

RESEARCH ARTICLE

Seroprevalence of *Burkholderia pseudomallei* in Asian Elephants in Thailand by Indirect Hemagglutination Test

Patipant Punchoopet¹, Sompoth Weerakhun^{2*}, Peerapol Sukon³,
Patar Charoenpant⁴, Marnoch Yindee⁵

Abstract

Objective—To determine seroprevalence of antibody titers against *Burkholderia pseudomallei* in Asian elephants in Thailand.

Materials and Methods—A total of 485 serum samples were collected from Asian elephants in 5 parts of Thailand (64 from Northern, 77 from North eastern, 121 from Central, 182 from Eastern, and 41 from Southern parts) between June 2010 and November 2011. Antibody titers against *Burkholderia pseudomallei* were determined by indirect hemagglutination test with the cut-off value \geq 1:160 for a positive sample. Data analysis was done using descriptive statistics and Chi-square test.

Results—Overall seroprevalence was 25.36% (123/485). The seroprevalence was the highest in Northeastern part 50.65% (39/77), followed by Eastern, Southern, Central, and Northern parts 24.18% (44/182), 21.95% (9/41), 19.01% (23/121) and 12.50% (8/56), respectively. The seroprevalence in North eastern was significantly higher than that in Northern (Odd ratio (OR) = 7.18, 95% confidence interval (CI) = 3.03, 17.06), in Central (OR= 4.37, 95%CI = 2.31, 8.27), in Eastern (OR = 3.22, 95%CI = 1.84, 5.64), and in Southern (OR = 3.65, 95%CI = 1.54, 8.66).

Conclusion—In this study, the seroprevalence of antibody titers against *Burkholderia pseudomallei* in Asian elephants in Thailand was the highest in Northeastern.

KKU Vet J. 2012;22(2):132-140.

<http://vmj.kku.ac.th/>

Keywords: *Burkholderia pseudomallei*; Indirect hemagglutination test; Elephant; Melioidosis

¹Graduate Study in Veterinary Science, ²Department of Medicine, ³Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Khonkaen University. 40002

⁴National Institute of Elephant Research and Health Service, Surin province. 32000

⁵Department of Clinical Science and Public Health, Faculty of Veterinary Science, Mahidol University. 73170

*Corresponding author E-mail: somwee@kku.ac.th

ความชุกทางซีรัมวิทยาของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ใน ช้างเอเชียในประเทศไทย โดยวิธีอินไดเร็ก ฮีแม็กกลูตินเนชัน

ปฏิพัทธ์ พันธุ์เพชร¹, สมโภชน์ วีระกุล^{2*}, พิระพล สุขอ้วน³, ภัทร เจริญพันธุ์⁴, มาโนชญ์ ยินดี⁵

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อหาความชุกของระดับแอนติบอดีไตเตอร์ต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ในช้างเอเชียในประเทศไทย

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ ตัวอย่างซีรัมจากช้างเอเชียในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย (ภาคเหนือ 64 เชือก, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 77 เชือก, ภาคกลาง 121 เชือก, ภาคตะวันออก 182 เชือก และภาคใต้ 41 เชือก) รวมจำนวน 485 เชือก ที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมิถุนายน 2553 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2554 นำมาตรวจหาแอนติบอดีไตเตอร์ต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ด้วยวิธี indirect hemagglutination test โดยกำหนดค่าตัดผลบวก (Cut-off value) ที่ $\geq 1:160$

ผลการศึกษา พบความชุกของการติดเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ร้อยละ 25.36 (123/485) โดยภูมิภาคที่พบความชุกมากที่สุดคือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบร้อยละ 50.65 (39/77) รองลงมาคือ ภาคตะวันออก ภาคใต้ ภาคกลาง และภาคเหนือ พบร้อยละ 24.18 (44/182), 21.95 (9/41), 19.01 (23/121) และ 12.50 (8/56) ตามลำดับ ซึ่งความชุกของการติดเชื้อดังกล่าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญจากในภาคเหนือ (Odd ratio (OR) = 7.18; 95% Confidence interval (95% CI), 3.03-17.06; $P < 0.001$) ภาคกลาง (OR = 4.37; 95% CI, 2.31-8.27; $P < 0.001$) ภาคตะวันออก (OR = 3.22; 95% CI, 1.84-5.64; $P < 0.001$) และภาคใต้ (OR = 3.65; 95% CI, 1.54-8.66; $P = 0.003$)

ข้อสรุป จากการศึกษาครั้งนี้ ความชุกของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ในช้างเอเชียในประเทศไทย พบได้สูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2555;22(2):132-140.

<http://vmj.kku.ac.th/>

คำสำคัญ: *Burkholderia pseudomallei*, Indirect hemagglutination test ช้างเอเชีย โรคเมลิออยโดสิส

¹บัณฑิตศึกษาสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การสัตวแพทย์, ²ภาควิชาอายุรศาสตร์, ³ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

⁴สถาบันวิจัยและบริการสุขภาพช้างแห่งชาติ จังหวัดสุรินทร์ 32000

⁵ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกและการสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 73170

*ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ E-mail: somwee@kku.ac.th

บทนำ

เชื้อ *Burkholderia pseudomallei* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคmelioidosis เป็นแบคทีเรียแกรมลบชนิดแท่ง ดิคลีที่ส่วนปลายทั้ง 2 ข้าง ลักษณะคล้ายเข็มช้อนปลาย สามารถเจริญเติบโตภายในเซลล์ เป็นแบคทีเรียที่เจริญในธรรมชาติ ใช้ออกซิเจน เคลื่อนไหวได้ และไม่สร้างสปอร์ อยู่ในสกุล *Burkholderia* มีลักษณะเฉพาะคือ มีกลิ่นคล้ายกลิ่นดินหลังฝนตก ทนทานต่อสภาวะต่างๆ ได้ดี ทั้งในน้ำยาฆ่าเชื้อโรค ในน้ำยาฟอกขาว ในภาวะความเป็นกรด (pH 4.5) ในอุณหภูมิที่ต่างกัน สภาวะการขาดน้ำ และการขาดสารอาหารเป็นระยะเวลาสั้น [1, 2] ระยะฟักตัวของเชื้อไม่แน่นอน โดยโรคนี้จัดเป็นโรคประจำถิ่นของประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ พม่า ไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ประเทศแถบอินโดจีน และตอนเหนือของทวีปออสเตรเลีย [3-5] ประเทศไทยพบอุบัติการณ์ของโรคได้สูงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบได้ทั้งในคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม อาทิ ดินและน้ำ [6]

การวินิจฉัยโรคmelioidosis มีหลายวิธี ได้แก่ การเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ถือเป็นวิธีมาตรฐาน สามารถระบุการติดเชื้อได้ชัดเจนที่สุด ใช้เวลานาน 1-2 วัน ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการตรวจหาแอนติเจนโดยวิธี ELISA, Indirect immunofluorescence test และ Latex agglutination การตรวจหาแอนติบอดีโดยวิธี Agglutination, Complement fixation test (CF), Indirect hemagglutination test (IHA), Indirect fluorescent antibodies staining (IFA), ELISA, Gold blot, Dot immunoassay และ Immunochromatographic test รวมถึงการวินิจฉัยโดยอาศัยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (PCR) โดยแต่ละวิธีจะมีความแตกต่างกันออกไป บางวิธีอาจต้องใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ที่มีราคาแพง และผู้ทำการตรวจวินิจฉัยต้องมีความชำนาญ [7] วิธีที่นิยมและได้ผลเร็วคือการตรวจทางซีรัมวิทยา ด้วยวิธี indirect hemagglutination test เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ในซีรัมของผู้ป่วย ซึ่งจะจับกับแอนติเจนของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เคลือบบนเม็ดเลือดแดง ทำให้เกิดปฏิกิริยาเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า [8]

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความชุกของระดับแอนติบอดีไโตเตอร์ต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ในช้างเอเชียในประเทศไทย เพื่อให้ทราบถึงสถานะของภูมิคุ้มกันต่อโรคmelioidosis และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการวางแผนป้องกัน และควบคุมโรคmelioidosisต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

สัตว์และการเก็บตัวอย่าง

ช้าง สายพันธุ์เอเชีย (*Elephas maximus*) ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ ในช่วงปี พ.ศ. 2553 - 2554 จำนวน 496 เชือก ครอบคลุมอายุ 2-70 ปี แบ่งเป็น (1) ช้างเอเชียในพื้นที่ภาคเหนือ (จ.ลำปาง) จำนวน 75 เชือก (2) ช้างเอเชียใน

พื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จ.สุรินทร์) จำนวน 77 เชือก (3) ช้างเอเชียในพื้นที่ภาคกลาง (จ.กาญจนบุรี) จำนวน 121 เชือก (4) ช้างเอเชียในพื้นที่ภาคตะวันออก (จ.ชลบุรี) จำนวน 182 เชือก และ (5) ช้างเอเชียในพื้นที่ภาคใต้ (จ.ภูเก็ต) จำนวน 41 เชือก

เก็บเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณหลังใบหู (marginal ear vein) ของช้างเอเชีย ประมาณ 5-10 มิลลิลิตร ทำการแยกเอาซีรัมโดยเครื่องปั่นเหวี่ยง และเก็บซีรัมที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการต่อไป

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

นำซีรัมมาทำการทดสอบทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี IHA และกำหนดค่าตัดผลบวก (cut-off value) ที่ $\geq 1:160$ โดย ณ จุดตัดนี้จะมีความไวและความจำเพาะที่เหมาะสมที่สุดคือร้อยละ 88.6 และร้อยละ 93.3 ตามลำดับ ซึ่งถ้าค่าแอนติบอดีไโตเตอร์น้อยกว่า 1:160 ถือว่าให้ผลเป็นลบ (negative) แต่ถ้าค่าแอนติบอดีไโตเตอร์มากกว่าหรือเท่ากับ 1:160 ถือเป็นบวก (positive) [8]

การตรวจวินิจฉัยโดยวิธี Indirect hemagglutination test (IHA)

การตรวจวินิจฉัยโดยวิธี IHA จะใช้ชุดทดสอบจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยมีหลักการตรวจวินิจฉัยโรคเมลิออยโคสิสด้วยการตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ในซีรัมของผู้ป่วย ซึ่งจะจับกับแอนติเจนของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ที่เคลือบบนเม็ดเลือดแดง ทำให้เกิดปฏิกิริยาเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า ผู้ป่วยโรคเมลิออยโคสิสจะมีระดับแอนติบอดีจำเพาะต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* สูงกว่าคนปกติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบความชุกของการติดเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ในช้างแต่ละภูมิภาค โดยคำนวณหา Odds ratio (OR) พร้อมช่วงความเชื่อมั่น (95% CI) โดยการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์ (logistic regression) ทดสอบความแตกต่างของความชุกดังกล่าวด้วยสถิติ Chi - square test การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรม SPSS for Windows version 17

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างเลือดช้างทั้งหมด 496 เชือก ตัวอย่างเลือดช้าง จำนวน 11 เชือกถูกตัดทิ้งไปเนื่องจากข้อมูลประกอบประวัติช้างไม่สมบูรณ์ ดังนั้น จึงเหลือจำนวนตัวอย่างช้างที่ใช้ในการศึกษาทั้งหมดเท่ากับ 485 เชือก และผลการตรวจภูมิคุ้มกันต่อโรคเมลิออยโคสิสในช้างเอเชียในประเทศไทยจำนวน 485 เชือก ตรวจพบช้างที่ให้ผลบวกต่อภูมิคุ้มกันโรคเมลิออยโคสิส จำนวน 123 เชือก และตรวจพบช้างที่ให้ผลลบต่อภูมิคุ้มกันโรคเมลิออยโคสิส จำนวน 362 เชือก คิดเป็นร้อยละ 25.36 และ 74.64 ตามลำดับ (Table 1) และเมื่อแยกการจำแนกตามระดับแอนติบอดีไโตเตอร์ พบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ

Burkholderia pseudomallei จำนวนมากที่สุดที่ระดับ 1:80 คิดเป็นร้อยละ 26.80 (Table 2)

เมื่อเปรียบเทียบการตรวจภูมิคุ้มกันต่อโรคmelioidosis ในช้างเอเชียในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ ของประเทศไทย พบความชุกจากผลการตรวจพบภูมิคุ้มกัน โรคmelioidosis ในช้างจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีความแตกต่างกันทางสถิติกับภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ ($P < 0.05$) (Table 3) แต่ผลการเปรียบเทียบการตรวจภูมิคุ้มกันต่อโรคmelioidosis ในช้างเอเชียในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

วิจารณ์

ผลการตรวจภูมิคุ้มกัน โรคmelioidosis ในช้างเอเชียในประเทศไทยโดยวิธี IHA โดยจะทำการตัดสิน ณ จุดตัด (cut off) ที่ 1:160 พบความชุกเท่ากับร้อยละ 25.36 ซึ่งเมื่อเทียบกับรายงานการเกิดโรคในโค แพะ แกะ สุกร และกวาง จากการสุ่มตัวอย่างใน 18 จังหวัดทั่วประเทศไทย พบความชุกร้อยละ 1.60 [9] ช้างในประเทศไทยถือว่ามีความไวต่อการเกิดโรคmelioidosis สูง โดยการตรวจภูมิคุ้มกัน โรคmelioidosis นี้เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ไม่ได้เป็นการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ดังนั้นผลการตรวจวินิจฉัยโรคดังกล่าวอาจเป็นการตรวจพบเนื่องมาจากสัตว์เคยสัมผัสกับเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* มาก่อน ซึ่งเป็นการบ่งชี้ให้เห็นว่าช้างอาจมีการได้รับเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ปนเปื้อนมากับสิ่งแวดล้อม เช่น จากดินหรือน้ำ หรือมาจากอาหารที่เจ้าของช้าง ควายุช้าง หรือผู้ดูแลเลี้ยงคูนำมาให้กับช้างกิน หรือมาจากช้างเชือกอื่นได้รับเชื้ออยู่ก่อนแล้ว และมาแพร่เชื้อให้กับช้างเชือกอื่นๆ และด้วย

Table 1. Seroprevalence of *Burkholderia pseudomallei* in Asian Elephants in Thailand^a

Region	No. of samples	No. of positive samples (%)	No. of negative samples (%)
Northern	64	8 (12.50)	56 (87.50)
North Eastern	77	39 (50.65)	38 (49.35)
Central	121	23 (19.01)	98 (80.99)
Eastern	182	44 (24.18)	138 (75.82)
Southern	41	9 (21.95)	32 (78.05)
TOTAL	485	123 (25.36)	362 (74.64)

^aThe seroprevalence was determined by indirect hemagglutination test.

Table 2. Levels of Antibody Titers against *Burkholderia pseudomallei* in Asian Elephants in Thailand^a

Antibody titers	No. of samples	Percentage (%)
<1:20	20	4.12
1:20	109	22.47
1:40	103	21.24
1:80	130	26.80
1:160	70	14.43
1:320	31	6.39
1:640	13	2.68
1:1,280	6	1.24
1:2,560	2	0.41
1:5,120	-	-
1:10,240	1	0.21
TOTAL	485	100

^aThe antibody titers were determined by indirect hemagglutination test.

Table 3. Odd Ratio of Seroprevalence of *Burkholderia pseudomallei* in Asian Elephants in North Eastern vs Other Regions of Thailand

Region Comparisons	Odd ratio (95% CI)	P-value
North eastern vs Northern	7.18 (3.03 to 17.06)	<0.001
North eastern vs Central	4.37 (2.31 to 8.27)	<0.001
North eastern vs Eastern	3.22 (1.84 to 5.64)	<0.001
North eastern vs Southern	3.65 (1.54 to 8.66)	0.003

ข้อจำกัดอีกอย่างหนึ่งของการตรวจวินิจฉัยโรคmelioidosis ด้วยวิธี IHA คือ ไม่สามารถแยกสัตว์ที่มีการติดเชื้อปัจจุบันจากสัตว์ที่เคยมีการติดเชื้อมาก่อน

โดยผลการตรวจวินิจฉัยโดยการตรวจหาภูมิคุ้มกันของเชืื่อนั้น เมื่อใช้จุดตัดที่แตกต่างกันจะพบความชุกของการเกิดโรคในสัตว์ในระดับที่ต่างกัน รายงานการสำรวจการติดเชื้อ *Burkholderia*

pseudomallei โดยการเพาะเชื้อเปรียบเทียบกับ การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อด้วยวิธี IHA พบว่าในรายที่โลหิตเป็นพิษจากโรคmelioidosis โดสิสมีแอนติบอดีไคเตอร์ที่ระดับ 1:80 ส่วนในรายที่ป่วยแบบเรื้อรังมีค่าแอนติบอดีไคเตอร์ 1:160 การวินิจฉัยโรคโดยใช้วิธี IHA นี้ พบว่า มีความไวและความจำเพาะแตกต่างกันตามค่า cut off titer ที่ใช้ [10] มีรายงานการแปลผลกับตัวอย่างที่มาจากพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค เมื่อใช้ค่า ณ จุดตัดที่ $\geq 1:40$ พบว่ามีความจำเพาะเพียงร้อยละ 69 และหากใช้ค่า ณ จุดตัดที่ $\geq 1:160$ จะมีค่าความไว ความจำเพาะ และค่าความแม่นยำเป็นร้อยละ 77, ร้อยละ 92 และร้อยละ 89 ตามลำดับ [11] นอกจากนี้มีรายงานว่าในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค ควรอ่านผล ณ จุดตัดที่ $\geq 1:80$ ซึ่งจะให้ความไวและความจำเพาะเป็นร้อยละ 70 และร้อยละ 95 ตามลำดับ [12] การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยเลือกใช้ชุดทดสอบจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งมีความเหมาะสมมากที่สุด คือมีค่าความไว ค่าความจำเพาะ และค่าความแม่นยำ เท่ากับร้อยละ 88.57, ร้อยละ 93.27 และร้อยละ 91.40 ตามลำดับ ที่จุดตัด 1:160 [8]

จากการวิจัยพบว่าความชุกของการติดเชื้อโรคmelioidosis ในช้างเอเชีย ระหว่างพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยวิธี IHA โดยจะทำการตัดสิน ณ จุดตัด (antibody titer) ที่ 1:160 พบความชุกของการเกิดโรคmelioidosis สูงที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือพบร้อยละ 50.65 รองลงมาคือภาคตะวันออก ภาคใต้ ภาคกลาง และภาคเหนือ พบความชุกร้อยละ 24.18, 21.95, 19.01 และ 12.50 ตามลำดับ ซึ่งความชุกของการเกิดโรคmelioidosis ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความแตกต่างกับภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เนื่องจากจากประเทศไทยเป็นพื้นที่ที่มีรายงานการระบาดของโรค (endemic area) และมีการศึกษาคุณสมบัติของดินที่สุ่มตัวอย่างมาจากจังหวัดขอนแก่น จำนวน 344 ตัวอย่าง จาก 24 อำเภอ พบเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ใน 13 อำเภอ (คิดเป็นร้อยละ 54.2) พบทั้งเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* และเชื้อ *Burkholderia thailandensis* ใน 5 อำเภอ (คิดเป็นร้อยละ 20.8) โดยส่วนใหญ่เชื้อจะอยู่ลึกจากหน้าดิน 30 ซม. ในสภาพที่เป็นกรด (pH 5.0-6.0) มีความชื้นมากกว่าร้อยละ 10 และมีปริมาณก๊าซออกซิเจนและไนโตรเจนสูง [13] ซึ่งลักษณะของดินดังกล่าวนี้เป็นลักษณะที่เอื้อต่อการมีชีวิตรอดอยู่ของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* และพบความชุกของการตรวจพบเชื้อในดินพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมากกว่าภาคอื่นๆ ถึงร้อยละ 20.4 [14] ซึ่งสอดคล้องกับการพบความชุกของการเกิดโรคmelioidosis ในช้างไทย โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบความชุกของการเกิดโรคมกกว่าภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ 7.18 เท่า, 4.37 เท่า, 3.22 เท่า และ 3.65 เท่า ตามลำดับ ส่วนความชุกของการติดเชื้อโรคmelioidosis ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้พบว่าทั้ง 4 ภาค ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยทั้ง 4 ภาคพบช้างที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคทุกภูมิภาค

สรุปจากการวิจัยจะเห็นได้ว่าโรคmelioidosis ที่มาสาเหตุมาจากเชื้อ *Burkholderia pseudo-*

mallei ยังเป็นปัญหาและพบได้กับช้างในทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นที่ที่มีรายงานการระบาดของโรคmelioidosis คือภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ดังนั้นควรที่จะให้ความสำคัญกับช้างในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยเป็นพิเศษ อย่างไรก็ตามไม่ควรละเลยการดูแลช้างในภูมิภาคอื่นเช่นกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาการทำวิจัย สถาบันวิจัยและบริการสุขภาพช้างแห่งชาติ จังหวัดสุรินทร์ และศูนย์พัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง จังหวัดสุรินทร์ ที่ให้การอนุเคราะห์ในการใช้ห้องปฏิบัติการ แนะนำการตรวจวินิจฉัยโรค ช่วยเหลือด้านการเก็บตัวอย่างซีรัมในช้าง บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น และภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัย และส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Cheng AC, Currie BJ. Melioidosis: Epidemiology, Pathophysiology, and Management. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(2):383-416.
2. Puthucheary SD. Melioidosis in Malaysia. *Med J Malaysia.* 2009;64(4):266-274.
3. Currie BJ, Fisher DA, Howard DM, Burrow JNC, Selvanayagam S, Snelling PL, et al. The epidemiology of melioidosis in Australia and Papua New Guinea. *Acta Tropica.* 2000;74:121-127.
4. Sirisinha S, Anuntagool N, Intachote P. Improved methods for diagnosis of melioidosis. *J Sci Soc Thailand.* 1996;22:131-142.
5. Tyson MS, Titball RW. *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases, Chapter 43, IV. *Bacterial Vaccines.* 2009;831-843.
6. Chaowagul W, Suputtamongkol Y, Dance DAB, Rajchanuvong A, Pattara-arechachai J, White NJ. Relapse in melioidosis: incidence and risk factors. *J Infect Dis.* 1993;168:1181-1185.
7. Chailert S, Sriar-rarmrungrueng T, Porntong W, Tomanakan K. Seroepidemiology and serodiagnosis of melioidosis in Khon Kaen using *B. pseudomallei* antigen by passive hemagglutination agglutination (PHA). *Khon Kaen Hospital Med J.* 2004;28(2):120-126.
8. Wangroongsarb P, Kumsawat S, Petkanjanapong W, Kotporm W, Naigowit P, Kusum M. Selection of *Burkholderia pseudomallei* antigens for antibody detection by indirect hemagglutination method. *Chula Med J.* 2000;44(8):631-642.
9. Srikawkheaw N, Lawhavinit OA. Detection of antibodies melioidosis from animal sera in Thailand by indirect haemagglutination test. *Kasetsart J. (Nat. Sci.).* 2007;41(5):81-85.
10. Kanaphun P, Thirawattanasuk N, Supattamongkol Y, Naigowit P, Dance DAB, Smith MD, et al. Serology and carriage of *Pseudomonas pseudomallei*: A prospective study in 1000 hospitalized children in Northeast Thailand. *J Infect Dis.* 1993;167:230-233.

11. Appassakij H, Silpapojakul KR, Wansit R, Pornpatkul M. Diagnostic value of the indirect hemagglutination test for melioidosis in an endemic area. *Am J Trop Med Hyg.* 1990;42:248-253.
12. Puapermpoonsiri S, Paupermpoonsiri P, Bhuripanyo K, Vilachi C, Auncharoen A. Indirect hemagglutination antibody titer to *Pseudomonas pseudomallei* in patients with melioidosis. Proceeding of National Workshop on Melioidosis, Bangkok. Bangkok Medical Publisher. 1989; 193-196.
13. Palasatien S, Lertsirivorakul R, Royros P, Wongratanacheewin S, Sermswan RW. Soil physicochemical properties related to the presence of *Burkholderia pseudomallei*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008;102(1):5-9.
14. Vuddhakul V, Yharavichitkul P, Na-Ngam N, Jitsurong S, Kunthawa B, Noimay P, Bimla A, Thamlikitkul V. Epidemiology of *Burkholderia psrudomallei* in Thailand. *Am J Tro Med Hyg.* 1990;60(3):458-461.