



จดหมายข่าว

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
National Institute of Animal Health [NIAH] Newsletter

ปีที่ 5 ฉบับที่ 4 ประจำเดือน กรกฎาคม - สิงหาคม 2539

ISSN 0858-4516

การชันสูตรโรควัวโรคทาง อินนูน-ซีรั่มวิทยาและแบคทีเรียวิทยา

สัตว์แพทย์หญิงมนยา เอกทัตร์
กลุ่มงานอินนูนและซีรั่มวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

Dr.Masaharu Kanameda
ผู้เชี่ยวชาญ JICA ปฏิบัติงานที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

วัณโรคเป็นโรคควบคุมตามพระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ.2499 และพระราชบัญญัติควบคุมการฆ่าและจำหน่ายเนื้อสัตว์ พ.ศ.2523 จึงนับว่าโรคนี้นี้มีผลกระทบต่อเลี้ยงสัตว์และสุขภาพอนามัยของประชาชนเนื่องจากเป็นโรคติดต่อมาสู่คน (Zoonosis) ดังนั้นจึงควรมีมาตรการป้องกัน ควบคุม กำจัด และชันสูตรโรคที่มีประสิทธิภาพซึ่งจะได้นำเสนอในจดหมายข่าวฯ ฉบับนี้

วัณโรคเป็นโรคติดต่อเรื้อรังที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* หรือ *Mycobacterium avium* ในคน สัตว์เลี้ยง และสัตว์ป่า เนื่องจากการเพิ่มผลผลิตของโคนมโคเนื้อและความปลอดภัยของผู้บริโภคเกี่ยวข้องโดยตรงกับการที่สัตว์ปลอดจากวัณโรค ในประเทศสหรัฐอเมริกาได้เริ่มมีโปรแกรมการกำจัดโรควัณโรคในโคตั้งแต่ปี ค.ศ. 1917 (พ.ศ.2460)

ปัจจุบันได้พบปัญหาของวัณโรคในสัตว์ป่าจำพวกกวางมากขึ้นซึ่งจะเป็นตัวอมโรคและทำให้เพิ่มการเป็นโรควัณโรคในโคมากขึ้นได้ ดังนั้นจึงมีการเฝ้าระวังโรคในสัตว์ต่างๆ ด้วย มาตรฐานในการชันสูตรโรควัณโรคในโค คือ Tuberculin skin test ซึ่งจะมีหลายแบบและพบปัญหาหลายประการในการทดสอบโรค (สมาน, พ.ศ.2515)

ยอคยศและคณะ (พ.ศ.2535) ศึกษาวัณโรคในโคนมเขตภาคกลาง โดยทดสอบด้วยวิธี Tuberculin skin test ที่โคนทาง ผลปรากฏว่าพบ reactor 0.85%

ชัยวัฒน์และคณะ (พ.ศ.2535) ศึกษาวัณโรคในโคนมเขตภาคเหนือ โดยทดสอบด้วยวิธี Tuberculin skin test ที่โคนทาง ผลปรากฏว่าพบ reactor 0.089% (1 ตัว จากทั้งหมด 1,118 ตัว) และทดสอบโดยวิธี ELISA พบให้ผลบวก 18 ตัว

จิตและคณะ (พ.ศ.2535) มีการศึกษาวัณโรคในกระบือที่มีลักษณะซุบซอม พบว่าวิธี stormont test ให้ผล sensitive ที่สุด

นอกจากนี้ Kanameda และมนยา (พ.ศ.2535) ได้แยกเชื้อ *M. bovis* จากวิธีการของเนื้อเยื่อปอดโดยวิธีง่ายๆ ตามวิธีการของ Jamagin และคณะ (1989)

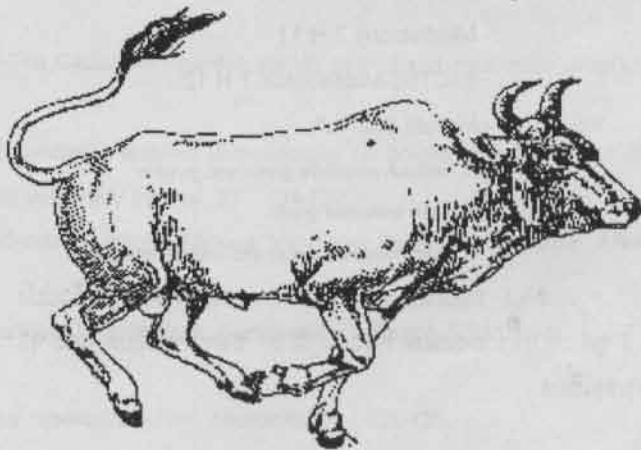
การชันสูตรโรคในห้องปฏิบัติการที่ศึกษากันมีดังนี้

1. Cell-mediated immunological Test

วิธี Interferon- γ Assay ได้พัฒนามาจากวิธี comparative tuberculin test ซึ่งทำการทดสอบในตัวโคและเปลี่ยนมาเป็นทดสอบในห้องปฏิบัติการ โดยมีหลักการคือ เซลล์ T-lymphocytes ของโคที่ติดเชื้อ *M. bovis* เมื่อถูกกระตุ้นด้วย bovine PPD เซลล์จะตอบสนองโดยการหลั่ง IFN- γ ออกมาและทดสอบ IFN- γ ด้วยวิธี enzyme immunoassay

2. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

ได้มีนักวิจัยมากมายที่พยายามศึกษาและนำวิธี ELISA มาช่วยในการชันสูตรโรค ซึ่ง Ritacco และคณะ (1994) ได้พบว่าวิธีนี้จะใช้ในการชันสูตรวัณโรคในโคเพียงวิธีเดียวไม่ได้ แต่สามารถจะใช้ร่วมกับวิธีอื่นๆ ได้ซึ่งจะมีประโยชน์ สำหรับในระยะแรกของการแผนการควบคุมโรควัณโรคในโคเพื่อกำจัดโคที่เป็นโรคซึ่งอยู่ในระยะลุกลาม (advance) เพราะสามารถจะช่วยลดแหล่งที่แพร่โรคได้ ในประเทศไทย Kanameda และคณะ (1994) ได้ใช้วิธี ELISA ช่วยในการตรวจวัณโรคในกระบือ และพบว่าวิธีการของโรควัณโรค จะมีควมสัมพันธ์กับผลของค่า optical density ของการทดสอบโดยวิธี ELISA และ Griffin และคณะ (1994) ได้ศึกษาการทดสอบวิธี ELISA ร่วมกับวิธีอื่นนั้น พบว่าหลังจากทำ skin test เป็นเวลา 10 วัน วิธี ELISA มีความไวสูงขึ้นเป็น 85.3%



3. การชันสูตรโรคได้ใช้หลายวิธีร่วมกัน

ในการชันสูตรโรคอาจจะใช้การทดสอบหลายวิธีร่วมกันในแต่ละวิธีต้องคำนึงถึงความจำเพาะและความไว ในการศึกษาการควบคุมและติดตามโรคโดยใช้หลักการ slaughter surveillance นั้นทำการโดยตรวจวิธีการของวัณโรคที่โรงฆ่าสัตว์และส่งวิธีการของเนื้อเยื่อมาตรวจทางจุลพยาธิวิทยาและแยกเชื้อแบคทีเรียสำหรับเป็นการยืนยันโรควิธีการนี้จะทำให้เพิ่มความจำเพาะในการทดสอบให้แม่นยำยิ่งขึ้น ทำให้ทราบที่มาของโรคได้เพื่อประโยชน์ในการเฝ้าระวังโรค ส่วนการทดสอบในตัวสัตว์จะทำการทดสอบโดยใช้ caudal fold tuberculin test เป็นการทดสอบเบื้องต้นและทำการทดสอบวิธี comparative cervical test รวมด้วย เพื่อตัดสินการเป็นโรค ถึงแม้ว่าวิธีการเหล่านี้จะช่วยลด false-positive ได้ แต่ก็ทำให้ลดความไวในการทดสอบลงเพราะพบว่าเป็น false-negative ในวิธีที่ 2 ที่ใช้ร่วมกัน ในประเทศนิวซีแลนด์ Griffin และคณะ (1994) ใช้วิธี intradermal skin test พร้อมกับทำการทดสอบทางซีรั่มวิทยาในฟาร์มกวาง พบว่าในฟาร์มที่เป็นโรคในอัตราสูง (> 30%) เมื่อใช้วิธี intradermal skin test ร่วมกับ Lymphocyte transformation (LT) และวิธี ELISA โดยทั้ง 3 วิธีรวมเรียกว่า Blood Tuberculin (BTB) Test และพบว่าการตรวจด้วยวิธี ELISA ก่อนทำ skin test มีความไวในการทดสอบ 45.7% ส่วนวิธี LT และ BTB มีความไว 90.7% และ 95.7% ตามลำดับ แต่หลังจากทำ skin test ประมาณ 10 วัน เมื่อทดสอบด้วยวิธี ELISA พบว่าความไวเพิ่มขึ้นเป็น 85.3% ส่วนในฝูงกวางที่ไม่ติดโรค พบว่า ELISA มีความไว 100% สำหรับวิธี LT และ BTB พบว่าหลังจากทำ skin test จะมีความไวเพิ่มขึ้นเช่นกัน วิธีการนี้ใช้ในฟาร์มกวางได้ผลดีกว่าในโค

4. การตรวจทางแบคทีเรียวิทยา

4.1 การเพาะแยกเชื้อ จะมีวิธีการ คือ

4.1.1 การเตรียมตัวอย่าง

ตัดเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นไขมันออกและบดตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มี phenol red และ decontaminate ด้วยต่างประมาณ 10 นาที ทำให้เป็นกลางด้วยกรดแล้วปั่นเหวี่ยงเก็บ supernatant

4.1.2 ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ

- Lowenstein Jensen (LJ)
- Stonebrink egg mediueme
- middlebrook 7 H 10
- Middlebrook 7 H 11
- BACTEC Middlebrook 7 H 12
- Herrold Egg Yolk.
 - 1. without malachite green and glycerin
 - 2. with malachite green
 - 3. with malachite green and without mycobactin

4.1.3 Incubation หลังจาก inoculate ตัวอย่างแล้วแบ่งเป็น 2 ชุด นำเข้า incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 42 องศาเซลเซียส

4.2 Identification Procedures

- Identification time : การชันสูตรโดยทั่วไปจะใช้เวลาประมาณ 3 สัปดาห์ และหากทำ DNA Probe หรือ Gas liquid chromatography จะใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง

- คุณลักษณะของ Colony

M. avium : มีสีขาว สีครีม ส้มเหลืองอ่อนๆ มีลักษณะเรียบ หยาบ และนูน ไม่สร้าง pigment ในที่มีด

M. bovis : โคโลนีเล็ก มีสีขาวครีม นูนเล็กน้อยจนถึงแบน ขอบมีลักษณะไม่เรียบ ทึบ และไม่สะท้อนแสง

- คุณลักษณะของ cell

M. avium : สั้น, coccoidal acid-fast rods, ไม่เป็น cord มีขนาด $0.5\mu - 0.75\mu \times 0.5\mu$

M. bovis : ยาว, acid-fast rods เป็น cord, มีขนาด $1.0\mu - 3.0\mu \times 0.5\mu$ มีลักษณะเป็นขดๆ งอๆ

- Antimicrobial sensitivity patterns

M. bovis : จะ sensitive ต่อ Isoniazid, TCH, Neotetrazolium และ Streptomycin

M. avium : resistant

- Biochemical Tests : ใช้เวลาประมาณ 14 วัน

- Serological tests for MAIS complex organisms (จะทำในกรณีพิเศษเท่านั้น)

- Computer analyzed เพื่อต้องการทราบความเป็นไปได้ว่า จะเป็นเชื้อตัวใด

- DNA Probes

- Gas-liquid Chromatography

- Animal pathogenicity

5. การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

มีหลายโรคซึ่งมีวิธีการที่ดูด้วยตาเปล่าคล้ายคลึงกับวัณโรคมาก เช่น Actinobacillosis/Actinomycosis, Coccidioidomycosis, Phycomycosis, *Rhodococcus equi* infection and other pyogranulomas, Malignant neoplasms, Parasitic infections, Abscesses

6. การเก็บตัวอย่างส่งห้องปฏิบัติการ

6.1 เก็บส่งห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อแบคทีเรีย : แช่เย็น

6.2 เก็บส่งห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา : เก็บใน 10%

ฟอร์มาลินบัฟเฟอร์

ข้อควรระวังในการเก็บตัวอย่าง

- ชื่อและหมายเลขของสัตว์ต้องติดฉลากที่ตัวอย่างด้วย
- วิธีการ : เก็บวิธีการเนื้อเยื่อ
- เก็บต่อมน้ำเหลืองที่สำคัญคือ Tracheobronchial l.n., Mandibular l.n., Mediastinal l.n., Parotid l.n., Medial retropharyngeal l.n., Mesenteric l.n. (avian)

- ตุ่มหนอง(tubercle) ที่พบไม่ควรจะผ่าวิธีการตุมหนอง เนื่องจากจะทำให้เป็นการแพร่เชื้อได้ง่าย ควรเก็บทั้งวิธีการเพื่อส่งห้องปฏิบัติการสำหรับตรวจแยกเชื้อแบคทีเรีย

- เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ที่ปนเปื้อนเชื้อโรคสามารถฆ่าเชื้อด้วยการต้ม

7. น้ำยาฆ่าเชื้อ

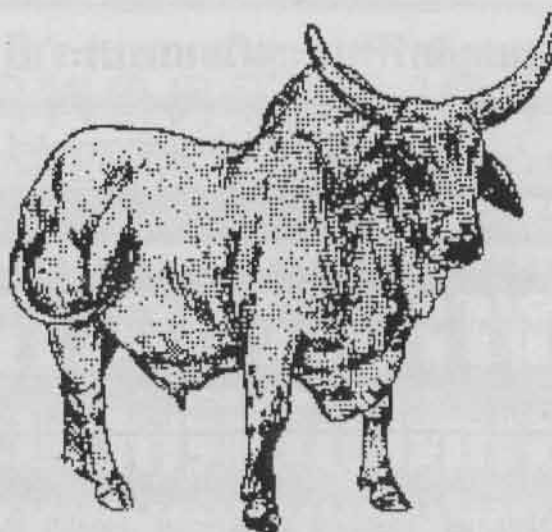
Amphyl 4%	Micro-Bac
Phenol 5%	LPH one stroke system
Medol 2%	Vesphene II

8. การรักษา

การรักษาในคนให้ผลดี โดยการให้ยาพร้อมกันหลายชนิดใช้เวลาในการรักษาค่อนข้างนาน ได้มีผู้ศึกษาการรักษาในโคพบว่าให้ผลเช่นกันและรักษาทุกวันเป็นเวลา 4-12 เดือน แต่เมื่อยุติให้ยาสัตว์จะมีอาการทรุดลง และอาจมียาตกค้างในเนื้อ ดังนั้นในโคหรือสัตว์อื่นๆ ที่ใช้เนื้อบริโภคจึงไม่แนะนำให้รักษา และอีกประการหนึ่งหากรักษาสัตว์ที่ติดเชื้อ *M. bovis* และเชื้อมัยcobacteria อื่นๆ อาจจะทำให้เกิดปัญหาในคนได้

เอกสารอ้างอิง

- ชิต ศิริวรรณ, ทิพา ตันติเจริญยศ, ประทีป เปมะโยธิน, สุรสิงห์ ศรีจำญญ (2535) : การทดสอบทางผิวหนังในกระบือปลักที่สงสัยเป็นวัณโรคประมวลเรื่องเติมการประชุมวิชาการด้านปศุสัตว์ครั้งที่ 11 วันที่ 16-19 กันยายน หน้า 67-80
- ชัยวัฒน์ วิหารกุล, อธิพิณ ชัยชนะพูนผล, สุชาติ ชื่นประเสริฐ, เสกสรร ไชยเสริฐ (2535) : การศึกษาเบื้องต้นการใช้วิธีไลซ่าเทคนิคในการทดสอบโรควัณโรคในโคนม สัตวแพทยสาร 43(3) : 45-51
- สมาน พิพิธกุล (2515) : ปัญหาการทดสอบทูเบอร์คิวลินในโคนม สัตวแพทยสาร 23(3):19-29
- ยอดยศ มีพิสน์, พินัย มุลิกุล และจตุพร สมิตานนท์ (2535) : การสำรวจวัณโรคและพาราทูเบอร์คิวโลสิสระยะเริ่มแรกในโคนมภาคกลาง โดยทดสอบทางผิวหนังพร้อมกัน ประมวลเรื่องเติมการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 30 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 29 มกราคม - 1 กุมภาพันธ์ หน้า 373-379
- Griffin, J.F.T., Cross, J.P., Chinn, D.N., Rodgers, C.R and Buchan, G.S.(1994) : Diagnosis of tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in New Zealand red deer (*Cervus elaphus*) using a composite blood test and antibody assays. *New Zealand Veterinary Journal*. 42 : 173-179
- Harboe, M., Wiker, H.G., Duncan, J.R., Garcia, M.M., Dukes, T.W., Brooks, B.W., Turcotte, C. and Nagai, S. 1990 : Protein G-based enzyme-linked immunosorbent assay for anti-MPB 70 antibodies in bovine tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 28 : 913-921
- Jarnagin, J.L., Payer, J.B. 1989 : A simplified system for identification of mycobacteria of Veterinary interest in developing countries. *Proceeding of the 93 rd Annual Meeting of the United States Animal Health Association*, Las Vegas, Nevada. P 599-605
- Kanameda, M. and Ekgatut, M. 1993 : Isolation of *Mycobacterium bovis* from The water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Proceedings of The 12th Annual Livestocks Conference*. July 21-24, p 127-131
- Kanameda, M., Ekgatut, M., Sirivan, c., Buchaphan, K., Patchimasiri, T. Narongwanitchakarn, W., Wongkasemchit, S., Gasornsombat, D., Tanticharoenyos, T., Shoya, S., Kongkrong, C., Apiwatnakorn, B. Arsayuth, K., Yamaguchi, R., Leesirikul, N., Ogawa, T., and Pemayodhin, P. 1994 : Detection of tuberculosis in swamp buffaloes : Comparison of tuberculin skin tests, ELISA and Gamma-interferon assay. *Proceedings of the First Asian Buffalo Association Congress*, Khon Kaen, Thailand, January 17-21, p 396-401.
- Kantor, I.N.de, Ritacco, V. 1994 : Bovine Tuberculosis in Latin America and The Caribbean : current status, control and eradication programs. *Vet. Microbiol.* 40 : 5-14.
- Rothel, J.S., Jones, S.L., Corner, L.A., Cox, J.C., and Wood, P.R.(1990) : A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferon- γ and its use for the detection of tuberculosis in cattle. *Australian veterinary Journal*. 67 : 134-137.
- U.S. Department of Agriculture 1993 : Laboratory Methods in Veterinary Mycobacteriology. National Veterinary Service Laboratories, APHIS, Ames, Iowa.
- U.S. Department of Agriculture 1994 : Basic Tuberculosis Training for Regulatory Veterinarians, Compiled by : Joseph S. Van Tiem APHIS/VS.
- Wood, P.R., Rothel, J.S. 1994 : In vitro immunodiagnostic assays for bovine tuberculosis. *Vet. Microbiol.* 40 : 125-135.



กรมปศุสัตว์จัดประชุมวิชาการประจำปี 2539

กรมปศุสัตว์จะจัดประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 15 ประจำปี 2539 ระหว่างวันที่ 4-6 กันยายน 2539 ณ ห้องราชเทวี โรงแรมเอเชีย กรุงเทพฯ ในการประชุมครั้งนี้ โดยมีกิจกรรมการประชุมที่สำคัญได้แก่ Slide Multivision เรื่อง "ด้วยสายพระเนตรอันยาวไกล ปศุสัตว์ไทยพัฒนา" การบรรยายพิเศษเรื่อง "พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวกับการพัฒนาการเลี้ยงโคนมของประเทศไทย" "มุมมองตลาดน้ำมันของประเทศไทยในทศวรรษหน้า" "การเสริมสร้างประสิทธิภาพการตลาดโคเนื้อ-โคขุนของไทยเชิงรุก" "การป้องกันรักษาสิ่งแวดล้อมและผลกระทบต่อการพัฒนาปศุสัตว์ของประเทศ" "กลยุทธ์การพัฒนาทรัพยากรมนุษย์ในยุคโลกาภิวัตน์" "การประยุกต์โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการจัดการฟาร์ม" รวมทั้งการเสนอผลงานวิจัยและพิธีมอบรางวัลผลงานวิจัยประจำปี 2538 ผู้ที่สนใจสอบถามรายละเอียดเพิ่มเติมได้ที่ กองฝึกอบรม กรมปศุสัตว์ โทร. 2515651, 2515136-8 ต่อ 223-227 โทรสาร 2515651

จดหมายข่าวสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ National Institute of Animal Health [NIAH] Newsletter

ISSN 0858-4516

วัตถุประสงค์

เพื่อเผยแพร่วิชาการด้านสุขภาพสัตว์โดยเป็นสื่อกลางแลกเปลี่ยนข่าวสารวิชาการ เสนอแนะแนวทางการแก้ปัญหา ด้านสุขภาพสัตว์และการเลี้ยงสัตว์ รวมทั้งการประชาสัมพันธ์กิจกรรมด้านสุขภาพสัตว์

เจ้าของ

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
ในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร ถนนพหลโยธิน เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
☎ 5797591, 5798908-14 FAX 579-7591 Internet ohealth@nontri.ku.ac.th

ที่ปรึกษา

นายสัตวแพทย์ ดร.วิจิตร สุขเพณีส รองอธิบดีกรมปศุสัตว์ ฝ่ายสัตวแพทย์
สัตวแพทย์หญิงอุบล ศรีสมบุญ ผู้อำนวยการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคใต้
หัวหน้างาน/หัวหน้าฝ่ายประจำสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติและศูนย์ฯ
คณะผู้เชี่ยวชาญญี่ปุ่นประจำสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

กองบรรณาธิการ	น.สพ.โชคชัย นกเทศ	สพ.ญ.ดวงใจ กาญจนจันทร์	น.สพ.วัชรชัย ณรงค์ศักดิ์
ต้นฉบับ-รูปเล่ม	สพ.สมชาย ช่างทอง	น.ส.อุทาสินี มีโชคสม	น.ส.จรีรัตน์ โพธิ์ถวิล
	น.ส.วิจิตรตรา รัตนะมณีกุล	น.ส.สุนทรี เหล่าเขตการณ์	
จัดพิมพ์-เผยแพร่	นางสมนึก จงกลฐากร	น.ส.หฤทัย พังจันทน์	น.ส.วันดี แซ่ตั้ง
พิมพ์ที่	สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กำหนดออกทุก ๆ 2 เดือน พิมพ์ครั้งละ 1,200 ฉบับ		



สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
กรมปศุสัตว์ จตุจักร กทม.10900
ที่ กษ 0615/ว.30

ในราชการกรมปศุสัตว์

ชำระค่าฝากส่งเป็นรายเดือน
ใบอนุญาต เลขที่ 1/2521
ไปรษณีย์โทรเลขราชเทวี