ประสิทธิภาพของวัคซีนรวมป้องกันโรคไวรัสไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส ต่อการเจริญเติบโตและสมรรถภาพการสืบพันธุ์ในโคนมสาวทดแทน

นาย ธนศักดิ์ บุญเสริม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545
ISBN 974-17-1765-2
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFICACY OF BOVINE RHINOTRACHEITIS VIRAL DIARRHEA PARAINFLUENZA-3 AND RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUSES COMBINED VACCINE ON GROWTH AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN REPLACEMENT HEIFERS

Mr. Thanasak Boonserm

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Master of Science in Therigenology
Department of Obstertics Gynaecology and Reproduction
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2002

ISBN 974-17-1765-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพของวัคซีนรวมป้องกันโรคไวรัสไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส ต่อการเจริญเติบโตและสมรรถภาพการสืบพันธุ์ในโคนมสาวทดแทน
โดย	นายสัตวแพทย์ ธนศักดิ์ บุญเสริม
สาขาวิชา	วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.น.สพ.ดร. ปราจีน วีรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.น.สพ.ดร. ชัยณรงค์ โลหชิต
	ผศ.น.สพ.ดร. กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร)

คณะกรรมการวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อรรณพ คุณาวงษ์กฤต)
.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ปราจีน วีรกุล)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ชัยณรงค์ โลหชิต)
.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร)
.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ สมชาย จันทร์ผ่องแสง)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ธนศักดิ์ บุญเสริม : ประสิทธิภาพของวัคซีนรวมป้องกันโรคไวรัสไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส ต่อการเจริญเติบโตและสมรรถภาพการสืบพันธุ์ในโคนมสาวทดแทน. (Efficacy of bovine rhinotracheitis viral diarrhea parainfluenza-3 and respiratory syncytial viruses combined vaccine on growth and reproductive performance in replacement heifers) อ. ที่ปรึกษา : รศ.น.สพ.ดร. ปราจีน วีรกุล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ.น.สพ.ดร. ชัยณรงค์ โลหชิต, ผศ. น.สพ.ดร. กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร, 60 หน้า. ISBN 974-17-1765-2.

การศึกษาผลของการฉีดวัคซีนรวมป้องกันโรคไวรัสไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส ต่อการเจริญเติบโตและสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคนมสาวทดแทน การทดลองที่ 1 ศึกษาในลูกโคนมที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน และฉีดกระตุ้นครั้งที่ 2 เมื่ออายุ 7 เดือนจำนวน 30 ตัว และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนอีก 30 ตัว การทดลองที่ 2 ศึกษาในโคนมสาวที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน และฉีดกระตุ้นครั้งที่ 2 เมื่ออายุ 13 เดือนจำนวน 20 ตัว และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนอีก 20 ตัว วัดน้ำหนักตัว เก็บตัวอย่างซีรั่มเพื่อวัดระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และบีวีดีทุก 1 เดือน จนโคอายุครบ 18 เดือน บันทึกประวัติการผสมพันธุ์และประวัติสุขภาพของโค

จากการศึกษาพบว่าการฉีดวัคซีนไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) ของโคนมสาวทดแทนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดลองที่ 1 โคกลุ่มทดลองมีอายุเฉลี่ยที่ผสมได้ (501.03 $\pm$ 44.86 วัน) แตกต่างจากโคกลุ่มควบคุม (530.93 $\pm$ 51.50 วัน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โคกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีอัตราผสมติดของการผสมครั้งแรกเท่ากับ 60% และ 63.33% จำนวนครั้งการผสมต่อการผสมติดเท่ากับ 1.8 และ 1.47 ครั้ง ตามลำดับ การทดลองที่ 2 อายุเฉลี่ยที่ผสมได้ของโคกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โคกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีอัตราการผสมติดของการผสมครั้งแรกเท่ากับ 55% และ 66.67% การฉีดวัคซีนไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนครั้งการผสมที่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม จำนวนครั้งการผสมต่อการผสมติดเท่ากับ 2.09 และ 1.93 ตามลำดับ ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองไม่พบจำนวนโคที่แสดงอาการป่วยของระบบทางเดินหายใจตลอดการทดลอง โคที่ได้รับการฉีดวัคซีนทั้ง 2 การทดลองมีค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี แตกต่างจากก่อนได้รับการฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุกช่วงเวลา ($p<0.01$) โคกลุ่มควบคุมของทั้ง 2 การทดลองตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และบีวีดีตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์
สาขาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์
ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่อนิสิต.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....
.....

4375558731 : MAJOR THERIOGENOLOGY
KEY WORD : EFFICACY / VIRUS COMBINED VACCINE / GROWTH / REPRODUCTIVE PERFORMANCE / REPLACEMENT HEIFERS

THANASAK BOONSERM : EFFICACY OF BOVINE RHINOTRACHEITIS VIRAL DIARRHEA PARAINFLUENZA-3 AND RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUSES COMBINED VACCINE ON GROWTH AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN REPLACEMENT HEIFERS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. DR. PRACHIN VIRAKUL (Ph.D). THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. DR. CHAINARONG LOHACHIT (Ph.D), ASSIST. PROF. DR. KITTISAK AJARIYAKHAJORN (Ph.D), 60 pp. ISBN 974-17-1765-2

The study was performed to determine the effect of a combined viruses vaccine, containing IBR, BVD, PI-3, and BRS immunogens, on the growth and reproductive performance of replacement heifers. The first trial was comprised of 30 claves which were vaccinated at the age of 6 and 7 months and a control group of 30 unvaccinated calves. The second trial comprised of 20 heifers vaccinated at the age of 12 and 13 months and a control group of 20 unvaccinated heifers. Heifers were monthly weighed and serum samples were collected to measure IBR and BVD antibody titers, by a serum neutralization test monthly until heifers were 18 months old. Reproductive parameters and the development of any illneses were also recorded as well. The study showed that the growth rate did not improve in the vaccinated heifers. In the first trial, the age at the first service of vaccinated group was significantly younger than the control group. (501.03 $\pm$ 44.86 d vs. 530.93 $\pm$ 51.50 d ; $p<0.05$) The first service conception rate in the vaccinated groups was 60% and 63.33% in the control group. Services per conception for the vaccinated and the control group were 1.8 and 1.47, respectively. In the second trial, the age at the first service in both groups was not significantly different. The first service conception rate for the vaccinated group was 55% and 66.67% for the control group. Services per conception for the vaccinated and the control groups were 2.09 and 1.39, respectively. Vaccination with the combined viruses vaccine was not associated with any difference in service per conception for either group. The mean of IBR and BVD SN antibodies titers in the vaccinated group in both trials were significantly different from the control group over all trial periods. ($p<0.01$) There were no overt cases of illness. During the trial period, the control heifers were seronegative to both IBR and BVD.

Department Obstertics Gynaecology and Reproduction Student's signature……
Field of Therigenology Advisor's signature……
Academic year 2002 Coadvisor's signature……
……..

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี โดยมี รศ.น.สพ.ดร. ปราจีน วีรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมทั้ง รศ.น.สพ. ชัยณรงค์ โลหชิต และ ผศ.น.สพ.ดร. กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ให้คำปรึกษาและแนะนำเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาที่ทำวิทยานิพนธ์ การวิเคราะห์ข้อมูลได้รับความช่วยเหลือจาก อ.น.สพ. ชาตรี คติวรเวช เป็นอย่างดี ตลอดจนได้รับคำชี้แนะที่เป็นประโยชน์จากคณาจารย์ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ทุกท่าน สถานที่ทำการทดลอง และสัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากสหกรณ์โคนมบ้านบึง อ.หนองใหญ่ จ. ชลบุรี นอกจากนี้ยังได้รับทุนสนับสนุนในการศึกษาครั้งนี้จากบริษัทไฟเซอร์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด

ทุกท่านที่ได้กล่าวมาข้างต้น มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งในการผลักดันให้การศึกษาครั้งนี้บรรลุวัตถุประสงค์และสำเร็จลงได้ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ธนศักดิ์ บุญเสริม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ญ
สารบัญรูป.....ฏ

บทที่

1. บทนำ.....1
วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....3
ขอบเขตของการศึกษา.....3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....4

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....5
การจัดการโคนมสาวทดแทน.....5
โบวายเฮอร์ปีส์ไวรัส-1.....6
1.1 การติดต่อ.....6
1.2 กระบวนการเกิดโรคและอาการ.....6
อาการของโรคติดเชื้อที่ระบบทางเดินหายใจ.....7
อาการของการติดเชื้อที่ระบบสืบพันธุ์.....7
การติดเชื้อแฝง (latent infection).....7
1.3 การตรวจวินิจฉัยโรคไอบีอาร์ทางห้องปฏิบัติการ.....7
ไวรัสบีวีดี.....8
2.1 กระบวนการเกิดโรคและอาการ.....9
การติดเชื้อไวรัสบีวีดีอย่างเฉียบพลัน (acute infection).....9
การติดเชื้อในขณะอุ้มท้อง (congennital infection).....10

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาวะการติดเชื้อคงอยู่ (persistent infection)……10

โรคมิวโคซอล (mucosal disease)……..11

2.2 การตรวจวินิจฉัยโรคบีวีดีทางห้องปฏิบัติการ……..11

ไวรัสบีอาร์เอส……..12

3.1 กระบวนการเกิดโรค……13

3.2 อาการของโรค……13

ไวรัสพีไอ-3……..13

4.1 กระบวนการเกิดโรค……13

4.2 อาการของโรค……13

การควบคุมและป้องกันโรค……14

5.1 วัคซีนป้องกันโรคไอบีอาร์……14

5.2 วัคซีนป้องกันโรคบีวีดี……..16

5.3 วัคซีนป้องกันโรคบีอาร์เอส……..16

5.4 วัคซีนป้องกันโรคพีไอ-3……...16

3. วิธีดำเนินการทดลอง……..18

1. ประชากรและตัวอย่าง……....18

2. ขั้นตอนการศึกษา……..19

3. การวิเคราะห์ข้อมูล……..20

4. ผลการทดลอง……..22

4.1 สมรรถภาพการเจริญเติบโต……..22

4.2 สมรรถภาพการสืบพันธุ์……..24

4.3 ด้านสุขภาพ……..24

4.4 การเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี
ก่อนและหลังการฉีดวัคซีนไวรัสรวม……..25

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ……..……....35
สรุปผลการวิจัย……..……..38
ข้อเสนอแนะ……38

รายการอ้างอิง……40

ภาคผนวก……..54

ประวัติผู้เขียน……60

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1. ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กิโลกรัม) ก่อนและหลัง
การฉีดวัคซีนของกลุ่มทดลองที่ฉีดวัคซีนเมื่อโคอายุครบ 6 เดือน.....23
2. ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กิโลกรัม) ก่อนและหลัง
การฉีดวัคซีนของกลุ่มทดลองที่ฉีดวัคซีนเมื่อโคอายุครบ 12 เดือน.....23
3. อายุเฉลี่ยที่ผสมได้ อัตราการผสมติดของการผสมครั้งแรก ค่าเฉลี่ยจำนวนครั้งของ
การผสมต่อการผสมติด และอัตราการผสมติดในโคแต่ละกลุ่ม.....25
4.ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน
และกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน ที่ตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ.....27
5.ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน
และกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน ที่ตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ.....28
6.ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน
และกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน ที่ตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ.....29
7.ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน
และกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน ที่ตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ.....29

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

1. แสดงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน ในช่วงเวลาต่างๆ.....30
2. แสดงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดี และความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน ในช่วงเวลาต่างๆ.....30
3. แสดงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน ในช่วงเวลาต่างๆ.....31
4. แสดงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดี และความคลาดเคลื่อนมาตรฐานในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน ในช่วงเวลาต่างๆ.....31
5. จำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ในช่วงระยะเวลาต่างๆ ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน.....33
6. จำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีในช่วงระยะเวลาต่างๆ ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน.....33
7. จำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ในช่วงระยะเวลาต่างๆ ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน.....34
8. จำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดี ในช่วงระยะเวลาต่างๆ ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน.....34

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่1

บทนำ

โรคติดเชื้อที่ระบบทางเดินหายใจ เป็นปัญหาที่พบได้ทั่วไปในการเลี้ยงโคนม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลูกโคช่วงหย่านม (Gardner *et al*., 1990) โรคระบบทางเดินหายใจในโคมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อไวรัสหลายชนิด แบคทีเรีย รวมทั้งเชื้อรา สาเหตุหลักที่พบได้บ่อยคือการติดเชื้อไวรัส เช่น โบวายเฮอร์ปีไวรัส-1 (BHV-1) โบวายไวรอลไดอะเรียไวรัส (BVDV) โบวายเรสไปราตอรี่ซินไซเตียลไวรัส (BRSV) พาราอินฟูเอนซ่าไวรัส –3 (PI-3V) (Kapil and Basaaba, 1997) ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจโดยมีผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพของโค อัตราการเจริญเติบโต (Esslemont and Kossaibati, 1999) การสูญเสียผลผลิต และสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโค (Miller,1991)

โรคไอบีอาร์ (infectious bovine rhinotracheitis ; IBR) เกิดจากการติดเชื้อเฮอร์ปีไวรัส-1 โคที่ติดเชื้อจะแสดงอาการทางระบบทางเดินหายใจ เช่นโพรงจมูกและหลอดลมอักเสบ (Kapil and Basaraba, 1997) นอกจากนี้โรคไอบีอาร์ยังมีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ของโค ทำให้เกิดการแท้งในโคอุ้มท้อง โดยเฉพาะในช่วงการตั้งท้อง 3 เดือนสุดท้ายก่อนคลอด และยังทำให้อัตราการผสมติดต่ำ วงรอบการเป็นสัดผิดปกติ (Miller and van der Maaten, 1984) การติดเชื้อไวรัสในโคที่ไม่มีภูมิคุ้มกันไวรัสในช่องสืบพันธุ์สามารถทำให้เกิดช่องคลอดและปากช่องคลอดอักเสบหรือเกิดโรคไอพีวี (infectious pustular vulvovaginitis ; IPV) เยื่อบุโพรงมดลูกอักเสบ (endometritis) และมีผลต่อการเจริญของคอร์ปัส ลูเตียม (Miller and van der Maaten, 1984) โคพ่อพันธุ์ที่ได้รับเชื้อจะแพร่เชื้อไวรัสผ่านทางน้ำเชื้อ (van Oirschot *et al*., 1993) ส่วนโครีดนมที่ติดเชื้อจะทำให้ผลผลิตน้ำนมลดลงถึง 150 กิโลกรัม หรือประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อปี (Noordegraaf *et al*., 1998) เนื่องจากเชื้อเฮอร์ปีไวรัส –1 จะเข้าไปซ่อนอยู่ในปมประสาทส่วนหัวคู่ที่ 5 (trigerminal ganglion) โคที่ติดเชื้อจึงอาจไม่แสดงอาการของโรค แต่จะเป็นตัวแฝงโรค (Thiry *et al*., 1999) ซึ่งจะสามารถแพร่เชื้อไวรัสออกมาได้ตลอดชีวิต เมื่อโคเหล่านี้อยู่ในภาวะเครียด ภูมิคุ้มกันถูกกด หรือได้รับยากลุ่มคอร์ติโคสเตียร์รอยด์ (Ackermann *et al*., 1982)

สาเหตุสำคัญของความสูญเสียต่อระบบสืบพันธุ์ของโคนมเนื่องจากการติดไวรัส นอกจากการติดเชื้อเฮอร์ปีไวรัส –1 แล้วยังมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อไวรัสบีวีดี (Zavy , 1994) ซึ่งจะก่อให้เกิดการตายของตัวอ่อนระยะแรก การแท้งลูก ลูกมีความพิการแต่กำเนิด (Grahn *et al*., 1984) อัตราการผสมติดลดลง (Dubovi , 1994) และไวต่อการติดเชื้อแทรกซ้อนที่ระบบทางเดินหายใจเนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายถูกกด (Brown *et al*., 1991) ลูกโคที่ได้รับเชื้อไวรัสบีวีดีจากแม่ผ่านทางรกจะทำให้เกิดภาวะการติดเชื้อคงอยู่ (persistent infection) และร่างกายจะไม่สร้างภูมิคุ้มตอบสนองต่อการติดเชื้อไวรัสบีวีดี (immunotolerance) (Obando *et al*., 1999) ซึ่งอาจโน้มนำให้เกิดโรคมิวโคซัล (mucosal disease) ที่มี

ลักษณะรุนแรงมากขึ้นภายหลังได้ (Fritzemier *et al*., 1999) นอกจากนี้การติดเชื้อไวรัสบีวีดียังมีความสัมพันธ์กับการเกิดเต้านมอักเสบในโครีดนมอีกด้วย (Waage , 2000)

การติดไวรัสพีไอ-3 และไวรัสบีอาร์เอส เป็นสาเหตุหลักของโรคระบบทางเดินหายใจ โดยเฉพาะในลูกโคนมและโคขุน (Verhoeff and van Wieuwstadt, 1984) การติดไวรัสพีไอ –3 มักไม่ก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรง แต่มักจะเป็นสาเหตุโน้มนำให้การติดเชื้อแทรกซ้อนที่ระบบทางเดินหายใจ ซึ่งมีความรุนแรงมากขึ้น (Kapil and Basaraba , 1997) สำหรับผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ของโคจากการติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความสำคัญค่อนข้างน้อย จากรายงานของ Swift และ Kennedy(1972) พบว่าการทดลองฉีดไวรัส พีไอ-3 เข้ามดลูกโคตั้งท้องสามารถทำให้เกิดการตายของตัวอ่อนและเกิดการแท้งตามมา หรือลูกที่คลอดออกมาจะอ่อนแอและอาจเสียชีวิตหลังคลอดได้ไม่นาน แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานยืนยันแน่ชัดว่า การติดไวรัสพีไอ-3 ตามธรรมชาติ สามารถทำให้เกิดการแท้งลูกในโค เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ มักเกิดร่วมกับการติดเชื้อไวรัสบีวีดี หรือเฮอร์ปีไวรัส –1 เสมอ (Dunne *et al*., 1973) ส่วนการติดเชื้อไวรัสบีอาร์เอสนั้นมีขบวนการก่อโรคคล้ายคลึงกับไวรัสพีไอ –3 แต่จะมีความรุนแรงมากกว่า (Baker *et al*., 1997) ถึงแม้ว่าจะมีรายงานการใช้วัคซีนป้องกันไวรัสบีอาร์เอส สามารถเพิ่มอัตราการผสมติดของการผสมครั้งแรกในแม่โคได้ (Ferguson *et al*., 1997) แต่ก็ยังไม่มีรายงานยืนยันว่าไวรัสบีอาร์เอสมีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ของโค

จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า ไวรัสดังกล่าวมีการระบาดและสร้างความสูญเสียต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมทั่วโลก หลายประเทศกำหนดมาตรการการควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดของไวรัสเหล่านี้ โดยกำหนดเป็นนโยบายระดับชาติและดำเนินการอย่างต่อเนื่อง (Straub ,1991) การกำจัดจำเป็นต้องป้องกันการแพร่เชื้อจากสัตว์ที่เป็นตัวอมโรคโดยการสำรวจและกำจัดโคที่เป็นโรคออกจากฝูง ควบคุมการนำเข้าโคจากแหล่งอื่น (Noordegraaf *et al*. ,1998) และป้องกันการแพร่เชื้อไวรัสจากแม่ไปสู่ลูก ผ่านทางรกโดยการฉีดวัคซีนอย่างสม่ำเสมอ (van der Poel and Scholl, 1997)

สำหรับประเทศไทย จากรายงานการศึกษาสถานภาพของภูมิคุ้มกันต่อไวรัสของโคนมในประเทศไทย พบว่าโคนมส่วนใหญ่ทุกเขตของประเทศ มีภูมิคุ้มกันต่อไวรัสไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส ในระดับค่อนข้างสูง โดยไม่มีประวัติว่าเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสเหล่านี้มาก่อน ขณะที่ทำศึกษา (สุณีรัตน์และคณะ, 2535 ; ปราจีนและคณะ , 2540) และจากรายงานของกิตติศักดิ์และคณะ (2543) พบว่าฟาร์มโคนมร้อยละ 29.7 ของฟาร์มที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมแห่งหนึ่งในเขตภาคกลางมีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสบีวีดีในตัวอย่างน้ำนมรวมของฟาร์ม ซึ่งสามารถตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสได้ในตัวอย่างเลือดของโคในฟาร์มเหล่านี้ จึงอาจกล่าวได้ว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นน่าจะเกิดขึ้นจากการติดเชื้อไวรัสตามธรรมชาติ ซึ่งอาจจะก่อให้เกิดการระบาด และสร้างความสูญเสียรุนแรงได้ ถ้าโคเหล่านี้ได้รับปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้ไวต่อการติดเชื้อ เช่น การเลี้ยงอย่างหนาแน่น การเคลื่อนย้ายสัตว์

ประเทศไทยยังไม่มีการกำหนดมาตรการในการควบคุม และป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสเหล่านี้อย่างแน่ชัด ในขณะที่ยังมีการนำเข้าโคนม และน้ำเชื้อแช่แข็งมาจากหลายประเทศทั่วโลกอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ประเทศไทยยังมีข้อมูลทางด้านระบาดวิทยาของเชื้อไวรัสเหล่านี้ไม่มากนัก ประเทศไทยจึงมีความเสี่ยงสูงที่จะได้รับผลกระทบจากการแพร่ระบาดของไวรัสเหล่านี้ ปัจจุบันมีฟาร์มโคนมขนาดใหญ่หลายฟาร์มที่เริ่มมีการตื่นตัวในการป้องกันความเสียหายจากเชื้อไวรัสเหล่านี้ โดยเริ่มมีการนำวัคซีนป้องกันโรคไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอสมาใช้ แต่ยังไม่มีรายงานผลการใช้ให้ทราบ ดังนั้นจึงเห็นสมควรทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันไวรัสดังกล่าว ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของโคนมในประเทศไทย เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนดมาตรการควบคุมป้องกัน โรคไวรัสในโคนมที่มีประสิทธิภาพต่อไป

1.วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ศึกษาเปรียบเทียบสมรรถภาพการเจริญเติบโตของโคนมสาวทดแทนที่ได้รับ และไม่ได้รับการฉีดวัคซีนไวรัสรวม (ประกอบด้วยไวรัสไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส)
2. ศึกษาเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ของสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคนมสาวทดแทนที่ได้รับและไม่ได้รับการฉีดวัคซีนไวรัสรวม (ประกอบด้วยไวรัสไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส) ดังนี้ อัตราการผสมติดของการผสมครั้งแรก อัตราการผสมติด จำนวนครั้งของการผสมต่อการผสมติด อายุเฉลี่ยที่ผสมได้ และการแท้งลูก
3. ศึกษาเปรียบเทียบความชุกของการเกิดอาการของโรคอื่นๆในโคนมสาวทดแทน ที่มีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสระบบสืบพันธุ์และระบบทางเดินหายใจ

2.ขอบเขตของการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาผลของการฉีดวัคซีนไวรัสรวม (ไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส) ในภาคสนาม (field trial) ภายในฟาร์มผลิตโคนมสาวทดแทนของสหกรณ์โคนมบ้านบึง ที่รับซื้อลูกโคเพศเมียจากสมาชิกสหกรณ์ฯ ทำการผสมพันธุ์จนโคสาวตั้งท้อง แล้วขายคืนให้เกษตรกรเพื่อนำไปเลี้ยงเป็นแม่โครีดนมต่อไป ระยะเวลาการศึกษาเก็บรวบรวมข้อมูลด้านสมรรถภาพการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และข้อมูลด้านสุขภาพของลูกโคที่เข้ามาอยู่ในฟาร์มแห่งนี้จนครบตามจำนวนตัวอย่างที่ต้องการ ตั้งแต่วันที่ 8 สิงหาคม 2543 ถึงวันที่ 14 มิถุนายน 2545 โดยการติดตามผลการตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนไวรัสรวมด้วยการวัดน้ำหนักเพื่อติดตามการเจริญเติบโต บันทึกประวัติการผสมพันธุ์ และเก็บตัวอย่างซีรั่มเพื่อตรวจวัดระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี เพียง 2 ชนิด ทั้งนี้เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีผลโดยตรงทั้งต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของโคนมสาวทดแทน

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบถึงโปรแกรมวัคซีนในการป้องกันโรคไอบีอาร์ และโรคบีวีดีที่เหมาะสมสำหรับรูปแบบการเลี้ยงโคนมของประเทศไทย
2. นำโปรแกรมวัคซีนในการป้องกันโรคไอบีอาร์ และโรคบีวีดีไปประยุกต์ใช้ต่อไป
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนดมาตรการในการควบคุมโรคติดเชื้อไวรัสในโคนมของประเทศไทย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การจัดการโคนมสาวทดแทน

การผลิตโคนมสาวเพื่อเป็นโคทดแทนแม่โครีดนมต้องใช้ค่าใช้จ่ายประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุนการผลิตน้ำนมของฟาร์ม ดังนั้นการจัดการฟาร์มเพื่อให้ได้กำไรสูงสุด จึงจำเป็นต้องผลิตโคนมสาวทดแทนด้วยต้นทุนที่ต่ำที่สุด เพื่อให้โคสาวเหล่านี้ให้ผลผลิตในเวลาอันรวดเร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ (Heinrichs,1993) โดยจะต้องคำนึงถึงอัตราการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลโดยตรงต่อทั้งสมรรถภาพการสืบพันธุ์ และสมรรถภาพการผลิตน้ำนมของโคสาว (Hoffman and Funk,1992) การจัดการให้โคสาวทดแทนเจริญเติบโตในอัตราที่เหมาะสมจะเป็นตัวกำหนดอายุที่โคสาวจะได้รับการผสมครั้งแรก รวมทั้งน้ำหนักของโคสาวเมื่อคลอดลูกตัวแรก โดยที่โคสาวต้องได้รับการผสมและตั้งท้องเมื่ออายุ 15 เดือน เพื่อให้โคสาวคลอดลูกตัวแรกเมื่ออายุ 24 เดือน และควรมีน้ำหนักตัวไม่น้อยกว่า 575 กิโลกรัมในโคนมโฮลสไตน์ฟรีเซี่ยนพันธุ์แท้ (Linn *et al*.,1988)

จากการศึกษาของผลิตเดช และคณะ (2530) พบว่าโคนมสาวลูกผสมที่เลี้ยงในประเทศไทยจะเป็นสัดครั้งแรกเมื่ออายุ 20-21 เดือน และให้ลูกตัวแรกเมื่ออายุ 36-42 เดือน ซึ่งช้ากว่าในต่างประเทศ แต่ใกล้เคียงกับรายงานของพัชรินทร์ และคณะ (2534) ที่พบว่าโคสาวสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ จะคลอดลูกตัวแรกเมื่ออายุเฉลี่ย 35.73$\pm$6.11 และ 39.26$\pm$8.57 เดือนตามลำดับ และจากการศึกษาของกัลยา และคณะ (2527) พบว่าลูกโคมีอัตราการเจริญเติบเฉลี่ยต่อวันในช่วงอายุ 7 เดือนแรกเท่ากับ 486 กรัมต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตของโคสาวอาจได้รับผลกระทบจากหลายปัจจัย เช่น โภชนาการที่โคได้รับ การจัดการฟาร์ม สายพันธุ์ รวมทั้งการเกิดโรคต่างๆ (Head,1992) โดยเฉพาะโรคระบบทางเดินอาหาร และโรคระบบทางเดินหายใจ (Donovan *et al*.,1998 ; Place *et al*.,1998) ซึ่งมักมีสาเหตุหลักมาจากการติดเชื้อไวรัส

การติดเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคระบบทางเดินหายใจและระบบสืบพันธุ์ สามารถก่อให้เกิดความสูญเสียได้ในโคทุกช่วงอายุ การติดเชื้อไวรัสมักเป็นสาเหตุโน้มนำของการติดเชื้อแทรกซ้อนซึ่งจะทำให้โรคทวีความรุนแรงมากขึ้น เป็นผลมาจากการที่ระบบภูมิคุ้มกันถูกรบกวนการทำหน้าที่ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ นอกจากนี้การติดเชื้อไวรัสยังมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ การทำงานของรังไข่ การปฏิสนธิ และการเจริญของตัวอ่อน โดยเฉพาะไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี

1. โบวายเฮอร์ปีส์ไวรัส –1 (bovine herpes virus-1)

โรคไอบีอาร์ (infectious bovine rhinotracheitis) และโรคไอพีวี (infectious pastular vulvovaginitis) ที่พบในสัตว์เคี้ยวเอื้อง มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อเฮอร์ปีส์ไวรัส-1 (BHV-1) ซึ่งจัดอยู่ในแฟมิลี่ *Herpesviridae* สับแฟมิลี่ A*lphaherpesvirinae* สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 สับไทป์ (subtype) ได้แก่ สับไทป์ 1 2a 2b และ 3 (Mayfield *et al*., 1983) โดยที่การติดเชื้อที่ระบบทางเดินหายใจมักเกิดจากสับไทป์ 1 ในขณะที่ไวรัส BHV-1สับไทป์ 2 นั้นสามารถทำให้เกิดโรคทั้งที่ระบบทางเดินหายใจและระบบสืบพันธุ์ (van Doukersgoed and Babiuk, 1991) Miller และคณะ (1991) สามารถแยกเชื้อไวรัสสับไทป์ 1 และ 2a ได้จากตัวอ่อนซึ่งเกิดจากการแท้งภายหลังการติดเชื้อ George (1991)รายงานว่าไวรัสสับไทป์ 2b ไม่มีความสัมพันธ์กับการทำให้แม่โคแท้งลูก ส่วน BHV-1 สับไทป์ 3 นั้นจะทำให้ลูกโคแสดงอาการทางประสาท เนื่องจากเกิดการอักเสบของสมอง

1.1 การติดต่อ

โดยทั่วไปโคมักจะได้รับเชื้อไวรัสไอบีอาร์ผ่านทางการหายใจ หรือการสัมผัสกับโคที่ติดเชื้อเป็นหลัก (Mars *et al*., 1999) จากการทดลองของ Mars และคณะ (2000) พบว่าลูกโคซึ่งเลี้ยงในคอกที่แยกห่างจากคอกลูกโคที่มีเชื้อไวรัสไอบีอาร์เป็นระยะ 4 เมตร สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสในสิ่งคัดหลั่งจากระบบทางเดินหายใจได้ภายหลังการทดลอง 4 วัน ชี้ให้เห็นว่าเชื้อไวรัสไอบีอาร์สามารถแพร่ระบาดได้โดยการปนเปื้อนมากับอากาศ นอกจากนี้เชื้อ BHV-1 ยังสามารถปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ สิ่งคัดหลั่งจากระบบสืบพันธุ์ (Ackermann *et al*., 1982) รวมถึงการติดต่อผ่านทางการผสมพันธุ์จากพ่อโคที่เป็นโรค และการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งที่มีเชื้อไวรัสปนเปื้อนอยู่ (van Oirschot *et al*., 1993)

1.2 กระบวนการเกิดโรคและอาการ

การติดเชื้อ BHV-1 เป็นสาเหตุทำให้เกิดการอักเสบของเยื่อบุทางเดินหายใจหรือระบบสืบพันธุ์ของโค (van der Poel and Scholl, 1997) โคที่ติดเชื้อสามารถขับเชื้อไวรัสออกมาได้ตั้งแต่ 1-14 วัน (Kasshock *et al*., 1995) หลังจากนั้นเชื้อไวรัสสามารถแฝงตัวอยู่ได้ในปมเส้นประสาทส่วนหัวคู่ที่ 5 (trigeminal ganglia) และในปมประสาทบริเวณเชิงกราน (sacral ganglia) (Ackermann *et al*., 1982 ; Ackermann and Wyler, 1984) ส่งผลให้โคอยู่ในภาวะการติดเชื้อแฝง (latent infection) ซึ่งจะสามารถขับเชื้อไวรัสออกมาได้ตลอดชีวิต (Gibbs and Rweyemanu, 1977) เมื่อโคเหล่านี้อยู่ในภาวะเครียด ภูมิคุ้มกันถูกกด หรือได้รับยากลุ่มคอร์ติโคสเตียร์รอยด์ (Ackermann *et al*., 1982) การแพร่ระบาดของโรคไอบีอาร์ในฝูงมักเกิดขึ้นกับโคที่อายุมากกว่า 6 เดือน (Kapil and Basaraba, 1997) เนื่องจากโคที่อายุน้อยกว่า 6 เดือน ยังมีภูมิคุ้มกันที่ลูกโคได้รับผ่านทางนมน้ำเหลืองช่วยป้องกันการติดเชื้อได้ (Mechor *et al*., 1987) ความรุนแรงของการเกิดโรคยังขึ้นกับเสตรนของเฮอร์ปีส์ไวรัสที่โคได้รับ สภาวะของภูมิคุ้มกันของโคที่ติดเชื้อ รวมทั้งปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลให้สัตว์อยู่ในภาวะเครียดอีกด้วย (Kapil and Basaraba, 1997)

อาการของการติดเชื้อที่ระบบทางเดินหายใจ

การติดเชื้อ BHV-1 ที่ระบบทางเดินหายใจเป็นรูปแบบการเกิดโรคที่พบได้บ่อย โดยเฉพาะในฟาร์มที่การเลี้ยงค่อนข้างหนาแน่น โคที่ติดเชื้ออาจแสดงอาการอย่างรุนแรงหรือไม่แสดงอาการก็ได้ ในฝูงที่เกิดการระบาดอาจมีอัตราการป่วยสูงถึง 100% และอัตราการตายประมาณ 10% (Osorio, 1999) อาการที่พบเริ่มจากการมีไข้สูง โพรงจมูกอักเสบ มีน้ำมูกใสในระยะแรกก่อนจะเปลี่ยนเป็นน้ำมูกข้นปนหนอง เกิดการหลุดลอกของเยื่อบุโพรงจมูก และหายใจลำบาก นอกจากนี้โคบางตัวยังอาจพบการอักเสบของเยื่อบุตาร่วมด้วย ในโครีดนมที่ติดเชื้อจะทำให้ผลผลิตน้ำนมลดลงอย่างมาก (Wiseman *et al*., 1980)

อาการของการติดเชื้อที่ระบบสืบพันธุ์

โคที่ติดเชื้อผ่านทางการผสมพันธุ์จะแสดงอาการช่องคลอดอักเสบ มดลูกอักเสบภายใน 1-3 วัน ภายหลังการผสมพันธุ์ ในโคพ่อพันธุ์ที่ติดเชื้อจะทำให้เกิดการอักเสบของเยื่อบุหนังหุ้มอวัยวะเพศ (infectious balanoposthitis, ไอบีพี) น้ำเชื้อที่ได้จากพ่อโคจะมีคุณภาพลดลง มีเชื้อไวรัสปนเปื้อน และสามารถแพร่ผ่านทางการผสมพันธุ์ต่อไปได้ (Gibbs and Rweyemanu, 1977) การติดเชื้อ BHV-1 มีผลทำให้เกิดการตายของตัวอ่อนระยะแรก การแท้งลูก และการเกิดมัมมี่ โคที่อยู่ในช่วงการผสมพันธุ์จะมีวงรอบการเป็นสัดผิดปกติ อัตราการผสมติดต่ำ และเกิดความไม่สมบูรณ์พันธุ์ชั่วขณะได้ (Zavy, 1994) เนื่องจากแม่โคที่ติดเชื้อจะเกิดการอักเสบของเยื่อบุมดลูก เกิดรอยโรคที่รังไข่ และคอร์ปัสลูเตียม (van Oirschot *et al*., 1993) อัตราการแท้งในแม่โคอุ้มท้องที่ติดเชื้ออาจสูงถึง 25% ซึ่งส่วนใหญ่มักจะพบในระยะท้ายของการตั้งท้อง (Osorio, 1999)

การติดเชื้อแฝง (latent infection)

โคที่ติดเชื้อมักมีเชื้อไวรัสแฝงอยู่ในปมประสาทและสามารถขับเชื้อไวรัสออกมาได้ตลอดชีวิต (Ackermann *et al*., 1982) หากโคเหล่านี้อยู่ในภาวะเครียดจากการขนส่ง การคลอดลูก หรือได้รับยากลุ่มสเตียรอยด์ ซึ่งจะทำให้เกิดการระบาดของโรคอย่างรวดเร็ว หากมีการนำโคที่ติดเชื้อแฝงเข้ามาในฝูง (Thiry *et al*., 1987)

1.3 การตรวจวินิจฉัยโรคไอบีอาร์ทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจหาเชื้อไวรัส BHV-1 จากตัวอย่างที่เก็บจากน้ำมูก หรือสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของโค เชื้อไวรัสจากตัวอย่างจะทำให้เกิดลักษณะ cytopathic effect (CPE) ในเซลล์เพาะเลี้ยง เช่น bovine kidney cell testicular cell หรือ turbinate cell ซึ่งจะสามารถจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสได้โดยอาศัยเทคนิค immunofluorescence หรือ immunoperoxidase (Kaashock *et al*., 1994) ปัจจุบันเทคนิค PCR ได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อการตรวจแอนติเจนของเชื้อไวรัส เช่นในน้ำเชื้อของพ่อโค ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวมากกว่าวิธีการแยกเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง (Xia *et al*., 1995) เทคนิค PCR เป็นวิธีตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสที่ใช้เวลาในการตรวจน้อย มีความไวสูง และประสิทธิภาพของการตรวจยังไม่ขึ้นกับคุณภาพของตัวอย่าง

ที่ส่งตรวจ เมื่อเทียบกับวิธีการแยกเชื้อไวรัสหรือวิธี fluorescent antibody test (FAT) (Moore *et al*., 2000) การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ BHV-1 เป็นอีกวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคไอบีอาร์ โคที่ติดเชื้อจะสามารถตรวจพบภูมิคุ้มกันในเลือดได้ตั้งแต่ 8 วัน ภายหลังการติดเชื้อ (Gibb and Rweyemanu, 1977) และภูมิคุ้มกันนี้จะคงอยู่ได้นานกว่า 5.5 ปี (Chow, 1972)

วิธีการตรวจ virus neutralisation test (VN test) โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยง เช่น bovine kidney lung หรือ tracheal cells เพื่อตรวจหาระดับแอนติบอดีไตเตอร์ต่อเชื้อไวรัสเป็นวิธีมาตรฐานที่นิยมใช้ แต่วิธีนี้ใช้เวลานาน และระดับแอนติบอดีที่วัดได้ยังเปลี่ยนแปลงตามเสตรนของไวรัสที่ใช้ทดสอบ การเจือจางซีรั่ม และระยะเวลาในการบ่มเชื้อของไวรัสกับตัวอย่างซีรั่ม (O.I.E.,1996) ปัจจุบันวิธีการ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) จึงเป็นวิธีที่นิยมใช้มากกว่า วิธีตรวจ ELISA โดยชุดตรวจสำเร็จรูปสามารถทำนายความชุกของโรคไอบีอาร์ในฝูงได้ โดยการวัดระดับแอนติบอดีในถังนมรวมของฟาร์ม (Pritchard, 2001) แต่อย่างไรก็ตามการตรวจเป็นรายตัวจะให้ความแม่นยำมากกว่า โดยเฉพาะถ้าฟาร์มมีโคที่ไม่ได้รีดนมติดเชื้ออยู่ในฝูง (van Oirschot *et al*., 1997)

2. ไวรัสบีวีดี (bovine viral diarrhea)

ไวรัสบีวีดี เป็น RNA ไวรัสสายเดี่ยว จัดอยู่ในจีนัส *Pestivirus* แฟมิลี่ *Flaviviridae* เช่นเดียวกับไวรัสอหิวาต์สุกร และไวรัสที่ทำให้เกิดโรค Border disease ในแกะ (Donis, 1995) สามารถจำแนกตามคุณลักษณะของสารชีวโมเลกุลออกได้เป็น 2 genotype คือ type 1 และ type 2 ตามความแตกต่างของลำดับสารพันธุกรรม หรือการใช้ monoclonal antibodies ต่อโปรตีน E2 โดยตรง (Ridpath *et al*., 1994) จากรายงานของ Houe (1999) พบว่าการเกิดโรคบีวีดี ในแถบตอนเหนือของประเทศสหรัฐอเมริกาส่วนใหญ่สาเหตุมาจาก type 1 แต่ความชุกจากการเกิดโรคของไวรัสทั้ง 2 type มีความชุกใกล้เคียงกัน โดยที่ type 2 มักมีความสัมพันธ์กับการระบาดของโรคที่รุนแรงและเฉียบพลัน (Carman *et al*., 1998) แต่ก็มักจะพบการเกิดโรคจาก type 2 (39%) น้อยกว่า type 1 (61%) (Fulton *et al*., 2000) และยังมีรายงานการเกิดโรคบีวีดีจากไวรัส type 2 ทั้งในประเทศบราซิลและหลายประเทศในทวีปยุโรปอีกด้วย (Letellier *et al*., 1999 ; Flores *et al*., 2000)

นอกจากนี้ไวรัสบีวีดี ยังสามารถจำแนกตามความสามารถในการทำให้เซลล์เพาะเลี้ยงเกิดพยาธิสภาพได้เป็น 2 biotype คือ เสตรนที่ไม่ทำให้เกิด cytopathic effect (NCP) และสเตรนที่ทำให้เกิด cytopathic effect (CP) ซึ่งเป็นเสตรนที่เกิดการกลายพันธุ์ มาจาก NCP โดยการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมจากขบวนการ insertion duplication หรือ rearragements และส่วนใหญ่จะแยกเชื้อได้จากการระบาดของโรค mucosal disease (MD) (Nettleton and Entrican, 1995) โดยพบอุบัติการณ์ของโรคที่มีสาเหตุมาจาก CP (34.3%) ต่ำกว่า NCP (65.7%) (Fulton *et al*., 2000)

2.1 กระบวนการเกิดโรคและอาการ

การระบาดของโรคบีวีดี มักเกิดขึ้นเนื่องจากการที่โคสัมผัสกับเชื้อโดยตรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสัมผัสกับโคที่อยู่ในภาวะ persistent infection (PI) (Bolin, 1995b ; Lindberg and Alenius, 1999) ซึ่งสามารถขับเชื้อไวรัสบีวีดี ออกมากับสิ่งคัดหลั่งต่างๆของร่างกาย เช่น น้ำมูก น้ำลาย ปัสสาวะ มูล น้ำนม รวมทั้งน้ำเชื้อที่ได้จากพ่อโคที่อยู่ในภาวะ PI ด้วย (Tremblay, 1996) และจากการทดลองของ Mars และคณะ (1999) พบว่าโคที่ติดเชื้อแบบ PI สามารถขับเชื้อออกมาปนเปื้อนในอากาศ จากการไอ หรือจามทำให้กลุ่มโคที่ไม่ติดเชื้อซึ่งเลี้ยงห่างออกไปไม่น้อยกว่า 3.85 เมตร ติดเชื้อไวรัสบีวีดีได้ นอกจากการที่โคได้สัมผัสกับเชื้อไวรัสโดยตรงแล้ว โคยังสามารถรับเชื้อไวรัสบีวีดีจากแหล่งอื่นๆอีกด้วย เช่น การติดต่อทางการผสมพันธุ์ทั้งจากการผสมโดยวิธีธรรมชาติและการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อที่ได้จากพ่อโคที่เป็นโรค (Kirkland *et al*., 1991) การย้ายฝากตัวอ่อนเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ทำให้เกิดการติดโรคได้หากตัวอ่อนที่นำมาฝากให้กับแม่โคที่เป็นโรค (Brock *et al*., 1997) การใช้วัคซีนป้องกันโรคบีวีดีชนิดเชื้อเป็นกับแม่โคที่ตั้งท้อง สามารถทำให้ลูกโคที่เกิดมาติดเชื้อแต่กำเนิดและอยู่ในภาวะ PI ได้ (Houe, 1995) และการใช้วัคซีนเชื้อเป็นชนิด CP เสตรนกับโคที่อยู่ในภาวะ PI ยังสามารถกระตุ้นการเกิดโรค mucosal disease ได้อีกด้วย (Peter *et al*., 1967) นอกจากนี้ยังมีรายงานการเกิดโรคบีวีดีเนื่องจากการใช้วัคซีนป้องกันโรคที่มีไวรัสบีวีดีปนเปื้อนอยู่ (Baker,1987) รวมถึงการติดต่อโดยการใช้เข็มฉีดยาซ้ำกัน (Raeder and Harkness, 1986) ทั้งนี้การติดโรคทางอ้อมจำเป็นต้องอาศัยพาหะในการแพร่เชื้อไวรัส ความสามารถในการแพร่เชื้อไวรัสจึงขึ้นกับความสามารถในการมีชีวิตรอดอยู่ภายนอกร่างกายสัตว์ของเชื้อไวรัส ไวรัสบีวีดีที่ปนเปื้อนในสิ่งปฏิกูลจากฟาร์มสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้นานเพียง 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (Houe, 1995) และในห้องปฏิบัติการไวรัสจะมีชีวิตอยู่ได้นานในสภาพความเป็นกรด-ด่าง 3-9 และอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส (Duffel and Harkness, 1985)

โคที่ติดเชื้อไวรัสบีวีดีจะแสดงอาการป่วยได้หลายรูปแบบ ตั้งแต่ไม่แสดงอาการป่วย จนถึงขั้นแสดงอาการอย่างรุนแรงและตาย ทั้งนี้การแสดงอาการในรูปแบบต่างๆมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ทั้งลักษณะทาง biotype หรือ genotype ของเชื้อไวรัสที่สัตว์ได้รับ สภาวะภูมิคุ้มกันของสัตว์ ระยะการตั้งท้อง รวมถึงภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อมรอบตัวสัตว์

การติดเชื้อไวรัสบีวีดีอย่างเฉียบพลัน (acute infection)

โคที่ได้รับเชื้อไวรัสบีวีดีอย่างเฉียบพลัน ส่วนใหญ่มักเป็นการติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการ อาจแสดงอาการมีไข้ต่ำๆ ท้องเสีย มีน้ำมูก ซึ่งจะแสดงอาการให้สังเกตเห็นได้อยู่นานประมาณ 2 สัปดาห์ โคจะมีเชื้อไวรัสอยู่ในกระแสโลหิตภายหลังการติดเชื้อ 3-14 วัน และสามารถตรวจพบภูมิคุ้มกันต่อไวรัสบีวีดีในกระแสโลหิตได้ตั้งแต่ 2-3 สัปดาห์ภายหลังการติดเชื้อ ภูมิคุ้มกันนี้จะมีปริมาณสูงสุดใน 8-10 สัปดาห์ต่อมา (Nettleton and Entrican, 1995)

การติดเชื้อไวรัสบีวีดีแบบเฉียบพลันนี้เป็นสาเหตุโน้มนำให้โคเกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนที่ระบบทางเดินหายใจและระบบทางเดินอาหาร (Potgieter *et al*., 1984 ; Reggiardo and Kaeberle, 1981) เนื่องจากภาวะภูมิคุ้มกันถูกกด (immunosuppression) โคที่ติดเชื้อจะมีภาวะเซลล์เม็ดเลือดขาวต่ำ (leukopenia) ซึ่งเป็นผลมาจากการลดลงของจำนวน neutrophil B-lymphocyte T-lymphocyte ทั้ง $CD4^+$ และ $CD8^+$ (Ellis *et al*., 1988) นอกจากนี้การติดเชื้อยังทำให้การทำงานของ monocyte ลดลง (Ketelsen *et al*., 1979) ส่งผลให้การทำหน้าที่ของเม็ดเลือดขาวในการทำลายสิ่งแปลกปลอมในกระแสโลหิตลดลง (Reggiardo and Kaeberle, 1981) ถึงแม้ว่าการติดเชื้อในรูปแบบนี้โคจะขับเชื้อไวรัสออกมาในระยะเวลาสั้นและมีปริมาณไม่มากนัก แต่บางครั้งโคที่ติดเชื้ออาจแสดงอาการป่วยอย่างรุนแรง (Carman *et al*., 1998)

การติดเชื้อในขณะอุ้มท้อง (congennital infection)

แม่โคที่ติดเชื้อในขณะอุ้มท้องจะแพร่เชื้อไปยังลูกโค ปรากฏอาการออกมาได้หลายลักษณะขึ้นกับภาวะภูมิคุ้มกันของแม่โค สายพันธุ์ของเชื้อไวรัส และระยะการตั้งท้อง จากรายงานของ Grahn และคณะ (1984) พบว่าการทดลองฉีดเชื้อไวรัสบีวีดีเข้าไปในมดลูกพร้อมกับการผสมเทียม เชื้อไวรัสจะมีผลในการยับยั้งการปฏิสนธิ Bielefeldt-Ohmann (1995) รายงานว่าแม่โคที่ติดเชื้อในช่วง 3 เดือนแรกของการอุ้มท้อง จะพบการตายของตัวอ่อน และเกิดการแท้ง หรือเกิดลูกมัมมี่ตามมาในช่วงระยะตั้งท้อง 120-180 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่ตัวอ่อนในท้องมีการพัฒนาของระบบประสาท และตาใกล้สมบูรณ์ การติดเชื้อไวรัสบีวีดีในระยะนี้ จะมีผลโดยตรงต่อการเจริญของเซลล์ที่จะพัฒนาเป็นอวัยวะในระบบประสาท ส่งผลให้ลูกโคเกิดการพิการแต่กำเนิดต่างๆ เช่น การฝ่อของสมองส่วน cerebellum เกิดมีน้ำในสมอง (hydrocephalus) เกิดความผิดปกติของเยื่อหุ้มไขสันหลัง เกิดต้อกระจก (cataracts) เรตินาเสื่อม (retinal degeneration) ลูกตาขนาดเล็ก (microphalmia) ต่อมไธมัสไม่เจริญ (thymic aplasia) ไม่มีขน (alopecia) และเนื้อเยื่อปอดไม่เจริญ (pulmonary hypoplasia) (Tremblay, 1996) การพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันของตัวอ่อนมีผลโดยตรงต่อการมีชีวิตรอดของตัวอ่อน ลูกโคในท้องจะสามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อต้านการติดเชื้อบีวีดีได้ตั้งแต่อายุ 125 วัน แม่โคที่ติดเชื้อในช่วงระยะอุ้มท้องนี้ จึงสามารถคลอดลูกได้ตามปกติ ลูกโคที่เกิดมาจะมีภูมิคุ้มกันต่อไวรัสบีวีดี แต่ตรวจไม่พบเชื้อไวรัสในร่างกาย (Moennig and Leiss, 1995)

ภาวะการติดเชื้อคงอยู่ (persistent infection; PI)

การแพร่เชื้อไวรัสบีวีดี NCP biotype ไปยังลูกโคโดยผ่านทางรก (transplacenta) สามารถทำให้ลูกโคที่คลอดออกมานั้นมีเชื้อไวรัสอยู่ในกระแสเลือด (viremia) ตลอดชีวิต หรือมีการติดเชื้อคงอยู่ (Bielefeldt-Ohmann, 1988) การที่ตัวอ่อนได้รับเชื้อในช่วงอายุ 60-120 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่ตัวอ่อนยังไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสบีวีดีได้ เชื้อไวรัสจะเข้าไปเพิ่มจำนวนในเนื้อเยื่อของตัวอ่อน (Tremblay, 1996) ระบบภูมิคุ้มกันของตัวอ่อนที่พัฒนาขึ้นจนสมบูรณ์ภายหลังจึงไม่สามารถจำแนกได้ว่า

ไวรัสบีวีดีที่ลูกโคได้รับเป็นสิ่งแปลกปลอม ลูกโคที่เกิดมาจะไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสบีวีดีได้ (immunotolerant) และเม็ดเลือดขาว T-lymphocyte ของลูกโคที่อยู่ในภาวะ PI นี้ ยังไม่มีการตอบสนองต่อการติดเชื้อไวรัสด้วย (Collen *et al*., 2000) ลูกโคที่อยู่ในภาวะ PI อาจไม่แสดงอาการใดๆ แต่ส่วนใหญ่มักพบว่าลูกโคที่เกิดมาจะอ่อนแอ เจริญเติบโตช้า และถ้าโคเหล่านี้สามารถมีชีวิตรอดจนถึงวัยเจริญพันธุ์ โคเหล่านี้ก็จะให้กำเนิดลูกโคที่มีภาวะ PI ได้อีกต่อไป การติดเชื้อแบบ PI ในโคพ่อพันธุ์จะไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อโค แต่อาจมีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ (Moening and Liess, 1995) ทั้งนี้จากรายงานของ Voges และคณะ (1998) พบว่าโคพ่อพันธุ์ที่สามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีในระดับสูง แต่ไม่สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสในร่างกาย สามารถขับเชื้อไวรัสออกมาทางน้ำเชื้อได้ เนื่องจากการที่พ่อโคติดเชื้อในช่วงวัยเจริญพันธุ์ เชื้อไวรัสบางส่วนจะเข้าไปเจริญอยู่ในลูกอัณฑะโดยผ่านทาง blood-testis barrier ทำให้แอนติบอดีที่พ่อโคสร้างขึ้นไม่สามารถกำจัดเชื้อไวรัสออกไปได้

โรคมิวโคซอล (mucosal disease : MD)

โคที่อยู่ในภาวะ PI เป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรค MD (Bolin, 1995b) ไวรัสบีวีดี NCP biotype ที่อยู่ในร่างกายของโคที่มีภาวะ PI สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม และพัฒนาเป็นเชื้อไวรัสบีวีดี CP biotype หรือเกิดจากการที่โคติดเชื้อไวรัสบีวีดี CP biotype แทรกซ้อนจากแหล่งอื่นๆ เช่น การฉีดวัคซีนเชื้อเป็นชนิด CP biotype ให้กับโคที่อยู่ในภาวะ PI (Meyers *et al*., 1996 ; Ridpath and Bolin, 1995 ; Campen *et al*.,2000) การติดเชื้อไวรัสบีวีดี CP biotype ซ้ำอีกครั้ง จะทำให้โคแสดงอาการท้องเสีย มีเลือดปนอย่างรุนแรง เกิดการลอกหลุดของเยื่อบุผิวทางเดินอาหาร โคจะตายภายใน 2 สัปดาห์ภายหลังแสดงอาการ (Bolin and McClurkin, 1985)

2.2 การตรวจวินิจฉัยโรคบีวีดีทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจหาเชื้อไวรัสบีวีดีเป็นวิธีการวินิจฉัยที่มีความจำเพาะสูงและนิยมใช้ในการวินิจฉัยโรคบีวีดี การจำแนกเชื้อไวรัสบีวีดีสามารถทำได้โดยการเพาะเลี้ยงในเซลล์เพาะเลี้ยงหลายๆชนิด เช่น bovine kidney cell turbinate cell หรือ testis cell (Dubovi, 1996) เชื้อไวรัสบีวีดีเสตรน CP จะทำให้เกิดการลักษณะ CPE บนเซลล์เพาะเลี้ยงซึ่งจะสังเกตเห็นได้ภายใน 48 ชั่วโมง แต่เชื้อไวรัสที่แยกได้จากสัตว์ป่วยส่วนใหญ่มักเป็นเชื้อไวรัสบีวีดี NCP เสตรนซึ่งต้องอาศัยการย้อมสีด้วยเทคนิค immunofluorescence หรือ immunoenzyme ในการจำแนกชนิด และจำเป็นต้องใช้เวลานาน 3-5 วันในการตรวจ การตรวจหาเชื้อไวรัสสามารถตรวจได้จากตัวอย่างซีรั่ม เลือด การป้ายเชื้อจากโพรงจมูก น้ำเชื้อ หรือตัวอย่างเนื้อเยื่ออื่นๆของสัตว์ป่วย (Brock, 1995) การตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสโดยวิธี immunohistochemical จากตัวอย่างชิ้นเนื้อเป็นอีกวิธีที่นิยมใช้ โดยเฉพาะในตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ต้องการยืนยันการเกิดภาวะ PI (Dubovi, 1996)

แต่ในปัจจุบันมักนิยมการตรวจด้วยวิธี Antigen-capture ELISA เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและรวดเร็ว สามารถตรวจได้ทั้งตัวอย่างชิ้นเนื้อ เม็ดเลือดขาวและซีรั่ม (Shannon *et al*., 1992)

การตรวจหาเชื้อไวรัสบีวีดีโดยอาศัยเทคนิค reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) สามารถตรวจหาเชื้อไวรัสได้จากตัวอย่างเนื้อเยื่อ ซีรั่ม เซลล์เพาะเลี้ยง และตัวอย่างเลือด (Lettellier *et al*., 1999) ปัจจุบันเทคนิคนี้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาโคที่อยู่ในภาวะ PI เพื่อควบคุมโรคภายในฟาร์ม โดยการตรวจหาเชื้อไวรัสจากตัวอย่างน้ำนมถังรวมของฟาร์มที่ถูกส่งมาเพื่อตรวจนับจำนวนเซลล์โซมาติก (Graham *et al*., 2001) วิธีดังกล่าวมีประโยชน์มากในการควบคุมการระบาดของโรคบีวีดีภายในฟาร์ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฟาร์มที่ฉีดวัคซีน ยกเว้นในฟาร์มที่โคมีภาวะ PI ในฝูงที่ยังไม่รีดนม การควบคุมโรคด้วยวิธีนี้อาจยังไม่เหมาะสมนัก (Sandvik, 1999)

การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อโรคบีวีดี ภูมิคุ้มกันต่อโรคบีวีดีที่โคสร้างขึ้นภายหลังการติดเชื้อสามารถตรวจได้โดยวิธี virus neutralization (VN) โดยส่วนใหญ่มักนิยมใช้ไวรัสบีวีดี CP biotype เสตรน NADL Singer หรือ Oregon C24v ในการตรวจ แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการระบุถึงเชื้อไวรัสที่ใช้เป็นเสตรนมาตรฐาน ส่วนการใช้เชื้อไวรัสบีวีดี NCP biotype ในการตรวจนั้นจำเป็นต้องอาศัยเทคนิค immunoperoxidase ร่วมด้วย ผลการตรวจระดับแอนติบอดีด้วยวิธี VN test นี้ อาจมีความแตกต่างกันในแต่ละห้องปฏิบัติการ เนื่องจากการเลือกใช้เชื้อไวรัสสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน (Brock, 1995) และจากการที่พบว่าเชื้อไวรัสบีวีดี CP กับ NCP biotype นั้นไม่มีความแตกต่างของแอนติเจนกันอย่างชัดเจน ดังนั้นการใช้เชื้อไวรัสบีวีดี CP biotype ในการตรวจนั้นจึงสามารถตรวจพบแอนติบอดีในโคที่ติดเชื้อไวรัสบีวีดีทั้ง 2 biotype ได้ (Dubovi, 1996) การตรวจหาแอนติบอดีต่อการติดเชื้อด้วยวิธี ELISA สามารถตรวจได้รวดเร็วกว่าวิธี SN test (Nettleton and Entrican, 1995) วิธี ELISA สามารถใช้ตรวจหาระดับแอนติบอดีได้จากทั้งตัวอย่างซีรั่ม และตัวอย่างน้ำนม ซึ่งการตรวจหาระดับแอนติบอดีในน้ำนมถังรวมของฟาร์มนี้ เป็นวิธีที่สามารถบ่งบอกถึงสถานะของโรคในฟาร์มได้ (Niskanen, 1993) และจากการศึกษาของ Lindberg และคณะ (2001) ยังพบว่าการใช้วิธี ELISA ในการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อโรคบีวีดีของแม่โคที่ตั้งท้องในระยะท้าย มีประโยชน์ในการทำนายภาวะการติดเชื้อของตัวอ่อนได้ โดยพบว่าแม่โคที่ให้กำเนิดลูกโคที่อยู่ในภาวะ PI จะมีระดับแอนติบอดีในเลือดสูงกว่าแม่โคที่ให้กำเนิดลูกโคที่ปกติ

3. ไวรัสบีอาร์เอส (bovine respiratory syncytial)

ไวรัสบีอาร์เอส เป็น RNA ไวรัสสายเดี่ยว จัดอยู่ในจีนัส Pneumovirus แฟมิลี่ Paramyxoviridae สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ที่ไวรัสเข้าไปอาศัย ไวรัสสามารถทำให้เซลล์เกิด CPE ได้ทั้งใน in vivo และ in vitro ส่งผลให้เกิดการเชื่อมติดกันของเซลล์ เกิดเป็นเซลล์มีลักษณะเป็นนิวเคลียสเชื่อมติดกันหลายนิวเคลียส (multinucleated cell) เรียกว่า syncytial cell (Baker *et al*., 1997)

3.1 กระบวนการเกิดโรค

การสัมผัสกับสิ่งคัดหลั่งจากระบบทางเดินหายใจของโคที่ติดเชื้อหรือได้รับเชื้อไวรัสผ่านทางการหายใจ เป็นช่องทางการติดโรคของโค (Mars *et al*., 1999) โคจะแสดงอาการภายหลังได้รับเชื้อ 3-5 วัน อัตราการการป่วยค่อนข้างสูง 60-80% (Baker and Frey, 1985) อัตราการตายไม่แน่นอนตั้งแต่ไม่พบว่ามีโคตายจากการติดเชื้อ แต่บางครั้งอาจพบอัตราการตายสูงถึง 20 เปอร์เซ็นต์ (Baker *et al*., 1997) การติดเชื้อไวรัสบีอาร์เอส จะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ในระบบทางเดินหายใจลดลง เป็นสาเหตุให้โคเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนได้ง่าย (Larsen, 2000) จึงอาจกล่าวได้ว่าการติดเชื้อบีอาร์เอสเป็นสาเหตุเริ่มต้นของการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนที่ระบบทางเดินหายใจ (Larsen *et al*., 1999) โดยมีปัจจัยโน้มนำต่างๆ เช่น การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม (Baker, 1986) ระดับก๊าซแอมโมเนียในโรงเรือน ความชื้นและอุณหภูมิภายในโรงเรือน เป็นต้น (Baker, 1986)

3.2 อาการของโรค

โคที่ติดเชื้อในระยะแรกมักแสดงอาการทางระบบทางเดินหายใจที่ไม่รุนแรง มีอาการไอ น้ำมูกไหลหรือมีหนองปน เสียงหายใจผิดปกติ (Larsen, 2000) ในระยะรุนแรง โคจะมีอาการหายใจลำบาก พบฟองอากาศแทรกอยู่ตามชั้นไขมันใต้ผิวหนัง เนื่องจากการแตกของถุงลมในปอด โครีดนมที่ติดเชื้อจะมีการผลิตน้ำนมลดลง แต่ยังไม่รายงานว่าไวรัสบีอาร์เอสทำให้เกิดการแท้งได้ (Baker, 1986)

4. ไวรัสพีไอ -3 (parainfluenza-3)

ไวรัสพีไอ -3 เป็นเชื้อไวรัสชนิด RNA ไวรัส จัดอยู่ในแฟมิลี่ *Paramyxoviridae* มีเยื่อไขมันหุ้มเซลล์ 2 ชั้น บริเวณผิวนอกของไวรัสจะมีลักษณะคล้ายหนามยื่นออกมา ประกอบด้วย hemagglutinin-neuraminidase และ fusion protein ซึ่งมีความสามารถทำให้เซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสเชื่อมติดกับเม็ดเลือดแดง เกิดการเกาะกลุ่มและเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง (Kapil and Basaraba, 1997)

4.1 กระบวนการเกิดโรค

การติดเชื้อไวรัสพีไอ 3 เพียงลำพังไม่ทำให้เกิดอาการรุนแรงในโค แต่มักเป็นสาเหตุโน้มนำของการติดเชื้อแทรกซ้อนที่ระบบทางเดินหายใจ (Frank and Marshall, 1973) เชื้อไวรัสสามารถทำให้ซีเลีย(cilia) ที่บุอยู่บนผิวเยื่อเมือกของทางเดินหายใจเสียหาย และยังรบกวนการทำหน้าที่ของเซลล์แมคโคฟาจ ซึ่งกลไกทั้ง 2 นี้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการป้องกันการติดเชื้อที่ระบบทางเดินหายใจ ส่งผลให้โคที่ติดเชื้อไวรัสพีไอ 3 เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนได้ง่าย (Kapil and Basaraba, 1997)

4.2 อาการของโรค

อาการของโรคจะเริ่มปรากฏภายหลังจากโคได้รับเชื้อ 1-3 วัน โคจะมีไข้ ซึม มีน้ำมูกใส น้ำตาไหล ไอ เสียงหายใจผิดปกติ สามารถตรวจพบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสพีไอ 3 ได้ตั้งแต่ 10 วัน ภายหลังติด

เชื้อ โคที่ติดเชื้อจะขับเชื้อไวรัสออกมาทางสิ่งคัดหลั่งของระบบทางเดินหายใจ ซึ่งสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสในสิ่งคัดหลั่งดังกล่าวได้นานถึง 20 วัน (Dyer, 1981) จากรายงานของ Sattar และคณะ (1965) สามารถแยกเชื้อไวรัสได้จากตัวอ่อนโคที่แท้งโดยเฉพาะจากบริเวณปอด และยังตรวจพบแอนติบอดีต่อ ไวรัสพีไอ-3 ในตัวอ่อนที่แท้งอีกด้วย (Dunne *et al*., 1973) จึงทำให้เชื่อกันว่าไวรัสพีไอ3 สามารถติดต่อไปยังลูกโคขณะอยู่ในท้องได้

5. การควบคุมและป้องกันโรค

การควบคุมการระบาดของโรคไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี สามารถทำได้โดยการตรวจหาโคที่ติดเชื้อซึ่งเป็นแหล่งของการแพร่กระจายเชื้อไวรัสในฟาร์มแล้วกำจัดออก รวมทั้งยังต้องมีการควบคุมการซื้อโคทดแทนเข้าฟาร์ม โดยการซื้อจากแหล่งที่เชื่อถือได้ว่าปลอดจากโรคไวรัสทั้ง 2 หรือทำการตรวจกรองก่อนว่าปลอดโรคจึงจะนำเข้าฟาร์ม (De Wit *et al*., 1998 ; Ames and Baker, 1990) สำหรับการป้องกันการเกิดโรคระบบทางเดินหายใจจากการติดเชื้อไวรัส ซึ่งเป็นปัญหาที่พบได้บ่อยในลูกโคจนถึงโคสาว สามารถทำให้โดยการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัส ซึ่งมีการใช้กันอย่างกว้างขวางในต่างประเทศ นอกจากนี้วัคซีนยังสามารถใช้ควบคุมและป้องกันผลของการติดเชื้อไวรัสต่อระบบสืบพันธุ์ในช่วงผสมพันธุ์และช่วงตั้งท้องของแม่โคได้อีกด้วย แต่ปัจจุบันวัคซีนที่มีใช้กันอยู่มีด้วยกันหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดที่มีความปลอดภัยและประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน การพิจารณาเลือกใช้จึงเป็นต้องคำนึงถึงวัตถุประสงค์ของการใช้ และความเหมาะสมต่อโคในแต่ละช่วงอายุ

5.1 วัคซีนป้องกันโรคไอบีอาร์

วัคซีนชนิดเชื้อเป็น (modified-live vaccine) มีทั้งชนิดฉีดเข้ากล้ามและชนิดหยอดเข้าโพรงจมูก วัคซีนเชื้อเป็นนี้จะกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้ดีกว่าวัคซีนชนิดเชื้อตาย ถึงแม้ว่าสัตว์จะได้รับวัคซีนเพียงครั้งเดียว (Gerber *et al*. , 1978)

วัคซีนเชื้อเป็นชนิดฉีดเข้ากล้ามเนื้อ สามารถกระตุ้นให้โคสร้างภูมิคุ้มกันต่อไวรัสไอบีอาร์ได้รวดเร็วภายใน 2-3 วัน (van Donkersgoed and Babiuk, 1991; van der Poel and Scholl, 1997) แต่โคที่รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็น จะขับไวรัสออกมานอกร่างกายได้ถ้าหากโคตัวนั้นอยู่ในภาวะเครียดรวมทั้งยังอาจเป็นสาเหตุของการแท้งได้ ถ้านำมาใช้ในในโคระยะอุ้มท้อง (Bryan *et al*., 1994) และจากรายงานของ Georgeและคณะ (1988) พบว่าวัคซีนชนิดเชื้อเป็นนี้มีความสัมพันธ์กับการเกิดการระบาดของโรคไอบีเค (IBK ; infectious bovine keratoconjunctivitis) ขึ้นภายในฝูงหลังจากการฉีดวัคซีน วัคซีนเชื้อเป็นสามารถทำให้เกิดการอักเสบของรังไข่และ คอร์ปัส ลูเตียมได้ (Smith *et al* ., 1990) ส่งผลให้ปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในกระแสเลือดของโคลดลงได้ (van der Maaten *et al*., 1985)

วัคซีนชนิดฉีดเข้ากล้ามที่เป็น temperature-sensitive (Ts) modified-live vaccine เป็นวัคซีนชนิดเชื้อเป็นที่มีความปลอดภัยมากขึ้น สามารถใช้กับโครยะอุ้มท้องได้ และยังสามารถป้องกันการแท้งลูกของโคอุ้มท้องที่ได้รับการฉีดเชื้อ BHV–1 เข้าเส้นเลือดดำได้ (Cravens *et al*., 1996) นอกจากนี้ภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากการฉีดวัคซีนชนิดนี้ยังสามารถลดอัตราการป่วยและตายจากโรคทางเดินหายใจของลูกโคได้ดีกว่าลูกโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเชื้อตาย (Cravens and Bechtol, 1991)

วัคซีนเชื้อเป็นชนิดหยอดเข้าโพรงจมูก สามารถกระตุ้นให้โคสร้างภูมิคุ้มกันได้ภายใน 3 วัน (Todd *et al*., 1972) และการสร้างภูมิคุ้มกันของลูกโคที่ได้รับวัคซีนชนิดหยอดจมูกยังไม่ถูกรบกวนโดยภูมิคุ้มกันที่ลูกโคได้รับจากแม่ผ่านทางนมน้ำเหลือง (Hjerpe , 1990) แต่อาจทำให้ลูกโคที่มีภูมิคุ้มกันจากแม่นี้เป็นตัวแฝงโรค (latent infection) และแพร่เชื้อไวรัสออกมาได้ตลอด ชีวิต (Hage *et al*., 1998) ภูมิคุ้มของสัตว์ที่ได้รับวัคซีนชนิดหยอดจมูกจะคงอยู่ไม่นานเมื่อเทียบกับภูมิคุ้มที่เกิดจากการใช้วัคซีนฉีดเข้ากล้าม และบางครั้งยังไม่สามารถป้องกันการแท้งลูกจากการติดไวรัสตามธรรมชาติได้ ในฝูงที่กำลังเกิดการระบาดของโรคไอบีอาร์ การใช้วัคซีนหยอดจมูกจะช่วยลดความรุนแรงของโรค และการระบาดลงได้ (Thomson *et al*., 1986)

วัคซีนเชื้อตาย (inactivated IBR vaccine) มักนิยมใช้ในประเทศที่ปลอดจากโรคไอบีอาร์ และไม่ต้องการให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสจากวัคซีนเชื้อเป็น (van der Poel and Scholl , 1997) วัคซีนเชื้อตายไม่ทำให้เกิดการแท้ง สามารถใช้กับลูกโคได้อย่างปลอดภัยและไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อแฝง แต่โคที่ได้รับการฉีดวัคซีนจะสร้างภูมิคุ้มต่อไวรัสช้า และจำเป็นต้องได้รับการฉีดกระตุ้นซ้ำ รวมทั้งยังมีโอกาสเกิดการแพ้วัคซีนได้มากกว่าวัคซีนเชื้อเป็น (van Drunen Little-van Den Hurk *et al*., 1993) และภูมิคุ้มที่เกิดขึ้นก็ไม่สามารถป้องกันการเกิดการติดเชื้อแฝงจากไวรัสตามธรรมชาติได้ (Frerichs *et al*., 1982)

การกำจัดโรคไอบีอาร์ ออกจากฝูงจำเป็นต้องป้องกันการแพร่เชื้อไวรัส จากสัตว์ที่เป็นตัวแฝงโรค โดยการตรวจหาสัตว์ที่ติดเชื้อแฝงและกำจัดออกจากฝูง จึงมีความจำเป็นต้องแยกภูมิคุ้มกันที่ตรวจพบว่าเป็นภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อหรือเกิดจากการฉีดวัคซีน (Noordegraaf, 1998) ซึ่งสามารถทำได้โดยการใช้วัคซีนที่เรียกว่า marker vaccine เช่น attenuated glycoprotein E-negative vaccine ซึ่งมีความปลอดภัยและประสิทธิภาพสูงกว่าวัคซีนเชื้อเป็นที่มีใช้กันอยู่ แต่สัตว์ที่ได้รับวัคซีนอาจแพร่เชื้อไวรัสวัคซีนเสตรนออกมาได้ (Kaashoek *et al*., 1994) แตกต่างจากการใช้ marker vaccine ชนิดเชื้อตายที่สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสของลูกในท้องได้ และยังไม่มีปัญหาการขับเชื้อไวรัสออกมาจากโคที่ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อตายนี้ (Bosch *et al*., 1997)

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวัคซีนป้องกัน โรคไอบีอาร์ ให้ประสิทธิภาพสูงขึ้น เช่น วัคซีนชนิด subunit vaccine ซึ่งเป็นวัคซีนที่ผลิตขึ้นมาจากโปรตีนบางส่วนของเชื้อไวรัสเพื่อเป็นการลดปัญหาการกดภูมิคุ้มกัน เช่นในกรณีที่ใช้วัคซีนเชื้อเป็น (Roth and Henderson , 2001) และจากรายงานของ Harland และคณะ

(1992) พบว่าการใช้วัคซีนชนิด subunit ไม่ทำให้เกิดการแท้งลูก การติดเชื้อแฝงและการกดภูมิคุ้มกัน โดยที่โคซึ่งได้รับการฉีดวัคซีนยังมีการสร้างภูมิคุ้มกันได้เช่นเดียวกับการฉีดวัคซีนเชื้อเป็น

5.2 วัคซีนป้องกันโรคบีวีดี

วัคซีนป้องกันโรคบีวีดีชนิดเชื้อเป็น (modified-live BVD vaccine) ส่วนใหญ่ผลิตจากไวรัสบีวีดี type-1 (cytopathic strains) วัคซีนชนิดนี้สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้รวดเร็ว (Cortese *et al*., 1998) แต่วัคซีนชนิดเชื้อเป็นจะทำให้ภูมิคุ้มกันถูกกด และอาจทำให้เกิดความผิดปกติของลูกในท้องได้ เมื่อฉีดให้กับโคอุ้มท้อง (Ames and Baker, 1990) ส่วนในโคสาววัคซีนเชื้อเป็นจะไม่มีผลรบกวนต่อการปฏิสนธิและการตั้งท้อง ถ้าโคสาวได้รับการฉีดวัคซีนก่อนการผสมพันธุ์อย่างน้อย 24 วัน (Stormshak *et al*., 1997)

เนื่องจากการใช้วัคซีนเชื้อเป็นมีข้อจำกัดดังกล่าว วัคซีนเชื้อเป็นชนิด ts-mutant strain จึงถูกพัฒนาขึ้นเพื่อลดข้อเสียของการใช้วัคซีนเชื้อเป็น ไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนจะถูกจำกัดการแพร่พันธุ์ที่อุณหภูมิ 39.5 องศาเซลเซียส และยังเป็นวัคซีนที่มีความปลอดภัยสูง ไม่ทำให้เกิดการแท้ง หรือทำให้ลูกในท้องเกิดความผิดปกติเมื่อใช้กับโคที่กำลังอุ้มท้อง (Lobmann *et al* ., 1986)

วัคซีนชนิดตาย (inactivated vaccine) เป็นวัคซีนที่มีความปลอดภัยสูงไม่มีผลกระทบต่อลูกในท้องเมื่อใช้กับโคอุ้มท้อง และไม่กดภูมิคุ้มกันของโคที่ได้รับวัคซีน แต่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้โคสร้างภูมิคุ้มกันได้ไม่ดีเท่ากับวัคซีนเชื้อเป็น ภูมิคุ้มกันที่โคสร้างขึ้นจะคงอยู่ไม่นาน และวัคซีนเชื้อตายยังไม่สามารถกระตุ้นให้โคสร้างภูมิคุ้มกันต่อไวรัสบีวีดีข้ามสายพันธุ์ได้ (Ames and Baker ,1990)

5.3 วัคซีนป้องกันโรคบีอาร์เอส

วัคซีนป้องกันโรคบีอาร์เอส มีทั้งชนิดเชื้อเป็นและเชื้อตาย ซึ่งทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นวัคซีนที่ต้องฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โคจำเป็นต้องได้รับการฉีดวัคซีน 2 ครั้ง ห่างกัน 2-4 สัปดาห์ จึงมีภูมิคุ้มกันต่อโรคบีอาร์เอส บางครั้งอาจพบการติดเชื้อไวรัสบีอาร์เอสภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มแรก แต่โคจะแสดงอาการรุนแรงน้อยกว่าโคที่ยังไม่เคยได้รับวัคซีน (Hjepe ,1990) การฉีดวัคซีนป้องกันโรคบีอาร์เอส สามารถลดอัตราการเกิดโรคระบบทางเดินหายใจของลูกโคลงได้ (Thomson *et al*., 1986) นอกจากนี้การฉีดวัคซีนป้องกันโรคบีอาร์เอสยังสามารถเพิ่มอัตราการผสมติด และผลผลิตน้ำนมของแม่โคได้อีกด้วย (Ferguson *et al*., 1997)

5.4 วัคซีนป้องกันโรค พีไอ-3

วัคซีนป้องกันโรคพีไอ-3 ส่วนใหญ่มักจะเป็นวัคซีนป้องกันโรคร่วมกับ ไอบีอาร์ มีทั้งชนิดเชื้อเป็นและเชื้อตาย ภูมิคุ้มกันโรคพีไอ-3 ที่ลูกโคได้รับจากแม่ผ่านทางนมน้ำเหลืองจะรบกวนสร้างภูมิของลูกโคที่ได้รับวัคซีน เว้นแต่จะใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นชนิดหยอดจมูก ซึ่งนอกจากกระตุ้นให้โคสร้างภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดแล้วยังช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ได้ดีอีกด้วย (Hjepe ,1990) การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพีไอ-3 มีประโยชน์ในการลดอัตราการเกิดโรคระบบทางเดินหายใจในลูกโคเช่นเดียวกับการฉีดวัคซีน

ป้องกันโรคบีอาร์เอส แต่วัคซีนทั้ง 2 ชนิดนี้อาจไม่ผลต่อการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของลูกได้ (Thomson *et al* ., 1986)

ปัจจุบันวัคซีนป้องกันโรคไวรัสทางเดินหายใจ และระบบสืบพันธุ์ของโคมักถูกผลิตออกมาในรูปแบบวัคซีนไวรัสรวม ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคได้ครอบคลุมมากขึ้น เช่น ผลิตภัณฑ์ Cattle Master®4 ที่ประกอบด้วยวัคซีนป้องกันไวรัส ไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส

Cattle Master®4 เป็นวัคซีนที่สามารถใช้กับโคทุกช่วงอายุรวมถึงโคอุ้มท้องด้วย วัคซีนประกอบด้วยวัคซีนป้องไวรัสไอบีอาร์ และพีไอ-3 ชนิดเชื้อเป็น ซึ่งถูกทำให้ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิด้วยขบวนการทางเคมี (chemically altered temperature-sensitive strains) และถูกทำให้อ่อนฤทธิ์ลงโดยการผ่านเซลล์เพาะเลี้ยง โดยยังคงคุณสมบัติในการกระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกันอยู่ และจะหยุดแพร่พันธุ์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วนวัคซีนป้องกันโรคบีอาร์เอสเป็นวัคซีนเชื้อเป็นที่ถูกทำให้อ่อนฤทธิ์ลงโดยการผ่านเซลล์เพาะเลี้ยง และไม่สามารถแพร่พันธุ์ในอุณหภูมิร่างกายปกติ สำหรับวัคซีนป้องกันโรคบีวีดีเป็นวัคซีนเชื้อตายทั้ง cytopathic และ noncytopathic strain ใน aluminium hydroxide adjuvant

Cattle Master®4 สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อไวรัสในระดับสูง ไม่มีผลข้างเคียงจากการฉีดวัคซีน เช่น อาการไข้ อาการโรคระบบทางเดินหายใจ การเกิดพยาธิสภาพของรังไข่เมื่อใช้กับโคในช่วงสืบพันธุ์ (Chiang *et al*., 1990; Ellis *et al*., 1990) หรือผลกระทบต่อผลผลิตน้ำนมภายหลังการฉีดวัคซีน (Cortese, 1991)

เนื่องจากวัคซีน Cattle Master®4 เป็นวัคซีนที่มีความปลอดภัยสูง ใช้ได้กับโคทุกช่วงอายุ และมีประสิทธิภาพในการป้องกันไวรัสระบบทางเดินหายใจ และระบบสืบพันธุ์ การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงผลการใช้วัคซีนชนิดนี้ต่อการเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโต และการสืบพันธุ์ในโคสาวทดแทนของประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงโปรแกรมการจัดการสุขภาพโคนม และการวางมาตรการในควบคุมป้องกันโรคไวรัสในโคนมของประเทศไทยต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

1.ประชากรและตัวอย่าง

1.1 โคนมสาวทดแทนภายในฟาร์มโคสาว ของสหกรณ์โคนมบ้านบึง อ.หนองใหญ่ จังหวัดชลบุรี ที่มีระดับสายเลือดพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียน ไม่น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 100 ตัว

1.2 โคนมทุกตัวได้รับการฉีดวัคซีนที่จำเป็น (วัคซีนแท้งติดต่อ วัคซีนปากและเท้าเปื่อย) ถ่ายพยาธิภายในและกำจัดพยาธิภายนอก ตามโปรแกรมการจัดการสุขภาพของฟาร์มฯ

1.3 โคทุกตัวไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสระบบสืบพันธุ์และระบบทางเดินหายใจมาก่อน

1.4 โคนมทุกตัวได้รับอาหารผสมรวม (total mixed ration) ของสหกรณ์โคนมบ้านบึง จ.ชลบุรี สูตรเดียวกัน ซึ่งประกอบด้วยต้นข้าวโพดหมักผสมกับอาหารข้น

การทดลองนี้ใช้ลูกโค และโคสาวจำนวน 100 ตัว โดยทำการแบ่งกลุ่มโคออกเป็น 2 กลุ่ม ตามอายุ 6 และ 12 เดือน แต่ละกลุ่มใช้การสุ่มเพื่อเข้าการทดลองดังนี้

<u>การทดลองที่ 1</u> ลูกโคอายุ 6 เดือน จำนวน 60 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มทดลองจำนวน 30 ตัว จะได้รับการฉีดวัคซีนไวรัสรวม (ประกอบด้วยไวรัสไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส; Cattle Master®4) 2 มิลลิลิตร เข้ากล้ามเนื้อบริเวณคอ และฉีดกระตุ้นซ้ำอีกครั้งหลังจากฉีดครั้งแรก 30 วัน และกลุ่มควบคุมจำนวน 30 ตัวไม่ได้รับการฉีดวัคซีนไวรัสรวม

<u>การทดลองที่ 2</u> โคสาวอายุ 12 เดือน จำนวน 40 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มทดลองจำนวน 20 ตัว จะได้รับการฉีดวัคซีนไวรัสรวม (ประกอบด้วยไวรัสไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส; Cattle Master®4) 2 มิลลิลิตร เข้ากล้ามเนื้อบริเวณคอ และฉีดกระตุ้นซ้ำอีกครั้งหลังจากฉีดครั้งแรก 30 วัน และกลุ่มควบคุมจำนวน 20 ตัวไม่ได้รับการฉีดวัคซีนไวรัสรวม

เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา

1. ลูกโคนมเพศเมียที่เกษตรกรนำมาขายให้ฟาร์มของสหกรณ์เลี้ยงตั้งแต่อายุ 4-10 เดือน
2. โคนมที่มีสุขภาพแข็งแรง และถูกพิจารณาเบื้องต้นจากลักษณะภายนอกว่าสามารถมีความสมบูรณ์พันธุ์
3. โคนมที่ไม่อยู่ระหว่างการพิจารณาคัดทิ้งหรือจำหน่าย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา

1. โคนมสาวทดแทนที่ถูกตรวจโดยการล้วงตรวจทางทวารหนักพบว่า เกิดความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์แบบถาวรที่ไม่สามารถแก้ไขได้
2. โคนมสาวทดแทนที่ป่วยตาย จากโรคที่ได้รับการวินิจฉัยว่าไม่ได้มีสาเหตุเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสระบบทางเดินหายใจและระบบสืบพันธุ์ เป็นโรคที่จำเป็นต้องคัดทิ้งเร่งด่วน หรือเกิดอุบัติเหตุที่มีผลกระทบต่อการดำเนินชีวิตปกติในระหว่างการศึกษา

2. ขั้นตอนการศึกษา

2.1 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของโคด้วยการวัดน้ำหนักโคทุกตัวเดือนละครั้ง โดยวิธีวัดความยาวของเส้นรอบอก (heart girth) ด้วยสายวัดน้ำหนักโค (Weighband® : Dalton Supplies LTD. : England) เพื่อนำมาคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) จนกระทั่งโคอายุครบ 18 เดือน

2.2 บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับสมรรถภาพการสืบพันธุ์ ประกอบด้วย อายุของโคที่ได้รับการผสมครั้งแรก วันผสมพันธุ์ วันตั้งท้อง (ตรวจการตั้งท้องโดยใช้การล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักในวันที่ 60 หลังการผสมเทียม) การแท้งลูก เพื่อนำมาคำนวณหาอัตราผสมติดของการผสมครั้งแรก จำนวนครั้งการผสมต่อการผสมติด และอัตราการผสมติด

2.3 บันทึกข้อมูลสุขภาพและการเกิดโรค (โดยนายสัตวแพทย์ประจำฟาร์ม)

2.3.1 โรคระบบทางเดินหายใจ เช่น อาการมีไข้ มีน้ำมูก ไอ หอบ หรือหายใจลำบาก เป็นต้น

2.3.2 โรคระบบทางเดินอาหาร เช่น อาการท้องอืด ท้องเสีย หรือถ่ายเป็นเลือด เป็นต้น

2.3.3 โรคระบบสืบพันธุ์ เช่น ช่องคลอดอักเสบ มดลูกอักเสบ ไม่เป็นสัด หรือแท้ง เป็นต้น

2.4 ทำการสำรวจสถานภาพภูมิคุ้มต่อไวรัสไอบีอาร์และไวรัสบีวีดีของโคนมทุกตัวก่อนทำการฉีดวัคซีนไวรัสรวม โดยเจาะเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณโคนหาง (coccygeal vein) หรือเส้นเลือดดำบริเวณคอ (jugular vein) เพื่อนำไปตรวจหาระดับของแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และไวรัสบีวีดี โดยวิธี serum neutralization test (O.I.E.,1996) ที่ห้องปฏิบัติการ ของภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ด้วยเชื้อไวรัสไอบีอาร์เสตรน Colorado และเชื้อไวรัสบีวีดีเสตรน NADL โดยแบ่งระดับของแอนติบอดีที่ตรวจพบเป็น 2 ระดับ ดังนี้

ระดับที่ 1 ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี (titer< 2)

ระดับที่ 2 มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี (titer $\geq$ 2)

ภายหลังการฉีดวัคซีน เก็บตัวอย่างเลือดโคทุกตัวเพื่อตรวจหาระดับของแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และไวรัสบีวีดี ทุกๆเดือน จนกระทั่งโคอายุ 18 เดือน

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลลักษณะต่างๆที่ศึกษา ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS for WINDOWS version 6.02 (SAS, 1998)

1. วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยลีสต์สแควร์ของอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) ระหว่างกลุ่มโคที่ไม่ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนที่วัดได้ในช่วงอายุต่างๆ รวมทั้งวิเคราะห์ปัจจัยคงที่มีผลต่อลักษณะการเจริญเติบโต โดยจำแนกปัจจัยคงที่ออกได้เป็น อิทธิพลของพันธุ์ อิทธิพลของช่วงเวลาที่วัดอัตราการเจริญเติบโต และอิทธิพลของการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสรวม ส่วนอิทธิพลของอายุโค ณ วันที่เข้ามาอยู่ในฟาร์มผลิตโคสาว จะเป็นปัจจัยสุ่มที่นำมาใช้เป็นตัวปรับ (adjusted covariate) ในโมเดล เนื่องจากลูกโคแต่ละตัวที่เข้าการทดลองจะมีอายุ ณ วันที่เข้ามาอยู่ในฟาร์มผลิตโคสาวไม่เท่ากัน ทำการวิเคราะห์ปัจจัยดังกล่าวพร้อมกันทีละลักษณะ โดยใช้คำสั่ง PROC GLM โดยมีโมเดลที่ใช้วิเคราะห์ ดังนี้

$$Y_{ijkl} = \mu + HF_i + VAC_j + Time_k + HF_i * Time_k + VAC_j * Time_k + b_1 (AIN)_{ijkl} + e_{ijkl}$$

โดยที่

Y_{ijkl} = ค่าสังเกตของอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน

μ = ค่าเฉลี่ยของค่าสังเกตทั้งหมด

HF_i = อิทธิพลคงที่ของพันธุ์ที่ i (i = 1, 2 และ 3)

เมื่อ 1 = ระดับสายเลือดขาวดำ $\leq$ 75% ; 2 = 75% $<$ ระดับสายเลือดขาวดำ $\leq$ 87.5% และ 3 = ระดับสายเลือดขาวดำ $>$ 87.5%

VAC_j = อิทธิพลคงที่ของการฉีดวัคซีนที่ j (j = 10, 11 และ 20, 21)

เมื่อ 10 = ไม่ฉีดวัคซีน , 11 = ฉีดวัคซีน ในการทดลองที่ 1 และ
20 = ไม่ฉีดวัคซีน , 21 = ฉีดวัคซีน ในการทดลองที่ 2

$Time_k$ = อิทธิพลคงที่ของช่วงเวลาที่วัดอัตราการเจริญเติบโตของโคที่ k (k = 5, 6,..., 18 ในการทดลองที่ 1 และ = 11, 12,...,18 ในการทดลองที่ 2)

เมื่อ 5 = โคอายุ 5 เดือน , 6 = โคอายุ 6 เดือน ,...,18 = โคอายุ 18 เดือน

$b_1 (AIN)_{ijkl}$ = สัมประสิทธิ์ความถดถอยเชิงเส้นตรงของอายุโค(วัน) ณ วันที่เข้ามาอยู่ในฟาร์ม

e_{ijkl} = อิทธิพลสุ่มอื่นๆที่มีผลต่อค่าสังเกต $e_{ijkl} \sim NID (0, \sigma^2_e)$

2. วิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการเกิดโรคระบบทางเดินหายใจ ระบบสืบพันธุ์ และระบบทางเดินอาหาร ที่ตรวจพบระหว่างกลุ่มที่ไม่ฉีดวัคซีน และกลุ่มฉีดวัคซีน ในโคช่วงอายุต่างๆกันด้วย Chi-Square test

3. วิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนโคสาวที่ผสมติดจากการผสมเทียมครั้งแรก และจำนวนโคสาวที่ผสมติดจากการผสมเทียมครั้งที่ 2 ขึ้นไป ระหว่างกลุ่มที่ไม่ฉีดวัคซีน และกลุ่มฉีดวัคซีนด้วย Chi-Square test รวมทั้งวิเคราะห์ความแตกต่างของอายุโคสาวที่ได้รับการผสมครั้งแรกระหว่างกลุ่มที่ไม่ฉีดวัคซีน และกลุ่มฉีดวัคซีนด้วย Unpaired T test

4. วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และไวรัสบีวีดี ที่ตรวจพบก่อนและหลังการฉีดวัคซีน และระหว่างกลุ่มที่ไม่ฉีดวัคซีน และกลุ่มฉีดวัคซีน ในโคช่วงอายุต่างๆกันด้วย Unpaired T test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. สมรรถภาพการเจริญเติบโต

1.1 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน

การวัดน้ำหนักโคด้วยสายวัดรอบอกเพื่อคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน พบว่าก่อนเข้าการทดลองโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 141.87±17.83 และ 138.33±15.35 กิโลกรัม ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยลีสท์แควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยลีสท์แควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวันภายหลังการฉีดวัคซีนโดยการวัดน้ำหนักโคทุก 1 เดือน จนกระทั่งโคอายุครบ 18 เดือน พบว่าค่าเฉลี่ยลีสท์แควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และโคกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง โดยที่อิทธิพลของพันธุ์ การฉีดวัคซีน และอายุของโค ณ วันที่เข้ามาอยู่ในฟาร์ม ทุกปัจจัยไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบต่อวันของโค (ตารางที่ 1) เมื่อสิ้นสุดการทดลองโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 330.92±24.94 และ 325.55±21.26 กิโลกรัม ตามลำดับ

1.2 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน

การวัดน้ำหนักโคด้วยสายวัดรอบอกเพื่อคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน พบว่าก่อนเข้าการทดลองโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 233.55±24.41 และ 243.15±24.22 กิโลกรัมตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยลีสท์แควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวันไม่ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวันภายหลังการฉีดวัคซีนโดยการวัดน้ำหนักโคทุก 1 เดือน จนกระทั่งโคอายุครบ 18 เดือน พบว่าค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวันภายหลังการฉีดวัคซีน 2 เดือน ของโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่2) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.65 และ 0.40 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของโคทั้ง 2 กลุ่ม ในช่วงเวลาอื่นๆ นั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่อิทธิพลของการฉีดวัคซีน และอายุของโค ณ วันที่เข้ามาอยู่ในฟาร์มไม่มีผลต่ออัตราการเจริญต่อวันของโค ยกเว้นอิทธิพลเนื่องจากสายพันธุ์เท่านั้นที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของโคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$; ข้อมูลไม่ได้แสดง) เมื่อสิ้นสุดการทดลองโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 328.85±29.89 และ 315.00±19.41 กิโลกรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กิโลกรัม) ก่อนและหลังการฉีดวัคซีนของกลุ่มการทดลองที่ฉีดวัคซีนเมื่อโคอายุ 6 เดือน

กลุ่มโค	ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน เมื่ออายุ (เดือน)												
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
กลุ่มไม่ฉีดวัคซีน	0.74± 0.07 a	0.69± 0.06 a	0.70± 0.07 a	0.74± 0.06 a	0.70± 0.07 a	0.59± 0.07 a	0.49± 0.07 a	0.31± 0.07 a	0.33± 0.08 a	0.37± 0.06 a	0.41± 0.07 a	0.29± 0.07 a	0.51± 0.07 a
กลุ่มฉีดวัคซีน	0.74± 0.07 a	0.85± 0.06 a	0.74± 0.07 a	0.67± 0.06 a	0.56± 0.07 a	0.55± 0.07 a	0.47± 0.07 a	0.36± 0.07 a	0.34± 0.08 a	0.36± 0.07 a	0.50± 0.07 a	0.47± 0.08 a	0.38± 0.07 a

หมายเหตุ ; ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

ab อักษรต่างกันในแนวแถวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กิโลกรัม) ก่อนและหลังการฉีดวัคซีนของกลุ่มการทดลองที่ฉีดวัคซีนเมื่อโคอายุ 12 เดือน

กลุ่มโค	ค่าเฉลี่ยลีสท์สแควร์อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน เมื่ออายุ (เดือน)						
	12	13	14	15	16	17	18
กลุ่มไม่ฉีดวัคซีน	0.65 ± 0.11 a	0.54 ± 0.08 a	0.40 ± 0.08 a	0.22 ± 0.08 a	0.38 ± 0.10 a	0.32 ± 0.10 a	0.40 ± 0.08 a
กลุ่มฉีดวัคซีน	0.59 ± 0.11 a	0.58 ± 0.08 a	0.65 ± 0.08 b	0.45 ± 0.08 a	0.48 ± 0.10 a	0.39 ± 0.10 a	0.31 ± 0.08 a

หมายเหตุ ; ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

ab อักษรต่างกันในแนวแถวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

2. **สมรรถภาพการสืบพันธุ์**

โคในกลุ่มควบคุมถูกคัดทิ้งเนื่องจากมีความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์แบบถาวรแต่กำเนิด จำนวน 2 ตัวจากจำนวนทั้งหมด 20 ตัว (ตัดออกจากการศึกษา)

2.1 อายุเฉลี่ยที่ผสมได้ อัตราผสมติดของการผสมครั้งแรก จำนวนครั้งการผสมต่อการผสมติด และอัตราการผสมติด ในกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน (การทดลองที่ 1)

ตารางที่ 3 แสดงอายุเฉลี่ยที่ผสมได้ อัตราผสมติดของการผสมครั้งแรก จำนวนครั้งการผสมต่อการผสมติด และอัตราการผสมติด กลุ่มโคที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือนมีอายุเฉลี่ยที่ผสมได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เท่ากับ 501.03 ±44.86 วัน และ 530.93 ±51.50 วัน ตามลำดับ อัตราผสมติดของการผสมครั้งแรกในโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนเท่ากับร้อยละ 60 และ63.33 ตามลำดับ จำนวนครั้งการผสมต่อการผสมติดเท่ากับ 1.8 และ 1.47 ครั้ง ในโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและตามลำดับ โคทั้ง 2 กลุ่มผสมติดทุกตัว และไม่พบการแท้งลูกตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง และพบว่าการฉีดวัคซีนไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนครั้งการผสมที่แตกต่างกัน

2.2 อายุเฉลี่ยที่ผสมได้ อัตราผสมติดของการผสมครั้งแรก จำนวนครั้งการผสมต่อการผสมติด และอัตราการผสมติด ในกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน (การทดลองที่ 2)

อายุเฉลี่ยที่ผสมได้ของโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อัตราการผสมติดของโคในกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนเท่ากับร้อยละ 55 และ 66.67 ตามลำดับ จำนวนครั้งการผสมติดเท่ากับ 2.09 และ 1.39 ครั้ง ในโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนตามลำดับ โคทั้ง 2 กลุ่มผสมติดทุก และไม่พบการแท้งลูกตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 3) และพบว่าการฉีดวัคซีนไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนครั้งการผสมที่แตกต่างกัน

3. **ด้านสุขภาพ**

การศึกษาครั้งนี้ไม่สังเกตพบโคแสดงอาการป่วยด้วยโรคระบบทางเดินหายใจ โรคระบบสืบพันธุ์ โรคระบบทางเดินอาหารในโคทุกกลุ่มตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 อายุเฉลี่ยที่ผสมได้ อัตราการผสมติดของการผสมครั้งแรก ค่าเฉลี่ยจำนวนครั้งของการผสมต่อการผสมติด และอัตราการผสมติดในโคแต่ละกลุ่ม

ลักษณะที่ศึกษา	การทดลองฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน		การทดลองฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน	
	กลุ่มฉีดวัคซีน (30ตัว)	กลุ่มไม่ฉีดวัคซีน (30 ตัว)	กลุ่มฉีดวัคซีน (20 ตัว)	กลุ่มไม่ฉีดวัคซีน (18 ตัว)
อายุเฉลี่ยที่ผสมได้ (วัน)	501.03 ± 44.86[a]	530.93 ± 51.60[b]	561.00 ± 78.57 [a]	541.61 ± 69.44 [a]
ผสมติดในการผสมครั้งแรก (ตัว)	18	19	11	12
อัตราการผสมติดของการผสมครั้งแรก (เปอร์เซ็นต์)	60	63.33	55	66.67
ค่าเฉลี่ยจำนวนครั้งของผสมต่อการผสมติด (ครั้ง)	1.8	1.47	2.09	1.39
พิสัย	1-5	1-3	1-8	1-3
อัตราการผสมติด (เปอร์เซ็นต์)	100	100	100	100

หมายเหตุ : ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

[ab] อักษรต่างกันในแถวนอนเดียวกันของแต่ละการทดลองมีความแตกต่างทางสถิติ ($p< 0.05$)

4. การเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี ก่อนและหลังการฉีดวัคซีนไวรัสรวม

4.1 ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน ซึ่งตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ

วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ พบว่าโคทั้ง 2 กลุ่มไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ก่อนการทดลอง และพบว่าตั้งแต่ภายหลังการฉีดวัคซีน 1 เดือน กลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนมีค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ แตกต่างจากค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ก่อนได้รับการฉีดวัคซีน และแตกต่างจากกลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนทุกช่วงอายุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) จนสิ้นสุดการทดลองเมื่อโคอายุครบ 18 เดือน กลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสไอบีอาร์ในตลอดระยะที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 4)

4.2 ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน ซึ่งตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ

การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ พบว่าโคทั้ง 2 กลุ่มไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ก่อนการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดีต่อไวรัส ไอบีอาร์ของกลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนและกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีน รวมทั้งระดับแอนติบอดีก่อนและหลังการฉีดวัคซีน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ทุกช่วงเวลาภายหลังการฉีดวัคซีน กลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์จนสิ้นสุดการทดลองเมื่อโคอายุครบ 18 เดือน (ตารางที่ 6)

4.3 ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีน และกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน ซึ่งตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ

วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดี พบว่าโคทั้ง 2 กลุ่มไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีก่อนการทดลอง และพบว่าตั้งแต่ภายหลังการฉีดวัคซีน 1 เดือน กลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนมีค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีแตกต่างจากค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีก่อนได้รับการฉีดวัคซีน และแตกต่างจากกลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนทุกช่วงอายุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) จนสิ้นสุดการทดลองเมื่อโคอายุครบ 18 เดือน กลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสบีวีดีตลอดระยะที่ทำการทดลอง (ตารางที่ 5)

4.4 ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน ซึ่งตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ

การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีพบว่าโคทั้ง 2 กลุ่มไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีก่อนการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีของกลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนและกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีน รวมทั้งระดับแอนติบอดีก่อนและหลังการฉีดวัคซีน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ทุกช่วงเวลาภายหลังการฉีดวัคซีน กลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีจนสิ้นสุดการทดลอง เมื่อโคอายุครบ 18 เดือน (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน ที่ตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ

กลุ่มโค	ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดี เมื่ออายุ (เดือน)												
	6*	7**	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
กลุ่มไม่ฉีดวัคซีน	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
กลุ่มฉีดวัคซีน	0^{a1}	0.70 ± 0.17^{b2}	2.43 ± 0.29^{b2}	2.90 ± 0.18^{b2}	2.83 ± 0.24^{b2}	2.13 ± 0.29^{b2}	2.2 ± 0.31^{b2}	2.4 ± 0.31^{b2}	2.00 ± 0.25^{b2}	1.43 ± 0.26^{b2}	1.40 ± 0.23^{b2}	1.03 ± 0.18^{b2}	0.76 ± 0.19^{b2}

หมายเหตุ ; $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

^{ab} อักษรต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$)

^{12} อักษรต่างกันในแถวแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$)

* ฉีดวัคซีนครั้งที่1 ; ** ฉีดวัคซีนครั้งที่2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน ที่ตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ

กลุ่มโค	ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดี เมื่ออายุ (เดือน)												
	6*	7**	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
กลุ่มไม่ฉีดวัคซีน	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
กลุ่มฉีดวัคซีน	0^{a1}	0.30 ± 0.85^{b2}	1.6 ± 0.28^{b2}	1.67 ± 0.26^{b2}	1.4 ± 0.18^{b2}	1.13 ± 0.08^{b2}	1.57 ± 0.25^{b2}	1.43 ± 0.22^{b2}	1.27 ± 0.19^{b2}	1.2 ± 0.19^{b2}	1.07 ± 0.21^{b2}	0.86 ± 0.17^{b2}	0.36 ± 0.98^{b2}

หมายเหตุ ; $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

^{ab} อักษรต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$)

^{12} อักษรต่างกันในแถวแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$)

* ฉีดวัคซีนครั้งที่1 ; ** ฉีดวัคซีนครั้งที่2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน ที่ตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ

กลุ่มโค	ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดี เมื่ออายุ (เดือน)						
	12*	13**	14	15	16	17	18
กลุ่มไม่ฉีดวัคซีน	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
กลุ่มฉีดวัคซีน	0^{a1}	0.90 ± 0.32^{b2}	2.00 ± 0.41^{b2}	2.20 ± 0.39^{b2}	1.55 ± 0.36^{b2}	1.70 ± 0.42^{b2}	1.90 ± 0.46^{b2}

หมายเหตุ ; $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

^{ab} อักษรต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$)

^{12} อักษรต่างกันในแถวแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.01$)

* ฉีดวัคซีนครั้งที่1 ; ** ฉีดวัคซีนครั้งที่2

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดี ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน ที่ตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ

กลุ่มโค	ค่าเฉลี่ย log ฐาน 2 ของระดับแอนติบอดี เมื่ออายุ (เดือน)						
	12*	13**	14	15	16	17	18
กลุ่มไม่ฉีดวัคซีน	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
กลุ่มฉีดวัคซีน	0^{a1}	0.40 ± 0.18^{b2}	1.20 ± 0.35^{b2}	0.75 ± 0.28^{b2}	0.90 ± 0.32^{b2}	0.70 ± 0.25^{b2}	1.15 ± 0.34^{b2}

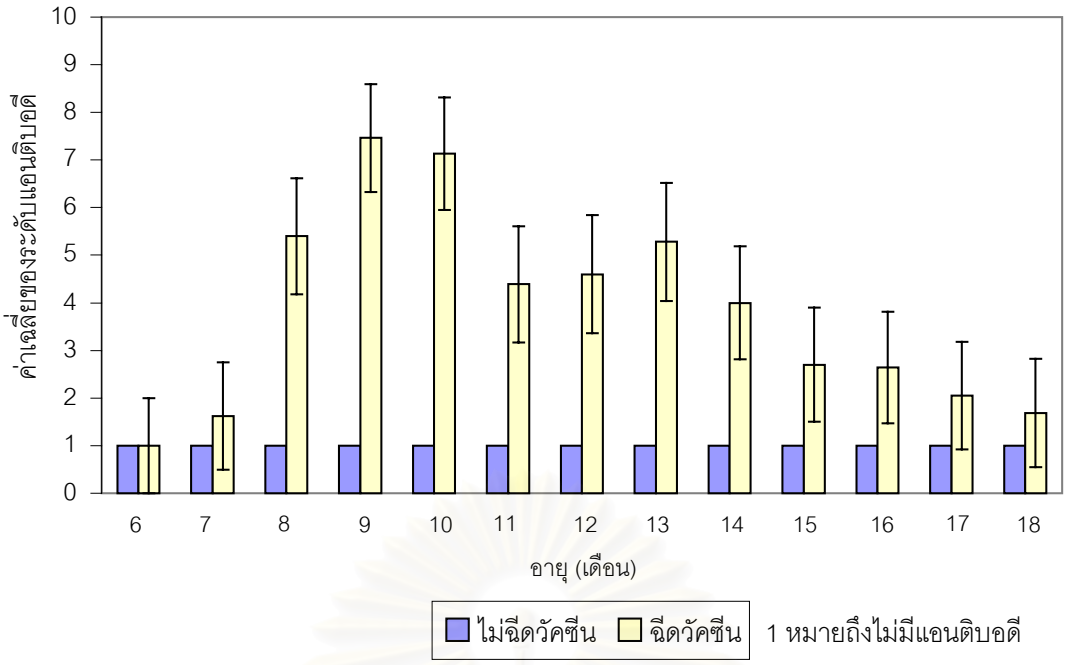
หมายเหตุ ; $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE)

^{ab} อักษรต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

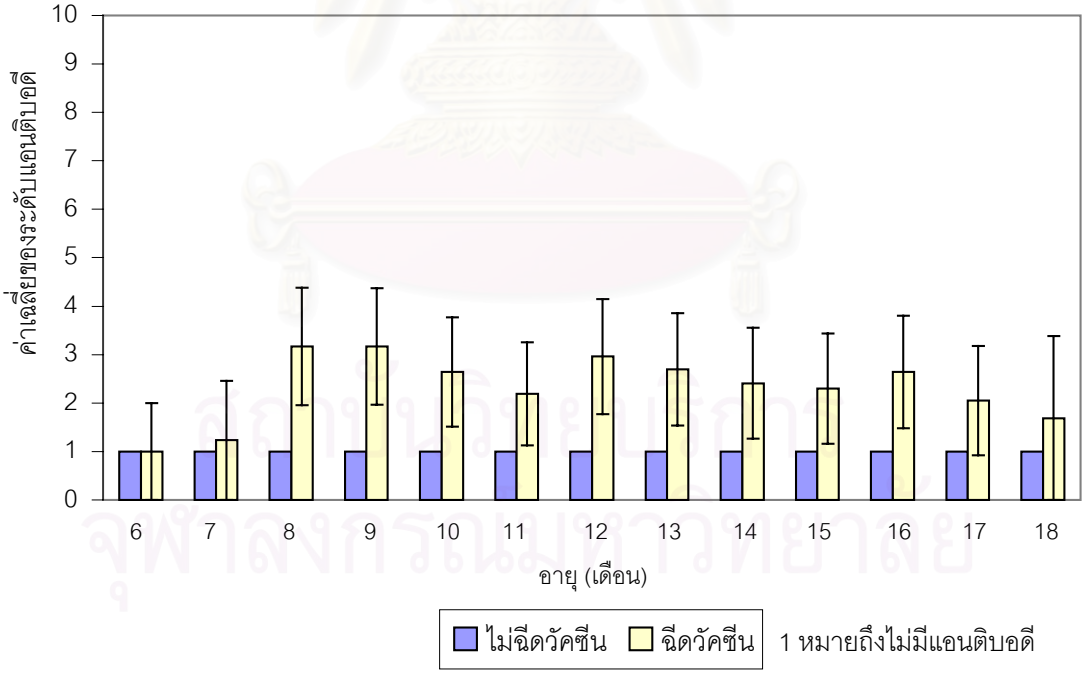
^{12} อักษรต่างกันในแถวแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

* ฉีดวัคซีนครั้งที่1 ; ** ฉีดวัคซีนครั้งที่2

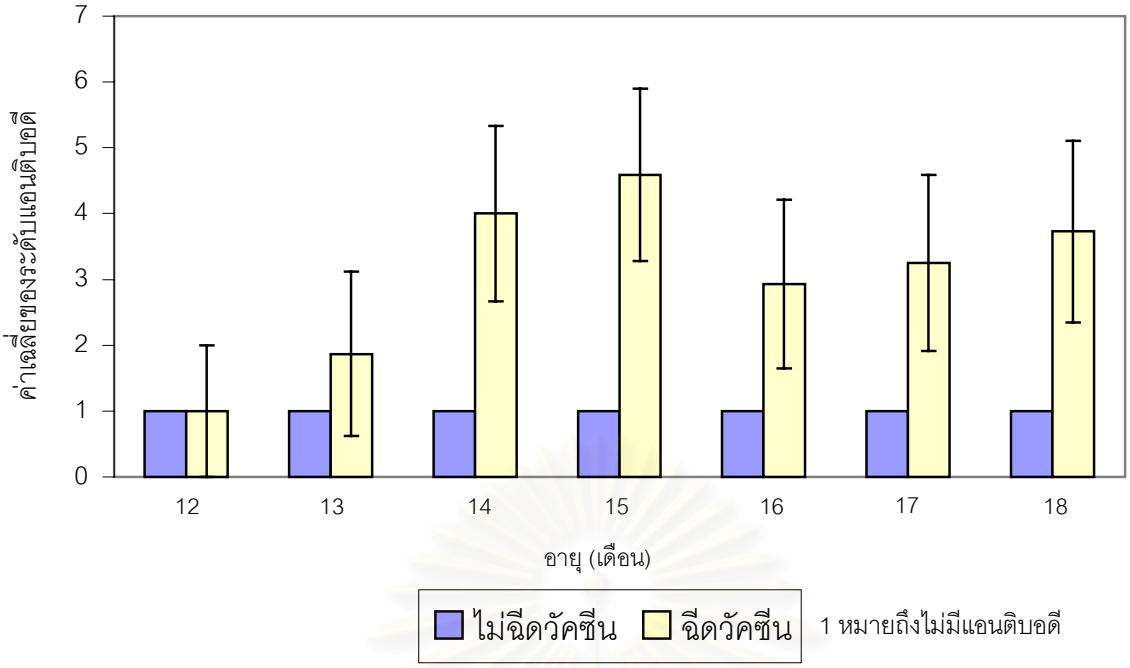
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



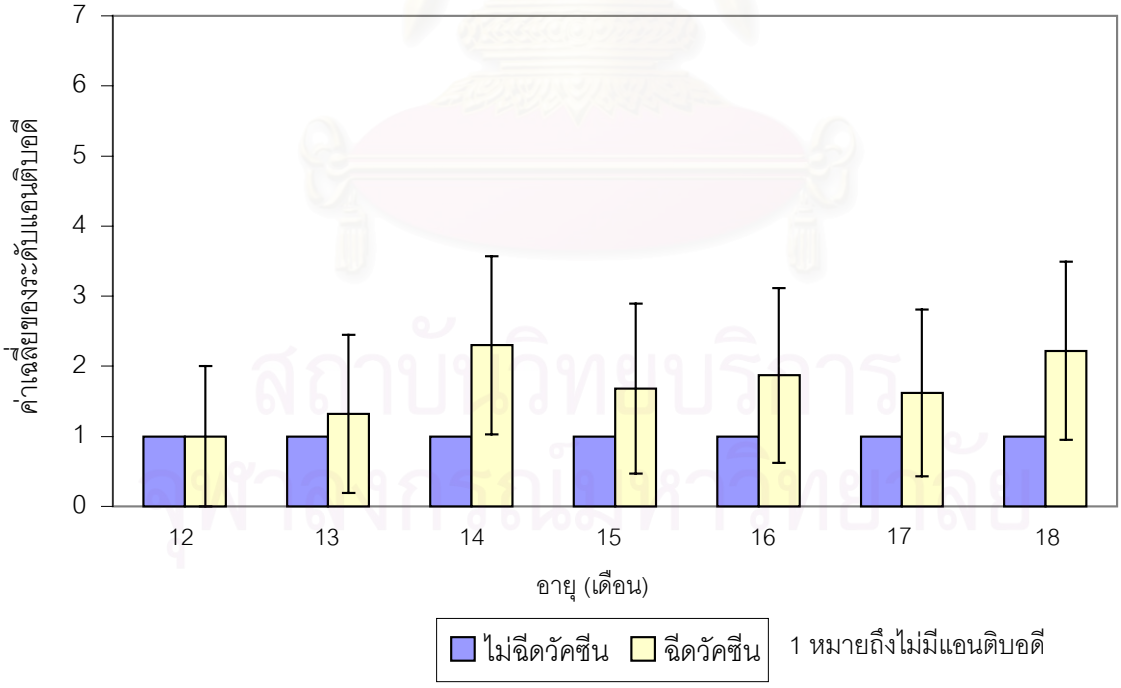
รูปที่ 1 แสดงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน ในช่วงเวลาต่างๆ



รูปที่ 2 แสดงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีน เมื่ออายุ 6 เดือน ในช่วงเวลาต่างๆ



รูปที่ 3 แสดงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ในกลุ่มโคที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน ในช่วงเวลาต่างๆ

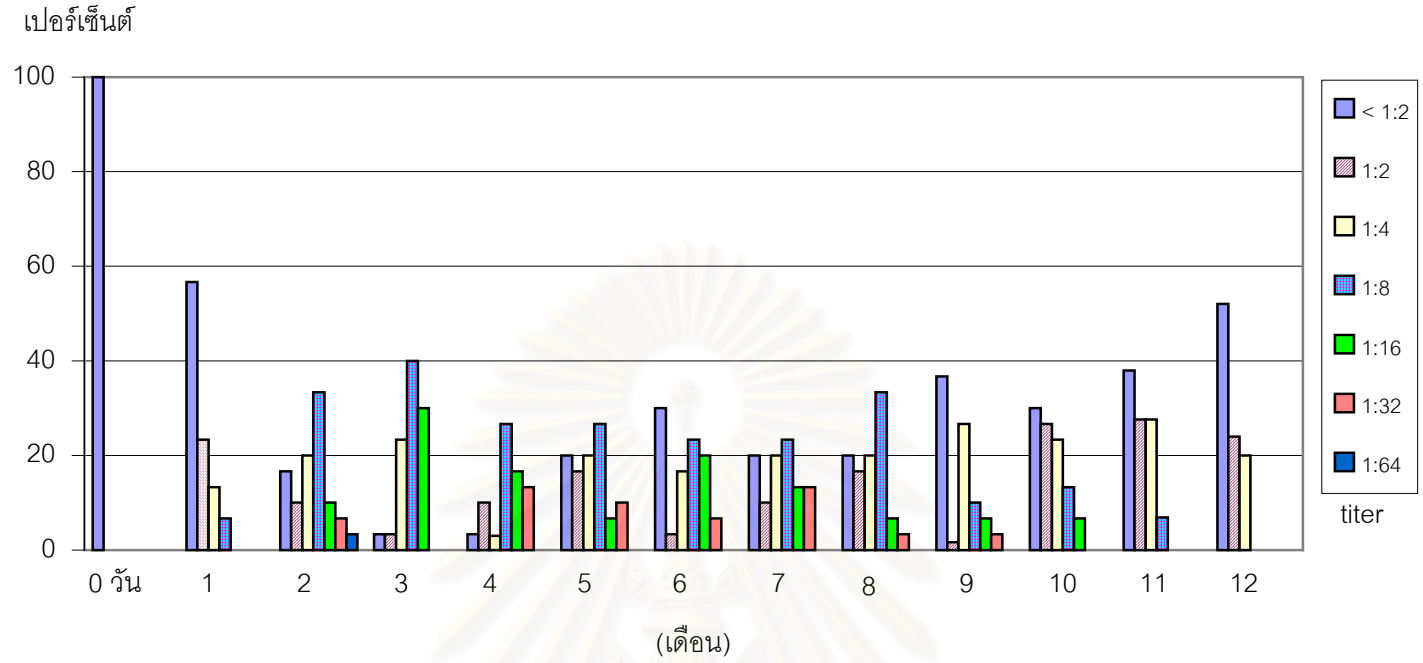


รูปที่ 4 แสดงระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ในกลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนและกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีน เมื่ออายุ 12 เดือน ในช่วงเวลาต่างๆ

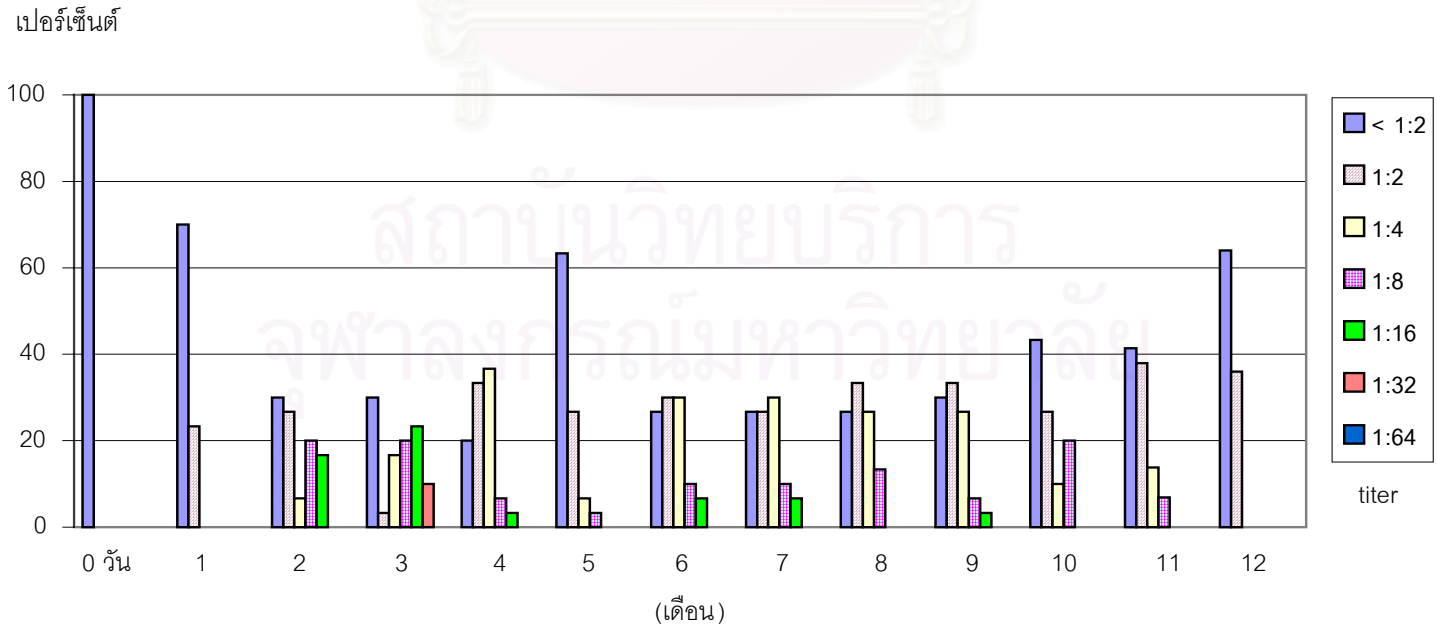
4.5 เปอร์เซ็นต์ของโคที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และบีวีดี

การตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และบีวีดี พบว่าโคทุกตัวที่เข้าการทดลองไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และบีวีดีก่อนได้รับการฉีดวัคซีน ในโคกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนทั้งกลุ่มที่ได้รับการฉีดเมื่ออายุครบ 6 เดือน และกลุ่มที่ได้รับการฉีดเมื่ออายุครบ 12 เดือน ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีน 1 เดือน พบว่าจำนวนโคที่ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสทั้ง 2 มีแนวโน้มลดลงชัดเจนดังรูปที่ 5-8 และจำนวนโคที่ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสทั้งสองจะเริ่มเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งภายหลังการฉีดวัคซีน 10 เดือน ในโคกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน ส่วนโคกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือนนั้น จำนวนโคที่ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสทั้งสองจะเริ่มเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งภายหลังการฉีดวัคซีน 6 เดือน โคที่ได้รับการฉีดวัคซีนทั้ง 2 กลุ่มจะเริ่มมีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และบีวีดีภายหลังการฉีดวัคซีน 1 เดือน โดยที่จำนวนโคที่มีแอนติบอดีต่อไวรัสทั้งสองจะมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ตั้งแต่เดือนที่ 2 หลังการฉีดวัคซีน ดังรูปที่ 5-8

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

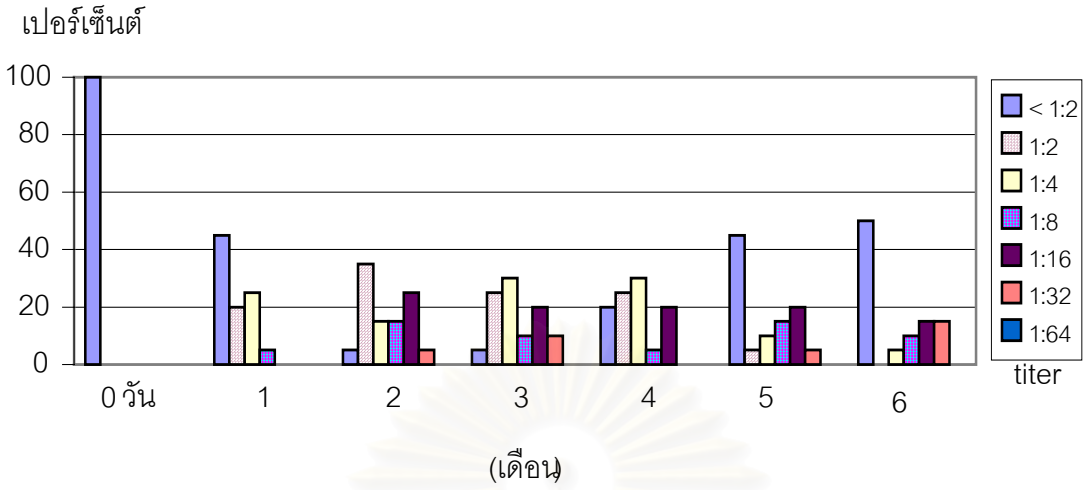


รูปที่ 5 แสดงจำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ในช่วงระยะเวลาต่างๆ ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน

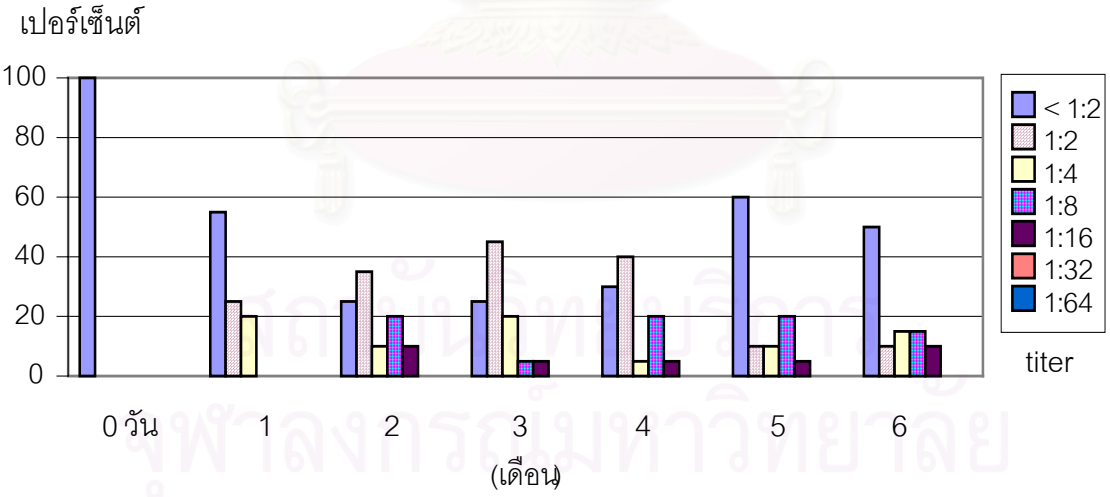


รูปที่ 6 แสดงจำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดี ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 6 เดือน ในช่วงระยะเวลาต่างๆ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7 แสดงจำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน ในช่วงระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 8 แสดงจำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดี ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุครบ 12 เดือน ในช่วงระยะเวลาต่างๆ

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ประสิทธิภาพของวัคซีนไวรัสรวมไอบีอาร์ บีวีดี พีไอ-3 และบีอาร์เอส ในการป้องกันโรคไวรัส ได้มีรายงานไว้ในการศึกษาของ Castrucci และคณะ (2002) Cravens และ Bechtol (1991) van der Hurk และคณะ (2001) ซึ่งเป็นการศึกษาถึงประสิทธิภาพของวัคซีนโดยตรง แต่ในการศึกษาครั้งนี้มุ่งที่จะศึกษาถึงประสิทธิภาพของวัคซีนทางอ้อม โดยการศึกษาถึงผลของการฉีดวัคซีนต่อการเจริญเติบโต และสมรรถภาพการสืบพันธุ์ ทั้งนี้เพราะการติดเชื้อไวรัสโดยเฉพาะไวรัสไอบีอาร์และบีวีดี มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และสมรรถภาพการสืบพันธุ์โดยตรง (Wiseman *et al*., 1980 ; Fray *et al*., 2000) จากการศึกษาของ van der Hurk และคณะ (2001) Straub และ Mawhinney (1988) พบว่าการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสไอบีอาร์ สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของลูกโคได้ ต่างจากผลการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสรวมไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต และสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคนมสาวทดแทน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการศึกษาครั้งนี้เป็นการทดลองภาคสนามที่ไม่พบการเกิดโรคที่ศึกษาในกลุ่มควบคุม แตกต่างจากการศึกษาทั้ง 2 ที่ทำการทดลองฉีดเชื้อไวรัสไอบีอาร์ให้กับโค ทำให้โคได้รับเชื้อไวรัสในปริมาณมาก และแสดงอาการของโรคไอบีอาร์อย่างรุนแรง จึงทำให้เห็นผลของการฉีดวัคซีนต่ออัตราการเจริญเติบโตอย่างชัดเจน ดังนั้นหากการศึกษาครั้งนี้กระทำในฟาร์มที่มีการระบาดของโรคอย่างรุนแรงอาจได้ผลการศึกษาในทำนองเดียวกัน แต่จากการศึกษาของ Ernst และ Butler (1983) พบว่าการฉีดวัคซีนบีวีดีไม่มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนดีขึ้นซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้ เช่นเดียวกับรายงานของ Frankena และคณะ (1994) ที่พบว่าการฉีดวัคซีนไวรัสรวมไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของโค ถึงแม้ว่าการฉีดวัคซีนดังกล่าวสามารถลดอุบัติการณ์ของโครคระบบทางเดินหายใจในโคได้ แต่โคที่แสดงอาการของโรคระบบทางเดินหายใจจะมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างจากโคที่ไม่แสดงอาการเพียง 53 กรัมต่อวัน การฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสรวมจึงไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญ

การศึกษาครั้งนี้ตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี ในโคกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีน และยังไม่พบโคที่แสดงอาการของโรคระบบทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร และระบบสืบพันธุ์ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา บ่งชี้ได้ชัดเจนว่าฟาร์มที่ทำการศึกษาครั้งนี้ไม่มีการระบาดของโรคไอบีอาร์ และบีวีดี ซึ่งอาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การฉีดวัคซีนไวรัสรวมไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคสาวทดแทน โคกลุ่มที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนซึ่งตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง โดยที่ถูกเลี้ยงรวมกับโคที่ได้รับการฉีดวัคซีน ชี้ให้เห็นได้ชัดว่าวัคซีนที่ใช้ในการ

ศึกษาครั้งนี้เป็นวัคซีนชนิดเชื้อเป็นที่มีความปลอดภัยสูง ไม่มีการแพร่ของเชื้อไวรัสที่ใช้ผลิตวัคซีนเช่นเดียวกับรายงานของ Castrucci และคณะ (2002)

ปราจีนและคณะ (2540) รายงานการตรวจพบภูมิคุ้มกันไวรัสไอบีอาร์และบีวีดี ในน้ำนมถังรวมของฟาร์มในเขตที่ตั้งของฟาร์มที่ใช้ทำการศึกษาครั้งนี้สูงถึง 53.2 และ 59.6 ตามลำดับ ทั้งนี้จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบการระบาดของโรคในฟาร์มที่ทำการศึกษาอาจเป็นเพราะกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษาแตกต่างกัน ฟาร์มที่ทำการศึกษาครั้งนี้เป็นฟาร์มเลี้ยงลูกโคและโครุ่นจากฟาร์มของเกษตรกรเพื่อผลิตเป็นโคนมสาวทดแทน ซึ่งเกษตรกรจะนำกลับไปเลี้ยงเป็นโครีดนมในฟาร์มต่อไป โคนมสาวทดแทนที่ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีจะมีความเสี่ยงสูงต่อการมีสมรรถภาพการสืบพันธุ์ลดลงจากโรคบีวีดี และไอบีอาร์ (Virakul *et al*., 1982) และอาจถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาของระบบสืบพันธุ์ (Michel, 1993) นอกจากนี้ยังมีโอกาสให้กำเนิดลูกโคที่อยู่ในภาวะ persistent infection ซึ่งจะทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคในฟาร์มต่อไป (Frey *et al*., 2000) ส่วนโคที่ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์นั้นจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบบทางเดินหายใจสูงกว่าโคที่มีแอนติบอดี (Martin and Bohac, 1986) ดังนั้นโคสาวทดแทนที่ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และบีวีดี จึงมีโอกาสเกิดโรคระบบทางเดินหายใจ และมีสมรรถภาพการสืบพันธุ์ลดลง เมื่อโคเหล่านี้ถูกนำไปเลี้ยงในฟาร์มที่มีการระบาดของโรคไวรัสทั้งสอง

อายุเฉลี่ยของโคที่ได้รับการผสมครั้งแรกของโคกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนไวรัสรวมเมื่ออายุ 6 เดือนของการศึกษาครั้งนี้เท่ากับ 501.03 $\pm$ 44.86 วัน ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีน 30 วัน อย่างไรก็ตามมีหลายปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเจริญพันธุ์ของโค เช่น สายพันธุ์ อัตราการเจริญเติบโต (Ferrell, 1982) และอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมต่างๆ (Patterson *et al*., 1992) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการฉีดวัคซีนไวรัสรวมไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนครั้งของการผสมที่แตกต่างกัน อาจเนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาในฟาร์มที่ไม่มีการระบาดของโรคไอบีอาร์และบีวีดี ประกอบกับการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดในการควบคุมปัจจัยเนื่องจากอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมและความชื้นที่โคได้รับ โคทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้เข้ามาอยู่ในฟาร์มผลิตโคสาวทดแทนพร้อมกันทั้งหมด การศึกษาครั้งนี้ต้องใช้โคทดลองที่มีอายุใกล้เคียงกันทั้งหมด 100 ตัว จึงต้องทำการศึกษาแบบติดตามผลไปข้างหน้าจนได้จำนวนตัวอย่างครบตามต้องการ โคทดลองแต่ละตัวจึงอาจได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิและความชื้นที่แตกต่างกันในแต่ละฤดูกาล ซึ่งปัจจัยดังกล่าวมีผลโดยตรงต่อการผสมติดของโคนมที่เลี้ยงในประเทศไทย (อำนาจและคณะ, 2535)

การฉีดวัคซีนป้องกันโรคไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี มีผลในการเพิ่มระดับแอนติบอดีต่อไวรัสทั้ง 2 ในโคที่ได้รับการฉีดวัคซีน (van Donkersgoed and Klassen, 1995 ; Ernst and Butler, 1983 ; Fulton *et al*., 1997 ; Beer *et al*., 2000 ; Makoschey *et al*., 2001 ; Mars *et al*., 2001) การศึกษาก่อนหน้านี้มีความแตกต่างกันทั้งชนิดของวัคซีน และระยะเวลาในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดี การศึกษาครั้งนี้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดีของโคสาวทดแทน

ที่ได้รับการฉีดวัคซีนไวรัสรวมที่ประกอบด้วยวัคซีนป้องกันไวรัสไอบีอาร์ และพีไอ-3 ชนิดเชื้อเป็นที่ถูกทำให้ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิด้วยขบวนการทางเคมี ส่วนวัคซีนป้องกันไวรัสบีอาร์เอสเป็นวัคซีนเชื้อเป็น และสำหรับวัคซีนป้องกันไวรัสบีวีดีเป็นวัคซีนชนิดเชื้อตายทั้ง cytopathic และ noncytopathic biotype พบว่าโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนไวรัสรวมจะมีระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และบีวีดีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตั้งแต่ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีน 1 เดือน จนสิ้นสุดการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับระดับแอนติบอดีก่อนได้รับการฉีดวัคซีน และระดับแอนติบอดีของโคที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีน เช่นเดียวกับที่เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้

จำนวนโคที่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นชัดเจนภายหลังการฉีดวัคซีน 1 เดือน สอดคล้องกับการศึกษาของ Parker และคณะ (1993) โดยที่จำนวนโคที่มีแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นช้ากว่าจำนวนโคที่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ทั้งนี้เนื่องจากวัคซีนป้องกันโรคไวรัสบีวีดีที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นวัคซีนชนิดเชื้อตาย ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดีจึงเพิ่มขึ้นช้ากว่าระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ซึ่งเป็นชนิดเชื้อเป็น (Fulton *et al*., 1995) จำนวนโคที่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี ของการศึกษาครั้งนี้จะเริ่มมีแนวโน้มลดลงภายหลังการฉีดวัคซีน 10 เดือน ในกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน ส่วนในกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือนนั้นจะเริ่มมีแนวโน้มลดลงภายหลังการฉีดวัคซีน 6 เดือน แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าการฉีดวัคซีนไวรัสรวมให้กับโคเมื่ออายุ 12 เดือนนั้นจะทำให้ระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์และบีวีดีลดลงเร็วกว่าโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน เมื่อสังเกตจากรูปที่ 5-8 พบว่าโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน จะมีจำนวนโคที่ไม่มีระดับแอนติบอดีต่อไวรัสทั้ง 2 เพิ่มขึ้น ภายหลังการฉีดวัคซีน 5-6 เดือน เช่นเดียวกับโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน และจำนวนโคที่ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสทั้ง 2 จะลดลงอีกครั้งในเดือนถัดไป ทั้งนี้เนื่องจากในขณะที่ทำการตรวจวัดระดับแอนติบอดีของตัวอย่างซีรั่มที่เก็บในช่วงเวลาดังกล่าว เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียในเซลล์เพาะเลี้ยงที่ใช้หลายครั้ง ตัวอย่างซีรั่มในช่วงเวลาดังกล่าวจึงตรวจซ้ำใหม่ ระดับแอนติบอดีที่ตรวจพบในช่วงเวลาดังกล่าวจึงต่ำกว่าความเป็นจริง การลดลงของระดับแอนติบอดีต่อไวรัสทั้ง 2 ในกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน จึงอาจมีลักษณะเช่นเดียวกันกับโคที่ฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน ถ้าทำการติดตามศึกษาต่อไปอีก ในกลุ่มโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนภายหลังการฉีดกระตุ้นซ้ำห่างจากการฉีดครั้งแรก 1 เดือน พบว่ามีโคบางตัวยังไม่สร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อการฉีดวัคซีน แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้พบว่า การฉีดวัคซีนสามารถกระตุ้นให้โคทุกตัวสร้างแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดีได้

จากการศึกษาของยันต์ และคณะ (2535) พบว่าโคนมที่เลี้ยงในประเทศไทย บางฤดูกาลอาจมีอุณหภูมิร่างกายสูงถึง 39.5 องศาเซลเซียสโดยไม่แสดงอาการป่วย ดังนั้นความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีนเชื้อเป็นชนิดที่ถูกทำให้ไวต่อการเปลี่ยนแปลงทางอุณหภูมิ โดยที่ไวรัสจะหยุดแพร่พันธุ์

ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อาจได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิของร่างกายโคที่สูงกว่า 37 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงน่าจะทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีนชนิดนี้ เมื่อฉีดให้กับโคที่อุณหภูมิร่างกายสูงกว่า 37 องศาเซลเซียสต่อไป

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การฉีดวัคซีนไวรัสรวมให้กับลูกโค และโคสาวในฟาร์มที่ไม่มีการระบาดของโรคไอบีอาร์ และบีวีดีไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และสมรรถภาพการสืบพันธุ์ แต่การฉีดวัคซีนดังกล่าวสามารถเพิ่มระดับแอนติบอดีต่อไวรัสทั้ง 2 ได้อย่างชัดเจน ดังนั้นการฉีดวัคซีนดังกล่าวจึงน่าจะมีประโยชน์ในการช่วยลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ได้ โดยเฉพาะกับโคสาวทดแทนของฟาร์มที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ซึ่งอาจมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ เนื่องจากเกษตรกรอาจนำโคเหล่านี้เข้าไปเลี้ยงในฟาร์มที่มีการระบาดของโรคไอบีอาร์ และบีวีดี

สรุปผลการวิจัย

การฉีดวัคซีนไวรัสรวมที่ประกอบด้วยวัคซีนไวรัสไอบีอาร์ และพีไอ-3 ชนิดเชื้อเป็นที่ถูกทำให้ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ วัคซีนไวรัสบีอาร์เอสชนิดเชื้อเป็น และวัคซีนไวรัสบีวีดีชนิดเชื้อตายทั้ง cytopathic และ noncytopathic biotype ให้กับโคสาวทดแทนเมื่ออายุครบ 6 เดือน หรืออายุครบ 12 เดือน ซึ่งอยู่ในฟาร์มที่ไม่มีการระบาดของโรคไอบีอาร์ และบีวีดีนั้น ไม่มีผลต่อการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของโคสาว และการฉีดวัคซีนนี้ยังไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนครั้งของการผสมติดต่อการตั้งท้อง

การฉีดวัคซีนไวรัสรวมสามารถเพิ่มระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดีให้กับโคสาวที่ได้รับการฉีดวัคซีนเป็นไวรัสรวมได้

ข้อเสนอแนะ

ข้อสรุปในการศึกษาครั้งนี้เป็นบทสรุปที่ได้มาจากการศึกษาในฟาร์มผลิตโคสาวทดแทนที่มีการจัดการแตกต่างจากรูปแบบการเลี้ยงโคนมของเกษตรกรทั่วไปเป็นอย่างมาก จึงสมควรอย่างยิ่งที่จะทำการศึกษาต่อไปถึงประสิทธิภาพของวัคซีนไวรัสรวม โดยการทดลองในฟาร์มที่มีการระบาดของโรคไอบีอาร์ และบีวีดีต่อไป

โคนมสาวทดแทนที่ไม่มีแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ และบีวีดี มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบบทางเดินหายใจ และปัญหาของระบบสืบพันธุ์ เมื่อเกษตรกรนำโคดังกล่าวไปเลี้ยงในฟาร์มซึ่งอาจมีการแพร่ระบาดของโรคไวรัสทั้ง 2 อยู่ จึงน่าจะทำการศึกษาติดตามถึงประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์และสถาน

ภาพของระดับภูมิคุ้มกันจากการติดต่อของโรคไวรัสทั้ง 2 ในโคสาวเหล่านี้ต่อไป เมื่อมีการซื้อเข้าสู่ฟาร์มของเกษตรกร

การฉีดวัคซีนไวรัสรวมอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันโรคไอบีอาร์ และบีวีดี แต่การฉีดวัคซีนเพื่อการป้องกันโรคในฟาร์มที่ไม่มีการระบาดของโรคไอบีอาร์ และบีวีดีนั้นอาจได้รับประโยชน์ไม่ชัดเจนนัก ดังนั้นในการกำหนดมาตรการป้องกันโรคดังกล่าวจึงควรคำนึงถึงอุบัติการณ์ของโรคในฟาร์มร่วมด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กิตติศักดิ์ อัจฉริยะขจร ธนศักดิ์ บุญเสริม ชัยเดช อินทร์ชัยศรี คณิศักดิ์ อรวีระกุล และกิตติ มณีฉายวงศ์. 2543. การศึกษาระบาดวิทยาของการติดเชื้อไวรัสโบวายไวรอลไดอะเรียในฟาร์มโคนมที่มีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสในน้ำนมถังรวม. **ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 26**. : 75-82.

กัลยา มิตรไพบูลย์ ประเสริฐ คงสะเสน จุรีรัตน์ แสนโภชน์ วิโรจน์ ทองเหลือ และสุรพงษ์ โชติเสถียร. 2527. การศึกษาความสัมพันธ์ของน้ำหนักและขนาดอัตราการเติบโตของโคนมลูกผสมขาวดำ 50% **ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสัตวแพทยสมาคม ครั้งที่ 11**. : 17-25.

ปราจีน วีรกุล ศิริวัฒน์ ทรวดทรง จันทร์เพ็ญ สุวิมลธีรบุตร และจินดา สิงห์ลอ. 2540. สถานภาพภูมิคุ้มโรคไวรัส BVD, IBR, PI3 และ BRS ของฟาร์มโคนมในประเทศไทย. **เวชชสารสัตวแพทย์**. 27(3) : 295-313.

ผลิตเดช พูลสุข สมคิด พรหมมา เสนอ วงกลม สมเพชร ตุ้ยคำภีร์ อัมพวัน ตฤษณารมณ์ และอรวรรณ สุวภาพ. 2530. การใช้ซีเมนต์ผงเป็นแหล่งของแร่ธาตุปลีกย่อยและตัวยึดเกาะในการทำแร่ธาตุก้อนสำหรับโคนม. **ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการด้านการปศุสัตว์ ครั้งที่ 6**. : 18-20.

พัชรินทร์ จีนกล่ำ สมเพชร ตุ้ยคำภีร์ วิสุทธิ์ หิมารัตน์ และอังคณา ผ่องแผ้ว. 2534. ปัจัยที่มีอิทธิพลต่อการให้นมครั้งแรกของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน. **รายงานผลการวิจัยโคนมประจำปี 2534 สถาบันพัฒนาฝึกอบรมและวิจัยโคนมแห่งชาติ จ.เชียงใหม่**. : 1-12.

ยันต์ สุขวงศ์ นิวัตน์ ถาวระ และปัญญา ศรีเดช. 2535. ผลของอุณหภูมิร่างกายต่ออัตราการผสมติดในโคนมพันธุ์ผสมขาว-ดำ. **ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการด้านปศุสัตว์ ครั้งที่ 11**. : 25-32.

สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย สตีฟาน อริเนียส และโกวิทย์ นิธิชัย. 2535. การตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสหลายชนิดในตัวอย่างน้ำนมถังรวมของโคนมเขตมวกเหล็ก. **เวชชสารสัตวแพทย์**. 22(4) : 255-256.

อำนาจ เกตุใหม่ ปัญญา ศรีเดช สุวิช บุญโปร่ง และกัลยา บุญญานุวัตร. 2535. อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นของสภาพแวดล้อมต่ออัตราการผสมติดของโคนมลูกผสม. **ประมวลการศึกษาเรื่องการประชุมวิชาการด้านปศุสัตว์ ครั้งที่ 11**. : 131-140.

ภาษาอังกฤษ

Ackermann, M., Peterhans, E. and Wyler, R., 1982. DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigerminal ganglia of latently infected calves. **Am.J. Vet. Res**. 43:36-40.

Ackermann, M., and Wyler, R. 1984. The DNA of an IPV strain of bovid herpesvirus 1 in sacral ganglia during latency after intravaginal infection. **Vet. Microbiol.** 9 : 53-63.

Ackermann, M., Muller, H.K.,Bruckner, L. and Kihn, U. 1990. Eradication of infectious bovine rhinotracheitis in Switzerland : Review and prospects. **Vet. Microbiol.** 23(1-4) : 365-370.

Ames, T.R. and Baker, J.C. 1990 Management practices and vaccination program that help control BVD virus infection. **Vet. Med.** 85 : 1140-1149.

Baker, J.C. 1986. Bovine respiratory syncytial virus : Pathogenesis, clinical signs, diagnosis treatment, and prevention. **Comp. Cont. Edu. Prac. Vet.** 8 : F31-F37.

Baker, J.C. 1987. Bovine viral diarrhea virus : A review. **J. A. V. M. A.** 190(11) : 1449-1458.

Baker, J.C. and Frey, M.L. 1985. Bovine respiratory syncytial virus. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 1 : 259-275.

Baker, J.C., Ames, T.R. and Markham, R.J.F. 1986. Seroepizootologic study of bovine respiratory syncytial virus in a dairy herd. **Am. J. Vet. Res.** 47 : 240-245.

Baker, J.C., Ellis, J.A. and Clark, E.G. 1997. Bovine respiratory syncytial virus. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 13 : 425-454.

Beer, M., Hehnen, H.R., Wolfmeyer, A., Poll, G., Kaaden. O.R. and Wolf, G. 2000. A new inactivated BVDV genotype I and II vaccine : An immunization and challenge study with BVDV genotype 1. **Vaccine** 77 : 195-208.

Bielefeldt-Ohmann, H. 1988. BVD virus antigens in tissues of persistently viraemic clinically normal cattle : Implications for the pathogenesis of clinically fatal disease. **Acta. Vet. Scan.** 29 : 77-84.

Bielefeldt-Ohmann, H. 1995. The pathogenesis of bovine viral diarheoa virus infection. A window on the pathogenesis. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 11 : 447-476.

Bolin, S.R. 1995a. Control of bovine viral diarrhoea infection by use of vaccination. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** (11) : 615-625.

Bolin, S.R. 1995b. The pathogenesis of mucosal disease. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** (11) : 489-500.

Bolin, S.R. and McClurkin, A.W. 1985. Frequency of persistent bovine viral diarrhea virus infection in selected cattle herds. **Am. J. Vet. Res.** 46 : 2385-2387.

Bolin, S.R., Littledike, E.T. and Ridpath, J.F. 1991. Serologic detection and practical consequence of antigenic diversity among bovine viral diarrhea viruses in a vaccinated herd. **Am. J. Vet. Res.** 52 : 1033-1037.

Bosch, J.C., Kaashoek, M.J. and van Oirschot, J.T. 1997. Inactivated bovine herpesvirus marker vaccines are more efficacious in reducing virus excretion after reactivation than a live marker vaccine. **Vaccine** 15(14) : 1512-1517.

Brock, K.V. 1995. Diagnosis of bovine viral diarrhea virus infection. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 11 : 549-561.

Brock, K.V., Lapin, D.R. and Skrade, D.R. 1997. Embryo transfer form donor cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. **Theriogenology** 47 : 837-844.

Brown, G.B., Bolin, S.R., Frank, D.E. and Roth, J.A. 1991. Defective function of leukocytes from cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus, and the influence of recombinant cytokines. **Am. J. Vet. Res.** 52(3):381-387.

Bryan, L.A., Fenton, R.A., Misra, V. and Haines, D.M. 1994. Fetal, generalized bovine herpesvirus type 1 infection associated with a modified-live infectious bovine rhinotracheitis-parainfluenza-3 vaccine administered to neonatal calves. **Can. Vet. J.** 35 : 223-228.

Campen, H.V., Vorpahel, P., Huzurbazar, S., Edwards, J. and Cavender, J. 2000. A case report : evidence for type 2 bovine viral diarrhea virus (BVDV) associated disease in beef herds vaccinated with a modified live type 1 BVDV vaccine. **J. Vet. Diagn. Invest.** 12 : 263-265.

Carman, S., van Dreumel, T., Ridpath, J., Hazlett, M., Alves, D., Dubovi, E., Tremblay, R., Bolin, S., Godkin, A., and Anderson, N. 1998. Severe acute bovine viral diarrheoa in Ontario, 1993-1995. **J. Vet. Diag. Invest.** 10 : 27-35.

Castrucci, G., Frigeri, F., Salvatori, D., Ferrari, M., Sardonini, Q., Cassai, E., Dico, M.L., Rotola, A. and Angelini, R. 2002. Vaccination of calves against bovine herpesvirus-1 : assessment of the protective value of eight vaccines. **Comp. Immuno. Micro. Infec. Dis.** 25 : 29-41.

Chiang, B.C., Smith, P.C., Nusbaum, K.E. and Stringfellow, D.A. 1990. The effect of bovine rhinotracheitis vaccine on reproductive efficiency in cattle vaccinated during estrus.

Therigenology 33 : 1113-1120.

Chow, T.L. 1972. Duration of immunity in heifers inoculated with infectious bovine rhinotracheitis virus. **J.A.V.M.A.** 160 : 51-54.

Collen, T., Douglas, A.J., Paton, D.J., zhang, G., and Morrison, W.I. 2000. Single amino acid differences are sufficient for CD4(+) T-cell recognition of a heterologous virus by cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. **Virology** 276 : 70-82.

Cortese, V.S. 1991 Effect on milk production by nonabortgenic combination vaccine for prevention of respiratory and reproductive system disease in cattle. **Agri – Practice** 12 (6) : 21-26.

Cortese, V.S., Whittaker, R., Ellis, J., Ridpath, J.F. and Bolin, S.R. 1998 Specificity and duration of neutralizing antibodies induced in healthy cattle after administration of a modified – live virus vaccine against bovine viral diarrhea. **Am. J. Vet. Res.** 59 (7) : 848 –850.

Cravens, R.L. and Bechtol, D. 1991 Clinical response of feeder calves under direct IBR and negative control. **Bovine Pract.** 26 : 154 –158.

Cravens, R.L., Ellsworth, B.S., Sorensen, B.S. and White, A.K. 1996. Efficay of a temperature sensitive modified-live bovine herpesvirus type-1 vaccine against abortion and stillbirth in pregnant heifers. **J. A. V. M. A.** 208 (12) : 2031-2034.

de Wit, J.J., Hage, J.J., Brinkhof, J. and Westenbrink, F. 1998. A comparative study of serological tests for use in the bovine herpesvirus 1 eradication programme in The Netherlands. **Vet. Microbiol.** 61 : 153-163.

Donis, R.O. 1995. Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus and its interactions with the host. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 11 : 393-423.

Donovan, G.A., Dohoo, I.R., Montgomery, D.M. and Bennett, F.L. 1998. Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA. **Prev. Vet. Med.** 33 : 1-10.

Dubovi, E.J. 1994. Impact of bovine viral diarrhea virus on the reproductive performance in cattle. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract**. 10 : 503-514.

Dubovi, E.J. 1996. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. **Vet. Med.** 91 : 867-872.

Duffell, S.J., and Harkness, J.W. 1985. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. **Vet. Rec.** 117 : 240-245.

Dunne, H.W., Ajinkya, S.M., Bubash, G.R. and Griel, L.C. 1973. Parainfluenza-3 and bovine enteroviruses as possible important causative factors in bovine abortion. **Am. J. Vet. Res.** 34(9) : 1121-1126.

Dyer, R.M. 1981. The bovine respiratory disease complex : Infectious agents. **Comp. Cont. Edu. Prac. Vet.** 3 : S374

Ellis, J.A., Davis, W.C., Belden, E.I. and Pratt, D.L. 1988. Flow cytofluorimetric analysis of lymphocyte subset alterations in cattle infected with bovine viral diarrhea virus. **Vet Path.** 25 : 231-236.

Ellis, J.A., Davis, W.C.,Talens, L. and Pratt, B.S.1990. Clinical and immunologic response of cattle to administration of a vaccine containing modified-live bovine respiratory syncytial virus. **J. A. V. M. A.** 196: 583-589.

Ernst, P.B. and Butler, D.G. 1983. A bovine virus diarrhea calfhood vaccination trial in a persistently infected herd : Effects on titres, health and growth. **Can. J. Comp. Med.** 47 : 118-123.

Esslemont, R.J. and Kossaibati, M.A. 1999. The cost of respiratory diseases in dairy heifer calves. **Bovine Pract.** 33 (2) : 174-178.

Ferguson, J.D., Galligan, D.T. and Cortest, V.1997. Milk production and reproductive performance in dairy cows given bovine respiratory syncytial viral prior to parturition. **J.A.V.M.A.** 210(12) : 1779-1783.

Ferrell, C.I. 1982. Effects of postweaning rate of gain on onset of puberty and productive performance of heifers of different breeds. **J. Anim. Sci.** 55 (6) : 1272-1283.

Flores, E.F., Gil, I.H.G.V, Botton, S.A., Weiblen, R., Ridpath, J.F., Kreutz, L.C., Pilati, C., Driemeyer, D., Moojen, V. and Wendelstein, A.C. 2000. Clinical, pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. **Vet. Microbiol.** 77 : 175-183.

Frank, G.H. and Marshall, R.G. 1973. Parainfluenza-3 infection of cattle. **J. A. V. M. A.** 163 : 858.

Frankena, K., Klaassen, C.H.L., Bosch, J.C., van de Braak, A.E., van de Haar, A.G.C., van Tilburg, F.C. and Debouck, P. 1994. Double blind field evaluation of a trivalent vaccine against respiratory disease in veal calves. **Vet. Q.** 16 (3) : 148-152.

Fray, M.D., Paton, D.J. and Alenius, S. 2000. The effects of bovine viral diarrhoea virus on cattle reproduction in relation to disease control. **Ani. Repro. Sci.** 60-61 : 615-627.

Frerichs, G.N., Woods, S.B., Lucas, M.H. and Sand, J.J. 1982. safety and efficacy of live and inactivated infectious bovine rhinotracheitis vaccines. **Vet. Rec.** 111 (4) : 106-112.

Fritzemier, J.,Haas, L., Liebler, E., Moenning, V. and Greiser-wilke, J. 1999. The development of early vs late onset mucosal disease is a consequence of two different pathologic mechanisms. **Arch. Virol.** 142(7) : 1335-1350.

Fulton, R.W., Confer, A.W., Burge, L.J., Perino, L.J., d'Offay, J.M., Payton, M.E. and Mock, R.E. 1995. Antibody responses by cattle after vaccination with commercial viral vaccines containing bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhea virus, and bovine respiratory syncytial virus immunogens and subsequent revaccination at day 140. **Vaccine** 13 (8) : 725-733.

Fulton, R.W., Burge, L.J., d'Offay, J.M. and Payton, M.E. 1997. Serum antibody response in calves receiving modified live and/or inactivated vaccines containing bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhea virus, parainfluenza-3 virus and bovine respiratory syncytial virus immunogens. **Bovine Pract.** 31 (2) : 90-96.

Fulton, R.W., Purdy, C.W., Confer, A.W., Saliki, J.T., Loan, R.W., Briggs, R.E. and Burge, L.J. 2000. Bovine viral diarrhea viral infections in feeder calves with reapiratory disease : Interactions with Pasteurella spp., Parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. **Can. J. Vet. Res.** 64(3) : 151-159.

Gardner, I.A., Hird,D.W., Utterback,W.W., Danaye-elmi, C., Heron, B.R., Christiansen, K.H. and Sischo. W.M. 1990. Mortality,morbidity,case-fatality,and culling rates for California dairy cattle as evaluated by the National Animal Health Monitoring System,1986-1987. **Prev. Vet. Med.** 8:157-170.

George, L.W. 1991. Understanding the encephalitic form of infectious bovine rhinotracheitis. **Vet. Med.**: 335-337.

George, L.W., Ardans, A.A. and Mihalyi, J. 1988. Enhancement of infectious bovine keratoconjunctivitis by modified-live infectious bovine rhinotrachetis virus vaccine. **Am. J. Vet. Res.** 49:1800-1806.

Gerber, J.D., Marron, A.E. and Kucera, C.J. 1978. Local and systemic cellular and antibody immune responses of cattle to infectious bovine rhinotracheitis virus vaccines administered intranasally or intramuscularly. **Am. J. Vet. Res.** 39 : 753-760.

Gibbs, E.P.J., and Rweyemamu, M.M. 1977. Bovine Herpesvirus. Part I. Bovine herpesvirus 1. **Vet. Bull** : 317-343.

Graham, D.A., German, A., Mclaren, I.E. and Fitzpatrick, D.A. 2001. Testing of bulk tank milk from Northern Ireland dairy herds for viral RNA and antibody to bovine viral diarrheoa virus. **Vet. Rec.** 149 : 261-265.

Grahn, T.C., Fahning, M.L. and Zemjanis, R. 1984. Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhea virus. **J. A. V. M. A.** 185 : 429-432.

Hage, J.J., Glas, R.D., Westra, H.M., Maris, M.A., van Oirschot, J.Y. and Rijsewijk, F.A.M. 1998. Reactivation of latent bovine herpesvirus 1 in cattle seronegative to glycoprotein gB and gE. **Vet. Microbiol.** 60 : 87-98.

Harland, R.T., Potter, A.A. and van Drunen Little-van Den Hurk, S . 1992. The effect of subunit or midifled live herpesvirus-1 vaccines on the efficacy of a recombinant Pasteurella haemolytica vaccine for the prevention of respiratory disease in feedlot calves. **Can. Vet. J.** 33 : 734-741.

Head, H.H. 1992. Heifer performance standards : rearing system, growth rates and lactation. *In* : **Large dairy herd management.** van Horn, H.H. and Wilcox, C.I. eds. American Dairy Science Association. : 422-433.

Heinrichs, A.J. 1993. Raising dairy replacements to meet the needs of the 21st century. **J. Dairy Sci.** 76 : 3179-3187.

Hjerpe, C.A. 1990. Bovine vaccine and herd vaccination programs. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** : 189-194.

Hoffman, P.C. and Funk, D.A. 1992. Applied dynamics of dairy replacement growth and management. **J. Dairy Sci.** 75 : 2504-2516.

Houe, H. 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** : 521-547.

Houe, H. 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrheoa virus (BVDV) infections. **Vet. Microbiol.** 64 : 89-107.

Kaashoek, M.J., Moerman, A., Madic, J., Rijisewijk, F.A., Quak, J., Gielkens, A.L., and van Oirschot, J.T. 1994. A conventionally attenuated glycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus type 1 is an efficacious and safe vaccine. **Vaccine** 12 : 439-444.

Kaashoek, M.J., Moerman, A., Madic, j., Weerdmeester, K., Maris-Veildhusi, M.A., Rijisewik, F.A.M. and van Oirschot, J.T. 1995. An inactivated vaccine base on aglycoprotein E-negative strain of bovine herpesvirus 1 induces immunity and allows serological differentiation. **Vaccine** 13 : 342-346.

Kapil, S. and Basaraba, R.J. 1997. infectious bovine rhinotracheitis, parainfluenza-3 and respiratory coronavirus. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract .** J. Vestweber and G.S.T. Jean. (eds) . V. 13(3). W.B. Saunders Company, Philadelphia,pp. 455-469.

Ketelsen, A.T., Johnson, D.W. and Muscoplat, C.C. 1979. Depression of bovine monocyte chemotactic responses by bovine viral diarrhea virus. **Infect. Immunol.** 25 : 565-568.

Kirkland, P.D., Richards, S.G., Rothwell, S.G. and Stanley, J.F. 1991. Replication of bovine viral diarrhoea virus in the reproductive tract and excretion of virus in semen during acute and chronic infections. **Vet.Rec.** 128 : 587-590.

Larsen, L.E., Tjornehoj, k., Viuff, B., Jensen, N.F. and Uttenthal, A. 1999. Diagnosis of enzootic pneumonia in Danish cattle : application of the reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay for detection of bovine respiratory syncytial virus in naturally and experimentally infected calves. **J. Vet. Diagn. Invest.** 11 : 416-422.

Larsen, L.E. 2000. Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) : A review. **Acta. Vet.** 41(1) : 1-24.

Letellier, C., Kerkhofs, P., Wellemans, G. and Vanopdenbosch, E. 1999. Detection and genotyping of bovine diarrhea virus by reverse transcription polymerase chain amplification of the 5' untranslated region. **Vet. Microbiol.** 64 : 155-167.

Lindberg, A.L. and Alenius, S. 1999. Principles eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. **Vet. Microbiol.** 64 : 197-222.

Lindberg, A., Groenendaal, H., Alenius, S. and Emanuelson, U. 2001. Validation of a test for dams carrying foetuses persistently infected with bovine viral-diarrheoa virus based on determination of antibody levels in late pregnancy. **Prev. Vet. Med.** 51 : 199-214.

Linn, C.Y., McAllister, A.J., Batra, T.R. and Lee, A.J. 1988. Effects of early and late breeding of heifers on multiple lactation performance of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 71 : 2735-2737.

Lopmann, J.M., Charlier, P., Klaassen, C.L. and Zygraich, N. 1986. Safety of a temperature-sensitive vaccine strain of bovine viral diarrhea virus in pregnant cows. **Am. J. Vet. Res.** 47(3) : 557-560.

Makoschey, B., Janssen, M.G.J., Vrijenhoek, M.P., Korsten, J.H.M. and Marel, P.V.D. 2001. An invaccinated bovine virus diarrhoea virus (BVDV) type 1 vaccine affords clinical protection against BVDV type 2. **Vaccine** 19 : 3261-3268.

Mars, M.H., Bruschke, C.J. and van Oirschot, J.T. 1999. Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. **Vet. Microbiol.** 66. 197-207.

Mars, M.H., de Jong, M.C.M., van Maanen, C., Hage, J.J. and van Oirschot, J.T. 2000. Airborne transmission of bovine herpesvirus 1 infections in calves under field conditions. **Vet. Microbiol.** 76 : 1-13.

Mars, M.H., de Jong, M.C.M., Franken, P. and van Oirschot, J.T. 2001. Efficacy of a live glycoprotein in E-negative bovine herpesvirus 1 vaccine in cattle in the field. **Vaccine** 19 : 1924-1930.

Martin, S.W. and Bohac, J.G. 1986. The association between serological titers in infectious bovine rhinotracheitis virus, bovine virus diarrhea virus, parainfluenza-3 virus, respiratory syncytial virus and treatment for respiratory disease in Ontario feedlot calves. **Can. J. Vet. Res.** 50 : 351-358.

Mayfield, J.E., Good, P.J., van Oort, H.J., Campbell, A.R. and Reed, D.E. 1983. Cloning and cleavage site mapping of DNA from bovine herpesvirus 1 (Cooper strain). **J. Virol.** 47 : 259-264.

Mechor, G.D., Rousseaux, C.G., Radostitis, O.M., Babiuk, L.A. and Petric, L. 1987. Protection of newborn calves against fatal multisystemic infectious bovine rhinotracheitis by feeding colostrum from vaccinate cows. **Can. J. Vet. Res.** 51 : 452-459.

Meyers, G., Tautz, N., Becher, P., Thiel, H.J., and Kümmerer, B.M. 1996. Recovery of cytopathogenic and noncytopathogenic bovine viral diarrhea viruses from cDNA constructs. **J. Virol.** 70 : 8606-8613.

Michel, P., Thurmond, M. and Hietala, S. 1993. Prevaccination bovine viral diarrhea virus titers and subsequent reproductive performance in dairy heifers. **Can. J. Vet. Res.** 57 : 236-240.

Miller, J.M. 1991 The effects of IBR virus infection on reproduction function on cattle. **Vet. Med.** 86 : 95-98.

Miller, J.M. and van der Maaten, J.M. 1984. Reproductive tract lesions in heifer after intrauterine innoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus. **Am. J. Vet. Res.** 45 : 175-186.

Miller, J.M., Whetstone, C.A., and van der Maaten, M.J. 1991. Abortifacient property of bovine herpesvirus type 1 isolates that represent three subtypes dertermined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. **Am. J. Vet. Res.** 52 : 458-461.

Moening, V. and Liess, B. 1995. Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhea virus. **Vet. Clin. North Am. Food Animal Pract.** 11 : 477-487.

Moore, S., Gunn, M. and Walls, D. 2000. A rapid and sensitive PCR-based diagnosis assay to detect bovine herpesvirus 1 in routine diagnostic submissions. **Vet. Microbiol.** 75 : 145-153.

Nettleton, P.F. and Entrican, G. 1995. Ruminant pestiviruses. **Br. Vet. J.** (151) : 615-642.

Niskanen, R. 1993. Relationship between the levels of antibodies to bovine viral diarrheoa virus in bulk tank millk and the prevalence of cows exposed to the virus. **Vet. Rec.** 133 : 341-344.

Noordegraaf, V.A., Buitels, J.A.A.M., Dijkhuizen, A.A., Franken, P., Stegeman, J.A. and Verhoeff, J. 1998. An epidemiological and economic simulation model to evaluate the spread and control of infectious bovine rhinotracheitis in the Netherlands. **Prev. Vet. Med.** 36 : 219-238.

Obando, R.C., Hidalgo, M., Merza, M., Montoya, A., Klingeborn, J. and Moreno-Lopez. 1999. Seroprevalence of bovine viral diarrhea virus and other viruses of the bovine respiratory complex in Venezuela (Apure State). **Prev. Vet. Med.** 41(4) : 271-278.

O.I.E. 1996. Infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis. *In* : **Manual of standards for diagnostic test and vaccines.** Office International Des Epizooties, 3rd Ed., Paris, France : 281-290.

Osorio, F.A.1999. Infectious bovine rhinothracheitis and other clinical syndromes caused by bovine herpesvirus types 1 and 5. *In* : **Current veterinary therapy 4 : food animal practice.** Howard, L.J. and Smith, R.A. (eds.) W.B. Sauanders Company. pp.283-286

Parker, W.R., Galyean, M.L., Winder, J.A. and Carvens, R.L. 1993. Effects of vaccination at branding on serum antibody titers to viral agents of bovine respiratory disease (BRD) in newly weaned New Maxico calves. *In* : **Proceeding of American Society of Animal Science.** (44) : 92-94.

Patterson, D. J., Perry, R. C., Kiracofe, G. H., Bellows, R. A., Staigmiller, R. B. and Corah, L. R. 1992. Management considerations in heifer development and puberty. **J. Anim. Sci.** 70 : 4018-4035.

Peter, C. P., Tyler, D. E. and Ramsey, F. K. 1967. Characteristics of a condition following vaccination with bovine virus diarrhea vaccine. **J. A. V. M. A.** 150 : 46-52.

Place, N.T., Heinrichs, A.J. and Erst, H.N. 1998. The effect of disease, management and nutrition on average daily gain of dairy heifers form birth to four months. **J. Dairy Sci.** 81 : 1004-1009.

Potgieter, L.N., McCracken, M.D., Hopkins, F.M., and Walker, R.D. 1984. Effect of bovine viral diarrhea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves . **Am. J. Vet. Res.** 45 : 687-690.

Pritchard, G. 2001. Milk antibody testing in cattle. **In practice** 23 : 542-549.

Raeder, P.L. and Harkness, J.W. 1986. BVD virus infection : Prospects for control. **Vet. Rec.** 118 : 143-147.

Reggiardo, C. and Kaeberle, M.L. 1981. Detection of bacteremia in cattle inoculated with bovine viral diarrhea virus. **Am. J. Vet. Res.** 42 : 218-221.

Ridpath, J.F. and Bolin, S.R. 1995. Delayed onset postvaccinal mucosal disease as a result of genetic recombination between genotype 1 and genotype 2 BVDV. **Virology** 212 : 259-262.

Ridpath, J.F., Bolin, S.R., and Dubovi, E.J. 1994. Segregation of bovine viral diarrhea virus into genotypes. **Virology** 205 : 66-74.

Roth, J.A. and Henderson, L.M. 2001. New technology for improved vaccine safety and efficacy. **Vet. Clin. North Am. Food Animal Pract.** 17: 585 – 597.

Sandvik, T. 1999. Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrheoa virus infection in cattle. **Vet. Microbiol.** 64 : 123-134.

SAS, 1998. **SAS User's Guide.** Version 6.12 SAS. Institute. Cary, NC.

Sattar, S., Bohl, E. and Senturk, M. 1965. Viral causes of bovine abortion in Ohio. **J. A. V. M. A.** 147 : 1207-1210.

Shannon, A.D., Mackintosh, S.G., and Kirkland, P.D. 1992. Identification of pestivirus carrier calves by an antigen-capture ELISA. **Aus. Vet. J.** 70 : 74-76.

Smith, P.C., Nusbaum, K.E., Kwapien, R.P., Stringfellow, D.A. and Driggers, K. 1990. Necrotic oophoritis in heifer vaccinated intravenously with infectious bovine rhinotracheitis virus vaccine during estrus. **Am. J. Vet. Res.** 51(7):969-972.

Stormshak, F., Tucker, C.M., Beal, W.E. and Corah, L.R. 1997. Reproductive response of beef heifer after concurrent administration of vaccines, anthelmintic and progestogen. **Theriogenology** 47(5): 997-1001.

Straub, O.C. 1991. BHV1 infections : relevance and spread in Europe. **Comp. Immunol. Microbial. Infect. Dis.** 14(2) : 175-186.

Straub, O.C. and Mawhinney, I.C. 1988. Vaccination to protect calves against infectious bovine rhinotracheitis. **Vet. Rec.** 122 : 407-411.

Swift, B.L. and Kennedy, P.C.1972. Experimentally induced infection of In Uterus bovine fetuses with bovine parainfluenza-3 virus. **Am. J. Vet. Res.** 33(1):57-63.

Thiry, E, Lemaire, M., Schynth, F., Meyer, G., Dispas, M. and Gogev, S. 1999. The consequence of the infection of cattle with infectious bovine rhinotracheitis virus. **Point Veterinaire** 30(199) : 19-26.

Thiry, E., Saliki, J., Bublot, M., and Pastoret, P.P. 1987. Reactivation of infectious bovine rhinotracheitis virus by transport. **Comp. Immuno. Micro. Infec. Dis.** 10 : 59-63.

Thomson, J.R., Nettleton, P.F., Greig, A. and Barr, J. 1986. A bovine respiratory virus vaccination trial. **Vet. Rec.** 119 : 450 – 453.

Todd, J.D. 1976. Intranasal vaccination of cattle against IBR and PI-3 field and laboratory observations in dairy, beef and neonatal calf populations. **Dev. Biol. Stand.** 33: 391-395.

Todd, J.D., Volenu, F.J. and Paton, I.M. 1972. Interferon in nasal secretions and sera of calves after intranasal administration of a virulent infectious bovine rhinotracheitis virus : association of interferon in nasal secretions with early resistance to challenge with virulent virus. **Infect. Immun.** 5 : 699-706.

Tremblay, R. 1996. Transmission bovine diarrhea virus. **Vet. Med.** 91(9) : 858-866.

van der Maaten, M.J., Miller, J.M. and Whetstone, C.A. 1985. Ovarian lesions induced in heifer by intravenous inoculation with modifield-live bovine rhinotracheitis virus on the day after breeding. **Am. J. Vet. Res.** 46(9) : 1996-1999.

van der Poel, W.H.M. and Scholl, D.T. 1997. Approach for control of infectious diseases in cattle herd. *In* : **Herd health and production management in dairy practice.** A. Brand, J.P.T.M., Noordhuizen, Y.H. Schukken (eds). Wagenningen Pers, Wageningen, the Netherland. : 473-510.

van Donkersgoed, J. and Babiuk, L.A. 1991. Diagnosing and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. **Vet. Med.** 1 : 86-94.

van Donkergoed, J. and Klassen, P. 1995. Serological study of a modified-live virus IBR vaccine given to feedlot calves after arrival. **Can. Vet. J.** 36 : 394.

van Drunen Little-van Den Hurk, S., Myers, D., Doig, P.A., Karvonen, B., Habermehl, M., Babiuk, L.A., Jelinski, M., van Donkersgoed, J., Schlesinger, K. and Rinehart, C. 2001. Identification of a mutant bovine herpesvirus-1 (BHV-1) in post-arrival outbreaks of IBR in feedlot calves and protection with conventional vaccination. **Can. J. Vet. Res.** 65 : 81-88.

van Drunen Little-van Den Hurk, S., Tikoo, S.K.,Liang, S. and Babiuk, L.A. 1993. Bovine herpesvirus-1 vaccines. **Immuno. Cell Biol.** 71: 405-420.

van Oirschot, J.T., Straver, P.J., van Lieshout, J.A.H., Quak, J., Westenbrink, F. and van Exsel, A.C.A., 1993. A subclinical infection of bulls with bovine herpesvirus type 1 at an artificial insemination centre. **Vet. Rec.** 132 : 32 –35.

van Oirschot, J.T., Kaashoek, M.J., Maris-Veldhuis, M.A., Weerdmeester, K., and Rijsewijk, F.A.M. 1997 . An enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against

glycoprotein gE of bovine herpesvirus 1 allows differentiation between infected and vaccinated cattle. **J. Virol. Method.** 67 : 23-34.

Verhoeff, J and van Nieuwstadt, A.P.K.M.I. 1984. BRS virus, PI-3 virus and BHV1 infections of young stock on self-contained dairy farm: epidemiological and clinical findings. **Vet. Rec.** 114:288-293.

Virakul, P., Fahning, M.I., Joo, H.S. and Zemjanis, R. 1988. Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine viral diarrhea virus during an outbreak of spontaneous infection with a noncytopathic strain. **Theriogenology** 29 (2) : 441-449.

Voges, H., Horner, G. W., Rowe, S. and Wellenberg, G.J. 1998. Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immuno-competent, non-viraemic bull. **Vet. Microbiol.** 61 : 165-175.

Waage, S. 2000. Influence of new infection with bovine viral diarrhoea virus on udder health in Norwegian dairy cows. **Prev. Vet. Med.** 43(2):123-135.

Wiseman, A., Msolla, P.M., Selman, I.E. and Allan, E.M. 1980. Clinical and epidemiological features of 15 incidents of severe infectious bovine rhinotracheitis. **Vet. Rec.** 107 : 436-441.

Xia, J.Q., Yason, C.V., and Kibenge, F.S. 1995. Comparison of dot blot hybridization, polymerase chain reaction, and virus isolation for detection of bovine herpesvirus-1 (BHV1) in artificially infected bovine semen. **Can. J. Vet. Res.** 59 : 102-109.

Zavy, M.T. 1994. Embryonic mortality in cattle. *In* : **Embryonic Mortality in Domestic Species.** M.T. Zavy and R.D. Geisert (eds.) CRC Press, Inc, London, pp. 90-140.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางภาคผนวกที่ 1. จำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ในช่วงระยะเวลาต่างๆภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน

Ab	titer	6 เดือน*		7 เดือน**		8 เดือน		9 เดือน		10 เดือน		11 เดือน		12 เดือน		13 เดือน		14 เดือน		15 เดือน		16 เดือน		17 เดือน		18 เดือน	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
IBR	<1:2	30/30	100	17/30	56.67	5/30	16.67	1/30	3.33	1/30	3.33	6/30	20.00	9/30	30.00	6/30	20.00	6/30	20.00	10/30	36.67	9/30	30.00	11/29	37.93	13/25	52.00
	1:2	0/30	0	7/30	23.33	3/30	9.09	1/30	3.33	3/30	10.00	5/30	16.67	1/30	3.33	3/30	10.00	5/30	16.67	5/30	1.67	8/30	26.67	8/29	27.59	6/25	24.00
	1:4	0/30	0	4/30	13.30	6/30	20.00	7/30	23.33	9/30	3.00	6/30	20.00	5/30	16.67	6/30	20.00	6/30	20.00	8/30	26.67	7/30	23.33	8/29	27.59	5/25	20.00
	1:8	0/30	0	2/30	6.67	10/30	33.33	12/30	40.00	8/30	26.67	8/30	26.67	7/30	23.33	7/30	23.33	10/30	33.33	3/30	10.00	4/30	13.33	2/29	6.90	0/25	0
	1:16	0/30	0	0/30	0	3/30	10.00	9/30	30.00	5/30	16.67	2/30	6.67	6/30	20.00	4/30	13.33	2/30	6.67	2/30	6.67	2/30	6.67	0/29	0	0/25	0
	1:32	0/30	0	0/30	0	2/30	6.67	0/30	0	4/30	13.33	3/30	10.00	2/30	6.67	4/30	13.33	1/30	3.33	1/30	3.33	0/30	0	0/29	0	0/25	0
	1:64	0/30	0	0/30	0	1/30	3.33	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/29	0	0/25	0

No. จำนวนโค (ตัว)

Ab แอนติบอดี

* ฉีดวัคซีนครั้งที่1 ; ** ฉีดวัคซีนครั้งที่2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางภาคผนวกที่ 2. จำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดี ในช่วงระยะเวลาต่างๆภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 6 เดือน

Ab	titer	6 เดือน*		7 เดือน**		8 เดือน		9 เดือน		10 เดือน		11 เดือน		12 เดือน		13 เดือน		14 เดือน		15 เดือน		16 เดือน		17 เดือน		18 เดือน	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
BVD	<1:2	30/30	100	21/30	70.00	9/30	30.00	9/30	30.00	6/30	20.00	19/30	63.33	8/30	26.67	8/30	26.67	8/30	26.67	9/30	30.00	13/30	43.33	12/29	41.38	16/25	64.00
	1:2	0/30	0	9/30	23.33	8/30	26.67	1/30	3.33	10/30	33.33	8/30	26.67	9/30	30.00	8/30	26.67	10/30	33.33	10/30	33.33	8/30	26.67	11/29	37.93	9/25	36.00
	1:4	0/30	0	0/30	0	2/30	6.67	5/30	16.67	11/30	36.67	2/30	6.67	9/30	30.00	9/30	30.00	8/30	26.67	8/30	26.67	3/30	10.00	4/29	13.79	0/25	0
	1:8	0/30	0	0/30	0	6/30	20.00	6/30	20.00	2/30	6.67	1/30	3.33	3/30	10.00	3/30	10.00	4/30	13.33	2/30	6.67	6/30	20.00	2/29	6.90	0/25	0
	1:16	0/30	0	0/30	0	5/30	16.67	7/30	23.33	1/30	3.33	0/30	0	2/30	6.67	2/30	6.67	0/30	0	1/30	3.33	0/30	0	0/29	0	0/25	0
	1:32	0/30	0	0/30	0	0/30	0	3/30	10.00	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/29	0	0/25	0
	1:64	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0	0	0/30	0	0/30	0	0/30	0	0/29	0	0/25	0

No. จำนวนโค (ตัว)

Ab แอนติบอดี

* ฉีดวัคซีนครั้งที่1 ; ** ฉีดวัคซีนครั้งที่2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางภาคผนวกที่ 3. จำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีอาร์ ในช่วงระยะเวลาต่างๆ ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน

Ab	titer	12 เดือน*		13 เดือน**		14 เดือน		15 เดือน		16 เดือน		17 เดือน		18 เดือน	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
IBR	<1:2	20/20	100	9/20	45.00	1/20	5.00	1/20	5.00	4/20	20.00	9/20	45.00	10/20	50.00
	1:2	0/20	0	4/20	20.00	7/20	35.00	5/20	25.00	5/20	25.00	1/20	5.00	0/20	0
	1:4	0/20	0	5/20	25.00	3/20	15.00	6/20	30.00	6/20	30.00	2/20	10.00	1/20	5.00
	1:8	0/20	0	1/20	5.00	3/20	15.00	2/20	10.00	1/20	5.00	3/20	15.00	2/20	10.00
	1:16	0/20	0	0/20	0	5/20	25.00	4/20	20.00	4/20	20.00	4/20	20.00	3/20	15.00
	1:32	0/20	0	1/20	5.00	1/20	5.00	2/20	10.00	0/20	0	1/20	5.00	3/20	15.00
	1:64	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0

No. จำนวนโค (ตัว)

Ab แอนติบอดี

* ฉีดวัคซีนครั้งที่1 ; ** ฉีดวัคซีนครั้งที่2

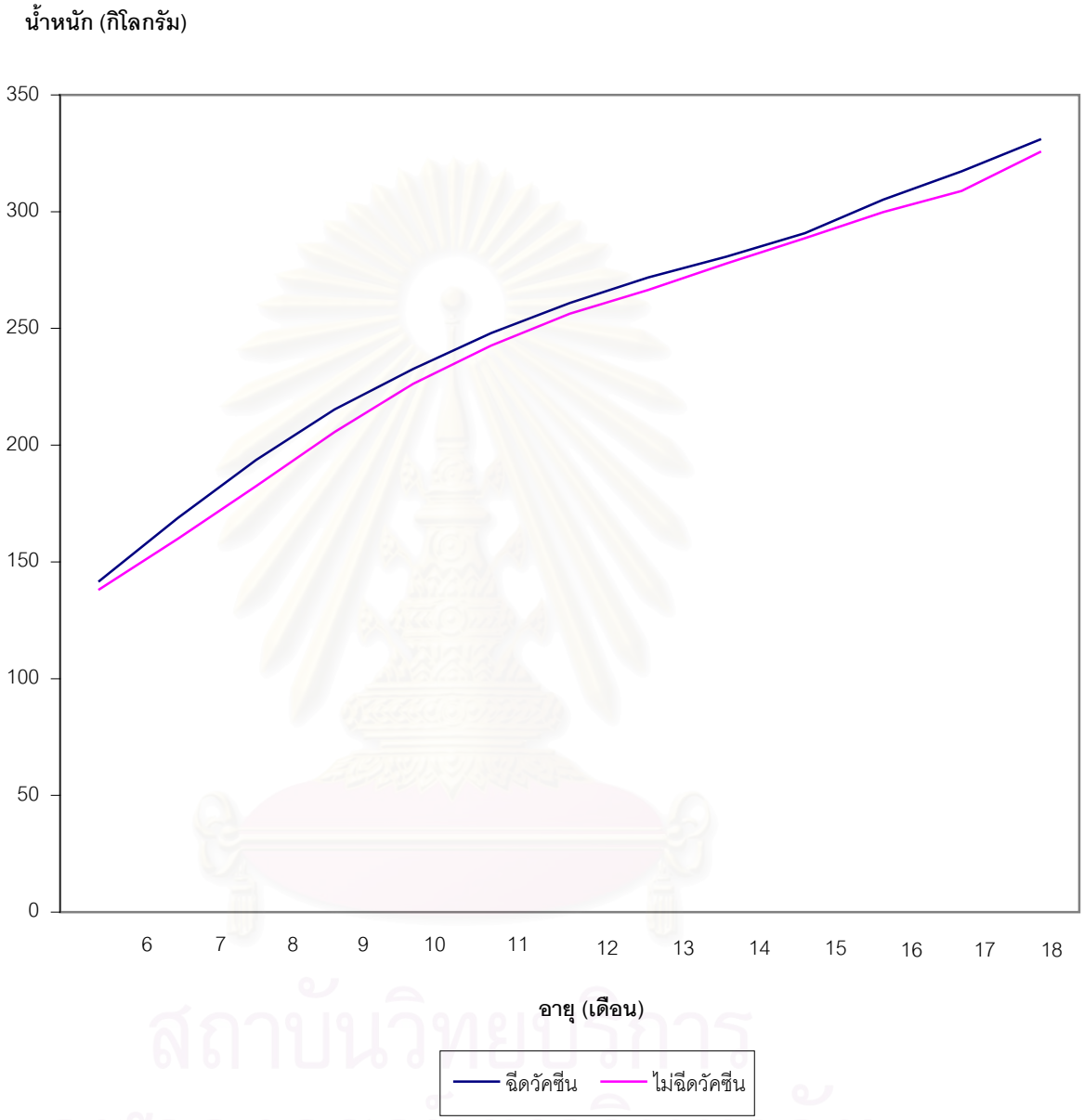
ตารางภาคผนวกที่ 4. จำนวนโค (เปอร์เซ็นต์) ที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสบีวีดี ในช่วงระยะเวลาต่างๆ ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเมื่ออายุ 12 เดือน

Ab	titer	12 เดือน*		13 เดือน**		14 เดือน		15 เดือน		16 เดือน		17 เดือน		18 เดือน	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
BVD	<1:2	20/20	100	11/20	55.00	5/20	25.00	5/20	25.00	6/20	30.00	12/20	60.00	10/20	50.00
	1:2	0/20	0	5/20	25.00	7/20	35.00	9/20	45.00	8/20	40.00	2/20	10.00	2/20	10.00
	1:4	0/20	0	4/20	20.00	2/20	10.00	4/20	20.00	1/20	5.00	2/20	10.00	3/20	15.00
	1:8	0/20	0	0/20	0	4/20	20.00	1/20	5.00	4/20	20.00	4/20	20.00	3/20	15.00
	1:16	0/20	0	0/20	0	2/20	10.00	1/20	5.00	1/20	5.00	1/20	5.00	2/20	10.00
	1:32	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0
	1:64	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0	0/20	0

No. จำนวนโค (ตัว)

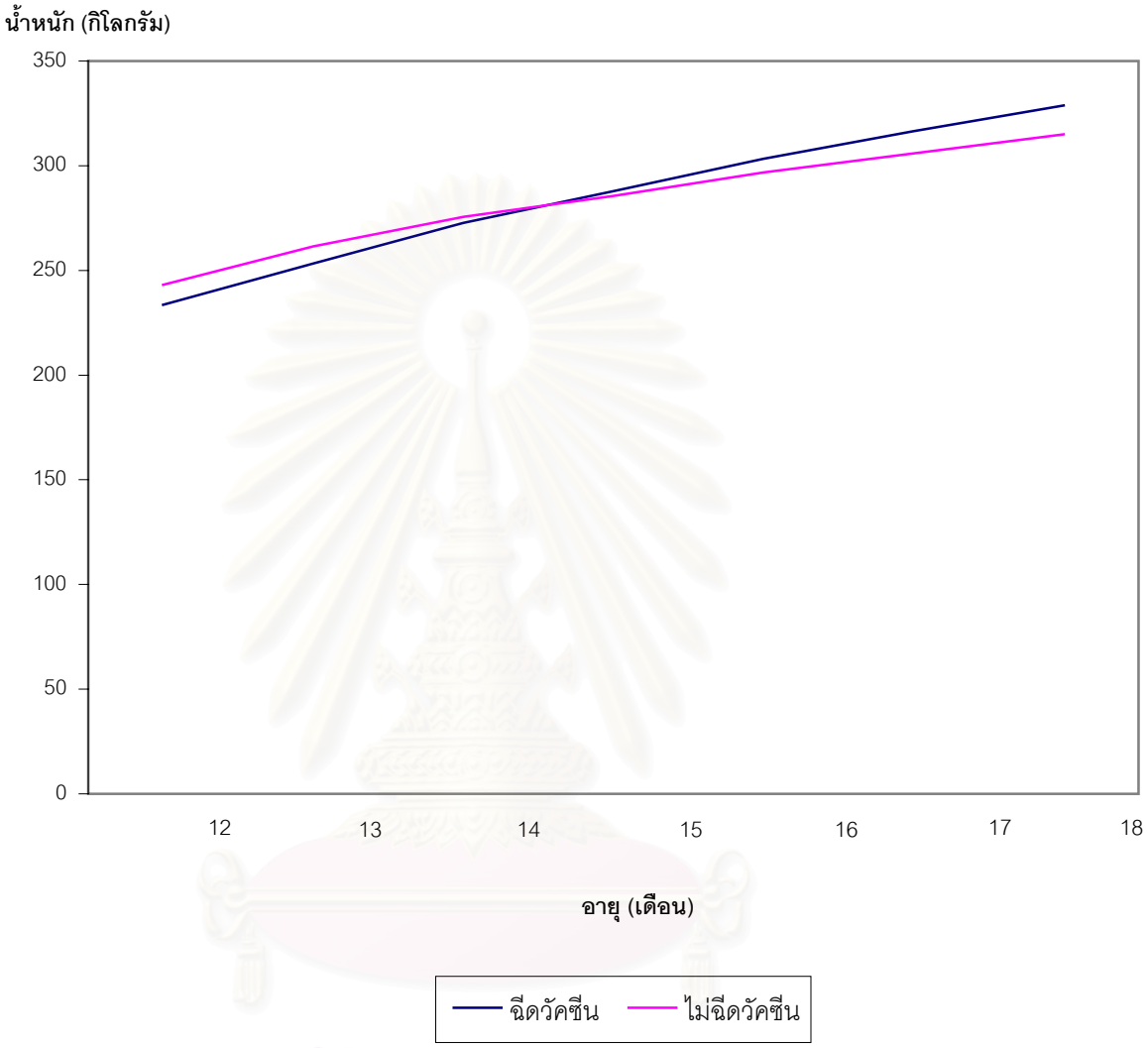
Ab แอนติบอดี

* ฉีดวัคซีนครั้งที่1 ; ** ฉีดวัคซีนครั้งที่2



รูปภาคผนวกที่ 1 การเจริญเติบโตของโคในการทดลองที่ 1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปภาคผนวกที่ 2 การเจริญเติบโตของโคในการทดลองที่ 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายธนศักดิ์ บุญเสริม เกิดเมื่อวันที่ 7 ธันวาคม พ.ศ. 2516 สำเร็จการศึกษาสัตวแพทยศาสตร์บัณฑิต เมื่อปีการศึกษา 2539 จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายหลังจบการศึกษาได้เข้าปฏิบัติงานเป็นนายสัตวแพทย์ คลินิกโคนม ประจำโรงพยาบาลปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จ.นครปฐม และได้รับการบรรจุเข้ารับราชการในตำแหน่งอาจารย์ประจำภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่วันที่ 10 กรกฎาคม พ.ศ. 2540 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2543

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย