



Outbreak, Surveillance and Investigation Reports

Field Epidemiology Training Program, Bureau of Epidemiology
Department of Disease Control, Ministry of Public Health, Thailand

Tel: +6625901734-5, Fax: +6625918581, Email: osireditor@osirjournal.net, <http://www.osirjournal.net>

ความชุกของพยาธิในเลือดของกระบือแท้งลูกในจังหวัดนครพนม เมษายน 2554-มีนาคม 2555

ประกิจ ศรีไสย์¹ มาณวิกา ผลภาค² พิเชษฐ์ทองปัน² เนตรชนก จิวากานนท์² ปริญา พันนุฤทธิ์² สุปราณี เดิมพันธุ์² ฤทัย รุ่งเรือง³
นพดล แพนลีนฟ้า³

¹ โครงการฝึกอบรมแพทย์/สัตวแพทย์เฉพาะทาง สาขาเวชศาสตร์ป้องกัน แขนงระบาดวิทยา

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน อำเภอมือซอ จังหวัดขอนแก่น

³ สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดนครพนม อำเภอมือซอ จังหวัดนครพนม

* ผู้รับผิดชอบบทความ อีเมล: prakitsai@hotmail.com

Translated version of "Srisai P, Pholpark M, Tongpan P, Jiwaganon N, Punnurit P, Dertpun S, et al. Prevalence of blood parasites infestation among buffaloes with abortion in Nakhon Phanom Province, Thailand. OSIR. 2017 Mar;10(1):7-15".

The article is translated by Dr. Prakrit Srisai and reviewed by Dr. Nitaya Chanruang Mahabhol.

บทคัดย่อ

ในช่วงปี พ.ศ. 2550-2554 จำนวนประชากรกระบือของจังหวัดนครพนมได้ลดลงอย่างมากถึงร้อยละ 34.1 และในแต่ละปีมีรายงานการแท้งของกระบือจำนวนประมาณ 150-300 ตัว/ปี ซึ่งยังไม่เคยศึกษาสาเหตุของการแท้งดังกล่าวอย่างเป็นระบบมาก่อนการศึกษาครั้งนี้เพื่อหาความชุกของการติดพยาธิในเลือดของกระบือที่แท้งลูก หาสาเหตุและปัจจัยที่อาจมีความสัมพันธ์กับการแท้งลูกของกระบือ โดยศึกษาแบบ Case control ในเดือนเมษายน 2554 - มีนาคม 2555 Case ได้แก่ กระบือในพื้นที่จังหวัดนครพนมที่แท้งลูก Control ได้แก่ กระบือเพศเมียในตำบลเดียวกันกับ case ที่ตกูกมาก่อน สัมภาษณ์เจ้าของกระบือด้วยแบบสอบถาม เก็บตัวอย่างรกลูกที่แท้งออกมา เลือดซีรัมและอุจจาระของกระบือทั้งสองกลุ่ม เพื่อส่งตรวจวินิจฉัย พยาธิในเลือดโรค Brucellosis พยาธิในระบบทางเดินอาหาร ค่าอัตราส่วนของเม็ดเลือด (Hematocrit, Hct) ตรวจหาพยาธิในเลือดด้วยการย้อมสีสไลด์ด้วยวิธี Giemsa staining และเซ็นทรัลฟิสเพื่อหาอัตราส่วนด้วยวิธี Woo's method จากนั้นตรวจหาพยาธิในเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ผลการตรวจพบเพียงพยาธิในเลือดกลุ่ม *Trypanosoma* spp. เท่านั้น True prevalence เท่ากับ 16% (95% CI =2.6-30.0) การทดสอบการปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการแท้งลูกของกระบือด้วยวิธี logistic regression พบว่าปัจจัยเสี่ยงสำหรับการแท้งลูกของกระบือ ได้แก่ ความชุกของเห็บ (adjusted OR=12.9, 95% CI=1.2-135.7) และการติดพยาธิในเลือด (adjusted OR=13.1, 95% CI=1.2-142.9) เจ้าของสัตว์ควรมีมาตรการป้องกันแมลงดูดเลือด เช่น เห็บ ที่เป็นพาหะของพยาธิในเลือด เพื่อลดความเสี่ยงในการแท้งลูกของกระบือ นอกจากนี้ควรพัฒนาระบบการเฝ้าระวังสาเหตุการแท้งลูก เพื่อให้ มาตรการในการป้องกัน ควบคุมการแท้งลูกมีประสิทธิภาพมากขึ้น

คำสำคัญ: พยาธิในเลือด, กระบือ, แท้งลูก, นครพนม

บทนำ

จังหวัดนครพนมเป็นจังหวัดที่มีจำนวนกระบือมากเป็นอันดับต้น ๆ ของ ประเทศไทยรองลงมาจากจังหวัดอุบลราชธานี สุรินทร์ บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ และสกลนคร ในระยะปี 2550 -2554 จำนวนกระบือในจังหวัดนครพนม ลดลงจาก 95,331 ตัว เหลือ 32,529 ตัว ในช่วงปีเดียวกันนี้ในภาพรวมของ ประเทศจำนวนกระบือลดลงจาก 1,577,798 ตัว เหลือ 1,234,179 ตัว¹

จึงนับเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างยิ่งของประเทศไทยซึ่งการปศุสัตว์เป็นสินค้าที่สำคัญที่สุดในการทำฟาร์ม

การผลิตกระบือของประเทศไทยถูกจำกัดด้วยอัตราการตั้งท้องต่ำ กระบือไทยมีระยะเวลาแสดงอาการเป็นสัดสั้น จึงสังเกตไม่ใคร่ได้ทำให้ผสมเทียมไม่ค่อยได้ผล ประกอบกับเกษตรกรไม่นิยมเลี้ยงควายพ่อพันธุ์ จึงมีน้อย และผสมพันธุ์แบบเลือดชิด อัตราการตั้งท้องต่ำ ได้ผลผลิตต่ำ ลูกกระบือไม่

แข็งแรง มีรูปร่าง และขนาดเล็กลง² ขณะเดียวกันการแท้งก็เป็นสาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งของการผลิต โดยทำให้ประสิทธิภาพลดลง มีอัตราการคลอดต่ำ³ รวมทั้งเกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจจากการตรวจวินิจฉัย การรักษา การหาสัตว์ทดแทน ผลผลิตน้ำนม/เนื้อสัตว์ลดลง⁴ จึงจำเป็นต้องประเมินและตรวจวินิจฉัยการแท้งลูกของกระบือประจำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออัตราการแท้งมากกว่าร้อยละ 3.0 หรือมีการแท้งลูกหลายตัวในฝูงเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเดียวกันของปีที่ผ่านมา⁵

พยาธิในเลือด เช่น *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*) เป็นสาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งของการแท้งของโค กระบือในประเทศไทย⁶⁻⁷ ส่วนเชื้อโรคอื่น ๆ ที่เป็นสาเหตุของการแท้ง เช่น แบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา สารเคมี โปรโตซัว *Neospora caninum*, *Babesia* spp., *Anaplasma* spp., *Theileria* spp., microfilaria, *Tritrichomonas* spp., *Toxoplasma* spp.^{5,8-9} นอกจากนี้ยังปัจจัยอื่น ๆ ที่อาจจะมีความสัมพันธ์กับการแท้งลูกของโค กระบือ เช่น ฤดูกาล ลำดับการตั้งท้อง ขนาดฟาร์ม อายุครรภ์ การขาดอาหาร และการติดพยาธิขณะตั้งครรภ์ เป็นต้น^{6, 10-12}

จังหวัดนครพนมพบปัญหาการแท้งของกระบือเป็นประจำทุกปี โดยในช่วงปี 2551-2553 มีการรายงานการแท้งของกระบือในพื้นที่ จำนวน 249, 258 และ 149 ตัว ตามลำดับ อย่างไรก็ตามที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาค้นหาสาเหตุของการแท้งการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความชุกของการติดพยาธิในเลือดของกระบือที่แท้งลูก รวมทั้งหาสาเหตุ และปัจจัยที่อาจมีความสัมพันธ์กับการแท้งลูกของกระบือในพื้นที่จังหวัดนครพนมระหว่างเดือนเมษายน 2554 – มีนาคม 2555

วิธีการศึกษา

ทำการศึกษาแบบ Case-control study ในช่วงวันที่ 1 เมษายน 2554 – 31 มีนาคม 2555 ในจังหวัดนครพนม ซึ่งในปี 2555 มีเกษตรกรผู้เลี้ยงกระบือ จำนวน 13,341 ราย เลี้ยงกระบือ 64,751 ตัว 69% เป็นกระบือเพศเมีย และ 30% เป็นแม่กระบือนาง ซึ่งมีลำดับการตั้งท้องมากกว่า 1¹

นิยามของสัตว์ป่วย (Case) ได้แก่ กระบือในจังหวัดนครพนมที่มีรายงานแท้งลูกในระยะวันที่ 1 เมษายน 2554-31 มีนาคม 2555 กลุ่มเปรียบเทียบ (Control) ได้แก่ กระบือที่ไม่แท้งลูกในฟาร์มอื่น ๆ ที่อยู่ในหมู่บ้านเดียวกัน โดยต้องเป็นกระบือที่คลอดลูกมาไม่เกิน 2 เดือน ณ วันที่สัตว์ป่วยแท้งลูก สุ่มกระบือตามนิยามกลุ่มเปรียบเทียบ จำนวน 2 ตัวในหมู่บ้านนั้น ด้วยวิธี simple random sampling หากในหมู่บ้านดังกล่าวมีกระบือที่คลอดลูกน้อยกว่า 2 ตัว จะเลือกกระบือที่อยู่หมู่บ้านอื่นที่อยู่ติดกันโดยสุ่มหมู่บ้านที่อยู่ในตำบลเดียวกันกับกระบือแท้ง ด้วยวิธี simple random sampling

คำนวณขนาดตัวอย่างด้วยโปรแกรม Epi Info Version 3.5.1 ในอัตราส่วน Case:control เท่ากับ 1:2 ได้ขนาดตัวอย่างเท่ากับ 312 ตัวอย่าง (Case =

104, control = 208) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ Power = 80% ความชุก (Expected prevalence) ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาเท่ากับร้อยละ 15.5 และ 30.0 ตามลำดับ¹³

การเก็บข้อมูลทำโดยการสัมภาษณ์เกษตรกรเจ้าของกระบือที่รายงานกระบือแท้งลูกด้วยแบบสอบถามเกี่ยวกับข้อมูลทั่วไปของเกษตรกร ข้อมูลทั่วไปของฟาร์มและปัจจัยเสี่ยงที่อาจจะเกี่ยวข้องกับการแท้งลูกของกระบือ เช่น รูปแบบการเลี้ยงและการผลิตกระบือ การควบคุมพยาธิ แหล่งอาหาร และแหล่งน้ำ ประวัติการท้าวคั่น ประวัติของการเกิดโรครภายในฟาร์ม ประวัติการแท้งในหมู่บ้าน เป็นต้น

ประมาณการอายุของลูกกระบือที่ถูกขับออกมาจากการแท้ง โดยการสัมภาษณ์เจ้าของ และการวัดขนาดตัวของลูกที่แท้ง¹⁴ ในกลุ่มสัตว์ป่วยเก็บตัวอย่างรก ลูกสัตว์ที่แท้ง เก็บตัวอย่างเลือด เลือดป้ายสไลด์ ซีรัม และอุจจาระ ในทั้งสองกลุ่มส่งตรวจวินิจฉัยที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ขอนแก่น (ศวพ.ขอนแก่น) โรคพยาธิในเลือด brucellosis พยาธิในระบบทางเดินอาหาร และตรวจหาค่าอัตราส่วนของเม็ดเลือดแดง (haematocrit, Hct) การตรวจหาพยาธิในเลือดตรวจ 2 วิธี ได้แก่ การย้อมสีเลือดป้ายสไลด์ด้วย Giemsa stain และ Hematocrit centrifugal technique (HCT): Woo's method¹⁵ ตรวจหาพยาธิในเลือด (*Anaplasma* spp., *Theileria* spp., *Babesia* spp. และ *Trypanosoma* spp.) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ หากวิธีใดวิธีหนึ่งให้ผลบวกถือว่าเป็นบวก ตรวจโรค Brucellosis ด้วยวิธี Rose Bengal Test ส่วนพยาธิในระบบทางเดินอาหารตรวจด้วยวิธี Floatation technique และ Simple sedimentation

วิเคราะห์ข้อมูลในการศึกษาเชิงพรรณนา โดยการแจกแจงความถี่ อัตรา ร้อยละ (Percentage) ค่าเฉลี่ย (Mean) อัตราการแท้ง (จำนวนกระบือที่แท้ง/จำนวนกระบือที่ตั้งท้อง) สัดส่วนของของลูกที่แท้งในแต่ละช่วงอายุ (จำนวนของลูกกระบือในแต่ละช่วงอายุ/จำนวนกระบือที่แท้งทั้งหมด) ความชุกปรากฏ (Apparent prevalence) คำนวณด้วยวิธี survey data analysis (cluster analysis) เพื่อปรับ clustering effect ของกระบือที่อยู่ในหมู่บ้านเดียวกันคำนวณหาความชุกที่แท้จริง (True prevalence) เพื่อปรับความคลาดเคลื่อนจากข้อจำกัดของวิธีการตรวจด้านความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) โดยปรับหาความชุกที่แท้จริง ด้วยการคำนวณจากสูตรต่อไปนี้¹⁶

$$Trueprev. = \frac{(AP + Sp - 1)}{(Se + Sp - 1)}$$

$$Confidence\ Interval - Trueprev. = TP \pm Z_{\alpha/2} \frac{1}{(Se + Sp - 1)} \sqrt{\frac{AP(1 - AP)}{n}}$$

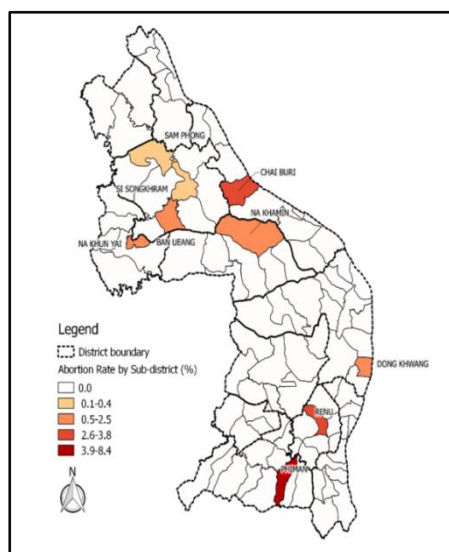
เมื่อ AP = Apparent Prevalence, TP = True Prevalence, Se = Sensitivity, Sp = Specificity (Direct microscopic examination; $Se \leq 50.0^{17}$ $Sp = 100^{18,19}$ หาก CI น้อยกว่า 0 หรือมากกว่า 1 จะกำหนดให้ มีค่าเป็น 0 หรือ 1 เพื่อให้ค่าของ CI อยู่ในช่วงระหว่าง 0-1

เนื่องจากข้อมูลที่ได้มาลักษณะข้อมูลเป็นแบบลำดับชั้น (hierarchy) เช่น กระจับที่อยู่ในหมู่บ้านเดียวกัน มีความเป็นไปได้ที่จะมีลักษณะหลาย ๆ อย่างคล้ายกัน ไม่เป็นอิสระต่อกัน ดังนั้น การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาปัจจัยที่ อาจจะมีความสัมพันธ์กับการแท้งโดยเบื้องต้นจะทำการวิเคราะห์แบบ multiple logistic regression โดยคำนึงถึง random effect ของฟาร์ม กระจับ และกระจับรายตัว ตัวแปรเดียว (Univariate analysis) ที่มีค่า P-value ≤ 0.2 และมีข้อมูลของปัจจัยที่ศึกษาครบถ้วนทุกปัจจัยไปทำการ วิเคราะห์หัตถ์แปรพหุ (Multivariable analysis) ด้วยวิธี Multi-level logistic regression เปรียบเทียบความแตกต่างของค่า Hct ระหว่างกลุ่ม ด้วย T-test

ผลการศึกษา

ลักษณะทางระบาดวิทยาของประชากรกระจับ

ตลอดช่วงการศึกษามีเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดนครพนม จำนวน 22 หมู่บ้าน (จากทั้งหมด 1,123 หมู่บ้าน) ในพื้นที่ 9 ตำบล (จากทั้งหมด 99 ตำบล) 7 อำเภอ (จากทั้งหมด 12 อำเภอ) รายงานปัญหาการแท้งลูกของ กระจับ โดยตำบลพิมาน อำเภอนาแกรายงานอัตราการแท้งมากที่สุด (8.4%) เมื่อเทียบกับจำนวนแม่กระจับท้องแรกขึ้นไป (รูปที่ 1)



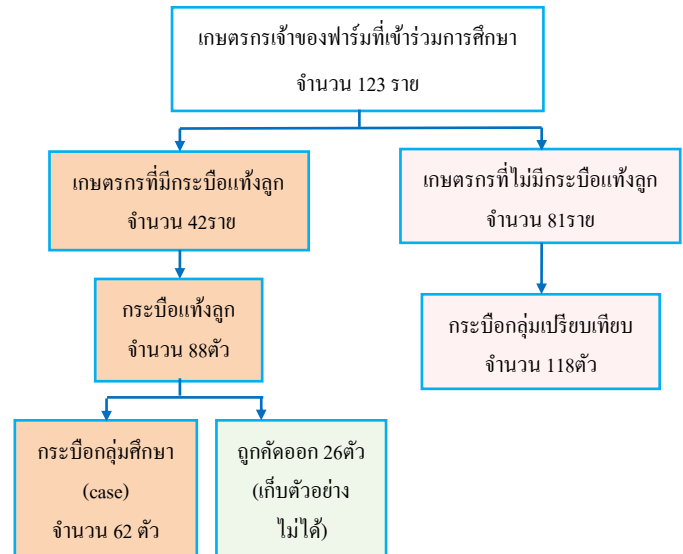
รูปที่ 1. การกระจายตัวของประชากรกระจับที่แท้งตามรายงาน

ณ ตำบลต่าง ๆ ในจังหวัดนครพนม ประเทศไทย

เมษายน 2554 ถึง มีนาคม 2555

จากเกษตรกรผู้เลี้ยงกระจับทั้งหมด 13,341 รายในจังหวัดนครพนม มี ผู้เข้าร่วมการศึกษารั้งนี้จำนวน 123 รายแยกเป็นเกษตรกรเจ้าของกระจับ

แท้งลูก 42 ราย และเจ้าของกระจับกลุ่มเปรียบเทียบ 81 ราย (รูปที่ 2) ใน กลุ่มเกษตรกรเจ้าของสัตว์ป่วย 42 ราย ร้อยละ 78 เป็นเพศชาย ส่วนใหญ่มี คอกกระจับอยู่นอกตัวบ้าน (75.6%) และไม่คอยได้ทำความสะอาดคอก โดยปกติแล้วเกษตรกรไม่ได้ตรวจการตั้งท้องของกระจับ แต่จะใช้วิธีสังเกต ลักษณะของแม่กระจับ (ตารางที่ 1) หากแม่กระจับไม่แสดงอาการเป็นสัด หลังผสม และมีขนาดของช่องท้องที่ขยายใหญ่ขึ้นแสดงว่าแม่กระจับตั้งท้อง



รูปที่ 2. จำนวนตัวอย่างในการศึกษา

ตารางที่ 1. ลักษณะของเกษตรกรผู้เลี้ยงกระจับและการจัดการกระจับใน จังหวัดนครพนม ประเทศไทย เมษายน 2554 – มีนาคม 2555 (n=42)

ลักษณะ	จำนวนเกษตรกร	ร้อยละ
เพศชาย	32	78.0
จบการศึกษาระดับประถมศึกษา	28	68.3
ลักษณะการเลี้ยงกระจับ		
เลี้ยงแบบขังคอก	1	2.4
เลี้ยงแบบผูกล่าม	2	4.9
เลี้ยงแบบติดตาม	21	51.2
เลี้ยงแบบปล่อย	17	41.5
คอกกระจับ		
ไม่มี	2	4.9
อยู่นอกตัวบ้าน	31	75.6
อยู่ใต้ถุนบ้าน	8	19.5
ทำความสะอาดคอกกระจับ	15	36.6
อาหารกระจับ		
หญ้าสด	41	100.0
ฟางข้าว	38	92.7
รำข้าว	2	4.9
พืชเกษตรอื่น ๆ	3	7.3
อาหารเสริม	0	0
อาหารข้น	0	0
การถ่ายพยาธิกระจับในฝูง	7	17.1
การทำความสะอาดกระจับในฝูง	15	36.6
การผสมพันธุ์กระจับ		
ผสมจริง	40	97.6
ผสมเทียม	1	2.4
การตรวจท้อง	1	2.4

ในครัวเรือนผู้เลี้ยงกระบือ จำนวน 123 รายที่เข้าร่วมการศึกษา เลี้ยงกระบือ จำนวน 758ตัว โดยส่วนใหญ่เลี้ยงกระบือ 4ตัว/ครัวเรือน (พิสัย 1–14ตัว) ร้อยละ 74.89 (567 ตัว) เป็นกระบือเพศเมีย มีประวัติการตั้งท้องของแม่กระบือร้อยละ 40.4 (229/567) ในแม่กระบือที่ตั้งท้องนี้ มีรายงานการแท้งลูกเร็วขึ้น จำนวน88ตัว อย่างไรก็ตามที่ศึกษาสามารถเก็บตัวอย่างได้เพียง62ตัว ค่ามัธยฐานของอายุแม่กระบือในกลุ่มแท้งลูก และกลุ่มเปรียบเทียบมีค่าเท่ากัน คือ6ปี (พิสัย 2–15ปี) อายุเมื่อได้ผสมครั้งแรกในกลุ่มแท้งลูก เท่ากับ3ปี (พิสัย 2–6ปี) กลุ่มเปรียบเทียบ เท่ากับ 4ปี (พิสัย 2–5ปี) ลำดับการตั้งท้องในกลุ่มแม่กระบือแท้งลูก และกลุ่มเปรียบเทียบส่วนใหญ่เป็นลำดับการตั้งท้องที่ 1 (33%) แม่กระบือร้อยละ 94.4 ผสมพันธุ์ด้วยวิธีผสมจริงตามธรรมชาติ เกษตรกรนิยมเลี้ยงกระบือแบบติดตาม (58.1%) และแบบปล่อย (37.1%) (ตารางที่ 2)

กระบือในกลุ่มประชากรศึกษามีอัตราการแท้งร้อยละ 38.4 (882/229) ส่วนใหญ่ไม่แสดงอาการผิดปกติอย่างอื่นให้เห็น อายุของลูกกระบือที่แท้ง

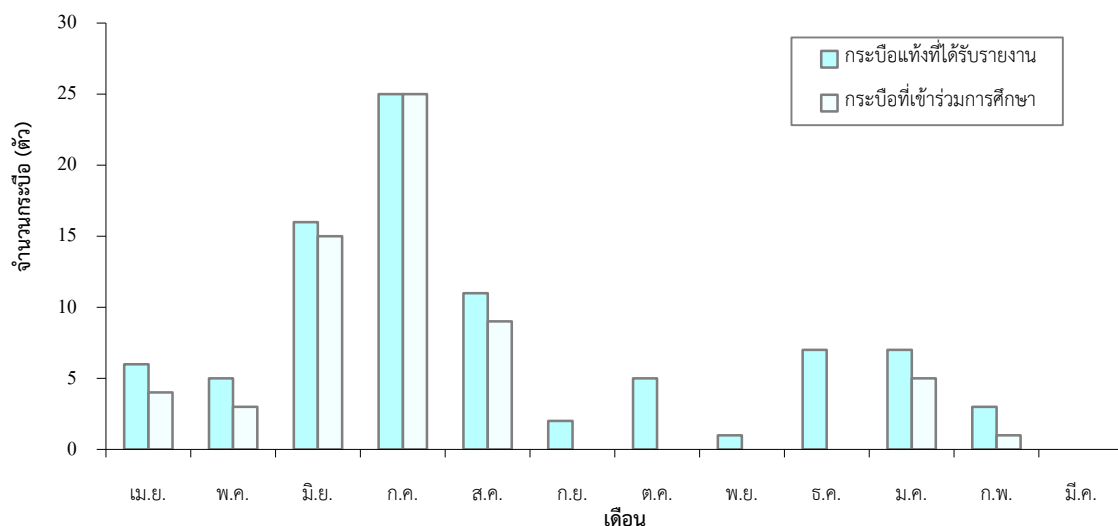
(อายุครรภ์ของแม่กระบือ) อยู่ระหว่าง 3 ถึง 10 เดือน โดยมีสัดส่วนของแต่ละช่วงอายุ (3–10เดือน) เท่ากับร้อยละ 6.9, 13.8, 15.5, 31.1, 20.7, 5.2, 5.2 และ1.7 การแท้งลูกของกระบือมีรายงานเกือบทุกเดือนในรอบปี ยกเว้นเดือนมีนาคม2555 พบการแท้งของกระบือมากที่สุดในเดือนกรกฎาคม 2554 (รูปที่ 3) ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้ในช่วงเดือนสิงหาคม - ธันวาคม เนื่องจากเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ถูกมอบหมายให้ไปทำภารกิจเร่งด่วนอย่างอื่น

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

จากตัวอย่างที่เก็บได้ของกระบือแท้งลูก 62 ตัว (จากกระบือแท้งลูกทั้งหมด 88 ตัว) และกระบือกลุ่มเปรียบเทียบ 118 ตัว พบพยาธิในเลือดในกระบือจำนวน 7 ตัว จากกระบือทั้งหมด 180 ตัว โดยพบร้อยละ 8 (5/62) ในกลุ่มกระบือแท้งลูก และพบร้อยละ 2 (2/118) ในกระบือกลุ่มเปรียบเทียบพบร้อยละ ทั้ง 180 ตัว ให้ผลลบต่อโรค Brucellosis และตรวจไม่พบแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคผลการตรวจจุลจากระบบพยาธิในทางเดินอาหาร

ตารางที่ 2. ข้อมูลลักษณะทั่วไปของกระบือแท้งลูก (Case) และกระบือคลอดลูกปกติ (Control) ที่เข้าร่วมโครงการศึกษา

ลักษณะของกระบือที่เก็บตัวอย่าง	Case			Control		
	มัธยฐาน	พิสัย	ร้อยละ	มัธยฐาน	พิสัย	ร้อยละ
อายุ-ปี (n=180)	6	2-15	-	6	2-15	-
อายุได้รับการผสมพันธุ์ครั้งแรก-ปี (n=173)	3	2-6	-	4	2-5	-
ความยาวรอบอก-เซนติเมตร (n=62)	186	160-213	-	183.5	173-210	-
ขนาดฝูง (ตัว)	4	1-14	-	5	2-36	-
ลำดับท้อง	2	1-11	-	2	1-11	-
อายุการครรภ์ของกระบือที่แท้ง-เดือน (n=59)	6	3-10	-	-	-	-
แม่กระบือท้องแรก (n=173)	-	-	33.3	-	-	33.9
อายุ ≥ 10 ปี (n=172)	-	-	11.7	-	-	9.8
ประวัติการแท้งลูก (n=180)						
กระบือที่เข้าร่วมการศึกษา	-	-	6.5	-	-	11.0
กระบือร่วมฝูง	-	-	0.0	-	-	16.1
กระบือในครัวเรือนที่ติดกัน	-	-	12.9	-	-	10.2
กระบือในหมู่บ้านเดียวกัน	-	-	43.5	-	-	73.7
ผสมพันธุ์ด้วยวิธีผสมจริง (n=178)	-	-	96.7	-	-	93.2
ประวัติการได้รับยาถ่ายพยาธิ (n=178)	-	-	5.0	-	-	58.5
ประวัติการได้รับวัคซีนป้องกันโรค (n=176)	-	-	35.0	-	-	81.0
รูปแบบการเลี้ยง (n=180)						
เลี้ยงแบบขังคอก	-	-	1.6	-	-	1.7
เลี้ยงแบบปล่อย	-	-	37.1	-	-	50.0
เลี้ยงแบบติดตาม	-	-	58.1	-	-	43.2
เลี้ยงแบบผูกล่าม	-	-	3.2	-	-	5.1
คอกกระบือ						
ไม่มี (n=179)	-	-	3.2	-	-	0.9
อยู่นอกตัวบ้าน (n=179)	-	-	80.6	-	-	82.1
อยู่ใต้ถุนบ้าน (n=177)	-	-	33.9	-	-	49.6



รูปที่ 3. จำนวนกระบือในจังหวัดนครพนมที่ได้รับรายงานการแท้งและเข้าร่วมโครงการศึกษา ระหว่างเดือนเมษายน 2554 – มีนาคม 2555 (n=175)

ตารางที่ 3. ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ และความชุกของกระบือแท้งลูก (กลุ่มศึกษา; case) และกระบือที่คลอดลูกปกติ (กลุ่มเปรียบเทียบ; control) ในจังหวัดนครพนม ประเทศไทย ระหว่างเดือนเมษายน 2554 – มีนาคม 2555

Type of infection	Case (n=62)			Control (n=118)		
	จำนวนผลบวก	Apparent prevalence (95 %CI)	True prevalence (95 %CI)	จำนวนผลบวก	Apparent prevalence (95 %CI)	True prevalence (95 %CI)
พยาธิในเลือด	5	8.1 (1.1-15.0)	16.2 (2.0-30.4)	2	1.7 (0.7-4.1)	3.4 (0-8.1)
<i>T. evansi</i>	4	6.5 (0.2-12.7)	13.0 (0.3-25.7)	2	1.7 (0.7-4.1)	3.4 (0-8.1)
<i>T. theileria</i>	1	1.6 (-1.6-4.8)	3.2 (0-9.5)	0	0	0
พยาธิตัวกลมในทางเดินอาหาร	1	1.6 (-1.6-4.8)	-	0	0	-
พยาธิใบไม้ในกระเพาะ	34	54.8 (42.1-67.6)	-	29	24.6 (13.9-35.2)	-
เชื้อบิด coccidia	0	0	-	1	0.9 (0.2-4.6)	-

เชื้อบิด (Coccidia) และพยาธิใบไม้ในกระเพาะอาหาร (Rumen fluke) (ตารางที่ 3) เก็บตัวอย่างรก และลูกที่แท้งออกมาได้ จำนวน 13 ตัวอย่าง ทั้งหมดให้ผลต่อการตรวจพยาธิในเลือด และเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค

มีกระบือเพียง 155 ตัว จาก 180 ตัว (ร้อยละ 86.1) ที่สามารถหาค่า Hct ได้ ค่าเฉลี่ยของ Hct ของกระบือกลุ่มแท้งเท่ากับ 30.6 (SD=5.5) และในกลุ่มเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 30.9 (SD=6.0) มีกระบือที่ค่า Hct ต่ำกว่าปกติ (<24%) ทั้งหมด 13 ตัว (กระบือแท้งลูก 4 ตัว กระบือกลุ่มเปรียบเทียบ 9 ตัว) ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของสัดส่วนกระบือที่มีค่า Hct ต่ำกว่าปกติในกระบือทั้งสองกลุ่ม (P-value=0.8)

ความชุกของการตรวจพบพยาธิในเลือดในกระบือ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ตรวจพบพยาธิในเลือด 2 ชนิด คือ *Trypanosoma evansi* และ *Trypanosoma theileria* จำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 3.9 (95% CI = 1.9-7.8) ความชุกของการตรวจพบในกลุ่มกระบือแท้งลูก

(Apparent prevalence) เท่ากับร้อยละ 8.1 (5/62, 95% CI = 1.1-15.0) ส่วนในกระบือกลุ่มเปรียบเทียบเท่ากับร้อยละ 1.7 (2/118, 95% CI = 0.7-4.1) ความชุกที่แท้จริง (True prevalence) ในกลุ่มกระบือแท้งลูก และกลุ่มเปรียบเทียบเท่ากับร้อยละ 16.2 (95% CI = 2.0-30.4) และ 3.4 (95% CI = 0-8.1) ตามลำดับ

ปัจจัยที่อาจมีความสัมพันธ์กับการแท้งลูกของกระบือ

ปัจจัยที่สนใจในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวน 10 ปัจจัย เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี univariate analysis พบว่าปัจจัยที่อาจมีความสัมพันธ์กับแท้งลูกของกระบือในพื้นที่จังหวัดนครพนมและถูกคัดเลือกนำไปคำนวณด้วยวิธี Logistic Regression จำนวน 4 ปัจจัย ได้แก่ พยาธิในเลือด การเลี้ยงแบบปล่อย ความชุกของเห็บ และความชุกของแมลงวันคอก พบว่าปัจจัยที่อาจจะเป็นปัจจัยเสี่ยงในการแท้งลูกของกระบือ ได้แก่ ความชุกของเห็บ (adjusted OR=12.9, 95% CI=1.2-135.7) และการติดพยาธิในเลือด (adjusted OR=13.1, 95% CI=1.2-142.9) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4. ผลการวิเคราะห์ Multi-level logistic regression เพื่อหาปัจจัยเสี่ยงต่อการแท้งของกระบือในจังหวัดนครพนม ประเทศไทย ในช่วงเดือน
เมษายน 2554 – มีนาคม 2555 (n=175)

ปัจจัย	Case (n=59)		Control (n=116)		Adjusted odds ratio		
	Yes	No	Yes	No	Point	95 %CI	P-value
พยาธิในเลือด	5	54	2	114	13.1	1.2-142.9	0.04
การเลี้ยงแบบปล่อย	23	36	59	57	0.4	0.05-3.04	0.37
ความชุกของ <i>Stomoxys</i> สูง	35	24	57	59	0.3	0.03-2.28	0.24
ความชุกของ <i>tabanus</i> สูง	44	15	63	53	12.9	1.2-135.7	0.03

วิจารณ์

การศึกษานี้เป็นการยืนยันการติดเชื้อ *T.evansi* ในกระบือของจังหวัดนครพนม โดยสามารถตรวจพบการติดเชื้อทั้งในกระบือที่แท้งลูก และกระบือที่ไม่แท้งลูกการติดเชื้อ *T.evansi* ในสัตว์พบกระจายในหลาย ๆ ภูมิภาคของประเทศไทย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน รายงานว่าระหว่างปี พ.ศ. 2551- 2555 ทุกจังหวัดในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนมีการตรวจพบการติดเชื้อ *T.evansi* โดยจังหวัดนครพนมเป็นจังหวัดที่พบจำนวนครั้งการเกิดโรคสูงสุด (20/66) สัตว์ที่พบการติดเชื้อมากที่สุดได้แก่ โคเนื้อ รองลงมา ได้แก่ กระบือ โคนม และสุกร ตามลำดับ และชนิดสัตว์ที่มีการติดเชื้อมากที่สุดในจังหวัดนครพนม ได้แก่ กระบือ¹⁷ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทยภาคเหนือตอนบน รายงานเมื่อปี พ.ศ. 2553 ตรวจพบเชื้อในกระบือภาคเหนือตอนบน ร้อยละ 3.9²⁰ บรรจงและคณะ รายงานความชุกทางซีรัมวิทยาของการติดเชื้อในโคเนื้อในจังหวัดพะเยาสูงถึงร้อยละ 82.7 Kamyinkird รายงานความชุกทางซีรัมวิทยาในโคนมในภาคเหนือสูงกว่าร้อยละ 15²¹ ในพื้นที่ภาคกลาง เมื่อปี พ.ศ. 2550 Jittapalapong และคณะ รายงานความชุกในโคนมในภาคกลาง ร้อยละ 8.1 Kamyinkird รายงานว่าพบความชุกทางซีรัมวิทยาของ *T.evansi* มากกว่าร้อยละ 15²² ในพื้นที่ภาคใต้ รุจิรัตน์ รายงานว่าระหว่างปี พ.ศ. 2546 – 2548 ตรวจพบการติดเชื้อ *T.evansi* ในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ร้อยละ 0.3²³ อย่างไรก็ตามความแตกต่างของความชุกดังกล่าวอาจจะมีสาเหตุมาจากวิธีที่ใช้ตรวจแตกต่างกัน

การติดพยาธิในเลือดจะลดประสิทธิภาพการผลิตของสัตว์ โดยทำให้เกิดความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ เช่น เกิดถุงน้ำที่รังไข่ รังไข่ไม่ทำงาน (ovarian inactivity) การเป็นสาวช้า มดลูกอักเสบ นอกจากนี้ยังมีผลต่อระดับฮอร์โมน progesterone ระดับของธาตุเหล็ก สังกะสี และซีลีเนียม ซึ่งเป็นแร่ธาตุสำคัญทำให้การทำงานของระบบสืบพันธุ์ลดลง²⁴ อีกทั้งลดอัตราการคลอดของกระบือ²⁵ นอกจากนั้นการติดเชื้อ *T.evansi* ยังอาจมี

ผลต่อสุขภาพของสัตว์ โดยกกระบบภูมิคุ้มกันในต่อมน้ำเหลือง ม้าม และไขกระดูก²⁶ รวมทั้งยังมีผลกระทบต่อการสร้างภูมิคุ้มกันของสัตว์ที่ฉีดวัคซีนป้องกันโรคเอยโมรายิกเซพติซีเมีย^{27,28} และโรคปากและเท้าเปื่อย²⁹ ด้วย ซึ่งผลกระทบดังกล่าวทั้งหมดข้างต้นล้วนแล้วแต่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิตของสัตว์

การตรวจหาสาเหตุของการแท้งของกระบือในการศึกษานี้ มีการตรวจชั้นสุตรเฉพาะโรค Brucellosis, พยาธิในเลือด พยาธิในทางเดินอาหาร ซึ่งอาจจะยังไม่ครอบคลุมเชื้อที่อาจจะเป็นสาเหตุของการแท้งอื่นๆ เช่น *Toxoplasma* spp., *Neospora* spp., Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)³⁰⁻³² เป็นต้น ซึ่งการที่จะตรวจให้พบเชื้อที่เป็นสาเหตุเหล่านี้จำเป็นต้องตรวจจากตัวอย่างที่มีโอกาสจะตรวจพบเชื้อได้สูง เช่น ตัวอย่างลูกกระบือที่แท้งออกมา หรือตัวอย่างรก⁷ ตัวอย่างในการศึกษานี้ส่วนใหญ่เป็นเลือด และซีรัม ดังนั้น ผลการตรวจอาจจะไม่ได้แสดงสาเหตุอื่น ๆ ของการแท้ง แม้ว่าจะตรวจไม่พบการติดเชื้อจากเชื้อโรคต่าง ๆ แต่จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคำนึงถึงสาเหตุอื่น ๆ เช่น การแท้งที่เกิดจากการไม่ติดเชื้อ และปัจจัยเสี่ยงโน้มนำในการทำให้เกิดการแท้งลูกอื่น ๆ ที่จะต้องศึกษาเพิ่มเติม การศึกษานี้พบว่ากระบือที่มีพยาธิในเลือด หรือแมลงวันคอกสัตว์ชุกชุม และการติดพยาธิในทางเดินอาหาร อาจจะเป็นปัจจัยเสี่ยงในการทำกระบือแท้งลูกมากขึ้นซึ่งการติดพยาธิในทางเดินอาหารอย่างรุนแรงก็สามารถโน้มนำให้สัตว์แท้งลูกได้³³ ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากภาวะการขาดอาหารและ/หรือมีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ ทำให้มีโอกาสในการติดเชื้อชนิดอื่น ๆแทรกซ้อน รวมทั้งการติดพยาธิตัวกลมในทางเดินอาหารยังไปเพิ่มระดับของ stress-related hormone ในกระแสเลือดด้วย³⁴ ในการศึกษานี้ผู้ศึกษาตั้งสมมติฐานว่าค่าอัตราส่วนของเม็ดเลือดแดงอาจจะใช้เป็นตัวชี้วัดเบื้องต้นในการเฝ้าระวังการติดพยาธิในเลือด เพื่อคัดกรองสัตว์เข้าสู่ระบบเฝ้าระวังในเบื้องต้น อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาไม่พบความแตกต่างกันระหว่างสัตว์ทั้งสองกลุ่ม นอกเหนือจากนี้ เนื่องด้วยรูปแบบการเลี้ยงกระบือและการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเข้าสู่การศึกษา ดังนั้น ผู้ศึกษาจึงทำการ

วิเคราะห์ความชุกของการติดพยาธิในเลือดด้วยวิธีของ survey data analysis (cluster analysis) และทำการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาปัจจัยเสี่ยงด้วยวิธี multilevel analysis แม้จะไม่สามารถสรุปได้ว่าการแท้งของกระป๋องในการศึกษานี้เกิดจากการติดพยาธิในเลือด แต่ก็พบว่ากระป๋องที่มีติดเชื่อมีความเสี่ยงในการแท้งสูงกว่ากระป๋องที่ไม่ติดเชื่อ ประมาณ 13 เท่า ตัวอย่างที่ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการในการศึกษานี้ ส่วนใหญ่ ได้แก่ เลือด และซีรัม เนื่องจากไม่สามารถเก็บตัวอย่างรก และลูกที่แท้งได้ เพราะเกษตรกรรายงานให้เจ้าหน้าที่ทราบช้า ทำให้โอกาสตรวจเจอพยาธิในเลือดน้อยลง ตัวอย่างเลือดใน ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ไม่สามารถส่งไปตรวจยังห้องปฏิบัติการได้ภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากเก็บตัวอย่างเนื่องจากข้อจำกัดเรื่องระยะทางระหว่างพื้นที่ทำการศึกษากับห้องปฏิบัติการ อาจทำให้ตรวจพบเชื้อได้น้อย หรือตรวจไม่พบเลย อันเป็นผลมาจากหากสัตว์มีจำนวนเชื้อในกระแสเลือดต่ำ และเก็บรักษาตัวอย่างในอุณหภูมิที่สูง จะทำให้เชื้อใช้พลังงานจากน้ำตาลในเลือดจนหมด จากนั้นจะหยุดเคลื่อนไหว วิธีแก้ไขข้อจำกัดนี้ สาทิศ ได้ให้คำแนะนำว่าควรทำเลือดป้ายสไลด์ทันทีที่เก็บตัวอย่างเลือด จากนั้นส่งเลือดป้ายสไลด์ไปตรวจทางห้องปฏิบัติการจะช่วยเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเชื้อได้มากขึ้น¹⁷

การเก็บตัวอย่างไม่สามารถดำเนินการได้ในช่วงเดือนสิงหาคม - ธันวาคม 2554 เนื่องจากมีข้อจำกัดของกำลังเจ้าหน้าที่ แม้จะมีการรายงานการแท้งของกระป๋องในช่วงดังกล่าวให้เจ้าหน้าที่ทราบส่งผลกระทบต่อขนาดตัวอย่างในการศึกษานี้ อาจทำให้กระทบต่อผลการวิเคราะห์ข้อมูลในบางส่วนได้ ข้อจำกัดอื่นๆ ของการศึกษานี้ ได้แก่ การตรวจวินิจฉัยพยาธิในเลือดเป็นการตรวจด้วยวิธีทางปราศรัยวิทยา โดยใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตัวหาตัวปรสิตในเลือด ซึ่งแม้จะเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ราคาถูก ยังต้องใช้เวลาตามควร จึงมีผลต่อความไว อาจจะทำให้ความชุกที่ได้ในการศึกษานี้ต่ำกว่าความเป็นจริง แต่ในพื้นที่ที่พบการแท้งลูกของสัตว์มากกว่าปกติ หรือมีสัตว์ป่วยด้วยอาการที่สงสัยว่าเกิดจากการติดเชื้อนี้ก็สามารถที่จะใช้เป็นวิธีตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นได้ แต่ควรมีการคำนวณหาความชุกที่แท้จริงเพื่อลดความคลาดเคลื่อนจากข้อจำกัดเรื่องความไวของวิธีตรวจเพื่อให้สามารถประเมินสถานการณ์ให้ใกล้เคียงกับสภาพการติดเชื้อที่แท้จริงในพื้นที่ ซึ่งจะทำให้สามารถวางแผนจัดหางบประมาณ วัสดุ อุปกรณ์ ตลอดจนเวชภัณฑ์ในการป้องกัน ควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่หากต้องการศึกษาความชุกที่แท้จริงของการติดเชื้ออาจจะจำเป็นต้องตรวจร่วมกับวิธีอื่นๆ โดยเฉพาะวิธีที่มีความไวสูงกว่า เช่น การตรวจหา antibody และ antigen ของ *T.evansi* ด้วย enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)³⁵ Indirect Haemagglutination test, Complement Fixation

test, indirect fluorescent antibody test, Polymerase Chain Reaction (PCR)³⁶⁻³⁸

ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ ประกอบกับผลการศึกษาของนักวิจัยอื่น ๆ ที่พบว่ากระป๋องในพื้นที่จังหวัดนครพนมมีการติดเชื้อพยาธิในเลือดสูงกว่าจังหวัดอื่น ๆ ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ดังนั้น จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการเฝ้าระวังโรคนี้ รวมทั้งพัฒนาระบบการเฝ้าระวังการแท้งลูกในกระป๋อง รวมทั้งสัตว์อื่น ๆ เช่น โค และสุกร เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งระบบการรายงาน เพื่อให้สามารถรู้สถานการณ์การแท้งลูกได้เร็ว สามารถเก็บตัวอย่างที่มีความเหมาะสมได้ทันเวลา ซึ่งจะส่งผลให้การตรวจวินิจฉัยสาเหตุของการแท้งมีประสิทธิภาพมากขึ้น การตรวจวินิจฉัยพยาธิในเลือดในกระป๋องที่มีปัญหาการแท้งอาจจะต้องใช้วิธีที่มีความไว และความจำเพาะมากกว่าวิธีการทางปราศรัยวิทยา เพื่อลดความเสี่ยงในการแท้งลูกของกระป๋อง หากมีรายงานสัตว์ป่วยที่มีอาการป่วยเข้าข่ายตามนิยามของโรคควรทำการรักษาสัตว์ป่วย สัตว์ร่วมฝูง และฝูงสัตว์ที่อยู่ใกล้เคียงทุกตัวด้วยdiminazene aceturate (Berenil)¹⁷ หรือยากลุ่มควินาไพราซีน (antidote)³⁹ โดยสัตว์ทั่วไปให้ใช้ในขนาด 3.5-5 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ฉีดเข้ากล้ามเนื้อลึก ๆ เพียงครั้งเดียวที่บริเวณแผงคอหรือสะโพกเพื่อลดการบวม แต่สำหรับกระป๋องต้องใช้ขนาดยา 5-7 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จึงจะสามารถกำจัดเชื้อให้หมดไปได้ ซึ่งส่วนใหญ่สัตว์ที่ป่วยไม่รุนแรงจะหายป่วยอย่างรวดเร็วหลังการรักษาเพียงครั้งเดียว ส่วนมาตรการในการป้องกันควรแนะนำให้เกษตรกรเจ้าของสัตว์หาวิธีป้องกันเลือบ และแมลงวันคอกสัตว์ซึ่งเป็นพาหะของโรค รวมทั้งควรมีการถ่ายพยาธิในระบบทางเดินอาหารให้กับกระป๋องอย่างสม่ำเสมอ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหน่วยงานและเจ้าหน้าที่ของหน่วยงานต่อไปนี้ที่ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในการศึกษานี้ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการ สัตว์แพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดนครพนม สำนักงานปศุสัตว์อำเภอทุกแห่งในพื้นที่จังหวัดนครพนม นายไพรัช ประทุมสุวรรณ ปศุสัตว์จังหวัดนครพนม เจ้าหน้าที่กลุ่มพัฒนาสุขภาพสัตว์ สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดนครพนม ที่มีส่วนร่วมในการเก็บตัวอย่างและข้อมูล ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา นายสัตวแพทย์การุณ ชนะชัย นายสัตวแพทย์สาทิศ ผลภาค นายแพทย์จักรรัฐ พิทยาวงศ์อานนท์ และแพทย์หญิงสุลัสพร จิระพงษา และขอขอบคุณกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. Information and Communication Technology Center. Reports/data/statistics. Thai [cited 2015 Feb 9]. <<http://ict.dld.go.th/th2/index.php/th/report>>.
2. Planning Division, Department of Livestock Development, Thailand. Strategy for buffalo. 2012 Jul 24. Thai [cited 2015 Feb 9]. <http://planning.dld.go.th/th/index.php?option=com_content&view=article&id=358&Itemid=138>.
3. Mohammed HO, White ME, Lafaunce N. Multivariate analysis of factors associated with calving interval and calving rate in dairy cows. *Theriogenology*. 1991 Feb;35(2):443-9.
4. Gädicke P, Vidal R, Monti G. Economic effect of bovine abortion syndrome in commercial dairy herds in Southern Chile. *Prev Vet Med*. 2010 Oct 1;97(1):9-19.
5. Yaeger M. Cattle abortions - causes and prevention. In: Proceedings of the Range Beef Cow Symposium XIII; 1993 Dec 6-8; Cheyenne, United States [cited 2015 Feb 9]. <http://digitalcommons.unl.edu/rangebeefcow_symp/219>.
6. Löhr KF, Pohlpark S, Srikitjakarn L, Thaboran P, Bettermann G, Staak C. *Trypanosoma evansi* infection in buffaloes in north-east Thailand. I. Field investigations. *Trop Anim Health Prod*. 1985 May;17(2):121-5.
7. Löhr KF, Pholpark S, Siriwan P, Leesirikul N, Srikitjakarn L, Staak C. *Trypanosoma evansi* infection in buffaloes in North-east Thailand. II. Abortions. *Trop Anim Health Prod*. 1986 Jun 1;18(2):103-8.
8. Perumal P, Kumar TK, Srivastava SK. Infectious causes of infertility in buffalo bull (*Bubalus bubalis*). *Buffalo Bulletin*. 2013 Jun;32(2):71-82.
9. Nietfield JC. Abortion in cattle. In: Porter RS, Kaplan JL, editors. Merck manual of diagnosis and therapy. 19th ed. New Jersey: Merck; 2011 [cited 2015 Feb 10]. <http://www.merckmanuals.com/vet/reproductive_system/abortion_in_large_animals/abortion_in_cattle.html>.
10. Jittapalapong S, Sangwaranond A, Inpankaew T, Phasuk C, Pinyopanuwat N, Chimnoi W, et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* infections of dairy cows in the north-east of Thailand. *Kasetsart J Nat Sci*. 2008;42:61-6. Thai.
11. Arunvipas P, Inpankaew T, Jittapalapong S. Risk factors of toxoplasmosis in dairy cows in western Thailand. In: Proceedings of the 46th Kasetsart University Annual Conference: Animals and Veterinary Medicine; 2008 Jan 29-Feb 1; Bangkok, Thailand. Bangkok: 2008. p. 384-8. Thai.
12. Arunvipas P. A study of prevalence and risk factors of neosporosis and toxoplasmosis causing abortions in dairy cows in western Thailand. 2012. Thai [cited 2015 Feb 15]. <http://elibrary.trf.or.th/project_content.asp?PJID=MRG4980141>.
13. Veterinary Research and Development Center (Upper Northeastern Region). Information on diagnostic laboratory. 2009. Thai.
14. Parker R. Diseases affecting reproduction in beef cattle [cited 2015 Feb 12]. <<http://www.thecatlesite.com/articles/733/diseases-affecting-reproduction-in-beef-cattle/>>.
15. Woo PTK. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Acta Trop*. 1970;27(4):384-6.
16. Thrusfield M. Veterinary epidemiology. 3rd ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2007. p. 624.
17. Pholpark M, Pholpark S. *Trypanosoma evansi* infections in the northeastern region of Thailand. *Thai-NIAH e-Journal*. 2013(8):32-55. Thai.
18. Tiwananthagorn W, Hoerchner F, Suriyasathaporn W, Rojanasathien S. Comparative study on prevalence of trypanosomosis in dairy cattle in Chiang Mai and Lam Phun Provinces diagnosed by hematocrit centrifugation technique and card agglutination test. *Chiang Mai Veterinary Journal*. 2006;4:101-6. Thai.
19. Pinchbeck GL, Morrison LJ, Tait A, Langford J, Meehan L, Jallow S, et al. Trypanosomosis in The Gambia: prevalence in working horses and donkeys detected by whole genome amplification and PCR, and evidence for

- interactions between trypanosome species. BMC Vet Res. 2008 Feb 20;4(1):7.
20. Veterinary Research and Development Center (Upper Northern Region). Annual report, 2010. Lampang: Veterinary Research and Development Center (Upper Northern Region); 2011. p. 30. Thai.
 21. Kamyinkird K. Epidemiology of *Trypanosoma evansi* infection of dairy cattle in Thailand. Kasetsart University; 2009. Thai.
 22. Jittapalapong S, Pinyopanuwat N, Inpankaew T, Sangvaranond A, Phasuk C, Chimnoi W, et al. Prevalence of *Trypanosoma evansi* infection causing abortion in dairy cows in Central Thailand. Kasetsart J Nat Sci. 2009;43:53-7. Thai.
 23. Worasing R, Rattana S. Bovine gastrointestinal and blood parasites examination in Pakpanang River Basin in Nakhon Si Thammarat Province. Thai-NIAH e-Journal. 2007;2:38-47. Thai.
 24. Ahmed WM, El-khadrawy HH, El Moghazy FM, Hanafi EM, Romany MM, Habeeb SM. Field observations on the relationship between babesiosis and reproductive disorders in female buffaloes. Int J Acad Res. 2010;2(6):340-7.
 25. Dargantes A. Epidemiology, control and potential insect vectors of *Trypanosoma evansi* (*surra*) in village livestock in southern Philippines [cited 2015 Feb 13]. <<http://researchrepository.murdoch.edu.au/4629/>>.
 26. Dargantes AP, Reid SA, Copeman DB. Experimental *Trypanosoma evansi* infection in the goat. I. Clinical signs and clinical pathology. J Comp Pathol. 2005 Nov;133(4):261-6. Epub 2005 Oct 6.
 27. Singla LD, Juyal PD, Sharma NS. Immune responses to haemorrhagic septicaemia (HS) vaccination in *Trypanosoma evansi* infected buffalo-calves. Trop Anim Health Prod. 2010 Apr;42(4):589-95. Epub 2009 Sep 27.
 28. Holland WG, My LN, Dung TV, Thanh NG, Tam PT, Vercruysse J, et al. The influence of *T. evansi* infection on the immuno-responsiveness of experimentally infected water buffaloes. Vet Parasitol. 2001;102:225-34.
 29. Davila AM, Silva RA. Animal trypanosomiasis in South America. Current status, partnership, and information technology. Ann N Y Acad Sci. 2000;916:199-212.
 30. Konnai S, Mingala CN, Sato M, Abes NS, Venturina FA, Gutierrez CA, et al. A survey of abortifacient infectious agents in livestock in Luzon, the Philippines, with emphasis on the situation in a cattle herd with abortion problems. Acta Trop. 2008 Mar;105(3):269-73. Epub 2007 Dec 23.
 31. Yu J, Xia Z, Liu Q, Liu J, Ding J, Zhang W. Seroepidemiology of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the People's Republic of China. Vet Parasitol. 2007 Jan 19;143(1):79-85.
 32. Kim JH, Lee JK, Lee BC, Park BK, Yoo HS, Hwang WS, et al. Diagnostic survey of bovine abortion in Korea: with special emphasis on *Neospora caninum*. J Vet Med Sci. 2002 Dec;64(12):1123-7.
 33. Krieg K. Causes of reproductive failure in cattle. 2009 [cited 2015 Feb 12]. <<http://www.uaf.edu/files/ces/publications-db/catalog/anr/LPM-00742.pdf+&cd=1&hl=th&ct=clnk&gl=th>>.
 34. Gasbarre LC. Effects of gastrointestinal nematode infection on the ruminant immune system. Vet Parasitol. 1997 Nov;72(3-4):327-37; discussion 337-43.
 35. Suksaithaichana P, Nawathong P. Study of immunoassay of antigen detection ELISA for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in newly introduced buffaloes. In: Proceedings of the 39th Kasetsart University Annual Conference: Animals, Veterinary Medicine; 2001 Feb 5-7; Bangkok, Thailand. p. 316-20. Thai [cited 2015 Feb 10]. <http://kucon.lib.ku.ac.th/cgi-bin/KUCON.exe?rec_id=007651&database=KUCON&search_type=link&table=mona&back_path=/KUCON/mona&lang=thai&format_name=TFMON>.
 36. Holmes PH. Trypanosomiasis. In: Porter RS, Kaplan JL, editors. Merck manual of diagnosis and therapy. 19th ed. New Jersey: Merck; 2011 [cited 2015 Feb 10].

<http://www.merckmanuals.com/vet/circulatory_system/blood_parasites/trypanosomiasis.html>.

37. World Organisation for Animal Health. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2012 [cited 2015 Feb 10]. <<http://www.oie.int/manual-of-diagnostic-tests-and-vaccines-for-terrestrial-animals/>>.
38. Baticados WN, Castro DL, Baticados AM. Parasitological and PCR detection of

Trypanosoma evansi in buffaloes from Luzon, Philippines. Ceylon Journal of Science. 2011;40(2):141-6.

39. Desquesnes M, Dargantes A, Lai D-H, Lun Z-R, Holzmüller P, Jittapalapong S. *Trypanosoma evansi* and *surra*: A review and perspective on transmission, epidemiology and control, impact and zoonotic aspects. BioMed Res Int. 2013 Sep 18; 2013:e321237.