

โรควัณโรคในกระบือปลัก ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย

อุดม เจือจันทร์* อรุณพรพรณ ดุงสูงเนิน บพิธ ปุยะติ สัทธิกร อุทรวงษ์

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ต.นาบัว อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

*ผู้รับผิดชอบ: โทรศัพท์ 0-4454-6104 โทรสาร 0-4454-6147 e-mail:udomc@dld.go.th

บทคัดย่อ

โรควัณโรคในโคกระบือ (Bovine tuberculosis) มีสาเหตุหลักจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium bovis* ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถติดต่อถึงคนได้ ปัจจุบันการทดสอบโรคนี้ในสัตว์มีชีวิตใช้วิธีการทดสอบทางผิวหนังซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน ทำการทดสอบโรควัณโรคในกระบือปลักในฟาร์มแห่งหนึ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ซึ่งพบโรคอยู่ก่อนด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนังบริเวณโคนหาง จำนวนรวมทั้งสิ้น 1,633 ตัวอย่าง ติดต่อกัน 6 ครั้ง ทุก 4-6 เดือน แล้วทำลายตัวที่ให้ผลบวกแต่ละรอบการทดสอบ จำนวน 49/321(15.3%), 26/242(10.7%), 13/225(5.8%), 6/249(2.4%), 14/285(4.9%) และ 3/311(0.9%) ตัว ตามลำดับ โดยพบให้ผลบวกมากที่สุดในช่วงอายุมากกว่า 3 – 6 ปี (30.5%), รองลงมาคือมากกว่า 6 ปีขึ้นไป (26.8%) และพบน้อยที่สุดช่วงอายุ 8 เดือน -3 ปี (21.9%) เมื่อผ่าซากกระบือที่ให้ผลบวกจากการทดสอบทางผิวหนังจำนวน 72 ตัว พบรอยโรคทูเบอร์เคิลเมื่อดูด้วยตาเปล่าซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา คิดเป็น 40.3% โดยพบรอยโรคสูงสุดในช่วงอายุมากกว่า 6 ปีขึ้นไป (54.5%) และพบมากที่สุดที่ปอด ตับและต่อมน้ำเหลืองที่ช่องอก ต่อมน้ำเหลืองที่ช่องท้อง และไต ตามลำดับ แต่การตรวจสไลด์ป้ายอวัยวะสดย้อมสี acid fast stain พบเชื้อ acid fast bacilli 7/72 (9.7%) จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการทดสอบโรควัณโรคในกระบือมีชีวิตด้วยการทดสอบทางผิวหนังแล้วดำเนินการทำลายสัตว์นั้นสามารถลดการเกิดโรคแต่ยังไม่สามารถทำให้ฟาร์มกระบือปลอดจากโรควัณโรคได้ในระยะเวลาอันสั้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาการชันสูตรโรคด้วยวิธีอื่นๆ ที่ให้ผลแม่นยำ และรวดเร็วยิ่งขึ้นต่อไป

คำสำคัญ : วัณโรค, กระบือปลัก, วิธีทดสอบทางผิวหนัง, รอยโรค, แบคทีเรียทубerkulosis

บทนำ

วัณโรคในโคกระบือ (Bovine tuberculosis) มีสาเหตุหลักเกิดจากการติดเชื้อ *Mycobacterium bovis* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ย้อมติดสัตว์ที่คนสามารถติดต่อสู่คนได้ (zoonotic organism) โดยเฉพาะบุคคลที่ทำงานเกี่ยวข้องกับสัตว์ เช่น คนงานในโรงฆ่าสัตว์ คนงานรีดนม-โรงนม เป็นต้น โคถือเป็นโฮสต์จริง (true host) ของเชื้อนี้ แต่สามารถพบการติดเชื้อได้ในสัตว์อื่นๆ เช่น กระบือ กระตัง แพะ แกะ ม้า อูฐ สุกร กวาง สุนัข แมว หนู และสัตว์ป่าอื่นๆ เช่น ลิง ช้าง พังพอน เสือ สิงโต เป็นต้น (de Lisle et al., 2002) ส่วนใหญ่พบอาการของโรคแบบเรื้อรังแต่อาจพบลักษณะเฉียบพลันมีอาการรุนแรงได้บ้าง อาการที่พบในสัตว์ เช่น ผอม อ่อนแรง ความอยากอาหารลดลง ไอ มีไข้ขึ้น-ลง หายใจลำบาก และพบต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ โรคที่สำคัญคือพบเป็นตุ่มที่มีลักษณะเฉพาะที่เรียกว่า tubercle มีขนาดต่างๆ กัน ภายในตรงกลางมีลักษณะเหลวคล้ายเนยมีสีเหลืองเรียกว่า caseous mass ในกรณีที่เป็นโรคเรื้อรังจะพบการสะสมของแคลเซียม caseous mass จะถูกล้อมรอบด้วย fibrous connective tissue และเซลล์เม็ดเลือดขาว เช่น epithelioid cell, macrophage, lymphocyte และ Langhan's giant cell มักพบรอยโรคที่ต่อมน้ำเหลืองบริเวณหัวและช่องอก ปอด ตับ เยื่อหุ้มปอด ม้าม เยื่อหุ้มช่องท้อง และลำไส้ (Jones and Hunt, 1972)

โดยทั่วไปการทดสอบโรคในสัตว์มีชีวิตนิยมใช้วิธีการทดสอบโรคทางผิวหนัง (single intradermal test, SID) เนื่องจากโรคนี้ทำให้สัตว์เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ได้โดยการฉีดแอนติเจน เช่น bovine tuberculin เข้าในผิวหนังและอ่านผลการทดสอบหลังฉีด 3 วัน (72 ชั่วโมง) วิธีนี้เป็นวิธีมาตรฐานสากลที่นิยมใช้ในการรับรองการตรวจโรควัณโรค เพื่อคัดสรรโรควัณโรคในโคและกระบือมีชีวิต (OIE, 2008) ปัจจุบันนิยมใช้ tuberculin purified protein derivative (PPD) เนื่องจากมีความจำเพาะ (specificity) มากกว่าและมีการผลิตจำหน่ายอย่างแพร่หลายในหลายบริษัท สำหรับตำแหน่งที่ทดสอบโดยทั่วไปนิยมใช้บริเวณกลางแผงคอ (mid-neck) แต่สามารถใช้บริเวณโคนหาง (caudal fold of the tail) ก็ได้ การตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการที่เป็นมาตรฐานได้แก่การเพาะเลี้ยงเชื้อ *M. bovis* แต่ใช้ระยะเวลานาน 6-8 สัปดาห์

ในช่วงเดือนมิถุนายน 2550 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ.2551 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างได้ตรวจกระบือที่มีการป่วยและตาย พบรอยโรคของโรควัณโรค จำนวน 14 ตัว จาก 21 ตัว (67%) และชันสูตรยืนยันโรคพบเชื้อ *M. bovis* ด้วยวิธีเพาะเชื้อ จึงทำการศึกษาในกระบือที่เหลืออยู่ในฝูง ด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนัง ทำลายตัวที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบและศึกษารอยโรคเพื่อสรุปหาวิธีการชันสูตรยืนยันโรควัณโรคในกระบือให้ได้ผลรวดเร็วและแม่นยำ ซึ่งผลจากการศึกษานี้นำมาใช้อ้างอิงและเป็นแนวทางในการวางแผนการกำจัดโรคให้หมดไปจากฝูงดังกล่าวให้ได้ในเวลาอันรวดเร็วต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ประวัติสัตว์ป่วย ผูกกระป๋องในฟาร์มแห่งหนึ่งในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มีประวัติป่วยและตายด้วยโรคฉี่หนู โดยแสดงอาการผอม อ่อนแรง ความอยากอาหารลดลง ไอ มีไข้ขึ้น-ลง หายใจลำบาก (ภาพที่ 1) ดังนั้น ระหว่างเดือนมีนาคม 2551 ถึงเดือนมีนาคม 2553 จึงทำการทดสอบโรคฉี่หนูตามโปรแกรม จำนวน 6 ครั้ง ทุก 4-6 เดือน จำนวนทั้งสิ้น 1,632 ตัวอย่าง โดยทำการตรวจและทดสอบ ดังนี้

การทดสอบทางผิวหนัง ก่อนการทดสอบวัดความหนาของผิวหนังโคนหางข้างขวาบริเวณที่จะทำการทดสอบ และใช้สำลิจับน้ำเปล่าเช็ดผิวหนังบริเวณที่จะทำการทดสอบแทนการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ เช่น แอลกอฮอล์ เนื่องจากอาจมีผลต่อการทดสอบ (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2547) ฉีด PPD เข้าใต้หนัง (ภาพที่ 2) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร (2,000 I.U.) จากนั้นอ่านผลหลังจากฉีด 72 ชั่วโมง และทำการวัดด้วยเวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ (vernier caliper) (ภาพที่ 3) ดูผลต่างที่วัดได้จากตำแหน่งที่ฉีดบริเวณโคนหางก่อนและหลังฉีดเปรียบเทียบกัน โดยตัดสินดังนี้

- ผลลบ (negative) : ไม่มีลักษณะการบวมและผลต่างน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร
- ผลสงสัย (inconclusive) : มีลักษณะการบวมและผลต่างอยู่ระหว่าง 2-4 มิลลิเมตร
- ผลบวก (positive) : มีลักษณะการบวมและผลต่างมากกว่า 4 มิลลิเมตร

กระป๋องที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกให้แยกออกมากักไว้ต่างหาก และทำลายสัตว์ด้วยการทำเมตาซามาตโดยการให้ยาซึมและสารละลายอิมัลชัน $MgSO_4$ เข้าทางหลอดเลือดดำ (ภาพที่ 5) ส่วนโคที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบหรือสงสัยจะถูกทดสอบซ้ำในรอบถัดไป

การตรวจทางพยาธิวิทยา ทำการผ่าซากสัตว์ที่ถูกเมตาซามาตจำนวน 72 ตัว ตรวจดูรอยโรคด้วยตาเปล่า บันทึกข้อมูลพร้อมเก็บตัวอย่างอวัยวะสดเพื่อตรวจทางแบคทีเรียวิทยาและอวัยวะแช่ใน 10% buffered formalin เพื่อนำไปทำสไลด์เนื้อเยื่อ (Luna, 1968) และย้อมด้วยสี hematoxylin & eosin (HE) นำมาตรวจทางจุลพยาธิวิทยาโดยการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

การตรวจทางแบคทีเรียวิทยา ทำการป้ายอวัยวะสด ได้แก่ ปอด ต่อมมน้ำเหลืองช่องอกและช่องท้อง และตับ ลงบนแผ่นสไลด์นำมาย้อมสีพิเศษ acid-fast stain ตามวิธีการ Zeehl-Neilsen method แล้วนำมาส่องดูเชื้อแบคทีเรียทึบกรดลักษณะเป็น acid-fast bacilli ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

ผล

การทดสอบโรคทางผิวหนัง

การทดสอบโรคในสัตว์มีชีวิตด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนังบริเวณโคนหาง ในกระป๋องที่ให้ผลบวก พบผิวหนังบริเวณทดสอบจะบวม (ภาพที่ 4) โดยมีผลต่างความหนาของผิวหนังระหว่างก่อนและหลังฉีด มากกว่า 4 มิลลิเมตร และผลทดสอบจำนวน 6 ครั้ง เป็น 15.3, 10.7, 5.8, 2.4, 4.9 และ 0.9% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เมื่อจำแนกตามอายุพบว่าช่วงที่พบมากที่สุดคือช่วงอายุมากกว่า 3-6 ปี (30.5%) รองลงมาคือ มากกว่า 6 ปีขึ้นไป (26.8%) และพบน้อยที่สุดช่วงอายุ 8 เดือน-3 ปี (21.9%) ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบโรคด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนังบริเวณโคนหาง

ครั้งที่	จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลการทดสอบด้วยวิธีทางผิวหนังบริเวณโคนหาง			
	บวก (%)	สงสัย (%)	ลบ (%)	รวม
1	49 (15.3)	0 (0.0)	272 (84.7)	321
2	26 (10.7)	16 (6.6)	200 (82.7)	242
3	13 (5.8)	34 (15.1)	178 (79.1)	225
4	6 (2.4)	53 (21.3)	190 (76.3)	249
5	14 (4.9)	19 (6.6)	252 (88.5)	285
6	3 (0.9)	43 (13.8)	265 (85.2)	311
รวม	111 (6.8)	165 (10.1)	1,357 (83.1)	1,633

หมายเหตุ ตัวที่ให้ผลสงสัยและลบในครั้งแรกจะได้รับการทดสอบซ้ำในครั้งที่สอง
 ตัวที่ให้ผลสงสัยและลบในครั้งที่สองจะได้รับการทดสอบซ้ำในครั้งที่สาม
 ตัวที่ให้ผลสงสัยและลบในครั้งที่สามจะได้รับการทดสอบซ้ำในครั้งที่สี่
 ตัวที่ให้ผลสงสัยและลบในครั้งที่สี่จะได้รับการทดสอบซ้ำในครั้งที่ห้า
 ตัวที่ให้ผลสงสัยและลบในครั้งที่ห้าจะได้รับการทดสอบซ้ำในครั้งที่หก
 เนื่องจากการทดสอบโรคหกรั้ว ดังนั้น ตัวเลขในตารางแสดงถึงจำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ
 ทั้งหมดซึ่งไม่เท่ากับจำนวนตัวสัตว์ในฝูง และมีการเคลื่อนย้ายสัตว์เข้า-ออก

ตารางที่ 2 ผลบวกจากการทดสอบด้วยวิธีทางผิวหนังแยกตามอายุ

ช่วงอายุ	ผลการทดสอบโรค		
	จำนวนที่ทดสอบ (ตัว)	จำนวนที่ให้ผลบวก (ตัว)	%
8 เดือน – 3 ปี	191	42	21.9
> 3 – 6 ปี	131	40	30.5
> 6 ปีขึ้นไป	112	30	26.8
รวมทุกอายุ	434	111	25.6

หมายเหตุ ผลรวมจำนวนกระป๋องไม่สัมพันธ์กับตารางที่ 1 เนื่องจากมีการเคลื่อนย้ายสัตว์เข้าออก

การตรวจทางพยาธิวิทยา

กระป๋องที่ทำการผ่าซาก จำนวน 72 ตัว เมื่อดูด้วยตาเปล่าพบรอยโรค tubercle 29 ตัว (40.3%) ขนาดตั้งแต่ 0.2-15 เซนติเมตร (ภาพที่ 6) โดยพบที่ปอด (27.8%) มากที่สุดทุกช่วงอายุ ตับ (13.9%) ต่อม น้ำเหลืองในช่องอก (12.5%) ต่อม น้ำเหลืองในช่องท้อง (5.5%) และไต (2.8%) ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา โดยพบรอยโรค tuberculous granuloma ซึ่งพบ caseous mass ในบริเวณตรงกลาง ล้อมรอบด้วย epithelioid cells lymphocyte และ Langhans' giant cell (ภาพที่ 7) ล้อมรอบด้วย connective tissue บาง tubercle พบลักษณะ calcification ด้วย เมื่อจำแนกตามอายุ พบว่าช่วงที่พบมากที่สุดคือ อายุมากกว่า 6 ปีขึ้นไป (54.5%) และช่วงอายุ 3-6 ปี (45.5%) และช่วงอายุ 8 เดือน-3 ปี (30.8%) พบน้อยที่สุด (ตารางที่ 3)

การตรวจทางแบคทีเรียวิทยา พบเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งย้อมติดสีทนกรด (acid-fast bacilli) (ภาพที่ 8) จำนวน 7 ตัว (9.7%) เท่านั้น

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ของอายุกระป๋องและตำแหน่งที่พบรอยโรคของโรควัณโรค

ตำแหน่งรอยโรค	จำนวนกระป๋องที่พบรอยโรคแต่ละช่วงอายุ			
	8 เดือน – 3 ปี	>3 – 6 ปี	>6 ปีขึ้นไป	รวม
พบรอยโรค	12/39 (30.8%)	5/11 (45.5%)	12/22 (54.5%)	29/72 (40.3%)
-ปอด	6	5	9	20/72 (27.8%)
-ตับ	4	2	4	10/72 (13.9%)
-ต่อมน้ำเหลืองในช่องอก	4	1	4	9/72 (12.5%)
-ต่อมน้ำเหลืองในช่องท้อง	1	1	2	4/72 (5.5%)
-ไต	0	1	1	2/72 (2.8%)
ไม่พบรอยโรค	27/39 (69.2)	6/11 (54.5%)	10/22 (45.5%)	43/72 (59.7%)

วิจารณ์

จากการทดสอบโรควัณโรคในกระบือปลักด้วยวิธีทางผิวหนังบริเวณโคนหาง จำนวน 6 ครั้ง จำนวน 321, 242, 225, 249, 285 และ 311 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบกระบือให้ผลบวกลดลงจาก 49 (15.3%) เหลือ 26 (10.7%), 13 (5.8%), 6 (2.4%), 14 (4.9%) และ 3 (0.9%) ตัวอย่าง ตามลำดับ แสดงว่าสัตว์ที่ติดเชื้อมีจำนวนลดลงแต่ฟาร์มยังไม่ปลอดจากโรค นอกจากนี้กระบือที่ให้ผลลบต่อวิธีทดสอบทางผิวหนังแสดงอาการป่วยภายหลังการทดสอบประมาณ 1-2 เดือน แล้วตายด้วยโรควัณโรคในระยะเรื้อรัง (chronic stage) นับเป็นข้อจำกัดของวิธีทดสอบทางผิวหนังที่ไม่สามารถตรวจพบโรคในกรณีเรื้อรัง (chronic stage) หรือระยะติดเชื้อเริ่มต้น (early infection) (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2547; Office International des Epizooties, 2008; Doherty and Cassidy, 2002) ซึ่งในกรณีที่ติดเชื้อมีระยะเริ่มต้นเมื่อมีการทดสอบรอบต่อไป โรคได้ดำเนินไปจนสามารถตรวจพบได้โดยวิธีทางผิวหนัง จึงเป็นเหตุผลว่าเมื่อพบผลบวกด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนัง จากนั้นทำการคัดสัตว์ทิ้ง แต่ในรอบต่อมายังพบผลบวกอยู่ ช่วงอายุที่พบให้ผลบวกต่อโรควัณโรคมากที่สุด คืออายุมากกว่า 3-6 ปี 30.5% รองลงมา คือ อายุมากกว่า 6 ปีขึ้นไป (26.8%) และ 8 เดือน - 3 ปี พบน้อยที่สุด (21.9%) (ตารางที่ 2) เนื่องจากข้อจำกัดของวิธีทดสอบทางผิวหนังไม่สามารถตรวจพบในระยะเรื้อรังและในระยะแรกของการติดเชื้อดังกล่าวมาแล้ว

ตัวที่ให้ผลบวกเมื่อดำเนินการทำลายและผ่าซากเก็บตัวอย่างมาศึกษาทางห้องปฏิบัติการพบรอยโรคของโรควัณโรคและสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา จำนวน 29/72 (40.3%) ตัว (ตารางที่ 3) โดยตำแหน่งที่พบรอยโรคลักษณะ tubercle ได้มากที่สุด ได้แก่ ปอด รองลงมาคือ ตับ ต่อม น้ำเหลืองบริเวณช่องอก ต่อม น้ำเหลืองบริเวณช่องท้อง และไต ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Corner (1994) และ Whipple *et al.* (1996) ซึ่งเป็นการบ่งบอกว่าการติดต่อของโรคนี้ส่วนใหญ่ติดมาทางระบบทางเดินหายใจ (Jones and Hunt, 1972) เมื่อพิจารณาจากอายุของกระบือที่พบรอยโรค ใน การศึกษานี้ พบว่า กระบืออายุมากกว่า 6 ปี ขึ้นไป ตรวจพบรอยโรคของวัณโรคที่อวัยวะต่างๆ มากกว่าช่วงอายุอื่น เพราะกระบืออายุมากมีโอกาสรับเชื้อมานานกว่า จึงก่อให้เกิดพยาธิสภาพมากกว่ากลุ่มที่มีอายุน้อย (Doherty and Cassidy, 2002)

การตรวจทางแบคทีเรียวิทยาพบ acid fast bacilli เพียง 7/72 (9.8%) เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากตำแหน่งที่เลือกมาย้อมสีไม่มีเชื้อ acid fast bacilli อยู่ ซึ่งเชื้อมักพบอยู่บริเวณขอบของก้อน tubercle หรืออาจเกิดจากระยะของโรค เทคนิคและประสบการณ์ของเจ้าหน้าที่ ดังนั้นควรพัฒนาการตรวจยืนยันเชื้อโดยการเพาะแยกในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นวิธียืนยันผลมาตรฐาน (OIE, 2008) หรือการทดสอบทางอณูชีววิทยา (PCR) เพื่อยืนยันผลการตรวจพบรอยโรคด้วยตาเปล่าว่าก้อน tubercle มีสาเหตุจาก *M. bovis* รวมถึงเป็นการยืนยันในกรณีกระบือที่ผ่าซากแล้วไม่พบรอยโรค (Gavier-Widén *et al.*, 2009)

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้วิธีตัดสินโรควัณโรคในกระบือมีชีวิตด้วยการทดสอบทางผิวหนังบริเวณโคนหาง ทุก 4-6 เดือน แล้วดำเนินการทำลายสัตว์ที่ให้ผลบวกสามารถลดการเกิดโรคได้ดีแต่ไม่สามารถทำให้ฟาร์มกระบือปลอดจากโรคดังกล่าวได้ในเวลาอันรวดเร็ว และยังพบว่าข้อจำกัดของวิธีดังกล่าวที่ไม่สามารถตรวจโรควัณโรคในกรณีที่เป็นโรคระยะเรื้อรังและที่ติดเชื้อมาระยะเริ่มต้นได้ จึงพบกระบือที่ให้ผลลบ อย่างไรก็ตาม ในรายที่เป็นโรคระยะเรื้อรัง สัตว์จะแสดงอาการป่วยและตายด้วยโรควัณโรคภายใน 1-2 เดือน ส่วนในรายที่ติดเชื้อมาระยะเริ่มต้น สามารถให้ผลบวกได้เมื่อทำการทดสอบซ้ำทุก 4-6 เดือน ในรอบถัดไป นับว่า การทดสอบทางผิวหนังบริเวณโคนหาง ทุก 4-6 เดือน ยังเป็นวิธีที่สามารถใช้ได้ผลดีและน่าเชื่อถือในการตัดสินโรควัณโรคในกระบือมีชีวิต นอกจากนี้ ควรศึกษาหาวิธีทดสอบเพิ่มเติมเพื่อใช้ตรวจสัตว์มีชีวิตควบคู่ไปกับการทดสอบทางผิวหนังด้วย เช่น การตรวจตัวอย่างเลือด ได้แก่ วิธี Gamma-interferon assay ที่นำมาใช้ในหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ไอร์แลนด์ บราซิล โรมาเนีย สเปน อิตาลี และสหรัฐอเมริกา (Wood and Jones, 2001; Gormley *et al.*, 2006; Buddle *et al.*, 2009) รวมถึงวิธีการทดสอบทางอนุชีววิทยา (Taylor *et al.*, 2007; Cardoso *et al.*, 2009) เพื่อให้สามารถค้นหากระบือที่ติดเชื้อและเป็นตัวอมโรคให้ได้แม่นยำและดำเนินการกำจัดออกจากฝูงในระยะเวลาอันสั้น นอกจากนี้การกำจัดโรควัณโรคออกจากฝูงโดยการทดสอบโรคและคัดทิ้งอย่างเดียวนั้นเป็นเพียงการกำจัดตัวที่มีเชื้อออกจากฝูงเท่านั้น เชื้อที่ปนเปื้อนอยู่ในฟาร์มและสิ่งแวดล้อมต้องได้รับการกำจัดให้หมดไปด้วยโดยการฆ่าเชื้ออย่างสม่ำเสมอต่อเนื่อง จึงจะสามารถปลอดจากโรคได้ การจัดการที่ดีจะช่วยลดความเสี่ยงในการสัมผัสเชื้อและกระจายไปยังฟาร์มอื่นและควรงดการแลกเปลี่ยนและหมุนเวียนกระบือระหว่างฟาร์มเครือข่ายด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าของฟาร์มที่อำนวยความสะดวกในการทดสอบโรคและเก็บตัวอย่างในกระบือ สพ.ญ.ลัดดา ตรวงศา และ น.สพ.ดร.วงศ์อนันต์ ณรงค์วานิชการ ที่ช่วยให้คำแนะนำแก้ไขเอกสารจนสมบูรณ์ น.สพ.บงกช บัญดาราชภูริ คุณสุรบุญญา อิมใจ คุณสมพร เพร็ดพรว และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการปฏิบัติงานทั้งภาคสนาม และในห้องปฏิบัติการทำให้ผลงานฉบับนี้สำเร็จลงได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

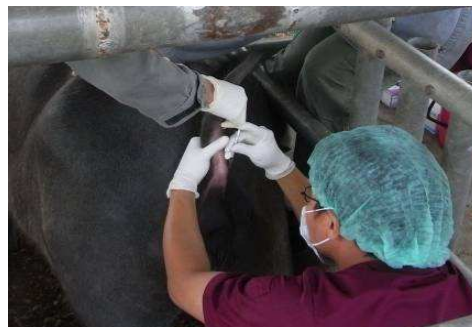
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. การชันสูตรโรควัณโรคในโคและกระบือ. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกอช. 10001-2547. 8 หน้า.
- Buddle, B.M., Livingstone, P.G. and de Lisle, G.W. 2009. Advances in ante-mortem diagnosis of tuberculosis in cattle. N Z Vet J. 57(4): 173 - 180.

- Cardoso, M.A., Cardoso, R.F., Hirata, R.D., Hirata, M.H., Leite, C.Q., Santos, A.C. and Siqueira, V.L. 2009. Direct detection of *Mycobacterium bovis* in bovine lymph nodes by PCR. *Zoonoses Public Health*. 56(8): 465 - 470.
- Corner, L.A. 1994. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Vet Microbiol*. 40(1-2): 53 - 63.
- de Lisle, G.W., Bengis, R.G., Schmitt, S.M. and O'Brien, D.J. 2002. Tuberculosis in free-ranging wildlife: detection, diagnosis and management. *Rev Sci Tech*. 21(2): 317 - 334.
- Doherty, M. L. and Cassidy, J.P. 2002. New perspectives on bovine tuberculosis. *Vet. J*. 163: 109 – 110.
- Gavier-Widén, D., Cooke, M.M., Gallagher, J., Chambers, M.A. and Gortázar, C. 2009. A review of infection of wildlife hosts with *Mycobacterium bovis* and the diagnostic difficulties of the 'no visible lesion' presentation. *New Zealand Vet. J*. 57(3): 122 - 131.
- Gormley, E., Doyle, M.B., Fitzsimons, T., McGill, K. and Collins, J.D. 2006. Diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection In cattle by use of the gamma-interferon(Bovigam) assay. *Vet. Microbiol*. 112 (2-4): 171 - 179.
- Jones, T.C. and Hunt, R.D. 1972. Tuberculosis. In: *Veterinary Pathology*. 4th Edition, Lea & Febriger, Philadelphia, U.S.A. p. 648 - 661.
- Luna, L.G. 1968. Manual of histologic staining method of the Arm Forces Institute of pathology. 3rd edition, Mc – Graw – Hill Book company, New York, U.S.A. p. 207 – 235.
- Office International des Epizooties (OIE). 2008. In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)*, 6th Edition, 12 rue de Prony, 75017 Paris, France. p. 77-92.
- Taylor, G.M., Worth, D.R., Palmer, S., Jahans, K. and Hewinson, R.G. 2007. Rapid detection of *Mycobacterium bovis* DNA in cattle lymph nodes with visible lesions using PCR. *BMC Vet. Res*. 3: 12.
- Whipple, D.L., Bolin, C.A. and Miller, J.M. 1996. Distribution of lesions in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *J. Vet. Diagn. Invest*. 8(3): 351 - 354.
- Wood, P.R. and Jones, S.L. 2001. BOVIGAM: an in vitro cellular diagnostic test for bovine tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 81(1-2): 147 -155.

ภาคผนวก



ภาพที่ 1: อาการแบบเรื้อรัง ผอม หายใจลำบาก



ภาพที่ 2: การฉีด tuberculin purified protein derivative ที่โคนหางข้างขวา



ภาพที่ 3: การวัดขนาดการบวมของ caudal fold



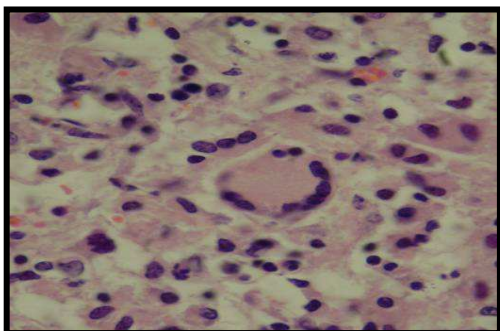
ภาพที่ 4: การบวมจากการฉีด tuberculin purified protein derivative ที่โคนหาง



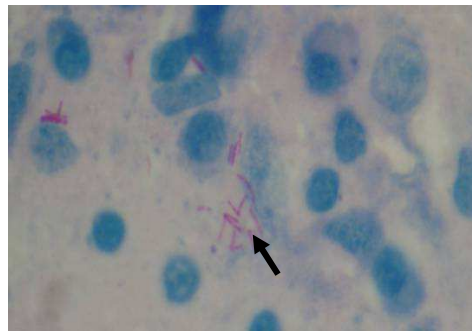
ภาพที่ 5: การทำเมตาดาตด้วยยาซึม และสารละลายย้อมตัว $MgSO_4$



ภาพที่ 6: ลักษณะเม็ดตุ่ม Tubercle กระจายที่ปอด และพบ caseous mass อยู่ภายใน



ภาพที่ 7: Langhans' giant cell ที่ก้อน tubercle HE, X40



ภาพที่ 8: เชื้อ *M. bovis* (ครี) จากการย้อม acid fast stain X100

Bovine tuberculosis in swamp buffaloes in Lower-Northeastern region, Thailand

Udom Chuachan^{*} Aroonpan Doongsoongnern Bopit Puyati Siitikorn Utarang

Veterinary Research and Development Center (Lower Northeastern Region), Surin, Thailand

^{*}corresponding author; tel. 0-4454-6104, FAX. 0-4454-6147, e-mail:udomc@dld.go.th

Abstract

Bovine tuberculosis is mainly caused by bacteria that can transmit to human named *Mycobacterium bovis*. At present, intradermal skin test is the standard method for bovine tuberculosis diagnosis. Swamp buffaloes in infected herd in lower northeastern region were tested 6 times for 4-6 months interval by single caudal fold intradermal skin (SID) test. Totally 1,633 samples were performed and the result revealed positive 49/321(15.3%), 26/242(10.7%), 13/225(5.8%), 6/249(2.4%), 14/285(4.9%) and 3/311(0.9%), respectively. The reactors finally were culled. The reactors were found in > 3 - 6 years of age (30.5%), > 6 years of age (26.8%) and 8 months - 3 years of age (21.9%). The postmortem examinations were conducted on 72 heads out of 110 reactor animals to determine the distribution of lesions, histopathological changes and stamp smear for acid fast bacilli staining. In gross lesion, tubercles were found in 29/72 reactors (40.3%) which compatible with histopathological changes. The lesion were mostly found in > 6 years of age (54.5%) which localized within lung, liver, thoracic lymph nodes, abdominal lymph nodes and kidney, respectively. Only 7/72 (9.7%) of fresh smear was positive by Acid fast bacilli staining. In this study, the results indicated that SID can reduce the incidence but cannot eliminate tuberculosis in infected herd rapidly. Another diagnostic procedure should thus be sought for more accurate and rapid diagnosis.

Key words : bovine tuberculosis, swamp buffaloes, intradermal skin test, gross and histopathological lesion, acid fast bacilli