

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญในประเทศไทย

(Important zoonotic disease in Thailand)

สมชัย เจียมพิทยานุวัฒน์

มณฑกานดี จิระนันท์

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญในประเทศไทย

สมชัย เจริญพิทยานุวัฒน์* มณฑกานต์ จิระพันธ์

บทคัดย่อ

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญเป็นโรคที่ทำให้เกิดการติดต่อระหว่างสัตว์และคน พบได้ทั่วโลก และก่อให้เกิดความสูญเสียในรูปแบบต่าง ๆ ทั้งในด้านสาธารณสุขและทางเศรษฐกิจ เนื่องจากโลกาภิวัตน์ ทำให้โรคติดต่อระหว่างคนและสัตว์ที่สำคัญจากต่างประเทศสามารถเข้ามาระบาดในประเทศไทยได้อย่างรวดเร็วและกว้างขวาง ซึ่งมีทั้งโรคที่เริ่มมีการเกิดโรคอย่างประปราย และโรคที่ยังไม่เข้ามาระบาดภายในประเทศแต่มีความเป็นไปได้ที่จะเข้ามาระบาดในประเทศ ดังนั้นบุคลากรที่ทำงานในด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ผู้ที่ทำงานในการควบคุมและป้องกันโรค เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ ผู้ที่ทำงานในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนผู้บริโภค จึงควรมีความรู้ในเรื่องต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับโรคดังกล่าว คณะผู้จัดทำจึงได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับโรคติดต่อระหว่างคนและสัตว์ที่สำคัญที่พบในประเทศไทย ประกอบไปด้วย โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อปรสิต จากเอกสารทั้งในและต่างประเทศ นำมาเรียบเรียงองค์ความรู้เกี่ยวกับโรคเหล่านี้จำแนกตามชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค โดยหัวข้อของแต่ละโรคประกอบไปด้วย อาการทางคลินิก การวินิจฉัยโรค การรักษา การควบคุม การป้องกัน และขั้นตอนการตรวจโรคทางห้องปฏิบัติการ คู่มือโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญในประเทศไทยฉบับนี้ได้จัดทำขึ้นเพื่อให้ผู้สนใจสามารถนำความรู้ไปใช้เป็นแนวทางการตรวจวินิจฉัยและควบคุมป้องกันโรค ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการ ลดอัตราป่วยและอัตรามรณะของสัตว์และคน จากโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญได้

คำสำคัญ: โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน โรคทางไวรัส โรคทางแบคทีเรีย โรคทางปรสิต ประเทศไทย

ทะเบียนวิชาการเลขที่: 65 (2)-0115-069

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ 50/2 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

*ผู้เขียน/ผู้รับผิดชอบ โทรศัพท์ 0-2579-8908-14 โทรสาร 0-2579-8918-19 e-mail:

somchai.1962@icloud.com

Important zoonotic disease in Thailand

Somchai Chiempittayanuwat* Montakan Jiratanh

Abstract

Zoonotic diseases are infectious disease that transmit between animal and human, world wide distribution. The diseases are caused various impact such as public health and economic loss. Due to globalization, the zoonotic diseases can rapidly distribute into Thailand and cause the contagious disease. The zoonotic diseases can be severe, sporadic or potential distribute in the country. So, the related official example policy disease worker, animal husbandry, laboratory technician including consumer should have knowledge about the detail of the disease. Therefore, we gather the information about the important zoonotic diseases in Thailand including viral diseases, bacterial diseases and parasitic diseases from various document from inside and outside the country, classified by the causative agents. The topic of the disease is clinical sign, diagnostic method title, treatment, control, prevention and the detail of diagnostic method used. The objective of this manual was for the interesting person can make the guidelines for diagnosis, control and prevention to be useful for decrease mortality rate and morbidity rate

Keywords: zoonotic diseases, viral disease, bacterial diseases, parasitic diseases, Thailand

Research paper No.: 65 (2)-0115-069

National institute of animal health 50/2 Phahonyothin road, LatYao district, Chatuchak, Bangkok 10900.

*Corresponding author: Tel. 0-2579-8908-14 Fax. 0-2579-8918-9 e-mail: somchai.1962@icloud.com

คำนำ

คู่มือโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญในประเทศไทยฉบับนี้ ผู้เขียนรวบรวมข้อมูลจากเอกสารทั้งในและต่างประเทศ และประสบการณ์ของผู้เขียน จากนั้นนำมาเรียบเรียงองค์ความรู้เกี่ยวกับโรคเหล่านี้จำแนกตามชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค โดยหัวข้อของแต่ละโรคประกอบไปด้วย อาการทางคลินิก การวินิจฉัยโรค การรักษา การควบคุม การป้องกัน ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับโรคดังกล่าวในประเทศไทย และขั้นตอนการตรวจโรคทางห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ผู้อ่านสามารถนำความรู้ไปใช้เป็นแนวทางการตรวจวินิจฉัยและควบคุมป้องกันโรค ซึ่งจะประโยชน์ต่อการลดอัตราป่วยและอัตราตายของสัตว์และคนจากโรคสำคัญที่ติดต่อระหว่างสัตว์และคนได้ในอนาคต ตลอดจนจะเป็นประโยชน์ทางด้านสาธารณสุขในการป้องกันโรค เพื่อให้เข้าใจความเป็นไปของโรคได้ง่ายยิ่งขึ้น เนื้อหาในคู่มือเน้นโรคที่พบและโรคที่มีความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นในประเทศไทย ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าหนังสือเล่มนี้จะช่วยให้บุคลากรที่ทำงานทั้งด้านการสัตวแพทย์ การแพทย์ และผู้สนใจทั่วไป ได้มีความรู้ความเข้าใจในโรคที่ติดต่อระหว่างสัตว์และคนเป็นอย่างดี

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ บุคลากรของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติทุกท่าน ที่ได้ให้คำชี้แนะ สนับสนุน และเป็นกำลังใจเสมอมา

สมชัย เจียมพิทยานุวัฒน์

มนทกานต์ จิระธันธ์

สารบัญ

บทที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ และการจำแนกชนิดต่าง ๆ	1
บทที่ 2 โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญที่เกิดจากเชื้อไวรัส และพบในประเทศไทย	8
2.1 โรคไข้หวัดนก (avian influenza)	8
2.2 โรคพิษสุนัขบ้า (rabies)	11
2.3 โรคไข้สมองอักเสบเจอี (Japanese encephalitis)	14
บทที่ 3 โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และพบในประเทศไทย	18
3.1 วัณโรค (tuberculosis)	18
3.2 โรคไข้หูดับ (<i>Streptococcus suis</i> Infection)	21
3.3 โรคmelioidosis (melioidosis)	24
3.4 โรคฉี่หนู (leptospirosis)	27
3.5 โรคแท้งติดต่อ (brucellosis)	30
3.6 โรคแอนแทรกซ์ (anthrax)	32
3.7 โรคแซลโมเนลโลสิส (salmonellosis)	36
บทที่ 4 โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญที่เกิดจากเชื้อปรสิต และพบในประเทศไทย	41
4.1 โรคทริคิเนลโลสิส (trichinellosis)	41
4.2 โรคพยาธิตืดหมู (pork tapeworm infection)	44
4.3 โรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis)	48
4.4 โรคพยาธิใบไม้ในลำไส้ (<i>Fasciolopsis buski</i> infection)	50
4.5 โรคท็อกโซพลาสโมสิส (toxoplasmosis)	52
4.6 โรคบาแลนติดิอซิส (balantidiasis)	55
บทที่ 5 โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ ที่เริ่มพบในประเทศไทย	58
5.1 โรคเมอร์ส (Middle East respiratory syndrome)	58
5.2 โรคไข้หวัดใหญ่ในสุกร (swine influenza)	60
5.3 โรคไข้สมองอักเสบไวรัสนิปาห์ (Nipah viral encephalitis)	63
5.4 โรคพยาธิอะนิซาคิเอซิส (anisakiasis)	66
5.5 โรคไลชมาเนีย (leishmaniasis)	68
บทที่ 6 โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ แต่ยังไม่พบในประเทศไทย	72
6.1 โรคติดเชื้อไวรัสอีโบล่า (Ebola virus disease)	72

บทที่ 7 การตรวจวินิจฉัยโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน	75
7.1 การตรวจหาเชื้อไวรัส	75
7.1.1 การเพาะเชื้อไวรัส โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง	75
7.1.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสโดยใช้ไข่ไก่ฟัก	77
7.1.3 การทดสอบคุณสมบัติการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (haemagglutination test)	78
7.1.4 การฉีดเชื้อไวรัสเข้าสัตว์ทดลอง	78
7.1.5 direct fluorescent antibody test	79
7.1.6 การตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry)	80
7.2 การตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย	82
7.2.1 การเพาะเชื้อแบคทีเรีย	82
7.2.2 การย้อมสีแกรม	83
7.2.3 การย้อมสีพิเศษ	83
7.2.4 การตรวจด้วยวิธีทางชีวเคมี	84
7.2.5 การฉีดเชื้อแบคทีเรียเข้าสัตว์ทดลอง	88
7.2.6 การทำ tuberculin skin test	88
7.3 การตรวจหาเชื้อปรสิต	89
7.3.1 การตรวจอุจจาระ	89
7.3.2 การตรวจเนื้อ	92
7.4 การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน	94
7.4.1 การจับกลุ่ม (agglutination)	94
7.4.2 agar gel immunodiffusion test	100
7.4.3 serum neutralization test	101
7.4.4 complement fixation test	102
7.4.5 indirect fluorescent antibody test	104
7.4.6 indirect enzyme-linked immunosorbent assay	106
7.4.7 Sabin-Feldman dye test	108
7.5 การตรวจหาสารพันธุกรรม	108
7.5.1 polymerase chain reaction	108
7.5.2 multiplex polymerase chain reaction	109

7.5.3 reverse transcriptase polymerase chain reaction	110
7.5.4 real time polymerase chain reaction	111
7.5.5 real time reverse transcriptase polymerase chain reaction	111
บทที่ 8 บทวิเคราะห์ และการนำมาใช้ประโยชน์	113
บรรณานุกรม	115
ภาคผนวก	127
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการตรวจ	128
ภาคผนวก ข การเตรียมตัวอย่าง	141

สารบัญรูป

รูปที่ 1 แสดงวงจรการติดต่อของโรคระหว่างสัตว์และคนทั้ง 4 แบบ	2
รูปที่ 2 แสดงวงจรการติดต่อระหว่างสัตว์และคน โดยการติดต่อโดยตรง	4
รูปที่ 3 แสดงวงจรชีวิตทั้ง 2 แบบ ของ Cyclozoonoses	5
รูปที่ 4 แสดงวงจรชีวิตของ Metazoonoses ทั้ง 4 แบบ	6
รูปที่ 5 แสดงวงจรชีวิตทั้ง 2 แบบ ของ Saprozoonoses	7
รูปที่ 6 แสดงวงจรชีวิตแบบพิเศษของ fasciolopsiasis	7

บทที่ 1

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ และการจำแนกชนิดต่าง ๆ

การรวบรวมความรู้เกี่ยวกับการติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ ประกอบไปด้วยรายละเอียดของโรคสำคัญที่เกิดจากเชื้อก่อโรคชนิดต่าง ๆ ที่พบเกิดขึ้นทั่วโลก ได้แก่ โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อปรสิต แต่เนื่องจากประเทศไทยมีการติดต่อสื่อสารกับต่างประเทศ ทำให้โรคติดต่อที่สำคัญระหว่างคนและสัตว์จากต่างประเทศสามารถเข้ามาในประเทศไทย ซึ่งมีทั้งโรคที่เกิดการระบาดอย่างทั่วไป เริ่มมีการเกิดโรคอย่างประปราย และโรคที่ยังไม่เข้ามาในประเทศไทยแต่มีความเป็นไปได้ที่จะเข้ามาระบาดในประเทศไทย ดังนั้นบุคลากรที่ทำงานเกี่ยวข้องทางด้านต่างๆเกี่ยวกับโรคติดต่อที่สำคัญระหว่างสัตว์และคน ซึ่งมีหลายฝ่ายได้แก่ ผู้ที่ทำงานในห้องปฏิบัติการ ซึ่งนอกจากจะต้องหาความรู้เกี่ยวกับเชื้อก่อโรคเหล่านี้ ยังต้องพัฒนาความรู้ทางเทคโนโลยีใหม่ ๆ ทั้งใน และต่างประเทศจากการค้นคว้า ผักกอบรมต่าง ๆ เพื่อใช้ในการชันสูตรโรคเหล่านี้ ผู้ที่ทำงานในการควบคุมและป้องกันโรคทั้งสัตวแพทย์ และแพทย์ ซึ่งจำเป็นจะต้องหาความรู้ด้านต่าง ๆ เกี่ยวกับโรคเพื่อสร้างมาตรการที่จำเป็น อีกทั้งเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ ยังต้องมีการพัฒนาการเลี้ยงสัตว์ตามหลักการเลี้ยงสัตว์ที่ดีเพื่อป้องกันไม่ให้โรคเข้ามาติดต่อในฟาร์ม และผู้บริโภคยังต้องปฏิบัติตามสุขลักษณะที่ดีและที่เกี่ยวข้องในการป้องกันโรค

Zoonotic disease คือ โรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคหรือเชื้อพยาธิที่ติดต่อตามธรรมชาติระหว่างสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง และคน ตามคำนิยามของทั้งองค์การอนามัยโลก (World health organization, WHO) และ ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อ (Centers for disease control and prevention, CDC) (WHO, 2020; CDC, 2021) ตามธรรมชาติสัตว์ส่วนใหญ่จะมีชีวิตอยู่ใกล้ชิดคน ได้แก่ สัตว์ที่ใช้งานในการเกษตร สัตว์เลี้ยงในบ้านหรือสัตว์ที่อยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ดังนั้นสัตว์เหล่านี้สามารถนำเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค หรือเชื้อพยาธิมาติดคน ทำให้คนป่วยโดยแสดงอาการตั้งแต่เจ็บป่วยเล็กน้อยไปจนเสียชีวิตได้ ในขณะที่บางครั้งสัตว์อาจไม่แสดงอาการใด ๆ ของโรค แต่สามารถนำโรคมาติดคนได้ จากรายงานของ CDC ประเมินการว่า 6 ใน 10 ของโรคติดต่อที่เกิดขึ้นในคน เป็นโรคที่ติดมาจากสัตว์ (CDC, 2021) คนที่มีความเสี่ยงสูงต่อการติดโรค ได้แก่ คนขายเนื้อและผลิตภัณฑ์ที่มาจากสัตว์ เกษตรกร คนทำงานในป่าหรือคนที่สัมผัสกับสัตว์ป่า สัตวแพทย์ นอกจากนี้มีคนบางประเภทที่มีความเสี่ยงต่อโรคที่เกิดขึ้นมากกว่าคนทั่วไป ได้แก่ เด็กที่มีอายุต่ำกว่า 5 ปี หรือผู้ที่มีอายุมากเกิน 65 ปี เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันทำงานไม่สมบูรณ์

การติดต่อจากสัตว์ไปสู่คน เกิดขึ้นได้หลายทาง ได้แก่

1. ติดต่อทางตรงผ่านน้ำลาย เลือด ปัสสาวะ เมือก มูล และสารคัดหลั่งอื่น ๆ ของสัตว์ ระหว่างการกัดหรือการข่วน
2. ติดต่อทางอ้อมจากเชื้อที่อยู่บริเวณพักอาศัย หรือปนเปื้อนบนพื้นผิวอื่นของสัตว์ เช่น โรงนา ดิน อาหารสัตว์ภาชนะใส่น้ำสำหรับสัตว์ ถังเก็บมูลไก่ เป็นต้น

3. ติดต่อทางอ้อมผ่านสิ่งมีชีวิตที่เป็นพาหะนำโรค เช่น เห็บ ยุง หมัด เป็นต้น
4. ติดต่อทางอ้อมผ่านการบริโภค โดยการกินอาหารหรือดื่มน้ำที่ปนเปื้อน เช่น นำนมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ อาหารที่ไม่ได้ปรุงสุก ผักที่ปนเปื้อนมูลสัตว์ เป็นต้น

การจำแนกโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน

การจำแนกกลุ่มของโรคสามารถทำได้หลายแบบ ขึ้นกับเหตุผลและแนวทางที่จะใช้จัดกลุ่มของโรค เพื่อประโยชน์ในการศึกษาทางระบาดวิทยาและการควบคุมโรค การจำแนกในรูปแบบต่าง ๆ มีดังนี้ ได้แก่

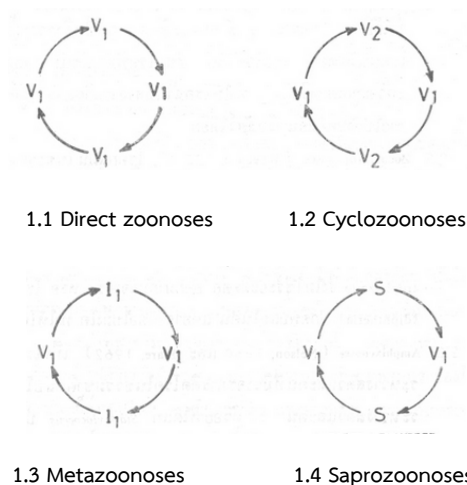
1. การจำแนกตามแบบแผนของวงจรชีวิตของเชื้อก่อโรค

1.1 Direct zoonoses หมายถึง ในวงจรชีวิต ต้องการสัตว์ที่มีกระดุกสันหลังเพียงชนิดเดียว

1.2 Cyclozoonoses หมายถึง ในวงจรชีวิต ต้องการสัตว์ที่มีกระดุกสันหลังมากกว่าหนึ่งชนิด

1.3 Metazoonoses หมายถึง ในวงจรชีวิต ต้องการทั้งสัตว์ที่มีกระดุกสันหลังและไม่มีกระดุกสันหลัง เพื่อให้ครบวงจร

1.4 Saprozoonoses หมายถึงในวงจรชีวิต ต้องการสัตว์ที่มีกระดุกสันหลังเป็นโฮสต์และวงจรชีวิตจะต้องมีแหล่งรังโรคที่ไม่ใช่สัตว์ ได้แก่ ดิน หรือพืช เป็นที่เจริญเติบโต



รูปที่ 1 แสดงวงจรการติดต่อของโรคระหว่างสัตว์และคนทั้ง 4 แบบ

V = สัตว์มีกระดุกสันหลังรวมทั้งคน I = สัตว์ไม่มีกระดุกสันหลัง

S = ไม่ใช่สัตว์

(ที่มา: บุญเยี่ยมและคณะ, 2527)

2. การจำแนกตามการติดต่อของโรค

การที่โรคงยังคงอยู่ในธรรมชาติได้ เนื่องจากคนและสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่นทำหน้าที่เป็นแหล่งรังโรค จึงมีการจำแนกโดยอาศัยวิธีการติดต่อระหว่างคนและสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง ดังนี้

2.1 Anthroponoses โรคกลุ่มนี้เป็นโรคของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง ที่ติดต่อไปยังคน เช่น โรคพิษสุนัขบ้า (rabies) โรคแท้งติดต่อ (brucellosis) โรคแอนแทรกซ์ (anthrax) เป็นต้น คนจะเป็นโฮสต์สุดท้าย ซึ่งเมื่อเป็นโรคแล้ว จะไม่สามารถติดต่อไปยังสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังได้อีก เช่น โรคพิษสุนัขบ้า เมื่อคนตายแล้วจะถูกเผาหรือฝัง ทำให้โรคนั้นไม่สามารถติดต่อจากผู้ป่วยหรือตาย ไปยังคนหรือสัตว์อื่นได้อีก

2.2 Zooanthroponoses โรคกลุ่มนี้เป็นโรคของคน ที่ติดต่อไปยังสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง ตัวอย่างได้แก่ โรคบิดมีตัว (amoebiasis) ปกติพบแต่ในคนแต่สุนัขอาจพบมี *Entamoeba histolytica* แต่จะพบเพียงระยะโทรโฟซอइट (trophozoite) ซึ่งไม่ใช่ระยะติดต่อ ออกมากับอุจจาระของสุนัข

2.3 Amphixenoses เป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่สัตว์ คนสู่คน และระหว่างสัตว์และคน ตัวอย่างเช่น *Staphylococcus* spp. บางสายพันธุ์

มีโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนอีกหลายชนิดที่ไม่สามารถแยกชนิดเป็น 3 กลุ่มข้างต้น เพราะยังไม่เข้าใจวงจรชีวิต นอกจากนั้นการแบ่งกลุ่มอาจจะแตกต่างกันได้ขึ้นกับสถานที่ ถึงแม้จะเป็นโรคเดียวกัน เช่น โรคพิษสุนัขบ้าเป็น Amphixenoses ในประเทศจีนและประเทศตามชายฝั่งเมดิเตอร์เรเนียน แต่ในประเทศอินเดียตอนใต้เป็นโรคติดต่อระหว่างคนกับคน

3. การจำแนกตามชนิดของเชื้อ

เชื้อโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนทั้งหมดสามารถแบ่งออกได้ตามสาเหตุของเชื้อก่อโรค เช่น เชื้อไวรัส เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อปรสิต ซึ่งง่ายแก่การควบคุม และการศึกษาวิจัยอื่นๆ

4. การจำแนกแบบอื่น ๆ

การจำแนกโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนอาจจำแนกตามการติดเชื้อ หรือธรรมชาติของการใช้ชีวิตอยู่ในโฮสต์ เช่น โฮสต์ชนิดหนึ่งมีโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนอะไรบางอย่าง หรืออาจจะแบ่งตามสิ่งอื่นที่จะเป็นประโยชน์ให้จัดกลุ่มได้ เช่น สัตว์เลี้ยงและคนเป็นโรคเดียวกัน ดังนั้นการที่จะจำแนกโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน จะเป็นแบบไหนบ้างขึ้นกับหลักการและเหตุผลว่าเพื่ออะไร มีประโยชน์มากน้อยแค่ไหน

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนบางชนิด ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจการเกษตรอาจจะพบได้เสมอในคน เช่น *Brucella suis* บางโรคไม่มีความสำคัญในทางสาธารณสุข แต่บางโรคที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุข อาจจะเป็นปัญหาหรือไม่เป็นปัญหาทางการเกษตรก็ได้ เช่น encephalitis ดังนั้นการจำแนกโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน อาจจะถือความสำคัญในกรณีที่มีโอกาสพบโรคหรือความรุนแรงของโรคที่อาจจะเกิดได้ในคน ดังนั้นโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนอาจจำแนกได้หลายแบบ เช่น โรคพิษสุนัขบ้า เป็นโรคที่เกิดจากการติดต่อจากสุนัขถึงสุนัข นั่นคือ ต้องการสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังเพียงชนิดเดียว แต่เป็นโรคของสุนัขสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังที่ติดต่อมายังคน จึงจัดเป็น Anthroponoses

ดังนั้นเมื่อนำการจำแนกโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนตามแบบแผนวงจรชีวิตของเชื้อก่อโรค ร่วมกับการจำแนกตามการติดต่อของโรค ออกเป็นกลุ่ม ดังนี้

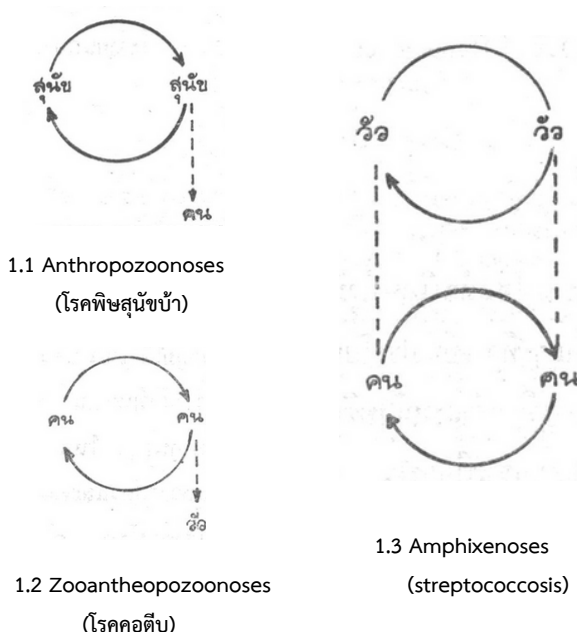
1. โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนโดยตรง (Direct zoonoses) (รูปที่ 2)

โรคจะติดต่อจากสัตว์ที่มีกระดุกสันหลังไปยังคนหรือสัตว์ที่มีกระดุกสันหลังอื่น โดยการสัมผัส หรือติดไปกับสิ่งอื่น แต่ไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงหรือมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 3 กลุ่ม ได้แก่

1.1 Anthroozoonoses เป็นโรคที่ติดต่อโดยตรงระหว่างสัตว์สู่สัตว์ โดยที่โรคอาจติดต่อมาสู่คนได้ เช่น โรคพิษสุนัขบ้า

1.2 Zooanthroponoses เป็นโรคที่ติดต่อโดยตรงระหว่างคนสู่คน โดยที่โรคอาจติดต่อมาสู่สัตว์ได้ เช่น โรคคอตีบ

1.3 Amphixenoses เป็นโรคที่ติดต่อโดยตรงระหว่างคนและสัตว์ เช่น streptococcosis



รูปที่ 2 แสดงวงจรการติดต่อระหว่างสัตว์และคน โดยการติดต่อโดยตรง

เส้นทึบหมายถึงวงจรการติดต่อตามธรรมชาติที่ทำให้โรคงยังคงมีอยู่

เส้นประเป็นการติดต่อที่อาจเกิดขึ้นระหว่างสัตว์และคน

(ที่มา: บุญเยี่ยมและคณะ, 2527)

2. โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนเป็นวงจร (Cyclozoonoses) (รูปที่ 3)

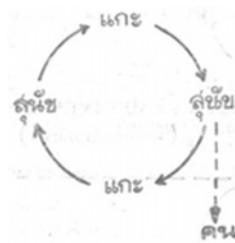
โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน ซึ่งต้องการสัตว์ที่มีกระดุกสันหลังมากกว่าหนึ่งชนิดที่จะทำให้โรคนั้นครบวงจรการเจริญอยู่ได้ โดยไม่มีสัตว์ไม่กระดุกสันหลังมาเกี่ยวข้อง ส่วนมากเกิดจากเชื้อปรสิต แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 2 กลุ่ม ได้แก่

2.1 Obligatory cyclo-zoonoses ในวงจรชีวิตต้องการทั้งสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังมากกว่าหนึ่งชนิด โดยที่มียคนเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดหนึ่ง เช่น พยาธิตืดสุกร

2.2 Cyclo-anthropozoonoses ในวงจรชีวิตต้องการทั้งสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังมากกว่าหนึ่งชนิด โดยที่โรคอาจติดต่อมาสู่คนได้ เช่น hydatid disease ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากตัวอ่อนของ *Echinococcus granulosus* ซึ่งปกติเป็นปรสิตที่สำคัญของสัตว์ป่าแต่คนอาจติดโรคได้



2.1 Obligatory cyclo-zoonoses
(พยาธิตืดสุกร)



2.2 Cyclo-anthropozoonoses
(hydatid disease)

รูปที่ 3 แสดงวงจรชีวิตทั้ง 2 แบบ ของ Cyclozoonoses

เส้นทึบหมายถึงวงจรการติดต่อตามธรรมชาติที่ทำให้โรคนี้อยู่คงมีอยู่

เส้นประเป็นการติดต่อที่อาจเกิดขึ้นระหว่างสัตว์และคน

(ที่มา: บุญเยี่ยมและคณะ, 2527)

3. โรคติดต่อระหว่างสัตว์มีกระดูกสันหลังและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง (Metazoonoses) (รูปที่ 4)

ในวงจรชีวิตจะต้องผ่านสัตว์มีกระดูกสันหลัง จากนั้นจะไปเพิ่มจำนวนในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง การติดต่อชนิดนี้เรียกว่า propagative หรือ cyclo-propagative transmission คือมีการเพิ่มจำนวนในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งรังโรค ก่อนที่จะติดต่อไปยังสิ่งมีชีวิตอื่น แต่ในพวกสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่ไม่ได้เป็นแหล่งรังโรค เชื้อจะเจริญเติบโตจากระยะหนึ่งไปอีกระยะหนึ่ง โดยไม่มีการเพิ่มจำนวน เรียกการติดต่อนั้นว่า development transmission ใน Metazoonoses จะต้องมียาระยะฟักตัว (incubation period) ที่เหมาะสมในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังก่อนที่จะติดต่อไปยังสัตว์มีกระดูกสันหลังได้ Metazoonoses แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 4 กลุ่ม ได้แก่

3.1 Meta-anthropozoonoses type I ในวงจรชีวิตต้องการสัตว์มีกระดูกสันหลัง และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังอย่างละหนึ่งชนิด เช่น โรคไข้เหลือง (yellow fever) ซึ่งปกติเกิดในลิง และยุง แต่คนอาจติดโรคจากยุงที่เป็นพาหะนำโรค

3.2 Meta-amphixenoses type II ในวงจรชีวิตต้องการสัตว์มีกระดูกสันหลังหนึ่งชนิดกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังสองชนิด เช่น โรคพยาธิใบไม้ปอด (paragonimiasis)

3.3 Meta-amphixenoses type III ในวงจรชีวิตต้องการสัตว์มีกระดูกสันหลังสองชนิด และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหนึ่งชนิด เช่น โรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis)

3.4 Meta-anthropozoonoses type IV เป็นเชื้อที่มีการติดต่อ โดย transovarian transmission เช่น โรค louping ill



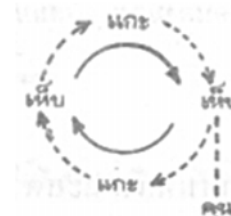
3.1 Meta-anthropozoonoses type I
(โรคไข้เหลือง)



3.2 Meta-amphixenoses type II
(พยาธิใบไม้ปอด)



3.3 Meta-amphixenoses type III
(พยาธิใบไม้ตับ)



3.4 Meta-anthropozoonoses type IV
(โรค louping ill)

รูปที่ 4 แสดงวงจรชีวิตของ Metazoonoses ทั้ง 4 แบบ

เส้นทึบหมายถึงวงจรการติดต่อตามธรรมชาติที่ทำให้โรคนี้อยู่

เส้นประเป็นการติดต่อที่อาจเกิดขึ้นระหว่างสัตว์และคน

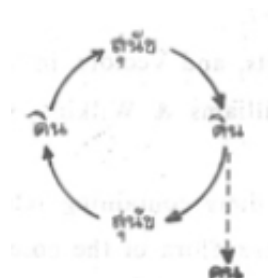
(ที่มา: บุญเยี่ยมและคณะ, 2527)

4. โรคติดต่อระหว่างสัตว์มีกระดูกสันหลัง (รวมทั้งคน) และสิ่งที่ไม่ใช่สัตว์ (Saprozoonoses) (รูปที่ 5)

เชื้อจะเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนในสิ่งที่ไม่ใช่สัตว์ อาจจะเป็นสารอินทรีย์ อาหาร และพืช แล้วจึงติดต่อมายังสัตว์มีกระดูกสันหลัง และคน แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ อีก 2 กลุ่ม ได้แก่

4.1 Sapro-anthropozoonoses ในวงจรชีวิตต้องการสัตว์มีกระดูกสันหลังที่ไม่ใช่คนหนึ่งชนิด กับสิ่งไม่มีชีวิตอีกหนึ่งชนิด โดยที่โรคอาจติดต่อมาสู่คนได้ เช่น histoplasmosis

4.2 Sapro-amphixenoses ในวงจรชีวิตต้องการสัตว์มีกระดูกสันหลังมากกว่าหนึ่งชนิด คน กับสิ่งไม่มีชีวิตอีกหนึ่งชนิด เช่น โรคที่เกิดจากพยาธิปากขอที่ทำให้เกิด cutaneous larva migrans



4.1 Sapro-anthropozoonoses
(histoplasmosis)



4.2 Sapro-amphixenoses
(พยาธิปากขอ)

รูปที่ 5 แสดงวงจรชีวิตทั้ง 2 แบบ ของ Saprozoonoses

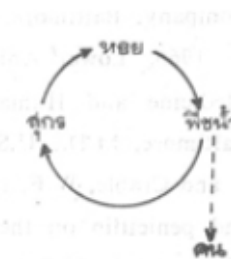
เส้นทึบหมายถึงวงจรการติดต่อตามธรรมชาติที่ทำให้โรคนี้อยู่

เส้นประเป็นการติดต่อที่อาจเกิดขึ้นระหว่างสัตว์และคน

(ที่มา: บุญเยี่ยมและคณะ, 2527)

5. โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนชนิดอื่นๆ (รูปที่ 6)

โรคบางชนิดมีวงจรชีวิตและการติดต่อแบบพิเศษ นั่นคือในวงจรชีวิตนอกจากจะมีทั้งในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังและสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังอย่างละหนึ่งชนิด ทำให้เป็น Meta-anthropozoonoses ในวงจรชีวิตยังมีสิ่งไม่มีชีวิตด้วย ทำให้เป็น Sapro-anthropozoonosis เช่น โรคพยาธิใบไม้ในลำไส้สุกร (fasciolopsiasis) ซึ่งในวงจรชีวิตของพยาธิชนิดนี้นอกจากจะมีหอยซึ่งเป็นสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง ตัวอ่อนระยะติดต่อเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิชนิดนี้จะว่ายน้ำจากหอย ไปเกาะที่พืชน้ำ ทำให้สุกรซึ่งเป็นสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังกินพืชน้ำที่มีตัวอ่อนของพยาธิเข้าไปในร่างกาย ทำให้ครบวงจรชีวิต คนอาจติดโรคได้โดยการบริโภคพืชน้ำที่มีตัวอ่อนของพยาธิเกาะติดอยู่



Sapro-anthropozoonosis
(พยาธิใบไม้ในลำไส้สุกร)

รูปที่ 6 แสดงวงจรชีวิตแบบพิเศษของ fasciolopsiasis

เส้นทึบหมายถึงวงจรการติดต่อตามธรรมชาติที่ทำให้โรคนี้อยู่

เส้นประเป็นการติดต่อที่อาจเกิดขึ้นระหว่างสัตว์และคน

(ที่มา: บุญเยี่ยมและคณะ, 2527)

บทที่ 2

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ ที่เกิดจากเชื้อไวรัส และพบในประเทศไทย

โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสที่ติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ มีอยู่หลายโรค แต่โรคที่จะกล่าวในบทนี้จะ เป็นโรคที่พบและมีความสำคัญในประเทศไทย

โรคติดเชื้อไวรัสที่สำคัญ และพบในประเทศไทย เช่น

2.1 โรคไข้หวัดนก (avian influenza)

2.2 โรคพิษสุนัขบ้า (rabies)

2.3 โรคไขสมองอักเสบเจอี (Japanese encephalitis)

รายละเอียดที่จะกล่าวถึงในแต่ละโรค ได้แก่ เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค ชื่อพ้อง ชนิดของสัตว์ที่พบการ ติดเชื้อ คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง ระบาดวิทยา พยาธิวิทยาของโรค การติดต่อ พาหะของโรค อาการ รอยโรคทาง พยาธิวิทยาในสัตว์ การวินิจฉัยโรค การรักษา การควบคุมและป้องกัน

2.1 โรคไข้หวัดนก (avian influenza)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ (influenza A virus) ในสัตว์ปีก อยู่ในวงศ์ (family) *Orthomyxoviridae* สกุล (genus) *Influenza A* เป็นเชื้อไวรัสชนิด RNA สายเดี่ยว มีเปลือกหุ้ม (envelope) ชั้นนอกเป็น lipid membrane ที่ได้จาก host cell มี glycoproteins ที่สำคัญ 3 ชนิด ได้แก่ haemagglutinin (H) neuraminidase (N) และ matrix protein (M2) การแบ่งไวรัสไข้หวัดนกตามโปรตีน H และ N แบ่งตาม H ได้ 16 ชนิดและ N 9 ชนิด เชื้อไวรัสแบ่งตามความรุนแรงของการก่อโรคได้ 2 ประเภทคือ ที่ก่อโรครุนแรงทำให้สัตว์ ปีกและคนป่วยตายจำนวนมาก (high pathogenic avian influenza, HPAI) มักเป็นชนิด H5 และ H7 โดยมี H5N1 และ H7N9 เป็นเชื้อที่สำคัญและที่ก่อโรคไม่รุนแรง (low pathogenic avian influenza, LPAI)

ชื่อพ้อง : โรคอินฟลูเอนซาในสัตว์ปีก, fowl plaque

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สัตว์ปีกทุกชนิด แต่มกน้ำอพยพและนกเป็ดน้ำจะไม่แสดงอาการป่วย นอกจากนี้สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลาย ชนิดสามารถติดเชื้อได้ เช่น เสือ เสือดำ สุนัข แมว หมู และ เพอเร็ตต์ เป็นต้น

คนที่เป็กลุ่มเสี่ยง :

เกษตรกร สัตวแพทย์ ผู้ที่ทำงานในโรงฆ่าสัตว์ปีก ผู้ที่จำหน่ายสัตว์ปีก หรือผู้ที่ทำงานในห้องปฏิบัติการวิจัยและชันสูตรโรค

ระบาดวิทยา :

ในทวีปเอเชียพบการระบาดของโรคไข้หวัดนกในสัตว์ปีกในปี พ.ศ. 2540 โดยสามารถแยกเชื้อไวรัสได้ในประเทศฮ่องกง เกาหลี และประเทศจีน ต่อมาในปี พ.ศ. 2547 พบการระบาดในสัตว์ปีก โดยพบเชื้อไข้หวัดนกชนิดรุนแรง ชนิด H5N1 ในประเทศต่างๆ ของทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศเกาหลีใต้ เวียดนาม ญีปุ่น เขมร ฮ่องกง ลาว อินโดนีเซีย มาเลเซีย รวมทั้งประเทศไทย การระบาดครั้งนี้ได้ติดต่อไปยังคน ในประเทศไทยได้มีการทำลายสัตว์ปีกทั่วประเทศประมาณ 62 ล้านตัว และคนป่วยตายถึงร้อยละ 70.59 (12/17 คน) (Tiensin *et al.*, 2005)

พยาธิวิทยาของโรค :

เมื่อเชื้อไวรัสไข้หวัดนกเข้าสู่ร่างกาย เชื้อไวรัสจะเข้าไปยังระบบทางเดินหายใจ ทำให้เกิดอาการต่างๆ เกี่ยวกับทางเดินหายใจ เช่น ปอด ซึ่งสามารถพบอาการแทรกซ้อนได้หลายอย่าง เช่น ภูมิแพ้ ตัว ชัก ปอดบวม การทำงานของอวัยวะต่างๆ ล้มเหลว เช่น หัวใจ ไต จากนั้นเชื้อจึงแพร่ไปยังระบบอื่น เช่น ระบบทางเดินอาหาร

การติดต่อ :

สัตว์ปีก และคน :

1. เชื้อไวรัสเข้าสู่ร่างกายทางการสัมผัสอุจจาระ หรือสารคัดหลั่งต่างๆ ที่มีเชื้อไวรัส
2. เชื้อไวรัสเข้าทางการหายใจ
3. กินอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อไวรัสจากสัตว์ปีกที่ปรุงสุกไม่เพียงพอ
4. เชื้อไวรัสติดมากับเสื้อผ้า หรือยานพาหนะ

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สัตว์ปีก :

เมื่อสัตว์ปีกติดเชื้อไวรัสไข้หวัดนกชนิดก่อโรครุนแรงจะป่วยและตายจำนวนมาก ภายในระยะเวลาไม่เกิน 1 สัปดาห์ โดยพบอาการ มีไข้ ซึม ไม่กินอาหาร ชูบพอม ขนยุ่ง ไข่ลด ไอ จาม หายใจลำบาก น้ำตาไหล บวม บริเวณรอบตาและคอ หงอนและเหนียงมีสีแดงคล้ำ มีจุดเลือดออกที่หน้าแข้ง ถ่ายเหลวโดยเริ่มจากสีเขียวแล้วเปลี่ยนเป็นสีขาว หากเชื้อแพร่สู่สมอง สัตว์จะแสดงอาการทางระบบประสาท โดยพบอาการคอบิด เดินเป็นวงกลม และเป็นอัมพาต สัตว์ที่ติดเชื้อมักไม่ทำการรักษา เนื่องจากสัตว์ที่ติดเชื้อไข้หวัดนกชนิดรุนแรงจะทำให้สัตว์ป่วยตายอย่างเฉียบพลันเกือบทั้งหมด สัตว์ที่กำลังแสดงป่วยหรือเป็นแหล่งรังโรคต้องทำลาย

คน :

คนที่ติดเชื้อไข้หวัดนกชนิดก่อโรครุนแรงจะแสดงอาการของโรคคล้ายกับเป็นไข้หวัดใหญ่ คือ ไข้สูง ไอแห้ง ๆ มีน้ำมูก เจ็บคอ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ และปวดศีรษะ บางรายมีอาการคลื่นไส้ ปวดท้อง ท้องร่วง และอาเจียนร่วมด้วย บางรายมีปัญหาในระบบทางเดินหายใจรุนแรง เช่น การหายใจลำบาก หายใจติดขัด ปอดบวม และเสียชีวิต ระยะเวลาป่วยนาน 5-13 วัน อัตราการป่วยตายสูงถึงร้อยละ 70

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สัตว์ปีกที่ตายด้วยการติดเชื้อไข้หวัดนกชนิดรุนแรงจะพบซากพองแห้ง มีการบวมน้ำใต้ผิวหนังที่ส่วนหัวและคอ ตาอักเสบ บวมแดง หลอดลมและถุงลมอักเสบ ไตบวมแดง อาจพบจุดเลือดออกที่ตับ ม้าม และไต โดยเฉพาะพบจุดเลือดออกที่กระเพาะที่ตรงรอยต่อกับกระเพาะบด ลำไส้อักเสบ อาจพบจุดเนื้อตายเล็ก ๆ ในผิวหนัง เหนียงและหงอน ตับ ไต ม้าม หรือปอด ในไก่ที่กำลังไข่จะพบรังไข่ฝ่อเล็กลง ท่อนำไข่ไม่เจริญ

การวินิจฉัยโรค :**สัตว์ปีก และคน :**

1. การตรวจแยกเชื้อทางไวรัสวิทยา ในสัตว์ปีกจะเก็บตัวอย่างจาก tracheal/cloacal swab มูล อวัยวะภายในต่างๆ เช่น หลอดลม ปอด ตับ ม้าม หัวใจ สมอง ลำไส้ ส่วนในคนจะใช้ nasal swab, throat swab, nasal wash และ nasopharyngeal aspirates โดยการฉีดเข้าไขโพรง หรือเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ
2. ตรวจคุณสมบัติการมี haemagglutinin ของเชื้อ โดยวิธี hemagglutination test (HA) และ hemagglutination inhibition test (HI)
3. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี agar gel immunodiffusion test (AGID) และ indirect enzyme-linked immunosorbent assay (indirect ELISA)
4. การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)

การรักษา :**สัตว์ปีก :**

ไม่มีการรักษา

คน :

ยาต้านไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ ที่มีประสิทธิภาพ ได้แก่ amantadine, rimantadine, zanamivir และ oseltamivir

การควบคุม และป้องกันโรค :**สัตว์ปีก :**

1. เข้มงวดเรื่องการนำเข้า โดยไม่นำสัตว์ปีกจากบริเวณที่เกิดโรคมາเลี้ยง
2. ไม่ให้คนงานเลี้ยงสัตว์ปีกที่อื่น เข้ามาในฟาร์ม ถ้าจำเป็นต้องมีการฆ่าเชื้ออย่างถูกวิธี

คน :

1. กลุ่มคนที่มีโอกาสเสี่ยง ควรได้รับวัคซีนไข้วัดใหญ่ตามฤดูกาลทุกปี
2. สวมเครื่องป้องกันอันตรายส่วนบุคคล เช่น ถุงมือ หน้ากาก หรือรองเท้าบูท
3. ปฏิบัติงานตามหลักความปลอดภัยทางชีวภาพ
4. กินอาหารที่ปรุงสุก
5. เลือกซื้อไข่ที่สะอาด ไม่มีมูลสัตว์ติดที่เปลือกไข่

2.2 โรคพิษสุนัขบ้า (rabies)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า (rabies virus) อยู่ในวงศ์ *Rhabdoviridae* สกุล *Lyssavirus* มีสารพันธุกรรมชนิด RNA สายเดี่ยว

ชื่อพ้อง : โรคกลัวน้ำ โรคหมาว้อ

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทุกชนิด สามารถติดเชื้อและแพร่เชื้อไวรัสได้ทั้งสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า เช่น สุนัข แมว โค กระบือ ม้า สุกร จิ้งจอก สุนัขป่า สกังก์ และแรคคูน เป็นต้น โดยสุนัขเป็นสัตว์ที่สามารถแพร่เชื้อโรคพิษสุนัขบ้ามาสู่คนได้มากที่สุด

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

สัตว์แพทย์ และผู้เลี้ยงสุนัข

ระบาดวิทยา :

โรคพิษสุนัขบ้าพบว่าทำให้คนทั่วโลกเสียชีวิตประมาณ 59,000 คนต่อปี โดย 95% มาจากทวีปแอฟริกา และเอเชีย (WHO, 2020) สำหรับในประเทศไทยพบว่าเป็นปัญหาสาธารณสุขมายาวนาน และมีผู้ป่วยเสียชีวิตทุกปีจากโรคนี้ โดยพบผู้ป่วยเสียชีวิตสูงสุดในปี พ.ศ. 2523 จำนวน 370 ราย หลังจากนั้น มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2554-2560 พบผู้ป่วยเสียชีวิตด้วยโรคพิษสุนัขบ้า จำนวน 8-14 ราย ต่อปี ส่วนใหญ่เป็นเพศชาย และไม่ได้ไปรับการฉีดวัคซีนหลังสัมผัสโรค สำหรับในสัตว์ ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2561 ตรวจพบมากที่สุดที่สุนัข พบรายงานผลบวกของโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์ร้อยละ 13.78 (1,188/8,624 ตัว) โดยพบสูงสุดใน จังหวัดร้อยเอ็ด คิดเป็นร้อยละ 13.05 ใน 3 เดือนแรกของปี พ.ศ. 2561 มีผู้ป่วยโรคพิษสุนัขบ้าเสียชีวิตไปแล้ว 5 ราย จาก 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตรัง สุรินทร์ สงขลา และ นครราชสีมา

พยาธิวิทยาของโรค :

เชื้อไวรัสที่อยู่ในน้ำลายสัตว์เข้าสู่ร่างกายทางบาดแผลที่ถูกกัดหรือข่วน ในระยะแรกจะเพิ่มจำนวนในเซลล์กล้ามเนื้อ จากนั้นเชื้อจะแพร่เข้าสู่ปลายประสาทไปยังระบบประสาทส่วนกลาง จากนั้นเชื้อไวรัสจะเพิ่มจำนวนในเซลล์ประสาท เซลล์ที่ติดเชื้อจะไม่สามารถทำหน้าที่ได้เป็นปกติหลังจากนั้นเชื้อไวรัสจะออกจากเซลล์ประสาทในสมองไปผ่านเส้นประสาทที่เลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ ทั่วร่างกาย โดยเฉพาะต่อมน้ำลาย สุนัขสามารถแพร่เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าก่อนแสดงอาการ 1-6 วัน

การติดต่อ :

สัตว์ป่วยจะขับเชื้อออกมากับน้ำลายเป็นระยะ ดังนั้นจะสามารถติดต่อสู่คนหรือสัตว์ชนิดอื่นได้จากการสัมผัสน้ำลาย สมอง หรืออวัยวะในระบบประสาท โดยเชื้อไวรัสจะผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อหรือเยื่อเมือกทางบาดแผลของคนและสัตว์ที่ถูกกัดหรือข่วน การติดต่อจากคนสู่คนสามารถเกิดขึ้นได้แต่ยังไม่มีรายงานยืนยัน การได้รับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าทางการหายใจหรือการปลูกถ่ายอวัยวะพบได้น้อยมาก ยังไม่พบรายงานยืนยันการติดโรคในคนจากการบริโภค แต่พบว่าสามารถทำให้สัตว์ทดลองที่กินเชื้อจำนวนมากติดโรคได้ อย่างไรก็ตามไม่ควรนำสัตว์ที่ตายด้วยโรคนี้มาบริโภค

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สุนัข แมว :

แบ่งเป็น 3 ระยะ ระยะเริ่มแรกสุนัขที่ได้รับเชื้อจะแสดงอาการป่วยไม่เด่นชัดแต่พฤติกรรมจะเปลี่ยนไปจากเดิม กินน้ำและอาหารน้อยลง มีไข้ อาเจียน ระยะนี้จะกินเวลาแค่ 2-3 วันระยะที่สองจะเป็นระยะตื่นเต้น สัตว์จะเริ่มมีอาการทางประสาท กัดสิ่งของทุกอย่าง รวมถึงคนและสัตว์อื่นโดยไม่มีสาเหตุ ก้าวร้าว และดุร้าย ระยะในสุนัขนาน 1-7 วัน ขณะที่ในแมวจะกินเวลาเพียง 2-4 วันจึงจะเข้าระยะสุดท้ายได้แก่ ระยะอัมพาต สัตว์จะเดินโซเซ ทรงตัวไม่ได้ กล้ามเนื้ออ่อนแรง ชัก หายใจลำบาก กลืนน้ำและอาหารไม่ได้ น้ำลายไหลมาก ผิดปกติ โดยสุนัข และแมว มักจะตายหลังเริ่มแสดงอาการประมาณ 10 วันและ 3-4 วัน ตามลำดับ

โค กระบือ สุกร แพะ แกะ ม้า :

แสดงอาการที่เปลี่ยนไปจากปกติ ได้แก่ ตื่นเต้น กระสับกระส่าย น้ำลายไหล ตาเบิกกว้าง ร้องเหมือนมีสิ่งแปลกปลอมติดคอ ขาอ่อน อัมพาต และตายภายใน 2-6 วันหลังแสดงอาการ

คน :

ผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าจะแสดงอาการหลังจากได้รับเชื้อ 1 สัปดาห์หรืออาจนานถึง 1 ปี (เฉลี่ย 1-3 เดือน) ระยะเวลานี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ตำแหน่งที่เชื้อไวรัสเข้าสู่ร่างกาย หรือปริมาณเชื้อไวรัส อาการป่วยระยะแรก ผู้ป่วยจะมีไข้ เจ็บปวดตามตัว มีอาการเจ็บเหมือนโดนเข็มตำ รู้สึกเหมือนเป็นเหน็บ และสับสนบริเวณแผลที่ถูกกัด

ระยะที่สอง ผู้ป่วยจะแสดงอาการป่วย 2 แบบ คือ แบบก้าวร้าวดุร้าย ซึ่งจะมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลงไปจากปกติ ได้แก่ ไม่อยู่นิ่ง ตื่นตัวตลอดเวลา กลัวน้ำและลม คลุ้มคลั่ง ดุร้าย ความรู้สึกไวกว่าปกติ หุนหุน และแบบอัมพาต ซึ่งจะพบว่ากล้ามเนื้อของผู้ป่วยจะเป็นอัมพาต โดยเริ่มจากบริเวณที่ถูกกัดหรือข่วน ทำให้พบอาการซึม กลืนน้ำไม่ได้

ระยะสุดท้าย ผู้ป่วยจะไม่รู้สึกตัว หายใจระตุก ผู้ป่วยส่วนมากมักจะเสียชีวิตภายใน 2-7 วัน เนื่องจากภาวะหัวใจและระบบหายใจล้มเหลว โดยผู้ป่วยที่แสดงอาการแบบอัมพาตเวลาป่วยจนถึงเสียชีวิตจะนานกว่าแบบก้าวร้าวดุร้าย

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สัตว์ที่ตายด้วยโรคพิษสุนัขบ้าจะมีการไม่เฉพาะเจาะจง ขึ้นกับอาการที่แสดงออกก่อนตาย ดังนั้นรอยโรคที่พบจะต่างกันออกไป แต่โดยมากจะพบเลือดคั่งในสมองและเยื่อหุ้มสมอง

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ และคน :

1. การตรวจหาแอนติเจน โดยวิธี direct fluorescent antibody test (DFA)
2. ฉีดเนื้อสมองเข้าหนูทดลอง (mouse inoculation test, MT)
3. ตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี polymerase chain reaction (PCR)

การรักษา :

สุนัข แมว :

ไม่มีการรักษา ในกรณีโดนสุนัขหรือแมวที่สงสัยเป็นโรคพิษสุนัขบ้ากัด ให้ล้างแผลและนำส่งสัตวแพทย์ทันที พร้อมทั้งแจ้งเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ในพื้นที่ ในกรณีที่เป็นสุนัขที่ไม่มีเจ้าของ เจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ควรกักสุนัขเพื่อเฝ้าดูอาการ หากสุนัขตายภายใน 10 วันหลังถูกสุนัขกัด ให้ส่งหัวเพื่อตรวจสอบที่ห้องปฏิบัติการของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ประจำภูมิภาค

คน :

ปัจจุบันยังไม่มีวิธีที่มีประสิทธิภาพในการรักษาผู้ป่วยโรคพิษสุนัขบ้า ผู้ถูกสุนัขหรือสัตว์อื่นกัดหรือข่วน ต้องล้างแผลด้วยน้ำและฟอกด้วยสบู่หลาย ๆ ครั้งทันที และเช็ดแผลด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อแล้วมาพบแพทย์โดยเร็วที่สุด เพื่อฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า บาดทะยัก และอาจพิจารณาให้ภูมิโนโกลบูลิน กับยาปฏิชีวนะเพิ่มเติมด้วยหากสัตว์ที่กัดนั้นมีแนวโน้มเสี่ยงต่อโรคพิษสุนัขบ้า แอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังฉีดวัคซีนจะป้องกันโรคได้ในระยะที่เชื้อไวรัสยังไม่เข้าระบบประสาทเท่านั้น

การควบคุม และป้องกันโรค :

สุนัข แมว :

1. ให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเป็นประจำทุกปี โดยสำหรับการกำจัดโรคพิษสุนัขบ้า นั้น ต้องมีการให้วัคซีนในสุนัขให้ครอบคลุมอย่างน้อยร้อยละ 70 ของประชากรสุนัขทั้งหมดในพื้นที่ที่ใช้วัคซีนที่มีคุณภาพและได้มาตรฐาน การขนส่งและเก็บรักษาวัคซีนต้องอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมตลอดเวลา
2. ลดการแพร่เชื้อโดยการทำให้สุนัขเพื่อควบคุมจำนวนสุนัข

คน :

1. เมื่อถูกสัตว์กัด ต้องรีบล้างแผลให้สะอาด ฉีดวัคซีน กักสัตว์ไว้ดูอาการ ถ้าสัตว์ตาย ต้องส่งซากไปชันสูตรโรค
2. ลดความเสี่ยงจากการถูกกัดโดยเพิ่มความระมัดระวัง
3. ประชาสัมพันธ์ให้ความรู้เรื่องโรคพิษสุนัขบ้า และวิธีการป้องกัน

2.3 โรคไขสมองอักเสบเจอี (Japanese encephalitis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อไวรัส Japanese encephalitis virus (JEV) อยู่ในวงศ์ *Flaviviridae* สกุล *Flavivirus*

ชื่อพ้อง : โรคไขสมองอักเสบญี่ปุ่น

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สุกร ม้า ลา โค กระบือ แพะ แกะ สุนัข แมว สัตว์ป่า สัตว์เลี้ยงคลาน สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ และนก คน เป็นโฮสต์โดยบังเอิญ (accidental host)

คนที่เป็กลุ่มเสี่ยง : คนที่ทำงานในห้องปฏิบัติการ คนที่อยู่ในแหล่งที่มีโรคชุกชุม และเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 10 ปี

ระบาดวิทยา :

พบรายงานครั้งแรกในปี พ.ศ. 2467 ในคน ที่ประเทศญี่ปุ่นโดยพบผู้เสียชีวิต 4,000 ราย และประเทศเกาหลีใต้พบผู้เสียชีวิต 2,500 ราย โรคนี้พบได้ในหลายทวีปทั่วโลก โดยมากจะพบทางบริเวณภาคพื้นเอเชีย ได้แก่ ประเทศอินเดีย เนปาล ลาว เวียดนาม มาเลเซีย สิงคโปร์ ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย จีน เกาหลี และญี่ปุ่น (วารุณี และคณะ, 2560) ปัจจุบันพบในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และเอเชียใต้ ในประเทศไทยพบการเกิดโรคตลอดทั้งปี โดยพบได้ทั่วประเทศ โดยเฉพาะในบริเวณที่มีการทำนาร่วมกับการเลี้ยงสุกร เนื่องจากอยู่ในเขตร้อนฝนตกชุก สำหรับในสุกร สุรพงษ์ และวาสนา (2545) ได้สำรวจสถานะของโรคในสุกรทั่วประเทศ พบระดับแอนติบอดีสูงสุดในภาคเหนือโดยวิธี hemagglutination inhibition test ถึงร้อยละ 99.13 สำหรับในคนเมื่อปี พ.ศ. 2550 ที่จังหวัดนครปฐมพบรายงานการเกิดโรคในผู้ป่วย 5 ราย ซึ่งทุกรายมีประวัติใกล้ชิดกับปศุสัตว์ (เปี้ยทิพย์, 2550)

พยาธิวิทยาของโรค :

เมื่อยุงดูดเลือดจากสัตว์รังโรค ได้แก่ สุนัข และนกป่า ซึ่งมีเชื้ออยู่ในกระแสเลือด เชื้อไวรัสจะมีการเพิ่มจำนวนในยุง จากนั้นยุงจะส่งผ่านเชื้อไวรัสไปยังโฮสต์สุดท้าย ได้แก่ คน ม้า และโค หลังจากเชื้อเข้าไปในร่างกายของโฮสต์สุดท้าย เชื้อไวรัสจะเพิ่มจำนวนในปริมาณมาก จนทำให้ร่างกายโฮสต์มีการสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ บางครั้งในโฮสต์ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำอาจเสียชีวิตอย่างเฉียบพลัน อย่างไรก็ตามเชื้อไวรัสนี้ไม่สามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมภายนอกร่างกายได้

การติดต่อ :

สัตว์ :

ได้รับเชื้อจากการถูกยุงที่มีเชื้อกัด นอกจากนี้มีรายงานพบว่าสุนัขป่าสามารถส่งผ่านเชื้อ JEV ทางน้ำเชื้อได้อีกด้วย (Guérin *et al.*, 2005)

คน :

ได้รับเชื้อจากการถูกยุงที่มีเชื้อกัด แต่มีบางรายที่ติดโรคจากห้องปฏิบัติการ หรือระหว่างการเก็บเนื้อเยื่อ โดยเชื้อไวรัสจะเข้าสู่ร่างกายผ่านทางเยื่อเมือก ผลที่ผิวหนัง จากการหายใจ หรือจากเข็มฉีดยา

พาหะของโรค :

ยุงในสกุล *Culex* spp. ยุงตัวที่มีความสำคัญที่สุด ได้แก่ ยุงรำคาญ (*Culex tritaeniorhynchus*) ซึ่งจะผสมพันธุ์ที่น้ำขังและคลองต่างๆ ออกหากินช่วงพลบค่ำ มีรายงานว่าสามารถแยกเชื้อจากยุงสกุลอื่นได้ เช่น ยุง *Aedes* ยุง *Anopheles* ยุง *Mansonia* เป็นต้น

อาการทางคลินิก :

สุนัข :

ในแม่สุนัขที่ตั้งท้องอาจพบความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ เช่น ลูกสุนัขตายแรกคลอด แท้ง มัมมี่ และผสมไม่ติด ส่วนในสุนัขที่ไม่ท้องมักไม่แสดงอาการหรือพบอาการป่วยเล็กน้อยเป็นระยะ ลูกสุนัขที่ติดเชื้อมีโอกาสตายสูง โดยพบอาการชัก และตาย ในกรณีที่รอดชีวิตอาจพบสมองอักเสบ ในสุนัขเพศผู้พบว่าเกิดปัญหาการผสมติดยาก และอัมพาตอีกเสบ

ม้า :

มักไม่แสดงอาการป่วย แต่ถ้าแสดงอาการจะพบ มีไข้ เดินไม่ได้ ไม่รู้สึกตัว กัดฟัน โดยจะแสดงอาการหลังจากได้รับเชื้อไวรัสประมาณ 8-10 วัน

โค สุนัข แมว นก :

มักไม่แสดงอาการป่วย แต่ถ้าแสดงอาการจะพบ มีไข้ ซึม กินอาหารลดลง นอนตะแคงตลอดเวลา ขาเหยียดเกร็ง หรือพบอาการทางประสาท เช่น เดินวนเป็นวงกลม กระสับกระส่าย เป็นต้น

คน :

ผู้ที่ได้รับเชื้อมักไม่แสดงอาการหรือแสดงอาการป่วยน้อยมาก โดยผู้ป่วยมักแสดงอาการหลังได้รับเชื้อ 5-15 วัน ในระยะแรกกินเวลา 2-3 วัน จะมีไข้สูง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ หนาวสั่น อ่อนเพลีย ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อกระตุก ระยะต่อมา 3-6 วัน จะมีอาการทางสมอง เช่น คอแข็ง รู้สึกตัวลดลง ซึม เพ้อคลั่ง ชักหมดสติ มือสั่น หรืออัมพาต ระยะนี้ผู้ป่วยอาจถึงตายได้ อัตราป่วยตายร้อยละ 15-30 หลังจากนั้นถ้าผู้ป่วยรอดชีวิต ไข้จะค่อย ๆ ลดลงสู่ปกติอาการทางสมองจะกระตุกขึ้น แต่ประมาณครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยที่รอดชีวิตจะยังมีความผิดปกติทางสมองเหลืออยู่ เช่น เกร็ง อัมพาต ชัก หงุดหงิดง่าย พูดไม่ชัด เป็นต้น

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

ลูกสุกรที่ตายแรกคลอดจะพบความผิดปกติ ได้แก่ มีน้ำในช่องสมอง มีน้ำในช่องอก บวมน้ำใต้ผิวหนัง ท้องมาน มีจุดเลือดออกบน serous membrane ต่อม้ำเหลือง เยื่อหุ้มสมอง และ spinal cord มีจุดเลือดคั่ง พบจุดเนื้อตายในตับ ม้าม สำหรับสุกรเพศผู้จะพบของเหลวลักษณะเหนียวในช่องว่างระหว่างผิวหนังหุ้มอวัยวะ อวัยวะบวมและอักเสบ

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ :

1. ตรวจหาเชื้อ โดยการเพาะแยกเชื้อไวรัส
2. ตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี indirect ELISA, indirect fluorescent antibody test (IFAT)
3. ตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ โดยวิธี RT-PCR

คน :

ตรวจด้วยวิธีเดียวกับในสุกร แต่จะเพิ่มการตรวจร่างกายผู้ป่วย

การรักษา :

สัตว์ และคน :

ไม่มียารักษาโรคนี้โดยเฉพาะ จึงใช้การรักษาตามอาการ และป้องกันโรคแทรกซ้อน

การควบคุม และป้องกันโรค :

สัตว์ :

มีการใช้วัคซีนป้องกันโรคใช้สมองอักเสบเจอีในสุกร ซึ่งมีทั้งวัคซีนเชื้อเป็น (live-attenuated vaccine) และวัคซีนเชื้อตาย (inactivated vaccine) โดยฉีดวัคซีนในสุกรสาว และสุกรพ่อพันธุ์ 2 ครั้ง ก่อนฤดูที่มีการระบาดของยุง หรือก่อนการผสมพันธุ์

คน :

1. ป้องกันไม่ให้ถูกยุงกัด โดยไม่ควรออกนอกบ้านในเวลาพลบค่ำ เพราะเป็นช่วงเวลาที่ยุงออกหาอาหาร และควรสวมใส่เสื้อผ้าที่ป้องกันยุงได้เมื่อออกนอกบ้าน หรือใช้ยากันยุง

2. ใช้วัคซีนป้องกันโรค วัคซีนป้องกันโรคที่มีใช้ในประเทศไทยมีทั้งวัคซีนเชื้อเป็นและวัคซีนเชื้อตาย ปัจจุบันองค์การเภสัชกรรมสามารถผลิตวัคซีนเองได้ และกระทรวงสาธารณสุขมีโครงการที่จะฉีดวัคซีนให้เด็กตั้งแต่อายุ 1 ปีขึ้นไปทุกคน

3. สำหรับการป้องกันอื่นๆ ได้แก่ การกำจัดยุง การป้องกันไม่ให้ยุงกัด และการควบคุมการเลี้ยงสุกร เป็นไปได้ยาก เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการทำนา และเลี้ยงสุกรอยู่ทั่วไป ดังนั้นผู้ที่เข้าไปในแหล่งระบาดของโรค และไม่เคยได้รับวัคซีน ควรได้รับการฉีดวัคซีนอย่างน้อย 2 ครั้ง โดยครั้งหลังควรได้รับก่อนเข้าไปแหล่งที่พบการระบาดของโรคประมาณ 2 สัปดาห์

4. ปรับปรุงสภาพแวดล้อม เพื่อลดจำนวนของยุง เช่น การใช้ยาฆ่าแมลง พ่นตามผนังหรือกำแพง เป็นต้น

5. ทำลายเชื้อในห้องปฏิบัติการด้วย 70% ethanol 2% glutaraldehyde 1% sodium hypochloride หรือแสงอัลตราไวโอเล็ต

บทที่ 3

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และพบในประเทศไทย

โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ มีอยู่หลายโรค แต่โรคที่จะกล่าวในบทนี้จะป็นโรคที่พบและมีความสำคัญในประเทศไทย

โรคที่เกิดจากการติดเชื้แบคทีเรียที่สำคัญ และพบในประเทศไทย เช่น

- 3.1 โรควัณโรค (tuberculosis)
- 3.2 โรคไขหูดับ (*Streptococcus suis* infection)
- 3.3 โรคmelioidosis (melioidosis)
- 3.4 โรคฉี่หนู (leptospirosis)
- 3.5 โรคแท้งติดต่อ (brucellosis)
- 3.6 โรคแอนแทรกซ์ (anthrax)
- 3.7 โรคแซลมอนเนลโลสิส (salmonellosis)

3.1 โรควัณโรค (tuberculosis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium bovis* อยู่ในวงศ์ *Mycobacteriaceae* สกุล *Mycobacterium* มีรูปร่างเป็นแท่ง เชื้อสามารถมีชีวิตในสิ่งแวดล้อมได้นานหลายเดือน โดยเฉพาะในที่เย็น มีด และขึ้น อาจเพาะแยกเชื้อได้จากดิน หรือตามทุ่งหญ้าที่มีสัตว์ติดเชื้อยู่อาศัย

ชื่อพ้อง : โรคทึบ

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้ :

โค กระบือ สัตว์ป่า และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น โอพอสซัม (opossums) แบดเจอร์ (badgers) ควาย ไบซัน (bison) กวางเอลก์ (elk) เป็นต้น

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

เกษตรกร คนที่ทำงานในโรงฆ่าสัตว์ และเด็กที่ติดเชื้จากการดื่มนมหรือรีดนมที่มีการปนเปื้อน

ระบาดวิทยา :

ในปี พ.ศ. 2563 ทั่วโลกมีคนป่วยด้วยโรควัณโรค ประมาณ 10 ล้านคน ซึ่งแบ่งเป็นเพศชาย 5.6 ล้านคน เพศหญิง 3.3 ล้านคน และเด็ก 1.1 ล้านคน (WHO, 2021) สำหรับในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2564 พบว่า

คนไทยติดเชื้อวัณโรค ถึง 150 คน ต่อประชากร 100,000 คน จังหวัดที่มีจำนวนผู้ป่วยวัณโรครายใหม่สูงสุด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร (กองวัณโรค, 2564)

พยาธิวิทยาของโรค :

สัตว์ที่ป่วยเป็นโรคนี้ จะจับเชื้อหลังจากได้รับเชื้อแล้วประมาณ 90 วัน เมื่อเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกาย จะมีเม็ดเลือดขาวชนิด macrophage มาเก็บกินเชื้อ ในกรณีที่เก็บกินไม่หมดแบคทีเรียจะเพิ่มจำนวนและไปกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte สร้างสารเคมีออกมากระตุ้นให้มีการสร้าง macrophage เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นบริเวณที่ติดเชื้อจะมีเม็ดเลือดขาวชนิด macrophage มารวมตัวมาก เป็น giant cell แบบ Langhan's type จากนั้นเชื้อที่หลุดรอดได้ จะไปตามท่อน้ำเหลืองและกระแสเลือดทั่วร่างกาย เมื่อถูกเม็ดเลือดขาวกินที่ไหนก็จะเกิดเป็นตุ่มฝี (tubercle) ทั่วร่างกาย สัตว์จะทรุดโทรม และตายในที่สุด

การติดต่อ :

โค กระบือ :

1. ได้รับเชื้อทางสารคัดหลั่งในระบบทางเดินหายใจ อุจจาระ ปัสสาวะ น้ำนม และสารคัดหลั่งในช่องคลอดหรือน้ำอสุจิจากสัตว์ป่วยสู่สัตว์อื่นที่เลี้ยงอยู่ด้วยกัน
2. การกิน เช่น กินหญ้าที่ปนเปื้อนเชื้อ ลูกโคกินนมแม่ที่ติดเชื้อ เป็นต้น
3. ติดต่อจากแม่สู่ลูก ผ่านทางสายสะดือ
4. การผสมพันธุ์

คน :

1. การดื่มนมและผลิตภัณฑ์จากนมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ
2. การกินเนื้อที่ปนเปื้อนเชื้อ
3. การสัมผัสผิวหนังที่เป็นแผล

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สัตว์ :

ระยะฟักตัวของโรคอาจใช้เวลาหลายเดือนในโค กระบือ และอาจไม่แสดงอาการได้หลายปี แต่แสดงอาการออกมาในช่วงเครียดหรืออายุมาก วัณโรคเป็นโรคเรื้อรัง แต่บางกรณีสามารถพบการก่อโรคแบบเฉียบพลันและรุนแรงได้ ช่วงแรกของการติดเชื้อมักไม่แสดงอาการ ในช่วงท้ายสัตว์จะเบื่ออาหาร ชูบผอมลง ในกรณีที่เกิดขึ้นที่ช่องอก อาจจะมีไข้ได้เล็กน้อย อาการอื่นจะขึ้นกับอวัยวะที่เป็น เช่น เกิดวัณโรคที่ปอด สัตว์จะไอในตอนกลางคืนหรือเมื่อทำงานหนัก อาจเกิดการหอบและหายใจลำบากได้ วัณโรคที่ลำไส้ จะมีอาการท้องเสียร่วมด้วย วัณโรคที่ลูกอ๊องทะ ลูกอ๊องทะจะบวมโต เป็นต้น

คน :

วัณโรคส่วนมากจะแสดงอาการที่ปอด แต่เชื้อก็สามารถกระจายไปยังส่วนอื่น ๆ ในร่างกายและทำให้เกิดอาการผิดปกติที่เป็นอันตรายได้ เช่น วัณโรคกระดูก วัณโรคเยื่อหุ้มสมอง มีอาการต่อมน้ำเหลืองโต มีรอยโรคในลำไส้ โรคที่ผิวหนังแบบเรื้อรังที่เกิดจากต่อมน้ำเหลืองแตก และคนที่ติดเชื้อผ่านทางผิวหนังจะพบรอยโรคเฉพาะบริเวณ เรียก butcher's wart ซึ่งเป็นหูดที่มีขนาดใหญ่ ผิวขรุขระ โดยมากมักพบที่มือ

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

พบลักษณะเป็นตุ่มทั่วร่างกาย ซึ่งอาจมีสีขาว เหลือง หรือเทา แข็ง อยู่ที่ผิวหนังหรือฝังอยู่ในเนื้อเยื่อ เมื่อตัดขวางมักพบเนื้อตายอยู่ตรงกลาง มีสภาพคล้ายเนย ซึ่งจะแข็งและแข็งกว่าหนอง ที่ pleural และ peritoneal surface มักพบตุ่มจำนวนมากกระจายอยู่ เรียก pearl disease จะเกิดการสะสมของแคลเซียมในตุ่มหนอง (calcification) ในต่อมน้ำเหลืองที่ปอดจะพบตุ่มที่ bronchiole-alveolar junction และกระจายไปยังเนื้อปอดส่วนปลาย ในตับเชื้อจะแพร่มาทาง portal vein ระยะแรกตับจะมีขนาดเล็ก แต่เมื่อนานเข้าจะโตเป็นก้อนใหญ่ได้

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ และคน :

1. ตรวจหาเชื้อ โดยทำเล็ดย้อมสีไลต์จากอวัยวะที่มีรอยโรค ย้อมสีพิเศษ เช่นวิธี modified Ziehl-Neelsen (MZN)
2. เพาะเชื้อ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ
3. ตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR
4. tuberculin skin test เพื่อตรวจดูการตอบสนองของภูมิคุ้มกันชนิด delayed-type hypersensitivity

การรักษา :

สัตว์ :

แยกสัตว์ที่ติดเชื้อออกจากฝูง แล้วทำลาย

คน :

ให้ยาปฏิชีวนะ

การควบคุม และการป้องกันโรค :

โค :

1. ตรวจโรคในโค ด้วยวิธีการทดสอบทางผิวหนังอย่างสม่ำเสมอ ปีละ 1 ครั้ง ถ้าพบว่าสัตว์ในฝูงเป็นโรคหรือสงสัยว่าเป็นโรค ควรแยกสัตว์นั้นออกจากฝูง ทำการตรวจโรคซ้ำ หากพบผลบวกให้ทำลายสัตว์

2. มีการจัดการฟาร์มที่ดี เช่น ควบคุมการเคลื่อนย้ายสัตว์ มีการเฝ้าระวังการเข้า-ออกของ คนงานในฟาร์ม มีการตรวจโรคสัตว์ที่จะนำเข้าฟาร์ม เป็นต้น

3. มีโปรแกรมการตรวจโรคซ้ำในฝูงที่พบโรค

คน :

1. ไม่ควรบริโภคน้ำนมดิบที่ไม่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ
2. ผู้ที่ทำงานเกี่ยวข้องกับสัตว์ หรือเนื้อเยื่อควรสวมถุงมือ และอุปกรณ์ป้องกันการติดเชื้อ

3.2 โรคไขหูดับ (*Streptococcus suis* infection)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus suis* อยู่ในวงศ์ *Streptococcaceae* สกุล *Streptococcus* เป็น แบคทีเรียชนิดแกรมบวก รูปร่างกลม มี 29 ซีโรไทป์ แต่ซีโรไทป์ที่ทำให้เกิดโรคในสุกรได้แก่ ซีโรไทป์ 1, 2, 1/2, 14 และ 19 โดยเฉพาะซีโรไทป์ 2 พบว่าสามารถติดต่อสู่คนและก่อให้เกิดความรุนแรงได้มากที่สุด

ชื่อพ้อง : โรคติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สุกร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสุกรหย่านมและสุกรขุน โค กระบือ แพะ แกะ และควายไบนัน

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

ผู้เลี้ยงสุกร ผู้ทำงานในโรงฆ่าสุกร หรือผู้ที่สัมผัสกับสารคัดหลั่งของสุกร เช่น น้ำมูก น้ำลาย ผู้จำหน่าย หรือผู้ที่รับประทานเนื้อสุกรดิบ หรือสุกไม่เพียงพอ ผู้ติดสุราเรื้อรัง ผู้มีโรคประจำตัว เช่น โรคเบาหวาน โรค ความดัน ไต มะเร็ง หัวใจ ผู้ที่เคยตัดม้ามออก

ระบาดวิทยา :

เชื้อ *Streptococcus suis* ปกติจะมีอยู่ในสุกรเกือบทุกตัวแต่ไม่ทำให้เกิดอาการใด ๆ แต่เมื่อเชื้อมีติด คนพบว่าร้อยละ 50 ของผู้ป่วยเยื่อหุ้มสมองอักเสบจากเชื้อ *S. suis* หลังจากหายป่วยจะหูหนวกไม่ได้ยินเสียง ใดๆ ในขณะที่พบการตายจากการติดเชื้อได้เพียงร้อยละ 7 จากผลการสำรวจคนในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2561 ทั่วประเทศพบการติดเชื้อ *S. suis* กระจายทุกภาคโดยเฉพาะภาคเหนือ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2562) ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม-25 เมษายน 2564 พบผู้ป่วยแล้ว 119 ราย เสียชีวิต 9 ราย ผู้ป่วยส่วนใหญ่อยู่ใน กลุ่มผู้สูงอายุที่อายุมากกว่า 65 ปี (กรมควบคุมโรค, 2564)

พยาธิวิทยาของโรค :

สุกรจำนวนร้อยละ 60-100 เป็นพาหะของเชื้อ *S. suis* แต่ไม่แสดงอาการใดๆ แต่เชื้อจะฝังตัวอยู่ใน ต่อมทอนซิลของสุกร เมื่อสุกรอ่อนแอ เครียดหรือป่วย ด้วยโรคอื่นๆ เชื้อแบคทีเรียจะเพิ่มจำนวนขึ้นและเข้าไป

ในกระแสเลือด ทำให้สุกรป่วยและตายได้ การแสดงอาการป่วยมักพบเพียงร้อยละ 2-15 ของฝูงเท่านั้น ในสุกรที่มีอายุไม่เกิน 2 เดือน มักไม่พบสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคที่มีความรุนแรง แต่ในฝูงสุกรอายุมากที่มีสุกรจำนวนมากที่เลี้ยงแบบหนาแน่น และมีปัจจัยเสี่ยงที่จะก่อให้เกิดการระบาดของโรคนี เช่น ความเครียด เช่น การระบายอากาศที่ไม่ดี และความหนาแน่นที่มากเกินไป เป็นต้น จะทำให้เกิดโรคที่มีความรุนแรงขึ้นได้

การติดต่อ :

สุกร :

เชื้อนี้สามารถติดต่อระหว่างสุกรได้โดยการสัมผัสโดยตรง ทางอากาศ อุปกรณ์ต่าง ๆ และอาจติดต่อทางการกินได้ สุกรพาหะที่ไม่แสดงอาการอาจแพร่เชื้อสู่สุกรตัวอื่นทางการสัมผัส โดยการติดเชื้อมาก่อนจะแพร่ระหว่างสุกรหย่านม เนื่องจากพบเชื้อได้ในทอนซิลและทางเดินหายใจส่วนต้นของสุกร และยังพบได้ในท่อระบบสืบพันธุ์ของแม่สุกรที่แท้งหรือขณะคลอดลูก สุกรที่มีเชื้อจะแพร่เชื้อสู่สุกรตัวอื่นโดยการสัมผัสโดยตรง ทางอากาศ สิ่งพาหะ การกิน นอกจากนี้สุกรเกิดใหม่อาจติดเชื้อมีระหว่างคลอด

คน :

1. การบริโภคเนื้อสุกรดิบหรือสุกไม่เพียงพอ
2. การสัมผัสสุกรที่ติดเชื้อทำให้เชื้อเข้าทางบาดแผลที่ผิวหนังหรือเข้าทางเยื่อเมือก

พาหะนำโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สุกร :

พบได้ในกลุ่มลูกสุกรตอนนม โดยสุกรที่ติดเชื้อจะไม่แสดงอาการใด ๆ แต่ในบางรายสามารถก่อให้เกิดโรคที่มีความรุนแรงได้ ความรุนแรงของอาการจะขึ้นกับซีโรไทป์ ความรุนแรงของเชื้อ และระดับภูมิคุ้มกันของสุกร อาการส่วนมากที่พบ ได้แก่ เยื่อหุ้มสมองอักเสบเฉียบพลัน ร่วมกับพบอัตราการตายสูงในลูกสุกรที่เพิ่งหย่านม และสุกรขุน อาการอื่นที่พบ ได้แก่ ซึม เบื่ออาหาร มีไข้ ตัวสั่น ร่างกายทำงานไม่สัมพันธ์กัน หลั่งน้ำตา ชัก ตาบอด การอักเสบของอวัยวะควบคุมการทรงตัว หูชั้นในและชั้นกลางอักเสบ สามารถนำไปสู่หูดับ และการทำงานที่ผิดปกติของการทรงตัว บางครั้งเชื้อ *S. suis* ก่อให้เกิดอาการปวดอักเสบ เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ หรือแท้ง ในสุกรที่ป่วยแบบเฉียบพลัน จะเกิดภาวะโลหิตเป็นพิษ เนื่องจากเชื้อเข้าสู่กระแสเลือดและตายโดยไม่แสดงอาการ กรณีมีอาการจะพบไข้สูงประมาณ 105-107 องศาฟาเรนไฮต์ ซึม ซึม ออกรกอย่างรุนแรง แสดงอาการเจ็บปวด เดินขาแข็ง หรือมีอาการกล้ามเนื้อสันกระดูก ทำงานไม่ประสานกัน ซึม ผิวหนังเป็นสีแดง นอนตะกุกตะกั่น ชักเกร็ง และตาย

คน :

ระยะฟักตัวประมาณไม่กี่ชั่วโมง ถึง 3 วัน ขึ้นกับปริมาณ ทางที่ได้รับเชื้อ และพื้นฐานสุขภาพของผู้ป่วย อาการเริ่มต้นจะคล้ายเป็นไข้หวัด มีไข้ ปวดศีรษะ คอแข็ง อาเจียน ตามด้วยอาการของเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เช่น ปวดศีรษะอย่างรุนแรง มีไข้ วิงเวียนศีรษะ คลื่นไส้ ตาอักเสบ ข้ออักเสบ กล้ามเนื้ออักเสบ สับสน โดยมาก

หลังหายจากโรคแล้วจะสูญเสียการได้ยิน จนถึงขั้นหูหนวกถาวร อาการอื่น ๆ ที่ยังหลงเหลือ ได้แก่ ข้ออักเสบ ปวดศีรษะ โครงสร้างภายในลูกต้ออักเสบ เนื้อเยื่อใต้ผิวหนังอักเสบ ในรายที่มีการติดเชื้อในกระแสเลือด จะมีผลต่ออวัยวะต่าง ๆ เช่น ตับ ไต เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ ลูกต้ออักเสบ มีจำเลือดทั่วตัว และช็อค

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

ผิวหนังเป็นปื้นแดง ต่อมเหงื่อคั่งเลือดและขยายใหญ่ ม้ามขยายใหญ่ และข้ออักเสบแบบมีไฟบริน เยื่อหุ้มข้ออาจหนาตัว มีของเหลวใสหรือขุ่นอยู่ในปริมาณมาก ในกรณีที่เป็นเยื่อหุ้มสมองอักเสบ อาจพบว่าสมองบวม น้ำ พบการคั่งเลือด และมีน้ำในสมองสีใสหรือขุ่นในปริมาณมาก อาจพบว่าปอดแข็ง และมีการอักเสบของปอด และหลอดลมแบบมีหนองและไฟบริน

การวินิจฉัยโรค :

สุกร และคน :

1. ตรวจพบเชื้อจากการเพาะเชื้อ จากนั้นยืนยันชนิดของเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางชีวเคมี หรือโดยวิธีพิเศษได้แก่การใช้เครื่อง MALDI-TOF (mass spectrometry bacteria identification automate)
2. ตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี IFAT, indirect ELISA
3. ตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี multiplex PCR หรือ real-time multiplex PCR

การรักษา :

สุกร :

ยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น penicillin และ amoxycillin

คน :

ยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น penicillin, amoxycillin, ampicillin, clindamycin และ enrofloxacin เชื้อที่แยกได้บางเชื้ออาจดื้อยา มีการรักษาแบบพ่วงอาการ (supportive treatment) ในรายที่เกิดภาวะช็อค และอาการจากสารพิษของเชื้อ ถ้าจำเป็นอาจต้องมีการศัลยกรรมเพื่อกำจัดเนื้อตาย

การควบคุม และป้องกันโรค :

สุกร :

1. ไม่จำเป็นต้องทำให้ฝูงสุกรปลอดจากเชื้อ *S. suis* เพราะทำได้ยาก และสัตว์ที่เป็นพาหะของโรคมักจะมีสุขภาพดี
2. การจัดการที่ดี เพื่อลดความเครียด ด้วยระบบเข้าออกพร้อมกันหมดทั้งโรงเรือน (all-in/all-out) ร่วมกับการทำความสะอาดโรงเรือน และการฆ่าเชื้อในบริเวณที่เลี้ยงสัตว์ระหว่างการเข้า-ออก
3. การใช้วัคซีน และยาปฏิชีวนะ อาจช่วยลดอุบัติการณ์ของโรคได้ แต่ไม่สามารถกำจัดการติดเชื้อออกจากฝูงได้

คน :

1. ผู้ปฏิบัติงานในฟาร์ม หรือโรงฆ่าสัตว์ ต้องปฏิบัติตัวให้ถูกต้องตามหลักสุขาภิบาลและสวมอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล เช่น รองเท้าบูท ถุงมือ ระหว่างปฏิบัติงาน และล้างมือหลังสัมผัสสุกรทุกครั้งจะช่วยป้องกันการแพร่เชื้อจากสุกรมาสู่คนได้
2. หลีกเลี่ยงการสัมผัสแผลเปิดของสุกรหรือสิ่งคัดหลั่งจากสุกรโดยตรง
3. หลีกเลี่ยงการบริโภคเนื้อสุกรที่ปรุงไม่สุก โดยเฉพาะสุกรจากฟาร์มที่มีประวัติของการพบเชื้อใช้หุ้บ
4. ใช้ถุงมือป้องกันโรค เมื่อต้องสัมผัสกับเนื้อสุกร โดยเฉพาะผู้ปรุงอาหาร
5. เลือกซื้อเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ที่มีมาตรฐาน

3.3 โรคเมลิออยด์ (melioidosis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* อยู่ในวงศ์ *Burkholderiaceae* สกุล *Burkholderia* ชนิดแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง

ชื่อพ้อง : โรคมวงค่อเทียม, Whitmore's disease, เมลิออยโดสิส

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

โค กระบือ แพะ แกะ สุกร สุนัข แมว อุฐี ม้า ลา ม้าลาย กวาง แพนด้า สัตว์ตระกูลลิง สัตว์ฟันแทะ สัตว์ป่า นก ปลา โลมา แมวน้ำ

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

ผู้ที่สัมผัสกับดินและน้ำ เช่น ชาวนา ขวสวน ขวประมง กลุ่มคนที่มีโรคประจำตัว ได้แก่ เบาหวาน ไตวายอักเสบเรื้อรัง ธาลัสซีเมีย มะเร็ง เป็นต้น ผู้สูบบุหรี่ หรือดื่มสุรา

ระบาดวิทยา :

เป็นโรคประจำถิ่น (endemic area) ในประเทศออสเตรเลียตอนเหนือ ประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และเอเชียใต้ เช่น ประเทศไทย อินเดีย พบการระบาดในฤดูฝน ในประเทศไทยมีรายงานการพบเชื้อในดินและน้ำได้ทั่วไปทุกภาค แต่พบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเฉพาะในจังหวัดขอนแก่น และอุบลราชธานี เชื้อมีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีสามารถอยู่ในดินได้นานถึง 30 เดือน และสามารถพบในดินลึกได้ถึง 90 เซนติเมตร ในสัตว์ มีรายงานการเกิดโรคในสุกร 4 ตัวที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สมใจ และคณะ, 2523) จากนั้นมาในปี พ.ศ. 2529 พบโรคในสุกรที่ภาคใต้ (สนองและคณะ, 2529) สำหรับในปี พ.ศ.

2540 พบรายงานการติดเชื้อในคนทั่วประเทศไทยถึง 412 คน ซึ่งคนร้อยละ 62.5 เป็นผู้ป่วยที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (Trakulsomboon *et al.*, 1999)

กลไกการเกิดโรค :

โรคเมลิออยด์สามารถแสดงอาการทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง แบบเฉียบพลันจะทำให้เกิดโลหิตเป็นพิษ ในขณะที่ส่วนมากจะพบแบบเรื้อรังซึ่งพบตุ่มหนองกระจายตามอวัยวะภายในและต่อมน้ำเหลือง แต่ไม่แสดงอาการทางคลินิกให้เห็น

การติดต่อ :

สัตว์ :

ส่วนใหญ่จะติดเชื้อทางบาดแผลที่ผิวหนัง จากเชื้อที่อยู่ในดิน โคลน และน้ำ

คน :

อาจได้รับเชื้อจากสิ่งแวดล้อมโดยตรงผ่านผิวหนัง การดื่มน้ำหรือกินอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อสำลักน้ำหรือหายใจเอาฝุ่นดินหรือลมเข้าปอด หรือโดยการได้รับเชื้อจากสัตว์ที่ติดเชื้อโดยจากการสัมผัสเลือดหรือของเหลวจากร่างกายสัตว์ เช่น ปัสสาวะ น้ำมูก และน้ำนม กินเนื้อสัตว์ที่ติดเชื้อโดยที่ยังสุกไม่เพียงพอ นอกจากนี้มีรายงานการติดต่อจากคนสู่คนทางเพศสัมพันธ์ และผ่านรกจากแม่สู่ลูก

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สัตว์ :

สัตว์ป่วยแสดงอาการได้ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง สัตว์ที่แสดงอาการแบบเฉียบพลันมักมีการติดเชื้อในกระแสเลือดและตายอย่างรวดเร็ว อาการป่วยที่พบคือ ไข้สูง หอบ มีน้ำมูก ไอ ปอดอักเสบ ท้องเสีย บางตัวอาจแสดงอาการทางระบบประสาท แต่ส่วนใหญ่สัตว์จะป่วยแบบเรื้อรัง โดยพบเป็นฝีแพร่กระจายตามอวัยวะต่าง ๆ อวัยวะอักเสบ เต้านมอักเสบ ซึ่งพบว่าการปนเปื้อนเชื้อออกมาได้จากรายงานการติดเชื้อเมลิออยโดสิสในสุกรจากการปนเปื้อนของเชื้อในน้ำบ่อของฟาร์มสุกรในประเทศออสเตรเลีย พบว่าสุกรในแต่ละช่วงอายุป่วยด้วยอาการที่รุนแรงแตกต่างกัน อาจเกิดจากสุกรติดเชื้อโดยวิธีที่ต่างกัน พบว่าหากสุกรติดเชื้อโดยการกินจะมีการบวมของต่อมน้ำลาย parotid ซึ่งพบได้บ่อยในสุกรที่เลี้ยงบนพื้นดิน สุกรที่ติดเชื้อเข้าสู่บาดแผลพบตุ่มหนองบริเวณตัวสุกรและแพร่กระจายในอวัยวะภายใน ส่วนสุกรที่แสดงอาการทางระบบหายใจอาจเกิดจากการที่สุกรหายใจเอาเชื้อเข้าไประหว่างกินน้ำจากที่ให้น้ำ (nipple drinker) ที่มีแรงดันน้ำมากเกินไป

คน :

ผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงคือผู้ป่วยที่มีโรคอื่น ๆ อยู่ก่อน เช่น เบาหวาน มะเร็ง ไตวาย ซึ่งอาการมักเกิดแบบเฉียบพลัน อาการที่แสดงออกมีหลายแบบ เช่น

1. มีอาการ septicemia โดยเริ่มแรกมีอาการหนาวสั่น มีไข้ ต่อมาพบกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบอย่างรุนแรง ตายได้ใน 2-4 วัน
2. มีอาการคล้าย subacute ของโรคไทฟอยด์ โดยเริ่มมีอาการทางผิวหนัง เม็ดตุ่มหรือแผลหลุม และตามมาด้วยอาการหล่อน้ำเหลืองอักเสบ โลหิตเป็นพิษ และปอดบวม
3. แบบเรื้อรัง เป็นอาการที่พบได้มากที่สุด มีอาการทางระบบทางเดินหายใจ มีไข้ ไอ เจ็บหน้าอก อาจไอเป็นเลือดและเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดตามมาได้ มีอาการปอดบวม หรือลักษณะเป็นฝีตามต่อมต่างๆ ของร่างกายและเนื้อเยื่อต่างๆ
4. แบบไม่แสดงอาการ แต่สามารถตรวจพบระดับภูมิคุ้มกันได้ในกระแสเลือด

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

รอยโรคส่วนใหญ่จะเป็นตุ่มหนองลักษณะ caseous greenish-yellow มักจะไม่พบการสะสมของแคลเซียมในตุ่มหนอง โดยมากมักพบรอยโรคกระจายตามต่อมน้ำเหลืองบริเวณต่างๆ เช่น ม้าม ปอด ตับ ไต ผิวหนัง ในรายเฉียบพลันมักพบวิธีการที่ปอด สมองและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และข้อต่ออักเสบแบบเป็นหนอง

การวินิจฉัยโรค :

สุกร และคน :

1. เพาะเชื้อจากตัวอย่างอวัยวะภายในต่างๆ หรือเสมหะ นำไปย้อมสี ตรวจหาเชื้อ
2. ตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี complement fixation test (CFT), IHA, IFAT, indirect ELISA
3. ตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

การรักษา :

สัตว์ :

ไม่มีการรักษา หากพบสัตว์ป่วยให้ทำลาย

คน :

ให้สารน้ำ และยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมเช่น ceftazidime, amoxicillin-clavulanic acid, doxycycline, tetracycline ร่วมกับการควบคุมการติดเชื้อ

การควบคุม และป้องกันโรค :

สัตว์ :

1. ปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนในสัตว์
2. ระงับการเกิดน้ำท่วมขัง
3. ไม่เลี้ยงสัตว์ในบริเวณที่เคยเกิดโรคระบาด

คน :

1. ปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนในคน
2. จะใช้การปฏิบัติตามสุขลักษณะที่ดีส่วนบุคคล ได้แก่ หลีกเลี่ยงการสัมผัสดินและน้ำโดยตรง หากจำเป็นต้องสวมถุงมือ กางเกงขายาว และรองเท้ายาง สวมรองเท้าเมื่อออกจากบ้าน
3. ไม่ไปในแหล่งที่มีน้ำท่วมขัง
4. ทานอาหาร และดื่มน้ำต้มสุกและสะอาด ไม่ควรนำซากสัตว์ที่เป็นโรคมารับประทาน

3.4 โรคฉี่หนู (leptospirosis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อแบคทีเรีย *Leptospira* spp. ในวงศ์ *Leptospiraceae* สกุล *Leptospira* มีลักษณะเป็นเส้นเกลียว คล้ายเส้นเชือก มีปลายโค้งงอ (hook) ข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้าง แบ่งได้เป็น 24 ซีโรกรุป และกว่า 200 ซีโรวาร ขึ้นกับ lipopolysaccharide (LPS) ที่ผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย

ชื่อพ้อง : โรคเลปโตสไปรา

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

ส่วนใหญ่เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น หนู สุนัข โค กระบือ สุกร แพะ แกะ ม้า ลิง ค้างคาว สกังก์แรคคูน กระรอก เป็นต้น สำหรับสัตว์เลือดเย็น และสัตว์ปีก สามารถพบแอนติบอดีต่อเลปโตสไปราได้เช่นกัน แต่ความสำคัญในวงจรการติดเชื้อยังไม่ชัดเจน

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

สัตว์แพทย์ คนที่ทำงานในโรงฆ่าสัตว์ เกษตรกร ผู้เลี้ยงสัตว์ ชาวนา คนงานในเหมือง และคนชนบท

ระบาดวิทยา :

มักพบการระบาดในเดือนตุลาคม และเดือนพฤศจิกายน เนื่องจากเป็นฤดูฝนต่อหนาว มีน้ำขังพบในประเทศที่อยู่ในเขตร้อน สำหรับความชุกของการเกิดโรคในสัตว์ร้อยละ 2-46 ขึ้นกับชนิดของสัตว์

พยาธิวิทยาของโรค :

เมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะเข้าสู่กระแสเลือดภายใน 24 ชั่วโมง จากนั้นจะแพร่ไปยังอวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะไตที่เป็นอวัยวะหลัก เนื่องจากเชื้อสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างรวดเร็ว จึงไม่เกิดการอักเสบที่ผิวหนัง ตำแหน่งทางเข้าของเชื้อ แต่จะเกิดการอักเสบที่ผนังหลอดเลือดแดงในอวัยวะต่าง ๆ ได้ เชื้อจะเพิ่มจำนวนในท่อไต (proximal convoluted tubule) เชื้อบางส่วนจะหลุดออกมาพร้อมปัสสาวะ

การติดต่อ :**สัตว์ :**

1. ติดต่อทางตรง เช่น การผสมพันธุ์ สัมผัสเชื้อที่ขับออกมาพร้อมกับปัสสาวะ
2. ระบบสืบพันธุ์ เช่น รก น้ำเชื้อ และการติดต่อจากแม่สู่ลูกในท้อง
3. ตามบาดแผล รอยขีดข่วน แผลถลอก

คน :

1. ติดเชื้อผ่านทางผิวหนังและเยื่อเมือกต่างๆ
2. ติดต่อผ่านทางน้ำ เช่นในเวลาที่ฝนตกมีน้ำท่วมขัง ทำให้เชื้อออกมาจากดิน
3. กินอาหารที่ปนเปื้อน
4. ติดต่อจากแม่สู่ลูกขณะตั้งครรภ์ และจากการกินนมแม่

พาหะของโรค : ไม่มี**อาการทางคลินิก :****สุกร :**

เป็นได้ทั้งสัตว์รังโรคที่ไม่แสดงอาการ และแสดงอาการโดยพบ มีไข้สูง เลือดจาง ปัสสาวะปนเลือด ดีซ่าน เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และตาย หากไม่ตายจะโตช้า หรืออาจพบเพียงความสูญเสียทางด้านการสืบพันธุ์ ได้แก่ การแท้งลูกลูกตายแรกคลอด และลูกเกิดมาอ่อนแอ

โค :

โคที่ได้รับเชื้อขณะตั้งท้องจะทำให้เกิดการแท้งระยะกลางไปจนถึงระยะท้ายหรือลูกที่คลอดอ่อนแอ น้ำนมลด เต้านมอักเสบ

ม้า :

อาจเกิดการแท้ง uveitis ทำให้ตาบอดได้ อาจพบว่ามีไข้ ซึม ดีซ่าน

สุนัข :

ซึม มีไข้ เยื่อตาอักเสบ กล้ามเนื้ออ่อนแรง ดีซ่าน หากอาการรุนแรงจะพบภาวะตับวาย ไตวาย และมีเลือดออกที่ปอด

คน :

ไม่มีอาการจำเพาะ แต่ทั่วไปมักพบ ไข้สูง หนาวสั่น ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง โดยเฉพาะกล้ามเนื้อน่อง คลื่นไส้ อาเจียน ตาแดง มีอาการทางระบบประสาท คอแข็ง ไอแห้งหรือไอเสมหะปนเลือดในบางครั้งพบอาการดีซ่านแบบฉับพลันหรือเอ็นไซม์ที่บ่งชี้การทำงานของตับเพิ่มสูงขึ้น หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ ร่างกายจะสร้างภูมิคุ้มกันเพื่อกำจัดเชื้อเอง โดยใช้จะลดลง ปวดศีรษะ ซึ่งอาจหายเองได้ ถ้าไม่เกิดโรคแทรกซ้อน

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

โดยทั่วไป ในสุนัข ซากจะพอมเห็น ขาดน้ำ ในรายที่มีอาการรุนแรง จะพบอาการดีซ่าน อาจพบรอยโรคในอวัยวะภายในต่างๆ ได้แก่ ตับ ไต และปอด มีการอักเสบของผนังหลอดเลือดแดง (vasculitis) ทำให้พบภาวะเลือดออกผิดปกติ มีการอักเสบที่เนื้อเยื่อไต (acute interstitial nephritis) พบการอักเสบและมีเลือดออกที่ปอด มีจุดเลือดออกที่สมอง ในโค อาจพบเลือดออกบริเวณเส้นเลือดและเยื่อเมือกทั่วไปโดยเฉพาะบริเวณกระเพาะอาหาร

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ และคน :

1. ตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธีการเพาะแยกเชื้อ และนำมาส่องกล้องจุลทรรศน์ ชนิดเฟสคอนทราสต์ (phase-contrast microscopy)
2. ตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี microscopic agglutination test (MAT), IFAT, indirect ELISA
3. ตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

การรักษา :

สัตว์ :

ในกรณีที่สัตว์มีอาการเฉียบพลันให้ยา amoxicillin แต่หากสัตว์มีอาการเรื้อรังให้ยา dihydrostreptomycin

คน :

ให้ยาปฏิชีวนะร่วมกับการจัดการภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ ของโรค ส่วนในคนที่สงสัยการติดเชื้อให้ยาปฏิชีวนะร่วมกับการจัดการภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ ของโรค

การควบคุม และป้องกันโรค :

สัตว์ และคน :

1. จัดการที่อยู่อาศัยให้มีสุขาภิบาลที่ดี
2. กำจัดสัตว์ที่เป็นพาหะนำโรค เช่น หนู
3. สำหรับผู้ที่มีอาชีพที่มีความเสี่ยงต่อการสัมผัสเชื้อควรสวมถุงมือ หน้ากากและสวมใส่รองเท้าบูทยางขณะปฏิบัติงาน

3.5 โรคแท้งติดต่อ (brucellosis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อแบคทีเรีย *Brucella mellitensis*, *B. abortus* และ *B. suis* อยู่ในวงศ์ *Brucellaceae* สกุล *Brucella* ติดสีแกรมลบ มีลักษณะ coccobacilli เป็นโคโลนีเดี่ยว

ชื่อพ้อง : โรคติดเชื้อมาลตา หรือ Malta fever

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

โค กระบือ แพะ แกะ สุกร กวาง อาจพบได้ใน อูฐ สุนัข ม้า สัตว์ป่า และ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ เช่น แมว น้ำ วาฬ

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

ผู้ปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องกับเชื้อมาลตาในห้องปฏิบัติการ เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ คนงานในฟาร์มแพะ และแกะ สัตวแพทย์ คนขายเนื้อ

ระบาดวิทยา :

พบการระบาดทั่วโลก พบมากในประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน เชื้ออยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นานหลายเดือน โดยเฉพาะในสภาวะที่เย็นและชื้น สามารถอยู่ในเต้านม และปนเปื้อนออกมากับน้ำนมได้ด้วย เชื้อที่พบในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็น *B. melitensis* และ *B. abortus* ในสัตว์ โดย *B. melitensis* พบในแพะ และแกะ เชื้อ *B. abortus* พบในโค และกระบือ และ *B. suis* พบในสุกร สำหรับ *B. melitensis* จะก่อโรคในคนได้มากที่สุดและรุนแรงกว่า *B. abortus*

พยาธิวิทยาของโรค :

เมื่อเชื้อแบคทีเรียเข้าร่างกายแล้ว จะฝังตัวในเนื้อเยื่อ และเข้าสู่กระแสเลือด กระจายไปทั่วร่างกาย เชื้อจะเพิ่มจำนวนภายในเม็ดเลือดขาวที่อยู่ในต่อมน้ำเหลือง จากนั้นจะแพร่กระจายอย่างรวดเร็วไปตามระบบน้ำเหลืองและสามารถผ่านไปยังกระแสเลือด โดยหลังจากได้รับเชื้อประมาณ 1 สัปดาห์ จะพบเชื้ออยู่ในระบบสืบพันธุ์ เชื้อถูกปล่อยออกมาผ่านทางน้ำนม ปัสสาวะ และน้ำอสุจิ

การติดต่อ :

สัตว์ และคน :

1. กินอาหาร น้ำ หรือน้ำนมที่ปนเปื้อนเชื้อ
2. การสัมผัสโดยเชื้อเข้าทางผิวหนังและเยื่อชุ่ม
3. การหายใจเอาเชื้อเข้าร่างกาย
4. การผสมพันธุ์ หรือการผสมเทียม
5. การทำคลอด และล้างเอารกออก

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สัตว์ :

โดยมากจะแสดงอาการแบบเรื้อรัง โดยจะพบอัตราการผสมติดต่ำ เนื่องจากมีอาการที่สำคัญคือ ระบบสืบพันธุ์ล้มเหลว ได้แก่ แท้งลูกในช่วงท้ายของการตั้งท้อง ไม่สมบูรณ์พันธุ์ ตายแรกคลอด ลูกสัตว์อ่อนแอ แม่สัตว์จะแท้งลูกและมีรกค้างและมดลูกอักเสบตามมาเสมอ การแท้งมักจะเกิดขึ้นในการตั้งท้องแรกเท่านั้น หลังจากนั้นอาจไม่แท้ง แต่จะเป็นตัวอมโรคแพร่ไปยังสัตว์ตัวอื่นได้ หรือลูกสัตว์ที่คลอดออกมาจะอ่อนแอไม่แข็งแรงหรืออาจเป็นหมัน สัตว์เพศผู้ลูกอันทะจะบวมโตข้างใดข้างหนึ่งและเป็นหมัน อาจพบข้ออักเสบร่วมด้วย อันตะบวม นอกจากนี้เชื่อยังสามารถสร้างตุ่มทั่วร่างกาย สัตว์จะทรุดโทรมลง และตาย

คน :

พบอาการหนาวสั่นไข้ขึ้น ๆ ลง ๆ หรือมีไข้สูง มีเหงื่อออกมากในเวลากลางคืน ปวดเมื่อยตามข้อ และกล้ามเนื้อ ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร หนาวสั่น น้ำหนักลด ตัวเหลืองซีด หรือมีการติดเชื้อเฉพาะที่ เช่น กระดูก เนื้อเยื่อ และอวัยวะในระบบต่าง ๆ เช่น ตับ ม้าม เป็นต้น

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

พบรกบวมน้ำและปกคลุมด้วยไฟบริน ตับขยายใหญ่ ในเพศเมียจะพบเต้านมและต่อมน้ำเหลืองที่เต้านมอักเสบ ในเพศผู้พบท่อน้ำเชื้อและอันทะอักเสบ มีวิธีการของ granuloma กระจายอยู่ทั่วเนื้ออันทะ ในลูกสัตว์ที่แท้งพบเชื้อที่ผนังกระเพาะอาหาร ของเหลวในกระเพาะ ปอด และม้าม รกจะมีสีคล้ำกว่าปกติ ในลูกสัตว์ที่แท้ง จะพบการบวมน้ำทั่วไป พบเลือดออกที่กระเพาะอาหารและลำไส้ ม้ามบวม พบจุดเลือดออกที่ต่อมน้ำเหลืองทั่วร่างกาย

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ และคน :

1. ตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะแยกเชื้อได้ใน ลูกโคแท้ง เยื่อหุ้มลูกโค น้ำเมือกที่ขับออกมาทางช่องคลอด หลังจากแท้งลูก
2. ตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน เช่น วิธี rose bengal test, CFT, indirect ELISA
3. ตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

การรักษา :

สัตว์ :

ไม่แนะนำให้รักษา

คน :

ในหญิงตั้งครรภ์ที่สงสัยว่าสัมผัสกับเชื้อควรได้รับยา doxycycline ร่วมกับ streptomycin หรือ quinolones

การควบคุม และป้องกันโรค :

สัตว์ :

1. ตรวจโรคเป็นประจำและนำสัตว์ที่เป็นโรคออกจากฝูง
2. ทำลายสัตว์ทุกตัวในฝูงที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบ
3. สัตว์ที่ให้ผลสงสัย ให้แยกเลี้ยง ในกรณีที่เกิดการติดเชื้อสัตว์จะแสดงอาการของโรค
4. สัตว์ที่ร่วมฝูงกับสัตว์ป่วย ให้สังเกตอาการอย่างใกล้ชิด
5. ทำลายลูกที่แท้ง รก น้ำคร่ำ โดยการฝังหรือเผา
6. ทำความสะอาดพื้นที่ที่พบโรคด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ
7. สำหรับคอกสัตว์ป่วยด้วยโรคนี้ ต้องใช้น้ำยาฆ่าเชื้อทำความสะอาด แล้วทิ้งไว้อย่างน้อย 1

เดือน ก่อนนำสัตว์ใหม่เข้าคอก

คน :

1. ผู้ที่ทำงานเกี่ยวข้องกับสัตว์และเนื้อเยื่อของสัตว์ ควรสวมถุงมือ และอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล เช่น แว่นตานิรภัย (goggles) หน้ากากอนามัย เสื้อสำหรับห้องปฏิบัติการ และผ้าพลาสติกกันเปื้อน
2. ไม่ควรบริโภคผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ ได้แก่ นม เนย ไอศกรีม เนื้อที่ปรุงไม่สุก

3.6 โรคแอนแทรกซ์ (anthrax)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus anthracis* อยู่ในวงศ์ *Bacillaceae* สกุล *Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่งตรง หัวท้ายตัด ไม่เคลื่อนที่ ย้อมติดสีแกรมบวก มีแคปซูลห่อหุ้ม สามารถสร้างสปอร์ได้ ต้องการแก๊สออกซิเจนในการเจริญเติบโต

ชื่อพ้อง : โรคกาฬี splenic fever, charbon

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทุกชนิด โดยเฉพาะในสัตว์กินหญ้า ได้แก่ โค กระบือ ม้า ลา ล่อ แพะ แกะ มักได้รับเชื้อจากการกินหญ้า หรืออาหารผสมที่มีเชื้อหรือดื่มน้ำจากแหล่งเดียวกับสัตว์ป่วย แต่ในบางครั้งอาจติดต่อเข้าทางบาดแผลหรือทางหายใจ สุนัข แมว หรือสัตว์กินเนื้อชนิดอื่น จะติดต่อโดยการกินเนื้อหรือกระดูกสัตว์หรือเศษอาหารที่ปรุงไม่สุกที่มีเชื้อเข้าไป หรือมีเชื้อปนอยู่ในส่วนประกอบของอาหาร สำหรับสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน และปลา ไม่ติดโรค

คนที่เป็กลุ่มเสี่ยง : สัตว์แพทย์ที่ชันสูตรซากสัตว์ เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ คนขายเนื้อสัตว์ ผู้ใกล้ชิดสัตว์ป่วย

ระบาดวิทยา :

พบการเกิดโรคแอนแทรกซ์ได้เพียงในบางพื้นที่เท่านั้น (sporadic) การระบาดมักพบในพื้นที่ที่มีสภาพเป็นต่าง มีแคลเซียมเป็นส่วนประกอบอยู่ในดิน มีสภาพอากาศอบอุ่นและมีการเกิดน้ำท่วมเป็นครั้งคราว โรคแอนแทรกซ์พบได้บ่อยในพื้นที่บางส่วนของทวีปแอฟริกา เอเชีย อเมริกา และตะวันออกกลาง พบมากในช่วงการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล ในพื้นที่ที่เคยมีการระบาดของโรค มักกลับมาเกิดซ้ำอีก เนื่องจากมีสปอร์ของเชื้อที่มีชีวิตอยู่ในดินได้เป็นเวลานานกว่า 10 ปี สำหรับในสัตว์ ความไวต่อการติดโรคแอนแทรกซ์ในสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยสัตว์เคี้ยวเอื้องทั้งที่เป็นสัตว์ป่าและสัตว์เลี้ยงมีความไวต่อโรคมามากที่สุด ม้ามีความไวต่อโรคน้อย ส่วนสัตว์ที่กินเนื้อ และสัตว์ที่กินทั้งพืชและเนื้อเป็นอาหารจะทนต่อการติดโรคแอนแทรกซ์

พยาธิวิทยาของโรค :

เมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกาย ถ้าเชื้ออยู่ในสภาพของสปอร์ เชื้อจะฟักตัวออกจากสปอร์จากนั้นเชื้อจะเข้าสู่ต่อมน้ำเหลือง เพิ่มจำนวน และเข้าสู่กระแสเลือด กระจายไปอยู่ตามส่วนต่างๆของร่างกาย ทำให้เกิดโลหิตเป็นพิษ บวม น้ำ และเลือดออก พร้อมกับสร้างสารพิษขึ้นมาทำให้สัตว์ป่วย และตายในที่สุด ในระหว่างสัตว์ป่วยเชื้อแบคทีเรียจะถูกขับออกมากับอุจจาระ ปัสสาวะ หรือน้ำนม เมื่อทำการเปิดผ่าซากเชื้อแบคทีเรียเมื่อสัมผัสกับอากาศก็จะสร้างสปอร์เป็นเกราะหุ้มตัวภายในเวลา 2-3 ชั่วโมง เพื่อให้ทนอยู่ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้นอกจากนี้เชื้อจะมีชีวิตอยู่ในน้ำเดือดได้นานถึง 30 นาที

การติดต่อ :

สัตว์ :

1. การหายใจเอาสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ในดินหรือหญ้าเข้าสู่ร่างกาย
2. การกินน้ำและอาหารที่มีเชื้อปะปนอยู่เข้าไป
3. เชื้อเข้าทางบาดแผล
4. แผลงดูดเลือดชนิดต่าง ๆ ไปดูดเลือดสัตว์ที่มีเชื้อและนำเชื้อไปติดสัตว์ตัวอื่นเมื่อไปดูดเลือด

สัตว์ตัวนั้น

5. สัตว์กินเนื้อ ที่ไปกินซากสัตว์ที่ตายจากโรคนี้

คน :

1. ในคนที่ทำการผ่าซากสัตว์ที่ตายจากโรคนี้
2. คนที่บริโภคเนื้อสัตว์ป่วยด้วยโรคนี้แบบสุกไม่เพียงพอ

อาการทางคลินิก :

สัตว์ :

สัตว์ที่เป็นโรคแบบเฉียบพลันมาก (peracute) จะตายอย่างรวดเร็วภายในเวลา 1-2 ชั่วโมง สัตว์จะล้มลง ชัก กล้ามเนื้อสั่น เคี้ยวฟัน กลอกตา หายใจขัด และตาย พร้อมกับมีเลือดสีดำนอกจากปาก จมูก ทวารหนัก

สัตว์ที่เป็นโรคแบบเฉียบพลัน (acute) จะตายภายใน 1-2 วัน โดยสัตว์จะมีอาการโลหิตเป็นพิษ ได้แก่ ใช้สูงประมาณ 41.7 องศาเซลเซียส กล้ามเนื้อสั่น หายใจเร็ว ลึก หัวใจเต้นเร็ว เยื่อชุ่มต่างๆ มีเลือดคั่งหรือมีจุดเลือดออก ลำตัวบวม น้ำ นานมดอย่างรุนแรงและอาจมีเลือดปนหรือมีสีเหลืองเข้มท้องอืด และตาย อาการสำคัญ คือ เมื่อสัตว์ใกล้ตาย เลือดจะไม่แข็งตัว หลังตายใหม่ๆ จะมีเลือดสีดำนอกจากไหลออกตามทวาร เช่น จมูก ปาก ทวารหนัก ซากสัตว์จะขึ้นอืดเร็ว ไม่แข็งตัวถ้าทำการเปิดผ่าซากจะพบเลือดออกตามอวัยวะต่าง ๆ พบของเหลวสีน้ำตาลเลือดภายในช่องอกและช่องท้อง ลำไส้อักเสบรุนแรงมีเลือดออกเลือดไม่แข็งตัว และม้ามขยายใหญ่เห็นได้ชัดเจน

คน :

เชื้อนี้ก่อให้เกิดโรคในคน 3 รูปแบบคือ

1. การติดเชื้อที่ผิวหนัง (cutaneous anthrax) พบมากที่สุดได้แก่ ประมาณร้อยละ 95-99 ของผู้ป่วยแอนแทรกซ์ติดเชื้อ โดยสปอร์ของเชื้อเข้าทางบาดแผลและรอยแผลถลอก มักเป็นที่มือ แขน คอหรือขา ระยะฟักตัว 2-5 วัน รอยแผลเริ่มจากผื่นเป็นตุ่มแข็งจากนั้นจะเปลี่ยนเป็นตุ่มน้ำใส และแตกออกกลายเป็นแผลหลุมสีดำนัลลายรอยถูกจี้ด้วยบุหรี ในรายที่ไม่ได้รับการรักษา อาจจะมีการลุกลามไปยังต่อมน้ำเหลืองและกระจายไปตามกระแสเลือดทำให้เกิดภาวะโลหิตเป็นพิษได้ อัตราผู้ป่วยตาย กรณีไม่ได้รับการรักษาไม่สูงนักอยู่ระหว่างร้อยละ 5-20

2. การติดเชื้อระบบทางเดินหายใจ (pulmonary anthrax) เกิดจากการหายใจเอาสปอร์ของเชื้อเข้าสู่ร่างกาย เช่น ขนสัตว์ หรือกระดูกปน เป็นต้น ทำให้มีอาการบวม น้ำ และจุดเลือดออกเป็นหย่อม ๆ ที่เนื้อปอด และเกิดน้ำท่วมปอด (pleural effusion) แต่จะไม่พบปอดอักเสบ อาการทั่วไปคล้ายไข้หวัดใหญ่ สุดท้ายเชื้อจะเข้าสู่กระแสโลหิตทำให้เกิดภาวะโลหิตเป็นพิษและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ทำให้ตายได้ อัตราการป่วยตายร้อยละ 50-60

3. การติดเชื้อระบบทางเดินอาหาร (intestinal anthrax) เป็นการติดเชื้อที่รุนแรงที่สุดแต่พบไม่บ่อยนัก เกิดจากการกินเนื้อที่สุกไม่เพียงพอจากสัตว์ที่เป็นโรค พบในหน้าเขี้ยวคล้าและตายจากอาการของระบบหายใจล้มเหลวในช่วงเวลาเพียง 3-5 วัน หลังรับเชื้อ อัตราการป่วยตายของผู้ป่วยระบบนี้จะสูงมากถึงร้อยละ 80-90

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สัตว์ที่ตายด้วยโรคนี้ห้ามผ่าซากเด็ดขาด เนื่องจากเชื้อจากซากสัตว์เมื่อสัมผัสกับอากาศจะสร้างสปอร์ ทำให้บริเวณที่ผ่าซากกลายเป็นแหล่งของเชื้อโรค ในกรณีที่ทำการผ่าซากไปแล้วจะพบเลือดที่ไม่แข็งตัวไหล

ออกจากทวารต่าง ๆ ซากไม่แข็งตัว เน่าเร็ว ท้องอืดเนื่องจากการสร้างแก๊สมาก บวมน้ำใต้ผิวหนัง พบมีเลือดออกทั่วไปที่กล้ามเนื้อ ใต้ผิวหนัง และเยื่อเมือกต่าง ๆ ม้ามขยายใหญ่และมีสีดำ ปอดมีสีคล้ำ บวมน้ำ และมีจุดเลือดออก ต่อม้ำเหลืองที่ลำไส้ขยายใหญ่และพบจุดเลือดออก สมองมีเลือดคั่ง

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ :

1. สัตว์มีชีวิต

1.1 เจาะเลือดจากเส้นเลือดบริเวณโคนหาง คอ หรือหัวใจ มาป้ายสไลด์กระจก จากนั้นนำมาย้อมด้วยสีแกรม (gram) หรือสีจิมซ่า (giemsa) ตรวจสอบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

1.2 แยกเชื้อแบคทีเรีย โดยทำการเพาะเชื้อหรือฉีดเข้าสู่สัตว์ทดลอง

2. สัตว์ตาย เจาะเลือดตรวจเหมือนข้อ 1.1 และข้อ 1.2 ถ้าตรวจพบเชื้อ *B. anthracis* ให้ทำลายซาก แต่ถ้าตรวจไม่พบเชื้อ ให้เปิดผ่าซากตรวจดูวิธีการ แล้วเก็บอวัยวะต่างๆ เช่น หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ส่งตรวจต่อไป

3. ในกรณีซากสัตว์ถูกฆ่าแล้ว ควรเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ กระดูก หนอง ขน หรือดินบริเวณผ่าซากที่พบรอยเลือด อย่างระมัดระวัง ส่งห้องปฏิบัติการ เพื่อเพาะหาเชื้อ

คน :

1. ชักประวัติผู้ป่วย

2. นำเลือดมาป้ายสไลด์ย้อมสีจากนั้นนำสไลด์มาย้อมด้วยสีแกรม หรือสีจิมซ่าแล้วตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

3. เพาะแยกเชื้อใน blood agar จากนั้นนำมาตรวจทางชีวเคมี

4. ฉีดสัตว์ทดลอง

การรักษา :

สัตว์ :

ในรายเฉียบพลันมาก ไม่มีการรักษา แต่จะมีการรักษาในกรณีที่สัตว์เพิ่งเริ่มแสดงอาการ เช่น ไข้สูง โดยให้ยาปฏิชีวนะ penicillin, oxytetracycline

คน :

จะได้ผลดีเมื่อได้รับการรักษาแต่เริ่มแรก ด้วยยาปฏิชีวนะจำพวก penicillin กรณีผู้ป่วยที่แพ้ยา penicillin อาจใช้ tetracycline หรือยาปฏิชีวนะอื่น

การควบคุม และป้องกันโรค :

สัตว์ :

1. แยกสัตว์ป่วยออกจากฝูง

2. ฝังซากสัตว์โดยขุดหลุมลึกประมาณ 2 เมตร รองหลุมและโรยปูนขาวบนตัวสัตว์ก่อนกลบดิน และควรนำขอนไม้มาทับปากหลุมหรือใช้กิ่งไม้ที่มีหนามวางที่ปากหลุมเพื่อป้องกันสุนัขมาขุดดินควรทำการเผาสิ่งรอนอน

3. ใช้น้ำยา formalin หรือ 5-10% sodium hydroxide ราดพื้นเพื่อฆ่าเชื้อ

4. กักดูอาการสัตว์ที่รวมฝูงกับสัตว์ป่วยหรือตาย

5. ฉีดวัคซีนป้องกันโรคแอนแทรกซ์ให้กับสัตว์ทุก ๆ 6 เดือน โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน โค กระบือ ในพื้นที่ที่เคยระบาด และในพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดโรค ไม่ควรฉีดวัคซีนในสัตว์กำลังตั้งท้องเพราะจะทำให้แท้งได้

6. ควบคุมการลักลอบนำโค กระบือจากประเทศข้างเคียง เช่น ลาว พม่า ตามบริเวณชายแดน เข้าประเทศ โดยที่สัตว์เหล่านั้นไม่ได้รับการควบคุมโรค

คน :

1. แจ้งเจ้าหน้าที่สาธารณสุข

2. สืบหาผู้สัมผัสโรครายอื่น เพื่อให้รับการรักษา

3. หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับสัตว์ป่วยหรือผลิตภัณฑ์ที่ทำจากสัตว์ป่วย

4. ไม่นำเนื้อสัตว์ที่ตายโดยไม่ทราบสาเหตุหรือสัตว์ที่อาจป่วยเป็นโรคนี้มากิน และไม่นำซากสัตว์เหล่านั้นไปใช้ประโยชน์ต่อไป

5. การปรุงอาหารประเภทเนื้อสัตว์ต้องปรุงให้สุก

6. ควบคุมผลิตภัณฑ์สัตว์ทั้งภายในประเทศ และที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศที่ยังมีการระบาดของโรคแอนแทรกซ์ เช่น ประเทศในทวีปแอฟริกา และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

3.7 โรคแซลมอนเนลโลสิส (salmonellosis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อแบคทีเรีย *Salmonella* spp. อยู่ในวงศ์ *Enterobacteriaceae* สกุล *Salmonella* เป็นเชื้อชนิดแกรมลบ มีรูปร่างกลม เป็นแท่งสั้น ไม่สร้างสปอร์ ซึ่งจะเจริญเติบโตในสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศก็ได้ (facultative anaerobic) เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแฟลกเจลลา (flagella) รอบตัว ยกเว้น *S. enterica* Serovar Gallinarum Biovars Pullorum และ *S. enterica* Serovar Gallinarum Biovars Gallinarum

ชื่อพ้อง : ไม่มี

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สัตว์ปีก สุนัข สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยง และแมลงต่างๆ

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

ผู้ป่วยโรคระบบทางเดินอาหารหรือลำไส้ ผู้ที่มีปัญหาเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน เช่น ผู้ป่วยโรคเอดส์ โรคมาลาเรีย ผู้ที่ใช้ยาสเตียรอยด์ และผู้ที่รับประทานยากดภูมิคุ้มกันหลังการผ่าตัดปลูกถ่ายอวัยวะ

ระบาดวิทยา :

พบได้ทั่วโลก เดิมเรียกว่า paratyphoid bacteria ต่อมาเปลี่ยนชื่อเป็น *Salmonella Choleraesuis* เชื้อที่อยู่ในสกุล *Salmonella* มี 2 สปีชีส์ (species) ได้แก่ *S. enterica* และ *S. bongori* ซึ่ง *S. enterica* มี 6 subspecies และมีมากกว่า 2,500 ซีโรวาร์ แต่มีประมาณ 200 ซีโรวาร์ ที่สามารถทำให้เกิดโรคในคน (WHO, 2005) ซีโรวาร์ที่พบในสัตว์ปีกและคนมากที่สุด ได้แก่ *S. Typhimurium* และ *S. Enteritidis* ซีโรวาร์ที่พบในสุกรมากที่สุดคือ *S. Typhimurium* และ *S. Typhisuis* แต่ในประเทศไทยพบว่า ซีโรวาร์ที่พบในคนและสัตว์มากที่สุด ได้แก่ *S. Weltevreden*

พยาธิวิทยาของโรค :

สัตว์จะปล่อยเชื้อแบคทีเรียออกมากับอุจจาระ จากนั้นแมลงจะมาตอม ทำให้เชื้อติดไปกับแมลง เมื่อแมลงไปตอมอาหาร ทำให้เชื้อปนเปื้อนอาหาร หรือปนเปื้อนลงน้ำ เมื่อคนหรือสัตว์อื่นมาบริโภคอาหารหรือน้ำที่มีเชื้อ ก็จะติดเชื้อได้ อาหารที่พบได้บ่อยว่ามีการปนเปื้อนเชื้อ คืออาหารที่ได้จากสัตว์ เช่น เนื้อสัตว์ ไก่ นม หรือไข่ แต่อย่างไรก็ตามอาหารทั้งหมดรวมทั้งพืช อาจปนเปื้อนเชื้อแซลโมเนลลาได้ อย่างไรก็ตามพบว่าการปรุงอาหารให้สุกสามารถทำลายเชื้อแซลโมเนลลาได้

การติดต่อ :

สัตว์ปีก และสุกร :

1. การติดต่อสู่ลูกในตัวสัตว์ (vertical transmission)
 - 1.1 endogenous เชื้อแซลโมเนลลาบางชนิดสามารถผ่านจากผนังลำไส้เข้าสู่กระแสเลือดแล้วไปอยู่ตามอวัยวะต่างๆ ได้แก่ เชื้อ *S. Typhimurium* และ *S. Enteritidis*
 - 1.2 exogenous แม่พันธุ์ที่ติดเชื้อแซลโมเนลลาสามารถแพร่เชื้อไปยังตัวอ่อนที่ยังอยู่ในไข่ได้
2. การติดต่อระหว่างตัวสัตว์ (horizontal transmission) เป็นการติดเชื้อจากสัตว์ปีกตัวหนึ่งไปยังสัตว์ปีกตัวอื่นหรือเป็นการติดเชื้อที่มากับสิ่งแวดล้อมในการเลี้ยงสัตว์ปีก เช่น จากสัตว์อื่นที่มีเชื้อ เช่น หนู แมลงสาบ นก จากสัตว์ที่นำเข้ามาเลี้ยงใหม่ จากน้ำและอาหารสัตว์ที่ปนเปื้อนเชื้อจากอุจจาระและสิ่งปฏุนอน

คน :

กินอาหารดิบ อาหารที่ยังสุกไม่เพียงพอ อาหารที่ปนเปื้อนเชื้อ

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สัตว์ปีก :

เกิดโรค 3 ชนิดได้แก่

1. โรคอุจจาระขาว (pullorum disease) เกิดจากเชื้อ *S. enterica* Serovar Gallinarum Biovars Pullorum
2. โรคไทฟอยด์ (fowl typhoid) เกิดจากเชื้อ *S. enterica* Serovar Gallinarum Biovars Gallinarum
3. โรคพาราไทฟอยด์ (paratyphoid) เกิดจากแซลโมเนลลาสายพันธุ์ชนิดอื่นๆ

สุกร :

เกิดอาการ 3 แบบ ได้แก่

1. โลหิตเป็นพิษ (septicemia) เกิดจากเชื้อ *S. Choleraesuis*
2. เฉียบพลัน (acute) เกิดจากเชื้อ *S. Typhimurium* และ *S. Typhisuis*
3. เรื้อรัง (chronic) เกิดจากเชื้อทุกซีโรวารที่ทำให้เกิดโรค

คน :

แสดงอาการ 3 แบบ ได้แก่

1. อาการของระบบทางเดินอาหาร (gastroenteritis) โดยทั่วไปจะเกิดจากเชื้อชนิดที่ไม่เลือกโฮสต์ ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ช่วงระยะฟักตัวของโรคมักเริ่มขึ้นประมาณ 12-36 ชั่วโมง หลังจากได้รับเชื้อ ในกรณีที่ได้รับเชื้อจำนวนมาก อาการจะปรากฏขึ้นเร็วกว่าปกติหรือถ้าคนที่ไวต่อเชื้อมากเป็นพิเศษอาการก็จะเร็วกว่าปกติด้วย อาการประกอบด้วยท้องเดิน คลื่นไส้ ปวดท้อง ไข้สูงปานกลาง หนาวสั่น อาการท้องร่วงจะรุนแรงต่างกันตามลักษณะการถ่ายอุจจาระ เช่น อุจจาระอาจมีลักษณะเหลว จนถึงการถ่ายเป็นน้ำ ในบางครั้งผู้ป่วยอาจอาเจียน อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ปวดศีรษะ กระสับกระส่าย อาการดังกล่าวจะปรากฏอยู่นาน 2-5 วัน
2. อาการไข้ไทฟอยด์ (enteric fever) เกิดจากเชื้อ *S. Typhi*, *S. Paratyphi A.*, *S. Paratyphi B. (S. Schottmuelleri)* และ *S. Paratyphi C. (S. Hirschfeldii)* ระยะเวลาก่อนฟักตัวนาน 7-28 วัน (ขึ้นกับปริมาณของเชื้อที่ได้รับ) เฉลี่ยประมาณ 14 วัน ผู้ป่วยมีอาการปวดหัว ไข้ขึ้นสูงมากหลายวัน ปวดท้อง และปวดเมื่อยตามร่างกาย อ่อนเพลีย ถ่ายอุจจาระเหลวเป็นน้ำ คลื่นไส้ อาเจียน ไอ มีเหงื่อออกตามตัว หนาวสั่น เบื่ออาหาร มีจุดแดงตามลำตัวแผ่นหลัง และหน้าอก หัวใจเต้นช้า และอ่อน ท้องบวม น้ำม้ามโต บางครั้งมีเลือดออกจากช่องท้องและจมูกด้วย ผู้ป่วยอาจหมดความรู้สึก อาการทุเลาช้า และบางครั้งผู้ป่วยอาจเป็นพาหะของโรคไปอีกเป็นปี
3. อาการติดเชื้อในกระแสโลหิต (bacteremia/septicemia) เกิดจากเชื้อ *S. Typhi*, *S. Choleraesuis* และ *S. Dublin* ที่ฟักตัวในลำไส้เล็กเข้าไปในกระแสโลหิต ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง ปวดหลัง ปวดท้อง และเจ็บหน้าอก หนาวสั่น เหงื่อออกตามลำตัว เบื่ออาหาร น้ำหนักลด อาการที่เกิดขึ้น อาจเป็นแบบสั้นๆ

หรือเรื้อรังก็ได้ ในบางครั้งเชื้อเซลล์โมเนลลาอาจเข้าไปอยู่ในช่องว่างของลำไส้เล็กส่วนปลายและเพิ่มจำนวนขึ้น จากนั้นจะไชผ่านผนังของลำไส้เล็กเข้าสู่ระบบน้ำเหลือง ทำลายเม็ดเลือดขาว จากนั้นจะเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้เกิดเลือดเป็นพิษ (septicemia)

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สัตว์ปีก :

พบตับบวม มีเลือดคั่ง และมีหย่อมเนื้อตายสีขาว ที่หัวใจอาจพบเนื้อตายที่กล้ามเนื้อหัวใจ พบก้อนเนื้อตายสีขาวกลมเหลืองที่กล้ามเนื้อกระเพาะปัสสาวะ มีก้อนเนื้อตายขนาดต่างๆ ในผนังลำไส้ ในปอดพบปอดอักเสบและมีเม็ดตุ่ม

สุกร :

จะพบปื้นเลือดและมีจุดเลือดออกที่ผิวหนัง ไต ม้ามบวม พบก้อนเนื้อตายสีขาวที่ตับ ในลูกสุกรพบตุ่มสีขาว (button ulcers) ที่ลำไส้

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ :

1. เพาะเชื้อจากอุจจาระ หรือ cloacal swab/fecal swab
2. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี IHA, indirect ELISA
3. ตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

คน :

1. ตรวจอุจจาระ พบปริมาณเม็ดเลือดขาวมากกว่า 20 cell/HPE
2. พบเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเชื้ออุจจาระ ปัสสาวะ เลือด ไช้กระดูก น้ำไขสันหลังหรืออวัยวะที่มีการสงสัยว่าเกิดการติดเชื้อ
3. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี IHA, indirect ELISA
4. ตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

การรักษา :

สัตว์ :

ให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสม

คน :

1. รักษาตามอาการปกติแล้วผู้ป่วยสามารถหายเองได้ภายใน 4-7 วัน โดยไม่ต้องรักษา แต่บางรายอาจมีอาการขาดน้ำอย่างรุนแรงหรือมีการติดเชื้อนอกระบบทางเดินอาหาร จึงจำเป็นต้องได้สารน้ำทางเส้นเลือด และรักษาการติดเชื้อด้วยยาต้านจุลชีพ เช่น ampicillin, gentamicin, trimetoprim, sulfamethoxazole หรือ ciprofloxacin

2. การรักษาแบบจำเพาะ จำเป็นในกรณีที่เกิดการติดเชื้อนอกระบบทางเดินอาหารหรือการติดเชื้อในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูง ได้แก่ เด็กอายุต่ำกว่า 1 ปี ผู้สูงอายุมากกว่า 65 ปี ผู้ป่วยที่ได้รับยากดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผู้ป่วยโรคตับแข็ง และผู้ป่วยต่อมลูกหมากอักเสบที่ต้องใส่ prostatic valve ให้ยาต้านจุลชีพ norfloxacin, ceftriaxone หรือ ciprofloxacin

การควบคุม และป้องกันโรค :

สัตว์ :

1. การเลี้ยงดูสัตว์อย่างถูกสุขลักษณะ
2. ให้อาหารสัตว์ที่ไม่มีเชื้อปนเปื้อน
3. ลูกสัตว์ที่นำเข้ามาเลี้ยงต้องมาจากฟาร์มหรือโรงฟักไข่ที่ปลอดเชื้อแชลโมเนลลา
4. มีการจัดการฟาร์มที่ดี เพื่อให้สัตว์อยู่ในสิ่งแวดล้อมที่ปลอดเชื้อ เช่น สิ่งรบกวนนอน อุปกรณ์ และเครื่องใช้ต่าง ๆ ในฟาร์ม ก่อนนำสัตว์รุ่นใหม่เข้ามาเลี้ยง จะต้องมีการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรงเรือน อุปกรณ์ และเครื่องใช้ต่าง ๆ ภายในฟาร์ม และไม่ใช่เครื่องมือต่าง ๆ ร่วมกับฟาร์มอื่น
5. ควรมีโปรแกรมความมั่นคงทางชีวภาพ (biosecurity) ภายในฟาร์ม เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการแพร่กระจายเชื้อหรือนำเชื้อเข้ามาบริเวณฟาร์ม เช่น

- 5.1 ป้องกันไม่ให้คน หนู และแมลงอื่น ๆ เข้ามาในฟาร์ม
- 5.2 ไม่ให้สัตว์และคนที่เป็นพาหะของเชื้อเข้ามาในฟาร์ม
- 5.3 มีระบบการฆ่าเชื้อยานพาหนะ เครื่องมือ เครื่องใช้ก่อนเข้าฟาร์ม
- 5.4 มีระบบการฆ่าเชื้อ รองเท้า มือ ก่อนให้คนงานเข้าโรงเรือน
- 5.5 มีการตรวจสอบเชื้อแชลโมเนลลาในน้ำที่ใช้ในฟาร์ม และโรงฟักไข่
- 5.6 มีการฉีดวัคซีนป้องกันโรคในสัตว์

คน :

1. ไม่บริโภคเนื้อสัตว์หรือไข่ดิบ และน้ำนมที่ไม่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ
2. หลังจากสัมผัสตัวสัตว์ โดยเฉพาะสัตว์เลี้ยงคลาน ควรล้างมือให้สะอาดทุกครั้ง
3. ผู้ติดเชื้อ ต้องไม่เป็นผู้ประกอบอาหาร

บทที่ 4

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน ที่เกิดจากเชื้อปรสิต และพบในประเทศไทย

โรคที่เกิดจากเชื้อปรสิตที่ติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ มีอยู่หลายโรค แต่โรคที่จะกล่าวในบทนี้จะ เป็นโรคที่พบและมีความสำคัญในประเทศไทย

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อปรสิตที่สำคัญ และพบในประเทศไทย เช่น

- 4.1 โรคทริคิเนลโลสิส (trichinellosis)
- 4.2 โรคพยาธิตืดหมู (pork tapeworm infection)
- 4.3 โรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis)
- 4.4 โรคพยาธิใบไม้ในลำไส้ (*Fasciolopsis buski* infection)
- 4.5 โรคท็อกโซพลาสโมซิส (toxoplasmosis)
- 4.6 โรคบาแลนติดีเอสิส (balantidiasis)

4.1 โรคทริคิเนลโลสิส (trichinellosis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

พยาธิตัวกลม *Trichinella spiralis* อยู่ในวงศ์ *Trichinellidae* สกุล *Trichinella*

ชื่อพ้อง : พยาธิตัวกลม พยาธิกล้ามเนื้อ

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สุกร หนู สุนัข

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

คนที่กินเนื้อสุกรที่มีตัวอ่อนของพยาธิใบ หรือสุกไม่เพียงพอ

ระบาดวิทยา :

พบการระบาดของโรคนี้ได้ทั้งในสุกรและคนทั่วโลก ในประเทศไทยพบการระบาดได้ทั้งในสุกร หนู และ สุนัข (มนทกานต์, 2548) ในประเทศไทยโรคนี้เกิดจากพยาธิตัวกลม 3 ชนิด ได้แก่ ทริคิเนลล่า สไปราลิส (*Trichinella spiralis*) ทริคิเนลล่า ซูโดสไปราลิส (*T. pseudospiralis*) และทริคิเนลล่า ปาปัวเอ (*T. papuae*) ซึ่งพบในสุกรทั้ง 3 ชนิด เชื้อทริคิเนลล่าที่พบโดยมากจะเป็น *T. spiralis* สำหรับในคนพบการระบาด ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2505 ที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน โดยมักพบในคนที่ซื้อสุกรชาวเขาที่เลี้ยงแบบปล่อยนำมาฆ่าเพื่อ

จำหน่ายหรือแจกจ่ายกันไปทำอาหาร ทำให้ผู้ป่วยเป็นจำนวนมาก เดิมพบผู้เสียชีวิต แต่ปัจจุบันไม่พบ รายงานผู้เสียชีวิต (นิมิตรและเกตุรัตน์, 2546) อย่างไรก็ตามยังมีรายงานการเกิดโรคในคนอยู่แทบทุกปี

พยาธิวิทยาของโรค :

โรคนี้จะแพร่มาสู่คนได้โดยการกินเนื้อสุกรที่มีตัวอ่อนของพยาธิในถุงหุ้มที่ฝังอยู่ในกล้ามเนื้อแบบดิบหรือกึ่งสุกกึ่งดิบ เช่น ลาบ แหนม หลู้ ก้อย น้ำตก เมื่อสัมผัสน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร ถุงหุ้มตัวอ่อนของพยาธิจะถูกย่อย และออกมาเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยภายใน 2-3 วัน จากนั้นจะผสมพันธุ์กันในลำไส้เล็กออกลูกเป็นตัวอ่อนจำนวนมาก พยาธิตัวอ่อนจะไชเข้าไปในระบบน้ำเหลือง และเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตในที่สุดจะแพร่ไปทั่วร่างกาย จากนั้นจะเข้าไปฝังตัวอยู่ตามกล้ามเนื้อ กล้ามเนื้อที่พบมากคือกะบังลม กล้ามเนื้อตา กล้ามเนื้อที่อยู่ระหว่างกระดูกซี่โครง กล้ามเนื้อแก้ม ลิ้นและน่องนอกจากนี้ยังพบในอวัยวะอื่นของร่างกาย เช่น กล้ามเนื้อหัวใจ ปอดสมอง ตับ ตับอ่อน และไตพยาธิตัวอ่อนที่ขุดตัวอยู่ในกล้ามเนื้อจะสร้างถุงหุ้มล้อมรอบและภายใน 1 เดือนหลังการติดพยาธิจะมีหินปูนมาหุ้มอีกชั้นหนึ่ง พยาธิตัวอ่อนในถุงหุ้มนี้นี้มีชีวิตอยู่ในสุกรได้นานถึง 11-24 ปี แต่จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนกว่าเนื้อสุกรที่มีถุงหุ้มของพยาธิจะถูกกินเข้าไปอย่างไรก็ดีอาจมีพยาธิตัวอ่อนบางตัวไม่เจริญเติบโตเป็นพยาธิตัวเต็มวัยในลำไส้เล็ก แต่จะถูกขับออกมากับอุจจาระในกรณีเช่นนี้สัตว์อื่นสามารถติดโรคได้โดยการกินอุจจาระที่มีตัวอ่อนพยาธิปนเปื้อน

การติดต่อ :

สุกร และคน :

กินเนื้อสุกรหรือสัตว์ชนิดอื่น ที่มีตัวอ่อนของพยาธิ

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สุกร :

ความรุนแรงของโรคขึ้นกับจำนวนพยาธิที่ได้รับ ถ้าได้รับพยาธิจำนวนน้อยจะไม่แสดงอาการผิดปกติ แต่สุกรที่ได้รับพยาธิจำนวนมากจะทำให้สุกรป่วย ได้แก่ มีไข้ ซึม เบื่ออาหารผอมแห้ง หายใจลำบาก บวมตามหน้า เจ็บปวดตามกล้ามเนื้อมีปัญหาเกี่ยวกับการเคลื่อนไหวของขาโดยเฉพาะขาหลังจะแข็งทำให้ลุกขึ้นยืนหรือเดินด้วยความลำบาก และมีขนหยาบกร้าน

คน :

แบ่งเป็น 3 ระยะคือ

ระยะที่ 1 ตั้งแต่ 24 ชั่วโมงถึง 1 สัปดาห์ เป็นระยะที่ผู้ป่วยมีพยาธิตัวแก่อยู่ในลำไส้เล็กระยะนี้ผู้ป่วยจะมีอาการของโรคทางเดินอาหาร ได้แก่อาการปวดท้อง คลื่นไส้อาเจียน ท้องเดิน และอาจมีอาการอ่อนเพลีย

ระยะที่ 2 สัปดาห์ที่ 2-6 หลังจากได้รับพยาธิ โดยตัวอ่อนของพยาธิกระจายไปทั่วร่างกายและไชเข้ากล้ามเนื้อ ผู้ป่วยมีอาการไข้สูง เคี้ยวและ/หรือกลืนอาหารและน้ำลำบาก เปลือกตาบวม ตาแดง

เลือดออกใต้ตาหายใจลำบาก ปวดตามกล้ามเนื้อโดยขึ้นอยู่กับกล้ามเนื้อส่วนใดที่ถูกพยาธิตัวอ่อนไขผู้ป่วยบางรายมีอาการผื่นขึ้นตามตัว เลือดออกใต้เล็บบางรายมีอาการของเยื่อหุ้มสมองและสมองอักเสบ กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ ซึ่งอาจรุนแรงจนถึงแก่ชีวิตได้

ระยะที่ 3 สัปดาห์ที่ 6 เป็นต้นไป พยาธิตัวอ่อนจะเริ่มสร้างถุงหุ้ม ระยะนี้อาการของผู้ป่วยจะดีขึ้น แต่อาจมีอาการปวดตามกล้ามเนื้อ และอ่อนเพลียในระยะยาว อย่างไรก็ตามมีหลายรายที่ได้รับเชื้อแล้วไม่แสดงอาการ แต่สามารถตรวจพบพยาธิได้โดยการตรวจชิ้นเนื้อหลังจากเสียชีวิตไปแล้ว

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สุกรที่ตายจากการติดเชื้อพยาธิ พบถุงน้ำที่มีแคลเซียมล้อมรอบ อยู่ในกล้ามเนื้ออ่อนและกะบังลม

การวินิจฉัยโรค :

สุกร :

1. การตรวจหาตัวอ่อนของพยาธิ

1.1 การบีบเนื้อ (compression) โดยการตัดชิ้นเนื้อไปตรวจโดยใช้กระจกสไลด์ 2 แผ่น กดกล้ามเนื้อให้บางที่สุด จากนั้นนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

1.2 การย่อย (digestion) โดยใช้เอนไซม์ย่อย (acid-pepsin) จากนั้นนำตัวอ่อนที่ได้ไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดสเตอริโอ

2. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี indirect ELISA

3. การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

คน :

ใช้วิธีเดียวกับในสัตว์ แต่สามารถอาศัยประวัติของผู้ป่วยช่วยในการวินิจฉัย ได้แก่ ประวัติการกินเนื้อสัตว์ดิบ หรือสุกไม่เพียงพอ ประกอบกับการพิจารณาอาการของผู้ป่วย เช่น ไข้สูง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเดิน ตาบวม ปวดตามกล้ามเนื้อ ร่วมด้วยผลการตรวจเลือด ได้แก่ การพบเม็ดเลือดขาว ชนิดอีโอสิโนฟิล (eosinophil) สูงขึ้นกว่าปกติ

การรักษา :

สุกร :

ทำลายได้เฉพาะตัวเต็มวัยในลำไส้ โดยให้ยาในกลุ่ม benzimidazole เช่น thiabendazole, albendazole แต่ในระยะที่เป็นถุงหุ้มจะรักษาไม่ได้

คน :

ทำลายได้เฉพาะตัวเต็มวัยในลำไส้ โดยให้ยาในกลุ่ม benzimidazole เช่น thiabendazole, mebendazole, albendazole แต่ในระยะที่เป็นถุงหุ้มจะรักษาไม่ได้

การควบคุม และป้องกันโรค :

สุกร :

1. เลี้ยงสุกรในคอกที่แข็งแรงหรือในบริเวณที่จำกัด ไม่ปล่อยให้หาอาหารกินเอง
2. ให้อาหารสุกรด้วยอาหารสำหรับสุกรโดยตรงถ้าใช้เศษอาหารที่มีเนื้อสัตว์เลี้ยงสุกรจะต้องต้มให้สุกเพื่อทำลายพยาธิตัวอ่อนที่อยู่ในเศษเนื้อสัตว์
3. กวดขันการเคลื่อนย้ายสุกรในเขตที่มีโรคระบาดวิธีการที่ดีที่สุดคือ ทำลายสุกรที่สงสัยว่าเป็นโรคทั้งหมดด้วยการเผาหรือฝังให้ลึก
4. ไม่ซื้อสุกรจากแหล่งที่เป็นโรค หรือเกิดโรคระบาดมาเลี้ยง
5. ควรมีโรงฆ่าสัตว์ที่ได้มาตรฐานที่มีการตรวจเนื้อสัตว์ว่าปลอดจากโรคต่าง ๆ ก่อนนำไปจำหน่ายในท้องตลาด

คน :

1. ปรุงอาหารที่เป็นเนื้อสุกรหรือเนื้อสัตว์ป่าอย่างเหมาะสมโดยให้ความร้อนนานอย่างน้อย 30 นาที สำหรับเนื้อที่มีน้ำหนัก 1 กิโลกรัม จึงสามารถฆ่าตัวอ่อนของพยาธิที่อยู่ในเนื้อสัตว์ได้
2. กำจัดสัตว์อื่นที่เป็นตัวแพร่โรคได้ เช่น หนู เพราะสุกรสามารถติดโรคได้โดยการกินซากหนูที่มีพยาธิ ในกรณีที่มีสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข แมว ในบริเวณที่มีการเกิดโรคตายลงจะต้องฝังให้มิดชิด จากนั้นกลับด้วยดินผสมปูนขาว
3. ให้ความรู้ด้านสุขศึกษาแก่ประชาชน

4.2 โรคพยาธิตืดหมู (pork tapeworm infection)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

พยาธิตัวตืด *Taenia solium* อยู่ในวงศ์ *Taeniidae* สกุล *Taenia* ระยะตัวอ่อนของพยาธิ เรียก *Cysticercus cellulosae*

ชื่อพ้อง : พยาธิเม็ดสาคุ, cysticercosis, taeniasis

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สุกร สุกรป่า แกะ อุฐ กวาง สุนัข แมว กระต่าย

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

คนที่กินเนื้อสุกรดิบ หรือสุกไม่เพียงพอ ที่มีตัวอ่อนของพยาธิ

ระบาดวิทยา :

พบการระบาดของพยาธิชนิดนี้ในสุกรและคนทั่วโลก โดยมากพบในทวีปอเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ เอเชีย และแอฟริกา ในประเทศไทยพบการรายงานโรคตั้งแต่ปี พ.ศ. 2504 จากการผ่าซากสุกรร้อยละ 2.79

(62/2,223) ในโรงฆ่าสัตว์ กรุงเทพฯ (de Jesus and Waramontri, 1916) ต่อมาจากรายงานการรวบรวมการพบพยาธิติตหมูระหว่างปี พ.ศ. 2507-2510 ในสุกรถึงร้อยละ 2.57 (61,096/2,377,281) (ราพิง, 2515) ไม่กี่ปีมานี้ยังพบอุ้งน้ำในกล้ามเนื้อสุกรอยู่ แต่ไม่พบการรายงานการพบพยาธิ (มนทกานต์, จากการสัมภาษณ์) ในขณะที่พบคนที่ติตพยาธิชนิดนี้ได้ทุกภาค และพบผู้ป่วยได้ตั้งแต่อายุ 7-83 ปี (Anataphruti, 2013) ในปี พ.ศ. 2543-2548 พบความชุกของโรคต่ำกว่าร้อยละ 1 โดยพบมากทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และมีรายงานการพบไข่พยาธิ *T. solium* จากอุจจาระของผู้ป่วย 5 รายในจังหวัดกาญจนบุรี (Waikagul *et al.*, 2006) และจากการสำรวจในประชากรในจังหวัดกาญจนบุรี ภาคกลาง ช่วงปี พ.ศ. 2549-2550 พบว่ามีคนเป็นโรคพยาธิติตหมูร้อยละ 0.06 (Anantaphruti *et al.*, 2010)

พยาธิวิทยาของโรค :

คนเป็นโฮสต์จำเพาะได้รับพยาธิเข้าไปในร่างกาย โดยการกินเนื้อสุกรดิบหรือสุกไม่เพียงพอที่มีตัวอ่อนของพยาธิฝังตัวอยู่ เมื่อพยาธิเข้าไปในลำไส้เล็กส่วนหัวของตัวอ่อนที่หุดซ่อนอยู่จะยื่นออกมาภายนอกพยาธิตัวอ่อนจะเอาส่วนหัวเกาะกับผนังลำไส้เล็กพยาธิตัวเต็มจะได้รับสารอาหารจากอาหารในลำไส้เล็กของคน โดยการดูดซึมเข้าทางผิวหนังของพยาธิจากนั้นพยาธิจะเจริญเป็นพยาธิตัวเต็มวัย โดยการสร้างปล้องเพิ่มทั้งจำนวนและความยาวจะเกิดการผสมพันธุ์ขึ้นภายในปล้องที่มีอวัยวะสืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียได้เป็นไข่พยาธิซึ่งจะเจริญเป็นตัวอ่อนที่มีตะขอที่หัวจำนวน 6 อัน (oncosphere หรือ hexacanth larva) ภายในไข่ส่วนปลายสุดของตัวพยาธิจะเป็นปล้องที่มีไข่อยู่ภายใน (gravid segments หรือ gravid proglottids) จะหลุดออกจากลำตัวที่ละ 4-5 ปล้องปนออกมากับอุจจาระของคน ซึ่งผู้ป่วยอาจเห็นได้ด้วยตาเปล่า เป็นแผ่นแบนๆ สีขาวเคลื่อนไหวได้ เมื่อคนถ่ายอุจจาระลงพื้นดิน ไข่ของพยาธิจะมาปะปนอยู่ในดินและสามารถมีชีวิตอยู่ในดินและสิ่งแวดล้อมภายนอกได้นานถึง 2 เดือนเพราะไข่พยาธิมีเปลือกหนาหุ้มอยู่ เมื่อสุกรที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางกินอาหารที่มีไข่พยาธิปนเปื้อนอยู่เข้าไป เปลือกไข่และเยื่อหุ้มตัวอ่อนจะถูกย่อยโดยน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของสุกรตัวอ่อนที่ออกจากไข่จะฝังในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็กเข้าไปในเส้นเลือดและท่อน้ำเหลืองจากนั้นกระจายไปตามระบบไหลเวียนโลหิตและน้ำเหลืองไปยังอวัยวะต่าง ๆ ทำให้พบอุ้งหุ้มที่กล้ามเนื้อระบบประสาทส่วนกลาง และตับ เมื่อตัวอ่อนฝังตัวจะมีอุ้งน้ำที่มีผนังบางล้อมรอบลักษณะที่มองเห็นด้วยตาเปล่าคล้ายเม็ดสาकुสีขาวยังฝังอยู่ในเนื้อสุกรซึ่งจะเกิดขึ้นภายในเวลาประมาณ 70 วัน หลังจากสุกรกินไข่พยาธิเข้าไป เม็ดสาकुนี้จะมีชีวิตได้นานหลายปี เมื่อคนกินเนื้อสุกรดิบหรือสุกไม่เพียงพอก็จะติตพยาธิได้

การติดต่อ :

สุกร :

กินไข่พยาธิที่อยู่ในอุจจาระคน

คน :

มีการติตพยาธิ 2 รูปแบบ

1. ติตนิเอซิส (taeniasis) คือการที่มีพยาธิตัวเต็มวัยอยู่ในลำไส้โดยการรับประทานเนื้อสุกรดิบหรือสุกไม่เพียงพอ ที่มีตัวอ่อนของพยาธิระยะอุ้งหุ้ม

2. ซิสติเซอร์โคซิส (cysticercosis) คือการที่มีถุงหุ้มตัวอ่อนของพยาธิอยู่ภายใน โดยที่ถุงหุ้มนี้เองจะไปฝังตัวอยู่ตามอวัยวะต่างๆ การเกิดโรคมีย 3 วิธี ได้แก่

2.1 การกินอาหารที่ปนเปื้อนด้วยไข่ของพยาธิติดโดยเฉพาะพืชผักสดที่ล้างไม่สะอาด ซึ่งผักเหล่านี้ปลูกโดยการใช้อุจจาระคนเป็นปุ๋ยรดผัก หรือรดด้วยน้ำที่ปนเปื้อนอุจจาระคน น้ำที่ใช้ล้างวัตถุดิบที่ใช้ทำอาหาร อาจมีการปนเปื้อนดินที่มีไข่พยาธิอยู่ ซึ่งจะทำให้ไข่พยาธิปะปนเข้าไปในอาหารได้

2.2 การช้อนเอาปล้องแก่ที่หลุดออกจากพยาธิตัวเต็มวัยที่อยู่ในลำไส้เล็กย้อนกลับเข้าไปในกระเพาะอาหารของตัวเอง

2.3 คนที่มีพยาธิตัวเต็มวัยอยู่ในลำไส้ ใช้นิ้วมือล้างกัน หรือเกาบริเวณทวารหนัก ไข่พยาธิจะติดที่นิ้วมือ ถ้าคนนั้นไม่ล้างมือแล้วใช้นิ้วมือจับอาหารเข้าปาก พยาธิจะเข้าสู่ร่างกายได้

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สุกร :

ไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆ

คน :

สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบดังนี้

1. อาการที่เกิดจากพยาธิตัวเต็มวัยในลำไส้เล็ก มักไม่เกิดอาการรุนแรงมากนัก พบเพียงอาการที่เกิดจากการแย่งอาหารของพยาธิและการระคายเคืองจากตัวพยาธิ บางรายที่มีอาการได้แก่น้ำหนักลดปวดท้องเรื้อรังคลื่นไส้อาเจียนท้องอืดอุจจาระบ่อยโลหิตจางหรืออาจเกิดอาการลำไส้อุดตันจากการที่ตัวพยาธิมีวนตัวเป็นก้อนจนอุดตันลำไส้ บางรายอาจมีอาการคันตามผิวหนังหรือเกิดผื่นลมพิษได้

2. อาการที่เกิดจากตัวอ่อนระยะถุงหุ้มขึ้นกับอวัยวะที่พบ และปริมาณของถุงหุ้ม ภาวะที่รุนแรงที่สุด ได้แก่ การพบถุงหุ้มที่สมองทำให้เกิดอาการทางประสาท (neurocysticercosis) ผู้ป่วยอาจมีอาการปวดหัว ชัก ความจำเสื่อม ความดันในกะโหลกศีรษะสูงขึ้น ในบางรายอาจมีอาการอัมพาตครึ่งล่าง เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และอาจทำให้ผู้ป่วยตายได้ ถ้าเกิดที่ตาทำให้ตามัวหรือตาบอดได้ ถ้าพบใต้ผิวหนังอาจทำให้เกิดตุ่มนูนขนาดเล็กๆ สามารถคลำพบได้ ถ้าเกิดในกล้ามเนื้อจะมีอาการปวดกล้ามเนื้อ

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สุกรที่ตายจากการติดเชื้อพยาธิชนิดนี้ พบถุงน้ำอยู่ในกล้ามเนื้อทั่วไป

การวินิจฉัยโรค :

สุกร :

1. พบตัวอ่อนระยะถุงหุ้มในกล้ามเนื้อ ซึ่งมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า
2. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี indirect ELISA
3. การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

คน :

แบ่งเป็น 2 แบบ ได้แก่

1. ตัวเต็มวัยของพยาธิตัวตืดในลำไส้
 - ซักถามประวัติและอาการเช่นประวัติที่อยู่อาศัย อาหารที่บริโภค อาชีพปศุสัตว์ ไร่ไถ่ ทุ่งอืด ชีต
 - การตรวจร่างกายตรวจอุจจาระ โดยวิธี modified Kato-Katz technique เพื่อหาไข่พยาธิ ปล้องสุก หรือส่วนหัวของพยาธิที่หลุดออกมาปนกับอุจจาระ
 - การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี indirect ELISA
 - การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR
2. ตัวอ่อนระยะงูหุ้มในกล้ามเนื้อ ตับ และสมอง
 - ซักถามประวัติและอาการ เช่นชัก ปวดหัวเรื้อรังโดยไม่ทราบสาเหตุ
 - ตรวจสมองหรือกล้ามเนื้อด้วยเอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์ (magnetic resonance imaging, MRI) จะพบตัวอ่อนระยะที่อยู่ในถุงหุ้มพบภาพเงาสีขาวเป็นวงแหวนหรือมีแคลเซียมเกาะ
 - การตัดชิ้นเนื้อจากใต้ผิวหนังหรือสมอง เพื่อการตรวจทางพยาธิวิทยา

การรักษา :

สุกร :

ให้ยา oxfendazole

คน :

1. ตัวเต็มวัยของพยาธิตัวตืดในลำไส้ ให้ยาถ่ายพยาธิ praziquantel หรือ albendazole
2. ตัวอ่อนระยะงูหุ้มในกล้ามเนื้อมีการรักษาร่วมกัน 2 วิธี คือ ให้ยาถ่ายพยาธิ praziquantel ร่วมกับการผ่าตัดเอาตัวอ่อนระยะงูหุ้มออกจากกล้ามเนื้อ สมอง ไขสันหลัง

การควบคุม และป้องกันโรค :

สุกร :

เลี้ยงสุกรในคอกที่ถูกสุขลักษณะ อย่าปล่อยให้หาอาหารกินเอง

คน :

1. ถ่ายอุจจาระในหลุมสุกษาที่ถูกสุขลักษณะเสมอ
2. ไม่กินเนื้อสุกดิบหรือสุกไม่เพียงพอเช่น ลาบดิบ หลู้ แหนมสด
3. ล้างมือให้สะอาดหลังจากถ่ายอุจจาระทุกครั้ง ไม่ใช้มือจับอาหารเข้าปาก
4. ถ้าเดินทางไปประเทศที่การสาธารณสุขยังไม่ดี ต้องระมัดระวังเรื่องการดื่มน้ำและอาหาร

4.3 โรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

พยาธิใบไม้ *Opisthorchis viverrini* อยู่ในวงศ์ *Opisthorchidae* สกุล *Opisthorchis*

ชื่อพ้อง : ไม่มี

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สุนัข แมว ปลาน้ำจืดที่มีเกล็ด หอย *Bithynia* spp.

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

คนที่กินปลาน้ำจืดชนิดมีเกล็ดดิบ หรือสุกไม่เพียงพอ

ระบาดวิทยา :

พบในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศไทย ลาว และกัมพูชา เนื่องจากพฤติกรรมการบริโภคปลาน้ำจืดที่ปรุงไม่สุก ในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2553 พบรายงานความชุกของพยาธิใบไม้ตับที่จังหวัดขอนแก่นในสุนัขและแมวร้อยละ 3.9 และ 36.4 ตามลำดับ (Enes *et al.*, 2010) ในคนมีการสำรวจผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปี พ.ศ. 2531 พบร้อยละ 35.6 และในปี พ.ศ. 2544 พบการติดเชื้อเพียงร้อยละ 9.4 แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง (Jongsuksuntigul and Imsomboon, 2003) ต่อมาในปี พ.ศ. 2553 มีรายงานผู้ป่วยพยาธิใบไม้ตับเฉลี่ย 1.58 คน ต่อประชากรหนึ่งแสนคน โดยส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดสกลนคร ยโสธร อำนาจเจริญ และลำปาง (ณัฐวุฒิ, 2553)

พยาธิวิทยาของโรค :

พยาธิตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ในท่อน้ำดีของโฮสต์สุดท้าย ได้แก่ คน สุนัข และแมว โดยพยาธิจะผสมพันธุ์และออกไข่ปนออกมากับอุจจาระของโฮสต์ จากนั้นไข่พยาธิจะถูกหอยน้ำจืด (*Bithynia* spp.) ซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวแรกกินตัวอ่อนของพยาธิซึ่งฟักออกจากไข่ และพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะต่างๆในหอย จนถึงระยะที่สี่ จากนั้นจึงกลายเป็นระยะเชอคาเรีย (cercaria) ซึ่งจะออกจากตัวหอยและไชเข้าสู่กล้ามเนื้อหรือใต้เกล็ดของปลาน้ำจืดซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง จะมีการสร้างถุงน้ำขึ้นห่อหุ้มเรียกว่าตัวอ่อนของพยาธิระยะเมตาเซอร์คาเรีย (metacercaria) จากนั้นโฮสต์จำเพาะกินปลาที่ปรุงไม่สุก เมื่อตัวอ่อนของพยาธิระยะเมตาเซอร์คาเรียเข้าสู่ร่างกายถุงน้ำที่ห่อหุ้มตัวอ่อนจะถูกย่อยในลำไส้เล็กส่วนต้น จากนั้นพยาธิตัวอ่อนจะไชไปยังถุงน้ำดี และพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งสามารถสืบพันธุ์และออกไข่ได้ภายในเวลาเพียง 3-4 สัปดาห์หลังจากนั้น

การติดต่อ :

สุนัข แมว และคน :

กินปลาน้ำจืดชนิดมีเกล็ด เช่น ปลาชิว ปลาขาว ปลาตะเพียน เป็นต้น ที่มีตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของเชื้อซึ่งสุกไม่เพียงพอ

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สุนัข แมว :

ไม่แสดงอาการป่วยใดๆ

คน :

โดยทั่วไปผู้ป่วยจะไม่แสดงอาการ มีรายงานว่าผู้ป่วยที่มีพยาธิในร่างกายจะแสดงอาการ มีไข้ ท้องอืด อ่อนเพลีย เสียด แน่นท้อง ปวดบริเวณชายโครงด้านขวา รู้สึกร้อนบริเวณช่องท้อง อุจจาระผิดปกติ สีขุ่น ผู้ป่วยประมาณร้อยละ 14 จะมีอาการตับโตร่วมด้วย (Mairiang and Mairiang, 2003) พยาธิชนิดนี้พบว่าเป็นสาเหตุโน้มนำในการเป็นมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยจากโรคพยาธิใบไม้ในตับจะค่อนข้างต่ำแต่ความรุนแรงจะเพิ่มสูงขึ้นตามพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในตับและท่อน้ำดี เช่น ท่อน้ำดีอักเสบ (cholangitis) การอุดตันของท่อน้ำดี ภาวะตับโตและมะเร็งของท่อน้ำดี

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สุนัข หรือแมวที่ติดพยาธิชนิดนี้ ไม่พบรอยโรคที่ผิดปกติใด ๆ ในบางรายอาจพบเพียงผนังลำไส้มีจุดเลือดออก

การตรวจวินิจฉัย :

สุนัข แมว และคน :

1. การตรวจหาไข่พยาธิในอุจจาระ สัตว์ และคน โดยวิธี simple sedimentation technique และ modified Kato-Katz technique ตามลำดับ
2. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี indirect ELISA
3. การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

การรักษา :

สุนัข แมว และคน :

ยา praziquantel

การควบคุม และป้องกันโรค :

สุนัข แมว และคน :

1. ส่งเสริมให้ประชาชนมีความรู้ ความเข้าใจ และปฏิบัติตามสุขลักษณะที่ดี ได้แก่
 - บริโภคอาหารที่ปรุงสุกด้วยความร้อน
 - ขับถ่ายในท้องส้วม ไม่ขับถ่ายลงในแหล่งน้ำ
 - ล้างมือก่อนรับประทานอาหาร
2. ถ่ายพยาธิเป็นประจำ

4.4 โรคพยาธิใบไม้ในลำไส้ (*Fasciolopsis buski* Infection)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

พยาธิใบไม้ *Fasciolopsis buski* อยู่ในวงศ์ *Fasciolidae* สกุล *Fasciolopsis*

ชื่อพ้อง : ไม่มี

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สุกร

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

เด็กที่ลงเล่นน้ำในแหล่งน้ำแล้วกลืนน้ำที่มีหอยน้ำจืดที่เป็นตัวกลางนำโรคหรือกินพืชน้ำ

ระบาดวิทยา :

พยาธิชนิดนี้พบในสุกรและคนในประเทศจีน เวียดนาม กัมพูชา อินโดนีเซีย เปรู อินเดีย (นิมิตร และเกตุรัตน์, 2546) ในประเทศไทยพบรายงานการตรวจจุงการะสุกรจากเขตบางเขน กรุงเทพฯ พบไข่พยาธิ ร้อยละ 84.21 (16/19 ตัวอย่าง) (ตรุณีและคณะ, 2531) สำหรับในคนพบในภาคกลาง เช่น กรุงเทพฯ อุดรธา อ่างทอง นครปฐม และสุพรรณบุรี (นิมิตรและเกตุรัตน์, 2546) มีรายงานการพบไข่ของ *F. buski* จากอุงการะ คนในจังหวัดอุดรธา นีร้อยละ 7.1 (13/183 ตัวอย่าง) (Wiwanitkit *et al.*, 2002)

พยาธิวิทยาของโรค :

ตัวเต็มวัยของพยาธิชนิดนี้อาศัยอยู่ที่ผนังลำไส้เล็กของสุกรหรือคน เมื่อพยาธิสมพันธุ์และออกไข่ ไข่ จะปนออกมากับอุงการะลงสู่แหล่งน้ำไข่จะฟักตัวเป็นตัวอ่อนของพยาธิระยะที่ 1 หลังจากนั้น 3-7 วัน ตัวอ่อน ของพยาธิจะไชเข้าไปอาศัยในโฮสต์กึ่งกลางตัวแรก ได้แก่ หอยน้ำจืดบางชนิดในประเทศไทยหอยน้ำจืดที่เป็น ตัวนำพยาธิชนิดนี้ ได้แก่ *Polypylis hemisphaerula* และ *Trochorbis trochoideus*จากนั้นประมาณ 2-3 สัปดาห์ ตัวอ่อนระยะที่ 1 จะพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2, 3, 4 จากนั้นตัวอ่อนระยะที่ 4 จะออกจากหอยว่าย น้ำไปเกาะพืชน้ำบางชนิด จากนั้นจะพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียซึ่งเป็นตัวอ่อนระยะระยะติดต่ อ จากนั้นสุกรหรือคนจะได้รับตัวอ่อนระยะติดต่โดยการกินพืชน้ำ ต่อมาตัวอ่อนจะเจริญเป็นตัวเต็มวัยเกาะอยู่ที่ ผนังลำไส้เล็ก

การติดต่อ :

สุกร และคน :

โดยการกินพืชน้ำบางชนิด เช่น กระจับ แห้วผักบุ้ง ผักกระเฉด ผักตบขาว ผักแว่น และสายบัว ในแหล่งน้ำที่มีตัวอ่อนระยะติดต่ของพยาธิเกาะอยู่

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :**สุกร :**

ไม่แสดงอาการใดๆ

คน :

ผู้ป่วยจะแสดงอาการปวดท้องเป็นครั้งคราวโดยเฉพาะเวลาหัวหรือถ่ายอุจจาระ เนื่องจากลำไส้ย่อยอาหารได้ไม่ดีทำให้เบื่ออาหาร บางรายอาจมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน มีน้ำในช่องท้องพองลง โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีพยาธิในลำไส้จำนวนมากจะเกิดการปวดท้องอย่างรุนแรง ร่างกายจะบวม น้ำ หรือเป็นท้องมานบางรายมีอาการบวมบริเวณใบหน้า การเจริญเติบโตหยุดชะงักหรือช้าลงไม่มีแรง ตับโต ผิวหนังแห้งหยาบและถึงตายได้อันตรายของผู้ป่วยที่สำคัญคือบวมขาดอาหารหรือ มีอาการอุดตันของลำไส้

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สัตว์ไม่ได้ตายจากการติดพยาธิชนิดนี้ จึงไม่พบรอยโรคใดๆ

การวินิจฉัยโรค :**สุกร :**

ตรวจหาไข่พยาธิในอุจจาระ โดยวิธี simple sedimentation technique

คน :

1. ดูจากอาการ พฤติกรรมของผู้ป่วย เช่น การบริโภคผักดิบ
2. ตรวจหาไข่พยาธิในอุจจาระ โดยวิธี modified Kato-Katz technique

การรักษา :**สุกร และคน :**

ยา praziquantel

การควบคุม และป้องกันโรค :**สุกร และคน :**

1. ล้างผักให้สะอาดหรือต้มก่อนกิน
2. ถ่ายพยาธิสุกร และคนอย่างสม่ำเสมอ
3. ไม่ถ่ายอุจจาระลงแหล่งน้ำและสร้างคอกสุกรหรือห้องสุขาให้ห่างจากแหล่งน้ำ
4. ให้ความรู้แก่ประชาชนทั่วไป โดยเฉพาะเด็ก ไม่ให้กินผักดิบ

4.5 โรคท็อกโซพลาสโมซิส (toxoplasmosis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อโปรโตซัว *Toxoplasma gondii* อยู่ในวงศ์ Sarcocystidae สกุล *Toxoplasma*

ชื่อพ้อง : โรคไข้แมว

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

แมว แมวป่า เสือ สิงโต โค กระบือ สุกร แกะ สัตว์ปีก สุนัข แมว และหนู

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

เด็ก หญิงตั้งครรภ์

ระบาดวิทยา :

พบได้ในสัตว์และคนทั่วโลก พบมากในแถบร้อนที่มีความชื้นสูงที่ทวีปอเมริกาใต้ ยุโรปตะวันออก เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และแอฟริกา (Pappas *et al.*, 2009) สำหรับในประเทศไทย เคยมีการสำรวจความชุกในสุกรเลี้ยงที่ภาคเหนือ เมื่อปี พ.ศ. 2552 พบความชุกทางซีรัมวิทยาร้อยละ 5.9 (17/286) โดยวิธี latex agglutination test (Suchridet *et al.*, 2009) และในปี พ.ศ. 2556 มีการสำรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ *T. gondii* ในเนื้อสุกรจากตลาดหลายแห่งในกรุงเทพฯ โดยวิธี PCR พบร้อยละ 1.38 (2/145) (Sutthikornchai *et al.*, 2013) สำหรับในคน เมื่อปี พ.ศ. 2557 มีการศึกษาความชุกทางซีรัมวิทยาของโรคในหญิงตั้งครรภ์ที่มาใช้บริการที่โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลาพบร้อยละ 25 (190/760 ราย) โดยพบระดับแอนติบอดีในขนาดสูงทุกราย ซึ่งบ่งบอกว่ามีโอกาสูงที่จะมีการสัมผัสเชื้อมาก่อน (Andiappan *et al.*, 2014)

พยาธิวิทยาของโรค :

แมวซึ่งเป็นโฮสต์จำเพาะที่มีเชื้อ *T. gondii* จะปล่อยตัวอ่อนระยะโอโอซิสต์ (oocyst) ปนออกมากับอุจจาระและปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ซึ่งภายในโอโอซิสต์มีเชื้ออยู่ เมื่อถูกโฮสต์กึ่งกลาง ได้แก่ หนู กิ้งก่า หนูบิน แมวตัวใหม่ อาจได้รับเชื้อโดยกินหนูหรือสัตว์ปีกที่มีเชื้อระยะงู่น้ำในกล้ามเนื้อ เชื้อจะมีการแบ่งตัวแบบมีเพศในตัวแมว ได้เป็นโอโอซิสต์ออกมากับอุจจาระ โฮสต์บังเอิญ เช่น สุกร แกะ ได้รับโอโอซิสต์จากอุจจาระแมว ซึ่งจะพัฒนาไปเป็นงู่น้ำในกล้ามเนื้อของสัตว์ชนิดต่างๆ คนจะได้รับเชื้อโดยการกินเนื้อของสัตว์ที่มีงู่น้ำในกล้ามเนื้อ

การติดต่อ :

แมว :

1. กินอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อระยะโอโอซิสต์จากแมวตัวอื่น
2. กินเนื้อของโฮสต์กึ่งกลาง ได้แก่ หนูหรือสัตว์ปีกชนิดอื่นที่มีเชื้อระยะงู่น้ำอยู่ในกล้ามเนื้อ
3. ผ่านทางรก

สัตว์ชนิดอื่น :

1. กินอาหารที่ปนเปื้อนอุจจาระแมวที่มีเชื้อระยะโอโอซิสต์
2. กินเนื้อของโฮสต์กึ่งกลางซึ่งมีเชื้ออยู่ในระยะถุงน้ำ
3. ผ่านทางรก

คน :

มีการติดโรคเหมือนของสัตว์ แต่มีวิธีอื่นเพิ่มเติมดังนี้

1. สามารถติดเชื้อจากการได้รับการผ่าตัดเปลี่ยนอวัยวะหรือการได้รับเลือดจากคนที่มีเชื้อ
2. เด็กทารกในครรภ์ได้รับเชื้อจากมารดาทางรก
3. การดื่มน้ำที่ปนเปื้อนโอโอซิสต์

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :**แมว :**

เป็นโฮสต์จำเพาะของโรค มีไข้สูง เบื่ออาหาร หายใจลำบาก ไม่ค่อยตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ แมวที่อายุน้อยอาจพบอาการทางระบบประสาท ได้แก่ ชัก ตอบสนองต่อสิ่งเร้าไวกว่าปกติ นิสัยเปลี่ยนไปจากเดิม กระวนกระวาย เดินวน บางตัวจะพบอาการที่ตา เช่น การติดเชื้อที่จอประสาทตา มีการหลุดลอกของจอประสาทตา หรือเป็นต้อหิน

สัตว์อื่น :

เป็นโฮสต์กึ่งกลางของโรค จะไม่พบอาการใดๆ ยกเว้นในกรณีที่รุนแรง อาจพบอาการตอม น้ำเหลืองอักเสบ ตับโต ปอดบวม และอาการทางประสาท กรณีที่สัตว์ท้องอาจพบการแท้งในระยะกลางของการตั้งท้อง หรือลูกตายแรกคลอด

คน :

แบ่งตามกลุ่มของผู้ติดเชื้อได้ดังนี้

1. ทารกในครรภ์ (congenital toxoplasmosis) พบอาการเสียชีวิตตั้งแต่ในครรภ์ แรกคลอดหรือคลอดได้แต่ตัวเล็กกว่าปกติ น้ำหนักน้อย ตัวเหลือง หัวเล็ก ชีตมีจุดเลือดออกตามผิวหนังช่องน้ำในสมองมากกว่าปกติ (hydrocephalus) ตากระตุกชัก อาจพบไม่มีอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย แต่เชื้อจะยังคงอยู่ในร่างกาย และเกิดอาการขึ้นมาเป็นระยะ ๆ
2. การติดเชื้อในคนที่ระบบภูมิคุ้มกันปกติโดยมากไม่พบอาการใด ๆ บางรายอาจพบตอม น้ำเหลืองที่คอบวมโตอาจพบเจ็บคอปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ ระยะเวลาตั้งแต่ได้รับเชื้อจนแสดงอาการ คือ 10-20 วันต่อมา อาการจะหายไปใช้โดยเวลานานหลายสัปดาห์
3. การติดเชื้อในคนที่มีความภูมิคุ้มกันบกพร่อง พบพยาธิสภาพ ได้แก่ สมองอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ โดยพบอาการ ซึม การรู้สึกตัวลดลง แขนและขาอ่อนแรง ปอดอักเสบ ผู้ป่วยจะมีไข้ หอบ เหนื่อย

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

แมว :

พบ mesenteric lymph node บวม ปอดอักเสบ สมองอักเสบ ตับอักเสบ พบเนื้อตายของตับอ่อน และกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ

สุกร :

พบเนื้อตาย เลือดออกในอวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะปอด

แกะ :

มีจุดเนื้อตายสีขาวที่รัก

ไก่ :

พบเยื่อหุ้มหัวใจ กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ สมองอักเสบ มีเนื้อตายในตับ และเกิดแผลหลุมในทางเดินอาหาร

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ และคน :

1. ตรวจหาเชื้อ โดยนำน้ำในช่องท้องมาป้ายสไลด์ ย้อมสีจิมซ่า และนำมาตรวจหาเชื้อ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง
2. นำน้ำในช่องท้องหรือเนื้อเยื่อจากการทำ biopsy มาบดและฉีดเข้าช่องท้องของหนูทดลอง หลังจากฉีด 7-14 วัน ให้ดูตัวน้ำในช่องท้องมาป้ายสไลด์ ย้อมสีจิมซ่า และนำมาตรวจหาเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง
3. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี IFAT, indirect ELISA, latex agglutination test (LAT) ในคนจะมีวิธีพิเศษคือ Sabin-Feldman dye test
4. การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

การรักษา :

แมว :

ยา clindamycin

สัตว์อื่น :

ไม่พบรายงานการรักษา

คน:

1. ทารกแรกคลอดที่ติดเชื้อพบช่องน้ำในสมองมากกว่าปกติ ต้องให้ยาปฏิชีวนะและมีการตรวจร่างกายโดยเฉพาะตาเป็นระยะๆ รวมถึงประเมินพัฒนาการ ระดับสติปัญญา และการได้ยิน
2. คนที่มีระบบภูมิคุ้มกันปกติที่มีอาการของโรคที่ไม่รุนแรง ให้รักษาตามอาการเช่น ให้ยาแก้ปวด ยาลดไข้

3. คนที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง และผู้ป่วยที่มีอาการของสมองหรือเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ให้ยาปฏิชีวนะ ร่วมกับการรักษาตามอาการ

การควบคุม และป้องกันโรค :

แมว :

1. ไม่ให้กินเนื้อสัตว์ดิบ
2. มีที่เฉพาะสำหรับให้แมวถ่าย และเก็บมูลทิ้งให้ถูกสุขลักษณะ
3. เลี้ยงแมวเป็นระบบปิด เพื่อป้องกันแมวล่าสัตว์กินเอง

สัตว์อื่น :

ไม่เลี้ยงรวมกับแมว

คน :

1. ไม่กินเนื้อสัตว์ดิบหรือสุกไม่เพียงพอ
2. ภาชนะและอุปกรณ์ครัวต่าง ๆ ที่สัมผัสกับเนื้อสัตว์ดิบ ควรล้างให้สะอาด
3. ล้างผักและผลไม้ที่เปื้อนดินให้สะอาด
4. ล้างมือทุกครั้งหลังสัมผัสแมว และก่อนปรุงหรือกินอาหาร
5. หญิงมีครรภ์ควรหลีกเลี่ยงการสัมผัสมูลของแมว

4.6 โรคบาแลนติดิโอซิส (balantidiasis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อโปรโตซัว *Balantidium coli* อยู่ในวงศ์ *Balantidiidae* สกุล *Balantidium*

ชื่อพ้อง : ไม่มี

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สุกร ลิงกอริลลา

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

เกษตรกรผู้เลี้ยงสุกร

ระบาดวิทยา :

พบได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อนพบรายงานในคนประปราย ส่วนใหญ่จะมาจากสุกร พบรายงานความชุกของคนในประเทศโบลิเวียร้อยละ 1.2 (Esteban *et al.*, 1998) สำหรับในประเทศไทยพบการติดเชื้อในสุกรในจังหวัดนครปฐมร้อยละ 37.28 แต่ไม่พบรายงานคนเลี้ยงสุกรหรือเจ้าของฟาร์มเป็นโรค (มานพและสุภรณ์, 2523) นอกจากนี้พบในผู้ป่วยชาย 1 ราย เมื่อปีพ.ศ. 2515 มีอาการลำไส้ใหญ่อักเสบ ได้แก่ ท้องเดิน

และอาเจียนเรื้อรัง และเสียชีวิตด้วยอาการลำไส้รั่ว จากการชันสูตรพบเชื้อ *B. coli* อยู่ในผนังทุกชั้นของลำไส้ใหญ่ จึงสรุปว่าเป็นสาเหตุของการเสียชีวิต (Samranwetaya *et al.*, 1972) รายงานโรคในสุกรมีน้อยเนื่องจากเกิดอาการไม่รุนแรง ส่วนมากจะพบการติดเชื้อในสุกรปกติ ในรายที่แสดงอาการจะเกิดจากปัจจัยอื่นโน้มนำ เช่น การปนเปื้อนของแหล่งอาหารหรือน้ำขังภายในคอก

พยาธิวิทยาของโรค :

เชื้อเข้าสู่ร่างกายของสุกรและคน โดยกินอาหารหรือดื่มน้ำที่มีเชื้อระยะถุงน้ำปนเปื้อนเมื่อถุงน้ำเข้าสู่ร่างกาย ถุงน้ำจะมีการแตกตัวที่ลำไส้เล็กเป็นเชื้อระยะโทรโฟซอยต์ เคลื่อนตัวไปยังลำไส้เล็กส่วนปลายและลำไส้ใหญ่แต่อาจพบที่ผนังลำไส้ได้ เชื้อจะมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีการแบ่งตัวจากนั้นจะเคลื่อนมาอยู่ที่ลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย ซึ่งอุจจาระเริ่มแข็งขึ้น เชื้อจะมีการสร้างผนังมาหุ้มห่อตัวกลายเป็นถุงน้ำ และปนออกมากับอุจจาระ

การติดต่อ :

กินอาหาร หรือดื่มน้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อระยะถุงน้ำ

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สุกร :

ท้องเสีย โดยพบถ่ายเหลว และในบางรายพบมีเลือดปน

คน :

พบอาการ 2 แบบ ได้แก่

1. ระยะเฉียบพลัน มีอาการท้องเสียอุจจาระเป็นมูกปนเลือด ร่วมกับอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร และปวดบ่ง
2. ระยะเรื้อรัง น้ำหนักลดลงมาก และเกิดภาวะขาดน้ำ

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

พบวิธีการที่ลำไส้เป็นแผลหลุมไม่ลึก และไม่กระจาย

การวินิจฉัยโรค :

สุกร และคน :

ตรวจอุจจาระโดยวิธี flotation technique หรือ modified Kato-Katz technique ในอุจจาระที่เหลวเป็นน้ำหรือมีมูกเลือดจะพบเชื้อระยะโทรโฟซอยต์ส่วนในอุจจาระที่เป็นก้อนหรือค่อนข้างแข็งจะพบเชื้อระยะถุงน้ำ

การรักษา :**สุกร และคน :**

ยา furazolidone, oxytetracycline, metronidazole

การควบคุม และป้องกันโรค :**สุกร :**

1. ควรเลี้ยงสุกรด้วยอาหารที่สะอาดไม่ควรเลี้ยงด้วยเศษอาหารหรือผักตบชวา หากมีความจำเป็นควรต้มให้สุก
2. ทำความสะอาดพื้นคอกทุกวันด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ

คน :

1. ให้ความรู้เกี่ยวกับการป้องกันตนเองจากการติดเชื้อ โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีความใกล้ชิดกับสุกร เช่นผู้ทำฟาร์มสุกร ผู้ที่ทำงานในโรงฆ่าสัตว์
2. ล้างมือให้สะอาด เพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อระยะถุงน้ำปะปนกับอาหารและน้ำดื่มได้
3. กินอาหารที่สะอาด ปราศจากแมลงวันตอม รวมทั้งการไม่บริโภคผักสด

บทที่ 5

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ ที่เริ่มพบในประเทศไทย

โรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ ที่จะกล่าวในบทนี้จะเป็นโรคที่เริ่มพบ (sporadic) และมีความสำคัญในประเทศไทย

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ ที่เริ่มพบในประเทศไทย เช่น

- 5.1 โรคเมอร์ส (Middle East respiratory syndrome)
- 5.2 โรคไข้หวัดใหญ่ในสุกร (swine influenza)
- 5.3 โรคไข้สมองอักเสบนิปาห์ (Nipah viral encephalitis)
- 5.4 โรคพยาธิอะนิซาคิส (anisakiasis)
- 5.5 โรคไลชมาเนีย (leishmaniasis)

5.1 โรคเมอร์ส (Middle East respiratory syndrome, MERS)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อไวรัส MERS coronavirus (MERS-CoV) อยู่ในวงศ์ *Coronaviridae* สายพันธุ์ตะวันออกกลาง สกุล *Betacoronavirus*

ชื่อพ้อง : โรคทางเดินหายใจตะวันออกกลาง

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

อูฐนอกเดี่ยว (dromedary หรือ arabian camel) สัตว์ที่อาจเป็นแหล่งรังโรค ได้แก่ แพะ วัว แกะ ควาย สุกร นกป่า ค้างคาว สัตว์ทดลอง เช่น กระจ่าง เพอร์เรต มาโมเสท หนูทุก หนูแฮมสเตอร์

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

คนที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้สูงอายุ ผู้ป่วยโรคเรื้อรัง เช่น เบาหวาน มะเร็ง และโรคปอดเรื้อรัง

ระบาดวิทยา :

พบครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2555 ที่ประเทศซาอุดีอาระเบีย ต่อมาในปี พ.ศ. 2560 องค์การอนามัยโลก รายงานพบผู้ป่วยยืนยันโรคทางเดินหายใจตะวันออกกลาง จำนวน 1,917 ราย เสียชีวิต 684 ราย โดยพบรายงานผู้ป่วยทั้งหมดจาก 27 ประเทศ ในตะวันออกกลาง ยุโรป เอเชีย และ สหรัฐอเมริกา เช่น ซาอุดีอาระเบีย สหรัฐอาหรับเอมิเรตส์ อังกฤษ เยอรมนี เกาหลีใต้ จีน และประเทศไทย ในประเทศไทยพบผู้ป่วยจำนวน 3 ราย

โดยรายสัปดาห์พบเมื่อกลางปี พ.ศ. 2559 เป็นชายชาวตะวันออกกลาง เข้ารับการรักษาที่สถาบันบำราศนราดูร ขณะนี้ได้เดินทางกลับประเทศแล้ว

พยาธิวิทยาของโรค :

เชื้อไวรัสเข้าสู่ร่างกายทางระบบทางเดินหายใจ เชื้อจะแพร่กระจายผ่านสารคัดหลั่งของระบบทางเดินหายใจเช่น น้ำมูก ผ่านการไอ และจาม ทำให้เกิดความผิดปกติของอวัยวะของระบบทางเดินหายใจ เช่น ปอด หลอดลม เป็นต้น

การติดต่อ :

โรคนี้เป็นโรคของสัตว์ที่สามารถติดต่อไปยังคนได้ และแพร่เชื้อจากคนสู่คนได้ โดยการสัมผัสสารคัดหลั่งจากระบบทางเดินหายใจของผู้ป่วยหรือสัตว์ติดเชื้อ เช่น เสมหะ น้ำลาย หรือน้ำมูก จากการไอหรือ จาม ในระยะประมาณ 1 เมตร ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบบ droplet transmission รวมทั้งการสัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วยโดยมิได้มีการป้องกันตนเอง นอกจากนี้ อาจเกิดจากการบริโภคเนื้อและน้ำนมดิบจากสัตว์โดยเฉพาะจากอูฐ

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

อูฐ :

แสดงอาการทางระบบทางเดินหายใจแบบไม่รุนแรง ได้แก่ ไอ จาม มีน้ำมูกอุณหภูมิร่างกายสูงขึ้น และกินอาหารน้อยลง

คน :

จะแสดงอาการหลังจากได้รับเชื้อประมาณ 2-14 วัน อัตราป่วยตายร้อยละ 30-50 ผู้ป่วยจะมีอาการไข้ ไอ มีน้ำมูก หายใจสั้นปอดบวม บางรายมีอาการท้องเสีย อาเจียน ปวดท้อง หากป่วยรุนแรงจะทำให้ระบบทางเดินหายใจล้มเหลว ผู้ป่วยจะมีอาการหายใจลำบาก หอบ ปอดอักเสบไตวาย และเสียชีวิตนอกจากนี้ เชื้อ MERS-CoV จะทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงมากขึ้นโดยเฉพาะในผู้ที่มีระดับภูมิคุ้มกันต่ำ ผู้สูงอายุ หรือผู้ป่วยเรื้อรัง เช่น เบาหวาน มะเร็ง และโรคปอดเรื้อรัง เป็นต้น มีรายงานผู้ที่สัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วยบางราย มีการติดเชื้อ MERS-CoV แต่ไม่แสดงอาการป่วย

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

ในอูฐพบร่องรอยของการอักเสบ และเนื้อตายในจมูก หลอดลมใหญ่ และแขนงหลอดลม แต่ไม่พบวิธีการในถุงลม พบการหลุดลอกของเยื่อบุโพรงจมูก หลอดลมใหญ่ และแขนงหลอดลม มีเลือดคั่ง

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ และคน :

1. ตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี indirect ELISA
2. ตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี RT-PCR, real-time RT-PCR

การรักษา :**สัตว์ และคน :**

ยังไม่มียาสำหรับการรักษาโดยเฉพาะ

การควบคุม และป้องกันโรค :**สัตว์ :**

1. หลีกเลี่ยงการนำสัตว์ป่วยจากแหล่งที่เกิดโรคเข้ามาในฝูง
2. ระวังไม่ให้คนจากฟาร์มที่มีโรคเข้ามาในการฟาร์ม

คน :

1. การรักษาความสะอาด ล้างมือบ่อยๆ ด้วยสบู่ หรือเจลล้างมือแอลกอฮอล์
2. หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับผู้ป่วย/สัตว์ป่วย เช่น การใช้ช้อนหรือแก้วน้ำร่วมกัน
3. ไม่ดื่มหรือนำนมดิบจากสัตว์
4. ปิดปากและจมูกเวลาจาม
5. หลังสัมผัสสัตว์ โดยเฉพาะอูฐ ให้ล้างมือก่อนสัมผัสตา จมูก และปาก
6. ดื่มน้ำนม และบริโภคเนื้อสัตว์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและปรุงให้สุก

5.2 โรคไข้หวัดใหญ่ในสุกร (swine Influenza)**เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :**

เชื้อไวรัส Influenza A ซับไทป์ H1N1, H1N2, H3N2 อยู่ในวงศ์ *Orthomyxoviridae* สกุล *Alphainfluenzavirus* เป็นเชื้อไวรัสชนิด RNA

ชื่อพ้อง : โรคอินฟลูเอนซ่าในสุกร**ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :**

เป็ด ไก่วง สุนัข แมว เสือชีตาร์ เฟอร์เรต์ และมิงค์ และลิงแสม แต่เชื้อจะปรับตัวอยู่ได้ไม่คืนัก และไม่สามารถคงทนอยู่เพื่อแพร่เชื้อต่อไปได้

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

ผู้ที่สัมผัสสุกรโดยตรง เช่น เกษตรกรผู้เลี้ยงสุกร ผู้ที่ทำงานในโรงฆ่าสุกร สัตวแพทย์ โดยเฉพาะผู้ที่มีอายุมาก ผู้ที่มีโรคทางระบบหายใจ ผู้ที่มีโรคทางระบบไหลเวียนโลหิต และผู้ที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง

ระบาดวิทยา :

มักพบการเกิดโรคในฤดูหนาว โรคนี้ในสุกรเป็นโรคที่มีอัตราการป่วยสูง และมีอัตราการป่วยตายต่ำ บางครั้งเชื้อไวรัสแพร่กระจายอยู่ในกลุ่มสุกร โดยแสดงอาการน้อยมากหรือไม่แสดงอาการเลย เชื้อนี้มีรายงาน

ติดมาสู่คน ในปี พ.ศ. 2519 ที่ค่ายทหาร Fort Dix รัฐนิวเจอร์ซีย์ ประเทศสหรัฐอเมริกา มีคนตาย 1 คน และมีทหารที่ป่วยด้วยอาการทางเดินหายใจอย่างรุนแรง 13 คน พบระดับภูมิคุ้มกันขึ้นสูงถึง 500 คน แต่เชื้อไวรัสนี้จำกัดอยู่ในค่ายทหาร ไม่มีการแพร่ระบาดไปชุมชนรอบข้าง อย่างไรก็ตามพบว่าการติดต่อของโรคจะจำกัดเฉพาะผู้ที่ใกล้ชิดกับสุกรเท่านั้น โรคนี้มีรายงานเกิดขึ้นในประเทศไทยไม่มากนัก พบรายงานการแยกเชื้อ และการพบระดับภูมิคุ้มกันในฟาร์มสุกร (Damrongwatanapokin *et al.*, 2006; Chutinimitkul *et al.*, 2008; Takemae *et al.*, 2008) และพบเชื้อไวรัสในคนไทยที่ไปพบที่ประเทศสหรัฐอเมริกา (Komadina *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตาม ในเดือนเมษายน พ.ศ. 2552 พบเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใหม่ ซับไทป์ H1N1 แรกเริ่มเข้าใจว่าเป็นไข้หวัดใหญ่ในสุกร เพราะเกิดจากเชื้อ H1N1 แต่พบว่าเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใหม่นี้พบแต่ในคนเท่านั้น ยังไม่พบการติดต่อในสุกร และไม่พบหลักฐานใดๆว่าคนได้รับจากสุกร ทาง WHO จึงได้เปลี่ยนชื่อเป็น “ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ ชนิดเอ (เอช1เอ็น1) (Pandemic (H1N1) 2009)” การวิเคราะห์ทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสชนิดนี้ คาดว่าเริ่มต้นมาจากการกลับมารวมตัวขึ้นมาใหม่ของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ในคน สัตว์ปีก และสุกร (สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่, 2552)

พยาธิวิทยาของโรค :

เกิดการระบาดภายในฟาร์ม โดยพบอาการไอ มีน้ำมูก ตามด้วยการระบาดภายในฝูงสัตว์ทันที หรือตามด้วยการป่วยของคนในฟาร์ม

การติดต่อ :

สุกร และคน : จากการสัมผัสโดยตรงกับเชื้อในสารคัดหลั่งของสุกร

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สุกร :

เชื้อไวรัสจะเพิ่มจำนวนในปอดและทางเดินหายใจส่วนต้น ดังนั้นจะพบอาการหลากหลาย เช่น ซึม เป็นไข้ เบื่ออาหาร น้ำหนักลด หายใจลำบาก ในระยะท้ายของโรคจะพบอาการไอ จาม น้ำมูกไหล เยื่อตาขาวอักเสบ แห้ง และอาจถึงตายได้

คน :

อาการที่แสดงออก เหมือนกับเป็นโรคไข้หวัดใหญ่ทั่วไป ได้แก่ มีไข้ ไอ เจ็บคอ ปวดหัว น้ำมูกไหล ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ หายใจถี่ บางรายพบอาการท้องเสีย อาเจียนร่วมด้วย ผู้ป่วยหลายรายสามารถหายเองได้และกลับมาเป็นปกติภายใน 1 สัปดาห์ ในรายที่มีอาการปอดอักเสบอย่างรุนแรง และ/หรือมีอาการทางระบบหายใจอย่างเฉียบพลัน อาจพบการเสียชีวิตได้ ผู้ป่วยมักเริ่มแสดงอาการป่วยอย่างรุนแรงและทรุดลงอย่างรวดเร็วใน 3-5 วัน หลังจากเริ่มแสดงอาการ มักเกิดความรุนแรงของโรคไปสู่ภาวะระบบหายใจล้มเหลวภายใน 24 ชั่วโมง

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

ในกรณีที่เกิดการติดเชื้อโดยไม่มีโรคแทรกซ้อน รอยโรคส่วนใหญ่จะพบที่ปอด โดยจะพบว่าแข็งขึ้น มีสีแดงเข้มจนถึงม่วงแดง และมีขอบเขตชัดเจน อาจพบปอดบวมอย่างรุนแรง และเยื่อหุ้มปอดอักเสบ แต่มักเกิดเป็นบริเวณกว้างที่ด้านล่างของปอด พบการขยายของทางเดินหายใจ ปอดเต็มไปด้วยของเหลวลักษณะเป็นมูกหนอง ต่อมน้ำเหลืองที่ซั้วปอดและที่ผนังกลางช่องอกทำให้มีการบวม แต่ไม่พบเลือดคั่ง ในบางรายพบลักษณะเนื้อปอดที่เหมือนยาง มีเนื้อปอดส่วนที่ปกติอยู่เป็นหย่อม ๆ และมีบริเวณที่เกิด bronchopneumonia

การวินิจฉัยโรค :

สุกร และคน :

1. การเพาะแยกเชื้อไวรัส โดยวิธี viral isolation ร่วมกับวิธี hemagglutination
2. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี immunohistochemistry (IHC), IFAT และ indirect ELISA
3. การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี RT-PCR

การรักษา :

สุกร :

การรักษาตามอาการ และให้พักผ่อน อาจมีการให้ยาปฏิชีวนะถ้ามีโรคแทรกซ้อน

คน :

1. ในคนที่ไม่มีอาการแทรกซ้อน จะให้สารน้ำ และพักผ่อน
2. ในคนที่ติดเชื้อรุนแรง หรือคนที่มีความเสี่ยงต่ออาการแทรกซ้อน จะให้ยาด้านไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ ที่มีประสิทธิภาพ ได้แก่ amantadine, rimantadine, zanamivir และ oseltamivir โดยต้องมีการทดสอบเพื่อพิจารณาความใช้ได้ของยาต่อเชื้อไวรัสแต่ละตัว ยาด้านไวรัสจะมีประสิทธิภาพดีถ้ารักษาภายใน 48 ชั่วโมงแรกของการป่วย ในผู้ป่วยบางรายอาจพบอาการข้างเคียงรวมถึงอาการทางประสาทและจิตเวชเกิดขึ้นได้ การเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล และการรักษาแบบพ่วงอาการมีความสำคัญในผู้ป่วยบางราย และการให้ยาปฏิชีวนะอาจจำเป็นในกรณีที่มีเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน

การควบคุม และป้องกันโรค :

สุกร :

1. สุขศาสตร์ และสุขอนามัยที่ดี
2. ไข่วัคซีน ซึ่งไม่ช่วยในการป้องกันการเกิดโรค เพียงแต่ช่วยให้อาการลดลง
3. แยกสุกรที่ป่วยออกจากฝูง
4. ในคนที่ทำงานในฟาร์มสุกร หลีกเลี่ยงการเข้าเยี่ยมชมฟาร์มของบุคคลอื่น กวดขันการเข้า-ออกนอกฟาร์มทั้งคนทำงานในฟาร์มและพาหนะต่าง ๆ ทำความสะอาดและพ่นยาฆ่าเชื้อบริเวณคอกและ

เครื่องมือ เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของโรค ไม่ควรใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ต่าง ๆ ร่วมกับฟาร์มอื่น การระบายอากาศควรมีการทำอย่างเหมาะสม

คน :

1. ใส่เสื้อคลุม ถุงมือ หรือใช้อุปกรณ์ป้องกันอื่น ๆ ก่อนทำงานกับสุกร เพื่อลดการสัมผัสเชื้อ
2. สุขลักษณะในการปรุงอาหารทั่วไป เช่น ล้างมือก่อนและหลังการหยิบเนื้อดิบ ป้องกันการเกิดการปนเปื้อนข้ามของอาหาร ทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ใช้เตรียมอาหาร ทำความสะอาดพื้นผิวที่ใช้เตรียมอาหาร
3. เชื้อไวรัสจะถูกทำลายได้โดยการทำความสะอาดเช็ดด้วยน้ำยาฟอกขาว 1 ช้อนโต๊ะ ในน้ำ 1 แกลลอน ปรุงเนื้อหมูให้สุกโดยใช้ความร้อน 71.1 องศาเซลเซียส
4. หลีกเลี่ยงการอยู่ใกล้คนที่มีอาการคล้ายไข้หวัด
5. ปฏิบัติตามหลักสุขศาสตร์ทั่วไป ได้แก่ ล้างมือให้บ่อย หลีกเลี่ยงการนำมือไปสัมผัสตา จมูก ปาก ปิดปากหรือจมูกระหว่างไอหรือจาม และหลีกเลี่ยงสภาพแวดล้อมที่แออัด
6. คนที่ป่วยด้วยอาการคล้ายเป็นหวัด ควรหลีกเลี่ยงการติดต่อสัมผัสกับสุกร เพื่อป้องกันการแพร่เชื้อไปยังสุกร

5.3 โรคไขสมองอักเสบไวรัสนิปาห์ (Nipah viral encephalitis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อไวรัส nipah virus อยู่ในวงศ์ *Paramyxoviridae* สกุล *Henipaviruses* เป็นเชื้อไวรัสชนิด RNA

ชื่อพ้อง : โรคสมองอักเสบนิปาห์ในสุกร

ชนิดสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สุกร สุนัข แมว แพะ แกะ ม้า ค้างคาว แต่ยังไม่พบหลักฐานการแพร่เชื้อจากสัตว์เหล่านี้มาติดคน ยกเว้นจากสุกร

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง :

เพศชายที่มีประวัติการทำงานในฟาร์มสุกร หรือมีประวัติสัมผัสโดยตรงกับสุกรป่วย

ระบาดวิทยา :

จัดเป็นโรคอุบัติใหม่ที่พบในปี พ.ศ. 2541-2542 ในประเทศมาเลเซีย ผู้ป่วยเป็นพนักงานที่ฟาร์มเลี้ยงสุกรและผู้ที่สัมผัสใกล้ชิดกับสุกร ได้ทำลายสุกรจำนวนประมาณ 1 ล้านตัว ตลอดระยะเวลาการระบาดนาน 9 เดือน พบอัตราป่วยตายร้อยละ 39.55 (106/268) (Wacharapluesadee *et al.*, 2005) ต่อมาพบการระบาดในประเทศบังกลาเทศ ระหว่างปี พ.ศ. 2544-2554 อีก 11 ครั้ง โดยพบการระบาด 196 ราย ตายถึงร้อยละ 77

(150 ราย) (Rahman and Chakraborty, 2012) ในประเทศไทยมีการตรวจพบระดับภูมิคุ้มกันเชื้อไวรัสสึนป้าห์ในค้างคาวแม่ไก่ร้อยละ 7.8 และพบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสจากน้ำลายและปัสสาวะในพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วประเทศไทย (Wacharapluesadee *et al.*, 2005) แต่ยังไม่พบการติดเชื้อในสุกร (Damrongwatanapokin, 2005) และยังไม่พบรายงานการติดเชื้อในคน

พยาธิวิทยาของโรค :

เชื้อที่สามารถเพิ่มจำนวนในตัวสุกร จากนั้นสุกรปล่อยเชื้อไวรัสออกมากับสิ่งคัดหลั่งจากระบบทางเดินหายใจและน้ำลาย คนติดเชื้อจากสุกรจากการสัมผัสโดยตรงกับสุกรป่วย

การติดต่อ :

สุกร :

1. ทางการกิน เช่น กินผลไม้ที่เหลือจากการกินของค้างคาว
2. ทางการหายใจ (oro-nasal route)
3. โดยการทดลองฉีดเชื้อ

คน :

1. บริโภคผลิตภัณฑ์จากสุกรที่ปนเปื้อน
2. ในประเทศบังคลาเทศ เชื่อว่าจากการดื่มเครื่องดื่ม ที่ทำจากน้ำอินทผลัม ที่ปนเปื้อนสิ่งคัดหลั่งของค้างคาวที่มีเชื้อไวรัสสึนป้าห์
3. กินผลไม้ที่ปนเปื้อนน้ำลายค้างคาว
4. สัมผัสกับปัสสาวะสุกรที่มีเชื้อ

พาหะของโรค : ค้างคาวแม่ไก่ (*Pteropus spp.*)

อาการทางคลินิก :

สุกร :

ขึ้นกับอายุของสุกร สุกรพันธุ์ส่วนใหญ่แสดงอาการทางประสาท สุกรขุนมักแสดงอาการทางระบบทางเดินหายใจ บางครั้งไม่พบอาการเด่นชัด สุกรส่วนใหญ่ในฟาร์มมีการติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ อัตราการติดเชื้ออาจพบสูงถึงร้อยละ 80 แต่อัตราการตายต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 5) พบสุกรป่วยจำนวนไม่มากกระจายอยู่ทั่วไปภายในฟาร์ม อาจพบตั้งแต่ไม่มีอาการ แสดงอาการอย่างอ่อนหรือรุนแรงถึงตาย ความเครียดเป็นปัจจัยเสริม ที่ทำให้สุกรป่วยและแสดงอาการรุนแรงมากขึ้น ในสุกรหลังหย่านม และสุกรขุน พบมีไข้สูงเฉียบพลัน มีอาการทางระบบหายใจ ได้แก่ หายใจเร็ว หอบ ไอเสียงดัง ในรายที่รุนแรง พบมีน้ำมูกปนเลือดออกทางโพรงจมูก ในรายที่ไม่รุนแรงพบการหายใจด้วยปาก พบอาการทางประสาทร่วมด้วย เช่น ตัวสั่น หัวตก กัดคอก เคี้ยวฟัน กล้ามเนื้อกระตุก ขาหลังไม่มีแรง ในพ่อแม่พันธุ์พบการตายอย่างกะทันหัน หรือมีไข้สูงชนิดเฉียบพลัน ร่วมกับการหายใจหอบ มีน้ำมูก น้ำลายหรือน้ำมูกปนเลือด มีอาการทางประสาท ยืนไม่มั่นคง หัวพิงคอก ชัก ปากแข็ง คอแข็ง พบการแท้งในแม่พันธุ์

คน :

มักพบอาการสมองอักเสบ มีอาการทางระบบประสาทส่วนกลาง ไข้สูง สภาพจิตใจเปลี่ยนไป อ่อนเพลีย ปวดหัว ผู้ป่วยบางส่วนเกิดอาการทางระบบทางเดินหายใจ ไอ อาเจียน ปวดกล้ามเนื้อชัก พบการระบาดในผู้ใหญ่มากกว่าเด็ก แต่ผู้ป่วยส่วนใหญ่แสดงอาการอย่างอ่อนหรือไม่มีอาการที่เด่นชัด อาการเริ่มต้นคล้ายไข้หวัดใหญ่ ต่อมาจึงมีสมองอักเสบ ชี้นิ่ง ทรงตัวไม่ได้ ชัก โคม่า ประมาณครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยที่มีอาการสมองอักเสบจะเสียชีวิต (Goh *et al.*, 2000)

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

ปอดอักเสบชนิด interstitial pneumonia พบรอยโรคปอดอักเสบตั้งแต่ระดับปานกลางจนถึงชั้นรุนแรงที่มีจุดเลือดออกกระจายทั่วปอด เมื่อทำการย้อมด้วยวิธีพิเศษ ได้แก่ IHC พบเชื้อไวรัสเป็นจำนวนมากที่เยื่อบุผนังหลอดเลือดด้านในของเนื้อเยื่อและในช่องทางเดินหายใจส่วนต้น พบรอยโรคที่เยื่อหุ้มสมองและปอด ตั้งแต่ชนิดรุนแรงหรือมีรอยโรคเพียงเล็กน้อยมีระดับของ consolidation ที่เนื้อเยื่อปอดที่แตกต่างกัน พบถุงลมโป่งพอง มีจุดหรือเป็นเนื้อเลือดออกที่ปอด เมื่อผ่าหน้าตัดของปอด จะพบการขยายใหญ่ระหว่างเยื่อชั้นของกลีบปอด หลอดลมและหลอดเลือดฝอยเต็มไปด้วยฟองและอาจพบมีเลือดปน สมองมีเลือดคั่งและบวม

การวินิจฉัยโรค :**สุกร และคน :**

1. การตรวจหาเชื้อ ได้แก่ การเพาะแยกเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง
2. การตรวจหาแอนติเจน โดยวิธี IHC
3. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี indirect ELISA, serum neutralization (SN)
4. การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี RT-PCR

การรักษา :**สุกร :**

ไม่มีการรักษา

คน :

ไม่มียาที่ให้ผลโดยตรง แต่จะให้ยาตามอาการ และให้ยาต้านไวรัส ribavirin ในระยะแรกของการติดเชื้อ ซึ่งสามารถลดระยะเวลาของการเป็นไข้และความรุนแรงของโรค

การควบคุม และป้องกันโรค :**สุกร :**

1. ในสุกรที่สงสัยว่าจะติดเชื้อ ห้ามผ่าซากเด็ดขาด เนื่องจากมีเชื้อจำนวนมากในกระแสเลือดและทางเดินหายใจ
2. ใช้ตาข่ายคลุมคอกสุกร เพื่อไม่ให้คางคาวเข้ามาสัมผัสสุกร

3. ป้องกันไม่ให้ น้ำที่ชะหลังคาเข้ามาในคอกสุกร
4. ทำลายสุกรทั้งหมดที่ติดเชื้อ

คน :

1. ผู้ที่ต้องทำงานกับสัตว์ป่วยต้องใส่ชุดป้องกันที่เหมาะสม
2. หลีกเลี่ยงการสัมผัสสิ่งคัดหลั่งของสุกรหรือค่างคาว
3. งดดื่มน้ำผลไม้ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ
4. การทำตามสุขลักษณะที่ดี เช่น ล้างและปกปิดเปลือกผลไม้เสมอ หมั่นล้างมือ

5.4 โรคพยาธิอะนิซาคิเอซิส (anisakiasis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

พยาธิตัวกลม *Anisakis simplex* sensu lato อยู่ในวงศ์ *Anisakidae* สกุล *Anisakis*

ชื่อพ้อง : ไม่มี

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนม ปลาทะเล สัตว์ทะเลเปลือกแข็ง

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง : คนที่บริโภคปลาทะเลดิบ

ระบาดวิทยา :

มีรายงานการพบผู้ป่วยจากประเทศต่างๆ เช่น ประเทศเนเธอร์แลนด์ ฝรั่งเศส เกาหลี เดนมาร์ก เบลเยียม และญี่ปุ่น โดยพบในปลาทะเล เช่น ปลาคอด ปลาแซลมอน ปลาเฮอริง (นิมิตรและเกตุรัตน์, 2546) ส่วนในประเทศไทย มีรายงานการพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2536 ในผู้ป่วยชาวประมงทางภาคใต้ของประเทศไทย และพบในปลาทะเลมากกว่า 20 ชนิด เช่น ปลาดาบเงิน ปลาดาวหวาน ปลาสิ่กุน เป็นต้น (จันทิพย์และคณะ, 2555)

พยาธิวิทยาของโรค :

พบพยาธิชนิดนี้ในกระเพาะอาหารของสัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนม โดยจะเจริญเป็นตัวเต็มวัยผสมพันธุ์ และปล่อยไข่ออกมากับมูลลงสู่ น้ำทะเล ไข่พยาธิจะฟักตัวออกมาเป็นตัวอ่อน จากนั้นตัวอ่อนของพยาธิจะถูกกินโดยโฮสต์กึ่งกลางชนิดแรก ได้แก่ สัตว์ทะเลขนาดเล็กที่กินแพลงตอนเป็นอาหาร เช่น กุ้งและไรน้ำ ตัวอ่อนของพยาธิจะอาศัยอยู่ในสัตว์เหล่านี้จนกระทั่งเจริญเป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 เมื่อกุ้งหรือไรน้ำถูกปลาทะเลซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางชนิดที่ 2 กินเข้าไป ตัวอ่อนของพยาธิจะไชผ่านกระเพาะอาหารของปลาทะเล และเข้าไปอาศัยอยู่ในส่วนของผนังของกระเพาะอาหาร ลำไส้ หรือกล้ามเนื้อ จนกระทั่งปลาทะเลถูกจับกินโดยสัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนมซึ่งเป็นโฮสต์จำเพาะของพยาธิชนิดนี้ ตัวอ่อนของพยาธิจึงจะสามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัย และสืบพันธุ์ได้

ในกระเพาะอาหารของสัตว์เหล่านั้นต่อไป คนซึ่งเป็นเพียงโฮสต์บังเอิญจะติดพยาธิชนิดนี้โดยการกินปลาทะเลดิบ หรือสุกไม่เพียงพอ ที่มีตัวอ่อนของพยาธิในกล้ามเนื้อซึ่งเมื่อตัวอ่อนของพยาธิเข้าไปในร่างกายจะไชผ่านผนังกระเพาะอาหาร และผนังลำไส้ของคน ทำให้เกิดอาการต่างๆ โดยที่พยาธิจะไม่เจริญเป็นตัวเต็มวัยในคน

การติดต่อ :

สัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนม และคน :

กินเนื้อปลาทะเลดิบ หรือสุกไม่เพียงพอ ที่มีตัวอ่อนของพยาธิชนิดนี้ ในรูปแบบสดๆหรือผ่านการถนอมอาหารในรูปแบบต่าง ๆ เช่น หมัก หรือดองเค็ม เป็นต้น

พาหะของโรค : ไม่มี

อาการทางคลินิก :

สัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนม :

ไม่แสดงอาการใดๆ

คน :

ไม่มีอาการเฉพาะ บางรายอาจพบปวดท้องบริเวณลิ้นปี่คลื่นไส้ อาเจียนและท้องเสียเนื่องจากปากของตัวอ่อนพยาธิจะมีหนามขนาดเล็ก และปลายหางแหลมขณะไชในกระเพาะอาหารและลำไส้ของคน ทำให้เกิดแผลขนาดเล็กและเกิดเลือดออกในกระเพาะอาหาร บางรายอาจพบอาการท้องเสียหรือถ่ายอุจจาระเป็นเลือดหลังจากรับประทานอาหารที่มีพยาธิชนิดนี้เป็นชั่วโมงหรือเป็นวันก็ได้ บางรายอาจถ่ายออกมาเป็นมูกเลือด หลังจากกินตัวอ่อนของพยาธิเข้าไปนาน 1-5 วัน บางรายอาจจะอาเจียนออกมาเป็นตัวพยาธิ บางรายอาจแสดงอาการแพ้อาหารซึ่งเป็นการแพ้แอนติเจนของพยาธิเนื่องจากแอนติเจนจะไม่ถูกทำลายด้วยความร้อน

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สัตว์ไม่ได้ตายจากการติดพยาธิชนิดนี้ จึงไม่พบรอยโรคใด ๆ

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนม :

ตรวจหาพยาธิตัวเต็มวัยในลำไส้

คน :

1. หาตัวอ่อนของพยาธิในกระเพาะอาหาร โดยการส่องกล้องกระเพาะอาหาร (gastroscopy)
2. ตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี CFT, indirect ELISA

การรักษา :

สัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนม :

ไม่พบการรักษา

คน :

คืบตัวอ่อนของพยาธิออกมาจากกระเพาะอาหาร

การควบคุม และป้องกันโรค :

สัตว์ทะเลที่เลี้ยงลูกด้วยนม :

ไม่พบการควบคุม และป้องกันโรค

คน :

ตรวจเนื้อปลาเพื่อหาตัวอ่อนของพยาธิ ด้วยการส่องด้วยไมโครสโคป แต่ใช้ได้กับเนื้อปลาที่มีสีขาวเท่านั้น ในกรณีที่ต้องการกินปลาทะเลที่ยังไม่สุกดี ให้ลวกที่อุณหภูมิอย่างน้อย 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หากจะทานปลาดิบ ควรเก็บเนื้อปลาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง คือ - 35 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 15 ชั่วโมง หรือต่ำกว่า - 20 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 7 วัน และหากนำปลาทะเลมาประกอบอาหารเองที่บ้าน ควรตรวจหาตัวอ่อนพยาธิภายในช่องท้อง และในกล้ามเนื้อของปลา และปรุงอาหารที่ผ่านความร้อนอย่างน้อย 63 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที (Aibinu *et al.*, 2019)

5.5 โรคลิชมาเนีย (leishmaniasis)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อโปรโตซัว ลิชมาเนีย (*Leishmania* spp.) วงศ์ Trypanosomatidae สกุล *Leishmania*

ชื่อพ้อง : ไม่มี

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ :

สุนัข แมว ม้า ลา ล่อ ม้า แพะ แกะ โค สัตว์ป่า จิงโจ้ และไพรเมตที่ไม่ใช่มนุษย์

คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง : คนที่อยู่ใกล้สัตว์

ระบาดวิทยา :

มีรายงานการระบาดของโรคในสัตว์และคนกว่า 88 ประเทศทั่วโลก โดยเฉพาะในประเทศบังคลาเทศ เนปาล บราซิล ชูแดน จีนอินเดีย ประเทศในแถบตะวันออกกลาง เมดิเตอร์เรเนียน แอฟริกาเหนือ อเมริกากลาง ในประเทศไทย ยังไม่มีรายงานการพบเชื้อในสัตว์ แต่ในคนมีรายงานการพบเชื้อ *L. siamensis* และเชื้อ *L. martiniquensis* (Leelayoova *et al.*, 2017)

พยาธิวิทยาของโรค :

รื้อฝอยทรายดูดเลือดสัตว์หรือคนที่มียูเชื้อ *Leishmania* spp. จากนั้นเมื่อรื้อฝอยทรายไปดูดเลือดสัตว์หรือคน จะปล่อยเชื้อระยะติดตัวของเชื้อ ซึ่งจะถูกเก็บกินโดยเม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจ (macrophage) และ mononuclear phagocytic cells ชนิดอื่นๆ จากนั้นจะเปลี่ยนรูปร่างเป็นระยะอะเมสติโกท

(amastigote) และเกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน ในที่สุดเซลล์เม็ดเลือดขาวแตกออก และเชื้อจะเข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดขาวอื่นๆต่อไป โดยเมื่อริ้นฝอยทรายเพศเมียดูดเลือดของสัตว์หรือคนที่มีเชื้อ จะรับเอาเชื้อในระยะอะแมสติโกท ซึ่งต่อมาจะเปลี่ยนแปลงเป็นเชื้อระยะติดต่อ (promastigote) ภายในทางเดินอาหาร แบ่งตัวเพิ่มจำนวน และเคลื่อนที่มายังส่วนของปาก (proboscis) ของริ้น เมื่อริ้นไปกัดคนเชื้อจะแพร่เข้าสู่ร่างกายคนต่อไป ระยะเวลาที่จะแสดงอาการขึ้นกับชนิดของสัตว์ที่ได้รับเชื้อ และสายพันธุ์ของเชื้อ

การติดต่อ :

ถูกกัดโดยแมลงพาหะที่มีเชื้อ

พาหะของโรค :

พาหะนำโรคกัด เช่น ริ้นฝอยทราย สกุล *Phlebotomus* spp., *Sergentomyia* spp. หรือ *Lutzomyia* spp.

อาการทางคลินิก :

สัตว์ :

พบแต่แผลบริเวณที่ถูกริ้นฝอยทรายกัด

คน :

มี 3 ลักษณะ ได้แก่

1. cutaneous leishmaniasis (CL, oriental sore) พบเป็นแผลเรื้อรังตามผิวหนังในบริเวณที่ถูกริ้นฝอยทรายกัด แบ่งเป็น 2 รูปแบบ ได้แก่ wet rural form เกิดจากเชื้อ *L. major* และ dry urban form เกิดจากเชื้อ *L. tropica*

2. mucocutaneous leishmaniasis (MCL) ซึ่งจะมีลักษณะคล้ายกับที่เกิดขึ้นที่ผิวหนังแต่จะเกิดแผลลุกลามในอวัยวะที่มีเยื่อเมือกเช่น จมูก ปาก เกิดจากเชื้อ *L. brazillensis*, *L. peruviana* และ *L. mexicana*

3. visceral leishmaniasis (VL, kala-azar) เกิดการติดเชื้อในอวัยวะภายในร่างกาย โดยเฉพาะที่ไขกระดูก ม้าม ต่อม้ำเหลืองและตับ (reticulo-endothelial organ) อาการที่พบได้แก่ มีไข้ขึ้นๆ ลงๆ ซีด ตับม้ามโต น้ำหนักลด การติดเชื้อชนิดนี้เป็นชนิดที่รุนแรงที่สุด เกิดจากเชื้อ *L. donovani*, *L. chagasi* และ *L. infantum* อาการจะเป็นแบบเรื้อรัง (chronic) โดยมีรายงานพบระยะพักตัวของโรคนานถึง 9 เดือน ผู้ป่วยที่ติดเชื้อชนิดนี้อาจเสียชีวิตได้ ถ้าไม่ได้รับการรักษา อาการแทรกซ้อนที่พบ ได้แก่ ปอดบวม ภาวะอาหารและลำไส้อักเสบ

สำหรับเชื้อโปรโตซัว *Leishmania* spp. ชนิดที่พบในประเทศไทย ได้แก่ เชื้อ *L. siamensis* และเชื้อ *L. martiniquensis* สามารถทำให้เกิดอาการได้ทั้งแบบ cutaneous leishmaniasis และ visceral leishmaniasis

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

สุนัขที่ตายจากเชื้อลิชมาเนีย พบต่อมน้ำเหลืองขยายขนาดทั่วร่างกาย ตับ ม้าม และหัวใจขยายขนาด มีของเหลวในถุงหุ้มหัวใจและในช่องอก พบภาวะปอดบวมน้ำและมีหย่อมเลือดออก

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ :

1. ขูดตรวจผิวหนังส่วนที่มีรอยแผลงักัด นำมาป้ายสไลด์ ย้อมสีจิมซ่า และตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง
2. นำอวัยวะภายใน ได้แก่ ม้าม ตับ ไชกระดูก และต่อมน้ำเหลือง มาทำ impression smear ย้อมสีจิมซ่า และตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง
3. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี direct agglutination test (DAT)
4. การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR

คน :

เพิ่มเติมจากวิธีการตรวจในสัตว์ ได้แก่ การทำ leishmanin skin test (Montenegro skin test) โดยฉีดแอนติเจนเข้าใต้ผิวหนัง จากนั้นตรวจดูปฏิกิริยาของร่างกาย (Weigle *et al.*, 1991)

การรักษา :

สัตว์ :

เดิมเคยมีการทดลองรักษาแต่ปัจจุบันพบว่า สัตว์ที่ติดเชื้อชนิด cutaneous leishmaniasis จะหายเองได้ จึงไม่มีการรักษา ส่วนการติดเชื้อชนิด visceral และ mucocutaneous leishmaniasis ไม่แนะนำให้รักษา เพราะสัตว์ป่วยอาจเป็นสัตว์รังโรคที่จะแพร่ไปสู่คนได้ จึงแนะนำให้ทำลายสัตว์ที่ติดเชื้อ

คน :

ให้ยา amphotericin B พร้อมกับการผ่าตัด หรือการรักษาตามอาการ

การควบคุม และป้องกันโรค :

สัตว์ :

โดยทั่วไปสัตว์ที่ติดเชื้อ *Leishmania* spp. จะไม่แสดงอาการ จึงต้องมีการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา ในกรณีที่มีผลการตรวจบ่งชี้ถึงการติดเชื้อ ต้องคัดแยกสัตว์ป่วย จากนั้นตรวจยืนยันผลซ้ำ แต่ระหว่างรอผลการตรวจต้องป้องกันไม่ให้สัตว์ถูกรังโรคแพร่ขยายพันธุ์ซ้ำอีก ในกรณีที่ผลการตรวจยืนยันชัดเจนว่ามีการติดเชื้อ ต้องทำลายสัตว์นั้น

คน :

1. ค้นหาผู้ป่วยให้พบอย่างรวดเร็ว (active-case detection) เพื่อให้การรักษาผู้ติดเชื้อโดยเร็ว
2. ควรมีการเฝ้าระวังโรคที่เข้มงวด เช่น การตรวจร่างกายคนต่างชาติที่เดินทางเข้ามาในประเทศ และแรงงานไทยที่เดินทางกลับจากประเทศที่เป็นแหล่งแพร่โรค

3. กำจัดรีนฝอยทราย ด้วยการฉีดพ่นยาฆ่าแมลงซึ่งต้องหาข้อมูลของชนิดและการกระจายตัวของรีนฝอยทรายในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศก่อนเพื่อการเฝ้าระวังโรคต่อไป

4. ทำความสะอาดบริเวณบ้านเรือนอย่าให้มีเศษอาหารตกค้างทำให้หนูซึ่งเป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญมากขึ้น ไม่มีโพรงไม้ หนู หนู กอขยะ กองไม้ กองหิน ที่เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของรีนฝอยทราย สำหรับสัตว์เลี้ยงควรอยู่ในบริเวณที่ล้อมรอบด้วยตาข่ายกันแมลงในเวลากลางวัน

5. ป้องกันตนเองจากการถูกรีนฝอยทรายกัด ได้แก่

5.1 สวมใส่เสื้อผ้าอย่างรัดกุม ขณะเข้าไปทำงานหรือพักในพื้นที่ที่เกิดโรค

5.2 ทายากันแมลงในบริเวณผิวหนังที่อยู่นอกर्मผ้า

5.3 นอนกางมุ้งที่ชุบด้วยยากันยุง หรือใช้มุ้งที่มีขนาดรูตาข่ายน้อยกว่า 156 รูตาข่ายต่อ

ตารางนี้

5.4 ฉีดยากันยุงภายในบ้าน

6. การเฝ้าระวังโรคในพื้นที่ โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีผู้ป่วยที่เกิดอาการไข้ขึ้น ๆ ลง ๆ ซีด ตับม้ามโต น้ำหนักลด ผอมลงมาก โดยไม่จำเป็นต้องมีประวัติไปทำงานในต่างประเทศ หรือให้การรักษาไปแล้วแต่อาการไม่ดีขึ้น

บทที่ 6

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ แต่ยังไม่พบในประเทศไทย

โรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญที่ยังไม่พบในประเทศไทยแต่เป็นโรคที่มีความสำคัญที่มีโอกาสเกิดขึ้นในประเทศ จึงควรรู้จักและทำความเข้าใจไว้

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญ แต่ยังไม่พบในประเทศไทย เช่น

6.1 โรคติดเชื้อไวรัสอีโบล่า (Ebola virus disease)

6.1 โรคติดเชื้อไวรัสอีโบล่า (Ebola virus disease)

เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค :

เชื้อไวรัสอีโบล่า (Ebola virus) สกุล *Filoviridae* วงศ์ *Ebolavirus* ประกอบด้วย 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์อีโบล่าสายพันธุ์คองโก สายพันธุ์ซูดาน สายพันธุ์ชาร์อี สายพันธุ์เรสตัน (Reston) และสายพันธุ์ Bundibugyo

ชื่อพ้อง : โรคไข้เลือดออกอีโบล่า

ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ : สุนัข ลิง สัตว์ฟันแทะ

ระบาดวิทยา :

โรคอีโบล่าพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2519 ที่บริเวณแม่น้ำอีโบล่า ประเทศชาอีร์ หรือสาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโก มักพบในเขตป่าร้อนชื้น โรคนี้มีอัตราการตายสูงถึงร้อยละ 50-90 การระบาดครั้งใหญ่ที่สุดของโรคอีโบล่าเกิดในทวีปแอฟริกาตะวันตกเมื่อปี พ.ศ. 2557 มีผู้ป่วยกว่า 1,320 คน ระยะฟักตัวของโรคในคนนาน 2 ถึง 21 วัน แนวโน้มการติดเชื้อโรคไวรัสอีโบล่าเป็นวงกว้างนั้นถือว่าต่ำ เพราะโรคนี้แพร่เฉพาะโดยการสัมผัสโดยตรงกับสารคัดหลั่งจากผู้ป่วยที่มีอาการเท่านั้น

พยาธิวิทยาของโรค :

เมื่อเชื้อไวรัสอีโบล่าเข้าสู่ร่างกายจะสามารถเพิ่มจำนวนในเซลล์เป้าหมาย โดยเฉพาะในเซลล์ตับ เซลล์เยื่อบุหลอดเลือด ทำให้เกิดอาการตามพยาธิสภาพที่ไวรัสทำลายเซลล์นั้น โดยไวรัสจะเกาะติดกับเซลล์เป้าหมาย ก่อนที่จะเข้าสู่เซลล์ และแพร่กระจายเชื้อที่เชื่อมติดกับเนื้อเยื่อในอวัยวะอื่น ๆ อย่างรวดเร็ว

การติดต่อ :

การติดต่อจากสัตว์สู่คนหรือจากคนสู่คน จากการสัมผัสโดยตรงกับเลือด เครื่องใน สารคัดหลั่งหรือของเหลวในร่างกายที่ติดเชื้อผ่านทางบาดแผลหรือเยื่อเมือก ของสัตว์ป่าหรือคนที่ติดเชื้อ หรือเกิดขณะชำแหละสัตว์ตาย นอกจากนี้การติดเชื้อในโรงพยาบาล ก็พบได้บ่อยผ่านทางเข็มและกระบอกฉีดยาที่ปนเปื้อนเชื้อ ยังพบ

การติดเชื้อจากการสัมผัสโดยตรงกับร่างกายของผู้เสียชีวิต พบว่าเชื้อยังสามารถอยู่ในน้ำอสุจิได้อีกถึง 7 สัปดาห์ หลังจากที่ยาจากอาการป่วย

พาหะของโรค : ค้างคาวผลไม้

อาการทางคลินิก :

สุกร :

สายพันธุ์ Zaire แสดงอาการระบบทางเดินหายใจ ตาย

ลิง :

ติดเชื้อได้ทุกสายพันธุ์ แสดงอาการระบบทางเดินหายใจ โดยหายใจลำบากหรือหายใจหอบถี่ มีไข้ มีจุดเลือดออกที่ผิวหนัง ตาย

สัตว์ฟันแทะ :

ลูกหนูคูดนมและหนูตะเภาตายภายใน 4-6 วัน หนูทดลองเต็มวัยตายภายใน 20-25 วัน

คน :

อาการเริ่มแรกจะเป็นไข้เฉียบพลัน อ่อนเพลียมาก ปวดกล้ามเนื้อ ปวดศีรษะ และเจ็บคอ จากนั้นจะพบอาการอาเจียน ท้องเสีย ผื่นตามผิวหนัง ไตและตับทำงานบกพร่อง บางรายที่ผิวหนังอาจมีผื่นจุดราบและผื่นนูน (maculopapular rash) ในบางรายจะพบการตกเลือดทั้งภายในและภายนอก จากนั้นจะเข้าสู่ระยะเลือดออกโดยอาจมีเลือดออกภายในและใต้หนัง อาจพบตาแดง การที่เลือดออกใต้ผิวหนังอาจทำให้เกิดจุดเลือดออก หรือบางรายจะเห็นผิวหนังเป็นสีม่วงคล้ำ ประมาณครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยในระยะนี้จะพบอาเจียนเป็นเลือด ไอเป็นเลือดหรืออุจจาระเป็นเลือด การเสียเลือดจำนวนไม่มากและพบเพียงที่ระบบทางเดินอาหารจึงไม่ทำให้เสียชีวิต แต่การเสียชีวิตนั้นเกิดจากการทำหน้าที่ผิดปกติของหลายอวัยวะ

รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ :

รอยโรคที่พบบนกับชนิดของสัตว์ แต่สัตว์ทุกชนิดจะพบจุดเลือดออกที่ผิวหนัง

การวินิจฉัยโรค :

สัตว์ และคน :

1. การตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี RT-PCR, real-time RT-PCR
2. การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยวิธี indirect ELISA

การรักษา :

สัตว์ และคน :

ยังไม่มีวัคซีนป้องกันโรคอีโบล่า และยารักษาจำเพาะ ผู้ป่วยที่อาการรุนแรงจำเป็นต้องได้รับการดูแลรักษาแบบประคับประคองอย่างเข้มงวด ผู้ป่วยมักจะมีอาการขาดน้ำบ่อยๆ จึงจำเป็นต้องได้น้ำเกลือเข้าโดยอาจให้ทางปาก หรือทางเส้นเลือด ให้ยาแก้ปวดลดไข้ รักษาระดับความดันโลหิต และการให้เลือด

การควบคุม และป้องกันโรค :

สัตว์ :

ไม่มี

คน :

1. หลีกเลี่ยงการใกล้ชิดผู้ป่วยที่มีอาการไอ จาม ถ้าจำเป็นต้องล้างมือบ่อยๆ
2. หลีกเลี่ยงการรับประทานเนื้อสัตว์ป่าที่อาจมีเชื้อปนเปื้อน เช่น ค้างคาว ลิง เป็นต้น
3. หลีกเลี่ยงการเข้าไปในพื้นที่ที่มีความเสี่ยง หรือพื้นที่แออัด
4. รักษาสุขอนามัยที่ดี เช่น กินร้อน ช้อนกลาง ล้างมือ
5. ผู้ป่วยที่มีอาการไอ จามควรสวมหน้ากากอนามัยเพื่อป้องกันการแพร่กระจายเชื้อ
6. ผู้ที่ประกอบอาชีพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ หรือทำอาชีพด้านการเกษตรควรป้องกันตนเองเมื่อต้องสัมผัสสัตว์ และไม่ควรรับประทานเนื้อสัตว์ที่ยังไม่ได้ปรุงสุก

บทที่ 7

การตรวจวินิจฉัยโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน

7.1 การตรวจหาเชื้อไวรัส

หลักการ : ในการชันสูตรโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส จะต้องมีการแยกเชื้อและเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสจากตัวอย่าง

7.1.1 การเพาะเชื้อไวรัส โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง

รูปร่างและลักษณะของเซลล์เพาะเลี้ยง สามารถแบ่งได้เป็น 3 รูปแบบ ได้แก่ เซลล์ชนิดรูปกระสวย (fibroblast-like cells): เป็นเซลล์ที่มีลักษณะยาวรีมีปลายแหลม 2 ข้าง (bipolar) หรือมากกว่า (multi-polar) เซลล์เยื่อบุผิว (epithelial-like cells): เป็นเซลล์ที่มีหลายมุม (polygonal) เรียงตัวเป็นชั้นเดียว เกาะกับพื้นผิว และเซลล์ชนิดทรงกลม (lymphoblast-like cells): เป็นเซลล์ลักษณะทรงกลม มักอยู่ในรูปแบบเซลล์แขวนลอยที่ไม่เกาะกับพื้นผิว เช่น Vero cells, MDCK cells, BHK cells, CHO cells

อุปกรณ์ :

1. จานเพาะเชื้อแบบหลุม ที่มีเซลล์ชนิดต่างๆ ขึ้นกับชนิดของเชื้อไวรัส ได้แก่ Vero cell
2. ไมโครปิเปต (micropipette)
3. ตู้บ่มเชื้อที่มี CO₂ (CO₂ incubator)
4. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดหัวกลับ (inverted microscope)
5. ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
7. เครื่องเขย่าชนิด rocking platform

สารละลาย :

1. อาหารเลี้ยงเซลล์ (growth medium, GM)
2. 10% fetal bovine serum (FBS)
3. 1 x trypsin-EDTA
4. สารละลาย PBS
5. สารละลาย maintenance medium

การเพาะเชื้อไวรัส โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอนได้แก่ การเลี้ยงเซลล์ การเตรียมตัวอย่าง และการเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัส

7.1.1.1 การเลี้ยงเซลล์

วิธีการ :

1. นำเซลล์ที่จะใช้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงใส่ลงในขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 25 ตารางเซนติเมตร ที่มี GM ประมาณ 5 มิลลิลิตร

2. ตรวจสอบขนาดเซลล์เพาะเลี้ยงโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ ในกรณีที่เซลล์เพาะเลี้ยงยังไม่เต็มพื้นที่ผิวของขวดเลี้ยงเซลล์ ให้เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุกวัน นานประมาณ 2-3 วัน

3. เมื่อเซลล์เพาะเลี้ยงเจริญเต็มพื้นที่ผิวขวด โดยเรียงตัวเป็นชั้นเดียว หนาแน่นประมาณ 70-80% ให้เก็บเซลล์เพาะเลี้ยง โดยดูด GM ออก จากนั้นล้างเซลล์ด้วย PBS 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง
4. ใส่ 1 x trypsin-EDTA 5 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 1-20 นาที ขึ้นกับชนิดของเซลล์ที่ใช้ จากนั้นเคาะขวดเบาๆ เพื่อช่วยในการให้เซลล์หลุดออกจากพื้นผิวของขวดเพาะเซลล์
5. ใส่ GM ที่มี 10% FBS ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำงานของ trypsin-EDTA
6. ใช้ปิเปตต์ดูดขึ้น-ลง เพื่อชะเซลล์ให้หลุดจากพื้นผิวของขวดเลี้ยงเซลล์ และทำให้เซลล์แยกตัวกระจายออกเป็นเซลล์เดี่ยวๆ
7. ดูดสารละลายทั้งหมดออกจากขวดเพาะเซลล์ ไปใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
8. นำหลอดทดลองไปปั่นในเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ $200 \times g$ นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
9. ดูดสารละลายส่วนบนทิ้ง ละลายตะกอนด้วย GM ที่มี 10% FBS ปริมาณ 10 มิลลิลิตร
10. แบ่งเซลล์ใส่ขวดใหม่ โดยใช้อัตราส่วนในการแบ่งเซลล์เท่ากับ 1:3 หรือ 1:4 จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ให้ครบ 5 มิลลิลิตร
11. นำขวดเลี้ยงเซลล์ไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ใน 5% CO₂ incubator โดยสังเกตการเจริญเติบโตด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดหัวกลับ ทุกวัน

7.1.1.2 การเตรียมตัวอย่าง

- วิธีการ :
1. ในกรณีที่ป็นอวัยวะภายใน บดตัวอย่างโดยใช้ sterile silica
 2. ใส่สารละลาย PBS
 3. นำไปปั่นในเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 2,000 รอบต่อนาที 15 นาที
 4. เมื่อครบเวลาดูดส่วนใส นำมาตรวจหาเชื้อไวรัส โดยการเพิ่มปริมาณในขวดเลี้ยงเซลล์ที่มีเซลล์เพาะเลี้ยงที่เจริญเต็มที่แล้ว

7.1.1.3 การเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัส

- วิธีการ :
1. ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกจากขวดเลี้ยงเซลล์ที่มีเซลล์เพาะเลี้ยงเจริญเต็มที่แล้ว โดยให้เหลืออาหารในขวดเพาะเลี้ยง 1 มิลลิลิตร
 2. เติมเชื้อไวรัสจากตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าชนิด rocking platform ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้ไวรัสเกาะติดกับเซลล์ เมื่อครบเวลา เทไวรัสส่วนเกินทิ้งไป
 3. เติม maintenance medium 2-3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ใน 5% CO₂ incubator เป็นเวลา 2-3 วัน
 4. สังเกตการเกิด cytopathic effect (CPE) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดหัวกลับ จนกระทั่งเซลล์ติดเชื้อทั้งหมด นั่นคือพบเซลล์ที่เกิด CPE ทั้งหมด
 5. ทำการเก็บเชื้อไวรัส โดยการ freeze-thaw ได้แก่การนำขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสไปแช่แข็งที่ -80 องศาเซลเซียส และนำมาทำการละลายอย่างรวดเร็ว นำกลับไปแช่แข็งที่ -80 องศาเซลเซียส และทำการละลายใหม่อีกครั้ง เพื่อให้เซลล์แตก จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว $1,000 \times g$

นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อแยกส่วนใสออกจากตะกอนที่เป็นกากเซลล์และเก็บเชื้อไวรัสในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ -80 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บเป็น stock ไวรัส

7.1.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสในไข่ไก่ฟัก

หลักการ : ใช้ในการชั้นสูตรโรคไข้หวัดนก ประกอบด้วยการแยกเชื้อโดยใช้ไข่ไก่ฟัก และ การตรวจหาเชื้อไวรัส

7.1.2.1 การแยกเชื้อโดยใช้ไข่ไก่ฟัก (embryonated egg inoculation)

อุปกรณ์ :

1. โกร่งบดตัวอย่าง
2. เครื่องเขย่า (vortex mixer)
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง
4. เยื่อแผ่นกรอง (membrane filter) ขนาด 0.22 ไมครอน
5. กระบอกฉีดยา และเข็มฉีดยา
6. ตู้ฟักไข่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
7. เครื่องส่องไข่
8. ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส

สารละลาย :

1. สารละลาย PBS
2. ยาปฏิชีวนะ ได้แก่ penicillin, streptomycin, gentamycin และ mycostatin

วิธีการ :

1. ในกรณีตัวอย่างเป็นอวัยวะภายในให้นำมาบดละเอียดผสมกับสารละลาย PBS โดยให้ความเข้มข้นสัดส่วนมวลต่อปริมาตรเป็น 10% ถึง 20% แต่ถ้าเป็นตัวอย่างที่เก็บด้วยสำลี (พันไม้) ในน้ำยาเก็บรักษาไวรัสให้นำมาเขย่าแรงๆ ด้วยเครื่องเขย่า แล้วแยกเอาสำลีพันไม้ ออก

2. นำตัวอย่างที่ได้ มาปั่นในเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 1,000 x g นาน 10 นาที

3. นำส่วนใส (supernatant) ใส่ยาปฏิชีวนะ ได้แก่ penicillin, streptomycin, gentamycin และ mycostatin ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัดแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อน หรือกำจัดแบคทีเรียด้วยวิธีอื่น เช่น กรองเอาแบคทีเรียออกด้วยเยื่อแผ่นกรอง

4. นำตัวอย่างที่ได้ปริมาตรอย่างน้อย 200 ไมครอน ฉีดเข้าในถุงหุ้มตัวอ่อน (allantoic sac) ของไข่ไก่ฟักที่ปลอดเชื้อและปลอดภูมิคุ้มกัน ที่อายุ 9 วัน ถึง 11 วัน จำนวน 5 ฟอง ต่อ 1 ตัวอย่าง

5. นำไข่ฟักที่ฉีดไวรัสแล้วเข้าตู้ฟักไข่ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ถึง 7 วัน

6. ตรวจสอบการมีชีวิตของตัวอ่อนในไข่ฟักทุกวันด้วยเครื่องส่องไข่ ตั้งแต่วันที่ 4 ถึงวันที่ 7

7. นำไข่ฟักที่ตัวอ่อนตาย หรือเมื่อครบกำหนดภายหลังการฉีดไวรัส แซ่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

8. เก็บน้ำในถุงหุ้มตัวอ่อน (allantoic fluid) นำไปทดสอบคุณสมบัติการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงไก่ (hemagglutination test, HA test) เพื่อทดสอบการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง

9. หากผลจากการตรวจ HA เป็นลบ ให้นำน้ำจากถุงหุ้มตัวอ่อน ไปทำซ้ำอีกครั้งหนึ่ง (2nd passage) ในข้อที่ 4. ถึงข้อที่ 8.

7.1.3 การทดสอบคุณสมบัติการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (haemagglutination test, HA)

หลักการ : ไวรัสใช้หัวตันกทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มได้โดยไวรัสใช้ฮีแมกกลูตินินจับกับตัวรับที่อยู่บนผิวเม็ดเลือดแดง

อุปกรณ์ :

1. ไมโครเพลท ชนิดกันตัว V
2. ไมโครปิเปต
3. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) 37 องศาเซลเซียส
4. ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส

สารละลาย :

1. สารละลาย PBS
2. แอนติเจน
3. 1% เม็ดเลือดแดง

วิธีการ :

1. เติมสารละลาย PBS 25 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปต ลงในทุกหลุมของไมโครเพลท
2. เติมแอนติเจน เช่น H₅ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปต ลงในไมโครเพลทหลุมที่ 1 ของแต่ละแถว
3. ทำการเจือจางแอนติเจน 1:2 ตามลำดับ (serial twofold dilution) ด้วยไมโครปิเปต
4. เติมสารละลาย PBS ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปต ลงในทุกหลุม
5. เติม 1% เม็ดเลือดแดง 25 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปต ลงในทุกหลุม เขย่าให้เม็ดเลือดแดง

กระจายทั่วกัน

6. ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 40 นาที หรือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที หรือเมื่อเม็ดเลือดแดงในหลุมควบคุมรวมกลุ่มเป็นเม็ดกระดุม

การอ่านผล :

ผลบวก หลุมที่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงอย่างสมบูรณ์ที่กันหลุม ให้ค่าหลุมที่มีความเจือจางของแอนติเจนสูงสุดที่ให้ผลบวกมีค่าเป็น 1 HAU (HA unit)

ผลลบ หลุมที่ไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

7.1.4 การฉีดเชื้อไวรัสเข้าสัตว์ทดลอง

หลักการ : เป็นวิธีการตรวจหาเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าที่ทำในหนูขาว

อุปกรณ์ :

1. เข็มขนาด 26-27 และกระบอกฉีดยาทูเบอร์คูลิน
2. หม้อต้ม
3. เครื่องปั่น (homogenizer)

สารละลาย :

1. 0.85% normal saline

- วิธีการ :**
1. เตรียมตัวอย่างทดสอบ (สมอง หรือ ต่อม้าน้ำลาย) ปั่น จากนั้นนำไปผสมกับ 0.85% normal saline
 2. จากนั้นนำไปฉีดในหนูขาว โดยถ้าฉีดสมองใช้ตัวละ 30 ไมโครลิตร แต่ถ้าฉีดเข้ากล้ามเนื้อหรือใต้ผิวหนังใช้ตัวละ 50 ไมโครลิตร
 3. สังเกตอาการและบันทึกอัตราการรอดหรือตายของหนูเป็นระยะเวลา 4 วัน
 4. ถ้ามีหนูขาวตายให้ผ่าซาก และนำส่งไปตรวจด้วยวิธี DFA

7.1.5 direct fluorescent antibody test (DFA)

หลักการ : แอนติเจนที่ติดอยู่ในสมองสัตว์จับกับแอนติบอดีในคอนจูเกต เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน แอนติเจน/แอนติบอดี (antigen/antibody complex) เมื่อนำมาตรวจโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดฟลูออเรสเซนซ์ จะเรืองแสงให้เห็นเป็นรูปร่างของแอนติเจน

- อุปกรณ์ :**
1. กระดาษสไลด์ ขนาด 60 x 22 มิลลิเมตร
 2. เครื่องมือเปิดผ่าสมองสัตว์
 3. สไลด์ที่มีเนื้อสมองที่เป็นตัวควบคุมบวก (มีเชื้อ) และควบคุมลบ (ไม่มีเชื้อ)
 4. ตู้แช่แข็ง -70 องศาเซลเซียส
 5. ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส
 6. ไมโครปิเปต
 7. กล่องควบคุมความชื้น (moisture chamber)
 8. กระบอกฉีดยา
 9. แผ่นกรองชนิด low protein binding ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
 10. ตูบ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส
 11. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent microscope)

- สารละลาย :**
1. สารละลาย acetone เย็น
 2. คอนจูเกตทั้ง 2 ซึ่งเป็น anti-RABV ชนิด monoclonal
 3. สารละลาย 20% glycerol-TRIS buffered
 4. สารละลาย PBS

- วิธีทำ :**
1. เปิดผ่าสมองส่วนที่มีเชื้อ จากนั้นวางเนื้อสมองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ประมาณ 15 มิลลิเมตร ลงบนกระดาษสไลด์ที่ใส่ตรึง จากนั้นปล่อยให้แห้ง นาน 15-30 นาที
 2. นำสไลด์ที่มีเนื้อสมองที่เป็นตัวควบคุมบวก (มีเชื้อ) และควบคุมลบ (ไม่มีเชื้อ) ออกมาจากตู้แช่แข็งที่ -70 องศาเซลเซียส นำสไลด์ทั้งหมด มาแช่ในสารละลาย acetone เย็น อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ถึงข้ามคืน ในตู้แช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส
 4. เทสารละลาย acetone ออก จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
 5. วางสไลด์ทั้งหมดในกล่องควบคุมความชื้น

6. หยดคอนจูเกตทั้ง 2 ซึ่งเป็น anti-RABV ชนิด monoclonal โดยใช้กระบอกลีดยาที่ติดแผ่นกรองชนิด low protein binding ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ตัวละ 2-3 หยด ลงบนกระจกสไลด์ในกล่องควบคุมความชื้น
7. นำกล่องควบคุมความชื้น ไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
8. นำสไลด์ออกมาจากกล่องควบคุมความชื้น เทสารละลายทิ้ง และแช่กระจกสไลด์ในสารละลาย PBS นาน 5 นาที จากนั้นนำออกมาเทสารละลายทิ้ง และแช่ใน PBS อีก 5 นาที
9. เมื่อครบเวลา เทสารละลายออก และ mount สไลด์ด้วย 20% glycerol-TRIS buffer
10. นำไปอ่านผลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดฟลูออเรสเซนซ์ กำลังขยาย 200-400 เท่า

การอ่านผล :

- ผลบวก เชื้อก่อโรคจะเรืองแสงติดสีเขียว
 ผลลบ มองไม่เห็นการเรืองแสงใดๆ

7.1.6 การตรวจโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry, IHC)

หลักการ : ใช้ตรวจหาแอนติเจน จากชิ้นเนื้อที่ฝังในบล็อกพาราฟิน ซึ่งเก็บได้เป็นระยะเวลานาน แต่ความสามารถในการตรวจขึ้นกับแอนติบอดีที่ใช้ และคุณภาพของชิ้นเนื้อ เนื่องจากต้องตรึงชิ้นเนื้อด้วยสารละลายฟอร์มาลีน ซึ่งอาจบดบังแอนติเจนของไวรัสในชิ้นเนื้อได้

อุปกรณ์ : 1. กระจกสไลด์ ขนาด 60 x 22 มิลลิเมตร ที่มีเนื้อสมองที่เป็นตัวควบคุมบวก (มีเชื้อ) และควบคุมลบ (ไม่มีเชื้อ)

2. เครื่องมือเปิดผ่าสมองสัตว์
3. ตู้แช่แข็ง -70 องศาเซลเซียส
4. ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส
5. ไมโครปิเปต
6. กล่องควบคุมความชื้น
7. กระบอกลีดยา
8. แผ่นกรองชนิด low protein binding ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
9. ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส
10. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง (light microscope)

- สารละลาย :** 1. สารละลาย 10% neutral buffered formalin
2. สารละลาย acetone เย็น
 3. คอนจูเกตทั้ง 2 ซึ่งเป็น anti-RABV ชนิด monoclonal
 4. สารละลาย 20% glycerol-TRIS buffered
 5. สารละลาย PBS
 6. สารละลาย 3% H₂O₂

7. proteinase K
8. สารละลาย 5% bovine serum
9. primary antibody
10. secondary antibody
11. substrate
12. สี hematoxylin
13. 95% ethanol
14. 100% ethanol
15. xylene

วิธีทำ : 1. นำชิ้นเนื้อที่ต้องการตรวจแช่ในน้ำยา 10% neutral buffered formalin เป็นเวลาอย่างน้อย 6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาตัดแต่งขนาดให้ไม่เกิน 2 x 3 เซนติเมตร หนาประมาณ 0.3 เซนติเมตร จากนั้นนำเข้าเครื่อง automatic tissue processor เพื่อดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อและแทนที่ด้วยพาราฟิน

2. นำชิ้นเนื้อมาฝังในพาราฟินเหลว 3-5 มิลลิลิตร ในกระถางพลาสติก แล้วทิ้งไว้ให้เย็น
3. นำพาราฟินบล็อกเนื้อเยื่อมาตัดด้วยเครื่อง microtome ให้เป็นแผ่นหนา 2-6 ไมครอน วางบน กระดาษสไลด์ รอให้แห้ง

4. วางกระดาษสไลด์บนแท่นวางสไลด์ ระวังไม่ให้สไลด์สัมผัสกัน และระวังไม่ให้สไลด์แห้ง
5. หยดสารละลาย 3% H₂O₂ ให้ทั่ว section ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที
6. หยด proteinase K ให้ทั่ว section ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที และล้างด้วยสารละลาย PBS 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที *เวลาล้างควรเขย่าไปด้วย*

7. หยดสารละลาย 5% bovine serum และ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 นาที และล้างด้วยสารละลาย PBS 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที *เวลาล้างควรเขย่าไปด้วย*

8. หยด primary antibody ให้ทั่ว section
9. บ่มในกล่องเก็บความชื้นในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสข้ามคืน เมื่อครบเวลา นำมาล้างด้วยสารละลาย PBS 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที

10. หยดสารละลาย secondary antibody ให้ทั่วสไลด์ จากนั้นบ่มในกล่องเก็บความชื้น 4 องศาเซลเซียส โดยไม่ให้โดนแสง นาน 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาล้างด้วยสารละลาย PBS 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที

11. เติม substrate 100 ไมโครลิตร จนเกิดสีหรือรอ 3 นาที และล้างด้วยสารละลาย PBS 3 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที

12. counterstain โดยแช่ในสี hematoxylin เป็นเวลา 1-2 นาที และล้างน้ำไหล 10-15 นาที
13. เอาน้ำออก โดยใช้ 95% ethanol 2 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที, 100% ethanol 2 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที, xylene 2 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที

14. นำสไลด์ไป mount และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ และนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

การอ่านผล :

ผลบวก เชื้อก่อโรคจะเปลี่ยนสี

ผลลบ มองไม่เห็นการเปลี่ยนสีใดๆ

7.2 การตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย

ควรตรวจลักษณะทั่วไปของตัวอย่าง เช่น ดูสี กลิ่น เนื้อสัมผัส การมีมูก เลือด หนอง เป็นต้น

7.2.1 การเพาะเชื้อแบคทีเรีย

หลักการ : ในการชันสูตรหาเชื้อแบคทีเรีย จำเป็นต้องมีการเพาะแยกเชื้อออกมาจากตัวอย่างทางคลินิกก่อน จากนั้นจึงแยกโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เพาะได้ ไปตรวจสอบตามวิธีต่างๆต่อไป

อุปกรณ์ :

1. จานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ blood agar (5% เลือดแกะใน nutrient medium) และ Mac Conkey agar
2. ลวดหรือแท่งแก้วสำหรับเขี่ยเชื้อ
3. ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส
4. ตะเกียงแอลกอฮอล์

สารละลาย : ไม่มี

วิธีการ :

1. ใช้ปลายห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) ของลวดหรือแท่งแก้วสำหรับเขี่ยเชื้อสนไฟจนร้อนแดง และทิ้งให้เย็นลงชั่วครู่เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เพื่อให้ไม่ติดเชื้อแบคทีเรียมาจากที่อื่น
2. นำปลายห่วงเขี่ยเชื้อของลวดหรือแท่งแก้ว มาจุ่มที่ตัวอย่างที่ต้องการแยกเชื้อแบคทีเรีย
3. นำปลายห่วงเขี่ยเชื้อมาขีด (streak) บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ ในห้องปฏิบัติการทั่วไปจะนิยมขีดเชื้อแบบตัดกัน (cross streak) โดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อที่เผาไฟและรอให้เย็น ตะเชื้อมาขีดบนอาหารเลี้ยงเชื้อตามแนวที่ 1-2 ประมาณ 3-4 เส้น เฝ้าห่วงเขี่ยเชื้อจนร้อนแดงเพื่อฆ่าเชื้อที่มีมากเกินไป และรอให้เย็น ขีดบนอาหารเลี้ยงเชื้อตามแนวที่ 2-3 โดยให้รอยขีดตัดผ่านตอนปลายของแนวที่ 1-2 เล็กน้อย จากนั้นเฝ้าห่วงเขี่ยเชื้อ และขีดตามแนวที่ 3-4 ดังนั้นเชื้อจะหนาแน่นมากตามแนวขีดในตอนแรก ๆ แต่ในตอนท้ายเชื้อจะเจือจางลงและแยกแต่ละเซลล์ออกจากกันได้

4. นำจานเพาะเชื้อ ไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

การอ่านผล : ผลบวก พบโคโลนีเดี่ยวๆ ของเชื้อแบคทีเรีย ทั่วๆ ไปจะมองเห็นเป็นจุดสีต่าง ๆ ตามแต่ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

ผลลบ ไม่พบโคโลนีของเชื้อใด ๆ

7.2.2 การย้อมสีแกรม (gram stain)

หลักการ : การย้อมแกรมเป็นเทคนิคในการศึกษาจุลินทรีย์ โดยดูสีที่ย้อมติดกับตัวจุลินทรีย์ลักษณะการย้อมติดที่ตัวเซลล์เป็นแบบ differential stain ซึ่งเป็นการใช้สีย้อมมากกว่าหนึ่งชนิด สีจะติดตามไซโตพลาสซึมและผนังเซลล์ทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างเซลล์ของแบคทีเรียชนิดต่างๆ ได้

อุปกรณ์ :

1. กระจกสไลด์ ขนาด 60 x 22 มิลลิเมตร
2. ตะเกียงแอลกอฮอล์
3. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

สารละลาย :

1. สารละลาย crystal violet หรือ methylene blue
2. สารละลาย gram iodine
3. ethyl alcohol 95%
4. carbol fuchsin หรือ safranin
5. น้ำกลั่น

วิธีการ :

1. ป้ายเชื้อที่ต้องการย้อมลงบนกระจกสไลด์ที่สะอาด ทิ้งให้แห้ง จากนั้นตรึงตัวเซลล์ด้วยการผ่านเปลวไฟ การตรึงเซลล์จะช่วยให้เซลล์แห้งติดกับกระจกสไลด์
2. หยดสารละลาย crystal violet หรือ methylene blue บนเชื้อที่ป้ายบนกระจกสไลด์นานประมาณ 1 นาที จากนั้นเทสีทิ้ง
3. หยดสารละลาย gram iodine ลงไปนานประมาณ 1 นาที แล้วเททิ้ง สารละลายไอโอดีนจะช่วยให้เซลล์ย้อมติดสีได้ดีขึ้น
4. ฟอกสีออก (decolorized) โดยการล้างสีด้วย ethyl alcohol 95% นาน 30 วินาที จากนั้นจึงตามด้วยน้ำกลั่น
5. ย้อมสีทับ (counterstain) หยดสี carbol fuchsin หรือ safranin ลงบนเชื้อนานประมาณ 1 นาที ล้างสีด้วยน้ำ แล้วจึงมองเซลล์ผ่านทางกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

การอ่านผล :

ผลของการย้อมสีแกรมทำให้จำแนกแบคทีเรียออกได้ 2 กลุ่ม คือ

- แกรมบวก (gram positive) แบคทีเรียย้อมติดสีม่วงของ crystal violet หรือสีน้ำเงินของ methylene blue
- แกรมลบ (gram negative) แบคทีเรียย้อมติดสีชมพูของ carbol fuchsin หรือ safranin

7.2.3 การย้อมสีพิเศษ ได้แก่ modified Ziehl-Neelsen stain

หลักการ : เป็นวิธีการตรวจหาเชื้อ acid fast bacilli (AFB) เช่น *Mycobacterium*, *Novardia* โดยการนำสิ่งส่งตรวจป้ายลงบนสไลด์ นำไปย้อมสี จากนั้นตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

อุปกรณ์ :

1. กระจกสไลด์ขนาด 60 x 22 มิลลิเมตร

2. ตะเกียงแอลกอฮอล์
3. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

สารละลาย :

1. สารละลาย carbol fuchsin
2. สารละลาย 0.5% acid alcohol
3. สารละลาย 1% methylene blue
4. น้ำสะอาด

วิธีการ :

1. ป้ายสิ่งส่งตรวจลงบนกระจกสไลด์ ทิ้งให้แห้ง จากนั้นตรึงตัวเซลล์ด้วยการผ่านเปลวไฟ
2. หยดสารละลาย carbol fuchsin ให้ท่วมสไลด์ ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที
3. ล้างสไลด์ด้วยน้ำสะอาด
4. ฟอกสีออกด้วย 0.5% acid alcohol ตั้งทิ้งไว้ 30 วินาทีหรือสีแดงจางเกือบหมด
5. ล้างสไลด์ด้วยน้ำ
6. ย้อมสีทับ ด้วย 1% methylene blue นาน 30 วินาที
7. ทิ้งไว้ให้แห้ง
8. นำกระจกสไลด์ไปตรวจหาเชื้อ AFB ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

การอ่านผล :

พบเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นแท่ง ติดสีชมพู ส่วนที่เป็นเสมหะ และแบคทีเรียชนิดอื่น จะติดสีน้ำเงิน ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง กำลังขยาย 200 เท่า รายงานผลดังนี้

- 1+ พบเชื้อ AFB จำนวน 3-9 เซลล์ต่อสไลด์
- 2+ พบเชื้อ AFB จำนวน 10 เซลล์หรือมากกว่าต่อสไลด์
- 3+ พบเชื้อ AFB จำนวน 10 เซลล์หรือมากกว่าต่อ oil immersion field
- ผลลบ ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่ย้อมติดสีชมพู

7.2.4 การตรวจด้วยวิธีทางชีวเคมี

หลักการ : เป็นวิธีการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย การทดสอบที่สำคัญ เช่น triple sugar iron test (TSI), oxidase test, indole production, citrate utilization, motile, methyl red, Voges-Proskauer, urease test, catalase test เป็นต้น

7.2.4.1 triple sugar iron test (TSI)

หลักการ : เป็นการทดสอบจำแนกชนิดของแบคทีเรียแกรมลบ โดยอาศัยความสามารถในการใช้น้ำตาล กลูโคส แลคโตส และซูโครส ทำให้ได้กรด และความสามารถในการให้แก๊ซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H₂S) ด้วย

วิธีการ :

1. เชื้อเชือบนผิววุ้น (slant) ของ triple sugar iron (TSI) agar ให้ทั่ว
2. แทง (stab) ปลายเข็มที่เชื้อเชื้อในตอนแรกลึกประมาณ 2 ใน 3 ของหลอดทดลอง
3. นำหลอดทดลองไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง

การอ่านผล :

- ในกรณีที่เชื้อแบคทีเรียสามารถย่อยน้ำตาลกลูโคสได้อย่างเดียว บนผิววุ้นของหลอดทดลองจะเปลี่ยนสีจากแดงส้มเป็นแดงเข้ม ที่ก้นหลอดทดลองสีจะเปลี่ยนจากแดงส้มเป็นสีเหลือง
- ในกรณีที่เชื้อแบคทีเรียสามารถย่อยน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลแลคโตส หรือเชื้อแบคทีเรียสามารถใช้น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส หรือสามารถย่อยน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดได้ ทั้งบนผิว slant และที่ก้นหลอดทดลองจะเปลี่ยนจากสีแดงส้มเป็นสีเหลือง
- ในกรณีที่เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถย่อยน้ำตาลชนิดใดๆ ทั้ง 3 ชนิด อาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองอาจไม่มีการเปลี่ยนสีหรือเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม
- ในกรณีที่มีการเกิดแก๊ส จะเห็นเป็นรอยแตก หรือสังเกตเห็นเป็นฟองอากาศ
- ในกรณีที่เกิดแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ จะเห็นเป็นสีดำของตะกอนเฟอร์รัสซัลไฟด์ที่ก้นหลอด

7.2.4.2 oxidase test (cytochrome oxidase test)

หลักการ : เป็นการทดสอบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์ oxidase ได้หรือไม่ ถ้าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ oxidase ได้ เชื้อจะทำปฏิกิริยากับน้ำยาทดสอบ

วิธีการ : 1. วางกระดาษกรองที่อ้อมด้วย 0.5% tetramethyl-p-phenylenediamine HCl ลงในจานเพาะเชื้อ

2. ใช้ปลายห้วงเขี่ยเชื้อเขี่ยโคลนินของเชื้อที่ต้องการทดสอบโดยแตะโคโลนินบนกระดาษกรอง

การอ่านผล :

ผลบวก เกิดสีม่วงเข้มภายใน 10 วินาที

ผลลบ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ

7.2.4.3 indole production test

หลักการ : เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถเปลี่ยน tryptophan ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี peptone casein ไปเป็น indole ได้หรือไม่ tryptophan

วิธีการ : 1. ใช้ปลายห้วงเขี่ยเชื้อเขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด trypticase soy broth (TSB)

2. บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3. เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด ใช้ปลายห้วงเขี่ยเชื้อย้ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด sulfide, indole, motility (SIM) agar โดยวิธีแทงลงในอาหารทดสอบ

4. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หยด Kovac's reagent

การอ่านผล :

ผลบวก เกิดชั้นสีแดงอยู่ส่วนบน (red ring) เมื่อหยด Kovac's reagent

ผลลบ ไม่เกิดสีแดงอยู่ส่วนบน (red ring) เมื่อหยด Kovac's reagent

7.2.4.4 citrate utilization

หลักการ : เป็นการทดสอบความสามารถของเชื้อ ในการใช้ citrate เป็นแหล่งคาร์บอน ในขบวนการ metabolism และให้ผลผลิตเป็นต่าง ซึ่งเปลี่ยนสี indicator เป็นสีน้ำเงิน

วิธีการ :

1. เชื้อเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลว TSB
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. ใช้ปลายห่วงเชื้อย้ายเชื้อจาก TSB ที่ผ่านการบ่ม 24 ชั่วโมง streak ลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ Simmon's citrate agar slant

4. บ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ

การอ่านผล :

ผลบวก เปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง

ผลลบ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

7.2.4.5 motile

หลักการ : เป็นการทดสอบความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อ

วิธีการ :

1. เชื้อเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลว TSB
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. แหว่งเข็มที่มีเช็อลงไปตรง ๆ ในอาหารทดสอบลักษณะกึ่งเหลว มีความเข้มข้นของรุ้นประมาณ 0.4% หรือน้อยกว่า

การอ่านผล :

ผลบวก เชื้อเจริญমানอรอยที่แหว่งเข็มจนทำให้อาหารขุ่น

ผลลบ เชื้อเจริญเฉพาะรอยที่แหว่งเข็มเท่านั้น

7.2.4.6 methyl red

หลักการ : เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างกรดจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส ได้มากหรือน้อย โดยการตรวจดู pH ของอาหารนั้น เชื้อที่สร้างกรดได้มากจะทำให้ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำกว่า 4.2 ซึ่งจะเปลี่ยนสี indicator ของ methyl red เป็นสีแดงได้

วิธีการ :

1. ใช้ปลายห่วงเชื้อเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหาร TSB
2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. ใช้ปลายห่วงเชื้อย้ายเชื้อจาก TSB ที่ผ่านการบ่ม 24 ชั่วโมง ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด methyl-red Voges-Proskauer broth (MR-VP broth)

4. บ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5. ย้ายอาหาร MR-VP ที่ผ่านการบ่มมาแล้ว 24 ชั่วโมง ใส่ในหลอดเปล่า 1 ใน 3 ของหลอด ส่วนที่เหลือแบ่งไว้ทดสอบปฏิกิริยา VP test

6. หยด methyl red indicator ลงใน MR-VP broth 5 หยด จากนั้นเขย่าเบา ๆ สังเกตสีของอาหารที่เติม methyl red indicator

การอ่านผล :

ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดง

ผลลบ อาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีการเปลี่ยนสี (เป็นสีเหลืองของอาหารเลี้ยงเชื้อ)

7.2.4.7 Voges-Proskauer reaction test (VP test)

หลักการ : เป็นการทดสอบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถสร้าง acethyl methyl carbinol จากน้ำตาลกลูโคส

- วิธีการ :**
1. นำอาหารที่แบ่งไว้จากการทดสอบ methyl red มาทดสอบปฏิกิริยา VP test
 2. หยด barritt's reagent A (carbinol 5% α -naphthol) ลงใน MR-VP broth 6 หยด จากนั้นเขย่าเบา ๆ
 3. จากนั้นเติม barritt's reagent B (40% KOH) 2 หยด ทันทีก่อนเขย่าอีกครั้ง ทิ้งไว้ 15 นาที
 4. เขย่าทุก ๆ 3-4 นาที สังเกตสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ

การอ่านผล :

ผลบวก มีสีชมพูเกิดขึ้นบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลลบ อาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีการเปลี่ยนสี (เป็นสีเหลืองของอาหารเลี้ยงเชื้อ)

7.2.4.8 urease test

หลักการ : การพบเอ็นไซม์ Urease ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ชนิดหนึ่งที่พบได้ในเชื้อแบคทีเรียบางชนิด เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์

- วิธีการ :**
1. ปลูกเชื้อลงบนอาหาร urea broth โดยใช้เชื้อที่มีอายุน้อย (18-24 ชั่วโมง) ด้วยปริมาณเพียงเล็กน้อย
 2. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

การอ่านผล :

ผลบวก อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพูเข้ม

ผลลบ อาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีการเปลี่ยนสี

7.2.4.9 catalase test

หลักการ : เป็นการทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มี catalase enzyme ซึ่งจะสามารถเปลี่ยน H_2O_2 ไปเป็น O_2 และ H_2O

- วิธีการ :**
1. เชื้อเชื้อที่ต้องการทดสอบลงบนอาหาร tryptic soy agar (TSA)
 2. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง
 3. หยดสารละลายทดสอบ คือ 3% H_2O_2 ลงบนสไลด์ โดยใช้ปลายห้วงเขี่ยเชื้อปาดเชื้อ

4. เชียโคโลนีเดียวที่เจริญบน TSA ที่ต้องการทดสอบเกลี้ยงลงในหยดของสารละลาย H_2O_2 ที่อยู่บนสไลด์

การอ่านผล :

ผลบวก มีฟองก๊าซเกิดขึ้น

ผลลบ ไม่มีฟองก๊าซเกิดขึ้น

7.2.5 การฉีดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ตัวทดลอง

หลักการ : เป็นการตรวจหาเชื้อ *B. anthracis* โดยการฉีดตัวอย่างเข้าหนูทดลอง

อุปกรณ์ : 1. เข็มและกระบอกฉีดยา
2. หม้อต้ม

สารละลาย : 1. สารละลาย 0.85% normal saline

วิธีการ : 1. นำชิ้นส่วนของอวัยวะจากสัตว์ที่ต้องการตรวจ ต้มกับ 0.85% normal saline ที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งให้เย็นและตกตะกอน
2. นำส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ฉีดเข้าใต้ผิวหนังของหนูทดลอง ได้แก่ หนูตะเภา หรือหนูขาว

การอ่านผล :

ผลบวก หนูทดลองตายภายใน 36-48 ชั่วโมง และพบเชื้อจำนวนมากที่อวัยวะภายใน

ผลลบ หนูทดลองไม่มีความผิดปกติใดๆ

7.2.6 การทำ Tuberculin skin test

หลักการ : เป็นการชันสูตรเชื้อ *M. tuberculosis* โดยการฉีดแอนติเจนเข้าใต้ผิวหนังโค

อุปกรณ์ : 1. เข็มและกระบอกฉีดยาชนิด tuberculin syringe

สารละลาย : 1. 0.85% normal saline
2. tuberculin ไม่น้อยกว่า 2000 iu

วิธีการ : 1. ใช้ tuberculin 0.1 มิลลิลิตร ฉีดเข้าใต้ผิวหนังที่โคนหาง (caudal fold)
2. อ่านผลที่ 72 ชั่วโมง หลังฉีดแอนติเจน

การอ่านผล :

ผลบวก บริเวณที่ฉีดจะบวมขยายขึ้น ซึ่งสามารถคำนวณความแตกต่างระหว่างด้านที่ทดสอบและด้านที่ไม่ทดสอบได้

ผลลบ ไม่เกิดความผิดปกติใด ๆ ที่ผิวหนังบริเวณที่ฉีดเชื้อ

7.3 การตรวจหาเชื้อปรสิต

7.3.1 การตรวจอุจจาระ

7.3.1.1 modified Kato-Katz technique

หลักการ : เป็นการตรวจอุจจาระกึ่งเข้มข้น โดยใช้อุจจาระในปริมาณมาก (50-60 กรัมต่อตัวอย่าง) ทำให้อุจจาระใสขึ้น ด้วย glycerine และย้อมสี malachite green โดยที่ glycerine จะช่วยลดความสว่างของแสงขณะตรวจหาไข่พยาธิ วิธีนี้ใช้ตรวจอุจจาระคน ซึ่งมีโปรตีนจำนวนมาก

อุปกรณ์ :

1. แผ่นเซลโลเฟน (cellophane) หนา 40-50 ไมโครเมตร ขนาด 22 x 30 มิลลิเมตร
2. กระจกอย่างหนาเจาะรูมาตรฐาน เส้นผ่าศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร หนา 1 มิลลิเมตร (จะได้น้ำหนักอุจจาระ 50 มิลลิกรัม)

3. กระจกอย่างหนาสำหรับป้ายอุจจาระ
4. ตะแกรงลวดหรือไนลอนหรือพลาสติกขนาดตาข่าย 60-105 รูตาข่ายต่อตารางนิ้ว
5. กระจกสไลด์ขนาด 75 x 25 มิลลิเมตร
6. จุกยาง
7. ข้อนตักอุจจาระ ไม้ป้ายอุจจาระ และไม้กดตะแกรง
8. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

สารละลาย : glycerine malachite green solution

วิธีการ :

1. แช่แผ่นเซลโลเฟน ในภาชนะที่บรรจุสารละลาย glycerine malachite green อย่างน้อย 24 ชั่วโมง

2. ตักอุจจาระขนาด 50-60 กรัม ป้ายบนแผ่นกระจกอย่างหนา
3. วางแผ่นตะแกรงบนอุจจาระ กดด้วยไม้เพื่อรองเอาอุจจาระให้ผ่านขึ้นมา
4. นำไม้จิ้มฟันป้ายอุจจาระที่กรองผ่านตะแกรงใส่ลงในรูมาตรฐานให้เต็มวง โดยที่กระจกอย่างหนาที่เจาะรูมาตรฐานจะวางอยู่บนกระจกสไลด์

5. ปาดอุจจาระให้เรียบ เอากระจกอย่างหนาออก จะได้อุจจาระเป็นรูปวงกลม จากนั้นวางเซลโลเฟนที่ชุบสารละลาย glycerine บนอุจจาระ

6. กดจุกยางลงบนกระจกเซลโลเฟนเพื่อให้อุจจาระเป็นแผ่นบาง (อาจคว่ำด้านกระจกเซลโลเฟนลงบนกระจกดูตัวอย่างหนาแล้วกดเบา ๆ เพื่อกระจายอุจจาระให้สม่ำเสมอ อย่ากดแรงเพราะน้ำยาจะกระจายออกนอกกระจกสไลด์ ทำให้อุจจาระแห้งเร็ว การตรวจสอบอาจผิดพลาดได้) ทิ้งไว้นาน 30 นาที เพื่อช่วยละลายอุจจาระทำให้ใสขึ้น และ malachite green จะช่วยให้สามารถเห็นไข่พยาธิได้ง่ายขึ้น (ไข่พยาธิไม่ติดสี malachite green)

7. ตรวจหาไข่พยาธิ และโปรโตซัว ภายใต้ กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง ที่กำลังขยาย 100 เท่า

การอ่านผล :

ผลบวก พบไขของพยาธิตัวกลม ไขของพยาธิตัวตืด ไขของพยาธิใบไม้ ไอโอซิสต์ และ
โทรโฟซอยต์ของเชื้อโปรโตซัว

ผลลบ ไม่พบไขของพยาธิตัวกลม ไขของพยาธิตัวตืด ไขของพยาธิใบไม้ ไอโอซิสต์ และ
โทรโฟซอยต์ของเชื้อโปรโตซัว

7.3.1.2 flotation technique

หลักการ : ไขพยาธิ และโปรโตซัวบางชนิด ในอุจจาระ มีความถ่วงจำเพาะต่ำกว่าความถ่วงจำเพาะ ของ
น้ำเกลืออิ่มตัวจะลอยขึ้นข้างบน วิธีนี้ใช้ในการตรวจอุจจาระที่มีเยื่อใย (fiber) มาก ใช้ในการตรวจหาไขของ
พยาธิตัวกลม ไขของพยาธิตัวตืด และไอโอซิสต์ของเชื้อโปรโตซัว

- อุปกรณ์ :**
1. ซ้อนดักอุจจาระ
 2. โกร่ง หรือ ปีกเกอร์พลาสติก ขนาด 250 มิลลิลิตร
 3. ตะแกรงกรองหยาบ
 4. หลอดแก้วกันแหลม ขนาด 15 มิลลิลิตร
 5. ที่วางหลอดทดลอง
 6. กรวย
 7. กระจกสไลด์ ขนาด 60 x 22 มิลลิเมตร และกระจกปิดสไลด์
 8. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

สารละลาย : น้ำเกลืออิ่มตัว

- วิธีการ :**
1. ใช้ซ้อนดักอุจจาระประมาณ 1-3 กรัม ลงในโกร่ง หรือปีกเกอร์พลาสติก เติมสารละลาย
น้ำเกลืออิ่มตัว 10 มิลลิลิตร คนให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน
 2. วางหลอดแก้วกันแหลมในที่วางหลอดทดลองให้หลอดแก้วตั้งตรง กรองอุจจาระผ่าน
ตะแกรงซึ่งวางอยู่บนกรวยลงในหลอดแก้ว หลังจากนั้นเติมน้ำเกลืออิ่มตัวให้เต็มปริมปากหลอดแก้ว
 3. ใช้กระจกปิดสไลด์ ปิดปากหลอดแก้ว ตั้งทิ้งไว้ 15-20 นาที
 4. ยกกระจกปิดสไลด์ขึ้นในแนวตั้ง นำมาวางบนกระจกสไลด์
 5. ตรวจหาไขพยาธิ และเชื้อโปรโตซัว ใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง ที่กำลังขยาย 100

เท่า

การอ่านผล :

ผลบวก พบไขของพยาธิตัวกลม ไขของพยาธิตัวตืด และไอโอซิสต์ของเชื้อโปรโตซัว

ผลลบ ไม่พบไขของพยาธิตัวกลม ไขของพยาธิตัวตืด และไอโอซิสต์ของเชื้อโปรโตซัว

7.3.1.3 simple sedimentation technique

หลักการ : ไข่ของพยาธิใบไม้จะจมในน้ำเร็วกว่าไข่ของพยาธิตัวกลมหรือตัวตืด เนื่องจากไข่พยาธิใบไม้มีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมากกว่าไข่ของพยาธิตัวกลมหรือตัวตืดเนื่องจากมีฝาปิด (operculum) ทำให้ไข่พยาธิชนิดนี้มีน้ำหนักมาก จึงจมได้เร็ว เป็นการตรวจอุจจาระที่มีเสียไยมาก

อุปกรณ์ :

1. โกร่งสำหรับบดอุจจาระ
2. ตะแกรงกรองหยาบ หรือตะแกรงกรองชา
3. ตะแกรงกรองละเอียด
4. ข้อนตักอุจจาระ
5. บีกเกอร์พลาสติก ขนาด 250 มิลลิลิตร
6. จานเพาะเชื้อ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร
7. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

สารละลาย :

1. น้ำสะอาด
2. 1% methylene blue

วิธีทำ :

1. ใช้ข้อนตักอุจจาระประมาณ 3-5 กรัม ลงในโกร่ง ใส่น้ำให้ท่วมอุจจาระ คนให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำมากรองผ่านตะแกรงกรองหยาบลงในบีกเกอร์
2. เติมน้ำสะอาดลงในบีกเกอร์ จนได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้นาน 5 นาที แล้วค่อยๆ เทน้ำในส่วนบนทิ้ง หยุดเทเมื่อเห็นตะกอนเริ่มไหลออกมา หรือเทน้ำทิ้งประมาณ 2 ใน 3 ของบีกเกอร์
3. ทำซ้ำข้อ 2 อีก 2 ครั้ง โดยครั้งสุดท้ายเทน้ำทิ้งให้มากที่สุด
4. หยด 1% methylene blue 1-2 หยด เพื่อย้อมสีตะกอน
5. กรองตะกอนผ่านตะแกรงกรองละเอียด ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ
6. ตรวจหาไข่พยาธิ โดยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงสว่าง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

การอ่านผล :

ผลบวก พบไข่ของพยาธิใบไม้

ผลลบ ไม่พบไข่ของพยาธิใบไม้

7.3.1.4 modified Ziehl-Neelsen technique (MZN)

หลักการ : เป็นการตรวจหาโอโอซิสต์ของเชื้อ *Cryptosporidium* ที่ใช้กันทั่วไป วิธีนี้มีข้อดีคือ จะเห็นโอโอซิสต์ชัดเจนขึ้น แยกจากพื้นหลังได้ง่าย

อุปกรณ์ :

1. กระดาษสไลด์ ขนาด 60 x 22 มิลลิเมตร
2. โถย้อมสไลด์
3. ตูบมเชื้อ 37 องศาเซลเซียส
4. พาสเจอร์ปีเปต
5. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

สารละลาย : 1. carbol-fuchsin (Ziehl's fuchsin)

2. 10% acid alcohol

3. 3% malachite green

4. น้ำสะอาด

วิธีการ : 1. ป้ายอุจจาระลงบนกระจกสไลด์ 1-2 หยด โดยป้ายให้บางที่สุด

2. รอให้กระจกสไลด์แห้ง

3. จุ่มกระจกสไลด์นาน 30 วินาที ใน absolute methanol

4. ย้อมสี carbol-fuchsin 1 นาที

5. ล้างด้วยน้ำสะอาด จนหมดตะกอนสี

6. ล้างสีส่วนเกินออกด้วย 10% acid alcohol แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้งหนึ่ง

7. ย้อมด้วย 3% malachite green 2 นาที โดยใช้ไถย้อมสไลด์ แล้วล้างออกอย่างรวดเร็วด้วยน้ำ

สะอาด

8. ทิ้งไว้ให้แห้ง โดยวางในตู้บ่มเชื้อที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

9. ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง ที่กำลังขยาย 400-1000 เท่า

การอ่านผล :

ผลบวก พบโอโอซิสต์ของเชื้อ เป็นสีชมพูหรือสีแดงของ carbol-fuchsin

พื้นรอบ ๆ ติดสีเขียวของ malachite green

ผลลบ ไม่พบโอโอซิสต์ของเชื้อ

7.3.2 การตรวจเนื้อ

7.3.2.1 การบีบเนื้อ (compression method)

หลักการ : พยาธิตัวอ่อนในถุงหุ้มของ *Trichinella* spp. จะอยู่ในกล้ามเนื้อสัตว์ ซึ่งสามารถมองเห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดสเตอริโอได้

อุปกรณ์ : 1. กระจกสไลด์ ขนาด 60 x 22 มิลลิเมตร 2 แผ่น

2. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดสเตอริโอ (stereo microscope)

วิธีทำ : 1. ตัดชิ้นเนื้อไปตรวจโดยใช้กระจกสไลด์ 2 แผ่น กดกล้ามเนื้อให้บางที่สุด

2. นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดสเตอริโอ

การอ่านผล :

ผลบวก มองเห็นตัวอ่อนในถุงหุ้ม

ผลลบ มองไม่เห็นตัวอ่อนในถุงหุ้ม

7.3.2.2 การย่อย (digestion method)

หลักการ : ใช้น้ำย่อยเทียมย่อยชิ้นเนื้อ เพื่อให้ถุงหุ้มตัวอ่อนของพยาธิถูกทำลาย และปล่อยตัวอ่อนของพยาธิออกมา ซึ่งตัวอ่อนของพยาธิที่ยังมีชีวิตอยู่จะเคลื่อนไหวในน้ำ มองเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดสเตอริโอ

อุปกรณ์ :

1. เครื่องปั่นย่อยไฟฟ้า
2. นาฬิกาจับเวลา
3. เทอร์โมมิเตอร์
4. อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (shaking waterbath)
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า
6. จานแก้วเพาะเชื้อที่นำมาขีดเส้นด้านนอก (gridded petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9-10 เซนติเมตร

7. กรรไกร
8. ปีกเกอร์แก้ว ขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร
9. กรวยแก้ว (graduate cone shape) ขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร
10. ผ้าก๊อช 3 ชั้น
11. ตะแกรงกรอง
12. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดสเตอริโอ

สารละลาย :

1. น้ำย่อยเทียม (artificial digestion fluid) ประกอบด้วย 1% pepsin-HCl
2. น้ำอุ่น

วิธีทำ :

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อสัตว์ 5 กรัม โดยเลาะพังผืดและไขมันที่ติดมากับเนื้อสัตว์ออก
2. ตัดตัวอย่างเนื้อสัตว์ให้ละเอียดโดยใช้กรรไกร
3. เตรียมน้ำย่อยเทียม จากนั้นแบ่งมา 100 มิลลิลิตร สำหรับตัวอย่างเนื้อ 5 กรัม
4. ผสมตัวอย่างกล้ามเนื้อสัตว์และน้ำย่อยเทียมที่เตรียมไว้เข้าด้วยกัน ในเครื่องปั่นย่อยไฟฟ้า

ปั่นจนส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเทส่วนผสมลงในปีกเกอร์แก้วขนาด 250 มิลลิลิตร

5. นำไปตั้งในอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง
6. เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำปีกเกอร์ออกมาตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้อง นาน 15-20 นาที เพื่อให้ตกตะกอน

7. เทสารละลายส่วนบนประมาณ 2/3 ของทั้งหมดทิ้งลงในถังพลาสติกที่มีน้ำยาฆ่าเชื้อใส่ไว้ โดยระหว่างเทส่วนใสด้านบนทิ้งลงถังระวังไม่ให้ตะกอนฟุ้งกระจาย และตั้งถังพลาสติกไว้ข้างคั่นก่อนเททิ้ง

8. นำตะกอนที่เหลือกรองผ่านผ้าก๊อช 3 ชั้น ที่วางอยู่บนตะแกรงกรอง ลงในกรวยแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำอุ่นที่มีอุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส ผ่านผ้าก๊อชลงในกรวยแก้วจนเต็ม

9. ตั้งกรวยแก้วที่อุณหภูมิห้องนาน 15-20 นาที เพื่อให้ตะกอนนอนก้น

10. เทสารละลายส่วนบนประมาณ 2/3 ของทั้งหมดทิ้งลงในถังพลาสติกที่มีน้ำยาฆ่าเชื้อใส่ไว้ โดยระหว่างเทส่วนใสด้านบนทิ้งลงถังระวังไม่ให้ตะกอนฟุ้งกระจาย และตั้งถังพลาสติกไว้ข้างคั่นก่อนเททิ้ง

11. เติมน้ำอุ่นที่มีอุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส ลงในกรวยแก้วจนเต็ม ตั้งไว้ใน อุณหภูมิห้อง 20 นาที ให้ตะกอนนอนก้น

12. ทำซ้ำในขั้นตอนที่ 10-11 อีกอย่างน้อย 1 ครั้ง จนสารละลายส่วนบนใส

13. เทสารละลายส่วนบนออกจนเหลือตะกอนประมาณ 25 มิลลิลิตร เทตะกอนที่เหลือลงใน จานเพาะเชื้อที่ขีดเส้นไว้

14. ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดสเตอริโอ ที่กำลังขยาย 15-40 เท่า

การอ่านผล :

ผลบวก พบตัวอ่อนของพยาธิ มีขนาด 1×0.03 มิลลิเมตร มีลักษณะ

- ขดเป็นวงกลมเมื่อสัมผัสอากาศเย็น
- เคลื่อนไหวดีเมื่อสัมผัสอากาศอบอุ่น
- งอเป็นรูปตัวซี (C-shape) เมื่อตัวอ่อนตาย

ผลลบ ไม่พบตัวอ่อนของพยาธิ

7.4 การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน

7.4.1 การจับกลุ่ม (agglutination)

หลักการ : แอนติบอดีในซีรัมจับกับแอนติเจนของเชื้อก่อโรค เกิดการจับกลุ่มให้เห็น มี 2 แบบคือ

1. ทางตรง (direct agglutination test, DAT) เชื้อก่อโรคจะจับกับแอนติบอดีในซีรัมการจับกลุ่ม ได้แก่ การตรวจหาแอนติบอดีในซีรัมสัตว์ต่อเชื้อ *Leptospira* spp. การตรวจซีรัมด้วยวิธี rose Bengal test การตรวจหาแอนติบอดีในซีรัมสัตว์ต่อเชื้อ *Leishmania donovani*

2. ทางอ้อม (indirect agglutination test) โดยแอนติเจนจะเคลือบอยู่บนผิวของ particle ชนิดต่างๆ เมื่อจับตัวกับแอนติบอดี จะเห็นการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง หรือเม็ดลาเท็กซ์ (latex particles) เช่น การตรวจ HI เพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดนก การตรวจ latex agglutination test (LAT) เพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Toxoplasma gondii*

7.4.1.1 direct agglutination test (microscopic agglutination Test, MAT)

หลักการ : แอนติเจนจับกับแอนติบอดี เกิดการจับกลุ่มตกตะกอน

- อุปกรณ์ :**
1. ไมโครเฟลท ชนิดกันตัว V
 2. ไมโครปิเปต
 3. ตู๋บ์มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส
 4. กล้องจุลทรรศน์ ชนิด dark-field (dark-field microscope)

สารละลาย : 1. แอนติเจนเลปโตสไปราอ้างอิง

2. สารละลาย PBS

วิธีการ : มี 2 แบบให้เลือกคือจะทำการตรวจ screening หรือทดสอบหาค่าไตเตอร์

1. การทำ screening test

1. เจือจางตัวอย่างซีรัมในอัตราส่วน 1:50 ด้วยสารละลาย PBS

2. ดูดตัวอย่างซีรัมด้วย ไมโครปิเปต 25 ไมโครลิตร ใส่ในไมโครเพลทแถวแนวนอน

3. ดูดแอนติเจนเลปโตสไปราอ้างอิงแต่ละซีโรวาร์ 25 ไมโครลิตร ใส่ไมโครเพลทแถวแนวตั้ง

4. ผสมโดยใช้มือเคาะเบาๆ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 90-120 นาที

การอ่านผล :

อ่านผลการจับกลุ่มด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด dark-field หลุมที่เกิดการจับกลุ่ม 50% ขึ้นไป (เปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์ของเชื้อเลปโตสไปราแอนติเจนที่เป็นอิสระ) ให้นำตัวอย่างซีรัมไปหาค่าไตเตอร์ต่อเชื้อเลปโตสไปราแต่ละซีโรวาร์นั้นๆ

2. การทดสอบหาค่าไตเตอร์

1. ดูดตัวอย่างซีรัมด้วย 25 ไมโครลิตร ใส่ไมโครเพลทหลุมที่ 1 และ 2 และดูสารละลาย PBS ด้วยไมโครปิเปต 25 ไมโครลิตร ใส่ไมโครเพลท หลุมที่ 2-8 ตามแนวตั้ง

2. เจือจางตัวอย่างซีรัมแบบ two-fold dilution ด้วยไมโครปิเปตตั้งแต่หลุมที่ 2-8 จากนั้นดูดทิ้ง 25 ไมโครลิตร

3. ดูดแอนติเจนเลปโตสไปราอ้างอิงซีโรวาร์ที่ให้ผลการจับกลุ่ม 50% ขึ้นไปจาก screening test ใส่ลงในหลุมที่ 1-8 หลุมละ 25 ไมโครลิตร

4. ผสมโดยใช้มือเคาะเบาๆ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 90-120 นาที

การอ่านผล :

อ่านผลการจับกลุ่มด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด dark-field หลุมที่เกิดการจับกลุ่ม 50% ขึ้นไป (เปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์ของเชื้อเลปโตสไปราแอนติเจนที่เป็นอิสระ) ซีรัมเจือจางสูงสุดที่เกิดการจับกลุ่มถือเป็นค่าระดับภูมิคุ้มกัน (ไตเตอร์) ที่ได้

7.4.1.2 direct agglutination test (rose bengal test)

หลักการ : เป็นการทดสอบการจับกลุ่มระหว่างแอนติบอดีในซีรัมกับแอนติเจนที่มีความจำเพาะต่อกัน

อุปกรณ์ : 1. แผ่นกระจกทดสอบ เป็นกระจกใส ขนาดประมาณ 40 x 25 เซนติเมตร หนา 5 มิลลิเมตร ที่มีเส้น แบ่งเป็นช่องสี่เหลี่ยม ขนาดประมาณ 3.5x3.5 เซนติเมตร จำนวน 50 ช่อง (5x10 ช่อง)

2. ไมโครปิเปต

3. กล่องแสงสว่าง เป็นกล่องที่ติดตั้งหลอดไฟขนาด 10 วัตต์ จำนวน 2 หลอด ในกล่องสีดำขนาดประมาณ 40 x 25 เซนติเมตร สำหรับวางแผ่นกระจก

4. ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส
5. เครื่องเขย่า
6. แผ่นพลาสติกลักษณะเป็นพื้นปลา สำหรับใช้คนซีรัมและ แอนติเจนให้เข้ากัน

สารละลาย : 1. แอนติเจนสำหรับทดสอบ rose Bengal
2. ซีรัมบวกควบคุม และซีรัมลบควบคุม

วิธีทำ : 1. นำตัวอย่างซีรัมที่ต้องการทดสอบ ซีรัมบวกควบคุม ซีรัมลบควบคุม และแอนติเจน มาวางที่อุณหภูมิห้องก่อนการทดสอบนานอย่างน้อย 30 นาที เพื่อให้ตัวอย่างซีรัม และแอนติเจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 องศาเซลเซียส)

2. เขย่าหลอดซีรัมจนเข้ากันดี โดยเครื่องเขย่าแล้วหยดซีรัม 30 ไมโครลิตร ลงในช่องบนแผ่นกระจกสำหรับทดสอบ โดยใช้ไมโครปิเปต รอบละไม่เกิน 10 ตัวอย่าง

3. เขย่าขวดแอนติเจน จนเข้ากันดี หยดแอนติเจน 30 ไมโครลิตร ลงข้าง ๆ ซีรัม

4. คนซีรัมและแอนติเจน ให้เข้ากันดี โดยใช้แผ่นพลาสติกลักษณะเป็นพื้นปลา สำหรับคนครั้งละ 5 ตัวอย่าง ให้เป็นวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร ตั้งทิ้งไว้ 4 นาที จากนั้นเอียงกระจกไปมา เพื่อให้ผสมกันดียิ่งขึ้น ตั้งทิ้งไว้อีก 4 นาที

5. อ่านผลโดยใช้กล้องแสงสว่าง โดยดูผลจากปฏิกิริยาการจับกลุ่มที่สามารถมองเห็นได้ชัดเจน ด้วยตาเปล่า

การอ่านผล :

ผลบวก มีการจับกลุ่ม

ผลลบ ไม่มีการจับกลุ่ม

7.4.1.2 direct agglutination test (DAT)

หลักการ : แอนติเจน เช่น *Leshmania donovani* 1S promastigotes จะจับตัวกับแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อในซีรัม จับกลุ่มเป็นร่างแหที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า

อุปกรณ์ : 1. ไมโครเพลท ชนิดกันรูปตัว V
2. ไมโครปิเปต

สารละลาย : 1 *Leshmania* specific antibody detection test kit (ผลิตจาก KIT biomedical research institute, The Netherlands)

2. สารละลาย 0.85% normal saline

วิธีทำ : 1. เติมสารละลาย 0.85% normal saline 5 มิลลิตร ลงในขวดแอนติเจนที่อยู่ในชุดทดสอบ เขย่าขวดให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อผสมแอนติเจนแล้วให้เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส เก็บได้นานประมาณ 1 สัปดาห์

2. เติมซีรัมที่ต้องการทดสอบ 10 ไมโครลิตร ลงในหลอดแก้วที่มีสารละลาย 0.85% normal saline 990 ไมโครลิตร (ทำให้เป็นความเข้มข้น 1:100)

3. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ ลงในไมโครเพลท 50 ไมโครลิตรต่อหลุม เว้นหลุมแรก
4. เติมซีรัมที่มีความเข้มข้น 1:100 จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่ 1 จากนั้นทำ two-fold serial dilution (ดูดไปหลุมต่อไป 50 ไมโครลิตร) จนถึงหลุมที่ 6 (เมื่อทำครบ 6 หลุม ให้ดูดส่วนผสม หลุมที่ 6 ที่ 50 ไมโครลิตร)
5. ใส่แอนติเจนที่เตรียมไว้ในข้อ 1 จำนวน 50 ไมโครลิตร ในทุกหลุม
6. เขย่าเบาๆ ให้ส่วนผสมเข้ากันดี ใช้มือตบข้างๆ เพลทเบาๆ
7. วางบนพื้นราบ และปิดฝา ตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง จึงอ่านผล

การอ่านผล :

ระดับแอนติบอดี คือ หลุมสุดท้ายที่ให้เกิดการจับกลุ่มอย่างสมบูรณ์ มองเห็นการจับกลุ่มเป็นร่างแหสีม่วง

7.4.1.3 indirect agglutination test (indirect hemagglutination test, IHA)

หลักการ : ใช้ crude antigen ของเชื้อแบคทีเรียเคลือบไปบนผิวของเม็ดเลือดแดง เมื่อทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีในซีรัม จะเกิดการจับกลุ่มให้เห็น เป็นวิธีการที่ง่ายและได้ผลรวดเร็ว

- อุปกรณ์ :**
1. ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส
 2. เครื่องเขย่า
 3. ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส, 56 องศาเซลเซียส
 4. เครื่องปั่นเหวี่ยง
 5. เครื่องนึ่งไอน้ำ
 6. เครื่องเซ็นทริฟิวจ์

- สารละลาย :**
1. เม็ดเลือดแดงของแกะ (sheep red blood cell, SRBC)
 2. สารละลาย alsever
 3. สารละลาย 0.85% normal saline
 4. สารละลาย 0.15 M PBS, pH 7.2
 5. 0.1% sodium azide
 6. *Burkholderia* antigen หรือ Melioidin antigen
 7. สารละลาย 2.5% glutaraldehyde
 8. glycerine broth
 9. 0.5% bovine serum albumin (BSA)

วิธีทำ :

1. เตรียมเม็ดเลือดแดงของแกะ (sheep red blood cell, SRBC) โดยเก็บในสารละลาย alsever ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2-10 วัน เมื่อครบกำหนดเวลา นำมาปั่นล้างในสารละลาย 0.85% normal saline 3 ครั้ง จากนั้นนำตะกอน SRBC มาละลายในสารละลาย PBS ในอัตราส่วน 1:9 หลังจากนั้นเติมสารละลาย 2.5% glutaraldehyde ในอัตราส่วน 1:5 ผสมให้เข้ากันโดยเขย่าในเครื่องเขย่าที่

อุณหภูมิห้อง นาน 2 ชั่วโมง ปั่นล้างด้วยสารละลาย PBS 3 ครั้ง จากนั้นเก็บ SRBC ที่ความเข้มข้น 1% และ 5% ในสารละลาย PBS ที่ผสม 0.1% sodium azide ไว้ในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2. เตรียม *Burkholderia* antigen หรือ Melioidin antigen โดยนำเชื้อมาเพาะเลี้ยงใน glycerine broth นาน 2 สัปดาห์ ไปหนึ่งที่เครื่องนิ่งไอน้ำ ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วปั่นแยกเอา สารน้ำส่วนบนมาเป็นแอนติเจนสำหรับใช้เคลือบ Melioidin antigen บน SRBC ซึ่งมีวิธีเตรียมดังนี้ คือนำ Melioidin antigen ที่เจือจางด้วยสารละลาย PBS ความเข้มข้นพอเหมาะซึ่งได้จากการทำ Block titration มา ผสมกับ 1% SRBC treated glutaraldehyde ที่อยู่ในสารละลาย PBS โดยใช้อัตราส่วน 1:1 ส่วน นำไปปั่นใน ตู้ปั่นเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วปั่นล้างด้วยสารละลาย PBS 3 ครั้ง โดยปั่นในเครื่อง เซนตริฟิวจ์ นำ packed SRBC มาทำเป็นสารละลายให้มีความเข้มข้นเป็น 0.5% SRBC coated melioidin ในสารละลาย PBS ที่ผสม 0.5% bovine serum albumin (BSA) และ 0.1% sodium azide ซึ่ง SRBC coated melioidin สามารถเก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้นาน 1 ปี

3. นำซีรัมที่ต้องการทดสอบมาทำลายคอมพลีเมนต์ ด้วยการนำซีรัมไปปั่นในตู้ปั่นเชื้อที่ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำซีรัมมาเจือจางให้เป็น 1:10 โดยผสมใน 5% SRBC ที่อยู่ในสารละลาย PBS ในอัตราส่วน 1:10 ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที หลังจากนั้นนำ absorbed serum มาเจือจางแบบ two fold dilution โดยเริ่มที่ 1:10 จนถึง 1:10240 สารที่ใช้เจือจางซีรัมคือ 0.15 M PBS ที่ผสม 0.1% sodium azide นำซีรัมที่เจือจางแล้ว 50 ไมโครลิตร มาเติม 50 ไมโครลิตร 0.5% SRBC coated melioidin แล้วนำไปวางที่อุณหภูมิห้อง นาน 1-2 ชั่วโมง

การอ่านผล :

ผลบวก ผล IHA titer ที่ให้ผลบวกต้องมีระดับไตเตอร์ เท่ากับหรือสูงกว่า 1:80

ผลลบ ผล IHA titer ต่ำกว่า 1:80

7.4.1.4 indirect agglutination test (haemagglutination inhibition test, HI)

หลักการ : ไวรัสใช้หวัดนกทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มได้โดยไวรัสใช้ฮีแมกกลูตินินจับกับตัวรับที่อยู่บนผิว เม็ดเลือดแดง หากมีแอนติบอดีที่จำเพาะกับฮีแมกกลูตินินของเชื้อไวรัสใช้หวัดนกสายพันธุ์ย่อยใดจับกับไวรัส ใช้หวัดนกสายพันธุ์นั้นได้สมบูรณ์ จะไม่เหลือไวรัสไปทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มได้อีก

อุปกรณ์ :

1. ไมโครเพลท
2. ไมโครปิเปต

สารละลาย :

1. สารละลาย PBS (0.01 M), pH 7.0-7.2
2. 1% เม็ดเลือดแดงไก่ในสารละลาย alsever's solution (ควรล้าง 3 ครั้งก่อนด้วย

สารละลาย PBS)

วิธีทำ :

1. ใส่สารละลาย PBS 25 ไมโครลิตร ในทุกหลุมของไมโครเพลท
2. ดูดตัวอย่างซีรัม 25 ไมโครลิตร ใส่ในไมโครเพลทหลุมแรก
3. ทำ two fold dilution โดยดูดสารละลาย 25 ไมโครลิตร

4. ใส่ 4 HAU ไวรัส 25 ไมโครลิตรในแต่ละหลุม ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที หรือที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง
5. ใส่ 1% เม็ดเลือดแดงไก่ใน alsever's solution 25 ไมโครลิตร ในทุกหลุม
6. ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 40 นาที หรือที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

การอ่านผล :

หลุมที่ให้ผล HI เป็นบวก แสดงว่ามีการยับยั้งการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง โดยจะเห็นลักษณะของเม็ดเลือดแดงจับกลุ่มรวมกันที่ก้นหลุม หรือมีลักษณะคล้ายกระดุม หรือเมื่อเอียงเพลทแล้วพบว่ามีอัตราการไหลของเม็ดเลือดแดงเท่ากับหลุมควบคุม ถ้าได้ระดับ HI titre เท่ากับหรือมากกว่า log 24 หรือ 24 หรือ 1:16 เมื่อได้แอนติเจน 4 HAU (haemagglutinating unit: HAU) แสดงว่ามีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสชนิดนั้น

7.4.1.5 indirect agglutination test (latex agglutination test, LAT)

หลักการ : แอนติเจนของ *Toxoplasma gondii* ที่เคลือบอยู่บนผิวของเม็ดลาเท็กซ์ จะเกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีต่อ *T. gondii* ในตัวอย่างซีรัมทำให้เกิดการจับกลุ่ม

อุปกรณ์ :

1. ไมโครเพลท ชนิด ก้นรูปตัว U
2. ไมโครปิเปต

สารละลาย : Toxoreagent test kit (Eiken®) (1 ชุดทดสอบ ทำได้ 50 ตัวอย่าง) ประกอบด้วย Eiken latex suspension สารละลายบัฟเฟอร์ และซีรัมที่ให้ผลบวก

วิธีทำ :

1. เติมซีรัมที่ต้องการทดสอบ และซีรัมควบคุมบวกจำนวนอย่างละ 50 ไมโครลิตร และน้ำสำหรับเป็นตัวควบคุมลบลงในหลอดแก้วที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ 350 ไมโครลิตร (ความเข้มข้น 1:8)

2. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ลงในเพลท จำนวน 25 ไมโครลิตรต่อหลุม จำนวน 9 หลุม (โดยหลุมสุดท้ายใช้เป็นตัวควบคุมบวก)

3. เติมซีรัม (ความเข้มข้น 1:8) 25 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่ 1 ผสมให้เข้ากันจะได้ซีรัมที่มีความเข้มข้น 1:16 จากนั้นทำ two-fold serial dilution (ดูดไปหลุมต่อไป 25 ไมโครลิตร) จนถึงหลุมที่ 8 (เมื่อทำครบ 8 หลุม ให้ดูดส่วนผสม หลุมที่ 8 ทิ้ง 25 ไมโครลิตร)

4. เติม Eiken latex suspension 25 ไมโครลิตร ในทุกหลุม
5. เขย่าเบา ๆ ให้ส่วนผสมเข้ากันดี หรือใช้เครื่องเขย่า
6. วางบนพื้นราบ และปิดฝา ตั้งทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง จึงค่อยอ่านผล

การอ่านผล :

ระดับแอนติบอดี คือ หลุมสุดท้ายที่ให้ผลการจับกลุ่มอย่างสมบูรณ์ โดยเห็นการจับกลุ่มของเม็ดลาเท็กซ์เป็นจุดสีขาว

7.4.2 agar gel immunodiffusion test (AGID)

หลักการ : การแพร่ของแอนติเจนและแอนติบอดีในวุ้นซึ่งเป็นสารกึ่งของเหลว

- อุปกรณ์ :**
1. กระจกสไลด์ ขนาด 60 X 22 มิลลิเมตร
 2. เครื่องทำความร้อน 100 องศาเซลเซียส
 3. จานเพาะเชื้อพลาสติกกลม
 4. เครื่องเจาะเนื้อวุ้น (gel punch)
 5. เข็มปลายแหลม
 6. ไมโครปิเปต
 7. ตูยีน 4 องศาเซลเซียส

- สารละลาย :**
1. 1 % noble agar
 2. สารละลาย buffer borate saline
 3. ตัวอย่างควบคุมบวก
 4. แอนติเจน

- วิธีทำ :**
1. ละลาย 1 % noble agar กับสารละลาย buffer borate saline และกวนให้เข้ากันในเครื่องทำความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส
 2. เทลงจานเพาะเชื้อพลาสติกกลม ปล่อยให้เย็นจนเนื้อเจลแข็งตัว (ควรนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานอย่างน้อย 30 นาที แล้วจึงนำไปใช้)
 3. ใช้เครื่องเจาะเนื้อวุ้น (gel punch) กดพิมพ์ลงบน gel plate นำเข็มปลายแหลมเขี่ยเนื้อวุ้นจาก รอยที่กดทับไปจะได้หลุมที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร จำนวนทั้งหมด 6 หลุม คล้ายเป็นรูปหกเหลี่ยม (hexagonal pattern) ภายในมีหลุมที่ตรงกลาง 1 หลุม โดยทุกหลุมห่างกัน 3 มิลลิเมตร
 4. ใช้ ไมโครปิเปต ดูดซีรัมตัวอย่างที่จะทดสอบปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่หลุมที่ 1 ดูดซีรัมที่ 2 ปริมาตรที่เท่ากันใส่หลุมที่ 2 โดยเว้นถัดไปจากหลุมแรก 1 หลุม และดูดซีรัมที่ 3 ใส่ลงหลุมที่ 3 เว้นไป 1 หลุมเช่นกัน จะได้ซีรัมตัวอย่างที่ 1, 2 และ 3 โดยมีหลุมว่างที่คั่นอยู่ระหว่างตัวอย่างทั้ง 3 (หลุมเว้นหลุม)
 5. ใช้ ไมโครปิเปต ดูดซีรัมที่เป็น ตัวอย่างควบคุมบวก ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงหลุมว่างทั้ง 3 หลุม และดูดแอนติเจนใส่ที่หลุมตรงกลาง ปริมาตร 50 ไมโครลิตร
 6. วางที่อุณหภูมิห้อง นานข้ามคืน หรือ นาน 24-72 ชั่วโมง

การอ่านผล :

- | | |
|-----------|--|
| ผลบวก | หลุมซีรัมของตัวอย่างจะเกิดเส้นสีขาว (precipitin line) เกิดขึ้นด้านหน้า ซึ่งเชื่อมต่อกับเส้น precipitin line จากตัวอย่างควบคุมบวก |
| ผลบวกอ่อน | ไม่มีเส้น precipitin line เกิดขึ้น แต่พบเส้น precipitin line ของตัวอย่างควบคุมบวกโค้งเข้าหาหลุมซีรัมตัวอย่าง |
| ผลลบ | ไม่มีเส้น precipitin line เกิดขึ้น รวมทั้งการโค้งเข้าหาซีรัม |

7.4.3 serum neutralization test (SN)

หลักการ : เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง นอกจากจะใช้ทดสอบหาภูมิคุ้มกันได้แล้ว ยังสามารถตรวจหาภูมิคุ้มกันชนิดที่ทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคได้ด้วย

อุปกรณ์ :

1. ไมโครเพลท สำหรับเพาะเชื้อกันแบน แบบ 96 หลุม
2. ไมโครปิเปต
3. ตู้บ่มเชื้อที่มี CO₂
4. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดหัวกลับ

สารละลาย :

1. ซีรัมควบคุมบวก ซีรัมควบคุมลบ และ เซลล์ควบคุม
2. สารละลาย MEM
3. stock ไวรัส
4. 10% bovine serum
5. 3% NaHCO₃
6. ยาปฏิชีวนะ
7. 0.1% crystal violet ใน 10 % formalin-PBS

วิธีการ :

1. ทำการเจือจางซีรัมตัวอย่างแบบ two fold serial dilution ด้วย สารละลาย MEM เริ่มที่ 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 และ 1:256 ตามลำดับ ใส่ลงบนไมโครเพลท สำหรับเพาะเชื้อกันแบน
2. เตรียมซีรัมควบคุมบวก ซีรัมควบคุมลบ และ เซลล์ควบคุมลงบนไมโครเพลท
3. นำ stock เชื้อไวรัสที่ผ่านการหาปริมาณที่เหมาะสมมาแล้ว มาเตรียมสารละลายไวรัสตามที่ต้องใช้ เพื่อให้ได้ปริมาณของเชื้อไวรัสหลังจากรวมกับซีรัมแล้วเป็น 100 TCID₅₀ เติมนลงในไมโครเพลทหลุมละ 50 ไมโครลิตร เคาะไมโครเพลทเบา ๆ เพื่อให้ซีรัมและเชื้อไวรัสผสมกัน
4. บ่มในตู้บ่มเชื้อที่มี CO₂ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. เตรียมเซลล์แขวนลอย (cell suspension) โดยคำนวณปริมาณเซลล์ประมาณ 10⁶ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้สารละลายที่มีส่วนผสมของ MEM, 10% bovine serum, 3% NaHCO₃ และยาปฏิชีวนะ ลงในไมโครเพลททุกหลุมๆ ละ 50 ไมโครลิตร
6. บ่มในตู้บ่มเชื้อที่มี CO₂ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน เวลาที่ใช้ขึ้นกับชนิดของเชื้อไวรัส อ่านผล CPE ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดหัวกลับ
7. หากต้องการเก็บไมโครเพลทไว้นานเพื่ออ่านผลภายหลัง สามารถย้อมไมโครเพลทด้วย 0.1% crystal violet ในสารละลายที่มี 10 % formalin-PBS เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างสีที่ตกค้างออกด้วยน้ำสะอาด
8. การอ่านผล virus control เพื่อตรวจสอบว่าปริมาณความเข้มข้นของไวรัสที่เตรียมเป็น 100 TCID₅₀ ที่ถูกต้อง เมื่อคำนวณค่า virus titer (back titration) แล้ว จะได้ค่า titer อยู่ในช่วง 1.5 ถึง 2.5 TCID₅₀

การอ่านผล : ซีรัมไทเตอร์ (serum titer) คือ ค่าของซีรัมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อไวรัสได้ วิธีคำนวณหาค่าระดับซีรัม คำนวณเป็นค่า log จากนั้นแปรกลับเป็นตัวเลขโดยเปิด antilog อีกครั้ง เช่น ถ้าเราทำ serum dilution ที่ 1:8 แล้วยังคงยับยั้งไวรัสได้อยู่ จึงทดลองที่ 1:16 ต่อไป แต่ปรากฏว่าไม่สามารถยับยั้งไวรัสได้แล้ว เราจึงถือว่าซีรัมนี้มีค่าไทเตอร์เท่ากับ 8

7.4.4 complement fixation test (CFT)

หลักการ : แอนติบอดีที่จำเพาะจับกับแอนติเจนของเชื้อบรูเซลลา เกิดเป็นแอนติบอดี-แอนติเจนเชิงซ้อน (antibody-antigen complex) และคอมพลีเมนต์ (complement) ที่เติมลงไปจะจับกับแอนติบอดี-แอนติเจนเชิงซ้อน ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นจะมองเห็นได้ด้วยการเติมเม็ดเลือดแดงที่ผ่านกระบวนการทำให้ไวต่อการกระตุ้น (sensitized red blood cell) ส่วนคอมพลีเมนต์ที่ไม่ได้ทำปฏิกริยาจะจับกับเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก ทั้งนี้การแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ดูได้จากสีของฮีโมโกลบินในของเหลวส่วนบนและตะกอนของเม็ดเลือดแดง ซึ่งจะเป็นสัดส่วนกับระดับของแอนติบอดีที่จำเพาะในตัวอย่างซีรัม

อุปกรณ์ :

1. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
2. ไมโครปิเปตแบบช่องเดียว ไมโครปิเปตแบบหลายช่อง (multichannel micropipette)
3. ไมโครเพลท ชนิดกันตัว U
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge)
5. เครื่องเขย่าเพลท (plate shaker)
6. ตู้เย็น 5 องศาเซลเซียส
7. ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส

สารละลาย :

1. veronal buffer
2. complement
3. haemolysin
4. แอนติเจน
5. 2.5% เม็ดเลือดแดงแกะ

วิธีทำ :

1. ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างซีรัม ซีรัมควบคุมบวกและลบ 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลท โดยเรียงลำดับตามที่บันทึกในแบบฟอร์ม แล้วนำมา inactivate ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

2. ทำการเจือจางซีรัมตามตารางแสดงการดำเนินการทดสอบต่อ 1 ตัวอย่างดังนี้

- 2.1 ใช้ไมโครปิเปตแบบหลายช่อง ดูด veronal buffer 50 ไมโครลิตร

- 2.2 ใช้ไมโครปิเปตแบบหลายช่อง ดูดซีรัมทดสอบที่ inactivate จากไมโครเพลท จำนวน 50 ไมโครลิตร ในแถวที่ A แล้วใช้ไมโครปิเปตแบบหลายช่องดูดขึ้นลงเพื่อผสมประมาณ 5-6 ครั้ง

- 2.3 ดูดสารละลายจากหลุม A จำนวน 25 ไมโครลิตร ใส่หลุม B ดูดขึ้นลงเพื่อผสมประมาณ 5-6 ครั้ง จากนั้นดูดสารละลายจากหลุม B จำนวน 25 ไมโครลิตร ทั้ง

2.4 ดูดสารละลายจากหลุม A จำนวน 25 ไมโครลิตร ใส่หลุม C

2.5 ดูดสารละลายจากหลุม A จำนวน 25 ไมโครลิตร ใส่หลุม D แล้วทำ serial dilution จำนวน 25 ไมโครลิตร ตั้งแต่หลุมที่ D ไปยัง E ไปยัง F ไปยัง G ไปยัง H และดูดทั้ง 25 ไมโครลิตร โดยใช้ไมโครปิเปตแบบหลายช่อง ดูด ขึ้นลงเพื่อผสมประมาณ 5-6 ครั้ง

2.6 เติม veronal buffer จำนวน 25 ไมโครลิตร ใส่หลุม A และ B

3. เติมแอนติเจนที่เจือจางตามคำแนะนำของผู้ผลิต 25 ไมโครลิตร ทุกหลุม ยกเว้น แลว A และ เขย่า เพลทโดยใช้เครื่องเขย่าเพลท ประมาณ 1 นาที

4. เติม complement 2 ยูนิต ปริมาณ 25 ไมโครลิตร ทุกหลุม เขย่าเพลทโดยใช้เครื่องเขย่า เพลท นานประมาณ 1 นาที จากนั้นนำไมโครเพลทเก็บในตู้เย็นที่ 5 องศาเซลเซียส นาน 16-20 ชั่วโมง

5. เตรียม haemolysin 2 ยูนิต จำนวน 1 ส่วน และ 2.5% เม็ดเลือดแดงแกะจำนวน 1 ส่วน แยกกัน และเก็บใน ตู้เย็น ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการ เตรียม sensitized SRBCs ในวันรุ่งขึ้น

6. วันรุ่งขึ้นเตรียม sensitized SRBCs โดยผสม haemolysin 2 ยูนิต จำนวน 1 ส่วน กับ 2.5% เม็ดเลือดแดงแกะจำนวน 1 ส่วน วางที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

7. นำไมโครเพลทออกจากตู้เย็น นำไปไว้ในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน ประมาณ 10 นาที และ sensitized SRBCs ไว้ที่อุณหภูมิห้องต่ออีก 10 นาที (รวมเป็น 20 นาที)

8. เติม sensitized SRBCs 50 ไมโครลิตรทุกหลุม รวมทั้งไมโครเพลทที่ใช้เป็นเพลทควบคุม เขย่าไมโครเพลทโดยใช้เครื่องเขย่าเพลทให้เข้ากันดี

9. นำไมโครเพลทไปเก็บไว้ในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30 นาที จากนั้นนำเพลทเข้า เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ เพื่อปั่นเหวี่ยงที่ 200-400 x g ประมาณ 5-10 นาที หรือ เก็บเข้าตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นานไม่น้อยกว่า 2 ชั่วโมงหรือค้างคืน และอ่านผล

การอ่านผล : มี 2 ขั้นตอนคือการอ่านผลและการแปลผล

1. การอ่านผล ให้คะแนนตามเปอร์เซ็นต์ของการแตกของเม็ดเลือดแดง (haemolysis) ในการ ทดสอบ

คะแนน	haemolysis (%)	haemolysis inhibition (%)
++++ (4+)	0	100
+++ (3+)	25	75
++ (2+)	50	50
+ (1+)	75	25
0	100	0

anti-complementary activity (AC) คือ เม็ดเลือดแดงไม่แตกอย่างสมบูรณ์ที่หลุมซีรัมควบคุม ที่ไต่เตอร์ 1/2 (หลุม A) และ 1/4 (หลุม B)

2. การแปลผล ผลการทดสอบจะเปลี่ยนเป็นหน่วยของ International units of complement fixation per milliliter (IU/มิลลิลิตร) ดังนี้

serum dilution	haemolysis inhibition			
	25% (+)	50% (++)	75% (+++)	100% (++++)
1/2	8.3	10	11.6	13.3
1/4	16.6	20*	23.3	26.6
1/8	33.3	40	46.6	53.3
1/16	66.6	80	93.3	107
1/32	133	160	187	213
1/64	267	320	373	427
1/128	533	640	747	853
1/256	1,067	1,280	1,493	1,707

* จุดตัดสินเป็นบวกของ OIE และ EU (≥ 20 IU/มิลลิลิตร)

ตัดสินผล : a) ผลบวก = ≥ 20 IU/มิลลิลิตร โดยมี haemolysis inhibition 50% ขึ้นไปที่ dilution 1/4

b) ผลสงสัย = ≥ 13.3 IU/มิลลิลิตร < 20 IU/มิลลิลิตร

c) ผลลบ = < 13.3 IU/มิลลิลิตร

d) anticomplement = กรณีเกิด haemolysis น้อยกว่าหรือเท่ากับ 75% ที่ 1/2 หรือ 1/4 ใน serum control wells

7.4.5 indirect fluorescent antibody test (IFAT)

หลักการ : แอนติบอดีในซีรัมจับกับแอนติเจนที่เคลือบอยู่บนสไลด์ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน แอนติเจน/แอนติบอดี (antigen/antibody complex) เมื่อใช้ immunoglobulin ซึ่งเชื่อม (conjugate) กับ สารเรืองแสง (fluorescein isothiocyanate, FITC) เข้าจับซ้อนที่ส่วนของแอนติบอดี เมื่อนำมาตรวจโดยใช้ กล้องจุลทรรศน์ชนิดฟลูออเรสเซนซ์ จะเรืองแสงให้เห็นเป็นรูปร่างของแอนติเจน

อุปกรณ์ :

1. แอนติเจนสไลด์ ขนาด 60 X 22 มิลลิเมตร และกระจกปิดสไลด์
2. ตู้มเชื้อ 56 องศาเซลเซียส หรือไคร์เป่าผม (ชนิดเป่าลมเย็นได้)
3. ตู้มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส

4. ยาทาเล็บ
5. เครื่องเขย่า
6. ไมโครปิเปต
7. กล่องเก็บความชื้น (moisture chamber)
8. โถแก้วย้อมสไลด์
9. แท่งแม่เหล็กสำหรับกวนสาร
10. นาฬิกาจับเวลา
11. ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส
12. ตู้แช่แข็ง -70 องศาเซลเซียส
13. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดฟลูออเรสเซนซ์

สารละลาย :

1. สารละลาย PBS (FA), pH 7.2 แช่เย็น
2. immunoglobulin G conjugated with FITC
3. mounting medium (50% glycerine in PBS)

วิธีทำ :

1. เรียงหลอดซีรัมที่ต้องการตรวจ
2. เจือจางซีรัมที่ต้องการทดสอบ โดยเขย่าหลอดซีรัมด้วยเครื่องเขย่า นำมาเจือจางด้วยวิธี 5-fold dilution (1:40, 1:200, 1:1000, 1:5000) ด้วยสารละลาย PBS (FA) pH 7.2
3. นำแอนติเจนสไลด์ออกจาก ตู้แช่แข็งที่ -70 องศาเซลเซียส เรียงใส่ถาด จากนั้นรับนำเข้าตู้บ่มเชื้อที่ 56 องศาเซลเซียส นาน 3-5 นาที หรือใช้โดรเปาผมโดยใช้ลมเย็นเป่าให้แห้งโดยเร็ว
4. แบ่งพื้นที่บนแอนติเจนสไลด์ให้เป็นตารางเล็ก ๆ 15 ช่อง (3 x 5 แถว) โดยใช้ยาทาเล็บ
5. ใช้ไมโครปิเปตดูดซีรัมแต่ละความเข้มข้นจำนวน 10 ไมโครลิตร หยดลงในแต่ละช่องของแอนติเจนสไลด์โดยหยดซีรัมควบคุมบวก 2 ช่องด้านซ้ายมือ และซีรัมควบคุมลบ 1 ช่อง ในแนวตั้ง หยดตัวอย่างซีรัมตามแนวนอน โดยเริ่มจากความเข้มข้นน้อยไปหามาก
6. วางแอนติเจนสไลด์ในกล่องเก็บความชื้นปิดฝา จากนั้นไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
7. เมื่อครบเวลา ล้างแอนติเจนสไลด์โดยใส่ในโถแก้วย้อมสไลด์ เติมสารละลาย PBS (FA) แช่เย็น ให้ท่วมแผ่นสไลด์ แล้วนำโถแก้วย้อมสไลด์ขึ้นตั้งบนเครื่องเขย่าใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร เปลี่ยนสารละลาย PBS (FA) 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที
8. เป่าแอนติเจนสไลด์ให้แห้งพอสมควร (อย่าให้แห้งสนิท)
9. เจือจาง immunoglobulin G conjugated with FITC ด้วยสารละลาย PBS (FA) ให้ได้ ความเข้มข้นขนาดที่ได้เตรียไว้สำหรับแอนติเจนแต่ละชุด นำมาหยดลงบนแอนติเจนสไลด์ช่องละ 10 ไมโครลิตร
10. วางแอนติเจนสไลด์ในกล่องเก็บความชื้น ปิดฝา จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

11. ล้างแอนติเจนสไลด์โดยใส่ในโถแกว้ย้อมสไลด์ เติมสารละลาย PBS (FA) ที่แช่เย็น ให้ท่วมแผ่นสไลด์ ใส่แท่งแม่เหล็กกวนสารแล้วนำโถแกว้ย้อมสไลด์ขึ้นตั้งบนเครื่องเขย่า เปลี่ยนสารละลาย PBS (FA) 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

12. เป่าสไลด์ให้แห้งพอหมาดๆ (อย่าให้แห้งสนิท)

13. หยดสารละลายสำหรับติดสไลด์ (mounting medium) ลงบนแอนติเจนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์

14. ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ชนิดฟลูออเรสเซนซ์ ที่กำลังขยาย 200 หรือ 400 เท่า

การอ่านผล :

ผลบวก เชื่อก่อนโรคจะเรืองแสงติดสีเขียว

ผลลบ มองไม่เห็นการเรืองแสงของเชื่อก่อนโรค

7.4.6 indirect enzyme-linked immunosorbent assay (indirect ELISA)

หลักการ : แอนติบอดีในซีรัมจะจับกับแอนติเจนที่เคลือบอยู่ในหลุมของเพลท เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดี (antigen-antibody complex) เมื่อเติม immunoglobulin ซึ่งเชื่อม (conjugate) กับเอนไซม์ไว้ เอนไซม์จะเกาะติดกับสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดีเมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับ chromogen (substrate) จะทำให้เกิดการเปลี่ยนสี ซึ่งเห็นได้ด้วยตาเปล่า หรือใช้เครื่องอ่าน ELISA

อุปกรณ์ : 1. ไมโครเพลท ชนิด 96 หลุม ชนิดกันเรียบ

2. ไมโครปิเปต

3. เครื่องอ่าน ELISA (ELISA reader)

4. ตู้แช่แข็ง -70 องศาเซลเซียส

5. ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส

6. ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส

7. นาฬิกาจับเวลา

8. ผ้าขนหนูสะอาด

สารละลาย : 1. แอนติเจน

2. coating buffer

3. washing solution

4. blocking buffer

5. serum buffer

6. conjugate buffer

7. substrate buffer

8. immunoglobulin G conjugated with enzyme peroxidase

9. TMB (substrate)

10. stop solution

วิธีทำ : 1. เจือจางแอนติเจนที่เก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่ -70 องศาเซลเซียส โดยใช้ coating buffer ที่ความเข้มข้นที่ได้จากการไตเตรท จากนั้นเติม coating buffer ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลท หลุมละ 100 ไมโครลิตร ทิ้งค้างคืนไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. เทแอนติเจนส่วนเกินทิ้งโดยสลับแรงๆ จากนั้นล้างไมโครเพลทด้วย washing solution 3 ครั้งๆ ละ 1 นาที จากนั้นนำเพลทมาเคาะให้แห้งบนผ้าขนหนูที่พับไว้

3. ใส่ blocking buffer ลงในไมโครเพลททุกหลุม หลุมละ 150 ไมโครลิตร นำไมโครเพลทไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

4. เท blocking buffer ส่วนเกินทิ้ง โดยการสลับแรงๆ และ ล้างไมโครเพลท ตามวิธีในข้อ 2

5. เจือจางซีรัมที่ต้องการทดสอบด้วย serum buffer จากนั้นนำมาเติมลงในไมโครเพลททุกหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร โดยเติมตัวอย่างละ 2 หลุม (duplicate) ในแนวตั้ง ใส่ซีรัมควบคุมบวก และซีรัมควบคุมลบ เติมในแถวแรกของทุกไมโครเพลท นำไมโครเพลทไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

6. สกัดซีรัมส่วนเกินทิ้ง ล้างไมโครเพลท ตามวิธีในข้อ 2

7. เจือจาง conjugated immunoglobulin G เช่น recombinant Protein G-HRP (horseradish peroxidase) ด้วย conjugate buffer ตามความเข้มข้นที่ได้จากการไตเตรท จากนั้นเติมลงในไมโครเพลท จำนวน 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไมโครเพลทไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

8. สกัดคอนจูเกตส่วนเกินทิ้ง และล้างไมโครเพลทตามวิธีในข้อ 2

9. ใส่ substrate (สารที่ทำให้เกิดสี) ได้แก่ TMB จากนั้นเติมลงในไมโครเพลท จำนวน 100 ไมโครลิตรต่อหลุม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาประมาณ 15-30 นาที

10. เติม stop solution 1 N H₂SO₄ ลงในไมโครเพลท จำนวน 50 ไมโครลิตร/หลุม เพื่อหยุดปฏิกิริยา

11. อ่านผลด้วยเครื่องอ่าน ELISA โดยค่าดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ใช้ขึ้นกับชนิดของ substrate

การอ่านผล :

ผลบวก ค่าดูดกลืนแสงมากกว่าหรือเท่ากับ ค่า cut off

ผลลบ ค่าดูดกลืนแสงน้อยกว่า ค่า cut off

ค่า cut off หาได้จาก $\bar{X} + 3 \text{ SD}$ ของค่าที่ได้จากตัวควบคุมลบ (negative control)

7.4.7 Sabin-Feldman dye test

หลักการ : เป็นวิธีตรวจทางซีรัมวิทยาที่เชื่อถือได้ที่สุด (gold standard) ของการตรวจหาระดับแอนติบอดีของโรคท็อกโซพลาสโมซิสในคน

อุปกรณ์ :

1. ไมโครเพลท
2. ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส
3. ไมโครปิเปต
4. กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง

สารละลาย :

1. activator
2. เซอร์ระยะทาคีซอยด์ ของเชื้อ *T. gondii*
3. methylene blue

วิธีการ :

1. ทำ two fold serial dilution ของซีรัมที่ต้องการทดสอบ และซีรัมควบคุมบวก จนถึงความเข้มข้น 1:16

2. นำ undiluted sera และซีรัมที่เจือจางแล้ว มาหยดลงในไมโครเพลท จำนวน 10 ไมโครลิตร/หลุม

3. หยด activator จำนวน 20 ไมโครลิตร/หลุม ทุกหลุม

4. หยด tachyzoite ของเชื้อ *T. gondii* จำนวน 20 ไมโครลิตร/หลุม ทุกหลุม

5. ผสมให้เข้ากันดี จากนั้นนำเข้าตู้บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

6. เติมน้ำ methylene blue ปริมาณ 30 ไมโครลิตร ลงไปในแต่ละหลุม ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที แล้วนำส่วนผสมหยดลงในสไลด์ เพื่อดูการติดสีของเชื้อปรสิต ได้กล้องจุลทรรศน์ ชนิดแสงสว่าง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

การอ่านผล :

ผลบวก พบ tachyzoite ของเชื้อ *T. gondii* ที่ย้อมไม่ติดสีมากกว่า 60% ในแต่ละฟิลด์ของกล้องจุลทรรศน์

ผลลบ พบ tachyzoite ของเชื้อ *T. gondii* ที่ย้อมติดสีทุกความเข้มข้น

7.5 การตรวจหาสารพันธุกรรม

7.5.1 polymerase chain reaction (PCR)

หลักการ : เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจหาสารพันธุกรรมชนิด DNA ของเชื้อก่อโรคที่ต้องการ โดยเพิ่มปริมาณของสารพันธุกรรมชนิด DNA ของเชื้อก่อโรคในตัวอย่างที่ส่งมา

อุปกรณ์ :

1. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermal cycler)
2. ไมโครปิเปต
3. เครื่องปั่นตกตะกอน (spin down)

4. เครื่องเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis)
5. เครื่องเขย่า
6. หลอดพลาสติกขนาด 0.2 มิลลิลิตร
7. เครื่องถ่ายภาพอัลตราไวโอเล็ต

สารละลาย :

1. น้ำยาสกัดสารพันธุกรรม ชนิด DNA
2. สารละลาย TAE หรือ TBE buffer
3. สารละลาย PCR mixture
4. ไพริเมอร์ (ดีเอ็นเอต้นแบบ) ของเชื้อที่ต้องการ 1 คู่
5. agarose gel

วิธีการ :

1. สกัดสารพันธุกรรม ชนิด DNA จากตัวอย่าง
2. ผสมสารพันธุกรรมชนิด DNA ที่สกัดได้กับ PCR mixture และไพริเมอร์ของเชื้อที่ต้องการ

ตรวจหา ลงในหลอดพลาสติกขนาด 0.2 มิลลิลิตร

3. ผสมสารละลายให้เข้ากันดี โดยใช้เครื่องเขย่า
4. วางหลอดพลาสติกขนาด 0.2 มิลลิลิตร ลงในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ
5. เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดของแต่ละเชื้อ นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเครื่องควบคุมอุณหภูมิมา

หยอดลงในหลุมเจล ในเครื่องเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส เปิดเครื่อง

6. เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำเจลไปย้อมสี และอ่านขนาดของชิ้น DNA ด้วยเครื่องถ่ายภาพ

เจลโดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต

การอ่านผล :

ผลบวก พบแถบของผลผลิต DNA ตรงกับแถบของผลผลิต DNA ควบคุมบวก

ผลลบ ไม่พบแถบของผลผลิต DNA

7.5.2 multiplex polymerase chain reaction (multiplex PCR)

หลักการ : เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจหาสารพันธุกรรมชนิด DNA ของเชื้อก่อโรคที่ต้องการ โดยใช้ไพริเมอร์หลายคู่พร้อมกันในปฏิกิริยาเดียวกันโดยที่ไพริเมอร์แต่ละคู่ที่นำมาใช้ต้องมีการออกแบบให้ดี ไม่มี complementary กัน และเมื่อนำไปทำ PCR จะให้ผลผลิตที่มีขนาดความยาวที่แตกต่างกัน การทำ multiplex PCR ต้องปรับสภาวะพอเหมาะของปฏิกิริยา เพื่อให้สามารถเพิ่มขยายจำนวนดีเอ็นเอจากทุกคู่ของไพริเมอร์ที่ใส่ลงไปได้ เนื่องจากในปฏิกิริยานี้จะใช้ไพริเมอร์พร้อมกันหลายคู่

วิธีการ : คล้าย PCR แต่มีไพริเมอร์หลายคู่

7.5.3 reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)

หลักการ : เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจหาสารพันธุกรรมชนิด RNA ของเชื้อก่อโรคที่ต้องการ โดยจะต้องมีการเปลี่ยนสารพันธุกรรมชนิด RNA เป็น cDNA และเพิ่มปริมาณ DNA ของเชื้อก่อโรคในตัวอย่างที่ส่งมาด้วยวิธี PCR

อุปกรณ์ :

1. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ
2. ไมโครปิเปต
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง
4. เครื่องเจลอเล็กโตรโฟรีซิส
5. เครื่องเขย่าสาร
6. หลอดพลาสติกขนาด 0.2 มิลลิลิตร
7. เครื่องถ่ายภาพอัลตราไวโอเล็ต

สารละลาย :

1. น้ำยาสกัดสารพันธุกรรม ชนิด RNA
2. enzyme reverse transcriptase
3. PCR mixture
4. ไพรเมอร์ (ดีเอ็นเอต้นแบบ) ของเชื้อที่ต้องการ 1 คู่
5. agarose gel
6. สารละลาย TAE หรือ TBE buffer

วิธีการ :

1. สกัดสารพันธุกรรม ชนิด RNA จากตัวอย่าง
2. ใส่สารพันธุกรรม ชนิด RNA ที่สกัดได้กับ enzyme reverse transcriptase และ PCR mixture ตามขนาดที่เหมาะสม ลงในหลอดพลาสติกขนาด 0.2 มิลลิลิตร
3. ผสมสารละลายให้เข้ากันดี โดยใช้เครื่องเขย่าสาร
4. วางหลอดพลาสติกขนาด 0.2 มิลลิลิตร ลงในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ
5. เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดของแต่ละเชื้อ นำผลิตภัณฑ์ได้จากเครื่องควบคุมอุณหภูมิมาหยอดลงในหลุมเจล ในเครื่องเจลอเล็กโตรโฟรีซิส เปิดเครื่อง
6. เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำเจลไปย้อมสี และอ่านขนาดของผลผลิต DNA ด้วยเครื่องถ่ายภาพเจลโดยใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต

การอ่านผล :

ผลบวก พบแถบของผลผลิต DNA ตรงกับแถบของผลผลิต DNA ควบคุมบวก
 ผลลบ ไม่พบแถบของผลผลิต DNA

7.5.4 real time polymerase chain reaction (real-time PCR, quantitative PCR)

หลักการ : เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจหาสารพันธุกรรมชนิด DNA ของเชื้อก่อโรคที่ต้องการ และสามารถติดตามวัดปริมาณการเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอเป้าหมายได้ ในทุกรอบของการเพิ่มจำนวน ในขณะที่ปฏิกิริยากำลังดำเนินอยู่ (real-time detection) โดยใช้ดีเอ็นเอต้นแบบ (ไพรเมอร์) 1 คู่ ร่วมกับตัวตรวจจับ (โพรบ, probe) ที่ถูกออกแบบเป็นสายสั้นๆ ให้มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อเป้าหมายที่ต้องการตรวจ สำหรับ probe จะมีการติดสี fluorescence เทคนิคนี้อาศัยการตรวจวัดสัญญาณสารเรืองแสงที่ถูกปล่อยออกมา ปริมาณแสงที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นจากปฏิกิริยาในแต่ละรอบ

อุปกรณ์ :

1. เครื่องเพิ่มและวัดปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง (real-time PCR)
2. ไมโครปิเปต
3. เครื่องปั่นตกตะกอน
4. เครื่องเขย่าสาร
5. หลอดพลาสติกขนาด 0.2 มิลลิลิตร

สารละลาย :

1. enzyme reverse transcriptase
2. PCR mixture
3. น้ำยาสกัดสารพันธุกรรม ชนิด DNA
4. ไพรเมอร์ 2 เส้น และโพรบ 1 เส้น

วิธีการ :

1. สกัดสารพันธุกรรม ชนิด DNA จากตัวอย่าง
2. ใส่สารพันธุกรรมที่สกัดได้ลงในเครื่องเพิ่มและวัดปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง ไพรเมอร์ 2 เส้น โพรบ 1 เส้น และ PCR mixture ตามขนาดที่เหมาะสม ลงในหลอดพลาสติกขนาด 0.2 มิลลิลิตร
3. ผสมสารละลายให้เข้ากันดี โดยใช้เครื่องเขย่าสาร
4. วางหลอดพลาสติกขนาด 0.2 ไมโครลิตร ลงในเครื่องเพิ่มและวัดปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง
5. สามารถติดตามการเพิ่มปริมาณของสารพันธุกรรมได้ทั้งในเวลาที่ปฏิกิริยากำลังดำเนินอยู่ โดยดูที่จอมอนิเตอร์ และเมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุด

การอ่านผล :

ผลบวก พบปริมาณของสารพันธุกรรมของผลผลิต DNA เพิ่มขึ้น ตรงกับปริมาณของผลผลิต DNA ควบคุมบวก

ผลลบ ไม่พบปริมาณของสารพันธุกรรมของผลผลิต DNA เพิ่มขึ้น

7.5.5 real time reverse transcriptase polymerase chain reaction (real-time RT-PCR)

หลักการ : เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจหาสารพันธุกรรมชนิด RNA ของเชื้อก่อโรคที่ต้องการ โดยใช้เครื่องเพิ่มและวัดปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง ซึ่งจะต้องมีการเปลี่ยนสารพันธุกรรมชนิด RNA เป็น cDNA และเพิ่ม

ปริมาณ DNA ของเชื้อก่อโรคในตัวอย่างที่ส่งมา โดยสามารถวัดปริมาณการเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอเป้าหมายได้ในทุกรอบของการเพิ่มจำนวน ในขณะที่ปฏิกิริยากำลังดำเนินอยู่ (real-time detection) โดยใช้ดีเอ็นเอต้นแบบ (ไพรเมอร์) 1 คู่ ร่วมกับตัวตรวจจับ (โพรบ, probe) ที่ถูกออกแบบเป็นสายสั้นๆ ให้มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อเป้าหมายที่ต้องการตรวจ สำหรับ probe จะมีการติดสี fluorescence เทคนิคนี้อาศัยการตรวจวัดสัญญาณสารเรืองแสงที่ถูกปล่อยออกมา ปริมาณแสงที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นจากปฏิกิริยาในแต่ละรอบ

วิธีการ : คล้าย real-time PCR แต่มีการเปลี่ยน RNA เป็น cDNA

บทที่ 8

บทวิเคราะห์ และการนำมาใช้ประโยชน์

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญเป็นโรคที่ทำให้เกิดการติดต่อระหว่างสัตว์และคน พบได้ทั่วโลก และก่อให้เกิดความสูญเสียในรูปแบบต่าง ๆ ทั้งในด้านสาธารณสุขและทางเศรษฐกิจ เนื่องจากโลกาภิวัตน์ ทำให้โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญจากต่างประเทศสามารถเข้ามาระบาดในประเทศได้อย่างรวดเร็วและกว้างขวาง

โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญในประเทศไทย แบ่งออกได้ 3 กลุ่มได้แก่

1. โรคที่พบรายงานในประเทศ ได้แก่
 - 1.1 โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เช่น โรคไข้หวัดนก โรคพิษสุนัขบ้า โรคไข้สมองอักเสบเจอี เป็นต้น
 - 1.2 โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เช่น โรควัณโรค โรคไข้หัด โรคเมลิออยด์ เป็นต้น
 - 1.3 โรคที่เกิดจากเชื้อปรสิต เช่น โรคทริคิเนลโลสิส โรคพยาธิติตหนู โรคพยาธิใบไม้ตับ เป็นต้น
2. โรคที่เกิดจากเชื้อก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ที่เริ่มมีการรายงานว่าพบในประเทศ เช่น โรคเมอร์ส โรคไข้หวัดใหญ่ในสุกร โรคไข้สมองอักเสบไวรัส nipah โรคพยาธิอะนิสาคีเอซิส โรคลิซมาเนีย เป็นต้น
3. โรคที่เกิดจากเชื้อก่อโรคทั้ง 3 ชนิดที่ยังไม่พบการระบาดในประเทศ แต่มีความเป็นไปได้ที่จะเข้ามาระบาดในประเทศ เช่น โรคติดเชื้อไวรัสอีโบล่า เป็นต้น

บทวิเคราะห์

พบว่าโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญที่พบการระบาดในประเทศ และโรคที่เริ่มพบการติดเชื้อภายในประเทศ เกิดจากเชื้อก่อโรคทั้ง 3 ชนิด แต่โรคที่ยังไม่พบการระบาดในประเทศแต่มีความเป็นไปได้ที่จะเข้ามาระบาดในประเทศ จะเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ซึ่งทำให้เกิดผลกระทบอย่างรุนแรง

ในโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญที่เกิดจากเชื้อก่อโรคชนิดต่าง ๆ จะประกอบไปด้วย เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค เชื้อพ้อง (ถ้ามี) ชนิดของสัตว์ที่พบการติดเชื้อ คนที่เป็นกลุ่มเสี่ยง ระบาดวิทยาของโรคทั้งในสัตว์และคน พยาธิวิทยาของโรค การติดต่อ พาหะของโรค อาการทั้งในสัตว์และคน รอยโรคทางพยาธิวิทยาในสัตว์ การวินิจฉัยโรคทั้งในสัตว์และคน การรักษาทั้งในสัตว์และคน การควบคุมและป้องกันโรคทั้งในสัตว์และคน และขั้นตอนการตรวจโรคทางห้องปฏิบัติการ คู่มือโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญในประเทศไทยฉบับนี้ได้จัดทำขึ้น เพื่อให้ผู้สนใจสามารถนำความรู้ไปใช้เป็นแนวทางการตรวจวินิจฉัยและควบคุมป้องกันโรค ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการ ลดอัตราป่วยและอัตราการตายของสัตว์และคน จากโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญได้

สำหรับขั้นตอนการตรวจโรคทางห้องปฏิบัติการ ได้มีการพัฒนาการตรวจให้มีความจำเพาะขึ้นจากอดีตถึงปัจจุบัน ทำให้การตรวจวินิจฉัยโรคที่ใช้กันอยู่ต้องใช้เครื่องมือ สารเคมี ตลอดจนขั้นตอนต่างๆในการตรวจวินิจฉัยโรคเพิ่มมากขึ้น แต่ผลที่ได้มีความน่าเชื่อถือเพิ่มขึ้น

การนำมาใช้ประโยชน์

ผู้ที่จะได้ประโยชน์จากหนังสือคู่มือเล่มนี้ ได้แก่ บุคลากรที่ทำงานในด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ผู้ที่ทำงานในการควบคุมและป้องกันโรค เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ สัตวแพทย์ที่ทำงานในท้องที่ ผู้ที่ทำงานในท้องปฏิบัติการ ตลอดจนผู้บริโภค

ผู้ที่ทำงานในการควบคุมและป้องกันโรค จะได้มีความรู้ในโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่สำคัญแต่ละโรค ซึ่งจะได้นำไปใช้ในการออกมาตรการต่างๆ เพื่อป้องกันโรคที่มีอยู่ในประเทศแพร่กระจายไปยังสัตว์ชนิดอื่นหรือทางสาธารณสุข เพื่อป้องกันไม่ให้คนติดโรคจากสัตว์ และโรคสำคัญที่พบในต่างประเทศแพร่ระบาดเข้ามาในประเทศ

เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ จะได้นำความรู้เกี่ยวกับชนิดของสัตว์ที่พบเชื้อ การติดต่อและอาการที่พบ ไปปรับใช้ในการเฝ้าระวังสัตว์ที่เลี้ยงไว้ติดโรค เพื่อป้องกันโรค หรือ ป้องกันตนเองจากโรคที่ติดในสัตว์ไม่ให้ติดต่อมายังตนเอง

สัตวแพทย์ที่ทำงานในท้องที่จะได้นำความรู้เกี่ยวกับพยาธิวิทยาของโรค พหุของโรค อาการของโรค รอยโรคทางพยาธิวิทยาของสัตว์ การวินิจฉัย การรักษา การควบคุมและป้องกันโรค เพื่อนำไปใช้เมื่อพบสัตว์มีอาการผิดปกติ สัตว์ป่วย หรือสัตว์ตาย

ผู้ที่ทำงานในท้องปฏิบัติการ จะได้นำความรู้ด้านต่างๆ ทั้งรอยโรคทางพยาธิวิทยา การตรวจวินิจฉัย มาใช้ในการชันสูตรโรค เพื่อการรายงานผลการตรวจที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ยิ่งไปกว่านั้น ยังต้องป้องกันตัวเองจากเชื้อที่จะได้รับขณะทำการตรวจชันสูตร

ผู้บริโภคเนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ อาหารชนิดต่าง ๆ หรือน้ำ ที่ติดเชื้อหรือปนเปื้อนเชื้อที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการผลิตและการบริโภค ต้องบริโภคเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าสัตว์ที่มีมาตรฐาน และบริโภคอย่างถูกสุขลักษณะ

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมโรค. 2564. กรมควบคุมโรค เตือนประชาชนโดยเฉพาะภาคเหนือ และภาคอีสาน เลี่ยงการรับประทานหมูดิบ หรือสุกๆ ดิบๆ เสี่ยงป่วยโรคไข้หูดับอาจถึงขั้นเสียชีวิต. [Online]. Available : https://ddc.moph.go.th/brc/news.php?news=18401&deptcode=brc&news_views=2550 . [15 กุมภาพันธ์ 2565].
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2562. ไข้หูดับ. [Online]. Available : http://nih.dmsc.moph.go.th/data/data/fact_sheet/6_62.pdf. [10 กุมภาพันธ์ 2565].
- กิจจา อุไรรงค์. 2530. แนวทางการวินิจฉัย รักษาและควบคุมโรคสุกร. โรงพิมพ์สารมวลชน พระโขนง กรุงเทพฯ. หน้า 55-66.
- กองวันโรค. 2564. รายงานสถานการณ์วันโรคเดือนมีนาคม. [Online]. Available : tbthailand.org/download/form/รายงานสถานการณ์วันโรคเดือนมีนาคม.pdf. [15 กุมภาพันธ์ 2565].
- จำลอง มิตรชาวไทย จิตบรรจง เวียงเจริญ จุฑามาศ ชัยวรกร ไพวัลย์ ศรีนาวล และเฉลิมพล เอื้องกลาง. 2548. การการณติดต่อ *Balantidium* ในสุกรรุ่น: รายงานสัตว์ป่วย. *วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มช.* 15 (1): 166-174.
- จันทิพย์ สิงห์ตุ้ย นภาพร แก้วดวงดี และประภาทิพย์ เอี่ยมโถตขุสภณา. 2555. การตรวจหาและจำแนกพยาธิตัวกลม อะนิซาคิสโดยเทคนิคพีซีอาร์-เรสตริกชันเอนโดนิวคลีเอส. *ก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์.* 12 (2): 142-150.
- เฉลิมเกียรติ สุวรรณแทน และสมศักดิ์ เทียมเท่า. 2554. Japanese Encephalitis. *วารสารสมาคมประสาทวิทยาศาสตร์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.* 6 (4): 94-100. <https://neurosci.kku.ac.th/wp-content/uploads/2009/09/6-4-8.pdf>.
- ณัฐภูมิ แก้วพิบูลย์. 2553. พยาธิใบไม้ในตับในประเทศไทย :Liver fluke in Thailand. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.* 12 (1): 63-69.
- ดวงสุดา ทองจันทร์ และประพันธ์ศักดิ์ นริราช. 2551. การเลี้ยงสุกรภายใต้ปุ๋ยสัตว์อินทรีย์ (Organic) มีโอกาสปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลามากกว่าแบบ Conventional. *สัตวแพทยมหานครสาร.* 3 (1): 59-66.
- ดรุณี ทันตะสุวรรณ. 2546. โรคที่ก่อโซพลาสโมซิส. ใน หนังสือประกอบการฝึกอบรม Zoonosis โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. หน้า 237-240.
- ดรุณี ทันตะสุวรรณ วิจิตร สุขเพสน์ หล้าณาดล เทวกุล ธนศักดิ์ บุญนาค และสุภาวรรณ เสงี่ยมลักษณ์. 2531. การตรวจหาพยาธิฟาสซิโอลาอปซิสบัสโก ในสุกรและคนที่บางเขน. *สัตวแพทยสาร.* 39 (3): 133-136.

- นิมิตร มรกต และเกตุรัตน์ สุขวัจน์. 2546. ปราสตีวิทยาทางการแพทย์ โปรโตซัวและหนอนพยาธิ. โครงการตำรา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. พิมพ์ครั้งที่ 2. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 477 หน้า.
- บุญเยี่ยม เกียรติวุฒิ อุ่น เกียรติวุฒิ และศุภกิจ อังศุภากร. 2527. โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน. บัณฑิตการพิมพ์ กรุงเทพฯ. 461 หน้า.
- เปี้ยทิพย์ บุญมงคล. 2550. การเฝ้าระวังการระบาดของไข้สมองอักเสบเจอีในจังหวัดนครปฐม. *วารสารแพทย์เขต 5-6*. 26 (3): 281-290.
- พรเพ็ญ พัฒนโสภณ. 2549. สเตรปโตคอคคัส ซูอิส. *จดหมายข่าว สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ*. ปีที่ 5 ฉบับที่ 3.
- พิสัย กรัยวิเชียร. 2534. ปราสตีวิทยาทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 588 หน้า.
- พัชรา เผือกเทศ. 2546. โรคเมลิออยโดซิส. ใน: หนังสือประกอบการฝึกอบรม Zoonosis โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. หน้า 151-155.
- มนทกานต์ วงศ์ภากร. 2548. โรคทริคิโนซิส (Trichinosis). [Online]. Available : http://niah.dld.go.th/th/AnimalDisease/pig_trichi.htm. [8 มกราคม 2562].
- มนทกานต์ วงศ์ภากร. 2551. โรคลิชมาเนีย (Leishmaniasis). [Online]. Available : <http://niah.dld.go.th/th/files/ejournal/v03n1t02.pdf>. [8 มกราคม 2562].
- มานพ ม่วงใหญ่. 2545. วิทยาสัตว์เซลล์เดียวทางสัตวแพทย์. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 218 หน้า.
- มานพ ม่วงใหญ่ และสุภรณ์ โพธิ์เงิน. 2523. การศึกษาการระบาดของพยาธิในสุกรและอหิพลของพยาธิในลูกสุกร. *เวชสารสัตวแพทย์*. 10 (3): 139-153.
- ยุพิน ศุภพทมมงคล. 2550. โรคฉี่หนู เลปโตสไปโรซิส. [Online]. Available : www.ronghosp.org/hosmain/pps-xls-word-show/leptospirosis/lepto_21.htm. [23 ตุลาคม 2563].
- รำพึง ดิสสะมาน. 2515. ปัญหาของโรคพยาธิเม็ดเลือดในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร*. 5: 152-158.
- โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน. 2556. ไข้สมองอักเสบ (Japanese encephalitis: JE). [Online]. Available : <https://www.tm.mahidol.ac.th/hospital/hospital-japanese-encephalitis-th.php>. [22 ตุลาคม 2564].
- วารุณี บัวดอก ศิริวรรณ ไคมะระจ่าง อีราภรณ์ ศรีนิเวศน์ พรพิมล เมธีบุญกุล และธรรมาพร พิจิตราศิลป์. 2560. ไข้สมองอักเสบเจอีในสัตว์: โดยสังเขป. *วารสารวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์และเทคโนโลยี*. 1 (2): 48-56.

- วิพิชญ์ ไชยศรีสงคราม. 2516. โรคสัตว์ที่ตรวจพบในโรงฆ่าสัตว์. *สัตวแพทยสาร*. 2: 52-55.
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. 2563. โรคแอนแทรกซ์ (Anthrax). [Online]. Available : http://nih.dmsc.moph.go.th/data/data/fact_sheet/6_61.pdf. [18 กุมภาพันธ์ 2565].
- สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2545. “โรค布鲁เซลโลซิส (Brucellosis).” [Online]. Available : http://niah.dld.go.th/th/AnimalDisease/cow_bru.htm [11 พฤษภาคม 2561].
- สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2548. คู่มือมาตรฐานการชันสูตรโรคสัตว์: โรคทริคิโนซิส. การประชุมสัมมนาเชิงปฏิบัติการเพื่อกำหนดมาตรฐานการชันสูตรโรคทริคิโนซิส. ระหว่างวันที่ 8-10 สิงหาคม 2548. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 43 หน้า.
- สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2554. การชันสูตรโรคที่อกโซพลาสโมซิสในสัตว์. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 60 หน้า.
- สถานเสาวภา สภากาชาดไทย. 2559. แนวทางการให้การดูแลรักษาผู้ป่วยสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า (พ.ศ. 2559). [Online]. Available: <http://saovabha.redcross.or.th/download/2559/thailand%20Rabies-Free/QsmiGuidline2016.pdf>. [10 พฤษภาคม 2561].
- สนอง ศรีนันท์ พันธ์ ศุภลักษณ์ จันทร์อุดม พิลล สุขสายไทยชนะ และวาสนา แสงสุวรรณ. 2529. รายงานโรคมกคล่อเทียมในแพะและสุกรในภาคใต้. *ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 5*. ระหว่างวันที่ 6-8 พฤษภาคม 2529. หน้า 314-324.
- สมใจ ศรีหาคิม ประภาส เนรมิตมานสุข นิยมศักดิ์ อุปทุม และนิมิต ลีศิริกุล. 2523. รายงานเบื้องต้นของโรค มกคล่อเทียมในแพะและสุกร. *สัตวแพทยสาร*. 31 (4): 233-241.
- สุรพงษ์ อุดมพันธ์ และวาสนา ภิญญูชนม์. 2545. การศึกษาวิเคราะห์สภาวะแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอี ในสุกร ปี 2542. *วารสารสัตวแพทย์*. 12 (3): 1-9.
- สุภารัตน์ ดำรงวัฒนโกศล วาสนา ภิญญูชนม์ สุจิรา ปาจริยานนท์ และดวงทอง ปัจฉิมะศิริ. 2546. การเฝ้าระวังโรคสมองอักเสบนิปาห์ในสุกรในประเทศไทย. ใน หนังสือประกอบการฝึกอบรม Zoonosis โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. หน้า 41-49.
- สุภรณ์ โพธิ์เงิน. 2525. หนองพญาธิวิทยาสาขาสัตวแพทยศาสตร์. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 346 หน้า.
- สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 2552. ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ 2009 และมาตรการเฝ้าระวัง. [Online]. Available. : https://www.nstda.or.th/eid/download/scenario/2009_180509.pdf. [18 กุมภาพันธ์ 2565].
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2556. “การชันสูตรโรคไข้หวัดใหญ่สุกร.” [Online]. Available : http://tsva.or.th/wp-content/uploads/2014/05/2556-std_diagnosis_of_swine_inไข้หวัดใหญ่สุกร.pdf. [18 กุมภาพันธ์ 2565].

- สำนักโรคติดต่อทั่วไป. 2550. แนวทางการป้องกันควบคุมโรคติดเชื้อสเตรปโตค็อกคัส ซูอิส. กรมควบคุมโรค. กรุงเทพฯ:สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึกในพระบรมราชูปถัมภ์.
- สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่. 2552. “คำถาม-คำตอบที่พบบ่อยเรื่อง ไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ ชนิดเอ (เอช1 เอ็น 1) (Pandemic (H1N1) 2009).” [Online]. Available : <http://www.sro.moph.go.th> > ewt > ewt_news. [18 กุมภาพันธ์ 2555].
- หน่วยปฏิบัติการวิจัยโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำในสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (CU-EIDAs). 2555. “โรคไข้หวัดใหญ่ในสุกร.” เล่มที่ 1 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. เมดอินโฟ จี. ดี. จำกัด หน้า 273-310.
- หน่วยปฏิบัติการวิจัยโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำในสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (CU-EIDAs). 2555. โรคแอนแทรกซ์ (Anthrax). คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- หน่วยปฏิบัติการวิจัยโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำในสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (CU-EIDAs). 2555. “โรค Japanese Encephalitis.” เล่มที่ 1 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. เมดอินโฟ จี. ดี. จำกัด. หน้า 153-164.
- อรุณี ชัยสิงห์. 2546. โรคอินฟลูเอนซ่าในสัตว์. ใน: *หนังสือประกอบการฝึกอบรม Zoonosis โรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน*. วันที่ 7 กรกฎาคม 2546. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์. หน้า 1-20.
- อุมาพร ทาไทสง. 2555. ประวัติโรคที่ติดต่อผ่านทางอาหารและน้ำที่สำคัญในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*. 17: 212-220.
- Aibinu, I.E., Smooker, P.M. and Lopata, A.L. 2019. Anisakis nematodes in fish and shellfish from infection to allergies. *Int. J. Parasites Wildl.* 9: 384-393. doi: 10.1016/j.ijppaw.2019.04.007.
- Anantaphruti, M.T., Yamasaki, H., Nakao, M., Waikagul, J., Watthanakulpanich, D., Nuamtanong, S., Maipanich, W., Pubampen, S., Sanguankiat, S., Muennoo, C., Nakaya, K., Sato, M.O., Sako, Y., Okamoto, M. and Ito, A. 2007. Sympatric occurrence of *Taenia solium*, *T. saginata*, and *T. asiatica*, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.* 13:1413–1416.
- Anantaphruti, M.T., Okamoto, M., Yoonuan, T., Sanguankiat, S., Kusolsuk, T. and Sato, M., Sato, M.O., Sako, Y., Waikagul, J. and Ito, A. 2010. Molecular and serological survey on taeniasis and cysticercosis in Kanchanaburi Province, Thailand. *Parasitol. Int.* 59: 326-330.
- Anantaphruti, M.T. 2013. Current status of Taeniasis in Thailand. *Korean J. Parasitol.* 51 (1): 37-42.

- , , Y.L., T., S., Toxoplasma infection in pregnant women: a current status in Songklanagarind hospital, southern Thailand. *Parasit. Vectors.* 7: 239.
- Apiwathnasorn, C. 2012. Climate change and mosquito vectors. *J. Trop. Med. Parasitol.* 35: 78-85.
- Bureau of Epidemiology (BoE), Ministry of Public Health of Thailand. 2016. Leptospirosis. [Online]. Available : <http://www.boe.moph.go.th>. Accessed February 16, 2017.
- Charoenlarp, P., Radomyos, P. and Bunnag, D. 1989. The optimum dose of Puag-Haad in the treatment of Taeniasis. *J. Med. Assoc. Thai.* 72: 71–73.
- Center for disease control and prevention (CDC). 2017d. Zoonotic Diseases. [Online]. Available : <https://www.cdc.gov/onehealth/basics/zoonotic-diseases.html>. Accessed August 12, 2019.
- Center for disease control and prevention (CDC). 2018a. Middle East Respiratory Syndrome. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/coronavirus/mers/about/index.html> Accessed February 2, 2018.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2018b. Prevention and Treatment of Avian Influenza A Viruses in People. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/prevention.htm>. Accessed Jan 23, 2018.
- Center for disease control and prevention (CDC). 2021a. Zoonotic Diseases. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/onehealth/basics/zoonotic-diseases.html>. Accessed February 10, 2022.
- Center for disease control and prevention (CDC). 2021b. Diseases That Can Spread Between Animals and People. <https://www.cdc.gov/healthypets/diseases/index.html>. Accessed February 10, 2022.
- Center for disease control and prevention (CDC). 2021c. Brucellosis. [Online]. Available <https://www.cdc.gov/brucellosis/index.html>. Accessed March 11, 2565.
- Center for disease control and prevention (CDC). 2021d. Rabies. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/rabies/index.html>. Accessed April 1, 2022.
- Chonsawat, P. and Wongphan, B. 2017. Prevalence of parasitic infections in patients at Hospital for Tropical Diseases, Mahidol University. *J. Med. Tech. Assoc. Thailand.* 45 (2): 6074-6084.
- Chutinimitkul, S., Nattakarn Thippamom, N., Damrongwatanapokin, S., Payungporn, S., Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Boonsuk, P., Sreta, D., Bunpong, N., Æ Rachod

- Tantilertcharoen, Chamnanpood, P., Parchariyanon, S., Theamboonlers, A. and Poovorawan, Y. 2008. Genetic characterization of H1N1, H1N2 and H3N2 swine influenza virus in Thailand. *Arch. Virol.* 153: 1049–1056. doi: 10.1007/s00705-008-0097-7.
- Cosivi, O., Grange, J.M., Daborn, C.J., Raviglione, M.C., Fujikura, T., Cousins, D., Robinson, R.A., Huchzermeyer, H.F.A.K., de Kantor, I. and Meslin, F.-X. 1998. Zoonotic Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in Developing Countries. *E.I.D.* 4 (1). [Online]. Available : https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/4/1/98-0108_article. Accessed May 11, 2018.
- Damrongwatanapokin S. 2005. Situation and surveillance of Nipah virus infection of pigs in Thailand. In: *Proceedings of the challenge of infectious diseases in the 21st century*. Chiangmai, Thailand. June 15–17. Bangkok, Thailand. Bureau of General Communicable Diseases, Department of Disease Control. p. 172–178.
- Damrongwatanapokin, S., Pinyochon, W., Parchariyanon, S. and Damrongwatanapokin, T. 2006. Serological study and isolation of influenza A virus infection of pigs in Thailand, vol 2 In: *Proceedings of the 19th IPVS congress*. Copenhagen. p 136.
- De Jesus, Z. and Waramontri, J. 1961. Parasites of domesticated animals in Thailand. Worm parasites of the pig. *J. Nalt. Res. Council Thai.* 2: 11-25.
- Dhaliwal, B.B.S. and Juyal, P.D. 2013. Classification of Parasitic Zoonoses. In: *Parasitic Zoonoses*. Springer, New Delhi, India. p. 1-14.
- Dye C., Scheel, S., Dolin, P., Pathania, V. and Raviglione, M.C. 1999. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO global surveillance and monitoring project. *J. A. M. A.* 282: 677-686.
- Enes, J.E., Wages, A.J., Malone, J.B. and Tesana, S. 2010. Prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in the canine and feline hosts in three villages, Khon Kaen province, Northeastern Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth.* 41 (1): 36–42.
- Epiz, R.S.T.O.I. 2016. Sample of choice for detecting Middle East respiratory syndrome coronavirus in asymptomatic dromedary camels using real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 35 (3):.2.
- Esch, K.J. and Peterson, C.A. 2013. Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. *Clin. Microbiol. Rev.* 26 (1): 58.
- Faust, E.C., Russell, R.F. and Jung, R.C. 1970. Craig and Faust's clinical parasitology. 8th eds. Lea and Febiger, Philadelphia, USA. 890 pp.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2018. MERS-CoV situation update. [Online]. Available: http://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/mers/situation_update.html. Accessed January 22, 2018.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2018. Epidemiology of Avian Influenza. [Online]. Available: <http://www.fao.org/avianflu/en/clinical.html>. Accessed January 23, 2018.
- Gassiep, I., Armstrong, M. and Norton, R. 2020. Human Melioidosis. *Clin. Microb. Rev.* 33: e00006-19. [Online]. Available [://https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/CMR.00006-19](https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/CMR.00006-19). Accessed February 10, 2022.
- Goh, K.J., Tan, C.T., Chew, N.K., Kamarulzaman, A., Sarji, S.A., Wong, K.T., Abdullah, B.J.J., Chua, K.B. and Lam, S.K. 2000. Clinical features of Nipah Virus encephalitis among pig farmers in Malaysia. *N. Engl. J. Med.* 342: 1229-1235. doi: 10.1056/NEJM200004273421701.
- Gonzalez, A.E., Bustos, J.A., Jimenez, J.A., Rodriguez, M.L., Ramirez, M.G., Gilman, R.H. and Garcia, H.H. 2012. Efficacy of diverse antiparasitic treatments for Cysticercosis in the pig model. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 87 (2): 292–296.
- Gottschalk, M. 2020. *Streptococcus suis* Infection in Pigs. [Online]. Available: <https://www.msdsmanual.com/generalized-conditions/streptococcal-infections-in-pigs/streptococcus-suis-infection-in-pigs>. Accessed February 10, 2022.
- Hamano, M., Lim, C.K., Takagi, H., Sawabe, K., Kuwayama, M., Kishi, N., Kurane, I. and Takasaki, T. 2007. Detection of antibodies to Japanese encephalitis virus in the wild boars in Hiroshima prefecture, Japan. *Epidemiol. Infect.* 135 (6): 874-977.
- Jongsuksuntigul, P. and Imsomboon, T. 2003. Opisthorchiasis control in Thailand. *Acta Trop.* 88: 229-232.
- Khalafalla, A.I., Lu, X., Al-Mubarak, A.I., Dalab, A.H.S., Al-Busadah, K.A. and Erdman, D.D. 2015. MERS-CoV in upper respiratory tract and lungs of dromedary camels, Saudi Arabia, 2013-2014. *Emerging infectious diseases.* 21 (7): 1153.
- Komadina, N., Roque, V., Thawatsupha, P., Rimando-Magalong, J., Waicharoen, S., Bomasang, E., Sawanpanyalert, P., Rivera, M., Iannello, P., Hurt, A.C., Barr, I.G. 2007. Genetic

- analysis of two influenza A (H1) swine viruses isolated from humans in Thailand and the Philippines. *Virus Genes*. 35: 161–165.
- Leelayoova, S., Siripattanapipong, S., Manomat, J., Piyaraj, P., Tan-Ariya, P., Bualert, L. and Mungthin, M. 2017. Leishmaniasis in Thailand: A review of causative agents and situations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 96 (3): 534-542.
- Lillyand, E.L. and Wortham, C.D. 2013. High prevalence of *Toxoplasma gondii* oocyst shedding in stray and pet cats (*Felis catus*) in Virginia, United States. *Parasit. Vectors*. 6: 266.
- Loftis, A., Castillo-Alcala, F., Bogdanovic, L. and Verma, A. 2014. Fatal Canine Leptospirosis on St. Kitts. *Vet. Sci.* 1: 150-158.
- Louisiana Office of Public Health. 2017. Leptospirosis. [Online]. Available: <http://www.leptospirosis.new.dhh.la.gov/.../infectiousEpi/EpiManual/LeptospirosisManual.pdf>. Accessed February 16, 2017.
- Mairiang, E. and Mairiang, P. 2003. Clinical manifestation of Opisthorchiasis and treatment. *Acta Trop.* 88: 221–227.
- Martins-Melo, F.R., Carneiro, M., Ribeiro, A.L.P., Bezerra, J.M.T. and Werneck, G.L. 2019. Burden of Chagas disease in Brazil, 1990-2016: findings from the Global Burden of Disease Study 2016. *Int. J. Parasitol.* 49 (3-4): 301-310.
- Mkupasi, E.M., Sikasunge, C.S., Ngowi, H.A. and Johansen, M.V. 2013. Efficacy and safety of anthelmintics tested against *Taenia solium* Cysticercosis in pigs. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 7 (7): e2200.
- Niwetpathomwat, A., Luengyosluechakul, S. and Geawduanglek, S. 2006. A serological investigation of leptospirosis in sows from central Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*. 37: 716–719.
- Okello, A.L., Burniston, S., Conlan, J.V., Inthavong, P., Khamlome, B., Welburn, S.C., Gilbert, J., Allen, J. and Blacksell, S.D. 2015. Prevalence of Endemic Pig-Associated Zoonoses in Southeast Asia: A Review of Findings from the Lao People's Democratic Republic. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 92 (5): 1059–1066. doi: 10.4269/ajtmh.14-0551.
- Pappas, G., Roussos, N. and Falagas, M.E. 2009. Toxoplasmosis snapshots: Global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital Toxoplasmosis. *Int. J. Parasitol.* 39: 1385-1394.
- Petersen, E., Vesco, G., Villari, S. and Buffolano, W. 2010. What do we know about risk factors for infection in humans with *Toxoplasma gondii* and how can we prevent infections? *Zoonoses Public Health*. 57: 8–17.

- Rahmana, M. and Chakraborty, A. 2012. Nipah virus outbreaks in Bangladesh: a deadly infectious disease. *WHO South-East Asia Journal of Public Health*. 1 (2): 208-212. [Online]. Available :[://www.who-seajph.org/temp/WHOSouthEastAsiaJPublicHealth12208-5297127_144251.pdf](http://www.who-seajph.org/temp/WHOSouthEastAsiaJPublicHealth12208-5297127_144251.pdf). Accessed February 10, 2020.
- Rahman, M. and Chakraborty, A. 2012. Nipah virus outbreaks in Bangladesh: a deadly infectious disease. *WHO South-East Asia J. Public Health*. 1: 208-212
- Roberts, L.S. and Janovy, J.R. 2005. Foundations of Parasitology. 7th eds. Mc Graw Hill Higher Education. Boston, USA. 604 pp.
- Rongkard, P., Kronsteiner, B., Hantrakun, V., Jenjaroen, K., Sumonwiriya, M., Chaichana, P., Chumseng, S., Chantratita, N., Wuthiekanun, V., Fletcher, H.A., Teparrukkul, P., Limmathurotsakul, D., Day, N.P.J. and Dunachie, S.J. 2020. Human Immune Responses to Melioidosis and Cross-Reactivity to Low-Virulence Burkholderia Species, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.* 26 (3): 463-471. doi: 10.3201/eid2603.190206.
- Saadatnia, G. and Golkar, M. 2012. A review on human Toxoplasmosis. *Scand. J. Infect. Dis.* 44 (11): 805-814.
- Schuller, S., Francey, T., Hartmann, K., Hugonnard, M., Kohn, B., Nally, J.E. and Sykes, J. 2014. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.* 56 (3): 159-179.
- Smyth, J.D. 1994. Introduction to Animal Parasitology. 3rd eds. Hodder and Stoughton, London, England. p 259-273.
- Soulsby, E.J.L. 1982. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. Balliere Tindall Publisher, London, England. 809 pp.
- Spickler, A.R. 2019. Zoonotic Tuberculosis. [Online]. Available : <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>. Accessed May 11, 2018.
- Suchrid, S., Inthong, N., Areesrisom, P., Mongkut, J., Rerkamnuaychoke, W., Pinyopanuwat N, Kengradomkij, C. and Jittapalapong, S. 2009. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibody in pig from slaughterhouse in the Northern Thailand. Proceedings of the 47th Kasetsart University Academic Meeting; 2009 Mar17-20; Bangkok, Thailand.
- Sutthikornchai, C., Mahithikorn, A. and Sukthana, Y. 2013. Quantitative PCR detection of *Toxoplasma gondii* in minced pork from selected morning markets in Bangkok, Thailand. *J. Trop. Med. Parasitol.* 36: 68-74.

- Suwancharoen, D., Hinjoy, S., Fungladda, W. and Yoshida, S. 2014. Serological survey of livestock leptospirosis in rural community, Nakhon Ratchasima, Thailand, 2004. *J. Thai Vet. Med. Assoc.* 65 (1-3): 1-12.
- Suwancharoen, D., Limlertvatee, S., Chetiyawan, P., Tongpan, P., Sangkaew, N., Sawaddee, Y., Inthakan, K. and Wiratsudakul, A. 2016. A nationwide survey of pathogenic leptospires in urine of cattle and buffaloes by Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method in Thailand, 2011-2013. *Vet. Med. Sci.* 78 (9): 1495-1500.
- Takemae, N., Parchariyanon, S., Damrongwatanapokin, S., Uchida, Y., Ruttanapumma, R., Watanabe, C., Yamaguchi, S. and Saito, T. 2008. Genetic diversity of swine influenza viruses isolated from pigs during 2000 to 2005 in Thailand. *Influenza and Other Respiratory Viruses.* 2 (5): 181-189. doi: 10.1111/j.1750-2659.2008.00062.x.
- The Center for Food Security and Public Health. 2018. Disease images: avian influenza. [Online]. Available: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease-images.php?name=avian-influenza&lang=en>. Accessed Sep 24, 2018.
- Tiensin, T., Chaitaweesub, P., Songserm, T., Chaisingh, A., Hoonsuwan, W., Buranathai, C., Parakamawongsa, T., Premashthira, S., Amonsin, A., Gilbert, M., Nelen, M. and Stegeman, A. 2005. Highly pathogenic avian influenza H5N1, Thailand, 2004. *Emerg. Infect. Dis.* 11 (11): 1664-1672.
- Trakulsomboon, S., Vuddhakul, V., Tharavichitkul, P., Na-Gnam, N., Suputtamongkol, Y. and Thamlikitkul, V. 1999. Epidemiology of arabinose assimilation in *Burkholderia pseudomallei* isolated from patients and soil in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med Public Health.* 30 (4): 756-759.
- Wacharapluesadee, S., Lumlertdacha, B., Boongird, K., Wanghongsa, S., Chanhom, L., Rollin, P., Stockton, P., Rupprecht, C.E., Ksiazek, T.G. and Hemachudha, T. 2005. Bat Nipah Virus, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.* 11 (12): 1949-1951.
- Waikagul, J., Dekumyoy, P. and Anantaphruti, M.T. 2006. Taeniasis, cysticercosis and echinococcosis in Thailand. *Parasitol. Int.* 55 (suppl) : S175-S180.
- Weigle, K.A., Valderrama, L., Arias, A.L., Santrich, C. and Saravia, N.G. 1991. Leishmanin skin test standardization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 44: 260-271.
- WHO, FAO and OIE. 2017. Zoonotic Tuberculosis. [Online]. Available : http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/Tuberculosis/Zoonotic_TB_factsheet.pdf. Accessed May 11, 2018.

- Wikipedia. 2019. *Leishmania*. [Online]. Available : https://en.wikipedia.org/wiki/Leishmania_donovani. Accessed June 1, 2019.
- Wiwanitkit, V.; Suwansaksri, J. and Chaiyakhun, Y. 2002. High prevalence of *Fasciolopsis buski* in an endemic area of liver fluke infection in Thailand. *Med.Gen. Med.* 4 (3): 6.
- World Health Organization (WHO). 2018. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). [Online]. Available: <http://www.who.int/features/qa/mers-cov/en/>. Accessed October 4, 2018.
- World Health Organization (WHO). 2019. Zoonoses. [Online]. Available : <https://www.who.int/topics/zoonoses/en/> Accessed June 1, 2019.
- World Health Organization (WHO). 2020. Zoonoses. [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>. Accessed February 10, 2022.
- World Health Organization (WHO). 2017. Rabies. [Online]. Available: <http://www.who.int/rabies/en/>. Accessed May 3, 2018.
- World Health Organization (WHO). 2021. Tuberculosis. [Online]. Available: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>. Accessed May 3, 2021.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2004. Chapter 2.2.9. Trichinellosis. In: Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. 5th eds. Office International Des Epizooties, France. p. 409–438.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2018a. Chapter 3.1.11. Leishmaniosis. In: Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. [Online]. Available [:/www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.11_LEISHMANIOSIS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.11_LEISHMANIOSIS.pdf). Accessed March 3, 2019.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2018b. Chapter 2.3.4. Avian influenza (Infection with Avian Influenza Viruses). version adopted in May 2015. In Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2018. [Online]. Available: <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>. Accessed Jan 23, 2018.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2018c. OIE Situation Report for Highly Pathogenic Avian Influenza (lastest update 31 May 2018). [Online]. Available: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/OIE_AI_situation_report/OIE_SituationReport_AI_31052018.pdf. Accessed Jun 10, 2018.

- World Organisation for Animal Health (OIE). 2018d. Chapter 2.1.17. Rabies (infection with rabies virus and other lyssaviruses). Version adopted in 2018. In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2018. [Online]. Available: <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>. Accessed August 1, 2018.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2018e. Chapter 3.1.12 Leptospirosis. In: Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. [Online]. Available : https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_LEPTO.pdf. October 21, 2021.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2018f. Chapter 3.9.5. Cysticercosis. In: Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. [Online]. Available : <http://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>. Accessed March 3, 2019.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2018g. “Chapter 3.9.9. Toxoplasmosis.” In: Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. [Online]. Available : http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.09.09_TOXO.pdf. Accessed March 11, 2019.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2021. Chapter 3.1.4 Brucellosis (infection with *B.abortus*, *B.melitensis* and *B.ovis*). In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2021. [Online]. Available : [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCELL OSIS.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCELL_OSIS.pdf). Accessed March 11, 2565

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการตรวจ

1. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจเชื้อไวรัส

1.1 สารละลาย PBS (stock solution, 10X)

NaCl	80	กรัม
KCl	2	กรัม
Na ₂ HPO ₄	11.5	กรัม
KH ₂ PO ₄	2	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : 1. ผสมสารเคมีกับน้ำกลั่นให้ละลายเข้ากัน ปรับให้ได้ความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 7.0 ถึง 7.4 จะได้ stock solution (10 x)

2. ึ่งด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

3. นำ stock solution ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาเจือจาง โดยผสมกับน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จะได้ working solution แล้วนำไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดัน

2. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย

2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

2.1.1 blood agar

magnesium sulfate, 7H ₂ O	0.1	กรัม
magnesium chloride, 7H ₂ O	0.0067	กรัม
disodium hydrogen phosphate, 12H ₂ O	0.0067	กรัม
casein hydrolysate	5	กรัม
yeast extract	3	กรัม
potassium chloride	6.67	กรัม
sebacic acid	0.01	กรัม
agar	10	กรัม
peptone	5	กรัม
cysteine HCl	0.05	กรัม
sodium pyruvate	2	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี ปรับ pH ให้เป็น 7.4 นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเทเลือดที่เอาไฟบรินออกแล้ว 50 มิลลิลิตร แล้วเทลงจานเพาะเชื้อ ปิดฝาและทิ้งไว้ให้เย็น

2.1.2 MacConkey agar

peptone	20	กรัม
lactose	10	กรัม
sodium chloride	5	กรัม
ox bile	106	มิลลิลิตร
neutral red	0.075	กรัม
agar	9	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วเทลงจานเพาะเชื้อ ปิดฝาและทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.1.3 tryptic soy agar (TSA)

pancreatic digest of casein	15	กรัม
peptic digest of soybean meal	5	กรัม
sodium chloride	5	กรัม
agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วเทลงจานเพาะเชื้อ ปิดฝาและทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.1.4 tryptic soy broth (TSB)

tryptic soy broth	3	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม ผสมให้เข้ากันดี เทใส่หลอดทดลองขนาด 13 x 100 ที่มีฝาปิด นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที วางเอียงๆให้อยู่ในรูป slant สูงประมาณ 3 เซนติเมตร รอให้เย็น และเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.2 การเตรียมสีย้อมแกรม (ammonium oxalate crystal violet)

2.2.1 เตรียมสารละลาย crystal violet

crystal violet	2	กรัม
ethyl alcohol	20	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม ละลาย crystal violet ใน ethyl alcohol

2.2.2 เตรียมสารละลาย ammonium oxalate

ammonium oxalate	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	80	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม ละลาย ammonium oxalate ในน้ำกลั่น

วิธีเตรียม ammonium oxalate crystal violet โดยผสม gram's crystal violet และ ammonium oxalate และคนให้เข้ากัน

2.3 สารละลายสำหรับการตรวจทางชีวเคมี

2.3.1 triple sugar iron (TSI)

enzymatic digest of casein	5	กรัม
enzymatic digest of animal tissue	5	กรัม
yeast enriched peptone	10	กรัม
dextrose	1	กรัม
sucrose	10	กรัม
lactose	10	กรัม
ferrous ammonium citrate	0.2	กรัม
sodium thiosulfate	0.3	กรัม
NaCl	5	กรัม
phenol red	0.025	กรัม
agar	13.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี ปรับ pH ให้ได้ 7.93 นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้ว แบ่งใส่หลอดทดลอง วางเอียงๆให้อยู่ในรูป slant สูงประมาณ 3 เซนติเมตร รอให้เย็น และเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.2 methyl red

methyl red	0.1	กรัม
95% ethanol	300	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม ผสมให้เข้ากันดี และเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.3 Barritt's reagent A (5%alpha-naphthol)

alpha-naphthol	5	กรัม
absolute ethanol	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี จากนั้นเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.4 Barritt's reagent B (40% KOH)

KOH	40	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี จากนั้นเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.5 methyl red Voges-Proskauer broth (MR-VP broth)

buffered peptone	7	กรัม
glucose	5	กรัม
dipotassium phosphate	5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี เทใส่หลอดทดลอง หลอดละ 5 มิลลิลิตร และเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.6 urea broth

urea base agar	24	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมและนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้ว แบ่งใส่หลอดทดลอง วางเอียงๆ ให้อยู่ในรูป slant สูงประมาณ 3 เซนติเมตร

2.3.7 Kovac's reagent

tetramethyl p-phenylene-diamine	1	กรัม
ascorbic acid	1	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี จากนั้นเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.8 Simmon's citrate agar slant

sodium chloride	5	กรัม
sodium citrate	2	กรัม
ammonium dihydrogen phosphate	1	กรัม
dipotassium phosphate	1	กรัม
magnesium sulfate	0.2	กรัม
bromthymol blue	0.08	กรัม
agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี ปรับ pH ให้ได้ 6.9 นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.9 สารละลาย carbol fuchsin

basic fuchsin	0.3	กรัม
95% ethanol	10	มิลลิลิตร
phenol	5	กรัม
น้ำกลั่น	95	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.10 สารละลาย 0.5% acid-alcohol

HCl	0.5	มิลลิลิตร
absolute ethanol	70	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	30	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.11 สารละลาย 0.5% tetramethyl-p-phenylenediamine HCl

tetramethyl-p-phenylenediamine HCl 0.5 กรัม

น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.12 sulfide, indole, motility (SIM)

pancreatic digest of casein 2 กรัม

peptic digest of animal tissue 0.61 กรัม

ferrous ammonium sulfate 0.02 กรัม

sodium thiosulfate 0.02 กรัม

agar 0.35 กรัม

น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี ปรับ pH ให้ได้ 7.3 นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วเทลงจานเพาะเชื้อ ปิดฝาและทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3 สารละลายต่างๆ

2.3.1 สารละลาย 0.85% Normal saline

sodium chloride 8.5 กรัม

น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี ปรับ ให้ได้ pH 7.3 นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3.2 สารละลายไอโอดีน

iodine 1 กรัม

potassium iodide (KI) 2 กรัม

น้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม ผสม iodine และ potassium iodide ในโถรง ใช้สากบดให้ละเอียด แล้วจึงค่อยๆ เติมน้ำกลั่นลงไป ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกับน้ำน้ำกลั่น

2.3.3 safranin

safranin	0.25	กรัม
ethyl alcohol	10	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม ละลาย safranin ในเอทิลแอลกอฮอล์ แล้วจึงเติมน้ำกลั่น และทำการคนให้เข้ากัน จากนั้นจึงกรองผ่านกระดาษกรองเอาแต่ส่วนที่เป็นของเหลวสีแดงไปใช้

2.3.4 alsever's

glucose	20.5	กรัม
NaCl	4.2	กรัม
Citric acid	0.55	กรัม
Sodium citrate	8	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม หลังจากผสมให้เข้ากันดี ปรับ pH ให้ได้ 7.3 นำไปนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ที่ทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

3. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจเชื้อปรสิต

3.1 สารละลายที่ใช้ในวิธีการย่อยชิ้นเนื้อ ได้แก่ น้ำย่อยเทียม (artificial digestion fluid, 1% pepsin-HCl)

pepsin	10	กรัม
37% HCl	10	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม :

1. ใส่ น้ำกลั่น 990 มล. ลงในขวดแก้วมีฝาปิดขนาดความจุ 1,000 มิลลิลิตร และ เติม HCl 10 มิลลิลิตร ลงในน้ำ จากนั้นเขย่าเบาๆ ให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน
2. ชั่ง pepsin 10 กรัม เทลงในขวด เขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
3. นำสารละลายที่ได้ ไปแช่ไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส เพื่อเป็นการกระตุ้นให้พร้อมในการใช้งาน

หมายเหตุ ควรเตรียมให้พอดีหรือใกล้เคียงกับปริมาณที่จะใช้ เพราะน้ำย่อยเทียมเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยกล้ามเนื้อสัตว์ การเก็บไว้จะทำให้คุณภาพลดลง

3.2 สารละลายที่ใช้ในวิธีการตรวจจุลภาวะ

3.2.1 modified Kato-Katz technique

สารละลายมาลาไคน์กรีน (glycerine malachite green)

3% malachite green	1	มิลลิลิตร
glycerol	100	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : คนให้เข้ากัน เก็บรักษาน้ำยาที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)

3.2.2 flotation technique

สารละลาย น้ำเกลืออิ่มตัว (ความถ่วงจำเพาะ 1.2)

เกลือ (NaCl)	360	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ใส่เกลือลงในน้ำกลั่น จนเกลือไม่ละลายแล้ว จากนั้นนำมาตรวจวัดค่าความถ่วงจำเพาะ เก็บรักษาน้ำเกลือที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)

3.2.3 simple sedimentation technique

1 % methylene blue

methylene blue	1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : คนให้เข้ากัน เก็บรักษาน้ำยาที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)

3.2.3 modified Ziehl-Neelsen technique (MZN)

สี carbol-fuchsin (Ziehl's fuchsin)

สารละลาย A	10	มิลลิลิตร
5% phenol	90	มิลลิลิตร

สารละลาย A เตรียมมาจาก

fuchsin	15	กรัม
ethanol	100	มิลลิลิตร

10 % acid alcohol

sulfuric acid	10	มิลลิลิตร
absolute methanol	90	มิลลิลิตร

3 % malachite green

malachite green	3	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

4. สารละลายที่ใช้ในวิธีการตรวจซีรัม

4.1 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในวิธี DAT

NaCl	0.9	กรัม
β -mercapto-ethanol	780	ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด เตรียมใหม่ทุกครั้ง เมื่อจะใช้

4.2 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในวิธี IFAT

4.2.1 PBS (FA), pH 7.2

NaCl	0.8	กรัม
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.24	กรัม
KH_2PO_4	0.02	กรัม
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.2.2 mounting medium

glycerine	9	ส่วน
PBS (FA)	1	ส่วน

วิธีเตรียม : ผสมให้เข้ากันดี

4.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในวิธี ELISA

4.3.1 PBS, pH 7.4

	1 ×	10 ×
NaCl	8 กรัม	80 กรัม
KH ₂ PO ₄	0.2 กรัม	2 กรัม
Na ₂ HPO ₄	2.89 กรัม	28.9 กรัม
KCl	0.2 กรัม	2 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร	1,000 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.2 coating buffer, pH 9.6

Na ₂ CO ₃	1.59	กรัม
NaHCO ₃	2.93	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด ปรับ pH ด้วย HCl เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.3 washing solution

tween 20	200	ไมโครลิตร
PBS	1,000	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.4 blocking buffer

skim milk	1	กรัม
PBS	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.5 serum buffer

BSA	1	กรัม
tween 20	0.1	มิลลิลิตร
PBS	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.6 conjugate buffer

tween 20	150	ไมโครลิตร
PBS	100	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.7 TMB substrate (3, 3', 5, 5' tetramethyl benzidine) 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

stock TMB	100	ไมโครลิตร
citric acetate buffer	10	มิลลิลิตร
diluted H ₂ O ₂	25	ไมโครลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.8 Stock TMB เตรียมมาจาก

ผง TMB	0.1	กรัม
DMSO	10	มิลลิกรัม

วิธีเตรียม : ผสมให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.9 citrate acetate buffer (pH 5.6) เตรียมมาจาก

1 M sodium acetate	1	มิลลิลิตร
1 M citric acid	40	ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	9	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.10 1 M sodium acetate เตรียมมาจาก

CH ₃ COONa.3H ₂ O	13.61	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.11 1 M citric acid เตรียมมาจาก

citric acid anhydrous	9.61	กรัม
(หรือ citric acid monohydrate)	10.51	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

4.3.12 diluted H₂O₂ มาจาก,

30% H ₂ O ₂	25	ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	400	ไมโครลิตร

- วิธีเตรียม :
1. เตรียม 1 M sodium acetate, 1 M citric acid และ diluted H_2O_2
 2. เตรียม citrate acetate buffer
 3. แล้วจึงเตรียม TMB substrate

4.3.13 stop solution (1 N sulfuric acid) for TMB substrate

H_2SO_4	5 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	175 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้เข้ากัน เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

5. สารละลายที่ใช้ในการตรวจด้วยวิธีอณูชีววิทยา

1.1 polymerase chain reaction (PCR)

TBE buffer

	40x	20x	10x
Tris base (1 M)	242 กรัม	121 กรัม	60.55 กรัม
boric acid (1 M)	123.4 กรัม	61.7 กรัม	30.85 กรัม
EDTA- $Na_2 \cdot 2H_2O$ (20 mM)	14.4 กรัม	7.2 กรัม	3.6 กรัม
H_2O ให้เป็น	1,000 มิลลิลิตร	1,000 มิลลิลิตร	1,000 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

TAE buffer

	40x	20x	10x
Tris base (1.6M)	193.6 กรัม	96.8 กรัม	48.4 กรัม
Na acetate. $3H_2O$ (0.8 M)	129.6 กรัม	54.45 กรัม	27.225 กรัม
EDTA- $Na_2 \cdot 2H_2O$ (40 mM)	30.4 กรัม	7.6 กรัม	3.8 กรัม
ปรับ pH ให้เป็น 7.2 ด้วย acetic acid			
H_2O ให้เป็น	1,000 มิลลิลิตร	1,000 มิลลิลิตร	1,000 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม : ผสมให้ละลายหมด เก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข

การเตรียมตัวอย่าง

1. สำหรับการชันสูตรไข่วัตถุ

หากตัวอย่างทดสอบเป็น chorioallantoic fluid (CAF) จากไข่ไก่ฟัก สามารถนำตัวอย่างมาสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสได้ทันที แต่กรณีตัวอย่างอวัยวะ, swabs และ chicken embryo fibroblasts (CEF) ต้องนำมาสกัดแยกไวรัสให้อยู่ในรูปสารละลายก่อน ดังนี้

1.1 การเตรียม 10% suspension จากตัวอย่างอวัยวะ

1.1.1 นำตัวอย่างอวัยวะหนัก 1 กรัม ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ด้วยกรรไกรสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

1.1.2 ใส่ตัวอย่างลงในโถงบดปลอดเชื้อ เติมหายขาวละเอียดที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงไปเล็กน้อย จากนั้นบดให้ละเอียด

1.1.3 นำตัวอย่างที่บดมาทำเป็นสารละลายเจือจาง 10% (w/v) โดยเติมน้ำละลาย 1 x PBS ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเทสารละลายที่ได้ใส่หลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

1.1.4 ปั่นเหวี่ยงสารละลายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 x g นาน 10 นาที

1.1.5 เก็บส่วนใส (supernatant) แยกใสในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ ใหม่

1.1.6 กำจัดแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนโดยการกรองสารละลายด้วย syringe filter ขนาด 0.2 หรือ 0.45 ไมโครลิตร หรือเติมยา gentamicin 60 ไมโครลิตร, streptomycin 10 ไมโครลิตร และ penicillin 10 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลอดตัวอย่าง แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง

1.1.7 นำสารละลายที่ได้ไปทำการทดสอบต่อไป หรือเก็บในบริเวณที่เก็บตัวอย่างทดสอบ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในตู้แช่แข็งเพื่อรอการทดสอบ หรือเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ในตู้แช่แข็งสำหรับเก็บรักษาเชื้อไวรัสในระยะยาว

1.2 การเตรียมตัวอย่าง swabs จาก cloacal swabs, oropharyngeal swabs และ tracheal swabs

1.2.1 นำหลอดตัวอย่างไปแช่ยาแรง ๆ โดยใช้เครื่องเขย่าสาร นานประมาณ 3-5 วินาที แล้วแยกเอาก้านสำล่ออก

1.2.2 เทตัวอย่างที่ได้ใสในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอด ใช้หนึ่งหลอดสำหรับการทดสอบ และอีกหนึ่งหลอดสำหรับเป็น stock เก็บไว้ที่ -80 องศาเซลเซียส

1.2.3 ปั่นเหวี่ยงสารละลายทดสอบด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,000 x g นาน 10 นาที หรือ 2,500 x g นาน 5 นาที

1.2.4 เก็บส่วนใส แยกใสในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ใหม่

1.2.5 กำจัดแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนโดยการกรองสารละลายด้วย syringe filter ขนาด 0.2 หรือ 0.45 ไมโครลิตร หรือเติม gentamicin 60 ไมโครลิตร, streptomycin 10 ไมโครลิตร และ penicillin 10 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลอดตัวอย่าง แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง

1.2.6 นำของเหลวที่ได้ ไปทำการทดสอบในขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสต่อไป หรือเก็บในบริเวณที่เก็บตัวอย่างทดสอบ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในตู้แช่แข็งเพื่อรอการทดสอบ หรือเก็บ ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ในตู้แช่แข็งสำหรับเก็บรักษาเชื้อไวรัสในระยะยาว

1.3 การเตรียมตัวอย่าง cell-culture supernatants จากเซลล์ปฐมภูมิ chicken embryo fibroblasts (CEF)

1.3.1 เตรียมไวรัสจากเซลล์เพาะเลี้ยง โดยการแช่แข็งและละลาย (freeze-thaw) 3 ครั้ง ที่ อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส เพื่อให้เซลล์แตกและไวรัสหลุดออกมานอกเซลล์ หรือเก็บ แคส่วนของน้ำเลี้ยงเซลล์จากเซลล์เพาะเลี้ยงไวรัส แล้วปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว $8,000 \times g$ นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อแยกส่วนใสออกจากตะกอนที่เป็นกากเซลล์

1.3.2 นำส่วนใสที่ได้ไปทำการทดสอบในขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสต่อไป หรือ เก็บในบริเวณที่เก็บตัวอย่างทดสอบ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในตู้แช่แข็ง เพื่อรอการทดสอบ หรือเก็บที่ อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ในตู้แช่แข็ง สำหรับเก็บรักษาเชื้อไวรัสในระยะยาว