



ความชุกทางซีรัมวิทยาต่อ *Encephalitozoon cuniculi* ในโรงฆ่ากระต่ายเนื้อ ณ ตอนกลาง ของประเทศไทย

ชญานุช อินทชาติ¹ ปาลิน จิวากานนท์¹ ศรสวรรค์ วรรณศิลป์¹ อรนนท์ อุดมพัฒน์กร¹
อรรถวิทย์ โกวิทวิ^{2,6,#} สิริลักษณ์ จาละ³ ดุษฎี แก้ววงษ์วาลย์³ พิพัฒน์พงษ์ จันทร์แดง²
ปรีดา เลิศวัชรสารกุล⁴ และพรชัย สัญญัติเสรี⁵

¹นิสิตชั้นปีที่ 6, ²ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900,

³ศูนย์วิจัยและบริการวิชาการทางสัตวแพทย์, ⁴ภาควิชาพยาธิวิทยา, ⁵ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์ใหญ่และสัตว์ป่า

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

⁶เครือข่ายการปรับปรุงพันธุ์และพันธุศาสตร์สัตว์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ: เชื้อ *Encephalitozoon cuniculi* (*E. cuniculi*) เป็นโปรโตซัวในกลุ่ม Microsporidia และความชุกทางซีรัมวิทยาเพิ่มขึ้นในหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทย ดังนั้นจุดประสงค์การสำรวจครั้งนี้คือ การศึกษาความชุกของ *E. cuniculi* ของกระต่ายเนื้อ ณ ตอนกลางของประเทศไทย กระต่ายขุนจำนวน 264 ตัวที่เข้าโรงฆ่าระหว่างเดือนธันวาคม 2559 ถึง มกราคม 2560 ถูกสุ่มแบบเป็นระบบเพื่อเก็บตัวอย่างซีรัมสำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ผลการตรวจทางซีรัมวิทยาพบความชุกของ *E. cuniculi* ในพื้นที่ศึกษามีร้อยละ 42.4 จากการตรวจด้วยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay หลังจากนั้นสัมภาษณ์เจ้าของฟาร์มกระต่ายเกี่ยวกับเครือข่ายการผลิตและข้อมูลพื้นฐาน ทำให้สามารถแบ่งเครือข่ายการผลิตเป็นสองเครือข่ายคือ เครือข่าย A (จังหวัดกาญจนบุรี และราชบุรี) และ เครือข่าย B (จังหวัดเพชรบุรี) ซึ่งไม่มีการแลกเปลี่ยนกระต่ายระหว่างฟาร์มข้ามเครือข่าย นอกจากใช้โรงฆ่าแห่งเดียวกัน ผลบวกทางซีรัมวิทยาของเครือข่าย A (ร้อยละ 20) มีระดับที่ต่ำกว่าเครือข่าย B (ร้อยละ 71.9) ปัจจัยที่แตกต่างกันระหว่างสองเครือข่ายคือ การจัดการฟาร์ม อายุของกระต่ายที่ส่งโรงฆ่า การจัดการด้านอาหาร และการระบายอากาศภายในโรงเรือน ซึ่งคาดว่าปัจจัยดังกล่าวเป็นสาเหตุที่ทำให้ระดับความชุกทางซีรัมวิทยาแตกต่างกัน การศึกษาเพื่อบ่งชี้ถึงปัจจัยเสี่ยงถือว่าควรดำเนินการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเป็นข้อมูลที่สำคัญต่อการวางแผนป้องกันและเพิ่มมาตรฐานการผลิตกระต่ายของประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ: กระต่ายเนื้อ *Encephalitozoon cuniculi* ความชุก ประเทศไทย

#ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2560. 12(2): 35-45.

E-mail address: fvetaw@ku.ac.th

Slaughterhouse Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in Meat Rabbits at Central Part of Thailand

Chanyanuch Intachat¹, Palin Jiwaganont¹, Sornsawan Wannasilp¹,
Oranun Udompattanakorn¹, Attawit Kovitvadhi^{2,6,#}, Siriluk Jala³,
Duessadee Kawvongvan³, Pipatpong Chandang², Preeda Lertwatcharasarakul⁴,
and Pornchai Sanyathitiseree⁵

¹Sixth year students, ²Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine,
Kasetsart University Bangkok 10900 Thailand, ³Center of Veterinary Research and Service,
⁴Department of Pathology, ⁵Department of Large Animal and Wildlife Clinical Sciences,
Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140 Thailand,
⁶Animal Breeding and Genetics Consortium of Kasetsart University (ABG - KU) Bangkok 10900 Thailand

Abstract: *Encephalitozoon cuniculi* (*E. cuniculi*) is protozoa in the order Microsporidia and its seroprevalence increases in many countries including Thailand. The aim of this study was to investigate the seroprevalence of *E. cuniculi* infection in meat rabbits at Central part of Thailand. Two hundred and sixty four fattening rabbits were selected to collect serum by systematic random sampling which were entered the slaughterhouse during December 2016 to January 2017. The seroprevalence of *E. cuniculi* infection detected by enzyme-linked immunosorbent assay in the study population is 42.4%. Thereafter, the owners of rabbit farm were interviewed on production network and general information. Production network was separated into two groups which was network A (Kanchanaburi and Ratchaburi provinces) and network B (Phetchaburi province) which there were not any exchange between farms across the networks except using the same slaughterhouse. Lower percentage of seropositive results was observed in network A (20%) comparing to network B (71.9%). The differences between two networks are management program, age of slaughter rabbits, nutrition management and ventilation in housing which could be the cause of the contrast seroprevalence. The future survey to identify risk factors should be studied for getting the important information for prevention program and standard improvement on meat rabbit production in Thailand.

Keywords: Meat rabbit, *Encephalitozoon cuniculi*, Prevalence, Thailand

#Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2017. 12(2): 35-45.

E-mail address: fvetaw@ku.ac.th

บทนำ

Encephalitozoon cuniculi (*E. cuniculi*) เป็นโปรโตซัวในกลุ่ม Microsporidia ที่อาศัยอยู่ในเซลล์แบบถาวร โดยพบการติดเชื้อในกระต่ายมากที่สุด (Harcourt-Brown, 2004) สปอร์เป็นระยะติดต่อ (Infective stage) การติดเชื้อส่วนใหญ่เป็นแบบฉวยโอกาส (Opportunistic infection) ทางติดเชื้อหลักเกิดจากการกินสปอร์ที่ปนเปื้อนในอาหาร น้ำ หรือสิ่งแวดล้อมจากปัสสาวะของกระต่ายที่ติดเชื้อ (Horizontal transmission) หรือติดเชื้อจากแม่สู่ลูก (Transplacental transmission) ส่วนการติดเชื้อทางอากาศเกิดขึ้นได้ยาก (Harcourt-Brown, 2004) กระต่ายที่ติดเชื้อ *E. cuniculi* สามารถแสดงอาการทางคลินิกดังต่อไปนี้คือ อาการทางระบบประสาท เช่น ชัก (Seizure) อัมพาต (Paresis) คอเอียง (Head tilt) ภาวะกล้ามเนื้อเสียสภาวะ (Ataxia) หมุนเป็นวงกลม (Circling) เป็นต้น อาการที่เกี่ยวข้องกับการทำงานล้มเหลวของไต (Renal failure) ดังเช่น ภาวะปัสสาวะมาก (Polyuria) อาการดื่มน้ำมากเรื้อรัง (Polydipsia) อาการถ่ายปัสสาวะบ่อย (Pollakiuria) เป็นต้น และการเกิดภาวะยูเรียอิกเสบแบบแกรนูโลมา (Lavazza *et al.*, 2016) ซึ่งอาจพบอาการเพียงอย่างเดียวหรือหลายอาการรวมกัน อย่างไรก็ตามการติดเชื้อส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการทางคลินิก (Lertwatcharasarakul *et al.*, 2011) ดังนั้นวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นเพื่อยืนยันการติดเชื้อ การตรวจหาแอนติเจนหรือตัวเชื้อสามารถทำได้โดยวิธีทางพันธุศาสตร์ การทำสไลด์เนื้อเยื่อสมองหรือไตร่วมกับการย้อมสีพิเศษ หรือการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Csokai *et al.*, 2009) แต่วิธีการดังกล่าวไม่สามารถตรวจในสัตว์ที่มีชีวิต การใช้

ตัวอย่างปัสสาวะหรืออุจจาระเพื่อตรวจหาสปอร์ที่ขับออกจากสัตว์ที่ติดเชื้อมีโอกาสพบผลลบสูงได้สูง เนื่องจากยังไม่ทราบรูปแบบการขับออกของสปอร์อย่างชัดเจน (Harcourt-Brown, 2004) ดังนั้นวิธีการตรวจทางซีรัมวิทยาจึงถูกนำมาใช้ ได้แก่ Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Indirect immunofluorescent assay (IFA) และ Carbon immunoassay (CIA) ซึ่งมีความแม่นยำในการตรวจไม่แตกต่างกันระหว่างวิธีดังกล่าว (Boot *et al.*, 2000) นอกจากนั้นผลบวกทางซีรัมวิทยามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับการตรวจพบตัวเชื้อในสมอง (Csokai *et al.*, 2009)

จากรายงานการสำรวจทางซีรัมวิทยาของการติดเชื้อ *E. cuniculi* ในฟาร์มกระต่ายเนื้อมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยพบผลบวกอยู่ที่ร้อยละ 14.1 ถึง 75.4 (Santaniello *et al.*, 2009; Lonardi *et al.*, 2013; Neumayerová *et al.*, 2014; Maestrini *et al.*, 2017) นอกจากนี้ยังพบผลบวกทางซีรัมวิทยาของกระต่ายเลี้ยงในหลายประเทศที่ร้อยละ 21.9 ถึง 81.7 (Igarashi *et al.*, 2008; Tee *et al.*, 2011; Baldotto *et al.*, 2015; Meng *et al.*, 2015; Lavazza *et al.*, 2016) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อดังกล่าว การติดเชื้อ *E. cuniculi* ส่งผลต่อสุขภาพและคุณภาพชีวิตของกระต่ายที่เลเวล ซึ่งเชื้อดังกล่าวสามารถก่อโรคในสัตว์ชนิดอื่นรวมถึงมนุษย์ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (Malčeková *et al.*, 2010; Ozkan *et al.*, 2011) กระต่ายถูกผลิตในเชิงเศรษฐกิจเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีต่อสุขภาพซึ่งได้รับความนิยมในหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทย โดยมีฐานการผลิตที่สำคัญในจังหวัดกาญจนบุรีและเพชรบุรี (Kovitvadhi *et al.*, 2016) จากผลการสำรวจเบื้องต้นพบที่มีความชุก

ทางซีรัมวิทยาของเชื้อ *E. cuniculi* ในฟาร์มกระต่ายเนื้อ ณ ตอนกลางของประเทศไทยอยู่ที่ร้อยละ 47.5 (Kovitvadhi *et al.*, 2017) ซึ่งเสี่ยงต่อการติดเชื้อในมนุษย์ นอกจากนั้นมีการพบสปอร์ในปัสสาวะของเกษตรกรสุภาพดีที่ทำงานในฟาร์มกระต่ายเนื้อ (Ozkan *et al.*, 2011) ดังนั้นการสำรวจหาความชุกของเชื้อ *E. cuniculi* ทางซีรัมวิทยา ณ โรงฆ่ากระต่ายเนื้อจึงเป็นจุดประสงค์ของการสำรวจนี้ ร่วมกับศึกษาเครือข่ายการผลิตกระต่ายเนื้อที่เข้าโรงฆ่าที่ได้ดำเนินการศึกษาและสัมภาษณ์เจ้าของฟาร์มเพื่อค้นหาปัจจัยที่คาดว่าจะเกี่ยวข้อง

อุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มประชากรที่ศึกษา การสุ่ม และการคำนวณขนาดตัวอย่าง

กลุ่มประชากรที่ศึกษาคือ กระต่าย ที่ถูกส่งเข้าโรงฆ่าในจังหวัดกาญจนบุรี กระต่ายที่เข้าโรงฆ่าในช่วงเวลาที่ดำเนินการศึกษา (ธันวาคม 2559 ถึง มกราคม 2560) มีจำนวน 830 ตัว จากการคำนวณหาขนาดตัวอย่างทำให้ต้องเก็บตัวอย่างจากกลุ่มประชากรดังกล่าวจำนวน 264 ตัว (Thrusfield, 2007) โดยกำหนดความชุกที่คาดหวังที่ร้อยละ 50 (ใช้ค่าจากการศึกษาเบื้องต้น: Kovitvadhi *et al.*, 2017) ค่าคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ที่ร้อยละ 5 และระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 สุ่มเก็บตัวอย่าง ณ โรงฆ่าด้วยวิธีการสุ่มแบบเป็นระบบ (Systematic random sampling) จนได้จำนวนตัวอย่างครบตามที่คำนวณ แหล่งที่มาของกระต่ายที่ถูกเก็บตัวอย่างได้จดบันทึก โดยกระต่ายทุกตัวไม่พบอาการทางคลินิกที่ผิดปกติ การทดลองนี้ได้รับอนุญาตและดำเนินการ

ตามภายใต้การควบคุมจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ACKU59-VET-045)

การเก็บ และเตรียมตัวอย่างซีรัม

เก็บตัวอย่างเลือดปริมาตร 3 มิลลิลิตร ระหว่างกระบวนการฆ่าในหลอดเก็บเลือด จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 30 นาที แล้วเก็บรักษาในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อถึงห้องปฏิบัติการดำเนินการปั่นเหวี่ยงตัวอย่างเพื่อแยกซีรัม และนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่รอการตรวจหาแอนติบอดีต่อไป

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* การคำนวณ และแปลผล

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ใช้ *E. cuniculi* antibody ELISA test kit (Medicago, Sweden) ซึ่งได้ทำตามคำแนะนำของชุดตรวจสอบดังกล่าว เมื่อหยุดปฏิกิริยาแล้วนำไปอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร การดูดกลืนแสงของตัวควบคุมลบของ Control antigen ควรมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.200 และค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมลบที่มี *E. cuniculi* antigen เคลือบอยู่บนหลุมควรมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.200 ส่วนค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมบวกที่มี *E. cuniculi* antigen เคลือบอยู่บนหลุม ควรมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.800 นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างจากหลุมที่เคลือบด้วย *E. cuniculi* (A450 *E. cuniculi* coated) หาค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างจากหลุมที่เคลือบด้วย Control antigen (A450 control antigen coated) ตามสมการด้านล่าง

$$\text{ค่าที่ใช้พิจารณา} = \text{A450 } E. cuniculi \text{ coated} / \text{A450 control antigen coated}$$

โดยถ้าค่าที่ใช้พิจารณาที่ได้จากสมการข้างต้น มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 2 จะรายงานผลว่าตัวอย่าง ดังกล่าวให้ผลบวกต่อแอนติบอดีของ *E. cuniculi* แต่ ถ้าค่าที่ออกมาน้อยกว่า 2 จะรายงานผลว่าตัวอย่าง ดังกล่าวให้ผลลบต่อแอนติบอดีของ *E. cuniculi* จาก ผลการตรวจหาแอนติบอดีนำมาคำนวณหาค่าความ ชุกของการติดเชื้อ *E. cuniculi* ในซีรัม กระต่ายโดย นำจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกคูณ 100 แล้วหารด้วย จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด

การศึกษาเครือข่ายการผลิตและการสัมภาษณ์เพื่ อค้นหาปัจจัยที่เกี่ยวข้อง

หลังจากการเก็บตัวอย่างได้ดำเนินการ สัมภาษณ์ฟาร์มที่ได้ส่งกระต่ายเข้าฟาร์มในช่วงเวลาที่ได้ ดำเนินการศึกษา ด้วยวิธีการสัมภาษณ์แบบกึ่ง โครงสร้าง (Semi-structured interview) เพื่อ สอบถามข้อมูลพื้นฐาน การจัดการ ปัญหาที่เกี่ยวข้อง กับโรค และเครือข่ายการผลิต โดยนำเสนอผลการ สัมภาษณ์ระหว่างเครือข่ายในตารางที่ 2

การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบความชุกระหว่างจังหวัดและ เครือข่ายด้วยวิธี Chi-square test โดยถ้า Expected value น้อยกว่า 5 จะใช้วิธี Fisher's exact test แทน การวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม R (Package=FunChisq, R Development Core Team, 2008) และกำหนดค่ายอมรับนัยสำคัญทาง สถิติที่น้อยกว่า 0.05 ใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistic) สำหรับข้อมูลที่ได้จากการ สัมภาษณ์สำหรับการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าความชุกทางซีรัมวิทยาและปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ระหว่างปัจจัยที่คาดว่าจะเกี่ยวข้อง แผนภูมิ เครือข่ายการผลิตกระต่ายที่ได้ดำเนินการศึกษาถูก

สร้างด้วยโปรแกรม NodeXL (Hansen *et al.*, 2010)

ผลและวิจารณ์การทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างซีรัมที่โรงฆ่าพบว่า เป็น กระต่ายเนื้อที่มาจากฟาร์มในพื้นที่สามจังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี เพชรบุรี และราชบุรี โดยสามารถบอกได้ ว่ามาจากจังหวัดและเครือข่ายการผลิตใด ซึ่งเป็นการ สุ่มตามปริมาณการผลิตกระต่ายในแต่ละฟาร์ม เนื่องจากการส่งกระต่ายในแต่ละจังหวัดจะมีฟาร์ม (K01 และ P05; รูปที่ 1) ที่รวบรวมกระต่ายภายใน เครือข่ายแล้วนำมาส่งที่โรงฆ่ากระต่ายที่ได้ดำเนินการ ศึกษา การตรวจแอนติบอดีต่อ *E. cuniculi* พบว่า การแบ่งตามจังหวัดมีความสัมพันธ์ต่อการพบ แอนติบอดีของเชื้อที่ศึกษา ($P<0.001$) โดยจังหวัด เพชรบุรี ราชบุรี และกาญจนบุรีมีความชุกของเชื้อ จากมากไปน้อยตามลำดับ (ตารางที่ 1) ค่าความชุก รวมทั้งเครือข่ายการผลิตกระต่ายเนื้อ ณ ตอนกลาง ของประเทศไทยอยู่ที่ร้อยละ 42.4 ซึ่งมีระดับต่ำกว่า ที่พบในฟาร์มกระต่ายเนื้อของสาธารณรัฐอิตาลี ตอนกลางและตอนเหนือโดยมีความชุกที่ร้อยละ 73.7 (Maestrini *et al.*, 2017) และ 75.4 (Lonardi *et al.*, 2013) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามความชุกของเชื้อ ในประเทศอิตาลีทั้งหมด (ร้อยละ 31.6; Santaniello *et al.*, 2009) และสาธารณรัฐเช็ก (ร้อยละ 35.6; Neumayerová *et al.*, 2014) มีค่าต่ำกว่าที่พบใน การสำรวจนี้ ผลบวกทางซีรัมวิทยาในระดับที่สูงคาด ว่าเชื้อ *E. cuniculi* เป็นเชื้อประจำถิ่น ซึ่งกระต่าย ส่วนใหญ่เคยได้รับการติดเชื้อแล้วจึงทำให้พบผลบวก ได้มาก (Lonardi *et al.*, 2013; Maestrini *et al.*, 2017) ระดับของผลบวกในการศึกษานี้ถือว่า มี ระดับปานกลางเมื่อเทียบกับประเทศอื่น ดังนั้นการ

Table 1 Serological testing results of *Encephalitozoon cuniculi* based on ELISA

Groups	Positive samples		n (Total)	χ^2	P value
	n	%			
Provinces					
Kanchanaburi	13	12.1	107		
Ratchaburi	17	39.5	43		
Phetchaburi	82	71.9	114		
Total	112	42.4	264	80.9	<0.001
Production network					
Network A ¹	30	20.0	150		
Network B ²	82	71.9	114		
Total	112	42.4	264	71.5	<0.001

¹Production network A contained 5 farms in Kanchanaburi and Ratchaburi provinces.

²Production network B contained 53 farms in Phetchaburi province.

ค้นหาปัจจัยและการวางแผนควบคุมป้องกันจึงเป็นสิ่งสำคัญก่อนที่จะทำให้โรคดังกล่าวกลายเป็นเชื้อประจำถิ่นและยากต่อการกำจัดออกไปจากระบบการผลิตกระต่ายเนื้อ

จากการศึกษาเครือข่ายการผลิตกระต่าย (รูปที่ 1) พบว่ากระต่ายในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี และราชบุรีจะมารวมกันที่ฟาร์มในจังหวัดกาญจนบุรีก่อนส่งเข้าโรงฆ่า (รูปที่ 1: K01) ส่วนฟาร์มในจังหวัดเพชรบุรีก็มีลักษณะเช่นเดียวกัน (รูปที่ 1: P05) ด้วยลักษณะดังกล่าวจึงสามารถจัดแบ่งกลุ่มตามเครือข่ายการผลิตกระต่ายออกเป็นสองเครือข่ายคือ A และ B ตามลำดับ โดยทั้งสองเครือข่ายมีจุดรวมกันที่โรงฆ่ากระต่ายเพื่อจำหน่ายเนื้อกระต่าย และไม่มีการแลกเปลี่ยนระหว่างเครือข่ายทั้งสอง (รูปที่ 1) เมื่อคำนวณค่าความชุกทางซีรัมวิทยาของเชื้อ *E. cuniculi* พบว่าเครือข่าย A (ร้อยละ 20) มีความชุก

น้อยกว่าเครือข่าย B (ร้อยละ 71.9) โดยพบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) ฟาร์มกระต่ายในเครือข่าย A เป็นฟาร์มขนาดใหญ่มีจำนวนแม่พันธุ์ 500-2,000 ตัว ส่วนฟาร์มในเครือข่าย B เป็นฟาร์มขนาดเล็กมีแม่พันธุ์ 50-300 ตัว และมีการแลกเปลี่ยนกระต่ายระหว่างฟาร์มในพื้นที่ ซึ่งเครือข่าย A จะมีการแลกเปลี่ยนกระต่ายกับฟาร์ม K01 เท่านั้น

จากการสัมภาษณ์พบว่าทั้งสองเครือข่ายมีปัจจัยการผลิตที่เหมือนกันดังต่อไปนี้คือลักษณะโรงเรือนแบบเปิด พื้นโรงเรือนเป็นดิน สัตว์ชนิดอื่นสามารถเข้ามาในโรงเรือนได้ วัสดุที่ทำกรงเป็นไม้และลวด มีการคัดเลือกกระต่ายทดแทนจากลักษณะภายนอก และรอบการผลิต (42-60 วัน) ปัญหาสุขภาพพบเป็นประจำคือ ท้องเสีย ไโรในหู และเชื้อรา ซึ่งจากการสัมภาษณ์ฟาร์มไม่ได้กล่าวถึงอาการ

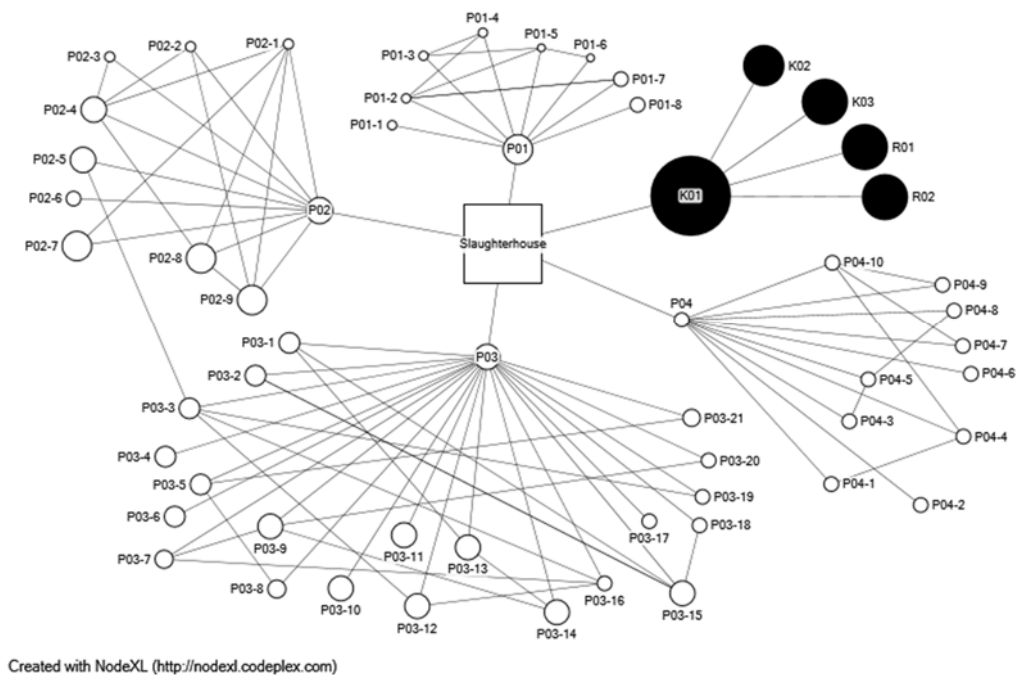


Figure 1 Meat rabbit production network in central part of Thailand. Node size means number of reproductive female rabbits in each farm. Axis present the rabbit exchange activities. White (○) and Black (●) circle node represent farms in zone A and B, respectively. First letter means the province of rabbit farms; K = Kanchanaburi, R = Ratchaburi and P = Phetchaburi.

ผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ *E. cuniculi* ซึ่งสอดคล้องกับการก่อโรคของเชื้อชนิดนี้ที่มักไม่พบอาการทางคลินิกในสัตว์ที่ติดเชื้อ (Santaniello *et al.*, 2009; Lonardi *et al.*, 2013; Neumayerová *et al.*, 2014; Maestrini *et al.*, 2017) โดยปัจจัยที่คาดว่าจะส่งผลต่อระดับความชุกทางซีรัมวิทยาที่แตกต่างกันระหว่างเครือข่าย A (ความชุกต่ำ) และ B (ความชุกสูง) จากการสัมภาษณ์และสังเกตจากการสำรวจฟาร์มมีดังต่อไปนี้

จุดประสงค์ของการเพาะเลี้ยงกระต่ายมีความแตกต่างกันระหว่างสองเครือข่าย กระต่ายที่ผลิตในเครือข่าย A เป็นกระต่ายสายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวท์มีจุดประสงค์ของการเพาะพันธุ์คือ ขายเนื้อ ซึ่งใช้ระยะเวลาขุนหลังหย่านม (35 วัน) นาน 60-90 วัน ส่วนเครือข่าย B เพาะเลี้ยงกระต่ายพันธุ์ไทยเพื่อขาย

ลูกกระต่ายเป็นสัตว์เลี้ยง โดยกระต่ายที่นำมาส่งโรงฆ่าคือ กระต่ายพ่อแม่พันธุ์คัดทิ้ง ซึ่งมีอายุระหว่าง 6 ถึง 12 เดือน จากอายุกระต่ายที่เข้ามาของเครือข่าย B มากกว่าเครือข่าย A จึงมีโอกาสสัมผัสเชื้อมากกว่า แล้วส่งผลให้ความชุกในเครือข่าย B มีค่าสูงกว่า ซึ่งสอดคล้องกับสำรวจของ Santaniello *et al.* (2009), Tee *et al.* (2011) และ Lonardi *et al.* (2013) ที่พบผลบวกต่อเชื้อจากการตรวจทางซีรัมวิทยาในกระต่ายที่อายุมากกว่า 4 เดือนมากกว่ากระต่ายที่อายุน้อยกว่า 4 เดือน นอกจากนี้การสำรวจความชุกของเชื้อดังกล่าวในกระต่ายแม่พันธุ์พบว่า มีผลบวกมากถึงร้อยละ 75.4 (Lonardi *et al.*, 2013) ซึ่งใกล้เคียงกับความชุกในเครือข่าย B ที่ร้อยละ 71.9 ซึ่งเป็นกระต่ายพ่อแม่พันธุ์เหมือนกัน

Table 2 Common and distinct factors between two production networks

Factors	Network	
	A	B
Common		
Conventional housing system	Yes	Yes
Floor of housing	Soil	Soil
Other animals can enter the housing	Yes	Yes
Cage materials	Wood and wire	Wood and wire
Source of replacement rabbits	Outside	Outside
Production cycle	42-60 days	42-60 days
Distinct		
Objective of production	Meat	Pet
Breed	New Zealand White	Local breed
Type of rabbit entering slaughterhouse	Fattening rabbits	Reproductive rabbits ¹
Age of rabbit at slaughterhouse	3-4 months	6-12 months
Productive period	9 months/year	12 months/year
Non-productive period	3 months/year ²	None
Diets	Only pellets	Pellets and grass ³
Ventilation	Appropriate	Low

¹Culling rabbits

²March to June (Summer)

³Feed restriction was performed for pellets and fresh grass (*Brachiaria mutica*) was fed *ad libitum*

สายพันธุ์กระต่ายที่แตกต่างกันเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องเพราะส่งผลต่อการจัดการรอบการผสม ฟาร์มในเครือข่าย A เพาะเลี้ยงกระต่ายสายพันธุ์สำหรับการผลิตเนื้อซึ่งเป็นสายพันธุ์ต่างประเทศจากการสัมภาษณ์พบว่าอัตราการผสมติดและอัตราการตายของลูกตัวในฤดูร้อน ดังนั้นฟาร์มจึงมีความจำเป็นต้องคัดทั้งแม่และพ่อพันธุ์ออกประมาณร้อยละ 50-70 เพื่อลดต้นทุนด้านอาหาร หลังจากนั้นจึงเริ่มผสมพันธุ์เพื่อขยายฝูงใหม่อีกครั้ง ทำให้ระยะเวลาที่ไม่มีการผสมพันธุ์และมีการว่างนานประมาณ 3

เดือนต่อปี (มีนาคม-พฤษภาคม) จากการกระทำดังกล่าวส่งผลให้กระต่ายที่มีลักษณะไม่ดีหรือป่วยถูกคัดทิ้งโดยอาจรวมถึงกระต่ายที่ติดเชื้อ *E. cuniculi* จึงส่งผลให้ความชุกในเครือข่าย A มีค่าต่ำ แม่ทดแทนจะคัดเลือกจากแม่พันธุ์ที่สุขภาพดีภายในฟาร์ม ส่วนพ่อพันธุ์จะรับมาจากสถานที่มีการรับรองว่าปลอดเชื้อดังกล่าว ในทางกลับกันเครือข่าย B จะเพาะเลี้ยงกระต่ายพันธุ์ไทยซึ่งมีอัตราการผสมติดและอัตราการตายของลูกหย่านมสูงตลอดทั้งปี ทำให้ไม่มีการพักคอกหรือหยุดการผลิต ประกอบกับการติดเชื้อ *E.*

cuniculi มักไม่แสดงอาการทางคลินิกจึงส่งผลให้มีโอกาสที่จะใช้พ่อแม่พันธุ์ที่มีเชื้ออยู่แล้วแพร่กระจายต่อไปได้ในฟาร์มเนื่องจากใช้กระต่ายในเครือข่ายเป็นพ่อแม่พันธุ์ทดแทนเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการสำรวจในสาธารณรัฐเช็กที่พบว่าผลบวกทางซีรัมวิทยาของเชื้อมีค่าสูงในการเพาะเลี้ยงในระบบที่ต่อเนื่องและใช้พ่อแม่พันธุ์ทดแทนภายในฟาร์ม (ร้อยละ 43.7) เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงในรูปแบบหนาแน่นที่เป็นระบบเข้าหม้อออกหมด (ร้อยละ 14.1) (Neumayerová *et al.*, 2014)

เครือข่าย B ให้อาหารสำเร็จรูปร่วมกับหญ้าขน (*Brachiaria mutica*) ที่ใช้อุจจาระกระต่ายจากฟาร์มเป็นปุ๋ยซึ่งอาจปนเปื้อนสปอร์ของกระต่ายที่ติดเชื้อ และมีความเสี่ยงที่จะแพร่กระจายเชื้อสู่กระต่ายตัวอื่นเมื่อนำหญาดังกล่าวมาใช้เป็นอาหาร เพราะสปอร์ของเชื้อ *E. cuniculi* มีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อม (Malčeková *et al.*, 2010; Ozkan *et al.*, 2011) ในขณะที่ฟาร์มในเครือข่าย A ใช้อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวซึ่งคาดว่าช่วยลดความเสี่ยงดังกล่าว ปัจจัยสุดท้ายที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องคือ การระบายอากาศภายในโรงเรือน ถึงแม้ว่าฟาร์มที่ได้ศึกษาจะเป็นฟาร์มเปิดเหมือนกัน แต่พบว่าฟาร์มในเครือข่าย B มีการระบายอากาศที่น้อยกว่าฟาร์มในเครือข่าย A เนื่องจากความสูงของโรงเรือนต่ำกว่า รวมทั้งมีการนำดาข่ายกรองแสงล้อมรอบโรงเรือน การระบายอากาศที่ต่ำย่อมส่งผลให้ของเสียในรูปของแก๊สสะสมอยู่และส่งผลต่อสุขภาพสัตว์ จากการสัมภาษณ์พบว่าฟาร์มในเครือข่าย B มีปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพมากกว่าฟาร์มในเครือข่าย A ซึ่งอาจส่งผลให้ความสามารถในการต่อต้านการติดเชื้อของกระต่ายในเครือข่าย A ต่ำกว่าเครือข่าย B ซึ่งเป็นประเด็นที่น่าสนใจสำหรับการศึกษาต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ความชุกทางซีรัมวิทยาของเชื้อ *E. cuniculi* ในเครือข่ายผู้ผลิตกระต่ายเนื้อตอนกลางของประเทศไทยมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 42.4 หลังจากการสัมภาษณ์พบว่าเครือข่ายการผลิตสามารถแบ่งออกเป็นเครือข่าย A และ B โดยมีความชุกทางซีรัมวิทยาของเชื้อที่ศึกษาอยู่ที่ร้อยละ 20 และ 71.9 ตามลำดับจากการสัมภาษณ์คาดว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องที่ส่งผลต่อค่าความชุกที่แตกต่างกันคือ การจัดการฟาร์ม อายุของกระต่ายที่ส่งโรงฆ่า การจัดการด้านอาหาร และการระบายอากาศภายในโรงเรือน ดังนั้นการสำรวจเพื่อค้นหาปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดโรค *E. cuniculi* และหาสาเหตุของความแตกต่างของความชุกระหว่างสองเครือข่ายซึ่งจะสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในมาตรการควบคุมโรคต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร ภายใต้โครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (CASA F129) และทุนสนับสนุนวิชาการจากกองทุนย่อยพัฒนานิสิตคณะสัตวแพทยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย และเกษตรกรผู้เพาะพันธุ์กระต่ายในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่าง และสัมภาษณ์

เอกสารอ้างอิง

Baldotto, S.B., Cray, C., Giannico, A.T., Reifur, L. and Montiani-Ferreira, F. 2015. Seroprevalence of *Encephalitozoon*

- cuniculi* infection in pet rabbits in Brazil. *J. Exot. Pet. Med.* 24: 435-440.
- Boot, R., Hansen, A.K., Hansen, C.K., Nozari, N. and Thuis, H.C. 2000. Comparison of assays for antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits. *Lab. Anim.* 34: 281-289.
- Csokai, J., Joachim, A., Gruber, A., Tichy, A., Pakozdy, A. and Künzel, F. 2009. Diagnostic markers for encephalitozoonosis in pet rabbits. *Vet. Parasitol.* 163: 18-26.
- Harcourt-Brown, F.M. 2004. *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits. *Sem. Av. Ex. P.* 13 (2): 86-93.
- Igarashi, M., Oohashi, E., Dautu, G., Ueno, A., Kariya, T. and Furuya, K. 2008. High Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in Pet Rabbits in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 70 (12): 1301-1304.
- Kovitvadhi, A., Sanyathitiseree, P., Gasco, L. and Rukkwamsuk, T. 2016. Meat rabbit production in Central, Western and Eastern Thailand: Social network and current status. Proceeding in the 11th World rabbit congress, Qingdao, China, 15-18 June 2016: 403.
- Kovitvadhi, A., Jala, S., Kawwongvan, D., Lertwatcharasarakul, P. and Sanyathitiseree, P. 2017. Preliminary study on *Encephalitozoon cuniculi* seroprevalence from meat rabbits. Proceeding in the 55th Kasetsart University annual conference, Bangkok, Thailand, 31 January - 3 February 2017: 73.
- Lavazza, A., Chiari, M., Nassuato, C., Giardiello, D., Tittarelli, C. and Grilli, G. 2016. Serological investigation on *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits in North-Central Italy. *J. Exot. Pet. Med.* 25: 52-59.
- Lertwatcharasarakul, P., Kovitvadhi, A., Aiemsunmaung, K., Piempinseat, B., Dittawong, P., Sinsuwonkwat, W., Phatthanakunanan, S., Jala, S., Thayanunphat and Sanyathitiseree, P. 2011. Polymerase chain reaction base-prevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in meat rabbits. Proceeding in the 37th International conference on veterinary science (ICVS), Nonthaburi, Thailand, 26-28 October 2011: 81.
- Lonardi, C., Grilli, G., Ferrazzi, V., Dal Cin, M., Rigolin, D. and Piccirillo, A. 2013. Serological survey of *Encephalitozoon cuniculi* infection in commercially reared rabbit does in Northern Italy. *Res. Vet. Sci.* 94: 295-298.
- Maestrini, G., Ricci, E., Cantile, C., Mannella, R., Mancianti, F., Paci, G., D'Ascenzi, C. and Perrucci, S. 2017. *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits: serological screening and histopathological findings. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 50: 54-57.

- Malčeková, B., Halánová, M., Sulínová, Z., Molnár, L., Ravaszová, P., Adam, J., Halán, M., Valocký, I. and Baranovič, M. 2010. Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* and *Encephalitozoon intestinalis* in humans and animals. *Res. Vet. Sci.* 89: 358-361.
- Meng, Q., Wang, W.L., Ni, X.T., Li, H.B., Yao, G.Z., Sun, X.L., Wang, W.L. and Cong, W. 2015. Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* and *Toxoplasma gondii* in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in China. *Korean. J. Parasitol.* 53 (6): 759-763.
- Neumayerová, H., Juránková, J., Jeklová, E., Kudláčková, H., Faldyna, M., Kovaříček, K., Jánová, E. and Koudela, B. 2014. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits from different farming systems. *Vet. Parasitol.* 204: 184-190.
- Ozkan, O., Ozkan, A.T. and Zafer, K. 2011. Encephalitozoonosis in New Zealand rabbits and potential transmission risk. *Vet. Parasitol.* 179: 234-237.
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Santaniello, A., Dipineto, L., Rinaldi, L., Menna, L.F., Cringoli, G. and Fioretti, A. 2009. Serological survey of *Encephalitozoon cuniculi* in farm rabbits in Italy. *Res. Vet. Sci.* 87: 67-69.
- Hansen, D., Shneiderman, B. and Smith, M. 2010. Analyzing Social Media Networks with NodeXL. 1st ed. Morgan Kaufmann publishing. California. 304 p.
- Tee, K.Y., Kao, J.P., Chiu, H.Y., Chang, M.H., Wang, J.H., Tung, K.C., Cheng, F.P. and Wu, J.T. 2011. Serological survey for antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits in Taiwan. *Vet. Parasitol.* 183: 68-71.
- Thrusfield, M. 2007. Veterinary Epidemiology. 3rd eds. Wiley-Blackwell. Edinburgh. 624 p.

