

พยาธิวิทยาการติดเชื้อไวรัสเพสติชนิดพิเศษ แบบคงทนในลูกโค

Pathological study in a persistently atypical pestivirus infected calf

ชินวิวัฒน์ เปี่ยมสกุล (Chinwiwat Piamsakun)* สิริจักร ตั้งควัฒนา (Sirikachorn Tangkawattana)**
 สุทธิศักดิ์ นพวิญญูวงศ์ (Suttisak Nopwinyoowong)*** นุสรรา สุวรรณโชติ (Nusara Suwannachote)****
 สุธิดา จันทร์ลุน (Suthida Chanlun)***** พิทยา ภาภิรมย์ (Pittaya Papirom)*****
 จารุวรรณ คำพา (Jarawan Kampa)*****

บทคัดย่อ

การติดเชื้อไวรัสเพสติในระยะตัวอ่อนจะได้ลูกโคที่มีการติดเชื้อแบบคงทนซึ่งเป็นแหล่งแพร่กระจายเชื้อในฝูง
 ลูกโคพันธุ์ผสมโฮลสไตน์ฟริเซียน-ซาฮิวาล อายุ 8 เดือน ติดเชื้อไวรัสเพสติชนิดพิเศษแบบคงทน ได้ถูกนำมาศึกษาด้าน
 พยาธิวิทยา ณ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น รายงานผลการผ่าชันสูตรซากพบ
 แผลหลุมหลุดลอกตลอดทั้งระบบทางเดินอาหาร สมอส่วนซีรีเบลลัมมีขนาดเล็กกว่าปกติ และพบการเสื่อมของไข
 กระดูก การศึกษาทางจุลพยาธิ และอิมมูโนฮิสโตเคมีพบ การคั่งเลือด บวม น้ำ เซลล์อักเสบและการแพร่กระจายของเชื้อ
 ไวรัสในเนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆ ช่วยบ่งชี้ระยะสุดท้ายของการติดเชื้อ เรียกว่า ‘โรคมิวโคซอล’ ซึ่งการศึกษาพยาธิ
 วิทยาการติดเชื้อของไวรัสเพสติชนิดพิเศษนี้ เป็นรายงานแรกของประเทศในแถบทวีปเอเชีย

ABSTRACT

Prenatal infection with bovine pestiviruses could produce persistent infection cattle (PI) that regarded as the
 virus source in the herd. An eight-month old Holstein Friesian-Sahiwal calf, being persistently infected by an atypical
 pestivirus was pathological studied at the Department of Veterinary Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine
 and Khon Kaen University. By necropsy, mucosal erosion along the whole GI tract, reduction in size of cerebellum
 and pale bone marrow were noticed. Histopathology and immunohistochemical staining revealed general congestion,
 edema, lymphocytic infiltration and viral distribution in various tissues and organs. The calf was likely in at the end-
 stage of pestivirus infection, ‘mucosal disease’. This is the first report of pathological study of atypical pestivirus
 infection in cattle population of Asia.

คำสำคัญ: ไวรัสเพสติ ชนิดพิเศษ พยาธิวิทยา การติดเชื้อแบบคงทน

Key word: Atypical pestivirus, Pathological study, Persistent infection

* มหบัณฑิต หลักสูตรสัตวแพทยศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาการทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**** อาจารย์ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

***** นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

***** นักเทคนิคการแพทย์ ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

***** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีการป้องกันโรคในสุกรและสัตว์เคี้ยวเอื้อง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

ไวรัสเพสติชนิดพิเศษ (atypical pestivirus) จัดอยู่ในสกุล (genus) *Pestivirus* ในวงศ์ (family) *Flaviviridae* โดยสายพันธุ์ที่พบการก่อปัญหาสุขภาพในโค และมีความใกล้เคียงกับไวรัสเพสติชนิดพิเศษ คือ Bovine viral diarrhea virus ชนิดที่ 1 และ 2 (BVDV-1, BVDV-2) (Ridpath 2003) ซึ่งสามารถแบ่งตามลักษณะที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ หรือ biotype ได้ 2 ลักษณะ คือ non-cytopathic (NCP) และ cytopathic (CP) เชื้อไวรัสสามารถแพร่กระจายโดยตรง (direct transmission) จากการสัมผัสโคที่มีเชื้อ และทางอ้อม (indirect transmission) จากสารคัดหลั่ง น้ำมูก น้ำลาย หรือน้ำเชื้อ นอกจากนี้ ไวรัสยังสามารถแพร่เชื้อผ่านทางสายรก (transplacental transmission) หากแม่โคติดเชื้อในช่วงระยะ 3 เดือนแรกของการตั้งท้อง จะทำให้ลูกโคติดเชื้อแบบคงทน (persistent infection; PI) การควบคุมโรคอย่างมีประสิทธิภาพนั้นเน้นไปที่ PI เนื่องจาก PI สามารถแพร่กระจายเชื้อในฝูงได้ตลอดชีวิต (Walz et al. 2010) โค PI โดยมากมีลักษณะเจริญเติบโตช้า ติดเชื้อแทรกซ้อนได้ง่าย และในช่วงท้ายของชีวิต ส่วนใหญ่จะมีอาการรุนแรง ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน เป็นผลหลุมกระจาย ถ่ายเหลวเป็นมูกเลือด ต่อมาน้ำเหลืองถูกทำลาย และฝ่อลีบ เรียกลักษณะอาการเช่นนี้ว่า Mucosal disease (MD) ซึ่งเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงไวรัสที่อยู่ในร่างกายจากชนิด NCP เป็น CP (Ridpath 2003)

ประเทศไทย มีรายงานการติดเชื้อไวรัส BVD จากการสำรวจฝูงโคนมในพื้นที่เขตจังหวัดขอนแก่น ตั้งแต่ปี 2543 จนถึงปัจจุบัน โดยในปี 2549 พบการระบาดของไวรัสเพสติชนิดพิเศษ (atypical pestivirus) ซึ่งจากการศึกษาพบว่าลำดับโมเลกุลพันธุกรรม และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันมีความแตกต่างจาก BVDV-1 และ BVDV-2 อย่างชัดเจนบ่งชี้ว่าไวรัสนี้เป็น genotype ใหม่ของไวรัสเพสติ คือ BVDV-3 ซึ่งปัจจุบันยังจัดอยู่ในกลุ่มไวรัสเพสติชนิด

พิเศษ (Stahl et al. 2007) เช่นเดียวกับไวรัสเพสติชนิดพิเศษสายพันธุ์แรกทีพบในชีวภัณฑ์จากโคของประเทศบราซิล (Schirmer et al. 2004)

การศึกษาในปี 2551-2552 พื้นที่เขตจังหวัดขอนแก่นได้พบลูกโคที่ได้รับการยืนยันว่าติดเชื้อไวรัสเพสติชนิดพิเศษ ซึ่งเชื้อไวรัสมีความคล้ายคลึงกับรายงานเมื่อปี 2549 ร่วมกับความชุกของฟาร์มที่มีการติดเชื้อไวรัสระดับสูงอยู่ที่ร้อยละ 10 (Kampa et al. 2011) แสดงให้เห็นความรุนแรงของสถานการณ์การติดเชื้อยังคงมีอยู่

ดังนั้น การศึกษาลักษณะทางพยาธิวิทยาการก่อโรค จะช่วยให้เกิดความเข้าใจกลไกการก่อโรคของไวรัสสายพันธุ์ใหม่ที่พบในประเทศไทย และนำไปสู่การควบคุมและป้องกันต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาลักษณะทางพยาธิวิทยาการก่อโรคของเชื้อไวรัสเพสติชนิดพิเศษในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น
2. เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจทางพยาธิวิทยาให้มีความจำเพาะต่อโรคที่พบในประเทศไทย

วิธีการวิจัย

ลูกโคพันธุ์ผสม โสสโตไนซ์ฟรีเชียน-ชาอีวาล เพศเมีย อายุ 8 เดือน ซึ่งได้รับการตรวจยืนยันการเป็น PI จากเชื้อไวรัสเพสติแบบพิเศษในการศึกษาของ Jaruwat et al. ปี 2011 ด้วยวิธี Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) โดยใช้ Primer ที่มีความจำเพาะต่อ atypical pestivirus คือ T134/T220 (Lui et al. 2008)

การศึกษาอาการทางคลินิก ลูกโคได้รับการตรวจร่างกาย และจัดเก็บตัวอย่างเลือด เพื่อตรวจค่าโลหิตวิทยา และเคมีในเลือด

การผ่าชันสูตรซาก กระทำภายใน 12 ชั่วโมงหลังจากลูกโคตาย เริ่มจากสังเกตลักษณะภายนอก แล้วจึงแยกผ่า

ชั้นสูตรตามระบบบอวี่วะของร่างกาย จัดบันทึกถ่ายภาพ และจัดเก็บรอยโรค ได้แก่ สมอ ห้วใจ ปอดไต ตับ ตับอ่อน ม้าม กระเพาะ ลำไส้ และต่อมน้ำเหลืองตามส่วนต่างๆของร่างกายให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ลงในสารละลายฟอร์มาลิน 10% เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง

การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา ชิ้นเนื้อตัวอย่างจะถูกชั้นสูตรความผิดปกติด้วยสายตา วัคซีนารอยโรคจากนั้นเลือกเนื้อเยื่อเข้าเครื่อง Tissue processor เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นผ่านกระบวนการทำพาราฟินบล็อก และตัดชิ้นเนื้อให้หนาประมาณ 5 ไมครอน นำเข้าตู้อบอุณหภูมิ 37°C ซ้ำคืน สไลด์ตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้วจะถูกย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin (H&E) เพื่อศึกษาพยาธิวิทยาจุลพยาธิวิทยาทั่วไป

การศึกษาทางอิมมูโนฮิสโตเคมี แอนติเจนจะถูกคืนสภาพด้วยสารละลาย Trypsin 1% ใน 0.1% CaCl₂ pH 7.8 ใช้เวลา 10 นาที หลังจากนั้นใช้ Anti-pestivirus antibody (Fetal Calf Polyclonal Antibody, Veterinary Laboratories Agency, UK) ความเข้มข้น 1:200 ย้อมบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน และย้อมอีกครั้งด้วย Rabbit anti-cow conjugated with Horseradish peroxidase (Dakocytomation, Denmark) ความเข้มข้น 1:100 บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที อ่านผลการเปลี่ยนแปลงสี substrate ด้วย substrate-chromogen detection โดยใช้ 3,3'-Diaminobenzidine substrate ใน Tris buffer และย้อมสีเปรียบเทียบกับ Harris's hematoxylin นาน 2 นาที

ผลการวิจัย

ลักษณะอาการทางคลินิก

ผลการตรวจร่างกายก่อนเสียชีวิต พบว่าลูกโคผอม และมีอาการท้องเสีย ร่วมกับภาวะแห้งน้ำ เยื่อเมือกซีด เหลืองถูกตาทั้งสองข้างจมลึก ความยืดหยุ่นของผิวหนัง

ลดลง (skin pinch) อัตราการหายใจช้า และแผ่วเบา ซึม ไม่สนใจต่อสิ่งเร้า กินอาหารและน้ำลดลง

ผลการตรวจค่าโลหิตวิทยา พบการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ (ตารางที่ 1) คือ ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นเท่ากับร้อยละ 22 เม็ดเลือดแดงดิสชีซีดจาง และมีขนาดหลากหลาย จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลเพิ่มสูงขึ้น (neutrophilia) แต่เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์กลับลดลง (lymphopenia) การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในเลือดพบ blood urea nitrogen (BUN) เพิ่มสูงเล็กน้อยเท่ากับ 39.4 mg/dl, aspartate aminotransferase (AST) เพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ 443 U/L, alkaline phosphatase (ALP) เท่ากับ 200 U/L

การชันสูตรซาก สภาพซากพอม ขนหยาบและแห้ง อุจจาระติดเปื้อนบริเวณทวารหนัก ลูกตาทั้งสองข้างลึก จมลงในเบ้าตา เยื่อเมือกซีดและเหลือง บริเวณจมูกพบสารคัดหลั่ง ลักษณะเป็นเมือกมีเลือดปน เมื่อผ่าชันสูตรซาก พบลักษณะเด่นชัดของรอยโรค ได้แก่ แผลหลุมหลุดลอกในระบบทางเดินอาหาร ตั้งแต่บริเวณช่องปากและคอหอย ร่วมกับการบวมน้ำที่เยื่อคอหอยและโคนลิ้นส่วนต้น (ภาพที่ 1.1) หลอดอาหารหนึ่งในสามส่วนต้น พบแผลหลุมไม่ลึกมากกระจายทั่ว เศษอาหารอัดแน่นอยู่ภายในกระเพาะรูเมน และพบแผลหลุมขนาดเล็กมีเลือดออกกระจายที่บริเวณส่วนขอบล่างของกระเพาะรูเมน ส่วนกระเพาะแท้ มีลักษณะหย่อนคล้อย ยาวบางกว่าปกติ และมีเมือกติดอยู่มากภายในผนัง ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่เปลี่ยนเป็นสีออกแดงกระจายทั่ว บางและใส (ภาพที่ 1.2) หลอดเลือดเยื่อหุ้มด้านนอกขอด พบพยาธิตัวแบนจำนวนมากตลอดทางเดินของลำไส้ และพบของเหลวมีเศษอาหารปนสีเขียว ต่อมน้ำเหลืองที่ขั้วลำไส้บวม น้ำใสคล้ายเจล (edematous lymph node) หน้าตัดมีสีเหลือง และนุ่ม หลอดเลือดและน้ำเหลืองพบการคั่งอยู่ภายใน รังไข่มีลักษณะบวมคล้ายกับต่อมน้ำเหลือง ม้ามมีขนาดปกติ แต่หน้าตัดเหี่ยวแฟบเล็กน้อย ตับขยายขนาดใหญ่ขึ้นมีสีเหลือง ถุงน้ำดีขยาย บวมน้ำ และอักเสบ ส่วนน้ำดีจับกลุ่มตกตะกอนเป็นเม็ด ลักษณะกลมเล็กๆ (ภาพที่ 1.3)

ผนังไตชั้นนอกทั้งสองข้างพบจุดเลือดออกและบริเวณ
ขอบพบการเสื่อมคล้ายเจลไขมัน ปอดส่วนหลัง

บางส่วนเกิดการบวมน้ำ (lung edema) เปลี่ยนสีเป็นซีด
ขาว คล้ายลายกระเบื้องโมเสก (ภาพที่ 1.4)

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจค่าเคมี และโลหิตวิทยา

Hematology		Normal Range
PCV (%)	22	26-44
Platelet estimation	Adequate	
Difference WBC		
Band Neutrophil (%)	2	0-2
Neutrophil (%)	66	15-45
Lymphocyte (%)	32	45-70
RBC morphology		
Hypochromasia	1+	
Anisocytosis	2+	
Clinical Chemistry		
Blood sugar (mg/dl)	13	11-24
BUN (mg/dl)	39.4	10-30
Creatinine (mg/dl)	1.5	0.5-2
GOT [AST] (U/L)	443	80-130
GPT [ALT] (U/L)	35	14-40
ALP (U/L)	200	90-170
Protein total (g/dl)	6.1	6.6-7.5
Albumin (g/dl)	2.9	3-3.6
Albumin: Globulin ratio	0.9 [2.9/3.2]	0.6-1
Blood parasite examination	Not found	

ปอดส่วนหน้าเกิด emphysema ไชกระดูกเริ่มซีดจาง
และมีลักษณะการเสื่อม (ภาพที่ 1.5) เนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง
บริเวณหัวไหล่และคอมีลักษณะคล้ายเจลสีเหลือง บวม
น้ำ (subcutaneous emphysema) สมองส่วนซีรีเบลลัม
(cerebellum) มีขนาดเล็กกว่าปกติ (ภาพที่ 1.6)

การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา หลังการชันสูตรซาก รอย
โรคที่สำคัญถูกนำไปศึกษาต่อพบว่า เนื้อเยื่อปอดบวม
น้ำเป็นบริเวณกว้าง ร่วมกับการเพิ่มจำนวนของแมคโคร

ฟากส์ และคั่งเลือดที่ผนังถุงลม (ภาพที่ 2.1) ต่อมา
น้ำเหลืองชั้นนอกมีการเรียงตัวของเซลล์แบบหลวมๆ
จากจำนวนเซลล์ลิมโฟไซต์ที่ลดลง บริเวณ germinal
center ถูกทำลายลักษณะกระจายเป็นวงอยู่ภายในต่อม
น้ำเหลืองและ lymphoid depletion ในม้าม (ภาพที่ 2.2)
ส่วนทางเดินอาหารในชั้นเยื่อผิวเกิดเนื้องอก หลุดลอก
ลักษณะเป็นหลุมกลมและบวมน้ำใต้ชั้นเยื่อร่วมกับ
การแทรกเข้ามาของเซลล์อักเสบ (ภาพที่ 2.3) ได้ทั้งสอง

ข้างพบการเสื่อมระดับปานกลาง เชื้อนท่อไตหลุดลอก
 และไกลเมอรูลัสถูกทำลาย พบสารประกอบโปรตีน

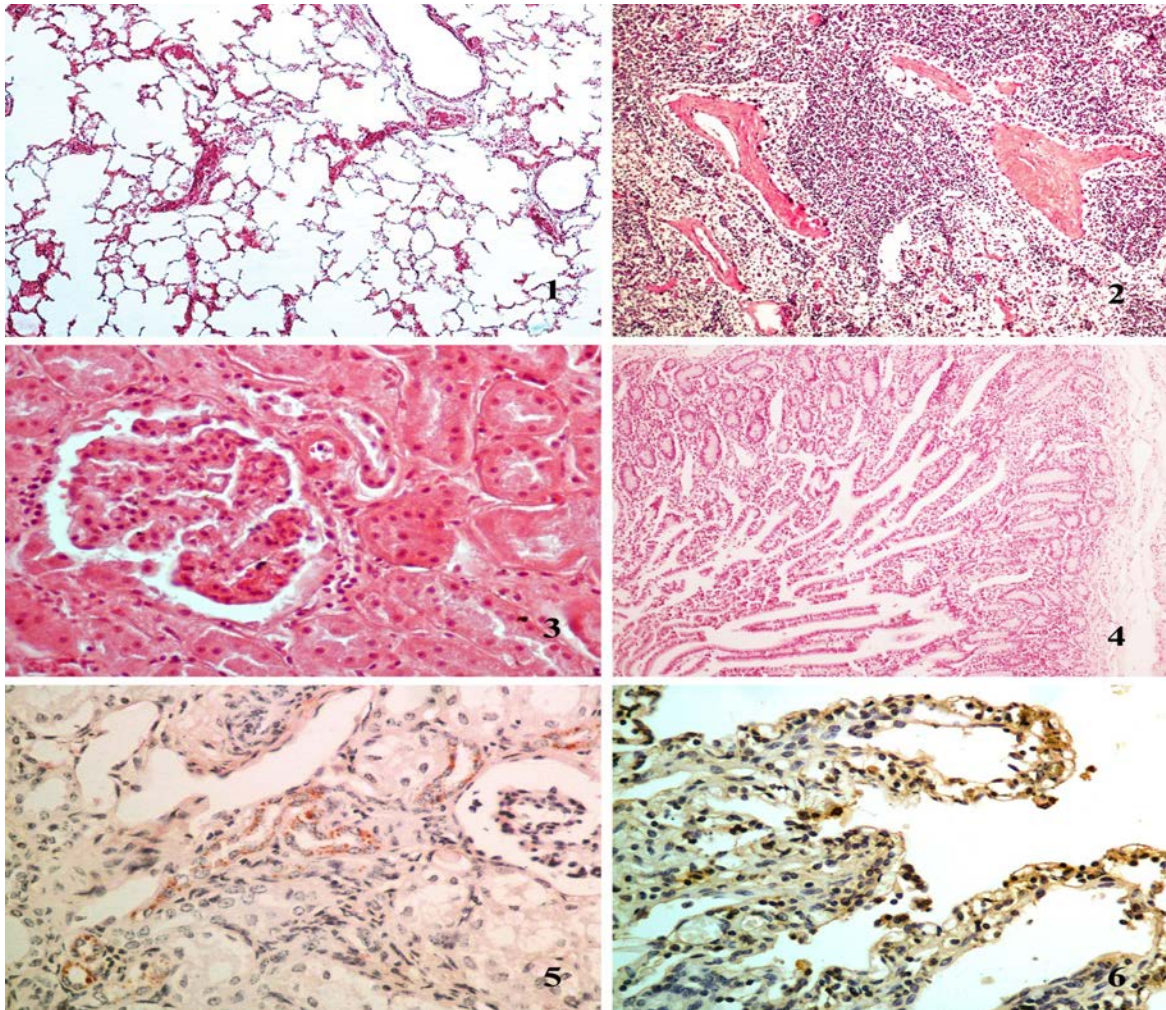


ภาพที่ 1 รอยโรคของลูกโคที่ติดเชื้อเพสตีไวรัส ได้แก่ เชื้อนิวโมเนอมาช่องปาก หลอดลอกเกิดแผลหลุมกระจาย และมีขนาดไม่สม่ำเสมอ (1) เชื้อนิวโมเนอมาทำให้หลอดลมอักเสบ (2) ถุงน้ำดีเกิดการอักเสบ และหนาตัวภายในมีตกตะกอนลักษณะก้อนเล็กๆ ขนาดไม่สม่ำเสมอ (3) ปอดบวมน้ำ (4) ไชกระดูกฟอสและเสื่อม (5) สมองส่วนซีรีเบลลัมขนาดเล็กกว่าปกติ (6)

ใน Bowman's space (ภาพที่ 2.4) ส่วนชั้น Medulla บวมและมีเลือดคั่งอยู่มาก เนื้อเยื่อสมองคั่งเลือดบางบริเวณ บวมและอักเสบ เซลล์ตับบวม น้ำ ตับอ่อนคั่งเลือดและสูญเสียโครงสร้างตามปกติที่ Acinus

การศึกษาทางพยาธิภูมิคุ้มกัน

เซลล์เยื่อบุท่อไตใกล้กับบริเวณที่เซลล์เกิดการตาย และหลุดลอก ข้อมติคติน้ำตาลดำ ร่วมกับการเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล และ



ภาพที่ 2 รูปภาพจุลพยาธิวิทยาของลูกโคที่ติดเชื้อไวรัสเพสตี พบว่า ปอดเลือดออกในถุงลม ร่วมกับการเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิล (1) lymphoid depletion ในม้าม (2) การเสื่อม และบวมของเยื่อบุท่อไต (3) เยื่อบุผนังลำไส้หลุดลอก และถูกทำลาย ร่วมกับการเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิล (4) เซลล์เยื่อบุท่อไตเสื่อมและหลุดลอก ข้อมติคติน้ำตาลแสดงตำแหน่งของไวรัสเพสตี (5) เซลล์เยื่อบุลำไส้ตาย หลุดลอก และพบเซลล์ติดเชื้อ น้ำตาลแสดงตำแหน่งไวรัสเพสตี (6) [1-4, H&E 40X; 5-6, IHC, 40X]

พบเลือดออกในบางจุด (ภาพที่ 2.5) เช่นเดียวกันกับการติดเชื้อในลำไส้ ซึ่งกระจายอยู่ตามเยื่อปิวชั้นบนของผนังลำไส้ เกิดเนื้องอกและหลุดลอกร่วมกับการแทรกเข้ามาของเซลล์อักเสบ (ภาพที่ 2.6) แต่เนื้อเยื่ออื่นๆ ก็คือ สมอง หัวใจ ปอด ตับ ตับอ่อน ม้าม กระเพาะ และต่อมน้ำเหลืองตามส่วนต่างๆ ของร่างกายให้ผลต่อการย้อมตรวจนี้

บทวิจารณ์

การศึกษาทางพยาธิวิทยาของไวรัสเพศติ โดยเฉพาะ BVDV-1 และ BVDV-2 จะมีรายงานแล้วในหลายภูมิภาคของโลก (Tautz et al. 1998; Baule et al. 2001; Bachofen et al. 2010) แต่การศึกษาทางพยาธิวิทยาการติดเชื้อของไวรัสเพศติชนิดพิเศษนี้เป็นรายงานแรกของเอเชีย ลูกโคแสดงอาการเด่นของระบบทางเดินหายใจและถ่ายเหลว เมื่อผ่าซากพบการอักเสบที่ทางเดินอาหาร และปอด ซึ่งรอยโรคดังกล่าวไม่ได้จำเพาะต่อโรคนี้เพียงโรคเดียว การวินิจฉัยโรคจากอาการหรือรอยโรคบางตำแหน่ง โดยมีได้ถูกตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีการทางชีววิทยาและ/หรืออณูวิทยาไม่สามารถระบุว่าเป็น PI ได้ ซึ่งอาจเป็นผลให้ปัญหาการติดเชื้อไวรัสกลุ่มนี้ในพื้นที่ถูกมองข้ามได้

ผลการตรวจร่างกายของลูกโคก่อนตาย พบอาการป่วยเรื้อรัง จากรูปร่างที่ผอม หายใจลำบาก กินอาหารลดลง และขาดน้ำเนื่องจากอาการถ่ายเหลว ผลการตรวจเลือดพบโลหิตจางร่วมกับสีของเยื่อเมือกตามส่วนต่างๆ ซีดอ่อนจางค่อนข้างเหลือง เนื่องจากการเสียเลือดอย่างเรื้อรังในระบบทางเดินอาหารของลูกโคที่เป็น MD แม้ผลจากการชันสูตรซากจะเริ่มพบความเสื่อมที่ไขกระดูกแล้ว แต่ไขกระดูกยังมีการตอบสนองเนื่องจากความหลากหลายของขนาดเม็ดเลือดที่รายงานพบ แต่ไม่พบภาวะเกล็ดเลือดต่ำ ซึ่งส่วนใหญ่พบได้ในโคที่แสดงอาการแบบ MD (Rebhun et al. 1989) ภาวะนี้ น่าจะเกิดจากความผิดปกติภายในถุงน้ำดี เนื่องจากพบลักษณะก้อนกลมเล็กจำนวนมาก

และค่าเอนไซม์ alkaline phosphatase (ALP) เพิ่มขึ้นกว่าปกติ แต่ไม่พบการอุดตันขณะทำการชันสูตรซาก ซึ่งน่าจะส่งผลทำให้การไหลผ่านของน้ำดีเกิดความผิดปกติ (partial obstruction) อย่างไรก็ดี ความผิดปกตินี้เพียงสาเหตุเดียวยังไม่ส่งผลให้พบอาการดีซ่านได้

ผลการผ่าชันสูตรซากพบแผลหลุมหลุดลอกที่ระบบทางเดินอาหารเป็นลักษณะความผิดปกติที่เรียกว่า MD และส่วนใหญ่จะเกิดความผิดปกติแทรกซ้อนที่ปอดร่วมด้วย ซึ่งถ้าหากลูกโคติดเชื้อจะแสดงอาการแทรกซ้อนของระบบทางเดินหายใจที่รุนแรงและเด่นชัดกว่า แต่โคที่มีอายุมากขึ้น กลับแสดงอาการของ MD เด่นชัดมากกว่า (Bachofen et al. 2010) ส่วนรอยโรคที่สมองส่วนซีรีเบลลัมมีขนาดเล็กน้อยกว่าปกติเป็นลักษณะความผิดปกติแต่กำเนิด พบในโคที่มีการติดเชื้อแบบคงทน (Hazirolu 2000)

การย้อมสีทางอิมมูโนฮิสโตเคมีพบว่า พบเชื้อไวรัสที่ลำไส้ ซึ่งช่วยยืนยันสาเหตุ การเกิดแผลหลุม เนื้องอก และหลุดลอกของผนังเยื่อปิวผนังลำไส้จากเชื้อไวรัส BVD ค่าเคมีโลหิตวิทยา BUN ที่เพิ่มขึ้น ร่วมกับภาวะแห้งน้ำ เนื่องจากเนื้อเยื่อไตบางส่วนถูกไวรัส BVD ทำลาย จากผลตรวจพบเซลล์เยื่อปิวติดเชื้อน้ำคาลที่บริเวณท่อไต ส่วนระบบทางเดินหายใจที่มีลักษณะอาการเด่นชัดคือ ปอด แต่จากการย้อมสีกลับไม่พบเชื้อไวรัส BVD รอยโรคที่ปอดอาจมีสาเหตุแทรกซ้อนจากเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากการเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิลในเนื้อเยื่อปอด แต่สิ่งที่น่าสังเกตคือ บริเวณส่วนใหญ่มักมีการย้อมติดสี จะใกล้เคียงเซลล์เยื่อปิวที่พบการตายและหลุดลอก ซึ่งเป็นไปได้ว่าเชื้อไวรัสชนิดนี้มีลักษณะ CP และเซลล์ที่ติดเชื้อเกิดจากเชื้อไวรัสที่เพิ่มจำนวนในเซลล์และแตกออก เกิดการติดเชื้อไปยังเซลล์ข้างเคียง (Odeón et al. 1999)

จากการศึกษาจะสังเกตพบว่า ผลการผ่าชันสูตรซาก และผลตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบลักษณะรอยโรคทั่วไปซึ่งไม่จำเพาะต่อโรค การ

วินิจฉัยยืนยันต้องใช้ผลตรวจทางอณูวิทยา ทั้งการย้อมสีทางอิมมูโนฮิสโตเคมีที่บ่งชี้การติดเชื้อเนื่องจากไวรัส BVD และผลของ RT-PCR จากตัวอย่างเลือด จึงจะบ่งชี้การติดเชื้อเกิดจากเชื้อไวรัสเพสต์ดิซชนิดพิเศษได้นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อเยื่อเพียงบางอวัยวะที่สามารถย้อมติดสีบ่งชี้เชื้อไวรัสบีวีดี ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเชื้อไวรัสชนิดนี้ มีความชอบจำเพาะต่อเซลล์บางชนิดเป็นพิเศษ จากแนวโน้มของผลการศึกษาที่เชื้อไวรัสมีความชอบจำเพาะต่อเซลล์เยื่อชนิดต่างๆ เช่น เซลล์เยื่อลำไส้ และเซลล์เยื่อท่อนไต ซึ่งอาจจะต้องเพิ่มเติมวิธีการตรวจวินิจฉัยอื่น เพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสในอวัยวะอื่น เช่น virus isolation (VI), RT-PCR หรือ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และอีกปัจจัยที่น่าจะมีความเกี่ยวข้องกันคือ การพัฒนาแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัสเพสต์ดิซชนิดพิเศษนี้ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อได้มากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ความไม่สดของซากที่นำมาศึกษา อาจทำให้ความเป็นแอนติเจนของเชื้อไวรัสถูกทำลายจากเอนไซม์ต่างๆ หรือถูกบดบังจากกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ ทำให้บางตำแหน่งอาจตรวจไม่พบเชื้อไวรัสได้ ดังนั้น การศึกษาเพิ่มเติมจะช่วยพัฒนาความรู้ความเข้าใจ เชื้อไวรัสกลุ่มนี้ในโคไทยให้ เป็นไปอย่างถูกต้องมากยิ่งขึ้น

บทสรุป

ลักษณะพยาธิสภาพที่พบในระบบทางเดินอาหาร ร่วมกับผลการตรวจทางอณูชีวโมเลกุลบ่งชี้สาเหตุการตาย เกิดจากลูกโคมีการติดเชื้อแบบคงทนจากเชื้อไวรัสเพสต์ดิซชนิดพิเศษ และตายในระยะ MD

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ ศูนย์วิจัยและบริการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อระบาดใหม่ และศูนย์วิจัยโรคเขตร้อน

มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนการศึกษาและการวิจัย

การศึกษานี้ได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจรรยาบรรณและการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ AEKKU 09/2554

เอกสารอ้างอิง

- Baule, C., Kulcsár, G., Belák, K., Albert, M., Mittelholzer, C., Soós, T., Kucsera, L. and Belák, S. 2001. Pathogenesis of primary respiratory disease induced by isolates from a new genetic cluster of bovine viral diarrhea virus type I. *J Clin Microbiol.* 39:146–153.
- Bachofen, C., Braun b, U., Hilbe, M., Ehrensperger, F., Stalder, H. and Peterhans, E. 2010. Clinical appearance and pathology of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus of different genetic subgroups. *J Vet Microbiol.* 141: 258–267.
- Hazirolu, R. 2000. *Systema Nervosum*. In: *Veterinary Pathology* 2th ed., Vol. 1. (Milli U. H., R. Tunca Eds.) Medipres, Ankara.
- Kampa, J., Sihg-na, U., Kanistatanon, K. and Aiumlamai, S. 2011. Reproductive loss due to Pestivirus Infection in dairy cattle herds in Thailand. *Thai J Vet Med (In Press)*
- Liu, L., Xia, H., Belák, S. and Baule, CA. 2008. TaqMan real-time RT-PCR assay for selective detection of atypical bovine pestiviruses in clinical samples and

- biological products. J Virol Methods. 154:82–85
- Rebhun, WC., French, TW., Perdrizet, JA., Dubovi, EJ., Dill, SG. and Karcher, LF. 1989. Thrombocytopenia associated with acute bovine virus diarrhea infection in cattle. J Vet Intern Med. 13:42–46.
- Odeón, CA., Kelling, LC., Marshall, JD., Estela, SE., Dubovi, JE. and Donis, OR. 1999. Experimental infection of calves with bovine viral diarrhea virus genotype II (NY-93). J Vet Diagn Invest. 11:221–228
- Ripath, JF. 2003. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. 2003. Biologicals. 31:127-131.
- Schirrmeier, H., Strebelow, G., Depner, K., Hoffmann, B., Beer, M. 2004. Genetic and antigenic characterizations of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species. J Gen Virol. 85:3647– 3652.
- Ståhl, K., Kampa, J., Alenius, S., Persson, WA., Baule, C, Aiumlamai, S. and Belák, S. 2007. Natural infection of cattle with an atypical ‘HoBi’- like pestivirus implications for BVD control and for the safety of biological products. Vet Res. 38:517–523.
- Tautz, N., Meyers, G., Thiel, HJ. 1998. Pathogenesis of mucosal disease, a deadly disease of cattle caused by a pestivirus. Clin Diagn Virol. 10:121–127.
- Walz, PH., Grooms, DL., Passler, T., Ridpath, JF., Tremblay, R., Step, DL., Callan, RJ. and Givens, MD. 2010. Control of Bovine Viral Diarrhea Virus in Ruminants. J Vet Intern Med. 24:476–486