

การเก็บตัวอย่าง (Sampling techniques)

จุดเริ่มต้นของการชันสูตรและวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการคือ การเก็บตัวอย่าง โดยการเก็บตัวอย่างที่ดีต้องคำนึงถึงคุณภาพของตัวอย่างที่เก็บ และปริมาณที่เหมาะสมในการเป็นตัวแทนของกลุ่มประชากร และเพียงพอในการตรวจจนบรรลุวัตถุประสงค์ของการวินิจฉัยโรค ซึ่งถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้การวินิจฉัยโรคได้ถูกต้องแม่นยำ และไม่สิ้นเปลืองทั้งเวลา และทรัพยากรที่ใช้ในการวินิจฉัยโรค การสืบสวนโรคทางระบาดวิทยามักใช้หลักทางสถิติมาช่วยในการเก็บตัวอย่าง และวิเคราะห์ข้อมูลความชุกของโรคในฝูงสุกรที่มีจำนวนประชากรต่างกัน กล่าวคือ ปริมาณตัวอย่าง (n) ที่เหมาะสมในการเก็บควรมีนัยสำคัญ (a) เท่ากับ 0.05 ณ ระดับความเชื่อมั่น (1-a) ที่ร้อยละ 95 และมีความชุกของโรค (p) ที่ร้อยละ 5 ดังนั้นในฝูงสุกรที่มีสุกรแม่พันธุ์จำนวน 500 ตัว ถ้าต้องการตรวจด้วยชุดตรวจที่มีความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) เท่ากับ 100% จะต้องเก็บตัวอย่างจำนวน 59 ตัวอย่าง โดยการคำนวณจากสูตร

$$n = \ln(a) / \ln(1-p)$$

หรืออาจใช้โปรแกรม Freecalc ทางอินเทอร์เน็ต <http://www.ausvet.com.au> ในกรณีที่ความไวของการทดสอบน้อยกว่า 100% จะใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$n = \ln(a) / \ln(1-p \times \text{Sensitivity})$$

ถ้าค่าความไวของการทดสอบมีค่าเท่ากับ 0.95 และค่าความจำเพาะของการทดสอบมีค่าเท่ากับ 1 ในสถานการณ์เดิมในฟาร์มสุกรแม่พันธุ์ดังกล่าว จำนวนตัวอย่างต้องเพิ่มเป็นจำนวน 62 ตัวอย่าง เนื่องจากความไวของการทดสอบลดลง และหากความจำเพาะของการทดสอบที่ให้ผลบวกมีน้อยกว่า 1 ตัวอย่าง ควรทำการทดสอบซ้ำกับชนิดของการทดสอบที่มีค่าความจำเพาะของการทดสอบที่สูงกว่า มิฉะนั้นตัวอย่างที่ให้ผลบวก อาจเป็นผลบวกหลวง (False positive) ก็ได้ (Cameron and Baldock, 1998) จำนวนตัวอย่างที่เหมาะสมที่ควรเก็บเพื่อส่งตรวจยังขึ้นอยู่กับขนาดของประชากร และร้อยละความชุกของโรค ที่ความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 (ตารางที่ 7.1) และสามารถอ่านเพิ่มเติมในคู่มือของ Cannon and Roe (1982)

ตารางที่ 7.1 จำนวนตัวอย่างที่เหมาะสมที่ควรเก็บเพื่อส่งตรวจตามขนาดของประชากรและความชุกของโรคที่ความเชื่อมั่น (Confidence level) ร้อยละ 95 (ดัดแปลงจาก Martin et al., 1987)

ขนาดของประชากร	ร้อยละของความชุก (Percent prevalence)											
	50	40	30	25	20	15	10	5	2	1	0.5	0.1
100	5	6	9	11	13	17	25	45	78	96	100	100
150	5	6	9	11	13	18	27	49	95	130	148	150
200	5	6	9	11	13	18	27	51	105	155	190	200
500	5	6	9	11	14	19	28	56	129	225	349	500
1,000	5	6	9	11	14	19	29	57	138	258	450	950
5,000	5	6	9	11	14	19	29	59	147	290	564	2253
10,000	5	6	9	11	14	19	29	59	148	294	581	2588
∞	5	6	9	11	14	19	29	59	149	299	596	2995

ตัวอย่างที่ส่งต้องถูกบรรจุในภาชนะที่เหมาะสม เขียนรายละเอียดที่สำคัญของตัวอย่างบนภาชนะบรรจุด้วยปากกาถาวรที่ไม่ถูกลบเมื่อเปียกน้ำหรือ ในสถานภาพอื่นๆ ทนต่ออุณหภูมิที่ถูแช่แข็งได้ และจัดส่งโดยวิธีที่เหมาะสมต่อตัวอย่างนั้นๆ พร้อมกับจดหมายระบุชื่อที่อยู่ผู้ส่งตรวจ ชนิดของตัวอย่างหรือหมายเลขประจำตัวสัตว์ ประวัติโดยละเอียด โรคหรือกลุ่มอาการที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุ และชนิดของการทดสอบที่ต้องการตรวจในของพลาสติกที่กันน้ำ รายละเอียดที่จำเป็นมีดังนี้ (OIE, 2004)

- ชื่อและที่อยู่ของเจ้าของฟาร์มพร้อมเบอร์โทรศัพท์ และโทรสาร
- ชื่อและที่อยู่ของผู้ส่งตัวอย่างพร้อมเบอร์โทรศัพท์ โทรสาร และที่อยู่อีเมล
- โรคหรือกลุ่มอาการที่สงสัย และชนิดของการทดสอบที่ต้องการตรวจ
- ชนิดสัตว์ พันธุ์ เพศ อายุ หมายเลขทะเบียนสัตว์ และจำนวนที่ส่งตรวจ
- วันที่เก็บตัวอย่าง และวันที่ส่งตัวอย่าง

- รายละเอียดตัวอย่างที่ส่งตรวจ พร้อมข้อมูลชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการขนส่ง (Transport media)

- ประวัติโดยละเอียด ประกอบด้วย ข้อมูลสัตว์ป่วย อาการทางคลินิก ช่วงอายุที่พบ โปรแกรมวัคซีน การเข้ายา ลักษณะการเลี้ยง ระยะเวลาของการป่วย ข้อมูลทางระบาดวิทยา อัตราป่วย อัตราตาย และรอยโรคที่พบในกรณีที่ทำการศึกษาชันสูตรซากมาก่อน

โดยทั่วไปการเก็บตัวอย่างหลายชนิด เช่น ตัวอย่างซีรัม และตัวอย่างชิ้นเนื้อ เพื่อตรวจทางแบคทีเรีย ไวรัสวิทยา หรือพยาธิวิทยานั้นสามารถทำได้พร้อมกันในการวินิจฉัยโรค (ตารางที่ 7.1) การเก็บตัวอย่างเพื่อการวินิจฉัยปัญหาของการป่วย หรือสาเหตุของโรคนั้นมีหลายวิธี ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการตรวจวินิจฉัย ซึ่งมีหลักการเก็บตัวอย่าง คือ การเก็บตัวอย่างตามอายุ ช่วงอายุที่ให้ลูกของแม่สุกร (Parity) และลักษณะการผลิต เช่น หลังหย่านม อนุบาล และขุน เป็นต้น หรืออาจเก็บตัวอย่างในคอก หรือช่วงอายุที่มี

ปัญหาของโรคที่ต้องการแก้ไข เช่น การเก็บตัวอย่างในสุกรกลุ่มเลี้ยงที่อยู่ในบริเวณการระบาดของโรค หรือสุกรสาวทดแทนที่เพิ่งนำเข้าสู่ออกกักโรค ซึ่งสามารถแยกได้ดังนี้

การเก็บตัวอย่างเพื่อชันสูตรซาก (Sampling techniques for necropsy)

การชันสูตรซากเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยในการวินิจฉัยโรค หรือปัญหาที่เกิดขึ้นในฟาร์มสุกร ซึ่งสามารถทำได้ทั้งในห้องปฏิบัติการ และในฟาร์มสุกร อย่างไรก็ตามการส่งตัวอย่างเพื่อชันสูตรซาก ควรส่งชันสูตรที่ห้องปฏิบัติการ ในรายที่จำเป็น อาจทำการชันสูตรในฟาร์มสุกรได้ แต่ควรระมัดระวังด้านความสะอาด และการฆ่าเชื้อบริเวณที่ปฏิบัติ เนื่องจากการเปิดผ่าซาก คือ การเปิดโอกาสให้เชื้อจุลินทรีย์ออกมาปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม และอาจส่งผลให้เชื้อโรค ติดต่อกวนเวียนอยู่ในฟาร์มอย่างไม่สิ้นสุด ดังนั้นในกรณีที่จำเป็นต้องชันสูตรสุกรในฟาร์ม ควรเลือกสถานที่ที่ห่างจากโรงเรือนเลี้ยงสุกร เช่น ที่หน้าฟาร์ม และเตรียมยาฆ่าเชื้อให้พร้อมที่จะราดทำลายเชื้อโรคหลังการปฏิบัติการชันสูตรซาก ควรคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้ทำการชันสูตรในแง่ของโรครับจากสัตว์ (Zoonosis) ระมัดระวังการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคระบาดเข้าสู่สิ่งแวดล้อม แมลงพาหะหรือวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ และยานพาหนะ สำหรับการเลือกตัวอย่างในการชันสูตรซากเพื่อการเฝ้าระวังโรค หรือเก็บข้อมูลของสาเหตุของการป่วยของโรคที่พบอยู่แล้วในฟาร์ม ควรสุ่มเก็บตัวอย่างจากลูกสุกรแคระแกร็น มาส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นระยะ อย่างน้อยทุก 3 เดือน เพื่อให้สัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มทราบถึงข้อมูลของโรคที่พบบ่อยๆ ในฟาร์ม และข้อมูลทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการรักษา ควบคุม และป้องกันโรค ซึ่งจะต่าง

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อพิสูจน์สาเหตุของโรคระบาด หรือกลุ่มอาการที่เกิดขึ้นในฟาร์มอย่างเฉียบพลัน โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อพิสูจน์สาเหตุของโรค มีหลักสำคัญดังนี้

1. การเลือกจากสุกรป่วยที่เป็นตัวแทนของกลุ่มที่มีปัญหาในฟาร์ม โดยสัตว์ที่นำมาตรวจจะต้องเป็นสัตว์ที่เริ่มแสดงอาการป่วย (Acute illness) เพื่อป้องกันปัญหาที่เกิดจากโรคแทรกซ้อน และรบกวนรอยโรคที่แท้จริง ซึ่งอาจจะทำให้ไม่สามารถหาสาเหตุแรกเริ่มได้ นอกจากนี้ควรเลือกสุกรมีชีวิต และยังไม่ได้ให้การรักษามาก่อน โดยเฉพาะการให้ยาปฏิชีวนะ เนื่องจากยาปฏิชีวนะที่สุกรป่วยได้รับ จะไปกดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่อาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคที่ต้องการตรวจในสัตว์ที่เสียชีวิตแล้วหรือสัตว์ที่ถูกทำให้ตายอย่างปราณีฆาต (Euthanasia) นั้น ควรทำการเก็บซากในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทันที และไม่ควรเก็บเกิน 24 ชั่วโมง เพื่อลดปัญหาการย่อยโรคจากการเน่าสลายหลังการตาย (Postmortem autolysis) ซึ่งรบกวนการชันสูตรวินิจฉัยโรค

2. จำนวนตัวอย่างของสุกรที่จะส่งชันสูตรขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง อายุ และมูลค่าของตัวสุกรในขณะนั้น ซึ่งควรมีจำนวนที่เหมาะสมดังนี้ (Andrews et al., 1986)

- ลูกสุกรแท้ง (หลายขนาด) จำนวน 3-5 ตัว
- ลูกสุกรแรกเกิด จำนวน 3-5 ตัว
- ลูกสุกรหย่านม จำนวน 2-3 ตัว
- สุกรที่มีน้ำหนักกระหว่าง 6.8-45.5 กิโลกรัม จำนวน 1-3 ตัว
- สุกรที่มีน้ำหนักมากกว่า 45.5 กิโลกรัม จำนวน 1 ตัว

3. ชนิดและขนาดของอวัยวะ หรือชิ้นเนื้อที่เลือกเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ นั้นขึ้นอยู่กับสาเหตุ หรือรอยโรคทางมหภาคที่พบ โดยบริเวณที่เป็นรอยต่อระหว่างรอยโรคและส่วน

ที่ปกติ ในขนาดที่พอเหมาะกับการทดสอบทางห้องปฏิบัติการที่ต้องการทดสอบ เช่น ในกรณีที่ต้องการเก็บเพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ไม่ควรเก็บตัวอย่างที่มีความหนามากกว่า 1 เซนติเมตร เป็นต้น หรือหากไม่พบรอยโรคทางมหภาค ให้ทำการเก็บอวัยวะที่สัมพันธ์กับอาการทางคลินิก เช่น เก็บปอดและต่อมน้ำเหลืองชั่วคราวจากสุกรที่มีปัญหาทางระบบทางเดินหายใจ เพื่อส่งเพาะเชื้อทางแบคทีเรียหรือไวรัส หรือเก็บลำไส้แต่ละส่วนและต่อมน้ำเหลืองชั่วคราวได้ เมื่อมีอาการทางระบบทางเดินอาหาร และเก็บสมองกรณีที่มีปัญหาทางระบบประสาท เป็นต้น หากไม่มีประวัติหรือรอยโรคที่จำเพาะควรเก็บอวัยวะที่สำคัญ เช่น สมอง ปอด ตับ ม้าม ไต หัวใจ ลำไส้ส่วนต่างๆ และต่อมน้ำเหลือง เป็นต้น

การเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา และอิมมูโนฮิสโตเคมี (Sampling techniques for histopathology and immunohistochemistry)

หลักการเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา และอิมมูโนฮิสโตเคมีนั้น มีเป้าหมายเพื่อให้ได้ชิ้นเนื้อสด ที่ได้รับการตรึงสภาพเนื้อเยื่ออย่างเหมาะสม ทั้งในด้านชนิดของน้ำยาตรึงสภาพ (Fixative) และเวลาที่ใช้ ก่อนเข้ากระบวนการทางจุลพยาธิวิทยา ทั้งนี้เพื่อให้ได้สไลด์ที่มีคุณภาพในการแปลผลการชันสูตรจากพยาธิสัตวแพทย์ดังนี้

1. น้ำยาตรึงสภาพเนื้อเยื่อที่นิยมใช้ ได้แก่ นิวทรัล บัฟเฟอร์ ฟอर्मาลิน ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (10% neutral buffered formalin) ซึ่งเตรียมโดยการผสมระหว่าง ฟอรั้มัลดีไฮด์ ความเข้มข้น (37% Formaldehyde) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (มล.) กับน้ำกลั่นปริมาตร 900 มล. แล้วเติม Sodium phosphate monobasic ปริมาณ 4.5 กรัมและ Sodium

phosphate dibasic (Anhydrous) ปริมาณ 6.5 กรัม เพื่อลดปัญหาของการเกิดเม็ดสีฟอรั้มาลิน (Formalin pigments) ระหว่างกระบวนการย้อมสีเนื้อเยื่อ

2. ชิ้นเนื้อควรมีความหนาประมาณ 5-10 มิลลิเมตร (มม.) กว้างและยาวไม่เกิน 4 เซนติเมตร ยกเว้นชิ้นเนื้อสมอง ตา และไขสันหลัง การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อเพื่อตรวจโรคทางจุลพยาธิวิทยา ควรเก็บบริเวณที่มีทั้งส่วนที่มีรอยโรคและส่วนที่ปกติอยู่ด้วยกัน และควรรีบเก็บชิ้นเนื้อแช่ในน้ำยาตรึงสภาพเนื้อเยื่อทันทีทำการชันสูตรซาก

3. ชิ้นเนื้อลำไส้ควรมีความยาวประมาณ 1-2 ซม. กรีดเปิดด้านใดด้านหนึ่ง ประมาณครึ่งหนึ่งของชิ้นเนื้อ และฉีดยาน้ำยาฟอรั้มาลินเข้าไปในลำไส้ เพื่อให้มีการตรึงสภาพของเยื่อบุลำไส้โดยเร็ว โดยก่อนจุ่มลงในน้ำยาฟอรั้มาลิน อาจใช้ปลายปากคีบหรือกรรไกรถ่างชิ้นเนื้อในน้ำยาฟอรั้มาลิน เพื่อให้เกิดการตรึงสภาพที่ดี และป้องกันการลอกหลุดของเซลล์เยื่อบุลำไส้ ซึ่งจะรบกวนการอ่านผลทางจุลพยาธิวิทยา (Blanchard, 2000)

4. เพื่อให้แยกแยะส่วนของลำไส้ได้ง่าย ควรเริ่มต้นกำหนดส่วนต่างๆ ของลำไส้ โดยเริ่มที่กระพุ้งลำไส้ใหญ่ (Cecum) ที่อยู่ระหว่างลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) และลำไส้ใหญ่ส่วนต้น (Colon) ส่วนลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) จะอยู่ต่อจากกระเพาะอาหาร และติดกับตับอ่อน

5. กรณีที่สัตว์ป่วยด้วยโรคระบบทางเดินอาหาร ควรรีบเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อของลำไส้ ก่อนที่จะทำการชันสูตรต่อไป เพื่อป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงหลังการตายของเยื่อบุลำไส้

6. ตัดเล็มเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของชิ้นเนื้อออก เช่น ไขมัน เนื้อเยื่อหรือมดแดง หรือต่อมต่างๆ และกรีดเปิดผ่าตามขวาง เพื่อให้ให้น้ำยาฟอรั้มาลินซึมเข้าเนื้อเยื่อได้อย่างรวดเร็ว ยกเว้นก้อนฝีของ

สัตว์ที่เป็นโรควันโรค ไม่ควรกรีดเปิด ทั้งนี้เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรค

7. ควรเก็บเนื้อเยื่อใส่ในน้ำยาฟอร์มาลินในอัตราส่วนของปริมาตรเนื้อเยื่อและน้ำยาฟอร์มาลินที่อัตราส่วน 1:10 และใช้เวลาในการตรึงสภาพประมาณ 24 - 48 ชั่วโมง เมื่อเนื้อเยื่อผ่านการตรึงสภาพแล้ว สามารถลดปริมาณของน้ำยาฟอร์มาลินให้น้อยลงได้ในขณะขนส่ง ในกรณีของการส่งตรวจเพื่อย้อมสีอิมมูโนฮิสโตเคมี ไม่ควรเก็บชิ้นเนื้อในน้ำยาตรึงสภาพเนื้อเยื่อเกิน 24 ชั่วโมง โดยหากแช่เก็บในน้ำยาฟอร์มาลินนาน จะทำให้อัตราการตรวจพบแอนติเจน (Antigen) ลดน้อยลง เนื่องจากการกลายสภาพของโครงร่างโปรตีนที่เป็นแอนติเจน (Rubbi et al., 1994) และส่งผลให้แอนติบอดี (Antibody) ที่ใช้ในการย้อม ไม่สามารถยึดเกาะแอนติเจนที่ต้องการได้

8. ภาชนะบรรจุควรเป็นภาชนะปากกว้างที่ป้องกันการรั่วซึมได้ดี และควรบันทึกข้อมูลสำคัญที่ภาชนะและประวัติบรรจุให้ตรงกันด้วยปากกาถาวร และไม่ควรบันทึกที่ฝาภาชนะ เนื่องจากอาจทำให้เกิดการลบเลือนของข้อมูล และความผิดพลาดในการลงทะเบียนตัวอย่าง

9. ชิ้นเนื้อที่จะทำการตรึงสภาพ ควรเป็นชิ้นเนื้อสด และไม่ได้ผ่านการแช่แข็ง เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของชิ้นเนื้อ ซึ่งจะทำให้ผลการตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี เกิดความคลาดเคลื่อน หรือมีการเปลี่ยนแปลงที่รบกวนการแปลผลรอยโรค

การเก็บและส่งตัวอย่างทางแบคทีเรีย (Sampling techniques for bacteriology)

หลักการเก็บตัวอย่างเพื่อการสัมฤทธิ์ผลสูงสุดของการตรวจทางแบคทีเรีย คือ การเพาะแยกเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคได้อย่างบริสุทธิ์ ไม่มีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียอื่นๆ ที่รบกวนการเจริญ

เติบโตของแบคทีเรียเป้าหมาย และทำให้ผลการวินิจฉัยผิดพลาด ทุกครั้งที่เก็บตัวอย่างเพื่อแยกเชื้อแบคทีเรีย หรือไวรัสไม่ควรใช้น้ำยาฆ่าเชื้อทำความสะอาดขณะทำการเก็บตัวอย่าง และควรระมัดระวังการปนเปื้อนจากแบคทีเรียในทางเดินอาหาร

1. ควรเก็บชิ้นเนื้อให้มีขนาดประมาณ 5x5x5 เซนติเมตร หรือใหญ่กว่าเล็กน้อย หรือทั้งอวัยวะ เพื่อให้มีขนาดชิ้นเนื้อเพียงพอในการฆ่าเชื้อบริเวณผิวของชิ้นเนื้อ และทำการเก็บตัวอย่างจากบริเวณชั้นในของชิ้นเนื้อได้

2. บรรจุชิ้นเนื้อลงในถุงพลาสติกที่สะอาดอย่างน้อยสองชั้น โดยเก็บแยกแต่ละอวัยวะ และผูกปากถุงให้แน่นเพื่อป้องกันน้ำเข้า

3. กรณีเก็บตัวอย่างที่สงสัยแบคทีเรียกลุ่มที่เป็น Fastidious Anaerobic หรือ Microaerophilic ควรติดต่อห้องปฏิบัติการเพื่อรับคำแนะนำในการเก็บ รักษาสภาพ และการจัดส่งตัวอย่าง เนื่องจากต้องใช้วิธีการเก็บ การขนส่ง หรือเก็บตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อพิเศษ

4. ควรเก็บตัวอย่างจากสัตว์ป่วยที่ยังไม่ได้รับการรักษาจากยาปฏิชีวนะ เพื่อป้องกันการกดการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเมื่อทำการเพาะเชื้อ

5. ตัวอย่างที่เป็นของเหลวจากอวัยวะที่เป็นถุงหุ้ม หรือช่องว่างต่างๆ ควรทำการเก็บโดยการฆ่าเชื้อบริเวณผิวที่จะเจาะด้วยความร้อน (Searing) แล้วเจาะด้วยเข็มและกระบอกฉีดยาที่สะอาด ก่อนทำการเปิด แล้วถ่ายตัวอย่างของเหลวใส่ภาชนะบรรจุที่สะอาดและปิดสนิท เพื่อการขนส่งต่อไป

6. กรณีที่เป็นลำไส้ควรทำการผูกลำไส้ให้เป็นห่วง หรือผูกแต่ละปลายของลำไส้ ให้มีความยาวของลำไส้เล็กประมาณ 6-10 ซม. หรือหากไม่ได้ผูก ควรเก็บแยกส่วนคนละถุง ลำไส้ใหญ่อาจจะเก็บให้มีหลายๆ ส่วนอยู่ติดกัน แล้ว

แยกเก็บใส่ตัวอย่างละถุง เพื่อป้องกันน้ำเข้า

7. ตัวอย่างควรเป็นตัวอย่างที่สดและควรรักษาในที่เย็นอุณหภูมิประมาณ 4 - 5 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ และควรส่งให้ถึงห้องปฏิบัติการให้เร็วที่สุด (ภายใน 24 ชม.) เพื่อป้องกันการตายของเชื้อแบคทีเรีย และป้องกันการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรค ซึ่งจะไปรบกวนการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรค

8. ถ้าได้เล็กบริเวณที่มีรอยโรคควรทำการป้ายของเหลวลงบนแผ่นสไลด์ เพื่อส่งย้อมสีแกรมเพื่อช่วยในการวินิจฉัยในกรณีที่สงสัยการติดเชื้อ *Clostridium perfringens* เนื่องจากเชืชนิดนี้สามารถเพิ่มจำนวนได้รวดเร็ว ซึ่งอาจจะทำให้การวินิจฉัยผลจากการเพาะเชื้อผิดพลาดได้

9. การเก็บตัวอย่างจะต้องสะอาด ปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อจากอวัยวะอื่น และสิ่งแวดล้อม พร้อมทั้งจดบันทึกข้อมูลที่ภาชนะเก็บตัวอย่างให้ถูกต้องเรียบร้อย

10. ตัวอย่างที่เป็นของเหลว เช่น ซีรัม เมือก ปัสสาวะ น้ำนม น้ำไขสันหลัง เป็นต้น ควรเก็บใส่ในหลอดทดลอง กระจกชนิดยา หรือถุงพลาสติกที่สะอาด กรณีที่ใช้เข็มเจาะดูด ควรถอดเข็มออก และปิดปลายกระบอกฉีดยาให้เรียบร้อย

11. ตัวอย่างสำหรับเพาะแยกเชื้อรา เช่น ผีวหนึ่ง และขน ควรเก็บใส่ถุงพลาสติกหรือซองกระดาษที่สะอาดและแห้ง ซึ่งปราศจากการปนเปื้อนของ Mineral oil ที่จะลดความสามารถในการเพาะเชื้อ และไม่มีสารปนเปื้อนของของเหลว ซึ่งจะทำให้แบคทีเรียเพิ่มจำนวนมากขึ้น และรบกวนการเพาะเชื้อรา ส่วนตัวอย่างที่ต้องการตรวจหาปรสิตภายนอก เช่น ไรซีเรื้อนในสุกร สามารถชุดตัวอย่างผีวหนึ่ง โดยเฉพาะในรูปู เก็บรักษาใน Mineral oil

การเก็บตัวอย่างเพื่อการส่งตรวจทางไวรัสวิทยา (Sampling techniques for virology)

1. ไวรัสบางชนิดถูกทำลายได้ง่ายด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ ความร้อน แสงแดด ความแห้ง ความเป็นกรด-ด่าง และความเข้มข้นของเกลือต่างๆ ดังนั้นควรเก็บตัวอย่างในขณะที่ทำการชันสูตรซากทันที และเก็บไว้ในที่เย็นตลอดเวลา จนกระทั่งส่งถึงห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บควรจะต้องสะอาด ปราศจากการปนเปื้อนของน้ำยาฆ่าเชื้อ

2. ควรเก็บตัวอย่างจากสัตว์ที่ป่วยในระยะเฉียบพลัน เพื่อเพิ่มโอกาสการแยกเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรค

3. การเก็บตัวอย่างควรเก็บให้ปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย โดยเก็บตัวอย่างสดที่ได้หลังจากการผ่าชันสูตร หรือใช้อุปกรณ์ใหม่

4. หากต้องการตรวจโดยใช้วิธีเอฟเอ (Fluorescent antibody test) โดยการตัดชิ้นเนื้อที่อุณหภูมิเยือกแข็ง (Cryostat section) ควรเก็บตัวอย่างแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และควรส่งถึงห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง ไม่ควรแช่แข็ง เนื่องจากการแช่แข็งจะทำให้เซลล์แตก และมีผลต่อการตรวจการเรืองแสงของแอนติเจน ซึ่งทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีจำเพาะที่ติดสีเรืองแสง รวมถึงอาจส่งผลให้ความสามารถในการเพาะแยกไวรัสลดลงด้วย และควรเก็บตัวอย่างที่ต้องการแยกไวรัสที่ - 80 องศาเซลเซียส เมื่อไม่สามารถปฏิบัติได้ใน 24 ชม.

5. การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจากอุจจาระ เพื่อตรวจหาอนุภาคของไวรัสโรตา (Rotavirus) และ ไวรัสโคโรนา (Coronavirus) ควรเก็บอุจจาระประมาณ 10 มิลลิลิตร หรือ 10 กรัม ตัวอย่างอุจจาระควรแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส ไม่ควรแช่แข็ง และควรส่งถึงห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง



6. การเพาะแยกไวรัสควรเก็บอวัยวะแยกในถุงพลาสติกสองชั้น ผูกปากถุงให้เรียบร้อย เพื่อป้องกันน้ำเข้า หรืออาจทำการเก็บอวัยวะรวมกันได้ แต่ควรระมัดระวังการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะจากลำไส้

7. กรณีที่สงสัยโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies) ควรติดต่อทางห้องปฏิบัติการ เพื่อขอคำแนะนำเกี่ยวกับการเก็บ การรักษาสภาพ และการจัดส่งไปยังห้องปฏิบัติการเฉพาะ เช่น สถานเสาวภา สภากาชาดไทย หรือที่ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์ ในเขตต่างๆ

การเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจทางซีรัมวิทยา และชีวเคมี (Sampling techniques for serology and serum biochemistry)

1. ควรใช้ซีรัมที่ไม่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) เนื่องจากการแตกของเม็ดเลือดแดง จะไปมีผลต่อการตรวจด้วยวิธีอีไลซ่า (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) ซึ่งทำให้ค่าที่ได้คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง โดยการแตกของเม็ดเลือดแดงอาจเกิดจากการปนเปื้อนน้ำของอุปกรณ์เก็บตัวอย่าง การเก็บตัวอย่างที่ไม่เหมาะสม การเก็บตัวอย่างเลือดในที่อุณหภูมิสูง การแช่แข็งเลือดก่อนแยกซีรัม หรือมีการปนเปื้อนของแบคทีเรีย

2. ควรทำการแยกซีรัมก่อนส่งห้องปฏิบัติการ โดยการวางที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที เพื่อให้เม็ดเลือดตกตะกอน และแยกซีรัมอยู่ข้างบน

3. ตัวอย่างซีรัมที่แยกเม็ดเลือดแดงออกแล้ว ควรเก็บโดยการแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส หรือแช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส ก่อนส่งห้องปฏิบัติการ

4. ควรเก็บซีรัมให้มีปริมาตรอย่างน้อย 0.5 - 1 มิลลิลิตร ต่อการตรวจแต่ละครั้ง และควรมีซีรัมสำรอง เพื่อป้องกันกรณีการสูญเสียซีรัม

ระหว่างการขนส่ง หรือการเสียสภาพของซีรัมจากสาเหตุต่างๆ

5. ค่าเคมีเลือดบางชนิดนั้น จะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วหลังการตาย ดังนั้นการส่งตรวจค่าเคมีเลือด ควรเก็บจากสัตว์ป่วยที่ยังมีชีวิต

6. กรณีที่เก็บซีรัมคู่ (Paired sera) ควรเก็บห่างกันไม่น้อยกว่า 2-3 สัปดาห์โดยเก็บในระยะป่วยเฉียบพลัน (Acute) และระยะที่ฟื้นโรค (Convalescent) (Kadoi, 1997) และควรจัดส่งซีรัมไปตรวจพร้อมกัน เพื่อลดความคลาดเคลื่อน จากการตรวจต่างเวลา และชุดตรวจทดสอบต่างชุด

การเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจทางโลหิตวิทยา (Sampling techniques for hematology)

1. เก็บเลือดใส่ภาชนะที่มีสารกันเลือดแข็งตัว (Anticoagulant) เช่น Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) หลังใส่เลือดในภาชนะควรผสมให้เข้ากันเบาๆ และไม่ควรรีเสีสารกันเลือดแข็งตัวมากเกินไป

2. กรณีที่สงสัยพยาธิในเม็ดเลือด ควรทำการป้ายเลือดที่ยังไม่ได้ใส่สารกันเลือดแข็งตัวเป็นฟิล์มบางๆ (Thin blood smear) ลงบนสไลด์อย่างน้อยจำนวน 2 แผ่น ซึ่งควรทำบนกระจกสไลด์ที่สะอาด เพื่อป้องกันการแตกของเม็ดเลือดแดงเมื่อสไลด์แห้งแล้วไม่ต้องแช่เย็น จุดหมายเลขตัวอย่างลงบนสไลด์ และห่อด้วยกระดาษป้องกันฝุ่นและแมลง

3. ตัวอย่างเลือดที่ผสมสารกันเลือดแข็งตัว ควรรีบส่งห้องปฏิบัติการทันที

4. กรณีต้องการตรวจ Reticulocyte count ควรรีบส่งห้องปฏิบัติการภายใน 2 ชั่วโมง



การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อส่งตรวจทางพิษวิทยา (Sampling techniques for toxicology)

1. สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการส่งตรวจทางพิษวิทยาได้แก่ ชนิดของตัวอย่าง (Specimen of choice) ปริมาณ (Amount) และการเก็บรักษา (Preservation)

2. ตัวอย่างที่เก็บส่งตรวจทางพิษวิทยาจากการชันสูตรซาก ประกอบด้วย

ซีรัม (กรณีที่สามารถเก็บได้)	10 มิลลิลิตร
ปัสสาวะ	50 มิลลิลิตร
ตับ	100 กรัม
ไต	100 กรัม
ไขมันตามร่างกาย	100 กรัม
สมอง	100 กรัม
อาหารในกระเพาะอาหาร	500 กรัม
อาหาร วัสดุอุทก หรือวัสดุที่สงสัย	500 กรัม

3. ควรเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิแช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส ขณะขนส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการ เพื่อลดการเปลี่ยนแปลงของสารพิษในตัวอย่าง กรณีที่เป็นตัวอย่างเลือด ควรเก็บแช่เย็น 4 องศาเซลเซียส เท่านั้น

4. การเก็บตัวอย่างต้องระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของขน อาหารที่ย่อยแล้ว ดิน หรือสิ่งสกปรกอื่นๆ

5. ไม่ควรล้างตัวอย่างที่ส่งตรวจ เนื่องจากอาจเป็นการเจือจางสารพิษที่มีอยู่ในตัวอย่าง

6. ภาชนะที่ใช้บรรจุควรเป็นภาชนะที่สะอาด ป้องกันการรั่วซึมได้ดี และต้องบันทึกข้อมูลตัวสัตว์ ชนิดของตัวอย่าง หรือเนื้อเยื่อที่ส่งตรวจ และเจ้าของบนภาชนะบรรจุทุกครั้ง

7. ไม่ควรใส่สารกันเสีย (Preservative) หรือสารใดๆ ลงในตัวอย่าง ยกเว้นในกรณีที่ระบุให้ใส่สารกันเสีย หรือสารอื่นๆ ในการเก็บรักษาตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจทางปรสิตวิทยา (Sampling techniques for parasitology)

1. ตัวอย่างสำหรับการตรวจหาพยาธิในทางเดินอาหารควรเป็นตัวอย่างที่เก็บจากทวารหนัก

2. ควรเก็บตัวอย่างอุจจาระปริมาณอย่างน้อย 5 มิลลิกรัม ใส่ในถุงพลาสติก หรือขวดพลาสติกที่ปิดสนิท

3. หลังเก็บตัวอย่างจากสัตว์ป่วย ควรเก็บแช่เย็นทันที รวมถึงตลอดระยะเวลาขนส่ง เพื่อป้องกันความเสียหายของพยาธิ หรือการตายของตัวอ่อนของพยาธิบางชนิด

4. หากไม่สามารถส่งได้ทันที ควรเก็บอุจจาระลงในน้ำยาฟอร์มาลิน ในอัตราส่วนอุจจาระ 1 ส่วนต่อน้ำยาฟอร์มาลินความเข้มข้น 10% ปริมาตร 2-3 ส่วน

5. ตัวอย่างพยาธิภายนอก และภายใน อาจทำการเก็บใส่ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% (Ethyl alcohol) หรือในน้ำยาฟอร์มาลินความเข้มข้น 10%

6. กรณีต้องการตรวจนับพยาธิในอุจจาระ ควรติดต่อขอรับคำแนะนำจากห้องปฏิบัติการในการเก็บตัวอย่าง

7. กรณีต้องการตรวจหาพยาธิในเลือด เช่น *Microfilaria* หรือ *Trypanosomes* เป็นต้น ควรใช้ตัวอย่างเลือดที่ผสมสารกันเลือดแข็งตัว และตัวอย่างเลือดที่ทำการป้ายเป็นแผ่นฟิล์มบางบนสไลด์อย่างน้อย 2 แผ่น

การเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจทางอณูชีววิทยา (Sampling techniques for molecular biology)

การตรวจทางอณูชีววิทยาเป็นการตรวจหาสารพันธุกรรม (Genetic materials) ของเชื้อโรคต่างๆ หรือตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค ตัวอย่างการตรวจด้วยหลักการนี้ เช่น วิธีพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR) เป็นการตรวจที่มีความไวสูง แต่ความจำเพาะต่ำ เนื่องจากมีการปนเปื้อนได้ง่าย ดังนั้นการเก็บตัวอย่างจึงต้องทำด้วยความระมัดระวังเป็นพิเศษ (Belak, 2005) ข้อควรปฏิบัติแต่ละขั้นตอนของการเก็บ การส่ง และการตรวจตัวอย่างคือ

1. การเก็บตัวอย่างควรทำด้วยความสะอาด ระวังการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย และการปนเปื้อนกันระหว่างตัวสัตว์เอง โดยเฉพาะตัวอย่างสำหรับตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ ซึ่งเป็นการตรวจที่อาศัยการเพิ่มจำนวนของสารพันธุกรรมในหลอดทดลอง จึงอาจเกิดผลบวกปลอม (False positive) ได้ง่าย

2. ตัวอย่างจะต้องสด เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงสภาพของสารพันธุกรรมจากการเปลี่ยนแปลงหลังการตาย ซึ่งจะมีผลต่อการตรวจทั้งวิธีพีซีอาร์ และ In situ hybridization (ISH)

3. กรณีที่มีปัญหาหรือข้อสงสัยในการเก็บตัวอย่าง ควรติดต่อห้องปฏิบัติการ

การบรรจุ และการจัดส่งตัวอย่าง (Packaging and shipment)

1. ภาชนะที่บรรจุตัวอย่างที่เป็นของเหลว ควรปิดปากภาชนะให้สนิท ปิดทับด้วยเทปกาวยันน้ำ และห่อทับด้วยถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่ง เพื่อป้องกันการรั่วซึม และทำการบันทึกที่ภาชนะบรรจุด้วยปากกาที่กันน้ำได้

2. ภาชนะที่เป็นแก้วควรบุด้วยฉนวนกันการกระแทกหรือใช้ภาชนะบรรจุที่เป็นพลาสติกแทน

3. ตัวอย่างจากทางเดินอาหาร ควรใส่ถุงที่ปิดสนิทแยกจากอวัยวะอื่นๆ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียจากทางเดินอาหาร หรือควรจะแยกเก็บอวัยวะในแต่ละถุง

4. ตัวอย่างควรอยู่ในภาชนะที่แช่เย็น (4-5 องศาเซลเซียส) ตลอดเวลาที่ขนส่ง ซึ่งควรใส่ถุงให้มีฉนวนและแช่น้ำแข็ง ป้องกันการปนเปื้อนน้ำของตัวอย่างเมื่อน้ำแข็งละลาย หรืออาจจะใช้ Ice pack (Refrigerant) ที่เป็นน้ำหรือเจล โดยเจลจะรักษาความเย็นได้นานกว่า การเลือกใช้วัสดุทำความเย็น ขึ้นอยู่กับปริมาณตัวอย่าง และระยะเวลาในการขนส่ง

5. การจัดส่งทำได้โดยการบรรจุตัวอย่างและวัสดุทำความเย็นลงในกล่องโฟม หรือกล่องกระดาษ ที่มีการป้องกันการรั่วซึมของน้ำได้ดี และควรใส่วัสดุกันกระแทกลงไปจนเต็มกล่อง เพื่อป้องกันไม่ให้ภาชนะบรรจุตัวอย่าง มีการกระแทก ซึ่งจะทำให้เกิดการรั่วซึม และปนเปื้อนของตัวอย่าง

6. แบบฟอร์มต่างๆ ควรใส่ถุงกันน้ำในขณะขนส่ง และควรติดไปกับตัวอย่างที่ส่งตรวจเสมอ เพื่อป้องกันการสูญหาย และการคลาดเคลื่อนระหว่างตัวอย่าง และประวัติ

7. ในการจัดส่งตัวอย่างและประวัติ ควรมีที่อยู่ติดต่อได้ของสัตวแพทย์ที่ดูแล และเจ้าของฟาร์ม โดยละเอียด

8. ควรจัดส่งตัวอย่างให้ถึงห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง และควรส่งในวันทำการ หากมีความจำเป็นที่จะต้องส่งในวันหยุด ควรติดต่อห้องปฏิบัติการล่วงหน้า เพื่อจะได้ทราบถึงแนวทางในการปฏิบัติ

ตารางที่ 7.2 การเก็บตัวอย่างเพื่อการวินิจฉัยโรคสุกรที่พบได้ในประเทศไทย

โรค (Disease)	สาเหตุ (Agent)	ตัวอย่างที่เก็บ (Tissue samplings)	วิธีการตรวจ (Test methods)
โรคฟิลาเรีย	PRRSV	ปอด ต่อมมน้ำเหลือง	Gross, Histopath, IHC, VI, PCR
(Porcine reproductive and respiratory syndrome)	- สายพันธุ์อเมริกา - สายพันธุ์ยุโรป	ซีรัม น้ำเชื้อ	PCR, VI, ELISA, IPMA, SN PCR
โรคไข้หวัดใหญ่สุกร (Swine influenza; SI)	Swine influenza virus	ป้ายจากจมูก ปอด	VI, PCR
โรคติดเชื้อเซอโรโคโรไวรัส	Porcine circovirus type II	ปอด	Gross, Histopath, IHC, PCR
(Porcine circovirus infection)		ซีรัม	HI ELISA
โรคติดเชื้อเมย์โคพลาสมา	Mycoplasma hyopneumoniae	ต่อมน้ำเหลือง ทอนซิล ลำไส้เล็กส่วน ปลาย ม้าม ไต น้ำเชื้อ	Gross, Histopath, IHC, PCR
(Mycoplasmosis)		ปอด	Gross, Histopath, FA, IHC, PCR
โรคปอดและเยื่อหุ้มปอดอักเสบ	A. pleuropneumoniae	ซีรัม	ELISA
(Actinobacillosis)		ปอด	Gross, Histopath, เพาะเชื้อ
โรคพาสเจอร์ลิตซิส (Pasteurellosis)	Pasteurella multocida	นำในช่องอกหรือถุงหุ้มหัวใจ	CF, ELISA
โรคสเตรปโตค็อกโคซิส (Streptococcosis)	Streptococcus suis type II	ซีรัม	Gross, Histopath, เพาะเชื้อ
โรคเกลสเซอร์ (Glasser disease)	Hemophilus parasuis	ปอด สมอง ป้ายจากเยื่อหุ้มสมองหรือ ในช่องอก-ท้อง ข้อที่มีรอยโรค	Gross, Histopath, เพาะเชื้อ
โรคพิษสุนัขบ้าเทียม (Pseudorabies; PR)	Herpesvirus	ทอนซิล สมอง	VI, FA, PCR
โรคหิวเวาต์สุกร (Classical swine fever; CSF)	Pestivirus	ทอนซิล สมอง (ตับ และม้ามถูกกักที่มีรอยโรค) ซีรัม	Gross, Histopath, IHC VN, ELISA
		ทอนซิล สมอง ต่อมมน้ำเหลือง ม้าม	Gross, Histopath, VI
		ไต ลำไส้ อวัยวะอื่นๆ ที่มีรอยโรค	
		ซีรัม	NPLA, ELISA
		ทอนซิล ม้าม ไต ลำไส้เล็กส่วนปลาย	FA

ตารางที่ 7.2 การเก็บตัวอย่างเพื่อการวินิจฉัยโรคสุกรที่พบได้ในประเทศไทย (ต่อ)

โรค (Disease)	สาเหตุ (Agent)	ตัวอย่างที่เก็บ (Tissue samplings)	วิธีการตรวจ (Test methods)
โรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and mouth disease, FMD)	Picornavirus	น้ำจาก vesicle เยื่อช่องปากหรือโรกที่มีรอยโรค หรือหัวใจลูกสุกรที่ตาย	VI, ELISA
แผลหลุมในกระเพาะอาหาร (Gastric ulcer)	Helicobacter spp. or Other factors	กระเพาะอาหารส่วน Pars esophagea อาหาร	Gross, Histopath Gross, Histopath Feed analysis, Mycotoxin
เชื้อราในกระเพาะอาหาร (Mycotic gastritis)	Candida albican	กระเพาะอาหารส่วนที่มีรอยโรค	Histopath
โรคท้องเสียจาก อี.โคไล (Enterotoxigenic E. coli)	E. coli	การขูดเยื่อบุกระเพาะอาหาร	ข้อมด้วยสี Lactophenol cotton blue
โรคอติมา จาก อี.โคไล (Edema disease)	Shigatoxin-producing E. coli	ลำไส้เล็กส่วนปลาย	เพาะเชื้อแบคทีเรีย Histopath
โรคติดเชื้อคลอสตริเดียม (Clostridium perfringens type C)	Clostridium perfringens type C	ลำไส้เล็กส่วนปลาย	เพาะเชื้อแบคทีเรีย Histopath
โรคซัลโมเนลลอส (Salmonellosis)	Salmonella spp.	สมอง กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็กส่วนที่มีรอยโรค	Gross, Histopath เพาะเชื้อแบคทีเรีย Histopath
โรคซัลโมเนลลอส (Salmonellosis)	Salmonella spp.	ปายจากเยื่อลำไส้เล็กส่วนที่มีรอยโรค ลำไส้เล็กส่วนปลายและต่อมน้ำเหลือง ของลำไส้หรือลำไส้ใหญ่ อุจจาระ ตับ ตับ ม้าม ปอด ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ ตับ ปอด	ข้อมดี่แกรม เพาะเชื้อแบคทีเรีย เพาะเชื้อแบคทีเรียที่เจริญที่ติดเชื้อใน กระแสเลือด Gross, Histopath
โรคที่จีอี (Transmissible gastroenteritis, TGE)	Coronavirus	ลำไส้เล็กส่วนกลาง และส่วนปลาย อุจจาระ ของเหลวในลำไส้ ซีรัม	FA, Histopath EM, double Ab sandwich ELISA, PCR VN
โรคพีอีดี (Porcine epidemic diarrhea, PED)	Coronavirus	ลำไส้เล็ก ซีรัม	Direct FA, IHC ELISA
โรคพีพีอี (Porcine proliferative enteropathy, PPE)	Lawsonia intracellularis	ลำไส้เล็กส่วนปลาย อุจจาระ ซีรัม	Histopath, Silver stain, IHC PCR IFA, IPMA

ตารางที่ 7.2 การเก็บตัวอย่างเพื่อการวินิจฉัยโรคสุกรที่พบได้ในประเทศไทย (ต่อ)

โรค (Disease)	สาเหตุ (Agent)	ตัวอย่างที่เก็บ (Tissue samplings)	วิธีการตรวจ (Test methods)
โรคบิดมูกเลือด (Swine dysentery, SD) และ Colonic spirochetosis	<i>Brachyspira hyodysenteriae</i> <i>Brachyspira pilosicoli</i>	ลำไส้ใหญ่ส่วนกระพุ้งไส้ต้นและส่วนขวาง อุจจาระ	Gloss, Histopath, Silver stain, IHC PCR เพราะเชื้อในภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobic)
โรคบิดในสุกร (Coccidiosis)	<i>Isospora suis</i>	ลำไส้เล็กของลูกสุกร	Histopath ป้ายเย็บลำไส้เล็กย้อมด้วยยีสต์ Giemsa
โรคฉี่หนู (Leptospirosis)	<i>Leptospira</i> spp.	อุจจาระ ไต (ในรายที่เป็นพาหะ) ตับ ตับ สมอง เลือด น้ำไขสันหลัง น้ำในช่องท้อง บัสสาวะ ซีรัม	ตรวจหา Oocysts เพาะเชื้อ เพาะเชื้อ FA PCR MAT
สารพิษเชื้อราชนิด Zealarenone	Zealarenone	อาหารหรือวัตถุดิบที่สงสัยการปนเปื้อน สารพิษเชื้อรา	ตรวจหาสารพิษเชื้อราด้วยวิธีทาง พิษวิทยา
โรคพาร์โวไวรัส (Porcine parvovirus infection)	Parvovirus	ลูกสุกรแท้ง (Aborted fetus) ที่มีความยาว (Crown-rump length) ไม่เกิน 16 ซม. หรือปอดลูกสุกรแท้งหรือรื้อน้ำในกระเพาะ อาหารลูกสุกรแท้ง ซีรัมแม่สุกรแท้ง น้ำในช่องอก	Immunofluorescence
โรคอีเพอร์ริโตซูน (Eperythrozoonosis)	<i>Eperythrozoon suis</i>	ป้ายฟิล์มบางของเลือด (Thin smear) เลือด ซีรัม	HI ย้อมสี Wright's Giemsa PCR ฉีดเข้าสู่สุกรที่ตัดม้ามออก CF, ELISA
โรคทริพาโนโซม (Trypanosomiasis)	<i>Trypanosome evansi</i>	ป้ายฟิล์มบางของเลือด (Thin smear) เลือด	ย้อมสี Wright's Giemsa ฉีดเข้าหนูทดลอง

บรรณานุกรม

- ราชบัณฑิตยสถาน 2548 ศัพท์บัญญัติ อังกฤษ-ไทย และไทย-อังกฤษ ฉบับราชบัณฑิตยสถาน รุ่น 1.1 ในรูปแบบซีดีรอม <http://www.royin.go.th>
- Andrews, J.J., Holter, J.A., Daniels, G.N., Larson, D.J., Van Alstine, W.G., Miskimins, D.W. and Schwart, K.J. 1986. Diagnostic necropsy of suckling swine. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2(1): 159-172.
- Belak, S. 2005. The molecular diagnosis of porcine viral diseases: a review. *Acta. Vet. Hung.* 53(1): 113-124.
- Blanchard, P.C. 2000. Sampling techniques for the diagnosis of digestive disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 16(1): 23-36.
- Cameron, A.R. and Baldock, F.C. 1998. A new probability formula for surveys to substantiate freedom from disease. *Prev. Vet. Med.* 34(1): 1-17.
- Cannon, R.M. and Roe, R.T. 1982. *Livestock disease surveys: A field manual for veterinarians.* Bureau of Rural Science, Department of Primary Industry. Australian Government Publishing Service, Canberra, Australia.
- Kadoi, K. 1997. Beneficial use of inactivated porcine adenovirus vaccine and antibody response of young pigs. *New Microbiol.* 20(1): 89-91.
- Martin, S.W., Meek, A.H. and Willeberg, P. 1987. *Veterinary epidemiology: principles and methods.* Iowa state Press, Ames, Iowa USA 343 pages.
- OIE (Office International des Épizooties). 2004. *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, 5th edition,* http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_summry.htm
- Rubbi, C.P., Qiu, J. and Rickwood, D. 1994. An investigation into the use of protein cross-linking agents as cell fixatives for confocal microscopy. *Eur. J. Histochem.* 38(4): 269-280.

หน่วยชั้นสูตรโรคสัตว์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

งานชั้นสูตรซาก

หน่วยพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถ.อังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทร. 0-218-9611-2, 0-2218-9619-20 โทรสาร 0-252-0779

โรงพยาบาลสุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
57 หมู่ที่ 1 ถนนทหารบก ตำบลบ่อพลับ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000
โทร. 0-3427-0968-70 ต่อ 105 โทรสาร 0-3427-0972

งานชันรุมวิทยา งานไวรัสวิทยา และงานแบคทีเรีย

หน่วยชั้นสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ชั้น 14 อาคาร 60 ปี คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถ.อังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทร. 0-2218-9604-06 โทรสาร 0-2218-9532

โรงพยาบาลสุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
57 หมู่ที่ 1 ถนนทหารบก ตำบลบ่อพลับ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000
โทร. 0-3427-0968-70 ต่อ 105 โทรสาร 0-3427-0972

งานโลหิตวิทยา

หน่วยชั้นสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ชั้น 4 อาคาร 50 ปี คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถ.อังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
โทร. 0-2218-9795 โทรสาร 0-2218-9798