REVIEW ARTICLE

Bovine Viral Diarrhoea (BVD)

Jaruwan Kampa

Abstract

Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) is an important virus in cattle production all over the world. The viral infection causes significantly health problems and economic losses, especially in outbreak. Thus, BVDV has been internationally controlled in semen and embryo production and trade of live cattle. This review article provides a concept knowledge of the virus, viral transmission, pathogenesis, diagnosis, control, epidemiology and control of BVDV in both international countries and Thailand.

KKU Vet J. 2008;18(1):54-67 *http://vet.kku.ac.th/journal/*

Keywords: Bovine viral diarrhoea virus; Cattle; Pathogenesis; Diagnosis; Epidemiology

Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University 40002.
Tel. 087-701 1282, e-mail: jarpat@kku.ac.th

โรคโบวายไวรัลไดอะเรีย (บีวีดี)

จารุวรรณ คำพา

บทคัดย่อ

ไวรัสโบวายไวรัลไดอะเรีย (บีวีดีวี) ก่อโรคสำคัญในการผลิตโคทั่วโลก โดยทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพโค และเกิดผลเสียทางเศรษฐกิจอย่างสำคัญ โดยเฉพาะเมื่อเกิดการระบาดของโรค ดังนั้นไวรัสนี้ จึงเป็นไวรัสหนึ่งที่ถูกควบคุมในขบวนการผลิตน้ำเชื้อ เอ็มบริโอ และการซื้อขายโคมีชีวิตในระดับนานาชาติ บทปริทัศน์นี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อให้ความรู้เกี่ยวกับโรคบีวีดี โดยกล่าวถึงไวรัสบีวีดี การแพร่เชื้อ พยาธิกำเนิด การวินิจฉัย การควบคุม วิทยาการระบาด และการควบคุมไวรัสนี้ในต่างประเทศและประเทศไทย

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2551;18(1):54-67 *http://vet.kku.ac.th/journal/*

คำสำคัญ: ไวรัสโบวายไวรัลไดอะเรีย โค พยาธิกำเนิด การวินิจฉัย วิทยาการระบาด

ภาควิชา พยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002
โทร. 087-701 1282, e-mail: jarpat@kku.ac.th

บทนำ

โรคโบวายไวรัลไดอะเรีย หรือ บีวีดี เป็นโรคไวรัสที่สำคัญอย่างหนึ่งในการผลิตโค โรคนี้ถูกควบคุมในระดับนานาชาติโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการผลิตโคพ่อแม่พันธุ์ น้ำเชื้อ ไข่ และเอ็มบริโอ [1] การศึกษาทางวิทยาการระบาด พบความชุกของไวรัสชนิดนี้ ในทุกภูมิภาคของโลกรวมทั้งประเทศไทย [2,3] การติดไวรัสนี้ นอกจากก่อให้เกิดความสูญเสียทางการสืบพันธุ์แล้ว ยังส่งผลให้เกิดการติดเชื้ออื่นแทรกซ้อน ทางระบบทางเดินหายใจอีกด้วย เป็นผลให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจที่สำคัญยิ่งต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงโค บทความนี้จะกล่าวถึง ไวรัส การแพร่เชื้อและพยาธิกำเนิด การวินิจฉัย การควบคุมป้องกันโรค วิทยาการระบาด และการควบคุมโรคทั้งในต่างประเทศและในประเทศไทย

ไวรัสบีวีดี

ไวรัสบีวีดี เป็นไวรัสใน genus Pestivirus ซึ่งมีสมาชิกที่สำคัญ ได้แก่ Classical swine fever virus ซึ่งก่อโรคอหิวาต์สุกร และ Border disease virus ซึ่งก่อโรคทางระบบสืบพันธุ์ Border disease ในแกะ [4] นอกจากโค กระบือแล้ว ไวรัสบีวีดีสามารถติดต่อไปยังสุกร แพะ แกะ และสัตว์ป่าได้อีกด้วย [5,6]

สารพันธุกรรมของไวรัสบีวีดีเป็น positive sense RNAสายเดี่ยว ขนาดประมาณ 12.5 คู่กิโลเบส มีโปรตีนสำคัญได้แก่ 5'NCR, N^{pro}, E^{rns}, E2, และ NS2-3 ที่ใช้ในการวินิจฉัยเชื้อที่ระดับโมเลกุล [7,8] ส่วน E2 เป็นส่วนที่มีความเป็นแอนติเจน (antigenicity) และความแปรผันทางพันธุกรรมสูง และเป็นส่วนที่กระตุ้นให้เกิด neutralizing antibody ดังนั้นจึงนิยมใช้ในการจำแนกเชื้อทั้งทางโมเลกุลและซีรั่มวิทยา [9,10]

ไวรัสบีวีดีมี 2 genotype คือ BVDV-1 และ BVDV-2 ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งระดับโมเลกุลและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโปรตีน E2 [11,12] การติดเชื้อ BVDV-2 ที่รุนแรงจะพบกลุ่มอาการเลือดออก (haemorrhagic syndrome) [13,14] ในปี 2004 Schirrmeier และคณะ [15] ได้พบไวรัสใหม่ในกลุ่ม pestivirus คือ HoBi[1] ใน fetal calf serum ที่นำเข้าจากประเทศบราซิล ซึ่งพบความแตกต่างของไวรัสนี้ ทั้งทางด้านซีรั่มวิทยา การจัดเรียงตัวของสารพันธุกรรม และสามารถก่อโรคได้ในโค บ่งชี้ว่าไวรัสนี้น่าจะเป็น genotype ใหม่ของ pestivirus คือ BVDV-3 และไวรัสที่มีความใกล้คียงกับไวรัสใหม่นี้ได้ถูกค้นพบในโคนมในเขตจังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย ซึ่งได้ชื่อว่า Th04/KhonKaen[2] [16]

ไวรัสบีวีดี ทั้ง BVDV-1 และ BVDV-2 มี 2 biotype คือ cytopathic (cp) และ non-cytopathic (ncp) ซึ่งแบ่งตามความสามารถในการสร้างและไม่สร้างความเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพาะเลี้ยง (cytopathology) ตามลำดับ กลุ่ม cp เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางโมเลกุลของ ncp พบกลุ่ม cp ได้เฉพาะในโคที่เป็นโรคมิวโคซอล (mucosal disease) ส่วน ncp พบโดยทั่วไปและทำให้เกิดการติดเชื้อแบบติดทน [17,18]

การแพร่เชื้อและพยาธิกำเนิด

โคที่เกิดการติดเชื้อแบบติดทน (persistently infected cattle: PI) สามารถแพร่ไวรัส ตลอดช่วงชีวิตของโค และเป็นแหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญของการติดต่อภายในฝูง ซึ่งโดยมากเกิดจากการสัมผัสโดยตรงกับ PI [19] การแพร่เชื้อทางอ้อมพบได้ในสภาพที่เชื้อถูกเก็บรักษาไว้เป็นอย่างดี เช่น ในน้ำเชื้อแช่แข็ง, เอ็มบริโอ และสารฉีด (ยา, วัคซีน) ที่ปนเปื้อน ซึ่งการแพร่เชื้อในรูปแบบนี้สามารถเกิดขึ้นข้ามพื้นที่หรือข้ามทวีป [20,21] การแพร่เชื้อทางอ้อมด้วยวิธีการอื่น ได้แก่การใช้คอกคลอดร่วมกัน แมลงเป็นพาหะ และการใช้ถุงล้วงตรวจร่วมกัน สามารถเกิดได้เมื่อสถานที่หรือสิ่งเหล่านั้นได้รับการสัมผัสกับ PI มาก่อนเท่านั้น [22-24] โคที่ติดเชื้อเฉียบพลัน ไม่เป็นตัวสำคัญในการแพร่เชื้อ [25,26]

ไวรัสบีวีดีทำให้เกิดอาการของโรคได้หลายรูปแบบ ตั้งแต่แบบไม่แสดงอาการป่วยจนถึงแบบแสดงอาการป่วยตายที่รุนแรง เช่น โรคมิวโคซอล การตอบสนองของร่างกายต่อการติดเชื้อ เป็นผลเนื่องจากการทำงานร่วมกันของปัจจัยหลายประการ ได้แก่ biotype และ genotype ของไวรัส ภาวะทางภูมิคุ้มกัน และการตั้งท้องของโค ซึ่งอาจจำแนกได้ ดังต่อไปนี้

[1] Accession number AY489116

[2] Accession number DQ897641

1. การติดเชื้อในโคที่ไม่ตั้งท้องและไม่มีภูมิคุ้มกัน

การติดเชื้อเฉียบพลันในโคกลุ่มนี้ มักไม่แสดงอาการแต่มักพบภาวะภูมิคุ้มกันถูกกด [27] ซึ่งเป็นผลให้โคเหล่านี้เกิดการติดเชื้อโรคอื่นได้ง่าย [28,29] ในโคนมพบผลผลิตลดต่ำลง มีเซลล์โซมาติกในน้ำนมสูง และมีความเสี่ยงต่อการเกิดเต้านมอักเสบ [30-32]

2. การติดเชื้อผ่านรก

การติดเชื้อในช่วงตั้งท้อง 3 เดือนแรกมักทำให้เกิดการตายของเอ็มบริโอ แท้ง และเกิดมัมมี่ [33] ถ้าเอ็มบริโอรอดชีวิต ก็จะเป็นลูกโคที่อยู่ในภาวการณ์ติดเชื้อแบบติดทน และร่างกายจะไม่สร้างภูมิคุ้มกันต่อไวรัสสายพันธุ์ที่อยู่ในร่างกายนั้น [34] การตั้งท้องในช่วงเดือนที่ 4-6 ซึ่งเป็นช่วงที่เอ็มบริโอมีการสร้างอวัยวะ การติดเชื้อในระยะนี้ จะทำให้เกิดความพิการของร่างกายโดยเฉพาะที่ตาและระบบประสาท ลูกโคมักตายแรกคลอด อย่างไรก็ตาม หลังวันที่ 125 ของการตั้งท้อง ระบบภูมิคุ้มกันร่างกายของเอ็มบริโอจะเจริญได้ดี เมื่อเกิดการติดเชื้อ ร่างกายจะสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นมากำจัดไวรัส ลูกโคที่คลอดออกมาไม่พบไวรัสในร่างกาย แต่จะตรวจพบภูมิคุ้มกันต่อไวรัสนี้ [35,36]

3. การติดเชื้อแบบติดทน

พบได้เฉพาะการติดเชื้อ biotype ชนิด ncp ในช่วง 3 เดือนแรกของการตั้งท้อง [37] เมื่อคลอดออกมาลูกโคจะไม่สร้างภูมิคุ้มกันทั้งทางด้านเซลล์และแอนติบอดีต่อไวรัสสายพันธุ์ที่มีอยู่ในร่างกาย[38] มักพบว่าลูกโคนั้นขาดความสมบูรณ์พันธุ์ อ่อนแอ และมักตายหรือถูกกำจัดออกจากฝูง จากการสำรวจโดย Houe [39,40] พบว่าในกลุ่มประเทศที่มีการเลี้ยงโคเป็นอุตสาหกรรม จะพบ PI ประมาณ 1-2% ของประชากรโค ความสูญเสียอันเนื่องมาจากการติดเชื้อ เช่น การตายของลูกโค การแท้ง และการติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการ ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจอีกทั้งยังมีผลต่อสวัสดิภาพสัตว์อีกด้วย ลูกโค PI ที่มีลักษณะปกติ ถ้าถูกใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ จะให้ลูกที่เป็น PI พบว่าโดยมากขาดความสมบูรณ์และตาย พ่อโคที่เป็น PI อาจให้น้ำเชื้อที่คุณภาพปกติแต่มักทำให้เกิดปัญหาผสมไม่ติด [36]

4. โรคมิวโคซอล

เฉพาะ PI เท่านั้น มีความเสี่ยงที่จะเป็นโรคมิวโคซอล โรคดังกล่าวทำให้เกิดอัตราการตายสูงได้ถึง 100% ซึ่งสัตว์ป่วยมักตายภายใน 1-2 สัปดาห์หลังแสดงอาการ เมื่อผ่าซากชันสูตร จะพบเยื่อบุผิวทางเดินอาหารหลุดลอก เมื่อทำการแยกเชื้อจะพบไวรัส biotype cp ร่วมกับ ncp ซึ่งมีความเหมือน (homologous) และอยู่แบบติดทนในโคนั้น อย่างไรก็ตาม cp อาจรับมาจากภายนอกได้ เช่น จากการทดลองหรือใช้วัคซีนที่ปนเปื้อน cp ที่มีความเหมือนต่อ ncp ในร่างกาย หรือเกิดการเปลี่ยนแปลง ncp ในร่างกายเองซึ่งทำให้เกิดโรคมิวโคซอลได้เช่นกัน

การวินิจฉัย

ใช้หลักการวินิจฉัยหาภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อหรือหาไวรัสหรือชิ้นส่วนของไวรัส ซึ่งบ่งบอกถึงการติดเชื้อในปัจจุบัน (อ่านเพิ่มเติมใน Sandvik [41])

1. การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อการติดไวรัสบีวีดี

ในโคที่ติดเชื้อครั้งแรก ร่างกายจะใช้เวลาในการสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนอง ในระดับที่ตรวจวัดได้ประมาณสัปดาห์ที่ 3 [42] โดยจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และคงที่อยู่ประมาณสัปดาห์ที่ 10-13 หลังจากนั้น จะค่อยๆ ลดลงแต่ยังคงอยู่ในระดับที่ตรวจวัดได้ตลอดอายุขัยของโค [43,44] การตรวจวัดภูมิคุ้มกันดังกล่าว มีหลายวิธี และที่นิยม ได้แก่ ไวรัสนิวทรัลไลเซชั่น และ ELISA

วิธีไวรัสนิวทรัลไลเซชั่น เป็นวิธีการอ้างอิงในการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อ Pestivirus เนื่องจากมีความไวและความแม่นยำสูง แอนติบอดีเกิดจากการที่ร่างกายจำแนกและต่อต้านโปรตีน E2 ซึ่งสารพันธุกรรม ในส่วนนี้ของไวรัสแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันมาก จึงใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ไวรัส [45] ในการทดสอบต้องมีสายพันธุ์อ้างอิง ซึ่งเป็นสายพันธุ์หรือใกล้เคียงกับสายพันธุ์ในส่วนท้องถิ่น เนื่องจากแอนติบอดีที่เกิดขึ้นจะตอบสนองสูงสุดต่อไวรัสที่กระตุ้นการสร้างแอนติบอดีนั้น หากเลือกไวรัสที่มีความแตกต่างมากจากสายพันธุ์ที่พบในพื้นที่ ผลที่ได้อาจผิดจากความเป็นจริง แต่เนื่องจากการทดสอบนี้ใช้เวลา 5-6 วัน และต้องใช้ผู้ทดสอบที่มีความชำนาญ อีกทั้งวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ต้องปลอดจากไวรัสและภูมิคุ้มกันต่อไวรัสนี้ด้วย ดังนั้นวิธีนี้ จึงใช้ในการอ้างอิงสำหรับการทดสอบด้วยวิธีอื่นๆ [41] ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก วิธี ELISA มีข้อดีกว่าวิธีไวรัสนิวทรัลไลเซชั่นหลายประการ เช่น ไม่ต้องใช้เซลล์เพาะเลี้ยงและเลี้ยงไวรัส ทราบผลเร็ว ค่าใช้จ่ายต่ำกว่า และสามารถใช้เครื่องอัตโนมัติทำแทนได้ [46,47] การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันในตัวอย่างรวม เช่น น้ำนมถังรวมฟาร์ม หรือตัวอย่างเลือดรวมจากกลุ่มตัวอย่างจำเพาะ สามารถใช้ประเมินภาวะการติดเชื้อในฟาร์มได้ [19,46] นอกเหนือจากนี้แอนติบอดีที่พบในแม่โคตั้งท้อง สามารถทำนายการเป็น PI ของลูกโคในท้องได้อีกด้วย [48]

2. การตรวจหาไวรัส หรือองค์ประกอบของไวรัสบีวีดี

ในโคที่ติดเชื้อครั้งแรกสามารถเพาะแยกเชื้อไวรัสได้ในวันที่ 2-3 จนถึงประมาณ 2 สัปดาห์หลังการติดเชื้อหรือนานกว่านั้น เมื่อตรวจหาสารพันธุกรรม ใน PI หลังจากที่ภูมิคุ้มกันจากแม่หมดลง สามารถพบแอนติเจนในซีรั่มและเนื้อเยื่อได้ตลอดช่วงชีวิต [49,50]

การแยกเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง นิยมทำในเซลล์โคหลายชนิด เช่น ไต ปอด อัณฑะ และหลอดลม [51] ตัวอย่างที่ใช้ตรวจ ได้แก่ เม็ดเลือดขาว ซีรั่ม และน้ำเชื้อ อย่างไรก็ตามในลูกโคที่เป็น PI และได้ดรับภูมิคุ้มกันผ่านนมน้ำเหลืองจากแม่ พบว่าภูมิคุ้มกันนั้นมีผลยับยั้งการเพาะเลี้ยงไวรัสจากตัวอย่างของลูกโคนั้น ซึ่งทำให้ผลการตรวจหา PI เกิดความผิดพลาดได้ [41]

การตรวจหาแอนติเจน มีวิธีที่นิยม 2 วิธี คือ วิธี antigen-capture ELISA ซึ่งตรวจหา

แอนติเจนได้ทั้งในซีรั่ม พลาสมา และเนื้อเยื่อ [52,53] และวิธี immunohistochemistry ซึ่งนิยมใช้ตรวจหาแอนติเจนในเนื้อเยื่อของ PI วิธีนี้แม้ค่อนข้างยุ่งยากมากกว่า วิธี antigen-capture ELISA แต่ผลที่ได้จะไม่ถูกรบกวนโดยภูมิคุ้มกันจากแม่ ดังนั้นสามารถใช้ตรวจหาไวรัสในลูกโคอายุน้อยได้ [54,55]

การตรวจหาสารพันธุกรรมโดย Reverse transcription - polymerase chain reaction (RT-PCR) ใช้ตัวอย่างส่งตรวจ ได้แก่ ของเหลวจากเอ็มบริโอ เนื้อเยื่อ ซีรั่ม น้ำเชื้อ เซลล์เพาะเลี้ยง และเลือด วิธีการ RT-PCR มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบันและมีการปรับใช้เทคนิคที่แตกต่างกันไป เช่น การใช้หลอดเดียวเพื่อลดการปนเปื้อนระหว่างขั้นตอน [56] การเพิ่มความไวของวิธีการตรวจด้วย nested RT-PCR [57] และการใช้ real time PCR เพื่อลดการใช้เจลและประมาณปริมาณของสาพันธุกรรมเริ่มต้นในตัวอย่าง [58]

การควบคุมโรค

การควบคุมโรคบีวีดีมีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศ และในหลายประเทศยังไม่มีมาตรการการป้องกันหรือกำจัดโรคอย่างเป็นทางการ วิธีการควบคุมโรคแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ดังต่อไปนี้

1. การไม่ใช้วัคซีน

มาตรการการกำจัดโรค และทำให้เป็นประเทศ/เขตปลอดโรค ได้เริ่มทำในช่วง 15 ปีที่ผ่านมาในกลุ่มประเทศสแกนดิเนเวียนและออสเตรีย ซึ่งสามารถกำจัดโรคได้ผลดี แม้ว่าในบางประเทศ เช่น สวีเดนจะมีอุบัติการณ์การเกิดโรคสูงและมีการเลี้ยงโคอย่างหนาแน่นก็ตาม [59-62]

หลักการสำคัญในการกำจัดโรค ได้แก่ การแบ่งกลุ่มประชากรฝูงโค เป็นฝูงที่ปลอดเชื้อและฝูงที่ติดเชื้อ ตามด้วยการค้นหาและกำจัด PI ออกจากฝูงที่ติดเชื้อ และให้ฝูงที่ปลอดเชื้อนั้นคงสภาพปลอดเชื้อตลอดไป โดยไม่ทำการซื้อขาย แลกเปลี่ยน หรือสัมผัสกับโคจากฝูงที่ติดเชื้อ ในขณะเดียวกันสภาวะการติดเชื้อของฝูง จะถูกประเมินเป็นระยะด้วยการตรวจหาระดับแอนติบอดีในน้ำนมถังรวมหรือในตัวอย่างซีรั่มจากกลุ่มลูกโค อายุ 6-18 เดือนที่เกิดในฟาร์ม (spot test) ถ้าฟาร์มใดให้ผลตรวจที่เป็นลบ 2 ครั้งติดต่อกัน ซึ่งแต่ละครั้งห่างกันมากกว่า 6 เดือน ก็จะได้รับการรับรองเป็นฝูงปลอดโรค ส่วนฝูงที่ให้ค่าระดับแอนติบอดีในถังรวมนมสูงหรือ spot test ให้ผลบวกซึ่งแสดงให้เห็นว่ายังมีการกระจายของโรคอยู่ จะต้องตรวจหา PI ด้วยการตรวจหาไวรัส/ชิ้นส่วนของไวรัสนั้นรายตัวเพื่อกำจัด PI ออกจากฝูง ในระหว่างที่ฝูงยังไม่ปลอดจากโรค ฟาร์มเหล่านี้จะไม่สามารถจำหน่ายโคให้ฝูงที่ปลอดโรคได้ ต้องทำการซื้อขายเฉพาะในกลุ่มฝูงติดเชื้อ อีกทั้งไม่สามารถนำโคออกแสดงได้อีกด้วย เกษตรกรผู้เลี้ยงโคจะได้รับข้อมูลของฟาร์มที่เป็นปัจจุบัน ตลอดเวลา และทำตามคำแนะนำของสัตวแพทย์เพื่อให้ฝูงโคของตนปลอดโรคในที่สุด [63] ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ฝูงปลอดโรคกลับมาติดเชื้ออีกครั้ง คือ การซื้อ PI หรือ แม่โคตั้งท้องลูกที่เป็น PI เข้าสู่ฟาร์ม ดังนั้น ในการซื้อขายโคต้องมีการตรวจภาวะการติดเชื้อของโคตัวนั้นอีกครั้งก่อนการซื้อขายทุกครั้ง [64] นอกเหนือจากนี้ การจัดการฟาร์มต้องมี

มาตรการการป้องกันโรคที่ดี รวมทั้งมาตรการ ในการตรวจพบโรคให้เร็วที่สุด เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาได้ในอนาคต [35]

2. การใช้วัคซีน

เหตุผลสำคัญในการใช้วัคซีนคือการสร้างภูมิคุ้มกันในแม่ เพื่อป้องกันการถ่ายทอดเชื้อสู่ลูกในท้องทำให้ไม่ให้เกิด PI ตัวใหม่ในฝูง การใช้วัคซีนร่วมกับการค้นหาและกำจัด PI ที่มีอยู่ในฝูงอาจช่วยให้การควบคุมโรคทำได้เร็วขึ้น [65] อย่างไรก็ตาม การทำวัคซีนอย่างเป็นระบบ มิใช่สิ่งที่จะกระทำได้โดยง่าย [35] เพราะการทำวัคซีนบีวีดีที่ได้ผล ต้องทำวัคซีนสายพันธุ์ที่พบในพื้นที่หรือใกล้เคียงกับสายพันธุ์ที่พบในพื้นที่ จึงจะให้ผลในการป้องกันโรค ดังนั้นการทำวัคซีนโดยขาดความรู้พื้นฐานของโรคที่เกิดขึ้นในพื้นที่นั้น จึงทำให้การทำวัคซีนนั้นสูญเปล่า มีรายงานการทำวัคซีนด้วยเชื้อเป็น มีโอกาศทำให้เกิดโรคมิวโคซอลได้ เนื่องจากไวรัสในวัคซีนเกิดการรวมตัวกับไวรัสในตัว PI [66,67] นอกจากนี้ มีรายงานผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ และการกดภูมิคุ้มกันอีกด้วย [68,69] วัคซีนเชื้อตายสามารถใช้ได้ในโคตั้งท้อง แต่ผลต่อการป้องกันการผ่านเชื้อสู่ลูกในท้องมีจำกัด ในประเทศเยอรมันนี มีการควบคุมโดยใช้วัคซีน 2 ชนิด ทั้งเชื้อเป็นและเชื้อตาย ซึ่งยังอยู่ในระหว่างการดำเนินการ [65,70]

เป็นที่น่าสังเกต ในประเทศที่ใช้วัคซีนอย่างแพร่หลาย เช่น สหรัฐอเมริกา แคนาดา เบลเยี่ยม และญี่ปุ่น จะพบไวรัส BVD-2 ด้วยเสมอ ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มประเทศที่ไม่เคยใช้วัคซีนเชื้อเป็นมาก่อน เช่น สวีเดน สหราชอาณาจักร นิวซีแลนด์ และออสเตรเลีย ดังนั้นจึงน่าจะมีความสัมพันธ์ระหว่างการใช้วัคซีนเชื้อเป็น และการพบ BVDV-2 [19]

วิทยาการระบาด และการควบคุมโรคบีวีดี ในประเทศไทย

จากการศึกษาของ Aiumlamai และคณะ [71] และ ปราจีนและคณะ [72] แสดงให้เห็นถึงการมีอยู่ของโคที่มีภูมิคุ้มกันต่อไวรัสบีวีดี ในหลายพื้นที่ของประเทศ โดยเฉพาะในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ในปี 2000-2004 Kampa และคณะ [2,78] ได้ทำการศึกษาระยะยาวจากตัวอย่างน้ำนมถังรวมจากฟาร์มโคนม ในเขตจังหวัดขอนแก่น อุดรธานี และสกลนคร จำนวนกว่า 200 ฟาร์ม และในโครายตัวทุกตัว จากฟาร์มโคนมรายย่อย จำนวน 11 ฟาร์มในเขตจังหวัดขอนแก่น พบว่าในปี 2000 ความชุกของแอนติบอดีต่อไวรัส อยู่ที่ 91% และลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอยู่ที่ 72% ในปี 2004 อีกทั้งร้อยละของฟาร์มที่มีระดับภูมิคุ้มกันระดับสูงในปี 2002 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 20% เป็น 8% ในปี 2004 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อนั้นเกิดกลไกการกำจัดตนเอง (self-clearance process) นอกจากนี้ ยังพบกลไกนี้จากการศึกษาโครายตัวใน 10 จาก 11 ฟาร์มด้วยเช่นกัน กลไกการกำจัดตนเองดังกล่าว เกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อที่เกิดขึ้นไม่สามารถทำให้เกิด PI ได้ และถ้าฝูงนั้นไม่ได้เชื้อจากวิถีอื่น เช่น การใช้น้ำเชื้อปนเปื้อนและการซื้อ PI เข้าฝูง การติดโรคครั้งใหม่จะไม่เกิดขึ้น และเมื่อโคที่ผ่านการติดเชื้อแล้ว ถูกนำออกจากฝูงอันเนื่องจากการ

จำหน่ายหรือตาย เป็นผลให้ฟาร์มจะเข้าสู่ภาวะปลอดโรคโดยธรรมชาติ [19,74,75] นอกจากนี้ยังพบว่า โคที่เคยติดเชื้อส่วนใหญ่ เป็นโคที่มีอายุมากมีภูมิคุ้มกันต่อ Bovine herpesvirus type I และเป็นโคนำเข้าในช่วงปี พ.ศ. 2537-2539 ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ที่โคนำเข้าเหล่านั้น ติดเชื้อไวรัสมาจากประเทศต้นทาง ซึ่งในขณะนั้นยังไม่มีข้อกำหนด ให้โคมีชีวิตต้องปลอดจากโรคบีวีดี

อย่างไรก็ตามในฟาร์มศึกษาแห่งหนึ่ง พบภูมิคุ้มกันต่อไวรัสบีวีดีเพิ่มมากขึ้นในทุกกลุ่มประชากรโค (ลูกโค โครุ่น และแม่โค) เมื่อตรวจหาแอนติเจนและสารพันธุกรรม พบว่าลูกโคตัวหนึ่งมี Th04/KhonKaen อยู่ในร่างกายซึ่งมีความใกล้เคียงกับไวรัส HoBi ที่จะจัดเป็น BVDV-3 และเมื่อทดสอบนิวทรัลไลเซชั่นเปรียบเทียบในซีรั่มโคในฟาร์มพบว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นตอบสนองสูงสุดต่อไวรัส HoBi และสูงกว่า BVDV-1, BVDV-2 และ classical swine fever virus ผลที่ได้ ชี้ชัดว่าเกิดการติดเชื้อไวรัสใหม่ที่มีความใกล้เคียงกับ HoBi จริงในธรรมชาติ [16]

การควบคุมโรคบีวีดีในประเทศไทย ปัจจุบันได้ทำการควบคุมโรค ตามข้อบังคับขององค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (OIE) [76,77] โดยน้ำเชื้อและเอ็มบริโอที่นำเข้าประเทศต้องนำมาจากแหล่งที่ไม่พบอาการของโรคในช่วงระยะเวลา 12 เดือนก่อนทำการเก็บ และจนถึงวันที่ทำการส่งมาประเทศไทย อีกทั้งโคต้องปลอดจากเชื้อเมื่อทำการตรวจแยกไวรัส [78-80] นอกจากนี้ฟาร์มพ่อพันธุ์ต้องผ่านการตรวจว่าปลอดเชื้อไวรัสบีวีดี ก่อนนำเข้าคอกกักกันของศูนย์ผลิตน้ำเชื้อ [81,82] ซึ่งมาตรการดังกล่าวสามารถลดความเสี่ยงในการติดเชื้อไวรัสบีวีดีได้ อย่างไรก็ตามการพบไวรัสใหม่และการขาดมาตรการในการควบคุมโรคบีวีดีในการเคลื่อนย้ายสัตว์ในประเทศ การตรวจภาวะการณ์ของโรค ในโคทุกภูมิภาคอย่างสม่ำเสมอ และให้ความรู้แก่เกษตรกรถึงการป้องกันโรคจะช่วยป้องกันการระบาด และป้องกันผลเสียร้ายแรงในอนาคตอันเนื่องจากการระบาดของไวรัสบีวีดีในการเลี้ยงโคของประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

1. World Organisation for Animal Health. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.* Paris: OIE, 2004.
2. Kampa J, Ståhl K, Moreno-López J, Chanlun A, Aiumlamai S, Alenius S. BVDV and BHV-1 infections in dairy herds in northern and northeastern Thailand. *Acta Vet Scand.* 2004;45 (3-4): 181-192.
3. Lindberg A, Houe H. Characteristics in the epidemiology of bovine viral diarrhea virus (BVDV) of relevance to control. *Prev Vet Med.* 2005;72(1-2): 55-73.
4. Donis RO. Molecular biology of bovine viral diarrhea virus and its interactions with the host. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1995;11(3): 393-423.
5. Deregt D, Tessaro SV, Baxi MK, Berezowski J, Ellis JA, Wu JT, et al. Isolation of bovine viral diarrhoea viruses from bison. *Vet Rec.* 2005;157(15): 448-450.

6. Vilcek S, Nettleton PF. Pestiviruses in wild animals. *Vet Microbiol.* 2006;116(1-3):1-12.
7. Meyers G, Thiel H J. Molecular characterization of pestiviruses. *Adv Virus Res.* 1996; 47:53-118.
8. Ridpath JF. Classification and Molecular Biology. In: Goyal SM, Ridpath JF, editors. *Bovine viral diarrhea virus: diagnosis, management and control.* Iowa: Blackwell Publishing; 2005. p. 65-80.
9. Becher P, Avalos Ramirez R, Orlich M, Cedillo Rosales S, KÖnig M, Schweizer M, et al. Genetic and antigenic characterization of novel pestivirus genotypes: implications for classification. *Virology.* 2003;311(1):96-104.
10. Ridpath JF, Bolin SR, Dubovi EJ. Segregation of bovine viral diarrhea virus into genotypes. *Virology.* 1994;205(1): 66-74.
11. Pellerin C, van den Hurk J, Lecomte J, Tussen P. Identification of a new group of bovine viral diarrhea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities. *Virology.* 1994;203(2):260-268.
12. Ridpath JF. BVDV genotypes and biotypes: practical implications for diagnosis and control. *Biologicals.* 2003;31(2):127-131.
13. Carman S, van Dreumel T, Ridpath J, Hazlett M, Alves D, Dubovi E, et al. Severe acute bovine viral diarrhea in Ontario, 1993-1995. *J Vet Diagn Invest.* 1998;10(1):27-35.
14. Rebhun WC, French TW, Perdrizet JA, Dubovi EJ, Dill SG, Karcher LF. Thrombocytopenia associated with acute bovine virus diarrhea infection in cattle. *J Vet Intern Med.* 1989; 3(1):42-46.
15. Schirrmeier H, Strebelow G, Depner K, Hoffmann B, Beer M. Genetic and antigenic characterization of an atypical pestivirus isolate, a putative member of a novel pestivirus species. *J Gen Virol.* 2004;85(Pt 12):3647-3652.
16. Ståhl K, Kampa J, Alenius S, Persson Wadman A, Baule C, Aiumlamai S, et al. Natural infection of cattle with an atypical 'HoBi'-like pestivirus--implications for BVD control and for the safety of biological products. *Vet Res.* 2007;38(3):517-523.
17. Baroth M, Orlich M, Thiel H J, Becher P. Insertion of cellular NEDD8 coding sequences in a pestivirus. *Virology.* 2000;278(2):456-466.
18. Brownlie J. Pathogenesis of mucosal disease and molecular aspects of bovine virus diarrhoea virus. *Vet Microbiol.* 1990;23(1-4):371-382.
19. Lindberg AL, Alenius S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet Microbiol.* 1999;64(2-3):197-222.

20. Barkema HW, Bartels CJ, van Wuijckhuise L, Hesselink JW, Holzhauer M, Weber MF, et al. Outbreak of bovine virus diarrhea on Dutch dairy farms induced by a bovine herpesvirus 1 marker vaccine contaminated with bovine virus diarrhea virus type 2. *Tijdschr Diergeneeskd.* 2001;126(6):158-165.
21. Stringfellow DA, Riddell KP, Givens MD, Galik PK, Sullivan E, Dykstra CC, et al. Bovine viral diarrhea virus (BVDV) in cell lines used for somatic cell cloning. *Theriogenology.* 2005; 63(4): 1004-1013.
22. Gunn HM. Role of fomites and flies in the transmission of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Rec.* 1993;132(23):584-585.
23. Lang-Ree JR, Vatn T, Kommisrud E, L∅ken T. Transmission of bovine viral diarrhoea virus by rectal examination. *Vet Rec.* 1994;135(17): 412-413.
24. Niskanen R, Lindberg A. Transmission of bovine viral diarrhoea virus by unhygienic vaccination procedures, ambient air, and from contaminated pens. *Vet J.* 2003;165(2): 125-130.
25. Niskanen R, Lindberg A, Larsson B, Alenius S. Lack of virus transmission from bovine viral diarrhoea virus infected calves to susceptible peers. *Acta Vet Scand.* 2000;41(1):93-99.
26. Niskanen R, Lindberg A, Tråvén M. Failure to spread bovine virus diarrhoea virus infection from primarily infected calves despite concurrent infection with bovine coronavirus. *Vet J.* 2002;163(3):251-259.
27. Chase CC, Elmowalid G, Yousif AA. The immune response to bovine viral diarrhea virus: a constantly changing picture. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2004;20(1):95-114.
28. Baker JC. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1995;11(3):425-445.
29. Potgieter LN. Bovine respiratory tract disease caused by bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1997;13(3):471-481.
30. Beaudeau F, Fourichon C, Robert A, Joly A, Seegers H. Bulk milk somatic cell counts and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in 7,252 dairy herds in Brittany (western France). *Prev Vet Med.* 2005;72:163-167.
31. Lindberg A, Emanuelson U. Effect of bovine viral diarrhea virus infection on average annual milk yield and average bulk milk somatic cell counts in Swedish dairy herds. *Epid Sante Anim.* 1997;31-32:10.1-10.11.3
32. Waage S. Influence of new infection with bovine virus diarrhoea virus on udder health in Norwegian dairy cows. *Prev Vet Med.* 2000;43(2):123-135.

33. Bielefeldt-Ohmann H. The pathologies of bovine viral diarrhea virus infection. A window on the pathogenesis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1995;11(3):447-476.
34. Brock KV, Chase CC. Development of a fetal challenge method for the evaluation of bovine viral diarrhea virus vaccines. *Vet Microbiol.* 2000;77(1-2):209-214.
35. Graham DA. Bovine viral diarrheoa virus (BVDV) on cattle farms - disease and control. *Cattle Practice.* 2001;9:111-118.
36. Moennig V, Liess B. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1995;11(3):477-487.
37. Charleston B, Fray MD, Baigent S, Carr BV, Morrison WI. Establishment of persistent infection with non-cytopathic bovine viral diarrhoea virus in cattle is associated with a failure to induce type I interferon. *J Gen Virol.* 2001;82(Pt 8):1893-1897.
38. Collen T, Morrison WI. CD4(+) T-cell responses to bovine viral diarrhoea virus in cattle. *Virus Res.* 2000;67(1):67-80.
39. Houe H. Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals.* 2003;31(2):137-143.
40. Houe H. Risk assesment. In: Goyal SM, Ridpath JF, editors. *Bovine viral diarrhea virus: diagnosis, management and control.* Iowa: Blackwell Publishing; 2005. p. 35-64.
41. Sandvik T. Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes. *Prev Vet Med.* 2005;72(1-2):3-16.
42. Howard CJ. Immunological responses to bovine virus diarrhoea virus infections. *Rev Sci Tech.* 1990;9(1):95-103.
43. Brownlie J, Clarke MC, Howard CJ, Pocock DH. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Ann Rech Vet.* 1987;18(2):157-166.
44. Fredriksen B, Sandvik T, LØken T, Ødegaard SA. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Rec.* 1999;144(5): 111-114.
45. Jones L, van Campen H, Xu ZC, Schnackel JA. Comparison of neutralizing antibodies to type 1a, 1b and 2 bovine viral diarrhea virus from experimentally infected and vaccinated cattle. *The Bovine Practitioner.* 2001;35:137-140.
46. Niskanen R, Alenius S, Larsson B, Jacobsson SO. Determination of level of antibodies to bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in bulk tank milk as a tool in the diagnosis and prophylaxis of BVDV infections in dairy herds. *Arch Virol Suppl.* 1991;3:245-251.
47. Schrijver RS, Kramps JA. Critical factors affecting the diagnostic reliability of enzyme-linked immunosorbent assay formats. *Rev Sci Tech.* 1998;17(2):550-561.

48. Lindberg A, Groenendaal H, Alenius S, Emanuelson U. Validation of a test for dams carrying foetuses persistently infected with bovine viral-diarrhoea virus based on determination of antibody levels in late pregnancy. *Prev Vet Med.* 2001;51(3-4):199-214.
49. Bruschke CJ, Weerdmeester K, Van Oirschot JT, Van Rijn PA. Distribution of bovine virus diarrhoea virus in tissues and white blood cells of cattle during acute infection. *Vet Microbiol.* 1998;64(1):23-32.
50. Sandvik T, Fredriksen B, L∅ken T. Level of viral antigen in blood leucocytes from cattle acutely infected with bovine viral diarrhoea virus. *Zentralbl Veterinarmed B* 1997;44(10):583-590.
51. Edwards S. The diagnosis of bovine virus diarrhoea-mucosal disease in cattle. *Rev Sci Tech.* 1990;9(1):115-130.
52. Kampa J, Ståhl K, Renstrom LH, Alenius S. Evaluation of a commercial Erns-capture ELISA for detection of BVDV in routine diagnostic cattle serum samples. *Acta Vet Scand.* 2007;49(1):7.
53. Mars MH, Van Maanen C. Diagnostic assays applied in BVDV control in The Netherlands. *Prev Vet Med.* 2005;72(1-2):43-48.
54. ThÜr B, Zlinszky K, Ehrensperger F. Immunohistochemical detection of bovine viral diarrhea virus in skin biopsies: a reliable and fast diagnostic tool. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1996;43(3):163-166.
55. Zimmer GM, Van Maanen C, De Goey I, Brinkhof J, Wentink GH. The effect of maternal antibodies on the detection of bovine virus diarrhoea virus in peripheral blood samples. *Vet Microbiol.* 2004;100(3-4):145-149.
56. Belák S, Ballagi-Pordány A. Bovine viral diarrhea virus infection: rapid diagnosis by the polymerase chain reaction. *Arch Virol Suppl.* 1991;3:181-190.
57. Gruber AD, Moennig V, Hewicker-Trautwein M, Trautwein G. Effect of formalin fixation and long-term storage on the detectability of bovine viral-diarrhoea-virus (BVDV) RNA in archival brain tissue using polymerase chain reaction. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1994;41(10): 654-661.
58. Letellier C, Kerkhofs P. Real-time PCR for simultaneous detection and genotyping of bovine viral diarrhea virus. *J Virol Methods.* 2003;114(1):21-27.
59. Bitsch V, Hansen KE, Ronsh∅lt L. Experiences from the Danish programme for eradication of bovine virus diarrhoea (BVD) 1994-1998 with special reference to legislation and causes of infection. *Vet Microbiol.* 2000;77(1-2):137-143.

60. Hult L, Lindberg A. Experiences from BVDV control in Sweden. *Prev Vet Med.* 2005; 72(1-2):143-148.

61. Rikula U, Nuotio L, Aaltonen T, Ruoho O. Bovine viral diarrhoea virus control in Finland 1998-2004. *Prev Vet Med.* 2005;72(1-2):139-142.

62. Rossmanith W, Janacek R, Wilhelm E. Control of BVDV-infection on common grassland--the key for successful BVDV-eradication in Lower Austria. *Prev Vet Med.* 2005; 72(1-2):133-137.

63. Larsson B, Niskanen R, Alenius S. Natural infection with bovine viral diarrhea virus in a dairy herd: a spectrum of symptom including early reproductive failure and retained placenta. *Ani Rep Sci.* 1994;36:37-48.

64. Alenius S, Lindberg A, Larsson B. A national approach to control of Bovine Viral Diarrhoea Virus. In 3rd *ESVV symposium pestivirus infection.* Lelystad, The Netherlands; 1997.

65. Moennig V, Eicken K, Flebbe U, Frey HR, Grummer B, Haas L, et al. Implementation of two-step vaccination in the control of bovine viral diarrhoea (BVD). *Prev Vet Med.* 2005;72(1-2):109-114.

66. Becher P, Orlich M, Thiel HJ. RNA recombination between persisting pestivirus and a vaccine strain: generation of cytopathogenic virus and induction of lethal disease. *J Virol.* 2001;75(14):6256-6264.

67. Fritzemeier J, Greiser-Wilke I, Haas L, Pituco E, Moennig V, Liess B. Experimentally induced "late-onset" mucosal disease--characterization of the cytopathogenic viruses isolated. V*et Microbiol.* 1995;46(1-3):285-294.

68. Bolin SR. The pathogenesis of mucosal disease. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1995;11(3): 489-500.

69. Grooms DL, Brock KV, Ward LA. Detection of cytopathic bovine viral diarrhea virus in the ovaries of cattle following immunization with a modified live bovine viral diarrhea virus vaccine. *J Vet Diagn Invest.* 1998;10(2):130-134.

70. Moennig V, Houe H, Lindberg A. BVD control in Europe: current status and perspectives. *Anim Health Res Rev.* 2005;6(1):63-74.

71. Aiumlamai S, Alenius S, Nithichai K. Prevalence of antibodies to various bovine viruses in bulk tank milk samples from dairy herds in Muaklek area. *Thai J Vet Med.* 1992;22(2): 112-119.

72. ปราจีน วีรกุล, ศิริวัฒน์ ทรวดทรง, จันทร์เพ็ญ สุวิมลธีระบุตร, จินดา สิงห์ลอ. สถานภาพภูมิคุ้มกันโรคไวรัส BVD, IBR, PI3 และ BRS ของฟาร์มโคนมในประเทศไทย. *เวชชสารสัตวแพทย์.* 2540;27(3): 295-313.

73. Kampa J, Alenius S, Emanuelson U, Chanlun A, Aiumlamai S. BHV-1 and BVDV infections in dairy herds:self-clearance and the detection of seroconversions against a new atypical pestivirus. *Veterinary Journal.* 2008;(In Press).
74. Ståhl K, Lindberg A, Rivera H, Ortiz C, Moreno-Lopez J. Self-clearance from BVDV infections-A frequent finding in dairy herds in an endemically infected region in Peru. *Prev Vet Med.* 2008; 83(3-4):285-296.
75. Viltrop A, Alaots J, Parn M, Must K. Natural changes in the spread of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) among Estonian cattle. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2002;49(6): 263-269.
76. World Organisation for Animal Health. Appendix 3.2.1.bovine and small ruminant semen. *Terrestrial Animal Health Code.* Paris: OIE; 2005.
77. World Organisation for Animal Health. Section 3.3: collection and processing of embryo/ova. *Terrestrial Animal Health Code.* Paris: OIE; 2005.
78. สำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์. *เงื่อนไขการนำโคหรือกระบือสำหรับใช้ทำพันธุ์เข้าในราชอาณาจักร.* กรุงเทพฯ: กรมปศุสัตว์; 2544.
79. สำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์. *เงื่อนไขการนำเอ็มบริโอโคหรือเอ็มบริโอกระบือเข้าในราชอาณาจักร.* กรุงเทพฯ: กรมปศุสัตว์; 2544.
80. สำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์. *เงื่อนไขการนำน้ำเชื้อโคหรือน้ำเชื้อกระบือเข้าในราชอาณาจักร.* กรุงเทพฯ: กรมปศุสัตว์; 2544.
81. สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. *ประกาศกรมปศุสัตว์ เรื่อง การนำสัตว์เข้ามาในศูนย์ผลิตน้ำเชื้อและการกักแยกสัตว์ไว้เพื่อตรวจสุขภาพ.* กรุงเทพฯ: กรมปศุสัตว์; 2548.
82. สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. *ประกาศกรมปศุสัตว์ เรื่อง การนำสัตว์เข้ามาในศูนย์ผลิตน้ำเชื้อและการกักแยกสัตว์ไว้เพื่อตรวจสุขภาพ.* พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: กรมปศุสัตว์; 2550.