การสำรวจนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีต่อโรคอินเฟคเชียสโบวายน์ไรโนทราเคียติส ในโคนมภาคใต้โดยวิธีซีรั่มนิวทราไลเซชั่นเทสต์

นิมิตร ไตรวนาธรรม[1] ช้องมาศ อันตรเสน[1]
นิมิตร เชื้อเงิน[1] ไพรสน พรมเมือง[1]

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษานิวทราไลซิ่งแอนติบอดีต่อโรคอินเฟคเชียสโบวายน์ไรโนทราเคียติส (Infectious bovine rhinotracheitis, IBR) ในโคนม 11 จังหวัดภาคใต้ จำนวน 2,249 ตัว โดยวิธี microtiter serum neutralization test (SN test) พบว่าโคนมจำนวน 567 ตัว (25.21%) มีภูมิคุ้มกันต่อโรค IBR (SN titer $\geq$ 1: 4) โดยมีการกระจายของนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีตั้งแต่ 1 : 4 ถึง 1 : 128

คำสำคัญ : serum neutralization test, โคนม, ภูมิคุ้มกันต่อโรค IBR, นิวทราไลซิ่งแอนติบอดี

---

[1] ศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ภาคใต้ อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110

บทนำ

โรค Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อ Bovine herpesvirus 1 (Gibbs and Rweyemamu, 1977) ซึ่งเป็น DNA virus ในกลุ่ม Herpesvirus (Andrewes et al., 1978) พบโรคนี้ได้ทุกส่วนของโลก สัตว์ที่พบโรคนี้นอกจากโค-กระบือ แล้วยังพบในแพะ สุกร และ wild ruminants (Gibbs and Rweyemamu, 1977) เนื่องจากเชื้อนี้จะคงอยู่ในร่างกายสัตว์เป็นระยะเวลานาน ทำให้เกิดการติดเชื้อไวรัสอย่างแอบแฝง (latent infection) สัตว์ที่เคยได้รับเชื้อ IBRV เมื่อสัตว์เครียดเชื้อไวรัสจะถูกกระตุ้น (reactivate) และถูกขับออกมากับของเหลวทางจมูกหรืออวัยวะสืบพันธุ์ ทำให้สัตว์ร่วมฝูงติดเชื้อไวรัสได้ง่าย (Kahrs, 1981) อาการของโรคมีหลายแบบแตกต่างกันอาจเป็นแบบไม่แสดงอาการ (non-clinical inapparent infection) หรือแสดงอาการของระบบทางเดินหายใจ, ทางระบบสืบพันธุ์เช่น แท้งลูกหรือแสดงอาการทางระบบประสาทขึ้นกับ biotype ของเชื้อไวรัส, ปริมาณของเชื้อไวรัส และทางที่เชื้อไวรัสเข้าสู่ร่างกาย นอกจากนี้ยังขึ้นกับภาวะภูมิคุ้มโรคของร่างกายสัตว์ (Kahrs, 1981)

ในประเทศไทย Supcharoen (1990) รายงานการแยกเชื้อ IBRV จากโคที่มี neutralizing antibodies ต่อ IBRV ระดับ 1:16 และฉีด dexamethasone ขนาด 40 mg/ตัว เข้ากระแสเลือดติดต่อกัน 6 วัน นอกจากนี้ยังสำรวจพบว่า 31.43% ของโคนมในภาคกลางมีภูมิคุ้มกันต่อโรค IBR (SN titer $\geqslant$ 1:4) ส่วนในภาคใต้ยังไม่มีผู้ใดทำการสำรวจ neutralizing antibodies ต่อโรค IBR ในโค ซึ่งในปัจจุบันภาคใต้เป็นแหล่งเลี้ยงโคเพื่อการส่งออกที่สำคัญ และมีการส่งเสริมการเลี้ยงโคนมอย่างกว้างขวาง ถ้าทราบถึงสภาวะของโรคจะสามารถใช้เป็นแนวทางในการควบคุมและกำจัดโรคเพื่อป้องกันการเสียหายเนื่องจากโรคนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

ซีรั่ม : ตัวอย่างซีรั่มโคนมที่นำมาศึกษา เจาะจากเส้นเลือดดำบริเวณคอ (jugular vein) หรือโคนหาง (caudal vein) สุ่มเก็บตัวอย่างโคนมที่มีสุขภาพดี คิดเป็น 10% ของโคนมในพื้นที่ ตามโครงการเพิ่มประสิทธิภาพและปริมาณการผลิตน้ำนม พ.ศ. 2537 จำนวน 2,249 ตัว จาก 11 จังหวัดภาคใต้คือ ชุมพร (833 ตัว), นครศรีธรรมราช (67 ตัว), กระบี่ (12 ตัว), พังงา (21 ตัว), ตรัง (180 ตัว), พัทลุง (780 ตัว), สตูล (70 ตัว), สงขลา (184 ตัว), ปัตตานี (13 ตัว), ยะลา (51 ตัว) และนราธิวาส (38 ตัว) (ตามตารางที่ 1) โดยเป็นโคนมที่มีอายุระหว่าง 2-10 ปี เก็บซีรั่มไว้ที่ -20°C จนกว่าจะใช้และก่อนทดสอบนำมาอุ่นที่อุณหภูมิ 56°C นาน 30 นาที

เซลล์เพาะเลี้ยง : ใช้ Bovine embryonic kidney (BEK) cell line เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วย Eagle's minimum essential medium (Nissui Seiko ©, Japan) มี Fetal calf serum 5%, 1% ของ 7.5% $NaHCO_3$, เพนนิซิลลิน และสเตร็ปโตมัยซิน ความเข้มข้นสุดท้าย 100 ยูนิต และ 100 ไมโครกรัมต่อมล. ตามลำดับ นำมาใช้เพื่อเพิ่มจำนวน IBRV และใช้ในการทำซีรั่มนิวทราไลเซชั่นเทสต์

เชื้อไวรัส : เชื้อ IBRA ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรุงเทพฯ นำมาเพาะเลี้ยงใน BEK cell line หลายครั้งจนได้ไวรัสไตเตอร์ระดับสูงและแบ่งเก็บที่ -80°C จนกว่าจะใช้

การทำซีรั่มนิวทราไลเซชั่นเทสต์ (Serum neutralization test; SN Test) ใช้วิธี microtiter serum neutralization test ตามวิธีการของ Martin (1980) ทำ two fold dilution ของซีรั่มที่ตรวจ โดยเริ่มเจือจางที่

ระดับ 1:2 - 1:6 ส่วนซีรั่มที่ยับยั้งการเกิดพยาธิสภาพของเซลล์ (cytopathic effect, CPE) ที่ระดับ 1:16 จะทำการตรวจซ้ำและเจือจางถึงระดับ 1:256 IBRV ที่ใช้เป็นแอนติเจนมีความเข้มข้น 200 $TCID_{50}$/0.05 ml และใช้ BEK cell เป็น virus indicator อบในตู้อบที่ในอุณหภูมิ 37°C ตรวจการเกิด CPE นาน 6 วัน โดย serum neutralizing antibody titer (SN titer) วัดจากซีรั่มเจือจางสูงสุดที่ยับยั้งการเกิด CPE ได้อย่างสมบูรณ์ 100%

ตารางที่ 1 แสดงรายละเอียดการเก็บตัวอย่างซีรั่มโคนมใน 11 จังหวัดภาคใต้

จังหวัด	จำนวนอำเภอ	จำนวนตำบล	จำนวนฟาร์ม	จำนวนซีรั่ม
ชุมพร	4	7	136	833
นครศรีธรรมราช	3	6	22	67
กระบี่	1	1	1	12
พังงา	1	1	1	21
ตรัง	5	10	34	180
พัทลุง	6	28	146	780
สตูล	2	4	4	70
สงขลา	6	9	37	184
ปัตตานี	1	1	1	13
ยะลา	1	2	4	51
นราธิวาส	4	4	8	38
11 จังหวัด	34	73	394	2,249

ผล

ในการศึกษาครั้งนี้ซีรั่มที่มี SN titer ≥ 1:4 จัดว่าเคยสัมผัสเชื้อ IBRV มาก่อน (Saw et al, 1985; Supcharoen, 1990) จากการตรวจ SN test ซีรั่มโคนมใน 11 จังหวัดภาคใต้จำนวน 2,249 ตัว พบว่าให้ผลบวกต่อโรค IBR 567 ตัว (25.21%) จังหวัดที่ไม่พบโคนมที่มี SN titer ต่อโรค IBR (seronegative) มี 3 จังหวัด คือ สตูล, ปัตตานี และยะลา (ตามตารางที่ 2) จากการจำแนกโคนมที่มี SN titer ต่อโรค IBR (Seropositive) โดยแบ่งตามอายุออกเป็น 3 พวกคืออายุ 2-4 ปี, อายุ 5-10 ปี และ 10 ปีขึ้นไป พบว่าที่จังหวัดชุมพร โคนมที่มี seropositive ต่อโรค IBR อยู่ในช่วงอายุ 2-4 ปี มากที่สุดคือ 370 ตัว ส่วนที่จังหวัดพัทลุงพบทั้ง 3 ช่วงอายุ แต่ช่วงอายุ 5-10 ปี จะตรวจพบมากที่สุดจำนวน 59 ตัว (ตารางที่ 3) การกระจายของ SN titer จะอยู่ในระดับ 1:4 - 1:16 ที่ระดับ 1:64 และ 1:128 พบจำนวน 2 และ 1 ตัวตามลำดับ โดยพบที่จังหวัดพัทลุง

ตารางที่ 2 แสดงการกระจายของ IBR neutralizing antibody titer ของโคนมใน 11 จังหวัดภาคใต้

จังหวัด	neutralizing antibody titer								Total	positive rate (%) SN titer ⩾ 1:4
	<2	2	4	8	16	32	64	128		
ชุมพร	373	87	141	169	58	5	-	-	833	44.78
นครศรีธรรมราช	55	4	6	1	-	1	-	-	67	11.94
กระบี่	6	3	1	1	-	1	-	-	12	25.00
พังงา	19	-	2	-	-	-	-	-	21	9.52
ตรัง	85	17	27	36	12	3	-	-	180	43.33
พัทลุง	686	8	23	34	23	3	2	1	780	11.03
สตูล	70	-	-	-	-	-	-	-	70	0.00
สงขลา	170	3	6	5	-	-	-	-	184	5.98
ปัตตานี	13	-	-	-	-	-	-	-	13	0.00
ยะลา	50	1	-	-	-	-	-	-	51	0.00
นราธิวาส	31	1	3	1	1	1	-	-	38	15.79
รวม	1,558	124	209	247	94	14	2	1	2,249	25.21

วิจารณ์

จากการศึกษา neutralizing antibody ต่อโรค IBR ในโคนม 11 จังหวัดภาคใต้จำนวน 2,249 ตัว ตรวจพบโคนมที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรค IBR (SN titer ⩾ 1:4) จำนวน 567 ตัว (25.21%) โดยจังหวัดที่พบมากที่สุด คือ จ.ชุมพร ตรวจพบ 44.78% รองลงมาคือจังหวัดตรัง ตรวจพบ 43.33% โดยการกระจายของ SN titer จะอยู่ในระดับ 1:4-1:16 มากที่สุด (ตารางที่ 2) ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Supcharoen (1990) ที่ตรวจภูมิคุ้มโรค IBR ในโคภาคกลางของประเทศ และตรวจพบโคที่มีภูมิคุ้มกันโรค IBR จำนวน 31.34% ซึ่งในภาคใต้จะมีอัตราการติดเชื้อ IBRV ต่ำกว่าในภาคกลางเล็กน้อย จังหวัดที่มีโคนม seronegative ต่อโรค IBR มี 3 จังหวัดคือ สตูล, ปัตตานี และยะลา อาจเป็นไปได้ที่ว่าจังหวัดเหล่านี้ยังไม่มีการส่งเสริมการเลี้ยงโคนมอย่างแพร่หลาย และตัวอย่างที่สุ่มตรวจมีจำนวนไม่มากนัก

การทำ SN test จะเป็นการวัด humoral immunity ซึ่ง neutralizing antibody นี้อาจเกิดจากการทำวัคซีน หรือจากการติดเชื้อตามธรรมชาติ (Kahrs, 1981) แต่เนื่องจากในภาคใต้ของประเทศไทยยังไม่มีการนำวัคซีนป้องกันโรค IBR มาใช้ในโค SN titer ที่ตรวจพบจึงเป็นภูมิคุ้มโรคที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสตามธรรมชาติ ซึ่งภูมิคุ้มโรคนี้สามารถคงอยู่ได้นาน 6 ปี (Chow, 1972) โคที่เคยได้รับเชื้อ IBRV จะทำให้เกิดการติดเชื้อไวรัสอย่างแอบแฝง (latent infection) และเชื้อจะคงอยู่เป็นระยะเวลานาน เมื่อถูกกระตุ้นโดยการฉีดยาพวกสเตียรอยด์

เชื้อไวรัสจะถูกขับออกมากับของเหลวทางปากและช่องคลอด และสามารถแยกเชื้อไวรัสได้ (Supcharoen, 1990) โดยโคไม่แสดงอาการป่วยอย่างรุนแรงให้เห็น (Kahrs, 1981) ในโคขุน (feedlot cattle) จะมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ IBRV และเป็นโรคอย่างรุนแรงมากกว่าโคนม ทั้งนี้เนื่องจากโคขุนจะได้รับความเครียด จากการขนส่งอย่างหนาแน่น การเปลี่ยนแปลงของอากาศพร้อมทั้งมีโอกาสติดเชื้ออื่น ๆ แทรกได้ง่าย ซึ่งในโคนมจะได้รับการดูแลที่ดีกว่าทั้งด้านการจัดการฟาร์มและอาหาร (Kahrs, 1981) ในพื้นที่ที่มีการเลี้ยงโคมาก การทำวัคซีนป้องกันการแท้งเนื่องจากโรคนี้อาจเป็นสิ่งจำเป็นโดยการทำวัคซีนก่อนโคตั้งท้อง จะป้องกันการแท้งเนื่องจากโรคนี้ได้ (Saunder et al, 1972)

ตารางที่ 3 แสดงช่วงอายุที่ตรวจพบ IBR neutralizing antibody ของโคนมใน 11 จังหวัดภาคใต้

จังหวัด	ช่วงอายุที่พบ SN titer		
	2-4 ปี (ตัว)	5-10 ปี (ตัว)	มากกว่า 10 ปี (ตัว)
ชุมพร	370	3	-
นครศรีธรรมราช	1	7	-
กระบี่	-	3	-
พังงา	ไม่มีประวัติ	ไม่มีประวัติ	ไม่มีประวัติ
ตรัง	ไม่มีประวัติ	ไม่มีประวัติ	ไม่มีประวัติ
พัทลุง	12	59	15
สตูล	-	-	-
สงขลา	4	7	-
ปัตตานี	-	-	-
ยะลา	-	-	-
นราธิวาส	ไม่มีประวัติ	ไม่มีประวัติ	ไม่มีประวัติ

สรุป

จากการตรวจนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีต่อโรค Infectious bovine rhinotrachcitis ในโคนม 11 จังหวัดภาคใต้จำนวน 2,249 ตัว ตรวจพบโคนมที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรค IBR (SN titer $\geq$ 1:4) จำนวน 567 ตัว (25.71%) โดยพบว่าในแหล่งที่มีการส่งเสริมการเลี้ยงโคนมอย่างแพร่หลายจะมีเปอร์เซ็นต์ของโคนมที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรค IBR (seropositive) สูงกว่าจังหวัดที่ไม่มีการส่งเสริม การกระจายของ SN titer อยู่ในระดับ 1:4-1:128 โดยพบที่ระดับ 1:4-1:16 มากที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดทุกจังหวัด และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ภาคใต้ที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างซีรั่ม ทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Andrewes, C ; Piriera, H.G.; Wildy, P. 1978. The Viruses of the Vertebrates, 4th Ed. Baillere Tindall, London.

Chow, T.L. 1972. Duration of immunity in heifers inoculated with infectious bovine rhinotracheitis virus. J.Am. Vet. Med. Assoc. 160 : 51-54

Gibbs, E.P.J. and Rweyemamu, M.M. 1977. Bovine herpesviruses. 1. 2 and 3. Vet. Bull. 47 : 317-343, 411-425.

Kahrs, R.F. 1981. Infectious bovine rhinotracheitis. In : Viral Diseases of Cattle. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.p. 135-156.

Martin, H.T. 1980. Technical methods for the isolation and identification of mammalian, poultry and fish viruses of veterinary interest. MAFF, Veterinary Investigation Centre, Coley Park, Reading RG 1 6 DT. p. 40-43.

Saunder, J.R.; Olson, S.M; and Radostits, O.M. 1972. Efficacy of intramuscular infectious bovine rhinotracheitis vaccine against abortion due to the virus. Can. Vet. J. 13 : 273-278

Saw, S.P.; Ibrahim, A.L. and Omar,. A.R. 1985. Antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus in cattle and buffaloes in Malaysia. In : Vet. viral diseases. Their significance in South-East Asia and the Western Pacific. Edited by Antony J. Della-Porta, Academic Press. p. 473-475

Supcharoen, A. 1990. Infectious bovine rhinotrachitis infection in Thailand. I. Survey of antibodies in the central region. Proc. 7th FAVA Congress, Pattaya, Thailand. p. 166-175

Supcharoen, A. 1990. Infections bovine rhinotrachcitis infection in Thailand. II Isolation and identification of the isolated virus. Proc. 7th FAVA Congress, Pattaya, Thailand.

Serological Survey of Infectious Bovine Rhinotracheitis in Dairy Cattle of Southern Thailand by Serum Neutralization Test

Nimit Triwanatham[1] Chongmas Antarasena[1]
Nimit Choe-naern[1] Praison Prommuang[1]

Abstract

Microtiter serum neutralization tests (SN test) revealed that 567 (25.21%) out of 2,249 serum samples from dairy cattles in 11 provinces of the Southern Thailand were positive to IBR antibodies. The titer of the serum neutralizing antibodies ranged from 1:4 to 1:128.

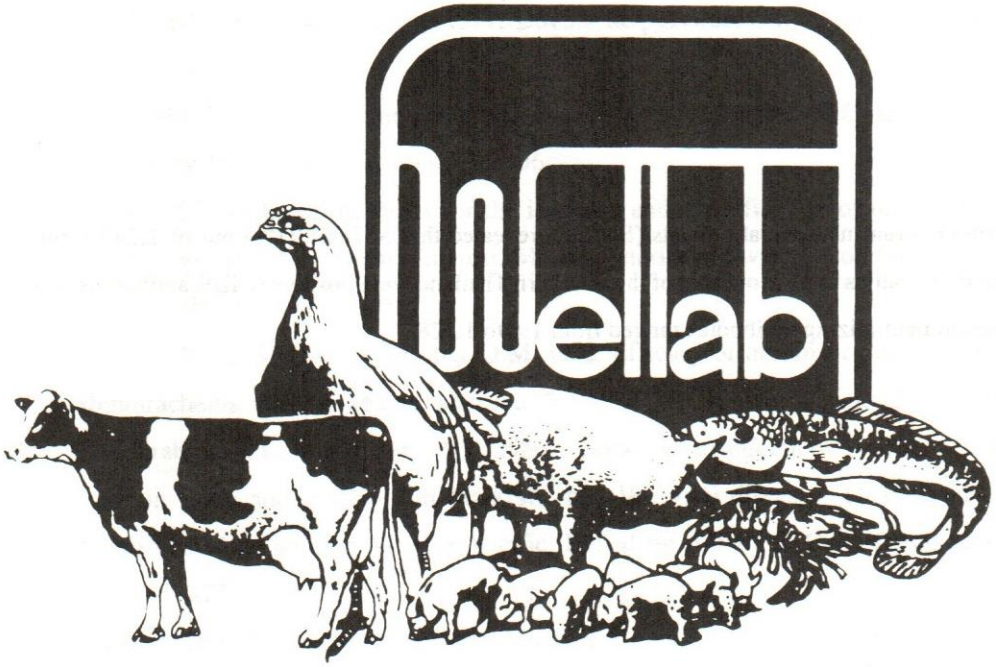
Key words : microtiter serum neutralization tests, dairy cattles, Southern Thailand, IBR antibodies, serum neutralizing antibodies.

[1] Southern Veterinary Research and Diagnotic Laboratory Center, Tung-song Nakhon-si-thammarat. 80110

บริษัท เวลแล็บ
อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
วิจัยและพัฒนา นำหน้าด้วยคุณภาพ

ผู้ผลิตและจำหน่าย

- **ยา อาหารเสริม พรีมิกซ์**
  สำหรับ ไก่ สุกร วัวนม วัวเนื้อ สุนัข ม้า ปลา และ กุ้ง



ผู้แทนจำหน่าย

- **วัคซีนป้องกันโรค**
  สำหรับ ไก่ สุกร สุนัข และ แมว
- **เครื่องมือสัตวแพทย์ทุกชนิด**

Wellab®
บริษัท เวลแล็บ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
101/31 หมู่ที่ 20 ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี

โทรศัพท์ 3197165-7, 5291301-6
เทเล็กซ์ 20871 WELLAB TH
โทรสาร (662) 529-1309