



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์)

ปริญญา

คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์

สัตวแพทยศาสตร์

สาขา

คณะ

เรื่อง การตรวจหาอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ CD4:CD8 และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกในแมวที่ติดเชื้อไวรัสลิวคีเมียและ/หรือไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมว

Determination of the CD4:CD8 Ratio and Clinicopathological Findings in Cats
Infected with Feline Leukemia Virus (FeLV) and/or Feline Immunodeficiency Virus (FIV)

นามผู้วิจัย นางสาววัณศนีย์ สุขนาวี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ทัศนีย์ เจริญทรง, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จตุพร หนูสุด, ป.ร.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์กัญจน์ แก้วมงคล, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นรินทร์ อุประกรินทร์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกถ, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงสถิตี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การตรวจหาอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ CD4:CD8 และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก
ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสลิวคีเมียและ/หรือไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมว

Determination of the CD4:CD8 Ratio and Clinicopathological Findings in Cats Infected with
Feline Leukemia Virus (FeLV) and/or Feline Immunodeficiency Virus (FIV)

โดย

นางสาววัญศนี สุขเนา

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์)

พ.ศ. 2557

ขวัญศุณีย์ สุขเนา 2557: การตรวจหาอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ CD4:CD8 และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกในแมวที่ติดเชื้อไวรัสลิวคีเมียและ/หรือไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมว ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์) สาขาคลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
หลัก: อาจารย์ทัศนีย์ เจริญทรง, Ph.D. 77 หน้า

เชื้อไวรัสลิวคีเมียและเชื้อไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมว ทำให้เกิดโรคติดเชื้อไวรัสที่มีความชุกสูงทั่วโลก ส่งผลต่อระบบการสร้างเม็ดเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เหนียวนานทำให้เกิดภาวะกดภูมิคุ้มกัน การติดเชื้อแทรกซ้อน การตรวจวินิจฉัยใช้ค่าโลหิตวิทยาเป็นพื้นฐาน ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อตรวจสอบระดับภูมิคุ้มกัน จากการหาระดับเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์จากอัตราส่วน CD4:CD8 โดยใช้เทคนิค flow cytometry ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสลิวคีเมีย และ/หรือ ไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมว ร่วมกับการประเมินค่าทางโลหิตวิทยาและอาการทางคลินิก เพื่อเป็นประโยชน์ในการพยากรณ์โรค ทำการทดลองในแมว 38 ตัว แมวที่ติดเชื้อ FeLV จำนวน 10 ตัว แมวที่ติดเชื้อ FIV จำนวน 12 ตัว แมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดจำนวน 6 ตัว และแมวที่ไม่ติดเชื้อจำนวน 10 ตัว แบ่งกลุ่มตามอาการทางคลินิกเป็น 3 กลุ่มตามความรุนแรงของโรค ความผิดปกติของค่าโลหิตวิทยาในแมวก่อนที่ติดเชื้อไวรัสดังกล่าว พบการเกิดภาวะโลหิตจาง เม็ดเลือดขาวรวมต่ำ นับแยกชนิดพบเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ต่ำ มีความสัมพันธ์กับระดับของ CD4:CD8 ไม่พบความแตกต่างของ CD4:CD8 ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV และแมวที่ไม่ติดเชื้อ แมวที่ติดเชื้อ FIV มีระดับของ CD4:CD8 ต่ำกว่าแมวที่ติดเชื้อ FeLV และพบว่าแมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดพบอาการทางคลินิกและค่าโลหิตวิทยาที่ผิดปกติมากที่สุด รวมทั้งมีระดับของ CD4:CD8 ต่ำที่สุด

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Khwansanee Suknao 2014: Determination of the CD4:CD8 Ratio and Clinicopathological Findings in Cats Infected with Feline Leukemia Virus (FeLV) and/or Feline Immunodeficiency Virus (FIV). Master of Science (Veterinary Clinical Studies), Major Field: Veterinary Clinical Studies, Faculty of Veterinary Medicine. Thesis Advisor: Mrs. Tassanee Jareonsong, Ph.D. 77 pages.

Feline Leukemia Virus (FeLV) and Feline Immunodeficiency Virus (FIV) are two of the most prevalent causes of feline viral infections worldwide affect to haematopoietic system and immune system and lead to secondary infectious diseases. Using hematological parameter was basic routine. In this study, the determine CD4:CD8 ratio by flow cytometry and clinicopathological findings are useful in prognosis for those patients. This study was designed to compare clinicopathological findings and CD4:CD8 ratio in infected cats and uninfected cats. Thirty-eight cats were studied, 10 cats were infected with FeLV, 12 cats were infected with FIV, 6 cats were infected with FeLV and FIV and 10 cats were uninfected. Clinicopathological findings were scored and divided into 3 groups based on the severity of clinical signs. In infected cats the pathological changes of hematology in the infected cats are anemia, leucopenia and lymphopenia. The difference of CD4:CD8 ratio had not been found between FeLV infected cats and uninfected cats. The CD4:CD8 ratio in FIV infected cats were lower than FeLV infected cats. The most severity of clinicopathological findings and the lowest CD4:CD8 ratio were found in double viral infected cats.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อ.สพ.ญ.ดร.ทักษิณ เจริญทรง ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัย ให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจน การตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผศ.น.สพ.ดร.จตุพร หนูสุด และ อ.น.สพ.ดร.กัญจน์ แก้วมงคล กรรมการที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณทุนวิจัยของอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่สนับสนุนในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่อนุเคราะห์ในการตรวจและแปลผล flow cytometry

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้ให้กำลังใจและสนับสนุนมาตลอดในทุกเรื่อง

ขวัญศนีย์ สุขเนา
พฤษภาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	6
การตรวจเอกสาร	7
อุปกรณ์และวิธีการ	45
อุปกรณ์	45
วิธีการ	45
ผลและวิจารณ์	50
ผล	50
วิจารณ์	59
สรุปและข้อเสนอแนะ	63
สรุป	63
ข้อเสนอแนะ	63
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	65
ภาคผนวก	72
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	77

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ FeLV ในแมวแบ่งตามประเภทการติดเชื้อ	19
2	สรุประยะของโรคติดเชื้อ FLV ในแมว	34
3	ยาและสารปรับภูมิคุ้มกัน (Immunomodulators or antiviral drugs) ที่ได้รับการแนะนำให้ใช้ในการรักษา FIV	37
4	แสดงการจัดคะแนนอาการทางคลินิกที่พบในแมวที่ติดเชื้อกลุ่ม retrovirus (0=absence; 1=mild; 2=severe)	46
5	เปอร์เซ็นต์ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละชนิดตามอาการทางคลินิก	50
6	แสดงจำนวนและเปอร์เซ็นต์ของแมวในแต่ละ clinical group และความผิดปกติทางโลหิตวิทยา	58

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	จำนวนแมว (ตัว) ที่แสดงอาการทางคลินิกในแมวที่ติดเชื้อแต่ละกลุ่ม	51
2	แสดงจำนวนแมวที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มที่แสดงอาการโลหิตจาง	52
3	เปอร์เซ็นต์แมวติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มที่พบปริมาณเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นมากกว่า 55 g/L และปริมาณเกล็ดเลือดของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงที่ลดลงน้อยกว่า 30 g/dL	53
4	เปอร์เซ็นต์ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มที่พบความผิดปกติของเม็ดเลือดขาว	54
5	แสดงเปอร์เซ็นต์ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มเมื่อจัดกลุ่มตามอาการทางคลินิกเป็น 3 กลุ่ม Clinical group1 (CG1) = ไม่แสดงอาการป่วย, Clinical group2 (CG2) = แสดงอาการป่วยปานกลาง และ Clinical group3 (CG3) = แสดงอาการป่วยรุนแรง	55
6	ค่าเฉลี่ยของ CD4:CD8 ในแมวกลุ่มปกติและแมวที่ติดเชื้อแต่ละกลุ่ม โดยระดับภูมิคุ้มกันลดลงเมื่อ < 0.9	56
7	เปอร์เซ็นต์แมวที่ติดเชื้อในแต่ละกลุ่มที่มีค่า CD4:CD8 < 0.9	57
ภาพผนวกที่		
1	แสดงขั้นตอนการเตรียมหลอดตัวอย่าง (compensation) FITC-/PE- (unstained control)	73
2	แสดงขั้นตอนการเตรียมหลอดตัวอย่าง (compensation) FITC+/PE- ย้อมเฉพาะแอนติบอดีต่อ CD4 คัดเลือกด้วยสี FITC	73
3	แสดงขั้นตอนการเตรียมหลอดตัวอย่าง (compensation) FITC-/PE+ ย้อมเฉพาะแอนติบอดีต่อ CD8 คัดเลือกด้วยสี PE	74
4	แสดงขั้นตอนการเตรียมหลอดตัวอย่าง (compensation) FITC+/PE+ ย้อมแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CD4 และ CD8 คัดเลือกด้วยสี FITC และ PE	74
5	อัตราส่วน CD4:CD8 ในแมวกลุ่มปกติ พบระดับ CD4:CD8 = 0.92 (> 0.9)	75
6	อัตราส่วน CD4:CD8 แมวที่มีระดับภูมิคุ้มกันลดลงเมื่อระดับของ CD4:CD8 ที่ลดต่ำกว่า 0.9 แมวที่ติดเชื้อ FIV พบระดับ CD4:CD8 = 0.45 (< 0.9)	75

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
7 อัตราส่วน CD4:CD8 แมวที่มีระดับภูมิคุ้มกันลดลงเมื่อระดับของ CD4:CD8 ที่น้อยกว่า 0.9 แมวในกลุ่มที่ติดเชื้อ FeLV พบระดับ CD4:CD8 = 0.86	76
8 อัตราส่วน CD4:CD8 ในแมวก่อนที่ติดเชื้อ FeLV พบระดับ CD4:CD8 = 1.39 (มากกว่า 0.9)	76

การตรวจหาอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ CD4:CD8 และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกในแมวที่ติดเชื้อไวรัสลิวคีเมียและ/หรือไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมว

Determination of the CD4:CD8 Ratio and Clinicopathological Findings in Cats Infected with Feline Leukemia Virus (FeLV) and/or Feline Immunodeficiency Virus (FIV)

คำนำ

เชื้อ Feline leukemia virus (FeLV) และ Feline Immunodeficiency virus (FIV) เป็นไวรัสทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่มีความสำคัญและมีความชุกสูงทั่วโลก ความชุกของการติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดในประเทศอเมริกาพบได้ 2% ในแมวที่ยังมีสุขภาพดีปกติ และสามารถพบความชุกได้ถึง 30% ในแมวป่วย (Levy *et al.*, 2006) ความชุกของโรคในประเทศแถบเอเชียรวมทั้งประเทศไทยสูงมากกว่าประเทศในแถบอื่นของโลกเนื่องมาจากการเลี้ยงแมวอย่างหนาแน่นและเลี้ยงแบบระบบเปิด ทำให้มีโอกาสในการรับเชื้อมากกว่าแมวที่เลี้ยงในระบบปิด (Furuya *et al.*, 1968) ปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อได้แก่ แมวเพศผู้เนื่องจากมักจะมินิสัยชอบต่อสู้กัน อายุโตเต็มวัยมักจะชอบออกท่องเที่ยว และแมวที่เลี้ยงในสิ่งแวดล้อมแบบเปิด (Hartmann, 2012) ไวรัสทั้งสองชนิดจัดอยู่ในกลุ่มรีโทรไวรัส (retroviruses) แต่ FeLV เป็นเชื้อแกมมารีโทรไวรัส (gammaretrovirus) ในขณะที่ FIV จัดอยู่ในเลนติไวรัส (lentivirus) แม้ว่าไวรัสทั้งสองชนิดจะมีความใกล้เคียงกันดังกล่าว แต่มีความสามารถในการก่อโรคได้แตกต่างกัน (Collado *et al.*, 2012) เนื่องจากเชื้อ FeLV จะมีลักษณะการเรียงตัวของจีโนมอย่างพื้นฐาน ประกอบด้วยยีนที่มีความจำเป็นในการแบ่งตัวและการสร้างอนุภาคไวรัสคือยีน *gag pol* และ *env* ด้วยเหตุนี้ทำให้ไวรัสต้องอาศัยเซลล์ที่แบ่งตัวสูง มีเซลล์เป้าหมายหลักคือ เซลล์ไขกระดูก (Hoove and Mullins, 1991) ส่วน FIV นอกจากจะมียีน *gag pol* และ *env* ยังมียีน *vif* และ *tat* (Egberink, 1992) ช่วยในการสร้างโปรตีนชนิดอื่น ๆ ที่สามารถใช้ในการแบ่งตัวได้ด้วย ดังนั้นทำให้เชื้อ FIV สามารถแบ่งตัวในเซลล์ที่ไม่ต้องอาศัยการแบ่งตัวสูงได้ โดยมีเซลล์เป้าหมายหลักคือ เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และมาโครฟาจ (macrophage) (Dunham and Graham, 2008)

FeLV มีความรุนแรงในการก่อโรคมมากกว่า FIV โดยที่ FeLV ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนที่ทำให้เสียชีวิตและแสดงอาการป่วยมากกว่า FIV ประมาณหนึ่งในสามของแมวที่ติดเชื้อ FeLV มีความสัมพันธ์กับการเกิดเนื้องอก (Jerret *et al.*, 1964) และมีแมวจำนวนมากที่ติดเชื้อ FeLV เสียชีวิตเนื่องจากเกิดภาวะโลหิตจางอย่างรุนแรงและเกิดโรคแทรกซ้อนจากภาวะไขกระดูกและระบบภูมิคุ้มกันถูกทำลาย มีการศึกษาพบว่าช่วงชีวิตของแมวที่ติดเชื้อ FeLV จะสั้นลงเมื่อเทียบกับแมวที่ไม่ติดเชื้อ คือ 2.4 ปี จาก 6 ปี (Hartmann, 2012)

FIV ทำให้เกิดโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมวซึ่งสามารถเปรียบเทียบได้เช่นเดียวกับโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องในคนหรือ HIV (Human Immunodeficiency Virus) (Bendinelli, 1995) ทำให้เกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนของโรคฉวยโอกาส โรคทางระบบประสาท และการเกิดเนื้องอก (Ishida, 1989) ในการติดเชื้อตามธรรมชาติพบว่าไม่ค่อยทำให้แมวแสดงอาการป่วยที่รุนแรง แมวที่ติดเชื้อสามารถมีช่วงชีวิตที่ยืนยาวถ้าได้รับการดูแลที่เหมาะสม พบว่าแมวมักเสียชีวิตเมื่ออายุมากขึ้นโดยอาจไม่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ FIV (Clerici, 1989) มีการศึกษาพบว่าแมวที่ติดเชื้อไวรัสตามธรรมชาติจะมีการพัฒนาของโรคที่ไม่แน่นอน พบว่าแมวจะเสียชีวิตภายใน 2 ปีหลังจากที่ทำการศึกษาประมาณ 18% จะมีการพัฒนาอาการของโรคที่รุนแรงขึ้น 18% และไม่แสดงอาการป่วยมากกว่า 50% (Hartmann, 2012)

การติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดจะแสดงอาการทางคลินิกที่คล้ายคลึงกันส่งผลต่อสุขภาพของแมว โดยอาจจะไม่แสดงอาการจนแสดงอาการทางคลินิกหลายอย่าง เช่นเหนียวน้ำให้เกิดภาวะกดภูมิคุ้มกันและทำลายระบบภูมิคุ้มกัน การติดเชื้อแทรกซ้อน ส่งผลโดยตรงและโดยอ้อมต่อค่าโลหิตวิทยา (Arjona *et al.*, 2007) อาการทางคลินิกที่พบได้บ่อย มีดังนี้ เบื่ออาหาร (loss of appetite) อ่อนแรง(asthenia) ภาวะขาดน้ำ(dehydration) ต่อมมน้ำเหลืองโต(lymphadenomegaly) โลหิตจาง(anemia) ภาวะปัสสาวะบ่อยดื่มน้ำบ่อย (polyuria/polydipsia) เยื่อตาอักเสบ(conjunctivitis) ดีซ่าน(jaundice) เหงือกอักเสบ (gingivitis) ช่องปากอักเสบ (stomatitis) ความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร (digestive disorders) วิทยาของผิวหนัง (cutaneous lesions) ความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ (respiratory disorder) ความผิดปกติของระบบประสาท(neurological disorders) เนื้องอกชนิดลิมโฟมา (lymphoma) ความผิดปกติของไขกระดูก(myeloproliferative disorders) การเกิดเนื้องอกชนิดอื่น ๆ (Rojko and Hardy, 1994) การตรวจสอบการติดเชื้อไวรัสสามารถบ่งบอกถึงการติดเชื้อ ไม่ได้หมายถึงการแสดงอาการของโรค และไม่สามารถแยกแยะการติดเชื้อได้จากอาการทางคลินิก ซึ่งสัตว์ก็สามารถติดเชื้อทั้งสองชนิดได้ในเวลาเดียวกันได้ (Hartmann, 2012) การวินิจฉัยโรคติดเชื้อ FeLV และ FIV มีหลายวิธี แต่ละวิธีเป็นการตรวจหาส่วนประกอบของไวรัสที่ต่างกัน โดยการ

วินิจฉัยโดยวิธี IFA (Immunofluorescent assay) เป็นการตรวจหาแอนติเจนในเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือด เป็นวิธีมาตรฐานเพราะการให้ผลบวกต่อการทดสอบแสดงถึงภาวะติดเชื้อไวรัสและมีการเพิ่มปริมาณไวรัสในกระแสเลือด (persistent viremia) (Dunham and Graham, 2008) แต่มีข้อจำกัดที่ไม่มีบริการให้กับสัตว์แพทย์ในประเทศไทย (พรณจิตต์ และคณะ, 2531) วิธีที่สามารถทำได้คือการวินิจฉัยโรคด้วยการใช้ชุดทดสอบ ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) และ PCR (Polymerase chain reaction) แมวทุกตัวไม่ว่าจะมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อหรือไม่ ควรได้รับการตรวจสถานะการติดเชื้อรีโทรไวรัส เพื่อเป็นการวางแผนการรักษาต่อไป (Hartmann, 2012)

การรักษาแมวที่ติดเชื้อไวรัสในกลุ่มรีโทรไวรัสดังกล่าวนี้ยังไม่มี การรักษาที่จำเพาะที่ให้ผลดี รวมทั้งการใช้ยาต้านไวรัสก็ได้ผลไม่แน่นอน และมักเกิดผลแทรกซ้อนต่อสัตว์ (Hartmann, 2006) จึงเป็นการรักษาตามอาการ การรักษาโรคติดเชื้อทุติยภูมิ เพื่อทำให้แมวที่ติดเชื้อมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นการจัดการแบ่งเป็น 2 ลักษณะคือ การจัดการกับแมวที่ยังไม่แสดงอาการป่วย (asymptomatic cat) และแมวที่แสดงอาการป่วย (symptomatic cat) (Hartmann, 2012) ทั้ง FeLV และ FIV มีระยะเวลาในการติดโรคนานมาก ดังนั้นไม่มีความจำเป็นที่ทำลายแมวติดเชื้อที่ยังไม่แสดงอาการของโรค เมื่อตรวจพบว่าแมวมีเชื้อไวรัสอยู่ในร่างกายให้ทำการตรวจต่อไปว่าแมวมีโอกาสที่จะเป็นโรคแทรกซ้อนอื่น ๆ หรือไม่ เช่น ทำการตรวจเลือดหาพยาธิเม็ดเลือด *Mycoplasma haemofelis* จากเสมียร์เลือด ตรวจค่าชีวเคมี การทำงานของตับ ไต ตรวจปัสสาวะ ตรวจอุจจาระหาไข่พยาธิ ทำการถ่ายพยาธิและให้ยาป้องกันหมัดไรสม่ำเสมอ เป็นต้น (พรณจิตต์และคณะ, 2531) การตรวจร่างกายควรทำทุก ๆ 6 เดือน ถ้าแมวติดเชื้อยังมีสุขภาพดีควรแนะนำให้ทำหมันเพื่อป้องกันการออกที่ยกกัดกับแมวตัวอื่นหรือปัสสาวะไม่เป็นที่ พยายามไม่ให้แมวออกเที่ยวนอกบ้าน ลดทั้งโอกาสการติดเชื้อโรคชนิดอื่นและโอกาสการแพร่ไวรัสให้แมวอื่น (ABCD guidelines, 2006) แมวที่ติดเชื้อควรได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้ออื่น ๆ เช่นเดียวกับแมวทั่วไป เนื่องจากลิมโฟไซต์ชนิดบี (B lymphocyte) ยังทำหน้าที่ปกติ วัคซีนที่ได้รับควรเป็นวัคซีนเชื้อตาย (Hartmann, 2012) แมวติดเชื้อที่แสดงอาการป่วย จะเป็นการรักษาตามอาการที่แทรกซ้อน เช่น แมวโลหิตจางรุนแรง อาจต้องทำการถ่ายเลือด (Dunham and Graham, 2008) กรณีที่แมวติดเชื้อมีโรคจากความผิดปกติของภูมิคุ้มกัน (immune mediated diseases) เช่น ช่องปากอักเสบชนิดเซลล์ลิมโฟไซต์และพลาสมาเซลล์ (lymphocytic plasmacytic stomatitis) จำเป็นต้องให้คอร์ติโคสเตียรอยด์ (Levy, 2000) รายที่ตรวจพบปริมาณเม็ดเลือดขาวต่ำรุนแรง และไม่พบสาเหตุอื่น ๆ นอกจาก FeLV ให้ผลบวกอาจใช้ยากระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดขาวชนิดแกรนูโลไซต์ (granulocyte colony stimulating factor (G-CSF)) จนกว่าค่าเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutrophil) สูงขึ้นมาเป็นปกติ (Hartmann, 2006) การให้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตและระยะการอยู่รอดของแมว หรือการให้ยาปฏิชีวนะ

เพื่อรักษาการติดเชื้อแทรกซ้อนของการติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น จากภาวะเหงือกและช่องปากอักเสบ การติดตามดูแลแมวที่ติดเชื้อและตรวจบันทึกความผิดปกติต่อไปนี้ ช่องปากและเหงือก ฟัน คาน้ำหนักตัว การตรวจค่าทางโลหิตวิทยา (hematology) รวมถึงการตรวจนับเม็ดเลือดอย่างสมบูรณ์ (complete blood count (CBC)) รวมทั้งการตรวจค่าชีวเคมีของเลือด (blood chemistry) ที่บ่งบอกถึงการทำงานของตับ ไต และมีวิธีตรวจการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ของสัตว์ป่วยจากเชื้อไวรัส โดยการตรวจหาระดับของเม็ดเลือดขาวที่ลิมโฟไซต์ชนิด CD4 และ CD8 โดยวิธี flow cytometry (Byrne *et al.*, 2000) ซึ่งเทคนิคดังกล่าวเป็นการตรวจหาชนิดย่อยของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกัน (immunophenotyping) ด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะกับแอนติเจนที่ผิวเซลล์ (surface marker) มีความสำคัญต่อการวินิจฉัยและพยากรณ์ของโรคทางระบบภูมิคุ้มกัน เช่น โรคภูมิคุ้มกันต่อต้านตัวเอง (autoimmune) การติดเชื้อไวรัสลิคิเมีย การปลูกถ่ายไต (renal transplant) และโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง (acquired immune deficiency syndrome) (มงคล, 2557) สามารถตรวจได้ทั้งปริมาณและหน้าที่ แต่ในการศึกษาครั้งนี้ต้องการตรวจหาระดับ หรือปริมาณของลิมโฟไซต์ชนิด CD4 และ CD8 นำมาตรวจด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะกับกับแอนติเจนที่ผิวเซลล์ของลิมโฟไซต์ แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง flow cytometer การตรวจปริมาณลิมโฟไซต์สามารถตรวจเบื้องต้นด้วย CBC และ การตรวจนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว (differential count) ซึ่งประโยชน์ของการตรวจระดับภูมิคุ้มกันด้วยวิธีนี้มีประโยชน์อย่างมากในการพยากรณ์โรคและใช้ในการตัดสินใจในการรักษา การทดสอบหน้าที่ของลิมโฟไซต์สามารถทำได้ทั้งในร่างกาย (in vivo test) ที่นิยมใช้ในทางคลินิกคือ การตรวจภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์หรือ Delayed-type hypersensitivity (DTH skin test) และการทดสอบในหลอดทดลอง (in vitro test) (มงคล, 2557) การศึกษาครั้งนี้ใช้การทดสอบในหลอดทดลองจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการแยกเซลล์ลิมโฟไซต์ออกจากเซลล์อื่น ๆ ในเลือดครบ (whole blood) นิยมทำโดยวิธีเซนตริฟิวจ์โดยอาศัยสารตัวกลางที่มีความหนาแน่นไล่ระดับ (Density gradient centrifugation) โดยการปั่นแยกเลือดที่รินบนชั้นของน้ำยา Ficoll paqueTM ที่มีความถ่วงจำเพาะ 1.077 (Buoyant density) เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีนิวเคลียสหลายรูปแบบ (polymorphonuclear cells; PMN) ได้แก่ neutrophil basophil และ eosinophil ที่มีความหนาแน่นสูงกว่าจะตกอยู่ก้นหลอด ส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีนิวเคลียสรูปแบบเดียว (peripheral blood mononuclear cells; PBMC) ซึ่งประกอบด้วยทีลิมโฟไซต์ (T lymphocytes) บีลิมโฟไซต์ (B lymphocytes) NK cells (Natural Killer cells) และ โมโนไซต์ (monocytes) จะเห็นเป็นวงสีขาวตรงกลางระหว่างชั้นพลาสมาและน้ำยา Ficoll paqueTM หลังจากนั้นจะผ่านขั้นตอนการตรึงเซลล์ และย้อมสีด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะ แล้วนำผ่านเครื่อง flow cytometer ในการศึกษาจำเป็นต้องแยกเซลล์ลิมโฟไซต์ออกจากเซลล์อื่น ซึ่งเซลล์ที่ปนกันอยู่ไม่สามารถแยกได้โดยการปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ตามความหนาแน่นได้โดยง่าย จึงต้องมีเทคนิคอื่นที่สามารถแยกประเภทของเซลล์ต่างๆ ออกจากกันได้โดยมีประสิทธิภาพ (มงคล, 2557) เป็นวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์เซลล์ด้วย

การฉายแสงเลเซอร์ ลงสู่เซลล์แล้ววัดการเรืองแสงที่เกิดขึ้นบนผิวเซลล์หรือภายในเซลล์และไหลผ่านเครื่อง เทคนิคนี้มีความไวสูงสามารถวัดเซลล์จำนวนมากได้รวดเร็ว และมีความเข้มของแสงหรือขนาดของเซลล์ได้อย่างแม่นยำ อาศัยหลักการทางฟิสิกส์ ชีวเคมี และคุณสมบัติทางภูมิคุ้มกัน เพื่อใช้ในการคัดแยกเซลล์ออกมาศึกษา นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการวัดปริมาณเซลล์ (Byrne *et al.*, 2000) ดังนั้นการศึกษานี้มีเซลล์เป้าหมายคือต้องการตรวจหาระดับของเซลล์ลิมโฟไซต์ ชนิด CD4 และ CD8 ซึ่งเป็นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน CD4 lymphocytes (T helper cells) เป็นเซลล์ที่ติดไวรัส HIV ได้ง่ายที่สุดเนื่องจากมีตัวรับ (receptor) ไวรัสมากที่สุดจะถูกฆ่าอย่างรวดเร็วเมื่อมีการกระตุ้นโดยไวรัส แต่เซลล์ที่ยังไม่ถูกกระตุ้นก็อาจมีชีวิตยืนยาวแม้จะมีไวรัสอยู่ภายในเซลล์ก็ตาม แม้จะมี CD4 cells ที่ติดเชื้อไวรัสได้ในปริมาณน้อยการติดเชื้อก็สามารถทำให้ปริมาณของ CD4 ลดลงเนื่องจากการติดเชื้อ HIV จะมีการทำลายเซลล์ต้นกำเนิดซึ่งเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของ CD4 ในอีกทางหนึ่ง ส่วนเชื้อ FeLV แม้ว่าจะมีเซลล์เป้าหมายคือ เซลล์ต้นกำเนิดในไขกระดูก ไม่ได้จำเพาะต่อการทำลาย CD4 และ CD8 โดยตรง จะส่งผลต่อแมวที่ติดเชื้อ FeLV บางตัว การติดเชื้อในระยะ persistent ก็จะมีการทำลายเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันในรายที่เกิดเซลล์ลิมโฟไซต์ลดลงต่ำ CD4 T-helper lymphocytes จะลดต่ำลง (Walker *et al.*, 1994) ทำให้ CD4:CD8 ค่ากลับกันเหมือนในรายติดเชื้อ HIV บางรายลิมโฟไซต์ที่ลดลงทั้ง CD4 และ CD8 โดยส่วนโกลโคโปรตีนของไวรัส (glycoprotein 70; gp 70) มีบทบาทในการทำให้เกิดการติดเชื้อถาวรและทำให้เกิดการทำลาย CD4 และการลดลงของ CD8 จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าค่าปกติของแมวมีค่าดังนี้ T cell 77.3%, CD4 44.5%, B cell 24.1%, CD4:CD8 เท่ากับ 1.75 ถ้าอัตราส่วนลดลงน้อยกว่า 0.9 บ่งบอกว่าระดับภูมิคุ้มกันลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ (Collado *et al.*, 2012)

การหาอัตราส่วน CD4:CD8 เป็นตัวบ่งชี้ภาวะของระบบภูมิคุ้มกันและความเสี่ยงในการติดเชื้อฉวยโอกาส เพื่อจัดระยะของโรค พิจารณาการให้ยาต้านเชื้อฉวยโอกาส (Hartmann, 2006) โดยข้อมูลนำมาใช้ในการวิเคราะห์ผลร่วมกับการตรวจหาอัตราส่วน CD4:CD8 ประกอบด้วย เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ CD4 เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ CD8 ที่ได้จากเครื่อง flow cytometer และการประเมินร่วมกับค่าโลหิตวิทยา จำนวนเม็ดเลือดขาว เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ลิมโฟไซต์ และลักษณะอาการทางคลินิกที่แสดง ณ ขณะนั้น จะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการพยากรณ์โรคได้

วัตถุประสงค์

ศึกษาลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกและอัตราส่วนของ CD4:CD8 ในแมวที่ติดเชื้อ Feline Leukemia Virus (FeLV) และ/หรือ Feline Immunodeficiency Virus (FIV) เพื่อตรวจสอบติดตามระดับภูมิคุ้มกันของแมวที่ติดเชื้อ FeLV และ FIV โดยใช้เทคนิค flow cytometry ร่วมกับการประเมินลักษณะอาการทางคลินิกที่พบ เพื่อเป็นประโยชน์ในการทราบการดำเนินไปของโรค และประกอบการเลือกวิธีการรักษาที่เหมาะสม



การตรวจเอกสาร

Feline leukemia virus (FeLV) และ Feline Immunodeficiency virus (FIV) เป็นไวรัสทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่มีความสำคัญและมีความชุกสูงในแมวทั่วโลก จัดอยู่ในตระกูล retroviruses เป็นไวรัสชนิด RNA มีเอนไซม์ reverse transcriptase สามารถสังเคราะห์ DNA และ RNA ต้นแบบได้มีรูปร่างกลม มีเยื่อหุ้มไวรัส (envelope) มียีนองค์ประกอบพื้นฐาน 3 ชนิด คือ *env gag* และ *pol* เชื้อ FIV จัดอยู่ในกลุ่ม lentivirus ส่วนเชื้อ FeLV จัดอยู่ในกลุ่ม gammaretrovirus ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคมากกว่า FIV และทำให้เกิดอาการทางคลินิกที่มากกว่า (Jerret *et al.*, 1964) ประมาณหนึ่งในสามของแมวที่ติดเชื้อ FeLV จะเกี่ยวข้องกับการเกิดเนื้องอก เกิดภาวะโลหิตจาง และเกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนจากการภาวะกดภูมิคุ้มกัน เนื่องจากเชื้อไวรัสส่งผลกระทบต่อไขกระดูกและระบบภูมิคุ้มกัน ระยะการรอดชีวิตของแมวที่ติดเชื้อ FeLV เมื่อเทียบกับแมวที่ไม่ติดเชื้อจะมีอายุอยู่ได้ 2.4 ปี จาก 6 ปีเมื่อเทียบกับแมวที่ไม่ติดเชื้อ (Levy *et al.*, 2006) แมวที่แสดงอาการป่วยเนื่องจากไวรัสไปทำลายระบบภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ เกิดภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องทำให้เกิดโรคติดเชื้อแทรกซ้อนชนิดต่าง ๆ หรือไวรัสเข้าไปเปลี่ยนส่วนประกอบของ DNA ในเซลล์ ทำให้เกิดเนื้องอกของเซลล์ไขกระดูกและต่อมน้ำเหลือง (Jerret *et al.*, 1964) อย่างไรก็ตามแมวที่ติดเชื้อจำนวนมากไม่แสดงอาการป่วยเนื่องจากร่างกายสร้างภูมิต้านทานได้เพียงพอ (ABCD guidelines, 2006) ไวรัสทั้งสองชนิดนี้จะจัดอยู่ในตระกูลเดียวกัน แต่มีความแตกต่างกันในรายละเอียดของโรคดังนี้

โรคติดเชื้อไวรัสลิวคีเมียในแมว (Feline leukemia Virus Infection : FeLV)

โรคติดเชื้อไวรัสลิวคีเมีย เกิดจากเชื้อ Feline leukemia virus (FeLV) เป็น oncovirus ในตระกูล Retroviridae แมวที่ติดเชื้ออาจแสดงอาการป่วยหรือไม่แสดงอาการป่วย แมวที่แสดงอาการป่วยเนื่องจากไวรัสไปทำลายระบบภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (cell mediated immunity, CMI) เกิดภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องทำให้เกิดโรคติดเชื้อฉวยโอกาสชนิดต่าง ๆ หรือไวรัสเข้าไปเปลี่ยนส่วนประกอบของ DNA ในเซลล์ ทำให้เกิดเนื้องอกของเซลล์ไขกระดูกและต่อมน้ำเหลือง อย่างไรก็ตามแมวที่ติดเชื้อจำนวนมากไม่แสดงอาการป่วยเนื่องจากร่างกายสร้างภูมิต้านทานได้เพียงพอ W.F. Jerret รายงานการพบ FeLV เป็นครั้งแรกในปี 1964 จากกลุ่มแมวที่แสดงอาการโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphosarcoma) และนับเป็นครั้งแรก ที่มีการค้นพบว่าไวรัส เป็นสาเหตุของโรคมะเร็งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Jerret *et al.*, 1964)

1. ไวรัสสาเหตุ

FeLV เป็น gammaretrovirus ชนิด RNA สายเดี่ยว เนื่องจากเป็นเชื้อในธรรมชาติจึงเรียกว่า exogenous FeLV ในกลุ่มของ gamma retrovirus นอกจาก exogenous FeLV ยังมีไวรัสอีก 2 ชนิด คือ endogenous FeLV ซึ่งตามชื่อจะอยู่ใน genome ของแมวทุกตัวแต่ในปริมาณไม่เท่ากันและไม่สมบูรณ์พอที่จะทวีจำนวนได้และไวรัส RD 114 ซึ่งจะไม่ได้ทำให้เกิดโรคกับแมว (Rojko and Hardy, 1994) exogenous FeLV รูปร่างค่อนข้างกลม มีเปลือกหุ้มขนาด 110 นาโนเมตร มีชั้นองค์ประกอบที่สำคัญอยู่ 3 ชนิดคือ 1. *gag* (group-associated antigens) เป็นโปรตีน polypeptides ที่อยู่ตรงกลาง particle ประกอบด้วยชุดของ RNA และ โปรตีน p10 p12 และ p15C โปรตีนส่วนสำคัญที่ทำหน้าที่เป็น hexagonal capsid คือ p27 ขณะเกิด viremia โปรตีนแอนติเจน (group-specific antigen หรือ gs antigen) เหล่านี้จะพบอยู่ใน cytoplasm ของเซลล์นิวโทรฟิลและเกล็ดเลือด การตรวจพบในเลือดหรือในพลาสมาเป็นการวินิจฉัยโรคซึ่งกระทำได้โดยวิธี IFA และ ELISA 2. *pol* (polymerase enzyme) เป็นส่วนของเอนไซม์ reverse transcriptase ทำหน้าที่สังเคราะห์ DNA จากต้นแบบ RNA ประกอบด้วย protease p14 และ integrase p46 3. *env* (envelope antigens) เปลือกหุ้มรอบนอกของไวรัสประกอบด้วย transmembrane ลักษณะเป็นหนามยื่นออกไปรอบ ๆ ส่วนปลายของหนามเป็นปุ่ม (knob) เรียกส่วนนี้ว่า gp 70 เป็นแอนติเจนที่เฉพาะสำหรับ FeLV แต่ละ subgroup หรือ variant ต่าง ๆ ด้วยเหตุผลนี้ทำให้ไวรัสต้องอาศัยเซลล์ที่มีการแบ่งตัวสูง เช่น ไขกระดูก เยื่อลำไส้ จากการศึกษานี้ *in vitro* พบว่าโปรตีนที่เปลือกหุ้ม p15E เป็นส่วนที่กดภูมิคุ้มกันชนิดฟั้งเซลล์ (CMI) มีผลโดยตรงกีดการทำงานของ T-lymphocyte และการเกิดโลหิตจางชนิด non-regenerative (August, 1989) ไวรัสสูญเสีย infectivity เมื่ออยู่ในที่แห้ง ในความร้อนที่ 56°C นาน 3 นาที หรือถูกแสงอุลตราไวโอเลต (UV) จากคุณสมบัติดังกล่าวการติดเชื้อ FeLV จึงต้องเป็นการสัมผัสอย่างใกล้ชิดกับแมวป่วย ไม่มีการติดเชื้อทางลมหายใจ (aerosol) หรือผ่านทางสิ่งของเครื่องใช้ของแมวป่วยขณะเกิด viremia (Rojko and Hardy, 1994)

FeLV สามารถแบ่งได้เป็น 4 subgroups คือ A, B, C และ T FeLV ทุกสเตรนที่แยกได้จากแมวป่วยมี FeLV-A และอาจมี FeLV-B หรือ FeLV-C หรือทั้ง 2 subgroups รวมอยู่ด้วย จากรายงานของ Jerrett (1978) พบว่า 50% ของแมวที่มีเชื้อไวรัสอยู่ในกระแสเลือดมี FeLV-A อีก 49% มี FeLV-B และเพียง 1% เป็นการติดเชื้อ FeLV A, B, C ร่วมกันหรือ FeLV-A และ C

1.1 FeLV-A เป็น subgroup ที่พบในแมวทุกรายที่ติดเชื้อ FeLV เป็น subgroup ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคน้อยที่สุด ทำให้เกิด latent FeLV infection มีเซลล์ receptor คือ ลิ้มโฟไซท์

และเซลล์ไขกระดูก ตรงกันข้ามกับแมวที่ติดเชื้อทั้ง subgroup A และ/หรือ A กับ C ที่มีความรุนแรงของโรครุนแรงที่สุดเฉพาะ FeLV-A เท่านั้นที่มีการแพร่ติดต่อจากแมวป่วยไปยังแมวอื่น (horizontal transmission) (ABCD guidness, 2006)

1.2 FeLV-B เป็นไวรัส recombinant ผลจากการที่ FeLV-A recombine เข้ากับ gp 70 ของ endogenous FeLV ซึ่งมีอยู่แล้วในสาย DNA ของแมว การติดเชื้อร่วมระหว่าง FeLV-A และ FeLV-B ทำให้เป็นโรครุนแรงมากกว่าการติดเชื้อ FeLV-A อย่างเดียว แมวติดเชื้อระยะ viremia ชัดเจน ขบวนการสร้างภูมิคุ้มกันถูกกดและเกิด lymphoma (Jerret *et al.*, 1964)

1.3 FeLV-C สันนิษฐานว่าเกิดจากทั้ง mutation ของ envelop gene ของ FeLV-A และการ recombination ของ FeLV-A กับ gp 70 มีผลต่อการเกิด erythroid aplasia FeLV-C กระทบการเคลื่อนย้ายของ heme protein ทำให้เกิด non regenerative anemia รุนแรงและการฟ่อของต่อมไทมัส (Jerret *et al.*, 1964)

1.4 FeLV-T เป็น subgroup ที่มีความชอบเฉพาะต่อ T lymphocytes ทำให้ T lymphocyte ลดลงเรื่อย ๆ ทำให้แมวไม่มีภูมิคุ้มกัน (Jerrette *et al.*, 1964)

2. ระบาดวิทยา

โดยทั่วไปแมวติดเชื้อเนื่องจากอยู่ในแหล่งเดียวกับแมวป่วยหรือแมวปกติที่มีเชื้ออยู่ในร่างกายในประเทศสหรัฐอเมริกาการสำรวจพบว่าไม่เกิน 1% ของแมวจรจัด มีเชื้อไวรัส ขณะที่แมวซึ่งอยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกับแมวป่วย 30% ติดเชื้อ FeLV (Hardy, 1987) ในประเทศไทย รายงานการสำรวจในปี 2530 พบว่า 0.9% ของแมวจรจัดและ 20.9% ของแมวป่วยด้วยโรคต่าง ๆ ตรวจพบ FeLV (พรณจิตต์และคณะ, 2531) อายุของแมวขณะที่ได้รับเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่แมวหลังสัมผัสเชื้อจะมีการพัฒนาของโรคไปในลักษณะใด โดยแบ่งออกได้ 4 กลุ่มดังนี้ 1. Progressive infection แมวติดเชื้อที่มีเชื้ออยู่ในร่างกายตลอดเวลา (persistent viremia) โดยที่ร่างกายไม่มีการสร้างแอนติบอดีต่อไวรัส (virus neutralizing antibody) และถ้าระดับแอนติบอดีจำเพาะต่อเซลล์เนื้องอก (FOCMA antibody) สูง โอกาสเป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองจะน้อยลง แต่จะป่วยด้วยโรคต่าง ๆ ที่ไม่ใช่เนื้องอก พบว่าแมวที่ได้รับเชื้อมีโอกาสเกิด progressive infection ได้มากกว่า 30-40% (ABCD guidelines, 2006) 2. Regressive infection แมวติดเชื้ออยู่ในร่างกายในลักษณะ proviral DNA ทำให้ตรวจไม่พบไวรัสในกระแสเลือด (non-viremia) ไม่แสดงอาการป่วยเรียกว่าตัวอมโรค (carrier)

แมวในกลุ่มนี้มีจำนวนมากเนื่องจากร่างกายสามารถสร้างภูมิคุ้มกันต้านต่อไวรัสและแอนติเจนที่จำเพาะต่อเซลล์เนื้อเยื่อ หรือมี natural resistance หรือปริมาณไวรัสไม่มากพอที่จะทำให้เกิดโรค และไม่เป็นตัวแพร่ไวรัส แต่โอกาสเกิด reactivation ของเชื้อเป็นไปได้เมื่อภูมิคุ้มกันต่ำลงอย่างรุนแรง 3. Abortive infection ภูมิคุ้มกันในร่างกายแมวสามารถทำให้แมวหลังสัมผัสเชื้อ ปลอดภัยจากโรคได้ (clear infection) 4. Focal infection เป็นการติดเชื้อเฉพาะที่ อย่างเช่นในไขกระดูก สมอง ก้อนเนื้อเยื่อ ตรวจพบ provirus DNA ในเนื้อเยื่อโดยไม่พบในเลือด จากสถานะภาพดังกล่าวการระบาดกลับพันธุ์ของ FeLV ในธรรมชาติจึงพบได้ยาก (Levy, 2000) เพศผู้มีโอกาสติดเชื้อมากกว่าเพศเมีย โรคเกิดในแมวได้ทุกอายุแต่อัตราการเกิดโรคพบสูงในแมวอายุระหว่าง 1-6 ปี อายุเฉลี่ยประมาณ 3 ปี (Jerret *et al.*, 1964) แมวมีอายุความไวต่อการเป็นโรค (susceptibility) ลดลง หรือเรียกว่ามี age-related resistance (Levy, 2000) การติดต่อจากแมวไปแมว โดยตรงทาง oronasal route (horizontal transmission) แมวที่มีเชื้ออยู่ในกระแสเลือดตลอดเวลา ตรวจพบไวรัสได้ในต่อมน้ำลาย ไต ปัสสาวะ อุจจาระ น้ำนมและเยื่อทางเดินหายใจและน้ำตา ไวรัสหมดสภาพในการทำให้อเกิดโรคเมื่ออยู่นอกร่างกายในสภาวะแวดล้อมใน 2-3 นาที (Jerret *et al.*, 1964) แมวติดโรคโดยการสัมผัสโดยตรงกับน้ำลายเช่นเดียวกับไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่อง เชื้อจากน้ำลายเข้าทางบาดแผลถูกกัด รongลงมาคือปัสสาวะและอุจจาระของแมวที่มีเชื้อไวรัสที่อาจป่วยหรือดูปกติ การติดโรกระหว่างแมวจำเป็นต้องอาศัยการสัมผัสใกล้ชิดกันระยะเวลานาน เช่น การใช้ภาชนะกินอาหารและน้ำร่วมกัน การเลียตัวหรือกัดกัน มากกว่าจะผ่านทางมือหรือเสื้อผ้าของผู้เลี้ยง (Levy, 2000) แมวที่สัมผัสกับเชื้อไวรัสจากน้ำลาย น้ำมูก อุจจาระ ปัสสาวะของแมวติดเชื้ออย่างต่อเนื่อง (แมวที่เลี้ยงรวมกันหลายตัว) อาจใช้ระยะเวลาหลายเดือนกว่าที่จะตรวจพบภาวะ viremia จากแม่แมวไปยังลูกแมวระยะที่เป็น fetus หรือ neonates (vertical transmission) การติดต่ออาจผ่านทางรก (transplacental transmission) จากแม่แมวไปยังลูกในท้องหรือทางน้ำนมแรกคลอด (transmammary transmission) (Hartmann, 2012)

3. พยาธิกำเนิด

จากน้ำลายของแมวป่วยซึ่งจะมีอนุภาคของไวรัสอยู่จำนวนมาก เชื้อไวรัสผ่านเข้าไปในเยื่อจมูก ช่องปาก จมูก หรือผิวหนังที่เป็นบาดแผลของแมวที่ถูกกัดหรือถูกเลีย (Hartmann, 2012)

แบ่งระยะต่าง ๆ ดังนี้ ระยะที่ 1 ไวรัสเข้าไปเพิ่มจำนวนอยู่ในต่อมทอนซิล และต่อมน้ำเหลืองคอหอย กรณีที่ได้รับเชื้อทาง oronasal หรือต่อมน้ำเหลืองข้างเคียงกรณีที่ได้รับเชื้อทางแผลถูกกัด แมวจำนวนมากสามารถจำกัดไวรัสได้ตั้งแต่วัยต้น ๆ และมีภูมิคุ้มกันต้าน ระยะที่ 2 ในแมวที่

ไม่มีการสร้างภูมิคุ้มกันที่เพียงพอ ไวรัสทวีจำนวนอย่างรวดเร็วและกระจายจากต่อมน้ำเหลืองและอวัยวะอื่น ๆ โดยไวรัสเข้าไป อยู่ในเซลล์ลิมโฟไซต์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง T-lymphocytes และมาโครฟาจ ระยะที่ 3 ไวรัสเพิ่มจำนวนอีกมากมายในม้าม เนื้อเยื่อน้ำเหลืองในลำไส้ ต่อมน้ำเหลือง เซลล์ intestinal crypt epithelium และ เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดในไขกระดูก ระยะที่ 4 ไวรัสกระจายเข้าไปอยู่ในนิวโทรฟิล และเกล็ดเลือด หรืออยู่เป็นอนุภาคอิสระในพลาสมา ระยะที่มีไวรัสในกระแสเลือดนี้อาจจะคงอยู่ตลอดไปจนชั่วชีวิตของแมวป่วย ระยะที่ 5 อีก 2-3 สัปดาห์ต่อมาไวรัสเข้าไปเจริญอยู่ในเนื้อเยื่อบุผิวและต่อมต่าง ๆ โดยเฉพาะต่อมน้ำลาย ในเซลล์บุทางเดินหายใจและในกระเพาะปัสสาวะ เป็นระยะที่แมวป่วยเริ่มปล่อยเชื้อไวรัสออกมาจำนวนมากในน้ำลายและปัสสาวะ ระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 3 เป็นเวลาประมาณ 4-8 สัปดาห์หลังจากรับเชื้อ กรณีที่แมวมีภูมิคุ้มกันที่ดี ภาวะไวรัสในกระแสเลือดจะถูกกำจัดหมดไปก่อนที่ไวรัสจะเข้าเซลล์ไขกระดูก หรือเกิด latent infection (ตรวจไม่พบเชื้อในกระแสเลือด) ภาวะ persistent viremia ก่อตั้งแต่ระยะที่ 4 ถึง 5 โดยมากเริ่มหลังจากสัปดาห์ที่ 4 ถึง 6 เฉพาะแมวที่พบว่ามี persistent viremia อยู่ยาวนานกว่า 16 สัปดาห์ จะเป็นแมวพาหะที่ติดเชื้อไปตลอดชีวิต (Levy, 2000) ระยะเวลาของโรคแปรผันมาก หลังจากที่เราพบว่าแมวติดเชื้อไวรัส จำนวนหนึ่งใช้เวลานานหลายปีกว่าจะแสดงอาการของโรค แต่มากกว่า 70-90% ของแมวติดเชื้อที่มี persistent infection จะป่วยและตายภายใน 18 เดือนถึง 3 ปีครึ่ง (Hartmann, 2012)

4. อาการ

อาการของโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ FeLV (diseases associated with FeLV infection) ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น อายุของแมว ระยะเวลาที่สัมผัสกับเชื้อ จำนวนไวรัสที่เข้าสู่ร่างกาย และ subgroup ของไวรัส ระยะเหนี่ยวนำโรค (induction period) แตกต่างกันตามประเภทของโรคที่เกิดซึ่งผันแปรมาก ระยะที่เชื้อมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในต่อมน้ำเหลือง แมวมีอาการไข้ อ่อนเพลีย ท้องเสีย เซลล์เม็ดเลือดขาวต่ำ ต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ และในเวลาต่อมาจะป่วยด้วยอาการทางคลินิกที่ไม่เฉพาะเจาะจงตามชนิดของไวรัสแต่ละ subgroup อาการป่วยหรือโรคที่ไม่เฉพาะเจาะจงอาจเกิดขึ้นได้ในระยะเดือน หรือปี ขกเว้นในลูกแมวที่มีอาการป่วยฉับพลันได้แบ่งอาการป่วยหรือโรคออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้ (ABCD guidelines, 2006)

4.1 โรคจากภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ การลดลงของจำนวน CD4 ในระยะแรก และตามมาด้วยการลดลงของ CD8 T lymphocytes ในระยะต่อมา ทำให้ความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันทั้งชนิด primary และ secondary ของแมวซาลงและลดลง ความผิดปกติที่พบในการตรวจเลือดได้แก่ การ

ลดลงของจำนวนลิมโฟไซต์และนิวโทรฟิล หรือการทำงานของนิวโทรฟิลผิดปกติ แมวมีโอกาสป่วยจากเชื้อโรคซึ่งปกติแมวจะมีภูมิต่อต้านธรรมชาติ ได้แก่ โรคทางเดินอาหารจากเชื้อ *Salmonella spp.* โรคพยาธิเม็ดเลือด *Mycoplasma haemofelis* โรคติดเชื้อ *Cryptococcus spp.* ในช่องจมูก โรค Toxoplasmosis และโรคเรื้อรังที่ไม่หาย เช่น ช่องปากอักเสบเรื้อรัง โรคช่องจมูกอักเสบเรื้อรัง แผลฝี เป็นต้น อาการทางคลินิกโรคประเภทนี้แยกไม่ได้จากกรณีภูมิคุ้มกันบกพร่องจากการติดเชื้อ FIV ต้องอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการ (Hartmann, 2012)

4.2 อาการหรือโรคจากภาวะโลหิตจาง การที่ FeLV เจริญแบ่งตัวในเซลล์ต้นกำเนิดของเม็ดเลือดแดงที่ยังมี nucleus ทำให้เป็นได้ทั้งโรคโลหิตจางและมะเร็งของเซลล์ไขกระดูก erythroid series ในเวลาเดียวกันพบว่า FeLV-A เป็น subgroup ที่ทำให้แมวป่วยรุนแรงน้อยที่สุด และ FeLV-C (recombinant FeLV-C virus) เป็น subgroup ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดเพราะมีเซลล์เป้าหมายหลายชนิด ได้แก่ เซลล์ต้นกำเนิดของเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ (haematopoietic precursor cells) ทำให้แมวติดเชื้อตายด้วยภาวะเลือดจางรุนแรง ซึ่งพบบ่อยมาก ค่าความผิดปกติของเลือดมีได้ต่าง ๆ ดังนี้

4.2.1 Regenerative anemia โลหิตจางชนิด macrocytic พบบ่อยในแมวที่ติดเชื้อ FeLV-A มีรายงานว่า 54% ของแมวป่วยโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดเกิด anisocytosis สาเหตุมาจากการแตกของเม็ดเลือดแดงโดยภูมิคุ้มกัน (immune-mediate hemolytic anemia) ที่ให้ผลบวกต่อ Coombs's test และตรวจพบ *Mycoplasma haemofelis* ในเสมียร์เลือด (Rojko and Hardy, 1994)

4.2.2 Aplastic non-regenerative anemia เลือดจางในกรณีนี้เป็นชนิด monochromic normocytic หรือ macrocytic non-regenerative ค่า PCV อาจต่ำระหว่าง 4-14% ฮีโมโกลบินอยู่ที่ 1-4 กรัมต่อเดซิลิตร และไม่พบ reticulocyte จำนวนเม็ดเลือดขาวอาจปกติหรือต่ำกว่าปกติ พยาธิสภาพของไขกระดูกคือ จำนวน erythroid precursors มีไม่พอ เซลล์ตัวอ่อน (blast/colony forming units) ลดลง และเซลล์ precursors ที่เหลือไม่ตอบสนองต่อ erythropoietin มีรายงานเพิ่มเติมว่า red cell aplasia ในแมว FeLV ระดับ erythropoietin ในเลือดสูงกว่าในแมวปกติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนมากจะเป็นแมวอายุน้อยหรือแมวรุ่น (Rojko and Hardy, 1994)

4.2.3 FeLV-induced pancytopenia กรณีนี้ FeLV ทำลายเซลล์ในกระบวนการสร้างทั้งเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาวตลอดจนส่วนประกอบอื่น อันได้แก่เซลล์ก้ำจุน (ประกอบด้วยไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) มาโครฟาจ (macrophages) เรติคูลาร์เซลล์ (reticular cells) เซลล์บุหลอดเลือด (endothelial cells) และ เซลล์เนื้อเยื่อไขมัน (adipocytes) และสารประกอบนอกเซลล์

(extracellular matrix) ซึ่งมีกระดูกและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันกับไฟโบรเนกติน (fibronectin) ขบวนการทำลายเป็นการสะสม ดังนั้นภาวะเม็ดเลือดขาวทุกชนิดต่ำ (pancytopenia) จึงแสดงถึงระยะสุดท้ายของการติดเชื้อ FeLV ไม่มีการรักษาที่ได้ผล (Rojko and Hardy, 1994)

4.2.4 FeLV-induced degenerative neutrophil disorders แมวที่ติดเชื้อแบบถาวร (persistent viremia) ไวรัสในไขกระดูกเลือกทำลายเซลล์กำเนิดของเม็ดเลือดแดงและของ neutrophils และยับยั้งการทำงานของ neutrophil ที่ติดเชื้อ เมื่อออกมาในกระแสเลือด ทำให้แมวป่วยมีอาการเลือดจาง เม็ดเลือดขาวต่ำ (neutropenia หรือ panleukopenia) และท้องเสียซึ่งอาจรุนแรงจนถึงขั้นถ่ายเป็นเลือด อาการที่กล่าวมานี้ทั้งหมดจะเหมือนกับโรคลำไส้อักเสบจาก feline panleukopenia virus การวินิจฉัยแยก นอกจากประวัติการได้รับวัคซีนแล้วอาจดูจากการตอบสนองต่อการรักษาและการตรวจ FeLV จากเลือดให้ผลบวก แมวป่วยด้วยโรค panleukopenia-like enteritis จาก FeLV จะไม่ตอบสนองต่อการรักษา (Rojko and Hardy, 1994)

4.2.5 Myelodysplastic (non-regenerative) anemia พบไม่บ่อย โลหิตจางเกิดร่วมกับโรคมะเร็งของเซลล์ไขกระดูก โพรงกระดูกฝ่อ (medullary fibrosis) หรือโพรงงมุกเกิด osteosclerosis โดยที่ระดับวิตามิน B12 และ folic acid ในเลือดไม่ได้ลดลง ทำให้เกิดการแก้ไข โลหิตจางด้วยวิตามินดังกล่าวไม่ได้ผล (Rojko and Hardy, 1994)

4.3 โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองที่เกิดจาก FeLV พบน้อยกว่าโรคกลุ่มที่ 1 และ 2 จำนวนนี้พบมากที่สุดคือ มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphosarcoma) (Barr *et al.*, 1995) รองลงมาคือ มะเร็งลิวคีเมียของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดแดง และ granulocytes และมะเร็งของอวัยวะอื่นที่ไม่เกี่ยวกับการสร้างเม็ดเลือด (Rojko and Hardy, 1994)

4.3.1 มะเร็งต่อมน้ำเหลือง lymphoma หรือ lymphosarcoma อาการทางคลินิกขึ้นอยู่กับตำแหน่งทางกายวิภาคของอวัยวะที่เกิดโรค ความผิดปกติของอวัยวะแหล่งเก็บเลือดต่าง ๆ พบได้ทั้ง T และ B cell lymphoma แบ่งออกเป็นระดับรุนแรงน้อย (low grade) และระดับรุนแรงมาก (high grade) แยกตามชนิดเซลล์ lymphocyte ที่พบในรอยโรค ระดับ low grade ทางพยาธิวิทยาเซลล์ที่พบเป็น mature lymphocytes ขนาดเล็ก ซึ่งในรายที่พบในทางเดินอาหารแยกได้ยากจาก inflammatory bowel disease (IBD) อาการเป็นชนิดเรื้อรังเป็นสัปดาห์ เดือนหรือปี ส่วนระดับ high grade เซลล์ที่พบเป็น immature lymphocytes ขนาดใหญ่ ซึ่งทำให้เกิดอาการของโรครุนแรงและฉับพลันเป็นวันหรือสัปดาห์ lymphoma เรียกชื่อตามตำแหน่งของโรคดังนี้ (Barr *et al.*, 1995)

ก. Multicentric lymphoma โรคเกิดกับต่อมน้ำเหลืองหลาย ๆ ตำแหน่งและ
อวัยวะภายในคือ ม้าม ตับ และไต อวัยวะใดอวัยวะหนึ่งหรือหลายอวัยวะพร้อมกับแมวมีอาการ
โลหิตจาง ดีซ่าน ไตล้มเหลว เป็นต้น

ข. Thymic หรือ mediastinal lymphoma เกิดกับแมวอายุน้อยกว่า 3 ปี ทำให้
แมวมีอาการหายใจลำบาก มีของเหลวในช่องอก ปอดแฟบ

ค. Alimentary lymphoma โรคอาจเกิดกับส่วนของ lymphoid tissue ใน
กระเพาะ ลำไส้ส่วน colon และ/หรือ ต่อมน้ำเหลือง mesenteric อาจทำให้เกิดภาวะของลำไส้อุดตัน
ซึ่งคลำพบได้ทางผนังช่องท้อง หรือ malabsorption แมวมีอาการอาเจียน ท้องเสียหรือท้องผูก ชูบ
พอม การวินิจฉัยจากชิ้นเนื้อ biopsy จากตำแหน่งต่าง ๆ ของกระเพาะและลำไส้ ปัจจุบันมีรายงาน
ว่ากลุ่ม alimentary lymphoma เป็นประเภทที่พบมากที่สุด

ง. Atypical / extranodal lymphoma โรคอาจเกิดกับช่องจมูก ผิวหนัง ตา หรือ
เนื้อเยื่อระบบประสาทหรือเนื้อเยื่ออื่น ๆ ที่ไม่ใช่เนื้อเยื่อน้ำเหลือง

4.3.2 โรคมะเร็งของเซลล์ไขกระดูก (Myeloproliferative disease, MPD) โรคจำแนก
ได้หลายชนิดขึ้นอยู่กับเซลล์ไขกระดูกที่ติดเชื้อ เช่น reticuloendotheliosis erythremia myelosis,
myelogenous leukemia, myelofibrosis เป็นต้น อาการโลหิตจาง เกิดเลือดดำ เกิดจากจำนวนของ
เซลล์มะเร็งที่มากผิดปกติในไขกระดูกรบกวนการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดปกติ ทำให้เม็ดเลือด
แดง เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดถูกสร้างได้น้อย อาการอื่น ๆ คือ ซึม เบื่ออาหาร ไข้สูง อ่อนเพลีย
ม้ามโต ตับโต และตรวจพบเซลล์มะเร็งในกระแสเลือด 70% ในแมวที่เป็นโรคเนื้องอกของต่อม
น้ำเหลืองพบ FeLV โดยที่แมวทุกตัว พบแอนติเจนจำเพาะของเซลล์เนื้องอก และมากกว่า 90% ของ
แมวป่วยด้วยโรคมะเร็งเซลล์ไขกระดูก (MPD) ตรวจพบ FeLV โดยพบว่าเป็นการติดเชื้อร่วมของ
FeLV-A และ FeLV-B (Hardy, 1987) มะเร็งของอวัยวะอื่นที่ไม่เกี่ยวกับการสร้างเม็ดเลือด
fibrosarcoma หรืออาจเป็น hemangiosarcoma หรือ melanomas พบในแมวที่เกิดการติดเชื้อร่วม
ระหว่าง FeLV และ Feline sarcoma virus (FeSV) โรคมักพบในแมวอายุน้อย

4.4 โรคในกลุ่ม immune-mediated diseases และอื่น ๆ

4.4.1 โรคลำไส้อักเสบ (Enteritis) อาการของ FeLV enteritis คือ เบื่ออาหาร ซึม ท้องเสีย และอาเจียน อุจจาระอาจมีเลือดปน รอยโรคในลำไส้พบได้มากตั้งแต่ catharhal enteritis น้อย ๆ จนถึง hemorrhagic หรือ fibrino-necrotizing enteritis ลักษณะทางพยาธิวิทยาของลำไส้คล้ายกันกับ feline panleukopenia แต่แมวป่วยไม่มีรอยโรคอื่น ๆ ในไขกระดูกหรือต่อมน้ำเหลืองที่เกิดจาก feline parvovirus

4.4.2 ไตอักเสบ (Glomerulonephritis) เป็นลักษณะของ immune-mediated disease จากการติดเชื้อ FeLV อย่างเรื้อรังอยู่ยาวนานหลายเดือนหรือหลายปีมีการผลิตแอนติเจนของไวรัสออกมามากมาย (antigen excess) ซึ่งได้แก่ โปรตีนแอนติเจน p27, p12, p10, gp70, p15E และ FOCMA ขณะที่แอนติบอดี IgG ต่อไวรัสเกิดขึ้นน้อยมาก การมี antigen-excess immune complexes ทำให้เกิดพยาธิสภาพที่รุนแรงเนื่องจากก้อน complexes ที่มากมายเหล่านี้มีขนาดไม่ใหญ่กระจายไปได้ทั่วในกระแสเลือด ทำให้เกิดการอักเสบในเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยเฉพาะไต

แมวติดเชื้อ FeLV ที่มีไวรัสอยู่ในกระแสเลือดจำนวนมาก อาการของ glomerulonephritis เกิดปัญหาโปรตีน albumin ในเลือดต่ำ บวมน้ำและไตวายในที่สุด บางรายมีลักษณะเหงือกอักเสบและปากอักเสบ ปัสสาวะมีเลือด และปัสสาวะกะปริดกะปรอย กรณีที่แมวติดเชื้อ FeLV ตายด้วยสาเหตุอื่น ๆ เมื่อผ่าซากจะพบลักษณะ subclinical glomerulonephritis ร่วมด้วย (Hoove and Mullins, 1991)

4.4.3 โรคระบบประสาทและข้อต่อ แมวที่มีไวรัสอยู่ในกระแสเลือดอาจเกิดอัมพาตเนื่องจาก lower motor neuron เสียหาย หรือทั้ง sensory และ motor polyneuropathy แมวมีความผิดปกติในการเดิน เริ่มตั้งแต่ posterior paresis หรือ tetraparesis จนถึง paralysis ทั้งนี้เพราะการติดเชื้อ FeLV มีผลต่อไขสันหลัง และปลายประสาท (peripheral nerve) มากกว่าส่วนสมองซึ่งต่างจากการติดเชื้อ FIV แมว FeLV บางรายมีอาการ lameness จากการเกิด polyarthritis (Carter *et al.*, 2005)

4.4.4 โรคตา ความผิดปกติของตาที่พบได้แก่ การทำงานของม่านตาผิดปกติ มีจุดเลือดออกที่จอตา (retinal hemorrhages) และจอตาเสื่อม (retinal degeneration) ในกรณีที่แมวติดเชื้อป่วยด้วยโรคของเนื้องอกเช่น lymphomas อาจพบ anterior uveitis

4.4.5 โรคผสมไม่ติดหรือแท้งลูก มีรายงานว่า 68-73% ของแมวที่ผสมไม่ติดและ 60% ของแมวที่แท้งลูกเป็นแมวที่มีเชื้อไวรัส FeLV ในกระแสเลือด (Levy, 2000)

แม่แมวอาจคลอดลูกที่รอดจากการแท้งแต่เป็นลูกแมวที่มีไวรัสในกระแสเลือด (congenital viremia) ลูกแมวกุ่มดั่งกล่าวมีอัตราการตายแรกเกิด (neonatal mortality) สูง แม่แมวที่ติดเชื้อไวรัสแบบสงบตรวจไม่พบเชื้อในกระแสเลือด อาจเกิดการถูกกระตุ้นเฉพาะที่ทำให้มีการปล่อยไวรัสออกมาทางน้ำนมและปัสสาวะได้

5. การวินิจฉัยโรค

จากข้อแนะนำของสมาคม American Association of Feline Practitioners (AAFP) และ European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD) แมวทุกรายควรได้รับการตรวจสถานภาพการติดเชื้อ retrovirus และแมวที่ตรวจครั้งแรกพบว่า เป็นผลบวก ให้มีการตรวจซ้ำโดยวิธีที่แตกต่างและห่างจากครั้งแรกอย่างน้อย 30 วัน วิธีวินิจฉัยมีดังนี้

5.1 การวินิจฉัยจากข้อมูลทางคลินิกเมื่อแมวป่วย จากประวัติการมีปัจจัยเสี่ยงต่อเชื้อไวรัส เช่น อยู่ในแหล่งเลี้ยงเดียวกับแมวที่ตรวจพบเชื้อ FeLV และการตรวจทางโลหิตวิทยาไม่เฉพาะเจาะจงขึ้นอยู่กับการเกิดโรค เช่น พบโลหิตจางชนิด non-regenerative หรือ pancytopenia ร่วมกับ thrombocytopenia แมวที่มีอาการของเนื้องอก lymphosarcoma หรือ MPD การตรวจพบลักษณะเซลล์ ซึ่งแสดงถึงลิควิเมีย เช่น immature หรือ atypical cells ใน peripheral blood lymphocytosis พบเป็นส่วนน้อย ส่วนใหญ่ตรวจพบ leucopenia และ lymphopenia และบางรายพบ thrombocytopenia ทำให้แมวมีปัญหาการแข็งตัวของเลือด ตรวจพบลักษณะของ erythroid hypoplasia ในรายที่เกิด thymic atrophy หรือ lymphadenopathy พบ neutropenia และ lymphopenia เซลล์ลิมโฟไซต์ที่ลดลงมากคือ CD4 ทำให้ CD4:CD8 ลดลง FIV บางราย lymphocyte ลดลงทั้ง CD4 และ CD8

5.2 การตรวจหาไวรัส เป็นการตรวจภาวะการติดเชื้อ FeLV ทั้งในขณะที่แมวแสดงอาการป่วย และแมวที่ดูปกติ AAFP (American Association of Feline Practitioners) แนะนำให้ตรวจภาวะของการติดเชื้อ FeLV ในแมวทุกตัวโดยเฉพาะในแมวใหม่หรือลูกแมวที่จะนำเข้ามาเลี้ยงใหม่

5.2.1 ตรวจหาแอนติเจน p27 ของโปรตีนเปลือกหุ้มโดยวิธี ELISA ตัวอย่างที่ใช้ตรวจควรเป็นซีรัมหรือพลาสมา ไม่ควรใช้เลือด (Whole blood) และไม่แนะนำให้ตรวจจากน้ำลาย หรือน้ำตา เพราะผลที่ได้ไม่น่าเชื่อถือ

ก. โดยวิธี ELISA วิธีนี้เมื่อเปรียบเทียบกับ gold standard ถือว่ามีความไวและมีความจำเพาะสูงมาก พบว่ามีความไวสูงกว่า 90% เนื่องจากแมว 10% ที่ตรวจไม่พบ p27 ไม่ได้อยู่ในสภาวะ antigenemia แต่ตรวจพบ provirus

ข. ตรวจโดยใช้ชุดทดสอบทางภูมิคุ้มกันที่ปรากฏสี (immune chromatography) วิธีนี้ใช้หลักการ ELISA เช่นเดียวกับ 2.1 แต่ในชุดทดสอบไม่ได้ใช้เอนไซม์ (enzyme-conjugated antibodies) ความไวและความจำเพาะของชุดทดสอบที่ปรากฏสี พบว่าใกล้เคียงกับวิธี ELISA ปัจจุบันมีชุดทดสอบทางภูมิคุ้มกันที่ปรากฏสีผลิตจำหน่ายจากหลายบริษัทสะดวกในการทำและใช้เวลาไม่มาก เหมาะสำหรับการทำ screening test ผลบวกดวงอาจมาจากการใช้ตัวอย่างเป็น whole blood หรือตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมาที่มีเม็ดเลือดแดงแตกรุนแรง หรือมีแอนติบอดี antimurine อยู่ กรณีหลังนี้แก้ไขได้ด้วยการ incubate ตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา กับแอนติเจนของหนู mouse ก่อนผลบวกดวงพบได้ยาก ถ้าพบมักมาจากเทคนิคที่ผิดพลาด

จากการที่ไวรัสมีการทวีจำนวนอย่างมากมาใน lymphoid tissues ก่อนเข้าในไขกระดูกทำให้แมวที่รับเชื้อให้ผลบวกต่อ ELISA ก่อน IFA 2-3 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามมีแมวหลายรายสามารถกำจัดไวรัสออกไปจากร่างกายได้ตั้งแต่ระยะต้น ๆ (ก่อนที่ไวรัสจะเข้าไขกระดูก) ทำให้การตรวจด้วย ELISA เข้าใน 3-4 สัปดาห์ ต่อมาให้ผลลบได้ ฉะนั้นการตรวจโดยวิธี ELISA ถ้าแมวให้ผลบวกต่อการทดสอบควรตรวจซ้ำในอีก 1-3 เดือนต่อมา เป็นระยะ ๆ และถ้าแมวให้ผลบวกต่อการทดสอบควรยืนยันด้วย IFA อีกครั้ง แมวที่เป็นตัวอมโรค (carrier) จะให้ผลบวกทุกครั้งที่ทำ การทดสอบ การตรวจหาไวรัสแอนติเจนในน้ำตา หรือน้ำลายมีความแม่นยำน้อยกว่าการตรวจหาจากซีรัมหรือพลาสมา

ค. Immunofluorescent assay (IFA) การตรวจ IFA เป็นวิธีที่เชื่อถือได้ดีมากแต่ไม่สะดวกในทางปฏิบัติ เป็นการตรวจหาไวรัส FeLV ในเซลล์ granulocytes, lymphocytes และเกล็ดเลือดในสเมียร์เลือด โดยวิธีนี้แอนติเจน p27 สามารถพบได้หลังจากการรับเชื้อแล้ว 4 สัปดาห์หรือบางรายอาจนานถึง 12 สัปดาห์ ผลบวกต่อ IFA แสดงถึง persistent infection ผลบวกดวงอาจเกิดจาก non-specific immunofluorescence ในเกล็ดเลือดหรือเซลล์ eosinophil หรือในกรณีที่สัตว์

เพิ่งได้รับเชื้อ และเชื้อยังไม่ไปถึงไขกระดูก หรือสเปียร์มีเม็ดเลือดขาวน้อย เนื่องจาก leucopenia ที่รุนแรง ผลลบลงอาจมาจากการทำสเปียร์เซลล์จากไขกระดูกที่หนาเกินไป

5.2.2 การตรวจหาไวรัสด้วย Polymerase chain reaction (PCR) ตรวจหา proviral DNA ถือเป็น gold standard โดยวิธีนี้นอกจากจะวินิจฉัยว่ามี exogenous FeLV อยู่ในร่างกายแล้วยังสามารถพัฒนาเป็นการตรวจแบบ realtime บอกปริมาณ (quantitation) ของ provirus ได้ (ABCD guidness, 2006) อย่างไรก็ตาม แมวที่ตรวจพบ proviral DNA ไม่ได้หมายความว่ามีความเสมอไปว่าแมวมี persistent infection และกำลังแพร่เชื้อไวรัส การตรวจหา viral RNA โดยวิธีนี้ viral RNA ที่อยู่ในเลือด ซีรัม พลาสมา น้ำลายและอุจจาระ จะถูกเปลี่ยนไปเป็น cDNA โดยเอนไซม์ reverse transcriptase ทั้งตรวจหาและวัดปริมาณโดย real-time PCR การทำ RNA PCR ให้ข้อมูลที่แตกต่างจากการตรวจหา proviral DNA เนื่องจาก แมวจำนวนหนึ่งหายจากภาวะ viremia จะตรวจไม่พบ viral RNA ในพลาสมา น้ำลาย หรืออุจจาระ แต่ยังตรวจพบ provirus DNA ฉะนั้นกล่าวได้ว่าการตรวจพบ viral RNA แสดงถึงภาวะ viremia

5.2.3 การตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัส

ก. การตรวจด้วยวิธี Radioimmuno precipitation และ Western blot ใช้ในงานวิจัยเป็นการวัดปริมาณแอนติบอดีต่อโปรตีนโครงสร้างจำเพาะและโปรตีน *env* ของ FeLV เป็นวิธีที่มีความไวและจำเพาะมาก แต่ในทางคลินิกการแปลผลทำได้ยากมาก เพราะแมวจำนวนมากสามารถสร้างแอนติบอดีต่อ endogenous FeLV ของตัวเอง (ABCD guidness, 2006)

ข. การตรวจแอนติบอดีต่อ FOCMA หรือต่อ FeLV gp 70 ใช้ในการประเมินสถานะภูมิคุ้มกันแมวที่อาจสัมผัสเชื้อไวรัส และภูมิคุ้มกันต่อโรคเนื้องอกที่เกิดจาก FeLV

5.3 โดยวิธีการแยกเชื้อไวรัส particle ของไวรัสที่อยู่ในพลาสมา ซีรัม น้ำลาย ปัสสาวะ น้ำในเนื้อเยื่อต่าง ๆ และใน homogenates ของอวัยวะและต่อมน้ำเหลือง การแยกเชื้อไวรัสกระทำในเซลล์เพาะเลี้ยง Clone และ QN10 feline fibroblast แมวบางรายมีการติดเชื้อแบบเฉพาะที่ (Localized หรือ focal infection) การติดเชื้อประเภทนี้ต่างกับการติดเชื้อแฝง ตรงที่ชนิดของเนื้อเยื่อที่ไวรัสอยู่กรณีติดเชื้อเฉพาะที่พบเชื้อไวรัสได้ที่ตับอ่อน ต่อมน้ำลาย และเต้านม ไวรัสสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้เมื่อถูก reactivated ทั้ง ๆ ที่ร่างกายมีแอนติบอดีต่อไวรัส แมวกุมนั้นทำให้เกิดการสับสนระหว่างการตรวจไม่พบแอนติเจน แต่สามารถแยกเชื้อไวรัสได้

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสถานการณ์ติดเชื้อ FeLV ในแมวแบ่งตามประเภทการติดเชื้อ

Outcome ภายหลังสัมผัสเชื้อ	FeLV P27 Antigen ในเลือด	Viral blood culture	Viral tissue culture	Viral RNA ในเลือด	Proviral DNA ในเลือด	Viral shedding	FeLV associated diseases
Progressive infection	+	+	+	+	+	+	เป็นไปได้อย่างสูง
Regressive infection	-/+	-/+	-/+	±/+	+	-	เป็นไปได้น้อย
Abortive infection	-	-	-	ไม่ได้ทำ	ไม่ได้ทำ	-	เป็นไปได้น้อย
Focal infection	-	-	+	ไม่ได้ทำ	ไม่ได้ทำ	ไม่แน่นอน	เป็นไปได้น้อย

ที่มา: ดัดแปลงจาก AAEP Feline retrovirus management guidelines (2000)

6. การพยากรณ์โรค

แมวที่แสดงอาการป่วย (primary FeLV infection) มักตายภายในไม่เกิน 2 เดือน แมวที่ตรวจพบไวรัสในกระแสเลือดอยู่ตลอดเวลา (persistent viremia) ส่วนมาก (80%) ตายภายใน 18 เดือน ถึง 3 ปี อย่างไรก็ตาม มีแมวบางรายที่หายจากอาการป่วยในระยะเวลาต่อมา และตรวจไม่พบไวรัสอีกโดยวิธีทดสอบเดียวกันจะอยู่ในสภาวะแฝงโรค แมวที่ยังคงพบไวรัสในกระแสเลือดให้ทำการทดสอบซ้ำในอีก 4 เดือนต่อมาถ้ายังพบว่าให้ผลบวกต้องระวังการเป็น active carrier

7. การรักษา

การรักษาโรคติดเชื้อ FeLV ที่ทำได้เป็นการรักษาโรคติดเชื้อทุติยภูมิ (secondary infection) และการรักษาตามอาการ การรักษาเฉพาะไม่สามารถหวังผลแน่นอนได้ การรักษาเฉพาะและการจัดการกับแมวที่ติดเชื้อ retrovirus แบ่งตามอาการ คือ แมวที่ยังไม่แสดงอาการป่วย และแมวที่แสดงอาการป่วย

7.1 แมวติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการป่วย (asymptomatic cat) ทั้ง FeLV และ FIV มีระยะเวลาในการติดโรคที่นานมาก ดังนั้นไม่มีความจำเป็นที่ทำลายแมวติดเชื้อที่ยังไม่แสดงอาการของโรค เมื่อตรวจพบว่าแมวมีเชื้อไวรัสอยู่ในร่างกายให้ทำการตรวจต่อไปว่าแมวมีโอกาสที่จะเป็นโรคแทรกซ้อนอื่น ๆ หรือไม่ เช่น ทำการตรวจเลือดหาพยาธิเม็ดเลือด *M.haemofelis* จากเสมียร์เลือด ตรวจค่าชีวเคมีการทำงานของตับ ไต ตรวจปัสสาวะ ตรวจอุจจาระหาไข่พยาธิ ทำการถ่ายพยาธิ และให้ยาป้องกันหมัดไร สม่ำเสมอ เป็นต้น การตรวจร่างกายควรทำทุก ๆ 6 เดือน (Dunham and Graham, 2008)

7.1.1 ถ้าแมวติดเชื้อยังมีสุขภาพดีควรทำการตอนหรือทำหมันเพื่อป้องกันการออกเที่ยวกัดกับแมวตัวอื่นหรือปัสสาวะไม่เป็นที่ พยายามไม่ให้แมวออกเที่ยวนอกบ้าน ลดทั้งโอกาสการติดเชื้อโรคชนิดอื่นและโอกาสการแพร่ไวรัสให้แมวอื่น

7.1.2 แมวที่ติดเชื้อควรได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้ออื่น ๆ เช่นเดียวกับแมวทั่วไป เนื่องจาก B lymphocyte ยังทำหน้าที่ปกติ วัคซีนที่ได้รับการเป็นวัคซีนเชื้อตาย

7.1.3 การให้ immunomodulators เช่น การให้กิน สารอินเตอร์เฟอรอน หรือสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันอื่น (Hartmann, 2006)

7.1.4 ถ้าแมวติดเชื้อเริ่มป่วยควรทำการวินิจฉัยโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ FeLV ซึ่งบางโรคจำเป็นต้องได้รับการรักษาเฉพาะ การใช้ยาปฏิชีวนะกับแมวติดเชื้อ retrovirus ต้องระวังเนื่องจากแมวจะไวกับปฏิกิริยาข้างเคียงของยามากกว่าแมวปกติ

นอกจากนี้พยายามให้แมวกินอาหารที่สมดุลไม่แนะนำให้กินอาหารกระป๋องแบบ semimoist food เนื่องจากอาหารประเภทนี้มี propylene glycol อยู่ด้วยซึ่งมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงอายุสั้นลง ถ้าแมวไม่ยอมกินอาหารให้กระตุ้นความอยากอาหารด้วย diazepam, oxazepam หรือ cypripheptadine (Hartmann, 2006)

7.2 แมวติดเชื้อที่แสดงอาการป่วย (symptomatic cat)

7.2.1 การรักษาตามอาการที่แทรกซ้อนเช่น แมวโลหิตจางรุนแรงอาจต้องทำการถ่ายเลือด กรณีที่แมวติดเชื้อมีโรค immune mediated เช่น lymphocytic plasmacytic stomatitis จำเป็นต้องให้คอร์ติโคสเตียรอยด์ รายที่ตรวจพบ severe leucopenia และไม่พบสาเหตุอื่น ๆ นอกจาก FeLV ให้ผลบวก อาจใช้ granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) ขนาด 5 ไมโครกรัม ต่อกิโลกรัม ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เข้าเย็นจนกว่าค่า neutrophil สูงขึ้นมาเป็นปกติ อย่างไรก็ตามคำแนะนำที่กล่าวมานี้มีผู้ให้ความเห็นขัดแย้งว่าผลการกระตุ้น mitotic activity ของเซลล์ไขกระดูกด้วย G-CSF จะทำให้ไวรัสในไขกระดูกถูกกระตุ้นและมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น สาร G-CSF มีผลต่อการจำแนกประเภทของเซลล์ต้นกำเนิดในไขกระดูกที่จะมาเป็น mature neutrophils และเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ neutrophils จุดประสงค์หลักของการใช้ G-CSF ในคนคือลดการเกิด neutropenia ในรายที่ได้รับยาเคมีบำบัด ในรายติดเชื้อแบคทีเรียรุนแรงในเลือด และในราย FIV โดยมีข้อบ่งชี้ให้ใช้เมื่อจำนวน neutrophil น้อยกว่า 1,000 เซลล์ต่อไมโครลิตร หรือต่ำกว่า 500 เซลล์ต่อไมโครลิตรเกิน 3 วัน โดยให้ขนาด 5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เข้าใต้ผิวหนัง วันละครั้งจนกว่า neutrophil เพิ่มขึ้นเกินกว่า 3,000 ต่อไมโครลิตรเกิน 2 วัน (Levy, 2002)

การให้ erythropoietin กับแมว FeLV red cell aplasia ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดที่เหลือน้อย ไม่มีความจำเป็นเพราะระดับ erythropoietin ในเลือดแมวป่วยพบว่าสูงกว่าในแมวปกติอย่างมีนัยสำคัญ (Levy, 2002)

การให้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตและระยะการอยู่รอดของแมว หรือการให้ยาปฏิชีวนะเพื่อรักษาการติดเชื้อแทรกซ้อนของการติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น จากภาวะเหงือกและช่องปากอักเสบ การจัดการกับแมวที่ติดเชื้อเช่นการติดตามดูแลแมวที่ตรวจพบว่าติดเชื้อ และตรวจบันทึกความผิดปกติต่อไปนี้ ช่องปากและเหงือก ฟัน ตา น้ำหนักตัว เลือด ปัสสาวะ และการทำงานของตับไต การตรวจพบความผิดปกติจากโรคอื่น ๆ ได้เร็วและรีบทำการรักษาเป็นสิ่งที่ดีที่สุด (Hartmann, 2006)

7.2.2 ยาปรับสภาพภูมิคุ้มกัน (Immunomodulators) มีการใช้ยาในกลุ่มนี้อย่างกว้างขวางเพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตและระยะการอยู่รอดของแมว FeLV แต่ไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบกับแมวก่อนการควบคุม หรือ placebo-treatment ทำให้ขาดความน่าเชื่อถือ และไม่สามารถนำมาอ้างอิงได้ แต่อย่างไรก็ดีหากพิจารณาแล้วว่าสมควรให้ควรทำการชี้แจงกับเจ้าของสัตว์ให้เป็นที่เข้าใจก่อน (Levy, 2002)

ก. Recombinant Human interferon alpha2 (rHuIFN) มีคุณสมบัติเป็นยาทั้งยาต้านมะเร็ง (antitumor) และยาปรับสภาพภูมิคุ้มกัน เพราะฉะนั้นให้ได้ผลดีกว่ายาชนิดอื่นในกรณีโรคเกิดจากภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือโรคมะเร็ง จากเชื้อ FeLV และ FIV ทำให้แมวมีชีวิตอยู่ได้นานกว่าแมวที่ไม่ได้รับการรักษา วิธีการให้มี 2 รูปแบบคือ

1) ให้กินในขนาดต่ำ 1-50 หน่วยต่อน้ำหนักกิโลกรัม ทุก 24 ชั่วโมงหรือ 30 หน่วยต่อตัวต่อวัน สัปดาห์เว้นสัปดาห์ มีรายงานการใช้ IFN ร่วมกับ AZT ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV พบว่าให้ผลกับการยับยั้งภาวะ viremia เนื่องจาก interferon จะถูกทำให้หมดสภาพ (inactivated) อย่างรวดเร็วในกระเพาะ การให้กินในขนาดต่ำๆ และปริมาณน้อย จุดประสงค์เพื่อให้ยาดูดซึมให้หมดทาง mucosa ในช่องปาก ออกฤทธิ์กระตุ้นกลุ่มเซลล์น้ำเหลืองเฉพาะที่ (local lymphoid tissue) ในช่องปาก ถ้าขนาดที่ให้สูง 10,000 ถึง 1,000,000 หน่วยต่อกิโลกรัม นิดได้ผิวหนังเป็นขนาดที่ออกฤทธิ์ต้านไวรัส (antivirus) แมวสามารถสร้างแอนติบอดีต่อ rHuIFN ได้หลังจากกิน 3-7 สัปดาห์ ดังนั้นการให้กินต่อเนื่องระยะยาวต้องมีระยะปลอดยาที่เหมาะสม (pulse therapy) (Hartmann, 2006)

2) ฉีดเข้าใต้ผิวหนังขนาด 10,000-1,000,000 หน่วยทุก 24 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่าสามารถลดปริมาณโปรตีนแอนติเจน p27 ในเลือดลงได้ แต่หลังจาก 3-7 สัปดาห์แล้วไม่มีผลด้วยเหตุผลเดียวกับการให้กิน (Hartmann, 2006)

ข. Recombinant feline interferon omega (rFeIFN-omega) เป็นสาร cytokines ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทวีจำนวนของไวรัสใน in vitro มีรายงานการใช้รักษาโรคติดเชื้อไวรัสในแมวหลายชนิดโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังขนาด 1,000,000 หน่วยต่อกิโลกรัม วันละครั้งติดต่อกัน 5 วัน 3 ช่วงคือวันที่ 0, 14 และ 60 มีรายงานว่าสามารถยืดอายุของแมว FeLV ได้อย่างมีนัยสำคัญโดยให้ร่วมกับ supportive treatment อื่น ๆ ถึงแม้ว่าจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับไวรัสที่ใช้สนับสนุนการรายงาน (Cow, 1994)

ก. Staphylococcal protein A (SPA) ทำมาจาก *Staphylococcus aureus* Cowan 1 มีคุณสมบัติกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี จากทั้ง B และ T cell กระตุ้นการสร้าง interferon และการจับกันของ immune complex มีรายงานการใช้ในแมวติดเชื้อ FeLV พบว่าทำให้แมวมีอาการดีขึ้น และทำให้แมวจำนวนหนึ่งปลอดจากภาวะ viremia (Levy, 2002) ขนาดที่ให้ 10 ไมโครกรัม ต่อ กิโลกรัม ฉีดเข้าในช่องท้อง สัปดาห์ละ 2 ครั้ง เมื่ออาการดีขึ้นลดลงเหลือเดือนละครั้ง (Cow, 1994)

ง. Acemannan เป็น long-chain mannan polymer ทำให้การทำงานของเซลล์ macrophages ดีขึ้น และออกฤทธิ์ cytotoxicity ที่ไม่เลือกชนิดของเซลล์ มีรายงานการใช้ยาในแมวที่ติดเชื้อ FeLV ที่แสดงอาการของโรคมีไข้เนื่องอก พบว่าทำให้แมวมีชีวิตอยู่ได้นานขึ้น เปรียบเทียบกับแมวลักษณะเดียวกันที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยยานี้ ขนาดที่ให้ 2 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ฉีดเข้าในช่องท้อง สัปดาห์ละครั้ง (Cow, 1994) มีรายงานการใช้ยาในแมวติดเชื้อ FIV ว่าทำให้แมวมีสภาพดีขึ้น จากการมีไข้บ่อย ๆ และจากความผิดปกติของต่อมน้ำเหลืองทั่วไป (lymphadenopathy) (Levy, 2002)

จ. *Propionibacterium acnes* (P.Anes; infervac®) คุณสมบัติเพิ่ม macrophage activation และการผลิตสาร interleukin-1 alpha ตลอดจนการหลั่งสาร interferon และ tumor necrosis factor มีรายงานการใช้ในแมวติดเชื้อ FeLV ขนาด 0.5-1 มิลลิกรัม ฉีดเข้าหลอดเลือด สัปดาห์ละ 2 ครั้ง นาน 3 สัปดาห์ ต่อมาลดลงเหลือสัปดาห์ละครั้ง นาน 20 สัปดาห์ หรือจนกว่าแมวจะให้ผลลบกับการทดสอบ (Cow, 1994)

7.2.3 ยาต้านไวรัส (antiviral drugs) มีรายงานการนำยาหลายชนิดที่ใช้กับคนป่วยโรค AIDS (Human Acquired Immunodeficiency) มาใช้กับแมวติดเชื้อ retrovirus อย่างไรก็ดีตามรายงานส่วนใหญ่ไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบกับแมวควบคุม (control trials) ยาเหล่านี้ได้แก่

ก. Azidothymidine (AZT) เป็นยายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ reverse transcriptase ตัวแรกที่จดทะเบียนใช้ในคนป่วยโรค AIDS นำมาใช้กับแมวติดเชื้อ FeLV และ FIV โดยมีการศึกษาเปรียบเทียบกับแมวที่ไม่ได้ให้ยา ตัวยาที่ยับยั้งการเจริญของไวรัสทำให้โรคหายไปได้ แต่ไม่สามารถป้องกันภาวะ persistent viremia ได้ (Cow, 1994)

ยามีผลยับยั้งไม่ให้ไวรัสเพิ่มจำนวนโดยการขัดขวางการรวมกัน (incorporation) ของ nucleosides ใน DNA copy ซึ่งเป็นขั้นตอนแรกของการเพิ่มจำนวนของไวรัส จำนวน viral load ที่ลดลงทำให้แมวติดเชื้อมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น (Hartmann, 2006)

พบว่ารอยโรคจากการอักเสบในช่องปากของแมวที่ติดเชื้อ FeLV หรือ FIV หายไปเมื่อให้ AZT นาน 3 สัปดาห์ สภาพร่างกายทั่วไปดีขึ้น และ CD4:CD8 ดีขึ้น (Cow, 1994)

ขนาดที่ใช้ในแมว กินหรือฉีดเข้าใต้ผิวหนัง 5 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ทุก 12 ชั่วโมง (Cow, 1994) ยาชนิดกินมีทั้งชนิดน้ำและบรรจุแคปซูล 100 มิลลิกรัม ผลข้างเคียงของยาซึ่งพบประจำคือ เบื่ออาหาร และโลหิตจาง AZT มีผลกดไขกระดูก ฉะนั้นไม่ควรใช้กับแมวที่มีปัญหาของไขกระดูกอยู่ก่อนแล้ว หลังจากให้ยาควรทำการตรวจ CBC หลัง 3 สัปดาห์ในช่วงเดือนแรก ต่อมาจึงทำการตรวจเดือนละครั้งเพื่อดูว่ายาทำให้เกิด non-regenerative anemia หรือไม่ เมื่อใดที่ PCV ต่ำกว่า 20% ให้งดยา หลังจากงดยาแล้วค่า PCV จะกลับสู่ปกติภายใน 2-3 วัน AZT ไม่สามารถทำให้ภาวะ persistent viremia หายไปได้ (clear viremia) ฉะนั้นในรายที่แมวติดเชื้อมีอาการป่วยอยู่การรักษาอาจไม่ได้ผล แนะนำว่าควรใช้ยานี้กับแมวติดเชื้อที่ยังไม่แสดงอาการป่วย (Cow, 1994)

ข. Didexoyctidine เป็น nucleoside analogue มีประโยชน์กับการรักษาระยะสั้น ๆ ในรายติดเชื้อ FeLV ให้ในขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต่อชั่วโมง ฉีดเข้าหลอดเลือด ด้วยยา มี half-life สั้นประมาณ 1 ชั่วโมง (Cow, 1994)

ค. 9-(2-phosphonoyl methoxyethyl) adenine (PMEA) ออกฤทธิ์เป็น reverse transcriptase inhibitor ให้ผลการรักษาเท่ากับ AZT กรณี FIV สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของไวรัสใน thymocytes ลดจำนวน viral load ทำให้สภาพของแมวป่วยและ CD4:CD8 ดีขึ้น (Cow, 1994)

แมวที่มีรอยโรคในช่องปากทั้งจากการติดเชื้อ FeLV และ FIV ตอบสนองต่อการให้ PMEA อย่างไรก็ดีผลข้างเคียงของ PMEA ต่อเซลล์ไขกระดูกรุนแรงกว่า AZT ไม่แนะนำให้ใช้ยาด้านไวรัสกับแมวที่ไม่แสดงอาการป่วย (Cow, 1994)

การรักษาตามอาการและการป้องกันโรคติดเชื้อทุติยภูมิ ได้แก่

1. การให้ยาทำลายเชื้อ anaerobic bacteria ในกรณีเกิด gingivitis ซึ่งเชื่อมักจะคือยา เช่น metronidazole 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทุก 12 ชั่วโมง หรือ clindamycin 12.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทุก 12 ชั่วโมง (Cow, 1994)

2. การแก้ไขภาวะโลหิตจางโดยการให้เลือดและการใช้ยา testosterone derivatives เช่น repositol testosterone propionate หรือ oxymetholone กระตุ้นการทำงานของไขกระดูกทั่ว ๆ ไป การให้ยาบำรุงเลือดกลุ่ม folic acid หรือกลุ่มวิตามินบีไม่ได้ผล (Hartmann, 2006)

การรักษา regenerative hemolytic anemia ที่เกิดจากการติดเชื้อร่วมของ *M. felis* ให้ doxycycline นาน 3 สัปดาห์ร่วมกับ prednisolone ระยะสั้นในรายที่เป็นรุนแรง (Cow, 1994)

3. การรักษา lymphosarcoma ด้วยการให้เคมีบำบัดหลาย ๆ ชนิดร่วมกัน เช่น vincristine, cyclophosphamide และ prednisolone

4. การรักษา anterior uveitis ให้ใช้ยาหยอดตาที่มี steroids

8. การป้องกันและการควบคุม

การควบคุมและการกำจัดโรคกระทำได้โดยการตรวจคัดหาตัวนำโรค (carrier) แมวที่ตรวจพบเชื้อไวรัสถ้าป่วยควรทำลาย แต่ถ้ายังปกติให้แยกจากตัวอื่นเพื่อรอการทดสอบซ้ำเป็นระยะ

การป้องกันโรคโดยใช้วัคซีน ในปัจจุบันมีวัคซีนหลายชนิด แนะนำให้ตรวจเลือดแมวก่อนทำวัคซีน (Hartmann, 2006)

8.1 Subunit vaccine ผลิตโดยใช้แอนติเจนเฉพาะส่วน envelope glycoprotein (gp70) ของไวรัส และ FOCMA เพื่อกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันทั้ง anti gp.70 และ anti-FOCMA โดยเริ่มให้กับลูกแมวครั้งแรกได้ตั้งแต่อายุ 8 สัปดาห์ ฉีดซ้ำอีก 2-3 สัปดาห์ต่อมาและฉีด booster ทุกปี ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ผลข้างเคียงของ vaccine มีบ้างแต่ไม่มาก เช่น ซึม มีไข้หลังฉีด 24 ชั่วโมง ผิวหนังบริเวณที่ฉีดบางรายเกิด dermatoses หรือ sarcoma อันเนื่องมาจากตัว adjuvant หรือ aluminium hydroxide ในวัคซีน วัคซีนชนิดนี้แนะนำให้ฉีดเฉพาะในรายที่ตรวจไม่พบเชื้อ FeLV ในกระแสเลือด ดังนั้นแมวที่จะได้รับวัคซีนควรตรวจหาเชื้อ FeLV ก่อนและแน่ใจว่าให้ผลลบจึงฉีดได้ ประสิทธิภาพของวัคซีนมากกว่า 70% (Rojko and Hardy, 1994)

8.2 Inactivated virus vaccine มีทั้งที่ผลิตจาก cloned whole virus มี adjuvant และไม่มี adjuvant ผลิตโดยใช้เทคนิค genetic engineering แอนติเจน gp45 เป็นส่วนของ envelope protein gp70 ของ FeLV-A

ประสิทธิภาพของวัคซีนส่วนมากบริษัทผู้ผลิตบอกไว้ว่ามากกว่า 70-90% การ booster ด้วยวัคซีนต่างผลิตภัณฑ์ (ต่างบริษัท) ไม่มีผลเสียต่อ การสร้างภูมิคุ้มกัน โรคตราบไคที่แอนติเจน ยังคงเป็น gp70 ภูมิคุ้มกันอยู่ได้นาน 12 เดือน และให้ฉีดซ้ำทุกปี (Rojko and Hardy, 1994)

วัคซีนบางชนิดภายหลังจากฉีดครั้งแรกตรวจไม่พบแอนติบอดีVN (virus neutralizing) ต่อ FeLV อย่างไรก็ตาม แมวที่ตรวจไม่พบแอนติบอดีVN เหล่านี้ มีความต้านทานต่อการ Challenge ด้วย virulent FeLV แสดงผลการมี anamnestic response โดยมีระดับแอนติบอดี VN ที่สูงขึ้น เคยมีผู้กล่าวถึงความล้มเหลวของการฉีดวัคซีน อธิบายได้น่าจะมาจากการฉีดวัคซีนให้กับแมว โดยไม่ได้ทำการตรวจก่อนว่าเป็นแมวที่ FeLV เป็นผลลบ (Hartmann, 2012)

การฉีดวัคซีนให้กับแมวที่ติดเชื้อแบบแฝงอยู่ก่อนแล้ว (แมวที่ FeLV เป็นผลลบ) อาจพบแมวป่วยด้วยโรค FeLV-associated diseases หรือเนื้องอก (virus-negative tumor) ในเวลาต่อมา หรือเมื่ออยู่ในภาวะเครียดแมวอาจเกิด viremia ได้ (Rojko and Hardy, 1994)

9. ความสำคัญทาง Public health

ไวรัส FeLV สามารถเพาะเลี้ยงได้ในเนื้อเยื่อของเซลล์มนุษย์แต่ยังไม่เคยมีรายงานการตรวจพบแอนติบอดีต่อ FeLV ในคนป่วยด้วยโรคมะเร็ง เจ้าของแมวผู้ใกล้ชิดกับแมวที่มีเชื้ออยู่ในกระแสเลือด หรือสัตว์แพทย์ หรือเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ทำงานเกี่ยวกับ FeLV culture เป็นที่เข้าใจว่าไวรัสลิวคีเมียแทบทั้งหมดมีความจำเพาะต่อประเภทของโฮสต์

โรคติดเชื้อไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมว (Feline Immunodeficiency Virus Infection)

เป็นโรคไวรัสในแมวที่ทุกวันนี้แมวจำนวนมากคาดว่าจะมีการติดเชื้อแต่ยังไม่ได้รับการวินิจฉัย รายงานเป็นครั้งแรกในปี 1986 แต่จากการศึกษาย้อนหลังพบว่ามีเชื้อ FIV อยู่ในประชากรแมวตั้งแต่ปี 1960 เป็นต้นมา (Sherding, 2000)

1. ไวรัสสาเหตุ

Feline immunodeficiency virus (FIV) เป็นเชื้อไวรัส feline T lymphotropic lentivirus (FTLV) เป็นไวรัสในตระกูล Retroviridae และตระกูลย่อย Lentivirinae เชื้อ FIV ประกอบด้วยยีนที่มีความจำเป็นในการแบ่งตัว และในการสร้างอนุภาคของไวรัสคือยีน *gag*, *pol* และ *env* FIV genome ยังมีส่วนที่สร้างโปรตีน (open reading frames) สามารถสร้างโปรตีนชนิดอื่น ๆ ที่ใช้ในการแบ่งตัวได้ด้วย (Olmsted *et al.*, 1989) ดังนั้นทำให้เชื้อนี้สามารถเข้าไปแบ่งตัวในเซลล์ที่ไม่ต้องมีอัตราการแบ่งตัวสูงได้ FIV จะแบ่งตัวในโมโนไซต์ มาโครฟาจและลิมโฟไซต์ จะแพร่กระจายทั่วร่างกาย ทำให้ปริมาณของลิมโฟไซต์และมาโครฟาจลดลง ทำให้เกิดการทำลายระบบภูมิคุ้มกัน ไวรัสในกลุ่มเดียวกันนี้ได้แก่ Ovine maedi-visna virus, Ovine progressive pneumonia virus, Equine infectious anemia virus, Caprine arthritis-encephalitis virus และ Human acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) virus แต่เชื้อ FIV เป็นไวรัสที่ species-specific และไม่เป็นอันตรายต่อคน การศึกษาใช้รูปแบบการเกิดโรคของ FIV จัดว่าเป็นต้นแบบการเกิดโรคในสัตว์ที่ดีที่สุดในการเกิดโรค

FIV เป็น retrovirus เช่นเดียวกับ FeLV แต่ไม่ได้เป็น oncovirus FeLV สามารถเจริญใน human cell line ขณะที่ FIV ไม่เจริญ FIV เหมือนกับ lentiviruses ตัวอื่น ๆ ที่เป็น cyto-pathic virus และมี antigenic drift

FIV รายงานเป็นครั้งแรกในปี 1986 โดย Neils Paderson จากกลุ่มแมวป่วยในแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา และตั้งแต่ปี 1988 เป็นต้นมามีการรายงานการติดเชื้อในแมวในประเทศต่าง ๆ เกือบทั่วโลก เช่น แคนาดา ญี่ปุ่น ยุโรป ออสเตรเลีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ FIV มีลักษณะ virion เหมือนกับ retroviruses อื่น ๆ คือ ประกอบด้วย group-specific core protein (*gag*), reverse transcriptase (*pol*), และ envelope glycoprotein (*env*) แต่เพิ่มส่วนของโปรตีนซึ่งเป็น virus genome อันเป็นลักษณะเฉพาะของ lentiviruses ขนาดของ virion 105-125 มิลลิไมครอน ไวรัสมิ budding ออกมาจาก plasma membrane ของเซลล์ที่ถูก infect ในลักษณะของ C และ D type retroviruses FIV เพิ่มจำนวนได้เฉพาะในเซลล์เพาะเลี้ยงซึ่งมาจาก feline origin เท่านั้น

ปัจจุบัน FIV มีอย่างน้อย 5 subtypes และคงมีเพิ่มขึ้นเนื่องจากไวรัสมีการเปลี่ยนแปลง antigen structures ทั้งในแมวตัวเดียวกันและระหว่างแมวด้วยกัน (Wolf *et al.*, 2001)

2. ระบาดวิทยา

พบว่ากลุ่ม wild felidae มีการติดเชื้อ FIV-related lentiviruses หลากหลาย strains ด้วยกัน เช่น ตรวจพบ FIV antibody ในสิงโตซึ่งแข็งแรงปกติ สันนิษฐานว่าไวรัสคงมีอยู่ในกลุ่ม wild felidae หรือ non-domestic cats มานานมาแล้ว แต่กลายมาเป็นไวรัสก่อโรคตัวใหม่ใน domestic cats

ลักษณะของโรคติดเชื้อ FIV เป็นแบบ endemic มากกว่า epidemic ความชุกของการเกิดโรคสำหรับประเทศในแถบเอเชียสูงมากกว่าประเทศแถบอื่นในโลก ความชุกของโรคในประเทศญี่ปุ่นสูงถึง 44% (Ishida *et al.*, 1989; Furuya *et al.*, 1990) ส่วนความชุกของโรคในประเทศไทยเท่ากับ 40% ซึ่งสำรวจจากโรงพยาบาลสัตว์ของรัฐ (กาญจน์และคณะ, 2541) เนื่องจากการเลี้ยงแมวอย่างหนาแน่นและมักจะเลี้ยงแบบปล่อยออกนอกบ้านทำให้มีโอกาสติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น อัตราการเป็นโรค ในแมวทั่ว ๆ ไปอยู่ระหว่าง น้อยกว่า ถึง 12% ในกลุ่มแมวที่มีความเสี่ยงสูงอาจสูง 15 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแมวที่เลี้ยงปล่อย แมวตัวผู้มีอัตราการติดเชื้อสูงกว่าแมวตัวเมีย ประมาณ 2 ถึง 3 เท่า แมวที่ตรวจพบ FIV มีอายุตั้งแต่ 2-3 เดือน จนถึง 18 ปี แต่เนื่องจากระยะแฝงของโรคซึ่งสัตว์ไม่แสดงอาการป่วย (asymptomatic latent period) เป็นช่วงที่ยาวนานมากอันเป็นลักษณะเฉพาะของโรคติดเชื้อ Lentivirus ทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเสื่อมถอยลงเรื่อย ๆ แมวติดเชื้อ FIV แสดงอาการป่วยมากที่สุดในช่วงอายุ 5 ถึง 6 ปี ซึ่งค่อนข้างแตกต่างจาก FeLV ที่โรคมักพบในแมวอายุน้อย และส่วนมากต่ำกว่า 6 ปีลงมา (Furuya *et al.*, 1990)

แมวที่อายุน้อยอาจพบการติดเชื้อร่วมกัน ของ FeLV และ FIV ซึ่งแมวจะมีอาการป่วยหนักและตายในที่สุด นอกจาก FeLV แล้ว FIV ยังเกิดการติดเชื้อร่วมกับ retrovirus อีกตัวหนึ่งคือ feline syncytium-forming (FeSFV) ซึ่งพบมากในกลุ่มแมวที่เลี้ยงปล่อยหรือแมวจรจัด (Rojko and Hardy, 1994)

3. การแพร่โรค

การแพร่เชื้อที่สำคัญของโรค FIV คือผ่านทางบาดแผลที่กัดกันของแมว เพราะเชื้อไวรัสจะอยู่ในน้ำลายของแมวที่ติดเชื้อ FIV โดยในแมวเพศผู้มีโอกาสสูงกว่าแมวเพศเมียถึง 3 เท่าเนื่องจากแมวตัวผู้มักจะมีการต่อสู้กันเป็นประจำ (Grindem *et al.*, 1989) ทำให้อัตราการพบโรคสูงในแมวเพศผู้ที่เลี้ยงปล่อย FIV พบได้ในน้ำลาย เลือด serum หรือ plasma และใน CSF แมวที่เลี้ยงปล่อยอยู่นอกบ้านเป็นตัวแทนแพร่โรคได้มากกว่าแมวที่เลี้ยงในบ้าน แมวป่วยที่มีอาการของช่องปากอักเสบและ

เป็นแผลหลุม จะมีไวรัสในน้ำลายจำนวนมาก แมวที่ถูกกัดเพียงครั้งเดียวสามารถได้รับเชื้อไวรัสในปริมาณที่มากพอทำให้เกิดโรคได้ ในกลุ่มแมวที่มีการเลี้ยงอยู่รวมกันธรรมชาติการเลียตัว หรือเลียขน ให้กันโอกาสแพร่เชื้อเป็นไปได้ยาก

FIV บาง strain สามารถผ่านรกได้ การแพร่เชื้อจากแม่ไปยังลูกโดยทางรก น้ำนมเหลือง และน้ำนมในลักษณะ vertical transmission (Callanan *et al.*, 1991) เกิดขึ้นได้เฉพาะกรณีที่แม่แมวมี virus load สูงหรือติดเชื้อฉับพลันระหว่างท้องซึ่งภาวะ viremia ถึงขั้นสูงสุดหรือช่วงการติดเชื้อเรื้อรังซึ่งจำนวน helper T lymphocyte (CD4) ลดต่ำลงมากและแม่แมวป่วยจากภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ (Wolf *et al.*, 2001) ไม่พบการติดเชื้อแบบธรรมชาติจากการผสมพันธุ์ หรือจากการใกล้ชิดระหว่างแม่กับลูก (Sherding, 2000) การแพร่โรค ระหว่างแมวติดเชื้อและแมวปกติการกินอาหาร และน้ำ ตลอดจนการใช้กระบะทรายสำหรับขับถ่ายร่วมกันเป็นไปได้ยาก การให้เลือด (blood transfusion) ทำให้แมวติดเชื้อได้ง่ายที่สุด

4. พยาธิกำเนิด

ไวรัส FIV มีเซลล์เป้าหมายคือ เซลล์ T lymphocytes, macrophages, salivary glands และ CNS ระยะแรกเมื่อไวรัสผ่านเข้าสู่ร่างกายจะเข้าไปอยู่ในกลุ่มเซลล์ T lymphocytes ทำลายเซลล์อย่างช้า ๆ ทำให้ทั้ง CD4 หรือ helper T lymphocyte และ CD8 หรือ cytotoxic T lymphocyte ลดลง เกิดภาวะ lymphopenia แยกเชื้อไวรัสได้จาก lymphocytes ตั้งแต่ 10-14 วัน หลังได้รับเชื้อ ภาวะ viremia จากนั้นค่อย ๆ ลดลง ซึ่งเป็นระยะที่ร่างกายมีการสร้าง antibody ต่อไวรัส เกิด generalized lymphadenopathy มีการเพิ่มจำนวน lymphocytes โดยเฉพาะ CD8 ทำให้ ratio ของ CD4: CD8 เกิดการพลิกผัน (reversion) การเกิด reversion ของ CD4 และ CD8 ratio นี้จะคงอยู่นานหลายปี จนในที่สุดปริมาณลิมโฟไซต์ทั้ง CD4 และ CD8 ค่อย ๆ ลดลง การสร้างสารไซโตคายน์ลดลง เกิดความผิดปกติในการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในส่วนที่เกี่ยวข้องกับไซโตคายน์ (Wolf *et al.*, 2001) พบไวรัสได้ในเนื้อเยื่อสมอง glial cells และมาโครฟาจทำให้เกิด meningoencephalitis เนื่องจากเซลล์เป้าหมายของเชื้อ FIV คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน CD4 และ CD8 ลิมโฟไซต์ (Pedersen *et al.*, 1991) บิลิมโฟไซต์ (Dean *et al.*, 1996) มาโครฟาจ (Brunner and Pedersen, 1989; Dow *et al.*, 1990) เมื่อเซลล์ดังกล่าวโดนทำลายจะทำให้ระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องทำให้เกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนได้ง่ายขึ้น

การติดเชื้อ FIV ทำให้เกิดการทำลายของระบบภูมิคุ้มกันเนื่องจากเซลล์เป้าหมายของเชื้อ FIV คือ เซลล์เม็ดเลือดขาวที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน CD4 และ CD8 ลิมโฟไซท์ (Pedersen *et al.*, 1991) ปีลิมโฟไซท์ (Dean *et al.*, 1996) ซึ่งจะเป็นเป้าหมายหลักและจะพบการติดเชื้อในมาโครฟาจ (Brunner & Pedersen, 1989; Dow *et al.*, 1990) ในช่วงระยะเฉียบพลันแล้วจะทำให้เกิดการเปลี่ยนจาก lymphocytotropic เป็น monocytotropic FIV strain (Beebe *et al.*, 1994) สามารถแยกเชื้อไวรัสได้จาก lymphocytes เร็วที่สุดในช่วงวันที่ 10-14 หลังจากเกิดการติดเชื้อ ระยะ viraemia จะคงอยู่จนถึงวันที่ 21 (George *et al.*, 1993; Dua *et al.*, 1994) สูงสุดในช่วงสัปดาห์ที่ 7 และ 8 และหลังจากนั้นจะลดลงอีกครั้ง ในระยะ terminal stage พบว่า CD4 จะลดลงอย่างรวดเร็ว จะทำให้มีจำนวนไวรัสเพิ่มมากขึ้น จนสามารถตรวจ proviral DNA โดยวิธี PCR จากตัวอย่างเลือด ใน peripheral blood lymphocytes หลังจากระยะ terminal stage 5 วัน และสามารถตรวจพบจากอวัยวะอื่นได้ หลังจากระยะ terminal stage 10 วัน (Reubel *et al.*, 1994) ร่างกายของแมวสามารถตอบสนองต่อการติดเชื้อ FIV โดยการผลิตแอนติบอดีหลังจากติดเชื้อแล้ว 2 อาทิตย์ (Rojko and Hardy, 1994) แอนติบอดีที่สร้างขึ้นในช่วงแรกเพื่อต่อต้าน envelope proteins ของเชื้อไวรัสในช่วงแรก และในช่วงต่อมาจะต่อต้าน core protein (Egberink *et al.*, 1992) แอนติเจนของเชื้อสามารถกระตุ้นการติดเชื้อของ B-cell ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ติดเชื้อ (Lehmann *et al.*, 1992)

ในระยะที่มีเชื้อไวรัสสูง จะทำให้ CD4 cells ลดลงประมาณหนึ่งในสาม เนื่องจากเกิดการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสในเซลล์ ในระยะที่ไม่แสดงอาการของโรค CD4 cells จะลดลงอย่างช้า ๆ และจะลดลงอย่างรวดเร็วในระยะ terminal AIDS และในช่วงที่เกิดการลดลงของ CD4 cell ก็พบการเพิ่มจำนวนของ CD8 cells จึงเป็นผลให้อัตราส่วนของ CD4:CD8 ลดลง การลดจำนวนลงของ CD4 มีหลายกลไกที่ทำให้เกิด เช่น การ apoptosis ของ CD4 การมีช่วงชีวิตสั้นลง (Bishop *et al.*, 1993) สอดคล้องกับการศึกษาของ (Collado *et al.*, 2012) ได้ทำการศึกษาในแมวที่ติดเชื้อไวรัสในกลุ่มรีโทรไวรัส 2 ชนิด คือ FIV และ FeLV พบว่า อัตราส่วนของ CD4:CD8 lymphocyte จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญในแมวที่ติดเชื้อ FIV แสดงให้เห็นว่าเฉพาะเชื้อ FIV ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ที่ติดเชื้อแย่ลง เนื่องจากเซลล์ CD8 lymphocyte เป็น cytotoxicity cell ที่ทำหน้าที่ในการต่อสู้กับเชื้อมีจำนวนมากขึ้น และ CD4 lymphocyte เกิดการ apoptosis มากขึ้น ทำให้อัตราส่วนลดลง และสัมพันธ์กับ clinical status และ viral status ณ ขณะนั้นด้วย และพบว่าการติดเชื้อ FIV ในแมวทำลายระบบภูมิคุ้มกันเช่นเดียวกับการติดเชื้อ HIV ในคน (Clerici *et al.*, 1989)

5. อาการทางคลินิก

ระยะเวลาของการป่วยและอาการของโรคขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อายุและสุขภาพของแมวก่อนได้รับเชื้อ ปริมาณและสายพันธุ์ของไวรัส และการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของแมวที่ติดเชื้อแต่ละราย ระยะพักตัวในรายที่ติดเชื้อแบบธรรมชาติไม่ทราบแน่ชัด แต่ในลูกแมวทดลองสัตว์เริ่มแสดงอาการหลังจากได้รับเชื้อ 4-5 สัปดาห์ (Wolf *et al.*, 2001)

FIV เมื่อเปรียบเทียบกับ HIV เป็นเชื้อที่มี virulent น้อยกว่า แมวที่แสดงอาการป่วยส่วนมากเป็นอาการของการอักเสบเรื้อรัง หรือโรคติดเชื้อฉวยโอกาสอื่น ๆ มากกว่าอันเนื่องมาจากการลดลงของ CD4 และ CMI ขณะที่แมวติดเชื้ออีกจำนวนหนึ่งยังคว่ำมีสุขภาพทั่วไปดี ในรายที่ติดเชื้อแบบธรรมชาติ อาการทางคลินิกแบ่งออกเป็น 5 ระยะ ใกล้เคียงกับลักษณะการติดเชื้อ HIV ในคน (Wolf *et al.*, 2001) คือ Acute primary stage, Asymptomatic carrier stage, Persistent generalized lymphadenopathy, ARC-Aids-related complex stage และ Chronic terminal phase

อาการในระยะ acute ได้แก่ fever, neutropenia, generalized lymphadenopathy พบในราวสัปดาห์ที่ 3 หลังจากได้รับเชื้อ อาการดังกล่าวอาจไม่รุนแรงหรือไม่ชัดเจนจนเจ้าของสามารถสังเกตเห็นความผิดปกติได้ ยกเว้นในลูกแมว และแมวสูงอายุที่แสดงอาการ lymphadenopathy อาจเกิดอยู่นานและเห็นได้ชัดเจน

การติดเชื้อ FIV ระยะต้นแตกต่างจากกรณี FeLV ตรงที่แมวติดเชื้อ FeLV เกิด neutropenia ร่วมกับ thrombocytopenia และ anemia การเกิด lymphadenopathy ในระยะต้นเป็นอยู่ไม่นานเกิน 3-4 เดือน ซึ่งในกรณี FIV infection การขยายใหญ่ของต่อมน้ำเหลืองด้านนอกเป็นอยู่นาน 2-9 เดือน ความผิดปกติของต่อมน้ำเหลืองเป็นทั้ง hyperplasia และ dysplasia หลังจากนั้นแมวกลับดูปกติไปเป็นเวลายาวนานจนถึงจุดที่ระบบการสร้างภูมิคุ้มกันไม่ทำงาน (Burkhard and Hoover, 1999) การมีขนาดโตขึ้นของต่อมน้ำเหลืองเมื่อทำ cytology พบ lymphoblasts จำนวนมากอาจทำให้เข้าใจผิดได้ว่าเป็น lymphoma ได้ อาการอื่น ๆ ในระยะ acute ได้แก่การติดเชื้อแบคทีเรียของผิวหนัง ท้องเสียเรื้อรังและชืด อาการที่กล่าวมาทั้งหมดนี้รวมถึงการติดเชื้อแบคทีเรีย จะตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะทั่ว ๆ ไป

ระยะที่ 2 latency หรือ asymptomatic phase ไวรัสมีการเจริญอยู่เฉพาะในต่อมน้ำเหลือง ภาวะ viremia ลดลงมากจนไม่สามารถพบเชื้อได้ในเลือด แม้มีเพียง tissue replication แต่ไวรัสคงมีปริมาณแอนติเจนเพียงพอกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีต่อไปเรื่อย ๆ

แมวติดเชื้อ FIV เหมือนกับคนหรือสัตว์อื่น ๆ ที่ติดเชื้อ lentiviruses ตรงที่การติดเชื้อเป็นไปตลอดชีวิต ซึ่งต่างกับแมวที่ติดเชื้อ FeLV แมวที่หายป่วยจากระยะ acute FeLV infection อาจมีสุขภาพดีเหมือนแมวปกติ และปลอดจากเชื้อไวรัสได้ ยกเว้นในรายที่ FeLV ทำลายเซลล์ของไขกระดูกและต่อมน้ำเหลืองอย่างรุนแรง

ระยะเวลาของ FIV latent infection ยังไม่มีการศึกษาอย่างแท้จริงว่าเป็นเวลานานเท่าใด ทราบแต่ว่านานเป็นเดือนถึงหลาย ๆ ปี เมื่อเปรียบเทียบกับ HIV infection ซึ่งระยะดังกล่าวโดยเฉลี่ยประมาณ 6 ปี (7 ถึง 10 ปี) อย่างไรก็ดีแม้จะไม่มีอาการผิดปกติทางคลินิกให้เห็นแต่จำนวนเซลล์ CD4 T lymphocytes จะลดลงเรื่อย ๆ ทำให้อัตราส่วนของ CD4:CD8 ลดลง (Wolf *et al.*, 2001)

ระยะที่ 3 แมวจำนวนหนึ่งที่แสดงอาการป่วยชัดเจนและถูกพามารักษาใน stage นี้ ตรวจพบ persistent lymphadenopathy ต่อมน้ำเหลืองตำแหน่งต่าง ๆ ขยายใหญ่ รวมทั้งม้าม (splenomegaly) นอกจากนี้ยังมีการใช้จิ้น ๆ ลง ๆ น้ำหนักลด เบื่ออาหาร เม็ดเลือดขาวต่ำ โลหิตจาง ช่องปากอักเสบโดยไม่มีการติดเชื้อแทรกซ้อน หรือโรคฉวยโอกาส (Sherding, 2000)

ระยะที่ 4 แมวที่มีอาการป่วยไม่ชัดเจน จะถูกนำมารักษาด้วยอาการป่วยซึ่งมีความหลากหลายมากขึ้นอยู่กับโรค chronic inflammatory disease ที่เป็น secondary และการเป็นโรคติดเชื้อฉวยโอกาสอันเนื่องมาจากภาวะขาดภูมิคุ้มกันทาน อาการของโรคเรื้อรังเหล่านี้จะทำให้แมวทรุดโทรมลงเรื่อย ๆ โลหิตจาง โดยใช้เวลาเป็นเดือน ๆ หรือเป็นปี และทำให้แมวป่วยตายในที่สุด

โรคที่พบในกรณีติดเชื้อ FIV แบบเรื้อรัง ได้แก่

ช่องปากและเหงือกอักเสบ (stomatitis, gingivitis, periodontitis) พบประมาณ 50% ของแมวป่วย

ไตวาย (nephropathy) 50% ของแมวป่วยระยะสุดท้ายจะเกิดไตวาย อาการสำคัญคือ proteinuria azotemia และการ concentration ปัสสาวะเสียไป (Burkhard and Hoover, 1999)

โลหิตจางและเม็ดเลือดขาวต่ำ (neutropenia และ lymphopenia) พบประมาณ 1 ใน 4 ของแมวป่วย ผอมแห้ง แมวป่วยจะมีน้ำหนักตัวลดลงอย่างรวดเร็ว และประมาณ 40% จะอยู่ในสภาพ cachexia ยังไม่สามารถอธิบายขบวนการทางพยาธิวิทยาได้ แต่พบว่าในคนป่วยด้วย HIV ไวรัสมิผลโดยตรงกับ lipid metabolism (Burkhard and Hoover, 1999)

ท้องเสียเรื้อรัง (enterocolitis, non-specific diarrhea) พบประมาณ 25% ของแมว FIV และยังไม่สามารถอธิบายถึงความเปลี่ยนแปลงการทำงานลำไส้ในส่วนที่สัมพันธ์กับไวรัสได้

โรคทางเดินหายใจส่วนต้นเรื้อรัง มากกว่า 25% ของแมวป่วย อย่างน้อยจะมี nasal discharge

ประมาณ 30% ของแมวติดเชื้อจะมีต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ ซึ่งรวมถึงเนื้อเยื่อน้ำเหลืองอื่น ๆ ด้วย เช่น ม้าม lymphoid tissue ของผนังลำไส้ การขยายใหญ่ของต่อมน้ำเหลืองพบได้ทั้งระยะเฉียบพลัน ไม่แสดงอาการและเรื้อรัง

โรคติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น โรคผิวหนังเรื้อรัง (pustular dermatitis, abscess) ช่องหูอักเสบเรื้อรัง (purulent necrotizing otitis externa) โรคติดเชื้อแบคทีเรียของทางเดินปัสสาวะ ซึ่งเป็น หาย ๆ เป็นระยะ ๆ เป็นต้น

FIV ระยะสุดท้าย แมวป่วยแทบทุกรายจะเกิดโลหิตจาง และเม็ดเลือดขาวต่ำขั้นรุนแรง โรคติดเชื้อฉวยโอกาสที่พบในระยะสุดท้ายแมวป่วยส่วนมากเป็นโรคของการติดเชื้อโดย intracellular organisms ที่เกี่ยวข้องกับ CMI มากกว่าโรคที่ควบคุมได้ด้วย humoral immunity ได้แก่ โรคติดเชื้อ Calicivirus, Haemoplasmosis, Cryptococcosis, Candidiasis และ *Pseudomonas spp* โรคผิวหนัง เช่น Demodectic mange หรือ Notoedric mange

การติดเชื้อร่วมกันของ FIV กับ retrovirus อื่น พบมีการติดเชื้อร่วมกับ FeLV (ประมาณ 10-15%) ซึ่งแมวป่วยจะแสดงอาการของโรคหรือความผิดปกติทางโลหิตวิทยา และโรคทางระบบภูมิคุ้มกันรุนแรงกว่าแมวที่ติดเชื้อ FIV หรือ FeLV ชนิดใดชนิดหนึ่งอย่างเดียว เข้าใจว่าการติดเชื้อ FeLV มีผลส่งเสริมทำให้ไวรัส FIV มีการเจริญเร็วขึ้น (Burkhard and Hoover, 1999) ทำให้ปริมาณไวรัสมากขึ้น และจำนวน CD4 ลดลงเร็วขึ้น พบการติดเชื้อร่วมกันระหว่าง FIV และ feline syncytial forming virus (FSFV) ประมาณ 74% แต่ไม่พบว่า FSFV มีผลต่อ pathogenesis ของการติดเชื้อ FIV (Macy, 1994)

ตารางที่ 2 สรุประยะของโรคติดเชื้อ FIV ในแมว

ระยะของโรค	ระยะเวลา	อาการหลัก
1	0-2 สัปดาห์	ไม่แน่นอน ต่อม้ำเหลืองขนาดใหญ่ มีไข้
2	>1-5 ปี	ไม่มีอาการป่วย
3	เดือน- ปี	อาการไม่สบายทั่ว ๆ ไป ต่อม้ำเหลืองขนาดใหญ่ น้ำหนักลด ขี้ดออักเสบ เจ็บตามตัวไม่เฉพาะที่ เบื่ออาหาร
4	6 เดือน- 1 ปี	โรคทุติยภูมิ ช่องปากอักเสบ โรคทางเดินหายใจส่วนต้น เรื้อรัง โรคทางเดินอาหาร โรคผิวหนัง น้ำหนักลด โลหิตจาง เม็ดเลือดขาวต่ำ
5	หลายเดือน	โรคติดเชื้อฉวยโอกาส น้ำหนักลดลงเรื่อย ๆ ผอมแห้ง โลหิตจาง เม็ดเลือดขาวต่ำ
6	หลายเดือน	อาการระบบประสาท ม่านตาอักเสบ โรคทางภูมิคุ้มกัน เนื้อเยื่อ มะเร็ง

ที่มา: Hartmann (2012)

6. การวินิจฉัย

6.1 การตรวจทางซีรัมวิทยา เป็นการตรวจแอนติบอดีต่อ FIV สามารถตรวจพบภายหลังแมวได้รับเชื้อ 2-4 สัปดาห์ โดยทั่วไประดับความเข้มข้นของแอนติบอดีมีจำนวนผันผวนกับระดับความเข้มข้นของแอนติเจนเช่นเดียวกับโรคติดเชื้อ HIV ในคน การตรวจพบแอนติบอดีเฉพาะต่อ FIV ถือว่าเพียงพอต่อการวินิจฉัยว่าแมวที่ให้ผลบวกมีการติดเชื้อ (Wolf *et al.*, 2001) การตรวจหาแอนติบอดีของ FIV ทำได้โดยวิธีดังต่อไปนี้

6.1.1 IFA test โดยใช้ Crandell feline kidney cell และ feline fibroblast cell line

6.1.2 ELISA ปัจจุบันมีชุดทดสอบสำหรับการตรวจหาแอนติบอดีของ FIV ได้แก่

ก. Pet check FIV และ CITE Combo ของบริษัท IDEXX Laboratories

ตรวจหา แอนติเจน p27 ของ FeLV และ แอนติบอดีต่อ gp24 ของ FIV

ข. Virachek/FIV ของบริษัท Synbiotics ซึ่งสะดวกกับสัตวแพทย์ในคลินิกหรือโรงพยาบาลสัตว์

6.1.3 Rapid Immuno Migration (RIM) technique เป็นการตรวจหาแอนติเจน p27 ของ FeLV และ gp 70 ของ FIV ผลบวกลบพบได้ยาก ยกเว้นกรณีที่แมวอยู่ในระยะฟักตัว 2 ถึง 4 สัปดาห์แรกหลังจากสัมผัสเชื้อหรือแมวป่วยอยู่ในระยะสุดท้ายของการเป็นโรค ซึ่งร่างกายสร้างแอนติบอดีได้น้อยมากหรือไม่สร้างแล้ว ใน 2 กรณีที่กล่าวถึงนี้ แมวจะมีปริมาณไวรัสในร่างกายสูงสุด และพร้อมจะเป็นตัวแพร่โรค

ผลบวกลบพบได้บ่อยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี immunoblot มีรายงานว่าแอนติบอดีต่อ FIV จากนม น้ำเหลือง สามารถตรวจพบในลูกแมวได้จนถึงอายุ 6 เดือน เพราะฉะนั้นถ้าจำเป็นต้องทำการตรวจกรองโรคในลูกแมว ให้ทำการตรวจซ้ำอีกครั้งหลังจากอายุ 6 เดือน (Wolf *et al.*, 2001) แนะนำว่าถ้าแมวที่ให้ผลการตรวจเป็นบวกเป็นแมวที่ยังมีสุขภาพดีและมาจากกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่ำ ให้ทำการตรวจยืนยันด้วยวิธี immunoblot หรือ western blot อีกครั้ง

6.1.4 Western blot ตรวจหาแอนติบอดีต่อโปรตีนเฉพาะของไวรัส (specific viral proteins) และถือเป็น gold standard เพื่อยืนยันตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วย ELISA ถึงแม้ว่าจะมีความไว้น้อยกว่า ELISA โดยเฉพาะในรายที่มีระดับแอนติบอดีต่ำมาก

6.2 การตรวจหา proviral DNA หรือ viral nucleic acids จากเนื้อเยื่อเซลล์เม็ดเลือด หรือจากพลาสมา ทำได้โดยใช้เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) และ in-situ hybridization มีความไวจำเพาะมาก สามารถตรวจพบไวรัสได้ก่อนที่ร่างกายเริ่มสร้างแอนติบอดี อย่างไรก็ตาม FIV บางสายพันธุ์ตรวจไม่พบด้วยเทคนิค PCR เนื่องจากมีการแปรผันของจีโนมไวรัส การตรวจหาไวรัสอีกวิธีหนึ่งคือการทำเพาะแยกเชื้อไวรัสจาก mononuclear cells ในเลือด วิธีนี้อาจให้ผลบวกลบกรณีที่ CD8 T cells ที่มีจำนวนมากมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนไวรัส ในขั้นตอนการทำ และต้องทำการกำจัด CD8 ออกไปจากตัวอย่างของเลือดก่อน (Burkhard and Hoover, 1999)

6.3 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบว่ามากกว่า 75% ของแมวติดเชื้อ FIV ในระยะฉับพลัน พบ neutropenia และ leucopenia 6-9 สัปดาห์ หลังจากติดเชื้อ การเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาดังกล่าวเป็นอยู่นาน 2-8 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะกลับเข้าสู่สภาพปกติแมวไม่มีอาการป่วยภาวะโลหิตจางชนิด non degenerative พบได้เสมอในแมวติดเชื้อ FIV ซึ่งเป็นภาวะโลหิตจางแบบไม่จำเพาะ พบได้ในกรณีโรคเรื้อรังทั่ว ๆ ไป การตรวจทางชีวเคมีพบว่า 1 ใน 3 พบภาวะกลอบบูลินในเลือดสูง ทั้งในแมวที่แสดงอาการป่วยและแมวที่ไม่แสดงอาการป่วย เช่นเดียวกับการติดเชื้อ HIV (Yamamoto *et al.*, 1989)

6.4 รอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อน้ำเหลืองพบลักษณะของ follicular hyperplasia จำนวนมาก มีการแทรกตัวของ plasma cells ทำให้ follicles มีลักษณะเจริญผิดปกติ เนื่องจากเกิดการเจริญแบบไม่สมมาตรและยื่นลงไปถึงส่วนของเยื่อหุ้มชั้นนอกของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองเป็นลักษณะทางจุลพยาธิ ที่สำคัญมากที่สุดที่พบในระยะสุดท้ายของโรคติดเชื้อ FIV ในแมวและ HIV ในคน

6.5 การวัดปริมาณเซลล์ระบบภูมิคุ้มกัน (CD4:CD8 cell analysis) เป็นการวัดจำนวนและหาอัตราส่วนของเซลล์ CD4 T lymphocyte และ CD8 T lymphocyte ในเลือด ทำโดยใช้ flow cytometry เป็นการตรวจสอบและบอกการพัฒนาของโรคเพื่อพยากรณ์โรค แมวป่วยเรื้อรังหรือมีอาการทางคลินิกขั้นรุนแรงจะมีจำนวน CD4 T lymphocyte ลดลงมากและอัตราส่วนของ CD4:CD8 ต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับแมวติดเชื้อที่ยังสุขภาพดี (Burkhard and Hoover, 1999)

7. การพยากรณ์โรค

ขึ้นอยู่กับว่าสัตว์อยู่ในระยะใดของโรคเมื่อสามารถตรวจวินิจฉัยได้ ถ้าแมวอยู่ในระยะต้นของโรคอาจแสดงอาการป่วยที่ไม่รุนแรง หรือมีอาการป่วยเป็นครั้งคราว หลังจากนั้นกลับมีสุขภาพดีไปอีกหลายปี แมวที่อยู่ในระยะเรื้อรัง จะไม่ตอบสนองต่อการรักษา แต่สามารถมีชีวิตต่อไปได้อีกหลายเดือนหรือถึงปี

8. การรักษาและป้องกัน

8.1 การรักษาแบบประคับประคอง แมวที่ให้ผลบวกต่อการตรวจ FIV ให้ตรวจหาการติดเชื้อแทรกซ้อนที่จำเป็นต้องทำการรักษาก่อน ตัวอย่างเช่น โรคช่องปากอักเสบ ไตวายเรื้อรัง

ในรายที่นิวโทรฟิลต่ำรุนแรง การใช้ granulocyte colony-stimulation factor (G-CSF) อาจทำให้เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น แต่ขณะเดียวกันปริมาณไวรัสในเลือดจะเพิ่มขึ้นด้วยเพราะยามีผลกระทบทำให้ไวรัสเข้าสู่เซลล์ลิมโฟไซต์ได้ง่ายขึ้น การใช้ erythropoietin (rHuEPO) ให้ผลในรายโลหิตจางชนิด non-regenerative เนื่องจากการขาดฮอร์โมน erythropoietin ในรายไตวายเรื้อรัง พบว่าแมวที่ติดเชื้อ FIV เมื่อได้ rHuEPO ขนาด 100 IU ต่อกิโลกรัม ฉีดเข้าใต้หนังทุก 48 ชั่วโมง ทั้งจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวค่อย ๆ เพิ่มขึ้น โดยปริมาณไวรัสในเลือดไม่สูงขึ้น ซึ่งเป็นข้อดีกว่า rHuEPO ใช้ได้อย่างปลอดภัยในแมว FIV (Arai *et al.*, 2000) ผลการรักษาโรคแทรกซ้อนในระยะเรื้อรัง ขึ้นอยู่กับระดับภูมิคุ้มกันในตัวแมว

ตารางที่ 3 ยาและสารปรับภูมิคุ้มกัน (Immunomodulators or antiviral drugs) ที่ได้รับการแนะนำให้ใช้ในการรักษา FIV

ยาและสารปรับภูมิคุ้มกัน	จุดประสงค์และกลไกการออกฤทธิ์
Interferon alphe 30 units (1 ml) กินทุกวัน สัปดาห์เว้นสัปดาห์	Immunomodulation (ใช้ร่วมกับการรักษาอื่น)
Recombinant feline interferon omega 1MU/kg SC (as recommended by the manufacturer)	Antivirus
Propionibacterium acnes 0.5 ml IV Twice weekly for 2 weeks, then weekly	Immunomodulation
Acemannan 2 mg/kg IP once weekly for 6 weeks	Immunomodulation
Bovine lactoferrin 40 mg/kg PO daily	Immunomodulation

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ยาและสารปรับภูมิคุ้มกัน	จุดประสงค์และกลไกการออกฤทธิ์
AZT 5-15 mg/kg PO or SC BID	Antivirus (ลด plasma viral load และเพิ่มจำนวน CD4)
Interferon alpha 100,000-1,000,000 units/kg SC daily for 6-12 weeks	Antivirus
Recombinant feline Interferon omega 1 MU/Kg SC (are recommended by the manufacturer)	Antivirus

ที่มา: คัดแปลงจาก Levy (2006)

9. การใช้วัคซีน

โดยทั่วไปแมวติดเชื้อ FIV มีระดับแอนติบอดีต่อไวรัสสูงมากแต่เป็นแอนติบอดีที่ไม่ได้ช่วยในการกำจัดโรค วัคซีนสำหรับโรค FIV ควรมีคุณสมบัติเหมือนกับวัคซีน HIV ในคนคือกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ ปัญหาในการผลิตวัคซีนที่มีคุณสมบัติดังกล่าวเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของไวรัส พบว่าเชื้อ FIV มีอัตราการกลายพันธุ์สูงมากทำให้เกิด subtype ที่แตกต่างกัน และยังเกิด genetic variation ในหลาย strains ของ subtype เดียวกัน

ปัจจุบันวัคซีนป้องกัน FIV มีผลิตภัณฑ์เดียวคือ FeL-O-VAX FIV เป็นวัคซีน inactivated ป้องกันโรค FIV ที่เกิดจาก 2 subtype (dual-subtype vaccine) คือ subtype A (Petaluma) และ subtype D (Shizuoka) อยู่ใน adjuvant ผลิตโดยบริษัท Fort Dodge Animal health, USA ทำมาจาก whole virus สามารถกระตุ้น virus-neutralizing antibodies ได้กว้าง แต่มีข้อเสียที่แอนติบอดีจากวัคซีนไม่สามารถแยกออกได้จากแอนติบอดีที่เกิดจากการติดเชื้อธรรมชาติ ทำให้แมวที่ได้รับวัคซีนให้ผลบวกลงต่อการตรวจหาโรคด้วยวิธีการตรวจทางซีรัมวิทยา

แมวติดเชื้อ FeLV ควรได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้ออื่น ๆ ได้แก่ วัคซีนป้องกัน panleukopenia rhinotracheitis, calicivirus และ rabies ควรเป็นวัคซีนเชื้อตาย (inactivated vaccine)

แต่แมวที่ให้ผลบวกต่อ FIV ถ้าไม่เคยได้รับวัคซีนป้องกัน โรคไวรัสอื่น ๆ มาก่อนควรฉีดให้ทันที ด้วยวัคซีนเชื้อตาย แต่ไม่แนะนำการฉีดกระตุ้นทุกปี เนื่องจากจะทำให้ CD4:CD8 ลดลง ปกติแล้ว แมวที่ติดเชื้อมานานไม่เกิน 2 ปี ยังสามารถสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อการได้รับวัคซีน การ ป้องกันการแพร่โรคของแมวติดเชื้อช่วยได้โดยแนะนำไม่ให้เจ้าของปล่อยแมวออกเที่ยวนอกบ้าน หรือให้ทำหมันแมวเพื่อลดการออกไปต่อสู้กับแมวอื่น

การตรวจหาอัตราส่วน CD4:CD8 โดยใช้ Flow cytometry

เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดทำให้เกิดการทำลายของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน โดย FeLV ส่งทำลายเซลล์ในไขกระดูกซึ่งเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน FIV ทำลาย เซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์และมาโครฟาจโดยตรง ความสำคัญของเซลล์เม็ดเลือดขาวคือทำ หน้าที่ทำลายเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอม เซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ B cells และ T cells หน้าที่ของ B cells คือทำหน้าที่ผลิตภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำที่เรียกว่าแอนติบอดี โดยที่ B cells จะถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนแล้วจึงเปลี่ยนเป็น plasma cells เพื่อสร้างแอนติบอดีจำเพาะต่อ แอนติเจนนั้น ส่วน T cells ทำหน้าที่ด้านการตอบสนองทางด้านเซลล์ เพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมหรือ จุลชีพแบ่งเป็น CD4 หรือ helper T (Th) cells เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีแอนติเจนชนิด CD4 บน ผนังเซลล์ ทำหน้าที่ส่งเสริมเรียกเซลล์เม็ดเลือดขาวอื่น เช่น B cell ในการสร้างแอนติบอดีจำเพาะ T cells เพื่อการเปลี่ยนเป็น cytotoxic T cells (CTL) ดังนั้น CD4 จึงมีความสำคัญมากเพราะมีส่วนร่วม ในการทำให้มีภูมิคุ้มกันทั้งแบบเซลล์และสารน้ำ ส่วน CD8 หรือ killer cells หรือ suppressor cells เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีแอนติเจนชนิด CD8 บนผนังเซลล์ทำหน้าที่ทำลายเซลล์ที่ผิดปกติหรือที่ ติดเชื้อจุลชีพ การตรวจหา CD4:CD8 ซึ่งเป็นการตรวจหา immunophenotyping สามารถตรวจได้ โดยวิธี Flow cytometry โดยคิดจากเปอร์เซ็นต์ของ CD4 และ CD8 ซึ่งเทคนิคนี้พัฒนาเพื่อใช้แยก ชนิดของเซลล์โดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะจับกับตัวจำแนกชนิดของเซลล์ที่ตำแหน่งผิวเซลล์ (cell surface markers) คือ CD4, CD8 lymphocytes การศึกษาของ Byrne *et al.* (1999) จัดทำ standard protocol สำหรับการตรวจชนิดของ lymphocytes ในสุนัขและแมวที่มีสุขภาพปกติ โดยวิธี flow cytometry พบว่าค่าปกติของ Feline T lymphocyte 77.3%, Feline CD4 44.5%, Feline CD8 25.7%, Feline B cell 24.1%, Feline CD4:CD8 = 1.75 การศึกษาในแมวที่ติดเชื้อ FIV และ FeLV พบว่า CD4:CD8 ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยอัตราส่วนลดลงน้อยกว่า 0.9 บ่งบอกว่า ระดับภูมิคุ้มกันลดต่ำลง (Collado *et al.*, 2012)

หลักการของ Flow cytometry เป็นเทคนิคการวัดลักษณะของเซลล์แต่ละเซลล์โดยใช้หลักการวัดรังสี โฟตอนที่เซลล์กระจาย(scatter) และปล่อยแสง(emit) ออกมาภายหลังได้รับพลังงานแสงกระตุ้นจากภายนอก เทคนิคดังกล่าวได้รับการพัฒนามานานมากกว่า 40 ปี ในระยะแรกการใช้ยังมีข้อจำกัดอย่างมาก เนื่องจากตัวเครื่องมือมีขนาดใหญ่ การใช้ การดูแลรักษายากและราคาแพง จึงถูกใช้เฉพาะงานวิจัยที่ซับซ้อนเท่านั้น แต่ปัจจุบันเทคนิค Flow cytometry มีการพัฒนาก้าวหน้าอย่างมาก ทำให้สามารถใช้ได้สะดวกยิ่งขึ้น สามารถวัดคุณสมบัติของเซลล์ได้หลากหลาย ซึ่งอาจมากถึง 13 ลักษณะพร้อม ๆ กัน (Shapiro, 2003) และใช้เวลาในการวัดผลโดยวัดที่อัตราเร็วสูงถึง 100,000 เซลล์ต่อวินาที ทำให้ flow cytometry ถูกนำมาใช้ในงานวิจัยทางการแพทย์หลากหลายสาขาวิชา โดยเฉพาะด้านโลหิตวิทยาและวิทยาภูมิคุ้มกัน ยังถูกนำมาใช้ทางคลินิกเพื่อช่วยในการวินิจฉัยและติดตามการรักษาอย่างกว้างขวาง เช่น การวินิจฉัยชนิดของโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวและการตอบสนองต่อยาเคมีบำบัด การติดตามผลการรักษาของการปลูกถ่ายสเต็มเซลล์ ช่วยในการตัดสินใจให้ยาต้านไวรัสและติดตามการรักษาในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี การวินิจฉัยหาชนิดของสารก่อภูมิแพ้ที่เป็นสาเหตุ โดยการตรวจ basophil activation test และ โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องแต่กำเนิดที่มีความผิดปกติของ T cell และ B cell โดยการวัดปริมาณของของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์แต่ละชนิด และการตรวจการทำงานของนิวโทรฟิลเป็นต้น หลักการพื้นฐานของ flow cytometry คือเซลล์ที่ต้องการตรวจสอบจะต้องอยู่ในลักษณะแขวนลอยในสารละลาย เครื่องมือจะผลักให้เซลล์ไหลผ่านท่อกรวยขนาดเล็ก ในลักษณะการเรียงตัวเดี่ยว ๆ ผ่านลำแสงเลเซอร์ที่ถูกยิงมาตกกระทบเซลล์ และมีส่วนรับแสงเลเซอร์ที่ผ่านหรือหักเหออกมา การวัดคุณสมบัติของเซลล์อาศัยการหักเหของแสง การกระจายและปล่อยแสงออกมา โดยแสงที่มีการหักเหเพียงเล็กน้อย(น้อยกว่า 5 องศา) เรียกว่า forward scatter (FSC) เป็นตัวบอกขนาดของเซลล์ ส่วนแสงที่หักเหออกด้านข้างเรียกว่า side scatter (SSC) เป็นตัววัดคุณสมบัติอื่น ๆ เช่น granularity, membrane roughness ที่เรียกรวมว่า cell complexity นอกจากนี้หากเซลล์ถูกจับด้วยแอนติบอดี(monoclonal antibody) ต้องมีเครื่องหมายเฉพาะ (specific marker) ที่สนใจ และติดฉลากสี fluorochrome ที่แตกต่างกัน เมื่อเซลล์ผ่านแสงเลเซอร์จะมีการกระจายของ SSC ผ่านเลนส์และฟิลเตอร์ไปยังตัวรับ photomultiple tube ซึ่งจะสามารถแยกความยาวคลื่นแสงเปลี่ยนเป็นสัญญาณดิจิทัล ประมวลผล นำมาแสดงและแปลผล ทำให้สามารถแยกลักษณะความแตกต่างของแต่ละเซลล์ที่มี specific marker ที่สนใจออกจากกันเซลล์อื่น ๆ บนหน้าจอคอมพิวเตอร์ได้ นอกจากนี้ flow cytometer บางเครื่องยังสามารถใช้แยกเซลล์ที่สนใจออกมาต่างหาก โดยการปรับประจุบวกตามการปล่อยพลังงานแสงของเซลล์ ด้วยสนามแม่เหล็กไฟฟ้า โดยวิธีการดังกล่าวเรียกว่า fluoresce-activated cell sorting (FACS) โดยเซลล์ที่แยกออกมาได้นี้จะยังมีชีวิตและมีคุณสมบัติที่ไม่เปลี่ยนแปลง สามารถนำไปเพาะเลี้ยง(culture) หรือใช้ในการทดลองอื่น ๆ ต่อไปได้ (Moloney and Shreffler, 2008)

การเลือกชนิด fluorochrome ติดอยู่กับ monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อเซลล์ เพื่อแยกคุณสมบัติของเซลล์นั้น ขึ้นกับความสามารถการตรวจวัดความยาวคลื่นของสี fluorochrome ของเครื่อง flow cytometer โดยจะต้องเลือกสีที่เครื่องสามารถตรวจจับในช่วงความยาวคลื่นนั้น ๆ และนำมาประมวลผลแยกความแตกต่างของเซลล์ได้ เรียกการแยกความแตกต่างของเซลล์นี้ว่า gating เครื่องพื้นฐานอาจแยกได้เพียง 2-3 สี ซึ่งเพียงพอกับการใช้งานทางคลินิกง่าย ๆ เช่น การวัดจำนวนของ T helper cell ด้วยการย้อมเซลล์เม็ดเลือดขาวด้วยสี fluorochrome ที่ติดกับ monoclonal antibody ต่อ CD3, CD4 และ CD8 ในขณะที่เครื่องมือขั้นสูงจะตรวจวัดความยาวคลื่นได้หลายระยะ ทำให้ผู้ตรวจสามารถย้อมเซลล์ด้วยสี fluorochrome หลากหลายพร้อมกัน ซึ่งอาจมากถึง 13 สี อย่างไรก็ตาม การวัดสีหลายสีพร้อมกันนี้ จะมีโอกาสที่สีเหล่านี้ให้ความยาวคลื่นที่ซ้อนทับกันได้ (spillover) ทำให้เกิดการแปรผลที่ผิดพลาด จึงต้องมีกระบวนการที่เรียกว่า compensation เพื่อให้การแปรผลในการแยกลักษณะของเซลล์ได้ถูกต้องยิ่งขึ้น (Rosa *et al.*, 2001)

1. การแปลผลและแสดงผล

ข้อควรคำนึงที่สำคัญของการใช้เทคนิค flow cytometry เพื่อการแปลผลที่แม่นยำ ถูกต้องมีดังนี้ คือ

1.1 การออกแบบการทดลองและการเลือก negative control นอกเหนือจากการเลือก monoclonal antibody ที่จะใช้แล้ว การเลือกสี fluorochrome ที่ใช้ในการย้อมเซลล์มีความสำคัญอย่างมากโดยเฉพาะเมื่อต้องย้อมหลาย ๆ สีพร้อมกัน ซึ่งหากเลือกสีไม่เหมาะสม อาจมีผลต่อการแปลผลได้โดยทำให้เกิดผลลบลง (false negative) เช่น การใช้สีที่มีความเข้ม (intensity) สูง มาย้อม surface marker ที่มีปริมาณมากบนเซลล์ พร้อมกับการใช้สีที่มีความเข้มน้อยมาย้อม surface marker ที่พบได้น้อย โอกาสที่จะตรวจพบ surface marker ที่พบได้น้อยจะลดลง เพราะสีที่มีความเข้มสูง อาจ spillover บดบังตัวรับความยาวคลื่นของสีที่มีความเข้มน้อยได้ หลักการเบื้องต้นที่สำคัญของการเลือกชนิดของสี fluorochrome คือ ใช้สีที่มีความเข้มสูงในการจับ monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ marker ที่พบได้น้อย ส่วนสีที่มีความเข้มน้อยควรใช้กับ marker ที่พบได้มากกว่า (Shapiro, 2003) อีกประเด็นที่สำคัญคือการแปลผลว่าเซลล์เป้าหมายย้อมติดสีหรือไม่หรือติดสีที่จำเพาะต่อ marker หรือไม่ โดยเฉพาะเมื่อย้อมเซลล์ด้วยสีหลายสีที่มีความยาวคลื่นใกล้เคียงกันพร้อม ๆ กัน ควรมีการย้อม fluorescence minus one (FMO) เพื่อช่วยในการตัดสินใจว่าเมื่อใดจะแปลผลการย้อมสีนั้นว่าเป็นบวก (Shapiro, 2003) เช่น หากต้องการย้อมเซลล์ด้วย 7 สี หากต้องการตัดสินใจว่าเซลล์กลุ่มใดให้สี fluorescein isothiocyanate conjugate (FITC) เป็นบวก ทำได้โดยการย้อม FMO คือ

ย้อมสีอื่น ๆ อีก 6 สี ยกเว้นสีที่เราต้องการคือ FITC เทคนิคดังกล่าวจะช่วยทำให้การ gating เลือกกลุ่มเซลล์มีความถูกต้อง

1.2 เลือกจำนวนเซลล์ที่วัด (event number) ที่เหมาะสม เพื่อแสดงค่าที่ถูกต้องของข้อมูล ทั้งนี้ขึ้นกับค่าการกระจายของข้อมูลที่วัด (standard deviation; SD) ถ้าการกระจายน้อยการวัดนั้นก็จะยิ่งแม่นยำ หากต้องการหาเซลล์ที่สนใจให้ถูกต้องยิ่งขึ้น จำเป็นต้องตั้งค่า event number มากขึ้น ในทางปฏิบัติ event number มีข้อจำกัดตามปริมาณเซลล์ที่มีทั้งหมดในกลุ่มตัวอย่างจึงยากที่จะบอกค่าเท่าไรจึงจะเหมาะสม แต่อาจพิจารณาจาก event number ที่จะทำให้ค่า CV ก่อนข้างคงที่และต่ำที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ (Roederer, 2008)

1.3 การแสดงผลข้อมูลที่ได้ ผลที่ได้จากการวัดโดย flow cytometry อาจแสดงได้ในสองรูปแบบ คือ เป็นจำนวนร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวก (percentage positive) หรือค่าเฉลี่ยความเข้มสี (mean fluorescence intensity; MFI) (Shapiro, 2003) การเลือกที่จะแสดงค่าใดนั้นขึ้นกับลักษณะข้อมูล เช่น กรณีที่วัดจำนวนเซลล์ที่แยกจากกันได้อย่างชัดเจน เป็นลักษณะ bimodal distribution เช่น ในการวัดจำนวนเซลล์ CD4 positive cell จาก T-cell ทั้งหมด ก็ควรแสดงเป็นร้อยละ CD4 positive cell ซึ่งทำให้เห็นข้อมูลได้ชัดเจนกว่า ในทางตรงกันข้ามหากกลุ่มประชากรเป็นลักษณะ unimodal distribution เช่น การเปรียบเทียบการสร้าง IL-5 ที่อยู่ใน Th2 cell ระหว่างกลุ่มเซลล์กลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นกับเซลล์ที่ไม่ได้รับการกระตุ้น การแยกเซลล์กลุ่มที่มี IL-5 กับที่ไม่มี IL-5 อาจไม่ชัดเจนนัก เนื่องจากขึ้นกับปริมาณ IL-5 มากน้อยที่แต่ละเซลล์สร้างขึ้นด้วย กรณีเช่นนี้การแสดงด้วยค่า MFI เพื่อเปรียบเทียบความมากน้อย ก็อาจเหมาะสมกว่า (มงคล, 2557)

การประยุกต์ใช้ flow cytometry ในการวัดจำนวนเซลล์ (enumeration) เป็นการวัดพื้นฐานที่นำมาใช้บ่อยที่สุดในทางคลินิกและงานวิจัย เช่น การใช้ FSC และ SSC ในการแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวว่าเป็น lymphocyte monocyte หรือ granulocyte ซึ่งเป็นหลักการในการตรวจ automated complete blood count (CBC) ในปัจจุบัน และนอกจากนี้หากใช้การย้อมด้วย fluorochrome ก็สามารถนำมาใช้แยกจำนวนเซลล์ที่สนใจ lymphocyte ชนิด T-cell, B-cell และ natural killer cell ซึ่งไม่สามารถแยกได้ด้วยการมองผ่านด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาได้ การย้อมลักษณะบนผิวเซลล์ (surface staining) ด้วย monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ surface marker ที่ติดฉลากด้วยสี fluorochrome เป็นการประยุกต์ใช้เครื่อง flow cytometry ทางทางการแพทย์ที่ใช้บ่อยที่สุด เช่น การตรวจปริมาณ T-helper cell (CD3, CD4, CD8) ก่อนเริ่มยาด้านไวรัส และติดตามการรักษาในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี การตรวจวัดปริมาณเม็ดเลือดขาว lymphocyte ชนิด B-cell (CD19, CD20 และ

CD22) และ T-cell (CD2, CD3, CD4 และ CD8) ในการวินิจฉัยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวด้วยการย้อม monoclonal antibody ต่อ common leukocyte antigen (CD45) ซึ่งเซลล์ตัวอ่อน (blast) จะติดสีน้อยกว่าปกติ (dim) การย้อมด้วย CD34 และ HLA-DR antigen ซึ่งพบบนเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันและติดตามการรักษาหลังการปลูกถ่ายสเต็มเซลล์ การแยกชนิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวจากเซลล์ต้นกำเนิดชนิด myeloid (AML) โดยชนิด monocytic จะพบ CD4, CD11b, CD11c, CD14, CD36, CD64 หรือ CD68 ชนิด megakaryocytic จะพบ CD41 และ CD61 ส่วนชนิด erythrocytic จะพบ CD235 (glycophorin-A) เป็นต้น

ซึ่งปัจจุบันวิธีที่ใช้ในการวัดระดับของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน คือ ระดับของลิมโฟไซต์ ชนิด CD4 และ CD8 lymphocyte โดยใช้เทคนิค flow cytometry ซึ่งเทคนิคนี้พัฒนาเพื่อใช้แยกชนิดของเซลล์โดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะจับกับตัวจำแนกชนิดของเซลล์ที่ตำแหน่งผิวเซลล์ (cell surface markers) คือ CD4, CD8 lymphocytes ในทางการแพทย์มีการใช้เทคนิคนี้เพื่อตรวจสอบการพัฒนาไปของโรค การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน เช่น AIDS immunophenotyping leukemias และ lymphomas จะใช้เพื่อตรวจระดับลิมโฟไซต์ในระยะต่าง ๆ ของการเป็นโรค ส่วนในทางสัตวแพทย์ก็มีการนำเทคนิค flow cytometry เพื่อประเมินพัฒนาของโรค FIV และ FeLV ตรวจสอบการเกิดโรคโดยเชื้อไวรัส วัดระดับการเกิด apoptosis ประเมินการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันของการปลูกถ่ายอวัยวะที่ใช้สุนัขเป็นต้นแบบ และดูการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันเมื่อเกิดการติดเชื้อ มีการศึกษาของ (Byrne *et al.*, 1999) จัดทำ standardized protocol สำหรับการตรวจชนิดของ lymphocytes ในสุนัขและแมวที่มีสุขภาพปกติ โดยวิธี flow cytometry ซึ่งแอนติบอดีที่ใช้คือ label T-lymphocytes with monoclonal antibodies ซึ่งเป็น unconjugated monoclonal antibodies สำหรับ feline T cell (Pan T cell, CD5 like molecule และ CD4 และ CD8 และย้อมสีด้วย secondary stain โดย FITC (fluorescein isothiocyanate) conjugate goat anti-mouse IgG (ICN Biomedicals' costa Mesa, CA, USA) พบว่าค่าปกติของ Feline T lymphocytes 77.3%, Feline CD4 44.5%, Feline B cell 24.1%, Feline CD4: CD8 = 1.75 การศึกษาเกี่ยวกับแมวที่เป็น FIV พบว่ามีการลดลงของ CD4:CD8 อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีการวัดเป็น CD4:CD8 ถ้าอัตราส่วนลดลงน้อยกว่า 0.9 บ่งบอกว่าระดับภูมิคุ้มกันลดต่ำลง (Collado *et al.*, 2012)

ปัจจุบันยังไม่มี การรักษาจำเพาะที่ให้ผลร้อยละสูงในการรักษาระยะยาว มีการทดลองมากมายที่ได้มีการทดลองใช้ยามาเชื้อไวรัส เช่น azidothymidine (AZT), phosphonylmethoxyethuladenine (PMEA) (Hartmann *et al.*, 1998) ตลอดจนยามาเชื้อไวรัสอื่น ๆ

ซึ่งให้ผลไม่แน่นอนในระยะยาวและมีราคาแพง ดังนั้นจึงมีการศึกษาที่พัฒนาสารกระตุ้นภูมิเพื่อเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งปัจจุบันวิธีที่ใช้ในการวัดระดับของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน คือ ระดับของลิมโฟไซตชนิด CD4 และ CD8 โดยใช้เทคนิค flow cytometry



อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

แมวทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษา จำนวน 38 ตัว เป็นแมวกลุ่มทดลองจำนวน 28 ตัว แมวที่ติดเชื้อ FIV จำนวน 12 ตัว ติดเชื้อ FeLV จำนวน 10 ตัว ติดเชื้อทั้งไวรัสทั้งสองชนิด จำนวน 6 ตัว จากคลินิกโรคแมว โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน และแมวกลุ่มควบคุมคือแมวที่ไม่มีการติดเชื้อ FIV และ FeLV จำนวน 10 ตัว บันทึกอายุ เพศ พันธุ์ สถานการณ์ทำหมันของแมวทั้งหมด

วิธีการ

แมวกลุ่มทดลองคือแมวที่ติดเชื้อ FeLV และ/หรือ FIV แมวที่ติดเชื้อทั้งหมดผ่านการตรวจสอบการติดเชื้อ FIV และ FeLV โดยชุดทดสอบสำเร็จรูป SNAP[®] FIV/FeLV Combo Test kit และ Witness FeLV-FIV โดยอาศัยหลักการชุดทดสอบที่ปรากฏสี (immunochromatic test) โดยในโรค FeLV จะเป็นการตรวจหาแอนติเจน p27 ของไวรัสเป็น free antigen ในซีรัมหรือพลาสมา ซึ่งให้ผลดีกว่าการใช้เลือดครบส่วน (Whole blood) และในโรค FIV จะเป็นการทดสอบเพื่อหาภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อการติดเชื้อ FIV (FIV-specific antibody) ต่อ gag และ env protein ในเลือดแมวป่วยโดยใช้หลักการ ELISA เช่นกัน และตรวจสอบการติดเชื้อแฝงของ FeLV p27 proviral DNA และ FIV p24 ด้วยวิธี RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction)

บันทึก อายุ เพศ พันธุ์ ประวัติการทำหมันและประเมินอาการทางคลินิกเพื่อให้คะแนนของอาการทางคลินิก (Clinical score; CS) แบ่งเป็น 3 กลุ่ม Clinical group 1 (CG1) ไม่มีอาการทางคลินิก (no clinical signs หรือ asymptomatic) Clinical group 2 (CG2): CS $\leq$ 5 อาการโรคไม่รุนแรง (mild disease) Clinical group 3 (CG3): CS $\geq$ 6 อาการโรครุนแรง (severe disease) ดังแสดงในตารางที่ 4 คะแนนแต่ละอาการทางคลินิกที่ปรากฏ ให้คะแนน 0-2 คะแนน บางอาการทางคลินิกให้คะแนนคะแนน เนื่องจากอาการทางคลินิกรุนแรงไม่มาก หากได้ คะแนนหมายถึงอาการทางคลินิกที่รุนแรงกว่า แมวที่ติดเชื้อไวรัสลิวคีเมียและไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องในระยะสุดท้าย คือระยะ progressive infection และระยะติดเชื้อแทรกซ้อนจากการติดเชื้อ FIV จะมีอาการที่เหมือนกันคือสัตว์จะอยู่ในสภาพที่โทรมมาก (wasting) มีโอกาสที่จะเกิดเนื้องอก lymphoma ค่าโลหิตวิทยาที่ผิดปกติไป

ตารางที่ 4 แสดงการจัดคะแนนอาการทางคลินิกที่พบในแมวที่ติดเชื้อกลุ่ม retrovirus (0=absence; 1=mild; 2=severe)

อาการทางคลินิก	คะแนน		
	0	1	2
เบื่ออาหาร (Loss of appetite)	ไม่พบ	อยากอาหารลดลง	ไม่มีความอยากอาหาร (anorexia)
อ่อนแรง (Asthenia)	ไม่พบ	เล็กน้อย	รุนแรง
แห้งน้ำ (Dehydration)	ไม่พบ	<5%	>5%
น้ำหนักลด (Weight loss)	ไม่พบ	ผอม	ผอมมาก
ต่อมน้ำเหลืองโต (Lymphadenomegaly)	ไม่พบ	โตเฉพาะที่	โตทั่วร่างกาย
โลหิตจาง (Anemia)	ไม่พบ	ปานกลาง (PCV20-35%)	รุนแรง (PCV<20%)
ปัสสาวะบ่อย/ดื่มน้ำบ่อย (Polyuria/Polydipsia)	ไม่พบ	พบ	-
เยื่อตาขาวอักเสบ (Conjunctivitis)	ไม่พบ	-	พบ
ดีซ่าน (Jaundice)	ไม่พบ	-	พบ
วิการในช่องปาก (Oral lesions)	ไม่พบ	-	พบ
ความผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร (Digestive disorders)	ไม่พบ	พบ	-
วิการโรคผิวหนัง (Cutaneous lesions)	ไม่พบ	คัน ขนร่วง	ตุ่มหนอง แผลหลุม
ความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ (Respiratory disorders)	ไม่พบ	ไม่รุนแรง	รุนแรง

ตารางที่ 4 (ต่อ)

อาการทางคลินิก	คะแนน		
	0	1	2
ความผิดปกติของระบบประสาท (Neurologic disorders)	ไม่พบ	-	พบ
เนื้องอกชนิด Lymphoma	ไม่พบ	-	พบ
ความผิดปกติของไขกระดูก (Myeloproliferative disorders)	ไม่พบ	-	พบ
เนื้องอกชนิดอื่น ๆ	ไม่พบ	-	พบ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Collado *et al.* (2012)

1. การศึกษาค่าทางพยาธิคลินิก (Clinicopathological analysis)

เจาะเลือดมาจากเส้นเลือดดำใหญ่ที่คอ (jugular vein) เส้นเลือดดำที่ขาหน้า (cephalic vein) หรือจากเส้นเลือดดำพับในของขาหลัง (Median saphenous vein) ปริมาณประมาณ 2.5-3.0 มิลลิลิตรต่อตัว โดยใช้ตัวอย่างเลือด (whole blood) ที่ใส่สาร EDTA ป้องกันการแข็งตัวของเลือด แบ่งตัวอย่างเลือดปริมาณ 0.5 มิลลิลิตรเพื่อส่งตรวจค่าโลหิตวิทยา จากการตรวจนับโดยเครื่องอัตโนมัติภายใน 2-3 ชั่วโมง ค่าปกติของพารามิเตอร์ที่มีดังนี้ packed cell volume (PCV)=26%-45% mild anemia=20-26%, severe anemia <20% red blood cells count (RBC)= $5-10 \times 10^6$ เซลล์ต่อไมโครลิตร (cells/ μ l), mean corpuscular volume (MCV)=39-55 เฟมโตลิตร (femtolitre: fl) Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)=30-36 กรัมต่อเดซิลิตร (gram/deciliter: g/dl), white blood cells count (WBC)= $5.5-19.5 \times 10^3$ cells/ μ l; segmented neutrophil count=2,500-12,500 cells/ μ l, lymphocytes=1,500-7,700 cells/ μ l, monocytes=0-850 cells/ μ l, eosinophils=0-1,500 cells/ μ l; basophils, 5.5-19.5 cells/ μ l และค่าการตรวจนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว (differential leukocyte counts) ตรวจโดยวิธีการนับมือ (manual) จากแผ่นสไลด์ สเมียร์เลือดย้อมสี Giemsa

พร้อมกับบันทึกลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดที่ผิดปกติ โดยส่งตัวอย่างเลือดที่ห้องปฏิบัติการทางโลหิตวิทยาของโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาบางเขน

แบ่งตัวอย่างเลือดใส่หลอดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด เพื่อตรวจหาค่าชีวเคมีเลือด เช่น Blood urea nitrogen (BUN)=13.4-32.5 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (milligram/deciliter: mg/dL) Creatinine (Crea)=0.68-1.84 mg/dL Alanine Aminotransferase (ALT)=8.2 - 57 ยูนิตต่อลิตร (U / L) Total protein=5.6-7.7 gm/dL Albumin (Alb)=2.6 - 4.2 gm% Globulin=2.9 - 4.7 gm%

2. การเตรียมลิมโฟไซต์และการย้อมสี CD4 และ CD8 ด้วยสารเรืองแสง

2.1 การเตรียมลิมโฟไซต์จากเลือดแมว ปริมาณ 1.5-2.0 มิลลิลิตร ใส่ K3 EDTA (Medsafe Medical Supply Ltd., Taiwan) เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำเข้าสู่กระบวนการภายใน 12 ชั่วโมง แยก peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) โดยใช้ Ficoll-Paque™ (GE healthcare Life Sciences, UK) ปริมาณ 3 มิลลิลิตร โดยใช้หลักการ density gradient centrifugation ปั่นแยกด้วยความเร็ว 1,000 รอบ เวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ชั้นของ PBMC จะแยกชั้นเป็นวงแหวนสีขาวอยู่ระหว่างพลาสมาและ Ficoll-Paque™ เก็บเซลล์เม็ดเลือดขาว PBMC และล้างเซลล์ด้วย 1M PBS pH 7.4 ใช้น้ำยาละลายเม็ดเลือดแดง (lysing red blood cells) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ประกอบด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ (ammonium chloride; NH_4Cl) 8.02 กรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate; NaHCO_3) 0.84 กรัม ไดโซเดียม (disodium; EDTA) 0.37 กรัม ล้าง 1 ครั้งด้วย PBS 7.4 เพื่อกำจัดเซลล์เม็ดเลือดแดงที่หลงเหลือ นับจำนวนเม็ดเลือดขาวให้มีปริมาณ 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นตรึงเซลล์ด้วย 2% Paraformaldehyde ปริมาณ 500 ไมโครลิตรต่อตัวอย่าง เก็บที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 การย้อมสี CD4 และ CD8 ด้วยสารเรืองแสง ปั่นล้างเซลล์ด้วย PBS 7.4 เพื่อล้างเอา Paraformaldehyde ออก ก่อนการย้อมด้วยแอนติบอดี ใช้ bovine serum albumin 2.5% (BSA 2.5%) เป็น blocking solution เป็นเวลา 15 นาที ล้างอีกครั้งด้วย PBS ย้อมเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T lymphocytes ด้วย Monoclonal antibodies against feline CD4 และ CD8 ติดฉลากด้วยสารเรืองแสงชนิด Fluorescein isothiocyanate (FITC) และ Phycoerythrin (PE) ตามลำดับ (Abcam® Inc, USA) โดยแต่ละชนิดใช้ 1 ไมโครลิตรต่อ 5×10^5 เซลล์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และไม่ให้อาตรแสง เป็นเวลา 30 นาที ล้างเซลล์ด้วย PBS 3 ครั้ง ทำให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 มิลลิลิตรโดยการเติม PBS เก็บตัวอย่างขณะขนส่งก่อนนำวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและไม่โดนแสง นำตัวอย่างมา

วิเคราะห์โดยใช้ flow cytometry (Becton Dickinson FACS Canto Flowcytometer, Becton Dickinson Biosciences, USA) ภายใน 8 ชั่วโมง ที่หน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

2.3 การตรวจ CD4:CD8 โดย Flow cytometry โดยการเลือกกลุ่มเซลล์ลิมโฟไซต์ที่ได้จากการใช้คุณสมบัติของ light scatter, lymphocyte gating ที่ย้อมด้วย CD4-FITC/CD8-PE ความยาวคลื่นของ FITC และ PE คือ 520 และ 575 นาโนเมตร ตามลำดับ เตรียมหลอดตัวอย่างเพื่อทำการ compensation ดังนี้คือ หลอดที่ 1 ไม่ได้ย้อมแอนติบอดี(-/-) ใช้เป็นหลอด negative control หลอดที่ 2 ย้อมแอนติบอดีทั้ง 2 ชนิด (FITC+/PE+) ใช้เป็นหลอด positive control หลอดที่ 3 ย้อมแอนติบอดี 1 ชนิดคือ FITC (FITC+/PE-) หลอดที่ 4 ย้อมแอนติบอดี 1 ชนิดคือ PE (FITC-/PE+) เพื่อให้การแปรผลในการแยกลักษณะของเซลล์ได้ถูกต้องยิ่งขึ้น จำนวนเซลล์ที่วัด (event number) เท่ากับ 10,000 เซลล์/วินาที การแสดงผลข้อมูลที่ได้ เป็นเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่ให้ผลบวก (percentage positive) %CD4 และ %CD8 และนำมาหาอัตราส่วนของ CD4:CD8

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมทางสถิติคือ NCSS 2007 สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ใช้ Z-test เพื่อทดสอบตัวอย่างสองกลุ่ม (comparison between two populations) และการวัดความสัมพันธ์ (Measure of association) โดยใช้การทดสอบ Linear Regression and correlation

ผลและวิจารณ์

ผล

1. คะแนนอาการทางคลินิก (Clinical scores) และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก (Clinicopathological findings)

1.1 คะแนนอาการทางคลินิก (Clinical scores)

จากการศึกษาสามารถจำแนกแมวที่ติดเชื้อในแต่ละกลุ่มตามอาการทางคลินิกที่พบได้บ่อยในการติดเชื้อไวรัสได้ดังแสดงในตารางที่ 5

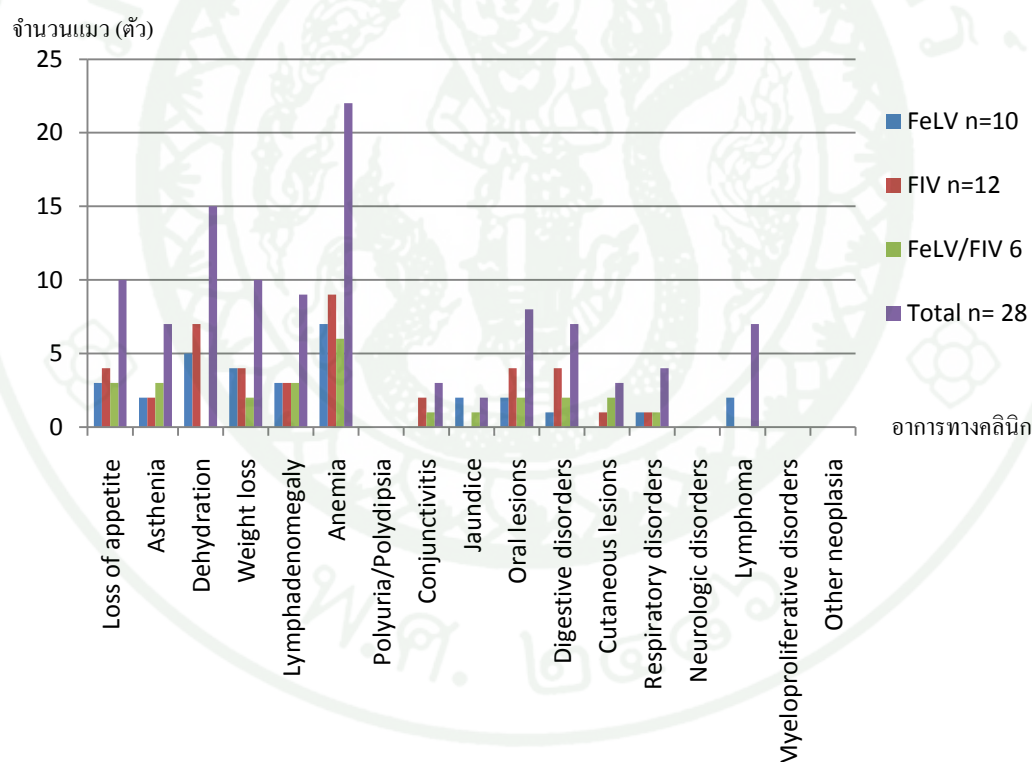
ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละชนิดตามอาการทางคลินิก

อาการทางคลินิก	FeLV n=10	FIV n=12	FeLV/FIV n=6	Total n= 28
เบื่ออาหาร	30%	33.30%	50%	35.70%
อ่อนแรง	20%	12.50%	50%	25%
แห้งน้ำ	50%	58.34%	50%	53.50%
น้ำหนักลด	30%	33.30%	50%	35.70%
ต่อมน้ำเหลืองโต	30%	25%	50%	32.14%
โลหิตจาง	70%	75%	100%	79%
ปัสสาวะบ่อย/ดื่มน้ำบ่อย	0	0	0	0
เชื่อบุตาขาวอักเสบ	0	16.60%	16.60%	10.70%
ดีซ่าน	20%	0	16.60%	7.10%
วิการในช่องปาก	30%	33.30%	33.30%	32.10%
ความผิดปกติของระบบทางเดิน				
อาหาร	10%	33.30%	33.30%	25%
วิการโรคผิวหนัง	0	8%	33%	11%
ความผิดปกติของระบบทางเดิน				
หายใจ	10%	8%	17%	14%
ความผิดปกติของระบบประสาท	0	0	0	0

ตารางที่ 5 (ต่อ)

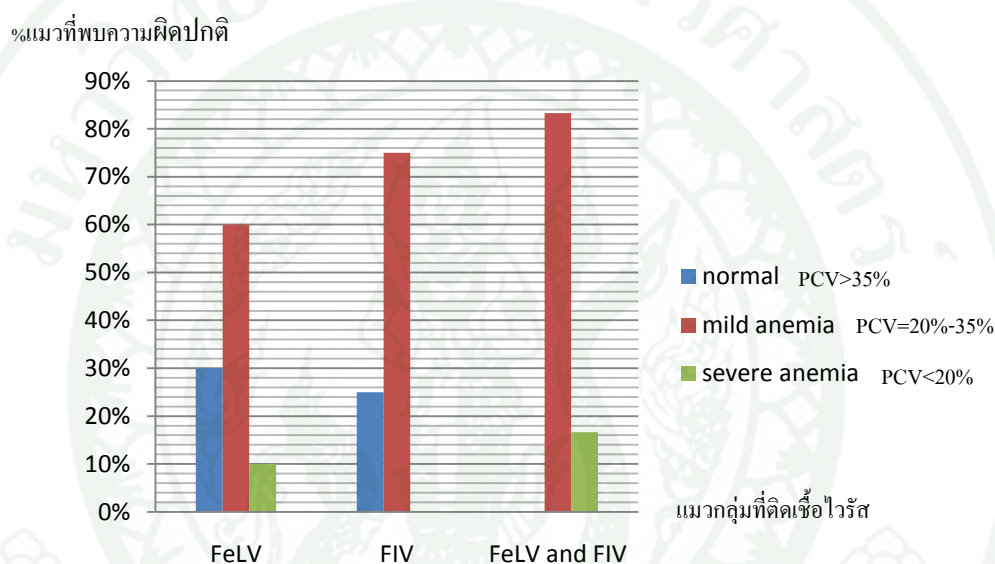
อาการทางคลินิก	FeLV n=10	FIV n=12	FeLV/FIV n=6	Total n= 28
เนื้องอกชนิด Lymphoma	20%	0	0	7%
ความผิดปกติของไขกระดูก	0	0	0	0
เนื้องอกชนิดอื่น ๆ	0	0	0	0

สามารถจำแนกเป็นจำนวนตัวที่แสดงอาการทางคลินิกในแมวที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มได้ ดังแสดงตามภาพที่ 1 พบว่าอาการทางคลินิก 3 อันดับแรกที่พบได้บ่อยในแมวที่ติดเชื้อไวรัสในแต่ละกลุ่มคือ ภาวะโลหิตจาง (anemia) ภาวะขาดน้ำ (dehydration) และภาวะเบื่ออาหาร (loss of appetite) พบการเกิดเนื้องอกชนิด lymphoma ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV จำนวน 2 ตัว คิดเป็น 20%



ภาพที่ 1 จำนวนแมว (ตัว) ที่แสดงอาการทางคลินิกในแมวที่ติดเชื้อแต่ละกลุ่ม

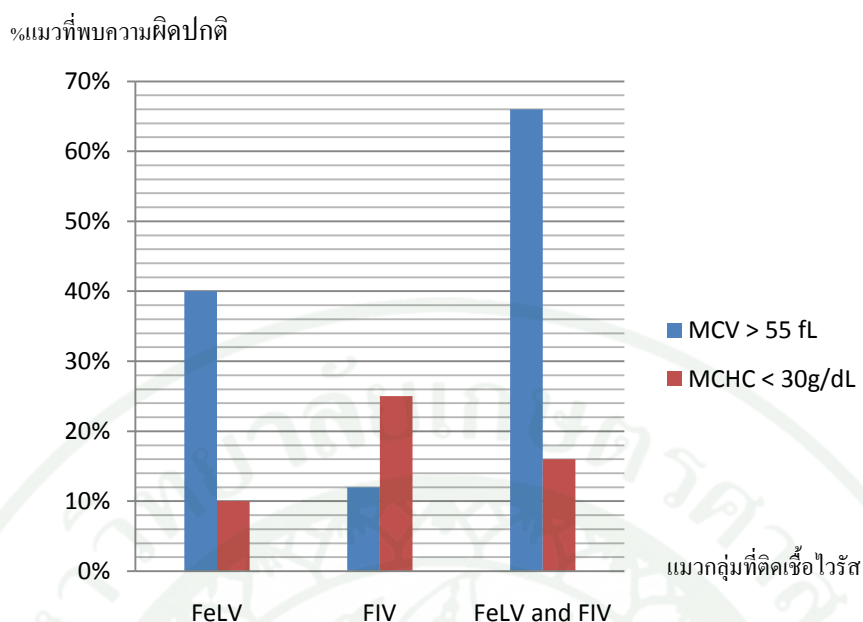
1.2 การแปลผลเม็ดเลือดแดงทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory interpretation of Erythrocytes) ความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงที่พบในแมวที่ติดเชื้อ FeLV ทั้งหมด 10 ตัว ภาวะโลหิตจางเล็กน้อย (mild anemia; PCV 20-35%) 6 ตัว คิดเป็น 60% ภาวะโลหิตจางรุนแรง (severe anemia; PCV <20%) 1 ตัว คิดเป็น 10% และ 3 ตัว มีค่า PCV ที่ปกติ คิดเป็น 30% แมวที่ติดเชื้อ FIV ทั้งหมด 12 ตัว พบความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงดังนี้ mild anemia 9 ตัว คิดเป็น 75% และ 3 ตัว มีค่า PCV ที่ปกติ คิดเป็น 25% แมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิด จำนวน 6 ตัว พบความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง ดังนี้ mild anemia 5 ตัว คิดเป็น 83.33% severe anemia 1 ตัว คิดเป็น 16.66 % ดังแสดงตามภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงจำนวนแมวที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มที่แสดงอาการโลหิตจาง

ความผิดปกติของปริมาตรเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (Mean corpuscular volume, MCV >55 fL) แมวที่ติดเชื้อ FeLV ทั้งหมด 10 ตัว พบเม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่ (macrocytic RBC) 4 ตัว คิดเป็น 40% แมวที่ติดเชื้อ FIV ทั้งหมด 12 ตัว พบ 2 ตัว คิดเป็น 12% แมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิด ทั้งหมด 6 ตัว พบ 4 ตัว คิดเป็น 66.66%

ความผิดปกติปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงที่ลดลง (Mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC <30 g/dL) แมวที่ติดเชื้อ FeLV ทั้งหมด 10 ตัว พบเม็ดเลือดแดงติดสีจาง (hypochromia) 1 ตัว คิดเป็น 10% แมวที่ติดเชื้อ FIV ทั้งหมด 12 ตัว พบ 3 ตัว คิดเป็น 25% แมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิด ทั้งหมด 6 ตัว พบ 1 ตัว คิดเป็น 16.66% ดังแสดงในภาพที่ 3

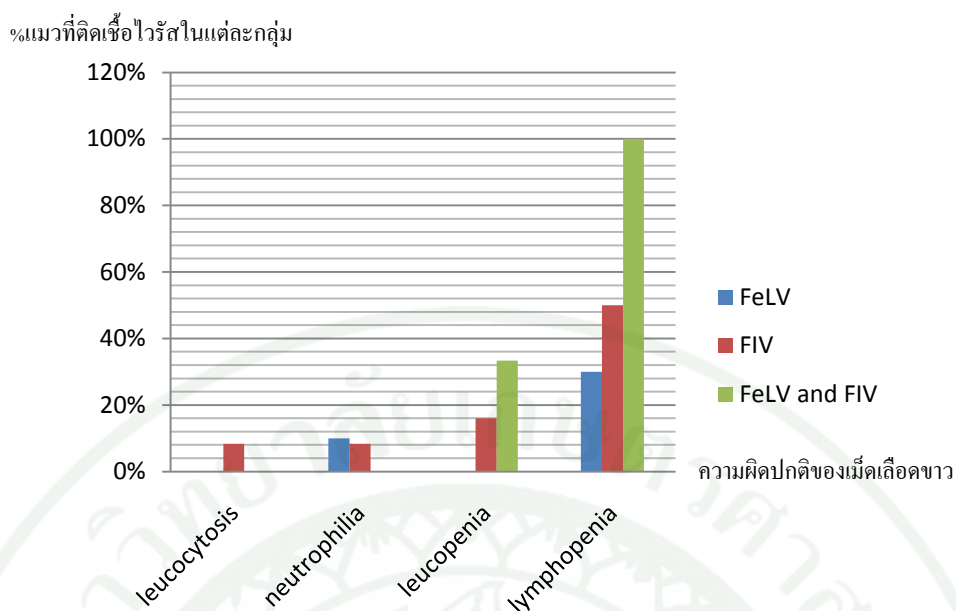


ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์แมวติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มที่พบปริมาณเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นมากกว่า 55 fL และปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงที่ลดลงน้อยกว่า 30g/dL

1.2 การแปลผลเม็ดเลือดขาวทางห้องปฏิบัติการ (Laboratory interpretation of leucocytes) ไม่พบความผิดปกติของจำนวนเม็ดเลือดขาวรวม (WBC count) ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV เมื่อแยกนับชนิดเม็ดเลือดขาว (different WBC count) พบเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลเพิ่มขึ้น (neutrophilia) จำนวน 1 ตัว คิดเป็น 10% เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ลดลง (lymphopenia) จำนวน 3 ตัว คิดเป็น 30%

ความผิดปกติของจำนวนเม็ดเลือดขาวรวม (WBC count) ในแมวที่ติดเชื้อ FIV ดังนี้ พบภาวะเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น (Leucocytosis) 1 ตัว คิดเป็น 8.3% เมื่อนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้นพบภาวะ neutrophilia และพบภาวะเม็ดเลือดขาวลดลง (Leucopenia) 2 ตัว คิดเป็น 16% เมื่อนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวที่ลดลงพบภาวะ lymphopenia 6 ตัว คิดเป็น 50%

ความผิดปกติของจำนวนเม็ดเลือดขาวรวม (WBC count) ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิด ดังนี้ พบภาวะเม็ดเลือดขาวลดลง (Leucopenia) 4 ตัว คิดเป็น 66.66% เมื่อนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวที่ลดลงพบภาวะ neutropenia 2 ตัว คิดเป็น 33.33% และพบภาวะ lymphopenia 6 ตัว คิดเป็น 100% ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มที่พบความผิดปกติของเม็ดเลือดขาว

1.3 ผลค่าชีวเคมีในเลือด (Blood chemistry)

1.3.1 ค่าชีวเคมีในเลือดที่ใช้ตรวจสมรรถภาพการทำงานของไต คือ BUN Creatinine จากการทดลอง ไม่พบความผิดปกติของค่า BUN และ Creatine (ค่าปกติ BUN=13.4-32.5 mg/dL Crea=0.68-1.84 mg/dL) ในแมวที่ติดเชื้อ FeLVพบความผิดปกติของค่า BUN ที่สูงขึ้นในแมวที่ติดเชื้อ FIV จำนวน 2 ตัว คิดเป็น 16.6% และค่า Creatine ที่สูงกว่าค่าปกติจำนวน 2 ตัว คิดเป็น 16.6% และพบความผิดปกติของค่า BUN ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิด จำนวน 1 ตัว คิดเป็น 16.6%

1.3.2 ค่าชีวเคมีในเลือดที่ใช้วัดระดับเอนไซม์ในตับ คือ ALT (alanine aminotransferase) จากการทดลองพบว่าแมวทุกตัวในการทดลองพบค่าเอนไซม์ ALT ในระดับปกติ(8.2 - 57 U / L)

1.3.3 โปรตีนในพลาสมา(Plasma protein), อัลบูมิน (Albumin), กลอบูลิน (globulin) จากการทดลองพบว่าแมวทุกตัวพบค่าดังกล่าวอยู่ในช่วงปกติ Total protein=5.6-7.7 gm/dL, Albumin=2.6-4.2 gm%, Globulin=2.9 - 4.7 gm%)

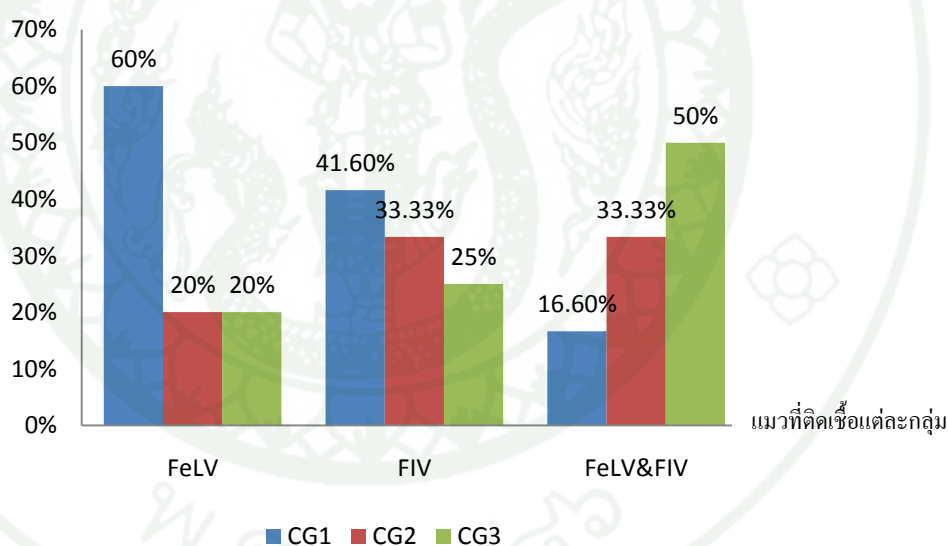
2. คะแนนอาการทางคลินิก (Clinical scores)

จากการทดลองเมื่อนำแมวแต่ละกลุ่มมาจัดคะแนนอาการทางคลินิกพบว่า แมวที่ติดเชื้อ FeLV ทั้ง 10 ตัว สามารถจัดกลุ่มดังนี้ CG1 6 ตัว คิดเป็น 60% CG2 2 ตัว คิดเป็น 20% และ CG3 2 ตัว คิดเป็น 20% ตามลำดับ

แมวที่ติดเชื้อ FIV ทั้ง 12 ตัว สามารถจัดกลุ่มดังนี้ CG1 5 ตัว คิดเป็น 41.6% CG2 4 ตัว คิดเป็น 33.33% CG3 3 ตัว คิดเป็น 25% ตามลำดับ

แมวที่ติดเชื้อทั้งไวรัสทั้งสองชนิด ทั้ง 6 ตัว สามารถจัดกลุ่มดังนี้ CG1 1 ตัว คิดเป็น 16.6% CG2 2 ตัว คิดเป็น 33.33% CG3 3 ตัว คิดเป็น 50% ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 5

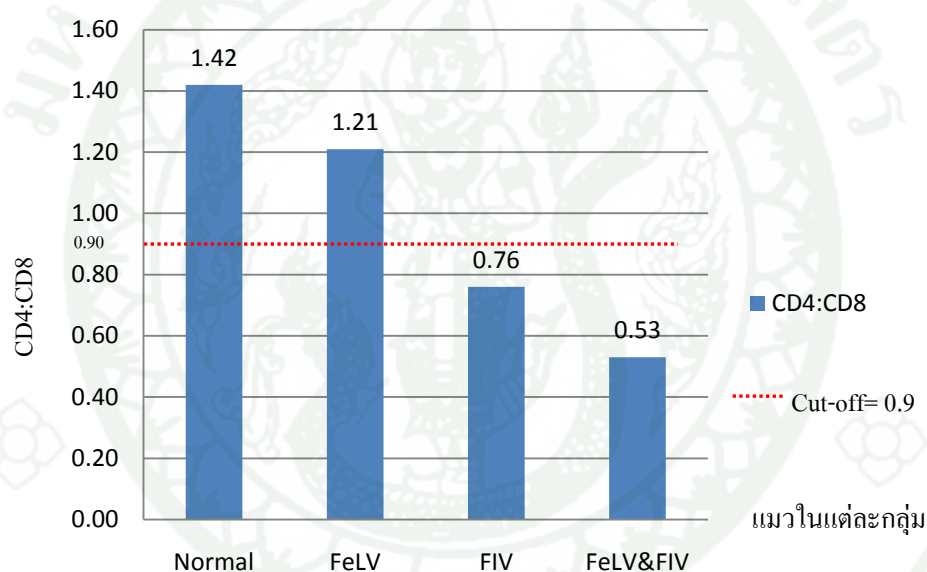
%แมวเมื่อจัดกลุ่มตามอาการทางคลินิก



ภาพที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มเมื่อจัดกลุ่มตามอาการทางคลินิก เป็น 3 กลุ่ม Clinical group1 (CG1) = ไม่แสดงอาการป่วย, Clinical group2 (CG2) = แสดงอาการป่วยปานกลาง และ Clinical group3 (CG3) = แสดงอาการป่วยรุนแรง

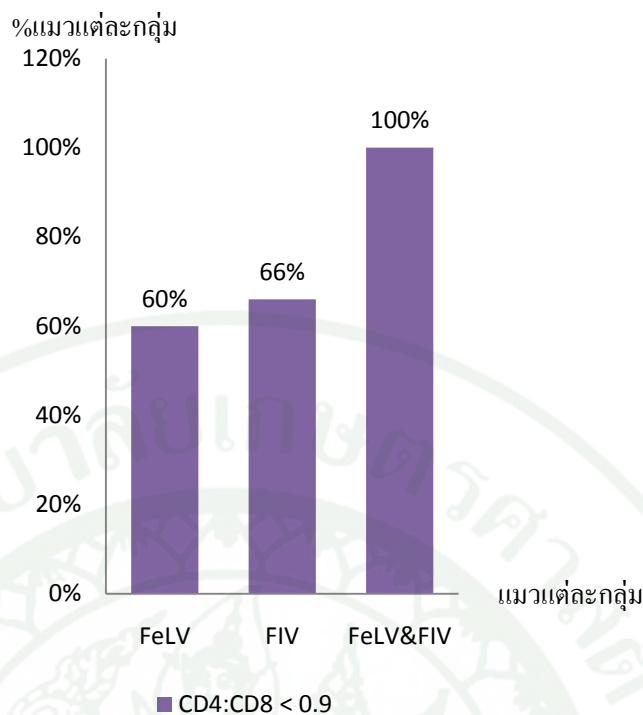
3. อัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ CD4:CD8

จากการวิเคราะห์ CD4:CD8 ในแมวจำนวน 38 ตัว ซึ่งเป็นแมวก่อนการผ่าตัด 10 ตัว พบค่าเฉลี่ยของ CD4:CD8 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.42 แมวที่ติดเชื้อ FeLV จำนวน 10 ตัว พบว่ามีระดับของ CD4:CD8 น้อยกว่า 0.9 จำนวน 6 ตัว คิดเป็น 60% โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับ CD4:CD8 เท่ากับ 1.21 แมวก่อนการผ่าตัด FIV จำนวน 12 ตัว พบว่ามีระดับของ CD4:CD8 น้อยกว่า 0.9 จำนวน 8 ตัว คิดเป็น 66% มีค่าเฉลี่ยของระดับ CD4:CD8 เท่ากับ 0.76 และแมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิด จำนวน 6 ตัว มีระดับของ CD4:CD8 น้อยกว่า 0.9 ทั้ง 6 ตัว คิดเป็น 100% โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับ CD4:CD8 เท่ากับ 0.53 ดังแสดงในภาพที่ 6 และ ภาพที่ 7



ภาพที่ 6 ค่าเฉลี่ยของ CD4:CD8 ในแมวก่อนการผ่าตัดและแมวที่ติดเชื้อแต่ละกลุ่ม โดยระดับภูมิคุ้มกันลดลงเมื่อ < 0.9

ที่มา: Collado *et al.* (2012)



ภาพที่ 7 เปอร์เซนต์แมวที่ติดเชื้อในแต่ละกลุ่มที่มีค่า CD4:CD8 < 0.9

เมื่อจำแนกจำนวนแมว (N) ที่ติดเชื้อไวรัสแต่ละกลุ่มตาม Clinical group (CG) ที่ 1-3 ร่วมกับค่าความผิดปกติทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดง (erythrogram) คือ ภาวะโลหิตจางเล็กน้อย (mild anemia; PCV 20-35%) และภาวะโลหิตจางรุนแรง (severe anemia; PCV น้อยกว่า 20%) ความผิดปกติทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาว (leucogram) คือภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ (leucopenia) และภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ต่ำ (lymphopenia) และ CD4:CD8 น้อยกว่า 0.9 ในแต่ละ clinical group ซึ่งสามารถแสดงได้เป็นจำนวนตัวและเปอร์เซ็นต์ในแต่ละกลุ่มได้ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนและเปอร์เซ็นต์ของแมวในแต่ละ clinical group และความผิดปกติทางโลหิตวิทยา

Category	Parameter	FeLV			FIV			FeLV/FIV		
		CG1	CG2	CG3	CG1	CG2	CG3	CG1	CG2	CG3
		N=6	N=2	N=2	N=5	N=4	N=3	N=1	N=2	N=3
Erythrogram	Mild anemia (PCV20-35%)	3(50%)	2(100%)	1(50%)	5(100%)	2(50%)	2(66%)	1(100%)	2(100%)	2(34%)
	Severe anemia (PCV<20%)	0	0	1(50%)	0	0	1(34%)	0	0	1(66%)
Leukogram	Leucopenia (N=6)	0	0	0	0	0	2(66%)	1(100%)	0	3(100%)
	Lymphopenia (N=15)	2(33%)	1(50%)	0	0	3(75%)	3(100%)	1(100%)	2(100%)	3(100%)
	↓CD4:CD8<0.9	6(33.33%)	2(100%)	2(100%)	5(0%)	4(100%)	3(100%)	1(100%)	2(100%)	3(100%)

วิจารณ์

1. คะแนนอาการทางคลินิก (Clinical scores) และลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก (Clinicopathological findings)

คะแนนอาการทางคลินิก (Clinical scores)

จากการศึกษาครั้งนี้ อาการทางคลินิกที่พบในแมวที่ติดเชื้อ FeLV FIV และ การติดเชื้อทั้งสองชนิดพร้อมกัน พบภาวะเบื่ออาหาร ภาวะอ่อนแรง ภาวะขาดน้ำ น้ำหนักลด มีความสัมพันธ์กัน เนื่องจากเป็นอาการที่มีความเกี่ยวข้องกัน เมื่อแมวมีภาวะเบื่ออาหาร จะทำให้เกิดภาวะอ่อนแรง ขาดน้ำ และน้ำหนักลดได้ จึงทำให้เปอร์เซ็นต์ที่พบอาการดังกล่าวมีความใกล้เคียงกันดังนี้ พบภาวะเบื่ออาหาร 35.7% ภาวะอ่อนแรง 25% ภาวะขาดน้ำ 53.5% และน้ำหนักลด 35.7%

ภาวะที่พบได้บ่อยที่สุด 3 อันดับแรกในการติดเชื้อไวรัสคือ ภาวะโลหิตจางพบ 70% , 75% และ 100% ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV FIV และติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดตามลำดับภาวะขาดน้ำ พบ 50%, 58.34% และ 50% ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV FIV และติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดตามลำดับภาวะเบื่ออาหารและน้ำหนักลด พบได้ในเปอร์เซ็นต์ที่เท่ากันคือ 30%, 33.3% และ 50% ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV FIV และติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดตามลำดับ

การให้คะแนนอาการทางคลินิกดังต่อไปนี้ ปัสสาวะบ่อย/ดื่มน้ำบ่อย และความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร ถ้าพบจะให้คะแนน 1 คะแนน เนื่องจากมีความรุนแรงไม่มาก ส่วนการพบภาวะเยื่อตาขาวอักเสบ ดีซ่าน วิการภายในช่องปาก ความผิดปกติของระบบประสาท การพบเนื้องอกชนิด lymphoma และเนื้องอกชนิดอื่น ๆ จะให้คะแนน 2 คะแนน เนื่องจากมีความรุนแรงของอาการดังกล่าวทางคลินิก จากการศึกษาไม่พบอาการปัสสาวะบ่อย/ดื่มน้ำบ่อย ความผิดปกติของระบบประสาท ความผิดปกติของไขกระดูก และการเกิดเนื้องอกชนิดอื่น

พบว่าแมวที่ติดเชื้อ FeLV จะแสดงอาการทางคลินิกที่รุนแรงกว่า FIV อาการทางคลินิกที่พบได้บ่อยคือภาวะโลหิตจางและปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำ แมวที่ติดเชื้อ FIV จะแสดงอาการที่รุนแรงน้อยกว่า สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ (Collado *et al.*, 2012) แต่ไม่สอดคล้องกันในกรณีที่มีการติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดร่วมกัน ซึ่งให้แนวคิดว่า การติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดไม่ได้เพิ่มความรุนแรงของอาการทางคลินิก แต่สอดคล้องกับการศึกษาของ Pedersen *et*

al. (1991) ที่พบว่า การติดเชื้อ FeLV แทรกซ้อนในแมวที่ติดเชื้อ FIV ทำให้มีความรุนแรงของอาการทางคลินิกมากขึ้น

จากการศึกษาพบว่าเพศไม่ได้เป็นปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อไวรัส แมวที่ติดเชื้อ FeLV เป็นแมวเพศเมีย 50% แมวที่ติดเชื้อ FIV เป็นแมวเพศเมียจำนวน 58.33% แมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดเป็นแมวเพศเมีย 50% ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Collado *et al.* (2012)

อายุแมวที่ติดเชื้อพบว่าแมวที่ติดเชื้อ FIV (5.4 ปี) มีอายุเฉลี่ยมากกว่าแมวที่ติดเชื้อ FeLV (2.9 ปี) สอดคล้องกับการศึกษาของ Collado *et al.* (2012) เนื่องจากแมวที่ติดเชื้อ FIV มีระยะฟักตัวของโรคเป็นเวลานานเป็นปีถึงหลายปี จึงทำให้มีอายุยืนกว่าจะมีการติดเชื้อแทรกซ้อนและแสดงอาการป่วย

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก (Clinicopathological findings)

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้สามารถใช้ข้อมูลทางโลหิตวิทยาได้เป็นประโยชน์มากขึ้นในการติดตามสภาวะการติดเชื้อไวรัส FeLV และ/หรือ FIV เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสดังกล่าวจะส่งผลโดยตรงหรือโดยอ้อมต่อค่าโลหิตวิทยา ผลทางโลหิตวิทยาไม่สามารถแยกได้อย่างชัดเจนว่าเป็นการติดเชื้อชนิดใด จากการศึกษารูปภาพโลหิตจาง ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV 70% และในแมวที่ติดเชื้อ FIV 75% สอดคล้องกับการศึกษาของ Dunham and Graham (2008) และพบความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลและลิมโฟไซต์มากกว่าเม็ดเลือดขาวชนิดอื่น สอดคล้องกับการศึกษาของ Hartmann (2006) พบความผิดปกติของการลดจำนวนของเม็ดเลือดขาวมากกว่าการเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาว ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสดังกล่าว เนื่องจากเกิดการทำลายของเม็ดเลือดและขัดขวางการสร้างเม็ดเลือด พบภาวะลิมโฟไซต์ต่ำได้มากที่สุด สอดคล้องกับคะแนนอาการทางคลินิกที่ปรากฏ ไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Collado *et al.* (2012) ซึ่งพบภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำ และไม่สัมพันธ์กับคะแนนอาการทางคลินิกที่ปรากฏ แต่สอดคล้องกับการศึกษาของ Fleming *et al.* (1991) ซึ่งพบภาวะลิมโฟไซต์ต่ำได้มากกว่าภาวะนิวโทรฟิลต่ำ เนื่องจากไวรัส FIV มีเซลล์เป้าหมายคือ CD4 T lymphocyte และไวรัส FeLV มีเซลล์เป้าหมายคือเซลล์ต้นกำเนิดในไขกระดูก รวมถึงเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือด จากการศึกษารูปภาพการติดเชื้อไวรัส FeLV จะส่งผลต่อเม็ดเลือดแดงมากกว่าเม็ดเลือดขาว พบภาวะโลหิตจางรุนแรง 10% ได้ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV ส่วนแมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดมีความรุนแรงของโลหิตจางมากที่สุดโดยพบภาวะโลหิตจางรุนแรง 16.66% แมวที่ติดเชื้อ FeLV พบภาวะเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลเพิ่มสูงขึ้นเป็น 13,500 cells/ μ l

จากปกติมีค่าเท่ากับ 2,500-12,500 cells/ μ l จำนวน 1 ตัว คิดเป็น 10% มีความสัมพันธ์กับอาการทางคลินิกคือมีการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนคือติดเชื้อแทรกซ้อนของระบบทางเดินหายใจ และมีจำนวนของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์อยู่ในระดับปกติ 3,114 cell/ μ l ค่าปกติมีค่าเท่ากับ 1,500-7,000 cells/ μ l

พบความสัมพันธ์ของขนาดเม็ดเลือดแดงเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น เมื่อตรวจจากแผ่นสเมียร์เลือด จะพบลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีขนาดไม่เท่ากัน (anisocytosis) และภาวะโลหิตจาง คະแนนทางคลินิกที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เนื่องจากเกิดความผิดปกติจากการผลิตเม็ดเลือดแดงจากไขกระดูก ที่ปล่อยเม็ดเลือดแดงที่มีขนาดโตกว่าปกติ ทำให้มีโอกาสดูถูกทำลายและมีอายุไขของเม็ดเลือดแดงลดลง (Weissenbacher *et al.*, 2011) จึงเกิดภาวะโลหิตจางตามมา ตรวจพบแมวที่ติดเชื้อ FeLV มีอาการทางคลินิกที่รุนแรงกว่าแมวที่ติดเชื้อ FIV เช่น ภาวะโลหิตจาง ต่อม้ำเหลืองภายนอกร่างกายโต ภาวะเบื่ออาหาร ภาวะขาดน้ำ เนื่องจากชนิด mediastinum lymphoma ส่วนแมวที่ติดเชื้อ FIV พบอาการทางคลินิกดังนี้ วัณโรคทางผิวหนังเช่นการติดเชื้อราชนิด dermatophyte วัณโรคภายในช่องปากเช่น เหงือกและช่องปากอักเสบ แมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดพบความผิดปกติทางโลหิตวิทยาได้มากที่สุด คือภาวะโลหิตจาง ขนาดเม็ดเลือดแดง มีขนาดโตกว่าปกติ เม็ดเลือดขาวรวมต่ำ และแยกชนิดเม็ดเลือดขาวพบภาวะลิมโฟไซต์ต่ำ พบอาการทางคลินิกที่รุนแรงกว่าแมวที่ติดเชื้อเพียง 1 ชนิด

พบภาวะลิมโฟไซต์ต่ำ ในแมวที่ติดเชื้อ ไวรัสทั้งสองชนิด 100% แมวที่ติดเชื้อ FIV พบ 50% และแมวที่ติดเชื้อ FeLV พบได้ 30% สรุปได้ว่าแมวในการศึกษาที่มีการติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด ส่งผลต่อภาวะดังกล่าวนี้ได้มากที่สุด แมวที่ติดเชื้อ FIV พบภาวะนี้เนื่องจากมีการทำลายของเม็ดเลือดขาวชนิดนี้โดยตรง แมวที่ติดเชื้อ FeLV บาง subgroup ที่ทำลายลิมโฟไซต์ โดยตรงหรือทำลายเซลล์ต้นกำเนิดในไขกระดูก สัมพันธ์กับ CD4:CD8 ที่ลดลงน้อยกว่า 0.9 และสัมพันธ์กับอาการทางคลินิกที่จัดอยู่ใน CG2 ถึง CG3 พบความสัมพันธ์เชิงบวกและมีค่า $R=0.735$

พบภาวะนิวโทรฟิลลดต่ำลง 33.33% ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV สอดคล้องกับการศึกษาของ Collado *et al.*, (2012) พบภาวะ neutropenia ในแมวที่ติดเชื้อ FeLV มากกว่าแมวที่ติดเชื้อ FIV เนื่องจาก มีการทำลายของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลในไขกระดูก

2. อัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ CD4:CD8

การทดลองครั้งนี้พบว่า การติดเชื้อ FIV ทำให้ CD4 ลดลง และทำให้ CD4:CD8 ลดลงน้อยกว่า 0.9 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วนการติดเชื้อ FeLV ไม่พบการลดลงของ CD4:CD8 เนื่องจากเชื้อไวรัส FeLV มีหลาย subgroup ซึ่งมีเป้าหมายต่อเซลล์ในไขกระดูกกว้างขวางกว่า subgroup-T จำเพาะต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ การตรวจสอบการติดเชื้อโดยชุดตรวจ test-kit ไม่ได้บอก subgroup ของเชื้อไวรัส การติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดมีอัตราส่วนของ CD4:CD8 ต่ำที่สุด สัมพันธ์กับอาการทางคลินิกและค่าโลหิตวิทยา สอดคล้องกับการศึกษาของ Collado *et al.* (2012)

เนื่องจากการตรวจหาระดับของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันโดยใช้เครื่อง Flow cytometry มีการเตรียมเซลล์เม็ดเลือดขาวได้หลายเทคนิค การทดลองในครั้งนี้ใช้เทคนิคการแยกเม็ดเลือดขาวโดยใช้สาร Ficoll PaqueTM อาศัยหลักการ density gradient centrifugation ซึ่งจะแยกเอาเฉพาะเม็ดเลือดขาวชนิด PBMC (peripheral blood mononuclear cells) ข้อดีของการใช้วิธีนี้คือลดการปนเปื้อนจากเม็ดเลือดแดง เกล็ดเลือด ซึ่งจะกลายเป็นเศษเซลล์รบกวนขั้นตอนการตรวจด้วยเครื่อง Flow cytometry ข้อเสียคือเพิ่มขั้นตอนในการปฏิบัติงาน จากการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาคือแมวที่ติดเชื้อไวรัส FIV จะส่งผลให้ระดับ CD4:CD8 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญมากกว่าการติดเชื้อไวรัส FeLV จากการทดลองครั้งนี้ยังพบว่า การติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดทำให้ระดับ CD4:CD8 ลดลงต่ำที่สุด เนื่องจากแมวในกลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดมีอาการทางคลินิกที่รุนแรงและพบความผิดปกติทางโลหิตวิทยามากกว่าแมวอีกสองกลุ่ม ทำให้พบความสัมพันธ์ของอาการทางคลินิก โลหิตวิทยา และระดับ CD4:CD8 ในแมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

โรค FeLV และ FIV ในแมวส่งผลต่อระบบการสร้างเม็ดเลือดและระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้การพยากรณ์โรคและการดำเนินของโรคสามารถตรวจได้เบื้องต้นจากค่าทางโลหิตวิทยา สามารถบอกการเกิดภาวะโลหิตจาง เม็ดเลือดขาวรวมต่ำ เมื่อนับแยกชนิดพบเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ต่ำ ขนาดเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง (MCV) สามารถใช้เป็นดัชนีพื้นฐานในการตรวจและพยากรณ์อายุของเม็ดเลือดแดงได้ เนื่องจากขนาดเม็ดเลือดแดงที่โตกว่าปกติ จะมีอายุที่สั้นลงกว่าปกติ และมีโอกาสถูกทำลาย การจัดกลุ่มอาการทางคลินิกเป็น 3 กลุ่ม ตามอาการทางคลินิกที่พบจะเป็นประโยชน์ในการบันทึกข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการตรวจรักษาแต่ละครั้ง และสามารถใช้ประกอบกับการตรวจทางโลหิตวิทยา และ CD4:CD8 ได้เนื่องจากมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยแมวที่มีอาการทางคลินิกที่รุนแรง จะพบการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาอย่างมาก และสัมพันธ์กับ CD4:CD8 ที่ลดลง พบความสัมพันธ์ของค่า CD4:CD8 ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแมวกลุ่มปกติและแมวที่เป็นโรค ($P < 0.001$) โดยค่าเฉลี่ยของ CD4:CD8 ในแมวปกติมีค่าเท่ากับ 1.42 และค่าเฉลี่ยของ CD4:CD8 ในแมวที่เป็นโรคมีค่าเท่ากับ 0.83 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่า CD4:CD8 ในกลุ่มแมวที่เป็นโรค FIV ต่ำกว่า กลุ่มแมวที่เป็นโรค FeLV อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในแมวกลุ่มที่ติดเชื้อ FeLV กับแมวกลุ่มปกติ และพบว่าแมวที่ติดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดพบอาการทางคลินิกที่รุนแรงมากกว่าแมวทุกกลุ่ม พบค่าโลหิตวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไปจากค่าปกติมากที่สุด รวมทั้งมีระดับของ CD4:CD8 ต่ำที่สุด

ข้อเสนอแนะ

การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน โดยตรวจระดับของ CD4:CD8 เป็นเทคนิคขั้นสูงและเป็นเรื่องใหม่ในวงการสัตวแพทย์ของประเทศไทย มักใช้ในงานวิจัยมากกว่าทางปฏิบัติ เนื่องจากมีขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อน แอนติบอดีที่ใช้เป็น cell marker มีราคาแพง และการสั่งซื้อและจัดส่งต้องนำเข้าจากต่างประเทศ การส่งตัวอย่างการตรวจต้องส่งภายใน 8 ชั่วโมง และเครื่อง Flow cytometer ไม่ได้มีแพร่หลายและมีข้อจำกัดในการตรวจแต่ละที่ เช่น บางสถานที่ไม่สามารถรับตัวอย่างที่เป็นเลือดสดได้ แต่เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ในทางด้านระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งในทาง การแพทย์นำมาใช้อย่างกว้างขวาง โดยเป็นเทคนิคที่ใช้กันแพร่หลาย เช่น ในผู้ป่วยโรคภูมิคุ้มกัน

บกพร่อง (HIV) ตรวจหาระดับของ CD4 เพื่อใช้ในการพยากรณ์โรคและประเมินการได้รับยาต้านไวรัส ลักษณะของเชื้อไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องในมนุษย์และแมวจัดเป็น Lentivirus เซลล์เป้าหมายคือ CD4 lymphocyte เช่นกัน จึงหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาและงานวิจัยทั้งในทางการแพทย์และทางการแพทย์ในอนาคต

ประโยชน์ในการนำผลวิจัยไปใช้คือหากในทางปฏิบัติ เนื่องจากปัจจุบันการเตรียมตัวอย่างในการตรวจหาอัตราส่วน CD4:CD8 ในทางปฏิบัตินั้นยังเป็นไปได้ยาก สามารถนำผลการให้คะแนนทางคลินิกร่วมกับผลทางโลหิตวิทยา นำมาใช้ในการพยากรณ์โรคได้เบื้องต้น เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้พบความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนทางคลินิก ผลทางโลหิตวิทยา และระดับของ CD4:CD8

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กาญจน์ เชื้อศิริ, ภาวนา อุทัยโชติวรรณ, คณิศศักดิ์ อรวิระกุล และ รสมา ภูสุนทรธรรม. 2541. โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องในแมวที่แสดงอาการทางคลินิกของโรคเรื้อรัง. *เวชสารสัตวแพทย์*. 28(3): 77-88
- พรรณจิตต์ นิลกำแหง, เสาวนิตย์ ทิพย์เสวก และ กิตติ ศรีสุภาพ. 2531. การสำรวจลิวคีเมียไวรัสแอนติเจนในแมวในเขตกรุงเทพมหานครและใกล้เคียง. *สัตวแพทยสาร*. 39 (1): 73-77.
- มงคล เหล่าอารยะ. 2557. การใช้ flow cytometry ในงานวิจัยด้านการแพทย์และทางคลินิก. *เชียงใหม่เวชสาร*. 53 (2): 99-109.
- ABCD Guideness (European Advisory Board on Cat diseases). 2006. **Guideness on Feline Leukemia Virus**. Available Source: <http://www.abcd-vets.org>, August 27, 2013.
- Arjona, A., N. Barquero, A. Domenech, G. Tejerizo, V. Collado, C. Toural, D. Martin and E. Gomez. 2007. Evaluation of a novel Nested PCR for the routine diagnosis of Feline Leukemia Virus (FeLV) and Feline Immunodeficiency Virus (FIV). **Journal of Feline Medicine and Surgery**. 9 (1): 14-22.
- Arai, M., J. Darman and A. Lewis. 2000. The use of human hematopoietic growth factors (rhGM-CSF and rhEPO) as a supportive therapy for FIV-infected cats. **Vet Immunopathology**. 77 (1-2): 71-92.
- August, J.R. 1989. Feline viral diseases, pp. 312-340. In Ettinger S. J., ed. **Veterinary Internal Medicine 3rd ed.** Amsterdam, Netherlands.
- Barr, M.C., C.W. Olsen and F.W. Scott. 1995. Feline viral diseases, pp. 416-421. In Ettinger S. J., ed. **Veterinary Internal Medicine: Diseases of the dog and cat**. Amsterdam, Netherlands.

- Beebe, A.M., N. Dua, T.G. Faith, P.F. Moore, N.C. Pedersen and S. Dandekar. 1994. Primary stage of feline immunodeficiency virus infection: viral dissemination and cellular targets. **Journal of Virology**. 68: 3080-3091.
- Bendinelli, M., M. Pistello, S. Lombardi, S. Lombardi, A. Poli, C. Garzelli, D. Matteucci, L.C. Nelli, G. Malvaldi and F. Tozzini. 1995. Immunodeficiency Virus: An Interesting Model for AIDS Studies and Important Cat Pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**. 8: 87-112.
- Bishop, S.A., T.J. Gruffydd-Jones, D.A. Harbour and C.R. Strokes. 1993. Programmed cell death (apoptosis) as a mechanism of cell death in peripheral blood mononuclear cells from cats infected with feline immunodeficiency virus (FIV). **Clinical Experimental Immunology**. 93: 65-17.
- Brunner, D. and N.C. Pedersen. 1989. Infection of peritoneal macrophages *in vitro* with feline immunodeficiency virus. **Journal of Virology**. 63: 5483-5488.
- Burkhard, M.J. and E.A. Hoover. 1999. Feline immunodeficiency virus: clinical manifestations and management. **Feline Practitioner**. 27(1): 10-14.
- Byrne, K.M., W.K. Hong, P.C. Boon, G.A. Reinhart and M.G. Hayek. 2000. A standardized gating technique for the generation of flow cytometry data for normal canine and normal feline blood lymphocytes. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 73: 167-182.
- Callanan, J.J., M.J. Hosie and O. Jarrett. 1991. Transmission of feline immunodeficiency virus from mother to kitten. **Veterinary Record**. 128: 332-333.
- Carter, G.R., D.J. Wise and E.F. Flores. 2005. A concise review of veterinary virology. Available Source: <http://www.ivis.org>, August 27, 2013.

- Collado, V.M., A. Domenech, G. Miro, S. Martin, E. Escolar and E.G. Lucia. 2012. Epidemiological Aspects and Clinicopathological Findings in Cats Naturally Infected with Feline Leukemia Virus (FeLV) and/or Feline Immunodeficiency Virus(FIV). **Open Journal of Veterinary Medicine**. 2: 13-20.
- Clerici, M., N. Stocks, and R. Zajac. 1989. Detection of three distinct patterns of T helper cell dysfunction in asymptomatic, human immunodeficiency virus positive patients. **Journal of Clinical Investigation**. 84: 892-1899.
- Cow, D.L. 1994. Advances in therapy for retroviral infection, pp. 21-25. In August J.R., ed. **Consultations in Feline Internal Medicine**. Philadelphia, USA.
- Dean, G.A., G.H. Reubel, P.F. Moore and N.C. Pedersen. 1996. Proviral burden and infection kinetics of feline immunodeficiency virus in lymphocyte subsets of blood and lymph-node. **Journal of Virology**. 70: 5165-5169.
- Dow, S.W., M.L. Poss and E.A. Hoover. 1990. Feline immunodeficiency virus: neurotropic lentivirus. **Journal of the Acquired Immune Deficiency Syndrome**. 3: 658-668.
- Dua, N., G. Reubel, J. Higgins and N.C. Pedersen. 1994. The primary stage of experimentally-induced feline immunodeficiency virus infection: clinical, hematologic and virologic features. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 43: 337-355.
- Dunham, S.P. and E. Graham. 2008. Retroviral infections of small animals practice. **Veterinary Clinics of North America**. 38(4): 879-901.
- Egberink, H.F., C.E. Keldermans, J.M. Koolen and M.C. Horzinek. 1992. Humoral immune response to feline immunodeficiency virus in cats with experimentally induced and naturally acquired infections. **American Journal of Veterinary Reserch**. 53: 1133-1138.

Furuya, T., Y. Kawaguchi, T. Miyazawa, Y. Fujikawa, Y. Tohya, Y. Azetaka, E. Takahashi, T. Mikami. 1990. Existence of feline immunodeficiency virus infection in Japanese cat population since 1968. **Japanese Journal of Veterinary Science**. 52: 891-893.

George, J.W., N.C. Pedersen and J. Higgins. 1993. The effect of age on the course of experimental feline immunodeficiency virus infection in cats. **Acquired Immunodeficiency Syndrome Research and Human Retroviruses**. 9: 897-905.

Grindem, C. B., W.T. Corbett., B.E. Ammerman and M.T. Tompkins. 1989. Seroepidemiologic survey of feline immunodeficiency virus infection in cats of Wake County, North Carolina. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. 194: 226-228.

Hardy, W.D. 1987. Oncogenic viruses in cats: The feline leukemia and sarcoma viruses. In J. Holzworth, ed. **Diseases of the Cat. Medicine and surgery**. Philadelphia, WB saunders.

Hartmann, K. 1998. Feline Immunodeficiency Virus Infection: An Overview. **The Veterinary Journal**. 155: 123-137.

_____. 2006. Antiviral and Immunomodulatory Chemo-Therapy. **Diseases of the Dog and Cat**. Saunders Elsevier, St. Louis. 25-28.

_____. 2012. Clinical aspects of feline retroviruses: A review. **Viruses**. 4: 2064-2710.

Hoove, E.A. and J.I. Mullins. 1991. Feline leukemia virus infection and diseases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. 199: 1287-1297.

Ishida, T., T. Washizu, K. Toriyabe, S. Motoyoshi, I. Tomodo and N.C. Pedersen. 1989. Feline immunodeficiency virus infection in cats of Japan. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**. 194, 221-225.

- Jerret, W.F., E. Crawford and W.B. Martin. 1964. Leukemia in the cat: A virus-like particle associated with leukemia (lymphosarcoma). **Nature**. **202**: 567-569.
- Lehmann, R., Vonbeust, B. and Niederer, E. 1992. Immunization-induced decrease of the CD4+ CD8+ ratio in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. **35**: 199-214.
- Levy, J.K. 2000. FeLV and non-neoplastic FeLV related diseases, pp. 416-421. *In* Ettinger SJ, ed. **Veterinary Internal Medicine**. Diseases of the Dog and Cat Vol. 15th ed. Philadelphia, WB Saunders.
- _____. 2002. Management of the immunosuppressed cat. **Waltham Feline Medicine symposium**: 13-20.
- _____, H.M. Scott, J.L. Lachtara and P.C. Crawford. 2006. Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in north America and risk factors for seropositivity. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. **228**:371-376.
- Macy, D.W. 1994. Feline immunodeficiency virus, pp. 433-448. *In* Hoskin JD and Loar AS., eds. **Veterinary Clinical North America Small animals Practitioner**.
- Moloney, M. and W.B. Shreffler. 2008. Basic science for the practicing physician. Flow cytometry and cell sorting. **An allergy Asthma Immunology**. **101**: 544-549.
- Olmsted, R.A., A. Barnes, K. Yamamoto, J. Hirsch, V. Purcell, R. Johnson. 1989. Molecular cloning of feline immunodeficiency virus. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. **86**: 2448-2452.

Pedersen, N.C. 1991. Clinical overview of feline immunodeficiency virus. **Journal of the American Veterinary Medical Association.** 3: 1298-1305.

Reubel, G.H., G.A. Dean, J.W. George, J.E. Barlough and N.C. Pedersen. 1994. Effects of incidental infections and immune activation on disease progression in experimentally feline immunodeficiency virus-infected cats. **Journal of the Acquired Immune Deficiency Syndrome.** 7: 391-399.

Roederer M. 2008. How many events is enough? Are you positive? **Cytometry Analysis.** 73: 384-385.

Rojko, J.L. and Hardy W.D. 1994. Feline Leukemia virus and other retroviruses, pp. 263-432. *In* Sherding RD., ed. **The Cat Diseases and Clinical management vol.1, 2.** New York, Churchill Livingstone.

Rosa, S.C., L.A. Herzenberg and M. Roederer. 2001. 11-color, 13 parameter flow cytometry: identification of human naïve T cell by phenotype, function, and T-cell receptor diversity. **National Medicine.** 7: 245-248.

Shapiro, H. 2003. Practical Flow Cytometry. **4th ed. Hoboken, NJ:** John Wiley & Sons Inc.

Sherding, R.G. 2000. Feline immunodeficiency virus update. *In* : Word congress scientific proceedings; 192-194. Amsterdam.

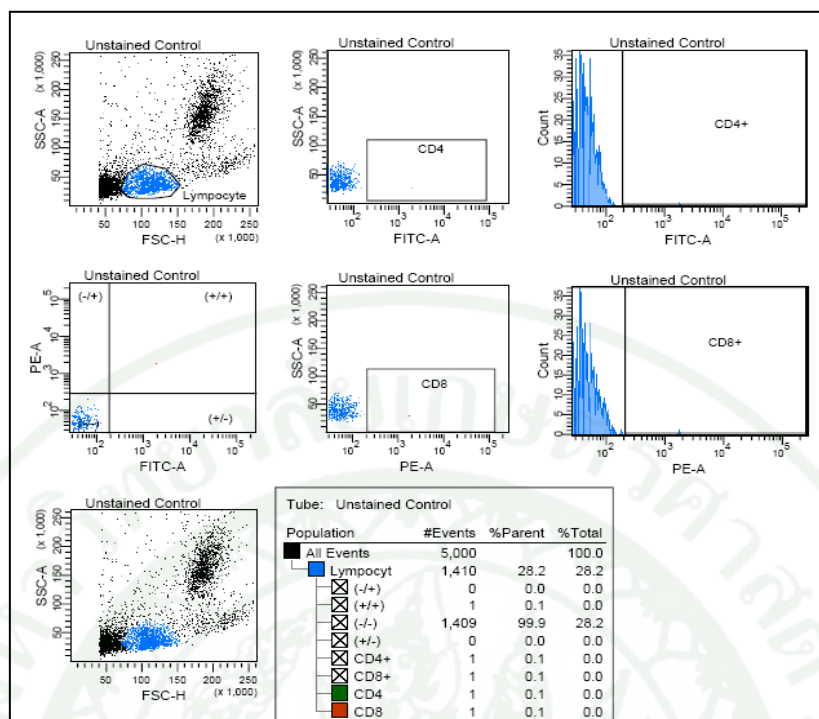
Walker, C., P.J. Canfield and D.N. Love. 1994. Analysis of leucocytes and lymphocyte subsets for different clinical stages of naturally acquired feline immunodeficiency virus infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology.** 44: 1-12.

Weissenbacher, S., B. Riond, R. Hofmann-Lehmann, H. Lutz. 2011. Evaluation of a novel haematology analyser for use with feline blood. **The veterinary Journal.** 187: 381-387.

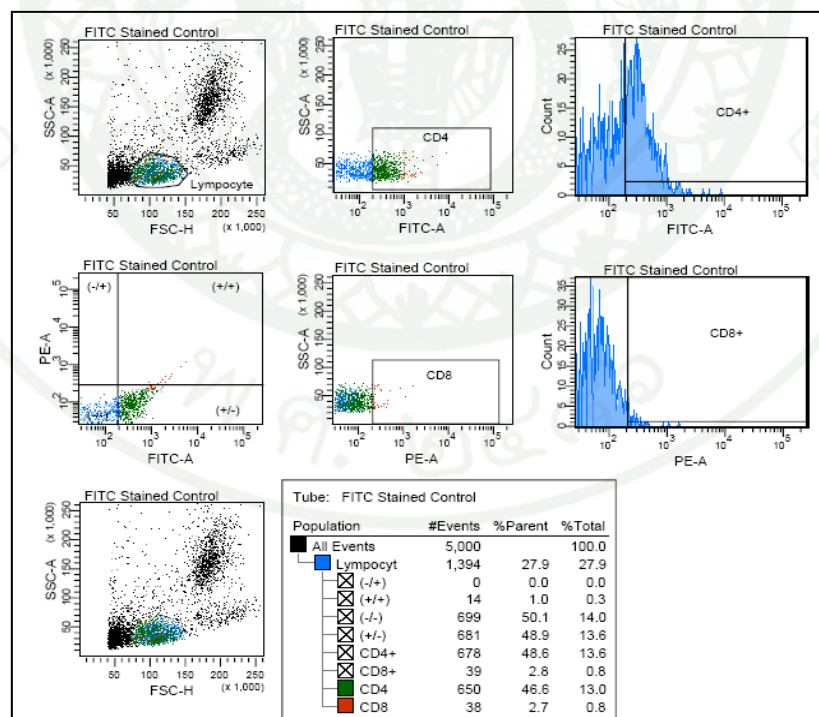
Wolf, A., D. Eigner and M. Lappin. 2001. Alternatives a veterinary clinical update Feline immunodeficiency virus. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinary.** 23(1): 1-8.

Yamamoto, J.K., E. Sparger and E.W. Ho. 1988. Pathogenesis of experimentally induced feline immunodeficiency virus infection in cats. **American Journal of Veterinary Research.** 49: 1246-1258.

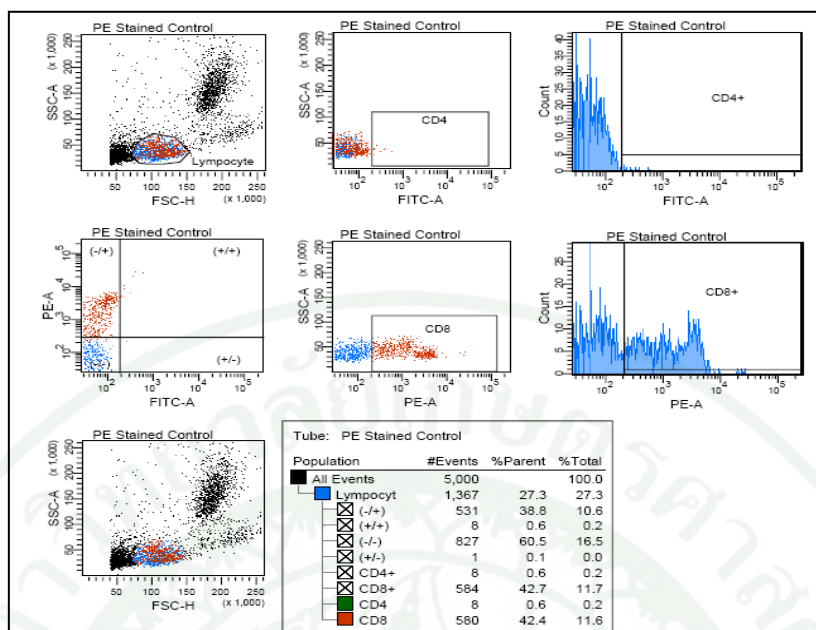




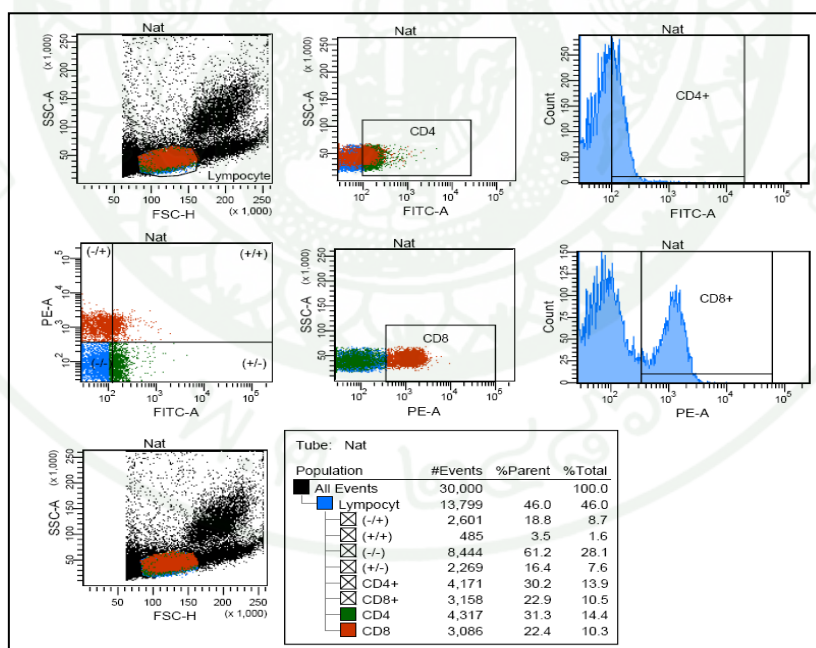
ภาพผนวกที่ 1 แสดงขั้นตอนการเตรียมหลอดตัวอย่าง(compensation) FITC-/PE- (unstained control)



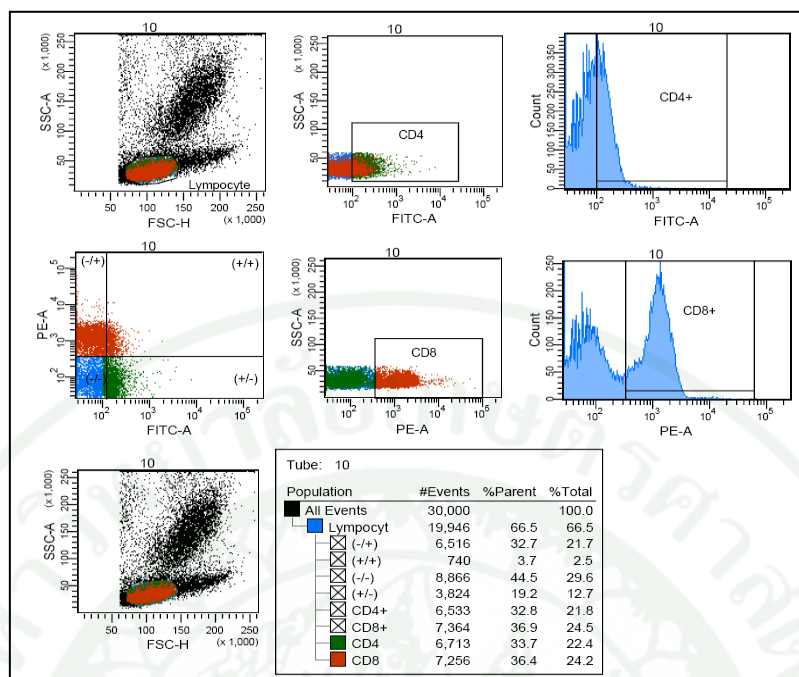
ภาพผนวกที่ 2 แสดงขั้นตอนการเตรียมหลอดตัวอย่าง (compensation) FITC+/PE- ช้อยเฉพาะแอนติบอดีต่อ CD4 ติดฉลากด้วยสี FITC



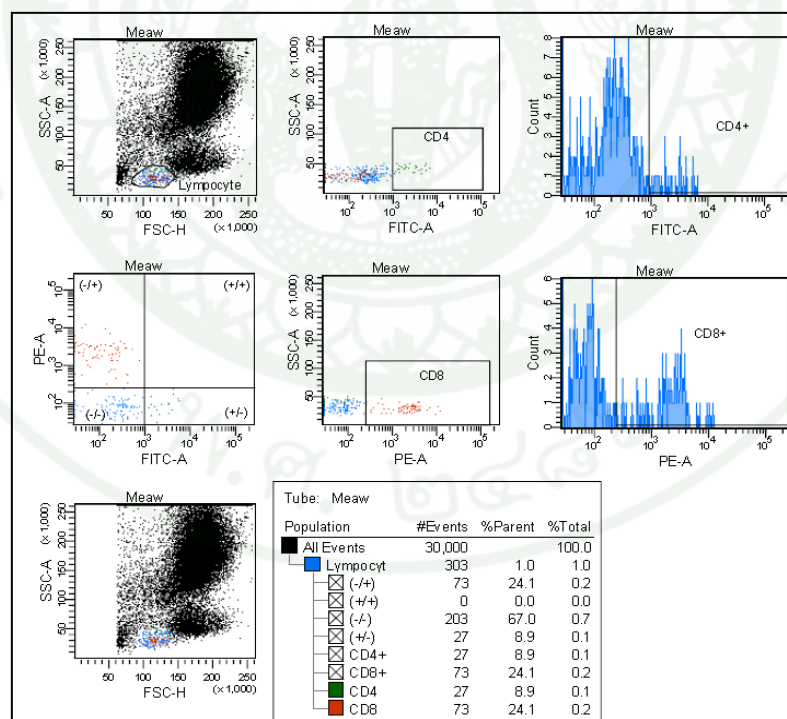
ภาพผนวกที่ 3 แสดงขั้นตอนการเตรียมหลอดตัวอย่าง (compensation) FITC-/PE+ ข้อมเฉพาะแอนติบอดีต่อ CD8 ตีฉลากด้วยสี PE



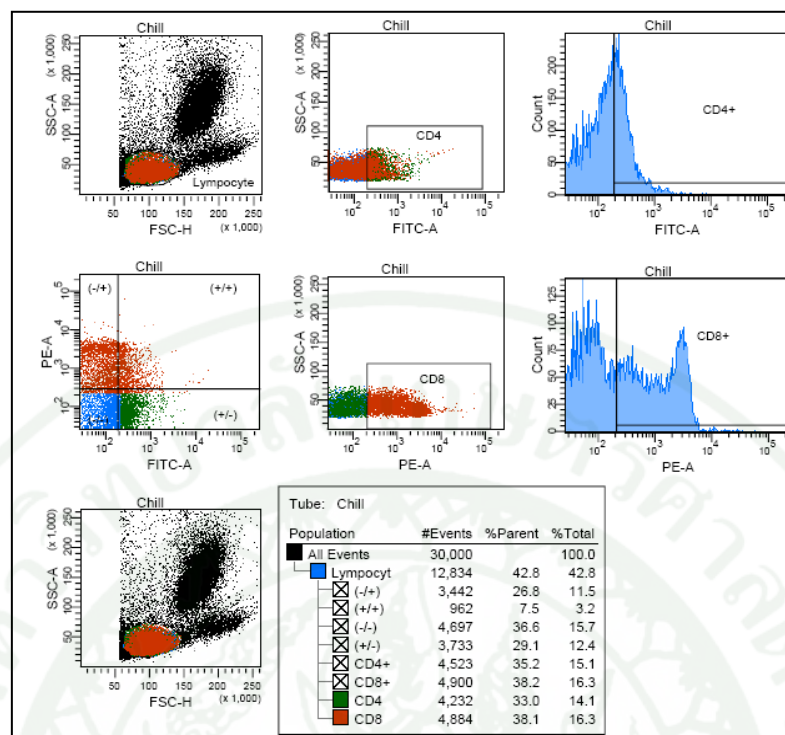
ภาพผนวกที่ 4 แสดงขั้นตอนการเตรียมหลอดตัวอย่าง (compensation) FITC+/PE+ ข้อมแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CD4 และ CD8 ตีฉลากด้วยสี FITC และ PE



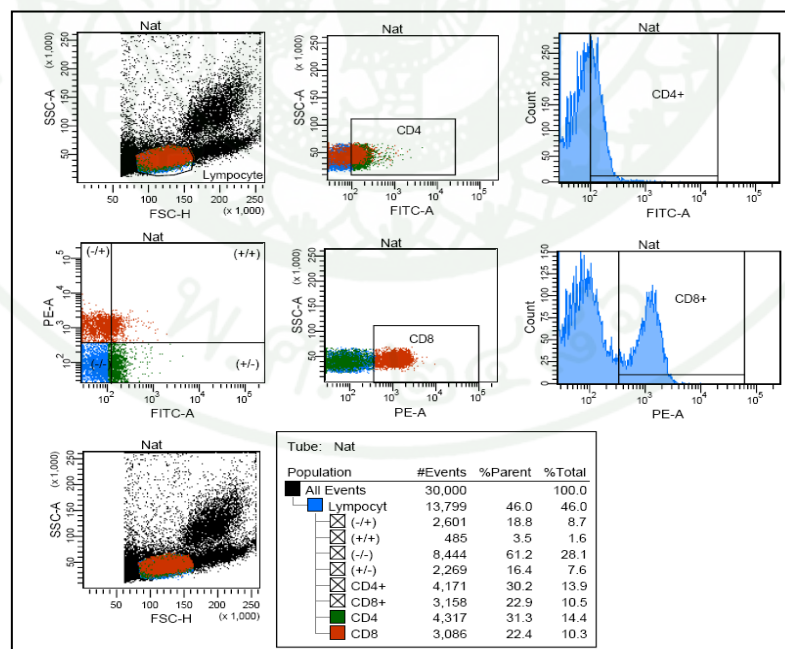
ภาพผนวกที่ 5 อัตราส่วน CD4:CD8 ในแมวกุ่มปกติ พบระดับ CD4:CD8 = 0.92 (>0.9)



ภาพผนวกที่ 6 อัตราส่วน CD4:CD8 แมวที่มีระดับภูมิคุ้มกันลดลงเมื่อระดับของ CD4:CD8 ที่ลดต่ำกว่า 0.9 แมวที่ติดเชื้อ FIV พบระดับ CD4:CD8 = 0.45 (<0.9)



ภาพผนวกที่ 7 อัตราส่วน CD4:CD8 แมวที่มีระดับภูมิคุ้มกันลดลงเมื่อระดับของ CD4:CD8 ที่น้อยกว่า 0.9 แมวในกลุ่มที่ติดเชื้อ FeLV พบระดับ CD4:CD8 = 0.86



ภาพผนวกที่ 8 อัตราส่วน CD4:CD8 ในแมวก่อนที่ติดเชื้อ FeLV พบระดับ CD4:CD8 = 1.39 (มากกว่า 0.9)

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ นางสาววัณศนีย์ สุขเนาวิ
 เกิดวันที่ 27 สิงหาคม 2530
 สถานที่เกิด จังหวัดนครศรีธรรมราช
 ประวัติการศึกษา สพ.บ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
 ตำแหน่งปัจจุบัน นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ
 สถานที่ทำงานปัจจุบัน ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ กรมปศุสัตว์จ.นครศรีธรรมราช
 ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ -
 ทุนการศึกษาที่ได้รับ ทุนวิจัย อ.สพ.ญ.ดร.ทัศนีย์ เจริญทรง