เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2555; 10(2): 67-74

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาปัจจัยด้านระบาดวิทยาที่มีผลกระทบต่อการติดเชื้อ *Giardia duodenalis* ในโคนมในเขตจังหวัดขอนแก่น

พริมาภรณ์ พละไกร[1], **อรจิรา สิงห์คา**[1], **สวรรยา แสงจันทร์**[1],
วีรพล ทวีนันท์[2], **ชัยวัฒน์ จรัสแสง**[3*]

[1]*นักศึกษาชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[2]*ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[3]*ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

บทคัดย่อ สุ่มตัวอย่างหาซีสต์ของเชื้อ *Giardia duodinalis* ในฟาร์มโคนมของเขตสหกรณ์โคนมขอนแก่น จำกัด จำนวน 21 ฟาร์ม ระหว่างเดือน สิงหาคม - กันยายน 2554 รวมทั้งหมด 100 ตัวอย่าง ด้วยวิธี floatation technique การศึกษาพบซีสต์ 62% ของตัวอย่างทั้งหมดและพบซีสต์จำนวน 15 ฟาร์ม จากฟาร์มทั้งหมด 21 ฟาร์ม คิดเป็น 71.42% พบว่าปัจจัยด้านอายุ การถ่ายพยาธิก่อนหย่านมและขนาดฝูงโคนม มีผลต่อการติดเชื้อ *G. duodinalis* โดยที่อายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 6 เดือน ตรวจพบซีสต์ มากกว่ากลุ่มอายุมากกว่า 6 เดือน อย่างมีนัยสำคัญ (Odd ratio=7.24, $P<0.05$) ปัจจัยด้านการถ่ายพยาธิพบว่ากลุ่มที่ไม่ถ่ายพยาธิก่อนหย่านมตรวจพบการติดเชื้อมากกว่ากลุ่มที่ถ่ายพยาธิอย่างมีนัยสำคัญ (Odd ratio=4.72, $P<0.05$) ส่วนปัจจัยด้านขนาดของฝูงพบว่าฝูงโคนมที่น้อยกว่า 50 ตัว มีแนวโน้มที่จะติดเชื้อมากกว่าฟาร์มขนาดใหญ่ **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร** 2555; 10(2): 67-74

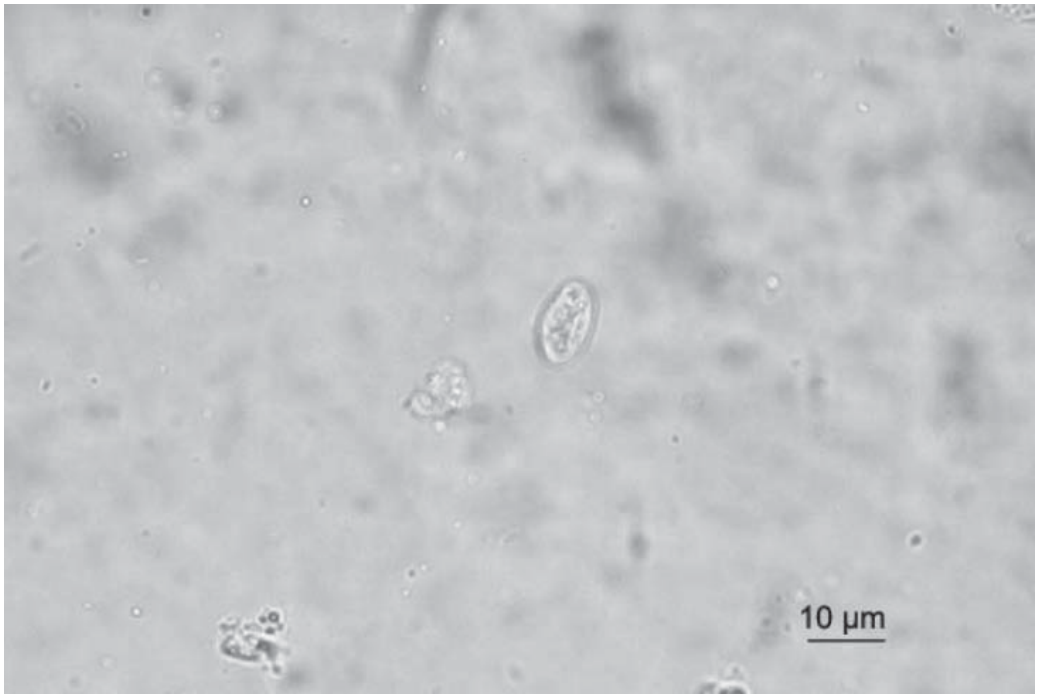
คำสำคัญ : ระบาดวิทยา, เชื้อไจอาเดีย, ฟาร์มโคนม

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่ : ชัยวัฒน์ จรัสแสง, ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น E-mail : chajar@kku.ac.th ได้รับบทความวันที่ 8 พฤศจิกายน 2554

บทนำ

Giardia duodenalis (Syn. *Giardia intestinalis, Giardia lamblia*) เป็นโปรโตซัวที่มีแฟลกเจลล่าซึ่งอยู่ในทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นๆ และถือว่าเป็นปรสิตในทางเดินอาหารที่พบได้บ่อยในคนและสัตว์เลี้ยง[1,2] การติดเชื้อสามารถเกิดได้ทางการกินอาหารหรือน้ำซึ่งปนเปื้อนด้วยซีสซ์ (cysts) ที่ถูกขับออกมากับอุจจาระ โดยซีสต์นั้นมีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อม เชื้อชนิดนี้สามารถติดต่อจากคนสู่คน หรือจากคนสู่สัตว์ได้ โดยการกระจายตัวของปรสิตชนิดนี้ในคนมักพบได้บ่อยในประเทศที่กำลังพัฒนา[3] ในเอเชีย แอฟริกา และละตินอเมริกา โดยพบผู้ป่วยถึง 200 ล้านคน ที่มีอาการของ giardiasis และมีรายงานกรณีศึกษาใหม่ถึง 500,000 กรณีในแต่ละปี[4]

พยาธิวิทยาของ giardiasis ยังไม่เป็นที่แน่ชัดนัก แต่พบว่าเมื่อมีการติดเชื้อจะทำให้เกิดการฝ่อลีบของ villous และทำให้เกิดการเสียหายของ microvilli ในลำไส้ ทำให้เกิดอาการ ท้องเสียเรื้อรัง ปวดท้อง และน้ำหนักลด โดยอาการอาจแตกต่างกันไปในแต่ละราย นอกจากนี้ยังพบว่าสภาพของภูมิคุ้มกันมีผลต่อความรุนแรงของอาการจากการติดเชื้อ และสายพันธุ์ที่แตกต่างกันอาจจะส่งผลต่อความรุนแรงที่แตกต่างกันอีกด้วย[5] สัตว์อายุน้อยมีการแสดงอาการมากกว่าในสัตว์โตเต็มวัย[6] ส่วนการศึกษาทางโมเลกุลของ *G. duodenalis* ที่แยกออกมาจาก host แต่ละชนิด แยกออกได้เป็น 7 genotypes ได้แก่ assemblage A, B, C, D, E, F และ G อย่างไรก็ตามในโคจะมีเพียง 2 genotypes เท่านั้น คือ assemblage A และ assemblage E โดย assemblage A นั้นสามารถพบได้ทั้งในคน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมหลายชนิด ขณะที่ assemblage E พบได้เฉพาะในสัตว์กีบเท่านั้น[7,8] ในด้านสาธารณสุข ยังไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่า *G. duodenalis* เป็นโรคจากสัตว์สู่คน (zoonosis) หรือไม่ แต่ในหลายการศึกษาก็มีการเสนอแนะว่า *G. duodenalis* อาจจะมีการติดต่อกับระหว่างคนกับโค[9] มีความเป็นไปได้ที่มีการติดเชื้อ genotype assemblage A หรือ B ระหว่างสัตว์เลี้ยง (สุนัขและแมว) กับเจ้าของ[10] เช่นเดียวกับในโค ซึ่งมี 2 genotypes ที่มีการติดเชื้อในคนด้วย โดยในการศึกษาในออสเตรเลียและแคนาดาพบว่าโคมากกว่าร้อยละ 20% ของฝูง มีการติดเชื้อ genotype assemblage A ซึ่งเป็น genotype ที่พบการติดเชื้อได้บ่อยในคน[9] ดังนั้นการหาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อ ก็จะช่วยในการเฝ้าระวังความเสี่ยงของการติดเชื้อได้ดียิ่งขึ้น ในประเทศไทยมีการศึกษาความชุก วิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงและแยกสายพันธุกรรมของ *Giardia* spp. จากอุจจาระของโคนมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 3 จังหวัด ได้แก่ อุดรธานี ขอนแก่น และสกลนคร ซึ่งผลการศึกษาพบความชุกของการติด *Giardia* spp. คิดเป็น 2.5 เปอร์เซ็นต์[11]



รูปที่ 1 ซีสต์ของ *G. duodenalis* ที่ตรวจพบ

วิธีการศึกษา

การเก็บตัวอย่างและข้อมูลในฟาร์ม

เก็บตัวอย่างอุจจาระจากฟาร์มโคนมภายในจังหวัดขอนแก่น ระหว่างวันที่ 21 สิงหาคม 2554 - 18 กันยายน 2554 รวมทั้งหมด 100 ตัวอย่าง จาก 21 ฟาร์ม โดยการเก็บอุจจาระโดยตรงจากทวารหนักของโค ใช้ถุงพลาสติกล้วงเข้าไปเก็บตัวอย่าง เก็บใส่ถังน้ำแข็งจนไปถึงห้องปฏิบัติการ เก็บข้อมูลอายุของลูกโคที่ทำการเก็บตัวอย่าง และเก็บข้อมูลฟาร์มในด้านการจัดการ จากการสัมภาษณ์เจ้าของฟาร์มและการสังเกตของผู้เก็บข้อมูล โดยเก็บข้อมูลในส่วนของ ขนาดฝูงของโค การให้อาหาร การเก็บอาหาร แหล่งน้ำที่ใช้ในฟาร์ม อายุที่หย่านม การถ่ายพยาธิก่อนหย่านม โปรแกรมวัคซีน โปรแกรมการถ่ายพยาธิ ยาบำรุง การให้นมน้ำเหลืองหลังคลอด คอกและวัสดุรองนอนในลูกโค อาหารที่ให้ก่อนการหย่านม การสัมผัสกับสัตว์อื่นๆ เช่น สุนัขและแมว

การวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างอุจจาระถูกนำมาตรวจหาซีสต์ของ *G. duodenalis* ด้วยวิธี floatation method ใช้ตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ใส่ลงในแก้วพลาสติกเทน้ำเกลืออิ่มตัว 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเทผ่านก๊อซวางไว้บนตะแกรงกรองเพื่อกรองเศษอุจจาระลงไปในแก้วพลาสติกใบใหม่ จากนั้นเทไปใส่ tube ขนาด 15 มิลลิลิตร จนปริ่มปากหลอด และนำ cover slide ปิดไว้ด้านบนของ tube ตั้งทิ้งไว้ 10-15 นาที ยก cover slide ขึ้นมาตรงๆ นำไปวางบนแผ่นสไลด์แล้วนำไปส่องโดยใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อหาซีสต์ของ *G. duodenalis*. ที่กำลังขยาย 40x[12] ลักษณะของซีสต์ที่พบคือ ซีสต์รูปไข่ ขนาด

ประมาณ 10-12 ไมครอน ผนังเรียบ ภายในมองเห็นนิวเคลียส 4 อัน มีแกนอยู่ตรงกลาง (รูปที่ 1)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยวิธีสมการประมาณค่าโดยทั่วไป (GEE) เพื่อทดสอบผลของปัจจัยที่ต้องการศึกษา เช่น อายุของลูกโค ขนาดฝูงของโค การถ่ายพยาธิก่อนหย่านม ต่อการพบเชื้อ *G. duodenalis* โดยใช้ PROC GENMOD ใน SAS V. 9.00 โดยมีการควบคุมปัจจัย confounding effect จากปัจจัยที่แตกต่างกัน โดยกำหนดระดับนัยสำคัญที่ระดับ $P<0.05$

ผลการศึกษา

จากการเก็บตัวอย่างอุจจาระของลูกโคอายุน้อยกว่า 1 ปี จากฟาร์มโคนม 21 ฟาร์ม จำนวน 100 ตัวอย่าง ตรวจพบซีสต์ร้อยละ 62 ของตัวอย่างทั้งหมด จากการเก็บข้อมูลจากฟาร์มพบว่าในแต่ละฟาร์มมีปัจจัยที่แตกต่างกัน คือ ขนาดของฝูงโค การถ่ายพยาธิลูกโคก่อนหย่านม และช่วงอายุของลูกโค โดยพบว่า กลุ่มลูกโคอายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 6 เดือน ตรวจพบซีสต์ ร้อยละ 67.1 ของลูกโคในกลุ่มดังกล่าว (ตรวจพบ 51 ใน 76 ตัวอย่าง) และในกลุ่มลูกโคอายุมากกว่า 6 เดือน ตรวจพบซีสต์ ร้อยละ 45.8 ของลูกโคในกลุ่มดังกล่าว (ตรวจพบ 11 ใน 24 ตัวอย่าง) ในกลุ่มลูกโคที่ไม่ถ่ายพยาธิก่อนหย่านม ตรวจพบซีสต์ ร้อยละ 72.5 ของลูกโคในกลุ่มดังกล่าว (ตรวจพบ 29 ใน 40 ตัวอย่าง) ลูกโคที่ถ่ายพยาธิก่อนหย่านม ตรวจพบซีสต์ ร้อยละ 55 ของลูกโคในกลุ่มดังกล่าว (ตรวจพบ 33 ใน 60 ตัวอย่าง) ลูกโคที่อยู่ในฝูงโคขนาดน้อยกว่า 50 ตัว ตรวจพบซีสต์ ร้อยละ 64.9 ของลูกโคที่อยู่ในฝูงโคกลุ่มนี้ (ตรวจพบ 50 ใน 77 ตัวอย่าง) ส่วนลูกโคที่อยู่ในฝูงโคขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 50 ตัว ตรวจพบซีสต์ ร้อยละ 52.1 ของลูกโคในกลุ่มนี้ (ตรวจพบ 12 ใน 23 ตัวอย่าง) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยวิธีสมการประมาณค่าโดยทั่วไป (GEE)โดยกำหนดระดับนัยสำคัญที่ระดับ $P<0.05$ พบว่า อายุของลูกโคมีผลต่อการติดเชื้อ *G. duodenalis* โดยลูกโคที่อายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 6 เดือนมีอัตราการตรวจพบ *G. duodenalis* มากกว่าลูกโคที่อายุมากกว่า 6 เดือนอย่างมีนัยสำคัญและการถ่ายพยาธิก่อนหย่านมในลูกโคมีผลต่อการติดเชื้อ *G. duodenalis* โดยที่กลุ่มลูกโคที่ไม่ได้รับการถ่ายพยาธิก่อนหย่านมมีอัตราการตรวจพบเชื้อ *G. duodenalis* มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มลูกโคที่ได้รับการถ่ายพยาธิก่อนหย่านมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนปัจจัยด้านขนาดของฝูงนั้น แม้ว่าลูกโคในฟาร์มที่มีขนาดของฝูงน้อยกว่า 50 ตัวจะตรวจพบอัตราการติดเชื้อมากกว่าลูกโคที่อยู่ในฝูงขนาดมากกว่า 50 ตัว แต่ความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1)

สรุปและวิจารณ์

ในการสอบถามข้อมูลจากฟาร์มที่เก็บตัวอย่างพบว่า แต่ละฟาร์มมีการจัดการฟาร์มที่คล้ายคลึงกัน ในส่วนของการให้อาหาร การเก็บอาหาร น้ำ การหย่านม โปรแกรมวัคซีน

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปัจจัยด้าน ช่วงอายุ การถ่ายพยาธิก่อนหย่านม และขนาดของฝูง ต่อการติด *G.duodenalis* โดยวิธี Generalized estimating equations analysis (GEE)

Factors	Odd ratio	P value	95% CI
อายุ ≤ 6 เดือน อายุ > 6 เดือน	7.24	0.003	[1.95, 26.57]
ไม่ถ่ายพยาธิก่อนหย่านม ถ่ายพยาธิก่อนหย่านม	4.72	0.009	[1.46, 15.18]
ขนาดฝูง < 50 ตัว ขนาดฝูง ≥ 50 ตัว	2.29	0.122	[0.80, 6.61]

95 % CI= 95 % Confidential Interval (lower, upper)

โปรแกรมการถ่ายพยาธิ การให้ยาบำรุง การให้นมน้ำเหลืองหลังคลอด วัสดุรองนอนในลูกโค อาหารที่ให้ก่อนหย่านม การสัมผัสกับสัตว์อื่น (มีการสัมผัสกับสุนัข, แมว) จึงไม่สามารถนำปัจจัยต่างๆ เหล่านี้มาเปรียบเทียบกันได้ อายุเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการศึกษา มีหลายงานวิจัยที่กล่าวถึงอายุมีผลต่อการเพิ่มความเสี่ยงในการติดเชื้อ โดยพบว่าการติดเชื้อ *G. duodenalis* พบมากที่สุดในช่วงลูกโคอายุระหว่าง 11-20 วัน และพบน้อยลงเมื่ออายุมากขึ้น ซึ่งส่วนที่พบมากจะอยู่ในช่วงอายุต่ำกว่า 6 เดือน[13] และมีงานวิจัยที่สอดคล้องกันคือ พบการติดเชื้อ ในช่วงก่อนหย่านมมากกว่าการติดเชื้อในช่วงหลังหย่านมและพบน้อยที่สุดในโคสาว[14] การถ่ายพยาธิ โปรแกรมการถ่ายพยาธิเป็นสิ่งที่จำเป็นในลูกโคก่อนหย่านม ซึ่งจะช่วยลดการติดเชื้อในโคได้[14]

ฤดูกาลในการเก็บตัวอย่างอาจมีผลต่อการพบเชื้อ *G. duodenalis* มีการศึกษาว่าความชุกของการติดเชื้อ *G. duodenalis* ในประเทศไทยเป็นช่วงฤดูฝน อันเนื่องมาจากความชื้นซึ่งมีผลต่อการอยู่รอดของซีสต์ในสิ่งแวดล้อม[15] ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่กล่าวว่า *G. duodenalis* จะมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นในสิ่งแวดล้อมที่มีอุณหภูมิร้อนชื้น[16] แต่มีการศึกษาที่โต้แย้งว่าฤดูกาลไม่มีผลต่อการติดเชื้อ *G. duodenalis*[17] นอกจากนี้การเลี้ยงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นในฟาร์ม เช่น สุนัข แมว จะทำให้มีแนวโน้มการติดเชื้อ *G. duodenalis* ในโคมากขึ้น โดยอุจจาระของสุนัขหรือแมวที่มี *G. duodenalis* จะทำให้เกิดการปนเปื้อนของซีสต์ของ *G. duodenalis* ในน้ำและอาหารที่โคกินได้[18] อนึ่งการเลี้ยงลูกโคก่อนหย่านมบนพื้นดินหรือทราย จะทำให้มีแนวโน้มการติดเชื้อ *G. duodenalis* มากขึ้น

ดังนั้นการเลี้ยงลูกโคก่อนหย่านมบนพื้นคอนกรีตจะช่วยลดความเสี่ยงการติดเชื้อไปได้มาก[19] การศึกษาในอนาคตควรทำการศึกษาการติดเชื้อในคนเลี้ยงและสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ภายในฟาร์มด้วย เนื่องจาก *G. duodenalis* อาจเป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่คนได้ หรือควรทำการศึกษาแยกจีโนไทป์ของ *G. duodenalis* ที่ก่อให้เกิดโรค

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ศึกษาขอขอบคุณ อ.น.สพ.สุวลักษณ์ ศรีสุภา ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ ที่ช่วยแนะนำการวิเคราะห์ข้อมูล น.สพ.ธิติคุณ บุตรคำโชติ และ น.สพ.นวภัทร แก้ววิเศษโฮง นายสัตวแพทย์ประจำหน่วยสัตว์ใหญ่ โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อให้ข้อมูลฟาร์มในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. Thompson RC. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and *Giardia*sis. Vet Parasitol 2004; 26: 15-35.
2. Trout JM, Santin M, Greiner EC, Fayer, R. Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in 1-2 year old dairy cattle. Vet Parasitol 2006; 140: 217-22.
3. World Health Organization. The World Health Report. Fighting Disease, Fostering Development. Geneva: WHO; 1996.
4. Yason JA, Rivera, WL. Genotyping of *Giardia duodenalis* isolates among residents of slum area in Manila, Philippines. Parasitol Res 2007; 101: 681-7.
5. Thompson RC. *Giardia*sis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. Int J Parasitol 2000; 30: 1259-67.
6. Xiao L, Herd R. Infection pattern of Cryptosporidium and *Giardia* in calves. Vet.Parasitol. 1994; 55: 257-62.
7. Ey PL, Mansouri M, Kulda J, Nohynkova E, Monis PT, Andrews RH, et al. Genetic analysis of *Giardia* from hoofed farm animals reveals artiodactyl-specific and potentially zoonotic genotypes. J Eukaryot Microbiol 1997; 44: 626-35
8. Thompson RC. Molecular epidemiology of *Giardia* and Cryptosporidium infections. J. Parasitol. 2003; 89: 34-140.
9. O'Handley RM, Olsona ME, Fraser D, Adams P, Thompsonb RC. Prevalence and genotypic characterisation of *Giardia* in dairy calves from Western Australia and Western Canada. Vet. Parasitol. 2000; 90: 193–200.

10. Schantz PM. Intestinal parasites of dogs in Western Australia: progress in control and new concerns. Vet J 1999; 157: 222-4.

11. Inprankaew T, Traub T, Thadtapong N, Pinyopanuwat N, Chimnoi W, Jittapalapong S. Prevalence of *Giardia*sis in dairy cattle in Northeastern part of Thailand. Kasetsart University Annual Conference, Bangkok (Thailand), 2010; 48: 109-115.

12. Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Veterinary Parasitology. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2007.

13. Mark-Carew MP, Khan Y, Wade SE, Schaaf S, Mohammed HO. Incidence of and risks associated with *Giardia* infections in herds on dairy farms in the New York City Watershed. Acta Vet Scand 2010; 52; 1-8

14. Santin M, Trout JM, Fayer R. A longitudinal study of *Giardia duodenalis* genotypes in dairy cows from birth to 2 years of age. Vet Parasitol 2009; 162: 40-5.

15. Jittapalapongm S, Sangwaranond A, Nimsuphan B, Inpankaew T, Phasuk C, Pinyopanuwat N, et al. Prevalence o f Gastro- Intestinal Parasites of Dairy Cows in Thailand. Kasetsart Journal. 2011; 45: 40 - 5.

16. Hoar BR, Paul RR, Siembieda J, Pereira MG, Atwill ER. *Giardia duodenalis* in feedlot cattle from the central and western United States. BMC Vet Res 2009; 5: 37.

17. Stuart JM, Orr HJ, Warburton FG, Jeyakanth S, Pugh C, Morris I, et al. Risk factors for sporadic Giardiasis: a case-control study in southwestern England. Emerg Infect Dis. 2003; 9: 229-33.

18. Olson ME, O'Handley RM, Ralston BJ, McAllister TA, Thompson RC. Update on Cryotosporidium and *Giardia* infections in cattle. Trends Parasitol. 2004; 20: 185–91.

19. Muhid A, Robertson I, Ng J, Yang R, Ryan U. Prevalence of *Giardia* spp. infection in pre-weaned and weaned calves in relation to management factors. Vet J. 2011: Inpress.