



ความชุกของการติดเชื้อ *Ehrlichia* spp. หรือ *Anaplasma* spp. ในสุนัขที่แสดงอาการ ยูเวียอักเสบ

สุตารัตน์ ประเสริฐสังข์¹ พัชรพร กรมจันทร์^{2, #} ณัฐเนตร ศรีตระกูล³ และบุรินทร์ นิมสุพรรณ^{1, 3}

¹ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

²ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

³หน่วยจักษุ โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ: การศึกษาการติดเชื้อ *Ehrlichia* spp. หรือ *Anaplasma* spp. ในสุนัขป่วยจำนวน 70 ตัวที่เข้ารับการรักษาที่คลินิกโรคตา โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ซึ่งสุนัขทั้งหมดเป็นสุนัขป่วยที่แสดงอาการของโรคตา คือ ยูเวียอักเสบ สุนัขถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มยูเวียส่วนหน้าอักเสบ จำนวน 26 ตัว และกลุ่มยูเวียส่วนหลังอักเสบ จำนวน 44 ตัว พบการติดเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. จำนวน 11 ตัว คิดเป็นร้อยละ 15.71 จากการตรวจแผ่นฟิล์มโลหิตที่ย้อมด้วยสี Wright-Giemsa stain และส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องสว่าง และจากการตรวจการติดเชื้อด้วยวิธี nested-PCR โดยใช้ยีน 16s rRNA ร่วมกับการวิเคราะห์ความเหมือนของลำดับเบส พบสุนัขป่วยติดเชื้อจำนวน 41 ตัว คิดเป็นร้อยละ 58.57 โดยพบเชื้อที่ก่อโรคเพียง 2 ชนิด คือ เชื้อ *Ehrlichia canis* และ *Anaplasma platys* จำนวน 35 และ 6 ตัว ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 50 และ 8.57 ตามลำดับ ในการศึกษาพบว่าสุนัขป่วยส่วนใหญ่อายุที่ติดเชื้อและแสดงอาการยูเวียอักเสบมีอายุในช่วง 1-7 ปีและมีประวัติการติดเชื้อมาก่อน จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้สุนัขป่วยร่วมกับแสดงภาวะยูเวียอักเสบ โดยเชื้อ *E. canis* จัดเป็นเชื้อหลักที่สำคัญที่ก่อโรค โดยพบสุนัขป่วยที่ติดเชื้อร่วมกับมีภาวะยูเวียส่วนหน้าหรือส่วนหลังอักเสบในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 57.69 และ 59.09 ตามลำดับ

คำสำคัญ: *Anaplasma platys* สุนัข *Ehrlichia canis* ความชุก ยูเวียอักเสบ

#ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2562. 14(2): 105-114.

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

The Prevalence of *Ehrlichia/Anaplasma* spp. Infection in Dogs Associated with Uveitis

Sudarat Prasroedsang¹, Pudcharaporn Kromkhun^{2,#}, Natthanate Sritrakoon³,
and Burin Nimsuphan^{1,3}

¹Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok, Thailand 10900; ²Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok, Thailand 10900; ³Ophthalmology Clinic, Kasetsart University Veterinary Teaching Hospital, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok, Thailand 10900

Abstract: The infection of *Ehrlichia* spp. or *Anaplasma* spp. in 70 dogs brought into an Ophthalmology Clinic, Veterinary Teaching Hospital, Kasetsart University, Bangkok were studied. All studied dogs were suspected for the infection and showed the ocular sign of uveitis. Dogs were divided into two groups, group 1: 26 dogs showed anterior uveitis and group 2: 44 dogs showed posterior uveitis. Eleven dogs (15.71%) showed positive results when the morula stage of *Ehrlichia* spp. or *Anaplasma* spp. were detected by blood smear Wright-Giemsa staining under microscopic examination. However, 41 dogs (58.57%) were found positive when detected the parasites by nested-PCR assay using 16S rRNA gene. Only *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* were detected by nested-PCR and DNA sequencing in 35 (50%) and 6 (8.57) dogs, respectively. In the present study, most of *Ehrlichia/Anaplasma* spp.-infected dogs associated with uveitis were 1 to 7-year-old and ticks were detected between the physical examination or dogs had history of tick infestation. The results from present study, *Ehrlichia/Anaplasma* spp. were the main etiology of uveitis which *E. canis* was the important species causing uveitis in infected dogs. The infection rates of dogs associated with anterior uveitis or posterior uveitis were 57.69% and 59.09%, respectively.

Keywords: *Anaplasma platys*, Dog, *Ehrlichia canis*, Prevalence, Uveitis

[#]Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2019 14(2): 105-114.

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

บทนำ

โรค ehrlichiosis และ anaplasmosis เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อในสกุล *Ehrlichia* spp. และ *Anaplasma* spp. ตามลำดับ ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ จัดอยู่ใน Class Alpha-proteobacteria ซึ่งอาศัยและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอยู่ใน phagosome ภายใน cytoplasm ของเซลล์ โดยมีรูปร่าง morula ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อในกลุ่มนี้ เชื้อ *Ehrlichia* spp. อาศัยอยู่ในเม็ดเลือดขาวชนิด monocyte และ neutrophil ส่วนเชื้อ *Anaplasma* spp. อาศัยอยู่ในเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil หรือเกล็ดเลือด ซึ่งขึ้นกับ species ของเชื้อ โรค ehrlichiosis ได้รับการยอมรับในช่วงศตวรรษที่ 19 ในแอฟริกาใต้โดย Paul Ehrlich นักจุลชีววิทยาชาวเยอรมัน ในปี ค.ศ. 1900 ได้มีการระบุว่าเป็นโรคที่เกิดจากเห็บเป็นตัวนำเชื้อ (tick-borne disease) และได้รับการยอมรับว่าเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม rickettsiales ในปี ค.ศ. 1925 เดิมชื่อแรกคือ *Rickettsia ruminantium* ซึ่งต่อมาเปลี่ยนชื่อเป็น *Ehrlichia ruminantium* (Dumler et al., 2001) เชื้อที่ก่อโรคในคนที่สำคัญได้แก่ *Ehrlichia chaffeensis* อาศัยอยู่ใน monocyte, *Ehrlichia ewingii* อาศัยอยู่ใน neutrophil และ *Anaplasma phagocytophilum* อาศัยอยู่ใน neutrophil (Buller et al., 1999; Bakken and Dumler, 2000; Dumler, 2005) ซึ่งคนที่ป่วยด้วยโรคติดเชื้อเหล่านี้มักมีประวัติการสัมผัสหรือใกล้ชิดกับสุนัขหรือติดเห็บ ซึ่งเชื่อกันว่าจัดเป็นเชื้อที่ก่อโรคสัตว์สู่คน (zoonosis) โดยสุนัขสามารถติดเชื้อข้างต้นได้ แต่เชื้อที่สำคัญที่ก่อโรคในสุนัข ได้แก่ เชื้อ *Ehrlichia canis* และ *Anaplasma platys* โดยเชื้อ *E. canis* อาศัยอยู่ในเม็ดเลือดขาวชนิด monocyte จัดเป็น

monocytic *Ehrlichia* spp. มีพาหะนำเชื้อคือ เห็บสีน้ำตาล (*Rhipicephalus sanguineus*) (Groves et al., 1975) มีรายงานพบการติดเชื้อ *E. canis* ครั้งแรกใน ปี ค.ศ. 1935 ในประเทศแอลจีเรีย (Donatien and Lestoquard, 1935) และมีรายงานครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1963 (Ewing, 1963) ส่วนเชื้อ *A. platys* อาศัยอยู่ในเกล็ดเลือดและถูกถ่ายทอดสู่สุนัขผ่านทางเห็บ *R. sanguineus* เช่นกัน ส่วนในประเทศไทยนั้นรายงานการศึกษาการติดเชื้อในสุนัขด้วยการตรวจสอบทาง molecular techniques พบเชื้อเพียง 2 ชนิด คือ *E. canis* และ *A. platys* (Suksawat et al., 2001; Pinyoowong et al., 2008; Saeng-Chuto et al., 2016) ความสำคัญของเชื้อทั้งสองชนิดในสุนัขนอกจากทำให้เกิดภาวะมีเลือดออกตามอวัยวะต่างๆ เกล็ดเลือดต่ำ และโลหิตจางแล้ว ยังพบว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดก่อให้เกิดภาวะยูเวียอักเสบ (uveitis) ร่วมด้วย (Glaze and Gaunt, 1986; Leiva et al., 2005; Saeng-Chuto et al., 2016) ซึ่งสุนัขที่ติดเชื้อบางรายมีอาการตาบอดเฉียบพลันเนื่องจากมีภาวะจอประสาทตาลอกหลุด อย่างไรก็ตามการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของเชื้อในกลุ่ม *Ehrlichia/Anaplasma* spp. กับภาวะ uveitis ยังมีการศึกษาน้อย ร่วมกับรายงานทาง molecular identification ของเชื้อทั้ง 2 genus ในประเทศไทยยังพบแค่เพียงเชื้อ *E. canis* และ *A. platys* (Saeng-Chuto et al., 2016) โดยที่ยังไม่มีรายงานการพบเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. ชนิดอื่นด้วยวิธีทาง molecular techniques ดังนั้นในการศึกษารังนี้จึงจุดประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของการติดเชื้อ *Ehrlichia* spp. หรือ *Anaplasma* spp. ในสุนัขป่วย

ที่มีภาวะ uveitis และการแยกชนิดของเชื้อที่ตรวจพบด้วยวิธีทาง molecular techniques

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างสุนัข

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้จากสุนัขป่วยที่เข้ารับการรักษาที่คลินิกโรคตา โรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน โดยใช้ระยะเวลาการเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2558 ถึงธันวาคม พ.ศ. 2559 โดยไม่จำกัดเพศ อายุ และสายพันธุ์ของสุนัข จำนวนทั้งหมด 70 ตัว โดยมีเกณฑ์การตัดสินใจในการเก็บตัวอย่างดังนี้ 1. สุนัขทุกตัวแสดงอาการของโรคตาแบบยูเวียอักเสบที่ตาหนึ่งข้างหรือทั้งสองข้าง 2. สุนัขไม่มีประวัติเป็นโรคทางระบบหรือมีภาวะเนื้องอก 3. สุนัขไม่ได้รับการกระทบกระเทือนมาก่อน นอกจากนี้มีการตรวจการติดเชื้อบนตัวสุนัขทุกตัวที่เข้าร่วมการศึกษาในครั้งนี้ด้วยการศึกษาครั้งนี้ได้ใบรับรองการอนุมัติใช้สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์ เลขที่ ACKU59-VET-007

การตรวจตา

สุนัขป่วยที่แสดงอาการยูเวียอักเสบจำนวน 70 ตัว ถูกตรวจตาอย่างละเอียดและแยกสุนัขตามอาการของยูเวียอักเสบออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ยูเวียส่วนหน้าอักเสบ (anterior uveitis) มีจำนวน 26 ตัว และยูเวียส่วนหลังอักเสบ (posterior uveitis) มีจำนวน 44 ตัว

การทำ Blood smear

ทำแผ่นฟิล์มโลหิตบนสไลด์ ปล่อยให้ฟิล์มโลหิตให้แห้ง แล้วทำการ fix ใน methanol นาน 2 นาที ย้อมด้วยสี Wright-Giemsa stain (0.3% Wright stain, 0.1% Giemsa stain, 3% glycerine และ 97% Methanol) นาน 5 นาที จากนั้นจุ่มใน

phosphate buffer นาน 5 นาที ปล่อยให้แผ่นฟิล์มโลหิตแห้ง แล้วนำไปส่องหาเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

วิธีการเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดโดยเจาะเก็บจากเส้นเลือดดำ cephalic vein หรือ saphenous vein ตัวละ 2 ซีซี ในหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดชนิด EDTA เคลือบอยู่ (Fushino®, Japan) เพื่อนำเลือดไปสกัด DNA ต่อไป

การสกัดดีเอ็นเอ

ใช้เลือดที่เก็บอยู่ในหลอดที่มีสาร EDTA ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด microtube จากนั้นเติม denature solution 600 ไมโครลิตร (4 M guanidinium thiocyanate, 25 mM sodium citrate, pH 7.0, 0.1 M 2-mercaptoethanol, 0.5% N-lauroylsarcosine) เติมสารละลายลึ้มเลือด proteinase K 20 ไมโครลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 5 นาที เติมสารสกัด DNA ด้วย phenol-chloroform และตกตะกอน DNA ด้วย absolute ethanol ตามวิธีของ Sambrook and Russell (2001) จากนั้นบ่มข้ามคืน (overnight) แล้วตกตะกอน DNA ด้วย 70% ethanol 2 ครั้ง ตกตะกอน DNA จนแห้ง หลังจากนั้นเติมสารรักษาสภาพ DNA ด้วย TE buffer 20 ไมโครลิตร (50 mM Tris, pH 8.0, 1 mM EDTA) เก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

การตรวจการติดเชื้อ Ehrlichia/Anaplasma spp. ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เชิงซ้อน (nested-PCR)

การตรวจหาเชื้อในตัวอย่างเลือดของสุนัขใช้วิธี nested-PCR โดยใช้ primer และวิธีการของ Saengchuto et al. (2016) เป็นการเพิ่มจำนวนสาร

พันธุกรรมในส่วนของยีน 16s rRNA โดย PCR รอบแรกใช้ primer (EF: 5'-TTGTAGCTAACGCGTTA AGCACT-3' และ ER: 5'AACTCGAAGCTGGTGYG CYAACC-3') โดย PCR product มีขนาด 551 bp ส่วน PCR รอบที่ 2 ใช้ primer (IEF: 5'-GTTCGGCTG GAYCTYRCACAGGT-3' และ IER: 5'-CTGMAACTC GAGAGCATGAAGTC-3') โดย PCR product มีขนาด 310 bp การเตรียมสารเคมีที่ใช้ใน PCR รอบแรกใช้ template DNA 2 ไมโครลิตร และ PCR mixture 18 ไมโครลิตร (รวม 20 ไมโครลิตร) โดยสารใน PCR mixture ประกอบด้วยใช้ 1x buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.8, 50 mM KCl และ 0.1% Triton X-100) 2.0 mM ของ MgCl₂, 1 pmol ของ primer, 0.2 mM ของ dNTP และ 2.5 U ของ Taq DNA polymerase สำหรับ PCR รอบสอง ใช้ template DNA 2 ไมโครลิตร และ PCR mixture 18 ไมโครลิตร เหมือน PCR รอบแรก แต่แตกต่างที่การเติมสาร 5 mM ของ MgCl₂ อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ใน PCR ทั้งสองรอบคือ pre-denaturation ที่ 94 °C 5 นาที denaturation ที่ 94 °C 20 วินาที annealing ที่ 57 °C 20 วินาที และ extension at 72 °C 40 วินาที และ final extension ที่ 72 °C 10 นาที ทั้งหมด 45 รอบ ทุกขั้นตอนการจำลองดีเอ็นเอด้วยวิธี nested-PCR ทั้งสองรอบใช้เครื่อง MyCycler™ Thermal เมื่อสิ้นสุดกระบวนการ nested-PCR จะใช้ PCR product 20 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อม 6X loading buffer นำมาทำ electrophoresis โดยใช้ 1.5% agarose gel ใน 0.5X TAE (Tris-Acetate-EDTA), (SeaKem ME:FMC, USA) เป็นตัวค้ำจุน ใช้เวลา 40 นาที

การตรวจสอบความเหมือนของลำดับเบส

ตัดชิ้น agarose gel ที่มีแถบ PCR product ในตำแหน่งที่ต้องการใส่ลงในหลอด microtube และทำตามขั้นตอนของชุดสกัด UltraClean™ Gelspin DNA purification kit (MO BIO LABORATORIES Inc, CA, USA) ตามลำดับ ล้าง DNA ออกจากคอลัมน์ด้วยบัฟเฟอร์ ตามความเหมาะสม (15-20 ไมโครลิตร) เก็บที่ -20 °C เพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอ (DNA sequencing) ต่อไป การวิเคราะห์ชนิดของเชื้อได้จากการเทียบลำดับเบสของ DNA จากข้อมูลในฐานข้อมูล Genbank โดยใช้โปรแกรม BLAST algorithm (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

ผลการทดลอง

การตรวจหาเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. จากแผ่นฟิล์มโลหิต

จากการตรวจหาเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. ในแผ่นฟิล์มโลหิตของสุนัขทั้งหมด 70 ตัว พบสุนัขที่มีเชื้อระยะ morula ในเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดจำนวน 11 ตัว คิดเป็นร้อยละ 15.71 โดยเป็นเชื้อ monocytic *Ehrlichia* spp. จำนวน 10 ตัว และพบเชื้อ *A. platys* ในเกล็ดเลือดจำนวน 1 ตัว และเมื่อแยกผลการติดเชื้อมากเป็น 2 กลุ่มตามชนิดของยูเวียอักเสบ พบว่าสุนัขกลุ่มที่แสดงอาการ anterior uveitis พบการติดเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. ร้อยละ 11.53 (3/26 ตัว) ส่วนสุนัขกลุ่มที่แสดงอาการ posterior uveitis พบการติดเชื้อมากเป็น 2 กลุ่มตามชนิดของยูเวียอักเสบ พบการติดเชื้อร้อยละ 18.18 (8/44 ตัว)

ตารางที่ 1 ชนิดของเชื้อ *Ehrlichia* spp. และ *Anaplasma* spp. ในสุนัขป่วยที่ติดเชื้อร่วมกับแสดงอาการยูเวียอักเสบจำนวน 41 ตัว โดยแบ่งกลุ่มตามชนิดของยูเวียอักเสบ

Group of uveitis	Number of infected dogs with		Total
	<i>E. canis</i>	<i>A. platys</i>	
Anterior uveitis (n=26)	12	3	15
Posterior uveitis (n=44)	23	3	26
Total	35	6	41

การตรวจหาเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. ด้วยวิธี nested-PCR

ผลการศึกษาการติดเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. ในสุนัขทั้งหมด 70 ตัว ด้วยวิธี nested-PCR พบสุนัขให้ผลบวก 41 ตัว คิดเป็นร้อยละ 58.57 และเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับเบสของดีเอ็นเอ พบว่าแยกเป็นเชื้อ *E. canis* ร้อยละ 50 (35/70 ตัว) และเชื้อ *A. platys* ร้อยละ 8.57 (6/70 ตัว) โดยที่ไม่พบการติดเชื้อ *Ehrlichia* spp. ชนิดอื่นรวมทั้งเชื้อ *Anaplasma phagocytophilum*

เมื่อแยกผลการติดเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มตามอาการของยูเวียอักเสบ พบว่าสุนัขกลุ่มที่แสดงอาการ anterior uveitis มีการติดเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. ร้อยละ 57.69 (15/26 ตัว) แยกเป็นการติดเชื้อ *E. canis* ร้อยละ 46.15 (12/26 ตัว) และเชื้อ *A. platys* ร้อยละ 11.54 (3/26 ตัว) ส่วนสุนัขที่แสดงอาการ posterior uveitis มีการติดเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. ร้อยละ 59.09 (26/44 ตัว) แยกเป็นการติดเชื้อ *E. canis* ร้อยละ 52.27 (23/44 ตัว) และเชื้อ *A. platys* ร้อยละ 6.81 (3/44 ตัว) ดังแสดงในตารางที่ 1

เพศ อายุ การพบเห็บบนตัวสุนัข และสายพันธุ์

สุนัขทั้งหมด 41 ตัวที่ติดเชื้อและแสดงอาการยูเวียอักเสบแยกเป็นเพศผู้ร้อยละ 56.10 (23/41 ตัว)

และเพศเมียร้อยละ 43.90 (18/41 ตัว) เมื่อแบ่งตามเพศและชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุ แยกเป็นสุนัขเพศผู้ติดเชื้อ *E. canis* ร้อยละ 46.34 (19/41 ตัว) และเชื้อ *A. platys* ร้อยละ 9.76 (4/41 ตัว) สุนัขเพศเมียติดเชื้อ *E. canis* ร้อยละ 39.02 (16/41 ตัว) และเชื้อ *A. platys* ร้อยละ 4.88 (2/41 ตัว) สุนัขป่วยที่แสดงอาการยูเวียอักเสบจากการติดเชื้อ *E. canis* หรือ *A. platys* มีอายุเฉลี่ย 5.98 ปี (อายุต่ำที่สุด 5 เดือน และอายุมากที่สุด 14 ปี) ดังแสดงในตารางที่ 2 นอกจากนี้พบการติดเห็บบนตัวสุนัขที่แสดงอาการยูเวียอักเสบร้อยละ 80 (56/70 ตัว) โดยสุนัขที่ติดเชื้อและมีการติดเชื้อ *E. canis* พบร้อยละ 44.64 (25/56 ตัว) และติดเชื้อ *A. platys* ร้อยละ 8.92 (5/56) การศึกษาครั้งนี้ไม่ได้กำหนดสายพันธุ์สุนัขที่เข้าร่วม ซึ่งพบว่าสุนัขที่แสดงอาการยูเวียอักเสบเนื่องมาจากการติดเชื้อ *E. canis* หรือ *A. platys* ในการศึกษาครั้งนี้ส่วนใหญ่เป็นสุนัขพันธุ์ผสมร้อยละ 48.78 (20/41 ตัว) รองลงมาคือ พันธุ์ Poodle ร้อยละ 17.07 (7/41 ตัว) และสายพันธุ์อื่นๆ ได้แก่ Siberian Husky (3/41 ตัว) American Pitbull Terrier (3/41 ตัว) Shih Tzu (2/41 ตัว) Thai Bangkaew (2/41 ตัว) และสายพันธุ์อื่น ๆ ชนิดละ 1 ตัว ได้แก่ Labrador Retriever, Beagle, Jack Russell และ Thai Ridgeback

ตารางที่ 2 จำนวนสุนัขแบ่งตามเพศและอายุ จากสุนัขป่วยที่ติดเชื้อ *E. canis* หรือ *A. platys* ทั้งหมด 41 ตัว ที่แสดงอาการยูเวียส่วนหน้าหรือยูเวียส่วนหลังอักเสบ

Infected pathogen	Group	Number	Sex		Age		
			Male	Female	<1 Year	1-7 Years	>7 Years
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
<i>E. canis</i>	AU	12	9	3	1	9	2
			(39.13)	(16.67)	(50)	(42.85)	(11.11)
	PU	23	10	13	0	9	14
			(43.47)	(72.22)	(0.00)	(42.85)	(77.78)
<i>A. platys</i>	AU	3	1	2	1	2	0
			(4.34)	(11.11)	(50)	(9.53)	(0.00)
	PU	3	3	0	0	1	2
			(13.04)	(0.00)	(0.00)	(4.77)	(11.11)
Total		41	23	18	2	21	18

AU = anterior uveitis; PU = posterior uveitis

วิจารณ์

จากการศึกษาการตรวจหาการติดเชื้อ *Ehrlichia/Anaplasma* spp. ในฟิล์มโลหิตของสุนัขป่วยทั้งหมด 70 ตัวในครั้งนี พบสุนัขให้ผลบวกต่อวิธี blood smear ร้อยละ 15.71 ซึ่งถือว่าพบในอัตราที่ต่ำ ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับการศึกษาก่อนหน้านี้ โดยพบอัตราการติดเชื้อด้วยวิธี Blood smear ร้อยละ 0.87 ถึง 14.05 (Jittapalapong and Tipsawake, 1991; Sangmaneeat et al., 2002; Laummaunwai et al., 2014) โดยการตรวจหาการติดเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์นั้นมีความไวต่ำ และไม่สามารถแยกชนิดของเชื้อ *Ehrlichia* spp. ได้ โดยเฉพาะในสุนัขที่เพิ่งติดเชื้อหรือติดเชื้ออ่อนๆ ซึ่งอาจตรวจไม่พบการติดเชื้อบนฟิล์มโลหิต

การตรวจหาชนิดของเชื้อด้วยวิธี nested-PCR โดยใช้ยีน 16s rRNA และจากการวิเคราะห์ลำดับดี

เอ็นเอในครั้งนี พบสุนัขให้ผลบวกต่อเชื้อ *E. canis* ร้อยละ 50 และเชื้อ *A. platys* ร้อยละ 8.57 โดยสุนัขป่วยในการศึกษารั้งนี้ส่วนใหญ่แสดงอาการของโรคในระยะเฉียบพลันและระยะไม่แสดงอาการ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Saeng-Chuto et al. (2016) ที่มีการตรวจพบเฉพาะเชื้อ *E. canis* และ *A. platys* ในสุนัขที่ติดเชื้อร่วมกับการแสดงอาการของโรคตา ในการศึกษาในครั้งนีพบว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดก่อให้เกิดภาวะ uveitis ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานการศึกษาที่ผ่านมา (Glaze and Gaunt, 1986; Leiva et al., 2005; Saeng-Chuto et al., 2016) อย่างไรก็ตามผลจากการศึกษาในครั้งนีเป็นการยืนยันให้เห็นว่าการติดเชื้อ *E. canis* หรือ *A. platys* เป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดภาวะ uveitis ในสุนัข โดยเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างเชื้อทั้งสองชนิด พบว่าเชื้อ *E. canis* ก่อให้เกิดภาวะ uveitis มากกว่าเชื้อ *A.*

platys จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสุนัขป่วยที่ติดเชื้อร่วมกับแสดงอาการ uveitis และพบเห็บบนตัวสุนัขมีจำนวน 30 ตัว (สุนัขที่ติดเชื้อและแสดงอาการ uveitis มีจำนวน 41 ตัว) ซึ่งเท่ากับว่ามีแนวโน้มสูงในสุนัขที่ติดเชื้อจะแสดงอาการของโรคร่วมมีภาวะ uveitis แต่อย่างไรก็ตามสุนัขบางส่วนที่ตรวจร่างกายแล้วไม่พบเห็บบนตัวสุนัข ซึ่งอาจมีความเป็นไปได้ว่าสุนัขป่วยจำนวนนี้เคยติดเห็บมาก่อนแล้วสุนัขเพิ่งจะแสดงอาการของโรค แต่ตรวจไม่พบเห็บบนตัวสุนัข ขณะเข้ามารับการรักษา หรือเป็นเชื้อที่แฝงอยู่ในร่างกายที่สุนัขเคยป่วยและเคยได้รับการรักษามาก่อน แต่ยังคงมีเชื้อหลงเหลืออยู่ในร่างกายที่ม้ามหรือไขกระดูก (Harrus et al., 1999)

การศึกษาการติดเชื้อ *E. canis* หรือ *A. platys* ระหว่างสุนัขเพศผู้และสุนัขเพศเมียนั้นมีอัตราการติดเชื้อที่ไม่แตกต่างกัน โดยจะเห็นว่าเพศไม่ได้เป็นปัจจัยสำคัญในการติดเชื้อในการศึกษาครั้งนี้ โดยสอดคล้องกับการรายงานในอดีตที่ไม่พบความแตกต่างของการติดเชื้อในสุนัขเพศผู้และเพศเมีย (Lauzi et al., 2016; Paulino et al., 2018; Pérez-Macchi et al., 2019) ในการศึกษาพบว่าสุนัขป่วยส่วนใหญ่ที่ติดเชื้อและแสดงอาการยูเวียอักเสบมีอายุในช่วง 1-7 ปี ซึ่งคล้ายกับการศึกษาในอดีตที่พบสุนัขอายุมากมีอัตราการติดเชื้อสูงกว่าสุนัขอายุน้อยด้วยวิธี PCR และการทดสอบทางวิทยาเซรัม (Guedes et al., 2015; Konto et al., 2017) อาจเนื่องมาจากสุนัขอายุน้อยถูกปกป้องจากการติดเชื้อ ซึ่งสุนัขที่มีอายุมากจะมีระยะเวลาในการสัมผัสกับเชื้อได้มากกว่า (Azevedo et al., 2011) ส่วนกรณีสายพันธุ์ของสุนัขป่วยที่อยู่ในการศึกษาครั้งนี้ ยังไม่สามารถสรุปได้ถึงความสัมพันธ์ของสายพันธุ์สุนัขกับการติดเชื้อ *E. canis* หรือ *A. platys* ที่ร่วมกับการแสดงภาวะ

uveitis เนื่องจากสุนัขแต่ละสายพันธุ์มีหลากหลาย และจำนวนน้อยไม่เพียงพอต่อการสรุปผล

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีการะบาดของยูเวียอักเสบของสุนัขในประเทศไทยส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อ *E. canis* และ *A. platys* โดย *E. canis* เป็นเชื้อที่ก่อโรคชนิดหลักที่ทำให้สุนัขแสดงอาการยูเวียส่วนหน้าหรือยูเวียส่วนหลังอักเสบในอัตราส่วนใกล้เคียงกัน การตรวจเลือดเพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อด้วยวิธี nested-PCR ร่วมกับการวิเคราะห์ความเหมือนของลำดับเบสให้ความไว ความจำเพาะ และความน่าเชื่อถือมากกว่าการตรวจหาเชื้อจากแผ่นฟิล์มโลหิต

กิตติกรรมประกาศ

ทางคณะผู้ศึกษาขอขอบคุณเจ้าของสุนัขที่ให้ความร่วมมือในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Azevedo, S. S., D. M. Aguiar, S. F. Aquino, R.C. Orlandelli, A. R. F. Fernandes, and I. C. P. Uchôa. 2011. Seroprevalence and risk factors associated to *Ehrlichia canis* in dogs from the semiarid of Paraíba State, Northeastern Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 48: 14-18. (In Portuguese)
- Bakken, J. S., and J. S. Dumler. 2000. Human granulocytic ehrlichiosis. *Clin. Infect. Dis.* 31: 554-560.
- Buller, R. S., M. Arens, S. P. Hmiel, C. D. Paddock, J. W. Sumner, Y. Rikhisa, A. Unver, M. Gaudreault-Keener, F. A. Manian, A. M. Liddell, N. Schmulewitz, and G. A. Storch. 1999. *Ehrlichia ewingii*,

- a newly recognized agent of human ehrlichiosis. N. Engl. J. Med. 341: 148-155.
- Donatien A, A. Lestoquard. 1935. Existence en Algerie d'une rikettsia du chien. Bull. Soc. Pathol. Exot. 28: 418-419.
- Dumler, J. S., A. F. Barbet, C. P. J. Bekker, G. A. Dasch, G. H. Palmer, S. C. Ray, Y. Rikihisa, and F. R. Rurangirwa. 2001. Reorganization of genera in the Families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales; unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia*, and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*; description of six new species combinations; and designation of *Ehrlichia equi* and "HGE agent" as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophilum*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51: 2145-2165.
- Dumler, J. S. 2005. *Anaplasma* and *Ehrlichia* infection. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1063: 361-373.
- Ewing, S. A. 1963. Observations on leukocytic inclusion bodies from dogs infected with *Babesia canis*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 143: 503-506.
- Glaze, M. B., and S. D. Gaunt. 1986. Uveitis associated with *Ehrlichia platys* infection in dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 188: 916-917.
- Groves, M. G., G. L. Dennis, H. L. Amyx, and D. L. Huxsoll. 1975. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). Am. J. Vet. Res. 36: 937-940.
- Guedes, P. E. B., T. N. de A. Oliveira, F. S. Carvalho, R. S. A. Carlos, G. R. Albuquerque, A. D. Munhoz, A. A. Wenceslau, and F. L. Silva. 2015. Canine ehrlichiosis: prevalence and epidemiology in northeast Brazil. Braz. J. Vet. Parasitol. 24: 115-121.
- Harrus, S., T. Waner, H. Bark, F. Jongejan, and A. Cornelissen. 1999. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 37: 2745-2749.
- Jittapalapong, S., and S. Tipsawake. 1991. Survey of blood protozoa and blood parasites of pet dogs in Samut-Prakan Province. Kasetsart J. (Natural Science). 25: 75-82.
- Konto, M., S. M. Tukur, M. Watanabe, P. A. M. Abd-Rani, R. S. K. Sharma, L. S. Fong, and M. Watanabe. 2017. Molecular and serological prevalence of *Anaplasma* and *Ehrlichia* sp. among stray dogs in East Malaysia. Trop. Biomed. 34: 570-575.
- Laummaunwai, P., P. Sriraj, R. Aukkanimart, T. Boonmars, S. Boonjaraspinyo, S. Sangmaneedet, P. Potchimplee, P. Khianman, and W. Maleewong. 2014. Molecular detection and treatment of tick-borne pathogens in domestic dogs

- in Khon Kaen, northeastern Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 45:1157-1166.
- Lauzi, S., J. P. Maia, S. Epis, R. Marcos, C. Pereira, C. Luzzago, M. Santos, P. Puente-Payo, A. Giordano, M. Pajoro, G. Sironi, and A. Faustino. 2016. Molecular detection of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis* and *Rickettsia monacensis* in dogs from Maio Island of Cape Verde Archipelago. Ticks Tick Borne. Dis. 7: 964-969.
- Leiva, M., C. Naranjo, and M. T. Peña. 2005. Ocular signs of canine monocytic ehrlichiosis: A retrospective study in dogs from Barcelona Spain. Vet. Ophthalmol. 8: 387-393.
- Paulino, P. G., M. S. Pires, C. B. da Silva, M. Peckle, R. L. da Costa, G. V. Vitari, J. A. R. Vilela, A. P. M. de Abreu, C. L. Massard, and H. A. Santos. 2018. Epidemiology of *Ehrlichia canis* in healthy dogs from the Southeastern region of the state of Rio de Janeiro, Brazil Prev. Vet. Med.159: 135-142.
- Pérez-Macchi, S., R. Pedrozo, P. Bittencourt, and A. Müllera. 2019. Prevalence, molecular characterization and risk factor analysis of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in domestic dogs from Paraguay. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 62: 31-39.
- Pinyoowong, D., S. Jittapalapong, F. Suksawat, R. W. Stich, and A. Thamchiapenat. 2008. Molecular characterization of Thai *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* strains detected in dogs. Infect. Genet. Evol. 8: 433-438.
- Saeng-Chuto, K., A. Thayanunphat, N. Sritrakoon, and B. Nimsuphan. 2016. Thrombocytopenia and anemia related to retinal detachment in dogs infected with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys*. Trop. Biomed. 33: 519-525.
- Sambrook, J., and D. W. Russell. 2001. Molecular cloning. In: A laboratory manual. 3rd ed. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.
- Sangmaneeat, S., P. Kanbutra, and S. Viriyametharoj. 2002. Prevalence of blood parasites in dogs examined at the KKU-Veterinary Teaching Hospital during 1994-2001. KKU. Vet. J. 12: 1-7. (in Thai)
- Suksawat, J., Y. Xuejie, S. I. Hancock, B. C. Hegarty, P. Nilkumhang, and E. B. Breitschwerdt. 2001. Serologic and molecular evidence of co-infection with multiple vector-borne pathogens in dog from Thailand. J. Vet. Intern. Med. 15: 453-462.

