

การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับโปรโตซัวคริปโตสปอริเดียม ในลูกโค - ลูกกระบือ *

สุรีย์ ธรรมศาสตร์

มนยา เอกทัศน์

บำรุง ไม้สุพร

ยอद्यศ มีพิชน

สถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ บางเขน กทม. 10900

Abstract Preliminary Studies on Protozoan *Cryptosporidium* spp. in Cattle Calves and Buffalo Calves

Suree Thammasart, Monaya Ekgatat, Bamrung Maisuporn
and Yodyot Meephuch

National Animal Health and Production Institute.

Department of Livestock Development, Bangkok, Bangkok 10900

During 1985 and 1987; 201, 179 and 164 fecal samples from dairy and buffalo calves in Chiangmai province, Thapkwang Breeding and Developing Research Center, Saraburi and Surin Breeding Station were collected, respectively. Organisms with morphology identical to *Cryptosporidium* spp. were demonstrated in direct smears of fecal samples stained with Modified Ziehl-Neelsen. In dairy calves, 3 days to 3 months of age, 48 out of 380 (12.63%) samples were positive and organisms were ranging in size from 3 to 4 μm . Thirty-five out of 164 (21.34%) samples from buffalo calves aged 5 days to 4 1/2 months were positive. The oocysts were slightly larger and ranging in size from 4 to 6 μm .

บทคัดย่อ ระหว่างปี 2528-2530 ทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระลูกโคอายุแรกเกิดถึง 4 เดือน เป็นลูกโคของสมาชิกโคนมเชียงใหม่ เชียงใหม่ จำนวน 201 ตัว ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ทับกวาง จ.สระบุรี จำนวน 179 ตัว และลูกกระบืออายุแรกเกิดถึง 6 เดือน ของสถานีนบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ จ.สุรินทร์ จำนวน 164 ตัว ตรวจอุจจาระลูกโคและลูกกระบือทั้งหมดโดยการทำ direct smear ย้อมด้วยสี Modified Ziehl-Neelsen

* เสนอในที่ประชุมวิชาการครั้งที่ 14 ของสัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทย 2530

ผลการตรวจพบ *Cryptosporidium* spp. oocysts ขนาด 3-4 μm ในอุจจาระลูกโคที่มีอายุระหว่าง 3 วัน - 3 เดือน จำนวน 48 ตัว จาก 380 ตัว (12.63%) และพบ oocysts ขนาด 4-6 μm ในอุจจาระลูกกระบืออายุระหว่าง 5 วัน - 4 เดือนครึ่ง จำนวน 35 ตัว จาก 164 ตัว (21.34%)

คำนำ

ปัญหาโรคท้องร่วงในลูกสัตว์ถือเป็นปัญหาปกติ สาเหตุอาจมาจากแบคทีเรีย *E. coli* หรือไวรัสพวก Rotavirus หรือ Coronavirus และอาจเกิดจากโปรโตซัวบางชนิด สาเหตุเหล่านี้ อาจเกิดร่วมกันหรือเกิดโดยลำพังเพียงอย่างเดียว มีรายงานเมื่อไม่นานมานี้ว่าเชื้อ *Cryptosporidium* spp. เป็นตัวหนึ่งที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคท้องร่วงในลูกสัตว์แรกเกิด *Cryptosporidia* เป็น coccidial parasites จัดอยู่ใน genus *Cryptosporidium* sub-order Eimeriorina (Current, et al. 1986) *Cryptosporidia* จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4-6 μm (Pohjola, 1984) ซึ่งมีขนาดเล็กมากเมื่อเทียบกับ coccidia ตัวอื่น โปรโตซัวตัวนี้จะฝังอยู่ที่ microvillous border ของ epithelial cells ของลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่แบบ intracellular-extracytoplasmic (Boch, et al. 1982) มีรายงานพบ *Cryptosporidium* spp. ในสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น ปลา สัตว์เลี้ยงคณาน นก สุนัข แมว หนูตะเภา ลูกโค แกะ ลิงและคน (Levine, 1984) เชื้อ *Cryptosporidium* spp. จะทำให้เกิดการอักเสบของลำไส้ ผ่น้ำลำไส้จะหนาและทำให้เกิดอาการท้องร่วง ในลูกสัตว์แรกเกิดหรืออายุน้อยจะพบว่ามีอาการท้องร่วงรุนแรงมากและตายในที่สุด แต่ในลูกสัตว์ที่มีอายุสูงขึ้นจะเกิดอาการท้องเสียหรือไม่แสดงอาการและมีอัตราการตายต่ำ

คนอาจติดเชื้อ *Cryptosporidium* spp. ได้จากการกิน oocysts ซึ่งปะปนในอาหาร น้ำ หรือจากการสัมผัสกับอุจจาระของสัตว์ป่วย (Nime, et al. 1976) คนจะมีอาการท้องร่วงรุนแรงโดยเฉพาะในเด็กอ่อนหรือคนที่มิ่ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายบกพร่อง (Navin and

Juranek, 1984) ปัจจุบันนี้ยังไม่มียาชนิดใดให้ผลในการรักษาและป้องกันเชื้อนี้

จุดประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อหาความชุกชุมของโรคนี้ในลูกสัตว์ซึ่งยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับโรคนี้ในสัตว์ในประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

ระหว่างปี 2528-2530 เก็บตัวอย่างอุจจาระลูกโค-ลูกกระบือ โดยการล้างจากทวารหนักจากสถานที่ต่อไปนี้

อุจจาระลูกโคนม อายุแรกเกิด ถึง 4 เดือน จากโคของสมาชิกโคนม จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 201 ตัวอย่าง

อุจจาระลูกโคนม อายุแรกเกิด ถึง 4 เดือน จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ห้วยขวาง จังหวัดสระบุรี จำนวน 179 ตัวอย่าง

อุจจาระลูกกระบือ อายุแรกเกิด ถึง 6 เดือน จากสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ จำนวน 164 ตัวอย่าง

อุจจาระที่เก็บได้จะแช่เย็นไว้เพื่อนำมาตรวจในห้องปฏิบัติการต่อไป

วิธีการตรวจ

- นำอุจจาระที่แช่เย็นไว้แต่ละตัวอย่างมา smear บางบนสไลด์
- ปล่อยให้อุจจาระนั้นแห้งในอากาศ
- นำสไลด์ที่ smear แห้งแล้วมา fixed ด้วย Methanol นานประมาณ 5-10 นาที
- สไลด์ที่ fixed และปล่อยให้แห้งแล้วนำมาย้อมสีด้วย Modified Ziehl-Neelsen มีสี Malachite green

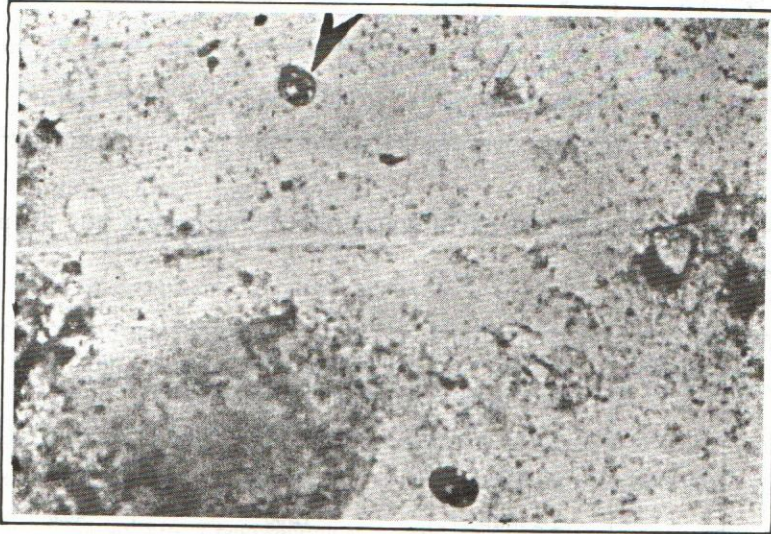
เป็น counterstain

- สไลด์ที่ย้อมสีแล้วนำมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย x 100

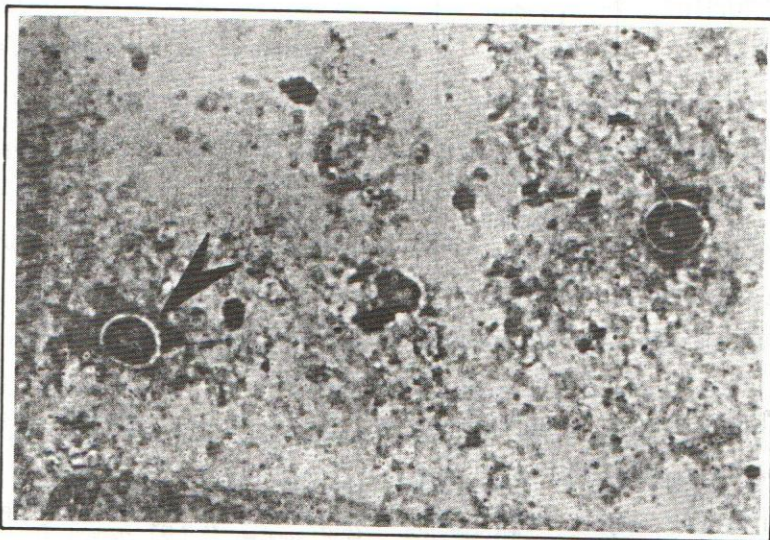
ผลการทดลอง

จากการตรวจอุจจาระลูกโค ลูกกระบือ โดย

การย้อมสี Modified Ziehl-Neelsen และดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย x 100 พบ oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. ในอุจจาระลูกโค 48 ตัวอย่าง จาก 380 ตัวอย่าง และในอุจจาระลูกกระบือ 35 ตัวอย่าง จาก 164 ตัวอย่าง oocysts ที่พบจะมีรูปร่างรีหรือกลม มีผนังเรียบและบาง ย้อมติดสีชมพู ภายในจะเห็นเป็นจุดสีดำเล็กๆ และมี vacuole อยู่ด้วย (ภาพที่ 1 และ 2)



ภาพที่ 1 : *Cryptosporidium* oocysts จากอุจจาระของลูกโค x 100



ภาพที่ 2 : *Cryptosporidium* oocysts จากอุจจาระของลูกกระบือ x 100

ตารางที่ 1 : แสดงจำนวนตัวอย่างและขนาด oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. ที่ตรวจพบ ในอุจจาระลูกโคและลูกกระบือ

สถานที่เก็บตัวอย่างอุจจาระ	ชนิดสัตว์-อายุ	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบ oocysts ของ <i>Cryptosporidium</i>	เปอร์เซ็นต์ (%) ที่ตรวจพบ	ขนาดของ oocysts ที่ตรวจพบ
เขตเลี้ยง โคนม จังหวัดเชียงใหม่	ลูกโคนม แรกเกิด-4 เดือน	201	30	14.93	3.0-4.0 μm
ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ ทับกวาง จังหวัดสระบุรี	ลูกโคนม แรกเกิด-4 เดือน	179	18	10.06	3.0-4.0 μm
สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์	ลูกกระบือ แรกเกิด-6 เดือน	164	35	21.34	4.0-6.0 μm

ตารางที่ 2 : แสดงจำนวนตัวอย่างและอายุของลูกโค-ลูกกระบือที่ตรวจพบ oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. ในอุจจาระ

สถานที่เก็บตัวอย่างอุจจาระ	ชนิดสัตว์	อายุสัตว์ที่ตรวจพบ oocysts	จำนวนตัวอย่างที่พบ oocysts ตามอายุ/ตัวอย่างที่ตรวจพบ oocysts ทั้งหมด	เปอร์เซ็นต์ (%)	หมายเหตุ
เขตเลี้ยงโคนม จังหวัดเชียงใหม่	ลูกโคนม	5-17 วัน	11/30	36.7	เปอร์เซ็นต์ที่พบ oocysts ของ <i>Cryptosporidium</i> spp. ในลูกโคทั้งสองแห่ง รวมกันจะเท่ากับ 12.63%
		1-2 เดือน	12/30	40.0	
		2-3 เดือน	7/30	23.3	
ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ ทับกวาง จังหวัดสระบุรี	ลูกโคนม	3-10 วัน	6/18	33.3	
		1-2 เดือน	7/18	38.9	
		2-3 เดือน	5/18	27.8	
สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์	ลูกกระบือ	5-18 วัน	13/35	37.1	
		1-1 1/2 เดือน	6/35	17.1	
		2-2 1/2 เดือน	6/35	17.1	
		3-4 1/2 เดือน	10/35	28.6	

oocysts ที่พบในอุจจาระลูกโค และลูกกระบือจะมี

ขนาด 3-4 μm และ 4-6 μm ตามลำดับ (ตารางที่ 1) สำหรับอายุของลูกโคที่พบ oocysts ในอุจจาระคือ 3 วัน ถึง 3 เดือน และ 5 วัน ถึง 4 1/2 เดือน ในลูกกระบือ (ตารางที่ 2)

วิจารณ์

จากการตรวจอุจจาระในลูกโคนมและลูกกระบือ ที่ทำการสุ่มตัวอย่าง ส่วนใหญ่ลูกสัตว์เหล่านี้จะมีสุขภาพเป็นปกติ จะมีบ้างที่อุจจาระที่เก็บมามีลักษณะ

ค่อนข้างเหลวหรือมีสีผิดปกติ แต่ไม่มีอาการท้องร่วง ที่รุนแรง ซึ่งมีรายงานพบว่า *Cryptosporidia* จะพบได้ทั่วไปในลำไส้ของลูกโค ทั้งลูกโคเนื้อและโคนม โดยที่อาจจะทำให้เกิดอาการท้องร่วงหรือไม่แสดงอาการก็ได้ และลูกโคสามารถจะได้รับเชื้อนี้ก่อนอายุได้ 6 สัปดาห์ (Kirkpatrick, 1985 และ Current 1983, 1985) ซึ่งตรงกับผลที่ตรวจในครั้งนี้ที่พบว่ามี oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. ในอุจจาระของทั้งลูกโค ลูกกระบือที่มีอายุในช่วงสัปดาห์แรกของการเกิดจนถึงประมาณ 2 เดือน โดยที่ลูกสัตว์เหล่านี้ไม่แสดงอาการท้องร่วงเพียงแต่มีอุจจาระเหลว เหนียว และมีสีคล้ายครีมหรือสีน้ำตาล มีกลิ่นเหม็นคาว อันเป็นลักษณะการติดเชื้อแบบ subclinical (Tzipori, 1985) และยังพบว่า oocysts ที่ตรวจพบในแต่ละตัวอย่างมีจำนวนไม่แน่นอน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Anderson (1982) และ Tzipori (1985) ที่ว่าการติดเชื้อแบบ subclinical จะพบได้เสมอ และสัตว์จะแสดงอาการท้องร่วงได้จะต้องตรวจพบ oocysts ในอุจจาระจำนวน 10^5 - 10^7 /gm

สำหรับขนาดของ oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. ที่ตรวจพบในอุจจาระลูกโคและลูกกระบือพบว่า มีขนาดใกล้เคียงกับขนาดของ *Cryptosporidium parvum* (4-5 μ m) แต่มีอุจจาระลูกกระบือบางตัวอย่างที่พบ oocysts ขนาดใหญ่เกือบถึง 8 μ m ซึ่งตามรายงานของ Upton และ Current (1985) พบว่า oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. จะมีทั้งขนาดเล็ก คือ *C. parvum* และขนาดใหญ่ คือ *C. muris* (~8 μ m) *Cryptosporidia* ทั้งสองชนิดนี้จะพบได้ในโคและจะพบ *C. parvum* มากกว่า *C. muris* นอกจากนี้จากผลการตรวจจะพบ oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. ในลูกโค-ลูกกระบือที่ส่วนใหญ่มีอายุประมาณ 5 วัน ถึง 1 เดือน ซึ่งเป็นไปได้ว่า oocysts ที่ตรวจพบนี้อาจเป็น oocysts ของ *C. parvum* เพราะตามรายงานของ Tzipori (1985) พบว่า 25% ของลูกโคที่พบ oocysts ของ *C. parvum* จะมีอายุระหว่าง 5 วัน ถึง 1 เดือน การที่ตรวจพบเปอร์ดเซ็นต์ของ oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. ที่

แตกต่างกันในลูกโคทั้งสองแห่งและลูกกระบือนั้น อาจเนื่องมาจากสภาพการเลี้ยงดูในแต่ละท้องที่ไม่เหมือนกัน เพราะโรค *Cryptosporidiosis* จะติดต่อได้โดย fecal-oral route หรือเปปนในอาหาร น้ำ หรือติดไปกับอุปกรณ์ สิ่งของเครื่องใช้ในการเลี้ยงสัตว์ (Angus, 1983 และ Navin and Juraneck, 1984) ส่วนการที่ตรวจพบว่าลูกกระบือมีเปอร์ดเซ็นต์การพบ oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. สูงก็อาจเป็นเพราะว่ามีการเลี้ยงลูกกระบือรวมกันเป็นฝูงโดยแบ่งเป็นช่วงอายุไม่แยกเป็นคอกเดี่ยวแบบการเลี้ยงลูกโคนม ดังนั้นโอกาสที่จะติดโรคในฝูงจึงมีมาก

สรุป

ผลจากการศึกษาเบื้องต้นและพบ oocysts ของ *Cryptosporidium* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค *Cryptosporidiosis* ในลูกสัตว์หลายชนิดนั้น จากรายงานนี้พอที่จะเป็นแนวทางในการที่จะศึกษารายละเอียดของโรคต่อไป เพราะปัจจุบันถือว่าโรคนี้เป็น Zoonosis โรคหนึ่ง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สพ.ญ. อัมพวัน ตฤชณา-จรมย์ และ สพ.ญ. นุชา สิมะสาธิตกุล ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ห้วยแก้ว จังหวัดเชียงใหม่, น.สพ. วิทยา ทิมสาด สำนักงานปศุสัตว์ จังหวัดเชียงใหม่, น.สพ. อรุส. จิตติวรรณ ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ทับกวาง จังหวัดสระบุรี, น.สพ. พิเชิต พิศาลสารกิจ สถาบันบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์, Dr. Peter Echeverria และคุณสองเมือง ปิยพงษ์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทางทหาร ที่ช่วยสนับสนุนให้รายงานนี้สำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Anderson, B.C. 1982. Cryptosporidiosis : A review. JAVMA. 180 : 1455-1457.
2. Angus, K.W. 1983. Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds : A review. J.R. Soc. Med. 76 : 62-70.
3. Boch, V.J. ; Goble, E. and Heine, J. 1982. Kryptosporidien-Infektion bei Haustieren. Berl. Munch. Tieraeztl. Wochenschr. 95 : 361-367.
4. Current, W.L. 1983. Cryptosporidium and cryptosporidiosis of domestic animals and man. Proceedings, Vet. Infect. Dis. Org., 4 th Intl. Symp. Neonatal Diarrhea, Oct. 3-5. : 293-305.
5. Current, W.L. 1985. Cryptosporidiosis. JAVMA. 187 : 1334-1338.
6. Current, W.L. ; Upton, S.J. and Haynes, T.B. 1986. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. J. Protozool. 33 : 289-296.
7. Kirkpatrick, C.E. 1985. Cryptosporidium infection as a cause of calf diarrhea. Vet. Clin. North. Am. : Food. Anim. Pract. 1 : 515-528.
8. Levine, N.D. 1984. Taxonomy and review of coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa). J. Protozool. 31 : 94-98.
9. Navin, T.R. and Juranek, D.D. 1984. Cryptosporidiosis : clinical, epidemiologic, and parasitologic review. Rev. Infect. Dis. 6 : 313-327.
10. Nime, F.A. ; Burek, J.D. and Page, D.L. 1976. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. Gastroenterology 70 : 592-598.
11. Pohjola, S. 1984. Negative staining method with nigrosin for the detection of cryptosporidial oocysts : A comparative study. Rec. Vet. Sci. 36 : 217-219.
12. Pohjola, S. ; Jokipii, L. and Jokipii, A.M.M. 1984. Dimethylsulphoxide-Ziehl-Neelsen staining technique for detection of cryptosporidial oocysts. Vet. Rec. 115 : 442-443.
13. Tzipori, S. 1985. *Cryptosporidium* : Notes on epidemiology and pathogenesis. Parasitol. Today 1 : 159-165.
14. Upton, S.J. and Current, W.L. 1985. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting mammals. J. Parasitol. 71 : 625-629.