

ระบาดวิทยาและพยาธิวิทยาของโรคเมลิออยด์ในแพะในภาคตะวันตกของประเทศไทย

ระหว่างปี 2550 – 2559

รัตติยา นาคสุวรรณ^{1*}, ตระการศักดิ์ แพ้โธสง¹

บทคัดย่อ

ที่มาของการศึกษา : พื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทยเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงแพะจำนวนมาก แพะเป็นสัตว์ที่ไวต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* ซึ่งก่อโรคเมลิออยด์ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา พบแพะป่วยตายด้วยโรคเมลิออยด์อย่างต่อเนื่อง แต่ข้อมูลการเกิดโรคมียังไม่ถูกนำมารวบรวม วิเคราะห์และสรุปผลให้เป็นปัจจุบัน การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรายงานระบาดวิทยาและพยาธิวิทยาของโรคเมลิออยด์ในแพะในภาคตะวันตกของประเทศไทย

วิธีการ : รวบรวมข้อมูลประวัติสัตว์ป่วยและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจากฐานข้อมูลการชันสูตรซากแพะจำนวน 223 ตัว ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก ระหว่างปี พ.ศ. 2550 – 2559 วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา และวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคเมลิออยด์ในแพะโดยใช้สถิติ odds ratio และ chi square test

ผล : ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* จากซากแพะ คิดเป็น 18.39% มีอายุเฉลี่ยที่ 2 ปี 4 เดือน (ช่วงอายุ 1 เดือนถึง 9 ปี) ส่วนใหญ่เป็นแพะเนื้อ (97.56%) และเพศเมีย (75.61%) จังหวัดราชบุรีมีจำนวนแพะป่วยตายสูงสุด (92.68%) และพบมากในช่วงหน้าฝนและต้นฤดูหนาวระหว่างเดือนสิงหาคมถึงธันวาคม โดยแพะที่มีอายุมากกว่า 12 เดือน (OR = 4.06, 95% CI = 1.79 - 9.21) และน้ำที่ใช้เลี้ยงแพะไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน (OR = 13.07, 95% CI = 2.66 - 64.15) เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเมลิออยด์ในแพะ แพะที่ป่วยแสดงอาการระบบทางเดินหายใจสูงสุด (56.41%) รองลงมาคือ ระบบสืบพันธุ์ (30.77%) ลักษณะรอยโรคที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าที่สำคัญคือก้อนหนอง ซึ่งมักพบที่ม้าม ไต ปอด และต่อมน้ำเหลือง ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* โดยการเพาะแยกเชื้อได้จากหลายอวัยวะ อีกทั้งยังสามารถตรวจพบเชื้อได้จาก ปัสสาวะ เลือด และอวัยวะจากลูกแพะ เมื่อทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อไวต่อยา amoxicillin-clavulanic acid, ceftazidime, doxycycline, imipenem และ tetracycline คิดเป็น 100% ส่วนยา trimethoprim-sulfamethoxazole คิดเป็น 84.62%

สรุป : พื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทยเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคเมลิออยด์ในแพะและมีแนวโน้มการติดเชื้อสูงขึ้น การลดความเสี่ยงโดยการใช้พื้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน และการเฝ้าระวังโรคในกลุ่มแพะพ่อ-แม่พันธุ์ จะช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดโรคเมลิออยด์ในแพะได้ หน่วยงานภาครัฐและเกษตรกรสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการเฝ้าระวัง ควบคุม และป้องกันการติดเชื้อและแพร่กระจายเชื้อในฟาร์ม อีกทั้งควรระมัดระวังในการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันการเกิดปัญหาเชื้อดื้อยาตามมา

คำสำคัญ : แพะ ระบาดวิทยา โรคเมลิออยด์ พยาธิวิทยา ภาคตะวันตกของประเทศไทย

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก ตู้ ปณ. 18 อำเภोजอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150

*ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ โทร. 0-3291-9575 โทรสาร 0-3291-9575 ต่อ 114 E-mail: viewyvetgg@gmail.com

Epidemiology and Pathology of Caprine Melioidosis in Western Thailand during 2007 – 2016

Rattiya Naksuwan^{1*}, Trakarnsak Paethaisong¹

Abstract

Backgrounds: The western Thailand has a large number of goats, which are susceptible to *Burkholderia pseudomallei* infection called melioidosis. During the last decade, the goats died from melioidosis continuously, but the informative data of the disease has not been collected and updated. The objective of this study is to inform the epidemiology and pathology of caprine melioidosis in western Thailand.

Methods: The histological data and laboratory results were collected from databases of 223 goat carcasses submitted to western veterinary research and development center during 2007 – 2016. The information was analyzed by descriptive statistics using odds ratio and chi square test for risk factors analysis of caprine melioidosis.

Results: The *B. pseudomallei* was isolated from 18.39% of goat carcasses. The average age of goats was 2.4 years (1 month – 9 years). Most of them were meat goats (97.56%) and female (75.61%). The highest number of fatal goats was shown in Ratchaburi province (92.68%). Most goats died during rainy season to early winter in August to December. The risk factors found in this study were the goat age of 12 months and more (OR = 4.06, 95% CI = 1.79 - 9.21) and using of untreated water supply with chlorine (OR = 13.07, 95% CI = 2.66 - 64.15). The most clinical signs were found in respiratory (56.41%) and reproductive systems (30.77%), respectively. The major lesions were abscesses found in spleens, kidneys, lungs, and lymph nodes. The *B. pseudomallei* was detected by bacterial isolation from many organs. In addition, *B. pseudomallei* was also isolated from urine, blood and aborted fetuses. The results of antimicrobial susceptibility of *B. pseudomallei* were 100% agreement with amoxicillin-clavulanic acid, ceftazidime, doxycycline, imipenem and tetracycline. For trimethoprim-sulfamethoxazole, the susceptibility was 84.62%.

Conclusions: The western Thailand is an endemic area of caprine melioidosis and tends to increase of infection. To reduce the incidence of caprine melioidosis, using chlorine-treated water and disease monitoring in breeding goats was suggested. This information can be used for the government and farmers to monitor, control and prevent the spread and infection of *B. pseudomallei* in goat farms. Additionally, the using of antibiotics should be performed carefully to prevent antimicrobial resistance.

Keywords: caprine, epidemiology, melioidosis, pathology, western Thailand

¹Veterinary Research and Development Center (Western Region), PO. Box 18, Chombueng, Ratchaburi province, 70150

*Corresponding author Tel. 0-3291-9575 Fax. 0-3291-9575 ext 114 E-mail : viewvetgg@gmail.com

บทนำ

โรคมะลิออยด์ (Meliodosis) เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง พบได้ในดินและแหล่งน้ำธรรมชาติ เชื้อมีความคงทน สามารถปรับตัวและเจริญเติบโตได้ในสภาวะแวดล้อมที่มีค่า pH 5-8 ในช่วงอุณหภูมิ 24-32 °C และสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ภายในดินที่มีความชื้นต่ำกว่า 10% นานถึง 70 วัน (Tong et al., 1996) พบการติดเชื้อดังกล่าวได้ทั้งในคน (Limmathurtsakul et al., 2010) และสัตว์หลายชนิด ได้แก่ โค แพะ แกะ สุกร อูฐ อัลปากา กวาง และ นก (Choy et al., 2000) แพะเป็นสัตว์ที่ไวต่อโรคมะลิออยด์ (Cheng and Currie, 2005) โดยมีปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อ เช่น การพบเชื้อ *B. pseudomallei* ในดินจากฟาร์มที่เลี้ยงแพะ การเลี้ยงแพะร่วมกับสัตว์ชนิดอื่นในฟาร์ม มีน้ำท่วมขังในฟาร์ม เป็นต้น (Musa et al., 2015) แพะที่เป็นโรคมะลิออยด์แสดงอาการได้หลายระบบ เช่น ระบบทางเดินหายใจ ระบบสืบพันธุ์ และระบบประสาท รอยโรคที่สำคัญคือ ก้อนหนองที่อวัยวะภายใน ได้แก่ ปอด ตับ ม้าม ไต เต้านม ต่อม้ำเหลือง เป็นต้น (Tonpitak et al., 2014) การติดเชื้อสู่คนและสัตว์สามารถติดต่อได้ทางบาดแผลที่ผิวหนัง การหายใจ และการกิน มีรายงานแพะป่วยตายด้วยโรคมะลิออยด์ในหลายประเทศ ได้แก่ ออสเตรเลีย แอฟริกาใต้ และมาเลเซีย (Van Der Lugt and Henton, 1995; Choy et al., 2000; Ouadah et al., 2006) ประเทศไทยมีรายงานแพะป่วยตายด้วยโรคมะลิออยด์ในหลายจังหวัด เช่น กรุงเทพมหานคร ขอนแก่น ฉะเชิงเทรา สกลนคร และสงขลา เป็นต้น (Limmathurtsakul et al., 2012; Tonpitak et al., 2014) จากรายงานของเฉจญา และคณะ (2557) พบแพะป่วยตายด้วยโรคมะลิออยด์ จำนวน 14 ตัว จากจังหวัดราชบุรีซึ่งอยู่ในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย มีการแสดงอาการที่หลากหลาย พบก้อนหนองจากหลายอวัยวะ ตรวจพบเชื้อได้สูงสุดจากปอดและม้าม

ภาคตะวันตกเป็นพื้นที่สำคัญของประเทศไทยที่มีการพัฒนาและส่งเสริมการเลี้ยงแพะ มีจำนวนแพะมากเป็นอันดับสองของประเทศรองจากพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมปศุสัตว์, 2560) จากผลการชันสูตรของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก (ไม่ได้ตีพิมพ์) พบแพะป่วยตายด้วยโรคมะลิออยด์ทุกปี ซึ่งข้อมูลทางด้านระบาดวิทยาและพยาธิวิทยาของโรคมะลิออยด์ในแพะในภาคตะวันตกของประเทศไทยยังไม่ถูกนำมารวบรวมวิเคราะห์และสรุปผลให้เป็นปัจจุบัน ทำให้ไม่สามารถจัดการปัญหา

การเกิดโรคดังกล่าวได้ ดังนั้นการศึกษารังนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรายงานข้อมูลด้านระบาดวิทยาและพยาธิวิทยาของโรคมะลิออยด์ในแพะในภาคตะวันตก ซึ่งเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์และเกษตรกรสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการวางแผนบริหารจัดการ ฝ้าระวัง ควบคุมและป้องกัน การแพร่กระจายและการติดเชื้อในสัตว์ในพื้นที่ที่พบการระบาดของโรครวมทั้งพื้นที่การเลี้ยงปศุสัตว์ทั่วไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

รวบรวมข้อมูลผลการเพาะแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากตัวอย่างอวัยวะ ได้แก่ หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ไต เต้านม มดลูก อัณฑะและต่อมมดลูก รวมทั้งส่งตรวจอื่น ๆ เช่น เลือด น้ำปัสสาวะ ก้อนหนองที่ขึ้นใต้ผิวหนัง และลูกท้างจากแพะจำนวน 223 ตัว ที่ส่งตรวจที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตกในระหว่างปี 2550 ถึง 2559 รวมทั้งข้อมูลผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ amoxicillin-clavulanic acid, ceftazidime, doxycycline, imipenem, tetracycline และ trimethoprim-sulfamethoxazole ด้วยวิธี broth microdilution (CLSI, 2016) จากห้องปฏิบัติการแบคทีเรียวิทยา และข้อมูลผลทางพยาธิวิทยาของแพะจำนวน 41 ตัว ที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* โดยวิธีการเพาะแยกเชื้อ ได้แก่ ลักษณะรอยโรคที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แบ่งเป็น รอยโรคแบบมีก้อนหนอง (abscess) รอยโรคอื่น ๆ และแบบไม่พบรอยโรค รวมทั้งผลการตรวจชิ้นเนื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจรอยโรคทางพยาธิวิทยาของอวัยวะที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei*

ข้อมูลด้านระบาดวิทยา

รวบรวมข้อมูลด้านระบาดวิทยาและประวัติการใช้ยาปฏิชีวนะของแพะที่ป่วยตายในระหว่างปี 2550 ถึง 2559 ที่ถูกส่งมาชันสูตรที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตกทั้งตัวอย่างซากและอวัยวะภายใน ได้แก่ หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ไต เต้านม มดลูก อัณฑะ และ ต่อมมดลูกของแพะที่ป่วยตายจำนวน 223 ตัว จากฟาร์ม 52 แห่ง ในจังหวัดกาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี และราชบุรี จากฐานข้อมูลประวัติสัตว์ที่ส่งชันสูตร ซึ่งได้จากการสอบถามเจ้าของสัตว์หรือผู้เลี้ยงสัตว์ในฟาร์ม ได้แก่ อายุ เพศ ชนิดแพะจำแนกเป็นแพะเนื้อและแพะนม จังหวัดที่ตั้งฟาร์ม ประวัติการนำเข้าแพะตัวที่ป่วยตายโดยเป็น

แพะที่นำเข้ามาเลี้ยงใหม่ภายในสามเดือนก่อนตายหรือเป็นแพะที่เลี้ยงอยู่เดิมในฟาร์ม น้ำที่ใช้เลี้ยงแพะในฟาร์มจำแนกเป็นน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ได้แก่ น้ำประปา ส่วนน้ำที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ได้แก่ น้ำจากบ่อน้ำผิวดินและน้ำบาดาล ระยะเวลาที่แพะแสดงอาการป่วยถึงตาย อาการที่พบจำแนกตามระบบต่าง ๆ ดังนี้ ระบบทางเดินหายใจ สัตว์แสดงอาการหายใจลำบาก หายใจหอบถี่ หรือมีน้ำมูก, ระบบสืบพันธุ์ สัตว์แสดงอาการแท้ง มีหนองไหลออกจากอวัยวะเพศ หรืออัมพาต, ระบบทางเดินอาหาร สัตว์แสดงอาการท้องอืด หรือท้องเสีย, ระบบทางเดินปัสสาวะ สัตว์แสดงอาการปัสสาวะไม่ออก

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลได้มาวิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนา รายงานผลเป็นร้อยละ และวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคเมลิออยด์โดยใช้สถิติ odds ratio และ chi square test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยเปรียบเทียบกลุ่มที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* กับกลุ่มที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. pseudomallei*

ผลและวิจารณ์

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ผลการเพาะแยกเชื้อทางแบคทีเรียวิทยา จากตัวอย่างซากและอวัยวะภายในของแพะจำนวน 223 ตัว ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* 18.39% (41/223) โดยตรวจพบเชื้อได้จากหลายอวัยวะได้แก่ หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ไต เต้านม มดลูก อัมพาต และต่อมน้ำเหลือง ดังตารางที่ 1 และพบเชื้อจากน้ำปัสสาวะจากตัวอย่างซากแพะที่พบเชื้อที่ไต 2 ตัวอย่าง เลือด 4 ตัวอย่าง ก้อนหนองที่ชั้นใต้ผิวหนัง 1 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากลูกแพะได้แก่ หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ไต และน้ำในกระเพาะอาหาร 1 ตัวอย่าง พบการติดเชื้อแบบแพร่กระจายโดยตรวจพบเชื้อที่อวัยวะภายในมากกว่า 2 อวัยวะ จำนวน 75.61% (31/41) และที่อวัยวะภายใน 1-2 แห่ง จำนวน 24.39% (10/41) อวัยวะที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* ส่วนใหญ่พบรอยโรคก้อนหนอง โดยสามารถแยกเชื้อจากก้อนหนองที่พบในอวัยวะต่าง ๆ สูงถึง 79.63% (86/108) (ตารางที่ 1) ซากแพะที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* ทั้งหมด 41 ตัวนี้ พบว่าตัวที่พบเชื้อจากก้อนหนองอย่างน้อย 1 แห่งพบมากถึง 87.80% (36/41) และตรวจไม่พบก้อนหนองแต่พบเชื้อ จำนวน 12.20% (5/41) ลักษณะก้อนหนองที่พบเชื้อมีขนาด 0.1-6.0 เซนติเมตร จำนวนตั้งแต่ 1 แห่งจนถึงกระจายทั่วอวัยวะ หนองมีลักษณะเหมือนครีมข้น และมีสีขาวจนถึงสีเหลืองครีม (รูปที่ 1, A-D) นอกจากนี้แล้วยังพบรอยโรคอื่น ๆ ร่วมด้วย ได้แก่ การอักเสบแบบไม่มีก้อนหนอง เลือดคั่ง

ตารางที่ 1 ผลการเพาะแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากอวัยวะต่าง ๆ ของแพะจำนวน 41 ตัวที่ป่วยตายด้วยโรคเมลิออยด์

อวัยวะ	% (จำนวนที่พบเชื้อ <i>B. pseudomallei</i> / จำนวนที่เพาะแยกเชื้อ)			
	มีก้อนหนอง	รอยโรคอื่น ๆ	ไม่พบรอยโรค	รวม
หัวใจ	50.00 (1/2)	35.71 (5/14) ^a	16.00 (4/25)	24.39 (10/41)
ปอด	76.92 (20/26)	30.00 (3/10) ^b	80.00 (4/5)	65.85 (27/41)
ตับ	44.44 (4/9)	87.50 (7/8) ^c	33.33 (8/24)	46.34 (19/41)
ม้าม	82.76 (24/29)	100.00 (2/2) ^d	66.67 (6/9)	80.00 (32/40)
ไต	90.48 (19/21)	57.14 (4/7) ^e	66.67 (8/12)	77.50 (31/40)
เต้านม	100.00 (2/2)	100.00 (1/1) ^f	100.00 (5/5)	100.00 (8/8)
มดลูก	100.00 (2/2)	87.50 (7/8) ^g	100.00 (3/3)	92.31 (12/13)
อัมพาต	100.00 (3/3)	0.00 (0/0)	0.00 (0/0)	100.00 (3/3)
ลำไส้	100.00 (1/1)	0.00 (0/3)	7.69 (1/13)	11.76 (2/17)
ต่อมน้ำเหลือง	76.92 (10/13)	100.00 (4/4) ^h	42.86 (3/7)	70.83 (17/24)
รวม	79.63 (86/108)	57.89 (33/57)	40.78 (42/103)	60.07 (161/268)

รอยโรคอื่น ๆ : ^a จุดเลือดออก (3/5), เลือดคั่ง (1/5) เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (1/5); ^b เลือดคั่งและบวม (3/3); ^c มีหนองเลือดออก (1/7), จุดหรือหนองสีขาว (6/7); ^d เลือดคั่ง (1/2), จุดหรือหนองสีขาว (1/2); ^e จุดหรือหนองสีขาว (2/4), เลือดคั่ง (1/4), นิว (1/4); ^f เลือดคั่ง (1/1); ^g หนองภายในโพรงมดลูก (7/7); ^h เลือดคั่ง (3/4), ขนาดใหญ่กว่าปกติ (1/4)

จุดเลือดออก บวม น้ำ จุด/หนองสีขาว มีนิว และอวัยวะมีขนาดใหญ่กว่าปกติ

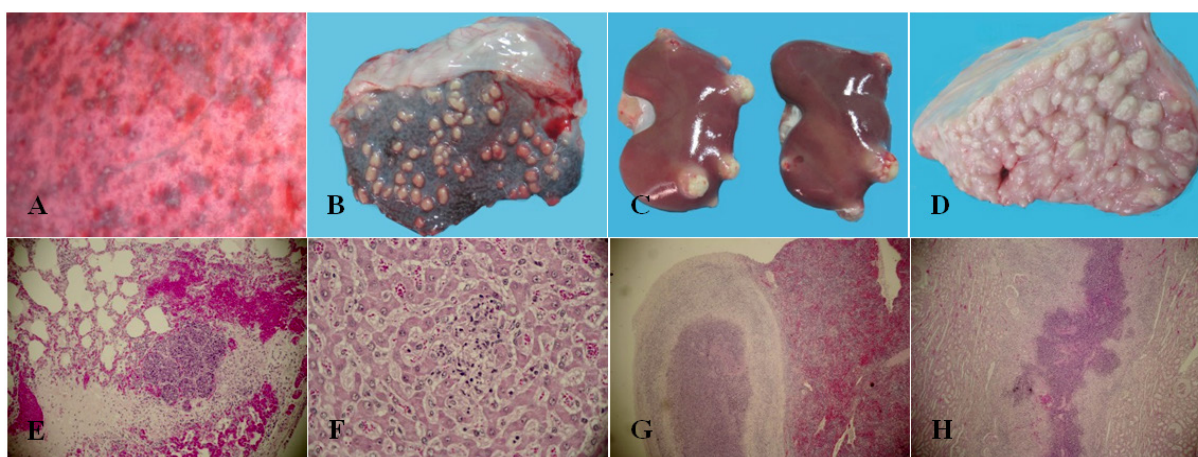
ลักษณะรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาจากตัวอย่างอวัยวะที่ตรวจพบเชื้อ พบว่าส่วนใหญ่มีการอักเสบแบบมีก้อนหนอง โดยมีเซลล์ที่ตายและเซลล์อักเสบชนิดนิวโทรฟิล (neutrophils) จำนวนมากภายในก้อนหนอง พบเซลล์อักเสบชนิดลิมโฟไซต์ (lymphocytes) และแมโครฟาจ (macrophages) ร่วมด้วย ในจำนวนที่ไม่แน่นอนแตกต่างกัน ทั้งยังพบมีเลือดคั่งตั้งแต่เล็กน้อยถึงรุนแรงในเนื้อเยื่ออวัยวะที่พบการติดเชื้อ พบการ

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความไวของเชื้อ *B. pseudomallei* ต่อยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะ	MIC breakpoint			ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยา			MICs (µg/ml)		
	S**	I	R	S	I	R	MIC range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
AMX/CLA*	≤8/4	16/8	≥32/16	39/39 (100.00%)	0	0	2/1-8/4	4/2	8/4
CAZ	≤8	16	≥32	39/39 (100.00%)	0	0	0.5-4	2	2
DOX	≤4	8	≥16	39/39 (100.00%)	0	0	0.5-4	2	2
IMP	≤4	8	≥16	39/39 (100.00%)	0	0	0.5-1	1	1
TET	≤4	8	≥16	39/39 (100.00%)	0	0	4	4	4
TRI/SUL	≤2/38	-	≥4/76	33/39 (84.62%)	0	6/39 (15.38%)	2/38-4/76	2/38	4/76

* AMX/CLA : Amoxicillin-Clavulanic acid, CAZ : Ceftazidime, DOX : Doxycycline, IMP : Imipenem, TET : Tetracycline, TRI/SUL : Trimethoprim-Sulfamethoxazole

** S : เชื้อไวต่อยาปฏิชีวนะ, I : เชื้อไวต่อยาปฏิชีวนะระดับปานกลาง R : เชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะ



รูปที่ 1 รอยโรคทางพยาธิวิทยาและจุลพยาธิวิทยาของแพะป่วยตายด้วยโรคเมลิอยด์ A: ปอด, ก้อนหนองขนาดเล็กจำนวนมากบริเวณผิวของปอด หนองมีสีขาวตรงกลางล้อมรอบด้วยเนื้อปอดที่มีเลือดคั่ง B: ม้าม, ก้อนหนองหลายแห่งกระจายทั่วม้าม มีลักษณะเป็นตุ่มนูนเหนือผิวม้าม C: ไต, พบ ก้อนหนองหลายแห่ง มีลักษณะเป็นตุ่มนูนจากในเนื้อไตยื่นออกมาเหนือผิวไต D: ตับ, ก้อนหนองหลายแห่งกระจายทั่วตับ E: ปอด, มีการสะสมของเซลล์อักเสบภายในถุงลม ร่วมกับมีเลือดคั่งรอบๆ บริเวณที่มีการอักเสบ (H&E, ×100) F: ตับ, มีการสะสมของเซลล์อักเสบเป็นหย่อมขนาดเล็กในเนื้อตับ (microabscess) (H&E, ×400) G: ม้าม, ก้อนหนองที่ขึ้นเยื่อหุ้มม้าม นูนขึ้นมาเหนือผิวม้าม ร่วมกับมีเลือดคั่ง (H&E, ×40) H: ไต, ก้อนหนอง มีลักษณะยาวจากเนื้อไตชั้นนอก (cortex) ลงมาจนถึงชั้นใน (medulla) (H&E, ×40).

อักเสบลักษณะนี้ ที่ปอด ตับ ม้าม ไต ตับอ่อน มดลูก อัณฑะ และต่อมน้ำเหลือง โดยที่ปอดมักพบเซลล์อักเสบชนิดนิวโทรฟิล ภายในหลอดลมย่อยร่วมด้วย ตับส่วนใหญ่พบเป็นก้อนหนองขนาดเล็ก (microabscesses) ก้อนหนองที่ม้ามส่วนใหญ่พบที่เยื่อหุ้มม้าม ส่วนก้อนหนองที่ไตมักพบที่ชั้นด้านนอก (cortex) ยาวไปจนถึงชั้นด้านใน (medulla) ตับมีเซลล์อักเสบชนิดนิวโทรฟิลแทรกในต่อมและท่อน้ำนมและต่อมน้ำเหลืองอักเสบ ร่วมกับมีเซลล์ลิมโฟไซต์ (lymphoid cells) เพิ่มจำนวนมากขึ้น (รูปที่ 1 E-H)

เมื่อนำเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกได้จากแพะป่วยตายจำนวน 39 isolates มาทดสอบความไวของต่อยาปฏิชีวนะ

พบว่า เชื้อไวต่อยาปฏิชีวนะ amoxicillin-clavulanic acid, ceftazidime, doxycycline, imipenem และ tetracycline คิดเป็น 100% ส่วนยา trimethoprim-sulfamethoxazole คิดเป็น 84.62% (ตารางที่ 2)

ด้านระบาดวิทยา

แพะที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* จำนวน 41 ตัว มีอายุเฉลี่ยที่ 2 ปี 4 เดือน (ช่วงอายุ 1 เดือนถึง 9 ปี) พบในเพศเมีย 75.61% (31/41) และเพศผู้ 24.39% (10/41) เป็นแพะเนื้อ 97.56% (40/41) และแพะนม 2.44% (1/41) โดยเป็นแพะที่เลี้ยงในจังหวัดราชบุรี 92.68% (38/41) จาก 2 ฟาร์มต่างอำเภอ

ส่วนจังหวัดกาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และเพชรบุรี จังหวัดละ 2.44% (1/41) แพะทั้งหมดเลี้ยงอยู่เดิมในฟาร์มไม่มีการนำเข้าใหม่ภายในระยะเวลาสามเดือน เดือนที่พบการติดเชื้อ *B. pseudomallei* สูงที่สุดคือเดือนพฤศจิกายน 34.15% (14/41) รองลงมาคือเดือนสิงหาคม 17.07% (7/41) ธันวาคม 17.07% (7/41) กันยายน 9.76% (4/41) มกราคม 7.32% (3/41) ตุลาคม 7.32% (3/41) กรกฎาคม 4.88% (2/41) และ มีนาคม 2.44% (1/41) ตามลำดับ เมื่อแยกเป็นช่วงระยะเวลา 5 ปี พบว่าระหว่าง ปี 2555-2559 ตรวจพบแพะที่ติดเชื้อ *B. pseudomallei* 65.85% (27/41) สูงกว่าระหว่างปี 2550-2554 ที่ตรวจพบแพะที่ติดเชื้อ *B. pseudomallei* 34.15% (14/41)

แพะที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* 41 ตัว มีระยะเวลาตั้งแต่เริ่มแสดงอาการป่วยถึงตายอยู่ระหว่าง 1-13 วัน ข้อมูลจากระบบฐานข้อมูล ระบุอาการของแพะจำนวน 39 ตัว อีก 2 ตัวไม่ระบุอาการ พบว่าแพะแสดงอาการทางระบบทางเดินหายใจสูงสุด 56.41% (22/39) รองลงมาคือ ระบบสืบพันธุ์ 30.77% (12/39) ระบบทางเดินอาหาร 7.69% (3/39) และระบบทางเดินปัสสาวะ 5.13% (2/39) โดยอาการระบบสืบพันธุ์ที่พบในแพะ 12 ตัว เป็นเพศเมีย 75.00% (9/12) ซึ่งอาการในเพศเมีย 9 ตัวพบการแท้ง 88.89% (8/9) ส่วนอาการระบบสืบพันธุ์ในเพศผู้ 3 ตัว พบอันตะบวม 100.00% (3/3) แพะบางตัวมีไข้สูง ซึม ไม่กินอาหาร อ่อนแรง เต้านมอักเสบ ข้ออักเสบ และเดินขาแข็ง

ส่วนประวัติการรักษาพบว่าแพะไม่ได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะคิดเป็น 19.51% (8/41) และได้รับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะคิดเป็น 80.49% (33/41) โดยได้รับยาปฏิชีวนะ oxytetracycline 45.45% (15/33), penicillin-streptomycin 27.27% (9/33), trimethoprim-sulfamethoxazole 6.06% (2/33), enrofloxacin 6.06% (2/33), amoxicillin 3.03% (1/33), penicillin-streptomycin ร่วมกับ trimethoprim-sulfamethoxazole 6.06% (2/33), oxytetracycline ร่วมกับ penicillin-streptomycin 3.03% (1/33) และไม่ระบุชนิดยา 1 ราย ทุกตัวอาการไม่ดีขึ้นและตายในที่สุด

เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคเมลิอยด์ในแพะโดยเทียบกลุ่มที่ตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* กับกลุ่มที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. pseudomallei* พบว่า แพะที่มีอายุน้อยกว่า 12 เดือน ซึ่งเป็นกลุ่มพ่อแม่พันธุ์ มีความเสี่ยงเป็น 4.06 เท่าของแพะที่มีอายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 12 เดือน (OR=4.06, 95% CI=1.79-9.21) และน้ำที่ใช้เลี้ยงแพะไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน มีความเสี่ยงเป็น 13.07 เท่าของน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน (OR=13.07, 95% CI=2.66-64.15) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคเมลิอยด์ในแพะ

ปัจจัย**	<i>B. pseudomallei</i>		odds ratio	95% CI	p-value
	พบ	ไม่พบ			
อายุ					
อายุน้อยกว่า 12 เดือน	34	97	4.06	1.79-9.21	0.001*
อายุตั้งแต่ 12 เดือนขึ้นไป	7	81			
เพศ					
ผู้	10	58	0.66	0.30-1.44	0.297
เมีย	31	119			
ชนิด					
แพะเนื้อ	40	171	2.57	0.35-19.10	0.355
แพะนม	1	11			
น้ำใช้ในฟาร์ม					
ไม่ฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน	38	125	13.07	2.66-64.15	0.002*
ฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน	1	42			

*p-value<0.05 **ข้อมูลสัตว์ป่วยตายบางรายไม่ครบถ้วน

จากข้อมูลผลการศึกษานี้พบว่า แพะที่ป่วยตายด้วยโรคเมลิอยด์มีอายุเฉลี่ย 2 ปี 4 เดือน สอดคล้องกับรายงานแพะป่วยตายด้วยโรคเมลิอยด์ในกรุงเทพมหานคร มีอายุระหว่าง 2-4 ปี (Tonpitak et al., 2014) แพะที่มีอายุน้อยกว่า 12 เดือน มีความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคเมลิอยด์ ซึ่งแพะที่เลี้ยงในพื้นที่ภาคตะวันตกส่วนใหญ่เป็นแพะกลุ่มพ่อแม่พันธุ์ที่มีอายุน้อยกว่า 1 ปี ดังนั้นกลุ่มแพะพ่อแม่พันธุ์จึงเป็นกลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อ พบแพะป่วยตายด้วยโรคเมลิอยด์ในจังหวัดกาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี และราชบุรี แสดงว่าทั้งสี่จังหวัดนี้เป็นพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคเมลิอยด์ในแพะ แพะป่วยตายทั้งหมดเป็นแพะที่เลี้ยงอยู่เดิมในฟาร์ม จึงเป็นไปได้ว่าสัตว์อาจติดเชื้อจากภายในพื้นที่ฟาร์มของตัวเองหรือพื้นที่ใกล้เคียงที่มีการนำแพะไปเลี้ยง ประกอบกับการศึกษานี้พบว่าน้ำที่ใช้เลี้ยงแพะที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อในแพะ โดยพบว่าฟาร์มมีการใช้น้ำจากบ่อน้ำผิวดินหรือบ่อบาดาล จึงอาจเป็นไปได้ว่ามีเชื้อ *B. pseudomallei* ปนเปื้อนในแหล่งน้ำที่ใช้เลี้ยงสัตว์ และพบแพะป่วยตายที่ตรวจพบการติดเชื้อ *B. pseudomallei* สูงในช่วงที่มีฝน ได้แก่ช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนพฤศจิกายน ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝนและต้นฤดูหนาว ที่มักจะมียาพิษ สอดคล้องกับการศึกษาของ Choy et al. (2000) พบว่าโรคเมลิอยด์ที่เกิดในเขตร้อนของประเทศออสเตรเลีย มักเกิดในช่วงฤดูฝน และมีหลายการศึกษาที่พบว่าลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกได้จากผู้ป่วยหรือ

สัตว์ป่วยเหมือนหรือคล้ายกันกับเชื้อที่แยกได้จากน้ำที่ใช้อุปโภคบริโภคในพื้นที่ บ่งชี้ว่าผู้ป่วยหรือสัตว์ป่วยได้รับเชื้อจากน้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว (Millan et al., 2007; Limmathurotsakul et al., 2014) แนวโน้มแพะป่วยตายด้วยโรคเมลิออยด์สูงขึ้นในช่วงปี 2555-2559 อาจเนื่องมาจากพื้นที่ที่มีการเลี้ยงแพะเพิ่มขึ้นอย่างมาก ดังนั้นในพื้นที่ภาคตะวันตกที่มีการระบาดของโรค การใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนจึงเป็นสิ่งสำคัญในการลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ

แพะส่วนใหญ่แสดงอาการระบบทางเดินหายใจ ซึ่งสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อที่ปอด ระบบทางเดินหายใจจึงเป็นระบบที่เชื้อมักจะเข้าไปเจริญและก่อให้เกิดความเสียหายต่อเนื่อง มีแพะหนึ่งตัวตรวจพบการอักเสบของปอดร่วมกับตรวจพบเชื้อเฉพาะที่ปอด และอีก 3 ตัวตรวจพบเชื้อร่วมกับมีก้อนหนองเฉพาะที่ปอด โดยที่อวัยวะอื่นบางอวัยวะตรวจพบเชื้อโดยไม่พบก้อนหนองที่อวัยวะนั้น จึงมีความเป็นไปได้ว่าแพะตัวดังกล่าวได้รับเชื้อผ่านทางทางหายใจ การพบเซลล์อักเสบชนิดนิวโทรฟิลภายในหลอดลมย่อยในปอดที่ตรวจพบเชื้อซึ่งเชื้อและเซลล์อักเสบต่าง ๆ จะถูกขับออกมาพร้อมกับน้ำมูก จึงเป็นไปได้ว่าน้ำมูกเป็นแหล่งสำคัญในการแพร่กระจายเชื้อสู่แพะตัวอื่น ๆ ในฝูง ส่วนอาการระบบสืบพันธุ์พบว่าแม่แพะที่แสดงอาการแท้ง 9 ตัว ตรวจพบเชื้อที่มดลูก 8 ตัว และพบเชื้อที่อวัยวะจากซากลูกแท้ง 1 ตัว ซึ่งสัมพันธ์กับการพบเชื้อจากมดลูกแม่ที่แสดงอาการแท้งและตาย เช่นเดียวกับที่มีรายงานการทดลองของ Thomas et al. (1988) พบว่าแพะที่ได้รับการฉีดเชื้อ *B. pseudomallei* เข้าที่ชั้นใต้ผิวหนังบางตัวแสดงอาการแท้ง ตรวจพบเชื้อที่มดลูกแม่แพะและอวัยวะภายในของลูกแท้ง แสดงว่าเชื้อสามารถติดต่อจากแม่สู่ลูกขณะท้อง และเป็นสาเหตุให้เกิดการแท้ง นอกจากนี้แล้วยังสามารถตรวจพบเชื้อได้จากสารคัดหลั่งจากมดลูกแม่แพะหลังการแท้งด้วย (เพชรรัตน์, ไม่ได้ตีพิมพ์) ดังนั้นสารคัดหลั่งจากมดลูกแม่แพะที่แท้งจึงเป็นแหล่งสำคัญในการกระจายเชื้อสู่สิ่งแวดล้อมในฟาร์ม มีการตรวจพบเชื้อจากปัสสาวะที่สัมพันธ์กับการพบเชื้อจากก้อนหนองที่ไตจากซากแพะตัวเดียวกัน ซึ่งก้อนหนองที่ไตนั้นมีตำแหน่งทั้งในส่วนชั้นด้านนอกและด้านในของไต เชื้อจากก้อนหนองจึงเข้าสู่ไตและปนมาพร้อมกับปัสสาวะที่จะถูกขับออกสู่ภายนอกร่างกาย ดังนั้นปัสสาวะจากแพะป่วยจึงเป็นอีกแหล่งในการแพร่กระจายเชื้อที่สำคัญภายในฟาร์ม แพะที่มีเต้านมอักเสบแบบมีก้อนหนองอาจจะมีการขับเชื้อผ่านทางน้ำนม จากรายงานของ Choy et al. (2000) และ Tonpitak et al. (2014) ที่พบว่าเชื้อดังกล่าวเป็นสาเหตุเต้านมอักเสบในแพะ

ดังนั้นกระบวนการผลิตนมแพะควรมีการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเพื่อลดความเสี่ยงที่จะแพร่เชื้อมาสู่ผู้บริโภค มีการตรวจพบเชื้อจากก้อนหนองที่ชั้นใต้ผิวหนังแพะบางตัว บ่งชี้ว่าแพะตัวนั้นติดเชื้อผ่านทางผิวหนัง ซึ่งจากการศึกษาของ Thomas et al. (1988) และ Soffler et al. (2014) ที่ทดลองฉีดเชื้อเข้าที่ชั้นผิวหนังและชั้นใต้ผิวหนัง พบว่ามีรอยโรคผิวหนังบริเวณที่ฉีดเชื่อดังกล่าว การติดเชื้อผ่านทางบาดแผลที่ผิวหนังจึงเป็นอีกช่องทางที่สำคัญในการได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกาย สำหรับอวัยวะในระบบน้ำเหลือง ได้แก่ ม้ามและต่อมน้ำเหลือง เป็นอวัยวะที่พบก้อนหนองและตรวจพบเชื้อได้ในอัตราที่สูง จึงเป็นอวัยวะเป้าหมายสำคัญในการตรวจหาเชื้อก่อโรคเมลิออยด์

ตรวจพบเชื้อจากตัวอย่างเลือดแพะป่วย 4 ตัว บ่งชี้ถึงการติดเชื้อในกระแสเลือด และมีแพะป่วยหนึ่งตัวมีไข้สูง ร่วมกับการตรวจพบเชื้อจากตัวอย่างเลือด ซึ่งอาการไข้เป็นการตอบสนองของร่างกายเมื่อเกิดการติดเชื้อในร่างกาย สอดคล้องกับการศึกษาของ Soffler et al. (2012, 2014) ที่พบว่าแพะมีไข้หลังได้รับเชื้อ จากการศึกษารังนี้พบว่าส่วนใหญ่พบเชื้อมากกว่า 2 อวัยวะ ซึ่งเป็นการติดเชื้อแบบแพร่กระจาย เมื่อได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายแล้ว เชื้อมักจะเข้าสู่กระแสเลือดและแพร่กระจายไปยังอวัยวะต่าง ๆ จากการศึกษารังนี้แพะ 5 ตัวตรวจพบเชื้อ แต่ไม่พบก้อนหนอง แต่หลังได้รับเชื้อเจ็ดวันพบก้อนหนองที่อวัยวะภายใน ซึ่งจากการศึกษารังนี้แพะ 5 ตัวตรวจพบเชื้อ แต่ไม่พบก้อนหนอง จึงมีความเป็นไปได้ว่าแพะตัวดังกล่าวอาจได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายไม่เกินเจ็ดวันก่อนตาย เป็นการป่วยตายแบบเฉียบพลัน โดยเฉพาะในแพะที่ผอม อ่อนแอหรือเพิ่งแท้งลูกจะยิ่งไวต่อเชื้อนี้ รอยโรคที่พบส่วนใหญ่คือก้อนหนอง โดยพบมากที่ม้าม ไต ปอด และต่อมน้ำเหลือง ทั้งยังพบได้บ้างที่หัวใจ ตับ เต้านม มดลูก อวัยวะ และลำไส้ ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Soffler et al. (2012, 2014) และ Tonpitak et al. (2014) แสดงให้เห็นว่ารอยโรคที่สำคัญของโรคเมลิออยด์ในแพะคือก้อนหนอง

จากการศึกษาความไวของเชื้อที่ตรวจพบจำนวน 39 isolates ต่อยาปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อไวต่อยาปฏิชีวนะทั้ง 6 ชนิดในระดับสูง แม้จะมีประวัติการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะบางตัวที่เชื้อไวต่อยานั้น แต่การรักษาโรคเมลิออยด์จำเป็นต้องมีการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาอย่างต่อเนื่องระยะยาว (Cheng and Currie, 2005) ซึ่งการรักษาในสัตว์มักไม่คุ้มค่าเนื่องจากมีค่าใช้จ่ายสูง ทั้งนี้การรักษาที่ไม่ได้ผลและแพะตายหลังจากมีการให้ยาปฏิชีวนะแล้ว อาจมีสาเหตุจากการติดเชื้ออย่างอื่นร่วมด้วย ดังนั้นการตรวจทางห้องปฏิบัติการควรมีการตรวจให้ครอบคลุม

เชื้ออื่น ๆ รวมทั้งเชื้อไวรัสและปรสิต เพื่อใช้ในการประเมินสุขภาพสัตว์ร่วมด้วย

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

แพะที่เลี้ยงในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทยมีแนวโน้มการตรวจพบเชื้อ *B. pseudomallei* สูงขึ้น ควรใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนเพื่อลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ โดยเฉพาะในกลุ่มแพะพ่อ-แม่พันธุ์ ซึ่งเป็นกลุ่มเสี่ยง และรอยโรคที่สำคัญคือก้อนหนอง ประเทศไทยมีการเลี้ยงแพะเพิ่มมากขึ้นและกระจายอยู่ทุกภูมิภาค ดังนั้นจึงควรมีการเฝ้าระวังทางห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่อง เพื่อทราบสถานการณ์ของโรคในระดับประเทศต่อไป ทั้งยังพบการดื้อยาของเชื้อบางตัว จึงควรใช้ยาอย่างระมัดระวังเพื่อป้องกันการเกิดปัญหาเชื้อดื้อยาตามมา

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณเพชรรัตน์ ศักดินันท์ ที่ช่วยสนับสนุนข้อมูลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการแบคทีเรียวิทยา และตรวจทานผลงานวิชาการ คุณนิรมล ศรีวงษา และคุณโกมล ถิ่นวงษ์ยอด ที่ช่วยรวบรวมข้อมูลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

เจษฎา จุลไกรสุจรี รัตติยา นาคสุวรรณ และ เพชรรัตน์ ศักดินันท์. 2557. ระบาดวิทยาและการศึกษาพันธุกรรมของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* สายพันธุ์ที่แยกได้จากแพะ กวาง สุกร และดิน ในจังหวัดราชบุรี ด้วยวิธี Pulsed Field Gel Electrophoresis. วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 8(3): 113-129. [Online]. Available: <http://niah.dld.go.th/th/files/ejournal/v08n3t02.pdf>. [26 ธันวาคม 2560].

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมปศุสัตว์. 2560. ข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์และแพะ รายเขตปศุสัตว์ ปีงบประมาณ 2560 [Online]. Available: http://ict.dld.go.th/th2/images/stories/stat_web/yearly/2560/new/T8-1.pdf. [26 ธันวาคม 2560].

Cheng, A.C. and Currie, B.J. 2005. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology and management. Clin Microbiol Rev. 18(2): 383-416.

Choy, J.L., Mayo, M., Janmaat, A. and Currie, B.J. 2000. Animal melioidosis in Australia. Acta Trop. 74(2-3): 153-158.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2016. Method for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. 3rd ed. CLSI guideline M45. CLSI, Wayne, Pennsylvania.

Limmathurotsakul, D., Thammasart, S., Warrasuth, N., Thapanagulsak, P., Jatapai, A., Pengreungrojanachai, V., Anun, S., Joraka, W., Thongkamkoon, P., Saiyen, P., Wongratanaheewin, S., Day,

N.P.J. and Peacock, S.J. 2012. Melioidosis in animals, Thailand, 2006–2010. Emerg Infect Dis. 18(2): 325-327.

Limmathurotsakul, D., Wongratanaheewin, S., Teerawattanasook, N., Wongsuvan, G., Chaisuksant, S., Chetchotisakd, P., Chaowakul, W., Day, N.P.J. and Peacock, S.J. 2010. Increasing incidence of human melioidosis in northeast Thailand. Am J Trop Med Hyg. 82(6): 1113-1117.

Limmathurotsakul, D., Wongsuvan, G., Aanensen, D., Ngamwilai, S., Saiprom, N., Rongkard, P., Thaipadungpanit, J., Kanoksil, M., Chantratita, N., Day, N.P.J. and Peacock, S.J. 2014. Melioidosis caused by *Burkholderia pseudomallei* in drinking water, Thailand, 2012. Emerg Infect Dis. 20(2): 265-268.

Millan, J.M., Mayo, M., Gal, D., Janmaat, A. and Currie, B.J. 2007. Clinical variation in melioidosis in pigs with clonal infection following possible environmental contamination from bore water. Vet J. 174(1): 200-202.

Musa, H.I., Hassan, L., Shamsuddin, Z.H., Panchadcharam, C., Zakaria, Z., Abdul Aziz, S. and Rachmat, R.F. 2015. Case-control investigation on the risk factors of melioidosis in small ruminant farms in Peninsular Malaysia. J Appl Microbiol. 119(2): 331-341.

Ouah, A., Zahedi, D. and Perumal, R. 2006. Animal melioidosis surveillance in Sabah. The Internet Journal of Veterinary Medicine. 2(2). [Online]. Available: <https://print.ispub.com/api/0/ispub-article/5750>. Accessed June 3, 2017.

Soffler, C., Bosco-Lauth, A.M., Aboellail, T.A., Marolf, A.J. and Bowen, R.A. 2012. Development and characterization of a caprine aerosol infection model of melioidosis. PLoS One. 7(8): e43207.

Soffler, C., Bosco-Lauth, A.M., Aboellail, T.A., Marolf, A.J. and Bowen, R.A. 2014. Pathogenesis of percutaneous infection of goats with *Burkholderia pseudomallei* : clinical, pathologic, and immunological responses in chronic melioidosis. Int J Exp Pathol. 95(2): 101-119.

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(2): 43-46.

Tong, S., Yang, S., Lu, Z. and He, W. 1996. Laboratory investigation of ecological factors influencing the environmental presence of *Burkholderia pseudomallei*. Microbiol Immunol. 40(6): 451-453.

Tonpitak, W., Sornklien, C., Chawanit, M., Pavasutthipaisit, S., Wuthiekanun, V., Hantrakun, V., Amornchai, P., Thaipadungpanit, J., Day, N.P.J., Yingst, S., Peacock, S.J. and Direk Limmathurotsakul, D. 2014. Fatal melioidosis in goats in Bangkok, Thailand. Am J Trop Med Hyg. 91(2): 287-290.

Van der Lugt, J.J. and Henton, M.M. 1995. Melioidosis in a goat. J S Afr Vet Assoc. 66(2): 71-73.