

# การตรวจและควบคุมโรคแท้งติดต่อในโค

(TEST AND CONTROL OF BRUCELLOSIS IN CATTLE)

\* พระศักดิ์ จันทร์ประทีป สพ.บ., F.R.V.A.C., C.T.V.M.

## SUMMARY

Brucellosis in cattle is a world-wide importance. It is necessary to choose the test which is suitable for the condition in the country concerned. The plate agglutination test is of particularly reliable and practical in the control of brucellosis in Thailand. Control of the disease is based on hygiene, vaccination with strain 19 Br. abortus and test and disposal of reactors. All three are of importance and neglect of any one may cause the eradication very much more difficult.

## บทนำ

โรคแท้งติดต่อ (Brucellosis) เป็นโรคติดต่อของสัตว์ซึ่งเป็นที่แพร่หลายทั่วโลก โรคนี้ติดต่อกันได้โดยเฉพาะในสัตว์กินหญ้าและหมู ซึ่งเป็นแหล่งแพร่เชื้อมาสู่มนุษย์ (1) ในโคโรคนี้เกิดจากเชื้อ *Brucella abortus* ส่วนในแพะ แกะ และสุกรเกิดจากเชื้อ *Br. melitensis* และ *Br. suis* ตามลำดับ ลักษณะเฉพาะของโรคนี้คือ การแท้งลูก (รายที่เป็นอย่างรุนแรง) ในระยะหลังของการตั้งครรภ์ (2) เนื่องจากโรคนี้ทำความเสียหายเป็นอย่างมากต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงปศุสัตว์ทั่วประเทศ อัตราการป่วยเป็นโรคนี้แตกต่างกันตามสภาพของแต่ละท้องที่ สภาพของวัวในแต่ละฝูง และแต่ละประเทศ ประเทศต่าง ๆ ที่มีโรคนี้คุกคาม เช่น ในยุโรป มีอัตราการเป็นโรคถึง 15—50% ในสหรัฐอเมริกา (3) (4) แต่หลังจากที่ได้มาตรการควบคุมและกำจัดโรคนี้อย่างจริงจัง ปรากฏว่าอัตราการ

\* แผนกอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เป็นโรคนี้ลดลงอย่างรวดเร็วในประเทศไทยเรา แม้ในปัจจุบันนี้ ในหลายท้องที่พบว่าวัวเป็นโรคนี้ 30—50 % ควาย ม้า และหมูก็นับว่าเป็นโรคนี้เช่นกัน ดังนั้นถ้าจะมองในแง่ของสวัสดิภาพของมนุษย์เรา โรคนี้ก็มีความสำคัญมาก เพราะนอกจากจะบ่อนทำลายเศรษฐกิจของชาติแล้ว ยังสามารถติดต่อไปยังมนุษย์ได้ด้วย โดยทำให้เกิดเป็นโรค undulant fever การติดต่ออาจเป็นไปได้โดยการดื่มน้ำนมที่มีเชื้อนี้ปะปนอยู่ แต่กรรมวิธีฆ่าเชื้อแบบ pasteurization สามารถทำลายเชื้อนี้ได้หมด คนที่ป่วยเป็นโรคนี้ส่วนใหญ่เกิดเพราะลักษณะของวิชาชีพ ซึ่งได้แก่ สัตวแพทย์ คนขายเนื้อ ชาวนา ตลอดจนคนงานที่ทำงานอยู่ในห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับเชื้อนี้ (5) (6) ทั้งนี้นอกจากเชื้อนี้สามารถแยกได้จากบริเวณเต้านม และมดลูกแล้ว ยังสามารถแยกได้จากอวัยวะอื่น ๆ อีกด้วย ดังนั้นการจับบรากสัตว์ที่เป็นโรคนี้ก็สามารถติดโรคนี้ได้ ในแง่ของการสูญเสียทางเศรษฐกิจของผลผลิตนั้น โรคนี้นับว่าก่อให้เกิดเป็นปัญหาที่สำคัญแก่ผู้เลี้ยงปศุสัตว์ทุกแห่ง เพราะนอกจากการสูญเสียผลผลิตของน้ำนม เพราะแม่โคที่แห้งลูกแล้ว การผสมพันธุ์ไม่ติดมีมากเพิ่มขึ้น เพิ่มช่วงระหว่างการที่แม่โคจะให้ น้ำนม และช่วงเวลาระหว่างการออกลูกโดยเฉลี่ยจะยาวนานเพิ่มขึ้น และนอกจากการสูญเสียน้ำนมแล้ว ยังต้องเสียลูกวัวซึ่งไปมีผลต่อแผนการผสมพันธุ์ในแง่ของการผลิตวัวเนื้อ ในรูปของอุตสาหกรรม (2) โรคนี้มักจะพบเป็นแบบเรื้อรัง เพราะพบว่าเชื้อตัวนี้สามารถทนอยู่ได้ในร่างกายสัตว์เป็นเวลานาน หลังจากติดเชื้อครั้งแรกแล้ว Lambert et al (1968) ได้แสดงให้เห็นว่า เชื้อตัวนี้สามารถอยู่ในร่างกายได้นานถึง 4 ปี หลังติดโรคนี้ โดยแยกเชื้อนี้ได้จากอวัยวะต่าง ๆ เช่น เต้านม ต่อมน้ำเหลืองเหนือเต้านม ต่อมน้ำเหลืองที่ iliac และ retropharynx

โรคแท้งติดต่อจะมีลักษณะภูมิคุ้มกันต้านแตกต่างจากโรคอื่น ๆ คือ ในรายมนุษย์และโคนั้น ลูกวัวสามารถติดเชื้อโรคนี้ได้ แต่สามารถกำจัดออกจากตัวได้เช่นกัน วัวรุ่นหนุ่มสาวสามารถติดโรคนี้ได้ง่าย และเชื้อสามารถอยู่ไปได้นาน วัวบางตัวเป็นโรคนี้ได้ตลอดชีวิต บางรายหายได้ภายใน 2—3 เดือน เป็นที่เข้าใจกันว่า วัวที่หายเป็นโรคนี้แล้วมีความต้านทานสูงต่อการติดเชื้อครั้งต่อไป แต่สามารถติดเชื้อนี้ได้อีก (7)

แม่โคที่เป็นโรคนี้แล้วอาจจะแท้งลูกครั้งหนึ่ง และมักจะไมแท้งซ้ำอีก เพราะมีความต้านทานต่อโรคนี้อย่างไรก็ตาม มันก็เป็นตัวแพร่โรค โดยปล่อยเชื้อลงไปกับอุจจาระ ปัสสาวะ และพวก discharges ต่าง ๆ (8)

โรคนี้อาจแพร่จากตัวเป็นโรคไปยังตัวอื่น ๆ ได้โดยการที่เข้าสู่ร่างกายทางเยื่อชุ่ม (mucous membrane) ของทางเดินอาหาร ระบบหายใจ conjunctiva เชื่อกันว่า พ่ววัวที่เป็นโรคนี้อาจแพร่เชื้อไปยังตัวเมียขณะผสมพันธุ์ แม้ว่าเชื้อมี predilection male sex glands (7, 8)

### การตรวจโรคแท้งติดต่อ

โดยทั่วไปอาจจะตรวจโรคนี้นี้ได้ ดังนี้

1. โดยการแยกเชื้อ (Isolation of the organism)
2. การทดสอบทาง serology โดยหา Ba. abortus agglutinins ในเซรัม, น้่านม, whey, vaginal mucus และ seminal plasma

#### 1. การแยกเชื้อ

โดยทำการเพาะเชื้อ หรือนิดเข้า guinea pig โดยใช้ abdominal content หรือปอด หรือ รก จากลูกวัวที่แท้ง แต่ถ้าไม่มีตัวอย่างดังกล่าวอาจใช้ uterine exudate ของแม่โคแทน เพราะยังคงมีตัวเชื้ออยู่ช่วงเวลาหนึ่งหลังคลอด

#### 2. การทดสอบทาง Serology

โดยการตรวจสอบหา Br. abortus agglutinins ในเซรัม

- 2.1 ตรวจในน้่านม (agglutination tests on milk) รวมทั้ง milk ring test, capillary milk ring test และ rapid milk agglutination test (9)

วิธีดังกล่าวนี้มักใช้ทดสอบกับฝูงวัว แต่ไม่เหมาะในการทดสอบวัวแต่ละตัว (10) การทดสอบทำให้สะดวก เพราะไม่ต้องเจาะเลือด แต่ผลของการทดสอบไม่ดีเท่า serum agglutination test วิธี rapid milk agglutination test ได้ผลดีที่สุดในการตรวจวิธีที่ใช้น้่านมทดสอบโรค (11, 12)

วิธี ABR test (Abortus bang ring) หรือ milk ring test

Fleischlauer, ชาวเยอรมันได้ใช้วิธีนี้ทดสอบโรคแท้งติดต่อ โดยใช้ hematox-  
ylin-stained Br. abortus antigen จำนวน 2 หยด ต่อน้ำนมที่ต้องการทดสอบ 2 ซี.ซี.  
(ความเข้มข้น 1:30 ถึง 1:50) เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ในอุณหภูมิของห้อง 1 ชม.  
ถ้าแม่วัวเป็นโรคนี้ stained bacteria ใน suspension นี้ จะรวมตัวกันลอยตัวขึ้นมาอยู่ที่ผิว  
หน้าของครีม ทำให้เห็นเป็นวงสีม่วง ส่วนในรายที่ไม่เป็นโรค น้ำนมจะมีสีม่วงอ่อนเท่ากัน  
ส่วนที่ผิวครีมจะเป็นสีขาว วิธีนี้ใช้กันมากในโครงการรณรงค์กำจัดโรคแท้งติดต่อในโค โดยใช้  
เป็นการคัดฝูงโค เมื่อมีการฉีดวัคซีนเฉพาะลูกโคเท่านั้น (7)

## 2.2. Whey plate test.

วิธีนี้กล่าวกันว่า มีความเที่ยงตรงที่สุด (13)

false positive อาจเกิดขึ้นได้ในกรณีที่วัวได้รับการฉีดวัคซีนหรือเพิ่งคลอดลูกแต่  
titre จะลดลงและหายไปภายใน 3 เดือน และ 2 สัปดาห์ตามลำดับ

## 2.3. Agglutination test on vaginal mucus.

ให้ผล positive โดยเฉพาะเมื่อมีตัวเชื้ออยู่ในนมดลูก เป็นวิธีตรวจที่ให้ผลแน่นอน  
อีกวิธีหนึ่งเช่นกัน (14)

## 2.4. Agglutination test an seminal plasma.

มีคุณค่ามากและใช้ในการทดสอบ พ่อวัวที่จะใช้ในงานผสมเทียมเพราะพ่อวัวแต่  
ละตัวอาจจะให้ผล negative ในการทดสอบโรคทาง serology ทั้ง ๆ ที่มีวิธีการที่อวัยวะสืบ  
พันธุ์ (15)

## 2.5. Plate Agglutination test.

ใช้ในรายที่ต้องการตรวจ เพื่อให้ได้ผลอย่างรวดเร็ว โดยการเจาะเลือดจาก  
jugular vein แล้วทิ้งไว้ให้แข็งตัว เพื่อแยก serum ออกมาตรวจ สำหรับ antigen เป็น  
very heavy suspension ของ strain ของ Br. abortus stained กับ gentian violet และ  
brilliant green ทั้งนี้เพื่อให้ง่ายต่อการอ่านผล

สำหรับ antigen ที่เตรียมขึ้นใช้นั้น ได้มีการปรับระดับจำนวนของเซลล์ ให้มีความเข้มข้น ซึ่งเมื่อคนให้เข้ากันกับเซรัม ที่จะทดสอบโดยลดจำนวนลงตามลำดับแล้ว ผลที่ได้จากการทดสอบ จะตรงกับวิธีการตรวจตามหลักมาตรฐาน โดยวิธี Tube test ของ USDA ซึ่งมีความเข้มข้น 25, 50, 100, และ 200 I.U./MI.

### เครื่องมือที่ใช้

1. กล่องไม้สำหรับตรวจสอบ ซึ่งปรกติมีขนาด กว้าง 33 ซม. ยาว 48 ซม. และสูง 12 ซม. พร้อมกับมีแผ่นกระจกปิดด้านบนซึ่งจัดเป็นช่องได้ถึง 60 ช่อง (ขนาด  $4 \times 4$  ซม.) มีหลอดไฟ 2 หลอด ติดอยู่ด้านข้างของกล่อง ส่วนภายในทาด้วยสีดำ ถ้าสามารถหาแผ่นกระจกปิดทับกล่องอีกทีก็จะดีมาก เพราะเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดการระเหยเร็วเกินไป ของตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ

2. Pipette ขนาด 0.2 ซี.ซี. แต่ละขีด 0.01 ซี.ซี.

3. ใช้ antigen dropper หยดได้ครั้งละ 0.03 ซี.ซี.

3. ใช้ไม้จิ้มฟันสำหรับคนให้ serum และ antigen เข้ากันได้ดีหรืออาจใช้หลอดก็ได้

### วิธีการ

เปิดไฟในกล่องไม้ เพื่ออุ่นแผ่นกระจก ก่อนทำการทดสอบทั้ง serum และ antigen ควรจะนำมาตั้งทิ้งไว้ให้มีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิของห้องที่จะตรวจ ใช้ pipette ดูด serum แล้วหยดบนแผ่นกระจกจำนวน 0.08, 0.04, 0.02, และ 0.01 ซี.ซี. ตามลำดับ เขย่าขวด antigen เพื่อให้เข้ากันดี ใช้ dropper ดูด แล้วหยดเพียง 1 หยด (0.03 ซี.ซี.) ลงบน serum ดังกล่าว การคน ให้เริ่มจาก dilution ต่ำๆ ก่อน คือ 0.01 ซี.ซี. โดยคนให้เป็นวงกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 ซม. แล้วทำต่อไปกับ dilution 0.02, 0.04, และ 0.08 ตามลำดับ โดยค่อย ๆ เพิ่มเส้นผ่าศูนย์กลางจนถึง 3 ซม. ให้ยกแผ่นกระจกออกมา rotate เพื่อให้มีการปนเข้ากันได้เป็นอย่างดี แล้วจึงนำแผ่นกระจกไปวางคืนบนกล่อง

ควรรีบก testing plate ไว้ประมาณ 8 นาทีก่อนอ่านผล และประมาณ 4 นาทีหลังการคนให้เข้ากันแล้ว ให้นำแผ่นกระจกออกมา rotate และเมื่อครบ 3 นาทีแล้ว ให้เปิดไฟเพื่ออ่านผล โดยค่อยๆเอียงแผ่นกระจก เพื่อให้ mixture ไหล ซึ่งจะช่วยให้อ่านผลได้ง่ายขึ้น โดยอ่านผลของ agglutination ดังนี้

Complete (+), Incomplete (I), Negative (-)

### Interpretation of Plate Agglutination Test Reactions.

Amount (ml.) of serum per drop				Interpretation in cattle that are	
0.08 (25)	0.04 (50)	0.02 (100)	0.01 (200)	Non-vaccinated	Vaccinated
—	—	—	—	negative	negative
I	—	—	—	”	”
+	—	—	—	”	”
+	I	—	—	suspect	”
+	+	I	—	”	suspect
+	+	+	—	reactor	”
+	+	+	I	”	”
+	+	+	+	”	reactor

**การควบคุมโรค** ถ้าจะให้การควบคุมโรคได้ผลอย่างจริงจัง จำเป็นต้องอาศัยหลักการร่วมกัน ดังนี้

- 1) การสุขาภิบาล
- 2) การฉีดวัคซีน
- 3) การทดสอบโรคและทำลาย

ถ้าหากมีการละเลย วิธีการอย่างหนึ่งอย่างใดแล้ว ย่อมทำให้การกำจัดโรคนี้ไม่ได้ผล (17)

## 1. การสุขาภิบาล

หมายรวมถึงการแยกหรือทำลายตัวที่เป็นโรคนั้น ทำลายลูกวัวแท้ง รก และ uterine discharge และทำการฆ่าเชื้อบริเวณที่มีเชื้อนี้ปะปนอยู่ การแยกแม่โคที่เป็นโรคนั้นขณะคลอดมีความสำคัญมาก ทั้งนี้เพื่อป้องกันการแพร่เชื้อนั่นเอง โคน้ำ และนม ที่จะนำเข้ามาเลี้ยงในฟาร์ม ควรจะได้ทำการทดสอบโรค และแยกไว้ดูอาการเป็นเวลา 1 เดือน แล้วทดสอบซ้ำอีก ส่วนการนำแม่โคที่อังก่เข้าฟาร์ม ควรแยกเลี้ยงจนกระทั่งคลอดลูกแล้ว ทั้งนี้เนื่องจากว่าแม่โคที่เป็นโรคอาจจะทดสอบโรคไม่แสดงผล positive จนกระทั่งหลังคลอด หรือหลังแท้งลูก (18)

## 2. การฉีดวัคซีน

### 2.1 การฉีดวัคซีนเชื้อเป็น Br. abortus strain 19. (avirulent strain)

ค่อนข้างจะได้ผลดีมากในการควบคุมโรคนั้น เพราะสามารถป้องกันสัตว์ที่ยังไม่ติดโรคนั้น ซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเชื้อนี้ปะปนอยู่ ทำให้ตัวที่เป็นโรคค่อย ๆ ถูกกำจัดไป โดยวิธีนี้ สามารถแก้ปัญหาที่ยากในการทดสอบโรคนั้น ซึ่งตัวที่เป็นโรคจำเป็นต้องทำลายทันที เพื่อป้องกันการแพร่เชื้อ

เนื่องจากวัคซีนนี้มีความรุนแรงต่ำ จึงไม่ทำให้เกิดการแท้งลูก นอกจากในรายที่แม่โคที่อังก่นอกจากนี้ จุดอ่อนอีก 2 ประการของวัคซีน คือ ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อนี้ได้ถึงร้อยเปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะการติดเชื้อของเต้านม และ ในวัวบางตัวยังคงมี titres อยู่ ลูกวัวบางตัว ซึ่งได้รับเชื้ออย่างมากหลังคลอด อาจจะติดเชื้อโรคนั้นไปจนโต หรืออาจจะไม่ให้ภูมิคุ้มโรคต่อการฉีดวัคซีน ดังนั้นจึงสามารถติดโรคนั้นได้อีก ในโอกาสต่อมา (19) ลูกโคอายุระหว่าง 4-8 เดือน เป็นช่วงเวลาที่เหมาะที่สุดที่จะฉีดวัคซีนนี้ (20) และลูกโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนในช่วงอายุนี้นี้ serum agglutination จะให้ผล negative เมื่อเป็นโครุ่น นอกจากเพียงบางส่วน (6) ในทางปฏิบัติ ในการควบคุมโรคนั้นมักจะทำ