การศึกษาทางซีรัมวิทยาต่อโรคเมลิออยด์โดยวิธี Indirect haemagglutination และการเพาะเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย

สุกัญญา นาคสุนทร* ปริญญา พันนุฤทธิ์

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ต. ท่าพระ อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40260

*ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ: โทรศัพท์/โทรสาร 043-261246 e-mail: sukanyanaksoontorn@hotmail.com

บทคัดย่อ

ทำการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ซึ่งเป็นสาเหตุของของโรคเมลิออยด์ โดยวิธี Indirect haemagglutination (IHA) จากซีรัมปศุสัตว์ได้แก่ โค สุกร และแพะ จำนวน 3,132 ตัวอย่าง และสัตว์ชนิดอื่นได้แก่ อูฐ และกวาง จำนวน 224 ตัวอย่าง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ระหว่างปี พ.ศ. 2554–2558 พบผลบวกในปศุสัตว์ 127/3,132 (4.05%) แยกเป็นผลบวกใน โค 8/1,612 (0.50%) สุกร 16/191 (8.38%) และแพะ 103/1,329 (7.75%) โดยจังหวัดที่พบผลบวกมากที่สุดคือ หนองบัวลำภู 13/116 (11.21%) รองลงมาคือ นครพนม 12/118 (10.17%) และเลย 15/195 (7.69%) สำหรับในอูฐและกวางพบแอนติบอดีไตเตอร์ระดับต่างๆ ตั้งแต่ $\leq$ 1:80-1:1280 นอกจากนี้ได้เพาะเชื้อ *B. pseudomallei* จากอวัยวะของปศุสัตว์และสัตว์ชนิดอื่นจำนวน 162 ตัว โดยสัตว์ดังกล่าวแสดงอาการทางคลินิก เช่น มีไข้ เบื่ออาหาร มีน้ำมูกน้ำตา เป็นต้น จากการผ่าซากพบวิการที่สงสัยโรคเมลิออยด์ ผลการเพาะเชื้อพบสัตว์ที่ให้ผลบวกจำนวน 6/9, 16/18, 99/108, 15/15 และ 9/12 ใน โค สุกร แพะ อูฐ และกวาง ตามลำดับ

คำสำคัญ : โรคเมลิออยด์ *Burkholderia pseudomallei* IHA

บทนำ

โรคเมลิออยด์ (Melioidosis) หรือมงคล่อเทียม เป็นโรคติดเชื้อที่เกิดจากแบคทีเรียชนิดแกรมลบรูปแท่งที่มีชื่อว่า *Burkholderia pseudomallei (B. pseudomallei*) (Yabuuchi et al.,1992) โรคนี้พบได้ทั้งในคนและสัตว์โดยมีรายงานพบโรคนี้ครั้งแรกในแกะในประเทศออสเตรเลียในปี1949 (Cottew et al., 1952) มีรายงานการพบเชื้อในสัตว์หลายชนิดเช่น โค กระบือ แพะ แกะ กวาง ม้า ม้าลาย อูฐ ลา ล่อ หมีแพนด้า จิงโจ้ สุนัข แมว ลิง ชะนี อุรังอุตัง กระต่าย หนู หนูตะเภา กระรอก แมวน้ำ จระเข้ โลมา และนกแก้ว (Ketterer et al., 1986; Dance et al., 1992; Currie et al., 1994) สัตว์ที่ไวต่อการติดเชื้อได้แก่ สุกร แพะ และแกะ โดยจากการศึกษาของ Choy et al. (2000) ในประเทศออสเตรเลียพบว่า แพะ แกะ อูฐ และอัลปากา มีความไวต่อโรคนี้สูง ในขณะที่สุกรและกวางมีความไวต่อเชื้อในระดับปานกลาง สุนัข แมว นก และโคมีความไวต่อเชื้อในระดับต่ำ สัตว์ที่ติดเชื้อจะซูบผอมและตายในที่สุด (Ileri, 1965) การติดเชื้อโดยการหายใจ การกินหรือเชื้อเข้าทางบาดแผล (Thomas et al., 1988) รอยโรคที่พบได้แก่ ปอดบวมและเป็นฝีตามอวัยวะต่างๆ โดยฝีหนองที่พบส่วนใหญ่จะมีลักษณะคล้ายเนยมีสีเขียวเหลืองเป็นตุ่มเล็กๆ จำนวนมาก โดยทั่วไปฝีหนองจะพบได้ตามต่อมน้ำเหลือง ปอด ตับ ม้าม และเนื้อเยื่อต่างๆ ทั่วร่างกายโรคมักมีความรุนแรงเมื่อร่างกายสัตว์อยู่ในสภาวะที่ความต้านทานลดลง ในสัตว์ไม่นิยมทำการรักษาเพราะต้องใช้เวลานานและใช้ยาหลายชนิดซึ่งอาจส่งผลต่อคุณภาพซาก สิ้นเปลือง และการรักษามักไม่ค่อยได้ผล (Mollaret, 1998) ลักษณะของโรคเมลิออยด์เป็นแบบเรื้อรังและคล้ายคลึงกับโรคอื่นๆ อีกหลายชนิดในคนอาจเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและรุนแรงซึ่งบางครั้งอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยรายที่มีภูมิต้านทานต่ำ นับว่าเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทยโดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และยังพบว่าเป็นสาเหตุการตายของโรคติดเชื้อมากถึงร้อยละ 50 (Chawagul et al., 1989; White, 2003) จากรายงานการติดเชื้อในคนพบอัตราป่วยสูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด อุบลราชธานี หนองบัวลำภู กาฬสินธุ์ สุรินทร์ ร้อยเอ็ด มุกดาหาร และสกลนคร (ศาริกา, 2550)

การระบาดของโรคนี้พบได้ทั่วโลกโดยพบมากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มาร์ดากาสการ์และประเทศออสเตรเลีย (Howe et al., 1971; Patamasucon et al., 1982; Amemiya et al., 2015) และมีความสำคัญทางด้านสาธารณสุขโดยเฉพาะในพื้นที่ที่พบเชื้อ (endemic area) โดยมีรายงานในคนที่เข้าไปทำงานใน endemic region ที่น่าจะเกี่ยวข้องกับโรคเมลิออยด์ (Ngauy et al., 2005; Kronmann et al., 2009; Zhang et al., 2012) ในประเทศไทยมีการศึกษาของพิเชฐและคณะ (2549) ที่ศึกษาความชุกทางซีรัมวิทยาในปศุสัตว์ใน 8 จังหวัดทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนโดยใช้เทคนิค Indirect haemagglutination (IHA) พบความชุก 19.27% ในปีถัดมามีรายงานการศึกษาทางซีรัมวิทยาโดยใช้เทคนิคเดียวกันใน 18 จังหวัดทั่วประเทศพบผลบวกในแพะ 0.33% สุกร 7.23% โค 2.56% กวาง 7.23% และแกะ 6.83% (Srikawkheaw et al., 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานของนิตยา และคณะ (2551) ศึกษาโรคนี้ในโค กระบือ แพะ แกะ และสุกร ใน 12 จังหวัดภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยใช้เทคนิค Indirect

haemagglutination (IHA) พบความชุก 6.07% โดยมีผลบวกทางซีรัมวิทยาในจังหวัดชัยภูมิ อุบลราชธานี และมุกดาหาร จำนวน 52.86%, 17.22% และ 6.93% ตามลำดับ ปัจจุบันกรมปศุสัตว์ให้ความสำคัญในการเฝ้าระวังโรคดังกล่าวโดยใช้การตรวจด้วยวิธี IHA ซึ่งถือเป็นวิธีวินิจฉัยเบื้องต้น (Dharakul et al., 1997) เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่าย ราคาไม่แพง และสามารถทราบผลได้อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามเทคนิคดังกล่าวไม่สามารถระบุได้ว่าสัตว์เป็นโรคจำเป็นต้องใช้การตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการโดยการเพาะแยกเชื้อ

การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสถานการณ์ปัจจุบันของโรคเมลิออยด์ในสัตว์ทั้งในปศุสัตว์และสัตว์ชนิดอื่น ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน โดยการตรวจทางซีรัมวิทยาและเพาะเชื้อแบคทีเรียระหว่างปี พ.ศ. 2554 ถึง 2558

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างส่งตรวจ

ตัวอย่างซีรัมและอวัยวะภายในสัตว์จาก โค สุกร แพะ อูฐ และกวาง จาก 12 จังหวัดในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ดังนี้

- ตัวอย่างซีรัม: เป็นตัวอย่างที่เก็บจากสัตว์ที่แสดงอาการป่วยและสงสัยโรคเมลิออยด์และสัตว์ปกติที่สุขภาพดี ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2554 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2558 รวม 3,356 ตัวอย่าง แยกเป็น โค 1,612 ตัวอย่าง สุกร 191 ตัวอย่าง แพะ 1,329 ตัวอย่าง อูฐ 78 ตัวอย่าง และกวาง 146 ตัวอย่าง

- ตัวอย่างอวัยวะ: ได้แก่ ปอด ตับ ม้าม และไต ของสัตว์ที่มีอาการป่วยและตายโดยแสดงอาการต่างๆ เช่น มีไข้ ไอ มีน้ำมูกน้ำตา ซูบผอม ข้อบวม เป็นต้น รวม 162 ตัว แยกเป็นรายชนิดสัตว์ได้แก่ โค 9 ตัว สุกร 18 ตัว แพะ 108 ตัว อูฐ 15 ตัว และกวาง 12 ตัว ซึ่งผลการผ่าซากพบรอยโรคที่อวัยวะภายใน เช่น พบตุ่มฝีหนอง ปอดอักเสบ ม้ามโต

การทดสอบทางซีรัมวิทยาโดยวิธี IHA

การเตรียม 5% และ 0.5% glutaraldehyde treated sRBC (sheep red blood cell)

เจาะเลือดแกะเก็บไว้ในสารกันเลือดแข็งตัว ได้แก่ Alsever's solution ในอัตราส่วน 1:1 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-6°C อย่างน้อย 3 วัน ก่อนนำมาใช้นำเลือดมาแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 – 2,500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 15–18°C นาน 10 นาที เพื่อแยกเอาส่วนที่เป็น Alsever's solution ทิ้ง แล้วทำการล้างเม็ดเลือดด้วยสารละลาย PBS pH 7.2-7.4 จำนวน 3 ครั้ง ในการล้างแต่ละครั้งให้ทำการดูดชั้นเม็ดเลือดขาวอยู่ที่ผิวด้านบนของชั้นเม็ดเลือดแดงออก จากนั้นนำเม็ดเลือดแดงแกะที่ล้างแล้วมาเจือจางด้วย PBS pH 7.2-7.4 ด้วยอัตราส่วนเม็ดเลือดแดง 1 ส่วน ต่อ PBS 9 ส่วน แล้วเติม 2.5% glutaraldehyde ลงไปในเลือดแกะที่เจือจางแล้วด้วยอัตราส่วน 2.5% glutaraldehyde 1 ส่วน ต่อเม็ดเลือดแดงเจือจาง 5 ส่วน ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง shaking water bath ที่ความเร็วรอบ 175-200 รอบ/นาที อุณหภูมิ 37°C

ประมาณ 90-120 นาที เลือดที่ได้จะมีสีน้ำตาลเข้ม นำมาปั่นล้างด้วย PBS pH 7.2-7.4 ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 – 2,500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 15–18°C นาน 10 นาที จำนวน 3 ครั้ง นำเม็ดเลือดที่เคลือบด้วย glutaraldehyde มาเตรียมเป็น 5% glutaraldehyde treated RBC (treated sRBC) ด้วย PBS pH 7.2-7.4 แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-6°C (Puapermpoonsiriet al., 1986)

การเตรียม 0.5% melioidin coated antigen

เตรียมตามวิธีการของ Puapermpoonsiri et al. (1986) แต่ดัดแปลงใช้ protein-free medium (Homma et al., 1961) แทน glycine broth ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกได้จากสัตว์ชนิดต่างๆ จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ โค แพะ สุกร กวาง และอูฐ บน Blood agar ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24-48 ชั่วโมง แล้วนำเชื้อที่ได้ไปเพาะเลี้ยงต่อใน Tryptic soy broth ที่ 37°C เป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ แล้วนำไปนึ่งเพื่อฆ่าเชื้อหลังจากนั้นนำมาปั่นแยกเอา supernatant แล้วเติม phenol 0.5% ทำการเจือจางแอนติเจนด้วย PBS ในอัตราส่วน 1:640 และเตรียม 1% treated sRBC จาก 5% treated sRBC นำทั้ง 2 ส่วนมารวมกัน และผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง magnetic stirrer ความเร็วรอบ 175-200 รอบ/นาที ในตู้อบที่อุณหภูมิ 37°Cประมาณ 90 นาทีหรือผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง magnetic stirrer แล้วแช่เย็นที่ 4°C ข้ามคืน จากนั้นนำมาล้างด้วยสารละลาย PBS pH 7.2-7.4 จำนวน 3 ครั้ง โดยทำการปั่นเหวี่ยงที่ 2,000-2,500 รอบต่อนาที นานครั้งละ 10 นาที หลังจากนั้นนำเลือดที่เคลือบด้วยแอนติเจนมาทำให้เป็น 0.5% melioidin antigen โดยเจือจางกับ PBS แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-6°C แล้วนำไปทำ block titration เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดสอบโดยวิธี IHA (Puapermpoonsiri et al., 1986)

การทดสอบโดยวิธี IHA

ทดสอบตามวิธีของ Puapermpoonsiri et al. (1986) โดยนำตัวอย่างซีรัมที่ต้องการทดสอบใส่ในหลอดทดลองขนาด 12x100 มิลลิลิตร หลอดละ 50 ไมโครลิตร แล้วนำไป inactivate ใน water bath ที่อุณหภูมิ 56°C สำหรับซีรัมโคหรืออุณหภูมิ 62°C สำหรับซีรัมแพะ สุกร กวาง และอูฐ นาน 30 นาที ซีรัมที่ inactivate แล้วมา absorb ด้วย 5% treated sRBC หลอดละ 450 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 45 นาที เพื่อเอา heterophile antibody ออก เพื่อป้องกันแอนติบอดีที่เกิดขึ้นหลังจากการติดเชื้อ *B. pseudomallei* นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 2,000-2,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำ absorbed serum มาใช้ทดสอบ ขั้นตอนการทดสอบโดยเติม PBS ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในไมโครเพลท 96 หลุม (u-shape) หลุมที่ 2-11 ของทุกแถว แล้วเติม absorbed serum ลงในหลุมที่ 1, 2 และ 12 ของแต่ละแถว แล้วทำ serial dilution จากหลุมที่ 2 ถึง 9 เติม 0.5% melioidincoated antigen ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่ 1 ถึง 10 และเติม 0.5% treated sRBC ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในหลุมที่ 11 และ 12 เขย่าด้วยเครื่อง plate shaker ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 90 นาที ดูปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงแกะ (haemagglutination) อ่านผลที่หลุมสุดท้ายที่เม็ดเลือดแดงแกะเกาะกลุ่มกัน รายงานผลเป็นค่าไตเตอร์ (IHA titer)

การตัดสินผล: ค่าIHA titer ≥1:160 อ่านผลเป็นบวก

ค่าIHA titer <1:160 อ่านผลเป็นลบ

(สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, 2549)

การตรวจหาเชื้อ *B. pseudomallei*

การเพาะแยกเชื้อทางแบคทีเรีย (Bacterial culture)

นำตัวอย่างอวัยวะภายในสัตว์มาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5% Sheep Blood agar (Difco, England) McConkey agar (Difco™, France) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C ในภาวะมีที่มีออกซิเจนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะพบโคโลนีของเชื้อ *B. pseudomallei* บน blood agar มีสีขาวนวลหรือสีครีมขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร ลักษณะกลมนูน ขอบเรียบ และเปียกชื้นเล็กน้อยเมื่อมีอายุมากกว่า 24 ชั่วโมงจะพบเชื้อมีขนาดโคโลนีใหญ่ขึ้น จะพบเกิด α-hemolysis รอบๆ โคโลนี ถ้าหากทิ้งไว้นานเกิน 48 ชั่วโมงจะเปลี่ยนเป็น β-hemolysis โคโลนีจะมีลักษณะหยาบขึ้น และเหี่ยวย่น (wrinkled) มีลักษณะเป็นเส้นนูนแผ่เป็นรัศมีออกจากจุดศูนย์กลาง ลักษณะโคโลนีของเชื้อเมื่อเจริญบน McConkey agar กลุ่ม non-Lactose fermenter มีขนาดกลมเล็ก แห้งเล็กน้อย เมื่อเชื้อมีอายุมากขึ้นจะมีโคโลนีสีชมพูอมม่วง โคโลนีมีกลิ่นเฉพาะคล้ายกลิ่นไอระเหยจากดินหลังฝนตกใหม่

การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *B. pseudomallei* เชื้อจะให้ผลบวกต่อ oxidase และ catalase ใช้น้ำตาล glucose แบบ oxidative ส่วนน้ำตาลอื่น ๆ จะให้ผลบวก สามารถเปลี่ยนไนเตรทไปเป็นไนไตรท์และก๊าซไนโตรเจน

การแปลผลและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การหาความชุกทางซีรัมวิทยา โดยคำนวณจาก

$$\text{ระดับความชุก (Prevalence)} = \frac{\text{จำนวนสัตว์ที่ให้ผลบวกทางซีรัมวิทยา}}{\text{จำนวนสัตว์ทั้งหมดที่เก็บตัวอย่าง}}$$

(ไพบูลย์, 2538)

ผลการทดสอบ

ผลการทดสอบทางซีรัมวิทยาโดยวิธี IHA

ผลการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *B. pseudomallei* โดยวิธี IHA ในโค สุกร และแพะ รวม 3,132 ตัวอย่าง พบผลบวก 127/3,132 (4.05%) แยกเป็น โค 8/1,612 (0.50%) สุกร 16/191 (8.38%) และแพะ 103/1,329 (7.75%) โดยในโคจังหวัดที่ให้ผลบวกมากสุดคือ หนองบัวลำภู 2/55 (3.64%) รองลงมาคือ อุดรธานี 2/158 (1.27%) ขอนแก่น 3/766 (0.39%) และมหาสารคาม 1/389 ตัวอย่าง (0.26%) ในสุกรพบมากสุดในจังหวัด อุดรธานี 5/41 (12.2%) ขอนแก่น 9/84 (10.71%) และเลย 2/27 ตัวอย่าง (7.41%)

วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ (Thai-NIAH eJournal): ISSN 1905-5048. http://niah.dld.go.th.Volume 10 Number 3 (Jan-Apr 2016) : 97-111

ส่วนในแพะพบมากสุดในจังหวัด หนองบัวลำภู 11/61 (18.03%) รองลงมาคือ นครพนม 12/97 (12.37%) เลย 13/119 (10.92%) มหาสารคาม 32/307 (10.42%) อุดรธานี 9/106 (8.49%) ขอนแก่น 18/290 (6.21%) และกาฬสินธุ์ 8/216 ตัวอย่าง (3.70%) สำหรับจังหวัด บึงกาฬ มุกดาหาร ร้อยเอ็ด สกลนคร และหนองคาย ไม่พบ IHA titer ในตัวอย่างที่เก็บจากจังหวัดดังกล่าว (ตารางที่ 1)

ผลการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *B. pseudomallei* ใน อูฐ และกวางพบ IHA titer ในระดับต่างๆ ได้แก่ IHA titer ≤1:80, 1:160, 1:320, 1:640 และ 1:1280 ในอูฐ จำนวน 63, 3, 4, 5 และ 3 ตัวอย่าง ตามลำดับ โดยเป็นตัวอย่างจากจังหวัดขอนแก่นเพียงจังหวัดเดียว ในกวางพบ IHA titer ดังกล่าวแยกเป็นจังหวัดอุดรธานี จำนวน 89, 2, 6, 1 และ 0 ตัวอย่าง หนองบัวลำภู จำนวน 21, 1, 0, 1 และ 0 ตัวอย่าง ส่วนจังหวัดมหาสารคามและขอนแก่นพบเฉพาะ IHA titer ≤1:80 จำนวน 18 และ 7 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ผลการตรวจหาเชื้อ *B. pseudomallei*

ผลการเพาะเชื้อ *B. pseudomallei* จากอวัยวะโค สุกร แพะ อูฐ และกวาง จำนวน 162 ตัว พบเชื้อในโค จำนวน 6/9 ตัว สุกร 16/18 ตัว แพะ 99/108 ตัว อูฐ 15/15 ตัว และกวาง 9/12 ตัว โดยในโคจังหวัดที่ให้ผลบวกมากสุดคือ หนองบัวลำภู จำนวน 2/2 ตัว อุดรธานี 2/2 ตัว และขอนแก่น 2/3 ตัว ในสุกรพบมากสุดในจังหวัด อุดรธานี จำนวน 5/5 ตัว เลย 3/3 ตัว และขอนแก่น 8/10 ตัว ในแพะพบมากสุดในจังหวัดนครพนม จำนวน 13/13 ตัว หนองบัวลำภู 11/11 ตัว อุดรธานี 9/9 ตัว กาฬสินธุ์ 8/8 ตัว มหาสารคาม 30/32 ตัว เลย 11/12 ตัว และขอนแก่น 17/23 ตัว สำหรับอูฐซึ่งเก็บตัวอย่างจากจังหวัดขอนแก่นเพียงแห่งเดียวพบเชื้อจากทุกตัวอย่างที่ส่งตรวจ (15/15) และกวางพบมากสุดในจังหวัดหนองบัวลำภู 1/1 ตัว และอุดรธานี 8/10 ตัว (ตารางที่ 3)

ในกลุ่มที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* สำหรับปศุสัตว์ โคทั้ง 6 ตัวมี IHA titer ≥1:160 ในสุกรและแพะส่วนใหญ่มี IHA titer ≥1:160 มีเพียงชนิดละ 1 ตัวที่มี IHA titer ≤1:80 สำหรับสัตว์ชนิดอื่น อูฐ และกวางทั้งหมดที่ตรวจมี IHA titer ≥1:160 (ตารางที่ 4)

ในกลุ่มที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. pseudomallei* ในปศุสัตว์ โคและสุกรมี IHA titer ≤1:160 โดยในโค 1/3 และ 2/3 มี IHA titer ≤1:80 และ 1:160 ตามลำดับ ในสุกรมี IHA titer ที่ระดับ ≤1:80 และ 1:160 อย่างละ 1 ตัวอย่าง ส่วนในแพะมี IHA titer ตั้งแต่ ≤1:80-1:640 โดยในแพะ 4/9, 2/9, 2/9 และ 1/9 มี IHA titer ≤1:80, 1:160, 1:320, และ 1:640 ตามลำดับ สำหรับในสัตว์ชนิดอื่น ในอูฐตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* จากทุกตัวอย่าง และในกวาง 1/3 และ 2/3 มี IHA titer ≤1:80 และ 1:320 ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *B. pseudomallei* โดยวิธี IHA ในโค สุกร และแพะรายจังหวัด

จังหวัด	รวม	ชนิดสัตว์		
		โค	สุกร	แพะ
กาฬสินธุ์	8/316[a](2.53)[b]	0/61	0/39	8/216(3.70)
ขอนแก่น	30/1140(2.63)	3/766(0.39)	9/84(10.71)	18/290(6.21)
นครพนม	12/118(10.17)	0/21	-	12/97(12.37)
บึงกาฬ	0/47	0/25	-	0/22
มหาสารคาม	33/696(4.74)	1/389(0.26)	-	32/307(10.42)
มุกดาหาร	0/13	-	-	0/13
ร้อยเอ็ด	0/55	-	-	0/55
เลย	15/195(7.69)	0/49	2/27(7.41)	13/119(10.92)
สกลนคร	0/63	0/63	-	-
หนองคาย	0/68	0/25	-	0/43
หนองบัวลำภู	13/116(11.21)	2/55(3.64)	-	11/61(18.03)
อุดรธานี	16/305(5.25)	2/158(1.27)	5/41(12.20)	9/106(8.49)
รวม	127/3,132(4.05)	8/1,612(0.50)	16/191(8.38)	103/1,329(7.75)

หมายเหตุ

a จำนวนผลบวก/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ

b %ที่ให้ผลบวก

- ไม่มีตัวอย่าง

ตารางที่ 2 ผลการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *B. pseudomallei* โดยวิธี IHA ในอูฐ และกวาง รายจังหวัด

ชนิดสัตว์	จังหวัด	รวม	IHA Titer				
			≤1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
อูฐ	ขอนแก่น	78	63	3	4	5	3
กวาง	อุดรธานี	98	89	2	6	1	0
	หนองบัวลำภู	23	21	1	0	1	0
	มหาสารคาม	18	18	0	0	0	0
	ขอนแก่น	7	7	0	0	0	0
รวม		224	198	6	10	7	3

ตารางที่ 3 ผลการตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* ในสัตว์แต่ละชนิดรายจังหวัด

จังหวัด	รวม	ชนิดสัตว์				
		โค	สุกร	แพะ	อูฐ	กวาง
กาฬสินธุ์	8/8	-	-	8/8	-	-
ขอนแก่น	42/52	2/3	8/10	17/23	15/15	0/1
นครพนม	13/13	-	-	13/13	-	-
มหาสารคาม	30/34	0/2	-	30/32	-	-
เลย	14/15	-	3/3	11/12	-	-
หนองบัวลำภู	14/14	2/2	-	11/11	-	1/1
อุดรธานี	24/26	2/2	5/5	9/9	-	8/10
รวม	145/162	6/9	16/18	99/108	15/15	9/12

หมายเหตุ :

- ไม่มีตัวอย่าง

ตารางที่ 4 ผลการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันใน โค สุกร แพะ อูฐ และกวาง ที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei*

ชนิดสัตว์	รวม	IHA Titer				
		≤1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
โค	6	0	3	1	1	1
สุกร	16	1	7	5	1	2
แพะ	99	1	68	24	4	2
รวม	121	2	78	30	6	5
อูฐ	15	0	3	4	5	3
กวาง	9	0	3	4	2	0
รวม	24	0	6	8	7	3

ตารางที่ 5 ผลการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันใน โค สุกร แพะ อูฐ และกวาง ที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. pseudomallei*

ชนิดสัตว์	รวม	IHA Titer				
		≤1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
โค	3	1	2	0	0	0
สุกร	2	1	1	0	0	0
แพะ	9	4	2	2	1	0
รวม	14	6	5	2	1	0
อูฐ	0	0	0	0	0	0
กวาง	3	1	0	2	0	0
รวม	3	1	0	2	0	0

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้พบว่า ผลการตรวจโรคเมลิออยด์ทางซีรัมวิทยาโดยวิธี IHA ในโค สุกร และแพะ ระหว่างปี พ.ศ. 2554-2558 จาก 12 จังหวัดในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ให้ผลบวกทางซีรัมวิทยาในสัตว์ทุกชนิด โดยใช้เกณฑ์ที่กำหนดคือ IHA titer 1:160 สัตว์ที่พบผลการทดสอบเป็นบวกมาก

ที่สุดคือ แพะ 103/1,329 (7.75%) รองลงมาคือ สุกร 16/191 (8.38%) และโค 8/1,612 ตัว (0.50%) สำหรับแพะและสุกร การที่พบผลบวกสูงอาจเนื่องจากสัตว์ดังกล่าวไวต่อการติดเชื้อ *B. pseudomallei* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเมลิออยด์ (Ileri, 1965) โดยจังหวัดที่พบผลบวกมากสุดคือ หนองบัวลำภู 13/116 (11.21%) รองลงมาคือ นครพนม 12/118 (10.17%) และเลย 15/195 (7.69%) ซึ่งทั้ง 3 จังหวัดพบความชุกมากที่สุด ในแพะอาจเป็นไปได้ว่ามีการเลี้ยงแพะในพื้นที่ที่มีประวัติการเกิดโรคเมลิออยด์มาก่อนแล้ว แต่ไม่พบผลบวกในแพะจากจังหวัด บึงกาฬ มุกดาหาร ร้อยเอ็ด สกลนคร และหนองคาย ทั้งนี้อาจเนื่องจากจำนวนตัวอย่างส่งตรวจมีจำนวนน้อยและบางจังหวัดก็ไม่มีตัวอย่างของสัตว์บางชนิด สำหรับการศึกษาโรคเมลิออยด์ทางซีรัมวิทยาในปศุสัตว์ของประเทศไทย พิเชฐ และคณะ (2549) รายงานความชุกในปศุสัตว์ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน เท่ากับ 19.27% ในขณะที่นิตยา และคณะ (2551) รายงานความชุกของโรคในปศุสัตว์ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือเพียง 6.07% สำหรับการตรวจโรคเมลิออยด์ทางซีรัมวิทยา โดยวิธี IHA ของสัตว์ชนิดอื่น ได้แก่ อูฐและกวาง พบ IHA titer ในระดับต่างๆ ตั้งแต่ ≤1:80 ถึง 1:1280 โดยส่วนใหญ่ 198/224 (88.39%) มี titer ≤1:80 ในอูฐมีตัวอย่างซีรัมจากจังหวัดขอนแก่นเพียงแห่งเดียวและส่วนใหญ่ มี titer ≤1:80 ส่วนในกวางมี titer ตั้งแต่ ≤1:80–1:640 โดยตัวอย่างส่วนใหญ่มาจากจังหวัดอุดรธานี 98/224 (43.75%) ส่วนตัวอย่างจากจังหวัดมหาสารคามและขอนแก่นมี IHA titer ≤1:80 ทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 2) สำหรับการตรวจทางซีรัมวิทยาโดยวิธี IHA ในอูฐและกวางในประเทศไทยยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน และยังไม่มีการกำหนดเกณฑ์ตัดสินในสัตว์ชนิดดังกล่าว ซึ่งควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปโดยการเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสัตว์ที่สุขภาพปกติในพื้นที่ที่เป็น endemic area ของโรคนี้อาจมีระดับภูมิคุ้มกันจากการตรวจด้วยวิธีดังกล่าวสูงได้ (Srikitjakarn et al., 2002; Srikawkheaw et al., 2007) ดังนั้นการตรวจทางซีรัมวิทยาเพียงวิธีเดียวจึงไม่สามารถสรุปการเป็นโรคในสัตว์ได้

ผลการเพาะแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากตัวอย่างอวัยวะภายในได้แก่ ปอด ตับ ม้าม และไตของโค สุกร และแพะ พบว่าแพะตรวจพบเชื้อสูงถึง 91.67% (99/108) รองลงมาคือ สุกร 88.89% (16/18) และโค 66.67% (6/9) โดยการกระจายของสัตว์ที่ตรวจพบเชื้อพบว่าจังหวัดขอนแก่นมีจำนวนสัตว์ที่ตรวจพบเชื้อดังกล่าวมากที่สุด (ตารางที่ 3) ทั้งนี้ส่วนหนึ่งอาจเนื่องจากจังหวัดดังกล่าวมีตัวอย่างของสัตว์แต่ละชนิดที่ทำการศึกษามากกว่าจังหวัดอื่น ข้อมูลนี้บ่งชี้ถึงความสำคัญของโรคนี้ในบางพื้นที่และบางจังหวัดที่ควรเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่องและการที่พบแพะที่ให้ผลบวกจำนวนมากในหลายจังหวัดก็ชี้ให้เห็นว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนเป็นพื้นที่ที่เป็น endemic area ของโรคนี้ นอกจากนี้การที่พบเชื้อในจำนวนค่อนข้างสูงเนื่องจากเป็นกลุ่มสัตว์ป่วย โดยอาการที่พบโดยทั่วไปคือ ซูบผอม มีน้ำมูก น้ำตา มีไข้ บางตัวมีอาการไอ ข้อบวม อย่างไรก็ตาม โรคเมลิออยด์ไม่มีอาการเฉพาะของโรค จึงไม่อาจสรุปได้ว่าอาการดังกล่าวบ่งชี้หรือสงสัยโรคเมลิออยด์ ส่วนผลการตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* ในอูฐและกวางพบว่าอูฐที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัดขอนแก่นให้ผลบวกทุกตัวอย่างในขณะที่กวางพบตัวบวกในจังหวัด

อุดรธานี 80% (8/10) และหนองบัวลำภู 100% (1/1) ข้อมูลดังกล่าวบ่งชี้ว่าควรมีการเฝ้าระวังโรคเมลิออยด์ในสัตว์ชนิดอื่นด้วยนอกเหนือจากปศุสัตว์ เนื่องจากโรคดังกล่าวเป็นโรคสัตว์ติดคน และในระยะหลังมีการนำสัตว์ดังกล่าวมาใช้เพื่อการท่องเที่ยวเพิ่มมากขึ้นเป็นผลให้คนมีความเสี่ยงในการสัมผัสสารคัดหลั่งจากสัตว์ที่ติดเชื้อซึ่งอาจไม่แสดงอาการป่วย ดังนั้นนอกเหนือจากการเฝ้าระวังโรค ควรมีคำแนะนำเพื่อป้องกันการรับเชื้อเข้าสู่ร่างกาย เช่นหลังจากคลุกคลีกับสัตว์ควรล้างมือให้สะอาด ไม่หยิบอาหารกินโดยไม่ล้างมือเป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากโรคนี้สามารถติดต่อถึงคนโดยการกินดังมีรายงานการติดเชื้อในคนจากการกินในประเทศออสเตรเลีย (Choy et al., 2000) สำหรับการรายงานโรคนี้ในประเทศไทยจากการเพาะเชื้อ Limmathurotsakul et al. (2012) พบโรคในแพะ 31 สุกร 8 โค 4 และสัตว์อื่นได้แก่ อูฐ จระเข้ ลิง ม้าลาย กวาง และม้า อย่างละ 1 ตัว โดยเหตุที่พบโรคนี้สูงในแพะ การนำนมแพะมาบริโภคจึงจำเป็นต้องผ่านกระบวนการ pasteurization เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค สำหรับตัวอย่างที่ควรเก็บเพื่อเพาะเชื้อนอกเหนือจาก ปอด ตับ ม้าม และไต ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มีรายงานว่าสามารถเพาะเชื้อจากต่อมน้ำเหลืองได้ (Choy et al., 2000)

นอกจากการศึกษาข้อมูลของโรคเมลิออยด์ในปศุสัตว์และสัตว์ชนิดอื่นทั้งจากการเพาะเชื้อและการตรวจทางซีรัมวิทยาโดยวิธี IHA แล้ว ผู้วิจัยได้ตั้งข้อสังเกตถึงผล IHA titer ในสัตว์ที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* พบว่า ในโคที่ตรวจพบเชื้อมี titer ≥1:160 ในขณะที่สุกร และแพะ จำนวน 15/16 (93.75%) และ 98/99 (98.99%) มี titer ≥1:160 ตามลำดับ มีเพียงชนิดละ 1 ตัวที่มี titer ≤1:80 (ตารางที่ 4) สำหรับอูฐและกวางพบว่าตัวที่ตรวจพบเชื้อทั้งหมดมี titer ≥1:160 โดยส่วนใหญ่มีค่า titer ระหว่าง 1:160-1:640 (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวไม่อาจสรุปถึงเกณฑ์ตัดสิน IHA titer ใน อูฐ และกวาง ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยเพิ่มจำนวนตัวอย่างที่ทำการศึกษา และเมื่อตั้งข้อสังเกตข้อมูลของสัตว์ ที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. pseudomallei* พบว่าในโค สุกร และแพะ ที่ไม่พบเชื้อมี titer ตั้งแต่ ≤1:80 ถึง 1:640 ในขณะที่กวางที่ไม่พบเชื้อมี titer ≤1:80 และ 1:320 (ตารางที่ 5) ข้อมูลดังกล่าวบ่งชี้ว่าการตรวจทางซีรัมวิทยาควรใช้เพื่อศึกษาถึงพื้นที่ที่ปลอดเชื้อโดยการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันในสัตว์ที่ไวต่อเชื้อเป็นตัวตรวจสอบ นอกจากนี้ยังใช้ศึกษาความชุกของโรคในระดับฝูงหรือในระดับพื้นที่ว่าพื้นที่ใดมีความเสี่ยงของโรคมากน้อยเพียงใดและใช้เป็นการวินิจฉัยโรคเบื้องต้นโดยที่ยังไม่สามารถชี้เฉพาะถึงการเป็นโรคได้จำเป็นต้องใช้การเพาะเชื้อเพื่อยืนยันโรค จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าตัวอย่างที่เก็บในปศุสัตว์จาก 5 จังหวัด ได้แก่ บึงกาฬ มุกดาหาร ร้อยเอ็ด สกลนคร และหนองคาย ไม่พบ IHA titer จากทุกตัวอย่าง แต่ข้อมูลดังกล่าวไม่เพียงพอที่จะสรุปได้ว่าจังหวัดดังกล่าวปลอดเชื้อ *B. pseudomallei* เนื่องจากการกระจายของตัวอย่างอาจไม่มากเพียงพอจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มอิมมูนและซีรัมวิทยาและกลุ่มแบคทีเรียและเชื้อรา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ที่ให้ความร่วมมือในการตรวจโรคเมลิออยด์ ขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายสุขภาพสัตว์ สำนักงานปศุสัตว์จังหวัด สำนักงานปศุสัตว์เขต4 ที่ได้ช่วยประสานงานและเก็บตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

นิตยา ศรีแก้วเขียว ลัขณา รามริน เบญจลักษณ์ รัตนอุรดินทร์ และสุรีย์ ธรรมศาสตร์. 2551. “การศึกษาทางซีรัมวิทยาต่อโรคเมลิออยโดซิสในปศุสัตว์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างปี 2550 -2551”. วารสารอิเล็กทรอนิกส์สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. ปี 2008: หน้า 156-166. [Online]. Available: http://www.dld.go.th/niah, V3N2. [27 ตุลาคม 2551]

นิตยา ศรีแก้วเขียว องอาจ เลาหวินิจ. 2551. การศึกษาการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG ต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* โดยวิธี ELISA และวิธี Indirect haemagglutination test (IHA). เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46: สาขาสัตว์ และสัตวแพทย์ศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 375-382.

พิเชฐ ทองปัน ลักษณาภรณ์ จงขจรพงษ์ และอภิรมย์ เจริญไชย. 2549. “การสำรวจทางซีรัมวิทยาของโรคเมลิออยโดซิสในโคนมและโคเนื้อ ในพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่4”. วารสารอิเล็กทรอนิกส์สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. ปี 2006: หน้า 64-76. [Online]. Available: http://www.dld.go.th/niah, V1N1. [18 กรกฎาคม 2549]

ไพบูลย์ โล่สุนทร. 2538. การวัดการป่วยและการตาย. ระบาดวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. หน้า 51-68.

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์. 2549. คู่มือมาตรฐานการชันสูตรโรคเมลิออยโดสิสโดยวิธีทางซีรัมวิทยา. กรมปศุสัตว์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 1-11.

ศาริกา พัฒนสิน. 2550. โรคเมลิออยโดซิส (Melioidosis). สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค 2550. สำนักระบาดวิทยา. 53-55.

Amemiya, K., Dankmeyer, J.L., Fetterer, D.P., Worsham, P.L., Welkos, S.L. and Cote, C.K. 2015. Comparison of the early host immune response to two widely diverse virulent strains of *Burkholderia pseudomallei* that cause acute or chronic infections in BALB/c mice. Microbial Pathogenesis. 86: 53-63.

Chawagul, W., White, N.J., Dance, D.A.B., Wattanagoon, Y., Naigowit, P., Davis, T.M.E., community-acquired septicemia in northeastern Thailand. J. Infect. Dis. 159: 890-899.

Choy, J.L., Mayo, M., Janmaat, A. and Currie, B.J. 2000. Animal melioidosis in Australia. Acta Tropica. 74: 153-158.

Cottew, G.S., Sutherland, A.K., Meehan, J.F. 1952. Melioidosis in sheep in Queensland. Description of an outbreak. Aust. Vet. J. 28: 113-123.

Currie, B., Smith-Vanghan, H., Golledge, C., Buller, N., Sriprakash, K.S. and Kemp, D.J. 1994. *Pseudomonas pseudomallei* isolates collected over 25 years from a non-tropical endemic focus show clonality on the basis of ribotyping. Epidemiol. Infect. 113: 307-312.

Dance, D.A., King, C., Aucken, H., Knott, C.D., West, P.G. and Pitt, T.L. 1992. An outbreak of melioidosis in imported primates in Britain. Vet Rec. 13: 525-529.

Dharakul, T., Songsivili, S., Anuntagool, N., Chaowagul, W., Wongbunnate, S., Intachote, P. and Sirisinha, S. 1997. Diagnosis value of an antibody enzyme-linked immunosorbent assay using affinity-purified antigen in an area endemic for melioidosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 56: 418-423.

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.

Howe, C., Sampath, A. and Spotnitz, M. 1971. The pseudomallei group: a review. J. Infect. Dis. 124: 598-606.

Ketterer, P.J., Webster, W.R., Shield, J., Arthur, R.J., Blackall, P.J. and Thomas, A.D. 1986. Melioidosis in intensive piggeries in south eastern Queensland. Aust. Vet. J. 63: 146-149.

Kronmann, K.C., Troett, A.A., Hale, B.R. and Crum-Cianflone, N.F. 2009. Melioidosis after brief exposure: a serological survey in US Marines. Am. J. Trop. Med. Hyg. 80: 182-184.

Limmathurotsakul, D., Thammasart, S., Warrasuth, N., Thapanagulsak, P., Jatapai, A., Pengreungrojanachai, V., Anun, S., Joraka, W., Thongkamkoon, P., Saiyen, P., Wongratanacheewin, S., Day, N.P.J. and Peacock, S.J. 2012. Melioidosis in Animals, Thailand 2006-2010. 18(2): 325-327.

Ileri, S.Z. 1965. The indirect hemagglutination test in the diagnosis of melioidosis in goats. Br. Vet. J. 121: 164-170.

Mollaret, H. 1998. L'Affaire du jardin des plantes. Medecineet Maladies Infectieuses Special November: 643-654.

Ngauy, V., Lemeshev, Y., Sadkowski, L. and Crawford, G. 2005. Cutaneous melioidosis in a man who was taken as a prisoner of war by the Japanese during World War II. J. Clin. Microbial. 43: 970-972.

Patamasucon, P., Schaad, U.B., Nelson, J.D. and Pediatr, J. 1982. Melioidosis Med. 100: 175-182.

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.

Srikawkheaw, N. and Lawhavinit, O. 2007. Detection of antibodies against Melioidosis from animal sera in Thailand by Indirect haemagglutination test. Kasetsart J. (Nat Sci.) 41: 81-85.

Srikitjakarn, L., Sirimalaisuwan, A., Khattiya, R., Krueasukhon, K. and Mekaprateep, M. 2002. Seroprevalence of melioidosis in dairy cattle in ChiangMai Province, northern Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 33: 739-741.

Thomas, A.D., Forbes-Faulkner, J.C., Norton, J.H. and Trueman, K.F. 1988. Clinical and pathological observations on goats experimentally infected with *Pseudomonas pseudomallei*. Aust. Vet. J. 65: 43-46.

White, N.J. 2003. Melioidosis. Lancet. 361: 1715–1722.

Yabuuchi, E., Kosako, Y., Oyaizu, H., Yano, I., Hotta, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T. and Arakawa, M. 1992. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. Nov. Microbiol. Immunol. 36: 1251-1275.

Zhang, S., Wear, D.J., Kim, H.S., Weina, I. and Stojadinovic, A. 2012. Development of hydrolysis probe-based real-time PCR for identification of virulent gene targets of *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei*-a retrospective study on archival case of service member with melioidosis and glanders. Med. 177: 216-221.

Serological study of Melioidosis using Indirect haemagglutination test and Bacterial culture in animals in Upper Northeastern Thailand

Sukanya Naksoontorn* Parinya Punurit

Veterinary Research and Development Center (Upper Northeastern Region),Thapra,Muang,Khonkaen,40260

*Corresponding author: Tel/Fax. 043-261246, e-mail: sukanyanaksoontorn@hotmail.com

Abstract

Using indirect haemagglutination (IHA) test, antibody against *Burkholderia pseudomallei* caused of Melioidosis, was detected in a number of serum samples collected from livestock animal as cattle, swine and goat (3,132) and other animals as camel and deer (224). They were all raised in upper northeastern region of Thailand during the years 2011–2015. The result showed that 127/3,132 (4.05%) of the submitted serum samples were positive. Based on the livestock species, the positive numbers were 8/1,612 (0.50%), 16/191 (8.38%) and 103/1,329 (7.75%) in cattle, swine and goat, respectively. Moreover, in accordance with sampling location, a number of antibody-positive serum samples were collected from Nongbaulamphu 13/116 (11.21%), Nakhonphanom 12/118 (10.17%) and Loei 15/195 (7.69%). The serum samples collected from camel and deer had antibody titers between $\leq$ 1:80 to 1:1280. In addition, a total of 162 organ samples collected from livestock and other animals were cultured for *B. pseudomallei*. The animals showed some clinical signs such as fever, anorexia, nasal and ocular discharge, etc. From pathological study, there were some lesions suspected of Melioidosis. It was found that 6/9, 16/18, 99/108, 15/15 and 9/12 were positive in cattle, swine, goat, camel and deer, respectively.

Key words : Melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*, IHA