

รายงานการตรวจพบโรค Contagious Ecthyma ในแพะและแกะที่กรุงเทพมหานคร

Report of Contagious Ecthyma Disease in Goat and Sheep Found in Bangkok

ประภาส เนรมิตมานสู¹, สมชัย พงศ์จรรยากุล², ยันต์ สุขวงศ์^{1,3},
นที นิลนพคุณ² และ Ahmed H. Dardiri³
Prapahd Neramitmansook, Somchai Pongjunyakul, Yan Sukwong,
Nati Nilnophakoon and Ahmed H. Dardiri

ABSTRACT

In November 1981, a contagious disease was reported in a herd of 25 goats and 22 sheep which were raised together in Bangkapi district, Bangkok. The morbidity rate of goat and sheep was 28% and 68% respectively. With red vesicles on the lips and gums, the sick animals had difficulties in eating. The diagnosis of the disease was based on history, clinical signs, lesions, histopathology, an ability to induce disease in sheep by scarification, the demonstration of parapox virus particles by electron microscope and the result of positive complement fixation test to known contagious ecthyma antigen. It was then concluded that these animals were infected by contagious ecthyma disease.

บทคัดย่อ

ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2524 ได้มีโรคระบาดเกิดขึ้นในฝูงแพะจำนวน 25 ตัว และฝูงแกะจำนวน 22 ตัว ที่เลี้ยงรวมกันในเขต อ. บางกะปิ กรุงเทพมหานคร อัตราการป่วยของแพะเท่ากับ 28% และของแกะ 68% อาการของตัวที่ป่วยมีเม็ดตุ่มแดงที่ริมปากและเหงือก การกินอาหารลำบาก ในการวินิจฉัยโรคพิจารณาจากประวัติ อาการ รอยโรค ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา การปลูกโรคได้ในแกะทดลอง การตรวจพบไวรัสกึ่งพาราพ็อกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และการตรวจพบแอนติบอดีของโรค Contagious Ecthyma ในซีรัมแกะทดลอง จึงสรุปได้ว่าโรคระบาดในแพะและแกะครั้งนี้เป็นโรค Contagious Ecthyma

คำนำ

Contagious Ecthyma หรือ Orf เป็นโรคระบาดของแพะและแกะที่ทำความเสียหายมาแล้ว ดังรายงานในประเทศออสเตรเลีย (Gardiner และคณะ, 1967). อินเดีย (Kumar และคณะ, 1974). กานาดา (Samuel และคณะ, 1975) และสหรัฐอเมริกา (Erickson และคณะ, 1975) โรคนี้เกิดจากไวรัสชนิด DNA ในกลุ่มของพาราพ็อกที่ติดต่อมนุษย์ได้ (Cottral, 1978; Erickson และคณะ, 1975; Hessami และคณะ, 1979; Ames และคณะ, 1984) ประภาส และคณะ (2523) เคยแยกไวรัสจากแพะที่เป็นโรคระบาดคล้าย Contagious Ecthyma ทางภาคใต้ของประเทศไทย แต่การพิสูจน์โรคในครั้งนั้นยังไม่สามารถยืนยันได้อย่างสมบูรณ์ รายงานนี้จึงนำผลการตรวจ

1 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
2 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
3 Plum Island Animal Disease Center, U.S.A.

พบโรค Contagious Ecthyma ที่ระบาดในฝูงแพะและแกะเมื่อปลายปี 2524 ที่กรุงเทพมหานคร มาเสนอพร้อมกับหลักฐานการวินิจฉัยซึ่งพิสูจน์อย่างแน่ชัดแล้ว

อุปกรณ์และวิธีการ

การตรวจทางระบาดวิทยา ได้สอบถามประวัติการเกิดโรคจากเจ้าของ และสังเกตอาการในแพะและแกะตัวที่เป็นโรซึ่งเลี้ยงใน ต. วังทองหลาง อ. บางกะปิ กรุงเทพมหานคร บันทึกจำนวนสัตว์ทั้งหมดในฟาร์มและอัตราการป่วย

การรักษา แพะและแกะที่เป็นโรค ทาด้วย Gentian Violet เข้มข้น 0.2% ทุกวัน ติดต่อกัน 5 วัน

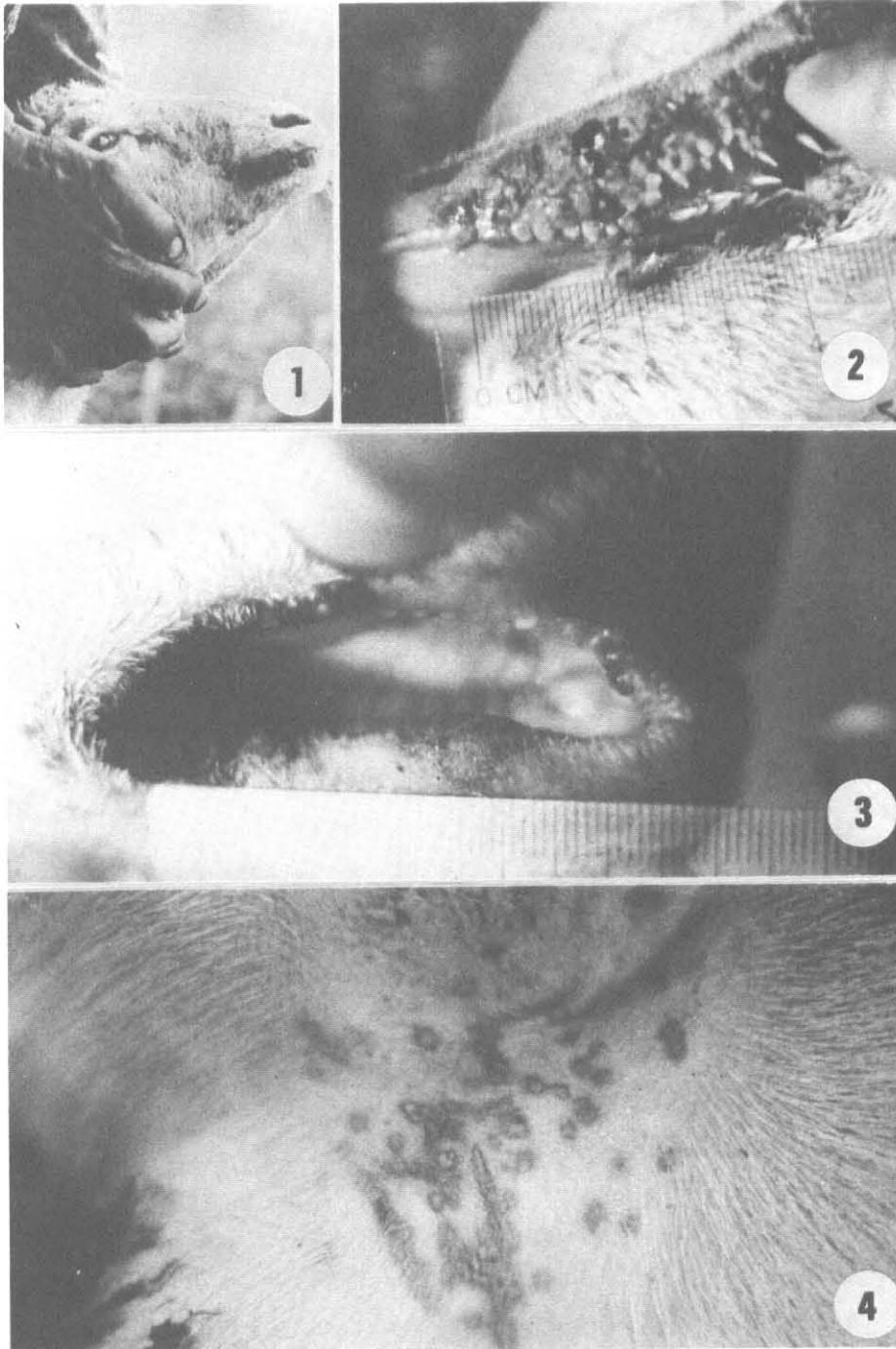
การพิสูจน์โรคนในแกะทดลอง ใช้สะเก็ดแผลจากปากของแพะป่วยที่ตรวจพบ ทำการปลูกไวรัสตามวิธีของประภาสและคณะ (2523) ซึ่งสรุปย่อ ดังนี้ สะเก็ดแผลจากหนึ่งเม็ดตุ่มใส่จานแก้วผสมน้ำเกลือ 5 มิลลิลิตร บดในครกที่มียาสเตอร์พโตไมซิน 12.5 มิลลิกรัม ตั้งทิ้งนาน 20 นาที จึงนำไปปั่น นำส่วนบนที่ไม่มีตะกอนหลังจากปั่น 1,500 รอบต่ออนาทินาน 10 นาที บรรจุในกระบอกฉีดตอนปลายมีเข็มเบอร์ 25 นำปลายกระบอกฉีดที่มีเข็มแทงบนเหงือกและหนังท้องใกล้บริเวณอัมตะของแกะทดลองสองตัวที่มีน้ำหนัก 80 ปอนด์ (แกะใหญ่) และ 42 ปอนด์ (แกะเล็ก) การปลูกใช้แห่งละ 1 มิลลิลิตร แกะทั้งสองตัวไม่เคยฉีดวัคซีนชนิดใดมาก่อน

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา 5 วันหลังจากปลูกไวรัส ทำการตัดหนังท้องแกะเล็กบริเวณที่มีเม็ดตุ่มขึ้น ตัดเป็นชิ้นขนาด 1.3×5 เซนติเมตร นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จากนั้นอีก 2 วัน ตัดเม็ดตุ่มจากปากแกะเล็กจำนวน 2 ชิ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร และ 0.4 เซนติเมตร ขณะเดียวกันในแกะใหญ่ตัดหนังริมปากที่มีเม็ดตุ่มขึ้นขนาด 3 เซนติเมตร นำไปตรวจตามวิธีดังกล่าวข้างต้น ก่อนทำการตัดทุกครั้ง ฉีดยาระงับความรู้สึก ด้วยยา Rompun ซึ่งผลิตโดยบริษัท Bayer ประเทศเยอรมนี เข็มกล้ำเนื้อแกะเล็ก 0.5 มิลลิลิตร และ แกะใหญ่ 1.2 มิลลิลิตร หลังการตัดหนัง ได้ฉีดยาปฏิชีวนะและทาแผลด้วย 0.2% Gentian Violet

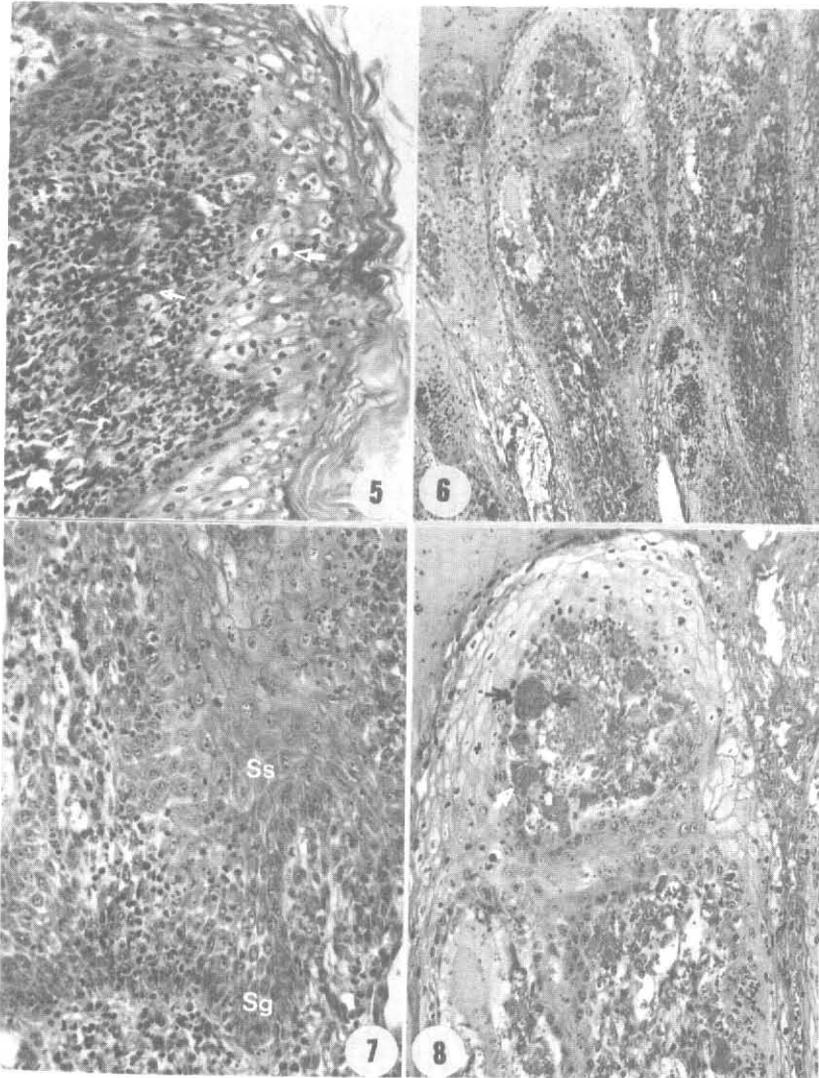
เนื้อเยื่อผิวหนังที่ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา นำมา Fixed ด้วย Bouin's solution นาน 12-48 ชั่วโมง แล้วนำมาล้างด้วย 50% แอลกอฮอล์ ผ่านขบวนการ Dehydration และ Embed ในพาราฟิน ทำเป็นบล็อก แล้วตัดเป็น Section หนา 3-5 ไมครอน แล้วย้อมสี Haematoxylin และ Eosin ส่วนเนื้อเยื่อที่ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนถูก Fixed ด้วย 2.5% Glutaraldehyde ใน Sodium cacodylate buffer pH 7.4 แล้ว Post fixed ด้วย 1% Osmium tetroxide จากนั้น Embed ใน Epon-araldite ตัดเป็น Section หนา 600-900 Å ด้วย Ultramicrotome ชั้นสุดท้ายย้อมด้วย Uranyl acetate และ Lead citrate

การตรวจทางซีรัมวิทยา ซีรัมแกะทดลองสองตัว ซึ่งเจาะเก็บก่อนการปลูกไวรัส และที่เก็บหลังจากนั้น 19 วัน ส่งไปตรวจหาคอมพลีเมนต์ที่ฟิคซึ่งแอนติบอดีต่อโรค Contagious Ecthyma โดยวิธี Complement Fixation ที่ Plum Island Animal Disease Center, U.S.A.

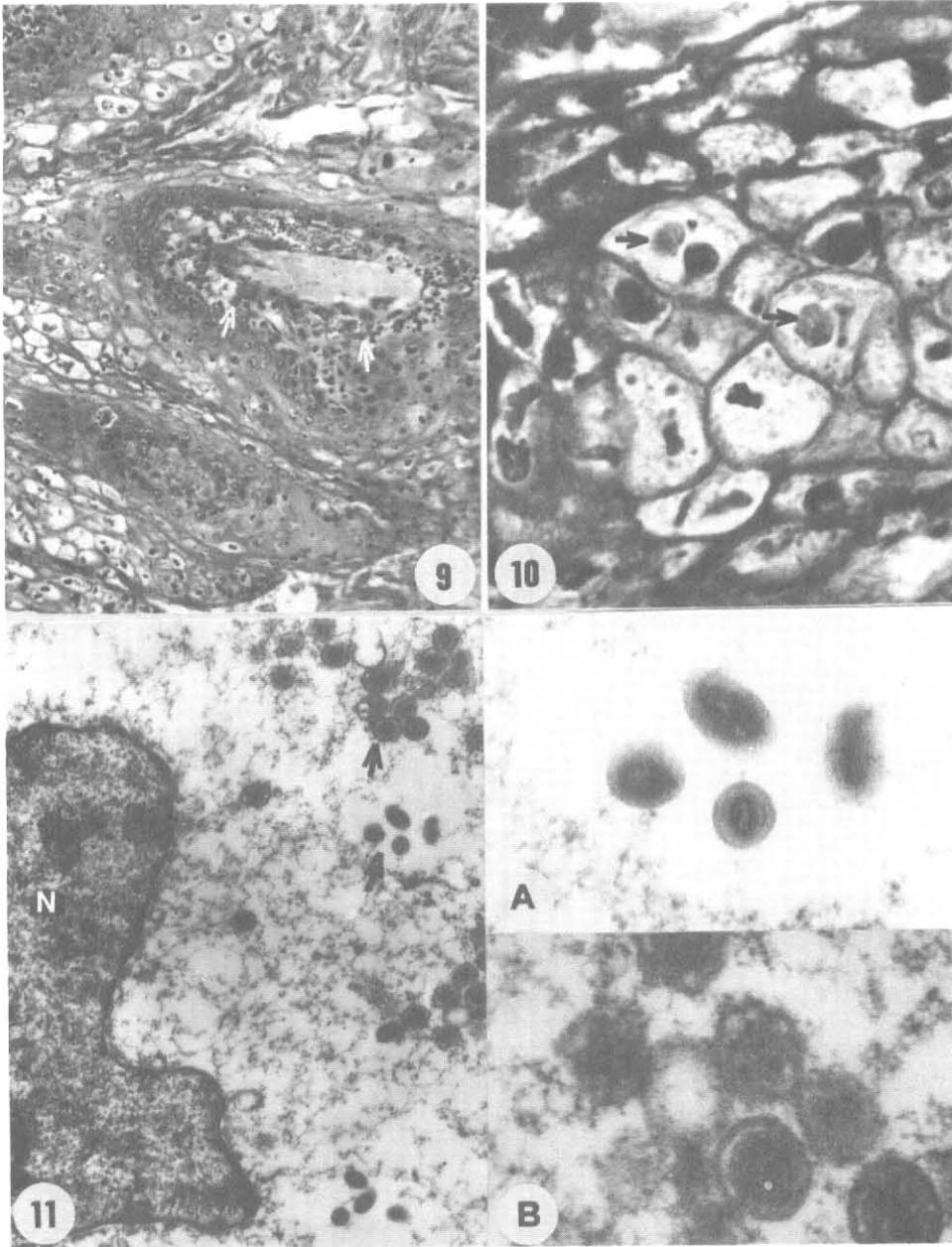
ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา พบ Ballooning degeneration ของ Keratinocytes, (รูปที่ 5, 6) เซลล์ชั้น Stratum germinativum ของ Epidermis มีลักษณะเป็น Polygonal shape และเกิดการแบ่งตัวมากทำให้ชั้น Stratum spinosum ของ Epidermis หนามาก (รูปที่ 7) มี Inflammatory cells แทรกเข้าไปในบริเวณที่เกิดการอักเสบ ซึ่งพบได้ทั้งใน Epidermis และ Dermis (รูปที่ 5, 6) Capillaries ในชั้น Dermis เกิด Congestion และ Dilation. (รูปที่ 8) Keratinocyte ที่เกิด Degeneration นั้น พบ Eosinophilic intracytoplasmic inclusion bodies ที่มีขนาดต่าง ๆ กันหลาย ๆ อันในหนึ่งเซลล์ (รูปที่ 10) เนื้อเยื่อที่ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบอนุภาคของ Contagious ecthyma virus จำนวนมากใน Infected keratinocyte (รูปที่ 11) ซึ่งมีขนาดประมาณ 180 nm. ลักษณะของ Virions มีทั้ง First stage, Intermediate stage (รูปที่ 11 A) และ Mature stage. (รูปที่ 11 B)



- รูปที่ 1 แกะทดลองเกิดแผลตกสะเก็ดที่ริมฝีปาก
รูปที่ 2 เม็ดตุ่มแดงเกิดที่ papillae บริเวณริมปากด้านใน
รูปที่ 3 เม็ดตุ่มแดงลุกลามและอักเสบมากขึ้น
รูปที่ 4 เม็ดตุ่มเกิดที่หนังท้องหลังจากปลูกไวรัสแล้ว 4 วัน



- รูปที่ 5 ผิวหนังบริเวณท้องของแกะหลังจากปลูกไวรัสได้ 5 วัน พบว่าเกิด **Ballooning degeneration** ของ **Keratinocytes** (ลูกศรใหญ่) และมี **Inflammatory cells** แทรกเข้าไปในบริเวณ **Epidermis** และ **Dermis** (ลูกศรเล็ก), 264x
- รูปที่ 6 ผิวหนังบริเวณริมฝีปากของแกะที่ปลูกไวรัสได้ 5 วัน พบชั้น **Epidermis** จะมีความหนามากขึ้น เนื่องจากมีการแบ่งเซลล์ในชั้น **Stratum spinosum** และมีการอักเสบเกิดขึ้น, 72x
- รูปที่ 7 ผิวหนังบริเวณริมฝีปากของแกะที่ปลูกไวรัสได้ 7 วัน แสดงให้เห็น **Polygonal shape cells** ในชั้น **Stratum germinativum (Sg)** ซึ่งจะมีการแบ่งตัวมากขึ้นทำให้ชั้น **Stratum spinosum (Ss)** หนาขึ้น, 264x
- รูปที่ 8 ผิวหนังบริเวณริมฝีปากของแกะที่ปลูกไวรัสได้ 7 วัน พบว่า **Capillaries** ในชั้น **Dermis** (ลูกศรชี้) เกิดการขยายตัว (**Dilate**) และมีเลือดคั่ง (**Congestion**) มี **Inflammatory cells** แทรกอยู่ทั่วไปในชั้น **Dermis** และ **Epidermis**, 200x



- รูปที่ 9 ผิวหนังบริเวณริมฝีปากของแกะที่ปลูกไวรัสได้ 7 วัน แสดงให้เห็นการอักเสบของเส้นเลือด (ลูกศรชี้) ในชั้น Dermis, 200x
- รูปที่ 10 Degenerated keratinocytes ซึ่งพบ Eosinophilic intracytoplasmic inclusion bodies (ลูกศรชี้) ขนาดต่างๆ กันอยู่ภายในเซลล์, 1072x
- รูปที่ 11 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของ Infected keratinocyte ซึ่งพบ Virions stage ต่าง ๆ กันอยู่ภายในเซลล์, Organelles ภายในเซลล์หายไปหมด แต่ลักษณะ Nucleus (N) ยังคงอยู่, 28,800x
 A Intermediate stage virions, 96,000x B Mature stage virions, 96,000x

วิจารณ์

การระบาดของโรค Contagious Ecthyma ในแพะและแกะที่ตรวจพบครั้งนี้ อัตราการป่วยของแพะเท่ากับ 28% และแกะเท่ากับ 68% ส่วนวัวซึ่งเลี้ยงในฟาร์มเดียวกันกลับไม่เป็นโรค (ตารางที่ 1) จึงทำให้การวินิจฉัยเปรียบเทียบโรคขั้นต้น สามารถตัดโรคปากและเท้าเปื่อยออกไปได้ อนึ่ง อาการที่ปรากฏ

กับแพะและแกะเกิดขึ้นเฉพาะบริเวณปากเท่านั้น การรักษาด้วย Gentian violet ข้น 0.2% ทำให้แพะและแกะหายป่วยภายใน 7 วัน ใกล้เคียงกับผลการใช้ทิงเจอร์ไอโอดีน 2.5% ซึ่งเวลาการหายป่วยนาน 9 วัน (ประภาส และคณะ, 2523)

การวินิจฉัยยืนยันโรค Contagious Ecthyma จำเป็นต้องตรวจหาไวรัสที่เป็นสาเหตุ การทดลองทำให้เกิดโรคในสัตว์ก็เป็นการพิสูจน์ Koch's postu-

ตารางที่ 1 รวมข้อมูลการระบาดและการรักษาโรค Contagious Ecthyma จากฟาร์มแพะและแกะแห่งหนึ่ง ที่อำเภอบางกะปิ กรุงเทพมหานคร

ชนิดสัตว์	ตัวป่วย/ จำนวนทั้งหมด	อัตราการป่วย (%)	อาการ	การรักษา
แพะ	7/25	28	เริ่มแรกมีเม็ดตุ่มแดงที่ปาก เม็ดตุ่มแตกกลายเป็นแผลตกสะเก็ด ริมปากขรุขระน้ำเกลือ, การกินอาหารลำบาก	หายป่วยเป็นปกติใน 7 วัน
แกะ	15/22	68	อาการเหมือนในแพะ	รักษาเหมือนในแพะ
วัว*	0/5	0	—	—

*พันธุ์ผสมระหว่างอเมริกันบราห์มันส์ กับพื้นเมืองซึ่งเลี้ยงไว้ในฟาร์มเดียวกัน

ตารางที่ 2 ผลการพิสูจน์โรคและการตรวจซีรัมในแกะทดลอง

วันตรวจ	แกะใหญ่		แกะเล็ก		อาการ
	อุณหภูมิร่างกาย	ซีเอฟไอเตอร์	อุณหภูมิร่างกาย	ซีเอฟไอเตอร์	
1*	102.5°	0	103.4°	0	ปกติ
4	102.8°	—	103.0°	—	เริ่มมีเม็ดตุ่มแดงเกิดที่ปากและหนังท้องบริเวณปลอกไวรัส (รูปที่ 2 และรูปที่ 4)
7	104.8°	—	105.4°	—	เม็ดตุ่มแดงลูกกลมและอักเสบมากขึ้น (รูปที่ 3)
19	—	0	—	1 : 192	แผลหายเป็นปกติ

*ตรวจก่อนปลูกไวรัส

° องศาฟาเรนไฮต์

lates ซึ่งได้รับผลตามตารางที่ 2 เกะทดลองสองตัว เริ่มแสดงอาการในวันที่ 4 หลังจากปลูกไวรัส รอยโรคเกิดเหมือนกับการเป็นโรคของแพะและแกะที่ติดอย่างธรรมชาติ จากตารางเดียวกันนี้สังเกตเห็นว่า ในวันที่ 7 อุณหภูมิร่างกายของแกะทั้งสองตัวสูงขึ้น คือ แกะใหญ่จาก 102.5° ขึ้นถึง 104.8° ฟาเรนไฮต์ และแกะเล็กจาก 103.4° เป็น 105.4° ฟาเรนไฮต์ การเพิ่มของอุณหภูมิร่างกายเพียงเล็กน้อยนี้ เข้าใจว่าเป็นผลจากการอักเสบของแผลที่ท้องและปากของแกะทดลอง (รูปที่ 1)

การตรวจซีรัมแกะที่ใช้ทดลองโดยวิธี Complement Fixation ปรากฏว่าซีรัมของแกะใหญ่ก่อนปลูกไวรัสและหลังจากนั้น 19 วัน ได้ผลลบหมดเมื่อเปรียบเทียบกับซีรัมของแกะเล็ก ซึ่งมีเชื้อฟิโตเตอร์ต่อโรค Contagious Ecthyma จากวันปลูกไวรัส เท่ากับศูนย์ แต่พอถึง 19 วัน ไตเตอร์เป็น 1 : 192 จึงแน่ชัดว่าแกะเล็กติดไวรัส Contagious Ecthyma จากการทดลองครั้งนี้ เพราะการตรวจวิธี Complement Fixation ถือว่าบวกเมื่อไตเตอร์สูงตั้งแต่ 1 : 16 ขึ้นไป การที่ซีรัมแกะใหญ่ได้ผลลบหมดทั้งสองครั้ง เป็นสิ่งที่น่าสงสัยอย่างยิ่ง เพราะหากพิจารณาถึงปัญหาซึ่งอาจเกิดขณะที่ส่งซีรัมไปตรวจแล้ว ทำไมซีรัมแกะเล็กจึงใช้ได้ และอาจเป็นข้อสังเกตที่น่าสนใจ ถ้าวางกายของแกะใหญ่เกิดผิปกติ ไม่สร้างคอมพลีเมนต์ฟิสิกซ์ แอนติบอดี จึงควรศึกษาต่อไปอีก

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบ Eosinophilic intracytoplasmic inclusion bodies ใน Keratinocyte ที่เกิด Degeneration เช่นเดียวกับการพบในผิวหนังของหางแกะที่เป็นโรค Contagious ecthyma (Ames และคณะ, 1984) Eosinophilic intracytoplasmic inclusion bodies นี้มีลักษณะคล้ายกับ Viral DNA และ Viral protein ซึ่งพิสูจน์ได้โดยการย้อมสี (Kluge และคณะ, 1972) จากการทดลองนี้ สามารถพบรอยโรคที่บอกลักษณะของโรค Contagious ecthyma ด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ประมาณวันที่ 5 หลังจากปลูกไวรัส ซึ่งรอยโรคที่เกิดในชั้น Epidermis นั้น พบว่ามีการแบ่งตัวของชั้น Stratum germinativum มากทำให้ชั้น Stratum

spinosum มีลักษณะหนาและยื่นลึกเข้าไปในชั้น Dermis การเปลี่ยนแปลงเช่นนี้เป็นรอยโรคเฉพาะของโรค Contagious ecthyma ซึ่งแตกต่างจากรอยโรคที่ผิวหนังของโรคฝีดาษในแกะ ขณะเดียวกันการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ได้พบอนุภาคของไวรัสซึ่งมีลักษณะของ parapox, Virions ที่พบนั้นอยู่ในระยะการเจริญต่าง ๆ กัน ซึ่งแยกโดยดูจากความแตกต่างของ material ใน Viroplasm เคยมีรายงานว่า Foci ของ Dense granular viroplasm นั้น เป็น Precursor deoxyribonucleic acid (DNA) ซึ่งตรวจได้โดยเลี้ยงไวรัสใน cell culture แล้ว labeled ด้วย Thymidine (Dales, 1963) ดังนั้น เมื่อประมวลผลการพบไวรัสดังกล่าวนี้ จากการทดลองทำให้เกิดโรคในแกะได้สำเร็จ บวกกับผลการตรวจพบซีเอฟ-ฟิโตเตอร์จากแกะทดลองที่เป็นโรคแล้ว 19 วัน จึงสรุปได้ว่าโรคระบาดในแพะและแกะที่พบครั้งนี้เกิดจากการติดเชื้อ Contagious ecthyma virus.

เอกสารอ้างอิง

- ประกาศ เนมิตมานสุข, วันทนีย์ มหิตถนันท์, วิจิต วงษ์วัชรดำรง และพินิจ ภักดีอักษร. 2523. การแยกไวรัสจากแพะที่เป็นโรคระบาดคล้าย Contagious Ecthyma (ORF, SCABBY MOUTH) ครั้งแรกในประเทศไทย. สัตวแพทยสาร. 31 (1) : 18-27.
- Ames, T.R., R.A. Robinson, T.P. O'Leary and J.W. Fahrman. 1984. Tail lesions of contagious ecthyma associated with docking. J.A.V.M.A. 184 (1) : 88-90.
- Cottral, G.E. 1978. Poxviruses. In : Manual of standardized methods for veterinary microbiology. Comstock Publishing Associated, a Division of Cornell University Press. Ithaca, New York.
- Dales, S. 1963. The uptake and development of vaccinia virus in strain L. cells followed with labeled viral deoxyribonucleic Acid. J. Cell. Biol. 18 : 51-71.

- Erickson, G.A., E.A. Carbrey and G.A. Gustafson 1975. Generalized contagious ecthyma in a sheep rancher : Diagnostic considerations. *J.A.V.M.A.* 166 (3) : 262—263.
- Gardiner, M.R., J. Craig and M.E. Nairn. 1967. An unusual outbreak of contagious ecthyma (scabby mouth) in sheep. *Aust. Vet. J.* 43 : 163—165.
- Hessami, M., D.A. Keney, L.D. Pearson and J. Storz. 1979. Isolation of parapox viruses from man and animals : cultivation and cellular changes in bovine fetal spleen cells. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.* 2 : 1—7.
- Kluge, J.P., N.F. Cheville and T.M. Peery. 1972. Ultrastructural studies of contagious ecthyma in sheep. *Am. J. Vet. Res.* 33 (6) : 1191—1200.
- Kumar, P.N., S.V. Pachalag and S.K. Chattopadhyay. 1974. Note on fatal contagious ecthyma in recently imported adult Russian Merino sheep. *Indian Vet. J.* 51 (11/12) : 725—728.
- Samuel, W.M., G.A. Chalmers, J.G. Stelfox, A. Loewen and J.J. Thomsen. 1975. Contagious ecthyma in bighorn sheep and mountain goat in Western Canada. *J. of Wild. Dis.* 11 (1) : 26—31.