



ความชุกทางซีรัมวิทยาต่อ *Encephalitozoon cuniculi*

ในกระต่ายสวยงาม ณ โรงพยาบาลสัตว์ และกระต่ายเนื้อ ณ โรงฆ่าในประเทศไทย

สิริลักษณ์ จาละ¹ พรชัย สัตยฐิติเสรี² ปรีดา เลิศวัชรสารกุล^{3,4} และอรรณวิทย์ โกวิทวิท^{5,*}

¹ศูนย์วิจัยและบริการวิชาการทางสัตวแพทย์; ²ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์ใหญ่และสัตว์ป่า; ³ภาควิชาพยาธิวิทยา, คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140; ⁴ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวง กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10900; ⁵ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ: การแพร่ระบาดของเชื้อ *Encephalitozoon cuniculi* (*E. cuniculi*) ได้รายงานทั้งในกระต่ายสวยงามและเนื้อในหลายประเทศ ดังนั้นการสำรวจนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาความชุกและปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อแอนติบอดีของเชื้อ *E. cuniculi* ทางซีรัมวิทยาในกระต่ายสวยงามที่เข้ารับการรักษาน ณ โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระหว่างปี 2560 ถึง 2564 (n=288) และกระต่ายเนื้อที่ได้เข้าฆ่า ณ โรงฆ่ากระต่าย จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือน มิถุนายน ถึง สิงหาคม ในปี 2563 (n=142) การตรวจหาแอนติบอดีในซีรัมต่อเชื้อ *E. cuniculi* ใช้การตรวจด้วยเทคนิค ELISA จากชุดทดสอบในรูปการค้า ผลการสำรวจพบว่าความชุกของเชื้อที่ศึกษาในกระต่ายสวยงามและเนื้ออยู่ที่ร้อยละ 67.1 และ 70.4 ตามลำดับ ความแตกต่างของเพศ ช่วงอายุ และการแสดงอาการทางคลินิกไม่มีความสัมพันธ์ต่อการพบผลบวกจากการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* สำหรับกระต่ายสวยงาม ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามฟาร์มกระต่ายเนื้อในพื้นที่จังหวัดสุโขทัย กาญจนบุรี เพชรบุรี และราชบุรีที่ได้ส่งกระต่ายเนื้อเข้าฆ่าในโรงฆ่าที่ได้ดำเนินการศึกษามีความชุกที่ต่างกันที่ร้อยละ 81.3 78.0 64.0 และ 30.0 ตามลำดับ โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.01$) จากผลการสำรวจนี้พบว่าความชุกของแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* มีค่าค่อนข้างสูงในประเทศไทย ดังนั้นมาตรการควบคุมและป้องกันที่เหมาะสมควรดำเนินการเพื่อลดความชุกดังกล่าว พร้อมกับการสำรวจความชุกอย่างต่อเนื่องเพื่อประเมินสถานการณ์และเป็นข้อมูลเพื่อใช้ในการวางแผนต่อไป

คำสำคัญ: กระต่ายเนื้อ กระต่ายสวยงาม *Encephalitozoon cuniculi* ความชุก ประเทศไทย

*ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหานครสาร. 2565. 17(1): 79-90.

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

Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in Pet Rabbits at Animal Hospitals and Meat Rabbits at Slaughterhouse in Thailand

Siriluk Jala¹, Pornchai Sanyathitiseree², Preeda Lertwatcharasarakul^{3,4}, and Attawit Kovitvadhi^{5,#}

¹Kamphaeng Saen Veterinary Diagnosis Center; ²Department of Large Animal and Wildlife Clinical Sciences;

³Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140 Thailand; ⁴Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/MHESI), Bangkok 10900, Thailand;

⁵Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University Bangkok 10900 Thailand

Abstract: In numerous countries, an epidemic of *Encephalitozoon cuniculi* (*E. cuniculi*) has been recorded in pet and meat rabbits. Therefore, the goal of this survey is to look into the seroprevalence and influencing factors of *E. cuniculi* antibodies in pet rabbits from Kasetsart University Veterinary Teaching Hospital during 2017-2021 (n=288) and meat rabbits from a slaughterhouse in Kanchanaburi province (n=142) between June and August 2020. An ELISA commercial test kit was used to detect antibodies against *E. cuniculi*. According to the findings of this study, *E. cuniculi* seroprevalence in pet and meat rabbits was 67.1 and 70.4%, respectively. The presence of antibodies against *E. cuniculi* in pet rabbits did not correspond with sex, age, or clinical symptoms ($P>0.05$). Meat rabbit farms in Sukhothai, Kanchanaburi, Phetchaburi, and Ratchaburi provinces, which send meat rabbits to the examined slaughterhouse, had seroprevalences of 81.3, 78.0, 64.0, and 30.0, respectively. There was statistically significant seroprevalence between these provinces ($P=0.01$). According to the findings, Thailand has a significant seroprevalence of *E. cuniculi*. As a result, a control and preventive program might be implemented in order to reduce the prevalence. Furthermore, the seroprevalence research might be extended in order to evaluate the situation and collect data for future planning.

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

#Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2022 17(1): 79-90.

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

บทนำ

กระต่ายเป็นหนึ่งในสัตว์เศรษฐกิจที่มีแนวโน้มความต้องการสูงขึ้น ทั้งส่วนของการเลี้ยงเป็นสัตว์เลี้ยง การเลี้ยงเพื่อการบริโภค และและการเลี้ยงเพื่อใช้เป็นสัตว์ทดลองทางวิทยาศาสตร์ (Kovitvadhi *et al.*, 2019) โรค Encephalitozoonosis เป็นโรคติดเชื้อที่สำคัญใน

กระต่ายที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อ *Encephalitozoon cuniculi* ที่จัดเป็น microsporidian parasite เป็นโปรโตซัวในกลุ่ม Microsporidia อาศัยอยู่ในเซลล์แบบถาวร กระต่ายสามารถติดเชื้อนี้จากการได้รับสปอร์ที่ปนเปื้อนกับสิ่งแวดล้อมจากอุจจาระและปัสสาวะของกระต่ายที่ติดเชื้อ เชื้อมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม พบการติดเชื้อ

ได้ในสัตว์หลายชนิด รวมถึงมีการตรวจพบในมนุษย์ที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยกระต่ายจะพบว่าเป็นสัตว์ที่มีการติดเชื้อมากที่สุด (Pellett, 2016) กระต่ายที่ติดเชื้อสามารถพบอาการทางคลินิกดังต่อไปนี้ อาการทางระบบประสาท เช่น ชัก (Seizure) อัมพาต (Paresis) คอเอียง (Head tilt) ภาวะกล้ามเนื้อเสียสภาวะ (Ataxia) หมุนเป็นวงกลม (Circling) เป็นต้น อาการที่เกี่ยวข้องกับการทำงานล้มเหลวของไต (Renal failure) เช่น ภาวะปัสสาวะมาก (Polyuria) ดื่มน้ำมาก (Polydipsia) ปัสสาวะบ่อย (Pollakiuria) เป็นต้น (La'Toya et al., 2014; Pellett 2016; Künzel and Fisher, 2018) นอกจากนี้ยังอาจพบการอักเสบของตา ตาเป็นต้อซึ่งอาจพบอาการเพียงระบบเดียวหรือหลายอาการรวมกัน อย่างไรก็ตามการติดเชื้อส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการทางคลินิก (Lertwatcharasarakul et al., 2011; Intachat et al. 2017) ดังนั้นจึงต้องใช้วิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการติดเชื้อหรือตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อโรค จากรายงานพบว่าวิธีการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันด้วยวิธีทางซีรัมวิทยา เป็นวิธีการที่มีบทบาทสูงในการนำมาช่วยในการตรวจวินิจฉัยโรคในสัตว์ป่วยที่ยังมีชีวิต เนื่องจากพบว่ามีความแม่นยำในการตรวจไม่แตกต่างกันกับวิธีการตรวจอื่นๆ เทคนิคทางด้านซีรัมวิทยาที่มีการนำมาใช้ประกอบไปด้วย Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Indirect immunofluorescent assay (IFA) และ Carbon immunoassay (CIA) (La'Toya et al., 2014; Pellett 2016; Künzel and Fisher, 2018) แต่เทคนิคที่นิยมนำมาใช้จะเป็นเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เนื่องจากสะดวก ตรวจได้ครั้งละจำนวนมาก และมีชุดตรวจในรูปแบบการค้า

จากรายงานการสำรวจทางซีรัมวิทยาของแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ในกระต่ายสวยงามและเนื้อพบว่ามีความชุกที่แตกต่างกันในแต่ละประเทศที่ได้ดำเนินการสำรวจ (Keeble and Shaw, 2006;

Dipineto et al., 2008; Igarashi et al., 2008; Okewole, 2008; Valencakova et al., 2008; Santaniello et al., 2009; Ashmawy et al., 2011; Tee et al., 2011; Lonardi et al., 2013; Hein et al., 2014; Neumayerová et al., 2014; Baldotto et al., 2015; Meng et al., 2015; Yaoqian et al., 2015; Lavazza et al., 2016; Wang et al., 2018; Sadeghi-Dehkordi et al., 2019; Javadzade et al., 2021) ส่วนประเทศไทยเคยมีการศึกษาความชุกทางซีรัมวิทยาของแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ณ โรงฆ่ากระต่ายเนื้อในจังหวัดกาญจนบุรี ในปี พ.ศ. 2560 โดยมีความชุกที่ร้อยละ 42.4 (Intachat et al., 2017)

การติดเชื้อโปรโตซัวชนิดนี้ส่งผลต่อสุขภาพของกระต่ายโดยตรง และมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อในมนุษย์ที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องและเป็นแหล่งแพร่เชื้อไปในสัตว์ชนิดอื่นๆ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อหาความชุกและปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อซีรัมวิทยาต่อแอนติบอดีของเชื้อ *E. cuniculi* ในกระต่ายสวยงามที่เข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และซีรัมกระต่ายเนื้อที่ได้เข้าฆ่าจากฟาร์มกระต่ายในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี และสุโขทัย เพื่อให้ทราบสถานการณ์ของโรคนี้และใช้เป็นข้อมูลที่จะใช้ในการวางแผนมาตรการในการควบคุมป้องกันโรคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มประชากรที่ศึกษา การสุ่ม และการคำนวณขนาดตัวอย่าง

การศึกษาค้นคว้านี้มีกลุ่มประชากรสองกลุ่มประชากรโดยกลุ่มประชากรแรกคือ กระต่ายสวยงามที่เข้ารับบริการ ณ โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทั้ง 2 แห่ง ประกอบได้ บางเขน และกำแพงแสน และถูกนายสัตวแพทย์เก็บตัวอย่างซีรัมเพื่อส่งตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ณ หน่วยงาน

ชั้นสูตรโรคสัตว์กำแพงแสน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ตัวอย่างที่ได้รับมาทั้งหมด จำนวน 288 ตัวอย่าง ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2564 โดยมี จำนวนตัวอย่างในปี พ.ศ. 2560 2561 2563 และ 2564 จำนวน 54 84 80 และ 59 ตัวอย่าง ตามลำดับ เนื่องจาก หน่วยงานไม่ได้เก็บรักษาตัวอย่างที่ส่งในปี พ.ศ. 2562 จึง ไม่มีข้อมูลในปีดังกล่าว นอกจากนี้ได้เก็บข้อมูลของ กระจายที่ส่งเข้ามาตรวจประกอบด้วย เพศ อายุ และ อาการทางคลินิกที่แสดง

สำหรับกลุ่มประชากรที่สองเป็นตัวอย่างจากโรง ฆ่ากระจายในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรีที่รับกระจายมาจาก พื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี สุโขทัย และเพชรบุรี รวม จำนวน 142 ตัวอย่าง ซึ่งดำเนินการสุ่มเก็บชิริมด้วยการ สุ่มอย่างมีระบบ (Systematic random sampling) โดย กระจายทุกตัวไม่พบอาการทางคลินิกที่ผิดปกติ การศึกษาเก็บตัวอย่างระหว่างเดือน มิถุนายน ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2563 (3 เดือน) ระหว่างการเก็บตัวอย่าง มีกระจายเข้าโรงฆ่าทั้งหมด 220 ตัว โดยกำหนดความ เชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($Z=1.96$) ระดับนัยสำคัญที่ใช้เป็น เกณฑ์ในการตัดสินใจที่ 0.05 (Confidence level) และ ความชุกของแอนติบอดีเชื้อ *E. cuniculi* ณ โรงฆ่า กระจายเนื้อ ตามรายงานของ Intachat et al. (2017) ที่ร้อยละ 42.4 จากข้อมูลดังกล่าวทำให้สามารถคำนวณ ขนาดตัวอย่างได้ที่ 139 ตัวอย่าง ได้ดำเนินการสัมภาษณ์ เจ้าของโรงฆ่ากระจายเนื้อต่อฟาร์มกระจายที่รับมาด้วย วิธีการสัมภาษณ์แบบกึ่งโครงสร้าง (Semi-structured interview) เพื่อสอบถามข้อมูลพื้นฐานและการจัดการ การทดลองนี้ได้รับอนุญาตและดำเนินการตามภายใต้การ ควบคุมจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ACKU64-VET-062)

การเก็บและเตรียมตัวอย่างชิริม

สำหรับกระจายสวยงามจากโรงพยาบาลสัตว์ถูก เก็บเลือดจาก Marginal ear vein ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ส่วนกระจายจากโรงฆ่าจะเก็บตัวอย่างเลือดปริมาตร 3 มิลลิลิตร ระหว่างกระบวนการฆ่า เลือดทั้งหมดถูกเก็บ รักษาในหลอดเก็บเลือดปลอดเชื้อ จากนั้นบ่มที่ อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 30 นาที แล้วเก็บรักษาในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อถึง ห้องปฏิบัติการจะดำเนินการปั่นแยกเพื่อเอาชิริม โดยปั่น เหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสด้านบนและนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจหาแอนติบอดีต่อไป

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* การ คำนวณ และแปลผล

นำชิริมกระจายที่เก็บรักษาไว้ มาตรวจด้วยชุด ตรวจสอบ *Encephalitozoon cuniculi* ELISA test kit (XpressBio, USA) โดยเจือจางในอัตรา 1:50 ปริมาณ 100 ไมโครลิตรลงในหลุม Positive Viral Antigen และ หลุม Negative control antigen บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นล้างด้วยเครื่อง ELISA WASHER (Tecan, Switzerland) จำนวน 5 รอบ เติม Peroxidase Conjugate ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ต่อหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นล้างด้วยเครื่อง ELISA WASHER (Tecan, Switzerland) จำนวน 5 รอบ เติม ABTS Peroxidase substrate จำนวน 100 ไมโครลิตร นำไป บ่มที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที เติม Stop solution จำนวน 25 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง ELISA reader (Tecan, Switzerland) การแปลผล นำ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุม Positive Viral Antigen และ หลุม Negative control antigen มาลบกัน โดย ตัวควบคุมลบ (Negative control) และ ตัวควบคุมบวก (Positive control) ต้องมีค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่า หรือเท่ากับ 0.25 และมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าหรือ เท่ากับ 0.6 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่าง เมื่อนำค่าดูดกลืน แสงของหลุม Positive Viral Antigen และ หลุม

Negative control antigen มาลบกันแล้วมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าหรือเท่ากับ 0.3 ถือว่าผลเป็นบวก หากน้อยกว่า 0.3 ผลถือเป็นลบ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ต่อปัจจัยที่ได้ดำเนินการศึกษาด้วยวิธี Chi-square test หากข้อมูลไม่เป็นไปตามเงื่อนไขของการใช้ Chi-square test จะใช้วิธี Fisher's exact test ในการวิเคราะห์แทน การวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม R-statistic ภายใต้อ R-studio version 2021.09.0+351 ร่วมกับ Package FunChisq (R Development Core Team, 2008) และกำหนดค่ายอมรับนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

ผลและวิจารณ์การทดลอง

ผลตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* จากตัวอย่างซีรัมจากกระต่ายสวยงามที่เข้ารับบริการที่โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปัจจัยที่แตกต่างกันได้นำเสนอในตารางที่ 1 จากการวิเคราะห์ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างผลตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* และปัจจัยที่ได้ดำเนินการศึกษาดังกล่าวไปนี้ ปีที่ดำเนินการเก็บตัวอย่าง ($X^2=1.289$, $P=0.73$) เพศ ($X^2=0.051$, $P=0.82$) และช่วงอายุ ($P=0.66$) จากข้อมูลทั้งหมดที่ศึกษามีความชุกของแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ที่ร้อยละ 67.1

มีรายการการสำรวจความชุกทางซีรัมวิทยาของเชื้อ *E. cuniculi* โดยพบว่ามีความชุกแตกต่างกันในแต่ละประเทศจากมากไปน้อยดังนี้ ประเทศบราซิล (ร้อยละ 81.7; Baldotto et al., 2015) ไต้หวัน (ร้อยละ 67.8; Tee et al., 2011) อิตาลีตอนใต้ (ร้อยละ 67.2; Dipineto et al., 2008) ญี่ปุ่น (ร้อยละ 63.5; Igarashi et al., 2008) อิตาลีตอนเหนือ (ร้อยละ 59.6; Lavazza et al., 2016)

อังกฤษ (ร้อยละ 52.0; Keeble and Shaw, 2006) เยอรมันตอนใต้ (ร้อยละ 43.5; Hein et al., 2014) เกาหลีใต้ (ร้อยละ 22.6; Valencakova et al., 2008) และจีน (ร้อยละ 18.76; Yaoqian et al., 2015) ตามลำดับ ส่วนความชุกจากการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *E. cuniculi* จากตัวอย่างเนื้อเยื่อสมองหรือปัสสาวะอยู่ที่ร้อยละ 59.6 (Sadeghi-Dehkordi et al., 2019) และ 32 (Javadzade et al., 2021) ในประเทศอิหร่าน ระดับความชุกของเชื้อที่รายงานในการศึกษานี้อยู่ที่ร้อยละ 67.1 ซึ่งถือว่ามีความสูงเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานข้างต้น ซึ่งความชุกที่แตกต่างกันคาดว่าเป็นมาจากการแตกต่างของการระบาดของเชื้อ ดังนั้นการระบาดของเชื้อ *E. cuniculi* ในกระต่ายสวยงามในประเทศไทยถือว่ามีความสูงและไม่ได้เปลี่ยนแปลงระหว่างช่วงปีที่ได้ดำเนินการศึกษาดังนั้นมาตรการป้องกันและรักษาควรดำเนินการเพื่อลดความชุกของโรคให้ลดลงในประเทศไทย อย่างไรก็ตามการตรวจทางซีรัมวิทยาข้างต้นนั้นตรวจหาที่ Immunoglobulin G ทำให้ไม่สามารถแยกแยะว่าสัตว์อยู่ในระยะที่ติดเชื้อเริ่มต้นหรือเป็นการติดเชื้อที่ผ่านมานานแล้ว ดังนั้นการตรวจหา Immunoglobulin M จะช่วยบ่งชี้ถึงระยะการติดเชื้อเริ่มต้นได้ (Neumayerová et al., 2014) ซึ่งจะได้ทราบถึงรูปแบบการระบาดของเชื้อได้แม่นยำกว่า

เพศไม่ใช่อปัจจัยที่ส่งผลให้พบผลบวกต่อเชื้อ *E. cuniculi* ทางซีรัมวิทยาทั้งในกระต่ายสวยงาม (Keeble and Shaw, 2006; Dipineto et al., 2008; Tee et al., 2011; Shin et al., 2014; Baldotto et al., 2015; Hein et al., 2014) และกระต่ายเนื้อที่เพาะเลี้ยงในฟาร์มรูปแบบการค้า (Okewole, 2008; Abu-Akkada et al., 2015; Meng et al., 2015; Morsy et al., 2020) ซึ่งการศึกษานี้ก็ได้ผลในทิศทางเดียวกัน ยกเว้นรายงานของ Wang et al. (2018) จากฟาร์มกระต่ายเนื้อในประเทศจีนที่พบผลบวกต่อเชื้อ *E. cuniculi* ทางซีรัมวิทยาในกระต่ายเพศเมียมากกว่าเพศผู้ แต่ยังไม่สามารถหาข้ออธิบายได้

Table 1 Serological testing results of *Encephalitozoon cuniculi* based on ELISA according to collecting year, sex, age, and health status in pet rabbits from animal hospitals.

Parameters	n	No. Positive	% of Positive	P-value	Test statistic
Collecting year					
2017	54	35	64.8	0.73	$\chi^2=1.289$
2018	84	57	67.9		
2020	80	57	71.3		
2021	59	37	62.7		
Sex					
Male	167	113	67.7	0.82	$\chi^2=0.051$
Female	110	73	66.4		
Age					
<1 year old	14	12	85.7	0.66	Fisher's exact test
1-4 years old	49	42	85.7		
>4 years old	164	132	80.5		
Health status					
Clinical signs relating to <i>E.cuniculi</i> infection					
Relate ¹	84	54	64.3	0.78	$\chi^2=0.502$
Did not relate ²	33	22	66.7		
Asymptomatic	160	110	68.8		
Total	277	186	67.1		

¹Related clinical signs including head tilt, ataxia, tremors, paralysis, cataracts, uveitis and renal signs.

²Did not relate clinical signs including rabbits without the clinical signs on head tilt, ataxia, tremors, paralysis, cataracts, uveitis and renal signs which related to *E.cuniculi* infection.

อายุของสัตว์ถือว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสัมพันธ์ต่อการพบผลบวกต่อเชื้อ *E. cuniculi* ทางซีรัมวิทยาโดยกระต่ายที่อายุมากกว่า 4 เดือนจะมีโอกาสพบผลบวกต่อเชื้อ *E. cuniculi* ทางซีรัมวิทยา มากกว่ากระต่ายที่อายุน้อยกว่า 4 เดือน โดยพบลักษณะดังกล่าวทั้งในกระต่ายสวยงาม (Dipineto et al., 2008; Tee et al., ; Hein et al., 2014; Lavazza et al., 2016) และกระต่ายเนื้อ (Santaniello et al., 2009; Lonardi et al., ; Meng et al., 2015; Wang et al., 2018) ซึ่งอาจจะเป็นมาจากสัตว์ที่ติดเชื้อส่วนใหญ่ถ้าเป็นกระต่ายเต็มวัยจะไม่เสียชีวิตจากการติดเชื้อทำให้ยังสามารถแพร่เชื้อต่อไปได้ แตกต่างจาก

กระต่ายอายุน้อยที่จะมีโอกาสเสียชีวิตได้มากกว่า (Morsy et al., 2020) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่พบว่าปัจจัยด้านอายุส่งผลต่อการพบเชื้อในลักษณะเดียวกันกับการวิจัยที่ได้รายงานในก่อนหน้านี้ (Keeble and Shaw, 2006; Shin et al., 2014; Baldotto et al., 2015) ซึ่งคาดว่ากลุ่มตัวอย่างในการศึกษานี้ไม่ได้แบ่งกลุ่มกระต่ายอายุน้อยที่ 4 เดือนดังเช่นงานวิจัยอื่น เนื่องจากกลุ่มประชากรที่ศึกษามีจำนวนกระต่ายที่อายุน้อยกว่า 4 เดือนน้อยและไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้ โดยการเก็บตัวอย่างกระต่ายสวยงามที่อายุน้อยกว่า 4 เดือนได้มากขึ้นจะสามารถนำมาวิเคราะห์ดังการสำรวจอื่นได้

Table 2 Serological testing results of *Encephalitozoon cuniculi* based on ELISA in pet rabbits with clinical signs relating to the infection from animal hospitals.

Parameters	n	No. Positive	% of Positive	P-value	Test statistic
Clinical signs relating to <i>E.cuniculi</i> infection					
Only one clinical sign	63	41	65.0	0.79	$\chi^2=0.069$
More than one clinical sign	21	13	61.9		
Neurological signs (Tremors or paralysis) and Vestibular signs (Head tilt or ataxia)					
Present	63	40	63.5	0.68	$\chi^2=0.175$
Absence	98	59	60.2		
Renal signs					
Present	6	5	83.3	0.39	Fisher's exact test
Absence	49	29	59.2		
Ocular lesions (Cataracts or uveitis)					
Present	26	19	73.1	0.26	$\chi^2=1.268$
Absence	58	35	60.3		

ผลตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* จากตัวอย่างซีรัมจากกระต่ายสวยงามที่เข้ารับบริการที่โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ต่อการแสดงอาการทางคลินิกได้นำเสนอในตารางที่ 1 และ 2 ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงอาการทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ *E. cuniculi* กับการได้ผลบวกจากชุดตรวจ ($\chi^2=0.502$, $P=0.78$) นอกจากนี้การแสดงอาการทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ *E. cuniculi* เพียงอาการเดียวหรือมากกว่าหนึ่งอาการไม่มีความสัมพันธ์กับการพบแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ($\chi^2=0.069$, $P=0.79$) เช่นเดียวกับการตรวจพบแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ไม่มีความสัมพันธ์กับการแสดงอาการในระบบประสาท ($\chi^2=0.175$, $P=0.68$) ระบบไตและปัสสาวะ ($P=0.39$) และระบบการมองเห็น ($\chi^2=1.268$, $P=0.26$)

การแสดงอาการทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ *E. cuniculi* เป็นปัจจัยสำคัญที่พบแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* จากการตัวอย่างซีรัม (Ashmawy et al., 2011; Hein et al., 2014; Lavazza et al., 2016) การ

แสดงอาการในทางระบบประสาท (Tee et al., 2011; Baldotto et al., 2015; Lavazza et al., 2016; Morsy et al., 2020) Vestibular sign (Lavazza et al., 2016) และ รอยโรคที่ตา (Baldotto et al., 2015) มีความสัมพันธ์กับการพบแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* จากตัวอย่างซีรัม เหตุดังกล่าวเป็นไปตามพยาธิวิทยาของเชื้อเมื่อมีการติดเชื้อจะเข้าไปก่อโรคที่เนื้อเยื่อสมองและตาส่งผลให้เกิดรอยโรคดังกล่าวเป็นหลัก (Künzel and Fisher, 2018) อย่างไรก็ตามมีหลายงานวิจัยที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยดังกล่าวรวมทั้งการศึกษานี้ (Keeble and Shaw, 2006; Dipineto et al., 2008; Igarashi et al., 2008; Shin et al., 2014; Javadzade et al., 2021) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากระต่ายที่ไม่แสดงอาการพบเชื้อมากกว่ากระต่ายที่แสดงอาการ (Baldotto et al., 2015) เหตุดังกล่าวคาดว่าเป็นมาจากการที่การติดเชื้อส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการทางคลินิกในกลุ่มประชากรที่ศึกษาตามรายงานดังกล่าว ซึ่งเป็นลักษณะที่พบได้มากในการติดเชื้อ *E. cuniculi* ที่ไม่แสดงอาการ (Künzel and Fisher, 2018) จึงส่งผลให้การแปร

ผลมีความแตกต่างกันระหว่างการสำรวจ ดังนั้นการใช้ชุดตรวจจะช่วยให้มีการตรวจพบเชื้อและยืนยันได้ถูกต้องมากกว่าการสังเกตอาการทางคลินิกเพียงอย่างเดียว

ผลตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* จากตัวอย่างซีรัมจากกระต่ายเนื้อที่เข้าฆ่า ณ โรงฆ่าสัตว์ที่รับกระต่ายมาจากฟาร์มกระต่ายในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี สุโขทัย และเพชรบุรีในปี พ.ศ. 2563 ได้นำเสนอในตารางที่ 3 จากผลการสำรวจพบความชุกของแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ในกระต่ายเนื้ออยู่ที่ร้อยละ 70.4 โดยพบว่ากระต่ายเนื้อที่เข้าโรงฆ่าจากฟาร์มในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี สุโขทัย และเพชรบุรีมีผลบวกของแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* สูงกว่าจังหวัดราชบุรี โดยพบความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* และพื้นที่จังหวัดที่ได้ดำเนินการเก็บตัวอย่าง ($P=0.01$)

รายงานความชุกทางซีรัมวิทยาของเชื้อ *E. cuniculi* จากกระต่ายเนื้อมีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศจากมากไปน้อยดังนี้ อิตาลีตอนเหนือ (ร้อยละ 75.4; Lonardi et al., 2013) สาธารณรัฐเช็ก (ร้อยละ 35.6; Neumayerová et al., 2014) อิตาลี (ร้อยละ 31.6; Santaniello et al., 2009) ตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศจีน (ร้อยละ 21.9; Meng et al., 2015) ไนจีเรีย (ร้อยละ 16.5; Okewole, 2008) อียิปต์ (ร้อยละ 15.0; Ashmawy et al., 2011) และมณฑลเหอหนานประเทศจีน (ร้อยละ 10.6; Wang et al., 2018) ตามลำดับ ส่วนประเทศไทยเคยมีการศึกษาความชุก ณ โรงฆ่ากระต่ายเนื้อ จังหวัดกาญจนบุรี ในปี พ.ศ. 2560 พบที่ร้อยละ 42.4 (Intachat et al., 2017) โดยการศึกษาในปี พ.ศ. 2563 พบว่ามีความชุกสูงขึ้นมากอยู่ที่ร้อยละ 70.4 ซึ่งจังหวัดที่มีค่าสูง ได้แก่ กาญจนบุรี สุโขทัย และเพชรบุรี (ร้อยละ 64.0-81.3) ซึ่งมีค่าสูงใกล้เคียงกับเครือข่ายจังหวัดเพชรบุรีร้อยละ 71.9 ที่มีการระบาดของเชื้อสูงเมื่อปี พ.ศ. 2560 (Intachat et al., 2017) นอกจากนี้ความชุกในจังหวัดราชบุรีใน

การศึกษานี้มีค่าต่ำที่ร้อยละ 30.0 ใกล้เคียงกับเครือข่ายจังหวัดกาญจนบุรีและราชบุรีที่เคยรายงานในประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ. 2560 ที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อต่ำที่ร้อยละ 20.0 (Intachat et al., 2017) ดังนั้นต้องมีปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงความชุกของเชื้อที่เปลี่ยนแปลงไปจากรายงานก่อนหน้า

ความแตกต่างของความชุกระหว่างพื้นที่เพาะเลี้ยงมีความแตกต่างกันในการศึกษานี้และรายงานการสำรวจในประเทศไทย (Intachat et al., 2017) และประเทศอื่น (Abu-Akkada et al., 2015; Meng et al., 2015; Wang et al., 2018) ซึ่งเป็นผลมาจากการเคลื่อนย้ายกระต่ายระหว่างเครือข่ายการผลิตที่เป็นช่องทางการแพร่ระบาดของเชื้อ โดยเชื่อดังกล่าวสามารถติดต่อจากการได้รับสปอร์ที่ปนเปื้อนทางปัสสาวะและสามารถเข้าสู่ทางปากหรือตาได้ (Künzel and Fisher, 2018) จากข้อมูลการศึกษาเครือข่ายกระต่ายเนื้อในประเทศไทยสามารถมาใช้วิเคราะห์ได้ (Kovitvadhii et al., 2019) ความชุกที่สูงในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรีน่าจะเป็นมาจากฟาร์มกระต่ายเนื้อและโรงฆ่าเป็นที่เดียวกัน พร้อมทั้งเป็นศูนย์รวมของเครือข่าย ทำให้มีโอกาสที่เชื้อเข้ามาระบาดได้โดยฟาร์มดังกล่าวไม่ได้มีระบบป้องกันทางชีวภาพทำให้เกิดการระบาดเข้ามาในฟาร์ม ฟาร์มในจังหวัดสุโขทัยเป็นฟาร์มตั้งใหม่ทำให้มีการรวบรวมกระต่ายจากหลายที่ทำให้มีโอกาสที่จะรับเชื้อจากฟาร์มอื่นๆ เข้ามาได้มากส่งผลให้ความชุกของเชื้อสูง ส่วนฟาร์มในจังหวัดเพชรบุรีมีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกับการรายงานก่อนหน้าเพราะเป็นฟาร์มขนาดเล็กจำนวนมาก ทำให้มีการเคลื่อนย้ายกระต่ายอยู่ตลอดเวลา ฟาร์มในจังหวัดราชบุรีเป็นฟาร์มขนาดใหญ่และมีการใช้กระต่ายในฟาร์มของตนเองเป็นพ่อแม่พันธุ์เป็นหลักทำให้มีโอกาสติดเชื้อมีน้อยกว่าฟาร์มอื่นๆ ในการศึกษา

ปัจจัยฤดูกาลก็ส่งผลกระทบต่อความชุกของเชื้อโดยพบว่าฤดูร้อนจะพบเชื้อมากที่สุด (Meng et al., 2015) ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีอุณหภูมิสูงตลอดปีทำให้

Table 3 Serological testing results of *Encephalitozoon cuniculi* based on ELISA in meat rabbits from slaughterhouse in 2020.

Parameters	n	No. Positive	% of Positive	P-value	Test statistic
Provinces					
Kanchanaburi	50	39	78.0	0.01	Fisher's exact test
Ratchaburi	10	3	30.0		
Sukhothai	32	26	81.3		
Phetchaburi	50	32	64.0		
Total	142	100	70.4		

ความชุกของเชื้อทั้งในกระต่ายสวยงามและเนื้อมีค่าค่อนข้างสูงกว่าประเทศอื่น การเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปมีโอกาสติดเชื้อน้อยกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารสด (Wang et al., 2018) อย่างไรก็ตามมีหลายรายงานกล่าวว่าการเสริมหญ้าสดไม่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ (Okewole, 2008; Keeble and Shaw, 2006) โดยการเลี้ยงแบบเกษตรกรรายย่อยจะพบความชุกของเชื้อมากกว่าการเลี้ยงในรูปแบบการค้าที่มีระบบป้องกันทางชีวภาพ (Neumayerová et al., 2014; Wang et al., 2018) แต่เมื่อเลี้ยงในระบบที่มีระบบป้องกันทางชีวภาพแล้วจำนวนของกระต่ายในฟาร์มไม่มีความสัมพันธ์กับการพบแอนติบอดีต่อเชื้อ (Santaniello et al., 2009; Lonardi et al., 2013) นอกจากนี้การเลี้ยงรวมกัน และการที่มีสัตว์ชนิดอื่นเข้ามาในฟาร์มส่งผลต่อความชุกที่เพิ่มมากขึ้น (Okewole, 2008) จากรายงานในประเทศอิตาลีจะพบว่าความชุกของกระต่ายในฟาร์มกระต่ายเนื้อขนาดใหญ่และสวนสัตว์มีค่ามากกว่ากระต่ายสวยงาม (Maestrini et al., 2017) แต่การศึกษานี้กลับพบว่าความชุกของเชื้อระหว่างกระต่ายเนื้อและสวยงามมีค่าใกล้เคียงกันซึ่งคาดว่ามีการเคลื่อนย้ายหรือการสัมผัสระหว่างเครือข่ายกระต่ายเนื้อและสวยงามทำให้มีความชุกใกล้เคียงกัน (Kovitvadhı et al., 2019) อย่างไรก็ตามการศึกษาโดยละเอียดควรดำเนินการเพื่อยืนยันสมมติฐานนี้ การใช้เอทานอลความเข้มข้นที่ร้อยละ 70

นาน 30 วินาที หรือ สารฟอกขาวผสมกับน้ำให้ได้ความเข้มข้นของ Sodium hypochlorite ที่ร้อยละ 0.1 นาน 7 นาที สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อ *E. cuniculi* ในสิ่งแวดล้อมได้ (Jordan et al., 2006) ส่วนการป้องกันการติดเชื้อสามารถให้ Fenbendazole ที่ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวทุกวันนาน 7 วัน จะสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ 21 วัน อย่างไรก็ตามการรักษาด้วยยาดังกล่าวในสัตว์ที่ติดเชื้ออาจจะประสบความสำเร็จหรือไม่แน่แล้วแต่กรณี (Suter et al., 2001)

สรุปผลการทดลอง

ความชุกของแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. cuniculi* ทางซีรัมวิทยาจากกระต่ายสวยงามที่เข้ารับบริการที่โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระหว่างปี พ.ศ. 2560-2564 และโรงฆ่ากระต่ายเนื้อในปี พ.ศ. 2563 มีค่าร้อยละ 67.1 และ 70.4 ตามลำดับ สำหรับกระต่ายสวยงามไม่พบว่าปีที่ผ่านมาดำเนินการเก็บตัวอย่าง เพศ ช่วงอายุ และการแสดงอาการทางคลินิกส่งผลต่อการพบผลบวกต่อเชื้อ *E. cuniculi* ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามฟาร์มกระต่ายที่ส่งกระต่ายเข้าโรงฆ่าในพื้นที่จังหวัดสุโขทัย กาญจนบุรี และเพชรบุรีมีค่าความชุกที่ร้อยละ 81.3 78.0 และ 64.0 ตามลำดับ โดยมีค่ามากกว่าพื้นที่จังหวัดราชบุรีที่มีค่าร้อยละ 30.0 ($P=0.01$) จากการสำรวจนี้พบว่าความชุก

ของเชื้อค่อนข้างสูงและใกล้เคียงกันระหว่างกระต่ายเนื้อและสวยงาม มาตรการป้องกันและควบคุมเชื้อควรดำเนินการเพื่อลดความชุกของเชื้อดังกล่าว พร้อมกับการสำรวจความชุกของเชื้ออย่างต่อเนื่องเพื่อควบคุมการระบาดของ *E. cuniculi*

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวง กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (AG-BIO/63-003-010) และศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร ภายใต้โครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (CASA129) ขอขอบคุณผู้ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างสัตว์เพื่อเก็บตัวอย่างประกอบด้วย โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เจ้าของกระต่ายและเกษตรกรผู้เพาะพันธุ์กระต่ายในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี และเพชรบุรี

เอกสารอ้างอิง

Abu-Akkada, S. S. (2015). Prophylactic and therapeutic effect of fenbendazole against *Encephalitozoon cuniculi* infection in immunosuppressed rabbits Original. Egyptian Veterinary Medical Society of Parasitology Journal. 11(1): 41-51.

Ashmawy, K. I., Abuakkada, S. S., & Awad, A. M. (2011). Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* and *Toxoplasma gondii* in farmed domestic rabbits in Egypt. Zoonoses and public health. 58(5): 357-364.

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.

Dipineto, L., Rinaldi, L., Santaniello, A., Sensale, M., Cuomo, A., Calabria, M., Menna, L.F. & Fioretti, A. (2008). Serological survey for antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits in Italy. Zoonoses and Public Health. 55(3): 173-175.

Hein, J., Flock, U., Sauter-Louis, C., & Hartmann, K. (2014). *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits in Germany: prevalence and sensitivity of antibody testing. Veterinary Record. 174(14): 350-350.

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.

Intachat, C., Jiwaganont, P., Wannasilp, S., Udompattanakorn, O., Kovitvadhi, A., Jala, S., Kawwongvan, D., Chandang, P., Lertwatcharasarakul, P., Sanyathitiseeree, P. (2017). Slaughterhouse seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in meat rabbits at central part of Thailand. Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine. 12(2): 35-45.

Javadzade, R., Rostami, A., Arabkhazaeli, F., Bahonar, A., Rahimi, H. M., & Mirjalali, H. (2021). Molecular detection and genotype identification of *E. cuniculi* from pet rabbits. Comparative Immunology,

- Microbiology and Infectious Diseases. 75: 101616.
- Jordan, C. N., DiCristina, J. A., & Lindsay, D. S. (2006). Activity of bleach, ethanol and two commercial disinfectants against spores of *Encephalitozoon cuniculi*. *Veterinary parasitology*. 136(3-4): 343-346.
- Keeble, E. J., & Shaw, D. J. (2006). Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in domestic rabbits in the United Kingdom. *Veterinary Record*. 158(16): 539-544.
- Kovitvadhi, A., Chandang, P., Tirawattanawanich, C., Kasemsuwan, S., & Rukkwamsuk, T. (2019). The study on cluster and obstacles of meat rabbit production in Thailand. *Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine*. 14(2): 115-127.
- Künzel, F., & Fisher, P. G. (2018). Clinical signs, diagnosis, and treatment of *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*. 21(1): 69-82.
- La'Toya, V. L., Bradley, C. W., & Wyre, N. R. (2014). *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits: diagnosis and optimal management. *Veterinary medicine: research and reports*. 5: 169.
- 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., Aiemsuamung, 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., Carlo D'Ascenzi & Perrucci, S. (2017). *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits: Serological screening and histopathological findings. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 50: 54-57.
- 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.
- Morsy, E. A., Salem, H. M., Khattab, M. S., Hamza, D. A., & Abuowarda, M. M. (2020). *Encephalitozoon cuniculi* infection in farmed rabbits in Egypt. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 62(1): 1-11.

- Neumayerová, H., Juránková, J., Jeklová, E., Kudláčková, H., Faldyna, M., Kovařčík, 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.
- Okewole, E. A. 2008. Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in domestic rabbits in Nigeria. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research.* 75(1): 33-38.
- Pellett, S. 2016. *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits: An overview. *Companion Animal.* 21(5): 300-305.
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Sadeghi-Dehkordi, Z., Norouzi, E., Rezaeian, H., Nourian, A., Noaman, V., & Sazmand, A. (2019). First insight into *Encephalitozoon cuniculi* infection in laboratory and pet rabbits in Iran. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases.* 65: 37-40.
- 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.
- Shin, J. C., Kim, D. G., Kim, S. H., Kim, S., & Song, K. H. (2014). Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits in Korea. *The Korean journal of parasitology.* 52(3): 321.
- Suter, C., Müller-Doblies, U. U., Deplazes, P., & Hatt, J. M. (2001). Prevention and treatment of *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits with fenbendazole. *Veterinary Record.* 148(15): 478-480.
- 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.
- Valencakova, A., Balent, P., Petrovova, E., Novotny, F., & Luptakova, L. (2008). *Encephalitozoonosis* in household pet Nederland Dwarf rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinary parasitology.* 153(3-4): 265-269.
- Wang, S., Yao, Z., Li, L., Pan, Y., Li, P., Nan, X., Qing, X. & Zhang, Z. (2018). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Encephalitozoon cuniculi* among domestic rabbits in central China. *Parasite*, 25.
- Yaoqian, P. A. N., Shuai, W. A. N. G., Xingyou, L. I. U., Ruizhen, L. I., & Yuqian, S. U. N. (2015). Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* in Humans and Rabbits in China. *Iranian journal of parasitology.* 10(2): 290.

