การตรวจ
วินิจฉัยโรคลัมปี สกิน
ทางห้องปฏิบัติการ

นายสัตวแพทย์ฐปณัฐ สงคสุภา
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

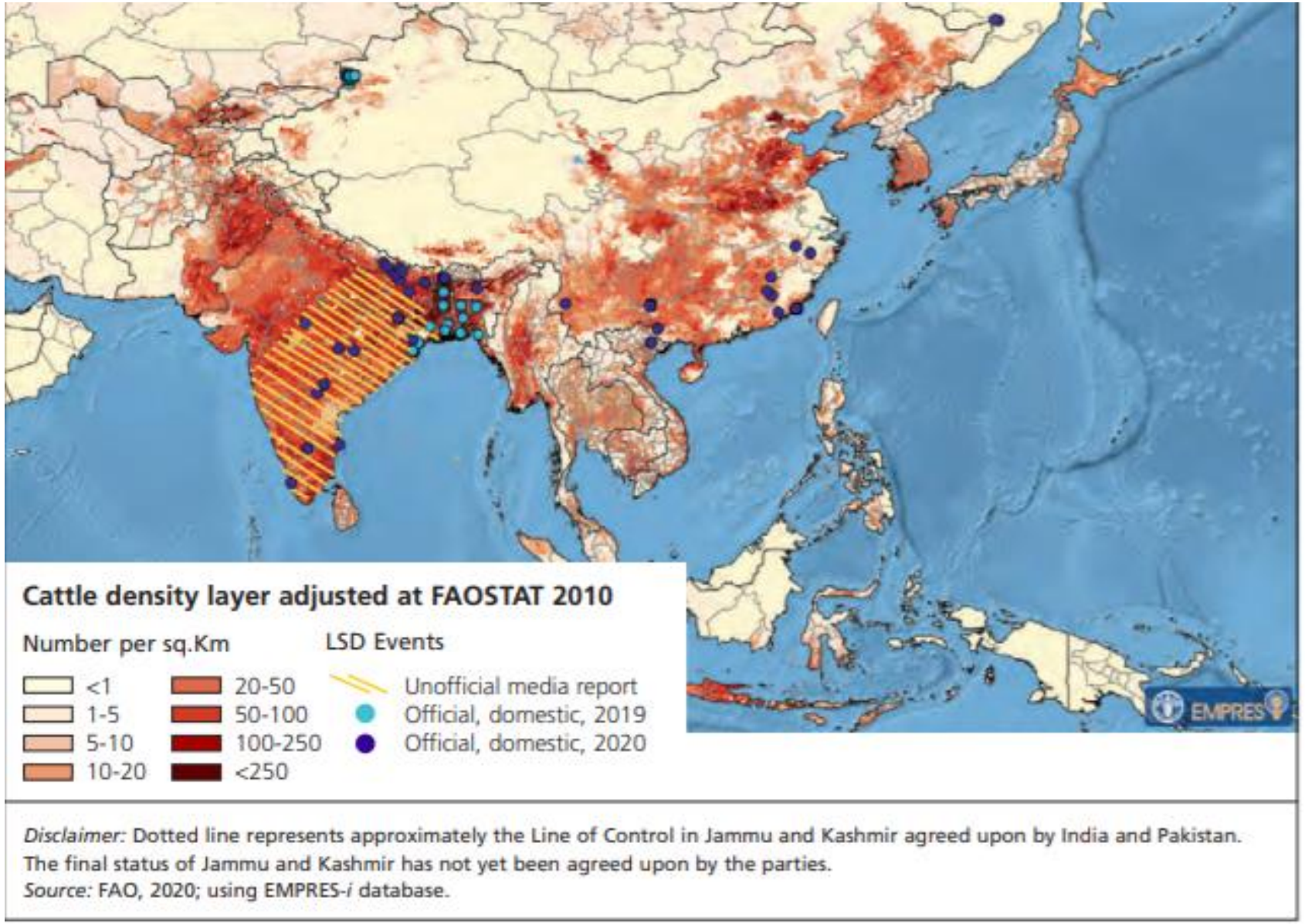
เครือข่าย ห้องปฏิบัติการ กรมปศุสัตว์

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์

ห้องปฏิบัติการภูมิภาค ทั้ง 8 แห่ง ตรวจยืนยันโรค ด้วยวิธี Real-time PCR

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ตรวจยืนยันโรคด้วยวิธี Real-time PCR, VI, Sequencing

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ



บังคลาเทศ (กรกฎาคม 2562)

อินเดีย (สิงหาคม 2562)

สาธารณรัฐประชาชนจีน (สิงหาคม 2562)

สาธารณรัฐจีน ไต้หวัน (กรกฎาคม 2563)

เนปาล (กรกฎาคม 2563)

เวียดนาม (ตุลาคม 2563)

ภูฏาน (ตุลาคม 2563)

ฮ่องกง (พฤศจิกายน 2563)

เมียนมาร์ (พฤศจิกายน 2563)

ศรีลังกา (มกราคม 2564)

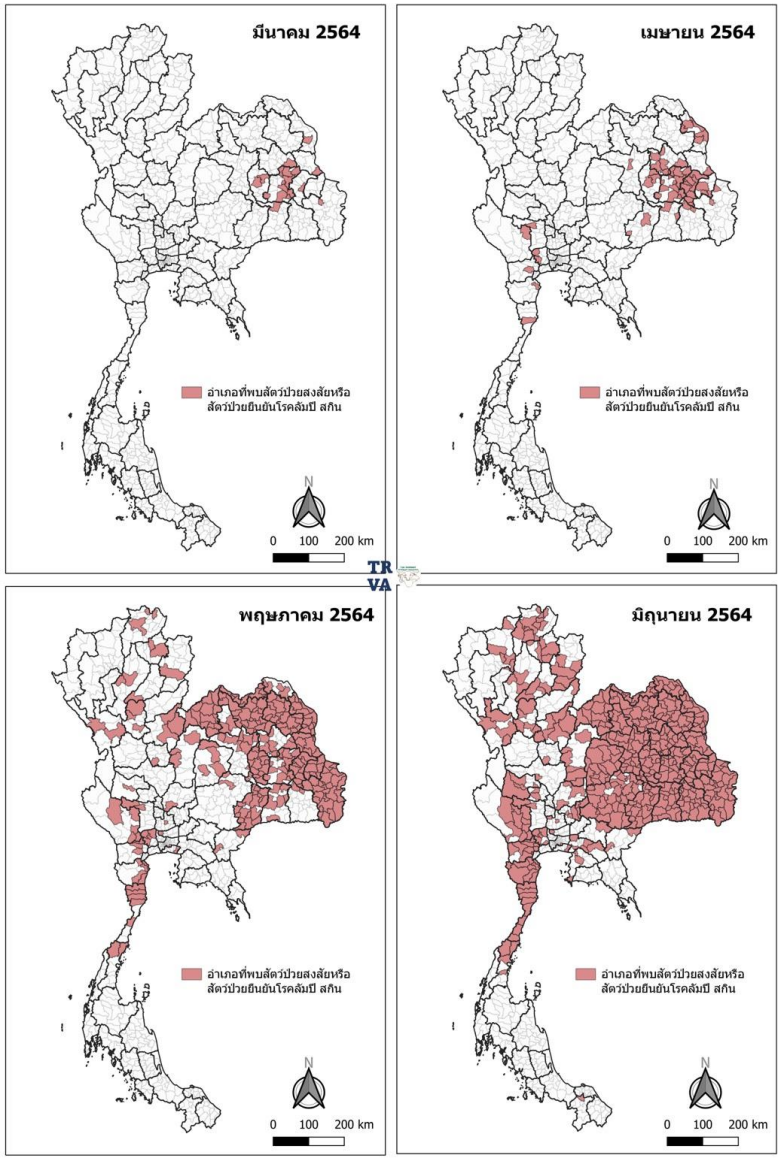
ไทย (มีนาคม 2564)

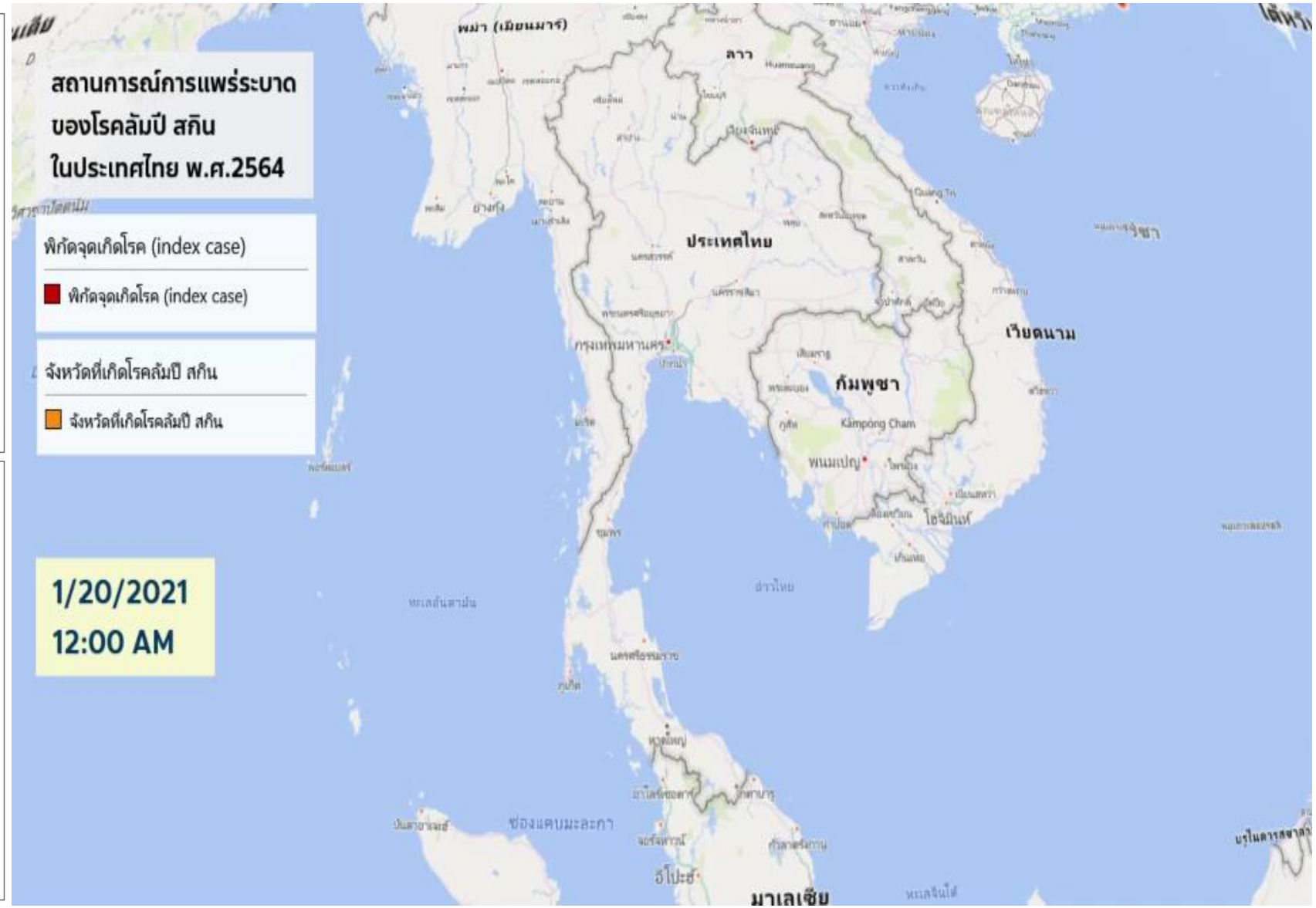
ลาว (พฤษภาคม 2564)

กัมพูชา (มิถุนายน 2564)

มาเลเซีย (มิถุนายน 2564)

Source: FAO, 2020





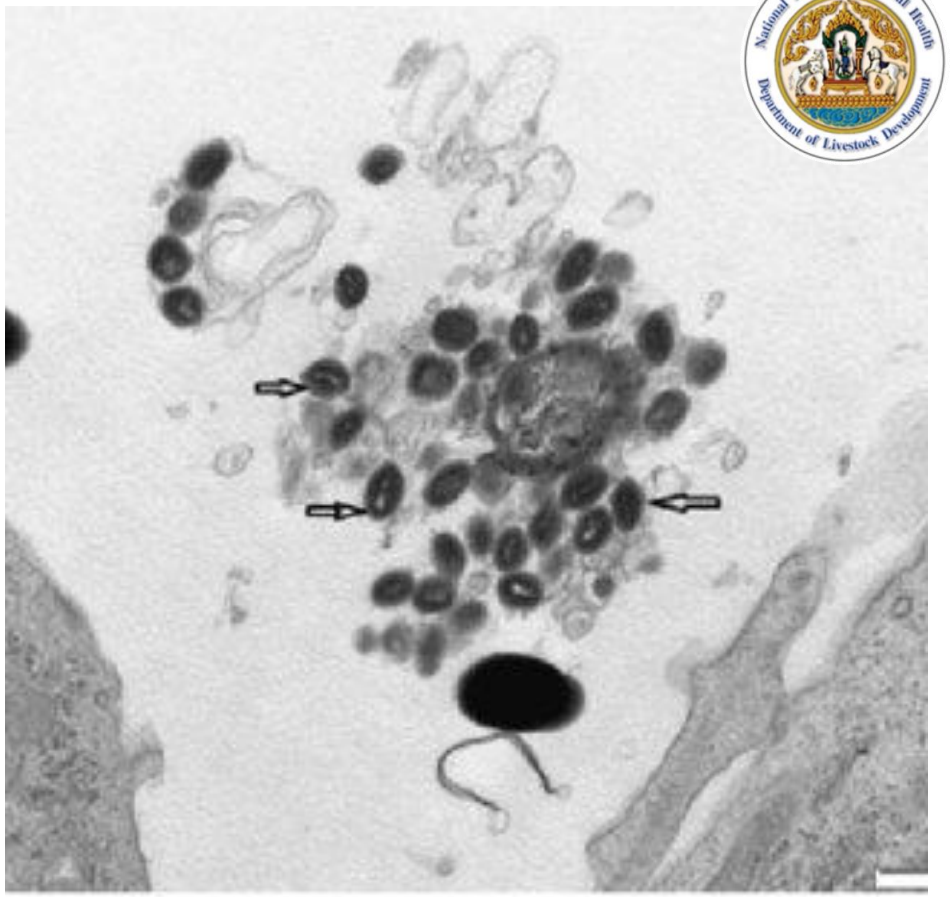
ที่มา: กรมปศุสัตว์

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

- โรคติดเชื้ออุบัติใหม่ในประเทศไทย สร้างความเสียหายมหาศาลแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อ โคนม และกระบือ
- จากข้อมูลทางระบาดวิทยา มีรายงานการระบาดของโรคลัมปี สกิน ครอบคลุมพื้นที่ 62 จังหวัดของประเทศไทย ป่วยสะสม 504,134 ตัว ตายสะสม 32,260 ตัว
- การควบคุมโรค และป้องกันโรคมีความจำเป็นต้องใช้การบูรณาการ ทั้งการตรวจทางห้องปฏิบัติการ การวัคซีน การควบคุมแมลงพาหะ และการควบคุมการเคลื่อนย้าย

Lumpy skin disease

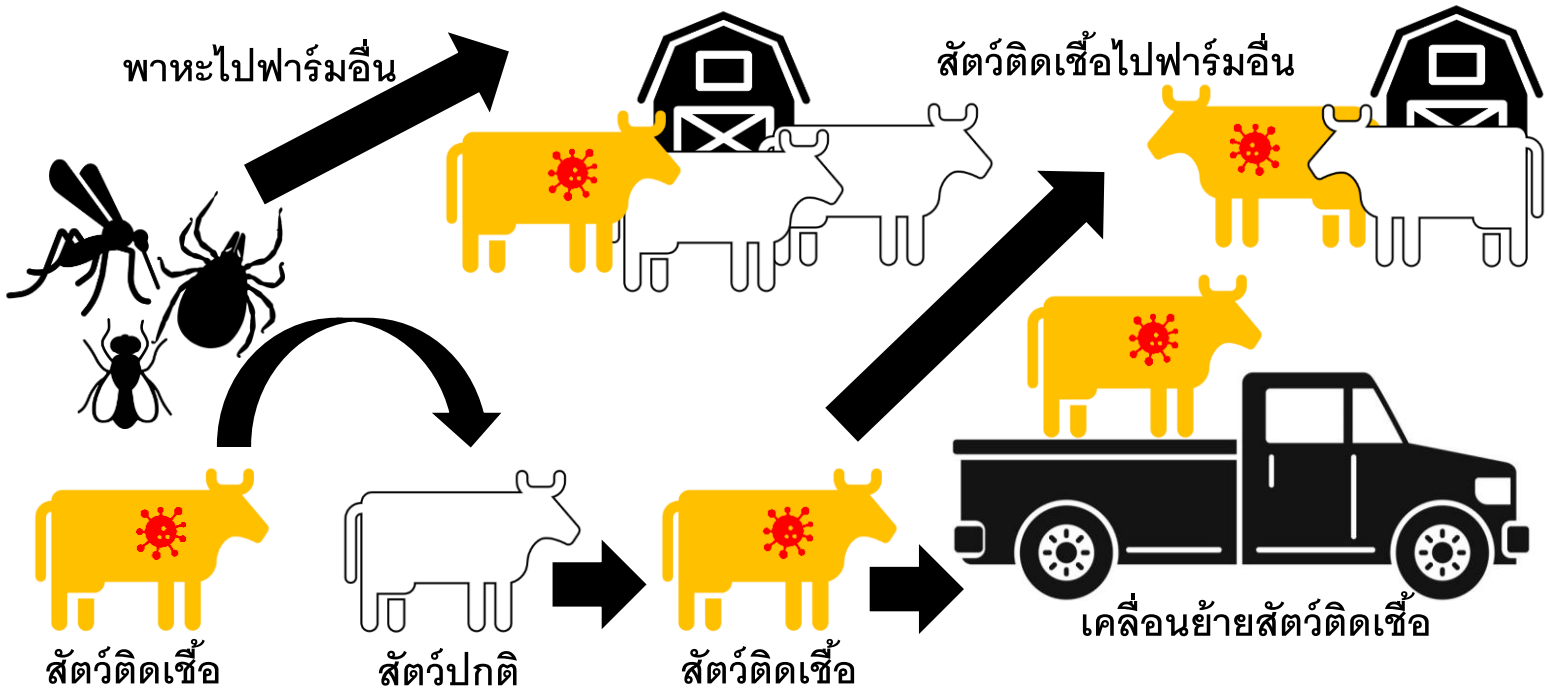
- เชื้อไวรัส Double-stranded DNA virus
- จัดอยู่ในวงศ์ Poxviridae สกุล Capripox virus
- Capripox – LSDV, SPPV, GTPV
- ติดต่อผ่านแมลงพาหะดูดเลือด, ผ่านเข็มฉีดยา และการติดต่อผ่านการกินที่ปนเปื้อนเชื้อ
- สัตว์ที่มีความไวรับ: โค กระบือ
- เชื้อสามารถคงอยู่ในสะเก็ดผิวหนัง นาน >3 เดือน

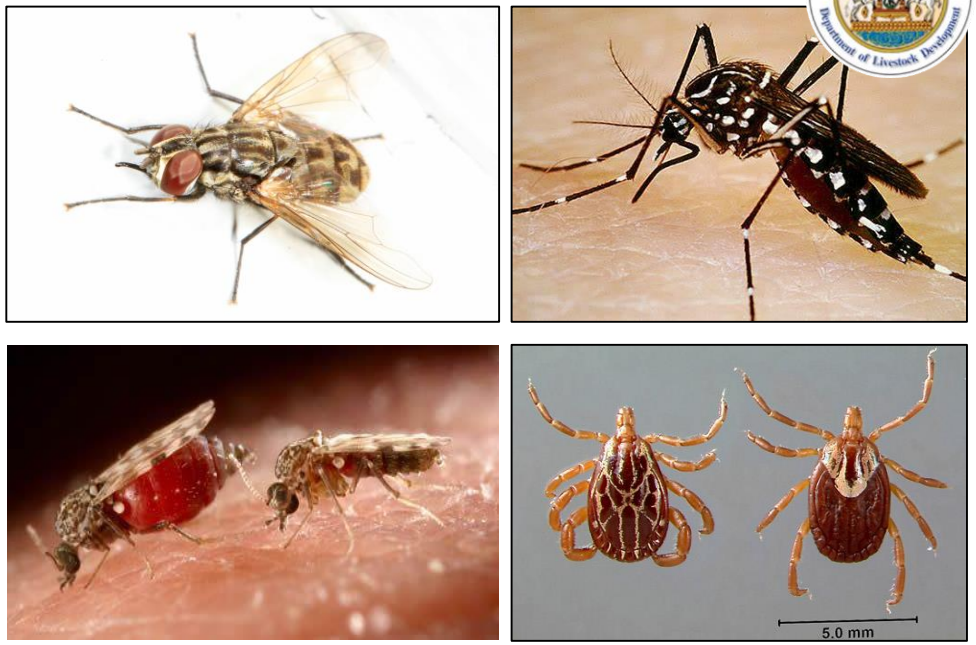


The incubation period is approximately:

	4 – 15 days	after experimental infection
in natural conditions	2 – 5 weeks	

Source: OIE, Webinar 2020





Source: OIE, Webinar 2020

การติดต่อ

- ยุง (*Aedes Aegypti, Culex* spp.)
- แมลงวันคอก (*Stomoxys calcitrans*)
- เห็บแข็ง (*Amblyomma* spp., *Rhipicephalus* spp.)
- การติดต่อผ่านอาหารและน้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อ และการติดต่อผ่านการสัมผัสสัตว์ป่วยโดยตรง

ที่มา: กรมปศุสัตว์

อาการป่วย

อัตราการป่วย: 2 – 40%

อัตราการตาย: 1 – 2%

- ไข้สูง
- ต่อมน้ำเหลืองโต
- น้ำนมลด แท้ง ผสมไม่ติด
- รอยโรคที่ผิวหนัง ตุ่มนูน ตกสะเก็ด แผลหลุม

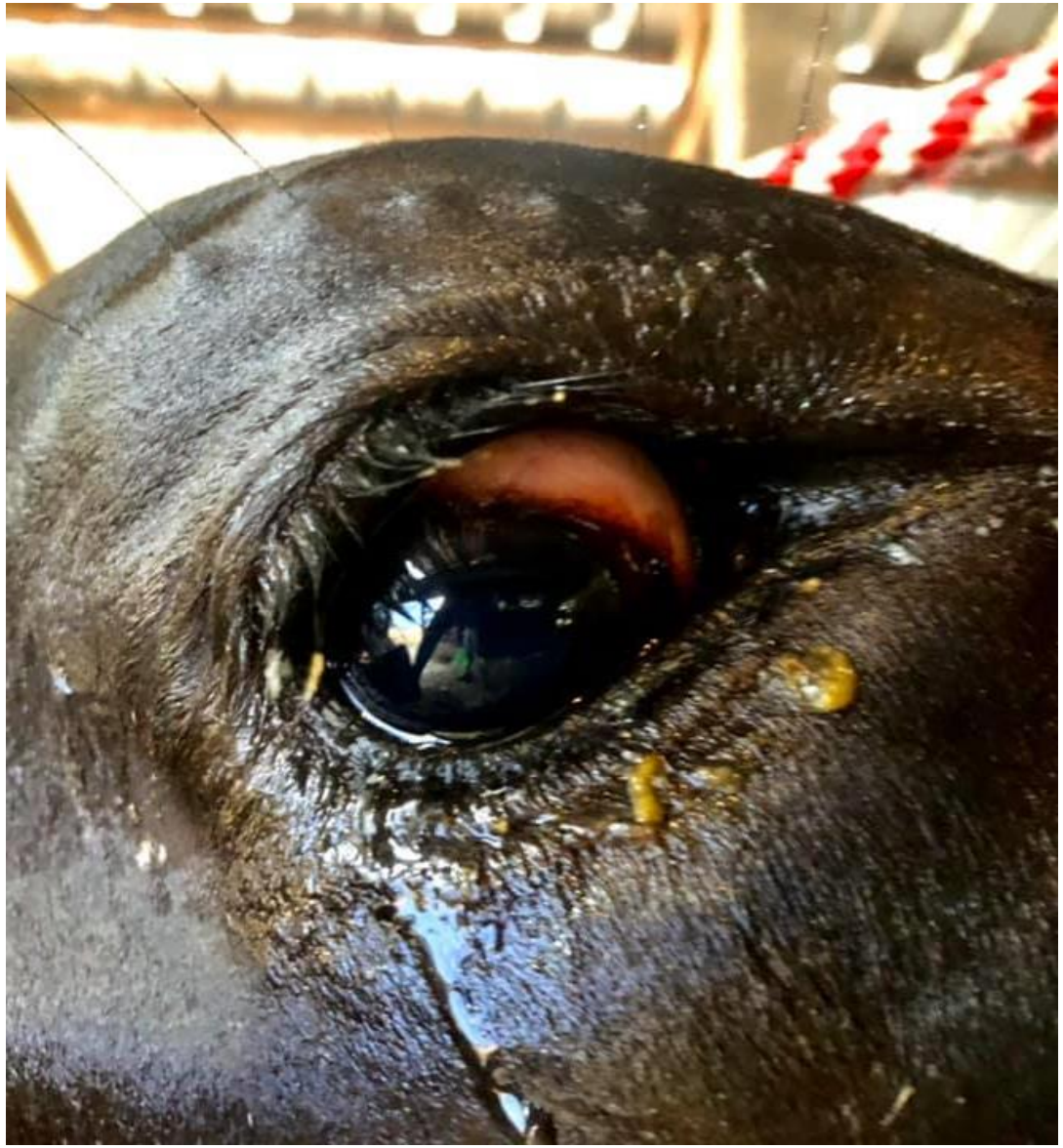
อาการรุนแรงในลูกสัตว์

แผลบริเวณจมูก

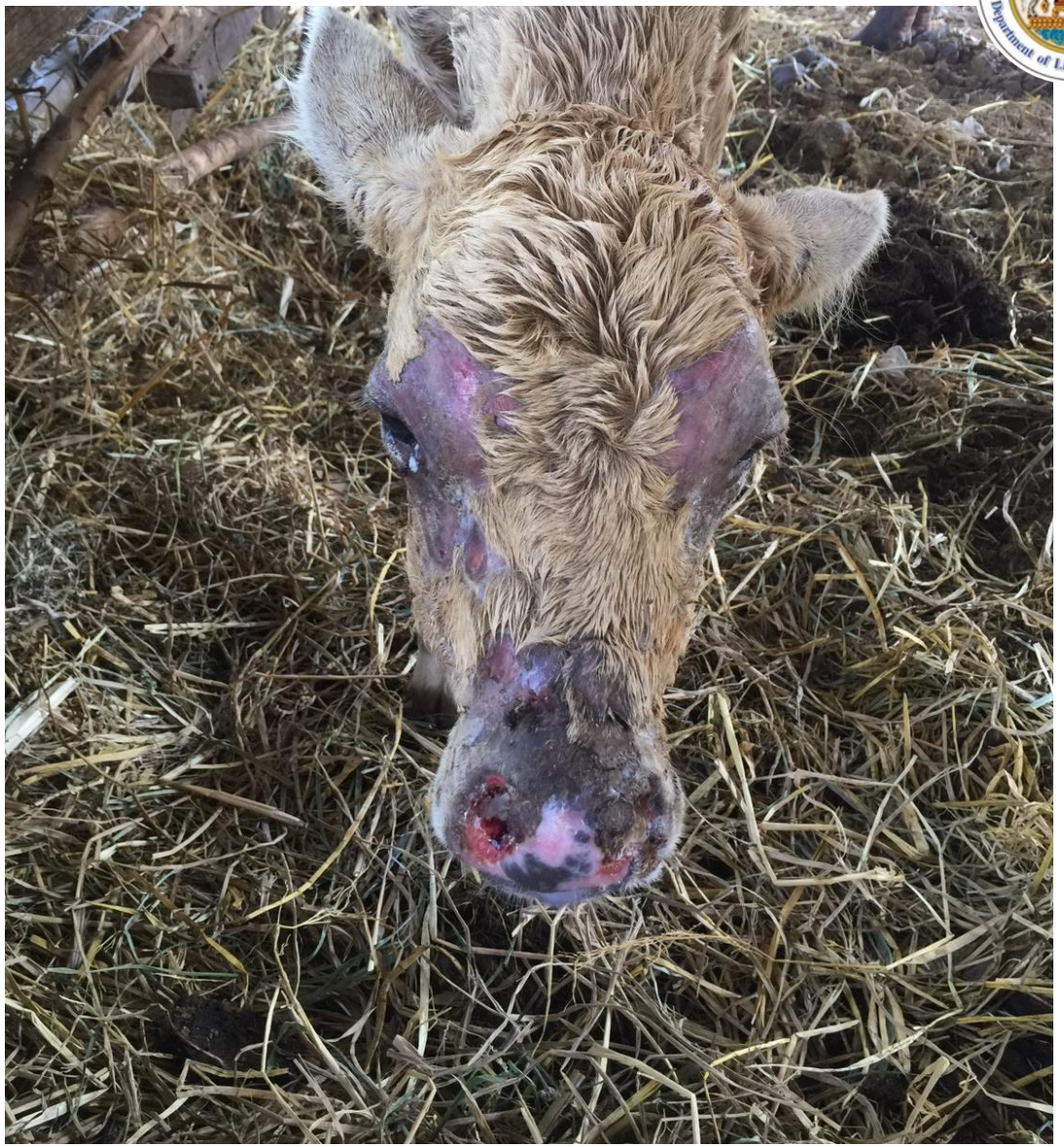
ตุ่มนูนบริเวณผิวหนัง

น้ำมูก น้ำตาไหล

ที่มา: กรมปศุสัตว์

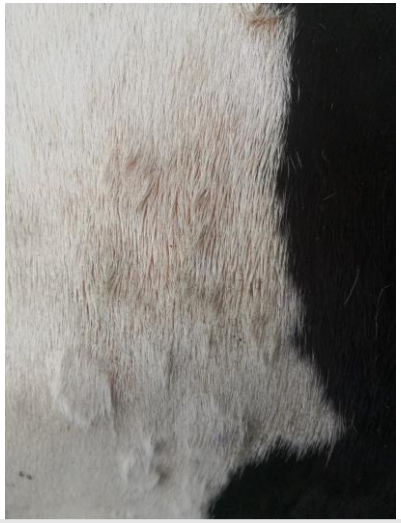


ตาอักเสบ น้ำตาไหล



แผลบริเวณจมูก น้ำมูก น้ำตาไหล

อาการของโรค LSD ในโคนม



ตุ่มนูน บริเวณผิวหนัง

ตุ่มบริเวณเต้านม น้ำนมลด

แผลเนื้อตาย บริเวณผิวหนัง

ที่มา: กรมปศุสัตว์

อาการของโรค LSD ในกระบือ

ตุ่มนูน บริเวณผิวหนัง

แผลเนื้อตายสีดำ บริเวณผิวหนัง

ที่มา: กรมปศุสัตว์

ที่มา:กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช, ข่าวไทยพีบีเอส

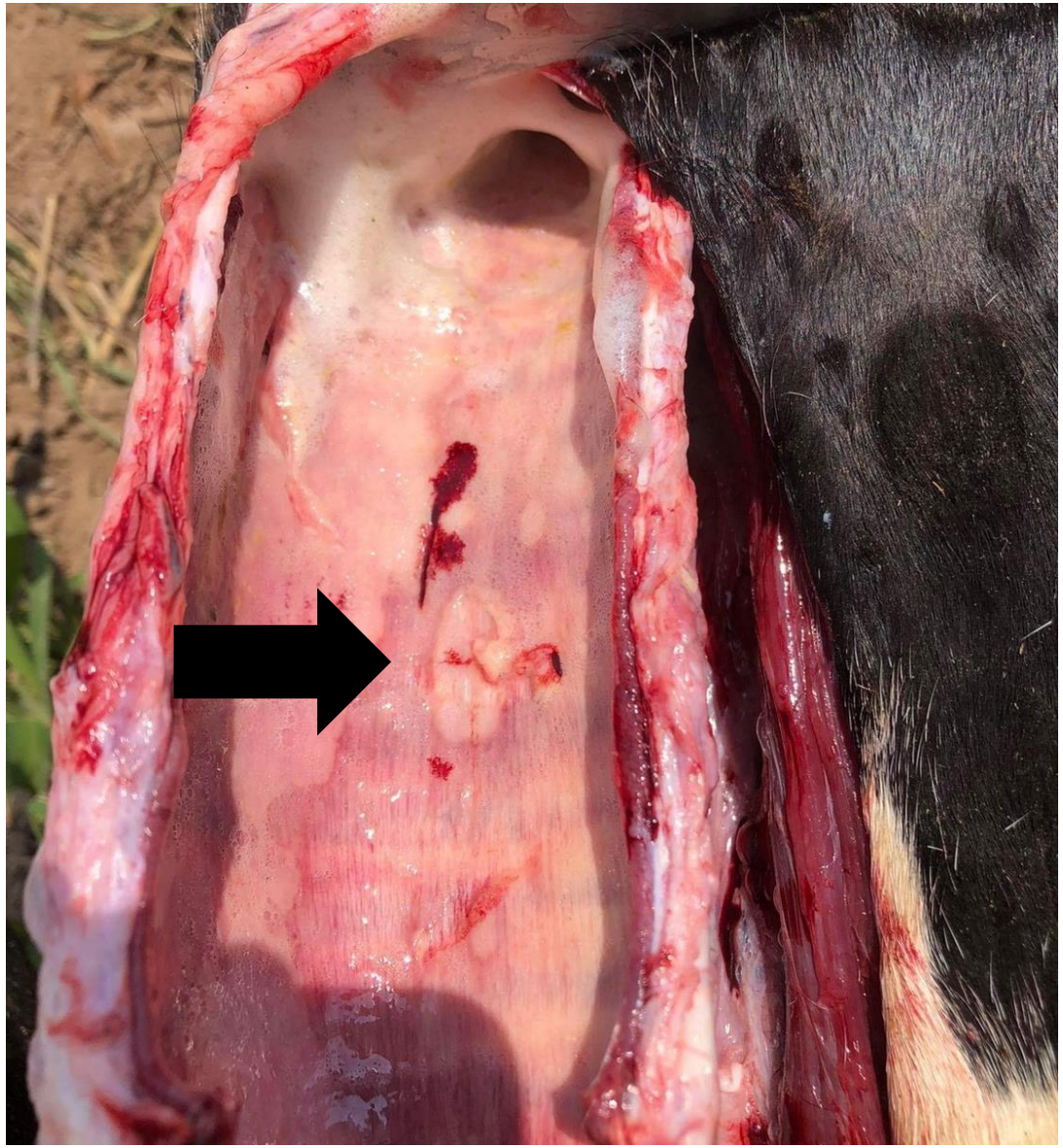
แผลหลุม มีหนอนแมลง

ลูกแท้ง มีตุ่มนูนและแผลหลุมที่ผิวหนัง

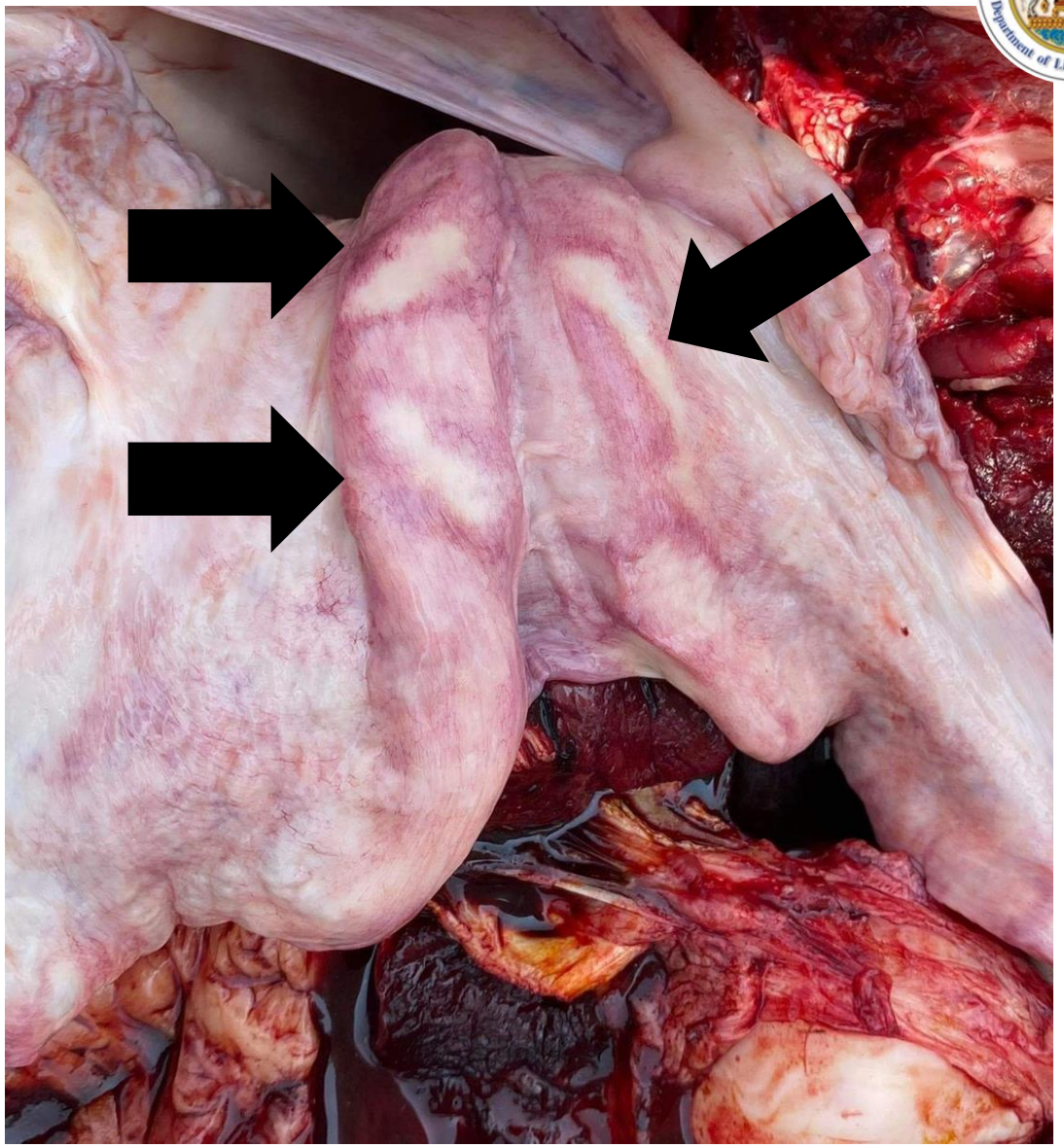
ตุ่มนูนในช่องปาก

แผลชอนทะลุ fistula tract

ที่มา: กรมปศุสัตว์



แผลแตก บริเวณหลอดลม



แผลที่บริเวณมดลูก

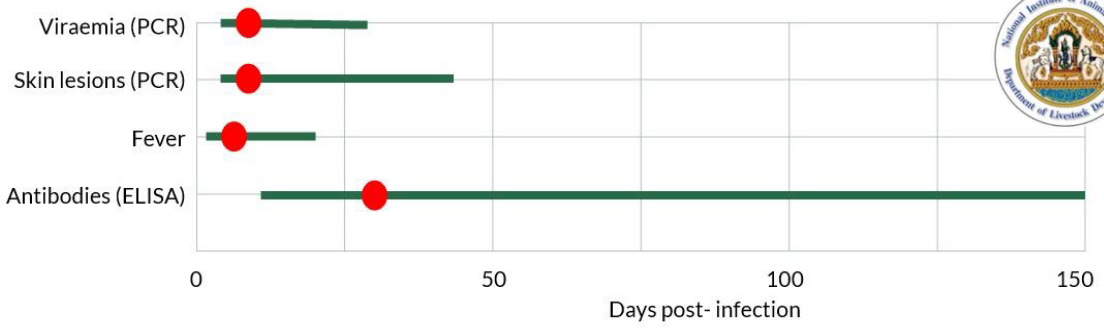
ที่มา: กรมปศุสัตว์

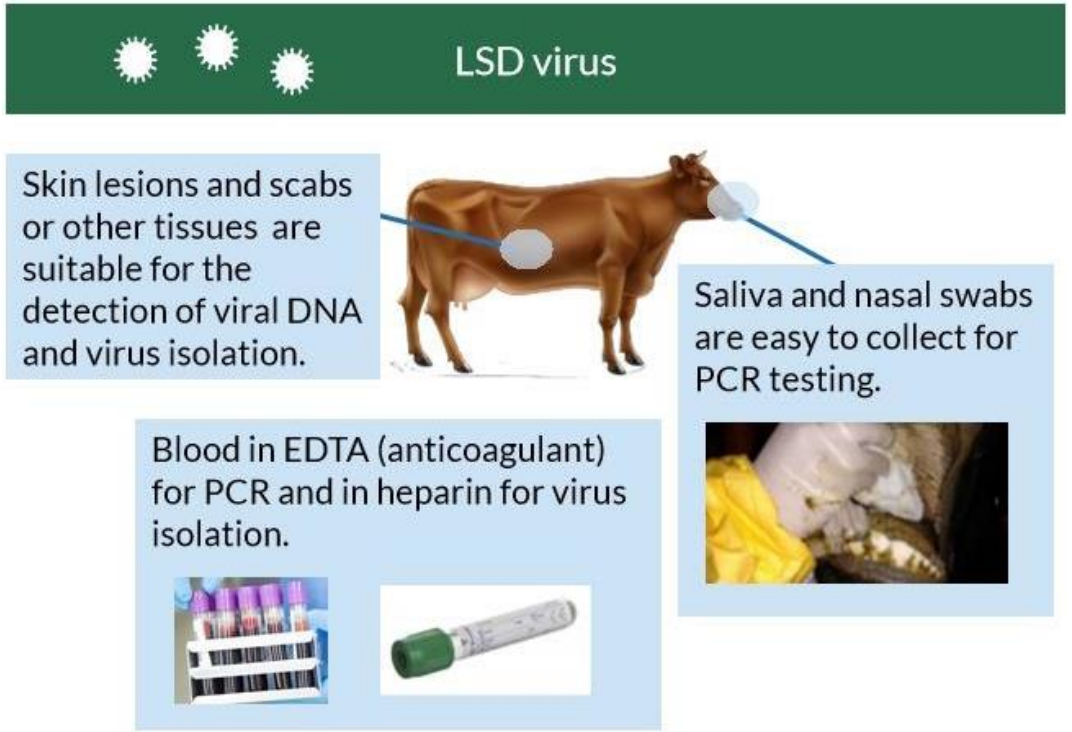
การตรวจวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ

Method	Purpose					
	Population freedom from infection	Individual animal freedom from infection prior to movement	Contribute to eradication policies	Confirmation of clinical cases	Prevalence of infection – surveillance	Immune status in individual animals or populations post-vaccination
Detection of the agent						
Virus isolation	+	++	+	+++	+	–
PCR	++	+++	++	+++	+	–
Transmission electron microscopy	–	–	–	+	–	–
Detection of immune response						
VNT	++	++	++	++	++	++
IFAT	+	+	+	+	+	+
ELISA	++	++	++	++	++	++

Source: OIE, 2021

ตัวอย่างส่งตรวจ:
สะเก็ดผิวหนัง เลือดในหลอด EDTA





Source: กรมปศุสัตว์; OIE, Webinar 2020

ตัวอย่างส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ซีรัม

เลือด

(หลอดที่มีสารกันแข็งตัวของเลือด EDTA)

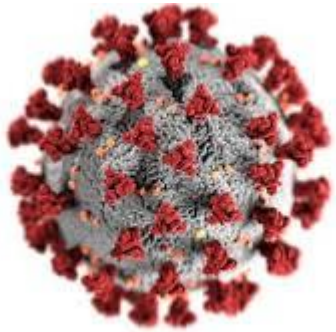
ผิวหนัง

(ตุ่ม หรือ สะเก็ดผิวหนัง)

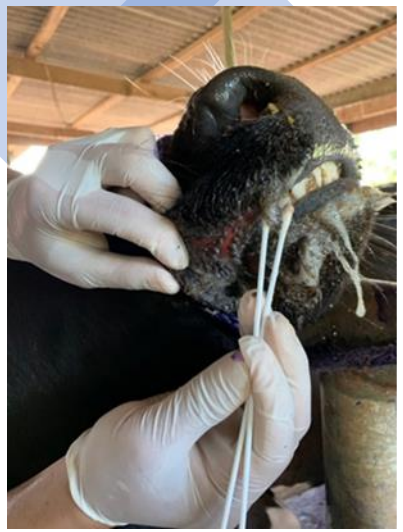
สวอบ

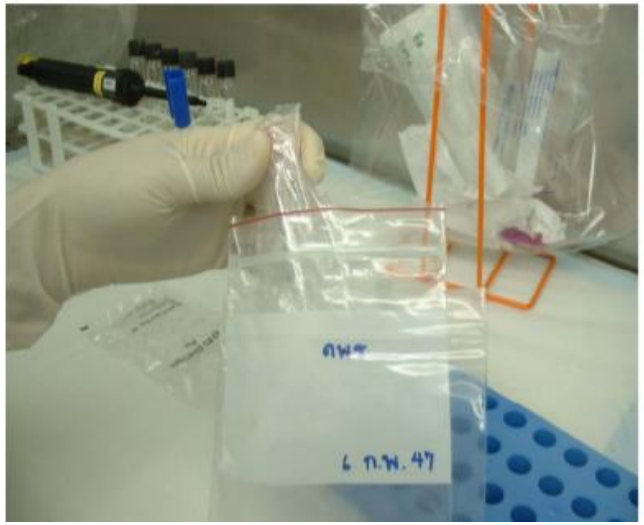
(สวอปจมูก สวอปปาก)

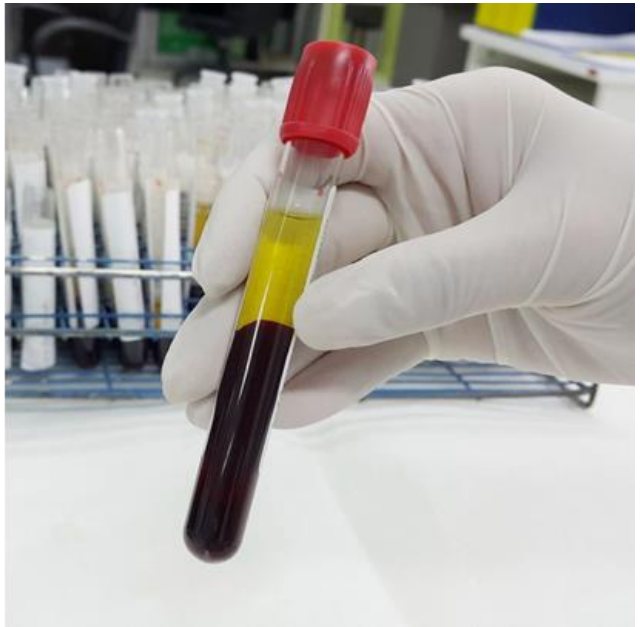
Ab detection



Ag detection



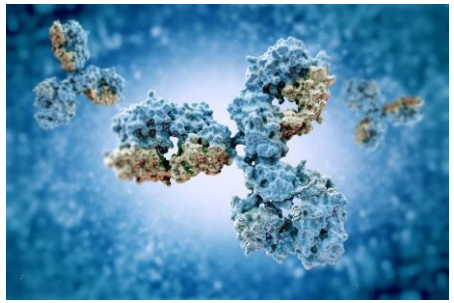




ตัวอย่างไม่เหมาะสม

การตรวจวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส

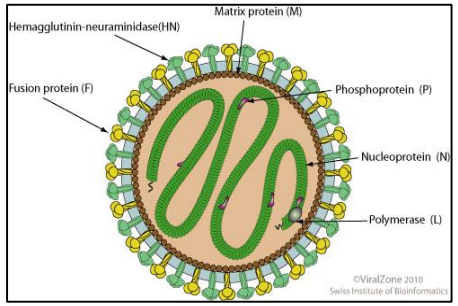


Detection of antibodies

- ELISA
- SNT/VNTT

การเฝ้าระวังโรคทางซีรัมวิทยา
หรือ ตรวจประเมินภูมิคุ้มกันหลังทำวัคซีน

การตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัส



Detection of viral antigen

- qPCR techniques
- Virus isolation

วิธีการยืนยันโรคทาง
ห้องปฏิบัติการ

LSD Clinical surveillance algorithm

Suspected animals

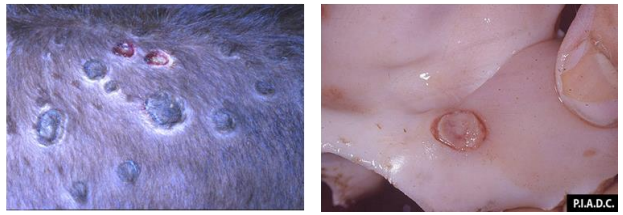
↓

Test for
- Lumpy skin disease

↓ **Differential Diagnosis**

Test for
- Poxvirus
- Pseudocowpox virus
- Bovine papular stomatitis virus
- Bacterial infection

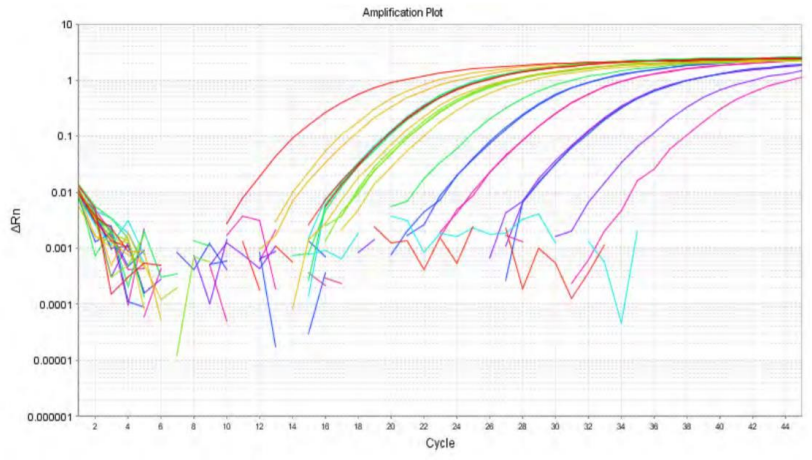
Lumpy Skin Disease source: P.I.A.D.C.



Pseudocowpox source: Ohtani et al., 2017

Cowpox source: Peres M. et al., 2008

Bovine Papular Stomatitis source: Senturk et al., 2016



Real-time PCR

[Primers] (Ireland & Binepal, 1998) – **OIE chapter 3.4.12**

LSD-F: 5’-TCC-GAG-CTC-TTT-CCT-GAT-TTT-TCT-TAC-TAT-3’

LSD-R: 5’-TAT-GGT-ACC-TAA-ATT-ATA-TAC-GTA-AAT-AAC-3’

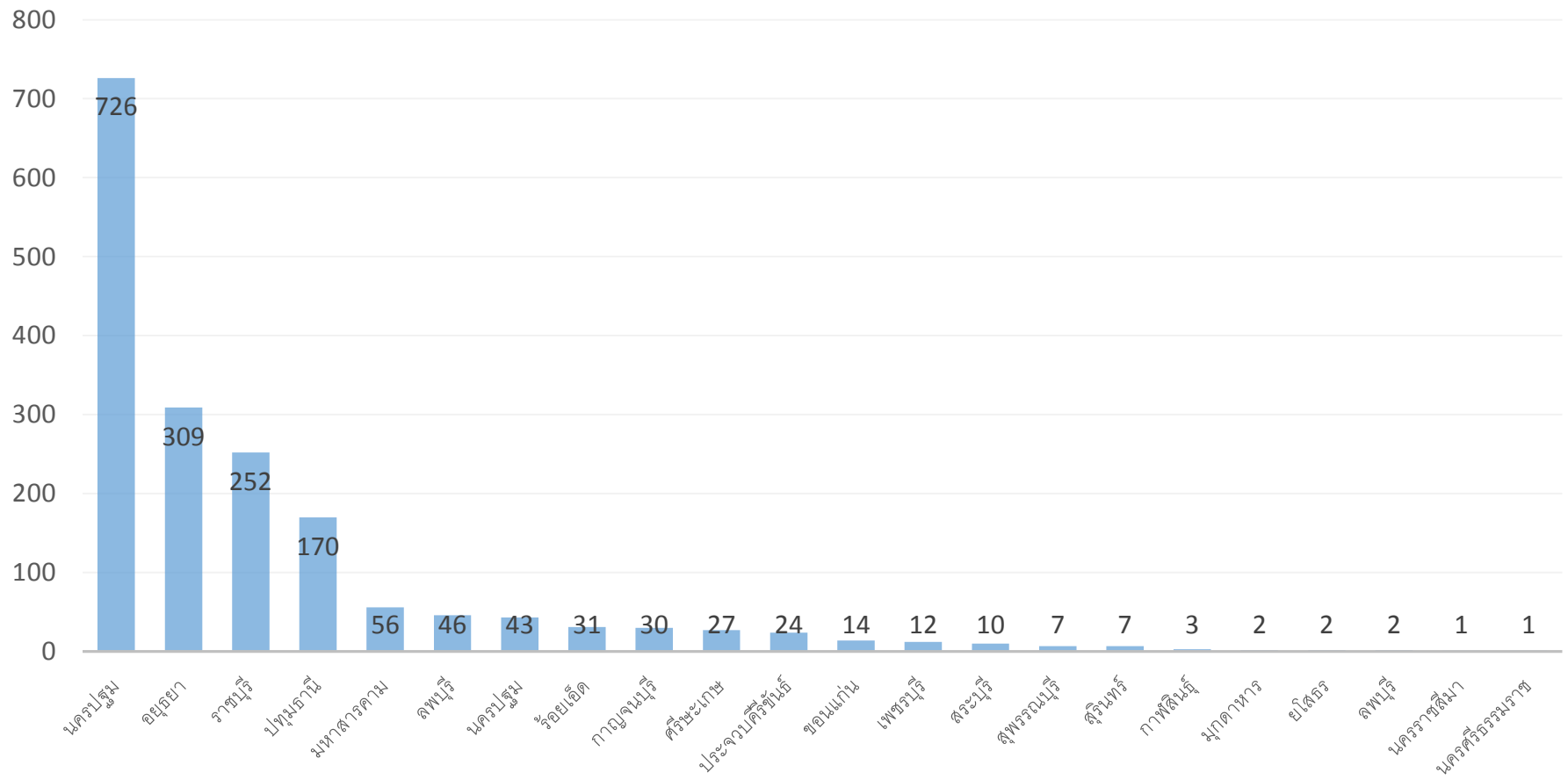
[Primers] (Bowden *et al*., 2008) – **OIE chapter 3.4.12**

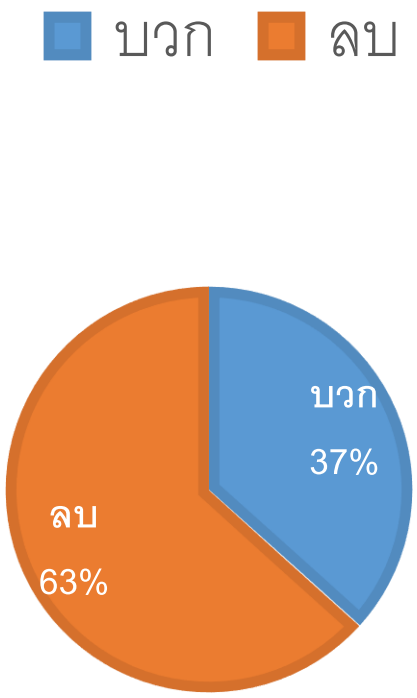
CaPV-074F1 5’-AAA ACG GTA TAT GGA ATA GAG TTG GAA-3’

CaPV-074R1 5’-AAA TGA AAC CAA TGG ATG GGA TA-3’

CaPV-074P1 5’-6FAM-TGG CTC ATA GAT TTC CT-MGBNFQ-3’

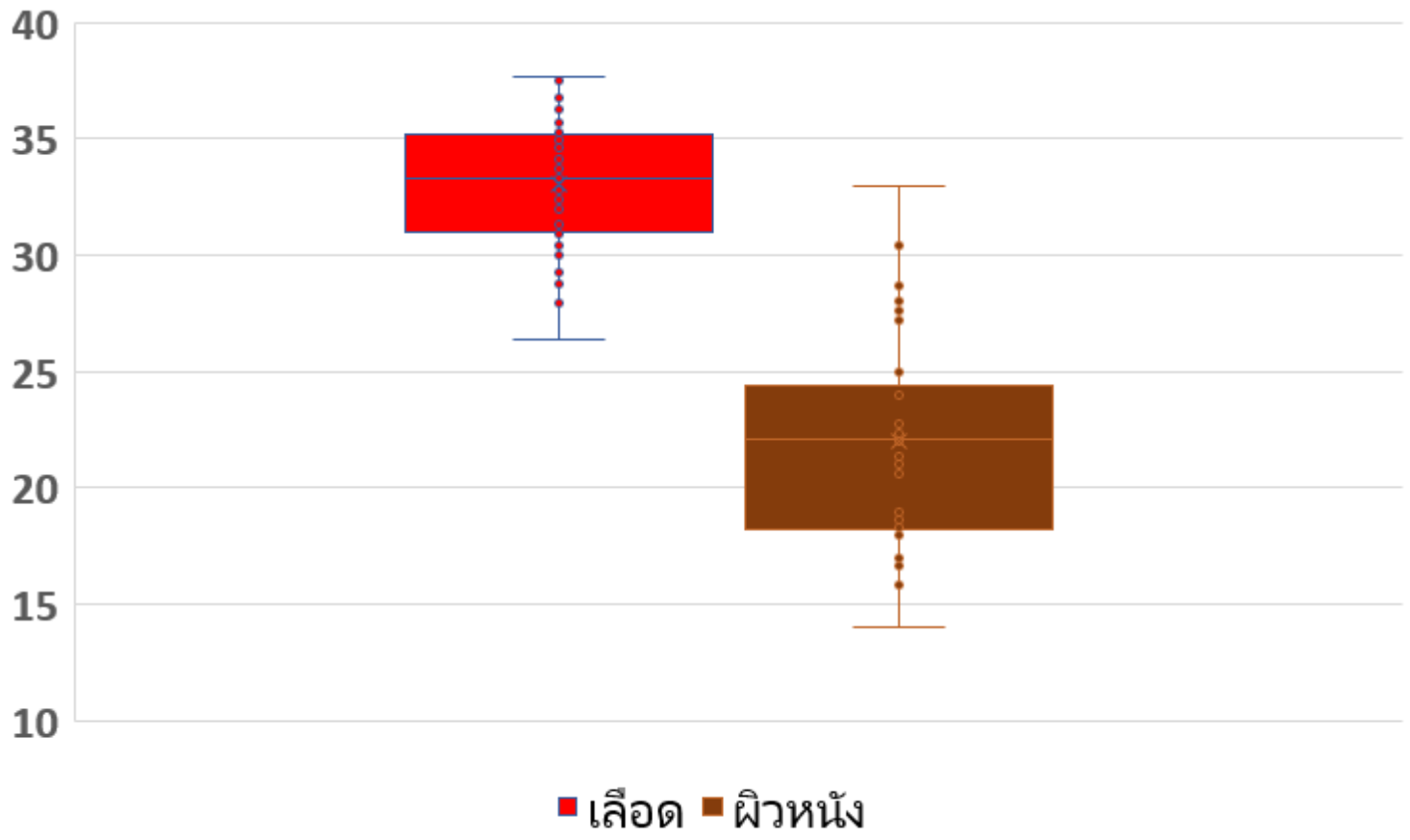
จำนวนเคสส่งตรวจสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ





ที่มา: กรมปศุสัตว์

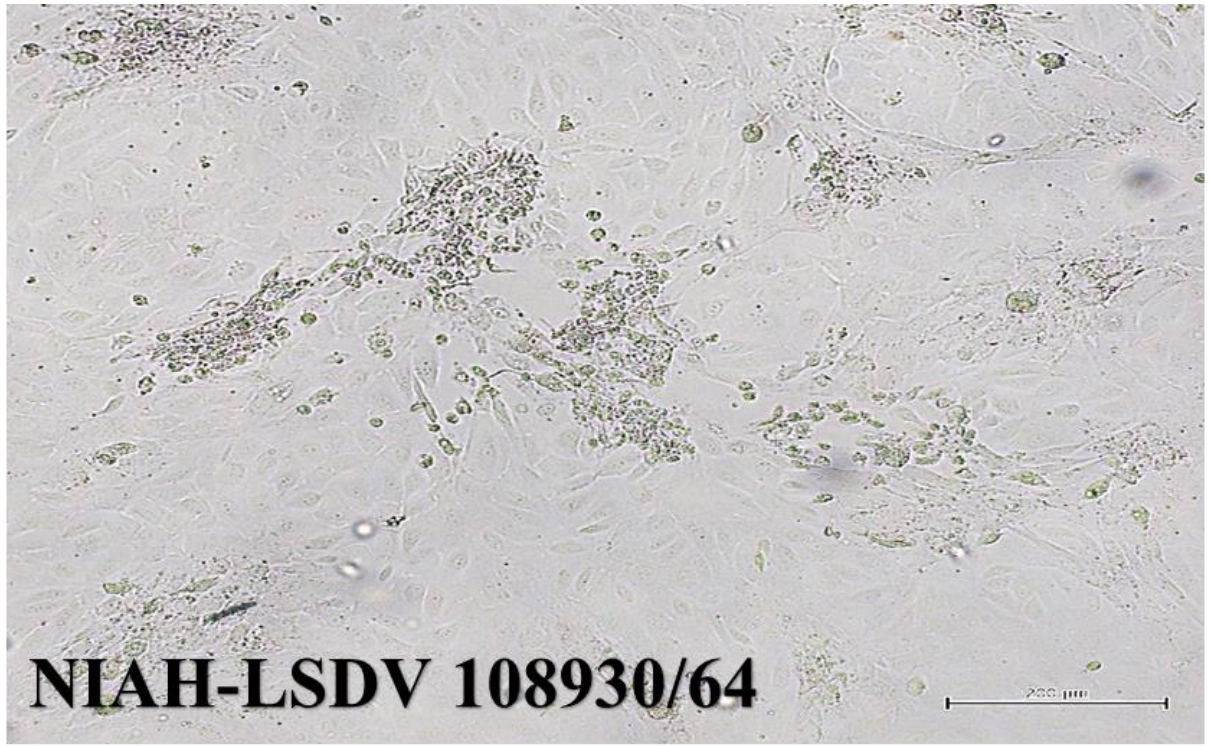
กราฟแสดงค่า threshold (Ct) value ของวิธี real-time PCR ในการตรวจโรค LSD



ที่มา: กรมปศุสัตว์

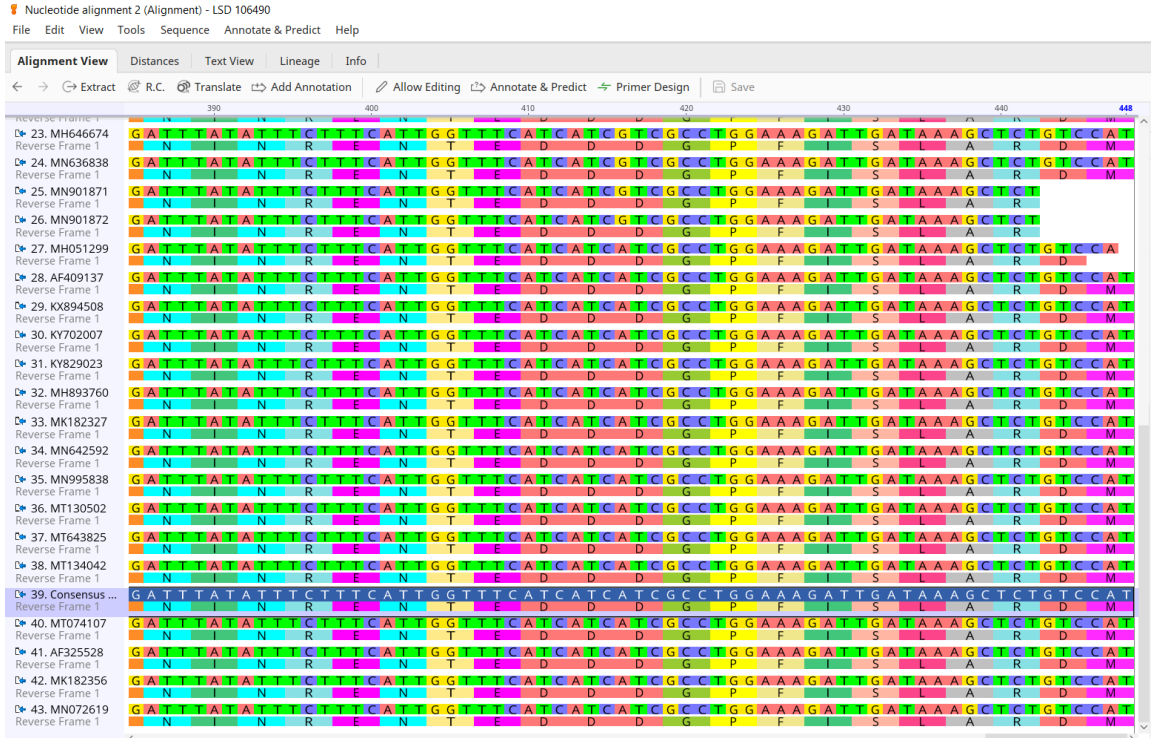
เจอตัวอย่างเชื้อในสะเก็ดผิวหนัง มากกว่าในเลือด

การเพาะแยกเชื้อไวรัส



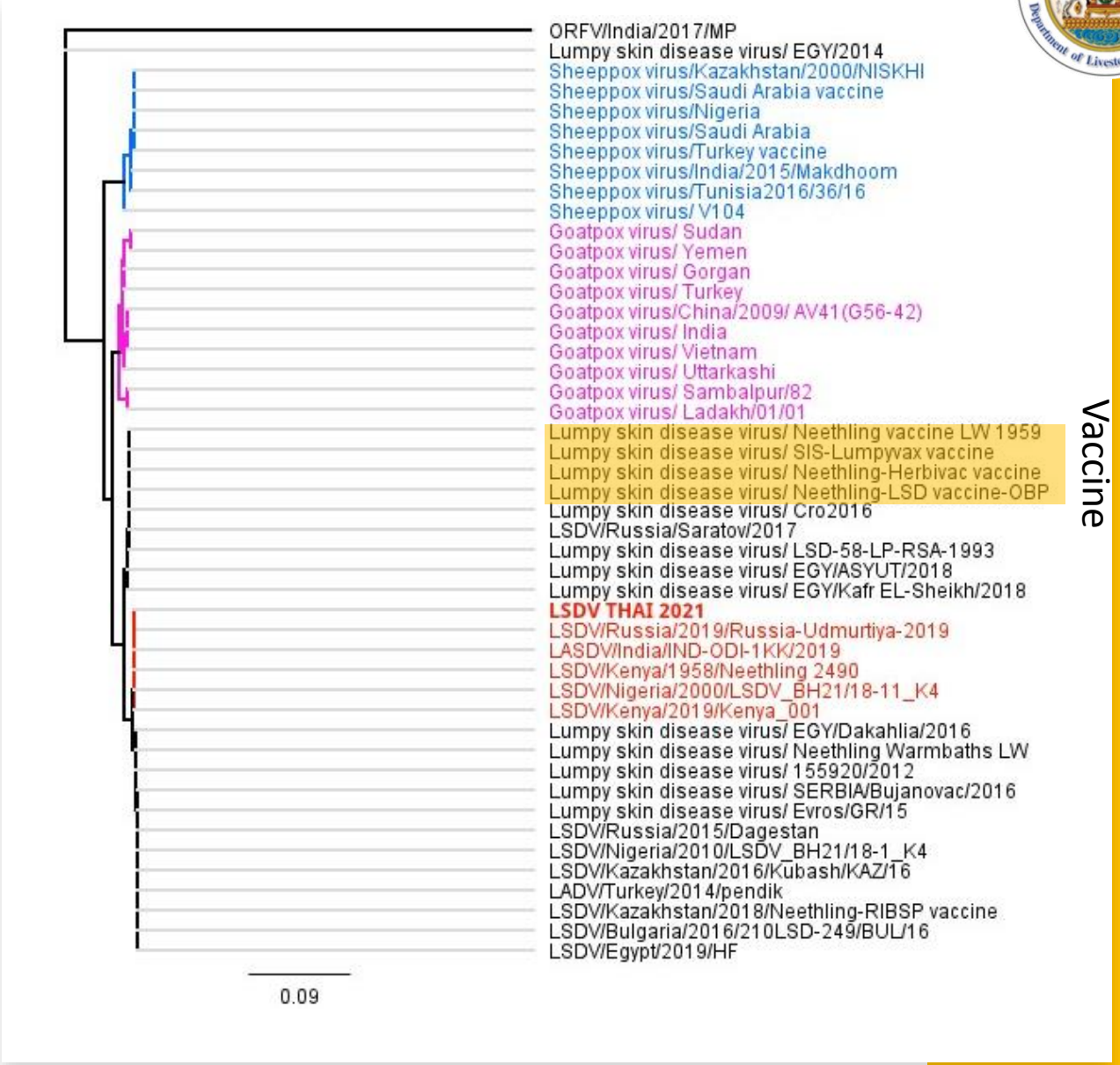
Sequencing & Next generation sequencing

Case ID 107987/64 จ. ยโสธร Credit: ดร.ทวีวัฒน์ ดีมะการ



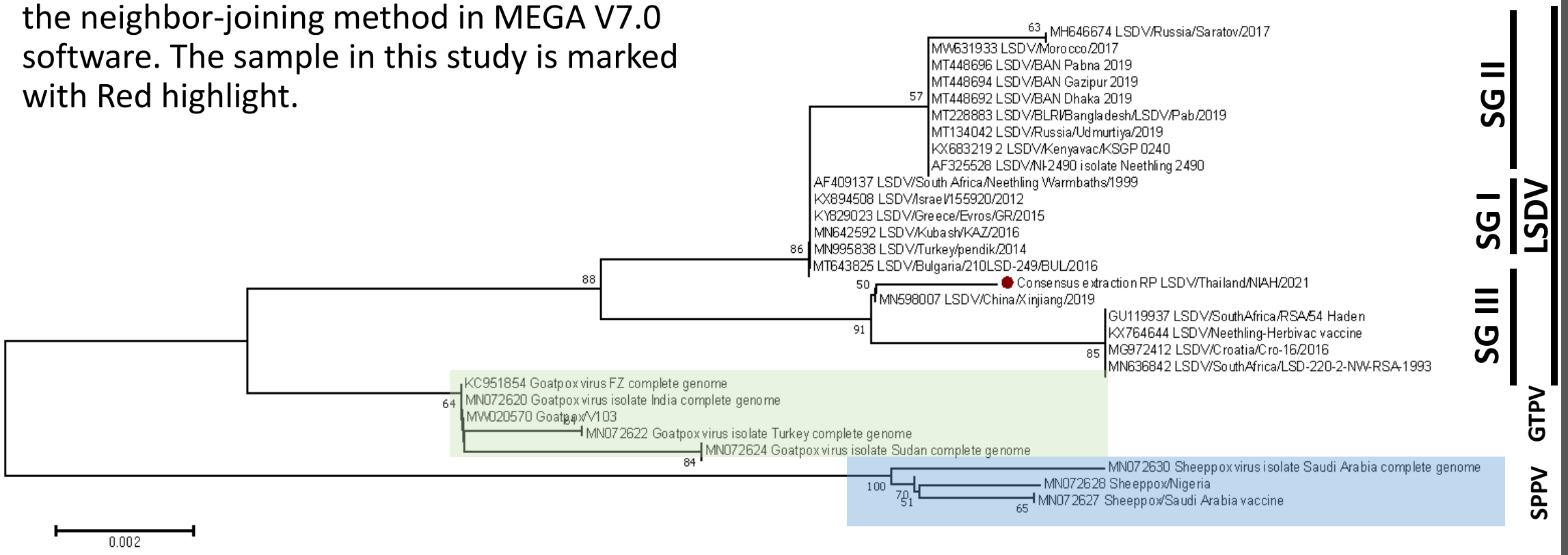
NIAH: Whole genome sequencing 150,728 bp

- Phylogenetic relationship of Thai LSDV based on the F gene constructed using the neighbor-joining method in Geneious V2021 software. The sample in this study is marked with Red highlight.



Source: National Institute of Animal Health, unpublished

- Phylogenetic relationship of Thai LSDV based on the RPO30 gene constructed using the neighbor-joining method in MEGA V7.0 software. The sample in this study is marked with Red highlight.



Source: National Institute of Animal Health, unpublished

ข้อสรุป

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นหนึ่งในเครื่องมือที่ใช้ในมาตรการควบคุมโรค

"Early detection, Fast response"

ผลการตรวจโรคทางห้องปฏิบัติการขึ้นกับ ชนิดตัวอย่าง คุณภาพตัวอย่าง ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง และวิธีการตรวจ

Thank you
Q&A