



**มาตรฐานสินค้าเกษตร**

**มกษ. 10302-2562**

**THAI AGRICULTURAL STANDARD**

**TAS 10302-2019**

**การชันสูตรโรคแคมพิโลแบกเตอร์ในสัตว์ปีก**

**DIAGNOSIS OF  
CAMPYLOBACTERIOSIS IN POULTRY**

**สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ**

**กระทรวงเกษตรและสหกรณ์**

**ICS**

**ISBN**



## มาตรฐานสินค้าเกษตร

มกษ. 10302-2562

THAI AGRICULTURAL STANDARD

TAS 10302-2019

# การชันสูตรโรคแคมพิโลแบกเตอร์ในสัตว์ปีก

## DIAGNOSIS OF CAMPYLOBACTERIOSIS IN POULTRY

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

50 ถนนพหลโยธิน เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์ 0 2561 2277 โทรสาร 0 2561 3357

[www.acfs.go.th](http://www.acfs.go.th)

ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศและงานทั่วไป เล่ม      ตอนพิเศษ  
วันที่

**คณะกรรมการวิชาการพิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตร**  
**เรื่อง การขึ้นสูตรโรคแคมไพโลแบคทีเรียโอซิสในสัตว์ปีก**

- |    |  |               |
|----|--|---------------|
| 1. | อธิบดีกรมปศุสัตว์ หรือผู้ที่อธิบดีมอบหมาย<br>นายสมชวน รัตนมังคลานนท์ รองอธิบดีกรมปศุสัตว์  | ประธานกรรมการ |
| 2. | ผู้แทนสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ<br>นางสาวอิงอร ปัญญากิจ<br>นายสงขลา จุลกะเศียน  | กรรมการ       |
| 3. | ผู้แทนสำนักควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์<br>นายวัชรพงษ์ สุดดี<br>นางสาวดวงดาว รักษากุล   | กรรมการ       |
| 4. | ผู้แทนสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์<br>นางสุภาพร จ้วงพานิช<br>นายวัชรชัย ณรงค์ศักดิ์   | กรรมการ       |
| 5. | ผู้แทนคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์<br>ผู้ช่วยศาสตราจารย์นรินทร์ อู่ประกรินทร์<br>นายเกรียงไกร วิฑูรย์เสถียร<br>นางนวลอนงค์ สิ้นวัต | กรรมการ       |
| 6. | ผู้แทนคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล<br>นายกฤษฎา ใจชื่น<br>นางสาวพัชราภรณ์ ขำพิมพ์<br>นางสาวระพีวรรณ ธรรมไพศาล                             | กรรมการ       |
| 7. | ผู้แทนสัตวแพทยสภา<br>ศาสตราจารย์ทวีศักดิ์ ส่งเสริม<br>ผู้ช่วยศาสตราจารย์นรินทร์ อู่ประกรินทร์  | กรรมการ       |
| 8. | ผู้แทนสมาคมเวชศาสตร์ชั้นสูงทางสัตวแพทย์ไทย<br>รองศาสตราจารย์นิวัตร จันท์ศิริพรชัย<br>ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิษณุ วรรณแสง                           | กรรมการ       |
| 9. | ผู้แทนสมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสัตว์ปีก<br>นายดำเนิน เสาะสืบงาม  | กรรมการ       |

10. นายธราดล เหลืองทองคำ กรรมการ  
ผู้ทรงคุณวุฒิด้านการชั้นสูตรโรค
11. ผู้แทนสำนักกำหนดมาตรฐาน กรรมการและเลขานุการ  
สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ  
นางสาวมินตรา ลักขณา  
นายพิทักษ์ ชายสม

โรคแคมพิโลแบคเตอร์เป็นโรคระบาดสัตว์ตามพระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2558 มีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรียแคมพิโลแบคเตอร์ (*Campylobacter* spp.) แคมพิโลแบคเตอร์มีผลกระทบทางสาธารณสุข เนื่องจากเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคอาหารเป็นพิษในคน โดยมีสัตว์ปีกเป็นแหล่งรังโรค (reservoir) ที่สำคัญ ดังนั้น ในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้วโดยเฉพาะสหภาพยุโรปซึ่งเป็นผู้นำเข้าเนื้อไก่รายใหญ่ของประเทศไทย จึงมีมาตรการเฝ้าระวังแคมพิโลแบคเตอร์ในไก่เนื้ออย่างใกล้ชิด เป็นที่คาดการณ์ว่าแบคทีเรียดังกล่าวจะได้รับการบรรจุอยู่ในรายชื่อของแบคทีเรียที่ต้องทำการตรวจสอบอย่างเข้มงวดก่อนการส่งออกเนื้อไก่และผลิตภัณฑ์ไปยังกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป คณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตรจึงเห็นสมควรกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่อง การขนส่งโรคแคมพิโลแบคเตอร์ในสัตว์ปีก เพื่อเป็นวิธีการขนส่งโรคในท้องปฏิบัติสำหรับผู้เกี่ยวข้อง ให้มีความถูกต้อง แม่นยำในการขนส่ง สร้างความมั่นใจต่อผู้บริโภคและสนับสนุนการค้าระหว่างประเทศ

มาตรฐานสินค้าเกษตรนี้ กำหนดขึ้นโดยใช้เอกสารต่อไปนี้เป็นแนวทาง

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2559. รายงานโครงการศึกษาข้อมูลเพื่อจัดทำวิธีการขนส่งโรคแคมพิโลแบคเตอร์โอซิสในสัตว์ปีก.

World Organisation for Animal Health (OIE). 2017. Chapter 2.9.3. Infection with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris.

International Organization for Standardization (ISO). 2017. ISO10272-1:2017(en). Microbiology of the Food Chain — Horizontal Method for Detection and Enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 1: Detection Method. Switzerland.



ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์  
เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร :  
การขนส่งโรคแคมพิโลแบคทีเรียในสัตว์ปีก  
ตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. ๒๕๕๑

ด้วยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตร เห็นสมควรกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร เรื่อง การขนส่งโรคแคมพิโลแบคทีเรียในสัตว์ปีก เป็นมาตรฐานทั่วไป ตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. ๒๕๕๑ เพื่อส่งเสริมสินค้าเกษตรให้ได้คุณภาพ มาตรฐาน และปลอดภัย

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ มาตรา ๑๕ และมาตรา ๑๖ แห่งพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. ๒๕๕๑ ประกอบมติคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตร ในการประชุมครั้งที่ ๒/๒๕๖๒ เมื่อวันที่ ๑๑ กันยายน ๒๕๖๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงออกประกาศกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : การขนส่งโรคแคมพิโลแบคทีเรียในสัตว์ปีก มาตรฐานเลขที่ มกษ. 10302-2562 ไว้เป็นมาตรฐานทั่วไป ดังมีรายละเอียดแนบท้ายประกาศนี้

ทั้งนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๓๑ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๖๒

(นายประภัตร โพธสุธน)

รัฐมนตรีช่วยว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์  
ปฏิบัติราชการแทนรัฐมนตรีว่าการกระทรวงเกษตรและสหกรณ์

# มาตรฐานสินค้าเกษตร

## การขนส่งโรคแคมพิโลแบกเตอร์ในสัตว์ปีก

### 1. ขอบข่าย

มาตรฐานสินค้าเกษตรนี้ กำหนดการขนส่งโรคแคมพิโลแบกเตอร์ในสัตว์ปีกทางห้องปฏิบัติการ ครอบคลุมตั้งแต่ตัวอย่างเพื่อการขนส่ง การเพาะ แยกและจำแนกแบคทีเรีย การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และการตรวจยืนยันสารพันธุกรรมของเชื้อ

### 2. นิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานสินค้าเกษตรนี้ มีดังต่อไปนี้

2.1 โรคแคมพิโลแบกเตอร์ (Campylobacteriosis) หมายถึง โรคที่มีสาเหตุจากการติดแคมพิโลแบกเตอร์ (*Campylobacter* spp.) โดยสัตว์ปีกเป็นแหล่งรังโรคหลักของแคมพิโลแบกเตอร์

2.2 สัตว์ปีก (poultry) หมายถึง สัตว์ในวงศ์ Phasianidae โดยในมาตรฐานฉบับนี้ครอบคลุมเฉพาะ สัตว์ปีกที่เลี้ยงไว้เพื่อผลิตเนื้อหรือไข่ เช่น ไก่ เป็ด ห่าน นกกระทา

2.3 การขนส่งโรค (diagnosis) หมายถึง การตรวจสอบเพื่อหาสาเหตุหรือหลักฐานข้อเท็จจริงประกอบการวินิจฉัยโรค

2.4 ตัวอย่างควบคุมผลบวก (positive control sample) หมายถึง ตัวอย่างที่มีเชื้อ หรือส่วนประกอบของเชื้อ ซึ่งเมื่อนำไปผ่านกระบวนการทดสอบตามขั้นตอนต่างๆ เช่นเดียวกับตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแล้วให้ผลบวก

2.5 ตัวอย่างควบคุมผลลบ (negative control sample) หมายถึง ตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อ หรือส่วนประกอบของเชื้อ ซึ่งเมื่อนำไปผ่านกระบวนการทดสอบตามขั้นตอนต่างๆ เช่นเดียวกับตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแล้วให้ผลลบ

### 3. ข้อกำหนด

การชันสูตรโรคแคมพิโลแบกเตอร์ในสัตว์ปีก ให้เป็นไปตามตารางที่ 1 สำหรับรายละเอียดขั้นตอนการปฏิบัติของแต่ละวิธีอาจแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง และต้องเป็นวิธีชันสูตรที่ประกาศโดยองค์การสุขภาพสัตว์โลก (World Organisation for Animal Health; OIE) หรือเผยแพร่ในวารสารทางวิชาการซึ่งเป็นที่ยอมรับระดับระหว่างประเทศ หรือมีการประเมินความใช้ได้ (validation) แล้วว่ามีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ในระดับที่ยอมรับได้

ตารางที่ 1 รายการข้อกำหนดการชันสูตรโรคแคมพิโลแบกเตอร์ในสัตว์ปีก

รายการ	ข้อกำหนด
1. ตัวอย่างเพื่อการชันสูตร	<p>ตรวจสอบและบันทึกข้อมูลของการเก็บตัวอย่าง และรายละเอียดตัวอย่างที่ได้รับดังนี้</p> <p>1.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการชันสูตรโรคแคมพิโลแบกเตอร์ในสัตว์ปีก</p> <p>1.1.1 ตัวอย่างจากฟาร์มสัตว์ปีก</p> <p>1) มูลจากทวารร่วมที่ได้จากการสว็อบ (cloacal swab)</p> <p>2) สิ่งปนเปื้อนจากวัสดุรองพื้นที่ได้จากบูตสว็อบ (boot-swab)</p> <p>1.1.2 ตัวอย่างจากโรงฆ่าสัตว์ปีก</p> <p>1) กากอาหารในลำไส้ส่วนไส้ตัน (caecal content)</p> <p>2) หนังส่วนคอและอก (neck/breast skin)</p> <p>3) น้ำล้างซาก (carcass rinse)</p> <p>1.2 การเก็บตัวอย่างต้องป้องกันการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อม</p> <p>1.3 เก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 2 °C ถึง 8 °C นำตัวอย่างส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง หากไม่สามารถส่งตัวอย่างในวันที่เก็บตัวอย่างได้ให้นำส่งห้องปฏิบัติการภายในวันถัดไป</p>
2. การเพาะ แยก และ จำแนกแบคทีเรีย	<p>2.1 การเพาะ แยกเชื้อจากตัวอย่างโดยตรงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (direct plating)</p> <p>1) นำตัวอย่างที่ได้จากการป้ายมูลจากทวารร่วม หรือสิ่งปนเปื้อนจากวัสดุรองพื้น หรือกากอาหารในลำไส้ส่วนไส้ตันมาเพาะลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate agar (mCCDA)</p>



รายการ	ข้อกำหนด
	<p>2) นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 41.5 °C ในสภาวะออกซิเจนต่ำ (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> และ 85% N<sub>2</sub>) เป็นเวลา 40 ชั่วโมง ถึง 48 ชั่วโมง</p> <p>2.2 การเพาะ แยกเชื้อจากตัวอย่างในงานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเพิ่มจำนวนแบคทีเรียใน selective enrichment media ก่อน</p> <p>1) นำตัวอย่างที่ได้จากหนึ่งส่วนคอกและอก หรือตัวอย่างน้ำล้างซาก มาเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Preston broth</p> <p>2) นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 41.5 °C ในสภาวะออกซิเจนต่ำ (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> และ 85% N<sub>2</sub>) เป็นเวลา 22 ชั่วโมง ถึง 26 ชั่วโมง</p> <p>3) นำตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ Preston broth มาเพาะลงในงานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด mCCDA</p> <p>4) นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 41.5 °C ในสภาวะออกซิเจนต่ำ (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> และ 85% N<sub>2</sub>) เป็นเวลา 40 ชั่วโมง ถึง 48 ชั่วโมง</p> <p>2.3 การเพาะ แยกเชื้อจากตัวอย่างในงานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยให้เชื้อเคลื่อนที่ผ่านแผ่นกรอง (passive filtration) ก่อน</p> <p>1) นำตัวอย่างที่ได้จากการป้ายมูลจากทวารร่วม หรือตัวอย่างสิ่งปนเปื้อนจากวัสดุรองพื้นหรือกากอาหารในลำไส้ส่วนไส้ตันมาผสมกับ PBS ในอัตราส่วนตัวอย่าง 1 ส่วนต่อ PBS 9 ส่วน</p> <p>2) ดูดสารละลายปริมาตร ประมาณ 100 µl หยดลงบนแผ่นกรอง ขนาด 0.45 µm หรือ 0.65 µm ที่วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมเลือด</p> <p>3) ตั้งอาหารเลี้ยงเชื้อผสมเลือด ที่งไว้ที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที ถึง 45 นาที เพื่อให้แบคทีเรียเคลื่อนที่ผ่านแผ่นกรอง จากนั้นจึงนำแผ่นกรองออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ</p> <p>4) นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 41.5 °C ในสภาวะออกซิเจนต่ำ (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> และ 85% N<sub>2</sub>) เป็นเวลา 40 ชั่วโมง ถึง 48 ชั่วโมง</p> <p>2.4 จำแนกชนิดของเชื้อแคมพิโลแบคทีเรียโดยพิจารณาจากลักษณะรูปร่างโคโลนีของแคมพิโลแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด mCCDA จะพบโคโลนีสีเทาสะท้อนเงาโลหะ (metallic sheen) ขอบเรียบและแบน</p>

รายการ	ข้อกำหนด
3. การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี	3.1 นำโคโลนีบริสุทธิ์ (pure colony) ของแบคทีเรียที่สงสัยมาทดสอบ 3.2 ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ดังนี้ 3.2.1 ทดสอบออกซิเดส (oxidase test) เชื้อแคมพิโลแบกเตอร์จะให้ผลบวก 3.2.2 ทดสอบคะตะเลส (catalase test) เชื้อแคมพิโลแบกเตอร์จะให้ผลบวก 3.2.3 ทดสอบฮิปพูเรตไฮโดรไลซิส (hippurate hydrolysis test) เชื้อ <i>C. jejuni</i> จะให้ผลบวก ทั้งนี้ บางสายพันธุ์ (strain) อาจให้ผลลบ และเชื้อ <i>C. coli</i> ให้ผลลบ
4. การตรวจยืนยันสารพันธุกรรมของเชื้อ	4.1 วิธี multiplex PCR มีขั้นตอนดังนี้ 1) นำโคโลนีบริสุทธิ์ (pure colony) ของแบคทีเรียที่สงสัยว่าเป็นแคมพิโลแบกเตอร์มาเพาะลงบน non-selective blood agar 2) สกัดดีเอ็นเอของแบคทีเรีย 3) เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอเป้าหมายแบบทวีคูณโดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะให้มีจำนวนมากพอที่จะตรวจพบได้ 4) อ่านและแปลผลดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis)