กิจกรรมกลุ่ม CoP สำนักงานปศุสัตว์เขต 5

หัวข้อ **"การจัดการนมน้ำเหลืองและน้ำนมในลูกโคเพื่อสร้างฝูงโคนมปลอดวัณโรค"**

วันที่แลกเปลี่ยนเรียนรู้ วันที่ 11 เมษายน 2557 ณ ห้องประชุมกลาง สำนักงานปศุสัตว์เขต 5

ผู้เข้าร่วมกิจกรรม จำนวน 30 คน

1.นางปราณี รอดเทียน	นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ	ประธานกลุ่ม
2.นายมนตรี นวมจิตต์	นายสัตวแพทย์ชำนาญการ ผู้ทรงความรู้ (Knowledge Carrier : KCr)	
3.นายรัชพล หลิมวัฒนา	นักวิชาการสัตวบาลชำนาญการพิเศษ	สมาชิกกลุ่ม
4.นายศราวุธ เขียวศรี	นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ	สมาชิกกลุ่ม
5.นายชัยโรจน์ โพธิ์เจริญ	นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ	สมาชิกกลุ่ม
6.นางมณิชญา ประชุม	นายสัตวแพทย์ชำนาญการ	สมาชิกกลุ่ม
7.นายญัฐวิทย์ อิ่มมาก	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
8.นางสาวพรรณิภา ใจนะเปียง	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
9.นางสาวชลธิชา ทองอ่อน	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
10.นางสาวจุฑามาศ โตมะนิตย์	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
11.นายพุทธิพล กองสุข	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
12.นายทนงศักดิ์ แสนสุวรรณ	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
13.นายธม อินยา	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
14.นายณัฐกร จินตนาวัตน์	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
15.นางสาวธริกา สีแสด	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
16.นางสาวชาลินี ศรีบุญเรือง	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
17.นายจีรศักดิ์ ทะนันชัย	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
18.นางสาววิภาพรรณ สายคำแตง	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
19.นางสาวสาวิตรี เรียนไธสง	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
20.นางสาวสุวิชา ปัญจขันธ์	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
21.นางสาวโสมศจี ศิวิลัยกุล	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
22.นายกันทรากร นันทวิเชียร	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
23.นายกิติคุณ อุดม	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
24.นางสาวจารุพรรณ จันทร์ดา	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
25.นางสาวนันท์นภัส แสนคำ	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
26.นายธนกร ร่มโพธิ์	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
27.นายคมป่าน บัวไพจิตร	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
28.นายณัฐวุฒิ จิระ	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
29.นายณัฐพล มะโนใจ	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	สมาชิกกลุ่ม
30.นางสาวศิริวรรณ สันคม	นักทรัพยากรบุคคลปฏิบัติการ	ผู้บันทึกข้อมูล

1. ที่มาและความสำคัญของปัญหา

1.1 วัณโรคเป็นปัญหาเรื้อรังและรุนแรงที่ส่งผลกระทบต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมโคนม สาเหตุเกิดจาก มัยโคแบคทีเรียม โบวิส (*Mycobacterium bovis*) การแพร่เชื้อผ่านทางน้ำนมสามารถกระจายโรคทั้งในฝูงสัตว์และคน แต่การฆ่าเชื้อในน้ำนมด้วยการต้ม พาสเจอรไรซ์ หรือ สเตอริไรซ์ ที่เหมาะสมทุกขั้นตอน สามารถป้องกันเชื้อสู่ผู้บริโภคได้เป็นอย่างดี (Biberstein and Chung Zee, 1990)

1.2 การทดสอบวัณโรคในสัตว์ของหลายๆ ประเทศ นิยมใช้วิธีการทดสอบโรคทางผิวหนัง (skin test) (Gonzalez *et al*., 1999) ปฏิกิริยาภูมิแพ้แบบ delayed hypersensitivity ต่อการทดสอบวัณโรคในสัตว์โดยการฉีดแอนติเจนทูเบอร์คูลิน (Tuberculin test) เข้าในหนัง เป็นวิธีทดสอบโรคตามมาตรฐานสากลที่มีความจำเพาะ(specificity) ถึงร้อยละ 98- 99.9 อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีความไว (sensitivity) ในการทดสอบเฉลี่ยร้อยละ 80 (77-95 %) (Monaghan, 1994)

1.3 การตรวจหาปริมาณ แกมม่าอินเตอร์เฟียรอน (gamma interferon: IFN-γ) วิธีทดสอบนี้มีความจำเพาะร้อยละ 97 และความไวเฉลี่ยร้อยละ88 (71-94 %) (Wood *et al*., 1991)

1.4 การทดสอบโรคในสัตว์มีชีวิต T-cell รวมกับสารทดสอบ (antigen) แล้วปลดปล่อย cytokine ออกมาในกระแสเลือด ซึ่งสามารถนำตัวอย่างเลือดของสัตว์ที่ทดสอบไปสกัดทางห้องปฏิบัติการ

1.5 การตรวจด้วยวิธีทดสอบวัณโรคทางผิวหนัง มีข้อเสียจากผลลบลวง (false negative) โดยเฉพาะโคที่ได้รับการตรวจอยู่ในช่วงการติดเชื้อระยะแรก (early infection) หรือระยะท้ายที่โรคกระจายไปมากแล้ว (advance stage) รวมถึงในโคที่อายุมาก ก่อนคลอด หรือหลังคลอดใหม่ (Thoen and Steele, 1995)

2. ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงาน

2.1 คัดเลือกลูกโค อายุ 1 – 3 เดือนจำนวน 107 ตัวจากแม่โคในฝูงที่มีการติดเชื้อวัณโรค (ร้อยละ40) แล้วแบ่งกลุ่มแบบเจาะจง ตามลำดับวันที่คลอด และประเภทการจัดการนมน้ำเหลืองและน้ำนม ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ลูกโคคลอดตั้งแต่ตุลาคม 2551 ถึงสิงหาคม 2552 จำนวน 40 ตัว ได้รับนมน้ำเหลืองและน้ำนมจากแม่โคในฝูง กลุ่มที่ 2 ลูกโคคลอดตั้งแต่กันยายน 2552 ถึงมกราคม 2553 จำนวน 36 ตัวได้รับนมน้ำเหลืองและน้ำนมจากแม่โคผลลบต่อการทดสอบวัณโรคทางผิวหนังในฝูง กลุ่มที่ 3 ลูกโคคลอดตั้งแต่กุมภาพันธ์ 2553 ถึงพฤศจิกายน 2553 จำนวน 31 ตัวได้รับนมน้ำเหลืองจากฝูงโคนมที่ปลอดวัณโรค (uninfected herd: ให้ผลลบต่อ SID ทุกปีอย่างต่อเนื่อง 3 ปี)
และน้ำนมต้มจากแม่โคในฝูง (infected herd) ที่ให้ผลลบต่อการทดสอบวัณโรคทางผิวหนัง

3.**การจัดการลูกโคและน้ำนม**

3.1 นำลูกโคแยกจากแม่ทันทีภายหลังคลอด และแยกเลี้ยงเดี่ยวในโรงเรือนอนุบาลอย่างน้อย 2 สัปดาห์ โดยช่วงสามวันแรกหลังคลอด ลูกโคจะได้รับนมน้ำเหลืองสดหรือที่แช่แข็งนำมาอุ่นให้ละลายที่ 37 $^{\circ}$C ตามกลุ่มที่กล่าวข้างต้น

3.2 หลังคลอดสามวันจึงเลี้ยงลูกโคต่อด้วยน้ำนมจากแม่โคในฝูงเดียวกัน กลุ่มที่ 1 กินน้ำนมดิบที่รีดจากแม่โคที่คลอด กลุ่มที่ 2 กินน้ำนมดิบที่รีดจากแม่โคที่ให้ผลลบต่อการทดสอบวัณโรคทางผิวหนัง กลุ่มที่ 3 กินน้ำนมต้ม (หม้อสองใบซ้อนกัน ใบด้านนอกใส่น้ำต้มให้น้ำเดือดและใบด้านในใส่นมต้มให้น้ำนมมีอุณหภูมิประมาณ 95 $^{\circ}$C โดยสามารถประเมินได้จากลักษณะของน้ำนมที่ร้อนจนคล้ายนมเริ่มระเหยเป็น

ไอ) ที่รีดจากแม่โคที่ให้ผลลบต่อการทดสอบวัณโรคทางผิวหนัง ลูกโคทั้งหมดถูกเลี้ยงด้วยน้ำนมจนกระทั่งอายุ 3 เดือน

หม้อซ้อน 2 ชั้น

4. การทดสอบวัณโรค

4.1 นำลูกโคนมอายุตั้งแต่หนึ่งเดือนขึ้นไปทุกตัวได้รับการทดสอบวัณโรคทางผิวหนัง (Single intra dermal: SID) อย่างน้อย 2 ครั้งห่างกัน 60 วัน แล้วเจาะเก็บเลือดภายใน 3 - 30 วัน หลังการทดสอบวัณโรคทางผิวหนัง เพื่อตรวจหา IFN- γ (gamma interferon: IFN-γ Assay)

4.2 การทดสอบทางผิวหนัง (Tuberculin test) ทดสอบวัณโรคทางผิวหนังที่บริเวณโคนหาง (caudal fold) ข้างขวา โดยให้ผู้ช่วยยกหางขึ้นและทำความสะอาดบริเวณที่ทดสอบด้วยกระดาษทิชชู แล้ววัดความหนาของผิวหนังด้วยเวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ (vernier caliper) ฉีดแอนติเจน (bovine tuberculin: Purified Protein Derivative, PPD) ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร (2,000 i.u.) เข้าในหนัง (intradermal) และอ่านผลการทดสอบหลังฉีด 3 วัน (72 ชั่วโมง)

4.3 ตรวจผล SID โดยการวัดความหนาของผิวหนังและคลำบริเวณที่เกิดการบวม อักเสบ ร้อน แดง ในบริเวณที่ฉีด ดูผลต่างที่วัดได้เปรียบเทียบก่อนและหลังฉีดโดยแปลผล โดยใช้เกณฑ์ตัดสินของ มกอช. 10001 – 2547 ดังนี้

ผลลบ (Negative) : ไม่มีลักษณะบวมและผลต่างน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร

ผลสงสัย (Suspect) : มีลักษณะบวมและผลต่างอยู่ระหว่าง 2 – 5 มิลลิเมตร

ผลบวก (Positive) : มีลักษณะบวมและผลต่างตั้งแต่ 5 มิลลิเมตร ขึ้นไป

ทดสอบ SID ให้ผลบวก

4.4 ทดสอบซ้ำเพื่อยืนยันผล โดยการทดสอบซ้ำดำเนินการทดสอบเช่นเดียวกับที่กล่าวมาข้างต้น โดยช่วงห่างอย่างน้อย 60 วัน นับจากวันที่ทำการฉีดทดสอบครั้งสุดท้าย การแปรผลในโคที่ให้ผลสงสัยในครั้งแรก แม้จะให้ผลลบในการทดสอบวัณโรคในครั้งต่อมา ก็ยังถือให้เป็นโคที่สงสัยเพราะเป็นโคที่อยู่ในฝูงที่ติดเชื้อวัณโรค

4.5 การเก็บตัวอย่างเลือด หลังจากการทดสอบวัณโรคทางผิวหนัง (SID) ภายในเวลา 3 – 30 วัน เจาะเก็บเลือดปริมาณ 6 มิลลิลิตรจากเส้นเลือดดำที่คอ (Jugular vein) ใส่ในหลอดที่มีสารกันเลือดแข็งตัว (lithium heparin) ส่งให้ถึงห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนบนภายในเวลา 12 ชั่วโมง

4.6 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ ตรวจวัดปริมาณ IFN-γ ด้วยวิธี enzyme-immunoassay (EIA) โดยใช้ชุดตรวจทดสอบสำเร็จรูป PRIONICS BOVIGAM® (M. bovis Gamma Interferon Test Kit for Cattle, Agri Quality Australia Pty Ltd.) ผลการทดสอบที่เป็นผลบวกแปลค่าจากผลต่างระหว่างค่า optical density (OD) ของ IFN-γ ที่ถูกกระตุ้นด้วย bovine tuberculin กับ avian tuberculin และ bovine tuberculin กับ PBS ต้องมีค่า > 0.1 (Wood et al., 1991)

4.7 การวิเคราะห์ข้อมูล นำผลการทดสอบด้วยวิธีการทดสอบวัณโรคทางผิวหนัง และ IFN-γ วิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณนาและหาความสัมพันธ์ของวิธีการทดสอบทั้งสองด้วยค่า Kappa value

5. ผลการดำเนินการ

5.1 ลูกโคจำนวน 107 ตัว ซึ่งคลอดจากแม่โคนมในฝูงที่ติดเชื้อวัณโรค ได้รับการจัดการนมน้ำเหลืองและน้ำนมทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าลูกโคในกลุ่มที่ 1 ให้ผลบวก สงสัยและลบจำนวน 17 (42.5 %), 7 (17.5 %) และ 16 (40 %) ตัว ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 จำนวน 24 (66.7 %), 2 (5.6 %) และ 10 (27.7 %) ตัว ตามลำดับ และพบผลลบต่อการทดสอบทางผิวหนังทั้งหมดในกลุ่มที่ 3

5.2 ผลการตรวจหาปริมาณ IFN-γ พบว่าลูกโคในกลุ่มที่ 1 ให้ผลบวก สงสัยและลบจำนวน 24 (60 %), 8 (20 %) และ 8 (20 %) ตัว ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 จำนวน 24 (66.7 %), 1 (2.8 %) และ 11 (30.5%) ตัวตามลำดับ และลูกโคกลุ่มที่ 3 ทั้งหมดให้ผลลบต่อค่า IFN-γ ลูกโคที่แสดงผลบวกหรือสงสัยหรือลบต่อการทดสอบทั้งสองวิธีในกลุ่มที่ 1 และ 2 และให้ผลลบทั้งหมดในลูกโคกลุ่มที่ 3 เกิดจากแม่โคนมที่ให้ผลบวก สงสัย และลบต่อการทดสอบ SID และการตรวจหา IFN-γ ซึ่งจะเห็นได้ว่าลูกโคในกลุ่มที่ 1 น่าจะมีความเสี่ยงสูงต่อการได้รับเชื้อโดยการกินน้ำนมที่รีดจากแม่โคที่ติดเชื้อ ในขณะที่ลูกโคกลุ่มที่ 2 ควรมีความเสี่ยงต่ำกว่า แต่เนื่องจากความไม่ไวพอของวิธีการทดสอบวัณโรค (SID) จึงมีแม่โคที่ให้ผลลบลวง ทำให้ลูกโคในกลุ่มที่ 2 (66.7 %) ติดเชื้อจากนมน้ำเหลืองและน้ำนมของแม่โคที่มีผลลบลวง ซึ่งสูงกว่าลูกโคในกลุ่มที่ 1 (42.5 %) อย่างเป็นที่น่าสังเกต สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Evangelista และ De Anda (1996) ที่พบว่ามีการแพร่เชื้อสู่ลูกโคนมโดยการกินนมน้ำเหลืองจากแม่โคที่ให้ผลลบลวงถึงร้อยละ 11 การจัดการลูกโคกลุ่มที่ 3 ให้ได้รับนมน้ำเหลืองจากแม่โคนมฟาร์มปลอดวัณโรคและน้ำนมต้ม พบลูกโคทั้งหมด 31 ตัว (100 %) แสดงผลลบต่อการทดสอบทั้งสองวิธี ทั้งๆ ที่ลูกโคดังกล่าวก็เกิดจากแม่โคนมที่ให้ผลบวกหรือสงสัยต่อการทดสอบวัณโรคโดยวิธี SID จำนวน 9 (29 %) หรือ 2 (6.5 %) แสดงว่าการจัดการนมน้ำเหลืองและน้ำนมโดยการให้ลูกโคกินนมน้ำเหลืองที่ปลอดเชื้อวัณโรคและกินนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยวิธีต้มนี้ สามารถลดโอกาสติดเชื้อจากน้ำนมแม่ที่มีเชื้อวัณโรคในฝูงได้อย่างมีประสิทธิภาพ และอาจจะเป็นการชี้ให้เห็นว่าเชื้อวัณโรคจากแม่โคที่ติดเชื้อไม่ได้แพร่สู่ลูกโคโดยผ่านทางรก ทั้งอาจยืนยันว่าการกระจายของเชื้อวัณโรคสู่ลูกส่วนใหญ่เกิดจากกินน้ำนมที่มีเชื้อจากแม่ ซึ่งสอดคล้องกับผลการประเมินของ Serrano-Moreno et al. (2008) ในฝูงวัณโรคโคนมโดยตรวจพบ Mycobacterium bovis ด้วยวิธี PCR จากนมน้ำเหลือง (colostra) และน้ำนมในอัตราร้อยละ 62 และ 18 ตามลำดับ และตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าวในน้ำล้างหลอดลม (bronchoalveolar lavages) ในแม่โคที่ถูกคัดทำลายเนื่องจากให้ผลบวกต่อ tuberculin test อย่างไรก็ตามนมน้ำเหลืองปลอดเชื้อต้องมาจากฟาร์มที่ปลอดวัณโรคจริงๆ เพราะถ้าไม่ปลอดโรคจะทำให้แพร่โรคได้ดังเช่นผลการจัดการลูกโคนมในกลุ่มที่ 2

ตารางที่ 1 การทดสอบวัณโรคทางผิวหนัง (SID) และตรวจหา IFN-γ (Gamma interferon) ในลูกโคกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ทั้งนี้ Mp หมายถึงแม่โคผลบวก Ms หมายถึงแม่โคผลสงสัย และ Mn หมายถึงแม่โคผลลบ ต่อ SID (ณ ช่วงเวลานั้น)

Group/ Duration	SID: n (%)			IFN-γ: n (%)		
	positive	suspect	negative	positive	suspect	negative
1ᵃ (n = 40) Oct'08-Aug'09	17 (42.5)	7 (17.5)	16 (40)	24 (60)	8 (20)	8 (20
	Mp = 6 Ms = 5 Mn = 6	Mp = 3 Ms = 4 Mn = 0	Mp = 3 Ms = 8 Mn = 5	Mp =7 Ms = 10 Mn = 7	Mp = 1 Ms = 4 Mn = 3	Mp = 3 Ms = 2 Mn = 3
2ᵇ (n = 36) Sep'09-Jan'10	24 (66.7)	2 (5.6)	10 (27.7)	24 (66.7)	1 (2.8)	11 (30.5)
	Mp = 13 Ms = 3 Mn = 8	Mp = 0 Ms = 1 Mn = 1	Mp = 3 Ms = 1 Mn = 6	Mp = 10 Ms = 4 Mn = 10	Mp = 0 Ms = 0 Mn = 1	Mp = 5 Ms = 2 Mn = 4
3ᶜ (n = 31) Feb'10-Nov'11	0 (0)	0 (0)	31 (100)	0 (0)	0 (0)	31 (100)
	Mp = 0 Ms = 0 Mn = 0	Mp = 0 Ms = 0 Mn = 0	Mp = 9 Ms = 2 Mn = 20	Mp = 0 Ms = 0 Mn = 0	Mp = 0 Ms = 0 Mn = 0	Mp = 9 Ms = 2 Mn = 20

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบผลการทดสอบวัณโรคด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนัง (SID) และตรวจปริมาณ IFN-γ ในลูกโคกลุ่มที่ 1

Group 1		SID: n (%)			
		Positive	Suspect	Negative	Total
IFN-g	Positive	9 (22.5)	5 (12.5)	10 (25)	24
	Suspect	5 (12.5)	2 (5)	1 (2.5)	8
	Negative	3 (7.5)	0 (0)	5 (12.5)	8
	Total	17	7	16	40

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลการทดสอบวัณโรคด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนัง (SID) และตรวจปริมาณ IFN-γ ในลูกโคกลุ่มที่ 2

Group 2		SID: n (%)			
		Positive	Suspect	Negative	Total
	Positive	21 (58.3)	0 (0)	3 (8.3)	24
IFN-g	Suspect	0 (0)	0 (0)	1 (2.8)	1
	Negative	3 (8.3)	2 (5.6)	6 (16.7)	11
	Total	24	2	10	36

<u>ความรู้ที่ฝังอยู่ในคน</u> (Tacit Knowledge)

จากการที่สมาชิกกลุ่มชุมชนนักปฏิบัติ (CoP) ได้ประชุมพบปะสนทนา และแลกเปลี่ยนความรู้ในประเด็น "การจัดการนมน้ำเหลืองและน้ำนมในลูกโคเพื่อสร้างฝูงโคนมปลอดวัณโรค" ได้ข้อสรุป คือ ในฝูงโคที่ติดเชื้อวัณโรค หากได้รับการจัดการนมน้ำเหลืองและน้ำนมโดยให้ลูกโคได้รับนมน้ำเหลืองจากฟาร์มที่ปลอดเชื้อและน้ำนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว สามารถลดความเสี่ยงของการติดเชื้อในลูกโคจากน้ำนมที่มีเชื้อ สามารถใช้เป็นแนวทางและมาตรการในการสร้างฝูงโคนมใหม่ที่ปลอดวัณโรคทดแทนฝูงที่ติดโรค

ภาพกิจกรรมกลุ่ม CoP

สพ.ญ.ปราณี รอดเทียน ประธานกลุ่ม CoP

น.สพ.มนตรี นวมจิตต์ Knowledge Carrier ให้ความรู้

ผอ.ส่วนยุทธศาสตร์ฯ ชี้แจงการแลกเปลี่ยนเรียนรู้

สมาชิกกลุ่ม CoP รวมรวมองค์ความรู้

ผู้แทนกลุ่ม CoP นำเสนอผลสรุปองค์ความรู้