

การสำรวจโรคเลปโตสไปโรซิสในเปิดไ่ทุ่งในประเทศไทย

ดวงใจ สุวรรณเจริญ^{1,*}, บุษรา สิทธิวิเชียรวงศ์¹, ทวีศักดิ์ ส่งเสริม²

บทคัดย่อ

ที่มาของการศึกษา: เปิดไ่ทุ่งมีรูปแบบการเลี้ยงป่ปล่อยตามธรรมชาติจึงมีโอกาสดัดเชื้อเลปโตสไปราจากสิ่งแวดล้อม การศึกษานี้เป็นการสำรวจการติดเชื้เลปโตสไปราในเปิดไ่ทุ่ง 6 จังหวัดในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงเปิดไ่ทุ่งมากพื้นที่หนึ่ง และที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาโรคเลปโตสไปโรซิสในสัตว์ปีกของประเทศไทย

วิธีการ: เก็บตัวอย่างเลือดเปิดไ่ทุ่ง จำนวน 308 ตัวอย่าง ปั่นแยกซีรัมและนำมาทดสอบหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ เชื้อเลปโตสไปรา 24 ซีโรวาร์ ด้วยเทคนิค microscopic agglutination test (MAT) จากนั้น เก็บตัวอย่างไต จำนวน 10 ตัวอย่าง และ cloacal swab จำนวน 15 ตัวอย่าง (เปิดไ่ทุ่ง 5 ตัวต่อ 1 ตัวอย่าง) จากฝูงที่ให้ผลบวกสูงสุดต่อการทดสอบด้วยวิธี MAT แล้วนำมาเพาะแยกเชื้อเลปโตสไปราในอาหารเลี้ยงเชื้อ และตรวจหา ยีน *lipL32* ซึ่งมีความจำเพาะต่อเชื้อเลปโตสไปราชนิด ก่อโรคด้วยเทคนิค real-time PCR

ผล: พบผลบวกของระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปราจากการทดสอบด้วยวิธี MAT ร้อยละ 88.3 และพบอย่างน้อย 1 ซีโรวาร์ในทุกตัวอย่าง ซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดคือ ซีโรวาร์ Ranarum และ Shermani ซึ่งพบร้อยละ 87 และ 77 ตามลำดับ ผลการทดสอบ real-time PCR พบตัวอย่าง cloacal swab และไต ให้ผลบวกต่อยีน *LipL32* ร้อยละ 47 และ 10 ตามลำดับ แต่ไม่สามารถเพาะแยกเชื้อได้ เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย

สรุป: ระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปราที่ตรวจพบด้วยวิธี MAT และการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อเลปโตสไปรา ชนิดก่อโรคโดยวิธี real-time PCR จากตัวอย่างเปิดไ่ทุ่งในการศึกษานี้ สามารถใช้เป็นข้อมูลที่บอกว่าเปิดไ่ทุ่งอาจเป็นสัตว์ รังโรคที่สำคัญในการแพร่กระจายโรคเลปโตสไปโรซิส

คำสำคัญ: เลปโตสไปโรซิส, เลปโตสไปรา, ซีโรวาร์, เปิดไ่ทุ่ง, ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย

ผู้เขียนที่ติดต่อ: E-mail Address: dj90705@hotmail.com (Duangjai Suwancharoen).

¹ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, กรมปศุสัตว์, 50/2 เกษตรกลาง, ลาดยาว, จตุจักร, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย

² คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Survey of Leptospirosis in free-grazing ducks in Thailand

Duangjai Suwanchaoen^{1,*}, Busara Sittiwicheanwong¹, Thaweesak Songserm²

Abstract

Background: Free-grazing ducks have a natural feeding pattern that pose a risk of getting leptospires from environment. This study aims to investigate *Leptospira* spp. infection in free-grazing ducks from six provinces in the lower northern of Thailand where is a highly populated area of free-grazing ducks. Even since past, study of poultry leptospirosis has not been addressed in Thailand.

Method: Three hundred and eight blood samples were collected. Sera were collected and tested for specific antibodies against 24 serovars of *Leptospira* spp. by using the microscopic agglutination test (MAT). Ten kidneys and fifteen cloacal swabs (five ducks/sample), collected from the flock with the highest titer, were subjected to the isolation and real time PCR targeting the *lipL32* gene, which specific to pathogenic *Leptospira* spp.

Result: MAT result shows overall seropositivity against *Leptospira* spp. at 88.3% and at least one serovar was found in each sample. The mostly detected serovars were Ranarum and Shermani at 87% and 77%, respectively. For real-time PCR results, the cloacal swabs and the kidney were positive to *LipL32* gene at 47% and 10%. However, *Leptospira* spp. could not be isolated because of bacterial contamination.

Conclusion: Based on MAT, the seroprevalence of Leptospirosis found in this study was relatively high in free-grazing ducks and genetic materials of pathogenic *Leptospira* spp. were found by real-time PCR. They might be one of the important reservoirs for disease transmission.

Keywords: Leptospirosis, *Leptospira*, serovars, free-grazing ducks, lower northern Thailand

Corresponding author: E-mail Address: dj90705@hotmail.com (Duangjai Suwanchaoen).

¹ National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, 50/2 Kasetklang, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, Thailand;

² Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Thailand

บทนำ

เลปโตสไปโรซิสเป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่คนที่มีผลกระทบ ต่อสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดเลือดอุ่นและเลือดเย็น โรคนี้พบได้ ทั่วโลกโดยมีอุบัติการณ์ของการเกิดโรคสูงในพื้นที่เขตร้อนและ กึ่งเขตร้อนรวมถึงประเทศไทย โรคเลปโตสไปโรซิสเป็นโรคที่มี ความสำคัญโดยเฉพาะในอุตสาหกรรมปศุสัตว์เนื่องจากผลกระทบ ของโรคที่ทำให้ผลผลิตน้ำนมลดลง เกิดการแท้ง และภาวะมีลูกยาก ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Lilenbaum et al., 2014) สัตว์เลี้ยง สามารถเป็นพาหะของเชื้อเลปโตสไปราและสามารถแพร่ผ่าน ปัสสาวะได้ การติดเชื้อเกิดจากการสัมผัสปัสสาวะและสิ่งแวดล้อม ที่ปนเปื้อนทั้งทางตรงและทางอ้อม

มีรายงานของโรคเลปโตสไปโรซิสในสัตว์ปีกในหลาย ประเทศ เช่น พบผลบวกทางซีรั่มวิทยา (seropositivity) ในไก่ ร้อยละ 11 ในประเทศ Grenada และ Trinidad ด้วยวิธี microscopic agglutination test (MAT) (Everard et al., 1985) และมีรายงานพบเชื้อเลปโตสไปราร้อยละ 27.8 ในตัวอย่างจาก ไตของนกป่าในพื้นที่เขตเหนือของประเทศ Botswana (Jobbins and Alexander, 2015) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับ ผลกระทบของโรคเลปโตสไปราต่อสัตว์ปีก เมื่อถูกทำให้ติดเชื้อ ด้วย *L. canicola* พบว่าเอนบริโอไก่และเป็ดตาย ถ้าฟักออกมาได้ สัตว์จะมีอาการป่วยและพบเชื้อเลปโตสไปราในกระแสเลือด (leptospiemia) (Gleiser et al., 1955) สัตว์ที่ติดเชื้อเลปโต สไปราสามารถขับเชื้อออกมาสู่สิ่งแวดล้อมได้โดยเฉพาะแหล่งน้ำ ดังนั้นสัตว์ปีกที่อาศัยอยู่ใกล้แหล่งน้ำ เช่น นกนางนวล, ห่าน, หงส์และเป็ด จึงสามารถติดเชื้อเลปโตสไปราได้ (Benskin et al., 2009; ECDC, 2006)

เชื้อเลปโตสไปราสามารถพบได้ในธรรมชาติ ตามแหล่งน้ำ และดินซึ่งเป็นปัจจัยหลักในการแพร่ระบาดของโรค (Wynwood, 2014) จากการศึกษาของ Schneider et al. (2018) พบเชื้อ เลปโตสไปราชนิดก่อโรคในดินจากเมือง Salvador ประเทศ Brazil ร้อยละ 31 ส่วน Sehgal (2006) พบเชื้อเลปโตสไปราในน้ำ จาก พื้นที่รัฐ Sarawak ประเทศ Malaysia ร้อยละ 1.9 นอกจากนี้ ยังมีรายงานพบเชื้อเลปโตสไปราในพื้นที่น้ำนิ่งมากกว่าน้ำฝน และน้ำบาดาล (Ganoza et al., 2006) การเลี้ยงเป็ดไล่ทุ่งซึ่ง ส่วนใหญ่เป็นเป็ดไล่ทุ่งนั้น เป็นการเลี้ยงแบบปล่อยให้หาอาหาร เช่น เมล็ดข้าว และหอยตามแหล่งธรรมชาติ ซึ่งมักเป็นพื้นที่ที่มีการ ปลุกข้าว ดังนั้น เป็ดจึงมีโอกาสสัมผัสกับเชื้อก่อโรคได้โดยตรง (Songserm et al., 2006)

สำหรับประเทศไทย พบความชุกของเชื้อเลปโตสไปรา ในปัสสาวะของโคและกระบือสูงที่สุดในบริเวณภาคเหนือตอนล่าง (Suwancharoen et al., 2016) ทั้งนี้ ด้วยวิธีการเลี้ยงเป็ดไล่ทุ่ง ดังที่กล่าวมาข้างต้นทำให้เป็ดไล่ทุ่งนั้นมีความเสี่ยงที่จะติดโรค เลปโตสไปโรซิสและอาจจะเป็นสัตว์รังโรคได้ จุดประสงค์ของ งานวิจัยนี้จึงเป็นการสำรวจโรคเลปโตสไปโรซิสเบื้องต้นในเป็ดไล่ทุ่ง ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย เพื่อเป็นการเฝ้าระวัง และควบคุมโรคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การออกแบบการทดลอง

ศึกษาความชุกของการติดเชื้อเลปโตสไปราชนิดก่อโรค ในเป็ดไล่ทุ่งในปี พ.ศ. 2560 ทำการเก็บตัวอย่างจากเป็ดไล่ทุ่ง ที่เลี้ยงในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย 6 จังหวัด คือ กำแพงเพชร นครสวรรค์ พิจิตร พิษณุโลก สุโขทัย และอุทัยธานี โดยเก็บตัวอย่างซีรั่มแบบสุ่ม 10 ตัวอย่าง/ฝูง/ตำบล (50 ตัวอย่าง/จังหวัด ยกเว้นจังหวัดกำแพงเพชรเก็บ 58 ตัวอย่าง) จากนั้นเก็บตัวอย่างไต 10 ตัวอย่าง และ cloacal swabs 15 ตัวอย่าง จากเป็ด 75 ตัว (5 ตัว/ตัวอย่าง) จากฝูงที่ตรวจพบ ระดับภูมิคุ้มกันสูงที่สุด

การวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

Microscopic agglutination test (MAT)

นำตัวอย่างซีรั่มมาทดสอบด้วยวิธี MAT ตามวิธีของ Smythe (2008) ที่ศูนย์เลปโตสไปโรซิส สถาบันสุขภาพสัตว์ แห่งชาติ โดยใช้แอนติเจนเชื้อเลปโตสไปราที่มีชีวิต 24 ซีโรวาร์ (ตารางที่ 1) โดยระดับภูมิคุ้มกันที่มากกว่าและเท่ากับ 1:50 ให้ตัดสิน เป็นผลบวก

การตรวจสารพันธุกรรม

นำไตขนาด 1 ตารางเซนติเมตร และ cloacal swabs ที่ถูกเก็บอยู่ใน 1% bovine serum albumin ที่มี STAFF (sulfamethoxazole, 400 µg/ml; trimethoprim, 200 µg/ml; amphotericin B, 50 µg/ml; fosfomycin, 4 mg/ml; 5-fluoro-uracil, 1 mg/ml) ที่อุณหภูมิห้อง มาทดสอบโดยวิธี real-time PCR โดยมีเป้าหมายที่ยีน *lipL32* ตามวิธีของ Suwancharoen (2016) โดยค่า cycle threshold (C_t) ที่ต่ำกว่า 40 ให้ตัดสิน เป็นผลบวก

ตารางที่ 1 แอนติเจนเชื้อเลปโตสไปรา 24 ซีโรวาร์

ซีโรกรุ๊ป	ซีโรวาร์	สายพันธุ์
Australis	Bratislava (AUS)	Jez Bratislava
Autumnalis	Autumnalis (AUT)	Akiyami A
Ballum	Ballum (BAL)	Mus 127
Bataviae	Bataviae (BAT)	Swart
Canicola	Canicola (CAN)	HondUtrecht IV
Celledoni	Celledoni (CEL)	Celledoni
Cynopteri	Cynopteri (CYN)	3522 C
Djasiman	Djasiman (DJA)	Djasiman
Grippotyphosa	Grippotyphosa (GRI)	Moskva V
Hebdomadis	Hebdomadis (HEB)	Hebdomadis
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae (ICT)	RGA
Javanica	Javanica (JAV)	VeldratBataviae 46
Louisiana	Louisiana (LOU)	LSU 1945
Manhao	Manhao (MAN)	Li 130
Mini	Mini (MIN)	Sari
Panama	Panama (PAN)	CZ 214
Pomona	Pomona (POM)	Pomona
Pyrogenes	Pyrogenes (PYR)	Salinem
Ranarum	Ranarum (RAN)	ICF
Sarmin	Sarmin (SAR)	Sarmin
Sejroe	Sejroe (SEJ)	M 84
Shermani	Shermani (SHE)	1342 K
Tarassovi	Tarassovi (TAR)	Perepelitsin
Semarang	Patoc (PAT)	Patoc I

การแยกเชื้อ *Leptospira* spp.

นำตัวอย่างไต และ cloacal swab มาเพาะเชื้อในอาหาร EMJH (Ellinghausen, McCullough, Johnson, Harris) (Difco™, USA) ใส่ยา STAFF บ่มที่ อุณหภูมิ 30 °C และสังเกตเชื้อเลปโตสไปราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดพื้นมืด (Dark-field microscopic) สัปดาห์ละ 1 ครั้งเป็นเวลา 3 เดือน (Benacer, 2013; OIE, 2014) โดยเชื้อเลปโตสไปราจะเคลื่อนไหวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดพื้นมืด และมีลักษณะโครงสร้างเป็นเกลียวบาง และมีตะขอ (hook) ที่ปลายทั้งสองข้าง

การวิเคราะห์ข้อมูล

ค่า seropositivity คำนวณโดยนำจำนวนผลทดสอบเป็นบวกหารด้วยจำนวนที่ทำการทดสอบทั้งหมด และค่า true seropositivity จะถูกคำนวณตามสูตรด้านล่าง โดยที่ $prev_{adj}$, $prev_{obs}$, S_e , and S_p คือ adjusted prevalence, observed prevalence (หรือ apparent prevalence), sensitivity, และ specificity ตามลำดับ (Reiczigel, 2010)

$$prev_{adj} = \frac{prev_{obs} + S_p - 1}{S_e + S_p - 1}$$

การคำนวณค่าทางสถิติทั้งหมดจะคำนวณด้วยฟังก์ชันในชุด 'epiR' ของโปรแกรมทางสถิติ language R version 3.2 (R development Core Team, Vienna, Austria)

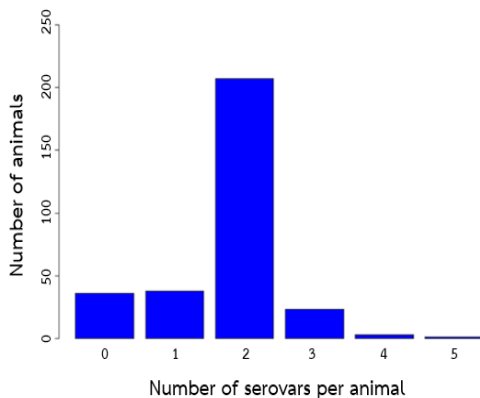
ผลและวิจารณ์

ตัวอย่างซีรัมเปิดไล่งูทั้งหมดที่ให้ผลบวก มี true seropositivity ร้อยละ 89.5 โดย true seropositivity ที่สูงที่สุดพบที่จังหวัดพิจิตร รองลงมาคือ กำแพงเพชร, นครสวรรค์, อุทัยธานี, สุโขทัย และพิษณุโลก ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

จากผลการทดลองพบว่าซีรัมให้ผลบวกจำนวน 8 ซีโรวาร์ จากการทดสอบ 24 ซีโรวาร์ คือ Bratislava, Autumnalis, Djasiman, Javanica, Louisiana, Pyrogenes, Ranarum และ Shermani จากการทำ MAT ส่วนใหญ่จะพบ seropositivity ที่มีระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปรา 2 ซีโรวาร์ ร้อยละ 67.2 (รูปที่ 1) ซึ่งให้ผลบวกต่อซีโรวาร์ Ranarum และ Shermani สูงในทุกจังหวัด โดยเฉพาะจังหวัดพิจิตร ซึ่งให้ผลบวกทั้ง Ranarum และ Shermani มีระดับภูมิคุ้มกัน 1:50-1:200 นอกจากนี้การศึกษารังนี้พบว่าร้อยละ 88.3 มีระดับภูมิคุ้มกันระหว่าง 1:50-1: 200 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการศึกษาในไก่และเป็ดที่เลี้ยงตามธรรมชาติในประเทศ Grenada และ Trinidad ที่มีค่าระหว่าง 1:100 - 1:400 โดยร้อยละ 11 มีระดับภูมิคุ้มกันต่อ ซีโรกรุ๊ป Shermani และ Hebdomadis และ ร้อยละ 47 มีระดับภูมิคุ้มกันต่อซีโรกรุ๊ป 2-4 กลุ่ม (Everard et al., 1985) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษารังนี้ ที่พบระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปรามากกว่า 1 ซีโรวาร์ในตัวอย่างเดียวกัน

ตารางที่ 2 ค่า True seropositivity และ seropositivity จากการทำ MAT ในแต่ละจังหวัด

จังหวัด	จำนวนผลบวก/ จำนวนที่ทดสอบ	% Seropositivity (95% CI)	% True seropositivity (95% CI)
กำแพงเพชร	55/58	94.8 (85.6-98.9)	96.4 (87-100)
นครสวรรค์	46/50	92 (80.8-97.8)	93.4 (82-98.6)
พิจิตร	50/50	100 (92.9-100)	100 (94.4-100)
พิษณุโลก	35/50	70 (55.4-82.1)	70.2 (55.7-81.7)
สุโขทัย	41/50	82 (68.6-91.4)	82.9 (69.3-91.6)
อุทัยธานี	45/50	90 (78.2-96.7)	91.3 (79.3-97.3)
รวม	272/308	88.3 (84.2-91.4)	89.5 (85.2-92.9)



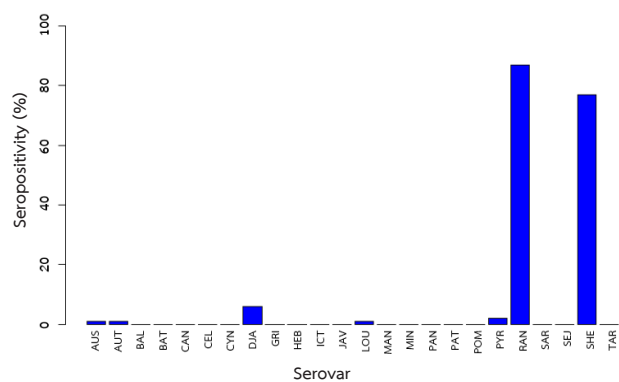
รูปที่ 1 จำนวนซีโรวาร์ที่พบจากการทดสอบซีรัมเปิดไล่งูด้วยวิธี MAT (จำนวนทั้งหมด = 308) 0 = ไม่มีระดับภูมิคุ้มกันต่อ *Leptospira* spp. (ร้อยละ 11.7), 1 = มีระดับภูมิคุ้มกันต่อ *Leptospira* spp. 1 ซีโรวาร์ (ร้อยละ 12.3), 2 = มีระดับภูมิคุ้มกันต่อ *Leptospira* spp. 2 ซีโรวาร์ (ร้อยละ 67.2), 3 = มีระดับภูมิคุ้มกันต่อ *Leptospira* spp. 3 ซีโรวาร์ (ร้อยละ 7.5), 4 = มีระดับภูมิคุ้มกันต่อ *Leptospira* spp. 4 ซีโรวาร์ (ร้อยละ 1.0) และ 5 = มีระดับภูมิคุ้มกันต่อ *Leptospira* spp. 5 ซีโรวาร์ (ร้อยละ 0.3)

ตารางที่ 3 แสดงการกระจายของเชื้อเลปโตสไปราซีโรวาร์ในจังหวัดต่างๆ พบว่าซีโรวาร์หลักที่พบคือ Ranarum และ Shermani อยู่ในช่วงร้อยละ 68.1-100 และร้อยละ 40.6-100 ตามลำดับ ซีโรวาร์ Djasiman พบที่จังหวัดพิจิตรร้อยละ 23.6 นอกจากนี้ยังพบซีโรวาร์ Autumnalis, Javanica, Pyrogenes และ Louisiana เพียงร้อยละ 0 - 0.4 ยกเว้นจังหวัดสุโขทัยที่พบซีโรวาร์ Pyrogenes ร้อยละ 4.7 โดยสัดส่วนซีโรวาร์ที่พบส่วนใหญ่คือ Ranarum ร้อยละ 87 และ Shermani ร้อยละ 77 (รูปที่ 2) จากการศึกษาของ Chadsuthi et al. (2017) พบว่าซีโรวาร์หลักที่พบในคน คือ Shermani ตามด้วย Bratislava, Panama และ Sejroe ในกระบือ คือ Shermani, Ranarum

และ Tarassovi ในโคและสุกร คือ Shermani และ Ranarum แสดงให้เห็นว่าซีโรวาร์ที่พบในเปิดไล่งูเหมือนกันกับที่พบในปศุสัตว์และคน

ตัวอย่างที่มีระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเลปโตสไปราสูงที่สุดอยู่ที่จังหวัดพิจิตร จึงเก็บตัวอย่างอีกครั้งเพื่อหาเชื้อเลปโตสไปราโดยวิธีเพาะเชื้อ และตรวจหาสารพันธุกรรม พบว่าเปิดไล่งูมีสุขภาพดี ไม่แสดงอาการป่วย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Byrne et al. (1955) ที่ฉีด *L. canicola* เข้าไปในไก่พบว่าสามารถเพาะเชื้อเลปโตสไปราจากเลือด และมีระดับภูมิคุ้มกันสูงที่ 1: 2560 แต่ไก่ไม่แสดงอาการป่วยและโตได้จนถึงอายุ 7 เดือน แต่ในทางกลับกันมีการศึกษาเอมบริโอของเป็ดและไก่ที่ทำให้ติดเชื้อเลปโตสไปราพบว่า สัตว์ดังกล่าวตาย หรือมีอัตราการฟักที่ลดลง ถ้าฟักออกมาได้สัตว์จะแสดงอาการ leptospiremia และแสดงอาการป่วย เช่น เบื่ออาหาร ลักษณะขนผิดปกติ และมีอาการซึม (Gleiser et al., 1955) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาปริมาณการติดเชื้อในเป็ดและไก่ที่สัมพันธ์กับการขับเชื้อเลปโตสไปรา

ในการศึกษานี้ได้ตรวจสอบการขับเชื้อเลปโตสไปราในฝูงที่มี seropositivity สูงที่สุดจากการทำ MAT โดยวิธี real-time PCR ที่มีเอ็นเป้าหมายคือ *lipL32* พบว่าไ้ให้ผลบวกร้อยละ 10 ที่ C_t 39.4 และ cloacal swabs ให้ผลบวกร้อยละ 47 ที่ C_t 36.2-39.8 แสดงให้เห็นว่าเปิดไล่งูอาจเป็นรังโรคได้ การตรวจหาฮีนของเชื้อเลปโตสไปราในการศึกษารังนี้ใช้วิธีเดียวกับ Stoddard (2009) ที่มีความไวและความจำเพาะร้อยละ 100 ต่อเชื้อเลปโตสไปราชนิดก่อโรค โดยมีค่า lower limit of detection (LLOD) อยู่ 20 genomic equivalents/reaction แสดงให้เห็นว่าเปิดไล่งูขับปล่อยเชื้อเลปโตสไปราอย่างน้อย 20 ตัว แต่ไม่สามารถนำมาเพาะแยกเชื้อจากตัวอย่างได้เนื่องจากการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย



รูปที่ 2 สัดส่วนของเปิดไล่งูที่ให้ผลบวกแต่ละซีโรวาร์ด้วยวิธี MAT มีสัดส่วนดังนี้ AUS ร้อยละ 1, AUT ร้อยละ 1, DIA ร้อยละ 6, LOU ร้อยละ 1, PYR ร้อยละ 2, RAN ร้อยละ 87, และ SHE ร้อยละ 77

ตารางที่ 3 การกระจายของซีโรวาร์ในแต่ละจังหวัด

ซีโรวาร์	% True seropositivity (จำนวนผลบวก/จำนวนที่ทดสอบ) ^a					
	กำแพงเพชร	นครสวรรค์	พิจิตร	พิษณุโลก	สุโขทัย	อุทัยธานี
AUS					0.4 (2/50)	
AUT			0.0 (1/50)			0.0 (1/50)
DJA			23.7 (13/50)		0.0 (1/50)	2.5 (3/50)
JAV						0.0 (1/50)
LOU			0.4 (2/50)			0.4 (2/50)
PYR	0.0 (1/58)				4.7 (4/50)	0.0 (1/50)
RAN	94.6 (54/58)	91.3 (45/50)	100 (50/50)	68.1 (34/50)	82.9 (41/50)	89.2 (44/50)
SHE	87.3 (50/58)	74.4 (37/50)	100 (50/50)	40.6 (21/50)	72.3 (36/50)	89.2 (44/50)

^a ค่าของจำนวนผลบวก/จำนวนที่ทดสอบ ไม่สัมพันธ์กับค่า true seropositivity

ชนิดอื่น และการเก็บตัวอย่างไว้นานระหว่างการขนส่ง อาจมีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อเลปโตสไปรา (อุณหภูมิต่ำและช่วง pH ที่เหมาะสม คือ 28-30 °C และ 7.2-7.6; Adler, 2014) ดังนั้นในอนาคตควรมีการศึกษาพยาธิกำเนิดและการแพร่เชื้อเลปโตสไปราในเปิดโล่ง และการแพร่เชื้อสู่สัตว์ชนิดอื่น

สรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้เป็นการศึกษาความชุกเบื้องต้นของโรคลेปโตสไปโรซิสในเปิดโล่งในประเทศไทย ผลการตรวจด้วยวิธี MAT พบว่า seropositivity โดยรวมอยู่ที่ร้อยละ 88.3 ซึ่งซีโรวาร์ส่วนใหญ่ คือ Ranarum ร้อยละ 87 และ Shermani ร้อยละ 77 จึงสรุปได้ว่าเปิดโล่งอาจเป็นหนึ่งในสัตว์รังโรคที่สำคัญชนิดหนึ่ง ข้อมูลดังกล่าวอาจเป็นประโยชน์ต่อการป้องกันและควบคุมการติดต่อจากสัตว์สู่คน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สพ. ญ. กมลทิพย์ เสนาชัย จากสำนักงานปศุสัตว์จังหวัดพิจิตร สำหรับความช่วยเหลือด้านเทคนิคตลอดการศึกษา และขอขอบคุณ ดร. อนุวัฒน์ วิรัชสุตากุล และ นางสาวฉัตรสุตา สุระภี สำหรับคำปรึกษาในการเตรียมตีพิมพ์บทความวิชาการนี้

เอกสารอ้างอิง

Adler, B. (Ed.). 2014. Nutrition requirements, growth and cultivation. *Leptospira and leptospirosis*. Vol. 387. Springer. pp. 30-38.
Benacer, D., Zain, S. N. M., Amran, F., Galloway, R. L. and Thong, K. L. 2013. Isolation and molecular characterization of

Leptospira interrogans and *Leptospira borgpetersenii* isolates from the urban rat populations of Kuala Lumpur, Malaysia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 88(4): 704-709.

Benskin, C. M., Wilson, K., Jones, K. and Hartley, I. R. 2009. Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection. *Biological Reviews*. 84(3): 349-373.
Byrne, R. J., Jahnes, W. and Gleiser, C. A. 1955. Studies on Experimental avian Leptospirosis. *The Cornell Veterinarian*. 45(3): 290-296.
Chadsuthi, S., Bicout, D. J., Wiratsudakul, A., Suwancharoen, D., Petkanchanapong, W., Modchang, C. and Chalvet-Monfray, K. 2017. Investigation on predominant *Leptospira* serovars and its distribution in humans and livestock in Thailand, 2010-2015. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 11(2): 1-18.
European Center for Disease Prevention and Control (ECDC). 2006. Avian influenza A/H5N1 in bathing and potable (drinking) water and risks to human health version June 2006. Technical Report ECDC Scientific Advice. Sweden. 2-12 p.
Everard, C. O., Fraser-Chanpong, G. M., James, A. C. and Butcher, L. V. 1985. Serological studies on leptospirosis in livestock and chickens from Grenada and Trinidad. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 79(6): 859-864.
Ganoza, C. A., Matthias, M. A., Collins-Richards, D., Brouwer, K. C., Cunningham, C. B., Segura, E. R. and Vinetz, J. M. 2006. Determining risk for sepsis by molecular analysis of environmental surface waters for pathogenic *Leptospira*. *PLOS Medicine*. 3(8): 1329-1341.

- Gleiser, C. A., Jahnes, W. and Byrne, R. J. 1955. Avian leptospirosis: Studies on chick-embryo culture. *The Cornell Veterinarian*. 45(3): 296-304.
- Jobbins, S. E. and Alexander, K. A. 2015. Evidence of *Leptospira* sp. infection among a diversity of African wildlife species: beyond the usual suspects. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 109(5): 349-351.
- Lilenbaum, W. and Martins, G. 2014. Leptospirosis in cattle: a challenging scenario for the understanding of the epidemiology. *Transboundary and Emerging Diseases*. 61(s1): 63-68.
- Reiczigel, J., Földi, J. and Ózsvári, L. 2010. Exact confidence limits for prevalence of a disease with an imperfect diagnostic test. *Epidemiology & Infection*. 138(11): 1674-1678.
- Schneider, A. G., Casanovas-Massana, A., Hacker, K. P., Wunder Jr, E. A., Begon, M., Reis, M. G. and Ko, A. I. 2018. Quantification of pathogenic *Leptospira* in the soils of a Brazilian urban slum. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 12(4): 1-15.
- Sehgal, S. C. 2006. Epidemiological patterns of leptospirosis. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 24(4): 310.
- Smythe LD. 2008. Leptospirosis. Australian and New Zealand standard diagnostic procedures, Standing Committee on Agriculture and Resource Management, pp. 1-14.
- Songserm, T., Jam-on, R., Sae-Heng, N., Meemak, N., Hulse-Post, D. J., Sturm-Ramirez, K. M. and Webster, R. G. 2006. Domestic ducks and H5N1 influenza epidemic, Thailand. *Emerging Infectious Diseases*. 12(4): 575.
- Stoddard, R. A., Gee, J. E., Wilkins, P. P., McCaustland, K. and Hoffmaster, A. R. 2009. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 64(3): 247-255.
- Suwancharoen, D., Limlertvatee, S., Chetiyawan, P., Tongpan, P., Sangkaew, N., Sawaddee, Y. and Wiratsudakul, A. 2016A. A nationwide survey of pathogenic leptospires in urine of cattle and buffaloes by Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method in Thailand, 2011-2013. *Journal of Veterinary Medical Science*. 78(9): 1495-1500.
- Suwancharoen, D., Sittiwicheanwong, B. and Wiratsudakul, A. 2016B. Evaluation of Loop-mediated isothermal amplification method (LAMP) for pathogenic *Leptospira* spp. detection with leptospires isolation and real-time PCR. *Journal of Veterinary Medical Science*. 78(8): 1299-1302.
- World Organisation for Animal Health (OIE). 2014. Leptospirosis. The manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. [Online]. Available: <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrialmanual/access-online/>. [Accessed February 1, 2015].
- Wynwood, S. J., Graham, G. C., Weier, S. L., Collet, T. A., McKay, D. B. and Craig, S. B. 2014. Leptospirosis from water sources. *Pathogens and global health*. 108(7): 334-338.