

Study on foot and mouth disease status in goats in Petchaburi province

Kingkarn Boonsuya Seeyo^{1*}, Ard-Ong Onwan¹, Sopa Singcleebuth¹, Trakarnsak Paethaisong²

¹Regional reference Laboratory for FMD in South East Asia, National Institute of Animal Health, Pakchong, Nakhon-ratchasima 30130

²Veterinary Research and Development Center (Western Region), Po. Box 18, Chom bueng District, Ratchaburi Province, 70150

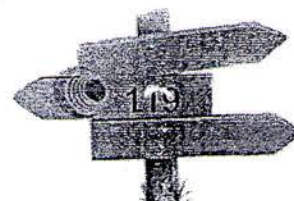
*Corresponding author Tel. 0-4427-9112 ต่อ 112 Fax 0-4431-4889 e-mail: kingkarn.bs3244@hotmail.co.th

Abstract

A study on foot and mouth disease status in goat during October 2011 to October 2012. The aim of this study was to detect the antibody titer for foot and mouth disease virus (FMDV) serotype O, A, Asia1 in 630 goat sera samples from Petchaburi province, by liquid phase blocking ELISA (LP-ELISA) based on double antibody sandwich ELISA principle and 3ABC Non-structural protein (NSP) of FMDV by indirect ELISA principle. The use of non structural protein test to differentiate between vaccinated and infected animals with foot and mouth disease virus was also conducted. The results showed that the antibody titer ($\geq 1:80$) against foot and mouth disease of type O, A and Asia I were 6.34, 18.88 and 17.30, respectively. In addition, we found that 10.47 % of the samples tested had antibody titer for foot and mouth disease virus (FMDV) to 3ABC Non-structural protein (NSP) of FMDV. This study indicated that the status of the antibody titer for foot and mouth disease virus (FMDV) serotype O, A, Asia1 were low. Thus, it is vitally important to conduct vaccination at least 80% of the goat population in order to prevent FMD outbreak in goats.

Keywords: foot and mouth disease virus, sheep and goat, liquid phase blocking ELISA, 3ABC non structural protein, Petchaburi province

POSTER PRESENTATION (P3)



การศึกษาสภาวะโรคปากและเท้าเปื่อยในแพะจังหวัดเพชรบุรี

กิงกานต์ บุญสุยา สีโอ¹, อาจง อ่อนหวาน¹, โสภา สิงคลีบุตร¹, ตระการศักดิ์ แพโรสง²

¹ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ 1213/1 อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา 30130

²ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตกคู่ปณ. 18 อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150

*ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ โทร. 0-4427-9112 ต่อ 112 โทรสาร. 0-4431-4889 e-mail: kingkarn.bs3244@hotmail.co.th

บทคัดย่อ

การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย type O, A และ Asia1 ในแพะ จำนวน 630 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างซีรัมจากจังหวัดเพชรบุรีตั้งแต่เดือนตุลาคม 2554 ถึงตุลาคม 2555 ด้วยวิธี Liquid phase blocking ELISA (LP ELISA) ตามหลักการ double antibody sandwich ELISA และตรวจสอบการสัมผัสเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธี indirect ELISA โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปเพื่อตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนส่วน 3ABC non structural protein (NSP) เพื่อจำแนกระหว่างสัตว์ที่ได้รับเชื้อและสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีน จากผลการศึกษาเมื่อตัดสินว่าระดับแอนติบอดีที่สูงกว่า 1:80 ถือว่าสัตว์มีความคุ้มโรคได้ พบว่าแพะที่มีความคุ้มต่อโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ ไทป์เอ และไทป์เอเซียวัน คิดเป็นร้อยละ 6.34, 18.88 และ 17.30 ตามลำดับ ส่วนผลการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ 3ABC non-structural protein พบว่าให้ผลบวกร้อยละ 10.47 เมื่อเปรียบเทียบจำนวนซีรัมแพะทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษา จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่าแพะที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ ไทป์เอ และเอเซียวันยังมีอยู่ในระดับต่ำ จึงควรเร่งดำเนินการฉีดวัคซีนให้ครอบคลุมประชากรแพะอย่างน้อย 80% เพื่อให้แพะปลอดภัยจากโรคปากและเท้าเปื่อย

คำสำคัญ: ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย, แพะ, Liquid phase blocking ELISA, 3ABC non structural protein, จังหวัดเพชรบุรี



บทนำ

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคระบาดที่มีความรุนแรงแพร่กระจายอย่างรวดเร็วก่อให้เกิดพยาธิสภาพในสัตว์กับคู่ทุกชนิด ได้แก่ โค กระบือ แพะ แกะ และ สุกร เป็นต้น ซึ่งเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สร้างความเสียหายต่อการปศุสัตว์ไทยสูญเสียรายได้ทางเศรษฐกิจเนื่องจากการกีดกันทางการค้า ทำให้ไม่สามารถส่งออกผลิตภัณฑ์ทางปศุสัตว์ไปค้ายังต่างประเทศได้ สาเหตุของโรคมาจากเชื้อไวรัสซึ่งอยู่ในวงศ์ Aphovirus ตระกูล piconaviridae (King, 2000) สัตว์จะแสดงอาการ ได้แก่ เกิดตุ่มน้ำใสที่ปาก เหงือก ลิ้น มีแผลบริเวณกีบเท้า มีอาการมีไข้ เบื่ออาหาร ในลูกสัตว์อาการจะรุนแรง ติดเชื้อแทรกซ้อนได้ง่ายและตายในที่สุด โดยพบว่าทั่วโลกมีทั้งหมด 7 ซีโรไทป์ คือ O, A, C, Asia1, SAT1, SAT2, และ SAT3 (Brooksby and Rogers, 1975) ซึ่งในประเทศไทยพบว่ามีกระระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย ได้แก่ ไทป์ O, A และ Asia 1 ส่วนใหญ่สัตว์ที่ป่วยและแสดงอาการให้เห็นอย่างชัดเจน ได้แก่ โค กระบือ และสุกร แต่ในแพะและแกะเมื่อได้รับการติดเชื้อจะไม่แสดงอาการป่วยให้เห็นอย่างเด่นชัด (Kitching and Hughes, 2002) และสัตว์ที่หายป่วยจากโรคปากและเท้าเปื่อยสามารถเป็นพาหะแพร่โรคไปสู่สัตว์อื่นได้ มีรายงานว่าแพะสามารถเป็นพาหะนำโรคได้นานถึง 4 เดือน (Singh, 1977) ปัจจุบันมีการส่งเสริมการเลี้ยงแพะและแกะในพื้นที่ทุกภาคของประเทศ โดยพบว่าส่วนใหญ่ภาคตะวันตกและภาคใต้มีจำนวนมากกว่าภาคอื่นๆ จากข้อมูลศูนย์สารสนเทศกรมปศุสัตว์ ในปัจจุบันภาวะโรคในสัตว์พบว่ามีอุบัติการณ์ใหม่เกิดขึ้นในแพะและแกะเพิ่มมากขึ้นรวมถึงโรคปากและเท้าเปื่อย ดังนั้นจึงได้ทำการสำรวจโรคและการตรวจเฝ้าระวังโรคปากและเท้าเปื่อยเพื่อศึกษาระดับภูมิคุ้มกันต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย type O, A และ Asia1 ในแพะ รวมทั้งเป็นการศึกษาสภาวะของการสัมผัสเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย เพื่อแยกแยะระหว่างสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อมีกับสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนเป็นการประเมินความเสี่ยงต่อสภาวะการเกิดโรคปากและเท้าเปื่อยในพื้นที่จังหวัดเพชรบุรีเพื่อเป็นการนำร่อง และเป็นข้อมูลสำหรับการสำรวจในพื้นที่อื่นๆต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

เก็บรวบรวมตัวอย่างซีรัมจากแพะ ในพื้นที่จังหวัดเพชรบุรี ตั้งแต่เดือนตุลาคม ปี 2554 ถึงเดือนกันยายน 2555 รวมเป็น 630 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างซีรัมจากภาคตะวันตก เขตพื้นที่จังหวัดเพชรบุรีเป็นส่วนใหญ่ ทำการแยกซีรัมแล้วเก็บแช่แข็งและนำส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. Liquid phase blocking enzyme linked immunosorbent assay (LP-ELISA)

การตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อย type O, A และ Asia1 โดยวิธี indirect double antibody sandwich ELISA (LP-ELISA) (Linchongsubongkoc and Janukij, 1994) เพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยด้วยวิธี LP ELISA วัคซีน

2. Non structural protein (NSP) test

การตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อส่วน 3ABC Non-structural protein (NSP) ของ FMDV โดยวิธี indirect ELISA ด้วยชุดตรวจสอบ PrioCHECK® FMDV NS ที่ผลิตจากหน่วยงาน Prionics AG, ประเทศสวิตสแลนด์ เพื่อแยกระหว่างสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อและสัตว์ที่ได้รับการฉีด ซึ่งขั้นตอนและวิธีการตรวจสอบดำเนินการตามคู่มือของผู้ผลิต โดยอ่านผลเป็นลบหรือบวก (Linchongsubongkoch et al., 2004)

3. เกณฑ์การตัดสิน

การแปลผลจากระดับแอนติบอดีต่อเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยในแต่ละไทป์ ซึ่งถ้ามีค่า $\geq 1:80$ ถือว่าสัตว์นั้นมีภูมิคุ้มกันโรคเพียงพอต่อไทป์นั้นๆ (partial immunity) และถ้ามีระดับแอนติบอดีต่อทั้ง 3 ไทป์ $\geq 1:80$ ถือว่าสัตว์นั้นมีภูมิคุ้มกันโรคเพียงพอสำหรับโรคปากและเท้าเปื่อยทั้ง 3 ไทป์ (Protected) (Linchongsubongkoch et al., 2000)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ผลโดยการคำนวณร้อยละของการตรวจหาระดับแอนติบอดีของต่อเชื้อโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์ O, A และ Asia 1 ที่มีค่าไคเตอร์ $\geq 1:80$ และร้อยละที่ให้ผลบวกต่อ NSP จากซีรัมของแพะและแกะ

ผลการศึกษา

จากผลการศึกษาพบว่าระดับแอนติบอดีต่อโรคปากและเท้าเปื่อย type O ที่ $< 1:40$, $\geq 1:40 - < 1:80$ และ $\geq 1:80 - 1:640$ คิดเป็นร้อยละ 65.88%, 27.78 และ 6.34 ตามลำดับ ระดับแอนติบอดีต่อโรคปากและเท้าเปื่อย type A ที่ $< 1:40$, $\geq 1:40 - < 1:80$ และ $\geq 1:80 - 1:640$ คิดเป็นร้อยละ 61.91, 19.21 และ 18.89 ตามลำดับ, ระดับแอนติบอดีต่อโรคปากและเท้าเปื่อย type Asia1 ที่ $< 1:40$, $\geq 1:40 - < 1:80$ และ $\geq 1:80 - 1:640$ คิดเป็นร้อยละ 56.67, 27.78 และ 17.30 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 ผลการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ 3ABC non-structural protein พบว่าให้ผลบวกร้อยละ 10.47 เมื่อเปรียบเทียบจำนวนซีรัมแพะทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษา



ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจสอบระดับแอนติบอดีต่อโรคปากและเท้าเปื่อย type O, A และ Asia1 ผลบวกต่อการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ 3ABC Non-structural protein (NSP) ระหว่างตั้งแต่เดือนตุลาคม 2554 ถึง ตุลาคม 2555 (n=630)

ไทยปี	ระดับแอนติบอดีต่อโรคปากและเท้าเปื่อย			จำนวน ตัวอย่าง	3ABC NSP ผลบวกต่อตัวอย่างทั้งหมด
	<1:40	≥ 1:40 < 1:80	≥ 1:80-1:640		
โอ	415 (65.88%)	175 (27.78%)	40 (6.34%)	630	66 (10.47 %)
เอ	390 (61.91%)	121 (19.21%)	119 (18.88%)		
เอเชียวัน	357 (56.67%)	175 (27.78%)	109 (17.30%)		

สรุปผลและวิจารณ์

จากการศึกษาสภาวะโรคปากและเท้าเปื่อยในครั้งนี้ การดำเนินงานเก็บตัวอย่างซีรัมในพื้นที่สามารถเก็บได้เฉพาะซีรัมแพะเท่านั้น เนื่องจากช่วงเวลาดำเนินการวิจัยมีเพียงสัตว์ชนิดเดียวที่เกษตรกรเลี้ยงในพื้นที่ขณะนั้น ซึ่งคณะผู้วิจัยมีเป้าหมายและแผนจะดำเนินการเก็บตัวอย่างเพิ่มในพื้นที่จังหวัดอื่นๆ ด้วย แต่เนื่องจากงบประมาณประจำปี 2556 ถูกตัดไม่ได้รับการสนับสนุน ทำให้ไม่สามารถดำเนินการต่อได้ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จะได้ข้อมูลซึ่งมาจากแพะและจากพื้นที่เพียงจังหวัดเดียว ผลการตรวจระดับแอนติบอดีต่อ ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย type O, A และ Asia1 โดยวิธี LP-ELISA แสดงในตารางภาพที่ 1 สรุปพอสังเขปดังนี้ ระดับแอนติบอดีน้อยกว่า 1:40 พบถึง 56-65 % ซึ่งหมายความว่าสัตว์เหล่านี้ไม่มีแอนติบอดีต่อ FMDV เลย อาจเนื่องมาจากสัตว์ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยอย่างสม่ำเสมอปีละ 2 ครั้ง หรือฉีดเพียงครั้งเดียว หรือไม่เคยฉีดวัคซีนเป็นต้น เป็นที่น่าสังเกตว่าระดับแอนติบอดีต่อ FMDV ทั้ง 3 ไทยปีช่วง 1:40-1:80 มีเพียง 19-27% และพบว่าระดับแอนติบอดีต่อ FMDV ทั้ง 3 ไทยปีที่มากกว่า 1:80-1:640 มีเพียง 6-18%ซึ่งน้อยมาก หมายถึง heard immunity ต่ำมาก เพราะระดับแอนติบอดีมากกว่า 1:80 ถือว่าเป็นระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรคได้ (Linchongsubongkoch et al., 2000) เมื่อทำการวิเคราะห์ในรายละเอียดแต่ละไทยปี ในตารางที่ 1, 2 และ 3 พบว่าระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยของ type O มีค่าร้อยละ 6.34 มีค่าต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับ type A มีค่าร้อยละร้อยละ 18.88 และ type Asia1 มีค่าร้อยละ 17.30 เมื่อพิจารณาโดยภาพรวมในระดับฝูงมีระดับภูมิคุ้มกันที่ไม่เพียงพอต่อการป้องกันโรค ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการสำรวจประชากรแพะและแกะเทียบกับ

แผนการฉีดวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยในแพะและในพันธุ์ดังกล่าว (ข้อมูลศูนย์สารสนเทศ กรมปศุสัตว์) ซึ่งไม่ครอบคลุมประชากรสัตว์จำพวกแพะและแกะเท่าที่ควร จากการศึกษาครั้งนี้ได้ข้อมูลทางวิชาการที่สามารถนำไปใช้ในการวางแผนและเตรียมความพร้อมในการหามาตรการควบคุมและป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยต่อไป สำหรับการตรวจสอบสถานะการสัมผัสไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย โดยการตรวจหาแอนติบอดีต่อ 3ABC NSP ของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยพบว่าได้ผลบวกต่อ 3ABC NSP เป็น 66/630 หรือ 10.47% เมื่อเทียบจำนวนซีรัมแพะทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษา และจากการพิจารณาประวัติของกลุ่มตัวอย่างแพะที่นำมาศึกษาเป็นแพะเนื้อที่มีอายุระหว่าง 6 เดือน ถึง 4 ปี โดยข้อมูลการรับเข้าและจำหน่ายออกภายในฟาร์มไม่ชัดเจน แต่พบว่าภายในฟาร์มเดียวกันที่ตรวจพบผลบวกต่อ 3ABC NSP แต่ไม่แสดงอาการป่วยหรือมีรอยโรคให้เห็นและไม่มีการแพร่ระบาดไปยังตัวอื่นๆภายในฝูงที่เลี้ยงในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน จากการสืบค้นข้อมูลการส่งตัวอย่างจากพื้นที่นี้และพื้นที่ใกล้เคียงถึงประวัติการส่งตัวอย่างไปศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย เพื่อตรวจวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อยนั้นพบว่ามีกระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยในโคเนื้อในพื้นที่และในช่วงเวลาดังกล่าว จึงมีโอกาสมันที่แพะกลุ่มนี้ได้รับการติดเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย แต่ไม่แสดงอาการให้เห็นหรือเป็นลักษณะ mild infection (Kitching et al and Hughes, 2002) จากการศึกษาครั้งนี้ได้ข้อมูลวิทยาศาสตร์ที่เป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานในพื้นที่โดยสามารถนำมาใช้วิเคราะห์สถานะการสัมผัสไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย เพื่อเตรียมการวางแผนมาตรการในการเคลื่อนย้ายสัตว์ที่มีประสิทธิภาพ หรือเพื่อการกักกันสัตว์นำเข้าเพื่อดูอาการว่ามีรอยโรคหรือไม่ หรือการฉีดวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยในระหว่างการกักกันสัตว์ก่อนอนุญาตให้มีการเคลื่อนย้ายสัตว์เป็นต้น กรณีพบผลบวกต่อ 3ABC NSP จำเป็นต้องมีมาตรการ งดการเคลื่อนย้ายสัตว์อย่างเด็ดขาดและต้องหาพื้นที่เอกเทศสำหรับกักสัตว์เหล่านี้ต่อจนถึงระยะปลอดภัย ทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงต่อการนำสัตว์ที่เป็นพาหะนำโรคไปแพร่กระจายในแหล่งอื่นๆ ซึ่งสามารถลดการแพร่ระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อยได้ จากรายละเอียดดังกล่าวสามารถใช้เป็นแนวทางในการควบคุม ป้องกันและกำจัดโรคในพื้นที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสัตวแพทย์หญิงสมใจ กมลศิริพิชัยพร ผู้อำนวยการศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อย ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการเตรียมสารละลาย บัฟเฟอร์ต่างๆและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบตัวอย่าง ขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญวิไล ลินจงสูงงกช ที่ปรึกษากรมปศุสัตว์ และ OIE Expert ในการให้คำปรึกษา แนะนำ วิเคราะห์ผลและตรวจสอบแก้ไขรายงานให้มีคุณภาพและสมบูรณ์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างในพื้นที่สำหรับการศึกษาครั้งนี้ จนบรรลุผลสำเร็จ



ในหนังสือตำราวิชาการศึกษาดังนี้ จนบรรลุผลสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- Brooksbys, J. B. & Rogers, J. 1957. Methods used in typing the virus of foot-and-mouth disease at Pirbright, 1950-1955. In: Methods of typing and cultivation of foot-and-mouth disease viruses, Paris O.E.E.C. Project 208 pp. 31-34.
- King, A.M.Q. 2000. Picornaviridae (Seventh report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses). In: *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. (Van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M. and Bishop, D.H.L., eds.) Academic Press: pp 657-673.
- Kitching, R.P. and Hughes, G.J. 2002. Clinical variation of FMD: sheep and goats. Rev. Sci. Tech. Off.Int. Epiz., 21 (3): 505-512.
- Linchongsungkoch, W and Janukij, T. 1994. Detection of antibody titer to FMDV by liquid phase ELISA. Proceedings on an Annual Seminar of Veterinary Biologics Division. p. 63-72.
- Linchongsungkoch, W., Ounpomma, D., and Thongtha P. 2004. The use of various non structural protein kits to differentiate between vaccinated and infected animals with foot and mouth disease virus. Journal of the Thai Veterinary Medical Association. 55(2):21-29.
- Linchongsungkoch, W., Phusirimongkol, A., Petchwanichkul, S. and Udon, R., 2000. Study of protective antibody titer in cattle and pigs after vaccination with foot and mouth disease vaccine by liquid phase blocking ELISA. The Journal of Vet. Biologics. 10(1-2): 41-49.
- Singh, P.R. 1977. Studies on foot and mouth disease in goats with special reference to the distribution of virus and carrier status. Ph. D. Thesis, Agra University, India.

