สถานการณ์และแนวทางการวินิจฉัยการติดเชื้อ *Babesia* spp. ในไทย

รักศักดิ์ รักษาเคน[1,*]

[1]*คณะเทคนิคการสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900*

**E-mail: cvtrsr@ku.ac.th*

รับบทความ 15 มกราคม 2562 ยอมรับการตีพิมพ์ 15 กุมภาพันธ์ 2562

บทคัดย่อ

โรคพยาธิเม็ดเลือดสุนัขยังคงเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญของสุนัขในประเทศไทย เชื้อโปรโตซัวในกลุ่ม *Babesia* spp. เป็นสาเหตุสำคัญของโรค babesiosis โดยสุนัขที่ติดเชื้อจะเกิดภาวะโลหิตจาง เม็ดเลือดแดงแตกรุนแรง เกล็ดเลือดต่ำ และอวัยวะล้มเหลวจนทำให้สุนัขเสียชีวิตได้ โดยเชื้อ *Babesia* spp. ที่มีการระบาดอยู่ในประเทศไทยมีรายงานเพียงสองชนิดที่สำคัญคือ *Babesia canis* และ *Babesia gibsoni* ซึ่งมีเห็บแข็งของสุนัข (*Rhipicephalus sanguineus*) เป็นพาหะของเชื้อ เห็บชนิดนี้พบได้มากที่สุดในสุนัขในประเทศไทย จึงเป็นสาเหตุให้เชื้อยังมีการระบาดอย่างต่อเนื่อง การวินิจฉัยในปัจจุบันใช้การเสมียร์เลือดแล้วย้อมสี เพื่อตรวจหาระยะ merozoite ของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์เป็นหลัก นอกจากนี้ยังสามารถตรวจหาเชื้อด้วยเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มจำนวนยีนที่จำเพาะต่อเชื้อซึ่งมีความจำเพาะมากกว่าและนิยมใช้ในการศึกษาวิจัย บทความนี้จึงได้รวบรวมสถานการณ์ของโรค babesiosis ของไทยและรวบรวมวิธีการตรวจที่ใช้อยู่ในปัจจุบันเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับสัตวแพทย์ นักศึกษาและผู้สนใจ

คำสำคัญ: โรคพยาธิเม็ดเลือดสุนัข การวินิจฉัย

A situation and diagnostic guidelines of *Babesia* spp. infection in Thailand

Rucksak Rucksaken[1,*]

[1]*Faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University, Bangkhen, Bangkok, 10900*

**E-mail: cvtrsr@ku.ac.th*

Received 15 January 2019; Accepted 15 February 2019

Abstract

Blood parasite infection is remain the important health problem in dog in Thailand. The protozoa parasite, *Babesia* spp. is the causative agent of canine babesiosis. Clinical manifestations characterized by hemolytic anemia, thrombocytopenia, and multiple organ failure and possibly lead to death. Only 2 important species reported in Thailand are *Babesia canis* and *Babesia gibsoni*. They are generally transmitted by brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*) - the most common tick species found in dogs in Thailand, resulting in the epidemic of these protozoa still exists continually. Nowadays, detection of merozoites depends on conventional blood smear. Whereas, polymerase chain reaction (PCR) has been widely used to amplify specific regions of these parasite DNA with a higher specificity. This article review is composed of current babesiosis situation in Thailand and diagnostic approaches. This review will be benefit for veterinarian, students and interested person.

Keywords: dog blood parasite infection, diagnosis

บทนำ

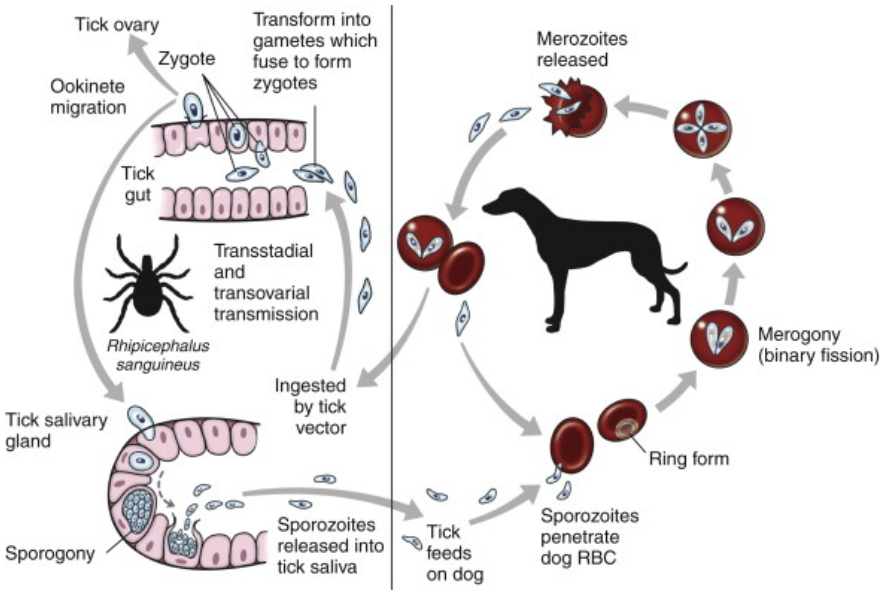
เชื้อ *Babesia* spp. เป็นเชื้อปรสิตที่อาศัยอยู่ในเม็ดเลือดแดงของสัตว์หลายชนิด ก่อโรคพยาธิในเม็ดเลือดของสัตว์ซึ่งมีความสำคัญและเป็นปัญหาต่อสุขภาพของสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศเขตร้อนรวมถึงประเทศไทย เชื้อ *Babesia* spp. เป็นเชื้อโปรโตซัวซึ่งเป็นปรสิตของสัตว์มีกระดูกสันหลังจำพวกโค กระบือ แพะ แกะ ม้า สุกรรวมถึงสุนัขและคน (Taboada and Merchant, 1991) เชื้อที่ก่อโรคในสุนัขได้แก่เชื้อในสปีชีส์ *B. canis canis, B. canis rossi, B. canis vogeli* และ *B. gibsoni* โดยมีเห็บของสุนัขหลายชนิดเป็นพาหะของเชื้อ และเชื้อยังสามารถส่งผ่านจากเห็บทางไข่ไปยังเห็บรุ่นต่อไปได้อีกด้วย เชื้อ *Babesia* spp. ก่อโรคที่ชื่อว่า babesiosis ทำให้สุนัขที่ติดเชื้อเกิดภาวะโลหิตจาง เม็ดเลือดแดงแตกรุนแรง เกล็ดเลือดต่ำ ฮีโมโกลบินในเลือดต่ำ ไตล้มเหลวจนถึงขั้นเสียชีวิตได้ ในประเทศไทยมีการระบาดของเชื้อในสปีชีส์ *B. canis canis, B. canis vogeli* และ *B. gibsoni* (Laummaunwai et al., 2014; Piratae et al., 2015; Suksawat et al., 2001) เนื่องจากเชื้อมีพาหะคือเห็บแข็งของสุนัข (*Rhipicephalus sanguineus*) ซึ่งพบมากในประเทศไทย

เมื่อเชื้อเข้าสู่*ร่างกาย*ของโฮสต์จะไปอาศัยอยู่ในเม็ดเลือดแดงและทำลายเม็ดเลือดแดง โดยแท้จริงแล้วความรุนแรงของโรคนั้นเกิดจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของโฮสต์ต่อเชื้อมากกว่าจากการที่เชื้อเข้าไปทำลายเม็ดเลือดแดง สัตว์ที่ติดเชื้อมักมีไข้ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร สัตว์ที่ติดเชื้ออาจเกิดภาวะเม็ดเลือดแดงแตกรุนแรงจนถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Irwin, 2010) ลักษณะอาการของสัตว์ป่วยที่เด่นชัดที่สุดได้แก่ เม็ดเลือดแดงแตกทั้งในหลอดเลือดและนอกหลอดเลือด (Boozer and Macintire, 2003) จนสัตว์เกิดภาวะโลหิตจาง ตัวเหลือง ปัสสาวะมีสีแดงหรือน้ำตาลจากสีของฮีโมโกลบินที่ออกมาจากเม็ดเลือดแดงและอาจพบเม็ดเลือดแดงปนออกมากับปัสสาวะ เกล็ดเลือดต่ำ เกิดความเสียหายต่อไต ตับ และระบบทางเดินหายใจ รวมถึงระบบประสาทและสมอง (Welzl et al., 2001) ภาวะช็อคสามารถเกิดได้ในสัตว์ที่มีภาวะเลือดจางขั้นรุนแรงทำให้อวัยวะต่างๆล้มเหลวซึ่งอาการจะคล้ายกับภาวะ septic shock (Jacobson and Clark, 1994) ทั้งนี้สัตว์ที่ป่วยบางตัวสามารถหายจากอาการป่วยได้เองโดยไม่ได้รับการรักษาอย่างไรก็ตามสัตว์ป่วยดังกล่าวอาจจะกลับมาเป็นซ้ำได้ (Bourdoiseau, 2006)

วงจรชีวิตและการติดต่อ

เชื้อ *Babesia* spp. ต้องการโฮสต์สองชนิดคือสัตว์มีกระดูกสันหลังและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง วงจรชีวิตของเชื้อ *Babesia* spp. แต่ละสปีชีส์มีความคล้ายคลึงกัน เริ่มจากสุนัขได้รับเชื้อระยะ sporozoites ซึ่งเป็นระยะติดต่อจากน้ำลายของเห็บเมื่อเห็บมาดูดเลือดสุนัข เชื้อระยะ sporozoites จะเข้าสู่เม็ดเลือดแดงของสุนัขไปเจริญเติบโตและแบ่งตัวแบบไม่อาศัยเพศได้เป็นระยะ merozoites ซึ่งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเชื้อจนได้ merozoites นี้จะทำให้เม็ดเลือดแดงแตกและเชื้อระยะ merozoites จะออกมาจากเม็ดเลือดแดงที่แตกเพื่อเข้าสู่เม็ดเลือดแดงใหม่ หากสุนัขติดเชื้อแบบเรื้อรัง เชื้อบางส่วนจะเข้าไปหลบอยู่ในหลอดเลือดฝอยของม้าม ตับและอวัยวะอื่นๆ แล้วจึงกลับออกมาในกระแสเลือดอีกครั้ง เมื่อเห็บมากัดดูดเลือดสุนัขจะได้รับเชื้อ เข้าไป จากนั้นเชื้อเจริญเติบโตในเห็บแบบอาศัยเพศ (gamogony) โดยจะมีการผสมกันของ gametocytes ได้ไซโกตที่เคลื่อนที่ได้ ไซโกตจะเคลื่อนที่ไปยังต่อมน้ำลายของเห็บและเจริญเติบโตแบบไม่อาศัยเพศ (sporogony) ได้เป็นเชื้อระยะ sporozoites ซึ่งมีรูปร่างยาวเป็นระยะติดต่อในน้ำลายของเห็บซึ่งจะส่งผ่านไปยังสุนัขตัวอื่นเมื่อเห็บดูดเลือด (Boozer and Macintire, 2003) หลังจากเห็บกัดดูดเลือดสุนัขที่ติดเชื้อ เชื้อบางส่วนจะเข้าไปในไข่ของเห็บ เมื่อไข่ของเห็บฟักเป็นตัวเชื้อจะ

เคลื่อนที่ไปยังต่อมน้ำลายของเห็บและเพิ่มจำนวนแบบ binary fissions จนได้เชื้อระยะ sporozoites จำนวนมากอยู่ในน้ำลายของเห็บ



รูปที่ 1 วงจรชีวิตของเชื้อ *Babesia* spp. ในสุนัข (Birkenheuer, 2014)

สถานการณ์การระบาดของเชื้อในประเทศไทย

การศึกษาโรคพยาธิเม็ดเลือดสุนัขในประเทศไทย แม้จะมีการศึกษาไม่มากนักแต่ก็พบว่ามีการระบาดของเชื้อ *Babesia* spp. ในหลายพื้นที่ของประเทศ เช่น การศึกษาของ Laummaunwai และคณะในปี 2014 ได้ทำการสำรวจความชุกของเชื้อ *Babesia* spp. ในสุนัขเลี้ยงในเขตจังหวัดขอนแก่นพบความชุกถึง 19.5% (Laummaunwai et al., 2014) ในขณะที่ Piratae และคณะในปี 2015 ได้ทำการการสำรวจประชากรสุนัขจรจัดในเขตจังหวดมหาสารคามด้วยเทคนิค PCR เช่นเดียวกันพบความชุกของเชื้อ *B. canis* อยู่ที่ 6.3% (Piratae et al., 2015) และในปี 2016 Lui และคณะได้ทำการสำรวจสุนัขจรจัดในเขตจังหวัดสงขลาโดยใช้เทคนิค PCR พบว่าความชุกของการติดเชื้อ *Babesia* spp. อยู่ที่ 9.4% (Liu et al., 2016)

เทคนิคการวินิจฉัยเชื้อในปัจจุบัน

การตรวจด้วยการทำสไลด์ฟิล์มเลือดชนิดบาง (Thin blood smear)

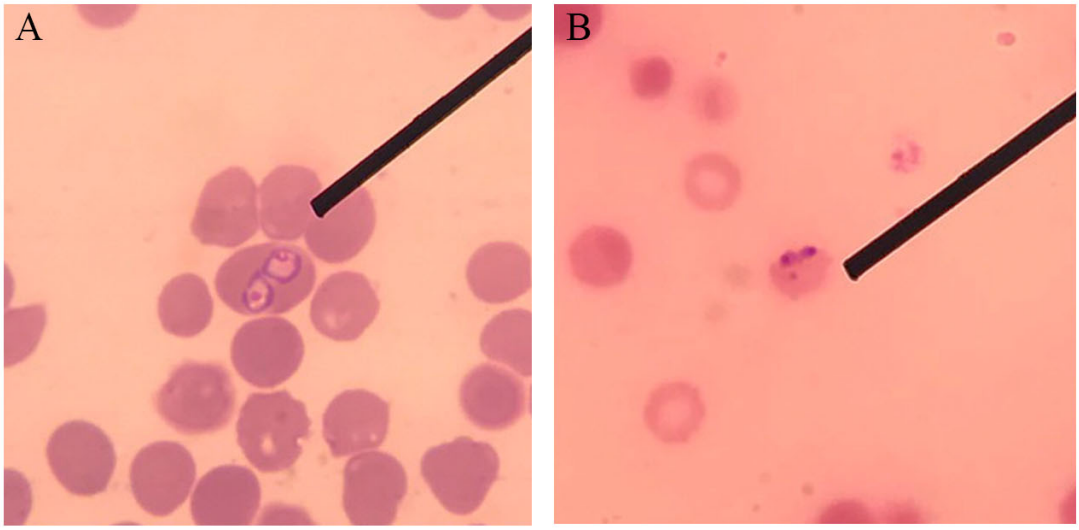
การวินิจฉัยเชื้อ *Babesia* spp. ในสุนัขโดยปกติจะใช้เทคนิคการย้อมสไลด์ฟิล์มเลือดชนิดบาง เนื่องจากทำได้ง่าย โดยมีหลักการคือทำแผ่นฟิล์มเลือดเพื่อหาเชื้อระยะ merozoites ในเม็ดเลือดแดงของสุนัข ทำได้โดยเก็บเลือดสุนัขจากหลอดเลือดดำในหลอดเก็บเลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นใช้หลอด capillary ดูดเลือดจากหลอดมาหยดเลือดลงบนกระจกสไลด์ที่สะอาดบริเวณปลายสไลด์ข้างใดข้างหนึ่ง แล้วจึงใช้ spreader หรือ cover glass ที่สะอาดแตะบริเวณหยดเลือดให้เลือดกระจายจนทั่วเอียงทำมุมประมาณ 45 องศา แล้วลากไปยังอีกฝั่งของสไลด์เพื่อให้เกิดฟิล์มเลือดบางที่สม่ำเสมอ ปล่อยให้แห้งแล้วนำไป fix ใน methanol และย้อมสี Giemsa stain เป็นเวลา 15-20 นาทีเพื่อให้เห็นเชื้อได้ชัดเจนขึ้น จากนั้นนำแผ่นสไลด์ไปตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100× อย่างไรก็ตามการตรวจหาเชื้อด้วยวิธีนี้มักตรวจไม่พบในสุนัขที่มีเชื้อในเลือดปริมาณน้อยหรือสุนัขที่ติดเชื้อแบบไม่แสดง

อาการและสุนัขที่ติดเชื้อเรื้อรัง (Yamane et al., 1993) อัตราการติดเชื้อปรสิตในเลือดพบอยู่ระหว่าง 0.05–10 % และอาจพบมากขึ้นเมื่อติดร่วมกับเชื้ออื่นเช่น *Ehrlichia* spp. (Van Heerden et al., 1983) การตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะไม่สามารถแยกชนิดของเชื้อ *B. canis canis* และ *B. canis vogeli* ได้ แต่สามารถแยกชนิดของเชื้อ *B. canis* และ *B. gibsoni* ได้ อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังต้องอาศัยความเชี่ยวชาญในการตรวจเนื่องจากเชื้อมีขนาดเล็กและมีรูปร่างคล้ายกับความผิดปกติอื่นของเม็ดเลือดหรือตะกอนของสีย้อมที่ใช้ในการตรวจ ซึ่งอาจทำให้เกิดการวินิจฉัยผิดพลาดได้

รูปร่างของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

B. canis canis, B. canis rossi และ *B. canis vogeli* มีรูปร่างลักษณะที่เหมือนกันเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเชื้อระยะ merozoites มีรูปร่างเหมือนหยดน้ำปลายข้างหนึ่งมน ปลายอีกข้างแหลม และมีขนาดใหญ่ มีความยาว 4-5 ไมโครเมตร (ยาวมากกว่าครึ่งหนึ่งของเม็ดเลือดแดง) ดัง**รูปที่** 2A อย่างไรก็ตามบางครั้งอาจพบเชื้อรูปร่าง ameboid form ที่มีขนาดเพียง 2-4 ไมโครเมตร และมี vacuole อยู่ภายในได้

B. gibsoni เชื้อจะมีขนาดเล็กกว่า *B. canis* ลักษณะของเชื้อระยะ merozoites เมื่อดูใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบว่ามีรูปร่างคล้ายวงแหวนหรือรูปไข่ และมีขนาดเล็กมากกว่าครึ่งหนึ่งของเม็ดเลือดแดง ดังรูปที่ 2B



รูปที่ 2 รูปร่างของเชื้อ *B. canis* (A) และเชื้อ *B. gibsoni* (B) ในแผ่นฟิล์มเลือดแบบบาง

การตรวจทางซีรัมวิทยาโดยใช้เทคนิค Indirect fluorescent antibody test (IFAT)

การตรวจทางซีรัมวิทยาใช้หลักการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG ต่อเชื้อ มีรายงานว่าสามารถทำได้แต่พบว่ายังมีการ cross-react ระหว่างสายพันธุ์และไม่สามารถแยกระหว่างสุนัขที่เคยติดเชื้อแล้วหายจากโรค กับสุนัขที่กำลังติดเชื้ออยู่ได้ (Birkenheuer et al., 2003b) ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของการตรวจทางซีรัมวิทยา เทคนิคการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยาโดยการตรวจหาโปรตีนที่จำเพาะหรือแอนติบอดีต่อเชื้อ เช่น เทคนิค ELISA ก็พบว่ามีความไวและความจำเพาะที่ดี และมีข้อดีคือสามารถตรวจตัวอย่างได้ทีละมากๆ ตัวอย่างโปรตีนจะสามารถนำมาพัฒนาเพื่อตรวจหาเชื้อ *Babesia* spp. ได้เช่น โปรตีน merozoite surface protein family (Bc28.1 และ Bc28.2) เป็นโปรตีนที่พบมากที่ผิวเซลล์ของเชื้อ

B. canis ในระยะ merozoite และยังพบว่าเชื้อมีการหลั่งโปรตีน Bc28.1 ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Eichenberger et al., 2017) นอกจากนี้โปรตีนชนิดนี้ยังทำหน้าที่สำคัญในการเกาะติดกับเม็ดเลือดแดง (Yang et al., 2012) จึงน่าจะมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นชุดตรวจ อย่างไรก็ตามการตรวจซีรัมวิทยาของเชื้อยังไม่มีการใช้ในประเทศไทย

การตรวจด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR)

เทคนิค PCR ใช้หลักการเพิ่มจำนวน DNA ของเชื้อในหลอดทดลองโดยสกัด DNA ขอเชื้อจากตัวอย่างเลือดหรือเนื้อเยื่อม้ามของสุนัข เพื่อให้สามารถวินิจฉัยเชื้อแม้มีการติดเชื้อในปริมาณน้อยได้ วิธีนี้จึงมีความไวและความจำเพาะสูง (Bashiruddin et al., 1999) เหมาะสำหรับการติดเชื้อในปริมาณน้อย ติดเชื้อแบบเรื้อรังหรือไม่แสดงอาการ โดยเทคนิคนี้มีรายงานว่าสามารถตรวจได้ถึง 0.001% parasitemia (Birkenheuer et al., 2003a) และสามารถแยกเชื้อได้ถึงระดับสปีชีส์ของเชื้อได้ทั้งนี้ขึ้นกับไพรเมอร์ที่เลือกใช้ รวมถึงมีการพัฒนาการตรวจแบบ multiplex PCR เพื่อให้สามารถตรวจเชื้อหลายชนิดในครั้งเดียว ซึ่งช่วยลดระยะเวลาในการตรวจหลายๆเชื้อได้ (Azhahianambi et al., 2018) โดยส่วนใหญ่ยีนที่นิยมนำมาใช้ในการตรวจหาเชื้อ *Babesia* spp. ได้แก่ 18S ribosomal RNA (rRNA) gene (Kaewkong et al., 2014; Laummaunwai et al., 2014; Piratae et al., 2015) ซึ่งสามารถช่วยแยกสปีชีส์ของเชื้อได้ แม้การตรวจด้วยเทคนิค PCR จะมีข้อดีแต่วิธีนี้ต้องอาศัยเครื่องมือที่มีเฉพาะในห้องปฏิบัติการและใช้ระยะเวลาในการตรวจต่อครั้งนานกว่าการย้อมสไลด์ฟิล์มเลือด

สถานการณ์ของโรคและแนวทางการวินิจฉัยโรคในประเทศไทย

เป็นที่ทราบกันดีว่าโรคพยาธิเม็ดเลือดนั้นพบได้ทั่วไปในสุนัขในประเทศไทย แม้จะยังมีการศึกษาไม่มากนักแต่ก็พบว่าเชื้อมีการระบาดในหลายพื้นที่ของประเทศไทย ทั้งนี้เนื่องจากประเทศไทยอยู่ในเขตร้อนซึ่งมีการระบาดของเห็บสุนัขและการควบคุมเห็บยังไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ ประกอบกับการมีสุนัขจรจัดจำนวนมากทำให้การควบคุมเห็บเป็นไปได้ยาก (Jittapalapong et al., 2006) เมื่อไม่สามารถควบคุมพาหะของเชื้อก็จะทำให้ยังพบการแพร่ระบาดของเชื้อด้วย พยาธิเม็ดเลือดสุนัขชนิด *Babesia* spp. มีทางในการติดต่อที่หลากหลาย นอกจากติดต่อผ่านเห็บสุนัขแล้วยังสามารถติดต่อไปยังสุนัขตัวอื่นผ่านทางการบริจาคเลือด (Wardrop et al., 2016) ซึ่งมีรายงานในสหรัฐอเมริกา (Stegeman et al., 2003) และอิตาลี (Vascellari et al., 2016) วิธีการวินิจฉัยที่แม่นยำเป็นอีกปัจจัยที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการควบคุมโรค หลายการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของการตรวจด้วย PCR นั้นมีความไวและน่าเชื่อถือกว่าการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Kaewkong et al., 2014; Liu et al., 2016; Piratae et al., 2015; Simking et al., 2010) เช่นการศึกษาโดย Laummaunwai และคณะในปี 2014 พบว่าการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์พบการติดเชื้อ *Babesia* spp. น้อยกว่า PCR ถึง 6.3% (Laummaunwai et al., 2014) ดังนั้นจึงแนะนำให้ตรวจพยาธิเม็ดเลือดสุนัขชนิด *Babesia* spp. ด้วยกล้องจุลทรรศน์ร่วมกับการยืนยันผลด้วยเทคนิค PCR จะให้ผลการตรวจที่น่าเชื่อถือมากกว่า เพื่อให้ตรวจพบและทำการรักษาสุนัขติดเชื้ออย่างทันท่วงที ร่วมกับการควบคุมเห็บในสุนัขซึ่งจะช่วยป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อสู่สุนัขตัวอื่น และลดการแพร่ระบาดของโรคพยาธิเม็ดเลือดสุนัขได้

เอกสารอ้างอิง

Azhahianambi, P., G, J., Gr, B., M, A., R, R.N., Latha, B.R., M, R. 2018. Evaluation of multiplex pcr assay for detection of *Babesia* spp, *Ehrlichia canis* and *Trypanosoma evansi* in dogs. Acta Trop. 188: 58-67.

Bashiruddin, J.B., Camma, C., Rebelo, E. 1999. Molecular detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood by pcr amplification of part of the 16s rrna gene. Vet Parasitol. 84: 75-83.

Birkenheuer, A.J., Levy, M.G., Breitschwerdt, E.B. 2003a. Development and evaluation of a seminested pcr for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. J. Clin. Microbiol. 41: 4172-4177.

Birkenheuer, A.J., Levy, M.G., Stebbins, M., Poore, M., Breitschwerdt, E. 2003b. Serosurvey of antibabesia antibodies in stray dogs and american pit bull terriers and american staffordshire terriers from north carolina. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 39: 551-557.

Boozer, A.L. and Macintire, D.K. 2003. Canine babesiosis. Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. 33: 885-904, viii.

Bourdoiseau, G. 2006. Canine babesiosis in france. Vet Parasitol. 138: 118-125.

Eichenberger, R.M., Ramakrishnan, C., Russo, G., Deplazes, P., Hehl, A.B. 2017. Genome-wide analysis of gene expression and protein secretion of *Babesia canis* during virulent infection identifies potential pathogenicity factors. Sci. Rep. 7: 3357.

Irwin, P.J. 2010. Canine babesiosis. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 40: 1141-1156.

Jacobson, L.S. and Clark, I.A. 1994. The pathophysiology of canine babesiosis: New approaches to an old puzzle. J. S. Afr. Vet. Assoc. 65: 134-145.

Jittapalapong, S., Rungphisutthipongse, O., Maruyama, S., Schaefer, J.J., Stich, R.W. 2006. Detection of *Hepatozoon canis* in stray dogs and cats in bangkok, thailand. Ann. N Y Acad. Sci. 1081: 479-488.

Kaewkong, W., Intapan, P.M., Sanpool, O., Janwan, P., Thanchomnang, T., Kongklieng, A., Tantrawatpan, C., Boonmars, T., Lulitanond, V., Taweethavonsawat, P., Chungpivat, S., Maleewong, W. 2014. High throughput pyrosequencing technology for molecular differential detection of *Babesia vogeli, Hepatozoon canis, Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in canine blood samples. Ticks Tick Borne Dis. 5: 381-385.

Laummaunwai, P., Sriraj, P., Aukkanimart, R., Boonmars, T., Boonjaraspinyo, S., Sangmaneedet, S., Potchimplee, P., Khianman, P., Maleewong, W. 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.

Liu, M., Ruttayaporn, N., Saechan, V., Jirapattharasate, C., Vudriko, P., Moumouni, P.F., Cao, S., Inpankaew, T., Ybanez, A.P., Suzuki, H., Xuan, X. 2016. Molecular survey of canine vector-borne diseases in stray dogs in thailand. Parasitol. Int. 65: 357-361.

Piratae, S., Pimpjong, K., Vaisusuk, K., Chatan, W. 2015. Molecular detection of *Ehrlichia canis, Hepatozoon canis* and *Babesia canis vogeli* in stray dogs in mahasarakham province, thailand. Ann. Parasitol. 61: 183-187.

Simking, P., Wongnakphet, S., Stich, R.W., Jittapalapong, S. 2010. Detection of *Babesia vogeli* in stray cats of metropolitan bangkok, thailand. Vet. Parasitol. 173: 70-75.

Stegeman, J.R., Birkenheuer, A.J., Kruger, J.M., Breitschwerdt, E.B. 2003. Transfusion-associated *Babesia gibsoni* infection in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 222: 959-963.

Suksawat, J., Xuejie, Y., Hancock, S.I., Hegarty, B.C., Nilkumhang, P., Breitschwerdt, E.B. 2001. Serologic and molecular evidence of coinfection with multiple vector-borne pathogens in dogs from thailand. J. Vet. Intern. Med. 15: 453-462.

Taboada, J. and Merchant, S.R. 1991. Babesiosis of companion animals and man. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 21: 103-123.

Van Heerden, J., Reyers, F., Stewart, C.G. 1983. Treatment and thrombocyte levels in experimentally induced canine ehrlichiosis and canine babesiosis. Onderstepoort J. Vet. Res. 50: 267-270.

Vascellari, M., Ravagnan, S., Carminato, A., Cazzin, S., Carli, E., Da Rold, G., Lucchese, L., Natale, A., Otranto, D., Capelli, G. 2016. Exposure to vector-borne pathogens in candidate blood donor and free-roaming dogs of northeast italy. Parasit. Vectors. 9: 369.

Wardrop, K.J., Birkenheuer, A., Blais, M.C., Callan, M.B., Kohn, B., Lappin, M.R., Sykes, J. 2016. Update on canine and feline blood donor screening for blood-borne pathogens. J. Vet. Intern. Med. 30: 15-35.

Welzl, C., Leisewitz, A.L., Jacobson, L.S., Vaughan-Scott, T., Myburgh, E. 2001. Systemic inflammatory response syndrome and multiple-organ damage/dysfunction in complicated canine babesiosis. J. S. Afr. Vet. Assoc. 72: 158-162.

Yamane, I., Thomford, J.W., Gardner, I.A., Dubey, J.P., Levy, M., Conrad, P.A. 1993. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Babesia gibsoni* infections in dogs. Am. J. Vet. Res. 54: 1579-1584.

Yang, Y.S., Murciano, B., Moubri, K., Cibrelus, P., Schetters, T., Gorenflot, A., Delbecq, S., Roumestand, C. 2012. Structural and functional characterization of bc28.1, major erythrocyte-binding protein from *Babesia canis* merozoite surface. J. Biol. Chem. 287: 9495-9508.