

## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความชุกของพยาธิ (*Babesia bigemina*) ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี  
Prevalence of Goats Blood Parasites (*Babesia bigemina*) in Minburi Area.

ผศ.ดร.กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์  
นางสาวศันสนีย์ มุ่งอุ้นกลาง

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป (เงินรายได้)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2559

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความชุกของพยาธิ (*Babesia bigemina*) ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี  
Prevalence of Goats Blood Parasites (*Babesia bigemina*) in Minburi Area.

ผศ.ดร.กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์  
นางสาวศันสนีย์ มุ่งอุ้นกลาง

b.....12861790.....  
i.....

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป (เงินรายได้)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2559

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH

ก125ค

2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ที่ละเมิดลิขสิทธิ์ให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

147855  
สงวนลิขสิทธิ์ 115 ก.อ. 2560

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ความชุกของพยาธิ (*Babesia bigemina*) ในเลือดแพะ ในเขตพื้นที่มีนบุรี  
แหล่งเงิน ทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประเภท

เงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร รหัสโครงการ 2559-01-04-017 เลขที่สัญญา A118-59

ประจำปีงบประมาณ 2559 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 100,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 กันยายน 2558 ถึง 1 ตุลาคม 2559

## 1. หัวหน้าโครงการ

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) ดร. กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์  
ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง หน่วยงานต้นสังกัด คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล.

โทรศัพท์(ที่ติดต่อได้สะดวกที่สุด) 085-4297700 E-mail kskanokrat@yahoo.com

## 2. ผู้ร่วมโครงการ

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) คันสนีย์ มุ่งอุ่นกลาง ภาควิชา/สาขาวิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช  
หน่วยงานต้นสังกัด คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล.

โทรศัพท์(ที่ติดต่อได้สะดวกที่สุด) 084-328-4905 E-mail nee\_sweetsalt@hotmail.com

## บทคัดย่อ

เชื้อโปรโตซัวสายพันธุ์ *Babesia bigemina* เป็นเชื้อก่อโรคที่มีความสำคัญกับปศุสัตว์ในประเทศไทย ซึ่งสร้างความเสียหายต่อสุขภาพสัตว์และทำให้ผลผลิตน้ำนมลดลง โดยมีพาหะคือเห็บการศึกษาในครั้งนี้ได้ศึกษาความชุกของพยาธิ(*B. bigemina*) ในเลือดแพะ คณะอายุและแพศ โดยเก็บตัวอย่างจากฟาร์มของเกษตรกรรายย่อยในเขตพื้นที่มีนบุรี จำนวนทั้งสิ้น 28 ฟาร์ม โดยใช้เข็มเบอร์ 21 เจาะเลือดจากเส้นเลือดที่บริเวณคอของแพะรวมทั้งสิ้น 355 ตัวอย่าง แล้วนำเลือดมาตรวจสอบหาพยาธิในเม็ดเลือดโดยการทำฟิล์มเลือดบาง (Thin blood film) และทำการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนยีน rap-1 จาก DNA ของเชื้อ *B. bigemina* โดยปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase chain reaction, PCR) การตรวจสอบการติดเชื้อในเลือดแพะตัวอย่าง พบว่ามี 8 ตัวอย่าง ที่ให้ผลบวกกับการตรวจสอบหาเชื้อ *B. bigemina* โดยเทคนิค PCR คิดเป็นความชุกได้ 2.25% ในขณะที่การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์พบ 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 0.84% ที่ให้ผลบวก และพบปรสิตชนิดอื่นๆ 104 ตัวอย่าง คิดเป็น 29.29% ส่วนจำนวนแพะที่ไม่พบปรสิตในเลือดชนิดใดเลย มีทั้งสิ้น 248 ตัวอย่าง คิดเป็น 69.85% ผลการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าเริ่มพบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในแพะของเขตมีนบุรี ซึ่งมักไม่ค่อยพบการติดเชื้อในแพะแต่จะพบมากในโคและกระบือ

คำสำคัญ : พยาธิในเม็ดเลือด, บาบิเซีย ไบเจมิน่า, เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่, แพะ  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Prevalence of Goats Blood Parasites (*Babesia bigemina*) in Minburi Area.

Researcher: Miss Sansanee Mungunklang

Faculty: Agricultural Technology

Department: King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

## ABSTRACT

The protozoan parasites *B. bigemina* is one of the important disease affected livestock development in Thailand. This disease hampered the livestock industry which is wide spread by the tick. In this study, the prevalence of goats blood parasite (*B. bigemina*) were kept from random aged and sex goats of small holders whom are the member in Minburi area. The samples were collected from vein by using needle No. 21 were collected the total of 355 samples. These blood samples were making thin blood film coloring with Giemsa stain and using the nested PCR with the specific rap1 gene of *B. bigemina*. By the PCR method found 8 of 355 blood samples showed positive reactions calculated prevalence is 2.25 %, while blood samples were detected by microscopic examination found 3 samples showed positive reactions calculated prevalence is 0.84 % and found other parasites 104 sample (29.29%) There are 248 samples (69.85%) which not infected Thus it is concluded that there was alarming prevalence of *B. bigemina* that found small amount of infected goats but high prevalence in cattle. Farmer should establish proper thick control.

**Keywords:** blood parasites, *Babesia bigemina*, PCR technique, rap-1, goats

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้เป็นอย่างดีโดยได้รับความกรุณาจาก ปศุสัตว์พื้นที่ 2 และ ชมรมผู้เลี้ยงแพะแกะมีนบุรีคลองสามวา ที่ได้กรุณาให้ความรู้ความร่วมมือและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยมาโดยตลอด คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงและรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประเภทเงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 รหัสโครงการ 2559-01-04-017 เลขที่สัญญา A118-59

กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์  
ศันสนีย์ มุ่งอุ้นกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.4 สถานที่ดำเนินการวิจัย.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
3.1 การเก็บตัวอย่าง.....	20
3.2 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยวิธีฟิล์มเลือด.....	20
3.3 การสกัดดีเอ็นเอ.....	21
3.4 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยวิธี PCR.....	22
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	22
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล.....	23
4.1 การตรวจสอบการติดเชื้อ <i>B. bigemina</i> ในเลือดตัวอย่างด้วยวิธีฟิล์มเลือด.....	23
4.2 การตรวจสอบการติดเชื้อ <i>B. bigemina</i> ในเลือดตัวอย่างด้วยวิธี PCR.....	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	28
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	28
บทที่ 6	
6.1 สรุปผลผลิตที่ได้จากการวิจัย.....	29
เอกสารอ้างอิง.....	30
ภาคผนวก ก.....	33
ภาคผนวก ข.....	45
ประวัติคณบดีนักวิจัย.....	46



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงผลการตรวจเลือดแพะ จำนวน 356 ตัวอย่าง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100x.....	25
4.2 ผลการตรวจสอบเชื้อ <i>B. bigemina</i> ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรีจำนวน 355 ตัวอย่างที่เก็บ ในระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2558 ถึง เดือนเมษายน พ.ศ. 2559 โดยเทคนิค PCR กับการ ตรวจสอบโดยกล้องจุลทรรศน์.....	25



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ลักษณะของเชื้อ <i>Babesia</i> spp. ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง.....	7
2.2 แสดงชีพจักรของ <i>Babesia</i> spp.....	8
2.3 เห็นเพศเมียที่ดูดเลือดจนเป่ง (engorge) .....	9
2.4 ลักษณะภายนอกของเห็บตัวเต็มวัยขณะดูดกินเลือดบนผิวหนังสัตว์.....	9
2.5 แสดงกระบวนการ nestedPCR.....	17
3.1 การเก็บตัวอย่าง.....	20
3.2 การทำฟิล์มเลือด.....	21
3.3 กาสกัดดีเอ็นเอ.....	21
4.1 ตัวอย่างเลือดแพะที่ตรวจพบพยาธิในเม็ดเลือดชนิด <i>B. bigemina</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย100x.....	23
4.2 ตัวอย่างเลือดแพะที่ตรวจพบพยาธิในเม็ดเลือดชนิดต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย100x.....	23
4.3 ตัวอย่างเลือดแพะที่ตรวจไม่พบพยาธิในเม็ดเลือด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100x.....	24
4.4 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> .....	24
<b>ภาพผนวกที่</b>	
6.1 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 1-15.....	34
6.2 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 16-30.....	34
6.3 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 31-45.....	34
6.4 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 46-60.....	35
6.5 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 61-75.....	35
6.6 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 76-90.....	35
6.7 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 91-105.....	36
6.8 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 106-120.....	36
6.9 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 121-135.....	36
6.10 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 136-150.....	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
6.11 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 151-165.....	37
6.12 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 166-180.....	37
6.13 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 181-195.....	38
6.14 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 196-210.....	38
6.15 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 211-225.....	38
6.16 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 226-240.....	39
6.17 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 240-254.....	39
6.18 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 255-269.....	39
6.19 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 270-284.....	40
6.20 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 285-299.....	40
6.21 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 300-314.....	40
6.22 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 315-329.....	41
6.23 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 330-344.....	41
6.24 การตรวจหาเชื้อ <i>B. bigemina</i> ด้วยเทคนิค nestedPCR ตัวอย่างที่ 345-355.....	41
7.1 แสดงพื้นที่การเก็บตัวอย่างเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี จำนวน 28 ฟาร์ม.....	42
7.2 แสดงตัวอย่างแพะที่เลี้ยงแบบเข้าคอกที่เจาะเลือดมาตรวจ <i>Babesia bigemina</i> .....	42
7.3 แสดงตัวอย่างแพะที่เลี้ยงแบบปล่อยและแบบขังรวมที่เจาะเลือดมาตรวจ <i>Babesia bigemina</i> .....	43
8.1 แสดงผลได้กล้อง ที่กำลังขยาย 100X ของตัวอย่างสไลด์ที่ไม่สะอาด มีการปนเปื้อนตะกอนของสีย้อม.....	43
8.2 แสดงผลได้กล้อง ที่กำลังขยาย 100X ของตัวอย่างสไลด์ที่สะอาด มีการกระจายตัวของเม็ดเลือดที่ดี มีการย้อมติดสีชมพูของเม็ดเลือดแดง และติดสีม่วงของปรีสิตในเม็ดเลือด.....	44

## บทที่ 1

### บทนำ

โรคที่เกิดจากเชื้อปรสิตเป็นปัญหาสำคัญมากต่อสุขภาพโดยตรงในสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแพะที่เป็นโรคระบาดได้ง่ายและรุนแรงกว่าโค กระบือ ซึ่งก่อให้เกิดความสูญเสียทางด้านปศุสัตว์การเลี้ยงแพะในประเทศไทยเป็นจำนวนมากในแต่ละปี เพราะแพร่กระจายได้ง่าย ถ้าควบคุมโรคและพยาธิไม่ถูกต้องอาจตายยกฝูงได้ ซึ่งส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการผลิตเนื้อและน้ำนมทำให้ได้ผลผลิตต่ำกว่ามาตรฐาน ปรสิตในเลือดก็เป็นหนึ่งในจำนวนปรสิตที่พบบ่อยในแพะ มีขนาดเล็ก ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า สามารถติดต่อกันโดยพาหะนำโรคที่สำคัญได้แก่ เห็บ และแมลงดูดเลือด เป็นต้น ยังเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ กับแพะ เช่น โรคอะนาพลาสโมซิส (Anaplasmosis) เกิดจากเชื้อริกเก็ตเซีย 2 ชนิด คือ *Anaplasma marginale* และ *A. centrale* ก่อโรคในสัตว์เคี้ยวเอื้องหลายชนิด และโรคบาบีโอซิส (Babesiosis) มีเกิดจากเชื้อโปรโตซัว 2 ชนิดคือ *Babesia bigemina* และ *B. bovis* ที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคมากกว่าเชื้อปรสิตชนิดอื่น เป็นต้น

โรค Babesiosis เป็นโรคที่มีความรุนแรงในสัตว์หลายชนิด ในประเทศไทยพบว่าเกิดจากเชื้อ *B. bovis* และ *B. bigemina* ซึ่งเชื้อมีชีวิตอยู่ในเม็ดเลือดแดงของสัตว์ โดยมีเห็บ *Boophilus microplus* เป็นพาหะที่สำคัญของโรค ซึ่งเห็บชนิดนี้สามารถพบได้ทั่วไปในบริเวณที่มีการเลี้ยงแพะ อาการของโรคโดยทั่วไป แพะที่ป่วยจะมีไข้สูงกว่า 40 - 41 องศาเซลเซียส ไม่กินอาหาร กระเพาะรูเมนไม่เคลื่อนไหว มักแยกตัวออกจากฝูง ขนยุ่ง หูดก หายใจเร็ว หัวใจเต้นเร็ว นอนหรือยืนหลังโก่ง เยื่อชุ่มสีแดงเข้ม และในรายเฉียบพลัน จะพบปัสสาวะสีแดงเข้ม (red water) เนื่องจากมีฮีโมโกลบินในปัสสาวะ (hemoglobinuria) เมื่อเม็ดเลือดแดงถูกทำลายมากแพะจะเกิดภาวะโลหิตจาง (hemolytic anemia) และเกิดดีซ่านตามมา หากแพะรื้อนมป่วยเพราะติดเชื้อมีชีวิต จะพบว่าผลผลิตน้ำนมจะลดลงมาก และแพะท้องอาจแห้งได้

อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *B. bovis* จะรุนแรงและรวดเร็ว โดยมีไข้สูง อ่อนเพลีย และตายเร็วกว่าการติดเชื้อ *B. bigemina* โดยมีอัตราการตายสูงถึง 70 - 80% เนื่องจากการติดเชื้อ *B. bovis* จะทำให้ พลาสมาซึมออกจากหลอดเลือด และมีการขยายตัวของหลอดเลือด (vasodilation) เกิดการแข็งตัวของเลือด เป็นผลทำให้เกิดการหยุดชะงักของระบบหมุนเวียนโลหิต และเกิดการช็อคขึ้น โดยเฉพาะเส้นเลือดในสมอง ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดความผิดปกติที่สมอง และแสดงความผิดปกติทางระบบประสาท คือ เดินเซ เผลว โสโครน หรือแพะตัวอื่น ชัก และคอแข็งนบิต ซึ่งอาการดังกล่าวผู้เลี้ยงจะสามารถสังเกตความผิดปกติได้ง่ายกว่า แตกต่างจากการติดเชื้อ *B. bigemina* สัตว์ส่วนใหญ่มักจะไม่ค่อยแสดงอาการจะเป็นตัวอมโรคและแพร่ไปยังตัวอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อผลผลิตทั้งเนื้อและน้ำนมทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ได้ผลผลิตลดลง ซึ่งการตรวจสอบโรคสามารถทำได้โดยการเจาะเลือดมาตรวจทางห้องปฏิบัติการ ด้วยเทคนิคการทำฟิล์มโลหิต และย้อมสี Wright's Giemsa แต่บางครั้งการตรวจอาจไม่พบตัวเชื้อในกระแสเลือดเนื่องจากยังมีเชื้อในปริมาณน้อย ดังนั้นการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลได้แก่ ปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความไวและความจำเพาะสูง ตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรคบริเวณยีน Rho-trypan-associated protein 1 (*rap-1*) ซึ่งเป็นยีนที่แสดงออก RAP 1 protein ที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและมีช่วงลำดับอนุรักษ์ (conserved sequence) สูง 96 – 97% มาใช้ตรวจวินิจฉัยเพื่อความแม่นยำและรวดเร็วยิ่งขึ้น ในขณะที่มีปริมาณเชื้อน้อยๆหรือในสัตว์ที่เป็นพาหะของโรค ช่วยวินิจฉัยการแพร่ระบาดของโรคได้อย่างถูกต้อง และรวดเร็วก่อนที่จะส่งผลกระทบต่อผลผลิต เพื่อป้องกันและลดความเสียหายจากโรคดังกล่าว ซึ่งถ้าสัตว์ผู้งูไต่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคควรได้รับการรักษาทั้งผู้งู เนื่องจากแพร่ระบาดได้ง่าย (มานพ ม่วงใหญ่, 2545)

ในบริเวณพื้นที่เขตมีนบุรี พบว่าประชากรนิยมการเลี้ยงแพะมากกว่า 54 หลังคาเรือน โดยมีจำนวนแพะประมาณ 1,383 ตัว ส่วนใหญ่เป็นแพะนมจำนวน 700 ตัวและแพะเนื้อ 683 ตัว ซึ่งผู้อาศัยส่วนใหญ่เป็นชาวไทย-มุสลิมประมาณ 75% ของประชากรในพื้นที่จึงมีความนิยมบริโภคผลิตภัณฑ์เนื้อและนมจากแพะ โดยระบบการเลี้ยงแพะยังเป็นระบบการเลี้ยงแบบเปิด ในแพะเนื้อมีการเลี้ยงรวม แบบปล่อยรวมฝูงเล็มหญ้า ส่วนในแพะนมนั้นส่วนใหญ่ 70% เลี้ยงแบบยืนโรง เข้าคอก 20% เลี้ยงแบบปล่อยทุ่ง และอีก 10% เลี้ยงแบบผสมผสาน (สำนักงานปศุสัตว์เขตมีนบุรี, 2557) ซึ่งการเลี้ยงแพะลักษณะนี้ อาจเสี่ยงต่อการเกิดโรคจากปรสิตจำพวก เห็บและแมลงดูดเลือด ซึ่งเป็นพาหะสำคัญในการก่อให้เกิดโรคพยาธิในเม็ดเลือด ส่งผลกระทบต่อทำให้ผลผลิตเนื้อและน้ำนมของแพะลดลง รวมทั้งข้อมูลเชิงวิชาการด้านโรคพยาธิในเลือดในพื้นที่ยังมีการศึกษาวิจัยไม่มากนัก ทั้งที่เป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่สัตว์หรือจากสัตว์สู่คน (zoonoses) และก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจ สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่าเชื้อนี้ยังมีการระบาดอยู่ในสัตว์เคี้ยวเอื้องอีกหลายชนิด จึงควรมีมาตรการในการเฝ้าระวังโรค Babesiosis จึงควรเพิ่มความเข้มข้นโดยเฉพาะการตรวจหาสัตว์ที่ติดโรครวมถึงร่องรอยของพาหะนำโรค (เห็บ) พร้อมกับตรวจสอบระดับ ความชุกชุม และชนิดของเห็บที่เป็นพาหะนำโรคในประเทศไทยว่ามีมากน้อยเพียงใด เพื่อดำเนินการกำจัดหรือลดระดับความชุกชุมจนไม่เป็นปัญหาต่อการแพร่กระจายของโรค การสำรวจความชุกและการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค Babesiosis ในแพะดังกล่าวจึงมีบทบาทสำคัญ โดยเฉพาะเป็นการให้ข้อมูลเชิงวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่อคนในพื้นที่เกี่ยวกับพยาธิในเลือดที่มีเห็บและแมลงดูดเลือดเป็นพาหะนำโรคซึ่งยังไม่ได้รับการกระตุ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และให้ความสำคัญมากนัก รวมไปถึงเป็นการเผยแพร่องค์ความรู้หรือข้อมูลแก่หน่วยงานอื่นๆที่เกี่ยวข้องอีกด้วย

#### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสำรวจความชุกของเชื้อ *B. bigemina* ที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรค Babesiosis ในแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี

2. เพื่อศึกษาแนวทางในการป้องกันและควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อ *Babesia bigemina*

#### สถานที่ดำเนินงานวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางสัตว์ สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

2. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 โรคจากเชื้อปรสิต

โรคติดเชื้อปรสิตในแพะนั้นสามารถพบได้ทั้งปรสิตภายนอกและปรสิตภายใน โดยปรสิตภายนอกหรือพยาธิภายนอก (External parasite) จะพบได้หลายชนิด เช่น เห็บ หมัด เหา และแมลงรำคาญอื่นๆ ส่วนปรสิตภายในหรือพยาธิภายใน (Internal parasite) ที่สำคัญ เช่น พยาธิไส้เดือน พยาธิเส้นด้าย พยาธิปากขอ พยาธิเส้นม้วน พยาธิตัวตืด พยาธิใบไม้ เป็นต้น ทั้งพยาธิภายนอกและพยาธิภายในนับว่าเป็นปัญหาสำคัญที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดความเจ็บป่วยหรือทำให้สุขภาพโดยรวมของสัตว์เสื่อมโทรมลง ชุบผอม ขนหยองหยาบกร้าน ซึม เบื่ออาหาร การเจริญเติบโตช้าลง เกิดภาวะโลหิตจาง และอาจพบว่าแพะมีอาการท้องเสียหรือท้องผูกอยู่เป็นประจำ นอกจากนี้ยังอาจพบอาการอุจจาระมีเลือดปน สัตว์มักจะไม่ค่อยสบาย หอบ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายอ่อนแอลงทำให้มีโรคแทรกซ้อนง่าย

ผลกระทบสำคัญที่เกิดขึ้นคือ ทำให้ผลผลิตของสัตว์ลดลง โดยที่แพะที่อยู่ระหว่างระยะให้นมพบว่าน้ำนมจะลดลง แพะที่เลี้ยงขุนเพื่อให้เนื้อก็จะมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง ผอมแห้ง ไม่แข็งแรง พวกแพะที่ถูกเห็บหมัดกัดอาจทำให้มีผลเสียถึงผิวหนังที่เกิดมีบาดแผล ซึ่งทำให้หนังแพะที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในงานอุตสาหกรรมการทำเครื่องหนังนั้นมีตำหนิ และมีคุณภาพหนังต่ำลงทำให้ขายไม่ได้ราคา เป็นต้น

#### ปรสิตภายในหรือพยาธิภายใน (Internal parasite)

ปรสิตภายในหรือพยาธิภายใน (Internal parasite) เป็นโรคติดเชื้อที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพสัตว์เป็นอย่างมาก โดยพยาธิแต่ละชนิดจะทำความเสียหายในอวัยวะที่มันอาศัยอยู่ ซึ่งความเสียหายดังกล่าวอาจสรุปได้ดังนี้

1. การที่พยาธิดูดเลือดจากผนังกระเพาะอาหารและลำไส้ทำให้สัตว์เสียเลือด เกิดมีภาวะโลหิตจาง การแข็งตัวของเลือดผิดปกติ หรือมีเลือดออกจากบาดแผลที่ในผนังลำไส้ทำให้แพะถ่ายเป็นเลือดหรือเป็นมูกเลือด

2. ก่อให้เกิดความระคายเคืองในปอด ขั้วปอด และหลอดลม จากการที่ตัวอ่อนของพยาธิในปอดเข้าชอนไช ทำให้แพะมีอาการคล้ายปอดอักเสบ

3. ทำให้เกิดมีเม็ดตุ่มจากพยาธิที่สร้างเกราะหุ้มตัวเองในลำไส้และกล้ามเนื้อของสัตว์

4. พยาธิในลำไส้จะแย่งดูดซึมสารอาหารที่สัตว์ได้รับทำให้สัตว์เป็นโรคขาดสารอาหารสัตว์จะผอมแห้ง อ่อนเพลีย น้ำหนักลด เจริญเติบโตช้า การให้ผลผลิตลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. พยาธิที่อยู่ในลำไส้ถ้ามีมากจะส่งผลถึงการทำหน้าที่ของระบบทางเดินอาหาร โดยที่อาจจะทำให้เกิดอาการท้องเสียหรือท้องผูกอยู่เป็นประจำ

6. สภาพร่างกายโดยรวมของแพะจะทรุดโทรม ผิวหนังแห้งกร้าน ขนหยองฟู เบื่ออาหารไม่กระตือรือร้นหรือรำเริงเหมือนแพะสุขภาพดีปกติ

7. พยาธิบางชนิดอาจสร้างสารพิษออกมาก่อให้เกิดอันตรายต่อตัวแพะได้จากการที่พยาธิแต่ละชนิดจะทำความเสียหายให้แก่สัตว์ดังที่กล่าวมานั้นจึงจำเป็นต้องมีการป้องกันการติดโรคพยาธิและเอาใจใส่ในเรื่องการสุขาภิบาลที่ดี มีการจัดวางโปรแกรมการถ่ายพยาธิอยู่เป็นประจำ ซึ่งการถ่ายพยาธิเป็นแนวทางที่ทำได้ง่าย และต้องเข้าใจถึงวงจรชีวิตของพยาธิด้วย จึงจะทำให้สามารถวางแผนการปฏิบัติงานตามโปรแกรมอย่างได้ผลดี ไม่ว่าจะการจัดการถ่ายพยาธิให้กับตัวสัตว์ หรือการจัดการแปลงหญ้ากรณีที่มีการปลูกหญ้าไว้สำหรับปล่อยแพะลงทะเล็ม ควรจะมีการเตรียมแปลงปลูกหญ้าจนพลิกหน้าดินตากแดดทิ้งไว้ เพื่อทำให้ไข่หรือตัวอ่อนพยาธิที่อาจปนเปื้อนในดินตาย

#### ปรสิตภายนอก (External parasite)

เป็นโรคติดพยาธิที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อทั้งสุขภาพกาย และสุขภาพจิตของสัตว์อย่างมาก โดยเฉพาะสัตว์ที่ถูกพยาธิภายนอกกัดกินและดูดเลือดที่ผิวหนังนั้น จะเกิดมีความหงุดหงิดรำคาญ เพราะมันจะคันตามผิวหนังที่ถูกกัดอยู่ตลอดเวลาไม่เป็นอันกินอันนอน เบื่ออาหาร ผอมแห้ง และเริ่มอ่อนแอลงเรื่อยๆ นอกจากนี้หากพบว่ามีพยาธิภายนอกชนิดดูดเลือดอยู่มากอาจส่งผลให้เกิดภาวะโลหิตจางได้ รวมถึงอาจทำให้เกิดโรคที่เกี่ยวกับระบบเลือด หรือระบบภูมิคุ้มกันลดลง ซึ่งพยาธิภายนอกที่พบมากในแพะมีหลายประเภท เช่น เห็บ หมัด เหา และไรซีเรื้อน

จากรายงานภาวะโรคระบาดในสัตว์ของสำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ พบการระบาดของโรค Babesiosis และ Anaplasmosis ในประเทศไทย ในโคเนื้อ โคนม แพะ แกะ และสุนัข เป็นต้น

## 2.2 โรค Babesiosis

พบได้เกือบทุกพื้นที่ในโลก ที่ซึ่งพบเห็นเป็นพาหะอยู่ แต่ที่พบบ่อยมากจะเป็นเขตแถบร้อนชื้น และมักจะเป็นโรคที่สำคัญ ที่ทำให้เกิดความเสียหายแก่สัตว์ในภูมิภาคนี้ และบางครั้งพบว่าทำให้เกิดโรคในคนได้ เช่น *B. microti* ในพวกสัตว์ฟันแทะ ทำให้เกิดโรคในคนในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศของสหรัฐอเมริกา (มานพ ม่วงใหญ่, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สาเหตุ

เกิดจากเชื้อ *Babesia spp.* ซึ่งเป็นเชื้อโปรโตซัวขนาดเล็ก รูปร่างเปลี่ยนแปลงได้ แต่โดยทั่วไปจะเห็นเป็นรูปคล้ายลูกแพร์ (pear shape) อยู่ติดกันเป็นคู่ โดยทำมุมกันที่ปลายด้านหนึ่ง อาศัยอยู่ในเม็ดเลือดแดงของสัตว์มีกระดูกสันหลัง และแพร่พันธุ์แบบไม่มีเพศ โดยการแบ่งตัว (binary fission) หรือโดยการแตกหน่อ (budding) หรือซัยโซโกนี (schizogony) หลังจากเพิ่มจำนวนแบบไม่มีเพศแล้ว และทำให้เม็ดเลือดแดงแตก เชื้อ *Babesia spp.* จะอยู่ในอยู่ในพลาสมาชั่วคราวแล้วเข้าไปในเม็ดเลือดแดงอีก และแพร่พันธุ์แบบไม่มีเพศต่อไปเรื่อยๆ ส่วนการสืบพันธุ์แบบมีเพศจะเกิดขึ้นในเห็บซึ่งเป็นพาหะของโรค เชื้อ *Babesia spp.* ที่พบในประเทศไทย มี 2 ชนิด คือ *B. bigemina* และ *B. bovis* (ปาริชาติ แก่งอินทร์, 2553)

### 2.3 Babesia (มานพ ม่วงใหญ่, 2545)

เป็น Blood parasite ในสัตว์พวกมีกระดูกสันหลัง มีลักษณะเกาะตัวอยู่ในเม็ดเลือดแดง มีขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับพวก Plasmodiidae มีรูปร่าง piriform, round, amoeboid หรือ rod shape ขึ้นอยู่กับแต่ละ genus พบได้ในเม็ดเลือดแดงบาง genus และพบได้ในเม็ดเลือดขาวหรือเม็ดเลือดชนิดอื่นๆอีกด้วย

ในบางระยะอาจพบโครงสร้างพวก apical complex บางอัน โดยไม่ได้มีครบทุกอย่างเหมือนอย่างพวก Sporozoasida ตัวอย่างเช่น พวก Theileriidae มีเฉพาะ rhoptries ขณะที่พวก Babesiidae มี polar ring, subpellicular micro-tubules และบางครั้งอาจจะพบ micronemes ด้วย แม้แต่ conoid ก็อาจพบได้บางชนิด หรือ micropore ในบางระยะของพืชที่พำนัก

ส่วน pigment (hemazoin) โปรโตซัว ในกลุ่มนี้ไม่มีการสร้างหรือใช้สาร Hemoglobin จากเซลล์ของโฮสต์

การเคลื่อนไหวโดยใช้ Body flexion หรือ gliding ไม่มี flagella หรือ cilia

การสืบพันธุ์ - แบบไม่มีเพศ โดยการแบ่งตัวแบบ binary fission หรือ schizogony (merogony) และอาจพบ budding ได้เป็นครั้งคราวเรียกว่า endopolygony

- แบบมีเพศ ยังไม่มีผู้ใดทราบแน่ชัด เกิดในพาหะ (vector)

- ไม่มีระยะสปอร์ หรือ oocyst

ส่วนใหญ่ในกลุ่ม piroplasmasida เป็นพวก heteroxenous พาหะที่เป็นตัวนำคือเห็บ Ixodid ticks หรือ Hard-bodied tick

ใน class นี้มี 1 order ซึ่งประกอบด้วย 2 families คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Babesiidae
- Theileriidae

Order : Pirolasmida

Family : Babesiidae

Genus : Babesia

ชื่อพ้อง (Synonyms) : Piroplamsa, Nuttalai, Rossie, Babesiella, Francaiella, luhsia, Rangelia, Microbabesia

Parasitic protozoa ในกลุ่มนี้ เป็นกลุ่มที่สำคัญที่สุดใน family นี้ เนื่องจากมันเป็นสาเหตุของโรค pirolasmosis หรือ babesiosis ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายมากในสัตว์เศรษฐกิจ เช่น โคนม โคเนื้อ และยังพบได้ในเนื้อสัตว์อีกชนิดอื่นอีกเช่น สุกร แพะ แกะ สุนัข แมวและม้า

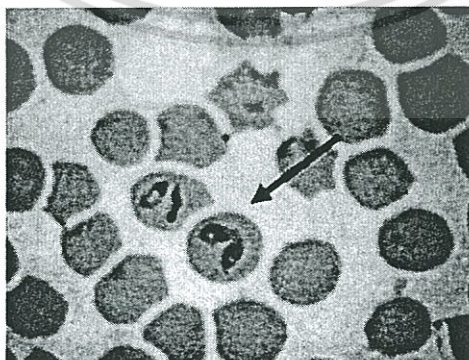
### 2.4 Babesia bigemina

โฮสต์

โค, ม้า, แพะ, แกะ และ กวาง

ลักษณะรูปร่าง

*B. bigemina* เป็นพวกเชื้อ Babesia ขนาดใหญ่ (ขนาดมากกว่า 3 ไมครอน) ปลายด้านหนึ่งจะเรียวแหลม อีกด้านหนึ่งจะกลม รูปร่างเป็นหยดน้ำตา ในเซลล์เม็ดเลือดแดง 1 เซลล์มักพบอยู่เป็นคู่หรือเดี่ยว เชื้อจะอยู่ทำมุมแหลมต่อกัน เมื่อนำไปย้อมสีจะเห็นชัยโตพลาสซึมติดสีชมพู นิวเคลียสติดสีม่วง ส่วน *B. bovis* เป็นพวกเชื้อ Babesia ขนาดเล็ก (ขนาดน้อยกว่า 3 ไมครอน) รูปร่างมีหลายแบบ เช่นหยดน้ำ วงแหวนกลม อาจอยู่เป็นคู่หรือเดี่ยว ถ้าอยู่เป็นคู่มักทำมุมป้านต่อกัน (วีรพล ทวีนนท์, 2547)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของเชื้อ Babesia spp. ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง

ที่มา : อายูรศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง, วีรพล ทวีนนท์, 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น มิได้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

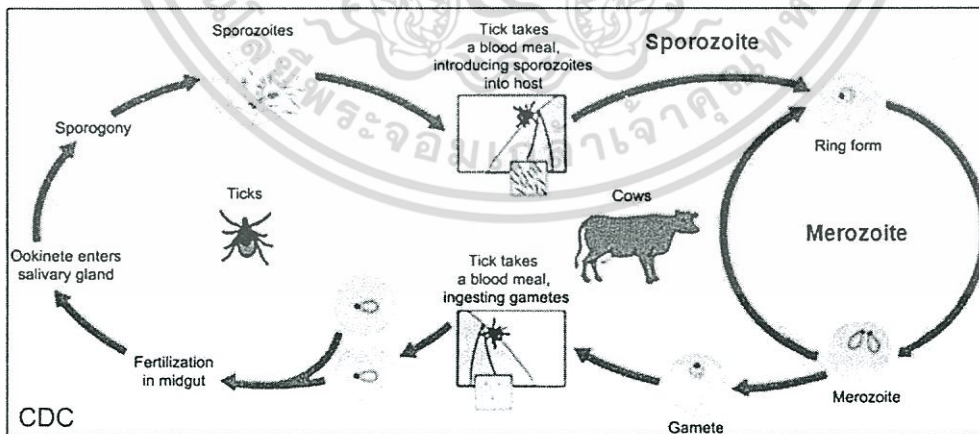
### การติดต่อ

มีเห็บ *Boophilus microplus* เป็นพาหะนำโรคที่สำคัญ ซึ่งเห็บเป็นพยาธิภายนอกที่จัดอยู่ในกลุ่มแมลง รูปร่างโดยทั่วไปคล้ายรูปไข่ขนาดใหญ่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ตัวเมียที่ดูดเลือดแล้วจะมีขนาดใหญ่ขึ้นจากเดิมหลายเท่าและมีขนาดใหญ่กว่าตัวผู้มาก เห็บเป็นพาหะนำเชื้อโรคหลายชนิด เช่น ไวรัส ริกเก็ตเซีย แบคทีเรีย และโปรโตซัว ซึ่งทำให้เกิดโรคที่สำคัญ และร้ายแรงทั้งคน และสัตว์ (ณรงค์ จิ่งสมาน และคณะ, 2549)

น้ำลายที่หลั่งออกมาจากเห็บมีบทบาทสำคัญที่สุดในการนำโรค โดยทำหน้าที่เป็น ตัวกลาง สำหรับการถ่ายทอดเชื้อที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรค Babesiosis ที่เกิดจากเชื้อ *B. bigemina* และ *B. bovis* ที่มีเห็บเป็นพาหะ เชื้อเหล่านี้จะผ่านมากับน้ำลายของเห็บที่หลั่งขณะดูดกินเลือดโฮสต์ (ฐิติมา วราทิพย์ และวีร่า พิวก์, 2550)

โดยเห็บเพศเมีย เมื่อดูดเลือดสัตว์ที่มีเชื้อ จนอิ่มตัว เชื้อจะมีการสืบพันธุ์ในเห็บทั้งแบบมีเพศ และไม่มีเพศเชื้อจะเข้าไปอยู่ในรังไข่ของเห็บ และเชื้อจะติดกับไข่ ฉะนั้นเมื่อไข่ฟักออกมาเป็นตัวอ่อนก็จะมีเชื้ออยู่ในตัวเห็บ เรียกว่า เป็นการแพร่เชื้อโดยผ่านรังไข่ (transovarian transmission) หรือเรียกว่า การติดเชื้อแบบ vertical (ปาริชาติ แก่งอินทร์, 2553)

ถ้าเห็บติดเชื้อ *B. bigemina* มีระยะฟักตัวนานกว่า 14 - 20 วัน สามารถแพร่เชื้อได้ในเห็บ ระยะตัวกลางวัยและตัวเต็มวัยเท่านั้น โดย sporozite ที่อยู่ในต่อมน้ำลายเป็นระยะติดต่อ ซึ่งใช้ระยะเวลาประมาณ 5 - 7 วัน แต่ถ้าเห็บติดเชื้อ *B. bovis* มีระยะฟักตัว 7 - 18 วัน จะสามารถแพร่เชื้อได้ทั้ง 3 ระยะ คือ ตั้งแต่ระยะตัวอ่อน ตัวกลางวัย และตัวเต็มวัย



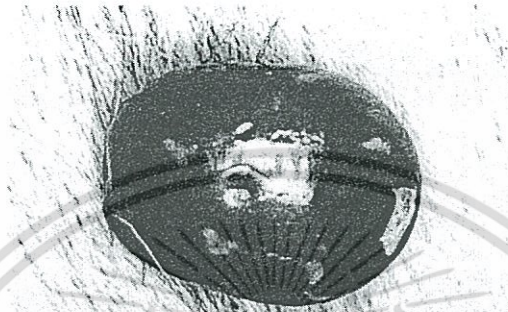
Life cycle of *Babesia*

ภาพที่ 2.2 แสดงชีวิตจักรของ *Babesia* spp.

ที่มา : Full-Babesia, Naoaki Yokoyama *et al.*, 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

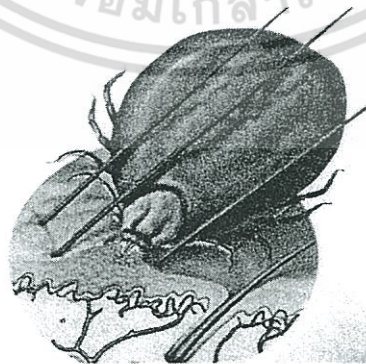
เห็บที่ดูดกินเลือดจนเป่ง (engorged) จะมี excretory product ซึ่งอาจประกอบไปด้วย pathogenic organisms เชื้อที่ทำให้เกิดโรคเหล่านี้สามารถเข้าไปในร่างกายสัตว์โดยผ่านทางบาดแผลที่ถูกเห็บกัด และบาดแผลอื่นๆ บนผิวหนัง การดึงเห็บออกจากโฮสต์โดยความไม่ระวังอาจเป็นผลทำให้ตัวของเห็บแตกและปล่อยสิ่งต่างๆในทางเดินอาหารออกมายังรอบๆ บาดแผล เป็นสาเหตุของการนำโรค Tularemia และบาดแผลที่เกิดจากการกัดของเห็บจะเป็นสาเหตุทำให้โฮสต์ถูกโจมตีโดยพวก screw worm (อาคม สังข์วรา, 2537)



ภาพที่ 2.3 เห็บเพศเมียที่ดูดเลือดจนเป่ง (engorge)

ที่มา : Engorge tick, Cláudio Mafra, 2007

วงชีวิตของเห็บจะอาศัยอยู่บนตัวสัตว์ระยะหนึ่งและอาศัยอยู่นอกตัวสัตว์ระยะหนึ่งโดยเห็บตัวเต็มวัยจะจับคู่ผสมพันธุ์และตัวเมียจะสะสมไข่ไว้เต็มท้อง เมื่อผสมพันธุ์และดูดเลือด จนอิ่มแล้วตัวเมียที่มีไข่เต็มท้องจะตกลงสู่พื้นดินหรือพื้นคอกและวางไข่ลงในดิน ตัวอ่อนจะฟัก ออกไข่ได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในสภาพอากาศที่ร้อนชื้น ตัวอ่อนเห็บจะอาศัยอยู่บน ดิน และปีนขึ้นไปตามต้นหญ้าเพื่อรอให้แพะเข้ามาแทะเล็มหญ้าแล้วถือโอกาสนั้นขึ้นเกาะตัว สัตว์เพื่อดูดเลือดและเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยต่อไป (หนึ่งนุช สายปิ่น, 2551)



ภาพที่ 2.4 ลักษณะภายนอกของเห็บตัวเต็มวัยขณะดูดกินเลือดบนผิวหนังสัตว์

ที่มา: Pfizer Atlas of Veterinary Clinical Parasitology, Blagburn and Dryden, 2000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มักพบในบริเวณที่มีอากาศร้อนชื้น ในอเมริการกลาง อเมริกาใต้ แอฟริกา ออสเตรเลียและประเทศไทย มักเกาะบน คอ รักแร้ ขาหนีบ ท้อง และอวัยวะสืบพันธุ์ บางครั้งอาจพบตัวอ่อนและตัวกลางวัยในใบหูของโฮสต์ เห็นตัวอ่อน ตัวกลางวัย และตัวเต็มวัย อาจพบได้ตลอดปีบนตัวโฮสต์ ในบริเวณที่มีอากาศร้อนชื้น (อาคม สังข์วรานนท์, 2537)

#### ลักษณะทางอนุกรมวิธานของเห็บ

ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Boophilus microplus</i> Canestrini
ชื่อพ้อง	<i>Boophilus australis</i>
วงศ์	Ixodidae
อันดับ	Acarina

#### ลักษณะอาการ

ความรุนแรงของเชื้อ จะขึ้นอยู่กับ stain ของเชื้อ ระยะการฟักตัวของโรคประมาณ 2 - 3 สัปดาห์ อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *B. bigemina* และเชื้อ *B. bovis* โดยทั่วไปจะคล้ายกัน แพะที่ป่วยจะมีไข้สูงกว่า 40 - 41 องศาเซลเซียส ไม่กินอาหาร กระเพาะรูเมนไม่เคลื่อนไหว มักแยกตัวออกจากฝูง ขนยุ่ง หูตก หายใจเร็ว หัวใจเต้นเร็ว นอนหรือยืน หลังโก่ง เยื่อชุ่มสีแดงเข้ม และในรายเฉียบพลัน จะพบปัสสาวะสีแดงเข้ม (red water) เนื่องจากมีฮีโมโกลบินในปัสสาวะ (hemoglobinuria) เมื่อเม็ดเลือดแดงถูกทำลายมากสัตว์จะเกิดภาวะโลหิตจาง (hemolytic anemia) และเกิดภาวะดีซ่านตามมา หากโรคนี้รุนแรงแพะที่ป่วยเพราะติดเชื้อนี้ จะพบว่าผลผลิตน้ำนมจะลดลงมาก และแพะท้องอาจแท้งได้

อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *B. bovis* จะรุนแรงและรวดเร็ว โดยมีไข้สูง อ่อนเพลีย และตายเร็วกว่าการติดเชื้อ *B. bigemina* โดยมีอัตราการตายสูงถึง 70 - 80% เนื่องจากการติดเชื้อ *B. bovis* จะทำให้พลาสมาซึมออกจากหลอดเลือด และมีการขยายตัวของหลอดเลือด (vasodilation) เกิดการแข็งตัวของเลือด เป็นผลทำให้เกิดการหยุดชะงักของระบบหมุนเวียนโลหิต และเกิดการช็อคขึ้น โดยเฉพาะเส้นเลือดในสมอง ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดความผิดปกติที่สมอง และแสดงความผิดปกติทางระบบประสาท คือ เดีรนโซเซ ไล่ชนคน หรือสัตว์ตัวอื่น ชัก และคอแข็งนบิต

แต่การติดเชื้อ *B. bigemina* สัตว์ส่วนใหญ่มักจะไม่แสดงอาการของโรคและจะเป็นตัวอมโรคแพร่ไปยังตัวอื่นๆ

#### วิธีการ

หากสัตว์จะมีลักษณะซีดและเหลือง เนื่องจากดีซ่าน น้ำดีจะเข้มข้นและอาจ มีลักษณะเป็นเม็ดแกรนูล (granular) นอกจากนี้ อาจจะพบภาวะเลือดออก (haemorrhage) ที่บริเวณงู้มหัวใจ ม้ามขยายใหญ่และยุ่ย น้ำปัสสาวะที่คั่งอยู่ในกระเพาะปัสสาวะจะมีสีแดง หรือสีน้ำตาล ในรายที่มีอาการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางประสาท พบสมองมีเลือดคั่งอยู่ทั่วไป และพบเม็ดเลือดแดงจำนวนมากที่มีเชื้ออยู่ในหลอดเลือด หรืออาจพบเพียงการบวมน้ำรอบเส้นเลือด และเซลล์สมองเท่านั้น (วีรพล ทวีพันธ์, 2547)

### การรักษา

เพื่อให้การรักษาได้ผลดี จะต้องเจาะเลือดมาตรวจหาเชื้ออย่างรวดเร็ว และต้องให้ยาที่มีประสิทธิภาพสูงในทันที ยาที่ดีเมื่อให้แล้วสัตว์จะแสดงอาการดีขึ้นภายใน 2 - 3 ชั่วโมง หลังจากได้รับยา และเชื้อจะหายไปจากกระแสโลหิตภายใน 24 ชั่วโมง ยาที่ให้ผลดีในการรักษาโรคบาปีซีโอซิส ได้แก่

1. เบราบิล (Diminazine aceturate หรือ Berenil) ขนาดที่ให้ 3.5 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ
2. อิมิโซล (Imidocarb dipropionate หรือ Imizoll) ขนาดของยาที่ใช้ 1.2 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (ขนาด 1 ซีซี./น้ำหนักสัตว์ 100 กิโลกรัม ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง การให้ยานี้ต้องระมัดระวัง ถ้าใช้เกินขนาด สัตว์จะมีอาการกล้ามเนื้อสั่น น้ำลายไหล ท้องอืด โคที่ใช้ยานี้ไม่ควรส่งเข้าโรงงานฆ่าสัตว์ ภายใน 28 วัน)
3. อะคาปริน (Auinuronium sulyate หรือ Acaprinl) ขนาดยาที่ใช้ 1 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัวสัตว์ 1 กิโลกรัม ฉีดเข้าใต้ผิวหนังเท่านั้น ยานี้อาจทำให้เกิดอาการแพ้ได้ โคจะแสดงอาการ น้ำลายไหล เหงื่อออก ท้องเสีย อ่อนเพลีย ขณะให้การรักษาโรคบาปีซีโอซิส ควรให้ยาบำรุงด้วย เพราะสัตว์ป่วยมักจะมีอาการโลหิตจาง อ่อนเพลียและบางครั้งมีอาการทางประสาทร่วมด้วย จึงควรระมัดระวังอย่าให้สัตว์ตื่นเต้นตกใจหรือออกแรงมาก การบังคับโคที่เป็นโรครุนแรงอาจทำให้ตายได้ ถ้าเป็นไปได้ควรให้โคอยู่เดี่ยวๆ ในที่เย็นสบายมีน้ำและอาหารพร้อม

### ความเสียหายทางเศรษฐกิจ

1. เหย็บ 1 ตัว สามารถดูดกินเลือดได้ถึง 0.5 - 1 มล. แพะที่มีเหย็บเป็นจำนวนมากจะทำให้เกิดโรคโลหิตจางและอาจทำให้โคตายได้ จากการทดลองของ Barnett (1961) พบว่าเหย็บ *Boophilus spp.* 20,000 ตัวไม่สามารถทำให้โคหนุ่มตายได้ แต่ในโคสาวที่มี *Bophilus spp.* เพียง 500 ตัว ก็สามารถฆ่าโคสาวให้ตายได้
2. สุขภาพของแพะอ่อนแอ แคระแกรน โลหิตจาง ทำให้ผลผลิตทั้งเนื้อและนมลดต่ำลง
3. ผลจากการถูกเหย็บกัดเป็นสาเหตุชักนำให้แมลงวันมาวางไข่ เกิดหนอนแมลง (screw worm)
4. ทำให้หนังสัตว์เสียราคา ราคาตก หรือไม่สามารถใช้งานได้
5. ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการควบคุมและกำจัดเหย็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การใช้สารเคมีในการป้องกันรักษาเห็บอาจเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใส่สารเคมี และอาจมีการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยเฉพาะในน้ำนม (ปาริชาติ เก่งอินทร์, 2553)

### การป้องกันและการควบคุมโรค

1. ควบคุมเห็บ โดยใช้ยากำจัดเห็บพ่นบนตัวสัตว์และบริเวณคอก เช่น อะซูนโทล เซฟวิน เบอร์โคทอกซ์ ไอโวเม็ค

2. ใช้ยาบางชนิด เช่น อิมิซอล (Imizol) ในขนาด 2 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จะมีผลป้องกันโรคได้นาน 3 - 12 สัปดาห์

3. ทาวัคซีนให้แก่ลูกโคอายุน้อยกว่า 1 ปี โดยใช้วัคซีนที่พัฒนามาจากเชื้อที่พบจากแหล่งที่จะใช้ทำวัคซีน (ยังไม่มีการใช้วัคซีนในประเทศไทย)

### การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจเลือดเพื่อหาปรสิตจัดว่าเป็นการตรวจวินิจฉัยโรคปาราสิตที่สำคัญ เนื่องจากพบว่าปาราสิตในเลือดของสัตว์มีหลายชนิดที่มีความสำคัญ และบางชนิดอาจติดต่อถึงคนได้ด้วยการตรวจเลือดเพื่อหาปาราสิตเป็นการตรวจ เพื่อยืนยันการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นซึ่งอาศัยข้อมูลจากอาการระบาดวิทยาของโรคปาราสิตประกอบ ในการตรวจเลือดเพื่อหาปาราสิต ผู้ตรวจจะต้องมีความรู้ทางด้านโลหิตวิทยาและเซลล์เม็ดเลือด ตลอดจนลักษณะของปาราสิตที่อาจตรวจพบได้ในเลือดเป็นอย่างดีเพื่อให้การตรวจวินิจฉัยมีประสิทธิภาพและความถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้นปาราสิตที่พบในเลือดอาจจะแบ่งออกได้เป็น 4 พวก ซึ่งได้แก่

- 1) พวกโปรโตซัวที่เป็นปาราสิต
- 2) พวกริคเคตเซีย
- 3) พวกพยาธิตัวกลม
- 4) พวกรไที่เป็นปาราสิต

ในระหว่างกลุ่มของปาราสิตที่พบในเลือดเหล่านี้ พบว่ากลุ่มของโปรโตซัวในเลือดที่เป็นปาราสิตจะมีความสำคัญและพบได้บ่อยมากกว่ากลุ่มอื่น ตัวอย่างที่สำคัญของโปรโตซัวในเลือดที่พบในเลือดที่พบในสัตว์เลี้ยงในประเทศไทย ได้แก่ เชื้อโปรโตซัว ในสกุล Babesia, Trypanosoma , Theileriosis, และ Plasmodium

ปาราสิตอาจจะตรวจพบได้ในเลือดของสัตว์หลายชนิดซึ่งรวมทั้งสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า ข้อมูลการระบาดของปาราสิตในเลือดของสัตว์แต่ละชนิดในแต่ละพื้นที่ จะเป็นเครื่องช่วยในการตรวจแยกชนิดหรือการตรวจวินิจฉัยปาราสิตในเลือดด้วยซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะใช้ประกอบกับข้อมูลทางด้านรูปร่างลักษณะที่สำคัญและขนาดของปาราสิตในเลือด การวัดขนาดของปาราสิตในเลือดทำได้โดยใช้เครื่องวัดเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดที่ใส่อยู่ในกล้องจุลทรรศน์ (ocular micrometer) ถ้าไม่มีเครื่องวัดขนาดดังกล่าวอาจจะกะประมาณขนาดของปรสิตในเลือดได้โดย การเปรียบเทียบขนาดของเม็ดโลหิตแดงของสัตว์ซึ่งพบในฟิล์มโลหิตที่ตรวจพบ

การเก็บตัวอย่างเลือดของสัตว์เพื่อตรวจหาปรสิตในเลือด จัดว่ามีความสำคัญเพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น โดยทั่วไปแล้วการเก็บตัวอย่างเลือดของสัตว์จะทำในช่วงระยะเวลาที่มีจำนวนปรสิตในเลือดสูง (high parasitaemia) ซึ่งอาจจะสังเกตได้จากอาการบางอย่างที่ปรากฏ ตัวอย่างเช่น การมีไข้สูงในการติดเชื้อโปรโตซัวที่ทำให้เกิดโรคไข้เห็บ (tick fever) หรือที่ทำให้เกิดโรคไข้จับสั่น (malaria) เป็นต้น การตรวจวินิจฉัยปรสิตในเลือดจากสัตว์ซึ่งไม่แสดงอาการของโรคให้ปรากฏ หรือสัตว์ที่เป็นตัวกักโรค (reservoir) จะทำได้ยากเนื่องจากจำนวนของปรสิตในเลือดต่ำ ทำให้ตรวจพบได้ยากในฟิล์มโลหิต ในกรณีดังกล่าวการตรวจวินิจฉัยควรจะทำโดยการตรวจวินิจฉัยทางอิมมูโนวิทยา (immunodiagnosis) หรือการตรวจวินิจฉัยทางเซรัมวิทยา (serodiagnosis) ในการตรวจฟิล์มเพื่อหาปรสิตควรตรวจด้วยความละเอียดและโดยทั่วไปจะใช้กำลังขยาย 1,000 เท่า การตรวจควรจะทำซ้ำอีกครั้งถ้าในการตรวจครั้งแรกไม่พบปรสิตในฟิล์มโลหิต การตรวจเลือดโดยวิธีเข้มข้น (concentration method) ด้วยวิธี modified Knott's technique พบว่าจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าการตรวจเลือดโดยวิธีไม่เข้มข้น ตัวอย่างเช่น การตรวจเลือดโดยการละเลงตรวจ (blood smear) เป็นต้น

## 2.5 โปรโตซัวที่เป็นปรสิตในเลือด (Parasitic Protozoa in Blood)

โปรโตซัวที่เป็นปรสิตในเลือดอาจจะพบอาศัยในเซลล์เม็ดโลหิต หรืออาจจะพบในพลาสมา (plasma) ของเลือด โปรโตซัวหลายชนิดจะพบในเม็ดเลือดแดง และจะทำลายเม็ดโลหิตแดงจำนวนมาก ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดโลหิตจาง (anemia) ในที่สุด ตัวอย่างของเชื้อโปรโตซัวที่สำคัญซึ่งพบในเม็ดเลือดแดงได้แก่ เชื้อโปรโตซัวในสกุล Babesia และสกุล Plasmodium การตรวจวินิจฉัยโรคซึ่งเกิดจากโปรโตซัวในเม็ดเลือดแดงส่วนหนึ่งทำได้ โดยอาศัยการสังเกตจากอาการโลหิตจางและไข้สูงร่วมกับการตรวจหาเชื้อโปรโตซัวในเม็ดเลือดแดงเพื่อเป็นการยืนยันในการตรวจวินิจฉัยขั้นสุดท้าย โปรโตซัวบางชนิดจะพบได้ในเม็ดเลือดขาว ตัวอย่างเช่น ระยะเวลาเพศหรือ gametocyte ของเชื้อโปรโตซัวพวก Hepatozoon canis ที่พบในเซลล์เม็ดเลือดขาวของสุนัขเป็นต้นการตรวจหาโปรโตซัวในเลือดควรจะทำด้วยความระมัดระวังโดยการตรวจหาโปรโตซัวทั้งในเซลล์เม็ดโลหิตและในพลาสมาด้วย (อาคม สังข์วรานนท์, 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6 วิธีการตรวจวินิจฉัย

โดยทั่วไปมีการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการหลายวิธี ดังต่อไปนี้

### 2.6.1 การตรวจวินิจฉัยทางกล้องจุลทรรศน์

วิธีนี้เป็นการตรวจหาเชื้อบาบิเซียในเม็ดเลือดแดง โดยการเตรียมตัวอย่างเลือดบนสไลด์เป็น tick หรือ thin film และนำไปตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายสะดวกและรวดเร็ว แต่ต้องมีความชำนาญในการแยกเชื้อบาบิเซียจากเชื้อมาลาเรีย และเชื้อ *Theileria species*

การตรวจทำได้โดยการหยดน้ำมัน 1 หยดลงบนฟิล์มที่แห้ง หลังจากนั้นใช้ objective กำลังขยายต่ำปรับโฟกัสให้ชัดเจนแล้วเปลี่ยนเป็น objective กำลังขยายสูงซึ่งต้องใช้น้ำมัน (X100) เพื่อป้องกันฟิล์มโลหิตจากฝุ่นละอองและเพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของฟิล์มโลหิตที่ย้อมสีแล้ว ควรจะ mount ฟิล์มโลหิตด้วย neutral mounting medium สารที่ใช้ mount ซึ่งให้ผลดีได้แก่ green euparal ซึ่งมี refractive index ต่ำ สารนี้จะแห้งเร็วและไม่เหี่ยวย่น ฟิล์มโลหิตที่ mount ด้วย green euparal จะคงสีเดิมได้นานหลายปี ซึ่งเมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบว่าส่วนประกอบต่างๆของเลือดและโปรโตซัวจะติดสีดังต่อไปนี้

- นิวเคลียสของเม็ดเลือดขาวจะติดสีม่วง
- นิวเคลียสของโปรโตซัวจะติดสีแดง
- Cytoplasm ของ lymphocytes monocytes และของโปรโตซัวจะติดสีน้ำเงิน
- Eosinophil granules จะติดสีม่วง
- เม็ดโลหิตแดงจะติดสีชมพูหรือน้ำเงิน

### 2.6.2 การตรวจทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยา

เป็นการตรวจหาระดับแอนติบอดีในซีรัมต่อเชื้อบาบิเซีย มีวิธีดังต่อไปนี้

#### 2.6.2.1 Complement Fixation Test (CFT)

เป็นการเตรียมแอนติเจนของเชื้อบาบิเซียจากเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้ออยู่ โดยทำให้เม็ดเลือดแดงแตก แล้วนำไปปั่นให้ได้แอนติเจนของเชื้อ เพื่อนำไปทดสอบหาระดับแอนติบอดีในซีรัมจากตัวอย่างโดยทำปฏิกิริยาร่วมกับ Complement ผลที่ได้จะเทียบระดับค่าปกติ วิธีนี้ให้ผลบวกปลอม (false positive) ประมาณ 1-2% แต่มีความไวน้อยกว่าวิธี indirect fluorescent assay (IFA) ดังนั้นจึงไม่เป็นที่นิยม

#### 2.6.2.2 Indirect Fluorescent assay (IFA)

เป็นวิธีที่ใช้ตรวจระดับแอนติบอดีทั่วไปในการติดเชื้อบาบิเซีย มีความไวและความจำเพาะสูงกว่าวิธี CFT การเกิดปฏิกิริยาข้าม (cross-reaction) ระหว่างสายพันธุ์จะมีน้อย วิธีนี้ยังใช้ในการตรวจหาระดับแอนติบอดีในวัวที่มีการฉีดวัคซีน การตรวจจะใช้แอนติเจนของเชื้อจากเม็ดเลือดแดงทำเอกซสารถือเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยากับตัวอย่างซีรัม ซึ่งทำเป็น serial dilution เพื่อหาระดับไตเตอร์ แล้วใส่แอนติบอดีอีกตัวหนึ่งที่ conjugate กับสารเรืองแสง และ จับจำเพาะกับแอนติบอดีตัวแรกทำให้เกิดเรืองแสงได้ เมื่อนำไปดูด้วย กล้องจุลทรรศน์เรืองแสง อ่านผลออกมาเป็นค่าบวกและค่าลบ ค่าที่ออกมาจะเทียบกับค่าปกติของ ระดับแอนติบอดี ผลที่ได้จะแสดงความแวกของระดับแอนติบอดีที่ไตเตอร์ต่างๆ

#### 2.6.2.3 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

วิธีนี้เป็นการตรวจหาระดับแอนติบอดีในไมโครไตเตอร์เพลท (microtiter plate) ที่เคลือบด้วยแอนติเจน ของเชื้อบาบิเซีย เติมตัวอย่างซีรัมลงไปแล้วใส่แอนติบอดีอีกตัวหนึ่งที่ conjugate กับเอนไซม์และจับ จำเพาะกับแอนติบอดีตัวแรก เมื่อเติม substrate ที่จำเพาะกับเอนไซม์นั้นก็เกิดปฏิกิริยาเป็นสี นำไป อ่านค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และเทียบกับค่าปกติหรือค่ามาตรฐาน อ่านผลออกมาเป็นค่า บวกหรือค่าลบ โดยค่าที่ได้สามารถที่จะวัดออกมาเป็นระดับไตเตอร์ทางแอนติบอดีหรือออกมาเป็น ปริมาณเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐาน ดังนั้นวิธีนี้มีความไวและความจำเพาะมากกว่าวิธี IFA

#### 2.6.2.4 Agglutination Test

เป็นวิธี indirect hemagglutination (IHA) โดยนำแอนติเจนของเชื้อบาบิเซียไปเคลือบที่ผิวของ เม็ดเลือดแดงแก่ แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีในตัวอย่างซีรัม ผลบวกจะเห็นเป็นการตกตะกอน หรือการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง วิธีนี้สามารถอ่านผลออกมาเป็นไตเตอร์ของแอนติบอดี แต่ความไว และความจำเพาะจะต่ำเมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ

#### 2.6.2.5 Radioimmunoassay (RIA)

เป็นวิธีตรวจสอบแอนติบอดีในซีรัมโดยอาศัยหลักการเดียวกับ ELISA แต่แทนที่จะใช้สารที่ติด ฉลากด้วยเอนไซม์ก็ใช้สารกัมมันตภาพรังสีแทน แล้วนำปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไปวัดค่ารังสีด้วยเครื่อง ตรวจสอบกัมมันตภาพรังสี วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะสูงมากเมื่อเทียบกับวิธี ELISA แต่จะ อันตรายเนื่องจากการใช้สารกัมมันตภาพรังสี ซึ่งจะไม่สะดวก และก็ต้องจะระมัดระวังในการปฏิบัติงาน การอ่านผลเช่นเดียวกับวิธี ELISA (อาคม สังข์วรานนท์, 2531)

วิธีเหล่านี้ได้รับการใช้อย่างแพร่หลายในการตรวจคัดกรอง เนื่องจากมีความไวสูงและใช้งานง่าย มีประโยชน์สำหรับแยกชนิดของเชื้อ Babesia ในสัตว์แต่ละตัว แต่ไม่สามารถบอกได้ว่า เป็นการสัมผัส เชื้อในอดีตหรือปัจจุบันได้ อย่างไรก็ตามผลการตรวจทางซีโรโลจิคอลมีความจำเพาะที่จำกัด (Gubernot *et al.*, 2009, Luo *et al.*, 2012)

จากข้อจำกัดของเทคนิคดังกล่าวจึงได้ประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลได้แก่ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลี เมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะสูงตรวจสอบสาร พันธุกรรมของเชื้อก่อโรค เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.6.3 การตรวจหาเชื้อโดยวิธีชีวโมเลกุล (Molecular biology examination)

ปัจจุบันนี้ความรู้ทางด้านอณูชีววิทยาได้ก้าวหน้าไปอย่างมาก และมีประโยชน์อย่างมากต่อการประยุกต์นำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อปรสิตทางการแพทย์ ในการตรวจสอบความแตกต่างของยีนทั้งในแง่ความแตกต่างที่เป็นปกติ หรือความแตกต่างที่ทำให้เกิดโรคนั้น จะต้องตรวจสอบกับ DNA ที่สกัดมาจากแหล่งที่เหมาะสมและมีปริมาณเพียงพอที่จะนำมาใช้ได้

เทคนิคนี้ตรวจหา DNA ของเชื้อบาบิเซียในตัวอย่างเลือดมีด้วยกัน 2 วิธีคือ

#### 2.6.3.1 DNA Hybridization

ทำการสกัด DNA จากตัวอย่างเลือดแล้วนำมาตรึงหรือจับบนแผ่น nitrocellulose แล้วใช้ DNA ที่เป็นตัวทดสอบ (DNA probe) ที่มีความจำเพาะในเบสคู่สม (complementary base) กับเชื้อบาบิเซีย มาทำ hybridize กับ DNA ที่จับอยู่บนแผ่น nitrocellulose โดยที่ DNA probe จะติดฉลากด้วยสารกัมมันตภาพรังสีหรือเอนไซม์ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเกิดเป็นสัญญาณบนแผ่นฟิล์ม (เมื่อใช้สารกัมมันตภาพรังสี หรือ Chemiluminescence) หรือเกิดสีบนแผ่น nitrocellulose (เมื่อใช้เอนไซม์จับกับ substrate) DNA hybridization จะมีความไวและจำเพาะสูงมากต่อ Babesia species ซึ่งสามารถตรวจหาปริมาณ DNA ของเชื้อในระดับ 10 นาโนกรัม ของ 50 ไมโครลิตร ของตัวอย่างที่มี parasitemia 0.01%

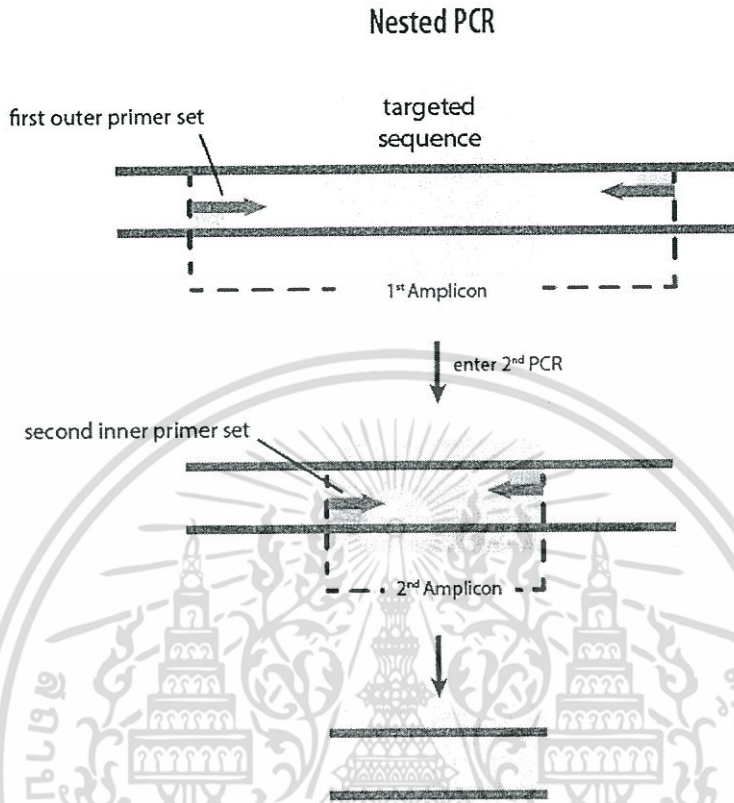
#### 2.6.3.2 PCR Technique

วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะสูงมากกว่า DNA hybridization สามารถตรวจหาปริมาณ DNA น้อยๆ ได้ในตัวอย่างจะทำการสกัด DNA จากตัวอย่างแล้วนำไปเพิ่มจำนวนของ DNA ซึ่งอาศัยขบวนการสร้าง DNA ให้มีปริมาณมากขึ้นโดยใช้เอนไซม์ Taq polymerase และ DNA สายสั้นๆ (primer) ที่จับจำเพาะและมีเบสคู่สมกับ DNA ของเชื้อบาบิเซียแต่ละสายพันธุ์ วิธีนี้สามารถตรวจหาปริมาณ DNA ได้ถึงพิโคกรัม (อาคม สังข์วรานนท์, 2531)

ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะสูงตรวจสอบสารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรค ปัจจุบันมีเทคนิคขั้นสูงของ PCR ออกมาใหม่ๆ ที่มีใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะการใช้เทคนิค nested PCR นิยมนำมาใช้ในงานตรวจวินิจฉัยโรค

โดยเทคนิค nested PCR เป็นเทคนิค PCR ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการให้ได้ผลผลิต PCR ที่มากขึ้น เทคนิคนี้ทำได้โดยอาศัย PCR 2 ขั้นตอนด้วย Primer 2 คู่ โดย Primer คู่แรกจะใช้ในตอน PCR ขั้นตอนแรก และ Primer คู่แรกจะอยู่รอบนอกของดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่กว่าดีเอ็นเอเป้าหมายแต่มีดีเอ็นเอเป้าหมายอยู่ภายในลำดับเบสของผลผลิตของดีเอ็นเอ หลังจากนั้นนำเอาผลผลิตของ PCR ขั้นตอนแรกไปทำ PCR ขั้นตอนที่สอง โดยใช้ Primer คู่ที่สอง ซึ่งออกแบบให้สำหรับเพิ่มขยายได้เฉพาะดีเอ็นเอ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป้าหมาย ซึ่งอยู่ถัดเข้าไปจาก Primer คู่แรก การทำ PCR ขั้นตอนที่สองนั้นอาจทำปฏิกิริยา 25-30 รอบ ในที่สุดก็ได้ผลผลิตดีเอ็นเอเป้าหมายที่เพิ่มขยายจำนวนมากตามที่ต้องการ



ภาพที่ 2.5 แสดงกระบวนการ nestedPCR

ที่มา: Improved quantitative PCR using nested primers. PCR methods and applications, Lawrence A. Haff, 1994

เทคนิคนี้นิยมนำไปใช้ในการประยุกต์เรื่องชั้นสูงตรโรค จึงเหมาะสำหรับนำมาใช้ในการตรวจสอบสารพันธุกรรมของเชื้อ *B. bigemina* ก่อโรคบริเวณยีน Rhopty-associated protein 1 (*rap-1*)

*rap-1* เป็นยีนที่สร้างโปรตีนที่ผิวเมอริโรซอइटของเชื้อ *B. bigemina* เป็นยีนที่แสดงออก RAP 1 protein ที่มีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและมีช่วงลำดับอนุรักษ์ (conserved sequence) สูง 96-97% ซึ่งโปรตีนนี้มีการนำไปใช้พัฒนาทำวัคซีนสำหรับป้องกันการติดเชื้อ *B. bigemina* ในต่างประเทศ ดังนั้นจึงนิยมนำยีนนี้มาใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *B. bigemina* เพื่อความแม่นยำและรวดเร็วยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการตรวจวินิจฉัยมาตรฐาน

การตรวจในห้องปฏิบัติการทั่วไป จะใช้ตรวจหาเชื้อในเลือดโดยวิธี Giemsa stain และ ตรวจหาระดับแอนติบอดีโดยวิธี IFA วัดระดับแอนติบอดีเป็นไตเตอร์ ปัจจุบันได้ใช้วิธี PCR นำมาตรวจหา DNA ของเชื้อ บาบิเซียในการติดเชื้อในสัตว์สำหรับช่วยในการตรวจวินิจฉัยในบางสายพันธุ์ของเชื้อ

### 2.7 การเลี้ยงแพะในเขตมินบุรี

การเลี้ยงแพะในประเทศไทยมีมาช้านาน โดยเฉพาะชาวอินเดียนและชาวไทยมุสลิมนิยมเลี้ยงกันมาก เพื่อรีดนมสำหรับการบริโภคและการประกอบพิธีทางศาสนา ซึ่งในเขตมินบุรีคนท้องถิ่นส่วนใหญ่เป็นชาวไทยมุสลิมร้อยละ 75 ของประชากรจึงมีการเลี้ยงแพะมาเป็นเวลานานตามแบบวิถีชาวบ้าน จนถึงปัจจุบัน การเลี้ยงแพะเริ่มได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากแพะเป็นสัตว์สี่เท้าที่มีขนาดเล็ก ขยายพันธุ์ได้เร็ว อายุ การเป็นหนุ่มสาวและระยะตั้งท้องสั้นเพียง 150 วัน ให้ลูกได้ครั้งละ 1 - 5 ตัว 2 ครั้งต่อปี ใช้พื้นที่เลี้ยงต่อตัวน้อย และมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะความร้อนจากแสงแดด จึงเหมาะที่จะเลี้ยงในพื้นที่ชนบทของกรุงเทพมหานคร เขตมินบุรีเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงแพะมาก เขตหนึ่งในกรุงเทพมหานครมีการเลี้ยงแพะโดยชาวไทยมุสลิมและเป็นการเลี้ยงตามลักษณะทางสังคมวัฒนธรรม ประเพณี มีผู้เลี้ยงแพะ 59 หลังคาเรือน เลี้ยงแพะเนื้อ 683 ตัว เลี้ยงแพะนม 700 ตัว การพัฒนาการผลิตและการตลาดแพะในพื้นที่มินบุรี มีสำนักงานปศุสัตว์อำเภอเขตมินบุรีเป็นหน่วยงานหลัก ดำเนินการแก่เครือข่ายผู้เลี้ยงแพะในลักษณะกลุ่มวิสาหกิจชุมชนผู้เลี้ยงแพะ ได้รวมตัวเป็นกลุ่มชมรมผู้เลี้ยงแพะ-แพะ มินบุรี คลองสามวา ได้มีการเริ่มขับเคลื่อนกลุ่มเครือข่ายให้มีความเข้มแข็งเพื่อให้เป็นศูนย์ใหญ่ทางด้านตะวันออกของประเทศ มีการพัฒนาฟาร์มเกษตรกร และเกษตรกรเครือข่ายด้านการผลิต การตลาด เป็นแหล่งเรียนรู้และถ่ายทอด (สำนักงานปศุสัตว์เขตหนองจอก, 2557. เกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ-แกะในพื้นที่เขตมินบุรี, 2557)

โดยระบบการเลี้ยงแพะยังเป็นระบบการเลี้ยงแบบเปิด ในแพะเนื้อมีการเลี้ยงรวม แบบปล่อยรวมฝูงเล็มหญ้า ส่วนในแพะนมนั้นส่วนใหญ่ 70% เลี้ยงแบบยืนโรง เข้าคอก 20% เลี้ยงแบบปล่อยทุ่ง และอีก 10% เลี้ยงแบบผสมผสาน (สำนักงานปศุสัตว์เขตมินบุรี, 2557) ซึ่งการเลี้ยงแพะลักษณะนี้ อาจเสี่ยงต่อการเกิดโรคจากปรสิตจำพวก เห็บและแมลงดูดเลือด ซึ่งเป็นพาหะสำคัญในการก่อให้เกิดโรคพยาธิในเม็ดเลือด ส่งผลกระทบต่อผลผลิตเนื้อและน้ำนมของแพะลดลง รวมทั้งข้อมูลเชิงวิชาการด้านโรคพยาธิในเลือดในพื้นที่ยังมีการศึกษาวิจัยไม่มากนัก ทั้งที่เป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่สัตว์หรือจากสัตว์สู่คน (zoonoses) และก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจ สำหรับประเทศไทยมีรายงาน่าเชื้อนี้ยังมีการระบาดอยู่ในสัตว์เคี้ยวเอื้องอีกหลายชนิด จึงควรมีมาตรการในการเฝ้าระวังโรค Babesiosis จึงควรเพิ่มเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นโดยเฉพาะการตรวจหาสัตว์ที่ติดโรครวมถึงร่องรอยของพาหะนำโรค (เห็บ) พร้อมกับตรวจสอบระดับ ความชุกชุม และชนิดของเห็บที่เป็นพาหะนำโรคในประเทศไทยว่ามีมากน้อยเพียงใด เพื่อดำเนินการกำจัดหรือลดระดับความชุกลงจนไม่เป็นปัญหาต่อการแพร่กระจายของโรค การสำรวจความชุกและการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค Babesiosis ในแพะดังกล่าวจึงมีบทบาทสำคัญ โดยเฉพาะเป็นการให้ข้อมูลเชิงวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่อคนในพื้นที่เกี่ยวกับพยาธิในเลือดที่มีเห็บและแมลงดูดเลือดเป็นพาหะนำโรคซึ่งยังไม่ได้รับการกระตุ้นและให้ความสำคัญมากนัก รวมไปถึงเป็นการเผยแพร่องค์ความรู้หรือข้อมูลแก่หน่วยงานอื่นๆที่เกี่ยวข้องอีกด้วย



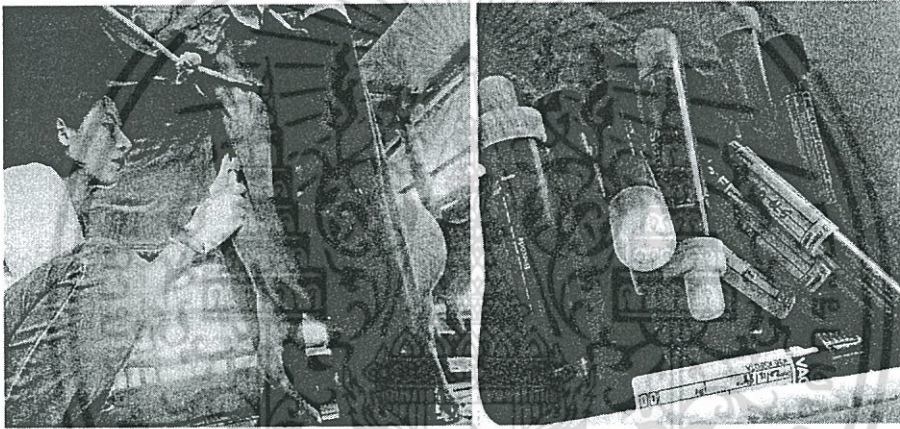
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณคอของแพะ คณะอายุ คณะแพศ จากฟาร์มของเกษตรกรในเขตพื้นที่มีนบุรี จำนวนทั้งสิ้น 28 ฟาร์ม 355 ตัว จาก 1,383 ตัว (ข้อมูลจากชมรมผู้เลี้ยงแพะ แกะมีนบุรีคลองสามวา) หรือ ประมาณ 20% โดยเน้นการกระจายตัวของตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บใส่หลอดที่มี EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด สำหรับนำมาทำฟิล์มเลือด และหลังจากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาสกัด DNA

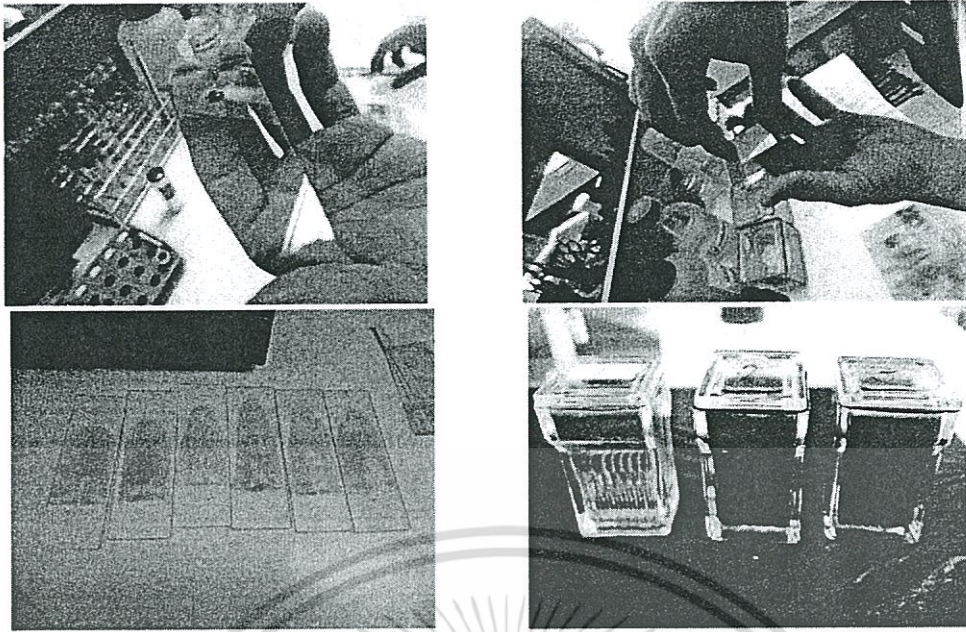


ภาพที่ 3.1 การเก็บตัวอย่าง

#### 3.2 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยวิธีฟิล์มเลือด

นำตัวอย่างเลือดที่เจาะแล้วมาตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ภายใน 24 ชั่วโมง โดยวิธี blood smear ดังนี้ โดยนำตัวอย่างเลือดที่อยู่ในสารป้องกันเลือดแข็งตัว (EDTA) หยดลงบนสไลด์แก้วแล้วเสมีयरให้เลือดกระจายสม่ำเสมอเป็นรูปหัวกระสุน รีบโบกสเมียร์เลือดที่ได้ให้แห้งอย่างรวดเร็ว จากนั้นจุ่มลงใน methanol 95% เพื่อเป็นการ fix ฟิล์มเลือด นำสไลด์ย้อมสีย้อม Wright-Giemsa เมื่อได้ฟิล์มเลือดที่ย้อมด้วยสีย้อมสำเร็จรูป Wright-Giemsa เรียบร้อยแล้ว จึงนำมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100x

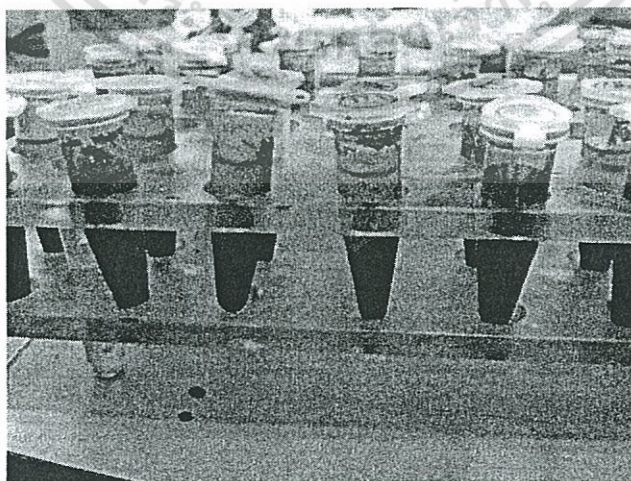
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.2 การทำฟิล์มเลือด

### 3.3 การสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างเลือด 300 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย D-Solution 500 ไมโครลิตร (4M guanidiumthiocyanate, 25 mM sodium citrate pH 7, 0.1M 2-mercaptoethanol, 0.5% N-lauroylsarcosine) จากนั้นเขย่า 5 - 10 นาที สกัดแยกโปรตีนด้วย Phenol-Chloroform แล้วตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย ethanol 600 ไมโครลิตร ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Sambrook et al. (1999) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer 50 ไมโครลิตร (50mM Tris pH8.0, 1 mM EDTA) เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 3.3 การสกัดดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยวิธี PCR

การตรวจสอบเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nested-PCR ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Terkawi et al. (2011) ส่วนประกอบสารละลายปฏิกิริยาพีซีอาร์ปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตรประกอบด้วย 1x buffer (10 mM Tris-HCL pH 8.8, 50 mM KCl และ 0.1 Triton X-100), 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 2pmol แต่ละไพรเมอร์, 0.2 mM dNTP, 1.0 Units Taq DNA polymerase และดีเอ็นเอ 1 ไมโครลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปฏิกิริยาพีซีอาร์มี 2 ขั้นตอนโดยใช้ไพรเมอร์ 2 คู่ คือ ไพรเมอร์ BbigRAP-1 $\alpha$ \_F1 (5' GAG TCT GCC AAA TCC TTA C 3') และ BbigRAP-1 $\alpha$ \_R1 (5' TCC TCT ACA GCT GCT TCG 3') เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน *rap-1* ของเชื้อ *B. bigemina* โดยมีขนาดประมาณ 879 คู่เบส ด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออัตโนมัติ (MyCycler™ thermal cycler: Biometra, Germany) เริ่มต้นด้วยอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที และตามด้วยรอบของอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 35 รอบ และที่อุณหภูมิที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีเมื่อปฏิกิริยาเสร็จสิ้นอย่างสมบูรณ์

จากนั้นใช้ผลผลิตพีซีอาร์ขั้นแรกนี้เป็น ดีเอ็นเอต้นแบบสำหรับกระบวนการเนสเตทพีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ BbigRAP-1 $\alpha$ \_F2 (5' AGC TTG CTT TCA CAA CTC GCC 3') และ BbigRAP-1 $\alpha$ \_R2 (5' TTG GTG CTT TGA CCG ACG ACA T 3') โดยผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จะมีขนาดประมาณ 412 คู่เบส จากนั้นตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจลความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ที่ระดับ 100 โวลต์เป็นเวลา 40 นาที แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์และตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตผ่านเครื่อง Gel documentation

### 3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

#### คำนวณเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ *B. bigemina*

นำผลที่ได้จากการตรวจเชื้อ *B. bigemina* ด้วยวิธีฟิล์มเลือดและวิธี PCR มาคำนวณเปอร์เซ็นต์ของการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ

#### เปรียบเทียบวิธีฟิล์มเลือด และวิธี PCR ในการตรวจการติดเชื้อ

ทำการเปรียบเทียบผลการตรวจเชื้อ *B. bigemina* ด้วยวิธีฟิล์มเลือด และวิธี PCR ทดสอบ Chi-square ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistic Analysis System (SAS, 1985)

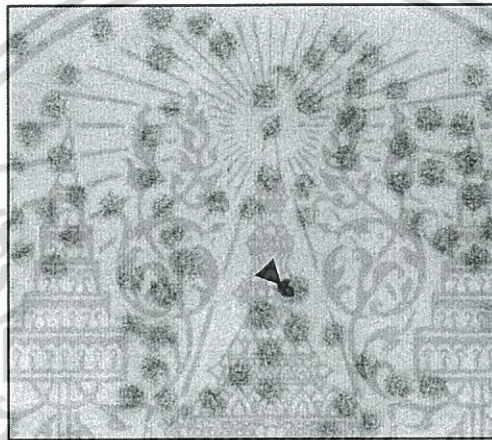
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

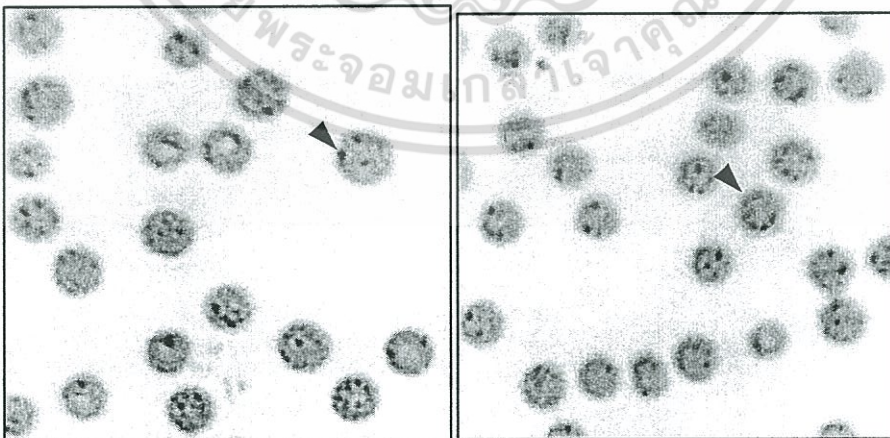
### ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

#### 4.1 การตรวจสอบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในเลือดตัวอย่างด้วยวิธีฟิล์มเลือด

จากการตรวจสอบเลือดแพะจำนวน 355 ตัวอย่าง จากแหล่งต่างๆ ในเขตพื้นที่มีนบุรี จำนวน 28 ฟาร์ม ด้วยวิธีฟิล์มเลือด พบว่าให้ผลการติดเชื้อ *B. bigemina* 3 ตัวอย่าง จาก 355 ตัวอย่าง (0.84%) (ภาพที่ 4.1) และปรสิตชนิดอื่นๆ 104 ตัวอย่าง (อาทิ *Theileria spp.*, *Anaplasma spp.*, *Eperythrozoon spp.*) (ภาพที่ 4.2)

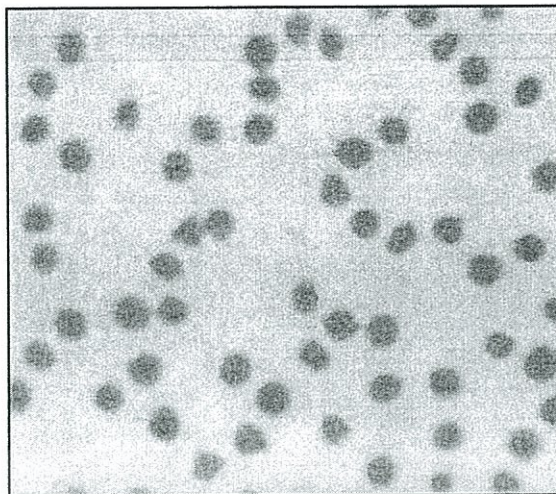


ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างเลือดแพะที่ตรวจพบพยาธิในเม็ดเลือดชนิด *B. bigemina* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x



ภาพที่ 4.2 ตัวอย่างเลือดแพะที่ตรวจพบพยาธิในเม็ดเลือดชนิดต่าง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ตัวอย่างเลือดแพะที่ตรวจไม่พบพยาธิในเม็ดเลือด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x

#### 4.2 การตรวจสอบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในเลือดตัวอย่างด้วยวิธี PCR

การตรวจด้วยวิธี PCR พบว่ามีเลือด 8 ตัวอย่าง (2.25%) ที่ให้ผลบวก โดยผลการติดเชื้อจะพบ DNA ขนาด 412 bp (ภาพที่ 9) ทำการทดสอบด้วย Chi-square จากผลการตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* พบว่าด้วยวิธีฟิล์มเลือดและวิธี PCR มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



ภาพที่ 4.4 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* โดย M = maker, P = positive control of DNA *B. bigemina*, N = negative control, 1 - 8 = DNA แพะตัวที่ตรวจพบเชื้อ *B. bigemina* และ 9 - 15 = DNA แพะที่ไม่ตรวจพบเชื้อ *B. bigemina*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการตรวจเลือดแพะ จำนวน 355 ตัวอย่าง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย

100x

ชนิดของพยาธิในเม็ดเลือดที่พบ	จำนวนตัวอย่างที่พบ	คิดเป็นเปอร์เซ็นต์
<i>Babesia bigemina</i>	3	0.84
ปรสิตชนิดอื่นๆ - <i>Theileria</i> sp. - <i>Anaplasma</i> sp. - <i>Eperythrozoon</i> sp.	104	29.29
ไม่พบ	248	69.85
รวม	355	100

ตารางที่ 4.2 ผลการตรวจสอบเชื้อ *B. bigemina* ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรีจำนวน 355 ตัวอย่างที่เก็บในระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2558 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2559 โดยเทคนิค PCR กับการตรวจสอบโดยกล้องจุลทรรศน์

ผลการทดลอง	จำนวนเลือดแพะตัวอย่าง	
	กล้องจุลทรรศน์	PCR
ผลลบ	352	247
ผลบวก	3 (0.84%)	8 (2.25%)

\*\*\*หมายเหตุ ผลลบ หมายถึง ไม่พบเชื้อ

ผลบวก หมายถึง พบเชื้อ

ผลการตรวจเชื้อ *B. bigemina* จากทั้งสองวิธีให้ผลแตกต่างกัน เนื่องจากการใช้วิธี PCR การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* เป็นการตรวจโดยตรงจาก DNA ถ้าไม่มี DNA ของเชื้อ *B. bigemina* จะตรวจไม่พบการติดเชื้อ แต่การตรวจโดยวิธีฟิล์มเลือดเป็นการตรวจโดยใช้ตาเปล่าดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์จึงทำให้เกิดความผิดพลาด เนื่องจากปัจจัยต่างๆ เช่น สไลด์ไม่สะอาด การที่ขนาดรูปร่างของเกล็ดเลือดที่ติดสีย้อมนั้นมีความเหมือนกันกับเชื้อ *B. bigemina* เม็ดสีย้อมอาจเกิดตะกอนมีขนาดเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใกล้เคียงกับเชื้อ *B. bigemina* และจำนวนของเชื้อมีอยู่ปริมาณน้อยหรืออาจเป็นแพะที่มีโรคแฝงอยู่โดยไม่แสดงอาการ จึงทำให้เกิดความผิดพลาดค่อนข้างมากในการตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยวิธีฟิล์มเลือด

จากการตรวจการติดเชื้อ *B. bigemina* ในแพะในเขตพื้นที่มีนบุรีในครั้งนี้ มีการติดเชื้อมรณะระดับที่ไม่สูงมากนัก คือ 2.25% (8/355) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการติดเชื้อนี้ในโคดังเช่นในงานวิจัยของ นันทิยา และคณะ (2558) พบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในโคเนื้อสูงถึง 50.4% ที่บริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระ จังหวัดกาญจนบุรี

งานวิจัยของ พชรพร และคณะ (2556) ที่พบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในโคนมในประเทศไทยทั่วประเทศร้อยละ 10.2 (186 /1,824) จังหวัดลำปางพบว่ามี ความชุกของเชื้อมากที่สุดร้อยละ 34.3 (34/99) การติดเชื้อในระดับฝูงพบร้อยละ 32.2 (72/223) และภาคกลางมีการติดเชื้อมากที่สุดร้อยละ 13.9 (89/637)

Mohamad et al., 2011 ได้ทำการตรวจสอบเชื้อ *B. bovis* และ *B. bigemina* ในกระบือน้ำในภูมิภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยโดยใช้เทคนิคเนสต์เดทท์พีซีอาร์, ELISA และ IFAT พบว่าความชุกของเชื้อ *B. bovis* และ *B. bigemina* พบ 11.2% และ 3.6% โดยเทคนิคเนสต์เดทท์พีซีอาร์, 14.7% และ 5.9% โดย ELISA และ 16.8%และ5.6% โดย IFAT ตามลำดับ

จักริน ศิริโรทัย และคณะ (2551) ได้ทำการตรวจหาโรคไข้เห็บโดยวิธี PCR ในโคนมพันธุ์ TMZ เพื่อเปรียบเทียบการตรวจหาเชื้อ *A. maginale*, *B. bovis* และ *B. Bigemina* โดยใช้วิธีฟิล์มเลือดและวิธี PCR พร้อมทั้งเปรียบเทียบตำแหน่งของการเก็บตัวอย่างเลือดต่อเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อพบว่า การตรวจหาเชื้อ *A. maginale*, *B. bovis* และ *B. bigemina* ด้วยวิธี PCR มีความถูกต้องแม่นยำมากกว่าการตรวจด้วยวิธีฟิล์มเลือด ( $p < 0.05$ ) และไม่พบความแตกต่างของตำแหน่งของการเก็บตัวอย่างเลือดต่อเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ ( $p > 0.05$ ) ผลจากการทำ serial dilutionพบว่าเทคนิค PCR สามารถตรวจพบเชื้อได้หาก DNA ของเชื้อ *A. maginale* หรือ *B. bigemina* ที่ระดับ 0.1 นาโนกรัมต่อไมโครลิตรขึ้นไป ส่วน *B. bovis* ต้องมี DNA ของเชื้อเข้มข้น 0.7 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร

คันสนีย์ และคณะ(2557) พบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในโคเนื้อ 48.7% ในเขตอำเภอตาพระยา จังหวัดสระแก้ว งานวิจัยของ Cao et al. (2012) พบว่ามีความชุกของเชื้อ *B. bigemina* 21% ในวัวในภาคเหนือของประเทศไทย และตั้งแต่ปี 2012 เริ่มพบว่าในแพะมีรายงานการติดเชื้อ *B. bigemina* 6.77%, 7.14% และ 9.09% ในแพะ,แพะและแพะป่า (wild goats) ตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่ามี การติดเชื้อร่วมกันระหว่าง *B. bigemina* และ *A. marginale* 33.33% ในแกะ, 37.50% ในแพะ และ 50% ในแพะป่า(wild goats) ในเมืองเอธิโอเปียประเทศอิรักจากงานวิจัยของ Ameen et al. (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยของ Sivakumar *et al.* (2013) พบว่ามีรายงาน การติดเชื้อ *B. bigemina* ในแพะ 0.9% ในเมืองฮานอย ประเทศเวียดนาม และงานวิจัยของ Onoja *et al.* (2013) ตรวจความชุกของโรค Babesiosis ในโคและแพะที่ Zaria Abattoir ประเทศไนจีเรีย พบว่ามี การติดเชื้อ *B. bigemina* 9.5% ในโค แต่ก็ไม่พบการติดเชื้อมันในแพะ อย่างไรก็ตามเกษตรกรในเขตพื้นที่มีนบุรียังมีการเลี้ยงแพะแบบปล่อยให้ แพะเล็มหญ้าโดยอิสระซึ่งมักปล่อยรวมกับโคและกระบือ การตรวจพบในครั้งนี้แสดงถึงการเริ่มเกิดการกระจายของเชื้อในกลุ่มของแพะในเขตพื้นที่มีนบุรีซึ่งตามปกติมักพบมากในโคและกระบือ ดังนั้นผู้เลี้ยงแพะในเขตนี้น่ารวมถึงพื้นที่ใกล้เคียงควรระมัดระวังและเข้มงวดเรื่องการสุขาภิบาล และการกำจัดพยาธิทั้งภายในและภายนอกให้มากขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย

การศึกษาความชุกของพยาธิ (*Babesia bigemina*) ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี โดยเก็บตัวอย่างเลือดแพะทั้งหมด 355 ตัวอย่าง จาก 1,383 ตัวอย่าง จากการตรวจสอบการติดเชื้อในเลือดแพะตัวอย่าง พบว่ามี 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 2.25% ที่ให้ผลบวกกับการตรวจสอบโดยเทคนิค PCR ในขณะที่การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์พบ 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 0.84% ที่ให้ผลบวก จัดว่าอยู่ในระดับต่ำ แต่เกษตรกรพึงเอาใจใส่และวางแนวทางในการวางแผนควบคุมและป้องกันการระบาดของโรคซึ่งอาจทำให้เกิดความสูญเสียต่อไปได้

ผลการวิจัยที่ได้ในครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐาน ที่น่าสนใจที่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องจะต้องนำไปพิจารณา เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการสร้างโปรแกรมควบคุมและกำหนดแนวทางนโยบายในการป้องกันความสูญเสียที่เกิดขึ้นจากโรคพยาธิในเลือด และการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคเพื่อลดความเสียหายที่จะก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจเนื่องจาก ส่งผลกระทบต่อผลผลิตต่ำ ผลิตน้ำนม และเนื้อที่มีคุณภาพต่ำกว่ามาตรฐาน

โรค Babesiosis ในประเทศไทยได้รับการรายงานในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมาและการกระจายของโรคนี้มีผลกระทบต่อความเสียหายทางเศรษฐกิจในการผลิตฝูง เมื่อเร็ว ๆ นี้การศึกษาทางภูมิคุ้มกันในกระบือในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยแสดงให้เห็นถึงความชุกตั้งแต่ 3.6 - 16.8% ในห้าจังหวัด (Terkawi *et al.*, 2011)

## บทที่ 6

### สรุปผลผลิตที่ได้จากการวิจัย

งานวิจัยฉบับนี้ได้เสร็จสมบูรณ์และได้เข้าร่วมนำเสนอผลงาน ในการประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ แห่งชาติ ครั้งที่ 6 ในวันที่ 21-23 มิถุนายน 2560 ณ อาคารศูนย์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐมรวมทั้งได้มีการเผยแพร่ งานวิจัยฉบับสมบูรณ์ในวารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ซึ่งอยู่ในฐานข้อมูล TCI ค่า Impact Factor 0.20 ฉบับปีที่ 48 ฉบับที่ 2 เดือน พฤษภาคม - สิงหาคม 2560 (ภาคผนวก ข)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- จักริน ศรีวโรทัย, มนต์ชัย ดวงจินดา, วิโรจน์ ภัทรจินดา, ยุพิน ผาสุก, อนันตชัย ชัยยศวิทยากุล และยวงยศ จินดาทะจักร. 2551. การตรวจหาโรคไข้เห็บโดยวิธี PCR ในโคนมพันธุ์ TMZ. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- ฐิติมา วราทิพย์ และ วีร่า พิวก์. 2550. โรคอื่นที่มีโอกาสพบได้ในโค. [Online]. Available: [http://www.pornchaiinter.com/CM\\_III\\_new.html](http://www.pornchaiinter.com/CM_III_new.html). (14 กุมภาพันธ์ 2558).
- ณรงค์ จิ่งสมาน, ธเนศร ทิพย์รักษ์ และทวีวัฒน์ ทศนวัฒน์. 2549. การผลิตสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์ฆ่าเห็บโค. วารสารการสัตว. 32 (2): 35-38
- ปาริชาติ แก่งอินทร์. 2553. การใช้เชื้อรา *Beauveria bassiana* เพื่อควบคุมเห็บในโคเนื้อลูกผสม. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พชรธรรม สิมกึ่ง, สิ้นสมุทรร แซ่ใจ้ว, นงนุช ภิญญานุวัฒน์, วิษณุวัฒน์ ฉิมน้อย, พิพัฒน์ อรุณวิภาส และสถาพร จิตपालพงศ. 2556. การตรวจหาเชื้อ *Babesia bigemina* ในโคนมในประเทศไทยโดยใช้ยีน rap 1. ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มานพ ม่วงใหญ่. 2545. วิทยาเซลล์เดียวทางสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2, โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร. 218น.
- วีรพล ทวีนนท์. 2547. อายุรศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. ประเด็นที่สำคัญในโคนม. หน่วยปรสิตวิทยาภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 10-12.
- สำนักงานควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์. 2551. รายงานการเฝ้าระวังโรคระบาดสัตว์. [Online]. Available: <http://www.dld.go.th/dcontrol/indexdcon.htm> [10 ตุลาคม 2557].
- สำนักงานปศุสัตว์เขตมีนบุรี. 2557. ชมรมผู้เลี้ยงแพะ-แกะ มีนบุรี คลองสามวา. กรุงเทพมหานคร.
- คันสนีย์ มุ่งอุ่นกลาง, ไพฑูล แก้วหอม, ปรีดา เลิศวัชรสารกุล และ กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2557. การตรวจหาเชื้อ *Babesia bigemina* ในเลือดโคกระบือในเขตพื้นที่ชายแดนด้านตะวันออกระหว่างประเทศไทย-กัมพูชาโดยเทคนิคเนสเทคพีซีอาร์. ใน: การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเนื้อสัตว์ครั้งที่ 5 "การผลิตเนื้อสัตว์ภายใต้การแข่งขันการค้าโลก (Meat Production in the Global Trade Competition)" 25 - 26 กรกฎาคม 2557 คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร.
- หนึ่งนุช สายปิ่น. 2551. การผลิตแพะ. โรคทั่วไปของแพะและการดูแลรักษา. กรุงเทพมหานคร: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- อาคม สังข์วรานนท์. 2531. การตรวจวินิจฉัยโรคและเทคนิคทางปรสิตวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 2, กรุงเทพมหานคร: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 247น.
- อาคม สังข์วรานนท์. 2537. ปรสิตวิทยา. กวีวิทยาทางการแพทย์และสัตวแพทย์. กรุงเทพมหานคร: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 253 - 326.
- อาคม สังข์วรานนท์. 2541. ปรสิตวิทยา. ปรสิตวิทยาคลินิกทางสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 1, กรุงเทพมหานคร: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 253 - 326.
- Ameen, K.A.H., B.A. Abdullah and R.A. Abdul-Razaq. 2012. Seroprevalence of *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale* in domestic animals in Erbil, Iraq. Iraqi J. Vet. Sci. 26: 109 - 114
- Barnett, S.F. 1961. The Control of Ticks on Livestock. Rome. Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Agric. Stu. No. 54: p.115.
- Blagburn, B.L. and M.W. Dryden. 2000. Pfizer Atlas of Veterinary Clinical Parasitology. Wilmington, USA: The Gloyd Group.
- Blezinger, S. 1998. Management of parasites Part 1. [Online]. Available: [http://www.Cattletoday.com/archive/1999/October/Cattle\\_Today23.shtml](http://www.Cattletoday.com/archive/1999/October/Cattle_Today23.shtml) [12/1/2015]
- Coa, S., G.O. Aboge, M.A. Terkawi, L. Yu, K. Kamyngkird, Y. Luo, Y. Li, Y.K. Goo, J. Yamagishi, Y. Nishikawa, N. Yokoyama, H. Suzuki, I. Igarashi, R. Maeda, T. Inpankaew, S. Jittapalpong and X. Xuan. 2012. Molecular detection and identification of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle in northern Thailand. Parasitol. Res. 111: 1259 - 1266
- Gubernot, D.M., C.T. Lucey, K.C. Lee, G.B. Conley, L.G. Holness and R.P. Wise. 2009. Babesia infection through blood transfusion: reports received by the US Food and Drug Administration, 1997 – 2007. Clinical Infectious Disease. Vol48: p. 25 – 30
- Haff LA. Improved quantitative PCR using nested primers. PCR methods and applications. 1994; 3(6): 332 - 337.
- Hunngerford, T. G. 1990. Parasites of the liver. Diseases of Livestock. 9th ed. McGraw Hill. Sydney. Australia. Vol. 2: p.1402.
- Mafra,C.2007.Engorge tick.[Online]. Available:<http://www.insecta.ufv.br>. [24/10/2014]

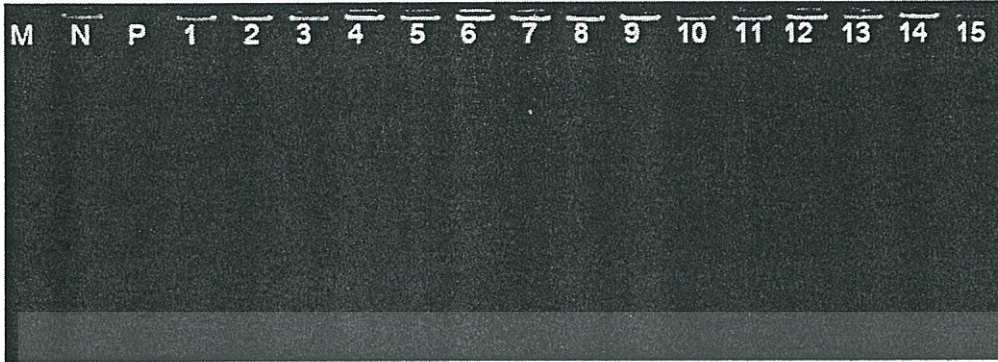
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Mohamad, A.T., X.H. Nguyen, S. Cao, I. Tawin, M. Khuanwalai, A. Mahmoud, U. Akio, G. Youn-Kyoung, Y. Naoaki, J. Sathaporn, X. Xuenan and I. Ikuo. 2011. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the northeast region of Thailand. *Veterinary Parasitology*. Kasetsart University. Bangkok, Thailand. Vol.178: p.201 - 207.
- Naoaki Yokoyama, Yuichiro Hara, Hidemi Watanabe, Hiroyuki Wakaguri, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Junichi Watanabe and Ikuo Igarashi. 2009. Full-Babesia. [Online]. Available: <http://fullmal.hgc.jp/bb/docs/aboutdb.html> [2016, August 13]
- Øivind Øines, J. Radzijeuskaja, A. Paulauskas and O. Rosef. 2012. Prevalence and diversity of *Babesia spp.* In questing Ixodes ricinus ticks from Norway. *Parasites & Vectors*. Norway. Vol.5: 156
- Onoja, I.I., P. Malachy, W. P. Mshelia, S.O. Okaiyeto, S. Danbirni and G. Kwanashie. 2013. Prevalence of Babesiosis in Cattle and Goats at Zaria Abattoir, Nigeria. *J. Vet. Adv.* 3(7): 211 - 214
- Sambrook, J. and D.W. Russell. 2001. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.
- Sivakumar, T., D.T.B. Lan, P.T. Long, T. Yoshinari, M. Tattiyapong, A. Guswanto, K. Okubo, I. Igarashi, N. Inoue, X. Xuan and N. Yokoyama. 2013. PCR Detection and Genetic Diversity of Bovine Hemoprotozoan Parasites in Vietnam. *J. Vet. Med. Sci.* 75(11): 1455 - 1462.
- Terkawi, M.A., N.X. Huyen, C. Shinuo, T. Inpankaew, K. Maklon, M. Aboulaila, A. Ueno, Y.K. Goo, N. Yokoyama, S. Jittapalapong, X. Xuan and I. Igarashi. 2011. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the northeast region of Thailand. *Vet.Parasitol.* 178:201 – 207
- Wright, I.G., B.V. Goodger, G.D. Buffington, I.A. Clark, F. Parrodi and D.J. Waltisbuhl. 1989. Immunopathophysiology of babesial infections. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg.* 83: 11 - 13.
- Young, A.S. and S.P. Morzaria. 1986. Biological of *Babesia*. *Parasitol Today*. Vol. 2: 211 - 219.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

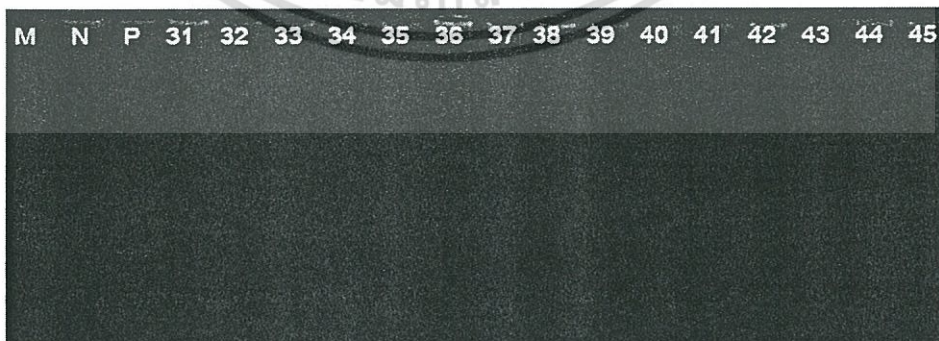
ผลการตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ในเลือดแพะจำนวน 355 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค nestedPCR



ภาพผนวกที่ 6.1 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 1 - 15 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

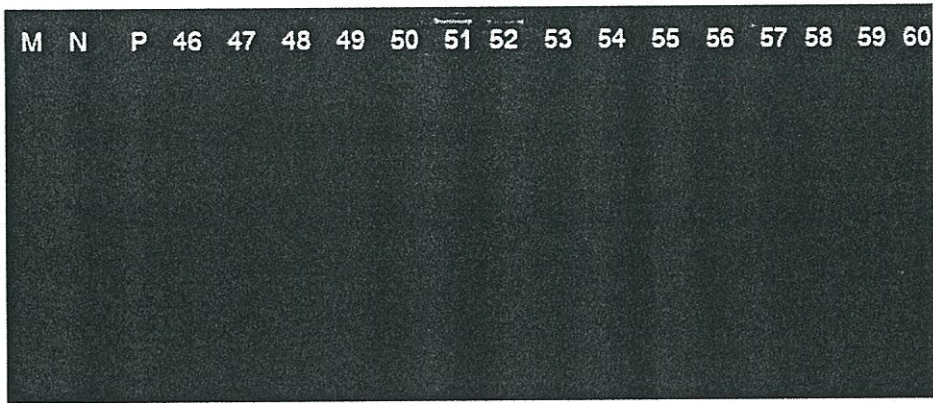


ภาพผนวกที่ 6.2 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 16 - 30 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

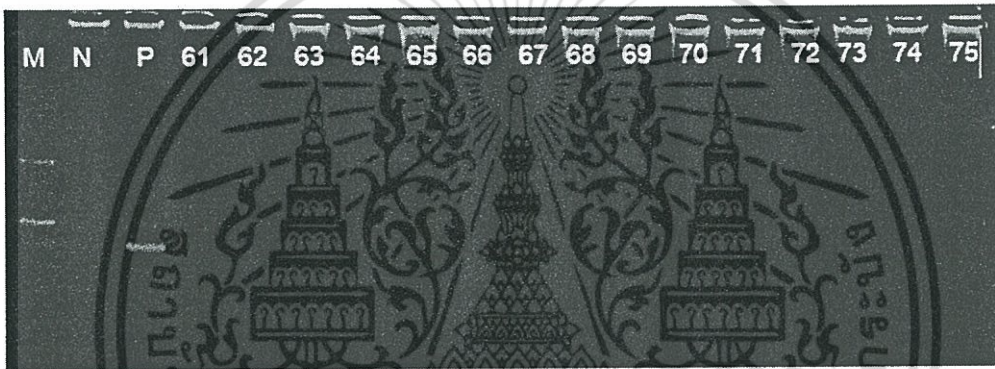


ภาพผนวกที่ 6.3 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 31 - 45 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

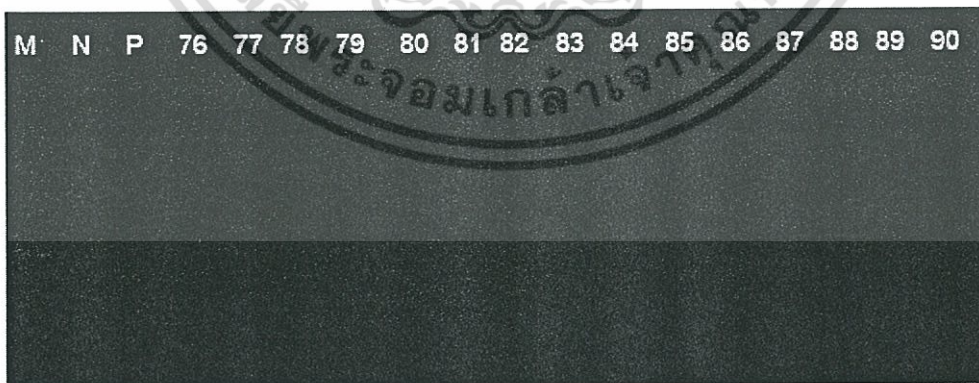
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 6.4 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 46 - 60 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

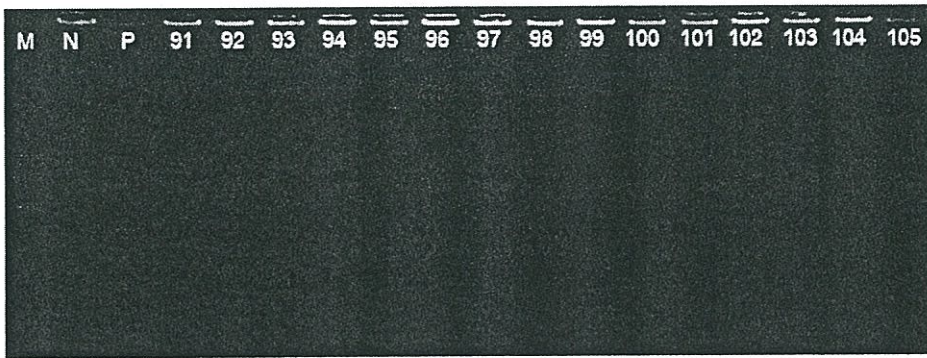


ภาพผนวกที่ 6.5 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 61 - 75 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*



ภาพผนวกที่ 6.6 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 76 - 90 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

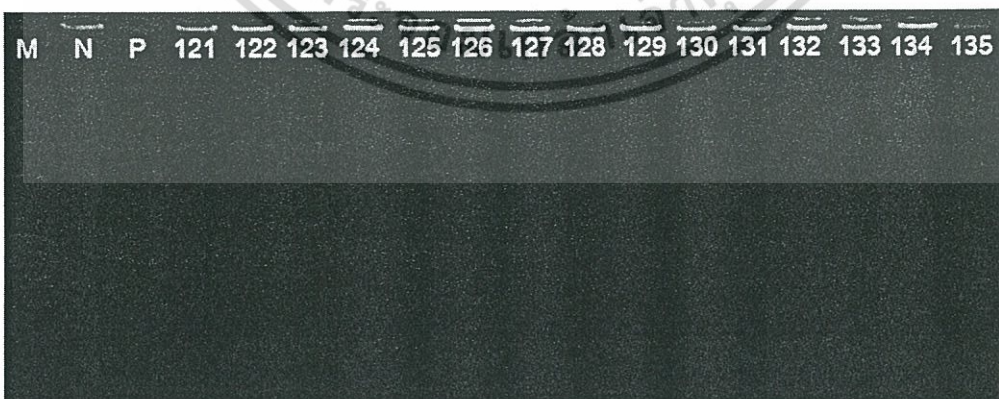
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 6.7 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 91 - 105 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

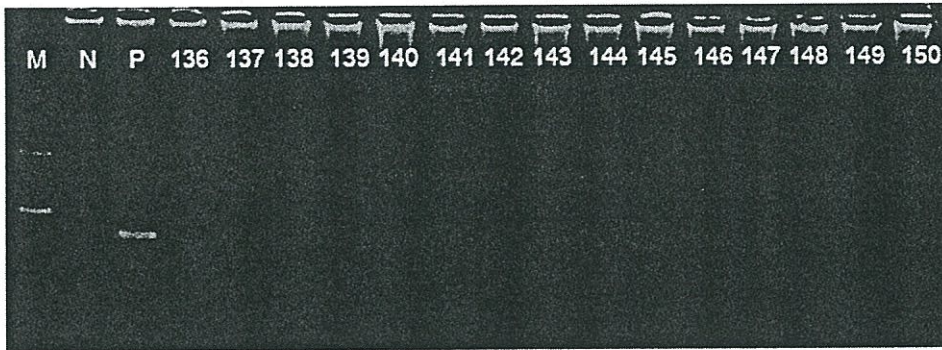


ภาพผนวกที่ 6.8 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 106 - 120 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*



ภาพผนวกที่ 6.9 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 121 - 135 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

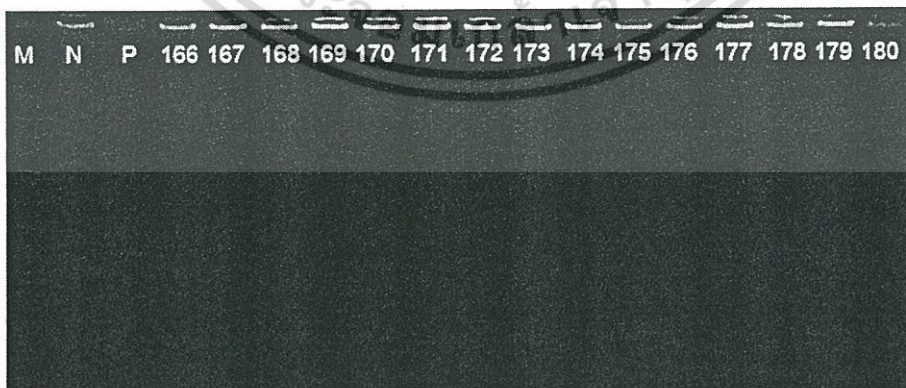
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 6.10 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 136 - 150 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

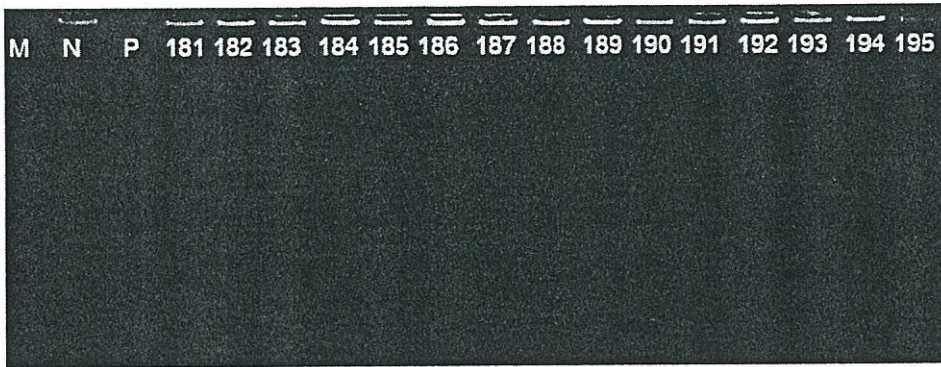


ภาพผนวกที่ 6.11 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 151 - 165 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*



ภาพผนวกที่ 6.12 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 166 - 180 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

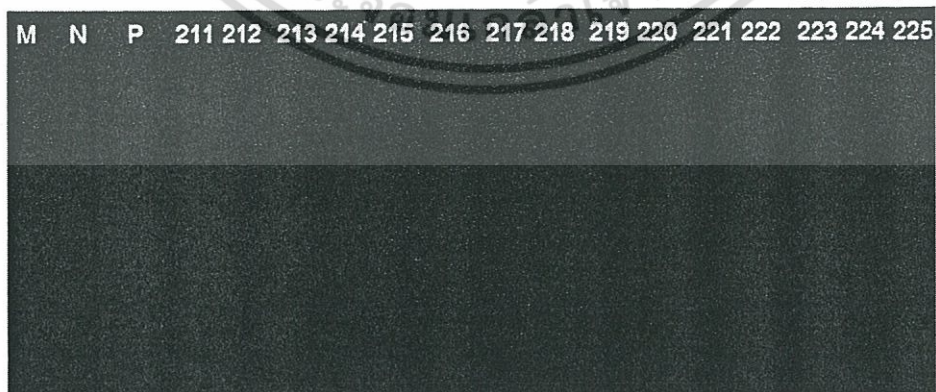
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 6.13 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 181 - 195 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

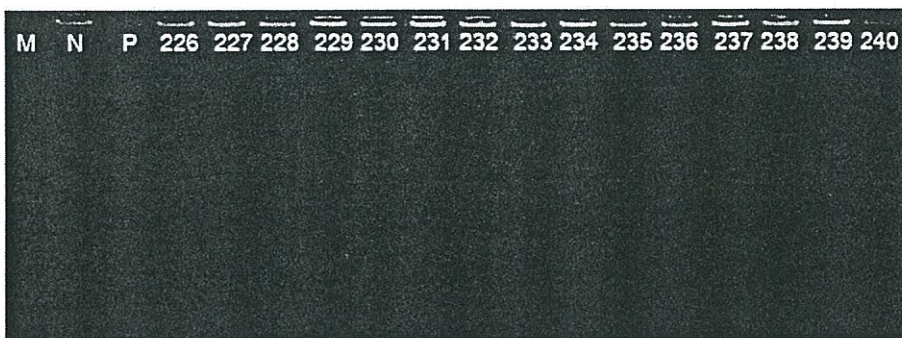


ภาพผนวกที่ 6.14 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 196 - 210 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*



ภาพผนวกที่ 6.15 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 211 - 225 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 6.16 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 226 - 240 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

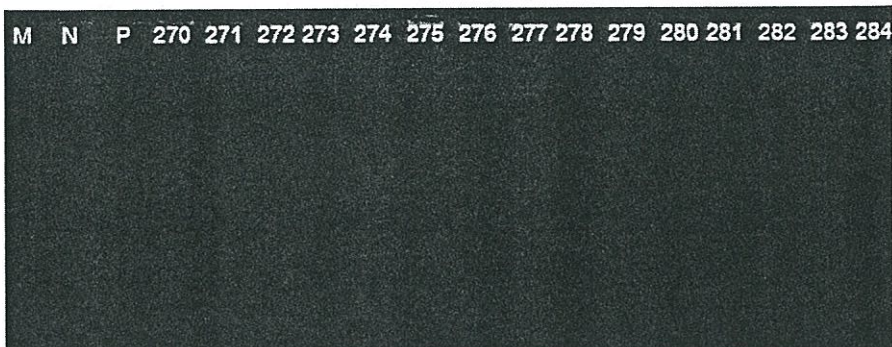


ภาพผนวกที่ 6.17 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 252 - 253 = DNA แพะที่ตรวจพบเชื้อ *B. bigemina*, 240 - 251 และ 254 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*



ภาพผนวกที่ 6.18 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 255 = DNA แพะที่ตรวจพบเชื้อ *B. bigemina*, 256 - 269 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

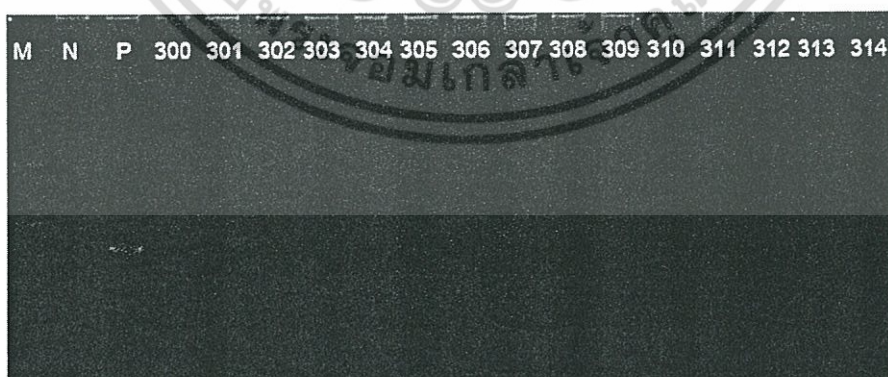
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 6.19 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 270 – 284 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

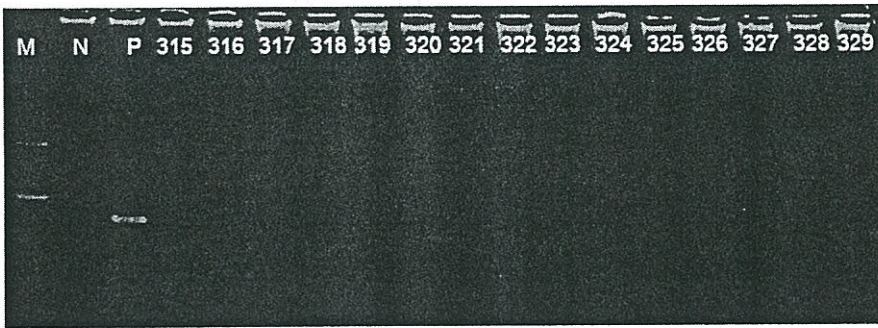


ภาพผนวกที่ 6.20 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 285 - 299 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*



ภาพผนวกที่ 6.21 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 303 = DNA แพะที่ตรวจพบเชื้อ *B. bigemina*, 300-302 และ 304 – 314 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

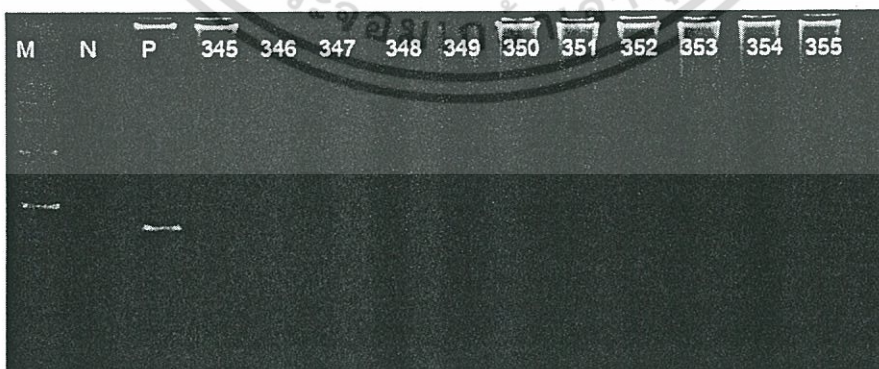
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 6.22 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 315 - 329 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*



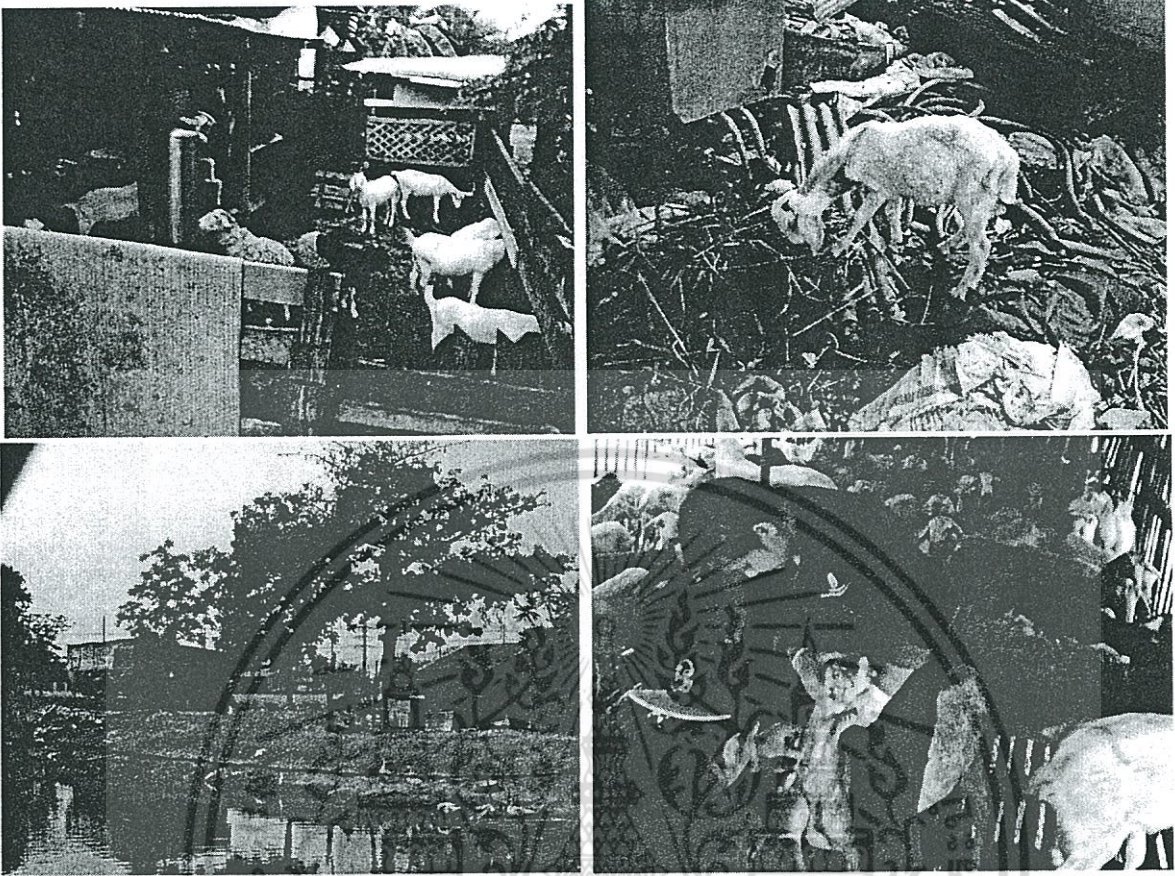
ภาพผนวกที่ 6.23 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 337 และ 339 = DNA แพะที่ตรวจพบเชื้อ *B. bigemina*, 330 - 336, 338 และ 340 - 344 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*



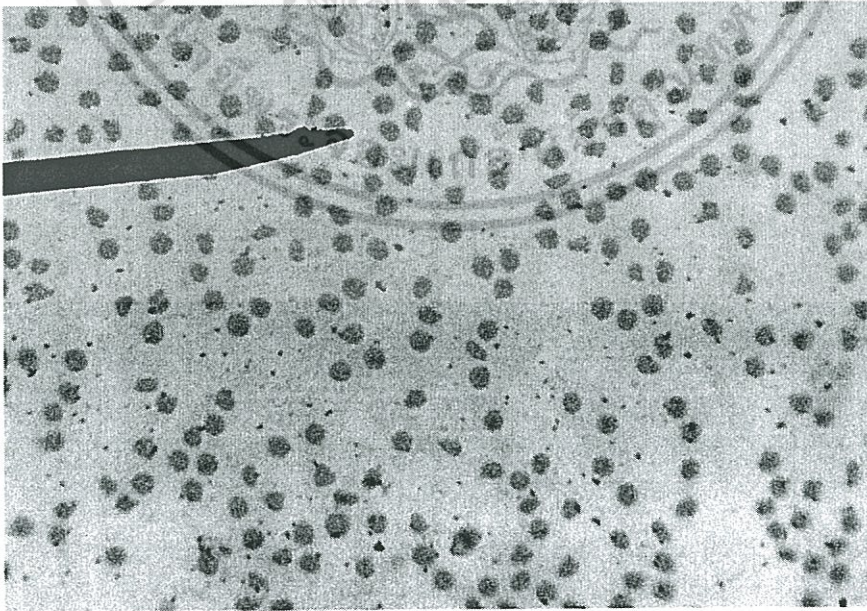
ภาพผนวกที่ 6.24 การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดย M = maker, P = DNA *B. bigemina*, N = negative control, 347 และ 349 = DNA แพะที่ตรวจพบเชื้อ *B. bigemina*, 345 - 346, 348 และ 350 - 355 = DNA แพะที่ตรวจไม่พบเชื้อ *B. bigemina*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



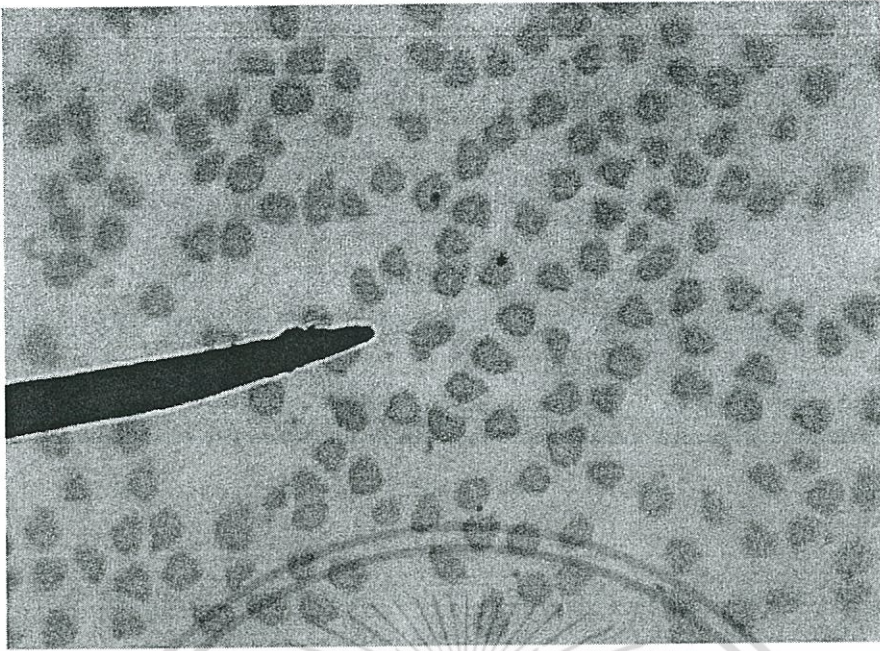


ภาพผนวกที่ 7.3 แสดงตัวอย่างแพะที่เลี้ยงแบบปล่อยและแบบขังรวมที่เจาะเลือดมาตรวจ *Babesia bigemina*



ภาพผนวกที่ 8.1 แสดงผลได้กล้อง ที่กำลังขยาย 100X ของตัวอย่างสไลด์ที่ไม่สะอาด มีการปนเปื้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 8.2 แสดงผลไตกล้อง ที่กำลังขยาย 100X ของตัวอย่างสไลด์ที่สะอาด มีการกระจายตัวของเม็ดเลือดที่ดี มีการย้อมติดสีชมพูของเม็ดเลือดแดง และติดสีม่วงของปรีตีนเม็ดเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ความชุกของพยาธิ (*Babesia bigemina*) ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี Prevalence of Goats Blood Parasites (*Babesia bigemina*) in Minburi District, Bangkok

คันสนีย์ มุ่งอู่กลาง<sup>1</sup> และ กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์<sup>2</sup>  
Sansanee Mungunklang<sup>1</sup> and Kanokrat Srikijkasemwat<sup>2</sup>

<sup>1</sup> หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

<sup>2</sup> ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

<sup>1</sup> Major of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

<sup>2</sup> Department of Animal Production technology and Fishery, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

## บทคัดย่อ

เชื้อโปรโตซัว *Babesia bigemina* เป็นเชื้อก่อโรคที่มีความสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์และผลผลิต โดยมีพาหะคือเห็บ การศึกษาในครั้งนี้ได้ตรวจหาความชุกของเชื้อ *B. Bigemina* ในเลือดแพะที่เลี้ยงในเขตพื้นที่มีนบุรี จำนวนทั้งสิ้น 355 ตัว โดยการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เทคนิคการทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์และเทคนิค nested PCR (nPCR) ผลการศึกษาพบว่าการตรวจด้วยวิธีฟิล์มเลือดพบการติดเชื้อ 0.84 % (3/355) ในขณะที่เทคนิค nPCR พบการติดเชื้อ 2.25% (8/355) การพบเชื้อในอัตรานี้ยังคงอยู่ในระดับต่ำแต่เกษตรกรควรพึงเอาใจใส่และวางแผนการวางแผนควบคุมและป้องกันการระบาดของโรคซึ่งอาจทำให้เกิดความสูญเสียต่อไปได้

คำสำคัญ: พยาธิในเลือด, บาบีเซีย ไบเจมิน่า, เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่, แพะ

## ABSTRACT

*Babesia bigemina* pose important problems for animal health and production since the disease is a tick-borne disease distributed via ticks. In this study, we evaluated the prevalence of *B. bigemina* in goats in Minburi district, Bangkok by the microscopic examination of stained blood smears and nPCR technique. A total of 355 whole-blood samples with EDTA were obtained. The positive result for stained blood smears showed 0.84% (3/355) infection of *B. bigemina*. While, the positive result for nPCR technique showed 2.25% (8/355) infection of *B. bigemina*. Although, the results showed low rate of infection but farmers should pay attention for controlling and preventing outbreaks that could lead to further losses.

**Keywords:** blood parasites, *Babesia bigemina*, PCR technique, *rap 1*, goats

## บทนำ

โรคที่เกิดจากเชื้อปรสิตเป็นปัญหาสำคัญมากต่อสุขภาพโดยตรงในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการผลิตเนื้อและน้ำนมทำให้ได้ผลผลิตต่ำกว่ามาตรฐาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแพะที่เป็นโรคระบาดได้ง่ายและรุนแรงกว่าโค กระบือ เนื่องจากแพร่กระจายได้ง่าย ปรสิตในเลือดก็เป็นหนึ่งในจำนวนปรสิตที่พบได้บ่อยในแพะ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ กับแพะ เช่น โรคอะนาพลาสโมซิส (Anaplasmosis) และโรคบาบีโอซิส (Babesiosis) เป็นต้น โรค Babesiosis เป็นโรคที่มีความรุนแรงในสัตว์หลายชนิด ในประเทศไทยพบที่เกิดจากเชื้อโปรโตซัว 2 ชนิด คือ *Babesia bovis* และ *B. bigemina* ซึ่งเชือนี้จะอาศัยอยู่ในเม็ดเลือดแดงของสัตว์ โดยมีเห็บ *Boophilus microplus* เป็นพาหะ อาการโดยทั่วไป แพะจะมีไข้สูงกว่า 40-41°C ไม่กินอาหาร ขนยุ่ง หุดก เมื่อเม็ดเลือดแดงถูกทำลายมากจะเกิดภาวะโลหิตจางและเกิดดีซ่านตามมา การติดเชื้อ *B. bigemina* สัตว์ส่วนใหญ่มักจะไม่ค่อยแสดงอาการจะเป็นตัวอมโรคและแพร่ไปยังตัวอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อผลผลิตทั้งเนื้อและน้ำนมทำให้ได้ผลผลิตลดลง การตรวจสอบโรคทำได้โดยเทคนิคการทำฟิล์มเลือด สามารถตรวจพบได้ยากถ้าสัตว์นั้นมีจำนวนเชื้ออยู่น้อย หรือสัตว์เป็นพาหะ อีกทั้งสไลด์ไม่สะอาด ดังนั้นการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลได้แก่ Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความไวและความจำเพาะสูงตรวจสอบสารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรคบริเวณยีน Rhostry-associated protein1(*rap 1*) ซึ่งเป็นยีนที่แสดงออก RAP 1 protein ที่มีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและมีช่วงลำดับอนุรักษ์สูง 96—97% มาใช้ตรวจวินิจฉัยเพื่อความ

แม่นยำและรวดเร็วยิ่งขึ้น ในขณะที่มีปริมาณเชื้อน้อยๆหรือในสัตว์ที่เป็นพาหะของโรค ช่วยวินิจฉัยการแพร่ระบาดของโรคได้อย่างถูกต้อง และรวดเร็วก่อนที่จะส่งผลกระทบต่อผลผลิต เพื่อป้องกันและลดความเสียหายจากโรคดังกล่าว (Muangyai, 2002; Worasing and Rattana ;2007 Sriwarothai *et al.*, 2008)

พื้นที่เขตมีนบุรี ประชากรส่วนใหญ่เป็นชาวไทย-มุสลิม ประมาณ 75% ประกอบอาชีพทางด้านเกษตรกรรม โดยเฉพาะการเลี้ยงแพะ นิยมบริโภคผลิตภัณฑ์เนื้อและนมจากแพะ รวมไปถึงใช้แพะในทางพิธีกรรมทางศาสนาที่สำคัญ แต่ระบบการเลี้ยงแพะยังเป็นระบบการเลี้ยงแบบเปิด ในแพะเนื้อมีการเลี้ยงรวม แบบปล่อยรวมฝูงเล็มหญ้า ดังนั้นการสำรวจความชุกของเชื้อปรสิตในเลือดที่ก่อให้เกิดโรคในแพะในพื้นที่เขตมีนบุรีดังกล่าวจึงมีบทบาทสำคัญเพื่อเป็นข้อมูลในการวางแผนการจัดการให้ถูกต้องเหมาะสมต่อไป

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากเส้นเลือดดำบริเวณคอของแพะ ในเขตพื้นที่มีนบุรี 355 ตัว ระหว่างเดือนสิงหาคม-ธันวาคม 2559 จำนวน 28 ฟาร์ม โดยเน้นการกระจายตัวของตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บใส่หลอดที่มี EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด สำหรับนำมาทำฟิล์มเลือด และเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C สำหรับนำมาสกัด DNA

#### การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยวิธีฟิล์มเลือด

นำเลือดมาตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ภายใน 24 ชั่วโมง หยดลงบนสไลด์แก้วแล้วเสมียร์เป็นรูปหัวกระสุน โบทเสมียร์เลือดให้แห้งอย่างรวดเร็ว จากนั้นจุ่มลงใน methanol 95% เพื่อ fix ฟิล์มเลือด แล้วย้อมด้วยสีย้อม Wright-Giemsa จึงนำมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100x.

#### การสกัดดีเอ็นเอ

นำเลือด 300  $\mu$ l ผสมกับสารละลาย D-Solution 500  $\mu$ l (4M guanidiumthiocyanate, 25mM sodium citrate pH 7, 0.1M 2-mercaptoethanol, 0.5% N-lauroylsarcosine) แยกโปรตีนด้วย Phenol-Chloroform 150  $\mu$ l ตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย ethanol 600  $\mu$ l ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Sambrook *et al.* (2001) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer (50mM Tris pH8.0, 1 mM EDTA) เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อวิเคราะห์ต่อไป

### การตรวจหาเชื้อ *B. bigemina* ด้วยวิธี PCR

การตรวจสอบเชื้อ *B. bigemina* ด้วยเทคนิค nestedPCR โดยดัดแปลงมาจากวิธีการของ Terkawi *et al.* (2011) ปริมาตรรวม 20  $\mu$ l ประกอบด้วย 1x buffer (10 mM Tris-HCL pH8.8, 50 mM KCl และ 0.1 Triton X-100), 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 2pmol แต่ละไพรเมอร์, 0.2 mM dNTP, 1.0 U Taq DNA polymerase และดีเอ็นเอ 1  $\mu$ l และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปฏิกริยาพีซีอาร์มี 2 ขั้นตอน โดยใช้ไพรเมอร์ 2 คู่ คือ BbigRAP1a\_F1(5'-GAGTCTGCCAAATCCTTAC-3') และ BbigRAP1a\_R1 (5'-TCCTCTACAGCTGCTTCG-3') เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีน *rap 1* ของเชื้อ *B. bigemina* มีขนาด 879 คู่เบส ด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออัตโนมัติ (MyCycler™ thermal cycler: Biometra, Germany) เริ่มต้นอุณหภูมิ 95 °C เวลา 3 นาที ตามด้วย 94 °C เวลา 1 นาที 55 °C เวลา 1 นาที และ 72 °C เวลา 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ 72 °C เวลา 10 นาที จากนั้นใช้ PCR product รอบแรกนี้เป็น DNAtemplate โดยใช้ BbigRAP1a\_F2 (5'-AGCTTGCTTTCACAACTCGCC-3') และ BbigRAP1a\_R2 (5'-TTGGTGCTTTGACCGACGACAT-3') มีขนาด 412 คู่เบส จากนั้นตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจลความเข้มข้น 1.5 % ที่ 100 โวลต์เป็นเวลา 40 นาที แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แล้วตรวจดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตผ่านเครื่อง Gel documentation

### ผลการทดลองและวิจารณ์

การตรวจสอบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในเลือดตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยวิธีฟิล์มเลือด

จากการตรวจสอบเลือดแพะจำนวน 355 ตัวอย่าง ในเขตพื้นที่มินบุรี ด้วยวิธีฟิล์มเลือด พบว่าให้ผลการติดเชื้อ *B. bigemina* 3 ตัวอย่าง คิดเป็น 0.84% โดยพบเชื้อลักษณะรูปร่างคล้ายลูกแพร์คู่ทำมุมแหลมต่อกันภายในเซลล์เม็ดเลือด Salakij (2005)

Table1 Prevalence of *B. bigemina* infection in goats in Minburi District.

Technique	No. examined	No. infected	Prevalence (%)
stained blood smears	355	3	0.84
PCR technique	355	8	2.25

### การตรวจสอบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในเลือดตัวอย่างด้วยวิธี PCR

การตรวจด้วยวิธี PCR พบว่ามีเลือด 8 ตัวอย่าง คิดเป็น 2.25% ที่ให้ผลบวก โดยผลการติดเชื้อจะพบแถบ DNA ขนาด 412 bp จากการทำ PCR รอบที่ 2 (Figure1) การสำรวจความชุกของการติดเชื้อ *B. bigemina* ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรีในครั้งนี้ ถึงแม้จะมีการติดเชื้อในระดับที่ไม่สูงมากนักคือ 2.25 % เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในโค ดังเช่นในงานวิจัยของ Saetiew *et al.* (2015) ที่พบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในโคเนื้อสูงถึง 50.4% บริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าสลักพระ จังหวัดกาญจนบุรี งานวิจัยของ Mungunklang *et al.* (2014) พบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในโคเนื้อ 48.7% ในเขตอำเภอบางแพะ จังหวัดสระแก้ว และงานวิจัยของ Onoja *et al.* (2013) ที่ได้ตรวจความชุกของโรค Babesiosis ในโคและแพะที่ Zaria Abattoir ประเทศไนจีเรีย พบว่ามีเชื้อ *B. bigemina* 9.5% ในโค แต่ก็ไม่พบการติดเชื้อในแพะ อย่างไรก็ตามมีหลายรายงานพบการติดเชื้อในกลุ่มของแพะและแกะ ดังเช่น Ameen *et al.* (2012) พบการติดเชื้อ *B. bigemina* 6.77%, 7.14% และ 9.09% ในแกะ, แพะ และแพะป่า(wild goats) ตามลำดับ อีกทั้งยังพบว่าการติดเชื้อร่วมกันระหว่าง *B. bigemina* และ *A. marginale* 33.33% ในแกะ, 37.50% ในแพะ และ 50% ในแพะป่า(wild goats) ที่เมืองเออร์บีล ประเทศอิรัก อีกทั้ง Sivakumar *et al.* (2013) ก็พบว่าการติดเชื้อ *B. bigemina* ในแพะ 0.9% ในเมืองฮานอย ประเทศเวียดนาม

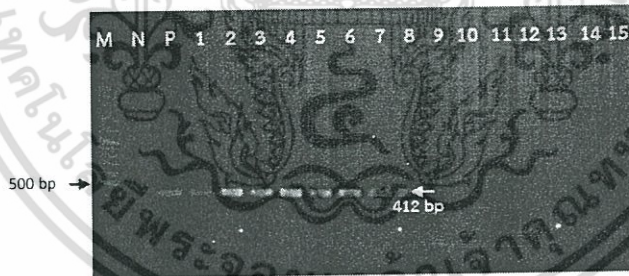


Figure1 Detection *B. bigemina* which present at 412 bp. M : maker100bp plus, P : positive control, N = negative control, 1-8 = positive sample and 9-15 = negative sample

การตรวจพบในครั้งนี้แสดงถึงการเริ่มเกิดการกระจายของเชื้อในกลุ่มของแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี ซึ่งตามปกติมักพบมากในโคและกระบือดังนั้นผู้เลี้ยงแพะในเขตนี้รวมถึงพื้นที่ใกล้เคียงควรระมัดระวังและเข้มงวดเรื่องการสุขาภิบาล และการกำจัดพยาธิทั้งภายในและภายนอกให้มากขึ้น

## สรุป

การศึกษาความชุกของพยาธิ (*Babesia bigemina*) ในเลือดแพะในเขตพื้นที่มีนบุรี โดยเก็บตัวอย่างเลือดแพะทั้งหมด 355 ตัวอย่าง ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยวิธีฟิล์มเลือดพบการติดเชื้อ 0.84% ตรวจด้วยวิธี PCR พบการติดเชื้อ 2.25% (8/355) จัดว่าอยู่ในระดับต่ำ อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าเริ่มพบการติดเชื้อ *B. bigemina* ในแพะของเขตมีนบุรี ซึ่งมักไม่ค่อยพบการติดเชื่อนี้ในแพะแต่จะพบมากในโคและกระบือ อย่างไรก็ตามยังมีตัวอย่างเลือดแพะจำนวนถึง 104 ตัวอย่าง ที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ว่ามีการติดเชื้อพยาธิในเลือดชนิดอื่นๆ อีกด้วย เกษตรกรจึงควรเอาใจใส่ในด้านสุขาภิบาลและการกำจัดพยาธิให้มากขึ้น

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้เป็นอย่างดีโดยได้รับความกรุณาจาก ปศุสัตว์พื้นที่ 2 และชมรมผู้เลี้ยงแพะแคะมีนบุรีคลองสามวา ในการเก็บตัวอย่างเลือดแพะ และขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มอบทุนสนับสนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

## เอกสารอ้างอิง

- Ameen, K.A.H., B.A. Abdullah and R.A. Abdul-Razaq. 2012. Seroprevalence of *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale* in domestic animals in Erbil, Iraq. Iraqi J. Vet. Sci. 26: 109 -114
- Muangyai, M. 2002. Veterinary protozoology, 2sd ed. Chulalongkorn University, Bangkok. 218p.
- Mungunklang, S., P. Kaewhom, P. Lertwatcharasarakul and K. Srikijsasemwat. 2014. Molecular Detection of *Babesia bigemina* in Cattle in the Eastern Border Area between Thailand-Cambodia by Nested-PCR. In Proceedings of the 5<sup>th</sup> Meat Science and Technology, 25-26 July 2014. p. 61 -67. (in Thai)
- Onoja, I.I., P. Malachy, W. P. Mshelia. S.O. Okaiyeto, S. Danbirni and G. Kwanashie. 2013. Prevalence of Babesiosis in Cattle and Goats at Zaria Abattoir, Nigeria. J. Vet. Adv. 3(7): 211 -214

- Sambrook, J. and D.W. Russell. 2001. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.
- Saetiew, N., P. Simking, N. Yatbantoong, W. Ninphet, P. Laosomboon, P. Pumrojana and S. Jittapalpong. 2015. Prevalence and Risk Factors of *Anaplasma marginale* Infections in Beef Cattle in Salakpra Wildlife Sanctuary, Kanchanaburi Province. *J. Mahanakorn Vet. Med.* 10(2): 69 –80. (in Thai)
- Salakij, C. 2005. *Veterinary hematology*. Office of Extension and Training, Kasetsart University, Nakhon Pathom. 664 pp. (in Thai)
- Sivakumar, T., D.T.B. Lan, P.T. Long, T. Yoshinari, M. Tattiyapong, A. Guswanto, K. Okubo, I. Igarashi, N. Inoue, X. Xuan and N. Yokoyama. 2013. PCR Detection and Genetic Diversity of Bovine Hemoprotozoan Parasites in Vietnam. *J. Vet. Med. Sci.* 75(11): 1455 –1462.
- Sriwarothai, J., M. Duangjinda, V. Pattarajinda, Y. Phasuk, A. Chaiyotwittayakun and Y. Jindatajak. 2008. Detection of Tick-born Disease with Polymerase Chain Reaction (PCR) in Dairy TMZ. *KKU Res J* 13. 1: 55 –62.
- Terkawi, M.A., N.X. Huyen, C. Shinuo, T. Inpankaew, K. Maklon, M. Aboulaila, A. Ueno, Y.K. Goo, N. Yokoyama, S. Jittapalpong, X. Xuan and I. Igarashi. 2011. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the northeast region of Thailand. *Vet. Parasitol.* 178: 201 –207
- Worasing, R. and S. Rattana. 2007. Bovine Gastrointestinal and Blood Parasites Examination in Pakpanang River Basin in Nakhon Si Thammarat Province. *Thai-NIAH eJournal : ISSN 1905-5048.* 2: 38 –47.



	รายละเอียดค่าใช้จ่าย										
ครั้งที่ 1											
20 ตุลาคม 2558	ห้างหุ้นส่วนสามัญพิมพ์ตะวัน	58-049		7750				7750			7750
											0
											0
											0
											0
	รวมครั้งที่ 1		0	7750	-7750	0	0	7750	0	0	7750
ครั้งที่ 2											
12 ธันวาคม 2558	Cti&Science Co.,LTD	58-9343		7233.2				7233.2			0
25 ธันวาคม 2559	วัสดุเกษตร	ใบสำคัญรับเงิน		4000				4000			4000
											0
											0
											0
											0
	รวมครั้งที่ 2		0	11233.2	-11233.2	0	0	11233.2	0	0	4000

ครั้งที่ 3														
5 มีนาคม 2558	ห้างหุ้นส่วนจำกัดแล็บวัลเลย์	5902430		1070						1070				0
12 มีนาคม 2559	Bangkok drug store,syring	60888		60						60				0
12 มีนาคม 2559	Bangkok drug store,syring	98416		50						50				0
12 มีนาคม 2559	หจก เบสท์ซ็อยส์ รวมยา	1025		204						204				0
12 มีนาคม 2559	Bangkok drug store,syring, alcohol, สำลี	327457		255						255				0
16 มีนาคม 2559	Rrima cientific Co.,LTD	RC 5900254		13161						13161				0
20 พฤษภาคม 2559	ทีบีเอสเซ็นเตอร์	3097		285						285				0
25 พฤษภาคม 2559	วัสดุเกษตร	ใบสำคัญรับเงิน		6000						6000				6000
30 มีนาคม 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย คັນสนีย์ มุ่งอุณหกลาง			6000				6000						6000
30 มีนาคม 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย สมภาพ เนื่องจากนาค			6000				6000						6000
	รวมครั้งที่ 3		0	33085	-33085	0	12000	0	0	21085	0	0		18000
ครั้งที่ 4														
30 เมษายน 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย คันสนีย์ มุ่งอุณหกลาง			6000				6000						6000
30 เมษายน 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย สมภาพ เนื่องจากนาค			6000				6000						6000
31 พฤษภาคม 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย คันสนีย์ มุ่งอุณหกลาง			6000				6000						6000
31 พฤษภาคม 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย สมภาพ เนื่องจากนาค			6000				6000						6000
30 มิถุนายน 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย คันสนีย์ มุ่งอุณหกลาง			6000				6000						6000
31 กรกฎาคม 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย คันสนีย์ มุ่งอุณหกลาง			6000				6000						6000
31 สิงหาคม 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย คันสนีย์ มุ่งอุณหกลาง			6000				6000						6000
30 กันยายน 2559	ค่าจ้างผู้ช่วยวิจัย คันสนีย์ มุ่งอุณหกลาง			6000				6000						6000
	รวมครั้งที่ 4		0	48000	-48000	0	48000	0	0	0	0	0		48000

ลงชื่อหัวหน้าโครงการ ..... *Kanok* ..... วันที่ .....

## ประวัติคณะผู้วิจัย

### ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

### ประวัติการศึกษา

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

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) สาขาสัตวศาสตร์และอนุชีววิทยา

รางวัลด้านวิชาการ/ด้านวิจัย/งานสร้างสรรค์ (ด้านศิลปะ หรืออื่นๆ) ที่ได้รับ

ปี พ.ศ.	ชื่อรางวัล	สถาบันที่ให้

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2557	การพัฒนาระบบการเลี้ยงแพะเพื่อยกระดับการเลี้ยงแพะของเกษตรกรในจังหวัดชายแดนด้านตะวันออก	สกอ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

## 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. สัตวแพทยมหาสาร. 6(2):91-100.

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

ไพฑูล แก้วหอม เจนจิรา เจริญสุข สิริเชษฐ รัตนะจิตตวิษ พัทธวิดี พูลสำราญ อัจฉรา ลักษณะานุกูล กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ จำลอง มิตรชาวไทย และทวนทอง อารักษ์ษา. 2560. ความชุกของเชื้อ *Anaplasma marginale* ของแพะในอำเภอวัฒนานครจังหวัดสระแก้ว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 48(2): 968-974.

ศันสนีย์ มุ่งอุ้นกลาง 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 Transactions. 58: in press

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

## การเสนอผลงานวิชาการ

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

ทิพภรณ์ 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 และ กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2555. ใน: รายงานผลการวิจัยการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 3 วันที่ 21-22 มิถุนายน 2555: 119-125

ศันสนีย์ มุ่งอุ่นกลาง ไพฑูล แก้วหอม ปรีดา เลิศวัชรสารกุล และกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2557. การตรวจหาเชื้อ *Babesia bigemina* ในเลือดโคกระบือในเขตพื้นที่ชายแดนด้านตะวันออกระหว่างประเทศไทยกัมพูชาโดยเทคนิคเนสต์เทรทพีซีอาร์. 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 4<sup>th</sup> International Conference on Fermentation 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 2<sup>nd</sup> International Symposium on Agricultural Technology, 1-3 July 2015. Bangkok, Thailand.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

Srikijsasemwat, 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

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติส่วนตัว

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวคันสนีย์ มุ่งอุ่นกลาง

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Sansanee Mungunklang

เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 1 2105 00077 59 9

หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก 1699/1-2 ซ. ลาดกระบัง 13/1 แขวง ลาดกระบัง เขต ลาดกระบัง กทม. 10520

หมายเลขโทรศัพท์ 084-328-4905 โทรสาร -

e-mail : neesweetsalt@gmail.com

## ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.บ. (เกษตรศาสตร์)	สัตวศาสตร์	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	2555

ประสบการณ์งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และ/หรือที่ผ่านมา ทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนองานวิจัย

คันสนีย์ มุ่งอุ่นกลาง ไพฑูล แก้วหอม ปวีดา เลิศวีระสารกุล และ กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์.

2557. การตรวจหาเชื้อ *Babesia bigemina* ในเลือดโคกระบือในเขตพื้นที่ชายแดนด้านตะวันออกระหว่างประเทศไทยกับพม่า โดยเทคนิคเนสต์เทคพีซีอาร์. ใน: รายงานผลการวิจัยการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ ครั้งที่ 5 วันที่ 25 - 26 กรกฎาคม 2557.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้