จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สรุปโครงการวิจัยเงินทุนงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2557

เรื่อง

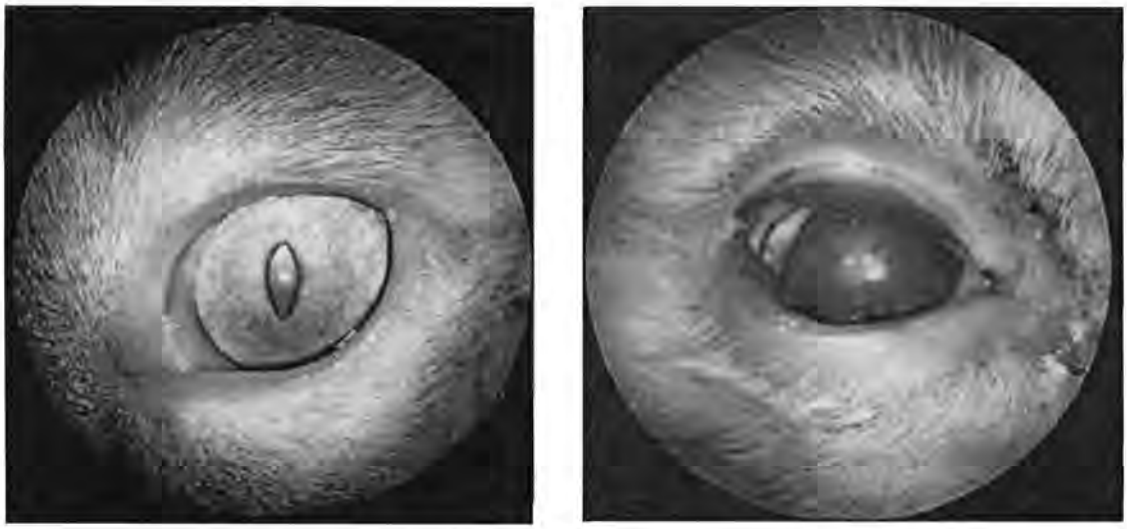
การศึกษาบทบาทของระดับภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อการติดเชื้อบาร์โทเนลล่า ในแมวป่วยด้วยโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง

รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร. รสมา ภู่สุนทรธรรม
ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

เชื้อ บาร์โทเนลล่า (*Bartonellassp.)* เป็นสาเหตุของการก่อโรคบาร์โทเนลโลซิส (Bartonellosis) สามารถทำให้สัตว์ป่า สัตว์เลี้ยง รวมไปถึงมนุษย์ติดเชื้อได้เชื้อบาร์โทเนลล่า (*Bartonella* spp.) เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง (Intraerythrocytic bacteria) แกรมลบ ใช้ออกซิเจนเจริญเติบโตยาก แบคทีเรียชนิดนี้สามารถพบได้ในสัตว์มากกว่า 25 ชนิด และพบลักษณะของการติดเชื้อจากสัตว์สู่คน(Zoonosis) ภาวะการเกิดโรคบาร์โทเนลโลซีสในคนจะเกิดขึ้นได้หลายลักษณะ เช่น ไข้เทร็น (Trench fever) โรคคาร์เรี่ยน (Carrion's disease) โรคแมวข่วน (Cat scratch disease) เป็นต้น ซึ่งพาหะที่สำคัญของเชื้อดังกล่าวคือแมลงในกลุ่มอาร์โทรพอด (Arthropods) เช่น ริ้นฝอยทราย (*Lutzomyia verrucarum*) เหา (*Pediculus humanus*) หมัดหนู (*Xenopsylla cheopis*) และหมัดแมว (*Ctenocephalides felis*) เป็นต้น (Bhenger et al., 2011)

เชื้อบาร์โทเนลล่า (*Bartonella* spp.) เป็นปรสิตประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ภายในเซลล์ (Facultative intracellular parasite) ย้อมติดสีแกรมลบ มีรูปร่างแบบท่อน เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลา (flagella) เชื้อบาร์โทเนลล่ามีหลายสปีชีส์ สามารถติดได้ทั้งในสัตว์ป่า โค สุนัข แมว มนุษย์ สัตว์จำพวกฟันแทะ (rodent species) เป็นต้น (Kordick and Breitschwerdt, 1998) โดยสปีชีส์หนึ่งที่พบในแมวคือ เชื้อ*บาร์โทเนลล่าเฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) แมวที่ติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จะไม่แสดงอาการป่วย เนื่องจากเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่สามารถก่อโรคได้เมื่อสัตว์มีสภาวะร่างกายผิดปกติหรือไม่แข็งแรง จะแสดงอาการแบบค่อยเป็นค่อยไป ในช่วงแรกสัตว์จะมีไข้ขึ้นสูง (fever) เซื่องซึม (lethargy) เบื่ออาหาร (anorexia) ต่อมน้ำเหลืองโต (lymph node enlargement) ปวดกล้ามเนื้อ (muscle pain) ระบบสืบพันธุ์ล้มเหลว (reproductive failure) ซึ่งอาการเหล่านี้เป็นอาการที่เกิดขึ้นในแมวส่วนใหญ่ แต่ในแมวบางตัวจะแสดงอาการที่รุนแรง และจะแสดงอาการทางคลินิกภายใน 1-4 สัปดาห์ พยาธิสภาพในแมวที่พบคือ ม่านตาอักเสบ (uveitis) จอตาอักเสบ (chorioretinitis) เยื่อบุตาขาวอักเสบ (conjunctivitis) กระจกตาอักเสบ (keratitis) เปลือกตาอักเสบ (blepharitis) ซึ่งเรียกอาการพวกนี้โดยรวมว่า อ๊อกคูล่า บาร์โทเนลโลซีส (ocular bartonellosis) (Guptill et al., 2010) และจากรายงานพบว่า เชื้อดังกล่าวสามารถก่อให้เกิดการอักเสบบริเวณผนังหัวใจชั้นในได้ (endocarditis) (Kerry L. et al.,2004)



ภาพที่ 1แสดงอาการทางคลินิกของแมวที่ติดเชื้อบาร์โทเนลล่า (Kerry L.et al.,2004)

โดยเชื้อสามารถถ่ายทอดจากแมวสู่คนได้โดยการกัดหรือข่วนเชื้อนี้พบได้ในหมัดแมว ซึ่งหมัดแมวเป็นพาหะนำเชื้อจากแมวตัวหนึ่งไปยังแมวอีกตัวหนึ่งจากการศึกษาพบว่าเชื้อนี้สามารถถ่ายทอดจากหมัดแมวผ่านตัวแมวมาสู่คนได้ทางการกัดหรือข่วนจึงเรียกว่า "โรคแมวข่วน" (cat scratch disease) (Breitschwerdt et al., 2008)

"โรคแมวข่วน" (cat scratch disease) ในแมวจะพบเชื้ออย่างน้อย 3 สปีชีส์ ได้แก่*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่(Bartonella henselae) บาร์โทเนลล่า คลอรีเอ (Bartonella Koehleroe)* และ*บาร์โทเนลล่า คาร์ริดจิเอ(Bartonella Clarridgeiae)* เชื้อเหล่านี้เป็นสาเหตุการติดต่อมาสู่คนได้ (Jacomo et al., 2002; Chomel et al., 1995) โดย*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่ (Bartonella henselae)* และ*บาร์โทเนลล่า คาร์ริดจิเอ (Bartonella clarridgeiae)* เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคแมวข่วน (cat scratch disease) เชื้อเหล่านี้เป็นที่เฝ้าระวังในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา เป็นต้นโดยศูนย์รวมของการควบคุมและป้องกันโรค (The Center for Disease Control and Prevention ; The CSD) ทำการประมาณการแพร่กระจายของเชื้อ พบผู้ป่วย 2.5 เคสต่อปีในทุกๆ 100,000 คน โรคแมวข่วนที่พบในผู้ป่วยเคสปกติ จะเป็นแบบไม่แสดงอาการ (subacute) หรือเรื้อรัง (Chronic) ของต่อมน้ำเหลืองเสียพยาธิสภาพ(Lymphadenopathy) ประมาณ 80 % ของเคสผู้ป่วยทั้งหมด (Carithers et al., 1985; Margileth et al., 1992) ผู้ที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงต่อการเป็นโรคแมวข่วน ได้แก่ กลุ่มคนที่มีการสัมผัสใกล้ชิดกับแมว โรคแมวข่วนพบได้มากในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 21 ปี นอกจากนี้ผู้ป่วยที่เป็นโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องผู้ป่วยโรคเอดส์ (AIDS patients) ผู้ที่ติดการดื่มแอลกอฮอล์ ก็สามารถติดโรคแมวข่วนได้ง่ายกว่ากลุ่มคนปกติ (Schwartzman, 1992; Slater et al., 1992) ในด้านของระบาดวิทยาพบว่า เชื้อชนิดนี้มีการกระจายตัวทั่วทุกทวีป ในทวีปเอเชีย ประเทศญี่ปุ่นมีความชุกของการติด

เชื้อบาร์โทเนลล่า 7.2 % ประเทศอินโดนีเซียมีความชุกของการติดเชื้อบาร์โทเนลล่าสูงถึง 64.3 % สำหรับประเทศไทยได้มีการสำรวจความชุกของแมวทั้งที่มีเจ้าของและไม่มีเจ้าของ พบว่าความชุกของเชื้อบาร์โทเนลล่าอยู่ที่ 27.9 % ซึ่งมีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้นแปรผันตรงกับประชากรแมวที่ไม่มีเจ้าของ (Chomel et al., 2000) การแพร่กระจายของเชื้อบาร์โทเนลล่า ในแต่ละประเทศมีความแตกต่างกัน เนื่องจากภูมิศาสตร์ต่างกัน ทำให้มีเชื้อเฉพาะถิ่นเกิดขึ้น ตัวเชื้อสามารถแพร่กระจายได้ขึ้นกับสภาพอากาศด้วย ไม่ว่าจะเป็นสภาพอากาศแบบชั่วคราวหรือแบบถาวร เช่น ภาวะโลกร้อน (Huarcaya et al., 2004) สำหรับ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) มีรายงานการแพร่กระจายสูงในสภาพภูมิประเทศแบบร้อนชื้น และมีหมัดอาศัยร่วมอยู่ด้วย (Chemoweth et al., 2004) ในสหรัฐอเมริกา*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) เป็นสาเหตุของโรคแมวข่วน ผู้ป่วยใหม่ที่ติดเชื้อมีประมาณ 22,000 คนต่อปี และ 2000 คนป่วยจนต้องได้รับการรักษาที่โรงพยาบาล (Jackson et al., 1993) ในเนเธอร์แลนด์ พบผู้ป่วยที่ติดเชื้อมีประมาณ 2,000 คนต่อปี (Bergmans et al., 1997) ในประเทศไทย พบเชื้อ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) ในแมวจร 27.6 % (Maruyama et al., 2001) และพบเชื้อในคน 5.5 % (9/163) (Maruyama et al., 2000) ในประเทศฝรั่งเศส กรุงปารีส มีการสำรวจในสัตว์เลี้ยงพบว่ามีการติด*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่*ชนิด 1 15.3 % (11/72) *บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่*ชนิด 2 50 % (36/72) (Gurfieldet al., 2001) ประเทศเยอรมัน กรุงเบอร์ลิน สำรวจในสัตว์เลี้ยงและสัตว์จร พบว่ามีการติดเชื้อ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่*(*Bartonella henselae*) 10.4 % (20/193) (Arvard et al., 2001) ในประเทศอิตาลี (northern) สำรวจในสัตว์จร พบว่ามีการติดเชื้อ *บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) 23 % (361/1585) (Fabbi et al., 2004) ในประเทศอียิปต์มีการสำรวจในสัตว์เลี้ยง พบว่ามีการติดเชื้อ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) 12 % (5/42) (Childset al., 1995) ประเทศในแถบแอฟริกาใต้ มีการสำรวจในสัตว์เลี้ยง พบว่ามีการติดเชื้อ *บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) 3.2 % (1/31) (Pretorius et al., 1999) ประเทศญี่ปุ่น สำรวจในสัตว์เลี้ยง พบว่ามีการติดเชื้อ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) 15.1 % (30/199) (Ueno et al., 1996) ประเทศอินโดนีเซีย กรุงจาการ์ตา สำรวจในสัตว์จร พบว่ามีการติดเชื้อ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) 54% (40/74) (Marston et al., 1999) ในฟิลิปปินส์ กรุงมะนิลาสำรวจในสัตว์จร พบว่ามีการติดเชื้อ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae* type I) 68.4% (13/19) (Chomelet al., 1999) และประเทศสิงคโปร์สำรวจในสัตว์จร พบว่ามีการติดเชื้อ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) 47.5% (38/80) (Nasirudeen et al., 1999) จากการรายงานดังกล่าวทำให้ทราบว่าเชื้อบาร์โทเนลล่า(*Bartonella spp.*) พบได้ทั่วโลก เชื้อนี้จึงเป็นเชื้อที่หลายประเทศให้ความสำคัญเพราะฉะนั้นการ

จัดการด้านสุขภาพและอนามัยของแมวที่ไม่มีเจ้าของก็เป็นอีกหนึ่งแนวทางที่จะช่วยลดจำนวนตัวเลขแมวที่ติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ลงได้ (Jitchum S, 2009)

การติดต่อของเชื้อ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) ในแมวจะขึ้นกับแมลงที่เป็นพาหะ(Halos et al., 2004) เช่น หมัดแมว (*Ctenocephalides felis*) (Chomel et al., 1996; Higgins et al., 1996) หลังจากนั้นแบคทีเรียในกระแสเลือดจะเพิ่มจำนวนมากขึ้น (bacteremia) และคงอยู่เป็นเวลานาน ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง (Intraerythrocytic bacteremia) ของแมว (Host) (Mandle et al., 2005)ที่ติดเชื้อ (Breitschwerdt et al., 2010) *บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) สามารถพบได้ในหลายเนื้อเยื่อ เช่น ตับ สมอง ไต หัวใจ และต่อมน้ำเหลือง (Greene et al., 1996) และเชื้อตัวนี้สามารถหลบจากระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ (Host) โดยเชื้อจะอาศัยอยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocytes) ของโฮสต์ ในบางครั้งก็สามารถอาศัยในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจน์ได้ (macrophages) (Dehio et al., 2004) เชื้อบาร์โทเนลล่าที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง (intraerythrocytic bacteremia) ทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียที่ยาวนานในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่เป็นกลุ่มสะสมโรค (Dehio et al., 2004) เชื้อแบคทีเรียสามารถทนอยู่ในเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์ภายใน (endothelial cell) ของโฮสต์ และจะเพิ่มจำนวนเมื่อถูกหมัดกัดหรือดูดเลือดตัวเชื้อจะเข้าไปอยู่ในตัวหมัดพร้อมกับเม็ดเลือดแดงที่ถูกหมัดดูดเข้าไป เมื่อหมัดไปกัดแมวตัวอื่นก็จะเป็นการแพร่เชื้อไปยังแมวตัวอื่นได้ ดังนั้นการติดเชื้อจากแมวไปสู่แมว จะมีหมัดแมวเป็นพาหะ และเชื้อจะติดไปยังคนจากการถูกแมวกัดหรือข่วน (Guptill et al., 2010)

การวินิจฉัยที่สำคัญที่สุดของเชื้อ*บาร์โทเนลลา เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) คือการเพาะเชื้อ (Bacterial culture) (Clarridge et al., 1995; Drancourt et al., 1996) แต่เนื่องจากคุณสมบัติของตัวเชื้อที่เจริญเติบโตยากและช้า (Stephen et al., 2011) ทำให้การเพาะเชื้อไม่ใช่เทคนิคที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากใช้เวลานานจึงใช้เทคนิคการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสหรือการทำพีซีอาร์ (PCR) (Boulouis et al., 2005) และการตรวจทางซีรัมวิทยา (Serology) (Drancourt et al., 1996) เป็นต้น ซึ่งการตรวจดังกล่าวข้างต้นจะรวดเร็วกว่าและมีความไว (Sensitivity) มากกว่าการเพาะเชื้อ (Bacterial culture) (Klotz et al., 2011)

การรักษา (Treatment) ในแมวมีการใช้ยาปฏิชีวนะ เพื่อช่วยลดการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด แต่ไม่สามารถทำให้แมวหายจากการติดเชื้อได้ ยาปฏิชีวนะที่ใช้คือ แอมมอกซี่ซิลิน (Amoxicillin) นอกจากการใช้ยาแล้วควรทำการควบคุม ป้องกันและกำจัดหมัดควบคู่กับการรักษาไปด้วย เพื่อป้องกันการกลับมาติดเชื้อซ้ำ การรักษาการติดเชื้อบาร์โทเนลล่า ในคนมีความแตกต่างกัน ตามระยะการติดเชื้อว่าเป็นแบบฉับพลัน (acute) หรือแบบเรื้อรัง (Chronic) ในเม็ดเลือดแดงของคนสามารถติดเชื้อได้ทั้งแบบในเซลล์ (intracellular) และนอกเซลล์ (extracellular) ขึ้นกับสปีชีย์ของเชื้อบาร์โทเนลล่าที่ติด จึงควรเลือกใช้ยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพได้แก่ เตตราไซคลีน (Tetracyclines) อีริโทรไมอีซินต์ (Erythromycin) ไรแฟมพิน (Rifampin)

เอซิโทรไมอีซินต์ (Azithromycin) ดอกซีไซคลิน (Doxycycline) หรือใช้แบบผสมกัน ให้แก่ผู้ป่วยอย่างน้อย 6 สัปดาห์ และติดตามอาการ 4-6 เดือน และให้ยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซน์ (Aminoglycoside) อย่างต่ำ 2 สัปดาห์ ในรายที่เป็นกล้ามเนื้อหัวใจชั้นในอักเสบ (endocarditis)(Lakes et al., 1999)

การป้องกัน (Prevention) โดยแนะนำการป้องกันตามหลัก AAFP : The American Association of Feline Practitioners ได้ทำแนวทางป้องกันการติดเชื้อโรคแมวข่วน สำหรับผู้ป่วยโรคเอดส์ ได้แก่ ควบคุมหมัดแมวทุกปีถ้าจะเลี้ยงแมวควรเลี้ยงแมวที่สุขภาพแข็งแรง ปราศจากหมัด และมีอายุมากกว่า 1 ปีร่วมอภิปรายถึงข้อดีและข้อเสียของการตรวจเชื้อบาร์โทเนลล่าในแมวหลีกเลี่ยงการสัมผัสแมวที่ไม่รู้ประวัติทำความสะอาดเล็บแมวแต่ไม่จำเป็นต้องถอดเล็บพยายามเลี่ยงไม่ให้ถูกแมวกัดหรือข่วนถ้าถูกแมวกัดควรรีบล้างแผลทันทีและเลี่ยงไม่ให้แมวเลียแผล (Brunt et al., 2006)

การศึกษาในปี 2557นี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความชุกของการติดเชื้อ*บาร์โทเนลโลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*)ในแมวที่เข้ารับบริการที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และหาปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ*บาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่* (*Bartonella henselae*) ของแมว

ระเบียบวิธีวิจัย

กลุ่มสัตว์ทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้ ทำการคัดเลือกแมวที่มีสุขภาพแข็งแรง ไม่มีอาการป่วย ไม่จำกัดเพศ พันธุ์ และมีอายุอยู่ในช่วง 1-15 ปี โดยวิธีการสุ่มแมวตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 280 ตัว ที่เข้ารักษา ณ โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คัดแมวที่ผ่านเกณฑ์เข้าสู่การทดลอง โดยแมวทุกตัวที่จะศึกษาต้องได้รับความยินยอมจากเจ้าของสัตว์อย่างเป็นลายลักษณ์อักษรเก็บข้อมูลด้วยวิธีการบันทึกข้อมูล ได้แก่ อายุ เพศ พันธุ์ น้ำหนักแมว ประวัติการเลี้ยง การทำวัคซีน การป้องกันหมัดแมว เป็นต้น

การทดลองแบ่งแมวออกเป็น 2 กลุ่มการทดลองย่อย ได้แก่กลุ่มควบคุมคือกลุ่มประชากรแมวที่ไม่มีหมัด และกลุ่มการทดลองคือกลุ่มประชาการแมวที่มีหมัดหรือเคยมีประวัติมีหมัด

การเลือกประชากรเข้าสู่กลุ่มการทดลอง (Inclusion criteria)

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม

แมวไม่จำกัดเพศ พันธุ์ อายุตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป จำนวน 40 ตัว เมื่อทำการซักประวัติและตรวจร่างกายโดยสัตวแพทย์แล้ว พบว่าแมวมีสุขภาพแข็งแรง มีคะแนนรูปร่าง(Body condition score)ที่เหมาะสมไม่มีความผิดปกติของระบบอื่นในร่างกาย และเป็นแมวที่มีการทำวัคซีนเป็นประจำทุกปี

กลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลอง

แมวไม่จำกัดเพศ พันธุ์ อายุตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป จำนวน 40 ตัว เมื่อทำการซักประวัติและตรวจร่างกายโดยสัตวแพทย์แล้ว พบว่าเป็นแมวที่มีหมัดหรือเคยมีประวัติมีหมัด อาจเป็นแมวที่มีการทำวัคซีนหรือไม่ทำวัคซีนเป็นประจำทุกปี

เกณฑ์ในการไม่เลือกประชากรเข้าสู่กลุ่มการทดลอง(Exclusion criteria)

1. แมวที่อายุต่ำกว่า 1 ปี

2. แมวที่มีประวัติการบาดเจ็บอย่างรุนแรง เช่น เลือดออกภายใน กระดูกหักอย่างรุนแรง

3. แมวที่มีปัญหาจากระบบต่างๆของร่างกาย เช่น ปัญหาทางระบบไตและหัวใจ ระบบประสาท ระบบสืบพันธุ์ เป็นต้น

4. แมวที่สุขภาพไม่แข็งแรง รวมถึงแมวที่อายุมากกว่า 15 ปีขึ้นไป

อุปกรณ์

1. การเก็บตัวอย่างเลือด ประกอบด้วย

- หลอดเก็บตัวอย่างเลือด (microcentrifuge tube) จำนวน 3 หลอด โดยหลอดที่ 1 ใช้สารกันเลือดแข็งตัวชนิด Heparin และอีก 2 หลอดใช้สารกันเลือดแข็งตัวชนิด Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)
- เข็มสำหรับเจาะเลือด (needle) เบอร์ 21 ยาว 1 นิ้ว
- กระบอกฉีดยา (syringe) ขนาด 3 มิลลิลิตร
- ชุดทดสอบโรคเอดส์แมวและโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวในแมว (SNAP® COMBO FeLV/FIV TEST KIT)

2. การทำ Polymerase Chain Reaction (PCR)

- Real-Time PCR Instrument
- ชุดสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction Kit)
- มาสเตอร์มิกซ์ (Mastermix)
- ปิเปต (Pipettors) และ ทิป(Tips)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Vortex and Centrifuge)
- Thin walled 1.5 ml PCR reaction tubes

วิธีการดำเนินงาน

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดแมวจากแมวทั้ง 2 กลุ่มตัวอย่าง โดยเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณขาหลัง (saphenous vein) ใช้ปริมาณเลือด 2.5 ถึง 3 มิลลิลิตร โดยใช้หลอดเก็บเลือดจำนวน 4 หลอด โดยหลอดที่ 1 เก็บเลือดเพื่อนำไปตรวจหาค่าโลหิตวิทยา ใส่เลือดปริมาณ 1 มิลลิลิตรในหลอดเก็บเลือดที่บรรจุสารกันเลือดแข็งตัวชนิดอีดีทีเอเพื่อหาค่า จำนวนเม็ดเลือดแดง(Red blood cellperμl), ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit %),ค่าเม็ดเลือดขาว (white blood cell per μl), นิวโทรฟิลล์ (Neutrophil %), ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte %) และอีโอซิโนฟิลล์ (Eosinophils %)

หลอดที่ 2 เก็บเลือดเพื่อตรวจค่าชีวเคมีในเลือดใส่เลือดปริมาณ 1 มิลลิลิตรในหลอดเก็บเลือดที่บรรจุสารกันเลือดแข็งตัวชนิด เฮพาริน (Heparin) เพื่อหาค่าซีรั่มกลูตามิกออกซาโลแอซิติกทรานซามิเนส (Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase) (SGOT), ซีรั่มกลูตาเมตไพโรฟอตเฟต (Serum Glutamate Pyrophosphate Transaminase) (SGPT), อัลคาไลน์ฟอตฟาเตด (Alkaline phosphatase) (ALP), ค่าไนโตรเจนในเลือด (blood urea nitrogen) (BUN) และครีเอตินีน (creatinine)

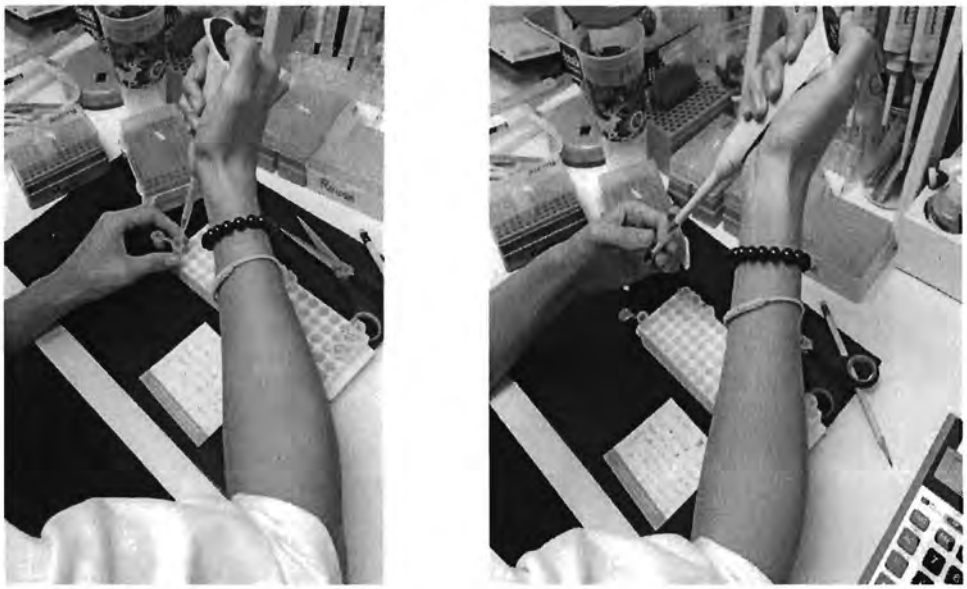
หลอดที่ 3 เก็บเลือดเพื่อนำไปทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) เพื่อหาเชื้อบาร์โทเนลล่าโดยนำตัวอย่างที่เก็บได้สกัดดีเอ็นเอ(DNA)นำตัวอย่างเลือดจำนวน 200 ไมโครลิตร เติม Proteinase K 25 ไมโครลิตร ตามด้วย 200 ไมโครลิตร Buffer B_3 จากนั้นนำตัวอย่างเลือดดังกล่าวไปปั่น(Vortex) 30 วินาที เมื่อครบเวลาแล้วนำไปอุ่น (Incubate) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมเอทานอล(Etanol)ปริมาณ 210 ไมโครลิตร นำไปปั่น (Vortex) 30 วินาที จากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่ได้เทใส่ Blood column แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)ที่ 11000 รอบ เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งน้ำที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงใน Collection tube รอบที่ 1 จากนั้นนำ Collection tube ใหม่สวมเข้าไป เติม Buffer BW ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างเลือดที่ได้ นำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)ที่ 11000 รอบ 1 นาที ทิ้งน้ำที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงในรอบที่ 2เติม 600 ไมโครลิตร ของ Buffer B_5ลงในตัวอย่างเลือด นำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)ที่ 11000 รอบ 1 นาที ทิ้งน้ำที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงในรอบที่ 3 แล้วนำหลอดเปล่า (tube) ไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 11000 รอบ 1 นาที เพื่อกำจัดเอทานอล (Ethanol) ที่ตกค้างออกไปจากตัวอย่างเลือด จากนั้นนำ Microcentrifuge tube มาสวมแทน Collection tube เติม Proheated buffer BE ที่อุ่น

ไว้ที่ 70 องศาเซลเซียส ลงในตัวอย่างเลือด แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 11000 รอบ 1 นาที จะได้ DNA ที่สกัดได้ใน Microcentrifuge tube

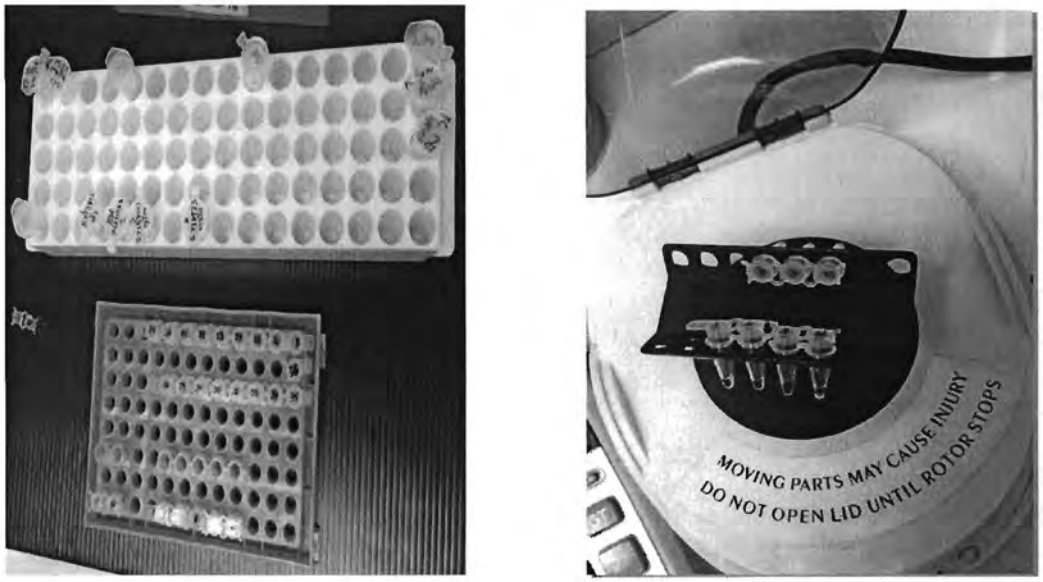
ขั้นตอนต่อไปจะเข้าสู่ขั้นตอนปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส ซึ่งกระบวณการและขั้นตอนในการปฏิบัติสำหรับเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ ต้องทำปฏิกิริยาลูกโซ่ครั้งที่ 1 (First PCR)ซึ่งหลังจากปฏิกิริยาครั้งแรกจบลงต้องนำตัวอย่างดีเอ็นเอดังกล่าวมาทำปฏิกิริยาลูกโซ่ครั้งที่ 2(Nested PCR) สำหรับปฏิกิริยาลูกโซ่ครั้งที่ 1 ใช้ ดีเอ็นเอที่สกัดแล้วตัวอย่างละ 2 ไมโครลิตร ใส่ 10x PCR Buffer ปริมาณ 20 ไมโครลิตร P-bhenr1(186 bp) ปริมาณ 10 ไมโครลิตร P-bhenfa1 (186 bp)ปริมาณ 10ไมโครลิตร น้ำกลั่น (DW) ปริมาณ 132 ไมโครลิตร 10 mm dNTPs 4 ไมโครลิตร 50 mm MgCl2 12 ไมโครลิตร และ Taq 2 ไมโครลิตรเมื่อใส่สารทั้งหมดแล้ว ในแต่ละตัวอย่างจะมีปริมาตร 17 ไมโครลิตร (โดยเตรียมสารดังกล่าวทั้งหมด 8 หลอด) หลังจากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอ (Sample) 10 ตัวอย่าง Positive control 1 หลอด และNegative control 1 หลอด ทั้งหมด 12 หลอดมาใส่เครื่องควบคุมอุณหภูมิเพื่อเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอใช้เวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที เมื่อครบเวลานำตัวอย่าง10 ตัวอย่าง (Sample) , Positive control และ Negative control ออกจากเครื่อง จากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอpositive control และ Negative control ที่ผ่านกระบวณการปฏิกิริยาลูกโซ่ครั้งที่ 1 มา 1 ไมโครลิตร เติมสาร 10x PCR Buffer ปริมาณ 20 ไมโครลิตร N-bhenr1 (152 bp)ปริมาณ 10 ไมโครลิตร N-bhenfa1 (152 bp)ปริมาณ 10ไมโครลิตร น้ำกลั่น (DW) ปริมาณ 148 ไมโครลิตร 10 mm dNTPs 4 ไมโครลิตร 50 mm MgCl2 6ไมโครลิตร และ Taq 2 ไมโครลิตรเมื่อใส่สารทั้งหมดแล้ว ในแต่ละตัวอย่างจะมีปริมาตร 17 ไมโครลิตร (โดยเตรียมสารดังกล่าวทั้งหมด 8 หลอด) หลังจากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอ (Sample) 10 ตัวอย่าง Positive control 1 หลอด และNegative control 1 หลอด ทั้งหมด 12 หลอดมาใส่เครื่องควบคุมอุณหภูมิสำหรับปฏิกิริยาลูกโซ่ครั้งที่ 2 (Nested PCR) เพื่อเพิ่มจำนวน DNA ใช้เวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที(Rampersad et al., 2005) เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดลงเติมตัวย้อมสีดีเอ็นเอ (Loading dye)ปริมาณ 3 ไมโครลิตร ซึ่งเป็นสารสีพิเศษจะเรืองแสงเมื่อเจอกับแสงอัลตราไวโอเลต (UV) นำตัวอย่าง 10 ตัวอย่าง (Samples), Positive control 1 หลอด และNegative control 1 หลอด ใส่ลงในช่องบนแผ่นวุ้น 3% อะกาโรสเจล (3%Agarose gel) โดยในช่องแรกและช่องสุดท้ายจะใส่ marker ปริมาณ 5 ไมโครลิตร ช่องที่ 2 ถึงช่องที่ 3 จะใส่ negative control ช่องที่ 4 เป็นต้นไป จะใส่ตัวอย่างช่องละ 1 ตัวอย่าง และช่องที่14 จะใส่ positive control จากนั้นเริ่มกระบวณการเพื่อสกัดแยก DNA ด้วยกระแสไฟฟ้าบนแผ่นวุ้น 3% อะกาโรสเจล (3% Agarosegel) เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสิ้นแล้ว นำแผ่นวุ้นอะกาโรสเจลที่ได้ไปส่องกับแสงอัลตร้าไวโอเลตซึ่งจะเห็นแถบดีเอ็นเอเรืองแสงบนแผ่นวุ้น จากนั้นนำไปเทียบกับตัว positive control *Bartonella henselae*เพื่อสรุปผลการทดลองในขั้นตอนต่อไป

ภาพที่ 2แสดงการสกัดดีเอ็นเอจากชุดสกัดดีเอ็นเอ

ภาพที่ 3แสดงการเตรียมเจลและเทเจลสำหรับการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส



ภาพที่ 4 แสดงการเตรียมมาสเตอร์มิกซ์ (Master mix), ตัวอย่างเชิงบวก (Positive control)และตัวอย่างเชิงลบ (Negative control)



ภาพที่ 5 แสดงตัวอย่างที่เตรียมหลังจากผสมสารที่กำหนดไว้ข้างต้น นำเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง 10 วินาที

ภาพที่ 6หลังจากปั่นเหวี่ยงนำตัวอย่างที่เตรียมเข้าเครื่องควบคุมอุณหูมิเพื่อเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ

ภาพที่ 7 แสดงการหยดตัวอย่างลงช่องอะกาโรสเจล (Agarose gel)

ภาพที่ 8นำตัวอย่างทั้งหมดใส่อะกาโรสเจล (Agarose gel) เข้าเครื่องปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

วิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติ

นำข้อมูลมาทดลองทางสถิติและรายงานเป็นสถิติเชิงพรรณา เช่น อายุ เพศ สุขภาพ การเลี้ยง และข้อมูลการตรวจพบหมัดแมว ใช้โปรแกรมสถิติ SPSS (version 15.0) และใช้ Chi-Square เพื่อคำนวณหา Odd ratio

ผลการทดลอง

จากการศึกษาโดยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase Chain Reaction) ในแมวกลุ่มตัวอย่างพบว่ามีการติดเชื้อแบคทีเรียบาโทเนลล่า เฮนเซเล่ (*Bartonella henselae*) 35% (28/80) โดยสามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างดังกล่าวตามปัจจัยเสี่ยงได้ดังนี้ ในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกเพศพบว่า 50% (12/24) ของแมวเพศผู้ และ 28% (16/56) ของแมวเพศเมียพบว่ามีการติดเชื้อ โดยไม่มีความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (X^2=3.391 df=1 p=0.066) ในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกช่วงอายุพบว่า 33% (7/21) ของแมวที่มีช่วงอายุ 0 ถึง 2 ปี 41% (14/34) ของแมวที่มีช่วงอายุมากกว่า 2 ปี ถึง 4ปี และ 28% (7/25) ของแมวที่มีอายุมากกว่า 4 ปี พบว่ามีการติดเชื้อโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (X^2=1.134 df=2 p=0.567) ในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกตามลักษณะการเลี้ยงดูพบว่า 50% (10/20) ของแมวที่เลี้ยงดูภายในบ้านและ 30% (18/60) ของแมวที่เลี้ยงดูภายนอกบ้านพบว่ามีการติดเชื้อโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (X^2=2.537 df=1 p=0.104) ในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกตามสุขภาพโดยรวมพบว่า 28% (11/39) ของแมวสุขภาพดี 44% (8/18) ของแมวสุขภาพปานกลางและ 39% (9/23) ของแมวสุขภาพแย่พบว่ามีการติดเชื้อโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (X^2=1.670 df=2 p=0.434) ในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกตามการ

ตรวจพบปรสิตภายนอก คือ หมัด พบว่า 21% (21/40) ของ แมวที่ตรวจพบหมัดและ 7% (7/40) ของแมวที่ตรวจไม่พบหมัด พบว่ามีการติดเชื้อโดยมีความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน (X^2=10.769df=1 p=0.001)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย Odds ratio เพื่อศึกษาเปรียบเทียบภายในกลุ่มปัจจัยศึกษา พบว่า ในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกเพศในแมวเพศเมียมีโอกาสติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้มากกว่าเพศผู้ 2.5เท่า (95% CI : Lower=0.931, Upper=6.715)ในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกช่วงอายุพบว่า แมวที่มีช่วงอายุ2-4 ปี มีโอกาสติดเชื้อแบคทีเรียนี้ได้มากกว่าแมวที่อยู่ในช่วงอายุอื่นๆถึง1.6 เท่า (95% CI : Lower=0.568, Upper=4.443)ในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกตามลักษณะการเลี้ยงดูพบว่าแมวที่เลี้ยงดูภายในบ้านเป็นปัจจัยป้องกันโอกาสติดเชื้อแบคทีเรียนี้ได้มากกว่าแมวที่เลี้ยงดูภายนอกบ้านถึง 2.3 เท่า(95% CI : Lower=0.828, Upper=6.575)ในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกตามสุขภาพโดยรวมพบว่าแมวที่สุขภาพโดยรวมแย่มีโอกาสติดเชื้อแบคทีเรียนี้ได้มากกว่าแมวที่มีสุขภาพโดยรวมดี1.68 เท่า (95% CI : Lower=0.651, Upper=4.374)และในกลุ่มศึกษาโดยการจำแนกตามการตรวจพบปรสิตภายนอก คือ หมัด พบว่าแมวที่ตรวจพบหมัดตามร่างกายมีโอกาสติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้มากกว่าแมวที่ไม่พบหมัดตามร่างกาย 5.21 เท่า (95% CI : Lower=1.870, Upper=14.520)

รูปที่ 9 แสดงผล PCR ของ *Bartonella hensalae*บน 3% อะกาโรสเจล โดย M = Marker, N1+N2 = Negativecontrol, 1-10 = samples, BH = *Bartonella hensalae*

ตารางที่ 1 : ตารางแสดงผลการศึกษาจำแนกกลุ่มตัวอย่างตามปัจจัยต่างๆ

Parameters	Number of cats	%	Number of Bartonella Infected cats(%)	Odd ratio	CI (95%)	
					Lower	Upper
Sex						
Male	24	30	12(50%)	0.4	0.931	6.715
Female	56	70	16 (28%)	2.5	0.931	6.715
Age (year)						
0-2	17	21.25	7 (33%)	0.9	0.386	3.166
>2-4	38	47.5	14 (41%)	1.6	0.568	
More than 4	25	31.25	7 (28%)	0.62	0.247	
Environment condition						
Indoor	20	25	10 (50%)	2.3	0.828	6.575
Outdoor	60	75	18 (30%)	0.42	0.152	
Health condition						
Health	52	65	16 (30%)	0.59	0.229	1.536
Unhealth	28	35	12(42%)	1.68	0.651	4.374
Ectoparasite (Flea)						
Infested	40	50	21 (52.5%)	5.21	1.870	14.520
Non-infested	40	50	7 (17.5%)	0.19	0.069	0.535

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาหาเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคแมวข่วน (Cat scratch disease) ในครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาจากกลุ่มประชากรแมว จำนวน 80 ตัว ที่เข้ารับการรักษาที่ โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการสำรวจอัตราการติดเชื้อ (Infective rate) ของเชื้อบาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่ (*Bartonella hensale*) โดยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสหรือพีซีอาร์ (PCR) ซึ่งเทคนิคดังกล่าว เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการตรวจ(Detect) และบ่งชี้ (Identify) เชื้อบาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่ (*Bartonella henselae*) ในเลือดแมวได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยพบว่าระบาดวิทยาของเชื้อบาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่ (*Bartonella henselae*) ในโรงพยาบาลสัตว์เล็ก (Epidemiology of *Bartonella henselae* infection in Small Animal Hospital) พบ 35% ของแมวมีการติดเชื้อบาร์โทเนลล่าแต่จากการศึกษาพบว่า จำนวนของแมวที่มีการติดเชื้อบาร์โทเนลล่ากับการตรวจพบปรสิตรภายนอก (หมัด) มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญกับจำนวนแมวที่มีการติดเชื้อ (P=0.001) เพราะเชื้อสามารถอาศัยได้อยู่ภายในหมัดและขี้หมัด เพราะฉะนั้นการที่มีหมัดอยู่ตามร่างกายแมวก็มีโอกาสที่แมวจะสัมผัสกับเชื้อได้มากกว่าแมวที่ไม่มีหมัดตามร่างกาย(Chomel et al., 1996; Higgins et al., 1996) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างจำนวนของแมวที่มีการติดเชื้อกับผลทางสถิติของ Odd Ratio พบว่า แมวเพศเมียมีโอกาสที่จะติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มากกว่าแมวเพศผู้ ช่วงอายุที่มีโอกาสติดเชื้อได้มากที่สุดคือแมวที่มีอายุ 2-4 ปี สำหรับปัจจัยอื่นๆ เช่น แมวที่เลี้ยงดูภายในบ้านจะมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าแมวที่เลี้ยงภายนอกบ้าน แมวที่มีสุขภาพโดยรวมแย่จะมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าแมวที่มีสุขภาพโดยรวมดีซึ่งบ่งชี้จากผล Odd Ratio ร่วมกับผลการตรวจชุดทดสอบ Snap พบว่าแมวที่มีการติดเชื้อ FIV และ FeLV 66% (2/3) มีผล Positive ต่อเชื้อบาร์โทเนลล่าและแมวที่มีหมัดตามร่างกายจะมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าแมวที่ไม่มีหมัดตามร่างกาย ซึ่งความสัมพันธ์ของหมัดแมวกับการติดเชื้อบาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่ (*Bartonella henselae*) โดยมีหมัดแมวเป็นพาหะที่สำคัญในการนำเชื้อบาร์โทเนลล่า เฮนเซเล่ (*Bartonella henselae*) ร่วมกับกลุ่มประชากรแมวที่มีปัญหาสุขภาพหรือภูมิคุ้มกันบกพร่องมีแนวโน้มที่จะมีความไวต่อการติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น(Adal et al., 1994; Maurin et al., 1997; Schwartzman, 1992; Slater et al., 1992)

สรุปผลการศึกษา

Bartonella henselae ที่มีแมวเป็นแหล่งรังโรค (reservoir)ที่สำคัญ (Regnery et al., 1992, Koehler et al.,1994) โดยมีหมัดแมว (*Ctenocephalides felis*) เป็นพาหะที่สำคัญ (Chomel et al., 1999) ใน *Bartonella* Spp. รวมถึง *B.Clarridgeiae, B.Koehlerae, B.Quintana*(Bergmans et al., 1997) พบว่าแมวเป็นแหล่งรังโรคของเชื้อ *B.henselae* ในแมวที่มีเจ้าของ (Domestic cats) 40% ที่ไม่แสดงอาการว่าติดเชื้อ และ 80% ที่ทำการทดสอบทางซีรั่มวิทยาให้ผลเป็นบวก (Seropositive) (Chomel et al., 1995) สาเหตุมาจากการที่แมวเป็นสัตว์เลี้ยงที่มีความใกล้ชิดกับคน และคนส่วนใหญ่มีพฤติกรรมการเลี้ยงที่นำแมวเข้ามานอนร่วมเตียงเดียวกัน โดยพบว่าพฤติกรรมของแมวส่วนใหญ่เป็นสัตว์ที่ใช้ชีวิตอยู่ภายนอกถิ่นที่อยู่อาศัย (outdoors) ซึ่งทำให้มีโอกาสติดเชื้อจากปรสิตภายนอก (ectoparasites) และจากปรสิตภายใน (endoparasites) และแมวที่เลี้ยงภายในบ้านมีโอกาสที่จะได้รับเชื้อจากแมวจรหรือแมวที่เลี้ยงปล่อยภายนอกบ้านได้ ผ่านทาง เห็บ หมัด เหา ซึ่งทำให้เกิดการแพร่เชื้อระหว่างกลุ่มแมวได้

โรคแมวข่วน (cat scratch disease) สามารถถ่ายทอดเชื้อผ่านทางการกัด ข่วน หรือสัมผัสกับหมัดหรือขี้หมัด โดยมีหมัดเป็นพาหะที่สำคัญ จากผลการศึกษาของกลุ่มพบว่า อัตราการติดเชื้อ (infection rate) ของเชื้อ *B.henselae*เท่ากับ 35% (28/80) ผลการวิเคราะห์พบว่าไม่มีนัยสำคัญของปัจจัย เพศ อายุ สถานะทางสุขภาพสิ่งแวดล้อม พบว่าปัจจัยเหล่านี้ไม่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า มีความสัมพันธ์ของปัจจัยเสี่ยง (risk factors) กับการติดเชื้อ *B.henselae*กับความสัมพันธ์ของปรสิตภายนอก (หมัด) (Flea infestation) ซึ่งสนับสนุนต่อการติดเชื้อ(P=0.001) โดยแมวจรและแมวที่เลี้ยงภายนอกบ้านมีโอกาสในการส่งผ่านเชื้อไปยังแมวที่เลี้ยงภายในบ้านรวมถึงคนภายใต้สิ่งแวดล้อมเดียวกัน ดังนั้นการควบคุมและป้องกันโดยการแยกประชากรแมวทั้งสองกลุ่มออกจากกัน ถือเป็นการแยกแหล่งรังโรคที่เหมาะสม (Jitchum, 2009) อีกทั้งการป้องกันหมัดแมวโดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบในการกำจัดหมัดก็จะช่วยลดพาหะในการเกิดโรคแมวข่วน รวมถึงการรักษาแมวที่ติดเชื้อก็ถือเป็นการป้องกันปัจจัยเสี่ยงในการที่จะส่งผ่านเชื้อมายังคนได้อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ สพ.ญ.ภควัน ศาสตรานรากุลน.สพ.กฤษดา บุญอร่ามเรือง และเจ้าหน้าที่คลินิกแมว โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่าง และให้คำปรึกษาตลอดการทำการศึกษา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

รายการอ้างอิง

Boonmar S., Poapolathep A., Pisetpaisan K., Sanyathitiseree P., Maruyama S. and Katsube Y. 1997. **Prevalence of *Bartonella henselae* antibodies in domesticscats in Thailand**. Kasetsart J (Nat. Sci.) 31:268-270.

Boulouis H.J., Chang C., Henn JB., Kasten RW. and Chomel BB. 2005. **Factorsassociated with the rapid emergence of zoonotic Bartonella infections**. Vet Res. 36:383-410.

Breitschwerdt EB. 2008. **Feline bartonellosis and cat scratch disease.** J Vet Imm. 123:167–171.

Breitschwerdt EB., Maggi RG., Chomel BB. and Lappin MR. 2010. **Bartonellosis: an emerging infectious disease of zoonotic importance to animals and human beings.**J Vet Emerg and Crit. 20:8-30.

Bruno BC., Henri JB. and Edward BB. 2004. **Bartonella infections Cat scratch disease and other zoonotic**. 1270-1279.

Brunt J., Guptill L., Kordick DL., Kudrak S. and Lappin MR. 2006. **American Association of Feline Practitioners 2006 Panel report on diagnosis, treatment, and prevention of *Bartonella spp.* Infections**. J Fel Med Surg. 213 – 226.

Chenoweth MR., Greene CE., Krause DC. and GherardiniF.2004. **Predominantouter membrane antigens of *Bartonella henselae***. Infect Immun. 72:3097-3105.

Chomel BB. 1996. Cat-scratch disease. Rev Sci Tech Off Int Epiz. 19(1), 136-150.

Chomel BB. 2000. Cat Scratch Disease. Rev Sci Tech. 19:136–150.

Dehio C. 2004. **Molecular and cellular basis of Bartonella pathogenesis**. Annu Rev Microbiol. 58:365-390.

Evelyn EZ. 2003. Feline Bartonella Diseases: Pathogenesis and description, Nat VetLab. 2:1-2.

Finkelstein JL., Brown TP., O'Reilly KL., Wedincamp JRJ. and Foil LD.2002. **Studies on the growth of *Bartonella henselae* in the cat flea (Siphonaptera:Pulicidae).** J Med Entol. 39:915-919.

Greene, CE., McDermott M., Jameson PH., Atkins CL. AndMarks AM. 1996. ***Bartonella henselae* infection in cats: evaluation during primary infection,treatment, and rechallenge infection.** J Clin Microbiol. 34:1682-1685.

Guptill L.2010. **Bartonellosis**. Vet Micro. 347–359.

Heller, R., M. Artois, V. Xemar, D. De Briel, H. Gehin, B. Jaulhac, H. Monteil and Y.Piemont. 1997. **Prevalence of Bartonella henselae and Bartonellaclarridgeiae in stray cats.** J Clin Microbiol. 35:1327-1331.

Inoue K., Maruyama S., Kabeya H., Kawanami K., Yanai K., Jitchum S. and Jittapalapong S. 2009. **Prevalence of Bartonella infection in cats and dogs in ametropolitan area, Thailand**. Epidemiol Infect. 137:1568-1573.

Janer M., Craige G., Frank CG., Wookhahn T. and Duncan CK. 1998. **Bartonella henselae Invasion of Feline Erythrocytes In Vitro. Infec and immune.**66(7):3462-3466.

Jensen WA., Fall MZ., Rooney J., Kordick DL. AndBreitschwerdt EB. 2000. **Rapid identification and differentiation of Bartonella species using a singlestepPCR assay**. J Clin Microbiol. 38:1717–1722.

Kasten RW., Hawkins KF., Chi B., Yamamoto K., Wilson JR.,Gurfield AN., Abbott RC., Pedersen NC. and Koehler JE. 1996. **Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea.** J Clin Microbiol. 34:1952–1956

Majali AM. 2004. **Seroprevalence of and risk factors of*Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* infections among pet cats in Jordan.** Prev Vet Med. 64:63-71.

Maruyama S. and Breitschwerdt EB. 2006. ***Bartonella spp.* In petsand effect on human health. Emerg Infect Diseases.** 12:389-394.

Ogata H. and Raoult D. 2002. **Phylogenetic classification ofBartonella species by comparing groEL sequences.** Int J Syst Evol. Microbiol. 52:165–171.

Rampersad, JN., Watkins JD., Samlal MS., Deonanan R., Ramsubeik S. and Ammons DR.2005. **A nested-PCR with an Internal Amplification Control for thedetection and differentiation of *Bartonella henselae and B. clarridgeiae*: Anexamination of cats in Trinidad.** BMC Infect Dis. 63:1-6.

Sakai T., Morita Y., Tanaka S., Kabeya H., Boonmar S.,Poapolathep A., Chalrmchaikit T., Chang C., Kasten RW., Chomel BB. and Katsube Y. 2001. **Prevalence of Bartonella species and 16S rRNA gene types of Bartonellahenselae from domestic cats in Thailand.** Am J Trop Med Hyg. 65:783-787.

Saithip B., Henry CB., Leonard FP., Christina M., Ying BT., Fisk., Anussorn S., Susan A.M., Scott FD. and Michael K. 2011. **Bartonella seroprevalence in rural Thailand.** Southeast Asian, J Trop Med Public health. 42(3):688-692.

Stephen AK., Voichita I. and Sean PE 2011. **Cat-scratch Disease.** A Fam Physician. 83(2): 152-155.

Watcharee S., Jean MR., Yupin S. and Didier R. 2009.**Emerging Bartonella in Humans and Animal in Asia and Australia.** J Med Assoc Thai.92(5):707-731707-731.

Zeaiter Z., Fournier PE., Greub G. and Raoult D. 2003. **Diagnosis of Bartonellaendocarditis by real-time nested PCR assay using serum.** J Clin Microbiol. 41:919-925.