รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความชุกของโรค Theileriosis ของแพะในพื้นที่เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร

Detection of Theileria spp. in Goats from Minburi District, Bangkok using PCR

ผศ.ดร.กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์
สมภพ เนื่องจากนาค

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป (เงินรายได้)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2560
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความชุกของโรค Theileriosis ของแพะในพื้นที่เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร

Detection of Theileria spp. in Goats from Minburi District, Bangkok using PCR

ผศ.ดร.กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์
สมภพ เนื่องจากนาค

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป (เงินรายได้)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2560

คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH
ก125ค
2560
เลขหมู่
เลขทะเบียน 149089
วัน.เดือน.ปี - 4 มี.ค. 2561
b. 1288120X
i.
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ ความชุกของโรค Theileriosis ของแพะในพื้นที่เขตมีนบุรีกรุงเทพมหานคร

แหล่งเงิน งบประมาณเงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 จำนวนเงินที่ได้รับสนับสนุน 70,0000 บาท

ระยะเวลาในการทำวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2559 ถึง 30 กันยายน 2560

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด

หัวหน้าโครงการวิจัย ผศ.ดร. กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ผู้ร่วมวิจัย นายสมภพ เนื่องจากนาค

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

โรคไทเลอริโอซิส (Theileriosis) เกิดจากเชื้อโปรโตซัวไทเลอเรีย (Theileria spp.) การติดต่อจะส่งเชื้อผ่านทางต่อมน้ำลายของเห็บ ก่อปัญหาต่อสุขภาพสัตว์และนำไปสู่ความสูญเสียทางเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมการผลิตปศุสัตว์ เนื่องจากการติดเชื้อในสัตว์ที่อยู่ในภาวะเครียดทำให้เกิดอาการป่วยรุนแรง เกิดโรคโลหิตจาง มีไข้สูง ดีซ่าน ต่อมน้ำเหลืองบวมขยายใหญ่ อ่อนเพลีย ปริมาณเนื้อและน้ำนมลด การตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้องจะทำให้ช่วยป้องกันความเสียหายที่จะเกิดในฟาร์มได้ การศึกษาครั้งนี้เก็บตัวอย่างเลือดแพะจากฟาร์มของเกษตรกรรายย่อยในเขตพื้นที่มีนบุรีระหว่างเดือนสิงหาคม-ธันวาคม 2559 จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัวอย่าง มีตัวอย่างเลือดที่พบเชื้อ Theileria spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์ (Thin blood film) อยู่ 12.39 % (44/355) แต่เมื่อนำเลือดแพะไปสกัดสารพันธุกรรมแล้วใช้เทคนิค PCR เพิ่มจำนวนชิ้นยีนบริเวณ 18S rRNA พบว่าให้ผลบวกมากกว่าถึง 22.53% (80/355)โดยพบแถบสารพันธุกรรมขนาด 230 bp แสดงให้เห็นถึงความไวของเทคนิค PCR ซึ่งเป็นประโยชน์ในการตรวจวินิจฉัยโรคได้ดีเพื่อให้สัตวแพทย์ได้วางแผนจัดการและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคได้ทันท่วงที

คำสำคัญ: พยาธิในเลือด, ไทเลอริโอซิส, เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่, แพะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title Detection of *Theileria* spp. in Goats from Minburi District, Bangkok using PCR

Researcher Kanokrat Srikijkasemwat and Somphop Nueangjaknak1

Faculty AgriculturalTechnology Department of Animal Production Technology and Fishery, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

ABSTRACT

Theileriosis is caused by theileria spp. and transmitted by the saliva of infected ticks. Theileriosis causes animal health problems, leading to an economic loss in the livestock industry. An infection in stressed animals causes severe illness, anemia, high fever, jaundice, lymph node swelling, fatigue, decreases the amount of meat and milk reduces. Proper diagnostics will help prevent damages to farms. In this study, blood samples were collected from 355 goats from 28 farms during August-December 2016 in Minburi District, Bangkok. Theileria spp. were found in 12.39 % (44/355) of blood smears. The DNA was extracted from each sample and the molecular assay was employed for one set of primers for specific amplification of the 18S rRNA gene. The overall infection was 22.53 % (80/355) with the PCR product at 230 bp. This demonstrates the sensitivity of this technique, which is useful for the diagnosis of the disease so that veterinarians can plan, manage and control the spread of the disease.

Keywords: blood parasites, Theileriosis, PCR technique, blood smear, goats

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำงานวิจัยเรื่อง ความชุกของโรค Theileriosis ของแพะในพื้นที่เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานครนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ปศุสัตว์พื้นที่ 2 และ ชมรมผู้เลี้ยงแพะแกะเขตมีนบุรี คลองสามวา กรุงเทพมหานคร ที่ได้กรุณาให้ความรู้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป (เงินรายได้) คณะเทคโนโลยีการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์
สมภพ เนื่องจากนาค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ....................I

กิตติกรรมประกาศ....................II

สารบัญ....................III

สารบัญตาราง....................V

สารบัญภาพ....................VI

สารบัญตารางผนวก....................VII

สารบัญภาพผนวก....................VIII

บทที่ 1 บทนำ....................1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา....................1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย....................2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย....................2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ....................2

1.5 สถานที่ดำเนินงาน....................2

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....................3

2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับแพะ....................3

2.2 อนุกรมวิธานของแพะและแกะ....................4

2.3 กายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาของแพะ....................4

2.4 การเลี้ยงแพะ....................5

2.5 โรคพยาธิที่สำคัญในแพะ....................6

2.6 การจำแนกอนุกรมวิธานของเชื้อ *Theileria* spp....................7

2.7 การกระจายตัวของโรค Theilerosis ในทางภูมิศาสตร์....................7

2.8 ลักษณะทางชีวภาพโดยทั่วไปของเชื้อ *Theileria* spp....................8

2.9 ลักษณะอาการทางคลินิก....................8

2.10 ระยะฟักตัวของโรค....................9

2.11 อาการของการเกิดโรค....................9

2.12 วิการของการเกิดโรค....................9

2.13 การรักษา....................10

2.14 การควบคุมและป้องกัน....................10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.15 การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Theileria* spp........10
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง........13
3.1 อุปกรณ์........13
3.2 เครื่องมือ........13
3.3 สารเคมี........14
3.4 วิธีการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ........14
3.5 วิธีการสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์........14
3.6 วิธีการทดลองด้วยเทคนิค PCR........16
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล........18
4.1 การเก็บตัวอย่าง........18
4.2 ผลการตรวจด้วยเทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบาง........19
4.3 ผลการตรวจด้วยเทคนิค PCR........22
บทที่ 5 สรุปผล........25
เอกสารอ้างอิง........26
ภาคผนวก........30
ประวัติผู้วิจัย........57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ข้อมูลทางสรีรวิทยาของแพะและแกะ....................5

2 การตรวจหาเชื้อ *Theileria* spp. ในเม็ดเลือดจากแพะเขตมีนบุรี 355 ตัวอย่าง...............20

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 การทำฟิล์มแผ่นฟิล์มเลือดบาง....15

2 ตำแหน่งฟาร์มที่เก็บตัวอย่างเลือดแพะในเขตมีนบุรี จำนวน 28 ฟาร์ม....18

3 ตำแหน่งการเจาะเลือดบริเวณเส้นเลือดดำใหญ่....19

4 วิธีเก็บเลือดแพะ....19

5 a. ตัวอย่างเลือดแพะที่ตรวจพบพยาธิในเม็ดเลือดชนิด *Theileria* spp. โดยเทคนิค....20
การทำแผ่นฟิล์มเลือดบางภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า
b. ตัวอย่างเลือดแพะที่ไม่พบพยาธิในเม็ดเลือด

6 ลักษณะฟาร์ม....22

7 ลักษณะการเลี้ยงแพะ ในเขตมีนบุรี....22

8 ผลการตรวจด้วยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟริซิส จากผลการทำ PCR....23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่ หน้า

1 การเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม............31
ทั้งหมด 355 ตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวกที่ หน้า

1 การตรวจหาเชื้อ *Theileria* spp. ในเลือดแพะจำนวน 355 ตัวอย่าง........................48
ด้วยเทคนิค PCR

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคไทเลอริโอซิส (Theileriosis) เกิดจากโปรโตซัวไทเลอเรีย *Theileria* spp. ซึ่งเชื้อดังกล่าวเป็นโปรโตซัว ที่เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวมีรูปร่าง (shape) แตกต่างกันไป โดยบางชนิดมีรูปร่างกลม รูปไข่ และรูปแท่ง (ปัจฉิมา, 2555) ซึ่งจะอาศัยอยู่ภายในเม็ดเลือดขาว และพบในเม็ดเลือดแดงของสัตว์เป็นส่วนใหญ่ (Zhang *et al.*, 2015) โดยเฉพาะสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น โค กระบือ รวมทั้งสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก ได้แก่ แพะ และแกะ (Durrani *et al.*, 2012) นอกจากนี้เชื้อ *Theileria* spp. ส่งผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์โดยตรง และนำไปสู่ความสูญเสียทางเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมการผลิต ปศุสัตว์ เนื่องจากการติดเชื้อในสัตว์ที่อยู่ในภาวะเครียดทำให้เกิดอาการป่วยรุนแรง เกิดโรคโลหิตจาง มีไข้สูง ต่อมน้ำเหลืองบวมขยายใหญ่ อ่อนเพลีย จำนวนสัตว์ลดลง ปริมาณเนื้อและน้ำนมลด (Iqbal *et al.*, 2013) โดยการแพร่กระจายของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค Theileriosis สามารถติดต่อโดยพาหะนำโรคที่สำคัญ ได้แก่ เห็บและเหลือบ อย่างไรก็ตามการระบาดส่วนมากจะพบทางภาคใต้ โรคพยาธิในเลือดนั้นมีชนิดและความรุนแรงแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์และความไวของโรคในสัตว์แต่ละตัวนอกจากนี้ยังขึ้นกับความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในแต่ละพื้นที่ด้วย โดยการระบาดของโรคพบมากในช่วงฤดูฝนจนถึงปลายฤดูหนาว การตรวจวินิจฉัยโรคนี้ทำได้โดยการตรวจหาเชื้อ *Theileria* spp. คือ การตรวจโดยวิธีทำ Thick และ Thin film blood smear และย้อมด้วยสี Giemsa ซึ่งเป็นการหยดเลือดลงบนสไลด์แล้วทำการไถสไลด์เพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดต่าง ๆ กระจายตัวไปบนแผ่นสไลด์ จากนั้นจึงนำแผ่นสไลด์ไปทำการย้อมสี และนำไปวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (สุภินันท์, 2534) แต่เนื่องจากรูปร่างของปรสิตในเม็ดเลือดแดงมีลักษณะคล้ายคลึงกัน จนอาจจำแนกชนิดได้ยาก จึงต้องอาศัยลักษณะของโรคและระบาดวิทยาร่วมด้วยในการจำแนกชนิด (มานพ, 2545) นอกจากนี้มีการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค PCR ซึ่งสามารถช่วยให้การตรวจวินิจฉัยได้แม่นยำและรวดเร็วขึ้น โดยยีนที่นิยมใช้ คือ ยีน 18S rRNA ได้ถูกนำมาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพสำหรับในการตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อ *Theileria* spp. ทั้งการระบุและการจำแนกเชื้อ (Ahmed *et al.*, 2006) เพื่อตรวจสอบการระบาดได้อย่างแม่นยำ ซึ่งการสำรวจความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ในแพะเขตพื้นที่มีนบุรี มีความจำเป็นในการศึกษา เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดการวิธีการป้องกัน การรักษา และควบคุม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะเป็นอย่างมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อสำรวจความชุกของโรค Theileriosis ของแพะในพื้นที่เขตมีนบุรี, กรุงเทพมหานคร

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ประเมินความชุกของโรค Theileriosis ของแพะในพื้นที่เขตมีนบุรี, กรุงเทพมหานคร จำนวน 355 ตัว โดยสุ่มตัวอย่างเลือดแพะ ประมาณ 20% จากแต่ละแหล่ง โดยเน้นการกระจายตัวของตัวอย่าง นำมาตรวจเชื้อก่อโรคด้วยการสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์และเทคนิค PCR

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับแพะ

แพะเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็กในกลุ่มเดียวกับแกะ และภาพที่คุ้นเคยเรามักเห็นแพะถูกเลี้ยงร่วมกัน หรือปะปนกันจนเราเรียกกันติดปากว่าแพะแกะ ในอาหาร ยารักษาโรค แร่ธาตุหรือวิตามินเสริมก็มักเขียนว่าสำหรับแพะแกะ เช่น อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับแพะและแกะ วิตามินเอ ดี และ อี สำหรับแพะและแกะ แร่ธาตุพรีมิกซ์สำหรับแพะและแกะ ทำให้เรามักเข้าใจว่าแพะและแกะนั้นก็คงเหมือน ๆ กัน หลายคนบางครั้งก็ยังสับสนว่าอันไหนเรียกแพะ อันไหนเรียกแกะกันแน่ ก็อาจจะไม่ใช่เรื่องแปลกอะไรถ้าแพะและแกะจะมีลักษณะหลาย ๆ อย่างที่คล้ายกันอยู่ แต่ถ้าทำความรู้จักกับสัตว์สองชนิดนี้แล้วที่ว่าเหมือนกันก็เริ่มจะไม่เหมือนแล้ว ยกตัวอย่างทางกายวิภาค แพะจะมีหางสั้น และชี้ขึ้น นอกจากบางเวลาอาจเอาหางมาปิดก้นไว้บ้าง ในขณะที่แกะโดยธรรมชาติจะมีหางยาวห้อยลงมาเกือบถึง หรือถึงข้อ tarsal joint แต่แกะที่บางครั้งเห็นในภาพยนตร์สารคดีต่างประเทศก็มีหางสั้น และหางที่สั้นนี้ก็เกิดจากการที่ฟาร์ม ทำการตัดให้หางสั้นลง เพื่อง่ายต่อการจัดการทำให้บางทีก็ดูสับสนกับแพะ นอกจากหางแล้วมีจุดที่สังเกตง่ายอีกอย่างหนึ่งที่ทำให้แพะและแกะแตกต่างกันคือร่องบริเวณหัวตา ในแพะจะไม่มีร่องนี้แต่แกะจะมีร่องอย่างเด่นชัดเหมือนที่พบในกวาง ทางด้านพฤติกรรมสัตว์สองชนิดนี้ก็แตกต่างกันพอสมควร เช่น นิสัยการการกิน ถ้ามีอาหารหลายชนิดให้ เลือกแพะมักเลือกกินใบไม้ก่อนกินหญ้า ในขณะที่แกะจะชอบก้มลงแทะเล็มหญ้ามากกว่า พฤติกรรมการนอนหรือเลือกที่นอนก็ต่างกัน แพะชอบที่จะนอนในที่สูงถ้าในคอกมีแคร่ยกพื้นแพะจะขึ้นนอนบนแคร่ ส่วนแกะชอบนอนกับพื้นมากกว่า การป้องกันตัวของแพะใช้กิริยาอาการโขกหรือขวิดส่วนแกะจะใช้วิธีถอยหลังแล้ววิ่งมาชนเป็นต้น แพะเป็นสัตว์ที่นิยมเลี้ยงในหมู่คนไทยมุสลิมมานานแล้วด้วยแพะนั้นเป็นสัตว์อเนกประสงค์สามารถทำประโยชน์ในพิธีกรรมทางศาสนาได้หลากหลาย และการบริโภคนมแพะก็เป็นที่นิยมเช่นกัน ความแพร่หลายของผู้บริโภคแพะจะอยู่ในกลุ่มมุสลิมและกลุ่มคนเชื้อสายจีนที่มักคุ้นเคยกับเนื้อและนมแพะเป็นอย่างดี แต่กลุ่มอื่น ๆ ในประเทศไทยกลับ ไม่นิยมการบริโภคผลิตภัณฑ์จากแพะมากนัก เนื่องจากความไม่คุ้นเคยหรือการบอกเล่าความไม่ประทับใจในรสชาติที่บอกต่อกันมา (มงคล, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 อนุกรมวิธานของแพะและแกะ (taxonomy of goat and sheep)

แพะและแกะจัดอยู่ใน subfamily Caprinae เหมือนกัน มาแยกจากกันในระดับ genus แพะเลี้ยงที่เราคุ้นเคยกันเป็นแพะในสปีชีส์ Caprine hircus (มงคล, 2555)

Phylum Chordata
Subplylum Vertebrata
Class Mammalia
Order Ungulata
Sub Order Artiodactyla
Family Bovidae
Sub Family Caprinae
Genus Capra แพะ Ovis –แกะ
Species Capra hircus Ovis aries

2.3 กายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาของแพะ

แพะเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จัดอยู่ในกลุ่มสัตว์เคี้ยวเอื้องเช่นเดียวกับโค กระบือ แต่จะมีขนาดเล็ก โดยมีขนาดน้ำหนักตัวประมาณ 35-65 กิโลกรัม และมีความสูงเฉลี่ย 55-100 เซนติเมตร ซึ่งขนาดตัวจะแปรผันไปตามแต่เพศ พันธุ์ สิ่งแวดล้อม ปัจจัยด้านสุขภาพสัตว์ และคุณภาพของอาหารที่แพะได้รับ โดยปกติแพะตัวเมียนั้นจะมีขนาดตัวเล็กกว่าตัวผู้ หรือพันธุ์แท้ส่วนใหญ่จะมีขนาดใหญ่กว่าพันธุ์ลูกผสมหรือพันธุ์พื้นเมือง ซึ่งแพะพันธุ์แท้ในแถบประเทศเขตหนาวและเขตอบอุ่นส่วนใหญ่จะมีขนาดใหญ่มาก โดยแพะตัวผู้ที่โตเต็มที่บางตัวอาจหนักได้ถึง 80-120 กิโลกรัม และด้านความสูงอาจมีมากถึง 100-130 เซนติเมตร ซึ่งถือเป็นลักษณะดีเด่น ของแพะพันธุ์ที่ใช้ในการให้ผลผลิตเป็นเนื้อ หรือในพ่อพันธุ์แพะนม พันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตหนาวและเขตอบอุ่นก็อาจมีขนาดใหญ่มากได้เช่นกัน แพะเป็นสัตว์ที่มีลักษณะและความแตกต่างหลากหลายตามลักษณะของพันธุ์ เพศ อายุ และลักษณะการให้ผลผลิต ดังนั้นในรายละเอียดต่าง ๆ ของ ลักษณะประจำพันธุ์ขนาด รูปร่าง และประโยชน์ของแพะแต่ละพันธุ์ (ตารางที่1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ข้อมูลทางสรีรวิทยาของแพะและแกะ

ข้อมูลทางสรีรวิทยาของแพะและแกะ	แพะ	แกะ
อุณหภูมิร่างกาย	102.5-104 °F	102-103 °F
อัตราการเต้นหัวใจ	60-80 ครั้ง/นาที	60-90 ครั้ง/นาที
อัตราการหายใจ	15-30 ครั้ง/นาที	12-20 ครั้ง/นาที
เพศผู้	Buck	Ram
ความสมบูรณ์พันธุ์เมื่ออายุ	4-6 เดือน	4-6 เดือน
คิดเป็นน้ำหนักตัวของโตเต็มที่	40-60 %	40-60 %
อัตราส่วนการคุมฝูง ผู้ : เมีย	1 : 50	1 : 30
เพศเมีย	Doe (nanny)	Ewe
ความสมบูรณ์พันธุ์เมื่ออายุ (puberty age)	5-7 เดือน	6-9 เดือน
วงรอบการเป็นสัด (Estrous cycle)	21 (18-22) วัน	24-36 วัน
ระยะการเป็นสัด (Estrous period)	24-48 ชั่วโมง	24-27 ชั่วโมง
ระยะการตกไข่หลังจากเริ่มเป็นสัด (Ovulation period)	24-36 ชั่วโมง	17 (14-19) ชั่วโมง
ลูก	Kid	Lamb
น้ำหนักแรกคลอด	2-3 กิโลกรัม	2-3 กิโลกรัม
อายุหย่านมเฉลี่ย	3 เดือน	3 เดือน

ที่มา : มงคล (2555)

2.4 การเลี้ยงแพะ (วินัย, 2542)

2.4.1 สถานที่การเลี้ยงแพะ

การเลือกทำเลสถานที่ตั้งโรงเรือนเลี้ยงแพะ ควรเป็นที่เนินหรือเป็นบริเวณที่น้ำไม่ท่วมขังมีแหล่งน้ำสะอาด สำหรับใช้เลี้ยงแพะได้ตลอดทั้งปี มีการคมนาคมสะดวกพอสมควรโดยเฉพาะหากเลี้ยงแพะเพื่อการผลิตน้ำนม มีแหล่งพืชอาหารสัตว์ เช่น ทุ่งหญ้าสาธารณะ แปลงพืชอาหาร ฯลฯ สำหรับให้แพะได้แทะเล็ม สำหรับขนาดของโรงเรือนหรือคอกสำหรับเลี้ยงแพะจะขึ้นอยู่กับฝูงแพะ

ลักษณะของโรงเรือนแพะโดยทั่วไปในการเลี้ยงแพะเพื่อผลิตเนื้อนั้น โรงเรือนเป็นเพียงสถานที่ที่อาศัยพักหลับนอนและกักขังแพะในช่วงตอนกลางคืน หรือเมื่อสภาพอากาศแวดล้อมภายนอกไม่เหมาะสมที่จะปล่อยแพะออกไปแทะเล็มหญ้า โรงเรือนและคอกจะมีความสำคัญและจำเป็นต่อลูกแพะและการเลี้ยงแพะเพื่อผลิตนม อย่างไรก็ดีหลักการสำคัญในการจัดสร้างโรงเรือนแพะ คือ ควรเป็นสถานที่ที่ทำให้แพะได้อาศัยอยู่อย่างสุขสบายสามารถอำนวยความสะดวกต่อการจัดการเลี้ยงดูแลและการให้การสุขาภิบาลที่ดีแก่แพะได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะโรงเรือนแพะเนื้อ มักเป็นโรงเรือนที่มีคอกแบบขังรวม คอกละไม่เกิน 10 ตัว ทั้งนี้ผู้เลี้ยงต้องคัดแพะที่มีขนาดใกล้เคียงกันอยู่ในคอกเดียวกันเพื่อป้องกันการทำอันตรายต่อกัน

สำหรับโรงเรือนแพะนมนั้น ภายในควรจัดแบ่งสัดส่วน พื้นที่ส่วนรีดนมและส่วนที่อยู่อาศัยของแพะในช่วงการผลิตต่าง ๆ ในลักษณะเช่นเดียวกับโคนม เช่น แบ่งออกเป็นคอกรีดนม คอกคลอด คอกผสมพันธุ์ คอกแพะพ่อพันธุ์ และคอกแพะขุน เป็นต้น

2.4.2 รูปแบบการเลี้ยงแพะ

2.4.2.1 การเลี้ยงแบบปล่อย เป็นการเลี้ยงโดยปล่อยให้แพะหากินเองตามธรรมชาติและผสมพันธุ์เอง เลี้ยงตามบริเวณที่มีหญ้า ในช่วงกลางวันจะต้อนให้อยู่ที่มีร่มเงา ไม่มีการสร้างคอกหรือโรงเรือน แต่จะปล่อยให้อาศัยตามร่มไม้ (วินัย, 2542)

2.4.2.2 การเลี้ยงแบบผูกล่าม เป็นการผูกล่ามแพะไว้กับที่ อาจเป็นหลักไม้ปัก ตอไม้หรือต้นไม้ มีหญ้าให้แพะกินเพียงพอ วันหนึ่งอาจมีการย้าย 2–3 จุด หรืออาจมากกว่านี้เพื่อให้ได้กินหญ้าได้มาก ส่วนตอนเย็นจะย้ายมาขังคอก (วินัย, 2542)

2.4.2.3 การเลี้ยงแบบกึ่งขังคอก มีการสร้างคอกหรือโรงเรือนสำหรับกักขังในตอนกลางคืน โรงเรือนมีแต่หลังคาเท่านั้น ตอนเช้าจะต้อนให้แพะออกหากินตามทุ่งหรือที่มีหญ้า (วินัย, 2542)

2.4.2.4 การเลี้ยงแบบขังคอก เป็นการเลี้ยงในคอกหรือโรงเรือนตลอดเวลา โดยมีการให้น้ำและอาหารในคอก อาจมีการปล่อยแพะออกไปหากินข้างนอกบ้าง พื้นคอกมักยกสูง ลาดเอียงหรืออาจเป็นพื้นดินธรรมดา มักรองพื้นด้วยแกลบ (วินัย, 2542)

2.5 โรคพยาธิที่สำคัญในแพะ

โรคพยาธิในเลือดเป็นโรคประจำถิ่นที่มีความสำคัญต่อปศุสัตว์ที่เลี้ยงในประเทศไทย เนื่องจากการเลี้ยงสัตว์ในปัจจุบันยังไม่มีการพัฒนาเท่าที่ควร เกษตรกรจึงขาดความรู้ความเข้าใจในเรื่องการจัดการ โดยเฉพาะเรื่องของการป้องกันและควบคุมโรค ซึ่งถือเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้การเลี้ยงไม่ประสบความสำเร็จ จึงสร้างความเสียหายทางด้านสุขภาพสัตว์และทางด้านเศรษฐกิจเป็นวงกว้าง โรคพยาธิในเลือดของสัตว์เคี้ยวเอื้องที่สำคัญมี 4 ชนิด ได้แก่

2.5.1 โรคบาบีซิโอซิส (Babesiosis) เกิดจากเชื้อบาบีเซีย พบอยู่ในเม็ดเลือดแดงของโคที่เป็นโรค โรคนี้ติดต่อได้โดยการโดนเห็บกัด เห็บที่เป็นพาหะของโรคนี้คือ Ixodesscapularis ซึ่งเป็นชนิดเดียวพาหะที่นำโรค Lyme disease และ Ehrlichiosis บางครั้งอาจเกิดการติดเชื้อร่วมกันได้โรคนี้สามารถติดต่อกันได้โดยการถ่ายเลือด

2.5.2 โรคทริพพาโนโซเมียซิส (Trypanosomiasis) เชื้อ *Trypanosoma evansi* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค Trypanasomosis หรือ surra ซึ่งเชื้อดังกล่าวเป็นโปรโตซัว เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวเป็นปรสิตทั้งในคนและในสัตว์ (ไพทูลและกนกรัตน์, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 โรคอะนาพลาสโมซิส (Anaplasmosis) เกิดจากเชื้อ อะนาพลาสมา มาร์จินาเล (*Anaplasma marginale*) และอะบาพลาสมา เซนทรัลเล (*Anaplasma Centrale*) เชื้อที่พบจะเป็นจุดขนาดเล็กอยู่ที่ขอบหรือกลางเม็ดเลือดแดง โรคนี้มีเห็บและแมลงดูดเลือดหลายชนิดเป็นพาหะ โดยเฉพาะเหลือบ (*Tabanus* spp.) การถ่ายทอดเชื้อเป็นแบบโดยตรง คือ เชื้อออกจากเห็บหรือแมลงแล้วเข้าสู่ตัวโค

2.5.4 โรคไทเลริโอซิส (Theileriosis) โรคไทเลอริโอซิส (Theileriosis) เกิดจากเชื้อโปรโตซัวไทเลอเรีย (*Theileria* spp.) มีอยู่หลายชนิด เป็นเชื้อประจำถิ่น (Fandamu et al., 2005; Bazarusanga et al., 2007) จัดอยู่ในตระกูล Theileriidae

2.6 การจำแนกอนุกรมวิธานของเชื้อ *Theileria* spp.

การจำแนกอนุกรมวิธานของเชื้อ *Theileria* spp. (สถาพร, 2528)

Kingdom: Protista

Subkingdom: Protozoa

Phylum: Apicomplexa

Class: Piroplasmea

Order: Piroplasmida

Family: Theileriidae

Genus: *Theileria*

Specie: *parva, mutans, taurotragi, velifera, buffeli, ovis, epui, sergenti, orientalis, sinesis, annae, lestoquardi, cervi, separate, uilenbergi, gilberti, luwenshuni, capreoli, tachyglossi, peramelis, bicornisornithorhynchi, brachyuri, fuliginosa, penicillata*

2.7 การกระจายตัวของโรค Theilerosis ในทางภูมิศาสตร์

โรค Theilerosis จะถูกส่งผ่านโดยเห็บในสกุล *Rhiphicephalus* ซึ่งเกือบ 80 เปอร์เซ็นต์ของสัตว์ที่มีการสัมผัสและถูกรบกวนจากเห็บ (Anim *et al.,* 2013) และเป็นที่แพร่หลายในภูมิภาคเขตร้อนและภูมิภาคกึ่งเขตร้อนของโลก ได้แก่ ประเทศโปรตุเกส ประเทศสเปน ประเทศกรีก และประเทศอิตาลี นอกจากนี้ยังมีการแพร่กระจายไปยังประเทศตุรกี ตะวันออกกลางทางภาคใต้ของรัสเซีย ประเทศออสเตรเลีย ประเทศจีน และประเทศไทย (Radwan, 2012) พบการรายงานการกระจายของเชื้อในสัตว์เคี้ยวเอื้องหลายชนิด เช่น โคเนื้อ (Moumouni *et al.,* 2015) โคนม (Pulforda et al., 2016) กระบือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Altangerel *et al.,* 2011) ม้า (Moretti *et al.,* 2010) แพะและแกะ (Cao *et al.,* 2013; Irshad et al., 2010) และอีกทั้งเชื้อ *Theileria* spp. ยังสามารถก่อให้เกิดโรคในสัตว์ป่าหลายชนิดได้อีกด้วย เช่น กวาง (Chae *et al.*, 1999) ยีราฟ (*Giraffa camelopardalis*) (Nalubamba *et al.,* 2015) จามรี (Qin *et al.,* 2016) ทั้งนี้การกระจายและการติดของเชื้อ *Theileria* spp. ในประเทศไทยพบมีรายงานในภาคใต้ (ปิยะ, 2514) ภาคกลาง (สถาพร และฉวีวรรณ, 2531) ภาคเหนือ (อิทธิพล และคณะ, 2532) ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (Jirapattharasate *et al.*, 2016)

2.8 ลักษณะทางชีวภาพโดยทั่วไปของเชื้อ *Theileria* spp.

เชื้อไทเลอเรีย (*Theileria* spp.) ก่อให้เกิดโรค Theileriosis อันเกิดจากเชื้อโปรโตซัว (Protozoa) โดยเชื้อโปรโตซัวเหล่านี้ทำให้เกิดโรค East coast fever (ECF), Ovine theileriosis , Tropical theileriosis และ Corridor disease เป็นโรคที่มีความสำคัญมากในแถบตะวันออกและตอนกลางของแอฟริกา Corridor disease ชื่อได้จาก corridor ระหว่าง Hluhluwe และ Umfolozi Game Reserve พบทั่วไปในปศุสัตว์และในกระบือของแอฟริกาใน Zimbabwe อัตราการตายเนื่องจาก Encephalitis ในแอฟริกาตะวันออกเรียกว่า Turning sickness (kizengerera หรือ muthiuko) ที่เกิดจากเชื้อ *Theileria* (สถาพร, 2528) อีกทั้งเชื้อโปรโตซัวชอบอาศัยเป็นแบบปรสิตในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง และสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (Bishop *et al.,* 2004) ถึงแม้ว่าเชื้อปรสิตชนิดนี้จะมีลักษณะคล้ายกัน แต่วงจรชีวิตของเชื้อนี้จะอาศัยอยู่ในเซลล์เม็ดเลือดขาว (leukocyte) (Dobbelaere *et al.* 1988) และเซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte or red blood cells) ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Pain *et al.*, 2005) ซึ่งระยะที่อยู่ในเซลล์เม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็กและไม่เพิ่มจำนวน แต่เกิดคิโซโกนีในเซลล์ของม้ามและต่อมน้ำเหลือง (บพิธ, 2546) นอกจากนี้ยังมีการติดเชื้อที่เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซด์ (monocyte) รวมถึงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซด์ (lymphocyte) หรือมาโครฟาจ (macrophage) (Bishop *et al.,* 2004) โฮสต์ ลักษณะของเชื้อ *Theileria* spp. นี้ที่พบในเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ จะมีลักษณะเป็นแท่ง (rod-shape) ซึ่งมีความยาวประมาณ 1.5-2 ไมครอน และมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1 ไมครอน ลักษณะอื่นของเชื้อนอกจากนี้ได้แก่ ลักษณะกลมหรือรูปไข่ จะมีขนาดประมาณ 0.6 - 2.0 ไมครอน อาจจะพบได้พวกเชื้อ *Theileria parva* และ *T. lawrenci* ประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ หรืออาจวงแหวน หรืออาจมีลักษณะคล้ายเชื้อริกเก็ตเซียในสกุล *Anaplasma* นอกจากนี้มีการแบ่งตัวอาจได้ 2-4 daughter ถ้าเป็น 4 daughter จะจัดตัวเป็นรูปกากบาท ทั้งระยะคอมมา (comma) จะมี micropore แต่จะไม่มีทั้ง polar ring , conoid หรือ subpellicular microtubules ทั้งนี้บางครั้งอาจจะพบเชื้อ *Theileria* spp. หลายตัวในเม็ดเลือดแดง 1 เซลล์ได้ (อาคม, 2541)

2.9 ลักษณะอาการทางคลินิก

สำหรับอาการทางคลินิกของโรค East coast fever (ECF) สัตว์มีไข้สูง ภาวะซึมเศร้า ระดับภูมิคุ้มกันต่ำ มีอาการเบื่ออาหาร และระบบทางเดินหายใจมีการติดเชื้อของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีอาการที่สังเกตได้ คือ สัตว์แสดงอาการน้ำตาไหล อาการน้ำมูลไหล ลักษณะของกระจกตาพร่ามัว และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาการท้องเสีย (Muhanguzi *et al.*, 2014) ต่อมน้ำเหลืองมีขนาดบวมใหญ่จากการเจริญของมาโครคิซอนต์ ม้ามเกิดซีสต์หรือเนื้องอก และในกรณีที่อาการรุนแรงเนื้อเยื่อน้ำเหลืองถูกทำลาย เม็ดเลือดขาวลดลง (บพิธ, 2546)

2.10 ระยะฟักตัวของโรค

ระยะการฟักตัวของเชื้อประมาณ 8-24 วัน (เฉลี่ย 13 วัน) ซึ่งโรค Tropical theileriosis คล้ายกับในพวก East Coast fever อัตราการตายประมาณ 10-90 เปอร์เซ็นต์ โรคนี้จะใช้เวลาประมาณ 4-20 วัน (โดยเฉลี่ยประมาณ 10 วัน) (สถาพร, 2528)

2.11 อาการของการเกิดโรค

2.11.1 แบบเฉียบพลันมาก (Peracute form) สัตว์มีอาการป่วย และไข้สูงมาก จะแสดงอาการ 8-15 วัน หลังจากการได้รับเชื้อและอาจจะตายภายใน 3-4 วัน เช่น ตัวอย่างของเชื้อ *T. parva* มีอาการรุนแรงมาก อัตราการตาย 90-100 เปอร์เซ็นต์ (Schmidt and Roberts, 2005) ยกเว้นในเขตที่มีการระบาดของโรคเป็นประจำจะมีอัตราการตายต่ำ สัตว์อายุน้อยจะมีความต้านทานมากกว่าสัตว์ที่โตเต็มที่แล้ว อัตราการตายประมาณ 5-50 เปอร์เซ็นต์

2.11.2 แบบเฉียบพลัน (Acute form) ลักษณะอาการแบบเฉียบพลันซึ่งจะสามารถพบได้บ่อยมาก คือ ในช่วงของอุณหภูมิภายในร่างกายจะสูงขึ้นถึง 104-107 องศาฟาเรนไฮต์ หรือ 40-41.5 องศาเซลเซียส หรืออาจมีอาการเกือบสัปดาห์ พบอยู่ได้ตั้งแต่ 5-20 วัน อาการก็จะลดลง ต่อจากนั้นอาจพบอาการอื่น ๆ เช่น กระจกตามัวมีสีขาวขุ่นและมีอาการดีซ่าน ซึ่งสัตว์ที่ป่วยจะหายใจเร็ว และหายใจลำบากก่อนจะตาย

2.11.3 แบบไม่ค่อยเฉียบพลัน (Subacute form) อาการคล้ายกับพวกเฉียบพลัน แต่ไม่สามารถจะบอกได้ หรือวินิจฉัยได้ สัตว์ที่ป่วยอาจหายเอง อาจจะเป็น ๆ หาย ๆ อยู่ 10 - 15 วัน ก่อนจะกลับสู่สภาพปกติ

2.11.4 แบบอ่อน ๆ หรือไม่ค่อยรุนแรง (Mild form) พบได้ในกรณีที่สัตว์เคยมีภูมิคุ้มกันโรคนี้มาก่อน หรือได้รับถ่ายทอดมา เช่น ในลูกวัว อาการจะมีแบบไม่เด่นชัด อาการไข้ไม่สูงและเป็นอยู่ 3-7 วัน สัตว์ป่วยอาจมีอาการซึม มีอาการบวมของต่อมน้ำเหลือง และอาจพบโลหิตจางขนาดรุนแรงปานกลาง

2.12 วิการของการเกิดโรค

ต่อมน้ำเหลืองมีการขยายใหญ่มากเห็นได้ชัด และมีลักษณะของเส้นเลือดขยายตัว (hrpermia) ม้ามขยายใหญ่ จะพบ Soft pulp และ Malpighian corpuscle ได้ชัดเจน ตับมีขยายใหญ่ ซึ่งอาจมีลักษณะเปื่อยยุ่ย สีน้ำตาลเหลือง ไตมีลักษณะเลือดคั่ง (congested) หรือมีสีน้ำตาลซีด และมีลักษณะ hemorrhagic infarct ใน kidney capsuie อาจพบ serous fluid สะสมอยู่จำนวนมาก เยื่อหุ้มสมอง (Meninges) มีลักษณะเลือดคั่ง (Congested) หัวใจจะมีลักษณะแฟบที่ endocardium , epicardium มีลักษณะจุดเลือดออก ปอดมีลักษณะเลือดคั่งและบวมน้ำ นอกจากนี้อาจพบแผลหลุมขนาดเส้นผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศูนย์กลาง 2-5 มิลลิเมตร ที่ abomasums และจะพบได้ตลอดทั้งลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ แผลหลุมดังกล่าวจะมีลักษณะตรงกลางปืนเนื้อตายสีแดงหรือน้ำตาลล้อมรอบด้วย hemorrhagic zone บริเวณ Peyer' s patch จะบวม และ content ภายในลำไส้จะมีสีเหลือง

2.13 การรักษา

ในปัจจุบันการใช้วัคซีนที่ต่อต้านเชื้อ *Theileria* spp. ที่เป็นก่อให้เกิดโรค Theileriosis ยังไม่มีการนำมาใช้ในการรักษา (วีรพล, 2547) กล่าวว่า ในบ้านเรายังไม่มียารักษาที่ได้ผล อย่างไรดีในต่างประเทศ มีการใช้ Oxytetracycline 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในการรักษาโรคที่เกิดจาก *T. annulata* นอกจากนี้ยังมีการใช้ยาชนิดอื่นในการรักษาด้วย ได้แก่

2.13.1 Oxytetracyline และ Chlotetracycline จะสามารถหยุดการสร้าง macro และ microschizont แต่จะต้องให้ก่อนมีการติดเชื้อหรือขณะที่สัตว์กำลังได้รับเชื้อ ถ้าปล่อยจนสัตว์แสดงอาการออกมาแล้วจะใช้ไม่ได้ผล ส่วนใหญ่ในโรคนี้กว่าจะวินิจฉัยได้ก็เลยระยะที่จะใช้ได้ผลไปแล้ว ขนาดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ 16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใช้ได้นานถึง 4-16 วัน (สถาพร, 2528) และ Imidocarb dipropionate ใช้ขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (ปัจฉิมา และอนุชา, 2550)

2.13.2 Monotone (2-hydroxy-3- (8-cyclohexyloctyl) 1,4 naphthoguinone ใช้รักษาได้ผลดี ฉีดในวันแรกที่พบอาการไข้ได้ผลดีมาก และ ยา Halofuginone มีประสิทธิภาพดีมากในการรักษาโรคที่เกิดจาก *T. annulata* ขณะที่สัตว์กำลังแสดงอาการ (สถาพร, 2528)

2.13.3 ยา Tetracycline ยังมีประสิทธิภาพดี ขนาด 16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้ 4-16 วัน ถ้าให้ในช่วงที่สัตว์กำลังอยู่ในระหว่างระยะฟักตัวของโรคจะช่วยลดอาการและความรุนแรงที่เกิดขึ้นได้ (สถาพร, 2528)

2.14 การควบคุมและป้องกัน (สถาพร, 2528)

2.14.1 ทำได้โดยการควบคุมเห็บ อาจจะอาศัยการ dipping อย่างสม่ำเสมอ โดยใช้พวกสารฆ่าเห็บที่มีประสิทธิภาพ

2.14.2 การทำด่านกักสัตว์ ป้องกันการเคลื่อนย้ายสัตว์ที่เป็นโรค ช่วยลดอัตราการแพร่กระจายของโรคนี้ได้

2.14.3 การสร้างภูมิคุ้มกัน โดยการใช้วัคซีน ซึ่งทำได้ผลดีในแถบอัฟริการเหนือและอิสราเอล

2.14.4 ทำลายสัตว์ป่วยในฝูงที่ตรวจพบว่าป่วยเป็นโรคนี้

2.15 การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Theileria* spp.

การตรวจหาเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค Theileriosis ซึ่งสามารถวินิจฉัยได้จากอาการทางคลินิก แต่อย่างไรก็ตาม วิธีการต่างๆ ของการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Theileria* spp. ได้มีการถูกพัฒนา เพื่อตรวจหา haemoparasite ในตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.15.1 การตรวจวินิจฉัยเพื่อจำแนกเชื้อ (Identification of the agent)

2.15.1.1 การตรวจเชื้อโดยตรงด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Direct Microscopic examination) การติดเชื้อ *Theileria* spp. โดยทั่วไปจะไม่สามารถบ่งชี้ลักษณะเฉพาะของการเกิดโรคได้ แต่ถ้าในกรณีที่สัตว์มีการติดเชื้อและแสดงอาการเฉียบพลัน (acute cases) มีเชื้อปรสิตในเลือดสูง นิยมใช้วิธีการตรวจเลือดสด (wet blood films) โดยการเจาะเลือดเลือดใส่สารกันเลือดแข็งตัว หยดเลือดบนสไลด์แล้วปิดด้วย cover glass ตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ และเทคนิคการย้อมสียิมซ่า ซึ่งเป็นวิธีการทำฟิล์มเลือดบางๆ บนแผ่นสไลด์ (Strained thin blood smear) แล้วตรวจดูเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Ahmed *et al.*, 2002)

2.15.1.2 การตรวจเชื้อโดยทำให้เชื้อมีความเข้มข้นมากขึ้น (Concentration method) ซึ่งบางครั้งถึงแม้ว่าจะมีเชื้อ *Theileria* spp. ในเลือดปริมาณต่ำ เชื้อนี้ก็สามารถทำให้สัตว์ (Host) มีอาการอ่อนแอได้ ดังนั้นการทำให้เชื้อมีความเข้มข้นมากขึ้น จึงเป็นวิธีหนึ่งที่นำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัย เพื่อเพิ่ม sensitivity ในการตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ คือวิธี Haematocrit capillary tube technique (HCT) หรือ Woo's technique และวิธี Murray's technique

2.15.2 การตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยา (Serological tests)

สัตว์ที่ติดเชื้อ *Theileria* spp. จะมีการสร้างแอนติบอดี (antibody) ขึ้นมาตอบสนองต่อเชื้อ มีการคิดค้นวิธีการต่าง ๆ มากมายที่จะตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Theileria* spp. ทั้งในห้องปฏิบัติการและการตรวจวินิจฉัยภาคสนาม บางวิธีมีการนำมาใช้แล้ว แต่ต้องรอการประเมินในภาพรวมและความเป็นมาตรฐาน ทั้งนี้การตรวจวินิจฉัยโดยใช้การทดสอบทางซีรัมวิทยาเช่น conglutination, IFAT (immunofluorescent antibody test), CA (capillary tube agglutination), IHA (indirect hemagglutination assay) , Indirect fluorescent antibody test (IFA) และ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ซึ่ง วิธี IFAT ถูกนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อในการสำรวจทางซีรัมวิทยามานานหลายสิบปี (Molad *et al.*, 2006) ในการทดสอบทางซีรัมวิทยาเกิดปฏิกิริยาข้ามของการติดเชื้อในระยะยาว (Gubbels *et al.*, 2000) สำหรับวิธี ELISA เป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบ IgG ในซีรั่มของสัตว์ที่สามารถจำแนกสัตว์ที่ไม่ติดเชื้อจริงได้ วิธีนี้จึงจะเหมาะสำหรับการตรวจสอบสถานะการปลอดโรคก่อนที่จะมีการเคลื่อนย้ายหรืออยู่ในระหว่างการกักสัตว์ แต่ทั้งนี้เทคนิค ELISA สามารถทำการตรวจจับระดับภูมิคุ้มที่ซับซ้อนกันและตรวจสอบแอนติบอดีที่จำเพาะจากโรคติดเชื้อ *Theileria* spp. อาการแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรังได้ (Katende *et al.*, 1990) ส่วน Indirect fluorescent antibody test (IFA) การตรวจโดยวิธีนี้ใช้ crude antigen ของเชื้อมีความไวและความจำเพาะร้อยละ 93 และ 95 ตามลำดับ ใช้ในการติดตามการรักษาได้ แต่มีข้อเสียคือต้องใช้กล้อง fluorescent microscope ซึ่งมีราคาแพง เป็นต้น อย่างไรก็ดีแนะนำให้การตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR เพื่อยืนยันผลจะทำให้สถานการณ์ปลอดโรคที่สมบูรณ์มากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15.3 การตรวจวินิจฉัยโรคโดยเทคนิคทางอณูชีววิทยา

ปัจจุบันนี้ความรู้ทางด้านอณูชีววิทยาได้ก้าวหน้าไปอย่างมาก และมีประโยชน์อย่างมากต่อการประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อปรสิตทางการแพทย์ ในการตรวจสอบความแตกต่างของยีนทั้งในแง่ความแตกต่างที่เป็นปกติ หรือความแตกต่างที่ทำให้เกิดโรคนั้น จะต้องตรวจสอบกับ DNA ที่สกัดมาจากแหล่งที่เหมาะสม และมีปริมาณเพียงพอที่จะนำมาใช้ได้ เทคนิคทางอณูชีววิทยาที่สำคัญและนำมาประยุกต์ใช้ได้แก่ ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะสูงตรวจสอบสารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรค นอกจากนี้เทคนิคทางชีวโมเลกุลสามารถนำมาใช้ในการตรวจหาและจำแนกชนิดของเชื้อโรคได้ โดยไม่ต้องเพาะเลี้ยงเชื้อโรคให้เพิ่มจำนวนขึ้นก่อน ทำให้สามารถตรวจหาเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้ยาก และใช้ในการศึกษาแหล่งที่มาและการแพร่กระจายของเชื้อ รวมถึงในการศึกษาวิวัฒนาการและความรุนแรงของเชื้อได้อีกด้วย ด้วยเหตุนี้เทคนิค PCR เป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะต่อ DNA เป้าหมายและมีวิธีทำที่สะดวกไม่ยุ่งยาก ทำให้มีการใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน (Almeria *et al.*, 2001) โดยยีนที่นิยมใช้ คือ ยีน 18S rRNA ได้ถูกนำมาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพสำหรับในการตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อ *Theileria* spp. ทั้งการระบุและการจำแนกเชื้อ (Ahmed *et al.*, 2006) เพื่อตรวจสอบการระบาดได้อย่างแม่นยำ ซึ่งการสำรวจความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ในแพะเขตพื้นที่มีนบุรี มีความจำเป็นในการศึกษา เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดการวิธีการป้องกัน การรักษา และควบคุม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะเป็นอย่างมาก

มัญชรี และคณะ (2557) ศึกษาทางระบาดวิทยาเชิงชีวโมเลกุลและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *Theileria* spp. โดยการใช้ allele-specific PCR amplification พบว่าสามารถแบ่งลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ *Theileria* spp. ออกเป็น 5 ไทป์ (Type) ได้แก่ Buffeli type (B1 และ B2 type) , Chitose type (Ctype) , Ikeda type (I type) , และ Thai type ต่อมาได้มีการศึกษาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และ phylogenetic tree ของยีนเดียวกัน พบว่าสามารถจัดกลุ่มเชื้อได้ถึง 8 type ได้แก่ Type 1-8 และการศึกษาเมื่อเร็ว ๆ นี้ พบว่าสามารถแยก *Theileria* spp. เพิ่มอีก 3 type คือ Type N1-N3 ในประเทศไทยมีการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ *Theileria* spp. โดยอาศัยยีน MPSP และ small subunitribosomal RNA (ssrRNA) พบว่าเชื้อ *Theileria* spp. มีความใกล้ชิดกับเชื้อในกลุ่ม *T. sergenti/buffeli/orientalis* ซึ่งเป็นกลุ่มที่ไม่ก่อโรครุนแรง ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ *Theileria* spp. ที่ตรวจพบในสัตว์เคี้ยวเอื้อง และศึกษาลักษณะความสัมพันธ์และความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมระหว่างเชื้อ *Theileria* spp. ที่พบในประเทศไทยและเชื้อที่พบจากประเทศอื่น ๆ เพื่อเป็นการเฝ้าระวังเชื้อทางระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

1. เข็มฉีดยาเบอร์ 18
2. Syringe ขนาด 5 มิลลิลิตร
3. หลอดบรรจุเลือด (บรรจุ 10 % EDTA)
4. สำลี
5. กล่องโฟมใส่น้ำแข็ง
6. สารเคมีในการเก็บเลือด
7. แอลกอฮอล์ 70 %
8. หลอด Microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร (GenFollower, China)
9. ช้อนตักสาร
10. ถ้วยชั่งสาร
11. กระดาษทิชชู่
12. ถุงมือ
13. Tip ขนาดต่างๆ
14. ใบมีด
15. ตู้สุญญากาศ
16. flask ขนาดต่าง ๆ
17. หลอดพีซีอาร์

3.2 เครื่องมือ

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
2. เครื่องชั่งมาตรฐาน (Sartorius, BSA2202s-CW, Germany)
3. ตู้เย็น ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (SANYO, Thailand)
4. ไมโครเวฟ (SHARP, Thailand)
5. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Tomy,ES-315, Japan)
6. ชุดอะกาโรสเจลอิเล็กโฟรีซิส
7. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออัตโนมัติ (Thermal Cycler) (Biometra, Germany)
8. เครื่องถ่ายภาพเจล (Gel documentation)
9. ตู้อบเครื่องแก้ว (Jouan, Innovens-118EU2, France)
10. นาฬิกาจับเวลา (Presto,Model 0421301, China)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมี

1. วุ้น (Criterion, USA)
2. แอลกอฮอล์ 95%
3. ไพรเมอร์ forward primer 5'- GGTAATTCCAGCTCCAATAG -3'
   reverse primer 5'- ACCAACAAAATAGAACCA AAGTC -3'
4. 5u DNA polymerase (Vivantis, Germany)
5. อะกาโรสเจล (Vivantis, Germany)
6. Vc 100 bp DNA Ladder (Fermentas, Canada)
7. dNTP (Vivantis, Germany)
8. เอทธิเดียมโบรไมด์ (Vivantis, Germany)
9. Phenol
10. Chloroform
11. D-solution
12. TE beffer
13. 0.5% TAE beffer
14. Gel Extraction kit (QIAquick)

3.4 วิธีการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ

เก็บตัวอย่างเลือดแพะบริเวณเส้นเลือดดำใหญ่ (Jugular vein) จากฟาร์มในพื้นที่เขตมีนบุรี จำนวน 355 ตัว โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากแพะตัวละประมาณ 10 ซีซี ในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA 10 %) แล้วใส่กล่องน้ำแข็ง ทำการบันทึกเก็บข้อมูลเบื้องต้น เช่น ชื่อเจ้าของฟาร์ม ที่อยู่ฟาร์ม พื้นที่จัดเก็บ วันเดือนปีที่เก็บ ซึ่งรวมถึงข้อมูลประจำตัวทั่วไปของสัตว์ เช่น เพศ อายุ สายพันธุ์ น้ำหนัก ส่วนสูง ลักษณะเขา และลักษณะภายนอก (สีขน สีตา สีจมูก) เป็นต้น

3.5 วิธีการสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์

1. การเตรียมฟิล์มโลหิตบาง (Thin blood films) (อาคม, 2541)

1.1 หยดเลือดสดที่เจาะมาตรวจ 1 หยด ซึ่งมีขนาดเท่าประมาณหัวเข็มหมุด หรือเท่าเมล็ดถั่วเขียว ลงบนปลายด้านหนึ่งของกระจกสไลด์ที่จะใช้ป้ายเลือด (spreader)

1.2 วางกระจกสไลด์ที่ใช้ป้ายเลือด (spreader slide) แตะกับหยดเลือดบนกระจกสไลด์แผ่นที่ 2 จับให้แน่นในตำแหน่งแนวนอนจนกระทั่งสไลด์ทั้ง 2 แผ่นทำมุมประมาณ 30องศาที่ประมาณ 1 ใน 3 ของระยะทางจากปลายทางด้านหนึ่งของสไลด์แนวนอน หยดเลือดจะวิ่งไปตามเส้นสัมผัสระหว่างสไลด์ทั้งสองแผ่น

1.3 ลากกระจกสไลด์ที่ใช้ป้ายเลือดไปข้างหน้าเบาๆ โดยให้สัมผัสไปตามพื้นผิวของกระจกสไลด์แนวนอน ลากไปไกลเท่าที่จะทำได้ ซึ่งจะได้ฟิล์มโลหิตบางคล้ายกับหัวลูกกระสุนปืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีการย้อมสี (อาคม, 2541)

2.1 นำเลือดที่ต้องการย้อมมาทำเป็นแผ่นฟิลม์บางๆบนแผ่นกระจกใส ทิ้งไว้ให้แห้ง

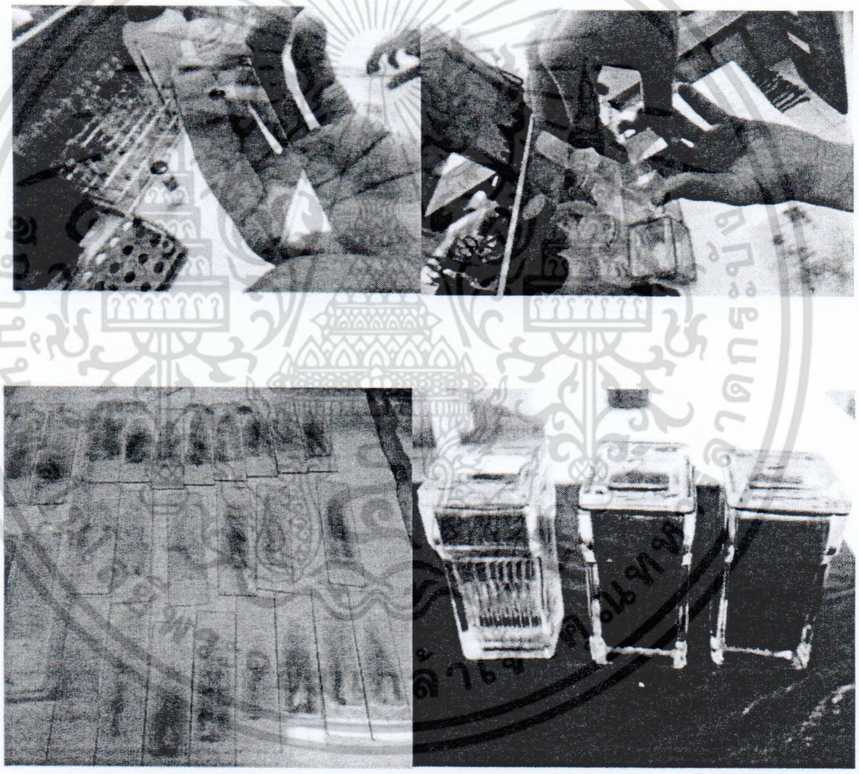
2.2 นำแผ่นเลือดมาจุ่มลงใน Fixative reagent เพื่อคงรูปร่างของเม็ดเลือดก่อนย้อม ส่วนของ reagent นั้น หลังการใช้งานต้องรีบปิดฝาเพื่อป้องกันความชื้นในอากาศทำให้น้ำยาเสื่อม ซึ่งจะมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงเปลี่ยนรูปร่างได้

2.3 นำแผ่นเลือดไปจุ่มลงในสี Wright-Geimsa stain จับเวลานาน 1 นาที

2.4 นำแผ่นเลือดขึ้น แล้วนำไปจุ่มลงในขวด Phosphate buffer จับเวลานาน 1 นาที

2.5 ยกแผ่นเลือดขึ้น ล้างสีทีตกค้างด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำประปา เช็ดทำความสะอาดด้านหลังแผ่น

2.6 เป่าลมหรือผึ่งลมให้แห้ง นำไปส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์



ภาพที่ 1 การทำแผ่นฟิล์มเลือดบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 วิธีการทดลองด้วยเทคนิค PCR

1. การสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างเลือด 300 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย D-Solution 500 ไมโครลิตร (4M guanidiumthiocyanate , 25mM sodium citrate pH 7 , 0.1M 2-mercaptoethanol , 0.5% N-lauroylsarcosine) จากนั้นเขย่า 5-10 นาที สกัดแยกโปรตีนด้วย Phenol-Chloroform แล้วตกตะกอน ดีเอ็นเอ ethanol 600 ไมโครลิตร ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Sambrook et al. (1989) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer (50mM Tris pH8.0 , 1mM EDTA) เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปใช้งานในขั้นตอนต่อไป

2. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA amplification)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *Theileria* spp. ในชิ้นส่วนของยีน 18S rRNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) โดยใช้ ไพรเมอร์ (primer) ที่มีความจำเพาะต่อยีน 18S rRNA ของเชื้อ *Theileria* spp. ประกอบด้วย forward primer 5’-GGTAATTCCAGCTCCAATAG -3’ และ reverse primer 5’- ACCAACAAAATAGAACCA AAGTC -3’ ซึ่งให้ผลผลิต PCR (PCR product) ขนาด 230 bp. (Sibeko *et al*., 2008) ซึ่งส่วนประกอบของสารละลายปฏิกิริยาพีซีอาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 10x buffer (10 mM Tris HCl pH 8.8 , 50 mM KCl และ 0.1 Triton X-100), 1.5 mM $MgCl_2$, 2 pmol แต่ละไพรเมอร์, 0.2 mM dNTP , 1.0 Units *Taq* DNA polymerase และดีเอ็นเอต้นแบบ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

การผลิตปริมาณดีเอ็นเอ ด้วนเทคนิคพีซีอาร์นั้น เริ่มจากการผสมส่วนประกอบของปฏิกิริยาลงในหลอดพีซีอาร์ ขนาด 0.2 มิลลิลิตร โดยส่วนประกอบของปฏิกิริยาข้าง เนื่องจากต้องใช้ผลผลิตพีซีอาร์จำนวนมากจึงทำการผสมส่วนประกอบทุกอย่าง ยกเว้นดีเอ็นเอต้นแบบลงในหลอดทดลองเดียวกัน ในปริมาตรที่เพียงพอกับจำนวนตัวอย่างก่อน แล้วจึงแบ่งใส่หลอดพีซีอาร์แต่ละหลอด จากนั้นเติมดีเอ็นเอต้นแบบแต่ละตัวอย่างลงไป นำส่วนผสมที่ได้เข้าเครื่องพีซีอาร์ โดยกำหนดอุณหภูมิและเวลาที่เหมาสม ดังนี้คือ

ขั้นตอนที่ 1: Pre-denaturation	ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที
ขั้นตอนที่ 2: Denaturation	ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที
ขั้นตอนที่ 3: Annealing	ที่อุณหภูมิ 51 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที
ขั้นตอนที่ 4: Extension	ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที (ทำซ้ำจากขั้นตอนที่ 2 ถึง 4 จำนวนทั้งหมด 35 รอบ)
ขั้นตอนที่ 5: Final extension	ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วินาที

จากนั้น ตรวจสอบผลผลิตที่ได้จากการทำพีซีอาร์ โดยใช้เทคนิคการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอในอะกาโรสเจลด้วยเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบั

3. การตรวจวิเคราะห์ผลผลิตดีเอ็นเอ โดยวิธีแยกขนาดในอะกาโรสเจลภายใต้กระแสไฟฟ้า

การวิเคราะห์ปริมาณ DNA บนอะกาโรสเจล ทำได้โดยการเตรียมอะกาโรสเจลความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ละลายในบัฟเฟอร์ 0.5 % TAE จากนั้นทำให้อุณหภูมิเย็นลง จึงเทเจลลงในถาดเจล (Gel tray) ทิ้งให้เจลเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำ PCR product ผสมกับ 6X loading dye อัตราส่วน 5:1 มาตรวจสอบด้วยการเชื่อมกระแสไฟฟ้า เพื่อให้ DNA เคลื่อนที่โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่มีความต่างศักย์เท่ากับ 100 โวลล์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำแผ่นเจลอะกาโรสไปย้อมด้วย เอธิเดียมโบรไมด์ (Thidium Bromide; EtBr) เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำอีก 5 นาที จากนั้นตรวจแถบดีเอ็นเอด้วยรังสีอัลตร้าไวโอเล็ตด้วยเครื่อง Gel documentation โดยเทียบขนาดกับ 100 bp DNA ladder

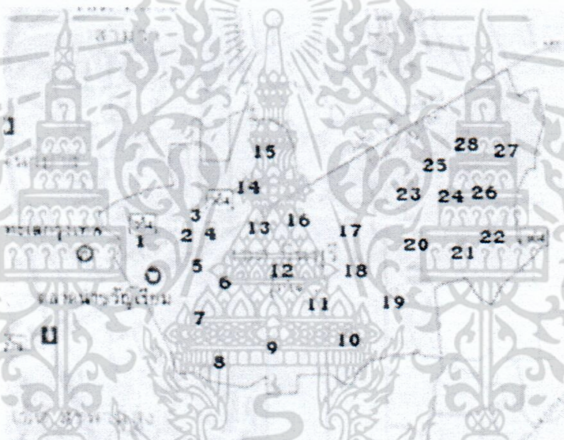
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

149089

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

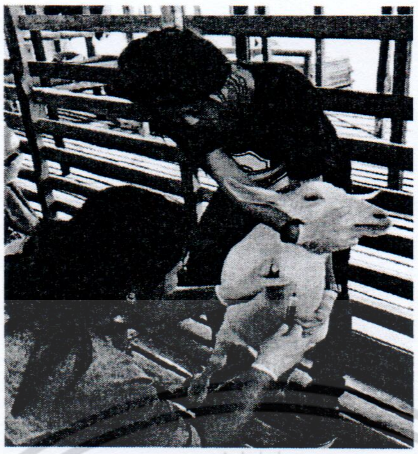
4.1 การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างแพะที่เก็บมาทั้งหมด 28 ฟาร์ม (ภาพที่ 2) จำนวนแพะ 355 ตัว ซึ่งเป็นตัวผู้ 98 ตัว และตัวเมีย 257 ตัว มีการบันทึกเก็บข้อมูลเบื้องต้น เช่น ชื่อเจ้าของฟาร์ม ที่อยู่ฟาร์ม พื้นที่จัดเก็บ วันเดือนปีที่เก็บ ซึ่งรวมถึงข้อมูลประจำตัวทั่วไปของสัตว์ เช่น เพศ อายุ สายพันธุ์ น้ำหนัก ส่วนสูง ลักษณะเขา และลักษณะภายนอก (สีขน สีตา สีจมูก) เป็นต้น เก็บตัวอย่างเลือดช่วงเดือนสิงหาคม – ธันวาคม และจะเจาะเลือดแพะบริเวณเส้นเลือดดำใหญ่ (ภาพที่ 3) ตัวละประมาณ 10 ซีซี (ภาพที่ 4) ในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA 10%) เพื่อนำเลือดมาตรวจผลใต้กล้องจุลทรรศน์และนำไปสกัดดีเอ็นเอ เพื่อตรวจการติดเชื้อโดยเทคนิค PCR ต่อไป

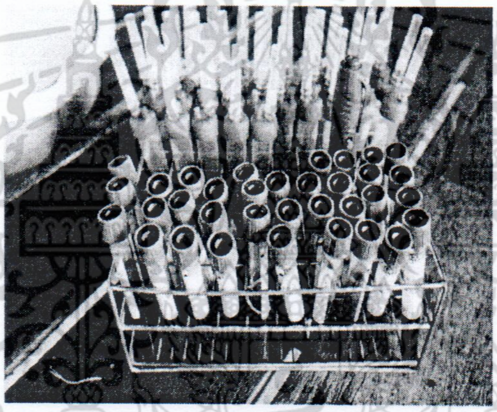


ภาพที่ 2 ตำแหน่งฟาร์มที่เก็บตัวอย่างเลือดแพะในเขตมีนบุรี จำนวน 28 ฟาร์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ตำแหน่งการเจาะเลือดบริเวณเส้นเลือดดำใหญ่



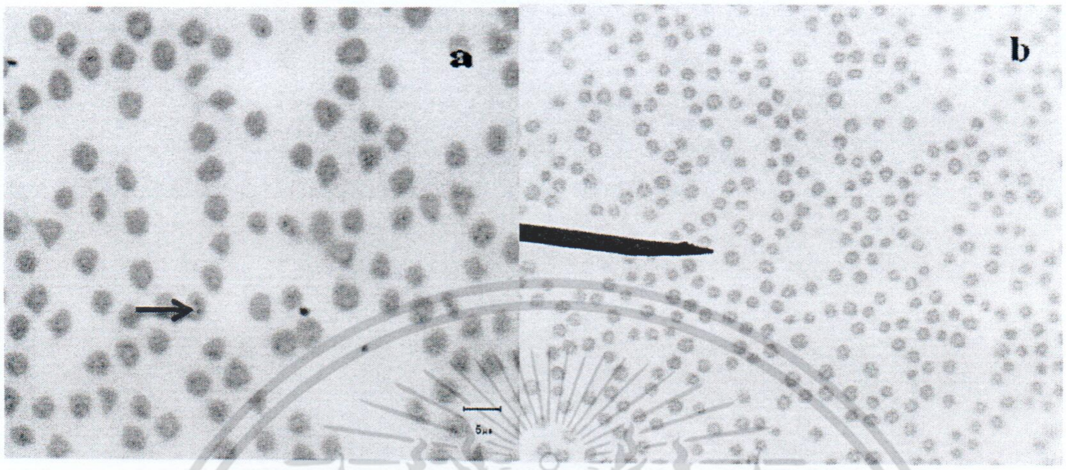
ภาพที่ 4 วิธีเก็บเลือดแพะ

4.2 ผลการตรวจด้วยวิธีการทำแผ่นฟิล์มเลือดบาง

หยดตัวอย่างเลือดลงบนสไลด์แล้วทำการไถสไลด์ให้ได้รูปหัวกระสุนเพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดต่าง ๆ กระจายตัวไปบนแผ่นสไลด์ หลังจากนั้นนำแผ่นสไลด์ไปทำการย้อมสี Wright's stain โดยนำแผ่นเลือดมาจุ่มลงใน Fixative reagent เพื่อคงรูปร่างของเม็ดเลือดก่อนย้อม และนำไปจุ่มลงในสี Wright-Geimsa stain จับเวลานาน 1 นาที จากนั้นนำไปจุ่มลงในขวด Phosphate buffer จับเวลา 1 นาที ยกแผ่นเลือดขึ้น ล้างสีที่ตกค้างให้ล้างด้วยน้ำกลั่น เช็ดทำความสะอาดหรือซับให้แห้ง และนำไปส่องตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ตัวอย่างที่มีเชื้อ *Theileria* spp. ในเซลล์เม็ดเลือดแดงจะมีลักษณะรูปร่าง รูปแท่ง รูปวงรี ดังภาพที่ 5 ผลการตรวจพบการติดเชื้อด้วยวิธีการทำแผ่นฟิล์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือดบางพบ 44 ตัวอย่าง จาก 355 ตัวอย่าง คิดเป็น 12.39% ตารางที่ 2 , ภาพที่ 5a ซึ่งฟาร์มที่พบมักมีลักษณะการสุขาภิบาลที่ไม่ดี ที่ตั้งฟาร์มอยู่ริมลำคลอง เลี้ยงแบบปล่อยทุ่ง จึงทำให้สัตว์นั้นมีความชื้น สัตว์ซูบผอม และมีการแพร่กระจายของเชื้อได้ดีกว่า (ภาพที่ 6) (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 5 a. ตัวอย่างเลือดแพะที่ตรวจพบพยาธิในเม็ดเลือดชนิด *Theileria* spp. โดยเทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบางภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า
b. ตัวอย่างเลือดแพะที่ไม่พบพยาธิในเม็ดเลือด

ตารางที่ 2 การตรวจหาเชื้อ *Theileria* spp. ในเม็ดเลือดจากแพะเขตมีนบุรี 355 ตัวอย่าง

ฟาร์มที่	จำนวนแพะ (ตัว)	เพศ		ผลตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ตัว)	ผลตรวจด้วยเทคนิค PCR (ตัว)
		ผู้	เมีย		
1	10	5	5	-	-
2	16	4	12	-	-
3	10	4	6	-	-
4	7	3	4	-	-
5	6	2	4	-	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 การตรวจหาเชื้อ *Theileria* spp. ในเม็ดเลือดจากแพะเขตมีนบุรี 355 ตัวอย่าง (ต่อ)

ฟาร์มที่	จำนวนแพะ (ตัว)	เพศ		ผลตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ตัว)	ผลตรวจด้วยเทคนิค PCR (ตัว)
		ผู้	เมีย		
6	9	0	9	-	-
7	5	3	2	2	1
8	5	0	5	-	2
9	5	1	4	-	2
10	5	0	5	2	2
11	5	3	2	-	5
12	11	9	2	-	-
13	3	3	0	-	2
14	40	13	27	14	19
15	2	1	1	-	-
16	4	0	4	-	1
17	9	2	7	1	2
18	6	1	5	-	4
19	28	1	27	-	-
20	12	6	6	-	-
21	19	3	16	-	5
22	5	2	3	-	-
23	4	1	3	-	-
24	20	1	19	-	-
25	16	4	12	3	7
26	19	6	13	10	7
27	19	10	9	3	9
28	55	10	45	9	11
รวม	355	98	257	44	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 6 ลักษณะฟาร์ม

ภาพที่ 7 ลักษณะการเลี้ยงแพะ ในเขตมีนบุรี

4.3 ผลการตรวจด้วยเทคนิค PCR

นำดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอย่างเลือดแพะมาทำ PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำแนกต่อยีนส์ 18S rRNA และเมื่อนำผลผลิตพีซีอาร์ไปตรวจสอบด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโทรโฟริซิส โดยใช้ด้วยอะกาโรสเจล เข้มข้น 1% และใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลล์ เป็นเวลา 40 นาที พบแถบ DNA ขนาด 230 bp หากตัวอยากมีการติดเชื้อ *Theileria* spp. (ภาพที่ 8) ผลการตรวจด้วยเทคนิค PCR พบ การติดเชื้อ 80 ตัวอย่างที่แถบ DNA 230 bp จาก 355 ตัวอย่าง คิดเป็น 22.53% ซึ่งแตกต่างจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการตรวจภาพใต้กล้องด้วยวิธีการทำแผ่นฟิล์มเลือดบาง อาจเนื่องมาจากว่าการติดเชื้อยังไม่ได้รับการติดเชื้อในระดับที่สูงมาก แต่ด้วยการที่ตรวจด้วยเทคนิค PCR เป็นเทคนิคที่มีความไวต่อเชื้อจึงสามารถตรวจได้โดยที่ยังไม่ต้องมีปริมาณเชื้อจำนวนมากในเลือด

ภาพที่ 8 ภาพแสดงผลการตรวจซีพีอาร์ที่ใช้ไพร์เมอร์ยีนส์ 18s rRNA ด้วยอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟริซิสเข้มข้น 1% จากผลการทำ PCR โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลล์ เป็นเวลา 40 นาที โดย M = maker , 1 = negative control , 2 = Positive control , 4-9 และ11 = แพะที่ตรวจพบเชื้อ *Theileria* spp. , 3 และ 10 = แพะที่ไม่พบเชื้อ *Theileria* spp.

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aktas *et al.* (2005) พบว่าระดับโมเลกุลของการติดเชื้อ *Theileria* ของแกะในประเทศตรุกี ซึ่งได้เก็บตัวอย่างเลือดแกะทั้งหมด 218 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างเลือดแกะทั้งได้ทำการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้น โดยใช้วิธีด้วยการทำฟิล์มเลือดบาง ๆบนสไลด์ และย้อมด้วยสียิมซ่า แล้วตรวจดูเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ และได้นำเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์ (polymerase chain reaction; PCR) ใช้ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Theileria* spp. จากการตรวจวินิจฉัยการทำฟิล์มเลือดบาง ๆบนสไลด์ และย้อมด้วยสียิมซ่า แล้วตรวจดูเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีการแพร่ของเชื้ออยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.01 ถึง 0.1 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงระยะที่เชื้ออยู่ในเซลล์เม็ดเลือดแดง (Piroplasms) ตรวจพบว่ามีเชื้อ *Theileria* spp. 15.5% (34/218) ของตัวอย่างทั้งหมด อีกทั้งลักษณะมีหลายรูปแบบ สำหรับผลจากการใช้เทคนิค PCR กับการตรวจเชื้อ *Theileria* spp. ซึ่งพบว่า ตัวอย่างเลือดแกะมีการติดเชื้อ *Theileria* spp. มีค่าเท่ากับ 41.2% (90/218) ของตัวอย่างทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cao et al. (2013) ได้ทำการศึกษาการระบาดวิทยาระดับโมเลกุลของเชื้อ *Theileria* spp. ในแกะของประเทศจีน และได้สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากแกะจำนวน 198 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิค nested polymerase chain reaction (nPCR) ในการตรวจวินิจฉัยซึ่งมีการเพิ่มปริมาณในส่วนของยีน 18S rRNA ของเชื้อ *Theileria* spp. จากการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคทางโมเลกุลาร์พบว่า ความชุกของเชื้อ *Theileria* spp. ใน Yanji, Nongan, Longjing, Toudao และ Jinchang มีค่าเท่ากับ 80%, 40%, 37%, 24% และ 32%ตามลำดับ

Ge et al. (2012) ทำการสำรวจความชุกของการติดเชื้อ Theileria ในแพะและแกะในทิศตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศจีน ซึ่งเก็บตัวอย่างเลือดแพะ และแกะ ซึ่งใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของหน่วยย่อยจากยีน 18S rRNA ของเชื้อ *Theileria* spp. จากนั้นทำการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค Nested PCR ซึ่งผลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางโมเลกุลพบว่า ลำดับอนุกรมของเชื้อ *Theileria* spp. มีลักษณะคล้ายคลึงกันเป็นอย่างมากตั้งแต่ 99.2% ถึง 100%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผล

การศึกษาความชุกของ เชื้อ *Theileria* spp. ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี โดยเก็บตัวอย่างเลือดแพะทั้งหมด 355 ตัวอย่าง จากการตรวจสอบการติดเชื้อในตัวอย่างเลือดแพะ พบว่าผลที่ได้จากการตรวจด้วยเทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบาง พบเชื้อ *Theileria* spp. 12.39% (44/355) และด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบเชื้อ *Theileria* spp. 22.53% (80/355) จะเห็นได้ว่าการตรวจด้วยเทคนิคพีซีอาร์จะมีความไวมากกว่าเทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบาง ซึ่งจะมีประโยชน์ในการตรวจวินิจฉัยการเกิดโรคได้ดีและน่าเชื่อถือ ทำให้สามารถวางแผนการกำจัดควบคุมและกีดกันได้ดี ทั้งนี้ เชื้อ *Theileria* spp. มีความสำคัญในสัตว์เคี้ยงเอื้อง หากมีการติดเชื้อทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะในสัตว์ที่ใช้แรงงาน นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการสูญเสียต่อผลผลิต เช่น การแท้งและการผสมไม่ติดอีกด้วย

ผลการวิจัยที่ได้ในครั้งนี้สื่อให้เห็นได้ว่า ความสนใจในการเลี้ยงดูสัตว์ของเกษตรกรอยู่ในระดับที่ไม่น่าพึงพอใจ เพราะยังพบการติดเชื้ออยู่จำนวนมาก ซึ่งเกษตรกรควรมั่นดูแลด้านการเป็นอยู่ด้านอาหาร ด้านการรักษา และไม่นำสัตว์ชนิดอื่นมาเลี้ยงปะปนกับแพะ ก็จะทำให้แพะโอกาสที่จะติดเชื้อ *Theileria* spp. ได้ลดลง ซึ่งจะเป็นวิธีการป้องกันในขั้นฐานได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

บพิธ จารุพันธุ์. 2546.โพรโทซัววิทยา.ภาควิชาสัตววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

ปัจฉิมา อินทรกำแหง และ อนุชา สุขรื่น. 2550. ยากำจัดพยาธิภายใน ภายนอก และโปรโตซัวที่สำคัญในสัตว์เคี้ยวเอื้อง. กลุ่มปรสิตวิทยา. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์. 15 น.

ปัจฉิมา อินทรกำแหง. 2555. โรคพยาธิที่สำคัญในโค-กระบือ. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, กรมปศุสัตว์, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 51 น.

ปิยะ อรัญญกานนท์ . 2514. การตัดม้ามโคเพื่อการศึกษาพยาธิในเม็ดโลหิต. สัตวแพทยสาร. 22(2): 39-46 น.

มงคล ชวณิช, 2555 ความรู้ทั่วไปในงานภาคสนามเกี่ยวกับแพะ. ในประมวลความรู้ด้านสุขภาพปศุสัตว์ และสัตว์เลี้ยงภาคสนาม.โครงการสัตวแพทย์พระราชทานในพระราชดำริสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิตพระบรมราชินีนาถ กรุงเทพมหานคร

มัญชรี ทัตติยพงศ์, มยุรี ไวยครุฑ, กิ่งดาว หมอแก้ว, สุภาวรรณ งามจิตต์เอื้อ และมนทกานติ์ วงศ์ภากร. 2557. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ *Theileria* spp. ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง. วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 9(1): 1-17 น.

วินัย ประลมพ์กาญจน์, 2542. การจัดการฟาร์ม และการเลี้ยงแพะเนื้อแพะนม. วีรพล ทวีนันท์. 2547. อายุรศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง, ปรสิตที่สำคัญในโคนม. หน่วยปรสิตวิทยา, ภาควิชาพยาธิชีววิทยา, คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

สถาพร จิตตปาลพงศ์. 2528. โปรโตซัววิทยาทางสัตวแพทย์. *ภาค:* โปรโตซัวในเลือด และริกเกตเซีย. หมวดวิชาปรสิตวิทยา, ภาควิชาพยาธิวิทยา, คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 207 น.

สถาพร จิตตปาลพงศ์ และฉวีวรรณ เลียววิจักขณ์ . 2531. การสำรวจพยาธิโปรโตซัวในเลือดของโคนมที่หนองโพ. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 26. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. ระหว่างวันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2531. น. 9-14.

อาคม สังข์วรานนท์. 2541. ปาราสิตวิทยาคลินิกทางสัตวแพทย์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

อิทธิพล ชัยชนะพูนพล พัชรา วิทูรกุล และสุรพงษ์ อุดมพันธ์ . 2532. ปัญหาพยาธิของโคนมขาวพันธุ์แท้ในการประชุมวิชาการด้านปศุสัตว์ ครั้งที่ 8. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ระหว่างวันที่ 7-9 มิถุนายน 2532. น. 40-46.

Aktas¸ M., Altay, K. and Dumanli N. 2005. Survey of Theileria parasites of sheep in eastern Turkey using polymerase chain reaction. Small Ruminant Research. 60: 289–293.

Ahmed, J.S., Yin, H., Schnittger, L. and Jongejan, F. 2002. Ticks and tickborne diseases in Asia with special emphasis on China. Parasitol Res. 88:S51–S55.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ahmed, J. S., Luo, J., Schnittger, L., Seitzer, U., Jongejan, F. and Yin, H. 2006. Phylogenetic position of small-ruminant infecting piroplasms. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1081: 498–504.

Almeria, S., Castella, J., Ferrer, D., Ortuno, A., Estrade-Pena, A. and Gutierrez, J.F. 2001. Bovine piroplasma in Minorca (Baleric Islands, Spain): a comparison of PCR-based and light microscopy detection. Vet. Parasitol. 99:249–259.

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.

Anim, J., Ali, Z., Maqbool, A., Muhammad, K., Khan, M.S. and Younis, M. 2013Prevalence of *Theileria annulata* infected hard ticks of cattle and buffalo in Punjab, Pakistan. Pak. Veter. J., 23(1): 20–26.

Bishop, R., Musoke, A., Morzaria, S., Gardner, M. and Nene, V. 2004. *Theileria*: intracellular protozoan parasites of wild and domestic ruminants transmitted by ixodid ticks. Parasitology. 129: S271–S283.

Cao, S., Zhang, S., Jia, L., Xue, S., Yu, L., Kamyingkird, 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 Holman1, P.J. 1999. Two Theileria cervi SSU rRNA gene sequence types found in isolates from white-tailed deer and elk in North America. J Wildl Dis. 35(3): 458–465.

Dobbelaere, D.A.E., Coquerelle, T.M., Roditi, I.J., Eichhorn, M. and Williams, R.O. 1988. *Theileria parva* infection induces autocrine growth of bovine lymphocytes. Proc. Nati. Acad. Sci. 85: 4730-4734.

Durrani, S., Khan Z., Khattak R.M., Andleeb, M., Ali, M., Hameed, H., Taqddas, A., Faryal, M., Kiran, S., Anwar, H., Riaz, M,, Sajid, M., Sheikh, R.S., Ali, M. and Iqbal, F. 2012. A comparison of the presence of *Theileria ovis* by PCR amplification of their SSU rRNA gene in small ruminants from two provinces of Pakistan. Asia Pac J Tropical Dis. 43-47.

Ge, Y., Pana, W. and Yin, H. 2012. Prevalence of Theileria infections in goats and sheep in southeastern China. Veterinary Parasitology. 186: 466–469.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gubbels, M.J., d'Oliveira, C. and Jongejan, J., 2000. Development of an indirect Tamsl enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Theileria annulata* infection in cattle. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 7: 404–411.

Irshad, N., Qayyum, M., Hussain1, M. and Qasim Khan M. 2010. Prevalence of Tick Infestation and Theileriosis in Sheep and Goats. Pak Vet J., 30(3): 178-180.

Iqbal, F., Khattak, R.M., Ozubek, S., Khattak, M.N.K., Rasul, A. and Aktas, M. 2013. Application of the Reverse Line Blot Assay for the Molecular Detection of *Theileria* and *Babesia* sp. in Sheep and Goat Blood Samples from Pakistan. Iranian J Parasitol. 8 (2): 289-295.

Jirapattharasate, C., Moumouni, P.F.A., Cao, S., Iguchi, A., Liu. M., Wang, G., Zhou, M, Vudriko, P., Changbunjong,T., Sungpradit, S., Ratanakorn, P., Moonarmart, W., Sedwisai, P., Weluwanarak, T., Wongsawang, W., Suzuki, H. and Xuan, X. 2016. Molecular epidemiology of bovine *Babesia* spp. and *Theileria orientalis* parasites in beef cattle from northern and northeastern Thailand. P.I. 65: 62–69.

Katende, J.M., Goddeeris, B.M., Morzaria, S.P., Nkonge, C.G. and Musoke, A.J. 1990. Identification of a *Theileria mutans*-specific antigen for use in an antibody and antigen detection ELISA. Parasite Immunology. 12: 419-433.

Molad, T., Mazuz, M.L., Fleiderovitz, L., Fish, L., Savitsky, I., Krigel, Y., Leibovitz, B., Molloy, J., Jongejan, F. and Shkap, V. 2006. Molecular and serological detection of *A. central* and *A. marginale* infected cattle grazing within an endemic area. Vet. Microbiol., 113: 55–62.

Moretti, A., Mangili, V., Salvatori, R., Maresca, C., Scoccia, E., Torina, A., Moretta, I., Gabrielli, S., Tampieri, M.P. and Pietrobelli, M. 2010. Prevalence and diagnosis of *Babesia* and *Theileria* infections in horses in Italy: A preliminary study. Vet J. 184:346–350.

Moumouni, P.F.A., Aboge, G.O., Terkawi, M.A., Masatani, T., Cao, S., Kamyingkird, 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.

Nalubamba, K.S., David, S., Munyeme, M., Kamboyi, H., Saasa, N., Mkandawire, E. and Munang'andu, H.M. 2015. *Theileria* spp. in Free Ranging Giraffes (*Giraffa camelopardalis*) in Zambia. J Vet Med Res., 2(5): 1039.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pain, A., Renauld, H., Berriman, M., Murphy, L., Yeats, C.A., Weir, W., Kerhornou, A., Aslett, M., Bishop, R., Bouchier, C., Cochet, M., Coulson, R.M.R., Cronin, A., de Villiers, E.P., Fraser, A., Fosker, N., Gardner, M., Goble, A., Griffiths-Jones, S., Harris, D.E., Katzer, F., Larke, N., Lord, A., Maser, P., McKellar, S., Mooney, P., Morton, F., Nene, V., Neil, S.O., Price, C., Quail, M.A., Rabbinowitsch, E., Rawlings, N.D., Rutter, S., Saunders, D., Seeger, K., Shah, T., Squares, R., Squares, S., Tivey, A., Walker, A.R., Woodward, J., Dobbelaere, D.A.E., Langsley, G., Rajandream, M.A., McKeever, D., Shiels, B., Tait, A., Barrell, B. and Hall, N. 2005. Genome of the host-Cell transforming parasite *Theileria annulata* Compared with *T. parva* . Science. 309 (5731): 131-133.

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. New Zeal Vet J. 64 (1): 21-28.

Qin, G., Li, Y., Liu, J., Liu, Z., Yang, J., Zhang, L., Liu, G., Guan, G., Luo, J. and Yin, H. 2016. Molecular detection and characterization of *Theileria* infection in cattle and yaks from Tibet Plateau Region, China. Parasitol Res., p. 1-6.

Sambrook, J., Fritschi, E.F. and Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: a laboratorymanual. Cold pring Harbor Laboratory Press, New York.

Sibeko, K.P., Oosthuizen, M.C., Collins, N.E., Geysen, D., Rambritch, N.E., Latif, A.A., Groeneveld, H.T., Potgieter, F.T. and Coetzer, J.A.W. 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. Veterinary Parasitology. 155: 37–48.

Zhang, J., Kelly, P., Li, J., Xu, C. and Wang, C. 2015. Molecular Detection of *Theileria* spp. In Livestock on Five Caribbean Islands. BioMed Res International.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
1	นายมานิตย์ มาเลิศ ที่อยู่ เลขที่ 23/1 ม. 11 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต มีทั้งคอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด พื้นด้านล่างมีขี้แพะบางๆ อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM1/1		✓
				GM1/2	✓	
				GM1/3		✓
				GM1/4	✓	
				GM1/5	✓	
				GM1/6	✓	
				GM1/7	✓	
				GM1/8		✓
				GM1/9		✓
				GM1/10		✓
2	คุณยุโสบ เขียวอ่อน ที่อยู่ เลขที่ 20/5 ม. 17 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นดิน มีทั้งคอกขังเดี่ยวและขังรวม หลังคามุงสังกะสี	ไม่สะอาด ข้าง ๆ คอกมีหญ้าขึ้นค่อนข้างรก อาหารกินดี มีหญ้าแห้งกินตลอด น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM2/1		✓
				GM2/2		✓
				GM2/3		✓
				GM2/4		✓
				GM2/5		✓
				GM2/6		✓
				GM2/7		✓
				GM2/8		✓
				GM2/9		✓
				GM2/10	✓	
				GM2/11	✓	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
				GM2/12	✓	
				GM2/13		✓
				GM2/14	✓	
				GM2/15		✓
				GM2/16		✓
3	นายซอยยิบ บุญมาเลิศ ที่อยู่ เลขที่ 18/6 ม.17 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	เลี้ยงเป็นคอกข้างบ้าน มีโรงเรือนด้านในพื้นดินแห้ง ไม่แฉะ หลังคามุงกระเบื้อง	สะอาดพอสมควร มีหญ้าแห้งกินตลอด มีน้ำใส่กระป๋องข้างคอก	GM3/1		✓
				GM3/2		✓
				GM3/3		✓
				GM3/4		✓
				GM3/5		✓
				GM3/6		✓
				GM3/7	✓	
				GM3/8	✓	
				GM3/9	✓	
				GM3/10	✓	
4	คุณสุหนันท์ เมฆลอย ที่อยู่ แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูงเป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM4/1		✓
				GM4/2		✓
				GM4/3	✓	
				GM4/4		✓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ ผู้	เพศ เมีย
				GM4/5	✓	
				GM4/6		✓
				GM4/7	✓	
5	คุณธนัชสิทธ์ ชันด์ ที่อยู่ เลขที่ 468 ม.17 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นดิน หลังคามุงสังกะสี	ไม่ค่อยสะอาด พื้นด้านล่างสกปรก	GM5/1	✓	
				GM5/2	✓	
				GM5/3	✓	
				GM5/4		✓
				GM5/5		✓
				GM5/6		✓
6	คุณสมัคร อาหวัง ที่อยู่ เลขที่ 28/8 ม.4 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	สอง		✓
				แกน		✓
				จุด		✓
				อันพาย		✓
				ฝอย		✓
				ดาวน์โหลด		✓
				ฟลุ๊ตตี้		✓
				จุ้น		✓
				เฟิร์สเลฟ		✓
7	คุณปรีชา แซขำ เลขที่ 72 ซ. ประชาร่วมใจ 35 แขวง ทรายกองดินใต้	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นปูน	ค่อนข้างสะอาด อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำ	GM7/1		✓
				GM7/2	✓	
				GM7/3	✓	
				GM7/4	✓	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ ผู้	เพศ เมีย
	เขต คลองสามวา กรุงเทพฯ	หลังคามุงสังกะสี	กินสะอาด มีก้อนแร่	GM7/5		✓
8	คุณอิมบารอเฮม มินา ที่อยู่ เลขที่ 48 ซ.ประชาร่วมใจ 30 แขวง ทรายกองดินใต้ เขต คลองสามวา กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูงเป็นพื้นไม้ มีทั้งคอกเดี่ยวและรวม	ค่อนข้างสะอาด อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด	GM8/1		✓
				GM8/2		✓
				GM8/3		✓
				GM8/4		✓
				GM8/5		✓
9	คุณสมัคร อาหวัง ที่อยู่ เลขที่ 28/8 ม.4 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูงมีทั้งคอกเดี่ยวและรวม	พื้นไม่ค่อยสะอาด	GM9/1		✓
				GM9/2		✓
				GM9/3		✓
				GM9/4		✓
				GM9/5	✓	
10	คุณศุภชัย อาหวัง ฟาร์ม อาหวังฟาร์ม ที่อยู่ เลขที่ 28/4 ม.4 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูงเป็นพื้นไม้ มีทั้งคอกเดี่ยวและรวม	ค่อนข้างสะอาด อาหารกินดี	GM10/1		✓
				GM10/2		✓
				GM10/3		✓
				GM10/4		✓
				GM10/5		✓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการ เก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
11	คุณเสน่ห์ ทรงศิริ ที่อยู่ เลขที่ 25/6 ม.4 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ หลังคามุงสังกะสี	ค่อนข้าง สะอาด อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง	GM11/1		✓
				GM11/2		✓
				GM11/3	✓	
				GM11/4		✓
				GM11/5	✓	
12	คุณวาสนา หวังโซ๊ะ ที่อยู่ เลขที่ 28/2 ม.4 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ มีทั้งคอกเดี่ยวและรวม หลังคามุงสังกะสี	ไม่ค่อยสะอาด อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM12/1		✓
				GM12/2		✓
				GM12/3		✓
				GM12/4		✓
				GM12/5	✓	
				GM12/6		✓
				GM12/7		✓
				GM12/8		✓
				GM12/9	✓	
				GM12/10		✓
				GM12/11		✓
13	คุณวันชัย วงษ์สมัน ที่อยู่ เลขที่ 25/5 ม.4 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้	ค่อนข้าง สะอาด	GM13/1		✓
				GM13/2		✓
				GM13/3		✓

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
14	คุณสมหวัง สอนามา ที่อยู่ เลขที่ 139 ซ.ราษฎร์อุทิศ 42 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต มีทั้งคอกเดี่ยวและรวม หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM14/1		✓
				GM14/2		✓
				GM14/3		✓
				GM14/4		✓
				GM14/5	✓	
				GM14/6		✓
				GM14/7		✓
				GM14/8		✓
				GM14/9		✓
				GM14/10		✓
				GM14/11		✓
				GM14/12	✓	
				GM14/13		✓
				GM14/14		✓
				GM14/15	✓	
				GM14/16	✓	
				GM14/17		✓
				GM14/18		✓
				GM14/19		✓
				GM14/20		✓
				GM14/21		✓
				GM14/22		✓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
				GM14/23	✓	
				GM14/24	✓	
				GM14/25	✓	
				GM14/26		✓
				GM14/27	✓	
				GM14/28		✓
				GM14/29		✓
				GM14/30		✓
				GM14/31		✓
				GM14/32	✓	
				GM14/33		✓
				GM14/34	✓	
				GM14/35	✓	
				GM14/36		✓
				GM14/37	✓	
				GM14/38	✓	
				GM14/39		✓
				GM14/40		✓
15	คุณสง่า โต๊ะหมัน เลขที่ 28 ม.12 ซ.บ้านเกาะ แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูงเป็นพื้นไม้	ค่อนข้างสะอาด อาหารกินดี	GM15/1		✓
				GM15/2	✓	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการ เก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ ผู้	เพศ เมีย
16	คุณบุกอรี ที่อยู่ เลขที่ 159 ซ.ราษฎร์อุทิศ แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้น คอนกรีต	ค่อนข้าง สะอาด อาหารกินดี มี หญ้าแห้ง	โบโบ้		✓
				มะลิ		✓
				ปุยฝ้าย		✓
				สำลี		✓
17	คุณอุดม วงษ์หมื่น ที่อยู่ เลขที่ 34 ซ. ราษฎร์อุทิศ 19 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้น คอนกรีต มีทั้ง คอกเดี่ยวและ รวม หลังคามุง กระเบื้อง มีรั้ว ล้อมคอก	ค่อนข้าง สะอาด อาหารกินดี มี หญ้าแห้ง น้ำ กินสะอาด มี ก้อนแร่	GM17/1		✓
				GM17/2		✓
				GM17/3		✓
				GM17/4		✓
				GM17/5		✓
				GM17/6	✓	
				GM17/7	✓	
				GM17/8		✓
				GM17/9		✓
18	คุณสมศักดิ์ หวังเซ็น ที่อยู่ เลขที่ 23 หมู่ที่ 11 แขวง แสน แสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้น คอนกรีต มีทั้ง คอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุง กระเบื้อง	ค่อนข้าง สะอาด พื้น ด้านล่างมีขี้ แพะบางๆ อาหารกินดี มี หญ้าแห้ง น้ำ กินสะอาด มี ก้อนแร่	GM18/1		✓
				GM18/2		✓
				GM18/3		✓
				GM18/4		✓
				GM18/5		✓
				GM18/6	✓	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการ เก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
19	คุณมานิต มาเล็ญ ที่อยู่ เลขที่ 93 หมู่ที่ 11 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต มีทั้งคอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด พื้นด้านล่างมีขี้แพะบางๆ อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM 19/1		✓
				GM 19/2		✓
				GM 19/3		✓
				GM 19/4		✓
				GM 19/5		✓
				GM 19/6		✓
				GM 19/7		✓
				GM 19/8		✓
				GM 19/9		✓
				GM 19/10		✓
				GM 19/11	✓	
				GM 19/12		✓
				GM 19/13		✓
				GM 19/14		✓
				GM 19/15		✓
				GM 19/16		✓
				GM 19/17		✓
				GM 19/18		✓
				GM 19/19		✓
				GM 19/20		✓
				GM 19/21		✓
				GM 19/22		✓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการ เก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
				GM 19/23		✓
				GM 19/24		✓
				GM 19/25		✓
				GM 19/26		✓
				GM 19/27		✓
				GM 19/28		✓
20	คุณสมหวัง บินฮาซัน ที่อยู่ เลขที่ 16 ถนนราษอุทิศ 50 แขวงแสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต มีทั้งคอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด พื้นด้านล่างมีขี้แพะบางๆ อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM 20/1		✓
				GM 20/2		✓
				GM 20/3	✓	
				GM 20/4		✓
				GM 20/5		✓
				GM 20/6	✓	
				GM 20/7	✓	
				GM 20/8		✓
				GM 20/9		✓
				GM 20/10	✓	
				GM 20/11	✓	
				GM 20/12	✓	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการ เก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ ผู้	เพศ เมีย
21	คุณอภิชาติ ผางจันทร์ดา ที่อยู่ เลขที่ 153 ถนน ประชาร่วมใจ แขวง คลองสามวา เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต มีทั้งคอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด พื้นด้านล่างมีขี้แพะบางๆ อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM 21/1		✓
				GM 21/2		✓
				GM 21/3		✓
				GM 21/4		✓
				GM 21/5		✓
				GM 21/6		✓
				GM 21/7		✓
				GM 21/8		✓
				GM 21/9		✓
				GM 21/10		✓
				GM 21/11		✓
				GM 21/12		✓
				GM 21/13		✓
				GM 21/14		✓
				GM 21/15		✓
				GM 21/16	✓	
				GM 21/17	✓	
				GM 21/18	✓	
				GM 21/19		✓
22	คุณอำพร คุโนภาศ ที่อยู่ เลขที่ 241 หมู่ 13 เขต หนองจอก กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง พื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นปูน มีทั้งคอกเดี่ยวและรวม	สะอาด อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM 22/1		✓
				GM 22/2	✓	
				GM 22/3		✓
				GM 22/4		✓
				GM 22/5	✓	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
23	คุณวิจิตร สุขชัย ที่อยู่ เลขที่ 24 หมู่ 13 เขต หนองจอก กรุงเทพฯ	ยกสูง เป็นไม้ มีทั้งขังเดี่ยวและรวม หลังคามุงกระเบื้อง	สะอาด กินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM 23/1	✓	
				GM 23/2		✓
				GM 23/3		✓
				GM 23/4		✓
24	คุณสมนึก มาเลิศ ที่อยู่ เลขที่ 23/1 หมู่ 11 เขต หนองจอก กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต มีทั้งคอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด พื้นด้านล่างมีขี้แพะบางๆ อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM 24/1		✓
				GM 24/2		✓
				GM 24/3		✓
				GM 24/4		✓
				GM 24/5		✓
				GM 24/6		✓
				GM 24/7		✓
				GM 24/8		✓
				GM 24/9	✓	
				GM 24/10		✓
				GM 24/11		✓
				GM 24/12		✓
				GM 24/13		✓
				GM 24/14		✓
				GM 24/15		✓
				GM 24/16		✓
				GM 24/17		✓
				GM 24/18		✓
				GM 24/19		✓
				GM 24/20		✓

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
25	คุณมานิตย์ มาเลิศ ที่อยู่ เลขที่ 23/1 หมู่ 11 เขต หนองจอก กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต มีทั้งคอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด พื้นด้านล่างมีขี้แพะบางๆ อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM 25/1	✓	
				GM 25/2	✓	
				GM 25/3	✓	
				GM 25/4		✓
				GM 25/5		✓
				GM 25/6		✓
				GM 25/7		✓
				GM 25/8		✓
				GM 25/9		✓
				GM 25/10		✓
				GM 25/11		✓
				GM 25/12		✓
				GM 25/13		✓
				GM 25/14	✓	
				GM 25/15		✓
				GM 25/16		✓
26	คุณสมนึก เจ๊ะมะ ที่อยู่ เลขที่ 24 ซ.ราษฎร์อุทิศ 7/2 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้นคอนกรีต มีทั้งคอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุงกระเบื้อง	ค่อนข้างสะอาด พื้นด้านล่างมีขี้แพะบางๆ อาหารกินดี มีหญ้าแห้ง น้ำกินสะอาด มีก้อนแร่	GM 26/1		✓
				GM 26/2		✓
				GM 26/3		✓
				GM 26/4		✓
				GM 26/5		✓
				GM 26/6	✓	
				GM 26/7		✓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการ เก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
				GM 26/8		✓
				GM 26/9	✓	
				GM 26/10		✓
				GM 26/11		✓
				GM 26/12	✓	
				GM 26/13	✓	
				GM 26/14		✓
				GM 26/15	✓	
				GM 26/16		✓
				GM 26/17		✓
				GM 26/18		✓
				GM 26/19	✓	
27	081-4796247 ที่อยู่ เลขที่ 27 ซ.ราษฎร์อุทิศ 70 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้น คอนกรีต มีทั้ง คอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุง กระเบื้อง	ค่อนข้าง สะอาด พื้น ด้านล่างมีขี้ แพะบางๆ อาหารกินดี มี หญ้าแห้ง น้ำ กินสะอาด มี ก้อนแร่	GM 27/1	✓	
				GM 27/2		✓
				GM 27/3	✓	
				GM 27/4	✓	
				GM 27/5	✓	
				GM 27/6	✓	
				GM 27/7	✓	
				GM 27/8	✓	
				GM 27/9	✓	
				GM 27/10		✓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการ เก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
				GM 27/11		✓
				GM 27/12		✓
				GM 27/13		✓
				GM 27/14		✓
				GM 27/15		✓
				GM 27/16	✓	
				GM 27/17		✓
				GM 27/18	✓	
				GM 27/19		✓
28	คุณฟาติมะ บุญทวี ที่อยู่ หมู่ 17 แขวง แสนแสบ เขต มีนบุรี กรุงเทพฯ	โรงเรือนยกสูง เป็นพื้นไม้ ด้านล่างเป็นพื้น คอนกรีต มีทั้ง คอกขังเดี่ยว และคอกรวม หลังคามุง กระเบื้อง	ค่อนข้าง สะอาด พื้น ด้านล่างมีขี้ แพะบางๆ อาหารกินดี มี หญ้าแห้ง น้ำ กินสะอาด มี ก้อนแร่	GM 28/1	✓	
				GM 28/2		✓
				GM 28/3		✓
				GM 28/4	✓	
				GM 28/5		✓
				GM 28/6		✓
				GM 28/7	✓	
				GM 28/8	✓	
				GM 28/9		✓
				GM 28/10		✓
				GM 28/11		✓
				GM 28/12		✓
				GM 28/13		✓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

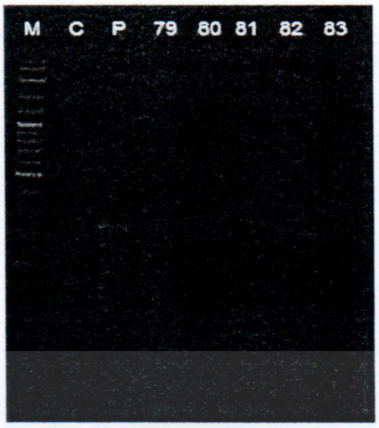
ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
				GM 28/14		✓
				GM 28/15		✓
				GM 28/16		✓
				GM 28/17	✓	
				GM 28/18	✓	
				GM 28/19		✓
				GM 28/20		✓
				GM 28/21	✓	
				GM 28/22		✓
				GM 28/23	✓	
				GM 28/24		✓
				GM 28/25		✓
				GM 28/26		✓
				GM 28/27		✓
				GM 28/28		✓
				GM 28/29		✓
				GM 28/30		✓
				GM 28/31		✓
				GM 28/32		✓
				GM 28/33		✓
				GM 28/34		✓
				GM 28/35		✓

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GM11 (5)

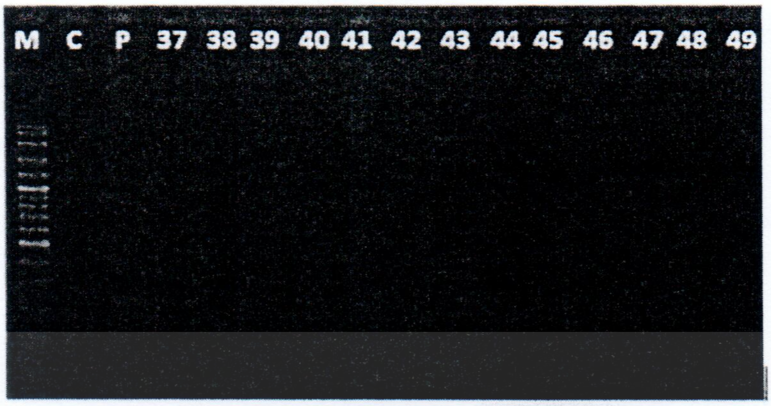


GM12 (11) + GM13 (3)

GM14 (40)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GM4 (7) + GM5 (6)



GM6 (9) + GM7 (5)

GM8 (5) + GM9 (5) + GM10 (5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ตารางการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัว (ต่อ)

ลำดับที่	ฟาร์ม	ลักษณะฟาร์ม	การดูแล	หมายเลขตัวอย่าง	เพศ	
					ผู้	เมีย
				GM 28/36		✓
				GM 28/37		✓
				GM 28/38		✓
				GM 28/39		✓
				GM 28/40		✓
				GM 28/41		✓
				GM 28/42		✓
				GM 28/43	✓	
				GM 28/44	✓	
				GM 28/45		✓
				GM 28/46		✓
				GM 28/47		✓
				GM 28/48		✓
				GM 28/49		✓
				GM 28/50		✓
				GM 28/51		✓
				GM 28/52		✓
				GM 28/53		✓
				GM 28/54		✓
				GM 28/55		✓

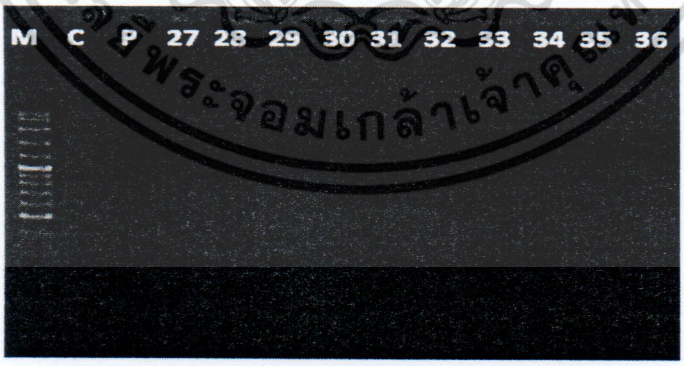
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพผนวกที่ 1 ผลการตรวจหาเชื้อ *Theileria* spp. ในเลือดแพะจำนวน 355 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค PCR

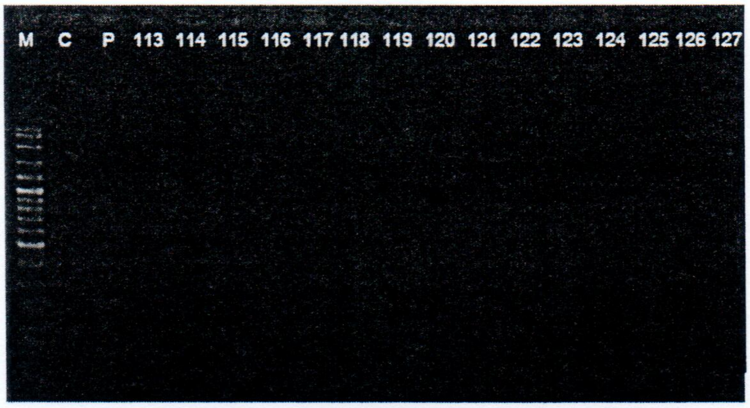
GM1 (10)

GM2 (16)

GM3 (10)

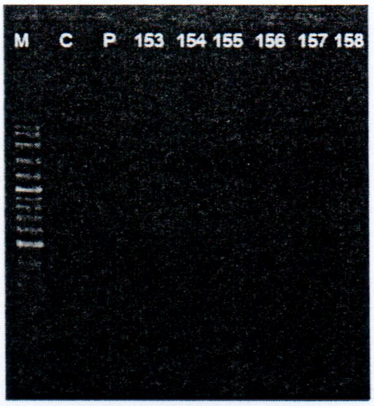


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



GM15 (2) + GM16 (4) + GM17 (9) + GM18 (6)

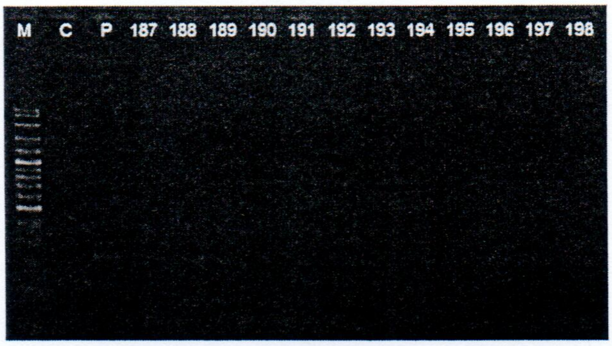
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



GM19 (28)

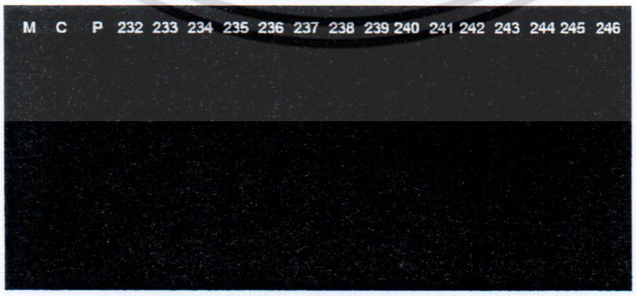
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GM20 (12)



GM 21 (19)

GM 22 (5) + GM 23 (4) + GM24 (20)



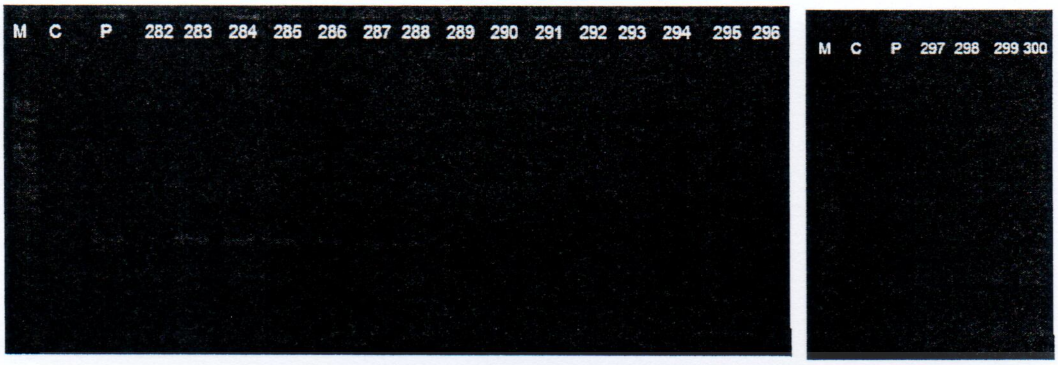
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GM25 (16)

GM26 (19)

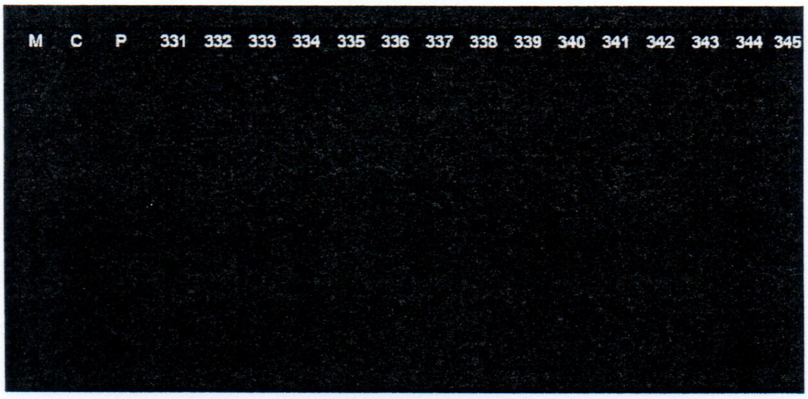
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GM27 (19)



GM28 (55)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร

AGRICULTURAL SCIENCE JOURNAL

ISSN 0125-0369

ปีที่ 48 ฉบับที่ 2 (พิเศษ) เดือนพฤษภาคม-สิงหาคม 2560

Vol. 48 No. 2 (Suppl.) May-August 2017

http://agscij.agr.ku.ac.th

การประชุมวิชาการ

สัตวศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 6

The 6th National Animal Science Annual Conference of Thailand 2017 (ASAC 2017) เรื่องเต็ม (FULL PAPER)

งานวิจัยปศุสัตว์ไทยสร้างนวัตกรรมใหม่สู่ประเทศไทย 4.0

Livestock Research and Innovation for Thailand 4.0

22 - 23 มิถุนายน 2560

ณ สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม กำแพงแสน

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม

BETAGRO

SUNGROUP

TVO

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจหาเชื้อ *Theileria* spp. ในแพะเขตมีนบุรี,กรุงเทพมหานคร ด้วย PCR

Detection of *Theileria* spp. in Goats from Minburi District, Bangkok using PCR

กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์[1*] และสมภพ เนื่องจากนาค[1]
Kanokrat Srikijkasemwat[1] and Somphop Nueangjaknak[1]

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
Department of Animal Production Technology and Fishery, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520
*Corresponding author: kanokrat.sr@kmitl.ac.th

บทคัดย่อ

โรคไทเลอริโอซิส (Theileriosis) เกิดจากเชื้อโปรโตซัวไทเลอเรีย (*Theileria* spp.) การติดต่อจะส่งเชื้อผ่านทางต่อมน้ำลายของเห็บ ก่อปัญหาต่อสุขภาพสัตว์และนำไปสู่ความสูญเสียทางเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมการผลิตปศุสัตว์ เนื่องจากการติดเชื้อในสัตว์ที่อยู่ในภาวะเครียดทำให้เกิดอาการป่วยรุนแรง เกิดโรคโลหิตจาง มีไข้สูง ดีซ่าน ต่อมน้ำเหลืองบวมขยายใหญ่ อ่อนเพลีย ปริมาณเนื้อและน้ำนมลด การตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้องจะทำให้ช่วยป้องกันความเสียหายที่จะเกิดในฟาร์มได้ การศึกษาครั้งนี้เก็บตัวอย่างเลือดแพะจากฟาร์มของเกษตรกรรายย่อยในเขตพื้นที่มีนบุรีระหว่างเดือนสิงหาคม-ธันวาคม 2559 จำนวน 28 ฟาร์ม ทั้งหมด 355 ตัวอย่าง มีตัวอย่างเลือดที่พบเชื้อ *Theileria* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์ (Thin blood film) อยู่ 12.39 % (44/355) แต่เมื่อนำเลือดแพะไปสกัดสารพันธุกรรมแล้วใช้เทคนิค PCR เพิ่มจำนวนชิ้นยีนบริเวณ 18S rRNA พบว่าให้ผลบวกมากกว่าถึง 22.53% (80/355)โดยพบแถบสารพันธุกรรมขนาด 230 bp แสดงให้เห็นถึงความไวของเทคนิค PCR ซึ่งเป็นประโยชน์ในการตรวจวินิจฉัยโรคได้ดีเพื่อให้สัตวแพทย์ได้วางแผนจัดการและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคได้ทันท่วงที

คำสำคัญ: พยาธิในเลือด, ไทเลอริโอซิส, เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่, แพะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

Theileriosis is caused by *theileria* spp. and transmitted by the saliva of infected ticks. Theileriosis causes animal health problems, leading to an economic loss in the livestock industry. An infection in stressed animals causes severe illness, anemia, high fever, jaundice, lymph node swelling, fatigue, decreases the amount of meat and milk reduces. Proper diagnostics will help prevent damages to farms. In this study, blood samples were collected from 355 goats from 28 farms during August-December 2016 in Minburi District, Bangkok. *Theileria* spp. were found in 12.39 % (44/355) of blood smears. The DNA was extracted from each sample and the molecular assay was employed for one set of primers for specific amplification of the 18S rRNA gene. The overall infection was 22.53 % (80/355) with the PCR product at 230 bp. This demonstrates the sensitivity of this technique, which is useful for the diagnosis of the disease so that veterinarians can plan, manage and control the spread of the disease.

Keywords: blood parasites, Theileriosis, PCR technique, blood smear, goats

บทนำ

โรคไทเลอริโอซิส (Theileriosis) เกิดจากเชื้อโปรโตซัว *Theileria* spp. ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวมีรูปร่างแตกต่างกันไป โดยบางชนิดมีรูปร่างกลม (round) รูปไข่ (oval) รูปคอมม่า (comma) และรูปแท่ง (rod) หรือบุหรี่ซิการ์ (cigar-shape) ดำรงชีวิตเป็นปรสิตในเลือด (blood parasite) ซึ่งจะพบในเม็ดเลือดแดงของสัตว์เป็นส่วนใหญ่โดยเฉพาะสัตว์เคี้ยวเอื้อง อาทิเช่น โค กระบือ ควายไบซัน รวมทั้งสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก ได้แก่ แพะ และแกะ โดยทั่วไปสามารถจัดกลุ่มเชื้อ *Theileria* spp. คือ กลุ่มเชื้อที่ก่อความรุนแรง (malignant lymphoproliferative theileriosis) มี 2 ชนิด ได้แก่ *Theileria annulata* และ *T. parva* ก่อให้เกิดอัตราการตายและอัตราการป่วยสูง (Bishop *et al*. 2004) เนื่องจากเชื้อมีการเพิ่มปริมาณในต่อมน้ำเหลือง ก่อนเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต โดยพบการแพร่ระบาดในพื้นที่แอฟริกา และกลุ่มเชื้อที่ไม่ก่อความรุนแรง (benign theileriosis) ได้แก่ *T. Sergenti* , *T. buffeli, T. orientalis* พบการแพร่ระบาดในเขตเอเชีย ออสเตรเลียและรัสเซีย (Chansiri *et al.* 1999) โดยเชื้อทั้ง 2 กลุ่มนี้มีเห็บเป็นพาหะนำเชื้อ *Theileria* spp. ซึ่งการติดต่อจะส่งเชื้อผ่านทางต่อมน้ำลายของเห็บ หากมีการติดเชื้อในสัตว์ที่อยู่ในภาวะเครียดทำให้เกิดอาการป่วยรุนแรง เกิดโรคโลหิตจาง มีไข้สูง ดีซ่าน ต่อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำเหลืองบวมขยายใหญ่ อ่อนเพลีย ปริมาณเนื้อและน้ำนมลด (Aparna *et al.* 2011) การตรวจเชื้อโดยการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยวิธี Polymerase chain reaction (PCR) เป็นวิธีที่ตรวจได้รวดเร็วและแม่นยำเมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยการตรวจหายีน 18S rRNA ของเชื้อจากเลือดแพะ ทำให้สามารถทราบถึงปริมาณการแพร่กระจายของเชื้อ *Theileria* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค Theileriosis เพื่อวางแผนการควบคุมและป้องกันการแพร่กระจายโรคดังกล่าวได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากเส้นเลือดดำบริเวณคอของแพะ ในเขตพื้นที่มีนบุรีระหว่างเดือนสิงหาคม ถึง ธันวาคม 2559 จาก 28 ฟาร์ม จำนวนรวม 355 ตัว ทั้งนี้เนื่องจากเป็นฟาร์มเกษตรกรรายย่อยจึงเก็บทุกตัวในฟาร์ม โดยเน้นการกระจายตัวของตัวอย่างจากการเลือกฟาร์มให้กระจายทั่วพื้นที่เขตมีนบุรี ซึ่งตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บใส่หลอดที่มี EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด สำหรับนำมาทำฟิล์มเลือดและเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C สำหรับสกัดสารพันธุกรรมต่อไป

การตรวจหาเชื้อ *Theileria spp.* ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์

นำตัวอย่างเลือดมาตรวจหาเชื้อ *Theileria spp.* ภายใน 24 ชั่วโมง หยดลงบนสไลด์แก้วแล้วเสมียร์เป็นรูปหัวกระสุน โบกแผ่นฟิล์มเลือดที่ได้ให้แห้งอย่างรวดเร็ว จากนั้นจุ่มลงใน methanol 95% เพื่อ fix ฟิล์มเลือด แล้วย้อมด้วยสีย้อม Wright-Giemsa จึงนำมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100x.

การสกัดสารพันธุกรรม (DNA extraction)

นำตัวอย่างเลือด 300 µl ผสมกับสารละลาย D-Solution 500 µl (4M guanidium-thiocyanate, 25mM sodium citrate pH 7, 0.1M 2-mercaptoethanol, 0.5% N-lauroylsarcosine) จากนั้นเขย่า 5—10 นาที แยกโปรตีนด้วย Phenol-Chloroform 150 µl แล้วตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย ethanol 600 µl ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Sambrook *et al.* (2001) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer (50mM Tris pH 8.0, 1 mM EDTA) เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 °C ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (DNA amplification)

การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อ *Theileria* spp. ด้วย PCR โดยใช้ ไพรเมอร์ (primer) ที่มีความจำเพาะต่อยีน 18S rRNA ของเชื้อ *Theileria* spp. ประกอบด้วย forward primer 5’- GGTAATTCCAGCTCCAATAG -3’ และ reverse primer 5’- ACCAACAAAATAGAACCA AAGTC -3’ ซึ่งให้ผลผลิต PCR ขนาด 230 bp. (Sibeko *et al*., 2008) และส่วนประกอบสารละลายปริมาตรรวม 20 µl ประกอบด้วย 1x buffer (10 mM Tris-HCL pH 8.8, 50 mM KCl และ 0.1 Triton X-100), 1.5mM $MgCl_2$, 2pmol แต่ละไพรเมอร์, 0.2 mM dNTP, 1.0 Units Taq DNA polymerase และดีเอ็นเอ 1 µl แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หลังจากนั้นเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง PCR (MyCycler TM thermal cycler: Biometra, Germany) โดยทำการแยกสายดีเอนเอ 1 รอบที่อุณหภูมิ 95 °C เวลา 3 นาที เพิ่มจำนวนดีเอนเอเป้าหมายจำนวน 35 รอบโดย denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C เวลา 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ 55 °C เวลา 1 นาที และ extention ที่อุณหภูมิ 72 °C เวลา 1 นาที และสร้างสายดีเอนเอให้สมบูรณ์จำนวน 1 รอบที่อุณหภูมิ 72 °C เวลา 10 นาที จากนั้นวิเคราะห์ขนาดผลผลิต PCR ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจลความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับ 100 โวลต์เป็นเวลา 40 นาที แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต ผ่านเครื่อง Gel documentation

ผลการทดลองและวิจารณ์

การตรวจสอบการติดเชื้อ *Theileria spp.* ในเลือดตัวอย่างด้วยวิธีฟิล์มเลือด และ PCR

จากการตรวจสอบการติดเชื้อในเลือดแพะทั้งหมดพบว่า การตรวจด้วยเทคนิคแผ่นฟิล์มเลือดบางพบ มีการติดเชื้อ *Theileria* spp. อยู่ 44 ตัว จากทั้งหมด 355 ตัว คิดเป็น 12.39 % โดยพบ 8 ฟาร์ม จาก 28 ฟาร์ม คิดเป็น 28.57 % เมื่อนำตัวอย่างเลือดแพะทั้งหมด 355 ตัวอย่างมาสกัดสารพันธุกรรม แล้วตรวจหาเชื้อ *Theileria* spp. ด้วยวิธี PCR พบว่ามีตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อบริเวณยีน 18S rRNA จำนวน 80 ตัวอย่าง คิดเป็น 22.53% ซึ่งพบจาก 16 ฟาร์มจาก 28 ฟาร์ม คิดเป็น 57.14 % โดยพบแถบ DNA ขนาดประมาณ 230 bp (Figure 1) การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิในเลือดในไทยส่วนใหญ่จะใช้วิธีการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์ เนื่องจากทำได้สะดวก รวดเร็วและราคาถูก แต่มักมีข้อจำกัดโดยเฉพาะในกรณีที่สัตว์ไม่แสดงอาการของโรค อาจจะมีจำนวนเชื้อในกระแสเลือดไม่มากพอที่จะตรวจพบด้วยวิธีนี้ อีกทั้งในกรณีของเชื้อ *Theileria spp.* ที่สังเกตุค่อนข้างยากเนื่องจากมีระยะที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างแตกต่างกันตั้งแต่ หยดน้ำ กลม รี รูปแท่ง รูปคอมม่า หรือรูปร่างไม่แน่นอน นอกจากนี้รูปร่างของปรสิตในเม็ดเลือดแดงในตระกูลนี้มีลักษณะคล้ายคลึงกันจนไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถจำแนกชนิดได้ จึงต้องอาศัยลักษณะของโรค และระบาดวิทยาในการจำแนกชนิด (Salakij, 2005; Taweenan, 2004) ผลการตรวจเชื้อ *Theileria* *spp.* ในครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบผลจากทั้งสองวิธีให้ผลแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Saetiew *et al.* (2015) ที่ตรวจการติดเชื้อ *Theileria* *spp.* ในโคเนื้อบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระ จังหวัดกาญจนบุรีด้วยวิธีการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์ แล้วไม่พบการติดเชื้อในตัวอย่างเลือด แต่เมื่อใช้เทคนิค PCR กลับพบถึง 10.74% จากจำนวน 121 ตัวอย่าง เช่นเดียวกับ Sriwarothai *et al.* (2008) ได้ทำการตรวจหาโรคไข้เห็บโดยวิธี PCR ในโคนมพันธุ์ TMZจำนวน 200 ตัวที่ไม่ได้รับยาฆ่าพยาธิในเลือดเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การตรวจหาเชื้อ *A. maginale*, *B. bovis* และ *B. bigemina* ด้วยวิธี PCR มีความถูกต้องแม่นยำมากกว่าการตรวจด้วยวิธีการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์ และไม่พบความแตกต่างของตำแหน่งของการเก็บตัวอย่างเลือดต่อเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่าการตรวจด้วยเทคนิค PCR มีประสิทธิภาพดีกว่าการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์ถึง 3 เท่าจากการตรวจเชื้อ *Trypanosoma* *evensi* โดยมีค่า percent efficacy เท่ากับ 16 และ 5% ตามลำดับ (Muieed *et al.*, 2008)

Figure1 PCR amplification of 230 bp fragment of 18S rRNA of *Theileria* spp. ; laneM : DNA maker 100 bp plus, lane 1: negative control, lane 2 = positive control (230 bp), lane 4 — 9, 11 = positive bands from field sample.

สรุป

การตรวจหาเชื้อ *Theileria* *spp.* ในเลือดแพะด้วยเทคนิค PCR โดยเพิ่มจำนวนชิ้นยีนบริเวณ 18S rRNA พบตัวอย่างที่ผลบวก 22.53% (80/355) ซึ่งแสดงผลที่ให้ความจำเพาะและมีความไวต่อเชื้อมากกว่าการใช้เทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์ ทั้งนี้เทคนิค PCR เป็นการตรวจโดยตรงจาก DNA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเชื้อทำให้มีความไวสูงซึ่งแม้มี DNA ของเชื้อในปริมาณน้อยดังเช่นกรณีที่เพิ่งเริ่มได้รับเชื้อ หรือการที่สัตว์เป็นพาหะของเชื้อจะตรวจพบได้เนื่องจากกระบวนการ PCR มีการเพิ่มจำนวนสาย DNA บริเวณยีนที่สนใจให้เพิ่มจำนวนขึ้นจนสามารถตรวจพบได้ แต่การตรวจโดยใช้ฟิล์มเลือดเป็นการตรวจโดยใช้ตาเปล่าดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จึงและต้องใช้ความเชี่ยวชาญในการตรวจอีกทั้งหากการติดเชื้อของตัวอย่างนั้นๆยังอยู่ในระดับต่ำโอกาสที่จะตรวจพบจะน้อยลง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้เป็นอย่างดีโดยได้รับความกรุณาจากปศุสัตว์พื้นที่ 2 และ ชมรมผู้เลี้ยงแพะแกะมีนบุรีคลองสามวาในการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ และขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มอบทุนสนับสนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

เอกสารอ้างอิง

Aparna, M., R. Ravindran, M.B. Vimalkumar, B. Lakshmanan, P. Rameshkumar, K.G. Kumar, K. Promod, S. Ajithkumar, C. Ravishankar, K. Devada, H. Subramanian, A.J. George, and S. Ghosh. 2011. Molecular characterization of *Theileria orientalis* causing fatal infection in crossbred adult bovines of South India. Int. Parasitol. 60: 524-529.

Bishop, R., A. Musoke, S. Morzaria, M. Gardner, and V. Nene. 2004. *Theileria*: intracellular protozoan parasites of wild and domestic ruminants transmitted by ixodid ticks. Parasitol. 129: S271–S283.

Chansiri, K., S. Kawazu, T. Kamio, Y. Terada, K. Fujisaki, H. Philippe and N. Sarataphan. 1999. Molecular phylogenetic studies on Theileria parasites based on small subunit ribosomal RNA gene sequences. Vet. Parasitol. 83: 99–105.

Muieed, M.A., Z.I. Chaudhary and A.R. Shakoori. 2008. Comparative studies on the sensitivity of polymerase chain reaction and microscopic examination for the detection of *Trypanosoma evensi* in houses. Turk. J. Vet. Anim.Sci. 34 (6):507-512.

Saetiew, N., P. Simking, N. Yatbantoong, W. Ninphet, P. Laosomboon, P Pumrojana and S. Jittapalapong. 2015. Prevalence and Risk Factors of Anaplasma marginale

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Infections in Beef Cattle in Salakpra Wildlife Sanctuary, Kanchanaburi Province. J. Mahanakorn Vet. Med. 10(2): 69-80.

Salakij, C. 2005. Veterinary hematology. Office of Extension and Training, Kasetsart University, Nakhon Pathom. 664 pp. (in Thai)

Sambrook, J. and D.W. Russell. 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York. 2100 pp.

Sibeko, K.P., M.C. Oosthuizen, N.E. Collins, D. Geysen, N.E. Rambritch, A.A. Latif, H.T. Groeneveld, F.T. Potgieter and J.A.W. Coetzer. 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. Vet. Parasitol. 155: 37–48.

Taweenan, W. 2004. Ruminant medicine. Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen. (in Thai)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.บ.	เกษตรศาสตร์	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	2537
วท.ม.	เทคโนโลยีชีวภาพ	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	2540
ปร.ด.	เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2549

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) สาขาสัตวศาสตร์และอณูชีววิทยา

รางวัลด้านวิชาการ/ด้านวิจัย/งานสร้างสรรค์ (ด้านศิลปะ หรืออื่นๆ) ที่ได้รับ

ปี พ.ศ.	ชื่อรางวัล	สถาบันที่ให้

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2557	การพัฒนาระบบการเลี้ยงแพะเพื่อยกระดับการเลี้ยงแพะของเกษตรกรในจังหวัดชายแดนด้านตะวันออก	สกอ.

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)..

กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ และ สมภพ เนื่องจากนาค. 2560. การตรวจหาเชื้อ Theileria spp.ในแพะเขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร ด้วย PCR. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 48(2): 975-981.

กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ อำพล กล่อมปัญญา รณชัย สิทธิไกรพงษ์ และกานต์ สุขสุแพทย์. 2560. การประเมินค่าการใช้ประโยชน์ได้แบบปรากฏทางโภชนะของปลาป่นเกรดทางการค้าในไก่เนื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 48(2): 382-388.

กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ อำพล กล่อมปัญญา และ กานต์ สุขสุแพทย์. 2559. การประเมินคุณภาพและการตรวจการปลอมปนในปลาป่นที่ใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์. สัตวแพทย์มหานครสาร. 6(2):91-100.

ชนาธิป ธรรมการ กัญญา จิระเจริญรัตน์ และกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2554. การแยกเพศและลำดับเบสบางส่วนของยีน Chromo-Helicase-DNA-Binding ในนกปากขอ 3 ชนิด. สัตวแพทย์มหานครสาร. 6(2):19-28.

ไพฑูล แก้วหอม เจนจิรา เจริญสุข สิริเชษฐ์ รัตนะชิตรวัช พัชรวดี พูลสำราญ อัจฉรา ลักษณานุกูล กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ จำลอง มิตรชาวไทย และทวนทอง อาจรักษา. 2560. ความชุกของเชื้อ Anaplasma marginale ของแพะในอำเภอวัฒนานครจังหวัดสระแก้ว. วารสารวิทยา ศาสตร์เกษตร. 48(2): 968-974.

ศันสนีย์ มุ่งอุ่นกลาง และกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2560. ความชุกของพยาธิ(Babesia bigemina)ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 48(2): 939-945.

Sangsoponjit,S., Suphalucksana W. and K. Srikijkasemwat. 2017. Effect of feeding sunflower meal on the performance and carcass characteristics of broiler chickens. Chemical Engineering Transections. 58: in press

Suphalucksana, W., Sangsoponjit S. and K. Srikijkasemwat. 2017. Using Leucaena to improve the quality of pineapple plant silage. Chemical Engineering Transections. 58: in press

การเสนอผลงานวิชาการ

กรวรรณ โชระเวก และ กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2558. การตรวจหาเชื้อ Babesia bigemina ใน:เลือดแพะในเขตพื้นที่ชายแดนด้านตะวันออกระหว่างประเทศไทยกับกัมพูชาโดยเทคนิคเนสเตทท์พีซีอาร์. ใน:รายงานผลการวิจัยการประชุมทางวิชาการเกษตรพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ครั้งที่ 3 วันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2558.หน้า 36-40.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทิพาภรณ์ งามสง่าจุฑาทิพย์ เฉลิมวานิชย์วงษ์ กานต์ สุขสุแพทย์ กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ และ กัญญา จิระเจริญรัตน์. 2556. การประเมินกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่ผลิตโดยแบคทีเรียจากกระเพาะหมักของกระบือ. ใน:รายงานผลการวิจัยการประชุมทางวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 29 วันที่ 24-25 ตุลาคม 2556.หน้า 1121-1125.

ปัทมาพร จิตปรีดา อพัชชา จินดาประเสริฐ กัญญา จิระเจริญรัตน์, คมแข พิลาสมบัติ และกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์.2555.ใน:รายงานผลการวิจัยการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้ง ที่ 3 วันที่ 21-22 มิถุนายน 2555: 119-125

ศันสนีย์ มุ่งอุ่นกลาง ไพทูล แก้วหอม ปรีดา เลิศวัชระสารกุล และกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2557. การตรวจหาเชื้อ Babesia bigemina ในเลือดโคกระบือในเขตพื้นที่ชายแดนด้านตะวันออกระหว่างประเทศไทยกัมพูชา โดยเทคนิคเนสเตทท์พีซีอาร์. ใน:รายงานผลการวิจัย การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 5 วันที่ 25-26 กรกฎาคม 2557.

Booppata,M. ,Jindaprasert,A., Jirajaroenrat K. and K. Srikijkasemwat.2011. Selection of Cellulase and Xylanase Producing Bacteria from Buffalo Rumen. Fer4P34(CD) In Proceedings Of the 4th International Conference on Fermentationon Technology for the Value Added Agricultural Production 29-31 August,2011. Khonkaen, Thailand.

Jirajaroenrat, K., Chalermwanichwong J., Ngamsnga T. and K. Srikijkasemwat. 2015. Optimization of Culture Conditions of Bacteria Isolated from Buffalo Rumen for Cellulase and Xylanase Production. In 2nd International Symposium on Agricultural Technology,1-3 July 2015. Bangkok, Thailand.

Kaewhom, P. and K. Srikijkasemwat. 2016. Prevalence of Trypanosoma evansi Infection among Cattle and Buffalo from Sa Kaeo Province, Eastern Border Area of Thailand-Cambodia.2016. In The 17th Asian-Australasian Association of Animal Production Societies Animal Science Congress. 22-25 August, 2016. Fukuoka, Japan.

Kaewhom, P., Jirajaroenrat K. and K. Srikijkasemwat. 2014. Isolation and Identification of Amylolytic Bacteria from Swine Feces. In 3rd International Conference Life Science& Biological Engineering, 22-24 July 2014. Hokkaido, Japan.

Srikijkasemwat, K., Jitpreeda, P., Jindaorasert, A. and Jirajaroenrat K. 2014. Rapid identification of Lactic Acid Bacteria from Buffalo Rumen by 16S rRNA generated, RAPD-PCR fingerprint

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

databases. In 3rd International Conference Life Science& Biological Engineering, 22-24 July 2014. Hokkaido, Japan.

Srikijkasemwat, K. and K. Jirajaroenrat. 2015. Optimization for the Amylase Activity by Novel Starch Degrading Bacteria Isolated from Swine Feces. In Environmentally friendly agriculture and forestry for future generations XXXVI CIOSTA CIGR V Conference 2015, 26-28 May 2015.St Petersburg, Russia.

ผลงานสิทธิบัตร/สิ่งประดิษฐ์/งานสร้างสรรค์ (ศิลปะ หรือ อื่นๆ)

....

....

....

อื่นๆ

....

....

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้ช่วยวิจัย

ชื่อ - นามสกุล นายสมภพ เนื่องจากนาค

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา/แขนง	สถานที่จบ	ปีที่จบ
วท.บ. (เกษตรศาสตร์)	เกษตรศาสตร์ (กลุ่มเทคโนโลยีการผลิตสัตว์)	มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว	2558

การเสนอผลงานวิชาการ

สมภพ เนื่องจากนาค. 2557. การวิเคราะห์โภชนะของอาหารโคเนื้อในจังหวัดสระแก้ว. **ปัญหาพิเศษ**. สาขาเกษตรศาสตร์, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยบูรพาวิทยาเขตสระแก้ว, สระแก้ว. 41 น.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

149089

T149089

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้