ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ปีที่ 2 ฉบับที่ 8 เม.ย. - มิ.ย. 48 ISSN 1685-9952

การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *เอสเชอริเชีย โคไล* ในสุกรและไก่เนื้อ ในพื้นที่จังหวัดพิจิตร.....1

ตรวจแอนติบอดีต่อ 3B nonstructure protein และ VIA antigen ของเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในโค.....8

ผลการปฏิบัติงานตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ เดือน เมษายน – มิถุนายน 2548.....16

รายงานการชันสูตรโรคสัตว์ (เมษายน–มิถุนายน2548) .....19

# การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *เอสเชอริเชีย โคไล* ในสุกรและไก่เนื้อ ในพื้นที่จังหวัดพิจิตร

เทวัญ รัตนะ [1] ไกรแก้ว คำดี [2]

**บทคัดย่อ**

ติดตามภาวะดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ในฟาร์มสุกร และไก่เนื้อ จังหวัดพิจิตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 – มีนาคม 2548 โดยการสุ่มเก็บตัวอย่าง 56 ตัวอย่าง แยกเป็นตัวอย่างจากอุจจาระสุกร 18 ตัวอย่าง และอุจจาระไก่เนื้อ 38 ตัวอย่าง นำไปเพาะแยกเชื้อ *E.coli* ได้ 30 ตัวอย่าง (53.57 %) ซึ่งเป็นตัวอย่างจากอุจจาระสุกร 11 ตัวอย่าง (61.11 %) และตัวอย่างอุจจาระไก่เนื้อ 19 ตัวอย่าง (50.00 %) ทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพจำนวน 10 ชนิด ด้วย Disc diffusion test พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่ในฟาร์มสุกรดื้อต่อยาต้านจุลชีพ Trimethoprim (100 %) มากที่สุด ดื้อต่อยา Cephalothin (9.09 %) และ Gentamycin (9.09 %) น้อยที่สุด ส่วนการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ที่พบในฟาร์มไก่เนื้อ มากที่สุดคือ Ampicillin (84.21 %) และดื้อต่อยา Gentamycin (10.53 %) น้อยที่สุด และพบว่าเชื้อ *E. coli* มีการดื้อยามากกว่าหนึ่งชนิด โดยมีการดื้อยาพร้อมกันถึง 9 ชนิด 9.09 % ในฟาร์มสุกร และ 5.26 % ในฟาร์มไก่เนื้อ

**คำสำคัญ** : การดื้อยา, เชื้อ *E. coli*, ยาต้านจุลชีพ

ทะเบียนผลงานวิชาการ เลขที่ 48(2)-0616(6)-134

[1] สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดพิจิตร อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร 66000

[2] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือ (ตอนล่าง) อำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก 65130

**วัตถุประสงค์**

1. **เพื่อเผยแพร่ข้อมูลวิชาการด้านสุขภาพสัตว์**
2. **เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลด้านการปศุสัตว์**
3. **เพื่อเป็นสื่อกลางในการแลกเปลี่ยนความคิดเห็นระหว่างชาวปศุสัตว์**

## บทนำ

การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย ได้เริ่มเป็นที่สนใจตั้งแต่ ค.ศ.1940 จากการที่ Abraham และ Chain ได้พบว่าเชื้อ *E. coli* มีการสร้างเอ็นไซม์ Penicillinase ที่ทำให้ยาเพนนิซิลลิน ไม่ออกฤทธิ์ (Tenover and Hughes, 1996) การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียมีทั้งรูปแบบที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ (Inherent resistance) และรูปแบบที่ถูกบังคับให้มีการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม (Acquired resistance) การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญเป็นผลของการเปลี่ยนแปลง (Mutation) โครงสร้างของสารพันธุกรรม โดยสร้างอาร์-พลาสมิด(R-plasmid) หรืออาร์-แฟคเตอร์ (R-factor) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมดื้อยาที่สามารถถ่ายทอดให้เชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกัน หรือแบคทีเรียชนิดอื่นได้ (มาลิน, 2532 ; เกรียงศักดิ์, 2536 ; จิโรจ, 2543)

การใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์ไม่เพียงแต่ใช้ในการรักษาโรคเท่านั้น ยังใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่น เช่นการใช้ผสมอาหารเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต (McEwen and Fedor-Cray, 2002) ซึ่งเป็นการใช้ยาในขนาดต่ำและใช้อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน การใช้ยาในสัตว์ลักษณะดังกล่าว จึงถูกมองว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพ (มาลินี, 2538) จึงมีการศึกษาและรายงานการดื้อยาในหลาย ๆ ประเทศ เช่น Terushet และคณะ (2000) ได้ทำการเฝ้าระวังการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากโรงฆ่าสัตว์ในประเทศสเปน พบว่ามีการดื้อต่อยา Tetracycline, Sulfamethazine, Trimethoprim, Amoxycillin, และ Nalidixic acid ในอัตราที่สูงมาก และอยู่ในลักษณะดื้อต่อยาหลายชนิดร่วมกัน เป็นต้น เนื่องจากยาต้านจุลชีพที่ใช้ในคนและสัตว์เป็นยาชนิดเดียวกัน เช่นยาเพนนิซิลลิน ดังนั้นการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียจึงไม่เพียงแต่ทำให้เกิดอันตรายในสัตว์ ยังก่อให้เกิดอันตรายกับคนได้ด้วย (Anderson and Datta, 1965) เนื่องจากเชื้อที่ดื้อยาที่ถูกขับออกมากับอุจจาระของสัตว์จะเป็นแหล่งรังโรคเข้าสู่สิ่งแวดล้อม มีผลให้พบการดื้อยาในคนเพิ่มขึ้น(Levy,1998)โดยคนจะได้รับสารพันธุกรรมดื้อยาโดยตรงจากการสัมผัสเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ถูกขับออกมากับอุจจาระสัตว์ หรือจากการบริโภคเนื้อสัตว์ หรือได้รับทางอ้อมจากการนำพาของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในร่างกายสัตว์ ในภาวะปกติ (Commensal animal bacteria) เช่นเชื้อ *E. coli* และ *Klebsiella* (Franklin *et al*., 2001) เชื้อดังกล่าวหากติดถึงคนจะถ่ายทอดคุณลักษณะการดื้อยาให้กับจุลชีพในร่างกายคน ซึ่งเป็นการแพร่กระจายคุณลักษณะการดื้อยาระหว่างคนและสัตว์ นอกจากนี้ยังพบการรายงานการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ในประเทศอื่นๆ อีกได้แก่ สหราชอาณาจักร เยอรมัน ฮังการี อิสราเอล แคนนาดา บราซิล แอฟริกาใต้ เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาในหลายประเทศดังกล่าว ทำให้เป็นที่น่าเชื่อได้ว่า หากมีการศึกษาเพิ่มเติม จะไม่มีประเทศใดในโลก ไม่มีการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ (Watson, 1967) ดังนั้น การรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในคนจึงต้องใช้ยาตัวใหม่ที่มีความรุนแรงมากขึ้นซึ่งมีพิษมากขึ้นด้วย ทั้งยังสิ้นเปลืองค่ารักษามากขึ้นและการรักษาพยาบาลที่นานขึ้น (มาลินี, 2538)

*เชื้อเอสเชอริเชีย โคลัย* (*Escherichia. Coli* ; *E. coli*) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบปกติในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ และบางชนิดสามารถก่อให้เกิดโรคได้ เช่นในสุกรการติดเชื้อ *E. coli* จะก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหาร ที่สร้างความสูญเสียทางเศรษฐกิจสูง จากการควบคุม ป้องกัน และการรักษาโรค (กิจจา, 2535) เชื้อ *E. coli* ที่มีความสำคัญ และก่อให้เกิดอันตรายรุนแรงคือ Enterhaemorrhagic escherichia coli (EHEC) serotype 0157 : H7 ซึ่งทำให้ท้องเสีย อุจจาระมีเลือดปน และมีอัตราการตายสูง (เกรียงศักดิ์, 2536)

จากคุณสมบัติดังกล่าว เชื้อ *E. coli* จึงมีความสำคัญต่อการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย ประกอบกับพื้นที่จังหวัดพิจิตรมีการเลี้ยงสุกรและไก่เนื้อ ในเชิงอุตสาหกรรมมาก จึงจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย ในสัตว์ดังกล่าว เพื่อให้สามารถวางแผนการใช้ยาต้านจุลชีพ ในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การศึกษาครั้งนี้ เป็นการเฝ้าระวังเชิงรุก (Active surveillance) การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย โดยติดตามการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ในสุกรและไก่เนื้อที่มีสุขภาพแข็งแรง ปกติ เพื่อป้องกันผู้บริโภคได้รับอันตรายจากเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่จะปนเปื้อนมาในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์

## อุปกรณ์และวิธีการ

<u>การเก็บตัวอย่าง</u>

ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 ถึง เดือนมีนาคม 2548 ดำเนินการเก็บตัวอย่างจากอุจจาระจากฟาร์มไก่เนื้อที่ได้รับใบรับรองมาตรฐานฟาร์ม จำนวน 24 ฟาร์ม 38 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บในหลายโรงเรือน หรือหลายกลุ่มอายุของไก่เนื้อที่มีสุขภาพปกติ ใส่ถุงปลอดเชื้อให้ได้น้ำหนักรวมประมาณ 50 กรัม หรือขนาดประมาณผลส้ม และเก็บตัวอย่างอุจจาระสุกรจากฟาร์มที่ได้ใบรับรองฟาร์มมาตรฐาน หรือฟาร์มสุกรขนาดกลาง จำนวน 18 ฟาร์ม 18 ตัวอย่าง โดยเก็บให้ครอบคลุมทุกรุ่นสุกร ทีมีสุขภาพปกติ (พ่อแม่พันธุ์ ดูดนม เล็ก-รุ่น ขุน) หากมีสุกรรุ่นเดียว ให้สุ่มเก็บจากหลายคอก ซึ่งเก็บ 200 กรัมใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ 2 ชั้น รัดปากถุงให้แน่นเพื่อป้องกันน้ำเข้า หลีกเลี่ยงอย่าให้ตัวอย่างถูกแสงแดดโดยตรง แช่เย็นนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 1 วัน บันทึกการใช้ยาต้านจุลชีพในแต่ละฟาร์ม ทุกครั้งที่มีการเก็บตัวอย่าง

<u>การตรวจตัวอย่าง</u>

1. นำตัวอย่างจำนวน 1 กรัม ใส่ใน Lactose broth จำนวน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายที่ได้ไป เขี่ยบน EMB agar บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีที่ขึ้นใน EMB agar ที่มีลักษณะสีปีกแมลงทับ แล้วนำไปเพาะบน nutrient agar บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียสนาน 18-24 ชั่วโมง และทดสอบทางชีวเคมีเพื่อยืนยันผล

2. ทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพ (Sensitivity test) ด้วย Disc Diffusion Test ตามวิธีของ Nation Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS) (1997) โดยนำเชื้อจาก nutrient agar มาละลายในหลอดบรรจุ 0.85 % NSS ให้ได้ความขุ่น 0.05 % McFarlan ใช้ cotton swab ป้ายเชื้อนำไปเขี่ยบน Muller Hinton agar แล้ววาง disc ของยาที่ทำการทดสอบจำนวน 10 ชนิด คือ Tetracycline, Ampicillin, Cephalothin, Trimethoprim, Streptomycin, Gentamycin, Kanamycin, Neomycin, Enrofloxacin และ Nalidixic acid บน Muller Hinton agar บ่มไว้ที่37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง วัด clear zone รอบแผ่น disc ยาต้านจุลชีพ แล้วนำไปเทียบกับ clear zone ตามมาตรฐานของ NCCLS

<u>การวิเคราะห์ผล</u>

วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การตรวจแยกเชื้อ อัตราการดื้อยา และเปอร์เซ็นต์การใช้ยาต้านจุลชีพในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ โดยโปรแกรม Microsoft Excel

## ผล

ผลการตรวจเพาะแยกเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างจากฟาร์มสุกรและฟาร์มไก่เนื้อ ทั้งหมด 30 ตัวอย่าง (53.57 %) จาก 42 ฟาร์ม เป็นตัวอย่างจากฟาร์มสุกร 18 ฟาร์ม แยกเชื้อได้ 11 ตัวอย่าง (61.11 %) และจากฟาร์มไก่เนื้อ 24 ฟาร์ม แยกเชื้อได้ 19 ตัวอย่าง (50.00 %) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจแยกพบเชื้อ *E. coli* ในฟาร์มสุกรและไก่เนื้อ

| ชนิดฟาร์ม | จำนวนตัวอย่างทั้งหมด/ฟาร์ม (ตัวอย่าง/ฟาร์ม) | แยกเชื้อ *E. coli* ได้ฟาร์ม (ตัวอย่าง/ฟาร์ม) | % แยกเชื้อได้ (ตัวอย่าง/ฟาร์ม) |
|---|---|---|---|
| สุกร | 18/18 | 11/11 | 61.11/61.11 |
| ไก่เนื้อ | 38/24 | 19/19 | 50.00/79.16 |
| รวม | 56/42 | 30/30 | 53.57/71.43 |

ในระหว่างการศึกษา การใช้ยาต้านจุลชีพของฟาร์มสุกร ส่วนมากใช้ Amoxycillin (72.22 %) รองลงมาคือ Gentamycin (55.56 %) และ Enrofloxacin (33.33 %) ส่วนฟาร์มไก่เนื้อ มีการใช้ยาต้านจุลชีพเพียงชนิดเดียวคือ Enrofloxacin (100 %) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การใช้ยาต้านจุลชีพของฟาร์มสุกรและไก่เนื้อ ขณะศึกษา

| ชนิดฟาร์ม | การใช้ยาต้านจุลชีพของฟาร์ม ขณะศึกษา ( ฟาร์ม/% ) | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Amoxycillin | Ciprofloxacin | Colistin | Enrofloxacin | Neomycin | Nalidixic acid | Streptomycin | Sulfamethoxazone + Trimethoprim | Tetracycline | Gentamycin | Ampicillin | Tylosin | Kanamycin |
| สุกร | 13/ 72.22 | 0/0 | 1/ 5.56 | 6/ 33.33 | 0/0 | 0/0 | 4/ 22.22 | 0/0 | 4/ 22.22 | 12/ 55.56 | 0/0 | 5/ 27.78 | 5/ 27.78 |
| ไก่เนื้อ | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 24/ 100 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 |

ผลการทดสอบการดื้อยาต้านจุลชีพ จำนวน 10 ชนิด ดังตารางที่ 3 พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่พบในฟาร์มสุกรทั้งหมดดื้อต่อยา Trimethoprim (100 %) รองลงมาตามลำดับ คือ Tetracycline (90.91 %), Ampicillin (90.91 %), Streptomycin (81.82 %), Kanamycin (63.64 %), Neomycin (63.64 %), Nalidixic acid (36.36 %), Enrofloxacin (27.27 %), Gentamycin (9.09 %), และ Cephalothin (9.09 %) ส่วนเชื้อ *E. coli* ที่พบในฟาร์มไก่เนื้อส่วนมากดื้อต่อยา Ampicillin (84.21 %), รองลงมาคือ Trimethoprim (73.68 %), Tetracycline (63.16 %), Nalidixic acid (57.89 %), Enrofloxacin (47.37 %), Streptomycin (26.32 %), Kanamycin (21.05 %), Neomycin (15.79 %), และ Gentamycin (10.53 %) ตามลำดับ

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ผลการทดสอบการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ในฟาร์มสุกรและไก่เนื้อ

| ชนิดยาต้านจุลชีพ | ตัวอย่างจากฟาร์มสุกร | | ตัวอย่างจากฟาร์มไก่เนื้อ | |
|---|---|---|---|---|
| | ตัวอย่างที่ดื้อยา | % การดื้อยาในสุกร | ตัวอย่างที่ดื้อยา | % การดื้อยาในไก่เนื้อ |
| Tetracycline | 10 | 90.91 | 12 | 63.16 |
| Ampicillin | 10 | 90.91 | 16 | 84.21 |
| Cephalothin | 1 | 9.09 | 0 | 0 |
| Trimethoprim | 11 | 100 | 14 | 73.68 |
| Streptomycin | 9 | 81.82 | 5 | 26.32 |
| Gentamycin | 1 | 9.09 | 2 | 10.53 |
| Kanamycin | 7 | 63.64 | 4 | 21.05 |
| Neomycin | 7 | 63.64 | 3 | 15.79 |
| Enrofloxacin | 3 | 27.27 | 9 | 47.37 |
| Nalidixic acid | 4 | 36.36 | 11 | 57.89 |

การดื้อยามากกว่า 1 ชนิด (Multidrug resistance) ของเชื้อ *E. coli* พบว่า จากฟาร์มสุกรเกือบทุกตัวอย่างที่แยกเชื้อได้จะดื้อยามากกว่า 1 ชนิด (90.91 %) ส่วนตัวอย่างจากฟาร์มไก่เนื้อ ก็มีอัตราการดื้อยามากกว่า 1 ชนิดสูงถึง (73.68 %) และตัวอย่างที่แยกเชื้อได้จากฟาร์มสุกรและฟาร์มไก่เนื้อ มีอัตราการดื้อยามากกว่า 1 ชนิด ที่พบสามารถดื้อยาได้ถึง 9 ชนิดพร้อมกัน ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบการดื้อยามากกว่า 1 ชนิด ของเชื้อ *E. coli* ในฟาร์มสุกรและไก่เนื้อ

| ชนิดฟาร์ม | จำนวนตัวอย่าง | จำนวนยาต้านจุลชีพที่ดื้อยาพร้อมกัน | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | > 1 |
| สุกร | 11 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 5 | 0 | 2 | 1 | 10 |
| | % | 0 | 9.09 | 0 | 9.09 | 9.09 | 0 | 45.45 | 0 | 18.18 | 9.09 | 90.91 |
| ไก่เนื้อ | 19 | 1 | 3 | 1 | 2 | 4 | 4 | 2 | 1 | 0 | 1 | 14 |
| | % | 5.26 | 15.79 | 5.26 | 10.52 | 21.05 | 21.05 | 10.52 | 5.26 | 0 | 5.26 | 73.68 |

## สรุปและวิจารณ์

จากการทดสอบการดื้อยาพบว่าเชื้อ *E. coli* จากฟาร์มสุกร ดื้อต่อ Trimethoprim Tetracycline และ Ampicillin ซึ่งยาดังกล่าวเป็นยาที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในฟาร์มสุกร ซึ่ง Tetracycline ใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต สอดคล้องกับ Pathanasopon และคณะ (1998) ได้ติดตามสถานการณ์การใช้ยาในสัตว์อาหาร ระหว่างปี 1994 – 1996 พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่เพาะแยกได้จากซากสัตว์ ที่ส่งตรวจวิเคราะห์ จะดื้อต่อยา Tetracycline สูงสุด โดยดื้อยา 82 % และตรงกับการศึกษาของ Methew และคณะ (1998) ที่พบว่าฟาร์มสุกรที่เลี้ยงในลักษณะอุตสาหกรรม และใช้ยา Tetracycline สูง เชื้อ *E. coli* ในอุจจาระลูกหมูหลังคลอด 7 วัน จะดื้อต่อยา Tetracycline 96.2 % ส่วนในแม่สุกร จะดื้อต่อยา Tetracycline สูงถึง

99.1 % ยาชนิดอื่นที่มีการดื้อยาสูงในฟาร์มสุกร ได้แก่ Streptomycin, Neomycin, Kanamycin ส่วนที่เชื้อ *E. coli* ที่ดื้อยาไม่มากได้แก่ Nalidixic acid, Enrofloxacin, Cephalothin และ Gentamycin ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการใช้ยาต้านจุลชีพในระหว่างการศึกษานั้น พบว่ามีการใช้ยา Gentamycin (55.56 %) และ Enrofloxacin (33.33 %) เป็นส่วนมาก เนื่องจากเป็นยาที่ยังสามารถใช้ได้ผลดีในฟาร์ม

ในฟาร์มไก่เนื้อ เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จะดื้อยาสูงสุดต่อยา Ampicillin รองลงมาได้แก่ Trimethoprim, Tetracycline, Nalidixic acid, Enrofloxacin, Streptomycin, Kanamycin, Neomycin, และ Gentamycin ตามลำดับ ส่วนยาที่ไม่ดื้อเลย คือ Cephalothin อาจจะเนื่องมาจากมีการนำยามาใช้น้อย เพราะมีราคาสูง และจากข้อมูลการใช้ยาต้านจุลชีพในระหว่างการศึกษานั้น พบว่ามีการใช้ยา Enrofloxacin เพียงอย่างเดียว เนื่องจากเป็นยาที่หาซื้อง่ายและราคาถูก โดยพบว่ามีการดื้อยาในระดับปานกลาง ซึ่งหากมีการใช้ยาในลักษณะนี้ต่อไปเรื่อยๆ คาดว่าในอนาคตฟาร์มไก่เนื้ออาจจะพบการดื้อยา Enrofloxacin ในระดับที่สูงขึ้นได้

รูปแบบการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ในฟาร์มสุกรและไก่เนื้อ มีลักษณะคล้ายคลึงกัน กล่าวคือส่วนใหญ่มีการดื้อยามากกว่า 1 ชนิด เชื้อ *E. coli* ดื้อยามากกว่าหนึ่งชนิดสูงถึง 73.68 % และ90.91 % ในฟาร์มสุกรและฟาร์มไกเนื้อตามลำดับ โดยเฉพาะในฟาร์มสุกรมีการดื้อยาพร้อมกัน 6 ชนิดถึง 5 ตัวอย่าง (45.45 %) แสดงให้เห็นว่ายาที่ใช้ทดสอบทั้ง 10 ชนิด อาจเป็นยาที่มีการใช้สับเปลี่ยนหมุนเวียนกันเป็นเวลานาน ทำให้เชื้อ *E. coli* สร้าง R-factor สำหรับการดื้อยาแต่ละชนิดขึ้น ส่งผลให้มีการดื้อยาชนิดนั้นคงอยู่ แม้จะไม่มีการใช้ยาชนิดนั้น ๆ แล้วก็ตาม (มาลินี, 2538)

จากผลการศึกษาครั้งนี้ สามารถใช้เป็นข้อพิจารณาสำหรับสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์ม ในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพสำหรับการเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่จังหวัดพิจิตรต่อไป และเนื่องจากมีการดื้อยาในระดับค่อนข้างสูง ซึ่งอาจจะสร้างปัญหาด้านสาธารณสุขตามมา จึงควรมีการเฝ้าระวังและติดตามการดื้อยาในสัตว์อย่างสม่ำเสมอ

## ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบข้อมูลสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพในฟาร์มสุกรและฟาร์มไก่เนื้อภายในจังหวัดพิจิตร ซึ่งมีการดื้อยาต้านจุลชีพในระดับที่สูงแสดงให้เห็นถึงการที่ไม่มีความรู้ในการใช้ยาภายในฟาร์ม โดยเฉพาะผู้ใช้ยาที่เป็นเกษตรกรและไม่มีการปรึกษาสัตวแพทย์ก่อนการใช้ยา ดังนั้นจึงควรให้ความรู้เรื่องมาตรฐานฟาร์มเพื่อผลักดันให้ฟาร์มเข้าสู่ระบบมาตรฐานของกรมปศุสัตว์ เพราะจะได้มีสัตวแพทย์ทำหน้าที่ควบคุม ดูแล ภายในฟาร์มและรับผิดชอบในการใช้ยาต่างๆภายในฟาร์ม ซึ่งน่าจะทำให้สถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพในจังหวัดพิจิตรลดลงได้ แต่อย่างไรก็ตามหากมีการศึกษาเรื่องการใช้ยาในฟาร์มครั้งต่อไป ควรศึกษาถึงเรื่องการใช้สมุนไพรในการเลี้ยงสัตว์ ทดแทนการใช้ยาหรือสารเคมี เนื่องจากเป็นเรื่องที่เกษตรกรเริ่มให้ความสนใจและได้มีเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์บางรายได้ลงมือทำบ้างแล้ว แต่ยังไม่มีการศึกษาอย่างจริงจัง และยังไม่มีการวิเคราะห์ผลการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างสมุนไพรกับยาหรือสารเคมี หากมีการศึกษาดังกล่าวจะเกิดประโยชน์ทั้งต่อเจ้าของฟาร์มและผู้บริโภค อีกทั้งยังเป็นการสอดคล้องกับนโยบายรัฐบาลในเรื่องอาหารปลอดภัย (Food Safety) ด้วย

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ น.สพ.พรชัย ชำนาญพูด ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือ (ตอนล่าง) นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือ (ตอนล่าง) ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ในพื้นที่จังหวัดพิจิตร ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างส่งตรวจ

## เอกสารอ้างอิง


เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2536. โรคติดเชื้อในไก่. คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร. หน้า 59-64.

กิจจา อุไรรงค์. 2535. แนวทางการวินิจฉัย รักษา และควบคุมโรคสุกร. โรงพิมพ์สหมิตร ออฟเซต กรุงเทพมหานคร. หน้า 239-250.

จิโรจ ศศิปรียจันทร์. 2543. การจัดการและโรคที่สำคัญในไก่เนื้อ. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร. หน้า 87-93.

มาลิน จุลศิริ. 2532. ยาต้านจุลชีพ ความรู้พื้นฐานและประยุกต์. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร. หน้า 49-64.

มาลินี ลิ้มโภคา. 2538. ยาต้านจุลชีพ. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร. หน้า 62-80.

Anderson, E.S. and Datta, N. 1965. Resistance to penicillin and Its transfer in Enterobacteriaceae. Lancet.1 : 407-409.

Franklin, A., Acar, J.,Anthony, F., Gupta, R., Nicholls, T., Tamura, Y., Thomson, S.,Threlfall, E.J., Vose, D., Van, V., While, D.G., Wegener, H.C. and Costarica, M.L.2001. Antimicrobial resistance : hamonisation of national antimicrobial resistanceMonitoring and surveillance programmes in animals and in animal-derived food.Rev.Sci.tech.Off.int.Epiz. 20 (3) : 859-870.

Levy, S.B. 1998. The challenge of antibiotics resistance. Scientific America. : 1-10.

Mathew, A.G., Upchurch, W.G. and Chattin, S.E. 1998. Incidence of antibiotic resistance in fecal escherichia coli isolated from commercial swine farm. J. Anim. Sci. Feb ; 76(2): 429-434.

McEwen, S.A. and Fedor-Cray, P.J. 2002. Antimicrobial use and resistance in animal. Clini Infect Dis. 34 : 93-106’

National committee for clinical laboratory standards. 1997. Perfermance standard for Antimicrobial disc susceptibility. Vol 7(1).

Pathanasophon, P., Tanitcharoenyos, T. and Satuwong, I. 1998. Antimicrobial drug Resistances of samonella spices and escherichia coli in food animals. Thai J.Vet. Med. 49(1-3) : 11-23.

Tenover, F.C. and Hughes, T.H. 1996 : The challenge of emerging infectious disease. JornalAmerican Medical Assosiation ; 275 : 300-304.

Teruchet, T., Inmaculada, A., Herrero, M., Concepcion, P., Julian, G., Miguel, A.M., and Lucas, D. 2000. Surveillance of antimicrobial resistance in escherichia coli strain Isolated from pigs at Spanish slaugterhouses. International Jornal of AntimicrobialAgents. 15 (2000) : 137-142.

Watson, C.E. 1967. Infectious Drug Resistance in Shigella in Cape Town. S. Afr. Med. J.41 : 728-731.

**Antimicrobial Drugs Resistance on Swine and Broiler in Phichit Province**

Thawan Rattana [1] Kraikeaw Kamdee [2]

**Abstract**

Monitoring of antimicrobial drugs resistance on swine and broiler in Phichit province during October 2003 and March 2005. 30 *E. coli* (53.57 %) were isolated from 56 samples of 11 feces of pig and 19 feces of broiler. 19 (50.00 %) *E. coli* isolated from feces of broiler and 11 (61.11 %) were isolated from feces of pig. The Paper Disc Diffusion technique test resistance to 10 antimicrobial agent. Most resistance of *E. coli* from swine farm was Trimethoprim (100 %), Cephalothin (9.09 %) and Gentamycin (9.09 %) . *E. coli* from broiler farm most resistance was Ampicillin (84.21 %) and Gentamycin (10.53 %). Multidrug, 9 antimicrobial drugs, resistance strains were isolated from swine 9.09 % and broiler 5.26 %

**Key words** : Resistance, *E. coli,* Antimicrobial drug

---

Research No. 48(2)-0616(6)-134

[1] Phichit Provincial Livestock Office, Phichit Province, 66000

[2] Northern Veterinary Research and Development Centre, Phitsanulok Province, 65000

**********

**การตรวจแอนติบอดีต่อ 3B non structure protein และ VIA antigen**
**ของเชื้อ ไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในโค**

สุวรรณี ตันรัตนวงศ์[1] วัฒนศักดิ์ จำละคร[2]

**บทคัดย่อ**

นำซีรั่มโคปกติ หลังจากได้รับวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อย จำนวน 480 ตัวอย่าง และซีรั่มโคที่ป่วยด้วยโรคปากและเท้าเปื่อย จำนวน 66 ตัวอย่าง มาตรวจหาแอนติบอดีต่อ 3B non structure protein โดยวิธี indirect ELISA และ VIA antigen โดยวิธี AGID test พบว่าโคกลุ่มปกติมีแอนติบอดีต่อ 3B non structure protein และ VIA antigen 24 และ 66 ตัวอย่าง ตามลำดับ ให้ค่าประสิทธิภาพของการตรวจ เท่ากับ 91.25% และโคกลุ่มที่ป่วยด้วยโรคปากและเท้าเปื่อย มีแอนติบอดีต่อ 3B non structure protein และ VIA antigen 51 และ 56 ตัวอย่าง ตามลำดับ ให้ค่าประสิทธิภาพของการตรวจ เท่ากับ 89.39% เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจหาภาวะการสัมผัสเชื้อ FMDV ระหว่างการตรวจหาแอนติบอดีต่อ 3B non structure protein กับ VIA antigen พบว่าให้ผลการตรวจสอดคล้องกันในสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม

**คำสำคัญ : โรคปากและเท้าเปื่อย, แอนติบอดี, นอนสตรัคเจอร์โปรตีน, วี ไอ เอ, โค**

---

1. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือ ตอนล่าง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130

2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือ ตอนบน อ. ห้างฉัตร จ. ลำปาง 52190

## บทนำ

โรคปากและเท้าเปื่อยเป็นโรคระบาดที่เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและรุนแรงในสัตว์กีบคู่ ก่อความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นประจำทุกปี (กิจจา, 2535; Radostits et al., 1994) กรมปศุสัตว์จึงได้จัดทำโครงการเพิ่มประสิทธิภาพการป้องกันและกำจัดโรคปากและเท้าเปื่อย โดยรณรงค์ฉีดวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยในโค-กระบืออย่างต่อเนื่องปีละ 2 ครั้งพร้อมทั้งให้มีการสุ่มเก็บตัวอย่างซีรั่มหลังจากสัตว์ได้รับวัคซีนไปแล้ว 1 เดือนเพื่อตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอ เอ และเอเชียวัน ซึ่งเป็นไทป์ที่มีรายงานการตรวจพบในประเทศไทย (ทัศนีย์และคณะ, 2539; Gleeson et al., 1993) ด้วยวิธี Liquid phase blocking enzyme linked immunosorbent assay (LPB ELISA) test ควบคู่กับการตรวจสอบสภาวะการสัมผัสเชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and mouth disease virus; FMDV) โดยวิธี Virus infection associated (VIA) test เพื่อแยกสัตว์ที่ติดเชื้อออกจากสัตว์ที่ได้รับวัคซีน ซึ่งการตรวจสอบสภาวะการสัมผัสเชื้อ FMDV โดยวิธี VIA test นั้น ในระยะแรกๆของการตรวจพบว่าให้ผลเป็นที่น่าพอใจ เนื่องจากสัตว์ส่วนใหญ่ได้รับการฉีดวัคซีนจำนวนน้อยครั้ง การวินิจฉัยโรคจากตัวอย่างซีรั่มจึงมีความถูกต้องและแม่นยำในระดับหนึ่ง (วิไลและคณะ, 2543) แต่ปัจจุบันสัตว์ ในพื้นที่ส่วนใหญ่ได้รับวัคซีนมาแล้วหลายครั้ง การทดสอบบางครั้งจึงเกิดผลบวกต่อ VIA test ทั้งๆที่สัตว์ไม่ได้รับการสัมผัสเชื้อ FMDV มาก่อน (Pinto and Garland, 1979; Silberstein et al., 1997) ส่งผลให้การตรวจวินิจฉัยโรคผิดพลาด ดังนั้น ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้จึงได้มีการศึกษาค้นหาเทคนิคและวิธีการใหม่ๆที่มีประสิทธิภาพดีกว่า มีความจำเพาะ และแม่นยำกว่า VIA test มาใช้แทน คือ การตรวจหาแอนติบอดีต่อ non structure protein ของเชื้อ FMDV (NS test) ในส่วนของ 3A , 3B , 3C และ 3D โดยวิธี ELISA (Clavijo et al., 2004; De Diego et al., 1997) ซึ่ง Donaldson and Kihm (1996) รายงานว่าเป็นวิธีที่กลุ่มประเทศที่ปลอดโรคปากและเท้าเปื่อยนำมาใช้เป็นมาตรฐานในการตรวจสอบเพื่อการนำเข้าหรือส่งออกด้านปศุสัตว์ระหว่างประเทศภายใต้กฎข้อบังคับขององค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (Office International Des Epizooties; OIE) และองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations; FAO) ทำให้สามารถแยกสัตว์ที่ติดเชื้อออกจากสัตว์ที่ได้รับวัคซีนได้ และในหลายประเทศได้นำการตรวจวิธีนี้มาใช้ตรวจแยกระหว่างสัตว์ที่ติดเชื้อ สัตว์ที่ได้รับวัคซีน และสัตว์ที่เป็นพาหะ ในการควบคุมและกำจัดโรคโดยการกำจัดสัตว์ที่ติดเชื้อ และสัตว์ที่เป็นพาหะออกจากฝูง (Chung et al., 2002; De Diego et al., 1997) นอกจากนี้ยังนำมาใช้ในโปรแกรมการตรวจเพื่อเฝ้าระวังการควบคุมการเคลื่อนย้ายสัตว์ภายในประเทศ การตรวจสัตว์ในพื้นที่ตามแนวชายแดนระหว่างประเทศ และการตรวจในพื้นที่เมื่อเกิดการระบาดของโรค ( Bronsvoort et al., 2004; Chung et al., 2002; Mackay et al., 1998; Moomen et al., 2004) และคาดว่าจะช่วยแก้ปัญหาและลดข้อผิดพลาดที่เกิดจากการตรวจ VIA test ได้

เมื่อสัตว์ได้รับเชื้อ FMDV เข้าสู่ร่างกายแล้วจะเกิดขบวนการที่เรียกว่า Viral replication ในเซลล์สัตว์จะมีการปล่อยเอ็นไซม์ non-structure protein ได้แก่ 3A, 3B, 3C และ 3D ซึ่งส่วน 3D นี่เองที่เป็น viral RNA polymerase หรือ Virus infection associated (VIA) antigen และร่างกายสัตว์จะมีการสร้างแอนติบอดีต่อ non-structure protein และ VIA antigen ขึ้น ทำให้สามารถตรวจพบในซีรั่มสัตว์ที่ติดเชื้อได้ (วิไล และคณะ, 2543)

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ คือ

1. เพื่อทราบภาวะการสัมผัสเชื้อ FMDV ของโคที่มีการปล่อยเลี้ยงตามธรรมชาติ 2 กลุ่มคือ กลุ่มปกติ ไม่มีอาการป่วย และได้รับวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยตามแผนการรณรงค์ฉีดวัคซีนของกรมปศุสัตว์ และอีกกลุ่ม คือ กลุ่มที่แสดงอาการป่วยและมีวิการของโรคปากและเท้าเปื่อยชัดเจน โดยดูจากผลการตรวจหาแอนติบอดีต่อ 3B non-structure protein และ VIA antigen ของเชื้อ FMDV

2. เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจหาภาวะการสัมผัสเชื้อ FMDV ระหว่างการตรวจหาแอนติบอดีต่อ 3B non-structure protein โดยวิธี ELISA กับ การตรวจหาแอนติบอดีต่อVIA antigenโดยวิธี Agar gel immunodiffusion (AGID) test เพื่อนำมาใช้ในการพิจารณาตรวจแยกสัตว์ที่ติดเชื้อออกจากสัตว์ที่ได้รับวัคซีน และเป็นข้อมูลสนับสนุนงานเฝ้าระวังโรคและระบาดวิทยา

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

**1.ซีรั่มตัวอย่าง**

เจาะเลือดและเก็บซีรั่มโคที่มีการปล่อยเลี้ยงตามธรรมชาติ ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง พะเยา และเชียงราย ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2546- มกราคม 2547 จำนวน 546 ตัวอย่าง โดยแบ่งตัวอย่าง เป็น 2 กลุ่ม คือ

**กลุ่มที่ 1 (กลุ่มสัตว์ปกติ)** ซีรั่มโคกลุ่มที่มีสภาพร่างกายปกติ ไม่มีอาการป่วยด้วยโรคใดๆ และได้รับวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยตามแผนการรณรงค์ฉีดวัคซีนของกรมปศุสัตว์ แล้วทำการเจาะเลือดและเก็บซีรั่มหลังจากได้รับวัคซีน 1 เดือน จำนวน 480 ตัวอย่าง

**กลุ่มที่ 2 (กลุ่มสัตว์ป่วย)** ซีรั่มโคกลุ่มที่แสดงอาการป่วยและมีวิการของโรคปากและเท้าเปื่อยชัดเจน ไม่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยมานานมากกว่า 6 เดือน และได้มีการสุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อวิการส่งตรวจแยกเชื้อทางห้องปฏิบัติการแล้วพบเชื้อ FMDV ทำการเจาะเลือดและเก็บซีรั่มหลังจากที่สัตว์ในกลุ่มเริ่มแสดงอาการป่วยและตรวจพบวิการของโรคชัดเจน 7-10 วัน จำนวน 66 ตัวอย่าง

**2. การตรวจซีรั่ม**

**2.1 Non-structure protein test (NS test)**

ตรวจหาแอนติบอดีต่อส่วน 3B non structure protein ของเชื้อ FMDV โดยวิธี indirect ELISA ใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป NS reagent kit ซึ่งผลิตจากหน่วยงาน United Biochemical Inc. (UBI) ประเทศสหรัฐอเมริกา ขั้นตอนและวิธีการตรวจสอบดำเนินการตามคู่มือของผู้ผลิต และแปลผลโดย ผลบวก (Reactive) คือ ภาวะที่สัตว์มีแอนติบอดีต่อ 3B non-structure protein หรือมีการสัมผัสเชื้อ FMDV ผลลบ (Non-reactive) คือ ภาวะที่สัตว์ไม่มีแอนติบอดีต่อ 3B non-structure protein หรือไม่มีการสัมผัสเชื้อ FMDV

**2.2 Virus infection associated test (VIA test)**

ตรวจหาแอนติบอดีต่อ VIA antigen โดยวิธี Agar gel immunodiffusion (AGID) test ตามวิธีของวิไลและคณะ (2536) และแปลผลโดย ผลบวก (Reactive) คือ ภาวะที่สัตว์มีแอนติบอดีต่อ VIA antigen เนื่องจากมีการสัมผัสเชื้อ FMDV หรืออาจเกิดจากการได้รับการฉีดวัคซีนมาแล้วจำนวนหลายครั้ง ผลลบ (Non-reactive) คือ ภาวะที่สัตว์ไม่มีแอนติบอดีต่อ VIA antigen หรือไม่มีการสัมผัสเชื้อ FMDV

**3. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ**

วิเคราะห์ค่าทางสถิติตามวิธีของเติมศรี (2544) โดยเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจ NS test และ VIA test จากค่าประสิทธิภาพของการตรวจ( efficacy of test)

## ผล

ผลการตรวจตัวอย่างซีรั่มโคในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง พะเยา และเชียงราย โดย NS test และ VIA test ให้ผลดังนี้

**กลุ่มที่ 1** ซีรั่มโคปกติ จำนวน 480 ตัวอย่าง ให้ผลบวกต่อ NS test และ VIA test 24 และ 66 ตัวอย่าง ตามลำดับ ให้ผลลบต่อ NS test และ VIA test 456 และ 414 ตัวอย่าง ตามลำดับ ให้ผลบวกต่อทั้ง 2 วิธี 24 ตัวอย่าง และให้ผลลบต่อทั้ง 2 วิธี 414 ตัวอย่าง รวมจำนวนซีรั่มที่ให้ผลบวกและลบต่อ NS test และ VIA test ตรงกัน 438 ตัวอย่าง (Table 1)

**กลุ่มที่ 2** ซีรั่มโคที่ป่วยด้วยโรคปากและเท้าเปื่อย จำนวน 66 ตัวอย่าง ให้ผลบวกต่อ NS test และ VIA test 51 และ 56 ตัวอย่าง ตามลำดับ ให้ผลลบต่อ NS test และ VIA test 15 และ 10 ตัวอย่าง ตามลำดับ ให้ผลบวกต่อทั้ง 2 วิธี 50 ตัวอย่าง และให้ผลลบต่อทั้ง 2 วิธี 9 ตัวอย่าง รวมจำนวนซีรั่มที่ให้ผลบวกและลบต่อ NS test และ VIA test ตรงกัน 59 ตัวอย่าง (Table 2)

**Table 1** : Relative antibody response between NS test and VIA test in cattle group 1.

| | | *NS TEST* | | |
|---|---|---|---|---|
| | | **Reactive** | **Non-reactive** | *Total* |
| *VIA TEST* | *Reactive* | ***24*** | ***42*** | *66* |
| | *Non-reactive* | ***0*** | ***414*** | *414* |
| | Total | **24** | **456** | ***480*** |

efficacy of test = (24+414)/480 = 91.25%

**Table 2** : Relative antibody response between NS test and VIA test in cattle group 2.

| | | *NS TEST* | | |
|---|---|---|---|---|
| | | **Reactive** | **Non-reactive** | *Total* |
| *VIA TEST* | *Reactive* | ***50*** | ***6*** | *56* |
| | *Non-reactive* | ***1*** | ***9*** | *10* |
| | Total | **51** | **15** | ***66*** |

efficacy of test = (50+9)/66 = 89.39%

## วิจารณ์

จากผลการตรวจหาแอนติบอดีต่อ 3B non-structure protein และ VIA antigen ของเชื้อ FMDV จากซีรั่มโคในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง พะเยา และเชียงราย โดย NS test และ VIA test พบว่า โคในกลุ่มปกติมีอัตราการสัมผัสเชื้ออยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำกว่า คือ 5% (24/480 ตัวอย่าง) จากการตรวจโดย NS test และ 13.75% (66/480 ตัวอย่าง) จากการตรวจโดย VIA test ส่วนโคในกลุ่มที่ป่วยตรวจพบว่ามีอัตราการสัมผัสเชื้ออยู่ในเกณฑ์ที่สูงกว่า คือ 77.27% (51/66 ตัวอย่าง) จากการตรวจโดย NS test และ 84.85% (56/66 ตัวอย่าง) จากการตรวจโดย VIA test และเมื่อ

เปรียบเทียบผลการตรวจหาภาวะการสัมผัสเชื้อ FMDV ระหว่างการตรวจหาแอนติบอดีต่อ 3B non structure protein กับ VIA antigen จากค่าประสิทธิภาพของการตรวจ( efficacy of test) พบว่าให้ผลการตรวจสอดคล้องกันในสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม คือ กลุ่มโคปกติ เท่ากับ 91.25% (438/480 ตัวอย่าง) กลุ่มโคป่วย เท่ากับ 89.39% (59/66 ตัวอย่าง) จะเห็นได้ว่าการตรวจ NS test จะให้ผลบวกน้อยกว่า VIA test เช่นเดียวกับการศึกษาของวิไลและคณะ (2543)

เมื่อพิจารณาถึงความจำเพาะและเชื่อมั่นในการนำผลการตรวจทั้ง 2 วิธีมาใช้ในการแยกสัตว์ที่ติดเชื้อออกจากสัตว์ที่ได้รับวัคซีนพบว่า NS Test จะให้ความเชื่อมั่นมากกว่า VIA Test (Clavijo et al., 2004; Silberstein et al., 1997; Mackay et al., 1998) เนื่องจากสัตว์ที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนหลายๆครั้งจะสามารถตรวจพบผลบวกต่อ VIA Test ได้โดยที่ไม่มีการติดเชื้อมาก่อน (Pinto and Garland, 1979; Silberstein et al., 1997) เช่นเดียวกับการศึกษาของวิไล และคณะ (2543) ที่พบว่าการตรวจทั้ง 2 วิธีนี้ให้ผลสอดคล้องกัน แต่ NS test จะให้ความจำเพาะและความแม่นยำสูงกว่า VIA test โดยเฉพาะในกลุ่มสัตว์ที่เคยได้รับวัคซีนมากกว่า 2 ครั้งขึ้นไปและสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ เนื่องจากโคในกลุ่มปกติ ได้รับวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยตามแผนการรณรงค์ฉีดวัคซีนของกรมปศุสัตว์ และหลายตัวเคยได้รับการฉีดวัคซีนหลายครั้งอาจทำให้สามารถตรวจพบผลบวกต่อ VIA Test ได้โดยที่ไม่มีการติดเชื้อมาก่อน จึงตรวจพบผลบวกมากกว่า NS test ส่วนสัตว์ทดลองในกลุ่มที่ 2 ไม่ได้รับวัคซีนมานานมากกว่า 6 เดือน แต่ก็อาจมีบางตัวเคยได้รับการฉีดวัคซีนจำนวนหลายครั้งและทำให้ผลบวกต่อการตรวจ VIA test ได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการตรวจหาแอนติบอดีต่อ non-structure protein และ VIA antigen ของเชื้อ FMDV ในซีรั่มของสัตว์ยังขึ้นกับระยะเวลาที่เหมาะสมด้วย (วิไลและคณะ ,2536; Clavijo et al., 2004; Mezencio et al., 1998) ซึ่ง De Diego et al. (1997) รายงานว่าระยะเวลาที่สามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อ non-structure protein ได้ คือ หลังจากที่สัตว์ได้รับการติดเชื้อแล้ว 8 วัน จนถึง 335 วัน ส่วนแอนติบอดีต่อ VIA antigen สามารถตรวจพบได้ในระยะเวลา 1 สัปดาห์ จนถึง 4 เดือน หรือมากกว่า แต่จากการศึกษาของวิไลและคณะ ( 2543) พบว่าสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อ 3ABC non-structure protein ได้จากสัตว์ทดลอง 3 ใน 5 ตัว หลังจากที่สัตว์ได้รับเชื้อ 1 สัปดาห์ และตรวจพบในสัตว์ทุกตัวตั้งแต่ 3 สัปดาห์ขึ้นไป ส่วนแอนติบอดี ต่อ VIA antigen ตรวจพบ 1 ใน 5 ตัว หลังจากที่สัตว์ได้รับเชื้อ 1 สัปดาห์ และตรวจพบในสัตว์ทุกตัวตั้งแต่ 11 สัปดาห์ขึ้นไป ส่วน Sorensen et al.(1998) รายงานว่าสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อ 3ABC non-structure protein ได้หลังจากที่สัตว์ได้รับการติดเชื้อแล้ว 8 วัน จนถึง 395 วัน ดังนั้น จากผลการตรวจทั้งวิธี NS Test และ VIA Test จากซีรั่มโคกลุ่มป่วยในครั้งนี้อาจให้ผลลบได้ในสัตว์ที่มีการติดเชื้อในระยะแรกๆซึ่งยังไม่สามารถสร้างแอนติบอดีต่อ 3B non-structure protein และ VIA antigen ของเชื้อ FMDVได้เพียงพอที่จะตรวจพบได้ เนื่องจากมีการเจาะเลือดและเก็บซีรั่มในระยะเวลาที่เร็วไป คือ 7-10 วันหลังจากที่สัตว์ในกลุ่มเริ่มแสดงอาการป่วยและตรวจพบวิการของโรคชัดเจน และเป็นการเก็บตัวอย่างจากสัตว์ที่เลี้ยงรวมกันเป็นฝูง ซึ่งสัตว์อาจจะไม่ได้ติดเชื้อในเวลาเดียวกันทั้งหมด รวมถึงระยะฟักตัวของเชื้อในสัตว์แต่ละตัวก่อนแสดงอาการป่วย และมีการสร้างแอนติบอดีต่อ 3B non-structure protein และ VIA antigen ของเชื้อ FMDV ก็อาจจะแตกต่างกัน (Clavijo et al., 2004)

เนื่องจากการตรวจหาแอนติบอดีต่อ non-structure protein และ VIA antigen ของเชื้อ FMDV ในซีรั่มของสัตว์มีปัจจัยเกี่ยวกับประวัติการได้รับวัคซีนและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย ดังนั้น การที่จะนำผลการตรวจไปศึกษาภาวะการสัมผัสเชื้อทางระบาดวิทยา และงานเฝ้าระวังโรคนั้น ผลการตรวจจากฝูงสัตว์จะให้ความเชื่อมั่นมากกว่าจากสัตว์ตัวใดตัวหนึ่ง (วิไลและคณะ , 2543; Clavijo et al., 2004; Mackay et al., 1998)

## สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ FMDV ในส่วน 3B non-structure protein โดยวิธี ELISA โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป NS reagent kit และ VIA antigen โดยวิธี AGID test จากซีรั่มโคกลุ่มทดลอง 2 กลุ่มในครั้งนี้พบว่า ซีรั่มกลุ่มสัตว์ป่วยจะให้ผลบวกมากกว่ากลุ่มสัตว์ปกติอย่างเด่นชัด และผลการตรวจทั้ง 2 วิธีให้ผลสอดคล้องกัน โดยพิจารณาจากค่าประสิทธิภาพของการตรวจ คือ กลุ่มที่ 1 เท่ากับ 91.25% (438/480 ตัวอย่าง) กลุ่มที่ 2 เท่ากับ 89.39% (59/66 ตัวอย่าง)

เนื่องจากการตรวจวิธี NS Test มีความจำเพาะและให้ความเชื่อมั่นในการการตรวจมากกว่า VIA Test เพราะสัตว์ที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนหลายๆครั้งจะสามารถตรวจพบผลบวกต่อ VIA Test ได้โดยที่ไม่มีการติดเชื้อมาก่อน จึงตรวจพบผลบวกจากการตรวจวิธี NS test น้อยกว่า VIA test และเห็นได้ชัดในสัตว์ทดลองในกลุ่มที่ 1 ที่ให้ผลบวก 5% และ 13.75% ตามลำดับ และถึงแม้ว่าปัจจุบันการตรวจโดย VIA test จะไม่ได้รับความนิยมแล้ว แต่การตรวจ VIA test มีวิธีการตรวจไม่ยุ่งยาก มีค่าใช้จ่ายน้อยกว่า NS test มาก ( ประมาณ 5 เท่า ) จึงอาจนำมาใช้ในการคัดกรองแยกตัวอย่างที่ให้ผลลบออกก่อน แล้วจึงนำตัวอย่างที่ให้ผลบวกมาตรวจด้วยวิธี NS test อีกครั้งหนึ่ง หรือนำมาใช้ในกรณีที่สัตว์ไม่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน ซึ่งจะช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายได้มาก

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานระบาดวิทยาและกลุ่มงานไวรัสวิทยา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือ (ตอนบน) ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างและตรวจตัวอย่างซีรั่ม นายสัตวแพทย์ อิทธิพล ชัยชนะพูนผล (ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยแบะพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนบน) นายสัตวแพทย์ พรชัย ชำนาญพูด (ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยแบะพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง) สัตวแพทย์หญิง จันทร์เพ็ญ ชำนาญพูด
ที่ให้คำแนะนำในการเขียนและตรวจสอบเนื้อหาต้นฉบับ และสนับสนุนการศึกษาวิจัยจนสำเร็จด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

กิจจา อุไรรงค์. 2535. แนวทางการวินิจฉัย รักษา และควบคุมโรคสุกร. พิมพ์ครั้งที่ 2. สหมิตรออฟเซต, กรุงเทพฯ. 348 หน้า.

เติมศรี ชำนิจารกิจ. 2544. สถิติประยุกต์ทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 6. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์-มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 313 หน้า.

ทัศนีย์ ชมภูจันทร์ ปิยนุช ประสิทธิรัตน์ และมนยา เอกทัตร์. 2539. คู่มือการดูแลสุขภาพโคนม สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ฟันนี่ พับบลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 188 หน้า.

วิไล ลินจงสุบงกช สินสมุทร นิลฉวี และวัชรี สินสุวงศ์วัฒน์. 2536. การวินิจฉัยโรคปากและเท้าเปื่อยจากซีรั่มสัตว์ป่วย. วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 4 (2) หน้า 1-11.

วิไล ลินจงสุบงกช อนุโรจน์ ภู่ศิริมงคล นพพร พัฒนประสิทธิ์ ดิลก อ้วนพรมมา และปณิธาน ทองทา. 2543. พัฒนาเทคนิคอีไลซ่าในการตรวจหาแอนติบอดีต่อ 3เอบีซี นอนสตรัคเจอร์โปรตีนของไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย สำหรับแยกสัตว์ที่ได้รับการฉีดวัคซีนจากสัตว์ที่ได้รับการติดเชื้อ. การประชุมสัมมนาวิชาการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. หน้า 27-41.

Bronsvoort, B.M., Sorensen, K.J., Anderson, J., Corteyn, A., Tanya, V.N., Kitching, R.P. and Morgan, K.L. 2004. Comparison of two 3ABC enzyme linked immunosorbent assays for diagnosis of multiple serotype foot and mouth disease in cattle population in an area of endemicity. J. Clin. Microbiol. 42(5) : 2108-2114.

Chung, W.B., Sorensen, K.J., Liao, P.C., Yong, P.C. and Jong, M.H. 2002. Differentiation of foot and mouth disease virus infected from vaccinated pigs by enzyme linked immunosorbent assay using non structural protein 3AB as the antigen and application to an eradication program. J. Clin. Microbiol. 40(8) : 2843-2848.

Clavijo, A., Wright, P., and Kitching, P. 2004. Developments in diagnostic techniques for differentiating infection from vaccination in foot and mouth disease. Vet. J. 167(1) : 9-22.

De Diego, M., Brocchi, E., Mackay,D.K.J. and De Simone. 1997. The non structural polyprotein 3ABC of foot and mouth disease virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. Arch. Virol. 142(10): 2021-2033.

Donaldson,A.I. and Kihm,U. 1996. Research and technological developments required for more rapid control and eradication of foot and mouth disease. Rev. sci. tech. Off Tnt. Epiz. 15(3) : 863-873.

Gleeson, L.J., Doughty, W.J., Lunt, R.A., Linchongsubongkoch,W. and Blacksell, S.D. 1993. A review of strain differentiation studies in Thailand : Implications for vaccination programs In : Diagnosis and epidemiology of foot and mouth disease in southeast asia. Proceedings an international workshop held at Lampang, Thailand, September 6-9,1993. pp. 91-99.

Mackay, D.K.J., Forsyth, M.A., Davies, P.R. and Salt, J.S. 1998. Antibody of the non structural proteins of foot and mouth disease virus in vaccinated and animals exposed to infection. The Veterinary Quatery. 20(2) : 9-11.

Mackay, D.K.J., Forsyth, M.A., Davies, P.R., Berlinzani, A., Belsham, G.J., Flintt, M. and Ryan, M.D. 1998. Differentiating infection from vaccination in foot and mouth disease using a panel of recombinant non structural proteins in ELISA. Vaccine. 16(5) : 446-459.

Mezencio, J.M., Babcock, G.D., Meyer, R.F., Lubroth, J., Salt, J.S., Newman, J.F and Brown, F. 1998. Differentiating of foot and mouth disease virus infected from vaccinated animals with Baculovirus expressed specific proteins. The Veterinary Quatery. 20(2) : 11-13.

Moomen, P., Van der Linde, E., Chenard, G. and Dekker, A. 2004. Comparable sensitivity and specificity in three commercially available ELISAs to differentiate between cattle infected with vaccinated against foot and mouth disease virus. Vet. Microbiol. 99(2) : 93-101.

Pinto, A.A. and Garland, A.J.M. 1979. Immune response to virus infection associated (VIA) antigen in cattle repeatly vaccinated with foot and mouth disease virus activated by formalin or acethyethyleneimine. J. Hyg. 82 : 41-50.

Radostits, O.M., Blood,D.C. and Gay, C.C. 1994. Diseases caused by viruses and chlamydia-1. In : Veterinary medicine. Eighth edition. Bailliere Tindall, London. pp. 926-1033.

Silberstein, E., Kaplan, G., Tobogo, O., Duffy, S. and Palma, E. 1997. Foot and mouth disease virus infected but not vaccinated cattle develop antibodies against recombinant 3AB1 non structural protein. Arch. Virol. 142(4) : 795-805.

Sorensen, K.J., Madsen, K.G., Madsen, E.S., Salt, J.S., Nqindi, J. and Mackay, D.K.J. 1998. Differentiation of infection from vaccination in foot and mouth disease by the detection of antibodies to the non structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus. Arch.Virol. 143(8) : 1461-1476.

**********

# Detection of Antibody to 3B Non Structural Protein and VIA Antigen of Foot and Mouth Disease Virus in Cattle

Suwanne Tanrattanawong [1] Wattanasak Chamlakhorn[2]

## Abstract

Four hundred and eighty sera from FMDV vaccinated cattle and sixty six sera from FMDV infected cattle were determined antibody to 3B non-structural protein (NS test) by indirect ELISA test and virus infection associated antigen (VIA test) by AGID test. 24 and 66 sera from vaccinated cattle were reactive by NS test and VIA test, respectively. 51 and 56 sera from infected cattle were reactive by NS test and VIA test, respectively. The efficacy of test were 91.25% and 89.39% , respectively.

Keywords : foot and mouth disease, antibody, non structural protein, ELISA, VIA test, cattle

---

1. Lower Northern Veterinary Research and Development Center. wongtong , Phitsanulok. 65130

2. Upper Northern Veterinary Research and Development Center. Hangchat , Lampang. 52190

**ผลการปฏิบัติงานตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ เดือน เมษายน – มิถุนายน 2548**

จากผลการปฏิบัติงานตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์และสิ่งแวดล้อมด้านการปศุสัตว์ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือ(ตอนล่าง) ในพื้นที่รับผิดชอบ 9 จังหวัดภาคเหนือ(ตอนล่าง) ในรอบ 3 เดือนที่ผ่านมา มีข้อมูลต่างๆที่น่าสนใจและคิดว่าน่าจะเป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานของสำนักงานปศุสัตว์จังหวัดในพื้นที่สำหรับใช้ในการประเมินสถานการณ์และแก้ไขปัญหาเพื่อให้การดำเนินงานโครงการต่างๆบรรลุตามวัตถุประสงค์ที่วางไว้ จึงขอสรุปโครงการต่างๆในรอบ 3 เดือน (เม.ย. – มิ.ย. 48) ดังนี้

**โครงการตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์ภายในประเทศ**

โครงการนี้เป็นการตรวจเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าภายในประเทศ โดยทำการตรวจ 3 รายการ ได้แก่ Total bacteria count, Coliform bacteria และ CM-test ในรอบ 3 เดือนที่ผ่านมามีตัวอย่างส่งตรวจทั้งสิ้น 375 ตัวอย่าง พบผิดมาตรฐาน 81 ตัวอย่าง (21.60%) โดยแยกตามรายการวิเคราะห์ได้ดังนี้

ตาราง 1 จำนวนตัวอย่างตรวจและผิดมาตรฐานของเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าภายในประเทศ

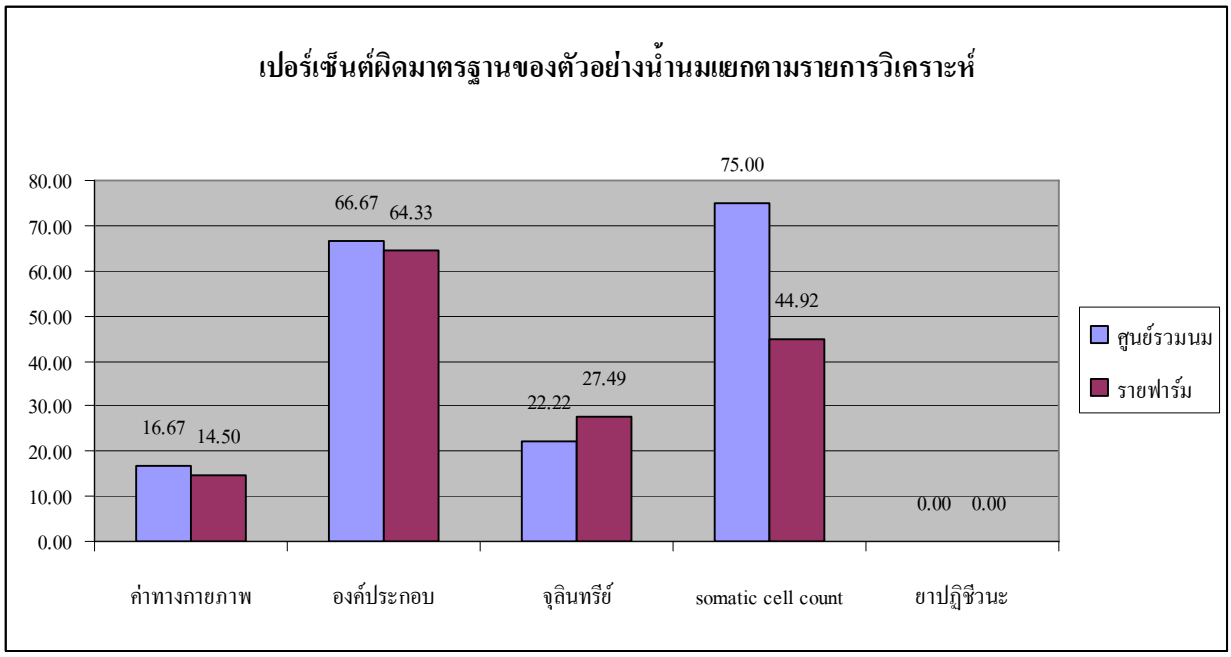
| รายการวิเคราะห์ | จำนวนตัวอย่าง | จำนวนผิดมาตรฐาน | % |
|---|---|---|---|
| 1. Total bacteria count | 100 | 13 | 13.00 |
| 2. Coliform bacteria | 100 | 78 | 78.00 |
| 3. CM-test | 375 | 0 | 0.00 |
| รวมจำนวนวิเคราะห์ | 575 | 91 | 15.83 |

**โครงการตรวจสอบเฝ้าระวังสารตกค้าง**

ทำการตรวจสอบเฝ้าระวังการใช้สารเร่งเนื้อแดงในสุกร โดยทำการตรวจสารเร่งเนื้อแดงในปัสสาวะสุกรด้วยวิธี ELISA หากพบให้ผลบวกจะทำการตรวจสอบในอาหารและน้ำและถ้าพบผลบวกจะส่งอาหารและน้ำนั้นตรวจยืนยัน ณ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ต่อไป การตัดสินผลบวกตัดสินที่ 1 ppb ขึ้นไป ในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา มีตัวอย่างปัสสาวะส่งตรวจทั้งสิ้น 417 ตัวอย่าง ไม่พบตัวอย่างที่ให้ผลบวก จำนวนตัวอย่างในรอบ 3 เดือนดังกล่าวมีน้อย เนื่องจากชุดทดสอบสำเร็จรูปหมด ซึ่งชุดทดสอบใหม่กำลังดำเนินการจัดซื้อโดยคาดว่าน่าจะได้รับในเดือนกันยายน 48

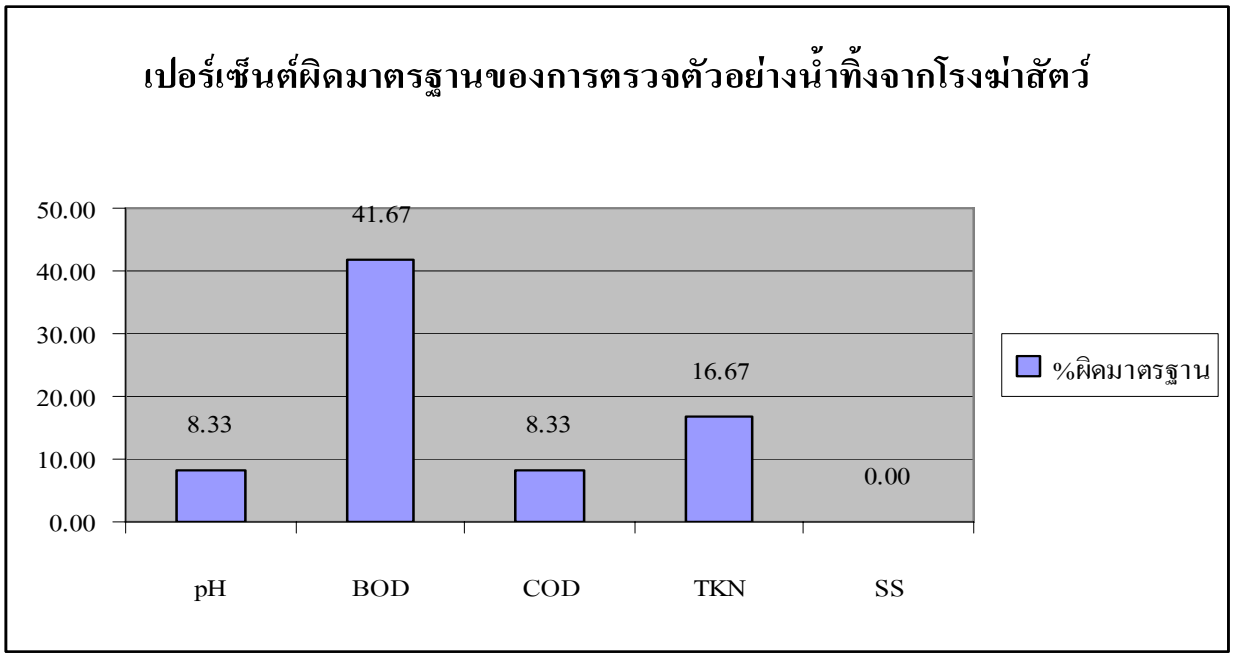
**การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำนมและผลิตภัณฑ์**

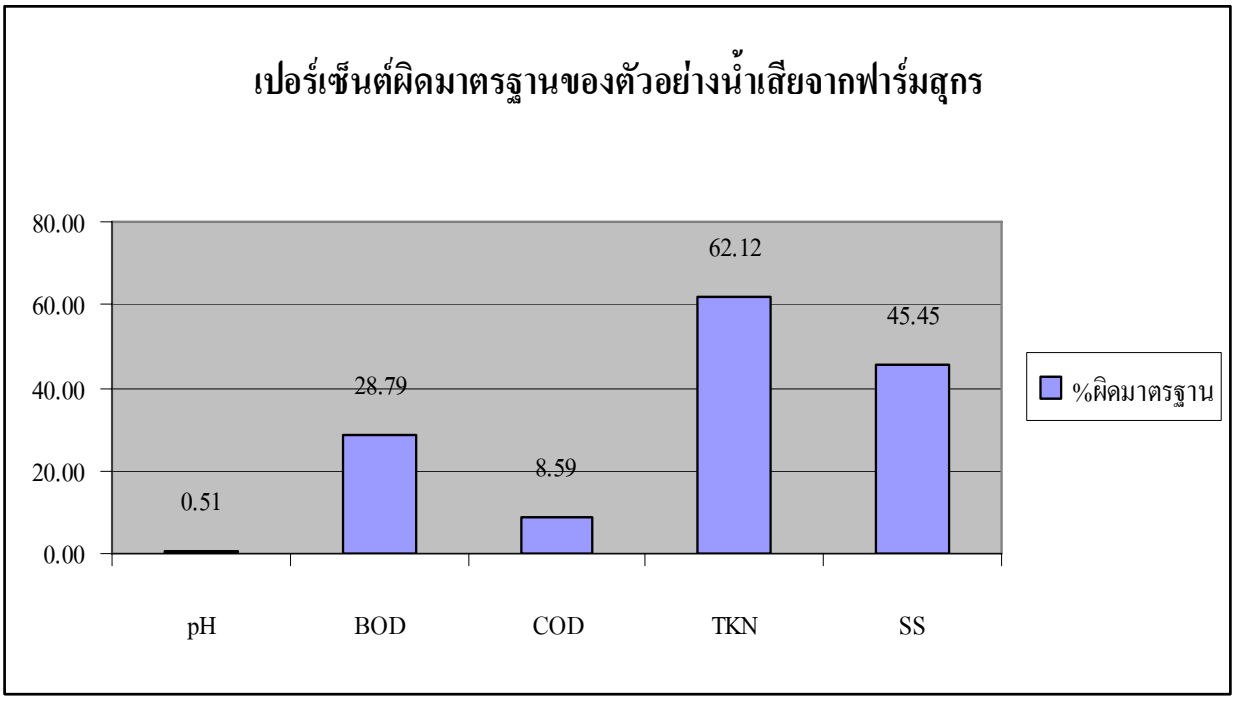
จำนวนตัวอย่างน้ำนมมีทั้งสิ้น 553 ตัวอย่าง แยกเป็นจากสหกรณ์ 12 ตัวอย่าง และรายฟาร์ม 541 ตัวอย่าง พบผิดมาตรฐาน จำนวน 12 ตัวอย่าง(100%) และ 454 ตัวอย่าง(82.10%) ตามลำดับ โดยแยกจำนวนผิดมาตรฐานตามผลการวิเคราะห์ได้ดังนี้




**โครงการควบคุมมลภาวะจากสถานประกอบการปศุสัตว์**

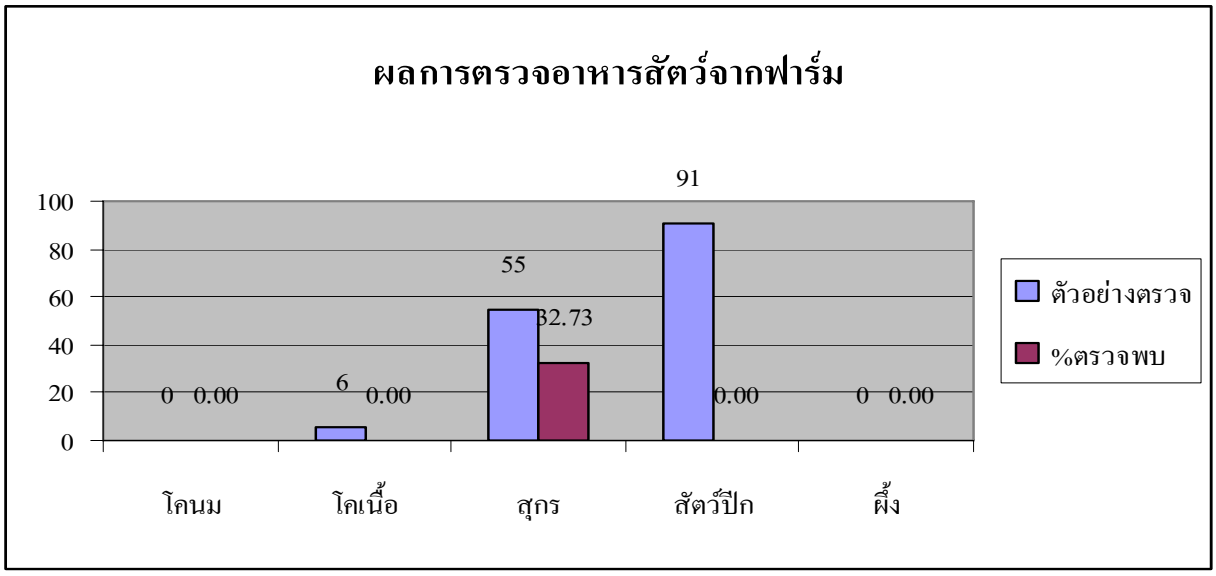
ทำการตรวจคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงฆ่าสัตว์และน้ำเสียจากฟาร์มสุกร โดยในรอบ 3 เดือนที่ผ่านมา(เม.ย.-มิ.ย. 48) ทำการตรวจน้ำทิ้งจากโรงฆ่าสัตว์จำนวน 12 ตัวอย่าง พบผิดมาตรฐาน 7 ตัวอย่าง (58.33%) ตรวจน้ำเสียจากฟาร์มสุกร 198 ตัวอย่าง พบผิดมาตรฐาน 155 ตัวอย่าง (78.28%) โดยแยกเปอร์เซ็นต์ผิดมาตรฐานตามรายการวิเคราะห์ได้ดังนี้






**โครงการมาตรฐานฟาร์ม**

ทำการตรวจอาหารสัตว์จากฟาร์มเพื่อรับรองฟาร์มหรือรักษาสถานภาพฟาร์มมาตรฐาน โครงการดังกล่าวนี้ เริ่มดำเนินการตรวจตามแผนในเดือนพฤษภาคม 2548 ดังนั้น ในช่วงนี้จึงยังมีตัวอย่างตรวจน้อย โดยจะทำการตรวจหายาปฏิชีวนะและสารตกค้างในอาหารขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่ส่งตรวจ ผลการตรวจในรอบ 3 เดือนที่ผ่านมา(เม.ย-มิ.ย. 48) มีดังนี้




หมายเหตุ ตัวอย่างอาหารสุกรตรวจพบ CTC และ OTC

**รายงานการชันสูตรโรคสัตว์ (เมษายน – มิถุนายน 2548)**

| ชนิดสัตว์ | โรคที่ตรวจพบ | จำนวน Caseที่พบโรค | จำนวนสัตว์ในฝูง | ป่วย | ตาย | จำนวนตัวอย่างส่งตรวจ | จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| กระบือ | Salmonellosis | 1 | 5 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| โคนม | Anaplasmosis | 3 | - | - | - | 23 | 3 |
| | Mastitis | 2 | - | - | - | 4 | 3 |
| | Microfilaria | 1 | - | - | - | 2 | 1 |
| โคเนื้อ | Brucellosis | 7 | - | - | - | 215 | 20 |
| | *E.coli + Streptococcus spp.* | 1 | - | - | - | 1 | 1 |
| | Anaplasmosis | 1 | - | - | - | 2 | 1 |
| แพะเนื้อ | Brucellosis | 1 | - | - | - | 33 | 1 |
| | Melioidosis | 1 | - | - | - | 1 | 1 |
| สุกร | Swine fever | 2 | - | - | - | 3 | 3 |
| | Streptococcus spp | 1 | - | - | - | 1 | 1 |
| | Streptococcus spp + E.coli | 1 | - | - | - | 1 | 1 |
| สุนัข | Rabies | 4 | - | - | - | 4 | 4 |
| | Pseudomonas spp +Bacillus spp. | 1 | - | - | - | 1 | 1 |

**********

**ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง**

**อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130 โทร 0-5531-2069**

**E-mail : vrd_sn@dld.go.th**

ชำระค่าฝากส่งเป็นรายเดือน
ใบอนุญาตเลขที่ 60/2542
ไปรษณีย์วังทอง

***เหตุขัดข้องที่นำจ่ายผู้รับไม่ได้***

0 จ่าหน้าไม่ชัดเจน
0 ไม่มีเลขที่บ้านตามจ่าหน้า
0 ไม่ยอมรับ
0 ไม่มีผู้รับตามจ่าหน้า
0 ไม่มารับภายในกำหนด
0 ตาย
0 เลิกกิจการ
0 ลาออก
0 ย้าย ไม่ทราบที่อยู่ใหม่
0 เลขทับมีไม่ถึง
0 บ้านรื้อถอน
0 เลขขาดหายไป
0 อื่นๆ .....
ลงชื่อ.....

**ที่ปรึกษา : ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง**

**เจ้าของ : ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง**

**บรรณาธิการ : คณะกรรมการวิชาการ**

**กำหนดออก : ทุก 3 เดือน (ม.ค., เม.ย., ก.ค., ต.ค.)**