



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์)

ปริญญา

.....คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์..... โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา.....
สาขา ภาควิชา

เรื่อง การศึกษาการติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค: ความชุกทางซีรัมในโคนม
และการติดเชื้อระยะแรกในลูกโคนม

A Study on Bovine Leukemia Virus Infection: Seroprevalence in Dairy Cattle and Early
Infection in Dairy Calves

นามผู้วิจัย นายสุกชาติ ปานเนียม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(.....รองศาสตราจารย์ธีระ รักความสุข, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(.....ผู้ช่วยศาสตราจารย์พัฒน์ อรุณวิภาส, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา

(.....ผู้ช่วยศาสตราจารย์นรินทร์ อุประกรินทร์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(.....รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาการติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค: ความชุกทางซีรัมในโคนมและการติดเชื้อ
ระยะแรกในลูกโคนม

A Study on Bovine Leukemia Virus Infection: Seroprevalence in Dairy Cattle and Early Infection
in Dairy Calves

โดย

นายสุกชาติ ปานเนียม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์)
พ.ศ. 2552

ศุภชาติ ปานเนียม 2552: การศึกษาการติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค: ความชุกทางซีรัมในโคนมและการติดเชื้อระยะแรกในลูกโคนม ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์) สาขาวิชาคลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์ โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ธีระ รักความสุข, Ph.D. 83 หน้า

ศึกษาความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค (Bovine Leukemia Virus, BLV) และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในสภาพตามธรรมชาติของโคนมเขตจังหวัดกาญจนบุรี ผลความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัสมีความชุกระดับฝูง 61.26% (68/111) ระดับรายตัว 37.82% (250/661) โดยเป็นความชุกระดับรายตัวในแม่โค 46.25% (191/413) และโคสาว 23.49% (59/248) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าความชุกดังกล่าวอยู่ในเกณฑ์ที่สูง อาจเนื่องมาจากวิธีการติดเชื้อแบบ horizontal transmission ซึ่งเกิดจากการปฏิบัติต่อตัวโคภายในฝูง หรือการจัดการฟาร์มที่มีสุขลักษณะไม่เหมาะสม การเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาโดยเฉพาะค่าเม็ดเลือดขาวรวม เปอร์เซนต์ลิมโฟไซต์ในแม่โคที่ให้ผลบวกทางซีรัมพบว่าสูงกว่าแม่โคที่ให้ผลลบทางซีรัม แต่เปอร์เซนต์นิวโทรฟิลในแม่โคที่ให้ผลบวกทางซีรัมพบว่าต่ำกว่าแม่โคที่ให้ผลลบทางซีรัม ซึ่งมีประโยชน์ในการนำไปใช้เพื่อการวินิจฉัยโรคทางคลินิกแบบคัดกรอง เพื่อประโยชน์ในการคัดทิ้งโคที่เกิดภาวะ leukocytosis หรือ lymphocytosis ออกจากฝูงที่ทราบประวัติการติดเชื้อ BLV เนื่องจากโคที่อยู่ในสภาวะนี้เป็นแหล่งแพร่เชื้อไวรัสที่สำคัญภายในฝูง ในขณะที่ค่าทางโลหิตวิทยาของโคสาวไม่แตกต่างกันระหว่างโคสาวที่ให้ผลบวกทางซีรัม และโคสาวที่ให้ผลลบทางซีรัม แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในโคสาวไม่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ BLV ผลการติดตามการติดเชื้อในลูกโคพบว่า ลูกโคที่เกิดจากแม่โคที่เลี้ยงในฝูงที่ให้ผลบวกทางซีรัมให้ผลบวกต่อการตรวจทางซีรัมด้วยวิธี ELISA ทันทีภายหลังคลอดโดยที่ยังไม่ได้รับภูมิคุ้มกันจากนมแม่แสดงให้เห็นว่าลูกโคอาจได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่ผ่านทางรกในขณะตั้งท้อง ดังนั้นการตรวจการติดเชื้อไวรัส BLV ด้วยวิธีทางซีรัมในลูกโคที่อายุน้อยกว่า 6 เดือนเพียงอย่างเดียวไม่เหมาะสม ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ามีการผ่านของภูมิคุ้มกันจากแม่โคสู่ลูกโคในขณะตั้งท้องเช่นกัน ส่วนความสำคัญของการติดเชื้อผ่านการกินนมแม่ไม่สามารถสรุปได้จากการศึกษานี้ ค่าโลหิตวิทยาในลูกโคอายุน้อยกว่า 6 เดือนที่ได้จากการศึกษานี้อยู่ในเกณฑ์ปกติตลอดระยะเวลาการศึกษา และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาใดๆในลูกโคที่ให้ผลบวกและลบทางซีรัม ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาต่อการติดเชื้อ BLV มีความสัมพันธ์กันเฉพาะในแม่โคเท่านั้น

Supachart Panneum 2009 : A Study on Bovine Leukemia Virus Infection: Seroprevalence in Dairy Cattle and Early Infection in Dairy Calves. Master of Science (Veterinary Clinical Studies), Major field: Veterinary Clinical Studies, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Associate Professor Theera Rukkwamsuk, Ph.D. 83 pages

Seroprevalence of bovine leukemia virus infection and its immunological response were studied in dairy cattle raised under a natural condition of Kanchanaburi province. Seroprevalence results was high both at herd and individual levels were 61.26% (68/111) and 37.82% (250/661), respectively. Seroprevalence for cows and heifers were 46.25% (191/413) and heifers were 23.49% (59/248), respectively. This result indicated that seroprevalence was high and a route of transmission of BLV in cows and heifers in seropositive herd were also the same that was an inappropriate sanitation of farm practice. The hematological parameters, particularly white blood cell count and percentage of lymphocyte were higher and percentage of neutrophil was lower for seropositive cows than for seronegative cows. These results were very useful for a clinical diagnostic tool of BLV infection and may be a potential information for eradication of leukocytotic or lymphocytotic cows that play a major role of BLV reservoir from the seropositive herds. The hematological parameters did not differ between seropositive and seronegative heifers, indicating that there were no association between BLV infection and any hematological change in heifers. Calves born from cows in seropositive herd showed seropositive to ELISA immediately after calving and before feeding with colostrum. This result suggested that antibodies against BLV might be transferred to the fetus during pregnancy. This might indicated that only serological test was not sufficient to detect a BLV infection in calves less than 6 months of age. The present result also showed an evidence of intra-uterine infection. Although the major route of transmission of BLV is via colostrum, BLV infection of calves via ingestion of colostrum in this study was not conclusive. All hematological parameters in either seropositive or seronegative calves were in normal ranges and did not change during the 6 month of age. Therefore, hematological changes could be used as indicators for BLV infection only in dairy cows.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

/ /

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ชีระ รักความสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักสำหรับความกรุณาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา และการทำงานวิจัยที่สำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์ที่มีความสมบูรณ์ฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. พิพัฒน์ อรุณวิภาส อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมสำหรับคำชี้แนะและการให้การปรึกษาที่มีค่าสำหรับการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งการสนับสนุนที่สำคัญหลายประการระหว่างการศึกษาและทำวิจัยของผู้วิจัย

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคุณศิริลักษณ์ จาละ และคุณสุกญา พัฒนกุลอนันต์ นักวิทยาศาสตร์หน่วยงานชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสนอย่างสูงสำหรับคำแนะนำที่มีค่าและความช่วยเหลือที่มีประโยชน์ในการตรวจทางห้องปฏิบัติการตลอดระยะเวลาของการศึกษาและการทำวิจัยนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมท่าม่วงจำกัด สำหรับความกรุณาและความร่วมมือในการศึกษาวิจัย ตลอดจนนายสัตวแพทย์ เจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หนองโพ และนิสิตคณะสัตวแพทยศาสตร์ชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2550-2551 สำหรับความร่วมมือ ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างซึ่งมีความสำคัญมากสำหรับการวิจัยนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณกองทุนพัฒนาคณะสัตวแพทยศาสตร์สำหรับการสนับสนุนทุนการศึกษาเพื่อการเพิ่มคุณวุฒิของผู้วิจัย และทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุดท้ายผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดา รวมทั้งขอขอบคุณน้องสาวของผู้วิจัย สำหรับการสนับสนุนที่ไม่มีข้อแม้และเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งตลอดมาและตลอดชีวิตของผู้วิจัย อนึ่งคุณประโยชน์และความดีที่อาจเกิดจากการศึกษาวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่บิดาและมารดาผู้มีบุญคุณยิ่งของผู้วิจัย

ศุภชาติ ปานเนียม

กุมภาพันธ์ 2552

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	27
อุปกรณ์	27
วิธีการ	28
ผลและวิจารณ์	36
สรุปและข้อเสนอแนะ	52
สรุป	52
ข้อเสนอแนะ	55
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	56
ภาคผนวก	67

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคในฝูงโคนม 111 ฝูง โดยการตรวจด้วยวิธี indirect ELISA	37
2 ผลการทดสอบความสัมพันธ์ (test of independence) ของการติดเชื้อในแม่โคและโคสาวที่เลี้ยงอยู่ในฟาร์มเดียวกันจากฟาร์ม 101 ฟาร์ม	38
3 การเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาระหว่างแม่โคที่ให้ผลตรวจการติดเชื้อไวรัส มะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคทางซีรัมด้วยวิธี ELISA เป็นบวกและลบ	39
4 การเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาระหว่างโคสาวที่ให้ผลตรวจการติดเชื้อไวรัส มะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคทางซีรัมด้วยวิธี ELISA เป็นบวกและลบ	41
5 การเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาระหว่างแม่โคและโคสาวที่ให้ผลตรวจการติด เชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคทางซีรัมด้วยวิธี ELISA เป็นบวก	42
6 ผลตรวจการติดเชื้อ BLV และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ ด้วยวิธี PCR	50
7 ค่าโลหิตวิทยาของลูกโคจากการศึกษาการติดเชื้อในลูกโคที่เลี้ยงอยู่ในฝูงที่ให้ ผลบวกและผลลบทางซีรัม	51
ตารางผนวกที่	
1 จำนวนประชากรโคนมแบ่งตามจังหวัดในเขต 7	70
2 จำนวนประชากรโคนมแบ่งตามอำเภอในจังหวัดกาญจนบุรี	71
3 จำนวนแม่โคและโคสาวที่ใช้เก็บตัวอย่างจากแต่ละฟาร์ม	73
4 ค่า S/P ratio ที่ได้จากการตรวจ pooled serum ของแม่โคในแต่ละฟาร์ม	78
5 ค่า S/P ratio ที่ได้จากการตรวจ pooled serum ของโคสาวในแต่ละฟาร์ม	80

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วงจรการจำลองตัวและการติดเชื้อเซลล์ของเชื้อไวรัส สกุด Retroviridae	5
2	โครงสร้างของ Retrovirus	7
3	องค์ประกอบจีโนมของเชื้อ Bovine Leukemia Virus	9
4	แผนผังวิธีการศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัส BLV ในแม่โคและโคสาวทั้งระดับรายตัวและระดับฝูง และการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยา	31
5	แผนผังการศึกษาลักษณะการติดเชื้อในลูกโคแรกเกิดผ่านการกินนมแม่เหลืองจากแม่โคที่ให้ผลบวกและผลลบทางซีรั่มต่อการติดเชื้อไวรัส BLV	33
6	ผลการตรวจการติดเชื้อไวรัส BLV ด้วยวิธี PCR	44

ภาพผนวกที่

1	แผนที่จังหวัดกาญจนบุรีแสดงที่ตั้งของอำเภอ	69
2	ผลการตรวจทางซีรั่มต่อการติดเชื้อ BLV ด้วยวิธี ELISA	77
3	ลำดับเบสบางส่วนที่ได้จาก PCR product (product) โดยวิธีของ Wajjwalku <i>et al.</i> (1999) เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับเบสที่ได้รายงานไว้ใน Genbank (K02120) ที่ใช้ในการศึกษานี้	83

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AGID	=	agar gel immunodiffusion
BLV	=	bovine leukemia virus
CD4	=	cluster of differentiation
CD5	=	cluster of differentiation 5
DNA	=	deoxyribonucleic acid
dNTP	=	deoxyribonucleotide triphosphate
EBL	=	enzootic bovine leukosis
EDTA	=	ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	=	enzyme linked immunosorbent assay
GM-CSF	=	granulocyte/macrophage-colony stimulating factor
HCl	=	hydrochloride
HIV	=	human immunodeficiency virus
HTLV	=	human T-cell lymphotropic virus
IFN- γ	=	gamma-interferon
Ig	=	immunoglobulin
IgG1	=	immunoglobulin G1
IgG2	=	immunoglobulin G2
IgM	=	immunoglobulin
IL-2	=	interleukin-2
IL-6	=	interleukin-6
IL-10	=	interleukin-10
IL-12	=	interleukin-12
MCHC	=	mean corpuscular hemoglobin concentration
MCV	=	mean corpuscular volume
OD	=	optical density
OIE	=	Office International des Epizooties/the World Organization for Animal Health

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

PBS	=	phosphate buffer solution
PCR	=	polymerase chain reaction
PL	=	persistent lymphocytosis
Rbc	=	red blood cell
RNA	=	ribonucleic acid
Th1 lymphocyte	=	T-helper1 lymphocyte
Th2 lymphocyte	=	T-helper2 lymphocyte

การศึกษาการติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค: ความชุกทางซีรัมในโคนมและการติดเชื้อระยะแรกในลูกโคนม

A study on Bovine Leukemia Virus Infection: Seroprevalence in Dairy Cattle and Early Infection in Dairy Calves

คำนำ

เชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค (Bovine Leukemia Virus, BLV) เป็นเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (Oncogenic Lymphotropic Retroviridae) จัดอยู่ในชนิด Deltaretrovirus วงศ์ Retroviridae ไวรัสในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติสำคัญคือ มีเอนไซม์ Reverse Transcriptase ที่ทำหน้าที่ในการแบ่ง genome ของไวรัสซึ่งเป็น single strand RNA และเอนไซม์ Integrase เพื่อให้ไวรัสมีความสามารถในการติดเชื้อเข้าสู่เซลล์เป้าหมายซึ่งได้แก่ B-lymphocyte (Johnson and Kaneene, 1991b; Licursi et al., 2002) และไวรัสสามารถเจริญและแบ่งตัวต่อไป รวมทั้งสามารถผลิตเชื้อไวรัสออกมาเพื่อไปยังเซลล์เป้าหมายอื่น ๆ การติดเชื้อนี้สำหรับในโคเป็นการติดเชื้อและก่อโรคที่จำเพาะต่อสัตว์ชนิดนี้ การติดเชื้อและรายงานการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทางการติดเชื้อนี้ในสัตว์ชนิดอื่นในปัจจุบัน ถือว่าเป็นการติดเชื้อโดยอุบัติเหตุทั้งสิ้น (Nagy, 2006) จึงอาจกล่าวได้ว่า การติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวนี้ เป็นการติดเชื้อที่จำเพาะต่อโค เมื่อโคติดเชื้อนี้แล้วจะเป็นการติดเชื้อไปตลอดชีวิต โดยสามารถตรวจพบเชื้อได้ภายหลังการติดเชื้อแล้ว 2 สัปดาห์ และจะตรวจพบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อนี้ที่ประมาณ 2-8 สัปดาห์ หลังการติดเชื้อโดยการตรวจการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (Johnson and Kaneene, 1992; Fechner et al., 1997) สามารถแบ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับโคภายหลังการติดเชื้อแล้วได้ 3 ลักษณะคือ 1) ให้ผลบวกต่อการทดสอบทางซีรัมและไม่เกิดภาวะ lymphocytosis 2) ให้ผลบวกต่อการทดสอบทางซีรัมและเกิดภาวะ persistent lymphocytosis 3) ภาวะ leukemia ซึ่งจะเห็นได้ว่าผลที่เกิดจากการติดเชื้อนี้ จะทำให้โคมีการติดเชื้อตลอดชีวิต โดยภาวะ persistent lymphocytosis พบได้ประมาณ 30% และการเกิดเนื้องอกชนิด lymphosarcoma พบได้เพียงประมาณ 1-5% ของโคที่ติดเชื้อนี้ (Johnson and Kaneene, 1991a) ความรุนแรงของการเกิดเนื้องอกขึ้นกับอวัยวะที่เซลล์เนื้องอกนั้นเข้าไปเจริญหรือแทรกอยู่ แต่ความสูญเสียส่วนใหญ่ที่สำคัญของโรคนี้ เป็นความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่เกิดจากการลดลงของประสิทธิภาพการผลิตของตัวโคและระดับฟาร์ม เนื่องจากการลดต่ำลงของผลผลิต การเพิ่มอัตรา

การคัดทิ้ง ลดประสิทธิภาพของการผสม (Ott, et al., 2003) โดยเฉพาะสำหรับโคนม โดยเฉพาะฝูงที่มีความชุกของการติดเชื้อมากพบว่า จะส่งผลต่อปริมาณน้ำนมดิบทำให้ลดลงเป็นสัดส่วนที่มากเช่นเดียวกัน ซึ่งทั้งหมดที่กล่าวมานี้ว่าเป็นผลกระทบทางตรง แต่การติดเชื้อนี้ยังมีผลกระทบทางอ้อมที่สำคัญเช่นกัน ได้แก่ การสูญเสียโอกาสทางการค้าสินค้าปศุสัตว์กับประเทศที่ใส่ใจหรือมีมาตรการควบคุมโรคนี้อย่างจริงจัง จึงอาจกล่าวได้ว่าโรคนี้นี้เป็นโรคที่ส่งผลกระทบทางธุรกิจต่ออุตสาหกรรมเลี้ยงโคนม-โคนมที่สำคัญโรคหนึ่ง (OIE, 2008) วิธีการติดเชื้อสามารถเกิดได้ทั้ง vertical และ horizontal แต่พบว่าการติดต่อทางวิธี horizontal นั้นเกิดขึ้นเป็นส่วนใหญ่ และเป็นช่องทางสำคัญในการระบาดของโรค ซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ การปฏิบัติต่าง ๆ แก่ตัวโคในฟาร์มที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเลือดโคที่มีเชื้อไปสู่โคอื่น เช่น การล้างผ่านทางทวารหนัก การ擠奶 และการติดเชื้อผ่านวิธี vertical ที่สำคัญได้แก่ การติดเชื้อจากแม่ที่ติดเชื้อสู่ลูกผ่านทางรกและผ่านทางน้ำนมเหลืองและน้ำนม

ผลการศึกษาในประเทศไทยพบว่ามีความชุกทางซีรัมของการติดเชื้อไวรัส BLV ในระดับรายตัว 4.96-32.50% ซึ่งส่วนใหญ่การศึกษาทำในกลุ่มแม่โคและผลของการศึกษามักนำเสนอในแง่ของความชุกทางซีรัมเท่านั้น (Wongkasemjit *et al.*, 1994; Bunyahotra *et al.*, 1994; Arunvipas *et al.*, 1997) ทำให้ข้อมูลของการติดเชื้อนี้ในประเทศไทยมีอยู่จำกัด โดยเฉพาะในโคสาว เนื่องจากการเลี้ยงโคสาวถือเป็นการลงทุน เป็นอนาคตของการเลี้ยงโคนมของเกษตรกร ดังนั้นเพื่อลดความสูญเสียจากการติดเชื้อไวรัส BLV เร่งมีเลือดขาวในโค ความรู้เรื่องการติดเชื้อนี้ในโคสาวจึงนับว่ามีความสำคัญ โดยเฉพาะลักษณะการเปลี่ยนแปลงบางประการของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ ที่ให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในแง่ธรรมชาติของวิธีการติดเชื้อ นอกเหนือจากความชุกในระดับฝูง ระดับรายตัวในแม่โคและโคสาว ในสภาพการเลี้ยงโคนมในเขตภาคตะวันตกของประเทศไทยซึ่งเป็นแหล่งเลี้ยงโคนมที่สำคัญแห่งหนึ่งของประเทศไทย ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ในการควบคุมการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัส BLV ในประเทศไทยต่อไป

วัตถุประสงค์

การศึกษานี้วัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาสถานภาพของการติดเชื้อและความสัมพันธ์ของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสเริมเม็ดเลือดขาวในโคในระดับรายตัวและระดับฟาร์ม โดยเฉพาะในกลุ่มลูกโคและโคสาวทดแทนในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี โดยมีวัตถุประสงค์ย่อยที่มุ่งเน้นในการศึกษาครั้งนี้คือ

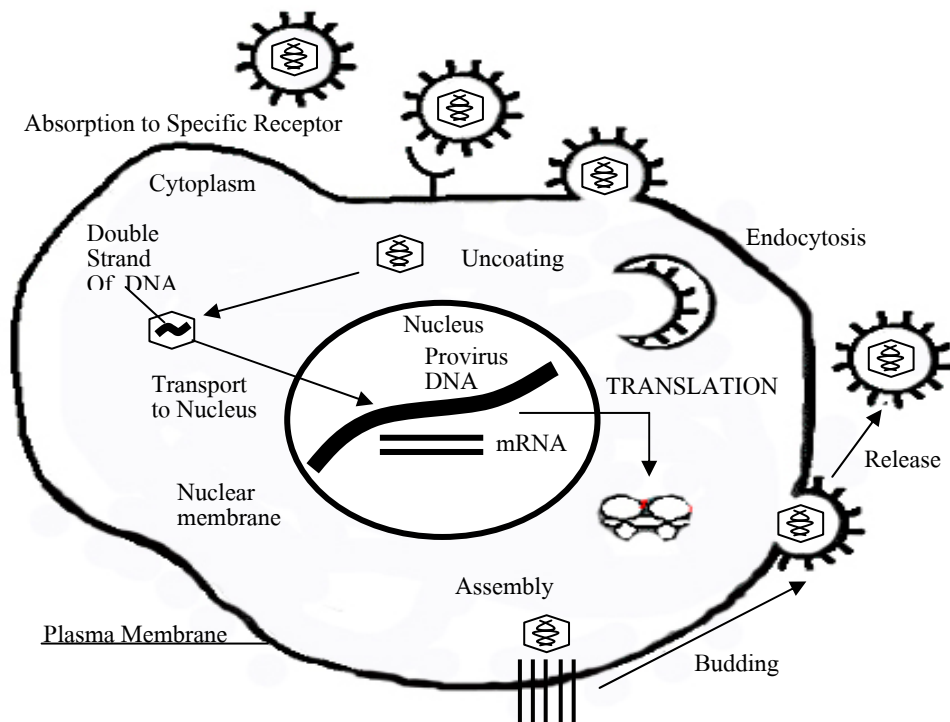
1. ศึกษาความชุกทางซีรัมทั้งในระดับรายตัว ระดับฝูงในแม่โคนมและโคสาวทดแทนในเขตจังหวัดกาญจนบุรี
2. ศึกษาเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาระหว่างโคนมที่ให้ผลบวกและให้ผลลบต่อการตรวจภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อเริมเม็ดเลือดขาวในโค
3. ศึกษาสภาวะการติดเชื้อของลูกโคที่เกิดจากแม่โคนมที่ให้ผลบวกและให้ผลลบต่อการตรวจภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสเริมเม็ดเลือดขาวในโค

การตรวจเอกสาร

เชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค (Bovine Leukemia virus, BLV) เป็นเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (Oncogenic Lymphotropic Retroviridae) ใน ชนิด Deltaretrovirus วงศ์ Retroviridae และไวรัสนี้ยังจัดอยู่ในไวรัสกลุ่ม Bovine Leukemia Virus Human T- cell Lymphotropic Virus (BLV- HTLV) ซึ่งเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนี้มีโครงสร้างทางพันธุกรรม ลำดับ nucleotide ของ provirus ลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนที่เป็นโครงสร้าง (structural protein) หรือ องค์ประกอบภายใน (non structural protein) ของเชื้อไวรัส ที่คล้ายคลึงกันมาก โดยเชื้อไวรัส หรือ HTLV โดยเฉพาะ HTLV- 1 นี้ก่อให้เกิดโรค Adult T – cell Leukemia ที่ทำให้เกิดมะเร็งที่เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ในมนุษย์ (Nagy, 2006; Ungar-Waroon *et al.*, 1998) ส่วน BLV นี้เป็นเชื้อไวรัสที่มีความจำเพาะในการติดและก่อโรคในธรรมชาติในโคและกระบือเท่านั้น การติดเชื้อหรือการก่อโรคในสัตว์อื่นในปัจจุบันเป็นการติดโดยการทดลองหรือถือว่าเป็นอุบัติเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ (Monti, 2005) จึงทำให้โคที่ติดเชื้อมีเกิดโรค Enzootic Bovine Leukosis (EBV) เป็นโรคที่มีระยะการฟักตัวที่นานและการเกิดโรคจะมีลักษณะเรื้อรัง อาการ ความเจ็บป่วยจึงมักจะพบได้ในโคที่โตเต็มที่หรือมีอายุมาก ในลูกโคหรือโคสาวที่แสดงอาการของโรคจึงพบได้น้อยและส่วนใหญ่ของอาการที่เกิดในลูกโคและโคสาวมักเกิดเป็นเนื้องอกขึ้นจึงเรียกโรคที่เกิดกับโคที่ยังไม่โตเต็มที่กลุ่มนี้ว่า sporadic juvenile lymphosarcoma (Coffin *et al.*, 1997)

ไวรัสวิทยาของเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค

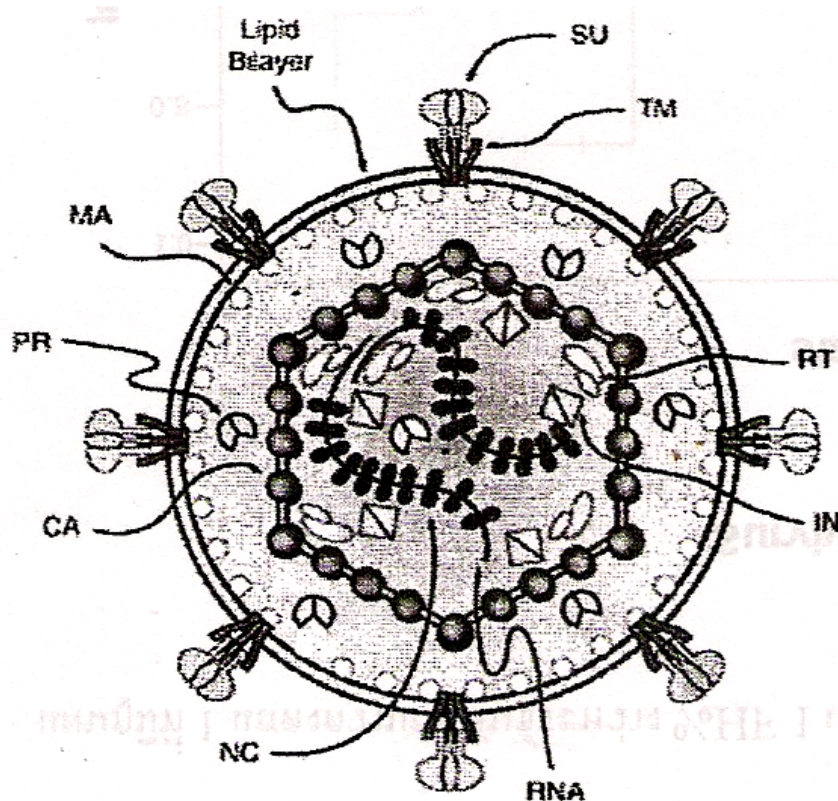
เชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค มีจีโนม ที่เป็น RNA สายเดี่ยวที่สามารถจำลองตัวเองให้เป็นสาย DNA โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ reverse transcriptase ซึ่งขบวนการนี้มีประโยชน์และสำคัญต่อเชื้อไวรัสในแง่ของการติดเชื้อเข้าสู่เซลล์ของตัวสัตว์โดยการเข้าร่วมกับจีโนมของสัตว์ที่มีการติดเชื้อ (ดังภาพที่ 1) และสำคัญในแง่ของการทำให้สัตว์ที่ติดเชื้อแล้วเกิดเป็นการติดเชื้อที่เรื้อรังตลอดชีวิตของสัตว์ โดยเชื้อไวรัสนี้มีเซลล์ที่เป็นเป้าหมายของการติดเชื้อคือ เม็ดเลือดขาวชนิด บี ลิมโฟไซต์ (B- lymphocyte) แต่ยังสามารถติดเข้าสู่เม็ดเลือดขาวชนิด ที ลิมโฟไซต์ (T- lymphocyte) ได้เช่นกัน (Monti, 2005)



ภาพที่ 1 วงจรการจำลองตัวและการติดเชื้อเซลล์ของเชื้อไวรัส สกุล Retroviridae

ที่มา: <http://www.emc.maricopa.edu/faculty/farabee/BIOBK/1retrovirus.gif>

จากภาพที่ 1 เชื้อไวรัสจะจับกับเซลล์เป้าหมายได้โดยความสามารถของการจดจำกันได้ระหว่างโปรตีนที่ส่วน envelope ของเชื้อไวรัส (virus envelope protein) ที่เรียกว่าโปรตีน SU (ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2) กับโปรตีนที่ผิวของเซลล์เป้าหมาย เมื่อเชื้อไวรัสจับกับเซลล์ของโฮสต์ได้แล้ว เชื้อไวรัสจะถูกปล่อยเข้าสู่เซลล์ในลักษณะของ virion โดยเอนไซม์ของเซลล์โฮสต์จะกำจัดส่วน envelope ของเชื้อไวรัสที่ห่อหุ้ม virion ออกไป จากนั้นเอนไซม์ Reverse Transcriptase ของเชื้อไวรัสจะทำหน้าที่ในการจำลองและสังเคราะห์ DNA สายคู่ขึ้นมาใหม่ แล้ว DNA ที่ได้นี้จะเข้าสู่ส่วนนิวเคลียสของเซลล์ของโฮสต์ โดยอาศัยสารพันธุกรรมของโฮสต์ การเข้าร่วม (integration) ของ DNA ของเชื้อไวรัสจะกระตุ้นขบวนการจำลองตัวเอง (transcription) ให้มีการสังเคราะห์ RNA ของเชื้อไวรัสออกมาเป็นจำนวนมาก โดยเอนไซม์ cellular RNA polymerase II โปรตีนที่เป็นผลผลิตของขั้นนี้จะถูกประกอบกันขึ้นใหม่เป็น virion และจะออกจากเซลล์ เกิดภาวะการติดเชื้อขึ้นในกระแสเลือด พร้อมจะติดเชื้อเข้าสู่เซลล์อื่น ซึ่งภาวะการติดเชื้อ BLV นี้ในกระแสเลือดจะเกิดเฉพาะในระยะแรกของการติดเชื้อเท่านั้นจากนั้นการติดเชื้อจะคงเกิดอยู่เฉพาะในเซลล์เป้าหมาย ซึ่งแตกต่างจากการติดเชื้อไวรัสสกุล Retroviridae อื่นๆเช่น HIV นั้นอาจเป็นเพราะมีกลไกบางประการที่ยับยั้งขบวนการจำลองตัวในขั้นตอนการ transcription ของไวรัสที่อยู่ในเซลล์ของโฮสต์ (Nagy, 2006; Monti, 2005) แต่กลไกที่ทำให้เกิดการติดเชื้อแฝง โดยที่ไม่แสดงอาการเหล่านี้ ปัจจุบันยังไม่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจน โดยจากนี้โคที่มีการติดเชื้อจะเป็นการติดเชื้อแฝงไปตลอดชีวิต



ภาพที่ 2 โครงสร้างของ Retrovirus:

SU= surface protein, NC= nucleocapsid

TM= transmembrane protein, CA= capsid,

RT= reverse transcriptase, PR= protease,

IN= integrase, MA= matrix,

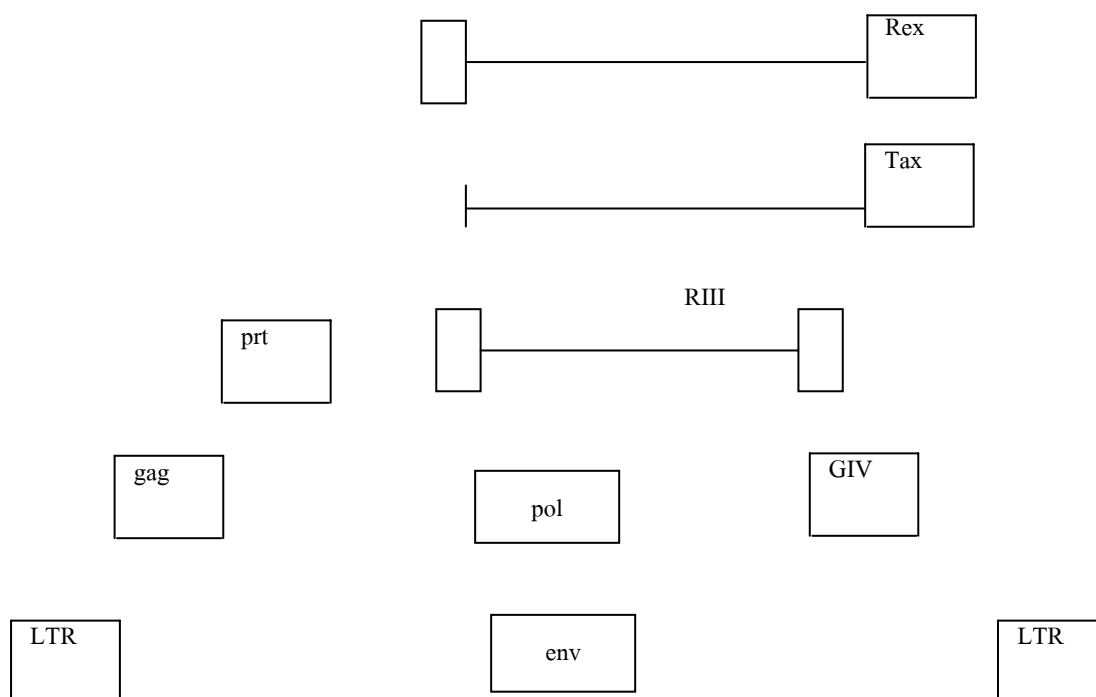
RNA= ribonucleic acid

ที่มา: Cold Spring Harbor Laboratory Press

โครงสร้างของเชื้อไวรัส Retroviridae (จากภาพที่ 2) สามารถแบ่งส่วนประกอบได้ดังนี้

- ส่วน viral envelope ที่ลักษณะเป็น lipid bilayer ซึ่งมีองค์ประกอบของโปรตีน transmembrane (TM) คือ gp 30 และ โปรตีน surface (SU) คือ gp51 แทรกอยู่ในส่วน lipid bilayer โดยได้จากการถอดรหัสพันธุกรรมจากยีน *env* ซึ่งโปรตีน gp30 และ gp51 นั้นจะเชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ โปรตีนชนิด gp51 มีความสำคัญมากในแง่ที่ทำให้เชื้อไวรัสถูกจดจำได้จากระบบภูมิคุ้มกันของตัวโฮสต์ โดยจะจับกับบริเวณรับที่จำเพาะที่อยู่บนแอนติบอดีซึ่งผลิตจากโฮสต์ที่ติดเชื้อไวรัส เช่นเดียวกับโปรตีน p24 ที่สำคัญใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัส
- ส่วนโปรตีนที่เป็นโครงสร้างภายในเชื้อไวรัสได้แก่ โปรตีน matrix (MA) คือ p15 โปรตีน capsid (CA) คือ p24 และโปรตีน nucleocapsid (NC) คือ p12 ซึ่งโปรตีนเหล่านี้ได้จากการถอดรหัสพันธุกรรมโดยยีน *gag* ซึ่งสำคัญในการสร้าง viral capsid
- ส่วนโปรตีนที่เป็นเอนไซม์สำคัญได้แก่ reverse transcriptase กับ integrase ซึ่งได้จากการถอดรหัสพันธุกรรมจากยีน *pol* และ เอนไซม์ protease ที่ได้จากการถอดรหัสพันธุกรรมจากยีน *prt*

จีโนมของเชื้อไวรัสนี้ประกอบด้วยลำดับของนิวคลีโอไทด์ขนาด 8714 นิวคลีโอไทด์และสามารถจำแนกได้เป็น 8 open reading frame (orf) ดังแสดงในภาพที่ 3 (Coffin *et al.*, 1997., Monti, 2005.) เชื้อไวรัสนี้ไม่สามารถรอดชีวิตได้นานภายนอกเซลล์ของโฮสต์ เป็นเชื้อที่ถูกทำลายได้ง่ายด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ต การแช่แข็งและการละลาย ความร้อนที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที หรือการพาสเจอร์ไรซ์ ดังนั้นวิธีที่ทำให้เชื้อไวรัสมีชีวิตอยู่ได้และยังคงความสามารถในการติดเชื้อคือ การติดต่อโดยเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ ที่มีการติดเชื้อไวรัส ดังนั้นโคที่ติดเชื้อจะเกิดจากการได้รับเม็ดเลือดที่มีเชื้อไวรัสเหล่านี้ปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกาย



ภาพที่ 3 องค์ประกอบจีโนมของเชื้อ Bovine Leukemia Virus:

gag= ส่วนของจีโนมที่สร้าง internal nonglycosylated structural protein, capsid,

prt= ส่วนของจีโนมที่สร้างเอนไซม์ protease,

pol= ส่วนของจีโนมที่สร้างเอนไซม์ reverse transcriptase,

env= ส่วนของจีโนมที่สร้าง envelope protein,

Rex= ส่วนของจีโนมที่สร้างส่วน unspliced, partial spliced mRNA,

Tax= a strong trans- activator of viral gene expression,

GIV, **RIII**= accessory glycoprotein maintain viral load,

LTR= long terminal repeat

ที่มา: Monti, 2005.

เชื้อไวรัสนี้ไม่สามารถรอดชีวิตได้นานภายนอกเซลล์ของโฮสต์ เป็นเชื้อที่ถูกทำลายได้ง่ายด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ต การแช่แข็งและการละลาย ความร้อนที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที หรือการพาสเจอร์ไรซ์ ดังนั้นวิธีที่ทำให้เชื้อไวรัสมีชีวิตอยู่ได้และยังคงความสามารถในการติดเชื้อคือ การติดต่อโดยเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ ที่มีการติดเชื้อไวรัส ดังนั้นโคที่ติดเชื้อจะเกิดจากการได้รับเม็ดเลือดที่มีเชื้อไวรัสเหล่านี้ปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกาย

วิธีการติดเชื้อ

เนื่องจากลักษณะตามธรรมชาติของเชื้อไวรัสไม่ทนต่อสิ่งแวดล้อมภายนอกร่างกายของโฮสต์ ส่วนใหญ่ของเชื้อไวรัสที่อยู่ในร่างกายมีปริมาณต่ำและจำเป็นต้องอาศัยอยู่ในลิมโฟไซต์ซึ่งจะอยู่ในสภาวะการติดเชื้อแฝง (Florin *et al.*, 2008; Kramme *et al.*, 1995) ส่งผลให้การติดเชื้อไปสู่โคตัวอื่นต้องเกิดจากการที่โคตัวนั้นได้รับเซลล์ลิมโฟไซต์ที่มีเชื้อไวรัสแฝงอยู่ และจะปนเปื้อนด้วยวิธีการต่างๆเข้าสู่ตัวโค ซึ่งวิธีการติดเชื้อสามารถเกิดได้ทั้ง 2 วิธีใหญ่คือทั้ง horizontal transmission และ vertical transmission การศึกษาโดย Martin *et al.* (2001) และ Nagy *et al.* (2006) ชี้ให้เห็นว่า การติดเชื้อด้วยวิธี horizontal เป็นวิธีการหลัก มากกว่า 80% ของการติดเชื้อในโคเกิดด้วยวิธีนี้

Horizontal transmission

การติดเชื้อด้วยวิธีนี้มักเป็นขบวนการที่ปฏิบัติกันตัวโค หรือการปฏิบัติภายในฟาร์มที่มีสุขอนามัยที่ไม่เหมาะสมทำให้ ลิมโฟไซต์ที่มีการติดเชื้อไวรัสมีการปนเปื้อนและเป็นการแพร่เชื้อไปสู่โคตัวอื่นด้วยวิธีเหล่านี้

การสัมผัสโดยตรง

มีการศึกษาโดย Sargeant *et al.* (1997) ระบุว่า การเลี้ยงโคในสภาพที่หนาแน่นมากเป็นความเสี่ยงของการเพิ่มอุบัติการณ์ของการติดเชื้อนี้ในฟาร์มเนื่องจากการเพิ่มโอกาสการได้รับสิ่งปนเปื้อนที่อาจมีการปนเปื้อนของลิมโฟไซต์ที่มีการติดเชื้อไวรัส จากโคที่มีการติดเชื้อไปสู่โคที่ปลอดจากเชื้อโดยตรงระหว่างโคคู่โคและยังเป็นการเพิ่มโอกาสการสัมผัสระหว่างที่อายุน้อยมาก กับโคที่มีอายุน้อย หรืออาจเกิดจากการใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ต่างๆภายในฟาร์ม ปะปนกันระหว่างที่

มีการติดเชื้อกับโคที่ปลอดเชื้อ นอกจากนั้นการเลี้ยงรวมกันเป็นการเพิ่มความเครียดขึ้นกับตัวสัตว์ มีการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนสเตียรอยด์ ซึ่งสามารถกระตุ้นให้ บี ลิมโฟไซต์ที่มีการติดเชื้อในระดับต่ำ มีการเพิ่มจำนวนขึ้นในโคที่มีการติดเชื้อแฝงเร้นผ่านขบวนการ clonal expansion (Niermann and Buehling, 1997) เป็นการโอกาสการแพร่เชื้อเพิ่มขึ้นในฟาร์ม ซึ่งคล้องกับการศึกษาของ Nagy (2006) ที่ได้รายงานไว้ และอาจเป็นการอธิบายที่น่าเชื่อถือที่สุดในปัจจุบันสำหรับการเพิ่มจำนวนไวรัสและโอกาสสัมผัสกับไวรัสที่เป็นเหตุผลสำคัญ ที่ใช้อธิบายผลการสัมผัสโดยตรงที่เป็นปัจจัยเพิ่มโอกาสการติดเชื้อ BLV

การจัดการฟาร์ม

การปฏิบัติงานภายในฟาร์มที่มีสุขศาสตร์ไม่เหมาะสมเช่น การติดเบอร์หูและการสูญเสีย โดยวิธีการตัดเขา มีการรายงานไว้ในการศึกษาของ Nagy (2006) และ DiGiacomo *et al.* (1987) ระบุว่า เป็นการปฏิบัติงานในฟาร์มที่เป็นปัจจัยเสี่ยงของการแพร่เชื้อ ไวรัสเมริงเม็คเลือดขาวในโค ไปสู่โคตัวอื่นภายในฟาร์ม ดังนั้นการปฏิบัติงานในฟาร์มที่มีการติดเชื้อจึงต้องใส่ใจมีวิธีการฆ่าเชื้อ อุปกรณ์การทำงานที่เหมาะสม โดยเฉพาะการติดเบอร์หู เนื่องจากการสูญเสียด้วยวิธีตัดเขาในปัจจุบันมีการปฏิบัติกันค่อนข้างน้อย

การใช้เข็มฉีดยา

การฉีดยาในฟาร์มโดยการใช้เข็มซ้ำในโคหลายตัวเช่นการฉีดวัคซีน อาจมีการปนเปื้อนเลือดจากโคที่มีการติดเชื้อและแพร่เชื้อไปยังโคที่ปลอดเชื้อ เป็นอีกวิธีการแพร่เชื้อที่มีความสำคัญ (Nagy, 2006) Rogers *et al.* (1988) รายงานว่าการทำวัคซีนป้องกันโรค babesiosis และ anaplasmosis ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ ทำให้มีการติดเชื้อนี้ในฝูงโคนมและโคเนื้อจำนวน 111 ฝูงมีโคที่ให้ผลบวก ภายหลังการทำวัคซีน คิดเป็น 62% ในฝูงโคนมและ 51.8% ในฝูงโคเนื้อ เป็นการชี้ว่าการใช้เข็มฉีดยาร่วมกันในฟาร์มเป็นสิ่งที่ต้องให้ความสำคัญในฝูงที่มีการติดเชื้อไวรัสเมริงเม็คเลือดขาวในโค การทำความสะอาด การฆ่าเชื้อที่เข็มฉีดยา หรือการเปลี่ยนเข็มฉีดยาเมื่อมีการฉีดยาในโคตัวอื่น เป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการควบคุมหรือป้องกันการแพร่ของเชื้อไปสู่โคตัวอื่นหรือฝูงอื่น

การล้างตรวจผ่านทวารหนัก

การล้างตรวจผ่านทวารหนักเป็นวิธีพื้นฐานของสัตวแพทย์ในการทำงานของฟาร์มโคนม และโคเนื้อในแง่ของการตรวจโรคและการตรวจระบบสืบพันธุ์ซึ่งเป็นวิธีการทำงานสำหรับการจัดการระบบสืบพันธุ์ของฟาร์ม หรือเป็นความจำเป็นของการทำงานของเจ้าหน้าที่ผสมเทียม พบว่าการล้างตรวจผ่านทางทวารหนักเป็นวิธีการแพร่ของเชื้อโรคที่มีศักยภาพวิธีหนึ่ง (Nagy, 2006) การศึกษาโดย Hopkins *et al.* (1988) แสดงให้เห็นว่าเลือดปริมาณ 2 มิลลิลิตรที่ปนเปื้อนบนถุงล้างสามารถทำให้โคตัวอื่นค่อยๆ ทยอยติดเชื้อภายหลังการล้างตรวจผ่านทางทวารหนักสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ภายในเวลา 3 สัปดาห์ และจากการศึกษาความเสี่ยงของการติดเชื้อตามธรรมชาติของการใช้ถุงล้างที่อาจมีการปนเปื้อน ระหว่างกลุ่มที่มีการเปลี่ยนถุงล้างกับกลุ่มที่ไม่มีการเปลี่ยนโดย Divers *et al.* 1995. พบว่าโคที่อยู่ในกลุ่มที่ไม่มีการเปลี่ยนถุงล้างมีความเสี่ยงของการติดเชื้อเพิ่มเป็น 2.8 เท่าของโคที่อยู่ในกลุ่มที่มีการเปลี่ยนถุงล้างระหว่างตัวภายในเวลา 22 เดือนของการศึกษา

การติดเชื้อผ่านแมลง

การติดเชื้อด้วยวิธีนี้พบว่าเป็นอีกวิธีที่สามารถทำให้โคติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค ได้โดยเฉพาะการติดผ่านการกัดและดูดเลือดโดยแมลงพวกเห็บ การศึกษาโดย Buxton *et al.* (1985) และ Oshima *et al.* (1981) แสดงให้เห็นว่า การแพร่เชื้อไวรัสสามารถแพร่ผ่านเห็บได้ แต่ต้องอยู่บนเงื่อนไขว่าเห็บต้องดูดเลือดที่มีเชื้อจากโคหลายตัว ที่ต้องอยู่ในสภาวะที่มีกรติดเชื้ออย่างรุนแรง จนกระทั่งเห็บมีเชื้อไวรัสสะสมบริเวณปากเป็นจำนวนมาก จากนั้นเห็บต้องกัดโคตัวอื่นในระยะเวลาอันสั้นและโคตัวนั้นต้องผ่านการกัดที่ถี่มาก การศึกษาของ Oshima *et al.* (1981) ระบุว่าต้องถูกกัด 131- 140 ครั้งตลอด 4 วัน สรุปว่าการติดเชื้อไวรัส ไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคโดยผ่านการดูดและกัดของเห็บเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นได้จากการทดลอง แต่การติดตามธรรมชาติเป็นความเสี่ยงที่น้อยสำหรับการติดเชื้อนี้

Vertical transmission

การติดเชื้อและการแพร่เชื้อด้วยวิธีนี้เป็นการติดเชื้อจากแม่มายังตัวลูก วิธีที่มีศักยภาพและมีความสำคัญได้แก่ การติดเชื้อในขณะตั้งท้องช่วงครึ่งหลังหรือการติดเชื้อผ่านทางรก (in utero or transplacental transmission) และการติดเชื้อผ่านการกินนมแม่ (transcolostral transmission) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

การติดเชื้อในขณะท้องหรือผ่านทางรก

อัตราการติดเชื้อด้วยวิธีนี้ค่อนข้างมีความแตกต่างกันมากระหว่างการศึกษาคือ มีอัตราการติดเชื้อระหว่าง 0 – 26% (Nagy, 2006.) ซึ่งสาเหตุน่าจะเป็นเพราะปัจจัยเสี่ยงหรือสถานะของการติดเชื้อในแต่ละการทดลองมีความแตกต่างกัน ผลการศึกษาโดย Lassauzet *et al.* (1991) และ Ohshima *et al.* (1981) ชี้ให้เห็นและให้ข้อสรุปที่ตรงกันว่า การติดเชื้อจากแม่โคผ่านไปยังลูกโดยวิธีการติดผ่านทางการตั้งท้องหรือผ่านทางรกนั้นมีโอกาสจะเกิดสูงในแม่โคที่ในสถานะ persistent lymphocytosis ที่มีจำนวนลิมโฟไซต์มากกว่า 12,000 เซลล์/ไมโครลิตร แม่โคที่แสดงอาการของเนื้องอกชนิด lymphosarcoma หรือ malignant lymphosarcoma อย่างใดอย่างหนึ่ง นั้นเป็นเพราะในช่วงนี้แสดงให้เห็นว่าเป็นช่วงที่มีเชื้อไวรัสเป็นปริมาณสูงอยู่ในร่างกายโค จึงเป็นเหตุผลที่สามารถอธิบายถึงอัตราการติดเชื้อที่มีความแตกต่างกันมากได้ และสามารถสรุปได้ว่าแม่โคที่ติดเชื้อที่อยู่ในสถานะ aleukemic มีโอกาสน้อยมากที่จะให้กำเนิดลูกโคที่มีการติดเชื้อไวรัส หรืออาจกล่าวได้ว่าการติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคผ่านทาง การตั้งท้องหรือผ่านทางรกเป็นวิธีการติดเชื้อที่ไม่ปกติหรือมีความสำคัญน้อยต่อวิธีการแพร่ของเชื้อนี้

การติดเชื้อผ่านการได้รับนมแม่และน้ำนม

นมแม่และน้ำนมจากแม่โคที่มีการติดเชื้อถือว่ามีความสามารถแพร่เชื้อไปสู่ตัวลูกผ่านทาง การกินได้ เนื่องจากในน้ำนมดังกล่าวนี้ จะมีการปนเปื้อนด้วยเม็ดเลือดขาวที่มีการติดเชื้อไวรัส การศึกษาโดย Van Der Maaten *et al.* (1981a) และ Chung *et al.* (1986) แสดงให้เห็นว่าทั้งนมแม่และน้ำนมที่มีการปนเปื้อนของเม็ดเลือดขาวที่มีการติดเชื้อสามารถทำให้ลูกโคติดเชื้อได้จริง รวมทั้งเม็ดเลือดขาวที่สกัดจากนมแม่ก็ยังคงความสามารถการติดเชื้อของไวรัสไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคเมื่อนำไปฉีดเข้าตัวโค โดยสามารถทำให้โคให้ผลบวกต่อการทดสอบได้

แต่ในอีกแง่มุมหนึ่งผลการศึกษาโดย Van Der Maaten *et al.* (1981a), Lassauzet *et al.* (1989a) และ Nagy *et al.* (2006) กลับชี้ให้เห็นว่า ภูมิคุ้มกันจากตัวแม่ที่เป็น passive immune ซึ่งลูกโคได้รับในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของชีวิตมีความสามารถในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสเมิร์ดเลือดขาวในโคโดยการกินได้แต่ให้ผลที่ไม่แน่นอนต่อการติดเชื้อด้วยการทดลองฉีดเชื้อเข้าผิวหนัง และผลการศึกษาข้างชี้ให้เห็นเพิ่มเติมอีกว่า ลูกโคที่ไม่ได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่มีโอกาสติดเชื้อไวรัสสูงกว่าลูกโคที่ได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่ 2.0-2.7 เท่า (Lassauzet *et al.*, 1989a) ซึ่งปรากฏการณ์ลักษณะนี้ยังพบได้ในการติดเชื้อ retrovirus อื่น เช่น การติดเชื้อไวรัส HIV ในเด็กทารก พบว่าความเสี่ยงของการติดเชื้อในทารกที่ได้รับน้ำนมแม่อย่างเดียวยและสม่ำเสมอจะน้อยกว่าทารกที่ได้รับอาหารอื่นๆหรือได้รับน้ำนมที่สั้นกว่าและไม่สม่ำเสมอ (Lliff *et al.*, 2005) ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่านมแม่และน้ำนมที่ลูกโคได้รับจากแม่โคที่มีการติดเชื้อไวรัสเมิร์ดเลือดขาวในโคมีศักยภาพทำให้ลูกโคสามารถติดเชื้อได้ และยังเป็นการเน้นย้ำว่าการติดเชื้อด้วยวิธี vertical transmission ของเชื้อไวรัสเมิร์ดเลือดขาวในโค ไม่ใช่เป็นวิธีการติดเชื้อที่สำคัญเมื่อเทียบกับวิธี horizontal transmission

ผลที่เกิดจากการติดเชื้อ BLV

โคที่ติดเชื้อไวรัสนี้จะเป็นการติดเชื้อไปตลอดชีวิต แต่จะมีการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับตัวโคที่แตกต่างกันภายหลังติดเชื้อ สามารถแบ่งได้เป็น 3 ลักษณะได้แก่

Persistent lymphocytosis (PL)

ภาวะ persistent lymphocytosis เป็นภาวะที่มีการเพิ่มจำนวนขึ้นมากกว่าปกติของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ ซึ่งพบว่าในโคที่มีการติดเชื้อไวรัสเมิร์ดเลือดขาวในโคจะมีจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์เพิ่มขึ้นมากกว่าค่าเฉลี่ยไม่ต่ำกว่า 3 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และจำนวนเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้น ยังคงมีค่าสูงเมื่อมีการตรวจห่างกัน 2 ครั้ง ห่างกัน 60-90 วัน (Johnson and Kaneene, 1991a; Stockham and Scott, 2002) โดยพบว่า 29% ของโคที่ติดเชื้อ จะเกิดภาวะ PL และ 95% ของโคที่เกิดภาวะนี้จะมีการติดเชื้อ BLV บางครั้งอาจกล่าวได้ว่าภาวะ PL เป็นอาการก่อนการเกิดเนื้องอก (preneoplastic syndrome) แต่ยังไม่มียืนยันว่าการเกิดภาวะ PL เป็นการเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดเนื้องอกชนิด lymphosarcoma (Monti, 2005) พบว่าการติดเชื้อไวรัสเมิร์ดเลือดขาวในโคที่ทำให้เกิดภาวะ PL ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อชนิดและจำนวนของลิมโฟ

ซัยท์ โดยจะเกิดการเพิ่มขึ้นทั้ง CD5+ และ CD5- B lymphocyte ซึ่งการเพิ่มของประชากรย่อยของ ลิมโฟซัยท์ที่มีการเปลี่ยนแปลงที่แอนติเจนนี้จะเพิ่มประมาณ 45 และ 99 เท่าตามลำดับ (Mirsky *et al.*, 1996; Tranin *et al.*, 1996)

Lymphosarcoma

การเกิดภาวะเนื้องอกชนิด lymphosarcoma ในโคที่ติดเชื้อไวรัสเมิร์ดเลือดขาวในโค มักจะพบได้เพียง 1-5% การเกิดเนื้องอกเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้โคที่ติดเชื้อไวรัสแสดงอาการทางคลินิกที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับรอยโรคที่เกิดขึ้นเมื่อเซลล์เนื้องอกแทรกอยู่ในอวัยวะที่ต่างกัน เนื้องอกที่พบในต่อมน้ำเหลืองคือเนื้องอกชนิด lymphoma ก่อให้เกิดอาการ ชนิด lymphadenopathy ซึ่งเนื้องอกชนิด lymphosarcoma นั้นจะเกิดเฉพาะกับอวัยวะอื่นที่ไม่ใช่ต่อมน้ำเหลือง (Johnson and Kaneene, 1991a; Nagy, 2006) อาการและความรุนแรงที่มักพบเมื่อมีเนื้องอกแทรกได้แก่ การเกิดเนื้องอกที่กระเพาะส่วน abomasum ส่งผลให้โคแสดงอาการเจ็บปวดในช่องท้องส่วนหน้า มีอาการถ่ายเป็นเลือดสีดำ การอุดตันภายในกระเพาะ abomasum การเกิดอัมพฤกษ์หรืออัมพาตที่ส่วนท้ายของร่างกายสัตว์ เนื่องจากการมีรอยโรคที่ไขสันหลังบริเวณเชิงกราน การทะลักของลูกตาเนื่องจากการมีเนื้องอกแทรกในกระบอกตาซึ่งเป็นการเกิดของรอยโรคชนิด retrobulbar การพบรอยโรคที่ตำแหน่งหัวใจห้องบนขวา ที่อาจทำให้โคแสดงอาการผิดปกติเล็กน้อย เช่น หัวใจเต้นผิดจังหวะจนกระทั่งเกิดความผิดปกติที่รุนแรงเช่นอาการหัวใจล้มเหลว รอยโรคที่เกิดขึ้นที่มดลูกอาจทำให้โคแสดงปัญหาความไม่สมบูรณ์พันธุ์ได้ การเกิดเนื้องอกที่ตับมักไม่ทำให้โคแสดงอาการที่ชัดเจนเช่นเดียวกับอาการที่เกิดเมื่อมีเนื้องอกแทรกอยู่ในม้าม จนกระทั่งความรุนแรงของโรคนำไปเป็นลักษณะการแตกของอวัยวะทั้งสอง อาการเจ็บป่วยที่รุนแรงในโคจึงแสดงออกมาอย่างชัดเจน วิธีการที่โตและท่อไตเนื่องจากการแทรกของเนื้องอกทำให้โคแสดงอาการปวดท้อง มีอาการบวมของท่อไตและไต ซึ่งทำให้โคแสดงอาการไตวายในท้ายสุด (Nagy, 2006.) การเปลี่ยนแปลงในระดับยีนในโคที่มีการติดเชื้อไวรัสเมิร์ดเลือดขาวในโคซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดเป็นเนื้องอกนั้นสามารถอธิบายได้จากการศึกษาโดย Florin *et al.* (2008) พบว่าการกลายพันธุ์ของ p53 suppressor gene ซึ่งอยู่ที่ บี ลิมโฟซัยท์ที่มีการติดเชื้อไวรัส และเกิดภาวะ PL อาจเป็นเหตุผลของการพัฒนาการติดเชื้อไปสู่การเกิดเนื้องอก โดยที่การกลายพันธุ์นี้มีอัตราการเกิดที่ต่ำมาก และมักพบเกิดในสัตว์ที่มีอายุมาก จึงอาจเป็นเหตุผลที่สามารถอธิบายถึงการเกิดเนื้องอกที่มีอัตราที่ต่ำและมักพบว่ามีผลของการเกิดในสัตว์ที่มีอายุมากได้

Aleukemic form

การติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคส่วนใหญ่มักอยู่ในลักษณะ aleukemic form ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงกับตัวโค โดยพบว่าเซลล์ของโคที่มีการติดเชื้อมีเพียงประมาณ 1% ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของการติดเชื้อนี้ในโค แต่แตกต่างกับการติดเชื้อในแกะที่สัตว์ส่วนใหญ่เมื่อติดเชื้อจะมีการเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะของ leukemia (มีลิมโฟไซต์ในกระแสเลือด 10,000 - 500,000 เซลล์/ไมโครลิตร) และมีอัตราการป่วยหรือการตายที่สูงกว่าในโค โดยมักไม่พบภาวะเกิดภาวะ persistent lymphocytosis แสดงให้เห็นว่าชนิดของสัตว์มีผลต่อพยาธิสภาพภายหลังการติดเชื้อนี้ (Willems *et al.*, 2000) และมีการศึกษาโดย Trainin *et al.* (1996) และ Yakobson *et al.* (2000) ซึ่งให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของ ชนิดและปริมาณของเซลล์โตคายน์ที่มีอิทธิพลและควบคุม ต่อการทำงานของทีและ บี ลิมโฟไซต์ ในโคที่มีการติดเชื้อมีผลต่อการเกิดภาวะ leukemia และการเกิดภาวะ persistent lymphocytosis โดยเฉพาะเซลล์โตคายน์ ที่สร้างจาก Th1, Th2 lymphocyte ที่มีอิทธิพลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งพาเซลล์ซึ่ง ได้แก่ IFN- γ และ IL-2 พบว่ามีผลโดยตรงคือ โคที่มีระดับเซลล์โตคายน์ทั้ง 2 ชนิดนี้ซึ่งมีการตอบสนองขึ้นซ้ำหรือมีระดับต่ำในระยะแรกภายหลังการติดเชื้อส่งผลให้โคเกิดภาวะ leukemia หรือ persistent lymphocytosis หรือหากในระยะแรกของการติดเชื้อมีการตอบสนองของเซลล์โตคายน์ IL-10 ในระดับสูง ที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเซลล์โตคายน์ ที่มีอิทธิพลต่อ Th1 lymphocyte ที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ร่วมกับคุณสมบัติของ IL-10 ที่มีหน้าที่กระตุ้นการจำลองตัวของ บี ลิมโฟไซต์ ย่อมส่งผลให้โคที่ติดเชื้อเกิดภาวะ leukemia หรือ persistent lymphocyte เช่นกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นภายหลังการติดเชื้อไวรัสนี้เป็นผลมาจากความผิดปกติของการทำงานของเซลล์โตคายน์ที่ควบคุมการตอบสนองของภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งพาเซลล์

ความสำคัญของการติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาว ในโค

ความสำคัญของการติดเชื้อนี้ในโคคือ ความสำคัญในแง่การสูญเสียทางเศรษฐศาสตร์ซึ่งเป็นผลมาจากการติดเชื้อ การสูญเสียนี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ลักษณะ ได้แก่การสูญเสียโดยตรงที่เป็นผลของการติดเชื้อที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนหรือส่งผลกระทบบางประการต่อตัวโค ที่มีผลต่อความสามารถในการผลิตของโค และการสูญเสียทางอ้อมซึ่งเป็นผลกระทบที่เกิดจากนโยบายต่อการควบคุมการระบาดของโรคนี้

การสูญเสียโดยตรง

การสูญเสียทางเศรษฐกิจที่เกิดโดยตรงนั้น พบว่ามีการศึกษาจำนวนมากที่สนับสนุนและอธิบายถึงกระบวนการของการติดเชื้อ ที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของโค แต่ยังคงมีการศึกษาบางการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อไวรัสไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตหรือประสิทธิภาพการผลิตของโค (Tiwari *et al.* 2005) ซึ่งการศึกษาส่วนใหญ่ล้วนแสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อไวรัสนี้มีผลกระทบทางเศรษฐกิจโดยตรงจริง (Chi *et al.*, 2002b; Ott *et al.*; 2003., Pollari *et al.*, 1992; Shettigara *et al.*, 1985) ผลกระทบนี้เป็นผลมาจากพยาธิสภาพที่เกิดจากการติดเชื้อที่ส่งผลกระทบทางเศรษฐกิจอื่นๆที่อาจตามมา สามารถอธิบายได้จาก 2 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงได้แก่ พยาธิสภาพที่เกิดจากเนื้องอกที่แทรกเข้าไปในอวัยวะต่างๆแล้วทำให้โคแสดงอาการเจ็บป่วย และการเปลี่ยนแปลงของภูมิคุ้มกันที่ส่งผลให้ ตัวโคมีความไวต่อการติดเชื้อต่างๆได้ง่าย ข้อมรรบกวนการผลิตหรืออย่างน้อยเท่ากับเป็นการเพิ่มต้นทุนที่เกี่ยวกับการรักษา ดังมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ผลกระทบที่เกิดจากการตายที่เป็นผลมาจากเนื้องอก

ถึงแม้ว่าการเกิดเนื้องอกชนิด lymphoma หรือ lymphosarcoma ในโคจะเกิดขึ้นได้น้อยแต่จากการศึกษาโดย Trainin and Brenner (2005) แสดงให้เห็นว่าโคทั้ง 100% ที่มีอาการของเนื้องอกจะเสียชีวิต และมีการประเมินความความสูญเสียที่เกิดจากเหตุการณ์นี้คือ 16 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ซึ่งเป็นการคำนวณทั้งจากมูลค่าของตัวโค การสูญเสียโอกาสในการทดแทนของโคหรือการทดแทนได้ไม่ทัน ถือว่าเป็นการสูญเสียโอกาสทางธุรกิจ รวมทั้งค่าใช้จ่ายที่เกิดจากการรักษา และการวินิจฉัยโรค

ผลกระทบที่ทำให้โคที่ติดเชื้อมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคอื่น

โคที่มีการติดเชื้อไวรัสไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคจะมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้ออื่นเพิ่มขึ้นนั้นเป็นผลมาจากการที่ ระบบภูมิคุ้มกันของตัวโคมีการเปลี่ยนแปลงไป ทั้งการตอบสนองของภูมิคุ้มกันชนิด humeral โดยพบว่า โคที่มีการติดเชื้อและมีอาการของเนื้องอกหรือมีภาวะ persistent lymphocytosis จะมีระดับของ immunoglobulin (Ig) โดยเฉพาะชนิด IgM มีระดับและตอบสนองช้า

(Isaacson *et al.*, 1998., Licursi *et al.*, 2002., Trainin *et al.*, 1968., Trainin and Klopfer 1971., Trainin *et al.*, 1976.) อีกทั้งยังส่งผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดฟังก์ชันเซลล์ ซึ่งเป็นผลมาจากความผิดปกติและบกพร่องของการทำงานของ ไซโตไคน์ (cytokine) ที่ส่งผลต่อการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ โดยเฉพาะในโคที่มีการติดเชื้อและเกิดภาวะ leukemia หรือ persistent lymphocytosis (Keefe *et al.*, 1996., Trainin *et al.*, 1996., Yakobson *et al.*, 2000.) ทั้งชนิด บีและที ลิมโฟไซต์ที่เป็นส่วนสำคัญอีกส่วนหนึ่งของกลไกการป้องกันการติดเชื้อของโค ดังนั้นเมื่อกลไกเหล่านี้ถูกรบกวนจึงส่งผลทำให้โคมีโอกาสติดเชื้อได้ง่ายยิ่งขึ้น การทบทวนเอกสารโดย Trainin and Brenner (2005) พบว่าโรคเต้านมอักเสบเป็นโรคที่มีความสัมพันธ์กันมากที่สุดกับที่ติดเชื้อ BLV โดยโคที่มีการติดเชื้อ BLV มีโอกาสเสี่ยงเพิ่มขึ้นมากต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบทั้งชนิดแสดงและไม่แสดงอาการ นอกจากนี้ยังรายงานเพิ่มเติมว่าโคที่ป่วยจากโรคติดเชื้อบางอย่างเช่น การติดเชื้อระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และการติดเชื้อที่สืบพบว่า มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ BLV เช่นกัน

การติดเชื้อที่ส่งผลต่อผลผลิตน้ำนมดิบ

ผลที่เกิดจากการติดเชื้อต่อผลผลิตน้ำนมดิบโดยตรงโดยปราศจากความเสี่ยงของกับอาการเจ็บป่วยอื่นๆ พบว่ามีความแปรผันค่อนข้างมากคือมีทั้งผลการศึกษาที่ชี้ให้เห็นว่าการติดเชื้อ BLV มีผลต่อผลผลิตน้ำนมดิบที่ลดลง และผลการศึกษาที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อกับปริมาณน้ำนมดิบซึ่งสอดคล้องกับการทบทวนเอกสารของ Trainin and Brenner (2005) โดยเฉพาะการศึกษาผลกระทบต่อผลผลิตระดับฝูงซึ่งการศึกษาโดย Brenner *et al.* (1992), Pollari *et al.* (1992), Ott *et al.* (2003) แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า ฝูงที่มีการติดเชื้อจะมีผลผลิตน้ำนมดิบต่ำกว่าฝูงที่ปราศจากการติดเชื้อ ส่วนผลการศึกษาโดย Sargeant *et al.* (1997) พบว่ามีแนวโน้มว่าฝูงโคที่มีการติดเชื้อน่าจะมีผลผลิตที่ต่ำกว่าฝูงที่ปลอดเชื้อ ซึ่งขัดแย้งกับผลการศึกษาโดย Chi *et al.* (2002) VanLeeuwen *et al.* (2000) ที่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณน้ำนมดิบที่ผลิตได้ระหว่างฝูงที่มีการติดเชื้อมีผลผลิตน้ำนมดิบที่ต่ำกว่าฝูงที่ปลอดเชื้อ ส่วนผลการศึกษาในระดับรายตัวให้ผลที่สอดคล้องกันคือ โคที่มีการติดเชื้อจะมีผลผลิตน้ำนมดิบที่ต่ำกว่าโคที่ปราศจากการติดเชื้อ (Brenner *et al.*, 1992 และ Pollari *et al.*, 1992) สำหรับปริมาณไขมันนมก็มีผลการศึกษาที่ค่อนข้างขัดแย้งกันระหว่างฝูงที่มีการติดเชื้อไวรัส มะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคกับปราศจากเชื้อผลการศึกษาโดย Wu *et al.* (1989) และ Da *et al.* (1993) ชี้ให้เห็นว่าในฝูงที่มีการติดเชื้อจะให้น้ำนมดิบที่มีปริมาณไขมันนมที่ต่ำกว่าฝูงที่ปราศจากเชื้อ ที่แตกต่างจากผลการศึกษาโดย Brenner *et al.* (1990), Sargeant *et al.* (1997) และ Jacobs *et al.*

(1991) ที่ไม่พบว่าปริมาณไขมันนมมีค่าแตกต่างกันระหว่างฝูงที่ติดเชื้อมีกับฝูงที่ปลอดเชื้อไวรัส มะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค

ผลกระทบของการติดเชื้อต่อระบบสืบพันธุ์

การศึกษาที่แสดงผลในรูปแบบมูลค่าของความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่เป็นผลมาจากความผิดปกติที่เกิดกับระบบสืบพันธุ์ พบว่ามีจำนวนน้อย ผลการศึกษาโดย Chi *et al.* (2002) VanLeeuwen *et al.* (2000) ที่ใช้วิธีทางเศรษฐศาสตร์ร่วมในการวิเคราะห์ (partial-budget model) ทั้ง 2 การศึกษาไม่พบว่ามีค่าความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่ชัดเจน โดย Chi *et al.* (2002) พบว่าความสูญเสียเท่ากับ 0% แต่ผลกระทบต่อประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ในฝูงโคหรือความสมบูรณ์พันธุ์พบว่า มีหลักฐานจากการศึกษาที่สามารถชี้ให้เห็นผลกระทบที่เกิดจากการติดเชื้อ พบว่าโคในกลุ่มที่มีการติดเชื้อจะมีระยะห่างของการคลอดที่นานกว่าโคที่ปราศจากเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ มีค่าวันท้องว่างที่นานกว่าในโคที่มีการติดเชื้อไวรัสเมื่อเทียบกับโคที่ปลอดเชื้อแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (Brenner *et al.*, 1989) ส่วนการศึกษาโดย Pollari *et al.* (1992) แสดงให้เห็นว่าโคสาวที่มีการติดเชื้อจะให้ลูกตัวแรกช้ากว่า เช่นเดียวกับที่มีระยะห่างของการคลอดที่นานกว่า มีวันท้องว่างที่นานกว่า และมีจำนวนครั้งของการผสมที่มากกว่าในโคที่ผสมติด เมื่อเปรียบเทียบกับโคที่ปลอดจากเชื้อไวรัส มะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคซึ่งเป็นการสะท้อนถึงประสิทธิภาพการผลิตของฝูงที่ลดลง ที่อาจส่งผลกระทบทางเศรษฐศาสตร์ต่อการเลี้ยงโคอีกประการหนึ่ง

ผลกระทบของการติดเชื้อที่จากการคัดทิ้งก่อนกำหนด

การคัดทิ้งที่เกิดขึ้นนี้เป็นไปในลักษณะที่ไม่ได้ตั้งใจ (involuntary culling) ซึ่งเกิดกับโคที่ติดเชื้อแล้วแสดงอาการป่วยจนกระทั่งต้องคัดทิ้งออกไปจากฝูง ส่งผลให้อายุการให้ผลผลิตของโคที่มีการติดเชื้อสั้นลง หรือเท่ากับเป็นการเพิ่มต้นทุนการเลี้ยงโคทดแทน ผลการศึกษาโดย Brenner *et al.* (1989) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pollari *et al.* (1992) ที่ระบุว่าอัตราการคัดทิ้งในโคที่มีการติดเชื้อไวรัส มะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคจะสูงกว่าโคที่ปลอดจากเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และโคที่มีการติดเชื้อนี้จะมีช่วงเวลาการมีชีวิตอยู่ในฝูงที่สั้นกว่าโคที่ปลอดการติดเชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่งหากโคตัวนั้นมีภาวะ persistent lymphocytosis ช่วงเวลาการมีชีวิตอยู่รอดยังสั้นลงเช่นกัน ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาโดย Chi *et al.* (2002) และ Ott *et al.* (2003) ที่พบว่าการคัดทิ้งไม่ก่อให้เกิด

มูลค่าของความสูญเสียทางเศรษฐกิจเกิดในโคที่มีการติดเชื้อ และพบว่าอัตราการคัดทิ้งมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับอัตราการติดเชื้อตามลำดับ

การสูญเสียโดยอ้อม

เป็นการสูญเสียทางเศรษฐกิจที่เกิดจากการสูญเสียโอกาสในการค้าขายกับประเทศที่มีมาตรการควบคุมและกำจัดการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค จากประเทศนั้นๆ นอกจากนั้นยังเป็นการเพิ่มต้นทุนค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวกับการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ในกรณีที่มีการควบคุมโรคหรือการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสในสินค้าที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพต่างๆ เพื่อให้ผ่านได้ตามมาตรฐานการควบคุมการระบาดของโรคที่เป็นหลักสากล เพื่อให้สามารถค้าขายกับประเทศเหล่านี้ได้ (Martin *et al.*, 2001., OIE, 2008) และยังหมายถึงค่าใช้จ่ายมหาศาลสำหรับประเทศที่ต้องการสร้างมาตรการควบคุมหรือกำจัดการติดเชื้อในกรณีที่มีการตัดสินใจว่า การติดเชื้อไวรัสนี้เป็นความเสี่ยงหรือมีความสำคัญจำเป็นสำหรับประเทศนั้นๆ ทั้งนี้ขึ้นกับข้อมูลทางระบาดวิทยาเช่น ความชุกของการติดเชื้อ และการวิเคราะห์ความเสี่ยงของการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคของแต่ละประเทศ (Murray, 2002)

วิธีการทดสอบการติดเชื้อ BLV

วิธีการทดสอบเป็นสิ่งสำคัญในแง่ของการสร้างองค์ความรู้ที่จำเป็นทางระบาดวิทยาที่ใช้ในมาตรการควบคุมและกำจัดโรค ซึ่งสามารถแบ่งการทดสอบได้เป็น 2 ลักษณะได้แก่การทดสอบทางตรงคือ การทดสอบหาตัวเชื้อโดยตรงเช่นการใช้วิธี polymerase chain reaction (PCR) หรือการทดสอบทางอ้อมคือ การทดสอบการตอบสนองหรือปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันที่เกิดจากตัวเชื้อไวรัสซึ่งเป็นวิธีการทดสอบทางอ้อม และกระบวนการที่เกิดจากการติดเชื้อ เช่น การเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยา โดยพิจารณาจาก leukemia หรือ persistent lymphocytosis, enzyme linked-immunosorbent assay (ELISA), agar gel immunodiffusion (AGID), western immunoblotting ซึ่งการเลือกใช้วิธีทดสอบที่เหมาะสมในการใช้งานขึ้นกับคุณสมบัติของการทดสอบ ขึ้นกับสถานะของการติดเชื้อในตัวสัตว์ ขึ้นกับความชุกของการติดเชื้อ และจุดประสงค์ของการทดสอบ (Monti, 2005., Nagy, 2006)

การเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยา

เนื่องจากการศึกษาถึงผลของการติดเชื้อแสดงให้เห็นว่า เพียงประมาณ 30% ของโคที่ติดเชื้อเท่านั้นที่จะมีการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยา แสดงให้เห็นว่าการใช้เพียงค่าทางโลหิตเป็นการทดสอบประสิทธิภาพที่ต่ำ เนื่องจากมีความไวและความจำเพาะเจาะจงที่ต่ำ (Lewin *et al.*, 1988., Uysal *et al.*, 1998) โดยเฉพาะเมื่อจะใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจกรองการติดเชื้อเพื่อการเฝ้าระวังหรือเพื่อสำรวจภาวะการระบาดของเชื้อ จะเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพต่ำดังจะเห็นได้จากผลการศึกษาของ Acaite *et al.*, (2007), Nuotio *et al.*, (2003) ที่พบว่าการใช้ค่าโลหิตวิทยาในการเฝ้าระวังและการกำจัดการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคนั้น ไม่ประสบผลสำเร็จในระยะต้นของการรณรงค์การกำจัดการติดเชื้อออกจากประเทศลิชัวเนีย และฟินแลนด์ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยายังมีประโยชน์ในแง่คลินิกปฏิบัติ เป็นเครื่องมือที่ใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรคโดยเฉพาะในฝูงโคที่ทราบสถานภาพการติดเชื้อได้เป็นอย่างดี นอกจากนั้นการตรวจพบภาวะ persistent lymphocytosis ถือว่ามีความสำคัญ เนื่องจากลิมโฟไซต์ของโคที่อยู่ในภาวะนี้ประมาณ 40% จะมีการติดเชื้อ ซึ่งแสดงว่าที่ติดเชื้อ BLV และเกิดภาวะ persistent lymphocytosis เป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญของโรคนี้และเป็นข้อบ่งชี้สำคัญของการคัดทิ้งโคที่ติดเชื้อไวรัสออกจากฝูง (Nagy, 2006)

การทดสอบทางซีรัม

วิธีการทดสอบส่วนใหญ่คือ การวัดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันหรือแอนติบอดีต่อ โปรตีน gp51 ที่เป็นโปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบของ envelope และ โปรตีน p24 ที่เป็นองค์ประกอบของ matrix ของ virion ของไวรัส ซึ่งไม่พบว่ามี การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันข้ามกับ retrovirus อื่น (Nagy, 2006) แอนติบอดีที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคสามารถตรวจพบได้หลังจากติดเชื้อได้ 2-8 สัปดาห์จากการทดสอบด้วยวิธี AGID และสามารถตรวจพบไวรัสได้ที่ประมาณ 2 สัปดาห์หลังการติดเชื้อ (Fechner *et al.*, 1997., Johnson and Kaneene, 1992) การทดสอบทางซีรัมนี้นี้ยังให้ผลบวกเทียมและผลลบเทียม ซึ่งผลบวกเทียมนั้นมักเกิดกับลูกโคที่ได้รับภูมิคุ้มกันผ่านทางรกนมน้ำเหลืองจากแม่ที่มีการติดเชื้อ และพบว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดกับโคในลักษณะนี้ยังสามารถตรวจพบไปได้จนกระทั่งลูกโคมีอายุประมาณ 6 เดือน (Lassauzet *et al.*, 1989a.; Martin *et al.*, 2001.; Van Der Maaten *et al.*, 1981a) และผลลบเทียมจะเกิดได้ในกรณีที่มีการตรวจในขณะที่แม่โคมีความสามารถในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ต่ำเช่นขณะใกล้คลอดหรือเมื่อ

คลอดลูกใหม่ ในขณะที่มีการคลอดลูกใหม่นี้แม่โคจะมีการสร้างนม น้ำเหลืองในปริมาณที่สูงซึ่งนม น้ำเหลืองนี้จะมีแอนติบอดีที่มาจากกระแสเลือดประกอบอยู่เป็นปริมาณสูง ส่งผลให้ปริมาณของ แอนติบอดีต่อการติดเชื้อ BLV ในกระแสเลือดลดลง อีกทั้งหากโคอยู่ในภาวะที่เริ่มมีการติดเชื้อ ใหม่ภายในระยะเวลาไม่เกิน 2 สัปดาห์การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้ออาจยังไม่เกิดขึ้น หรือเกิดได้ไม่สมบูรณ์ จึงไม่สามารถตรวจพบว่ามี การติดเชื้อ (Klintevall *et al.*, 1997; Martin *et al.* 2001)

Agar gel immunodiffusion test (AGID)

AGID เป็นวิธีทดสอบทางซีรัมที่ใช้ทดสอบการตอบสนองต่อการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ด เลือดขาวในโควิธีแรก โดยในระยะแรกเป็นการตรวจแอนติบอดีต่อโปรตีน p24 ซึ่งในระยะต่อมาจะ พัฒนาเป็นการตรวจแอนติบอดีต่อโปรตีน gp51 ที่ให้ผลการทดสอบที่มีความไว และความจำเพาะที่ ดีกว่า (Nagy, 2006., Trainin *et al.*, 1996) เป็นการทดสอบที่ใช้มานานมานานมากกว่า 30 ปี ซึ่ง ปัจจุบันยังเป็นวิธีมาตรฐานสากลที่กำหนดโดยองค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (OIE, 2008) ให้ใช้ในมาตรการควบคุมและกำจัดการติดเชื้อ (Choi *et al.*, 2002) จากการทบทวนเอกสาร โดย Nagy (2006) และ Martin *et al.* (2001) พบว่าวิธีนี้เป็นวิธีการทดสอบที่มีความไว 94.60- 98.50% มีความจำเพาะ 96.40-99.80% การทดสอบจะวัดผลด้วยการตกตะกอนที่เกิดจากปฏิกิริยา การจับกันของแอนติเจนกับแอนติบอดีที่ต้องอ่านผลภายในเวลา 48-72 ชั่วโมง ซึ่งการอ่านผลใน เวลาที่เหมาะสมมีผลเพิ่มความไวและความจำเพาะของการทดสอบ AGID เป็นวิธีการทดสอบที่มี ต้นทุนต่ำ สามารถตรวจตัวอย่างได้ครั้งละเป็นจำนวนมาก แต่ต้องใช้เวลาและแรงงานมากเช่นกัน (Nagy, 2006)

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

กรทดสอบด้วยวิธีนี้ยังคงเป็นหลักการตรวจทางซีรัมต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อ โปรตีน gp51 และ p24 ที่เป็นส่วนประกอบของไวรัส เช่นเดียวกับ AGID ซึ่งปัจจุบันเป็นวิธีการ ตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ BLV ที่นิยมกันมากขึ้นเนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ผลการตรวจที่เร็วโดยสามารถ ทราบผลได้ภายในเวลา 3-4 ชั่วโมง (IDEXX Laboratories, Inc., 2003) มีวิธีการตรวจทาง ห้องปฏิบัติการที่ง่าย สามารถตรวจจากตัวอย่างได้ทั้งซีรัมและน้ำนม (Sargeant *et al.*, 1997) นอกจากนั้นยังสามารถตรวจตัวอย่างที่มีการเตรียมโดยการรวมหลายตัวอย่างเป็นตัวอย่างเดียว

(pooled sample) ได้ซึ่งมีประโยชน์ในการนำมาประยุกต์ในการตรวจโรคได้หลายลักษณะ วิธี ELISA เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติของวิธีทดสอบกับวิธี AGID พบว่ามีความไว และมีความจำเพาะที่ 100% และ 99.86%ตามลำดับ และมีค่าความสัมพันธ์ระหว่างวิธีการทดสอบ (Kappa value) เท่ากับ 0.998 (Simard *et al.*, 2000) ซึ่งส่งผลให้ ELISA อาจเป็นการทดสอบที่ไม่มีผลลบเทียม นอกจากนั้นผลการศึกษาโดย Fechner *et al.* (1996) และ Martin *et al.* (2001) เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติของวิธี AGID และ ELISA กับวิธี PCR พบว่า ELISA เป็นวิธีการทดสอบที่มีความไวมากกว่า 6-7.7% ซึ่งมีประโยชน์มากในการตรวจหาตัวโคที่ติดเชื้อในฝูงที่มีความชุกของโรคที่ต่ำ

Western Immunodot blotting

เป็นวิธีการตรวจทางซีรัมที่ในปัจจุบันถือว่าให้ความไวและความจำเพาะที่ดีที่สุดและสูงกว่าวิธี AGID และ ELISA นอกจากนั้นยังถือว่าเป็นมาตรฐานใช้ในการตรวจเปรียบเทียบคุณสมบัติของชุดทดสอบทางซีรัม โดยเฉพาะการทดสอบคุณสมบัติด้านความจำเพาะของชุดทดสอบ (Choi *et al.*, 2002.; Nagy, 2006) จากการทบทวนเอกสารโดย Nagy (2006) พบว่าวิธีนี้มีความไวและความจำเพาะคือ 97.4% และ 100% ตามลำดับ หลักการทดสอบสามารถตรวจได้ทั้งแอนติบอดีต่อโปรตีน gp51 และโปรตีน p24 ของเชื้อไวรัส ซึ่งในระยะแรกของการพัฒนาวิธีนี้นั้นจะเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อโปรตีน p24 ซึ่งทำให้ผลการทดสอบไม่สัมพันธ์กับวิธีทางซีรัมอื่นที่ตรวจหาแอนติบอดีต่อโปรตีน gp51 ต่อมาเมื่อสามารถพัฒนาวิธีการให้ตรวจได้จากโปรตีนทั้ง 2 ชนิดจึงทำให้เป็นการทดสอบที่มีคุณสมบัติดีมากในปัจจุบัน แต่ยังมีจุดด้อยที่วิธีการปฏิบัติมีความยุ่งยากในการเตรียมรวมทั้งต้องมีการชำนาญในการปฏิบัติมาก จึงเหมาะที่จะเป็นการทดสอบที่ใช้เป็นมาตรฐานอ้างอิงสำหรับการทดสอบอื่น ไม่เหมาะสมในการใช้ในการวินิจฉัยโรคในการปฏิบัติงานประจำ

การทดสอบหาตัวเชื้อโดยตรง

การเพาะแยกเชื้อเป็นวิธีที่สามารถทำได้โดยการเพาะเลี้ยงในเซลล์สำหรับการเลี้ยงหรือการเพิ่มจำนวนที่เหมาะสม เช่น BLV/NCR, V-NCR, FLK-BLV และ recombinant cell line AG (Markiewicz *et al.*, 2003) แต่เป็นวิธีที่มีความยุ่งยากและมีข้อจำกัดทั้งในเรื่องความไวและความจำเพาะ แต่มีประโยชน์มากในแง่เป็นการเตรียมเชื้อไวรัสเพื่อการทดสอบด้วยวิธีอื่นๆต่อไป

เช่นการทดสอบด้วยวิธี PCR ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบที่มีประสิทธิภาพที่สุดในปัจจุบัน และยังมีการพัฒนาวิธีการทดสอบที่หลากหลายอยู่ตลอดเวลา (Monti, 2005)

Polymerase chain reaction (PCR)

เป็นการตรวจซึ่งมีจุดประสงค์เพื่อต้องการยืนยันตัวเชื้อไวรัส โดยอาศัยวิธีการทางวิทยาศาสตร์เพื่อขยายขนาดและลำดับของ DNA เนื่องจากในขั้นตอนการติดของเชื้อไวรัสสู่เซลล์เป้าหมายจะมีชีวิตหรืออยู่อาศัยโดยการผนวกรวมระหว่าง จีโนมของไวรัสกับ DNA ของเซลล์โฮสต์หรือเซลล์เป้าหมาย จึงนำความรู้นี้มาเพื่อดำเนินการขยายลำดับ DNA ของไวรัส จากสายของ DNA ที่กำหนดขึ้นซึ่งทราบลำดับแน่นอน จนกระทั่งได้ลำดับ DNA ของจีโนมที่เป็นส่วนที่คงตัวหรือเสถียรของไวรัส เพื่อเป็นการยืนยันการมีอยู่ของไวรัสในสิ่งที่สกัดได้จากตัวอย่างที่อาจมาจากลิโพซัยท์จากตัวโค หรือจากเซลล์เพาะเลี้ยง ส่วนของเชื้อไวรัสที่มักถูกขยายเพื่อเป็นส่วนเป้าหมายของการตรวจได้แก่ *env*, *gag*, *pol* region จากนั้นผลผลิตของ PCR เหล่านี้จะถูกนำลงบน 1.5-2% agarose gel ผ่านกระแสไฟด้วยวิธี electrophoresis นำไปย้อมด้วย 1.5% ethidium bromide แล้วนำไปอ่านผลภายใต้ รังสี UV ด้วยเครื่อง UV transilluminator จะได้ผลเป็นแถบเรืองแสงตามขนาดของจำนวนเบสของส่วนของเชื้อไวรัสที่ต้องการทดสอบ (Markiewicz *et al.*, 2003, Martin *et al.*, 2001, Nagy, 2006) การศึกษาโดย Fechner *et al.* (1996) และ Martin *et al.* (2001) แสดงให้เห็นว่า วิธีการตรวจด้วย PCR มีความไวสูงกว่าการตรวจด้วย ELISA และ AGID ได้แก่ 6% และ 12% กับ 10% และ 17.7% ตามลำดับ ทั้งนี้จะเห็นได้ว่า PCR เป็นวิธีการตรวจที่เหมาะสมกว่าทั้ง 2 วิธีในกรณีที่ต้องการตรวจการติดเชื้อในฝูงที่มีความชุกที่ต่ำมาก หรือใช้ตรวจในกรณีที่โคมีภาวะบกพร่องในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเช่น โคหลังคลอด ตรวจในกรณีที่มีการติดเชื้อใหม่ 2 สัปดาห์ถึง 2 เดือนภายหลังการติดเชื้อ หรือในลูกโคที่ได้รับนมแม่เหลืองซึ่งมีอายุต่ำกว่า 6 เดือน (Martin *et al.*, 2001) แต่เนื่องจากวิธี PCR มีข้อจำกัดที่เป็นวิธีการทดสอบที่มีราคาสูงและการปฏิบัติต้องใช้ความชำนาญรวมทั้งเป็นการทดสอบที่มีความซับซ้อนค่อนข้างมากเมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจทางซีรัม ทั้ง วิธี AGID และ ELISA แต่ในบางสถานการณ์ที่การตรวจการติดเชื้อ ต้องเผชิญกับความเสี่ยงของผลการตรวจที่เป็นผลลบเทียม การใช้วิธี PCR ในเชิงเป็นวิธีตรวจถ่วงกัน เป็นวิธีที่แนะนำให้ใช้เพื่อลดปัญหาดังกล่าว (Martin *et al.*, 2001, Nagy, 2006)

ความชุกของการติดเชื้อ BLV

ความชุกของการติดเชื้อ BLV ในต่างประเทศ

การติดเชื้อไวรัส BLV พบได้โดยทั่วไปทั้งโลกในทุกส่วนที่มีการเลี้ยงโค โดยพบว่าการติดเชื้อในฝูงโคนมมีความชุกสูงกว่าในฝูงโคเนื้อ (Shettigara *et al.* 1986) พบว่าความชุกของการติดเชื้อนี้แตกต่างกันไปตามสภาพภูมิศาสตร์หรือแหล่งการเลี้ยงโคนมของโลก จากการทบทวนเอกสารในการศึกษานี้พบว่า ประเทศที่อยู่ในทวีปอเมริกามีแนวโน้มว่าจะมีความชุกของการติดเชื้อที่ค่อนข้างสูง จากการศึกษาโดย Ott *et al.* (2003) ที่ได้ดำเนินการที่ประเทศอเมริกา ในฝูงโคนมจำนวน 1,006 ฝูงที่สุ่มมาจากฝูงโคนมจาก 20 รัฐ และโคที่ร่วมในการศึกษานี้มากกว่า 25,956 ตัว พบว่ามีความชุกของฝูง 88.3% และมีความชุกรายตัวคือ 40.8% เช่นเดียวกับการศึกษาในประเทศอาร์เจนตินาโดย Monti (2005) และ Trono *et al.* (2001) ที่พบว่ามีความชุกของการติดเชื้อรายตัว ประมาณ 33 % รายฝูงประมาณ 84% รวมทั้ง ผลการศึกษาโดย Shettigara *et al.* (1986) จากประเทศแคนาดาเช่นกันที่ศึกษาในฝูงโคนมจาก 3 มลรัฐที่มีประชากรโคนมคิดเป็น 55.8% ของประเทศ พบว่ามีความชุกรายตัว 9.3% และความชุกระดับฝูง 40.5% ซึ่งเป็นหลักฐานยืนยันได้ว่า การติดเชื้อไวรัส BLV ในภูมิภาคส่วนนี้ของโลกมีความชุกที่อยู่ในเกณฑ์ที่สูง ซึ่งแตกต่างจากประเทศในทวีปยุโรปที่พบว่าในบางประเทศสามารถควบคุมและกำจัดการติดเชื้อนี้ออกจากประเทศได้สำเร็จเช่น ประเทศสวีเดน ออสเตรีย สวิสเซอร์แลนด์ เดนมาร์ก ในขณะที่บางประเทศพบว่า ยังมีความชุกของการติดเชื้อที่สูงที่มีรายงานได้แก่ประเทศเบลเยียม ฮอลแลนด์ เยอรมัน อิตาลี และฝรั่งเศส (Tan *et al.*, 2006) นอกจากนั้นบางประเทศมีรายงานว่ามีความชุกที่ต่ำมากเช่น ประเทศอิสราเอลมีความชุกระดับฝูงประมาณ 5% (Trainin and Brenner, 2005) ประเทศตุรกีมีความชุกระดับฝูง 11% และมีความชุกรายตัว 0.3% (Tan *et al.*, 2006., Uysal *et al.*, 1998) ประเทศลิทัวเนียมีความชุกระดับฝูง 0.03% (Nutio *et al.*, 2003) และประเทศฟินแลนด์ที่มีความชุกระดับฝูง 0.32% (Acaite *et al.*, 2007) ประเทศออสเตรเลียกับประเทศนิวซีแลนด์เป็นอีก 2 ประเทศที่มีรายงานว่ามีความชุกของการติดเชื้อ BLV ที่ต่ำมากโดยเฉพาะประเทศออสเตรเลียที่มีโปรแกรมรณรงค์การกำจัด BLV จากประเทศส่งผลให้บริเวณประเทศด้านตะวันตกเป็นเขตที่ปลอดจากการติดเชื้อ BLV (Australian Quarantine and Inspection Service, 1999, Pharo, 1999) ส่วนรายงานผลการศึกษาการติดเชื้อ BLV ในประเทศแถบทวีปเอเชีย ค่อนข้างจะมีน้อยเนื่องจากไม่ใช่โรคที่อยู่ในรายการโรคสำคัญที่ต้องเฝ้าระวังหรือควบคุมอย่างเข้มงวดของ OIE แต่ยังคงมีหลักฐานคือผลการศึกษาบางการศึกษาถึงความชุกของการติดเชื้อนี้เช่น Cho *et al.* (1999) ได้รายงานถึงความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อ BLV ในประเทศ

เกาหลีคือ 40% Meas *et al.* (2000) รายงานความชุกของการติดเชื้อในประเทศกัมพูชาได้แก่ 3.3-16.8% และการศึกษาของ Meas *et al.* (1999) พบว่าความชุกของการติดเชื้อ BLV ในประเทศปาเลสไตน์ซึ่งเป็นการศึกษาที่มีประชากรที่ใช้ในการศึกษาน้อยพบว่ามี ความชุก 0-0.8% แสดงให้เห็นความชุกของการติดเชื้อมีความแตกต่างกันค่อนข้างมากในแต่ละประเทศในภูมิภาคเอเชียที่มีแนวโน้มว่าอาจมีความชุกที่อยู่ในเกณฑ์ที่สูงถ้าหากว่ามีการวางแผนการตรวจที่เหมาะสม

ความชุกของการติดเชื้อ BLV ในประเทศไทย

ผลการศึกษาโดย Buyahotra *et al.* (1994) ที่ได้ศึกษาในเขตภาคกลางของประเทศพบว่ามี ความชุกคือ 13.39% (222/1698) โดยมีความชุกสูงที่สุดจากการสำรวจที่จังหวัดลพบุรี และในปีเดียวกัน Wongkasemjit *et al.* (1994) รายงานผลการศึกษาที่ได้ศึกษาในจังหวัดสระบุรีและบาง จังหวัดในเขตภาคกลางพบว่ามี ความชุกของการติดเชื้อไวรัสคือ 4.96% (298/6007) ซึ่งต่างจากผล การศึกษาโดย อัจฉริยาและคณะ (2542) ที่ศึกษาในฝูงโคนมที่สงสัยว่าได้รับผลกระทบจากการติด เชื้อ BLV ฝูงหนึ่งจากจังหวัดสระบุรีพบว่ามี ความชุก 23.08% (9/39) โดยทั้ง 3 การศึกษาใช้ AGID เป็นวิธีตรวจการติดเชื้อ BLV Arunvipas *et al.* (1997) ได้รายงานผลการศึกษาในจังหวัดนครปฐม ราชบุรี และอุบลราชธานีด้วยวิธี western immunodot blotting พบว่ามี ความชุก 22.17% (175/789) และพบว่าโคที่มีอายุมากกว่า 5 ปีมีความเสี่ยงต่อการให้ผลบวกจากการตรวจมากกว่าโคที่อายุน้อย กว่าหรือเท่ากับ 5 ปี 0.82 เท่า Rukkwamsuk and Rungruang (2008) ศึกษาความชุกของการติดเชื้อ BLV เฉพาะในกลุ่มโคสาวตั้งท้องพบว่ามีโคสาวที่ให้ผลบวกจากการทดสอบด้วย ELISA 32.5% (26/80) เพราะฉะนั้นจะเห็นได้ว่าความชุกของการติดเชื้อไวรัสนี้มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลา และที่น่าสนใจคือความชุกของการติดเชื้อในโคสาวก็อยู่ในเกณฑ์สูงเช่นกัน แสดงให้เห็นว่า BLV เป็นโรคติดเชื้อไวรัสในโคที่มีความสำคัญโรคหนึ่งของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาของการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคนม : การติดเชื้อและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เป็นการศึกษา แบ่งการศึกษาออกได้เป็น 2 ส่วนคือ

1. การศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัส BLV ในแม่โคและโคสาวทั้งระดับรายตัวและระดับฝูง และการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยาที่เกิดขึ้นหลังการติดเชื้อในโคกลุ่มดังกล่าว เป็นการศึกษาชนิด crosssectional study
2. การศึกษาลักษณะการติดเชื้อในลูกโคแรกเกิดผ่านการกินนมแม่ที่เลี้ยงจากแม่โคที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการตรวจภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัส BLV

อุปกรณ์

สัตว์ทดลอง

1. การศึกษาที่ 1 ใช้แม่โคจำนวน 413 ตัวและโคสาวที่อายุมากกว่า 6 เดือนจำนวน 248 ตัว จากฟาร์มโคนมของเกษตรกรที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมท่าม่วง จำกัด จำนวน 111 ฟาร์ม ซึ่งได้รับการตรวจเยี่ยมและบริการด้านสุขภาพโดยคณะสัตวแพทยศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
2. การศึกษาที่ 2 ใช้ลูกโคแรกเกิดจำนวนอย่างละ 10 ตัวที่คลอดจากแม่โคที่ให้ผลการทดสอบทางซีรัมด้วยวิธี ELISA เป็นบวกและลบ

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. การตรวจค่าทางโลหิตวิทยาใช้เครื่องตรวจอัตโนมัติ (Abacus Junior Vet, U.S. Submit Cooperation Oversea) สำหรับค่า จำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าฮีมาโตคริต (hematocrit) ค่า mean corpuscular volume (MCV) ค่า mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) จำนวนเม็ด

เลือดขาวและการนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว จำนวนเกล็ดเลือด ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน และค่าโปรตีนของเลือดตรวจด้วยเครื่อง refractometer

2. การตรวจภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อทางซีรัมด้วยวิธี indirect ELISA โดยชุดทดสอบเชิงพานิชย์ (IDEXX HerdCheck Anti-BLV Laboratories Inc., Westbrook, USA) ซึ่งหลักการของชุดทดสอบเป็น solid phase indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay โดยมีการเคลือบ microtiter plate ด้วย monoclonal antibody ต่อโปรตีน gp51 ซึ่งแอนติบอดีนี้จะจับอยู่กับแอนติเจนที่เป็นโปรตีน gp51 ที่ได้จากการเตรียมโดย BLV- cell culture แล้วเมื่อมีการเติมตัวอย่างที่ต้องการทดสอบที่มีแอนติบอดีต่อ BLV แอนติบอดีนี้ก็จะจับกับ แอนติเจนโปรตีน gp51 เมื่อเติม horseradish peroxidase conjugated anti-bovine IgG monoclonal antibodies ก็จะทำปฏิกิริยาเกิดสีขึ้นที่สามารถนำไปวัดค่า optical density (OD) ที่ 450 nm ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต และมีจุด cut-off ในการตัดสินผลบวกของการทดสอบด้วยค่า S/P ratio ที่ 0.5 ซึ่งชุดทดสอบนี้มีความไว ความจำเพาะ ความสัมพันธ์ของวิธีทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี AGID คือ 99.86%, 100% และ 0.998 ตามลำดับ (Simard *et al.*, 2000)

3. การตรวจยืนยันเชื้อไวรัสด้วยวิธี PCR โดยห้องปฏิบัติการ งานชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน วิธีที่ใช้อ้างอิงด้วยวิธีที่พัฒนาโดย Wajjwalku *et al.* (1999) ซึ่งปฏิกิริยา PCR ที่เกิดขึ้นประกอบด้วย primer BLV1 5' CCCTACAACCCCAACAAGTTC 3' และ BLV2 5' TGGTGTAGCTCCCATCTGGT 3' ซึ่ง PCR product ที่ได้มีขนาดประมาณ 175 bp

วิธีการ

การศึกษาที่ 1 การศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัส BLV ในแม่โคและโคสาวทั้งระดับรายตัวและระดับฝูง และการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยา

1.ดำเนินการศึกษาในฟาร์มโคนมที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมท่าม่วงจำกัด จังหวัดกาญจนบุรีซึ่งมีสมาชิกทั้งสิ้น 111 ฟาร์ม มีประชากรโคนมทั้งสิ้น 1,686 ตัวแบ่งเป็นประชากรแม่โค

1,180 ตัวและประชากรโคสาว 506 ตัว แบ่งการเก็บตัวอย่างเป็น 2 ครั้ง ครั้งแรกจำนวน 50 ฟาร์ม และครั้งที่ 2 ในช่วงการตรวจโรคประจำปีของสหกรณ์

2. การสุ่มเก็บตัวอย่างภายในฟาร์ม

2.1 เก็บเลือดจากแม่โคจำนวน 5 ตัวและโคสาวที่อายุมากกว่า 6 เดือนจำนวน 5 ตัวหรือทุกตัวที่มีในแต่ละฟาร์ม รวมจำนวน 10 ตัวต่อฟาร์ม

2.2 เก็บเลือดจากโคตัวละ 5 มิลลิลิตรแบ่งใส่หลอดที่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด EDTA หลอดละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอดสำหรับการตรวจค่าทางโลหิตวิทยาและการตรวจ PCR ตัวอย่างเลือดที่เหลือนำไปใส่ในหลอดที่ไม่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเพื่อเก็บตัวอย่างซีรัมที่ใช้ในการทดสอบด้วยวิธี ELISA ต่อไป

3. ตัวอย่างเลือดที่อยู่ในหลอดที่ไม่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวจะถูกนำไปปั่นเพื่อแยกซีรัมภายในวันที่เก็บตัวอย่างและนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาจนกระทั่งถึงเวลาตรวจต่อไปโดย

3.1 นำตัวอย่างซีรัมที่แยกได้จากแม่โคทั้ง 5 ตัวนำมารวมเป็น 1 ตัวอย่างเป็นตัวแทนของแม่โค และตัวอย่างซีรัมจากโคสาวที่ได้ทั้งหมดไม่เกิน 5 ตัวอย่างนำมารวมเป็น 1 ตัวอย่างเช่นเดียวกันเพื่อเป็นตัวแทนของโคสาว

3.2 ตัวอย่างที่เตรียมโดยวิธีการนำซีรัมมารวมกัน (pooled serum) ทั้งจากแม่และโคสาวนี้ไปตรวจด้วยวิธี ELISA เพื่อหาความชุกระดับฝูง

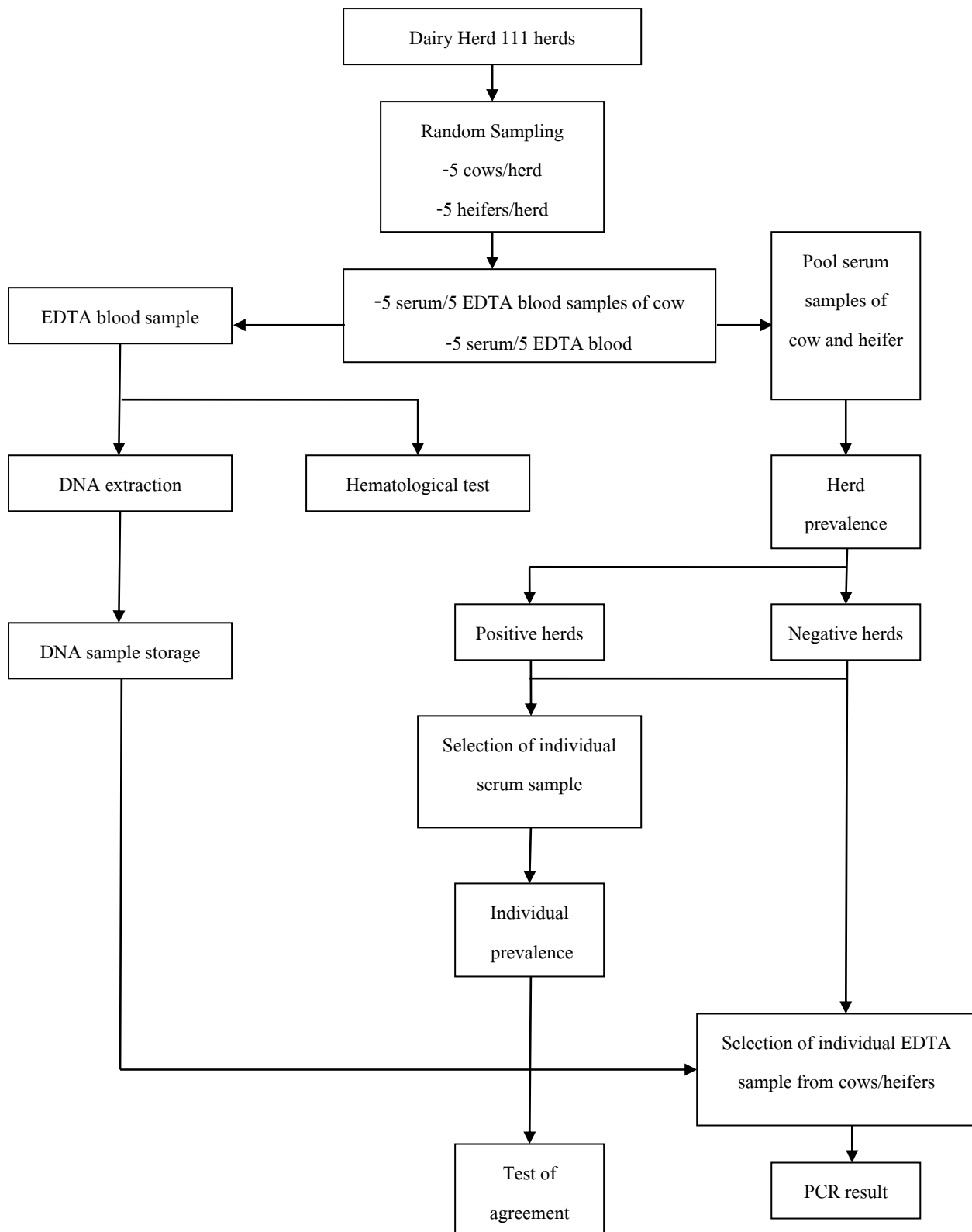
3.3 คัดเลือกตัวอย่างเลือดของแม่โคและโคสาวจากฟาร์มที่ทราบประวัติ และสามารถติดตามประวัติได้ตลอดการศึกษาจำนวน 50 ฟาร์ม แม่โคและโคสาวจากฟาร์มที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกจะนำมาคัดแยกซีรัมเป็นรายตัวนำไปตรวจด้วย ELISA เพื่อแสดงความชุกของการติดเชื้อเป็นรายตัว

4. ตัวอย่างเลือดที่อยู่ในหลอดที่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวจะดำเนินการต่อไปโดย

4.1 ส่งตรวจค่าทางโลหิตวิทยาภายใน 24 ชั่วโมงหลังการเก็บตัวอย่างและ

4.2 ตัวอย่างที่เหลือจะถูกนำไปแยกและสกัด DNA ด้วยวิธีของ Martin *et al.* (2001) แล้วเก็บไว้จนกระทั่งนำไปใช้ตรวจด้วยวิธี PCR ในขั้นตอนต่อไป

4.3 สุ่มเลือกตัวอย่าง DNA ที่สกัดได้จากแม่โคและโคสาวคิดเป็น 25% ที่ให้ผลบวกหรือลบด้วยวิธี ELISA ในอัตราส่วนที่ให้ผลบวก : ผลลบคือ 1:1 นำไปตรวจด้วยวิธี PCR เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างวิธีการทดสอบทั้ง 2 วิธี



ภาพที่ 4 แผนผังวิธีการศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัส BLV ในแม่โคและโคสาวระดับรายตัวและระดับฝูง และการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยา

การศึกษาที่ 2 การศึกษาลักษณะการติดเชื้อในลูกโคแรกเกิดผ่านการกินนมแม่เนื่องจากแม่โคที่ให้ผลบวกและผลลบทางซีรั่มต่อการติดเชื้อไวรัส BLV

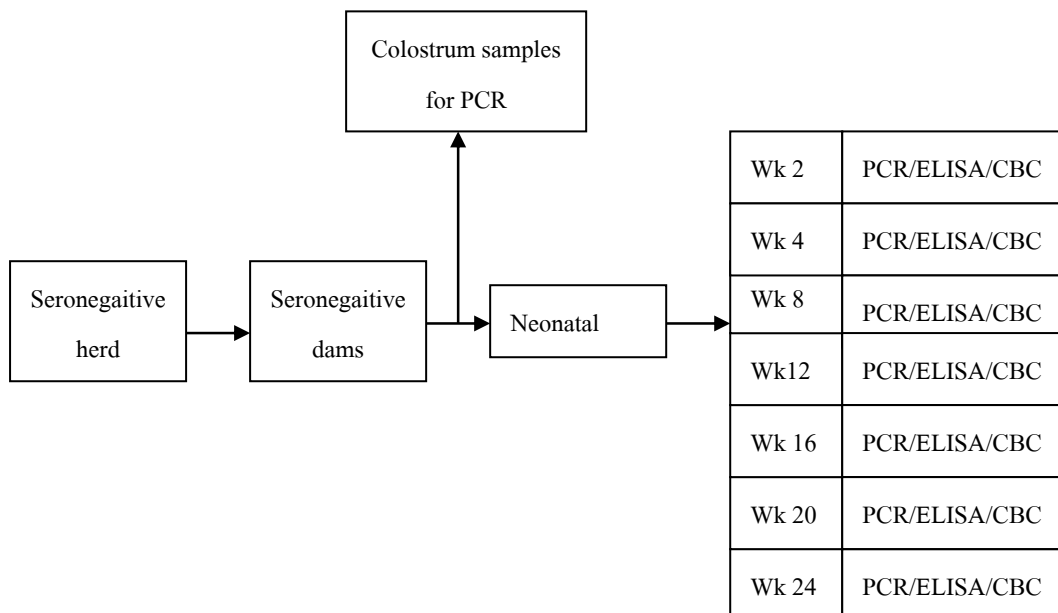
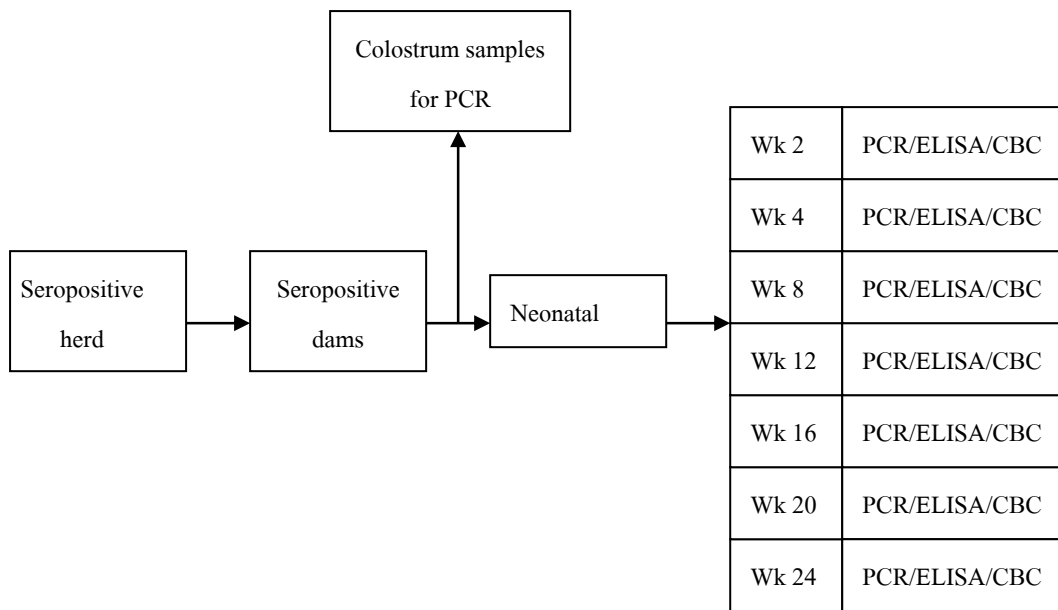
1. คัดเลือกแม่โคที่ให้ผลบวกจากฟาร์มที่ให้ผลบวกทางซีรั่มด้วยวิธี ELISA จำนวน 10 ตัว และจากแม่โคที่ให้ผลลบจากฟาร์มที่ให้ผลลบด้วยการทดสอบเช่นเดียวกัน จำนวน 10 ตัว เพื่อติดตามการติดเชื้อของลูกโคภายหลังการคลอดภายใต้การเลี้ยงดูตามสภาพการเลี้ยงจริงโดยวิธีของเกษตรกรในแต่ละฟาร์ม

2. หลังคลอดลูกโคแต่ละตัวจะถูกเก็บตัวอย่างเลือดก่อนได้รับนมแม่ และแม่โคจะถูกเก็บน้ำนมเหลืองในมือแรกหลังคลอดเพื่อนำไปตรวจตามวิธีการศึกษาขึ้นไป จากนั้นลูกโคจะได้รับนมแม่เหลืองเป็นปกติตามวิธีเลี้ยงของเกษตรกร

2.1 ตัวอย่างเลือดจะแบ่งเป็น 3 ส่วน โดย 2 ส่วนจะเก็บใส่ในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัว (EDTA) จำนวน 1 มิลลิลิตรเพื่อนำไปตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยา และตรวจ PCR เพื่อยืนยันการพบเชื้อไวรัส ส่วนสุดท้ายเก็บในหลอดที่ปราศจากสารป้องกันการแข็งตัว เพื่อนำตัวอย่างซีรั่มที่แยกได้ตรวจด้วย ELISA เพื่อยืนยันสถานภาพการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัส

2.2 นมแม่เหลืองจากแม่โคทั้ง 2 กลุ่มจะได้รับการยืนยันการพบเชื้อไวรัส BLV โดยการตรวจด้วยวิธี PCR

3. หลังจากนั้นลูกโคจะถูกเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจการพบเชื้อไวรัสด้วยวิธี PCR การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อด้วยวิธี ELISA และค่าทางโลหิตวิทยา เมื่อลูกโคมีอายุ 2 สัปดาห์ และจะเก็บต่อไปเมื่อลูกโคมีอายุได้ 4, 8, 12, 16, 20, 24 สัปดาห์ จากลูกโคทั้ง 2 กลุ่มที่เลี้ยงในฝูงที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการตรวจทางซีรั่ม เพื่อแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันภายหลังการติดเชื้อ และการเปลี่ยนแปลงค่าทางโลหิตวิทยาต่อการติดเชื้อไวรัส BLV และความแตกต่างของผลการติดเชื้อไวรัสที่อาจเกิดขึ้นระหว่างลูกโคจาก 2 กลุ่มการทดลอง



ภาพที่ 5 แผนผังการศึกษาลักษณะการติดเชื้อในลูกโคแรกเกิดผ่านการกินนมแม่ที่เลี้ยงจากแม่โคที่ให้ผลบวกและผลลบทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัส มะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. ความชุกที่ได้จากการศึกษาที่ 1 แสดงโดยสถิติเชิงพรรณนา
2. ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างความชุกของแม่โคและโคสาวในแต่ละฟาร์มใช้ค่าสถิติการทดสอบแบบไคสแควร์ (Chi-square test)
3. ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างวิธีทดสอบ ELISA และ PCR โดยไม่มี gold standard ใช้ค่าสถิติ Kappa ในการทดสอบ
4. เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าโลหิตวิทยาระหว่างแม่โค และโคสาวที่ให้ผลบวกและลบต่อการตรวจด้วยวิธี ELISA ใช้ค่าสถิติแบบ t- test ในการทดสอบในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ และใช้ค่าสถิติ Mann- Whitney U-test ในการทดสอบในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวไม่ปกติ
5. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดการติดเชื้อ BLV ซึ่งตรวจสอบโดยวิธี PCR และ ELISA แสดงโดยสถิติเชิงพรรณนา
6. การเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาของลูกโคในการศึกษาที่ 2 ใช้ค่าสถิติแบบ t- test ในการทดสอบในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ และใช้ค่าสถิติ Mann- Whitney U-test ในการทดสอบในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวไม่ปกติ โดยเปรียบเทียบระหว่างลูกโคที่เลี้ยงในฝูงที่ให้ผลทดสอบทางซีรัมเป็นบวกและเป็นลบ

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

สถานที่ทำการวิจัย

1. สถานที่เก็บข้อมูลได้แก่ ฟาร์มโคนมที่เป็นสมาชิกสหกรณ์โคนมท่าม่วงจำกัด
2. สถานที่ตรวจทางห้องปฏิบัติการได้แก่ห้องปฏิบัติการงานวิจัยและชันสูตร และโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนมกราคม 2552

ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ข้อมูลเบื้องต้นทางระบาดวิทยาของการติดเชื้อไวรัส BLV เขตภาคตะวันตกของประเทศที่เป็นแหล่งเลี้ยงโคนมที่สำคัญแห่งหนึ่งของประเทศและเป็นพื้นที่ให้บริการทางวิชาการ ของคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่มีความจำเป็นในแง่เป็นข้อมูลทางวิชาการ ใช้สนับสนุนการตัดสินใจในมาตรการควบคุมและกำจัดโรคนี้

2. ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในแม่โคและโคสาวที่ให้ผลบวกหรือลบทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัส BLV มีประโยชน์ในการเป็นข้อมูลช่วยในการวินิจฉัยโรคทางสัตวแพทย์ หรือเป็นข้อมูลที่ช่วยในการตัดสินใจคัดทิ้งโคที่มีการพัฒนาของโรคไปในลักษณะที่มีความรุนแรง หรือเป็นแหล่งแพร่เชื้อที่มีศักยภาพสูง ซึ่งสำคัญในแง่การควบคุมและกำจัดโรค

3. การเปลี่ยนแปลงของการติดเชื้อและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่เกิดกับลูกโคในสภาพการเลี้ยงตามธรรมชาติโดยเกษตรกรเป็นข้อมูลใหม่ในประเทศไทย ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับมาตรการควบคุมโรคในลูกสัตว์ที่มีการพัฒนาทางภูมิคุ้มกันที่ไม่สมบูรณ์หรือการรบกวนการตรวจทางซีรัมที่เกิดจากภูมิคุ้มกันที่ได้รับถ่ายทอดจากแม่ผ่านการกินนม น้ำเลื่องหรือน้ำนมตลอดจนข้อมูลของค่าโลหิตวิทยาในลูกสัตว์ ที่มีประโยชน์ด้านการวินิจฉัยทางคลินิกสำหรับสัตว์แพทย์และบุคลากรที่ให้บริการด้านการดูแลสุขภาพโค

แหล่งทุนสนับสนุน

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

ผลจากการศึกษาที่ 1 การศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัส BLV ในแม่โคและโคสาวทั้งระดับรายตัวและระดับฝูง และการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยา

ผลจากการศึกษาที่ 1 ดังแสดงในตารางที่ 1 เป็นข้อมูลจากแม่โค 413 ตัวและโคสาว 248 ตัวรวม 661 ตัวเนื่องจากเป็นข้อมูลจากฟาร์มขนาดเล็กซึ่งในฟาร์มอาจมีจำนวนแม่โคและโคสาวที่เก็บตัวอย่างได้ไม่ครบตามที่กำหนด แสดงให้เห็นว่าความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อทั้งในระดับฝูงและความชุกรายตัว อยู่ในเกณฑ์สูงเมื่อเทียบกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ที่มีรายงานในประเทศ แสดงว่าการติดเชื้อนี้มีแนวโน้มจะมีความชุกเพิ่มขึ้นตามเวลา ถึงแม้ว่าการศึกษาก่อนหน้านี้โดยอัจฉริยาและคณะ (2542) Buyahotra *et al.* (1994), Wongkasemjit *et al.* (1994) จะใช้วิธี AGID ในการตรวจซึ่งต่างจากในการศึกษานี้ แต่จากการศึกษาโดย Simard *et al.* (2000) แสดงให้เห็นว่าวิธีการทดสอบทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันสูง (κ value = 0.998) สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ ผลการศึกษานี้ยังมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาจากต่างประเทศโดยเฉพาะจากประเทศที่มีความชุกสูงเช่นจากประเทศอเมริกา แคนาดา อาร์เจนตินา และเกาหลี โดย Ott *et al.* (2003), Shettigara *et al.* (1986), Trono *et al.* (2001) และ Cho *et al.* (1999) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสถานภาพของการติดเชื้อ BLV ในจังหวัดเขตภาคตะวันตกและของประเทศมีความชุกสูงและเป็นโรคติดเชื้อไวรัสในโคนมที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจที่สำคัญโรคหนึ่งในประเทศ จากการศึกษาครั้งนี้ยังชี้ให้เห็นว่าความชุกของการติดเชื้อในโคสาวเป็นสิ่งที่น่าสนใจเพราะผลการศึกษาแสดงว่า 23.49% ของโคสาวที่มีอายุมากกว่า 6 เดือน ให้ผลบวกต่อการตรวจ เนื่องจากโคสาวที่นำมาใช้ในการศึกษานี้มีอายุมากกว่า 6 เดือนผลการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อในการตรวจนี้ จึงเป็นผลมาจากการติดเชื้อตามธรรมชาติ ไม่ได้เป็นผลมาจากภูมิคุ้มกันที่ส่งผ่านมาจากแม่โดยผ่านการกินนม น้ำเหลืองหรือน้ำนม แสดงว่าการติดเชื้อในโคสาวมีความชุกที่อยู่ในเกณฑ์สูงจริง ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้โดย Rukkwamsuk and Rungruang (2008) ที่มีความชุกสูงกว่าผลการศึกษานี้ ยังเป็นการเน้นว่าการติดเชื้อ BLV ของโคสาวในประเทศก็มีความชุกสูงเช่นเดียวกับแม่โค และเป็นการเพิ่มความรู้เกี่ยวกับการติดเชื้อนี้ในประเทศให้มากยิ่งขึ้น เนื่องจากข้อมูลความชุกของการติดเชื้อนี้จากการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่เป็นข้อมูลที่ศึกษาจากแม่โค

ตารางที่ 1 ความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อ Bovine Leukemia Virus ในฝูงโคนม 111 ฝูง โดยการตรวจด้วยวิธี indirect ELISA

Item	Seropositive	Seronegative	Prevalence (%)
Number of animals (n = 661)	250	411	37.82
Cow (n = 413)	191	222	46.25
Heifer (n = 248)	59	189	23.49
Number of herds (n = 111)	68	43	61.26

ผลที่แสดงในตารางที่ 2 เป็นข้อมูลจากฟาร์มจำนวน 101 ฟาร์มที่ได้คัดฟาร์มที่ไม่มีโคสาวออกจากทดสอบจึงมีจำนวนฟาร์มที่แตกต่างจากผลที่ได้จากตารางที่ 1 เป็นการพิสูจน์สมมุติฐานที่ว่า การติดเชื้อของแม่โคและโคสาวมีโอกาสการติดเชื้อที่ไม่แตกต่างกันหรือการติดเชื้อในฟาร์มมีความสัมพันธ์กัน จากตารางแสดงให้เห็นว่ามีฟาร์มที่มีผลการตรวจเป็นลบทั้งแม่โคและโคสาว 36 ฟาร์ม มีฟาร์มที่แม่โคให้ผลลบแต่โคสาวให้ผลบวกต่อการตรวจ 7 ฟาร์ม มีฟาร์มที่แม่โคให้ผลบวกแต่โคสาวให้ลบจากการตรวจ 21 ฟาร์ม และมีฟาร์มที่ให้ผลการตรวจเป็นบวกทั้งแม่โคและโคสาว 37 ฟาร์ม หมายถึงวิธีการติดเชื้อในฟาร์มระหว่างแม่โคและโคสาวที่อายุมากกว่า 6 เดือนนั้นมีวิธีที่เหมือนกัน ซึ่งเป็นการติดเชื้อด้วยวิธี horizontal transmission เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Martin *et al.* (2001) และข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 1 นั่นคือการยืนยันว่า วิธีการติดเชื้อที่เกิดกับโคสาว น่าจะเกิดจากการปฏิบัติต่างๆ กับตัวสัตว์ในฟาร์มโดยไม่ได้ตระหนักว่าการกระทำเหล่านั้นเป็นการทำให้เกิดการแพร่เชื้อจากโคตัวหนึ่งไปยังโคตัวอื่นๆ ในฟาร์ม หรือจากแม่โคมายังโคสาวด้วยวิธีการปฏิบัติเหมือนกันซึ่งปราศจากสัญลักษณ์ที่ตีพอและปัจจัยเสี่ยงของการแพร่เชื้อระหว่างตัวสัตว์ เพราะการกระทำใดๆ ก็ตามที่เป็นทำให้เกิดการปนเปื้อนของเลือดที่มีการติดเชื้อไวรัสไปสู่โคที่ปราศจากเชื้อก็คือการแพร่เชื้อด้วยวิธี horizontal transmission เป็นวิธีการแพร่เชื้อที่สำคัญของเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคภายในฟาร์ม (Divers *et al.* 1995; Hopkins *et al.* 1988; Nagy, 2006; Rogers *et al.* 1988; Sargeant *et al.* 1997) ยกตัวอย่างเช่น การฉีดยาหรือวัคซีนที่มีการใช้เข็มที่อาจมีการปนเปื้อนเลือดในโคหลายตัว การล้างผ่านทวารหนัก หรือแม้กระทั่งการนำเข้าโคที่ไม่ทราบสถานภาพการติดเชื้อ หรือมาจากแหล่งที่สถานภาพการติดเชื้อไม่ชัดเจน ซึ่งเป็นวิธีการติดเชื้อระหว่างฟาร์มที่สำคัญ (Martin *et al.*, 2001) กระนั้นก็ตามการศึกษานี้ยังให้ข้อมูล

ที่ไม่ครบถ้วน ในแง่ของสถานภาพการติดเชื้อของลูกโคแรกเกิดจนกระทั่งอายุประมาณ 6 เดือนและการติดเชื้อที่เกิดหลังจากภูมิคุ้มกันที่ได้จากแม่หมดไป ซึ่งจะสามารถให้ข้อมูลที่ต่อเนื่องและสมบูรณ์ของวิธีการติดเชื้อไวรัสเมเร็งเม็ดเลือดขาวในโค แต่จะได้รับข้อมูลที่มากขึ้นจากการศึกษาที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความสัมพันธ์ (test of independence) ของการติดเชื้อในแม่โคและโคสาวที่เลี้ยงอยู่ในฟาร์มเดียวกันจากฟาร์ม 101 ฟาร์ม

Number of farm with seroprevalence result	Seronegative Heifer	Seropositive Heifer	Total
Seronegative cow	36	7	43
Seropositive cow	21	37	58
Total	57	44	101

Pearson Chi-square value =22.674, degree of freedom = 1, p-value < 0.01

จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าแม่โคที่ให้ผลบวกต่อการตรวจทางซีรัมจะมีจำนวนเม็ดเลือดขาวรวมเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนหรือเกิดภาวะ leukocytosis เมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่ให้ผลลบ ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัส โดยส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของจำนวนลิมโฟไซต์ ซึ่งเห็นได้จากข้อมูลจากตารางที่ 3 พบว่าสัดส่วนของลิมโฟไซต์ในโคที่ให้ผลบวกจากการตรวจจะสูงกว่าในแม่โคที่ให้ผลลบ ที่เป็นผลมาจากความผิดปกติของซัยโตไคนที่มีผลต่อขบวนการตอบสนองและควบคุมการตอบสนองของภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งพาเซลล์ในขบวนการ clonal expansion ของที และบี ลิมโฟไซต์ โดยเฉพาะ IFN- γ และ IL-2 ซึ่งเป็นซัยโตไคนที่ทำหน้าที่ควบคุมการตอบสนองชนิดพึ่งพาเซลล์ พบว่าหากมีการเพิ่มในระยะแรกของการติดเชื้อจะไม่ทำให้เกิดภาวะ leukemia หรือ เกิดภาวะ persistent lymphocytosis แต่ถ้าหากซัยโตไคนดังกล่าวนี้มีระดับต่ำในระยะแรกของการติดเชื้อร่วมกับ มีซัยโตไคน IL-10 ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของซัยโตไคนที่ทำหน้าที่ควบคุมการเพิ่มจำนวนของ Th1 lymphocyte และกระตุ้นการแบ่งตัวของ บี ลิมโฟไซต์ ซึ่งหากมีซัยโตไคนนี้เพิ่มอย่างชัดเจนในระยะแรกของการติดเชื้อไวรัส ก็จะทำให้เกิดภาวะ leukemia หรือ persistent lymphocytosis (Trainin *et al.*, 1996; Yakobson *et al.*, 2000) ที่เป็นเหตุผลที่สามารถใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของจำนวนและชนิดของเม็ดเลือดขาวจากการศึกษานี้ได้

ส่วนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดกับจำนวนของเม็ดเลือดแดงพบว่า ในแม่โคที่ให้ผลบวกทางซีรัมมีจำนวนเม็ดเลือดแดงต่ำกว่าแม่โคที่ให้ผลลบต่อการตรวจทางซีรัม เหตุผลที่สามารถอธิบาย

ปรากฏการณ์นี้ยังไม่เป็นที่ชัดเจนหรือยังไม่ได้รับการพิสูจน์ว่าถูกต้องสมบูรณ์ แต่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์บางประการที่สามารถใช้อธิบายได้ดังนี้ เนื่องจากเชื้อไวรัส BLV เป็นไวรัสที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับไวรัส Human retrovirus (HTLV-I, HTLV- II) ซึ่งมีเซลล์เป้าหมายคือ T-helper lymphocyte ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมหรือระดับกรดนิวคลีโอไทด์ที่ใกล้เคียงกันถึง 50% ตลอดจนพยาธิกำเนิด ดังนั้น เชื้อไวรัส BLV จึงสามารถติด T-helper lymphocyte ได้เช่นกัน ซึ่งมีหลักฐานสนับสนุนจากการศึกษาของ Klintevall et al. (1997) และ Trainin et al. (1996) โดยการติดเชื้ออาจส่งผลกระทบต่อระบบชัชโตคายน์โดยเฉพาะ IL-2, IL-6, IL-12, IL-10 และ IFN- γ ที่มีผลต่อการเกิด T-cell apoptosis หรือ CD4+ T-cell dysfunction (Yakobson et al., 2000) ซึ่งทำให้เกิดภาวะ erythroid hypoplasia หรือ ineffective erythropoiesis (Stockham and Scott., 2002) ที่อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เม็ดเลือดแดงในแม่โคที่ให้ผลการตรวจทางซีรัมเป็นบวกมีจำนวนต่ำกว่าแม่โคที่ให้ผลการตรวจทางซีรัมเป็นลบ และค่าทางโลหิตวิทยาอื่นๆไม่พบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างแม่โคที่ให้ผลการตรวจทางซีรัมเป็นบวกกับแม่โคที่ให้ผลการตรวจทางซีรัมเป็นลบ

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาระหว่างแม่โคที่ให้ผลตรวจการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคทางซีรัมด้วยวิธี ELISA เป็นบวกและลบ

Parameters	Seropositive (n=50)	Seronegative (n=100)	P-value
Wbc (cells/ μ l)	16,768 $\pm$ 3,283	8,144 $\pm$ 242	< 0.05
Neutrophil(%)	28.64 $\pm$ 2.32	35.97 $\pm$ 1.33	< 0.05
Lymphocyte(%)	55.52 $\pm$ 2.99	48.84 $\pm$ 1.36	< 0.05
Monocyte(%)	4.72 $\pm$ 0.44	5.25 $\pm$ 0.32	0.37
Eosinophil(%)	10.36 $\pm$ 1.12	9.94 $\pm$ 0.64	0.97
Rbc ($\times 10^6$ cells/ μ l)	5.89 $\pm$ 0.14	6.20 $\pm$ 0.078	< 0.05
MCV(fL)	39.05 $\pm$ 0.67	39.16 $\pm$ 0.50	0.81
MCHC (%)	30.53 $\pm$ 0.64	30.90 $\pm$ 0.11	0.80
Platelet ($\times 10^5$ cells/ μ l)	3.19 $\pm$ 0.25	3.19 $\pm$ 0.16	0.4
Hemoglobin (g/dl)	7.51 $\pm$ 0.48	7.50 $\pm$ 0.12	0.08
Hematocrit (%)	23.11 $\pm$ 0.70	24.27 $\pm$ 0.41	0.98
Plasma protein (g/dl)	7.36 $\pm$ 0.10	7.27 $\pm$ 0.01	0.83

ผลการศึกษาจากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่า ไม่พบว่ามีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าโลหิตวิทยาระหว่างโคสาวที่มีผลการตรวจเป็นบวกทางซีรัมและโคสาวที่มีผลการตรวจเป็นลบทางซีรัมต่อเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่มีก่อนหน้านี้ โดย Johnson and Kaneene (1991a) ที่ระบุไว้ว่า 70%ของโคสาวที่มีการติดเชื้อจะไม่มี การเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาใดๆ โคสาวส่วนใหญ่นี้จะอยู่ในสถานภาพ aleukemia หรือ non-lymphocytic หรืออาจเป็นเพราะว่าโคสาวยังมีการพัฒนาของภูมิคุ้มกันที่ยังไม่สมบูรณ์ จึงไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยา ถึงแม้ว่าจากการศึกษาหลายการศึกษาที่เป็นการทดลองให้มีการติดเชื้อในสัตว์ทดลองจะพบว่าการเปลี่ยนแปลงของภูมิคุ้มกันในลูกสัตว์ แต่จากการติดเชื้อตามธรรมชาติในปัจจุบันพบว่ายังไม่มีการศึกษาใดที่อธิบายการเปลี่ยนแปลงของภูมิคุ้มกันในลูกโคภายหลังการติดเชื้อ ที่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาได้อย่างชัดเจน (Nagy., 2006) แต่เป็นข้อบ่งชี้ได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในโคสาวอาจไม่ใช่ตัวชี้วัดที่มีประโยชน์สำหรับการวินิจฉัยทางคลินิก หรือใช้เป็นตัวชี้วัดสำหรับการคัดโคสาวที่มีการติดเชื้อไวรัสไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโค ซึ่งต่างจากการใช้ค่าโลหิตวิทยาในแม่โคเป็นตัวชี้วัดในการคัดแม่โคที่ติดเชื้อออกจากฝูง เนื่องจากแม่โคที่มีการติดเชื้อและเกิดภาวะ leukemia พบว่าจะมีลิ้มฟิชท์ที่มีการติดเชื้อถึง 30% ในขณะที่แม่โคที่ไม่มีการพัฒนาไปสู่ภาวะ leukemia จะมีลิ้มฟิชท์เพียง 1% เท่านั้นที่มีการติดเชื้อ ดังนั้นการคัดทิ้งแม่โคในฝูงที่ทราบสถานภาพการติดเชื้อจึงมีความจำเป็นและมีศักยภาพในการควบคุมหรือกำจัด การติดเชื้อเพราะเป็นการคัดทิ้งโคที่เป็นแหล่งรังโรคออกจากฝูงนั่นเอง

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาระหว่างโคสาวที่ให้ผลตรวจการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคทางซีรัมด้วยวิธี ELISA เป็นบวกและลบ

Parameters	Seropositive (n=16)	Seronegative (n=32)	P-value
Wbc (cells/ μ l)	10,976 $\pm$ 698	10,197 $\pm$ 507	0.78
Neutrophil(%)	30.5 $\pm$ 4.05	27.00 $\pm$ 2.41	0.45
Lymphocyte(%)	54.75 $\pm$ 3.64	58.06 $\pm$ 2.48	0.88
Monocyte(%)	6.06 $\pm$ 0.81	6.09 $\pm$ 0.69	0.74
Eosinophil(%)	8.68 $\pm$ 1.55	9.15 $\pm$ 1.10	0.73
Rbc ($\times 10^6$ cells/ μ l)	6.35 $\pm$ 0.22	6.91 $\pm$ 0.21	0.12
MCV(fL)	39.87 $\pm$ 1.08	38.65 $\pm$ 0.91	0.16
MCHC (%)	30.9 $\pm$ 0.26	31.50 $\pm$ 0.23	0.37
Platelet ($\times 10^5$ cells/ μ l)	3.22 $\pm$ 0.48	3.14 $\pm$ 0.30	0.95
Hemoglobin (g/dl)	7.80 $\pm$ 0.30	8.27 $\pm$ 0.22	0.66
Hematocrit (%)	25.24 $\pm$ 0.94	26.30 $\pm$ 0.61	0.53
Plasma protein (g/dl)	6.70 $\pm$ 0.18	7.06 $\pm$ 0.09	0.05

ผลการศึกษาที่แสดงในตารางที่ 5 พบว่าค่าโลหิตวิทยาของแม่โคกับโคสาวที่มีการติดเชื้อไวรัสเกือบทุกค่ายกเว้นค่า plasma protein ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งความแตกต่างของ plasma protein ที่พบในการศึกษานี้ยังไม่มีการศึกษาที่สามารถอธิบายกลไกของพยาธิสภาพได้ชัดเจน แต่สามารถนำข้อมูลของ Stockham and Scott (2002) มาใช้อธิบายปรากฏการณ์นี้ได้ในระดับหนึ่ง คือค่า plasma protein ในแม่โคที่มีการติดเชื้อมีค่าสูงกว่าโคสาวอาจเกิดได้จาก 2 สาเหตุ คือ เป็นการสร้างของโปรตีนที่ผิดปกติที่เกิดจากมะเร็งที่ลิมโฟซัยท์ที่เรียกว่า M-protein ซึ่งโปรตีนชนิดนี้ประกอบด้วย globin protein หลายลักษณะคือ IgM, IgG1, IgG2 light หรือ heavy chain หรือชิ้นส่วนของ immunoglobulin หรือเป็นพยาธิสภาพที่เกิดเนื่องจากการติดเชื้อที่ก่อให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง ที่สามารถนำมาใช้อธิบายปรากฏการณ์นี้ได้เช่นกันคือ การติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคเป็นการติดเชื้อไปตลอดชีวิต ก่อให้เกิดภาวะ polyclonal gammopathy ที่เป็นผลมาจากการอักเสบเรื้อรังซึ่งทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ โปรตีน gammaglobulin (IgG)

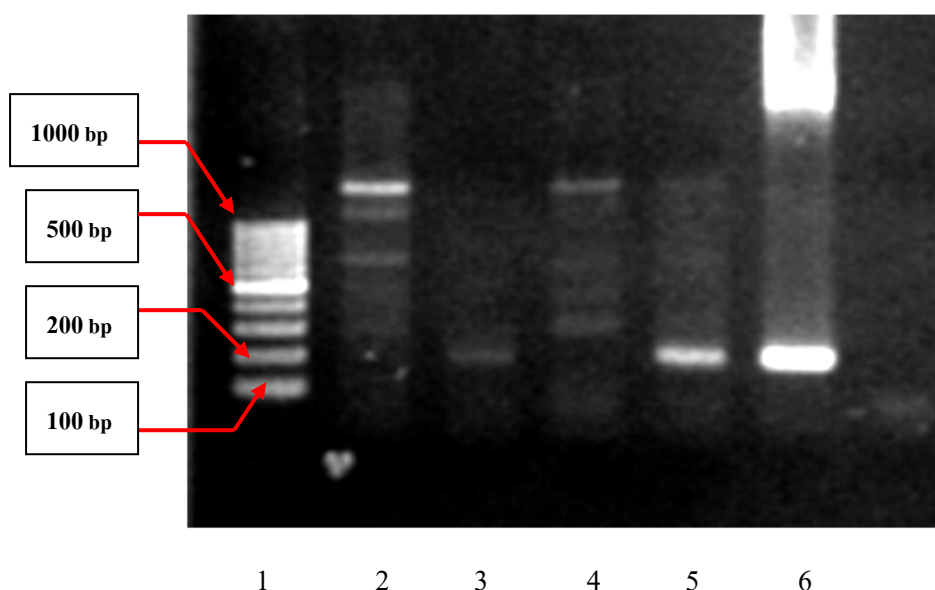
ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยาระหว่างแม่โคและโคสาวที่ให้ผลตรวจการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคทางซีรัมด้วยวิธี ELISA เป็นบวก

Parameters	Seropositive cow (n=84)	Seropositive heifer (n=16)	P-value
Wbc (cells/ μ l)	16,750 $\pm$ 2,255	10,976 $\pm$ 698	0.484
Neutrophil(%)	27.65 $\pm$ 1.65	30.50 $\pm$ 4.05	0.655
Lymphocyte(%)	57.38 $\pm$ 2.01	54.75 $\pm$ 3.64	0.151
Monocyte(%)	4.52 $\pm$ 0.34	6.06 $\pm$ 0.81	0.071
Eosinophil(%)	10.4 $\pm$ 0.85	8.68 $\pm$ 1.55	0.495
Rbc ($\times 10^6$ cells/ μ l)	5.83 $\pm$ 0.09	6.35 $\pm$ 0.22	0.682
MCV(fL)	39.88 $\pm$ 0.52	39.87 $\pm$ 1.08	0.974
MCHC (%)	31.07 $\pm$ 0.17	30.90 $\pm$ 0.26	0.936
Platelet ($\times 10^5$ cells/ μ l)	2.93 $\pm$ 0.17	3.22 $\pm$ 0.48	0.659
Hemoglobin (g/dl)	7.21 $\pm$ 0.13	7.80 $\pm$ 0.30	0.570
Hematocrit (%)	23.20 $\pm$ 0.43	25.24 $\pm$ 0.94	0.729
Plasma protein (g/dl)	7.43 $\pm$ 0.07	6.70 $\pm$ 0.18	<0.001

แต่จากการศึกษาโดย Isaacson *et al.* (1998), Licursi *et al.* (2002), Trainin *et al.* (1968), Trainin and Klopfer (1971), Trainin *et al.* (1976) มีผลที่สอดคล้องกันคือ โคที่มีการติดเชื้อเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคจะมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ต่ำหรือช้าลง โดยเฉพาะ IgM ซึ่งค่อนข้างขัดแย้งกับการติดเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดเมะเร็งของลิมโฟซัยท์โดยทั่วไป ที่ควรจะสร้าง M-protein นี้เพิ่มหรือการอักเสบเรื้อรังที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสที่ควรจะสร้างโปรตีน gammaglobulin เพิ่ม และเป็นสาเหตุของการที่ plasma protein ในแม่โคสูงกว่าในโคสาวเนื่องจากในแม่โคมีการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่สมบูรณ์กว่า เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้ได้มีการศึกษาถึงชนิดของโปรตีนต่างๆ ในรายละเอียด จึงไม่สามารถสรุปถึงกลไกของการทำให้ plasma protein ในแม่โคสูงกว่าโคสาวอย่างแท้จริง เพราะฉะนั้นหากโปรตีนที่สูงขึ้นนี้เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของ IgG จึงมีแนวโน้มว่าการเพิ่มขึ้นของ plasma protein อาจเป็นผลมาจากการอักเสบเรื้อรังซึ่งเป็นปกติที่เกิดในแม่โคมากกว่าในโคสาว

การศึกษาที่ 2 การศึกษาลักษณะการติดเชื้อในลูกโคแรกเกิดผ่านการกินนมแม่ที่ ให้ผลบวกและผลลบทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัส BLV

ผลการศึกษาที่ 2 การศึกษาลักษณะการติดเชื้อในลูกโคแรกเกิดผ่านการกินนมแม่ที่
แม่โคที่ให้ผลบวกและผลลบทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัส BLV โดยลูกโคเหล่านี้จะเลี้ยงอยู่ในฝูงที่มี
สถานภาพติดเชื้อจำนวน 7 ตัวและปลอดเชื้อจำนวน 4 ตัวที่ผ่านการยืนยันผลทางซีรัมซึ่งมีจำนวน
น้อยกว่าที่ได้กำหนดไว้ในแผนการศึกษาเนื่องจากลูกโคเหล่านี้ส่วนใหญ่เกษตรกรจะคัดออกจากฟาร์ม
เนื่องจากเป็นลูกโคตัวผู้จำนวน 8 ตัว อีก 1 ตัวออกจากการศึกษาเนื่องจากเสียชีวิต และลูกโคเหล่านี้
จะถูกติดตามการเปลี่ยนแปลงต่อการติดเชื้อทันทีหลังคลอดด้วยวิธี PCR และ ELISA ซึ่งให้ผลการ
ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างวิธีทดสอบมี kappa value = 0.53 ซึ่งหมายความว่าวิธีตรวจทั้ง 2 วิธีนี้
มีความสัมพันธ์ในลักษณะ moderate agreement (Thrusfield, 2005) โดยผลการตรวจด้วยวิธี PCR
ได้แสดงไว้ดังภาพที่ 6 ต่อไปนี้



ภาพที่ 6 ผลการตรวจการติดเชื้อไวรัส BLV ด้วยวิธี PCR:

คอลัมน์ที่ 1 คือ marker ขนาด 100-1,000 bp

คอลัมน์ที่ 2 และ 4 คือ ตัวอย่างที่ให้ผลลบซึ่งแสดงแถบที่ขนาดมากกว่า 1,000 bp

คอลัมน์ที่ 3 และ 5 คือ ตัวอย่างที่ให้ผลบวกซึ่งแสดงแถบที่ขนาด 175 bp

คอลัมน์ที่ 6 คือแถบของ positive control

จากตารางที่ 6 ลูกโคที่เกิดและเลี้ยงในฝูงที่ได้รับการยืนยันสถานภาพว่ามีการติดเชื้อไวรัส มะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคได้แก่ลูกโค Calf 1 ถึง Calf 7 และลูกโค Calf 8 ถึง Calf 11 คือลูกโคที่เกิดและเติบโตอยู่ในฝูงที่มีการยืนยันว่าฝูงมีสถานภาพปลอดจากเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคซึ่งเป็นผลสำรวจที่ได้จากการศึกษาที่ 1 ลูกโคส่วนใหญ่จะได้กินนมแม่ที่ได้รับการยืนยันการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสด้วยวิธี PCR จากแม่โคของตนตามวิธีการเลี้ยงของแต่ละฟาร์ม จะเห็นได้ว่านมแม่ของแม่โคจากฝูงที่มีการติดเชื้อไวรัสเมื่อตรวจด้วย PCR แล้ว ส่วนใหญ่ให้ผลเป็นลบ (6/7 ตัวอย่าง) ซึ่งตามทฤษฎีที่ได้จากการทบทวนเอกสารพบว่านมแม่ที่ได้จากแม่ที่ได้รับการยืนยันว่ามีการติดเชื้อควรจะให้ผลบวกที่แสดงว่ามีการพบเชื้อปนอยู่ในนมแม่นั้น ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการศึกษา (Van Der Maaten *et al.*, 1981a; Chung *et al.*, 1986) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่มีไวรัสอยู่ในนมแม่น้อยกว่าที่วิธี PCR จะตรวจพบได้ถึงแม้ว่าการติดเชื้อ BLV จะเป็นการติดเชื้อเรื้อรังตลอดชีวิตที่ควรจะตรวจพบได้ด้วยวิธี PCR นั้นอาจเป็นเพราะว่าแม่โคส่วนใหญ่ที่มีการติดเชื้อจะอยู่ในสถานะ aleukemia ซึ่งมีลิมโฟไซต์ที่มีการติดเชื้อเพียง 1% จึง

เป็นไปได้ว่าลิ้มฟิชย์ที่มีการติดเชื้อนี้จะผ่านลงไปยังนม น้ำเหลืองได้ในจำนวนที่น้อยเช่นกันที่อาจมีผลทำให้ผลการตรวจส่วนใหญ่เป็นลบ แต่ผลการศึกษาโดย Dube *et al.* (1997) ชี้ให้เห็นว่าวิธี PCR เป็นวิธีที่มีความไวที่สูงมากคือสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสได้ในจำนวนที่ต่ำเพียง 10 copies ของ BLV DNA โดยเฉพาะ primers ที่ใช้ในการศึกษานี้โดย Wajjwalku *et al.* (1999) เมื่อเปรียบเทียบกับ primer ที่ใช้ในการศึกษาของ Dube *et al.* (1997) มาจากตำแหน่งของ *pol* gene และมี primer ที่คล้ายกันมากจึงเป็นที่น่าเชื่อว่าวิธี PCR ที่ใช้ในการศึกษานี้มีความไวที่สูงเช่นเดียวกัน เพราะฉะนั้นผลการศึกษาที่เกิดขึ้นนี้น่าจะมีเหตุผลหรืออธิบายได้ด้วยผลการศึกษาอื่น ผลการศึกษาโดย Martin *et al.* (2001) พบว่า ผลการตรวจด้วยวิธี PCR ระหว่างเลือดและน้ำนมมีความแตกต่างกันมากเนื่องจากสารเคมีหลายอย่างที่มีผลยับยั้งต่อวิธีการตรวจ หรือพบว่าการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างสูงระหว่างไวรัสที่ได้จากเลือดและไวรัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงด้วยเซลล์เยื่อบุเต้านมที่อาจส่งผลกระทบต่อการศึกษาครั้งนี้ ดังนั้นการตรวจหาเชื้อไวรัส BLV ในนม น้ำเหลืองด้วยวิธี PCR เป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงเนื่องจากข้อจำกัดของการทดสอบนี้อาจส่งผลกระทบต่อแปลผลของการตรวจโรคหรือการศึกษาอื่นๆได้ โดยเฉพาะผลการตรวจในลูกโค Calf 8 ถึง Calf 11 ที่มีผลการตรวจนม น้ำเหลืองเป็นผลลบจึงส่งผลให้การแปลผลค่อนข้างยากและต้องระมัดระวังมากในการแปลผล

จากข้อจำกัดที่ได้กล่าวไว้แล้วในข้างต้น นม น้ำเหลืองที่ใช้เลี้ยงลูกโค Calf 8 ถึง Calf 11 ที่เลี้ยงในฝูงที่ปลอดเชื้อไวรัส จึงไม่สามารถกล่าวได้ว่าปลอดจากเชื้อไวรัสจริงแต่จากทฤษฎี นม น้ำเหลืองหรือน้ำนมจากแม่โคที่ปลอดจากเชื้อย้อมไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัส เพราะฉะนั้นนม น้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับน่าเชื่อได้ว่าน่าจะปลอดจากเชื้อจริง ซึ่งเห็นได้จากผลการศึกษาของลูกโค Calf 8 และ Calf 9 ที่ให้ผลเป็นไปตามทฤษฎีนั้นคือลูกโคที่เลี้ยงในฝูงที่ปลอดเชื้อได้รับการเลี้ยงด้วยนม น้ำเหลืองหรือน้ำนมที่ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อย้อมไม่มีการติดเชื้อผ่านทาง *vertical* และ *horizontal transmission* ที่พบโดยตลอดในลูกโค Calf 8 และ Calf 9 ที่เลี้ยงและเติบโตในฟาร์มโคนมขนาดเล็กที่มีจำนวนโครีดนมจำนวน 12-15 ตัว ซึ่งไม่พบว่าการตรวจเจอเชื้อไวรัสด้วยวิธี PCR และไม่พบว่าการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA ซึ่งต่างจากผลการตรวจของลูกโค Calf 1 ถึง Calf 7 ที่เลี้ยงในฝูงที่มีการติดเชื้อไวรัสที่เห็นได้ชัดเจนว่า มีการตรวจพบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA ซึ่งเป็นการย้ำว่า การติดเชื้อผ่านทาง การกินนม น้ำเหลืองอาจเป็นวิธีการติดเชื้อที่สำคัญ วิธีหนึ่งของการติดเชื้อภายในฝูงที่มีประวัติการติดเชื้อไวรัสไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคภายใต้สภาพการเลี้ยงโคนมในเขตจังหวัดกาญจนบุรี ส่วนผลการศึกษาของลูกโค Calf 10 และ Calf 11 ซึ่งเลี้ยงในฝูงขนาดใหญ่ที่มีแม่โครีดนม 40-50 ตัวที่มีการยืนยันว่าเป็นฝูงที่มีสถานภาพปลอดเชื้อ พบว่าลูกโคที่เกิดใหม่ในฝูงทั้ง 2 ตัวนี้ปลอดจากการ

ติดเชื้อในช่วงแรกของชีวิต (จากผลการตรวจ wk1) แต่ตั้งแต่อายุได้ 1 เดือนพบว่าลูกโคทั้ง 2 ตัวมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อและให้ผลการตรวจเป็นบวกตลอด 6 เดือนของการทดลอง ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับที่พบในลูกโค Calf 1 ถึง Calf 4 ที่แตกต่างกันเฉพาะผลในวันแรกของชีวิตลูกโค ซึ่งลักษณะนี้เป็นการบ่งชี้ว่าลูกโคมีภูมิคุ้มกันที่ได้รับถ่ายทอดมาจากแม่โค แต่เนื่องจากไม่ตรวจพบว่าการติดเชื้อด้วยวิธี PCR ที่อาจเป็นการยืนยันว่าได้รับเชื้อ ดังนั้นผลบวกที่พบในลูกโค Calf 10 ถึง Calf 11 น่าจะเกิดจากการได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่โคผ่านทางรกหรือนม น้ำเหลือง ซึ่งอาจเกิดได้เนื่องจากเป็นฝูงที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ จึงมีโอกาสเป็นไปได้สูงว่านม น้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับเป็นนมที่รีดรวมจากแม่โคหรือโคสาวที่คลอดลูกพร้อมกันหลายตัวที่อาจมีบางตัวที่มีการติดเชื้อและมีการสร้างภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ ทั้งที่ก่อนหน้านี้ฝูงนี้ได้รับการยืนยันว่าเป็นฝูงที่ปลอดจากโรค แต่เนื่องจากคุณสมบัติของชุดทดสอบและความชุกในระดับฝูงอาจส่งผลให้ฝูงที่มีความชุกต่ำมีโคที่ถึงแม้จะมีการติดเชื้ออาจไม่ถูกตรวจพบว่าการติดเชื้อได้ดังผลการศึกษาของ Nuotio *et al.* (2003) ที่ชี้ให้เห็นว่าการกำจัดโรคและการติดเชื้อไวรัสเมิร์ดเลือดขาวในโคต้องใช้เวลาราว 30 ปี จึงสามารถกำจัดโรคออกจากประเทศฟินแลนด์ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นเพราะผลลบเทียมที่เกิดจากคุณสมบัติของการตรวจคัดกรอง และจากการศึกษานี้เป็นการสุ่มตัวอย่างจากฝูงแม่โคและโคสาวฝูงละ 5 ตัวซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการสุ่มอาจไม่พบตัวที่ให้ผลบวกในฝูงที่มีขนาดใหญ่มากที่มีความชุกของโรคต่ำ ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลที่นม น้ำเหลืองที่ลูกโคได้รับมีภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อและเป็นเหตุผลที่สามารถอธิบายได้ถึงเหตุการณ์ที่พบว่าลูกโค Calf 10 และ Calf 11 ให้ผลตรวจด้วยวิธี ELISA เป็นบวก

จากที่อ้างถึงผลการตรวจในเบื้องต้นของลูกโค Calf 1 ถึง Calf 4 ที่พบว่าตลอดระยะเวลาของการศึกษาลูกโคเหล่านี้ให้ผลการตรวจด้วยวิธี ELISA เป็นบวกโดยตลอดในขณะที่ผลการตรวจด้วยวิธี PCR ให้ผลเป็นลบโดยตลอด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าลูกโคได้รับภูมิคุ้มกันผ่านทางแม่โคเช่นกัน แต่อาจไม่ได้รับผ่านเฉพาะการกินนม น้ำเหลืองเพียงอย่างเดียว ดังจะเห็นได้จากลูกโคแรกเกิดทั้ง 4 ตัวที่ยังไม่ได้รับนม น้ำเหลืองจากแม่โคให้ผลการตรวจด้วยวิธี ELISA แสดงให้เห็นว่าลูกโคมีภูมิคุ้มกันทันทีหลังการคลอดจากแม่โคที่มีการติดเชื้อ เป็นการบ่งชี้ว่ามีการถ่ายทอดภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการติดเชื้อจากแม่โคสู่ลูกโคในระหว่างการตั้งท้องผ่านทางรก ถึงแม้จะเป็นที่ยอมรับกันว่าโอกาสการถ่ายทอดของภูมิคุ้มกันการติดเชื้อจากแม่โคสู่ลูกโคโดยผ่านทางรกนั้นมีน้อย หรือเรียกได้ว่าไม่มีโอกาสเนื่องจากรกในสัตว์เคี้ยวเอื้องเป็นชนิด syndesmochorial ที่ไม่สามารถส่งโมเลกุลของ immunoglobulin จากผนังมดลูกของแม่ผ่านผิวเยื่อของเยื่อ chorionic ของลูก (Chappuis, 1998; Larson *et al.*, 1980) แต่มีการศึกษาโดย Gabriel *et al.* (2005, 2007) ที่ศึกษาการตอบสนองทาง

ภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อโปรโตซัวชนิด *Schistosoma mattheei* ในลูกโคแรกเกิดโดยพบว่าลูกโคที่เกิดจากแม่โคที่มีการติดเชื้อโปรโตซัวนี้มีแอนติบอดีต่อเชื้อ *S. mattheei* ทั้งโดยการติดตามธรรมชาติและการทดลองให้มีการติดเชื้อ หรือแม้กระทั่งการทดลองให้แม่โคได้รับเฉพาะแอนติเจนที่สกัดจาก *S. mattheei* ก็ให้ผลการศึกษาไปในทางเดียวกันคือลูกโคแรกเกิดจากแม่โคที่ได้รับเชื้อโปรโตซัวนี้มีภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อที่ได้รับจากแม่โค และเป็นภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อ *S. mattheei* นอกจากนั้นผลการศึกษาการถ่ายทอดภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการทำวัคซีนต่อการติดเชื้อ *Pasteurella multocida* จากแม่โคสู่ลูกโคโดย Mahmood *et al.* (2007) พบว่าลูกโคแรกเกิดจากแม่โคที่ได้รับวัคซีนสม่ำเสมอสามารถตรวจพบภูมิคุ้มกันได้ทันทีภายหลังคลอดและภูมิคุ้มกันนี้ยังสามารถตรวจพบได้น้อย 45 วันหลังคลอด ดังนั้นจึงมีเหตุผลที่สามารถอธิบายถึงปรากฏการณ์ที่เป็นผลของการศึกษานี้ที่เกิดกับลูกโค Calf 1 ถึง Calf 4 ได้

นอกจากเหตุการณ์ซึ่งเป็นหลักฐานบ่งชี้ว่ามีการถ่ายทอดภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ BLV จากแม่โคสู่ลูกโคในระหว่างการตั้งท้อง ยังพบว่าจากผลการตรวจของลูกโค Calf 5 แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อที่เกิดกับลูกโคเป็นการติดเชื้อในระหว่างการตั้งท้อง เนื่องจากลูกโคแรกเกิดที่ยังไม่ได้กินนม น้ำเหลืองพบว่าให้ผลการตรวจเป็นบวกด้วยวิธี PCR และให้ผลบวกตลอดระยะเวลา 6 เดือนซึ่งนอกเหนือจากที่ให้ผลบวกกับการตรวจด้วยวิธี ELISA ลักษณะนี้สามารถพบได้และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Agresti *et al.* (1993) และ Van der Maaten *et al.* (1981) ซึ่งพบว่าลูกโคจากทั้ง 2 การทดลองจะดำรงสถานภาพอย่างนี้ไปไม่ต่ำกว่า 1 ปี โดยการศึกษาแรกพบว่ามีลูกโคแรกเกิดที่อยู่ในสถานภาพนี้ 3 ตัวจากแม่โค 36 ตัว และผลการศึกษาของ Van der Maaten *et al.* (1981) แสดงให้เห็นว่ามีลูกโคที่เกิดจากแม่โคที่ชักนำให้เกิดการติดเชื้อ BLV แล้วให้ผลการตรวจด้วย PCR เป็นบวกเพียง 1 ตัวจากแม่โค 14 ตัว ซึ่งมีการติดเชื้อที่ค่อนข้างต่ำเช่นเดียวกับผลการศึกษาที่เท่ากับเป็นการยืนยันได้อีกทางหนึ่งว่า การติดเชื้อ BLV ด้วยวิธีนี้เป็นวิธีหนึ่งที่พบได้ไม่บ่อยนักและอาจกล่าวได้ว่าเป็นวิธีการติดเชื้อที่มีความสำคัญน้อยต่อการแพร่ระบาดของเชื้อ (Nagy, 2006) แต่เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้มีตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาน้อยจึงไม่สามารถให้ข้อสรุปถึงความสำคัญองวิธีการติดเชื้อนี้ในประเทศไทยได้ แต่สามารถกล่าวได้ว่า ผลการศึกษานี้เป็นหลักฐานยืนยันที่แสดงว่าการติดเชื้อทาง vertical transmission โดยการติดระหว่างที่ตั้งท้องเป็นวิธีการติดเชื้อ BLV วิธีหนึ่งที่สามารถพบได้ในประเทศไทย

การติดเชื้อด้วยวิธี horizontal transmission อาจกล่าวได้ว่าเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ลูกโคมีอายุได้ 1 เดือนเมื่อพิจารณาจากผลการศึกษาของลูกโค Calf 6 และยังสามารถพบผลบวกจากการตรวจด้วยวิธี

PCR ได้เมื่อลูกโคมีอายุ 5 และ 6 เดือน ซึ่งการตรวจพบเชื้อครั้งแรกนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่มีก่อนหน้านี้โดย Fechner *et al.* (1997) และ Johnson and Kaneene (1992) แต่สำหรับผลการศึกษาที่พบว่าผลการตรวจด้วยวิธี PCR ซึ่งให้ผลลบในเดือนที่ 2 3 และ 4 รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดกับลูกโค Calf 7 นั้นจากการศึกษานี้ไม่สามารถให้ผลสรุปที่เหมาะสมได้ เนื่องจากการขาดข้อมูลสนับสนุนจากการได้รับเชื้อผ่านทางการกินนม น้ำเหลืองเพื่อเปรียบเทียบกับกรณีการติดเชื้อตามธรรมชาติโดย horizontal transmission ที่อาจเกิดได้ตลอดเวลาทั้งกับลูกโคที่เลี้ยงในฝูงที่มีการติดเชื้อนั้นก็มีข้อมูลไม่มากนัก โดยเฉพาะผลการศึกษาที่พบว่าแม่โคมีแอนติบอดีต่อการติดเชื้อตลอดทั้ง 6 เดือน แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นผลมาจากภูมิคุ้มกันที่ลูกโคได้รับผ่านทางน้ำเหลืองหรือไม่ เพราะหากลูกโคได้รับน้ำนมที่มีการยืนยันว่ามีการติดเชื้อมีจำนวนตัวอย่างมากกว่าในการศึกษานี้ อาจสามารถสรุปได้ว่าภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่โคนี้เป็นปัจจัยในการป้องกันการติดเชื้อซึ่งมีหลักฐานทางวิชาการยืนยันได้ว่าเฉพาะการกินนม น้ำเหลืองที่มีภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสสามารถป้องกันการติดเชื้อในลูกโคต่อไปในอนาคตได้ (Van Der Maaten *et al.*, 1981a; Lassauzet *et al.*, 1989a; Nagy *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีการติดตามเพียง 6 เดือนทำให้ไม่สามารถสรุปได้ว่าลักษณะของภูมิคุ้มกันของลูกโคที่ได้รับจากแม่โคมีผลต่อการติดเชื้อในลักษณะใดเช่น มีผลป้องกันการติดเชื้อใหม่ได้หรือไม่ ส่งผลให้ไม่สามารถให้ข้อมูลลักษณะการติดเชื้อตามธรรมชาติในช่วงแรกของชีวิตลูกโคได้อย่างถูกต้อง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการศึกษาในสภาพการเลี้ยงจริงมีข้อจำกัดในการศึกษามากและสามารถให้ข้อมูลการติดเชื้อไวรัส BLV ได้ในระดับหนึ่ง

ผลการศึกษาจากตารางที่ 7 แสดงให้เห็นถึงค่าโลหิตวิทยาบางค่าคือค่าเม็ดเลือดขาวรวม ค่าเปอร์เซ็นต์นิวโทรฟิล ค่าเปอร์เซ็นต์ลิมโฟไซต์ ค่าเปอร์เซ็นต์โมโนไซต์ ค่าเปอร์เซ็นต์อีโอสิโนฟิลเป็นค่าเฉลี่ยของลูกโคที่เลี้ยงในฝูงที่ให้ผลบวกทางซีรัมวิทยารวมกับฝูงที่ให้ผลลบทางซีรัมต่อการติดเชื้อ ในการศึกษาครั้งนี้มีสมมติฐานว่าค่าโลหิตวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคโดยเฉพาะค่าต่างๆของเม็ดเลือดขาวอาจมีความแตกต่างระหว่างสภาพการเลี้ยงดูทั้ง 2 ลักษณะ แต่ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าโลหิตวิทยาระหว่างลูกโคที่เลี้ยงในสภาพแวดล้อมดังกล่าวพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการศึกษา จึงนำเสนอผลการศึกษาเป็นค่าเฉลี่ยจากลูกโคทั้ง 2 กลุ่ม นอกจากนั้นยังพบว่าค่าโลหิตวิทยาที่สนใจในการศึกษานี้อยู่ในปกติทั้งสิ้น (Radostits *et al.*, 1994) และถึงแม้จะดูเหมือนว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนระหว่างค่า เปอร์เซ็นต์ neutrophil กับค่า เปอร์เซ็นต์ lymphocyte ซึ่งในระยะแรกของการศึกษาเมื่อลูกโคแรกเกิดและยังคมีอายุน้อย พบว่ามี เปอร์เซ็นต์ neutrophil เป็นสัดส่วนที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ เปอร์เซ็นต์ lymphocyte ที่มีสัดส่วนที่สูงกว่าเมื่อลูกโคมีอายุมากขึ้น

โดยพบว่าการเปลี่ยนแปลงที่พบได้จากการศึกษานี้เป็นเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นได้เป็นปกติเนื่องจากในระยะแรกของชีวิตนั้นการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดขาวนั้นตกอยู่ภายใต้อิทธิพลของ granulocyte/macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงชนิดของ myeloid stem cell โดยปราศจากการกระตุ้นจากระบบการติดเชื้อ ส่วนการเพิ่มขึ้นของ %lymphocyte ในระยะต่อมาของอายุลูกโคโดยสามารถพบการเกิดภาวะ lymphocytosis ได้และถือว่าการเปลี่ยนทางสรีระวิทยาที่ปกติในลูกโค ซึ่งจะปรับเข้าสู่ค่าปกติของโคที่โตเต็มที่เมื่อลูกโคมีอายุมากกว่า 1 ปี (Stockham and Scott, 2002) ค่า เปอร์เซ็นต์ monocyte และ เปอร์เซ็นต์ eosinophil ที่ได้จากการศึกษานี้อยู่ในเกณฑ์ปกติตามเงื่อนไขได้แก่อายุของลูกโค และสอดคล้องกับการศึกษาโดย Lumsden *et al.* (1980) ที่ผลการศึกษาที่ได้เป็นข้อมูลที่ใช้อ้างอิงในประเทศแคนาดาสำหรับแม่โคพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน นอกจากนั้นยังสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Bitttrich *et al.* (2002) และ Muri *et al.* (2005) ที่การศึกษาทำในลูกโคหลายพันธุ์นอกจากพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน และโคพันธุ์ผสม ดังนั้นจากผลการศึกษานี้จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าในลูกโคที่มีการเลี้ยงในฝูงที่ให้ผลบวกทางซีรัม กับผลลบทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัสมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคมีการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 6 ผลตรวจการติดเชื้อ BLV และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ ด้วยวิธี PCR และ ELISA ในลูกโคที่เลี้ยงในสถานภาพที่มีการติดเชื้อและปลอดเชื้อ

	colostrum	test	wk0	wk4	wk8	wk12	wk16	wk20	wk24
Seropositive Herd									
Calf 1	—	PCR	—	—	—	—	—	—	—
		ELISA	+	+	+	+	+	+	+
Calf 2	—	PCR	—	—	—	—	—	—	—
		ELISA	+	+	+	+	+	+	+
Calf 3	—	PCR	—	—	—	—	—	—	—
		ELISA	+	+	+	+	+	+	+
Calf 4	—	PCR	—	—	—	—	—	—	—
		ELISA	+	+	+	+	+	+	+
Calf 5	—	PCR	+	—	+	+	+	+	+
		ELISA	+	+	+	+	+	+	+
Calf 6	—	PCR	—	+	—	—	—	+	+
		ELISA	+	+	+	+	+	+	+
Calf 7	+	PCR	—	—	—	—	—	—	—
		ELISA	+	+	+	+	+	+	+
Seronegative Herd									
Calf 8	—	PCR	—	—	—	—	—	—	—
		ELISA	—	—	—	—	—	—	—
Calf 9	—	PCR	—	—	—	—	—	—	—
		ELISA	—	—	—	—	—	—	—
Calf 10	—	PCR	—	—	—	—	—	—	—
		ELISA	—	+	+	+	+	+	+
Calf 11	—	PCR	—	—	—	—	—	—	—
		ELISA	—	+	+	+	+	+	+

ตารางที่ 7 ค่าโลหิตวิทยาของลูกโคในการศึกษาที่ 2 ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยของลูกโคทั้งหมดในการศึกษาที่เลี้ยงในฝูงที่มี

การติดเชื้อและปลอดเชื้อ

Parameter	Age (wk)					
	0	4	8	12	16	20
Wbc (cell/ μ l)	9,800 $\pm$ 758	11,580 $\pm$ 850	8,635 $\pm$ 477	9,566 $\pm$ 545	10,673 $\pm$ 534	10,010 $\pm$ 775
Neutrophil (%)	53.72 $\pm$ 4.20	49.45 $\pm$ 4.48	34.87 $\pm$ 5.85	43.00 $\pm$ 5.22	28.09 $\pm$ 6.68	25.36 $\pm$ 2.44
Lymphocyte (%)	37.45 $\pm$ 4.78	41.36 $\pm$ 4.68	56.12 $\pm$ 5.57	49.30 $\pm$ 5.18	60.00 $\pm$ 6.66	67.63 $\pm$ 3.18
Monocyte (%)	8.18 $\pm$ 1.60	8.27 $\pm$ 1.07	7.87 $\pm$ 0.78	7.00 $\pm$ 0.81	7.27 $\pm$ 1.51	5.81 $\pm$ 1.35
Eosinophil (%)	0.36 $\pm$ 0.20	0.36 $\pm$ 0.20	0.87 $\pm$ 0.39	0.60 $\pm$ 0.30	1.00 $\pm$ 0.46	1.18 $\pm$ 0.35

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาการติดเชื้อไวรัสเริมเม็ดเลือดขาวในโค: การติดเชื้อและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในโคนม แบ่งการศึกษาได้เป็น 2 การศึกษาจึงมีข้อสรุปแบ่งตามผลการศึกษาได้ดังต่อไปนี้

1. การศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัส BLV ในแม่โคและโคสาวทั้งระดับรายตัวและระดับฝูง และการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยา

การศึกษาที่ 1 นี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อ BLV นั้นอยู่ในเกณฑ์ที่สูง ทั้งความชุกในระดับฟาร์มและความชุกรายตัว อีกทั้งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาที่มีมาก่อนในประเทศจะเห็นได้ว่าความชุกทางซีรัมนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยตลอด โดยเฉพาะผลการศึกษาที่แสดงให้เห็นในรายละเอียดความชุกทางซีรัมในโคสาวที่พบว่าค่อนข้างสูงคือเกือบ 1 ใน 4 ของโคสาวของเกษตรกรที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมท่าม่วงให้ผลบวกต่อการตรวจทางซีรัมและความชุกของโคสาวคิดเป็นครึ่งหนึ่งของความชุกทางซีรัมในแม่โค เป็นการเน้นให้เห็นถึงความสำคัญของความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัสเริมเม็ดเลือดขาวในประเทศไทยและในจังหวัดกาญจนบุรี ที่เป็นจังหวัดที่มีการเลี้ยงโคนมหนาแน่นในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศ ผลการศึกษานี้เป็นการให้ข้อมูลเบื้องต้นทางระบาดวิทยาของการติดเชื้อไวรัสเริมเม็ดเลือดขาวในโคที่มีประโยชน์ในแง่การใช้ข้อมูลเหล่านี้ในการวางแผนควบคุมและกำจัดการติดเชื้อเหล่านี้ที่อาจต้องดำเนินการในอนาคต

สิ่งที่น่าสนใจประการหนึ่งที่ได้จากผลการศึกษานี้คือ วิธีการติดเชื้อหรือการแพร่เชื้อของไวรัสเริมเม็ดเลือดขาวในโคระหว่างแม่โคและโคสาวที่อายุมากกว่า 6 เดือนมีวิธีการติดเชื้อหลักที่เหมือนกันได้แก่ การติดเชื้อทาง horizontal transmission ซึ่งสำหรับสภาพการเลี้ยงในประเทศไทยอาจกล่าวได้ว่าวิธีการปฏิบัติงานต่างๆต่อโค ในฟาร์มที่มีสุขลักษณะไม่เหมาะสมเป็นปัจจัยสำคัญของการติดเชื้อด้วยวิธี horizontal transmission ที่ได้กล่าวไว้ในที่นี้

การศึกษาทางโลหิตวิทยาซึ่งมีวัตถุประสงค์ในการนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการปฏิบัติงานทางคลินิก พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาโดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงของค่า

เม็ดเลือดขาวที่เกิดภาวะ leukocytosis และสัดส่วนของลิมโฟไซต์ต่อนิวโทรฟิลที่สูงกว่าในแม่โคที่ให้ผลบวกทางซีรัม ที่จะนำมาประยุกต์ใช้นี้มีประโยชน์และสามารถใช้งานได้เฉพาะในแม่โคเท่านั้น ในโคสาวพบว่า การเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาต่างๆ ไม่มีความสัมพันธ์กับผลทางซีรัมที่ตรวจพบ และเป็นตัวชี้วัดที่ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการนำไปใช้ประยุกต์เพื่อช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อในโคสาว นอกจากนั้น การเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในแม่โคที่ได้กล่าวในข้างต้นยังมีความสำคัญในแง่ใช้ตัดสินใจในการคัดทิ้งโค ที่ทราบประวัติการติดเชื้อของฝูง ซึ่งเป็นหนึ่งในวิธีการควบคุมและกำจัดการติดเชื้อไวรัสเมริงเม็ดเลือดขาวในโคที่สำคัญวิธีหนึ่ง

2. การศึกษาลักษณะการติดเชื้อในลูกโคแรกเกิดผ่านการกินนม น้ำเหลืองจากแม่โคที่ให้ผลบวกและผลลบทางซีรัมต่อการติดเชื้อไวรัสเมริงเม็ดเลือดขาวในโค

2.1 จากผลการศึกษาที่ 2 การถ่ายทอดของภูมิคุ้มกันจากแม่โคมายังลูกโคนอกเหนือจากการได้รับผ่านทาง การกินนม น้ำเหลืองตั้งแต่การตั้งท้องและภูมิคุ้มกันที่พบในลูกโคนี้ยังคงพบได้อย่างคงที่ไปตลอดไม่ต่ำกว่า 6 เดือน ซึ่งมีความสำคัญในแง่ของการตรวจโรคเนื่องจากการตรวจพบการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสเมริงเม็ดเลือดขาวในโคในลักษณะที่พบได้จากการศึกษานี้ เป็นอุปสรรคต่อการตรวจโรคโดยวิธีทางซีรัมเช่น ELISA เนื่องจากผลของการตรวจที่ได้ อาจเป็นผลบวกเทียม ดังนั้นการตรวจโรคด้วยวิธีทางซีรัมตลอดจนการแปลผลจึงต้องมีความระมัดระวังเป็นอย่างมากในกรณีของการตรวจโรคในลูกโคโดยเฉพาะอายุต่ำกว่า 6 เดือน นอกจากนี้ เหตุการณ์ข้างต้นแล้วยังพบว่าในฝูงโคนมที่ให้ผลบวกทางซีรัม มีแม่โคที่ให้ลูกโคที่เกิดใหม่มีการติดเชื้อตั้งแต่หลังคลอดและสามารถยืนยันการติดเชื้อได้ตลอดระยะเวลาการศึกษานี้ และพบว่า การติดเชื้อตามธรรมชาติในฝูงลักษณะนี้มีแนวโน้มว่าจะติดเชื้อได้ตั้งแต่อายุ 1 เดือน โดยทั้งหมดได้รับการยืนยันการพบเชื้อด้วยวิธี PCR อย่างไรก็ตามการตรวจการติดเชื้อไวรัสเมริงเม็ดเลือดขาวในโคในลูกโคมีข้อจำกัดและควรใช้วิธีการตรวจอื่นที่มุ่งเน้นในการพิสูจน์หาเชื้อโดยตรงเช่นวิธี PCR ที่ใช้ในการศึกษานี้ จะเป็นวิธีการตรวจที่เหมาะสมกับสถานการณ์มากกว่า

2.2 การติดเชื้อผ่านทาง การได้รับนม น้ำเหลืองจากแม่โคที่ให้ผลการตรวจทางซีรัมเป็นบวกสู่ลูกโคเป็นสิ่งที่ควรพบได้ตามทฤษฎีและในหลายการศึกษาระบุว่าเป็นวิธีการแพร่เชื้อทาง vertical transmission ที่สำคัญ แต่ผลจากการศึกษาที่ 2 นี้ การตรวจทางซีรัมไม่อาจให้ข้อสรุปที่ชัดเจนถึงสถานภาพการติดเชื้อในลูกโคที่อายุน้อยกว่า 6 เดือน อาจกล่าวได้ว่าความชุกทางซีรัมในโคสาวซึ่งเป็นผลที่ได้จากการสำรวจในการศึกษาที่ 1 นั้น ผลส่วนหนึ่งน่าจะเกิดจากภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่

โคที่ยังคงอยู่ตั้งแต่ยังเป็นลูกโค ซึ่งสามารถนำไปเป็นข้อมูลที่ใช้อธิบายถึงสาเหตุของความชุกที่ได้จากการศึกษาในโคสาวทดแทน และเป็นการชี้ให้เห็นว่าการตรวจการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคถึงแม้ว่าจะเป็นในโคสาวที่มีอายุน้อยกว่า 6 เดือน อาจมีความจำเป็นที่ต้องใช้การตรวจเพื่อการยืนยันการพบเชื้อไวรัสเช่น วิธี PCR นอกเหนือจากการตรวจทางซีรัมเท่านั้น หรืออาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงช่วงที่มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่เป็นผลมาจากการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคตามธรรมชาติเพื่อจะนำไปประยุกต์ใช้ในการกำหนดช่วงเวลาที่เหมาะสมในการตรวจการติดเชื้อด้วยวิธีทางซีรัมต่อไป

2.3 การตรวจด้วยวิธี PCR ในการศึกษาที่ 2 เพื่อยืนยันการพบเชื้อ BLV ที่เป็นผลจากการติดเชื้อใหม่ตามธรรมชาติในฝูงที่ให้ผลลบทางซีรัม และเพื่อยืนยันการไม่พบเชื้อ BLV ในฝูงที่ให้ผลลบทางซีรัม แต่จากการศึกษานี้พบว่าวิธี PCR ไม่ได้ให้ผลยืนยันการติดเชื้อในฝูงที่ให้ผลลบตามที่คาดหวังไว้ ซึ่งจากทฤษฎีควรจะพบว่าการติดเชื้อผ่านการกินนมแม่หรือการสัมผัสกับผลการตรวจทางซีรัม จึงเป็นไปได้ว่าลูกโคที่ติดเชื้อผ่านการกินนมแม่หรือการสัมผัสกับเชื้อไวรัสซึ่งติดในนมแม่เป็นปริมาณที่น้อย จึงทำให้การตรวจอาจไม่พบว่าการติดเชื้อทั้งที่มีการติดเชื้ออยู่จริงเป็นผลลบเทียมที่เกิดจากการสุ่มไม่พบเชื้อที่ต้องการตรวจ หรืออาจเป็นไปได้ว่าภูมิคุ้มกันที่ตรวจพบโดยวิธี ELISA อาจมีผลในเชิงการป้องกันการติดเชื้อไวรัสใหม่ในลูกโคจึงทำให้ไม่พบการติดเชื้อด้วยวิธี PCR อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการศึกษายังไม่เพียงพอที่จะสนับสนุนข้อสรุปนี้ได้ ในขณะที่การตรวจด้วยวิธี PCR เพื่อยืนยันการไม่พบเชื้อในฝูงที่ให้ผลลบทางซีรัมให้ผลมีแนวโน้มเป็นไปได้ตามทฤษฎี จึงอาจกล่าวได้ว่าการตรวจเพื่อยืนยันสถานภาพของฝูงที่ปลอดจากเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคอย่างแท้จริงควรใช้ผลการตรวจด้วยวิธี PCR ในการยืนยัน ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าผลสรุปของการศึกษานี้ในหลายประการยังให้ผลที่ไม่สมบูรณ์นัก นั่นเป็นเพราะขนาดของตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาอาจมีจำนวนตัวอย่างที่น้อยเกินไป รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการติดตามผลในการศึกษายังไม่เหมาะสมควรต้องให้ระยะเวลาในการติดตามผลการศึกษาที่นานกว่านี้

2.4 ค่าโลหิตวิทยาที่เป็นผลของการศึกษาไม่พบว่ามีค่าแตกต่างกันระหว่างลูกโคที่เลี้ยงในฝูงที่ให้ผลลบทางซีรัมกับลูกโคที่เลี้ยงในฝูงที่ให้ผลลบทางซีรัม นอกจากนั้นค่าดังกล่าวนี้ยังอยู่ในเกณฑ์ปกติของลูกโค แสดงให้เห็นว่าการได้รับภูมิคุ้มกันหรือเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคทั้งโดยผ่านการกินนมแม่หรือการสัมผัสระหว่างการจัดท้องจากแม่โคที่ให้ผลลบทางซีรัม ไม่มีความสัมพันธ์หรือส่งผลใดๆต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในลูกโค

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลที่ได้จากการศึกษาที่ 1 ที่ระบุถึงการมีความชุกทางซีรัมที่สูงทั้งในระดับฝูงและระดับเป็นสิ่งที่มีความสำคัญเนื่องจากส่งผลกระทบทางเศรษฐกิจต่อธุรกิจฟาร์มโคนมไม่ว่าจะเป็นทางตรงหรือทางอ้อม ซึ่งได้รับการยืนยันจากการศึกษาส่วนหนึ่งที่ได้ศึกษาในต่างประเทศหลายประเทศ แต่ข้อมูลความสูญเสียเหล่านี้ยังไม่มีการศึกษาและไม่มีข้อมูลทางวิชาการใดมาสนับสนุนถึงความสำคัญหรือผลกระทบของการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคในประเทศไทย ซึ่งมีความสำคัญในแง่ที่เป็นข้อมูลเพื่อการตัดสินใจในการวางแผนการควบคุมหรือกำจัดโรคนี้ต่อไป ดังนั้นการศึกษาต่อไปในอนาคตที่สำคัญของการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคสำหรับประเทศไทยต่อไป ควรศึกษามุ่งเน้นไปในการพิสูจน์ถึงความสำคัญ โดยเฉพาะในเชิงธุรกิจที่เกิดจากการติดเชื้อนี้ นอกจากนั้นจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวิธีการแพร่เชื้อทาง horizontal transmission โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปฏิบัติต่อตัวโคในฟาร์มที่ละเอียดหรือมีสุขลักษณะที่ไม่เหมาะสม เป็นปัจจัยการแพร่เชื้อที่สำคัญ ซึ่งในเชิงการปฏิบัติงานในฟาร์มสามารถปรับปรุงการปฏิบัติที่เป็นปัจจัยเสี่ยงเหล่านี้ได้ และมีความจำเป็นที่ต้องทำให้การปรับปรุงเหล่านี้เกิดขึ้นเป็นรูปธรรมและดำเนินการอย่างเข้มงวด ผ่านทางตัวเกษตรกร และเจ้าหน้าที่นักวิชาการที่ทำงานด้านโคนมซึ่งต้องผลักดันและส่งเสริมอย่างจริงจังต่อไป

2. วิธีการตรวจการติดเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคด้วยวิธีทางซีรัมในลูกโคที่อายุน้อยกว่า 6 เดือนมีข้อจำกัดดังที่ได้กล่าวไว้แล้วในบทก่อนหน้านี้ ดังนั้นการตรวจโดยการยืนยันการพบเชื้อเช่น PCR มีความจำเป็นที่ต้องใช้ร่วมกับการตรวจด้วยวิธีทางซีรัม ซึ่งควรจะใช้ในการยืนยันในกรณีที่ถูกโคให้ผลบวกทางซีรัม เพื่อเป็นการเพิ่มความความจำเพาะของการตรวจและเป็นการลดผลบวกเทียม ซึ่งเป็นข้อจำกัดที่เกิดจากอายุของโค แต่การพิสูจน์ยืนยันการมีเชื้อไวรัสด้วยวิธี PCR ในนม น้ำเหลืองจากการศึกษานี้พบว่ามีประสิทธิภาพต่ำให้ผลการตรวจที่ไม่แน่นอน ดังนั้นการตรวจยืนยันการมีเชื้อในนม น้ำเหลืองหากมีความจำเป็นต้องใช้ในการศึกษาต่อไป ต้องมีการพัฒนาวิธีการตรวจให้ได้วิธีที่มีประสิทธิภาพสูงกว่านี้เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป แม้ว่าผลการศึกษาจะชี้ให้เห็นว่าการแพร่ของเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคจากการศึกษานี้ระบุว่าเป็นส่วนใหญ่ และเป็นวิธีที่มีความสำคัญคือ horizontal transmission แต่จากผลการศึกษาที่ได้จากการศึกษาที่ 2 ในลูกโคพบว่า การได้รับนม น้ำเหลืองที่มีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสเมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อในลูกโคแรกเกิด เพราะฉะนั้นการจัดการนม น้ำเหลืองในลูกโคเป็นสิ่งที่ต้องระมัดระวัง ในฝูงที่ให้ผลบวกต่อการติดเชื้อไม่ควรใช้นม น้ำเหลืองรวมในการเลี้ยงลูกโค

หลายตัว และควรมีการเตรียมเก็บนํ้าเหลืองหรือนํ้านมที่ได้จากแม่โคที่ได้รับการพิสูจน์ว่าให้ผล
ลบต่อการตรวจเพื่อนำไปใช้เลี้ยงลูกโคต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- อัจฉริยา ไสละสูต, วิมล โพธิวงศ์, อมรรัตน์ ทศนกิจ และ คมกฤษ เทียนคำ. 2542. การศึกษา
โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวในโคนมโดยวิธีไซโตเคมี, น. 45-46. ใน **ประมวลบทความวิชาการ
ประชุมวิชาการ เรื่อง วิจัยและพัฒนาเพื่ออนาคตโคนมไทย และการประชุมทางวิชาการโค
นมและผลิตภัณฑ์ ครั้งที่ 3.** กรุงเทพฯ.
- Acaite, J., V. Tamosiunas, K. Lukauskas, J. Milius, J. Pieskus. 2007. The eradication experience
of enzootic bovine leukosis from Lithuania. **Prev. Vet. Med.** 82: 83-89.
- Agresti, A., W. Ponti, M. Rocchi, R. Meneveri, A. Marozzi, D. Cavalli, E. Peri, G. Poli, E.
Ginelli. 1993. Use of polymerase chain reaction to diagnose bovine virus infection in
calves at birth. **Am. J. Vet. Res.** 54: 373-378.
- Aiello, S.E. 1998. **The Merk Veterinary Manual 8th edition.** Merk & Co., Inc. Whitehouse
Station, N.J., U.S.A.
- Arunvipas, P., S. Sajapitak, A. Yawongsa, C. Nakthong, T. Songserm and W. Wajjwalku. 1997.
The epidemiology of bovine leukosis in dairy cattle, p. 553-557. In **the 35th Kasetsart
University Annual Conference.** Bangkok.
- Australian quarantine and inspection service. 1999. **Import risk analysis report on the
importation of bovine semen and embryos from Argentina and Brazil into Australia
part 1: bovine semen.**
- Bittrich, S., C. Morel, C. Philipona, Y. Zbinden, H.M. Hammon and J.W. Blum. 2002.
Physiological trait in pattern calves during their first week of life. **J. Anim. Physiol.
Anim. Nutr.** 86: 185-198.

- Brenner, J., I. Rosenthal, S. Bernstein and Z. Trainin. 1990. The fat content of milk from dairy cattle infected with bovine leukosis virus. **Vet. Res. Comm.** 14: 167-171.
- _____, M. Van-Hamm, D. Savir and Z. Trainin. 1989. The implication of BLV infection in the production, reproductive capacity and survival rate of a dairy cow. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 22: 299-305.
- Bunyahotra, R., A. Supcharoen, C. Sirivan and U. Trantaswasdi. 1994. Prevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in the central part of Thailand. **Thai J. Vet. Med.** 24:211 – 216.
- Buxton, B.A., N.C. Hinkle, R.D. Schultz. 1985. Role of insects in the transmission of bovine leukosis virus: potential for transmission by stable flies, horn flies and tabanids. **Am J Vet. Res.** 46: 123-126.
- Chappuis, G. 1998. Neonatal immunity and immunization in early age: lesson from veterinary medicine. **Vaccine.** 16: 1468-1472.
- Chi, J., J. A. Vanleeuwen, A. Weersink, G.P. Keefe. 2002b. Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhea virus, bovine leukosis virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis and Neospora caninum. **Prev. Vet. Med.** 55: 137-153.
- Cho, K.O., S. Meas, N.Y. Park, Y.H. Kim, Y.K. Lim, D. Endoh, S.I. Lee, K. Ohashi and M. Onuma. 1999. Seroprevalence of bovine immunodeficiency virus in dairy and beef cattle herd in Korea. **J. Vet. Med. Sci.** 61(5): 549-551.
- Choi, K.Y., R.B. Lui, G.C. Buehring. 2002. Relative sensitivity and specificity of agar gel immunodiffusion, enzyme immunosorbent assay and immunoblotting for detection of anti- bovine leukemia virus antibodies in cattle. **Journal of Virological Methods.** 104: 33-39.

- Chung, Y.S., H.C. Prior and P.F. Duffy. 1986. The effect of pasteurization on bovine leucosis virus – infected milk. **Aust. Vet. J.** 63: 379-380.
- Coffin, J.M., S.H. Hughes and H.E. Varmus. 1997. **Retroviruses**. Coldspring Harbour Laboratory Press. New York.
- Digiacomio, R.F., S.G. Hopkins, R.L. Darlington and J.F. Evermann. 1987. Control of bovine leukosis virus in a dairy herd by a change in dehorning. **Can J Vet Res.** 51: 542-544.
- Divers T.J., R.C. Bartholomew, D. Galligan, C. Little. 1995. Evidence of transmission of bovine leukemia virus by rectal palpation in a commercial dairy herd. **Prev. Vet. Med.** 23: 133-141.
- Dube, S., S. Bachman, T. Spicer, J. Love, D. Choi, E. Esteban, J.F. Ferrer and B.J. Poiesz. 1997. Degeneration and specific PCR assays for detect of bovine leukemia virus and primate T-cell leukemia/lymphoma virus pooled DNA/RNA: phylogenetic comparison of amplified sequences from cattle and primates from around the world. **J. General Virol.** 78: 1389-1398.
- Fechner, H., Blankenstein, P., Looman, A.C., Elwert, J., Geue, L., Albrecht, C., Kurg, A., Beier, D., Marquardt, O., Ebner, D., 1997. Provirus variants of the bovine leukemia virus and their relation to the serological status of naturally infected cattle. **Virology** 237: 261–269.
- Florin, A., M. Boxus, F. Vancermers, O. Verlaeten, A.B. Bouzar, J. Defoiche, R. Hubaux, A. Berny, R. Kettmann, L. Willems. Emphasis on cell turnover in two hosts infected by bovine leukemia virus : a rationale for host susceptibility to disease. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 125: 1-7.

Gabriel, S., P. Geldhof, I.K. Phiri, P. Cornillie, B.M. Goddeeris and J. Vercruysse. 2005.

Placental transfer of immunoglobulin in cattle infected with *Schistosoma mattheei*. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 104: 265-272.

_____, C. Ververken, J. Vercruysse, L. Duchateau, I.K. Phiri, B.M. Goddeeris. 2007.

Perinatal priming of calves born to *Schistosoma mattheei*-infected dams. **Vet. Parasitol.** 144: 61-67.

Hopkins, S.G., J.F. Evermann, S.M. Digiacomo, J.F. Ferrer, S. Smith and R.L. Bangert. 1988.

Experimental transmission of bovine leukosis virus by simulated rectal palpation. **Vet. Rec.** 122: 389-391.

Isaacson, J.A., K.P. Flaming, J.A. Roth. 1998. Effect of long-term infection with bovine immunodeficiency virus and/or bovine leukemia virus on antibody and lymphocyte proliferative responses in cattle. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 64: 249-266.

Jacobs, R.M., J.L. Heeney, M.A. Godkin, K.E. Leslie, J.A. Taylor, C. Davies and V.E.O. Valli.

1991. Production and related variable in bovine leukemia virus-infected cows. **Vet. Res. Comm.** 15: 463-474.

Johnson, R., Kaneene, J.B., 1991a. Bovine leukemia virus Part I. Descriptive epidemiology,

clinical manifestations, and diagnostic tests. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.** 13: 315-319.

_____, J.B., 1991b. Bovine leukemia virus. Part III. Zoonotic potential molecular epidemiology, and an animal model. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.** 13: 1631-1639.

_____, J.B., 1992. Bovine leukemia virus and enzootic bovine leucosis. **Vet.**

Bull. 62: 287-312.

- Keefe, R.G., Y. Choi, D.A. Ferrick, J.L. Stott.1997. Bovine cytokine expression during different phases of bovine leukemia virus infection. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 56: 39-51.
- Klintevall, K., L. Fuxler and C. Fossum.1997. Bovine Leukemia Virus: early reflections in blood after an experimental infection of calves. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.** 20: 119-130.
- Kramme, P.M., C.B. Thomas, R.D. Schultz. 1995. Temporal stability of the virus load of cattle infected with bovine leukemia virus. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 45: 347-354.
- Larson, B.K., H.K. Heary Jr. and J.E. Devery. 1980. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. **J. Dairy Sci.** 63: 665-671.
- Lassauzet, M.G., M.C. Thurmond, W.O. Johnson, C.A. Holmberg. 1981. Factors associated with in utero or periparturient transmission of bovine leukemia virus in calves on a California dairy. **Can J Vet Res.** 55: 264-268.
- Lewin, H.A., M.C. Wu, T.J. Nolan and J.A. Stewart. 1988. Peripheral B lymphocyte percentage as an indicator of subclinical progression of bovine leukemia virus infection. **J. Dairy Sci.** 71: 2526-2534.
- Licursi, M., Y. Inoshima, D. Wu, T. Yokoyama, E.T. Gonzalez, H. Sentsui. 2002. Genetic heterogeneity among bovine leukemia virus genotype and its relation to humoral responses in hosts. **Virus Res.** 86: 101-110.
- LLiff, P.J., E.G. Piwoz, N.V. Tavengwa, C.D. Zunguza, E.T. Marinda, K.J. Nahoo, L.H. Moulton, B.J. Ward and J.H. Humphrey. 2005. early exclusive breastfeeding reduces the risk of postnatal HIV-1 transmission and increases HIV- free survival. **AIDS.** 19: 699-708.

- Lumsden, J.H., K. Mullen and R. Rowe. 1980. Hematology and biochemistry reference values for female Holstein cattle. **Can. J. Com. Med.** 44: 24-31.
- Mahmood, A.K., M.A. Sheikh, S. Akhtar, G. Nabi and H.B. Rachid. 2007. Duration of maternally derived antibodies against *Pasteurella multocida* in cow calves. **Pakistan Vet J.** 27(2): 92-94.
- Markiewicz, L., J. Rulkax and S. Kamiski. 2003. Detection of BLV provirus in different cells by nested-PCR. **Bull. Vet. Inst. Pulawy.** 47: 325-331.
- Martin, D., A. Arjona, I.Soto, N.Barquero, M.Viana and E. Gomez Lucia. 2001. Comparative study of PCR as a direct assay and ELISA and AGID as indirect assays for the detection of bovine Leukaemia virus. **J. Vet. Med. B** 48: 97-106.
- Meas, S., K. Ohashi, S. Tum, M. Chhin, K. Te, K. Miura, C. Sugimoto and M. Onuma. 2000. Seroprevalence of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in drought animals in Cambodia. **J. Vet. Med. Sci.** 62(7): 779-881.
- _____, J. Seto, C. Sugimoto, M. Bakhsh, T. Sato, K. Naeem, K. Ohashi and M. Onuma. 2000. Infection of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in water buffalo and cattle population in Pakistan. **J. Vet. Med. Sci.** 62(3):329-331.
- Mirsky, M.L., C.A. Olmstead, Y. Da and H.A. Lewin. 1996. The prevalence of bovine leukemia virus in peripheral blood mononuclear cells in two subclinical stages of infection. **J. Virol.** 70: 2178-2183.
- Monti, G.E. 2005. **Epidemiology, Infection dynamics and effective control of bovine leukemia virus within dairy herd of Argentina: a quantitative approach.** Ph.D. thesis, Wageningen University.

- Muri, C., T. Schottstedt, H.M. Hammon, E. Meyer and J.W. Blum. 2005. Hematological, metabolic and endocrine effect of feeding vitamin A and lactoferrin in neonatal calves. **J. Dairy Sci.** 88: 1062-1077.
- Murray, N. 2002. **Import risk analysis, animal and animal products.** New Zealand minister of agriculture and forestry. Wellington, New Zealand.
- Nagy D.W. 2006. Decreasing perinatal bovine leucosis virus infection in calves. **A dissertation presented to the faculty of the graduate school.** University of Missouri-Columbia.
- Niermann, G.L. and G.C. Buehring. 1997. Hormone regulation of bovine leukemia virus via the long terminal repeat. **Virology.** 30: 249-258.
- Nuotio, L., H. Rusanen, L. Sihvonen, E. Neuvonen. 2003. Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. **Prev. Vet. Med.** 59: 43-49.
- Ohshima, K., K. Okada and S. Numakunai. 1981. Evidence of horizontal transmission of bovine leukemia virus due to blood- sucking tabanid flies. **Jpn. J. Vet. Science.** 43: 79-81.
- OIE. 2008. Terrestrial Animal Health Code. **Terrestrial Manual.**
- Ott, S.L., R. Johnson and S.J. Wells. 2003. Association between bovine leucosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. **Prev. Vet. Med.** 61: 249-262.
- Pharo, H.J. 1999. **Import risk analysis imported seropositive animals: assurance provided by serological tests.** Regulatory authority, ministry of agriculture and forestry. Wellington, New Zealand.

- Pollari, F.L., V.L. Wangsuphachart, R.F. Digiacomo and J.F. Evermann. 1992. **Can. J. Vet. Res.** 56: 289-295.
- Radostits, O.M., D.C. Blood and C.C. Gay. 1994. Reference laboratory values. pp. 1726-1727.
In O.M. Radostits, D.C. Blood and C.C. Gay, eds. **Veterinary Medicine: A Textbook of the Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses, 8th edition**. The Bath Press, Avon, UK.
- Roger, R.J., C.K. Dimmock, A.J. de Vos and B.J. Rodwell. 1988. Bovine leukosis virus contamination of vaccine produce in vivo against bovine babesiosis and anaplasmosis. **Aust. Vet. J.** 65: 285-287.
- Rovnak, J., A.L. Boyd, J. W. Casey, M.A. Gonda, W.A. Jensen and G.L. Cockerell. 1993. Pathogenicity of molecularly cloned bovine leukemia virus. **J. Virol.** 67: 7096-7105.
- Rukkwamsuk, T. and S. Rungruang. 2008. Seroprevalence of bovine leukemia virus infection in pregnant replacement dairy heifer in Saraburi Province, Thailand. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 42: 278-281.
- Sergeant, J.M., D.F. Kelton, S.W. Martin, E.D. Mann. 1997. Association between farm management practices, productivity and bovine leukemia virus infection in Ontario dairy herds. **Prev. Vet. Med.** 31: 211-221.
- Schwartz, I., A. Bensaid, B. Polack, B. Perrin, M. Berthelemy and D. Levy. 1994. In vito leukocyte tropism of bovine leukemia virus in sheep and cattle. **J Virol.** 68: 4589-4596.
- Shettigara, P.T., B.S. Samagh and E.M. Lobinowich. 1986. Eradication of bovine leukemia virus infection in commercial dairy herd using the agar gel immunodiffusion test. **Can. J. Vet. Res.** 50: 221-226.

- Simard, C., S. Richardson, P. Dixon, C. Bâ langer and P. Maxwell. 2000. Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine leukosis: comparison with the agar gel immunodiffusion test approved by the Canadian Food Inspection Agency. **Can. J. Vet. Res.** 64: 101 – 106.
- Stockham, S.L., and M.A. Scott. 2002. **Fundamental of Veterinary Clinical Pathology**. Iowa State Press. Blackwell Publishing Company., Iowa, USA.
- Tan, M.A., Y. Yildirim, N. Erol, A.B. Gunger. 2006. The seroprevalence of bovine herpes virus type 1 (BHV-1) and bovine leukemia virus (BLV) in selected dairy cattle herds un Aydin province, Turkey. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.** 30: 353-357.
- Thrusfield, M.2005. **Veterinary epidemiology**. 3rd ed. Blackwell Publishing Company. Oxford, UK.
- Tiwari, A., J.A. VanLeeuwen, I.R. Dohoo, H. Stryhn, G.P. Keefe and J.P. Haddad. 2005. Effects of seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis and neospora caninum on culling in dairy cattle in four Canadian provinces. **Vet. Microbiol.** 109: 147-158.
- Trainin, Z., J. Brenner, R. Meirom, H. Ungar-Waron. 1996. Detrimental effect of Bovine Leukemia Virus (BLV) on the Immunological state of cattle. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 54: 293-302.
- _____.2005. The direct and indirect impacts of bovine leukemia virus infection on dairy cattle. **Isr J. Vet. Med.**60: 94-105.
- _____ and U. Klopfer. 1971. Immunofluorescent studies of lymph node and spleen of leukotic cattle for production of IgM and IgG. **Cancer Res.** 71: 1968-1970.

- _____, T.A. Nobel, U. Klopfer and F. Neumann. 1968. absence of macroglobulin (IgM) in the sera of leukotic cattle and diagnostic of bovine leucosis. **Refuah Vet.** 25: 185.
- _____, H. Ungar-Waron, R. Meirom, A. Barnea and M. Sera. 1976. IgG and IgM antibodies in normal leukemic cattle. **J. Comp. Pathol.** 86: 571-580.
- Trono, K.G., D.M. Páez-Filgueira, S. Duffy, M.V. Borca and C. Carrillo. 2001. Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. **Vet. Microbiol.** 83: 235 – 248.
- Ungar-Waroon, H., R. Paz, J. Brenner, B. Yakobson, N. Partosh, Z. Trainin. 1999. Experimental infection of calves with bovine leukemia virus (BLV): an applicable model of retroviral infection. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 67(2): 195-201
- Uysal, A., H. Yilmaz, T. Bilal, E. Berriatua, U. Bakirel, M. Arslan, M. Zerin and H. Tan. 1998. Seroprevalence of enzootic bovine leucosis in Trakya district (Marmara region) in Turkey. **Prev. Vet. Med.** 37: 121-128.
- Van der Maaten, M.J., J.M. Miller, M.J. Schmerr. 1981. In utero transmission of bovine leukemia virus. **Am. J. Vet. Res.** 42: 1052-1054.
- VanLeeuwen, J.A., G.P. Keefe, R. Tremblay, C. Power, J.J. Witchel. 2000. Seroprevalence, spatial distribution and productivity effects of infection with John's disease and bovine leukosis in maritime Canada dairy cattle. **In Proceedings of the International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics.** USA.
- Wajjwalku, W., P. Lertwatcharasarakul, N. Saehaeng and T. Sirinarumitr. 1999. Application of PCR diagnosis for bovine leukemia virus (BLV) infection, pp. 108-114. **In Proc 25th Thai. Vet. Med Assoc.** Thailand Veterinary Medical Association. Bangkok.

Willems, L., A. Burny, D. Collete, O. Dangoisse, F. Dequiedt, J.S. Gatot, P. Kerkhofs, L.

Lefebvre, C. Merezak., T. Peremans, D. Portetelle, J.C. Twizere and R. Kettmann. 2000.

Aids research and human retroviruses. 16: 1787-1795.

Wongkasemjit, S., A. Supcharoen and R. Bunyahotra. 1994. Prevalence of infectious bovine

rhinotracheitis and bovine leukemia in dairy cattle in the Central Region. **J. Thai. Vet.**

Med. Assoc. 45: 39–45.

Wu, M.C., R.D. Shanks and H.A. Lewin. 1989. milk and fat production in dairy cattle influenced

by advanced subclinical bovine leukemia virus infection. **Proc. Nat. Acad. Sci.** 86: 993-

996.

Yakobson, B., J. Brenner, H. Ungar-Waron, Z. Trainin. 2000. Cellular immune response cytokine

expression during the initial stage of bovine leukemia virus (BLV) infection determines

the disease progression to persistent lymphocytosis. **Comp. Immun. Microbiol. Infect.**

Dis. 23: 197-208.

Yang, D., R.D. shanks, J.A. Stewart and H.A. Lewin. 1993. Milk and fat yields decline in bovine

leukemia virus- infected Holstein cattle with persistent lymphocytosis. **Proc. Nat. Acad.**

Sci. 90: 6538-6541.

ภาคผนวก

1. ข้อมูลพื้นที่และสัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษา: สหกรณ์โคนมท่าม่วงจำกัด จังหวัดกาญจนบุรี

จังหวัดกาญจนบุรีเป็นจังหวัดที่ตั้งอยู่ในเขตภาคตะวันตกของประเทศไทย และจัดอยู่ในเขต 7 ตามการแบ่งเขตพื้นที่ปศุสัตว์โดยกรมปศุสัตว์ซึ่งได้แสดงไว้ใน ภาพผนวกที่ 1 มีจำนวนประชากรโคนมรวมทั้งสิ้น 18,356 ตัว คิดเป็น 3.91% ของจำนวนประชากรโคนมที่เลี้ยงในประเทศไทย โดยมีรายละเอียดของประชากรโคและผลผลิตดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ 1 และ 2



ภาพผนวกที่ 1 แผนที่จังหวัดกาญจนบุรีแสดงที่ตั้งของอำเภอ
ที่มา: สำนักงานท่องเที่ยวแห่งประเทศไทย กาญจนบุรี เขต 1

ตารางผนวกที่ 1 จำนวนประชากรโคนมแบ่งตามจังหวัดในเขต 7

จังหวัด	โคนม (ตัว)						จำนวน น้ำนม (กก.)	โคนม ทั้งหมด (ตัว)	เกษตรกร (ครัวเรือน)
	ผู้	เมีย							
		แรก เกิด ถึง 1 ปี	1 ปี ถึง ตั้ง ท้อง แรก	โค กำลัง รีด นม	โค แห้ง นม	รวมโค นม เพศ เมีย			
เขต 7	11,113	18,839	20,953	55,207	10,217	105,216	303,794	116,329	5,106
ราชบุรี	3,478	6,903	9,553	19,015	4,166	39,637	110,618	43,115	1,991
กาญจนบุรี	1,094	1,374	1,550	13,437	901	17,262	8,529	18,356	867
นครปฐม	2,728	3,742	3,978	8,939	2,111	18,770	70,828	21,498	936
สมุทรสาคร	-	-	15	70	64	149	650	149	2
สมุทรสงคราม	-	-	-	-	-	-	-	-	-
เพชรบุรี	1,136	2,119	1,097	4,483	1,005	8,704	46,250	9,840	391
ประจวบคีรีขันธ์	2,677	4,701	4,760	9,263	1,970	20,694	66,919	23,371	919

ที่มา: กรมปศุสัตว์ (2551)

ตารางผนวกที่ 2 จำนวนประชากรโคนมแบ่งตามอำเภอในจังหวัดกาญจนบุรี

อำเภอ	โคนม(ตัว)								
	ผู้	เมีย(ตัว)					จำนวน น้ำนม (กก.)	โคนม ทั้งหมด	เกษตรกร (ครัวเรือน)
		แรก เกิด ถึง 1 ปี	1 ปีถึง ตั้ง ท้อง แรก	โครีด นม	โคแห้ง นม	รวมโค นมเพศ เมีย			
เมือง	94	210	213	153	91	967	4,405	1,061	21
ไทรโยค	8	30	32	148	76	286	700	294	18
บ่อพลอย	8	-	-	-	-	-	-	8	1
ศรีสวัสดิ์	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ท่ามะกา	637	512	775	12,091	545	13,923	90	14,560	734
ท่าม่วง	268	454	304	462	134	1,354	1,747	1,622	57
ทองผาภูมิ	1	-	-	-	-	-	-	1	1
สังขละบุรี	-	-	-	-	-	-	-	-	-
พนมทวน	36	55	54	116	25	250	386	286	14
เลาขวัญ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ด่านมะขามเตี้ย	42	113	155	167	30	465	1,201	507	20
หนองปรือ			17			17		17	1
ห้วยกระเจา	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ที่มา: กรมปศุสัตว์ (2551)

สหกรณ์โคนมท่าม่วงจำกัดซึ่งมีศูนย์รับน้ำนมดิบตั้งอยู่ในอำเภอท่าม่วง รับน้ำนมดิบจากฟาร์มสมาชิกที่กระจายอยู่ในพื้นที่ 4 อำเภอคือ อำเภอท่ามะกา ท่าม่วง พนมทวน ด่านมะขามเตี้ย โดยมีสมาชิกที่ส่งน้ำนมดิบในช่วงที่ดำเนินการศึกษาทั้งสิ้น 111 ฟาร์มมีผลผลิตน้ำนมดิบทั้งสิ้น 13.88 ตันต่อวัน และมีประชากรโคนมทั้งสิ้น 1,686 ตัว เป็นแม่โครีดนม 1,180 ตัว โคสาว 506 ตัว การจัดการของฟาร์มโคนมที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์ในการศึกษานี้ส่วนใหญ่เป็นฟาร์มที่ดำเนินการโดยเกษตรกรรายย่อยที่มีขนาดฝูงแม่โครีดนมประมาณ 10-11 ตัว โคส่วนใหญ่เป็นแม่โคลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียน ที่เลี้ยงในรูปแบบการยืนโรงสลับกับการปล่อยแปลงในพื้นที่จำกัด

เกษตรกรนิยมเลี้ยงโดยการให้อาหารข้นที่เป็นอาหารสำเร็จรูปและอาหารหยาบส่วนใหญ่ได้แก่ต้นข้าวโพด หญ้าตามธรรมชาติ หรือหญ้าที่ปลูกไว้เพื่อเลี้ยงโคโดยเฉพาะเช่น หญ้าแพงโกล่า และหญ้าขน โดยเกษตรกรจะใช้วิธีตัดจากไร่หรือแปลงปลูกแล้วนำไปเลี้ยงโคยังฟาร์ม นอกจากนั้นแหล่งอาหารหยาบที่เริ่มมีบทบาทมากต่อการเลี้ยงในสถานการณ์ปัจจุบัน ได้แก่วัสดุเหลือใช้จากภาคอุตสาหกรรมการเกษตรและการแปรรูป ซึ่งมีข้อได้เปรียบที่ราคาถูกและมีปริมาณมาก มีสม่ำเสมอตลอดปี เกษตรกรส่วนใหญ่รีดนมโดยใช้เครื่องรีดนมแม่โควันละ 2 ครั้ง การเลี้ยงลูกโคนิยมแยกลูกทันทีหลังคลอดแล้วเลี้ยงต่อโดยเกษตรกร ด้วยน้ำนมของแม่โคที่แบ่งมาจากการส่งขายจนกระทั่งอายุประมาณ 1-2 เดือนจึงเริ่มเสริมอาหารสำหรับใช้เลี้ยงลูกโค หรือการเริ่มหัดให้ลูกโคได้รับอาหารหยาบจนกระทั่งลูกโคสามารถกินอาหารหยาบได้แล้ว หรือมีน้ำหนักตลอดจนขนาดตัวได้ตามกำหนดของเกษตรกรจึงหย่านมที่อายุประมาณ 3 เดือน จากนั้นจึงเลี้ยงลูกโคโดยการให้อาหารหยาบร่วมกับอาหารข้นโดยนิยมให้อาหารชนิดเดียวกับที่ใช้เลี้ยงแม่โคแต่ให้ในปริมาณที่น้อยกว่า ลูกโคส่วนใหญ่นิยมเลี้ยงกับพื้นดินในพื้นที่ว่างของฟาร์มซึ่งไม่ใช่โรงเรือนสำหรับการเลี้ยงลูกโค โคสาวที่โตขึ้นจึงถูกนำมาเลี้ยงรวมกันในสถานที่หรือโรงเรือนสำหรับการเลี้ยงโคสาวจนกระทั่งโคเหล่านี้ได้รับการผสมและตั้งท้อง การดูแลสุขภาพโดยเกษตรกรนิยมเริ่มถ่ายพยาธิให้แก่ลูกโคที่อายุประมาณ 3 เดือน จากนั้นจะถ่ายพยาธิประจำปีละ 1-2 ครั้ง ฟาร์มโคนมเหล่านี้จะได้รับการตรวจเยี่ยมเพื่อการดูแลด้านสุขภาพและการจัดการระบบสืบพันธุ์เป็นประจำทุกเดือน โดยสัตวแพทย์ของโรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หนองโป และได้รับการผสมเทียมโดยหน่วยผสมเทียมของกรมปศุสัตว์

ตารางผนวกที่ 3 จำนวนแม่โคและโคสาวที่ใช้เก็บตัวอย่างจากแต่ละฟาร์ม

Farm	No. of cows	No. of heifer	Farm	No. of cows	No. of heifer
1	5	5	31	5	2
2	5	5	32	5	3
3	5	3	33	5	5
4	5	3	34	5	5
5	5	3	35	5	5
6	5	5	36	5	3
7	5	5	37	5	3
8	5	5	38	5	4
9	5	2	39	5	4
10	5	5	40	5	1
11	5	5	41	5	1
12	5	2	42	5	3
13	5	3	43	5	5
14	5	2	44	5	4
15	5	2	45	5	4
16	5	2	46	5	4
17	5	3	47	5	5
18	3	1	48	5	1
19	3	3	49	5	2
20	5	5	50	5	2
21	5	5	51	5	5
22	5	5	52	5	0
23	5	2	53	4	0
24	5	1	54	5	3
25	5	3	55	3	0
26	5	4	56	5	3
27	5	5	57	5	0
28	5	5	58	5	0
29	5	4	59	5	3
30	5	3	60	5	2

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

Farm	No. of cows	No. of heifer	Farm	No. of cows	No. of heifer
61	5	3	91	1	3
62	2	3	92	3	3
63	3	1	93	5	1
64	5	0	94	5	2
65	3	3	95	5	1
66	5	0	96	5	2
67	5	4	97	5	5
68	1	2	98	5	5
69	5	0	99	5	2
70	0	5	100	5	5
71	0	3	101	5	5
72	5	2	102	5	3
73	5	0	103	4	5
74	5	3	104	5	0
75	4	3	105	5	0
76	5	0	106	5	0
77	2	0	107	5	0
78	5	2	108	5	3
79	5	5	109	2	2
80	5	2	110	2	0
81	5	3	111	0	2
82	5	2			
83	5	2			
84	5	3			
85	5	3			
86	4	3			
87	5	1			
88	4	3			
89	4	3			
90	5	3			

2.การตรวจ การติดเชื้อ BLV ทางซีรัมด้วยวิธี ELISA โดยการตรวจหาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ที่เฉพาะต่อโปรตีน BLVgp51 (IDEXX Laboratories, Inc., 2003)

2.1 อุปกรณ์

- 2.1.1 ปิเปตใช้สำหรับปริมาณสาร 4 ถึง 200 μ l
- 2.1.2 disposable pipet tips
- 2.1.3 น้ำกลั่น
- 2.1.4 wash bottle
- 2.1.5 PBS- tween จำนวน 1 ถึง 2 ลิตร
- 2.1.6 microplate photometer, 450 nm. filter

2.2 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างซีรัมที่เก็บที่อุณหภูมิ -20°C องศาเซลเซียสแล้วผ่านการตั้งให้ละลายที่อุณหภูมิห้องจำนวนตัวอย่างละ 4 μ l. ในการทดสอบ

2.3 การเตรียมสารละลาย PBS-tween buffer (PBST) เจือจาง

เป็นการเตรียมสารละลาย PBST โดยการเจือจาง PBS- tween buffer ด้วยน้ำกลั่นให้ได้เป็นสัดส่วน 1 : 20 ในการศึกษานี้จะเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์เจือจางจำนวนครั้งละ 500 มิลลิลิตร ด้วยการเติม PBST ปริมาณ 25 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นปริมาณ 475 มิลลิลิตร

2.4 ขั้นตอนการตรวจ

2.4.1 ใส่สารละลาย PBST เจือจางปริมาณ 100 μ l ลงในแต่ละหลุมในถาดทดสอบตามจำนวนตัวอย่างที่ต้องการทดสอบและรวมทั้งหลุมที่จะใส่ซีรัมควบคุมที่ให้ผลบวกและผลลบอย่างละ 2 หลุม

2.4.2 เติมซีรัมควบคุมที่ให้ผลบวกและผลลบอย่างละ 2 หลุม หลุมละ 4 μ l

2.4.3 สารละลาย PBST เจือจางและซีรัมควบคุมจะเป็นการเติมลงในหลุมที่มีการเคลือบไว้ด้วยแอนติเจนของเชื้อไวรัส BLVgp51 ซึ่งเป็นการเตรียมพร้อมในการใส่ซีรัมที่ต้องการตรวจต่อไป

2.4.4 เติมตัวอย่างซีรัมที่ต้องการตรวจลงในแต่ละหลุม หลุมละ 4 μ l จากนั้นเขย่าให้ส่วนผสมทั้งหมดผสมกันดีเป็นอย่างดีแล้วนำไปใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.4.5 ล้างภาดทดสอบด้วยสารละลาย PBST เจือจาง 3 ครั้ง และต้องเทของเหลวที่ล้างทิ้งจนกระทั่งแน่ใจว่าไม่มีของเหลวที่เป็นส่วนเกินใดๆค้างอยู่ในหลุม

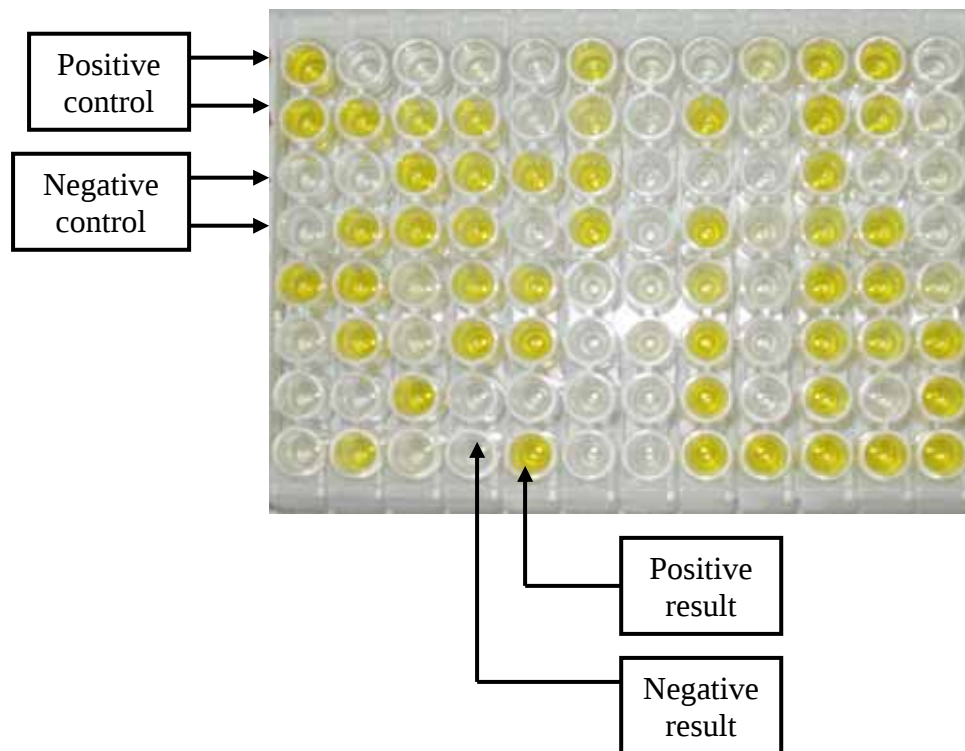
2.4.6 เติม conjugate 100 μ l ลงในแต่ละหลุมแล้วนำไป ใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.4.7 ล้างภาดทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 2.4.5

2.4.8 เติมสารละลาย substrate ลงในแต่ละหลุม จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาทีก่อนที่จะเติมสารละลายเพื่อหยุดปฏิกิริยาปริมาณ 50 μ l เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ก่อนจะนำไปวัดค่า optical density (OD) ที่ความยาวคลื่นแสง (λ) 450 nm โดยลักษณะของภาดทดสอบที่พร้อมจะนำไปวัดค่า OD ได้แสดงไว้ในภาพภาคผนวกที่ 2 ซึ่งในขั้นนี้สามารถสังเกตผลการตรวจได้จากสีของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น จากภาพภาคผนวกที่ 2 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อการตรวจจะให้สีเหลือง และในหลุมที่ไม่เกิดการเปลี่ยนสีแสดงว่าให้ผลลบต่อการตรวจ

2.4.9 การวัดค่า OD ทำภายใน 15 นาทีภายหลังการเติมสารยับยั้งปฏิกิริยา

2.4.10 การตัดสินใจว่าตัวอย่างให้ผลบวกต่อการตรวจใช้ค่า serum to positive (S/P ratio) ในการตัดสินใจโดยตัวอย่างที่มีค่า S/P ratio มากกว่า 0.5 ถือว่าตัวอย่างนั้นให้ผลบวกต่อการตรวจ



ภาพผนวกที่ 2 ผลการตรวจทางซีรั่มต่อการติดเชื้อ BLV ด้วยวิธี ELISA

ตารางผนวกที่ 4 ค่า S/P ratio ที่ได้จาก การตรวจ pooled serum ของแม่โคในแต่ละฟาร์ม

pooled serum-cow	S/P ratio	pooled serum-cow	S/P ratio
1	0.001	31	3.662
2	0.055	32	5.175
3	0.066	33	0.001
4	0.055	34	0.004
5	0.009	35	3.408
6	0.049	36	5.876
7	3.092	37	5.041
8	0.004	38	4.651
9	5.106	39	4.726
10	5.263	40	3.777
11	5.159	41	5.116
12	5.271	42	0.06
13	0.921	43	3.921
14	2.41	44	0.001
15	4.817	45	0.055
16	5.261	46	3.333
17	5.21	47	4.356
18	5.012	48	0.009
19	4.929	49	0.016
20	0.044	50	0.002
21	2.782	51	8.927
22	5.306	52	1.815
23	4.715	53	0.182
24	0.041	54	8.747
25	4.608	55	8.567
26	4.301	56	0.158
27	0.057	57	0.17
28	0.041	58	7.277
29	5.434	59	7.672
30	0.207	60	0.205

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

pooled serum-cow	S/P ratio	pooled serum-cow	S/P ratio
61	0.158	91	8.636
62	4.811	92	4.222
63	8.883	93	8.362
64	0.237	94	5.44
65	0.185	95	5.871
66	0.179	96	9.222
67	0.197	97	8.442
68	0.15	98	2.194
69	7.021	99	0.26
70	7.667	100	-0.01
71	5.719	101	6.596
72	6.58	102	8.557
73	8.631	103	0.016
74	0.244	104	0.04
75	0.187	105	4.702
76	0.205	106	9.107
77	0.136	107	8.428
78	0.158	108	7.743
79	0.143	109	6.465
80	0.16	110	-0.04
81	0.207	111	0.096
82	0.326		
83	0.21		
84	4.53		
85	0.18		
86	6.629		
87	5.12		
88	0.293		
89	0.234		
90	6.875		

ตารางผนวกที่ 5 ค่า S/P ratio ที่ได้จากการตรวจ pooled serum ของโคสาวจากแต่ละฟาร์ม

pooled serum heifer	S/P ratio	pooled serum heifer	S/P ratio
1	0.031	31	0.041
2	0.057	32	2.785
3	0.025	33	0.017
4	0.02	34	0.066
5	0.055	35	3.239
6	0.007	36	0.138
7	0.015	37	3.015
8	0.052	38	4.627
9	4.643	39	3.846
10	0.06	40	5.434
11	4.253	41	5.13
12	5.221	42	0.015
13	0.017	43	3.865
14	0.049	44	0.138
15	4.1	45	0.1
16	4.913	46	4.496
17	3.991	47	2.66
18	0.106	48	0.089
19	0.044	49	0.047
20	0.031	50	0.01
21	0.028	51	8.91
22	4.344	52	0.21
23	0.071	53	5.497
24	0.057	54	0.249
25	4.956	55	0.187
26	0.025	56	0.158
27	0.007	57	7.245
28	0.007	58	0.296
29	3.929	59	0.185
30	0.205	60	8.895

ตารางภาคผนวกที่ 5 (ต่อ)

pooled serum heifer	S/P ratio	pooled serum heifer	S/P ratio
61	0.252	91	0.043
62	7.593	92	0.03
63	0.259	93	2.768
64	7.206	94	8.504
65	0.168	95	0.063
66	6.042	96	0.053
67	3.263	97	0.003
68	0.289	98	1.519
69	0.145	99	5.812
70	9.366	100	0.297
71	6.009	101	0.013
72	6.742	102	7.809
73	0.195	103	6.778
74	0.15	104	0.02
75	2.947	105	-0.053
76	0.205	106	-0.003
77	0.185	107	6.059
78	0.168	108	0.096
79	0.205		
80	0.175		
81	1.845		
82	0.148		
83	7.065		
84	1.509		
85	2.957		
86	6.436		
87	7.366		
88	6.284		
89	7.199		
90	0.171		

3. การตรวจยืนยันเชื้อไวรัสด้วยวิธี PCR (Wajjwalku *et al.*, 1999)

3.1 การสกัด DNA

3.1.1 คูดเลือด 100 μ l ลงใน microcentrifuge tube และเติม 500 μ l ของ 4M guanidine thiocyanate, 25mM sodium citrate (pH 7.0), 0.5% sarcosyl เขย่า 10 นาที เติม chloroform 300 μ l เขย่าแล้วจึงเติม phenol ที่อิ่มตัวใน TE (10 mM Tris HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.0) นำไปปั่นที่ 13,000 รอบต่อนาทีนาน 5 นาที

3.1.2 คูดส่วนบนใส่นหลอด microcentrifuge tube ใหม่ เติม isopropanol 600 μ l แล้วนำไปปั่นที่ 13,000 รอบต่อนาทีนาน 5 นาที เทส่วนบนทิ้งแล้วจึงล้างตะกอนด้วย 75% ethanol ปล่อยให้ตะกอนแห้ง จากนั้นละลายตะกอนด้วย TE 30 μ l

3.2 ปฏิกริยา PCR

3.2.1 องค์ประกอบของ PCR

3.2.1.1 DNA ตัวอย่าง

3.2.1.2 deoxyribonucleotide triphosphate (dNTP)

3.2.1.3 PCR buffer

3.2.1.4 primer BLV 1 5' CCCTACAACCCCAACAAGTTC 3' และ

BLV2 5' TGGTGTAGCTCCCATCTGGT 3'

3.2.1.5 Taq DNA polymerase

3.2.2 PCR cycle เริ่มด้วย denature ที่ 94 องศาเซลเซียส 5 นาที ตามด้วย denature ที่ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 35 รอบ annealing ที่ 55 องศาเซลเซียส 30 วินาที และ extension ที่ 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที 35 รอบ เมื่อครบ 35 รอบแล้วจึงต่อด้วย 72 องศาเซลเซียส 5 นาที

3.2.3 ตรวจสอบ PCR product ด้วยวิธี electrophoresis ใน 1% agarose gel

3.3 ลำดับเบสบางส่วนที่ได้จาก PCR product

ลำดับเบสบางส่วนที่ได้จาก PCR product จากการศึกษานี้เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ ลำดับเบสที่มีรายงานใน Genbank (K02120) แสดงไว้ดังภาพผนวกที่ 3

K02120	AAATGGACTGCTCAAACCTTCTTCTATCTAAATATCACCTAGACGAACCCC
Product	AAATGGACTGCTCAAACCTTCTTCTATCTAAATATCACTTAGACGAACCCC
K02120	ACCTTCCCATGACTCAGGCCCTTTCTCGAGCCCTCTGGACTCACAATCAG
Product	ACCTTCCCATGACTCAGGCCCTTTCTCGAGCCCTCTGGACTCACAATCAG
K02120	ATTAACCTCCTACCAATTCTAAAGACCAGATGGGAGCTACACCA
Product	ATTAACCTCCTACCAATTCTAAAGACCAGATGGGAGCTACACCA

ภาพผนวกที่ 3 ลำดับเบสบางส่วนที่ได้จาก PCR product (product) โดยวิธีของ Wajjwalku *et al.* (1999) เมื่อเปรียบเทียบกับลำดับเบสที่ได้รายงานไว้ใน Genbank (K02120) ที่ใช้ในการศึกษานี้

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	ศุภชาติ ปานเนียม
วัน เดือน ปี ที่เกิด	10 สิงหาคม 2516
สถานที่เกิด	กรุงเทพ
ประวัติการศึกษา	สพ.บ. พ.ศ. 2540
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นายสัตวแพทย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	โรงพยาบาลสัตว์ ม. เกษตรศาสตร์หนองโพ
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนพัฒนาบุคลากรเพื่อการเพิ่มคุณภาพ คณะสัตวแพทยศาสตร์ ม. เกษตรศาสตร์ ทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์