

การศึกษารอยโรคทางพยาธิวิทยา การกระจายของโรค และระบาดวิทยาระดับโมเลกุล
ของโรคลัมปี สกิน ในโคและกระบือ ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย
ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2564

Study of pathological gross lesions, disease distribution and molecular
epidemiology of lumpy skin disease in cattle and buffaloes in upper
northeastern Thailand during March to December 2021

สมพงษ์ จันทะหาร^{1*} ดิลก อ้วนพomma²

Sompong Jantahan^{1*} Dilok Aunpomma²

Abstract

Backgrounds: Lumpy skin disease (LSD) is an emerging disease in cattle and buffaloes in Thailand. The LSD is causing of high morbidity rate and high mortality rate in cattle and buffaloes in upper northeastern Thailand. Study on pathological gross lesions, disease distribution, molecular epidemiology can be applied to control and prevention for LSD in the future.

Methods: The 25 cases of cattle and buffaloes were examined pathological gross lesion on the carcasses and internal organ. The samples were cultured for bacterial infection. Molecular epidemiological study and distribution of LSD in the upper northeastern Thailand was conducted from submitted sample from 150 farms. Epidemiological map was performed using Quantum Geographic Information System. Selected sample was conducted for nucleotide sequencing of *GPCR* and *RPO30* genes and data were analyzed by phylogenetic tree and descriptive statistics.

Results: Pathological gross lesions found 96% enlargement, congestion, edema, and petechial hemorrhage of lymph nodes, and edema of tissue surrounding lymph nodes. 92% were pulmonary edema, congestion, and found frothy exudate in bronchi. 84% of cases found generalized round nodules on skin and ruptured nodular lesions. 80% found edema of tissue surrounding wounds. 64% of cases found pleural thickening and pleural adhesions. 44% were subcutaneous edema of brisket area, abdomen, or legs. 32% found yellowish pale color of livers. 28% found pale color of kidneys. Pericardial effusions were found in 24.00% of cases. 20% of cases found reddish and necrotic tissues on tracheal walls. The reddish mucosa and contained bloody exudate in small intestines were found in 20%. Large intestinal walls were found 8% necrosis. The distribution of LSD reveals the highest prevalence in Kalasin province (63.33%). Khon Kaen province was in second rank of disease prevalence (16.67%). Nucleotide sequence comparison analysis between the nucleotide sequences of 2 samples from the beginning of the study and 2 samples from final periods of the study revealed that nucleotide sequences of all samples were 100% identical and were similar to the sequences of previous findings in Thailand, China, Hong Kong, Taiwan, and Vietnam with 99.50-100%.

Conclusions: LSD pathological gross lesions found in cattle and buffaloes in this study were enlargement, congestion, edema, and petechial hemorrhage of lymph nodes, edema of tissue surrounding lymph nodes. The pulmonary edema, congestion and found frothy exudate in bronchi. Generalized round nodules on skin and ruptured nodular lesions, edema of tissue surrounding wounds. And pleural thickening and pleural adhesions. There were no changes in the nucleotide sequences of the *GPCR* and *RPO30* genes of the virus during the study period and the sequences were similar to the sequences of the previous findings in Thailand, China, Hong Kong, Taiwan, and Vietnam.

Keywords: Lumpy skin disease, lesion, molecular epidemiology

¹Veterinary Research and Development Center (Eastern Region), Chonburi, 20220, Thailand

²Veterinary Research and Development Center (North-Eastern Region), Khon Kaen, 40260, Thailand

*Corresponding author: Tel. 038-742119 Fax. 038-742120 e-mail: sompongj@dld.go.th

¹ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี 20220

²ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40260

*ผู้เขียน/ผู้รับผิดชอบ โทรศัพท์ 038-742119 โทรสาร 038-742120 e-mail: sompongj@dld.go.th

บทคัดย่อ

ที่มาของการศึกษา: โรคลัมปี สกิน เป็นโรคอุบัติใหม่ของโคและกระบือในประเทศไทย ทำให้โคและกระบือในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนป่วยและตายเป็นจำนวนมาก การศึกษารอยโรคทางมพยาธิวิทยา การกระจายของโรค และการศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการจากการวิเคราะห์ระดับโมเลกุล สามารถนำข้อมูลไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุม และป้องกันโรคลัมปี สกินในอนาคต

วิธีการ: ศึกษาโรคทางมพยาธิวิทยาจากตัวอย่างซากและอวัยวะภายในของโคและกระบือที่ตรวจชันสูตรยืนยันการเกิดโรคลัมปี สกิน รวมทั้งตรวจหาเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่แทรกซ้อน จำนวน 25 เคส ศึกษาระบาดวิทยาระดับโมเลกุล และการกระจายตัวของโรคลัมปี สกิน ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน จากตัวอย่างที่ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ จำนวน 150 ฟาร์ม และสร้างแผนที่ด้วยโปรแกรม Quantum Geographic Information System นำตัวอย่างเชื้อไวรัสมาตรวจวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *GPCR* และยีน *RPO30* และสร้างแผนภูมิ Phylogenetic tree เพื่อศึกษาวงศ์วานวิวัฒนาการ และนำข้อมูลมาอธิบายด้วยสถิติเชิงพรรณนา

ผล: พบรอยโรคต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ บวม น้ำ และพบจุดเลือดออก และเกิดการบวม น้ำของเนื้อเยื่อบริเวณรอบต่อมน้ำเหลือง (96.00%) ปอดบวม น้ำ และมีเลือดคั่ง และพบสารคัดหลั่งเป็นฟองในแขนงหลอดลม (92%) ผิวหนังมีเม็ดตุ่มรูปร่างกลมกระจายตัวทั่วร่างกาย หรือ แตกเป็นแผล เนื้อเยื่อบริเวณรอบเม็ดตุ่ม บวม น้ำ (84%) เนื้อเยื่อบริเวณรอบเม็ดตุ่มบวม น้ำ (80%) เยื่อหุ้มปอดหนาและเกิดการยึดติดกันระหว่างกลีบปอด (64%) บวม น้ำใต้ผิวหนังบริเวณอก ท้อง หรือขา (44%) ตับมีสีซีดเหลืองกว่าปกติ (32%) และไตมีสีซีดเหลืองกว่าปกติ (28%) พบของเหลวสะสมในถุงหุ้มหัวใจ (24%) ผนังหลอดลมแดงและเกิดเนื้อตาย (20%) ผนังลำไส้เล็กแดง และของเหลวในลำไส้เล็กมีเลือดปน (20%) และผนังลำไส้ใหญ่เกิดเนื้อตาย (8%) พบการกระจายตัวของโรคในพื้นที่จังหวัดกาฬสินธุ์สูงสุด (63.33%) และจังหวัดขอนแก่นรองลงมา (16.67%) จากการวิเคราะห์

เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างช่วงต้นของการศึกษา จำนวน 2 ตัวอย่าง กับช่วงท้ายของการศึกษา จำนวน 2 ตัวอย่าง พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของทุกตัวอย่างเหมือนกัน 100% และคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อที่เคยพบในประเทศไทย จีน ฮองกง ไต้หวัน และเวียดนามที่ 99.50%-100%

สรุป: รอยโรคทางมพยาธิวิทยาที่ตรวจพบในโคและกระบือที่ป่วยและตายด้วยโรคลัมปี สกิน จากการศึกษานี้ ได้แก่ ต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ บวม น้ำ และพบจุดเลือดออก และเกิดการบวม น้ำของเนื้อเยื่อบริเวณรอบต่อมน้ำเหลือง ปอดบวม น้ำและมีเลือดคั่ง และพบสารคัดหลั่งเป็นฟองในแขนงหลอดลม ผิวหนังมีเม็ดตุ่มรูปร่างกลมกระจายตัวทั่วร่างกาย หรือ แตกเป็นแผล เนื้อเยื่อบริเวณรอบเม็ดตุ่มบวม น้ำ เยื่อหุ้มปอดหนาและเกิดการยึดติดกันระหว่างกลีบปอด ไม่มีความเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *GPCR* และ *RPO30* ของเชื้อไวรัสในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา และลำดับนิวคลีโอไทด์มีคล้ายคลึงกับเชื้อที่เคยพบในประเทศไทย จีน ฮองกง ไต้หวัน และเวียดนาม

คำสำคัญ: โรคลัมปี สกิน รอยโรค ระบาดวิทยาระดับโมเลกุล

บทนำ

โรคลัมปี สกิน (Lumpy skin disease) เกิดจากการติดเชื้อ Lumpy skin disease virus (LSDV) ซึ่งเป็น DNA virus จัดอยู่ในวงศ์ *Poxviridae* สกุล *Capripoxvirus* (CaPV) สัตว์ในตระกูลโค กระบือ และสัตว์ป่าสามารถติดเชื้อและแสดงอาการของโรคได้ตามธรรมชาติโดยมีสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็กเป็นตัวอมโรค (Tuppurainen et al., 2017) โรคนี้มีพาหะนำโรคได้แก่ เห็บ (*Rhipicephalus* spp., *Amblyomma* spp.) แมลงวันคอก (*Stomoxys calcitrans*) แมลงวันบ้าน (*Musca domestica*) และยุงลาย (*Aedes* spp.) (Acharya and Subedi, 2020) นอกจากนี้ยังสามารถติดต่อได้ผ่านการสัมผัสสัตว์ป่วยโดยตรง ผ่านทางน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ที่เป็นโรค หรือ

ผ่านทางรก อาการทางคลินิก พบสัตว์ป่วยจะซึม เบื่ออาหาร ไข้สูง ต่อมาน้ำเหลืองโต และเกิดเม็ดตุ่มขนาดประมาณ 2-5 เซนติเมตร ขึ้นที่ผิวหนังทั่วร่างกาย เม็ดตุ่มที่ขึ้นอาจแตก ตกสะเก็ด และเกิดเป็นเนื้อตาย (Abdulqa *et al.*, 2016) มีรายงานว่าทำให้เกิดภาวะเป็นหมันชั่วคราว หมดประจำเดือน หรือแท้งลูก (Al-Salihi, 2014) ในโคนมอาจให้ผลผลิตน้ำนมลดลงถึง 25-65% และในรายที่เกิดโรคอย่างรุนแรงอาจแสดงอาการหายใจลำบากร่วมด้วย (Gupta *et al.*, 2020) โดยมีอัตราการป่วยประมาณ 30-45% อัตราการตายประมาณ 12% (Al-Salihi, 2014) แต่ในพื้นที่ที่ไม่เคยมีการระบาดมาก่อนอาจมีอัตราการตายสูงกว่าปกติ ส่งผลกระทบต่อผลผลิตที่ลดลง (Gupta *et al.*, 2020) สร้างความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมากโดยเฉพาะในเกษตรกรรายย่อย (Sudhakar *et al.*, 2020) โรคนี้เป็นโรคประจำถิ่นในทวีปแอฟริกา พบการระบาดของโรคนอกทวีปแอฟริกาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527 (Al-Salihi, 2014) ในทวีปเอเชียมีรายงานการแพร่ระบาดในหลายประเทศ เริ่มจากประเทศบังกลาเทศที่พบการเกิดโรคตั้งแต่เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2562 (Badhy *et al.*, 2021) รวมถึงพบการระบาดในประเทศที่มีชายแดนติดต่อกับประเทศไทย ได้แก่ เมียนมาร์ มาเลเซีย ลาว และกัมพูชา (Azeem *et al.*, 2022) โรคลัมปี สกิน จัดเป็นโรคอุบัติใหม่ของโค และกระบือในประเทศไทย (จตุพร, 2564) เนื่องจากมีรายงานการเกิดโรคครั้งแรกในโคเมื่อเดือนมีนาคม พ.ศ. 2564 ที่อำเภอนมไพร จังหวัดร้อยเอ็ด (OIE, 2021)

การตรวจโรคทางมพยาธิวิทยา (pathological gross lesions) โดยทั่วไปรอยโรคที่พบเกิดเม็ดตุ่มรูปร่างกลมตามผิวหนังทั่วร่างกายและขนาดโตขึ้น เกิดการบวมน้ำและอักเสบของเนื้อเยื่อรอบเม็ดตุ่ม (Abdulqa *et al.*, 2016) และกลายเป็นแผลเน่าเปื่อย ต่อมาน้ำเหลืองทั่วร่างกายขยายใหญ่ ในรายที่เกิดโรคอย่างรุนแรง พบรอยโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบและต่อมน้ำเหลืองทรวงอกขยายใหญ่ พบการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน ได้แก่ ปอดอักเสบ หลอดลมอุดตัน เต้านมอักเสบ ลูกอ้นทะลักอักเสบ และพบรอยโรคเนื้อเยื่ออักเสบแดงล้อมรอบเนื้อตายสีเทา-ขาวในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย (Tuppurainen *et al.*, 2017; Mulatu and Feyisa, 2018) การตรวจจาการ

ทางคลินิกหรือการตรวจทางซีรัมวิทยาไม่สามารถแยกชนิดของเชื้อในสกุล *Capripoxviruses* (CaPVs) ได้ ซึ่งทุกวันนี้เชื้อมีความผันแปรในระดับโมเลกุลเพิ่มมากขึ้น จึงต้องทำการยืนยันด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล ได้แก่ PCR ซึ่งเป็นเทคนิคการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสที่ได้ผลตรวจอย่างรวดเร็ว มีความไวและความจำเพาะสูง (Tuppurainen *et al.*, 2005; Tuppurainen *et al.*, 2010) โดยเฉพาะการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเป้าหมายและการตรวจวัดสัญญาณด้วยเทคนิค Real-time PCR สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อจากตัวอย่างส่งตรวจปริมาณน้อย ๆ ได้ วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะสูง และมีข้อดีกว่าวิธี PCR แบบดั้งเดิม เนื่องจากลดเวลาการตรวจวิเคราะห์ และลดการเกิดผลบวกปลอมจากการปนเปื้อนของผลผลิต PCR ต่อมา Suwankitwat *et al.* (2022) ได้นำเทคนิค Real-time PCR มาใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาเชื้อ LSDV และ Lamien *et al.* (2011) ได้ศึกษาทางระบาดวิทยาระดับโมเลกุลของเชื้อ CaPVs สามารถแยกความแตกต่างทางสายวิวัฒนาการและพันธุกรรมโดยอาศัยลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละยีนและทั้งจีโนม โดยอาศัยการวิเคราะห์ยีนต่าง ๆ บนจีโนมของเชื้อ เช่น Structural protein P32, G-protein-coupled chemokine receptor (GPCR), 30 kDa DNA-dependant RNA polymerase subunit (RPO30) เป็นต้น (Gelaye *et al.*, 2015; Badhy *et al.*, 2021) โดยเชื้อไวรัสในกลุ่ม CaPVs จะมียีน P32 ทำหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนโครงสร้างของเชื้อไวรัส ซึ่งยีนดังกล่าวนี้ใช้แยกความจำเพาะของเชื้อไวรัสต่อโฮสต์ที่ไม่สามารถแยกได้โดยวิธีการทางซีรัมวิทยา โดยที่ยีน GPCR และยีน RPO30 สามารถแยกความแตกต่างของสัตว์ที่ติดเชื้อจากการได้รับวัคซีนและเชื้อที่ติดจากธรรมชาติ (Gelaye *et al.*, 2015) ในประเทศไทยมีการศึกษาทางด้านระบาดวิทยาระดับโมเลกุลและสร้าง phylogenetic tree ของเชื้อ LSDV ที่เกิดการระบาดของโรคเป็นครั้งแรกในประเทศไทย แต่เป็นการดำเนินการจากตัวอย่างโคในจังหวัดร้อยเอ็ดเพียงพื้นที่เดียวเท่านั้น (Arjkumpa *et al.*, 2021) ซึ่งหลังจากนั้นพบการระบาดในจังหวัดบุรีรัมย์ อำนาจเจริญ กาฬสินธุ์ โยธธร ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ขอนแก่น และมีการกระจายไปทั่วทุกภาคของประเทศไทย (OIE, 2021)

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารอยโรคทางมพยาธิวิทยา การกระจายตัวของโรคเกิดโรคล้มป สกิน ระบาดวิทยาระดับโมเลกุล ในโคและกระบือในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน เปรียบเทียบสายพันธุ์เชื้อไวรัสก่อโรคในช่วงต้น และช่วงท้ายของการศึกษา สำหรับเป็นข้อมูลการวินิจฉัยโรคในเบื้องต้นและเชิงลึก เพื่อนำไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุม และป้องกันโรคล้มป สกิน ในโคและกระบือต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาข้อมูลการตรวจวินิจฉัยโรคล้มป สกิน

รวบรวมข้อมูลการพบโรคล้มป สกิน จากผลการตรวจชันสูตรที่ยืนยันการป่วยและตายด้วยโรคล้มป สกิน ในโคและกระบือ โดยวิธี Real-time PCR ที่ห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน จำนวน 150 ตัว จาก 150 ฟาร์ม ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง ธันวาคม 2564

การตรวจทางมพยาธิวิทยา

รวบรวมผลการตรวจรอยโรคทางมพยาธิวิทยา จากตัวอย่างซากและอวัยวะภายใน ของโคและกระบือที่ป่วยตายจากโรคล้มป สกิน ตามอวัยวะที่สำคัญ ได้แก่ หัวใจ ปอด หลอดลม ตับ ม้าม ไต ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ ต่อม้ำเหลือง ผิวหนัง และตุ่มเนื้อตาย จากสัตว์จำนวน 25 ตัว ประกอบด้วย โค 20 ตัว และกระบือ 5 ตัว

การตรวจทางแบคทีเรียวิทยา

นำตัวอย่างอวัยวะภายในของโคและกระบือ ได้แก่ หัวใจ ปอด หลอดลม ตับ ม้าม ไต ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ ต่อม้ำเหลือง ผิวหนัง และตุ่มเนื้อตาย จากโคและกระบือ จำนวน 25 ตัว มาตรวจทางแบคทีเรียวิทยาเพื่อตรวจหาเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่แทรกซ้อน โดยแบ่งตัวอย่างแต่ละอวัยวะออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ตรวจหา aerobic bacteria โดยนำมาเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด 7% defibrinated sheep blood agar นำไปบ่มในตูบที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบลักษณะของโคโลนี ย้อมสีแกรม

และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ตามวิธีของ Quinn *et al.* (1994)

ส่วนที่ 2 ตรวจหา *Salmonella* spp. ตามวิธีมาตรฐาน ISO 6579-1: 2017/AMD 1 (2020)

ส่วนที่ 3 ตรวจหา anaerobic bacteria และ *Clostridium perfringens* โดยนำมาเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด 7% defibrinated sheep blood agar นำไปบ่มในตูบที่อุณหภูมิ 37 °C ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบลักษณะของโคโลนี ย้อมสีแกรม และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ตามวิธีของ Quinn *et al.* (1994) และเพาะโคโลนีที่สงสัยบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด 7% defibrinated sheep blood agar นำไปบ่มในตูบที่อุณหภูมิ 37 °C เพื่อยืนยันว่าโคโลนีเชื้อแบคทีเรียที่เพาะแยกได้เป็น anaerobic bacteria

การตรวจทางชีวโมเลกุล

สกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างตุ่มเนื้อตายที่ผิวหนัง จำนวน 150 ตัวอย่าง ด้วยชุดสกัด High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics GmbH, Germany) จากนั้น นำสารพันธุกรรมที่สกัดได้ ปริมาณ 5 µl ไปตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี Real-time PCR ตามวิธีของ Bowden *et al.* (2008) โดยใช้ส่วนผสมประกอบด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน P32 (Forward primer ชื่อ CaPV-074F1: 5'-AAA ACG GTA TAT GGA ATA GAG TTG GAA-3' และ Reverse primer ชื่อ CaPV-074R1: 5'-AAA TGA AAC CAA TGG ATG GGA TA-3') ความเข้มข้น 4 nM, TaqMan probe ชื่อ CaPV-074P1 5'-6FAM-TGG CTC ATA GAT TTC CT-MGBNFQ-3' ความเข้มข้น 1.2 nM น้ำปริมาณ 3.96 µL และน้ำยา FastStart Essential DNA Probes Master (Roche Diagnostics GmbH, Germany) ปริมาณ 10 µL ประกอบด้วย ขั้นตอน Initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยขั้นตอนการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม denaturation ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 15 วินาที annealing/extension ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 45 วินาที จำนวน 40 รอบ แล้วอ่านผลเปรียบเทียบกับกราฟตัวอย่างควบคุมบวก ที่ค่า Ct ≤ 37 รอบ

การวิเคราะห์ข้อมูล และการสร้างแผนที่ทางภูมิศาสตร์

นำข้อมูลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการมาวิเคราะห์แยกตามรายจังหวัดด้วยสถิติเชิงพรรณนา และสร้างแผนที่การเกิดโรค แยกตามรายจังหวัดในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ด้วยโปรแกรม Quantum Geographic Information System, QGIS Ver. 3.16 (QGIS, 2021)

การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรม (DNA Sequencing)

ตัวอย่างสารพันธุกรรมที่ให้ผลบวกด้วยวิธี Real-time PCR และมีค่า Ct ต่ำที่สุด จำนวน 4 ตัวอย่าง ประกอบด้วยตัวอย่างช่วงต้นของการศึกษา (มีนาคม) จำนวน 2 ตัวอย่าง และตัวอย่างช่วงท้ายของการศึกษา (ธันวาคม) จำนวน 2 ตัวอย่าง จากจังหวัดกาฬสินธุ์และจังหวัดขอนแก่น นำมาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธี Conventional PCR เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อยีน *RPO30* (Forward primer ชื่อ CpRPO30-OL1F : 5'-CAG CTG TTT GTT TAC ATT TGA TTT TT-3', Reverse primer ชื่อ CpRPO30-OL1R: 5'-TCG TAT AGA AAC AAG CCT TTA ATA GA-3') PCR product ขนาด 554 bp และยีน *GPCR* (Forward primer ชื่อ CpGPCR-OL1F: 5'-TGA AAA ATT AAT CCA TTC TAA ACA-3', Reverse primer ชื่อ CpGPCR-OL1R: 5'-TCA TGT ATT TTA TAA CGA TAA TGC AAA-3') PCR product ขนาด 617 bp (Gelaye *et al.*, 2015) และใช้ชุดน้ำยา GoTaq® Green Master Mix (Promega, USA) ตามรายละเอียดที่ระบุในคู่มือ นำผลผลิต PCR ที่ได้ส่งตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Sanger sequencing ที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree)

นำข้อมูลผลการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสาย Forward และ Reverse ที่ได้จากเครื่องวิเคราะห์มารวมเข้าด้วยกันด้วยโปรแกรม BioEdit (Hall, 1999) วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมที่ได้ไปเปรียบเทียบกับร้อยละของความเหมือน (% Identity) กับลำดับนิวคลีโอไทด์

ของสารพันธุกรรมของเชื้อ LSDV ในฐานข้อมูลของ GenBank ด้วยโปรแกรม BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) สร้างแผนภูมิความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยวิธี Maximum likelihood และทดสอบความเชื่อมั่นด้วยวิธี Bootstrap จำนวน 1,000 รอบ ด้วยโปรแกรม MEGA X version 10.2 (Kumar *et al.*, 2018)

ผลและวิจารณ์

ผลการตรวจรอยโรคทางมพยาธิวิทยา จากตัวอย่างอวัยวะของโคและกระบือ ที่ป่วยตายจากโรคล้มปี่ สกีน พบรอยโรคผิวหนังมีเม็ดตุ่มรูปร่างกลมกระจายตัวทั่วร่างกาย หรือ เม็ดตุ่มแตกเป็นแผล (รูปที่ 1-A) 84% (21/25) เนื้อเยื่อบริเวณรอบเม็ดตุ่มบวมน้ำ 80% (20/25) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Salib and Osman (2011) ที่พบว่าโคที่ป่วยตายจากโรคล้มปี่ สกีน จะพบรอยโรคแบบดังกล่าว และ Mulatu and Feyisa (2018) ได้รายงานว่าโคที่ได้รับเชื้อ LSDV จะมีไข้สูง และกระจายไปยังเซลล์อักเสบอื่น ๆ ทำให้เกิดการอักเสบของหลอดเลือดและต่อมน้ำเหลือง ผิวหนังมีเม็ดตุ่มรูปร่างกลมจะกระจายตัวไปทั่วร่างกาย การพบรอยโรคเกิดการบวมน้ำใต้ผิวหนังบริเวณอก (รูปที่ 1-B) คอ ท้อง หรือ ขา 44% (11/25) ต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ บวมน้ำ พบจุดเลือดออก และเกิดการบวมน้ำของเนื้อเยื่อบริเวณรอบต่อมน้ำเหลือง 96% (24/25) (รูปที่ 1-C และ 1-D) และพบของเหลวสะสมในถุงหุ้มหัวใจ 24% (6/25) (รูปที่ 1-E) ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากเชื้อ LSDV สร้างความเสียหายแก่ pericytes, fibroblasts, epithelial cells และ endothelial cells ของผนังหลอดเลือดและผนังหลอดเลือดน้ำเหลือง ทำให้เกิดหลอดเลือดอักเสบและหลอดเลือดน้ำเหลืองอักเสบ ของเหลวภายในซิมผ่านออกสู่เนื้อเยื่อโดยรอบ (Al-Salihi, 2014, Abdulqa *et al.*, 2016) การพบรอยโรคผนังหลอดลมแดงและเกิดเนื้อตาย (รูปที่ 1-F) 20% (5/25) เยื่อหุ้มปอดหนาและเกิดการยึดติดกันระหว่างกลีบปอด (รูปที่ 1-G) 64% (16/25) และรอยโรคปอดบวมน้ำและมีเลือดคั่ง และพบสารคัดหลั่งเป็นฟองในแขนงหลอดลม (รูปที่ 1-H) 92% (23/25) สอดคล้องกับการศึกษาของ Mulatu and Feyisa (2018) ที่พบรอยโรค

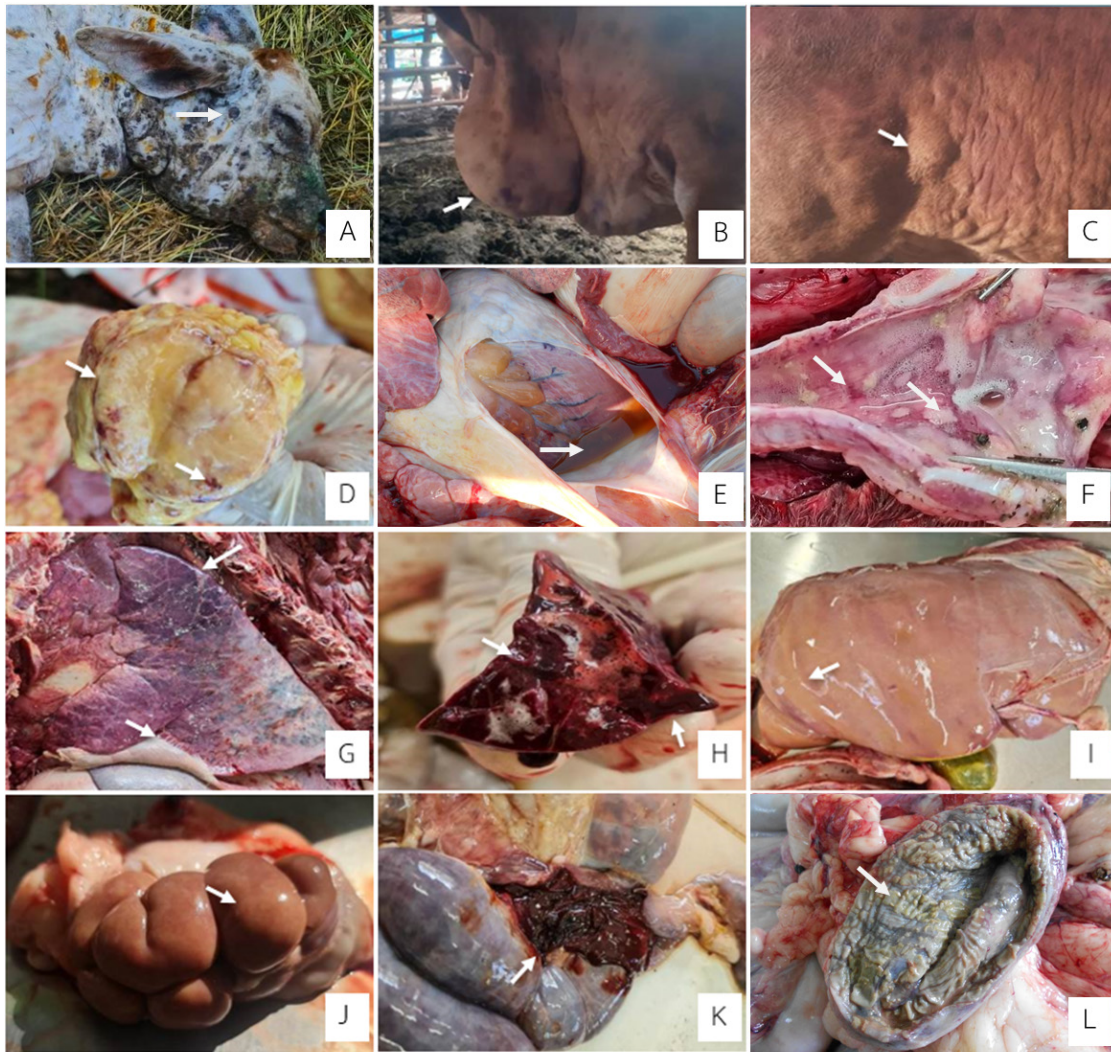
เหล่านี้ในสัตว์ที่เกิดโรคนิรุนแรง นอกจากนี้พบว่ามี สีซีดเหลือง (รูปที่ 1-I) 32% (8/25) และไตมีสีซีดเหลือง (รูปที่ 1-J) 28% (7/25) ตรงกับที่ Şevik and Dogan (2017) รายงานการพบค่าการทำงานของตับและไต ของสัตว์ที่ติดเชื้อ LSDV มีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ นอกจากนี้การพบรอยโรคผนังลำไส้เล็กแดงและของเหลว ในลำไส้เล็กมีเลือดปน (รูปที่ 1-K) 20% (5/25) เป็น รอยโรคที่สามารถพบได้ในกรณีที่สัตว์มีการติดเชื้อ แบคทีเรียแทรกซ้อน (Al-Salihi, 2014) ซึ่งสอดคล้องกับ ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการแบคทีเรียวิทยา ที่พบการ ติดเชื้อ *Salmonella* spp. จำนวน 2 ตัวอย่าง และ *Clostridium perfringens* จำนวน 2 ตัวอย่าง และ *Escherichia coli* จำนวน 1 ตัวอย่าง และรอยโรคผนัง ลำไส้ใหญ่เกิดเนื้องาย (รูปที่ 1-L) ตรวจพบ 8% (2/25) เป็นรอยโรคที่สามารถพบได้ในระบบทางเดินอาหารของโค และกระบือที่ป่วยจากการติดเชื้อ LSDV (Mulatu and Feyisa, 2018) ผลการตรวจรอยโรคทางมพยาธิวิทยา ในโคและกระบือที่ป่วยและตายด้วยโรคลัมปี สกิน แสดง ร้อยละของการพบรอยโรค แยกตามชนิดโคและกระบือ และแยกตามอวัยวะแสดงใน ตารางที่ 1

การศึกษาในครั้งนี้พบรอยโรคทางมพยาธิวิทยา ในโคแต่ตรวจไม่พบในกระบือ ได้แก่ รอยโรคเนื้อเยื่อ บริเวณรอบเม็ดตุ่มอักเสบและบวม น้ำ บวม น้ำใต้ผิวหนัง บริเวณคอ ออก ท้อง หรือ ขา ผนังหลอดลมแดงและเกิด เนื้องาย มีของเหลวสะสมในถุงหุ้มหัวใจ ผนังลำไส้เล็กแดง และของเหลวในลำไส้เล็กมีเลือดปน ผนังลำไส้ใหญ่แดงและ เกิดเนื้องาย สอดคล้องกับการศึกษาของ Sudhakar *et al.* (2020) พบว่าการเกิดโรคในกระบือไม่ค่อยพบรอยโรค พบเพียงการเกิดเม็ดตุ่มตามผิวหนัง และการเกิดโรค ลัมปี สกิน ในโคจะแสดงอาการทางคลินิกที่รุนแรงกว่าใน กระบือ (Abdulqa *et al.*, 2016; Sudhakar *et al.*, 2020) อาจเนื่องจากการตอบสนองของสัตว์แต่ละชนิด

จากผลการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ LSDV โดยวิธี Real-time PCR แยกตามรายจังหวัดในพื้นที่ภาค ตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน จำนวน 150 ฟาร์ม (รูปที่ 2) พบว่าจังหวัดกาฬสินธุ์มีการส่งตัวอย่างเพื่อตรวจหา สารพันธุกรรมของเชื้อ LSDV มากที่สุด คิดเป็น 63.33% และจังหวัดขอนแก่นเป็นอันดับรองลงมา คิดเป็น 16.67% ซึ่งสัดส่วนผลการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ LSDV โดยวิธี Real-time PCR แยกตามรายจังหวัดในพื้นที่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน แสดงในรูปที่ 3

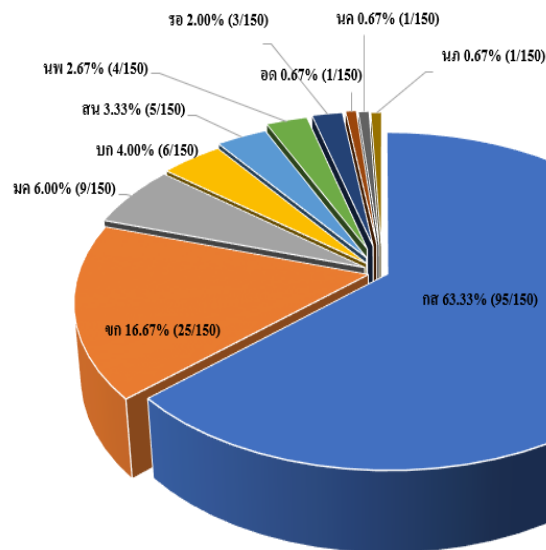
ตารางที่ 1 รอยโรคทางมพยาธิวิทยาในโคและกระบือที่ป่วยและตายด้วยโรคลัมปี สกิน แสดงร้อยละของการพบรอยโรค แยกตามชนิดโคและกระบือ และแยกตามอวัยวะ

อวัยวะ	รอยโรคทางมพยาธิวิทยา	ร้อยละ (พบ/ทั้งหมด)	
		โค	กระบือ
ผิวหนัง และตุ่มเนื้องาย	- ผิวหนังมีเม็ดตุ่มรูปร่างกลมกระจายตัวทั่วร่างกาย หรือ เม็ดตุ่มแดงเป็นแผล	100% (20/20)	20% (1/5)
	- เนื้อเยื่อบริเวณรอบเม็ดตุ่มบวม น้ำ	100% (20/20)	0% (0/5)
	- บวม น้ำใต้ผิวหนังบริเวณคอ ออก ท้อง หรือ ขา	55% (11/20)	0% (0/5)
ต่อมน้ำเหลือง	- ต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ บวม น้ำ และพบจุดเลือดออก	100% (20/20)	80% (4/5)
	- เกิดการบวม น้ำของเนื้อเยื่อบริเวณรอบต่อมน้ำเหลือง	100% (20/20)	80% (4/5)
ปอด และหลอดลม	- ปอดบวม น้ำและมีเลือดคั่ง และมีสารคัดหลั่งเป็นฟอง ในแขนงหลอดลม	90% (18/20)	100% (5/5)
	- เยื่อหุ้มปอดหนาและเกิดการยึดติดกันระหว่างกลีบปอด	65% (13/20)	60% (3/5)
	- ผนังหลอดลมแดงและเกิดเนื้องาย	25% (5/20)	0% (0/5)
ตับ	- ตับมีสีซีดเหลือง	35% (7/20)	20% (1/5)
ไต	- ไตมีสีซีดเหลือง	30% (6/20)	20% (1/5)
หัวใจ	- มีของเหลวสะสมในถุงหุ้มหัวใจ	30% (6/20)	0% (0/5)
ลำไส้เล็ก	- ผนังลำไส้เล็กแดงและของเหลวในลำไส้เล็กมีเลือดปน	25% (5/20)	0% (0/5)
ลำไส้ใหญ่	- ผนังลำไส้ใหญ่เกิดเนื้องาย	10% (2/20)	0% (0/5)



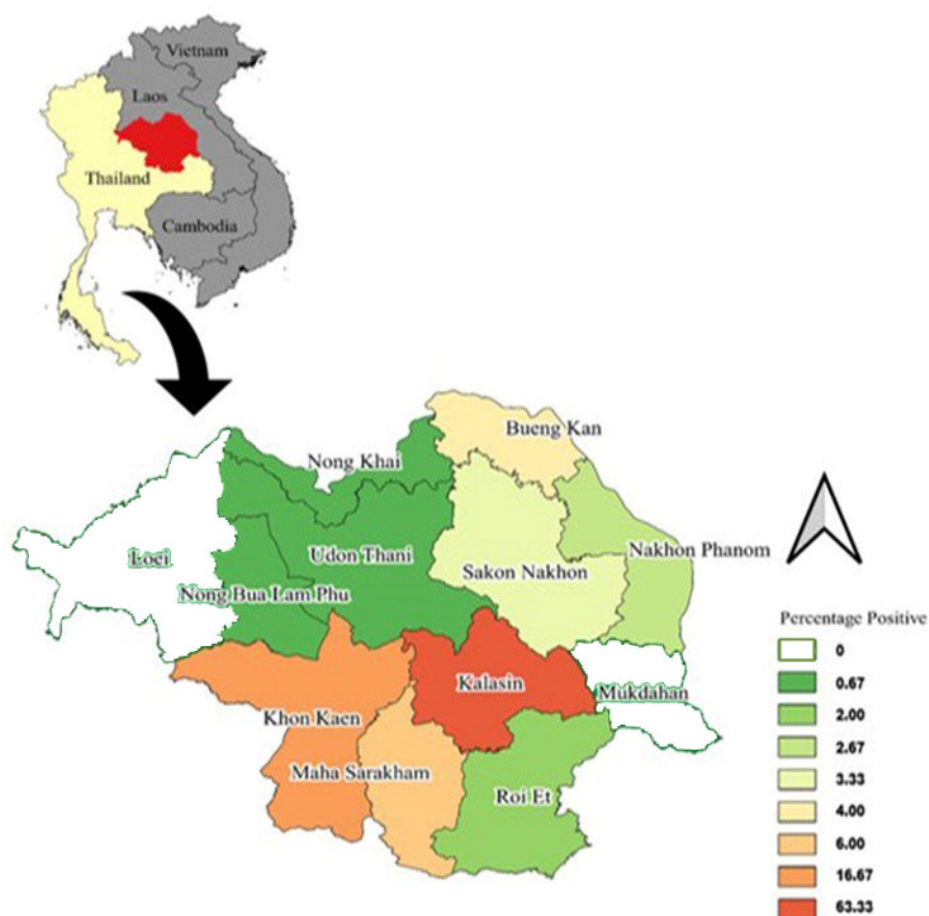
รูปที่ 1 รอยโรคทางมหาพยาธิวิทยาในโคและกระบือที่ป่วยและตายด้วยโรคลัมปี สกิน

- A) ผิวหนังมีเม็ดตุ่มรูปร่างกลมกระจายทั่วร่างกาย
- B) บวมน้ำใต้ผิวหนังบริเวณหน้าอก
- C) ต่อมเหงื่อใต้ผิวหนังขยายใหญ่
- D) ต่อมเหงื่อขยายใหญ่ บวมน้ำ พบจุดเลือดออก และเกิดการบวมของเนื้อเยื่อบริเวณรอบต่อมเหงื่อ
- E) ของเหลวสะสมในถุงหุ้มหัวใจ
- F) ผื่นหลอดเลือดแดงและเกิดเนื้อตาย
- G) เยื่อหุ้มปอดหนาและเกิดการยึดติดกันระหว่างกลีบปอด
- H) ปอดบวมและมีเลือดคั่ง และมีสารคัดหลั่งเป็นฟองในแขนงหลอดลม
- I) ตับมีสีซีดเหลือง
- J) ตับมีสีซีดเหลือง
- K) ผื่นลำไส้เล็กแดงและของเหลวในลำไส้เล็กมีเลือดปน
- L) ผื่นลำไส้ใหญ่เกิดเนื้อตาย

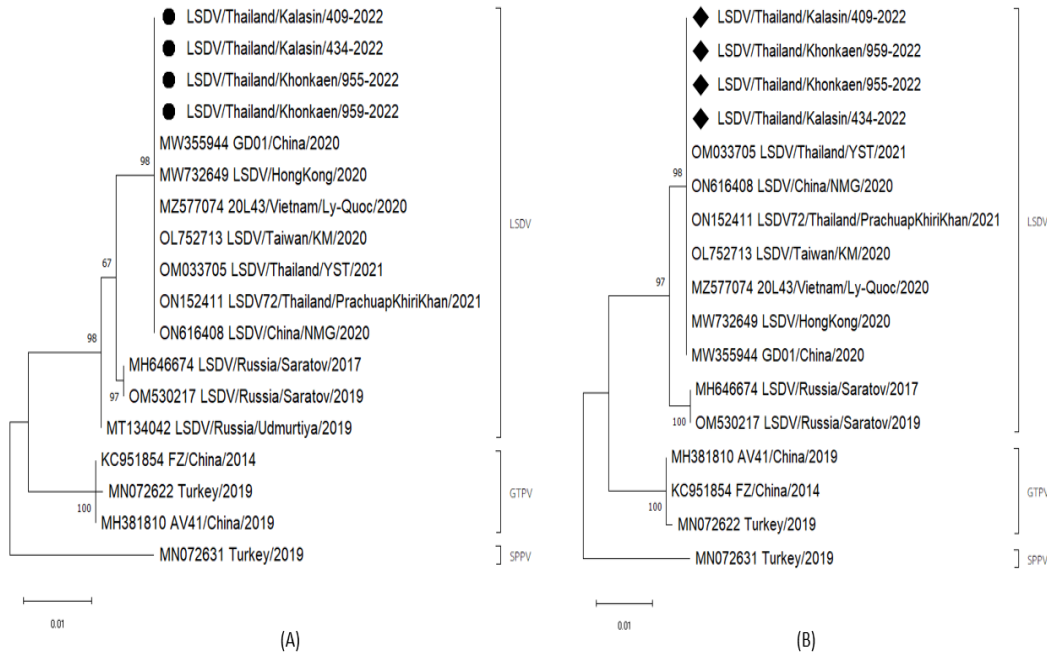


รูปที่ 2 ร้อยละของฟาร์มที่ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ LSDV โดยวิธี Real-time PCR แยกตามรายจังหวัด ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน (150 ฟาร์ม) กส=กาฬสินธุ์; ชก=ขอนแก่น, มค=มหาสารคาม; บก = บึงกาฬ, สน=สกลนคร, นพ=นครพนม, รอ=ร้อยเอ็ด; อด=อุดรธานี, นค=หนองคาย, นภ=หนองบัวลำภู

หมายเหตุ: จังหวัดมุกดาหารและจังหวัดเลย ไม่มีตัวอย่างส่งตรวจ



รูปที่ 3 แสดงร้อยละผลการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ LSDV โดยวิธี Real-time PCR แยกตามรายจังหวัดในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน และสร้างแผนที่ด้วยโปรแกรม Quantum Geographic Information System



รูปที่ 4 แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *GPCR* (A) และ ยีน *RPO30* (B) ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ LSDV ในฐานข้อมูลของ GenBank สร้างแผนภูมิด้วยวิธี Maximum likelihood โดยใช้โปรแกรม MEGA-X, สัญลักษณ์ * และ ** คือ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *GPCR* และยีน *RPO30* ที่ได้จากการศึกษานี้

จากการวิเคราะห์ข้อมูลผลการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ LSDV ที่ทำการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *GPCR* และ *RPO30* ของเชื้อ LSDV ทั้ง 4 ตัวอย่าง คือ เชื้อ LSDV จากตัวอย่างในช่วงต้นของการศึกษา (LSDV/Thailand/Kalasin/409-2022; LSDV/Thailand/Kalasin/434-2022) และช่วงท้ายของการศึกษา (LSDV/Thailand/Khonkaen/955-2022; LSDV/Thailand/Khonkaen/959-2022) มีความเหมือนกัน 100% เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *GPCR* และ *RPO30* ของเชื้อ LSDV ในฐานข้อมูล GenBank พบว่ามีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ LSDV ในฐานข้อมูล GenBank ที่ 99.50%-100% โดยเหมือนกับเชื้อที่เคยพบในประเทศไทย 100% ได้แก่ เชื้อที่มี GenBank accession number OM033705 (Suwankitwat *et al.*, 2022) และ ON152411 (Sariya *et al.*, 2022) และพบว่ามี ความคล้ายคลึงกับเชื้อที่พบในทวีปเอเชีย เช่น ประเทศจีน (MW355944) ฮองกง (MW732649) ไต้หวัน (OL752713) และเวียดนาม (MZ577074) ที่ระดับ 99.50%-100% เมื่อวิเคราะห์

ความสัมพันธ์ของเชื้อโดยการสร้าง Phylogenetic tree (รูปที่ 4) พบว่าเชื้อ LSDV ที่ทำการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จัดอยู่ในกลุ่มของเชื้อ LSDV ซึ่งแยกกลุ่มออกจาก Sheeppox virus (SPPV) และ Goatpox virus (GTPV) อย่างชัดเจน

สรุปและข้อเสนอแนะ

โรคทางมหายาวิธยาที่ตรวจพบในโคและกระบือที่ป่วยและตายด้วยโรคล้มปัส สกีน จากการศึกษานี้ได้แก่ ต่อมน์น้ำเหลืองขยายใหญ่ บวมน้ำ พบจุดเลือดออกและการบวมน้ำของเนื้อเยื่อบริเวณรอบต่อมน้ำเหลืองปอดบวมน้ำและมีเลือดคั่ง และพบสารคัดหลั่งเป็นฟองในแขนงหลอดลม ผิวหนังมีเม็ดตุ่มรูปร่างกลมกระจายตัวทั่วร่างกาย หรือ แตกเป็นแผล เนื้อเยื่อบริเวณรอบเม็ดตุ่มบวมน้ำ เยื่อหุ้มปอดหนาและเกิดการยึดติดกันระหว่างกลีบปอด โดยไม่มีความเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์บนยีน *GPCR* และ *RPO30* ของเชื้อในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา และเชื้อที่ศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายกับเชื้อที่เคยระบาดในประเทศไทย จีน

ฮ่องกง ไต้หวัน และเวียดนาม อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไวรัส LSDV ทั้งจีโนมและในยีนส่วนอื่น ๆ ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำคัญเพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงแหล่งที่มา ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ และการถ่ายทอดเชื้อ รวมไปถึงลักษณะความทนต่อโรคหรือความรุนแรงของการแสดงอาการทางคลินิกในโคและกระบือที่มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ ควรมีการเฝ้าระวังโรคลัมปี สกิน ในพื้นที่ที่ติดกับประเทศเพื่อนบ้านที่มีการระบาดของโรค รวมถึงการมีมาตรการเข้มงวดป้องกันการลักลอบนำเข้าสัตว์จากประเทศอื่นอย่างผิดกฎหมาย และการป้องกันโรคลัมปี สกิน ที่ให้ผลดีที่สุดขณะนี้ คือ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคควบคู่กับการควบคุมพาหะนำโรค ควบคุมการเคลื่อนย้ายสัตว์จากพื้นที่ที่เกิดการระบาดของโรค และเฝ้าระวังติดตามสถานการณ์การระบาดของโรคลัมปี สกินอย่างต่อเนื่อง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สพ.ญ.กัญญาธิป แสงอรุณ และ สพ.ญ.ศรวลี ศุภกาญจน์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก ที่ช่วยในการศึกษา สพ.ญ.เนตรชนก จิวากานนท์ และดร.เด่นพงษ์ สาข้อง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ที่ให้คำปรึกษาในการจัดทำผลงานวิชาการในครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มไวรัสวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของเชื้อ LSDV และวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมของเชื้อ LSDV

เอกสารอ้างอิง

จตุพร กระจายศรี. 2564. ลัมปี สกิน โรคติดต่ออุบัติใหม่ในประเทศไทย. *วารสารวิชาการสมาคมสถาบันอุดมศึกษาเอกชนแห่งประเทศไทย (สสอท.)*. ปีที่ 10 (ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม-มิถุนายน 2564). หน้า 1-13.

Abdulqa, H.Y., Rahman, H.S., Dyary, H.O. and Othman, H.H. 2016. Lumpy skin disease. *Reprod. Immunol.* 1 (4): 25.

Acharya, K.P. and Subedi, D. 2020. First outbreak of lumpy skin disease in Nepal. *Transboundary and Emerging Diseases*, n/a. *Prev. Vet. Med.* 102 (4): 274-283.

Al-Salihi, K. 2014. Lumpy skin disease: Review of literature. *Mirror of research in veterinary sciences and animals*. 3 (3): 6-23.

Arjkumpa, O., Suwannaboon, M., Boonrawd, M., Punyawan, I., Laobannu, P., Yantaphan, S., Bungwai, A., Ponyium, V., Suwankitwat, N., Boonpornprasert, P., Nuansrichay, B., Kaew along, S., Ounpomma, D., Charoenlarp, W., Pamaranon, N., Prakotchao, R., Buameetooop, N., Punyapornwithaya, V. and Songkasupa, T. 2021. First emergence of lumpy skin disease in cattle in Thailand. *Transboundary and emerging diseases*. 68 (6): 3002-3004.

Azeem, S., Sharma, B., Shabir, S., Akbar, H. and Venter, E. 2022. Lumpy skin disease is expanding its geographic range: A challenge for Asian livestock management and food security. *Vet. J.* 279. doi:10.1016/j.tvjl.2021.105785.

Bacteriological Analytical Manual. 2001. "*Clostridium perfringens*" Chapter 16. USDA. p.1-7. [Online]. Available: <http://www.cfsan.fda.gov>.

Badhy, S.C., Chowdhury, M.G.A., Settyapalli, T.B.K., Cattoli, G., Lamien, C.E., Fakir, M.A.U., Akter, S., Osmani, M.G., Talukdar, F., Begum, N., Khan, I.A., Rashid, M.B. and Sadekuzzaman, M. 2021. Molecular characterization of lumpy skin disease virus (LSDV) emerged in Bangladesh reveals unique genetic features compared to contemporary field strains. *BMC Vet. Res.* 17 (61): 1-11. doi:10.1186/s12917-021-02751-x.

Gelaye, E., Belay, A., Ayelet, G., Jenberie, S., Yami. M., Loitsch, A., Tuppurainen, E., Grabherr, R., Diallo, A. and Lamien, C.E. 2015. Capripox disease in Ethiopia: Genetic differences between field isolates and vaccine strain, and implications for vaccination failure. *Antivir. Res.* 119: 28-35.

Gupta, T., Patial, V., Bali, D., Angaria, S., Sharma, M. and Chahota, R. 2020. A review: Lumpy skin disease and its emergence in India. *Vet. Res. Comm.* 44 (3): 111-118.

Hall, T.A. 1999. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41: 95-98.

ISO 6579-1: 2017/AMD 1. 2020. Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* Part 1: Detection of *Salmonella*. Amendment 1: Broder range

of incubation temperatures, amendment to the status of Annex D, and correction of the composition of MSRV and SC. Switzerland. p. 1-11.

- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35: 1547-1549.
- Lamien, C.E., Le Goff, C., Silber, R., Wallace, D.B., Gulyaz, V., Tuppurainen, E., Madani, H., Caufour, P., Adam, T., El Harrak, M., Luckins, A.G., Albina, E. and Diallo, A. 2011. Use of the *Capripoxvirus* homologue of Vaccinia virus 30 kDa RNA polymerase subunit (RPO30) gene as a novel diagnostic and genotyping target: development of a classical PCR method to differentiate Goat poxvirus from Sheep poxvirus. *Vet Microbiol.* 149 (1-2): 30-39. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.09.038. Epub 2010 Oct 17. PMID: 21115310.
- Mulatu, E. and Feyisa, A. 2018. Review: Lumpy Skin Disease. *J. Vet. Sci. Technol.* 9 (3): 1-8. doi:10.4172/2157-7579.1000535.
- Paungpin, W., Sariya, L., Chaiwattananrungruengpaisan, S., Thongdee, M., Kornmatitsuk, B., Jitwongwai, A., Taksinoros, S., Sutummaporn, K., Boonmasawai, S. and Nakthong, C. 2022. Coding-Complete Genome Sequence of a Lumpy Skin Disease Virus Isolated during the 2021 Thailand Outbreak. *Am. Soc. Microbiol.* 11 (8): e00375-22. doi: 10.1128/mra.00375-22.
- Quantum Geographic Information System (QGIS). 2021. "QGIS User Guide Ver. 3.16." [Online]. Available : https://docs.qgis.org/3.16/en/docs/user_manual/index.html. Accessed August 14, 2021.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. and Carter, G.R. 1994. Clinical Veterinary Microbiology. Wolf Publishing. Spain. 648 pages.
- Salib, F.A. and Osman, A.H. 2011. Incidence of lumpy skin disease among Egyptian cattle in Giza Governorate, Egypt. *Vet. World.* 4 (4): 162-167.
- Şevik, M. and Dogan, M. 2017. Epidemiological and molecular studies on lumpy skin disease outbreaks in Turkey during 2014–2015. *Transboundary and emerging diseases.* 64 (4) :1268-1279.
- Sudhakar, S.B., Mishra, N., Kalaiyarasu, S., Jhade, S.K., Hemadri, D., Sood, R., Bal, G.C., Nayak, M.K., Pradhan, S.K. and Singh, V.P. 2020. Lumpy skin disease (LSD) outbreaks in cattle in Odisha state, India in August 2019: Epidemiological features and molecular studies. *Transboundary and emerging diseases.* 67 (6): 2408-2422.
- Suwankitwat, N., Songkasupa, T., Boonpornprasert, P., Sripipattanakul, P., Theerawatanasirikul, S., Deemakam, T., Suwannaboon, M., Arjkumpa, O., Buamithup, N., Hongsuwat, A., Jindajang, S., Nipaeng, N., Aunpomma, D., Molee, L., Puanglinda, K., Lohlamoh, W., Nuansrichy, B., Narawongsanont, R., Arunvipas, P. and Lekcharoensuk, P. 2022. Rapid Spread and Genetic Characterisation of a recently emerged recombinant Lumpy Skin Disease Virus in Thailand. *Vet. Sci.* 9: 542. doi: 10.3390/vetsci9100542.
- Tuppurainen, E., Venter, E., and Coetzer, J. 2005. The detection of lumpy skin disease virus in samples of experimentally infected cattle using different diagnostic techniques. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 72: 153-164.
- Tuppurainen, E., Venter, E.H., Stoltz, W., Troskie, M., Wallace, D., Oura, C., Mellor, P., Coetzer, J. and Venter, E. 2010. A Potential Role for Ixodid (Hard) Tick Vectors in the Transmission of Lumpy Skin Disease Virus in Cattle. *Transboundary and emerging diseases.* 58 (2): 93-104. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01184.x>.
- Tuppurainen, E., Alexandrov, T. and Beltrán-Alcrujo, D. 2017. Lumpy skin disease field manual-A manual for veterinarians. FAO Animal Production and Health Manual No. 20. Rome. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 60 pages. [Online]. Available: <https://www.fao.org/3/i7330e/i7330e.pdf>. Accessed September 14, 2023.
- World organization for animal health (OIE). 2021. "Thailand-Lumpy skin disease virus (Inf.with)-Immediate notification." [Online]. Available : <https://wahis.woah.org/#/in-review/3644?reportId=149456&fromPage=event-dashboard-url>. Accessed August 14, 2021.