การสำรวจทางซีรัมวิทยาของโรคเมลิออยโดซิสในโคนมและโคเนื้อ ในพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 4

พิเชฐ ทองปัน[1*] ลักษณาภรณ์ จงขจรพงษ์[1] อภิรมย์ เจริญไชย[1]

[1] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(ตอนบน) กรมปศุสัตว์

[1*] ผู้เขียนและผู้รับผิดชอบ โทรศัพท์ 0-4326-1246, E-mail : vrd_ne@yahoo.com

บทคัดย่อ

การสำรวจทางซีรัมวิทยาของโรคเมลิออยโดซิสในโคนมและโคเนื้อ ในพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 4 จำนวน 8 จังหวัด โดยใช้วิธี indirect hemagglutination test(IHA) ในการตรวจโรคโดยใช้ตัวอย่างซีรัมโคนมและโคเนื้อระหว่างเดือนมิถุนายน 2547 - เดือนกรกฎาคม 2548 รวม 12,048 ตัวอย่าง สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ตัดสินผลบวกที่ค่า IHA titer ≥ 1: 80 เป็นจุดตัดสินสำหรับใช้ในการคัดกรองโรค พบผลบวก19.27%(2,322/12,048) โดยพบในโคนม 18.39%(1,952/10,616) และ โคเนื้อ 25.84%(370/1,432) ข้อมูลทางซีรัมวิทยาที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้เรารู้ถึงสภาวะของโรคเมลิออยโดซิสและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการวางแผนป้องกันและควบคุมโรคเมลิออยโดซิสในพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 4 ในอนาคต

คำสำคัญ : โรคเมลิออยโดซิส, *Burkholderia pseudomallei*, IHA, โคนม, โคเนื้อ

บทนำ

โรคเมลิออยโดซิส (Melioidosis) เป็นโรคติดต่อที่พบทั้งในสัตว์และคน เชื้อที่ทำให้เกิดโรคเป็นเชื้อแบคทีเรียที่จัดอยู่ในประเภท facultative intracellular gram-negative bacilli เชื้อดังกล่าวเคยถูกจัดอยู่ในกลุ่ม *Pseudomonas* และมีชื่อว่า *P. pseudomallei* (Wallach and Boever, 1983) ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1992 เป็นต้นมา เชื้อดังกล่าวถูกแยกออกมาเป็นกลุ่มใหม่ที่เรียกว่า *Burkholderia* spp. ซึ่งในปัจจุบันมีอยู่มากกว่า 20 ชนิด(species) แต่ตัวที่เป็นปัญหาหลักๆ ทางวิทยาศาสตร์การแพทย์มีอยู่ 2 ชนิด คือ *B. pseudomallei* ที่ทำให้เกิดโรคเมลิออยโดซิส และ *B. cepacia* ที่พบมากและทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนในคนป่วยที่เป็นโรค Cystic fibrosis เชื้อที่เคยทำให้เกิดโรคระบาดอย่างรุนแรงในสัตว์ที่พบมากในอดีตคือเชื้อ *B. mallei* ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายกับ *B. pseudomallei* เป็นอย่างมาก(Dharakul et al., 1999; Wongprompitak et al., 2001)

โรคเมลิออยโดซิสจัดเป็นโรคประจำถิ่น(endemic area) ที่สำคัญของประเทศไทย ได้มีรายงานการพบเชื้อจากดินและน้ำอยู่ทั่วไปในส่วนต่าง ๆ ของประเทศ(Vuddhakul et al., 1999) ในขณะที่การระบาดของโรคในคนพบสูงที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(สมพนธ์., 2526; Leelarasamee and Bovorukitti, 1989) ส่วนในสัตว์มีรายงานการพบโรคในแพะและแกะเป็นครั้งแรกโดยพบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(สมใจและคณะ, 2523) โรคนี้พบชุกชุมในประเทศที่อยู่ในเขตร้อนชื้น(Tropical) เช่น ไทย มาเลเซีย ลาว พม่า เวียตนาม และยังพบในทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลียโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนและในพื้นที่ที่มีน้ำขังชื้นแฉะ โรคเมลิออยโดซิสสามารถพบได้ใน สุนัข แมว ม้า แพะ แกะ โค กระบือ และหนู (Upatoom et al., 1984; Leelarasamee et al., 1997) และพบได้ในสัตว์ป่าประเภทกวาง (Corkill and Cornere, 1987) ลิงชิมแปนซี ลิงอุรังอุตัง ลิงวอก และ ลิงแสม (Klos and Lang, 1982; Wallach and Boever, 1983) การติดต่อของเชื้อสามารถเกิดได้หลายทางเช่น ทางบาดแผลหรือการสัมผัสเชื้อโดยตรงจากดินหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค (Leelarasamee et al., 1997; Vuddhakul et al., 1999) สำหรับระยะการฟักตัวของโรคพบได้ตั้งแต่ 2 วัน จนถึงหลายเดือนหรืออาจจะนานเป็นปี (Blood et al., 1983) อาการที่พบสามารถพบได้ทั้งชนิดไม่แสดงอาการ อาการเรื้อรังและอาการรุนแรงเฉียบพลันทำให้สัตว์ตายภายใน 1 - 7 วัน (Jhonc et al., 1988) อาการที่ร้ายแรงในสัตว์ที่พบคือ การติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) เฉียบพลัน และมีอัตราการตายสูงมาก ในหนูจะพบอาการอ่อนเพลีย ไข้สูง มีของเหลวออกจากตาและจมูก เป็นเวลา 2 - 3 เดือนจึงตาย ในแพะและแกะสัตว์จะอ่อนแอและตายภายใน 1 - 7 วัน ส่วนในม้าจะพบมีไข้สูง ไอและมีของเหลวออกจากจมูก ปอดบวมอย่างรุนแรงและตาย (Blood et al., 1983; Jhonc et al., 1988) เชื้อ *B. pseudomallei* มีคุณสมบัติคล้ายกับพวก free-living bacteria เนื่องจากสามารถพบและมีชีวิตอยู่ได้ในสภาวะแวดล้อมโดยเฉพาะในดินและแหล่งน้ำในบริเวณที่มีการระบาดของโรค จากการสำรวจในช่วงแรกๆ ในประเทศไทยนั้น พบว่าเชื้อนี้กระจายกันอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ไม่ว่า

จะเป็นบริเวณที่มีการระบาดของโรคหรือไม่ก็ตาม แต่ในภายหลังก็ได้พบว่าเชื้อที่พบในสิ่งแวดล้อมดังกล่าวมีคุณสมบัติบางอย่างที่แตกต่างกันและเมื่อศึกษาอย่างละเอียด ก็พบว่าสามารถแบ่งเชื้อ *B. pseudomallei* ออกเป็นกลุ่ม(biotype) ใหญ่ ๆ 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่สามารถใช้น้ำตาล arabinose ได้ (Ara+) และอีกกลุ่มที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลได้ (Ara-) จากการทดลองในสัตว์ทดลองโดยนักวิจัยหลายกลุ่มในหลายประเทศ ได้แสดงอย่างแน่ชัดว่าเชื้อกลุ่ม Ara- เท่านั้นที่สามารถทำให้เกิดโรคได้ (virulent biotype) สำหรับเชื้อในกลุ่ม Ara+ ในปัจจุบันจัดว่าเป็นเชื้อประเภท avirulent/non-virulent biotype (Dharakul et al., 1999.; Thepthai et al., 2001)

ในการสำรวจครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *B.pseudomallei* โดยใช้วิธี Indirect hemagglutination (IHA) test ในเขตพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 4 เพื่อหาค่าเฉลี่ยร้อยละของโคนมและโคเนื้อที่ให้ผลบวกต่อโรคเมลิออยโดซิสจากการตรวจทางซีรัมวิทยา เพื่อให้ทราบสภาวะของโรคเมลิออยโดซิสแยกเป็นรายจังหวัด เพื่อที่จะนำข้อมูลมาประเมินหาความรุนแรงและใช้เป็นแนวทางในการวางแผนเฝ้าระวัง ป้องกัน และควบคุมโรคเมลิออยโดซิสต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างซีรัม

ตัวอย่างซีรัมโคนมและโคเนื้อ ซึ่งทางหน่วยงานราชการและเอกชนได้ส่งมาตรวจชันสูตรโรคในโครงการสร้างสถานภาพฟาร์มปลอดโรคบรูเซลโลซิส โรคพาราทูเบอร์คูโลซิส และโรคทูเบอร์คูโลซิส ที่ห้องปฏิบัติการอิมมูนและซีรัมวิทยา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(ตอนบน) กรมปศุสัตว์ ระหว่างเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2547 – เดือนมิถุนายน พ.ศ.2548 แยกเป็นซีรัมโคนม 10,616 ตัวอย่าง และซีรัมโคเนื้อ 1,432 ตัวอย่าง รวมเป็นซีรัม 12,048 ตัวอย่าง

แอนติเจน

แอนติเจนสำหรับตรวจโรคเมลิออยโดซิส ผลิตโดยกลุ่มงานอิมมูนและซีรัมวิทยา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(ตอนบน) ตามวิธีการของ Puapermpoonsiri et al. (1986) แต่ดัดแปลงใช้ protein - free medium แทน glycine broth ตามวิธีของ Homma et al. (1961) ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกได้จากสัตว์ชนิดต่าง ๆ จำนวน 4 สายพันธุ์ (โค, กระบือ, สุกร และแพะ)

การตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *Burkholdoria pseudomallei*

ทำการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *B.pseudomallei* ในซีรัมโคเนื้อและโคนมด้วยวิธี Indirect hemagglutination test (IHA) ตามวิธีการตรวจชันสูตรของ Puapermpoonsiri et al. (1986) โดยใช้แอนติเจนที่เตรียมได้จากการเลี้ยงเชื้อ *B. pseudomallei* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เคลือบบนเม็ดเลือดแดงแกะ แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับซีรัมที่ถูก inactivate ที่ 56^0c และ absorbed เอา heterophile antibody ออกเพื่อป้องกันแอนติบอดีที่เกิดขึ้นหลังจากการติดเชื้อ *B. pseudomallei* ทั้งที่จำเพาะต่อสิ่งอื่นๆที่ไม่เกี่ยวข้อง

กับ *B. pseudomallei* แล้วนำมาเจือจางเป็น serial dilution ดูปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงแกะ (hemagglutination) อ่านผลที่หลุมสุดท้ายที่เม็ดเลือดแดงแกะเกาะกลุ่มกัน รายงานผลเป็นค่าไตเตอร์ (IHA titer) ในการตรวจคัดกรองโรค(screening test)ครั้งนี้ ใช้ค่า IHA titer ≥ 1:80 เป็นจุดตัด(cut-off point) ซึ่งให้ค่าความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำของการทดสอบสูง โดยที่โคปกติให้ผลบวกลวง(false positive) 10% ส่วนที่จุดตัด 1:320 จะให้ค่าความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำสูงกว่าที่จุดตัด 1:80 เล็กน้อย แต่มีโอกาสผิดพลาดในการวินิจฉัยโคปกติที่ให้ผลลบลวง(false negative) สูง 29% (Mekaprateep et al., 1998)

ผล

ผลการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *B.pseudomallei* ในโคเนื้อและโคนม ในพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 4 จำนวน 12,048 ตัวอย่าง โดยวิธี Indirect hemagglutination test(IHA) พบว่าค่าไตเตอร์ที่พบมากที่สุดในโคนมคือ IHA titer 1:20 พบ 30.60%(3,249/10,616) ในโคเนื้อ คือ IHA titer 1:40 พบ 33.24%(476/1,432) และรวมตัวอย่างโคเนื้อและโคนมจะพบ IHA titer 1:20 มากที่สุด 29.18%(3,516/12,048) ผลจากการตรวจโดยใช้จุดตัดที่ IHA titer ≥ 1:80 เป็นการตัดสินผลบวกเพื่อการคัดกรองโรคพบว่าโคนม โคเนื้อ และตัวอย่างทั้งหมดพบผลบวก 18.39%(1,952/10,616), 25.84%(370/1,432) และ 19.27%(2,322/12,048) ตามลำดับ และพบตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจพบค่า IHA titer < 1:80 ในโคนมพบ 81.61%(8,664/10,616) และ โคเนื้อพบ 74.16%(1,062/1,432) รายละเอียดตามตารางที่ 2 และ 3

ผลการตรวจแยกเป็นรายจังหวัด ได้แก่จังหวัด ขอนแก่น กาฬสินธุ์ เลย มหาสารคาม หนองบัวลำภู หนองคาย สกลนคร และอุดรธานี ผลการตรวจแยกเป็นชนิดสัตว์ในโคนมพบผลบวก 20.39%, 15.84%, 7.69%, 13.81%, 25.27%, 14.85%, 13.87% และ 23.20% ตามลำดับ ในโคเนื้อพบผลบวก 30.43%, 24.05%, 14.16%, 21.32%, 36.43%, 25.00%, 20.72% และ 33.33% ตามลำดับ รายละเอียดตามตารางที่ 4

เมื่อนำผลมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีต่อเชื้อ *B.pseudomallei* ที่ระดับค่า IHA titer ≥ 1:80 จากตัวอย่างซีรัมที่ส่งตรวจทั้ง 8 จังหวัด จำนวน 12,048 ตัวอย่าง จะได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.38% และเมื่อตั้งสมมุติฐานที่ระดับความเชื่อมั่น 95% มีจังหวัดที่ให้ค่าเฉลี่ยที่สามารถตรวจพบผลบวกต่อโรคเมลิออยโดซิสเท่ากับ 17.38% ปรากฏว่าจากผลการตรวจซีรัมพบมีเพียงจังหวัดเลย ที่ให้ผลบวกต่อโรคเมลิออยโดซิสแตกต่างจากค่าเฉลี่ย จากนั้นนำค่าเฉลี่ยมาคำนวณหาค่าช่วงห่างจากค่าเฉลี่ยกลาง จะได้ค่าช่วงห่างต่ำสุด (lower) และสูงสุด(upper)จากค่าเฉลี่ยกลาง เท่ากับ -3.635% และ 4.045% ดังนั้นจะได้ค่าช่วงเปอร์เซ็นต์ที่จะตรวจพบระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *B.pseudomallei* เป็นบวกเฉลี่ยระหว่าง 13.75% - 21.43% รายละเอียดตามตารางที่ 5

ตาราง 1 จำนวนตัวอย่างซีรัมโคนมและโคเนื้อที่ส่งตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* แยกตามจังหวัด

จังหวัด	ชนิดสัตว์		รวม
	โคนม	โคเนื้อ	
ขอนแก่น	5,738	184	5,922
กาฬสินธุ์	461	79	540
เลย	1,404	113	1,517
มหาสารคาม	585	258	843
หนองบัวลำภู	364	129	493
หนองคาย	431	92	523
สกลนคร	137	304	441
อุดรธานี	1,496	273	1,769
รวม	10,616	1,432	12,048

ตาราง 2 แสดงระดับแอนติบอดี(IHA-titer)ต่อเชื้อ *B. pseudomallei* ของตัวอย่างส่งตรวจแยกตามชนิดสัตว์และระดับ IHA titer

ระดับแอนติบอดี (IHA-titer)	ชนิดสัตว์		รวม
	โคนม	โคเนื้อ	
< 1:10	956(9.01%)	61(4.26%)	1,017(8.44%)
1:10	2,516(23.70%)	258(18.02%)	2,774(23.02%)
1:20	3,249(30.60%)	267(18.65%)	3,516(29.18%)
1:40	1,943(18.30%)	476(33.24%)	2,419(20.08%)
1:80	1,143(10.77%)	223(15.57%)	1,366(11.34%)
1:160	498(4.69%)	101(7.05%)	599(4.97%)
1:320	202(1.90%)	27(1.89%)	229(1.90%)
1:640	63(0.59%)	9(0.63%)	72(0.60%)
1:1280	19(0.18%)	6(0.42%)	25(0.21%)
1:2560	13(0.12%)	3(0.21%)	16(0.13%)
1:5120	14(0.13%)	1(0.07%)	15(0.12%)
รวม	10,616	1,432	12,048

ตาราง 3 แสดงผลบวกและผลลบ จากระดับแอนติบอดี(IHA-titer)ต่อเชื้อ *B. pseudomallei* โดยใช้ระดับค่า IHA-titer ≥ 1:80 เป็นจุดคัดกรอง(screening test)

ระดับภูมิคุ้มกัน (IHA-titer)	ชนิดสัตว์		รวม
	โคนม	โคเนื้อ	
< 1:80	8,664(80.61%)	10,62(74.16%)	9,726(80.73%)
≥ 1:80	1,952(18.39%)	370(25.84%)	2,322(19.27%)
รวม	10,616	1,432	12,048

ตาราง 4 แสดงจำนวนตัวอย่างที่ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* ให้ผลบวกต่อโรคเมลิออยโดซิสในโคนมและโคเนื้อแยกเป็นรายจังหวัด

จังหวัด	ชนิดสัตว์		รวม
	โคนม ตัวอย่าง(%Positive)	โคเนื้อ ตัวอย่าง(%Positive)	
ขอนแก่น	1,170(20.39)	56(30.43)	1,226(20.70)
กาฬสินธุ์	73(15.84)	19(24.05)	92(17.04)
เลย	108(7.69)	16(14.16)	124(8.17)
มหาสารคาม	79(13.81)	55(21.32)	134(16.14)
หนองบัวลำภู	92(25.27)	47(36.43)	139(28.19)
หนองคาย	64(14.85)	23(25.00)	87(16.63)
สกลนคร	19(13.87)	63(20.72)	82(18.59)
อุดรธานี	347(23.20)	91(33.33)	438(24.76)
รวม	1,952(18.39)	370(25.87)	2,322(19.27)

ตาราง 5 การทดสอบสมมุติฐานเพื่อหาค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีต่อเชื้อ *B.pseudomallei* ที่ระดับค่า IHA titer ≥ 1:80

จังหวัด	ค่าทดสอบ	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
						Lower	Upper
กาฬสินธุ์	16.76	2.304	7	0.281	9.651	6.361	16.342
ขอนแก่น	19.31	1.157	7	0.374	2.577	0.013	6.942
มหาสารคาม	15.49	-1.849	7	0.012	-5.976	-11.313	-1.042
เลย	6.93	0.462	7	0.548	0.902	-1.613	3.736
สกลนคร	16.82	-1.364	7	0.203	-0.981	-5.813	1.142
หนองคาย	15.79	0.847	7	0.008	-7.292	-12.213	-2.642
หนองบัวลำภู	25.91	-3.019	7	0.119	-1.383	-5.913	0.042
อุดรธานี	22.05	1.473	7	0.027	2.501	1.413	7.842
ค่าเฉลี่ย	17.38	0.001	7	0.197	0.000	-3.635	4.045

วิจารณ์และสรุปผล

จากผลการสำรวจสภาวะโรคเมลิออยโดซิสในโคนมและโคเนื้อในพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 4 จำนวน 8 จังหวัด พบว่าเมื่ออ่านผลที่ค่า IHA titer ≥ 1:80 เป็นจุดคัดกรองโรค พบตัวอย่างให้ผลบวก 19.27%(2,322/12,048) จากตัวอย่างทั้งหมด เมื่อแยกเป็นชนิดสัตว์ในโคนมและโคเนื้อจะพบผลบวก 18.39%(1,952/10,616) และ 25.84%(370/1,432) ตามลำดับ และจากการสำรวจจะพบว่าอัตราการพบแอนติบอดีต่อเชื้อ *Burkholdoria pseudomallei* ที่ระดับ IHA titer ≥ 1:80 ในโคเนื้อและโคนมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับผลการสำรวจโคนมปกติในจังหวัดขอนแก่น ซึ่งพบให้ผลบวกต่อโรค 9.44%(67/710) (Mekaprateep et al., 1998) แสดงให้เห็นว่าพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 4 มีความชุกของโรคสูงโดยเฉพาะจังหวัดหนองบัวลำภู อุดรธานี และขอนแก่น พบว่าเปอร์เซ็นต์ที่พบผลบวก(28.19%, 24.76% และ 20.70% ตามลำดับ)สูงกว่าค่าเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยที่จะตรวจพบผลบวกต่อโรคเมลิออยโดซิส ดังนั้นจะต้องมีการเฝ้าระวังและติดตามโรคเป็นพิเศษ ส่วนจังหวัดมุกดาหารไม่มีตัวอย่างส่งตรวจ และจังหวัดนครพนมจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจมีจำนวนน้อย(13 ตัวอย่าง) จึงไม่สามารถนำมาสรุปผลได้

จากผลการสำรวจจะพบว่าผลบวกในโคนมและโคเนื้อมีค่าใกล้เคียงกัน 18.39% และ25.84% ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยที่ตรวจพบในแต่ละจังหวัดอยู่ในช่วง 13.75 % ถึง 21.43 % อาจสรุปได้ว่าพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 4 มีลักษณะการระบาดของโรคเป็นแบบ endemic โคเนื้อและโคนมในท้องที่จำนวนหนึ่งน่าจะเคยสัมผัสเชื้อมาก่อน ดังนั้นมาตรการการตรวจคัดกรองโรคจึงเป็นสิ่งจำเป็น โดยมีรายงานว่าเมื่อใช้ค่าจุดตัด ≥ 1:40 พบผลบวกลวง (false positive) 29% และผลลบลวง (false negative)19% (Alexander et al , 1970 และ Appassakij et al.,1990) Mekaprateep et al. (1998) รายงานว่าเมื่อใช้จุดตัดที่ ≥ 1:40 ในการแปลผลตัวอย่างในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคพบว่ามีความจำเพาะเพียง 69% และถ้าใช้ ที่จุดตัด ≥ 1:160 ค่าความไว ความจำเพาะและความแม่นยำ เป็น 77% ,92 % และ 89% ตามลำดับ การวินิจฉัยโรคในสัตว์ Mekaprateep et al. (1998) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับค่าไตเตอร์ขอบเขตและได้แนะนำให้ใช้ไตเตอร์ที่จุดตัด ≥ 1:80 ในการตรวจคัดกรองโรค (screening test) ซึ่งให้ค่าความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำของการทดสอบเท่ากับ 86%, 91% และ 91%ตามลำดับ สำหรับการวินิจฉัยโรคเบื้องต้นในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคควรใช้ไตเตอร์ที่จุดตัด ≥ 1:320 ซึ่งให้ค่าความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำของการทดสอบ เท่ากับ 71%, 99%, และ 99% ตามลำดับ แต่มีโอกาสผิดพลาดในการวินิจฉัยโรคในโคปกติที่ให้ผลลบลวง(false negative) สูง 29% (Mekaprateep et al., 1998) ปัจจุบันศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(ตอนบน) ใช้ค่า IHA titer ที่ ≥ 1:80 เป็นจุดคัดกรองโรค

สรุปโรคเมลิออยโดซิสในโคเนื้อและโคนมทำให้เกิดโรคในสัตว์ทั้งแบบแสดงอาการ แบบไม่แสดงอาการ แบบเรื้อรังและแบบเฉียบพลัน ซึ่งในการตรวจวินิจฉัยเพื่อชันสูตรโรคเมลิออยโดซิสในสัตว์ที่แสดงอาการแบบเฉียบพลันนั้นจะแยกจากอาการที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ได้ยากเนื่องจากมีอาการที่คล้ายคลึงกัน ดังนั้นสัตว์ที่ให้ผลบวกควรได้รับการเฝ้าระวังโรคและทำการทดสอบโรคซึ่งต้องใช้วิธี IHA หรือวิธีการทางซีรัมวิทยาอื่นที่มีความไวและความจำเพาะสูงกว่าหรือเป็นวิธีที่สามารถยืนยันว่า มีการติดเชื้ออยู่ในขณะนั้น เช่น วิธี complement fixation test ซึ่งใช้ได้ผลดีในแพะและสุกร (Thomas et al., 1988.; Thomas et al., 1990) วิธี indirect fluorecent antibody test หรือ ELISA หรือ Dot Immunoassay สำหรับตรวจหา IgG หรือ IgM ซึ่งจะใช้ได้ผลดีในคน(Ashdown et al., 1989.; Khupulsup and Petchclai., 1986.; Wongratanacheewin et al., 1995.) ซึ่งวิธีดังกล่าวอาจจะช่วยให้สามารถคัดแยกโคที่เป็นโรคแต่ไม่แสดงอาการหรือแสดงอาการไม่เด่นชัดออกจากฝูงไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการอิมมูนและซีรัมวิทยา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ตอนบน) จ.ขอนแก่น ที่ให้ความร่วมมือในการตรวจโรคเมลิออยโดซิส ขอบคุณนายสัตวแพทย์และเจ้าหน้าที่ฝ่ายสุขภาพสัตว์สำนักงานปศุสัตว์จังหวัด รวมทั้งเจ้าหน้าที่ในโครงการสถานะภาพฟาร์มปลอดโรคบรูเซลโลซิส ทูเบอร์คูโลซิส และพาราทูเบอร์คูโลซิส ในพื้นที่ สสอ.ที่ 4 ทุกท่านที่ได้ช่วยประสานงานและเก็บตัวอย่างส่งตรวจที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ตอนบน)

เอกสารอ้างอิง

สมใจ ศรีหาคิม นิยมศักดิ์ อุปทุม ประภาส เนรมิตมานสุข และนิมิต ลีสิริกุล. 2523. รายงานเบื้องต้นของโรคมงคล่อเทียมในแพะและสุกร. สัตวแพทย์สาร 31(4) : 233-241.

สมพนธ์ บุญยคุปต์. 2526. เมลิออยโดซิสยอดนักเลียนแบบ. รามาธิบดีเวชชสาร 6(2) : 140-147.

Alexander, A.D., Huxsoll, D.L., Warner, A.R.Jr., Shepler, V. and Dorsey, A. 1970. Serological diagnosis of human melioidosis with indirect hemagglutination and complement fixation tests. Appl. Microbiol. 20 : 825-833.

Appassakij, H., Silpapojakul, K., Wansit, R. and Pornpalkul, M. 1990. Diagnostic value of the indirect hemagglutination test for melioidosis in an endemic area. Am. J. Trop. Med. Hyg. 42(3) : 248-253.

Ashdown, L.R., Jhonson, R.W., Koehler, J.M. and Cooney, C.A. 1989. Enzyme-Linked immunosorbent assay for the diagnosis of clinical and subclinical melioidosis. J. Infect. Dis. 160(2) : 253-260.

Blood, D.E., DeShazer, D., Moore, R.A., et al. 1983. Current studies in the pathogenesis of melioidosis. Microbes. Infect. 1: 157-162.

Corkill, M. and Cornere, B. 1987. Melioidosis : a new disease to New Zealand. NZ. Med. J. 100 : 106-107.

Dharakul, T., Tassaneetrithep, B., Trakulsomboon, S. and Songsivilai, S. 1999. Phylogenetic analysis of Ara+ and Ara- *Burkholderia pseudomallei* isolates and development of a multiple PCR procedure for rapid discrimination between the two biotypes. J. Clin. Microbiol. 37: 1906-12.

Homma, J.Y., Hamamura, N. and Aschizawa, Y. 1961. The Chromatographic purification of the bacteriophage and endotoxin of *Pseudomonas aeruginosa.* Japan J. Microbiol. 6(2) : 149-155.

Jhone, F.D., Wuthiekanun, V., Naigowit, P. And White, N.J. 1988. Identification of *Pseudomonas pseudomallei* in clinical practice: use of simple screening tests. J. Clin. Pathol. 42 : 645–648.

Khupulsup, K. and Petchclai, B. 1986. Application of indirect hemagglutination test and indirect fluorescent antibody test for IgM antibody for diagnosis of melioidosis in Thailand. Am. J. Trop. Med. Hyg. 35(2) : 366-369.

Klos, H. and Lang, E.M. 1982. Handbook of zoo medicine. In: Diseases and treatment of wild animals in zoos, game parks, circuses and private collections. Van Nostrand Reinhold Company, New York, USA. 453 p.

Leelarasamee, A. and Bovorukitti, S. 1989. Melioidosis : Review and update. Rev. Infect. Dis. 11 : 413-425.

Leelarasmee, A., Suwanna, T., Kusum, M. and Dejsirilert, S. 1997. Isolation rates of *Burkholderia pseudomallei* among the four regions in Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth. 28(1) : 107-113.

Mekaprateep, M., Jiwakanon, N., Jongkajornpong, L. Wara-assawapati, W. and Leesirikul, N. 1998. Use of indirect hemaggltination(IHA) test for serodiagnosis of melioidosis in dairy cow. J. Thai. Vet. Med. Assoc. 49 : 35-44.

Puapermpoonsiri, S., Puapermpoonsiri, P., Bhuripanyo, K., Vilachai, C. and Auncharoen, A. 1986. Indirect hemagglutination antibody titer to *Pseudomonas pseudomallei* in patients with melioidosis. In: Proceedings of National Workshop on melioidosis. Bangkok Medical Publisher. Bangkok, Thailand. p.193-196.

Thepthai, C., Dharakul, T., Smithikarn, S., Trakulsomboon, S. and Songsivilai, S. 2001. Differentiation between non-virulent and virulent *Burkholderia pseudomallei* using monoclonal antibodies that specifically recognize the Ara+ or Ara- biotypes. Am. J. Trop. Med. Hyg. 65(1): 10-12.

Thomas, A.D., Spinks, G.A., D'Arcy, T.L., Norton, J.H. and Trueman, K.F. 1988. Evaluation of four serological tests for the diagnosis of caprine melioidosis. Aust. Vet J. 65(9) : 261-264.

Thomas, A.D., Spinks, G.A., D'Arcy, T.L. and Hoffmann, D. 1990. Evaluation of a modified complement fixation test and indirect hemagglutination test for the serodiagnosis of melioidosis in pig. J. Clin. Microbiol. 28(8) : 1874-1875.

Upatoom, N., Thitisak, W., Leesirikul, N., Likitdecharoj, B. and Somsatitkul, S. 1984. Bovine melioidosis : A case report. Thai J. Vet. Med. 14(1) : 65-69.

Vuddhakul, V., Tharavichitkul, P. and Na-ngam, N. 1999. Epidemiology of *Burkholderia pseudomallei* in Thailand. Am. J. Trop. Med. Hyg. 60 : 458-461.

Wallach, J.D. and Boever, W.J. 1983. Medical and Surgical Management. In : Diseases of Exotic Animals. W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA. 1159 p.

Wongprompitak, P., Thepthai, C., Songsivilai, S. and Dharakul T. 2001. *Burkholderia pseudomallei* specific recombinant protein and its potential in the diagnosis of melioidosis. Asian Pac. J. Allergy Immunol. 19(1): 37-41.

Wongratanacheewin, S., Amornpunt, S., Sermswan, R.W., Tattawasart, U. and Wongwajana, S. 1995. Use of culture-filtrated antigen in an ELISA and a dot immunoassay for the diagnosis of melioidosis. Southeast Asian. J. Trop Med. Public Health. 26(2) : 329-334.

Serological survey on Melioidosis in Dairy Cow and Beef Cattle in Regional Bureau of Animal Health and Sanitary 4.

Phichet Tongpan[1*] Laksanaporn Jongkajhonpong[1] Apirom Charoenchai[1]

[1] Northeast Veterinary Research and Development Center (Upper part) Livestock Development

[1*] Corresponding author Tel. 0-4326-1246, E-mail : vrd_ne@yahoo.com

Abstract

The serological survey of melioidosis in dairy cow and beef cattle in 8 provinces Regional Bureau of Animal Health and Sanitary 4 was investigated using indirect hemagglutination(IHA) test. During June 2004 – July 2005 period, 12,048 serum samples from dairy cow and beef cattle were tested for antibodies to *Burkholderia pseudomallei*. The positive results using the IHA titer $\geq$ 1 : 80 cut-off value were 19.27%(2,322/12,048) as a whole which devided into 18.39%(1,952/10,616) in dairy cow and 25.84%(370/1,432) in beef cattle. This serological data is useful for understanding the melioidosis situation in Regional Bureau of Animal Health and Sanitary 4 and lead to surveillance, prevention and control the disease in the future.

Key word : Melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*, IHA, Dairy Cow, Beef Cattle