สัตวแพทย์มหานครสาร

JOURNAL OF MAHANAKORN VETERINARY MEDICINE

Available online: www.tci-thaijo.org/index.php/jmvm/

ความชุกและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อ *Trypanosoma evansi* ในกระบือพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย

กมลพร ปัญจะ[1,#] ธนิดา สนั่นเมือง[1] ธนกฤต จันทร์คง[1] และสุชวัล พรสุขอารมณ์[1]

[1]คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก บางพระ ชลบุรี 20110 ประเทศไทย

บทคัดย่อ: *Trypanosoma evansi* เป็นโปรโตซัวที่เป็นสาเหตุของโรค Trypanosomiasis หรือเซอร่า (surra) โปรโตซัวชนิดนี้ส่งผลต่อการสูญเสียทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะในโคและกระบือ ซึ่งกระบือจัดเป็นตัวกักโรคที่สำคัญ วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาความชุกและปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อ *Trypanosoma evans* (*T. evansi*) ในกระบือพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย เก็บตัวอย่างเลือดกระบือระหว่างเดือนกรกฎาคม – ธันวาคม พ.ศ. 2560 สุ่มเจาะเก็บเลือดกระบือโดยวิธี simple random จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 153 ตัวอย่าง โดยเก็บจากพื้นที่จังหวัดสระแก้ว จำนวน 51 ตัว ฉะเชิงเทรา จำนวน 48 ตัว และชลบุรี จำนวน 54 ตัว พบว่าค่าความชุกของการติดเชื้อ *T. evansi* ทั้งหมดอยู่ที่ร้อยละ 5.23 ความชุกสูงที่สุด คือจังหวัดฉะเชิงเทราร้อยละ 16.67 ส่วนในจังหวัดสระแก้วและชลบุรีไม่พบโรคนี้ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปัจจัยทางด้านพื้นที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อ *T. evansi* ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามปัจจัยทางด้านจำนวนกระบือ อายุ และเพศ ไม่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรค เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรค Trypanosomiasis ในกระบือพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย ประกอบด้วย 2 ปัจจัยดังนี้ ปัจจัยแรกคือการทำวัคซีน พบว่าการทำวัคซีนในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมามีโอกาสเกิดโรคมากกว่าไม่ทำวัคซีน ปัจจัยที่สองคือแมลงพาหะ พบว่าฟาร์มที่มีแมลงพาหะมีโอกาสเกิดโรคมากกว่าไม่มีแมลงพาหะ ในจังหวัดฉะเชิงเทราพบว่าปัจจัยที่เพิ่มโอกาสการติดเชื้อ *T. evansi* คือปัจจัยทางด้านการเลี้ยงกระบือรวมกับสัตว์ชนิดอื่น

คำสำคัญ: กระบือ *Trypanosoma evansi* ภาคตะวันออกของประเทศไทย

[#]ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทย์มหานครสาร. 2562. 14(2): 69-79.

E-mail address: Kamonporn.pa@gmail.com

Submitted date 2019-04-19 Revised date 2019-07-11 Accepted date 2019-09-09

Prevalence and Factors Associated with Infected *Trypanosoma evansi* in Buffaloes of Eastern Thailand

Kamonporn Panja[1,#], Tanida Sananmuang[1], Thanakrit Jankong[1], and Suchawan Pornsukarom[1]

[1]Faculty of Veterinary medicine, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Bangpra, Chonburi 20110, Thailand

Abstract: *Trypanosoma evansi is* a protozoa which causes Trypanosomiasis or surra. The protozoa result in livestock economic loss, especially, cows and buffaloes. Buffaloes are the importance reservoirs. The objective of this study was aimed to determine the prevalence and factors associated with *Trypanosoma evansi* (*T.evansi*) infection in buffalos of Eastern Thailand. The samples were collected from buffalo blood during July - December 2016. Samples was selected by simple random technique. There were 153 samples, 51 samples from Sa Kaeo province, 48 samples from Chachoengsao provinces and 54 samples from Chonburi province. The overall prevalence of *T. evansi* infection was 5.25 %. The highest prevalence was found in Chachoengsao province (16.67%) while the disease was not found in Sa Kaeo and Chonburi province. Experimental results found that the area was significantly related to *T. evansi* infection ($p<0.05$). However, the other factors; number of buffaloes, age and gender, were not related to the *T. evansi* infection. Analysis of factors, which affected to be Trypanosomiasis in buffaloes of Eastern Thailand. Consist of two factors, the first factor is vaccination. The study results indicated that vaccination six months before sampling increased possibility of *T. evansi* infection more than unvaccinated. The second factor is insect vector. The farms with insect vector had more chance in *T. evansi* infection than those without insect vector. In Chachoengsao province, the additional factor to increase *T. evansi* infection was raising buffaloes with other animals.

Keywords: Buffaloes*, Trypanosoma evansi*, Eastern Thailand

[#]Corresponding author

E-mail address: Kamonporn.pa@gmail.com

J. Mahanakorn Vet. Med. 2019 14(2): 69-79.

บทนำ

Trypanosoma evansi เป็นโปรโตซัวใน Family *Trypanosomatidae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค Trypanosomiasis หรือเซอร่า (surra) โรคนี้มีความสำคัญในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยเชื้อจะอาศัยอยู่ในเลือดหรือน้ำเหลืองของสัตว์มีกระดูกสันหลังทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะในสัตว์ที่ใช้แรงงาน สัตว์ที่เป็นแหล่งโปรตีน เนื้อและนม นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการสูญเสียจากการแท้งและการผสมไม่ติด การติดต่อของโรคนี้เกิดขึ้นโดยมีพาหะนำโรคเป็นแมลงดูดเลือดได้แก่ เหลือบ และแมลงวันคอกสัตว์ โดยการติดโรคจะเป็นแบบกลไก (mechanical transmission) คือการปนเปื้อนไปกับน้ำลายของแมลงดูดเลือดและไม่มีการเจริญแบ่งตัวในแมลง (Sumba et al., 1998) โรคทริปปาโนโซมิเอซิสเป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากในโคและกระบือ สัตว์ที่มีการติดเชื้อปรสิต *Trypanosoma evansi* มักพบการแท้งลูกและทำให้เกิดภาวะลูกตายก่อนคลอด (Kaewhom. 2014) ปรสิตชนิดนี้ยังทำให้เกิดการลดการทำงานของภูมิคุ้มกันในสัตว์ที่ติดเชื้อส่งผลให้ประสิทธิภาพของวัคซีนบางตัวลดต่ำลงตัวอย่างเช่น วัคซีนโรคปากเท้าเปื่อย (Food and mouth disease) โรคอหิวาห์สุกร (classical swine fever) (Payne et al., 1993) เชื้อชนิดนี้ยังก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจค่อนข้างสูงเพราะสามารถแพร่กระจายได้ง่ายและรวดเร็ว ส่งผลกระทบทำให้ผลผลิตต่ำ เสียค่าใช้จ่ายในการรักษาทั้งนี้สัตว์ติดเชื้ออาจแสดงอาการหรือไม่แสดงอาการป่วยก็ได้ (Hunngerford. 1990) นอกจากความสูญเสียต่อตัวสัตว์ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ในประเทศอินเดียมีรายงานการติดเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค หรือเป็นโรคทริปปาโนโซมิเอซิส จากสัตว์สู่คน (Powar et al., 2006) ซึ่งจัดเป็นโรคอุบัติใหม่ในประเทศอินเดีย เนื่องจากในปัจจุบันพบว่ามีจำนวนกระบือที่ลดลง ในช่วงปี 2556 -2558 (IBIC, 2019) สาเหตุหนึ่งของการลดลงของจำนวนกระบืออาจเนื่องมาจากโรคทริปปาโนโซมิเอซิสที่ทำให้เกิดการแท้งในกระบือ เนื่องจากมีรายความชุกของพยาธิในเลือดของกระบือแท้งลูกในจังหวัดนครพนม ผลการตรวจพบเพียงพยาธิในเลือดกลุ่ม *Trypanosoma spp.* เท่านั้นโดยค่าความชุกอยู่ที่ร้อยละ 16 โดยปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการแท้งลูกของกระบือ ได้แก่ ความชุกของเหลือบและการติดพยาธิในเลือด (Srisai. et al., 2017) ในภาคตะวันออกพบว่ามีการตรวจพบเชื้อ *Trypanosoma evansi* ในกระบือแต่ยังไม่มีการรายงาน อีกทั้งพบว่าฟาร์มส่วนใหญ่มักมีการเลี้ยงร่วมกันระหว่างโคกระบือ

จากเหตุผลข้างต้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของเชื้อ *Trypanosome evansi* ในกระบือที่อาศัยอยู่ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่เพอริเมอเรสเพื่อเฝ้าระวังการระบาดของโรคจากกระบือมาสู่สัตว์ชนิดต่างๆ เช่น ม้า วัว สัตว์ป่า คน เป็นต้น และสำรวจหาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการระบาดของโรค เช่น ลักษณะการเลี้ยง การถ่ายพยาธิ ปริมาณพาหะ ประวัติการแท้ง ซึ่งจะเป็นแนวทางหนึ่งในการป้องกันไม่ให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ และป้องกันการระบาดของโรค

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างและประชากรในการศึกษา

ตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดด้วยวิธี simple random เจาะเก็บเลือดจากเส้นเลือดบริเวณคอปริมาณ 3-5 ซีซี ใส่ในหลอดที่มี

EDTA จากกระบือทั้งหมด จำนวน 153 ตัว โดยเก็บในจังหวัดสระแก้ว จำนวน 51 ตัว จำนวน 9 ฟาร์ม ฟาร์มละ 6 ตัว ฉะเชิงเทรา จำนวน 48 ตัว จำนวน 6 ฟาร์ม ฟาร์มละ 8 ตัว ชลบุรี จำนวน 54 ตัว จำนวน 9 ฟาร์ม ฟาร์มละ 6 ตัว (ระหว่างเดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2560) ตัวอย่างเลือดถูกนำตัวอย่างเลือดมาปั่นด้วยแรง 3,300 g เพื่อแยกเก็บในส่วน buffy coat จำนวน 200 ไมโครลิตร และเก็บใส่ในตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การสกัดสารพันธุกรรมและการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ Trypanosoma evansi ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส

ทำการสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อ *Trypanosoma evansi* ด้วยชุดสกัดการพันธุกรรม Exgene blood SV mini (Geneall®, Seoul, Korea) จากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปวิเคราะห์คุณภาพด้วยเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ (NanoDropTM 2000c, MA, USA) โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่จะนำไปใช้ในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสมีสัดส่วนของค่าการดูดกลืนแสง A260/A280 ratio และทำการเจือจางสารพันธุกรรมที่สกัดได้ให้มีความเข้มข้น อยู่ระหว่าง 1.5 – 2.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้สำหรับปฏิกิริยาพอลิเมอเรสในขั้นต่อไปนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้ไพรเมอร์ TBR1/2 (Masiga et al.,1992) โดยมีลำดับเบสดังนี้

Forward primer 5’ GAATATTAAACAATGCGCAG 3’
Reward primer 5’CCATTTATTAGCTTTGTTGC 3’

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส 1 ตัวอย่างประกอบด้วยสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดสารพันธุกรรมจำนวน 2 ไมโครลิตร สารละลาย Gotaq® Green master mix (Promeca, WI, USA) จำนวน 10 ไมโครลิตร forward primer และ reverse primer (ความเข้มข้น 10 µM/µL) โดยอุณหภูมิและเวลาสำหรับทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรสในการศึกษาครั้งนี้มีรายละเอียดดังต่อไปนี้ ขั้นตอนการเตรียมการทำงานของเอนไซม์ taq DNA polymerase ที่ 94 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยขั้นตอนการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมซึ่งประกอบด้วย 1) การแยกสายดีเอ็นเอเกลียวคู่ออกจากกัน (DNA denaturation) อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที 2) การจับของไพร์เมอร์กับสายดีเอ็นเอ (Annealing) ที่ 60 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที 3) การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ต่อจากไพร์เมอร์ (Extension) ที่ 72 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที โดยขั้นตอนการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมขั้นตอนนี้จะปรับตั้งให้เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมนี้ทำซ้ำเป็นจำนวน 30 รอบ และขั้นตอนสุดท้ายที่ 72 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 นาที เพื่อทำให้การสังเคราะห์สายดีเอ็นเอเกิดอย่างสมบูรณ์ โดยขนาดของผลผลิตพีซีอาร์สำหรับไพรเมอร์คู่นี้คือ 164 คู่เบส ตัวอย่างที่ได้จากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสจะถูกนำมาตรวจหาขนาดของสารพันธุกรรมเป้าหมายด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) (Panja et al., 2018) โดยใช้ agarose gel 2% (Invitrogen , CA , USA) ในสารละลาย Tris borate (TBE) buffer (90 mM Tris, 90 mM boric acid and 2 mM EDTA, pH 8) แล้วนำไปผ่านกระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 50 นาที จากนั้นนำ agarose gel ไปแช่ในสารละลายร้อยละ 5 ของเอธิเดียม

โบรไมด์ (Promega, WI, USA) นาน 15 นาที แล้วแช่ต่อในน้ำสะอาดนาน 10 นาที ทำการอ่านผลด้วยเครื่อง Gel Documentation System (Witeg, Wertheim, Germany)

การเก็บข้อมูลเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อ Trypanosoma evansi

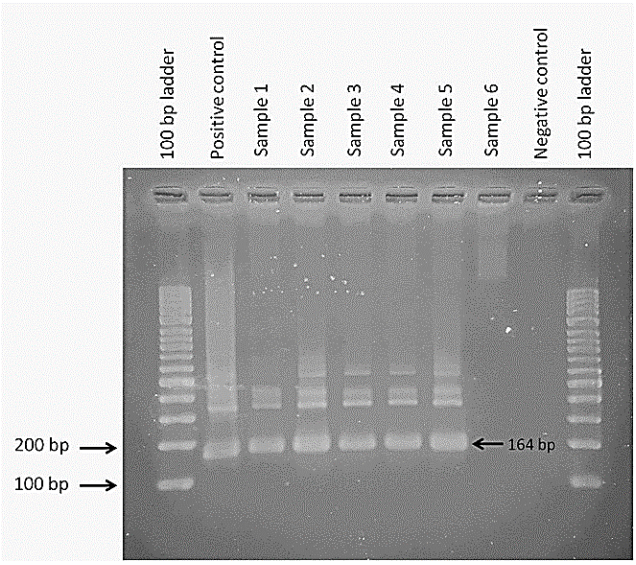
จัดทำแบบสอบถามโดย รูปแบบการเลี้ยงและการจัดการ เช่น การเลี้ยงแบบปล่อยแปลง การเลี้ยงรวมกระบือกับสัตว์ชนิดอื่น การถ่ายพยาธิ การทำวัคซีน ประวัติการแท้งในฝูง การพบเหลือบ แมลงวันคอกสัตว์ การเคลื่อนย้ายสัตว์ และสภาพแวดล้อม โดยรอบแล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาปัจจัยในการติดเชื้อ *Trypanosoma evansi*

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้สถิติเชิงพรรณนาในการหาค่าความชุกของการตรวจโรคทริปปาโนโซมิเอซิส วิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคด้วยวิธี Pearson's Chi-square test หรือ Fisher's exact test โดยกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ P<0.05 และคำนวณค่า Odds Ratio (OR) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ R version 3.1.2 (R foundation for statistical computing, Vienna, Austria)

ผลการศึกษา

ผลการตรวจด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (แสดงในภาพที่ 1) โดยในกระบือพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทยในจังหวัด ฉะเชิงเทรา สระแก้ว และชลบุรี พบว่าความชุกของการติดเชื้อ *Trypanosoma evansi* ในพื้นที่ภาคตะวันออกอยู่ที่ร้อยละ 5.23 โดยจังหวัดฉะเชิงเทรามีความชุกมากที่สุดถึงร้อยละ 16.67 ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบขนาดฟาร์มของกระบือที่พบโรคพบว่าขนาดฟาร์ม 20-50 ตัว พบความชุกของการติดเชื้อ *Trypanosoma evansi* มากที่สุดอยู่ที่ร้อยละ 7.14 รองลงมาคือขนาดฟาร์มที่มีจำนวนกระบืออยู่ที่ 1-20 ตัว พบความชุกร้อยละ 5.34 และเมื่อเปรียบเทียบอายุของกระบือที่พบโรคพบว่าช่วงอายุกระบือ 3-5 ปี พบความชุกร้อยละ 5.65 กระบืออายุมากกว่า 5 ปี พบความชุกอยู่ที่ร้อยละ 4.35 และเมื่อเปรียบเทียบเพศของกระบือพบว่ากระบือเพศผู้พบความชุกโรคอยู่ที่ 7.81 และกระบือตัวเมียพบความชุกโรคอยู่ที่ 3.37 อย่างไรก็ตาม จำนวนกระบือ อายุ เพศ ไม่มีผลต่อการติดเชื้อ *Trypanosoma evansi* ในขณะที่ปัจจัยทางด้านพื้นที่มีผลต่อการติดเชื้อ *Trypanosoma evansi* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (แสดงในตารางที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงผลการตรวจเชื้อ *Trypanosoma evansi* ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส โดยใช้ 2% agarose gel โดยมีขนาดของผลผลิต *Trypanosoma evansi* คือ 164 คู่เบส

เมื่อทำการวิเคราะห์ถึงปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการติดเชื้อ *Trypanosoma evansi* ในพื้นที่ภาค

ตะวันออกของประเทศไทย เช่น การเลี้ยงแบบปล่อยแปลง การเลี้ยงกระบือรวมกับสัตว์ชนิดอื่น การถ่ายพยาธิ การทำวัคซีน ประวัติการแท้ง แมลงพาหะ การเคลื่อนย้ายสัตว์ แหล่งน้ำรอบฟาร์ม พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรค Trypanosomiasis ประกอบไปด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยด้านการทำวัคซีนในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา และปัจจัยการพบเหลือบ แมลงวันคอกสัตว์ภายในฟาร์ม (แสดงในตารางที่ 2) จากการที่ความชุกในจังหวัดฉะเชิงเทราพบมากที่สุด จึงได้ทำการวิเคราะห์ถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรค Trypanosomiasis เฉพาะในเขตจังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่าปัจจัยทางด้านการเลี้ยงกระบือรวมกับสัตว์ชนิดอื่นมีโอกาสเกิดโรคมากกว่าการเลี้ยงกระบือเพียงชนิดเดียว (แสดงในตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 ตารางแสดงความชุกของโรคทริปปาโนโซมิเอซิสในพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย

Variables	Sample size	Positive		95% CI	Chi-square or Fisher	p-value
		NO.	%			
Provinces					Fisher's exact	<0.001*
Chachoengsao	48	8	16.67	7.48-30.22		
Chonburi	54	0	0	0-6.60		
Sa Kaeo	51	0	0	0-6.98		
Number of Buffaloes					Fisher's exact	0.72
1-20	131	7	5.34	2.18-10.7		
20-50	14	1	7.14	0.18-33.87		
50-100	4	0	0	0-60.24		
> 100	4	0	0	0-60.24		
Age					Fisher's exact	1
< 2 years	6	0	0	0-45.93		
3-5 years	124	7	5.65	2.3-11.29		
> 5 years	23	1	4.35	0.11-21.95		
Gender					Fisher's exact	0.28
M	64	5	7.81	2.59-17.3		
F	89	3	3.37	0.7-9.53		
Total	153	8	5.23	2.28-10.04		

หมายเหตุ *หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ p<0.05

ตารางที่ 2 ตารางแสดงปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อโรคทริปปาโนโซมิเอซิสในพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย

Risk factors	OR	95% CI	p-value
Free roaming	0.25	0.04-2.82	0.14
Rearing with other animals	0.76	0.02-6.38	1
Deworming	Inf	0.51-inf	0.2
Vaccination	1.25	0.15-58.96	1
Abortion	0	0-5.65	1
Flies	1.06	0.12-50.05	1
Transportation	0	0-6.71	1
Instant water	0	0-1.74	0.2

ตารางที่ 3 ตารางแสดงปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อโรคทริปปาโนโซมิเอซิสในจังหวัดฉะเชิงเทรา

Risk factors	OR	Test	95% CI	p-value
Free roaming	0.34	Fisher's	0.0378-4.5797	0.2582
Rearing with other animals	2.64	Fisher's	0.0403-57.5822	0.4288
Deworming	NA	Fisher's	0.1723-Inf	0.573
Vaccination	0.78	Fisher's	0.063-43.7099	1
Abortion	0	Fisher's	0-5.805	0.573
Flies	1	Fisher's	0.0887-53.9696	1
Transportation	0	Fisher's	0-12.872	1
Instant water	0	Fisher's	0-8.097	1

วิจารณ์

การศึกษาความชุกของการเกิดโรคทริปปาโนโซมิเอซิสในพื้นที่ภาคตะวันออกใช้วิธีการตรวจหาเชื้อด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส เนื่องจากให้ผลที่จำเพาะเจาะจง (specificity) และมีความไวต่อเชื้อ (sensitivity) มากกว่าวิธีการตรวจเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์และซีรั่มวิทยา (OIE. 2012) ทั้งนี้วิธีนี้สามารถตรวจวินิจฉัย DNA ของเชื้อ *T. evansi* ได้ต่ำสุดที่ 0.01- 0.001 พิโคกรัม (Kaewhom. 2014) มีรายงานสามารถตรวจเชื้อ *T. evansi* ได้ถึง 1–20 ตัวปรสิตต่อมิลลิลิตร (Desquesnes. 2002; Ijaz et al. 1998) การใช้วิธีการตรวจหาเชื้อด้วยเทคนิค ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสตรวจโดยการใช้ TBR primer สามารถตรวจเชื้อได้ถึง 0.000001 นาโนกรัมในช่วงก่อนการตรวจเจอปรสิตในกระแสเลือด (prepatent period) วิธีนี้สามารถตรวจเจอเชื้อปรสิตได้ง่ายกว่าวิธีอื่น (Fernández et al. 2009) จากการศึกษาพบว่ามีความชุกการเกิดโรคในพื้นที่ภาคตะวันออกอยู่ที่ร้อยละ 5.23 ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานความชุกของโรคนี้ในฟาร์มโคนมภาคกลางของประเทศไทย พบว่ามีความ

ชุกอยู่ที่ร้อยละ 8.1 (Jittapalapong et al. 2009) สอดคล้องกับพื้นที่เขตของภาคตะวันออกซึ่งติดกับพื้นที่เขตภาคกลาง ทั้งนี้พบว่าพื้นที่ของจังหวัดที่แตกต่างกันเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดโรค สอดคล้องกับปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อ *Trypanosoma evansi* ในอูฐ คือ พื้นที่ (Alarabi et al., 2019) ดังกล่าวโดยเฉพาะในจังหวัดฉะเชิงเทราพบว่ามีความชุกของโรคมากที่สุดอยู่ที่ร้อยละ 16.67 ใกล้เคียงกับความชุกของโรคในโคที่พบมากที่สุดในภาคกลางคือจังหวัดสระบุรีอยู่ที่ร้อยละ 17.4 (Jittapalapong et al. 2009) เมื่อพิจารณาจากอาณาเขตในแผนที่ประเทศไทยพบว่าจังหวัดฉะเชิงเทรามีอาณาเขตติดภาคกลางและมีพื้นที่ติดกับจังหวัดสระบุรีมากที่สุด อาจเนื่องมาจากลักษณะการเลี้ยงรวมในจังหวัดฉะเชิงเทราสามารถมีโอกาสเกิดโรคมากกว่าไม่เลี้ยงรวมถึง 2.6 เท่า และสอดคล้องกับผลงานวิจัยในปี 2017 พบว่าความชุกของพยาธิในเลือดของกระบือแท้งลูกในจังหวัดนครพนม ผลการตรวจพบเพียงพยาธิในเลือดกลุ่ม *Trypanosoma spp.* เท่านั้นโดยค่าความชุกอยู่ที่ร้อยละ 16 (Srisai et al. 2017) ในพื้นที่ภาคใต้มีรายงานระหว่างปี พ.ศ. 2546 – 2548 ตรวจพบการติดเชื้อ *T. evansi* ในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ร้อยละ 0.3 (Worasing and Rattana. 2007) ส่วนในพื้นที่ภาคอีสานจากการศึกษาย้อนหลังห้าปีระหว่าง พ.ศ. 2551 - 2555 พบการเกิดโรค 66 ครั้ง พบมากสุดในโคเนื้อ (51.5%) รองลงมาได้แก่ กระบือ (39.4%) โคนม (6.1%) และสุกร (3.03%) (Pholpark and Pholpark, 2013) ทั้งนี้ความแตกต่างของความชุกในแต่ละภาคเนื่องมาจากความแตกต่างของพื้นที่และวิธีการตรวจที่แตกต่างกัน ด้านจำนวนกระบือพบว่าความชุกในกระบือที่มีจำนวน 20 – 50 ตัว (5.65%) มากกว่าความชุกในกระบือ 1-20 ตัว (7.14%) ด้านอายุความชุกของกระบือที่อายุ 3-5 ปี (5.65%) มากกว่าความชุกของกระบือที่มีอายุมากกว่า 5 ปี (4.35%) เพศพบว่าเพศผู้ (7.81%) มีความชุกมากกว่าเพศเมีย(3.37%) แต่ปัจจัยทางด้านจำนวนกระบือ อายุ เพศ ไม่มีความแตกต่างกัน วิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดโรค *Trypanosoma evansi* ในพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทยมีดังนี้ การทำวัคซีนในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา มีโอกาสเกิดโรคมากกว่าไม่ทำวัคซีน 1.25 เท่า ซึ่งให้ผลตรงข้ามกับงานวิจัยของ Moustafa et al. (2017) พบว่าวัคซีนเป็นปัจจัยที่สำคัญในการป้องกันการเกิดโรค ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากประสิทธิภาพวัคซีน การเก็บวัคซีน การฉีดวัคซีน ในประเทศไทยอาจไม่ได้ประสิทธิภาพเท่าที่ควร หรืออาจเกิดจากช่วงระยะเวลาในการทำวัคซีนที่แตกต่างกัน ในฟาร์มที่พบเหลือบแมลงวันคอกสัตว์มีโอกาสเกิดโรคมากกว่าไม่พบเหลือบ 1.06 เท่า เมื่อพิจารณาค่าอัตราส่วนแต้มต่อ (Odds ratio) สอดคล้องกับปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคในนครพนม (Srisai et al. 2017) และมีรายงานการติด *Trypanosoma evansi* ส่วนใหญ่ติดโดยการดูดเลือดของแมลง เช่น *Tabanus, Stomoxys* และ *Haematopota* (Rodríguez et al. 2014; .Alarabi et al. 2019) เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดโรคในจังหวัดฉะเชิงเทราพบว่าการเลี้ยงรวมระหว่างกระบือกับสัตว์ชนิดอื่นมีโอกาสเกิดโรคมากกว่าการเลี้ยงกระบือเพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับงานวิจัยปัจจัยเสี่ยงที่ก่อโรค *Trypanosoma evansi* ในม้าพบว่าฟาร์มที่มีการจัดการไม่ดีมีปัจจัยเสี่ยงในการก่อโรคมากกว่าการจัดการที่ดี(Sumbria et al. 2017) เมื่อพิจารณาค่าอัตราส่วนแต้มต่อ (Odds ratio) ดังนั้นการลดโอกาสเกิดโรค *Trypanosoma evansi* ในกระบือในพื้นที่ภาค

ตะวันออกคือ การให้ความรู้ในเรื่องการทำวัคซีน เช่น วิธีการเก็บวัคซีน วิธีการทำวัคซีน หรือ การพัฒนาสายพันธุ์วัคซีนให้ตรงกับสายพันธุ์ในประเทศไทย การกำจัดแมลงในคอกสัตว์ และการไม่เลี้ยงกระบือร่วมกับสัตว์ชนิดอื่น หรือการจัดการฟาร์มที่ดีจะช่วยลดการแพร่กระจายของโรคในกระบือซึ่งเป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญ และลดโอกาสการติดโรคจากสัตว์สู่คน

สรุป

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการตรวจหาความชุกของการติดเชื้อ *Trypanosoma evansi* ในกระบือพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทยพบว่าร้อยละของความชุกอยู่ที่ 5.23 โดยพบความชุกในจังหวัดฉะเชิงเทรามากที่สุดถึงร้อยละ 16.67 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าปัจจัยทางด้านพื้นที่มีผลต่อการติดเชื้อ *Trypanosoma evansi* ส่วนปัจจัยทางด้านจำนวนกระบือ อายุ และเพศ ไม่มีผลต่อการติดเชื้อของเชื้อ *Trypanosoma evansi* เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดโรค Trypanosomiasis ในกระบือพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทยประกอบด้วย 2 ปัจจัยดังนี้ ปัจจัยทางด้านการทำวัคซีนในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมามีโอกาสเกิดโรคมากกว่าไม่ทำวัคซีน ปัจจัยการพบแมลงพาหะในฟาร์ม พบว่าในฟาร์มที่พบเหลือบแมลงวันคอกสัตว์มีโอกาสเกิดโรคมากกว่าไม่พบเหลือบและแมลงวันคอกสัตว์ เมื่อวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในจังหวัดฉะเชิงเทราพบว่าปัจจัยทางด้านการเลี้ยงกระบือรวมกับสัตว์ชนิดอื่นมีโอกาสเกิดโรคมากกว่าการเลี้ยงกระบือชนิดเดียว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกรมปศุสัตว์ ปศุสัตว์จังหวัด ชลบุรี นายนิพนธ์ เข็มกลัด กลุ่มพัฒนาสุขภาพสัตว์จังหวัดชลบุรี น.สพ.เชษฐากฤช ดาราพงศ์ นายสัตวแพทย์ชำนาญการ ปศุสัตว์จังหวัดสระแก้ว นายอำพันธุ์ เวฬุตันติ กลุ่มพัฒนาสุขภาพสัตว์จังหวัดสระแก้ว น.สพ.ไทยวิวัฒน์ วรรณสุข นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ นายประวุฒิ ปุริสพันธ์ ปศุสัตว์อำเภออรัญประเทศ ปศุสัตว์จังหวัดฉะเชิงเทรา นายสาโรช งามขำ กลุ่มพัฒนาสุขภาพสัตว์จังหวัดฉะเชิงเทรา สพ.ญ. ฉัตรสุดา ชุมเกษียร นายสัตวแพทย์ชำนาญการ สพ.ญ.ปราง รอบคอบ นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ สพ.ญ.สุพรรษา ศศิมณฑล นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ นายสมศักดิ์ ศิริติกุล สัตวแพทย์ผู้อาวุโส นายสุจน์ พวงศรี สัตวแพทย์ชำนาญงาน นายศวีรพงศ์ เกยูร ธำมรงค์ ปศุสัตว์อำเภอวังสมบูรณ์ สพ.ญ.นันทรัตน์ รัตนถิตะกุล ภาควิชาปรสิตวิทยาคณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศ.ดร.สถาพร จิตปาลพงศ์ นายศุภรินธร์ มหาสวัสดิ์ นางสาวภาวนา บูรณะกิจ นางสาวปรวิศา ทองเต็ม นางสาวอรณี อุทธสาร นายอภิชิต โสภาน้อย และได้รับงบประมาณสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออกวิทยาเขตบางพระ

เอกสารอ้างอิง

Alarabi, M. E. M., Y. O. Mohamed, E. I. Elshafie, Y. J. A. Alharbi, and H. M. J. T. T. J. O. V. M. Al-Mekhlafi. 2019. Molecular detection of *Trypanosoma Evansi* in camels (*Camelus Dromedarius*) in Southwestern Saudi Arabia. 49(1): 93-100.

Desquesnes, M., and A. M. R. Dávila. 2002 Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal

trypanosomes: a review and perspectives. Vet. Parasitol. 109: 213-231.

Desquesnes, M., A. Dargantes, D. H. Lai, Z. R. Lun, P. Holzmuller, and S. Jittapalapong. 2013. *Trypanosoma Evansi* and Surra: A review and perspectives on transmission, epidemiology and control, impact, and zoonotic aspects. BioMed Research International. 321237: 1-20.

Fernández, D., B. González-Baradat, M. Eleizalde, E. González-Marcano, T. Perrone, M. Mendoza. 2009. *Trypanosoma evansi*: A comparison of PCR and parasitological diagnostic tests in experimentally infected mice. Experimental Parasitology. 121: 1-7.

Hunngerford, T. G. 1990. Various effects parasite of diseases of livestock. McGraw-Hill bookcompany. 9 ed. Sydney. 2: 1357.

Ijaz, M. K., M. S. A. Nur-E-Kamal, A. I. A. Mohamed, F. K. Dar. 1998. Comparative studies on the sensitivity of polymerase chain reaction and microscopic examination for the detection of *Trypanosoma evansi* in experimentally infected mice. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 21: 215-223.

Indrakamhang, P. 1998. *Trypanosoma evansi* Infection in Livestock in Thailand. J. Protozool. Res. 8(3): 153-161.

International Buffalo Information Center (IBIC), Office of the University Library, Kasetsart University. 2019 Available at : http://158.108.80.26/IBICTH/index.php?option=com_content&view=article&id=51:statistic&catid=37:2009-06-25-03-23-58&Itemid=62. Accessed October 8, 2017.

Jittapalapong, S., N. Pinyopanuwat, T. Inpankaew, A. Sangvaranond, C. Phasuk, W. Chimnoi, C. Kengradomkij, K. Kamyingkird, N. Sarataphan, and M. J. K. J. N. S. Desquesnes. 2009. Prevalence of *Trypanosoma Evansi* Infection Causing Abortion in Dairy Cows in Central Thailand. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 43: 53-57.

Kaewhom, P. 2014. Molecular detection of *Trypanosoma evansi* among cattle and buffaloes blood. J. Mahanakorn Vet. Med. 9(1): 49-61.

Moustafa, A., S. Ali, M. Bennett, T. Hyndman, I. Robertson, and J. J. T. Edwards. 2017. A case–control study of haemorrhagic septicaemia in buffaloes and cattle in Karachi, Pakistan. Transbound. Emerg. Dis. 64(2): 520-527.

OIE Terrestrial Manual. 2012. *Trypanosoma evansi* infection (Surra). Chapter. 2(17): 1-14.

Panja K., T. Sananmuang, and T. Jankong. 2018. Study on using polymerase chain reaction and buffy coat smear method

for *Trypanosoma evansi* detection in buffaloes of Eastern Thailand. J. Mahanakorn Vet. Med. 13(2): 161-170.

Payne, R. C., I. P. Sukanto, K. Bazeley, and T. W. Jones. 1993. The effect of *Trypanosoma evansi* infection on the oestrous cycle of Friesian Holstein heifers. Vet. Parasitol. 51: 1-11.

Pholpark, M. and S. Pholpark. 2013. *Trypanosoma evansi* infections in the Northeastern region of Thailand. Thai-NIAH eJournal. 8(2): 32-55

Powar, R. M., V. R. Shegokar, P. P. Joshi , V. S. Dani, N. S. Tankhiwale, P. Truc, J. Jannin, and A. Bhargava. 2006. A rare case of human trypanosomiasis caused by *Trypanosoma evansi*. Indian J. Med. Microbiol. 24: 7274.

Rodríguez, N. F., M. T. Tejedor-Junco, M. González-Martín, and C. Gutierrez. 2014. *Stomoxys calcitrans* as possible vector of *Trypanosoma evansi* among camels in an affected area of the Canary Islands, Spain. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 47: 510–512.

Srisai, P., M. Pholpark, P. Tongpan, N. Jiwaganon, P. Punnurit, S. Dermpun, H. Rungruang, and N. J. O. J. Panlinfa. 2017. Prevalence of blood parasites infestation among buffaloes with abortion in Nakhon Phanom Province, Thailand. OSIR. 10(1): 7-15.

Sumba, A. L., S. Mihok, and F. A. Oyieke. 1998. Mechanical transmission to *Trypanosoma evansi* and *T. congolense* by *Stomoxys niger* and *S. taeniatus* in a laboratory mouse model. Med. Vet. Entomol. 12: 417-422.

Sumbria, D., L. Singla, R. Kumar, M. Bal, and P. Kaur. 2017. Comparative seroprevalence and risk factor analysis of *Trypanosoma Evansi* infection in Equines from different agro-climatic zones of Punjab (India). Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 36(3): 971-979

Worasing, R., and S. Rattana. 2007. Bovine gastrointestinal and blood parasites examination in Pakpanang River Basin in Nakhon Si Thammarat Province. Thai-NIAH e-Journal. 2: 38-47. Thai.