

การศึกษาทางซีรัมวิทยาต่อโรคmelioidosisในปศุสัตว์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างปี พ.ศ. 2550-2551

นิตยา ศรีแก้วเขียว* ลัษณา รามริน เบญจลักษณ์ รัตนอรุณดิษฐ์ สุริย์ ธรรมศาสตร์

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

* ผู้รับผิดชอบ โทรศัพท์ 0-2579-8908-14 ต่อ 237 โทรสาร 0-2579-8919 e-mail : nittayai@dld.go.th

บทคัดย่อ

จากการศึกษาทางซีรัมวิทยาต่อโรคmelioidosisในปศุสัตว์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างปี พ.ศ. 2550-2551 โดยใช้ฐานข้อมูลการเกิดโรคในคน สำหรับกำหนดพื้นที่ในการศึกษา จากการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* โดย indirect heamagglutination test (IHA) จากตัวอย่างซีรัมโค (1,746) กระบือ (161) แพะ (2,134) แกะ (294) และ สุกร (128) รวมทั้งหมด 4,463 ตัวอย่าง ในจังหวัด กาฬสินธุ์ (781) ชัยภูมิ (70) นครพนม (223) บุรีรัมย์ (386) มหาสารคาม (176) มุกดาหาร (101) ร้อยเอ็ด (478) เลย (589) สกลนคร (691) สุรินทร์ (184) หนองบัวลำภู (180) และ อุบลราชธานี (604) พบว่าจังหวัดชัยภูมิให้ผลบวกมากที่สุดคือ 52.86% (37/70) รองลงมาคือ อุบลราชธานี 17.22% (104/604) และมุกดาหาร 6.93% (7/101) ส่วนในจังหวัดสุรินทร์ และ หนองบัวลำภู ให้ผลลบ ผลการศึกษาสอดคล้องกับข้อมูลเฝ้าระวังโรคในคนในปี พ.ศ. 2551 และสามารถใช้เป็นแนวทางในการวางแผนเฝ้าระวังและกำจัดโรคmelioidosis

คำสำคัญ : โรคmelioidosis, *Burkholderia pseudomallei*, indirect heamagglutination test

บทนำ

โรคเมลิออยโดซิส (Meliodosis) หรือโรคมวงคล่อเทียม เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* (Yabuuchi et al., 1992) ซึ่งพบได้บ่อยในเขตร้อน ระหว่างละติจูดที่ 20 องศาเหนือ และ 20 องศาใต้ เช่น เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และ ตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย (Cheng and Currie, 2005) สำหรับประเทศไทยพบเชื้อได้ทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะในดินภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีโอกาสพบเชื้อมากกว่าภาคอื่น ๆ การติดเชื้อในคนพบอัตราป่วยสูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี หนองบัวลำภู กาฬสินธุ์ สุรินทร์ ร้อยเอ็ด มุกดาหาร และ สกลนคร รวมแล้วเท่ากับ 2.34 ต่อแสนประชากร ทำให้เสียชีวิต 2 ราย (ศาริกา, 2549) คนและสัตว์มีโอกาสติดเชื้อจากดินขึ้นและในนาข้าว และ หนองบึง ผ่านเข้าทางบาดแผล หรือหายใจเอาฝุ่นที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป ในกรณีที่มีการติดเชื้อ *B. pseudomallei* ในคนแบบเฉียบพลัน จะทำให้มีอัตราตายสูงถึง 70% ถ้าไม่ได้รับการรักษาอย่างถูกต้องและทันการณ์ (Chaowakul et al., 1989) มีรายงานพบเชื้อในสัตว์หลายชนิดเช่น โค กระบือ แพะ แกะ กวาง ม้า ม้าลาย อูฐ ลา ล่อ หมูแพนด้า จิงโจ้ สุนัข แมว ลิง ชะนี อูรังอุตัง กระต่าย หนู หนูตะเภา กระรอก แมวบ้าน จระเข้ โลมา และ นกแก้ว (Ketterer et al., 1986 ; Currie et al., 1994 ; Dance et al., 1992) การเกิดโรคในสัตว์ในประเทศไทยยังมีรายงานไม่มากนัก ในสัตว์มักไม่แสดงอาการ สัตว์ที่ไวต่อการติดเชื้อคือ สุกร แพะ และ แกะ อาการที่พบคือ เป็นฝีตามอวัยวะต่างๆ สัตว์จะผอมและตายในที่สุด (Ileri, 1965) ฝีมานที่พบในสัตว์ส่วนใหญ่จะมีลักษณะคล้ายเนยมีสีเขียวเหลืองเป็นตุ่มเล็ก ๆ จำนวนมาก และโดยทั่วไปฝีมานจะพบได้ทั่วไปตามตอมาน้ำเหลือง ปอด ตับ ม้าม และเนื้อเยื่อต่างๆ ทั่วร่างกาย ในแพะและแกะรอยโรคที่พบมากคือ เป็นตุ่มฝีมานตามอวัยวะต่างๆ โดยเฉพาะเยื่อโพรงจมูกในสุกรมักพบฝีมานในม้าม ส่วนใหญ่พบโรคได้ก็ต่อเมื่อสัตว์นั้นป่วยตาย และเพาะแยกเชื้อได้จากอวัยวะต่างๆ (Ketterer et al., 1986)

การวินิจฉัยโรคที่ถือเป็นมาตรฐานในคน คือ การเพาะแยกเชื้อจากอวัยวะ หรือ จากเลือดผู้ป่วย ซึ่งต้องใช้เวลาหลายวัน การตรวจทางซีรัมวิทยาจะช่วยให้การวินิจฉัยโรคเบื้องต้นได้ ซึ่งมีหลายวิธี เช่น Latex agglutination, Indirect haemagglutination test (IHA), Indirect fluorescent antibody technique (IFA), Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) และ Gold blot ซึ่งวิธี IHA เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด (Dharakul et al., 1997) เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ราคาไม่แพง สามารถทราบผลได้รวดเร็ว และไม่ต้องใช้เครื่องมือที่ยุ่งยาก โดยเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* จึงได้นำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคนี้ในสัตว์ที่ห้องปฏิบัติการของกรมปศุสัตว์ในปัจจุบัน โดยการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ค่า cut-off ที่ $\geq 1:160$ ในการคัดกรองโรค (สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, 2549)

วัตถุประสงค์ในการศึกษาเพื่อทราบข้อมูลทางซีรัมวิทยาของโรคmelioidosis ด้วยวิธี IHA ในปศุสัตว์ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างปี พ.ศ. 2550-2551 โดยใช้ฐานข้อมูลการเกิดโรคในคน สำหรับกำหนดพื้นที่ในการศึกษา ซึ่งข้อมูลที่ได้จะใช้เป็นแนวทางในการวิจัย เพื่อวางแผนเฝ้าระวังและกำจัดโรคmelioidosisต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างซีรัม

เก็บตัวอย่างซีรัมโค กระบือ แพะ แกะ และ สุกร จำนวน 4,463 ตัวอย่าง ระหว่างปี พ.ศ. 2550-2551 โดยใช้ฐานข้อมูลการเกิดโรคในคนจาก 12 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด กาฬสินธุ์ ชัยภูมิ นครพนม บัรรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร ร้อยเอ็ด เลย สกลนคร สุรินทร์ หนองบัวลำภู และอุบลราชธานี (ตารางที่ 1)

การเตรียมแอนติเจน

meloidin antigen เตรียมโดยเพาะเลี้ยงเชื้อ *B. pseudomallei* บน blood agar อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงใน Tryptic soy broth ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ จากนั้นนำไปนิ่งฆ่าเชื้อ โดยเข้าเครื่อง autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 1,000 x g เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อแยกเอา supernate แล้วเติม phenol 0.5% โดยปริมาตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Appassakij et al., 1990)

การรักษาสภาพเม็ดเลือดแดงแคะด้วย glutaraldehyde (เตรียม 5% glutaraldehyde fixed sheep red blood cell (GFSRBC))

ปั่นเหวี่ยงเลือดแคะ (whole blood) ที่เก็บไว้ใน Alsever's solution ในอัตราส่วน 1:1 ที่ 2,000-2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อเก็บเม็ดเลือดแดงแคะ (SRBC) แล้วล้างเม็ดเลือดแดง 3 ครั้ง ด้วยสารละลาย magnesium sulphate saline (MgS) pH 7.0-7.2 จากนั้นนำเม็ดเลือดแดงที่ได้มาทำเป็น 10% โดยเจือจางกับสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) pH 7.2-7.4 แล้วเติม 2.5% glutaraldehyde ลงไป 1 ใน 5 ส่วน ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง magnetic stirrer นาน 2 ชั่วโมง ซึ่งเลือดจะมีสีเข้มขึ้นจนเป็นสีน้ำตาล นำเลือดที่ได้มาล้างด้วย PBS อีก 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งทำการปั่นเหวี่ยงที่ 2,000-2,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วเตรียมเม็ดเลือดแดงที่รักษาสภาพด้วย glutaraldehyde นี้เป็น 5% โดยเจือจางด้วย PBS เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ต่อไป (Mekaprateep et al., 1998)

การเตรียม sensitized antigen

เจือจางแอนติเจนด้วย PBS ในอัตราส่วน 1 : 500 และ เตรียม 1% GFSRBC จาก 5% GFSRBC ในปริมาตรที่เท่ากัน แล้วนำทั้ง 2 ส่วนผสมรวมกันลงใน flask ที่มี magnetic bar ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง magnetic stirrer ประมาณ 10 นาที แตะเย็นที่ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืนนำมาล้างด้วยสารละลาย PBS จำนวน 3 ครั้ง โดยทำการปั่นเหวี่ยงที่ 2,000-2,500 รอบต่อนาที ครั้งละ 10 นาที จากนั้นนำเลือดที่ได้นี้มาทำให้เป็น 0.5% โดยเจือจางกับ PBS เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำ checkerboard titration เพื่อหาปริมาณของแอนติเจน และแอนติบอดี ที่เหมาะสมในการทดสอบโรคต่อไป (Mekaprateep et al., 1998)

การทดสอบโรคด้วยวิธี IHA

การ absorb serum เพื่อลด non-specific โดยใส่ซีรัมลงใน deep well microplate หลุมละ 50 ไมโครลิตร แล้วนำไป inactivate ใน water bath ที่ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นเติม 5% GFSRBC หลุมละ 450 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง shaker และ incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2,000-2,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที

การทดสอบด้วยวิธี IHA โดยทำใน U-shape microtiter plate โดยเติมสารละลาย PBS 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมคอลัมน์ที่ 2 ถึง 11 แล้วดูด absorbed serum 50 ไมโครลิตร ลงใน microplate คอลัมน์ที่ 1, 2 และ 12 ทำการเจือจางซีรัมจากคอลัมน์ที่ 2 ถึง 9 (two-fold serial dilution) เติม 0.5% sensitized antigen 50 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์ที่ 1 ถึง 10 เติม 0.5% GFSRBC 50 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์ที่ 11 และ 12 เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง shaker ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 2 ชั่วโมง

การอ่านผล จากการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (hemagglutination) กับซีรัมทดสอบซึ่งเห็นผลอย่างชัดเจน เป็น titer และต้องดูว่าหลุมสุดท้าย (หลุม 12) ของแต่ละคอลัมน์ ซึ่งเป็นหลุมควบคุมว่าไม่มีการรบกวนจาก heterophile antibody นั้น ไม่มีการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง รวมทั้งค่า titer ของซีรัมควบคุมบวก และซีรัมควบคุมลบ จะต้องเท่าเดิมทุกครั้งที่ทำการทดสอบ

การแปลผล ถ้าซีรัมมีแอนติบอดีไตเตอร์ที่ $\geq 1:160$ ตัดสินเป็นบวก

ถ้าซีรัมมีแอนติบอดีไตเตอร์ $\geq 1:80$ แต่น้อยกว่า 1:160 ตัดสินเป็นผลสงสัย

ถ้าซีรัมมีแอนติบอดีไตเตอร์ต่ำกว่า 1:80 ตัดสินเป็นลบ

ผล

ผลการตรวจโรคเมลิออยโดซิสในปศุสัตว์ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างปี พ.ศ. 2550-2551 พบว่าตัวอย่างซีรัมโคให้ผลบวกมากที่สุดที่จังหวัดชัยภูมิ 63.83% (30/47) รองลงมาคือ อุบลราชธานี 20.78% (69/332) และ นครพนม 16.67% (5/30) ตัวอย่างซีรัมแพะให้ผลบวกมากที่สุดที่จังหวัดมุกดาหาร 6.93% (7/101) รองลงมาคือ สกลนคร 5.73% (37/646) และ นครพนม 4.66% (9/193) ตัวอย่างซีรัมแกะพบผลบวกมากที่สุดคือ จังหวัดชัยภูมิ 41.18% (7/17) รองลงมาคือ สกลนคร 3.13% (1/32) และ เลย 0.41% (1/245) ตัวอย่างซีรัมกระบือพบผลบวกในจังหวัดอุบลราชธานี 20.67% (31/150) ตัวอย่างซีรัมสุกรพบผลบวกจากจังหวัดสกลนคร 20% (1/5) และ อุบลราชธานี 20% (1/5) สรุปภาพรวมของจังหวัดที่มีการทดสอบที่ให้ผลบวกมากที่สุดคือจังหวัดชัยภูมิ 52.86% (37/70) รองลงมาคือ อุบลราชธานี 17.22% (104/604) และ มุกดาหาร 6.93% (7/101) โดยพบว่าในการตรวจตัวอย่างซีรัมโค แพะ แกะ กระบือ และสุกร จาก 12 จังหวัด ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยวิธีทางซีรัมวิทยา พบให้ผลบวกต่อโรคเมลิออยโดซิส 6.07% (271/4,463) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจทางซีรัมวิทยาต่อโรคเมลิออยโดซิสโดยวิธี IHA ในปศุสัตว์

ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างปี พ.ศ. 2550-2551 จำแนกตามชนิดสัตว์

จังหวัด	โค	แพะ	แกะ	กระบือ	สุกร	รวม
กาฬสินธุ์	4.91 ^a (31/632) ^b	1.34 (2/149)	-	-	-	4.22 (33/781)
ชัยภูมิ	63.83 (30/47)	0 (0/6)	41.18(7/17)	-	-	52.86 (37/70)
นครพนม	16.67 (5/30)	4.66 (9/193)	-	-	-	6.28 (14/223)
บุรีรัมย์	0 (0/7)	0.79 (3/379)	-	-	-	0.78 (3/386)
มหาสารคาม	0.78 (1/129)	0 (0/22)	-	0 (0/3)	0/ (0/22)	0.57 (1/176)
มุกดาหาร	-	6.93 (7/101)	-	-	-	6.93 (7/101)
ร้อยเอ็ด	8.22 (31/377)	0 (0/93)	-	0 (0/8)	-	6.48 (31/478)
เลย	-	0.29 (1/344)	0.41(1/245)	-	-	0.34 (2/589)
สกลนคร	0 (0/8)	5.73 (37/646)	3.13 (1/32)	-	20 (1/5)	5.64 (39/691)
สุรินทร์	0 (0/184)	-	-	-	-	0 (0/184)
หนองบัวลำภู	-	0 (0/180)	-	-	-	0 (0/180)
อุบลราชธานี	20.78 (69/332)	0 (0/21)	-	20.67 (31/150)	3.96(4/101)	17.22 (104/604)
รวม	9.56(167/1,746)	2.76(59/2,134)	3.06 (9/294)	19.25(31/161)	3.90(5/128)	6.07(271/4,463)

a : % ที่ให้ผลบวก

b : จำนวนผลบวก/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ

- : ไม่ได้ตรวจ

การกระจายตัวของโรคเมลิออยโดซิส โดยแบ่งตามชนิดสัตว์ในแต่ละอำเภอและแต่ละจังหวัด พบว่า ตัวอย่างซีรัมโคจาก 9 จังหวัด พบให้ผลบวกใน 20 อำเภอ จากการตรวจ 33 อำเภอ ตัวอย่างซีรัมแพะจาก 11 จังหวัด พบให้ผลบวกใน 8 อำเภอ จากการตรวจ 25 อำเภอ ตัวอย่างซีรัมแกะจาก 3 จังหวัด พบให้ผลบวกใน 3 อำเภอ จากการตรวจ 4 อำเภอ ตัวอย่างซีรัมกระบือจาก 3 จังหวัด พบให้ผลบวกใน 3 อำเภอ จากการตรวจ 5 อำเภอ ตัวอย่างซีรัมสุกรจาก 3 จังหวัด พบให้ผลบวกใน 2 อำเภอ จากการตรวจ 5 อำเภอ ซึ่งรวมแล้วจังหวัดที่มีการกระจายของโรคเมลิออยโดซิสในพื้นที่อำเภอต่าง ๆ ดังนี้คือ จังหวัด อุบลราชธานี 4/4 ชัยภูมิ 1/1 ร้อยเอ็ด 7/9 มุกดาหาร 2/3 กาฬสินธุ์ 6/12 สกลนคร 2/4 มหาสารคาม 1/2 เลย 1/2 นครพนม 1/3 และ บุรีรัมย์ 1/3 ส่วนจังหวัด สุรินทร์ และ หนองบัวลำภู ไม่พบผลบวกจากการตรวจใน 1 และ 2 อำเภอ ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 จำนวนอำเภอที่ให้ผลบวกในการทดสอบโรคทางซีรัมวิทยาต่อโรคเมลิออยโดซิสในปศุสัตว์ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างปี พ.ศ. 2550-2551 จำแนกตามจังหวัด

จังหวัด	โค	แพะ	แกะ	กระบือ	สุกร	รวม
กาฬสินธุ์	6 ^a /12 ^b	1/4	-	-	-	6/12
ชัยภูมิ	1/1	0/1	1/1	-	-	1/1
นครพนม	1/1	1/3	-	-	-	1/3
บุรีรัมย์	0/1	1/3	-	-	-	1/3
มหาสารคาม	1/2	0/1	-	0 / 1	0/1	1/2
มุกดาหาร	-	2/3	-	-	-	2/3
ร้อยเอ็ด	7/9	0/2	-	0 / 1	-	7/9
เลย	-	1/2	1/2	-	-	1/2
สกลนคร	0/1	2/4	1/1	-	1/1	2/4
สุรินทร์	0/2	-	-	-	-	0/2
หนองบัวลำภู	-	0/1	-	-	-	0/1
อุบลราชธานี	4/4	0/1	-	3/3	1/3	4/4
รวม	20/33	8/25	3/4	3/5	2/5	

a : จำนวนอำเภอที่ให้ผลบวก

b : จำนวนอำเภอที่ตรวจ

- : ไม่ได้ตรวจ

วิจารณ์

จากการศึกษาทางซีรัมวิทยาต่อโรคmelioidosisในปศุสัตว์ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างปี พ.ศ. 2550-2551 โดยการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* ด้วยวิธี IHA จากตัวอย่างซีรัม โค แพะ แกะ กระบือ และ สุกร จำนวน 4,463 ตัวอย่าง พบผลบวกมากที่สุดในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิคือ 52.86% ที่อาจเป็นผลจากการเก็บตัวอย่างซีรัมจากพื้นที่ที่มีประวัติการเกิดโรคmelioidosis มาก่อนแล้ว จึงพบแอนติบอดีในเปอร์เซ็นต์ค่อนข้างสูง รองลงมาคือ อุบลราชธานี 17.22% และ มุกดาหาร 6.93% ซึ่งเป็นจังหวัดที่มีรายงานพบอัตราป่วยต่อแสนประชากรสูงสุด 2 ใน 5 อันดับแรกของประเทศไทย จากข้อมูลเฝ้าระวังโรค ตั้งแต่ 1 มกราคม-23 กรกฎาคม 2551 (สำนักระบาดวิทยา, 2551) ด้วยลักษณะภูมิประเทศ และ ความนิยมในการเลี้ยงสัตว์ หรือ บริโภคเนื้อสัตว์ต่างกัน ทำให้เกิดความแตกต่างกันของชนิด และ จำนวนสัตว์ในแต่ละพื้นที่ เป็นผลให้การตรวจพบโรคในแต่ละสัตว์แตกต่างกันด้วย เช่น จังหวัดนครพนม บุรีรัมย์ และ สกลนคร เกษตรกรนิยมเลี้ยงแพะ และ โค สำหรับจังหวัดอุบลราชธานี เกษตรกรนิยมเลี้ยงโคมากกว่า ทำให้ผลการตรวจพบโรคมากในโค และ กระบือ

การใช้วิธี IHA ในการตรวจวินิจฉัยโรคmelioidosisในห้องปฏิบัติการ โดยเฉพาะในคนยังมีข้อจำกัด เนื่องจากระดับแอนติบอดีต่อเชื้อก่อโรคนี้ มีความแตกต่างกันตาม อายุ เพศ และถิ่นที่อยู่อาศัย ทำให้ไม่สามารถแยกแยะระหว่างการติดเชื้อปัจจุบันหรือการติดเชื้อที่หายแล้ว และเนื่องจากประชากรที่อาศัยอยู่ในท้องถิ่นต่าง ๆ กันมีระดับแอนติบอดีไม่เท่ากัน ทำให้ยากต่อการกำหนดค่า cut-off มาตรฐานสำหรับการวินิจฉัยโรค (Suputtamongkol et al., 1994) ในถิ่นที่มีการระบาดของโรคที่ cut-off ไตเตอร์ $\geq 1:160$ มีความไว 81% ความจำเพาะ 91.4% ความแม่นยำ 88.1% Petkanchanapong, (1992) นอกจากนี้อาจมี cross-reaction กับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น เช่น *Pseudomonas aeruginosa* เชื้อวัณโรค และ ไทฟอยด์ (Richard et al., 2000)

การตรวจโรคmelioidosisทางซีรัมวิทยาในพื้นที่ endemic area พบว่าในสัตว์ปกติอาจจะมีการตรวจพบระดับของแอนติบอดีต่อโรคนี้ได้ อย่างไรก็ตามการทดสอบทางซีรัมวิทยาอาจมีประโยชน์ในการตรวจสอบการติดเชื้อแบบเรื้อรังได้ในพื้นที่ที่ไม่เคยเกิดโรค (O'Brien et al., 2004) ทั้งนี้ Thomas et al. (1988) รายงานการศึกษาโรคนี้ในแพะปกติที่มีแอนติบอดีต่ำ ๆ เมื่อผ่าซากและเพาะเชื้ออาจพบเชื้อหรือพบเพียง sterile abscesses ที่ม้ามและ/หรือ prescapular lymph node ดังนั้นแอนติบอดีที่ตรวจพบอาจบ่งชี้ว่าเคยมีการติดเชื้อ หรือกำลังมีการติดเชื้อโดยสัตว์ไม่แสดงอาการ ส่วนการเกิด cross-reaction ในสัตว์ยังไม่มีการศึกษาอย่างชัดเจน

สำหรับการวินิจฉัยโรคที่ถือเป็นมาตรฐานคือการเพาะแยกเชื้อจากอวัยวะ หรือจากเลือดซึ่งต้องใช้เวลานานหลายวัน ดังนั้นการตรวจทางซีรัมวิทยาจะช่วยให้การคัดกรองโรคเบื้องต้นได้ และวิธี IHA เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ราคาไม่แพง สามารถทราบผลได้รวดเร็ว และไม่ต้องใช้เครื่องมือที่ยุ่งยาก เหมาะสำหรับการห้องปฏิบัติการทั่วไป จึงนำมาใช้ในการคัดกรองโรคในห้องปฏิบัติการของกรมปศุสัตว์ในปัจจุบัน โดยเลือกใช้ค่า cut-off ที่ $\geq 1:160$ (สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, 2549)

ผลการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นว่าให้ผลบวกค่อนข้างสูงและพบเกือบทุกจังหวัด จึงน่าจะมีการเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ยังมีข้อด้อยที่ตัวอย่างบางจังหวัดมีน้อยเกินไป และเก็บตัวอย่างไม่กระจายเท่าที่ควร จึงอาจจะเป็นตัวแทนของประชากรสัตว์ทั้งหมดไม่ได้นัก นอกจากนี้ควรเก็บตัวอย่างให้มีการกระจายมากขึ้นเพื่อใช้เป็นข้อมูลในทางระบาดวิทยาด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาครั้งนี้ขอขอบคุณ สพ.ญ.มนยา เอกทัตร์ สพ.ญ.เรขา คณิตพันธ์ เจ้าหน้าที่กลุ่มอิมมูนและซีรัมวิทยา ที่ช่วยสนับสนุน ให้คำแนะนำ ตลอดจนเจ้าหน้าที่กรมปศุสัตว์ประจำจังหวัดทั้ง 12 จังหวัด ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่าง ทำให้การศึกษานี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์. 2549. คู่มือมาตรฐานการชันสูตรโรคเมลิออยโดสิส โดยวิธีทางซีรัมวิทยา. หน้า 7.
- ศาริกา พัฒนสิน. 2550. โรคเมลิออยโดสิส (Meliodosis). สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค 2550. หน้า 53 - 55. <http://epid.moph.go.th/>
- สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. 2551. รายงานโรคในระบบเฝ้าระวัง. หน้า 506. <http://epid.moph.go.th/Zoonosis/melioidosis.htm>
- Appassakij, H., Silpapojakul, K.R., Wansit, R. and Poenputkul, M. 1990. Diagnostic value of the indirect hemagglutination test for melioidosis in an endemic area. Am. J. Trop. Med. Hyg. 42: 248 - 253.
- Chaowakul, W., White, N.J., Dance, D.A.B., Wattanagoon, Y., Naigowit, P., Davis, TME., Looareesuwan, S. and Pitakwatchara, N. 1989. Melioidosis: a major cause of community-acquired septicemia in north eastern Thailand. J. Infect Dis. 159: 890 - 899.

- Cheng, A.C. and Currie, B.J. 2005. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology and management. Clin. Microbial. Rev. 18: 383 - 416.
- Currie, B., Smith-Vanhan, 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.
- Dharakul, T., Songsivili, S., Anuntagool, N., Chaowagul, W., Wongbunnate, S., Intachote, P. and Sirisnha, 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.
- 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.
- 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.
- Ileri, S.Z. 1965. The indirect hemagglutination test in the diagnosis of melioidosis in goats. Br. Vet. J. 121: 164 - 170.
- Mekaprateep M., Jiwakanon., N., Jongkajornpong, L., Assawapati, W. and Leesirikul, N. 1998. Use of indirect haemagglutination (IHA) test for semidiagnosis of melioidosis in dairy cow. J. Thai Vet. Med Assoc. 49: 35 - 44.
- O'Brien, M., Freeman, K., Lum, G., Cheng, A.C., Jacups, S.P. and Currie, B. j. 2004. Further evaluation of a rapid diagnostic test of melioidosis in an area of endemicity. J. Clin. Microbiol. 42: 2239 - 2240.
- Petkanchanapong, V., Naigowit, P., Kondo, E. and Kanai, K. 1992. Use of endotoxin antigen in enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *P. pseudomallei* infection (Melioidosis). Asian Pac J Allergy Immunol. 10:145 - 150.
- Richard, A.F., Attasampunna, P. and Chulasmaya, M. 2000. *Pseudomonas (Burkholderia) pseudomallei* in Thailand, 1964-1967: Geographic distribution of the organism, attempts to identify cases of active infection and presence of antibody in representation sera. Am J Trop Med Hyg. 62 (2): 232 - 239.

- Suputtamongkol, Y., Hall, A.J., Dance, D.A., Chaowagul, W., Rajchanuvong, A., Smith, M.D. and White, N.J. 1994. The epidemiology of melioidosis in Ubon Ratchathani northeast Thailand. Intern. J. Epidemiol. 23: 1082 - 1090.
- Thomas, A.D., Spinks, G.A., D'Arcy, T.L., Norton, J.H. and Trueman K.F. 1988. Evaluation four serological tests for the diagnosis of caprine melioidosis. Aust. Vet. J. 65: 261 - 264.
- 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 group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. Nov. Microbiol. Immunol. 36: 1251 - 1275.

Serological study of melioidosis in livestock in the northeastern part of Thailand during 2007-2008.

Nittaya Srikawkheaw * Luckana Ramrin Benchaluck Rattanauradin Suree Thammasart

National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, Kasetklang, Jatujak, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding author Tel. 0-2579-8908-14 ext. 237 Fax. 0-2579-8919 e-mail: nittayai@dld.go.th

Abstract

During 2007-2008, Serological study of melioidosis in livestock in the northeastern part of Thailand was undertaken. Detection of antibody against *Burkholderia pseudomallei* by indirect haemagglutination test from 4,463 serum samples from cattle (1,746), buffaloes (161), goat (2,134), sheep (294) and pigs (128) from Kalasin (781), Chaiyaphume (70), Nakhon Panom (223), Buri Rum (386), Maha Sarakham (176), Mukdahan (101), Roi Et (478), Loei (589), Sakon Nakhon (691), Surin (184), Nongbua Lumphoo (180) and Ubon Ratchathani province (604) was performed. The results showed that the most positive samples were found in Chaiyaphume at 52.86% (37/70), followed by Ubon Ratchathani at 17.22% (104/604) and Mukdahan at 6.93% (7/101) but no positive sample was found in Surin and Nongbua Lumphoo. It was concluded that the serological study of melioidosis in livestock in this region was relatively high, and that appropriate disease control strategies were needed.

Key words : Melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*, indirect haemagglutination test