาพสมบูรณ์ขณะส่งตั้งแต่ต้นทางจนถึงปลายทาง เพื่อป้องกันไม่ให้รั่วไหลของไวรัสไปสู่บริเวณใกล้เคียงหรือสิ่งแวดล้อม

โดยทั่วไปสามารถตรวจพบไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในกระแสเลือดประมาณ 1-2 วันก่อนที่สัตว์แสดงอาการทางคลินิกหรือปรากฏรอยโรค และพบไวรัสได้ง่ายในน้ำใสจากตุ่มพอง เนื้อเยื่อสดจากรอยโรคของสัตว์ที่ป่วยระยะแรก รวมทั้งสารคัดหลั่งต่างๆ ได้แก่ น้ำนม น้ำอสุจิ ปัสสาวะ น้ำเมือก แยกไวรัสโดยใช้การเพาะเซลล์ จำแนกชนิดไวรัสโดยใช้วิธี ELISA และตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสโดยวิธี PCR ปริมาณไวรัสจะลดลงเมื่อสัตว์เริ่มมีภูมิคุ้มกันในร่างกายตามระยะเวลาและรอยโรคจะค่อยๆ หายไป หลังการป่วยสัตว์จะตรวจพบระดับแอนติบอดีและ non-structural protein ในซีรัมโดยวิธี ELISA หรือ VNT หลังสัมผัสไวรัสประมาณ 1-2 สัปดาห์ขึ้นไป (ภาพที่ 29)



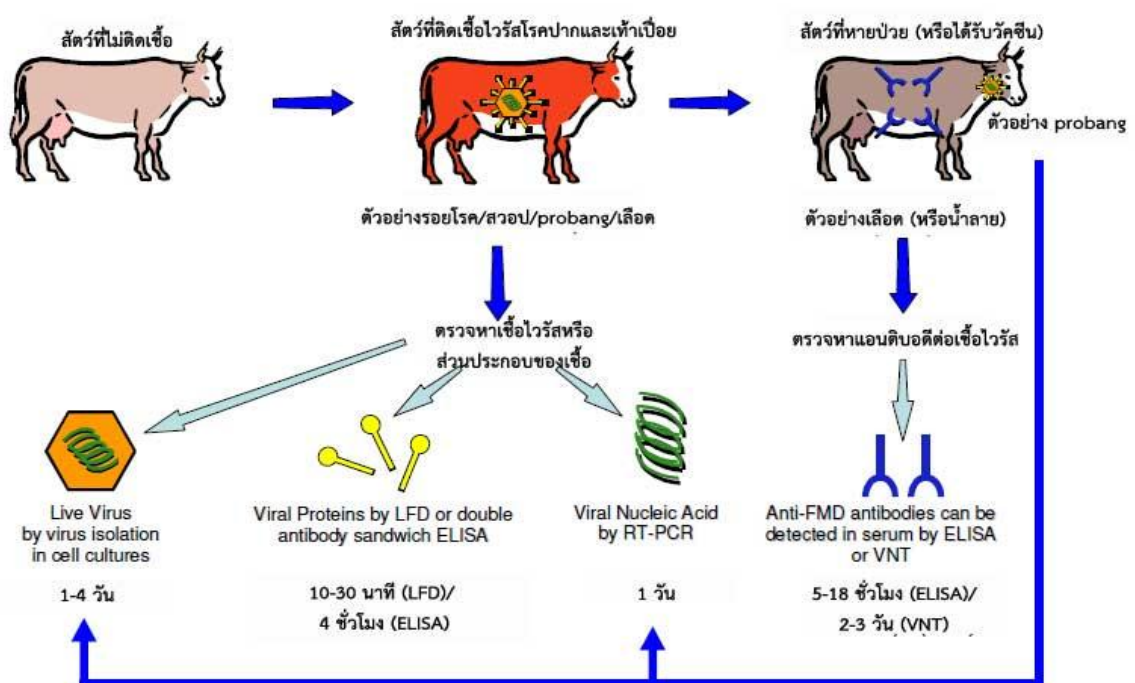
ภาพที่ 29. การตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธีต่างๆ จากรอยโรคตามระยะเวลา (วัน) หลังเริ่มแสดงอาการ (ที่มา: http://slideplayer.com/slide/4686325/Pirbright%20outbreak%20investigation%20procedures_KenyaFMD.ppt)

การตรวจหาและจำแนกชนิดของไวรัสทำได้โดยตรงจากตัวอย่างซึ่งมีไวรัสจำนวนมากพอ โดยเฉพาะจากน้ำใสในตุ่มพองและเนื้อเยื่อตุ่มพองตามบริเวณปาก จมูก กีบ ห้วนนม เป็นต้น ในระยะแรกไม่เกิน 5 วัน ที่สัตว์เริ่มแสดงอาการ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12. ระยะเวลาและรอยโรค/อาการของโรคปากและเท้าเปื่อยในโค

รอยโรค/อาการ	ระยะเวลา (วัน)
เมื่อดตุ่มใสบนลิ้น	1 - 2
เมื่อดตุ่มใสแตก เริ่มลอก	2 - 3
การลอกหลุดของเนื้อเยื่อ	4 - 5
รอยแผลเริ่มหาย	~ 7

สำหรับระยะเวลาในการทดสอบโรค การแยกเชื้อไวรัสโดยเซลล์เพาะเลี้ยงใช้เวลาประมาณ 1 – 4 วัน การตรวจหาแอนติเจนโดยวิธี ELISA ใช้เวลา 4 ชั่วโมง และตรวจหาสารพันธุกรรมโดยวิธี PCR ใช้เวลาไม่เกิน 1 วัน ซึ่งโดยทั่วไปปริมาณไวรัสจะลดลงเมื่อเริ่มมีภูมิคุ้มกันในร่างกายสัตว์และรอยโรคจะจางหายไปตามระยะเวลา จึงจำเป็นต้องตรวจวินิจฉัยจากแอนติบอดีและ non-structural protein ในซีรัม โดยเทคนิคทางซีรัมวิทยา ได้แก่ วิธี Liquid Phase Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (LP-ELISA) ซึ่งใช้เวลาทดสอบ 5-18 ชั่วโมงหรือด้วยวิธี Virus neutralization test (VNT) ซึ่งอาจกินเวลาอย่างน้อย 2-3 วันหรืออาจถึงหนึ่งสัปดาห์โดยตรวจหลังสัตว์แสดงอาการป่วย 3-4 วันขึ้นไป หากตรวจหาแอนติบอดีต่อ non-structural protein (NSP) ให้ผลบวกควรพิจารณาเก็บตัวอย่าง probang จากคอหอย เพื่อจำแนกหาไวรัสหรือแอนติเจนจากวิธีการที่กล่าวมาข้างต้น (ภาพที่ 30) ดังนั้นการเก็บตัวอย่างที่ถูกต้องและมีคุณภาพ รวมถึงขั้นตอนการจัดส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการอย่างถูกต้องตามหลักความปลอดภัยทางชีวภาพเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากคุณภาพของตัวอย่างเป็นปัจจัยสำคัญต่อผลการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 30. แผนภูมิแสดงวิธีการวินิจฉัยโรค หลังโคติดเชืวจนถึงระยะที่หายป่วย (ที่มา: FAO, 2016)

จำนวนสัตว์ที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่าง

ในกรณีที่ฝูงมีสัตว์แสดงอาการทางคลินิกในระยะแรกหลายตัว ให้สุ่มเก็บตัวอย่างจากสัตว์จำนวน 5 ตัว โดยแยกเก็บเป็นรายตัว เพื่อการตรวจวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพ ส่วนในกรณีที่พบสัตว์แสดงอาการหลายระยะในฝูง ให้เก็บตัวอย่างจากสัตว์ที่แสดงอาการล่าสุด ส่วนในสัตว์ที่หายป่วยหรือกรณีสงสัยว่าจะเป็นโรคปากและเท้าเปื่อย แต่ไม่มีรอยโรคชัดเจน ไม่สามารถเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อหรือของเหลวจากตุ่มพองได้ ให้ใช้สำลีพันปลายไม้ป้ายหรือสวอปจากรอยโรคที่พบหรือในช่องปากและจมูก โดยเก็บตัวอย่างจากสัตว์จำนวน 10 ตัวที่เคยแสดงอาการทางคลินิก เช่น มีไข้ ผลผลิตลดลง หรือพบการหายของแผลในปากหรือกีบ

ชนิด ตำแหน่ง และปริมาณตัวอย่าง

ตัวอย่างเพื่อการชันสูตรโรคปากและเท้าเปื่อยที่ให้ความจำเพาะ ความไว และความแม่นยำสูง คือ ตัวอย่างที่เก็บจากเนื้อเยื่อบริเวณรอยโรคจากสัตว์เพิ่งป่วยหรือสงสัยว่าติดเชื้อ รวมทั้งการเก็บตัวอย่างซีรัม

รอยโรคที่พบในระยะแรกและรุนแรงในสัตว์เพิ่งป่วยเป็นโรค ทั้งที่พบจากจมูก ในช่องปาก ไรกีบ ซอกกีบ หรือหัวนม รวมทั้งกล้ามเนื้อหัวใจสัตว์ เป็นตัวอย่างที่เหมาะสมในการตรวจวินิจฉัย โดยเฉพาะของเหลวจากตุ่มพอง ขึ้นเนื้อเยื่อ สวอป พร้อมทั้งเก็บเลือดและซีรัมด้วยทุกครั้ง การเก็บตัวอย่างจากร่างกายสัตว์ควรใช้ของบั้งสัตว์ และทำความสะอาดบริเวณที่จะเก็บตัวอย่างและรอยโรคด้วยน้ำสะอาดก่อน (ห้ามใช้น้ำยาฆ่าเชื้อทุกชนิด)

1. **ของเหลว/น้ำใสจากตุ่มพอง (vesicular fluid)** สัตว์ที่เพิ่งป่วย อาจพบตุ่มพองที่ยังไม่แตก ตามดั้งจมูก (ภาพที่ 31) ลิ้น ช่องปาก เต้านม และกีบ ให้ใช้เข็มปลอดเชื้อขนาด 19-23 Gx1 นิ้ว เจาะตุ่มพองเพื่อดูดน้ำใสเหลืองอ่อน ด้วยไซริงค์ปลอดเชื้อขนาด 1-5 มิลลิลิตร เก็บในขวดที่สะอาดแล้วจึงแช่เย็น หรือผสม 50% glycerin buffer (glycerol และ phosphate buffer saline, pH 7.2-7.6) ในอัตราส่วน 1:1 ก่อนบรรจุลงในภาชนะเพื่อนำส่งห้องปฏิบัติการ



2. **เนื้อเยื่อ (tissue) ของขอบแผล** จากรอยโรคตุ่มพองที่เพิ่งแตกทุกแห่ง ให้ใช้ผ้าสะอาดหรือปากคีบจับดึงเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 32A, C) และกรรไกรที่สะอาดตัดเนื้อเยื่อรอยโรคตามลิ้น ดั้งจมูก ปากของสัตว์ป่วย (ภาพที่ 32B, C) ปริมาณของเนื้อเยื่อที่เก็บ (ภาพที่ 32D) ควรมีขนาดใหญ่กว่า 2 ตารางเซนติเมตรหรือน้ำหนักไม่ต่ำกว่า 2-5 กรัม หากสัตว์เริ่มเดินกะเผลกแสดงว่าเชื้อแพร่กระจายไปถึงกีบแล้ว และไม่สามารถเก็บเนื้อเยื่อลิ้นได้ ควรเก็บตัวอย่างจากบริเวณไรกีบ ซอกกีบ หรืออู่กีบแทน โดยเก็บเนื้อเยื่อบรรจุในขวด แช่ในน้ำระดับ 50% glycerin buffer ท่วมเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 33) หากเก็บเนื้อเยื่อจากสัตว์ตัวหนึ่งได้น้อย ก็ควรเก็บจากตัวอื่นเพิ่มเติมด้วย โดยแยกเก็บบรรจุขวดเป็นรายตัว



ภาพที่ 32. วิธีการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อโดยใช้ผ้าสะอาดจับลิ้น (A) หรือใช้ปากคีบดึงเนื้อเยื่อหลุดลอก และใช้กรรไกรตัด (B, C) เพื่อให้ได้เนื้อเยื่อ (D) ปริมาณน้ำหนักไม่ต่ำกว่า 2 – 5 กรัมหรือมากที่สุด



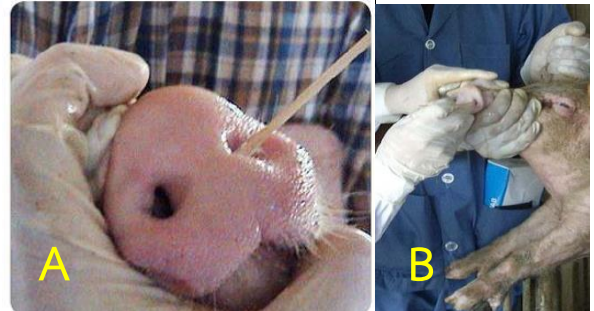
ภาพที่ 33. วิธีการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อโดยแช่ใน 50% glycerin buffer ให้ท่วมชิ้นเนื้อ และปิดฝาให้สนิท

3. **ของเหลวหรือเยื่อจากคอหอย** (oesophago-pharyngeal fluid หรือ probang) ในโค กระบือ แพะ แกะ ซึ่งมีขั้นตอนเฉพาะ จะกล่าวต่อไปในหัวข้อการเก็บตัวอย่าง probang
4. **สวอป** จากตุ่มพอง/แผล หรือรอยโรค โดยใช้สำลีพันปลายไม้ ที่สะอาดปราศจากเชื้อ ป้ายรอยโรค หรือแผล แดงของตุ่มพอง หรือป้ายช่องจมูก (nasal swab: ภาพที่ 34A, B) หรือภายในลำคอ (throat swab) ในสุกร แล้วเก็บในขวด/ภาชนะที่บรรจุ 50% glycerin buffer หรือ transport medium เช่น phosphate buffered gelatin saline (PBGS) และส่งมายังห้องปฏิบัติการศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในกรณีฉุกเฉินที่ไม่สามารถหา PBGS ได้ให้นำสวอปใส่ลงในหลอดที่มี sterile normal saline ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และส่งมายังห้องปฏิบัติการทันที

วิธีการเก็บตัวอย่าง

1. ป้ายสำลีในช่องจมูก (Nasal swab)

ใช้ไม้พันสำลีจุ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ transport media สอดส่วนที่พันสำลีเข้าไปในช่องจมูกลึกๆ ภูเข้า-ออกให้สัมผัสผนังของช่องจมูกด้านในแล้วนำออกมาแฉส่วนสำลีบรรจุลงใน transport media หักส่วนปลายไม้ที่พันปากขวดทิ้ง แล้วปิดฝาให้สนิท



ภาพที่ 34. วิธีสวอปจากช่องจมูกสุกร (A, B)

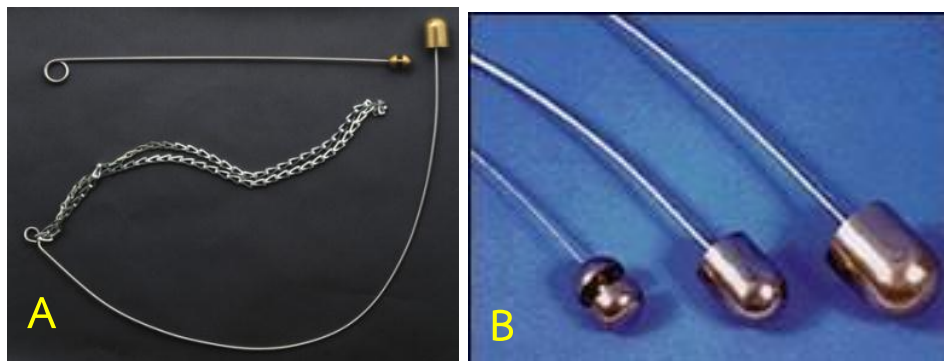
5. **เลือด/ซีรัม** สัตว์ทุกตัวที่ติดเชื้อหรือมีประวัติสัมผัสสัตว์ป่วยเพื่อทำการตรวจหาไวรัสและแอนติบอดี โดยเก็บเลือดในปริมาตร 10-12 มิลลิลิตร ซึ่งจะกล่าวรายละเอียดต่อไป
6. **เนื้อเยื่อและอวัยวะของสัตว์ที่ตาย** นอกจากเนื้อเยื่อที่กล่าวมาข้างต้น ควรเก็บอวัยวะอื่นๆ ได้แก่ ต่อมทอนซิล ต่อมน้ำเหลืองใต้คาง ต่อมไทรอยด์ ม้าม ไต เลือด และเนื้อเยื่อซอกกีบ สำหรับตัวอย่างหัวใจควรเก็บในลูกสัตว์หรือสัตว์ที่มีอาการของกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ นำตัวอย่างแบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกบรรจุลงใน PBGS และอีกส่วนนำบรรจุลงใน 10% formalin

การเก็บตัวอย่าง Probang

ตัวอย่าง probang หรือ oesophago-pharyngeal (O/P) fluid เก็บจากบริเวณรอยต่อของหลอดอาหารและคอหอย ซึ่งเป็นบริเวณที่ไวรัสปากและเท้าเปื่อย เพิ่มจำนวนในระยะแรกของการติดเชื้อและมักคงอยู่นาน เป็นวิธีการตรวจหาสัตว์ที่เป็นพาหะอมเชื้อ (carrier) โดยสัตว์ติดเชื้อมานาน (persistent infection) อาจเป็นสัตว์ที่เคยป่วยหรือติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการป่วย นิยมเก็บในโค กระบือ แพะ แกะ

อุปกรณ์

- 1) มีลักษณะเป็นถ้วยต่อกับเส้นลวดที่ดัดโค้ง (ภาพที่ 35A) ขนาดถ้วย (ภาพที่ 35B) ตามชนิดและขนาดสัตว์

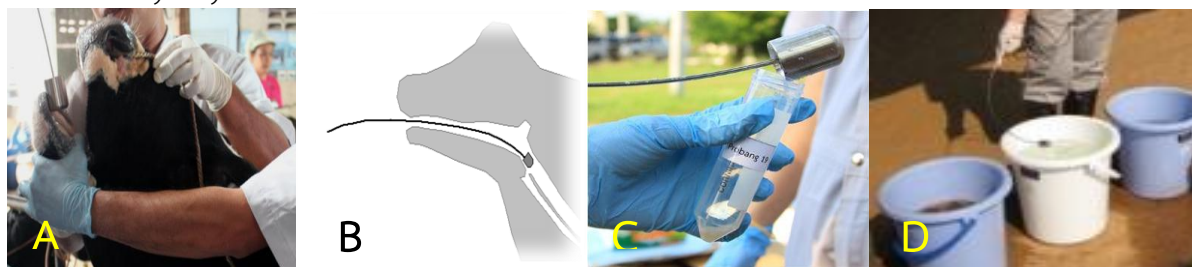


ภาพที่ 35. อุปกรณ์ probang (A) และ probang cup สำหรับสัตว์ขนาดต่างๆ (B)
(ที่มา: สมใจ, 2554)

- 2) หลอดฝาเกลียวสำหรับบรรจุตัวอย่างขนาดปริมาตร 50 มิลลิลิตร ติดฉลากสำหรับเขียนข้อมูลตัวอย่าง
- 3) อาหารเลี้ยงเชื้อ (transport medium) pH 7.4 ปริมาตร 2-3 มิลลิลิตร ซึ่งมีส่วนผสมของ 0.08 M phosphate buffer saline, 1% bovine serum albumin (BSA) และยาปฏิชีวนะ (antibiotics)
- 4) ถังใส่น้ำยาฆ่าเชื้อขนาด 10 ลิตร จำนวน 3 ถัง
- 5) น้ำยาฆ่าเชื้อ เช่น speedyn (2.5% w/v Iodophor as iodine)

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง Probang

- 1) ควบคุมสัตว์ให้นิ่ง ดึงหัวสัตว์ขึ้นโดยใช้คีมดึงจมูก สอดนิ้วเข้าบริเวณมุมปากเข้าช่องที่ไม่มีฟันบน เชียล้นเบาๆ สัตว์จะเปิดปากออก ให้สอด probang cup (ภาพที่ 36A) เข้าไปบริเวณเหนือโคนลิ้น (ภาพที่ 36B) สัตว์จะกลืนถ่วงเข้าลำคอโดยอัตโนมัติ
- 2) ในขณะเดียวกัน ให้ใช้มืออีกข้างหนึ่งคลำหาตำแหน่งของคอหอย แล้วค่อยๆ สอด probang cup จนสัมผัสกับส่วนบนของหลอดอาหาร
- 3) ดึง probang cup ขึ้นลงรูดติดผนังคอหอยเบาๆ ประมาณ 5-10 ครั้ง
- 4) แล้วค่อยๆ ดึง probang cup ออกในแนวตั้ง เพื่อให้แน่ใจว่า O/P fluid ยังอยู่ข้างในถ้วย
- 5) เทของเหลวจากถ้วยลงในหลอดเก็บ (ภาพที่ 36C) ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยอัตราส่วนปริมาตรของตัวอย่าง และ transport medium ที่เท่ากัน (1:1) ปิดฝาให้สนิท แข็งแรงจัด เช่น ในน้ำแข็งแห้ง เพื่อลดปฏิกิริยาของเอนไซม์ lysozyme จากน้ำลายที่อาจทำลายไวรัสได้



ภาพที่ 36. วิธีการสอด probang cup เก็บตัวอย่างในโค โดยสอดเข้าทางมุมปาก (A) วาง probang cup ในบริเวณคอหอย รูดขึ้นลงเบาๆ (B) จากนั้นเหน็บมือลงในหลอดเก็บตัวอย่าง (C) และทำความสะอาดอุปกรณ์ (D)

- 6) การทำความสะอาด probang cup ที่ใช้งานแล้วให้แช่ลงในถังตามลำดับจำนวน 3-4 ถัง (ภาพที่ 36D) ดังนี้
 - ถังที่ 1 ล้างน้ำเปล่า
 - ถังที่ 2 แช่น้ำยาฆ่าเชื้อ speedyn อย่างน้อย 5 นาที
 - ถังที่ 3 และ 4 ล้างด้วยน้ำเปล่า

กรณีที่อุปกรณ์ probang cup มีจำนวนชุดน้อยกว่าสัตว์ที่ต้องการเก็บตัวอย่าง เมื่อแช่น้ำยาฆ่าเชื้อแล้ว ควรล้าง probang cup ด้วยน้ำเปล่าอย่างน้อย 2-3 ครั้ง เพื่อล้างน้ำยาฆ่าเชื้อให้หมด

การเก็บตัวอย่างซีรัมเพื่อตรวจระดับแอนติบอดี และ Non-Structural Protein (NSP)

วัสดุและอุปกรณ์

- 1) กระบอกฉีดยาหรือไซริงค์ที่ปลอดเชื้อใช้แล้วทิ้ง (disposable syringe)
- 2) เข็มฉีดยาปลอดเชื้อใช้แล้วทิ้ง (disposable needle)
- 3) สำลีชุบ 70% อัลกอฮอล์
- 4) หลอดปลอดเชื้อฝาเกลียวหรือจุกยางปิดแน่นสำหรับเก็บเลือดและซีรัม
- 5) ที่วางหลอดเลือด (rack)

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างซีรัม

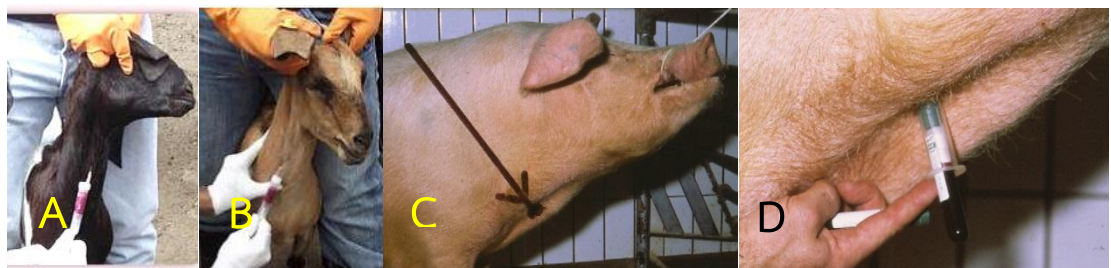
- 1) บังคับสัตว์ให้นิ่งและอยู่ในท่าที่เหมาะสม
- 2) ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เช็ดบริเวณตำแหน่งที่จะเจาะเลือด (ตารางที่ 13)
- 3) ใช้เชือกรัด (tourniquet) รอบคอหรือใช้นิ้วกดบริเวณด้านล่างของแนวเส้นเลือดดำบริเวณคอ ในโค กระบือ หรือใบหู/หาง (ภาพที่ 37A, B, C) แพะ แกะ (ภาพที่ 38A, B) และสุกร (ภาพที่ 38C, D) ตามตำแหน่งที่เหมาะสมของสัตว์แต่ละชนิด
- 4) แทงเข็มปักตรงเข้าผ่านผนังเส้นเลือดและค่อยๆ วางปลายเข็มตามแนวเส้นเลือด พร้อมทั้งดูดเลือดอย่างระมัดระวัง ไม่เร็วหรือช้าเกินไป

ตารางที่ 13. ตำแหน่งและขนาดเข็มที่ใช้เก็บตัวอย่างเลือดสัตว์			
ชนิดสัตว์	ตำแหน่งที่จะเจาะเลือด	เบอร์เข็ม	ความยาวเข็ม (นิ้ว)
โค	เส้นเลือดดำที่คอ (jugular vein)	16 - 19	1.5 - 2
	เส้นเลือดดำที่โคนหาง (coccygeal vein)		
	เส้นเลือดดำที่ใบหู (ear vein)		
แพะ แพะ	เส้นเลือดดำที่คอ (jugular vein)	18 - 20	1.5 - 2
สุกร	เส้นเลือดดำที่บริเวณระหว่างคอและหน้าอกตอนบน (anterior vena cava)	18 - 20	1.5 - 4
	เส้นเลือดดำที่ใบหู (ear vein)	20	1

วิธีเจาะเลือดโค



ภาพที่ 37. การเก็บตัวอย่างเลือดในโคและกระบือจากเส้นเลือดดำที่คอ (A) ใบหู (B) และโคนหาง (C)



ภาพที่ 38. ตำแหน่งเจาะเลือดดำที่คอในแพะและแกะ (A, B) และสุกรที่ถูกบังคับให้คอเหยียดตรง แทงเข็ม (เบอร์ 18 ยาว 1.5 นิ้วขึ้นไป) แนวตั้งฉากกับบริเวณร่องคอ (C, D)

- 5) ดูดเลือดช้าๆ (เพื่อไม่ให้เม็ดเลือดแดงแตกง่าย) ประมาณ 10 มิลลิลิตร จากเส้นเลือดดำ คลายเชือกที่รัดหรือปล่อยนิ้วที่กด แล้วใช้สำลีกดผิวหนังเบาๆ ประมาณ 5-7 วินาที ตรงตำแหน่งที่ดึงเข็มออก
- 6) ถอดปลายเข็มออก แล้วดันเลือดประมาณ 1 มิลลิลิตรลงในหลอดเก็บเลือดที่มีสารกันเลือดแข็งตัว พลิกหลอดกลับไปมาเบาๆ (ภาพที่ 39) เพื่อให้เลือดผสมกันกับสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด

สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (Anticoagulants)

มีหลายชนิด แต่ที่นิยมใช้ ได้แก่

1. EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid)

ปริมาณที่ใช้ 10-20 มิลลิกรัม (0.1 มิลลิลิตร ของสารละลาย 10% ทำให้แห้งในอุณหภูมิห้อง หรือในตู้เย็น) ต่อเลือด 10 มิลลิลิตร มีคุณสมบัติ ป้องกันเลือดแข็งตัวได้นาน 6 ชั่วโมง ถ้าใช้เกินปริมาณที่กำหนดจะทำให้เม็ดเลือดหดตัว

2. Heparin ปริมาณที่ใช้ 1-2 มิลลิกรัม (0.2 มิลลิลิตร

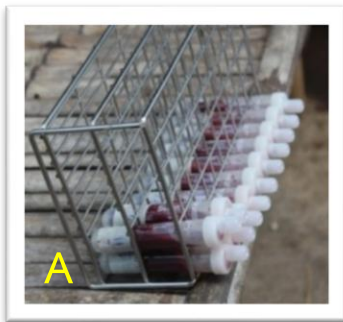
ของสารละลาย 1% อาจเคลือบในเข็ม หรือกระบอกฉีดยา) ต่อเลือด 10 มิลลิลิตร มีคุณสมบัติป้องกันการเลือดแข็งตัวได้นาน 8 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อขนาดเม็ดเลือดแดง และไม่ทำให้เม็ดเลือดแตก แต่อาจทำให้เม็ดเลือดขาวจับกลุ่มเกาะตัว



ภาพที่ 39. วิธีการพลิกหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด

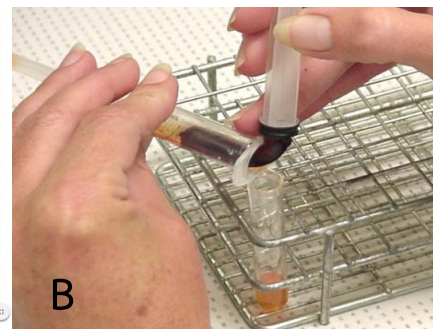
ที่มา: http://niah.dld.go.th/th/index.php?option=com_content&view=article&id=415:manualspecimen&catid=24:book&Itemid=300

- 7) ส่วนเลือดที่เหลือนำไปแยกซีรัม (หากใช้ไซริงค์ดูดเลือด ควรถ่ายเทลงหลอดเก็บเลือด) โดยวางหลอดเลือดในแนวเอียง จะทำให้เพิ่มผิวการแยกชั้นของซีรัมเต็มที่ (ภาพที่ 40A) และปล่อยให้เลือดแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องทิ้งไว้อย่างน้อยประมาณ 1 – 2 ชั่วโมง เพื่อให้ซีรัมแยกจากเกล็ดเลือดได้มากที่สุด (ภาพที่ 40B) แล้วจึงนำไปเทหรือปั่นแยกซีรัม หลังเจาะเลือดไม่ควรนำหลอดใส่เลือดแช่เย็น เพราะทำให้ได้ซีรัมปริมาณน้อย



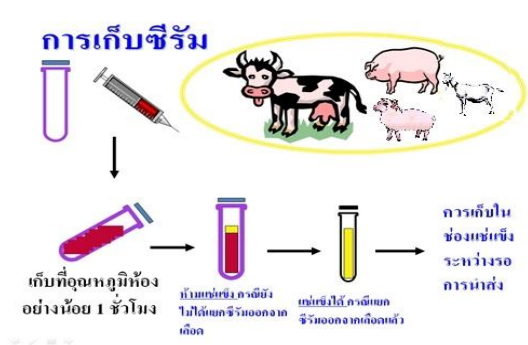
ภาพที่ 40. วิธีแยกซีรัมให้ได้คุณภาพดี โดยวางหลอดเลือดในแนวเอียง ที่อุณหภูมิห้องนาน 1-2 ชั่วโมง (A) จะได้ซีรัมแยกตัวเป็นชั้นอย่างชัดเจน (B) และลักษณะซีรัมคุณภาพดี (C)

- 8) การแยกซีรัมใส่หลอดใหม่ก่อนปั่น จะช่วยลดโอกาสเม็ดเลือดแดงแตก (hemolysis) ซึ่งอาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น เข็มเจาะเล็กเกินไป แรงดันจากการเจาะดูดเลือดเร็ว หรือถ่ายเลือดจากไซริงค์ โดยไม่ถอดเข็มเก็บเลือดที่อุณหภูมิสูง แช่แข็งเลือดก่อนแยกซีรัม ทิ้งเลือดไว้นานก่อนแยกซีรัม หลอดเลือดถูกกระแทก เลือดปนน้ำหรืออัลกอฮอล์ หรือปนเปื้อนแบคทีเรีย จะทำให้ซีรัมแดง ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการศึกษาวิเคราะห์ได้ และอาจทำให้ซีรัมเน่าเสียง่าย หากไม่สามารถแยกซีรัม สามารถเก็บตัวอย่างเลือดที่ซีรัมแยกตัวแล้วไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ได้ไม่เกินหนึ่งคืน อย่างไรก็ตามไม่จำเป็นอย่าปล่อยให้เลือดให้แข็งตัวในกระบอกดูดเลือด (ภาพที่ 41A) ที่อาจเกิดความยุ่งยากในการแยกซีรัม (ภาพที่ 41B)



ภาพที่ 41. วิธีการแยกซีรัมจากไซริงค์ (A, B)

- 9) ในกรณีที่แยกซีรัมแล้วมีเม็ดเลือดแดงปนอยู่มาก (ภาพที่ 41B) ควรทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่น 2,000-3,000 รอบต่อนาที นาน 10-20 นาที ตามแผนภาพที่ 42 ขวามือ



ภาพที่ 42. ขั้นตอนการแยกตัวอย่างซีรัมและการรักษาตัวอย่างระหว่างนำส่งห้องปฏิบัติการ

- 10) เมื่อแยกซีรัม (ปริมาณ 2-5 มิลลิลิตร) เหลวใสเหลืองอ่อน (ภาพที่ 40C) บรรจุลงในหลอดที่มีฝาเกลียวปิดฝาให้สนิท ควรปิดทับด้วยเทปหรือแผ่น parafilm เพื่อป้องกันตัวอย่างรั่วไหล

การบ่งชี้และบันทึกรายละเอียดสิ่งส่งตรวจ

- 1) หลอดเก็บตัวอย่างที่มีฝาถูกที่ปิดแน่นสนิท พันทับด้วยเทปกันการรั่วไหล (ภาพที่ 44A) ควรเช็ดทำความสะอาดรอบขวดหรือหลอดหรือภาชนะบรรจุตัวอย่างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนและซับให้แห้ง
- 2) ตีติดฉลากหมายเลขหรือรหัสเครื่องหมายหรือระบุชื่อแยกสายตัวเพื่อบ่งชี้ตัวอย่าง (labeling) แยกแยกตัวอย่างสัตว์แต่ละตัว เขียนด้วยปากกาหมึกถาวรกันน้ำบนขวดหรือหลอดเก็บตัวอย่างต้องชัดเจน (ให้เชื่อมโยงหรือสอดคล้องกับรายละเอียดในใบนำส่งตัวอย่าง สามารถระบุสิ่งส่งตรวจได้อย่างถูกต้อง) แล้วปิดทับฉลากด้วยเทปใสกันน้ำซึม ป้องกันการลบเลือนหรือลอกหลุด
- 3) บันทึกข้อมูลรายละเอียดสำคัญและเกี่ยวข้อง (ภาพที่ 43) ได้แก่ หมายเลขตัวอย่าง ชื่อและหมายเลขสัตว์ ชนิด ประวัติสัตว์ การเคลื่อนย้ายสัตว์ วันที่นำเข้าสัตว์ใหม่ วันที่สัตว์เริ่มป่วย/ตาย จำนวน/ป่วย/ตาย วันที่ฉีดวัคซีนล่าสุด ชนิดและชุดวัคซีน อาการป่วย รอยโรค การรักษา ชื่อเจ้าของ ที่อยู่ โทรศัพท์ วันที่เก็บตัวอย่าง ชนิดสิ่งส่งตรวจ ฯลฯ ตามแบบรายละเอียดสิ่งส่งตรวจโรคปากและเท้าเปื่อย (ภาคผนวกที่ 1) ให้ครบถ้วน หากถ่ายรูปรอยโรคได้สามารถแนบมาพร้อมด้วยจะยิ่งเป็นประโยชน์ในการชันสูตรและแปลผล
- 4) ระบุจุดประสงค์หรือกิจกรรมดำเนินการ เช่น ชันสูตร ทดสอบโรค ตรวจสอบสุขภาพ โครงการวิจัย เป็นต้น



ภาพที่ 43. บันทึกข้อมูลสิ่งส่งตรวจ

การจัดส่งตัวอย่างเพื่อตรวจหาไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย

การจัดส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการต้องดำเนินการตามหลักของความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosafety) เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการรั่วไหลของเชื้อ และเป็นการรักษาคุณภาพของตัวอย่างตั้งแต่ต้นทางจนถึงห้องปฏิบัติการปลายทาง การบรรจุภัณฑ์และเอกสารนำส่งตัวอย่าง ต้องเป็นไปตามข้อปฏิบัติความปลอดภัยในการส่งสินค้าและการขนส่งสินค้าอันตราย เพื่อให้มั่นใจว่าการนำส่งตัวอย่างที่มีคุณภาพถึงห้องปฏิบัติการ ผู้ส่งควรดำเนินการดังต่อไปนี้

- 1) สิ่งส่งตรวจไวรัสทุกชนิด (เนื้อเยื่อ เลือด ซีรัม และสวอป) ไม่ควรให้ถูกแสงแดด

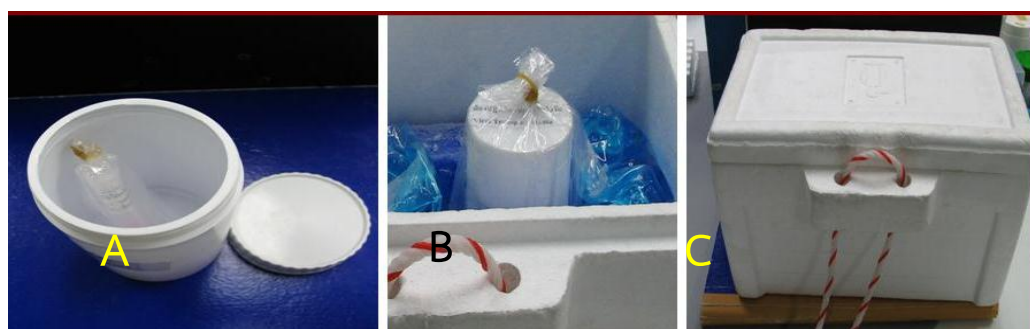
2) หลอดหรือขวดเก็บตัวอย่างไวรัสใน 50% glycerin buffer ซึ่งได้ติดฉลากระบุรายละเอียดของตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว จะต้องห่อหุ้มด้วยวัสดุที่สามารถซับของเหลวเพื่อป้องกันการปนเปื้อนและกันกระแทก แล้วจึงบรรจุลงในกระบอกหรือภาชนะที่มีฝาเกลียวปิดสนิทอย่างน้อยสองถึงสามชั้น (ภาพที่ 44B-D)

- ก. กรณีนำส่งห้องปฏิบัติการภายในประเทศ บรรจุขวดตัวอย่างที่ห่อหุ้มด้วยกระดาษซับหลายชั้น ลงในกล่องพัสดุที่แข็งแรง (ภาพที่ 44C) จัดส่งทางไปรษณีย์เร่งด่วน (EMS) ให้ถึงห้องปฏิบัติการโดยเร็วที่สุด
- ข. กรณีส่งตรวจต่างประเทศ จะต้องใช้บรรจุภัณฑ์ที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน (ภาพที่ 44D, E, F, G) ตามเกณฑ์กำหนดของสหประชาชาติ (The United Nation; UN) โดยเฉพาะกรณีตัวอย่างติดเชื้อ ตามกำหนดการบรรจุภัณฑ์วัตถุอันตรายของสมาคมขนส่งทางอากาศระหว่างประเทศ (The International Air Transport Association; IATA) หรือเทียบเท่า มีเครื่องหมายแสดงหรือบ่งชี้เป้าประสงค์ตามแบบบรรจุภัณฑ์มาตรฐานสากลของ IAEA (ภาพที่ 44F, G)



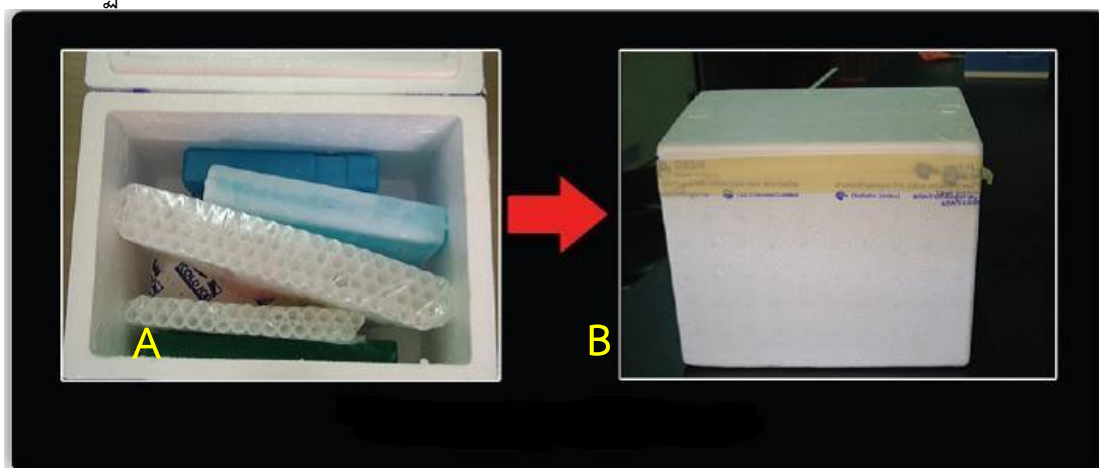
ภาพที่ 44. ตัวอย่างเนื้อเยื่อ (A) และภาชนะสำหรับบรรจุอย่างน้อยสองชั้น (B, C, D) ก่อนใส่ลงในบรรจุภัณฑ์มาตรฐาน (D, E, F, G)

- ค. กรณีตัวอย่าง probang เมื่อติดฉลากหมายเลขตัวอย่างแล้วให้แยกใส่ถุงมิดปากถุงให้แน่น (ภาพที่ 45A) และรวมบรรจุในถุงพลาสติกใหญ่อีกชั้น (ภาพที่ 45B) ผนิกปากถุงให้สนิทเพื่อป้องกันน้ำซึมเข้าในถุง ก่อนบรรจุลงในกระติกหรือกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งแห้งบรรจุอยู่ (ภาพที่ 45C) นำส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการโดยรวดเร็วที่สุดภายใน 12-24 ชั่วโมง



ภาพที่ 45. วิธีการบรรจุหลอดเก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกแยกรายตัวอย่างในกล่องภาชนะ (A) แล้วใส่ถุงพลาสติกมิดปากถุงให้แน่น (B) รวบรวมเก็บในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำส่งห้องปฏิบัติการ (C)

- 3) กรณีเป็นหลอดเก็บซีรัม หลังจากติดฉลากระบุรายละเอียดของตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว ให้รวบรวมใส่ในถุงพลาสติก (ไม่ควรเกิน 50 ตัวอย่างต่อถุง) เรียงตามลำดับเลขที่ตัวอย่าง ริดปิดหรือรัดปากถุงให้สนิท หรือมัดปากถุงให้แน่น เขียนลำดับของซีรัมที่มีอยู่ในถุง แล้วรวมถุงบรรจุในถุงพลาสติกใหญ่ มัดปากถุงให้แน่น เพื่อป้องกันน้ำซึมเข้าในถุง (ภาพที่ 46A) ก่อนบรรจุลงในกระติกหรือกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งหรือ ice pack บรรจุอยู่เพื่อรักษาคุณภาพของตัวอย่าง ผนึกฝากล่องด้วยเทปกาวให้แน่น (ภาพที่ 46B, C) กรณีไม่สามารถนำส่งห้องปฏิบัติการได้ทันที ให้เก็บในตู้แช่แข็ง (-20°C) ทั้งนี้เพื่อเป็นการเก็บรักษาคุณภาพซีรัมให้คงที่ตลอดการขนส่ง จนถึงห้องปฏิบัติการ โดยแนบรายละเอียดของตัวอย่างบนฝาหรือด้านข้างกระติกหรือกล่องโฟม



ภาพที่ 46. การบรรจุตัวอย่างซีรัมเรียงตามลำดับ ใส่ถุง ในกล่องโฟมที่มีแพคน้ำแข็งรักษาความเย็น (A) และ ปิดฝาผนึกด้วยเทปกาวอย่างแน่นหนา (B)

- 4) ปิดฉลากด้านนอกกล่องบรรจุภัณฑ์อย่างถูกต้อง ระบุแจ้งความเร่งด่วนพร้อมบันทึกประวัติสัตว์ป่วย
- 5) ส่งตัวอย่างให้ถึงห้องปฏิบัติการเร็วที่สุดโดยเส้นทางตรงที่สุด พร้อมเบอร์โทรศัพท์/Email/โทรสารให้ห้องปฏิบัติการปลายทางเพื่อยืนยันการได้รับตัวอย่างแล้ว
- 6) แจ้งห้องปฏิบัติการในการส่งตัวอย่างล่วงหน้าเสมอ ระบุวิธีการนำส่งตัวอย่าง เช่น รถโดยสาร ไปรษณีย์ เครื่องบิน รถยนต์ โดยระบุรายละเอียดให้พร้อม ได้แก่ เที่ยวบิน เที่ยวบิน บริษัท เวลาออก เวลาที่คาดว่าจะไปถึง บุคคลหรือสถานที่ที่จะติดต่อรับตัวอย่าง พร้อมแนบเอกสารสำเนาแบบรายละเอียดสิ่งส่งตรวจฯ รูปตัวอย่าง หรือ package ส่งทาง Email: rrl@dld.go.th หรือทางโทรสาร 044-314889

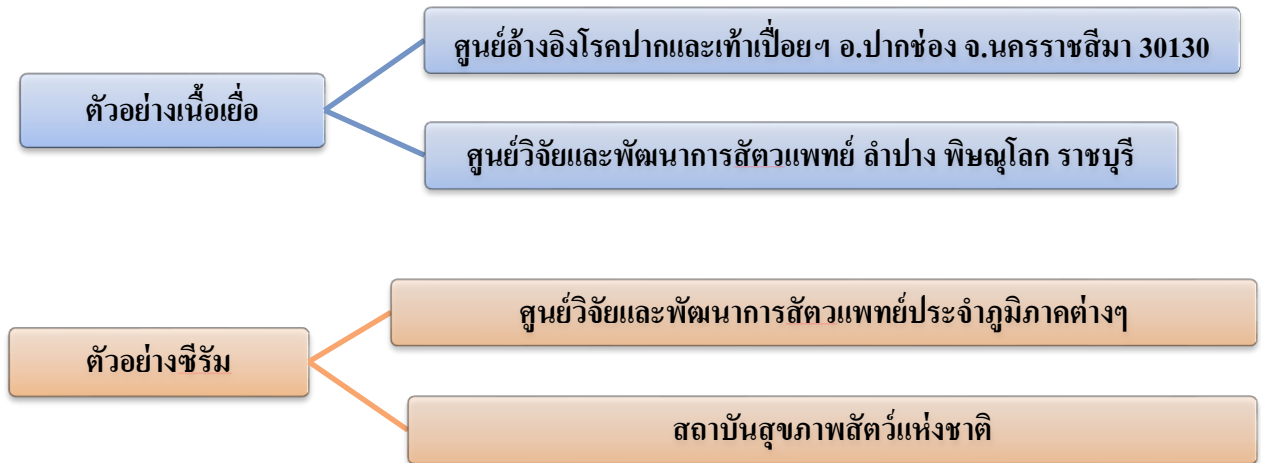
ชนิดตัวอย่างที่เก็บและวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย รายละเอียดดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14. ชนิดตัวอย่างที่เก็บและวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย

ชนิดตัวอย่าง	สารและภาชนะเก็บส่งตัวอย่าง	วิธีการตรวจ
● เนื้อเยื่อ/ของเหลวจากตุ่มพอง	50% glycerin buffer/transport	PCR, Antigen ELISA,
● ป้ายสวอปจากคอ ในปาก และจมูก	medium เช่น phosphate	Virus isolation
● Probang	buffered gelatin saline (PBGs)	
● ซีรัม ก้อนเลือด	หลอด	PCR, Antibody LP ELISA
● เนื้อเยื่อ อวัยวะ	10% formalin	Immunohistochem

แบบรายละเอียดสิ่งส่งตรวจโรคปากและเท้าเปื่อย							
*วันที่เก็บตัวอย่าง/...../.....		วันที่ส่งตัวอย่าง/...../.....		วันที่รับตัวอย่าง/...../.....		เลขที่ตัวอย่าง	
ชื่อเจ้าของ/ฟาร์ม.....				ชื่อผู้ส่ง.....			
เลขที่.....หมู่.....ตำบล.....อำเภอ.....จังหวัด.....				เลขที่.....หมู่.....ตำบล.....อำเภอ.....จังหวัด.....			
โทร.....		มือถือ.....		โทร.....		มือถือ.....	
פקיד.....				Email address.....			
ชนิดสัตว์ () โคเนื้อ () ไก่ () กระบือ () สุกร () แพะ () แกะ () อื่นๆ							
สิ่งส่งตรวจ	() เยื่อแผล	ลิ้น/เหงือก/กีบ/จมูก/อื่นๆ.....		() ซิรั้ม.....ตย	() Swab.....ตย	() Nasal	() อื่นๆ.....
วันเก็บ *...../...../.....	() น้ำใส	จมูก/ปาก/หัวนม/อื่นๆ.....		() เลือด.....ตย	() probang.....ตย	() Throat	ตย
ประวัติการนำเข้า	() สัตว์ที่มีอยู่เดิม.....ตัว		() นำเข้าใหม่.....ตัว จาก.....		เมื่อ...../...../.....		
ประวัติวัคซีน..... ครั้ง ()	ล่าสุดเมื่อ/...../.....		ชนิดวัคซีน () สามชนิด () สองชนิด () ชนิดเดียว... ชุดที่				
พื้นคอก แหะ	() สะอาดดี	() พอใจ	() ต้องปรับปรุง	โรคที่เคยระบาด () ไม่มี () มี		() ระยะเวลา..... เดือน.....วัน	
จัดการ / โรงเรือน	() ปลดปล่อยสาธารณะ		() ยื่นโรง () กิ่งขัง กิ่งปล่อย		() ระบุ.....โรงเรือนอนุบาล.....		
จำนวนสัตว์ทั้งฟาร์ม/ฝูง.....ตัว **เริ่มป่วยวันแรก...../...../..... รวมป่วย.....ตัว ตาย.....ตัว อายุตัวที่ตาย.....ปี.....เดือน							
กรณีสิ่งส่งตรวจจากสัตว์ป่วยมีหลากหลายรายการที่มีประวัติและรายละเอียดแตกต่าง ให้บันทึกตามตาราง ๑							
หมายเลขสัตว์	สิ่งส่งตรวจ	ชนิดสัตว์	อายุ	เพศ	**วันที่เริ่มป่วย	อาการ/วิธีการที่พบ	*วันที่เก็บตัวอย่าง
					/...../.....		/...../.....
					/...../.....		/...../.....
					/...../.....		/...../.....
					/...../.....		/...../.....
					/...../.....		/...../.....
					/...../.....		/...../.....
					/...../.....		/...../.....
					/...../.....		/...../.....
					/...../.....		/...../.....
					/...../.....		/...../.....
กรณีสิ่งส่งตรวจเป็นซิรั้มให้บันทึกตามตารางข้างล่าง							
หมายเลข	วัคซีนครั้งก่อน	ชนิดสัตว์	อายุ	เพศ	วัคซีนครั้งล่าสุด	ชุดวัคซีน	เก็บตัวอย่าง
	/...../.....				/...../.....		/...../.....
	/...../.....				/...../.....		/...../.....
	/...../.....				/...../.....		/...../.....
	/...../.....				/...../.....		/...../.....
	/...../.....				/...../.....		/...../.....
	/...../.....				/...../.....		/...../.....
	/...../.....				/...../.....		/...../.....
	/...../.....				/...../.....		/...../.....
	/...../.....				/...../.....		/...../.....
โปรดบันทึก**วันที่เริ่มป่วย และ*วันที่เก็บตัวอย่าง ทุกครั้ง							

ส่งตรวจและห้องปฏิบัติการวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อย



การรายงานผลการตรวจวินิจฉัย

- 1) แจ้งผลโดยเอกสาร
- 2) กรณีมีข้อสงสัยสามารถติดต่อกลับที่ หมายเลขโทรศัพท์: 044-279112. Email address: rrl@dld.go.th

กรณีที่ห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องปฏิเสธรับส่งตรวจ

ห้องปฏิบัติการอาจจำเป็นต้องปฏิเสธรับส่งตรวจ หรือไม่สามารถรับประกันผลการชันสูตรได้ กรณีส่งตรวจไม่ผ่านการประเมินตัวอย่างเบื้องต้น ดังนี้

- 1) ไม่มีเอกสารหรือรายละเอียดมาพร้อมส่งตรวจ และไม่สามารถติดต่อกลับผู้ส่งตัวอย่างได้
- 2) ข้อความบนฉลากหรือบนภาชนะบรรจุตัวอย่างไม่ชัดเจน หรือไม่สอดคล้องกับรายการหรือละเอียดในเอกสาร หรือข้อมูลในเอกสารไม่ครบถ้วน
- 3) ส่งตรวจมีปริมาณน้อยไม่เพียงพอ หรือคุณภาพไม่เหมาะสม เช่น ชุ่ย ตะกอน ชุ่น แดง หนอง เหนียว หนืด เน่า มีกลิ่นเหม็น มีน้ำยาฆ่าเชื้อ หรือมีการรั่วซึมของสิ่งส่งตรวจซึ่งอาจเป็นผลทำให้การทดสอบคลาดเคลื่อน
- 4) ภาชนะบรรจุภัณฑ์ไม่อยู่ในสภาพสมบูรณ์ เช่น แตก หัก บิดเบี้ยว เป็นต้น
- 5) ส่งตรวจใช้เวลาขนส่งมายังห้องปฏิบัติการนานเกินไป
- 6) ชนิดของสิ่งส่งตรวจไม่เหมาะสมกับการตรวจวิเคราะห์ หรือเก็บในน้ำยารักษาสภาพที่ไม่เหมาะสม

ห้องปฏิบัติการและสถานที่ตั้ง

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

50/2 เกษตรกลาง ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
 โทรศัพท์ 0 25 79 8908-14 โทรสาร 0 25 79 8918-9
 E-mail : niah@dld.go.th
<https://www.dld.go.th/niah>

ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

เลขที่ 1213/1 ม.11 ต.ปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130
 โทรศัพท์ 0 44 31 3869, โทรสาร 0 44 31 4889
 E-mail : rrl@dld.go.th

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนบน จ.ลำปาง

เลขที่ 221 หมู่ 6 ต.เวียงตาล อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง 52190
 โทรศัพท์ 0 54 83 0195-6 โทรสาร 0 54 83 0178
 E-mail : vrd_np@dld.go.th

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง จ.พิษณุโลก

เลขที่ 9 หมู่ 15 ต.วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130
 โทรศัพท์ 0 55 31 2069-71 โทรสาร 0 55 31 2069-71 ต่อ 24
 E-mail : vrd_sn@dld.go.th

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน จ.ขอนแก่น

หมู่ 15 ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40260
 โทรศัพท์ 0 43 26 2050 ต่อ 102 โทรสาร 0 43 26 1246
 E-mail : vrd_ne@dld.go.th

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง จ.สุรินทร์

เลขที่ 291 ม.9 ต.นาบัว อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000
 โทรศัพท์ 0 44 54 6104 โทรสาร 0 44 54 6105
 E-mail : vrd_se@dld.go.th

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก จ.ชลบุรี

เลขที่ 844 หมู่ 9 ถนนมาบค้อ-หัวทุญแจ ต.คลองกiew อ.บ้านบึง จ.ชลบุรี 20220
 โทรศัพท์ 0 38 74 2116-19 โทรสาร 0 38 74 2120
 E-mail : vrd_ep@dld.go.th

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก จ.ราชบุรี

เลขที่ 126 ม.10 ต.เขาชะจุ่ม อ.โพธาราม จ.ราชบุรี 70120
 โทรศัพท์/โทรสาร 0 32 22 8419, 0 32 22 8379
 E-mail : vrd_wp@dld.go.th

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ตอนบน จ.นครศรีธรรมราช

เลขที่ 124/2 หมู่ 7 ต.ที่วัง อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช 80110
 โทรศัพท์ 0 75 77 0008-9, โทรสาร 0 75 77 0008-9 ต่อ 102
 E-mail : vrd_sp@dld.go.th

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ตอนล่าง จ.สงขลา

เลขที่ 3 ภายในด่านกักกันสัตว์สงขลา ถ.ศรีภูวนาท ต.หาดใหญ่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110
 โทรศัพท์ 0 74 25 2503 โทรสาร 0 74 25 3800
 E-mail : vrd_sk@dld.go.th

- ชิต ศิริวรรณ และ ประทีป เปมะโยธิน. 2536. โรคปากและเท้าเปื่อยไพบีไอในช้างไทย: ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการปศุสัตว์. ครั้งที่ 12. ประจำปี 2536. ระหว่างวันที่ 21-24 กรกฎาคม 2536. ณ โรงแรมเมเลย์ อ. หัวหิน. ประจวบคีรีขันธ์: กรมปศุสัตว์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 237-241.
- วิไล ลินจงสุขงค, อนุโรจน์ ภูศิริมงคล, สมเกียรติ เพชรวานิชกุล และ ร่มพฤษ อุดล. 2544. ศีรษะระดับแอนติบอดีที่ให้ความคุ้มโรคในโคและสุกร ภายหลังการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยโดยวิธี ลิวติเฟส บล็อกกิงอิลลา. รายงานฉบับพิเศษ การเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา. ปีที่ 7 ฉบับพิเศษ กันยายน 2544. กองควบคุมโรคระบาด. กรมปศุสัตว์. หน้า 2-11.
- วิไล ลินจงสุขงค. 2545. โรคปากและเท้าเปื่อย. ใน: เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานด้านสุขภาพสัตว์ 31 มีนาคม-6 เมษายน 2545. โรงแรมรอยัลซิดี กรุงเทพฯ กองผลิตชีวภัณฑ์ กรมปศุสัตว์.
- วันนีย์ กัลป์ประวิทย์. 2541. ระบาดวิทยาและการควบคุมโรคปากและเท้าเปื่อย. การประชุมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคปากและเท้าเปื่อย เขต 9 จ.สงขลา.
- สมเกียรติ เพชรวานิชกุล และ ลักษณะ นิลฉวี. 2542. เปรียบเทียบระดับแอนติบอดีของแพะอายุ 3 เดือน ที่ได้รับวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยในขนาดต่างกัน. วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 9. (1-2): 36-44.
- สมใจ ศรีหาทิม และ นพดล มีมาก. 2535. การวิเคราะห์ทางระบาดวิทยาโรคปากและเท้าเปื่อยโคกระบือในประเทศไทยและมาตรการป้องกันและควบคุมโรค. ศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. กรมปศุสัตว์. ขอนแก่น.
- สำนักงานคณะกรรมการกฤษฎีกา. 2558. พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ.2558. [Online]. Available: <http://aqi.dld.go.th/th/images/stories/document/act2558.pdf>. Accessed May 15, 2016.
- 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 General of Virology. 82: 747-755.
- Alexandersen, S., Zhang, Z., Donaldson, A.I. and Garland, A.J. 2003. The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. Journal of Comparative Pathology. 129: 1-36.
- Arzt, J., Baxt, B., Grubman, M.J., Jackson, T., Juleff, N. et al. 2011. The pathogenesis of foot-and-mouth disease II: viral pathways in swine, small ruminants, and wildlife; myotropism, chronic syndromes, and molecular virus-host interactions. Transbound Emerg Dis. 58: 305-326.
- Ashford, D.A. 2016. Overview of Foot-and-Mouth Disease Merck vet manual. [Online]. Available: <http://www.merckvetmanual.com/generalized-conditions/foot-and-mouth-disease/overview-of-foot-and-mouth-disease>. Accessed May 15, 2016.
- AUSVETPLAN. 2000. The Australian Veterinary Emergency Plan, Disease strategy, Foot-and-mouth Disease. Common wealth of Australia/States/Territories. [Online]. Available: [http:// www.aahc.com.au/ausvetplan/index.html](http://www.aahc.com.au/ausvetplan/index.html). Accessed May 15, 2016.

- AVIS, 2002. Foot and Mouth Disease. [Online]. Available: <http://www.aleffgroup.com/avisfmd>. Accessed May 15, 2016.
- Bachrach, H.L. 1968. Foot-and-Mouth Disease. In: Annual Reviews of Microbiologym, Clifton, C.E. (ed.). Ann. Reviews Inc. Palto Alto, Cal., 22: 201-244.
- Bannister, B. and Begg, N.T. 1990. Virus vaccines and antisera. In: Parker, M.T. and Collier, L.H. (ed.). Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology and immunity. B.C. Decker Inc., Philadelphia. 8th ed. 4: 186.
- Buenz, E.J. and Howe, C.L. 2006. Picornaviruses and cell death. Trends Microbiol. 14 (1): 28-36.
- Chaisrisongkram, W. 1993. An overview of Foot and mouth disease control in Thailand. ACIAR Proceeding. 51: 23-25.
- Clavijo, A., Wright, P. and Kitching, P. 2004. Developments in diagnostic techniques for differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease. Vet J. 167(1): 9-22.
- Donaldson, A.I. and Kitching, R.P. 1989. Transmission of foot-and-mouth disease by vaccinated cattle following natural challenge. Research in Veterinary Science. 46: 9-14.
- Donaldson, A.I. and Alexandersen, S. 2002. Predicting the spread of foot-and-mouth disease by airborne virus. Rev Sci Tech Off IntEpiz. 21(3): 569-575.
- Food and Agriculture Organization. (FAO). 2016. EuFMD-Real Time Training-Foot-and-Mouth Disease. [Online]. Available: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/Training/KenyaManualJan2016.pdf. Accessed May 15, 2016.
- Fracastorius, H. 1546. De sympathia et antipathiarerum liber unus. De contagione et contagiosis morbis et eorum curatione liber I, Venice, Heirs of L. A. Junta. In: Foot and Mouth Disease Virus, Mahy, B.W.J. (ed). Introduction and history of Foot-and-Mouth Disease Virus. Springer-Verlag. USA. CTMI (2005) 288:1-8. p. 2.
- Gale, P. 2002. Risk Assessement: Use of Composting and Biogas Treatment to Dispose of Catering Waste Containing Meat. Final Report to the Department for Environment, Food and Rural Affairs. UK.May 2002. [Online]. Available: <http://www.defra.gov.uk/animalh/by-prods/publicat/reports.pdf>. Accessed May 15, 2016.
- Ganter, M., Graunke, W.D., Steng, G. and Worbes, H. 2001. Foot and mouth disease in sheep and goats. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 108 (12): 499-503.
- Government Accountability Office. (GAO). 2002. Foot and Mouth Disease, To Protect U.S. Livestock, USDA Must Remain Vigilant and Resolve Outstanding Issues. GAO Report, Washington, D.C., GAO-02-808. 110p.
- Geering, W.A., Roeder, P.L. and Obi, T.U. 1999. Manual of the Preparation of National Animal Disease, Emergency Preparedness Plans. FAO, Rome. 91p.
- Grubman, M.J. and Baxt, B. 2004. Foot-and-mouth disease. Clinical Microbiology Review. 17(2): 465-493.

- Hammond, J.M. 2012. OIE/FAO FMD Reference Laboratory Network Annual Report 2011. [Online]. Available: http://www.wrlfmd.org/ref_labs/fmd_ref_lab_reports.htm. Accessed May 15, 2016.
- Hughes, G.J., Mioulet, V., Kitching, R.P., Woolhouse, M.E.J., Alexandersen, S. and Donaldson, A.I. 2002. Foot-and-mouth disease virus infection of sheep: implications for diagnosis and control. *Vet Rec.* 150:724-727.
- Jamal, S.M. and Belsham, G.J. 2013. Foot-and-mouth disease: past, present, and future. *Veterinary Research.* 44: 116.
- Jackson, T., King, A.M.Q., Stuart, D.I. and Fry, E. 2003. Structure and receptor binding. *Virus Res.* 91: 33-46.
- Kitching, R.P. 2002. Clinical variation in foot-and-mouth disease: Cattle. *Rev.Sci.Tech. Off.Int.Epiz.* 21(3): 499-504.
- Kitching, R.P. and Salt, J.S. 1995. The interference by maternal-derived antibody with active immunization of farm animals against foot-and-mouth disease. *Br Vet J.* 151: 379-389.
- Kowalski, W.J. and Bahnfleth, W.P. 1998. Airborne respiratory diseases and mechanical systems for control of microbes. [Online]. Available: <http://www.engr.psu.edu>. Accessed May 15, 2016.
- Loeffler, F. and Frosch, P. 1897. Summarischer Bericht über die Ergebnisse der Untersuchungen zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche. *Zentbl. Bakteriол. Parasitenkd. Abt. I* 22: 257-259. In: Foot and Mouth Disease Virus, Mahy, B.W.J. (ed). Introduction and history of Foot-and-Mouth Disease Virus. (Abstract) Springer-Verlag. USA. CTMI (2005) 288:1-8. p. 2.
- Mason, P.W., Rieder, E. and Baxt, B. 1994. RGD sequence of foot-and-mouth disease virus is essential for infecting cells via the natural receptor but can be bypassed by an antibody dependent enhancement pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 1932-1936.
- Mann, J.A. and Sellers, R.F. 1989. Foot-and-mouth disease virus. In: M.B. Pensaert (ed.). *Virus infections of Porcines.* Elsevier, Amsterdam. p. 251-258.
- Mann, J.A. and Sellers, R.F. 1990. Foot-and-mouth disease virus. In: Z. Dinter and B. Morein (ed.). *Virus infections of Ruminants.* Elsevier, Amsterdam. p. 503-512.
- McKenna, T.S., Lubroth, J., Rieder, E., Baxt, B. and Mason, P.W. 1995. Receptor-binding site deleted foot-and-mouth disease (FMD) virus protects cattle from FMD. *J. Virol.* 69: 5787-5790.
- Murphy, C., Bashiruddin, J.B., Quan, M., Zhang, Z. and Alexandersen, S. 2010. Foot-and-mouth disease viral loads in pigs in the early, acute stage of disease. *Vet. Rec.* 166: 10-14.
- Office International des Epizooties. (OIE). 2011. Terrestrial Animal Health Code. Chapter 8.5. FOOT AND MOUTH DISEASE. [Online]. Available: http://www.oie.int/eng/A_FMD2012/docs/en_chapitre_1.8.5.pdf. Accessed June 15, 2016.

- Office International des Epizooties. (OIE). 2013. Foot and Mouth Disease. [Online]. Available:http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/FOOT_AND_MOUTH_DISEASE.pdf. Accessed May 15, 2016.
- Pharo, H.J. 2002. Foot-and-mouth disease: an assessment of the risks facing New Zealand. *N Z Vet J.* 50(2): 46-55.
- Salt, J.S. 1993. The carrier state in foot-and-mouth disease-An immunological review. *Br Vet J.* 149: 207-223.
- Sattar, S.A., Bhardwaj, N. and Ijaz, M.K. 1997. Chapter 3.2.7: Airborne viruses. In: C.J. Hurst. *Manual of Environmental Microbiology*. 4th (ed.). American Society for Microbiology Press, Washington D.C. p. 682-689.
- Sellers, R.F. 1971. Quantitative aspects of the spread of foot- and -mouth disease. *Vet Bulletin.* 41: 431-439.
- Smith, M.C. and Sherman, D.M. 1994. *Goat Medicine*. Lea & Febiger, Philadelphia. p. 81-82.
- Stetzenbach, L. 1997. Introduction to aerobiology. In: C.J. Hurst. *Manual of Environmental Microbiology*. ASM Press, Washington D.C. p. 619-624.
- Sutmoller, P., Barteling S.S., Olascoaga R.C. and Sumption, K.J. 2003. Control and eradication of foot-and-mouth disease. *Virus research.* 91 (1): 101-44.
- Sutmoller, P., McVicar J.W. and Cottral, G.E. 1968. The epizootiological importance of foot-and-mouth disease carriers. I. Experimentally produced foot-and-mouth disease carriers in susceptible and immune cattle. *Arch fur ges Virusforsch.* 23: 227-235.
- Thomson, G.R., Vosloo, W. and Bastos, A.D. 2003. Foot and mouth disease in wildlife. *Virus Res.* 91: 145-161.
- Watkins, R. 2001. Vaccination against viral disease as applied to foot-and-mouth disease. ELM farm research center. [Online]. Available: <http://www.pighealth.com>. Accessed May 15, 2016.
- Woodbury, E.L. 1995. A review of the possible mechanisms for the persistence of foot-and-mouth disease virus. *Epidemiol Infect.* 114: 1-13.



ชื่อหนังสือ: โรคปากและเท้าเปื่อยและการเก็บ-ส่งตัวอย่างขั้นสุด
 ทะเบียนผลงานวิชาการ หมายเลขที่: 60 (2) - 0115 - 055