



แบบสรุปผู้บริหาร

แผนงานวิจัยโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ในประเทศไทย:
การเฝ้าระวังและการวินิจฉัย

**Research program on influenza in animals in Thailand:
Disease surveillance and diagnosis**

โดย

อลงกร อมรศิลป์ และ คณะ

กรกฎาคม 2558

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยโครงการวิจัยบูรณาการ จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
และผลงานนี้เป็นความรับผิดชอบของผู้วิจัยแต่ผู้เดียว

ปีงบประมาณ 2556

แบบสรุปผู้บริหาร
(Executive Summary)
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

1. รายละเอียดเกี่ยวกับแผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง

ภาษาไทย	แผนงานวิจัยโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ในประเทศไทย: การเฝ้าระวังและการวินิจฉัย
ภาษาอังกฤษ	Research program on influenza in animals in Thailand: disease surveillance and diagnosis

แผนงานวิจัยนี้ประกอบด้วย 2 โครงการวิจัยคือ

- โครงการที่ 1** การเฝ้าระวังโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในเขตที่มีการเลี้ยงหนาแน่นในประเทศไทย (ปศุสัตว์ และสัตว์เลี้ยง)
(Surveillance of influenza in mammals in high density of animal production areas in Thailand (livestock and companion animals))
- โครงการที่ 2** การพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่างๆ โดยวิธี hemagglutination-inhibition (HI) test
(Standardization of serological diagnosis of influenza in animals by hemagglutination-inhibition (HI) test)

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

ผู้อำนวยการแผนงาน	รศ. น.สพ. ดร. อลงกร อมรศิลป์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนน อังรีอนุวงศ์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0-2218-9577 โทรสาร 0-2218-9577 Email: Alongkorn.a@chula.ac.th
--------------------------	---

ที่ปรึกษาแผนงานวิจัย

ศ. น.สพ.ดร. รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช

คณบดี

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนน อังรีตุนั่งต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 0-2218-9606 โทรสาร 0-2218-9310

Email: Roongroje.t@chula.ac.th

ผู้ร่วมงานวิจัย**หัวหน้าโครงการวิจัยที่ 1**

รศ.น.สพ.ดร. อลงกร อมรศิลป์

ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านโรคอุบัติใหม่และ
อุบัติซ้ำในสัตว์

ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนน อังรีตุนั่งต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 0-2218-9577 โทรสาร 0-2218-9577

Email: alongkorn.a@chula.ac.th

หัวหน้าโครงการวิจัยที่ 2

อ.สพ.ญ.ดร. อัญญรัตน์ ต้นธีรวงศ์

ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนน อังรีตุนั่งต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 0-2218-9653 โทรสาร 0-2251-1656

Email: a.thontiravong@gmail.com

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ...2556....งบประมาณที่ได้รับ...2,060,000....บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย.....1..ปี..... ตั้งแต่...30..กันยายน..2556..ถึง..29..กันยายน...2557

2. สรุปโครงการวิจัย

ความเป็นมาของแผนงานวิจัย

โรคไข้หวัดใหญ่ (Influenza) เกิดจากเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ (Influenza type A virus) เชื้อไข้หวัดใหญ่ทำให้เกิดการระบาดของโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิดรวมทั้งคน แผนงานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ในประเทศไทย ด้านการเฝ้าระวังและการวินิจฉัยโรค เพื่อนำไปเป็นข้อมูลสนับสนุนในการควบคุมและป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ รวมทั้งการเกิดโรคสัตว์ที่ติดต่อไปสู่มนุษย์ต่อไป แผนงานวิจัยนี้ประกอบด้วยโครงการวิจัย 2 โครงการเพื่อศึกษาข้อมูล 1) อุบัติการณ์การติดโรคไข้หวัดใหญ่ ชนิดและลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ได้แก่ ปศุสัตว์ (สุกร) และสัตว์เลี้ยง (สุนัข แมว) และ 2) มาตรฐานการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่างๆ โดยวิธี hemagglutination-inhibition (HI) test ซึ่งยังไม่มีมาตรฐานแน่นอน โดยเฉพาะในปศุสัตว์ (สุกร) และสัตว์เลี้ยง (สุนัขและแมว)

วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย

วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย คือ ศึกษาโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ในประเทศไทย ทั้งด้านการเฝ้าระวังและการวินิจฉัย เพื่อนำไปสู่การควบคุมและการป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ในคนและสัตว์ รวมทั้งการเกิดโรคสัตว์ที่ติดต่อไปสู่มนุษย์ในอนาคต

วัตถุประสงค์ของแต่ละโครงการประกอบด้วย

โครงการวิจัยที่ 1. การเฝ้าระวังโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในเขตที่มีการเลี้ยงหนาแน่นในประเทศไทย (ปศุสัตว์ และสัตว์เลี้ยง)

วัตถุประสงค์เชิงกิจกรรมของโครงการประกอบด้วย

- 1.1 การคัดเลือกประชากรสัตว์กลุ่มเป้าหมาย
- 1.2 การเก็บตัวอย่างในปศุสัตว์ (สุกร) และสัตว์เลี้ยง (สุนัข แมว)
- 1.3 การตรวจพิสูจน์เชื้อไวรัสด้วยวิธี real-time RT-PCR
- 1.4 การตรวจพิสูจน์ทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี ELISA

โครงการวิจัยที่ 2. การพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของโรคไขหวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่างๆ โดยวิธี hemagglutination-inhibition (HI) test

วัตถุประสงค์เชิงกิจกรรมของโครงการประกอบด้วย

- 2.1 การคัดเลือกตัวอย่างเลือดจากสัตว์ชนิดต่างๆ (สัตว์ปีก สุนัข)
- 2.2 การพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจพิสูจน์ทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี HI test
- 2.3 การวิเคราะห์ผลการตรวจวิธี HI test

ผลการวิจัย กลุ่มเป้าหมาย ประโยชน์ที่ได้รับจากโครงการ และการนำไปใช้ประโยชน์

ผลการวิจัยการศึกษาโรคไขหวัดใหญ่ในสัตว์ในประเทศไทย ทั้งด้านการเฝ้าระวังและการวินิจฉัย เมื่อเฝ้าระวังโรคไขหวัดใหญ่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในเขตที่มีการเลี้ยงหนาแน่นในประเทศไทย ระหว่างปีพ.ศ. 2556-2557 พบว่า การเฝ้าระวังโรคไขหวัดใหญ่ในสุกรในประเทศไทย มีสุกรติดเชื้อไขหวัดใหญ่ในระดับค่อนข้างสูง โดยสุกรติดเชื้อไขหวัดใหญ่ได้หลากหลายสายพันธุ์ เช่น เชื้อไขหวัดใหญ่สุกร และเชื้อไขหวัดใหญ่จากคน (เชื้อไขหวัดใหญ่ H1N1 2009) และเชื้อไขหวัดใหญ่สายพันธุ์ลูกผสม ส่วนการเฝ้าระวังโรคไขหวัดใหญ่ในสุนัขและแมวในประเทศไทย พบสุนัขติดเชื้อไวรัสไขหวัดใหญ่ในระดับต่ำ (เฉพาะตัวอย่างให้ผลสงสัยบวก) และไม่สามารถแยกเชื้อไขหวัดใหญ่ในสุนัขและแมวได้ ดังนั้นผลการวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าในสัตว์กลุ่มเสี่ยงที่ใกล้ชิดกับคน สุกรมีความเสี่ยงในการติดเชื้อไขหวัดใหญ่ในระดับสูง สามารถติดเชื้อไวรัสหลากหลายสายพันธุ์ และเชื้อไวรัสมีแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงและกลายพันธุ์สูง ในขณะที่สุนัขและแมวมีความเสี่ยงในการติดเชื้อไขหวัดใหญ่ในระดับต่ำ เมื่อพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของโรคไขหวัดใหญ่ในสัตว์ โดยวิธี hemagglutination-inhibition (HI) test พบว่าสามารถพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี HI test สำหรับเชื้อไขหวัดใหญ่ในสัตว์ปีก สุกร และจากสุนัข โดยวิธีที่พัฒนานี้สามารถนำไปใช้ได้จริงกับเชื้อไขหวัดใหญ่ในประเทศไทย และสามารถเพิ่มศักยภาพการเฝ้าระวังโรคไขหวัดใหญ่ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น

ผลการวิจัยครั้งนี้กลุ่มเป้าหมายที่จะได้รับประโยชน์จากแผนงานวิจัย คือหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้อง เช่น กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยไปใช้ในการประกอบการวางแผนการควบคุมและป้องกันการระบาดของโรคไขหวัดใหญ่ในคนและสัตว์ เช่น ข้อมูลสัตว์กลุ่มเสี่ยงที่ใกล้ชิดกับคน สุกรมีความเสี่ยงในการติดเชื้อไขหวัดใหญ่ในระดับค่อนข้างสูง ในขณะที่สุนัขและแมวมีความเสี่ยงในการ

ติดเชื้อไขหวัดใหญ่ต่ำ รวมทั้งข้อมูลสุกรสามารถติดเชื้อไวรัสหลากหลายสายพันธุ์ และสามารถติดเชื้อข้ามระหว่างเชื้อไขหวัดใหญ่สุกรและคน ดังนั้นการเฝ้าระวังโรคไขหวัดใหญ่ในสัตว์ควรมุ่งเน้นไปยังการเฝ้าระวังเชื้อไขหวัดใหญ่ในสุกร และประชากรคนกลุ่มเสี่ยง (ผู้เลี้ยงสุกร) อย่างสม่ำเสมอ นอกจากภาครัฐบาล และหน่วยงานต่างๆแล้ว ภาคเอกชน ผู้เลี้ยงสุกร ผู้แปรรูปสุกร ยังได้รับทราบถึงข้อมูลการปนเปื้อนเชื้อไวรัสไขหวัดใหญ่ในสุกร นอกจากนี้มาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี HI test ของเชื้อไขหวัดใหญ่ในสัตว์ปีก สุกร และจากสุนัข สามารถนำไปใช้ได้จริงกับเชื้อไขหวัดใหญ่ในประเทศไทย และมีประโยชน์ต่อหน่วยงานต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชน รวมทั้งสถาบันการศึกษา เมื่อได้รับความรู้และการถ่ายทอดเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับโรคไขหวัดใหญ่ในคนและสัตว์ ก็จะสามารถนำไปใช้และปฏิบัติงานได้จริงในอนาคต

ผลงานวิจัยครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ โดยนำเสนอข้อมูลที่ไต่ไปยังหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการวางแผนควบคุมป้องกันการระบาดของโรคไขหวัดใหญ่ในสัตว์และคน โดยให้ข้อเสนอที่สำคัญคือ การเฝ้าระวังโรคไขหวัดใหญ่ในสัตว์ นอกจากนี้จะให้ความสำคัญในการเฝ้าระวัง โรคไขหวัดใหญ่ในสัตว์ปีกแล้ว ควรมุ่งเน้นการเฝ้าระวังโรคไขหวัดใหญ่ในสุกร ทั้งนี้เนื่องจากผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่า สุกรมีอุบัติการณ์การติดเชื้อไขหวัดใหญ่ที่ค่อนข้างสูง และสามารถติดเชื้อไขหวัดใหญ่ได้หลากหลายสายพันธุ์ในฝูงสุกร ซึ่งแสดงถึงปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคไขหวัดใหญ่ในประชากรกลุ่มเสี่ยง (ผู้เลี้ยงสุกร) และควรมีการเฝ้าระวังสุกรทุกชุดที่ถูกนำเข้ามาเป็นพ่อแม่พันธุ์ และมาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี HI test ของเชื้อไขหวัดใหญ่ในสัตว์ปีก สุกร และจากสุนัข ที่พัฒนาขึ้น สามารถนำไปใช้ได้จริงกับเชื้อไขหวัดใหญ่ในประเทศไทย และจะมีประโยชน์ต่อหน่วยงานต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชน ในการเฝ้าระวังโรคในสัตว์ชนิดต่างๆ ในประเทศไทยได้ในอนาคต

ข้อเสนอแนะสำหรับการต่อยอดผลงานวิจัย ควรสนับสนุนการเฝ้าระวังโรคและเชื้อไขหวัดใหญ่อย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะสัตว์ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไขหวัดใหญ่ (สัตว์ปีก สุกร) ซึ่งมีความสำคัญและมีหลักฐานเด่นชัดในการติดเชื้อหลากหลายสายพันธุ์ นอกจากนี้การสนับสนุนต่อยอดการพัฒนาชุดตรวจแอนติเจนและแอนติบอดีเพื่อการตรวจพิสูจน์เชื้อไขหวัดใหญ่ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการเฝ้าระวังโรค และควรมีพัฒนาชุดตรวจสอบให้มีประสิทธิภาพและใช้งานได้เองในฟาร์ม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการเฝ้าระวังโรคไขหวัดใหญ่ และอาจพัฒนานำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ได้ในอนาคต

ชื่อแผนงานวิจัย แผนงานวิจัยโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ในประเทศไทย: การเฝ้าระวัง
และการวินิจฉัย

บทคัดย่อ

โรคไข้หวัดใหญ่ (Influenza) เกิดจากเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ (Influenza type A virus) เชื้อไข้หวัดใหญ่ทำให้เกิดโรคในสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิดรวมทั้งคน แผนงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาโรคและเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ในประเทศไทย (การเฝ้าระวังและการวินิจฉัย) เพื่อนำไปสู่การตรวจติดตาม การควบคุมและป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์และมนุษย์ วิธีดำเนินการวิจัยประกอบด้วยโครงการวิจัย 2 โครงการ คือ โครงการที่ 1 การเฝ้าระวังโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในเขตที่มีการเลี้ยงหนาแน่นในประเทศไทย (ปศุสัตว์ และสัตว์เลี้ยง) โครงการที่ 2 การพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่างๆ โดยวิธี hemagglutination-inhibition (HI) test ผลของแผนงานวิจัยครั้งนี้ พบว่า 1) ในปีพ.ศ. 2556-2557 จากการเฝ้าระวังเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสุกร พบสุกรติดเชื้อ 14.50% (62.50% ในระดับฟาร์ม) และเมื่อเพาะแยกเชื้อไวรัส 10 ตัวอย่าง สามารถจำแนกสายพันธุ์ได้เป็น เชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ประจำถิ่น H1N1 (swH1N1) เชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ลูกผสม H1N1 (rH1N1) เชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ H1N1 2009 (pH1N1) และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ลูกผสม H3N2 (rH3N2) โดยที่เชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรที่แยกได้มีสายพันธุ์และรหัสพันธุกรรมที่หลากหลาย และจากการเฝ้าระวังเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสุนัข พบสุนัขสงสัยติดเชื้อ 1.75% (21.05% ในระดับสถานสงเคราะห์สัตว์) เมื่อนำมาเพาะแยกเชื้อและจำแนกสายพันธุ์ไม่สามารถเพาะแยกเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสุนัขได้ 2) สามารถพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของโรคไข้หวัดใหญ่ โดยวิธี HI test ในสัตว์ปีก สุกร และสุนัข โดยสรุปประโยชน์ของแผนงานวิจัยครั้งนี้ คือ ได้ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับโรคและเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ในประเทศไทย (การเฝ้าระวังและการวินิจฉัย) เช่น 1) ได้ทราบอุบัติการณ์ ทราบชนิด และลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดใหญ่ในปศุสัตว์ (สุกร) และสัตว์เลี้ยง (สุนัข แมว) และแนวโน้มของปัญหาโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่างๆ ที่เป็นสัตว์กลุ่มเสี่ยงที่ใกล้ชิดกับคน (สุกร สุนัข แมว) 2) ได้พัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของโรคไข้หวัดใหญ่ โดยวิธี HI test ในสัตว์ปีก สุกร และสุนัข โดยวิธี HI test นี้สามารถนำไปใช้ได้จริงกับเชื้อไข้หวัดใหญ่ในประเทศไทย ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้จะนำไปสู่การพัฒนา ระบบการเฝ้าระวัง การควบคุมและการป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่ในคนและสัตว์ในอนาคต

Research program: Research program on influenza in animals in Thailand: disease surveillance and diagnosis

Abstract

Influenza A virus causes influenza in several avian and mammal species as well as human. The objective of this research program is to study influenza viruses in animals in Thailand (surveillance and diagnosis) for the overall goal of monitoring, control and prevention of influenza in animals and humans. This research program composes of 2 projects following: project 1: surveillance of influenza in mammals in high density of animal production areas in Thailand (livestock and companion animals) and project 2: standardization of serological diagnosis of influenza in animals by hemagglutination-inhibition (HI) test. The results of the research projects were 1) In 2013-2014, for swine influenza surveillance, 14.50% of Thai pigs was positive for influenza viruses (62.50% at farm level). 10 influenza viruses were isolated and subtyped as endemic swine influenza H1N1 (swH1N1), reassorted swine influenza H1N1 (rH1N1), pandemic influenza H1N1 2009 (pH1N1) and reassorted swine influenza H3N2 (rH3N2). Multiple subtypes and genetic diversity of the viruses were detected in Thai swine farms. For influenza surveillance in dogs and cats, 1.75% was suspected for influenza virus (21.05% at shelter level). Unfortunately, the viruses could not be isolated and subtyped. 2) we have developed standard serological test (HI test) for influenza detection in animals in Thailand. This standard HI protocols can be applied for influenza detection in avian, swine and canine serum samples. In summary, the benefit of this research program is providing the useful information of influenza in animals in Thailand (both surveillance and diagnosis). For examples 1) this study revealed occurrences, subtypes, genetic characteristics of influenza viruses in livestock (pigs) and companion animals (dogs and cats). 2) this study developed standard serological test for influenza viruses (HI test) for poultry, pigs and dogs in Thailand. The developed HI protocol can be practically used in Thailand and will strengthen influenza surveillance system. In conclusion, the information gained from this research program will be very useful for planning and development of monitoring, control and prevention programs of influenza in humans and animals in the future.

โครงการวิจัยที่ 1

ชื่อโครงการวิจัย การเฝ้าระวังโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในเขตที่มีการเลี้ยงหนาแน่นในประเทศไทย (ปศุสัตว์ และสัตว์เลี้ยง)

บทคัดย่อ

โรคไข้หวัดใหญ่เกิดจากเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ ทำให้เกิดโรคในสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อเฝ้าระวังโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (สุกร สุนัขและแมว) ในเขตที่มีการเลี้ยงหนาแน่นในประเทศไทยระหว่างปีพ.ศ. 2556-2557 โดยเก็บตัวอย่างจากฟาร์มสุกร สถานสงเคราะห์สัตว์และโรงพยาบาลสัตว์สำหรับสุนัขและแมว ตรวจพิสูจน์และจำแนกสายพันธุ์ ถอดรหัสพันธุกรรม วิเคราะห์ความสัมพันธ์ เปรียบเทียบรหัสพันธุกรรม และตรวจพิสูจน์ทางซีรัมวิทยาของเชื้อไข้หวัดใหญ่ โดยผลการวิจัยครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างป้ายจมูกสุกร 331 ตัวอย่าง จากฟาร์มสุกร 16 ฟาร์ม ใน 9 จังหวัด ผลการตรวจพิสูจน์เชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร พบเชื้อไวรัสคิดเป็น 14.50% (62.50% ในระดับฟาร์ม) และสามารถเพาะแยกเชื้อไวรัสได้ 10 ตัวอย่าง จำแนกสายพันธุ์ได้เป็นเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ประจำถิ่น H1N1 (swH1N1) จำนวน 2 ตัวอย่าง เชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ลูกผสม H1N1 (rH1N1) จำนวน 1 ตัวอย่าง เชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ H1N1 2009 (pH1N1) จำนวน 4 ตัวอย่าง และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ลูกผสม H3N2 (rH3N2) จำนวน 3 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพบว่า ยีน HA1 ของเชื้อไวรัส H1N1 จัดอยู่ในกลุ่ม Classical swine (North American Lineage) และยีน NA1 ของเชื้อไวรัส H1N1 จัดอยู่ในกลุ่ม European SIV (Avian-like swine lineage) ส่วนยีน HA3 และ NA2 ของเชื้อไวรัส H3N2 จัดอยู่ในกลุ่ม Seasonal human H3N2 lineage แสดงให้เห็นว่าในปีพ.ศ. 2556-2557 มีการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ประจำถิ่น (swH1N1) เชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ลูกผสม H1N1 (rH1N1) และไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ H1N1 2009 (pH1N1) และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ลูกผสม H3N2 (rH3N2) ในฟาร์มสุกรมากขึ้น โดยที่เชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรที่แยกได้มีสายพันธุ์และรหัสพันธุกรรมที่หลากหลาย โดยเฉพาะเมื่อวิเคราะห์การจัดกลุ่มในโครงสร้างความสัมพันธ์ พบการแลกเปลี่ยนท่อนสารพันธุกรรม (reassortment) ของเชื้อไวรัส เช่น เชื้อไวรัส rH1N1 และ rH3N2 ผลการตรวจวัดระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรในตัวอย่างซีรัมของสุกรด้วยวิธี NP-ELISA พบว่ามีตัวอย่างที่ให้ผลบวก คิดเป็น 37.99% (87.50% ในระดับฟาร์ม) นอกจากนี้การวิจัยครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างการป้ายจมูกสุนัขและแมว จำนวน 285 ตัวอย่าง (สุนัข 205 ตัว และแมว 80 ตัว) จากสถานสงเคราะห์สัตว์ และโรงพยาบาลสัตว์จำนวน 22 แห่ง ในเขต 12 จังหวัด ผลการตรวจพิสูจน์เชื้อไข้หวัดใหญ่พบตัวอย่างที่ให้ผลลบเชิงบวก คิดเป็น 1.75% (21.05% ในระดับสถานสงเคราะห์สัตว์และโรงพยาบาลสัตว์) เมื่อนำมาเพาะแยกเชื้อและ

จำแนกสายพันธุ์ (subtype) ไม่สามารถเพาะแยกเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสุนัขได้ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงไม่ได้จำแนกสายพันธุ์และถอดรหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดใหญ่สุนัข ผลการตรวจวัดระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดใหญ่ ในตัวอย่างซีรัมของสุนัขและแมวจำนวน 331 ตัวอย่างด้วยวิธี NP-ELISA พบว่าไม่มีตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่เช่นกัน โดยสรุปประโยชน์ของการวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบอุบัติการณ์ และแนวโน้มของปัญหาโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่างๆ ที่เป็นสัตว์กลุ่มเสี่ยงที่ใกล้ชิดกับคน ทราบข้อมูลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อไวรัส การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดใหญ่ ซึ่งสามารถอธิบายทางระบาดวิทยาถึงที่มาของเชื้อและสามารถบ่งชี้ได้ว่าเชื้อที่พบมีแนวโน้มที่จะก่อปัญหาโรคระบาดใหญ่ได้ต่อไปหรือไม่ นอกจากนี้การเฝ้าระวังโรคทำให้มีโอกาสที่จะตรวจพบเชื้อไข้หวัดใหญ่ subtype อื่นๆ ที่ยังไม่มีรายงานในสัตว์ชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ทำให้สามารถที่จะวางแผนป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสได้อย่างรวดเร็ว และทราบชนิดสัตว์ที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรค เพื่อนำข้อมูลโดยรวมมาประกอบการวางแผนและป้องกันโรคสัตว์ และโรคสัตว์สู่คน รวมทั้งให้คำแนะนำในการปฏิบัติตัวในประชากรกลุ่มเสี่ยงต่อไป

Project 1: Surveillance of influenza in mammals in high density of animal production areas in Thailand (livestock and companion animals)

Abstract

Influenza A virus (IAV) causes influenza in several avian and mammal species. The objective of this project was to monitor IAV in mammals, including livestock (pigs) and companion animals (dogs and cats) in high density of animal production areas in Thailand. This IAV surveillance was conducted during 2013-2014 including sample collection from swine farms, animal shelters and small animal hospitals, virus identification and subtyping, genome sequencing, phylogenetic analysis and serological analysis of IAV. For swine influenza surveillance, 331 nasal swab samples were collected from 16 swine farms in 9 provinces. The results showed that 14.50% was positive for influenza virus (62.50% at farm level). 10 influenza viruses were isolated and subtyped as endemic swine influenza H1N1 (swH1N1) (n=2), reassorted swine influenza H1N1 (rH1N1) (n=1), pandemic influenza H1N1 2009 (pH1N1) (n=4) and reassorted swine influenza H3N2 (rH3N2) (n=3). Phylogenetic analysis of the H1N1 viruses showed that HA1 gene was grouped in classical swine (North American Lineage) and NA1 was grouped in European SIV (Avian-like swine lineage). While HA3 and NA2 of H3N2 viruses were grouped in Seasonal human H3N2 lineage. Our study indicated that during the course of study 2013-2014, the viruses, including swH1N1, rH1N1, pH1N1 and rH3N2 could be increasing observed in swine farms. Multiple subtypes and genetic diversity of the viruses were detected in Thai swine farms. Moreover reassorted subtypes were observed in this study such as rH1N1 and rH3N2 viruses. Serological test using NP-ELISA revealed 37.99% of swine serum samples posed antibody against influenza A (87.50% at farm level). For IAV surveillance in dogs and cats, in this study, 285 nasal swab samples were collected from dogs and cats from shelters and animal hospitals (n=22) in 12 provinces. The results showed that 1.75% was suspected for influenza virus (21.05% at shelter level). Unfortunately, the viruses could not be isolated and subtyped. Thus, viral subtyping and sequencing could not be conducted in this study. Serological test using NP-ELISA revealed none of serum samples posed antibody against influenza A. In conclusion, the benefits of the study include the information of influenza A viruses infection in animals especially species at risks, the information of occurrence, type, subtype of influenza circulating in swine farms and in dog and cat shelters as well as

animal hospitals. The study also provided information of genetic diversity and epidemiological origin of influenza viruses. These information will help support the prediction of pandemic potential of the viruses and help identify unknown influenza subtypes in several animal species in Thailand. The information gained from the study can be used for the prevention and control strategies of animal and zoonotic diseases and can be used to provide recommendations in population at risks.

โครงการวิจัยที่ 2

ชื่อโครงการวิจัย

การพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของ
โรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่าง ๆ โดยวิธี hemagglutination-
inhibition (HI) test

บทคัดย่อ

โรคไข้หวัดใหญ่เกิดจากเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ การตรวจวินิจฉัยเชื้อไข้หวัดใหญ่สามารถทำได้หลายวิธี ทั้งการตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่างๆ (สัตว์ปีก สุนัข สุนัข) โดยวิธี hemagglutination-inhibition (HI) test วิธีดำเนินการวิจัยประกอบด้วย การคัดเลือกตัวอย่างเลือดจากสัตว์ชนิดต่างๆ (สัตว์ปีก สุนัข สุนัข) การพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจพิสูจน์ทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี HI และการวิเคราะห์ผลการตรวจวิธี HI ผลการวิจัยครั้งนี้ได้ทดสอบตัวอย่างซีรัมควบคุม ที่มี known positive antibody titer และ known negative antibody titer จากสัตว์ปีก สุนัข และเชื้อไวรัสสายพันธุ์ต่างๆ ชนิดละ 3 ตัวอย่าง และได้ทดสอบตัวอย่างซีรัมทดสอบแบบ known positive antibody titer และ unknown antibody titer จากสัตว์ กับเชื้อไวรัสสายพันธุ์ต่างๆ จำนวน 11 สายพันธุ์ โดยทุกตัวอย่างซีรัมมีผลการทดสอบด้วยวิธี ELISA เป็นตัวเปรียบเทียบ รวมทั้งหมด 1,065 ตัวอย่าง ซึ่งผลการวิจัยครั้งนี้ได้พัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี HI test ของเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ประกอบด้วย มาตรฐานวิธี HI test ในซีรัมจากสัตว์ปีก สามารถทำได้โดยการเตรียมซีรัมโดยใช้ 20% kaolin และเม็ดเลือดแดงจากไก่วงหรือไก่ที่ความเข้มข้น 50% จากนั้นทดสอบด้วยวิธี HI โดยใช้เม็ดเลือดแดงจากไก่วงหรือไก่ มาตรฐานวิธี HI test ในซีรัมจากสุนัข สามารถทำได้โดยการเตรียมซีรัมโดยใช้ 20% kaolin (ในกรณีของ H1) และใช้ RDE (ในกรณีของ H3) และเม็ดเลือดแดงจากไก่วงหรือไก่ที่ความเข้มข้น 50% จากนั้นทดสอบด้วยวิธี HI โดยใช้เม็ดเลือดแดงจากไก่วงหรือไก่ มาตรฐานวิธี HI test ในซีรัมจากสุนัข สามารถทำได้โดยการเตรียมซีรัมโดยใช้ RDE และเม็ดเลือดแดงจากไก่วงที่ความเข้มข้น 50% จากนั้นทดสอบด้วยวิธี HI โดยใช้เม็ดเลือดแดงจากไก่วง โดยสรุปประโยชน์ของการวิจัยครั้งนี้สามารถพัฒนามาตรฐานวิธีการตรวจวินิจฉัยทางซีรัมวิทยาของโรคไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ปีก สุนัข และสุนัข โดยวิธี HI test นี้สามารถนำไปใช้ได้จริงกับเชื้อไข้หวัดใหญ่ในประเทศไทย และจะสามารถเพิ่มศักยภาพการเฝ้าระวังโรคไข้หวัดใหญ่ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น ซึ่งวิธี HI test นี้จะมีประโยชน์อย่างมากในการเฝ้าระวังการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ชนิดต่างๆ และสามารถนำข้อมูลที่ได้มาประกอบการวางแผนควบคุมป้องกันการระบาดของเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิดเอทั้งในประชากรสัตว์และประชากรมนุษย์ต่อไป

Project 2: Standardization of serological diagnosis of influenza in animals by hemagglutination-inhibition (HI) test)

Abstract

Influenza A virus (IAV) causes influenza in avian and mammals. Diagnosis of influenza virus infection can be performed either by antigen or antibody detection. The objective of this project was to develop standard serological diagnosis by hemagglutination-inhibition (HI) test for influenza in animals (poultry, pigs and dogs). This project was conducted including selection of serum samples from animals (poultry, pigs and dogs), development of serological assay (HI test) and evaluation of the HI test. In this study, 3 serum control with known positive antibody and known negative antibody titer from animals were selected and tested with selected influenza viruses. Then 1,065 serum samples of known positive antibody titer and unknown antibody titer from animals were tested with 11 subtypes of influenza viruses. Each serum samples had ELISA titer for assay analysis. The results from this study provided standardized serological test (HI test) for influenza detection in animals in Thailand. Standard HI protocol for poultry is serum treatment with 20% kaolin then with 50% turkey or chicken red blood cells and HI test with turkey or chicken red blood cells. Standard HI protocols for pig is serum treatment with 20% kaolin (H1) and RDE (for H3) then with 50% turkey or chicken red blood cells and HI test with turkey or chicken red blood cells. Standard HI protocol for dog is serum treatment with RDE then with 50% turkey red blood cell and HI test with turkey red blood cell. In conclusion, the benefit of the study is the development of standard serological test (HI test) for influenza detection in animals. This standard HI protocols can be applied for influenza detection in avian swine and canine serum samples. This study showed that the developed HI protocol can be practically used in Thailand and will strengthen influenza surveillance system. Our results will be very useful for serological surveillance of influenza infection in animals and can be used for influenza A prevention and control in animal and human in the future.