

การศึกษารุ่นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1. ตรวจสอบ primer ที่เหมาะสมสำหรับตรวจสอบโรคไข้เห็บจากเชื้อ *B. bigemina*, *B. bovis* และ *A. marginale* ด้วยเทคนิค PCR และ 2. ตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างยีน BoLA-DRB3.2 ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคไข้เห็บในโคนมลูกผสมไฮลอสไตร์น (TMZ) จำนวน 217 ตัว ถูกสุ่มเก็บเลือดจากคอและโคนหางเพื่อสกัดดีเอ็นเอวิเคราะห์หาการติดเชื้อไข้เห็บ และรูปแบบ BoLA-DRB3.2 จากการศึกษาค้นพบว่าไพรเมอร์ AM01/AM02, BbF/BbR และ BgF/BgR เป็นไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจเชื้อ *A. marginale*, *B. bovis* และ *B. bigemina* ตามลำดับ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การใช้เทคนิค PCR ตรวจสอบเชื้อไข้เห็บมีความแม่นยำกว่าการตรวจด้วยฟิล์มเลือด และจากการทำ serial dilution พบว่าเทคนิค PCR สามารถใช้ในการตรวจเชื้อได้แม้ว่าจะมีปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อเพียงเล็กน้อย โดยปริมาณดีเอ็นเอขั้นต่ำที่จะตรวจพบเชื้อ และพบว่า *B. bovis* ต้องมีปริมาณ DNA สูงกว่าเชื้ออื่น ๆ จึงจะตรวจพบ

การศึกษารูปแบบของยีน BoLA-DRB3.2 ด้วยเทคนิค PCR-RFLP ในโคนม พบรูปแบบของอัลลีล BoLA-DRB3.2 ทั้งหมด 34 รูปแบบ แบ่งเป็นที่เคยมีรายงานมาแล้ว 23 รูปแบบ และรูปแบบอัลลีลใหม่ที่ไม่เคยรายงาน 11 รูปแบบ เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีน BoLA-DRB3.2 ต่อการเกิดโรคไข้เห็บในโคนมพันธุ์ TMZ ด้วยวิธี Logistic Regression โดยพิจารณาเฉพาะอัลลีลที่มีความถี่ 3 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป และพบว่าเชื้อ *B. bigemina* และ *B. bovis* ไม่มีความสัมพันธ์กับรูปแบบอัลลีล ($P > 0.05$) แต่พบว่า อัลลีล DRB3.2*51 มีความสัมพันธ์กับการต้านทานต่อเชื้อ *A. marginale* ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่า ช่วงอายุของโคนมพันธุ์ TMZ ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไข้เห็บพบเชื้อ *A. marginale* ในขณะที่ช่วงที่โคกำลังรีดนมมีแนวโน้มที่จะพบเชื้อ *A. marginale* ได้มากกว่าช่วงโคสาวและโคพักรีด ($P < 0.10$)

The objectives of this study were to: 1) investigate the suitable primers for detecting tick fever from *B. bigemina*, *B. bovis* and *A. marginale* by PCR – technique, and 2) find the association of BoLA-DRB3 alleles related with *B. bigemina*, *B. bovis* and *A. marginale* resistant. Blood samples from 217 Crossbred Holsteins (TMZ) were drawn from jugular and tail veins for isolating the DNA to detect the infection of tick fever and genotyped for DRB3.2. The results found that primers AM01/AM02, BbF/BbR and BgF/BgR were suitable for detecting *A. marginale*, *B. bovis*, and *B. bigemina* respectively. The accuracy of PCR technique was higher than blood film technique. The serial dilution show that tick born disease could be detected although DNA template was very low in PCR technique. In addition, to detect *B. bovis* use higher DNA template than the others.

A total of alleles were found in the 34 study of BoLA-DRB3.2 by PCR-RFLP technique twenty - three alleles were similarity found to the previous reports and 11 alleles were firstly found in this report. The study of associations between BoLA-DRB3.2 alleles with tick born disease by Logistic regression technique. Only alleles with higher than 3 percentage of frequency were used in the analysis. BoLA-DRB3.2 showed no with *B. bigemina* and *B. bovis* ($P>0.05$) but BoLA-DRB3.2*51 was found association with *A. marginale* resistance ($P<0.05$). There was no significant association between age of with the infection of *A. marginale* ($P>0.05$), while milking cows had tentative to found more *A. marginale* infection compare to heifer and dry cows ($P<0.10$)