

ระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออก ของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2554-2558

กัญญ์ณิส ลิ้มวิบูลพงศ์* นิมิตร เชื้อเงิน มุทิตะ ชลามาตย์ นิภาพร กอแก้ว

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก 844 ม.9 ต.คลองกิว อ.บ้านบึง จ.ชลบุรี 20220

*ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ : email : kanthanis.l@dld.go.th

บทคัดย่อ

โรคพิษสุนัขบ้าเป็นโรคติดต่อที่ร้ายแรงของมนุษย์และสัตว์ ในประเทศไทยพาหะของโรคที่สำคัญมากที่สุดคือสุนัข วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบในภาคตะวันออก ระหว่างปี พ.ศ. 2554-2558 จำนวน 212 ตัวอย่าง โดยทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงภูมิศาสตร์สารสนเทศ ด้วยโปรแกรม Quantum GIS ใช้สถิติเชิงพรรณนาอธิบายความสัมพันธ์ของพื้นที่ที่พบโรคพิษสุนัขบ้า และทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน nucleoprotein gene ในรูปแบบของ phylogenetic tree โดยวิธี neighbor-joining tree ผลการศึกษา phylogenetic tree พบว่าเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกมีทั้งกลุ่ม TH1 และ TH2 จากการวิเคราะห์พบว่าเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้ากลุ่ม TH1 พบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบในภาคกลางของประเทศไทย ส่วนกลุ่ม TH2 พบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อพิษสุนัขบ้าที่พบในประเทศเวียดนามและกัมพูชา ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำมาเป็นแนวทางในการป้องกันและควบคุมโรคพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออก และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาระบาดวิทยาในระดับโมเลกุลของโรคพิษสุนัขบ้าในภาพรวมระดับประเทศต่อไป

คำสำคัญ : เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า, phylogenetic analysis, Quantum GIS, ภาคตะวันออกของประเทศไทย

บทนำ

โรคพิษสุนัขบ้าเป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่คนที่ร้ายแรง ก่อโรคได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทุกชนิด หากติดเชื้อและแสดงอาการป่วยจะมีอัตราการตาย 100% มีสาเหตุจากเชื้อไวรัส rabies virus จากการรายงานขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization) พบว่าในแต่ละปีมีผู้เสียชีวิตด้วยโรคพิษสุนัขบ้าไม่ต่ำกว่า 55,000 ราย (WHO, 2012) โดยพาหะของโรคที่สำคัญคือ สุนัขและแมว สถานการณ์ในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2554 - 2558 พบผู้เสียชีวิต 30 ราย (สำนักกระบาดวิทยา, 2559) นับเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคมของประเทศอีกด้วย

ในปัจจุบัน ข้อมูลในระดับโมเลกุลของเชื้อเป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะจะทำให้ทราบถึงลำดับสารพันธุกรรม ซึ่งนำมาใช้ในการวิเคราะห์ถึงที่มาและความสัมพันธ์ของเชื้อที่พบกับเชื้อจากแหล่งต่างๆ ได้ โดยไวรัสพิษสุนัขบ้า (Classical rabies virus) แบ่งตามลักษณะลำดับสารพันธุกรรมที่เป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ Africa 2, Africa 3, Arctic-related, Asian, Cosmopolitan และ Indian subcontinent โดยในทวีปเอเชียพบสายพันธุ์ Arctic-related, Asian, Cosmopolitan และ Indian subcontinent (Bourhy et al., 2008) จากการศึกษาของ Denduangboripant et al. (2005) พบว่าไวรัสในประเทศไทยแบ่งออกเป็นสายพันธุ์ TH1 และ TH2 โดย TH1 พบในกรุงเทพมหานคร ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคเหนือตอนล่าง และภาคใต้ตอนบนของประเทศ ส่วน TH2 พบได้ทั่วประเทศ นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาลักษณะพันธุกรรมของไวรัสพิษสุนัขบ้าในแต่ละภูมิภาค ได้แก่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง (Puyati et al., 2014) และภาคใต้ (ศศิวิมลและคณะ, 2557)

ภาคตะวันออกของประเทศไทยมีพื้นที่ติดกับประเทศข้างเคียง เป็นเขตเศรษฐกิจที่สำคัญและอยู่ติดกับกรุงเทพมหานคร อีกทั้งยังไม่มีข้อมูลลักษณะพันธุกรรมไวรัสพิษสุนัขบ้าในพื้นที่ที่เป็นปัจจุบัน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาาระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลของไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบในภาคตะวันออกของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2554-2558 ซึ่งจะทำให้ทราบถึงลักษณะพันธุกรรมและความสัมพันธ์ของเชื้อที่พบกับเชื้อจากแหล่งอื่นๆ และนำเสนอข้อมูลในเชิงสารสนเทศภูมิศาสตร์ เพื่อแสดงลักษณะการกระจายตัวของเชื้อในพื้นที่ อันจะนำไปสู่การวางแผนป้องกันควบคุมโรคพิษสุนัขบ้าในพื้นที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่าง

สมองสัตว์ที่ส่งตรวจ ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกระหว่างปี พ.ศ. 2554 - 2558 จากตัวอย่างส่งตรวจทั้งสิ้น 858 ตัวอย่าง คัดเลือกตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธี DFA (direct fluorescent antibody) จำนวน 212 ตัวอย่าง (ฉะเชิงเทรา 68 ตัวอย่าง ชลบุรี 66 ตัวอย่าง ปราจีนบุรี 36 ตัวอย่าง สมุทรปราการ 21 ตัวอย่าง จันทบุรี 8 ตัวอย่าง ระยอง 6 ตัวอย่าง สระแก้ว 6 ตัวอย่าง และนครนายก 1 ตัวอย่าง) จำแนกตามชนิดสัตว์ได้แก่ สุนัข แมว และโค จำนวน 206, 3 และ 3 ตัวอย่างตามลำดับ

การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมและการวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม

เตรียมตัวอย่างสมองโดยใช้สมอง 3 ส่วน คือ hippocampus cerebellum และ brainstem รวมกันประมาณ 25 มิลลิกรัม สกัด RNA ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป QIAamp cadior® pathogen kit (QIAGEN, Germany) เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าโดยใช้ primer ที่จำเพาะต่อบริเวณ nucleoprotein (N) gene forward primer CN8 5'– GT(TC) GGA TGT TAT ATG GG -3' (ลำดับนิวคลีโอไทด์ 1013–1029) reverse primer CN4 5'– GGA TTG AC(AG) AAG ATC TTG CTC AT -3' (ลำดับนิวคลีโอไทด์ 1514–1536) PCR product ขนาด 523 bp. (Tenzin et al., 2011) โดยการทำ one step RT-PCR ใช้น้ำยา QIAGEN OneStep RT-PCR kit (QIAGEN, Germany) master mix 50 µl ประกอบด้วย RNase-free water 17.75 µl, 5x QIAGEN OneStep RT-PCR buffer 10.0 µl, 5 x Q-solution 10.0 µl, 10 mM dNTP mixture 2.0 µl, RNase inhibitor 0.25 µl, forward primer 20 µM 1.5 µl, reverse primer 20 µM 1.5 µl QIAGEN onestep RT-PCR enzyme mix 2.0 µl และ template RNA 5.0 µl ทำปฏิกิริยา RT-PCR โดย PCR condition ประกอบด้วย reverse transcription 50°C 30 นาที initial denaturation 95 °C 15 นาที ตามด้วย amplification 35 รอบ ประกอบด้วย denaturation 94 °C 1 นาที annealing 50 °C 1 นาที extension 72 °C 1 นาที และ final extension 72 °C 10 นาที จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุด QIAquick gel purification kit (QIAGEN, Germany) และนำ DNA ที่ได้ส่งวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม โดยบริษัท Solgent® Co., Ltd. (Korea)

การวิเคราะห์ข้อมูลด้านระบาดวิทยา

ศึกษาด้านระบาดวิทยา จากข้อมูลใบนำส่งตัวอย่างโรคพิษสุนัขบ้าของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก ในระหว่างปี พ.ศ. 2554 - 2558 จำนวน 858 ตัวอย่าง (ปราจีนบุรี 250 ตัวอย่าง ชลบุรี 198 ตัวอย่าง ฉะเชิงเทรา 127 ตัวอย่าง จันทบุรี 80 ตัวอย่าง ตราด 70 ตัวอย่าง นครนายก 45 ตัวอย่าง สมุทรปราการ 39 ตัวอย่าง ระยอง 25 ตัวอย่าง และสระแก้ว 24 ตัวอย่าง) ใช้สถิติเชิงพรรณนาอธิบายความสัมพันธ์ของระยะเวลาและพื้นที่ที่พบโรคพิษสุนัขบ้า

การวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรมและการสร้าง phylogenetic tree

นำข้อมูลลำดับสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าทั้ง 212 ตัวอย่าง มาทำการจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย ClustalW และสร้าง phylogenetic tree โดยใช้วิธี neighbor-joining (NJ) โดยใช้โปรแกรม MEGA 6.0 ทำการประเมิน model และเลือกใช้ substitution model: Kimura2-parameter model ทดสอบความน่าเชื่อถือของข้อมูล 1,000 replicates bootstrap และกำหนดการแสดงความเชื่อมั่นทางสถิติ bootstrap เฉพาะกิ่งที่มีค่ามากกว่า 50%

จากนั้น นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าที่เคยพบในประเทศไทยและประเทศใกล้เคียง โดยข้อมูลเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า (classical rabies virus) ที่นำมาวิเคราะห์ประกอบไปด้วย Genbank accession number ดังนี้ EU086209 (เวียดนาม) EU086172 (กัมพูชา) EU086195 (ลาว) EU086166 (เมียนมาร์) AF155039 (จีน) AY138550 (ศรีลังกา) AF374721 (อินเดีย) และ Mokola virus accession number S59448

การวิเคราะห์ข้อมูลในเชิงสารสนเทศภูมิศาสตร์ด้วยโปรแกรม Quantum GIS

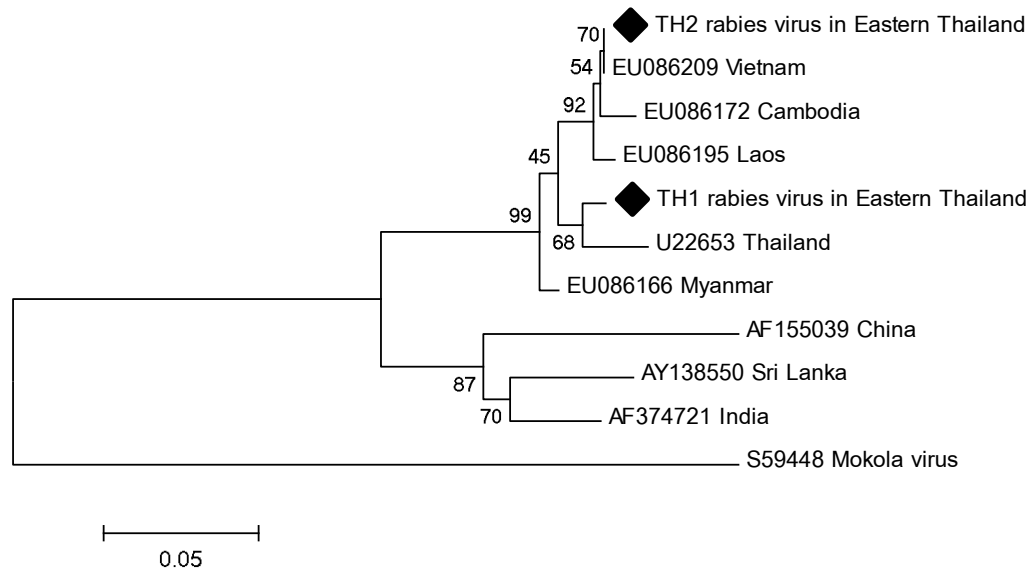
นำข้อมูลพื้นที่ที่พบโรคพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างปี พ.ศ. 2554 - 2558 มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงภูมิศาสตร์สารสนเทศ ด้วยโปรแกรม Quantum GIS โดยกำหนดขอบเขตพื้นที่ที่พบโรคเป็นระดับตำบลเพื่อศึกษาลักษณะการกระจายของโรค

ผล

จากข้อมูลตัวอย่างที่ส่งตรวจโรคพิษสุนัขบ้าของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบโรคพิษสุนัขบ้าระหว่างปี พ.ศ. 2554 – 2558 ดังนี้ ปี 2554 พบ 5 ตัวอย่าง ปี 2555 พบ 18 ตัวอย่าง ปี 2556 พบ 13 ตัวอย่าง ปี 2557 พบ 60 ตัวอย่าง และ ปี 2558 พบ 116 ตัวอย่าง โดยคิดเป็นร้อยละต่อจำนวนผลบวกทั้งหมดดังนี้ จังหวัดฉะเชิงเทรา ร้อยละ 32.08 (68/212) ชลบุรี ร้อยละ 31.13 (66/212) จังหวัดปราจีนบุรี ร้อยละ 16.98 (36/212) จังหวัดสมุทรปราการ ร้อยละ 9.91 (21/212) จังหวัดจันทบุรี ร้อยละ 3.77 (8/212) จังหวัดระยอง ร้อยละ 2.83 (6/212) จังหวัดสระแก้ว ร้อยละ 2.83 (6/212) จังหวัดนครนายก ร้อยละ 0.47 (1/212) และจังหวัดตราด ไม่พบรายงานโรคพิษสุนัขบ้า (ตารางที่ 1)

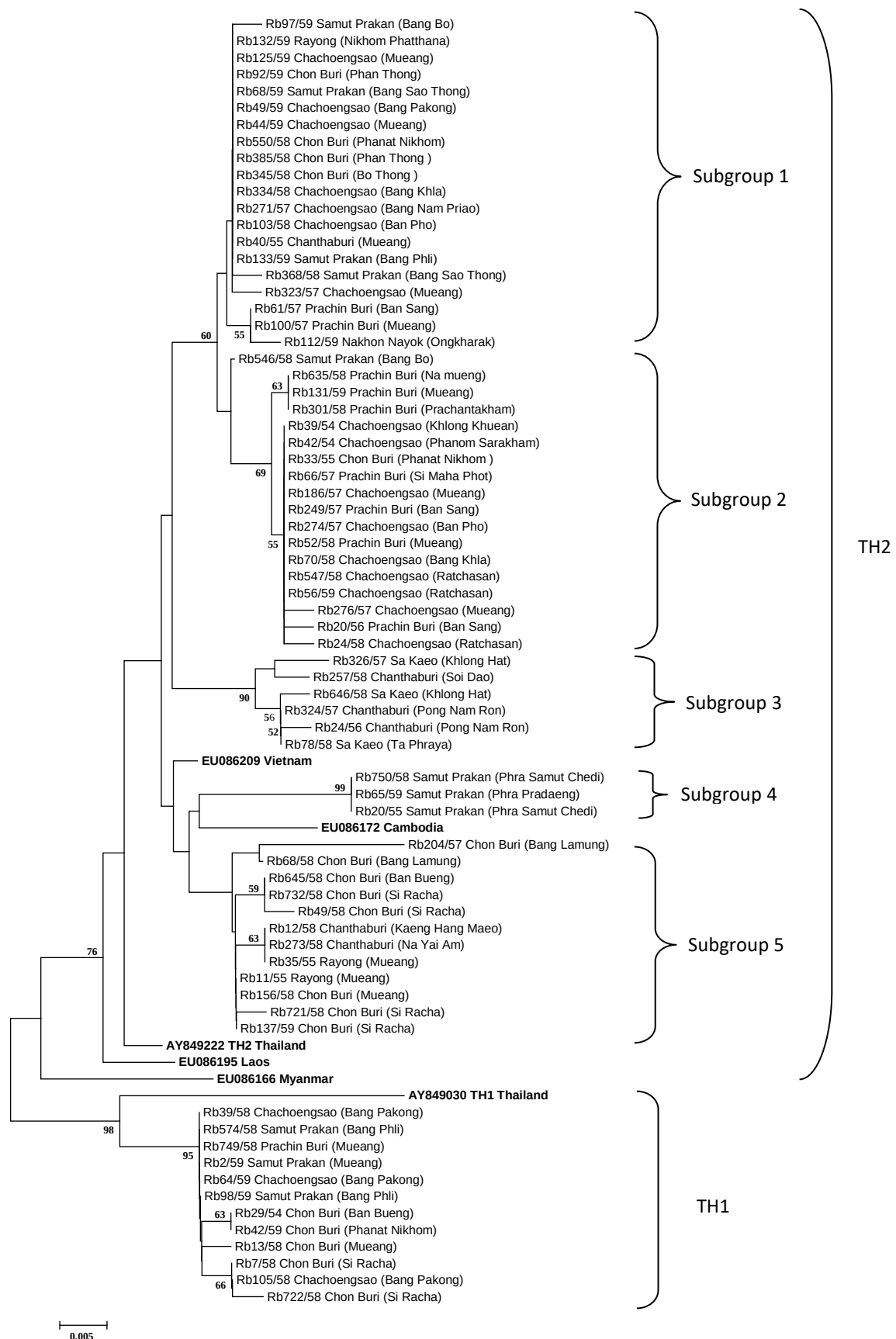
จังหวัด	ปี พ.ศ.					รวม	ร้อยละ
	2554	2555	2556	2557	2558		
ฉะเชิงเทรา	2	4	4	27	31	68	32.08
ชลบุรี	1	10	3	16	36	66	31.13
ปราจีนบุรี	0	0	3	9	24	36	16.98
สมุทรปราการ	0	1	1	4	15	21	9.91
จันทบุรี	0	1	1	2	4	8	3.77
ระยอง	2	2	1	0	1	6	2.83
สระแก้ว	0	0	0	2	4	6	2.83
นครนายก	0	0	0	0	1	1	0.47
ตราด	0	0	0	0	0	0	0
รวม	5	18	13	60	116	212	100

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างปี พ.ศ. 2554-2558 กับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในกลุ่ม Asian ซึ่งเป็นกลุ่มที่พบมากในทวีปเอเชีย (Bourhy et al., 2008) แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มหลัก กลุ่มแรกคือกลุ่มที่พบในไทย เวียดนาม กัมพูชา ลาว และเมียนมาร์ กลุ่มที่สองคือกลุ่มที่พบในจีน ศรีลังกา และอินเดีย โดยเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ทำการศึกษารั้งนี้ จัดอยู่ในกลุ่มแรก และพบว่าไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือกลุ่ม TH1 จัดอยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกันกับไวรัสพิษสุนัขบ้าที่เคยพบในไทย ในขณะที่ไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือกลุ่ม TH2 จัดอยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกันกับไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบในเวียดนาม กัมพูชา และลาว (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 Neighbor-joining (NJ) tree นิวคลีโอโปรตีน (N) genes ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออก กลุ่ม TH1 และ TH2 เปรียบเทียบกับไวรัสพิษสุนัขบ้า กลุ่ม Asian (number of bootstrap replication = 1,000, number along tree branches are > 50% bootstrap supporting-value)

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบในภาคตะวันออกระหว่างปี พ.ศ. 2554 -2558 จำนวน 212 ตัวอย่าง กับไวรัสพิษสุนัขบ้าจากการศึกษาของ Denduangboripant et al. (2005) ในรูปแบบ phylogenetic tree ด้วยวิธี neighbor-joining (NJ) พบว่าเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าทั้งกลุ่ม TH1 และ TH2 (รูปที่ 2) และจากการวิเคราะห์ phylogenetic tree ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกในระดับอำเภอ พบเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้ากระจายใน 38 อำเภอ แสดงรายละเอียดจำนวนตัวอย่างของแต่ละ subgroup (ตารางที่ 2) โดยพบกลุ่ม TH1 จำนวน 34 ตัวอย่าง พบใน 4 จังหวัดคือ ชลบุรี ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ และจังหวัด ปราจีนบุรี และพบกลุ่ม TH2 จำนวน 178 ตัวอย่าง สามารถแบ่งได้ 5 subgroup พบกระจายทั่วทั้งภาค ยกเว้นจังหวัดตราดซึ่งไม่มีรายงานการพบโรค

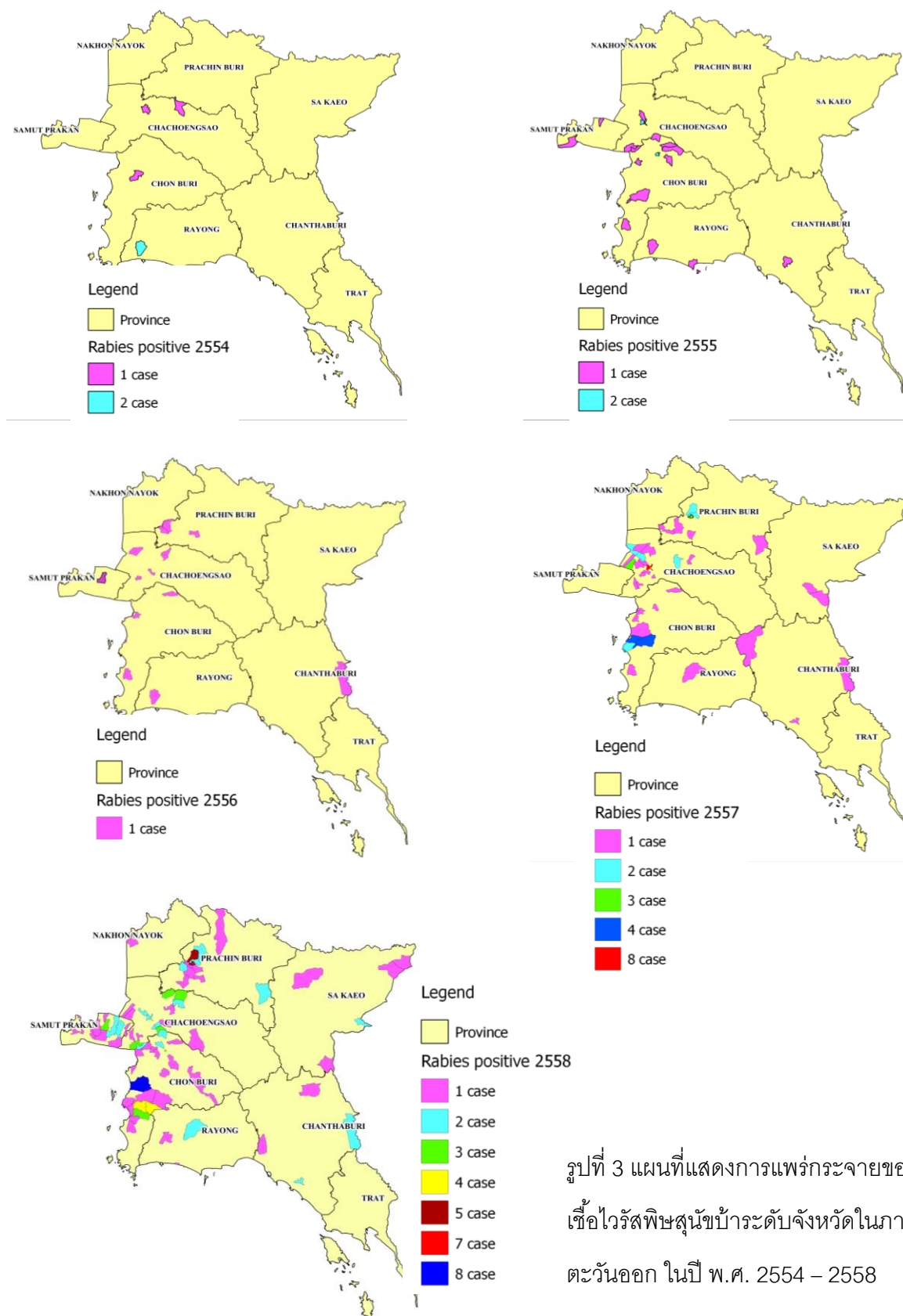


รูปที่ 2 Neighbor-joining (NJ) tree nucleoprotein (N) genes ของตัวอย่างเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า กลุ่ม TH1 และ TH2 เปรียบเทียบกับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าของประเทศเวียดนาม กัมพูชา ลาว และเมียนมาร์

ตารางที่ 2 เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า subgroup ต่างๆ จำนวน 212 ตัวอย่าง ที่พบกระจายใน 38 อำเภอ

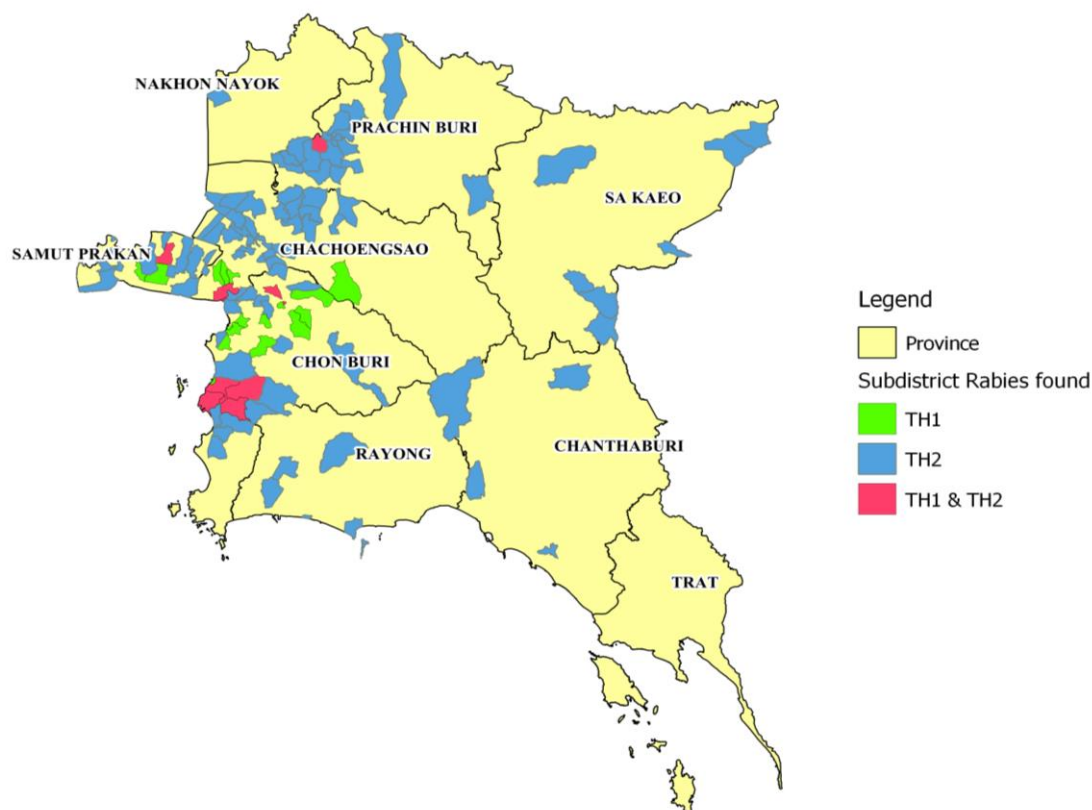
จังหวัด	อำเภอ	TH1 group		TH2 group				รวม
		TH1	Subgroup1	Subgroup 2	Subgroup 3	Subgroup 4	Subgroup 5	
ฉะเชิงเทรา	เมือง	0	21	5	0	0	0	26
	บางปะกง	7	3	0	0	0	0	10
	บ้านโพธิ์	0	8	2	0	0	0	10
	ราชสาส์น	0	0	7	0	0	0	7
	บางคล้า	0	1	5	0	0	0	6
	พนมสารคาม	0	0	2	0	0	0	2
	แปลงยาว	1	0	0	0	0	0	1
	คลองเขื่อน	0	0	1	0	0	0	1
	บางน้ำเปรี้ยว	0	5	0	0	0	0	5
ชลบุรี	ศรีราชา	8	0	0	0	0	24	32
	พนัสนิคม	7	3	1	0	0	0	11
	บางละมุง	0	0	0	0	0	9	9
	เมือง	5	0	0	0	0	2	7
	พานทอง	1	3	0	0	0	0	4
	บ้านบึง	1	0	0	0	0	1	2
	บ่อทอง	0	1	0	0	0	0	1
ปราจีนบุรี	เมือง	1	1	26	0	0	0	28
	บ้านสร้าง	0	1	3	0	0	0	4
	ศรีมหาโพธิ์	0	0	2	0	0	0	2
	ประจันตคาม	0	0	1	0	0	0	1
	ศรีมโหสถ	0	0	1	0	0	0	1
สมุทรปราการ	บางพลี	2	3	0	0	0	0	5
	บางบ่อ	0	5	0	0	0	0	5
	พระประแดง	0	0	0	0	4	0	4
	บางเสาธง	0	3	0	0	0	0	3
	เมือง	1	1	0	0	0	0	2
	พระสมุทรเจดีย์	0	0	0	0	2	0	2
จันทบุรี	โป่งน้ำร้อน	0	0	0	4	0	0	4
	เมือง	0	1	0	0	0	0	1
	สอยดาว	0	0	0	1	0	0	1
	นายายอาม	0	0	0	0	0	1	1
	แก่งหางแมว	0	0	0	0	0	1	1
ระยอง	เมือง	0	0	0	0	0	5	5
	นิคมพัฒนา	0	1	0	0	0	0	1
สระแก้ว	คลองหาด	0	0	0	3	0	0	3
	ตาพระยา	0	0	0	2	0	0	2
	เมือง	0	0	0	1	0	0	1
นครนายก	องครักษ์	0	1	0	0	0	0	1
รวม		34	62	56	11	6	43	212

การวิเคราะห์เชิงสารสนเทศภูมิศาสตร์ พบการระบาดของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างปี พ.ศ. 2554 – 2558 มีแนวโน้มการแพร่กระจายจากจังหวัดที่ติดกับกรุงเทพมหานครไปยังจังหวัดรอบนอก (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แผนที่แสดงการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าระดับจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในปี พ.ศ. 2554 – 2558

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงภูมิศาสตร์สารสนเทศ พบว่าเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออก กลุ่ม TH1 จะพบในพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรี สมุทรปราการ และ ปราชินบุรี เท่านั้น ในขณะที่เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกกลุ่ม TH2 พบกระจายทั่วทั้งภาค ยกเว้นจังหวัดตราด ซึ่งไม่มีรายงานการพบโรค (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 การกระจายตัวของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออก ในปี พ.ศ. 2554-2558 แบ่งตามลักษณะของเชื้อที่พบ (TH1 และ TH2)

สรุปและวิจารณ์

จากข้อมูลตัวอย่างที่ส่งตรวจโรคพิษสุนัขบ้า ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก ระหว่างปี พ.ศ. 2554 - 2558 จังหวัดที่พบผลบวกกรรมมากที่สุดคือ จังหวัดฉะเชิงเทรา พบร้อยละ 32.08 รองลงมาคือจังหวัดชลบุรี พบร้อยละ 31.13 จังหวัดปราชินบุรี พบร้อยละ 16.98 และจังหวัดสมุทรปราการ พบร้อยละ 9.91 ซึ่งจังหวัดเหล่านี้เป็นจังหวัดที่อยู่ใกล้กับกรุงเทพมหานคร มีประชากรอาศัยอยู่หนาแน่น ทำให้มีแหล่งอาหารของสุนัขจรจัดซึ่งเป็นพาหะนำโรคที่สำคัญ นอกจากนี้ การเคลื่อนย้ายของแรงงานจากภูมิภาคต่างๆ เข้ามายังกรุงเทพมหานคร และพื้นที่โดยรอบในเขตภาคตะวันออก อาจมีการนำเอาสัตว์เลี้ยงเข้ามาด้วย จึงเป็นการเพิ่มจำนวนประชากรสัตว์พาหะส่งผลให้พบโรคพิษสุนัขบ้าได้มากในพื้นที่เหล่านี้ จังหวัดที่อยู่ห่างไกลออกไป เช่น ระยอง จันทบุรี สระแก้ว พบเป็นจำนวนน้อย ส่วนในจังหวัดตราด ซึ่งไม่มีพบรายงานโรคเลยนั้น

สันนิษฐานว่าเพราะเป็นจังหวัดเล็กพื้นที่ส่วนใหญ่ติดทะเล มีจำนวนประชากรน้อยและการเคลื่อนย้ายแรงงานน้อย ประกอบกับเป็นจังหวัดท่องเที่ยวทำให้มีมาตรการควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพ

เมื่อวิเคราะห์แนวโน้มของการเกิดโรคพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกเฉียงใต้ในปี พ.ศ. 2554 – 2558 พบว่าโรคพิษสุนัขบ้ามีจำนวนเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะในปี พ.ศ. 2557 -2558 ที่มีอัตราการพบโรคต่อตัวอย่างบวกทั้งหมดสูงถึงร้อยละ 83.02 (176/212) และมีแนวโน้มการแพร่กระจายจากจังหวัดที่ติดกับกรุงเทพมหานครไปยังจังหวัดใกล้เคียง เป็นที่น่าสังเกตว่าในปี พ.ศ. 2556 เริ่มมีการพบโรคในภาคตะวันออกเฉียงใต้ในพื้นที่ตำบลซึ่งติดกับประเทศเพื่อนบ้าน และในปี พ.ศ. 2557 - 2558 พบรายงานอีกครั้งในพื้นที่ต่างตำบลกันแต่เป็นตำบลที่มีพื้นที่ติดกับประเทศเพื่อนบ้านเช่นเดียวกัน โดยการศึกษาของบพิธและจรูญวิทย์ (2557) พบว่า ตัวอย่างที่ส่งมาจากพื้นที่ติดชายแดนมีโอกาสตรวจพบโรคพิษสุนัขบ้าเป็น 11.02 เท่าของพื้นที่ที่ไม่ติดชายแดน ข้อมูลนี้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการเฝ้าระวังโรคตามแนวชายแดนระหว่างประเทศที่ควรมีมาตรการที่ชัดเจนและดำเนินการอย่างเข้มงวด

จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบลักษณะพันธุกรรมของไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบในภาคตะวันออกเฉียงใต้ระหว่างปี พ.ศ. 2554 -2558 ในการศึกษาครั้งนี้กับการศึกษาของ Denduangboripant et al. (2005) ซึ่งผลจากการศึกษาของ Denduangboripant et al. (2005) นั้น พบว่ากลุ่ม TH1 พบเฉพาะในพื้นที่กรุงเทพมหานคร ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงใต้ และภาคใต้ตอนบน ส่วนกลุ่ม TH2 พบได้ทั่วประเทศ โดยผลการศึกษาในครั้งนี้พบกลุ่ม TH1 ในจังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรี สมุทรปราการ และปราจีนบุรี ส่วนกลุ่ม TH2 พบในทุกจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงใต้ที่มีรายงานโรคพิษสุนัขบ้า แสดงให้เห็นว่า ภาคตะวันออกเฉียงใต้เป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า เนื่องจากพบได้ทั้งกลุ่ม TH1 และ TH2 ในขณะที่การศึกษาของบพิธและจรูญวิทย์ (2557) ที่ศึกษาจากตัวอย่างในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ในปี พ.ศ. 2554 - 2556 และการศึกษาของศศิวิมลและคณะ (2557) ที่ศึกษาจากตัวอย่างในภาคใต้ ในปี พ.ศ. 2551 – 2556 พบว่าตัวอย่างที่ทำการศึกษาค้นอยู่ในกลุ่ม TH2 เท่านั้น ข้อมูลนี้ยังแสดงให้เห็นว่าจังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรี สมุทรปราการ ซึ่งเป็นจังหวัดที่มีพื้นที่ใกล้เคียงกับกรุงเทพมหานคร มีความหลากหลายของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้ามากกว่าจังหวัดอื่นๆ ทั้งนี้อาจเกิดจากการโยกย้ายถิ่นฐานของมนุษย์และสัตว์เลี้ยงซึ่งอาจนำโรคพิษสุนัขบ้าเข้ามาในพื้นที่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Denduangboripant et al. (2005) ที่พบว่ากรุงเทพมหานครมีความหลากหลายของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้ามากกว่าพื้นที่อื่น และการศึกษาของ Lumlertdacha et al. (2006) ซึ่งพบว่า กรุงเทพมหานครและปริมณฑลมีความหลากหลายของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้ามากกว่าจังหวัดชัยภูมิและกาญจนบุรี

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบในภาคตะวันออกเฉียงใต้ระหว่างปี พ.ศ. 2554 -2558 กับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าจากประเทศใกล้เคียงแสดงให้เห็นว่าเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในการศึกษานี้จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับเชื้อไวรัสที่อยู่ในกลุ่มเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (เวียดนาม กัมพูชา ลาว และ เมียนมาร์) และแตกต่างจากไวรัสที่พบในจีน สอดคล้องกับการศึกษาของ Ito et al. (1999) และ Yamagata et al. (2007) นอกจากนี้ยังพบว่าไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกเฉียงใต้กลุ่ม TH1 จัดอยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกันกับไวรัสพิษสุนัขบ้าที่เคยพบในประเทศไทย ในขณะที่ไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกเฉียงใต้กลุ่ม TH2 จัดอยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกันกับไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบ

ใน เวียดนาม กัมพูชา และลาว โดยกลุ่ม TH1 นั้นเป็นไวรัสกลุ่มเดิมที่พบในประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถสรุปได้ว่าเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้ากลุ่ม TH2 มีการแพร่กระจายจากไทยออกไปสู่ประเทศใกล้เคียงหรือจากประเทศใกล้เคียงเข้ามาในไทย ซึ่งจำเป็นต้องใช้ข้อมูลการสอบสวนโรคในทางระบาดวิทยาเพิ่มเติมในการวิเคราะห์ถึงแหล่งที่มาของเชื้อที่ชัดเจน

การศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2554-2558 มีแนวโน้มการระบาดของโรคพิษสุนัขบ้าเพิ่มขึ้นทุกปี โดยเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าที่พบลักษณะคล้ายกับเชื้อที่พบในประเทศไทยตามภูมิภาคต่างๆ ยังไม่พบการกลายพันธุ์ของเชื้อ ข้อมูลลักษณะพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าที่ได้ในครั้งนี้นำมาสามารถนำมาเป็นแนวทางในการป้องกันและควบคุมโรคพิษสุนัขบ้าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งการแก้ปัญหาโรคพิษสุนัขบ้าควรให้ความสำคัญกับการทำวัคซีนพิษสุนัขบ้าเป็นอันดับแรก ควรมีการคุมกำเนิดสัตว์ในพื้นที่เสี่ยงและมีการรณรงค์ทำหมันสุนัขและแมวจริงจังเพื่อไม่ให้เกิดการแพร่พันธุ์เพิ่มจำนวนขึ้นมากจนยากแก่การควบคุมโดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาระบาดของโรคพิษสุนัขบ้าเชิงโมเลกุลของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาพรวมระดับประเทศต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณ เจ้าหน้าที่ฝ่ายไวรัสวิทยา น.สพ.เลิศชัย จินตพิทักษ์สกุล ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ที่ให้คำแนะนำการใช้โปรแกรม Quantum GIS

เอกสารอ้างอิง

- บพิธ ปุยะติ และจรรยาวิทย์ นະพรรัมย์. 2557. การศึกษาลำดับสารพันธุกรรมของไวรัสพิษสุนัขบ้า เชิงสารสนเทศภูมิศาสตร์ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ระหว่างปี พ.ศ. 2554 – 2556. บทคัดย่อผลงานวิจัยและวิชาการ งานประชุมวิชาการปศุสัตว์แห่งชาติปี 2557 ระหว่างวันที่ 23-25 เดือนกรกฎาคม. 45 – 46.
- ศศิวิมล ทองมี นฤพล พร้อมขุนทด และสายันต์ ย้อยดำ. 2557. ระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในภาคใต้ของประเทศไทย ระหว่างปี 2551-2556. บทคัดย่อผลงานวิจัยและวิชาการ งานประชุมวิชาการปศุสัตว์แห่งชาติปี 2557 ระหว่างวันที่ 23-25 เดือน กรกฎาคม. หน้า 47-48.
- สำนักโรคระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค. 2559. Reported cases and deaths by Province and by amphur and by Month Thailand 2559. [online]. <http://www.boe.moph.go.th/boedb/surdata/disease.php?dcontent=old&ds=42>. สืบค้นเมื่อ 17 ตุลาคม 2559.
- Bourhy, H., Reynes, J.M., Dunham, E.J., Dacheux, L., Larrous, F., Huong, V.T., Xu G., Yan, J., Elizabeth, M., Miranda, G. and Holmes, E.C. 2008. The origin and phylogeography of dog rabies virus. J. Gen. Virol. 89: 2673-2681.

- Denduangboripant, J., Wacharapluesadee, S., Lumlertdacha, B., RuanKaew, N., Hoonsuwan, W., Puanghat, A. and Hemachudha, T. 2005. Transmission dynamics of rabies virus in Thailand: Implications for disease control. *BMC Infect. Dis.* 5: 52.
- Ito, N., Sugiyama, M., Oraveerakul, K., Piyaviriyakul, P., Lumlertdacha, B., Arai, Y.T., Tamura, Y., Mori, Y. and Minamoto, N. 1999. Molecular epidemiology of rabies in Thailand. *Microbiol. Immunol.* 43(6): 551-559.
- Lumlertdacha, B., Wacharapluesadee, S., Denduangboripant, J., Ruankaew, N., Hoonsuwan, W., Puanghat, A., Sakarasaeranee, P., Briggs D. and Hemachudha, T. 2006. Complex genetic structure of the rabies virus in Bangkok and its surrounding provinces, Thailand: implications for canine rabies control. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 100: 276-281.
- Puyati, B., Chuachan, U., Napornram, J. and Chintapitaksakul, L. 2014. Epidemiology of Rabies Virus in Lower Northeastern Thailand during 2011-2013. *Proceedings of Asian African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2014. Jan 20 -22, 2014. Sendai, Japan.*
- Tenzin, Wacharapluesadee, S., Denduangboripant, J., Dhand, N.K., Dorji, R., Tshering, D., Rinzin, K., Raika, V., Dahal, N. and Ward, M.P. 2011. Rabies virus strains circulating in Bhutan: implications for control. *Epidemiol. Infect.* 139: 1457-1462.
- WHO. 2012. "Rabies". [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/index.html>. Accessed April 1, 2015.
- Yamagata, J., Ahmed, K., Khawplod, P., Mannen, K., Xuyen, D.K., Loi, H.H., Dung, N.V. and Nishizono, A. 2007. Molecular epidemiology of rabies in Vietnam. *Microbiol. Immunol.* 51(9): 833-40.

Molecular epidemiology of rabies virus in Eastern Thailand during 2011-2015

Kanthanis Limwibulpong* Nimit Choengern Mutita Chalamaat
Niphapon Kokaew

Veterinary Research and Development Center (Eastern Region), 844 M.9 Banbueng Chonburi 20220,
Thailand

*Corresponding author ; email: kanthanis.l@dld.go.th

Abstract

Rabies virus is one of the most virulent diseases of human and animals. In Thailand, the dog is very important vector of rabies transmission. The aim of this study was to use molecular biological techniques to characterize the presence and movement of rabies virus according to geographical locations in Eastern Thailand during 2011-2015. Nucleoprotein gene sequences data of 212 positive rabies samples were entered into this study. Geographic data were analyzed using descriptive statistics and Quantum GIS program to describe distribution of diseases. We then reconstructed a phylogenetic tree to illustrate molecular characteristics of virus. The tree was inferred by the neighbor-joining tree method. All sequences formed a monophyletic tree of 2 distinct phylogroups, TH1 and TH2. The phylogenetic analysis showed that TH1 rabies were highly similar to rabies virus Thailand isolate and TH2 rabies were closely related to rabies virus isolates from Vietnam and Cambodia. This information are useful for implementation of rabies prevention and control programs in the Eastern Thailand and benefit further studies on genetic diversity of rabies virus in Thailand.

Key words: Rabies virus, phylogenetic analysis, Quantum GIS, Eastern Thailand