ค่าชีวเคมีในเลือดของกระบือปลักที่เป็นโรควัณโรคในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง
Blood Biochemical Profiles of Swamp Buffaloes with Infected Tuberculosis in the Lower Northeast of Thailand

ปัญญา เจริญพจน์[1/] พิชิต ชุ่มเจริญ[2/] นิกร สางห้วยไพร[3/] และ สุวิช บุญโปร่ง[3/*]
Panya Chroenpojana[1/], Pichit Chumcharoen[2/], Nikorn Sanghuayphrai[3/] and Suvit Boonprong[3/*]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบค่าทางชีวเคมีในเลือดของกระบือปลัก เพศเมียไม่อุ้มท้อง อายุ 3 - 6 ปี ที่ผ่านการทดสอบโรควัณโรค (*Mycobacterium bovis*) โดยวิธีทูเบอร์คูลิน (Tuberculin Skin Test) ในสถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ ทำการสุ่มกระบือเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 13 ตัว ได้แก่ กลุ่มปกติ (negative, N) และกลุ่มให้ผลบวก (positive, P) เก็บตัวอย่างเลือดของกระบือ ในเดือนสิงหาคม 2556 วิเคราะห์หาค่าต่างๆ ในเลือด ผลการศึกษา ค่าชีวเคมีในเลือด พบว่า กลุ่ม N มีค่า glucose สูงกว่ากลุ่ม P ($P<0.05$) ระดับค่า blood urea nitrogen และค่า creatinine พบว่า กลุ่ม P มีค่าสูงกว่ากลุ่ม N อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สำหรับระดับเอ็นไซม์ในพลาสมา พบว่า กระบือกลุ่ม N มีค่า aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), gamma–glutamyl transferase (GGT) และ lactate dehydrogenase (LDH) ต่ำกว่ากลุ่ม P ($P<0.05$) ระดับแร่ธาตุในพลาสมา พบว่า กลุ่ม N มีระดับคลอไรด์ (Cl^-) สูงกว่ากลุ่ม P ($P<0.05$) แต่ระดับโพแตสเซียม (K^+) และแมกนีเซียม (Mg^{+2}) ของกระบือทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ : กระบือปลัก โรควัณโรค ค่าชีวเคมีในเลือด

Abstract

The objectives of this study were to examine and compare to blood biochemical profiles of cyclic female swamp buffaloes (3 to 6–year–old) with different Tuberculosis test results. These animals were Tuberculosis checked using Tuberculin Skin Test. The random animals were experimented to comprise of 13 positives (P) and 13 negatives (N). Blood samples were taken and body score conditions were recorded at the same time in September 2013. The buffaloes were kept at Buriram Livestock Research and Testing Station, Buriram province. The results in the terms of blood biochemical profiles found that N group had a higher ($P<0.05$) plasma glucose than P group. The blood urea nitrogen and creatinine levels in P group were significantly ($P<0.05$) higher than in N group. The activity of enzyme in plasma found that N group had significantly ($P<0.05$) lower aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), gamma–glutamyl transferase (GGT) and lactate dehydrogenase (LDH) levels than in P group. The electrolyte levels in plasma found that N group had significantly higher chloride (Cl^-) than the animals in P group, but potassium (K^+) and magnesium (Mg^{+2}) were not significantly different.

Keywords: swamp buffalo, Tuberculosis, blood biochemical profiles

[1/] คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ 31000

[2/] สถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์บุรีรัมย์ จังหวัดบุรีรัมย์ 31220

[3/] สำนักพัฒนาพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กรุงเทพฯ 10400

[1/]Faculty of Agricultural Technology, Buriram Rajabhat University, Buriram Province, Thailand

[2/]Buriram Livestock Research and Testing Station, Buriram Province 31220, Thailand

[3/]Bureau of Animal Husbandry and Genetic Improvement, DLD, Bangkok 10400, Thailand

*Corresponding author, E-mail: suvit_dld@hotmail.com

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรควัณโรคในโคและกระบือ (*Mycobacterium bovis*) เกิดจากแบคทีเรียชนิดหนึ่ง ส่วนใหญ่พบอาการของโรคแบบเรื้อรัง แต่อาจพบลักษณะเฉียบพลันมีอาการรุนแรงได้บ้าง (อุดม และคณะ , 2010) อาการที่พบในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น ผอม อ่อนแรง เบื่ออาหาร สามารถพบรอยโรคซึ่งมีลักษณะเฉพาะเป็นเม็ดตุ่มเล็กๆ เรียก ทูเบอร์เคิล (tubercle) ได้ในอวัยวะทั่วไป แต่พบมากที่ต่อมน้ำเหลือง (บริเวณส่วนหัวและคอ) ปอด ลำไส้ ตับ และช่องท้อง (Kanameda *et al*., 1997) โดยทั่วไปการทดสอบโรคนี้ในสัตว์มีชีวิตนิยมใช้วิธีการทดสอบโรคทางผิวหนัง (single intradermal test, SID) สำหรับตำแหน่งที่ทดสอบโดยทั่วไปนิยมใช้บริเวณโคนหาง (caudal fold of the tail) หรือกลางแผงคอ (mid-neck) โดยการฉีดแอนติเจน เช่น โบไวน์ทูเบอคูลิน (bovine tuberculin) เข้าหนังและอ่านผลการทดสอบหลังฉีด 3 วัน (72 ชั่วโมง) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานสากลที่นิยมใช้รับรองการตรวจโรควัณโรคเมื่อมีการซื้อขายสัตว์ (OIE, 2008) จากมาตรการของกรมปศุสัตว์ที่ทดสอบโรควัณโรคด้วยวิธี SID เพื่อคัดกระบือที่ให้ผลบวกออกจากฝูง พบว่ากระบือให้ผลบวกลดลง แต่ยังมีกระบือที่เป็นโรคหรือมีเชื้อวัณโรคอยู่ในฝูง ซึ่งแม้ว่าการทดสอบทางผิวหนังจะถือเป็นวิธีมาตรฐานแต่หลายครั้งที่พบกระบือที่ให้ผลทดสอบเป็นลบ แต่เมื่อผ่าชันสูตรกระบือที่ป่วยและตาย กลับพบรอยโรควัณโรค (tubercle) อย่างเด่นชัดและตรวจพบเชื้อ *M. bovis* ด้วย (อุดม และคณะ, 2010)

จากการสังเกตลักษณะภายนอกของกระบือที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบโรควัณโรค พบว่ากระบือมีลักษณะผอม ไม่มีแรง ซึ่งคาดว่าน่าจะส่งผลต่อองค์ประกอบและระบบการทำงานภายในร่างกายสัตว์ และเนื่องจากยังไม่การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าทางเคมีในเลือด ได้แก่ เอ็นไซม์ ระดับเมตาโบไลต์ (metabolites) และโปรตีนในเลือดนั้น ในกระบือที่เป็นโรควัณโรคในประเทศไทย ดังนั้นผลการศึกษาครั้งนี้จะเป็นเครื่องมือที่ช่วยวินิจฉัยสุขภาพของสัตว์ การติดเชื้อโรคของสัตว์ (Canfield *et al*., 1985) เพื่อใช้ในการรักษาโรคร่วมกับการวินิจฉัยทางด้านสัตวแพทย์ จะทำให้ช่วยยืนยันสภาพของสัตว์ ได้ (Bogin, 1994; Kaneko *et al*., 1997; Stockham and Scott, 2002)

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบค่าคุณสมบัติทางชีวเคมีในระดับเอ็นไซม์และเมตาโบไลต์ในพลาสมา และ ซีรั่มโปรตีนในเลือดระหว่างกระบือในสภาวะที่มีสุขภาพดี กับให้ผลบวกต่อโรควัณโรค (*Mycobacterium bovis*)

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาเปรียบเทียบค่าคุณสมบัติทางชีวเคมีในระดับเอ็นไซม์และเมตาโบไลต์ในพลาสมา และซีรั่มโปรตีนในเลือดระหว่างกระบือในสภาวะที่มีสุขภาพดี กับให้ผลบวกต่อโรควัณโรค (*Mycobacterium bovis*) ในกระบือ 2 กลุ่มๆ ละ 13 ตัว รวม 26 ตัว ที่เลี้ยงในสถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์บุรีรัมย์ อำเภอปะคำ จังหวัดบุรีรัมย์

1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ

4.1 โรควัณโรค หมายถึง โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่เรียกว่า *ไมโคแบคทีเรียม โบวิส* (*Mycobacterium bovis*) เป็นโรคติดต่อเรื้อรัง สามารถติดต่อระหว่างคนกับสัตว์ได้ เชื้อโรคนี้มีความทนทานสามารถอยู่ในซากสัตว์ได้หลายสัปดาห์ และอยู่ในน้ำนมได้ประมาณ 10 วัน

4.2 กระบือที่มีสุขภาพดี หมายถึง กระบือที่มีความสมบูรณ์ของร่างกายดี เมื่อทดสอบโรควัณโรคโดยวิธีทูเบอร์คูลิน (tuberculin skin test) โดยการฉีดแอนติเจน โบไวน์ ทูเบอคูลิน (bovine tuberculin) เข้าหนังและอ่านผลการทดสอบหลังฉีด 3 วัน (72 ชั่วโมง โดยมีความหนาของผิวหนังที่เพิ่มขึ้น น้อยกว่า 2 มิลลิเมตร) แสดงว่าให้ผลลบ (negative)

4.3 กระบือให้ผลบวก หมายถึง กระบือที่มีความสมบูรณ์ของร่างกายดี เมื่อทดสอบโรควัณโรค โดยวิธีทูเบอร์คูลิน (tuberculin skin test) โดยการฉีดแอนติเจน โบไวน์ ทูเบอคูลิน (bovine tuberculin) เข้าหนังและอ่านผลการทดสอบหลังฉีด 3 วัน (72 ชั่วโมง) โดยมีความหนาของผิวหนังที่เพิ่มขึ้น ตั้งแต่ 5 มิลลิเมตร ขึ้นไป แสดงว่าให้ผลบวก (positive)

4.4 ค่าชีวเคมีในเลือดของกระบือปลัก หมายถึง ระดับเอ็นไซม์และเมตาโบไลต์ในพลาสมาและ ซีรั่ม ได้แก่ glucose (GLU), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), gamma – glutamyl transferase (GGT), lactate dehydrogenase (LDH), แร่ธาตุ (electrolyte) ในพลาสมา ได้แก่ potassium, chloride, magnesium และ globulin

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

5.1 เป็นประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคร่วมกับวิธีทางสัตวแพทย์ได้ และช่วยคัดเลือกหรือการคัดแยกกระบือที่ให้ผลเป็นบวก หรือเป็นโรค Tuberculosis ออกจากฝูงสัตว์ ได้แม่นยำมากขึ้น ทำให้สร้างความปลอดภัยต่อทั้งฝูงสัตว์ เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ และผู้บริโภค

5.2 ผู้เลี้ยงกระบือเพื่อจำหน่ายมีสุขภาพดี มีคุณภาพชีวิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการประกอบอาชีพเลี้ยงกระบือเพิ่มขึ้น เกษตรกรที่เลี้ยงกระบือมีรายได้เพิ่มขึ้น ทำให้อาชีพการเลี้ยงและการอนุรักษ์กระบือปลักไทยมีความยั่งยืน

5.3 ผู้บริโภคมีสุขภาพและความปลอดภัยจากการซื้ออาหารที่ปลอดภัยและบริโภคผลิตภัณฑ์จากกระบือที่มีสุขภาพดีปลอดจากโรควัณโรค มีขั้นตอนการเลี้ยงดู การป้องกันและรักษาโรค ทำให้สัตว์มีสุขภาพดี และไม่เกิดความเครียด ส่งผลต่อขั้นตอนกระบวนการแปรรูปการผลิตภัณฑ์จากเนื้อกระบือที่สะอาดและมีคุณภาพสูง

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญของค่าชีวเคมีในเลือดกับสุขภาพสัตว์

หลายทศวรรษที่ผ่านมา การผลิตปศุสัตว์จะมุ่งเน้นการเพิ่มประสิทธิภาพ เพื่อให้ได้ผลผลิตสูง ทั้งในรูป เนื้อ นมไข่ เป็นต้น แต่ในหลายปีที่ผ่านมานี้ ผู้บริโภคส่วนใหญ่ทั่วโลกมีคุณภาพชีวิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจาการประกอบอาชีพเพิ่มขึ้น จึงคำนึงถึงสุขภาพและความปลอดภัยตนเองและครอบครัว มุ่งเน้นที่จะเลือกซื้ออาหารที่ปลอดภัยและบริโภคผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่มีสุขภาพดี มีขั้นตอนการเลี้ยงดูและการผลิตที่สะอาดและมีคุณภาพสูง ปัจจัยที่ส่งผลผลิตที่มีคุณภาพและสัตว์มีสุขภาพดี ได้แก่ การจัดการเลี้ยงดู การป้องกันและรักษาโรค สัตว์มีสุขภาพดี และไม่เกิดความเครียด สำหรับการศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าทางเคมีของเลือด ได้แก่ เอ็นไซม์ ระดับเมตาโบไลต์ (metabolites) และโปรตีนในเลือด จะเป็นเครื่องมือที่ช่วยวินิจฉัยสุขภาพของสัตว์เพื่อใช้ในการรักษาโรคร่วมกับการวินิจฉัยทางสัตวแพทย์ ซึ่งจะทำให้ช่วยทำนายสภาพของสัตว์ได้ และอาจเป็นตัวแทนในการบอกความแข็งแรงและความสมบูรณ์ของร่างกายได้ดีกว่า การสังเกตจากลักษณะภายนอกของสัตว์เพียงอย่างเดียว (Bogin, 1994; Kaneko *et al*., 1997; Stockham and Scott, 2002) นอกจากนี้ ค่าชีวเคมีในเลือด เป็นสิ่งจำเป็นที่จะใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาพความสมบูรณ์ของสัตว์ ช่วยในการคัดเลือกพ่อ-แม่พันธุ์กระบือดี และอาจนำไปใช้ในสัตว์ชนิดอื่นได้ (Kaneko *et al*., 1997; Stockham and Scott, 2002)

2.2 การชันสูตรโรควัณโรคในโคและกระบือ

มนยา (2555) รายงานว่า โรควัณโรค (Tuberculosis) เป็นโรคติดต่อเรื้อรัง สามารถติดต่อระหว่างคนกับสัตว์ได้ เชื้อโรคนี้มีความทนทานสามารถอยู่ในซากสัตว์ได้หลายสัปดาห์ และสามารถอยู่ในน้ำนมได้ประมาณ 10 วัน สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่เรียกว่า *Mycobacterium bovis* ตัวการที่แพร่โรค คือ คนและสัตว์ที่ป่วย การติดต่อเกิดขึ้นได้หลายทาง สำหรับการติดต่อ การหายใจ จะพบมากที่สุดถึง 70% การกินน้ำ อาหาร น้ำนม การสัมผัสทางผิวหนังที่เป็นแผล ติดต่อจากแม่ที่ป่วยไปยังลูกในท้องโดยผ่านทางสายสะดือ การผสมพันธุ์

วัณโรคในโคและกระบือ (*Mycobacterium bovis*) ลักษณะรอยโรคที่พบบ่อยคือ มีลักษณะเฉพาะเป็นเม็ดตุ่มเล็กๆ เรียก ทูเบอร์เคิล (tubercle) ส่วน ใหญ่พบเป็นโรคแบบเรื้อรัง แต่อาจพบลักษณะเฉียบพลันมีอาการรุนแรงได้บ้าง สามารถพบรอยโรคได้ในอวัยวะทั่วไป แต่พบมากที่ต่อมน้ำเหลือง (บริเวณส่วนหัวและคอ) ปอด ลำไส้ ตับ และช่องอก สำหรับอาการของโรค สัตว์จะเบื่ออาหารซูบผอมลงเรื่อยๆ ในกรณีที่เกิดขึ้นที่ปอดช่องอก สัตว์อาจจะมีไข้ได้เล็กน้อย อาการอื่นๆ นอกจากนี้จะขึ้นกับอวัยวะที่เป็น เช่น เกิดวัณโรคที่ปอด สัตว์จะไอในตอนกลางคืนหรือเมื่อทำงานหนัก วัณโรคที่ลำไส้จะมีอาการท้องเสียร่วมด้วย วัณโรคที่ลูกอัณฑะ ลูกอัณฑะจะบวมโต วัณโรคที่เต้านม เต้านมจะอักเสบ วัณโรคที่สมองจะพบว่าสัตว์มีอาการทางประสาท เมื่อชำแหละซากสัตว์ที่ป่วยเป็นโรคนี้จะพบตุ่มเป็นก้อนสีเทามันๆ ตรงกลางจะเป็นหนองสีเหลือง หนองแข็ง หรือแบบมีหินปูนแทรกขึ้นกับระยะเวลาที่เป็นโรคตุ่มนี้มักพบตามอวัยวะหรือต่อมน้ำเหลือง โดยทั่วไปการทดสอบโรคในสัตว์มี

ชีวิตนิยมใช้วิธีการทดสอบโรคทางผิวหนัง เพราะโรคนี้ทำให้สัตว์เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ได้ โดยการฉีดแอนติเจน เช่น โบไวน์ทูเบอคูลิน (bovine tuberculin) เข้าหนังและอ่านผลการทดสอบหลังฉีด 3 วัน (72 ชั่วโมง) วิธีนี้เป็นวิธีมาตรฐานสากลที่นิยมใช้ในการรับรองการตรวจโรควัณโรคเมื่อมีการซื้อหรือขายสัตว์ การทดสอบดังกล่าวเป็นหนึ่งในหลายๆ วิธีที่อาศัยหลักการตอบสนองของร่างกายสัตว์ที่เรียกว่า ดีเลย์ ไฮเปอร์เซนซิติวิตี (delayed hypersensitivity) เป็นภูมิไวเกินที่เกิดขึ้นแบบเนิ่นช้า คือ เกิดขึ้นภายใน 24 ถึง 48 ชั่วโมงหลังแอนติเจนเข้าสู่ร่างกาย หรือหากแบ่งตามแบบของ Coombs and Gell (1975) จะจัดอยู่ในปฏิกิริยาภูมิไวเกินชนิดที่สี่ (type IV reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากลิมโฟไซต์ กลุ่มทีเซลล์ (T cells) ที่ถูกกระตุ้นโดยเฉพาะ (specifically sensitized T cell lymphocyte) กับแอนติเจน และมีการหลั่งสารที่เรียกรวมกันว่า ลิมโฟไคน์ (lymphokines) และพบว่าในบริเวณที่ฉีดแอนติเจนเข้าไป จะมีการอักเสบและการเข้ามารวมตัวกัน (infiltration) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีนิวเคลียสเดี่ยว (mononuclear leucocyte) กลไกที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางผิวหนังหลังฉีดแอนติเจน เช่น สารพีพีดี (tuberculin purified protein derivative, PPD) เข้าหนังในสัตว์ที่มีภูมิไวเกินชนิดที่สี่นั้น พบว่าในระยะแรกๆ แอนติเจนจะกระจายออกไปอย่างรวดเร็ว และใน 5 ชั่วโมง ต่อมาจะเหลือเพียง 10–20% ของแอนติเจน ที่ฉีด เนื่องจากถูกเก็บกักโดยแมคโครฟาจ (macrophage) ระยะนี้จะมีการอักเสบเล็กน้อยเกิดขึ้น ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสัตว์ปกติกับสัตว์ที่มีภูมิไวเกิน ในระยะต่อมาจะมีการบวมแดงและมีลักษณะแข็ง (erythema and induration) เกิดขึ้น ซึ่งเกิดมากที่สุดในระยะเวลา 24–48 ชั่วโมงภายหลังฉีด และเซลล์ที่แทรกซึมนั้นส่วนใหญ่เป็นพวกลิมโฟไซต์และแมคโครฟาจ ที่เป็นเช่นนี้เพราะในระยะที่มีการอักเสบน้อยๆ นั้น T cell ที่ถูกกระตุ้น (sensitized T cell) ซึ่งมาทางกระแสเลือดได้มาพบกับแอนติเจนและทำปฏิกิริยากัน เกิดมีการหลั่งสารพวกลิมโฟไคน์ (lymphokines) ออกมา การหลั่งสารดังกล่าวนี้ จะยับยั้งการเคลื่อนที่ของแมคโครฟาจ (macrophage migration inhibitory factor, MIF) ทำให้แมคโครฟาจไม่เคลื่อนห่างออกไปจากบริเวณที่ฉีดแอนติเจน แต่ MIF ไม่มีผลต่อเม็ดเลือดขาวชนิดหลายนิวเคลียส (polymorphonuclear leukocyte, PMN) ทำให้ PMN ที่เข้ามาในบริเวณนั้นสามารถเคลื่อนออกไปได้ นอกจากนั้น สารกระตุ้นผิวหนัง (skin reactive factor, SRF) ที่หลั่งออกมา จะทำให้มีการอักเสบเฉพาะที่และมีการซึมผ่าน (permeability) หลอดเลือดได้สูงขึ้น (มกอช., 2547; OIE, 2000)

การตรวจวินิจฉัยโรควัณโรค สามารถสังเกตและตรวจผลในห้องปฏิบัติการ ดังนี้

1. ตรวจดูลักษณะอาการทั่วไป: น้ำหนักลด ซูบผอม มีอาการเกี่ยวกับระบบหายใจ ต่อมน้ำเหลืองบวมโต

2. การทดสอบทางผิวหนัง เน้นทดสอบโรคโดยการฉีดสารทูเบอร์คูลินเข้าชั้นผิวหนังที่บริเวณใต้โคนหางหรือแผงคอ อ่านผลโดยการวัดความหนาของชั้นผิวหนังหลังฉีด 72 ชั่วโมง

3. การตรวจในห้องปฏิบัติการ เช่น การแยกหาเชื้อแบคทีเรีย การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาการย้อมสี และการตรวจทางซีรั่มวิทยา การตรวจดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ

การเก็บตัวอย่างส่งห้องปฏิบัติการ

1. แยกหาเชื้อแบคทีเรีย: เก็บวิการแช่เย็น/แช่แข็ง
2. ตรวจทางจุลพยาธิวิทยา: เก็บวิการแช่ในน้ำยาฟอร์มาลินบัฟเฟอร์ 10%

การชันสูตร

Coombs and Gell (1975) และ OIE (2000) ให้ข้อแนะนำไว้ว่า วิธีการทดสอบโรคทางผิวหนัง ถือเป็นวิธีชันสูตรมาตรฐานในการชันสูตรโรควัณโรคในโคและกระบือที่มีชีวิต เดิมใช้ heat-concentrated synthetic medium (HCSM) เป็นสารในการทดสอบ แต่ปัจจุบันนิยมใช้ PPD เนื่องจากมีความจำเพาะ (specificity) มากกว่า มีการใช้อย่างแพร่หลายและหลายบริษัทผลิตจำหน่าย การทดสอบโรคนั้นอาจใช้ bovine tuberculin เพียงชนิดเดียว (single intradermal test) หรือใช้วิธีเปรียบเทียบ (intradermal comparative test) โดยมีการใช้เอเวียนทูเบอร์คูลิน (avian tuberculin) และ bovine tuberculin ในการทดสอบ สำหรับตำแหน่งที่ทดสอบโดยทั่วไปนิยมใช้บริเวณ กลางแผงคอ (mid-neck) แต่สามารถใช้บริเวณโคนหาง (caudal fold of the tail) ก็ได้ แม้ว่าที่แผงคอจะ
มีความไวต่อการทดสอบ (sensitive) แต่สามารถเพิ่มความไวของการทดสอบที่โคนหางได้โดยการเพิ่มปริมาณสารทดสอบ

อุปกรณ์และสารทดสอบ

1) Tuberculin PPD (bovine): เป็นสารละลายปลอดเชื้อของสารสกัดโปรตีนของเชื้อ *Mycobacterium bovis* (strain AN5) ที่เจริญบนอาหารสังเคราะห์และผ่านการกรองหลังขบวนการฆ่าเชื้อด้วยวิธีผ่านความร้อน มีหน่วยความเข้มข้นเป็น มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Weybridge reference standard)

2) กระบอกฉีดยาขนาดเล็ก (Tuberculin syringe): กระบอกฉีดยาที่ใช้ต้องมีความแข็งแรงเพียงพอต่อการใช้งาน สามารถผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต้ม มีปริมาตรที่มีการสอบเทียบอย่างน้อยในช่วง 0.1 มิลลิลิตร

3) เข็ม: ขนาดของเข็มที่ใช้มีความสำคัญมาก ต้องไม่กว้างหรือยาวเกินไปซึ่งจะส่งผลให้ปริมาณสารที่ฉีดไม่ถูกต้องหรือสูญเสียไป โดยทั่วไปนิยมใช้เบอร์ 26 (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 มิลลิเมตร) มีความยาว 3 ถึง 4 มิลลิเมตร

4) เครื่องมือวัดความหนาของผิวหนัง (Calipers)

5) อุปกรณ์ที่ใช้ทดสอบโรคต้องสะอาดปราศจากเชื้อก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง และต้องปลอดจากสารเคมีหรือสารฆ่าเชื้อ (Antiseptic) ใดๆ เนื่องจากอาจมีผลต่อสารทดสอบหรือผลการทดสอบได้

6) ควรเก็บรักษาสารทดสอบไม่ให้ถูกแสง มีอุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส ห้ามแช่แข็ง

วิธีการทดสอบ

การทดสอบโรคทางผิวหนัง ใช้วิธีต่อไปนี้อย่างใดอย่างหนึ่ง ดังต่อไปนี้

1) ทดสอบโดยใช้แอนติเจนชนิดเดียว (single intradermal test) โดยการฉีดสารทดสอบขนาด 0.1 มิลลิลิตร (2,000 international unit) เข้าหนังบริเวณโคนหางและไม่ควรฉีดเข้าร่างกายสัตว์เกิน 0.2 มิลลิลิตร ทั้งนี้เนื่องจากความสะดวกในการปฏิบัติงานและผลทดสอบเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ก่อนทำการทดสอบบริเวณที่ฉีดจะต้องสะอาด (ไม่ควรใช้สารเคมีหรือยาฆ่าเชื้อใดๆ) หลังฉีดควรมีการตรวจสอบว่ามีการฉีดเข้าตำแหน่งที่ถูกต้องหรือไม่ โดยการสังเกตหรือคลำตำแหน่งที่ฉีดพบตุ่มใสเล็กๆ หรือไม่ ในบางกรณีอาจต้องทำการวัดความหนาของผิวหนังก่อนทำการฉีดด้วยเครื่องวัดความหนาของผิวหนัง

2) ทดสอบโดยใช้แอนติเจนมากกว่า 1 ชนิด (intradermal comparative test) ซึ่งขนาดของสารทดสอบที่ใช้ต้องไม่น้อยกว่า 2,000 IU ของ bovine tuberculin และ avian tuberculin

โดยตำแหน่งที่ฉีดสารทดสอบทั้งสองชนิดควรมีระยะห่างกัน 12 ถึง 15 เซนติเมตร บนบริเวณแผงคอด้านเดียวกัน ต้องมีการทำเครื่องหมายระบุตำแหน่งและบันทึกความหนาของผิวหนังก่อนการทดสอบเพื่อใช้เปรียบเทียบในการอ่านผล ในสัตว์ขนาดเล็กหรือลูกสัตว์อาจฉีดบริเวณกึ่งกลางส่วนที่สามของแผงคออย่างละข้างก็ได้

การอ่านผล

1) อ่านผลหลังฉีดสารทดสอบ 72 ชั่วโมง ให้อ่านผลการทดสอบว่าเป็นบวก เมื่อพบมีการบวมตรงบริเวณที่ฉีด ลักษณะการบวมที่พบจะแตกต่างกันไปในแต่ละราย อาจมีลักษณะแน่น กลม ยกขอบนูน บางครั้งอาจนิ่มและกระจายออก พบลักษณะเนื้อตายเฉพาะที่ การบวมน้ำ การอักเสบ ฯลฯ เกณฑ์การตัดสินให้วัดจากขนาดของเม็ดตุ่มผิวหนัง มีดังนี้

ความหนาของผิวหนังที่เพิ่มขึ้น	**เกณฑ์ตัดสิน**
น้อยกว่า 2 มิลลิเมตร	ให้ผลลบ (negative)
ระหว่าง 2 – 5 มิลลิเมตร	ให้ผลสงสัย (inconclusive)
ตั้งแต่ 5 มิลลิเมตร ขึ้นไป	ให้ผลบวก (positive or reactor)

2) ให้ดูการเปลี่ยนแปลงหรืออักเสบของบริเวณที่ฉีดประกอบการพิจารณาด้วย อย่างไรก็ตามในฝูงที่มีประวัติพบสัตว์ป่วยเป็นวัณโรค เมื่อพบมีการบวมที่สามารถเห็นหรือสัมผัสได้ควรอ่านเป็นผลบวกต่อการทดสอบ

3) การทดสอบซ้ำ ให้ดำเนินวิธีการทดสอบเช่นเดียวกับที่กล่าวมา โดยให้ทิ้งช่วงห่างอย่างน้อย 60 วัน นับจากวันที่ทำการฉีดทดสอบครั้งล่าสุด

การดูแลรักษาเบื้องต้น ไม่มียารักษา เมื่อพบสัตว์ป่วยให้แยกออกจากฝูง แล้วทำลาย

การควบคุมและป้องกันโรค

1. ควรติดต่อสัตวแพทย์ในท้องที่ให้ทำการทดสอบโค-กระบือ หรือสัตว์กระเพาะรวมอื่นๆ เช่น แพะ แกะ ด้วยวิธีการทดสอบทางผิวหนังอย่างสม่ำเสมอ ปีละ 1 ครั้ง
2. ถ้าพบว่าสัตว์ในฝูงเป็นโรคหรือสงสัยว่าเป็นโรค ควรแยกสัตว์นั้นออกจากฝูงและทำลายสัตว์
3. ฟาร์มที่เคยมีประวัติการเป็นโรค หรือยังคงมีโรคนี้อยู่ต้องมีการตรวจโรคสม่ำเสมอและเฝ้าระวังโรค
4. การนำสัตว์เข้า-ออก จากฟาร์ม ต้องทำการตรวจโรค

2.3 ค่าชีวเคมีในเลือด (Biochemical profile)

ระดับกลูโคส (Glucose) ในเลือดที่อยู่ในช่วงค่าปกติอาจเป็นตัวบ่งชี้ทางการแพทย์ ระดับที่สูงอย่างเรื้อรังบ่งบอกว่าอยู่ในภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) และระดับต่ำบ่งบอกว่าอยู่ในภาวะระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia) (Bogin, 1994; Kaneko et al., 1997)

Blood Urea Nitrogen (BUN) คือ การหาสาร Urea Nitrogen ในเลือดเพื่อดูการทำงานของไต ทั้งนี้เนื่องจากยูเรียเป็นผลิตผลสุดท้ายของการเผาผลาญโปรตีน ซึ่งจะถูกขับออกทางไต BUN เพิ่มขึ้น พบในกรณีที่มีการสังเคราะห์ยูเรียมากไป (Bogin, 1994; Kaneko *et al.*, 1997) ค่า Total protein แสดงถึงการปรับสภาพร่างกาย และค่าทางชีวเคมีของร่างกายให้สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมอากาศร้อน และมีแมลงดูดเลือดชุกชุม (Bogin, 1994)

เอ็นไซม์ Aspartate aminotransferase (AST) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ช่วยตรวจคัดกรอง และ/หรือวินิจฉัยสภาวะโรคตับ และภาวะโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดหัวใจชนิดหนึ่ง โดยเอนไซม์ AST พบได้มากที่ตับ และกล้ามเนื้อหัวใจ และส่วนน้อยพบได้ที่เซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง ไต สมอง ตับอ่อน ปอด เม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง ค่า AST ในเลือดน้อยมาก แต่หากเซลล์ตับ หรือเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ และอื่นๆ ดังข้างต้นถูกทำลาย จะมีเอนไซม์ AST จากอวัยวะนั้นๆออกมาที่ระบบเลือดปริมาณมากขึ้น ซึ่งอาจจะพบอาการแสดงของโรคนั้นๆ ร่วมด้วย (Kaneko *et al*., 1997)

เอ็นไซม์ Alanine aminotranferase (ALT) ใช้ช่วยตรวจคัดกรอง และ/หรือวินิจฉัยภาวะโรคตับ โดย ALT เป็นเอนไซม์ที่พบได้ในเซลล์ตับเป็นส่วนใหญ่ และสามารถพบได้ในเซลล์หัวใจและกล้ามเนื้อเล็กน้อย สำหรับในผู้สุขภาพดี จะพบค่า ALT ในเลือดน้อยมาก แต่หากเซลล์ตับถูกทำลาย จะมีเอนไซม์ ALT จากตับออกมาที่ระบบเลือดปริมาณมากขึ้น ซึ่งอาจจะพบอาการแสดงของโรคตับร่วมด้วย (Kaneko *et al*., 1997; Stockham and Scott, 2002)

เอ็นไซม์ Alkaline phosphatase (ALP) เป็นสารที่พบมากในกระดูก ตับ ไต ลำไส้ รก และเลือดการตรวจวัดค่า ALP ในซีรัมมีความสำคัญในการวินิจฉัยโรคที่เกี่ยวกับตับ-ทางเดินน้ำดี และโรคของกระดูกโดยปกติแล้วจะพบค่า ALP สูงในคนที่มีโรคเกี่ยวกับกระดูกหรือการอุดตันของทางเดินน้ำดี (Stockham and Scott, 2002; Srisakdi *et al*., 2013)

Gamma-Glutamyltranferase (GGT) เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในเซลล์ของอวัยวะหลายชนิด แต่ค่าที่พบในเลือดจะมาจากตับเป็นส่วนใหญ่ ปกติจะตรวจพบจากเลือดได้ในปริมาณไม่มาก ถ้าเมื่อไหร่ตรวจพบมาก แสดงว่าเซลส์ตับมีการเสียหาย เอนไซม์ GGT ถึงรั่วออกมาในเลือดได้ (Kaneko *et al*., 1997; Stockham and Scott, 2002)

สำหรับการศึกษาค่าชีวเคมีของเลือดในร่างกายสัตว์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่จำเป็นในอนาคตที่จะใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาพความสมบูรณ์ของร่างกายสัตว์ จะช่วยในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์สัตว์เศรษฐกิจที่ดี ซึ่งค่าต่าง ๆ ที่ศึกษามีความสำคัญต่อร่างกายสัตว์ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาในกระบือปลักไทย (Srisakdi *et al*., 2013)

ส่วนรายงานการวิจัยอื่นๆ ในประเทศไทย เช่น สุวิช บุญโปร่ง และคณะ (2552) รายงานว่า glucose (GLU) เป็นวัตถุดิบสำคัญที่ใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมเพื่อให้เกิดพลังงานภายในเซลล์ (Rook and Line, 1961; Radostits *et al*., 1994; Singh *et al*., 2002) นอกจากนี้กลูโคสยังเป็นตัวบ่งชี้ความต้องการพลังงานของร่างกายได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับโภชนะตัวอื่นๆ โดยเฉพาะในสัตว์ที่เต็มวัย (Mudron *et al*., 2005) และจากรายงานของ ชำนาญ ดงปาลี และคณะ (2550) ศึกษาเปรียบเทียบในโคขาวลำพูนระหว่างกลุ่มที่มีเห็บรบกวนกับกลุ่มที่ไม่มีเห็บ พบว่ากลุ่มที่มีเห็บรบกวนมีระดับกลูโคสต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่มีเห็บอย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) และมีค่าต่ำกว่าช่วงระดับกลูโคสของค่ามาตรฐานโค (Kaneko *et al*., 2008) แสดงให้เห็นว่า โคที่มีเห็บรบกวนจะขาดอาหารหรือพลังงานที่จะใช้ประโยชน์ในร่างกาย ยูเรียไนโตรเจน (blood urea nitrogen; BUN) ในพลาสมาเป็นสารที่บ่งชี้สภาพปกติที่สัตว์ได้รับปริมาณโปรตีนจากอาหาร (Kaneko *et al*., 2008; Coppo, 2002) และเป็นตัวชี้วัดการทำหน้าที่ของไตร่วมกับระดับ creatinine (Cr) ถ้าสารเหล่านี้มีค่าสูงกว่าปกติ แสดงว่าไตหรือหน่วยกรองไตผิดปกติหรือถูกทำลาย นอกจากนี้ยังใช้วินิจฉัยโรคบางอย่างของโคตัวนั้นได้ เช่น ถ้า BUN สูงกว่า 14.28 mmol/L แสดงว่า เป็นโรคไตอักเสบ ถ้าสูงกว่า 17.85 mmol/L แสดงว่า เป็นโรคไตอักเสบเรื้อรัง ถ้าสูงกว่า 35.70 mmol/L แสดงว่า เป็นโรคไตเสื่อมอย่างร้ายแรง ถ้าสูงกว่า 71.40 mmol/Lแสดงว่า เป็นโรคไตเสื่อมบริเวณกว้างมาก และถ้าสูงกว่า 107.10 mmol/L สัตว์จะ

ตายในที่สุด (Jain, 1996; Stockham and Scott, 2002) ส่วนในโค Paraguayan ในประเทศแอฟริกาใต้ (Otto *et al*., 1992) และโค Angoni ในประเทศโมซัมบิก (Otto *et al*., 2002) ซึ่งต่างพบว่ามีค่า BUN ต่ำกว่าค่ามาตรฐานของโค (5.4 mmol/Lในโค Paraguayan และ Angoni เมื่อเทียบกับ 7.1 – 10.7 mmol/L) ซึ่งผลจากโคทั้งสองพันธุ์ในทวีปแอฟริกามีค่า BUN ต่ำกว่าค่ามาตรฐานของโค สาเหตุนอกจากอิทธิของพันธุกรรมสัตว์แล้ว ความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมสูง เช่น ปริมาณน้ำฝน อากาศที่ร้อนจัดในกลางวันและหนาวจัดในกลางคืน รวมทั้งมีปริมาณแมลงดูดเลือดจำนวนมาก ส่งผลให้มีระดับ BUN ในพลาสมาต่ำไปด้วย ส่วนระดับ creatinine (Cr) นั้น พบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับ BUN ในพลาสมา (สุวิช บุญโปร่ง และคณะ, 2552; Srisakdi *et al*., 2013)

สำหรับเอ็นไซม์ aspartase amino tranferase (AST), alanine amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) และ gamma-glutamyltransferase (GGT) จะเป็นตัวบ่งชี้ความผิดปกติและการทำงานของหัวใจ ตับ และกล้ามเนื้อในร่างกายสัตว์ เอ็นไซม์ที่มีค่าสูงกว่าปกติแสดงว่ากล้ามเนื้อหัวใจ หรือเซลล์ตับ หรือเซลล์กล้ามเนื้อของร่างกายสัตว์ถูกทำลาย (Kaneko *et al*., 1997)

ค่า AST เป็นเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับตับ ค่าปกติกระบือ เท่ากับ 114 – 147 U/L; Randhawa *et al*., 1997; Divya and Jayavardhanan, 2011) สำหรับในสัตว์เคี้ยวเอื้องอื่นๆ เช่น โคเนื้อ จากรายงานการศึกษาของ สุวิช และคณะ (2552) พบว่าระดับค่าเอ็นไซม์ AST ในพลาสมาหรือ glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) พบว่า โคขาวลำพูน มีค่าเอ็นไซม์ AST อยู่ในช่วงของโคปกติเท่ากับ 78.0 – 132.0 U/L (Kaneko *et al*., 2008) เอ็นไซม์ AST พบใน ตับ เม็ดเลือดแดง หัวใจ กล้ามเนื้อ ตับอ่อน และไต สามารถใช้วินิจฉัยเกี่ยวกับ ตับ และหัวใจของสัตว์ ถ้าระดับเอ็นไซม์ AST ต่ำกว่าปกติ แสดงว่ากล้ามเนื้อตับ และหัวใจของสัตว์ถูกทำลาย (Stockham and Scott, 2002)

สำหรับเอ็นไซม์ ALT มีค่าอยู่ในช่วงของโคปกติ เท่ากับ 11.0 – 40.0 U/L (Kaneko *et al*., 2008) ค่า ALT กระบือปกติอยู่ระหว่าง 42 – 58 U/L; Randhawa *et al*. (1997) ส่วนในกระบือปลักไทยยังไม่มีรายงานการศึกษา สำหรับ ALT นั้น สามารถใช้วินิจฉัยเกี่ยวกับ ตับ และหัวใจของสัตว์ การหลั่งเอ็นไซม์ ALT ที่สูงกว่าปกติ แสดงถึงสภาวะที่กล้ามเนื้อของตับถูกทำลาย เช่น โรคไวรัสตับอักเสบ (viral hepatitis) หรือ กล้ามเนื้อหัวใจถูกทำลาย (Canfield *et al*., 1985)

ระดับเอ็นไซม์ ALP ในโคมีค่าอยู่ในช่วงโคปกติ เท่ากับ 0 – 488 U/L (Kaneko *et al*., 2008) ระดับ ALP มีมากในเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างกระดูก (osteoblast) นอกจากนี้ยังสร้างจากแหล่งอื่นๆ อีก เช่น ตับ รก และเซลล์ท่อน้ำดีโดยปกติระดับเอ็นไซม์ ALP จะสูงในสัตว์ที่อายุน้อย โดยมีระดับสูงสุดภายใน 2-3 สัปดาห์หลังคลอด ระดับ ALP จะลดลงกลับเข้าสู่ระดับปกติเมื่อสัตว์โตเต็มที่ (Stockham and Scott, 2002) และสูงขึ้นในสัตว์ที่กำลังอุ้มท้อง เนื่องจากระดับ ALP ที่สูงขึ้นมีแหล่งสร้างมาจากรก ซึ่งปกติ ALP ที่มีมากเกินความจำเป็นจะถูกขับออกทางท่อน้ำดี ดังนั้นสัตว์ที่ป่วยเป็นโรคท่อน้ำดี-ตับสาเหตุเนื่องจากมีการอุดตันของท่อน้ำดี จะทำให้มีระดับ ALP สูงกว่าปกติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีการอุดตันของท่อน้ำดีภายนอกตับ (extrahepatic cholestasis) จะมีระดับ ALP ในพลาสมาสูงกว่าการอุดตันของท่อน้ำดีภายในตับ (intrahepatic cholestasis) นอกจากนี้สัตว์ที่เป็นโรคกระดูกที่มีการเพิ่มการสร้างกระดูกผิดปกติ (osteoblastic activity) จะมีระดับ ALP สูงกว่าปกติ โดยมี ALP ในพลาสมาสูงกว่าประมาณ 10 – 25 เท่า ของสัตว์ที่ร่างกายปกติ นอกจากนี้ ALP จะมีระดับสูงกว่าปกติในสัตว์ที่เป็นโรค hyperparathyroidism ซึ่งโรคนี้มักเกิดเนื่องจากการเป็นมะเร็งของต่อมพาราไทรอยด์ และการมีฮอร์โมนพาราไทรอยด์มากกว่าปกติ ทำให้สูญเสียแคลเซียมจาก

กระดูก ทำให้ร่างกายสร้างกระดูกใหม่จาก osteoblast ส่วนโรคที่ไม่เกี่ยวกับกระดูกและท่อน้ำดี-ตับ อาจมี ALP สูงขึ้นปานกลาง ได้แก่ โรคหัวใจวาย (congestive heart failure) แผลเปื่อยในลำไส้ใหญ่ (ulcerative colitis) แผลเปื่อยในลำไส้เล็กเฉพาะที่ (regional enteritis) และ โรคติดเชื้อแบคทีเรียในช่องท้อง (intra abdominal bacterial infection) (Canfield *et al*., 1985; Kaneko *et al*., 1997; Stockham and Scott, 2002)

เอ็นไซม์ Gamma-GlutamylTransferase (GGT) ในโคปกติมีค่าเท่ากับ 6.1–17.4 U/L (Kaneko *et al*., 1997) ซึ่ง GGT มีความสำคัญต่อร่างกายสัตว์ มีแหล่งกำเนิดสำคัญ คือ ตับ และมีอยู่ตามเนื้อเยื่อต่างๆ ทั่วร่างกาย เช่น ไตอักเสบ ตับอ่อน ม้าม ปอด ลำไส้ รก ในเนื้อของไตจะพบการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดนี้สูงสุด การเปลี่ยนแปลง GGT ในซีรั่มหรือพลาสมาจะเกิดขึ้นอย่างเด่นชัดในสัตว์ที่ป่วยเป็นโรคตับ ซึ่ง activity ของ GGT จะสูงขึ้นในสัตว์ที่เป็นโรคเกี่ยวกับ chronic hepatocellular diseases ชนิดต่างๆ และใน obstructive liver diseases การสูงขึ้นในพลาสมาของเอ็นไซม์ในโรคดังกล่าวจะสูงขึ้นเร็วกว่า และสูงกว่าเอ็นไซม์ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ตรวจหาความผิดปกติของตับ ระดับ GGT ที่เพิ่มขึ้นในพลาสมามิใช่เกิดเฉพาะในกรณีที่มีการผิดปกติของตับและระบบท่อน้ำดีเท่านั้น ยังพบในโรคอื่นๆ ด้วย เช่น โรคตับอ่อน โรคกล้ามเนื้อหัวใจ (Canfield *et al*., 1985) สำหรับค่า GGT นั้น มีความจำเพาะและมีความไวต่อ cholestatic damage มากกว่า ALP ค่า GGT มีค่าอ้างอิงปกติ เท่ากับ 6.1 – 17.4 U/L (Kaneko *et al*., 1997) ใกล้เคียงกับรายงานของ Divya and Jayavardhanan (2011) มีค่าระหว่าง 7.15 – 13.07 U/L Hilali *et al.* (2008) มีค่าระหว่าง 4.90–25.7 U/L และ Grasso *et al.* (2004) มีค่า GGT ระหว่าง 26.95–27.43 U/L สำหรับค่าเอ็นไซม์ในพลาสมาที่บ่งบอกสภาวะของตับ ได้แก่ AST, ALT, ALP และ GGT

ค่าซีรั่มโปรตีนมีความสัมพันธ์กับการขาดน้ำของร่างกาย หรือการสูญเสียเลือด เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงร่างกายของสัตว์อาจเกิดบาดแผลหรือเกิดการอักเสบในร่างกายหรือติดเชื้อ (Stockham and Scott, 2002) จากหลายๆ รายงานของคณะผู้ศึกษาวิจัย พบว่าระดับซีรั่มโปรตีนในสัตว์มาจากหลายปัจจัยขึ้นอยู่กับ พันธุ์สัตว์ ระดับภูมิคุ้มกันในตัวสัตว์ อายุ เพศ ช่วงเวลาการให้ผลผลิต ชนิดของโรคพยาธิหรือแมลงรบกวน และความสามารถที่สัตว์ดำรงชีพได้ในสภาพแวดล้อมภูมิอากาศนั้น (Anderson *et al*., 1987; Knowles *et al*., 2000; Coppo, 2004) สิ่งเหล่านี้ถูกควบคุมโดยพันธุกรรมของสัตว์ ซึ่ง Kaneko *et al*. (2008) ได้ให้ข้อแนะนำว่า ระดับซีรั่มโปรตีนสามารถจะใช้บ่งชี้ความแตกต่างของชนิดสัตว์ เพศและความสมบูรณ์ของร่างกายสัตว์ได้ นอกจากนี้สัตว์ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ข้ามพันธุ์ที่ทำให้เกิดลักษณะ Heritability จะทำให้สัตว์ชนิดนั้นมีโปรตีนในซีรั่มสูงมากกว่าพ่อแม่พันธุ์ (Smithies and Hickman, 1958)

ค่า Total globulin แสดงถึงการปรับสภาพร่างกาย และค่าทางชีวเคมีของร่างกายให้สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมอากาศร้อน และมีแมลงดูดเลือดชุกชุม (Otto *et al*., 1992, 2000) สำหรับ Globulin แยกออกเป็นชนิดต่างๆ ดังนี้

สำหรับค่า α-Globulin นั้น โดย α-Globulin มีหน้าที่เป็น Trypsin inhibitor, Thrombin inhibitor, Chymotrypsin inhibitor และการขนย้ายไขมัน (lipid transport) การเพิ่มขึ้นอย่างผิดปกติของ α_1-Globulin อาจเนื่องมาจากการเกิดการอักเสบอย่างรุนแรงของกล้ามเนื้อ ส่วน α_2-Globulin ซึ่งทำหน้าที่ขนย้ายไขมัน (Lipid transport), Insulin binding และเป็น Trypsin inhibitor

ค่า β-Globulin เป็นส่วนประกอบของสาร complement ชนิด C3 และ C4, hemopexin, transferring, ferritin, fibrinogen และ C-reactive protein (Kaneko *et al.*, 2008) ซึ่งค่า β-Globulin ที่เพิ่มขึ้นอย่างผิดปกติ ใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึง ระบบประสาทถูกทำลาย การขาดธาตุเหล็ก เป็นโรคตับอย่างรุนแรง หรือเกิดการอักเสบของกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง (Kaneko *et al.*, 2008)

ส่วนค่า γ-Globulin ซึ่งเป็นค่าดัชนีชี้วัดการสร้างภูมิคุ้มกันโรคของร่างกายสัตว์ ทั้ง Immunoglobulin (IgG, IgA, IgE, IgMและ IgD) สัตว์ที่มีค่า γ-Globulin เพิ่มขึ้นแสดงว่า สัตว์ได้รับความเครียดทั้งสภาพแวดล้อมอากาศร้อนและแมลงดูดเลือด (Stockham and Scott, 2002)

สำหรับค่า A/G ratio แสดงถึงการได้รับโภชนะของสัตว์ ชี้ให้เห็นว่าถ้าสัตว์ได้รับอาหารไม่พอเพียงต่อร่างกาย และสัตว์ได้รับความเครียดทั้งจากสภาพแวดล้อมอากาศร้อนและแมลงดูดเลือดชุกชุม เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของค่า globulin ทำให้สัดส่วนของ A/G ratio ลดลง (Kaneko *et al.*, 2008; Stockham and Scott, 2002)

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับค่าชีวเคมีในเลือดของกระบือปลักที่เป็นโรควัณโรคในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มีรายละเอียดวิธีดำเนินการวิจัย ดังนี้

3.1 การวางแผนการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 2 กลุ่ม (Treatment, trt) โดยแต่ละกลุ่ม สุ่มเลือกกระบือปลัก เพศเมีย กลุ่มๆ ละจำนวน 13 ตัว รายละเอียดแต่ละกลุ่ม เป็นดังนี้

กลุ่มที่ 1 กระบือที่ให้ผลลบในการตรวจโรควัณโรค 13 ตัว
กลุ่มที่ 2 กระบือที่ให้ผลเป็นบวกในการตรวจโรควัณโรค 13 ตัว
ดังนั้นหุ่นทางสถิติ (Model) ในการศึกษาครั้งนี้ คือ

$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$

Y_{ij} = ค่าสังเกตจากกลุ่มที่ i ซ้ำที่ j (j = 1, 2, 3, ..., 13)
μ = ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด (Overall means)
τ_i = อิทธิพลจากกลุ่ม (trt) ที่ i (i = 1, 2)
ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนจากการสุ่ม, NID $\sim (0,\sigma_e^2)$

3.2 การจัดการและการเลี้ยงดูสัตว์ทดลอง

ศึกษาในกระบือปลัก เพศเมีย และไม่อุ้มท้อง อายุ 3 – 6 ปี เพศเมีย มีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกัน ผ่านการทดสอบโรควัณโรคโดยวิธีทูเบอร์คูลิน (tuberculin skin test) (สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, 2556; OIE, 2008) แปรผลการตรวจโรคได้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มให้ผลลบ (Negative, N) และ กลุ่มให้ผลบวก (Positive, P) ทำการบันทึกคะแนนความสมบูรณ์ร่างกาย (body condition score, BCS) ของกระบือระหว่างศึกษา โดยประยุกต์ตามวิธีการของ Herd and Sprott (1986) คะแนนตั้งแต่ 1 (severe emaciation) ถึง 9 (obese) สุ่มเลือกกระบือหลังจากทราบผลทดสอบโรควัณโรค เป็น 2 กลุ่มๆ ละ 13 ตัว รวม 26 ตัว ซึ่งสัตว์แต่ละกลุ่มจะแยกเลี้ยงตามกลุ่มที่ให้ผลต่อการทดสอบโรควัณโรค โดยแต่ละกลุ่มจะเลี้ยงรวมกันภายในโรงเรือน ตัดหญ้าสดให้กินและเสริมด้วยอาหารข้น มีโปรตีน 12-14% เฉลี่ยตัวละ 0.5% ของน้ำหนักตัว

3.3 การเก็บตัวอย่างทดลอง

เก็บตัวอย่างเลือดจากกระบือทดลองระหว่างเวลา 07.00 – 08.30 น. วันที่ 7 สิงหาคม 2556 ที่เส้นเลือดดำใหญ่ (jugular vein) บริเวณใต้ลำคอ จำนวน 5 ml แยกเป็น 2 ส่วน คือ หลอดที่ 1 ตัวอย่างเลือด 2.5 ml ในหลอดที่ไม่มีสาร EDTA ในอุณหภูมิห้อง (25°C) สำหรับใช้แยกตรวจหาค่าซีรั่มโปรตีน ส่วนหลอดที่ 2 ตัวอย่างเลือด 2.5 ml ในหลอดที่บรรจุสาร EDTA ซึ่งเป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด โดยตัวอย่างเลือด จากหลอดที่ 1 และที่ 2 เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuged) ขนาด

1000 *x g* เวลา 20 นาที ภายใต้อุณหภูมิ –4°C (Bogin, 1994) จากนั้นนำซีรั่มและพลาสมา ไปวิเคราะห์หาค่าต่างๆ ทางห้องปฏิบัติการ ภายในเวลา 7 วัน นับจากวันที่เก็บตัวอย่างเลือด

3.4 การวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด

การหาค่าทางชีวเคมีในเลือดกระบือ ได้แก่ glucose (GLU), blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr), aspartate amino transferase (AST), alanine amino transferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), gamma – glutamyl transferase (GGT), lactate dehydrogenase (LDH), แร่ธาตุ (electrolyte) ในพลาสมา ได้แก่ potassium, chloride, magnesium และ globulin ในซีรั่มโดยวิธี standard enzymatic methods (Kaneko *et al*., 1997) ส่วนระดับ total protein (TP) ในซีรั่มโดยวิธี Biuret method (Scoffone and Fontana, 1975) และ albumin ในซีรั่มโดยวิธี Bromocressol-green method (Drupt *et al*., 1974) ตามลำดับ การวิเคราะห์ตัวอย่างดังกล่าวใช้เครื่อง Mindray BS-400 Chemistry Analyzer (Mindray Medical International Co., Ltd., Shenzhen, China)

3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ นำผลที่ได้มาวิเคราะห์และแปรผลตามการวางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มตามวิธี T-test ในโปรแกรมสำเร็จรูป

3.6 สถานที่ทดลอง

1.) สถานที่เก็บรวบรวมตัวอย่างเลือด: สถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์บุรีรัมย์ อำเภอปะคำ จังหวัดบุรีรัมย์

2.) สถานที่วิเคราะห์ตัวอย่างเลือด: บริษัทกรุงเทพเมดิคอลแลป จำกัด สาขาพหลโยธิน (สี่แยกสะพานควาย) เลขที่ 339 ถนนสาลีรัฐวิภาค สามเสนใน พญาไท กรุงเทพฯ 10400

บทที่ 4
ผลการทดลอง

ผลจากการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับค่าชีวเคมีในเลือดของกระบือปลักที่เป็นโรควัณโรคในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง มีรายละเอียดผลจากการทดลอง ดังนี้

4.1 ค่าชีวเคมีในเลือด (Blood Biochemical Profiles)

การศึกษาค่าชีวเคมีในเลือดของกระบือปลักที่ให้ผลต่อการตรวจโรควัณโรค พบว่า กระบือทุกกลุ่ม มีอายุเฉลี่ย แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยทางสถิติ แต่มีค่า BCS แตกต่างกัน โดยกระบือที่ให้ผลบวก (P) มีค่า BCS ต่ำกว่ากลุ่ม N ($P<0.05$) ระดับ glucose ในพลาสมา พบว่า กระบือกลุ่ม N มีค่าสูงกว่ากลุ่ม P ($P<0.05$) ส่วนค่า BUN และ creatinine พบว่ากลุ่ม P มีค่าสูงกว่ากลุ่ม N ($P<0.05$) ดังแสดงใน Table 4.1

ระดับเอ็นไซม์ในพลาสมาที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของตับ หัวใจ ไต และกระบวนการเมตาบอลิซึม พบว่า กระบือกลุ่ม N มีค่า AST, ALT, ALP, GGT และค่า LDH ต่ำกว่ากระบือกลุ่ม P ($P<0.05$) ส่วนระดับแร่ธาตุ (electrolyte levels) ในพลาสมา ได้แก่ potassium (K^{+}) และ magnesium (Mg^{+2}) ของกระบือทั้งสองกลุ่มมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยทางสถิติ ส่วนระดับ chloride (Cl^{-}) พบว่า กระบือกลุ่ม N มีค่าสูงกว่ากลุ่ม P ตามลำดับ ($P<0.05$) ดังแสดงใน Table 1 ส่วนค่าซีรั่มโปรตีน ได้แก่ อัลบูมิน (albumin), กลอบบูลิน (globulin), total protein และ สัดส่วน A : G (A/G ratio) พบว่า กระบือทั้งสองกลุ่ม มีค่าดังกล่าว แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยทางสถิติ ดังใน Table 4.1

Table 4.1 Blood biochemical profiles of Thai swamp buffaloes with different Tuberculosis results.

Parameter	The different Tuberculosis result[1/]		Reference limit[2/]
	Negative (n=13)	Positive (n=13)	
Age (year)	5.48±0.27	5.39±0.32	~ 5
BCS (1 – 9 scores)	5.68±0.25[a]	4.03±0.34[b]	-
Glucose (mmol/L)	4.45±0.27[a]	2.59±0.28[b]	1.38 - 5.88
BUN (mmol/L)	8.64±0.56[b]	11.33±0.59[a]	2.49 - 8.92
Creatinine (μmol/L)	106.20±12.27[b]	178.20±13.11[a]	32 – 114
AST (U/L)	118.71±7.65[b]	237.13±8.87[a]	114 – 147
ALT (U/L)	47.83±3.81[b]	61.25±3.00[a]	42 – 58
ALP (U/L)	154.08±31.67[b]	268.38±24.21[a]	23 – 251
GGT (U/L)	16.36±1.84[b]	39.87±1.97[a]	6.1 – 17.4
LDH (U/L)	205.30±39.05[b]	392.20±41.71[a]	193 – 492
Potassium (mmol/L)	5.04±0.21	5.06±0.21	3.9 - 5.8
Chloride (mmol/L)	114.14±2.03[a]	103.27±2.17[b]	88 – 119
Magnesium (mmol/L)	1.42±0.26	1.02±0.28	0.65 - 1.80
Albumin (g/L)	29.51±1.22	27.81±1.31	22 – 44
Globulin (g/L)	45.87±4.77	40.83±5.09	21 – 54
Total protein (g/L)	75.38±4.38	68.64±4.68	53 – 83
A/G ratio	0.64±0.26	0.77±0.26	0.44 - 1.69

[1/] Means±SE within the same row with different superscripts were significantly different ($P<0.05$).

[2/] Reference limit from Ellah *et al.* (2011)

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ผลจากการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับค่าชีวเคมีในเลือดของกระบือปลักที่เป็นโรควัณโรคในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างในครั้งนี้ สรุป อภิปรายผล และให้ข้อเสนอแนะที่นำไปใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงกระบือปลักได้ ดังนี้

5.1 สรุปผล

ผลการศึกษาค่าชีวเคมีในเลือดของกระบือปลักที่ให้ผลต่อการตรวจโรควัณโรค พบว่าค่าชีวเคมีในเลือด ระดับเมตาโบไลต์ในพลาสมา พบว่า กระบือกลุ่มปกติ มีระดับกลูโคสสูงกว่ากลุ่มให้ผลบวก และกลุ่มให้ผลบวกยังมีค่า BUN และ creatinine สูงกว่ากลุ่มปกติ ($P<0.05$) สำหรับระดับเอ็นไซม์ในพลาสมา พบว่า กระบือกลุ่มปกติ มีค่า AST, ALT, ALP, GGT และ LDH ต่ำกว่ากระบือกลุ่มให้ผลบวก ($P<0.05$) ส่วนระดับ electrolyte ได้แก่ K^{+} และ Mg^{+2} ในพลาสมาของกระบือทั้งสามกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยทางสถิติ แต่กระบือปกติ มีค่า Cl^{-} สูงกว่ากลุ่มให้ผลบวก ($P<0.05$) ซึ่งจากผลการศึกษา พบว่า ค่าชีวเคมีในเลือดที่สามารถคัดแยกการติดเชื้อโรควัณโรคร่วมกับการทดสอบทางด้านสัตวแพทย์ได้ดีที่สุด คือ ระดับเอ็นไซม์ในพลาสมา ได้แก่ AST, ALT, ALP และ GGT ซึ่งแสดงผลต่อการทำงานของตับ และกระบือกลุ่มปกติมีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วงค่าอ้างอิงมาตรฐานของกระบือปกติ รองลงมา ได้แก่ ค่า BUN และ creatinine ซึ่งแสดงผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อไตและหน่วยกรองไต สอดคล้องกับการทดสอบโดยวิธี tuberculin skin test ทางด้านสัตวแพทย์ ส่วนค่าโปรตีนในซีรั่ม ได้แก่ albumin, globulin, total protein และ สัดส่วน A : G (A/G ratio) ของกลุ่มที่ให้ผลบวก และกลุ่มปกติ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วงค่าอ้างอิงมาตรฐานของกระบือปกติ

5.2 อภิปรายผล

ระดับกลูโคสในพลาสมาของกลุ่ม N มีค่าสูงกว่ากลุ่ม P และกลุ่ม N มีค่าใกล้เคียงกับ Srisakdi *et al.* (2013) ศึกษาในกระบือปลักปกติ มีค่าเท่ากับ 4.16±0.16 และรายงานของ Abd-El-Salam *et al.* (1998) พบว่าในกระบือแม่น้ำสภาพปกติมีระดับกลูโคสเท่ากับ 3.58±0.61 ซึ่งกลูโคสเป็นวัตถุดิบสำคัญที่ใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมเพื่อให้เกิดพลังงานภายในเซลล์ (Radostits *et al*., 1994) กลูโคสเป็นตัวบ่งชี้ความต้องการระดับพลังงานของร่างกายได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับโภชนะตัวอื่น จากการศึกษาพบว่าระดับกลูโคสของกระบือกลุ่ม P ต่ำกว่ากลุ่มอื่น แสดงถึงความสามารถในการผลิตกลูโคสของตับ (gluconeogenesis) สูญเสียไปเนื่องจากตับถูกทำลายโดยเชื้อโรควัณโรค

ค่ายูเรียไนโตรเจน (BUN) ในพลาสมาเป็นสารที่บ่งชี้สภาพปกติที่สัตว์ได้รับปริมาณโปรตีนจากอาหาร และเป็นตัวชี้วัดการทำหน้าที่ของไตร่วมกับ creatinine (Cr) การหา BUN และ Cr เพื่อศึกษาการทำงานของไตและการขับถ่ายของเสียเพื่อกำจัดสารพิษ ค่า BUN เพิ่มขึ้น พบได้ในกรณีที่มีการสังเคราะห์ยูเรียมากไป เนื่องจากมีการทำลายของโปรตีนในร่างกายมากเกินไป (Kaneko *et al*., 1997) การศึกษาครั้งนี้ ค่า BUN และค่า Cr ของกลุ่ม N มีค่าในช่วงมาตรฐานกระบือปกติ เท่ากับ 2.49 – 8.92 mmol/L และ 32-114 μmol/L ตามลำดับ (Ellah, 2011)

ค่าเอ็นไซม์ในพลาสมา ได้แก่ AST, ALT, ALP และ GGT นั้น เป็นค่าบ่งชี้ความผิดปกติการทำงานของหัวใจ ตับ และกล้ามเนื้อ ระดับเอ็นไซม์ที่มีค่าสูงกว่าปกติ แสดงว่ากล้ามเนื้อหัวใจ หรือตับ หรือเซลล์กล้ามเนื้อถูกทำลาย ค่า ALT กระบือปกติอยู่ระหว่าง 42 – 58 U/L; Randhawa *et al*. (1997) และใกล้เคียงกับกระบือสาวเมดิเตอร์เรเนียน (55.35 – 58.49 U/L; Grasso *et al*., 2004) ค่า AST เป็นเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับตับ เช่นเดียวกัน ค่าปกติกระบือ เท่ากับ 114 – 147 U/L; Randhawa *et al*., 1997; Divya and Jayavardhanan, 2011) และกลุ่ม N มีค่าใกล้เคียงกับ Terzano *et al.* (2005) ของกระบือในช่วงให้นมระยะแรกของกระบือมีค่าระหว่าง 88 – 116 U/L สำหรับค่า GGT นั้น มีความจำเพาะและมีความไวต่อ cholestatic damage มากกว่า ALP ค่า GGT ครั้งนี้อยู่ในค่าอ้างอิงปกติ (6.1 – 17.4 U/L; Kaneko *et al*., 1997) ใกล้เคียงกับ Divya and Jayavardhanan (2011) มีค่าระหว่าง 7.15 – 13.07 U/L Hilali *et al.* (2008) มีค่าระหว่าง 4.90–25.7 U/L และ Grasso *et al.* (2004) มีค่า GGT ระหว่าง 26.95–27.43 U/L สำหรับค่าเอ็นไซม์ในพลาสมาที่บ่งบอกสภาวะของตับ ได้แก่ AST, ALT, ALP และ GGT สำหรับเอ็นไซม์ LDH นั้น มีหน้าที่ในการสลายไขมันที่สะสมในร่างกายเป็นกรดไขมัน เพื่อนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการเพื่อสร้างพลังงานแก่ร่างกายสัตว์ (Bogin, 1994) ผลการศึกษา พบว่า กลุ่ม P มีค่าสูงกว่ากลุ่ม N ($P<0.05$) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับความสมบูรณ์ร่างกาย (BCS)

5.3 ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาครั้งนี้ หากมีการใช้ค่าชีวเคมีในเลือด เช่น ค่า BUN, Cr, AST, ALT, ALP, GGT และ LDH จะเป็นค่าหนึ่งที่ใช้คัดแยกความแตกต่างกระบือที่เป็นโรควัณโรคได้ นำมาวินิจฉัยร่วมกับการทดสอบโรควัณโรคทางด้านสัตวแพทย์ คาดว่าจะทำให้ความแม่นยำในการทดสอบโรควัณโรคแม่นยำเพิ่มขึ้น ลดการทำลายสัตว์ที่ไม่เป็นโรควัณโรคลง

เอกสารอ้างอิง

ชำนาญ ดงปาลี สุวิช บุญโปร่ง และ อัญชลี ณ เชียงใหม่. 2550. ศึกษาเปรียบเทียบในโคขาวลำพูนระหว่างกลุ่มที่มีเห็บรบกวนกับกลุ่มที่ไม่มีเห็บ. กองบำรุงพันธุ์สัตว์, กรมปศุสัตว์, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

มนยา เอกทัตร์. 2555. คู่มือสุขภาพโค-กระบือ. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, กรมปศุสัตว์, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2556. โรคที่สำคัญในสัตว์. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, กรมปศุสัตว์. แหล่งสืบค้น: http://www.dld.go.th./niah/AnimalDisease/index.html., วันที่สืบค้น: 7 มิถุนายน 2557.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.). 2547. การชันสูตรโรควัณโรคในโคและกระบือ. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สุวิช บุญโปร่ง ชำนาญ ดงปาลี และ อัญชลี ณ เชียงใหม่. 2552. คุณสมบัติทางชีวเคมีของเลือดโคขาวลำพูนในสภาวะที่มีเห็บรบกวน. กองบำรุงพันธุ์สัตว์, กรมปศุสัตว์, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อุดม เจือจันทร์ อรุณพรรณ ดุงสูงเนิน บพิธ ปุยะติ และ สิทธิกร อุทรังษ์. 2010. โรควัณโรคในกระบือปลักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย. Thai-NIAH e Journal 5: 11-20.

Abd-El-Salam, M.N., A.S. Sayed, M. Moubark and M.R.A. Ellah. 1998. Clinical, biochemical and pathological studies of some liver affections in buffaloes. *In* Proc. 8th Sci. Cong., Egypt.

Anderson, K.L., T.G. Nagaraja and J.L. Morrill. 1987. Ruminal metabolic development in calves weaned conventionally or early. J. Dairy Sci. 70: 1000-1005.

Bogin, E. 1994. Handbook for Veterinary Clinical Chemistry. Kodak Publishing, Rochester, NY.

Canfield, P.J., F.G. Best, A.J. Fairburn and J. Purdie. 1985. Normal haematological and biochemical values for the swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Aust. Vet. J. 61: 89-93.

Coombs, R.R.A. and P.G.P. Gell. 1975. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and diseases. *In* P.G.H. Gell, R.R.A. Coombs and P.J. Lachmann (eds.), Clinical Aspects of Immunology. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 3rd edn., p. 761.

Coppo, J.A. (2004). Biochemistry demonstration of malnutrition state in early weaned half-bred Zebu calves. Revista de Investigacion Agropecuaria. 33: 81–100.

Divya, P.D. and K.K. Jayavardhanan. 2011. Comparative study and storage stability of serum hepatobiliary enzyme activities in Murrah buffaloes. Buffalo Bull. 30: 195-201.

Drupt, F., M. Paris, A. Frydman and M. Leclerec. 1974. Serum albumin assay by bromocresol green method: Application to different automatic apparatus. Ann. Pharm. Fr. 32, 249-256.

Ellah, M.R.A. 2011. Serum biochemical reference values for female buffaloes in Egypt. Buffalo Bull. 29: 141-147.

Grasso, F., G.M. Terzano, G.D. Rosa, C. Tripaldi and F. Napolitano. 2004. Influence of housing conditions and calving distance on blood metabolites in water buffalo cows. Ital. J. Anim. Sci. 3: 275-282.

Herd, D.B. and L.R. Sprott. 1986. Body condition, nutrition and reproductive of beef cows. Texas Agric. Ext. Serv. B. 1526.

Hilali, M., A. Abdel-Gawad, A. Nassar and A. Abdel-Wahab. 2008. Hematological and biochemical changes in water buffalo calves (*Bubalus bubalis*) infected with *Trypanosoma evansi*. Vet. Parasitol., 139: 237-243.

Kanameda, M., M. Ekgatat, T. Patchimasiri, S. Wongashemkit, C. Sirivan, C. Kongkrong, B. Apiwatnakorn, W. Narongwanichasan, B. Boontarat and S. Shoya. 1997. The pathology of bovine tuberculosis in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis).* Buffalo J. 3: 351-362.

Kaneko J.J., J.W. Harvey and M.L. Bruss. 2008. Clinical Biochemistry Animals. 6th edn. Elsevier B.V., Inc., New York, NY.

Kaneko, J.J., J.W. Harvey and M.L. Bruss. 1997. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5th rev. ed. Academic Press, Inc., New York, NY.

Knowles, T.G., G.E. Edwards, K.J. Bazeley, S.N. Brown, A. Butterworth and P.D. Warris. 2000. Changes in blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. Vet. Rec. 147: 593-598.

Office International des Epizooties (OIE). 2000. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. 4th edn., p.77-92**.**

Office International des Epizooties (OIE). 2008. Bovine Tuberculosis. *In* Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees), 6th ed., 12 rue de Prony, 75017 Paris, France. p. 77-92.

Otto, F., A. Ibanez, B. Caballero and E. Bogin. 1992. Blood profile of Paraguayan cattle in relation to nutrition, metabolic state, management and race. Isr. J. Vet. Med. 47: 91-99.

Otto, F., F. Vilela, M. Harun, G. Talaor, P. Bagnasse and E. Bogin. 2000. Biochemical blood profile of Angoni cattle in Mozambique. Isr. J. Vet. Med. 55: 150-159.

Radostits, O.M., D.C. Blood and C.C. Gay. 1994. Veterinary Medicine: A Text of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. Balliere Tindall, London.

Randhawa, C.S., R.S. Brar, D.R. Sharma and S.S. Randhawa. 1997. Biochemical responses in mixed chronic psoroptic and sarcoptic mange of buffaloes (*Bubalus bubalis*). Trop. Anim. Health Prod. 4: 253-254.

Scoffone, E. and A. Fontana. 1975. Proteins analysis, pp. 162-203. *In* S.B. Needleman (ed.), Protein Sequence Determination: A Source Book of Methods and Techniques. Springer-Verlag, New York, NY.

Singh, A.S., D.T. Pal, B.C. Mandal, P. Singh and N.N. Pathak. 2002. Studies on changes in some of blood constituents of adult cross-bred cattle fed different levels of extracted rice bran. Pakistan J. Nutr. 1: 95–98.

Srisakdi, T., P. Charoenpojana, P. Chumcharoen, C. Chumcheen, N. Sanghuaphrai, P. Sawasdee and S. Boonprong. 2013. Blood biochemical profiles of Mehsana riverine and Thai swamp buffaloes under tropical conditions in the Northeast Thailand. The 10th World Buffalo Congress and the 7th Asian Buffalo Congress, May 6-8, 2013. Phuket, Thailand.

Stockham, S.L. and M.A. Scott. 2002. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. Iowa State University Press, Ames, Iowa, IA.

Terzano, G.P., S. Allegrini, A. Borghese, C. Roncoroni and L. Alfieri. 2005. Metabolic and hormonal parameters in buffaloes, p. 219-248. *In* A. Borghese (ed), Buffalo Production and Research Paper No: 67. FAO, UN, Rome.