

การติดเชื้อ布鲁เซลโลซิสในฟาร์มผู้เลี้ยงแพะรายใหม่

Brucellosis infection in the new commercial goat farms

มนกานต์ อินทรกำแหง,^{1*} อรพิน จันตะแสง²

Manakant Intrakamhaeng,^{1*} Orapin Jantasaeng²

บทคัดย่อ

การตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ布鲁เซลโลซิสในฝูงแพะของเกษตรกรผู้เลี้ยงรายใหม่ทั้ง 7 ฟาร์ม จำนวนแพะทั้งหมด 249 ตัว ด้วยแอนติเจนที่ผลิตจากเชื้อ *Brucella abortus* strain 1119 – 3 โดยวิธี Rose Bengal test พบผลบวก จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 1.60 ซึ่งพบว่าเป็นแพะที่นำมาเลี้ยงในฟาร์มเดียวกัน โดยมี 2 ตัวเป็นแพะแม่พันธุ์ที่มีแหล่งที่มาจากฟาร์มในเขตจังหวัดเพชรบูรณ์ อีก 2 ตัว เป็นลูกแพะที่เกิดจากแม่แพะทั้งสอง ผลการวินิจฉัยโรค布鲁เซลโลซิสด้วยปฏิกิริยาลูกซ์พีซีอาร์ พบว่าแพะทั้ง 4 ตัวให้ดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 720 คู่เบส ข้อมูลที่น่าสนใจคือแพะของเกษตรกรผู้เลี้ยงรายนี้ตัวอื่นๆ ที่ให้ผลลบต่อการตรวจทางซีรัมวิทยาแต่ให้ดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 720 คู่เบส ด้วยเช่นกัน จึงเป็นไปได้ว่าแพะทั้งหมดจากฟาร์มนี้มีการติดเชื้อ *Brucella melitensis* การติดเชื้อ布鲁เซลโลซิสในฝูงแพะเป็นสิ่งที่ต้องเฝ้าระวังเป็นอย่างยิ่งโดยเฉพาะในเกษตรกรผู้เลี้ยงรายใหม่ที่ยังไม่เคยมีประสบการณ์การคัดเลือกแพะมาจากฝูงที่ปลอดโรค

คำสำคัญ: 布鲁เซลโลซิส ฟาร์มแพะ การวินิจฉัย

Abstract

The diagnosis of Brucellosis infection were performed in 249 goats of seven new commercial goat farms by serological method (the Rose Bengal plate test) from *Brucella melitensis* antigen strain 1119 – 3 and polymerase chain reaction technique. The four positive goats (1.60%, 4/249) were fed on a new commercial goat farm. Two positive samples were blood of does that were taken from a farm in Phetchabun province. The other two positive samples were blood of kids from the both parent does. The result from polymerase chain reaction technique revealed that all positive samples showed the expected 720 bp DNA fragment of *Brucella melitensis*. Interestingly, the negative samples also showed the 720 bp DNA fragment that indicated all goats from this farm were also

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ² นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุขศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44000

¹ Assistant Professor, ² Scientist, Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Science, Mahasarakham University, Mahasarakham, 44000, Thailand

*Corresponding author: Manakant Intrakamhaeng, Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Science, Mahasarakham University, Mahasarakham, 44000, Thailand

infected. Brucellosis infections in goat herds need to take surveillance action and emphasize on the new commercial farms that have little experience in order of healthy goat.

Keywords: Brucellosis, Goat farms, Diagnosis

บทนำ

โรค布鲁เซลโลซิส (Brucellosis) ในแพะ ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Brucella melitensis* ทำให้เกิดการแท้งและผลผลิตน้ำนมแพะลดลง หากระยะเฉียบพลันสิ้นสุดอาจพบอาการของโรคเล็กน้อยหรืออาจไม่พบอาการทางคลินิก แต่เซลล์ของเชื้อสามารถแฝงในเซลล์ต่อมน้ำเหลืองเหนือเต้านม (supramammary lymph node) และเซลล์ต่อมน้ำนมได้ (mammary gland) ดังนั้นสัตว์ที่ติดเชื้อจะสามารถปล่อยเชื้อก่อโรคให้ปนเปื้อนในสิ่งคัดหลั่งของร่างกายได้ เกษตรกรผู้สนใจเลี้ยงแพะรายใหม่ มักซื้อพ่อแม่พันธุ์แพะมาจากแหล่งต่าง ๆ จำนวนมาก ทำให้เสี่ยงต่อการนำสัตว์ที่มีเชื้อเข้าสู่ฟาร์มหากไม่มีการตรวจคัดกรองโรคที่ดี และจะเกิดผลเสียหายหากเชื้อก่อโรคในเกษตรกรหรือคนที่อาศัยใกล้ชิดกับสัตว์ที่ติดเชื้อในเดือนกุมภาพันธ์ ปี พ.ศ.2557 ที่จังหวัดนครปฐมมีรายงานว่าความชุกทางซีรัมในระดับฝูงปรร้อยละ 20 และพบความชุกรายตัวร้อยละ 4.66 (1) สอดคล้องกับรายงานการควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ทั่วประเทศในเดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2557 ที่พบความชุกทางซีรัมในระดับฝูงหรือระดับฟาร์มร้อยละ 20.29 (2) ปัจจุบันการวินิจฉัยโรค布鲁เซลโลซิสในแพะ ใช้วิธีซีรัมวิทยา (serological test) และวิธีจุลชีววิทยา (microbiological test) รวมทั้งวิธีการตรวจสอบพันธุกรรมของเชื้อก่อโรค (Nucleic acid based-detection methods) เช่น ปฏิกริยาลูกโซ่พีซีอาร์ (Polymerase chain reaction) ทั้งนี้เกษตรกรที่เป็นผู้เลี้ยงแพะรายใหม่ ควรต้องแจ้งสัตวแพทย์ให้ทดสอบเลือดหาเชื้อโรค布鲁เซลโลซิสทุกตัว กรณีที่ให้ผลบวกจะต้องทำการบันทึกสังกัดไว้ในบริเวณ

ที่สามารถป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรคจากสัตว์ป่วย มีการทำลายสัตว์ตามระเบียบกรมปศุสัตว์ที่เป็นโรครบาดและทำลายสัตว์หรือซากสัตว์ที่เป็นพาหะของโรครบาด พ.ศ. 2547 การศึกษาครั้งนี้เป็นการตรวจเลือดแพะในฝูงที่อยู่ในการครอบครองของเกษตรกรรายใหม่ และมีประสบการณ์การเลี้ยงน้อย ผลการศึกษาจะแสดงให้เห็นถึงผลการควบคุมโรค布鲁เซลโลซิสและการเคลื่อนย้ายสัตว์ในปัจจุบันและความเสี่ยงของแพะที่นำเข้าฟาร์ม เพื่อสร้างความมั่นใจแก่เกษตรกร โดยเฉพาะเกษตรกรผู้เลี้ยงรายใหม่ที่ยังไม่เคยมีประสบการณ์การคัดเลือกแพะมาจากฝูงที่ปลอดโรค

วิธีการดำเนินงานวิจัย

กลุ่มตัวอย่าง

งานวิจัยครั้งนี้กำหนดกลุ่มตัวอย่างให้เป็นแพะที่อยู่ในครอบครองของเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะที่มีประสบการณ์เลี้ยงไม่เกิน 2 ปี, แต่ละฟาร์มมีแหล่งที่มาของแพะในฝูง ต้องไม่น้อยกว่า 1 แหล่ง, สถานที่ตั้งแต่ละฟาร์มอยู่ในพื้นที่ 4 จังหวัดที่มีอาณาเขตติดต่อกัน ได้แก่ จังหวัดมหาสารคาม จังหวัดขอนแก่น จังหวัดกาฬสินธุ์ และจังหวัดร้อยเอ็ด, จำนวนฝูง (ฟาร์ม) อย่างน้อย 7 ฝูง (ฟาร์ม) และแต่ละฝูงต้องมีจำนวนแพะหรือขนาดฝูงไม่น้อยกว่า 30 ตัวต่อฝูง ดังนั้นจึงได้ศึกษาฟาร์มแพะจำนวนทั้งหมด 7 ฟาร์ม มีสถานที่ตั้งฟาร์มอยู่ใน จังหวัดมหาสารคาม จำนวน 2 ฟาร์ม, จังหวัดขอนแก่น จำนวน 2 ฟาร์ม, จังหวัดกาฬสินธุ์ จำนวน 1 ฟาร์ม, และจังหวัดร้อยเอ็ด จำนวน 2 ฟาร์ม ดำเนินการระหว่างเดือนมกราคม 2556 จนถึงเดือนธันวาคม 2556 จำนวนแพะทั้งหมด 249 ตัว

การทดสอบทางซีรัมวิทยา

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อบรูเซลโลซิส ได้ทำการเจาะเลือดแพะพ่อแม่พันธุ์ทุกตัวในแต่ละฝูงใส่หลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) จำนวน 3 ml และตัวอย่างเลือดมาปั่นซีรัมด้วยความเร็วรอบ 5,000 rpm 5 นาที ได้ตัวอย่างซีรัมแพะทั้งหมด 249 ตัว ทดสอบโดยวิธี RBT (Rose Bengal test) ด้วยแอนติเจนที่ผลิตจากเชื้อ *B. abortus* strain 1119 – 3 ที่ผลิตโดยสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา ผลบวก (positive) สังเกตจากการจับกลุ่มของแอนติเจนและแอนติบอดี (agglutination) ซึ่งมีลักษณะคล้ายตะกอนละเอียดสามารถมองเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า

ติดตามซีรัมที่ให้ผลบวกด้วยวิธี RBT โดยการสอบถามแหล่งที่มาของแพะ ประวัติการผสมพันธุ์และการให้ลูกภายในฝูง ทำการเจาะเลือดแพะตัวที่ให้ผลบวกอีกครั้ง รวมทั้งเจาะเลือดแพะตัวอื่นที่ได้รับการผสมพันธุ์และลูกที่เกิดจากแพะตัวนั้นๆ นำเลือดแพะที่ให้ผลบวกด้วยวิธี RBT และเลือดแพะที่อยู่ในฝูงนั้นๆ ไปสกัดจีโนมส์ดีเอ็นเอของเชื้อ *B. melitensis* ตามวิธีการของชุดสกัด genomic Mini kit (Geneaid) วัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง Nano drop 1000 spectrophotometer (Thermo Scientific) และนำไปทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ต่อไป

การตรวจด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์

ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์และจำแนกยีน outer membrane protein (*omp31*) เลือกใช้ไพรเมอร์มีลำดับเบส ดังนี้ 5'-TGA CAG ACT TTT TCG CCG AA-3' และ 5'-TAT GGA TTG CAG CAC CGC-3' ซึ่งผลผลิตปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์จะมีลำดับเบสเป้าหมาย 720 คู่เบส (3) ใช้จีโนมส์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Brucella* spp. เป็น positive

control ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จากสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

ปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1xPCR buffer, 1.5mM MgCl₂, 0.2mM dNTP mix, 1μM primer forward, 1μM primer reward, 0.5U DNA polymerase และ DNA template 50 ng และ type I purified water จากนั้นทำปฏิกิริยาลูกโซ่ใช้เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออัตโนมัติ ก่อนการทำงานของปฏิกิริยาลูกโซ่กำหนดอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อเตรียมดีเอ็นเอต้นแบบให้แยกเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวอย่างสมบูรณ์ (preheat) จากนั้นเริ่มปฏิกิริยาลูกโซ่จำนวน 35 รอบ ตามวงรอบที่อุณหภูมิต่างๆกัน คือ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที เพื่อดีเอ็นเอเสียสภาพแยกเป็นสายเดี่ยว (denature) จากนั้นลดอุณหภูมิ เป็น 57 องศาเซลเซียส เพื่อให้ดีเอ็นเอต้นแบบจับตัวอย่างเหมาะสมกับไพรเมอร์ (annealing) ใช้เวลา นาน 1 นาที และเพิ่มอุณหภูมิขึ้นที่ระดับ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที เพื่อให้มีการเพิ่มจำนวนเบสจากการจับตัวอย่างเหมาะสมของแต่ละไพรเมอร์และดีเอ็นเอต้นแบบ (extension) เมื่อปฏิกิริยาลูกโซ่ทำงานครบ 35 รอบ ก่อนสิ้นสุดปฏิกิริยา ให้คงอุณหภูมิที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 1 รอบ และเก็บรักษาผลผลิตพีซีอาร์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (hold) ถือเป็นขั้นตอนการทำปฏิกิริยา ลูกโซ่ที่เสร็จสมบูรณ์ (4)

ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) ด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิส ใช้อะกาโรสความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ใช้ 1xTBE buffer นำกระแสไฟฟ้าที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 60 นาที ตรวจแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่องถ่ายภาพเจลและบันทึกผลการทดลอง

ผลการทดลอง

ฟาร์มแพะจำนวนทั้งหมด 7 ฟาร์ม มีสถานที่ตั้งฟาร์มอยู่ในพื้นที่ 4 จังหวัดที่มีอาณาเขตติดต่อกัน เกษตรกรมีประสบการณ์เลี้ยง 1-2 ปี แต่ละฟาร์มซื้อแพะพ่อแม่พันธุ์มาจากหลายแหล่ง ได้แก่ เพชรบูรณ์ ชัยภูมิ นครราชสีมา และสระบุรี อายุของแพะที่ซื้อเข้าฟาร์ม ประมาณ 7-15 เดือน มีจำนวนประมาณ 21 - 51 ตัวต่อฝูง (ฟาร์ม) และส่วนใหญ่เป็นเพศเมียร้อยละ 80-100 โดยพันธุ์ Boer เป็นพันธุ์ที่พบมากที่สุด รองลงมาเป็นพันธุ์ Anglo-Nubian และพันธุ์ผสม

ผลการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ布鲁เซลลาซิระหว่างเดือนมกราคม 2556 จนถึงเดือนธันวาคม 2556 จำนวนแพะทั้งหมด 249 ตัว พบผลบวก (positive) จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 1.60 ผลลบ (negative) หรือตัวอย่างที่ไม่มีการจับกลุ่มของแอนติเจนและแอนติบอดี (no agglutination) จำนวน 245 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 98.39 ให้คะแนนผลบวกตามลักษณะของการจับกลุ่มของแอนติเจนและแอนติบอดี พบตัวอย่างเลือดแพะจำนวน 1 ตัว ที่ให้ผล +2 หรือตะกอนสีชมพูอ่อนเป็นตะกอนละเอียดกระจายทั่ววงกลมรอบๆ มีลักษณะขุ่น และตัวอย่างเลือดแพะจำนวน 3 ตัว ที่ให้ผล +1 หรือตะกอนสีชมพูอ่อนเป็นตะกอนละเอียดขนาดเล็กสามารถมองเห็นเมื่อเอียงกระຈกกระจายทั่ววงกลม รอบๆ มีลักษณะขุ่น

ตัวอย่างเลือดแพะทั้ง 4 ตัว เป็นแพะที่นำมาเลี้ยงในฟาร์มเดียวกันในจังหวัดร้อยเอ็ด โดยแพะที่ให้ผลบวก 2 ตัวเป็นแพะแม่พันธุ์ที่

เกษตรกรรายนี้ซื้อจากฟาร์มในเขตจังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งเป็นฟาร์มที่จำหน่ายแพะออกทั้งหมดโดยไม่ทราบสาเหตุและปัจจุบันไม่มีการเลี้ยงแพะแล้ว ส่วนอีก 2 ตัว เป็นลูกแพะที่เกิดจากแม่แพะทั้งสองที่ให้ผลบวก ดังนั้นจึงติดตามซีรัมของพ่อพันธุ์ พบว่าลูกทั้งสองตัวเกิดจากพ่อพันธุ์ตัวเดียวกันและยังคงเลี้ยงอยู่ในฟาร์มเกษตรกร แต่พบว่าผลการตรวจด้วยวิธี RBT ให้ผลลบ การติดตามซีรัมของแพะตัวอื่นที่ได้รับการผสมพันธุ์จากพ่อพันธุ์ตัวนี้ ด้วยวิธี RBT พบว่าให้ผลลบเช่นเดียวกัน

ผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 720 คู่เบส ของยีน *omp31* ด้วยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ซีอาร์จากตัวอย่างเลือดแพะที่ให้ผล RBT เป็นบวกจำนวน 4 ตัว เลือดแพะของเกษตรกรรายนี้ที่ให้ผล RBT เป็นลบ จำนวน 3 ตัว และจีโนมิกส์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Brucella spp.* ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จากสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ ใช้เป็นตัวควบคุมผลทางบวก (Positive sample control) ผลการศึกษาดัง Figure 1 พบว่าผลผลิตพีซีอาร์ของตัวอย่างที่ให้ผล RBT เป็นบวกจำนวน 4 ตัว และตัวอย่างที่ให้ผล RBT เป็นลบจำนวน 3 ตัว ปรากฏแถบดีเอ็นเอจำนวน 4 แถบที่เหมือนกันทั้งหมด คือ มีขนาดประมาณ 1000, 720, 400 และ 300 คู่เบส ตามลำดับ ขณะที่จีโนมิกส์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Brucella spp.* จากสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติปรากฏแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 720 คู่เบส และ 800 คู่เบส ตามลำดับ

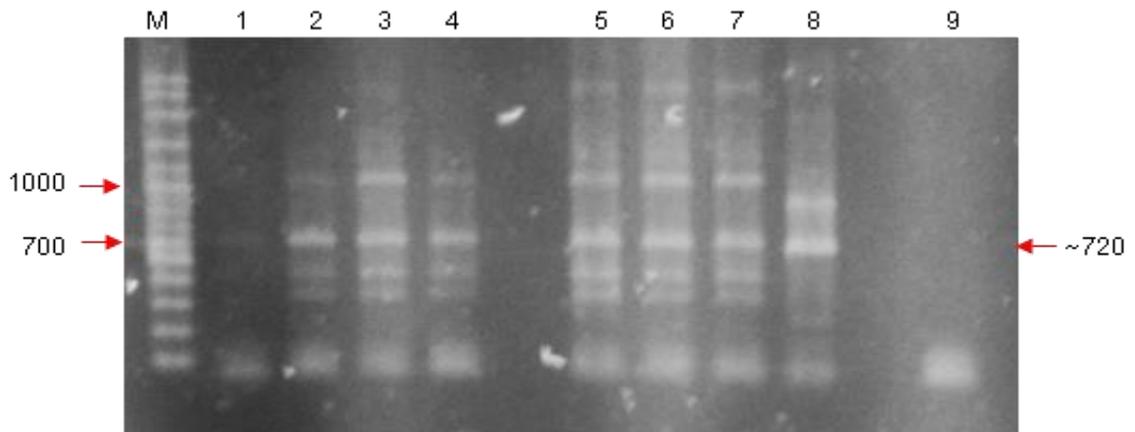


Figure 1 Agarose gel electrophoresis of *B. melitensis* PCR assay. The PCR products were resolved in a 0.8 % (w/v) agarose gel and stained with ethidium bromide. Lane 1-4, positive samples form RBT; lane 5-7, negative samples form RBT, lanes 8, *Brucella spp.* (Positive control); lane 9, negative control without DNA. The first lane (M) contains a 100-bp ladder as a size standard and arrow at the right indicates 720 bp amplification.

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้พบว่าเกษตรกรผู้เลี้ยงรายใหม่มีความเสี่ยงต่อการจัดหาแพะพ่อแม่พันธุ์ที่มาจากแหล่งที่มีการติดเชื้อเข้าสู่ฝูง แหล่งที่เกษตรกรรายใหม่นิยมซื้อแพะพ่อแม่พันธุ์ เป็นพื้นที่การเลี้ยงแพะหนาแน่น การตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชือบรูเซลโลซิสในการศึกษาครั้งนี้ด้วย Rose Bengal plate test (RBPT) เป็นวิธีหนึ่งในวิธีการทางซีรัมวิทยา วิธีการอื่นๆ เช่น standard tube agglutination test (STAT), Coombs test, complement fixation test (CFT), 2-mercaptoethanol test and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ซึ่งองค์การสุขภาพสัตว์ระหว่างประเทศ OIE (The World Organisation for Animal Health) ได้เน้นให้ไม่ใช้การตรวจด้วยวิธีการทางซีรัมวิทยาเพียงวิธีเดียวในการวินิจฉัย แม้ว่าการศึกษาในแพะและแกะพบว่า การตรวจด้วย RBT มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 93.45 และความจำเพาะ (specificity) แต่มีรายงานว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี

STAT พบว่าบางตัวอย่างให้ผลลบต่อวิธี RBT แต่ให้ผลบวกต่อวิธี STAT และเมื่อเปรียบเทียบวิธี RBT เทียบกับวิธี CFT พบว่าบางตัวอย่างให้ผลลบต่อวิธี RBT แต่ยังให้ผลบวกต่อวิธี CFT อีกด้วย ดังนั้นการสำรวจการติดเชื้อบรูเซลโลซิสด้วยวิธี RBT จึงเป็นเพียงวิธี screening test ที่ง่าย และจะต้องทำร่วมกับวิธีการทางซีรัมวิทยาวิธีอื่นๆ ดังนั้นผลการศึกษาดังกล่าวแล้วแพะทั้ง 7 ฟาร์ม จำนวนแพะทั้งหมด 249 ตัว ตัวอย่างที่ให้ผลบวกร้อยละ 1.60 นั้น อาจมีผลบวกลวง (false positive) ได้ และตัวอย่างที่ให้ผลลบ ร้อยละ 98.39 อาจมีผลลบลวง (false negative) ได้เช่นกัน จึงต้องมีการทดสอบด้วยวิธีการทางซีรัมวิทยาวิธีอื่นหรือวิธีการทางวิทยาโมเลกุลด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์เพื่อยืนยันผลการทดสอบ (5, 6)

การทดสอบด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ในการจำลองยีน *omp31* ดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 720 คู่เบส ซึ่งเป็นยีนที่ทำหน้าที่สร้าง *Brucella* outer membrane protein ของเชื้อ *B. melitensis*

และไม่พบยีนนี้ใน *B. abortus* หากผลการศึกษาให้ผลบวกสามารถยืนยันได้ว่าแพะที่ให้ผลบวกต่อการตรวจทางซีรัมวิทยาวิธี RBT นั้นมีแอนติเจนของเชื้อหรือมีการติดเชื้อ และเป็นเชื้อ *B. melitensis* จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้จากเลือดแพะที่ให้ผลบวกต่อการตรวจทางซีรัมวิทยาวิธี RBT และดีเอ็นเอที่ได้จากเลือดแพะที่ให้ผลลบต่างให้ดีเอ็นเอเป้าหมายขนาด 720 คู่เบส ด้วยเช่นกัน จึงเป็นไปได้ว่าตัวอย่างเลือดแพะทั้งหมดจากฟาร์มมีแอนติเจนของเชื้อหรือมีการติดเชื้อ และเป็นเชื้อ *B. melitensis* ทั้งนี้จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ได้จากเลือดแพะ และจำนวนจำนวนแถบดีเอ็นเอของของเชื้อมาตรฐานนั้น แตกต่างกันเนื่องจากเชื้อมาตรฐานได้จากการเพาะเลี้ยงให้บริสุทธิ์ในจานเลี้ยงเชื้อ ขณะที่ดีเอ็นเอที่ได้จากเลือดแพะมีดีเอ็นเอของตัวแพะเองและอาจมีแบคทีเรียชนิดอื่นที่ปะปนอยู่ในกระแสเลือดของแพะ

การพบว่แพะทั้งหมดจากฟาร์มนี้มีแอนติเจนของเชื้อหรือมีการติดเชื้อ *B. melitensis* และมีแหล่งที่มาจากแพะจำนวน 2 ตัวที่มาจากแหล่งเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าการควบคุมโรค布鲁เซลโลซิสและการเคลื่อนย้ายสัตว์ในปัจจุบันยังคงมีความเสี่ยงแก่เกษตรกรโดยเฉพาะเกษตรกรผู้เลี้ยงรายใหม่ที่ยังไม่เคยมีประสบการณ์การคัดเลือกแพะมาจากฝูงที่ปลอดโรค อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้ควรยืนยันแถบดีเอ็นเอ ด้วยการนำไปลำดับเบสแล้วเทียบลำดับเบสต่อไป นอกจากนี้ควรยืนยันผลด้วยการใช้ไพรเมอร์เพื่อตรวจยีนอื่นๆ เช่น outer membrane protein (omp2) ที่สามารถพบได้ในเชื้อ布鲁เซลลาทุกสปีชีส์ ตลอดจนยีน *IS711* จาก *B. abortus* และยีน *IS711* จาก *B. melitensis* เป็นต้น (7, 8, 9)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้รับเงินสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทอาจารย์และ

นักวิจัย งบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2556 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามขอขอบพระคุณ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่อนุเคราะห์ให้โนมิคส์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Brucella spp.* ใช้เป็นตัวควบคุมผลทางบวก (Positive control) ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.สุภาวดี ปิระเต ภาควิชาสัตวแพทยศาสตรมหาสารคาม คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม สำหรับการให้คำแนะนำอย่างดียิ่งในห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะที่อนุเคราะห์และให้ความร่วมมือ ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์และนิสิตคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างจนสำเร็จจุลลวงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. สุวิมล ประทุมมณี พัทพ์ฒน์ อรุณวิภาส สถาพร จิตตपालพงศ์ ความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อ *Brucella spp.* และ *Neospora caninum* ในแพะนมในจังหวัดนครปฐม เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52: สาขาสัตว, สาขาสัตวแพทยศาสตร์ 2557; 160-167
2. สำนักควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์. รายงานความก้าวหน้าในการปฏิบัติงาน ควบคุม ป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ทั่วประเทศในเดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2557. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์; 2557.
3. Vizcaíno N, Cloeckert A., Zygmunt MS, Dubray G. Cloning, nucleotide sequence, and expression of the *Brucella melitensis* omp31 gene coding for an immunogenic major outer

- membrane protein. *Infect. Immun* 1996;64:3744–3751.
4. Gupta VK, Verma DK, Singh K, Kumari R, Singh SV, Vihan VS. Single-step PCR for detection of *Brucella melitensis* from tissue and blood of goats. *Small Ruminant Research* 2006;66:169–174.
 5. Bardenstein S, Mandelboim M, Ficht TA, Baum M, Banai M. Identification of the *Brucella melitensis* vaccine strain Rev.1 in animals and humans in Israel by PCR analysis of the PstI site polymorphism of its omp2 gene. *Journal of Clinical Microbiology* 2002;40(4):1475–1480.
 6. Yohannes M, Gill JPS, Ghatak S, Singh DK, Tolosa T. Comparative evaluation of the Rose Bengal plate test, standard tube agglutination test and complement fixation test for the diagnosis of human brucellosis. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz* 2012;31(3):979-984.
 7. Halling SM, Peterson-Burch BD, Bricker BJ, Zuerner RL, Qing Z, Li LL, Kapur V, Alt DP, Olsen SC. Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *J Bacteriol.* 2005;187(8) : 2715-2726.
 8. Bricker BJ, Ewalt DR, MacMillan AP, Foster G, Brew S. Molecular characterization of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *J Clin Microbiol.* 2000;38(3):1258-1262.
 9. Zygmunt MS, Maquart M, Bernardet N, Doublet B, Cloeckaert A. Novel IS711-specific chromosomal locations useful for identification and classification of marine mammal *Brucella* strains. *J Clin Microbiol.* 2010;48(10):3765-3769.