

รายงานเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ

การวินิจฉัยเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส ในห้องปฏิบัติการ*

พรศิริ พรหมกิ่งแก้ว**

บทคัดย่อ

บาซิลลัส แอนแทรกซิส เป็นเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกซ์ สามารถวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการได้ โดยมีแนวทางปฏิบัติแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ การเพาะเชื้อเพื่อดูลักษณะเฉพาะของโคโลนี การพิสูจน์เชื้อเพื่อต้องการทราบชนิดของเชื้อ และการทดสอบในสัตว์ทดลองเพื่อทราบความรุนแรง และการก่อโรคของเชื้อ ในบทความได้รวบรวมและแสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับการวินิจฉัยจากประสบการณ์ เพื่อนำไปประกอบเป็นแนวทางปฏิบัติตามความเหมาะสมของห้องปฏิบัติการทั่วไป

คำรหัส : บาซิลลัส แอนแทรกซิส, แอนแทรกซ์

* ทะเบียนผลงานวิชาการเลขที่ 41(2)-0616(5)-020 กรมปศุสัตว์

** ศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ภาคเหนือ อำเภอห้างฉัตร จังหวัดลำปาง

Abstract : Laboratory Diagnosis of *Bacillus anthracis**

Promkingkaew P**

Bacillus anthracis is a pathogenic bacteria which causes the disease, anthrax. The laboratory diagnosis may be performed in 3 steps as follows : culture for specific colony morphology, the identification of species and animal inoculation for virulence and pathogenicity testing. The author described and discussed these steps from her experience in the laboratory that could be a useful guideline for other laboratories to adapt the methods for diagnosis of anthrax.

Key words : *Bacillus anthracis*, anthrax

* Research project No. 41(2)-0616(5)-020 : Department of Livestock Development

** Northern Veterinary Research and Diagnostic Center, Hangchat, Lamphang.

บทนำ

บาซิลลัส แอนแทรกซิส (*Bacillus anthracis*) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคกาฬหรือโรคแอนแทรกซ์ (Anthrax) ซึ่งเป็นโรคระบาดร้ายแรงของโค กระบือ แพะ แกะ ม้า และ สุนัข นอกจากนั้นยังเป็นโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่ร้ายแรงอีกด้วย¹ จากรายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาภาคเหนือ ระหว่างปี 2535-2539 ระบุว่าผู้ป่วยด้วยโรคแอนแทรกซ์มากกว่า 35 รายขึ้นไป โดยในปี 2535 พบผู้ป่วยจำนวน 39 ราย (ตาย 6 ราย) ปี 2538 มีผู้ป่วยจำนวน 45 ราย ส่วนปีอื่นๆ จะพบต่ำกว่า 15 ราย² นอกจากนี้ยังมีรายงานการเฝ้าระวังโรค ที่ให้ข้อมูลในปี 2540 อีกว่า พบผู้ป่วยด้วยโรคนี้จำนวน 39 ราย³

อนึ่ง การตรวจวินิจฉัยโรคนี้โดยการชักประวัติพร้อมดูอาการสัตว์ป่วยหรือในจุดวิการ (Gross lesions) หรือการตรวจเลือดเพื่อดูลักษณะของเชื้อก็อาจยังไม่เป็นที่เชื่อมั่นได้อย่างเต็มที่¹ ทั้งนี้เพราะอาการของโรคแอนแทรกซ์จะมีอาการคล้ายกับโรคอื่นๆ เช่น Haemorrhagic septicemia, Clostridium infection และอื่นๆ⁴

จากข้อจำกัดดังกล่าว ผู้เขียนจึงจัดทำบทความนี้ขึ้นมาโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อชี้แจงวิธีการวินิจฉัยยืนยันเชื้อจากสัตว์ป่วยหรือตายด้วยโรคแอนแทรกซ์ทางห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นแนวทางให้เจ้าหน้าที่ในห้องปฏิบัติการได้นำขั้นตอนและเทคนิคต่างๆ ไปใช้ได้เหมาะสมกับห้องปฏิบัติการนั้นๆ ซึ่งจากการวินิจฉัยนี้จะส่งผลให้การควบคุมป้องกันและกำจัดโรคเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพได้อีกทางหนึ่ง

วิธีการ

การวินิจฉัยเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส ในห้องปฏิบัติการ ผู้เขียนได้รวบรวมเป็นขั้นตอนไว้ดังนี้

1. การเพาะแยกเชื้อ (Culture and isolation)
2. การพิสูจน์เชื้อ (Identification)
3. การทดสอบในสัตว์ทดลอง (Animal inoculation)

การเพาะแยกเชื้อ

นำตัวอย่างที่สงสัยว่าเป็นโรคแอนแทรกซ์ซึ่งอาจเป็นตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อปนเปื้อน เช่น ได้จากเลือดหรืออวัยวะของสัตว์ที่ตายใหม่ๆ หรือตัวอย่างที่มีเชื้อปนเปื้อนซึ่งอาจจะผ่านการฆ่าเชื้อปนเปื้อนหรือไม่ผ่านการฆ่าเชื้อปนเปื้อน เช่น เนื้อแห้ง คราบเลือดบนดิน และหนังสัตว์ มาดำเนินการตามแผนภูมิที่ 1 และ 2 โดยการเพาะแยกเชื้อให้เพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเสริมเลือดโคหรือแกะ 7-10% แล้วนำไปอบที่ 37 °ซ. นาน 18-24 ชั่วโมงหลังจากนั้นจึงตรวจหาโคโลนีของเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส ซึ่งมักพบสองลักษณะ คือ กลมแบน (Round-flat) หรือคล้าย Comma shape โดยโคโลนีทั้งสองลักษณะมีสีขาว เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 มิลลิเมตร ขอบไม่เรียบ (Irregular) หรือขรุขระเป็นคลื่น (Medusa head) ผิวหยาบ (Rough) และไม่ย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (Non-hemolysis)⁵

ข้อสังเกตในการเพาะแยกเชื้อ

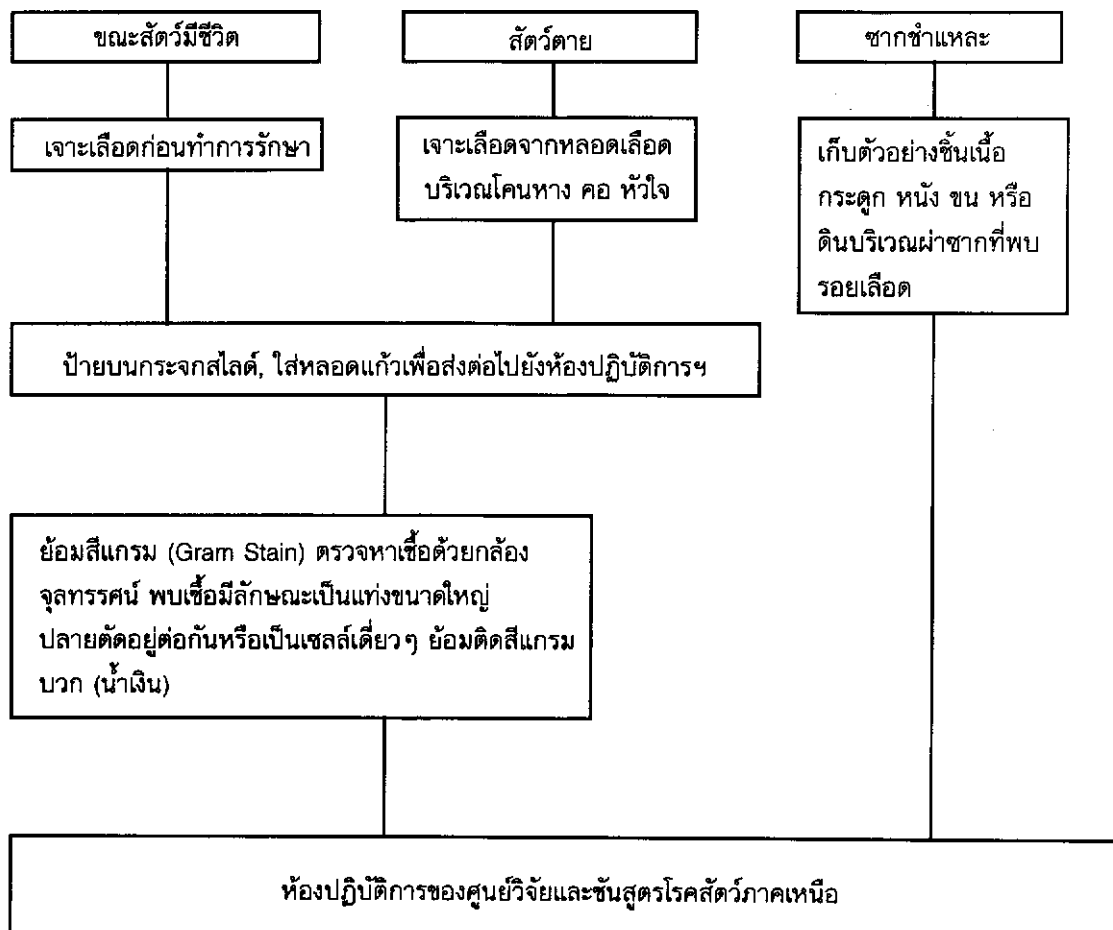
ตามที่ทราบกันดีแล้วว่า เชื้อบาซิลลัสทุกชนิดสามารถสร้างสปอร์ได้ ดังนั้นตัวอย่างที่นำมาจากสภาพแวดล้อมปนเปื้อน เช่น คราบเลือดบนดิน หย้าไม้จำเป็นต้องผ่านขั้นตอนฆ่าเชื้อปนเปื้อนก็สามารถพบโคโลนีของเชื้อได้ ซึ่งเป็นการประหยัดเวลา และค่าใช้จ่าย อีกทั้งการผ่านขั้นตอนการฆ่าเชื้อปนเปื้อน ทำให้ลักษณะโคโลนีของเชื้อเปลี่ยนแปลงไปคือ ลักษณะโคโลนีจะขึ้นเป็นเมือกและสีอาจจะเปลี่ยนแปลงไป ทำให้การวินิจฉัยคลาดเคลื่อนได้ อย่างไรก็ตาม การเพาะเชื้อโดยดู

ลักษณะโคโลนีเพียงอย่างเดียว ไม่อาจสรุปได้ว่าเป็นเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส เพราะเชื้อบาซิลลัสชนิดอื่น อาทิ *Bacillus mycoides*, *Bacillus cereus* ฯลฯ มีลักษณะโคโลนีบางอย่างคล้ายกับบาซิลลัส แอนแทรกซิส^๑ เช่น ขอบไม่เรียบ (Rhizoid colony) หรือ ไม่สลายเม็ดเลือดแดง (Non-hemolysis) ด้วยเหตุนี้ จึงต้องมาวินิจฉัยในขั้นตอนการพิสูจน์เชื้อต่อไป เพื่อยืนยันว่า โคโลนีที่พบเป็นเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิสหรือไม่

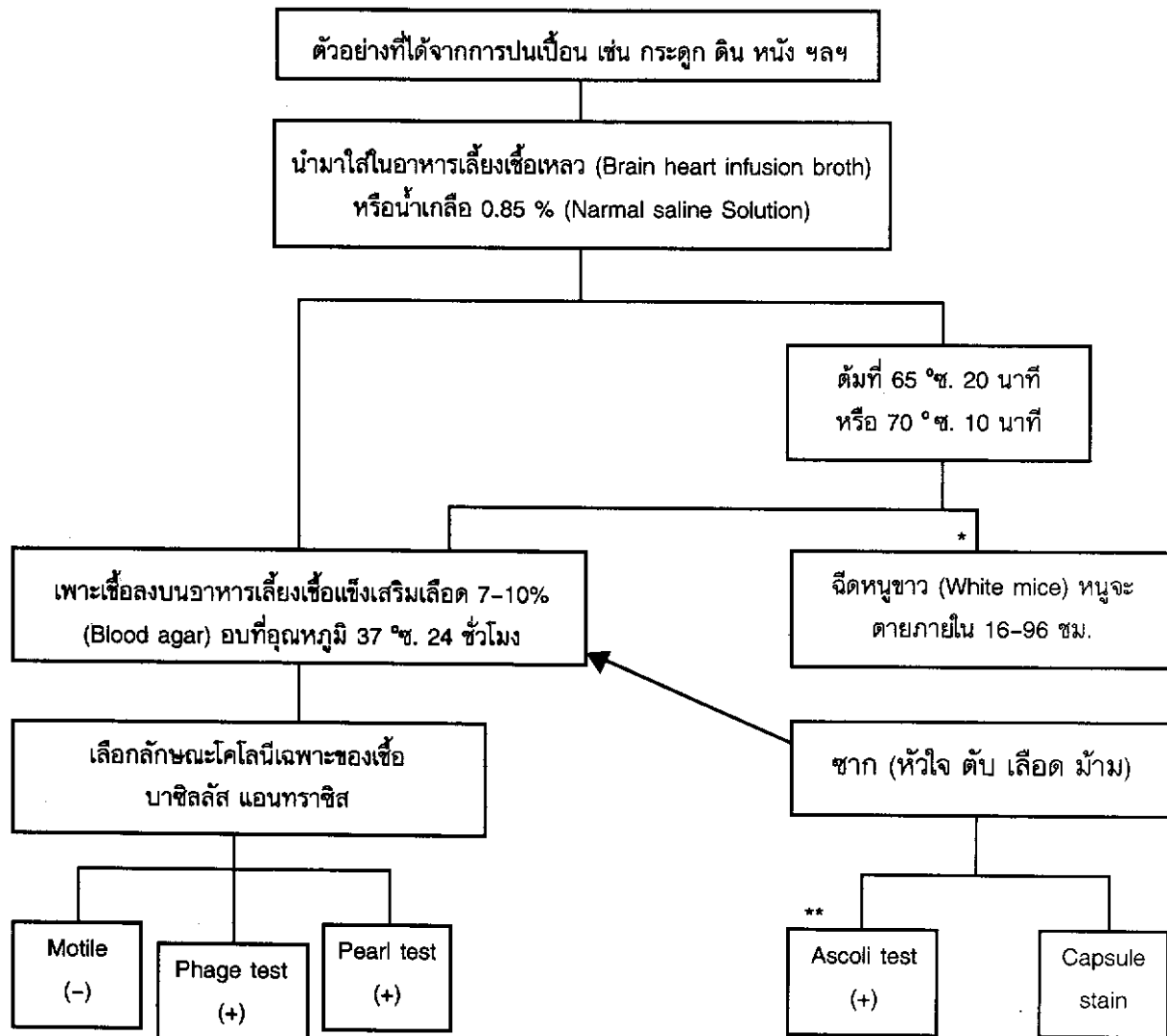
การพิสูจน์เชื้อเพื่อแยกชนิดว่าเป็นเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิสจะนำเสนอ 2 วิธีการ คือ

1. Specific identification : Bacteriophage lysis test หรือ gamma bacteriophage (γ -phage) test

มีรายงานการนำเอาวิธี Bacteriophage lysis มาใช้ในการพิสูจน์เชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส¹ โดยมีขั้นตอนคือ แบ่งส่วนอาหารในจานเลี้ยงเชื้อ (Agar plate) ออกเป็น 3 ส่วน, ส่วนที่หนึ่งเพาะเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส (Positive control) ส่วนที่สองเพาะเชื้อบาซิลลัสชนิดอื่นเพียง 1 ชนิด (Negative control) และส่วนที่สามเพาะเชื้อที่ต้องการพิสูจน์ ในแต่ละส่วนที่เพาะเชื้อหยด γ -phage ลงไป



แผนภูมิที่ 1 การดำเนินการ และการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นก่อนส่งตัวอย่างสู่ห้องปฏิบัติการ



* ปัจจุบันขั้นตอนนี้ผู้เขียนจะหลีกเลี่ยงเพราะผลที่ได้จากการเพาะเชื้อและการฉีดหนูมักจะไม่ได้แตกต่างกัน

** เป็นวิธีที่ยุ่งยากให้ผลไม่เด่นชัด จึงไม่นำมารวบรวมไว้ในที่นี้

แผนภูมิที่ 2 ขั้นตอนการปฏิบัติสำหรับตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนมากๆ โดยนำไปทำให้เชื้อที่ปนเปื้อนลดลงหรือหมดไป

ตรงกลาง 1 loopful นำไปอบนาน 24 ชั่วโมงจึงอ่านผล

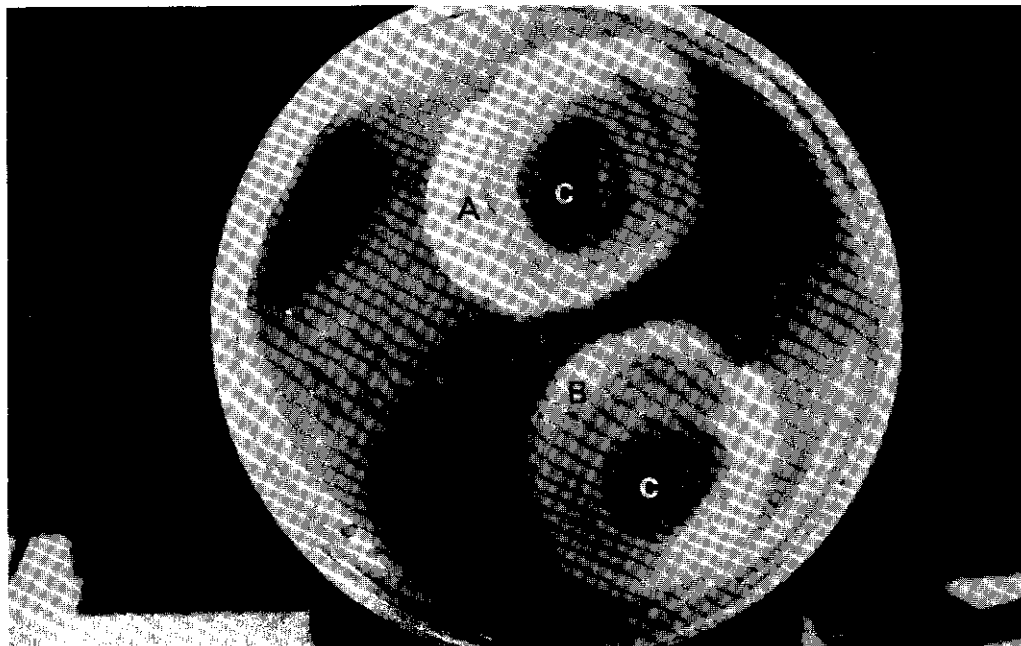
อย่างไรก็ตาม วิธีการในห้องปฏิบัติการผู้เขียนจะตัดส่วนที่สองซึ่งเป็น Negative control ออกไป

เพื่อให้วิธีการปฏิบัติมีความกระชับ รวดเร็ว และประการสำคัญผลที่ได้ไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้การทำ Control ให้ครบจะถือเป็นวิธีมาตรฐานซึ่งแต่ละห้องปฏิบัติการสามารถพิจารณาดำเนินการได้

สำหรับวิธีการที่ปฏิบัติอยู่ทำดังนี้แบ่งอาหารเลี้ยงเชื้อ (Nutrient agar plate) ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเพาะเชื้อบациลลัส แอนทราซิส (Positive control) เพื่อตรวจสอบความสามารถของ Phage อีกส่วนหนึ่งเพาะเชื้อบациลลัสที่ต้องการพิสูจน์โดยนำเชื้อทั้งสองมาเพาะเลี้ยงใน Brain heart infusion (BHI) broth 2 มล. อบที่ 37 °ซ. 1 ชั่วโมง แล้วนำมาเกลี่ยให้เป็นวงกลมบางๆ บนจานแก้ว (Plate) เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-4 ซม. นำไปอบที่ 37 °ซ. ประมาณ 15 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของ Agar

แห้ง จากนั้นหยดด้วย γ - phage 1 หยด (0.001 มล.) ลงไปตรงกลางแล้วเกลี่ยให้เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 ซม. ด้วยไม้พันสำลีนำไปอบต่อที่อุณหภูมิเท่าเดิมนาน 24 ชั่วโมงจึงอ่านผล

ผลการพิสูจน์ ถ้าเป็นเชื้อบациลลัส แอนทราซิส จะพบบริเวณที่เกลี่ย γ -phage มีลักษณะใส (Clear zone) ส่วนรอบบริเวณนั้นจะมีลักษณะทึบเนื่องจากมีเชื้อขึ้นอยู่หนาแน่น (ดังรูปที่ 1)



รูปที่ 1 การ Lysis ของ γ -phage ต่อเชื้อ บациลลัส แอนทราซิส ด้วยวิธี Bacteriophage lysis test

A : บริเวณที่ป้ายเชื้อ บациลลัส แอนทราซิส (positive control)

B : บริเวณที่ป้ายเชื้อที่ต้องการพิสูจน์

C : บริเวณที่เชื้อถูก phage ทำลาย

ข้อสังเกตในการทำ γ -phage test

1. เทคนิคการเกลี่ยเชื้อควรใช้ไม้พันสำลี (Swab) แทนการใช้ Loop เพื่อให้ได้เชื้อที่ไม่แยกเป็นโคโลนีเดี่ยวๆ

2. ควรรอให้ผิวหน้า Agar ที่เกลี่ยเชื้อแห้งเสียก่อน จากนั้นจึงหยด γ -phage ลงไปเพื่อให้ Phage อยู่ในจุดที่กำหนดไม่ไหลไปรวมกับส่วนอื่นๆ ทำให้การอ่านผลชัดเจนขึ้น

3. γ -phage ที่ใช้ต้องมีความสามารถในการ Lysis เชื้อดังกล่าวได้ดี โดยต้องมีการทดสอบ Phage กับเชื้อบациลลัส แอนทราซิส ที่ Stock ไว้ อยู่เสมอ ที่สำคัญควรเก็บ Stock phage ที่อุณหภูมิ 4 °ซ. ห้ามแช่แข็ง เพราะจะทำให้ Phage เสื่อมสภาพ

การพิสูจน์เชื้อโดยวิธีนี้ สามารถยืนยันได้ว่า เชื้อที่พบตามลักษณะดังกล่าวข้างต้นเป็นเชื้อบациลลัส แอนทราซิส เนื่องด้วย γ -phage ที่ใช้เป็นเชื้อไวรัส ที่เตรียมขึ้นมาให้มีความจำเพาะ (Specific bacteriophage) ในการทำลายเชื้อบациลลัส แอนทราซิส เท่านั้น

2. A simple presumptive identification

: String of pearls test

จากรายงานการวินิจฉัยในอดีตให้หลักไว้ว่ารูปร่างของเชื้อบациลลัส แอนทราซิส จะเปลี่ยนแปลงไปขึ้นอยู่กับการสนองตอบของเชื้อต่อยาเพนิซิลลิน⁵ ซึ่งมีวิธีการพิสูจน์ดังนี้ นำเชื้อที่สงสัยเลี้ยงไว้ใน BHI broth นาน 24 ชั่วโมงแล้วนำไปป้ายบน Tryptose agar plate ที่มีเพนิซิลลิน ผสมอยู่ 0.5 Units/mL ทำการรอไว้ 3-6 ชั่วโมง จึงนำแผ่น Cover glass มาปิดที่ผิวหน้าของ Agar จากนั้นจึงส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูลักษณะของเชื้อ

ส่วนวิธีการพิสูจน์ที่ผู้เขียนปฏิบัติและเป็นที่นิยมอยู่ในปัจจุบันมีขั้นตอนดังนี้คือนำสไลด์ 1 แผ่น วางในจานแก้ว จากนั้นตัด Müller-Hinton agar (MHA) ออกเป็นสี่เหลี่ยมขนาด 2 ตร.ซม. นำไปวางบนสไลด์ที่เตรียมไว้ ป้ายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าของ MHA แล้วจึงวางแผ่นยาเพนิซิลลิน ขนาด 10 Units 1 แผ่น บริเวณริมสุดของ MHA บนรอยที่ป้ายเชื้อไว้ ปิดฝาจานแก้ว เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อออกสู่ภายนอกและเชื้อจากภายนอกเข้าไป จากนั้นนำไปอบที่ 37 °ซ. นาน 3-6 ชั่วโมงจึงนำ

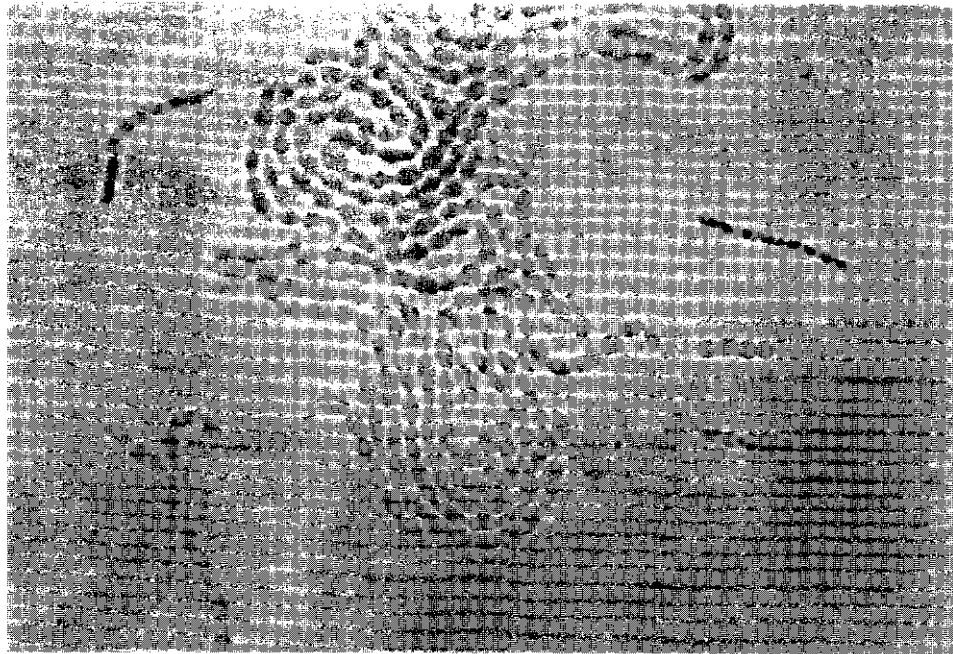
ออกมาอ่านผล โดยเปิดฝาจานแก้ว แล้วใช้แผ่น Cover glass ปิดทับลงไปบนผิวหน้าของ MHA ทั้งหมด ยกเว้นตรงส่วนที่วางแผ่นยา ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100-400 เท่า ตรงบริเวณที่ปิดด้วย Cover glass ใกล้กับแผ่นยา หากพบลักษณะกลมหรือรีติดกันเป็นสายคล้ายสร้อยไข่มุก (String of pearls) แสดงว่าเป็นเชื้อบациลลัส แอนทราซิสที่สนองตอบต่อยาเพนิซิลลิน (ดังรูปที่ 2) หากไม่พบลักษณะดังกล่าว อาจเป็นเชื้อชนิดอื่นหรือเป็นเชื้อบациลลัส แอนทราซิส สายพันธุ์ที่ไม่สนองตอบต่อยาเพนิซิลลิน (กรณีนี้ผู้เขียนยังไม่พบในห้องปฏิบัติการ)

ซึ่งวิธีการพิสูจน์ที่ผู้เขียนปฏิบัติมีข้อแตกต่างจากวิธีการเดิมคือ

1. ปัจจุบันนิยมใช้ Müller-Hinton agar (MHA) แทน Tryptose agar เพราะเป็นอาหาร ที่ใช้สำหรับทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ โดยเฉพาะ

2. ปัจจุบันใช้แผ่นยาเพนิซิลลิน แทนการผสมยาลงใน Agar เพราะสะดวก ประหยัดค่าใช้จ่ายและเวลาคือ เพียงใช้แผ่นยาสำเร็จรูปขนาด 10 Units 1 แผ่น ก็สามารถทดแทนการผสมยาลงในเนื้อ Agar ให้ได้ปริมาณ 0.5 Units/mL ไม่ต้องมีขั้นตอนการเตรียมยาและเตรียม Agar ที่ต้องทำให้ปราศจากเชื้อ ที่ 121 °ซ. 15 นาที ก่อนปล่อยให้อุณหภูมิเย็นลงที่ 50 °ซ. จึงผสมยาลงไปแล้วเทลงจานเลี้ยงเชื้อซึ่งเป็นขั้นตอนยุ่งยาก และใช้เวลานาน

3. การใช้แผ่นสไลด์ ทำให้สะดวกในเวลาหยิบจับ และเมื่อนำมาใช้กับกล้องจุลทรรศน์ ตัวกล้องจะมีอุปกรณ์สำหรับจับสไลด์ ทำให้การตรวจทำได้อย่างรวดเร็วและคล่องตัวกว่าการใช้จานเลี้ยงเชื้อ



รูปที่ 2 ลักษณะ Pearls ของเชื้อ บาซิลลัส แอนแทรกซิส เมื่อตรวจด้วยวิธี String of pearls test

ข้อสังเกตในการทำ String of pearls test

1. เชื้อที่นำมาป้ายบน Müller-Hinton agar ผู้เขียนจะเลี้ยงไว้ใน BHI broth 2 มล. นาน 1 ชั่วโมง แทนวิธีเดิมที่เลี้ยงไว้นานถึง 24 ชั่วโมง ซึ่งผลที่ได้ก็ไม่แตกต่างกัน

2. ควรตรวจสอบคุณภาพยาเพนนิซิลลิน โดยทำ Negative control กับเชื้อมาตรฐานสากล (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) หรือ Positive control กับเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส ที่สนองตอบต่อยาเพนนิซิลลินควบคู่ไปด้วย

3. ควรใช้เวลาอบเชื้อนาน 4 ชั่วโมง จะดีที่สุดเพราะสามารถพบลักษณะของ Pearls ได้ชัดเจนที่สุด

4. การใช้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 และปรับระดับแสงของ Iris diaphragm ให้ต่ำๆ จะเห็นลักษณะของ Pearls ได้ชัดเจนที่สุด

อย่างไรก็ตามในการพิสูจน์ทั้ง 2 วิธีที่กล่าวมานั้น สามารถบอกได้เพียงว่าเป็นเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส แต่ไม่สามารถบอกความรุนแรง (Virulence) และความสามารถก่อโรค (Pathogenicity) ดังนั้นจึงต้องมาวินิจฉัยในขั้นตอนการทดสอบในสัตว์ทดลองต่อไป

การทดสอบในสัตว์ทดลอง

มีรายงานว่า การฉีดเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส เข้าไปในหนูขาวหรือกระต่าย จะทำให้สัตว์ตายเนื่องจากโลหิตเป็นพิษ⁷ และ ยังมีรายงานเพิ่มเติมเกี่ยวกับโรคนี้ดีกว่าเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิส ที่ก่อโรคแอนแทรกซ์ในสัตว์ได้ จะต้องสร้าง Capsule อยู่ภายในร่างกายสิ่งมีชีวิตนั้นด้วย⁸

วิธีการทดสอบเชื้อบาซิลลัส แอนแทรกซิสในสัตว์ทดลองในห้องปฏิบัติการ^{9,7} ผู้เขียนได้ดัดแปลง

โดยมีขั้นตอนดังนี้ นำเชื้อที่พิสูจน์ได้ว่าเป็นเชื้อ บาคิลลัส แอนแทรกซิส มาเลี้ยงไว้ใน BHI broth อบที่ 37 ° ซ. นาน 3-4 ชั่วโมง แล้วนำ Suspension ของ BHI broth ปริมาณ 0.2 มล. ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ของหนูขาว (White mice) จะทำให้หนูขาวตายภายใน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำหนูขาวที่ตายมาผ่าซากใน ตู้ปลอดเชื้อ (Biohazard laminar air flow) แล้ว แยกส่วนของม้าม ซึ่งเป็นอวัยวะที่พบเชื้อมากที่สุด มาป้ายบางๆ บนแผ่นสไลด์ ปล่อยให้แห้ง แล้ว Fix ด้วยไฟอ่อนๆ หยดด้วยสี Polychrome methylene blue (M'FADYEAN'S reaction)⁸ (สูตรการเตรียม สีเช่นเดียวกับ Loeffler's alkaline methylene blue) 2-3 นาที ล้างสีออกด้วยน้ำ ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำ ออกจากตู้ปลอดเชื้อ เพื่อมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

ผลการทดสอบ เชื้อบาคิลลัส แอนแทรกซิส ชนิดที่สามารถก่อโรคแอนแทรกซ์ได้จะพบ Capsule ของเชื้อติดสีชมพูอยู่ล้อมรอบเซลล์ที่ติดสีน้ำเงิน และหากเป็นชนิดที่ไม่สามารถก่อโรคจะพบเฉพาะ เซลล์ติดสีน้ำเงินเท่านั้น

ข้อสังเกตในการทดสอบเชื้อในสัตว์ทดลอง

1. การฉีดเชื้อบาคิลลัส แอนแทรกซิส เข้าไปใน สัตว์ทดลอง เช่น หนูขาว ถ้าสัตว์ไม่ตายภายใน 2 วัน แสดงว่ามีแนวโน้มเป็นเชื้อชนิดที่ไม่ก่อโรค
2. สี Polychrome methylene blue ที่หยดลงบนสไลด์ ป้ายเชื้อ ควรทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที (ก่อนที่จะนำไปล้างน้ำ) เพราะเมื่อนำไปส่องด้วย กล้องจุลทรรศน์จะทำให้เห็นการติดสีของ Capsule เด่นชัดขึ้น
3. การฉีดเชื้อเข้าไปในสัตว์ทดลอง ส่วนใหญ่ ผู้เขียนจะปฏิบัติในกรณีที่ผู้ส่งหรือเจ้าหน้าที่ที่

เกี่ยวข้องต้องการทราบว่าเป็นเชื้อที่ก่อโรคหรือไม่ ก่อโรค แต่ในความเห็นของผู้เขียนแล้วถ้าอยู่ในช่วง ระบาดควรจะทดสอบในสัตว์ทดลองทุกครั้งเนื่องจาก จะได้ทราบว่าสัตว์ตายด้วยโรคแอนแทรกซ์อย่าง แท้จริง และเป็นชนิดที่ก่อโรคด้วยหรือไม่ เพื่อจะได้ เป็นข้อมูลในการควบคุม ป้องกัน และกำจัดโรคต่อไป

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

การนำเสนอขั้นตอนต่างๆ ในการวินิจฉัยเชื้อ บาคิลลัส แอนแทรกซิส ในห้องปฏิบัติการ ผู้เขียนได้ เน้นขั้นตอนการพิสูจน์เชื้อ 2 วิธีซึ่งมีหลักการต่างกัน วิธีแรก Bacteriophage lysis test พบว่า เป็นวิธีที่ มีความจำเพาะ (Specific) ง่าย สะดวก รวดเร็ว และแม่นยำ ถ้า Phage ที่ใช้คงความสามารถ และมี Titer สูง แต่ทั้งนี้ยังมีข้อจำกัดเกี่ยวกับการ ปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการต่างๆ ไป คือ การหา Phage ที่จำเพาะต่อเชื้อบาคิลลัส แอนแทรกซิส และผู้ปฏิบัติไม่ค่อยให้ความสำคัญในการตรวจสอบ Phage ให้ Active อยู่เสมอ วิธีที่สอง String of pearls test เป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด สะดวก รวดเร็ว โดยเฉพาะเพนนิซิลลิน เป็นยาที่หาซื้อได้ง่าย แต่ ยังมีข้อเสียเรื่องการดื้อยา แม้จะพบน้อยมาก แต่ก็ ทำให้เราไม่สามารถสรุปผลได้ และจะต้องเสียเวลา ในการนำเชื้อมายืนยันโดยการทดสอบในสัตว์ทดลองอีกครั้งหนึ่ง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณวิจิต อุทัยวรรณ สัตวแพทย์ กลุ่มงานปาราสิตวิทยา ศูนย์วิจัยและชันสูตรโรค สัตว์ภาคเหนือ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ ชี้แนะ และ แก้ไขในการจัดทำบทความนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ธวัชชัย ศักดิ์ภู่อารัม, กิติ ศรีสุภาพ และองอาจ เลหาวินิจ. การใช้ γ - phage ในการวินิจฉัย *Bacillus anthracis*. ประมวลเรื่องประชุมทางวิชาการสัตวแพทย์ ครั้งที่ 9 สัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์. 2525.
2. ศูนย์ระบาดวิทยาภาคเหนือ. โรคกาฬโรคทางชนสงโค-กระบือ. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาภาคเหนือ กระทรวงสาธารณสุข. 2540; 8: 1.
3. กองระบาดวิทยา. รายงานโรคที่ต้องเฝ้าระวัง. รายงานการเฝ้าระวังโรคประจำสัปดาห์. กระทรวงสาธารณสุข. 2540; 28: 751.
4. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. คู่มือมาตรฐานการชันสูตรโรคในสัตว์. กรมปศุสัตว์. 2539.
5. Carter GR. Bacillus. In : Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology, 5th ed, San Diego : Academic Press, 1990; 221-8.
6. Cottral, GE. Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology, 1 st ed, Comstock Cornell University Press, 1978.
7. ลัดดาวัลย์ รัตนนคร, อินทิรา กระหม่อมทอง, สัมพันธ์ ช่างชัย, วัลลภา ศานติวัตร, ศศิธร คณะรัตน์ และวันทนี นรมิตรมานสุข. การสำรวจและศึกษาทางระบาดวิทยาของโรคแอนแทรกซ์ในท้องที่จังหวัดกาญจนบุรี. ประมวลเรื่องการประชุมทางวิชาการปศุสัตว์. ครั้งที่ 4 กรมปศุสัตว์. 2528.
8. Quinn PJ, Carter ME, Markey B. Carter GR. Clinical Veterinary Microbiology. University College, Dublin USA, 1994.