



ความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ของแพะในอำเภอดอนนาคร จังหวัดสระแก้ว

ไพทูล แก้วหอม^{1, #} และวรรณัฐ ฐิตะสาร¹

¹คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว สระแก้ว 27160

บทคัดย่อ: โรคไทเลอริโอซิส (Theileriosis) เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Theileria* spp. ซึ่งพบได้ทั้งในเซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์เม็ดเลือดขาวของสัตว์เลี้ยงในฟาร์ม เช่น โค กระบือ แพะ แกะ เป็นต้น ประสิทธิภาพการตายสูงในสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมากในการเลี้ยงสัตว์ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจสอบการระบาดของเชื้อ *Theileria* spp. ของสัตว์เลี้ยงในฟาร์ม ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้คือ การหาความชุกของเชื้อ *Theileria* spp ของแพะจาก 3 ตำบล ได้แก่ ห้วยโจด หนองแวง และท่าเกวียน ในอำเภอดอนนาคร จังหวัดสระแก้ว โดยเก็บตัวอย่างเลือดแพะจำนวน 196 ตัว นำมาตรวจสอบโดยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ ผลการทดลองพบว่าผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ ที่ได้มีขนาดประมาณ 230 คู่เบส ความชุกของเชื้อ *Theileria* spp ของแพะในเขตตำบลห้วยโจด หนองแวง และท่าเกวียน มีค่าร้อยละ 32.70 (34/104), 57.50 (23/40) และ 46.15 (24/52) ตามลำดับ สำหรับความชุกรวมของอำเภอดอนนาคร มีค่าร้อยละ 41.33 (81/196) นอกจากนี้ยังศึกษาปัจจัยในการเก็บตัวอย่างที่มีผลต่อการติดเชื้อ *Theileria* spp. พบว่าพื้นที่และช่วงเดือนหรือฤดูกาลของการเก็บตัวอย่างที่ต่างกันมีผลต่อการติดเชื้อ *Theileria* spp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สรุปได้ว่าเทคนิค PCR สามารถนำมาตรวจสอบหาความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ในเลือดแพะได้ และพบว่าการติดเชื้อ *Theileria* spp. ของแพะในอำเภอดอนนาครค่อนข้างสูง ซึ่งอาจเนื่องมาจากเกษตรกรยังไม่ให้ความสำคัญในการป้องกันและกำจัดพาหะนำโรค

คำสำคัญ: ความชุก แพะ *Theileria* spp. เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์

#ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2560. 12(2): 57-66.

E-mail address: Paition_k@buu.ac.th

The Prevalence of *Theileria* spp. of Goat in Watthana Nakhon District, Sa Kaeo Province

Paitoon Kaewhom^{1,#} and Wanna Thitasarn¹

¹Faculty of Agricultural Technology, Burapha University, Sakaeo Campus, Sakaeo 27160

Abstract: Theileriosis is a disease caused by *Theileria* spp. that infects both red and white blood cells of livestock animal such as cattle, buffalo, goat, and sheep. *Theileria* parasites have been reported as very pathogenic, causing a high ration of mortality in small ruminants, which can cause severe economic loss in animal husbandry. Therefore, it is necessary to check the epidemiology of *Theileria* spp. of livestock animal. The objective of this study was to investigate the prevalence of *Theileria* spp. of goat in Watthana Nakhon district, Sa Kaeo province. Blood samples of 196 goats were collected from 3 areas of Watthana Nakhon district including Huai Chot and Nong Waeng and Tha Kwian sub-district. The V4 region of 18S rRNA gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR). The results demonstrated that the PCR product was approximately 230 bps in length. The prevalence of *Theileria* spp. infection in goat of Huai Chot, Nong Waeng and Tha Kwian sub-district was 32.70% (34/104), 57.50% (23/40), and 46.15% (24/52), respectively. The overall prevalence of *Theileria* spp. infection in goat of Watthana Nakhon district was 41.33% (81/196). In addition, the factors of location, and timing of blood collection affected the prevalence of *Theileria* spp. In summary, PCR technique can be used to determine the prevalence. The goats in Watthana Nakhon district were relatively high infected of *Theileria* spp. probably due to the farmers not to focus on the prevention and elimination of disease vectors.

Keywords: Prevalence, Goat, *Theileria* spp., PCR Technique

[#]Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2017. 12(2): 57-66.

E-mail address: Paitoon_k@buu.ac.th

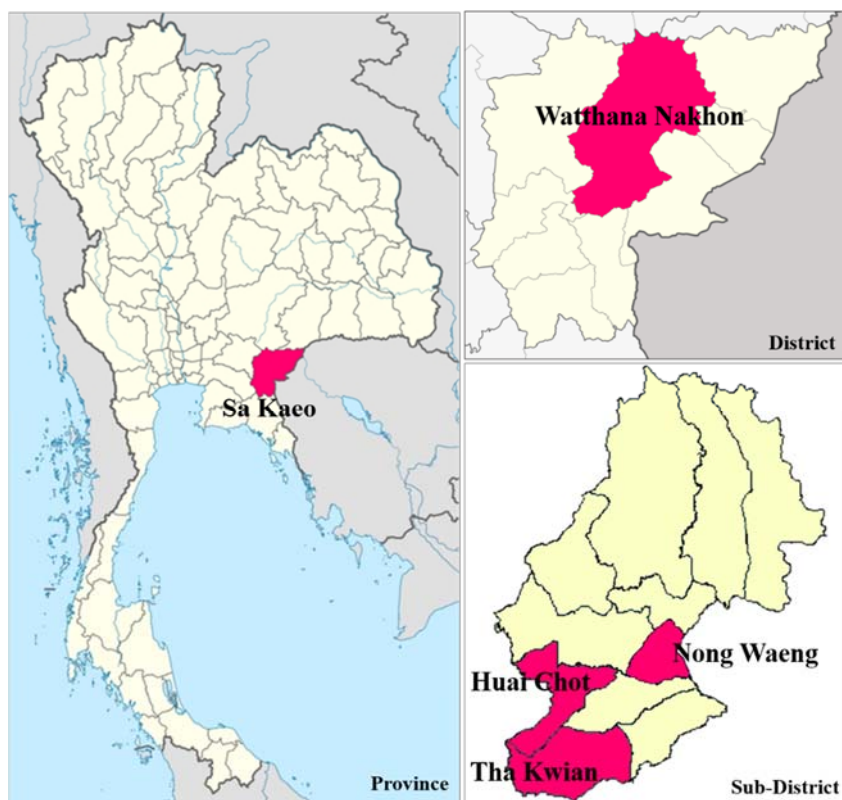
บทนำ โรคไทเลอริโอซิส (Theileriosis) เกิดจากเชื้อโปรโตซัวไทเลอเรีย (<i>Theileria</i> spp.) ซึ่งมีอยู่หลาย	ชนิด เป็นเชื้อประจำถิ่นจัดอยู่ในตระกูล Theileriidae เชื่อดังกล่าวเป็นโปรโตซัวที่เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว มีรูปร่างที่แตกต่างกันไป โดยบางชนิดมีรูปร่างกลม รูปไข่
---	---

และรูปแท่ง โปรโตซัวบางชนิดดำรงชีวิตแบบอิสระ และบางชนิดดำรงชีวิตอยู่กับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ซึ่งโปรโตซัว มักจะอาศัยอยู่ภายในเม็ดเลือดขาวและสามารถพบได้ ในเม็ดเลือดแดงของสัตว์โดยเฉพาะในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น โค กระบือ รวมทั้งสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก ได้แก่ แพะ แกะ ซึ่งเชื้อที่ก่อให้เกิดความรุนแรงในโคและ กระบือ ได้แก่ *Theileria annulata* และ *T. parva* ที่ก่อให้เกิดอัตราการตาย และอัตราการป่วยสูง เนื่องจากเชื้อมีการเพิ่มปริมาณในต่อมน้ำเหลืองก่อน เข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต แต่ในประเทศไทยยังไม่มี การจำแนกชนิดที่ชัดเจน และเชื้อที่ก่อโรครุนแรงใน แพะและแกะที่มีรายงานของ OIE คือ *T. Lestquardi* โดยเชื้อทั้ง 2 กลุ่มนี้มีเห็บเป็นพาหะ ได้แก่ เห็บชนิด *Amblyomma*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* และ *Rhipicephalus* เป็นต้น (Mans *et al.*, 2015)

จังหวัดสระแก้วประกอบด้วย 9 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอวัฒนานคร อำเภอน้ำเย็น และ อำเภอสว่างบูรณ อำเภอเขาฉกรรจ์ อำเภอคลองหาด อำเภอตาพระยา อำเภอโคกสูง อำเภอรัฐประเทศ พื้นที่ที่นิยมเลี้ยงโคนม คืออำเภอน้ำเย็น และ อำเภอสว่างบูรณ ส่วนเกษตรกรในพื้นที่อำเภอตา พระยา อำเภอรัฐประเทศ อำเภอโคกสูง และ อำเภอวัฒนานคร นิยมเลี้ยงโคนม กระบือ แพะ แกะ ไก่ไข่ สุกร และไก่พื้นเมือง อำเภอวัฒนานครเป็นพื้นที่ หนึ่งที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงแพะ ในปี พ.ศ. 2559 พบว่า มีจำนวนการเลี้ยงแพะเนื้อประมาณ 1,300 ตัว มี ระบบการเลี้ยงแบบกึ่งซังคอก คือ โดยทั่วไปเกษตรกร มักปล่อยแพะให้ออกกินอาหารหรือหญ้าในเวลา กลางวัน ซึ่งผู้เลี้ยงจะคอยดูแลตลอดเวลา หรือเป็น บางเวลา และกักขังในตอนกลางคืนในคอกหรือ โรงเรือนที่มีแต่หลังคาและผนังคอกกันแบบโล่ง เท่านั้น ลักษณะการเลี้ยงแบบนี้เป็นที่นิยมเลี้ยงกัน

มากในปัจจุบัน แต่ระบบการเลี้ยงแบบนี้อาจทำให้ เห็บในสกุล *Rhipicephalus* ซึ่งเป็นพยาธิภายนอก ที่สำคัญในสัตว์เศรษฐกิจสามารถดูดกินเลือดและเกิด การแพร่เชื้อโรคพยาธิในเลือดได้ โดยการติดต่อกันจะส่ง เชื้อผ่านทางต่อมน้ำลายของเห็บ (Anim *et al.*, 2013)

สำหรับเชื้อ *Theileria* spp. ก่อให้เกิดโรค East coast fever (ECF) หรือ *Ovine theileriosis* และ *Tropical theileriosis* ในแพะ และพบการ รายงานการกระจายของเชื้อในสัตว์เคี้ยวเอื้องหลาย ชนิด เช่น โคนม (Moumouni *et al.*, 2015) โคนม (Pulforda *et al.*, 2016) กระบือ (Altangerel *et al.*, 2011; Chaisi *et al.*, 2011) ม้า (Moretti *et al.*, 2010) กวาง (Chae *et al.*, 1999; Hana *et al.*, 2009) แพะ และแกะ (Cao *et al.*, 2013; Irshad *et al.*, 2010) การติดเชืโรคดังกล่าวในแพะอาจก่อ ปัญหาต่อสุขภาพสัตว์และนำไปสู่ความสูญเสียทาง เศรษฐกิจในอุตสาหกรรมการผลิตปศุสัตว์ เนื่องจากการ ติดเชื้อในสัตว์ที่อยู่ในภาวะเครียดทำให้เกิดอาการ ป่วยรุนแรง เกิดโรคโลหิตจาง มีไข้สูง ดีซ่าน ต่อมน้ำ เหลืองบวมขยายใหญ่ อ่อนเพลีย โตช้า และ ปริมาณน้ำนมลดลง โดยการแพร่กระจายของเชื้อ ดังกล่าวมีแมลงดูดเลือดและเห็บเป็นพาหะนำโรค การวินิจฉัยโดยทั่วไปใช้วิธีการสังเกตอาการป่วยของ สัตว์ ส่วนการวินิจฉัยที่แน่นอน ได้แก่ การเก็บ ตัวอย่างเลือดแพะที่สงสัยไปตรวจทางห้องปฏิบัติการ หรือนำไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ นอกจากนี้ วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ หรือ Polymerase Chain Reaction (PCR) เป็นหนึ่งในทางเลือกของ การวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพ เพื่อการตรวจสอบการ ระบาดได้อย่างแม่นยำ ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากใน ปัจจุบัน เนื่องจากมีความไวและความจำเพาะสูงมาก



รูปที่ 1 แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่าง 3 ตำบลของอำเภอวัฒนานคร จังหวัดสระแก้ว

(Kaewhom, 2014) การศึกษาความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ของแพะในเขตพื้นที่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จึงมีความจำเป็นในการศึกษาเพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น ในการจัดการหาวิธีการป้องกัน การรักษาและการควบคุมปรสิต รวมไปถึงเป็นการเผยแพร่องค์ความรู้หรือข้อมูลแก่หน่วยงานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างเลือดแพะ

การทดลองครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดแพะพันธุ์เนื้อที่มีน้ำหนักตัวอยู่ในช่วง 30-60 กิโลกรัม จากพื้นที่อำเภอวัฒนานคร จังหวัดสระแก้ว โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะประกอบไปด้วย 3 ตำบล ได้แก่ ตำบลห้วยโจด จำนวน 104 ตัวอย่าง ตำบลหนองแวง จำนวน 40

ตัวอย่าง และตำบลท่าเกวียน จำนวน 52 ตัวอย่าง (ดังแสดงในรูปที่ 1) การเก็บตัวอย่างเลือดแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงเดือนมิถุนายน (ปลายฤดูร้อน) และเดือนตุลาคม (ปลายฤดูฝน) รวมตัวอย่างเลือดแพะทั้งหมดที่นำมาตรวจสอบคือ 196 ตัวอย่าง โดยทำการเจาะเก็บเลือดแพะบริเวณเส้นเลือดดำที่คอ (Jugular vein) หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดไปเก็บใส่หลอดที่มี EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอ และการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่ต้องการ

นำตัวอย่างเลือดแพะที่เก็บไว้มาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี acid phenol extraction method (Chomczynsky *et al.*, 1987) จากนั้นเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนของยีน 18S rRNA ที่ต้องการด้วยนิวคลีโอไทด์ตั้งต้น (primer)

Theileria genus-specific forward primer (5'-GGTAATTCCAGCTCCAATAG-3') และ reverse primer (5'-ACCAACAAAATAGAACCAAGTC-3') ที่มีความจำเพาะต่อยีนของเชื้อไทเลอเรียทุกชนิด (*Theileria* spp.) โดยใช้เทคนิค PCR ซึ่งมีขั้นตอนของปฏิกิริยา PCR ดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 Initial denaturation (อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที) ขั้นตอนที่ 2 Denaturation (อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที) ขั้นตอนที่ 3 Annealing (อุณหภูมิ 51 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที) ขั้นตอนที่ 4 Extension (อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที) ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2-4 จำนวน 35 รอบ และขั้นตอนสุดท้าย คือ Terminal extension (อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที) หลังจากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้มาแยกใน 1% agarose gel เพื่อตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอที่ปรากฏ

ความชุกและความสัมพันธ์ของปัจจัยการเก็บตัวอย่างเลือดกับการติดเชื้อ *Theileria* spp.

นำตัวอย่างที่ให้ผลบวก (Positive) ในแต่ละตำบลมาคำนวณความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ของแพะในอำเภอดอนจาน จังหวัดสระแก้ว โดยแสดงผลในรูปของร้อยละ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยด้านพื้นที่และช่วงเดือนหรือฤดูกาลที่เก็บตัวอย่างต่อการติดเชื้อ *Theileria* spp. โดยใช้การทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test)

ผลการทดลอง

ผลการตรวจด้วยเทคนิค PCR

ผลจากการนำตัวอย่างเลือดที่เก็บจากตำบลห้วยโจด ตำบลหนองแวง และตำบลท่าเกวียนของอำเภอดอนจาน จังหวัดสระแก้ว โดยนำมาสกัด

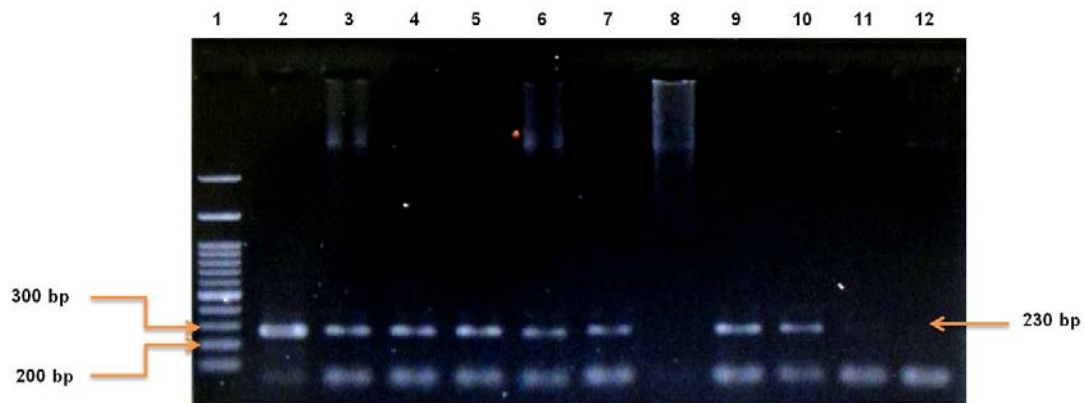
DNA ด้วยวิธี acid phenol extraction method จากนั้นเพิ่มจำนวน DNA ที่ต้องการด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อสกุลของเชื้อไทเลอเรีย (*Theileria* genus-specific primer) ที่เป็นสาเหตุของโรค theileriosis โดยใช้เทคนิค PCR และนำมาโหลดเพื่อเช็คด้วย 1% agarose gel ซึ่งขนาดความยาวของ PCR product อยู่ในช่วง 200-300 เบสแพร์ ดังแสดงในรูปที่ 2

ความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ของแพะในอำเภอดอนจาน จังหวัดสระแก้ว

ผลการทดลองจากรูปที่ 2 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเลือดแพะที่มีเชื้อ *Theileria* spp. จะปรากฏแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดความยาวของ PCR product ประมาณ 230 เบสแพร์ และตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อ *Theileria* spp. จะไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งดังกล่าว ซึ่งผลจากการตรวจวินิจฉัยสามารถนำมาคำนวณหาความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. พบว่าความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ในตำบลห้วยโจด หนองแวง และท่าเกวียนของอำเภอดอนจาน คือร้อยละ 32.69 57.50 และ 46.15 ตามลำดับ และความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ในอำเภอดอนจาน คือร้อยละ 41.33 ดังแสดงผลในตารางที่ 1

ความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อการติดเชื้อ *Theileria* spp.

ผลการทดลองจากรูปที่ 2 ตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวก (positive) และให้ผลลบ (negative) นำมาใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยด้านพื้นที่แยกเป็นตำบลและช่วงเดือนหรือฤดูกาลที่เก็บตัวอย่างกับการติดเชื้อ *Theileria* spp. พบว่าพื้นที่หรือตำบลที่เก็บตัวอย่างเลือด ซึ่งประกอบด้วยตำบลห้วยโจด หนองแวง และท่าเกวียน มีผลต่อการติดเชื้อ *Theileria* spp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 2 ตัวอย่างผลการตรวจด้วยเทคนิค PCR ของแพะ Lane 1: DNA marker, lane 2: Positive control, lane 3-11: ผลของตัวอย่างเลือดแพะของแต่ละตำบลในอำเภอดอนนาครที่นำมาตรวจวินิจฉัย และ lane 12: negative control

ตารางที่ 1 ความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ในแพะของแต่ละตำบลของอำเภอดอนนาคร จังหวัดสระแก้ว

ตำบล	จำนวนตัวอย่าง	ผล Positive	ความชุก (%)
ห้วยโจด	104	34	32.69
หนองแวง	40	23	57.50
ท่าเกวียน	52	24	46.15
รวมทั้งหมด	196	81	41.33

($P < 0.05$) และยังพบว่าช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างเลือด ซึ่งเป็นช่วงเดือนมิถุนายน (ปลายฤดูร้อน) และช่วงเดือนตุลาคม (ปลายฤดูฝน) มีผลต่อการติดเชื้อ *Theileria* spp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 2

วิจารณ์

ผลการตรวจโดยใช้เทคนิค PCR จากนั้นนำมาแยกด้วย 1% agarose gel ซึ่งขนาดความยาวของ PCR product ประมาณ 230 เบสแพร์ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Kgomotso *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาตรวจหาเชื้อ *Theileria parva* ในโคและกระบือป่าเคป (Cape buffalo) ด้วยเทคนิคทางด้านอณูชีววิทยา โดยใช้ไพรเมอร์ที่มี

ความจำเพาะต่อยีน 18S rRNA เพื่อเพิ่มจำนวน DNA ในส่วนของ v4 region ซึ่งจะได้ PCR product เท่ากับ 230 เบสแพร์ แต่สำหรับผลการทดลองนี้ก็ยังไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นเชื้อไทเลอเรียชนิดใด (species) ซึ่งจะต้องมีการตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อชนิดของเชื้อหรือใช้วิธีการอื่น เช่น DNA probes, Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) เป็นต้น

ความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ของแพะทั้ง 3 ตำบลในอำเภอดอนนาคร จังหวัดสระแก้ว คือร้อยละ 41.33 ซึ่งก่อนหน้านี้ยังไม่เคยมีการรายงานความชุกของเชืวดังกล่าวในพื้นที่อำเภอดอนนาคร แต่สำหรับการวิจัยเรื่องความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. พบการรายงานในหลายพื้นที่ทั่วโลก ซึ่งนักวิจัย

ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อการติดเชื้อ *Theileria* spp.

ปัจจัย	จำนวน ตัวอย่าง	ผล Positive (%ความชุก)	ค่าสถิติ		
			χ^2	df	P-value
สถานที่ (ตำบล)			8.01	2	0.0182*
ห้วยโจด	104	34 (32.69)			
หนองแขวง	40	23 (57.50)			
ท่าเกวียน	52	24 (46.15)			
ช่วงเวลา			14.81	2	0.0001**
มิถุนายน (ปลายฤดูร้อน)	95	26 (27.37)			
ตุลาคม (ปลายฤดูฝน)	101	55 (54.46)			
Total	196	81 (41.33)			

หมายเหตุ * แสดงความแตกต่างของปัจจัยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

** แสดงความแตกต่างของปัจจัยอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

ได้นำเทคนิคทางด้านอนุชีววิทยาใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *Theileria* spp. เพื่อความรวดเร็วและแม่นยำ ซึ่งประกอบไปด้วย Altay *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาหาการติดเชื้อของ *Theileria ovis* ในเม็ดเลือดแดงของแกะในภาคตะวันออกของตุรกี ซึ่งใช้ไพรเมอร์ SSU rRNA genes โดยใช้เทคนิค Nested-PCR พบว่า มีการติดเชื้อ *Theileria ovis* ในแกะคิดเป็นร้อยละ 18.29 (120/656) และในแพะร้อยละ 2.88 (4/139) โดยการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ นอกจากนี้ตัวอย่างทั้งหมดได้นำมาทดสอบด้วยเทคนิค nested PCR ที่มีความไวต่อเชื้อ *Theileria ovis* ซึ่งผลตรวจพบการติดเชื้อในแกะร้อยละ 58.79 (398/677) และในแพะร้อยละ 11.27 (16/142) Aktas *et al.* (2005) ทำการศึกษาระดับโมเลกุลของการติดเชื้อ *Theileria* ของแกะในประเทศตุรกี โดยใช้วิธีการทำฟิล์มเลือดบางๆ บนสไลด์ และย้อมด้วยสียิมซ่า (Wright-Giemsa stain) แล้วตรวจดูเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ และนำไป

ตรวจสอบด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยใช้ไพรเมอร์ srRNA การตรวจดูเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ตรวจพบว่ามีเชื้อ *Theileria* spp. ร้อยละ 15.05 (34/218) ในขณะที่การตรวจด้วยวิธีเทคนิค PCR พบการติดเชื้อ *Theileria* spp. ร้อยละ 41.02 (90/218) Cao *et al.* (2013) ได้ทำการศึกษาการระบาดวิทยาในระดับโมเลกุลของเชื้อ *Theileria* spp. ในแกะของประเทศจีน และได้สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากแกะจำนวน 198 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิค nested polymerase chain reaction (nPCR) ในการตรวจวินิจฉัยซึ่งมีการเพิ่มปริมาณในส่วนของยีน 18S rRNA ผลจากการตรวจวินิจฉัย ด้วยเทคนิคทางอนุชีววิทยาพบว่า ความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ใน Yanji, Nongan, Longjing, Toudao และ Jinchang มีค่าเท่ากับร้อยละ 80 40 37 24 และ 32 ตามลำดับ ส่วน Kursat *et al.* (2007) ได้ทำการตรวจหาความชุกของการติดเชื้อในสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก โดยพบความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. เท่ากับร้อยละ

36.08 และความชุกของเชื้อ *Babesia ovis* เท่ากับ ร้อยละ 5.43 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการตรวจหาเชื้อ *Theileria* spp. ด้วยเทคนิค PCR ในจังหวัดสระแก้ว การรายงานนี้เป็นผลการตรวจหาความชุกที่มีการรายงานเป็นครั้งแรก ซึ่งมีความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ค่อนข้างสูง อาจจะมีเหตุผลเนื่องมาจากในพื้นที่ทั้ง 3 ตำบลมีการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องชนิดอื่น เช่น โค และกระบือ เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้รูปแบบการเลี้ยงแพะเป็นแบบกึ่งเชิงคอก ซึ่งจะมีช่วงเวลาที่ทำให้แพะลงกินหญ้าในแปลง ส่งผลให้การติดต่อกับเชื้อผ่านพาหะเป็นไปได้สูง จึงตรวจพบการติดเชื้อสูงตามไปด้วย สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยการเก็บตัวอย่างเลือดซึ่งประกอบด้วย พื้นที่และช่วงเวลาหรือฤดูกาลที่เก็บตัวอย่างกับการติดเชื้อ *Theileria* spp. จากผลการทดลองพบว่า พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างของทั้ง 3 ตำบลในอำเภอดอนจานนคร ($P<0.05$) และช่วงเวลาหรือฤดูกาลที่เป็นช่วงปลายฤดูร้อนและปลายฤดูฝน ($P<0.01$) ที่เก็บตัวอย่างมีผลการติดเชื้อ *Theileria* spp. สอดคล้องกับรายงานของ Saetiew et al., (2014) ซึ่งรายงานผลของฤดูกาลต่อการติดเชื้อ *Anaplasma marginale* ในโคเนื้อ พบว่าฤดูกาลมีผลต่อการติดเชื้อ *A. marginale* ยิ่งในช่วงฤดูฝน และปัจจัยเรื่องเพศไม่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ *A. marginale*

สรุป

ความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ของแพะทั้ง 3 ตำบลในอำเภอดอนจานนคร จังหวัดสระแก้ว คือ ร้อยละ 41.33 แบ่งออกเป็นตำบลห้วยโจด หนองแขว และท่าเกวียน มีค่าเท่ากับร้อยละ 32.70 (34/104), 57.50 (23/40) และ 46.15 (24/52) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยการเก็บ

ตัวอย่างเลือด กับการติดเชื้อ *Theileria* spp. โดยเฉพาะช่วงเดือนหรือฤดูกาลที่เป็นช่วงปลายฤดูฝน ที่เก็บตัวอย่างมีผลการติดเชื้อ *Theileria* spp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) จากผลการทดลองความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. มีค่าค่อนข้างสูงซึ่งอาจมีสาเหตุจากระบบการเลี้ยงเป็นแบบกึ่งเชิงคอกหรือขาดการจัดหรือป้องกันแมลงที่เป็นพาหะนำโรค จึงทำให้ติดเชื้อโรคได้ ซึ่งเป็นข้อมูลที่น่าสนใจที่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องจะนำข้อมูลไปพิจารณากำหนดแนวทางและนโยบายในการป้องกันความสูญเสียที่เกิดขึ้นจากโรคพยาธิในเลือด และการควบคุมการแพร่ระบาดของโรค เพื่อลดความเสียหายที่ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยบูรพา ที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัย ภายใต้โครงการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 และขอขอบคุณนิสิตกลุ่มวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว และเจ้าหน้าที่สัตวบาลประจำสำนักงานปศุสัตว์อำเภอดอนจานนคร ที่ช่วยเก็บตัวอย่างเลือดแพะในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Altangerel, K., Sivakumar, T. Inpankaew, T. Jittapalapong, S. Terkawi, M.A. Ueno, A. Xuan, X. Igarashi, I. and Yokoyama, N. 2011. Molecular Prevalence of Different Genotypes of *Theileria orientalis* Detected from Cattle and Water

- Buffaloes in Thailand. *J. Parasitol.* 97 (6): 1075-1079.
- Aktas, M., Altay, K. and Dumanli, N. 2005. Survey of *Theileria* parasites of sheep in eastern Turkey using polymerase chain reaction. *Small Rumin. Res.* 60: 289-293.
- Altay, K., Dumanli, N., Holman, P.J. and Aktas, M. 2005. Detection of *Theileria ovis* in naturally infected sheep by nested PCR. *Parasitol.* 127: 99-104.
- Anim, J., Ali Z., Maqbool, A., Muhammad, K., Khan, M.S. and Younis, M. 2013. Prevalence of *Theileria annulata* infected hard ticks of cattle and buffalo in Punjab, Pakistan. *Pak. Veter. J.* 23(1): 20-26.
- Cao, S., Zhang, S., Jia, L., Xue, S., Yu, L., Kamyngkird, K., Moumouni, P.F.A., Moussa, A.A.E.M., Zhou, M. Zhang, Y., Terkawi, M.A., Masatani, T., Nishikawa, Y. and Xuan, X. 2013. Molecular detection of *Theileria* species in sheep from northern China. *J. Vet. Med. Sci.* 75 (9): 1227-1230.
- Chae, J.S., Waghela, S.D., Craig, T.M., Kocan, A.A., Wagner, G.G. and Holman, P.J. 1999. Two *Theileria cervi* SSU rRNA gene sequence types found in isolates from white-tailed deer and elk in North America. *W. Diseases.* 35 (3): 458-465.
- Chaisi, M.E., Sibeko, K.P., Collins, N.E., Potgieter, F.T. and Oosthuizen, M.C. 2011. Identification of *Theileria parva* and *Theileria* sp. (buffalo) 18S rRNA gene sequence variants in the African Buffalo (*Syncerus caffer*) in southern Africa. *Vet. Parasitol.* 182: 150-162.
- Chomczynsky, P. and Sacchi, N. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate phenol chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162: 156-159.
- Hana, J.I., Janga, H.J., Leeb, S.J. and Naa, K.J. 2009. High prevalence of *Theileria* spp. in wild Chinese Water Deer (*Hydropotes inermis argyropus*) in South Korea. *Parasitol.* 164 (2-4): 311-314.
- Irshad, N., Qayyum, M., Hussain, M. and Qasim, K.M. 2010. Prevalence of Tick Infestation and Theileriosis in Sheep and Goats. *Pak Vet.* 30 (3): 178-180.
- Kaewhom, P. 2014. Molecular detection of *Trypanosoma evansi* among cattle and buffaloes blood. *J. Mahanakorn Vet. Med.* 9 (1): 49-61. (in Thai)
- Kgomotso, P., Oosthuizen, C., Collins, N., Geysen, D., Rambritch, N., Latif, A., Groenevel, H., Potgieter, F. and Coetzer, J. 2008. Development and evaluation of a real-time polymerase chain reaction test for the detection of *Theileria parva* infections in Cape buffalo (*Syncerus caffer*) and cattle. *Parasitol.* 155: 37-48.

- Kursat, A., Dumanli, N. and Aktas, M. 2007. Molecular identification, genetic diversity and distribution of *Theileria* and *Babesia* species infecting small ruminants. *Parasitol.* 147: 161-165.
- Mans, B.J., Pienaar, R. and Latif, A.A. 2015. A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 4: 104-118.
- Moretti, A., Mangili, V., Salvatori, R., Maresca, C., Scoccia, E., Torina, A., Moretta, I., Gabrielli, S., Tampier, M.P. and Pietrobelli, M. 2010. Prevalence and diagnosis of *Babesia* and *Theileria* infections in horses in Italy: A preliminary study. *Vet. Journal.* 184: 346-350.
- Moumouni, P.F.A., Aboge, G.O., Terkawi, M.A., Masatani, T., Cao, S., Kamyngkird, K., Jirapattharasate, C., Zhou, M., Wang, G. Liu, M., Iguchi, A., Vudriko, P., Ybanez, A.P., Inokuma, H., Shirafuji-Umemiya, R., Suzuki, H. and Xuan, X. 2015. Molecular detection and characterization of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Theileria species* and *Anaplasma marginale* isolated from cattle in Kenya. *Parasites & Vectors.* 8: 496.
- Pulforda, D.J., McFaddena, A.M.J., Hamiltonb, J.S. and Donaldc, J. 2016. Investigation of the index case herd and identification of the genotypes of *Theileria orientalis* associated with outbreaks of bovine anaemia in New Zealand in 2012. *Vet. Journal.* 64 (1): 21-28.
- Saetiew, N., Simking, P., Saengow, S., Kurajog, B., Yimming, B., Saeng-chuto, K., Chimnoi, W., Kengradomkij, C., Yangtara, S., Suksai, S., Thapraphom, N., Seneemanoma, C., Penghirun, K., Desquesnes, M., Herder, S., Morand, S. and Jittapalapong, S. 2014. Seasonal effect on *Anaplasma marginale* infections of beef cattle in previously flooding areas. Proceedings of the 52nd Kasetsart University Annual Conference: Animal, Veterinary Medicine, Nakhon Pathom, Thailand, 4-7 February 2014: 267-277.

