

โรคสมองอักเสบในม้าที่จังหวัดนครปฐม สาเหตุเนื่องจากเชื้อไวรัสเจแปนนิสเอนเซฟาไลติส

โดย

ที.เอ็ม. ฮูอิล., พี.ซี. สมิธ, ช. ว่องงสาร ล. สุวัฒน์นันท์ และ ส. อุดมศักดิ์
แผนกไวรัสวิทยาและแผนกสัตว์แพทย์ สถาบันวิจัยการแพทย์ ส.ป.อ.

และ

สถานีตรวจโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์ จังหวัดนครปฐม ประเทศไทย

เป็นที่ทราบกันแล้วว่าเชื้อไวรัส เจแปนนิส เอนเซฟาไลติส (JEV) เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคสมองอักเสบในม้า (Gould และผู้ร่วมงาน ๑๙๖๔) และได้เคยเป็นที่ตั้งสงสัยว่าจะเป็นสาเหตุให้เกิดโรคสมองอักเสบในม้าที่บางพระจังหวัดชลบุรี (ตกด, โดยการติดคอต่อตัว) ม้าที่นำมาจากต่างประเทศในระหว่างปี ๑๙๖๒-๑๙๖๖ ได้รับการตรวจทางชีววิทยา แต่คงว่าเป็นโรคชนิดอื่น (อุดมศักดิ์และผู้ร่วมงาน ๑๙๖๒ ตกดและอุดมศักดิ์ โดยการติดคอต่อตัว) ถึงแม้ว่าจะเป็นที่ทราบกันว่าโรคสมองอักเสบในม้าจะเป็นโรคที่เกิดขึ้นกับคนในหลายท้องที่ของประเทศไทย แต่ว่าโรคในม้ายังไม่มีใครทราบมาก่อนว่าอยู่นอกท้องที่อำเภอบางพระ รายงานฉบับนี้จึงเป็นรายงานโรคสมองอักเสบในม้าที่แท้จริงในเขตภาคกลางและเป็นรายงานแรกที่ยืนยันการตรวจทางชีววิทยา ของโรคสมองอักเสบในม้าซึ่งเนื่องมาจากเชื้อไวรัส เจแปนนิสเอนเซฟาไลติสในประเทศไทย

โรคสมองอักเสบที่จังหวัดนครปฐม ม้าประมาณ ๓๐ ตัวตายเนื่องจากโรคสมองอักเสบจากม้าประมาณ ๓๐๐ โรคนี้เกิดขึ้นในท้องที่จังหวัดนครปฐมระหว่างเดือนสิงหาคมถึงเดือนพฤศจิกายนปี ๑๙๖๖ รายแรกเป็นม้าที่ตั้งมาจากประเทศออสเตรเลีย ส่วนรายอื่นเป็นม้าพื้นเมือง รายสุดท้ายในเดือนพฤศจิกายนและเป็นม้าตัวเดียวที่ได้ตรวจชีวโมเลกุลในระยะเวลาที่กล่าวถึงป่วย และภายหลังที่หายป่วยแล้ว เจ้าของและผู้เลี้ยงรายงานว่ามีม้าตัวอื่นที่เคยแสดงอาการป่วย บางตัวหายป่วยอย่างบริบูรณ์ แต่บางตัวยังหายป่วยไม่สนิทนัก เพื่อที่จะค้นหา

โรคสมองอักเสบในม้า จึงได้ทำการเจาะเลือดเอาซีรัมจากม้าที่เลือกเอาอย่างสุ่ม ๒๘ ตัวจาก ๒ ฟาร์มเพื่อตรวจหาแอนติบอดีของโรคนี้

ประวัติของโรค แม่ม้าอายุ ๕ ปี แสดงอาการคันเค้นและเดินวนเมื่อวันที่ ๘ พฤศจิกายน ๒๕๐๘ ตัวป่วยได้รับการตรวจร่างกายเมื่อวันที่ ๓๐ พฤศจิกายน แม่ม้าตัวนี้ไม่ค่อยอยากจะถูกขยับ มีอาการที่แสดงว่าขาหลังอ่อนเปลี้ย เวลาดงนอนแม่ม้าตัวนี้มักชอบขยิบจมูกกับพื้นดิน อุณหภูมิ ๓๐.๓๕ ฟ. ชีพจรเค้นเร็ว (๑๒๐ ครั้งต่อนาที) และแผ่วเบา อัตราการหายใจเพิ่มขึ้น เต็มเลือดรอบลูกตาและเยื่อภายในหูทั้งคางขายใหญ่ พบเต็มเลือดฝอยที่เยื่อจมูกและปาก บริเวณฝีเย็บบวม และมีลักษณะบวมหน้า เยื่อภายในอวัยวะสืบพันธุ์มีเลือดคั่งและบวมหน้า และปลิ้นออกมาออกช่องอวัยวะสืบพันธุ์

การวินิจฉัยโรคในเบื้องต้นบ่งว่าเป็นโรคสมองอักเสบ และได้ทำการเจาะเลือดในระยที่กล่าวถึงข้างต้น ไม่พบเชื้อโรคใดๆ ในเลือดป้ายกระจก ม้ามมีอาการที่ตายอย่างรวดเร็ว วันที่ ๓๗ พ.ย. เมื่อทำการเจาะเลือดเพื่อแยกซีรัมหลังป่วยมาตัวนี้ไม่มีอาการเป็นปกติ

เครื่องใช้และวิธีการ

ซีรัม ได้ทำการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำใหญ่ที่คอ จากม้าที่จังหวัดนครปฐมแล้ว นำเลือดแช่แข็งส่งไปยังห้องปฏิบัติการ เมื่อแยกซีรัมแล้วเก็บไว้ในอุณหภูมิ ๒๐ C. จนกระทั่งทำการทดสอบ

อีแม็กกลูตินเนชันอินฮิบิชั่นเทสต์ (เอช. ไอ. เทสต์) ทำการสกัดแอนติบอดีจากซีรัมด้วยอะซีโตนเย็นแล้ว การทดสอบด้วยแอนติเจน เจแปนนิส เอนเซฟาไลต์ส ดีเตรนากายาม่า โดยวิธีของ Clarke และ Casals (๑๙๕๗) ในไมโครไตเตอร์เพด

คอมพลีเมนต์ฟิคเซชันเทสต์ (ซี.เอฟ.) โดยวิธีมาตรฐานของ Schmidt และ Linette (๑๙๖๕)

ไมโครเมตาบอลิก อินฮิบิชั่นเทสต์ (เอ็ม.ไอ.) ได้ทำการตรวจหาแอนติบอดีของไวรัสเจแปนนิสเอนเซฟาไลต์สในซีรัมม้าที่อินแอคทีเวตด้วยความร้อนโดยวิธี BHK-๒๓ เซลล์ ไมโครเมตาบอลิกอินฮิบิชั่นเทสต์ (ไพรัชและยูด จากรายงานที่ไม่ได้ตีพิมพ์) ทำการทดสอบซีรัมที่เพิ่มความเจือจางครั้งละ ๒ เท่าด้วยไวรัสเจแปนนิสเอนเซฟาไลต์ส ๓๐๐ LD_{๕๐} (นากายาม่าดีเตรน)

ผลการทดสอบ ระดับของแอนติบอดีเพิ่มสูงขึ้นอย่างเด่นชัด (๔ เท่าหรือมากกว่า) ในน้ำที่เป็นโรคสมองอักเสบรายเดียวกัน โดยวิธีทดสอบทาง HI, CF และ MI (ดูตารางที่ ๑) เป็นการยืนยัน การตรวจโรคที่ได้กระทำมาแล้วในตอนแรกในทำนองเดียวกันจากซีรัมม้า ๒๘ ตัว ๒๘ ตัวให้ผลบวกคือ HI เทสต์ ๒๒ ตัวให้ผลบวกคือ HI เทสต์ ๒๒ ตัวให้ผลบวกคือ CF เทสต์ (ดูตารางที่ ๒)

วิจารณ์ ในการที่จะหาสาเหตุของโรคสมองอักเสบในม้าที่จังหวัดนครปฐม ควรจะหาเชื้อไวรัสจากสมองม้าที่ตาย หรือแสดงให้เห็นว่า แอนติบอดีในซีรัมในระยะที่หายป่วย (๐-๒ สัปดาห์ หลังจากแสดงอาการป่วย) มีระดับสูงจนเป็นที่น่าสังเกต (สี่เท่าหรือมากกว่า) กว่าแอนติบอดีของซีรัมในระยะที่กำลังป่วย (ภายใน ๕ วันที่แสดงอาการป่วย) การตรวจหาการเปลี่ยนแปลงของแอนติบอดี จึงพบเพียงรายเดียวในระหว่างที่เกิดการระบาด ไวรัสเจแปนเอนเซฟาไลต์ที่เด่นชัดที่สุดที่เป็นสาเหตุของโรคสมองอักเสบจึงพิสูจน์ได้แน่ชัดเพียงรายเดียว ที่บางพระจังหวัดชลบุรีมีม้าป่วยด้วยโรคเจแปนเอนเซฟาไลต์ โดยไม่แสดงอาการสมองอักเสบหลายราย (สกลและสุจินดา โดยการติดคอด้วนตัว; สุจินดาและผู้ร่วมงาน ๑๙๖๒) ที่นครปฐมมีประมาณ ๑๐% ตายด้วยโรคสมองอักเสบ ถ้ามีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสเจแปนเอนเซฟาไลต์แล้ว ก็เป็นที่หวังได้ว่า ม้าจำนวนมากจะมีไตเคอร์ของ HI และนิวตราไลซิงแอนติบอดีสูงในทำนองเดียวกันเนื่องจาก CF แอนติบอดีอาจจะหายไปภายในปีเดียว หรือไม่ถึงปีภายหลังการป่วย (Gould และผู้ร่วมงาน, ๑๙๖๔) ก็ควรจะหวังได้ว่าม้าจำนวนมากจะมี CF แอนติบอดีสูงจนเป็นที่สังเกตได้ในระหว่างที่นำซีรัมมาตรวจ ม้าทุกตัวมี HI แอนติบอดี ยกเว้นเพียงตัวเดียว และส่วนมากทุกตัวก็มีนิวตราไลซิงแอนติบอดีและ CF แอนติบอดีด้วย ดังนั้นซึ่งมีความโน้มเอียงไปใน ทางที่จะเชื่อได้ว่า การระบาด ครั้งนี้ อาจเนื่องมาจาก เชื้อไวรัสเจแปนเอนเซฟาไลต์

จากผลการทดสอบเหล่านี้เป็นเครื่องยืนยันการตรวจในขั้นแรกว่าเป็น โรคสมองอักเสบของม้าซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสเจแปนเอนเซฟาไลต์ (Gould และผู้ร่วมงาน ๑๙๖๔) และเป็นการพิสูจน์ยืนยันรายแรกในประเทศไทย ถึงแม้จะมีรายที่สงสัยหลายรายที่บางพระ (สกล, โดยการติดคอด้วนตัว) และการเกิดโรคโดยไม่แสดงอาการก็เคยมีหลายราย (อุคมศักดิ์และผู้ร่วมงาน ๑๙๖๒) รายงานเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าโรคในม้าซึ่งมีหลายรายแสดงอาการสมองอักเสบ โรคนี้อาจจะเกิดได้ในทุกท้องที่ที่มีการปลูกข้าวทั่วประเทศไทยซึ่งในที่ที่ทำ

การปลูกข้าวเหล่านี้เป็นแหล่งที่มียุงชนิด *Culex gelidus* และ *Culex tritaeniorhynchus* รุก
 รุม ข้อนนี้เป็นความจริงอย่างแน่นอนในโรคสมองอักเสบของคนอันมีสาเหตุเนื่องมาจากเชื้อ
 ไวรัสเจแปนนิสต์เอนเซฟาไลต์ซึ่งเกิดขึ้นในภาคกลางหลายแห่งเช่นเดียวกับที่เกิดในหมู่บ้านใน
 ภาคเหนือ (เชียงใหม่และพิษณุโลก) (Halstead และผู้ร่วมงาน รายงานที่ไม่ได้ตีพิมพ์) และใน
 ท้องที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (โคราช) (Russel และผู้ร่วมงาน รายงานที่ไม่ได้ตีพิมพ์)

สรุป มีโรคสมองอักเสบในน้ำทำให้ม้าตายไปประมาณ ๓๐ ตัว ในช่วงระยะเวลา
 ๓ เดือนในท้องที่จังหวัดนครปฐม ได้ศึกษารายที่ไม่ตายรายหนึ่ง ซึ่งพิสูจน์โดยทางชีววิทยา
 บ่งชี้ว่าเนื่องมาจากเชื้อไวรัส เจแปนนิสต์เอนเซฟาไลต์ ในการสำรวจในขอบเขตที่ไม่ได้
 กว้างขวางนักและเป็นตอนปลายระยะที่โรคสมองอักเสบระบาด แต่คงให้เห็นว่าม้ามมากกว่า
 ครั้งจำนวนมี HI นิวตราไลซิงและคอมพลีเมนต์-ฟิกซิง แอนติบอดี ซึ่งให้ทราบว่าได้มี
 โรคเจแปนนิสต์เอนเซฟาไลต์เกิดขึ้น ได้นำรายต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับโรคสมองอักเสบซึ่งอาจจะ
 เนื่องจากโรคเจแปนนิสต์เอนเซฟาไลต์มาวิจารณ์ในรายนี้ด้วย

Table 1. Serological response (reciprocal titers) to 3 arbovirus antigens of a horse with clinical encephalitis.

Sampling Date	Hemagglutination-Inhibition			Jev	Jev Neut.
	Chik	Dengue-1	Jev	Complement Fixation	Metabolic Inhibition
10 Nov 66	20	> 20	40	> 4	< 5
17 Nov 66	40	> 20	640	8	60

Table 2. Results of a serologic survey of horses in Nakorn Pathom.

Serologic Tests

Horse No.	Age	Hemagglutination-Inhibition			JE	MI
		Chik ¹	Dengue-1	JE ²	CF ³	Neut ⁴
1	2 yrs	40	0	80	0	5
2	9 mos	0	0	20	0	> 5
3	5 yrs	40	0	160	0	5
4	3 yrs	20	40	320	8	5
5	2 yrs	20	0	40	0	> 5
6	1 1/2 yrs	0	20	320	0	5
7	1 1/2 yrs	0	0	80	0	10
8	2 yrs	20	0	320	4	10
9	2 yrs	40	0	40		> 5
10	1 yr	0	0	40	0	> 5
11	1 yr	20	20	320	8	7.5

โรคสมองอักเสบในม้าที่จังหวัดนครปฐม ฯ

๔๐๗

12	1 yr	0	0	60	4	7.5
13	3 yrs	0	0	80	0	7.5
14 ⁵	13 yrs	20	20	2560	8	80
15	7 mos	0	0	0	0	> 5
16 ⁶	15 yrs	40	20	1280	8	40
17	6 yrs	40	0	120	0	10
18	9 yrs	320	20	1280	8	60
19	6 yrs	80	40	1280	8	60
20	5 yrs	40	40	640	8	60
21	6 yrs	40	40	320	4	10
22	10 yrs	120	0	1280	8	60
23	9 yrs	40	40	640	8	40
24	3 yrs	80	80	1280	8	120
25	6 yrs	0	0	640	8	160
26	12 yrs	0	0	320	4	30
27	6 yrs	0	40	640	8	20
28 ⁵	10 yrs	40	40	1280	16	120
29	3 yrs	20	0	320	0	10

1. Chikungunya Virus
2. Japanese Encephalitis Virus
3. Gompement-fixation starting at serum dilution of 1:4
4. Metabolic Inhibition Neutralization vs 300 TC LD₅₀ of JE virus
5. Weakness of hand quarters at time of bleeding.
6. Aborted in September in 5th month of gestation.

References

1. Clarke, D.H. and Casals, J.: Techniques for agglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* Vol. 7 No. 2 1958 pp. 561-573
 2. Gould, D.H., Byrne, R.J. and Mayes, D.E.: Experimental infection of horses with Japanese encephalitis virus by mosquito bite. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* Vol. 13 No. 5, 1964 pp. 742-746
 3. Lennette, E.H. and Schmdt, N.J.: Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Diseases. *Am. Publ. Health Assoc.* 3rd Ed. pp. 814
 4. Udomsakdi, S., Yamarat, C. and Purananda, C.: A serological study of arthropod-brone virus infections in Australian horses. *Publ. Health Alum. Bull.* Vol. 2 No. 1, 1962 pp. 1-4
-