# Baytril®

# Challenge Case 2010

## ขอเรียนเชิญสัตวแพทย์ทุกท่าน ร่วมแบ่งปันความรู้และประสบการณ์ การรักษาสัตว์ป่วยด้วย Baytril® *flavour* Tablets

เพียงส่งรายงานสัตว์ป่วย (case report) ที่รักษาด้วย **Baytril®** *flavour* **Tablets**

**รายงานสัตว์ป่วยยอดเยี่ยมจากการตัดสินของคณะกรรมการ* มีสิทธิ์ได้รับ**

| | | |
|---|---|---|
| 1 | เข้าร่วมสัมนา WSAVA 2011 | จำนวน 1 รางวัล |
| 2 | Blackberry Bold 9700 | จำนวน 1 รางวัล |
| 3 | iPod Touch 16GB | จำนวน 1 รางวัล |

เริ่มส่งได้ตั้งแต่วันนี้ ถึง 28 กุมภาพันธ์ 2011   ประกาศผลการตัดสินในงาน VRVC 2011

## เกณฑ์การตัดสิน

- เป็นรายงานสัตว์ป่วยในกลุ่มสัตว์เลี้ยง และใช้ **Baytril** *flavour* **Tablets** ในการรักษา
- ความยาวของบทความ 2-4 หน้ากระดาษ A4 มีข้อมูลครบถ้วนประกอบด้วย ประวัติสัตว์ป่วย การตรวจร่างกาย การวินิจฉัย ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ การรักษา ผลการรักษา รูปภาพประกอบ
- ผลการตัดสินรายงานสัตว์ป่วยยอดเยี่ยมขึ้นกับความเห็นของคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิถือเป็นสิ้นสุด

** ทุกรายงานสัตว์ป่วยที่ส่งเข้ามาร่วมแบ่งปันประสบการณ์ภายใน 31 ธันวาคม 2010 จะได้รับ **Proceeding of The 4th Baytril Symposium 2009** และ **Baytril MINI MAGLITE®**


* คณะกรรมการผู้ตัดสินได้รับการแต่งตั้งโดยบริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด

** รายงานทุกชิ้นที่ส่งเข้ามาร่วมแบ่งปันประสบการณ์ บริษัท ไบเออร์ไทย ขอสงวนสิทธิ์ในการใช้บทความดังกล่าว เพื่อใช้ในการพัฒนาความรู้และวิชาการแต่เพียงผู้เดียว

** บริษัทขอสงวนสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงของรางวัลโดยไม่ต้องแจ้งให้ทราบล่วงหน้า

Bayer HealthCare
Animal Health


สัตวแพทย์ที่สนใจ ส่งรายงานสัตว์ป่วย ได้ที่
e-mail address: thitirat.chaimee@bayerhealthcare.com
หรือทางไปรษณีย์ถึง สพ.ญ.ฐิติรัตน์ ไชยมี บริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด
130/1 ถนนสาทรเหนือ สีลม บางรัก กทม. 10500
(วงเล็บมุมซอง Challenge Case 2010)

AD/Colour บริษัท แอนิทค โทเทิล โซลูชั่น จำกัด


# ปฏิญญาสัตวแพทย์

ในฐานะที่ข้าพเจ้าได้รับการยอมรับ
เข้ามาอยู่ในวิชาชีพสัตวแพทย์
ข้าพเจ้าขอปฏิญาณว่าจะอุทิศตนและ
ความรู้ความสามารถทั้งปวงที่ข้าพเจ้ามีอยู่
เพื่อประโยชน์แก่สังคม ข้าพเจ้าจะประกอบวิชาชีพ
ด้วยความสำนึกในคุณธรรม อันกอปรด้วยศีลธรรม
มนุษยธรรม จริยธรรม และจรรณยาบรรณแห่งวิชาชีพ
ข้าพเจ้าจะคำนึงถึงสุขภาพของสัตว์
ผลประโยชน์ของเจ้าของสัตว์ และสวัสดิภาพแห่งเพื่อนมนุษย์
เป็นสำคัญ ข้าพเจ้าจะละเว้นที่จะใช้วิชาชีพไปในทางที่ผิด
หรือปฏิบัติตนเป็นที่เสื่อมเสียต่อวิชาชีพของข้าพเจ้า
แต่จะธำรงไว้เชิดชูเกียรติและศักดิ์ศรี ตลอดจนขนบธรรมเนียม
อันดีงามของวิชาชีพสัตวแพทย์ให้วัฒนาถาวรสืบไป
ข้าพเจ้าขอสัตย์ปฏิญาณต่อสิ่งศักดิ์สิทธิ์ทั้งหลายในสากลโลก
ว่าจะประพฤติปฏิบัติตามปฏิญญานี้
ด้วยเกียรติของข้าพเจ้า

**สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย**



## วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย

**เป็นวารสารวิชาการของสมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย**

**The Journal of Thai Veterinary Practitioners**

**วัตถุประสงค์**
- เพื่อเผยแพร่ผลงานทางวิชาการและผลงานวิจัย ในสาขาสัตว์และโรคสัตว์ โดยเน้นหลักไปในทางคลินิก
- เพื่อเพิ่มพูนความรู้และความก้าวหน้าทางวิชาการให้แก่หมู่สมาชิก
- เพื่อประชาสัมพันธ์ และเป็นสื่อความคิดเห็นระหว่างผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์





**สำนักงาน** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
39 ถนนอังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
e-mail: mailto:journaltvp@gmail.com　journaltvp@gmail.com
http://www.vpathai.org

**กำหนดออก** ปีละ 4 ฉบับ

**คอมพิวเตอร์ กราฟฟิคส์** บริษัท เวิร์คดี ไอเดีย จำกัด โทรศัพท์ : 02-875-6949

**พิมพ์ที่** บริษัท วีพริ้น จำกัด โทรศัพท์ : 02-451-3010-6

# สารบัญ

# ข้อแนะนำสำหรับผู้เขียน
## Instruction to author

### ข้อกำหนดและขอบเขตของบทความเพื่อตีพิมพ์ในวารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์

วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์มีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่บทความทางวิชาการทางสัตวแพทย์ สัตวบาล และวิทยาศาสตร์สาขาสุขภาพสัตว์ทุกสาขาที่เกี่ยวกับสัตว์เลี้ยง (companion animals) สัตว์ป่า (wildlife) และสัตว์ต่างถิ่น (exotic animals) ที่ทำทั้งในประเทศและต่างประเทศ หรือส่วนของวิทยานิพนธ์ ในกรณีที่การศึกษานั้นมีการปฏิบัติอันส่งให้เกิดความทรมานอย่างรุนแรงต่อสัตว์เลี้ยง *กองบรรณาธิการจะรับพิจารณาบทความในโครงการวิจัยที่ผ่านรับรองโดยกรรมการพิจารณาว่าด้วยจรรยาบรรณการใช้สัตว์ในแต่ละสถาบันแล้วเท่านั้น บทความแบ่งเป็นประเภทต่างๆ ดังนี้*

1. บทความวิจัย (original article) เป็นงานค้นคว้าวิจัยที่มีข้อสรุป ที่ได้จากวิธีการปฏิบัติตามขั้นตอนทางด้านวิทยาศาสตร์โดยมีเอกสารอ้างอิง หรือเป็นวิธีการใหม่ที่พิสูจน์ได้ทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งนำไปสู่ข้อสรุป มีการระบุวัตถุประสงค์การศึกษาที่ชัดเจนสอดคล้องกับสมมติฐานและชื่อเรื่อง โดยได้จัดรูปแบบของบทความ ตามข้อแนะนำสะหรับผู้เขียนอย่างเคร่งครัด

2. รายงานสัตว์ป่วย (case report) เป็นบทความที่เกี่ยวข้องกับกรณีสัตว์ป่วยที่น่าสนใจ โดยใช้กระบวนการพิสูจน์และวินิจฉัยที่ได้รับการยอมรับ หรือเป็นกรณีพบไม่บ่อย หรือไม่เคยปรากฏในประเทศไทย ในกรณีที่นำเสนอสามารถให้ข้อแนะนำและข้อสังเกตที่ประโยชน์ต่อสัตวแพทย์ทั่วไป ซึ่งสามารถนำไปใช้ในทางปฏิบัติได้

3. บทความปริทัศน์ (review article) เป็นบทความได้จากการ เรียบเรียงจากเอกสารวิชาการหลายแหล่ง ร่วมกับงานที่ผู้เขียนเคยได้รับการตีพิมพ์ผ่านการวิเคราะห์เพื่อสามารถสื่อให้ผู้อ่านได้มีแนวคิดที่กว้างขวางขึ้น เป็นข้อมูลที่ร่วมสมัย หรือทันสมัย

4. บทความเพื่อการเรียนรู้ (tutorial article) เป็นบทความที่ได้จากงานแปลเอกสารต่างประเทศมากกว่า 50% อาจร่วมกับแนวคิดร่วมของผู้เขียน โดยผู้เขียนอาจมีหรือไม่เคยมีงานศึกษาค้นคว้าที่เกี่ยวข้องกับบทความก็ได้

5. ปกิณกคดี (miscellaneous writing) เป็นบทความทั่วไปที่ได้จากข้อสรุปงานประชุมหรือสัมมนาวิชาการที่ต้องการเผยแพร่ การตอบคำถามเชิงวิชาการของผู้ทรงคุณวุฒิทั้งในประเทศและต่างประเทศ

6. ข่าวสัตวแพทย์ สัตวบาล และวิทยาศาสตร์สาขาสุขภาพสัตว์ทุกสาขา ทั้งในประเทศและต่างประเทศ

7. ข่าวประชาสัมพันธ์ เป็นส่วนบริการแจ้งให้สมาชิกทราบกำหนดการต่างๆ ของงานสัมมนาหรือประชุมวิชาการ สิทธิประโยชน์ และเรื่องอื่นๆ ตามความเหมาะสม

8. คำถาม - คำตอบ สำหรับการศึกษาต่อเนื่อง (CE) รวมทั้งจดหมายถึงกองบรรณาธิการ

9. เรื่องอื่นๆ โดยผ่านการกลั่นกรองจากกองบรรณาธิการ

### การเตรียมต้นฉบับบทความวิชาการ

1. ต้นฉบับที่ต้องการตีพิมพ์ในวารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบ การบำบัดโรคสัตว์ ไม่ควรเป็นเรื่องที่กำลังอยู่ในพิจารณาเพื่อลงพิมพ์ในหนังสือหรือวารสารอื่น

2. ต้นฉบับควรเป็นตัวพิมพ์จริงที่ไม่ใช่สำเนา โดยอาจเป็นทั้งภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ เพื่อความสะดวกในการจัดพิมพ์ ควรพิมพ์ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Word for Windows รุ่นไม่ต่ำกว่า 2003 **สำหรับบทความภาษาไทยและภาษาอังกฤษ** ใช้อักษร Angsana UPC ขนาดตัวอักษรขนาด 16 ตัวต่อนิ้ว เว้นระยะความห่างระหว่างบรรทัด 1.5 ช่วง ยาวไม่เกิน 35 บรรทัด ต่อหน้า โดยเรื่องเต็มแต่ละเรื่องรวมตารางและรูปภาพ ไม่เกิน 15 หน้ากระดาษ A4 เนื้อเรื่องการพิมพ์หน้าเดียว พร้อมเลขหน้ากำกับทางมุมขวาบนและระบุหมายเลขกำกับบรรทัด สามารถ download ตัวอย่างต้นฉบับได้ที่ http://www.vpathai.org/index.php?mo=10&art=214954

3. การลำดับเรื่องควรเรียงดังนี้

3.1 บทคัดย่อ

3.1.1 ชื่อเรื่อง ชื่อผู้เขียน และสถานที่ติดต่อของผู้แต่งทุกคนโดยละเอียด มีบทคัดย่อภาษาเดียวกันกับเนื้อเรื่อง ควรระบุสถานที่ติดต่อของผู้รับผิดชอบไว้ในหมายเหตุและกำกับด้วยเครื่องหมาย # (โปรดดูตัวอย่างจากวารสารฉบับล่าสุด)

3.1.2 บทคัดย่อควรแยกจากเนื้อหา เขียนให้ได้ใจความครอบคลุมเนื้อหา เพราะมีความยาวไม่เกิน 250 คำใน 1 หน้า A4 ควรจะระบุคำสำคัญไม่เกิน 5 คำ ลงในบทคัดย่อ

3.1.3 ชื่อวิทยาศาสตร์และคำทับศัพท์ ให้เขียนเป็นภาษาไทย และมีภาษาอังกฤษไว้ในวงเล็บในประโยคแรกที่กล่าวถึง และเลือกใช้คำภาษาใดภาษาหนึ่งทั้งเอกสาร

3.2 บทนำ (Introduction) ประกอบด้วย การตรวจเอกสาร (literature review) ความเป็นมา มูลเหตุจูงใจ และจุดประสงค์ (Objective) ของบทความ โดยมีเนื้อหาไม่ควรเกินกว่า 1 หน้า A4

3.3 วัสดุและวิธีการ (materials & methods)

3.3.1 ในกรณีที่ใช้วิธีการที่ได้รับการยอมรับและมีเอกสารตีพิมพ์ ระบุแหล่งอ้างอิงทางเอกสาร

3.3.2 วัสดุและสารเคมีให้เขียนในลักษณะการอ้างอิงชื่อการค้าหรือเครื่องหมายการค้า หากเป็นการคิดค้นวิธีใหม่ หรือปรับปรุงประยุกต์วิธีการเดิม ควรอธิบายอย่างละเอียด

3.3.3 ใช้อักษรตัวหนา (bold) เพื่อระบุแต่ละหัวข้อหลักโดยห่างจากเส้นกั้นหน้า 1 tab และใช้ตัวเอียง (italic) เพื่อระบุหัวข้อย่อย โดยห่างจากเส้นกั้นหน้า 2 tab

3.4 ผล (Results) บรรยายผลอย่างละเอียดและเข้าใจง่าย ไม่ควรแสดงผลที่เหมือนกันในตาราง รูปภาพ หรือกราฟ

3.4.1 รูปภาพ (Figures) เป็นภาพถ่ายสี ขาวดำและภาพถ่ายจากคอมพิวเตอร์ที่ชัดเจน ขนาดใหญ่เหมาะกับหน้ากระดาษของวารสาร คำอธิบายภาพ (legend of figure) อยู่ที่ตำแหน่งใต้ภาพ มีความกระชับและชัดเจน รวมถึงอธิบายสัญลักษณ์ประกอบภายในภาพที่เหมาะสม ภาพที่ได้จากกล้องดิจิตอลสามารถนำมาปรับเพื่อความคมชัด และตัดขอบเขตของภาพตามความเหมาะสม แต่ต้องไม่ผ่านการตัดต่อเพื่อเพิ่มวัตถุหรือตัดส่วนประกอบภายในภาพถ่ายออก

3.4.2 ตาราง (Table) ไม่ควรใช้เส้นขอบข้างซ้ายและขวา (left and right border) หรืออาจใช้ได้ตามที่จำเป็นเท่านั้น คำอธิบายตาราง (legend of table) ต้องอยู่เหนือตาราง และสื่อได้ชัดเจน

3.4.3 ลายเส้น (Line drawings) ใช้เพื่อระบุโครงสร้างเพื่อการอธิบายให้ง่ายขึ้น ควรใช้ดินสอความข้มมากกว่า 2B หรือ indian ink เขียนบนกระดาษอาร์ตสีขาว ในกรณีที่วาดบนกระดานอิเลคทรอนิกให้แสดงโครงสร้างและสัญลักษณ์ที่ชัดเจน ที่สามารถเชื่อมโยงกับผลการทดลองอื่นๆได้อย่างเหมาะสม คำอธิบายภาพปฏิบัติเช่นเดียวกับรูปภาพ

3.5 วิจารณ์และสรุป (Discussions and conclusion) อาจเขียนบทสรุปรวมกับวิจารณ์ หรือแยกกันก็ได้ ควรมีการประเมินเปรียบเทียบกับข้อมูลของผู้อื่นที่ได้รายงานหรือตีพิมพ์แล้ว อาจใช้ตารางเปรียบเทียบ ไม่ควรบรรยายซ้ำผลการทดลอง ควร

ทำการแปลที่ได้จากการทดลอง ความน่าจะเป็นของเหตุผลต่างๆที่เกี่ยวข้องกับผลการทดลอง แนวคิดในการประยุกต์ใช้ที่เป็นประโยชน์ต่อวิชาชีพ แนวคิดในการศึกษาขั้นต่อไป และเน้นข้อสรุปที่ได้จากการศึกษา

3.7 กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements) ระบุหน่วยงานและบุคคลที่เกี่ยวข้องที่มีส่วนให้การศึกษาสำเร็จ อาจมีหรือไม่ก็ได้

3.8 เอกสารอ้างอิง (References)

3.8.1 ควรขึ้นต้นด้วยเอกสาร อ้างอิงภาษาไทยก่อน แล้วตามด้วยภาษาอังกฤษ

3.8.2 เรียงลำดับตามพยัญชนะของผู้เขียน แล้วตามด้วยปี ชื่อเรื่อง ชื่อหนังสือ หรือชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ และหน้าที่อ้างอิง

3.8.3 ในกรณีที่อ้างอิงตำรา ให้ระบุ ชื่อสกุล ชื่อย่อของผู้แต่ง (ถ้าเป็นภาษาไทย ชื่อตัวนำหน้า และตามด้วยชื่อสกุล) ปีที่พิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อตำรา พิมพ์ครั้งที่ เมืองที่พิมพ์ สำนักพิมพ์ หน้าที่ อ้างถึง

3.8.4 ในกรณีที่อ้างจากเวปไซต์ (Electronic information) ชื่อผู้เขียน ปี ชื่อเรื่อง และ http://

3.8.5 ตัวอย่างอ้างอิงท้ายเล่ม เช่น

Phonsuwan, A., Kiatipattanasakul, W., Kongchanpart, C., Sopsinsunthorn, S. and Prompakdee, J. 2000. Disseminative form of transmissible venereal granuloma in a puppy: a case report. J. Thai Vet. Pract. 12 (3-4): 31-39.

Boothe, D.M. 2001. Control of pain in small animals. In: Small animal clinical pharmacology and therapeutics. J.E. Maddison and D.M. Boothe (ed.) London: W.B. Saunders. 271-292.

The Veterinary Practitioner Association of Thailand. 2002. “Feline infectious peritonitis: update” [Online]. Available: http://www.vpat.org

3.8.6 ข้อควรระวัง ให้สังเกตและปฏิบัติตามตัวอย่างข้างบนในการเว้นวรรคตอน,จุดทศนิยม, จุลภาค, ทวิภาค ( : ), อัฒภาค ( ; ) และการเขียนเลขหน้า

3.8.8 การอ้างอิงในเรื่อง ควรอ้างชื่อและวงเล็บปีที่พิมพ์ เรียงตามอักษรของชื่อผู้แต่ง หรืออ้างชื่อพร้อมกับปีอยู่ในวงเล็บในกรณีที่อ้างชื่อผู้เขียนเป็นประธานของประโยค ในกรณีที่ผู้เขียน 2 คน ใช้ “และ” หรือในภาษาอังกฤษใช้ “and” เป็นคำเชื่อม ถ้ามีผู้แต่งมากกว่า 3 คนขึ้นไป ให้เขียนชื่อผู้เขียนคนแรก ตามด้วย “และคณะ” ส่วนในภาษาอังกฤษ ใช้ “et al.” ตามด้วยปีที่ตีพิมพ์เช่นกัน ตัวอย่างเช่น

“Aedes albopictus นั้น พบว่าเป็น primary vector ของ endemic dengue fever ในแถบเอเชีย (Smith et al., 1956)”

หรือ “Smith et al. (1981) พบว่า Aedes albopictus เป็น primary vector ของ endemic dengue fever ในแถบเอเชีย”

ในกรณีที่มีการอ้างมากกว่า 1 เอกสารอ้างอิงให้คั่นด้วยเครื่องหมาย ; เช่น (Lane et al., 1995; Smith et al., 1996)

ในการนี้ผู้เขียนสามารถ download style ของการเขียนเอกสารอ้างอิงด้วย โปรแกรม Endnote ได้ที่ http://www.vpathai.org/index.php?mo=10&art=214954 ชื่อไฟล์ “JTVP2010.ens”

**กรณีศึกษา** มีรูปแบบการเขียนที่คล้ายกับบทความ ซึ่งต้องประกอบด้วย ชื่อเรื่อง บทคัดย่อ (ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ) บทนำ และเอกสารอ้างอิง แต่มีโครงสร้างที่แตกต่างในบางจุดดังนี้

1. ประวัติสัตว์ป่วย (case history) ระบุประวัติของสัตว์ป่วยโดยละเอียด วิธีการตรวจวินิจฉัยเช่น ผลภาพฉายจากเครื่อง x-ray หรือ ultrasound, ผลเลือด, ผลตรวจทางจุลพยาธิวิทยา, ผลการแยกเชื้อและความไวรับ, ผลตรวจทางอนูชีววิทยา, รายละเอียดของการรักษาประกอบด้วยขนาดยา ระยะเวลาการให้ วิธีการผ่าตัด ผลการผ่าซากและระบุรอยโรคที่ชัดเจน ตลอดจนรับรองว่าได้ยืนยันว่าข้อมูลทั้งหมดได้รับความยินยอมจากเจ้าของสัตว์ หรือนักวิทยาศาสตร์และสัตวแพทย์ ที่เกี่ยวข้องผู้เป็นเจ้าของกรรมสิทธิ์แล้ว

2. วิจารณ์ (discussion) ระบุงานวิจัยและกรณีศึกษาที่เกี่ยวข้อง วิเคราะห์ผลการตรวจวินิจฉัย รูปแบบการรักษา การเปลี่ยนแปลงภายหลังการรักษา ปัจจัยต่างๆที่มีส่วนเกี่ยวข้อง ข้อแนะนำ และข้อสังเกตจากการรักษา

3. สรุป อาจมีหรือไม่มีก็ได้ตามความเหมาะสมของข้อมูล

## การส่งต้นฉบับ

1. ส่งต้นฉบับ (Hard copy) พร้อมสำเนา 2 ชุด รวมเป็น 3 ชุด พร้อมแผ่นเก็บข้อมูลอิเลคทรอนิก เช่น แผ่น CD หรือแผ่น diskette ที่มีไฟล์เรื่องที่จะลงตีพิมพ์ในวารสาร พร้อมกับจดหมายยืนยันว่าเรื่องที่ส่งมาไม่ได้รับการตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างรอการตีพิมพ์จากวารสารอื่น (cover letter) ในจดหมายควรระบุที่อยู่ที่จะติดต่อกลับ พร้อมเบอร์โทรศัพท์ โทรสาร หรือ อีเมล์ด้วย โดยส่งมาที่...

***ผศ.น.สพ.ดร. ณุวีร์ ประภัสระกูล***
***ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์***
***จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย***
*39 ถนนอังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่เขตปทุมวัน*
*กรุงเทพฯ 10330*
*หรือ กองบรรณาธิการฯ ยอมรับต้นฉบับที่ส่งผ่านทาง*
*จดหมายอิเลคทรอนิก (email) ที่*
*JournalTVP@gmail.com*

โดยให้แนบเอกสารข้างต้นอย่างครบถ้วน พร้อมทั้งตรวจสอบรูปแบบของการเขียนให้ตรงกับข้อแนะนำ เพื่อความรวดเร็วของการพิจารณา

2. กองบรรณาธิการจะมีจดหมายแจ้งให้ทราบหมายเลขบทความ เมื่อได้รับเรื่อง และเมื่อผ่านการพิจารณาเบื้องต้น ทางกองบรรณาธิการจะดำเนินการส่งต่อให้ผู้ตรวจต่อไป

3. ผลการพิจารณาถือเป็นคำชี้ขาดในการตัดสินของบทความนั้น

## การตรวจแก้ไขต้นฉบับและการตีพิมพ์

1. หลังจากได้รับการพิจารณาโดยผู้ทรงคุณวุฒิ กองบรรณาธิการจะทำการประมวลและตัดสิน เรื่องที่ได้ผ่านการตรวจสอบและแก้ไข ทางกองบรรณาธิการจะส่งจดหมายพร้อมสำเนา 1 ชุด คืน ให้แก้ไข ผู้ส่งเรื่องควรทำการแก้ไขตามที่ได้รับการเสนอแนะให้เสร็จภายในเวลาที่กำหนด และส่งแผ่นเก็บข้อมูลอิเลคทรอนิกที่มีไฟล์ที่แก้ไข พร้อมสำเนา 1 ชุด และชุดคำถามเลือกตอบจำนวน 5 ข้อ 4 ตัวเลือก พร้อมเฉลย กลับมายังกองบรรณาธิการวารสารเพื่อดำเนินการต่อไป

2. เรื่องที่ได้รับการลงพิมพ์จะเป็นลิขสิทธิ์ของสมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย แต่ความเห็นที่ได้ลงพิมพ์เป็นความเห็นของผู้เขียน ไม่ใช่ความเห็นของกองบรรณาธิการวารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย

3. เรื่องที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสาร ผู้รับผิดชอบบทความจะได้รับ reprints จำนวน 10 ฉบับต่อเรื่อง

## ค่าเรื่อง (Page charge)

1. ในกรณีที่ไม่เกิน 15 หน้าโดยประมาณของต้นฉบับ หรือ 9 หน้าของวารสาร จะไม่คิดค่าลงเรื่องที่ตีพิมพ์ (ไม่รวมคำถาม CE)

2. ผู้เขียนจะเป็นผู้รับผิดชอบค่าพิมพ์ในหน้าที่เกินกำหนดข้างต้นในอัตราหน้าละ 500 บาท

3. ในกรณีที่ต้องการตีพิมพ์ภาพสี ผู้เขียนจะเป็นผู้รับผิดชอบค่าพิมพ์ในหน้าสีในอัตราหน้าละ 2,000 บาท

# สารจากบรรณาธิการ
## (Editorial)

กราบสวัสดีปี 2553 อย่างเป็นทางการ แปลว่าในที่สุดวารสารผู้ประกอบการฯ ก็เข้าสู่รอบปีปกติของการตีพิมพ์ และการพัฒนาต่อจากนี้ก็คือการเริ่มมีการเข้าถึงผู้อ่านทั้งในวิชาชีพสัตวแพทย์ และผู้อ่านในสาขาที่เกี่ยวข้อง โดยการแขวงเนื้อหาทั้งหมดให้อยู่ในเวปไซท์ ซึ่งจะสามารถสืบค้นย้อนหลังได้ด้วย อีกทั้งเรากำลังดำเนินการเพิ่มช่องทาง การส่งบทความทางอิเลคทรอนิค (E-submission) ซึ่งจะเป็นระบบที่คล้ายกับระบบวารสารนานาชาติทั่วๆ ไป ผู้ส่งจะสามารถติดตามบทความของท่านว่าได้ดำเนินการถึงขั้นไหน และเมื่อได้รับการตอบรับการลงวารสารแล้ว บทความนั้นจะสามารถ download ออกมาเพื่อนำไปอ้างอิงหรือใช้ประโยชน์ด้านวิชาการต่างๆ ต่อไปได้ หรือที่เรารู้จักกันดีในกรณีของ advance publication หรือในหมวดของ Epub ahead of print อย่างไรก็ตามในระหว่างนี้ผู้ที่สนใจส่งบทความก็ยังสามารถมายัง email: JournalTVP@gmail.com ได้อยู่ ในส่วนของเนื้อหาภายในจะยังคงมีการปรับเปลี่ยนไปเรื่อยๆ ตามความเหมาะสม ทั้งนี้ส่วนหนึ่งก็ต้องขึ้นอยู่กับข้อแนะนำจากผู้อ่านที่ส่งกันเข้ามา เพราะที่สุดแล้วการทำสิ่งพิมพ์ก็ต้องขึ้นกับผู้อ่านเป็นสำคัญ

ในช่วงนี้ฝกตกทุกวัน ซึ่งก็บางพื้นที่ก็อาจจะมีผลกระทบบ้างต่อคลินิกและโรงพยาบาลสัตว์ในเรื่องของจำนวนลูกค้าเพราะข้อจำกัดในด้านการเดินทาง ในขณะเดียวกันคุณหมอบางท่านก็อาจจะพบเจออาการผิดปกติที่น่าสนใจในช่วงฝนตกทุกวันอย่างนี้ ซึ่งได้ทำการตรวจและรักษาแล้ว หายบ้าง ไม่หายบ้าง แต่ถ้ามีประเด็นที่คิดว่าน่าจะได้บอกกล่าวมายังเพื่อนๆ สมาชิกก็สามารถส่งบทความเป็นรายงานสัตว์ป่วยมาได้นะครับ ซึ่งจะเห็นว่าที่ผ่านมาก็เห็นว่ามีคุณหมอจากคลินิกเอกชนหลายๆแห่งก็ได้ลงตีพิมพ์ภายใต้ชื่อขององค์กรนั้นๆ ซึ่งเมื่อได้ตีพิมพ์ก็แปลว่าองค์กรของท่านมีระบบการตรวจรักษาที่ได้มาตรฐาน มีระบบการติดตามข้อมูลที่เชื่อถือได้และสามารถถ่ายทอดไปยังเพื่อนร่วมวิชาชีพได้ และในอนาคตข้างหน้าเมื่อระบบบนหน้าเวปไซท์เสร็จสิ้น ท่านยังสามารถนำไปใช้เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือต่อลูกค้าหรือผู้ที่สนใจได้ด้วย บางท่านอาจจะไม่แน่ใจว่าเคสที่พบนั้นน่าสนใจพอหรือไม่ ทางกองบรรณาธิการก็ยินดีให้คำปรึกษา โดยส่งมาทาง email ได้เลย แล้วพบกันอีกครั้งในฉบับหน้าครับ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.ณุวีร์ ประภัสระกูล
บรรณาธิการวารสาร


FRONTLINE® Plus
XL
สำหรับสุนัขน้ำหนัก 40-60 kg.
ฟร้อนท์ไลน์ พลัส
ใหม่...ใหญ่กว่า
หลอดเดียว-อยู่หมัด*
* กำจัดหมัดแบบครบทั้งวงจรทั้งตัวเต็มวัย ตัวอ่อน และไข่
* กำจัดเห็บที่เป็นพาหะของพยาธิเม็ดเลือด
* ควบคุมและป้องกันการติดซ้ำของเห็บและหมัด
FRONTLINE® Plus
For DOGS 40-60 kg
3 applicators
บริษัท เมเรียล (ประเทศไทย) จำกัด
3195/8 อาคารวิบูลย์ธานี 1 ชั้น 3 ถ.พระราม 4 แขวงคลองตัน เขตคลองเตย กรุงเทพฯ โทรศัพท์ 0 2661 3377 โทรสาร 0 2661 3379
MERIAL


NOVARTIS
ANIMAL HEALTH
Water Proof
แพ็ค-ติค®
คืนหอิสรภาพของคุณ
กำจัด "เห็บ-หมัด"บนตัวสุนัข
ใช้ง่าย ได้ผล ปลอดภัย
Prac-tic
มี 4 ขนาดให้เลือกใช้ตามน้ำหนักตัวสุนัข
วางจำหน่ายเฉพาะในสถานพยาบาลสัตว์ชั้นนำเท่านั้น
นำเข้าและจำหน่ายโดย
บริษัท โนวาร์ตีส (ประเทศไทย) จำกัด
โทร. 0-2685-0917
www.prac-tic.com
Prac-tic®
find your freedom
อย.วอส.62/2551


Now you can offer
more than sympathy...
AKTIVAIT®
Small Breed
A feed supplement to help with brain ageing in dogs
Available only from Veterinary Surgeons
VetPlus
AKTIVAIT®
Medium and Large Breed
A feed supplement to help with brain ageing in dogs
Available only from Veterinary Surgeons
VetPlus
ในขณะที่สุนัขอายุมากขึ้น สมองของสุนัข "สูงวัย" ก็จะไวต่อการทำร้ายจากสารอนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นในร่างกาย ทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อสมองทั้งทางกายภาพและชีวภาพซึ่งจะนำไปสู่ภาวะการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมต่างๆ เช่น อาการหลงลืม การหลับนอนที่เปลี่ยนไป และการปลีกตัวออกมาไม่อยากเล่นกับสัตว์เลี้ยงตัวอื่นๆภายในบ้าน
ขณะนี้ความช่วยเหลืออยู่ในมือท่านแล้ว - จากการทดลองโดยสถาบันอิสระแสดงให้เห็นว่า แอคติเวท® ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มอาหารเสริมประเภทนิวทราซูติคอล จะช่วยทำให้คุณภาพชีวิตของสุนัขท่านดีขึ้นได้อย่างชัดเจน ภายในระยะเวลาเพียง 14 วัน
สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเสริม แอคติเวท® ท่านสามารถซื้อได้แล้วที่คลินิกหรือโรงพยาบาลสัตว์ชั้นนำใกล้บ้านท่าน
ห้างหุ้นส่วนจำกัด ที.เจ. แอนนิมัล เฮลท์
T.J. ANIMAL HEALTH LTD.,PART.
TEL.02-1829299 FAX.02-1829288
VetPlus
A Global Leader in Veterinary Nutraceuticals.

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 18-30

# การจำแนกเชื้อ coagulase-positive staphylococci จากสุนัข และผลของการรักษาด้วยเซฟาโลสปอรินต่อระดับความไวรับของเชื้อ

ณุวีร์ ประภัสระกูล[1)#], ภัทรรัฐ จันทร์ฉายทอง[1)], พาสนา ม่วงคง[2)], ปิติกาญจน์ บำเพ็ญผล[2)], มัชฌมณ แก้วพฤหัสชัย[2)], วารี นิยมธรรม[1)]

วันที่ส่ง กุมภาพันธ์ 2553 / วันตอบรับ มีนาคม 2553

## บทคัดย่อ

ยากลุ่มเซฟาโลสปอรินเป็นยาต้านจุลชีพที่เลือกใช้สำหรับควบคุมเชื้อ coagulase-positive staphylococci (CoPS) ในสุนัขที่เป็นโรคผิวหนัง การศึกษานี้เพื่อจำแนกเชื้อ CoPS และศึกษาผลของระยะเวลาที่ได้รับยาต่อความไวรับของเชื้อ CoPS ที่แยกได้จากสุนัข 52 ตัวที่ได้รับยาเซฟาโลสปอรินในรูปแบบการกินตามระยะเวลาที่ได้รับยา โดยมีสุนัขที่มีสุขภาพผิวหนังดีและยังไม่ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะเป็นกลุ่มควบคุม จากนั้นทำการวินิจฉัยแยกแยะแบคทีเรียด้วยวิธีทางจุลชีววิทยา และวิธี modified acid production ตามด้วยการทดสอบความไวรับของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพใช้วิธี disk diffusion และ agar dilution เชื้อ CoPS จำนวน 267 เชื้อ วินิจฉัยแยกแยะได้ 3 สปีชีส์ได้แก่ *S. pseudintermedius* (80.9%), *S. schleiferi* subsp. *coagulans* (18 %) และ *S. aureus* (1.1%) เชื้อ *S. pseudintermedius* พบบนผิวหนังสุนัขทุกตัวที่เก็บตัวอย่าง จากการทดสอบความไวรับเบื้องต้นด้วยวิธี disk diffusion ต่อ เซฟาเลกซิน เซโฟซิติน เซฟไตรเอโซน และเซฟควิโนม เชื้อที่อยู่ในระดับดื้อ (resistant) และกึ่งไวกึ่งดื้อ (intermediate) จะนำมายืนยันหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อต่อเซฟาเลกซิน ประมาณ 48% ของเชื้อ CoPS ที่แยกได้จากกลุ่มสุนัขที่ได้รับเซฟาเลกซิน ดื้อต่อเซฟาเลกซินและเซฟไตรเอโซน พบว่าเซฟควิโนมมีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการต้านเชื้อ CoPS ในการศึกษานี้ เชื้อ CoPS ดื้อยาเพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์แรกของการรักษาจนถึงระยะเวลามากกว่า 8 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างระยะเวลาการให้ยากับการเพิ่มขึ้นของอัตราการดื้อยา โดยสรุปแล้วการใช้ยาเซฟาโลสปอรินอาจจะทำให้โอกาสการพบเชื้อ CoPS ที่ดื้อยาได้มากขึ้นบนผิวหนังภายหลังจาก 7 วันของการรักษา การศึกษานี้แสดงการพบเชื้อ CoPS ที่ดื้อต่อยาเซฟาโลสปอลินในระดับสูงในสุนัขในประเทศไทยซึ่งควรจะนำมาพิจารณาเพื่อวางแผนที่เหมาะสมในการรักษาโรคผิวหนังในสุนัขต่อไป

***คำสำคัญ:*** *coagulase-positive staphylococci, ยากลุ่มเซฟาโลสปอริน, ความไวรับ, สุนัข*

[1)]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ 10330
[2)]นิสิตดุษฎีบัณฑิต ปีการศึกษา 2552
[3)]นิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2552
[#]ผู้รับผิดชอบบทความ: Nuvee.P@Chula.ac.th

## บทนำ

เชื้อสตาฟฟิโลคอคคัส (*Staphylococcus* spp.) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลม ขนาด 0.15-1.5 ไมโครเมตร ลักษณะการเรียงตัวเป็นกลุ่ม (cluster), คู่ (pairs) หรือสายโซ่สั้นๆ ไม่สร้างสปอร์และไม่มีคุณสมบัติในการเคลื่อนที่พบได้ที่ทางเดินหายใจส่วนต้นเยื่อเมือก และผิวหนังของสัตว์เลือดอุ่น เชื้อสตาฟฟิโลคอคคัสที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสัตวแพทย์ในบทบาทของการเป็นเชื้อก่อโรคคือ กลุ่มเชื้อสตาฟฟิโลคอคคัสที่มีความสามารถทำให้เกิดการแข็งตัวของพลาสม่าด้วยเอนไซม์โคแอกกูเลส (coagulase-positive staphylococci, CoPS) ได้แก่ *S. aureus, S. intermedius, S. pseudintermedius, S. delphini, S. schleiferi* subsp. *coagulans, S. lutrae* และ *S. hyicus* เชื้อกลุ่มนี้มีบทบาทเป็นทั้งเชื้อประจำถิ่นและเชื้อก่อโรคในมนุษย์และสัตว์โดยเชื้อ *S. aureus* เป็นชนิดหลักที่แยกได้จากคน จากรายงานที่ผ่านมาพบว่าเชื้อ *S. aureus, S. pseudintermedius* และ *S. schleiferi* subsp. *coagulans* สามารถก่อโรคได้ในสุนัข โดย *S. pseudintermedius* เป็นชนิดหลักที่มีบทบาทเป็นเชื้อประจำถิ่นและก่อให้เกิดแผลหนองและผิวหนังอักเสบในสุนัข (Sasaki et al., 2007 b; Bannoehr et al., 2007) และ *S. schleiferi* subsp. *coagulans* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัข (otitis externa) (Igimi et al., 1990)

การรักษาโรคผิวหนังจากการติดเชื้อสตาคอคคัสด้วยยาต้านจุลชีพเป็นวิธีที่แนะนำในการรักษาในปัจจุบันสัตวแพทย์มียาต้านจุลชีพให้เลือกใช้ในการรักษาโรคผิวหนังติดเชื้อเป็นหนองเป็นจำนวนมาก จากผลการสำรวจที่ผ่านมาเชื้อสตาฟฟิโลคอคคัสมีความไวรับต่อยาเซฟาเลกซิน (cephalexin), แอมมอกซิซิลลินผสมกรดคลาวูลานิค (amoxicillin/clavulanic acid), เจนตามัยซิน (gentamicin), ออกซาซิลลิน (oxacillin) และเอนโรฟลอกซาซิน (enrofloxacin) แต่มักพบการดื้อต่อยาเพนนิซิลลิน (penicillin), แอมพิ ซิลลิน (ampicillin), เตตราซัยคลิน (tetracycline), อิริทโทรมัยซิน (erythromycin), ลินโคมัยซิน (lincomycin) และไตรเมโทรพริม/ซัลฟาเมทอกซาโซล (trimethoprim/sulfametoxazole) (ณุวีร์ และคณะ 2552; Hauschild and Wojcik, 2007) โดยทั่วไปการรักษาโรคผิวหนังติดเชื้อชนิดตื้น (superficial pyoderma) และโรคผิวหนังติดเชื้อชนิดลึก (deep pyoderma) นิยมใช้เซฟาเลกซินเป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่มเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 1 ซึ่งถือเป็นยาหลักที่ถูกเลือกใช้ (drug of choice) ในการรักษาโรคติดเชื้อที่ผิวหนัง (Kietzmann et al., 1990; Wurstenberg and Rodenbeck,1990; Bell, 1995) โดยใช้ระยะเวลาในการรักษา 3 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ (White, 1996) อย่างไรก็ตามการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานอาจทำให้เชื้อพัฒนาการดื้อยาได้โดยกลไกที่เชื้อสตาฟฟิโลคอคคัสใช้ในการดื้อยา ได้แก่ การผลิตเอนไซม์เบตาแลคตาเมส ($\beta$-lactamase) ซึ่งจะไปทำลายวงแหวนเบตาแลคแตมทำให้ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ไม่ได้ นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียยังมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนให้แตกต่างจากเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาอีกด้วย คือการสร้างเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสร้างผนังเซลล์ที่ไม่ถูกขัดขวางโดยกลไกของยากลุ่มนี้ คือการสร้าง penicillin binding protein 2a (PBP2a) ซึ่งเป็นกลไกการดื้อยาของเชื้อ methicillin-resistant staphylococci (MRS) (Loeffler et al., 2007)

จากการศึกษาของหลายๆ ประเทศ พบว่าแบคทีเรียดื้อยาจากสัตว์เลี้ยงมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น (White, 1996; Hauschild and Wojcik, 2006) และมีรายงานเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่แยกได้จากเจ้าของสุนัขและสุนัขเลี้ยงดื้อต่อยาต้านจุลชีพถึง 5 ชนิด เจ้าของสุนัขที่เป็นโรคผิวหนังติดเชื้อชนิดลึกมักพบแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด (multiple antimicrobial-resistance strain Staphylococcus) เหมือนกับที่พบในสุนัขที่เลี้ยงเช่นกัน อาจเป็นไปได้ว่าเกิดการถ่ายทอดยีนดื้อยาจากเชื้อสตาฟฟิโลคอคคัสที่พบ

ในสุนัขไปสู่คนได้ (human pathogenic staphylococci) (Guardabassi et al.,2003) การเปลี่ยนมาใช้ยาต้านจุลชีพวงแคบ (narrow-spectrum antimicrobial drugs) และลดการใช้ยาต้านจุลชีพวงกว้าง (broadspectrum antimicrobial drugs) จะช่วยควบคุมการเกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียได้ (Barbosa and Levy, 2000)

การดื้อต่อยาเซฟาโลสปอรินของเชื้อสตาฟฟิโลคอคคัส อาจขึ้นอยู่กับระยะเวลาการได้รับยานี้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน (White, 1996) ซึ่งการรักษาโรคผิวหนังที่ใช้เวลาในการให้ยากลุ่มนี้อย่างต่อเนื่องนานกว่า 2 สัปดาห์ (Kunkle, 1987; Hill and Moriello, 1994) เป็นปัจจัยเสี่ยงให้เกิดการพัฒนาการดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่มเซฟาโลสปอรินของเชื้อ CoPS (Sasaki et al., 2007) ซึ่งทำให้ความสำเร็จในการรักษาจึงเป็นไปได้ยากขึ้น เนื่องจากปัจจุบันมีการใช้ยาในกลุ่มเซฟาโลสปอรินในโรคติดเชื้อแบคทีเรียในสุนัขอย่างแพร่หลายทั้งเพื่อการรักษาและการควบคุมการติดเชื้อทั้งแบบที่ถูกต้องตามขนาดและระยะเวลาที่แนะนำ รวมถึงขนาดและช่วงเวลาที่ต่ำกว่าที่แนะนำจึงเป็นผลให้เกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดการพัฒนาการดื้อยาของเชื้อในกลุ่ม CoPS อีกทั้งการเกิดการพัฒนาของเชื้อดื้อยา MRS ที่อาจเกิดเนื่องมาจากการใช้ยาในกลุ่มเซฟาโลสปอรินที่ไม่เหมาะสม (Loeffler et al., 2007) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงการจำแนกเชื้อและการประเมินผลของการได้รับเซฟาโลสปอรินอย่างต่อเนื่องต่อการพัฒนาการดื้อยาของเชื้อในกลุ่ม CoPS ดังนั้นการทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาระยะเวลาในการให้ยาในช่วงเวลาที่ต่างๆ กันต่อการพัฒนาการดื้อยาของเชื้อกลุ่ม COPS

## วัสดุและวิธีการทดลอง

### การเก็บกลุ่มตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างจากสุนัขจากคลินิกโรคผิวหนัง โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และคลินิกเอกชน สุนัขอายุระหว่าง 1-5 ปี โดยไม่จำกัดเพศและพันธุ์ โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มตัวอย่างดังต่อไปนี้

*A.กลุ่มสุนัขที่ไม่เคยได้รับเซฟาเลกซินมาก่อน จำนวน 10 ตัวอย่าง*

*B.กลุ่มสุนัขที่ได้รับเซฟาเลกซินต่อเนื่องไม่เกิน 1 สัปดาห์ จำนวน 10 ตัวอย่าง*

*C.กลุ่มสุนัขที่ได้รับเซฟาเลกซินต่อเนื่อง 2-3 สัปดาห์ จำนวน 10 ตัวอย่าง*

*D.กลุ่มสุนัขที่ได้รับเซฟาเลกซินต่อเนื่อง 4-8 สัปดาห์ จำนวน 11 ตัวอย่าง*

*E.กลุ่มสุนัขที่ได้รับเซฟาเลกซินต่อเนื่องมากกว่า 8 สัปดาห์จำนวน 11 ตัวอย่าง*

โดยสุนัขกลุ่ม B-E ได้รับเซฟาเลกซินในขนาด 10-30 mg/kg วันละ 2 ครั้ง

การเก็บตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างโดยนำก้านไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วป้ายเก็บตัวอย่างเชื้อสำหรับสุนัขปกติและสุนัขที่ไม่มีการอักเสบที่ผิวหนัง เก็บตัวอย่างในโพรงจมูกและบริเวณฝีเย็บ (perineal area) (Hoekstra and Paulton, 2002; Duquette and Nuttall, 2004) และเก็บตัวอย่างที่บริเวณรอยโรคสำหรับสุนัขที่มีผิวหนังติดเชื้อ (Hauschild and Wojcik, 2007) รักษาตัวอย่างในหลอดเก็บตัวอย่างที่บรรจุ Cary-Blair transport medium (Biomark, India) ใส่ในภาชนะบรรจุน้ำแข็ง แล้วนำมาเพาะแยกเชื้อภายใน 24 ชั่วโมง

### การเพาะแยกและพิสูจน์เชื้อแบคทีเรีย (Isolation and identification)

**การเพาะแยกเชื้อ** ทำการเพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (nutrient agar) (Merck, Germany) ที่ผสมเลือดแกะ 5% และอาหารเลี้ยงเชื้อคัดเลือก (selective media) ชนิด Baird-Parker agar (Oxoid, England) บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเลือกโคโลนีของเชื้อ CoPS ที่มีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ สีขาว-เหลือง ขนาด 1-2 มิลลิเมตร และมีบริเวณการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงชนิดเบต้า ($\beta$-haemolytic zone) จากอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเลือด (blood agar) จากอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker agar ทำการคัดเลือกโคโลนีจำเพาะที่มีลักษณะสีเทาปนดำ ผิวมันวาว ขอบเรียบ รูปร่างกลม ขนาด 1-2 มิลลิเมตร แล้วนำมาเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเลือดจนแยกได้เชื้อที่บริสุทธิ์

**การตรวจพิสูจน์ยืนยันเชื้อ** ด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (biochemical test) และวิธี modified acid production (ภัทรรัฐ และณุวีร์, 2552; Freney et al., 1999) ประกอบด้วย

*การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อขั้นปฐมภูมิ (Primary test)* ประกอบด้วย การย้อมสีแกรม (Gram's staining) ทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase test) ทดสอบการสร้างเอนไซม์ออกซิเดสของเชื้อ (oxidase test) คุณสมบัติการเคลื่อนที่ (motility test) และการทดสอบขบวนการออกซิเดชั่นและเฟอร์เมนเตชั่นของเชื้อต่อสารคาร์โบไฮเดรต (O/F test)

*การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อขั้นทุติยภูมิภูมิ (Secondary test)* ทดสอบความสามารถของเชื้อในการสร้างเอนไซม์ที่ทำให้พลาสมาแข็งตัว (coagulase test) ในพลาสมาแกะการทดสอบความสามารถของเชื้อในการสร้าง acetylmethyl-carbinol (Voges-Proskauer test) การทดสอบการใช้น้ำตาลมอลโตสและกาแลคโตส (maltose and galactose) broth sugar ที่มี bromthymol blue เป็นตัวบ่งชี้ การทดสอบความสามารถของเชื้อที่จะสร้างเอนไซม์ยูรีเอส (urease test) การทดสอบการใช้น้ำตาลแมนนิทอลในสภาวะไร้ออกซิเจน (mannitol fermentation test) โดยการพิสูจน์ยืนยันชนิดของเชื้อกลุ่ม CoPS ที่แยกได้ทั้งหมด จากผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยอ้างอิงผลดังตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** แสดงผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *S. aureus*, *S. intermedius*,*S. pseudintermedius* และ *S. schleiferi* subsp. *coagulans* (ภัทรรัฐและณุวีร์, 2552)

| Species | Primary test | | | | Secondary test | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | motile | catalase | oxidase | O/F | coagulase | VP | Maltose | galactose | Mannitol (anaerobic) | Arginine dihydrolase |
| *S. aureus* | - | + | - | F | + | + | + | + | + | + |
| *S. intermedius* | - | + | - | F | + | - | + | - | + | - |
| *S. pseudintermedius* | - | + | - | F | + | - | + | + | - | + |
| *S. schleiferi subsp. coagulans* | - | + | - | F | + | + | - | + | - | + |

### การทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพกลุ่มเซฟาโลสปอริน

**วิธี** antimicrobial disk susceptibility

การทดสอบความไวรับนี้ใช้แผ่นยาต้านจุลชีพดังนี้ เซฟาเลกซิน (CL 30), เซโฟซิติน (FOX 30), เซฟไตรเอโซน (CRO 30) และเซฟควิโนม (CEQ 30) (Oxoid, England) ซึ่งเป็นตัวแทนของยากลุ่มเซฟาโลสปอรินในรุ่นที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ โดยเชื้อทุกตัวจะได้รับการทดสอบความไวรับด้วยยาในทุกรุ่น ในกรณีที่เชื้อแบคทีเรียเป็นเชื้อ species เดียวกันมาจากสุนัขตัวเดียวกันจะทำการเลือกเชื้อเพียงตัวอย่างเดียวในการทดสอบ โดยทำการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (MHA) (Mast Group Ltd., UK) ตามวิธี Kirby-Bauer disk (CLSI, 2009) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (clear zone) ผ่านจุดกลางแผ่นยามีหน่วยเป็นมิลลิเมตร การแปลผลจะยึดตามหลักของ Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2009) ซึ่งแปลผลเป็น resistance (R), intermediate (I) หรือ susceptible (S) ใช้เชื้อควบคุมการทดสอบ 3 ชนิดได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, และ *P. aeruginosa* ATCC 27853

**ตารางที่ 2** แสดงค่า MIC และ zone breakpoints ของเชื้อ staphylococci (CLSI, 2009)

| Antimicrobial agent | Zone Diameter Breakpoint (mm) | | | MIC Interpretive Standard (µg/mL) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | S | I | R | S | I | R |
| Cefazolin | ≥18 | 15-17 | ≤14 | ≤8 | 16 | ≥32 |
| Cefaclor | ≥18 | 15-17 | ≤14 | ≤8 | 16 | ≥32 |
| Ceftriaxone | ≥21 | 14-20 | ≤13 | ≤8 | 16-32 | ≥64 |
| Cefepime | ≥18 | 15-17 | ≤14 | ≤8 | 16 | ≥32 |

**วิธี** agar dilution

ทำการเลือกเชื้อที่มีผลการทดสอบความไวรับต่อยาเซฟาเลกซินเป็น I หรือ R เพื่อทำการทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ (MIC) โดยมีขั้นตอนการเตรียมสารละลายจากยาต้านจุลชีพ (antimicrobial stock dilution) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA และการเตรียมเชื้อ (inoculum) ตามวิธีของ CLSI (2004) ใช้เชื้อควบคุมการทดสอบ 3 ชนิด เช่นเดียวกับการทดสอบ antimicrobial disk susceptibility โดยมีค่า MIC ของเชื้อทั้ง 3 ตัวต่อยาเซฟาเลกซิน คือ - ,8 และ >128 µg/ml ตามลำดับ (Andrews, 2001)

การอ่านค่าและแปลผล โดยสังเกตจานเพาะเชื้อที่ไม่ใส่ยาต้านจุลชีพ (control) ว่ามีเชื้อเจริญเติบโต (positive control) และตำแหน่งที่ไม่มีเชื้อต้องปราศจากโคโลนีแบคทีเรีย (negative control) การอ่านผลโดยพิจารณาค่า MIC ที่ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ทำการวิเคราะห์ประเมินเป็นค่า MIC50 คือ ความเข้มข้นของยาที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้กึ่งหนึ่ง

## ผลการศึกษา

ตัวอย่างเก็บจากสุนัขทั้งหมด 52 ตัว (n=52) แยกได้เชื้อทั้งหมด 267 เชื้อ แบ่งเป็น *S. aureus* (SA) 3 เชื้อ *S. pseudintermedius* (SP) 216 เชื้อ และ *S. schleiferi* subsp. *coagulans* (SS) 48 เชื้อ เมื่อแบ่งกลุ่มตามระยะเวลาการได้รับยาได้ 5 กลุ่ม ดังตารางที่ 3 จากการทดสอบความไวรับของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธี disk diffusion ของสุนัขทั้ง 5 กลุ่ม พบว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับเซฟาเลกซิน (กลุ่ม A) ไม่พบเชื้อดื้อต่อเซฟฟาโรสปอรินทุกชนิด แต่พบเชื้อตอบสนองต่อยาในระดับ intermediate 2.5-5% ในขณะที่เริ่มพบเชื้อดื้อต่อเซฟาเลกซินและเซฟไตรเอโซนได้ในสัปดาห์ที่ 1 หลังการให้ยาในระดับดื้อ 44-55% และดื้อต่อเซควิโนมที่ประมาณ 18-28% ของจำนวนเชื้อที่ทดสอบด้วยวิธีนี้ เชื้อทุกเชื้อมีความไวรับต่อยาเซโฟ-ซิตินในระดับ susceptible (ตารางที่ 4) และเมื่อพิจารณาแยกตามชนิดของ CoPS แล้วพบว่าเชื้อ เชื้อ *S. pseudintermedius* มีอัตราการดื้อยาสูงที่สุด (59.5%) ในขณะที่เชื้อ *S.schleiferi* subsp. *coagulans* พบเพียง 7 จาก 48 เชื้อ (14.6%)

เพื่อยืนยันความถูกต้องของการแปลผลการทดสอบค่า MIC เชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่มีผลการทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพเซฟาโลสปอรินในระดับ I หรือ R จากสุนัขทั้งสิ้น 33 ตัว ซึ่งได้จากกลุ่ม B-E กลุ่มละ 8 ตัว และจากกลุ่ม A เพียง 1 ตัว ประกอบด้วยเชื้อ *S. pseudintermedius* (SP) 120 เชื้อ *S. schleiferi* subsp. coagulans (SS) 7 เชื้อ และเชื้อ *S. aureus* (SA) 1 เชื้อ และจากเชื้อ *S. pseudintermedius* จำนวน 10 เชื้อ จากสุนัข 10 ตัว ที่ให้ความไวรับแปลผลเป็น S ด้วยวิธี disk diffusion เป็นกลุ่มควบคุม ซึ่งผลการทดสอบ MIC ของเชื้อแบคทีเรียในแต่ละกลุ่มตัวอย่างเป็นดัง ตารางที่ 5 เมื่อพิจารณาค่าการกระจายตัวของ MIC ในแต่ละเชื้อ เชื้อจำนวน 120 จาก 128 เชื้อ (93.5%) ให้ค่า MIC ที่สอดคล้องกับการแปลผลด้วย disk susceptibility ซึ่งพบว่า *S. pseudintermedius* จำนวน 8 เชื้อแสดงค่าที่ไม่สอดคล้อง

**ตารางที่ 3** เปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนและชนิดของเชื้อ CoPS ที่แยกได้จากกลุ่มสุนัขที่มีระยะการได้รับเซฟฟาเลคซินต่างกัน

| กลุ่มการทดลอง | ระยะการให้ยา (WK) | จำนวนสุนัข | No. of coagulase positive staphylococci | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | *S. pseudintermedius* | *S. schleiferi subsp. coagulans* | *S. aureus* |
| A | - | 10 | 37 | 1 | 2 |
| B | 1 | 10 | 45 | 2 | 0 |
| C | 2-3 | 10 | 32 | 10 | 1 |
| D | 4-8 | 11 | 53 | 15 | 0 |
| E | >8 | 11 | 49 | 20 | 0 |

**ตารางที่ 4** ผลการทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพกลุ่มเซฟาโลสปอรินของเชื้อ coagulase-positive staphylococci ที่แยกได้จากสุนัขในแต่ละกลุ่มด้วยวิธี disk diffusion

| Group | Number of isolates (%) | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | CL | | | FOX | | | CRO | | | CEQ | | |
| | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R |
| A | 39 (97.5) | 1 (2.5) | 0 (0) | 40 (100) | 0 (0) | 0 (0) | 38 (95) | 2 (5) | 0 (0) | 17 (100) | 0 (0) | 0 (0) |
| B | 17 (36.2) | 5 (10.6) | 25 (53.2) | 47 (100) | 0 (0) | 0 (0) | 14 (29.8) | 9 (19.1) | 24 (51.1) | 21 (77.8) | 1 (3.7) | 5 (18.5) |
| C | 17 (39.5) | 2 (4.6) | 24 (55.8) | 43 (100) | 0 (0) | 0 (0) | 10 (23.2) | 10 (23.3) | 23 (53.5) | 16 (69.6) | 1 (4.3) | 6 (26.1) |
| D | 36 (52.9) | 2 (2.9) | 30 (55.1) | 68 (100) | 0 (0) | 0 (0) | 26 (38.2) | 12 (17.7) | 30 (44.1) | 26 (74.3) | 3 (8.6) | 6 (17.1) |
| E | 29 (42) | 2 (2.9) | 38 (55.1) | 69 (100) | 0 (0) | 0 (0) | 7 (10.2) | 24 (34.8) | 38 (55.1) | 30 (46.2) | 17 (26.1) | 18 (27.7 ) |

***หมายเหตุ*** *: S = susceptible, I = intermediate, R = resistance CL = cephalexin, FOX = cefoxithin, CRO = ceftriaxone, CEQ = cefquinome*

**ตารางที่ 5** ผลการทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพกลุ่มเซฟาโลสปอรินของเชื้อ coagulase-positive staphylococci ที่แยกได้จากสุนัขในแต่ละกลุ่มด้วยวิธี disk diffusion

| Group | Spp. | No. | MIC (ug/mL) | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 0.5 | 0.25 | 0.125 |
| A | SP | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | SS | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | SA | 1 | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| B | SP | 30 | - | 17 | 6 | - | 1 | 1 | - | 5 | - | - | - | - | - |
| | SS | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | SA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C | SP | 24 | - | 8 | 11 | 3 | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | SS | 2 | - | - | 1 | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | SA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D | SP | 29 | - | 21 | 7 | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | SS | 2 | - | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | SA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| E | SP | 37 | - | 12 | 20 | 1 | 1 | - | 2 | - | 1 | - | - | - | - |
| | SS | 3 | - | - | 2 | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | SA | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Control | SP | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 | 2 | 5 | 1 | - |

***หมายเหตุ*** *: SA = S. aureus SP = S. pseudintermedius SS = S. schleiferi subsp. coagulans - = ไม่มีตัวอย่างเชื้อ เขตสีเทาคือปริมาณที่มีความไวรับในระดับที่ดื้อต่อยาเซฟาเลกซิน (ชนิดเม็ดสำหรับรับประทาน) (CLSI, 2004) กลุ่มควบคุมเป็นเชื้อ S .pseudintermedius ที่ให้ผล s ด้วยวิธี disk diffusion*

## สรุปและวิจารณ์

จากการศึกษาผู้วิจัยมุ่งเน้นถึงเชื้อในกลุ่ม staphylococci ที่มีความสามารถในการทำให้พลาสม่าแข็งตัว (CoPS) ซึ่งเป็นหนึ่งในปัจจัยก่อโรคที่สำคัญ ประกอบด้วยเชื้อ *S. schleiferi* subsp. *coagulans* และกลุ่มเชื้อ *S. intermedius group* (SIG) ประกอบด้วย 3 สปีชีส์ได้แก่ *S. intermedius, S. pseudintermedius* และ *S. delphini* โดยใช้วิธีวิเคราะห์ทางอณูชีวโมเลกุลและคุณสมบัติทาง phenotype (Sasaki et al., 2007 B) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีการจำแนกเชื้อด้วยอาหารคัดแยก และคุณสมบัติทางชีวเคมีพิเศษที่มีการยืนยันแล้วว่าให้ความน่าเชื่อถือในระดับ phenotype และ genotype (ภัทรรัฐและณุวีร์, 2552) โรคผิวหนังในสุนัขไม่ว่าจะเกิดจากสาเหตุของการติดเชื้อแบคทีเรีย ไรขี้เรื้อน เชื้อรา การขาดสารอาหาร ความผิดปกติของสมดุลฮอร์โมน และกลุ่มโรคภูมิแพ้ ส่วนใหญ่มักพบการอักเสบของผิวหนังเป็นปัญหาร่วมเสมอ เชื้อ *S. pseudintermedius* เป็นเชื้อกลุ่มที่พบในสุนัขและมีความจำเพาะในสุนัขมากกว่าในคน (Malik et al., 2005) แต่ก็พบเชื้อ *S. pseudintermedius* ในผู้เลี้ยงสุนัขและสัตวแพทย์ได้เช่นกัน (Guardabassi et al., 2004) บทบาทของ *S. pseudintermedius* ถือว่าเป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) และเชื้อฉวยโอกาสเพิ่มจำนวนและก่อให้เกิดผิวหนังติดเชื้อแบบมีหนองตามมา (pyoderma) ได้เช่นเดียวกับ *S. aureus* (Sasaki et al., 2007a) จากกลุ่มตัวอย่างสุนัขทั้งหมด 52 ตัว เชื้อแบคทีเรียที่พบเป็นหลักคือ *S. pseudintermedius* ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่า เชื้อชนิดนี้มีบทบาทเป็นเชื้อประจำถิ่นและเชื้อฉวยโอกาสบนผิวหนังของสุนัขในประเทศไทยเช่นเดียวกัน ซึ่งพบว่าความแตกต่างของพื้นที่และสายพันธุ์สุนัขจึงไม่เกี่ยวข้องกับความชุกของเชื้อนี้

เซฟาเลกซินเป็นยากลุ่มเซฟาโลสปอรินมีคุณสมบัติต่อต้านเอนไซม์เบต้าแลคแตมเมสน้อยกว่ายาเซฟาโลสปอรินรุ่นอื่นๆ (Sneader, 2005) สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าเชื้อ CoPS มีระดับการดื้อต่อยาเซฟาเลกซินมากที่สุด ยากลุ่มเซฟาโลสปอรินมีผลรบกวนการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยไปรบกวนเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์ชั้นเปปติโดไกลแคน แบคทีเรียมีการพัฒนาการดื้อยาหลักอยู่ 2 กลไก คือ สร้างเอนไซม์เบต้าแลคแตมเมสขึ้นเพื่อทำลายโครงสร้างวงแหวนเบต้าแลคแตมของยา และการเปลี่ยนตำแหน่งเป้าหมายออกฤทธิ์ (penicillin binding protein, PBP target) และเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในโปรตีนภายใต้การควบคุมของยีนดื้อยา (Tenover, 2006) เมื่อจำแนกตามชนิดของเชื้อแล้วพบว่า *S.pseudintermedius* มีอัตราการดื้อต่อยาสูงกว่า *S.schleiferi* subsp. *coagulans* แต่ยังไม่มีรายงานที่ชัดเจนที่บ่งบอกถึงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการดื้อยากลุ่มเซฟาโลสปอริน ในการศึกษานี้พบ *S. aureus* เพียง 3 เชื้อ (1.1%) และมีเชื้อดื้อยาเพียง 1 เชื้อเท่านั้น ดังนั้นด้วยคุณสมบัติความจำเพาะของเชื้อแบคทีเรียต่อโฮสต์แล้ว เชื้อ *S. aureus* ในสุนัขจึงไม่น่าจะเป็นแหล่งรังโรคของเชื้อ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ที่จะแพร่ไปยังคนได้ ในตำแหน่งที่มีความชื้นสูงโดยเฉพาะช่องจมูกจะพบเชื้อ staphylocooci มากกว่า 1 ชนิด ดังนั้นจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญของการเกิดการแลกเปลี่ยนสารเมตาโบไลท์ และสายพันธุกรรมในระยะที่มีการเพิ่มจำนวนผิวหนังสุนัขจึงเปรียบเหมือนแหล่งแลกเปลี่ยนยีนที่มีความหลากหลายของยีนสูง ซึ่งรวมถึงชิ้นส่วนของยีนที่ทำหน้าที่สร้างโปรตีนดื้อยาได้อีกด้วย ช่องจมูกจึงเป็นตำแหน่งที่ควรหลีกเลี่ยงการสัมผัสเพื่อลดการส่งผ่านของเชื้อดื้อยามาสู่ผู้เลี้ยง (Malik et al., 2005)

เนื่องจากพบอัตราการดื้อต่อเซฟาโลสปอรินมากกว่า 50% ภายหลังจากสัปดาห์แรกของการให้ยา แต่อัตราการดื้อต่อยาก็มิได้สูงขึ้นตามระยะเวลาการให้ แต่ก็ไม่ได้ลดลงด้วย ทั้งนี้แสดงถึงการคงอยู่ของเชื้อภายใต้เงื่อนไขของการให้เซฟาเลกซิน แม้ว่าจะนานถึง 2 เดือนก็ตาม เชื้อดื้อยาเหล่านี้ยังคงเป็นเชื้อประจำถิ่นที่ไม่เพิ่มจำนวนและไม่ก่อปัญหาบนผิวหนัง แต่เมื่อใดก็ตามที่หยุดให้ยาร่วมกับปัญหาที่มีผลต่อความอ่อนแอของผิวหนังต่างๆ จะทำให้กลุ่มอาการของผิวหนังอักเสบกลับมา (recurrent pyoderma) หรือเชื้อส่วนหนึ่งอาจตายเนื่องจากยาปฏิชีวนะ แต่ก็ยังคงมีการรับเชื้อจากสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะสุนัขตัวอื่นที่อยู่ด้วยกัน ในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้เก็บตัวอย่างจากสุนัขตัวเดิมจากสัปดาห์แรกจนถึงมากกว่า 8 สัปดาห์ ดังนั้น ระยะเวลาการรักษาต่ออัตราการดื้อยาอาจ

ต้องมีการยืนยันด้วยการเก็บที่สุนัขตัวเดิมอีก 1 กลุ่ม หรือใช้การพิสูจน์ในห้องปฏิบัติการในการสร้างแบบจำลองในการสัมผัสยาจากรุ่นสู่รุ่น (In vitro) (Bousquet et al., 1999) แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากมีการใช้เซฟา-เลกซินในสุนัขที่มีอาการของโรคผิวหนังมาเป็นเวลานานมากแล้ว ข้อควรพิจารณาอีกอย่างหนึ่งคือเชื้อสายพันธุ์ดื้อยาอาจจะมีการคงอยู่บนผิวหนังอยู่แล้วโดยไม่ได้ถูกกระตุ้นจากการให้ยาในสัปดาห์แรก แต่การให้ยาในสัปดาห์แรกจะเป็นการคัดเลือกบางสายพันธุ์ที่ยังมีความไวรับต่อยาให้ตายลงไปก่อน และคงเหลือสัดส่วนของเชื้อที่ดื้อยามากขึ้น (selective pressure)

เซฟาเลกซินเป็นยารุ่นที่ 1 มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนยาเซฟาโลสปอรินรุ่น 2, 3 และ 4 มีการพัฒนาให้มีความแตกต่างของโครงสร้างทางเคมีโดยเฉพาะตรงตำแหน่งของวงแหวนเบต้าแลคแตม และมีฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรียในวงกว้างขึ้น ในทางสัตวแพทย์ยาเซฟาโลสปอรินรุ่น 1 เป็นแบบรับประทาน รุ่น 3 และ 4 เป็นแบบฉีด แต่การพัฒนาของยาในรุ่นที่ 3 และ 4 มิได้เพื่อเพิ่มศักยภาพในการทำลายเชื้อ CoPS แต่เพื่อให้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในวงกว้างเป็นสำคัญ (Sneader, 2005) เชื้อ CoPS มีการดื้อต่อเซฟควิโนม (รุ่นที่ 4) น้อยที่สุด จากผลการทดลองนี้สนับสนุนการใช้เซฟควิโนมในการแก้ปัญหาเชื้อ CoPS ดื้อต่อยาเซฟาเลกซินได้ในระดับหนึ่ง แต่ไม่น่าจะใช้เพื่อการรักษาโรคผิวหนังอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากเป็นยาฉีดซึ่งไม่เหมาะในทางปฏิบัติ แต่น่าจะเหมาะสำหรับการรักษาการติดเชื้อในกระแสเลือด และการควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรียซ้ำซ้อนในกรณีสุนัขที่มีภูมิคุ้มกันไม่แข็งแรง อย่างไรก็ตามอัตราการดื้อต่อยาที่สูงแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการปรับตัวของแบคทีเรียต่อการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ (White, 1996) และเป็นสัญญาณเท่พยากรณ์ได้ว่าในอนาคตอาจมีเชื้อดื้อยาเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ถ้าไม่มีการเฝ้าระวัง หรือการวางมาตรการการควบคุมเชื้อดื้อยา และการส่งผ่านมาสู่เจ้าของสัตว์ได้

การทดสอบความไวรับของเชื้อ CoPS ด้วยวิธี disk diffusion นั้นเป็นการทดสอบเบื้องต้น (screening test) ส่วนค่า MIC นั้นเป็นการยืนยันการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการถึงระดับที่วัดค่าความเข้มข้นที่ตอบสนองต่อเชื้อได้ (Andrews, 2001) ส่วนยาเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 2 ที่ใช้ได้แก่ เซฟโฟซิติน ซึ่งไม่ได้ใช้ในทางสัตวแพทย์แต่ใช้กันอย่างแพร่หลายในคน จากการทดสอบพบว่าผลความไวรับเมื่อเปรียบเทียบทั้ง 2 วิธีแล้วแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง ดังนั้นแผ่นยาเซโฟซิตินจึงไม่น่าจะเหมาะกับการตรวจความไวรับของเชื้อ CoPS ที่ได้จากสุนัข ในทางการแพทย์เซฟโฟซิตินใช้เพื่อเป็นยาในการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อ MRSA (Swenson and Tenover, 2005) แต่ในทางสัตวแพทย์เซฟโฟซิตินให้ผลลบลวง (false negative) ต่อการทดสอบ และไม่ใช้เป็นยาเพื่อทำการทดสอบแบบ disk diffusion ของเชื้อ CoPS ในสุนัข (Schissler et al., 2009)

แนวทางในการแก้ปัญหาการดื้อยาควรมีการควบคุมการใช้ยาต้านจุลชีพเท่าที่จำเป็นและเหมาะสม เช่น ลดการใช้ยาต้านจุลชีพในผู้ที่ติดเชื้อไวรัส ใช้ยาต้านจุลชีพตามขนาดและเวลาที่กำหนดในมาตรฐานการรักษา เปลี่ยนชนิดยาต้านจุลชีพจากชนิดที่มีฤทธิ์ครอบคลุมเชื้อวงกว้างเป็นชนิดที่มีฤทธิ์แคบ หรือเป็นชนิดที่เชื้อมีความไวในระดับสูง ให้เร็วที่สุดหลังทราบผลความไวของเชื้อไม่ใช้ยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ครอบคลุมวงกว้างชนิดใดชนิดหนึ่งในจำนวนที่มาก หรือเป็นช่วงเวลาที่นานเกินไป หลีกเลี่ยงการใช้ยาที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการดื้อยาได้ในหลายกลไก เช่น ควิโนโลน เพื่อป้องกันการดื้อยาข้ามกลุ่มการตรวจสอบชนิดของเชื้อและความไวรับเป็นวิธีหนึ่งที่เป็นประโยชน์ต่อสัตวแพทย์คลินิกในการยืนยันการวินิจฉัย และเลือกใช้ยาต้านจุลชีพให้เหมาะสมเพื่อการรักษาต่อไป (Hartmann et al., 2005)



# Identification of canine coagulase-positive staphylococci and effects of cephalosporin treatment to their susceptibility levels

Nuvee Prapassarakul[1)#], Pattarat Chanchaithong[1)], Passana Muangkong[2)], Pitikarn Bumpenpol[2)], Mutchamon Kaewparuehaschai[2)], Waree Niyomthum[1)]

Submit February 2010 / Accept March 2010

## Abstract

Cephalosporin is the drug of choice for canine dermatosis for controlling of coagulase-positive staphylococci (CoPS). To determine the effect of treatment duration to bacterial susceptibility, CoPS were isolated from 52 dogs with different durations of oral cephalosporin administration. Untreated dogs with healthy skin were used as a control group. Bacterial species was identified by routine microbiological method and the modified acid production. Disk diffusion and agar dilution test were used for susceptibility determination. Two hundred and sixty seven CoPS were identified into three species; consisted of *S. pseudintermedius* (80.9%), *S. schleiferi* subsp. *coagulans* (18%) and *S. aureus* (1.1%). *S. pseudintermedius* was predominantly recovered in all tested dogs. For screening susceptibility test, cephalexin, cefoxitin, ceftriaxone and cefquinome were determined. The isolates exhibited intermediate to resistant level, were confirmed by minimal inhibitory concentration evaluation. Approximately 48% of CoPS was resistant to cephalexin and ceftriaxone in the dogs administrating with cephalexin. Cefquinome was the most effective agent among tested CoPS. Resistant CoPS were increasingly recovered after 1 week until over 8 weeks of treatment. However, there was no significant difference between treatment durations and increasing of resistant rate. In conclusion, use of cephalosporin may allow recovery rate of resistant CoPS after 1 week post administration. High persistent rate of cephalosporin resistant CoPS in Thai dogs should be taken into consideration for an appropriate strategy of canine dermatose therapy.

***Keywords:*** *coagulase-positive staphylococci, cephalosporins, susceptibility, dogs*

[1)]Department of Microbiology Faculty of Veterinary Sciences Chulalongkorn University Bangkok 10330,
[2)]Ph.D. candidate academic year 2009,
[3)]Sixth years students Academic year 2009
[#]Corresponding author: Nuvee.P@chula.ac.th

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 18-30

# เอกสารอ้างอิง


ณุวีร์ ประภัสระกูล ปิยวุฒิ ศิริธรรมวิไล กฤษฎา บุญอร่ามเรือง ณัฐวุฒิ เจษฎาฐิติกุล วารี นิยมธรรม ธิติมา ไตรพิพัฒน์ และสุกัลยา อัศรัสกร 2552 ประสิทธิภาพของสารต้านจุลชีพ 6 ชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนที่แยกได้จากสุนัขที่ติดเชื้อไวรัส วารสารผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย ปีที่ 21 ฉบับที่ 1 หน้า 14-22

ภัทรรัฐ จันทร์ฉายทอง และ ณุวีร์ ประภัสระกูล. 2552. การยืนยันเชื้อ *Staphylococcus pseudintermedius* ที่แยกได้จากโพรงจมูกสุนัขในประเทศไทย ใน: ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสมาคมผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 15 ประเทศไทย หน้า 281-286

Andrews, J.M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. J. Antimicrob.Chemother. 48, Suppl. S1, 5-16.

Bannoehr, J., Ben Zakour, N.L., Waller, A.S., Guardabassi, L., Thoday, K.L., van den Broek, A.H. and Fitzgerald, J.R. 2007. Population genetic structure of the *Staphylococcus* intermedius group: insights into agr diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. J.Bacteriol. 189 : 8685-8692.

Barbosa, T.M. and Levy, S.B. 2000. The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. Drug Resist. Updat. 3 : 303-311.

Bell, A. 1995. Prophylaxis of German Shepherd recurrent furunculosis (German Shepherd Dog Pyo derma) using cephalexin pulse therapy. Aust. Vet. Pract. 25 : 30-36.

Bousquet, E., Ganiere, J.P., Ruvoen, N. and Larrat, M. 1999. Post-antibiotic effect of cephalexin against isolates of *Staphylococcus* intermedius obtained from cases of canine pyoderma. Vet. Dermatol. 10 : 253-255.

Clinical and Laboratory Standard Institue, CLSI. 2004. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. NCCLS document M31-S1. Wayne, PA.

Clinical and Laboratory Standard Institue, CLSI. 2009. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Nineteenth informational supplement M100-S19. 29.

Duquette, R.A. and Nuttall, T.J. 2004. Methicillin-resistant *Staphylococcus* aureus in dogs and cats: an emerging problem. J. Small Anim. Pract. 45 : 591-597.

Freney, J., Kloos, W.E., Hajek, V., Webster, J.A., Bes, M., Brun, Y. and Vernozy-Rozand, C. 1999. Recommended minimal standards for description of new staphylococcal species. Subcommittee on the taxonomy of staphylococci and streptococci of the international committee on systematic bacteriology. Int. J. Syst. Bacteriol. 49:489-502.

Guardabassi, L., Loeber, M.E. and Jacobson, A. 2003. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. Vet. Microbiol. 98 : 23-27.

Guardabassi, L., Schwarz S. and Lloyd D.H. 2004. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. J. Antimicrob. Chemother. 54 : 321-332.

Hartmann, F.A.,White D.G., West S.E.H., Walker R.D. and DeBoer D.J. 2005. Molecular characterization of *Staphylococcus intermedius* carriage by healthy dogs and comparison of antimicrobial susceptibility patterns to isolates from dogs with pyoderma. Vet. Microbiol. 108 : 119-131.

Hauschild, T. and Wojcik, A. 2007. Species distribution and properties of staphylococci from canine dermatitis. Res. Vet. Sci. 82 : 1-6.

Hill, P.B. and Moriello, K.A.1994. Canine pyoderma. J. Am.Vet. Med. Assoc. 204 : 334-340.

Hoekstra, K.A. and Paulton, R.J.L. 2002. Clinical prevalence and antimicrobial of *Staphylococcus aureus* and *S. intermedius* in dogs. J. Appl. Microbiol. 93 : 406-413.




# เอกสารอ้างอิง


Igimi, S., Takahashi, E. and Mitsuoka, T. 1990. *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans subsp.* nov., isolated from the external auditory meatus of dogs with external ear otitis. Int. J. Syst. Bacteriol. 40 : 409-411.

Kietzmann, M., Mischke, R., Albrecht, N. and Nolte, I. 1990 Tolerance and phamacokinetics of cefalexin in dogs. Kleintierpraxis. 35 : 390-398.

Kunkle, G.A. 1987. Clinical management of canine pyoderma. In: Proceedings of the 11th Kal Kan Symposium. p. 55-61.

Loeffler, A., Linek, M., Moodley, A., Guardabassi, L., Sung, J.M., Winkler, M., Weiss, R., Lloyd, D.H., 2007, First report of multiresistant, mecA-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. Vet. Dermatol. 18 : 412-421.

Malik,S., Peng H. and Barton, M.D. 2005. A review Antibiotic resistance in staphylococci associated with cats and dogs. J. Appl. Microbiol. 99 : 1283-1293.

Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S. and Hiramatsu, K. 2007a. Methicillin-Resistance *Staphylococcus pseudintermedius* in a Veterinary Teaching Hospital. J. Clin. Microbiol. 45 : 1118-1125.

Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S. and Hiramatsu, K., 2007b. Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. J. Clin. Microbiol. 45 : 2770-2778.

Schissler, J.R., Hiller, A., Daniels, J.B., Cole, L.K., Gebreyes, W.A., 2009, Evaluation of Clinical Laboratory Standard Institute interpretative criteria for methicillin-resistant *Staphylococcs pseudintermedius* isolated from dogs. J. Vet. Diag. Invest. 21 : 684-688.

Sneader, W. 2005. Cephalosporin analogues In: Chapter 23 Antibioti c Analogues. Drug diskovery : a history. Wiley, Chichester. p.324-330.

Swenson, J.M., Tenover F.C. and the Cefoxitin disk study group. 2005. Results of disk diffusion testing with cefoxitin correlate with presense of *mecA* in *Staphylococcus* spp. J. Clin. Microbiol. 43 : 3818-3823.

Tenover, F.C., 2006, Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. Am. J. Med. 119, S3-10; discussion S62-70.

White, S.D. 1996. Systemic treatment of bacterial skin infection of dogs and cats. Vet. Dermatol. 7 : 133-143.

Wurstenberg, T. and Rodenberg, H. 1990. Canine pyodema: symptomatiology and therapy with special regard to a new cephalosporin preparation (Cephalexin monohydrate). Kleintierpraxis. 35 : 483-492.

## คำถามท้ายเรื่อง

***1. เชื้อ staphylococci ที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกับในกรณีที่พบการอักเสบของผิวหนังสุนัข คือ***

ก. *S. aureus*

ข. *S. intermedius*

ค. *S. pseudintermedius*

ง. *S. schleiferi* subsp. *coagulans*

***2.จากการศึกษานี้ สาเหตุของการพบเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อ cephalosporin เพิ่มขึ้นตั้งแต่ในสัปดาห์ที่ 1 หลังการให้ยาน่าจะเกิดจากปัจจัยใดมากที่สุด***

ก. ยาปฏิชีวนะเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มของ plasmid

ข. ยาปฏิชีวนะเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเซลล์

ค. ยาปฏิชีวนะเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมที่มีผลต่อการดื้อยา

ง. เป็นปรากฏการณ์ของการคัดเลือกเชื้อที่มีแนวโน้มที่ดื้อยา (selective pressure)

***3.หลักการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อลดโอกาสการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาคือ***

ก. เลือกใช้ยาปฏิชีวนะ 2 ชนิด ที่เสริมฤทธิ์กัน

ข. เลือกยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ในวงกว้างเพื่อต้านเชื้อได้หลายชนิด

ค. เลือก drug of choice ที่มีผลเน้นเฉพาะต้านเชื้อที่เป็นสาเหตุเท่านั้น

ง. เลือกใช้ยาปฏิชีวนะใน generation แรกๆ ก่อนและเปลี่ยนเป็น generation ต่อมาเมื่อรักษาไม่ได้ผล

***4. วิธีการทดสอบทางชีวเคมีที่สำคัญในการคัดเลือกเชื้อกลุ่ม staphylococci ก่อโรคคือ***

ก. Indole test

ข. Motility test

ค. Coagulase test

ง. Methyl red test

***5. ข้อใดถูกต้องเกี่ยวกับ methicillin-resistant S. pseudintermedius (MRSP)***

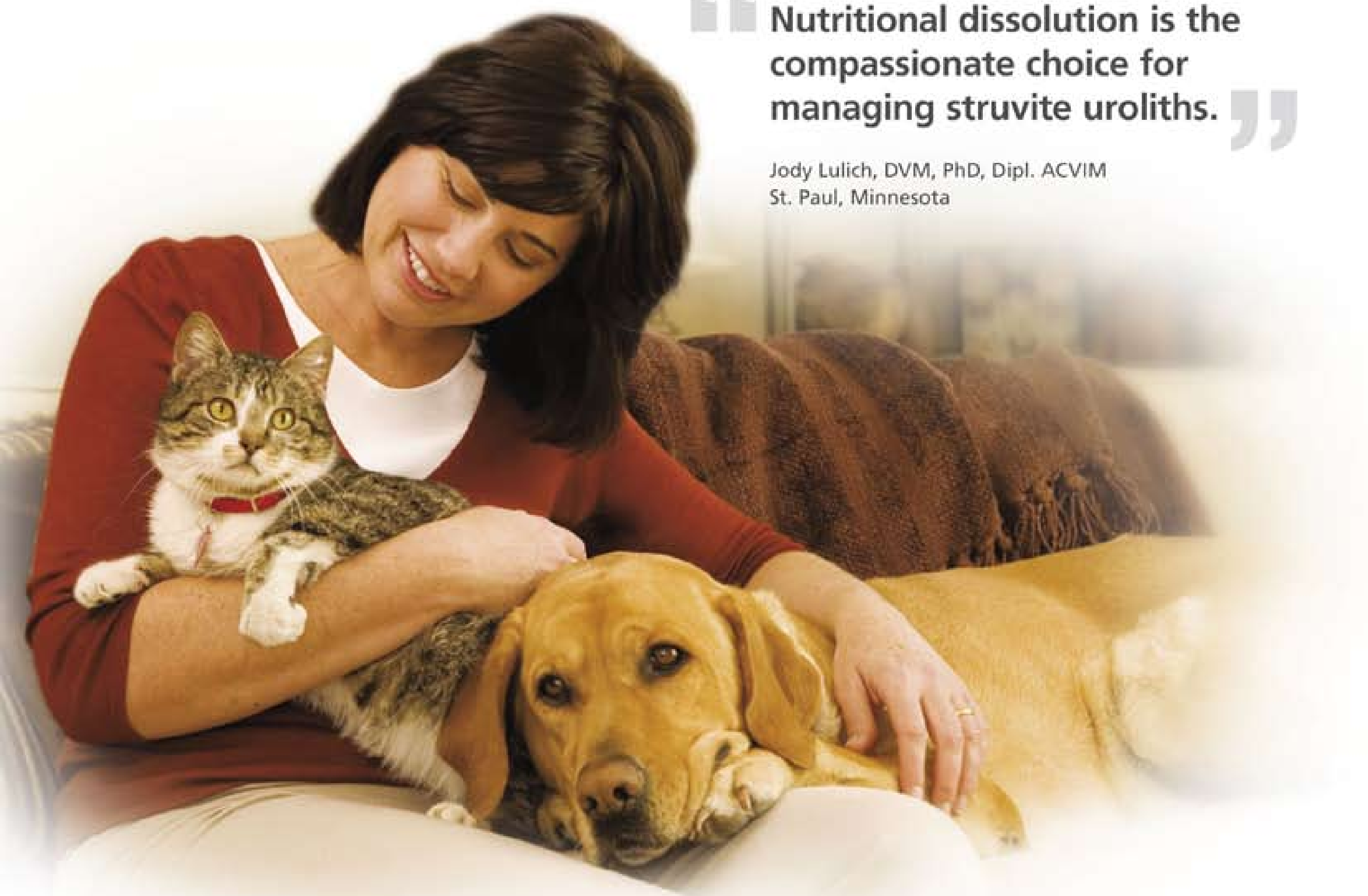
ก. เป็นเชื้อดื้อยาในสัตว์ สามารถติดต่อถึงมนุษย์

ข. มักพบในบุคคลที่เลี้ยงสัตว์ หรือปฏิบัติงานใกล้ชิดกับสัตว์

ค. เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายกลุ่ม เช่น βlactam, macrolide และ tetracyclines

ง. ถูกทุกข้อ

PRESCRIPTION DIET



> **Nutritional dissolution is the compassionate choice for managing struvite uroliths.**

Jody Lulich, DVM, PhD, Dipl. ACVIM
St. Paul, Minnesota


## สัตวแพทย์ทั่วโลกไว้วางใจ
# ด้วยผลงานวิจัยจากเคสจริง

Clinical studies performed in urolith-forming cats show the nutrition in Hill's® Prescription Diet® s/d® Feline pet food can aid dissolution of feline struvite uroliths in as few as **14 days,**[1-3] and s/d Feline may be a viable alternative to perineal urethrostomy in your feline patients with struvite-associated urethral obstructions[4].

[1] Osborne CA, Kruger JM, Polzin DJ, et al. Medical dissolution of feline struvite uroliths. *Minnesota Vet* 1984;24:22-32.
[2] Osborne CA, Kroll RA, Lulich JP, et al. Medical management of vesicourachal diverticula in 15 cats with lower urinary tract disease. *J Small Anim Pract* 1989;30:608-612.
[3] Osborne CA, Lulich JP, Kruger JM, et al. Medical dissolution of feline struvite urocystoliths. *J Am Vet Med Assoc* 1990;196:1053-1063.
[4] Osborne CA, Caywood DD, Johnston GR, et al. Perineal urethrostomy versus dietary management in prevention of recurrent lower urinary tract disease. *J Small Anim Pract* 1991;32:296-305.



**Clinical Nutrition to Improve Quality of Life™**

**Worldwide No. 1 Choice of Veterinarians[†]**

[†]Among small animal veterinarians

Hill's

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 33-48

# การผลิตและพัฒนาน้ำยาแอนติแคนายโกลบูลิน (โปลีสเปซิฟิก) ที่มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ตรวจความเข้ากันได้ของเลือดสุนัขและติดตามปฏิกิริยาหลังการให้เลือด

# Production and Development of Effective Anti-canine Globulins (Polyspecific) Reagent for Canine Crossmatching and Monitoring of Transfusion Reaction

ชัชวาล ศรีวิชัย [1)#], ปรียานาถ วงศ์จันทร์ [2)], กรกฎ งานวงศ์พาณิชย์ [3)]
วันที่ส่ง 7 กรกฎาคม 2553 / วันตอบรับ 8 สิงหาคม 2553

## บทคัดย่อ

Antiglobulin test เป็นวิธีการที่ใช้ในทางน้ำเหลืองวิทยาเพื่อตรวจหาแอนติบอดีที่ไม่ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง มีทั้งการตรวจทางตรง (direct antiglobulin test) ซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีที่จับกับแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงอยู่แล้วในร่างกาย (In vitro) และการตรวจทางอ้อม (indirect antiglobulin test) ที่เป็นการตรวจหาแอนติบอดีในซีรัม ใช้ในการตรวจกรองแอนติบอดี (antibody screening) และการตรวจความเข้ากันได้ของเลือด (crossmatching) การตรวจความเข้ากันได้ของเลือดก่อนการให้เลือดในสุนัข จำเป็นต้องใช้แอนติบอดีที่สองที่มีความจำเพาะต่อโกลบูลิน ของสุนัข (anti-canine globulins) เพื่อช่วยสานร่างแหของ sensitized red cells ให้เกิดการเกาะกลุ่มมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และเนื่องจากแอนติบอดีชนิด IgG สามารถตรึงคอมพลีเมนต์ได้ ดังนั้น การใช้น้ำยา anti-canine globulin (polyspecific) ที่มี anti-canine complement เป็นส่วนประกอบ จะช่วยทำให้การตรวจความเข้ากันได้ของเลือดระหว่างสุนัขผู้ให้และสุนัขผู้รับมีความถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ช่วยลดโอกาสของการให้เลือดที่ไม่เหมาะสมและการเกิดปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์หลังการให้เลือด ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ผลิต Rabbit polyclonal anti-canine globulins (polyspecific) โดยการเตรียม canine globulins ทำให้บริสุทธิ์ ฉีดกระตุ้นกระต่ายและตรวจสอบความจำเพาะของแอนติบอดีในซีรัมกระต่ายโดยเทคนิค indirect ELISA จากนั้นกำจัด Heterophile antibody โดยการดูดซับด้วยเม็ดเลือดแดงสุนัขปกติ ทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Salting out และ MelonTM gel ตามลำดับ และทำให้เข้มข้น ทดสอบคุณสมบัติและความจำเพาะของน้ำยาที่ผลิตขึ้นกับเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยโกลบูลิน ของสุนัข จากนั้นผลิต anti-canine complement โดยกระตุ้นกระต่ายด้วยคอมพลีเมนต์สุนัขซึ่งได้จากการกระตุ้นด้วย Zymosan A ตรวจความจำเพาะของแอนติบอดีในซีรัมกระต่ายโดยเทคนิค agglutination สังเกตการณ์จับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงของสุนัขที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ต่างๆ จากนั้นผสมแอนติบอดีทั้งสองชนิดกันในอัตราส่วนที่เท่ากัน ทดสอบคุณสมบัติและความจำเพาะกับเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ชนิดต่างๆ และตัวอย่างเลือดสุนัขป่วยและสุนัขปกติ เปรียบเทียบกับน้ำยาที่มีจำหน่าย โดยศึกษาในตัวอย่างที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คลินิกและโรงพยาบาลสัตว์ในจังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2552 ถึง มีนาคม 2553 จำนวน 126 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่า การตรวจทางตรงและทางอ้อมด้วยน้ำยาทั้ง 2 ชนิด ให้ผลสอดคล้องกันในระดับ “ดี” (kappa = 0.821 และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) สรุปผลจากการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพของ น้ำยา anti-canine globulins (polyspecific) ที่ผลิตขึ้นและ commercial anti-canine globulins (polyspecific) มีความสอดคล้องและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงมีแนวโน้มที่ดีในการผลิต เพื่อนำมาใช้ทางคลินิกต่อไปในอนาคตการวิจัยนี้จึงเป็นการส่งเสริมให้เกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ใช้เอง ในประเทศเพื่อลด

การนำเข้า มีการนำความรู้และเทคนิคในห้องปฏิบัติการที่ใช้กับมนุษย์ มาพัฒนาและประยุกต์ ใช้ในการดูแลรักษาสุนัขในโรงพยาบาลสัตว์ เพื่อให้การวินิจฉัยและการรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพและลดค่าใช้จ่าย

**คำสำคัญ**: *Anti-gobulin test, Zymosan, crossmatching*

[1]Small animal Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University
[2]Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
[3]Department of Veterinary Preclinical Scfience, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University
[*]ผู้รับผิดชอบบทความ

## บทนำ

การถ่ายเลือด (blood transfusion) คือ กระบวนการนำเลือดหรือส่วนประกอบของเลือดจากผู้ให้ไปยังระบบไหลเวียนโลหิตของผู้รับ (Wikipedia, 2007) ในทางสัตวแพทย์เริ่มนำเทคนิคการถ่ายเลือดมาใช้ตั้งแต่ทศวรรษที่ 1950 ซึ่งมีความสำคัญในทางสัตวแพทย์ในการรักษาสัตว์ป่วยและมีความจำเป็นที่ต้องได้รับการถ่ายเลือด ซึ่งเกิดจากสาเหตุต่างๆ เช่น ภาวะที่มีการเสียเลือดมากจากอุบัติเหตุ การผ่าตัดที่มีความเสี่ยงต่อการเสียเลือดมาก ภาวะโลหิตจางจากโรคปรสิตในเม็ดเลือด โรคที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน เช่น Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) โรคที่เกิดจากการสร้างเม็ดเลือดแดงไม่เพียงพอ เช่น โรคไตวายเรื้อรัง (Hohenhaus AE, 2004; Honeckman and Knapp DW, 1996)

การตรวจความเข้ากันได้ของเลือด (cross matching) เป็นวิธีการตรวจสอบทางน้ำเหลืองวิทยา (serological compatibility) ระหว่างผู้ให้และผู้รับเลือด โดยสังเกตการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือด เมื่อมีการจับกันระหว่างแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงกับแอนติบอดีในซีรัม ซึ่งแม้จะไม่เกิดการเกาะกลุ่มในหลอดทดลอง แต่สำหรับสุนัขที่เคยรับเลือดมาก่อนอาจมีการสร้างแอนติบอดีชนิด Immunoglobulin G (IgG) ซึ่งสามารถจับกับแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดง แต่ไม่เกิดปฏิกิริยาให้เห็นได้ที่อุณหภูมิห้อง (sensitization) ทำให้การแปลผลการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดผิดพลาด ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาหลังการให้เลือด ดังนั้น การตรวจความเข้ากันได้ของเลือด (crossmatching) อินมูโนโกลบูลินของสุนัข (anti-canine globulins, ACG) ช่วยสานร่างแหของ sensitized red cells ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ด้วยวิธีการนี้จะช่วยทำให้การตรวจความเข้ากันได้ของเลือดระหว่างสุนัขผู้ให้และสุนัขผู้รับมีความสมบูรณ์และถูกต้องยิ่งขึ้น ทั้งยังช่วยลดโอกาสของการให้เลือดที่ไม่เหมาะสมรวมถึงการเกิดปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์หลังการให้เลือดแก่สุนัขผู้รับได้

น้ำยา Anti-canine globulins (polyspecific) ใช้เพื่อตรวจหาแอนติบอดีที่จับบนแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง แต่ไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงเกิดการจับกลุ่ม (agglutination) ได้ด้วยตัวเอง โดยทำหน้าที่เชื่อมโยงและทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของ sensitized red cells ได้ (Agglutination) การตรวจ Antiglobulin test ทำได้ 2 วิธี คือ Direct anti-globulin test เป็นการตรวจหาแอนติบอดีที่จับกับแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงอยู่แล้วในร่างกาย (in vivo) ใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรค เช่น Immune mediated hemolytic anemia (IMHA) และ Hemolytic transfusion reaction (HTR) และ Indirect anti-globulin test ซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีในซีรัม โดยนำเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ทราบแอนติเจนทำปฏิกิริยากับซีรัมในหลอดทดลอง (In vitro) นอกจากนี้ ใช้ในการตรวจกรองแอนติบอดี (Antibody screening) การตรวจความเข้ากันได้ของเลือด (cross-matching) และใช้ศึกษาแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดง (Red cell phenotyping) (เพ็ญนภา, 2551; Wardrop KJ, 2005 )

น้ำยา Anti-canine globulins (polyspecific) ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ประกอบด้วยแอนติบอดี 2 ชนิดคือ Anti-canine globulins ทำหน้าที่สานร่างแหของ sensitized cells และเกิดการจับกลุ่ม (Agglutination) ดังที่กล่าวมาข้างต้น และ Anti-canine complement components ซึ่งช่วยจับ complement components ที่ถูกตรึงบนเม็ดเลือดแดงจากกระบวนการ complement fixation ซึ่งถูกกระตุ้นผ่าน antigen-antibody complex ผ่าน classical pathway ในประเทศไทยยังไม่มีการผลิต anti-canine globulins หรือ anti-canine globulins reagent (polyspecific) หากจำเป็นต้องนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งทำให้มีค่าใช้จ่าย ทำให้การทดสอบมีราคาแพงและไม่ได้รับความนิยม (Overmann JA and Sharkey LC, 2007 ; Slappendel RJ, 1979)

การศึกษาพบว่า มีความพยายามพัฒนาและปรับปรุงวิธีการผลิต anti-canine globulins ซึ่งเป็นหนึ่งในสองชนิดของแอนติบอดีได้เป็นผลสำเร็จ และมีแนวโน้มว่าน่าจะสามารถพัฒนาเป็นน้ำยาชนิด polyspecifc ได้ ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการผลิตและพัฒนาน้ำยา anti-canine globulins (polyspecific) ที่ประกอบด้วย anti-canine globulins และ anti-canine complement components และศึกษาผลสัมฤทธิ์ในการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดสุนัขก่อนการให้เลือด และใช้ติดตามปฏิกิริยาหลังการให้เลือดในสุนัขที่เข้ารับการถ่ายเลือดในโรงพยาบาล เพื่อช่วยลดความเสี่ยงและแก้ไขปัญหาการเกิดปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์หลังการให้เลือด อีกทั้งยังเป็นการสร้างงานวิจัยและพัฒนานวัตกรรมที่ได้โจทย์วิจัยจากงานประจำ เพื่อนำไปใช้แก้ไขปัญหาในทางปฏิบัติได้อย่างเป็นรูปธรรม

## อุปกรณ์และวิธีการ

**1.การผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดี จำเพาะต่อโกลบูลินของสุนัข**

*1.1.การเตรียมโกลบูลินจากเลือดสุนัข*

เจาะเก็บเลือดชนิด clotted blood จากสุนัขอาสาสมัคร จำนวน 10 ตัว ตัวละ 3 mL จากนั้นปั่นแยกซีรัม นำมารวมกันและตกตะกอน globulins (Igs) ด้วยเทคนิค salting กำจัดเกลือออกด้วยการทำ dialysis ตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยการผ่านกระแสไฟฟ้าโดยวิธี SDS-PAGE จากนั้นหาความเข้มข้นโปรตีนด้วยวิธี Lowry method แบ่งเก็บตัวอย่างในขนาดเล็กๆ แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C

*1.2 การฉีดกระตุ้นกระต่ายเพื่อผลิตแอนติบอดี*

ก่อนการฉีดกระตุ้นทุกครั้ง เจาะเก็บเลือดกระต่ายเพื่อปั่นแยกเก็บซีรัมเป็นชุดควบคุม ฉีดกระตุ้นกระต่ายครั้งแรกด้วย globulins ที่เตรียมขึ้น โดยผสมกับ Complete Freund's adjuvant ในปริมาณเท่ากัน ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของแอนติเจนเป็น 100 μg / 500 μL/dose ฉีดเข้าร่างกายทางใต้ผิวหนัง และฉีดกระตุ้นต่อทุกสัปดาห์ด้วยแอนติเจนผสมกับ Incomplete Freund's adjuvant ในขนาดแอนติเจนเท่าเดิมทดสอบและตรวจวัดการสร้างแอนติบอดีต่อโกลบูลิน ด้วยวิธี indirect ELISA ต่อไป

*1.3 การทดสอบความจำเพาะของแอนติบอดีที่ผลิตได้*

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบระดับ anti-canine globulins ด้วยวิธี Indirect ELISA วิเคราะห์ผลและสร้างกราฟเพื่อวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดระดับ anti-canine globulins เมื่อระดับแอนติบอดีขึ้นสูงสุดแล้ว เจาะเก็บเลือดกระต่ายและปั่นแยกเก็บซีรัมไว้ เพื่อตกตะกอนและทำให้บริสุทธิ์ด้วย MelonTM Gel Purification และแบ่งเป็นส่วนเล็กๆ แช่แข็งไว้ใช้งานต่อไป

**2. การผลิตโพลีโคลนอล แอนติบอดี จำเพาะต่อคอมพลีเมนต์ของสุนัข**

*2.1 การเตรียมแอนติเจนและฉีดกระตุ้นสัตว์ทดลอง*

*2.1.1 การเตรียม Zymosan A (S. cerevisiae cell wall) สำหรับฉีดกระตุ้นกระต่าย*

ชั่ง Zymosan A 300 mg ละลายใน dilute barbital buffer (dbb, 10 mL) ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน นาน 30 นาที ปั่น 1,000 g นาน 5 นาที ดูดส่วนบนทิ้ง

เติม NSS (10 mL) อุ่นที่อุณหภูมิ 30°C นาน 30 นาที จากนั้นปั่น 500g นาน 5 นาที ดูดส่วนบนทิ้ง ละลายกลับด้วย dbb (10 mL) สุดท้ายแบ่งเป็นส่วนเล็กๆ เก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C ได้นาน 1 ปี

*2.1.2 การเตรียม Fresh canine serum สำหรับเตรียมคอมพลีเมนต์*

เจาะเลือดสุนัขปกติสมบูรณ์แข็งแรงจำนวน 3 ตัว ตัวละ 10 mL อุ่นในอ่างน้ำอุณหภูมิ 37°C นาน 30 นาที เมื่อเลือดแข็งตัวปั่นแยก และเก็บซีรัมรวมกันแบ่งเป็นส่วนเล็กๆ เก็บแช่แข็งที่อุณหภูมิ – 70°C

*2.1.3 การเตรียม Zymosan A coated with complement*

นำ washed Zymosan A จากข้อ 2.1.1 ปั่นล้างที่ 1,000g นาน 10 นาที ด้วย dbb ปริมาตร 10 เท่าของ Zymosan A ดูด dbb ส่วนบนทิ้ง จากนั้นเจือจาง serum จากข้อ 2.1.2 ด้วย dbb ในอัตราส่วน 1:20 ผสม serum ที่เจือจางกับ Zymosan A อุ่นปฏิกิริยาในอ่างน้ำอุณหภูมิ 37°C นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นปั่น 1,000g นาน 10 นาที ดูด dbb ส่วนบนทิ้ง ปั่นล้างด้วย dbb ปริมาตร 10 เท่าของ Zymosan A จำนวน 6 ครั้ง ครั้งสุดท้ายดูด dbb ส่วนบนทิ้ง ละลายกลับด้วย NSS ปริมาตร 2.0 mL ได้ complement coated Zymosan A สำหรับฉีดกระตุ้นกระต่ายช่วงระยะเวลาสำหรับการฉีดกระตุ้นกระต่าย ดังแสดงในตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** แสดงระยะเวลาสำหรับการฉีดกระตุ้นกระต่ายด้วย complement coated Zymosan A

| Day | Information | No. of booster and bleed |
|---|---|---|
| 0 | Bleed and Immunize iv | 1st |
| 4,8,12,16,20 | Booster iv | 2nd - 6th |
| 30 | Bleed | 2nd |
| Rest 6 weeks for screen antibodies activity | | |
| 72 | Booster im | 7th |
| 76,78 | Booster iv | 8th - 9th |
| Rest 10 days | | |
| 90 | Bleed | 3th |

*2.2 การทดสอบความจำเพาะของแอนติบอดีต่อคอมพลีเมนต์ในซีรัมกระต่ายด้วยวิธี hemagglutination*

*2.2.1 เตรียมเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ชนิดต่างๆ สำหรับการทดสอบ*

1) การเตรียม $C_3b$ coated red blood cells

เจาะเก็บเลือดครบส่วนปริมาตร 4 mL ปั่นแยกเม็ดเลือดแดงและพลาสมา ล้างเม็ดเลือดแดง 3 ครั้งด้วย Immidazole buffer saline (IBS) จากนั้นผสมเม็ดเลือดแดงกับพลาสมาที่เจือจาง (1:50) ด้วย IBS ในอัตราส่วน 1:1 เติม 0.05 volume 0.4M MgCl2 ทันที จากนั้นเติมส่วนผสมทั้งหมดลงใน (precooled) solution for $C_3b$ coating cell ปริมาตร 100 mL ทำปฏิกิริยาในอ่างน้ำแข็งอุณหภูมิ 0°C ในตู้เย็น นาน 30 นาที ครบเวลาปั่นแยกเก็บเม็ดเลือดแดง ล้างด้วย cold IBS จำนวน 4 ครั้ง และเตรียมเป็น 2% cell suspension ด้วย 1% BSA

2) การเตรียม $C_3d$ coated red blood cells

ผสม packed $C_3b$ coated red blood cells จากข้อ 1 ปริมาตร 0.4 mL กับ Trypsin solution (1% w/v Trypsin, 0.1M PBS pH 7.7 อัตราส่วน 1:9) ปริมาตร 1.6 mL ทำปฏิกิริยาในอ่างน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37°C นาน 30 นาที ครบเวลาปั่นแยกเก็บเม็ดเลือดแดง ล้าง 4 ครั้งด้วย IBS สุดท้ายเตรียมเป็น 2% cell suspension ด้วย 1% BSA

3) การเตรียม $C_4b$ coated red blood cells

ผสมเลือดครบส่วนกับ 10% sucrose EDTA ในอัตราส่วน 1:10 อุ่นปฏิกิริยาในอ่างน้ำอุณหภูมิ 37°C นาน 15 นาที ครบเวลาปั่นแยกเก็บเม็ดเลือดแดง ล้าง 4 ครั้งด้วย IBS สุดท้ายเตรียมเป็น 2% cell suspension ด้วย 1% BSA

4) การเตรียม $C_4d$ coated red blood cells

ผสม packed $C_4b$ coated red blood cells จากข้อ 3 ปริมาตร 0.4 mL กับ Trypsin solution (1% w/v Trypsin, 0.1M PBS pH 7.7 อัตราส่วน 1:9) ปริมาตร 1.6 mL ทำปฏิกิริยาในอ่างน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37°C นาน 30 นาที ครบเวลาปั่นแยกเก็บเม็ดเลือดแดง ล้าง 4 ครั้งด้วย IBS สุดท้ายเตรียมเป็น 2% cell suspension ด้วย 1% BSA

5) การเตรียม unsensitized cells

ล้างเซลล์ whole blood ประมาณ 1 mL ด้วย IBS 4 ครั้ง เตรียมเป็นเซลล์ 2% cell suspension

6) การเตรียม trypsinized cells

ผสม unsensitized cells จากข้อ 5 กับ Trypsin solution (1% w/v Trypsin, 0.1M PBS pH 7.7 อัตราส่วน 1:9) ปริมาตร 1.6 mL ทำปฏิกิริยาในอ่างน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37°C นาน 30 นาที ครบเวลาปั่นแยกเก็บเม็ดเลือดแดง ล้าง 4 ครั้งด้วย IBS สุดท้ายเตรียมเป็น 2% cell suspension

*2.2.2 การทดสอบเซลล์ที่เตรียมได้กับ rabbit anti-human complement*

เจือจาง rabbit anti-human complement (serial 10-fold) ทดสอบกับ $C_3b$, $C_3d$, $C_4b$, $C_4d$ coated red blood cells และชุดควบคุมคือ trypsin treated red blood cell และ uncoated red blood cells โดยหยด rabbit anti-human complement 2 หยด และ cells 1 หยด ทิ้งไว้ 5 นาที ปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

*2.2.3 การทดสอบ Anti-complement ในซีรัมกระต่าย*

เจือจางซีรัมกระต่าย serial (10-fold dilution) ด้วยน้ำเกลือ ทดสอบกับ $C_3b$, $C_3d$, $C_4b$, $C_4d$ coated red blood cells และชุดควบคุมคือ trypsin treated red blood cell และ uncoated red blood cells โดยหยดซีรัม 2 หยด และ cells 1 หยด ทิ้งไว้ 5 นาที ปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงหยด

*2.3 การทดสอบความสามารถของแอนติบอดีต่อคอมพลีเมนต์ ในการยับยั้งการแตกของเม็ดเลือดแดง*

อาศัยหลักการยับยั้งการทำหน้าที่ของคอมพลีเมนต์ในกระบวนการตรึงผ่านแอนติเจน-แอนติบอดีคอมเพลกซ์ ทำให้ไม่เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง

*2.3.1 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของซีรัม*

*สำหรับทำให้เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง*

เจาะเลือด สุนัข ปั่นแยกซีรัม เตรียมเม็ดเลือดแดงให้มีความเข้มข้น 3% cell suspension เจือจางซีรัม (serial 2-fold) ทำปฏิกิริยาระหว่างซีรัม 2 หยดและเซลล์ 1 หยด ทิ้งไว้ 5 นาที ปั่นอ่าน สังเกตการแตกและการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

*2.3.2 การทดสอบคุณสมบัติยับยั้งการแตกของเม็ดเลือดแดงของ Anti-complement ในซีรัมกระต่าย*

inactivate ซีรัมกระต่ายเพื่อกำจัด rabbit complement ที่อาจรบกวนปฏิกิริยาด้วยการอุ่นในอ่างน้ำอุณหภูมิ 56°C นาน 30 นาที จากนั้นเจือจางแบบเป็น serial 2-fold dilution ทำปฏิกิริยาระหว่างซีรัมกระต่าย 2 หยด กับซีรัมความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว (ข้อ 2.3.I) จำนวน 2 หยด ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ที่อุณหภูมิห้องครบเวลาดูดซีรัมจำนวน 2 หยด ทำปฏิกิริยากับ 3% cell suspension 1 หยด ทิ้งไว้ 5 นาที ปั่นอ่านผลสังเกตการแตกหรือการเกาะกลุ่มของเม็ดแดงบันทึกผล

*2.4 การเตรียมน้ำยา anti-canine immunoglobulins (polyspecific)*

หลังจากเตรียม anti-canine globulins และ anti-canine complement จากนั้นนำมารวมกันในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร ได้เป็น anti-canine globulins (polyspecific) แล้วทำการทดสอบคุณสมบัติของน้ำยา กับตัวอย่างจริงโดยใช้เลือดสุนัขทั้งปกติและที่มีพยาธิสภาพจากโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ด้วยวิธี direct antiglobulin test และ indirect antiglobulin test และทำการวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

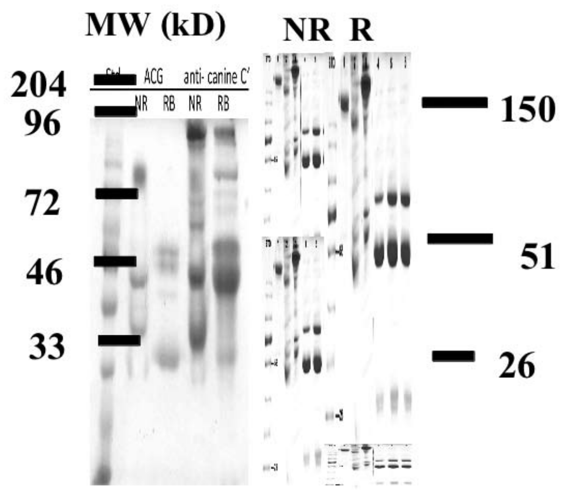
*2.5 การรวบรวมข้อมูล และนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ*

ทำการวิเคราะห์ข้อมูล ความสอดคล้องกันและความแตกต่างกันของผลการทดสอบของ antiglobulin test ของ anti-canine immunoglobulins (polyspecific), anti-canine globulins, anti-canine complement และ Coombs' reagent (VMRD) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป โดยใช้วิธี Cohen kappa test และ Wilcoxon signed ranks test ตามลำดับ

## ผลการทดลองและวิจารณ์

**การเตรียม** canine globulins

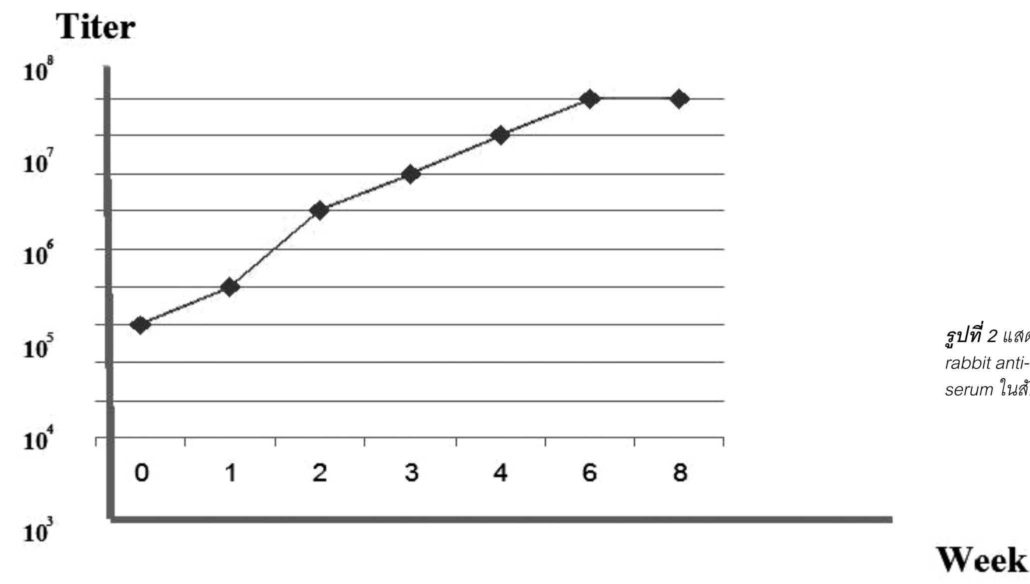
จากตกตะกอน canine globulins ด้วย saturated (NH4)2SO4 ด้วยความเข้มข้นสุดท้าย 30% และนำไปหาความเข้มข้นด้วยวิธี Lowry's method พบว่า canine globulins ที่เตรียมได้มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความบริสุทธิ์ในระดับหนึ่งดังรูปที่ 1




*รูปที่ 1 แสดงการทดสอบความบริสุทธิ์ของ Canine globulins*

**การผลิต** rabbit anti-canine globulin **และการทดสอบระดับแอนติบอดีในซีรัมกระต่าย**

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสาหรับการตรวจระดับ anti-canine Igs ในซีรัมกระต่าย ด้วยวิธี direct ELISA พบว่าสภาวะที่เหมาะสมประกอบด้วย canine Igs 2 ug/50 uL/well สำหรับเคลือบหลุมทดสอบ 5%BSA-PBS เป็น blocking reagent และใช้ HRP-swine anti-rabbit Igs เจือจาง 1:2500 พบว่ากระต่ายสามารถสร้างแอนติบอดีได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่สองหลังการฉีดกระตุ้น และได้ไตเตอร์สูงสุดที่ 107 (รูปที่ 2) ซึ่งผู้วิจัยได้ฉีดกระตุ้นด้วย antigen เพิ่มเติมทุกสองสัปดาห์เพื่อรักษาระดับการสร้าง antibody ไว้และเจาะเลือดเพื่อเก็บซีรัมไว้ใช้งานทุกสัปดาห์




*รูปที่ 2 แสดง rising titer ของ rabbit anti-canine globulins serum ในสัปดาห์ต่าง ๆ*

**การทดสอบคุณสมบัติของ** rabbit anti-canine globulin **ที่ผลิตได้**

ทำการอุ่นซีรัมกระต่ายที่ 56°C นาน 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัด complement และดูดซับ hemagglutinin ออกด้วยเลือดสุนัขปกติ จากการศึกษาพบว่าต้องดูดซับ 3-4 ครั้ง จึงสามารถกำจัดออกได้หมด กล่าวคือเมื่อทำการทดสอบแล้ว ไม่ทำปฏิกิริยากับเลือดสุนัขปกติ

**การปรับปรุงคุณภาพและทดสอบคุณสมบัติของ** working anti-canine globulin **สำหรับใช้งานทางคลินิก**

ปรับปรุง rabbit anti-canine Igs serum ให้อยู่ในรูปของ purified antibody โดยทำให้บริสุทธิ์ด้วยด้วย Melon™ Gel Purification ตรวจสอบความบริสุทธิ์และหาความเข้มข้นของโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE และ Lowry's ตามลำดับ พบว่าได้ความมีความเข้มข้น 8.84 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าไตเตอร์ต่อ canine globulin coated cells เท่ากับ 256 ดังแสดงในตารางที่ 2

**ตารางที่ 2** ผลการทดสอบ anti-canine globulin กับ canine globulins coated cells

| dilution | agglutination |
|---|---|
| undiluted | 3+ |
| 1:2 | 3+ |
| 1:4 | 3+ |
| 1:8 | 3+ |
| 1:16 | 2+ |
| 1:32 | 2+ |
| 1:64 | 2+ |
| 1:128 | 2+ |
| 1:256 | 1+ |
| 1:512 | Neg |

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 33-48

**การปรับปรุงคุณภาพและทดสอบคุณสมบัติของ anti-canine globulins สำหรับใช้งาน**

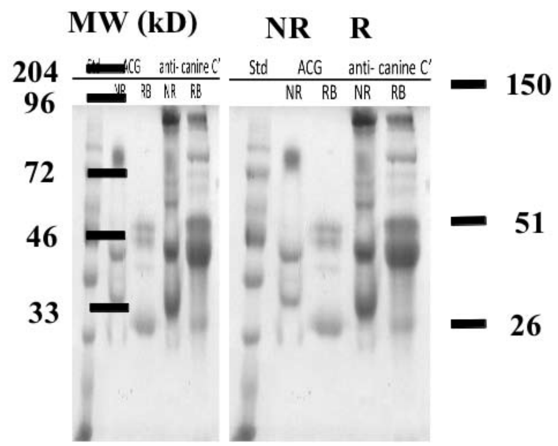
การศึกษาพบว่า anti-canine globulin ที่เตรียมได้มีความเข้มข้นรวม เมื่อวัดด้วยวิธี Lowry's method โดยใช้กราฟมาตรฐาน ที่ค่าความสัมพันธ์ 97.65 เท่ากับ 8.84 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ผลการทดสอบความบริสุทธิ์ของ anti-canine globulin ด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าแอนติบอดีที่เตรียมได้มีความบริสุทธิ์ โดยพบแถบโปรตีนขนาด 51 kD และ 26 kD ใน reduced gel ซึ่งเป็นขนาดของ H-chain และ L-chain ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 3

**ผลการทดลอง การผลิตแอนติคอมพลีเมนต์**

**ผลการทดสอบแอนติบอดีต่อคอมพลีเมนต์ในซีรัมกระต่ายด้วยวิธี** Hemagglutination

การทดสอบเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ส่วนต่างๆ ได้แก่ $C_3b$, $C_3d$, $C_4b$ และ $C_4d$ กับพบว่าเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ $C_3d$ เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงให้เห็นได้ ดังนั้นจึงคาดว่าเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ต่างๆ ก็จะเคลือบติดบนผิวเม็ดเลือดแดงเช่นเดียวกัน ผลการทดสอบคุณสมบัติของเม็ดเลือดแดงที่เตรียมด้วย



*รูปที่ 3 การทดสอบความบริสุทธิ์ของ anti-canine globulin*

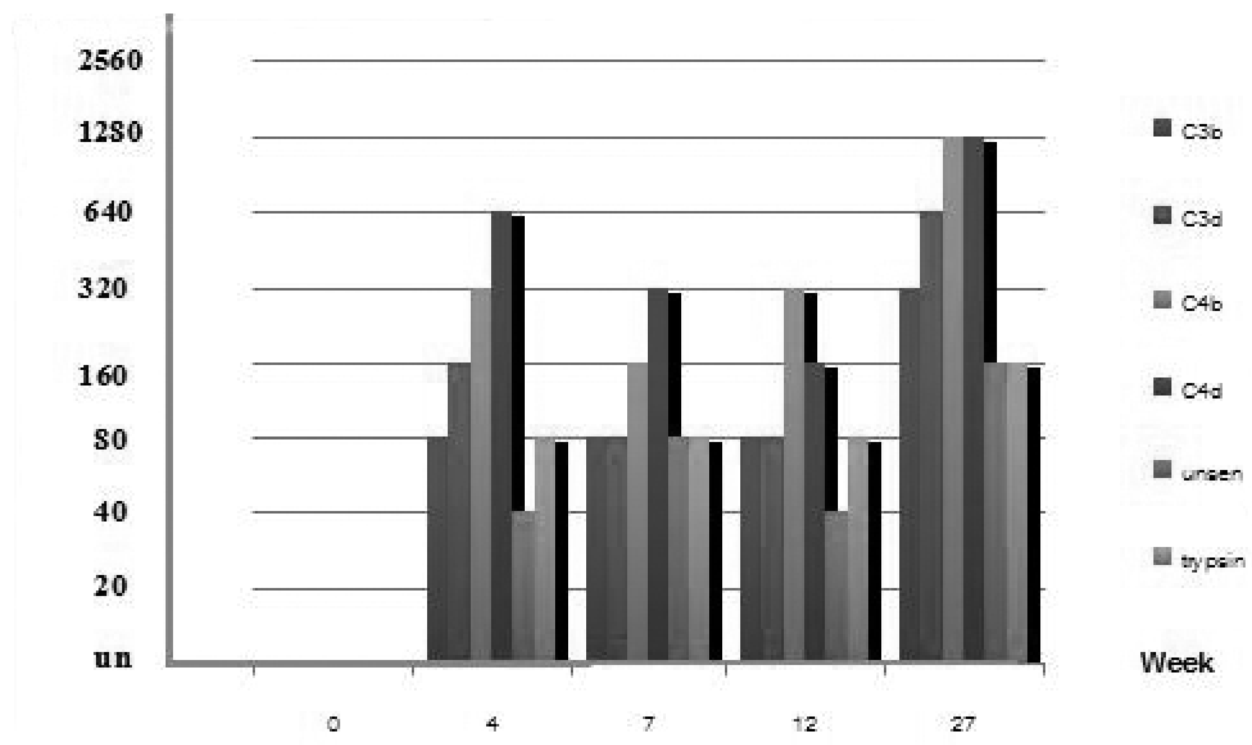
ผลการทดสอบหา Anti-canine complement ในซีรัมกระต่าย ด้วยวิธี Hemagglutination พบว่ามี non-specific hemagglutination เกิดขึ้น ผู้วิจัยจึงทำการเจือจางซีรัมกระต่ายเพื่อจะได้เห็น hemagglutination ที่เกิดจาก anti-canine complement แล้วจึงได้เลือก dilution สุดท้ายของซีรัม กระต่ายที่ไม่ทำให้เกิด hemagglutination กับ control cell จากนั้นได้ทำการทดสอบหา anti-canine complement ในสัปดาห์ต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3 และแสดงให้เห็นถึงความแรงในการสร้างแอนติบอดีที่แตกต่างกันในแต่ละสัปดาห์หลังจากฉีดกระตุ้นกระต่าย ดังแสดงผลเป็นไตเตอร์ในรูปที่ 1

**ตารางที่ 3** แสดงผลการทดสอบซีรัมกระต่าย ในสัปดาห์ที่ 27 หลังการฉีดกระตุ้นกับเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ต่างๆ

| RBC / Dilution | Complement coated cells | | | | Unsensitized Cells | Trypsinized Cells |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $C_3b$ | $C_3d$ | $C_4b$ | $C_4d$ | | |
| Undiluted | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ | 4+ |
| 1:10 | 3+ | 3+ | 4+ | 4+ | 3+ | 3+ |
| 1:20 | 3+ | 3+ | 3+ | 3+ | 2+ | 2+ |
| 1:40 | 1+ | 2+ | 3+ | 3+ | 1+ | 1+ |
| 1:80 | 1+ | 2+ | 2+ | 3+ | 1+ | 1+ |
| 1:160 | 1+ | 2+ | 2+ | 2+ | Neg | Neg |
| 1:320 | Neg | 1+ | 2+ | 1+ | Neg | Neg |
| 1:640 | Neg | Neg | 1+ | 1+ | Neg | Neg |
| 1:1280 | Neg | Neg | Neg | Neg | Neg | Neg |

*หมายเหตุ : Neg : negative*



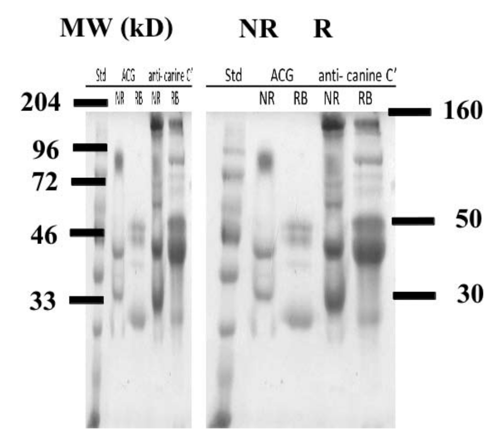


*รูปที่ 4 แสดงไตเตอร์ของ anti-canine complement ในซีรัมกระต่าย ในสัปดาห์ที่ 4, 7,12 และ 27*

จากรูปที่ 1 ที่แสดงไตเตอร์ของ anti-canine complement ในซีรัมของกระต่ายในสัปดาห์ที่ 27 ที่ได้เปรียบเทียบกับสัปดาห์ที่ 4, 7 และ 12 เห็นได้ว่าเมื่อกระต่ายได้ถูกฉีดกระตุ้นทุก 1 สัปดาห์ กระต่ายมีการสร้าง anti-canine complement ได้แรงขึ้น

**ผลการเตรียมแอนติบอดีให้บริสุทธิ์และทดสอบคุณสมบัติ** (anti-canine complement)

หลังจากทดสอบว่าซีรัมกระต่ายมี anti-canine complement แล้วจึงนำซีรัมการ inactivated complement ที่ 56ºC นาน 30 นาที เพื่อที่จะนำซีรัมไปทำ adsorbed กับ เม็ดเลือดแดงของสุนัขเพื่อกำจัด non-specific hemagglutination ออกจนหมด แล้วจึงนำซีรัมนั้นไปตกตะกอนโปรตีน แล้วจึงทำการปั่นแยกแล้วเก็บส่วนตะกอนมาละลายด้วย BS pH7.2 แล้วไปทำ dialysis ต่อไปเพื่อกำจัดเกลือส่วนเกินออก แล้วจึงทำการวัดความเข้มข้นโปรตีนทั้งหมดที่จากการเตรียมแอนติบอดีให้บริสุทธิ์และทดสอบคุณสมบัติ พบว่าเมื่อตรวจวัดปริมาณโปรตีนรวมด้วยวิธี Lowry's method ซึ่งได้กราฟมาตรฐานที่มีค่าความสัมพันธ์เท่ากับ 97.65% rabbit anti-canine complement มีความเข้มข้น 11.85 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และผลการทดสอบความบริสุทธิ์ของแอนติบอดีด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าแอนติบอดีที่เตรียมได้ยังไม่บริสุทธิ์ เห็นได้จากการที่มีแถบโปรตีนชนิดอื่นที่ไม่ใช่ Immunoglobulin ปะปนด้วยดังแสดงในรูปที่ 5



*รูปที่ 3 การทดสอบความบริสุทธิ์ของ anti-canine globulin*

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 33-48

**ผลการทดสอบ Activity ของแอนติบอดีโดยวิธี agglutination**

**ตารางที่ 4** ผลการทดสอบ Anti-canine complement: ที่มีความเข้มข้น 11.85 mg/mLกับเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ต่างๆ

| Dilution | Complement coated cells | | | | Unsensitized Cells | Trypsinized Cells |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $C_3b$ | $C_3d$ | $C_4b$ | $C_4d$ | | |
| Undiluted | 1+ | 1+ | 3+ | 2+ | Neg | Neg |
| 1:2 | 1+ | 1+ | 2+ | 2+ | Neg | Neg |
| 1:4 | 1+ | 1+ | 2+ | 1+ | Neg | Neg |
| 1:8 | Neg | Neg | 1+ | 1+ | Neg | Neg |
| 1:16 | Neg | Neg | Neg | Neg | Neg | Neg |

จากผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้น ความบริสุทธิ์ และหา Activity เห็นได้ว่าในการเตรียมแอนติบอดีแต่ละครั้งให้ความเข้มข้นโปรตีน ความบริสุทธิ์ และค่า Activity Anti-canine complement ที่มีความเข้มข้น 10.03 mg/mL โดยมีค่าไตเตอร์ต่อ $C_3d$ เท่ากับ 8 ดังแสดงในตารางที่ 4 ผลการทดสอบ Activity ของ Rabbit anti-canine complement โดยวิธี agglutination ที่มีความเข้มข้น 11.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าไตเตอร์ต่อ $C_3d$ เท่ากับ 4 ดังแสดงในตารางที่ 5

**ตารางที่ 5** ผลการทดสอบ anti-canine complement กับเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ชนิดต่าง ๆ

| Dilution | Complement coated cells | | | | Unsensitized Cells | Trypsinized Cells |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $C_3b$ | $C_3d$ | $C_4b$ | $C_4d$ | | |
| Undiluted | 1+ | 1+ | 3+ | 2+ | Neg | Neg |
| 1:2 | 1+ | 1+ | 2+ | 2+ | Neg | Neg |
| 1:4 | 1+ | 1+ | 2+ | 1+ | Neg | Neg |
| 1:8 | Neg | Neg | 1+ | 1+ | Neg | Neg |
| 1:16 | Neg | Neg | Neg | Neg | Neg | Neg |

**การเตรียมน้ำยา Anti-canine globulins (polyspecific)**

ผสมแอนติบอดีทั้งสองชนิดที่ผลิตขึ้น (anti-canine globulins และ anti-canine complement) ในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้ anti-canine globulins ที่มีความเข้มข้น 8.84 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ anti-canine complement undiluted มีความเข้มข้น 11.85 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

น้ำยาที่เตรียมมีความเข้มข้นโปรตีน 20.69 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่า titer ของ anti-globulin เท่ากับ 128 และค่า titer ของ anti-complement เท่ากับ 2 และก่อนการเปรียบเทียบ เจือจาง Coombs' reagent (VMRD Inc.) ที่มีความเข้มข้น 33.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ให้เป็น 20.69 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เท่ากันโดยมีค่า titer ของ anti-globulin เท่ากับ 256 และค่า titer ของ anti-complement เท่ากับ

**ตารางที่ 6** แสดงความเข้มข้นของโปรตีนและระดับ titer ของน้ำยาชนิดต่าง ๆ

| Reagent | Concentration (mg/mL) | Titer of ACG | Titer of ACC |
|---|---|---|---|
| Anti-canine globulin | 8.84 | 256 | No titer |
| Anti-canine complement | 11.85 | ? | 4 |
| Anti-canine globulin polyspecific | 20.69 | 128 | 2 |
| Coombs' reagent (VMRD Inc.) (33.6 mg/mL) | 20.69 | 256 | 4 |

**การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาที่ผลิตได้กับตัวอย่างเลือดสุนัข**

*การตรวจภาวะโลหิตจางที่เกิดจากความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน ด้วยเทคนิค direct antiglobulin test และ indirect antiglobulin test*

สำหรับผลการทดสอบ direct antiglobulin test และ indirect antiglobulin test เปรียบเทียบระหว่าง anti-canine globulin (polyspecific) และ Coombs' reagent (VMRD Inc.) ในตัวอย่างจำนวน 79 ตัวอย่าง พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกันในระดับ "ดี" (kappa = 0.822) โดยมีผลทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

**การทดสอบการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดสุนัข**

สำหรับผลการทดสอบ indirect antiglobulin test (crossmatching) เปรียบเทียบระหว่าง anti-canine globulins (polyspecific) และ Coombs' reagent (VMRD Inc.) ในตัวอย่างจำนวน 33 ตัวอย่าง พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกันในระดับ "ดีมาก" (kappa = 1) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

**การใช้น้ำยาสำหรับตรวจสุนัขหลังการรับเลือด**

เพื่อติดตามผลการใช้น้ำยาตรวจความเข้ากันได้ของเลือดในสุนัขที่รับเลือดแล้วเป็นเวลา 30 วัน โดยทำสอบด้วยวิธี direct antiglobulin test และ indirect antiglobulin test (crossmatching) สำหรับการเปรียบเทียบระหว่าง anti-canine globulin (polyspecific) และ Coombs' reagent (VMRD Inc.) ในตัวอย่างเดียวกัน พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกันในระดับ "ดีมาก" (kappa = 1) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

**ผลการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่ทำการทดสอบทั้งหมด**

ผลการทดสอบ direct antiglobulin test และ indirect antiglobulin test ด้วย anti-canine globulin และ Coombs' reagent (VMRD Inc.) ในตัวอย่างจำนวน 126 ตัวอย่าง ได้ผลที่มีความสอดคล้องกันในระดับ "ดี" (kappa = 0.821) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากผลการตรวจสอบเปรียบเทียบน้ำยาที่ผลิตขึ้นกับ Coombs' reagent (VMRD Inc.) ทั้งหมด พบว่ามีความสอดคล้องกันในระดับ 'ดี' ถึง 'ดีมาก' โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบว่า สามารถใช้น้ำยาชนิด anti-canine globulins ได้โดยไม่ต้องใช้น้ำยาในรูป anti-canine globulins (polyspecific)

**ผลการศึกษาความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของน้ำยาที่ผลิตได้**

*ตัวอย่างที่ทำการทดสอบหาความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน*

ทดสอบกับตัวอย่าง IMHA จำนวน 79 ตัวอย่าง ซึ่งได้รับการวินิจฉัยจากสัตวแพทย์ โดยอาการทางคลินิก พบว่า น้ำยา Coombs' reagent (VMRD Inc.) มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) เท่ากับ 95 และ 93 ในขณะที่น้ำยา anti-canine globulin (polyspecific) ที่ผลิตขึ้น มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) เท่ากับ 82 และ 97 ดังแสดงใน ตารางที่ 7 และ 8

**ตารางที่ 7** แสดงผลการตรวจด้วยน้ำยา Coombs' reagent (VMRD Inc.) กับตัวอย่างที่ตรวจความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน (IMHA) (n=79)

| IMHA | Coombs'reagent (VMRD Inc.) | | Total |
|---|---|---|---|
| | Coombs' positive | Coombs' negative | |
| IMHA + | 25 | 8 | 33 |
| IMHA - | 2 | 44 | 46 |
| Total | 27 | 52 | 79 |

**ตารางที่ 8** แสดงผลการตรวจด้วยน้ำยา anti-canine globulin (polyspecific) กับตัวอย่างที่ตรวจความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน (IMHA) (n=79)

| IMHA | Coombs'reagent (VMRD Inc.) | | Total |
|---|---|---|---|
| | Coombs' positive | Coombs' negative | |
| IMHA + | 32 | 6 | 38 |
| IMHA - | 1 | 40 | 41 |
| Total | 33 | 46 | 79 |

*ตัวอย่างที่ทดสอบความเข้ากันได้ของเลือดสุนัขก่อนการให้เลือด*

ทดสอบกับตัวอย่างจำนวน 33 ตัวอย่าง พบว่า น้ำยา Coombs' reagent (VMRD Inc.) พบว่ามีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specitivity) เท่ากับ 100 และ 85 ตามลำดับ และน้ำยา anti-canine globulin (polyspecific) มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specitivity) เท่ากับ 100 และ 100 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 9 และ 10

**ตารางที่ 9** แสดงผลการตรวจด้วยน้ำยา Coombs' reagent (VMRD Inc.) กับตัวอย่างที่ตรวจความเข้ากันได้ของเลือดสุนัขก่อนการให้เลือด (n=33)

| IMHA | Coombs'reagent (VMRD Inc.) | | Total |
|---|---|---|---|
| | Coombs' positive | Coombs' negative | |
| IMHA + | 13 | 0 | 13 |
| IMHA - | 2 | 18 | 20 |
| Total | 15 | 18 | 33 |

**ตารางที่ 10** แสดงผลการตรวจด้วยน้ำยา anti-canine globulin (polyspecific) กับตัวอย่างที่ตรวจความเข้ากันได้ของเลือดสุนัขก่อนการให้เลือด (n=33)

| IMHA | Coombs'reagent (VMRD Inc.) | | Total |
|---|---|---|---|
| | Coombs' positive | Coombs' negative | |
| IMHA + | 13 | 0 | 13 |
| IMHA - | 2 | 18 | 20 |
| Total | 15 | 18 | 33 |

## สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ทำให้ได้ข้อมูลทางวิชาการที่สำคัญในขั้นตอนการผลิต rabbit anti-canine globulins ได้แก่ การฉีดกระตุ้นกระต่ายเพื่อผลิต แนวทางการตรวจวัดความแรงของ rabbit anti-canine globulins และการปรับปรุงคุณภาพของ rabbit anti-canine globulins ที่มีประสิทธิภาพสามารถพัฒนาและนำไปใช้งานได้จริง

สำหรับการผลิต rabbit polyclonal anti-canine complement เพื่อใช้เตรียมพัฒนาน้ำยา anti-canine globulin (polyspecific) นั้นพบว่าการฉีดกระตุ้นกระต่ายตามโปรแกรมที่ได้จากสภากาชาดและตรวจหา anti-canine complement โดยวิธี agglutination พบว่ากระต่ายมีการสร้างแอนติบอดีต่อคอมพลีเมนต์ทุกชนิดได้แก่ $C_3b$, $C_3d$, $C_4b$ และ $C_4d$ แต่พบว่ามีปริมาณลดลง ดังนั้นจึงควรเพิ่มการฉีดกระตุ้นกระต่ายต่อเนื่อง และพบว่าระดับความแรงของแอนติบอดีกลับสูงขึ้นได้

หลังทำให้แอนติบอดีบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคการตกตะกอนโปรตีน คำนวณความเข้มข้นโปรตีนที่ได้ ทดสอบความบริสุทธิ์ และคุณสมบัติของแอนติบอดี พบว่าด้วยขั้นตอนต่างๆ ยังมีความบริสุทธิ์น้อยโดยสังเกตพบแถบโปรตีนชนิดอื่นที่ไม่ใช่ globulin ปะปนอยู่มากและเมื่อปรับเปลี่ยนวิธีการโดยใช้ Melon™ gel พบว่าแอนติบอดีมีความบริสุทธิ์สูงกว่าเดิม การใช้ Melon™ gel ช่วยทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นแต่มีข้อเสียคือมีราคาสูง

สำหรับขั้นตอนการเตรียม anti-canine globulin (polyspecific) ต้องทดสอบปฏิกิริยาข้ามของแอนติบอดีทั้ง 2 ชนิดก่อนนำมารวมกัน พบว่าไม่สามารถเตรียมเม็ดเลือดแดงของสุนัขที่เคลือบด้วย canine globulin ได้ ดังนั้นจึงไม่สามารถทดสอบปฏิกิริยาข้ามของ anti-canine complement ได้ แต่การทดสอบปฏิกิริยาข้ามของ anti-canine globulin กับเม็ดเลือดแดงที่เคลือบด้วยคอมพลีเมนต์ชนิดต่างๆ ผลพบว่าไม่เกิดปฏิกิริยาข้าม

หลังจากเตรียม anti-canine globulins (polyspecific) โดยนำมารวมกันในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร แล้วทำการทดสอบคุณสมบัติของน้ำยากับตัวอย่างจริงโดยใช้เลือดสุนัขทั้งปกติ และที่มีพยาธิสภาพจากโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ด้วยวิธี direct antiglobulin test และ indirect antiglobulin test ให้ผลการทดสอบที่มีความสอดคล้องกันระหว่าง anti-canine globulin (polyspecific), anti-canine globulins, anti-canine complement และ Coombs'reagent (VMRD Inc.) ที่มีความเข้มข้นโปรตีนเท่ากัน และจากผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่า การใช้ anti-canine globulins เพียงอย่างเดียว สามารถใช้เป็นตัวแทนในการทดสอบที่ดีและได้ผลสอดคล้องกับน้ำยาที่นำเข้าจากต่างประเทศ เนื่องจากจะช่วยลดขั้นตอนในการผลิตให้มีความซับซ้อนน้อยลง

## วิจารณ์ผลการทดลอง

ในขั้นตอนการผลิต rabbit anti-canine globulins พบว่า rabbit anti-canine globulin serum ที่ผลิตได้ เมื่อทดสอบคุณสมบัติของ antibody เบื้องต้นด้วยเทคนิค direct และ indirect antiglobulin test พบว่าเกิดผลบวกกับเลือดสุนัขปกติ ซึ่งน่าจะเกิดจาก hemagglutinin จึงกำจัดโดยการดูดซับทิ้ง ด้วยเม็ดเลือดแดงสุนัขปกติ 3-4 รอบ ซึ่งพบว่าหลังการดูดซับปฏิกิริยาไม่จำเพาะกับเลือดสุนัขปกติหายไป แสดงให้เห็นว่าก่อนนำไปใช้งานควรมีการกำจัด hemagglutinin ในซีรัมกระต่ายก่อนทุกครั้งนอกเหนือจากการกำจัดคอมพลีเมนต์

การทดลองนี้ฉีดกระตุ้นกระต่ายเพื่อผลิต rabbit polyclonal anti-canine complement โดยอาศัยวิธีการผลิต rabbit polyclonal anti-human complement จากทางสภากาชาดไทย ผู้วิจัยพบว่าควรปรับวิธีการฉีดกระตุ้นใหม่ โดยจากการทดลองได้เห็นว่า เมื่อพักการฉีดกระตุ้นตามวิธีการข้างต้น ระดับไตเตอร์ของแอนติบอดีลดลง แต่เมื่อฉีดกระตุ้นกระต่ายเพิ่มจากโปรแกรมเดิมโดยฉีดทุกสัปดาห์ กระต่ายมีการสร้างแอนติบอดีเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดโดยเฉพาะแอนติบอดีต่อ $C_3d$

ในขั้นตอนการเตรียมน้ำยา anti-canine globulin (polyspecific) จำเป็นต้องทดสอบก่อนว่าน้ำยาทั้งสองชนิดนี้ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกัน (cross reaction) จากการทดลองพบว่าไม่สามารถทดสอบการเกิดปฏิกิริยาข้ามระหว่าง anti-complement กับเม็ดเลือดแดงสุนัขที่เคลือบด้วย canine globulin โดยใช้วิธี Tannic acids อย่างไรก็ตาม anti-canine globulins ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับ complement coated cells และพบว่าน้ำยาไม่ทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงปกติของสุนัข จึงสามารถนำน้ำยาไปใช้ได้

หลังจากที่ได้เตรียม anti-canine globulin และ anti-canine complement และผ่านการทดสอบแล้วรวมแอนติบอดีทั้งสองชนิดในอัตราส่วน 1:1 นำมาทดสอบกับตัวอย่างซีรัมสุนัข 3 กลุ่มคือ ตรวจยืนยันภาวะโลหิตจางที่เกิดจากความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน ตรวจความเข้ากันได้ของเลือดสุนัข และตรวจสุนัขหลังการรับเลือดด้วยเทคนิค direct antiglobulin และ indirect antiglobulin เพื่อเปรียบเทียบความสอดคล้องกันระหว่าง anti-canine globulin (polysespecific), anti-canine globulins, anti-canine complement และ Coombs'reagent (VMRD Inc.) วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS version 16 โดยใช้สถิติ Cohen kappa test และ Wilcoxon signed ranks test ตามลำดับ พบว่า anti-canine globulins (polyspecific), anti-canine globulins และ Coombs'reagent (VMRD Inc.) มีความสอดคล้องกันในระดับ "ดี-ดีมาก" สามารถใช้ทดแทนกันได้ และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วน anti-canine complement และ Coombs'reagent (VMRD Inc.) ให้ผลมีความสอดคล้องกันในระดับ "พอใช้-ดี" และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน

การตรวจภาวะโลหิตจางจากความผิดปกติทางภูมิคุ้มกันด้วยเทคนิค direct antiglobulin test และ indirect antiglobulin test ผลการทดสอบ direct antiglobulint test และ indirect antiglobulin test ด้วย Coomb's reagent (VMRD Inc.) เปรียบเทียบกับ anti-canine globulins (ACG) จำนวน 79 ตัวอย่าง พบว่ามีความสอดคล้องกันในระดับ "ดี" (kappa = 0.733) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เปรียบเทียบกับ anti-canine complement (ACC) มีความสอดคล้องกันในระดับ "พอใช้" (kappa = 0.651) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบกับ anti-canine globulin (polyspecific) ผลที่ได้มีความสอดคล้องกันในระดับ "ดี" (kappa = 0.822) โดยมีผลทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

การทดสอบการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดสุนัข การทดสอบ indirect antiglobulin test (crossmatching) ด้วย Coombs' reagent (VMRD Inc.) เปรียบเทียบกับ anti-canine globulins (ACG) ในตัวอย่างจำนวน 33 ตัวอย่าง พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกันในระดับ "ดีมาก" (kappa = 0.876) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เปรียบเทียบกับ anti-canine complement (ACC) ได้ผลสอดคล้องกันในระดับ "ดี" (kappa = 0.814) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบกับ anti-canine globulin (polyspecific) และ Coombs' reagent (VMRD Inc.) ผลที่ได้มีความสอดคล้องกันในระดับ "ดีมาก" (kappa =1) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

การใช้น้ำยาสำหรับตรวจสุนัขหลังการรับเลือดเพื่อติดตามผลการใช้น้ำยาตรวจความเข้ากันได้ของเลือดในสุนัขที่รับเลือดแล้วเป็นเวลา 30 วัน โดยทำสอบด้วยวิธี direct antiglobulin test และ indirect antiglobulin test (crossmatching) โดยใช้ Coombs' reagent (VMRD Inc.) เปรียบเทียบกับ anti-canine globulins (ACG) ในตัวอย่างจำนวน 36 ตัวอย่าง พบว่าน้ำยาทั้งสองชนิดมีความสอดคล้องกันในระดับ "ดีมาก" (kappa = 1) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เปรียบเทียบกับ anti-canine complement (ACC) พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกันในระดับ "ดี" (kappa = 0.814) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ anti-canine globulin (polyspecific) ในตัวอย่างเดียวกัน พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกันในระดับ " ดีมาก " (kappa = 1) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จากผลการศึกษาความสอดคล้องของน้ำยาชนิดต่างๆ นั้น พบว่าสามารถใช้ anti-canine globulins ทดแทน Coombs' reagent (VMRD Inc.) ได้ผลการทดลองสอดคล้องกัน และไม่มีความแตกต่างกันอย่าง

มีนัยสำคัญ น้ำยา anti-canine globulins สามารถผลิตได้ง่ายกว่าและใช้ขั้นตอนการผลิตที่ซับซ้อนน้อยกว่าการผลิต anti-canine immunoglobulin (polyspecific) จึงอาจพิจารณาใช้น้ำยา anti-canine globulins ทดแทนได้

การศึกษาความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specitivity) ของน้ำยาที่ทำการทดสอบ ในกลุ่มตัวอย่างที่ทำการทดสอบหาความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน (IMHA) จำนวน 79 ตัวอย่าง ซึ่งได้รับการวินิจฉัยจากสัตวแพทย์ โดยอาการทางคลินิก พบว่าน้ำยา Coombs' reagent (VMRD Inc.) มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) เท่ากับร้อยละ 95 และ 93 ในขณะที่น้ำยา anti-canine globulin (polyspecific) ที่ผลิตขึ้นมีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) เท่ากับร้อยละ 87 และ 97 พบว่าในด้านการทดสอบหาความผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน (IMHA) น้ำยา Coombs' reagent (VMRD Inc.) มีความไวมากกว่าน้ำยาที่ผลิตได้ anti-canine globulin (polyspecific) แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specitivity) ของน้ำยากับตัวอย่างที่ต้องการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดก่อนการให้เลือด จำนวน 33 ตัวอย่าง พบว่าน้ำยา Coombs' reagent (VMRD Inc.) พบว่ามีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specitivity) เท่ากับร้อยละ 100 และ 87 ตามลำดับ และน้ำยา anti-canine globulin (polyspecific) มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specitivity) เท่ากับร้อยละ 100 และ 100 ตามลำดับ พบว่าในด้านการความเข้ากันได้ของเลือดก่อนการให้เลือด น้ำยา Coombs' reagent (VMRD Inc.) มีความจำเพาะของปฏิกิริยาน้อยกว่าน้ำยาที่ผลิตได้ anti-canine globulin (polyspecific) แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ


## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สำนักงานโครงการ IRPUS ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนในครั้งนี้ ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย อนึ่งโครงการนี้ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (หนังสือเลขที่ S 28/2008 ลงวันที่ 7 เดือน กันยายน พ.ศ. 2551)


## เอกสารอ้างอิง


เพ็ญนภา คลังสินศิริกุล. ภูมิคุ้มกันโลหิตวิทยาและธนาคารเลือด. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: ธนบรรณการพิมพ์, 2551.

Hohenhaus AE. Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals. Transfus Med Rev. 2004; 18(2): 117-26.

Honeckman AL, Knapp DW, Reagan WJ. Diagnosis of canine immune-mediated hematologic disease. Comp Cont Ed Prac Vet. 1996; 18(2): 113-27.

Overmann JA, Sharkey LC, Weiss DJ, Borjesson DL. Performance of 2 microtiter canine Coombs' tests. Vet Clin Pathol. 2007 Jun; 36(2):179-83.

Slappendel RJ. The diagnostic significance of the direct antiglobulin test (DAT) in anemic dogs. Veterinary Immunology and Immunopathology. 1979; 1(1):49-59.

Wardrop KJ. The Coombs' test in veterinary medicine: past, present, future. Vet Clin Pathol. 2005 Dec; 34(4): 325-34.

Wikipedia. Blood transfusion. 2007, (cited 2007 June 20). Available from: URL: http://en.wikipedia.org/wiki/Blood_transfusion.

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 51-62

# ปัญหาการตีบใต้ลิ้นหัวใจเอออร์ติคในสุนัขพันธุ์ไทย

สุจิตรา พิเศษไพศาล[1)], นริศ เต็งชัยศรี[2)#]

วันที่ส่ง 8 มกราคม 2552 / วันตอบรับ 25 สิงหาคม 2553

## บทคัดย่อ

สุนัขพันธุ์ไทย เพศผู้ อายุ 15 ปี เข้ารับการรักษาด้วยปัญหาอ่อนแรงทั้ง 4 ขา แบบเฉียบพลันจากการตรวจร่างกายพบชีพจรบริเวณขาหลังเต้นแรง เยื่อเมือกซีด หัวใจเต้นจังหวะผิดปกติ หอบหายใจและก้อนเนื้องอกบริเวณเบ้าตาซ้าย ผลการตรวจเลือดทางห้องตรวจปฏิบัติการพบภาวะโลหิตจาง เกล็ดเลือดต่ำ เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลสูง ผลภาพถ่ายเอ็กซเรย์ช่องอก พบการขยายใหญ่ของหลอดเลือดแดงใหญ่เอออร์ต้าร่วมกับพบหัวใจโต (VHS=11) ผลตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจ พบลักษณะบ่งชี้ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดออกซิเจน (tachyarrhythmia และ ST depression) ผลตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจพบ การตีบใต้ลิ้นหัวใจเอออร์ติค หัวใจห้องล่างซ้ายหนาตัว และหลอดเลือดแดงใหญ่มีการขยายใหญ่ ทำการรักษาทางอายุรกรรมด้วยยาปฏิชีวนะ ยาขยายหลอดลม และ $\beta$-blocker (คาร์วีไดลอล) หลังการรักษา 1 เดือน พบว่าสุนัขเริ่มใช้ขารับน้ำหนักได้ทั้ง 4 ข้าง และผลตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจพบว่าหัวใจมีจังหวะการเต้นปกติ และไม่พบภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดออกซิเจน

***คำสำคัญ:*** *การตีบใต้ลิ้นหัวใจเอออร์ติค ความดันโลหิตสูง กล้ามเนื้อหัวใจขาดออกซิเจน คลื่นเสียงสะท้อนหัวใจ คาร์วีไดลอล*

[1)]นิสิตประกาศนียบัตรบัณฑิต คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
[2)]ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์เลี้ยง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
[#]ผู้รับผิดชอบบทความ e-mail: fvetnrt@ku.ac.th

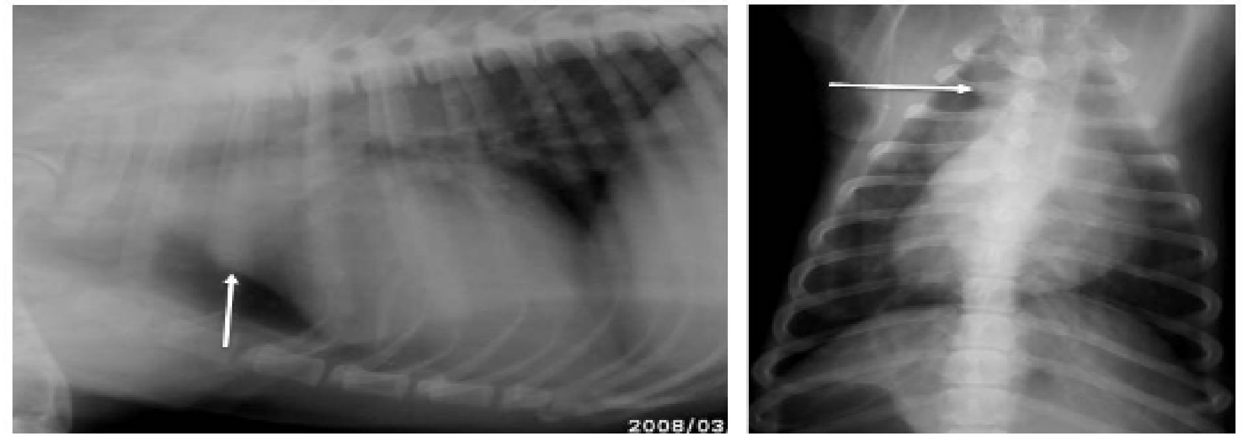
The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 51-62

## บทนำ

ปัญหาการตีบของลิ้นหัวใจเอออร์ติค (aortic stenosis) ส่งผลให้เกิดการขัดขวางการสูบฉีดโลหิตจากหัวใจห้องล่างซ้ายไปยัง aorta โดยตำแหน่งที่ตีบแคบอาจเป็นการตีบใต้ลิ้นหัวใจ (subvalvular) ที่ลิ้นหัวใจ (valvular) หรือ เหนือลิ้นหัวใจ (supravalvular) ในทางคลินิกสัตว์เลี้ยงพบว่า subvalvular stenosis ของหลอดเลือดแดงใหญ่เป็นปัญหาที่พบได้บ่อยในสุนัขแต่พบได้น้อยในแมว (Lehmkuhl and Bonagura, 1997) โดยสายพันธุ์ที่มีรายงานการตรวจพบ ได้แก่ สุนัขพันธุ์ Newfoundland, Golden Retriever, Rottweiler, Boxer, Samoyed, Bulldog และ German Shepherd (Buchnan, 1992) ปัญหาดังกล่าวนี้อาจเกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (polygenic inheritance) (Patterson, 1991) เช่น ในสุนัขพันธุ์ Newfoundland ซึ่งบ่งชี้ลักษณะ autosomal dominant gene ลักษณะอาการที่พบขึ้นอยู่กับระดับความรุนแรงของการอุดตันที่ท่อทางออกของเลือดแดงจากหัวใจห้องล่างซ้าย (left ventricular outflow tract) (Kittleson, 1998) อาการที่พบส่วนใหญ่คือเหนื่อยง่ายขณะออกกำลังกาย เป็นลมหมดสติ และอาจเสียชีวิตเฉียบพลัน (Lehmkuhl and Bonagura, 1997; Fuentes, 2000) เนื่องจากกล้ามเนื้อหัวใจขาดออกซิเจน (Tilley and Goodwin, 2001) นอกจากนี้โดยทั่วไปอาการทางคลินิกจะรุนแรงขึ้นเมื่อสัตว์มีอายุมากขึ้น สำหรับการวินิจฉัยทำได้โดย การตรวจพบเสียงตีบแคบของ aortic valve การถ่ายภาพรังสีพบการขยายใหญ่ของหลอดเลือดแดงใหญ่ และการยืนยันผลโดยตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจ (echocardiography) ซึ่งจะพบลักษณะที่สำคัญ 3 ประการคือ พบผังผืดบริเวณ aortic valve พบกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างซ้ายหนาตัว และพบการขยายขนาดของหลอดเลือดแดงใหญ่หลังตำแหน่งที่มีการตีบแคบ นอกจากนี้ข้อมูลการวินิจฉัยเพิ่มเติมอื่นๆ ได้แก่ การตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจ และการวัดส่วนต่างของความดัน (pressure gradient) โดยใช้สายสวนหลอดเลือด สำหรับรายงานฉบับนี้กล่าวถึงการวินิจฉัย และรักษาปัญหา subaortic stenosis ในสุนัขพันธุ์ไทย ซึ่งมีข้อแตกต่างจากรายงานก่อนหน้าโดย ปัญหา aortic stenosis ที่รายงานในครั้งนี้น่าจะมีสาเหตุภายหลังกำเนิด

## ประวัติสัตว์ป่วย

สุนัขพันธุ์ไทย เพศผู้ อายุ 15 ปี น้ำหนักตัว 16 กิโลกรัม เข้ารับการรักษาด้วยปัญหาอ่อนแรงของขาทั้ง 4 ข้างแบบเฉียบพลัน หอบหายใจ และตาซ้ายมองไม่เห็น ประวัติการรักษาก่อนหน้าจากคลินิกสัตวแพทย์ พบพยาธิเม็ดเลือด Ehrlichiosis (การตรวจ SNAP test) โดยได้รับการรักษาด้วย doxycycline 10 mg/kg sid (นาน 2 สัปดาห์) และ tolfedine 4 mg/kg sid (นาน 5 วัน) การตรวจร่างกาย สุนัขมีอุณหภูมิ 102°F เยื่อเมือกซีด CRT = 2 วินาที ลักษณะขาดน้ำประมาณ 5% อัตราการหายใจ 22 ครั้ง/นาที โดยแสดงลักษณะหอบหายใจ หัวใจเต้น 132 ครั้ง/นาที โดยมีจังหวะการเต้นไม่สม่ำเสมอ พบ systolic murmur grade 3 โดยพบ point of maximal intensity (PMI) ที่ฐานของหัวใจ (ช่องว่างระหว่างซี่โครงที่ 4 ด้านซ้าย) ชีพจรบริเวณขาหลังเต้นแรง (hyperkinetic) และตรวจพบ jugular pulse ทั้งสองข้างของลำคอ การตรวจแรงดันโลหิตพบ systolic blood pressure 240 mmHg (Doppler ultrasonography) และก้อนเนื้อขนาด 3x3 ซม. ที่ตำแหน่งมุมตาซ้ายด้านบน การตรวจระบบประสาทพบว่าสุนัขมี flexor reflex ของทั้งสี่ขา




*รูปที่ 1 แสดงภายถ่ายรังสีวิทยา*

*A: ภาพถ่ายด้านข้าง (lateral view) พบหัวใจกลมใหญ่ไม่มีส่วนคอด โดยหัวใจวางตัวตามสันอกเป็นระยะทาง 3 intercostal spaces ลักษณะของเส้นเลือดแดงใหญ่ขยายขนาดกว่าปกติ (ลูกศร) และหัวใจห้องล่างซ้ายขยายขนาด ปอดพบลักษณะ alveolar pattern บริเวณ perihilar area ร่วมกับ air bronchogram,*

*B: ภาพถ่ายด้านบนลงล่าง (dorsoventral view) พบการขยายขนาดของ cranial mediastinum หัวใจมีขนาดไม่เกิน 2/3 ของความกว้างช่องอก และ caudal pulmonary vessel มีขนาดปกติ*

**ตารางที่ 1** แสดงผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

| | Day 0 | Day 16 | Normal Value (Latimer, 2003) | unit |
|---|---|---|---|---|
| **Hematology** | | | | |
| HgB | 13.4 | 11.9 | 10/18/10 | gm% |
| Hct | 38 | 33 | 35-55 | % |
| RBC | 5.88 | 5.28 | 5-9 | M/µl |
| MCV | 63.9 | 63 | 60-77fl | 60-77 fl |
| MCHC | 35.7 | 35.6 | 32-36% | 32-36 % |
| WBC | 13,600 | 12,600 | 6,000-17,000 | x1,000/µl |
| Neu | 12,648 | 12,096 | 3,000-11,400 | x1,000/µl |
| Lym | 272 | 252 | 1,000-4,800 | x1,000/µl |
| Mono | 544 | 126 | 150-1,350 | x1,000/µl |
| Eos | 136 | 126 | 100-750 | x1,000/µl |
| Baso | - | - | Rare | x1,000/µl |
| Platelet | 199 | 288 | 200-900 | x1,000/µl |
| Blood parasite | -ve | -ve | -ve | |
| Protein | 9 | 8.6 | 6-7.5 | gm% |
| **Blood Chemistry** | | | | |
| Creatinine | 1.8 | 1.2 | 0.5-1.3 | mg% |
| SGPT | 21.1 | 66.9 | 6-70 | U/l |

การตอบสนองต่อ withdrawal reflex และต่อการกระตุ้นด้วยความเจ็บปวด โดยสรุปข้อมูลการตรวจร่างกายบ่งชี้สาเหตุอาการอ่อนแรงของขาทั้ง 4 ข้างแบบเฉียบพลันเป็นปัญหามาจากภาวะโรคหัวใจที่รุนแรงมากกว่าปัญหาความผิดปกติทางระบบประสาท

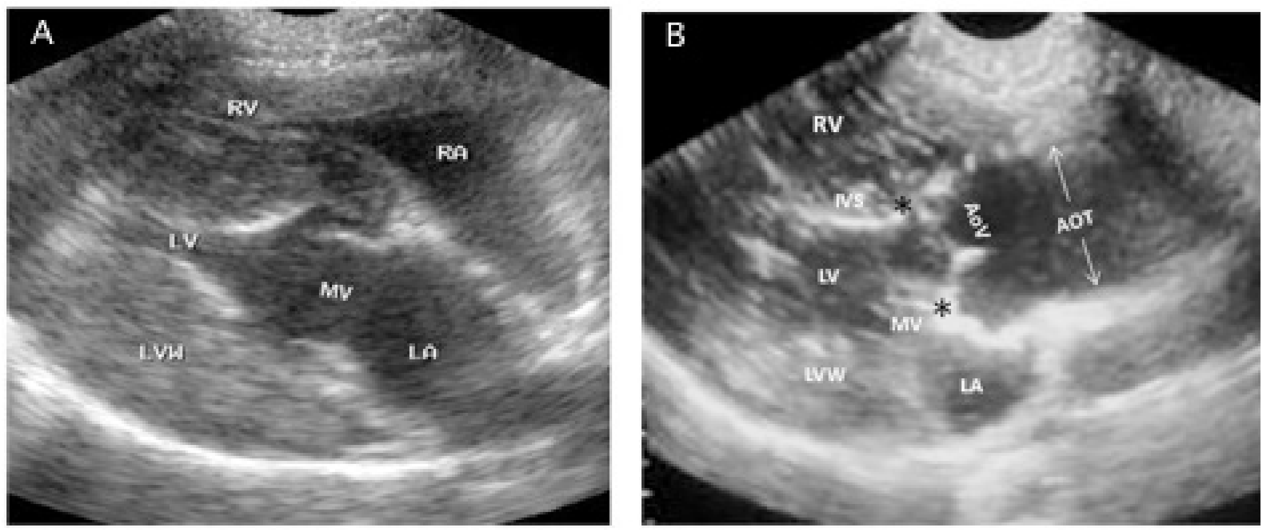
ทำการตรวจเพิ่มเติมทางรังสีวิทยา (รูปที่ 1) การวัดขนาดหัวใจเบื้องต้นจากภาพรังสีอยู่ในระดับปกติ อย่างไรก็ดีเมื่อประเมินค่า vertebral heart score (VHS) พบมีค่า = 11 ซึ่งสูงกว่าค่าปกติ (ค่าปกติของ VHS ในสุนัขพันธุ์พันธุ์ขนาดกลางมีค่า 9.7±0.5) (Buchanan and Bucheler, 1995) บ่งชี้ปัญหาหัวใจโต อีกทั้งตรวจพบเส้นเลือดแดงใหญ่ขยายขนาดขึ้น และปอดพบปัญหา alveolar pattern ซึ่งบ่งชี้ภาวะปอดอักเสบ สำหรับผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 1, Day 0) พบค่าเม็ดโลหิตแดงอยู่ในระดับปกติ จำนวนเม็ดโลหิตขาวโดยรวมปกติ โดยมีการเพิ่มของเซลล์นิวโทรฟิลเล็กน้อยร่วมกับการลดลงของลิมโฟไซต์ ร่วมกับภาวะเกล็ดเลือดต่ำ ค่าโปรตีนในเลือดสูงขึ้น (9 g/dl) และมีภาวะของเสียสะสมอยู่ในเลือด โดยตรวจพบการ

เพิ่มขึ้นของค่าครีอะตินิน ในเลือดเล็กน้อย (1.8 mg%) ซึ่งสัมพันธ์กับภาวะขาดน้ำของสัตว์ป่วย

การตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจ พบหัวใจเต้นเร็วและไม่เป็นจังหวะ (tachyarrhythmia, HR = 165 ครั้ง/นาที) มีค่า R wave ปกติ (2.0 mV, lead II ในรูปที่ 2) ST segment depression ( -0.3 mV) บ่งชี้ปัญหา myocardial hypoxia และค่า systolic blood pressure มีค่า 260 mmHg บ่งชี้ปัญหาความดันโลหิตสูง

การตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจพบลักษณะกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างซ้ายหนาตัว (left ventricular hypertrophy) (รูปที่ 3A) และพบลักษณะแถบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้ aortic valve ร่วมกับลักษณะ hypertrophic interventricular septum ซึ่งวางตัวขวางบริเวณ left ventricular outflow tract (รูปที่ 3B และรูปที่ 4A) ร่วมกับการขยายขนาดของเส้นเลือดแดงใหญ่หลังตำแหน่ง aortic valve (รูปที่ 4B) โดยข้อมูลดังกล่าวบ่งชี้ภาวะ subaortic stenosis

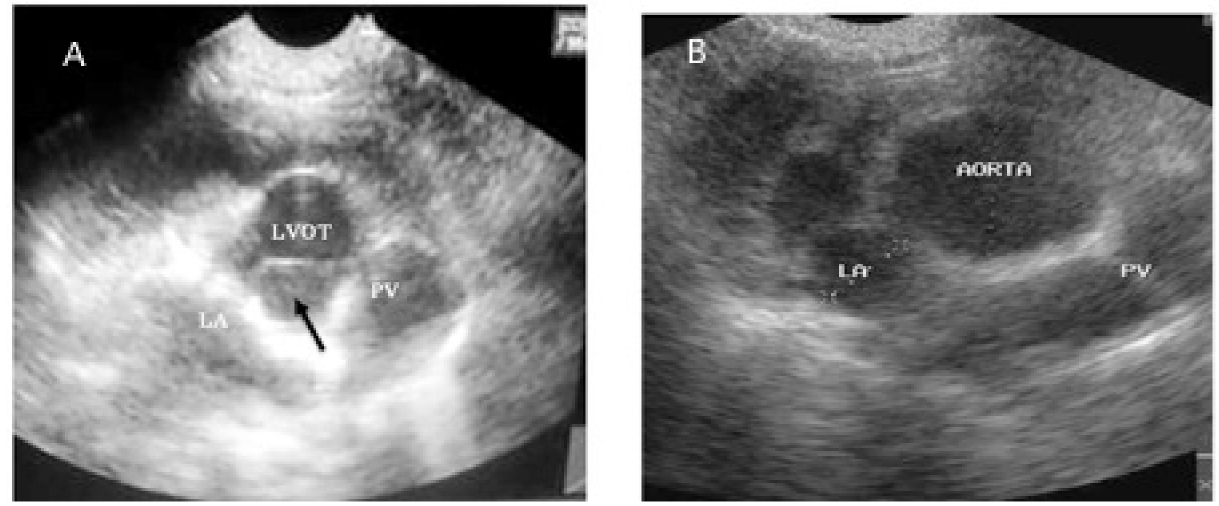

***รูปที่*** *2 แสดงผลการตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจ (Electrocardiogram) lead I และ II พบลักษณะ tachyarrhythmia (HR = 165 ครั้ง/นาที) ร่วมกับลักษณะ ST segment depression (หมายเหตุ ความเร็วกระดาษ = 25 มม./วินาที, 1 มม. = 0.1 mV)*




***รูปที่*** *3 การตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจก่อนการรักษาวัดตามแนวยาว*

*A: ภาพ right parasternal long axis มุมมอง 4-chamber view พบการขยายขนาดของกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างซ้าย (left ventricular hypertrophy) ร่วมกับการขยายขนาดของ papillary muscles,*

*B: ภาพ right parasternal long axis มุมมอง left ventricular outflow พบลักษณะผังผืด (fibrous band, บริเวณเครื่องหมาย "*") ลักษณะ hypertrophic interventricular septum บริเวณ left ventricular outflow tract (AOT = aortic outflow tract, AoV = aortic valve, LA = left atrium, LV = left ventricle, LVW = left ventricular free wall, MV = mitral valve, RA = right atrium, RV = right ventricle)*




***รูปที่*** *4 ตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจก่อนการรักษาวัดตามแนวขวาง*

*A: ภาพ right parasternal transverse view ที่ตำแหน่ง left ventricular outflow tract พบลักษณะ fibrous ring หนาตัวที่ด้านล่างของ aortic valve (ลูกศร),*

*B: ภาพ right parasternal transverse view ที่ตำแหน่งหลอดเลือดแดงใหญ่ (ascending aorta) และหัวใจห้องบนซ้าย พบลักษณะการขยายใหญ่ของหลอดเลือดแดงใหญ่ ด้านหลังตำแหน่งตีบของลิ้นหัวใจ (LA = left atrium, LVOT = left ventricular outflow tract, MV = mitral valve, PV = pulmonic valve)*

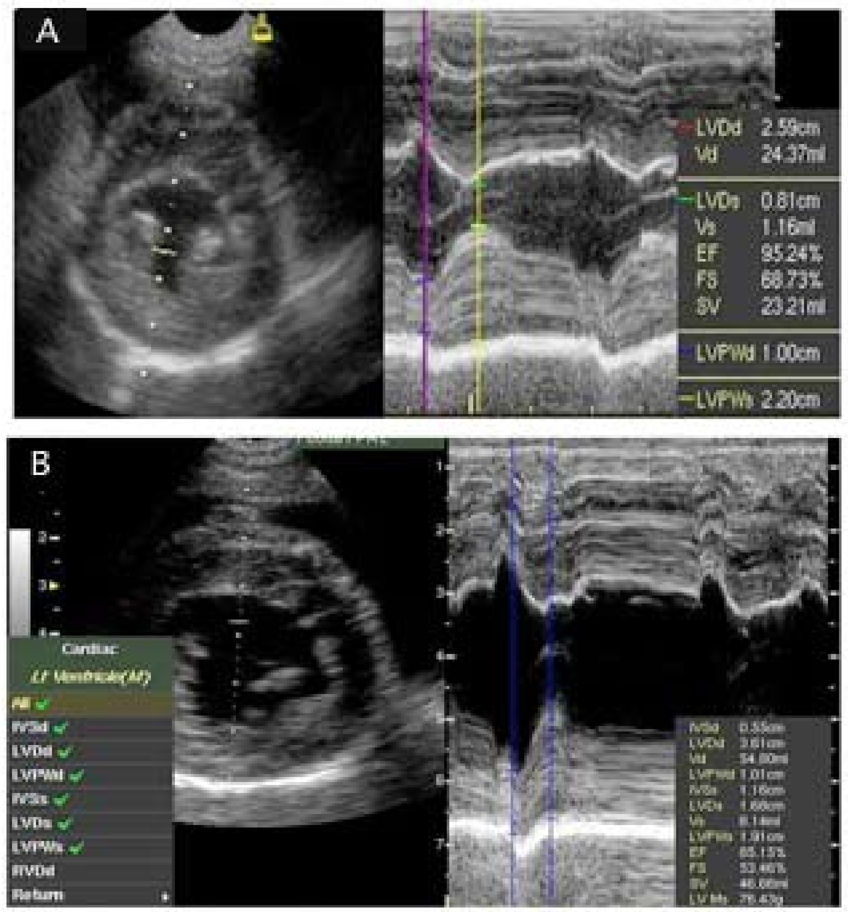
## การรักษาทางอายุรกรรม

การรักษาเบื้องต้นทำโดยการให้สารน้ำเพื่อแก้ไขภาวะขาดน้ำ และให้สัตว์ป่วยอยู่ในตู้ออกซิเจนเพื่อบรรเทาปัญหาเนื้อเยื่อขาดออกซิเจน การให้ยาขยายหลอดลม aminophylline 10 mg/kg bid ซึ่งออกฤทธิ์ในการขยายหลอดลมโดยทำให้กล้ามเนื้อเรียบของท่อลมคลายตัว และช่วยลดอาการหอบของสัตว์ป่วยให้ยาปฏิชีวนะ amoxycillin clavulanic acid 6.25 mg/kg bid โดยการกินเพื่อป้องกันการติดเชื้อแทรกซ้อนของปอด ให้ยา prednisolone 0.5 mg/kg bid (นาน 3 วัน) เพื่อลดการบวมอักเสบบริเวณเบ้าตาซ้าย ให้ยาลดกรด cimetidine 5 mg/kg bid และให้ carvedilol 0.5 mg/kg bid ซึ่งเป็น $\beta$-blocker ช่วยลดการกระตุ้นของ symphathetic ส่งผลให้หัวใจลดการทำงานลงและมีการใช้ออกซิเจนน้อยลง ภายหลังการรักษาประมาณ 2 สัปดาห์ พบค่าทางโลหิตวิทยาอยู่ในเกณฑ์ใกล้เคียงปกติ (ตารางที่ 1, Day 16)

ภายหลังการรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือนได้ทำการตรวจสัตว์ป่วยซ้ำโดยตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจบ่งชี้การเต้นของหัวใจอยู่ในเกณฑ์ปกติ (HR = 150 ครั้ง/นาที, รูปที่ 5) อย่างไรก็ดีเป็นที่น่าสังเกตว่าไม่พบลักษณะ respiratory sinus arrhythmia ของคลื่นไฟฟ้าหัวใจ (Yasuma and Hayano, 2004) ซึ่งเป็นการตอบสนองต่อ vagal tone ขณะหายใจพบได้ในสุนัขปกติที่สุขภาพสมบูรณ์ ทำการเปรียบเทียบลักษณะการบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ โดยตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจในรูปแบบ M-mode ภาพตัดขวางที่ตำแหน่ง papillary muscle ก่อนการรักษาพบ left ventricular diameter ในขณะ diastolic (LVDd) และ systolic (LVDs) มีค่า 2.59 ซม. และ 0.81 ซม. โดยมีค่าต่างกันเท่ากับ 1.78 ซม. เนื่องจากหัวใจไม่สามารถคลายตัวได้ดีทำให้มีเลือดสูบฉีดได้ปริมาณน้อยใน โดย systolic volume เท่ากับ 23.21 มล. ภายหลังการรักษาด้วย carvedilol พบ Left ventricular diameter ในขณะ diastolic (LVDd) และ systolic (LVDs) มีค่า 3.61 ซม. และ 1.68 ซม.โดยค่าทั้งสองมีค่าต่างกันมากขึ้นเล็กน้อยเป็น 1.93 ซม. แต่พบการสูบฉีดโลหิตของหัวใจในแต่ละครั้งทำได้ดีขึ้น โดย systolic volume เท่ากับ 46.66 มล. เนื่องจากกล้ามเนื้อหัวใจสามารถคลายตัวได้ดีจึงช่วยเพิ่ม preload ส่งผลให้ systolic volume ดีขึ้นตามลำดับ (รูปที่ 6 A และ B) อย่างไรก็ดีสัตว์ป่วยยังคงมีปัญหาแรงดันโลหิตสูง (systolic blood pressure = 240 mmHg) ผลการตรวจชิ้นเนื้อบริเวณมุมตาซ้ายบนทางพยาธิวิทยาพบปัญหา osteosarcoma (ข้อมูลไม่แสดง)

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 51-62


***รูปที่ 5*** *คลื่นไฟฟ้าหัวใจหลังการรักษา 1 เดือน พบอัตราการเต้นของหัวใจปกติ (HR = 150 ครั้ง/นาที) และหัวใจเต้นสม่ำเสมอ R wave มีขนาดอยู่ในระดับปกติ และ ไม่พบ ST segment depression (หมายเหตุ ความเร็วกระดาษ = 25 มม./วินาที, 1 มม. = 0.1 mV)*




***รูปที่ 6*** *ผลการตรวจechocardiographyในรูปแบบ M-mode ภาพตัดขวางที่ตำแหน่ง papillary muscle ของหัวใจห้องล่างซ้าย*
*A: ภาพก่อนการรักษา*
*B: ภาพหลังการรักษา 1 เดือน*

## วิจารณ์

การตีบใต้ลิ้นหัวใจหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ตรวจพบในสุนัขครั้งนี้ มีลักษณะจำเพาะหลายประการ คือ การตรวจพบผนังกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างซ้ายหนาตัว (left ventricular hypertrophy) การพบแถบผังผืดด้านใต้ (subvalvular fibrous ring) ของลิ้นหัวใจเอออร์ติค และการขยายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่หลังตำแหน่งตีบแคบ (post-stenotic dilation of aorta) ลักษณะทั้งหมดบ่งชี้ปัญหา subaortic stenosis (Kittleson, 1998) ซึ่งส่งผลให้มีแรงต้านทานสูงในการสูบฉีดโลหิตจากหัวใจห้องล่างซ้าย เพิ่ม after load ส่งผลให้มีการลดลงของแรงดันโลหิตโดยเฉพาะส่วน diastolic arterial pressure ปัญหาดังกล่าวนี้ส่งผลกระทบโดยตรงต่อภาวะสมดุลออกซิเจนของกล้ามเนื้อหัวใจ (myocardial oxygen balance) เนื่องจากตำแหน่งหลอดเลือด coronary arteries อยู่เหนือบริเวณตีบของลิ้นหัวใจ ปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจ (coronary blood flow) จึงลดลงไปด้วย ส่งผลให้กล้ามเนื้อหัวใจขาดออกซิเจน (Tilley and Goodwin, 2001) จึงมักพบปัญหาการเสียชีวิตเฉียบพลันของสัตว์ป่วยดังกล่าว (Clotton, 2007)

การตรวจทางคลินิกที่สำคัญของปัญหา subaortic stenosis ได้แก่ การพบเสียงรั่วของลิ้นหัวใจขณะบีบตัว (systolic ejection murmur) โดยได้ยินชัดที่สุดที่ฐานของหัวใจด้านซ้าย โดยเสียงที่ได้ยินอาจดังไปถึงด้านขวา ความดังของเสียงมักสัมพันธ์กับความรุนแรงของการตีบแคบ ในรายรุนแรงจะพบลักษณะ precordial thrill และอาจพบเสียงรั่วของลิ้นหัวใจในขณะคลายตัว (diastolic mumur) เนื่องจากปัญหารั่วของ aortic valve ร่วมด้วย เป็นที่น่าสนใจที่พบภาวะ hypertension ในสัตว์ป่วยรายนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีศึกษาในผู้ป่วยปัญหา aortic stenosis พบการเกิด hypertension ร่วมด้วยสูงถึง 21% (Pate, 2002) โดยกลไกการเกิดปัญหาดังกล่าวมาจากการตอบสนองของ Renin-Angiotensin-Aldosterone system โดย angiotensin II ส่งผลให้มีการสะสมของน้ำ (water retention) ในระบบหลอดเลือด และกระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดแดงทำให้พบปัญหา hypertension ดังกล่าว

การถ่ายภาพรังสีในกรณี subaortic stenosis จะพบเงาของหัวใจขนาดปกติ หรือขยายใหญ่ อาจพบการขยายตัวของหลอดเลือด aorta และ aortic arch ตำแหน่งหลังการตีบแคบ การตรวจด้วยคลื่นไฟฟ้าหัวใจมักไม่แสดงลักษณะชัดเจน แต่อาจพบลักษณะ tall R waves ซึ่งบ่งชี้การขยายตัวของหัวใจห้องล่างซ้าย สำหรับการตรวจพบลักษณะ ST segment depression ร่วมกับ ventricular arrhythmias บ่งชี้ปัญหากล้ามเนื้อหัวใจขาดออกซิเจน ซึ่งควรทำการแยกปัญหาจากภาวะ digitalis toxicity และ potassium imbalance (Martin, 2000) การตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจโดยการใช้ 2D และ M-mode สามารถยืนยันปัญหา subaortic stenosis โดยการตรวจพบ echogenic fibrous ring ที่ส่วน left ventricular outflow tract ร่วมกับลักษณะ concentric left ventricular hypertrophy และ poststenotic dilation ของ ascending aorta ความรุนแรงของรอยโรคสามารถตรวจคลื่นเสียงสะท้อนหัวใจร่วมกับ Doppler mode โดยในสุนัขปกติ maximal aortic velocity จะไม่เกิน 1.5 m/s และปัญหา aortic stenosis จะพบ aortic velocity มากกว่า 2.0 m/s โดยหากค่า aortic velocity ไม่เกิน 3.5 m/s บ่งชี้ปัญหาไม่รุนแรง (pressure gradient น้อยกว่า 50 mmHg คำนวณโดยใช้ Bernoulli equation) ในกรณีที่ velocity มากกว่า 5.0 m/s จะมี pressure gradient สูงกว่า 100 mmHg บ่งชี้ลักษณะโรคที่รุนแรง

สาเหตุการเกิด aortic stenosis ในสุนัขมักมีรายงานในลักษณะปัญหาโรคแต่กำเนิดโดยมักพบในสุนัขสายพันธุ์ขนาดใหญ่ (Buchnan, 1992) และเป็นปัญหาถ่ายทอดทางพันธุกรรม (Patterson, 1991) อย่างไรก็ดีในรายงานฉบับนี้สุนัขป่วยด้วย aortic stenosis น่าจะเป็นปัญหาที่เกิดขึ้นภายหลัง (acquired problem) โดยมีเหตุผลหลายประการดังนี้ คือ ประการแรกสุนัขไม่มีประวัติป่วยในอดีต (past history) ที่บ่ง

ชี้ปัญหาโรคหัวใจตั้งแต่อายุน้อยๆ ประการต่อมาคือ รายงาน aortic stenosis ในครั้งนี้พบในสุนัขพันธุ์ไทย ซึ่งไม่เป็นพันธุ์ที่มีความเสี่ยงในการเกิดโรค (Buchnan, 1992) การศึกษาเปรียบเทียบในคนพบปัญหา acquired aortic stenosis ได้มากที่สุดในผู้สูงอายุ (Freeman et al., 2004) โดยพบรอยโรคแบบ calcified degeneration ที่ aortic valve เป็นหลัก ปัญหา subaortic stenosis ในคนพบได้บ่อยรองลงมา (Barkhordarian et al., 2007) การศึกษาปัจจัยด้านรูปร่าง (geometry) ที่ผิดปกติบริเวณ left ventricular outflow tract ในคนพบว่ามีผลต่อลักษณะการไหลของเลือดที่ผิดปกติ (เกิด turbulence flow) ซึ่งเป็นอาจเป็นปัจจัยที่ชักนำให้เกิดการหนาตัวของเนื้อเยื่อบริเวณ subvalvular region (Kleinert and Geva, 1993) สำหรับรายงานสัตว์ป่วยในครั้งนี้พบลักษณะผังผืดที่ตำแหน่ง subaortic valve ในสุนัขป่วยมีอายุถึง 15 ปี และพบลักษณะการอุดตันในส่วน left ventricular outflow tract ชัดเจนโดยเฉพาะขณะกล้ามเนื้อหัวใจกำลังบีบตัว (dynamic obstruction) (Fuentes, 2000) จึงมีความเป็นไปได้ที่มีการไหลเวียนของเลือดที่ผิดปกติบริเวณดังกล่าว ชักนำให้เกิดพยาธิสภาพจากความเสื่อม (degenerative change) ของเนื้อเยื่อใต้ aortic valve นั่นเอง

การรักษาปัญหา subaortic stenosis ในสุนัขมีข้อแนะนำให้ใช้ β-adrenergic blocking drugs เพื่อลดการใช้ออกซิเจนของกล้ามเนื้อหัวใจ และลดภาวะขาดเลือดของกล้ามเนื้อหัวใจ การแบ่งชนิดของ β-blocking agent สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ first, second และ third generation (Tidholm, 2006) สำหรับ first generation ได้แก่ propanolol และ timolol ไม่ค่อยมีผลต่อระบบหมุนเวียนโลหิตมากนักเพราะยาไม่ได้ออกฤทธิ์จำเพาะต่อ βreceptors (ทั้ง β1 และ β2 receptor) สำหรับ second generation ได้แก่ metroprolol, atenolol, bisoprolol และ betaxolol โดยออกฤทธิ์จำเพาะต่อ β1 receptor กลุ่มสุดท้ายคือ third generation ได้แก่ labetalol, carvedilol จะมีคุณสมบัติ vasodilator ออกฤทธิ์ในลักษณะ non-selective ของ β receptors การศึกษาพบผู้ป่วยโรคหัวใจระยะสุดท้ายนั้นพบว่าหัวใจมี β2 receptor 40% ของ β receptor ทั้งหมด (ในภาวะ ปกติ β2 จะมีเพียง 10-20% เท่านั้น; Bristow et al., 1986) ดังนั้น third generation ของ β adrenergic receptor จึงน่าจะช่วยการทำงานของหัวใจได้ดีกว่าการใช้ยากลุ่ม second generation ซึ่งออกฤทธิ์จำเพาะต่อ β1 receptor (Tidholm, 2006) สำหรับสัตว์ป่วยรายนี้พบว่าการใช้ carvedilol นั้นช่วยให้กล้ามเนื้อหัวใจคลายตัวได้มากขึ้น (ค่า LVDd ก่อนการรักษามีค่า 2.59 cm หลังการรักษามีค่า 3.61 cm) โดยการบีบตัวต่างกันเล็กน้อย (LVDs ก่อนการรักษามีค่า 0.81 cm และหลังการรักษามีค่า 1.68 cm ตามลำดับ) แม้ว่าค่า FS จะลดลงเล็กน้อย (FS ก่อนรักษา = 68.73% ในขณะที่ FS หลังรักษา = 53.46%) แต่การสูบฉีดโลหิตของหัวใจ (stroke volume) แต่ละครั้งดีขึ้น นอกจากนี้ carvedilol ยังมีฤทธิ์ยับยั้ง β adrenergic receptor โดยออกฤทธิ์ต้าน adrenergic stimuli (Hryniewicz et al., 2003) ส่งผลลดแรงต้านของหลอดเลือดส่วนปลาย (peripheral vascular resistant) และช่วยลดระดับความดันโลหิตสูง อย่างไรก็ตามระดับความดันโลหิตของสุนัขป่วยยังอยู่ในเกณฑ์สูง (ความดันโลหิตก่อนและหลังให้ยา carvedilol มีค่า 260 mmHg และ 240 mmHg ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่า carvedilol ไม่สามารถลดปัญหาความดันโลหิตสูงได้ในสุนัขรายนี้ ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากปัจจัยของหลอดเลือดแดงของสัตว์ป่วยซึ่งอาจสูญเสียความยืดหยุ่น (stiffness) เมื่อเทียบกับหลอดเลือดแดงปกติเพราะสัตว์ป่วยด้วยปัญหาความดันโลหิตสูงเรื้อรัง ปัจจัยจากสาเหตุความดันโลหิตสูงจากการกระตุ้นของ angiotensin II ซึ่ง carvedilol ไม่ได้แก้ไขปัญหาดังกล่าวอาจส่งผลให้ค่าความดันโลหิตยังคงสูงอยู่ การเพิ่มระดับยา carvedilol เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาสุนัขป่วยรายนี้อาจไม่มีความจำเป็นเนื่องจากสุนัขป่วยมีอาการทางคลินิกดีขึ้นเป็นที่น่าพอใจ อีกทั้งการเพิ่มระดับยา carvedilol เพิ่มเสี่ยงต่อปัญหาแทรกซ้อนจากการใช้ยา เช่น ความดันโลหิตต่ำ หัวใจเต้นช้าลง และลดประสิทธิภาพทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจโดยเฉพาะรายหัวใจล้มเหลวรุนแรงซึ่งพบทั้งในสุนัขและในคน (Uechi et al., 2006) การคงขนาดยาในการรักษาดังกล่าวจึงน่าจะมีความปลอดภัยแก่สัตว์ป่วยมากกว่าในกรณีที่ต้องการเพิ่มขนาดของยาในการรักษามีข้อแนะนำให้ทำการเพิ่มระดับยา carvedilol ทีละน้อยร่วมกับการสังเกตภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นอย่างใกล้ชิด (Uechi et al., 2006)

ยากลุ่ม calcium channel blockers มีการแนะนำให้ใช้ เพื่อลดการใช้ออกซิเจนของกล้ามเนื้อหัวใจเช่นกัน ตัวอย่างยากลุ่ม calcium channel blockers ได้แก่ verapamil และ diltiazem ยาออกฤทธิ์โดย ขัดขวางการทำงานของ calcium channels ลดการ นำเข้า calcium สู่กล้ามเนื้อหัวใจและกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด จึงไปลดการบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (negative inotrope) และคลายกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดจึงมีผลลด peripheral vascular resistance นอกจากนี้พบว่า calcium channel blockers ส่งผลต่อ conduction system โดยเฉพาะการนำสัญญาณในส่วน AV node จึงลดอัตราเร็วการบีบตัวของหัวใจ (negative chronotrope) และจัดเป็น antiarrhythmic drug class IV อีกด้วย ข้อห้ามในการใช้ calcium channel blockers ได้แก่ ห้ามใช้ในสัตว์ป่วยภาวะช็อค โรคหัวใจรุนแรง ภาวะความดันโลหิตต่ำ ปัญหา sick sinus syndrome ปัญหา atrioventricular block และปัญหา digitalis intoxication เพราะการใช้ calcium channel blocker อาจเพิ่มระดับ digoxin หรือ digitoxin ในกระแสเลือด สำหรับการใช้ร่วมกับ β blocker ต้องระวังปัญหาจากการออกฤทธิ์เสริมกันและยับยั้งการบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจรุนแรงขึ้น (Plumb, 1999)

สัตว์ป่วยด้วยปัญหา subaortic stenosis กรณีที่พบการเต้นของหัวใจไม่เป็นจังหวะ (arrhythmia) จะส่งผลกระทบโดยตรง โดยลดปริมาณเลือดสูบฉีดโดยหัวใจ (cardiac output) โดยกรณีที่หัวใจเต้นช้าลงจะลดปริมาณเลือดสูบฉีดจากหัวใจเพราะระดับ stroke volume มีค่าคงที่ (fixed) ขณะที่หัวใจเต้นเร็วจะไปลดระยะเวลาของ cardiac filling (Clotton, 2007) ดังนั้นกรณีที่ส่งผลกระทบต่อแรงดันโลหิตเช่นการวางยาสลบ แม้จะมีผลต่อระดับแรงดันโลหิตเพียงเล็กน้อยแต่จะส่งผลลด coronary arterial filling pressure มาก และลดปริมาณออกซิเจนที่เข้าสู่กล้ามเนื้อหัวใจ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการคงระดับการเต้นของหัวใจสัตว์ป่วยนั้นมีความสำคัญ การรักษาในระยะยาวด้วยการผ่าตัดหรือทำ balloon valvuloplasty มักไม่ประสบผลสำเร็จ เนื่องจากปัญหาตีบแคบเกิดขึ้นตามมาได้ภายหลังการรักษา โดยทั่วไปในรายที่ป่วยไม่รุนแรงไม่จำเป็นต้องทำการรักษาทางยา แต่ควรแนะนำการให้อาหารที่มีเกลือต่ำ (low salt diet) หรือใช้อาหารสำหรับสุนัขโรคหัวใจ เพื่อป้องกันปัญหาแรงดันโลหิตสูงเนื่องจากอาหารสุนัขโดยทั่วไปมีส่วนประกอบของเกลือมากกว่าปริมาณที่สุนัขต้องการ สำหรับการศึกษาปัจจัยทางด้านพันธุกรรมในสุนัขไทยที่ป่วยด้วยปัญหา subaortic stenosis ควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้จัดทำรายงานฉบับนี้ขอขอบคุณโรงพยาบาลสัตว์ ศ. เมืองเอก และเจ้าของสัตว์ป่วยที่ให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูลเพื่อจัดทำรายงานสัตว์ป่วยฉบับนี้

# Subaortic Stenosis in A Thai Dog : A Case Report

Sujitra Pisetpaisan[1)], Naris Thengchaisri[2)*]
Submit 8 January 2009 / Accept 25 August 2010

## Abstract

A 15-year old, male Thai dog was presented with a history of generalized weakness. Physical examination indicated hyperkinetic femoral pulses, pale mucous membrane, arrhythmias, panting and an abnormal mass on the left orbital area. Anemia, thrombocytopenia and neutrophilia were detected on the laboratory tests. Thoracic radiography revealed a dilation of aorta with an enlarged cardiac silhouette (VHS=11). Tachyarrhythmia and ST depression on electrocardiography suggested a presence of myocardial hypoxia. Subaortic stenosis, left ventricular hypertrophy and post stenotic dilation of the aorta were found on echocardiography. Medical treatments were established with antibiotic, bronchodilator and β-blocker (carvedilol). One month after treatment, the dog was able to walk on four limbs. The electrocardiography showed normal heart rhythm without signs of myocardial hypoxia.

*Keywords:* *subaortic stenosis, hypertension, myocardial hypoxemia, echocardiography, carvedilol*

[1)]Graduate Diploma Student, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900
[2)]Department of Companion Animal Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart Unversity, Bangkok 10900
[*]Corresponding Author, e-mail: fvetnrt@ku.ac.th



## เอกสารอ้างอิง

Barkhordarian, R., Wen-Hong, D., Li, W., Josen, M.,Henein, M. and Ho, S.Y. 2007. Geometry of the left ventricular outflow tract in fixed subaortic stenosis and intact ventricular septum: An echocardiographic study in children and adults. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 133 : 196-203.

Buchnan, J.W. 1992. Causes and prevalence of cardiovascular disease. In : Current Veterinary Therapy XI: Small Animal Practice. R.W. Kirk and J.D. Bonagura (ed.) Philadelphia : W.B. Saunders. 648.

Buchanan, J.W. and Bucheler, J. 1995. Vertebral scale system to measure canine heart size in radiographs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 206 : 194.

Bristow, M.R., Ginsburg, R., Fowler, M., Minobe, W., Rasmussen, R., Zera, P., Menlove, R., Shah, P., Jamieson, S. and Stinson, E.B. 1986. Beta 1- and beta 2-adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta 1-receptor down-regulation in heart failure. Circ. Res. 59 : 297-309.

Clotton, R.D. 2007. Cardiovascular disease. In : BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgeisa. 2nd ed. C. Seymour and T. Duke-Novakovski (ed.) Upton : Lookers. 217-218.

Freeman, R.V., Crittenden, G. and Otto, C. 2004. Acquired aortic stenosis. Expert. Rev. Cardiovasc. Ther. 2(1) : 107-116.

Fuentes, V.L. 2000. In : Small animal cardiology secrets. J.A. Abbott (ed.) Philadelphia : Hanley and Belfus Inc. 300-305.

Hryniewicz, K., Androne, A.S., Hudaihed, A. and Katz, S.D. 2003. Comparative effects of carvedilol and metoprolol on regional vascular responses to adrenergic stimuli in normal subjects and patients with chronic heart failure. Circulation. 108 : 971-976.

Kittleson, M.D. and Kienle, R.D. 1998. Small animal cardiovascular medicine. St. Louis : Mosby Inc. 260-272.

Kleinert, S. and Geva, T. 1993. Echocardiographic morphometry and geometry of the left ventricular outflow tract in fixed subaortic stenosis. J. Am. Coll. Cardiol. 22 : 1501-1508.

Latimer, K.S., Mahaffey, E.A. and Prasse, K.W. 2003. Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology. 4th ed. Ames : Iowa State University Press. 450.

Lehmkuhl, L.B. and Bonagura, J.D. 1997. Congenital diseases. In : Handbook of Small Animal Practice. 3rd ed. R.V. Morgan (ed.) Philadelphia : W.B. Saunders company. 53-61.

Martin, M. 2000. Small animal ECGs: an introductory guide. Berlin : Blackwell Science. 72.

Pate, G.E. 2002. Association between aortic stenosis and hypertension. J. Heart Valve Dis.‰11(5) : 612-614.

Patterson, D.F. 1991. Genes and the heart : congenital heart disease. Acad. Vet. Cardiol. Proc. 13.

Plumb, D.C. 1999. Veterinary Drug Handbook. 3rd ed. Ames : Iowa State University Press. 853.

Tidholm, A. 2006. Survival in dogs with dilated cardiomyopathy and congestive heart failure treated with digoxin, furosemide and propranolol : A retrospective study of 62 dogs. J. Vet. Cardiol. 8 : 41-47.

Tilley, L.P. and Goodwin, J.K. 2001. Manual of canine and feline cardiology. 3rd ed. W.B. Saunders company. 285-286.

Yasuma, F. and Hayano, J. 2004. Respiratory sinus arrhythmia : Why does the heartbeat synchronize with respiratory rhythm? CHEST. 125: 683–690.

Uechi, M., Hori, Y., Fujimoto, K., Ebisawa, T., Yamano, S. and Maekawa, S. 2006. Cardiovascular effects of a phosphodiesterase III inhibitor in the presence of carvedilol in dogs. J. Vet. Med. Sci. 68(6) : 549-553.

# คำถามท้ายเรื่อง

*1. ตำแหน่งที่พบการตีบแคบของลิ้นหัวใจหลอดเลือดแดงใหญ่ ส่วนมากมักพบที่ใด*

ก. supravalvular area

ข. valvular area

ค. subvalvular area

ง. ถูกทุกข้อ

*2. การถ่ายภาพรังสีนาย subaortic stenosis จะพบการขยายใหญ่ของหลอดเลือดไต*

ก. pulmonary artery

ข. aorta

ค. caudal vena cava

ง. pulmonary vein

*3. ในภาวะโรค subaortic stenosis เมื่อฟังเสียงหัวใจจะพบเสียง murmur แบบใด*

ก. diastolic murmur

ข. systolic mrmur

ค. continuous machinery murmur

ง. gallop

*4. ข้อใดเป็น third generation $\beta$-adrenergic blocking agent*

ก. atenolol

ข. propanolol

ค. cavedilol

ง. timolol

*5. ยากลุ่ม calcium channel blockers ไม่ควรใช้ในสัตว์ที่มีภาวะ*

ก. shock

ข. hypertension

ค. atrioventricular block

ง. ถูกทุกข้อ

# โรคบิดในกระต่ายเนื้อลูกผสมนิวซีแลนด์ไวท์ (New Zealand White) ในจังหวัดเชียงใหม่

กิตติกร บุญศรี[1)#]

วันที่ส่ง 11 กุมภาพันธ์ 2552 / วันตอบรับ 24 สิงหาคม 2553

## บทคัดย่อ

กระต่ายเนื้อลูกผสมสายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวท์จากฟาร์มกระต่ายเนื้อ จำนวน 2 ตัวถูกนำมาชันสูตรซากที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซากกระต่ายภายนอกมีลักษณะผอม ตาลึก ขนหยอง พบคราบอุจจาระสีเขียวคล้ำติดที่โคนหางด้านใน และบริเวณขาหลัง ผลการชันสูตรซากพบว่าตับมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีก้อนนูนสีเหลืองซีดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 - 0.5 ซ.ม. แทรกกระจายอยู่ในเนื้อตับ นอกจากนี้ยังพบเนื้อตายบนเยื่อบุผิวในลำไส้เล็ก ผลการวิเคราะห์ทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับพบท่อน้ำดีมีขนาดขยายใหญ่ขึ้น ภายในท่อน้ำดีที่ขยายใหญ่นี้พบการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดี และพบแกมมีโตไซต์ และโอโอซีสต์ ของเชื้อ *Eimeria spp.* แทรกอยู่ในเยื่อบุท่อน้ำดี เช่นเดียวกับวิลไลของลำไส้ที่ถูกทำลาย พบแกมมีโตไซต์ และโอโอซีสต์ของเชื้อ *Eimeria spp.* แทรกอยู่ในวิลไลซึ่งรอยโรคที่พบดังกล่าวเกิดจากโรคบิดที่ตับจากเชื้อ *Eimeria stiedai* ร่วมกับการติดเชื้อบิดในลำไส้

การรักษาในกระต่ายตัวที่แสดงอาการป่วยให้การรักษาด้วยยาซัลฟาไดเมทท็อกซิน ขนาด 0.5 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 3 วัน และจัดการดูแลเรื่องความสะอาดของกรงเลี้ยงด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ ใช้ปูนขาวโรยบริเวณใต้พื้นกรงหลังจากรักษาและให้คำแนะนำไป ไม่พบกระต่ายในฟาร์มป่วยหรือตายเพิ่ม

***คำสำคัญ**: โรคบิดที่ตับ, Eimeria stiedai, กระต่ายเนื้อ*

[1)] หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถนนเลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100
[#] ผู้รับผิดชอบบทความ



## บทนำ

การเลี้ยงกระต่ายในปัจจุบัน เป็นการเลี้ยงเพื่อใช้เป็นสัตว์เลี้ยงสวยงามหรือเป็นเพื่อนเล่น กระต่ายยังถูกใช้เพื่อเป็นสัตว์ทดลองในการศึกษากระบวนการทางชีววิทยาในสัตว์ และเป็นแบบจำลองในการศึกษาความผิดปกติในมนุษย์ นอกจากนี้ เนื้อกระต่ายยังเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนะสูง เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูง และไขมันต่ำ (Lane, 1999) เนื้อกระต่ายจึงเป็นเนื้อสัตว์ที่ได้รับความนิยมสูงในต่างประเทศ ทำให้มีอุตสาหกรรมฟาร์มเลี้ยงกระต่ายเนื้อเพื่อการบริโภคเป็นจำนวนมาก ในประเทศไทยมีรายงานจาก Lebas และคณะ (1994) ว่าสามารถผลิตเนื้อกระต่ายได้ 18,000 ตัน สำหรับอุตสาหกรรมกระต่ายเนื้อ หนึ่งในโรคสำคัญที่ก่อให้เกิดความสูญเสียเป็นอย่างมากคือโรคบิด (Coccidiosis) สาเหตุเกิดจากเชื้อโปรโตซัว อัยเมอเรีย *(Eimeria spp.)* โรคบิดในกระต่ายแบ่งออกตามรอยโรคที่พบได้เป็นสองประเภท คือ โรคบิดที่ลำไส้ (Intestinal coccidiosis) ประกอบไปด้วยเชื้อ *Eimeria intestinalis, E. flavescens, E. magna, E. irresdua, E. piriformis, E. perforans, E. neoleporis (E. coecicola),* and *E. media* (Baker, 1998; Wilber, 1999) โดยเชื้อบิดแต่ละชนิดจะมีรอยโรคที่ลำไส้ในตำแหน่งที่แตกต่างกัน ส่วนเชื้อบิดประเภทที่สอง คือ โรคบิดที่ตับ (Hepatic coccidiosis) ซึ่งการติดเชื้อบิดที่ตับเกิดจากเชื้อ *Eimeria stiedai* จากรายงานการศึกษาในประเทศอิหร่านพบเชื้อชนิดนี้ 19.9% (Yakchali and Tehrani, 2007) ในประเทศไนจีเรียพบสูงถึง 37.4% (Musongong and Fakae, 1999) และมีรายงานในประเทศอิตาลีพบ 0.08% (Rampin et al., 2008) ลักษณะรอยโรคที่พบ คือ ตับมีขนาดใหญ่ขึ้น และพบตุ่มสีเหลือง (yellowish white nodules) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2-0.5 ซ.ม. แทรกกระจายทั่วไปในเนื้อตับ (Singla et al., 2000; van Praag, 2003; Al-Mathal, 2008) โรคบิดที่ตับในกระต่ายเนื้อเป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียในอุตสาหกรรมการเลี้ยงกระต่ายในหลายๆ ประเทศ แต่ในเมืองไทยยังไม่พบรายงานการเกิดโรคดังกล่าว

รายงานนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบถึงลักษณะภายนอกที่พบผลการชันสูตรซาก และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติที่พบจากกระต่ายลูกผสมนิวซีแลนด์ไวท์ ที่ติดเชื้อ *Eimeria stiedai* ถูกนำมาตรวจ ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## ประวัติสัตว์ป่วย

ซากกระต่ายลูกผสมนิวซีแลนด์ไวท์ (รูปที่1) สีขาว เพศผู้ อายุ 3 เดือน จำนวน 2 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 0.8 กิโลกรัม ถูกนำมาชันสูตรซากเพื่อหาสาเหตุการตายที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อวันที่ 3 กันยายน พ.ศ. 2551

***รูปที่ 1** ลักษณะภายนอกกระต่ายที่ถูกนำมาชันสูตรซาก*

***รูปที่ 2** แสดงสภาพการเลี้ยงภายในโรงเรือน*

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 64-73

จากการซักประวัติทราบว่ากระต่ายที่นำมาชันสูตรซาก มาจากฟาร์มกระต่ายเนื้อแห่งหนึ่งในจังหวัดเชียงใหม่ เป็นกระต่ายเนื้อพันธุ์ผสมนิวซีแลนด์ไวท์ โรงเรือนที่เลี้ยงเป็นโรงเรือนแบบเปิด (รูปที่ 2) กระต่ายถูกเลี้ยงในกรงลวดถักขนาด 50×50 ซ.ม. พื้นเป็นไม้ กรงเลี้ยงอยู่สูงจากพื้นประมาณ 50 ซ.ม. อาหารที่ให้เป็นหญ้าขน และผักกาดที่ล้างสะอาด น้ำที่ใช้เป็นน้ำประปา ก่อนหน้าที่จะพบสัตว์ป่วยที่โรงเรือนนี้พบปัญหาเรื่องพื้นโรงเรือนในช่วงที่ฝนตกหนักพื้นโรงเรือนจะเปียกแฉะมาก ต่อมาพบกระต่ายแสดงอาการซึม ไม่กินอาหาร ท้องเสีย และตายหลังแสดงอาการป่วยประมาณ 3-4 วัน ทางฟาร์มยังไม่ได้ให้การรักษาใดๆ ภายในช่วงเวลา 1 เดือน กระต่ายได้ตายไปแล้ว 125 ตัวจากกระต่ายทั้งหมด 135 ตัวในโรงเรือนนี้ คิดเป็นร้อยละ 92 ของกระต่ายทั้งหมด

## การตรวจร่างกายทั่วไป

กระต่ายที่นำมาชันสูตรซากทั้ง 2 ตัวมีลักษณะภายนอก ผอม ตาลึก ขนหยอง ช่องท้องตึง และพบคราบอุจจาระสีเขียวคล้ำติดที่โคนหางด้านใน และบริเวณขาหลังทั้งสองข้าง (รูปที่ 3และ4)

*รูปที่ 3 แสดงคราบมูลติดที่โคนหางและปลายขา*

*รูปที่ 4 คราบมูลติดแน่นบริเวณโคนหาง*

## ผลการผ่าชันสูตรซาก

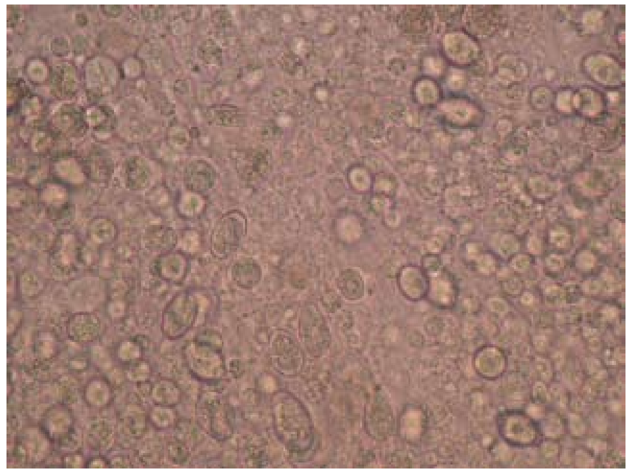
รอยโรคที่พบตับมีขนาดใหญ่ขึ้น (hepatomegaly) และมีก้อนนูนสีเหลืองซีดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2-0.5 ซ.ม. (รูปที่ 5) กระจายตัวแทรกอยู่ทั่วไปในเนื้อตับ (diffuse yellowish nodules) เมื่อฝานเนื้อตับออกดู พบผลผลิตของการอักเสบสีครีมไหลออกมา (creamy white exudates) นอกจากนี้ยังพบจุดเนื้อตายสีขาวภายในลำไส้เล็กส่วนปลาย ความยาวประมาณ 5 ซม.(รูปที่ 6)


*รูปที่ 5 ตับของกระต่ายพบก้อนนูนสีเหลืองกระจายทั่วตับ*

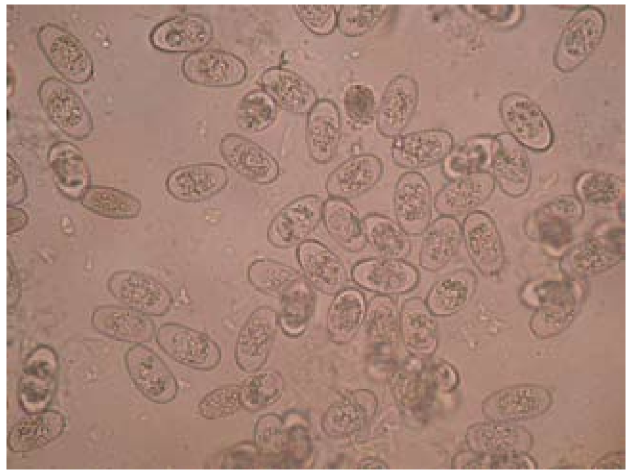

*รูปที่ 6 แสดงเนื้อตายบนเยื่อบุผิวลำไส้เล็ก*

## การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

พบ oocysts ของเชื้อบิด มากกว่า 100 oocyst / low power field จากตัวอย่างน้ำดีจากถุงน้ำดี (รูปที่ 7) และจากผนังของลำไส้เล็ก (รูปที่ 8) จากการป้ายสไลด์ (fresh smears) แล้วนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์



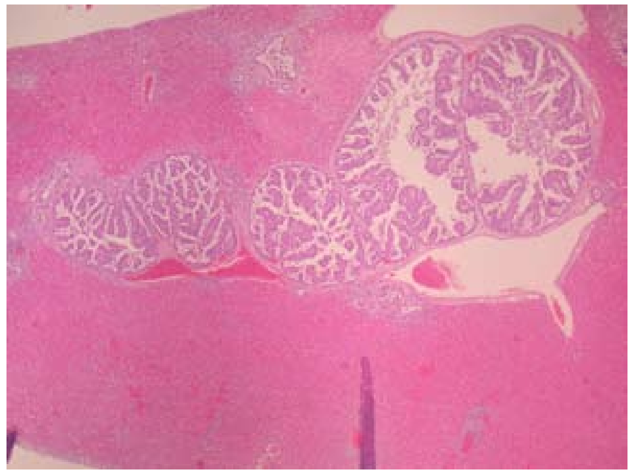
*รูปที่ 5 ตับของกระต่ายพบก้อนนูนสีเหลืองกระจายทั่วตับ*



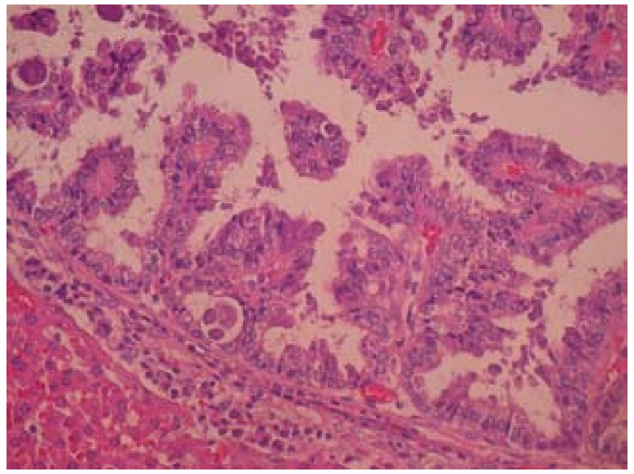
*รูปที่ 6 แสดงเนื้อตายบนเยื่อบุผิวลำไส้เล็ก*

## ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

พบการขยายขนาดของท่อน้ำดีในตับ (dilation of bile ducts) ดังรูปที่ 9 บริเวณรอบๆ ท่อน้ำดีพบเนื้อเยื่อประสานและเซลล์อักเสบชนิดลิมโฟซัยต์ (periportal fibrosis and lymphocytes infiltration) ภายในท่อน้ำดีที่ขยายใหญ่นี้พบการเพิ่มจำนวนของเซลล์เนื้อเยื่อบุท่อน้ำดี (epithelium hyper-plasia) และพบ gametocytes และ oocysts จำนวนมากแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อบุท่อน้ำดีบริเวณรอบๆ ท่อน้ำดี (รูปที่ 10-12) พบการเสื่อมสภาพของเซลล์ตับ (degeneration of hepatocytes)

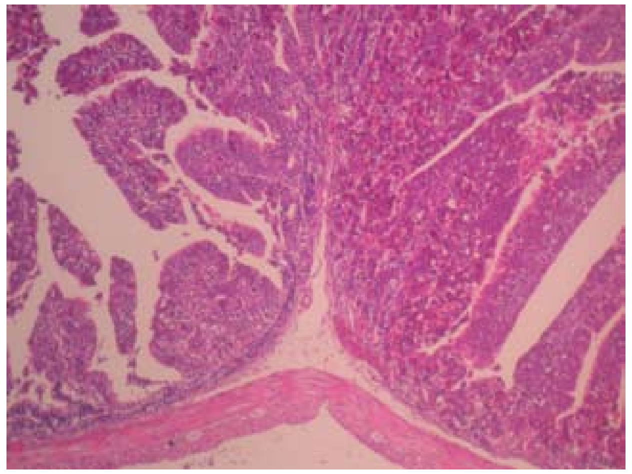


*รูปที่ 9 แสดงการโป่งพองของท่อน้ำดี (กำลังขยาย 40 เท่า)*

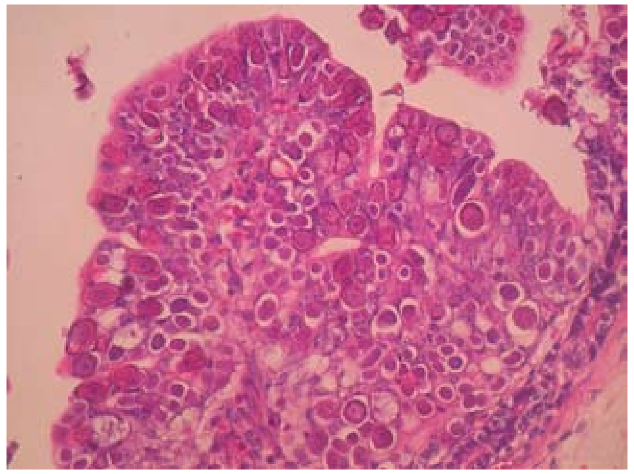


*รูปที่ 10 ลักษณะแกมมีโตไซต์และโอโอซีสต์ ในท่อน้ำดี และเซลล์เยื่อบุผนังท่อน้ำดี (กำลังขยาย 400 เท่า)*

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 64-73



***รูปที่*** *11 โครงสร้างของลำไส้ที่พบความผิดปกติ (กำลังขยาย 100 เท่า)*



***รูปที่*** *12 ลักษณะแกมมีโตไซต์และโอโอซีสต์ ในลำไส้ (กำลังขยาย 400 เท่า)*

## การวินิจฉัย

จากข้อมูลทั้งหมด พบว่ากระต่ายมีวิการบ่งโรคของโรคบิดที่ตับในกระต่าย (Pathognomonic lesion) แสดงให้เห็นว่า กระต่ายติดเชื้อบิดชนิดมีรอยโรคที่ตับ (Hepatic coccidiosis) ซึ่งน่าจะเกิดจากเชื้อ *Eimeria stiedai* (Percy and Barthold, 1993) และมีการติดเชื้อบิดที่ลำไส้ร่วมด้วย ทั้งนี้ทางหน่วยชันสูตรโรคสัตว์จึงได้ให้คำแนะนำแก่เจ้าของฟาร์ม โดย ให้การรักษากระต่ายตัวที่เหลืออยู่ทั้งหมดด้วยยา Sulphadimethoxin 0.5 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร ลงในน้ำที่กระต่ายกิน เป็นเวลา 3 วัน และดูแลเรื่องความสะอาดของกรงเลี้ยงด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อกลุ่ม Quaternary ammonium compound พยายามทำให้พื้นคอกแห้งเสมอ และใช้ปูนขาวโรยบริเวณใต้พื้นกรง

## การติดตามผล

หลังจากทางฟาร์มได้ใช้ยาดังกล่าวแล้ว 1 สัปดาห์ทางหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ ได้ทำการติดตามผลการรักษาพบว่า ไม่พบการตายของกระต่ายเพิ่ม กระต่ายตัวที่เหลือมีสุขภาพดี และกินอาหารได้ปกติ

## วิจารณ์และสรุป

Hepatic coccidiosis เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความสูญเสียในอุตสาหกรรมการเลี้ยงกระต่ายเป็นอย่างมาก โดยพบรายงานในเกือบทุกประเทศทั่วโลก (Musongong and Fakae, 1999; Singla et al., 2000; Yakchali and Tehrani, 2007; Rampin et al., 2008; Al-Mathal, 2008) ในกระต่ายที่ไม่แสดงอาการสามารถเป็นพาหะของโรคได้ โดยการขับ oocysts ออกทางอุจจาระ Cam และคณะ (2008) พบว่ากระต่ายที่เคยได้รับ oocysts แล้วได้รับการรักษายังสามารถปล่อย oocysts ได้อยู่โดยที่ไม่แสดงอาการทางคลินิก การติดเชื้อในกระต่ายจากฟาร์มในรายงานนี้สันนิษฐานว่าน่าจะได้รับมาจากกระต่ายพ่อแม่พันธุ์ แสดงว่าเมื่อกระต่ายได้รับ oocysts ในภาวะปกติจะไม่แสดงอาการ แต่เมื่อมีสาเหตุโน้มนำ เช่น สภาพการเลี้ยงไม่ดี การได้รับเชื้อบิดโดยการปนเปื้อนอุจาระจากแม่ ในอาหาร มีการติดโรคสะสม และเมื่อมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมคืออยู่ในช่วงฤดูฝน ทำให้ความชื้นในอากาศสูง การติดโรคจึงได้รุนแรง ทำให้กระต่ายแสดงอาการของโรค นอกจากนี้เชื้อยังสามารถปนเปื้อนกับสิ่งแวดล้อม ในอาหารและน้ำได้ โดยกระต่ายอายุน้อย ในช่วงอายุประมาณ 2-3 เดือน เป็นช่วงอายุที่มีการติดเชื้อและแสดงอาการรุนแรงที่สุด (Al-Mathal, 2008) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานนี้



วงจรชีวิตของเชื้อหลังจากกระต่ายกิน sporulated oocysts เข้าไปแล้ว sporozoites จะแทรกเข้าไปในชั้นเยื่อบุผนังลำไส้ (duodenal mucosa) แล้วจึงเคลื่อนตัวผ่านชั้น lamina propria เพื่อไปยังอวัยวะต่างๆ ต่อไป โดย sporozoites จะเคลื่อนตัวไปยังต่อมน้ำเหลืองที่ลำไส้ ภายใน 12 ชั่วโมง และเคลื่อนตัวไปที่ตับภายใน 48 ชั่วโมง การเคลื่อนที่ไปยังตับ sporozoites จะเคลื่อนผ่านไปทางท่อน้ำเหลือง (lymphatic vessels) และนอกจากนี้ยังพบว่า sporozoites สามารถเคลื่อนผ่านหลอดเลือด และไขกระดูกได้ (Percy and Barthold, 1993)

หลังจาก sporozoites เข้าสู่ตับ เชื้อจะเข้าไปในเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อน้ำดี แล้วเริ่มกระบวนการ schizogony จนไปถึงการสร้าง oocysts ซึ่งจะปล่อยออกไปกับน้ำดีตามท่อน้ำดีผ่านเข้าไปในลำไส้ รวมระยะเวลาตั้งแต่ได้รับ oocysts เข้าไปจนถึงปล่อย oocysts ออกมาที่ลำไส้ใช้เวลาประมาณ 15-18 วัน มีรายงานจากการทดลองว่ากระต่ายที่ได้รับ oocysts จำนวน 10,000 oocysts จะมีอัตราการตาย 40% ส่วนกระต่ายที่ได้รับ oocysts จำนวน 100,000 oocysts มีอัตราการตายสูงถึง 80% (Percy and Barthold, 1993) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความรุนแรงของอาการที่พบขึ้นอยู่กับปริมาณ oocysts ที่ได้รับโดยจะพบอาการตั้งแต่กินอาหารลดลง ผอม ซึม ท้องตึง ท้องเสียเป็นน้ำสีเขียวเข้ม บางครั้งอาจพบอาการดีซ่าน (Singla et al,2000) ตัวที่ได้รับ oocysts จำนวนมากจะตายภายใน 3-4 วัน

กระต่ายที่ตายจะพบรอยโรคเป็นก้อนนูนสีครีมขนาด 0.2-0.5 ซม. กระจายอยู่ทั่วเนื้อตับ (Singla et al., 2000; van Praag, 2003; Meredith and Rayment, 2000; Erdogmus and Eroksuz, 2006; Al-Mathal, 2008; Cam et al, 2008) คล้ายกับรอยโรคที่พบในรายงานนี้ สำหรับผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบรอยโรคที่ท่อน้ำดีขยายใหญ่ขึ้น gametocytes และ oocysts จำนวนมากแทรกอยู่ในเยื่อบุท่อน้ำดี สำหรับรอยโรคในลำไส้ที่พบการถูกทำลายของวิลไล (villi destruction) การแทรกของเซลล์อักเสบชนิดลิมโฟซัยต์ และพบ gametocytes และ oocysts จำนวนมากแทรกอยู่ที่ในเซลล์วิลไล ตายจะพบรอยโรคก้อนนูนสีครีมกระจายอยู่ทั่วเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่ารอยโรคที่ลำไส้ของกระต่ายในรายงานนี้อาจเกิดการติดเชื้อ *Eimeria spp.* ชนิดอื่นร่วมด้วย สอดคล้องกับ Yakhchali และ Tehrani (2007) ที่พบว่า 67% ของกระต่ายที่ติดเชื้อจะมีเชื้อบิดอยู่ 2-4 ชนิด สำหรับเชื้อบิดในลำไส้ที่ก่อโรคมากที่สุดในกระต่าย คือ *Eimeria intestinalis, E. flavescens* ส่วนเชื้อบิดที่ก่อโรครองลงมาคือ *E. magna, E. irresdua, E. piriformis* และเชื้อที่ก่อโรคน้อยที่สุด คือ *E. perforans, E. neoleporis (E. coecicola)* and *E. media* (Percy and Barthold, 1993; Baker, 1998; Wilber, 1999) หลังได้รับเชื้อภายใน 4-6 วัน จะแสดงอาการ ซึม ความอยากอาหารลดลง น้ำหนักลดลง ท้องเสีย และพบการตายขนหยอง การติดเชื้อจะพบที่ 6-20 สัปดาห์ โดยมีสาเหตุโน้มนำจากความเครียด การเคลื่อนย้าย หรือภาวะภูมิคุ้มกันถูกกด (van Praag, 2003) วงจรชีวิตของเชื้อบิดที่ลำไส้จะเริ่มจาก Sporulated oocyst จะปล่อย sporozoites ออกมาจะแทรกเข้าไปในชั้นเยื่อบุผนังลำไส้ (duodenal mucosa) จากนั้นจึงเคลื่อนตัวไปที่ลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileum) พร้อมกับแบ่งตัวและปล่อย oocysts ไปพร้อมกับมูลของกระต่ายในกระต่ายที่ป่วย เมื่อผ่าชันสูตรซากจะพบมูลสีดำลักษณะเป็นน้ำ และมีกลิ่นเหม็นที่ลำไส้ใหญ่ และกระพุ้งไส้ใหญ่ เมื่อตรวจชิ้นเนื้อบริเวณที่มีรอยโรคจะพบการตายของเยื่อบุผิว แผลหลุมเยื่อเมือก การถูกทำลายของวิลไล การแทรกของเซลล์อักเสบชนิดลิมโฟซัยต์ และพบ gametocytes และ oocysts ในเซลล์วิลไล

วิธีการตรวจโรคบิดทำได้โดยการทำสเมียร์จากน้ำดี และการทำการประทับรอยพิมพ์ (Impression Smear) จากตับที่พบรอยโรคจะพบ oocysts จำนวนมาก วิธีดังกล่าวจึงเป็นประโยชน์อย่างมากในการวินิจฉัยโรค นอกจากนี้การตรวจค่าเคมีในเลือดที่บ่งชี้

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 64-73

การทำงานของตับ ได้แก่ serum bilirubin, ALP, ALT, AST และ GGT (Meredith and Rayment, 2000; van Praag, 2003) เมื่อไม่นานมานี้ Cam และคณะ (2008) ยังได้รายงานว่าสามารถวินิจฉัยการเกิดรอยโรคที่ ตับได้จากการอัลตร้าซาวน์ ส่วนเชื้อบิดในลำไส้ก็ตรวจด้วย วิธี fecal floatation หรือขูดตรวจจากเยื่อเมือกในลำไส้จะพบ จะพบ oocysts จำนวนมาก (Wilber, 1999) เช่นกัน วิธีการที่กล่าวทั้งหมดสามารถใช้ช่วยในการตรวจวินิจฉัยแยกโรคในกระต่ายที่เริ่มป่วยได้

สำหรับฟาร์มนี้หลังได้รับการรักษาด้วย Sulphadimethoxine แล้วกระต่ายมีการตอบสนองต่อยาในเกณฑ์ดี โดยไม่พบการสูญเสียเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ van Praag (2003) ที่แนะนำให้ใช้ Sulphadimethoxine ปริมาณ 0.5-0.7 กรัม ต่อน้ำดื่ม 1 ลิตร, Sulphaquinoxaline ปริมาณ 1 กรัม ต่อน้ำดื่ม 1 ลิตร, หรือ Sulphadimerazine ปริมาณ 2 กรัม ต่อน้ำดื่ม 1 ลิตร หรือการรักษาด้วยการป้อนยา โดยใช้ Trimetroprim-sulfa ในขนาด 30 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน ก็ได้ผลดีเช่นกัน (Meredith and Rayment, 2000) นอกจากนี้ Toltrazuril (Baycox®) ยังมีรายงานว่าใช้แล้วได้ผลดี เมื่อให้ในขนาด 25 ppm เป็นเวลา 2 วัน (Singla et al.,2000, Cam et al, 2008)

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการเกิดโรค hepatic coccidiosis จะมีรายงานว่าสามารถรักษาแล้วได้ผลดี แต่ปัจจัยที่สำคัญที่สุดกลับเป็นการจัดการเนื่องจากกระต่ายปกติที่โตเต็มวัย เป็นพาหะนำโรคได้ ลูกกระต่ายสามารถได้รับ oocysts จากแม่ในช่วงดูดนมแล้วช่วงอายุ 2-3 เดือน ซึ่งเป็นช่วงเวลาหลังหย่านมและเป็นช่วงที่กระต่ายถูกแยกออกมาจากแม่ มีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ที่อยู่ อาหารที่กิน โดยเฉพาะการจัดการที่ไม่ดี จะเป็นสาเหตุโน้มนำให้ร่างกายกระต่ายไม่สามารถควบคุมการติดเชื้อบิดได้ (van Praag, 2003; Al-Mathal, 2008) ซึ่งถ้าในช่วงนี้กระต่ายที่ได้รับ oocysts จากแม่ หรือได้รับ oocysts จากการปนเปื้อนในอาหารที่กินเข้าไป จะทำให้มีอัตราการป่วยและตายสูงมาก จะเห็นได้ว่าหากเรามีการจัดการในกระต่ายหลังหย่านมที่ดี จะสามารถลดปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อของกระต่าย และลดปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอกในช่วงที่กระต่ายอ่อนแอ ซึ่งจะเป็นการควบคุมที่ได้ผลดีที่สุดของการจัดการโรคบิด

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ อาจารย์นายสัตวแพทย์เฉลิมชาติ สมเกิด ที่ช่วยให้ข้อมูลแนวทางการชันสูตรโรค และขอขอบคุณ คุณณัฐพงศ์ วังใน และคุณศุภโชค เทพวงศ์ ที่ช่วยให้งานทางห้องปฏิบัติการเป็นไปได้ด้วยดี



# Coccidiosis of New Zealand White rabbits in Chiang Mai Province, Thailand

Kittikorn Boonsri[1)#]

Submit 11 February 2009 / Accept 24 August 2010

## Abstract

Two dead rabbits from a commercial farm in Chiang Mai Province, Thailand were sent to the Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University with the external examination of emaciation, rough hair coat, and brown watery diarrhea. Macroscopic findings revealed multifocal necrosis in ileum and hepatomegaly with diffuse yellowish nodules (0.2 - 0.5 cm. in diameter). Dilation of bile ducts with epithelial hyperplasia were seen in the microscopic examination of the liver. The dilated bile duct and intestinal villi contained gametocytes and oocysts of *Eimeria spp.*. Bile duct epithelial hyperplasia was also noted. Based on macro and microscopic findings, hepatic coccidiosis caused by *Eimeria stiedai* with intestinal coccidiosis was likely. Sulphadimethoxin (0.5 gram / 1 liter in drinking water) with good hygienic management was prescribed to the rest of the rabbits, which showed signs of improvement post-treatment a week later.

***Keywords:*** *Hepatic coccidiosis, Eimeria stiedai, Rabbit*

[1)]Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine Chiang Mai University T. Mae-Hae, A. Mueng, Chiang Mai, 50100Thailand
[#]Corresponding Author

## เอกสารอ้างอิง

Al-Mathal, E.M. 2008. Hepatic coccidiosis of the domestic rabbit (Oryctolagus cuniculus domesticus L.) in Saudi Arabia. World J. of Zool. 3(1): 30-35.

Baker, D.A. 1998. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. Clin. Microbiol. Rev. 11(2): 231-266.

Besch-Williford, C. and Franklin, C. 2007. Clinical parasitology of laboratory rodents and rabbits. 2007 FELASA-ICLAS meeting. 11th June - 14th June 2007, Como, Italy. 40 pp.

Cam, Y., Atasever, A., Eraslan, G., Kilbar, M., Atalay, O., Beyaz, L., Inci, A. and Liman, B.C. 2008.

Eimeria stiedae: Experimental infection in rabbits and effect of treatment with totrazuril and ivermectin. Exp. Parasitol. 119: 164-172.

Erdogmus, Z.S. and ErOksuz, Y. 2006. DS hepatic coccidiosis in Angora rabbits. J. Anim. Vet. Adv. 5(6): 462-463.

Lebas, F., Coudert, P., de Rochambeau, H. and Thebault, R.G. 1994. The rabbit-husbandry, Health and Production. [Online]. Available: http://www.fao.org/docrep/t1690e/t1690e00.htm

Lane, T.J. 1999. Rabbit Production in Florida.[Online]. Available : http://hammock.ifas.ufl.edu Meridith, A. and Rayment, L. 2000. Liver disease in rabbits. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine. 9(3): 146-152.

Musongong, G.A. and Fakae, B.B. 1999. Prevalence of Eimeria stiedai infection in outbred domestic rabbits (Oryctolagus cuniculus) in Eastern Nigeria. Revue Elev. Med. Vet. Pays Trop. 52(2): 117-118.

Patton, N.M., Hagen, K.W., Gorham, J.R. and Flatt, R.E. 2008. Domestic rabbits: Disease and Parasites. Oregon: A Pacific Northwest Extension Publication. P. 21-22.

Percy, D.H. and Barthold, S.W. 1993. Rabbit. In: Pathology of laboratory rodents and rabbits. 1st . Iowa: Iowa State University Press. P. 209-210.

Rampin, F., Piccirillo, A., Schiavon, E., Poppi, L. and Grilli, G. 2008. Detection of pathological lesions in slaughtered rabbits. . Ital. J. Anim. Sci. 7: 105-111.

Singla, L.D., Juyal, P.D and Sandhu, B.S. 2000. Pathology and therapy in naturally Eimeria stiedae-infected rabbits. J. Protozool. Res.10: 185-191.

Van Praag, E.2000. Protozoal enteritis: Coccidiosis. [Online]. Available : http://www.medirabbit.com

Wilber, J.L. 1999. Pathology of the rabbit. [Online]. Available: http://www.morfz.com/Patho_RABBIT.pdf

Yakhchali, M. and Tehrani A. 2007. Eimeriosis and pathological finding in New Zealand white rabbits. J. Biol. Sci. 7(8): 1488-1491.

## คำถามท้ายเรื่อง

*1. โรคบิดที่ตับ ในกระต่ายเกิดจากเชื้อใด?*

ก. *Eimeria stiedai*

ข. *Eimeria media*

ค. *Eimeria flavescens*

ง. *Eimeria nexcatrix*

*2.รอยโรคที่พบจากการผ่าซาก และ จุลพยาธิวิทยา ของโรค บิดที่ตับ?*

ก. yellowish white nodules, dilation of bile ducts with *infiltration of gametocytes and oocysts in epithelium*

ข. yellowish white foci, dilation of bile ducts with *infiltration of gametocytes and oocysts in epithelium*

ค. yellowish white nodules, dilation of bile ducts with *infiltration of gametocytes and oocysts in hepatocytes*

ง. yellowish white foci, dilation of bile ducts with *infiltration of gametocytes and oocysts in epithelium*

*3.การตรวจเชื้อบิดที่ตับสามารถตรวจในสัตว์ป่วยได้ด้วยวิธีใด*

ก. ALT, ALP, AST

ข. GGT, Bilirubin

ค. Radiography, ultrasonography

ง. ถูกทุกข้อ

*4.เชื้อโรคบิดในลำไส้ใด พบมากที่สุดในกระต่าย?*

ก. *Eimeria intestinalis, Eimeria flavescens*

ข. *Eimeria Flavescens, Eimeria magna*

ค. *Eimeria magna, Eimeria media*

ง. *Eimeria irresidua, Eimeria media*

*5.ภาวะใดที่โน้มนำให้กระต่ายเสี่ยงต่อการเกิดโรคบิดในกระต่าย*

ก. หลังหย่านม

ข. เปลี่ยนการจัดการ

ค. เปลี่ยนการให้อาหาร

ง. ถูกทุกข้อ

The Journal of Thai Veterinary Practitioners (2010) / วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย (2553) 22/1, 75-78

# เล่าเรื่องการสัมมนา respiratory disease in dogs and cats

อ.สพ.ญ.ดร.สิริลักษณ์ ดิษเสถียร

เนื่องจากได้มีโอกาสเข้าร่วมสัมมนาเรื่อง "respiratory disease in dogs and cats" ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโครงการศึกษาต่อเนื่อง จัดโดยสมาคมผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย ที่จัดขึ้นที่โรงแรมดุสิตธานี พัทยา จังหวัดชลบุรี ระหว่างวันที่ 27-29 สิงหาคม 2553 ที่ผ่านมา จึงขอมาเล่าสู่กันฟังถึงรายละเอียดคร่าวๆ ของการสัมมนาในครั้งนี้ งานสัมมนาครั้งนี้ได้รับเกียรติจาก Professor Dr. Leah Cohn จาก University of Missouri ประเทศสหรัฐอเมริกา Dr. Cohn เป็นผู้เชี่ยวชาญทางด้านโรคติดเชื้อ โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน รวมถึงโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจในสัตว์เลี้ยง งานสัมมนาในครั้งนี้ได้รับความสนใจจากทั้งชาวไทย และชาวต่างประเทศทั้งสิ้นกว่า 80 ท่าน

การสัมมนาในวันแรกเริ่มต้นขึ้น ภายหลังจากการรับประทานอาหารเย็น ท่ามกลางบรรยากาศยามเย็นริมชายทะเล Dr. Cohn เริ่มการบรรยายในหัวข้อ "A pattern based approach to respiratory distress" ซึ่งเป็นหัวข้อที่เน้นไปถึงการวินิจฉัยโรคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจโดยการพิจารณาจากรูปแบบของการหายใจลำบากที่สัตว์แสดง โดยเริ่มแรก Dr. Cohn เน้นว่าไม่จำเป็นต้องเร่งรีบในการวินิจฉัยด้วยวิธีที่ต้องใช้การจับบังคับสัตว์มากๆ เช่น การถ่ายภาพรังสี ควรเริ่มด้วยการให้ออกซิเจนสัตว์เพื่อให้สัตว์อยู่ในภาวะสงบก่อน ในระหว่างนี้สามารถวินิจฉัยถึงบริเวณที่มีความผิดปกติได้คร่าวๆ เพียงใช้วิธีการสังเกตรูปแบบการหายใจที่สัตว์แสดง และการตรวจร่างกายทั่วไป การหายใจลำบากนั้นอาจเกิดจาก 6 สาเหตุหลัก คือ 1) ความผิดปกติที่ทางเดินหายใจส่วนต้น 2) ความผิดปกติที่ทางเดินหายใจส่วนล่าง 3) ความผิดปกติที่ส่วนของเนื้อปอด 4) ความผิดปกติภายในช่องอก 5) ความผิดปกติที่ผนังช่องอกหรือกล้ามเนื้อที่เกี่ยวกับการหายใจ 6) ความผิดปกติที่ไม่ได้เกิดจากระบบทางเดินหายใจ เช่น สุนัขอาจแสดงอาการหายใจลำบาก เนื่องจากความเจ็บปวด เลือดจาง ภาวะเลือดเป็นกรด หรือ ช่องท้องขยายใหญ่ รูปแบบของลักษณะการหายใจลำบากสามารถแบ่งได้เป็น 1) การหายใจเข้าลำบาก ร่วมกับการหายใจเสียงดัง (loud inspiratory dyspnea) ซึ่งมักจะเกิดเนื่องจากความผิดปกติของทางหายใจส่วนต้น เช่น laryngeal paralysis และ extrathoracic tracheal stricture 2) การหายใจออกลำบาก ซึ่งมักพบในกรณีที่มีความผิดปกติของทางเดินหายใจส่วนล่าง เช่น feline asthma และ chronic bronchitis 3) การหายใจลำบากทั้งในช่วงหายใจเข้าและหายใจออก พบได้ในกรณีที่มีความผิดปกติที่ตัวเนื้อปอด เช่น pneumonia 4) การหายใจเข้าลำบากแต่ไม่มีเสียงดังขณะหายใจ (quiet inspiratory distress) มักเกิดเนื่องจากความผิดปกติภายในช่องอก เช่น pneumothorax และ pleural effusion

หลังจากนั้น Dr. Cohn ได้แนะนำวิธีการเก็บการตัวอย่างเพื่อการวินิจฉัยโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจเพิ่มเติม ได้แก่ การทำ tracheal lavage ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจส่วนต้น และใช้ได้ดีในกรณีโรคปอดที่มีสิ่งคัดหลั่ง (productive alveolar disease) ตัวอย่างที่ได้สามารถนำไปตรวจชนิดเซลล์ (cytologic analysis) และเพาะแยกชนิดเชื้อที่ก่อโรค (microbiologic culture) การทำ tracheal lavage สามารถแบ่งได้เป็น 2 รูปแบบ คือ การทำ endotracheal wash โดยการสอดท่อผ่านทาง endotracheal tube เป็นวิธีการที่แนะนำให้ใช้ในสุนัขตัวเล็ก ส่วนในกรณีที่สุนัขตัวใหญ่ อาจใช้วิธีการ transtracheal wash โดยการสอดท่อผ่านเข้าสู่หลอดลมใหญ่โดยตรง หากต้องการจะเก็บตัวอย่างจากทางเดินหายใจส่วนล่างในกรณีที่มีความผิดปกติที่หลอดลมฝอยหรือเนื้อปอดอาจใช้วิธี bronchoalveolar lavage ซึ่งสามารถทำได้ทั้งวิธีที่

ทำผ่านกล้อง endoscope และ วิธีที่สอดผ่าน endotracheal tube โดยไม่ต้องใช้กล้อง ในแต่ละวิธีที่กล่าวไปแล้วนั้นจะมีข้อบ่งใช้ ข้อดีและข้อเสียในการใช้ที่แตกต่างกันไป หลังจากจบการบรรยายในวันแรกสมาชิกก็แยกย้ายกันกลับเข้าห้องพักผ่อนเพื่อรอการบรรยายในวันรุ่งขึ้น

วันที่สองของการบรรยาย เริ่มต้นด้วยอาหารเช้านานาชาติ จากทางโรงแรม มีทั้ง ไทย จีน ฝรั่ง ญี่ปุ่น ให้เลือกตามชอบใจ พออิ่มหนำสำราญกับอาหารเช้ามื้อโต ก็เริ่มกลับเข้ามารับความรู้กันต่อในงานสัมมนา ภาคเช้ามีการบรรยายทั้งหมดสามหัวข้อ (ความรู้อัดแน่นจริงๆ) โดยเริ่มจาก "chronic nasal discharge in dogs and cats" ลักษณะของน้ำมูก (nasal discharge) ที่สามารถพบ ได้แก่ น้ำมูกใส (serous) น้ำมูกข้นเป็นมูก (mucous) น้ำมูกเป็นหนอง (purulent) หรือ เป็นเลือด (hemorrhagic) Dr. Cohn ได้ยกตัวอย่าง สาเหตุที่ทำให้เกิดน้ำมูกในลักษณะต่างๆ รวมทั้งการวินิจฉัยเพิ่มเติม โดยใช้กรณีศึกษาเป็นตัวอย่าง เช่น กรณีที่มีเลือดออกจากจมูก (epistaxis) หากเป็นเรื้อรังโดยมากแล้วมักจะเกิดจาก systemic disease เช่น โรคที่เกิดจากความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือด (coagulopathies) และโรคความดันโลหิตสูง โดยส่วนน้อยจะเกิดจากความผิดปกติเฉพาะที่ภายในโพรงจมูก เช่น มีสิ่งแปลกปลอม เนื้องอก หรือ เชื้อราภายในโพรงจมูก

ส่วนเรื่องที่สองของช่วงเช้า คือ เรื่องเกี่ยวภาวะหลอดลมตีบ (tracheal collapse) ซึ่งเป็นภาวะที่สามารถพบได้มากในสุนัขพันธุ์เล็ก เช่น ชิวาวา ยอกเชียร์ เทอเรีย ปอมเมอเรเนียน พุดเดิ้ล tracheal collapse เป็นสาเหตุสำคัญของอาการไอเรื้อรัง ซึ่งเกิดเนื่องจากขนาดของหลอดลมที่ตีบแคบลง ร่วมกับการเสียหน้าที่ของ cilia ที่ชั้นเยื่อบุของหลอดลม Dr. Cohn ได้กล่าวถึงวิธีการวินิจฉัยด้วยวิธีการต่างๆ เช่น radiography fluoroscopy bronchoscopy รวมถึงวิธีการรักษา ทั้งการรักษาทางยา เช่น การใช้ยาลดอาการไอ (cough suppressants) ยาลดการอักเสบ (anti-inflammatory drugs) และยาขยายหลอดลม (bronchodilators) รวมถึงการรักษาทางศัลยกรรม โดยเฉพาะการใช้ลวดถ่างขยายหลอดลม (intraluminal stent placement)

ส่วนการรักษา bacterial pneumonia เป็นหัวข้อสุดท้ายสำหรับการบรรยายในภาคเช้า สาเหตุหลักของเกิดภาวะ pneumonia คือการติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งหากเป็นการติดเชื้อแบคทีเรียที่ปอดโดยตรง เชื้อที่เป็นสาเหตุหลัก คือ Bordetella bronchiseptica แต่หากเป็นการติดเชื้อแทรกซ้อน มีสาเหตุมาจากหลายเชื้อ เช่น *E.coli Pasteurella Streptococcus* และ *Staphylococcus* Dr. Cohn ได้แนะนำถึงวิธีการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมในการรักษา bacterial pneumonia โดยจะพิจารณาจากความสามารถในการแพร่ผ่านของยาเข้าสู่ทางเดินหายใจ ความรุนแรงของโรค ความไวของยาต่อเชื้อ และฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ (bactericidal หรือ bacteriostatic) นอกจากนั้นยังได้มีการอธิบายถึงการใช้ยาพ่น (nebulization) ในการรักษา bacterial pneumonia ด้วย

ภายหลังจากเต็มอิ่มจากความรู้ด้วยการบรรยายภาคเช้า ก็มาเติมท้องด้วยอาหารไทยแสนอร่อยจากทางโรงแรม มีทั้งน้ำพริกไข่เค็ม แกงเขียวหวาน มัสมั่นไก่ และอื่นๆ อีกมากมาย อิ่มท้องแล้ว ก็มารับฟังเรื่องที่น่าสนใจกันต่อในภาคบ่าย เริ่มด้วยเรื่อง "emerging respiratory infections" โดยเป็นเรื่องเกี่ยวกับโรคติดเชื้อซึ่งพบการระบาดหรือแยกเชื้อได้จากสุนัขและแมวในช่วง หลังจากปี 2000 เป็นต้นมา ได้แก่ 1) canine respiratory corona virus infection ซึ่งพบการระบาดในประเทศอังกฤษในปี 2003 เชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อต่างชนิดกับ enteric coronavirus เชื้อนี้จะทำให้เกิดอาการไอ แต่โดยส่วนใหญ่แล้วสุนัขที่เป็นโรคนี้สามารถหายได้เอง 2) Streptococcus equi subspecies zooepidermicus infection ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิด hemorrhagic pneumonia และตายเฉียบพลันได้ 3) canine influenza virus infection ซึ่งเริ่มแรกเป็นการติดต่อมาจากม้า มักทำให้เกิดอาการไอเนื่องจากภาวะปอดบวม โดยมากมักเกิดการติดต่อในสุนัขที่เลี้ยงรวมกันมากๆ โรคสุดท้ายคือ 4) feline calicivirus infection เป็นโรคติดเชื้อที่มีหลาย strain นอกเหนือจาก strain ที่พบได้มากในลูกแมวที่ไม่ก่อโรครุนแรงมากนัก ยังมี strain ใหม่ที่สามารถก่อโรครุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตในแมวโตได้ด้วย

ปิดท้ายการบรรยายในวันแรกด้วยเรื่อง "feline asthma" ซึ่งเป็นโรคที่ Dr. Cohn ให้ความสนใจและมีงานวิจัยอยู่ในปัจจุบัน Dr. Cohn ได้กล่าวนำถึงสาเหตุการเกิด asthma ในแมว การวินิจฉัยรวมถึงการรักษาที่ทำอยู่ในปัจจุบัน Dr. Cohn ได้ชี้ถึงข้อดี ข้อเสียของวิธีการรักษา และยาที่ใช้ในแต่ละชนิด รวมถึงได้แนะนำขั้นตอนและแผนการรักษา feline asthma ตามอาการแสดง และความรุนแรงที่เกิดขึ้น นอกจากนั้นยังได้มีการสรุปผลงานวิจัยในปัจจุบันถึงวิธีการรักษาใหม่ๆ เช่น การใช้ inflammatory mediators และ การทำ hyposensitization

ตกเย็นวันนั้น ตามโปรแกรมคือให้สมาชิกแต่ละท่านพักผ่อนตามอัธยาศัย แต่ทาง VPAT ก็ใจดีจัดโปรแกรมเที่ยวตลาดกลางคืนและดูชมการแสดงของสาวประเภทสองเสริมให้ ส่วนตัวเลือกที่จะพักผ่อนอยู่ที่โรงแรม นั่งชิว เปิดเพลงฟัง มองวิวทะเลที่ระเบียงของห้องพัก นั่งพิมพ์บทความนี้ไปเรื่อยๆ สบายอารมณ์

.............

เริ่มเช้าวันใหม่ ด้วยอาหารเช้ามื้อหนักเหมือนเดิม วันนี้หัวข้อการบรรยายเรื่องแรก คือ canine chronic bronchitis ซึ่งเป็นโรคที่สามารถพบได้บ่อยในสุนัข โดยจะพบมากในสุนัขพันธุ์เล็ก อาการที่พบคือ อาการไอเรื้อรัง เป็นเวลานานกว่า 2 เดือน และอาจเกิดร่วมกับอาการหายใจลำบาก สาเหตุของการเกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีปัจจัยโน้มนำมากมาย เช่น มลภาวะ สิ่งแวดล้อม หรือความผิดปกติทางพันธุกรรม Dr. Cohn ได้กล่าวถึงวิธีการวินิจฉัย รวมถึงวิธีการรักษา ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการรักษาให้สุนัขหายขาดจากโรคได้ แต่มีหลายวิธีการรักษาที่ช่วยสามารถบรรเทาอาการของโรค ช่วยให้สุนัขดำรงชีวิตได้อย่างเป็นปกติ

เรื่องที่สองเป็นเรื่องที่โดยส่วนตัวแล้วคิดว่าน่าสนใจมาก คือ เรื่องเกี่ยวกับ idiopathic pulmonary fibrosis ซึ่งน่าจะสามารถพบได้บ่อยพอสมควรในทางคลินิก มีสุนัขหรือแมวหลายตัวที่มีปัญหาหายใจลำบาก ร่วมกับมีเสียง crackles lung sound โดยทั่วไปแล้วคุณหมอจะเข้าใจว่า สุนัขหรือแมวน่าจะมีปัญหา pulmonary edema แต่เมื่อให้ยาขับน้ำแล้วเสียง crackles ก็ยังไม่หายไป ในความเป็นจริงแล้วสุนัขหรือแมวตัวนั้นอาจมีปัญหา idiopathic pulmonary fibrosis ก็เป็นได้ Dr. Cohn ได้รวบรวมวิธีการที่จะช่วยวินิจฉัยภาวะดังกล่าวทั้งในสุนัขและในแมว ซึ่งมีรายละเอียดที่แตกต่างกัน ทั้งในเรื่องของอาการแสดงความผิดปกติที่ตรวจพบด้วยการตรวจร่างกาย และภาพถ่ายรังสี

เรื่องสุดท้ายของการสัมมนา คือ เรื่องเกี่ยวกับ "white pleural effusion" ซึ่งได้แก่ chylothorax และ pyothorax chyle เป็นของเหลวที่มีส่วนประกอบของน้ำเหลืองและไขมันเป็นส่วนใหญ่ การสะสมเกิดจากหลายสาเหตุด้วยกัน เช่น การฉีกขาดของท่อน้ำเหลือง ภาวะหัวใจล้มเหลว หรือเนื้องอก Dr. Cohn อธิบายถึงการตรวจวิเคราะห์ของเหลวชนิดต่างๆ (fluid analysis) รวมทั้ง chyle และได้แนะนำขั้นตอนในการจัดการสัตว์ป่วยที่มีปัญหา chylothorax ทั้งในส่วนของการรักษาทางยา รวมถึงการควบคุมอาหารและการรักษาทางศัลยกรรม ส่วนในกรณี pyothorax ซึ่งเกิดจากการสะสมของหนองภายในช่องอก Dr. Cohn ได้รวบรวมปัจจัยที่อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกินภาวะ pyothorax ทั้งในสุนัขและในแมว ซึ่งในปัจจุบันยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด นอกจากนั้นยังได้มีการแนะนำวิธีการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะ ในสัตว์ป่วยที่มีปัญหา

pyothorax รวมทั้งวิธีการรักษาอื่นๆ เช่นการทำ pleural drainage หรือ การทำ thoraxic lavage

ปิดท้ายงานสัมมนาด้วยกรณีศึกษาของสุนัขและแมวที่ป่วยด้วยโรคระบบทางเดินหายใจ ทั้งในโรคที่พบได้บ่อย เพื่อเป็นการทบทวนความรู้ที่เรียนมาทั้งหมด และโรคที่ไม่ค่อยพบ รวมทั้งวิธีการรักษาที่น่าสนใจ เช่น การใช้ปลิง หรือการใช้เครื่องดูดเสมหะ (suction) ซึ่งล้วนแล้วแต่เป็นกรณีศึกษาที่น่าตื่นเต้นและน่าสนใจทั้งสิ้น จบการสัมมนาอย่างมีความสุข ได้รับความรู้เต็มเปี่ยม ส่วนตัวแล้วหวังว่าจะได้นำความรู้ที่ได้มาใช้พัฒนาการรักษาที่ใช้อยู่ในปัจจุบันให้ดียิ่งๆ ขึ้นไป

จบการรายงานการสัมมนาครั้งนี้ขอขอบคุณทั้งทางสมาคมและวารสารผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์ฯ ที่ได้ให้โอกาสและสนับสนุนให้เข้าร่วมงานสัมมนาดีดีในครั้งนี้ ท่านสมาชิกที่สนใจอยากฟังการบรรยายโดยละเอียดสามารถสั่งจองวิดีทัศน์กับทางสมาคมได้ในเร็วๆ นี้ โปรดติดตามและเข้าร่วมงานสัมมนาในโครงการศึกษาต่อเนื่องของทางสมาคมฯ ได้ในโอกาสต่อไปค่ะ

ใบแจ้งเปลี่ยนชื่อ-นามสกุล
ที่อยู่-เบอร์โทรศัพท์

# สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย

วันที่.............เดือน...........................พ.ศ.............

เรียน นายทะเบียน
สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย

ข้าพเจ้า (น.สพ./สพ.ญ.)...............................................นามสกุล...............................................
สมาชิกสมาคมฯ เลขที่ ........................................... E-mail address.............................................
เลขที่ใบอนุญาตประกอบวิชาชีพ 01-............./25..........เลขประจำตัวประชาชน...........................
เบอร์โทรศัพท์มือถือ.............................................................................................................

ที่จัดส่งเอกสารเดิม
สถานที่ทำงาน.......................................................................................................................
สถานที่ประกอบการบำบัดโรคสัตว์...........................................................................................
เลขที่...................หมู่ที่.........ตรอก/ซอย...................................ถนน..................................
ตำบล/แขวง.............................อำเภอ/เขต...........................จังหวัด.................................
รหัสไปรษณีย์........................ โทรศัพท์.................................... โทรสาร...............................

ปัจจุบันได้เปลี่ยน ❍ ชื่อ-สกุล ❍ ที่อยู่ ❍ ที่ทำงาน ❍ หมายเลขโทรศัพท์ เป็น

ชื่อ(น.สพ./สพ.ญ.)...............................................นามสกุล...............................................
สถานที่ทำงาน.......................................................................................................................
สถานที่ประกอบการบำบัดโรคสัตว์...........................................................................................
เลขที่...................หมู่ที่.........ตรอก/ซอย...................................ถนน..................................
ตำบล/แขวง.............................อำเภอ/เขต...........................จังหวัด.................................
รหัสไปรษณีย์........................ โทรศัพท์.................................... โทรสาร...............................

จึงเรียนมาเพื่อโปรดแก้ไขทะเบียนให้ถูกต้อง และกรุณาติดต่อส่งจดหมายและเอกสารต่าง ๆ ไปยังสถานที่ใหม่ของข้าพเจ้า ตามที่ได้แจ้งมาแล้วด้วย

ลงชื่อ ..................................................................
( ................................................................ )

ไม่ถึงผู้รับโปรดส่งคืน ................................................
..............................................................................
..............................................................................
..............................................................................

ปิดแสตมป์

ส่ง

**"นายทะเบียน"**

**สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย**

559/2 ถนนประดิษฐมนูญธรรม
แขวงวังทองหลาง เขตวังทองหลาง
กรุงเทพฯ
10310

ที่ ............/ ......................

## ใบสมัครสมาชิก

# สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์ แห่งประเทศไทย

วันที่............เดือน................................พ.ศ......................

**เรียน เลขานุการ**

ข้าพเจ้า ............................................. นามสกุล ..............................................
ชื่อภาษาอังกฤษ ......................................................................................................
E-Mail ............................................ เบอร์โทรศัพท์มือถือ .....................................
อยู่บ้านเลขที่ ................ หมู่ที่ .................. ตรอก/ซอย ..........................................
ถนน .............................................. ตำบล/แขวง .................................................
อำเภอ/เขต ................................ จังหวัด ......................... รหัสไปรษณีย์ ......................
โทรศัพท์ ................................................. โทรสาร ..............................................

**สถานที่ทำงาน** ......................................................................................
เลขที่ ........................ หมู่ที่ .................. ตรอก/ซอย ..........................................
ถนน .............................................. ตำบล/แขวง .................................................
อำเภอ/เขต ................................ จังหวัด ......................... รหัสไปรษณีย์ ......................
โทรศัพท์ ................................................. โทรสาร ..............................................

**สถานที่ประกอบการบำบัดโรคสัตว์** ..........................................................
เลขที่ ........................ หมู่ที่ .................. ตรอก/ซอย ..........................................
ถนน .............................................. ตำบล/แขวง .................................................
อำเภอ/เขต ................................ จังหวัด ......................... รหัสไปรษณีย์ ......................
โทรศัพท์ ................................................. โทรสาร ..............................................

สำเร็จการศึกษาจากคณะสัตวแพทย์ศาสตร์
มหาวิทยาลัย ............................................ ปีการศึกษา .........................
สถานที่ติดต่อได้สะดวกคือ ○ ที่บ้าน ○ ที่ทำงาน

มีความประสงค์ขอสมัครเป็นสมาชิกสมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์ฯ
ประเภทสมาชิกตลอดชีพ 1,000.00 บาท พร้อมค่าลงทะเบียนแรกเข้า 100.00 บาท ชำระรวมเป็นเงินทั้งสิ้น
( ........................................................... ) โดย ○ เงินสด ○ เช็ค
○ โอนเงินผ่านธนาคารกรุงศรีอยุธยาสาขาสยามสแควร์ ชื่อบัญชี : สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์ฯ
บัญชีออมทรัพย์เลขที่ : 123 - 1 - 05392 - 4
ข้าพเจ้าขอรับรองว่าจะปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับของสมาคมฯ ทุกประการ

**สำหรับเจ้าหน้าที่**

1. รับรองในการประชุมกรรมการ
   ครั้งที่ ...................................
2. ใบเสร็จเลขที่ .........................
   ลงวันที่ .................................
3. หมายเลขสมาชิก ..................

ลงชื่อ ....................................... (ผู้สมัคร)
( ............................................ ) ตัวบรรจง
ลงชื่อ ....................................... (ผู้รับรอง)
( ............................................ ) ตัวบรรจง

ไม่ถึงผู้รับโปรดส่งคืน ...............................................
...............................................................................
...............................................................................
...............................................................................

ปิดแสตมป์

ส่ง

**"เลขานุการ"**

**สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย**

559/2 ถนนประดิษฐมนูญธรรม
แขวงวังทองหลาง เขตวังทองหลาง
กรุงเทพฯ
10310

**วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย**

THE JOURNAL OF THAI VETERINARY PRACTITIONERS

# แบบแสดงความคิดเห็น และข้อเสนอแนะ

วันที่.............เดือน.............................พ.ศ.............

**เรียน บรรณาธิการวารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย**

ข้าพเจ้า .................................................... นามสกุล ...............................................

สัตวแพทยศาสตร์บัณฑิต รุ่นที่ ............... สมาชิกสมาคมฯ เลขที่ ...............................

มี ❍ คำแนะนำ / ข้อเสนอแนะ ❍ ข้อท้วงติง เกี่ยวกับวารสารสมาคมฯ ดังนี้

1. ...........................................................................................................
2. ...........................................................................................................
3. ...........................................................................................................
4. ...........................................................................................................
5. ...........................................................................................................
6. ...........................................................................................................
7. ...........................................................................................................
8. ...........................................................................................................
9. ...........................................................................................................
10. .........................................................................................................

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ลงชื่อ ..............................................................

( ............................................................... )

ไม่ถึงผู้รับโปรดส่งคืน ..........................................................
..........................................................
..........................................................
..........................................................

ปิดแสตมป์

ส่ง

**"ผศ.น.สพ.ดร.ณุวีร์ ประภัสระกูล"**

**ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทย์ศาสตร์**

**จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

ถนนอารีย์ดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน

กทม. 10330

วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์

# กระดาษคำตอบ คำถามท้ายเล่ม

VPAT QUTZ ANSWER SHET

ฉบับที่ 1 ประจำเดือน มกราคม - มีนาคม 2553

**จงกากบาท (X) ในตัวเลือกที่ท่านเลือกตอบแต่ละข้อ**

**บทความวิจัย:** การจำแนกเชื้อ coagulase-positive staphylococci จากสุนัข

1. ก. ข. ค. ง.
2. ก. ข. ค. ง.
3. ก. ข. ค. ง.
4. ก. ข. ค. ง.
5. ก. ข. ค. ง.

**รายงานสัตว์ป่วย:** ปัญหา Subaortic stenosis ในสุนัขพันธุ์ไทย

1. ก. ข. ค. ง.
2. ก. ข. ค. ง.
3. ก. ข. ค. ง.
4. ก. ข. ค. ง.
5. ก. ข. ค. ง.

**รายงานสัตว์ป่วย:** Coccidiosis in New Zealand White rabbits

1. ก. ข. ค. ง.
2. ก. ข. ค. ง.
3. ก. ข. ค. ง.
4. ก. ข. ค. ง.
5. ก. ข. ค. ง.

ชื่อ..........................................................นามสกุล..........................................................

สมาชิกสมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย..........................................................

สมาชิกสัตวแพทย์สภา เลขที่ : ..........................................................

ที่อยู่ที่ติดต่อสะดวก..........................................................

..........................................................

โทรศัพท์ : ..........................................................

E-mail : ..........................................................

ลงชื่อ ..........................................................

(..........................................................)

ไม่ถึงผู้รับโปรดส่งคืน .............................................
...........................................................................
...........................................................................
...........................................................................

ปิดแสตมป์

ส่ง

**สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย**
559/2 ถนนประดิษฐมนูญธรรม
แขวงวังทองหลาง เขตวังทองหลาง
กรุงเทพฯ
10310

วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์

# เฉลยคำถามท้ายเรื่อง

ฉบับที่ 4 ประจำเดือน ตุลาคม - ธันวาคม 2552

**เรื่อง** การเปรียบเทียบผลการตรวจระดับแอนติบอดีต่อโรคพิษสุนัขบ้า โดยวิธี ELISA และ RFFIT

1. ก.
2. ค.
3. ง.
4. ก.
5. ง.

**เรื่อง** ทบทวนเรื่องโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์เลี้ยง

1. ง.
2. ง.
3. ค.
4. ข.
5. ก.

AD/BW บริษัท โอสแคร์ ดิสทริบิวชั่น จำกัด