



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

“การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

โดย

รองศาสตราจารย์ สพ.ญ. ดร. สันนิภา สุรทัตต์และคณะ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พฤษภาคม 2556

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

“การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร. สันนิภา สุรทัตต์ และคณะ

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศาสตราจารย์ นพ. วีระวัฒน์ เหมะจุธา และคณะ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ดร. สุภาภรณ์ วัชรพฤษาติ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

และคณะ

คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช

ชุดโครงการการเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

บทสรุปย่อสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)	1
บทคัดย่อ	4
Abstract	5
ร่างรายงานฉบับสมบูรณ์ โครงการย่อยที่ 1 “บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์ เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว”	7
บทสรุปย่อสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary) โครงการย่อยที่ 1.....	8
1. บทนำ	12
2. วิธีการดำเนินการวิจัย	15
2.1 ศึกษาความเป็นไปได้ของการได้รับเชื้อไวรัสชิคาโกและ/หรือโรคอุบัติใหม่อื่นๆ ในสุกร และ สัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ในเขตพื้นที่ที่มีค้างคาวที่พบเชื้อไวรัสชิคาโก	15
2.2 การศึกษาบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคในนิเวศวิทยาของโรคชิคาโก และโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษา	18
3. ผลการดำเนินการ	20
3.1 ผลการศึกษาการติดเชื้อไวรัสชิคาโกและ arbovirus ในค้างคาวที่พบในฟาร์มสุกร.....	20
3.2 ผลการศึกษาการติดเชื้อไวรัสชิคาโกและ/หรือโรคอุบัติใหม่อื่นๆ ในสุกรและสัตว์เลี้ยงที่อาศัย อยู่ในเขตพื้นที่ที่มีค้างคาวที่พบเชื้อไวรัสชิคาโก	20
3.3 ศึกษาชนิด ปริมาณและการติดเชื้อไวรัสชิคาโกและ arbovirus ในฝูง ในบริเวณที่อาศัยอยู่ของ ค้างคาวและฟาร์มสุกร	43
4. สรุป และข้อเสนอแนะ	55
5. ผลงานอื่นๆ	57
5.1 นิสิตระดับบัณฑิตศึกษาที่เข้าร่วมการดำเนินงานในโครงการ	57
5.2 นิสิตระดับนิสิตปริญญาตรี	57
6. บรรณานุกรม	58
7. ภาคผนวก	61
ร่างรายงานฉบับสมบูรณ์ โครงการย่อยที่ 2 “สร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของ ประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน”	64
บทสรุปย่อสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary) โครงการย่อยที่ 2.....	66
1. บทนำ	68
2. วิธีการดำเนินการ ผลการดำเนินการ และสรุปผลการดำเนินการ	69
1) โครงการสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสชิคาโกในประชากรกลุ่มเสี่ยง	69

2) โครงการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่	71
3. ผลการดำเนินการ	76
3.1 สถานภาพการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับทุกโครงการ	76
3.2 การจัดลำดับความสำคัญ	77
4. สรุป และข้อเสนอแนะ	77
5. ผลงานอื่นๆ	77
6. ภาคผนวก	78
ร่างรายงานฉบับสมบูรณ์ โครงการย่อยที่ 3 “การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของ	
โรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว	122
บทสรุปย่อสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary) โครงการย่อยที่ 3.....	126
1. บทนำ	129
2. วิธีการดำเนินการ ผลการดำเนินการ และสรุปผลการดำเนินการ	131
2.1 โครงการศึกษานิเวศวิทยาของค้างคาวในพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคไวรัสซิกาในสุกร	131
2.1.1 โครงการศึกษาความสัมพันธ์ของค้างคาวกับพื้นที่โรงเรือนเลี้ยงสุกรแบบเปิด	131
2.1.2 โครงการศึกษาเส้นทางและแหล่งหากินของค้างคาวแม่ไก่บริเวณพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิด	
โรคไวรัสซิกาในสุกร	136
2.2 โครงการศึกษาการแพร่กระจายโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาวที่มีถิ่นอาศัยและหากินบริเวณ	
โรงเรือนเลี้ยงสุกร	144
2.3 โครงการศึกษาชนิดของสายพันธุ์ไวรัสซิกาที่พบในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง	161
3. ผลการดำเนินการ	167
3.1 สถานภาพการวิจัย	167
3.2 การจัดลำดับความสำคัญ	169
4. สรุป และข้อเสนอแนะ	169
5. ผลงานอื่นๆ	171
6. บรรณานุกรม	173
7. ภาคผนวก	176
รายงานการประชุมภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในการดำเนินโครงการ ครั้งที่ 1 และการประชุมประสานงาน	
เพื่อติดตามความก้าวหน้าของชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่	
และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”	217
รายงานการนำเสนอผลงานวิจัย และรับฟังความคิดเห็นจากภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในการ	
นำผลงานวิจัยชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”	
ไปใช้ประโยชน์	245

บทสรุปย่อสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

โครงการ	“การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำอย่างบูรณาการ”
รายงานในช่วงตั้งแต่ วันที่ 1 มีนาคม 2555 ถึงวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2556 (และขยายเวลาถึง 31 พฤษภาคม 2556)	
หัวหน้าโครงการ	รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สันนิษา สุรทัตต์
งบประมาณรวม	18,693,200.00 บาท (สิบแปดล้านหกแสนเก้าหมื่นสามพันสองร้อยบาท)

โครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำอย่างบูรณาการ” เป็นโครงการวิจัยที่เป็นการทำงานร่วมกันระหว่าง 3 ภาคส่วน ภายใต้หลักการการดูแลสุขภาพแบบหนึ่งเดียว (One Health) ได้แก่ สุขภาพคน สุขภาพสัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์ และสัตว์ป่า โครงการนี้ได้เลือกการศึกษาโรคสมองอักเสบจากนิบาห์ไวรัสเป็นแม่แบบในการการศึกษาวิจัย โดยในช่วงเวลาที่ผ่านมา ได้มีการวางแผนการศึกษาและลงพื้นที่ศึกษาร่วมกันและ 3 ภาคส่วน ได้แก่ คน-ค่างคว-สุกรสัตว์เลี้ยง รวมทั้งจะได้ศึกษาบทบาทของการเป็นพาหะในการการนำโรค

ในส่วนโครงการย่อยที่ 1 “บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค่างคว” คณะผู้วิจัยได้ทำการลงสำรวจพื้นที่ศึกษาที่เป็นแหล่งที่อยู่ของค่างคว โดยอาศัยข้อมูลร่วมกับโครงการย่อยที่ 2 และ 3 เพื่อทำการเลือกแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างควและฟาร์มสุกรที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียง และทำการสำรวจประชากรสุกรและสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ศึกษาสิ่งแวดล้อมลักษณะที่ตั้งของฟาร์มหรือโรงเรือน รวมถึงลักษณะการเลี้ยงสุกรที่อาจเป็นปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อนิบาห์ไวรัสและ/หรือโรคอุบัติใหม่จากค่างควและทำการเก็บตัวอย่างจากเลือดและสิ่งคัดหลั่งจากสุกรและหรือสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ในบริเวณในพื้นที่ชุมชนบริเวณโดยรอบที่อยู่อาศัยของค่างคว ผลการศึกษาพบว่า ลักษณะของฟาร์มสุกรโดยส่วนใหญ่ที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างเป็นลักษณะการเลี้ยงหลังบ้าน มีระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosecurity) ค่อนข้างต่ำ มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคติดต่อทั้งจากสัตว์พาหะและโรคสัตว์สู่คนได้ อย่างไรก็ตามผลการตรวจตัวอย่างจากสุกรและสัตว์เลี้ยงในฟาร์ม (สุ่นและแมว) ไม่พบหลักฐานการได้รับเชื้อนิบาห์ไวรัสในประชากรกลุ่มตัวอย่าง นอกจากนี้โครงการนี้ยังได้ศึกษาความเป็นไปได้ของการติดเชื้อที่มีความสำคัญต่อสุขภาพสุกร รวมจำนวนตัวอย่างจากสุกรทั้งสิ้น 479 ตัวอย่างโดยแยกเป็นตัวอย่าง nasal swab 233 ตัวอย่าง และตัวอย่างเลือด 246 ตัวอย่าง พบว่าให้ผลบวกต่อโรค PRRS จำนวน 56 ตัวอย่าง (24%) โดยแยกเป็นสายพันธุ์ยุโรป 44 ตัวอย่าง (78.6%) และสายพันธุ์อเมริกาเหนือ 12 ตัวอย่าง (21.4%) ให้ผลบวกต่อเชื้อ PCV2 จำนวน 57 ตัวอย่าง (24.5%) และสามารถแยกเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร สายพันธุ์ H3N2 จำนวน 1 ตัวอย่าง โดยไม่พบการติดเชื้อไวรัสซิกุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างที่ทำการตรวจการศึกษาทางชีววิทยาต่อเชื้ออหิวาต์สุกร พบความหลากหลายของระดับภูมิคุ้มกันที่แตกต่างกันไปในแต่ละฟาร์ม และในแต่ละช่วงอายุสุกร สำหรับการศึกษาด้านสภาพทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร พบตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อเชื้อ SIV สายพันธุ์ pandemic H1N1 (pH1N1) จำนวน 131 ตัวอย่าง (53%) สายพันธุ์ swine H1N1 (sH1N1) จำนวน 112 ตัวอย่าง (45.5%) และสายพันธุ์ sH3N2 จำนวน 32 ตัวอย่าง (13%) ซึ่งบ่งชี้ถึงโอกาสในการแลกเปลี่ยนไวรัสระหว่างมนุษย์และสุกร ส่วนผลจากการศึกษาบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคใน

นิเวศวิทยาของโรคนิพาห์และ/หรือโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษได้ทำการเก็บตัวอย่างยุงในบริเวณฟาร์มสุกร และแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างคาวและจากฟาร์มสุกรในพื้นที่ใกล้เคียง และไม่พบหลักฐานการติดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยา และเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในยุงที่ได้ทำการศึกษาแต่อย่างใด

โครงการย่อยที่ 2 “การสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน” ทำการทบทวนการติดเชื้อนิพาห์ไวรัสในประชากรกลุ่มเสี่ยง (ตำบลวัดหลวง จ.ชลบุรี) โดยการสัมภาษณ์กลุ่มประชากรเป้าหมาย และพบว่าปัจจัยที่อาจส่งผลเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อนิพาห์ไวรัส ได้แก่ การสัมผัสมูล-เยี่ยวสัตว์, พบค่างคาวชุกชุมบริเวณที่อยู่อาศัย, การเก็บผลไม้จากพื้น, การกินผลไม้ที่มีรอยกัดแทะสัตว์, บริเวณที่อยู่อาศัยมีทุ่งนา, มีฟาร์มหรือคอกสัตว์ เป็นต้น ส่วนการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อนิพาห์ไวรัสในอาสาสมัคร 418 ราย ไม่พบหลักฐานการติดเชื้อนิพาห์ไวรัสในกลุ่มประชากรตัวอย่าง ในส่วนกิจกรรมโครงการด้านสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ โครงการนี้ได้พัฒนาแนวทางการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ ซึ่งประกอบไปด้วยกิจกรรม 4 รูปแบบ ได้แก่ การประเมินความรู้เรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน การเสริมสร้างความรู้เรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน การเตรียมพร้อมบุคลากรระดับชุมชน และการสร้างแนวทางตอบโต้โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนโดยบุคลากรระดับชุมชน แนวทางเหล่านี้ก่อให้เกิดประชาชนและบุคลากรในพื้นที่ศึกษาเข้าใจและตระหนักถึงอันตรายของโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน เป็นจุดเริ่มต้นของการเชื่อมโยงองค์ความรู้และความตระหนักของการเกิดโรคอุบัติใหม่จากนักวิชาการไปยังชุมชน โดยทั้งนี้พบว่าความตื่นตัวของประชาชนในพื้นที่เป็นองค์ประกอบสำคัญที่สุดในการอบรมสร้างเครือข่ายที่จะเกิดขึ้นในอนาคต ความมั่นคงของเครือข่ายและรูปแบบแนวทางการดำเนินงานที่โครงการวิจัยได้สร้างขึ้นในระยะเวลา 18 เดือน ถึงแม้จะมีความสมบูรณ์ในระดับหนึ่ง แต่ยังคงต้องการการสนับสนุนจากกลไกของภาครัฐหรือจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อให้สิ่งที่สร้างขึ้นมีความยั่งยืนต่อไป

โครงการย่อยที่ 3 “การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค่างคาว” คณะผู้วิจัยได้ศึกษาเส้นทางและแหล่งหากินของค่างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ในบริเวณพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคนิพาห์ไวรัสในสุกร โดยใช้การดักจับค่างคาวที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เสี่ยง ร่วมกับการติด GPS-ACC Logger-Tags เพื่อผลจากการศึกษา ได้ข้อมูลทางชีววิทยาและนิเวศวิทยาของค่างคาวที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยงที่เป็นประโยชน์ในการทำความเข้าใจต่อนิเวศวิทยาของนิพาห์ไวรัส สามารถนำไปประกอบการวางแผนการดำเนินงานของโครงการศึกษาความเสี่ยงของการติดเชื้อนิพาห์ไวรัสในสุกรและการประเมินปัจจัยเสี่ยงได้ดียิ่งขึ้น โดยจากการศึกษาที่ฟาร์มสุกร 2 แห่ง โดยพบว่าค่างคาวและสุกรมีโอกาที่จะสัมผัสใกล้ชิดกันได้จริง โดยการตรวจพบค่างคาวที่มีแอนติบอดีต่อนิพาห์ไวรัสจากค่างคาวที่ชุ่มจับได้ ณ ฟาร์มสุกรที่ทำการศึกษาทั้ง 2 แห่ง อีกทั้งยังสามารถตรวจพบเชื้อนิพาห์ไวรัสในน้ำลายค่างคาวที่ดักจับได้ที่ฟาร์มสุกรอีกด้วย จึงเป็นข้อบ่งชี้ว่าสุกรมีโอกาสที่จะรับเชื้อจากค่างคาวได้หากมีปัจจัยที่เหมาะสมโดยการศึกษาสายพันธุ์นิพาห์ไวรัสที่พบในค่างคาวที่บริเวณฟาร์มและแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างคาว พบว่าเชื้อมีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับเชื้อนิพาห์ไวรัสที่พบระบาดในประเทศบังกลาเทศ ซึ่งการระบาดตั้งแต่ปี 2001 จนถึงปัจจุบันและมีรายงานว่าเชื่อนี้สามารถติดต่อจากคนสู่คนได้ ฉะนั้นจึงควรเฝ้าระวังติดตามอัตราการติดเชื้อของไวรัสในค่างคาวอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้การลดโอกาสสัมผัสระหว่างค่างคาวและสุกรจะช่วยลดโอกาสการแพร่เชื้อจากไวรัสสู่สุกรได้

ในส่วนของการประเมินความเสี่ยงต่อการติดเชื้อนิปาห์ไวรัสในค้างคาวคณะผู้วิจัยได้ดำเนินการดักจับค้างคาว รวมทั้งสิ้นจำนวน 802 ตัว ประกอบด้วยค้างคาว 22 สปีชีส์ เพื่อเก็บตัวอย่าง (น้ำลาย เยี่ยว เลือด และมูล) ได้ตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 2,516 ตัวอย่าง ทำการตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อนิปาห์ไวรัสด้วยวิธี ELISA จากตัวอย่างค้างคาว 768 ตัวอย่าง พบผลบวก 40 ตัวอย่าง ทำการตรวจวิเคราะห์หาเชื้อนิปาห์ไวรัสด้วยวิธี PCR จากตัวอย่างค้างคาวรวม 749 ตัวอย่าง พบผลบวก 11 ตัวอย่าง (จากค้างคาว 8 ตัว และ 2 pool) โดย 2 pool ตัวอย่างน้ำลายจากค้างคาวกล้าที่อาศัยในเขตตะวันออกและภาคกลาง ยังไม่เคยมีการรายงานพบเชื้อมาก่อน ได้แก่ ค้างคาวมงกุฎปลอมใหญ่ และค้างคาวหน้ายักษ์หมอบอุยส่งผลการถอดรหัสพันธุกรรมเชื้อ นิปาห์ไวรัสจากตัวอย่างค้างคาวที่อยู่ในเขตภาคตะวันออกและภาคกลางทั้งหมดที่ให้ผลบวกจากการตรวจด้วยวิธี PCR จำนวน 56 ตัวอย่าง พบว่าเชื้อที่ตรวจพบในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางจำนวน 45 ตัวอย่างมีรหัสพันธุกรรมจัดอยู่ในกลุ่มของไวรัสที่พบในประเทศบังกลาเทศ ในขณะที่เชื้อนิปาห์ไวรัส ที่ตรวจพบในค้างคาวกินแมลงทั้ง 2 ตัวอย่างมีรหัสพันธุกรรมที่จัดอยู่ในกลุ่มของนิปาห์ไวรัสที่พบในประเทศมาเลเซีย การพบเชื้อนิปาห์ ที่มีรหัสพันธุกรรมใกล้เคียงกับนิปาห์ไวรัสที่พบในประเทศมาเลเซียในค้างคาวกินแมลง จึงมีความเป็นไปได้สูงว่าอาจจะมีแหล่งรังโรคสปีชีส์อื่นที่เป็นรังโรคตามธรรมชาติของนิปาห์ไวรัสสายพันธุ์มาเลเซียที่พบในประเทศไทยการศึกษาการเคลื่อนที่และพฤติกรรมการกินอาหารของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางด้วยการใช้วิทยุชนิด GPS-ACC Logger-Tags และการพบนิปาห์ไวรัสในค้างคาวกินแมลง 2 สปีชีส์จากงานวิจัยนี้ ถือเป็นการรายงานเป็นครั้งแรกที่ไม่เคยมีการรายงานมาก่อนในโลกนอกจากนี้ยังพบไวรัสชนิดใหม่ (novel) ในค้างคาวจากการศึกษาครั้งนี้ เช่น Bat coronavirus และ Bat paramyxovirus ที่อาจนำโรคสู่คนและสัตว์เลี้ยงได้

โดยสรุป โครงการนี้ได้อาศัยหลักการ “สุขภาพหนึ่งเดียว” ในการทำการศึกษาและประเมินความเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อนิปาห์ไวรัส ของมนุษย์ สุนัข สัตว์เลี้ยง และยุงซึ่งเป็นแมลงพาหะนำโรค ที่อยู่ในบริเวณที่เป็นแหล่งที่อยู่หากิน และบินผ่านของฝูงค้างคาวอย่างเป็นระบบทำให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการเข้าใจถึงบทบาทและความสัมพันธ์ของสัตว์เลี้ยงและแมลงพาหะนำโรค ในนิเวศวิทยาของโรคอุบัติใหม่ที่อาจเกิดขึ้นจากค้างคาวก่อให้เกิดองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับนิเวศวิทยาของเชื้อนิปาห์ในประเทศไทย และเป็นต้นแบบการบูรณาการองค์ความรู้ และข้อมูลจากงานวิจัยทั้งสามส่วน เพื่อการทำความเข้าใจ การเฝ้าระวัง และการเตรียมพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำที่อาจเกิดขึ้นในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพและทัน่วงที่ต่อไป

บทคัดย่อ

โครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำอย่างบูรณาการ”
หัวหน้าโครงการ รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สันนิภา สุรทัตต์

โครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำอย่างบูรณาการ” เป็นโครงการวิจัยที่เป็นการทำงานร่วมกันระหว่าง 3 ภาคส่วน ภายใต้หลักการการดูแลสุขภาพแบบหนึ่งเดียว (One Health) ได้แก่สุขภาพคน สุขภาพสัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์ และสัตว์ป่า โครงการนี้ได้เลือกการศึกษาโรคสมองอักเสบจากนิปาห์ไวรัสเป็นแม่แบบในการการศึกษา

โครงการย่อยที่ 1 “บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว” คณะผู้วิจัยได้ทำการลงสำรวจพื้นที่ศึกษา เลือกลำไส้สุกรที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว และทำการสำรวจประชากรสุกรและสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ศึกษาสิ่งแวดล้อมลักษณะที่ตั้งของฟาร์มหรือโรงเรือน ลักษณะการเลี้ยงสุกร และทำการเก็บตัวอย่างจากเลือดและสิ่งคัดหลั่งจากสุกรและหรือสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ในบริเวณในพื้นที่ชุมชนบริเวณโดยรอบที่อยู่อาศัยของค้างคาว นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความเป็นไปได้ของการติดเชื้อที่มีความสำคัญต่อสุขภาพสุกร ได้แก่ อหิวาต์สุกร, PRRS, PCV2 และไข้หวัดใหญ่สุกร ในส่วนของการศึกษาบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคในนิเวศวิทยาของโรคนิปาห์และ/หรือโรคอุบัติใหม่ ได้ทำการเก็บตัวอย่างยุงในบริเวณฟาร์มสุกรและแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว

โครงการย่อยที่ 2 “การสร้างความรู้ความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน” ทำการทบทวนกรณีศึกษาของนิปาห์ไวรัสในประชากรกลุ่มเสี่ยง (ตำบลวัดหลวง จ.ชลบุรี) โดยการสัมภาษณ์กลุ่มประชากรเป้าหมาย และการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อนิปาห์ไวรัสในอาสาสมัคร ในส่วนกิจกรรมโครงการด้านสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ โครงการนี้ได้พัฒนาแนวทางการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ ซึ่งประกอบไปด้วยกิจกรรม 4 รูปแบบ ได้แก่ การประเมินความรู้เรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน การเสริมสร้างความรู้เรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน การเตรียมพร้อมบุคลากรระดับชุมชน และการสร้างแนวทางตอบโต้โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนโดยบุคลากรระดับชุมชน

โครงการย่อยที่ 3 “การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว” คณะผู้วิจัยได้ศึกษาเส้นทางและแหล่งหากินของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ในบริเวณพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคนิปาห์ไวรัสในสุกร โดยใช้การดักจับค้างคาวที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เสี่ยง ร่วมกับการติด GPS-ACC Logger-Tags เพื่อผลจากการศึกษา ได้ข้อมูลทางชีววิทยาและนิเวศวิทยาของค้างคาวที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยงที่เป็นประโยชน์ในการทำทำความเข้าใจต่อนิเวศวิทยาของนิปาห์ไวรัส ในส่วนของการประเมินความเสี่ยงต่อการติดเชื่อนิปาห์ไวรัสในค้างคาวได้ดำเนินการดักจับค้างคาว ทำการตรวจแอนติบอดีต่อเชื่อนิปาห์ไวรัสด้วยวิธี ELISA ทำการตรวจวิเคราะห์หาเชื่อนิปาห์ไวรัสด้วยวิธี PCR

โดยสรุป โครงการนี้ได้ทำการศึกษาและประเมินความเสี่ยงต่อการได้รับเชื่อนิปาห์ไวรัสของมนุษย์ สุกร สัตว์เลี้ยง และยุงซึ่งเป็นแมลงพาหะนำโรค ที่อยู่ในบริเวณที่เป็นแหล่งที่อยู่ หากิน และบินผ่านของฝูงค้างคาวอย่างเป็นระบบ ทำให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการเข้าใจถึงบทบาทและความสัมพันธ์ของสัตว์เลี้ยงและแมลงพาหะนำโรค ในนิเวศวิทยาของโรคอุบัติใหม่ที่อาจเกิดขึ้นจากค้างคาว ก่อให้เกิดองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับนิเวศวิทยาของเชื่อนิปาห์ในประเทศไทย และเป็นต้นแบบการบูรณาการองค์ความรู้ และข้อมูลจากงานวิจัยทั้งสามส่วน เพื่อการทำความเข้าใจ การเฝ้าระวัง และการเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำที่อาจเกิดขึ้นในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพและทัน่วงทันต่อไป

Abstract

Project “Multi-sectoral approaches for preparedness against emerging infectious diseases”

Project leader Sanipa Suradhat, D.V.M., Ph.D

The multi-disciplinary research program aimed to improve the understanding, awareness and preparedness against emerging infectious diseases in Thailand, using Nipah virus as a model. The program consisted of 3 components including human, veterinary, and wildlife research taskforces, and employed a “One Health” concept, on coordination, planning and implementation.

The first component entitled “Roles and relations of insect vectors and domestic animals in the ecology of emerging infectious diseases from bats” aimed to understand the role of domestic animals and insects in Nipah virus ecology. Domestic animals population and pig farms situated nearby bat habitats were assessed and. The farms settings, biosecurity, and relevant management system were explored. To determine the risk of Nipahvirus transmission from infected bats into the pigs and nearby domestic animal populations, specimens (blood, excretion) from pigs and domestic animals were collected and tested for the evidence of Nipahvirus infection. In addition, the infections by other swine diseases including classical swine fever virus, Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, Porcine Circovirus type 2 and swine influenza virus were also determined. In addition, the project also explored the role of mosquitos, collected at the bat habitats and selected pig farms, as vectors for Nipahvirus and other potential emerging diseases.

The second component entitled “Preparing of awareness and preparedness to combat with the emerging infectious disease in community” aimed to determine the risk of Nipah virus infection in the risk human population who live nearby the infected bat habitat (Tambon Wat Luang, Chonburi Province). The interviewed survey and the serological surveillance of human subjects were conducted. To preparing of public awareness and preparedness, 4 modules, including 1) risk assessment, 2) education of knowledge related to emerging zoonotic diseases, 3) human resource preparedness at the community level, and 4) development of strategic plan to combat the outbreak at the community level, were developed and implemented.

The third component entitled “Study of bats ecology and their risks for emerging infectious diseases” aimed to study the route and feeding areas of *Pteropus lylei* bats in the selected high risk area for bat-to-pig transmission. Bat captures and specimen collections along with bat tagging with a GPS-ACC Logger-Tags were utilized for studying of bat ecology and behaviors. The results from this study provided valuable information that can be used for planning of risk analysis study in the 2 high risk pig farms. The second part of this research component aimed to determine the rate of Nipah virus infection in Bat. Bat samples, including saliva urine blood and feces were screen for Nipah virus seropositive and the presence of Nipah virus infection by ELISA and PCR assay respectively.

In summary, this research program utilized the One Health approach in planning and implementation of the research activities. The program conducted risk analysis on Nipah virus infection in human, pigs, domestic animals, insects that lived nearby the Nipahvirus infected bat colonies and feeding routes. The information obtained from this research program provided the valuable scientific information and better understandings in biology and disease ecology of Nipahvirus in Thailand. This multi-disciplinary research program is a proof-of-concept in applying and integration of the knowledge from 3 major research components for better understanding, awareness, and preparedness against the emerging diseases with zoonotic potential.

สัญญาเลขที่ RDG5420089

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการย่อยที่ 1 “บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว”

รายงานในช่วงตั้งแต่ วันที่ 1 กันยายน 2554 ถึงวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2556
(และขยายเวลาถึง 31 พฤษภาคม 2556)

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน รศ.สพ.ญ.ดร.สันนิภา สุรทัตต์

หน่วยงาน : คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1) ศึกษาความเป็นไปได้ของการได้รับเชื้อไวรัสชิคาและ/หรือโรคอุบัติใหม่อื่นๆ ในสุกรและสัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ในเขตพื้นที่ที่มีค้างคาวที่พบเชื้อไวรัสชิคา
- 2) ศึกษาบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคในนิเวศวิทยาของโรคชิคาและ/หรือโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษา
- 3) ศึกษาปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการแพร่เชื้อจากค้างคาวและ/หรือแมลงพาหะนำโรคสู่สุกรและสัตว์เลี้ยงในพื้นที่ที่ทำการศึกษา

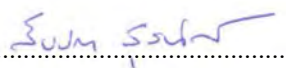
รายละเอียดผลการดำเนินงานของโครงการตามแผนงานโดยสรุป (พอสังเขป)

กิจกรรม (ตามแผน)	ผลที่คาดว่าจะได้รับ (ตามแผน)	ผลการดำเนินงาน	หมายเหตุ*
1. ศึกษาการติดเชื้อไวรัสชิคาและ arbovirus ในค้างคาวที่พบในฟาร์มสุกรที่กำหนด	1. ได้ข้อมูลสถานภาพการติดเชื้อไวรัสชนิดต่างๆ ในค้างคาว	1. เก็บและวิเคราะห์ตัวอย่างค้างคาวจากพื้นที่กำหนด ได้แก่ วัด 2 แห่ง และฟาร์มสุกร 2 ฟาร์ม (ดูรายละเอียดจากผลการดำเนินงานโครงการย่อยที่ 3 ข้อ 2.2 หน้า 139-150)	
2. ศึกษาการติดเชื้อไวรัสชิคา และ/หรือเชื้ออื่นๆ ในสุกรและสัตว์เลี้ยง	2. ได้ข้อมูลสถานภาพการติดเชื้อไวรัสชนิดต่างๆ ในสุกรและสัตว์เลี้ยง	2.1 ทำการตรวจหาเชื้อไวรัส PRRS PCV2 SIV ด้วยวิธี PCR และตรวจหาเชื้อ SIV ด้วยวิธี realtime RT-PCR จากตัวอย่างสวอป (nasal swab)	ฟาร์มสุกรที่ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 เดือน มีจำนวน 2 ฟาร์ม ส่วนฟาร์มสุกรที่

กิจกรรม (ตามแผน)	ผลที่คาดว่าจะได้รับ (ตามแผน)	ผลการดำเนินงาน	หมายเหตุ*
		2.2 ตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยา และเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสจากตัวอย่างเลือด ด้วยวิธี PCR 2.3 ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส PRRS PCV2 และนิปาห์ด้วยวิธี ELISA ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SIV สายพันธุ์ H3N2 pH1N1 และ sH1N1 ด้วยวิธี HI test และตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ CSFV ด้วยวิธี NPLA โดยสามารถตรวจตัวอย่างแล้วเสร็จทั้งหมด	ทำการเก็บตัวอย่างเพียงครั้งเดียวมีจำนวน 7 ฟาร์ม
3. ศึกษาชนิดปริมาณและการติดเชื้อไวรัสชนิดปาร์และ arbovirus ในยูงในบริเวณที่อยู่อาศัยของค่างควาและฟาร์มสุกร	3.1 ได้ข้อมูลชนิดและปริมาณของยูงในพื้นที่เสี่ยง 3.2 ได้ข้อมูลสถานภาพการติดเชื้อไวรัสชนิดต่างๆ ในยูงแต่ละชนิดที่พบในที่อยู่อาศัยของค่างควาและฟาร์มสุกร	3.1 ศึกษาชนิดวิทยาและ host preference ของยูงเก็บตัวอย่างและศึกษาชนิดปริมาณของยูงในพื้นที่ที่กำหนด ได้แก่ วัด 2 แห่ง คือวัดหลวงพรหมवास และวัดเทวบุตร และฟาร์มสุกร 3 แห่ง ทำการนับและจำแนกชนิดของยูงแล้วเสร็จทั้งหมด 3.2 ศึกษาการติดเชื้อชนิดต่างๆ ในยูงในบริเวณที่อยู่อาศัยของค่างควาและฟาร์มสุกรแล้วเสร็จทั้งหมด	

ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะอื่นๆ ต่อ สกว.

แม้ปัจจุบันยังไม่พบหลักฐานการติดเชื้อไวรัสชนิดปาร์ในสุกรและสัตว์เลี้ยงอื่นๆในบริเวณที่ศึกษา แต่ควรมีการเฝ้าระวังอุบัติการณ์ของโรคเพื่อการเตรียมพร้อมรับมือได้อย่างทันท่วงทีและมีประสิทธิภาพ

.....


(รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สนธิภา สุรทัตต์)

วันที่ 16 สิงหาคม 2556

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

โครงการย่อยที่ 1

บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยา ของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากคางคาว

รชฏ ตันติเลิศเจริญ สนธยา เตียวศิริทรัพย์ นภวัลย์ บรรพพงศ์
มัชฌมณ แก้วพฤษชัย รณิดา ต่วนอุดม และ สันนิภา สุรทัตต์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทสรุปผู้บริหาร

โครงการนี้ศึกษาความเป็นไปได้ของการได้รับเชื้อไวรัสสปีชีส์และ/หรือโรคอุบัติใหม่อื่นๆ ในสุกรและสัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ในเขตพื้นที่ชุมชนที่มีฝูงคางคาวที่เคยพบหลักฐานการติดเชื้อไวรัสสปีชีส์โดยเลือกฟาร์มสุกร ทำการสำรวจประชากรสุกรและสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ศึกษาสิ่งแวดล้อมลักษณะที่ตั้งของฟาร์มหรือโรงเรือน ลักษณะการเลี้ยงสุกร รูปแบบโรงเรือนสุกรที่อาจเป็นปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อไวรัสสปีชีส์และ/หรือโรคอุบัติใหม่จากคางคาวและทำการเก็บตัวอย่างจากเลือดและสิ่งคัดหลั่งจากสุกรและหรือสัตว์เลี้ยงอื่นๆ โดยแบ่งเป็นการเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 เดือน (longitudinal study) จำนวน 2 ฟาร์ม และการเก็บตัวอย่างแบบครั้งเดียว (cross-sectional study) จำนวน 7 ฟาร์ม นอกจากนี้ยังเก็บตัวอย่างจากสุนัขและแมวในพื้นที่ชุมชนบริเวณรอบวัดหลวงพรหมมาวาส และโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลวัดหลวง ผลการศึกษาพบว่า ลักษณะของฟาร์มสุกรโดยส่วนใหญ่ที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างเป็นลักษณะการเลี้ยงหลังบ้าน มีระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosecurity) ค่อนข้างต่ำ มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคติดต่อทั้งจากสัตว์พาหะ และโรคสัตว์สู่คนได้ เช่น ลักษณะโรงเรือนเก่า ชำรุด มีโอกาสที่สัตว์เลี้ยงอื่นๆ แมลงพาหะหรือคางคาวสามารถสัมผัสตัวสุกรโดยตรง หรือผ่านทางสิ่งขับถ่าย มีไม้ผลอยู่บริเวณโรงเรือนเลี้ยงสุกร หรือมีสวนผลไม้อยู่ใกล้เคียง และมีหลักฐานการกัดแทะผลไม้ที่คาดว่าเกิดจากคางคาวแม่ไก่ อย่างไรก็ตามผลการตรวจตัวอย่างจากสุกรและสัตว์เลี้ยงในฟาร์ม (สุนัขและแมว) ไม่พบตัวอย่างที่ให้ผลบวกทั้งจากการตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัสสปีชีส์ และการตรวจหาแอนติเจนด้วยวิธี PCR

นอกจากนี้โครงการนี้ยังศึกษาความเป็นไปได้ของการติดเชื้อที่มีความสำคัญทั้งด้านสุขภาพสุกรและในด้านของสาธารณสุข โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดและสิ่งคัดหลั่งจากฟาร์มสุกร เพื่อนำไปตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสสอหิวาต์สุกร (CSFV), พีโออาร์เอส (PRRS), เซอร์โคไวรัส ชนิดที่ 2 (PCV2), ไข้หวัดใหญ่สุกร (SIV), ไวรัสชิคุนกุนยา และเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัส รวมจำนวนตัวอย่างจากสุกรทั้งสิ้น 479 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่าง nasal swab 233 ตัวอย่าง และตัวอย่างเลือด 246 ตัวอย่าง ตัวอย่าง nasal swab ได้ทำการตรวจวินิจฉัยโรคและพบว่าให้ผลบวกต่อโรค PRRS จำนวน 56 ตัวอย่าง (24%) โดยแยกเป็นสายพันธุ์ยุโรป 44

ตัวอย่าง (78.6%) และสายพันธุ์อเมริกาเหนือ 12 ตัวอย่าง (21.4%) ให้ผลบวกต่อเชื้อ PCV2 จำนวน 57 ตัวอย่าง (24.5%) ทั้งนี้พบตัวอย่าง nasal swab ที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร สายพันธุ์ H3N2 จำนวน 1 ตัวอย่าง ซึ่งสามารถแยกเชื้อไวรัสได้จากการเก็บตัวอย่างในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555

การศึกษสถานภาพทางภูมิคุ้มกันโดยการตรวจตัวอย่างซีรัมจำนวน 246 ตัวอย่าง โดยนำมาทำการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกัน (แอนติบอดี) ต่อเชื้อ PRRS และ PCV2 ด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunoperoxidase Assay (ELISA) พบว่าให้ผลบวกต่อเชื้อ PRRS จำนวน 117 ตัวอย่าง (47.6%) และ PCV2 จำนวน 195 ตัวอย่าง (79.3%) การตรวจการแอนติบอดีต่อเชื้อหวัดสุกรด้วยวิธี Neutralizing Peroxidase-Linked Assay (NPLA) พบความหลากหลายของระดับภูมิคุ้มกันที่แตกต่างกันไปในแต่ละฟาร์ม และในแต่ละช่วงอายุสุกร รวมถึงพบฟาร์มที่คาดว่าสุกรได้รับเชื้อจากธรรมชาติ (รายละเอียดแสดงในรายงานฉบับสมบูรณ์) สำหรับโรคไข้หวัดใหญ่สุกร คณะผู้วิจัยได้ทำการตรวจหาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ SIV 3 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Haemagglutination-Inhibition test (HI) พบตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อเชื้อ SIV สายพันธุ์ pandemic H1N1 (pH1N1) จำนวน 131 ตัวอย่าง (53%) สายพันธุ์ swine H1N1 (sH1N1) จำนวน 112 ตัวอย่าง (45.5%) และสายพันธุ์ sH3N2 จำนวน 32 ตัวอย่าง (13%) โดยทั้งนี้ยังไม่พบการติดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างเลือดและสิ่งคัดหลั่งจากสุกรที่ทำการตรวจ

การศึกษบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคในนิเวศวิทยาของโรคนี้ปาห์และ/หรือโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษได้ทำการเก็บตัวอย่างยุงจำนวน 6 ครั้ง ในบริเวณฟาร์มสุกรและแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างคาวและจากฟาร์มสุกรในพื้นที่ใกล้เคียง พบว่ายุงที่จับได้ประกอบไปด้วยยุงจำนวน 5 สกุล (genus) ได้แก่ *Aedes*, *Anopheles*, *Armigeres*, *Culex* และ *Mansonia* และชนิดของยุงที่พบได้มาก ได้แก่ *Culex gelidus*, *Culex tritaeniorhynchus* และ *Mansonia uniformis* จึงเลือกทำการศึกษการติดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในยุงทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว จากการศึกษาไม่พบหลักฐานการติดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในยุงที่ได้ทำการศึกษา แต่อย่างไรก็ตามจากการเก็บตัวอย่างยุงในครั้งนี้ สามารถดักยุงได้โดยใช้กับดักยุง CDC light trap และคาร์บอนไดออกไซด์ ในบริเวณคอกเลี้ยงสุกรโดยตรง ดังนั้นจึงมีโอกาที่ยุงซึ่งเป็นพาหะนำโรคที่มีความสำคัญต่างๆ จะสัมผัสกับสุกรโดยตรง นอกจากนี้ยังมีโอกาสในการสัมผัสกับคนซึ่งอยู่ในบริเวณเดียวกันอีกด้วย เนื่องจากการเลี้ยงส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบหลังบ้าน จึงควรมีการติดตามเฝ้าระวังการติดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสต่อไป

โดยสรุป โครงการนี้ได้ทำการศึกษาและเก็บตัวอย่างจากฟาร์มสุกร สัตว์เลี้ยง และยุงซึ่งเป็นแมลงพาหะนำโรค ที่อยู่ในบริเวณที่เป็นแหล่งที่อยู่ หากิน และบินผ่านของฝูงค่างคาวอย่างเป็นระบบทำให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการเข้าใจถึงบทบาทและความสัมพันธ์ของสัตว์เลี้ยงและแมลงพาหะนำโรค ในนิเวศวิทยาของโรคอุบัติใหม่ที่อาจเกิดขึ้นจากค่างคาว ก่อให้เกิดองค์ความรู้ และเป็นต้นแบบการบูรณาการองค์ความรู้ และข้อมูล เพื่อการศึกษา การเฝ้าระวัง และการเตรียมพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำที่อาจเกิดขึ้นในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพและทันทั่วถึงต่อไป

ข้อเสนอแนะ / การป้องกันโรค

1. แม้ว่าจะไม่พบตัวอย่างเลือดและสิ่งคัดหลั่งหลังจากสุกรที่ให้ผลบวกต่อไวรัสสปีนปาร์แต่อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาโครงการย่อยที่ 3 พบว่ามีคางคาวที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสสปีนปาร์ ที่เข้ามาในบริเวณฟาร์มทั้ง 2 แห่งที่ทำการศึกษา ข้อมูลนี้ชี้ว่ายังมีความเสี่ยงที่สุกรจะมีโอกาสรับเชื้อจากคางคาว จึงควรแนะนำให้ผู้เลี้ยงปรับปรุงระบบความปลอดภัยทางชีวภาพของฟาร์มให้มีความปลอดภัยยิ่งขึ้น เช่น ปรับปรุงโรงเรือนหรือคอกสุกรให้มีสัดส่วนที่ชัดเจน และแยกจากบริเวณอื่นๆ ควรมีการล้อมตาข่ายรอบโรงเรือน และหลีกเลี่ยงการปลูกไม้ผลบริเวณคอกสุกร เพื่อป้องกันคางคาว รวมถึงสัตว์อื่นๆ และยุงที่ จะมีโอกาสสัมผัสกับสุกรโดยตรง
2. จากการตรวจสอบสถานภาพทางการติดเชื้อและระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคที่มีสุกรที่มีความสำคัญต่อสุขภาพสุกร พบความแตกต่างกันของระดับภูมิคุ้มกันในแต่ละฟาร์ม เนื่องจากมีระบบการเลี้ยง การจัดการ และโปรแกรมการป้องกันโรคในแต่ละฟาร์มที่แตกต่างกัน จึงควรมีการให้ความรู้ความเข้าใจในเรื่องของโรคและการป้องกันแก่ผู้เลี้ยงหรือเจ้าของฟาร์ม รวมถึงให้คำแนะนำในด้านการดูแลสุขภาพสุกร และวิธีการพัฒนาและปรับปรุงระบบความปลอดภัยทางชีวภาพในฟาร์มที่ยังมีข้อบกพร่อง
3. จากการศึกษาทั้งการตรวจหาแอนติเจน และแอนติบอดีของเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร พบฟาร์มสุกร (ฟาร์มที่ 2) ที่สุกรมีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส (pH1N1 และ sH1N1) ตลอดทั้งปี และพบมากขึ้นในช่วงปลายฝนต้นหนาว จึงบ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรวนเวียนอยู่ในฟาร์มสุกรดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง ซึ่งถือว่ามีความสำคัญในด้านของสาธารณสุข เนื่องจากมีหลักฐานการติดข้ามระหว่างคนและสุกรของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ pH1N1 ทั้งนี้ยังมีโอกาสที่ไวรัสที่วนเวียนอยู่ในฟาร์มสามารถกลายพันธุ์ หรือเกิด reassortment ได้เป็นไวรัสลูกผสมขึ้นมาใหม่ได้ จึงควรให้ความรู้ความเข้าใจเรื่องไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรแก่ผู้เลี้ยงสุกรในพื้นที่ รวมถึงวิธีการสังเกตอาการ และการป้องกันตนเองจากการติดเชื้อมดังกล่าว
4. แม้ว่าการเก็บตัวอย่างยุงจะยังไม่พบหลักฐานการติดเชื้อที่สนใจศึกษาอย่างไรก็ตามสภาพการเลี้ยงยังเอื้อต่อการที่ยุงจะสัมผัสกับสุกร เกษตรกรผู้เลี้ยงหรือประชาชนที่อยู่อาศัยในบริเวณใกล้เคียงดังนั้นจึงควรมีการติดตามเฝ้าระวังการติดเชื้อที่มียุงเป็นพาหะในพื้นที่ต่างๆ ที่มีความเสี่ยงต่อไป

รายงานฉบับสมบูรณ์

ชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

โครงการย่อยที่ 1 บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว

ผู้ดำเนินการวิจัย

1. รศ.สพ.ญ.ดร.สันนิษา สุรทัตต์
2. ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษชาติ
3. ผศ.น.สพ.ดร.สนธยา เตียวศิริทรัพย์
4. อ.สพ.ญ.ดร.จุฑาทิพย์ เขียวเจริญ
5. น.สพ.รชฏ ตันติเลิศเจริญ
6. สพ.ญ.นภวัลย์ บรรพพงศ์
7. สพ.ญ.มัทมณฑา แก้วพฤษชัย
8. นางสาวรณิดา ต่วนอุดม

1. บทนำ

จากรายงานการพบเชื้อไวรัสอย่างน้อย 60 ชนิดจากค้างคาวทั่วโลก ที่แม้ส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อไวรัสที่ยังไม่มีรายงานการแพร่เชื้อจากค้างคาวสู่สัตว์ชนิดอื่นๆ หรือก่อโรคในคน แต่ในจำนวนเหล่านี้เป็นเชื้อไวรัสอุบัติใหม่ที่ร้ายแรงและมีความรุนแรงในการก่อโรคสูง อาทิ เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าและเชื้อไวรัสกลุ่ม lyssavirus เชื้อไวรัส SARAS-like corona virus ที่คาดว่าค้างคาวเป็นต้นกำเนิดของโรคซาร์ส เชื้อไวรัสอีโบล่า (ebola virus) พบในค้างคาวประเทศแอฟริกาบริเวณที่มีการระบาดของโรคในลิงและคน เชื้อไวรัสเฮนดรา (hendra virus) ที่ก่อโรคในม้าและแพร่สู่สัตว์แพทย์ผู้ดูแล รวมทั้งเชื้อไวรัสนิปาห์ที่พบการระบาดในประเทศมาเลเซีย เมื่อปีพ.ศ.2541 ที่ทำให้ประเทศมาเลเซียจำเป็นต้องกำจัดสุกรจำนวนมากว่าล้านตัวเพื่อยับยั้งการระบาดของโรค รายงานการศึกษาการติดเชื้อของเชื้อไวรัสนิปาห์ในค้างคาวไทย ระหว่างปีพ.ศ.2545-2548 ที่พบว่าค้างคาวที่อาศัยอยู่ในประเทศไทย เป็นสัตว์รังโรคของเชื้อไวรัสนิปาห์ (Nipah virus) (Wacharapluesadee et al., 2005) โดยเฉพาะค้างคาวแม่ไก่ ซึ่งการศึกษารหัสพันธุกรรมของเชื้อไวรัสที่พบในประเทศไทยมีการพบเชื้อไวรัสนิปาห์ทั้ง 2 ชนิด คือ สายพันธุ์บังกลาเทศ ที่มีการติดต่อจากค้างคาวสู่คนได้โดยตรง พบการระบาดที่อินเดีย และบังกลาเทศ และสายพันธุ์มาเลเซียที่มีสุกรเป็นแหล่งเพาะโรคก่อนการแพร่เชื้อสู่คน ทั้งนี้ในประเทศไทยยังไม่พบมีการระบาดของเชื้อไวรัสนิปาห์ทั้งในคนและสุกร โดยที่กรมปศุสัตว์ได้มีการสุ่มตรวจ

แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสในสุรอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามการที่มีรายงานการพบเชื้อไวรัสในป้าในค้างคาวในประเทศไทยอย่างน้อย 4 ชนิด ประกอบกับการรายงานพบปัจจัยหลายอย่างที่อาจกระตุ้นให้เกิดการระบาดในหมู่ค้างคาวได้ อาทิ การขาดแคลนอาหารจากป่าไม้หรือสวนผลไม้ที่ลดน้อยลง ภาวะภูมิคุ้มกันอ่อนแอจากความเครียดช่วงฤดูการผสมพันธุ์ ภาวะโลกร้อน เป็นต้น ปัจจัยเสริมเหล่านี้อาจเพิ่มความเสี่ยงให้เกิดการติดเชื้อสู่สุกร และ/หรือมนุษย์ได้ง่ายขึ้น แม้ว่าที่ผ่านมาจะมีการศึกษาวิจัยเรื่องความสามารถในการนำโรคอุบัติใหม่ของค้างคาวสู่ประชากรมนุษย์และสัตว์อยู่บ้าง แต่ข้อมูลที่ได้ยังไม่เพียงพอที่จะใช้เพื่อการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อการอุบัติของเชื้อไวรัสในป้าได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นระบบ

โรคติดเชื้อที่พบในคนและสัตว์นั้น อาจเกิดจากการติดต่อโดยตรงระหว่างผู้ป่วยหรือสัตว์ป่วย หรืออาจติดต่อโดยอาศัยแมลงพาหะนำโรค (arthropod borne diseases) ซึ่งแมลงพาหะนำโรคที่มีความสำคัญมากคือ ยุง ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปรวมทั้งในประเทศไทย เชื้อที่มียุงเป็นพาหะนำโรค ได้แก่ หนองพญาธิฟิลาเรีย และเชื้อไวรัสชนิดต่างๆ รวมทั้งสัตว์หลายๆ ชนิดสามารถทำหน้าที่เป็นโฮสต์เก็บกักโรคต่างๆ เหล่านี้อีกด้วย (Couderc et al., 2008,2009; Ziegler et al., 2008) Arbovirus เป็นเชื้อไวรัสที่จำเป็นต้องอาศัยแมลงดูดเลือดเป็นพาหะในการนำเชื้อ เชื้อไวรัสที่มีความสำคัญในไทย ได้แก่ เชื้อไวรัสสมองอักเสบเจอี (Japanese encephalitis virus) เชื้อไวรัสไข้เลือดออก (Dengue virus) และเชื้อไวรัสชิคุนกุนยา (Chikungunya virus) (Mackenzie et al., 2001) นอกจากนี้แล้วยังมีเชื้อไวรัสอีกชนิดหนึ่งซึ่งจัดว่าเป็นสาเหตุของโรคอุบัติใหม่ในหลายๆ พื้นที่ในโลก หรือในบางพื้นที่ก็จัดว่าเป็นโรคอุบัติซ้ำที่มีความรุนแรงมากขึ้นกว่าในอดีต คือ เชื้อไวรัสเวสต์ไนล์ (West Nile virus) อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลชี้ชัดถึงการกระจายตัวของเชื้อไวรัสชนิดนี้ในประเทศไทย นอกจาก arbovirus ยังมีเชื้อไวรัสอีกหลายชนิดที่จำเป็นต้องให้ความสำคัญเนื่องจากจัดว่าเป็นโรคอุบัติใหม่ เช่น เชื้อไวรัสนิปาห์และเชื้อไวรัสอีโบลา ซึ่งสัตว์มีบทบาทที่สำคัญในนิเวศวิทยาของเชื้อไวรัสในธรรมชาติ (Mackenzie et al., 2001) แม้ว่าที่ผ่านมาจะมีข้อมูลชี้ว่าบางชนิดมีชีวิตโดยการกินเลือดค้างคาวและสัตว์ชนิดอื่นๆ อยู่บ้าง แต่อย่างไรก็ตามไม่เคยมีการศึกษาถึงข้อมูลเชิงนิเวศวิทยาและบทบาทของยุงในการเป็นพาหะนำโรคนี้จากค้างคาวในประเทศไทย

เชื้อไวรัสชิคุนกุนยาเป็นเชื้อไวรัสที่มียุงเป็นพาหะนำโรค จัดอยู่ในสกุล (genus) *Alphavirus* และวงศ์ (family) *Togaviridae* การศึกษาที่ผ่านมาพบว่ายุงที่เป็นพาหะที่สำคัญของเชื้อไวรัสชิคุนกุนยา ได้แก่ ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) และยุงลายสวน (*Aedes albopictus*) (Reiskind et al., 2008; Dubrulle et al., 2009; Thavara et al., 2009; van den Hurk et al., 2009) เชื้อไวรัสนี้ก่อให้เกิดโรคที่เรียกว่า โรคชิคุนกุนยาหรือโรคไขปวดข้อยุงลาย โรคนี้พบครั้งแรกในปี.ศ.2496 ที่ประเทศแทนซาเนีย แอฟริกาตะวันออก และหลังจากนั้นได้พบการระบาดของโรคนี้ในทวีปแอฟริกา ประเทศอินเดีย และหลายๆ ประเทศในเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมทั้งในประเทศไทย (Theamboonlers et al., 2009) สำหรับเชื้อไวรัสเวสต์ไนล์นั้นเป็นเชื้อไวรัสที่จัดอยู่ในสกุลฟลาไวรัส (*Flavivirus*) ของแฟมิลีหรือวงศ์ *Flaviviridae* และจัดอยู่ใน *Japanese Encephalitis serogroup* โดยที่เชื้อไวรัสชนิดอื่นที่สามารถพบได้ในประเทศไทยและจัดอยู่ในกลุ่ม *serogroup* เดียวกับเชื้อไวรัสเวสต์ไนล์ก็คือ เชื้อไวรัสไข้สมองอักเสบเจอี ไวรัสเวสต์ไนล์นั้นพบการระบาดครั้ง

แรกในประเทศอูกานดา เมื่อปีพ.ศ.2480 และหลังจากนั้นก็พบว่าเกิดการระบาดของเชื้อไวรัสชนิดนี้ขึ้นในหลายๆ พื้นที่ทั้งในตะวันออกกลาง ทวีปยุโรป เอเชีย รวมทั้งอเมริกา โดยที่เชื้อไวรัสชนิดนี้ก่อให้เกิดความเจ็บป่วยขึ้นในคน ก่อให้เกิดการติดเชื้อในสมอง และเป็นสาเหตุของการตายได้ นิเวศวิทยาของเชื้อไวรัสชนิดนี้ในธรรมชาติเกี่ยวข้องกับสัตว์ติดเชื้อ คน และยูงในธรรมชาติ โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสชนิดนี้จัดได้ว่าเป็นโรคอุบัติใหม่หรือโรคอุบัติซ้ำซึ่งหลายๆ ประเทศให้ความสนใจและให้ความสำคัญเป็นอย่างมาก

เนื่องจากภาวะโลกร้อนที่เกิดขึ้นในปัจจุบันนี้ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม ส่งผลให้เกิดการกระจายตัวของแมลงพาหะนำโรค และทำให้ปริมาณของแมลงพาหะนำโรคเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก บางพื้นที่ที่มีฝนตกชุกตลอดทั้งปี เกิดเป็นแหล่งน้ำท่วมขังกลายเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ที่ดีสำหรับยุงชนิดต่างๆ เมื่อยุงเพิ่มจำนวนมากขึ้น การกระจายตัวของเชื้อชนิดต่างๆ ก็เพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงการตรวจพบระดับภูมิคุ้มกันของสัตว์ต่อเชื้อไวรัสเหล่านี้ ซึ่งอาจบ่งชี้ได้ว่าสัตว์สามารถติดเชื้อไวรัสได้ ดังนั้นสัตว์ชนิดต่างๆ จึงอาจมีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสในธรรมชาติได้ ทางคณะผู้วิจัยได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของสัตว์และยูงในนิเวศวิทยาของโรคอุบัติใหม่และโรคอุบัติซ้ำต่างๆ ที่เกิดจากสัตว์สู่คนที่อาจมีผลกระทบต่อสุขภาพของคนและสัตว์ในประเทศไทย จึงได้ทำการศึกษาถึงการติดเชื้อไวรัสต่างๆ เหล่านี้ในสัตว์และยูงในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการระบาดของโรค เพื่อให้ได้องค์ความรู้ใหม่ที่สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อนำไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ในการเฝ้าระวังและควบคุมการระบาดของโรคในประเทศไทยต่อไป

โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้และวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสชนิดต่างๆ จากค้างคาวในสุกรและสัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูงในประเทศไทย รวมทั้งศึกษาบทบาทของยูงในการเป็นพาหะนำโรคจากค้างคาวเข้าสู่ประชากรสุกรและสัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่เสี่ยงต่อการระบาดของโรค เพื่อให้ได้องค์ความรู้ที่สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการเฝ้าระวังและควบคุมการระบาดของโรคในประเทศไทยต่อไป

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 ศึกษาความเป็นไปได้ของการได้รับเชื้อไวรัสนิปาห์และ/หรือโรคอุบัติใหม่อื่นๆ ในสุกร และสัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ในเขตพื้นที่ที่มีค้ำคาวที่พบเชื้อไวรัสนิปาห์

ทำการลงพื้นที่สำรวจเลือกฟาร์มสุกรที่ตั้งอยู่ในบริเวณที่มีรายงานการพบเชื้อไวรัสนิปาห์ในค้ำคาวโดยอาศัยข้อมูลที่เคยมีการรายงานมาก่อน ทำการสำรวจประชากรสุกรและสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ได้แก่ สุนัขและแมว สอบถามเกษตรกรเกี่ยวกับการเคลื่อนย้ายสัตว์และปศุสัตว์ที่เลี้ยงในพื้นที่ที่ศึกษา จากนั้นทำการศึกษาสิ่งแวดล้อมลักษณะที่ตั้งของฟาร์มหรือโรงเรือน ลักษณะการเลี้ยงสุกร รูปแบบโรงเรือนสุกรที่อาจเป็นปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อไวรัสนิปาห์และ/หรือโรคอุบัติใหม่จากค้ำคาว

นอกจากนั้นยังศึกษาถึงความเป็นไปได้ของการได้รับเชื้อไวรัสนิปาห์และ/หรือโรคอุบัติใหม่ที่มีสาเหตุมาจาก arbovirus อื่นๆ ในสุกรและสัตว์เลี้ยงในฟาร์มที่เลือก โดยทำการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อและ/หรือสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสนิปาห์และ arbovirus อื่นๆ เป็นระยะ (ทุกๆ 3 เดือน) ตลอดช่วงเวลา 18 เดือน โดยทำการประเมินสุขภาพโดยรวมและตรวจการติดเชื้อชนิดอื่นๆ (PRRSV, PCV2, SIV, CSFV) ที่อาจพบได้ในสุกรกลุ่มเสี่ยงรวมถึงวิเคราะห์ความเสี่ยงและปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการแพร่เชื้อไวรัสในค้ำคาวสุกรและสัตว์เลี้ยงอื่นๆ

ทำการเก็บข้อมูลโดยสำรวจสถานภาพของฟาร์ม รูปแบบการเลี้ยง กลุ่มอาการ (syndrome) ที่พบในประชากรสัตว์ที่ศึกษา ทำการเก็บตัวอย่าง (เลือด สิ่งคัดหลั่ง หรือสิ่งขับถ่าย) จากค้ำคาว สุกรและสัตว์เลี้ยงชนิดอื่นๆ ที่อาศัยในฟาร์มที่เลือกมาศึกษาจำนวน 4 ครั้งต่อปี เพื่อนำตัวอย่างมาตรวจหาสถานภาพการติดเชื้อไวรัสนิปาห์และ arbovirus ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยาและ/หรือซีรัมวิทยา และตรวจหาสถานภาพการติดเชื้อไวรัสชนิดอื่นๆ ในสุกรโดยวิธีทางไวรัสวิทยาและซีรัมวิทยา

2.1.1 การเตรียมตัวอย่างเลือดและซีรัมจากสุกร

ตัวอย่างเลือดที่เก็บมาจากพื้นที่ศึกษาจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 5-10 นาที แล้วเก็บซีรัมด้านบนเพื่อนำไปตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร (SIV) โดยวิธี Hemagglutination inhibition test (HI test) โดยจะต้องทำการกำจัด non-specific factors ที่อาจรบกวนการตรวจทำให้เกิดผลผิดพลาดได้

การกำจัด non-specific factors ในซีรัมในกรณีที่ทดสอบกับเชื้อ Pandemic H1N1 (2009) (pH1N1) สามารถทำได้โดยนำซีรัมไปปั่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อกำจัด heat-labile non-specific factors และสำหรับการกำจัด non-specific inhibitor สามารถทำได้โดยใช้ 20 % Kaolin (Vincent et al., 2006) หลังจากนั้นเติมเม็ดเลือดแดงของไก่ที่มีความเข้มข้น 50% จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงในซีรัมแต่ละหลุม แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัด non-specific inhibitor จากนั้นนำ plate ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 rpm เป็นเวลา 10 นาทีแล้วจึงนำส่วนใสด้านบนซึ่ง

เป็นซีรัมที่ผ่านการกำจัด non-specific factors แล้วไปใช้ในการตรวจ HI test ต่อไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาทำการตรวจ

สำหรับในกรณีที่จะทำการทดสอบกับเชื้อ H3N2 จะทำการกำจัด non-specific factors โดยนำตัวอย่างซีรัมไปปั่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อกำจัด heat-labile non-specific factors และสำหรับการกำจัด non-specific inhibitor สามารถทำได้โดยใช้ RDE (WHO, 2002) หลังจากนั้นเติมเม็ดเลือดแดงของไก่ที่มีความเข้มข้น 50 % จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงในซีรัมแต่ละหลุม แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอย่างน้อย 45 นาที เพื่อกำจัด non-specific inhibitor หลังจากนั้นนำ plate ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำซีรัมไปใช้ตรวจ HI test ต่อไป แต่ถ้ายังไม่ได้ตรวจ HI test จะนำซีรัมที่ผ่านการกระบวนกรข้างต้นแล้วไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.1.2 การเตรียม pandemic H1N1 (pH1N1) influenza virus ที่แยกได้จากสุกรในประเทศไทย และ swine influenza viruses สเตรน H1N1 และ H3N2 antigen สำหรับทำ HI test

ทำการเตรียมแอนติเจนของเชื้อ สำหรับทำ HI test โดยฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย formaldehyde โดยการเติมสารละลาย 1% formaldehyde ลงในเชื้อไวรัสไข่หวัดนก (อยู่ในรูปของน้ำไขฟก) โดยเติมสารละลาย formaldehyde ต่อน้ำไขฟกในอัตราส่วน 1:10 และจะมีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.1 % paraformaldehyde และนำสารละลายที่ได้ไปใช้เป็นแอนติเจนสำหรับทำ HI test ต่อไป

2.1.3 ขั้นตอนการเตรียมเม็ดเลือดแดงสำหรับทำ HA test และ HI test

ทำการเจาะเลือดจาก wing vein ของไก่ที่มีสุขภาพดี ปลอดจากเชื้อ Avian Influenza และ Newcastle disease อย่างน้อย 3 ตัว นำมาใส่ใน Alsever's solution ในปริมาณที่เท่ากัน เอียงหลอดไปมาเพื่อผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง หลังจากนั้นเติม PBS ลงไป 10 เท่าของปริมาณของเม็ดเลือดแดงที่ปั่นได้ เพื่อล้างเม็ดเลือดแดง ผสมให้เข้ากันกับเม็ดเลือดแดงเบาๆ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที แล้วเทส่วนใสด้านบนทิ้ง และทำการล้างเม็ดเลือดแดงด้วย PBS ซ้ำอีก 2 รอบ จากนั้นเติม PBS เพื่อปรับความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงให้ได้ตามความเข้มข้นที่จะใช้ผสมเบาๆ ให้เข้ากัน ติดตามบอกความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงและวันที่ที่ทำ เนื่องจากเม็ดเลือดแดงนี้จะสามารถใช้ได้ประมาณ 7 วันหรือจนกว่าจะพบว่าการแตกของเม็ดเลือดแดง

2.1.4 Hemagglutination Inhibition test (HI test)

ทำการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SIV ตามวิธีการมาตรฐานของ WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance (2002)

2.1.5 การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ PRRSV, PCV2 และเชื้อไวรัสสปีนปาร์จากตัวอย่างเลือดสุกรด้วยวิธี

ELISA

ทำการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ PRRSV ด้วยชุดทดสอบ HerdChek[®] (PRRS X3*) (IDEXX, Switzerland) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต และทำการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 ด้วยชุดทดสอบ SERELISA[®] (SYNBIOTICS, France) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต

ส่วนวิธีการทำการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสสปีนปาร์ด้วยวิธี ELISA สามารถทำตามขั้นตอนที่แสดงในร่างรายงานฉบับสมบูรณ์โครงการย่อยที่ 3 (หน้า 136)

2.1.6 การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้ออหิวาต์สุกรด้วยวิธี Neutralising peroxidase-linked assay

(NPLA)

ทำการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้ออหิวาต์สุกร (Classical swine fever; CSF) ตามวิธีการมาตรฐานของ OIE Terrestrial Manual (2008)

2.1.7 การสกัดกรดนิวคลีอิกจากตัวอย่าง nasal swab

ทำการสกัด RNA ด้วยชุดสกัด Nucleospin[®] RNA Virus และ Nucleospin[®] Dx Virus (Machery-nogel, Duven, Germany) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต

2.1.8 ปฏิกริยา Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) และ PCR และ

Electrophoresis

ทำการตรวจหาเชื้อในตัวอย่างด้วยวิธี One-step reverse transcription PCR โดยใช้ Access Quick[™] RT-PCR System (Promega, USA) และ primers ที่จำเพาะต่อยีน ORF7 ของเชื้อ porcine reproductive and respiratory virus (PRRSV) (Eu strain 380 bp, US strain 427 bp) (Nguyen et al., 2010) และยีน Matrix ของเชื้อ swine influenza virus (SIV) (267 bp) (Thontiravong et al., 2007) สำหรับการตรวจหาเชื้อ porcine circovirus type 2 (PCV2) นั้นใช้วิธี PCR โดยใช้ primers ที่จำเพาะต่อยีน ORF1 (350 bp) และใช้ primers ที่จำเพาะต่อยีน ORF2 (760 bp) (Takahagi et al., 2008) เพื่อจำแนกจีโนมไทป์ของเชื้อ PCV2 ใช้ชุดสำเร็จรูป KAPA HiFi PCR Kits (KAPABIOSYSTEMS, USA) และเพิ่มจำนวนกรดนิวคลีอิกในเครื่อง Authorized thermal cycler (Thermo Hybrid PCR, UK) จากนั้นให้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจนเสร็จสิ้นกระบวนการ แล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปผ่านกระบวนการ Gel Electrophoresis โดยใช้ 2 % agarose gel และมี 100 bp DNA ladder (GIBCO BRL Life Technologies Inc., Gaithersburg, USA) เป็น marker เปรียบเทียบและนำไปย้อมสีด้วย ethidium bromide (2ug/ml) ดูผลด้วยกล้อง UV transillumination (Wealtec[®])

2.1.9 ปฏิบัติการ Real Time Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

ทำการตรวจหาเชื้อในตัวอย่างด้วยวิธี Real time reverse transcription polymerase chain reaction โดยใช้ Taqman® Fast Virus 1- Step Master Mix (Applied biosystems™, USA) กับ probe (Sigma, USA) และ primer ที่จำเพาะต่อยีน Matrix ของเชื้อ swine influenza virus (SIV) (Spackman et al., 2002)

2.2 การศึกษาบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคในนิเวศวิทยาของโรคนี้ปาห์และโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษา

2.2.1 การเก็บตัวอย่างยุง

ทำการเก็บตัวอย่างยุงจาก 2 พื้นที่ คือ บริเวณที่อยู่อาศัยของค่างคาว และฟาร์มสุกรที่อยู่ในพื้นที่ใกล้เคียง โดยเก็บตัวอย่างยุงจากบริเวณดังกล่าวทุกๆ 3-4 เดือน ทำการเก็บตัวอย่างยุงจากบริเวณต่างๆ โดยใช้กับดักยุง CDC light trap และคาร์บอนไดออกไซด์โดยการใช้น้ำแข็งแห้ง นำตัวอย่างยุงที่ได้มาทำการแยกเพศและชนิดของยุง ตัวอย่างที่ได้จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการทดสอบต่อไป

2.2.2 การตรวจหาเชื้อไวรัสโดยวิธีทางอณูชีววิทยา

ทำการสกัดสารพันธุกรรมของไวรัสจากตัวอย่างยุงโดยใช้เครื่อง Nucli SENS™ easyMAG เก็บตัวอย่างของสารพันธุกรรมที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาตรวจหาเชื้อไวรัส ชิคุนกุนยา และเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัส โดยใช้วิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

การตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยา

ทำการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาโดยใช้ SuperScript III RT/Platinum Taq Mix system (Invitrogen, USA) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต และ primers DVRChk-R 5'GGGCGGGTAGTCCA TGGTGTAGA3' และ DVRChk-F 5'ACCGGCGTCTACCCATTCATGT3' (M Naresh Kumar et al., 2007) อุณหภูมิของปฏิกิริยา RT-PCR ได้พัฒนาจากวิธีของ M Naresh Kumar และคณะ (2007) และ Theamboonlers และคณะ (2009) ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา	จำนวนรอบ (cycle)
cDNA synthesis	48	30 นาที	1
Denaturation	94	5 นาที	1
PCR amplification	94	45 วินาที	35
	56	45 วินาที	
	72	1 นาที	
Final extension	72	7 นาที	1

นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR product) ที่ได้นำมาผสมกับ loading buffer (BlueJuice™ Gel Loading Buffer, Invitrogen, USA) ผ่านกระบวนการ electrophoresis ที่ระดับไฟฟ้า 90 โวลต์ เป็นระยะเวลา 40 นาที โดยใช้ 2% agarose (Ultrapure agarose, Invitrogen, USA) ใน TAE buffer โดยที่ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้จะมีขนาด 330 bp

การตรวจหาเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัส

นำตัวอย่างสารพันธุกรรมที่ได้มาทำการตรวจหาเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัส ทำโดยใช้วิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) โดยใช้ SuperScript III RT/Platinum Taq Mix system (Invitrogen, USA) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต และ primer Flavi-For (Sense) 5'-GCMATHTGGTWCATGTGG-3' และ Flavi-Rev (Antisense) 5'-GTRTCCCAKCCDGCNGTRTC-3' (Johnson et al., 2010) ซึ่ง primer คู่ที่ใช้นี้สามารถใช้ตรวจหาเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัส (เชื้อไวรัสเวสต์ไนล์ เชื้อไวรัสสมองอักเสบเจอี และเชื้อไวรัสไข้เลือดออก) ได้ทั้งหมด

อุณหภูมิของปฏิกิริยา RT-PCR ได้พัฒนาจากวิธีของ Johnson และคณะ (2010) ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา	จำนวน (cycle)
cDNA synthesis	50	30 นาที	1
Denaturation	95	15 นาที	1
PCR amplification	94	30 วินาที	40
	60	30 วินาที	
	72	30 วินาที	
Final extension	68	5 นาที	1

นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้นำมาผสมกับ loading buffer (BlueJuice™ Gel Loading Buffer, Invitrogen, USA) มาผ่านกระบวนการ electrophoresis ที่ระดับไฟฟ้า 90 โวลต์ เป็นระยะเวลา 40 นาที โดยใช้ 2% agarose (Ultrapure agarose, Invitrogen, USA) ใน TAE buffer โดยที่ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้มีขนาด 203 bp

3. ผลการดำเนินการ

3.1 ผลการศึกษาการติดเชื้อไวรัสสปีนป้าและ arbovirus ในค่างควาที่พบในฟาร์มสุกร

ทำการเก็บตัวอย่างค่างควาจากพื้นที่ที่กำหนด โดยแบ่งเป็นวัด 2 แห่ง ได้แก่ วัดหลวงพรหมवास และวัดเทวบุตร และจากฟาร์มสุกร 2 ฟาร์ม ในอำเภอนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี ผลการเก็บตัวอย่างและตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสสปีนป้าในค่างควา ดูในรายละเอียดในรายงานผลการดำเนินงานโครงการย่อยที่ 3 (หน้า 139-144) ส่วนการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ arbovirus จากตัวอย่างค่างควาในรายละเอียดในรายงานผลการดำเนินงานโครงการย่อยที่ 3 (หน้า 144-150)

3.2 ผลการศึกษาการติดเชื้อไวรัสสปีนป้าและ/หรือโรคอุบัติใหม่อื่นๆ ในสุกรและสัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ในเขตพื้นที่ที่มีค่างควาที่พบเชื้อไวรัสสปีนป้า

3.2.1 สถานภาพการวิจัย

1. การดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลฟาร์มได้ฟาร์มที่สามารถเก็บตัวอย่างได้อย่างต่อเนื่อง (ทุกๆ 3 เดือน) จำนวน 2 ฟาร์ม โดยเป็นฟาร์มที่มีลักษณะการเลี้ยงแบบหลังบ้าน 1 ฟาร์ม และฟาร์มขนาดกลางที่มีลักษณะการเลี้ยงแบบระบบเปิด 1 ฟาร์ม นอกจากนี้ยังได้ฟาร์มที่เข้าทำการศึกษารั้งเดียว จำนวน 7 ฟาร์ม โดยเป็นฟาร์มที่มีลักษณะการเลี้ยงแบบหลังบ้าน 3 ฟาร์ม ฟาร์มขนาดกลางที่มีลักษณะการเลี้ยงแบบระบบปิด

1 ฟาร์ม ฟาร์มขนาดกลางที่มีลักษณะการเลี้ยงแบบระบบเปิดและปิดบางส่วน 1 ฟาร์มและฟาร์มขนาดใหญ่ที่มีลักษณะการเลี้ยงแบบระบบเปิดและปิดบางส่วน 1 ฟาร์ม

2. การตรวจตัวอย่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็นไปตามเป้าหมายร้อยละ 100

3. เนื่องจากในช่วงเดือนตุลาคม 2554 เกิดน้ำท่วมขึ้นในบริเวณที่ทำการเก็บตัวอย่างอย่างต่อเนื่อง (longitudinal study) ทำให้คณะผู้วิจัยประสบปัญหาการเข้าไปดำเนินการเก็บตัวอย่าง ดังนั้นในช่วงเดือน ตุลาคม – เดือนธันวาคม 2554 จึงไม่มีตัวอย่างตรวจจากทั้งสุกรและสัตว์เลี้ยงในครัวเรือน

3.2.2 ผลการสำรวจพื้นที่และฟาร์มสุกร

ทางคณะผู้วิจัยได้ลงพื้นที่ และทำการสำรวจพื้นที่ที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาโดยมีหลักเกณฑ์เบื้องต้น ได้แก่

1. เป็นพื้นที่ที่มีถิ่นที่อยู่อาศัยของค่างควาเป็นฝูงขนาดใหญ่ มีค่างควาอาศัยอยู่อย่างต่อเนื่องตลอดทั้งปี โดยพิจารณาพื้นที่ที่มีค่างควากินผลไม้ (ค่างควาแม่ไก่) เป็นอันดับแรก เนื่องจากมีผลการศึกษาเบื้องต้นพบว่าค่างควาชนิดนี้เป็นพาหะที่สำคัญของโรคติดเชื้อไวรัสสึนป้า หากในพื้นที่นั้นไม่มีฟาร์มสุกรอยู่ ให้พิจารณาพื้นที่ที่มีค่างควากินแมลงที่มีหลักฐานการติดเชื้อไวรัสสึนป้า และมีฟาร์มสุกรอยู่ในบริเวณนั้นแทน

2. เป็นพื้นที่ที่มีฟาร์มสุกรที่มีลักษณะการเลี้ยงแบบหลังบ้านหรือในครัวเรือน ฟาร์มขนาดเล็ก ฟาร์มสุกรขนาดกลาง และฟาร์มสุกรขนาดใหญ่ โดยพิจารณาเลือกฟาร์มสุกรที่มีการเลี้ยงแบบโรงเรือนเปิด หรือมีโรงเรือนบางส่วนเป็นแบบเปิด ซึ่งมีโอกาสที่สุกรจะได้รับเชื้อไวรัสสึนป้าโดยตรงหรือผ่านสัตว์พาหะอื่นๆ ได้

3. เป็นพื้นที่ที่มีแหล่งหากินของค่างควา เช่น มีสวนผลไม้ หรือมีไม้ผลอยู่ในบริเวณโดยรอบโรงเรือนเลี้ยงสุกร

4. เป็นพื้นที่ที่เกษตรกรให้ความร่วมมือในการเข้าเก็บข้อมูลและเก็บตัวอย่างจากสุกรและสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ได้อย่างต่อเนื่อง

ในช่วงเวลา 18 เดือนที่ผ่านมา คณะผู้วิจัยได้เข้าทำการสำรวจพื้นที่ใน 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดชลบุรี จังหวัดฉะเชิงเทรา และจังหวัดปราจีนบุรี ในพื้นที่จังหวัดละ 1 อำเภอ ในแต่ละอำเภอที่สำรวจ มีวัดที่ตั้งอยู่ริมแม่น้ำเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยอย่างถาวรของฝูงค่างควาแม่ไก่ ได้แก่ วัดหลวงพรหมवास อำเภอพนสนิม จังหวัดชลบุรี วัดโพธิ์บางคล้า อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา วัดเทวบุตร อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี และมีฟาร์มเลี้ยงสุกรที่เข้าเกณฑ์การศึกษาและได้เข้าสำรวจทั้งสิ้น 11 ฟาร์ม ซึ่งอยู่ในรัศมีการหากินของค่างควาส่วนใหญ่ตั้งอยู่ห่างจากวัดซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างควาไม่เกิน 10 กิโลเมตร และได้คัดเลือกฟาร์มสุกรไว้เพื่อการศึกษาต่อจำนวน 9 ฟาร์ม แบ่งเป็นฟาร์มที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างอย่างต่อเนื่องทุกๆ 3 เดือน จำนวน 2 ฟาร์ม (อยู่ในอำเภพนสนิม จังหวัดชลบุรี คือ ฟาร์มที่ 1 และฟาร์มที่ 2) และฟาร์มที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างครั้งเดียว จำนวน 7 ฟาร์ม (อยู่ในอำเภพนสนิม จังหวัดชลบุรี 2 ฟาร์ม และอยู่ในอำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี 5 ฟาร์ม) โดยมีฟาร์มที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือกและได้เข้าทำการเก็บข้อมูลเบื้องต้นแสดงใน

ตารางที่ 1 และตำแหน่งของฟาร์มที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือกในพื้นที่อำเภอนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี แสดงดังรูปที่ 1 และตำแหน่งของฟาร์มที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือกในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี แสดงดังรูปที่ 2

ลักษณะของฟาร์มสุกรที่เข้าร่วมโครงการคือ มีระบบการป้องกันโรคต่ำไปจนถึงดี แต่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคติดต่อทั้งจากสัตว์พาหะ และโรคสัตว์สู่คนได้ เช่น ลักษณะโรงเรือนเก่า ชำรุด หรือเป็นโรงเรือนแบบระบบเปิด มีโอกาสที่สัตว์เลี้ยงอื่นๆ แมลงพาหะหรือค้างคาวสามารถสัมผัสตัวสุกรโดยตรง หรือผ่านทางสิ่งขับถ่าย (รูปที่ 3) มีไม้ผลอยู่บริเวณโรงเรือนเลี้ยงสุกร หรือมีสวนผลไม้อยู่ใกล้เคียง (รูปที่ 4) และมีหลักฐานการกัดแทะผลไม้ที่อาจสงสัยได้ว่าเกิดจากค้างคาวแม่ไก่ (รูปที่ 5)

จากการประสานงานกับนักวิจัยในโครงการ การศึกษาชนิดของค้างคาวในพื้นที่ที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคไวรัสสุกรในสุกร ซึ่งได้ทำการติดเครื่องส่งสัญญาณติดตามกับค้างคาว และสำรวจตามเส้นทางและตำแหน่งที่ค้างคาวหยุดพักหรือหากิน พบว่าในตำแหน่งที่ค้างคาวบินไปและหยุดหากิน ไม่มีฟาร์มสุกรอยู่ แต่มีชุมชน และมีครัวเรือนที่มีสัตว์เลี้ยงอาศัยอยู่ เช่น สุนัข และแมว จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดและ สวอป จากสุนัขและแมวเพื่อตรวจหาหลักฐานการสัมผัสกับเชื้อไวรัสสุกร

ฟาร์มลำดับที่	จังหวัด	อำเภอ	ขนาดฟาร์ม	ลักษณะการเลี้ยง	ลักษณะโรงเรือน	การป้องกันโรคของฟาร์ม*	ความใกล้ชิดของคอกสัตว์กับที่อยู่อาศัยของคน	แหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว	เป็นทางผ่านของค้างคาว	มีไม้ผลอยู่ในบริเวณฟาร์มหรือใกล้เคียง	คัดเลือกไว้เพื่อทำการศึกษาต่อ
1	ชลบุรี	พนัสนิคม	2 แม่	ชายลูก/ขุน	เปิด	0	อยู่ใกล้กัน	วัดหลวงพรหมาวาส	ผ่าน	มี	เลือก
2	ชลบุรี	พนัสนิคม	50 แม่	ชายลูก	เปิด	1	อยู่ติดกัน	วัดหลวงพรหมาวาส	ผ่าน	มี	เลือก
3	ชลบุรี	พนัสนิคม	100 แม่	ชายลูก	ปิด+เปิด	2	อยู่ติดกัน	วัดหลวงพรหมาวาส	ผ่าน	มี	เลือก
4	ชลบุรี	พนัสนิคม	900 แม่	ชายลูก	ปิด+เปิด	2	อยู่ห่างกัน	วัดหลวงพรหมาวาส	ผ่าน	มี	เลือก
5	ปราจีนบุรี	เมือง	74 ตัว	ขุน	เปิด	0	อยู่ติดกัน	วัดเทวบุตร	ไม่ผ่าน	ไม่มี	เลือก
6	ปราจีนบุรี	เมือง	3 แม่	ชายลูก	เปิด	0	อยู่ติดกัน	วัดเทวบุตร	ไม่ทราบ	มี	เลือก
7	ปราจีนบุรี	เมือง	300 แม่	ชายลูก/ขุน	ปิด	2	อยู่ห่างกัน	วัดเทวบุตร	ไม่ทราบ	ไม่มี	เลือก
8	ปราจีนบุรี	เมือง	3 แม่	ชายลูก	เปิด	0	อยู่ติดกัน	วัดเทวบุตร	ไม่ทราบ	มี	เลือก
9	ปราจีนบุรี	เมือง	9 ตัว	ขุน	เปิด	0	อยู่ติดกัน	วัดเทวบุตร	ไม่ทราบ	มี	เลือก
10	ฉะเชิงเทรา	บางคล้า	100 แม่	ขุน	ปิด+เปิด	2	อยู่ห่างกัน	วัดโพธิ์บางคล้า	ผ่าน	มี	ไม่เลือก**
11	ฉะเชิงเทรา	บางคล้า	150 แม่	ขุน	เปิด	2	อยู่ห่างกัน	วัดโพธิ์บางคล้า	ผ่าน	มี	ไม่เลือก**

ตารางที่ 1 พื้นที่ที่เข้าสำรวจและฟาร์มสุกรที่ได้คัดเลือกเพื่อทำการศึกษา

* ระดับการป้องกันโรคของฟาร์ม 0: ไม่มีการป้องกันทางกายภาพ: สัตว์และแมลงพาหะสามารถเข้าถึงคอกสัตว์ได้โดยง่าย ไม่มีการใช้ยาฆ่าเชื้อ ไม่มีการควบคุมการเข้าออกของคนและพาหนะ; 1: มีมาตรการป้องกันบางส่วน; 2: มีมาตรการป้องกันครบทุกส่วน

** พบปัญหาในการเข้าสำรวจและการชักจูงให้เกษตรกรเข้าร่วมโครงการศึกษา เนื่องจากเกษตรกรไม่วางใจเกรงว่าจะเกิดปัญหาหากตรวจพบโรคระบาด เกรงการตรวจสอบจากเจ้าหน้าที่รัฐ และกำลังมีปัญหาระบาดในพื้นที่

คำนิยามเพิ่มเติม (จากเนื้อหาในตารางที่ 1)

ลักษณะโรงเรือน

โรงเรือนเปิด หมายถึง โรงเรือนที่มีหรือไม่มีประตู ไม่มีผนัง หรือมีผนังบางส่วน สัตว์ เช่น นก หรือแมลงจากภายนอกสามารถเข้าภายในโรงเรือนได้ และมีโอกาสสัมผัสกับอาหาร น้ำ และตัวสุกรได้โดยตรง

โรงเรือนปิด หมายถึง โรงเรือนที่มีประตูปิดแล้วแน่นหนา มีผนังเต็มทุกด้าน หรือมีผนังบางส่วนแต่มีสิ่งป้องกันสัตว์และแมลงจากภายนอกที่จะเข้าสู่โรงเรือนได้ อาจเป็นโรงเรือนที่ใช้ระบบ Evaporative cooling system (EVAP) หรือระบบระบายอากาศธรรมชาติก็ได้

ระดับการป้องกันโรคของฟาร์ม

0: ไม่มีการป้องกันทางกายภาพ: สัตว์และแมลงพาหะสามารถเข้าถึงคอกสัตว์ได้โดยง่าย ไม่มีการใช้ยาฆ่าเชื้อ ไม่มีการควบคุมการเข้าออกของคนและพาหะ

1: มีมาตรการป้องกันบางส่วน คือ มีระบบการป้องกันตามระดับ 2 แต่ไม่ครบทุกข้อ

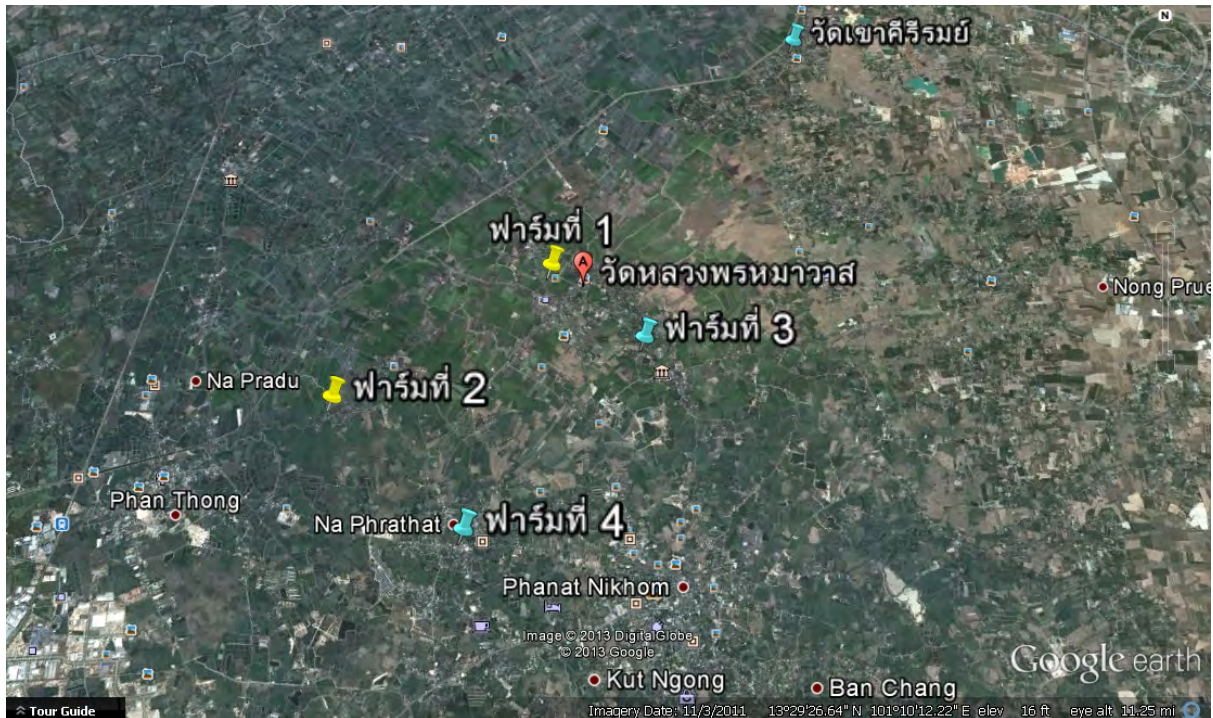
2: มีมาตรการป้องกันครบทุกส่วน คือ มีระบบการป้องกันทางกายภาพ ได้แก่ มีรั้วรอบ มีประตูฟาร์ม เพื่อป้องกันบุคคล และพาหะเข้าฟาร์ม มีระบบการควบคุมสัตว์พาหะ เช่น การวางกับดักหรือยาเพื่อควบคุมหนู/ สัตว์ฟันแทะ และแมลง มีระบบการฆ่าเชื้อ คน และยานพาหนะ เช่น การใช้เครื่องพ่นยาฆ่าเชื้อ อ่างจุ่มเท้า มีระบบการอาบน้ำเปลี่ยนชุดก่อนเข้าภายในโรงเรือน มีคอกสำหรับพักโรคเมื่อนำสัตว์ใหม่เข้าฟาร์ม มีเล้าสำหรับพักสัตว์เพื่อรอจำหน่าย

การประเมินความใกล้ชิดของคอกสัตว์

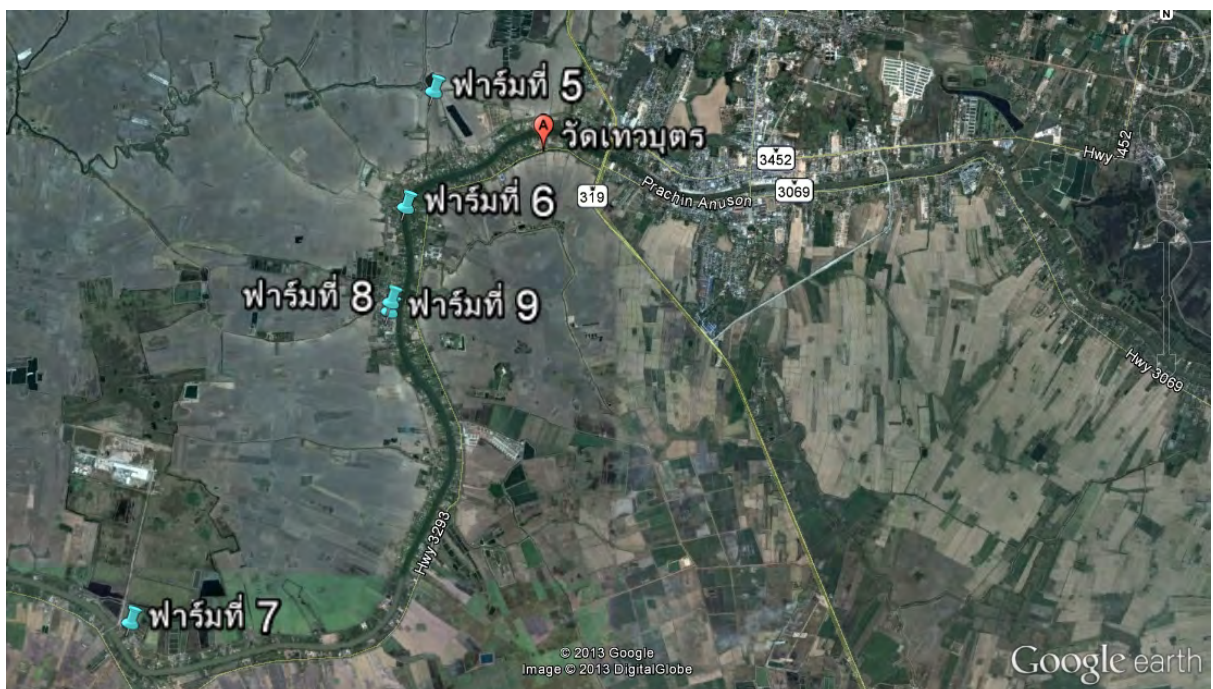
อยู่ติดกัน หมายถึง บริเวณคอกสัตว์อยู่ประชิดกับบริเวณที่บุคคลอยู่อาศัยหรือใช้ทำกิจกรรม เช่น ใช้ผนังคอกสัตว์ร่วมกับบ้าน หรือเลี้ยงใต้ถุนบ้าน สุกรและผู้อยู่อาศัยมีโอกาสสัมผัสกันโดยตรงได้ แม้ไม่ได้มีหน้าที่เลี้ยงสัตว์โดยตรง

อยู่ใกล้กัน หมายถึง คอกสัตว์อยู่ในรั้วเดียวกับบ้านพักอาศัย แต่ไม่ใช้ส่วนของอาคารและคอกสัตว์ร่วมกัน คอกสัตว์และที่อยู่อาศัยอยู่ห่างกันไม่น้อยกว่า 20 เมตร

อยู่ห่างกัน หมายถึง คอกสัตว์มีรั้วรอบกันออกจากบริเวณที่อยู่อาศัยอย่างชัดเจน ไม่ใช้ทางเข้าร่วมกัน คอกสัตว์อยู่ห่างจากอาคารที่พักอาศัย ไม่น้อยกว่า 50 เมตร



รูปที่ 1 แสดงตำแหน่งของฟาร์มที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือกในพื้นที่อำเภอพนสนิมคม จังหวัดชลบุรี



รูปที่ 2 แสดงตำแหน่งของฟาร์มที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือกในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี



รูปที่ 3 ลักษณะของฟาร์มสุกรที่มีโรงเรือนเปิด มีระบบการป้องกันโรคต่ำ ไม่สามารถป้องกันสัตว์หรือแมลงพาหะสู่สุกรที่เลี้ยงได้



รูปที่ 4 ลักษณะของโรงเรือนที่มีสวนผลไม้อยู่ใกล้เคียง



รูปที่ 5 ร่องรอยการกัดแทะผลไม้จากสัตว์

3.2.3 ผลการเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสสปีนปาร์และเชื้อโรคติดต่อที่สำคัญอื่นๆ ในสุกรและสัตว์เลี้ยงในครัวเรือน

ทำการเก็บตัวอย่างจาก nasal swab สุกรเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสสปีนปาร์ และเชื้อโรคติดต่อที่สำคัญในสุกร ได้แก่ โรค พี อาร์ อาร์ เอส (porcine reproductive and respiratory syndrome; PRRS) โรคเซอร์โคไวรัส (porcine circovirus type 2; PCV2) โรคไข้หวัดใหญ่สุกร (swine influenza; SI) โดยการใช้ก้านพันใยสังเคราะห์ป้ายเชื้อจากเนื้อเยื่อและสิ่งคัดหลั่งในโพรงจมูกสุกร (nasal swab) ดังรูปที่ 6 และได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากสุกรเพื่อหาหลักฐานการติดเชื้อไวรัสสปีนปาร์ และการติดเชื้อโรคติดต่อที่สำคัญในสุกร ได้แก่ PRRS, SI, PCV2 และ Classical swine fever (CSF) โดยการเจาะเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำใหญ่ที่คอ (jugular vein) ดังรูปที่ 7 ได้จำนวนตัวอย่าง nasal swab ทั้งสิ้น 233 ตัวอย่าง และได้ตัวอย่างเลือดทั้งสิ้น 246 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังได้ทำการเก็บตัวอย่าง nasal swab และตัวอย่างเลือดจากสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ในครัวเรือนและในแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างควา ได้แก่ สุนัข และแมว โดยเก็บตัวอย่าง nasal swab จากสุนัขได้ 35 ตัวอย่าง แมว 1 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างเลือดจากสุนัขได้ 42 ตัวอย่าง และแมว 1 ตัวอย่าง รายละเอียดจำนวนตัวอย่างที่เก็บจากสุกรและสัตว์เลี้ยงในครัวเรือนแสดงในตารางที่ 2



รูปที่ 6 การเก็บตัวอย่าง nasal swab จากสุกร

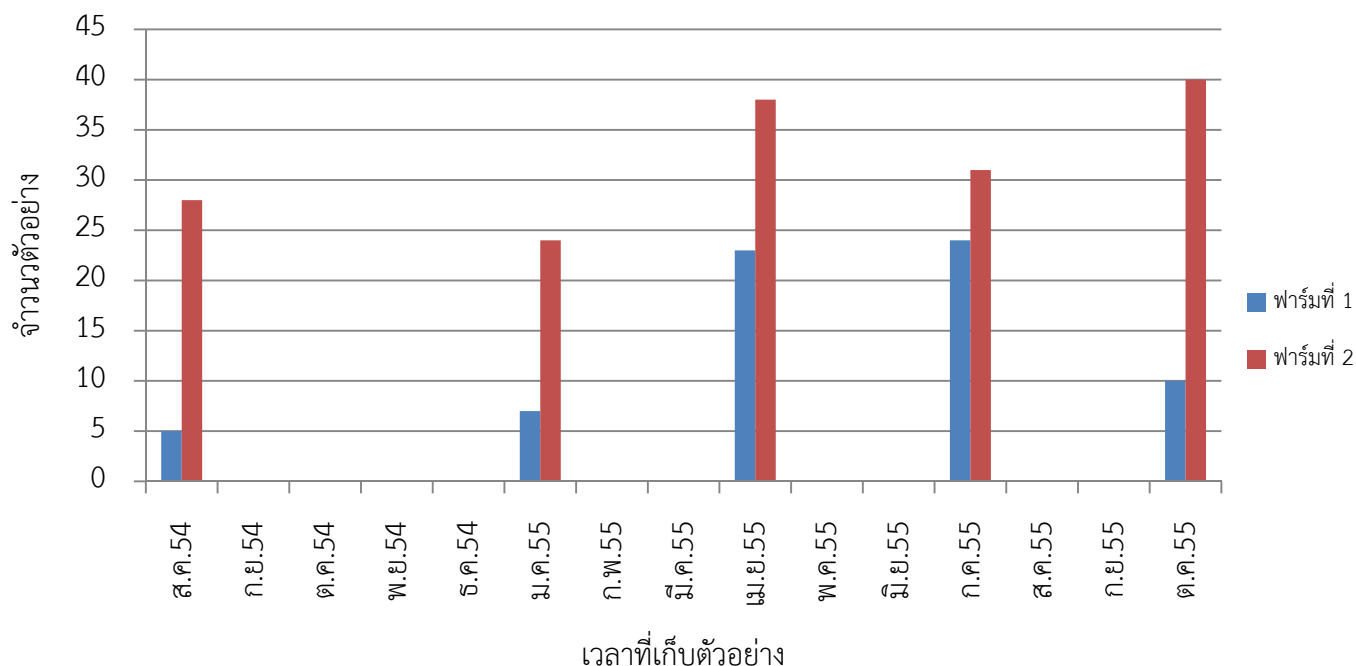


รูปที่ 7 การเก็บตัวอย่างเลือดจากสุกร

ตารางที่ 2 ตัวอย่าง nasal swab และเลือดที่เก็บจากสุกรและสัตว์เลี้ยงในฟาร์มสุกรและสัตว์เลี้ยงที่อาศัยในบริเวณแหล่งที่อยู่ค้ำคาว

รอบการเก็บ ตัวอย่าง	ช่วงเวลา เก็บตัวอย่าง	สถานที่ จังหวัด	สุกร		สุนัข/แมว	
			เลือด	สวอป	เลือด	สวอป
1	สิงหาคม 2554	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี	31	32	1	1
2	มกราคม 2555	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี	12	12	6	5
		อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี	44	44	24	20
3	เมษายน 2555	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี	29	29	3	0
4	พฤษภาคม 2555	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี	0	0	2	3
5	กรกฎาคม 2555	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี	23	24	4	4
6	ตุลาคม 2555	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี	22	22	3	3
7	พฤศจิกายน 2555	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี	35	20	0	0
8	พฤศจิกายน 2555	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี	50	50	0	0
รวม			246	233	43	36

ตัวอย่างจากสุกรทั้งหมดเก็บจากฟาร์มสุกรจำนวน 9 ฟาร์ม โดยฟาร์มที่ 1 และฟาร์มที่ 2 เข้าทำการศึกษาทุกๆ 3 เดือน (longitudinal study) จำนวนตัวอย่างที่เก็บมาศึกษาจากฟาร์มที่ 1 และ 2 แสดงดังรูปที่ 8 และฟาร์มที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างครั้งเดียว จำนวน 7 ฟาร์ม (ฟาร์มที่ 3-9)

รูปที่ 8 แผนภูมิแสดงจำนวนตัวอย่างที่เก็บจากฟาร์มที่เข้าทำการศึกษาอย่างต่อเนื่องทุก 3 เดือน

3.2.4 ผลการตรวจวินิจฉัยตัวอย่างจากสุกร

จากตัวอย่างส่งตรวจของสุกร 479 ตัวอย่าง แบ่งเป็น nasal swab 233 ตัวอย่าง ตัวอย่างเลือด 246 ตัวอย่าง ได้ทำการตรวจวินิจฉัยโรค PRRS, PCV2, ไวรัสสไนปาร์และ SI จาก nasal swab ด้วยวิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ไปแล้วทั้งหมด 233 ตัวอย่าง ผลการตรวจแสดงให้เห็นว่ามีการแพร่เชื้อ PRRSV และ PCV2 ในสัตว์หลังจากโรงงุมของสุกร ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสซิกุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาไวรัสด้วยวิธี RT-PCR จากตัวอย่าง nasal swab 233 ตัวอย่าง และตัวอย่างเลือด 246 ตัวอย่าง ไม่พบเชื้อทั้ง 2 ชนิดในสัตว์หลังจากโรงงุมของสุกร (ตารางที่ 3 และตารางที่ 4 ตามลำดับ) ส่วนการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ PRRSV, PCV2 และเชื้อไวรัสสไนปาร์ ด้วยวิธี ELISA และเชื้อ SIV ด้วยวิธี hemagglutination inhibition test (HI test) จากตัวอย่างเลือดทั้งหมด 246 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าสุกรเคยมีการสัมผัสกับเชื้อไวรัสทุกชนิด ยกเว้นเชื้อไวรัสสไนปาร์ ดังแสดงผลในตารางที่ 5

เมื่อจำแนกผลการตรวจตัวอย่างจากสุกรตามเวลาที่เก็บตัวอย่างในรอบปี พบว่ามีความชุกต่อโรค PRRS, PCV2 และ SI สายพันธุ์ pH1N1 และ sH1N1 มากกว่าร้อยละ 20 ตลอดทั้งปี และพบการติดเชื้อไวรัส SIV สายพันธุ์ H3N2 ในฟาร์มสุกรที่ 4 ที่ทำการศึกษา ดังแสดงผลในตารางที่ 6 โดยผลการตรวจหาเชื้อ PRRSV, PCV2 และ SIV จากตัวอย่าง nasal swab และตัวอย่างเลือดแยกตามช่วงเวลาเก็บตัวอย่างในแต่ละฟาร์ม แสดงในตารางที่ 7 9 10 และ 11 ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการตรวจโรค PRRS ด้วยวิธี PCR จากตัวอย่าง nasal swab ทั้งหมด 233 ตัวอย่าง ให้ผลบวกจำนวน 56 ตัวอย่าง (24.0%) โดยแยกเป็นสายพันธุ์ยุโรป (EU

strain) 44 ตัวอย่าง (78.6%) และสายพันธุ์อเมริกาเหนือ (US strain) 12 ตัวอย่าง (21.4%) ดังแสดงในตารางที่ 8

จากผลการตรวจหาเชื้อ PRRSV ในตารางที่ 7 มีข้อสังเกตว่าในฟาร์มที่ 7 ให้ผลบวกด้วยวิธี PCR ถึง 70% แต่ไม่ให้ผลบวกด้วยวิธี ELISA (ผลบวก 0%) ซึ่งในกรณีนี้อาจอธิบายได้ว่า ณ วันที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างในฟาร์ม สุกรในฟาร์มที่ 7 มีสถานะอยู่ในการติดเชื้อ PRRSV ในระยะเริ่มแรก จึงสามารถตรวจพบเชื้อ (antigen) ได้ด้วยวิธี PCR แต่ยังไม่สามารถตรวจหาแอนติบอดีในกระแสเลือดได้จากวิธี ELISA เนื่องจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในสุกรจะเกิดขึ้นประมาณ 2 สัปดาห์หลังจากการติดเชื้อ และการเก็บตัวอย่างจากฟาร์มดังกล่าวในการศึกษาครั้งนี้เป็นการเก็บตัวอย่างเพียงครั้งเดียว (cross-sectional) จึงไม่สามารถเปรียบเทียบผลการตรวจตัวอย่างเลือดด้วยวิธี ELISA ในภายหลังจากวันที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างครั้งนี้ได้

ผลการตรวจเชื้อ PCV2 ด้วยวิธี PCR จากตัวอย่าง nasal swab ทั้งหมด 233 ตัวอย่าง ให้ผลบวกจำนวน 57 ตัวอย่าง (24.5%) เมื่อนำไปจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ PCV2 ในส่วน ORF2 จำนวน 3 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างจากฟาร์มที่ 5 พบว่าเป็นเชื้อ PCV2 สายพันธุ์จีโนไทป์ 1 กลุ่มย่อย 1A/B มีลักษณะพันธุกรรมเหมือน-ใกล้เคียงกับเชื้อ PCV2 ที่พบในประเทศไทยตามรายงานของ Jittimanee และคณะ (2011) โดยมีความเหมือนของรหัสพันธุกรรม (% Identity) อยู่ที่ 99.4%

เนื่องจากผลทางชีววิทยาของฟาร์มที่ 2 ให้ผลบวกต่อ sH1N1 และ pH1N1 ตลอดทั้งปี ทางคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาเพิ่มเติม โดยนำตัวอย่าง nasal swab จำนวน 17 กลุ่มตัวอย่าง (5 ตัวอย่างต่อ 1 กลุ่มตัวอย่าง) จัดแบ่งตามอายุและชนิดของสุกร มาตรวจหาเชื้อ SIV ด้วยวิธี real time RT-PCR ให้ผลเป็นลบทั้งหมด นอกจากนี้เมื่อนำตัวอย่าง nasal swab จากฟาร์มที่ 4 จากการเก็บตัวอย่างในเดือนพฤศจิกายน 2555 ครั้งที่ 1 จำนวน 5 กลุ่มตัวอย่าง โดยแบ่งตามอายุและชนิดของสุกร มาตรวจหาเชื้อ SIV ด้วยวิธี real time RT-PCR ให้ผลเป็นลบ และจากการเก็บตัวอย่างในเดือนพฤศจิกายน 2555 ครั้งที่ 2 ตัวอย่าง nasal swab จำนวน 50 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาเชื้อ SIV ด้วยวิธี real time RT-PCR ให้ผลเป็นบวกต่อเชื้อ SIV 1 ตัวอย่าง ดังแสดงในรูปที่ 9 เมื่อนำไปจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อพบว่าเป็นเชื้อ SIV สายพันธุ์ H3N2 ที่เกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรม (reassortment) ระหว่างเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ pH1N1 กับ swine H3N2 กล่าวคือ internal genes ของไวรัสจำนวน 6 ท่อน (PB1, PB2, PA, NP, NS, M) เหมือนกับของเชื้อ pH1N1 ส่วน HA และ NA gene เป็น H3N2 สายพันธุ์ที่พบในสุกร โดยเชื้อ SIV สายพันธุ์ H3N2 นี้มีรายงานพบในประเทศไทยโดย Charoenvisal และคณะ (2013)

สำหรับการศึกษาสถานภาพทางภูมิคุ้มกันโดยการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้ออหิวาต์สุกร (CSF) ด้วยวิธี Neutralizing Peroxidase-Linked Assay (NPLA) จากตัวอย่างเลือดสุกร จำนวน 234 ตัวอย่าง ให้ผลเป็นบวก 166 ตัวอย่าง พบว่ามีความหลากหลายของระดับภูมิคุ้มกันที่แตกต่างกันไปในแต่ละฟาร์มและขึ้นอยู่กับช่วงอายุของสุกร รวมถึงพบฟาร์มที่คาดว่าสุกรได้รับเชื้ออหิวาต์สุกรจากธรรมชาติ ดังแสดงในตารางที่ 12 13 14 และรูปที่ 10 11 แสดงระดับไตเตอร์เฉลี่ยต่อเชื้อ CSF จากตัวอย่างเลือดสุกรในฟาร์มที่ 1 และ 2 ตามลำดับ รูปที่ 12 แสดงระดับไตเตอร์เฉลี่ยต่อเชื้อ CSF จากตัวอย่างเลือดสุกรในฟาร์มที่ 4 5 6 7 8 และ 9

ตารางที่ 3 แสดงผลการตรวจหาเชื้อ PRRSV, PCV2, SIV และเชื้อไวรัสนิปาห์ และผลการตรวจหาไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัส จากตัวอย่าง nasal swab ของสุกรด้วยวิธี PCR

ตัวอย่าง nasal swab ทั้งหมด	ผลการตรวจตัวอย่าง Nasal Swab (ตัวอย่างที่ให้ผลบวก/ตัวอย่างที่ตรวจ)					
	PRRSV	PCV2	SIV	NiV	Chikunkunya	Flavivirus
233	56/233 (24.03%)	57/233 (24.46%)	0/233 (0.00%)	0/233 (0.00%)	0/233 (0.00%)	0/233 (0.00%)

ตารางที่ 4 แสดงผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสจากตัวอย่างเลือดของสุกรด้วยวิธี PCR

ตัวอย่างเลือด ทั้งหมด	ผลการตรวจตัวอย่างเลือด (ตัวอย่างที่ให้ผลบวก/ตัวอย่างที่ตรวจ)	
	Chikungunya	Flavivirus
246	0/246 (0.00%)	0/246 (0.00%)

ตารางที่ 5 แสดงผลการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ PRRSV, PCV2 และเชื้อไวรัสนิปาห์ด้วยวิธี ELISA และ SIV ด้วยวิธี HI test จากตัวอย่างเลือดสุกร

จำนวน ตัวอย่าง ทั้งหมด	ELISA test (ตัวอย่างที่ให้ผลบวก/ตัวอย่างที่ตรวจ)			HI test (SIV) (ตัวอย่างที่ให้ผลบวก/ตัวอย่างที่ตรวจ)		
	PRRSV	PCV2	NiV	H3N2	pH1N1	sH1N1
246	117/246 (47.56%)	195/246 (79.27%)	0/246 (0.00%)	32/246 (13.01%)	131/246 (53.25%)	112/246 (45.53%)

ตารางที่ 6 แสดงผลการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ PRRSV, PCV2 เชื้อไวรัสสปีพาร์ด้วยวิธี ELISA และ SIV (H3N2, pH1N1, sH1N1) ด้วยวิธี HI test จากตัวอย่างเลือดสุกร จำแนกตามตัวอย่างที่เก็บในแต่ละเดือน

เดือนที่ เก็บตัวอย่าง	PRRSV		PCV2		NiV		SIV					
							H3N2		pH1N1		sH1N1	
	positive	%	positive	%	positive	%	positive	%	positive	%	positive	%
สิงหาคม 54	7/31	22.6	24/31	77.4	0/31	0.0	0/31	0.0	20/31	64.5	20/31	64.5
มกราคม 55	8/12	66.7	11/12	91.7	0/12	0.0	0/12	0.0	11/12	91.7	9/12	75.0
มกราคม 55	6/44	13.6	14/44	31.8	0/44	0.0	0/44	0.0	0/44	0.0	0/44	0.0
เมษายน 55	8/29	27.6	27/29	93.1	0/29	0.0	0/29	0.0	18/29	62.1	11/29	37.9
กรกฎาคม 55	11/23	47.8	16/23	69.6	0/23	0.0	0/23	0.0	8/23	34.8	6/23	26.1
ตุลาคม 55	9/22	40.9	22/22	100.0	0/22	0.0	0/22	0.0	19/22	86.4	15/22	68.2
พฤศจิกายน 55	34/35	97.1	34/35	97.1	0/35	0.0	14/35	40.0	25/35	71.4	23/35	65.7
พฤศจิกายน 55	40/50	80.0	47/50	94.0	0/50	0.0	18/50	36.0	37/50	74.0	32/50	64.0

ตารางที่ 7 แสดงผลการตรวจหาเชื้อ PRRSV จาก nasal swab ด้วยวิธี PCR และผลการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ PRRSV ในตัวอย่างเลือดสุกรด้วยวิธี ELISA

ฟาร์ม ที่	ผลการตรวจหาเชื้อ PRRSV จาก nasal swab และตัวอย่างเลือด													
	สิงหาคม 2554		มกราคม 2555		เมษายน 2555		กรกฎาคม 2555		ตุลาคม 2555		พฤศจิกายน 2555		พฤศจิกายน 2555	
	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA
1	0/3 (0%)	2/3 (66.7%)	0/1 (0)	0/1 (0)	1/10 (10%)	0/10 (0)	0/8 (0)	1/8 (12.5%)	0/2 (0)	0/2 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A
2	0/14 (0)	1/14 (7.1%)	0/11 (0)	8/11 (72.7%)	8/19 (42.1%)	8/19 (42.1%)	0/16 (0)	10/15 (66.7%)	1/20 (5%)	9/20 (45%)	N/A	N/A	N/A	N/A
3	5/15 (33.3%)	4/15 (26.7%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	3/20 (15%)	34/35 (97.1%)	4/50 (8%)	40/50 (80%)
5	N/A	N/A	11/12 (91.7%)	0/12 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
6	N/A	N/A	0/1 (0)	0/1 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
7	N/A	N/A	14/20 (70%)	0/20 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
8	N/A	N/A	3/4 (75%)	0/4 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
9	N/A	N/A	6/7 (85.7%)	6/7 (85.7%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

หมายเหตุ N/A: ไม่มีผลการตรวจเนื่องจากไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่าง

ตารางที่ 8 แสดงผลการตรวจหาเชื้อ PRRSV จาก nasal swab ด้วยวิธี PCR

ฟาร์ม ที่	ผลการตรวจหาเชื้อ PRRSV จาก nasal swab													
	สิงหาคม 2554		มกราคม 2555		เมษายน 2555		กรกฎาคม 2555		ตุลาคม 2555		พฤศจิกายน 2555		พฤศจิกายน 2555	
	PCR	strain	PCR	strain	PCR	strain	PCR	strain	PCR	strain	PCR	strain	PCR	strain
1	0/3 (0%)	-	0/1 (0)	-	1/10 (10%)	EU	0/8 (0)	-	0/2 (0)	-	N/A	N/A	N/A	N/A
2	0/14 (0)	-	0/11 (0)	-	8/19 (42.1%)	EU	0/16 (0)	-	1/20 (5%)	EU	N/A	N/A	N/A	N/A
3	5/15 (33.3%)	US	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	3/20 (15%)	US	4/50 (8%)	US
5	N/A	N/A	11/12 (91.7%)	EU	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
6	N/A	N/A	0/1 (0)	-	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
7	N/A	N/A	14/20 (70%)	EU	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
8	N/A	N/A	3/4 (75%)	EU	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
9	N/A	N/A	6/7 (85.7%)	EU	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

หมายเหตุ N/A: ไม่มีผลการตรวจเนื่องจากไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่าง, -: ไม่มีตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวก

ตารางที่ 9 แสดงผลการตรวจหาเชื้อ PCV2 จาก nasal swab ด้วยวิธี PCR และตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ PCV2 ในตัวอย่างเลือดสุกรด้วยวิธี ELISA

ฟาร์ม ที่	ผลการตรวจหาเชื้อ PCV2 จาก nasal swab และตัวอย่างเลือด													
	สิงหาคม 2554		มกราคม 2555		เมษายน 2555		กรกฎาคม 2555		ตุลาคม 2555		พฤศจิกายน 2555		พฤศจิกายน 2555	
	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA	PCR	ELISA
1	0/3 (0)	2/3 (67.7%)	0/1 (0)	0/1 (0)	1/10 (10%)	9/10 (90.0%)	5/8 (62.5%)	1/8 (12.5%)	0/2 (0)	2/2 (100%)	N/A	N/A	N/A	N/A
2	5/14 (35.7%)	14/14 (100%)	4/11 (36.4%)	11/11 (100%)	8/19 (42.1%)	18/19 (95.7%)	15/16 (93.8%)	15/15 (100%)	2/20 (10%)	20/20 (100%)	N/A	N/A	N/A	N/A
3	1/15 (6.8%)	9/15 (60%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	3/20 (15%)	34/35 (97.1%)	0/50 (0)	47/50 (94%)
5	N/A	N/A	12/12 (100%)	10/12 (83.3%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
6	N/A	N/A	1/1 (100%)	0/1 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
7	N/A	N/A	0/20 (0)	0/20 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
8	N/A	N/A	0/4 (0)	4/4 (100%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
9	N/A	N/A	0/7 (0)	0/7 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

หมายเหตุ N/A: ไม่มีผลการตรวจเนื่องจากไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่าง

ตารางที่ 10 แสดงผลการตรวจหาเชื้อ SIV จาก nasal swab ด้วยวิธี PCR และตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SIV สายพันธุ์ H3N2, pH1N1 และ sH1N1 ในตัวอย่างเลือด
สุกรด้วยวิธี HI test (เดือนสิงหาคม 2554 – เดือนกรกฎาคม 2555)

ฟาร์ม ที่	ผลการตรวจหาเชื้อ SIV จาก nasal swab และตัวอย่างเลือด															
	สิงหาคม 2554				มกราคม 2555				เมษายน 2555				กรกฎาคม 2555			
	PCR	HI			PCR	HI			PCR	HI			PCR	HI		
		H3N2	pH1N1	sH1N1		H3N2	pH1N1	sH1N1		H3N2	pH1N1	sH1N1		H3N2	pH1N1	sH1N1
1	0/3 (0)	0/3 (0)	1/3 (33.3%)	1/3 (33.3%)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)	0/8 (0)	0/8 (0)	0/8 (0)	0/8 (0)
2	0/14 (0)	0/14 (0)	14/14 (100%)	14/14 (100%)	0/11 (0)	0/11 (0)	9/11 (81.8%)	11/11 (100%)	0/1 (0)	0/1 (0)	11/19 (57.9%)	18/19 (94.7%)	0/15 (0)	0/15 (0)	8/15 (53.3%)	6/15 (40%)
3	0/15 (0)	0/15 (0)	6/15 (40%)	6/15 (40%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
5	N/A	N/A	N/A	N/A	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
6	N/A	N/A	N/A	N/A	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
7	N/A	N/A	N/A	N/A	0/20 (0)	0/20 (0)	0/20 (0)	0/20 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
8	N/A	N/A	N/A	N/A	0/4 (0)	0/4 (0)	0/4 (0)	0/4 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
9	N/A	N/A	N/A	N/A	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

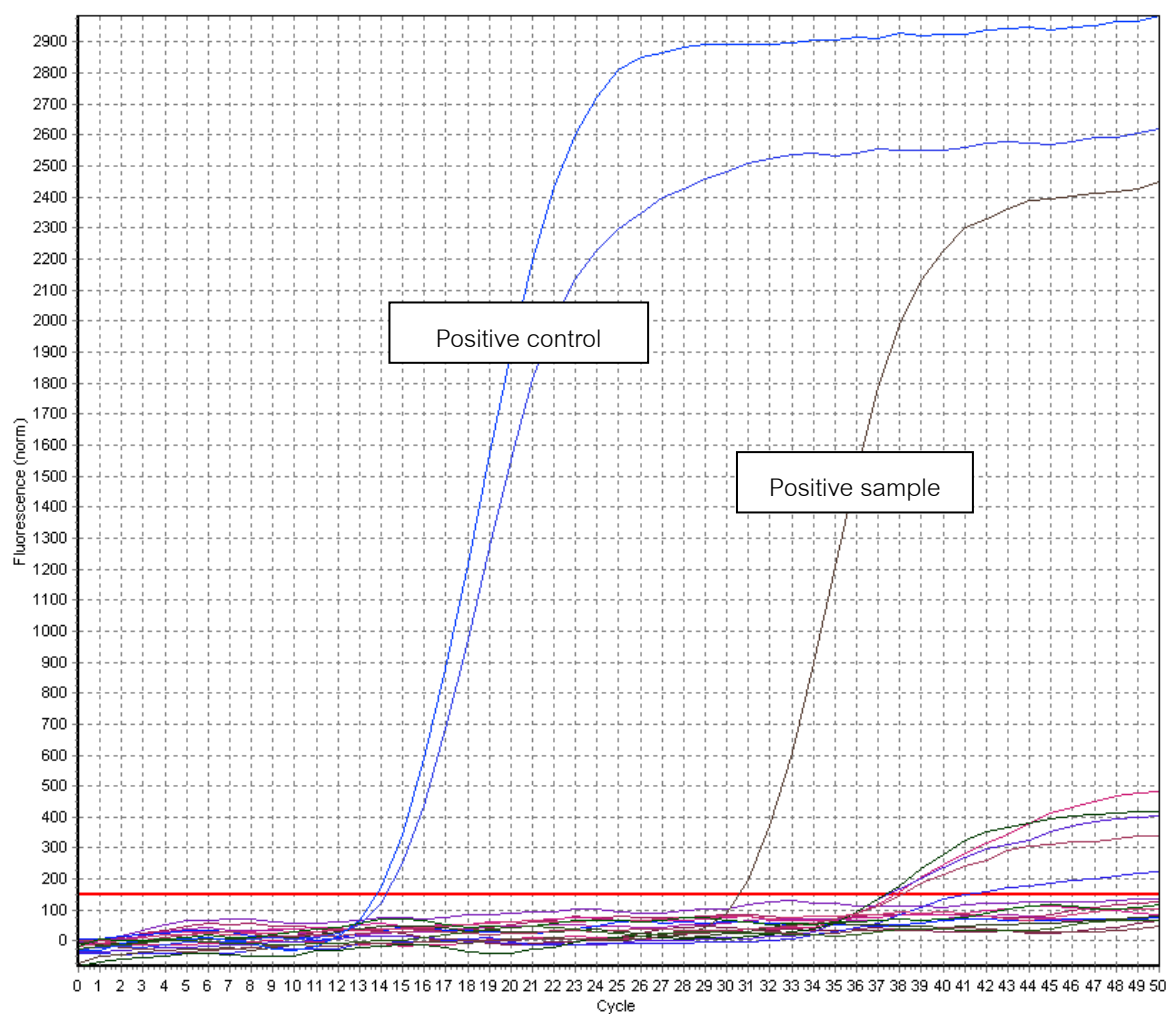
หมายเหตุ N/A: ไม่มีผลการตรวจเนื่องจากไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่าง

ตารางที่ 11 แสดงผลการตรวจหาเชื้อ SIV จาก nasal swab ด้วยวิธี PCR และตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SIV สายพันธุ์ H3N2, pH1N1 และ sH1N1 ในตัวอย่างเลือด
สุกรด้วยวิธี HI test (เดือนตุลาคม 2555 – เดือนพฤศจิกายน 2555)

ฟาร์ม ที่	ผลการตรวจหาเชื้อ SIV จาก nasal swab และตัวอย่างเลือด											
	ตุลาคม 2555				พฤศจิกายน 2555				พฤศจิกายน 2555			
	PCR	HI			PCR	HI			PCR	HI		
		H3N2	pH1N1	sH1N1		H3N2	pH1N1	sH1N1		H3N2	pH1N1	sH1N1
1	0/2 (0)	0/2 (0)	1/2 (50%)	0/2 (0%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2	0/20 (0)	0/20 (0)	18/20 (90%)	15/20 (75%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4	N/A	N/A	N/A	N/A	0/20 (0)	14/35 (40%)	25/35 (71.4%)	23/35 (65.7%)	0/50 (0)	35/50 (70%)	37/50 (74%)	31/50 (62%)
5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

หมายเหตุ N/A: ไม่มีผลการตรวจเนื่องจากไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่าง

รูปที่ 9 แสดงผลบวกจากการตรวจหาเชื้อ SIV ด้วยวิธี real time RT-PCR

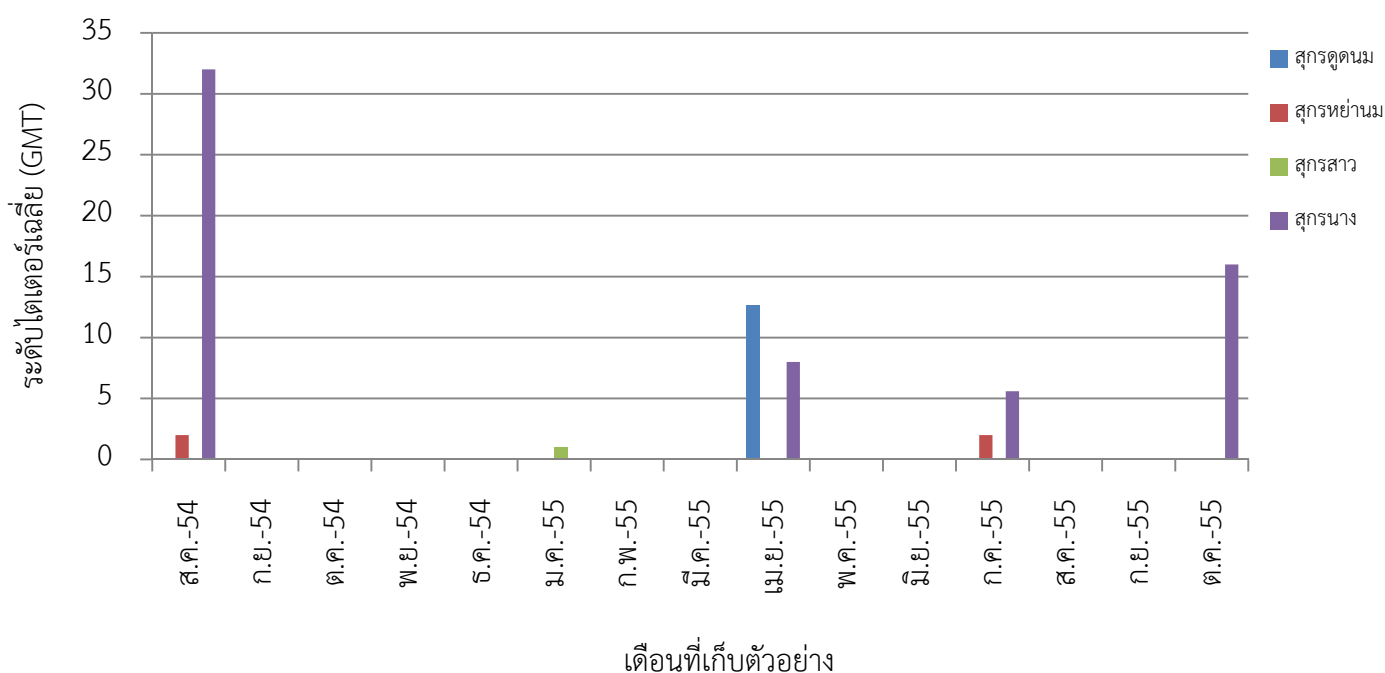


ตารางที่ 12 แสดงผลการตรวจหาระดับไตเตอร์เฉลี่ยต่อเชื้อ CSF จากตัวอย่างเลือดสุกรในฟาร์มที่ 1 ด้วยวิธี NPLA (longitudinal study)

อายุของ สุกร	ระดับไตเตอร์ต่อเชื้อ CSF (GMT)				
	สิงหาคม 2554	มกราคม 2555	เมษายน 2555	กรกฎาคม 2555	ตุลาคม 2555
สุกรขุน	N/A	N/A	12.7	N/A	N/A
สุกรหย่านม	2	N/A	N/A	2	N/A
สุกรสาว	N/A	<2	N/A	N/A	N/A
สุกรนาง	32	N/A	8	5.6	16

หมายเหตุ N/A: ไม่มีผลการตรวจเนื่องจากไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างจากสุกรในกลุ่มอายุดังกล่าว

รูปที่ 10 แผนภูมิแสดงระดับไตเตอร์เฉลี่ยต่อเชื้อ CSF จากตัวอย่างเลือดสุกรในฟาร์มที่ 1 (longitudinal study)

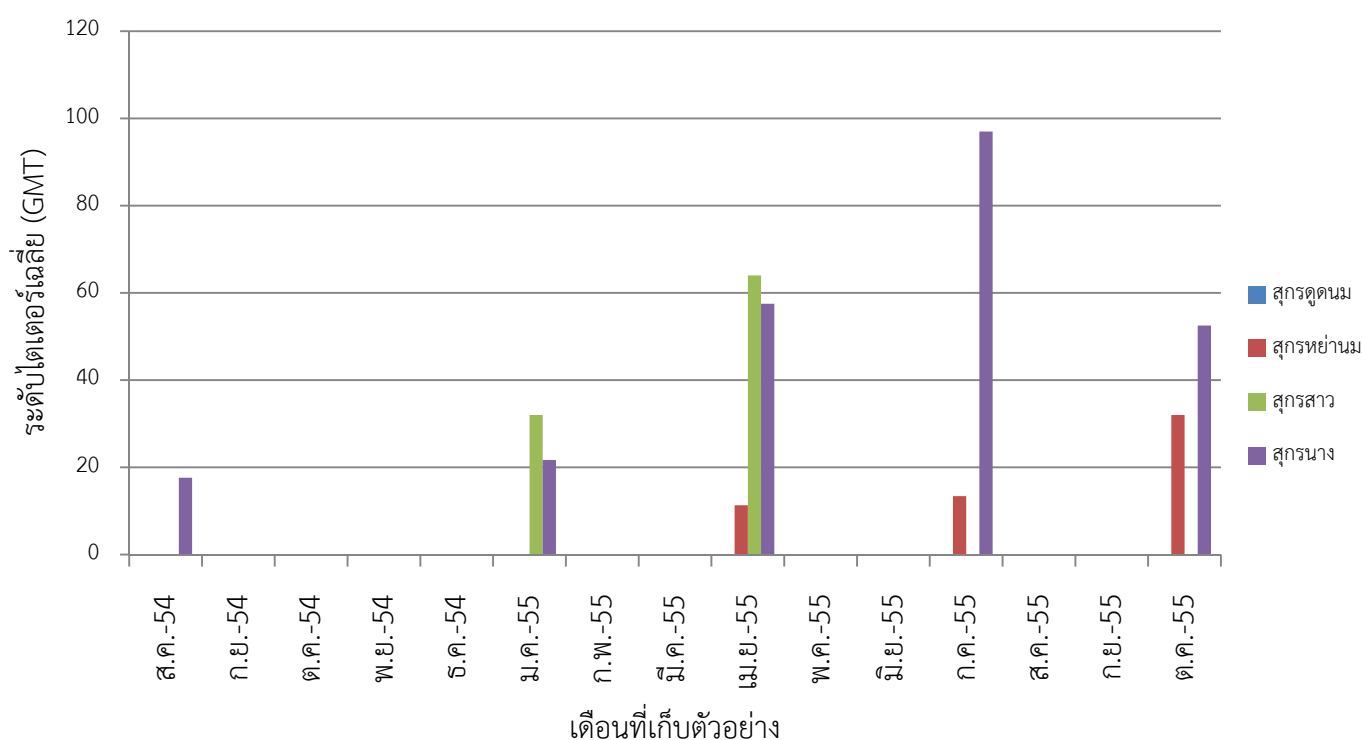


ตารางที่ 13 แสดงผลการตรวจหาระดับไตเตอร์เฉลี่ยต่อเชื้อ CSF จากตัวอย่างเลือดสุกรในฟาร์มที่ 2 ด้วยวิธี NPLA (longitudinal study)

อายุของ สุกร	ระดับไตเตอร์ต่อเชื้อ CSF (GMT)				
	สิงหาคม 2554	มกราคม 2555	เมษายน 2555	กรกฎาคม 2555	ตุลาคม 2555
สุกรดูดนม	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
สุกรหย่านม	N/A	N/A	11.3	13.4	32
สุกรสาว	N/A	32	64	N/A	N/A
สุกรนาง	17.6	21.7	57.5	97.0	52.5

หมายเหตุ N/A: ไม่มีผลการตรวจเนื่องจากไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างจากสุกรในกลุ่มอายุดังกล่าว

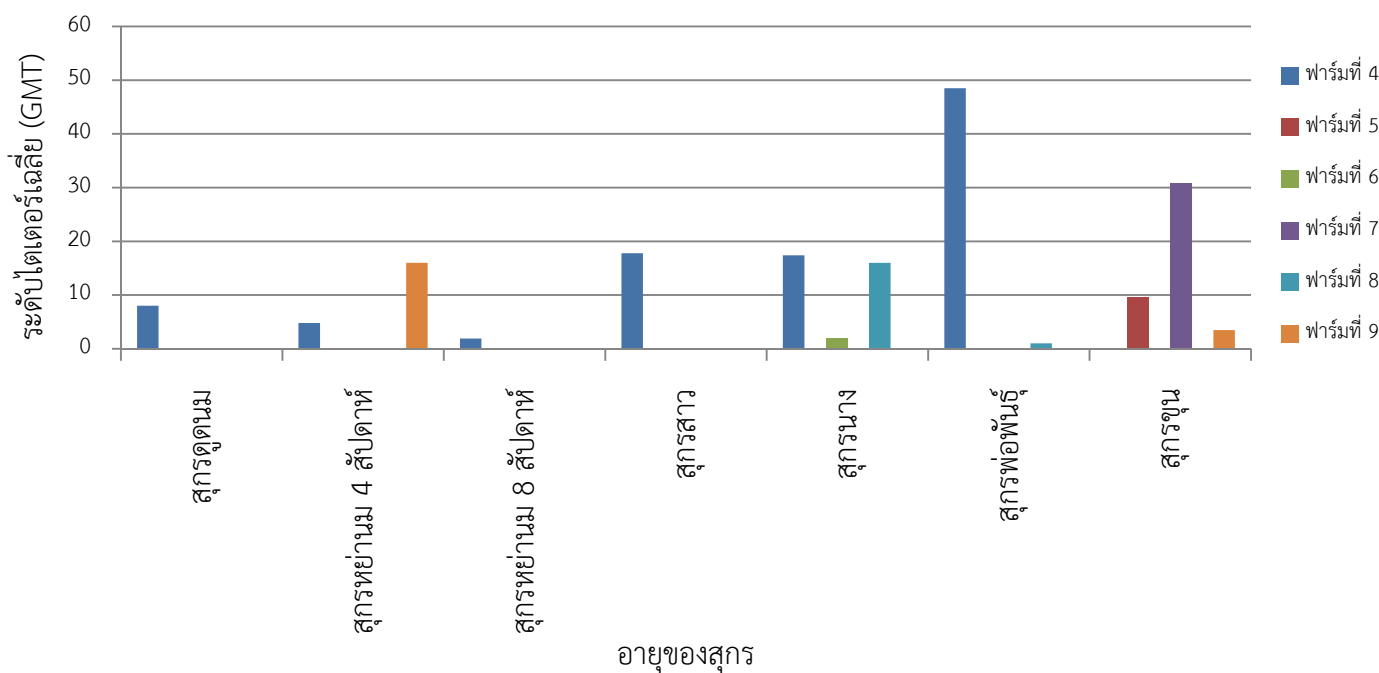
รูปที่ 11 แผนภูมิแสดงระดับไตเตอร์เฉลี่ยต่อเชื้อ CSF จากตัวอย่างเลือดสุกรในฟาร์มที่ 2 (longitudinal study)



ตารางที่ 14 แสดงผลการตรวจหาระดับไตเตอร์เฉลี่ยต่อเชื้อ CSF จากตัวอย่างเลือดสุกรในฟาร์มที่ 4 5 6 7 8 และ 9 ด้วยวิธี NPLA (cross sectional study)

ฟาร์มที่	อายุของสุกร	ระดับไตเตอร์ต่อเชื้อ CSF (GMT)
4	สุกรตุนนม	8
	สุกรหย่านม 4 สัปดาห์	4.8
	สุกรหย่านม 8 สัปดาห์	1.9
	สุกรสาว	17.8
	สุกรนาง	17.4
	สุกรพ่อพันธุ์	48.5
5	สุกรขุน	9.5
6	สุกรนาง	2
7	สุกรขุน	30.9
8	สุกรนาง	16
	สุกรพ่อพันธุ์	<2
9	สุกรหย่านม	16
	สุกรขุน	3.5

รูปที่ 12 แผนภูมิแสดงระดับไตเตอร์เฉลี่ยต่อเชื้อ CSF จากตัวอย่างเลือดสุกรในฟาร์มที่ 4 5 6 7 8 และ 9 (cross sectional study)



3.2.5 ผลการตรวจวินิจฉัยตัวอย่างสัตว์เลี้ยงในครัวเรือน

ตัวอย่างจากสัตว์เลี้ยงในครัวเรือนที่เก็บมาเป็นตัวอย่างจากสุนัขและแมว โดยเก็บตัวอย่าง nasal swab จากสุนัขได้ 35 ตัวอย่าง และแมว 1 ตัวอย่าง รวมเป็นตัวอย่าง nasal swab 36 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างเลือดจากสุนัขได้ 42 ตัวอย่าง และแมว 1 ตัวอย่าง รวมเป็นตัวอย่างเลือด 43 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง nasal swab นำไปตรวจหาเชื้อไวรัสชิคาโก และตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสด้วยวิธี PCR ตัวอย่างเลือดนำไปตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสชิคาโกด้วยวิธี ELISA และตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสด้วยวิธี PCR ให้ผลเป็นลบทั้งหมด

3.3 ศึกษาชนิด ปริมาณและการติดเชื้อไวรัสชิคาโกและ arbovirus ในยุง ในบริเวณที่อยู่อาศัยของค่างคาว และฟาร์มสุกร

3.3.1 การเก็บตัวอย่างยุง

ทำการเก็บตัวอย่างยุงจำนวน 6 ครั้ง ได้แก่

ครั้งที่ 1 สิงหาคม 2554 ทำการเก็บตัวอย่างยุงจากแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างคาวแม่ไก่ บริเวณวัดหลวงพรหมาวาส อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี และฟาร์มสุกรจำนวน 2 ฟาร์ม

ครั้งที่ 2 มกราคม 2555 เก็บตัวอย่างจากบริเวณวัดหลวงพรหมาวาส และฟาร์มสุกร 1 ฟาร์ม ในอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี

ครั้งที่ 3 เมษายน 2555 ทำการเก็บตัวอย่างยุงจากแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างคาวแม่ไก่ บริเวณวัดหลวงพรหมาวาส อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี และฟาร์มสุกรจำนวน 1 ฟาร์ม

ครั้งที่ 4 กรกฎาคม 2555 ทำการเก็บตัวอย่างยุงจากแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างคาวแม่ไก่ บริเวณวัดหลวงพรหมาวาส อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี และฟาร์มสุกรจำนวน 1 ฟาร์ม

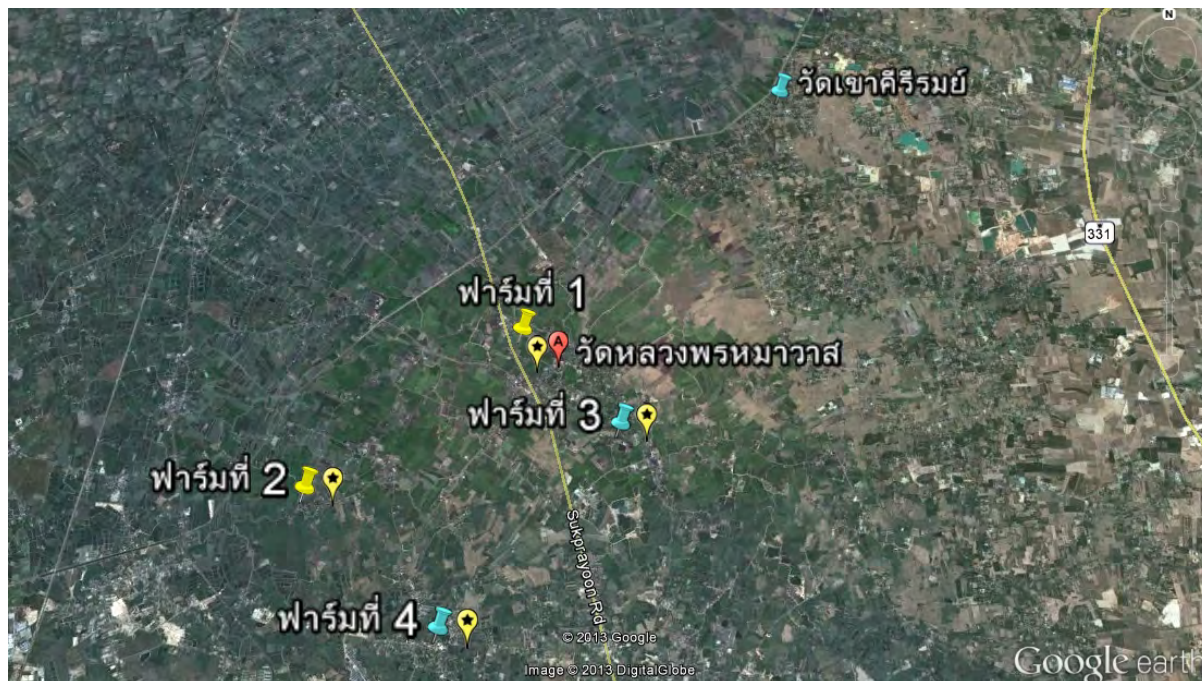
ครั้งที่ 5 ตุลาคม 2555 ทำการเก็บตัวอย่างยุงจากแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างคาวแม่ไก่ บริเวณวัดหลวงพรหมาวาส อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี และฟาร์มสุกรจำนวน 1 ฟาร์ม

ครั้งที่ 6 พฤศจิกายน 2556 ทำการเก็บตัวอย่างยุงจากฟาร์มสุกร อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี จำนวน 1 ฟาร์ม

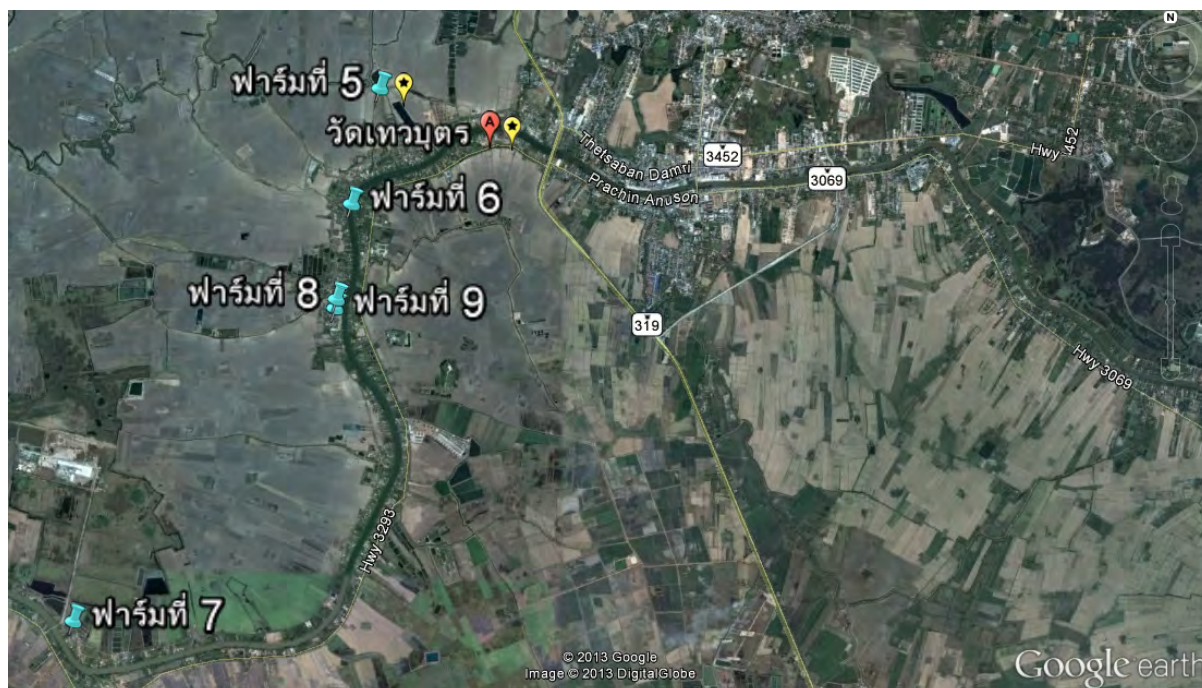
3.3.2 ชนิดและจำนวนตัวอย่างยุง

ชนิดและจำนวนของยุงในแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างคาว บริเวณวัดหลวงพรหมาวาสและฟาร์มสุกร อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี แสดงรายละเอียดในตารางที่ 15 – 20

แผนที่ฟาร์มที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างยุงในพื้นที่อำเภอนสนิม จังหวัดชลบุรี แสดงดังรูปที่ 13 แผนที่ฟาร์มที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างยุงในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี แสดงดังรูปที่ 14 โดยสัญลักษณ์บอลลูกสีเหลือง คือ พื้นที่ทำการเก็บตัวอย่างยุง



รูปที่ 13 แผนที่ฟาร์มที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างยุงในพื้นที่อำเภอนสนิม จังหวัดชลบุรี



รูปที่ 14 แผนที่ฟาร์มที่เข้าทำการเก็บตัวอย่างยุงในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี

ตารางที่ 15 ชนิดและจำนวนของยุงจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 เดือนสิงหาคม 2554

ชนิดของยุง	พื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างยุง ในเดือนสิงหาคม 2554					
	แหล่งที่อยู่อาศัย ของค่างคาว		ฟาร์มที่ 1		ฟาร์มที่ 2	
	จำนวน	Tested	จำนวน	Tested	จำนวน	Tested
	ของยุง	pools	ของยุง	pools	ของยุง	pools
<i>Aedes Niveus subgroup</i>	0	0	0	0	1	0
<i>Anopheles barbirostris</i>	183	0	9	0	179	0
<i>Anopheles kochi</i>	1	0	3	0	6	0
<i>Anopheles stephensi</i>	18	0	0	0	6	0
<i>Anopheles sundanicus</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Anopheles tessellatus</i>	27	0	2	0	1	0
<i>Armigeres subalbatus</i>	12	0	0	0	0	0
<i>Culex gelidus</i>	1,158	20	231	4	10,050	30
<i>Culex quinquefasciatus</i>	1	0	4	0	3	0
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	2,756	30	514	10	6,856	30
<i>Mansonia annulifera</i>	5	0	2	0	11	0
<i>Mansonia uniformis</i>	204	4	10	0	154	3

ตารางที่ 16 ชนิดและจำนวนของยุงจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 เดือนมกราคม 2555

ชนิดของยุง	พื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างยุง ในเดือนมกราคม 2555			
	แหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว		ฟาร์มสุกร	
	จำนวน ของยุง	Tested pools	จำนวน ของยุง	Tested pools
<i>Aedes Niveus</i> subgroup	0	0	0	0
<i>Anopheles barbirostris</i>	369	0	121	0
<i>Anopheles kochi</i>	0	0	0	0
<i>Anopheles stephensi</i>	19	0	32	0
<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0	0	0
<i>Anopheles tessellatus</i>	10	0	0	0
<i>Armigeres subalbatus</i>	5	0	0	0
<i>Culex gelidus</i>	206	4	207	4
<i>Culex quinquefasciatus</i>	13	0	0	0
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	1,359	27	868	17
<i>Mansonia annulifera</i>	1	0	3	0
<i>Mansonia uniformis</i>	23	0	80	1

ตารางที่ 17 ชนิดและจำนวนของยุงจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3 เดือนเมษายน 2555

ชนิดของยุง	พื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างยุง ในเดือนเมษายน 2555			
	แหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว		ฟาร์มสุกร	
	จำนวน ของยุง	Tested pools	จำนวน ของยุง	Tested pools
<i>Aedes Niveus</i> subgroup	0	0	0	0
<i>Anopheles barbirostris</i>	5	0	7	0
<i>Anopheles kochi</i>	0	0	0	0
<i>Anopheles stephensi</i>	2	0	1	0
<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0	0	0
<i>Anopheles tessellatus</i>	29	0	1	0
<i>Armigeres subalbatus</i>	6	0	0	0
<i>Culex gelidus</i>	348	7	333	6
<i>Culex quinquefasciatus</i>	1	0	0	0
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	1,529	30	1,424	28
<i>Mansonia annulifera</i>	0	0	0	0
<i>Mansonia uniformis</i>	26	0	14	0

ตารางที่ 18 ชนิดและจำนวนของยุงจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 4 เดือนกรกฎาคม 2555

ชนิดของยุง	พื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างยุง ในเดือนกรกฎาคม 2555			
	แหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว		ฟาร์มสุกร	
	จำนวน ของยุง	Tested pools	จำนวน ของยุง	Tested pools
<i>Aedes Niveus</i> subgroup	0	0	3	0
<i>Anopheles barbirostris</i>	36	0	643	0
<i>Anopheles kochi</i>	0	0	0	0
<i>Anopheles stephensi</i>	12	0	1	0
<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0	0	0
<i>Anopheles tessellatus</i>	0	0	1	0
<i>Armigeres subalbatus</i>	7	0	0	0
<i>Culex gelidus</i>	563	11	1,266	24
<i>Culex quinquefasciatus</i>	1	0	0	0
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	854	16	6,082	30
<i>Mansonia annulifera</i>	2	0	8	0
<i>Mansonia uniformis</i>	40	0	647	0

ตารางที่ 19 ชนิดและจำนวนของยุงจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 5 เดือนตุลาคม 2555

ชนิดของยุง	พื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างยุง ในเดือนตุลาคม 2555			
	แหล่งที่อยู่อาศัยของคางคาว		ฟาร์มสุกร	
	จำนวน ของยุง	Tested pools	จำนวน ของยุง	Tested pools
<i>Aedes Niveus</i> subgroup	0	0	0	0
<i>Anopheles barbirostris</i>	4	0	105	0
<i>Anopheles kochi</i>	0	0	0	0
<i>Anopheles stephensi</i>	3	0	0	0
<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0	0	0
<i>Anopheles tessellatus</i>	0	0	0	0
<i>Armigeres subalbatus</i>	8	0	0	0
<i>Culex gelidus</i>	557	11	1,381	27
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0	0	0	0
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	4,535	30	12,457	30
<i>Mansonia annulifera</i>	5	0	111	0
<i>Mansonia uniformis</i>	276	0	919	0

ตารางที่ 20 ชนิดและจำนวนของยุงจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 6 เดือนพฤศจิกายน 2555

ชนิดของยุง	พื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างยุง ในเดือนพฤศจิกายน 2555	
	ฟาร์มสุกร	
	จำนวนของยุง	Tested pools
<i>Aedes Niveus</i> subgroup	0	0
<i>Anopheles barbirostris</i>	4	0
<i>Anopheles kochi</i>	0	0
<i>Anopheles stephensi</i>	1	0
<i>Anopheles sundaicus</i>	0	0
<i>Anopheles tessellatus</i>	0	0
<i>Armigeres subalbatus</i>	0	0
<i>Culex gelidus</i>	55	24
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0	0
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	127	30
<i>Mansonia annulifera</i>	2	0
<i>Mansonia uniformis</i>	17	0
<i>Uranotaenia lateralis</i>	1	0

3.3.3 การตรวจหาเชื้อไวรัสโดยวิธีทางอนุชีววิทยา

ทำการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนสิงหาคม 2554 จากแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาวแม่ไก่ บริเวณวัดหลวงพรหมवास และฟาร์มสุกรจำนวน 2 ฟาร์ม ในอำเภอพนสนธิคม จังหวัดชลบุรี จากตัวอย่างยุงทั้งหมดจำนวน 131 กลุ่มตัวอย่าง (ยุงจำนวน 50 ตัวต่อ 1 กลุ่มตัวอย่าง) แต่อย่างไรก็ตามตรวจไม่พบเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่ม ฟลาวิไวรัสจากตัวอย่างทั้งหมด ดังรายละเอียดแสดงในตารางที่ 21

ตารางที่ 21 ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนสิงหาคม 2554

พื้นที่	ชนิดของยุง	การพบเชื้อ ไวรัสชิคุนกุนยา	การพบเชื้อ กลุ่มฟลาวิไวรัส
แหล่งที่อยู่อาศัยของ ค้างคาว	<i>Culex gelidus</i>	0/20	0/20
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/30	0/30
	<i>Mansonia uniformis</i>	0/4	0/4
ฟาร์มที่ 1	<i>Culex gelidus</i>	0/4	0/4
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/10	0/10
ฟาร์มที่ 2	<i>Culex gelidus</i>	0/30	0/30
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/30	0/30
	<i>Mansonia uniformis</i>	0/3	0/3

ทำการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนมกราคม 2555 จากแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาวแม่ไก่ บริเวณวัดหลวงพรหมาวาส และฟาร์มสุกรจำนวน 1 ฟาร์ม ในอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี จากตัวอย่างยุงทั้งหมดจำนวน 53 กลุ่มตัวอย่าง (ยุงจำนวน 50 ตัว ต่อ 1 กลุ่มตัวอย่าง) แต่อย่างไรก็ตามตรวจไม่พบเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสจากตัวอย่างทั้งหมด ดังรายละเอียดแสดงในตารางที่ 22

ตารางที่ 22 ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนมกราคม 2555

พื้นที่	ชนิดของยุง	การพบเชื้อ ไวรัสชิคุนกุนยา	การพบเชื้อ กลุ่มฟลาวิไวรัส
แหล่งที่อยู่อาศัยของ ค้างคาว	<i>Culex gelidus</i>	0/4	0/4
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/27	0/27
ฟาร์มสุกร	<i>Culex gelidus</i>	0/4	0/4
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/17	0/17
	<i>Mansonia uniformis</i>	0/1	0/1

ทำการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนเมษายน 2555 จากแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาวแม่ไก่ บริเวณวัดหลวงพรหมาวาส และฟาร์มสุกรจำนวน 1 ฟาร์ม ในอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี จากตัวอย่างยุงทั้งหมดจำนวน 71 กลุ่มตัวอย่าง (ยุงจำนวน 50 ตัว ต่อ 1 กลุ่มตัวอย่าง) แต่อย่างไรก็ตามตรวจไม่พบเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่ม ฟลาวิไวรัสจากตัวอย่างทั้งหมด ดังรายละเอียดแสดงในตารางที่ 23

ตารางที่ 23 ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนเมษายน 2555

พื้นที่	ชนิดของยุง	การพบเชื้อ ไวรัสชิคุนกุนยา	การพบเชื้อ กลุ่มฟลาวิไวรัส
แหล่งที่อยู่อาศัยของ	<i>Culex gelidus</i>	0/7	0/7
ค้างคาว	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/30	0/30
ฟาร์มสุกร	<i>Culex gelidus</i>	0/6	0/6
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/28	0/28

ทำการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนกรกฎาคม 2555 จากแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาวแม่ไก่ บริเวณวัดหลวงพรหมาวาส และฟาร์มสุกรจำนวน 1 ฟาร์ม ในอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี จากตัวอย่างยุงทั้งหมดจำนวน 81 กลุ่มตัวอย่าง (ยุงจำนวน 50 ตัว ต่อ 1 กลุ่มตัวอย่าง) แต่อย่างไรก็ตามตรวจไม่พบเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่ม ฟลาวิไวรัสจากตัวอย่างทั้งหมด ดังรายละเอียดแสดงในตารางที่ 24

ตารางที่ 24 ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนกรกฎาคม 2555

พื้นที่	ชนิดของยุง	การพบเชื้อ ไวรัสชิคุนกุนยา	การพบเชื้อ กลุ่มฟลาวิไวรัส
แหล่งที่อยู่อาศัยของ	<i>Culex gelidus</i>	0/11	0/11
ค้างคาว	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/16	0/16
ฟาร์มสุกร	<i>Culex gelidus</i>	0/24	0/24
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/30	0/30

ทำการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนตุลาคม 2555 จากแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาวแม่ไก่ บริเวณวัดหลวงพรหมาวาส และฟาร์มสุกรจำนวน 1 ฟาร์ม ในอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี จากตัวอย่างยุงทั้งหมดจำนวน 98 กลุ่มตัวอย่าง (ยุงจำนวน 50 ตัว ต่อ 1 กลุ่มตัวอย่าง) แต่อย่างไรก็ตามตรวจไม่พบเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่ม ฟลาวิไวรัสจากตัวอย่างทั้งหมด ดังรายละเอียดแสดงในตารางที่ 25

ตารางที่ 25 ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนตุลาคม 2555

พื้นที่	ชนิดของยุง	การพบเชื้อ ไวรัสชิคุนกุนยา	การพบเชื้อ กลุ่มฟลาวิไวรัส
แหล่งที่อยู่อาศัยของ	<i>Culex gelidus</i>	0/11	0/11
ค้างคาว	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/30	0/30
ฟาร์มสุกร	<i>Culex gelidus</i>	0/27	0/27
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/30	0/30

ทำการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนมกราคม 2556 จากฟาร์มสุกรจำนวน 1 ฟาร์ม ในอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี จากตัวอย่างยุงทั้งหมดจำนวน 3 กลุ่มตัวอย่าง (ยุงจำนวน 50 ตัว ต่อ 1 กลุ่มตัวอย่าง) แต่อย่างไรก็ตามตรวจไม่พบเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่ม ฟลาวิไวรัสจากตัวอย่างทั้งหมด ดังรายละเอียดแสดงในตารางที่ 26

ตารางที่ 26 ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสซิกุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในตัวอย่างยุงที่เก็บตัวอย่างในเดือนพฤศจิกายน 2555

พื้นที่	ชนิดของยุง	การพบเชื้อ ไวรัสซิกุนกุนยา	การพบเชื้อ กลุ่มฟลาวิไวรัส
ฟาร์มสุกร	<i>Culex gelidus</i>	0/1	0/1
	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0/2	0/2

3.3.4 สรุป และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษานี้พบว่า ยุงที่จับได้จากแหล่งที่อยู่อาศัยของค่างคาวและจากฟาร์มสุกรในพื้นที่ใกล้เคียงประกอบไปด้วยยุงจำนวน 5 สกุล (genus) ได้แก่ *Aedes*, *Anopheles*, *Armigeres*, *Culex* และ *Mansonia* และชนิดของยุงที่พบได้มากที่สุด ได้แก่ *Culex gelidus*, *Culex tritaeniorhynchus* และ *Mansonia uniformis* ดังนั้นการศึกษาดังกล่าวจึงเลือกที่จะศึกษาในยุงทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้ไม่พบการติดเชื้อไวรัสซิกุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในยุงทั้งหมดที่ได้ทำการศึกษา

4. สรุป และข้อเสนอแนะ

ตัวอย่างส่งตรวจจากสุกรที่เก็บมาทั้งสิ้น 479 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่าง nasal swab 233 ตัวอย่าง และตัวอย่างเลือด 246 ตัวอย่าง ได้ทำการตรวจวินิจฉัยโรค PRRS, PCV2 และ SI ด้วยวิธี PCR จากตัวอย่าง nasal swab ไปแล้วทั้งหมดจำนวน 233 ตัวอย่าง และพบว่าให้ผลบวกต่อโรค PRRS จำนวน 56 ตัวอย่าง (24.0%) และ PCV2 จำนวน 57 ตัวอย่าง (24.5%) ไม่พบตัวอย่าง nasal swab ที่ให้ผลบวกต่อโรคไข้หวัดใหญ่สุกรทั้งสามสายพันธุ์ แต่เมื่อตรวจหาเชื้อ SIV ด้วยวิธี real time RT-PCR พบตัวอย่าง nasal swab 1 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อโรคไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ H3N2

ตัวอย่างเลือดทั้งหมดจำนวน 246 ตัวอย่าง ได้ทำการศึกษาลักษณะทางภูมิคุ้มกันโดยตรวจตัวอย่างซีรัมเพื่อหาแอนติบอดีต่อโรค PRRS PCV2 และเชื้อไวรัสสปีปด้วยวิธี ELISA พบว่าให้ผลบวกต่อโรค PRRS จำนวน 117 ตัวอย่าง (47.56%) และ PCV2 จำนวน 195 ตัวอย่าง (79.27%) ทั้งนี้ยังไม่พบตัวอย่างเลือดของสุกรที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสสปีป ส่วนโรคไข้หวัดใหญ่สุกร ทำการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SIV ทั้ง 3 สายพันธุ์จากตัวอย่างเลือดสุกร ด้วยวิธี HI test พบว่าให้ผลบวกต่อเชื้อ SIV สายพันธุ์ pH1N1 จำนวน 131 ตัวอย่าง (53.25%) สายพันธุ์ sH1N1 จำนวน 112 ตัวอย่าง (45.53%) และสายพันธุ์ H3N2 จำนวน 32 ตัวอย่าง (13.01%) เมื่อนำตัวอย่างเลือดมาตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ CSF ด้วยวิธี NPLA พบว่าให้ผลบวกต่อเชื้อ CSF จำนวน 166 ตัวอย่าง จากตัวอย่าง 234 ตัวอย่าง (70.94%)

สำหรับผลการตรวจตัวอย่างจากสุ่นซ์และแมว ตัวอย่าง nasal swab จำนวน 36 ตัวอย่างให้ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสสปีป เชื้อไวรัสชิคุนกุนยา และเชื้อในกลุ่มฟลาวิไวรัสด้วยวิธี PCR เป็นลบทั้งหมดและตัวอย่างเลือดจำนวน 43 ตัวอย่าง เมื่อนำไปตรวจวัดระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสสปีปด้วยวิธี ELISA ให้ผลเป็นลบ และนำไปตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยา และเชื้อในกลุ่มฟลาวิไวรัสด้วยวิธี PCR ได้ผลเป็นลบเช่นกัน

ส่วนการศึกษาบทบาทของแมลงพาหะนำโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษา ยังไม่พบการติดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในยุงแต่อย่างใด

ทั้งนี้แม้ว่าจะไม่พบตัวอย่างเลือดและสิ่งคัดหลั่งจากสุกรที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสสปีป แต่อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาของโครงการย่อยที่ 3 พบว่ามีคางคกที่เข้ามาในบริเวณฟาร์มทั้ง 2 แห่งที่ทำการศึกษาที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสสปีป ข้อมูลนี้ชี้ว่ายังมีความเสี่ยงที่สุกรจะมีโอกาสรับเชื้อจากคางคก จึงควรแนะนำให้ผู้เลี้ยงปรับปรุงระบบ ความปลอดภัยทางชีวภาพของฟาร์มให้มีความปลอดภัยยิ่งขึ้น เช่น ปรับปรุงโรงเรือนหรือคอกสุกรให้มีสัดส่วนที่ชัดเจน และแยกจากบริเวณอื่นๆ ควรมีการล้อมตาข่ายรอบโรงเรือน และหลีกเลี่ยงการปลูกไม้ผลบริเวณคอกสุกร เพื่อป้องกันคางคก รวมถึงสัตว์อื่นๆ และยุงที่จะมีโอกาสสัมผัสกับสุกรโดยตรง

จากการตรวจสถานภาพทางการติดเชื้อและระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคในสุกรที่มีความสำคัญต่อสุขภาพสุกร พบความแตกต่างกันของระดับภูมิคุ้มกันในแต่ละฟาร์ม เนื่องจากมีระบบการเลี้ยง การจัดการ และโปรแกรมการป้องกันโรคในแต่ละฟาร์มที่แตกต่างกัน จึงควรมีการให้ความรู้ความเข้าใจในเรื่องของโรคและการป้องกัน

แก่ผู้เลี้ยงหรือเจ้าของฟาร์ม รวมถึงให้คำแนะนำในด้านการดูแลสุขภาพสุกร และวิธีการพัฒนาและปรับปรุงระบบความปลอดภัยทางชีวภาพในฟาร์มที่ยังมีข้อบกพร่อง

จากการศึกษาทั้งการตรวจหาแอนติเจน และแอนติบอดีของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกร พบฟาร์มสุกร (ฟาร์มที่ 2) ที่สุกรมีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส (pH1N1 และ sH1N1) ตลอดทั้งปี และพบมากขึ้นในช่วงปลายฝนต้นหนาว จึงบ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรวนเวียนอยู่ในฟาร์มสุกรดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง ซึ่งถือว่ามีความสำคัญในด้านของสาธารณสุข เนื่องจากมีหลักฐานการติดข้ามระหว่างคนและสุกรของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ pH1N1 ทั้งนี้ยังมีโอกาสที่เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรที่วนเวียนอยู่ในฟาร์มสามารถกลายพันธุ์ หรือเกิด reassortment ได้เป็นเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรลูกผสมขึ้นมาใหม่ได้ จึงควรให้ความรู้ความเข้าใจเรื่องเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรแก่ผู้เลี้ยงสุกรในพื้นที่ รวมถึงวิธีการสังเกตอาการ และการป้องกันตนเองจากการติดเชื้อดังกล่าวด้วย

แม้ว่าจากการเก็บตัวอย่างจะยังตรวจไม่พบหลักฐานการติดเชื้อที่สนใจศึกษา อย่างไรก็ตามสภาพการเลี้ยงยังเอื้อต่อการที่ผู้เลี้ยงจะสัมผัสกับสุกร เกษตรกรผู้เลี้ยงหรือประชาชนที่อยู่อาศัยในบริเวณใกล้เคียง ดังนั้นจึงควรมีการติดตามเฝ้าระวังการติดเชื้อที่มีผู้เป็นพาหะในพื้นที่ต่างๆ ที่มีความเสี่ยงต่อไป

5. ผลงานอื่นๆ

5.1 นิสิตระดับบัณฑิตศึกษาที่เข้าร่วมการดำเนินงานในโครงการ

นิสิตปริญญาเอก (กำลังศึกษาอยู่) จำนวน 1 คน คือ นางสาวรณิดา ต่วนอุดม

หลักสูตร วิทยาศาสตร์สุขภาพบัณฑิต สาขาวิชา ชีวเวชศาสตร์ทางการแพทย์ (สหสาขา)

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารและศักยภาพของยุงในการเป็นพาหะของเชื้อไวรัสซิกุนกุนยา

5.2 นิสิตระดับนิสิตปริญญาตรี (สำเร็จการศึกษา ปีการศึกษา 2555) จำนวน 4 คน คือ

- | | |
|-----------------|------------|
| 1. นางสาวอาภินะ | สุขเกษม |
| 2. นางสาวกนกพร | กัณฐวิจิตร |
| 3. นางสาวกรรช | ชัยรัชนิกร |
| 4. นางสาวพิชญา | ไพทสิทธิ์ |

หลักสูตร สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต

หัวข้อโครงการพิเศษ บทบาทของยุงพาหะนำโรค ค้างคาว และสุกร ในวิทยาการระบาดของโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ

6. บรรณานุกรม

- Charoenvisal, N., Keawchajoen, J., Sreta, D., Chaiyawong, S., Nonthabenjawan, N., Tantawet, S., Jittimanee, S., Arunorat, J., Amonsin, A. and Thanawongnuwech, R. 2013. Genetic characterization of Thai swine influenza viruses after the introduction of pandemic H1N1 2009. *Virus Genes*. 47: 75-85.
- Couderc, T. and Lecuit, M. 2009. Focus on Chikungunya pathophysiology in human and animal models. *Microbes Infect*. 11: 1197-205.
- Couderc, T., Chrétien, F., Schilte, C., Disson, O., Brigitte, M., Guivel-Benhassine, F., Touret, Y., Barau, G., Cayet, N., Schuffenecker, I., Desprès, P., Arenzana-Seisdedos, F., Michault, A., Albert, M.L. and Lecuit, M. 2008. A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. *PLoS Pathog*. 4: e29.
- Dubrulle, M., Mousson, L., Moutailler, S., Vazeille, M. and Failloux, A.B. 2009. Chikungunya virus and Aedes mosquitoes: saliva is infectious as soon as two days after oral infection. *PLoS One*. 4: e5895.
- Jittimanee, S., Nuntawan Na Ayudhya, S., Kedkovid, R., Teankum, K. and Thanawongnuwech, R. 2011. Genetic Characterization and Phylogenetic Analysis of Porcine Circovirus Type 2 in Thai Pigs with Porcine Circovirus Associated Diseases (PCV AD) during 2007-2010. *Thai J Vet Med*. 41(2): 163-169.
- Johnson, N., Wakeley, P.R., Mansfield, K.L., McCracken, F., Haxton, B., Phipps, L.P., Fooks, A.R. 2010. Assessment of a novel real-time pan-flavivirus RT-polymerase chain reaction. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 10(7): 665-671.
- Mackenzie, J.S., Chua, K.B., Daniels, P.W., Eaton, B.T., Field, H.E., Hall, R.A., Halpin, K., Johansen, C.A., Kirkland, P.D., Lam, S.K., McMin, P., Nisbet, D.J., Paru, R., Pyke, A.T., Ritchie, S.A., Siba, P., Smith, D.W., Smith, G.A., van den Hurk, A.F., Wang, L.F. and Williams, D.T. 2001. Emerging viral diseases of Southeast Asia and the Western Pacific. *Emerg Infect Dis*. 7: 497-504.
- M Naresh Kumar, C.V., Anthony Johnson, A.M. and R Sai Gopal, D.V. 2007. Molecular characterization of Chikungunya virus from Andhra Pradesh, India & phylogenetic relationship with Central African isolates. *Indian J Med Res*. 126: 534-540.

- Nguyen, V.G., Moon, H.J., Park, S.J., Kim, H.K., Keum, H.O., Rho, S.M., Han, J.Y. and Park, B.K. Multiplex PCR for PRRSV detection and typing. In Sylvie D’Allaire and Robert Friendship, eds. Proceeding of the 21st International Pig Veterinary Society (IPVS) Congress, 480. Vancouver : Advance Group Conference Management Inc., 2010.
- OIE Terrestrial Manual. 2008. OIE Reference Laboratories for Classical swine fever. 2008: 1092-1106.
- Reiskind, M. H., Pesko, K., Westbrook, C.J. and Mores, C.N. 2008. Susceptibility of Florida mosquitoes to infection with chikungunya virus. Am J Trop Med Hyg. 78: 422-5.
- Spackman, E., Senne, D. A., Myers, T.J., Bulaga, L.L., Garber, L.P., Perdue, M.L., Lohman, K., Daum, L.T. and Suarez, D.L. 2002. Development of a Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Type A Influenza Virus and the Avian H5 and H7 Hemagglutinin Subtypes. J. Clin. Microbiol. 40(9): 3256-3260.
- Takahagi, Y., Nishiyama, Y., Toki, S., Yonekita, T., Morimatsu, F. and Murakami, H. 2008. Genotypic change of porcine circovirus type 2 on Japanese pig farms as revealed by restriction fragment length polymorphism analysis. J Vet Med Sci. 70(6): 603-606.
- Thavara, U., Tawatsin, A., Pengsakul, T., Bhakdeenuan, P., Chanama, S., Anantapreecha, S., Molito, C., Chompoosri, J., Thammapalo, S., Sawanpanyalert, P. and Siriyasatien, P. 2009. Outbreak of chikungunya fever in Thailand and virus detection in field population of vector mosquitoes, *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). Southeast Asian J Trop Med Public Health. 40: 951-62.
- Theamboonlers, A., Rianthavorn, P., Praianantathavorn, K., Wuttirattanakowit, N., and Poovorawan Y. 2009. Clinical and molecular characterization of chikungunya virus in South Thailand. Jpn J Infect Dis. 62: 303-5.
- Thontiravong, A., Payungporn, S., Keawcharoen, J., Chutinimitkul, S., Wattanodorn, S., Damrongwatanapokin, S., Chaisingh, A., Theamboonlers, A., Poovorawan, Y. and Oraveerakul, K. 2007. The single-step multiplex reverse transcription- polymerase chain reaction assay for detecting H5 and H7 avian influenza A viruses. Tohoku J Exp Med. 211: 75-9.
- van den Hurk, A.F., Hall-Mendelin, S., Pyke, A.T., Smith, G.A. and Mackenzie, J.S. 2010. Vector Competence of Australian Mosquitoes for Chikungunya Virus. Vector Borne Zoonotic Dis. 10: 489-95.

- Vincent, A., Lager, K., Ma, W., Lekcharoensuk, P., Gramer, M., Loiacono, C. and Richt, J. 2006. Evaluation of hemagglutinin subtype 1 swine influenza viruses from the United States. Vet Microbiol. 118(3-4): 212-22.
- World Health Organization (WHO).2002. Laboratory procedures.WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. 2002(5): 15-66.
- Wacharapluesadee, S., Lumlertdacha, B., Boongird, K., Wanghongsa, S., Chanhom, L., Rollin, P., Stockton, P., Rupprecht, C.E., Ksiazek, T.G., Hemachudha, T. 2005. Bat Nipah virus, Thailand. Emerg Infect Dis. 11: 1949-51.
- Ziegler, S.A., Lu, L., da Rosa, A.P., Xiao, S.Y. and Tesh, R.B. 2008. An animal model for studying the pathogenesis of chikungunya virus infection. Am J Trop Med Hyg. 79: 133-9.

ภาคผนวก



เลขที่.....12310022.....

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ใบอนุญาตให้ใช้สัตว์ใน
งานวิจัย งานทดสอบ งานผลิตชีววัตถุ งานสอน และงานอื่นๆ

ใบอนุญาตนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่าคณะกรรมการควบคุมดูแลการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้พิจารณาโครงการวิจัย เรื่อง “บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว” ซึ่งมีรองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สันนิษา สุรทัตต์ เป็นหัวหน้าหรือเจ้าของโครงการแล้วเห็นสมควรอนุญาตให้ดำเนินการตามโครงการนี้ได้ โดยมีเงื่อนไขว่าผู้ใช้สัตว์ในความรับผิดชอบของโครงการต้องปฏิบัติตามข้อมูลที่กรอกในแบบฟอร์มขออนุญาตใช้สัตว์ที่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการวิจัยอย่างเคร่งครัด กรณีที่มีการปฏิบัติอย่างหนึ่งอย่างใด นอกเหนือจากที่ระบุในแบบฟอร์มขออนุญาตและเสนอในโครงการ คณะกรรมการควบคุมดูแลการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์จะดำเนินการงดใบอนุญาตฯ นี้ และแจ้งหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทราบ

ลงนาม.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.ฐานิสร์ ดำรงกวีวัฒนโกสิน)

ประธานคณะกรรมการควบคุมดูแลการเลี้ยงและ
การใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์

ลงนาม.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.เบญจมาศ ปัทมาลัย)

รองคณบดีฝ่ายวิจัย

วันที่ออกใบอนุญาต.....28.....กุมภาพันธ์.....2555.....

วันที่หมดอายุ.....28.....กุมภาพันธ์.....2556.....



Chulalongkorn University Animal Care and Use Committee

Certificate of Project Approval	☒ Original ☐ Renew
Animal Use Protocol No. 12310022	Approval No. 12310022
Protocol Title Roles and relations of insect vectors and domestic animals in the ecology of emerging infectious diseases from bats.	
Principal Investigator Assoc.Prof.Dr. Sanipa Suradhat	
Certification of Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) This project has been reviewed and approved by the IACUC in accordance with university regulations and policies governing the care and use of laboratory animals. The review has followed guidelines documented in Ethical Principles and Guidelines for the Use of Animals for Scientific Purposes edited by the National Research Council of Thailand.	
Date of Approval February 28, 2012	Date of Expiration February 28, 2013
Applicant Faculty/Institution Faculty of Veterinary Science	
Signature of Chairperson 	Signature of Authorized Official 
Name and Title Asst. Prof. Dr. Thanis Damrongwatanapokin Chairman	Name and Title Asst. Prof. Dr. Benjamas Patamalai Associate Dean (Research and Academic Service)
<i>The official signing above certifies that the information provided on this form is correct. The institution assumes that investigators will take responsibility, and follow university regulations and policies for the care and use of animals.</i> <i>This approval is subjected to assurance given in the animal use protocol and may be required for future investigations and reviews.</i>	

สัญญาเลขที่ RDG5420089

รายงานฉบับสมบูรณ์

ชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำอย่างบูรณาการ”

โครงการย่อยที่ 2

“สร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จาก สัตว์สู่คน”

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 เดือน กันยายน พ.ศ. 2554 ถึงวันที่ 28 เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน : ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา

หน่วยงาน : ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1) เพื่อพัฒนาหลักสูตรสำหรับการสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนโดยมีไวรัสซิกาเป็นแม่แบบ
- 2) เพื่อประเมินความเสี่ยงของประชาชนที่อยู่ในภาวะและที่มีพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสซิกา
- 3) เพื่อสร้างเครือข่ายระดับท้องถิ่นในการเฝ้าระวังป้องกันโรคอุบัติใหม่ที่มีสัตว์เป็นพาหะนำโรค

รายละเอียดผลการดำเนินงานของโครงการตามแผนงานโดยสรุป (พอสังเขป)

กิจกรรม (ตามแผน)	ผลที่คาดว่าจะได้รับ (ตามแผน)	ผลการดำเนินงาน	หมายเหตุ*
1.ประเมินความเสี่ยงของประชาชนที่อยู่ในพื้นที่และมีพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสซิกา	ได้ผลการประเมินความเสี่ยงของประชาชนที่อยู่ในภาวะและมีพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสซิกา	ได้ข้อมูลความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสซิกาของประชาชนในพื้นที่จากการตรวจเลือดและทำแบบสอบถามสำรวจพฤติกรรมเสี่ยงในประชากรกลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสซิกา	ดำเนินการเสร็จสิ้นตามแผน
2.พัฒนาหลักสูตรสำหรับการสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อม	ได้คู่มือและเอกสารเผยแพร่	1.ได้รูปแบบการสร้างความรู้ตระหนักระดับชุมชนเพื่อการเตรียมความพร้อมชุมชนในการรับมือและตอบโต้โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน 2. โพสต์เตอร์ที่มีเนื้อหา	ดำเนินการเสร็จสิ้นตามแผน

		สื่อสารด้านการอนุรักษ์ ค้ำควาและโรคที่อาจเกิด จากค้ำควา	
3.สร้างเครือข่ายระดับ ท้องถิ่นในการเฝ้าระวัง ป้องกันโรคอุบัติใหม่ที่มี สัตว์เป็นพาหะนำโรค	ได้เครือข่ายการป้องกันโรค แบบขยายและยั่งยืน	เครือข่ายการป้องกันโรคใน พื้นที่ศึกษาตำบลวัดหลวง โดยการลงพื้นที่ให้ความรู้ แก่อสม.อย่างต่อเนื่องและ ระบบเฝ้าระวังโรคระดับ ชุมชนโดยชุมชน	ดำเนินการเสร็จ สิ้นตามแผน

ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะอื่นๆ ต่อ สกว.

ไม่มี

ลงนาม.....

ศ.นพ.จิระวัฒน์ เหมะจุธา
(หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน)

วันที่ 31 เดือนพฤษภาคม 2556.....

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary) โครงการย่อยที่ 2

การสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากร ต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน

แนวทางการดำเนินงานด้านโรคอุบัติใหม่ในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นการตั้งรับตามสถานการณ์หลังจากที่โรคเกิดขึ้นอย่างรุนแรงแล้วโดยไม่ได้มีการคาดเดาหรือเฝ้าระวังล่วงหน้าเท่าที่จริงแล้วการเตรียมพร้อมรับมือที่เหมาะสมควรประกอบไปด้วยการระบุพื้นที่เสี่ยงระบุเชื้อซึ่งมีคุณสมบัติครบถ้วนในการฟักซ่อนตัวในสัตว์ป่าและมีศักยภาพในการลุกลามติดต่อไปยังสัตว์เลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจและคนจนกระทั่งมีการตั้งตัวติดต่อกันเองระหว่างคนสู่คนและประชากรสำคัญคือสามารถระบุประชากรกลุ่มเสี่ยงในพื้นที่นั้นๆได้

โครงการสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิกาในประชากรกลุ่มเสี่ยง(ตำบลวัดหลวง จ.ชลบุรี) ประกอบด้วยการสัมภาษณ์และเจาะเลือดอาสาสมัครเพื่อตรวจภูมิคุ้มกันต่อไวรัสซิกา รวมทั้งหมด 418 คน เป็น ชาย 153 คน หญิง 265 คน อายุระหว่าง 7 - 93 ปี แบ่งเป็นกลุ่มอาสาสมัครในพื้นที่เสี่ยง (ผู้ที่อาศัยในหมู่บ้านที่ต้องใช้เส้นทางสัญจรผ่านที่อยู่ของค้างคาว และผู้ที่มีกิจกรรมประจำวันในบริเวณวัดที่มีค้างคาวอาศัยอยู่) จำนวน 255 คน และกลุ่มอาสาสมัครนอกพื้นที่เสี่ยงจำนวน 163 คน พบว่าปัจจัยที่อาจส่งผลเกี่ยวข้องกับ การติดเชื้อไวรัสซิกา ของประชาชนกลุ่มในและนอกพื้นที่เสี่ยง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ ได้แก่ การสัมผัสมูล-เยี่ยวสัตว์, พบค้างคาวชุกชุมบริเวณที่อยู่อาศัย, การเก็บผลไม้จากพื้น, การเล่นซ่อนหา, การกินผลไม้ที่มีรอยกัดแทะสัตว์, บริเวณที่อยู่อาศัยมีทุ่งนา, มีฟาร์มสัตว์, มีคอกสัตว์ การตรวจภูมิคุ้มกัน IgG ต่อไวรัสซิกาในอาสาสมัคร 418 ราย พบว่า ผลการตรวจเป็น ลบ ไม่มีผู้ใดมีประวัติการติดเชื้อไวรัสซิกา

โครงการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่
แนวทางการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ประกอบด้วย 4 โมดูล ได้แก่

การประเมินความรู้ เรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ทั้งระดับประชาชนทั่วไป (เด็กและผู้ใหญ่) บุคลากรสาธารณสุข (อสม. เจ้าหน้าที่รพสต.) นักท่องเที่ยว ด้วยการสัมภาษณ์ตามและตอบคำถาม

การเสริมสร้างความรู้ เรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนด้วยการจัดอบรม-การสอน-การพูดคุย แก่ เจ้าหน้าที่สาธารณสุข อสม. ครู นักเรียนเกษตรกร ชาวบ้านและจัดทำสื่อชนิดโปสเตอร์ขนาดใหญ่ ในที่สาธารณะ (วัด) เพื่อให้ประชาชนทุกคนในหมู่บ้านและนักท่องเที่ยว มีโอกาสเข้าถึงและเรียนรู้

การเตรียมพร้อมบุคลากรระดับชุมชน ให้เกิดความตระหนักต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนด้วยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการและซ้อมแผนการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำและ

การสร้างแนวทางตอบโต้โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนโดยบุคลากรระดับชุมชน ด้วยการออกแบบแนวทางการสำรวจโรคติดต่อแบบง่ายที่เหมาะสมสำหรับ อสม. และให้ อสม.ฝึกปฏิบัติ จากการอบรมเชิงปฏิบัติการ รวมทั้งสร้างระบบการส่งข้อมูล online ทาง internet เชื่อมโยงกับ ศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อเป็นศูนย์เฝ้าระวังการระบาดของโรคอุบัติใหม่

การสร้างเครือข่ายเฝ้าระวังโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนจากการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ด้วย 4 โมดูล ก่อให้ประชาชนและบุคลากรในพื้นที่ศึกษาเกิดความเข้าใจและตระหนักถึงอันตรายของโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนมีการเตรียมความพร้อมที่เกิดจากความสมัครใจของทุกคนในชุมชนโดยมี อสม.เป็นผู้ดำเนินการสอบสวนและเก็บข้อมูลการเจ็บป่วยของคนในชุมชนแบบ real-time และต่อเนื่อง การสร้างโครงข่ายเชื่อมโยงระหว่างตำบลวัดหลวงที่เป็นพื้นที่ศึกษา กับศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เป็นจุดเริ่มต้นของการเชื่อมโยงองค์ความรู้และความตระหนักของการเกิดโรคอุบัติใหม่จากนักวิชาการ ไปยังชุมชน เพื่อให้ความตื่นตัวเริ่มเกิดที่ชุมชน โดยมีส่วนกลางเป็นฝ่ายสนับสนุน มีการจัดทีมแพทย์และบุคลากรเข้าพบปะพูดคุยกับเจ้าหน้าที่ รพสต และ อสม ในชุมชนเดือนละครั้งเพื่อพูดคุยปัญหาสุขภาพ ให้ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับโรคที่พบ และทำการสอบถามอย่างใกล้ชิดถ้ามีอาการเจ็บป่วยที่น่าสงสัยเกิดขึ้นในชุมชน เป็นการเฝ้าระวังโรคติดต่ออุบัติใหม่ที่อาจเกิดขึ้น

โครงการศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาข้อมูลความพร้อมของประชาชนในพื้นที่เสี่ยงสูงต่อการติดเชื้อไวรัส ทั้งนี้พบว่าความตื่นตัวของประชาชนในพื้นที่เป็นองค์ประกอบสำคัญที่สุดในการอบรมสร้างเครือข่ายที่จะเกิดขึ้นในอนาคต และการวางพื้นฐานต่อเนื่องควรจะเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการปูทางเพื่อพัฒนาการต่อยอด ความมั่นคงของเครือข่ายและรูปแบบแนวทางการดำเนินงานที่โครงการวิจัยได้สร้างขึ้นในระยะเวลา 18 เดือน ถึงแม้จะมีความสมบูรณ์ในระดับหนึ่ง แต่ยังคงต้องการการสนับสนุนจากกลไกของภาครัฐหรือจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อให้สิ่งที่สร้างขึ้น มีความยั่งยืนตลอดไป

รายงานฉบับสมบูรณ์

ชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

โครงการย่อยที่ 2 สร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน

ผู้ดำเนินการวิจัย

1. ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุธา
2. ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษชาติ
3. พญ.อภิญญาเพ็ญ สาระยา
4. นางสาวสนใจ พรพัฒนานิคม
5. ดร.ณัฐภาณินี ถนอมศรีเดชชัย

1. บทนำ

แนวทางการดำเนินงานด้านโรคอุบัติใหม่ในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นการตั้งรับตามสถานการณ์หลังจากที่โรคเกิดขึ้นอย่างรุนแรงแล้วและมักเกิดโดยเฉพาะในพื้นที่ซึ่งไม่ได้มีการคาดเดาล่วงหน้าการตอบโต้ที่เหมาะสมควรประกอบไปด้วยการเตรียมตัวโดยระบุพื้นที่ที่มีความเสี่ยงตั้งแต่ต้น ระบุเชื้อซึ่งมีคุณสมบัติครบถ้วนในการฟักซ่อนตัวในสัตว์ป่าและมีศักยภาพในการลุกลามติดต่อไปยังสัตว์เลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจและคนจนกระทั่งมีการตั้งตัวติดต่อกันเองระหว่างคนสู่คนและประการสำคัญคือสามารถระบุประชากรในพื้นที่นั้นๆ ที่มีความเสี่ยงสูงสุดในการรับและส่งต่อเชื้อโรค

ข้อมูลการศึกษาของคณะผู้วิจัยในช่วง 9 ปีที่ผ่านมา (ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2545) พบค้ำควาในภาคต่างๆของประเทศไทยเป็นแหล่งพักและยังสามารถเป็นตัวนำโรคที่สำคัญโดยเฉพาะไวรัสชนิดที่สามารถก่อโรคได้ทั้งในสุกรและคนอย่างไรก็ตามเป็นการศึกษาเฉพาะแหล่งรังโรคและพื้นที่ที่พบโรคเท่านั้นแต่องค์ความรู้เหล่านี้ยังมิได้นำมาประยุกต์ให้เกิดการทำงานแบบสุขภาพองค์รวม (one health) ที่ต้องมีความเชื่อมโยงกันทั้งของสุขภาพคนสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่าการศึกษาภาวะความเสี่ยงต่อการติดเชื้อของประชาชนในพื้นที่ที่มีการรายงานการพบเชื้อไวรัสชนิดนี้ในค้ำควารวมทั้งปัจจัยที่มีผลทำให้เกิดการติดเชื้อของประชาชนว่ามีพฤติกรรมเสี่ยงอย่างไรพร้อมๆกับการสร้างองค์ความรู้ในการเฝ้าระวังและป้องกันโรคในระดับประชาชนชุมชนบุคลากรสาธารณสุขจะเป็นการเตรียมความพร้อมเพื่อรับมือกับโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ที่มีโอกาสเกิดโรคและมีเป้าหมายในการสร้างแม่แบบหลักสูตรในการรับมือโรคอุบัติใหม่ระดับพื้นที่ที่หน่วยงานสาธารณสุขที่เกี่ยวข้องจะสามารถนำไปปรับใช้กับพื้นที่อื่นๆในโรคอุบัติใหม่อื่นๆที่มีสัตว์ป่าเป็นพาหะนำโรคต่อไป

2. วิธีการดำเนินการ ผลการดำเนินการ และสรุปผลการดำเนินการ

1) โครงการสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิโนป้าในประชากรกลุ่มเสี่ยง

วัตถุประสงค์ เพื่อประเมินความเสี่ยงของประชาชนที่อยู่ในสถานะและมีพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสซิโนป้า

วิธีการดำเนินการ

1.1) สำรวจพื้นที่ที่ประชาชนจะมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อซิโนป้าไวรัส โดยอาศัยหลักเกณฑ์ การพบเชื้อในคางคาว พื้นที่อยู่อาศัยของคางคาว และกิจกรรมความเสี่ยง

นิยามของ ประชากรกลุ่มเสี่ยง และ พื้นที่เสี่ยง

ประชากรกลุ่มเสี่ยง หมายถึง กลุ่มบุคคลที่มีโอกาสหรือความเสี่ยงที่จะติดเชื้อไวรัสซิโนป้า ได้แก่กลุ่มบุคคลที่มีประวัติสัมผัสคางคาว หรือใช้ชีวิตอยู่ในพื้นที่เสี่ยง คือ บริเวณใกล้เคียงกับรังคางคาวหรืออยู่ในแนวถิ่นหากินของคางคาว รวมถึงมีประวัติสัมผัสสัตว์ที่อาจเป็นแหล่งพาหะของซิโนป้าไวรัส เช่น สุกร

พื้นที่เสี่ยง หมายถึง พื้นที่บริเวณที่มีคางคาวแม่ไก่ภาคกลางแม่ไก่ (มีข้อมูลว่าพบเชื้อไวรัสซิโนป้า) อาศัยอยู่และบริเวณโดยรอบรัศมีที่มีโอกาสสัมผัสกับสิ่งคัดหลั่งจากคางคาวกลุ่มดังกล่าว

1.2) สำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิโนป้าในประชากรกลุ่มเสี่ยง โดยการสัมภาษณ์พฤติกรรมความเสี่ยงของคนในพื้นที่ศึกษา (ภาคผนวก 1) และเจาะเลือดเพื่อตรวจวัดระดับแอนติบอดีต่อไวรัสซิโนป้าโดยได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยโครงการ การสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิโนป้าในประชากรกลุ่มเสี่ยงในประเทศไทย IRB No. 561/54 (ภาคผนวก 2)

1.3) วิเคราะห์รูปแบบความสัมพันธ์ในกิจกรรมของคนกับคางคาวต่อการพบการติดเชื้อไวรัสซิโนป้า

1.4) ประเมินระดับความเสี่ยงของประชาชนที่อาศัยอยู่ในบริเวณแหล่งที่อยู่อาศัยคางคาวแม่ไก่ภาคกลาง

ผลการดำเนินการ

- ดำเนินการเจาะเลือดอาสาสมัครเพื่อตรวจภูมิคุ้มกันต่อไวรัสซิโนป้า รวมทั้งหมด 418 คน
- ดำเนินการสัมภาษณ์เพื่อสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิโนป้าในอาสาสมัครที่มารับการเจาะเลือด รวม 418 ราย เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาประเมินความเสี่ยง

- ข้อมูลที่ได้จากการทำแบบสอบถามในอาสาสมัครที่มารับการเจาะเลือด ทั้งหมด 418 คน เป็น ชาย 153 คน หญิง 265 คน อายุระหว่าง 7-93 ปี (ตารางที่ 1.1 ภาคผนวก 3)
- การวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบกลุ่มประชาชนในพื้นที่เสี่ยง ซึ่งได้แก่ผู้ที่อาศัยในหมู่บ้านที่ต้องใช้เส้นทางสัญจรผ่านที่อยู่ของค้างคาว และผู้ที่มีกิจกรรมประจำวันในบริเวณวัดที่มีค้างคาวอาศัยอยู่ เช่น นักเรียน ครู พระ เป็นต้นกับกลุ่มประชาชนนอกพื้นที่เสี่ยงโดยวิเคราะห์กิจกรรมต่างๆที่อาจส่งผลเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสซิกา ผลการศึกษา จากจำนวนประชาชนทั้งหมด 418 คน แบ่งได้เป็นกลุ่มอาสาสมัครในพื้นที่เสี่ยงจำนวน 255 คน กลุ่มอาสาสมัครนอกพื้นที่เสี่ยงจำนวน 163 คน พบว่ามีปัจจัยที่อาจส่งผลเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสซิกา ของประชาชนกลุ่มในและนอกพื้นที่เสี่ยง ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ได้แก่ การสัมผัสมูล-เยี่ยวสัตว์, พบค้างคาวชุกชุม บริเวณที่อยู่อาศัย, การเก็บผลไม้จากพื้น, การเล่นช่อนหา, การกินผลไม้ที่มีรอยกัดแทะสัตว์, บริเวณที่อยู่อาศัยมีทุ่งนา, มีฟาร์มสัตว์, มีคอกสัตว์ ดังรายละเอียดในตารางที่ 1.2 (ภาคผนวก3)
- ผลการตรวจภูมิคุ้มกัน IgG ต่อไวรัสซิกาในอาสาสมัคร 418 ราย มีอาสาสมัคร 7 รายให้ผลบวกที่ titer 1:100 ทั้งนี้เมื่อตัดผลบวกที่ titer 1:400 ตามมาตรฐานของ US-CDC พบว่า ผลการตรวจเป็นลบ ทั้งหมด กล่าวคือในอาสาสมัคร 418 ราย ไม่มีผู้ใดมีประวัติการติดเชื้อไวรัสซิกา

สรุปและวิเคราะห์ผลการดำเนินการ

จากการรวบรวมข้อมูลกิจกรรมเสี่ยงต่อการสัมผัสโรคจากสัตว์สู่คนโดยเน้นที่ค้างคาว ในประชาชนที่อาศัยหรือทำงานในตำบลวัดหลวง อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่อยู่ในและนอกพื้นที่เสี่ยง พบว่ากิจกรรมการสัมผัสมูล-เยี่ยวสัตว์และการที่พบค้างคาวชุกชุม บริเวณบ้านหรือที่ทำงาน ของอาสาสมัครกลุ่มที่อยู่ในพื้นที่เสี่ยงจะมีสัดส่วนสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในขณะที่ กิจกรรมการเก็บผลไม้จากพื้น, การเล่นช่อนหา, การกินผลไม้ที่มีรอยกัดแทะสัตว์, บริเวณที่อยู่อาศัยมีทุ่งนา, มีฟาร์มสัตว์และคอกสัตว์ กลับพบในสัดส่วนที่น้อยกว่าในกลุ่มที่อยู่ในพื้นที่เสี่ยงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มนอกพื้นที่เสี่ยง (อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ) แสดงให้เห็นว่าประชากรในพื้นที่เสี่ยงไม่ได้มีความเสี่ยงจากกิจกรรมเหล่านี้มากกว่าประชากรกลุ่มอื่น อย่างไรก็ตามถ้าเกิดการติดเชื้อขึ้นจริง ตัวแปรที่สำคัญคือการที่มีค้างคาว (ติดเชื้อ) จำนวนมากและถ้ามีการปลดปล่อยเชื้อแปรผันโดยตรงตามจำนวนที่ติดเชื้อ การสัมผัสมูล-เยี่ยวสัตว์โดยตรงในกลุ่มที่อยู่ในพื้นที่เสี่ยง จะเอื้ออำนวยให้เกิดโรคได้ง่ายขึ้น นอกจากนั้น กิจกรรมซึ่งอาจไม่มาก (น้อยกว่า) ของกลุ่มในพื้นที่เสี่ยง แต่ถ้าบวกกับปริมาณไวรัสที่มากขึ้นจากจำนวนค้างคาวปริมาณสูง กิจกรรมและพฤติกรรมเหล่านี้ก็อาจจะเป็นตัวแปรได้เช่นกัน

แม้ยังไม่พบผู้ป่วยในพื้นที่ แต่เชื้อโรคงยังคงมีอยู่ในค้างคาวที่เป็นแหล่งรังโรค ที่อาจประทุได้ตลอดเวลา จากปัจจัยแวดล้อมที่ส่งเสริมการระบาดของโรค การติดตามและเฝ้าระวังการติดเชื้อไวรัสซิกาของประชาชนในพื้นที่เสี่ยงจึงยังคงต้องดำเนินการต่อไปอย่างต่อเนื่อง ด้วยการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ดังรายละเอียดในโครงการที่ 2

2) โครงการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่

วัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาหลักสูตรสำหรับการสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนโดยมีไวรัสซิกาเป็นแม่แบบ

วิธีการดำเนินการ

- 1.1) สำรวจพื้นที่ที่ประชาชนจะมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัส โดยอาศัยหลักเกณฑ์ การพบเชื้อในค้างคาว พื้นที่อยู่อาศัยของค้างคาว และกิจกรรมความเสี่ยง
- 1.2) คัดเลือกพื้นที่: ตำบลวัดหลวง อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี
- 1.3) ประเมินความรู้พื้นฐานของประชาชนในพื้นที่ศึกษาด้านโรคอุบัติใหม่และโรคไวรัสสัตว์สู่คน ด้วยแบบสอบถาม (ภาคผนวก 4)
- 1.4) ออกแบบแนวทางการสำรวจโรคติดต่อแบบง่าย ที่เหมาะสมสำหรับ อสม.
- 1.5) จัดการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เพื่อเสริมสร้างให้ความรู้แก่เจ้าหน้าที่สาธารณสุข ปศุสัตว์ บุคลากรที่เกี่ยวข้อง และ ประชาชนทั่วไป โดยใช้แบบสำรวจดังข้อ 4
- 1.6) จัดซ้อมแผนการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ ทั้งระดับประชาชนและบุคลากรสาธารณสุข
- 1.7) ผลิตโปสเตอร์ความรู้ เพื่อเผยแพร่และป้องกันโรคติดต่อ

ผลการดำเนินการ

พื้นที่ศึกษา: ตำบลวัดหลวง อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี

1. แนวทางการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ ประกอบด้วย 4 โมดูล ได้แก่
 - 1) **ประเมินความรู้**เรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ทั้งระดับประชาชนทั่วไป (เด็กและผู้ใหญ่) บุคลากรสาธารณสุข (อสม. เจ้าหน้าที่รพสต.) นักท่องเที่ยว ด้วยการสัมภาษณ์ตามและตอบคำถาม ทั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำไปสู่การออกแบบสื่อการเรียนรู้ที่เหมาะสมกับคนในชุมชน ผลการดำเนินงานได้ข้อมูลแบบสอบถามรวม 517 ชุดจำแนกตามกลุ่มอายุ การศึกษา และอาชีพ ได้ดังนี้ ตารางที่ 2.1-2.5 (ภาคผนวก 5)
 - 2) **เสริมสร้างความรู้**เรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนด้วยการจัดอบรม-การสอน-การพูดคุย แก่เจ้าหน้าที่สาธารณสุข อสม. ครู นักเรียนเกษตรกร ชาวบ้านและจัดทำสื่อชนิดโปสเตอร์ขนาดใหญ่ในที่สาธารณะ (วัด) เพื่อให้ประชาชนทุกคนในหมู่บ้านและนักท่องเที่ยว มีโอกาสเข้าถึงและเรียนรู้
 - 3) **เตรียมพร้อมบุคลากรระดับชุมชน**ให้เกิดความตระหนักต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนด้วยการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการและซ้อมแผนการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ
 - 4) **ตอบโต้โรคอุบัติใหม่**จากสัตว์สู่คนโดยบุคลากรระดับชุมชน โดยการออกแบบแนวทางการสำรวจโรคติดต่อแบบง่ายที่เหมาะสมสำหรับ อสม. (ภาคผนวก 6) และให้ อสม.ฝึกปฏิบัติ จากการอบรมเชิงปฏิบัติการ เพื่อให้สามารถนำไปปฏิบัติได้จริง รวมทั้งสร้างระบบการส่งข้อมูล online ทาง

internet เชื่อมโยงกับ ศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อเป็นศูนย์เฝ้าระวังการระบาดของโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนกรณีที่แพทย์ประจำศูนย์ฯได้รับข้อมูลที่ประเมินแล้วว่าผิดปกติ ก็จะมีลงพื้นที่เพื่อตรวจสอบข้อมูลและประสานไปยังหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง



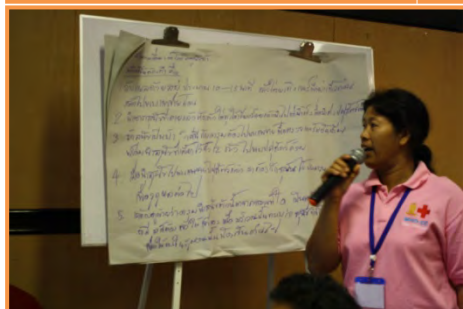
ประเมินความรู้ด้านโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน



เสริมสร้างความรู้โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน: โดยการจัดอบรม กลุ่มใหญ่ กลุ่มย่อย และบุคคล



เตรียมพร้อมบุคลากรระดับชุมชนรับมือโรคอุบัติใหม่: เรียนรู้จากผู้ป่วยจำลอง



เตรียมพร้อมบุคลากรระดับ
ชุมชนรับมือโรคอุบัติใหม่:
“การซ้อมแผนบนโต๊ะ”
เพื่อวิเคราะห์และวางแผน
ปัญหาโรคอุบัติใหม่ซ้ำ



เตรียมพร้อมและตอบโต้ โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน โดยบุคลากรระดับชุมชน: อสม.ลงพื้นที่
สอบสวนผู้ป่วยทุกรายในหมู่บ้านเพื่อรวบรวมข้อมูลและแจ้งเหตุการณ์พบผู้ป่วยมีอาการสงสัยเป็น
โรคสมองอักเสบ หรือโรคอุบัติใหม่

2. ผลการประเมินความรู้ของคนในชุมชน เกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่-อุบัติซ้ำจากสัตว์สู่คน ในประชาชนที่มีภูมิลำเนาหรือทำงาน-เรียนใน ต.วัดหลวง อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี จำนวนรวม 517 คน จากคำถาม 3 หมวด หมวดที่ 1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่ จากสัตว์สู่คน จำนวน 23 ข้อ หมวดที่ 2 การป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า จำนวน 12 ข้อ หมวดที่ 3 รู้จักไวรัสสมองอักเสบนิปาห์ จำนวน 16 ข้อ (ภาคผนวก 4) ผลการประเมินความรู้ของคนในชุมชนพบว่าในหมวดที่ 1 คือ หมวดความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน มีคะแนนเฉลี่ยอยู่ที่ 73.2% แสดงว่าคนในชุมชนวัดหลวง มีความตื่นตัวต่อโรคอุบัติใหม่ค่อนข้างดี นอกจากนี้คะแนนเฉลี่ยของหมวดที่ 2 ซึ่งเป็นหมวดการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า อยู่ที่ 82.5% จึงนับว่าเป็นชุมชนที่มีความรู้และความสนใจในโรคพิษสุนัขบ้าเป็นอย่างดี แต่อย่างไรก็ตาม ในหมวดที่ 3 ที่เป็นคำถามเกี่ยวกับเชื้อไวรัสนิปาห์โดยตรง คะแนนเฉลี่ยอยู่ที่ 50.5% แสดงให้เห็นว่าควรเพิ่มเติมความรู้และการเฝ้าระวังในส่วนนี้ให้มากขึ้น เนื่องจากเป็นเชื้อไวรัสที่สุ่มเสี่ยงต่อการก่อโรคติดเชื้ออุบัติใหม่ในชุมชนวัดหลวง (ตารางที่ 2.4 ภาคผนวก 5) โดยในแต่ละกลุ่มอาชีพหรือแม้แต่ประชาชนที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยงมีสัดส่วนของความรู้ในแต่ละหมวดที่ไม่แตกต่างกันมากนัก การพัฒนาหลักสูตรหรือสื่อความรู้เรื่องไวรัสนิปาห์จึงมีความจำเป็นเร่งด่วนที่จะต้องทำให้คนในพื้นที่เสี่ยงและคนที่มีโอกาสเสี่ยงได้เรียนรู้และเข้าใจ เพื่อหาวิธีป้องกันตนเองและสังคมได้อย่างถูกต้อง มีข้อที่น่าสังเกตเกี่ยวกับความรู้เรื่องโรคพิษสุนัขบ้า คือ มีอาสาสมัคร เพียง 48.2 % ที่รู้ว่าโรคพิษสุนัขบ้าไม่สามารถรักษาให้หายได้ ทั้งๆที่เป็นโรคประจำถิ่นของประเทศไทย (ตารางที่ 2.4 ภาคผนวก 5) ฉะนั้นการให้ความรู้แก่ประชาชนเรื่องโรคจากสัตว์สู่คนควรให้ความสำคัญทั้งโรคเดิมที่มีอยู่แล้วและโรคใหม่ที่มีโอกาสจะเกิดขึ้นในอนาคต

การสำรวจความคิดเห็นเกี่ยวกับเจตคติของการเตรียมความพร้อมของชุมชนในการรับมือกับโรคอุบัติใหม่ของอาสาสมัครรวม 517 ราย พบว่า อาสาสมัครที่คิดว่าฝ่ายบริหารของชุมชน (52.8%) มีความตื่นตัวโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน มีสัดส่วนน้อยกว่าอาสาสมัครที่คิดว่าฝ่ายสาธารณสุขของชุมชนมีความตื่นตัว (71.8%) แสดงว่าประชาชนน่าจะมีความเชื่อมั่นต่อฝ่ายสาธารณสุขชุมชนเองมากกว่าฝ่ายบริหาร อาสาสมัครร้อยละ 55.9 คิดว่าโรคอุบัติใหม่เป็นเรื่องใกล้ตัว โดยที่ร้อยละ 35.8 คิดว่าชุมชนของตนไม่มีความเสี่ยงต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน และร้อยละ 46.7 คิดว่าไม่น่าจะเกิดในชุมชนของตนเอง ด้านความรู้เกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนเด็กนักเรียนพบว่ามีอาสาสมัครเพียงร้อยละ 40.4 ที่คิดว่านักเรียนได้รับความรู้เพียงพอเพียง (ตารางที่ 2.5 ภาคผนวก 5)

3. การสร้างเครือข่ายเฝ้าระวังโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน

จากการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ด้วย 4 โมดูล ช่วยให้ประชาชนและบุคลากรในพื้นที่ศึกษาเกิดความเข้าใจและตระหนักถึงอันตรายของโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนมีการเตรียมความพร้อมที่เกิดจากความสมัครใจของทุกคนในชุมชนโดยมี อสม.เป็นผู้ดำเนินการสอบสวนและเก็บข้อมูลการเจ็บป่วยของคนในชุมชนแบบ real-time และต่อเนื่อง แม้โครงการจะเสร็จสิ้นไปแล้วเมื่อเดือนกุมภาพันธ์ที่ผ่านมา

สรุปผลการดำเนินการ

1. ข้อมูลการสำรวจความรู้และความคิดเห็นของประชาชนในพื้นที่ตำบลวัดหลวงที่พบเชื้อไวรัสซิกาในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางและเป็นพื้นที่เสี่ยงต่อการติดเชื่อนั้น สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการออกแบบสื่อการสอนให้สอดคล้องกับความต้องการของชุมชน โดยเบื้องต้นพบว่า กลุ่มประชากรควรเน้นไปที่เด็กนักเรียน โดยเฉพาะกลุ่มที่เรียนที่โรงเรียนวัดหลวง ที่มีพื้นที่ร่วมกับวัดที่มีค้างคาวอาศัยอยู่ โดยเน้นการให้ความรู้และเข้าใจเรื่องการติดต่อของเชื้อไวรัสซิกา (และเชื้ออื่นๆ) จากค้างคาวและสัตว์อื่นๆสู่คน ทั้งนี้การสอนดังกล่าวควรทำอย่างต่อเนื่อง รุนตอรุน เพื่อบ่มเพาะองค์ความรู้ให้แทรกซึมอยู่ในหมู่บ้าน
2. ความคิดเห็นในด้านเจตคติของการเตรียมความพร้อมของชุมชนในการรับมือกับโรคอุบัติใหม่ ที่ส่วนใหญ่คิดว่าฝ่ายบริหารของชุมชน มีความตื่นตัวโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนน้อยนั้น สามารถใช้เป็นกระจกสะท้อนไปสู่ฝ่ายบริหาร เพื่อการปรับปรุงการดำเนินงานให้สอดคล้องกับโรคอุบัติใหม่ที่นับวันจะมีแต่เพิ่มขึ้นต่อไปรวมทั้งการอบรมเชิงปฏิบัติการแก่ อสม. ด้วยหลักสูตรอย่างง่าย เพื่อพัฒนาศักยภาพในการสอบสวนโรค และแก้ปัญหาโรคสัตว์สู่คนในพื้นที่
3. การพัฒนาฐานข้อมูลเชิงระบาดวิทยาของตำบลวัดหลวง เพื่อการเฝ้าระวังและรับมือโรคอุบัติใหม่ในชุมชน ด้วยการทำแบบสอบถามผู้ป่วยโดย อสม. ที่คณะผู้วิจัยได้ออกแบบขึ้น ช่วยเพิ่มความถูกต้องของข้อมูลจำนวนผู้ป่วยในหมู่บ้าน เนื่องจากเป็นการเก็บข้อมูลทั้งหมดของผู้ป่วยในพื้นที่โดยรวมข้อมูลทั้งจากฐานข้อมูลที่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพประจำตำบลและยังรวมผู้ป่วยในหมู่บ้านที่ไปพบแพทย์นอกกระบบสาธารณสุขของรัฐบาล เช่น คลินิก/โรงพยาบาลเอกชน เพื่อให้ได้ข้อมูลระบาดวิทยาที่ถูกต้องและแสดงถึงภาวะความเจ็บป่วยในชุมชนได้ โดยพบว่า โรคที่ผู้ป่วยในชุมชนวัดหลวงป่วยมากที่สุด คือ โรคระบบทางเดินหายใจส่วนบน คิดเป็น 87% และพบมากที่สุดในช่วง มิ.ย.-ส.ค.56 ซึ่งเป็นฤดูฝน รองลงมาคือ โรคระบบทางเดินอาหาร (6.5%) และ โรคเยื่อตาอักเสบ (5%) ตามลำดับ ทั้งนี้ยังไม่พบรายงานของอาการเจ็บป่วยที่ทำให้สงสัยไข้สมองอักเสบในช่วงที่ผ่านมา
4. การสร้างเครือข่ายเชื่อมโยงระหว่างตำบลวัดหลวงที่เป็นพื้นที่ศึกษา กับศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เป็นจุดเริ่มต้นของการเชื่อมโยงองค์ความรู้และความตระหนักของการเกิด

โรคอุบัติใหม่จากนักวิชาการ ไปยังชุมชน ที่เป็นด่านแรกที่จะต้องพบโรค เพื่อให้ความตื่นตัวเริ่มเกิดที่ชุมชน โดยมีส่วนกลางเป็นฝ่ายสนับสนุน และสามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบในหมู่บ้านอื่นต่อไปในลักษณะโครงข่ายใยแมงมุม โดยจัดทีมแพทย์และบุคลากรเข้าพบปะพูดคุยกับเจ้าหน้าที่ รพสต. และ อสม. ในชุมชนเดือนละครั้ง มีการพูดคุยปัญหาสุขภาพ ให้ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับโรคที่พบบ่อย เช่น ปวดหลัง เบาหวาน เป็นต้น และทำการสอบถามอย่างใกล้ชิดถ้ามีอาการเจ็บป่วยที่น่าสงสัยเกิดขึ้นในชุมชน เพื่อเป็นการเฝ้าระวังโรคติดต่ออุบัติใหม่ที่อาจเกิดขึ้น นอกจากนี้ยังมีการให้เบอร์โทรศัพท์และอีเมลเพื่อติดต่อโดยตรงระหว่างทีมแพทย์และบุคลากรจากศูนย์ฯ กับเจ้าหน้าที่ อสม. ในพื้นที่ เพื่อความรวดเร็วในการสื่อสารหากเกิดเหตุที่สงสัยโรคอุบัติใหม่ขึ้นในชุมชน

5. ตามที่ได้เสนอในแผนงานวิจัยถึงการออกแบบคู่มือและสื่อสำหรับการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการสำหรับประชาชนและบุคลากรสาธารณสุข ในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ เพื่อนำไปผลิตคู่มือนั้น พบว่าคู่มือที่จะนำไปใช้เป็นวงกว้างทั้งภูมิภาคหรือทั้งประเทศไม่อาจทำได้ ทั้งนี้เนื่องจาก ขึ้นกับความรู้ ความเชื่อของประชาชนในพื้นที่ต่างๆจะมีความแตกต่างกัน ดังที่มีความหลากหลาย ตามที่ปรากฏในพื้นที่ตำบลวัดหลวงที่เป็นพื้นที่ศึกษา ดังนั้นการอบรมในแต่ละพื้นที่ควรอาศัยความเข้าใจในประชาชนในพื้นที่ให้ถ่องแท้เสียก่อน โปสเตอร์ซึ่งเป็นสื่อเน้นความรู้ที่ได้อบรมและตอกย้ำว่าความเสี่ยงยังคงมีตลอดไป จะเป็นวิธีที่ดีที่สุดสำหรับพื้นที่วัดหลวง และแม้แต่พื้นที่อื่นๆ ของประเทศ

ในกรณีของวัดหลวง ถือเป็นกรณีพิเศษโดยที่ประชาชนมีความตื่นตัว จากการที่คณะผู้วิจัยได้ทำการสำรวจและปูพื้นฐานความรู้มานานปี และทำให้ไม่ตื่นกลัว ตื่นตระหนก ต่อการที่มีคำกล่าวติดเชื่อในบริเวณพื้นที่ และเรียนรู้ที่จะป้องกันตัวแต่เนิ่นๆ มาตลอด

ในพื้นที่อื่นๆ ที่มีได้มีการเตรียมการมาก่อน ไม่ได้พิสูจน์ให้เห็นชัดเจนว่าสัตว์ป่ามีเชื้ออะไรบ้าง การที่จะพัฒนาคู่มือสำหรับพื้นที่เช่นนี้ อาจไม่เกิดประโยชน์ใดๆ ทั้งสิ้น

3. ผลการดำเนินการ

3.1 สถานภาพการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับทุกโครงการ

- 1) โครงการสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสฮิบาห์ในประชากรกลุ่มเสี่ยง

ได้ดำเนินการเสร็จสิ้นทั้งงานด้านห้องปฏิบัติการและงานภาคสนาม ซึ่งได้มีการนำเสนอในงานประชุมวิชาการนานาชาติ และจะได้นำข้อมูลดังกล่าวเขียนเป็นรายงานตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติต่อไป

- 2) โครงการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่

ได้ดำเนินการเก็บรวบรวมข้อมูลพื้นฐานเสร็จสิ้นตามเป้าหมาย และได้นำข้อมูลจากการสำรวจนี้ไปผลิตโปสเตอร์ เพื่อสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่

- 3) การสร้างเครือข่ายระดับท้องถิ่นในการเฝ้าระวังป้องกันโรคอุบัติใหม่ที่มีสัตว์เป็นพาหะนำโรค

ได้ดำเนินการสร้างทีม อสม. ที่มีความสามารถในการสำรวจอาการเจ็บป่วยของประชาชนในพื้นที่รับผิดชอบ แบบ real-time และมีการส่งข้อมูลต่อศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ กรณีมีเหตุที่อาจจะเป็นโรคอุบัติใหม่

3.2 การจัดลำดับความสำคัญ

โครงการสร้างความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ ประกอบด้วยการสำรวจการติดเชื้อจากเลือดประชาชนที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยง การสำรวจพฤติกรรมเสี่ยง และการสำรวจพื้นฐานความรู้ด้านโรคอุบัติใหม่ ได้พัฒนาสื่อ/แนวทาง เพื่อการเตรียมความพร้อมแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุขในการรับมือต่อโรคอุบัติใหม่ โดยการทำงานเริ่มจากการเก็บข้อมูลดังกล่าว แล้วจึงนำมาปรับเป็นแนวทาง ประยุกต์สำหรับพื้นที่อื่นๆหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต่อไป

4. สรุป และข้อเสนอแนะ

1. โครงการศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาข้อมูลความพร้อมของประชาชนในพื้นที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสสูง ทั้งนี้พบว่าความตื่นตัวของประชาชนในพื้นที่เป็นองค์ประกอบสำคัญที่สุดในการอบรมสร้างเครือข่ายในอนาคต แสดงให้เห็นว่าการวางพื้นฐานต่อเนื่องจะเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการปูทางเพื่อพัฒนาการต่อยอด
2. ความยั่งยืนของเครือข่ายและรูปแบบแนวทางการดำเนินงานที่โครงการวิจัยได้สร้างขึ้นในระยะเวลา 18 เดือน ถึงแม้จะมีความมั่นคงในระดับหนึ่ง และถึงแม้จะมีการปูทางมาก่อนหน้านับปีก็ตาม ยังคงต้องการการสนับสนุนจากกลไกของภาครัฐหรือจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อให้สิ่งๆที่สร้างขึ้น มีความยั่งยืนตลอดไป เช่น การจัดการอบรมฟื้นฟูความรู้เป็นระยะ การพัฒนาความสามารถของบุคลากรสาธารณสุขในพื้นที่ การขยายเครือข่าย การสนับสนุนการทำงานของชุมชน เป็นต้น

5. ผลงานอื่นๆ

การนำเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการนานาชาติ Poster Presentation เรื่อง “Development of a public education module to raise public participation in emerging infectious diseases preparedness” ในงานประชุมวิชาการ Prince Mahidol Award Conference 2013, Bangkok (ภาคผนวก 7)

6. ภาคผนวก

1. แบบสอบถาม โครงการ การสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิคาในประชากรกลุ่มเสี่ยงในประเทศไทย
2. เอกสารรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยโครงการ การสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิคาในประชากรกลุ่มเสี่ยงในประเทศไทย IRB No. 561/54
3. ตารางแสดงข้อมูลโครงการ การสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิคาในประชากรกลุ่มเสี่ยงในประเทศไทย (ตาราง 1.1-1.2)
4. แบบสอบถามประเมินความรู้พื้นฐานของประชาชนในพื้นที่ศึกษาด้านโรคอุบัติใหม่และโรคไวรัสสัตว์สู่คน
5. ตารางแสดงข้อมูลการประเมินความรู้พื้นฐานของประชาชนในพื้นที่ศึกษาด้านโรคอุบัติใหม่และโรคไวรัสสัตว์สู่คน (ตาราง 2.1-2.5)
6. แบบสอบถามโรคฉบับ อสม.
7. Poster Presentation เรื่อง “Development of a public education module to raise public participation in emerging infectious diseases preparedness”
8. ผลงานตีพิมพ์ Hemachudha T, Ugolini G, Wacharapluesadee S, Sungkarat W, Shuangshoti S, Laothamatas J. Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. Lancet Neurol. 2013 May;12(5):498-513
9. โปสเตอร์ความรู้ ด้านการอนุรักษ์ เฝ้าระวังและป้องกันโรคติดต่อจากค้างคาว 4 แบบ

แบบสอบถาม โครงการ การสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิโนป้าในประชากรกลุ่มเสี่ยงในประเทศไทย

1. ข้อมูลส่วนบุคคลผู้กรอกแบบสำรวจ

- 1.1 เพศ..... อายุ.....ปี สถานภาพ.....
- 1.2 การศึกษา (1) ป4 (2) ป6 (3) ม3 (4) ม6 (5) ปตรี 6.อื่นๆ ระบุ.....
- 1.3 บ้านเลขที่.....หมู่.....บ้าน.....ตำบล.....วัดหลวง...อำเภอ...พนสนิมคม..จังหวัด ชลบุรี....
อยู่ที่บ้านหลังนี้มาแล้ว.....ปี ตั้งแต่ พ.ศ.....
- 1.4 สถานะในครอบครัว (1) หัวหน้า (2) พ่อบ้าน (3) แม่บ้าน (4) อาศัย (5) อื่นๆระบุ.....
- 1.5 สมาชิกในครัวเรือน..... คน
- 1.6 อาชีพหลัก..... สถานที่ทำงาน ตำบล.....อำเภอ.....จังหวัด.....

2. สุขภาพโดยรวม

- 2.1 เคยเข้ารับการตรวจร่างกายประจำปีหรือไม่ (1) ไม่เคย (2) เคย ครั้งล่าสุดเมื่อ.....
ที่สถานพยาบาลชื่อ.....ผลการตรวจ.....
- 2.2 สูบบุหรี่หรือไม่ (1) ไม่ (2) สูบตั้งแต่ปี..... รวม..... ปี วันละ.....มวน
- 2.3 ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์หรือไม่ (1) ไม่ (2) ดื่ม ตั้งแต่ปี..... รวม..... ปี จำนวนวันละ.....ขวด
- 2.4 เคยเข้ารับการตรวจและรักษาร่างกายจากการดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ตามข้อ 2.3 หรือไม่
ในรอบ 1 ปีที่ผ่านมา (1) ไม่เคย (2) เคย เมื่อ.....ครั้งที่.....

3. การรักษาพยาบาล

- 3.1. เมื่อรู้สึกไม่สบายจะ (1) ซื้อมากินเอง (2) กินยาตามที่ร้านขายยาแนะนำและจัดให้ (3) ไปสถานพยาบาลชื่อ.....
- 3.2. มีโรคประจำตัวหรือไม่ (1) ไม่มี (2) มี (ระบุ).....
- 3.3. ในรอบ 12 เดือนที่ผ่านมาเคยป่วยถึงขั้นเข้ารับการรักษาพยาบาลในโรงพยาบาลติดต่อกันมากกว่า 1 วัน หรือไม่
(1) ไม่เคย (2) เคย ระบุจำนวนครั้ง.....ครั้ง
- 3.4. กรณีที่ 3.3 ตอบว่าเคย เข้ารับการรักษาพยาบาลที่.....เป็นเวลา.....วัน ป่วยเป็น.....
- 3.5. คิดว่าการเจ็บป่วยตามข้อ 3.3 เป็นผลจากการสัมผัสหรือใกล้ชิดค้างคาวหรือไม่
(1) ไม่ (2) เป็น เพราะ.....

4. กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับติดเชื้อไวรัสซิโนป้า ในรอบ 5 ปีที่ผ่านมา ท่านเคยทำกิจกรรมเหล่านี้หรือไม่ กรุณาใส่เครื่องหมาย /

4.1 การสัมผัสกับสัตว์(วัว ม้า แกะ แพะ สุกร เปิด ไก่ สุนัข แมว หรือค้างคาวแม่ไก่)	ไม่เคย	เคย	หากเคย (ตอบได้มากกว่า1ชนิด)		จำนวน ครั้ง/ปี
			ระบุชนิดสัตว์	เมื่อ เดือน/ปี	
(๑) จับต้องสัตว์ป่วย					
(๒) จับต้องหรือดูสัตว์ตาย					
(๓) ฆ่าสัตว์					
(๔) เลี้ยง ดูแล สัตว์					
(๕) ทำงานโรงฆ่าสัตว์					
(๖) ขายเนื้อสัตว์					
(๗) ขนส่งสัตว์มีชีวิต					
(๘) สัมผัสมูล-เยี่ยวสัตว์					
(๙) เยี่ยมฟาร์ม-เล้าสัตว์					

(๑๐) สัมผัสสัตว์ชนิดอื่น ระบุ.....					
4.2 กิจกรรมกลางแจ้งที่เกี่ยวข้องหรืออยู่บริเวณใกล้เคียงสัตว์ (วัว ม้า แกะ แพะ สุกร เป็ด ไก่ สุนัข แมว ค้างคาวแม่ไก่ หรือสวนผลไม้)	ไม่เคย	เคย	หากเคย (ตอบได้มากกว่า1ครั้ง)		จำนวนครั้ง/ปี
			ระบุชนิดสัตว์	เมื่อ เดือน/ปี	
(๑) ปีนต้นไม้					
(๒) เก็บผลไม้จากต้น					
(๓) เก็บผลไม้จากพื้น					
(๔) ตกปลา					
(๕) ล่าสัตว์					
(๖) เล่นซ่อนหา					
(๗) เล่น-ดู กีฬาเกี่ยวกับสัตว์					
(๘) ท่องเที่ยวแหล่งธรรมชาติ สถานที่.....					
(๙) ดูแลค่างวบริเวณบ้าน					
(๑๐) เดินผ่านที่อยู่ค่างว					
(๑๑) กิจกรรมอื่นระบุ.....					

4.3 การบริโภคสัตว์และผลิตภัณฑ์(วัว ม้า แกะ แพะ สุกร เป็ด ไก่ สุนัข แมว หรือ ค้างคาวแม่ไก่)	ไม่เคย	เคย	หากเคย (ตอบได้มากกว่า1ชนิด)		จำนวนครั้ง/ปี
			ระบุชนิดสัตว์	เมื่อ เดือน/ปี	
(๑) ดื่มน้ำและผลิตภัณฑ์สัตว์ดิบ					
(๒) ดื่มน้ำเลือดสัตว์สดๆ					
(๓) บริโภคค่างว					
(๔) เป็นผู้ปรุงอาหารจากค่างว					
(๕) กินผลไม้ที่มีรอยสัตว์ กัดแทะ ระบุชนิดผลไม้.....					
(๖) ดินน้ำตาสด(ตาสหรือมะพร้าว)ที่ไม่ผ่านการต้ม					

4.4 สภาพแวดล้อม ที่อยู่อาศัยหรือที่ทำงาน	ไม่มี	มี	ถ้ามี (ระบุชนิดสัตว์ เฉพาะ๓,๔)		จำนวนครั้ง/ปี
			บ้าน	ที่ทำงาน	
(๑) มีมุง-มุงลวด					
(๒) มีทุ่งนา					
(๓) มีฟาร์มสัตว์					
(๔) บริเวณบ้านมีคอกสัตว์					
(๕) มีค่างวซุกซม					
(๖) มีสวนผลไม้ ระบุชนิด.....					
(๗) มีอาชีพเก็บน้ำตาสด-น้ำตาสมะพร้าว					

4.5 ประวัติการเจ็บป่วยและสัมผัสดูแลผู้ป่วยโรคสมองอักเสบ หรือ ปอดอักเสบ	ไม่เคย	เคย	หากเคย (ตอบได้มากกว่า 1ชนิด)	
			ระบุชนิดสัตว์ที่สัมผัส-บริโภค	ล่าสุด เมื่อ
(๑) ท่านเคยป่วย โรค.....				
(๒) คนในครอบครัวป่วย โรค.....				
(๓) เคยดูแลผู้ป่วย โรค.....				
(๔) เคยเยี่ยมผู้ป่วย โรค.....				



COA No. 123/2012
IRB No. 561/54

INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

1873 Rama 4 Road, Patumwan, Bangkok 10330, Thailand, Tel 662-256-4455 ext 14, 15

Certificate of Approval

The Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, has approved the following study which is to be carried out in compliance with the International guidelines for human research protection as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline and International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

Study Title : Preparing of awareness and preparedness to combat with the emerging infectious disease in community

Study Code : -

Study Center : Department of Medicine,
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

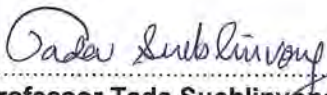
Principal Investigator : Prof.Thiravat Hemachudha, M.D.

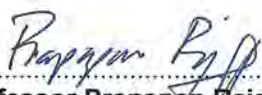
Review Method : Expedited

Continuing Report : At least once annually or submit the final report if finished.

Document Reviewed :

1. Protocol Version 2.0 Dated 6 February 2012
2. Protocol Synopsis Version 2.0 Dated 27 January 2012
3. Information sheet for research participant for children under the age of 12 years to 18 years Version 3.0 Dated 6 February 2012
4. Information sheet for research participant for legal representative Version 2.0 Dated 27 January 2012
5. Information sheet for research participant for children aged 7 – less than 12 years Version 2.0 Dated 27 January 2012
6. Informed Consent Form for legal representative of children aged 7-less than 18 years Version 2.0 Dated 27 January 2012
7. Informed Consent Form for over 18 years of age Version 2.0 Dated 27 January 2012
8. Questionnaire knowledge of emerging diseases of animals Version 1.0 Dated 2 November 2011

Signature: 
(Emeritus Professor Tada Sueblinvong MD)
Chairperson
The Institutional Review Board

Signature: 
(Assistant Professor Prapapan Rajatapiti MD, PhD)
Member and Assistant Secretary, Acting
Secretary The Institutional Review Board

Date of Approval : February 16, 2012

Approval Expire Date : February 15, 2013

Approval granted is subject to the following conditions: (see back of this Certificate)

All approved investigators must comply with the following conditions:

1. Strictly conduct the research as required by the protocol;
2. Use only the information sheet, consent form (and recruitment materials, if any), interview outlines and/or questionnaires bearing the Institutional Review Board's seal of approval ; and return one copy of such documents of the first subject recruited to the Institutional Review Board (IRB) for the record;
3. Report to the Institutional Review Board any serious adverse event or any changes in the research activity within five working days;
4. Provide reports to the Institutional Review Board concerning the progress of the research upon the specified period of time or when requested;
5. If the study cannot be finished within the expire date of the approval certificate, the investigator is obliged to reapply for approval at least one month before the date of expiration.

* A list of the Institutional Review Board members (names and positions) present at the meeting of Institutional Review Board on the date of approval of this study has been attached. All approved documents will be forwarded to the principal investigator.

ภาคผนวก 3. ตารางแสดงข้อมูลโครงการ การสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสฮีปาห์ในประชากร
กลุ่มเสี่ยงในประเทศไทย (ตาราง 1.1-1.2)

ตารางที่ 1.1 แสดงจำนวนอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ จำแนกตามอายุและเพศ

ข้อมูลส่วนบุคคล	จำนวน (n = 418)		%
เพศ	ชาย	153	36.6
	หญิง	265	63.4
อายุ (ปี)	< 15	110	26.3
	16-30	36	8.6
	31-45	60	14.4
	46-60	110	26.3
	> 60	102	24.4

ตารางที่ 1.2 แสดงกิจกรรมเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสโรคจากสัตว์ ในกลุ่มอาสาสมัครที่มีความเสี่ยง(อยู่ในพื้นที่เสี่ยง หรือมีกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับพื้นที่เสี่ยงเป็นประจำ) กับอาสาที่อยู่นอกกลุ่มเสี่ยง

กิจกรรมเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสโรคจากสัตว์	จำนวน(%) อาสาสมัครที่มีกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสโรคจากสัตว์		OR * (95% CI)	p value
	กลุ่มเสี่ยง, n = 255	นอกกลุ่มเสี่ยง, n = 163		
1. กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับติดเชื้อไวรัสซิคา				
1.1 จับต้องสัตว์ป่วย	22 (8.6)	19 (11.7)	0.72 (0.37-1.37)	0.310
1.2 จับต้องหรือดูสัตว์ตาย	62 (24.3)	38 (23.3)	1.06(0.67-1.68)	0.815
1.3 ฆ่าสัตว์	8 (3.1)	12 (7.4)	0.41 (0.16-1.02)	0.05
1.4 เลี้ยง ดูแลสัตว์	161 (63.1)	106 (65.0)	0.921 (0.61-1.39)	0.694
1.5 ทำงานโรงฆ่าสัตว์	2 (0.8)	1 (0.6)	1.28 (0.12-14.24)	0.840
1.6 ขายเนื้อสัตว์	5 (2.0)	3 (1.8)	1.07 (0.25-4.52)	0.930
1.7 ขนส่งสัตว์มีชีวิต	2 (0.8)	2 (1.2)	0.64 (0.09-4.56)	0.650
1.8 สัมผัสมูล-เยี่ยวสัตว์	161 (63.1)	77 (47.2)	1.91 (1.28-2.85)	0.001
1.9 เยี่ยมฟาร์ม-เล้าสัตว์	68/254 (26.8)	40/163 (24.5)	1.12 (0.72-1.77)	0.612
1.10 สัมผัสสัตว์ชนิดอื่น	2 (0.8)	4 (2.5)	0.31 (0.06-1.74)	0.162
2. กิจกรรมกลางแจ้งที่เกี่ยวข้องหรืออยู่บริเวณใกล้กับสัตว์ (วัว ม้า แกะ แพะ สุนัข เป็ด ไก่ สุนัข แมว ค้างคาวแม่				
2.1 ปีนต้นไม้	77 (30.2)	37 (22.7)	1.47 (0.94-2.32)	0.093
2.2 เก็บผลไม้จากต้น	115 (45.1)	88 (54.0)	0.70 (0.47-1.04)	0.076
2.3 เก็บผลไม้จากพื้น	64 (25.1)	60 (36.8)	0.58 (0.38-0.88)	0.011*
2.4 ตกปลา	64 (25.1)	32 (19.6)	1.37 (0.85-2.21)	0.195
2.5 ล่าสัตว์	10/254 (3.9)	2/161 (1.2)	3.26(0.705-15.07)	0.110
2.6 เล่นซ่อนหา	62 (24.3)	5 (3.1)	10.15 (3.98-25.86)	0.000
2.7 เล่น-ดูกีฬาเกี่ยวกับสัตว์	36 (14.1)	14 (8.6)	1.75 (0.91-3.36)	0.089
2.8 ท่องเที่ยวแหล่งธรรมชาติ	29 (11.4)	24 (14.7)	0.74 (0.42-1.33)	0.315
2.9 ดูค้างคาวบริเวณบ้าน	183 (71.8)	116 (71.2)	1.03 (0.67-1.59)	0.895
2.10 เดินผ่านที่อยู่ค้างคาว	223 (87.5)	132 (81.0)	1.64 (0.95-2.81)	0.071
3. การบริโภคสัตว์และผลิตภัณฑ์ (วัว ม้า แกะ แพะ สุนัข เป็ดไก่ สุนัข แมว หรือ ค้างคาวแม่ไก่)				
3.1 กินเนื้อและผลิตภัณฑ์สัตว์ดิบ	5 (2.0)	4 (2.5)	0.80 (0.21-3.01)	0.735
3.2 ดื่มเลือดสดๆ	6 (2.4)	3 (1.8)	1.29 (0.32-5.21)	0.725

กิจกรรมเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการ สัมผัสโรคจากสัตว์	จำนวน(%) อาสาสมัครที่มีกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการ สัมผัสโรคจากสัตว์		OR * (95% CI)	p value (* p< 0.05)
	กลุ่มเสี่ยง, n = 255	นอกกลุ่มเสี่ยง, n = 163		
3.3 บริโภคค้างคาว	10 (3.9)	12 (7.4)	0.51 (0.22-1.22)	0.124
3.4 เป็นผู้ปรุงอาหารจากค้างคาว	3 (1.2)	4 (2.5)	0.47 (0.10-2.14)	0.321
3.5 กินผลไม้ที่มีรอยกัดแทะสัตว์	32 (12.5)	33 (20.2)	0.57 (0.33-0.96)	0.034
3.6 ดื่มน้ำตาล (มะพร้าว/ตาลดิบ)	10 (3.9)	13 (8.0)	0.47 (0.20-1.10)	0.076
4. สภาพแวดล้อม ที่อยู่อาศัยหรือที่ทำงาน				
4.1 มีมุ้ง-มุ้งลวด	238 (93.3)	155 (95.1)	0.72 (0.30-1.71)	0.460
4.2 มีทุ่งนา	153 (60.0)	118 (72.4)	0.57 (0.37-0.88)	0.010
4.3 มีฟาร์มสัตว์	31 (12.2)	37 (22.7)	0.47 (0.28-0.80)	0.004
4.4 บริเวณบ้านมีคอกสัตว์	32 (12.5)	51 (31.3)	0.32 (0.19-0.52)	0.000
4.5 มีค้างคาวซุกซุม	105 (41.2)	47 (28.8)	1.73 (1.13-2.63)	0.011
4.6 มีสวนผลไม้	113 (44.3)	73 (44.8)	0.98 (0.66-1.46)	0.925
4.7 มีอาชีพเก็บน้ำตาลสด-น้ำตาล มะพร้าว	0 (0.0)	1 (0.6)	-	-
5. ประวัติการเจ็บป่วยและสัมผัสผู้ป่วย โรคสมองอักเสบหรือ ปอดอักเสบ				
5.1 ท่านเคยป่วยด้วยโรคสมอง อักเสบหรือ ปอดอักเสบ	8 (3.1)	3 (1.8)	1.73 (0.45-6.61)	0.419
5.2 คนในครอบครัวป่วยด้วยโรค สมองอักเสบหรือ ปอดอักเสบ	4 (1.6)	6 (3.7)	0.42 (0.12-1.50)	0.168
5.3 เคยดูแลผู้ป่วยโรคสมองอักเสบ หรือ ปอดอักเสบ	3 (1.2)	6 (3.7)	0.31 (0.08-1.26)	0.085
5.4 เคยเยี่ยมผู้ป่วยโรคสมองอักเสบ หรือ ปอดอักเสบ	7 (2.7)	6 (3.7)	0.74 (0.24-2.24)	0.591

OR, odds ratio; CI, confidence interval

ภาคผนวก 4

แบบสอบถามความรู้เรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน

กรุณาขีด ✓ ในช่องที่ท่านคิดว่าถูกต้องที่สุด

ผู้สัมภาษณ์: ☐ อสม./รพสต ☐ บุคคลทั่วไป☐ อบต./เทศบาล, ตำแหน่ง.....

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง
2. อายุ ปี
3. การศึกษา ☐ ไม่ได้เรียนหนังสือ ☐ ประถม ☐ มัธยมต้น
☐ มัธยมปลายหรือเทียบเท่า ☐ปริญญาตรี ☐ อื่นๆ (ระบุ).....
4. อาชีพ ☐ ทำนา-สวน ☐ เลี้ยงสัตว์ ☐ ค้าขาย ☐ ลูกจ้างเอกชน
☐ รับราชการ..... ☐ เจ้าของธุรกิจ ☐ นักเรียน/นักศึกษา
☐ แม่บ้าน-พ่อบ้าน ☐ อื่นๆ (ระบุ).....
5. ศาสนา ☐ พุทธ ☐ คริสต์ ☐ อิสลาม ☐ อื่นๆ (ระบุ).....
6. เชื้อชาติ ☐ ไทย ☐ อื่นๆ (ระบุ).....
7. จำนวนสมาชิกที่อาศัยอยู่ในบ้าน.....คน มีเด็กเล็ก (อายุน้อยกว่า 5 ปี) จำนวน.....คน
8. ที่อยู่(บ้าน) หมู่.....ตำบล..... อำเภอ..... จังหวัด.....
9. ลักษณะที่อยู่อาศัย ☐ อยู่ในชุมชน/ตลาด ☐ นอกเมือง ☐ อื่นๆ (ระบุ).....
10. ชนิดสัตว์เลี้ยง ☐ สุนัข.....ตัว ☐ แมว.....ตัว ☐ หมู.....ตัว ☐ วัว.....ตัว
☐ แพะ.....ตัว ☐ แกะ.....ตัว ☐ ไก่.....ตัว ☐ เป็ด.....ตัว
☐ ปลา.....ตัว ☐ อื่นๆ (ระบุ).....ตัว
- 11.ปลูกต้นไม้ที่ให้ผล ☐ มะม่วง.....ต้น ☐ ฝรั่ง.....ต้น ☐ มะขาม.....ต้น
☐ กัลย.....ต้น ☐ มะละกอ.....ต้น ☐ มะพร้าว.....ต้น
☐ อื่นๆ (ระบุ).....

ส่วนที่ 2 ความรู้เกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่ จากสัตว์สู่คน

1. เคยได้ยินคำว่า “โรคอุบัติใหม่” มาบ้างหรือไม่ ☐ ไม่ ☐ เคย ตั้งแต่.....ปี จาก.....
2. โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน หมายถึง
 - ก. โรคที่นำโดยสัตว์สู่คน
 - ค. โรคที่นำโดยสัตว์สู่คนที่เคยเกิดแล้ว และกลับมาอุบัติใหม่
 - ข. โรคที่นำโดยสัตว์สู่คนที่เพิ่งเกิดขึ้นใหม่
 - ง. ถูกทุกข้อ

3. โรคใดต่อไปนี้เป็นโรคจากสัตว์สู่คน (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

ก. โรคพิษสุนัขบ้า

ข. โรคไข้หวัดนก

ค. โรคไข้หวัดใหญ่

ง. โรคลมชัก

จ. โรคสมองอักเสบไวรัสฮันตี

ฉ. โรคหัวใจ

4. โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน

4.1 ทำให้เกิดโรคทั้งในคนและสัตว์

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.2 มีสัตว์เป็นพาหะนำโรค

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.3 สัตว์นำโรคอาจเป็นสัตว์ป่า เช่น ค้างคาว

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.4 สัตว์นำโรคอาจเป็นสัตว์เลี้ยง เช่น ไก่ หมู

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.5 โรคสมองอักเสบจากไวรัสฮันตี มีพาหะนำโรคจาก หมู

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.6 โรคสมองอักเสบจากไวรัสฮันตี มีพาหะนำโรคจาก ค้างคาว

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.7 โรคสมองอักเสบจากไวรัสฮันตี มีพาหะนำโรคจาก ยุง

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.8 โรคพิษสุนัขบ้า จัดเป็นโรคจากสัตว์สู่คน

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.9 โรคพิษสุนัขบ้า เป็นแล้วเสียชีวิตทุกราย

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.10 โรคพิษสุนัขบ้า มีสุนัขเป็นพาหะนำโรค

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.11 โรคพิษสุนัขบ้า มีแมลงเป็นพาหะนำโรค

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.12 หากถูกสัตว์กัด ต้องล้างแผลด้วยสบู่และน้ำ

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.13 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแก่สัตว์เลี้ยง

ช่วยป้องกันการระบาดของโรคได้

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.14 ถ้าพบสุนัขหรือแมวสงสัยว่าเป็นบ้า

ต้องส่งตรวจยืนยันทางห้องแล็บ

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4.15 คนที่แสดงอาการโรคพิษสุนัขบ้า สามารถรักษาให้หายได้

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

ส่วนที่ 3 การป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า

1. เมื่อถูก สุนัขจรจัดกัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

2. เมื่อถูก สุนัขมีเจ้าของกัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

3. เมื่อถูก แมวจรจัดกัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

4. เมื่อถูก แมวมีเจ้าของกัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล

☐ ใช่

☐ ไม่ใช่

☐ ไม่ทราบ

5. เมื่อถูก สุนัขจรจัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
6. เมื่อถูก สัตว์ป่ากัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
7. เมื่อพบการระบาดของโรคพิษสุนัขบ้าในชุมชน จะรายงาน
ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
8. เมื่อพบสุนัขจรจัดสงสัยว่าบ้า จะฆ่าทำลายฝังกลบ ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
9. เมื่อพบสุนัขจรจัดสงสัยว่าบ้า จะฆ่าและตัดหัวส่งตรวจห้องแล็บ ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
10. ในชุมชนของท่าน มีปัญหาการระบาดของโรคพิษสุนัขบ้า ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
11. การควบคุมประชากรสุนัข(จรจัด) เป็นเรื่องสำคัญของชุมชน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
12. การควบคุมประชากรสุนัข เป็นหน้าที่ของ อบต./เทศบาล/ ปศุสัตว์ เท่านั้น ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
13. การควบคุมประชากรสุนัข เป็นหน้าที่ของทุกคนในชุมชน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
14. ชุมชนของท่าน มีการจัดกิจกรรมรณรงค์โรคพิษสุนัขบ้าเป็นประจำทุกปี ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
15. คุณมีส่วนร่วมในการจัดกิจกรรมรณรงค์โรคพิษสุนัขบ้าเป็นประจำทุกครั้ง ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
16. วิธีการใดที่ท่านคิดว่ามีความเหมาะสมในการควบคุมประชากรสุนัขจรจัด
- การฉีดยาทำหมัน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
- การจัดทำสถานที่พักพิงสำหรับสุนัข ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
- การผ่าตัดทำหมัน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
- การฆ่าสุนัขจรจัด ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ

ส่วนที่ 4 รู้จักไวรัสสมองอักเสบนิปาห์ ?

1. เคยได้รับความรู้เกี่ยวกับ “โรคในค้างคาว” มาบ้างหรือไม่ ☐ ไม่ ☐ เคย ตั้งแต่.....ปี จาก.....
2. ไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ พบได้ในน้ำลายค้างคาว ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
3. ไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ พบได้ใน เลือดค้างคาว ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
4. ไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ พบได้ใน เลือดค้างคาว ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
5. ไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ ทำให้หมูเป็นโรคทางระบบหายใจ ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
6. ไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ ยังไม่มียารักษา หรือวัคซีนป้องกันโรค ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
7. ไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ เคยระบาดที่ประเทศมาเลเซียเมื่อ พ.ศ.2541 ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
8. ไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ เคยระบาดที่ประเทศไทย ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ

9. ไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ ระบาดที่บังกลาเทศตั้งแต่พ.ศ. 2545 - ปัจจุบัน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
10. กินน้ำผลไม้ที่ปนเปื้อนน้ำลาย/เยื่อคางคาว อาจติดโรคสมองอักเสบนิปาห์ได้ ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
11. หากถูกคางคาวกัด ต้องได้รับการรักษาเช่นเดียวกับโดนสุนัขกัด ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
12. หากโดนคางคาวเยียวรด ควรทำความสะอาดด้วยสบู่ทันที ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
13. ไวรัสนิปาห์ นำโรคจากคางคาวสู่หมู และจากหมูสู่คน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
14. ไวรัสนิปาห์ ไม่ทำให้คางคาวเจ็บป่วย ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
15. คางคาวแม่ไก่ เป็นพาหะนำไวรัสนิปาห์ ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
16. คางคาว เป็นพาหะของโรคอื่นๆ ได้นอกจากไวรัสนิปาห์ เช่น โรคพิษสุนัขบ้า ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ

ส่วนที่ 5 การเตรียมความพร้อมของชุมชน

1. ปัญหาโรคระบาดที่พบในชุมชนของท่าน ได้แก่ (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)
 ก. ใช้วัดใหญ่ ข. ใช้เลือดออก ค. โรคท้องร่วง ง. โรคฉี่หนู จ. อื่นๆ (ระบุ).....
2. ท่านมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสาธารณสุขในชุมชน ☐ ใช่ (ระบุตำแหน่ง)..... ☐ ไม่ใช่
3. ท่านคิดว่าคนในชุมชน มีความตื่นตัวโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ☐ ใช่..ระดับ.() มาก () น้อย () ปานกลาง ☐ ไม่ใช่
4. ท่านคิดว่าฝ่ายบริหารของชุมชน มีความตื่นตัวโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
5. ท่านคิดว่าฝ่ายสาธารณสุขของชุมชนมีความตื่นตัวต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
6. โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน เป็นสิ่งไกลตัว ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
7. โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ไม่น่าจะเกิดในชุมชนของท่าน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
8. ชุมชนของท่าน มีการเตรียมความพร้อมหรือป้องกันโรคอุบัติใหม่ ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
9. ชุมชนของท่าน ไม่มีความเสี่ยงต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
10. เด็กนักเรียนรู้ข้อมูลความรู้อย่างพอเพียงเกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
11. ชุมชนของท่าน พบเชื้อไวรัสสมองอักเสบนิปาห์ ในคางคาวแม่ไก่ ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
12. ทุกคน มีหน้าที่เป็นหูเป็นตาสอดส่องการเกิดโรคระบาดในชุมชน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
13. ชุมชน มีการประชาสัมพันธ์ความรู้เกี่ยวกับสุขภาพและโรคภัยใหม่ๆอยู่เสมอ ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ
14. อสม. มีความรู้เพียงพอที่จะให้ข้อมูลด้านสุขภาพแก่ประชาชน ☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ ☐ ไม่ทราบ

ส่วนที่ 6 ความคิดเห็นเกี่ยวกับค้างคาวแม่ไก่ (กรุณาขีด ✓ ในช่องระดับความคิดเห็นที่ท่านคิดว่าถูกต้องที่สุด)

5 = เห็นด้วยอย่างยิ่ง, 4 = เห็นด้วย, 3 = ไม่แน่ใจ, 2 = ไม่เห็นด้วย, 1 = ไม่เห็นด้วยอย่างยิ่ง

ความคิดเห็นเกี่ยวกับค้างคาวแม่ไก่	ระดับความคิดเห็น				
	5	4	3	2	1
1. ท่านรู้จักค้างคาวแม่ไก่					
2. ค้างคาวแม่ไก่ มีความสำคัญต่อระบบนิเวศหรือไม่? หากเห็นด้วย กรุณาระบุว่าสำคัญอย่างไร?.....					
3. ประชาชนที่อยู่ในพื้นที่ที่มีค้างคาวแม่ไก่ ควรได้รับการอนุญาตให้ล่าค้างคาวได้					
4. การไม่ลบล้างถิ่นที่อยู่อาศัยของค้างคาวแม่ไก่ เป็นเรื่องที่สำคัญ					
5. ค้างคาวแม่ไก่ มีผลเสียต่อคนหรือไม่? หากเห็นด้วย กรุณาระบุว่ามีผลเสียอย่างไร?.....					
6. ค้างคาวแม่ไก่ ไม่ควรอาศัยอยู่ในบริเวณเดียวกันกับคน					
7. การตัดไม้ทำลายป่า มีผลกระทบต่อจำนวนค้างคาวแม่ไก่					

*****ขอบคุณค่ะ*****

ภาคผนวก 5. ตารางแสดงข้อมูลการประเมินความรู้พื้นฐานของประชาชนในพื้นที่ศึกษาด้านโรคอุบัติใหม่และโรคไวรัสสัตว์สู่คน (ตาราง 2.1-2.5)

ตารางที่ 2.1 แสดงจำนวนอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ จำแนกตามอายุและเพศ

ข้อมูลส่วนบุคคล		จำนวน (n = 517)	%
เพศ	ชาย	192	37.1
	หญิง	324	62.7
	ไม่มีข้อมูล	1	0.2
อายุ (ปี)	< 15	104	20.1
	16-30	34	6.6
	31-45	64	12.4
	46-60	155	30.0
	> 60	147	28.4
	ไม่มีข้อมูล	13	2.5

ตารางที่ 2.2 แสดงจำนวนของอาสาสมัครที่ร่วมให้ข้อมูลในแต่ละระดับความรู้

การศึกษาสูงสุด	จำนวน	%
ไม่ได้เรียนหนังสือ	2	0.4
ประถมศึกษา	335	64.8
มัธยมศึกษาตอนต้น	52	10.0
มัธยมศึกษาตอนปลาย-เทียบเท่า	48	9.3
ปวส./อนุปริญญา	4	0.8
ปริญญาตรีขึ้นไป	68	13.1
ไม่มีข้อมูล	8	1.6

ตารางที่ 2.3 แสดงจำนวนของอาสาสมัครที่ร่วมให้ข้อมูลจำแนกตามอาชีพและความเสี่ยง

อาชีพ/ความเสี่ยง	จำนวน	%
อสม/รพสต/ครู	67	1.9
เด็กนักเรียน	98	18.9
ประชาชนในพื้นที่เสี่ยง	94	18.2
คนทั่วไป	231	44.7
นักท่องเที่ยว	27	5.2
รวม	517	100

ตารางที่ 2.4 แสดงจำนวนอาสาสมัครที่ตอบแบบสอบถามประเมินความรู้ในหมวดต่างๆ 3 หมวด จำแนกตามกลุ่มอาชีพและกลุ่มที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยง

ความรู้เกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่ จากสัตว์สู่คน	จำนวน (%) อาสาสมัครที่ตอบคำถามถูกต้องจำแนกตามกลุ่มอาชีพและกลุ่มที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยง						จำนวน (%) รวมที่ตอบผิด	จำนวน(%) รวมที่ตอบไม่ทราบ
	คนในพื้นที่เสี่ยง	อสม/รพสต/ครู	เด็กนักเรียน	คนทั่วไป	นักท่องเที่ยว	จำนวนรวม		
1.ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่ จากสัตว์สู่คน								
เคยได้ยินคำว่า “โรคอุบัติใหม่”	25/94 (26.6)	21/62 (33.9)	23/98 (23.5)	67/228 (29.4)	9/27 (33.3)	145/509 (28.5)	364/509 (71.5)	0
รู้ว่าโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน หมายถึง	29/79 (36.7)	27/56 (48.2)	59/96 (61.4)	110/185 (59.4)	11/26 (42.3)	236/442 (53.4)	206/442 (46.6)	0
รู้ว่าโรคพิษสุนัขบ้า เป็นโรคสัตว์สู่คน	84/94 (89.4)	50/67 (74.6)	88/98 (89.8)	187/231 (81.0)	22/27 (81.5)	431/517 (83.4)	86/517 (16.6)	0
รู้ว่าโรคไข้หวัดนก เป็นโรคสัตว์สู่คน	84/94 (89.4)	55/67 (82.1)	81/98 (82.7)	173/231 (74.9)	23/27 (85.2)	416/517 (80.5)	101/517 (19.5)	0
รู้ว่าโรคไข้หวัดใหญ่2009ไม่ใช่โรคสัตว์สู่คน	79/94 (84.0)	60/67 (89.6)	67/98 (68.4)	218/231 (94.4)	21/27 (77.8)	445/517 (86.1)	72/517 (13.9)	0
รู้ว่าโรคลมชักไม่ใช่โรคสัตว์สู่คน	94/94 (100)	65/67 (97.0)	98/98 (100)	231/231 (100)	27/27 (100)	515/517 (99.6)	2/517 (0.4)	0
รู้ว่าโรคหัวใจไม่ใช่โรคสัตว์สู่คน	93/94 (98.9)	66/67 (98.5)	98/98 (100)	229/231 (99.1)	27/27 (100)	513/517 (99.2)	4/517 (0.8)	0
รู้ว่าโรคสมองอักเสบไวรัสชิคาโกเป็นโรคสัตว์สู่คน	28/94 (29.8)	36/67 (53.7)	26/98 (26.5)	89/231 (38.5)	12/27 (44.4)	191/517 (36.9)	326/517 (63.1)	0
รู้ว่าโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนไม่ทำให้เกิดโรคทั้งในคนและสัตว์	86/94 (91.5)	54/66 (81.8)	69/98 (70.4)	184/227 (81.1)	23/26 (88.5)	416/511 (81.4)	28/511 (5.5)	67/511 (13.1)
รู้ว่าโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนมีสัตว์เป็นพาหะนำโรค	90/94 (95.7)	64/66 (97.0)	87/98 (88.8)	216/227 (95.2)	26/26 (100)	483/511 (94.5)	5/511 (1.0)	23/511 (4.5)
รู้ว่าโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน สัตว์นำโรคอาจเป็นสัตว์ป่า เช่น ค้างคาว	83/94 (88.3)	58/67 (86.6)	63/98 (64.3)	191/225 (84.9)	20/26 (76.9)	415/510 (81.4)	38/510 (7.5)	57/510 (11.2)
รู้ว่าโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน สัตว์นำโรคอาจเป็นสัตว์เลี้ยง เช่น ไก่ หมู	74/92 (80.4)	58/66 (87.9)	60/98 (61.2)	168/227 (74.0)	22/26 (84.6)	382/509 (75.0)	60/509 (11.8)	67/509 (13.2)
รู้ว่าโรคสมองอักเสบจากไวรัสชิคาโก มีพาหะนำโรคจากหมู	42/94 (44.7)	24/65 (36.9)	24/98 (24.5)	112/227 (49.3)	11/26 (42.3)	213/510 (41.8)	139/510 (27.3)	158/510 (31.0)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

ความรู้เกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่ จากสัตว์สู่คน	จำนวน (%) อาสาสมัครที่ตอบคำถามถูกต้องจำแนกตามกลุ่มอาชีพและกลุ่มที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยง						จำนวน (%) รวมที่ตอบผิด	จำนวน(%) รวมที่ตอบไม่ทราบ
	คนในพื้นที่เสี่ยง	อสม/รพสต/ครู	เด็กนักเรียน	คนทั่วไป	นักท่องเที่ยว	จำนวนรวม		
รู้ว่าโรคสมองอักเสบจากไวรัสสิโนปาร์ มีพาหะนำโรคจากค้างคาว	69/92 (75.0)	55/66 (83.3)	44/98 (44.9)	175/228 (76.8)	12/26 (46.2)	355/510 (69.6)	31/510 (6.1)	124/510 (24.3)
รู้ว่าโรคสมองอักเสบจากไวรัสสิโนปาร์ไม่มีพาหะนำโรคจากยุง	45/93 (48.4)	40/64 (62.5)	51/97 (52.6)	111/225 (49.3)	5/26 (19.2)	252/505 (49.9)	101/505 (20.0)	152/505 (30.1)
รู้ว่าโรคพิษสุนัขบ้าจัดเป็นโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน	90/94 (95.7)	62/65 (95.4)	95/98 (96.9)	195/226 (86.3)	20/26 (76.9)	462/509 (90.8)	25/509 (4.9)	22/509 (4.3)
รู้ว่าโรคพิษสุนัขบ้า เป็นแล้วเสียชีวิตทุกราย	71/94 (75.5)	40/66 (60.6)	56/98 (57.1)	152/229 (66.4)	5/25 (20.0)	324/512 (63.3)	141/512 (27.5)	47/512 (9.2)
รู้ว่าโรคพิษสุนัขบ้า มีสุนัขเป็นพาหะนำโรค	87/94 (92.6)	63/66 (95.5)	79/98 (80.6)	203/227 (89.4)	20/26 (76.9)	452/511 (88.5)	33/511 (6.5)	26/511 (5.1)
รู้ว่าโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน โรคพิษสุนัขบ้าไม่ได้มีแมลงเป็นพาหะนำโรค	57/93 (61.3)	52/67 (77.6)	66/98 (67.3)	167/227 (73.6)	16/26 (61.5)	358/511 (70.1)	72/511 (14.1)	81/511 (15.9)
รู้ว่าหากถูกสัตว์กัด ต้องล้างแผลด้วยสบู่และน้ำ	89/91 (97.8)	64/67 (95.5)	72/98 (73.5)	210/228 (92.1)	17/26 (65.4)	452/510 (88.6)	30/510 (5.9)	28/510 (5.5)
รู้ว่าการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแก่สัตว์เลี้ยง ช่วยป้องกันการระบาดของโรคได้	93/94 (98.9)	60/67 (89.6)	94/98 (95.9)	209/228 (91.7)	23/26 (88.5)	479/513 (93.4)	14/513 (2.7)	20/513 (3.9)
รู้ว่าถ้าพบสุนัขหรือแมวสงสัยว่าเป็นบ้า ต้องส่งตรวจยืนยันทางห้องแล็บ	80/94 (85.1)	65/67 (97.0)	65/98 (66.3)	185/228 (81.1)	17/25 (68.0)	412/512 (80.5)	33/512 (6.4)	67/512 (13.1)
รู้วาคนที่แสดงอาการโรคพิษสุนัขบ้าไม่สามารถรักษาให้หายได้	55/94 (58.5)	39/66 (59.1)	28/98 (28.6)	118/228 (51.8)	7/26 (26.9)	247/512 (48.2)	182/512 (35.5)	83/512 (16.2)
2. การป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า								
รู้ว่าเมื่อถูก สุนัขจรจัดกัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล	94/94 (100.0)	67/67 (100.0)	97/98 (99.0)	216/229 (94.3)	26/26 (100.0)	500/514 (97.3)	9/514 (1.8)	5/514 (1.0)
รู้ว่าเมื่อถูก สุนัขมีเจ้าของกัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล	91/94 (96.8)	66/67 (98.5)	75/98 (76.5)	220/229 (96.1)	24/26 (92.3)	476/514 (92.6)	21/514 (4.1)	17/514 (3.3)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

ความรู้เกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่ จากสัตว์สู่คน	จำนวน (%) อาสาสมัครที่ตอบคำถามถูกต้องจำแนกตามกลุ่มอาชีพและกลุ่มที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยง						จำนวน (%) รวมที่ตอบผิด	จำนวน(%) รวมที่ตอบไม่ทราบ
	คนในพื้นที่เสี่ยง	อสม/รพสต/ครู	เด็กนักเรียน	คนทั่วไป	นักท่องเที่ยว	จำนวนรวม		
รู้ว่าเมื่อถูก แมวจรจัดกัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล	94/94 (100.0)	67/67 (100.0)	90/98 (91.8)	215/229 (93.9)	23/26 (88.5)	489/514 (95.1)	15/514 (2.9)	10/514 (1.9)
รู้ว่าเมื่อถูก แมวมีเจ้าของกัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล	90/94 (95.7)	67/67 (100.0)	78/98 (79.6)	221/229 (96.5)	22/26 (84.6)	478/514 (93.0)	18/514 (3.5)	18/514 (3.5)
รู้ว่าเมื่อถูกสุนัขจรจัดข่วน จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล	91/94 (96.8)	65/66 (98.5)	64/98 (65.3)	198/229 (86.5)	23/27 (85.2)	441/514 (85.8)	55/514 (10.7)	18/514 (3.5)
รู้ว่าเมื่อถูก สัตว์ป่ากัด จะเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล	89/94 (94.7)	64/65 (98.5)	96/98 (98.0)	215/228 (94.3)	25/27 (92.6)	489/512 (95.5)	8/512 (1.6)	15/512 (2.9)
รู้ว่าเมื่อพบการระบาดของโรคพิษสุนัขบ้าในชุมชน จะรายงานต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง	91/93 (97.8)	65/66 (98.5)	85/98 (86.7)	223/229 (97.4)	25/27 (92.6)	489/513 (95.3)	5/513 (1.0)	19/513 (3.7)
รู้ว่าเมื่อพบสุนัขจรจัดสงสัยว่าบ้าจะไม่ฆ่าทำลายฝังกลบ	31/93 (33.3)	44/65 (67.7)	66/98(67.3)	91/225 (40.4)	10/27 (37.0)	242/508 (47.6)	212/508 (41.7)	54/508 (10.6)
รู้ว่าเมื่อพบสุนัขจรจัดสงสัยว่าบ้า จะฆ่าและตัดหัวส่งตรวจห้องแล็บ	78/94 (83.0)	52/66 (78.8)	28/97 (28.9)	174/226 (77.0)	13/27 (48.1)	345/510 (67.6)	111/510 (21.8)	54/510 (10.6)
รู้ว่าการควบคุมประชากรสุนัข(จรจัด) เป็นเรื่องสำคัญของชุมชน	81/94 (86.2)	66/67 (98.5)	69/98 (70.4)	180/229 (78.6)	21/27 (77.8)	417/515 (81.0)	46/515 (8.9)	52/515 (10.1)
รู้ว่าการควบคุมประชากรสุนัขไม่ได้เป็นหน้าที่ของอบต./เทศบาล/ ปศุสัตว์ เท่านั้น	47/94 (50.0)	49/67 (73.1)	42/98 (42.9)	115/226 (50.9)	14/27 (51.9)	267/512 (52.1)	179/512 (35.0)	66/512 (12.9)
รู้ว่าการควบคุมประชากรสุนัข เป็นหน้าที่ของทุกคนในชุมชน	85/94 (90.4)	67/67 (100.0)	76/97 (78.4)	185/226 (81.9)	23/27 (85.2)	436/511 (85.3)	34/511 (6.7)	41/511 (8.0)
3. รู้จักไวรัสสมองอักเสบนิปาห์ ?								
เคยได้รับความรู้เกี่ยวกับ “โรคในค้างคาว”	44/90 (48.9)	55/63 (87.3)	53/98 (54.1)	85/222 (38.3)	5/26 (19.2)	242/499 (48.5)	250/499 (50.1)	7/499 (1.4)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

ความรู้เกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่ จากสัตรีสุคน	จำนวน (%) อาสาสมัครที่ตอบคำถามถูกต้องจำแนกตามกลุ่มอาชีพและกลุ่มที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยง						จำนวน (%) รวมที่ตอบผิด	จำนวน(%) รวมที่ตอบไม่ทราบ
	คนในพื้นที่เสี่ยง	อสม/รพสต/ครู	เด็กนักเรียน	คนทั่วไป	นักท่องเที่ยว	จำนวนรวม		
รู้ว่าไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ พบได้ในน้ำลายค้างคาว	62/91 (68.1)	53/67 (79.1)	50/98 (51.0)	146/223 (65.5)	8/24 (33.3)	319/503 (63.4)	27/503 (5.4)	157/503 (31.2)
รู้ว่าไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ พบได้ใน เยี่ยวค้างคาว	56/92 (60.9)	51/67 (76.1)	53/97 (54.6)	135/224 (60.3)	9/25 (36.0)	304/505 (60.2)	35/505 (6.9)	166/505 (32.9)
รู้ว่าไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ พบได้ในเลือดค้างคาว	52/91 (57.1)	56/66 (84.8)	54/98 (55.1)	121/223 (54.3)	8/25 (32.0)	291/503 (57.9)	29/503 (5.8)	183/503 (36.4)
รู้ว่าไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ ทำให้หนูเป็นโรคทางระบบหายใจ	47/91 (51.6)	26/66 (39.4)	37/98 (37.8)	114/223 (51.1)	4/24 (16.7)	228/502 (45.4)	53/502 (10.6)	221/502 (44.0)
รู้ว่าไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ ยังไม่มียารักษา หรือวัคซีนป้องกันโรค	39/92 (42.4)	26/64 (40.6)	26/98 (26.5)	94/223 (42.2)	5/25 (20.0)	190/502 (37.8)	72/502 (14.3)	240/502 (47.8)
รู้ว่าไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ เคยระบาดที่ประเทศมาเลเซียเมื่อ พ.ศ.2541	29/91 (31.9)	26/66 (39.4)	33/98 (33.7)	72/223 (32.3)	7/25 (28.0)	167/503 (33.2)	27/503 (5.4)	309/503 (61.4)
รู้ว่าไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ยังไม่เคยระบาดที่ประเทศไทย	29/92 (31.5)	36/66 (54.5)	17/98 (17.3)	64/223 (28.7)	1/25 (4.0)	147/504 (29.2)	66/504 (13.1)	291/504 (57.7)
รู้ว่าไวรัสโรคสมองอักเสบนิปาห์ ระบาดที่บังกลาเทศ ตั้งแต่พ.ศ. 2545 - ปัจจุบัน	42/91 (46.2)	35/65 (53.8)	35/98 (35.7)	84/223 (37.7)	4/26 (15.4)	200/503 (39.8)	15/503 (3.0)	288/503 (57.3)
รู้ว่ากินผลไม้ที่ค้างคาวกัดแทะ อาจติดโรคสมองอักเสบนิปาห์ได้	70/93 (75.3)	57/66 (86.4)	70/98 (71.4)	151/221 (68.3)	9/26 (34.6)	357/504 (70.8)	19/504 (3.8)	128/504 (25.4)
รู้ว่าหากถูกค้างคาวกัด ต้องได้รับการรักษาเช่นเดียวกับโดนสุนัขกัด	77/94 (81.9)	56/67 (83.6)	62/98 (63.3)	163/223 (73.1)	13/26 (50.0)	371/508 (73.0)	27/508 (5.3)	110/508 (21.7)
รู้ว่าหากโดนค้างคาวเยี่ยวรด ควรรีบทำความสะอาดด้วยสบู่ทันที	84/94 (89.4)	64/67 (95.5)	88/98 (89.8)	172/223 (77.1)	17/26 (65.4)	425/508 (83.7)	15/508 (3.0)	68/508 (13.4)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

ความรู้เกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่ จากสัตรีสุคน	จำนวน (%) อาสาสมัครที่ตอบคำถามถูกต้องจำแนกตามกลุ่มอาชีพและกลุ่มที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยง						จำนวน (%) รวมที่ตอบผิด	จำนวน(%) รวมที่ตอบไม่ทราบ
	คนในพื้นที่เสี่ยง	อสม/รพสต/ครู	เด็กนักเรียน	คนทั่วไป	นักท่องเที่ยว	จำนวนรวม		
รู้ว่าไวรัสซิกา นำโรคจากค้างคาวสู่หมู และจากหมูสู่คน	47/94 (50.0)	32/65 (49.2)	42/98 (42.9)	105/223 (47.1)	12/26 (46.2)	238/506 (47.0)	64/506 (12.6)	204/506 (40.3)
รู้ว่าไวรัสซิกา ไม่ทำให้ค้างคาวเจ็บป่วย	32/92 (34.8)	25/65 (38.5)	29/96 (30.2)	80/223 (35.9)	8/26 (30.8)	174/502 (34.7)	72/502 (14.3)	256/502 (51.0)
รู้ว่าค้างคาวแม่ไก่ เป็นพาหะนำไวรัสซิกา	65/94 (69.1)	53/67 (79.1)	30/98 (30.6)	148/224 (66.1)	9/26 (34.6)	305/509 (59.9)	38/509 (7.5)	166/509 (32.6)
รู้ว่าค้างคาว เป็นพาหะของโรคอื่นๆ ได้นอกจากไวรัสซิกา เช่น โรคพิษสุนัขบ้า	24/94 (25.5)	22/65 (33.8)	32/98 (32.7)	61/219 (27.9)	9/26 (34.6)	148/502 (29.5)	141/502 (28.1)	213/502 (42.4)

ตารางที่ 2.5 เจตคติเกี่ยวกับการเตรียมความพร้อมของชุมชนในการรับมือกับโรคอุบัติใหม่

คำถาม เจตคติเกี่ยวกับการเตรียมความพร้อมของชุมชนในการรับมือกับโรคอุบัติใหม่	จำนวนอาสาสมัครที่ตอบคำถาม/จำนวนรวม (%)		
	ใช่	ไม่ใช่	ไม่ทราบ
ท่านคิดว่าคนในชุมชน มีความตื่นตัวโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน	271 / 331 (81.9)	60/331 (18.1)	0
ท่านคิดว่าฝ่ายบริหารของชุมชน มีความตื่นตัวโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน	263/458 (52.8)	50/458 (10.0)	185/458 (37.1)
ท่านคิดว่าฝ่ายสาธารณสุขของชุมชนมีความตื่นตัวต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน	364/507 (71.8)	36/507 (7.1)	107/507 (21.1)
โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน เป็นสิ่งไกลตัว	123/508 (24.2)	284/508 (55.9)	101/508 (19.9)
โรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ไม่น่าจะเกิดในชุมชนของท่าน	237/508 (46.7)	151/508 (29.7)	120/508 (23.6)
ชุมชนของท่าน มีการเตรียมความพร้อมหรือป้องกันโรคอุบัติใหม่	289/510 (56.7)	48/510 (9.4)	173/510 (33.9)
ชุมชนของท่าน ไม่มีความเสี่ยงต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน	182/509 (35.8)	184/509 (36.1)	143/509 (28.1)
เด็กนักเรียนรู้ข้อมูลความรู้อย่างพอเพียงเกี่ยวกับโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน	205/507 (40.4)	117/507 (23.1)	185/507 (36.5)
ทุกคน มีหน้าที่เป็นหูเป็นตาสอดส่องการเกิดโรคระบาดในชุมชน	420/509 (82.5)	23/509 (4.5)	66/509 (13.0)
ชุมชน มีการประชาสัมพันธ์ความรู้เกี่ยวกับสุขภาพและโรคร้ายใหม่ๆอยู่เสมอ	375/510 (73.5)	38/510 (7.5)	97/510 (19.0)
อสม. มีความรู้เพียงพอที่จะให้ข้อมูลด้านสุขภาพแก่ประชาชน	391/509 (76.8)	39/509 (7.7)	79/509 (15.5)

แบบสืบสวน อาการผู้ป่วย

ชื่อผู้ป่วย.....นามสกุล.....

เพศ ☐ หญิง ☐ ชาย อาชีพ.....

บ้านเลขที่.....หมู่..... ตำบล.....วัดหลวง.....อำเภอ.....พนัสนิคม.....จังหวัด.....ชลบุรี.....

วันที่ป่วย.....เดือน.....พ.ศ.....

วันที่เข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล.....เดือน.....พ.ศ.....

ชื่อสถานพยาบาล.....

ประวัติเกี่ยวกับอาการเจ็บป่วยทั่วไป (กา X ได้มากกว่า 1 ข้อ)

1.อาการไข้สูงกว่า 38 องศา ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี ☐ 3) มี แต่ไม่ได้วัดปรอท

2.น้ำมูก ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

3.ไอ+เจ็บคอ ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

ถ้ามี ไอ...เป็นแบบใด ☐ ก) ไอมีเสมหะขาว ☐ ข) ไอมีเสมหะเขียว ☐ ค) ไอแห้ง

4.ท้องเสีย(ถ่าย >3 ครั้งต่อวัน) ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

5.ปวดหัว ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

ถ้ามี ปวดหัว...เป็นแบบใด
 ก) ปวดเฉพาะเวลาใช้ขึ้น ☐ ข) ปวดตลอดเวลา
 ค) ปวดจนต้องตื่นกลางดึก ☐ ง) ปวดจนรู้สึกคอแข็งก้มไม่ได้

6.คลื่นไส้อาเจียน ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

ถ้ามี คลื่นไส้อาเจียน...เป็นแบบใด ก) เป็นเฉพาะตอนกินข้าว ข) เป็นเฉพาะตอนปวดหัว ค) ไม่เฉพาะเจาะจง

7.อาการเหนื่อย ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มีหรือมีแต่ไม่รุนแรง

ถ้ามี เหนื่อย...เป็นแบบใด
 ก) หายใจไม่เต็มปอด อาบน้ำ แปรงฟันก็เหนื่อย ข) เหนื่อยหอบนอนราบไม่ได้
 ค) หอบหายใจเสียงวี๊ดๆ ☐ ง) เหนื่อยหอบ ขาและใบหน้าบวม

ภาคผนวก 6

8. ผื่นที่เกิดขึ้นพร้อมอาการป่วย ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

9. ปัสสาวะ ☐ 1) ปัสสาวะได้ปกติ ☐ 2) ปวดปัสสาวะแต่ปัสสาวะไม่ออกตลอดทั้งวัน

☐ 3) ปัสสาวะแสบขัด สีปัสสาวะขุ่น ปัสสาวะออกกะปริดกะปรอย

อาการทางระบบประสาท

10. แขนขาอ่อนแรง ☐ 1) มีอาการ ☐ 2) ไม่มีอาการ

ถ้ามี แขนขาอ่อนแรง...เป็นแบบใด

ก) อ่อนแรงเป็นซีก ซ้ายหรือขวา ข) อ่อนแรงขา2ข้าง ค) อ่อนแรงแขนหรือขาเพียงข้างเดียว

ง) อ่อนแรงแขนและขา 4 ข้างมากจนเดินไม่ถนัด จ) อ่อนแรงแขนขาทั่วตัวเล็กน้อย เดินได้ปกติ

11. ขาหนานๆหรือหยิกไม่เจ็บ ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

ถ้ามี ขาหนานๆหรือหยิกไม่เจ็บ...เป็นแบบใด

ก) ขาเป็นซีกซ้าย/ขวา

ข) ขาขา 2 ข้าง

ค) ขาทั่วตัว

ง) ขาแขนหรือขาเพียงข้างเดียว

12. ชักหรือกระตุกตามร่างกาย ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

ถ้ามี ชักกระตุกตามร่างกาย...เป็นแบบใด

ก) เรียกไม่รู้ตัวระหว่างชักหรือกระตุก

ข) เรียกรู้ตัวดีขณะชักหรือกระตุก

ประวัติอดีต

13. โรคประจำตัว ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

ถ้ามี โรคประจำตัว..ป่วยเป็นโรคใดบ้าง (เลือกได้มากกว่า 1 ข้อ)

ก) เบาหวาน ข) ความดันโลหิตสูง ค) โรคหัวใจ ง) โรคปอด จ) โรคอัมพฤกษ์อัมพาต

ฉ) โรคไขมันในเลือดสูง ช) โรคไต ซ) โรคอื่นๆ ระบุ_____

14. ยาที่ใช้ประจำ ☐ 1) มี ☐ 2) ไม่มี

ถ้ามี ยาที่ใช้ประจำ..ได้แก่ ก) ยาสำหรับโรคประจำตัว

ข) ยาแก้ปวดอื่นๆ

ค) ยาชุด ยาหม้อ ยาลูกกลอน

ง) ยาอื่นๆ ระบุ_____

ประวัติปัจจัยเสี่ยง

15. สัมผัสสัตว์ เช่น เลี้ยง-ดูแล / เล่น-หยอกล้อ/ ให้อาหาร/ ถูกกัด-ข่วน-เลีย /สัมผัสน้ำลาย-ขี้-เยี่ยว-เลือด
ชนิดใดบ้าง (เลือกได้มากกว่า 1 ข้อ)

☐ หมา ☐ แมว ☐ ค้างคาว ☐ หมู ☐ นก ☐ อื่นๆ ระบุ_____

16. เคยสัมผัสสัตว์ป่วย ☐ 1) มี ระบุชนิดสัตว์_____ ☐ 2) ไม่มี

17. เคยอยู่ใกล้ชิดคนป่วยในช่วง 4 สัปดาห์ก่อนการป่วยครั้งนี้

☐ 1) มี ผู้เจ็บป่วยใกล้ชิด ระบุความเกี่ยวข้อง_____ ระบุโรคที่ป่วย_____

☐ 2) ไม่มี

18. เคยเดินทางไปต่างถิ่น ในช่วง 4 สัปดาห์ก่อนการป่วยครั้งนี้

☐ 1) มี ระบุจังหวัด_____ ☐ 2) ไม่มี

19. เคยมีสัตว์ในชุมชนตายผิดปกติในช่วง 4 สัปดาห์ก่อนอาการป่วยครั้งนี้

☐ 1) มี ระบุชนิดสัตว์_____ ☐ 2) ไม่มี ☐ 3) ไม่ทราบ

.....

สรุปการวินิจฉัยเบื้องต้น

☐ 1) โรคระบบทางเดินหายใจส่วนบน ☐ 2) โรคระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง ☐ 3) โรคระบบทางเดินอาหาร

☐ 4) โรคระบบไหลเวียน ☐ 5) โรคระบบทางเดินปัสสาวะ ☐ 6) โรคระบบประสาท

☐ 7) โรคระบบอื่นๆ (ระบุ)_____

หมายเหตุ.....

.....

.....

ชื่อ-สกุล ผู้สืบสวน.....

วันที่เก็บข้อมูล.....เดือน.....พ.ศ.....

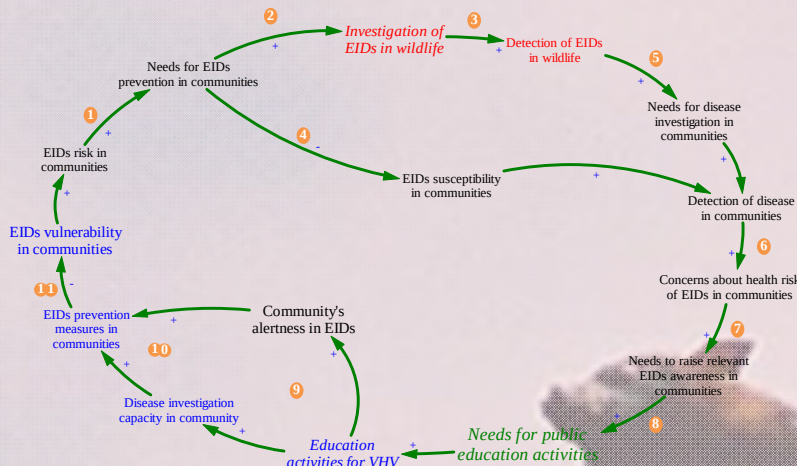
Development of a public education module to raise public participation in emerging infectious diseases preparedness

Supaporn Wacharapluesadee,¹ Chirapol Sintunawa,² Abhinbhen Saraya,¹ Natthapaninee Thanomsridetchai,¹ Henry Wilde,¹ Thiravat Hemachudha¹

WHO-CC for Research and Training on Viral Zoonoses, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University Bangkok, ¹ Faculty of Faculty of Environment and Resource Studies, Mahodol University, Bangkok, ² Thailand

Background One health approach in tackling emerging infectious diseases (EIDs) originated from wildlife is mandatory.

This requires collaboration among people in different fields of animal and human diseases. Nipah virus (NiV) outbreaks have been continually reported in South and Southeast Asian regions with bats as main reservoirs. Although there has been no report of diseases caused by NiV infection in humans or pigs in Thailand, as many as 8 % of Pteropid bats had NiV infection¹. The community based public education and participation are considered as effective prevention measures.



Emerging infectious disease Public education and participation

Objective To develop the public education and participation module on the prevention of NiV outbreak in the communities

- As emerging infectious disease (EIDs) risk increases, needs for EID prevention will also be increased
- As needs are perceived increasingly, surveillance activities for investigation of EIDs in wildlife will be intensified
- High intensity of surveillance on EIDs in wildlife will lead to a better and earlier detection of EID pathogens
- The higher degree of EIDs prevention in communities will result in reduction of community's susceptibility to EIDs
- As EIDs in wildlife are detected, there will required more needs for EID investigation in communities
- The higher frequency of detection of EIDs in communities will raise communities' concerns on EIDs
- The more concerns about risks of EID in the community, the increased needs to raise community's EID awareness
- Raising community's EID awareness needs public education activities
- As people in the communities are educated, they will be promptly alerted to EIDs once there appears outbreak and be able to report and to jointly/cooperatively investigate EIDs
- Higher degree of alertness and better capacity to investigate EIDs will positively drive prevention measures of EIDs in communities
- Implementations of EID prevention measures in communities will proportionally reduce vulnerability to EIDs in communities

Methodology



Major Findings

Study of NiV serosurveillance and risk behaviors assessment in the village where NiV positive bats were found.

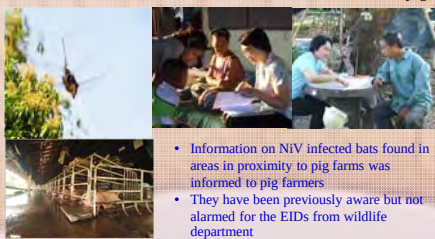


NiV serology result: All 418 villagers were NiV IgG NEGATIVE

Investigation of risk behaviors to NiV transmission

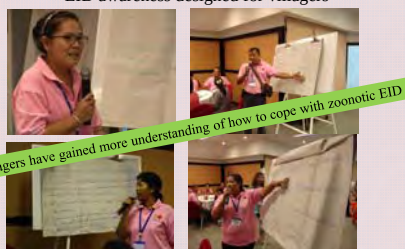
- Subject number = 418
- Male = 153, Female = 265
- Age 7-93 year olds
- Study location: Wat Luang sub-district, Choburi province where NiV RNA was periodically found in bat excreta
- Risk group = villagers living, working, studying, passing by or having activity predisposed to exposure to bat or its excreta
- Behaviors/conditions of risk group: contact with bat urine/feces, eat falling fruits, eat partially eaten fruits, play hide and seek; possess or work in rice field / animal farm or stable at backyard, bat roosts near living place

Raising the awareness in the community: Education of pig farmers about the risks of NiV transmission from bat to pigs



- Information on NiV infected bats found in areas in proximity to pig farms was informed to pig farmers
- They have been previously aware but not alarmed for the EIDs from wildlife department

Development of Public education program for EID awareness designed for villagers

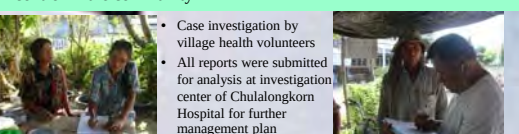


Lessons Learned

Creating awareness/alertness in the community: Key in the sustainability of EID prevention measures



Real-time/on-site disease investigation: Strong motivation for EID control in the community



Acknowledgements We acknowledge active support from the Thai Red Cross Society, Chulalongkorn University, Department of Livestock Development, Department of National Parks Wildlife and Plant Conservation, Department of Disease Control, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), and the enthusiastic help of our villagers. Financial supports came from the Thailand Research Fund (RDG5420089), and by the US Naval Health Research Center BAA-10-93 under Cooperative Agreement Number W911NF-11-2-0041.

Reference

- Wacharapluesadee S, et al. Bat Nipah virus, Thailand. Emerg Infect Dis. 2005;11:1949-51.





Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management

Thiravat Hemachudha, Gabriella Ugolini, Supaporn Wacharapluesadee, Witaya Sungkarat, Shanop Shuangshoti, Jiraporn Laothamatas

Lancet Neurol 2013; 12: 498–513

WHO Collaborating Centre for Research and Training on Viral Zoonoses, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University and King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok, Thailand (Prof T Hemachudha MD, S Wacharapluesadee PhD, Prof S Shuangshoti MD); Neurobiology and Development (UPR3294), Institute of Neurobiology Alfred Fessard, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Gif-sur-Yvette, France (G Ugolini PhD); Advanced Diagnostic Imaging (AIMC) and Department of Radiology, Ramathibodi Hospital, Faculty of Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand (W Sungkarat PhD, J Laothamatas MD)

Correspondence to: Prof Thiravat Hemachudha, WHO Collaborating Centre for Research and Training on Viral Zoonoses, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University and King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok 10330, Thailand
fmedthm@gmail.com
th-cu@usa.net

Rabies is an almost invariably fatal disease that can present as classic furious rabies or paralytic rabies. Recovery has been reported in only a few patients, most of whom were infected with bat rabies virus variants, and has been associated with promptness of host immune response and spontaneous (immune) virus clearance. Viral mechanisms that have evolved to minimise damage to the CNS but enable the virus to spread might explain why survivors have overall good functional recovery. The shorter survival of patients with furious rabies compared with those with paralytic rabies closely corresponds to the greater amount of virus and lower immune response in the CNS of patients with the furious form. Rabies virus is present in the CNS long before symptom onset: subclinical anterior horn cell dysfunction and abnormal brain MRI in patients with furious rabies are evident days before brain symptoms develop. How the virus produces its devastating effects and how it selectively impairs behaviour in patients with furious rabies and the peripheral nerves of patients with paralytic rabies is beginning to be understood. However, to develop a pragmatic treatment strategy, a thorough understanding of the neuropathogenetic mechanisms is needed.

Introduction

Rabies caused by rabies virus (RABV) genotype 1 is one of the most common fatal infections worldwide. It is mainly associated with dog bites in Europe, Asia, and Africa and with bats in the Americas.¹ Two-thirds of patients infected with dog RABV variants present with classic furious rabies (characterised by fluctuating consciousness and changed mental status, phobic or inspiratory spasms, and autonomic stimulation signs). The remaining third develop paralytic rabies, which resembles Guillain-Barré syndrome, although progression to coma, myoedema, and bladder incontinence clearly differentiate these two disorders (table).^{2,3} Rabies associated with bat RABV variants has atypical features, such as focal brainstem signs, myoclonus, hemichorea, and signs and symptoms of Horner's syndrome.^{3,4}

In other infectious encephalitides, damage can be shown by gross pathology, whereas in rabies the CNS seems healthy post mortem, with only minimal neuronal loss and varying degrees of evidence of inflammatory reactions. This finding might be explained by the unique multilevel strategy that RABV has evolved to prevent viral clearance; RABV uses replication mechanisms that delay severe compromise of host cell metabolism and has the capacity to prevent apoptosis and evade innate and adaptive immune responses, which otherwise would promote changes in blood–brain barrier permeability and combat viral progression.¹⁰ MRI of the brain of patients with rabies reveals only subtle changes and the absence of gadolinium-enhanced lesions.^{6,7} With contrast imaging, mild to intense inflammation is noted mainly in patients with rabies contracted after organ transplantation and in comatose patients infected with dog RABV variants.^{6,7,11,12}

Attempts to treat symptomatic patients infected with dog RABV variants with therapeutics and intensive care support are usually unsuccessful. A few patients who survived infection with bat RABV variants with good functional recovery had evidence of an early immune

response, measured by neutralising or non-neutralising antibody to RABV in blood and CSF, with no RNA or virus detected in samples of biological fluids or hair follicles.^{13–18} Therefore, a good outcome might depend on the promptness of the host response in the eradication of virus in both the CNS and periphery.¹⁴

In this Review, we summarise relevant data acquired from our studies of patients infected with dog RABV variants and from animal models associated with RABV genotype 1 infection. We extrapolate these data to explain the various clinical phases in furious and paralytic rabies caused by infection with dog RABV variants. We use a dog model with naturally acquired rabies to explain clinical diversities; this model exhibits clinical patterns similar to those seen in man, with an incubation period of weeks to months, and it allows in-vivo studies of CNS abnormalities and blood–brain barrier status by MRI. Results suggest that the immune system is unlikely to have a role in the acceleration of death, especially in furious rabies.^{3,19}

Clinical features

The clinical stages of rabies are: incubation, prodrome, acute neurological signs, coma, and death.³ Average survival (from clinical onset to death, with partial or no intensive care support) of 80 patients with furious rabies and 35 with paralytic rabies after infection with a dog RABV variant in Thailand between 1988 and 2004 was 5.7 and 11 days, respectively (data compiled from previously published reports; table).² These survival times did not substantially differ from those reported in India between 1980 and 2007.^{20,21} Survival can be extended to 1 month or longer in patients receiving intensive care support.¹²

Weakness at the bitten extremities might be evident at initial presentation, although subsequent progression can be in the form of either furious or paralytic rabies.^{5,22} Although all cardinal features of furious rabies (eg, fluctuating consciousness, hydrophobia or aerophobia,

	Furious	Paralytic
General features in patients infected with dog RABV variants		
Prevalence ²	2/3 (67%)	1/3 (33%)
Average survival without intensive care support ²	5·7 days (n=80)	11 days (n=35)
Location of bite and relation to unsuccessful immunisation ²⁻⁴	Anywhere; not related	Anywhere; not related
Prodromal symptoms ²⁻⁴	Non-specific with local neuropathic pain in a third of patients	Non-specific with local neuropathic pain in a third of patients
Rabies characteristics ^{*2-4}	Present, but might not be seen at all stages	None or minimal, phobic spasms in only half, inspiratory spasms might not be obvious due to weakness of neck muscles and diaphragm; percussion myoedema at deltoids and chest wall (in the absence of hyponatraemia, renal failure, hypothyroidism, and severe cachexia)
Sensory deficits ²⁻⁴	At bitten segment due to ganglionitis; loss of pinprick sensation followed by loss of joint position sense	At bitten segment due to ganglionitis; loss of pinprick sensation followed by loss of joint position sense
Flaccid weakness with areflexia ²⁻⁴	Appears only when comatose	Ascending pure motor weakness, predominantly involving proximal and facial musculature as initial manifestation, while consciousness is fully preserved
Electrophysiological features ^{2,5}	Subclinical anterior horn cell dysfunction; sensory neuronopathy in patients with local neuropathic symptoms	Evidence of peripheral demyelination or axonopathy; sensory neuronopathy in patients with local neuropathic symptoms
MRI findings in patients infected with dog RABV variants^{6,7}		
Prodromal phase	Enhancing hypersignal T2 changes along the brachial plexus and associated spinal nerve roots at levels corresponding with the bitten extremity; non-enhancing ill-defined mild hypersignal T2 changes of the spinal cord, temporal lobe cortices, hippocampal gyri, and cerebral white matter	Enhancing hypersignal T2 changes along the brachial plexus and associated spinal nerve roots at levels corresponding with the bitten extremity; non-enhancing ill-defined mild hypersignal T2 changes of the spinal cord, temporal lobe cortices, hippocampal gyri, and cerebral white matter
Acute neurological (non-comatose) phase	Progression of abnormal hypersignal T2 changes	Progression of abnormal hypersignal T2 changes
Comatose phase	Moderate gadolinium enhancement, especially in limbic structures, thalamus, substantia nigra, tectal plates, brainstem, deep grey matter, cranial nerve nuclei, spinal cord, and cranial and spinal nerve roots	Moderate gadolinium enhancement, especially in limbic structures, thalamus, substantia nigra, tectal plates, brainstem, deep grey matter, cranial nerve nuclei, spinal cord, and cranial and spinal nerve roots
General features of early-stage rabies in naturally infected dogs⁷⁻⁹		
Viral load in brain structures ⁸	Several times greater than paralytic at all 12 regions examined	Several times lower than furious at all 12 regions examined
Cytokine or chemokine mRNA transcripts ⁸	Barely detected; TNFα detectable but at non-significant concentration	TNFα, interferon γ, and interleukin 1β
FLAIR signal abnormality indicative of macrocellular damage revealed by MRI ^{†8}	Faint signal in cervical cord, brainstem, temporal lobes, and cerebral hemispheres†	Moderate-to-intense signal in hypothalamus, brainstem, cervical cord, and temporal lobes†
Blood-brain barrier status (examined by presence or absence of contrast-enhanced lesion) ^{†8}	Intact; no contrast-enhanced lesion	Intact; no contrast-enhanced lesion
Neuropathology ⁹	Caudal-rostral polarity of viral antigen; greater viral antigen reported in many regions, including frontal and occipital cortices and most spinal cord levels; inflammation generally mild throughout the CNS	Prominent inflammation in brainstem, in association with lower extent of viral antigen; caudal-rostral polarity of viral antigen
RABV=rabies virus. TNFα=tumour necrosis factor α. FLAIR=fluid-attenuated inversion recovery. *Change in consciousness, phobic spasms, spontaneous inspiratory spasms, and autonomic dysfunctions. †See figure 4 for more details.		
Table: Features of furious and paralytic rabies in patients infected with dog RABV variants and in naturally infected dogs		

inspiratory spasms, signs of autonomic dysfunction) are seen in most patients with this form of the disease, they might not be evident at the same time, and disappear during coma. Comatose patients with furious rabies (or those near to coma) develop flaccid limb weakness, which has been frequently misinterpreted as paralytic rabies. Conversely, lower motor neuron ascending weakness with only motor disturbance is

the initial manifestation of paralytic rabies,⁵ in which consciousness is preserved until the preterminal phase (table).²

Atypical signs and symptoms of rabies associated with infection with either bat or dog RABV variants have been increasingly recognised.^{3,4,13,23} Presentation of transverse myelitis as neuromyelitis optica or tetanus-like symptoms with locked jaw have been reported.^{24,25}

Pathogenesis and pathophysiology

The transfer of RABV-containing saliva from a bite from an infected animal is the most efficient route of transmission. Other routes of transmission include: inhalation of aerosolised RABV; tissue and organ transplants; handling and skinning of infected carcasses; and contamination of an open wound, scratch, abrasion, or mucous membrane by infected saliva or neural tissue.³ The efficiency of bite transmission depends on virus inocula and viral tissue tropism. The likelihood of infection with dog RABV variants is highest after deep bites that reach the muscle, because the virus can only infect motor endplates in the muscle, and uptake by sensory and sympathetic nerve endings in the muscle does not occur.^{26–34} Entry via the motor route is determined by the presence at the neuromuscular junction (but not at sensory or autonomic endings) of the nicotinic acetylcholine receptor (on the postsynaptic site), which binds RABV, promoting neural cell adhesion molecule-mediated uptake by motor endplates.^{28,35} Viraemia does not occur.³⁶ Whether a sensory pathway occurs after infection with dog RABV variants through a cutaneous lesion (ie, no access to motor endplates) is still unclear, because confirmatory experiments have not yet been done. Postexposure prophylaxis (PEP) with vaccine alone is needed in patients with minor skin lesions inflicted by a dog infected with RABV.

By contrast, patients with a negligible scratch to the skin inflicted by a bat infected with RABV are at very high risk of infection³ because bat RABV variants, unlike dog RABV variants, are able to multiply in epidermal cells *in vitro*.³⁷ The higher incidence of local neuropathic pain in patients with bat RABV variant rabies (70%) than in dog-related cases (30%),^{3,4} and signs and symptoms of Horner's syndrome and other atypical rabies features, might suggest additional (or alternative) transmission of bat RABV variants via sensory or sympathetic skin innervation, which should be investigated.²⁸

Incubation period

The incubation period or eclipse phase can vary from weeks to years, but lasts 1–2 months on average. The

incubation period is an intriguing feature in rabies and does not depend on bite location or clinical form.³ During most of the incubation, RABV lies in the muscle as a so-called smouldering, or low-replication-rate, infection³⁸ that remains confined to the inoculated portion of the muscle.^{28,31} Immune recognition at this focal site might not be adequate. Dendritic cells—ie, antigen-presenting cells that have a key role in triggering both innate and adaptive immune responses³⁹—are insufficiently activated by naturally acquired (street) RABV infection.^{40–42} The long incubation period is probably caused by low titre inocula and by the existence of endogenous RNA-silencing mechanisms or microRNAs (miRNAs) that slow down viral replication in the muscle.⁴³ In fact, the muscle-specific miRNA mir-133, which is predicted to bind to both the nucleoprotein and glycoprotein transcripts of RABV,⁴⁴ has been shown to substantially reduce expression of rabies viral protein in transfected Neuro-2a cells.⁴⁵ With high titre inocula, however, RABV is able to infect motor endplates without previous replication in the muscle, as shown in rodent and primate models;^{28–31} moreover, with high titre inocula, uptake without previous replication can also occur by motor axons after inoculation directly into nerves.^{46,47} This finding might explain the exceptionally short incubation times in human rabies that usually occur in association with penetrating nerve injury.³

Mechanisms for clinical diversity in furious and paralytic rabies in man

By the time a patient develops the first prodromal symptoms, such as fever, flu-like symptoms, and gastrointestinal disturbances, the virus is already widely disseminated throughout the CNS.^{5,6} A more localised prodrome or neuropathic pain (eg, paraesthesia, allodynia, burning sensation) is a sign of dorsal root ganglia dysfunction as a result of immune attack (table).⁵ A case study of the clinical features of a patient with furious rabies is described in panel 1 and figure 1, and of a patient with the paralytic form in panel 2.

Pathways of propagation of RABV and relation with clinical prodrome

The spinal propagation sequence of RABV in man after a deep bite to the left wrist (as in the patient with furious rabies in panel 1 and figure 1) has been extrapolated from a combined analysis of studies of RABV propagation in animal models^{28,29,31,32,38,49–55} (ie, intramuscular inoculation of naturally acquired RABV in skunks^{38,53} and hamsters,^{50–52} and intramuscular inoculations of fixed RABV challenge virus standard [CVS] strain or derived recombinants in rodents^{29,54,55} and primates^{28,31,32,49}) and knowledge of spinal connectivity (figure 2).^{56–58} The relation between the spinal propagation sequence and prodromal symptoms and signs in the patient with furious rabies described in panel 1 and figure 1 is summarised (figure 3). Notably, when classic

Panel 1: Clinical features of a patient with furious rabies

A man aged 50 years who had been bitten by a dog on his left wrist 7 weeks earlier⁶ had prodromal symptoms of severe aching pain and paraesthesias on his left hand and arm (figure 1). MRI of the brain, 3 days after onset, showed an ill-defined mild hyperintensity change involving the deep and subcortical white matter, hippocampal gyri, brainstem, and cervical cord.⁶ Slight progression of MRI disturbances was noted on day 7. CSF examination showed two lymphocytes and 40 mg/dL protein. Rabies viral RNA was detected in his saliva 2 days after admission, but not in the CSF specimen.⁴⁸ He survived for 8 days.

experimental studies of naturally acquired RABV propagation^{50–53} are revisited in the context of recent neuroanatomical investigations, taking into account current knowledge on CNS connectivity, the propagation properties of naturally acquired RABV of canine origin seem to be indistinguishable from those of fixed RABV (CVS strain), which is consistent with retrograde transneuronal transfer via the motor route.

Centripetal propagation

From the infected muscles, centripetal propagation of RABV occurs only via the motor route and is mediated exclusively by retrograde transneuronal transfer from motor neurons, which begins 2 days after uptake from motor endplates and proceeds at high speed (12-h intervals for each synaptic step, irrespective of distance).^{28,49} By day 4 after onset of infection in the motor neurons, connected spinal interneurons and ipsilateral (low cervical and upper thoracic) dorsal root ganglia innervating the bitten arm are heavily infected.^{53,54} Dorsal root ganglia infection first involves large neurons in dorsal root ganglia (proprioceptive Ia and II afferents and other large myelinated afferents targeting infected motor neurons and interneurons; figure 2); proprioceptive dorsal root ganglia innervating motor neurons of antagonist muscles are also infected (via Ia inhibitory interneurons). Small dorsal root ganglia neurons (unmyelinated and small myelinated afferents), which target higher-order interneurons in the dorsal horn, are infected later in the course of infection (figure 2). Via spinal interneuronal pathways, the infection rapidly involves bilateral cervical and thoracic dorsal root ganglia supplying the contralateral arm, the neck and back, and, later, lumbosacral dorsal root ganglia (figure 2).^{51,53} In parallel, retrograde transneuronal transfer leads to infection of brainstem and corticospinal pathways targeting the infected spinal motor neurons and interneurons, and higher-order CNS neurons.^{28,29,32,49,50,53,55}

Centrifugal propagation

A slow phase of centrifugal (anterograde) propagation can only begin 2 days after replication in each infected neuronal population, and leads to viral transport to the ventral and dorsal roots and centrifugal spread to extraneural organs via their sensory innervations^{38,50–52,59}—ie, to muscle spindles (via large dorsal root ganglia neurons), skin (via cutaneous afferents from large and small dorsal root ganglia neurons), and to immune and visceral organs, including the salivary glands, heart, and blood vessels (via small dorsal root ganglia neurons). Centrifugal viral propagation to visceral organs⁵⁹ is probably mediated by dorsal root ganglia neurons that supply, via dichotomising axons, both somatic and visceral nerves and organs (eg, left ulnar nerve and the heart) and several visceral organs.^{60,61} These pathways form an anatomical substrate for referred pain and cross-organ sensitisation. Centrifugal propagation to extraneural

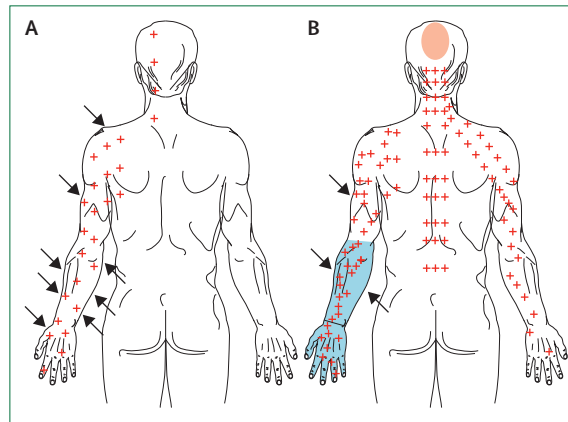


Figure 1: Clinical diversity in a patient with furious rabies

See panel 1 for background information. On day 3 after onset (A), the patient's mental state was clear but he had pain in his left arm (arrows). The only abnormality on electrodiagnostic studies was the presence of abundant fibrillations and positive sharp waves in left C5–C8 limb and cervical paraspinal muscles (+). His motor and sensory functions were intact. Diminished-to-absent deep tendon reflexes were noted in the left arm. On day 5 (not shown), sensory nerve action potential (SNAP) amplitudes had reduced by about 50% in the left upper limb nerves compared with those on the right side. Diminished pinprick sensation up to his elbow was noted (shaded area in B) and the pain became intense. By day 6 (B), SNAP amplitudes had reduced further on the left upper extremity, and fibrillations and positive sharp waves involving bilateral C5–C7 limb and paraspinal muscles had progressed (+). Results of motor conduction studies, including F-waves, remained normal. Mild weakness of left hand and wrist muscles was detected. Pain was less severe than in previous days and tolerable. The diminished sensation in the area up to the left elbow (shaded area in B) had progressed slightly, along with absence of deep tendon reflexes and joint position sense of the left arm. He was confused and disoriented (circle in B), and he died on day 8. Reproduced from Hemachudha and colleagues,²³ by permission of Springer.

Panel 2: Clinical features of a patient with paralytic rabies

A man aged 34 years who had been bitten by a dog on his right ankle 2 months earlier had severe itching and piloerection on his right leg that progressed to his left leg within 2 days after presentation.⁵ On admission (day 3 after onset), he showed no detectable weakness. Reflexes were 1+ (diminished) in the right lower limb and 2+ (normal) in the other limbs. Hypoaesthesia to pinprick sensation was present on his right leg up to the groin. By day 4, paraparesis was noted, and reflexes were absent in both lower limbs and highly diminished in the upper limbs. On day 6, facial diparesis and bulbar dysfunction were noted, and he was later intubated. He became agitated on day 7 and died on day 9. His CSF was acellular with 70 mg/dL protein. RNA was detected in the CSF on day 3 but not on day 7; saliva was negative for RNA on days 3 and 7.⁴⁸

organs is related to the topography of viscerotopic sensory innervation⁶⁰ and is distance-dependent; because anterograde axonal transport of RABV is inefficient,^{28,49} it might take weeks to reach remote organs. Progressive functional changes in infected sensory innervation of extraneural organs (including the heart and autonomic plexuses) might explain organ dysfunction and possibly

even dysautonomia in patients with rabies. Although extraneural organs from which RABV can be detected also receive autonomic innervation, the autonomic nerve supply is unlikely to contribute to centrifugal spread. Experimental evidence after RABV inoculation into skeletal muscles shows that autonomic involvement (of spinal preganglionic neurons in the central autonomic area) is a rare and indirect event that is not indicative of peripheral uptake and might only begin quite late, via intraspinal pathways.^{28,29} Similarly, post-mortem ultrastructural findings in a case report of a patient with furious rabies showed that cytoplasmic virus inclusions were abundant in sensory ganglia but rarely detected in sympathetic ganglia.⁶²

During centrifugal spread, RABV antigen can also be carried to lymph nodes,⁶³ both directly via their sensory innervation⁶⁴ and indirectly via virus budding from

axons⁵¹ and draining of antigen to the lymph nodes. We postulate that high virus load in extraneural organs due to centrifugal spread^{38,50–52,59} helps dendritic cell activation and migration, triggering T-cell stimulation in lymph nodes and the adaptive immune response. In both cases (ie, direct or indirect transport of virus to lymph nodes), virus and activated dendritic cells will first reach regional lymph nodes, which explains why T-lymphocyte activation occurs earlier in regional lymph nodes than in lymph nodes at other locations.⁶⁵ Although the clinical stages of rabies are too advanced to enable any definite conclusions to be drawn, it is possible in a patient such as the one with furious rabies presented in figure 1 and 2 and panel 1, that once RABV has reached spinal motor neurons, it would take 3–4 days to infect the cervical dorsal root ganglia innervating the arm and skin of the neck,^{51,52} a further 2 days before centrifugal transport in sensory axons begins, another 3 days for transport to neck hair follicles and skin,^{51,52} and maybe 4 more days before reaching the regional (neck or axillary) lymph nodes. A further 4 days might then pass before T-cell activation in lymph nodes occurs⁶⁶ and maybe another

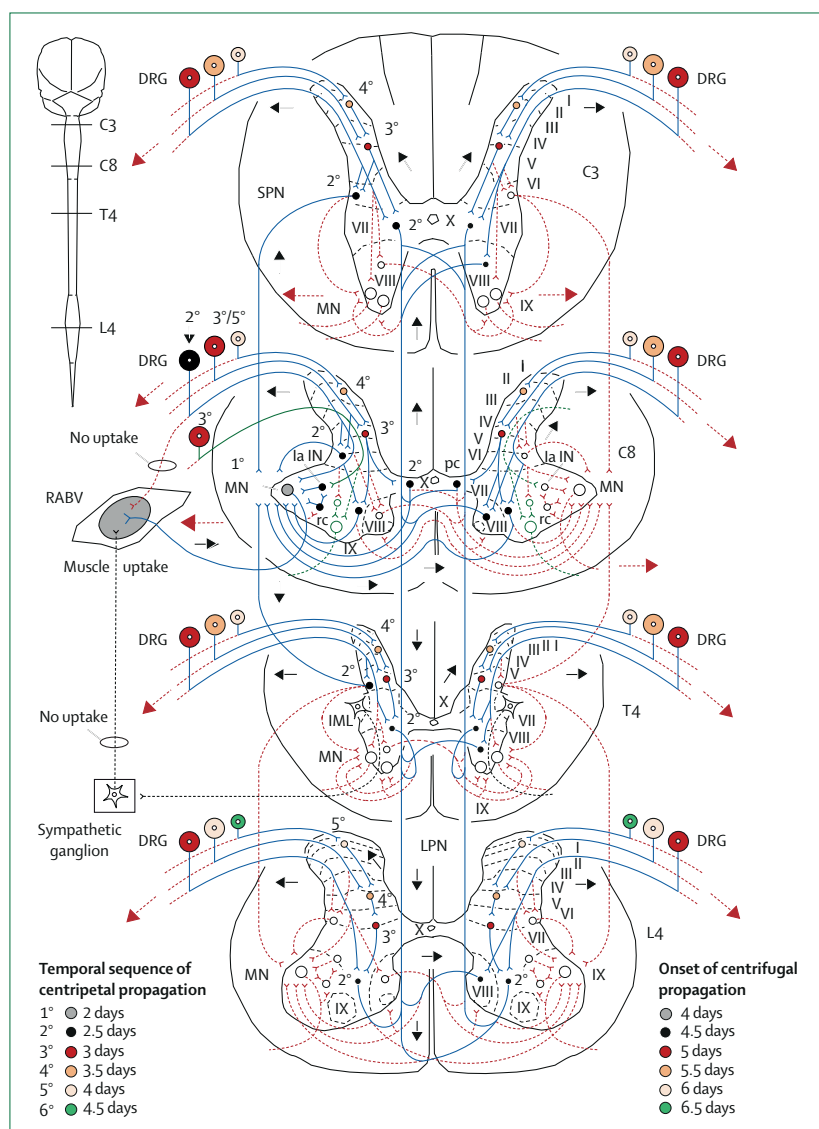


Figure 2: Pathways of propagation of RABV to and from the spinal cord

The diagram depicts propagation after a deep bite by a rabid animal on the left wrist (as in the patient described in panel 1 and figure 1). Spinal cord line drawing (top left) shows location of spinal segments. Fine dashed black lines in main image show borders of spinal laminae (I–X). Rabies virus (RABV) uptake from the muscle occurs exclusively via the motor route (first-order neurons [1°]), with no infection of sensory (proprioceptive dorsal root ganglia) and autonomic neurons innervating the same muscle.^{28,29,49} Centripetal propagation to the spinal cord is represented by solid blue lines (solid green for antagonists at C8) and coloured circular markers (colour-coded according to synaptic order, see key on left side of figure); black arrows show transport direction. RABV propagates exclusively by retrograde transneuronal transfer, from infected motor neurons (1°, grey-coloured circular marker, C8 left) to monosynaptically connected spinal interneurons and dorsal root ganglia populations (second-order neurons [2°], black-coloured circular markers).^{29,54,55} Dorsal root ganglia populations include: large proprioceptive dorsal root ganglia neurons (group Ia and II afferents) of low cervical or first thoracic segments ipsilaterally;^{54,56,57} short propriospinal neurons ipsilaterally in laminae V–VII (lateral part) of cervical or upper thoracic segments, which receive both dorsal root ganglia afferents and corticospinal, rubrospinal, and reticulospinal inputs and innervate arm muscles ipsilaterally;^{56,57} and long propriospinal neurons bilaterally in laminae VII, VIII, and X (including cholinergic populations in lamina X⁵⁹ and partition cells⁶⁴), which connect nearly the entire length of the spinal cord and innervate motor neurons of axial, proximal, and distal muscles bilaterally. The long propriospinal neurons receive both dorsal root ganglia afferents and reticulospinal, vestibulospinal, and corticospinal pathways, are involved in a variety of reflex pathways, and are part of spinal locomotor networks.^{36–58} Among 2° in lamina VII are Renshaw cells, Ia inhibitory interneurons, and Ib and II interneurons (in VII–VI). Further steps of retrograde transneuronal transfer from 2° result in infection of higher-order interneurons and dorsal root ganglia populations. Proprioceptive dorsal root ganglia innervating motor neurons of antagonist muscles (3°, solid green pathway at C8) are also infected (via Ia interneurons, 2°, which are pathways for reciprocal inhibition). Centrifugal (anterograde) propagation of RABV (open coloured circular markers and dashed red lines, or dashed green lines for antagonists at C8) is a slow (distance-dependent) process (see key on right side of figure), causing infection of other interneurons and motor neurons. Centrifugal transport of RABV from the spinal cord occurs in motor and sensory axons^{50–52} (large red arrows), leading to infection of extraneural organs via their sensory innervation.^{38,50–52,59} DRG=dorsal root ganglia. Ia IN=Ia inhibitory interneurons. IML=intermediolateral cell group. LPN=long propriospinal neurons. MN=motor neuron. pc=partition cell. rc=Renshaw cells. SPN=short propriospinal neurons.

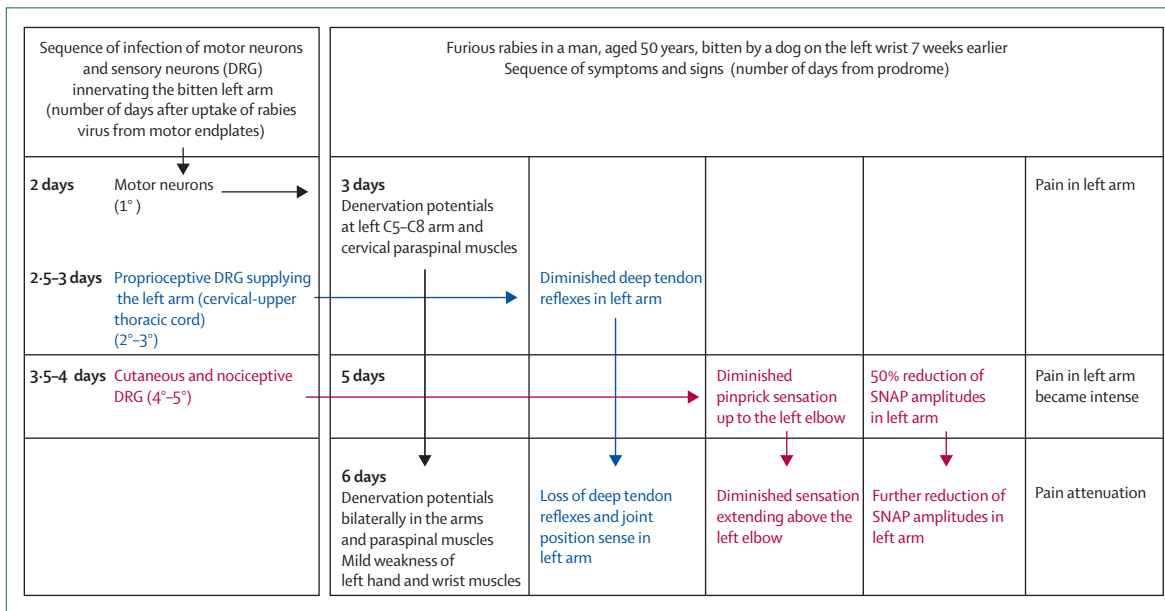


Figure 3: Association between prodromal symptoms and signs and spinal propagation of rabies virus in a patient with furious rabies

1°=first-order neuron. 2°=second-order neuron. 3°=third-order neuron. 4°=fourth-order neuron. 5°=fifth-order neuron. DRG=dorsal root ganglia. SNAP=sensory nerve action potential.

3 days for ganglionopathy and neuropathic pain to begin (prodrome onset). The total estimated period (3 weeks) is well below the 7-week incubation in the patient described in figure 1 and panel 1, suggesting that he might have had low-level infection in his muscles for up to 4 weeks. The extensive centripetal and centrifugal viral propagation that had already occurred in this patient during incubation was shown by MRI changes (panel 1) and recovery of virus from his saliva at prodrome onset, which is mediated only by centrifugal spread to the salivary glands via their innervation.^{28,67}

The sequence of prodromal symptoms and signs closely parallels the proposed viral propagation sequence. Motor neurons and connected proprioceptive dorsal root ganglia supplying the bitten arm are the first nerve cells to be infected and the first to show progressive functional changes (figures 2 and 3). Preferential entry via the motor route could explain why denervation potentials (detectable by day 3) precede sensory loss (day 5) and are initially localised to the bitten arm and ipsilateral neck paraspinal muscles (by day 3) but extend to the opposite arm and paraspinal muscles by day 6. Similarly, early and heavy infection of proprioceptive (Ia) dorsal root ganglia of agonist and antagonist muscles of the bitten arm (see above and figure 2), which mediate deep tendon reflexes, might explain the diminished deep tendon reflexes of the same arm by day 3 and their subsequent extinction (figures 1 and 3). Late onset of infection of cutaneous (vs proprioceptive) dorsal root ganglia might explain why sensory function in the bitten arm is still intact on day 3, but affected by day 5 (figure 3). Finally, focal deficits (eg, weakness of left hand or wrist muscles, loss of deep

tendon reflexes and position sense, pain attenuation) by day 6 might signify progressive neuronal dysfunction and ganglionopathy. The same logic might also apply to prodromal symptoms and signs in patients with paralytic rabies. An association between the location of the bite and the topography of prodromal symptoms and signs has been noted, which could be explained by RABV propagation in spinal pathways and dorsal root ganglia that are synaptically connected with motor neurons innervating the bitten limb. For example, in the patient with paralytic rabies described in panel 2, RABV propagation from motor neurons supplying the bitten right ankle to connected spinal interneurons and (lumbosacral) dorsal root ganglia might explain why pain, diminished deep tendon reflexes, and hypoaesthesia are initially localised to the right leg. Preferential infection via the motor route might also explain why Wallerian-like degeneration and inflammatory changes were much more severe in the ventral than in the dorsal spinal roots in a patient with paralytic rabies.⁶⁸

Death in furious rabies: immune-mediated or virus-mediated mechanism?

The immune response to RABV has been hypothesised to contribute to the disease process, on the basis of experimental evidence that survival can be prolonged in immunosuppressed mice, whereas paralysis and death ensue with the return of immune responsiveness after passive transfer of immune serum or cells.¹⁹ The finding that patients who had cellular immunity to RABV antigen and raised serum cytokine concentrations tended to have furious rather than paralytic rabies^{19,69} led to the belief

that furious manifestations are immune-mediated (and associated with production of proinflammatory cytokines and nitric oxide),³ and that vaccination should be withheld in patients with symptomatic rabies because it might accelerate death.^{70,71} However, accumulating evidence seems to prove otherwise. Attempts to prolong the clinical course of patients with rabies with high-dose steroids, antithymocyte globulin, or other immunosuppressive drugs have failed.^{14,72} Moreover, studies in dogs with early-stage furious or paralytic rabies did not show an exaggerated immune response in infected brains.⁸ On the contrary, cytokine and chemokine mRNA transcripts were barely detectable in the brain, particularly in dogs with furious rabies.⁸ A greater amount of rabies viral RNA was reported in the brains of

furious dogs than in those of paralytic dogs, suggesting that furious manifestations are virus-mediated and associated with more extensive propagation of RABV to the brain than are paralytic manifestations.

Impaired neural tract integrity at brainstem and survival in paralytic rabies

In-vivo MRI examination showed greater signal abnormalities in the brainstem, hypothalamus, and temporal lobe of dogs with paralytic rabies than in the same parts of the brain in dogs with furious rabies, despite paralytic dogs having a lower viral titre overall (table and figure 4).⁸ No evidence of blood–brain barrier leakage was reported in dogs with either furious or paralytic rabies. MRI studies showed that abnormalities in the brainstem were prominent in paralytic dogs with early-stage rabies,^{7,8} which might suggest that viral propagation is interrupted in paralytic dogs, resulting in less virus reaching the cerebral hemispheres. Post-mortem examination of brain (five furious and five paralytic cases) and spinal cord specimens (three of each clinical form) was done in ten naturally infected rabid dogs, including some that had MRI.⁹ To observe early pathological changes, all animals were killed shortly after developing signs of rabies. In both clinical forms, caudal–rostral distribution of RABV antigen, from greatest to least, was reported in the following order: spinal cord, brainstem, cerebellum, midline structures (caudate, thalamus), hippocampus, and cerebrum. By contrast, RABV RNA was most abundant in cerebral midline structures. More RABV antigen was detected in many more CNS regions in dogs with furious rabies than in those with paralytic rabies. Significantly higher RNA concentrations were noted in the cerebral cortex, thalamus, midbrain, and medulla of dogs with the furious subtype than in those with the paralytic subtype, whereas RNA concentrations in the spinal cord were similar in both clinical forms. Inflammation reported in the brainstem of dogs with paralytic rabies substantially correlated with increased MRI disturbances and increased extent of CNS immune response (table and figure 4).^{7–9} Thus, brainstem inflammation might impede viral propagation towards the cerebrum, resulting in longer survival in patients with paralytic rabies.

Diffusion tensor imaging (DTI) provides quantitative values compared with normal controls and has greater sensitivity than basic MRI for the detection of microstructural and macrostructural damage (neural tract integrity), as shown by diminished fractional anisotropy and increased fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) signals, respectively,⁷ and it is useful for the assessment of blood–brain barrier status. Our preliminary DTI data in rabid dogs suggest similar findings to those seen on MRI, with evidence of compromised neural tract integrity in the brainstems of paralytic dogs.⁷ Mean diffusivity or blood–brain barrier leakage was not increased in either furious or paralytic

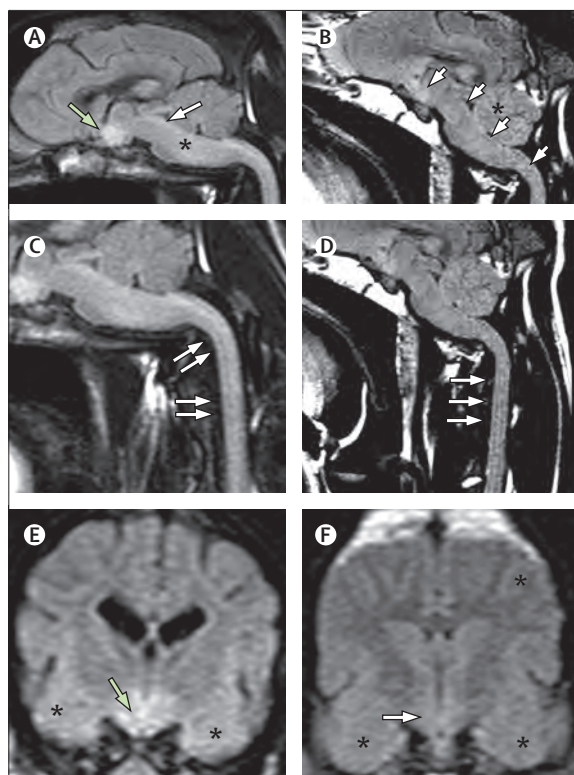


Figure 4: MRI in canine rabies

Images are mid-sagittal fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) MRI images of the hypothalamus, midbrain, brainstem, cerebellum, and upper cervical cord of a dog with early-stage paralytic rabies (A and C) and a dog with early-stage furious rabies (B and D). Also shown are coronal FLAIR images of the temporal lobe, frontal lobe, thalamus/hypothalamus, and basal ganglia of a dog with early-stage paralytic rabies (E) and a dog with early-stage furious rabies (F). The dog with paralytic rabies has moderate-to-substantial abnormal hypersignal T2 change at the hypothalamus (green arrow in A and E), dorsal midbrain (white arrow in A), brainstem (asterisk in A), and upper cervical cord (double white arrows in C). Also noted is moderate hypersignal T2 change at bilateral temporal lobes (asterisks in E) sparing the frontal and parietal lobes. The dog with furious rabies has less well defined mild-to-moderate diffuse hypersignal T2 change involving the hypothalamus, midbrain, brainstem, and upper cervical cord (white arrows in B, D, and F) and cerebellum (asterisk in B). It has more diffuse but less well defined mild hypersignal T2 change involving the temporal lobes, frontal lobes, and parietal lobes (asterisks in F) than the paralytic dog. Reproduced from Laothamatas and colleagues,⁸ by permission of Informa Healthcare.

dogs with early-stage rabies. However, cytotoxic brain oedema (decreased mean diffusivity) was noted almost exclusively in paralytic dogs.⁷

Specific virus variants in furious and paralytic rabies

One hypothesis to explain clinical diversities in rabies would be the presence of furious and paralytic virus variants. However, a bite from the same dog was shown to have caused furious rabies in one patient and the paralytic form in another, which provides evidence against this hypothesis,¹⁹ although, theoretically, this finding would not rule out viral pathogenicity changes due to spontaneous point mutations after exposure. Mutations of the glycoprotein gene at amino acid position 333 (Arg) abolish virulence,⁷³ whereas a substitution in the same gene at 194 (Asn) enhances pathogenicity.⁷⁴ Other substitutions at positions 318 (Phe) and 352 (His), related to p75 neurotrophin receptor binding, might affect viral maturation and transport into the cell,^{35,75} whereas substitutions at positions 273 (Glu) and 394 (Gln) of the RABV nucleoprotein gene enhance immune evasion and increase pathogenicity.⁷⁶

Analysis of RABV nucleoprotein, phosphoprotein, and glycoprotein genes from samples obtained from patients with either furious or paralytic rabies did not show specific patterns.⁷⁷ Mutations in the RABV samples did not differ between the two groups at positions 333 (Arg), 194 (Asn), 318 (Phe), or 352 (His) of the G gene, at positions 273 (Gln) and 394 (Glu) of the N protein gene, or at the carboxyl-terminal PDZ domain-binding motif, which is responsible for neuronal survival and apoptosis.⁷⁸

However, this does not rule out the theory that mutations in the virus explain clinical diversity, because only the sequences of the glycoprotein, nucleoprotein, and phosphoprotein genes were analysed in brainstem samples, whereas other genes involved in pathogenicity (eg, the matrix protein gene) were not examined.^{79,80}

Poor immune response in rabies-infected CNS

The CNS cannot mount an adaptive immune response to RABV because it does not contain any primary immune organs (ie, no antigen presenting cells and classic lymphatic drainage); the adaptive immune response has to be triggered in the periphery. Yet, infected neurons and glial cells are able to mount innate antiviral type I interferon (α or β) and inflammatory cytokine responses after recognition of viral RNA by two classes of innate sensors: the endosomal transmembrane Toll-like receptors (TLRs) 3 and 7/8, and the cytoplasmic retinoic acid inducible gene 1-like helicases RIG-I (also known as DDX58) and MDA5 (also known as IFIH1).^{81–83} Interferon α and interferon β exert antiviral functions via JAK/STAT signal transduction pathways,⁸⁴ whereas the major transcription factor for proinflammatory cytokines, such as tumour necrosis factor α (TNF α) and interleukins, is nuclear factor κ B (NF- κ B), which also supports early interferon transcription (interferon β , interferon α 4).^{83,85}

Despite being attacked by different defence mechanisms, RABV successfully invades its host and reaches the brain (figure 5). Although neurons have the machinery to sense RABV infection and trigger innate immune responses,⁸⁶ the virus has evolved several strategies to escape or lower activation of innate sensors and the antiviral effects of interferons. These strategies might allow preservation of neuronal integrity so that the virus can propagate between neurons. Human brain neurons express the innate sensor TLR3,⁸⁷ which can trigger cell death in the presence of interferons.⁸⁸ However, the virus uses TLR3 as an evasive strategy,¹⁰ by sequestering it in Negri bodies where it plays a part in RABV multiplication (figure 5).⁸⁹ The presence of RABV also activates the innate sensors RIG-I and MDA5^{90,91} and triggers type 1 interferon (via activation of interferon regulatory factor [IRF] 3 and 7 in association with activator protein 1 [AP-1] and NF- κ B). However, the RABV phosphoprotein counteracts interferon antiviral effects, because it prevents transcription of interferon α/β genes by blocking phosphorylation of IRF3 and IRF7 by the kinases TBK1 and IKK-i (also known as IKBKE)⁹² and it also inhibits STAT signalling, the pathway by which interferon exerts antiviral activity,^{83,93–96} whereas activation of NF- κ B is not disturbed (figure 5). The virus nucleoprotein (amino acid positions 273 and 394) is also important for evasion of host RIG-I-mediated antiviral response.⁷⁶ Thus, interferon induction in RABV-infected CNS is reduced⁹⁷ and neuroinflammation is moderate.

RABV is also able to evade the adaptive immune response in the CNS. Activation and entry into the CNS are not limiting factors for T cells and monocytes, which can infiltrate the CNS despite an intact blood–brain barrier (figure 5). After mice were infected with a virulent RABV strain, their brains were infiltrated with T cells expressing a marker of activation (Cd69) and Crmp2 (also known as Dpysl2), a marker of T-cell polarisation and migration.⁹⁸ Invading T cells and monocytes, however, undergo apoptosis shortly after entry into the infected brain parenchyma (figure 5). Post-mortem immunohistochemical studies of the brains of human beings with rabies revealed that leucocytes were the only cells undergoing apoptosis.⁹⁹ In post-mortem human brains infected with a vampire bat RABV variant, only infiltrating adaptive immune T cells (CD4+ and CD8+) were apoptotic, whereas natural killer cells, macrophages, astrocytes, or neurons were not.¹⁰⁰ Paradoxically, RABV uses the innate immune response to induce apoptosis of infiltrating T cells. This strategy was demonstrated in a transgenic mouse model overexpressing Lgp2 (also known as Dhx58) to impair the RIG-I-mediated innate immune response; after RABV infection, lower morbidity and more viral clearance in the brain were noted in mice overexpressing Lgp2 than in a C57BL/6 strain of mice, with reduction of infiltrating CD4+ T cells but less disappearance of infiltrating CD8+ T cells,¹⁰¹ showing that host innate immune response favours the infiltration of

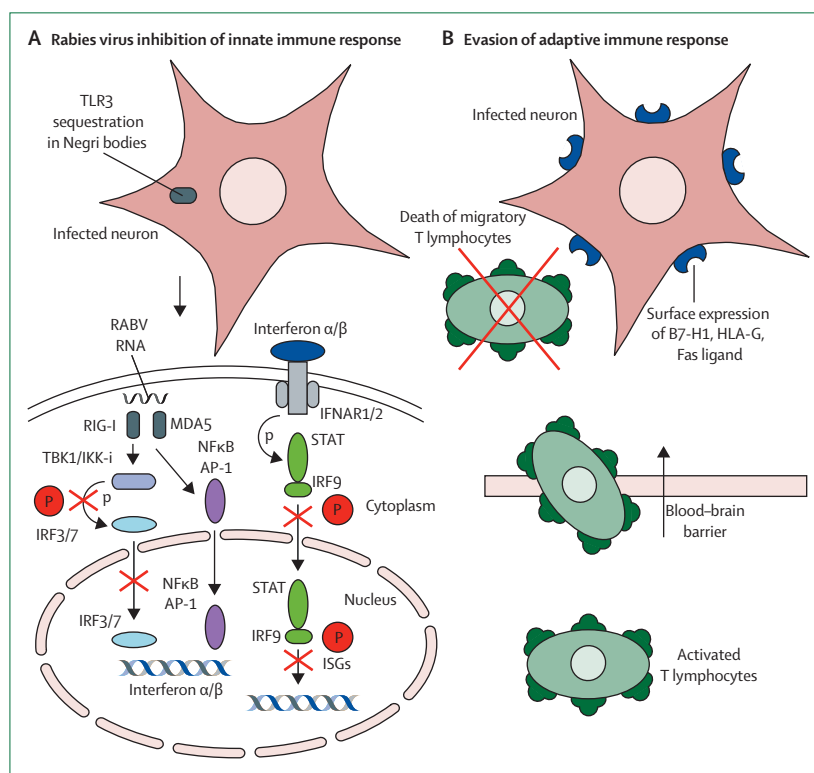


Figure 5: RABV immune-evasion mechanisms

The diagram depicts rabies virus (RABV) inhibition of innate immune response (A) and evasion of adaptive immune response (B) in the CNS. In infected neurons, RABV prevents activation of innate sensor Toll-like receptor 3 (TLR3) by sequestering it in Negri bodies (A). In the neuronal cytoplasm, viral RNA is recognised by immune sensors RIG-I and MDA5 (A, centre-left), which normally triggers transcription of innate antiviral type I interferon α/β via formation of a protein complex (not shown, including adaptor protein IPS-1 together with TRAF3, TBKBP1, NAP1, TANK, TRADD, RIP1, and FADD) that triggers phosphorylation of IRF3/7 by TBK1/IKK-i. Phosphorylated IRF3/7 is transported to the nucleus to induce transcription of interferon α/β in conjunction with activator protein (AP-1) and nuclear factor κB (NF-κB); AP-1 is activated via mitogen-activated protein kinases and NF-κB by NEMO (not shown). The RABV phosphoprotein (P, in red circle) alters transcription of interferon α/β genes by blocking phosphorylation of IRF3/7 and its nuclear import (red crosses), while activation of AP-1 and NF-κB is not disturbed. The RABV phosphoprotein also inhibits the STAT signalling pathway. Interferon α/β binds to cell surface receptors (grey, IFNAR1/2) and induces STAT phosphorylation (p) by kinases JAK1/TYK2 (not shown); phosphorylated STAT/IRF9 complex is imported to the nucleus, where it activates interferon-stimulated genes (ISGs) that have antiviral activities. The RABV phosphoprotein prevents transcription of ISGs by binding to phosphorylated STAT in the cytoplasm, blocking its nuclear import, and by binding to the STAT/IRF9 complex in the nucleus (mediated by a shorter version of phosphoprotein).⁸³ Activated T cells and monocytes can cross the blood-brain barrier and invade the CNS (B), despite intactness of this barrier in patients with rabies. Surface expression of the immunosubversive molecules B7-H1, HLA-G, and Fas ligand (dark blue markers) by infected neurons leads to binding of T cells expressing the corresponding receptors, rapidly followed by death of migrating T cells (red cross).¹⁰

T cells but simultaneously promotes CD8⁺ T-cell elimination. Elimination of infiltrating T cells is mediated by upregulation of immunosubversive molecules on the neuronal surface, such as B7-H1 (also known as CD274)¹⁰² and HLA-G,^{103,104} which are interferon dependent, and Fas ligand, which is interferon independent.^{97,105} Surface expression of B7-H1, HLA-G, and Fas ligand by infected neurons triggers death of migrating T cells expressing the corresponding receptors (figure 5).⁹⁷

Although an intact blood-brain barrier in rabies is not an obstacle for migration of activated lymphocytes into the CNS, efficient entry, particularly of B cells, needs disruption of the blood-brain barrier.^{106–108} Failure to open

the blood-brain barrier and deliver immune effectors was a crucial factor in the lethality of the virus in mice infected with a silver-haired bat RABV variant.¹⁰⁷ Intrathecal production of rabies antibody by infiltrated B cells is needed for viral clearance from the CNS in mice infected with attenuated RABV.¹⁰⁶

Neuroinflammation might inhibit the neuro-invasiveness (ie, ability to invade the CNS) of RABV. Comparative analysis of cytokine and chemokine mRNA transcripts in 12 brain regions of dogs with naturally acquired, early-stage rabies revealed greater inflammatory cytokine transcription in the dogs with paralytic rabies than in those with the furious form (table).⁸ Interferon γ and interleukin 1β were detected exclusively in paralytic dogs. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukins 2, 4, 5, 8, and 10 were not detected in dogs with furious rabies. TNFα was detected in dogs with furious rabies and in those with the paralytic form, but was considered significantly increased only in those with paralytic rabies, whereas only CCL2 and VEGF were significantly increased in dogs with furious rabies. Interleukin 6, TNFα, interleukin 1α, interleukin 1β, and interferon γ cytokines have been reported to increase blood-brain barrier permeability in vitro and in vivo (by direct brain injection into piglets and rats) and to augment leucocyte CNS infiltration.¹⁰⁹ In the dogs depicted in figure 4, the blood-brain barrier remained intact despite the presence of cytokines. Inflammatory cytokine transcription was associated with a lower viral load (in all CNS regions) in paralytic dogs than in furious dogs. Greater disturbances seen with MRI in dogs with paralytic rabies were associated with greater immune responses and less brain neuroinvasiveness (figure 4) than in furious dogs.⁸ During the late stage of disease, however, almost no cytokines were detected in the CNS in both rabies types, and similar viral quantities were detected in both forms.⁸

Proteomic profiling studies of the brains of dogs with late-stage rabies showed upregulation of immunoglobulin heavy chain in the brainstem of paralytic dogs and interferon α4 and SARM1 protein in the hippocampus of dogs with furious rabies.¹¹⁰ CRMP-2, a marker of activated infiltrating T cells, was down-regulated in the spinal cord in both rabies forms, but was upregulated in the brainstem of dogs with paralytic rabies. Examination of 25 brains of patients with furious and paralytic rabies revealed no correlation between inflammation or viral antigen distribution and expression of interleukin 1β and TNFα (in microglia, macrophages, and lymphocytes).²¹ This might be explained by advanced stage of disease at examination.

A case study¹¹¹ described a patient infected with a bat RABV variant who received treatment with a neuroprotective regimen of midazolam, ketamine, and propofol together with rabies immunoglobulin, ribavirin, and amantadine; the regimen was discontinued 48 days later because no neurological recovery occurred, and the patient died more than 2 months after disease onset.¹¹¹

CSF analysis before death (3 weeks after cessation of the regimen, which is potentially immunosuppressive) and post-mortem brain examination showed robust inflammatory responses in the brain and CSF. The investigators propose that such a response at a very late stage might be related to immune reconstitution inflammatory syndrome.¹¹¹

Preservation of neuronal integrity

RABV is transcribed and replicates in neuronal cell bodies and dendrites. Maintenance and preservation of these structures and the axon, where the complete enveloped particle is transported, might be as important for the virus as its ability to evade immune responses.¹⁰ RABV infection causes neuronal dysfunction rather than neuronal death.^{112,113} Survival of infected neurons is ensured by the capacity of virulent RABV strains to prevent apoptosis by maintaining viral gene expression below threshold levels and by interfering with proapoptotic factors.^{73,112,114} Prevention of apoptosis is the hallmark of naturally acquired RABV infection; it depends on restricted expression of the glycoprotein protein and the glycoprotein gene sequence, including four amino acids at the carboxyl-terminal PDZ domain-binding motif that can bind cellular PDZ proteins, which control cell polarity and apoptosis.^{73,78,115} The matrix protein amino acid residues Arg 77 and Glu 81 might be associated with delayed apoptosis and increased pathogenicity of naturally acquired RABV.⁸⁰ Thus, neurons that have been infected with RABV for several days (asymptomatic period) do not exhibit cytopathic changes and remain metabolically viable *in vivo*, expressing their neurotransmitters and transporting other markers.^{29–31,33,49,116} Yet, when severe clinical disease has developed, wild-type RABV infection in mice results in changes to host protein expression, particularly expression of proteins involved in ion homeostasis and docking and fusion of synaptic vesicles to presynaptic membranes,¹¹⁷ which might lead to the defective neurotransmission recognised in rabies.¹¹³ Neuronal dysfunction might also be related to oxidative damage.^{118,119} In moribund mice, mild structural damage involving exclusively neuronal processes (beading and fragmentation of axons and dendrites, with vacuoles that correspond with swollen mitochondria) was recognised;¹²⁰ it was shown *in vitro* to be the result of oxidative stress, through virus-induced inhibition of NF- κ B signalling, which plays a crucial role in axonal growth, neuronal survival, and antiviral responses.^{118,119}

Studies of human brains infected with naturally acquired RABV show that the virus is capable of preserving neuronal integrity to support its propagation. Apoptosis was evident in inflammatory cells but not in neurons.^{99,121} Cytochrome c leakage and evidence of mitochondrial membrane permeabilisation were absent in spinal cord and brainstem in patients with rabies, explaining the absence of anterior horn cell weakness and preservation of consciousness until the preterminal stage.¹²²

Pathogenesis of paralytic rabies in man

Peripheral nerve dysfunction, axonopathy, or myelinopathy causes weakness in patients with paralytic rabies.^{2,68,123} Axonopathy was reported in three patients with paralytic rabies (one Chinese, one Mexican, and one Thai, infected in their respective countries) who had an acute motor axonal Guillain-Barré syndrome variant.^{5,22,68} Wallerian-like degeneration and inflammatory changes were more abundant in the ventral than in the dorsal nerve roots in the Chinese patient.⁶⁸ Deposition of IgG and complement proteins on RABV-positive axons was also shown, suggesting an antibody-mediated complement attack. In support of this finding, one patient with furious rabies who received intravenous human rabies immunoglobulin developed weakness of the facial, limb, and neck flexor muscles 36 h after administration.¹²⁴ However, the mechanism is unclear, since CSF rabies neutralising antibodies were not detected in this patient, or in another 30 Thai patients infected with dog RABV variants, 14 of whom had paralytic rabies.² Antiglycolipid antibodies were not detected in one patient with axonal and two with demyelinating paralytic rabies;⁵ this finding is important because the exact pathogenic mechanism in paralytic rabies is unknown, and one hypothesis is that the humoral immune response plays a part.

Segmental demyelination and remyelination, or myelinated nerve fibre loss of the spinal roots and peripheral nerves, were characteristic findings in 11 patients with paralytic rabies.¹²³ None of these patients had Wallerian-like degeneration as the only pathological feature. Such demyelination was absent in patients with furious rabies.¹²⁵ Another two patients with electrophysiological evidence of demyelinating Guillain-Barré syndrome variants had inflammation of the dorsal and ventral spinal nerve roots that was more severe than in the spinal cord.⁵

Neuroimaging and molecular techniques in antemortem diagnosis

MRI abnormalities provide clues for differential diagnosis with other encephalitides, in terms of preferential sites and extent of involvement (brain only or whole neuroaxis), presence of oedema (cytotoxic or vasogenic) or minute haemorrhage, and extent of signal intensity.⁷ MRI of patients with rabies can vary, since abnormalities can result from infection, host reaction, or complications (hypoxia, shock, bleeding, and metabolic derangements).^{3,5–7,126,127} Typically, MRI abnormalities are hypersignal T2 changes without contrast enhancement involving the spinal cord, brainstem, thalamus, limbic structures, and white matter during the non-comatose phase (figure 6). Both clinical forms of rabies in man have similar MRI features (table).^{6,7} Lesions in the brachial plexus, spinal cord, and nerve roots are already seen at the prodromal stage as signal intensity abnormalities or enhancement.⁶ During the comatose phase, widespread

T2 hyperintense lesions in the brainstem and forebrain can be seen; these are probably due to virus-induced neuronal injury and superimposed hypoxic insult.⁷ Neuronal injury might be related to oxidative stress, as shown in an animal model infected with fixed RABV (CVS strain).¹¹⁸ Blood–brain barrier breakdown is evident only during the late or comatose phase of the disease, as gadolinium-enhanced lesions along the brainstem and other midline structures.^{6,7} MRI images are similar in patients with dog or bat RABV variants in terms of location and pattern of abnormal signal intensity.^{22,128,129} MRI might help with diagnosis when it is combined with clinical data and staging of disease severity and with knowledge of whether the patient is also affected with metabolic, electrolyte, or haematological disturbances or has a compromised cardiovascular status. Lesion characteristics at different stages have been reviewed in detail elsewhere.⁷

Antibody assay might not be useful in the diagnosis of rabies associated with dog RABV variants. RABV neutralising antibody in serum (and not in CSF) was detected in only six of 31 Thai patients and in none of 43 unvaccinated patients with dog RABV variants from Cambodia, Madagascar, and Senegal.^{3,130} Immune

recognition of rabies nucleoprotein and neutralising antibody titre development is inadequate in these patients.¹³¹ 21 of 43 patients in the USA (1960–2009) had neutralising serum antibody; 18 were infected with bat RABV variants, two with dog variants, and one with a bobcat variant.¹³ Only recently have antibody assays been considered in dog RABV variant endemic countries because of the potential to assess chance of recovery, particularly when viral RNA is not detected.^{15–18} However, patients with neutralising antibody in their serum or CSF but no detected viral RNA have died despite intensive care support.¹³

RABV RNA can be detected in saliva, extracted hair follicles or a biopsy sample of skin tissue from the nape of the neck that contains hair follicles, CSF, and urine.^{48,130,132–134} Descriptions of the biological samples and molecular methods for detection have been detailed elsewhere.¹³⁵ Frequently used techniques, such as hemi-nested reverse transcription (RT) PCR (targeting the large polymerase [L] gene) and TaqMan real-time RT-PCR (nucleoprotein gene), had similar degrees of sensitivity when serial dilutions of purified RNA from RABV-infected dog brain tissue were used.¹³⁶ When

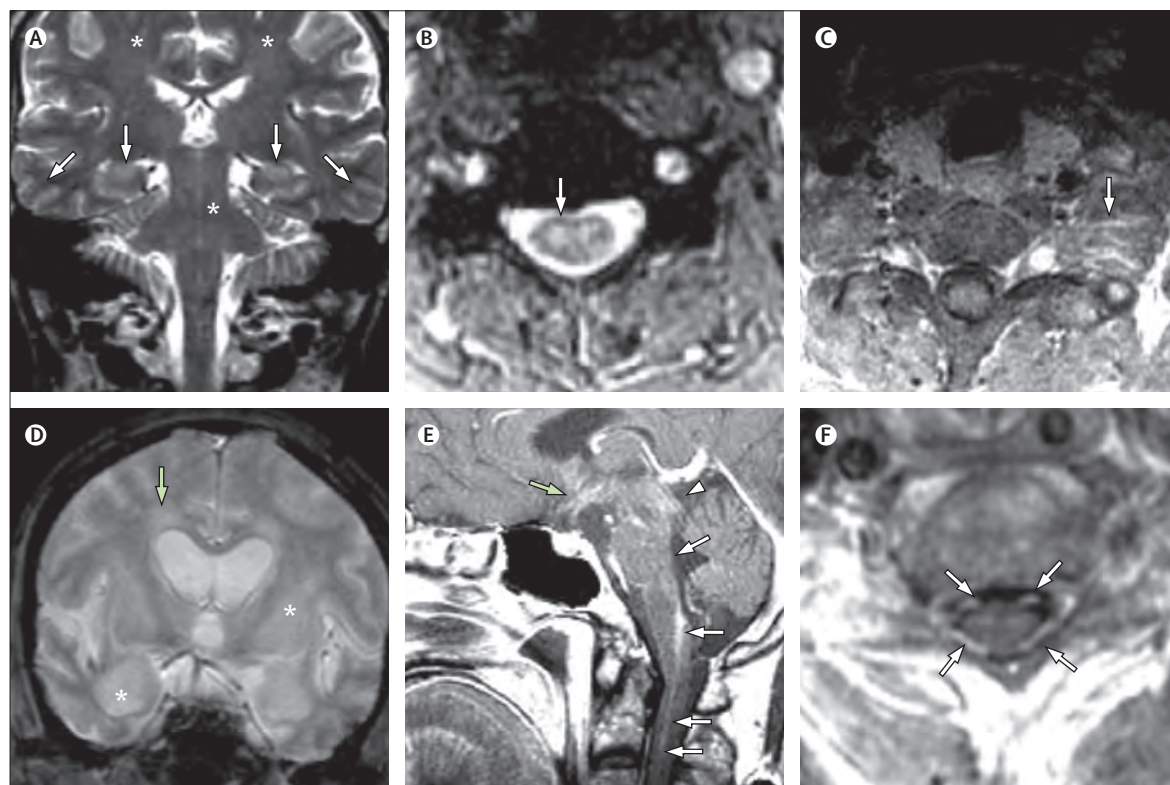


Figure 6: MRI in patients with rabies

Images depict a conscious patient with furious rabies (A–C) and a comatose patient with paralytic rabies (D–F). (A) Coronal spin echo T2-weighted MRI of the brain showing diffuse ill-defined mild hypersignal T2 change involving the cerebral white matter and brainstem (asterisks), hippocampi, and temporal lobes (white arrows). (B) Ill-defined hypersignal T2 change seen in spinal cord (white arrow). (C) Enhancing left brachial plexus (white arrow) between the anterior and middle/posterior scalene muscles of the bitten limb. (D) Marked diffuse hypersignal T2 change involving the basal ganglia, hippocampi (asterisks), and cerebral white matter (green arrow). (E) Moderate ill-defined enhancing hypothalamus (green arrow), tectal plate and midbrain (white arrowhead), and the dorsal pons and medulla and anterior cervical cord (white arrows). (F) Moderate enhancement of the intrathecal ventral and dorsal nerve roots (white arrows). Reproduced from Laothamatas and colleagues,⁷ by permission of Elsevier.

previously positive clinical samples (saliva) from ten patients with rabies, and RABV-infected dog and human brain tissue, were tested, results with each technique were similar.¹³⁶ However, the volume of tissue might be crucial for adequate sensitivity.¹³⁶ Hemi-nested RT-PCR assay of nuchal skin biopsy specimens containing hair follicles (diameter roughly 4 mm; total volume 20 mm³) is almost 100% sensitive.¹³⁰ Similar sensitivity was obtained when at least three serial saliva samples were examined or when three types of specimen (saliva, CSF, urine, or hair follicles) were assayed simultaneously.^{134,136} This result, however, might apply with certainty only to patients with furious rabies, since results were negative in half (three of six) of patients with the paralytic form.¹³⁴ Negative results were higher in patients with paralytic rabies than in those with furious rabies: saliva samples (seven of nine (78%) vs eight of 53 [15%]), CSF (three of five [60%] vs 14 of 25 [56%]), urine (five of five (100%) vs 20 of 36 [56%]).¹³⁴ Hair follicle tests showed negative results in 12 of 25 (48%) patients with the furious form compared with one of one with the paralytic form.¹³⁴

Management

Recovery after rabies has been reported in four patients.^{15–18} Prediction of which patients are likely to recover is not possible, although most survivors with good functional recovery had bat RABV variant rabies.^{15–18} Patients infected with bat RABV variants (who died or survived) had clinical manifestations that differed in many respects from those who have survived classic forms of dog RABV variant rabies.^{3,4,13,23} Differences in cellular tropism³⁷ or in the routes of spread, or both, might account for these discrepancies.²⁸ Because only a few experimental studies are available of the propagation of bat RABV variants *in vivo*,^{37,137} it is unclear whether higher chances of survival in patients with bat RABV variant rabies might be related to differences in the modalities of propagation of bat versus dog RABV variants. Importantly, all four rabies survivors described in the scientific literature with good recovery, with or without treatment, had a vigorous and early immune response, with autosterilisation (ie, no detected virus or RNA in tissue or biological fluids) and rabies antibodies detected in serum and CSF.^{13–18} Two received coma induction therapy,^{16,18} one had standard intensive care support,¹⁵ and another had presumptive abortive infection¹⁷ and did not receive any intensive support. Two patients, one of whom did not receive coma induction therapy, had non-neutralising antibodies, suggesting that other mechanisms played a part in eradication of the virus.^{17,18}

The suffering that patients with furious rabies go through cannot be readily explained by pain in the throat or phobic spasms. We have routinely used benzodiazepines, barbiturates, ketamine, or even intravenous morphine. However, deepening of consciousness by the use of sedatives to the extent that ventilatory support is needed should be avoided.

Search strategy and selection criteria

We searched PubMed for English language articles published from 1967, to Dec 1, 2012, containing the terms “rabies” in conjunction with other key terms, including “encephalitis”, “human”, “virus”, “pathophysiology”, “pathology”, “treatment”, “propagation”, and “transneuronal”. Data for this review also came from references on neural connectivity and those contained within older relevant review articles. Most of the review articles that we have cited contain clinical data of many individual cases or case series, as well as many original references of basic science studies and experiments in animal models.

So far, no proven standard treatment for rabies exists. Combination therapy with rabies immunoglobulin (polyclonal or monoclonal) plus vaccination, ribavirin (antiviral drug), ketamine (with some NMDA receptor antagonistic effect), and interferon α has been advocated.¹³⁸ Large doses of intravenous human rabies immunoglobulin (25 g for 4 consecutive days) were given to a patient with furious rabies. Anti-rabies antibody was not detected in the CSF after treatment, confirming the intactness of the blood–brain barrier;¹²⁵ however, this treatment was able to attenuate the autonomic symptoms.

The Milwaukee protocol initially aimed to induce coma with an electroencephalographic stage of burst suppression.¹⁶ Various sedatives (midazolam, barbiturates, ketamine), amantadine, which is supposed to reduce brain excitotoxicity,¹³⁹ and ribavirin were given to a patient who then recovered with minimal sequelae.¹⁶ However, following the protocol did not save more than two dozen fully alert, previously healthy, young, or middle-aged patients with symptomatic rabies.^{12,14,129,140–142} The role of excitotoxic mechanisms and the benefit of ketamine in *in-vitro* and *in-vivo* experiments are not supported by the data and scientific evidence.^{12,14,140,143,144} The current Milwaukee protocol consists of ketamine and midazolam, similar to what is used by physicians in dog RABV variant endemic countries to relieve suffering and dysautonomia. Coma induction is no longer recommended in the protocol. Nimodipine has also been added to the protocol to relieve vasospasm.^{145,146} However, data have been conflicting; neuroimaging and post-mortem examination did not reveal findings compatible with territorial spasm in patients with dog RABV variant rabies.^{6,7,147} Whether territorial spasm might be specifically related to bat RABV variants is not known. In view of autonomic disturbances in patients with rabies, nimodipine should be administered with extreme caution because it potentially poses the risk of severe hypotension and shock.³

Conclusions and future directions

Rabies is unique because it carries the highest fatality rate among all viral encephalitides. The mechanisms that

allow this virus to invade and partly hide from the host's immune defences, sometimes for extensive periods of time, before overwhelming the host are fascinating for scientists and clinicians.

Improved understanding of the mechanisms underlying rabies neuropathogenesis in man and animal models is necessary for the development of new therapeutic approaches. Temporary blood–brain barrier disruption by the use of ultrasound and microbubbles, and therapeutic miRNAs or nanoengineered molecules, together with generalised or regional brain cooling methods are prospective treatment options.^{14,45,148,149} A live-attenuated triple-glycoprotein RABV variant is a promising vaccine candidate for both pre-exposure and postexposure prophylaxis of rabies because it induces immune mechanisms capable of containing experimental CNS infection with pathogenic RABV.^{150,151} Any new drugs or treatment protocol should be proven not to pose any potentially harmful risk to already seriously ill patients.

Physicians and neurologists need to promote awareness of the absolute requirement of prompt administration of evidence-based prophylactic treatment to all individuals exposed to RABV. This approach is still deficient or even non-existent in many parts of the world. Equally, if not more importantly, is the need to control this disease in its main vector, the dog. The knowledge and means to do so are available, but the will and appropriate support from societies and governments are often not.

Contributors

All authors contributed to the scientific literature search and the writing and revision of the paper.

Conflicts of interest

We declare that we have no conflicts of interest.

Acknowledgments

Research by the authors described in this Review article was sponsored by the Thailand Research Fund (DBG5180026, RDG5420089), the Higher Education Research Promotion and National Research University Project of Thailand, Office of the Higher Education Commission (HR1160A-55), the Thai Red Cross Society, the US Naval Health Research Center BAA-10-93 under cooperative agreement number W911NF-11-2-004, the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), France, and the European Union (QLRT-2001-00151, EUOKINESIS, and BIO4-CT98-0546, TransVirus). The views and conclusions contained in this document are those of the authors.

References

- Wilde H, Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Lumlerdacha B, Tepsumethanon V. Rabies in Asia: the classical zoonosis. *Curr Top Microbiol Immunol* 2012; published online June 8. DOI:10.1007/82_2012_228.
- Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Mittrabhakdi E, Wilde H, Morimoto K, Lewis RA. Pathophysiology of human paralytic rabies. *J Neurovirol* 2005; 11: 93–100.
- Hemachudha T, Laothamatas J, Rupprecht CE. Human rabies: a disease of complex neuropathogenetic mechanisms and diagnostic challenges. *Lancet Neurol* 2002; 1: 101–09.
- Hemachudha T, Phuapradit P. Rabies. *Curr Opin Neurol* 1997; 10: 260–67.
- Mittrabhakdi E, Shuangshoti S, Wannakrairot P, et al. Difference in neuropathogenetic mechanisms in human furious and paralytic rabies. *J Neurol Sci* 2005; 238: 3–10.
- Laothamatas J, Hemachudha T, Mittrabhakdi E, Wannakrairot P, Tulayadaechanon S. MR imaging in human rabies. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; 24: 1102–09.
- Laothamatas J, Sungkarat W, Hemachudha T. Neuroimaging in rabies. *Adv Virus Res* 2011; 79: 309–27.
- Laothamatas J, Wacharapluesadee S, Lumlerdacha B, et al. Furious and paralytic rabies of canine origin: neuroimaging with virological and cytokine studies. *J Neurovirol* 2008; 14: 119–29.
- Shuangshoti S, Thepa N, Phukpattaranont P, et al. Reduced viral burden in paralytic compared to furious canine rabies is associated with prominent inflammation at the brainstem level. *BMC Vet Res* 2013; 9: 31.
- Lafon M. Evasive strategies in rabies virus infection. *Adv Virus Res* 2011; 79: 33–53.
- Srinivasan A, Burton EC, Kuehnert MJ, et al. Transmission of rabies virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med* 2005; 352: 1103–11.
- Maier T, Schwarting A, Mauer D, et al. Management and outcomes after multiple corneal and solid organ transplantations from a donor infected with rabies virus. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 1112–19.
- Feder HM Jr, Petersen BW, Robertson KL, Rupprecht CE. Rabies: still a uniformly fatal disease? Historical occurrence, epidemiological trends, and paradigm shifts. *Curr Infect Dis Rep* 2012; 14: 408–22.
- Jackson AC. Therapy of human rabies. *Adv Virus Res* 2011; 79: 365–75.
- Hattwick MA, Weis TT, Stechschulte CJ, Baer GM, Gregg MB. Recovery from rabies. A case report. *Ann Intern Med* 1972; 76: 931–42.
- Willoughby RE Jr, Tieves KS, Hoffman GM, et al. Survival after treatment of rabies with induction of coma. *N Engl J Med* 2005; 352: 2508–14.
- Presumptive abortive human rabies—Texas, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010; 59: 185–90.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recovery of a patient from clinical rabies—California, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2012; 61: 61–65.
- Hemachudha T, Phanuphak P, Sriwanthana B, et al. Immunologic study of human encephalitic and paralytic rabies. Preliminary report of 16 patients. *Am J Med* 1988; 84: 673–77.
- Gadre G, Satishchandra P, Mahadevan A, et al. Rabies viral encephalitis: clinical determinants in diagnosis with special reference to paralytic form. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81: 812–20.
- Solanki A, Radotra BD, Vasishta RK. Correlation of cytokine expression with rabies virus distribution in rabies encephalitis. *J Neuroimmunol* 2009; 217: 85–89.
- Mader EC Jr, Maury JS, Santana-Gould L, et al. Human rabies with initial manifestations that mimic acute brachial neuritis and Guillain-Barré syndrome. *Clin Med Insights Case Rep* 2012; 5: 49–55.
- Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Laothamatas J, Wilde H. Rabies. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2006; 6: 460–68.
- Human rabies—Minnesota, 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008; 57: 460–62.
- Shantavasinkul P, Tantawichien T, Wacharapluesadee S, et al. Failure of rabies postexposure prophylaxis in patients presenting with unusual manifestations. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 77–79.
- Lewis P, Fu Y, Lentz TL. Rabies virus entry at the neuromuscular junction in nerve-muscle cocultures. *Muscle Nerve* 2000; 23: 720–30.
- Lentz TL, Burrage TG, Smith AL, Crick J, Tignor GH. Is the acetylcholine receptor a rabies virus receptor? *Science* 1982; 215: 182–84.
- Ugolini G. Rabies virus as a transneuronal tracer of neuronal connections. *Adv Virus Res* 2011; 79: 165–202.
- Tang Y, Rampin O, Giuliano F, Ugolini G. Spinal and brain circuits to motoneurons of the bulbospongiosus muscle: retrograde transneuronal tracing with rabies virus. *J Comp Neurol* 1999; 414: 167–92.
- Graf W, Gerrits N, Yatim-Dhiba N, Ugolini G. Mapping the oculomotor system: the power of transneuronal labelling with rabies virus. *Eur J Neurosci* 2002; 15: 1557–62.
- Ugolini G, Klam F, Doldan Dans M, et al. Horizontal eye movement networks in primates as revealed by retrograde transneuronal transfer of rabies virus: differences in monosynaptic input to “slow” and “fast” abducens motoneurons. *J Comp Neurol* 2006; 498: 762–85.

- 32 Rathelot JA, Strick PL. Muscle representation in the macaque motor cortex: an anatomical perspective. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103**: 8257–62.
- 33 Morcuende S, Delgado-Garcia JM, Ugolini G. Neuronal premotor networks involved in eyelid responses: retrograde transneuronal tracing with rabies virus from the orbicularis oculi muscle in the rat. *J Neurosci* 2002; **22**: 8808–18.
- 34 Baer GM, Shaddock JH, Quirion R, Dam TV, Lentz TL. Rabies susceptibility and acetylcholine receptor. *Lancet* 1990; **335**: 664–65.
- 35 Lafon M. Rabies virus receptors. *J Neurovirol* 2005; **11**: 82–87.
- 36 Reaves EJ, Salmon-Mulanovich G, Guevara C, et al. Susceptibility and lack of evidence for a viremic state of rabies in the night owl monkey, *Aotus nancymaae*. *Virol J* 2012; **9**: 95.
- 37 Morimoto K, Patel M, Corisdeo S, et al. Characterization of a unique variant of bat rabies virus responsible for newly emerging human cases in North America. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 5653–58.
- 38 Charlton KM, Nadin-Davis S, Casey GA, Wandeler AI. The long incubation period in rabies: delayed progression of infection in muscle at the site of exposure. *Acta Neuropathol* 1997; **94**: 73–77.
- 39 Becker Y. Immunological and regulatory functions of uninfected and virus infected immature and mature subtypes of dendritic cells—a review. *Virus Genes* 2003; **26**: 119–30.
- 40 Li J, McGettigan JP, Faber M, Schnell MJ, Dietzschold B. Infection of monocytes or immature dendritic cells (DCs) with an attenuated rabies virus results in DC maturation and a strong activation of the NFkappaB signaling pathway. *Vaccine* 2008; **26**: 419–26.
- 41 Sarmento L, Li XQ, Howerth E, Jackson AC, Fu ZF. Glycoprotein-mediated induction of apoptosis limits the spread of attenuated rabies viruses in the central nervous system of mice. *J Neurovirol* 2005; **11**: 571–81.
- 42 Kuang Y, Lackay SN, Zhao L, Fu ZF. Role of chemokines in the enhancement of BBB permeability and inflammatory infiltration after rabies virus infection. *Virus Res* 2009; **144**: 18–26.
- 43 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; **116**: 281–97.
- 44 Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet* 2006; **38**: 228–33.
- 45 Israsena N, Mahavithakanont A, Hemachudha T. Rabies virus infection and microRNAs. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 329–44.
- 46 Ugolini G. Specificity of rabies virus as a transneuronal tracer of motor networks: transfer from hypoglossal motoneurons to connected second-order and higher order central nervous system cell groups. *J Comp Neurol* 1995; **356**: 457–80.
- 47 Ugolini G. Use of rabies virus as a transneuronal tracer of neuronal connections: implications for the understanding of rabies pathogenesis. *Dev Biol (Basel)* 2008; **131**: 493–506.
- 48 Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Nucleic-acid sequence based amplification in the rapid diagnosis of rabies. *Lancet* 2001; **358**: 892–93.
- 49 Ugolini G. Advances in viral transneuronal tracing. *J Neurosci Methods* 2010; **194**: 2–20.
- 50 Murphy FA, Bauer SP. Early street rabies virus infection in striated muscle and later progression to the central nervous system. *Intervirology* 1974; **3**: 256–68.
- 51 Murphy FA, Bauer SP, Harrison AK, Winn WC Jr. Comparative pathogenesis of rabies and rabies-like viruses. Viral infection and transit from inoculation site to the central nervous system. *Lab Invest* 1973; **28**: 361–76.
- 52 Murphy FA, Harrison AK, Winn WC, Bauer SP. Comparative pathogenesis of rabies and rabies-like viruses: infection of the central nervous system and centrifugal spread of virus to peripheral tissues. *Lab Invest* 1973; **29**: 1–16.
- 53 Charlton KM, Casey GA, Wandeler AI, Nadin-Davis S. Early events in rabies virus infection of the central nervous system in skunks (*Mephitis mephitis*). *Acta Neuropathol* 1996; **91**: 89–98.
- 54 Stepien AE, Tripodi M, Arber S. Monosynaptic rabies virus reveals premotor network organization and synaptic specificity of cholinergic partition cells. *Neuron* 2010; **68**: 456–72.
- 55 Coulon P, Bras H, Vinay L. Characterization of last-order premotor interneurons by transneuronal tracing with rabies virus in the neonatal mouse spinal cord. *J Comp Neurol* 2011; **519**: 3470–87.
- 56 Jankowska E. Interneuronal relay in spinal pathways from proprioceptors. *Prog Neurobiol* 1992; **38**: 335–78.
- 57 Jankowska E, Edgley SA. Functional subdivision of feline spinal interneurons in reflex pathways from group Ib and II muscle afferents; an update. *Eur J Neurosci* 2010; **32**: 881–93.
- 58 Kuypers HGJM. Anatomy of the descending pathways. In: Brooks V, ed. Handbook of physiology, section 1: neurophysiology, vol 2, part 1. Bethesda, MD: American Physiological Society, 1981: 579–666.
- 59 Jackson AC, Ye H, Phelan CC, et al. Extraneural organ involvement in human rabies. *Lab Invest* 1999; **79**: 945–51.
- 60 Christianson JA, Davis BM. The role of visceral afferents in disease. In: Kruger L, Light AR, eds. Translational pain research: from mouse to man. Boca Raton, FL: CRC Press, 2010.
- 61 McNeill DL, Burden HW. Convergence of sensory processes from the heart and left ulnar nerve onto a single afferent perikaryon: a neuroanatomical study in the rat employing fluorescent tracers. *Anat Rec* 1986; **214**: 441–44, 396–97.
- 62 Sung JH, Hayano M, Matri AR, Okagaki T. A case of human rabies and ultrastructure of the Negri body. *J Neuropathol Exp Neurol* 1976; **35**: 541–59.
- 63 Vural SA, Alcigir G, Berkin S. Immunohistochemical and histopathological studies of fixed rabies virus in goats. *Onderstepoort J Vet Res* 2001; **68**: 83–89.
- 64 Mignini F, Streccioni V, Amenta F. Autonomic innervation of immune organs and neuroimmune modulation. *Auton Autacoid Pharmacol* 2003; **23**: 1–25.
- 65 Irwin DJ, Wunner WH, Ertl HC, Jackson AC. Basis of rabies virus neurovirulence in mice: expression of major histocompatibility complex class I and class II mRNAs. *J Neurovirol* 1999; **5**: 485–94.
- 66 Bousso P. T-cell activation by dendritic cells in the lymph node: lessons from the movies. *Nat Rev Immunol* 2008; **8**: 675–84.
- 67 Charlton KM, Casey GA, Campbell JB. Experimental rabies in skunks: mechanisms of infection of the salivary glands. *Can J Comp Med* 1983; **47**: 363–69.
- 68 Sheikh KA, Ramos-Alvarez M, Jackson AC, Li CY, Asbury AK, Griffin JW. Overlap of pathology in paralytic rabies and axonal Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 2005; **57**: 768–72.
- 69 Hemachudha T, Panpanich T, Phanuphak P, Manatsathit S, Wilde H. Immune activation in human rabies. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993; **87**: 106–08.
- 70 Held JR, Tierkel ES, Steele JH. Rabies in man and animals in the United States, 1946–65. *Public Health Rep* 1967; **82**: 1009–18.
- 71 Willoughby RE Jr. “Early death” and the contraindication of vaccine during treatment of rabies. *Vaccine* 2009; **27**: 7173–77.
- 72 WHO. WHO Expert Committee on Rabies. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1992; **824**: 1–84.
- 73 Schnell MJ, McGettigan JP, Wirblich C, Papaneri A. The cell biology of rabies virus: using stealth to reach the brain. *Nat Rev Microbiol* 2010; **8**: 51–61.
- 74 Faber M, Faber ML, Papaneri A, et al. A single amino acid change in rabies virus glycoprotein increases virus spread and enhances virus pathogenicity. *J Virol* 2005; **79**: 14141–48.
- 75 Langevin C, Tuffereau C. Mutations conferring resistance to neutralization by a soluble form of the neurotrophin receptor (p75NTR) map outside of the known antigenic sites of the rabies virus glycoprotein. *J Virol* 2002; **76**: 10756–65.
- 76 Masatani T, Ito N, Shimizu K, et al. Amino acids at positions 273 and 394 in rabies virus nucleoprotein are important for both evasion of host RIG-I-mediated antiviral response and pathogenicity. *Virus Res* 2011; **155**: 168–74.
- 77 Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Lumlerdaecha B, et al. Sequence analysis of rabies virus in humans exhibiting encephalitic or paralytic rabies. *J Infect Dis* 2003; **188**: 960–66.
- 78 Prehaud C, Wolff N, Terrien E, et al. Attenuation of rabies virulence: takeover by the cytoplasmic domain of its envelope protein. *Sci Signal* 2010; **3**: ra5.
- 79 Mita T, Shimizu K, Ito N, et al. Amino acid at position 95 of the matrix protein is a cytopathic determinant of rabies virus. *Virus Res* 2008; **137**: 33–39.
- 80 Larrous F, Gholami A, Mouhamad S, Estaquier J, Bourhy H. Two overlapping domains of a lyssavirus matrix protein that acts on different cell death pathways. *J Virol* 2010; **84**: 9897–906.

- 81 Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 2010; **11**: 373–84.
- 82 Yoneyama M, Fujita T. Recognition of viral nucleic acids in innate immunity. *Rev Med Virol* 2010; **20**: 4–22.
- 83 Rieder M, Conzelmann KK. Interferon in rabies virus infection. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 91–114.
- 84 Jensen S, Thomsen AR. Sensing of RNA viruses: a review of innate immune receptors involved in recognizing RNA virus invasion. *J Virol* 2012; **86**: 2900–10.
- 85 Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2007; **8**: 49–62.
- 86 Prehaud C, Megret F, Lafage M, Lafon M. Virus infection switches TLR-3-positive human neurons to become strong producers of beta interferon. *J Virol* 2005; **79**: 12893–904.
- 87 Jackson AC, Rossiter JP, Lafon M. Expression of Toll-like receptor 3 in the human cerebellar cortex in rabies, herpes simplex encephalitis, and other neurological diseases. *J Neurovirol* 2006; **12**: 229–34.
- 88 Chiron D, Pellat-Deceunynck C, Amiot M, Bataille R, Jegou G. TLR3 ligand induces NF- κ B activation and various fates of multiple myeloma cells depending on IFN- α production. *J Immunol* 2009; **182**: 4471–78.
- 89 Menager P, Roux P, Megret F, et al. Toll-like receptor 3 (TLR3) plays a major role in the formation of rabies virus Negri bodies. *PLoS Pathog* 2009; **5**: e1000315.
- 90 Faul EJ, Wanjalla CN, Suthar MS, Gale M, Wirblich C, Schnell MJ. Rabies virus infection induces type I interferon production in an IPS-1 dependent manner while dendritic cell activation relies on IFNAR signaling. *PLoS Pathog* 2010; **6**: e1001016.
- 91 Hornung V, Ellegast J, Kim S, et al. 5'-triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. *Science* 2006; **314**: 994–97.
- 92 Brzozka K, Finke S, Conzelmann KK. Identification of the rabies virus alpha/beta interferon antagonist: phosphoprotein P interferes with phosphorylation of interferon regulatory factor 3. *J Virol* 2005; **79**: 7673–81.
- 93 Vidy A, Chelbi-Alix M, Blondel D. Rabies virus P protein interacts with STAT1 and inhibits interferon signal transduction pathways. *J Virol* 2005; **79**: 14411–20.
- 94 Vidy A, El Bougrini J, Chelbi-Alix MK, Blondel D. The nucleocytoplasmic rabies virus P protein counteracts interferon signaling by inhibiting both nuclear accumulation and DNA binding of STAT1. *J Virol* 2007; **81**: 4255–63.
- 95 Brzozka K, Finke S, Conzelmann KK. Inhibition of interferon signaling by rabies virus phosphoprotein P: activation-dependent binding of STAT1 and STAT2. *J Virol* 2006; **80**: 2675–83.
- 96 Moseley GW, Lahaye X, Roth DM, et al. Dual modes of rabies P-protein association with microtubules: a novel strategy to suppress the antiviral response. *J Cell Sci* 2009; **122**: 3652–62.
- 97 Lafon M. Immune evasion, a critical strategy for rabies virus. *Dev Biol (Basel)* 2008; **131**: 413–19.
- 98 Vauillat C, Varrin-Doyer M, Bernard A, et al. High CRMP2 expression in peripheral T lymphocytes is associated with recruitment to the brain during virus-induced neuroinflammation. *J Neuroimmunol* 2008; **193**: 38–51.
- 99 Suja MS, Mahadevan A, Madhusudana SN, Shankar SK. Role of apoptosis in rabies viral encephalitis: a comparative study in mice, canine, and human brain with a review of literature. *Patholog Res Int* 2011; **2011**: 374286.
- 100 Fernandes ER, de Andrade HF Jr, Lancellotti CL, et al. In situ apoptosis of adaptive immune cells and the cellular escape of rabies virus in CNS from patients with human rabies transmitted by *Desmodus rotundus*. *Virus Res* 2011; **156**: 121–26.
- 101 Choppy D, Pothlichet J, Lafage M, et al. Ambivalent role of the innate immune response in rabies virus pathogenesis. *J Virol* 2011; **85**: 6657–68.
- 102 Lafon M, Megret F, Meuth SG, et al. Detrimental contribution of the immuno-inhibitor B7-H1 to rabies virus encephalitis. *J Immunol* 2008; **180**: 7506–15.
- 103 Lafon M, Prehaud C, Megret F, et al. Modulation of HLA-G expression in human neural cells after neurotropic viral infections. *J Virol* 2005; **79**: 15226–37.
- 104 Megret F, Prehaud C, Lafage M, et al. Modulation of HLA-G and HLA-E expression in human neuronal cells after rabies virus or herpes virus simplex type 1 infections. *Hum Immunol* 2007; **68**: 294–302.
- 105 Baloul L, Camelo S, Lafon M. Up-regulation of Fas ligand (FasL) in the central nervous system: a mechanism of immune evasion by rabies virus. *J Neurovirol* 2004; **10**: 372–82.
- 106 Hooper DC, Phares TW, Fabis MJ, Roy A. The production of antibody by invading B cells is required for the clearance of rabies virus from the central nervous system. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; **3**: e535.
- 107 Roy A, Hooper DC. Lethal silver-haired bat rabies virus infection can be prevented by opening the blood-brain barrier. *J Virol* 2007; **81**: 7993–98.
- 108 Roy A, Phares TW, Koprowski H, Hooper DC. Failure to open the blood-brain barrier and deliver immune effectors to central nervous system tissues leads to the lethal outcome of silver-haired bat rabies virus infection. *J Virol* 2007; **81**: 1110–18.
- 109 Bailey SL, Carpentier PA, McMahon EJ, Begolka WS, Miller SD. Innate and adaptive immune responses of the central nervous system. *Crit Rev Immunol* 2006; **26**: 149–88.
- 110 Thanomsridetchai N, Singht N, Tepsumethanon V, et al. Comprehensive proteome analysis of hippocampus, brainstem, and spinal cord from paralytic and furious dogs naturally infected with rabies. *J Proteome Res* 2011; **10**: 4911–24.
- 111 Reinke SN, Resch L, Maingat F, et al. Metagenomic and metabolomic characterization of rabies encephalitis: new insights into the treatment of an ancient disease. *J Infect Dis* 2012; published online Aug 21. DOI:10.1093/infdis/jis479.
- 112 Dietzschold B, Morimoto K, Hooper DC. Mechanisms of virus-induced neuronal damage and the clearance of viruses from the CNS. *Curr Top Microbiol Immunol* 2001; **253**: 145–55.
- 113 Fu ZF, Jackson AC. Neuronal dysfunction and death in rabies virus infection. *J Neurovirol* 2005; **11**: 101–06.
- 114 Morimoto K, Hooper DC, Spitsin S, Koprowski H, Dietzschold B. Pathogenicity of different rabies virus variants inversely correlates with apoptosis and rabies virus glycoprotein expression in infected primary neuron cultures. *J Virol* 1999; **73**: 510–18.
- 115 Javier RT, Rice AP. Emerging theme: cellular PDZ proteins as common targets of pathogenic viruses. *J Virol* 2011; **85**: 11544–56.
- 116 Guigoni C, Coulon P. Rabies virus is not cytolytic for rat spinal motoneurons in vitro. *J Neurovirol* 2002; **8**: 306–17.
- 117 Dhingra V, Li X, Liu Y, Fu ZF. Proteomic profiling reveals that rabies virus infection results in differential expression of host proteins involved in ion homeostasis and synaptic physiology in the central nervous system. *J Neurovirol* 2007; **13**: 107–17.
- 118 Jackson AC, Kammouni W, Zherebitskaya E, Fernyhough P. Role of oxidative stress in rabies virus infection of adult mouse dorsal root ganglion neurons. *J Virol* 2010; **84**: 4697–705.
- 119 Kammouni W, Hasan L, Saleh A, Wood H, Fernyhough P, Jackson AC. Role of nuclear factor-kappaB in oxidative stress associated with rabies virus infection of adult rat dorsal root ganglion neurons. *J Virol* 2012; **86**: 8139–46.
- 120 Scott CA, Rossiter JP, Andrew RD, Jackson AC. Structural abnormalities in neurons are sufficient to explain the clinical disease and fatal outcome of experimental rabies in yellow fluorescent protein-expressing transgenic mice. *J Virol* 2008; **82**: 513–21.
- 121 Jackson AC, Randle E, Lawrance G, Rossiter JP. Neuronal apoptosis does not play an important role in human rabies encephalitis. *J Neurovirol* 2008; **14**: 368–75.
- 122 Juntrakul S, Ruangvejvorachai P, Shuangshoti S, Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Mechanisms of escape phenomenon of spinal cord and brainstem in human rabies. *BMC Infect Dis* 2005; **5**: 104.
- 123 Chopra JS, Banerjee AK, Murthy JM, Pal SR. Paralytic rabies: a clinico-pathological study. *Brain* 1980; **103**: 789–802.
- 124 Hemachudha T, Sunsaneewitayakul B, Mitrahakdi E, et al. Paralytic complications following intravenous rabies immune globulin treatment in a patient with furious rabies. *Int J Infect Dis* 2003; **7**: 76–77.
- 125 Tangchai P, Vejjajiva A. Pathology of the peripheral nervous system in human rabies. A study of nine autopsy cases. *Brain* 1971; **94**: 299–306.
- 126 Awasthi M, Parmar H, Patankar T, Castillo M. Imaging findings in rabies encephalitis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001; **22**: 677–80.
- 127 Desai RV, Jain V, Singh P, Singhi S, Radotra BD. Radiculomyelitic rabies: can MR imaging help? *AJNR Am J Neuroradiol* 2002; **23**: 632–34.

- 128 Pleasure SJ, Fischbein NJ. Correlation of clinical and neuroimaging findings in a case of rabies encephalitis. *Arch Neurol* 2000; **57**: 1765–69.
- 129 van Thiel PP, de Bie RM, Eftimov F, et al. Fatal human rabies due to Duvenhage virus from a bat in Kenya: failure of treatment with coma-induction, ketamine, and antiviral drugs. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; **3**: e428.
- 130 Dacheux L, Reynes JM, Buchy P, et al. A reliable diagnosis of human rabies based on analysis of skin biopsy specimens. *Clin Infect Dis* 2008; **47**: 1410–17.
- 131 Kasempimolporn S, Hemachudha T, Khawplod P, Manatsathit S. Human immune response to rabies nucleocapsid and glycoprotein antigens. *Clin Exp Immunol* 1991; **84**: 195–99.
- 132 Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Urine samples for rabies RNA detection in the diagnosis of rabies in humans. *Clin Infect Dis* 2002; **34**: 874–75.
- 133 Hemachudha T, Wacharapluesadee S. Antemortem diagnosis of human rabies. *Clin Infect Dis* 2004; **39**: 1085–86.
- 134 Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Ante- and post-mortem diagnosis of rabies using nucleic acid-amplification tests. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; **10**: 207–18.
- 135 Dacheux L, Wacharapluesadee S, Hemachudha T, et al. More accurate insight into the incidence of human rabies in developing countries through validated laboratory techniques. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; **4**: e765.
- 136 Wacharapluesadee S, Phumesin P, Supavonwong P, Khawplod P, Intarut N, Hemachudha T. Comparative detection of rabies RNA by NASBA, real-time PCR and conventional PCR. *J Virol Methods* 2011; **175**: 278–82.
- 137 Preuss MA, Faber ML, Tan GS, et al. Intravenous inoculation of a bat-associated rabies virus causes lethal encephalopathy in mice through invasion of the brain via neurosecretory hypothalamic fibers. *PLoS Pathog* 2009; **5**: e1000485.
- 138 Jackson AC, Warrell MJ, Rupprecht CE, et al. Management of rabies in humans. *Clin Infect Dis* 2003; **36**: 60–63.
- 139 Nigg AJ, Walker PL. Overview, prevention, and treatment of rabies. *Pharmacotherapy* 2009; **29**: 1182–95.
- 140 Hemachudha T, Sunsaneewitayakul B, Desudchit T, et al. Failure of therapeutic coma and ketamine for therapy of human rabies. *J Neurovirol* 2006; **12**: 407–09.
- 141 McDermid RC, Saxinger L, Lee B, et al. Human rabies encephalitis following bat exposure: failure of therapeutic coma. *CMAJ* 2008; **178**: 557–61.
- 142 Hunter M, Johnson N, Hedderwick S, et al. Immunovirological correlates in human rabies treated with therapeutic coma. *J Med Virol* 2010; **82**: 1255–65.
- 143 Weli SC, Scott CA, Ward CA, Jackson AC. Rabies virus infection of primary neuronal cultures and adult mice: failure to demonstrate evidence of excitotoxicity. *J Virol* 2006; **80**: 10270–73.
- 144 Jackson AC, Kammouni W, Fernyhough P. Role of oxidative stress in rabies virus infection. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 127–38.
- 145 Willoughby RE, Roy-Burman A, Martin KW, et al. Generalised cranial artery spasm in human rabies. *Dev Biol (Basel)* 2008; **131**: 367–75.
- 146 Sing TM, Soo MY. Imaging findings in rabies. *Australas Radiol* 1996; **40**: 338–41.
- 147 Tirawatnpong S, Hemachudha T, Manutsathit S, Shuangshoti S, Phanthumchinda K, Phanuphak P. Regional distribution of rabies viral antigen in central nervous system of human encephalitic and paralytic rabies. *J Neurol Sci* 1989; **92**: 91–99.
- 148 McDannold N, Arvanitis CD, Vykhodtseva N, Livingstone MS. Temporary disruption of the blood-brain barrier by use of ultrasound and microbubbles: safety and efficacy evaluation in rhesus macaques. *Cancer Res* 2012; **72**: 3652–63.
- 149 Israsena N, Supavonwong P, Ratanasetyuth N, Khawplod P, Hemachudha T. Inhibition of rabies virus replication by multiple artificial microRNAs. *Antiviral Res* 2009; **84**: 76–83.
- 150 Faber M, Li J, Kean RB, Hooper DC, Alugupalli KR, Dietzschold B. Effective preexposure and postexposure prophylaxis of rabies with a highly attenuated recombinant rabies virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; **106**: 11300–05.
- 151 Li J, Ertel A, Portocarrero C, et al. Postexposure treatment with the live-attenuated rabies virus (RV) vaccine TriGAS triggers the clearance of wild-type RV from the central nervous system (CNS) through the rapid induction of genes relevant to adaptive immunity in CNS tissues. *J Virol* 2012; **86**: 3200–10.

ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

การเดินทางของค้างคาว

- จากวัดไปสวน จากเกาะไปแผ่นดิน จากประเทศหนึ่งไปยังอีกประเทศหนึ่ง
- เดินทางไกลได้มากกว่าที่เราคิด
- มีการอพยพย้ายถิ่นเมื่อถูกคุกคาม หรือเกิดการขาดแคลนอาหาร
- ในภูมิภาคเอเชียพบค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางได้ในประเทศไทย และประเทศกัมพูชา



- ค้างคาวแม่ไก่เป็นค้างคาวขนาดใหญ่ที่สุด เมื่อโตเต็มวัย ปีกที่กางออกมีความยาวถึง 1.8 เมตร ประเทศไทยพบได้ 4 ชนิด ได้แก่ ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ค้างคาวแม่ไก่ป่าฝน ค้างคาวแม่ไก่เกาะ และค้างคาวแม่ไก่นครสวรรค์
- ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง พบได้ในหลายจังหวัดของประเทศไทย เช่น จະเซ็งเทรา ชลบุรี สระบุรี พระนครศรีอยุธยา สิงห์บุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง
- เลือดค้างคาวไม่มีสรรพคุณทางยาและบำรุงร่างกายตามที่โฆษณาชวนเชื่อ
- ค้างคาวไม่ทำร้ายคน



มหัสจรรย์... ค้างคาวแม่ไก่

ค้างคาวช่วยมนุษย์

- ค้างคาวช่วยผสมเกสรพืชมากถึง 528 ชนิดทั่วโลก
- ค้างคาวภาคใต้ช่วยผสมเกสรทุเรียนและสะตอมีมูลค่ามากถึง 4,000 ล้านบาทต่อปี
- ค้างคาวช่วยปลูกป่า ช่วยปลูกต้นไม้ และกระจายพันธุ์พืชด้วยการกินผลไม้/ลูกไม้ และถ่ายเป็นเมล็ดพันธุ์ในที่ต่างๆ



มนุษย์ช่วยค้างคาว

- ปลูกต้นไม้ให้เป็นแหล่งอาหารและที่เกาะอยู่อาศัย เพื่อเป็นประโยชน์ต่อตัวค้างคาว
- ศัตรูของค้างคาวที่น่ากลัวที่สุดคือ คน
- ไม่ใช้สารเคมีในสวนผลไม้ จะช่วยลดสารพิษเข้าสู่ค้างคาว
- ไม่ทำการใดๆ ที่จะส่งผลกระทบต่อที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหารของค้างคาว
- อย่าหลงเชื่อ หรือ บริโภคอาหารจากค้างคาวว่าเป็นยา
- ไม่บริโภคหรือสนับสนุนการบริโภคค้างคาวไม่ว่าจะด้วยเหตุผลใด



ตามรอย...ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง



- กินอะไร...ผลไม้สุก รสหวานเช่น มะม่วง มะละกอ มะพลับ กระท้อน ยอ หว้า ไทร ผลตำลึง
- กินที่ไหน...จากการศึกษาและติดตามค้างคาวที่วัดหลวงพรหมวาสพบว่า ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางบินหากินไกลเป็นระยะทาง 0.6-22 กิโลเมตร และมักบินหากินในเส้นทางเดิม
- กินตอนไหน...ออกหากินประมาณ 18-19.00น. กลับจากการหากินประมาณ 04-05.00 น.
- กินอย่างไร...ค้างคาวแม่ไก่คาบอาหารจากต้นไม้แหล่งอาหารแล้วบินไปกินที่ต้นไม้เพื่อหลีกเลี่ยงศัตรู ที่มักทำร้ายที่ต้นไม้ที่เป็นแหล่งอาหาร
- ค้างคาวแม่ไก่มาอาศัยที่วัดเพราะปลอดภัยจากการล่าและถูกคุกคาม เนื่องจากวัดเป็นเขตอภัยทาน
- ค้างคาวอาศัยระบบนำทางโดยไม่ต้องใช้แสง จึงหลบหลีกสิ่งกีดขวางและหากินในเวลากลางคืนได้ เพื่อหลีกเลี่ยงศัตรู
- ค้างคาวผงกหัวทุกครั้งเมื่อต้องการเยี้ยว
- ค้างคาวปรับตัวเพื่อการบินโดยพัฒนาแต่ค้างคาวปรับตัวเพื่อการบินโดยพัฒนาแต่กล้ามเนื้อบริเวณอกและลดขนาดกล้ามเนื้อขาจนยืนและเดินไม่ได้



ค้างคาวอาจนำโรคสู่คนและสัตว์เลี้ยงได้

- เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า พบในค้างคาวที่ทวีปอเมริกาและยุโรป แต่ยังไม่พบในประเทศไทย
- พบเชื้อไวรัสสมองอักเสบนิปาห์ในค้างคาวแม่ไก่ที่มีถิ่นอาศัยในเอเชีย ทำให้เกิดโรคระบาดในประเทศมาเลเซียและประเทศบังกลาเทศ
- พบเชื้อไวรัสนิปาห์ในค้างคาวที่อาศัยในประเทศไทย แต่ยังไม่พบว่าติดต่อมาถึงคนหรือสุกร

- มีการพบเชื้อไวรัสต้นเหตุของโรคซาร์ส ในค้างคาวกินแมลงที่อาศัยตามถ้ำในประเทศจีน เชื้อแพร่จากค้างคาวสู่ตัวอีเห็น ก่อนติดต่อสู่คน
- เราหลีกเลี่ยงเชื้อโรคจากค้างคาวได้โดย ไม่บริโภคค้างคาว หลีกเลี่ยงการบริโภคผลไม้ที่มีรอยกัดแทะ ไม่สัมผัสมูล/เยี่ยวค้างคาวด้วยมือเปล่า ไม่รบกวนและทำร้ายค้างคาว



สัญญาเลขที่ RDG5420089

รายงานฉบับสมบูรณ์

ชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำอย่างบูรณาการ”
โครงการย่อยที่ 3 “การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค่างควา”

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ วันที่ 1 กันยายน พ.ศ. 2554 ถึงวันที่ 28 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษชาติ

หน่วยงาน: 1) คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2) คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
3) กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษานิเวศวิทยาของค่างควาและวิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการนำโรคไวรัสชนิดใหม่และ/หรือโรคติดต่ออุบัติใหม่อื่นๆ สู่สุกรหรือมนุษย์ในพื้นที่เสี่ยงต่อการระบาด
2. เพื่อศึกษาเชื้อไวรัสโรคอุบัติใหม่ในค่างควาที่มีถิ่นอาศัยและหากินบริเวณโรงเรียนเลี้ยงสุกรและในภูมิภาคใกล้เคียง
3. เพื่อศึกษาชนิดของเชื้อไวรัสชนิดใหม่ต่อปัจจัยเสี่ยงในการแพร่เชื้อสู่สุกรและมนุษย์ในพื้นที่ศึกษา

รายละเอียดผลการดำเนินงานของโครงการตามแผนงานโดยสรุป (พอสังเขป)

กิจกรรม (ตามแผน)	ผลที่คาดว่าจะได้รับ (ตามแผน)	ผลการดำเนินงาน	หมายเหตุ*
1. ศึกษาชีววิทยาของค่างควาและวิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการนำโรคไวรัสชนิดใหม่และ/หรือโรคติดต่ออุบัติใหม่อื่นๆสู่สุกร หรือ มนุษย์ในพื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดดำเนินการจัดทำฐานข้อมูล	ได้ข้อมูลความเสี่ยงของการเกิดโรคติดต่อจากค่างควาในพื้นที่ศึกษา	1.1 การศึกษาความสัมพันธ์เชื่อมโยงระหว่างค่างควาและสุกรในการแพร่กระจายเชื้อ พบว่ามีโอกาสที่จะเกิดการสัมผัสใกล้ชิดกันระหว่างค่างควาและสุกรนอกจากนั้นจากการศึกษาที่ฟาร์มสุกรทั้ง 2 แห่ง ค่างควาบริเวณฟาร์มสุกรที่ได้จากการดักจับมีจำนวนแตกต่างกันในแต่ละเดือน โดยมีจำนวนเพิ่มขึ้นระหว่างเดือนเมษายน-กรกฎาคม ซึ่งเป็นช่วงที่ค่างควาเด็กเริ่มหัดบินออกหากิน	

		1.2 พบรูปแบบการแพร่เชื้อผ่านน้ำลายหรือเยื่อค้ำคาวจากการตรวจ RNA แบบเป็นฤดูกาลในช่วงเดือนมีนาคม-กรกฎาคม แต่ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสชนิดที่พบในค้ำคาวแม่ไก่ไม่มีความสัมพันธ์กับการพบ RNA ของไวรัส และไม่เกี่ยวข้องกับฤดูกาล แอนติบอดีจึงไม่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดช่วงเวลาการแพร่เชื้อได้ดีเท่าการตรวจ RNA ไวรัส 1.3 การศึกษาเส้นทางการบินของค้ำคาวโดยการติดวิทยุยังทำให้ได้ข้อมูลเชิงลึกด้านระยะทางช่วงเวลา และสถานที่นอกเหนือจากแหล่งที่อยู่อาศัยของค้ำคาว ที่เป็นพื้นที่เสี่ยงต่อการแพร่เชื้อจากค้ำคาวสู่สุกร หรือคน โดยพบว่าค้ำคาวมีรัศมีการบินหากินระหว่าง 0.6-23 กิโลเมตร และทิศทางการออกหากินทุกทิศทางจากแหล่งที่อยู่อาศัย และส่วนใหญ่มีการบินจากจุดเกาะนอนไปยังแหล่งอาหารเส้นทางเดิมเป็นประจำทุกคืนจากการติดตามศึกษา 5 วัน	
2. ศึกษาความเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้ำคาวและ/หรือสัตว์เลี้ยงชนิดอื่นที่อยู่ในพื้นที่ที่พบเชื้อ	1. ได้ผลการวิเคราะห์การตรวจไวรัส 2. ข้อสรุปของความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ศึกษา	2.1 การศึกษาทางภูมิคุ้มกันวิทยาต่อไวรัสชนิดที่พบด้วยวิธี ELISA จากตัวอย่างค้ำคาวแม่ไก่ภาคกลางรวม 380 ตัว พบผลบวก 40 ตัวอย่าง ในขณะที่ตรวจเลือดจากค้ำคาวชนิดอื่นทั้งที่กินแมลงและ	ได้ดำเนินการตามแผน

		กินผลไม้จำนวน 388 ตัว ผลเป็นลบทั้งหมด ยืนยันว่าค่างควาแม่ไก่เป็นแหล่งรังโรคตามธรรมชาติของไวรัสสนิปาห์ 2.2 การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อไวรัสสนิปาห์ด้วยวิธี PCR จากค่างควาแม่ไก่ภาคกลาง 397 ตัว พบผลบวก 8 ตัว เป็นค่างควาที่จับได้จากฟาร์ม 3 ตัว และจากวัดแหล่งที่อยู่อาศัยจำนวน 5 ตัว โดยพบผลบวกในตัวอย่างน้ำลาย 8 ใน 397 ตัวอย่าง และในเยี่ยวค่างควา 1 ใน 126 ตัวอย่าง โดยมีค่างควาจากวัด 1 ตัว ที่พบผลบวกทั้งในน้ำลายและเยี่ยว 2.3 ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสสนิปาห์ด้วยวิธี PCR จากค่างควากินแมลงและค่างควากินผลไม้ชนิดอื่น 405 ตัว จำนวน พบผลบวกไวรัสสนิปาห์จำนวน 2 pool ในตัวอย่างน้ำลายจากค่างความงกุฎปลอมใหญ่ และค่างควาหน้ายักษ์หมอบูญส่ง 2.4 การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อไวรัสอีโบลา ไวรัสโคโรนา ไวรัสชิคุนคุนยา และ Paramyxovirus พบไวรัสโคโรนาในมูลค่างควา 5 ใน 251 ตัวอย่าง และพบเชื้อ Paramyxovirus ชนิดใหม่ใน 15 ตัวอย่าง pool urine แต่ตรวจไม่พบเชื้ออีโบลาและชิคุนคุนยา จากตัวอย่างน้ำลาย และเยี่ยวค่างควา 2.5 ค่างควาในประเทศไทยเป็น	
--	--	---	--

		แหล่งรังโรคของไวรัสชนิดใหม่ (novel) เช่น Bat coronavirus และ Bat paramyxovirus ที่อาจนำโรคสู่คนและสัตว์เลี้ยงได้	
3. ศึกษาชนิดของเชื้อไวรัสชนิดใหม่ต่อปัจจัยเสี่ยงในการแพร่เชื้อสู่สุกร และมนุษย์ในพื้นที่ศึกษา	ได้ผลประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคในคน-สุกรหรือสัตว์อื่นๆ	การถอดรหัสพันธุกรรมเชื้อไวรัสชนิดใหม่จากตัวอย่างค้างคาวที่ให้ผลบวกจากการตรวจด้วยวิธี PCR จำนวน 56 ตัวอย่าง พบว่ามีรหัสพันธุกรรมจัดอยู่ในกลุ่มของไวรัสที่พบในประเทศไทย 54 ตัวอย่าง และ จัดอยู่ในกลุ่มของไวรัสที่พบในประเทศมาเลเซีย 2 ตัวอย่าง	ได้ดำเนินการตามแผน

ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะอื่นๆ ต่อ สกว.

.....ไม่มี.....

ลงนาม.....

ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษาดี
 (หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน)
 วันที่ 31 พฤษภาคม พ.ศ. 2556

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

โครงการย่อยที่ 3

การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว

สุภาภรณ์ วัชรพฤษาติ¹, ประทีป ดั่งวงศ์², ภัทรพล มณีอ่อน³,
พิมพ์ชนก สรวงมงคล³, กิตติยาภรณ์ เอี่ยมสะอาด³ และทีมวิจัย

¹คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ²คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,

³กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช

บทสรุปผู้บริหาร

การศึกษาความสัมพันธ์เชื่อมโยงระหว่างค้างคาวและสุกรในการแพร่กระจายเชื้อ พบว่ามีโอกาสที่จะเกิดการสัมผัสใกล้ชิดกันระหว่างค้างคาวและสุกร จากการศึกษาที่ฟาร์มสุกรทั้ง 2 แห่ง ค้างคาวบริเวณฟาร์มสุกรที่ได้จากการดักจับมีจำนวนแตกต่างกันในแต่ละเดือน โดยมีจำนวนเพิ่มขึ้นระหว่างเดือนเมษายน-กรกฎาคม ซึ่งเป็นช่วงที่ค้างคาวเด็กเริ่มหัดบินออกหากิน ทั้งนี้จำนวนค้างคาวที่ดักจับได้มีสัมพันธ์กับการมีดอก/ผลของต้นไม้บริเวณฟาร์มที่ศึกษาการศึกษาเส้นทางการบินของค้างคาวโดยการติดวิทยุยังทำให้ได้ข้อมูลเชิงลึกด้านระยะทาง ช่วงเวลา และสถานที่ นอกเหนือจากแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว ที่เป็นพื้นที่เสี่ยงต่อการแพร่เชื้อจากค้างคาวสู่สุกร หรือ คน โดยพบว่าค้างคาวมีรัศมีในการบินหากินระหว่าง 0.6-23 กิโลเมตร และทิศทางการออกหากินทุกทิศทางจากแหล่งที่อยู่อาศัย และส่วนใหญ่มีการบินจากจุดเกาะนอนไปยังแหล่งอาหารเส้นทางเดิมเป็นประจำทุกคืนจากการติดตามศึกษาประมาณ 5 วัน

โอกาสเสี่ยงของสุกรที่จะรับเชื้อไวรัสสุกรจากค้างคาว โดยการตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสสุกรจากค้างคาวที่จับได้ ณ ฟาร์มสุกรที่ทำการศึกษาทั้ง 2 แห่ง เป็นประจำทุกเดือน เดือนละสองคืน ตลอดระยะเวลา 12 เดือน พบค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางจากฟาร์มที่ 1 มีแอนติบอดีไวรัสสุกร 2 ตัว และ 5 ตัว จากฟาร์มที่ 2 และตรวจพบเชื้อในน้ำลายค้างคาว 3 ตัว ที่จับได้จากฟาร์มที่ 2 (เดือนพฤษภาคม 2 ตัวอย่าง และกรกฎาคม 1 ตัวอย่าง) จึงเป็นข้อบ่งชี้ชัดเจนว่าสุกรมีโอกาสที่จะรับเชื้อจากค้างคาวได้หากมีปัจจัยที่เหมาะสมของ สถานที่ เวลา โอกาสและปริมาณเชื้อไวรัสในสิ่งคัดหลั่ง และโอกาสที่มีการปนเปื้อนเชื้อไวรัสในสิ่งแวดล้อมการลดจำนวนค้างคาวที่บินมายังฟาร์มสุกรและลดโอกาสสัมผัสระหว่างค้างคาวและสุกรจะช่วยลดโอกาสการแพร่เชื้อจากไวรัสสุกรได้ทั้งนี้การตรวจแอนติบอดีไม่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดช่วงเวลาการแพร่เชื้อได้ดีเท่าการตรวจ RNA ไวรัสเนื่องจากการแพร่เชื้อผ่านน้ำลายหรือเยี่ยวค้างคาว (จากการตรวจ RNA) เกิดเป็นฤดูกาลในช่วง เดือนมีนาคม-กรกฎาคม แต่ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสสุกรจะพบได้ตลอดในค้างคาวแม่ไก่โดยไม่เกี่ยวข้องกับฤดูกาล การศึกษาสายพันธุ์ไวรัสสุกรที่พบในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ในช่วงฤดูกาลแพร่เชื้อตามแหล่งเกาะนอนและการดักจับที่ฟาร์มสุกรมีลักษณะพันธุกรรมเหมือน-ใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสสุกรที่พบระบาดในประเทศบังกลาเทศ โดยมีความเหมือนของรหัสพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 98.9-100%

ไวรัสชนิดที่พบระบาดในประเทศบังกลาเทศและอินเดียตั้งแต่ปี 2001 ถึงปัจจุบันมีการแพร่เชื้อโดยตรงผ่านน้ำอันทาลัมสดที่มีการปนเปื้อนและสามารถติดต่อจากคนสู่คน แม้ยังไม่มีรายงานการติดเชื้อของไวรัสสายพันธุ์นี้ในสุกรเช่นที่เกิดที่ประเทศมาเลเซียแต่ก็มีความเป็นไปได้เช่นกันที่สุกรอาจติดเชื้อสายพันธุ์นี้ ฉะนั้นการเฝ้าระวังติดตามอัตราการติดเชื้อของไวรัสในค่างควอย่างสม่ำเสมอ และมาตรการต่างๆ ที่ช่วยลดโอกาสที่ค่างควและสุกรจะสัมผัสกัน จะช่วยลดโอกาสการติดเชื้อในสุกรในประเทศการพบไวรัสชนิดที่สายพันธุ์บังกลาเทศในค่างควนี้ เป็นสิ่งบ่งชี้อันตรายที่อาจเกิดการติดต่อสู่คนได้โดยตรง โดยเฉพาะในคนที่มีโอกาสสัมผัสกับสิ่งคัดหลั่งของค่างคว โดยที่แม้ในประเทศไทยจะไม่มี การบริโภคน้ำอันทาลัมสดที่เป็นต้นตอของการแพร่เชื้อโรคเหมือนกับประเทศบังกลาเทศ แต่ยังมีโอกาสสัมผัสเชื้อจากพฤติกรรมเสี่ยงต่างๆ เช่น การสัมผัสเยี่ยวค่างควจากการเดินผ่านต้นไม้ที่ค่างควอาศัยอยู่ การกินผลไม้ที่มีร่องรอยการกัดแทะ การดื่ม น้ำตาลจากต้นมะพร้าวหรือต้นตาลที่ต้มสุก และความตระหนักในช่องทางสัมผัสโรค จะช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคในคนได้

การตรวจเชื้อไวรัสในค่างควที่ทำการศึกษารังนี้ ยังพบว่าค่างควในประเทศไทยเป็นแหล่งรังโรคของไวรัสชนิดใหม่ (novel) เช่น Bat coronavirus และ Bat paramyxovirus ที่อาจนำโรคสู่คนและสัตว์เลี้ยงได้

ข้อเสนอแนะ

นิเวศวิทยาและพฤติกรรมค่างคว กับการป้องกันโรค

1. จากผลการศึกษาพบว่าค่างควทั้งชนิดที่กินแมลงและผลไม้ไปใช้พื้นที่บริเวณฟาร์มสุกรตลอดทุกเดือนดังนั้นควรมีการจัดการบริเวณโรงเรือนเลี้ยงสุกรโดยเฉพาะในเวลากลางคืน เช่นควรมีวัสดุ ปิดกั้นหรือล้อมที่อยู่ของสุกรไม่ให้ค่างควเข้าใกล้ชิดกับสุกรโดยตรง
2. หากพิจารณาเฉพาะค่างควแม่ใกล้ภาคกลาง พบว่าจะเข้ามาใช้และเกาะต้นไม้บริเวณฟาร์มสุกรที่มีความสูงเกิน 4 –5 เมตรขึ้นไปดังนั้นควรมีการจัดการต้นไม้โดยเฉพาะไม้ที่ให้ผลสุกบริเวณโดยรอบที่บริเวณที่สุกรพักอาศัย ไม้ให้สูงเกิน 4 –5 เมตรหรือหากเป็นไปได้ไม่ควรให้มีไม้ยืนต้นอยู่โดยรอบฟาร์มสุกร อาจต้องให้ความสำคัญพิเศษกับต้นมะม่วง เนื่องจากค่างควแม่ใกล้ภาคกลางดักจับได้มากที่สุดบริเวณต้นมะม่วง โดยจะพบเป็นตัวเดิม ที่แวะเข้ามาต้นมะม่วงต้นเดิมหลายครั้งติดต่อกันถึงแม้ว่ามะม่วงต้นนั้นจะไม่มีผลก็ตาม
3. เนื่องจากค่างควมีเส้นทางออกหากินในทุกทิศทางจากบริเวณแห่งเกาะนอน ดังนั้นพื้นที่รัศมีโดยรอบจุดเกาะนอนประมาณ 23 กิโลเมตร จัดเป็นพื้นที่ที่เสี่ยงต่อการแพร่โรคอุบัติใหม่ในค่างควแม่ใกล้ภาคกลางที่สุดหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีแผนการรองรับที่มีประสิทธิภาพและสามารถนำไปใช้ได้จริงอย่างทันที
4. จากการศึกษาพบว่า มีค่างควแม่ใกล้ภาคกลางเพศผู้ บินไปเกาะนอนนอกเหนือจากที่เกาะนอนประจำ และยังพบไปอาศัยในแหล่งเกาะนอนใหม่ (satellite colony) เป็นเวลา หนึ่งถึงสองคืนแล้วจึงจะบิน

กลับมาแหล่งเกาะนอนประจำอีกครั้ง ดังนั้นมีความเป็นไปได้สูงที่เชื้อจะมีการกระจายกว้างขวางไปเรื่อยๆ โดยเฉพาะถ้ามีจำนวนของค้างคาวที่มีการติดเชื้อเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เป็นเรื่องที่ทุกฝ่ายต้องตระหนักและเตรียมการรับมือในเรื่องนี้ และต้องเร่งสำรวจหา แหล่งเกาะนอนใหม่ (satellite colony) ของค้างคาวแม่ไก่และปริมาณของการติดเชื้ออยู่ตลอดเวลา

5. เนื่องจากการติดตามวิทยุค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง โดยใช้ GPS-ACC Logger-Tags ในการศึกษาครั้งนี้ มีอายุการใช้งานได้แต่ละ ประมาณ 5 วัน ข้อมูลที่ได้ค่อนข้างละเอียด จึงเป็นการเคลื่อนที่หากินในรอบคืนของแต่ละตัว แต่เป็นช่วงระยะเวลาสั้นๆ ดังนั้นจึง ไม่สามารถตอบปัญหาเรื่องการเคลื่อนที่หากินและแหล่งเกาะนอนต่างๆ รวมทั้งการอพยพโยกย้ายประชากรในรอบหนึ่งปีได้ ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการติดตามวิทยุค้างคาวแม่ไก่โดยใช้ PTT Satellite Transmitter เพื่อติดตามการเคลื่อนที่ได้เป็นระยะเวลามากกว่า 1 ปี

ไวรัสวิทยากับการป้องกันโรค

1. การตรวจติดตามอัตราการติดเชื้อไวรัสชนิด (ด้วยการตรวจแอนติบอดี) ของค้างคาวที่เป็นแหล่งรังโรค ได้แก่ กลุ่มค้างคาวแม่ไก่ ถ้ามีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ จะเป็นเครื่องช่วยเตือนอันตรายของการแพร่ระบาดของเชื้อจากแหล่งรังโรคสู่สุกร คน หรือสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ได้
2. เป้าหมายชนิดค้างคาวที่ควรเฝ้าระวังคือค้างคาวแม่ไก่ เพราะเป็นแหล่งรังโรคโดยธรรมชาติ ค้างคาวชนิดอื่นๆ อาจมีการติดเชื้อได้ แต่อาจไม่ได้เป็นแหล่งรังโรคที่แท้จริง
3. ค้างคาวกินแมลงไม่ได้เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อไวรัสชนิดตามธรรมชาติ แต่จากการศึกษาไวรัสชนิดอื่นๆ พบว่าค้างคาวกลุ่มนี้เป็นรังโรคของไวรัสโคโรนาที่สามารถก่อโรคในคนได้ และ bat paramyxovirus ที่ขณะนี้ยังไม่มีรายงานว่าสามารถนำโรคสู่คนหรือสัตว์เลี้ยง แต่การศึกษาไวรัสอุบัติใหม่ในแหล่งนำโรคเหล่านี้จะช่วยให้ข้อมูลพื้นฐานในกรณีที่ไวรัสเหล่านี้เกิดการข้ามสายพันธุ์สู่คนหรือสัตว์เลี้ยงในอนาคต
4. การศึกษาชนิด (genotype) ของไวรัสชนิดนี้อาจให้ข้อมูลของวิธีการติดต่อได้ การศึกษาในค้างคาวในภาคกลางและภาคตะวันออกครั้งนี้พบว่าเชื้อไวรัสชนิดนี้เป็นชนิดเดียวกับที่พบในประเทศบังกลาเทศ ซึ่งสามารถติดต่อมายังคนได้โดยตรงและสามารถแพร่จากคนสู่คนได้อีกทอด แต่ก็ไม่ควรละเลยไวรัสชนิดดังกล่าวจะไม่สามารถแพร่มาสู่สุกรได้ แม้จะไม่มีรายงานมาก่อนก็ตาม
5. การสร้างแผนที่เพื่อทำนายความเสี่ยงและทิศทางของการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสชนิดนี้จากค้างคาวมาสู่คนหรือสุกร โดยอาศัยข้อมูลความหนาแน่นและการเปลี่ยนแปลงประชากรค้างคาว และอัตราการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ในแต่ละพื้นที่ การเปลี่ยนแปลงสภาวะสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับวิถีการดำรงชีวิตและความแข็งแรงของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง รวมทั้ง ความหนาแน่นของประชากรสุกร เป็นเรื่องที่ต้องเร่งศึกษาเพื่อให้สามารถระบุจุดที่เป็นความเสี่ยงในระดับต่างๆ เพื่อให้การวางแผนควบคุมและป้องกันโรคมมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

รายงานฉบับสมบูรณ์

ชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

โครงการย่อยที่ 3 การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว

ผู้ดำเนินการวิจัย

1. ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษชาติ
2. ดร. ประทีป ดั่งแคว
3. น.สพ.ภัทรพล มณีอ่อน
4. สพ.ญ.พิมพ์ชนก สรวงมงคล
5. สพ.ญ.กิตติยาภรณ์ เอี่ยมสะอาด

1.บทนำ

ค้างคาวเป็นสัตว์อมโรคของเชื้อไวรัสหลายชนิดทั้งที่ก่อโรคในคนและสัตว์เช่นไวรัสนิปาห์ไวรัสโคโรนาไวรัสอีโบล่า เป็นต้น มีรายงานพบว่าค้างคาวแม่ไก่เป็นแหล่งรังโรคสำคัญของไวรัสนิปาห์ที่สามารถทำให้เกิดโรคระบาดในสุกร และแพร่เชื้อจากสุกรสู่คน ในประเทศมาเลเซีย ระหว่างปี พ.ศ. 2541-2542 หรือค้างคาวนำโรคสู่คนโดยตรงผ่านการดื่มน้ำอันทาล์มสดที่ปนเปื้อนเชื้อไวรัสจากค้างคาว จากการระบาดที่ประเทศบังกลาเทศและอินเดียในปี พ.ศ.2544 และปัจจุบันยังพบการระบาดของโรคทุกปีในประเทศบังกลาเทศ ส่วนค้างคาวบางชนิดมีรายงานการพบเชื้อไวรัสนิปาห์ในต่างประเทศแต่ยังไม่ได้มีการสำรวจในประเทศไทย เช่น ค้างคาวขอบหูขาวกลาง ค้างคาวเพดานเล็ก เป็นต้น ซึ่งค้างคาวเหล่านี้มีโอกาสสูงที่จะเป็นพาหะนำโรคในประเทศไทยได้เช่นเดียวกัน การสำรวจชนิดค้างคาวที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับโรงเรือนเลี้ยงสุกรทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น มีแหล่งเกาะนอนหรือมีแหล่งอาหาร (ผลไม้หรือแมลง) ในบริเวณโรงเรือนเลี้ยงสุกรจะช่วยประเมินความเสี่ยงของโรงเรือนนั้นๆ ต่อการแพร่เชื้อไวรัสนิปาห์จากค้างคาวสู่สุกรและหากสามารถพิสูจน์การพบเชื้อไวรัสนิปาห์ในค้างคาวที่พบในบริเวณโรงเรือนเลี้ยงสุกร หรือแหล่งเกาะนอนบริเวณใกล้โรงเรือนด้วยการตรวจหาสารพันธุกรรมจากสิ่งคัดหลั่ง หรือตรวจหาแอนติบอดีจากเลือดก็จะช่วยยืนยันถึงความเสี่ยงที่มากขึ้นไปอีกระดับหนึ่ง และหากเชื้อไวรัสนิปาห์ที่พบเป็นสายพันธุ์เดียวกับที่พบเป็นสาเหตุของการระบาดในประเทศมาเลเซีย (หรือแม้แต่สายพันธุ์บังกลาเทศก็ตาม) ก็จะถือว่าเป็นความเสี่ยงระดับสูงสุดที่จะต้องมีการบริหารจัดการโรงเรือนโดยทันทีเพื่อลดปัจจัยเสี่ยงที่จะเกิดโรคระบาดในสุกร ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นพื้นฐานความรู้สำคัญที่จะสามารถนำไปใช้ในการจำแนกโซนความเสี่ยงที่จะเกิดโรคระบาดจากไวรัสนิปาห์ในสุกรโดยมีค้างคาวเป็นตัวชี้วัดรวมถึงโรคอุบัติใหม่อื่นๆ ที่มีค้างคาวเป็นพาหะเช่นไวรัสโคโรนา Ebola ทั้ง Reston และอื่นๆ ดังที่พบแล้วในบังกลาเทศ เป็นต้น โครงการศึกษานี้ประกอบด้วย 3 โครงการย่อยได้แก่ (1) โครงการศึกษานิเวศของค้างคาวในพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคไวรัสนิปาห์ในสุกร (2) โครงการศึกษาภาวะการติดโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาวที่มีถิ่นอาศัยและหากินบริเวณโรงเรือนเลี้ยงสุกรและ (3) โครงการศึกษาชนิดของ

สายพันธุ์ไวรัสชนิดใหม่ที่พบในค้างคาว ทั้งนี้โครงการได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยเพิ่มเติมจากองค์การอาหารและเกษตรโลก (FAO) ในการจัดหาอุปกรณ์วิทยุติดตามค้างคาวและผู้เชี่ยวชาญจากต่างประเทศให้ดำเนินการ โครงการติดตามวิทยุค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง เพื่อติดตามการเคลื่อนที่ จุดพัก และแหล่งอาหาร ซึ่งข้อมูลที่จะได้จากการศึกษาดังกล่าวจะมีส่วนสำคัญในการสนับสนุนการดำเนินการของโครงการศึกษาวิจัยนี้ให้สามารถบรรลุวัตถุประสงค์และมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

2. วิธีการดำเนินการ ผลการดำเนินการ และสรุปผลการดำเนินการ

2.1 โครงการศึกษานิเวศของค้างคาวในพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคไวรัสซิกาในสุกร

2.1.1 โครงการศึกษาความสัมพันธ์ของค้างคาวกับพื้นที่โรงเรือนเลี้ยงสุกรแบบเปิด

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษานิเวศวิทยาของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางและวิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการนำโรคไวรัสซิกาและ/หรือโรคติดต่ออุบัติใหม่สู่สุกรหรือมนุษย์ในพื้นที่เสี่ยงต่อการระบาด

วิธีการดำเนินการ

1) เลือกโรงเรือนเลี้ยงสุกรที่มีปัจจัยเสี่ยงตามเกณฑ์ดังนี้

- มีลักษณะเปิด คือเป็นโรงเรือนที่ไม่มีผนัง เปิดให้มีการระบายอากาศตามธรรมชาติ
- มีการปลูกต้นไม้ใกล้โรงเรือน
- มีสวนผลไม้ในบริเวณโรงเรือนหรือใกล้เคียง
- มีร่องรอยการพบค้างคาว
- อยู่ในเขตพื้นที่ที่มีการรายงานการพบเชื้อไวรัสซิกาในค้างคาว

2) สำรวจชนิดค้างคาวที่มีถิ่นอาศัยและหากินบริเวณโรงเรือนเลี้ยงสุกรในพื้นที่ศึกษา

- ใช้ตาข่ายขนาดตาของตาข่ายเบอร์ 8 ยาว 14 เมตร และความกว้าง 4 เมตร ให้ครอบคลุมบริเวณพื้นที่ฟาร์มสุกรทั้งสองฟาร์มฟาร์มละ 5 ตาข่าย ต่อคืน ครั้งละ 2 คืน
- จับค้างคาวที่ฟาร์มทั้งสองในเวลาเดียวกัน เป็นประจำทุกเดือน เดือนละ 2 คืนต่อฟาร์ม รวมระยะเวลา 1 ปี (มกราคม – ธันวาคม 2555) คิดเป็นการสำรวจทั้งหมด 240 trap-night (120 trap-night ต่อหนึ่งฟาร์มหมู่) และจับค้างคาวที่อาศัยที่วัดหลวงพรมหาवासจำนวน 10-20 ตัวต่อเดือน เพื่อเป็นประชากรกลุ่มควบคุม

3) สำรวจจำนวนประชากรและจำแนกชนิดของค้างคาวที่มีถิ่นอาศัยและหากินบริเวณโรงเรือนเลี้ยงสุกรในพื้นที่ศึกษา

ทำการวัดขนาดส่วนต่างๆของค้างคาว คือ หัวและลำตัว (Head and Body = HB), หาง (tail = T), ดินหลัง (hindfoot = HF), กลางปีก (forearm = FA) และหู (ear = E) พร้อมชั่งน้ำหนัก เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของค้างคาว

4) สำรวจจำนวนต้นไม้และซีฟลักซ์ของต้นไม้

สำรวจจำนวนต้นไม้และตรวจสอบชีพลักษณ์ (phenology) ของต้นไม้ ที่มีรัศมีจากฟาร์มที่ศึกษาไม่เกิน 50 เมตรโดยแบ่งการเก็บข้อมูลออกเป็น ใบอ่อน ใบแก่ ผลอ่อน ผลแก่ ผลสุกและดอก ในบริเวณฟาร์มสุกรทั้ง 2 ฟาร์มเป็นประจำทุกเดือน รวมระยะเวลา 1 ปี (มกราคม – ธันวาคม 2555)

อย่างไรก็ตามขนาดพื้นที่และจำนวนต้นไม้ในการศึกษานี้เป็นปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมให้มีขนาดเท่ากันได้เนื่องจากการพิจารณาเลือกฟาร์มตัวอย่างในการศึกษา และให้ความสำคัญหลักๆ 3 ประการในการพิจารณาเลือกฟาร์มตัวอย่างคือ

1. เป็นฟาร์มแบบเปิด
2. ฟาร์มที่ตั้งอยู่โดยรอบจุดเกาะนอนค่างคาว
3. เจ้าของฟาร์มต้องยินดีให้คณะผู้ศึกษาวิจัยดำเนินการทำกิจกรรมต่างๆ ได้ในระยะเวลาหนึ่งปี

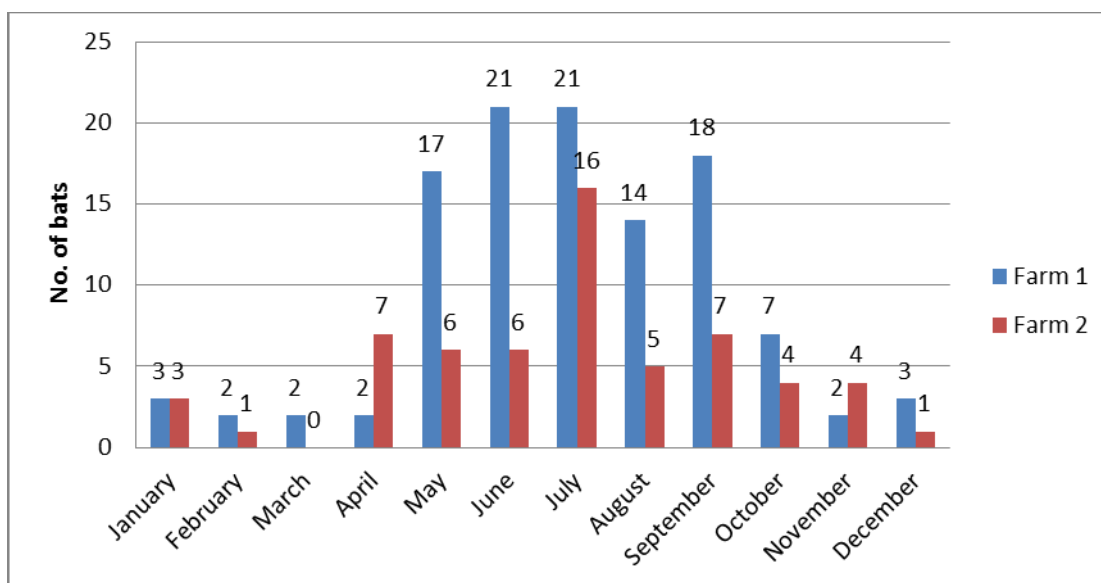
5) วิเคราะห์ชนิดค่างคาวที่มีโอกาสในการนำโรคสู่สุกรจากรายงาน เพื่อประเมินความเสี่ยง

ผลการดำเนินการ

1. โรงเรือนเลี้ยงสุกรที่เลือกเป็นสถานที่ศึกษาวิจัย 2 แห่ง ประกอบด้วย ฟาร์มคุณสนั่น ใจงาม (ฟาร์มที่ 1) และ ฟาร์มคุณบุญเลิศพุ่มจันทร์ (ฟาร์มที่ 2) ซึ่งมีระยะห่างจากแหล่งอาศัยของค่างคาวแม่ไก่ภาคกลางวัดหลวง พรหมवासเป็นระยะทาง 5.5 และ 0.6 กิโลเมตร ตามลำดับ
2. การสำรวจจำนวนประชากรและจำแนกชนิดของค่างคาวชนิดในบริเวณฟาร์มสุกร 2 แห่ง ที่มีที่ตั้งอยู่ใกล้แหล่งเกาะนอนของค่างคาวแม่ไก่ภาคกลาง และบริเวณวัดหลวงพรหมवासที่เป็นแหล่งเกาะนอนของค่างคาวแม่ไก่ภาคกลาง เป็นประจำทุกเดือนตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม 2555 รวมทั้งสิ้น 12 เดือน ได้ค่างคาวทั้งหมด 394 ตัว จำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่ม 6 ชนิด ดังนี้ หนึ่งกลุ่มค่างคาวกินผลไม้ (megachiroptera) ประกอบด้วยค่างคาว 3 ชนิดคือ ค่างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (*Pteropus lylei*) ค่างคาวขอบหูขาวกลาง (*Cynopterus sphinx*) และค่างคาวเล็บกุด (*Eonycteris spelaea*) สองกลุ่มค่างคาวกินแมลง (microchiroptera) ประกอบด้วยค่างคาว 3 ชนิดคือ ค่างคาวเพดานใหญ่ (*Scotophilus heathii*) ค่างคาวเพดานเล็ก (*Scotophilu skuhlii*) และค่างคาวหูหนูตีนโตเล็ก (*Myotis horsfieldi*) รายละเอียดของชนิดและจำนวนตัวแสดงดังตารางที่ 1 และจำนวนค่างคาวที่จับได้รายเดือนจากฟาร์มสุกรที่เลือกเป็นสถานที่ศึกษาวิจัย 2 แห่งแสดงดังรูปที่ 1 สัดส่วนของจำนวนค่างคาวที่จับได้แยกตามวัยจากฟาร์มสุกรที่ศึกษาทั้ง 2 แห่งรายเดือนแสดงดังรูปที่ 2 A-B รายละเอียดจำนวนและชนิดค่างคาวที่จับได้จากฟาร์มทั้งสองและแหล่งเกาะนอนแสดงไว้ในตารางที่ S1 (ภาคผนวก)

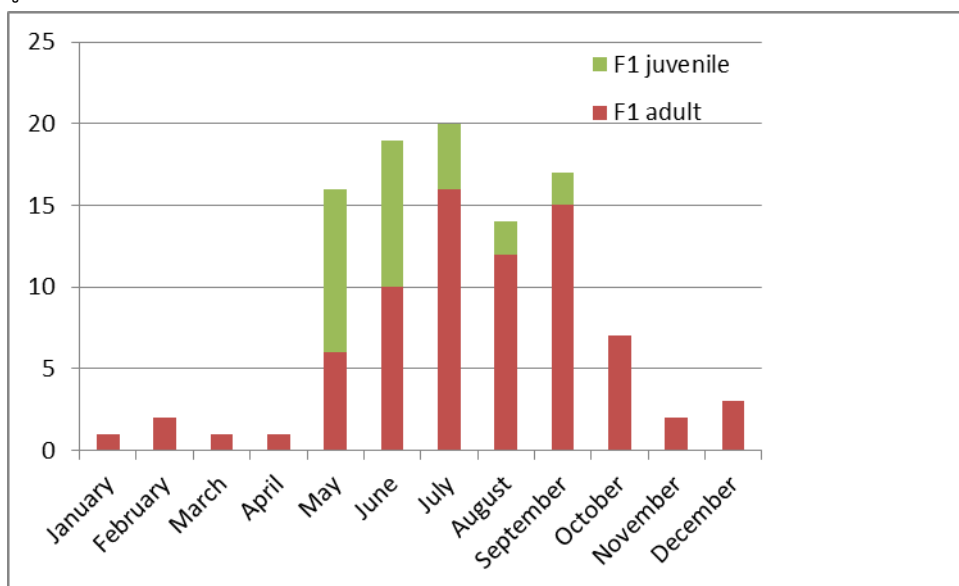
ตารางที่ 1 ชนิดและจำนวนค้างคาวที่จับได้ในระหว่างเดือน มกราคม – ธันวาคม พ.ศ. 2555

ชนิด	Species	จำนวนตัว
ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง	<i>Pteropus lylei</i>	374
ค้างคาวขอบหูขาวกลาง	<i>Cynopterus sphinx</i>	7
ค้างคาวเล็บกุด	<i>Eonycteris spelaea</i>	1
ค้างคาวเพดานใหญ่	<i>Scotophilus heathii</i>	8
ค้างคาวเพดานเล็ก	<i>Scotophilus kuhlii</i>	3
ค้างคาวหูหนוטินโตเล็ก	<i>Myotis horsfieldi</i>	1
รวม		394

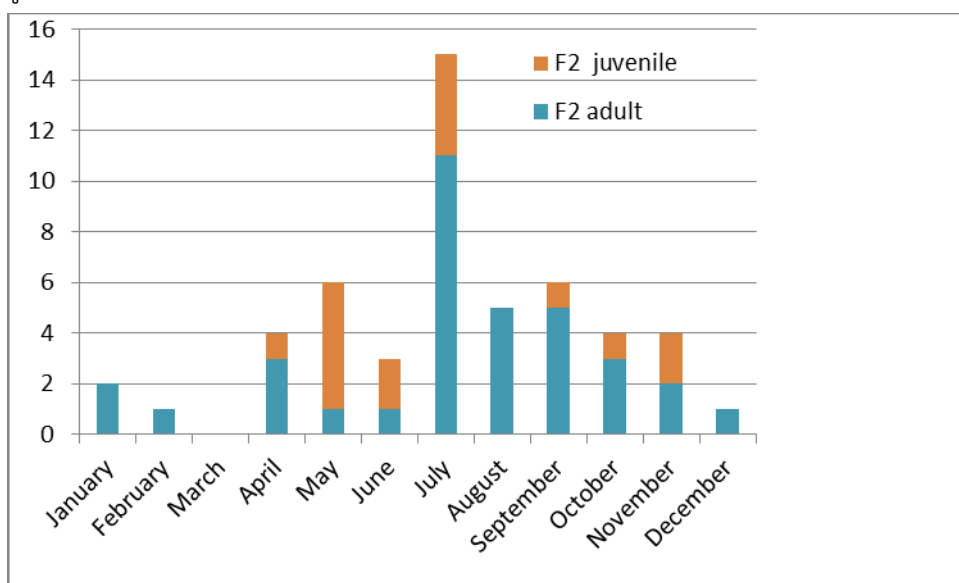


รูปที่ 1 แสดงจำนวนค้างคาวที่จับได้รายเดือนจากฟาร์มสุกรที่เลือกเป็นสถานที่ศึกษาวิจัย 2 แห่ง ระหว่างเดือน มกราคม-ธันวาคม 2555

รูปที่ 2A



รูปที่ 2B



รูปที่ 2 สัดส่วนของจำนวนค้างคาวที่จับได้แยกตามวัยจากฟาร์มสุกรที่ศึกษาทั้ง 2 แห่ง (A) ฟาร์มที่ 1 และ (B) ฟาร์มที่ 2

3. การสำรวจการออกดอกออกผลต้นไม้บริเวณฟาร์มที่ 1 มีจำนวน 35 ต้น และฟาร์มที่ 2 มีจำนวน 23 ต้น การสำรวจรายเดือนในช่วงเดียวกับที่ทำการดักจับค้างคาวพบว่า มีจำนวนของต้นไม้ที่มีผลและดอกในแต่ละเดือนแสดงดังตารางที่ 2 ต้นไม้ที่สำรวจได้ในบริเวณฟาร์มทั้ง 2 ส่วนใหญ่จะเป็นไม้ผล โดยฟาร์มที่ 1 ต้นไม้มีผลมากที่สุดในเดือน มีนาคม คิดเป็น 45.71% ของต้นไม้ทั้งหมด และฟาร์มที่ 2 มีต้นไม้ที่มีผลมากที่สุดในเดือน กุมภาพันธ์ คิดเป็น 78.26% ของต้นไม้ทั้งหมด อีกทั้งบริเวณโดยรอบของฟาร์มจะเป็นสวนผลไม้ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการพบค้างคาว

สรุปผลการดำเนินการ

1. การตั้งตาข่ายจับค้างคาวที่ฟาร์มสุกร พบว่าสามารถจับค้างคาวจากฟาร์มทั้งสองได้ทุกเดือน (ยกเว้นเดือนมีนาคม ในฟาร์มที่ 2) โดยมีจำนวนที่จับได้เพิ่มขึ้นระหว่างเดือน เมษายน ถึง กันยายน (รูปที่ 1) ซึ่งเป็นช่วงเดือนที่ลูกค้างคาวเริ่มออกจากอกแม่และหัดบิน และจากการจำแนกวัยค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางที่จับได้พบว่า มีค้างคาวตัวไม่เต็มวัยถูกจับได้ ณ ฟาร์มที่ 1 ระหว่างเดือน พฤษภาคม-กันยายน และระหว่างเดือนเมษายน-พฤศจิกายน ในฟาร์มที่ 2 (รูปที่ 2 A-B)
2. ชนิดค้างคาวที่จับได้จากฟาร์มสุกรทั้ง 2 แห่ง ส่วนใหญ่เป็นค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง คิดเป็นร้อยละ 92 และร้อยละ 82 ในฟาร์มที่ 1 และ 2 ตามลำดับ
3. จากผลการศึกษาพบว่าปัจจัยเชื่อมโยงของจำนวนค้างคาวที่ดักจับได้มีความความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับฤดูกาลมีดอก/ผลของต้นไม้บริเวณฟาร์มที่เป็นพื้นที่ศึกษา
4. ความสัมพันธ์ของระยะห่างระหว่างแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาวกับฟาร์มสุกร และจำนวนที่จับได้ พบว่าฟาร์มที่ 1 แม้จะมีระยะทางไกลกว่า แต่กลับมีจำนวนค้างคาวที่จับได้มากกว่า ดังนั้นน่าจะมียปัจจัยแวดล้อมอื่นส่งเสริมการมาของค้างคาวมากกว่าระยะทาง เช่น จำนวนไม้ผล ไม้ดอก ฤดูกาลของการออกดอก-ผล รวมทั้งรูปแบบการใช้ประโยชน์ที่ดินโดยรอบพื้นที่ฟาร์มเป็นต้น

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนและร้อยละ (%) ของต้นไม้ที่ออกผลและดอก ระหว่างเดือน มกราคม – ธันวาคม พ.ศ. 2555

ฟาร์มที่ 1					ฟาร์มที่ 2 [#]				
เดือน	ผล* (ต้น)	%	ดอก (ต้น)	%	เดือน	ผล (ต้น)	%	ดอก (ต้น)	%
ม.ค.	13	37.14	2	5.71	ม.ค.	15	65.22	4	17.39
ก.พ.	11	31.43	4	11.43	ก.พ.	18	78.26	3	13.04
มี.ค.	16	45.71	2	5.71	มี.ค.	15	65.22	2	8.70
เม.ย.	15	42.86	9	25.71	เม.ย.	17	73.91	4	17.39
พ.ค.	16	45.71	3	8.57	พ.ค.	14	60.87	2	8.70
มิ.ย.	14	40.00	3	8.57	มิ.ย.	12	52.17	3	13.04
ก.ค.	14	40.00	2	5.71	ก.ค.	15	65.22	2	8.70
ส.ค.	14	40.00	2	5.71	ส.ค.	12	52.17	2	8.70
ก.ย.	13	37.14	1	2.86	ก.ย.	10	43.48	1	4.35
ต.ค.	14	40.00	1	2.86	ต.ค.	9	39.13	1	4.35
พ.ย.	9	25.71	2	5.71	พ.ย.	8	34.78	3	13.04
ธ.ค.	10	28.57	4	11.43	ธ.ค.	9	39.13	1	4.35

หมายเหตุ

*ผล หมายถึง ผลอ่อน ผลแก่ ผลสุก และฝัก

ฟาร์มที่ 2 ต้นไม้ส่วนใหญ่เป็นมะพร้าว ซึ่งมีผลตลอด จึงทำให้ % ของผลสูง

2.1.2 โครงการศึกษาเส้นทางและแหล่งหากินของค้างคาวแม่ไก่บริเวณพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคไวรัส

นิพาหิณสุกร

งบประมาณ ได้รับการสนับสนุนเพิ่มเติมจาก องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO)

วัตถุประสงค์

- เพื่อศึกษาเส้นทางเดินทางของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางในแต่ละคืน
- เพื่อศึกษาพื้นที่ที่มีโอกาสของการแพร่กระจายเชื้อโรคจากค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

วิธีการดำเนินการ

- สถานที่ศึกษา แหล่งที่อยู่อาศัยค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง วัดหลวงพรหมาวาสอำเภอพนสนธิคม จังหวัดชลบุรี ทำการศึกษา 2 ครั้งในเดือนเมษายน 2555 และ เดือนพฤศจิกายน 2555 และวัดโพธิ์บางหล้า อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา ทำการศึกษา 1 ครั้ง ในเดือนพฤศจิกายน 2555
- ดำเนินการจับค้างคาวที่อาศัยในบริเวณวัดหลวงพรหมาวาส อ.พนสนธิคม จ.ชลบุรี เพื่อติด GPS-ACC Logger-Tags ในระหว่าง วันที่ 23 เมษายน-8 พฤษภาคม 2555 การศึกษารั้งนี้ได้ทำการจับค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางเพศผู้โดยเลือกที่มีขนาดน้ำหนักตัว 500 กรัมขึ้นไป จำนวน 10 ตัว โดยใช้ตาข่ายขนาดตาของตาข่ายเบอร์ 8 ยาว 14 เมตร และความกว้าง 4 เมตร ใส่เข้ากับเสาไม้ไผ่ที่มีความสูง 10 เมตร จำนวน 2 ผืน
- การเตรียม GPS-ACC Logger-Tags ก่อนใช้งาน ต้องทำการตัดขั้วบวกและขั้วลบในบริเวณด้านบนของ logger เมื่อตัดแล้วนำกระดาษกาวและกาวซิลิโคนมาปิดบริเวณขั้วทั้งสองเสียก่อน เพื่อป้องกันน้ำเข้า เมื่อกาวแห้งสนิทแล้วทำการเปิดการทำงานของ logger โดยการนำแม่เหล็กผ่าน logger ตรวจสอบ หมายเลข Tags ของ logger โดยใช้ based station เปิดการทำงาน ตรวจสอบหมายเลข และปิดการทำงานของ logger ไว้ก่อนเพื่อประหยัดแบตเตอรี่ ในด้านการส่งข้อมูล และได้ตั้งค่าของการบันทึกข้อมูล เมื่อค้างคาวบินให้บันทึกจุดทุก 3 นาที แต่ถ้าค้างคาวหยุดบินให้บันทึกจุดทุก 15 นาที
- การเตรียมความพร้อมของค้างคาวที่จะติดวิทยุ ทำการวางยาสลบค้างคาว เมื่อค้างคาวเริ่มสลบ จึงวัดขนาดและทำการเก็บตัวอย่างสารคัดหลั่งต่างๆ เพื่อตรวจหาเชื้อโรคโดยห้องปฏิบัติการ จากนั้นทำการติด logger ลงบนหลังของค้างคาวบริเวณกึ่งกลางหลัง เริ่มจากการใช้กรรไกรตัดขนในบริเวณที่จะติด logger เป็นขั้นๆ ให้มีขนาดเท่ากับขนาดของ logger โดยไม่ให้ชิดหนังของค้างคาวมากเกินไป ทากาวยึดติดผิวหนังชนิดแห้งช้าในบริเวณที่ตัดขนรอบประมาณ 15 นาที หรือจนกว่ากาวจะเหนียวเกือบแห้ง ทำการทาผิวหนังแห้งเร็วที่หลังของค้างคาวที่ทำการทาผิวหนังยึดติดผิวหนังไว้แล้วโดยระวังไม่ให้กาว

มากจนเกินไป และนำ logger ติดลงบริเวณหลังของค้างคาวอย่างรวดเร็ว โดยติด logger ในลักษณะที่เสา antenna อยู่ทางด้านล่าง หยอดกาวชนิดแห้งเร็วบริเวณรอยต่อของหลังค้างคาวกับ logger ใช้ไม้โกยขนของค้างคาวให้ขึ้นมาติดกับตัว Logger เปิดการทำงานของ logger โดยใช้แม่เหล็ก และทำการให้อาหารก่อนที่จะปล่อย

- การติดตามผลการเคลื่อนที่ของค้างคาวหลังการปล่อย ปฏิบัติในช่วงเวลา 10.00-13.00 น. ของทุกวัน จนกว่าจะไม่สามารถหาสัญญาณพบ โดยเฉลี่ยแล้วแบตเตอรี่จะมีอายุประมาณ 10 วัน เมื่อพบสัญญาณแล้วทำการดาวน์โหลดข้อมูลมาเก็บไว้ในเครื่องรับ และถ่ายข้อมูลจากเครื่องรับลงคอมพิวเตอร์เพื่อการวิเคราะห์สถานที่โดยเชื่อมโยงกับ Google Earth ต่อไป นำข้อมูลที่จาก Google Earth มาเลือกจุดเพื่อเดินทางไปสำรวจ ณ สถานที่จริงที่ค้างคาวบินไป การสำรวจประกอบด้วย การหาร่องรอยต่างๆของค้างคาว เช่น มูล ผลไม้ที่ถูกกัดแทะ เป็นต้น การสำรวจชนิดของต้นไม้ที่ค้างคาวมาเกาะ และการสำรวจบริเวณรอบของพื้นที่นั้นว่ามีการใช้ที่ดินอย่างไรบ้าง อาทิ บ้าน สวน น้ำ เป็นต้น
- เก็บตัวอย่าง เลือด น้ำลาย และเยี่ยวค้างคาว เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสชนิดต่างๆและภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัส

ผลการดำเนินการ

1. การศึกษาเส้นทางและแหล่งหากินของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

1.1 การศึกษาในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง วัดหลวงพรหมวาสเดือนเมษายน 2555

จากการติดตามค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางเพศผู้จำนวน 10 ตัว ได้ทำการติดตามและสำรวจภาคสนามในพื้นที่ ค้างคาวบินไปจริง รวมทั้งหมด 140 จุดสำรวจ จากจุดทั้งหมด 2,729 จุด คิดเป็น 5.13% ของจุดทั้งหมด ดังตารางที่ 3

เนื่องจากจากจุดที่สำรวจได้ทั้งหมดนั้นรวมถึงจุดที่ค้างคาวกำลังบินด้วย จึงสุ่มเลือกสำรวจจากกลุ่มของจุดสำรวจที่ค้างคาวอยู่เป็นเวลานานกว่า 3 นาที เป็นส่วนใหญ่ และในบางบริเวณจะปรากฏจุดสำรวจมากกว่าหนึ่งจุด

ระยะทางที่ค้างคาวทั้ง 10 ตัวบินในช่วงเวลาที่เก็บข้อมูลในแต่ละคืนมีระยะทางการบินไกลที่สุด 0.6 กิโลเมตร และระยะทางการบินไกลที่สุด 18 กิโลเมตร และแต่ละตัวมีระยะทางการบินเฉลี่ย ดังตารางที่ 4

ลักษณะการใช้ที่ดินโดยรอบจุดแต่ละจุดที่ค้างคาวบินไปนั้น มีหลายรูปแบบ อาทิ บ้านคน วัดบ่อปลา บ่อกุ้ง ทุ่งนา สวนผลไม้ต่างๆ การเลี้ยงสัตว์ในบริเวณจุดสำรวจส่วนใหญ่จะเป็นการเลี้ยงไก่ปล่อยอิสระตามบ้านคน

อย่างไรก็ตามในช่วงเดือนเมษายน พบฟาร์มสุกรเพียง 1 จุดที่เป็นจุดที่ใกล้เคียงกับจุดที่ค้างคาว (Tags 2299) เข้าไปหากินโดยมีระยะห่างประมาณ 100-200 เมตร สำหรับชนิดของพืชที่พบบ่อยในจุดสำรวจคือ หว้า (*Syzygium cumini*) มะม่วง (*Mangifera indica*) กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum*) และพืชสกุล ไทร (*Ficus* spp.) ร่องรอยของมูลที่พบส่วนใหญ่จะพบเมล็ดหว้า และเมล็ดไทร (*Ficus benjamina*) ในมูล เป็นที่น่า

สังเกตว่าจุดที่ค้างคาวบินไปเกาะจะอยู่ใกล้กับแหล่งน้ำ ในบางจุดที่พบจะเป็นเพียงต้นไม้ขนาดใหญ่ที่คาดว่าค้างคาวใช้เป็นที่พักเท่านั้น

1.2 การศึกษาในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง วัดหลวงพรมาวาสเดือนพฤศจิกายน 2555

จากการติดตามค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางจำนวน 11 ตัว ประกอบด้วยเพศผู้จำนวน 10 ตัว และเพศเมียจำนวน 1 ตัว (No.2288) ได้ทำการติดตามและสำรวจภาคสนามในพื้นที่ๆ ค้างคาวบินไปจริง รวมทั้งหมด 229 จุดสำรวจ จากจุดทั้งหมด 2338 จุด คิดเป็น 9.79 % ของจุดทั้งหมด ดังตารางที่ 5

ระยะทางที่ค้างคาวทั้ง 11 ตัวบินในช่วงเวลาที่เก็บข้อมูล มี ระยะทางการบินใกล้ที่สุด 1.18 กิโลเมตร และระยะทางการบินไกลที่สุด 22.39 กิโลเมตรและแต่ละตัวมีระยะทางการบินเฉลี่ย ดังตารางที่ 6

ลักษณะการใช้ที่ดินโดยรอบจุดแต่ละจุดที่ค้างคาวบินไปนั้น มีหลายรูปแบบ อาทิ บ้านคน วัดบ่อปลา บ่อกุ้ง ทุ่งนา สวนผลไม้ต่างๆ การเลี้ยงสัตว์ในบริเวณจุดสำรวจส่วนใหญ่จะเป็นการเลี้ยงไก่ปล่อยอิสระตามบ้านคน

การสำรวจในช่วงเดือนพฤศจิกายน ชนิดของพืชที่พบบ่อยในจุดสำรวจคือ มะม่วง (*Mangifera indica*) กระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) มะพร้าว (*Cocos nucifera*) กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum*) และมะขาม (*Tamarindus indica*) ร่องรอยของมูลที่พบส่วนใหญ่จะพบเมล็ดของตำลึง (*Coccinia grandis*) เป็นส่วนใหญ่

ตารางที่ 3 แสดงรายละเอียดจำนวนจุดได้ทำการติดตามและสำรวจค้างคาวภาคสนามรายตัว จากการศึกษาวัดหลวงพรมาวาส เดือนเมษายน พ.ศ. 2555

Tags No.	จำนวนจุดสำรวจ	จำนวนจุดทั้งหมด	% การสำรวจ
1940	1	31	3.23
2268	6	263	2.28
2272	22	233	9.44
2274	9	396	2.27
2286	20	317	6.31
2289	10	322	3.11
2292	14	284	4.93
2296	15	314	4.78
2298	27	253	10.67
2299	16	316	5.06
รวม	140	2729	5.13

ตารางที่ 4 แสดงระยะทางการบินเฉลี่ยของค้างคาวที่ทำการศึกษา วัดหลวงพรมหาวาส เมษายน พ.ศ. 2555
รวม 10 ตัว

Tags No.	ระยะทางการบินเฉลี่ย(กิโลเมตร)
1940	0.86
2286	4.14
2292	8.47
2296	8.01
2299	15.14
2268	3.45
2272	4.66
2289	5.08
2298	7.74
2274	6.63

ตารางที่ 5 แสดงรายละเอียดจำนวนจุดได้ทำการติดตามและสำรวจค้างคาวภาคสนามรายตัว จากการศึกษาวัดหลวงพรมหาวาส เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555

Tags No.	จำนวนจุดสำรวจ	จำนวนจุดทั้งหมด	% การสำรวจ
2269	14	169	8.28
2270	33	249	13.25
2273	23	312	7.37
2287	9	181	4.97
2288	19	106	17.92
2290	31	514	6.03
2291	9	67	13.43
2293	23	263	8.75
2294	8	57	14.04
2295	62	420	14.76
2297	-	-	-

ตารางที่ 6 แสดงระยะทางการบินเฉลี่ยของค้างคาวที่ทำการศึกษา วัดหลวงพรมหาวาส พุศิจิกายน พ.ศ. 2555 รวม 11 ตัว

Tags No.	ระยะทางการบินเฉลี่ย(กิโลเมตร)
2269	9.43
2270	8.62
2273	22.23
2287	20.38
2288	14.43
2290	15.57
2291	7.73
2293	13.6
2294	9.28
2295	2.14
2297*	ไม่มีข้อมูล

* หมายเหตุ ค้างคาว No. 2297 ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่สามารถดาวน์โหลดข้อมูลได้ อันเนื่องมาจากอุปกรณ์รับและส่งข้อมูลไม่เชื่อมต่อกัน

1.3 การศึกษาในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง วัดโพธิ์บางคล้าเดือนพฤศจิกายน 2555

จากการติดตามค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางเพศผู้จำนวน 10 ตัว ได้ทำการติดตามและสำรวจภาคสนามในพื้นที่ค้างคาวบินไปจริง รวมทั้งหมด 79 จุดสำรวจ จากจุดทั้งหมด 993 จุด คิดเป็น 7.96% ของจุดทั้งหมด ดังตารางที่ 7

ระยะทางที่ค้างคาวทั้ง 10 ตัวบินในช่วงเวลาที่เก็บข้อมูล มี ระยะทางการบินใกล้ที่สุด 0.08 กิโลเมตร (ค้างคาวตัวดังกล่าวไม่ออกหากินนอกวัดที่เป็นแหล่งเกาะนอนในช่วงการติดตาม) และระยะทางการบินไกลที่สุด 23.4 กิโลเมตรและแต่ละตัวมีระยะทางการบินเฉลี่ย ดังตารางที่ 8

ลักษณะการใช้ที่ดินโดยรอบจุดแต่ละจุดที่ค้างคาวบินไปนั้น มีหลายรูปแบบ อาทิ บ้านคน วัด โรงเรียน บ่อปลา พุงนา สวนผลไม้ต่างๆ การเลี้ยงสัตว์ในบริเวณจุดสำรวจส่วนใหญ่จะเป็นการเลี้ยงไก่ปล่อยอิสระตามบ้านคน

ชนิดพืชที่พบบ่อยในจุดสำรวจคือ กระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) สะแกนา (*Combretum quadrangulare*) กล้ายน้ำว้า (*Musa sapientum*) และมะขาม (*Tamarindus indica*) ร่องรอยของมูลที่พบส่วนใหญ่จะพบเมล็ดของตำลึง (*Coccinia grandis*) เป็นส่วนใหญ่

ตารางที่ 7 แสดงรายละเอียดจำนวนจุดได้ทำการติดตามและสำรวจค้ำควาภาคสนามรายตัว จากการศึกษาที่วัดโพธิ์บางคล้า เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555

Tags No.	จำนวนจุดสำรวจ	จำนวนจุดทั้งหมด	% การสำรวจ
2275	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
2276	16	343	4.67
2277	18	291	6.19
2278	18	71	25.35
2279*	10	50	20
2280	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
2281	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
2282	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
2283	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
2284	17	238	7.14

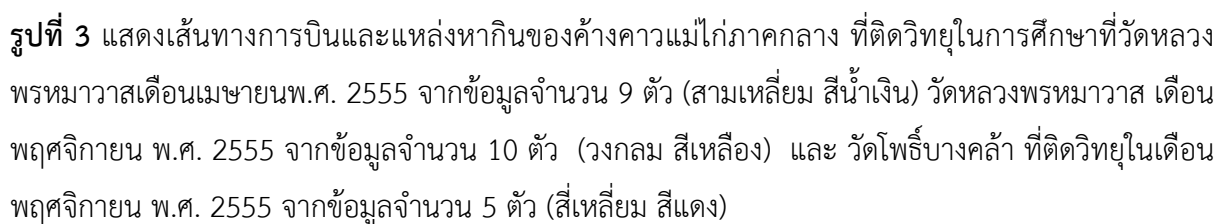
ตารางที่ 8 แสดงระยะทางการบินเฉลี่ยของค้ำควาที่ทำการศึกษา วัดโพธิ์บางคล้า เดือนพฤศจิกายน 2555 รวม 10 ตัว

Tags No.	ระยะทางการบินเฉลี่ย(กิโลเมตร)
2275*	ไม่มีข้อมูล
2276	7
2277	4.4
2278	12.16
2279**	0.08
2280*	ไม่มีข้อมูล
2281*	ไม่มีข้อมูล
2282*	ไม่มีข้อมูล
2283*	ไม่มีข้อมูล
2284	18.03

หมายเหตุ

* ค้ำควา No. 2275, 2277, 2280, 2281, 2282, 2283 ไม่สามารถดาวน์โหลดข้อมูลได้ เนื่องจากหาสัญญาณจากค้ำควาไม่พบ

** ค้ำควา No. 2279 ในช่วงที่ทำการศึกษามิออกหากินนอกวัด



การตรวจเชื้อไวรัสซิโนพัทจากค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางที่ทำการติดวิทยุรวม 31 ตัว ประกอบด้วย ค้างคาวจากวัดหลวงพรหมาวาส ในเดือนเมษายน พ.ศ. 2555 จำนวน 10 ตัว และในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555 จากวัดหลวงพรหมาวาส จำนวน 10 ตัว และวัดโพธิ์บางคล้า จำนวน 11 ตัว การตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสซิโนพัทพบผลบวกจำนวน 2 ตัว จากค้างคาววัดหลวงพรหมาวาส ที่ติดวิทยุในเดือนเมษายน พ.ศ. 2555 ส่วนค้างคาวที่ติดวิทยุในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555 จากทั้งสองวัด ไม่พบผลบวกจากการตรวจแอนติบอดี ส่วนการตรวจหา RNA ของไวรัสด้วยวิธี PCR จากตัวอย่างน้ำลายและเยี่ยวค้างคาว ไม่พบผลบวกในตัวอย่างทั้งหมดที่ทำการตรวจ ดังรายละเอียดในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงผลการตรวจการติดเชื้อไวรัสชนิดต่าง ๆ ของค้างคาวในโครงการติดตามเส้นทางและแหล่งหาถิ่น

สถานที่ศึกษา	เดือน-ปี ที่ศึกษา	ผลการตรวจการติดเชื้อไวรัสชนิดต่าง ๆ (No.positive/total)		
		ภูมิคุ้มกันต่อไวรัส จาก serum(ELISA)	สารพันธุกรรม RNA ของไวรัส (PCR)	
			saliva	urine
1.วัดหลวงพรมหาวาส	เมษายน 55	2/10 No. 461-Tag 2292 No. 479-Tag 2289	0/10	ไม่มีตัวอย่าง
2. วัดหลวงพรมหาวาส	พฤศจิกายน 55	0/10	0/10	0/2
3. วัดโพธิ์บางคล้า	พฤศจิกายน 55	0/11	0/11	0/2

สรุปผลการดำเนินการ

- 1). พบรูปแบบการบินออกหาถิ่นในช่วง 10 วันที่ทำการศึกษา ในลักษณะ high site fidelity คือค้างคาวตัวเดิมจะออกหาถิ่นซ้ำในทิศทางเดิม (รูปที่ 3)
- 2). ลักษณะการใช้ที่ดินโดยรอบจุดแต่ละจุดที่ค้างคาวบินไปนั้น มีหลายรูปแบบ ทั้ง ต้นไม้ในบริเวณบ้านคน วัด โรงเรียน ต้นไม้บริเวณขอบบ่อ กุ้ง บ่อปลา พุงนา และสวนผลไม้ต่างๆ โดยในแต่ละพื้นที่นั้นจะมีความคล้ายคลึงกันที่พื้นที่นั้นเป็นพื้นที่ที่มีต้นไม้ที่มีดอกหรือผลภายในพื้นที่
- 3). ปัจจัยแวดล้อมที่เหมาะสมกับค้างคาวคือพื้นที่ที่มีบ่อน้ำ และสวนผลไม้ในบริเวณใกล้เคียง พืชส่วนใหญ่ที่ค้างคาวใช้ประโยชน์ในช่วงเดือนเมษายนคือ หว้า (*Syzygium cumini*) และไทร (*Ficus benjamina*) เนื่องจากสามารถพบเห็นร่องรอยได้มากที่สุดจากกองมูล อาจเป็นเพราะในช่วงเวลานั้นเป็นฤดูที่หว้าและไทรออกผลสุกพอดี ส่วนปัจจัยทางพื้นที่ แหล่งน้ำเป็นปัจจัยสำคัญที่พบในการสำรวจ เพราะพบแหล่งน้ำทั้งแหล่งน้ำตามธรรมชาติและที่มนุษย์สร้างขึ้น (บ่อ กุ้งและบ่อปลา) ในพื้นที่สำรวจส่วนใหญ่
- 4). ในช่วงเดือนพฤศจิกายน สำรวจ พืชส่วนใหญ่ที่ค้างคาวใช้ประโยชน์คือ มะม่วง (*Mangifera indica*) กระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) มะพร้าว (*Cocos nucifera*) กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum*) และมะขาม (*Tamarindus indica*) ร่องรอยของมูลที่พบส่วนใหญ่จะพบเมล็ดของตำลึง (*Coccinia grandis*) เนื่องจากในช่วงเวลาสำรวจเป็นฤดูกาลที่ต้นไม้มีผลน้อย พืชที่ค้างคาวใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่จึงเป็นต้นไม้ชนิดที่มีเวลาของการออกดอกและผลแตกต่างจากพืชชนิดอื่นๆ
- 5). ในด้านความสัมพันธ์กับการทำปศุสัตว์ของเกษตรกรในพื้นที่พบว่า เกษตรกรส่วนใหญ่มีการเลี้ยงไก่และเป็ดแบบเปิด ส่วนการเลี้ยงสุกรพบเพียงจุดเดียว เป็นโรงเรือนแบบปิด ซึ่งอยู่ห่างออกไป ประมาณ 200 เมตร จากจุดสำรวจ
- 6). การตรวจพบระดับภูมิคุ้มกันสำหรับการติดเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในเดือนเมษายน และตรวจไม่พบใน เดือนพฤศจิกายน อาจเนื่องมาจาก ช่วงเดือนมีนาคม-กรกฎาคม เป็นช่วงเวลาที่พบการติดเชื้อจากการตรวจหา RNA

ของไวรัสในโครงการ 2.2 จึงมีการตอบสนองและสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสชนิดใดในช่วงเวลาดังกล่าว จึงเป็นช่วงเดือนที่พบระดับภูมิคุ้มกันได้สูงกว่าช่วงเดือนอื่นๆ

2.2 โครงการศึกษาภาวะการติดเชื้อโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาวที่มีถิ่นอาศัยและหากินบริเวณโรงเรียน เลี้ยงสุกร

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเชื้อไวรัสโรคอุบัติใหม่ในค้างคาวที่มีถิ่นอาศัยและหากินบริเวณโรงเรียนเลี้ยงสุกรและในภูมิภาคใกล้เคียง

พื้นที่ศึกษา

1. โรงเรียนเลี้ยงสุกรที่มีคุณลักษณะเสี่ยงต่อการรับเชื้อไวรัสจากค้างคาว ในพื้นที่อำเภอนนทบุรี รวม 2 ฟาร์ม ได้แก่ ฟาร์มคุณสนั่น ใจงาม (ฟาร์มที่ 1) ตั้งอยู่ที่ ตำบลวัดโบสถ์ อำเภอนนทบุรี, พิกัด 13 องศา 28 ลิปดา 54 ฟิลิปดาเหนือ กับ 101 องศา 7 ลิปดา 22 ฟิลิปดา ตะวันออก และฟาร์มคุณบุญเลิศ พุ่มจันทร์ (ฟาร์มที่ 2) ตั้งอยู่ที่ตำบลวัดโบสถ์ อำเภอนนทบุรี, พิกัด 13 องศา 30 ลิปดา 33 ฟิลิปดาเหนือ กับ 101 องศา 9 ลิปดา 3 ฟิลิปดา ตะวันออก ที่มีระยะห่างจากแหล่งที่อยู่อาศัยค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง วัดหลวงพรมาวาสประมาณ 5.5 และ 0.6 กิโลเมตรตามลำดับ (รูปที่ 4)
2. แหล่งที่อยู่อาศัยค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง วัดหลวงพรมาวาสตำบลวัดหลวง อำเภอนนทบุรี จังหวัดชลบุรี และวัดโพธิ์ บางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา
3. ถ้าค้างคาวที่มีที่ตั้งในเขต 5 จังหวัดภาคตะวันออก ได้แก่
 - 1) ถ้ำแรด วัดเขาถ้ำแรด ต.เขาถ้ำแรด อ.ท่าตะเกียบ จ.ฉะเชิงเทรา
 - 2) ถ้ำเขาฉกรรจ์ วัดถ้ำเขาฉกรรจ์ อ.เขาฉกรรจ์ จ.สระแก้ว
 - 3) ถ้ำสาริกา วัดถ้ำสาริกา ต.ทับไทร อ.โป่งน้ำร้อน จ.จันทบุรี
 - 4) โครงการพัฒนาชุมชน บ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) ต. ตกพรหม อ. ชลุม จ.จันทบุรี
 - 5) สถานีวิจัยและฝึกอบรมวนเกษตรตราด ต.ท่ากุ่ม อ.เมือง จ.ตราด

วิธีการดำเนินการ

ภาคสนาม

- 1) จับค้างคาวด้วยตาข่ายหรือ halp trap เพื่อจำแนกชนิด และศึกษาลักษณะทางกายภาพ
- 2) เก็บตัวอย่างรวม 4 ชนิดจากค้างคาวแต่ละตัว ได้แก่ น้ำลาย เลือด มูล และเยี่ยว เพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัสชนิดใดจากเลือด (ซีรัม) เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมโรคติดต่ออุบัติใหม่ ได้แก่ ไวรัสชนิดใด ไวรัสโคโรนา ไวรัสอีโบลา ไวรัสซิกนาคูนยา และ ไวรัสกลุ่ม paramyxovirus โดยไวรัส 4 ชนิดหลังใช้วิธีการทดสอบแบบ

Family PCR ที่สนับสนุนวิธีการทดสอบและ positive control โดย PREDICT project, EPT program, USAID

3) เก็บน้ำลาย มูล และเยี่ยวใน Lysis buffer ที่มีคุณสมบัติในการรักษาสภาพสารพันธุกรรมไวรัสและฆ่าเชื้อไวรัส เพื่อป้องกันการติดเชื้อแก่บุคลากรระหว่างการขนส่งและการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

4) ขนส่งตัวอย่างในสภาพเย็น เพื่อนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C จนกว่าจะนำมาตรวจทางห้องปฏิบัติการ

5) การจับและเก็บตัวอย่างค้างคาวได้รับอนุมัติจากกรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช (เลขที่ ทส 0909.204/2686) และการเก็บตัวอย่างปฏิบัติตาม PREDICT IACUC and IRB protocol



รูปที่ 4 แผนภาพแสดงจุดที่ใช้ในการศึกษาจับและเก็บตัวอย่างค้างคาว ได้แก่ ฟาร์มคุณสนั่น ใจงาม (Farm 1) ฟาร์มคุณบุญเลิศ พุ่มจันทร์ (Farm 2) และ แหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว วัดหลวงพรหมาวาส

ห้องปฏิบัติการ

1. การตรวจแอนติบอดี (IgG) ต่อไวรัสนิปห์ (US-CDC protocol)

- 1) ทำการ coat ELISA plate ด้วย Nipah cell lysate ในหลุม a-d และ normal cell lysate ในหลุม e-h เพื่อใช้เป็น blank control ที่อุณหภูมิ 4°C นาน 1 คืน
- 2) เจือจาง serum/plasma ด้วย master diluents ที่ dilution 1:25 และ heat inactivate ที่อุณหภูมิ 56°C นาน 30 นาที
- 3) ทำ serial dilution ของตัวอย่างที่ทำการทดสอบด้วย serum diluents ที่ 1:100, 1:400, 1:1,600 และ 1:6,400 และเติมใน ELISA plate ที่ล้าง antigen ออกแล้ว
- 4) ทำการ incubate ELISA plate ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 1 ชั่วโมง
- 5) ล้าง ELISA plate ด้วย wash buffer รวม 5 ครั้ง

- 6) เติม Horseradish Peroxidase (HRP) labeled secondary antibody ต่อ IgG ที่ทำการทดสอบ, incubate ELISA plate ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 1 ชั่วโมง
- 7) ล้าง ELISA plate ด้วย wash buffer รวม 5 ครั้ง
- 8) เติมสาร substrate ต่อ peroxidase enzyme และ incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที
- 9) วัดค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาจาก ELISA plate ที่ OD 414 nm นำค่า blank มาลบออกจากค่าของ Nipah IgG เพื่อคำนวณค่า titer
- 10) ผลบวก IgG antibody ต่อ Nipah virus ต้องมี titer ที่ระดับ $\geq 1:400$

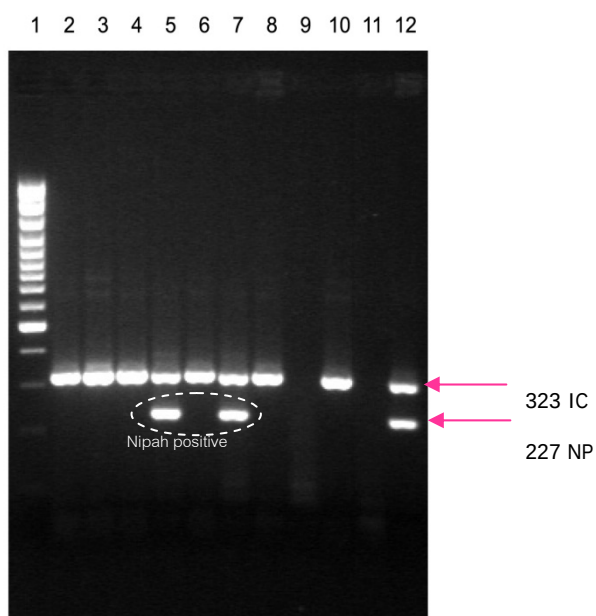
หมายเหตุ: Antigen และ positivecontrol ได้รับการสนับสนุนจากห้องปฏิบัติการ Special Pathogens Branch, US-CDC โดยไม่คิดมูลค่า

2. การตรวจสอบสารพันธุกรรมของไวรัส nipah ด้วยวิธี Duplex nested RT-PCR (Wacharapluesadee and Hemachudha, 2007)

- 1) สกัดสารพันธุกรรมของตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบ (แช่ใน lysis buffer) ด้วยวิธี Boom เพื่อให้ได้ total nucleic acid (ทั้ง RNA และ DNA) ด้วยชุดตรวจ NucliSENSeasyMAG (bioMérieux, France)
- 2) เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยน้ำยา One-step RT-PCR (Qiagen, USA) ด้วย primer NP1F และ NP1R ตามรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 10
- 3) เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมรอบที่ 2 ด้วยน้ำยา PCR (Promega, USA) ด้วย primer NP2F และ NP2R ตามรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 10
- 4) ในการตรวจสอบสารพันธุกรรมต่อไวรัส nipah ด้วยวิธี Duplex nested RT-PCR จะทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของ RNA control (RNA plasmid, 1.2kb Kanamycin) ในปริมาณที่เหมาะสม ไปในหลอดปฏิกิริยาเดียวกันกับการตรวจหา Nipah RNA เพื่อตรวจสอบความสมบูรณ์ในการทำปฏิกิริยาและควบคุมการพบ PCR inhibitor โดยใช้ primers CONINT1F และ CONINT1R ในรอบ One-step RT-PCR และ primer 1UPS และ 1DS ในรอบ nested PCR ตามรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 10
- 5) วิเคราะห์สารพันธุกรรม PCR product ที่เกิดขึ้นด้วยการทำ gel electrophoresis ที่ความเข้มข้น 2% agarose gel
- 6) การแปลผล (รูปที่ 5)
 - Nipah specific band มีขนาด PCR product 227 base pair
 - Kanamycin control band มีขนาด PCR product 323 base pair
 - หากปฏิกิริยาพบ PCR product ของ Nipah และ Kanamycin control หมายถึง ผลการตรวจเป็นบวกและไม่มีสารยับยั้ง PCR
 - หากปฏิกิริยาพบแต่ PCR product ของ Kanamycin control หมายถึง ผลการตรวจเป็นลบและไม่มีสารยับยั้ง PCR
 - หากปฏิกิริยาพบแต่ PCR product ของ Nipah หมายถึง ผลการตรวจเป็นบวกและไม่มีสารยับยั้ง PCR แต่มี Nipah RNA มากจน PCR แย่งจับแต่ Nipah, Kanamycin RNA จึงไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้เนื่องจากใส่ไปในปริมาณจำกัด
 - กรณีที่พบ PCR inhibitor คือไม่มี band ของ PCR ในตำแหน่งทั้ง 2 ปรากฏ จะทำการ dilute สารพันธุกรรม ที่ 1:5 แล้วทำ PCR ซ้ำตั้งแต่ต้นอีกครั้ง

ตารางที่ 10 แสดง primer sequence ที่ใช้ในการตรวจ Nipah virus

Primer name	5----->3
NP1F	CTT GAG CCT ATG TAT TTC AGA C
NP1R	GCT TTT GCA GCC AGT CTT G
NP2F	CTG CTG CAG TTC AGG AAA CAT CAG
NP2R	ACC GGA TGT GCT CAC AGA ACT G
CONINT1F	CTG GCC TGT TGA ACA AGT CT
CONINT1R	GAT CTG ATC CTT CAA CTC AGC
1UPS	GCC ATT CTC ACC GGA TTC AGT CGT C
1DS	AGC CGC CGT CCC GTC AAG TCA G



รูปที่ 5 ภาพแสดง PCR band ของตัวอย่างที่ positive (lane 5 และ 7) ตัวอย่าง negative (lane 2-4, 6, 8) ตัวอย่างที่พบ PCR inhibitor (lane 9 และ 11) lane ที่ 10 และ 12 เป็น negative และ positive control ตามลำดับ

3. การตรวจสอบสารพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา, อีโบล่า, ชิคุนกุนยาและ Paramyxovirus ด้วยวิธี Family PCR (Antony et al., 2013)

- 1) สารพันธุกรรมที่ใช้ในการตรวจ เป็นชุดเดียวกับที่ตรวจไวรัสชนิดอื่น
- 2) การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยน้ำยา One-step RT-PCR (Qiagen, USA) และ nested PCR ตามวิธีการของ PREDICT โดยใช้
 - **Coronavirus family PCR** สำหรับการตรวจเชื้อไวรัสโคโรนา ซึ่ง primers ได้ออกแบบมาให้ครอบคลุมทั้ง bat coronavirus, human coronavirus รวมทั้ง SARS coronavirus
 - **Filovirus family PCR** สำหรับการตรวจเชื้อไวรัสอีโบล่า ซึ่ง primers ได้ออกแบบมาให้ครอบคลุมไวรัส Reston ebolavirus, Zaire ebolavirus, Sudan ebolavirus, และ Marburgvirus
 - **Alphavirus family PCR** สำหรับการตรวจเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาซึ่ง primers ได้ออกแบบมาให้ครอบคลุม chikungunya (CHIK), Eastern and Western Equine Encephalitis (EEE and WEE), Venezuelan Equine Encephalitis (VEE), Ross River (RR), Sindbis (SN), Semliki Forest (SF)
 - **Paramyxovirus family PCR** ซึ่ง primers ได้ออกแบบมาให้ครอบคลุม genus Avulavirus, Henipavirus, Morbillivirus, Respirivirus, Rubulavirus, Pneumovirus, Metapneumovirus รวมทั้งการตรวจ novel paramyxovirus
- 3) เมื่อพบ PCR positive band ที่มีขนาดตรงกับที่กำหนด ให้ทำการถอดรหัสพันธุกรรม ด้วยวิธี direct sequencing จาก positive PCR product เพื่อยืนยันผลและจำแนกชนิด/strain ของไวรัสที่พบเปรียบเทียบกับข้อมูลใน GenBank
- 4) กรณีที่ผลการอ่านรหัสพันธุกรรมมีการพบไวรัสมากกว่า 1 ชนิดในตัวอย่างเดียวกัน จะทำการ clone เพื่อจำแนกสายพันธุ์ที่ถูกต้องต่อไป

ผลการดำเนินการ

ภาคสนาม

1. การจับและเก็บตัวอย่างจากค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางและค้างคาวชนิดอื่นๆ ณ พื้นที่เสี่ยงต่อการแพร่เชื้อไวรัสชนิดอื่น

สถานที่จับ	- ฟาร์มคุณสนั่น ใจงาม (ฟาร์มที่ 1)	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี
	- ฟาร์มคุณบุญเลิศ พุ่มจันทร์ (ฟาร์มที่ 2)	อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี
	- วัดหลวงพรหมवास	ต.วัดหลวง อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี
	- วัดโพธิ์ บางคล้า	อ.บางคล้า จ.ชลบุรี

การจับค้างคาวในพื้นที่เสี่ยงต่อการแพร่กระจายโรคจากค้างคาวสู่สุกร ระหว่าง เดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ.2555 รวมทั้งสิ้น 12 เดือน (ยกเว้น วัดโพธิ์ บางคล้า จับค้างคาวเฉพาะเดือนพฤศจิกายน 2555 ในช่วงที่มีการติดวิหคค้างคาว) ได้ค้างคาวรวม 417 ตัว จำแนกเป็น 6 ชนิด ได้แก่ ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (*Pteropus lylei*) 397ตัว ค้างคาวขอบหูขาวกลาง (*Cynopterus sphinx*) 7 ตัว ค้างคาวเพดานใหญ่ (*Scotophilus heathii*) 8 ตัว ค้างคาวเพดานเล็ก (*Scotophilu skuhlii*) 3ตัว ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก (*Myotis horsfieldi*) 1 ตัว และค้างคาวเล็บกุด (*Eonycteris spelaea*) 1 ตัว โดยได้ทำการเก็บตัวอย่าง 4 ประเภทจากค้างคาวแต่ละตัว ได้แก่ เลือด น้ำลาย เยื่อ และมูล หรือ rectal swab ดังรายละเอียดในตาราง S2 (ภาคผนวก) เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรม RNA ไวรัสชนิดต่างๆ จากตัวอย่าง น้ำลาย และ เยื่อ และแอนติบอดีต่อไวรัสชนิดต่างๆ จากเลือด

2. การจับและเก็บตัวอย่างจากค้างคาวถ้ำที่มีแหล่งอาศัยในภาคตะวันออก

- สถานที่จับ**
- ถ้ำแรด วัดเขาถ้ำแรด ต.เขาถ้ำแรด อ.ท่าตะเกียบ จ.ฉะเชิงเทรา
 - ถ้ำเขาฉกรรจ์ วัดถ้ำเขาฉกรรจ์ อ.เขาฉกรรจ์ จ.สระแก้ว
 - ถ้ำสาริกา วัดถ้ำสาริกา ต.ทับไทร อ.โป่งน้ำร้อน จ.จันทบุรี
 - โครงการพัฒนาชุมชน บ้านอ่างเอ็ด (มูลนิธิชัยพัฒนา) ต.ตกรม อ. ชลุม จ.จันทบุรี
 - สถานีวิจัยและฝึกอบรมวนเกษตรตราด ต.ท่ากุ่ม อ.เมือง จ.ตราด

การจับค้างคาวจากทั้ง 5 สถานที่ ได้จำนวนค้างคาวรวม 385 ตัว จำแนกชนิดได้เป็น 20 ชนิดจาก 5 family ดังรายละเอียดในตาราง S3 (ภาคผนวก) โดยมีจำนวนตัวอย่างจำแนกตามประเภทดังตารางที่ 11 ทั้งนี้ เพื่อเป็นการประหยัดงบประมาณในการตรวจหาเชื้อไวรัส ได้มีการรวมตัวอย่าง (pool) จากค้างคาว 3 ตัว เป็น 1 ตัวอย่าง ด้วยหลักการคือ ตัวอย่างที่จะรวมต้องเป็นตัวอย่างประเภทเดียวกัน จากค้างคาวชนิดเดียวกัน ที่จับได้จากสถานที่เดียวกัน ในวันเดียวกัน เนื่องจากงบประมาณในการตรวจมีจำกัด การเลือกชนิดไวรัสและชนิดตัวอย่างเพื่อทำการทดสอบ เป็นการเลือกตามลำดับความสำคัญและรายงานที่มีมาก่อนหน้า

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. การตรวจแอนติบอดี (IgG) ต่อไวรัสชนิดต่างๆ

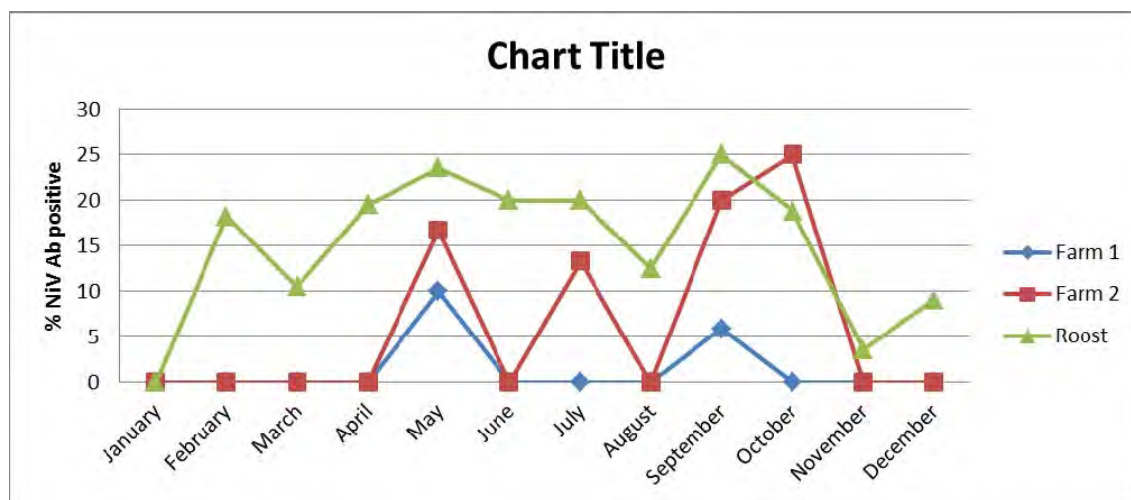
1.1 การตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสชนิดต่างๆ ในตัวอย่าง serum ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางและค้างคาวชนิดอื่นๆ ณ พื้นที่เสี่ยงต่อการแพร่เชื้อไวรัสชนิดต่างๆ รายเดือนระหว่าง มกราคม - ธันวาคม พ.ศ. 2555 จำนวน 399 ตัว ที่มีเลือดตัวอย่างสำหรับการตรวจ (จากค้างคาวรวม 417 ตัวที่จับได้) พบผลบวกเฉพาะตัวอย่างเลือดจากค้างคาวแม่ไก่ จำนวน 40 ใน 380 ตัวอย่างที่ทำการตรวจ หรือ ร้อยละ 10.5 โดยส่วนใหญ่ (31 ใน 40 ตัวอย่าง) มีค่า titer ของแอนติบอดีที่ระดับ 1:400 ค้างคาว 8 ตัวอย่าง มีค่า titer ของแอนติบอดีที่ระดับ 1:1600 และ ค้างคาว 1 ตัวอย่าง มีค่า titer ของแอนติบอดีที่ระดับ 1:6,400 (ตารางที่ S4 ภาคผนวก) โดยเมื่อ

วิเคราะห์แยกรายเดือนแล้วไม่พบว่ามีรูปแบบที่ชัดเจน ไม่มีรูปแบบการพบแอนติบอดีแบบฤดูกาล ดังรูปที่ 6 (รายละเอียดแสดงในตาราง S5 ภาคผนวก)

1.2 การตรวจแอนติบอดีต่อไวรัส nipah ในตัวอย่าง serum ค้างคาวค้างที่มีแหล่งอาศัยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ใน 5 แหล่งศึกษา ค้างคาวที่จับได้รวม 385 ตัว มีตัวอย่างเลือดเพียงพอในการตรวจ จำนวน 369 ตัวอย่าง ผลการตรวจวิเคราะห์แอนติบอดีพบว่ามีค้างคาวในกลุ่มนี้ให้ผลบวก ดังรายละเอียดในตารางที่ S6 (ภาคผนวก)

ตารางที่ 11 แสดงชนิดและจำนวนตัวอย่างค้างคาวที่เก็บได้ จาก 5 พื้นที่ศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวน pool	ชนิดไวรัสที่ตรวจ
1. Saliva	380	150	นิปาห์, อีโบล่า, ชิคุนกุนยา, paramyxovirus
2. Serum	369	not pool	Antibody ต่อไวรัส nipah
3. Urine	112	50	นิปาห์, อีโบล่า, ชิคุนกุนยา, paramyxovirus
4. Rectal swab/feces	280	not pool	โคโรนา
รวม	1,154	200	



รูปที่ 6 แสดงผลการตรวจแอนติบอดีต่อไวรัส nipah ในตัวอย่าง serum ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ที่จับได้จาก 3 แหล่ง ได้แก่ ฟาร์มที่ 1 ฟาร์มที่ 2 และ แหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว วัดหลวงพรมหาวาส (Roost) ระหว่างเดือนมกราคม-ธันวาคม 2555 ตัวเลขแสดงจำนวนที่พบผลบวก/จำนวนที่ตรวจ

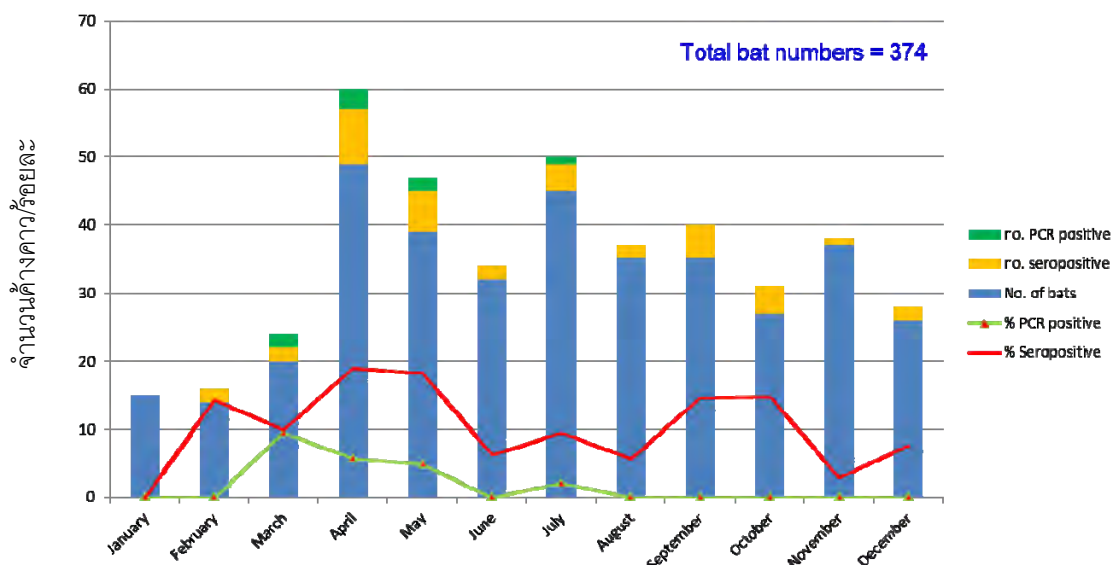
2. การตรวจสอบพันธุกรรมของไวรัสชนิดด้วยวิธี Duplex nested RT-PCR

2.1 การตรวจสอบพันธุกรรมต่อไวรัสชนิด ในตัวอย่าง น้ำลายและเยื่อ ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางและ ค้างคาวชนิดอื่นๆ รวม 6 ชนิด ณ พื้นที่เสี่ยงต่อการแพร่เชื้อไวรัสชนิดร้ายเดือนระหว่าง มกราคม-ธันวาคม 2555 จำนวน 417 ตัวซึ่งมีตัวอย่างน้ำลายจำนวน 417 ตัวอย่าง และตัวอย่างเยื่อค้างคาว จำนวน 132 ตัวอย่างในการตรวจวิเคราะห์ครั้งนี้ ผลการตรวจสอบพันธุกรรมต่อไวรัสชนิดด้วยวิธี Duplex nested RT-PCR พบผลบวกจากค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง 8 ตัว รวม 9 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างน้ำลาย 8 ตัวอย่าง และ ตัวอย่างเยื่อค้างคาว 1 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างจากค้างคาวตัวเดียวกับที่พบผลบวกในน้ำลาย (ตารางที่ 12) โดยพบผลบวกจำนวน 2, 3, 2 และ 1 ตัวในเดือนมีนาคม เมษายน พฤษภาคม และ กรกฎาคม ตามลำดับ เป็นตัวอย่างจากค้างคาวที่จับได้จากวัดหลวงพรหมาวาส จำนวน 5 ตัว และจากฟาร์มที่ 2 จำนวน 3 ตัว ดัง รายละเอียดในตารางที่ 12 และรูปที่ 7 ผลการวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมของทั้ง 9 ตัวอย่าง แสดงรายละเอียดใน โครงการที่ 2.3 ตารางที่ 16 โดยทั้งหมดจัดอยู่ใน Genotype เดียวกับเชื้อที่พบในประเทศบังกลาเทศ

ส่วนค้างคาวชนิดอื่นอีก 5 ชนิดที่จับได้ในบริเวณเดียวกับค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ไม่พบผลบวกจากการตรวจสอบพันธุกรรมไวรัสชนิด รายละเอียดแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 12 แสดงรายละเอียดของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางที่พบผล PCR บวก และผลการตรวจแอนติบอดีใน เลือด จากพื้นที่ศึกษาความเสี่ยงต่อการแพร่เชื้อไวรัสชนิดในอำเภอนนทบุรี จังหวัดชลบุรี

No. ค้างคาว	ชนิดตัวอย่าง	สถานที่เก็บตัวอย่าง	เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่าง	ELISA result/ IgG anti\body titer
BSA55425	saliva	วัดหลวงพรหมาวาส	3 มีนาคม 2555	Negative
BUR55425	urine	วัดหลวงพรหมาวาส	3 มีนาคม 2555	Negative
BSA55426	saliva	วัดหลวงพรหมาวาส	3 มีนาคม 2555	Negative
BSA55487	saliva	วัดหลวงพรหมาวาส	26 เมษายน 2555	Positive/1:400
BSA55488	saliva	วัดหลวงพรหมาวาส	26 เมษายน 2555	Negative
BSA55489	saliva	วัดหลวงพรหมาวาส	26 เมษายน 2555	Negative
BSA55695	saliva	ฟาร์มที่ 2	19 พฤษภาคม 2555	Negative
BSA55696	saliva	ฟาร์มที่ 2	19 พฤษภาคม 2555	Positive/1:1,600
BSA55785	saliva	ฟาร์มที่ 2	21 กรกฎาคม 2555	Negative



รูปที่ 7 แสดงจำนวนค้างคาวรวม (กราฟแท่งสีฟ้า) ที่จับได้จาก 3 แหล่ง ได้แก่ ฟาร์มที่ 1 ฟาร์มที่ 2 และ วัดหลวงพรหมาวาส รายเดือนระหว่าง มกราคม-ธันวาคม 2555 ที่พบผลบวกแอนติบอดีต่อไวรัสชิคา (กราฟแท่งสีเหลือง) และจำนวนที่พบผล PCR บวก (กราฟแท่งสีเขียว) เส้นสีแดงแสดง % seropositive และ เส้นสีเขียวแสดง % PCR positive

ตารางที่ 13 แสดงผลการตรวจสอบสารพันธุกรรมต่อไวรัสชิคาจาก 3 พื้นที่ศึกษา อ.พนสนิม จ.ชลบุรี ระหว่าง มกราคม – ธันวาคม 2555

ชนิดค้างคาว	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างตรวจ	ผลการตรวจ
ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง	Saliva	397	Positive = 8*, Negative = 389
	Urine	126	Positive = 1 **, Negative = 125
ค้างคาวขอบหูขาวกลาง	Saliva	7	All negative
	Urine	3	All negative
ค้างคาวเพดานใหญ่	Saliva	8	All Negative
	Urine	2	Negative
ค้างคาวเพดานเล็ก	Saliva	3	All negative
	Urine	1	Negative
ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก	Saliva	1	Negative
ค้างคาวเล็บกุด	Saliva	1	Negative
รวม	Saliva	417	Positive 8 ตัวอย่าง
	Urine	132	Positive 1 ตัวอย่าง

*พบที่ วัดหลวงฯ 5 ตัวอย่าง และพบที่ฟาร์มที่ 2 จำนวน 3 ตัวอย่าง**พบที่วัดหลวงพรหมาวาส

2.2 การตรวจสอบสารพันธุกรรมต่อไวรัสชนิดต่างๆ ในตัวอย่าง น้ำลายและเยื่อ ค้างคาวที่มีแหล่งอาศัยในภาคตะวันออก ใน 5 แหล่งศึกษา มีจำนวนค้างคาวที่จับได้ 385 ตัว และได้รวม (pool) ตัวอย่างน้ำลาย ตัวอย่างเยื่อ จึงมีตัวอย่าง pool น้ำลายจำนวน 150 pool และตัวอย่าง pool เยื่อค้างคาว จำนวน 50 pool ในการตรวจวิเคราะห์ครั้งนี้ ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่า น้ำลายค้างคาว 2 pool ให้ผล PCR บวกต่อไวรัสชนิดต่างๆ ได้แก่ ตัวอย่างจากค้างคาวมวงกุหลาบใหญ่ 1 ตัวอย่าง และ ค้างคาวหน้ายักษ์หมอบุญส่ง 1 ตัวอย่าง ดังรายละเอียดใน ตารางที่ S7 (ภาคผนวก) ซึ่งทั้งสองตัวอย่างเป็นตัวอย่างที่เก็บได้จากค้างคาวในแหล่งเดียวกันคือ ถ้ำเขาฉกรรจ์ วัดถ้ำเขาฉกรรจ์ อ.เขาฉกรรจ์ จ.สระแก้วในเดือนมกราคม 2555 ผลการวิเคราะห์หาลำดับพันธุกรรมของทั้ง 2 ตัวอย่าง แสดงรายละเอียดในโครงการที่ 2.3 ตารางที่ 16

3. การตรวจสอบสารพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา, อีโบล่า, ชิคุนกุนยา และ Paramyxovirus ด้วยวิธี Family PCR

ตัวอย่างค้างคาวที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ ตัวอย่างน้ำลาย เยื่อ และมูล ของค้างคาวที่มีแหล่งอาศัยในถ้ำบริเวณภาคตะวันออกของประเทศไทย 5 พื้นที่ศึกษา ซึ่งมีจำนวนค้างคาวที่จับได้ 385 ตัว ประกอบด้วยตัวอย่างมูลค้างคาวหรือ rectal swab (เก็บทดแทนมูลกรณีที่ยังค้างคาวไม่ถ่ายมูลขณะเก็บตัวอย่าง) สำหรับการตรวจหาเชื้อไวรัสในกลุ่มโคโรนา (Coronavirus), ตัวอย่าง pool น้ำลายจำนวน 150 pool และตัวอย่าง pool เยื่อค้างคาว จำนวน 50 pool สำหรับการตรวจ Filovirus family (ไวรัสอีโบล่า), Alphavirus family (ไวรัสชิคุนกุนยา) และ Paramyxovirus ผลการตรวจวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 14 การตรวจตัวอย่างน้ำลายและเยื่อค้างคาวในการศึกษาไม่พบสารพันธุกรรมของไวรัส อีโบล่าและชิคุนกุนยา (ผลจากการตรวจ Filovirus และ Alphavirus ตามลำดับ)

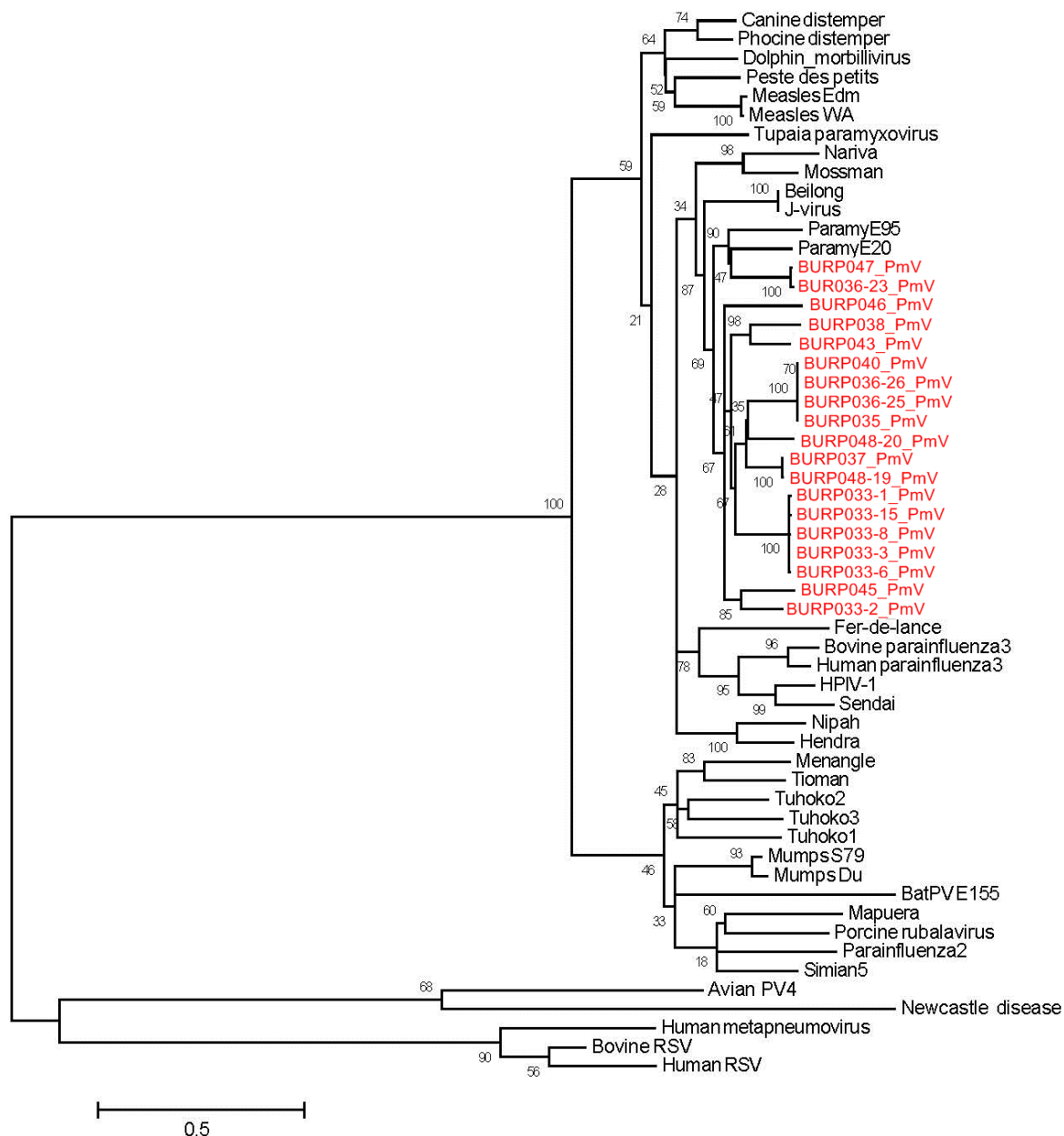
ในขณะที่พบผลบวก Paramyxovirus จากตัวอย่างเยื่อค้างคาว 2 ชนิดได้แก่ ค้างคาวหน้ายักษ์ทศกรรณ จำนวน 6 pool และ ค้างคาวหน้ายักษ์หมอบุญส่ง จำนวน 5 pool ทั้งนี้เมื่อถอดรหัสพันธุกรรมด้วยวิธี direct sequencing จาก PCR product พบว่ามีตัวอย่างจาก 3 pool ที่พบว่ามีเชื้อไวรัสมากกว่า 1 strain จึงทำการ clone ก่อนการทำ sequencing และพบว่ามีเชื้อไวรัสจำนวน 2-6 strain จากตัวอย่าง pool เดียวกัน เมื่อนำข้อมูลรหัสพันธุกรรมมาวิเคราะห์โดยการสร้าง Phylogenetic tree เปรียบเทียบกับไวรัส Paramyxovirus กลุ่มอื่นๆ พบว่าไวรัสที่พบจากค้างคาวในการศึกษาครั้งนี้จัดในกลุ่มใหม่และมีความแตกต่างมากเพียงพอที่จะจัดเป็น new bat Paramyxovirus (รูปที่ 8)

การตรวจหาเชื้อไวรัสโคโรนาจากมูลค้างคาว (rectal swab หรือ มูล) จำนวน 234 ตัวอย่าง พบผลบวก 4 ตัวอย่าง โดย 2 ตัวอย่างมาจากค้างคาวหน้ายักษ์ทศกรรณ อีก 2 ตัวอย่างมาจาก ค้างคาวปีกถุงเคราดำและค้างคาวหน้ายักษ์สามหลืบ อย่างละ 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 14) และเมื่อถอดรหัสพันธุกรรมเปรียบเทียบกับไวรัสโคโรนาอื่นๆ โดยการสร้าง Phylogenetic tree พบว่าไวรัสทั้ง 4 ตัวอย่าง อยู่ในกลุ่ม alphacoronavirus (รูปที่ 9)

ตารางที่ 14 ผลการตรวจสอบสารพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา (Coronavirus family), อีโบล่า (Filovirus family), ซิกนาคูนย่า (Alphavirus family) และ Paramyxovirus ด้วยวิธี Family PCR

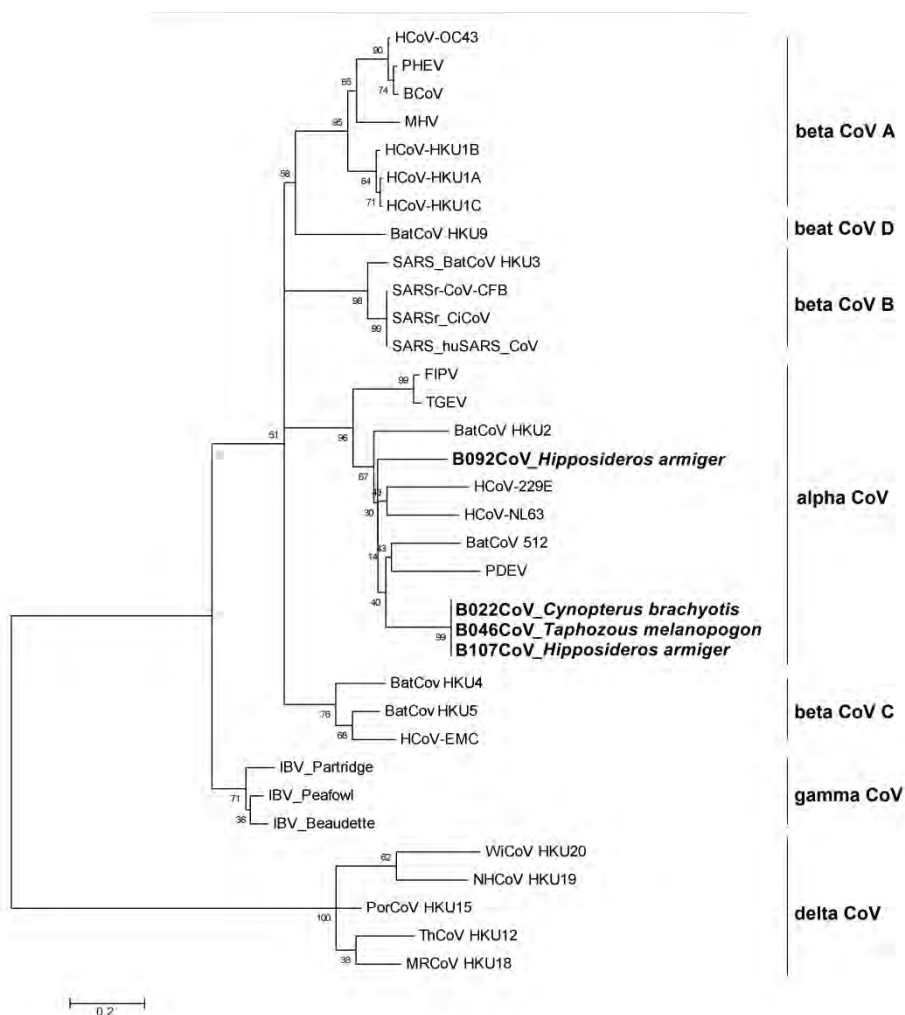
ชนิดค้ำคาว	PCR results (No. of positive/total)						
	Filovirus No.of pool		Alphavirus No.of pool		Paramyxovirus No.of pool		Coronavirus No.of specimen
	Saliva	Urine	Saliva	Urine	Saliva	Urine	Feces
ค้ำคาวปีกถุงเคราดำ	0/24	0/5	0/24	0/5	0/24	0/5	1/19
ค้ำคาวปีกถุงต่อมคาง	0/10	0/2	0/10	0/2	0/10	0/2	0/11
ค้ำคาวปีกพับดำใหญ่	0/9	0/3	0/9	0/3	0/9	0/3	0/16
ค้ำคาวปีกพับใหญ่	0/9	0/3	0/9	0/3	0/9	0/3	0/14
ค้ำคาวเพดานเล็ก	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	NA
ค้ำคาวมวงกุฎปลอมใหญ่	0/13	0/3	0/13	0/3	0/13	0/3	0/17
ค้ำคาวมวงกุฎเล็ก	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	NA
ค้ำคาวหน้ายักษ์ทศกรรณ	0/21	0/11	0/21	0/11	0/21	6/11	2/56
ค้ำคาวหน้ายักษ์สามหีบ	0/6	0/1	0/6	0/1	0/6	0/1	1/9
ค้ำคาวหน้ายักษ์หมอบูญสง	0/31	0/9	0/31	0/9	0/31	5/9	0/79
ค้ำคาวหูหนูตีนโตเล็ก	0/3	0/2	0/3	0/2	0/3	0/2	0/2
ค้ำคาวมวงกุฎใหญ่	0/1	NA	0/1	NA	0/1	NA	NA
ค้ำคาวมวงกุฎเลียนมลายูหางสั้นเล็ก	0/1	NA	0/1	NA	0/1	NA	NA
ค้ำคาวเล็บกุด	0/6	0/4	0/6	0/4	0/6	0/4	0/10
ค้ำคาวหน้ายาวใหญ่	0/2	0/1	0/2	0/1	0/2	0/1	0/2
ค้ำคาวขอบหูขาวกลาง	0/3	0/2	0/3	0/2	0/3	0/2	0/4
ค้ำคาวขอบหูขาวเล็ก	0/5	0/2	0/5	0/2	0/5	0/2	No.22, 0/9
ค้ำคาวขอบหูดำเหนือ	0/1	NA	0/1	NA	0/1	NA	NA
ค้ำคาวบัวพันกลม	0/2	NA	0/2	NA	0/2	NA	0/3
ค้ำคาวหูหนูตีนเล็กเขี้ยวยาว	0/1	NA	0/1	NA	0/1	NA	NA

NA หมายถึง ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้



รูปที่ 8 The phylogenetic tree of 23 paramyxoviruses (PmVs) from bat urine found in this study (red) and other 37 selected human and animal PmVs from National Center for Biotechnology Information database are included. The phylogenetic tree was constructed based on 530-bp fragment of polymerase gene by maximum-likelihood method and GTR+I model with 1,000 bootstrap re-sampling method implemented in the Mega5. The scale bar indicates the estimated 0.5 of nucleotide substitutions per site. Numbers on branches represent bootstrap support from 1,000 replicates. Mapuera, Mapuera virus isolate BeAnn 370284 (EF095490.1); Parainfluenza2, Parainfluenza type 2 virus (X57559.1); Simian5, Simian parainfluenza virus 5 (AF052755.1); Mumps S79, Mumps virus isolate S79 live vaccine minor

component (HQ416907.1); Mumps Du, Mumps virus strain Du/CRO05, complete genome (EU370207.1); Menangle, Menangle virus (AF326114.2); Tioman, Tioman virus (AF298895.2); Tuhoko1, Tuhoko virus 1 (GU128080.1); Tuhoko2, Tuhoko virus 2 (GU128081.1); Tuhoko3, Tuhoko virus3 (GU128082); Beilong, Beilong virus, (DQ100461.1); J-virus, J-virus (NC_007454); BatPV E20, Paramyxovirus bat/E20/2009 polymerase (L) gene (JN086950.1); BatPV E95, Paramyxovirus bat/E95/2009 polymerase (L) gene (JN086951.2); BatPV E155, Paramyxovirus bat/E155/2009 polymerase (L) gene (JN086952.1); Measles Edm, Measles virus strain Edmonston (Zagreb vaccine) (AF266290.1); Measles WA, Measles virus isolate WA.USA/17.98 (DQ227321.1); Peste des petits, Peste-des-petits-ruminants virus strain China/Tibet/Geg/07-30 (FJ905304.1); Dolphin morbillivirus, Dolphin morbillivirus complete genome (AJ608288.1); Canine distemper, Canine distemper virus isolate 98-2646, (AY542312.2); Phocine distemper, Phocine distemper virus mRNA for replicase (Y09630.1); Porcine rubalavirus, Porcine rubalavirus LPMV mRNA for RNA polymerase (X98125.1); Bovine parainfluenza3, Bovine parainfluenza virus 3 strain Q5592 (EU277658.1); Human parainfluenza3, Human parainfluenza virus 3 strain 14702 (EU424062.1); HPIV-1, HPIV strain Washington/1964, (AF457102.1); Sendai, Sendai virus strain Tianjin (EF679198.1); Fer de lance, Fer-de-lance virus (AY141760.2); Nariva, Nariva virus from Trinidad and Tobago (FJ362497.2); Mossman, Mossman virus (AY286409.1); Nipah, Nipah virus isolate Ind-Nipah-07-FG from India (FJ513078.1); Tupaia, Tupaia paramyxovirus (AF079780.2); Hendra, Hendra virus strain HeV/Australia/Horse/2008/Redlands (HM044317.1); Avian PV4, Avian paramyxovirus 4 strain APMV-4/duck/Hongkong/D3/75, complete genome (FJ177514.1); Newcastle disease, Newcastle disease virus strain DE-R49/99, complete genome (DQ097393.1); Human metapneumovirus, Human metapneumovirus isolate CAN97-83 (AY297749.1); Bovine RSV, Bovine respiratory syncytial virus (AF295543.1); Human RSV, Human respiratory syncytial virus S2 (U39662.1).



รูปที่ 9 Phylogenetic tree of 4 coronaviruses (CoVs) from bat rectal swab specimens found in this study (bold) and other 30 selected human and animal CoVs from National Center for Biotechnology Information database are included. CoVs groups (Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus, and Deltacoronavirus) based on International Committee on Taxonomy of Viruses recommendation are indicated (alphaCoV, betaCoV, gammaCoV, and deltaCoV, respectively). The tree was constructed based on 357 bp of the RNA-dependent RNA polymerase region by maximum-likelihood method and GTR+I model with 1,000 bootstrap re-sampling method implemented in the Mega5. The scale bar indicates the estimated 0.2 of nucleotide substitutions per site. Numbers on branches represent bootstrap support from 1,000 replicates. BatCoV HKU2, *Rhinolophus* bat CoV HKU2 (EF203064); BatCoV 512, *Scotophilus* bat CoV 512 (DQ648858); FIPV, feline CoV (DQ010921); HCoV-229E, human coronavirus 229E (NC_002645), HCoV-NL63, human CoV NL63 (JX524171); PEDV, porcine epidemic diarrhoea virus (NC_003436); TGEV, Transmissible gastroenteritis virus

(AJ271965); BCoV, bovine CoV (AF391541); HCoV-HKU1A, human CoV HKU1A (DQ415903); HCoV-HKU1B, human CoV HKU1B (AY884001); HCoV-HKU1C, human CoV HKU1C (DQ415913); HCoV-OC43, human CoV OC43 (AY585229); MHV, murine hepatitis virus (NC001846); PHEV, porcine haemagglutinating encephalomyelitis virus (DQ011855); SARSr-CoV-CFB, SARS-related Chinese ferret badger CoV (AY545919); SARSr-BatCoV-HKU3, SARS-related *Rhinolophus* bat CoV HKU3 (DQ022305), SARSr-CiCoV, SARS-related palm civet CoV (AY304488); SARS-huSARS_CoV, SARS-related human CoV (NC_004718); BatCoV HKU4, *Tylonycteris* bat CoV HKU4 (NC009019); BatCoV HKU5, *Pipistrellus* bat CoV HKU5 (NC_009020); HCoV-EMC, human betacoronavirus 2c EMC/2012 (JX869059); BatCoV-KHU9, *Rousettus* bat CoV HKU9 (NC009021); IBV_Peafowl, peafowl CoV (AY641576); IBV_Beaudette, infectious bronchitis virus strain Beaudette CK (AJ311317); IBV-Partridge, infectious bronchitis virus partridge (AY646283.1); ThCoV HKU12, thrush CoV HKU12 (FJ376621); PorCoV HKU15, porcine CoV HKU15 (NC_016990); MRCoV HKU18, magpie robin CoV HKU18 (NC_016993); NHCov HKU19, night heron CoV HKU19 (NC_016994); WiCoV HKU20, wigeon CoV HKU20 (NC_016995).

สรุปและวิเคราะห์ผลการดำเนินการ

- 1) การพบแอนติบอดี (IgG) ต่อไวรัสสปีท์ เป็นเครื่องยืนยันการติดเชื้อไวรัสสปีท์ในค้างคาวชนิดนั้นๆ การตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสสปีท์จากค้างคาวที่จับได้ ณ ฟาร์มสุกรที่ทำการศึกษาทั้ง 2 แห่ง เป็นการศึกษาโอกาสเสี่ยงของสุกรที่จะรับเชื้อไวรัสสปีท์จากค้างคาวโดยในการดำเนินการตรวจค้างคาวที่จับได้ที่ฟาร์มสุกรตลอดระยะเวลา 12 เดือนต่อเนื่อง สามารถจับค้างคาวได้จาก ฟาร์มที่ 1 รวม 112 ตัว จากฟาร์มที่ 2 รวม 60 ตัว โดย พบค้างคาวที่มีแอนติบอดีไวรัสสปีท์ 2 ตัว จากฟาร์มที่ 1 และ 5 ตัว จากฟาร์มที่ 2 โดยค้างคาวทั้ง 7 ตัวเป็นค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางแสดงให้เห็นว่าสุกรจากฟาร์มทั้งสองมีโอกาสสัมผัสกับค้างคาวที่มีประวัติการติดเชื้อที่บินมายังฟาร์ม ในสัดส่วน 1 ใน 56 ตัวของฟาร์มที่ 1 และ 1 ใน 12 ตัว ของฟาร์มที่ 2 การลดจำนวนค้างคาวที่บินมาที่ฟาร์มและลดโอกาสสัมผัสระหว่างค้างคาวและสุกรอาจจะมีช่วยลดโอกาสการแพร่เชื้อจากไวรัสสุสุสุได้
- 2) การตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสสปีท์ในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง รวม 380 ตัวอย่าง พบผลบวก 40 ตัวอย่าง (10.5%) ขณะที่การตรวจแอนติบอดีจากค้างคาวชนิดอื่นรวม 21 ชนิด รวม 388 ตัวอย่าง ไม่พบผลบวกข้อมูลดังกล่าวยืนยันว่าค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง เป็นแหล่งรังโรคหลักตามธรรมชาติของไวรัสสปีท์ที่พบในประเทศไทยการพบผลบวกจากการตรวจสอบสารพันธุกรรมต่อไวรัสสปีท์ ในค้างคาว 2 ชนิด ที่ไม่ใช่ค้างคาวแม่ไก่ ได้แก่ ค้างคาวมงกุฎปลอมใหญ่ และ ค้างคาวหน้ายักษ์หมอบุญส่ง แสดงให้เห็นว่าค้างคาวกินแมลงสามารถเป็นแหล่งรับเชื้อจากค้างคาวแม่ไก่ ที่เป็นพาหะหลักได้เช่นกัน การ

ที่ตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อไวรัสชนิดจากค้างคาวทั้ง 2 ชนิด แสดงให้เห็นว่าค้างคาวทั้งสองชนิดไม่ใช่แหล่งรังโรคโดยธรรมชาติ

- 3) การพบเชื้อไวรัสชนิดจากจากการตรวจสอบพันธุกรรมของไวรัสจากน้ำลาย หรือ เยื่อ ค้างคาว เป็นเครื่องยืนยันระยะอันตราย (active) ของการแพร่เชื้อจากค้างคาวไปสู่สัตว์อื่นๆ การตรวจหาเชื้อจากค้างคาวที่จับได้ ณ ฟาร์มสุกรในระยะเวลาต่อเนื่อง 12 เดือนพบเชื้อในน้ำลายค้างคาว 3 ตัว ที่จับได้จากฟาร์มที่ 2 ในเดือนพฤษภาคมจำนวน 2 ตัวอย่าง และเดือนกรกฎาคมจำนวน 1 ตัวอย่าง และเมื่อพิจารณาข้อมูลรวมกับการตรวจหาเชื้อไวรัสจากค้างคาวที่จับได้จากแหล่งที่อยู่อาศัย วัดหลวงพรมหา-วาส พบผลบวก 5 ตัวอย่าง (จากจำนวนรวม 218 ตัวอย่าง) ในเดือนมีนาคม-พฤษภาคม เป็นข้อมูลยืนยันการแพร่เชื้อในสิ่งคัดหลั่งอย่างมีฤดูกาลที่มีการรายงานมาก่อนหน้าโดยคณะผู้วิจัย (Wacharapluesadee et al., 2010) ซึ่งแตกต่างจากรูปแบบการพบแอนติบอดีที่ไม่พบรูปแบบการพบในช่วงใดช่วงหนึ่งโดยจำเพาะอย่างไรก็ตามข้อมูลในตารางที่ 12 แสดงข้อมูลผลการตรวจแอนติบอดี ของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางที่พบผล PCR บวกในน้ำลายหรือเยื่อค้างคาว โดยพบว่าค้างคาวบางตัวพบ PCR ให้ผลบวกแต่ไม่พบแอนติบอดีในเลือด แสดงให้เห็นว่าเป็นช่วงเริ่มต้นของการติดเชื้อและแอนติบอดียังไม่ทันตอบสนอง และหากเจาะเลือดในอีก 1 สัปดาห์ถัดมาจะสามารถพบแอนติบอดีบวกในเลือด ดังรายงานของประเศมาเลเซีย ที่จะพบแอนติบอดีหลังการติดเชื้อ (Sohayati AR et al., 2011)

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของไวรัสจากค้างคาวสู่สุกรหรือคน ควรเพิ่มระดับความเข้มข้นในช่วงเวลาของเดือน มีนาคม-กรกฎาคม ที่เป็นช่วงที่มีการพบเชื้อไวรัสจากสิ่งคัดหลั่งค้างคาวจากการศึกษาครั้งนี้

- 4) การศึกษาไวรัสโรคอุบัติใหม่อื่นที่อาจมีค้างคาวเป็นพาหะได้แก่ ไวรัสโคโรนา, อีโบลา, ชิคุนกุนยา และ Paramyxovirus เป็นแนวทางการศึกษาเชื้อโรคอุบัติใหม่โดยใช้หลักการของ family PCR ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเป็นกลุ่มของไวรัส แล้วจึงแยกแยะชนิดของเชื้อไวรัสจากการถอดรหัสพันธุกรรม ซึ่งวิธีการนี้จะเพิ่มโอกาสการพบเชื้อชนิดใหม่ได้ดีกว่าการใช้ชุดตรวจวิเคราะห์ที่จำเพาะต่อเชื้อชนิดชนิดหนึ่ง และการศึกษาครั้งนี้พบไวรัสในกลุ่ม paramyxovirus ที่จากการศึกษารหัสพันธุกรรมขนาด 530 เบส และการวิเคราะห์ด้วย phylogenetic tree พบว่าเป็นไวรัสจากค้างคาว (bat paramyxovirus) ในกลุ่มที่ยังไม่มีการรายงานมาก่อน และมีความเป็นไปได้ว่าจะเป็น Paramyxovirus กลุ่มใหม่นอกจากนี้ยังพบไวรัสในกลุ่ม Coronavirus จากมูลค้างคาว ที่พบว่าจัดอยู่ในกลุ่ม alphacoronavirus อย่างไรก็ตามไวรัสทั้งสองกลุ่มที่พบนี้ยังไม่มีรายงานว่าสามารถติดต่อสู่คนหรือสัตว์ได้ การศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมของไวรัส รวมทั้งการทดสอบคุณสมบัติในการนำโรคสู่คนหรือสัตว์อื่น จะช่วยให้สามารถทำนายโอกาสก่อโรคของไวรัสจากค้างคาวสู่คนกลุ่มนี้ได้

2.3 โครงการศึกษาชนิดของสายพันธุ์ไวรัสนิปาห์ที่พบในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาชนิดของเชื้อไวรัสนิปาห์ที่ก่อภัยเสี่ยงในการแพร่เชื้อสู่สุกร และมนุษย์ในพื้นที่ศึกษา

วิธีการดำเนินการ

ภาคสนาม

- 1) เก็บตัวอย่างเยี่ยวค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ด้วยวิธีป้ายพลาสติก ใต้ต้นไม้ที่เป็นแหล่งเกาะนอน จากแหล่งเกาะนอน 7 จุดในจังหวัดภาคกลาง ในช่วงเวลาที่เคยมีการรายงานว่าพบไวรัสนิปาห์ในเยี่ยวค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (Wacharapluesadee, 2010)
- 2) ทำการปูพลาสติกขนาด 1.5x1.5 เมตร โดยชั้นล่างเป็นพลาสติกขาวขุ่น (re-used) ชั้นบนเป็นพลาสติกใส (disposable)
- 3) เก็บตัวอย่างเยี่ยวค้างคาวใน Lysis buffer โดย 1 หลอดจะมีปริมาณเยี่ยวค้างคาว ประมาณ 1 ml
- 4) เก็บตัวอย่างเยี่ยวค้างคาวจำนวน 50 หลอดต่อสถานที่
- 5) ขนส่งตัวอย่างในสภาพเย็น เพื่อนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C จนกว่าจะนำมาตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบพันธุกรรมต่อไวรัสนิปาห์ด้วยวิธี Duplex nested RT-PCR (Wacharapluesadee, 2007)

ทำการตรวจสอบพันธุกรรมของไวรัสนิปาห์ด้วยวิธี Duplex nested RT-PCR ที่ตำแหน่งยีน nucleoprotein (N) จากตัวอย่างเยี่ยวค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางที่ในฤดูกาลพบเชื้อ ตามรายละเอียดวิธีการเช่นเดียวกับโครงการ 2.2

การถอดรหัสพันธุกรรมไวรัสนิปาห์

- 1) กรณีที่พบผล PCR บวกจากทั้งโครงการ 2.2 และ 2.3 จะทำการตรวจวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมของไวรัสที่พบ โดยทำปฏิกิริยา hemi-nested PCR จากตัวอย่าง one-step RT-PCR เดิม เพื่อให้ได้ข้อมูลรหัสพันธุกรรมที่มีความยาวกว่าการถอดรหัสพันธุกรรมจาก nested PCR product
- 2) การทำ hemi-nested PCR จะไม่ใส่ Kanamycin primer เพื่อให้ hemi-nested PCR ต่อ Nipah DNA เกิดได้อย่างเต็มที่
- 3) ทำปฏิกิริยา hemi-nested PCR รวม 2 ปฏิกิริยา ด้วย primer ตามรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 6 ปฏิกิริยาที่ 1 ใช้ primer NP1F และ NP2R ส่วน ปฏิกิริยาที่ 2 ใช้ primer NP2F และ NP1R โดยใช้ template คือ RT-PCR product ของ step ที่ 1
- 4) ทำการแยก PCR band ที่เกิดขึ้นด้วย gel electrophoresis และสกัดแยกเฉพาะ PCR product ในตำแหน่งที่ถูกต้องเพื่อไปทำปฏิกิริยา sequencing ในการถอดรหัสพันธุกรรมต่อไป

- 5) PCR product จากปฏิกิริยา hemi-nested PCR รวม 2 ปฏิกิริยานี้ จะทำให้สามารถถอดรหัสพันธุกรรมได้รวม 357 base pair (bp) ซึ่งยาวมากเพียงพอในการเปรียบเทียบกับรหัสพันธุกรรมของไวรัสชนิดอื่นที่ได้จากแหล่งประเทศอื่น หรือ host อื่น
- 6) วิเคราะห์รหัสพันธุกรรมสายพันธุ์ไวรัสชนิดที่พบในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อประเมินความเสี่ยงในการนำโรคสู่สุกหรือมนุษย์ต่อไป

ผลการดำเนินการ

1. การเก็บและตรวจตัวอย่างเยี่ยวค่างค่างแม่ไก่อากาศกลางด้วยวิธี PCR ในฤดูกาลแพร่เชื้อ

1.1 การตรวจวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมความยาว 357 bp ของยีน N ของเชื้อไวรัสชนิดที่ตรวจพบจากการเก็บแบบ pool urine ได้ต้นไม้ที่ค่างควาอาศัยอยู่ในฤดูกาลแพร่เชื้อระหว่าง 31 มีนาคม-13 พฤษภาคม พ.ศ. 2555 โดยการสุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 50 ตัวอย่างต่อพื้นที่ศึกษา ยกเว้นวัดหลวงพรหมมาวาส จังหวัดชลบุรี ที่มีการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง โดยครั้งแรกในเดือนมีนาคม ใช้เป็นตัวชี้วัดการเริ่มฤดูกาลแพร่เชื้อไวรัส ก่อนลงมือเก็บตัวอย่างจากพื้นที่อื่นๆ ในเวลาไล่เลี่ยกัน

1.2 พบผลบวก RNA ของเชื้อไวรัสชนิดใน 7 พื้นที่ศึกษาในอัตราร้อยละ 0-26 เฉลี่ยร้อยละ 10.8 โดยมี 2 แห่งที่ไม่พบเชื้อไวรัสชนิดได้แก่ วัดท่าซุง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และวัดจันทาราม จังหวัดอ่างทอง ที่เก็บตัวอย่างจากค่างควาวัดเก่าซ่ง จังหวัดสิงห์บุรีที่เก็บในช่วงเวลาเดียวกัน ให้ผลบวกร้อยละ 6 ก็ตาม (ตารางที่ 15)

1.3 การถอดรหัสพันธุกรรมของไวรัสชนิดที่พบทั้ง 45 ตัวอย่าง จาก PCR product ขนาดยาว 357 bp พบว่าไวรัสทั้งหมดจัดอยู่ในกลุ่ม Bangladesh genotype (รูปที่ 10)

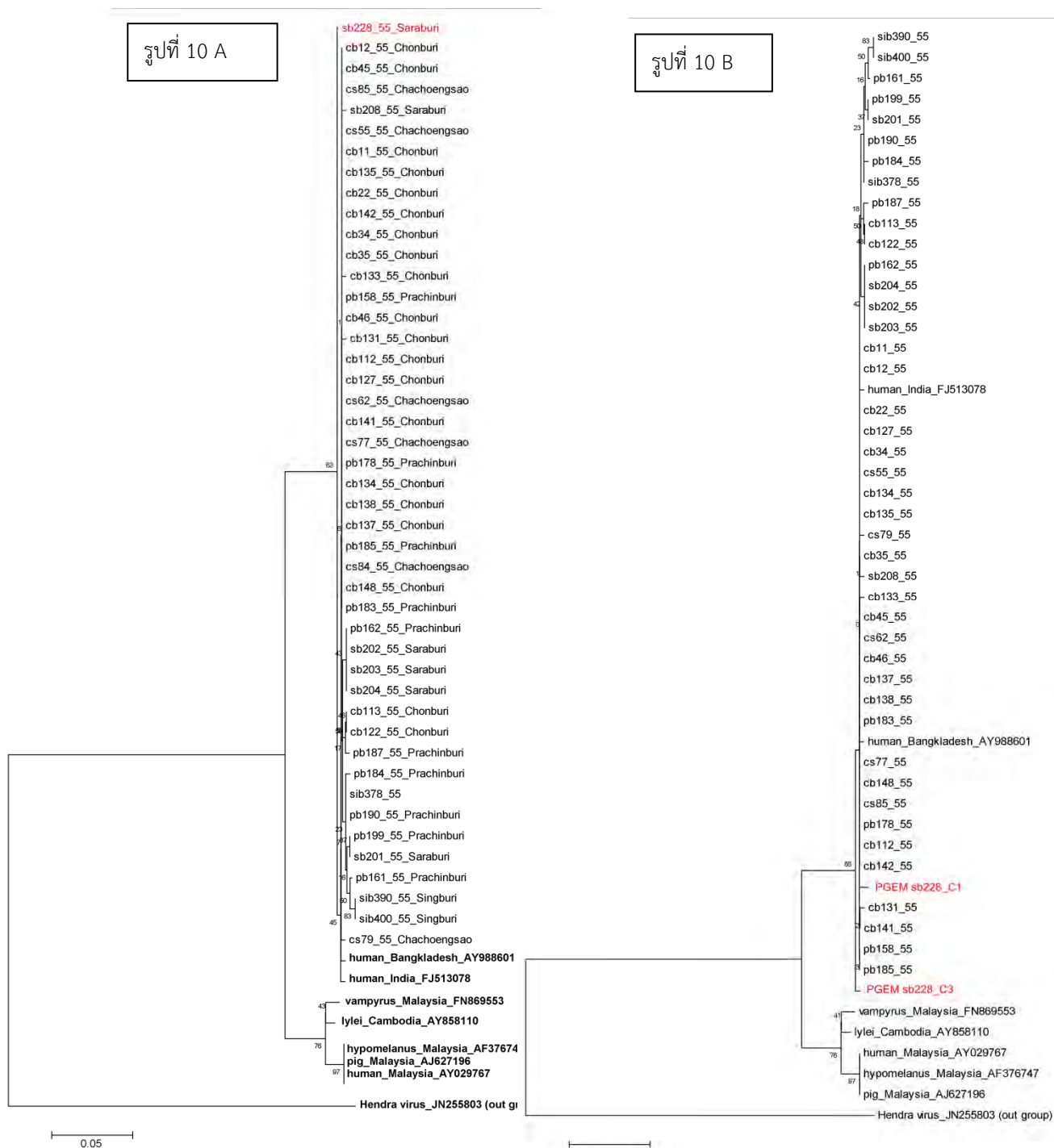
2. การตรวจสอบสารพันธุกรรมไวรัสชนิดจากค่างควาที่จับรายตัวที่ฟาร์มสุกร วัดหลวงพรหมมาวาส และถ้ำในเขตภาคตะวันออก

2.1 การตรวจวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมความยาว 357 bp ของยีน N ของเชื้อไวรัสชนิดที่ตรวจพบจากการเก็บตัวอย่างรายตัว (น้ำลาย และ เยี่ยว) ตามตารางผลการตรวจดังแสดงใน ตารางที่ 12 และ S7 (ภาคผนวก) พบผลบวกรวมจากค่างควา 8 ตัว และ 2 pool โดยมีค่างควา 1 ตัว ที่พบผลบวกทั้งจากน้ำลายและเยี่ยว ซึ่งผลการถอดรหัสพันธุกรรมจากตัวอย่างทั้งสองให้ผลตรงกัน

2.2 ค่างควาแม่ไก่อากาศกลางจะพบเชื้อที่มีรหัสพันธุกรรมใกล้เคียงกับชนิดไวรัสที่พบในประเทศบังกลาเทศ (98.9 -100%) ส่วนค่างควากินแมลง 2 ชนิด ที่มีการพบเชื้อไวรัสชนิดนี้ มีรหัสพันธุกรรมเหมือนกับไวรัสชนิดที่พบในประเทศมาเลเซีย (100%, AY029768.1) ซึ่งแตกต่างจากชนิดของไวรัสที่พบในค่างควาแม่ไก่อากาศกลางที่พบในประเทศไทย (93% identity) (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 15 แสดงผลการตรวจเยี่ยวค้ำความแม่ไก่ภาคกลางจาก 7 พื้นที่ศึกษา ระหว่าง 31 มีนาคม - 13 พฤษภาคม พ.ศ. 2555

วันที่เก็บตัวอย่าง	สถานที่/จังหวัด	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ	จำนวนตัวอย่างที่พบผลบวก (%)
31/3/55	วัดหลวงฯ/ ชลบุรี	50	7 (14%)
22/4/55	วัดโพธิ์ฯ/ ฉะเชิงเทรา	50	6 (12%)
22/4/55	วัดหลวงฯ / ชลบุรี	50	13 (26%)
28/4/55	วัดเทวบุตรฯ/ ปราจีนบุรี	50	10 (20%)
29/4/55	วัดเกาะลอยฯ / สระบุรี	50	6 (12%)
12/5/55	วัดท่าซุง / อุดรฯ	50	0 (0%)
13/5/55	วัดจันทารามฯ / อ่างทอง	50	0 (0%)
13/5/55	วัดเก้าซ้ง / สิงห์บุรี	50	3 (6%)
รวม	7 จังหวัด	400	45 (11.25%)



รูปที่ 10 Phylogenetic tree of 45 Nipah virus (NiV) from bat urine collected from 5 provinces during March-May 2012 in this study. Other 8 selected human and animal Henipaviruses (bold) from National Center for Biotechnology Information database are included. The tree was constructed based on 357 bp of nucleocapsid sequence by maximum-likelihood method and GTR+I model with 1,000 bootstrap re-sampling method implemented in the Mega5. The scale bar indicates the estimated 0.05 of nucleotide substitutions per

site. Numbers on branches represent bootstrap support from 1,000 replicates. รูป A ผลการวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมจาก direct sequencing รูป B ผลการวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมจาก direct sequencing และจากการ clone PCR product ของตัวอย่าง No. sb228_55_Saraburi (ตัวหนังสือสีแดง) ที่พบว่ามีการรหัสพันธุกรรมต่างกัน 2 ชุดในตัวอย่างเดียวกัน (PGEMsb228_C1 และ PGEMsb228_C1)

ตารางที่ 16 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์รหัสพันธุกรรม ไวรัสนิปาห์ที่ตรวจพบจากค้างคาวที่จับได้บริเวณ ฟาร์มสุกรที่ 2 วัดหลวงพรหมवास และพื้นที่ 5 จังหวัดภาคตะวันออก

No.	Specimen ID	Bat species	Specimen type (no. of pool)	Location	Date of collection	Sequence analysis Identity to ref. (%)
1	BSA55P103	ค้างคาวมงกุฎปลอมใหญ่ (<i>Rhinolophus shameli</i>)	Pooled saliva (3)	ถ้ำฉกรรจ์/สระแก้ว	27/1/2555	Malaysia (100) GB ref: AY029768.1
2	BSA55P124	ค้างคาวหน้ายักษ์หมอบุญส่ง (<i>Hipposideros lekaguli</i>)	Pooled saliva (2)	ถ้ำฉกรรจ์/สระแก้ว	27/1/2555	Malaysia (100) GB ref: AY029768.1
3	BSA55425	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (<i>Pteropusylei</i>)	Saliva (single)	วัดหลวงฯ / ชลบุรี	3/3/55	Bangladesh (100) GB ref: AY988601.1
4	BUR55425	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (<i>Pteropusylei</i>)	Saliva (single)	วัดหลวงฯ / ชลบุรี	3/3/55	Bangladesh (100) GB ref: AY988601.1
5	BSA55487	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (<i>Pteropusylei</i>)	Saliva (single)	วัดหลวงฯ / ชลบุรี	26/4/55	Bangladesh (99.4) GB ref: AY988601.1
6	BSA55488	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (<i>Pteropusylei</i>)	Saliva (single)	วัดหลวงฯ / ชลบุรี	26/4/55	Bangladesh (100) GB ref: AY988601.1
7	BSA55489	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (<i>Pteropusylei</i>)	Saliva (single)	วัดหลวงฯ / ชลบุรี	26/4/55	Bangladesh (99.2) GB ref: AY988601.1
8	BSA55695	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (<i>Pteropusylei</i>)	Saliva (single)	Farm 2 / ชลบุรี	19/5/55	Bangladesh (98.9) GB ref: AY988601.1
9	BSA55696	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (<i>Pteropusylei</i>)	Saliva (single)	Farm 2 / ชลบุรี	19/5/55	Bangladesh (100) GB ref: AY988601.1
10	BSA55785	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (<i>Pteropusylei</i>)	Saliva (single)	Farm 2 / ชลบุรี	21/7/55	Bangladesh (100) GB ref: AY988601.1

Reference of GenBank accession number

1. GenBank: AY029767.1 is Nipah virus isolate UMMC2, complete genome, isolated from the throat secretion of an encephalitic patient
2. GenBank: AY988601.1 is Nipah virus from Bangladesh, complete genome, isolated from human specimen

สรุปและวิเคราะห์ผลการดำเนินการ

1. การศึกษาสายพันธุ์ไวรัสซิกาที่พบในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางโดยการเก็บและตรวจเยื่อค้ำคาวแม่ไก่ภาคกลาง 7 แหล่งที่อยู่อาศัย ใน 7 จังหวัด ในช่วงเดือน มีนาคม-พฤษภาคม 2555 พบว่าเชื้อไวรัสที่พบมีลักษณะพันธุกรรมเหมือน-ใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสซิกาที่พบระบาดในประเทศบังกลาเทศ โดยมีความเหมือนของรหัสพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 98.9-100% อย่างไรก็ตามพบว่าไวรัสซิกาที่พบจากจังหวัดสระบุรี (sb228_55) เมื่อทำการจัดกลุ่มวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) พบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มอย่างชัดเจน (รูปที่ 10A) เมื่อศึกษารหัสพันธุกรรมของไวรัสเพิ่มเติม โดยการ clone เพื่อแยกแยะสายพันธุ์พบว่ารหัสพันธุกรรม 2 ชุดรวมอยู่ในตัวอย่างเดียวกันดังรูปที่ 10 B ประกอบด้วยไวรัสที่อยู่ในกลุ่มเดียวกับที่พบในจังหวัดอื่น (PGEM sb228_C1) ในขณะที่ PGEM sb228_C3 ยังคงเป็นไวรัสในกลุ่มบังกลาเทศที่แตกต่างจากที่เคยมีการรายงานมาก่อน ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าไวรัสซิกาที่พบจากจังหวัดสระบุรีนี้ มีการผันแปรทางพันธุกรรมเกิดขึ้น
2. การที่พบลักษณะของพันธุกรรมของเชื้อไวรัสมีความคล้ายคลึงกันในกลุ่มค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง 5 แห่งที่พบเชื้อในการศึกษารั้งนี้ โดยไม่พบความจำเพาะทางภูมิศาสตร์ (geographic specificity) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก สองปัจจัยที่สำคัญคือ หนึ่งในประเทศไทยพบว่าพื้นที่ที่มีศักยภาพต่อการที่ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางเกาะนอนหรือสร้าง colony ใหม่ ตามการศึกษาของ วรพันธ์ (2555) มีอยู่อย่างจำกัดเฉพาะที่ราบลุ่มภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงบางส่วนและปัจจัยที่สำคัญได้แก่ต้องเป็นพื้นที่ที่มีอุณหภูมิเฉลี่ย 28-29 องศาเซลเซียส และมีความสูงจากระดับน้ำทะเลไม่เกิน 100 เมตรด้วย และสองในระหว่างการศึกษาค้นคว้าค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางในการศึกษารั้งนี้ พบว่าค้างคาวเพศผู้มีการบินไปมาระหว่างพื้นที่เกาะนอนแหล่งใหม่บริเวณใกล้เคียง (satellite colony) โดยเฉพาะช่วงต้นฤดูกาลผสมพันธุ์ จากสองเหตุผลดังกล่าวทำให้ประชากรของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางมีการแพร่กระจายในพื้นที่ใกล้เคียงและสามารถเดินทางไปมาหาสู่กันได้ จึงน่าจะทำให้การแพร่และพบเชื้อไวรัสของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางจึงมีเป็นลักษณะกลมกลืน (homogenous) แตกต่างจากการพบเชื้อไวรัสซิกาในค้างคาวแม่ไก่เกาะในภาคใต้ของประเทศไทยที่มีลักษณะพันธุกรรมจัดอยู่ในกลุ่มของไวรัสที่พบในประเทศมาเลเซีย (unpublished data) จึงอาจมีความเป็นไปได้ว่าสายพันธุ์ (genotype) ของไวรัสซิกามีลักษณะจำเพาะต่อชนิดค้างคาว (host species specific) มากกว่าความจำเพาะต่อพื้นที่ (geographic specific) และตามปกติจะไม่พบพื้นที่หากินที่ซ้อนทับกันระหว่างค้างคาวแม่ไก่เกาะกับค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ดังนั้นโอกาสที่จะมีการพบสายพันธุ์ของไวรัสซิกาจากค้างคาวแม่ไก่เกาะจึงเป็นไปได้ยาก อย่างไรก็ตามการศึกษานี้สายพันธุ์ของไวรัสซิกาในค้างคาวแม่ไก่เกาะที่อาศัยบริเวณภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงของประเทศไทย (แนวเส้นรุ้งหรือละติจูดเดียวกับค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง) อาจจะช่วยยืนยันข้อสมมติฐานดังกล่าวได้

3. การวิเคราะห์เชื้อไวรัสนิปาห์สายพันธุ์มาเลเซียในค้างคาวกินแมลงทั้ง 2 ชนิดจากการศึกษาครั้งนี้ มีผลสอดคล้องกับการพบเชื้อไวรัสนิปาห์ในค้างคาวหน้ายักษ์สามหลักของประเทศไทยที่รายงานในปี 2005 (Wacharapluesadee et al., 2005)
4. สายพันธุ์ของไวรัสนิปาห์ที่พบในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางจากพื้นที่ศึกษาความเสี่ยงที่ วัดหลวงพรมหา-วาส และจังหวัดที่เป็นแหล่งที่อยู่ของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางอีก 6 จังหวัด เป็นชนิด genotype Bangladesh (NiV-B) ที่พบการระบาดในประเทศบังกลาเทศและอินเดียตั้งแต่ปี 2001 ถึงปัจจุบัน (เฉพาะในบังกลาเทศ) โดยมีการแพร่เชื้อโดยตรงผ่านน้ำอึนทาลัมสดที่มีการปนเปื้อนและการติดต่อจากคนสู่คน (Rahman et al., 2012; Homaira et al., 2007) แต่ไม่มีรายงานการแพร่ระบาดผ่านสุกรสู่คนเช่นการระบาดที่ประเทศบังกลาเทศ แม้ยังไม่มีรายงานการติดเชื้อของไวรัส NiV-B ในสุกรในสถานการณ์จริงหรือจากการทดลองก็ตามการทดลองใน ferret พบว่า NiV-B มีอัตราการปล่อยเชื้อทางน้ำลาย (oral shedding) สูงกว่าไวรัสนิปาห์ genotype Malaysia (NiV-M) (Clayton et al., 2012) ในขณะที่การทดลองใน Syrian hamster พบว่าไวรัส NiV-M มีอัตราการ replication เร็วกว่า NiV-B (DeBuysscher et al., 2013) โอกาสที่จะติดในสุกรยังอาจมีความเป็นไปได้เช่นกันจากการที่มีไวรัสในปริมาณสูงผ่านทางสิ่งคัดหลั่งในน้ำลาย NiV-M มีการติดเชื้อในสุกรเมื่อปี 1998 (Chua et al., 2000) ดังนั้นถ้า NiV-B สามารถติดเชื้อในสุกรได้ การแพร่เชื้อระหว่างสุกรอาจรุนแรงกว่าไวรัส NiV-M ก็ได้อะนั่นการเฝ้าระวังโดยติดตามอัตราการติดเชื้อของไวรัสในค้างคาวอย่างสม่ำเสมอ และลดโอกาสเหตุการณ์ที่ค้างคาวและสุกรจะพบกัน จะช่วยลดโอกาสการติดเชื้อไวรัสนิปาห์ในสุกรในประเทศไทย
5. ไวรัสนิปาห์ NiV-B มีความสามารถในการแพร่เชื้อจากค้างคาวสู่คนได้โดยผ่านการดื่มน้ำอึนทาลัมสดที่ปนเปื้อนไวรัสจากค้างคาว และในการศึกษาครั้งนี้ เชื้อไวรัสที่พบเป็นชนิดเดียวหรือใกล้เคียงกับ NiV-B จึงเป็นสิ่งบ่งชี้อันตรายของคนที่สัมผัสกับสิ่งคัดหลั่งของค้างคาวทั้งเยี่ยวและน้ำลาย แม้ในประเทศไทยจะไม่มีกรบริโภคน้ำอึนทาลัมสดที่เป็นต้นตอของการแพร่เหมือนที่ประเทศบังกลาเทศ แต่การเพิ่มความระมัดระวังและลดโอกาสการสัมผัสเชื้อไวรัสนิปาห์จากค้างคาวในพฤติกรรมเสี่ยงต่างๆ เช่น การสัมผัสเยี่ยวค้างคาวจากการเดินผ่านต้นไม้ที่ค้างคาวเกาะนอน การกินผลไม้ที่มีร่องรอยการกัดแทะของค้างคาว การดื่มน้ำตาลจากต้นมะพร้าวหรือต้นตาลที่ไม่ผ่านการต้ม จะช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคในคนได้ และรวมทั้งการติดตามอัตราการติดเชื้อของไวรัสในแหล่งค้างคาวโดยเฉพาะที่อยู่ใกล้ชิดคน เพื่อเป็นสัญญาณเตือนอันตราย โดยยึดถือเกณฑ์ปัจจุบันที่พบอัตราการติดเชื้อในค้างคาวที่ร้อยละ 10 แต่ยังไม่พบการระบาดในคนหรือสัตว์ แต่หากมากกว่านี้ 2-5 เท่า ความเสี่ยงต่อการติดเชื้อก็น่าจะหรืออาจจะเพิ่มขึ้นด้วย เช่น อัตราการติดเชื้อ 31%, 17% ที่พบในค้างคาวแม่ไก่เกาะ และค้างคาวแม่ไก่ป่าฝน (ตามลำดับ) ที่ประเทศมาเลเซีย (Yob et al., 2001) หรือ อัตราการติดเชื้อ 50 % ในค้างคาวแม่ไก่ *Pteropus giganteus* ในประเทศอินเดีย (Epstein et al., 2008)

3. ผลการดำเนินการ

3.1 สถานภาพการวิจัย

1) โครงการศึกษาชนิดของค้างคาวในพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคไวรัสซิกาในสุกร

- การลงพื้นที่สำรวจฟาร์มสุกรจำนวน 2 ฟาร์มรายเดือน เดือนละ 1 ครั้ง ครั้งละ 2 คิน เป็นระยะเวลา 1 ปี (มกราคม - ธันวาคมพ.ศ. 2555) เป็นไปตามเป้าหมายทุกประการ
- การเก็บข้อมูลต้นไม้และไม้ผลที่ปลูกบริเวณฟาร์มสุกร ทุกครั้งที่มีการดักจับค้างคาว ตั้งแต่เดือน มกราคม - ธันวาคมพ.ศ. 2555 เป็นไปตามเป้าหมายทุกประการ
- การศึกษาการเคลื่อนที่ของค้างคาวด้วยการติดวิทยุชนิด GPS-ACC Logger-Tags ได้รับการสนับสนุนอุปกรณ์และผู้เชี่ยวชาญจาก FAO ซึ่งเป็นโครงการที่ไม่ได้อยู่ในแผนการดำเนินงานมาก่อน และได้ผลงานเกินเป้าหมายที่ตั้งไว้ รวมทั้งการจัดอบรมโดยทีมนักวิจัยในระดับชาติ (เมื่อ 19-23 พฤศจิกายน พ.ศ.2555) และนานาชาติ (เมื่อ 13-15 พฤษภาคม พ.ศ. 2556)

2) โครงการศึกษาสภาวะติดโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาวที่มีถิ่นอาศัยและหากินบริเวณโรงเรียนเลี้ยงสุกร

- ดำเนินการจับค้างคาวรวม 802 ตัว ได้ตัวอย่างจากค้างคาวรวม 2,503 ตัวอย่าง ประกอบด้วย น้ำลาย 797 ตัวอย่าง เลือด 765 ตัวอย่าง เยื่อ 244 ตัวอย่าง และ มูล/ rectal swab 697 ตัวอย่างได้จำนวน ตัวอย่างเกินเป้าหมายที่ตั้งไว้
- แหล่งของตัวอย่างค้างคาวประกอบด้วย 6 จังหวัดภาคตะวันออกจังหวัด ชลบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว ปราจีนบุรี จันทบุรีและตราด คิดเป็นร้อยละ 86 ของพื้นที่ 7 จังหวัดภาคตะวันออก นอกจากนี้ยังได้ทำการเก็บ ตัวอย่างเยื่อค้างคาวจากจังหวัดในภาคกลางเพิ่มเติมเพื่อทำการเปรียบเทียบข้อมูลรวม 4 จังหวัด ได้แก่ อ่างทอง สิงห์บุรี พระนครศรีอยุธยา และสระบุรี ได้พื้นที่ศึกษาเป็นไปตามเป้าหมายทุกประการ
- เก็บตัวอย่างเลือดค้างคาวเพื่อตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสซิกาเลือดค้างคาวจำนวน 765 ตัวอย่าง พบผลบวกรวม 40 ตัวอย่างโดยทั้งหมดเป็นตัวอย่างจากค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง
- เก็บตัวอย่างน้ำลาย และ เยื่อ เพื่อตรวจสอบสารพันธุกรรมต่อไวรัสซิกาจำนวนรวม 1,041 ตัวอย่าง ประกอบด้วย (น้ำลาย 797 และ เยื่อ 244 ตัวอย่าง) พบผลบวก 11 ตัวอย่าง ทั้งนี้มีการพบเชื้อไวรัสซิกาจากค้างคาวชนิดที่ไม่เคยมีการรายงานพบเชื้อมาก่อนรวม 2 ชนิด ได้แก่ ค้างคาวมงกุฎปลอมใหญ่ และค้างคาวหน้ายักษ์หมอบูญสง

3) โครงการศึกษาชนิดของสายพันธุ์ไวรัสซิกาที่พบในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

- ดำเนินการเก็บเยื่อค้างคาวด้วยวิธีการบุพลาสติกใต้ต้นไม้ที่เป็นแหล่งหลบซ่อนของค้างคาวแม่ไก่ ใน 7 จังหวัดหลักที่มีรายงานการพบค้างคาวมาไก่ภาคกลางและพบเชื้อไวรัสซิกา ในระหว่างเดือน มีนาคม- พฤษภาคม พ.ศ. 2555 ได้ตัวอย่างเยื่อค้างคาวรวมทั้งสิ้น 400 ตัวอย่าง เป็นไปตามเป้าหมายทุกประการ

- ตัวอย่างที่ตรวจด้วยวิธี PCR มีจำนวน 1,441 ตัวอย่าง เกินเป้าหมายของโครงการที่เสนอไว้ คือ 1,200 ตัวอย่าง

- การตรวจไวรัส corona ด้วยวิธี PCR ในตัวอย่าง มูล/ rectal swab ของค้างคาวถ้ำจำนวน 251 ตัวอย่าง พบผลบวกเชื้อไวรัส 4 ตัวอย่าง การตรวจไวรัสอีโบลา ชิคุนกุนยา และ paramyxovirus ด้วยวิธี PCR ใน ตัวอย่างของค้างคาวถ้ำประกอบด้วย น้ำลายจำนวน 380 ตัวอย่าง (150 pool) และเยี่ยวจำนวน 112 ตัวอย่าง (50 pool) พบผลบวกเชื้อไวรัส paramyxovirus จำนวน 11 pool แต่ไม่พบผลบวกต่อการตรวจไวรัสอีโบลา ชิคุนกุนยา

3.2 การจัดลำดับความสำคัญ

โครงการศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาวประกอบด้วย การศึกษาตัวเชื้อไวรัส พาหะแหล่งรังโรค และสภาพแวดล้อมที่อาจเอื้อต่อการแพร่ระบาดของโรค ซึ่งเป็นการศึกษาอย่างเป็นระบบที่สอดคล้องกันจึงทำให้ได้รับข้อมูลที่สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาแนวทางการป้องกันการแพร่ระบาดของไวรัสชนิดนี้ในประเทศไทยได้ และการที่พบว่าธรรมชาติของเชื้อไวรัส (อัตราการติดเชื้อ) และค้างคาวที่เป็นแหล่งรังโรคของไทยแตกต่างจากประเทศมาเลเซีย บังกลาเทศ และอินเดีย ที่มีการระบาดของโรคสมองอักเสบชนิดนี้ในคน จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาแนวทางการเตรียมความพร้อมของภาครัฐให้เหมาะสมต่อไป

4. สรุป และข้อเสนอแนะ

นิเวศวิทยาและพฤติกรรมค้างคาว กับการป้องกันโรค

1. จากผลการศึกษาพบว่าค้างคาวทั้งชนิดที่กินแมลงและผลไม้ ไปใช้พื้นที่บริเวณฟาร์มสุกรตลอดทุกเดือน ดังนั้นควรมีการจัดการบริเวณโรงเรือนเลี้ยงสุกรโดยเฉพาะในเวลากลางคืน เช่น ควรมีวัสดุปิดกันหรือล้อมที่อยู่ของสุกรไม่ให้ค้างคาวเข้าใกล้ชิดกับสุกรโดยตรง
2. หากพิจารณาเฉพาะค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง พบว่าจะเข้ามาใช้และเกาะต้นไม้บริเวณฟาร์มสุกรที่มีความสูงเกิน 4-5 เมตรขึ้นไป ดังนั้นควรจัดการต้นไม้โดยเฉพาะไม้ที่ให้ผลสุกบริเวณโดยรอบที่บริเวณที่อยู่ของสุกร ไม่ให้สูงเกิน 4-5 เมตร หรือหากเป็นไปได้ไม่ควรให้มีไม้ยืนต้นอยู่โดยรอบฟาร์มสุกรอาจต้องให้ความสำคัญพิเศษกับต้นมะม่วง เนื่องจากค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางดักจับได้มากที่สุดบริเวณต้นมะม่วง โดยจะพบเป็นตัวเต็ม ที่แวะเข้ามาต้นมะม่วงต้นเดิมหลายครั้งติดต่อกัน ถึงแม้ว่ามะม่วงต้นนั้นจะไม่มีผลก็ตาม
3. เนื่องจากค้างคาวมีเส้นทางออกหากินในทุกทิศทางจากบริเวณแห่งเกาะนอน ดังนั้นพื้นที่ที่รัศมีโดยรอบจุดเกาะนอนประมาณ 23 กิโลเมตร จัดเป็นพื้นที่ที่เสี่ยงต่อการแพร่โรคอุบัติใหม่ในค้างคาวแม่ไก่มากที่สุด หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีแผนการรองรับที่มีประสิทธิภาพและสามารถนำไปใช้ได้จริงอย่างทันทั่วทั้ง

4. จากการศึกษาพบว่า มีค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางเพศผู้ บินไปเกาะนอนนอกเหนือจากที่เกาะนอนประจำ และยังพบไปอาศัยในแหล่งเกาะนอนใหม่ (satellite colony) เป็นเวลา หนึ่งถึงสองคืนแล้วจึงจะบินกลับมาแหล่งเกาะนอนประจำอีกครั้ง ดังนั้นมีความเป็นไปได้สูงที่เชื้อจะมีการกระจายกว้างขวางไปเรื่อยๆ โดยเฉพาะถ้ามีจำนวนของค้างคาวที่มีการติดเชื้อเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เป็นเรื่องที่ต้องตระหนักและเตรียมการรับมือในเรื่องนี้ และต้องเร่งสำรวจหา แหล่งเกาะนอนใหม่ (satellite colony) ของ ค้างคาวแม่ไก่และปริมาณของการติดเชื้ออยู่ตลอดเวลา
5. เนื่องจากการติดตามค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง โดยใช้ GPS-ACC Logger-Tags ในการศึกษาครั้งนี้ มีอายุการใช้งานได้แต่ละ ประมาณ 5 วัน ข้อมูลที่ได้ย่อยละเอียด จึงเป็นการเคลื่อนที่หากินในรอบคืนของแต่ละตัว แต่เป็นช่วงระยะเวลาสั้นๆ ดังนั้นจึง ไม่สามารถตอบปัญหาเรื่องการเคลื่อนที่หากินและ แหล่งเกาะนอนต่างๆ รวมทั้งการอพยพโยกย้ายประชากรในรอบหนึ่งปีได้ ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการติดตามค้างคาวแม่ไก่โดยใช้ PTT Satellite Transmitter เพื่อติดตามการเคลื่อนที่ได้เป็นระยะเวลามากกว่า 1 ปี

ไวรัสวิทยากับการป้องกันโรค

1. การตรวจติดตามอัตราการติดเชื้อไวรัสชนิด (ด้วยการตรวจแอนติบอดี) ของค้างคาวที่เป็นแหล่งรังโรค ได้แก่ กลุ่มค้างคาวแม่ไก่ ถ้ามีปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ จะเป็นเครื่องช่วยเตือนอันตรายของการแพร่ระบาดของเชื้อจากแหล่งรังโรคสู่สุกร คน หรือสัตว์เลี้ยงอื่นๆได้
2. เป้าหมายชนิดค้างคาวที่ควรเฝ้าระวังคือค้างคาวแม่ไก่ เพราะเป็นแหล่งรังโรคโดยธรรมชาติ ค้างคาวชนิดอื่นๆ อาจมีการติดเชื้อได้ แต่อาจไม่ได้เป็นแหล่งรังโรคที่แท้จริง
3. ค้างคาวกินแมลงไม่ได้เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อไวรัสชนิดตามธรรมชาติ แต่จากการศึกษาไวรัสชนิดอื่นๆ พบว่าค้างคาวกลุ่มนี้เป็นรังโรคของไวรัสโคโรนาที่สามารถก่อโรคในคนได้ รวมทั้ง bat paramyxovirus ที่ขณะนี้ยังไม่มีรายงานที่สามารถนำโรคสู่คนหรือสัตว์เลี้ยง แต่การศึกษาไวรัสอุบัติใหม่ในแหล่งนำโรคเหล่านี้จะช่วยให้ข้อมูลพื้นฐานในกรณีที่ไวรัสเหล่านี้เกิดการข้ามสายพันธุ์สู่คนหรือสัตว์เลี้ยงในอนาคต
4. การศึกษาชนิด (genotype) ของไวรัสชนิดนี้อาจจะสามารถเชื่อมโยงวิธีการติดต่อสู่คนหรือสุกรได้ การศึกษาในค้างคาวจากภาคกลางและภาคตะวันออกครั้งนี้ พบว่าเชื้อไวรัสชนิดนี้เป็นชนิดเดียวกับที่พบในประเทศบังกลาเทศ ซึ่งสามารถติดต่อมายังคนได้โดยตรงและสามารถแพร่จากคนสู่คนได้อีกทอด แต่ก็ไม่ควรละเลยไวรัสชนิดดังกล่าวจะไม่สามารถแพร่มาสู่สุกรได้ แม้จะไม่มีรายงานมาก่อนก็ตาม
5. การสร้างแผนที่เพื่อทำนายความเสี่ยงและทิศทางของการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสชนิดนี้จากค้างคาวมาสู่คนหรือสุกร โดยอาศัยข้อมูล ความหนาแน่นและการเปลี่ยนแปลงประชากรค้างคาว และอัตราการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ในแต่ละพื้นที่ การเปลี่ยนแปลงสภาวะสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับวิถี

การดำรงชีวิตและความแข็งแรงของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง รวมทั้ง ความหนาแน่นของประชากรสุกร เป็นเรื่องที่ควรเร่งศึกษาเพื่อให้สามารถระบุจุดที่เป็นความเสี่ยงในระดับต่างๆ เพื่อให้การวางแผน ควบคุมและป้องกันโรคมมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

5. ผลงานอื่นๆ

5.1 นิสิตที่เข้าร่วมการดำเนินงานในโครงการประกอบด้วย

1. ระดับปริญญาตรี

1.1 นักศึกษาคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร จำนวน 6 คน

- 1) นางสาวณัฐสรณ์ มาศประมุต
- 2) นางสาวศิรินทร์ เดชเจริญกิจกุล
- 3) นางสาวจินตนา คอนไชยศรี
- 4) นางสาวณัฐริการ์ ศรีนัครินทร์
- 5) นางสาวอาภากร คชโคตร
- 6) 6.นางสาววิลามาศ สมเพาะ

ปัญหาพิเศษ เรื่อง การสำรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส nipah จากเลือดหนูในวัดเขตภาคตะวันออกของประเทศไทยที่มีค้างคาวแม่ไก่อาศัยอยู่

1.2 นายวชิรพล คำบูชา นักศึกษาคณะวนศาสตร์

ปัญหาพิเศษ เรื่องการศึกษาพฤติกรรมการหาอาหารและชนิดพืชอาหารของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (*Pteropus lylei*) ที่อาศัยอยู่ในวัดหลวงพรหมवास จังหวัดชลบุรี เสนอต่อ ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์

ปัญหาพิเศษ เรื่องการศึกษาประชากรของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (*Pteropus lylei*) ที่อาศัยอยู่ในวัดหลวงพรหมवास อำเภอพนสนิมคม จังหวัดชลบุรี และวัดโพธิ์ อำเภอบางคล้าจังหวัดฉะเชิงเทรา เสนอต่อ ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์

2. ระดับปริญญาโท

นางสาวพัชรกิติ เพ็งสกุล นักศึกษาคณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปัญหาพิเศษ เรื่อง การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค้างคาวกับฟาร์มเลี้ยงสุกร อ.พนสนิมคม จ.ชลบุรี
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาพื้นที่อาศัยที่เหมาะสมของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางและโอกาสในการนำโรคไวรัสสมองอักเสบ nipah จังหวัดชลบุรี

3. ระดับปริญญาเอก

น.สพ.แสงชัย ยิ่งศักดิ์มิ่งคล

หลักสูตร วิทยาศาสตร์สุขภาพบัณฑิต สาขาวิชา ชีวเวชศาสตร์ทางการแพทย์ (สหสาขา) คณะ
แพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Qualify examination เรื่อง Amino acid at position 26 of matrix protein gene plays
crucial role in Nipah virus budding from human respiratory cells.

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ยังไม่ระบุ

5.2 Poster presentation

- นำเสนอผลงาน แบบโปสเตอร์ เรื่อง One Health Surveillance for Nipah Virus (NiV) in Thailand
ในที่ประชุมวิชาการ The Third Regional Workshop on Multi-Sectoral Collaboration on Zoonoses
Prevention and Control: Leading the Way on One Health The Patra Bali Resort, Bali,
Indonesia 26-28 November 2012

5.3 Oral presentation

- นำเสนอผลงาน โดยการบรรยาย เรื่อง Wildlife and Environment ในที่ประชุมวิชาการ The Third
Regional Workshop on Multi-Sectoral Collaboration on Zoonoses Prevention and Control:
Leading the Way on One Health

The Patra Bali Resort, ณ Bali, Indonesia วันที่ 26-28 พฤศจิกายน พ.ศ. 2555

- นำเสนอผลงาน โดยการบรรยาย เรื่อง Assessing the risk of Nipah virus emergence in Thailand ใน
ที่ประชุมวิชาการ Prince Mahidol Award Conference 2013 ณ กรุงเทพฯ วันที่ 31 มกราคม พ.ศ. 2556

- นำเสนอผลงาน โดยการบรรยาย เรื่อง “One Health” Surveillance for Nipah virus in Thailand ในที่
ประชุมวิชาการ International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance ณ Vienna, Austria
วันที่ 16 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556

5.4 การจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ

- การจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการระดับชาติ เรื่อง “Strengthening Capacity on Bat Ecology Study”
Training Workshop ระหว่าง 19-23 พฤศจิกายน พ.ศ.2555 โดยความร่วมมือระหว่างคณะวนศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และองค์การสวนสัตว์ ได้รับทุน
สนับสนุนจาก FAO

- การจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการระดับชาติ เรื่อง THE REGIONAL TRAINING WORKSHOP ON BAT
ECOLOGY EMERGENCY CENTER FOR TRANSBOUNDARY ANIMAL DISEASES REGIONAL OFFICE

FOR ASIA AND THE PACIFIC (ECTADRAP) ระหว่าง 13-15 พฤษภาคม พ.ศ. 2556 โดยความร่วมมือระหว่างคณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับทุนสนับสนุนจาก FAO

5.5 ผลงานตีพิมพ์

1. Wacharapluesadee S, Sintunawa C, Kaewpom T, Khongnomnan K, Olival KJ, Epstein JH, Rodpan A, Sangsri P, Intarut N, Chindamporn A, Suksawa K, Hemachudha T. Identification of Group C Betacoronavirus from Bat guano fertilizer, Thailand. *Emerg Infect Dis*. Aug 2013, DOI: 10.3201/eid1908.130119.
2. Supaporn Wacharapluesadee, Nuttavadee Pamaranon, Apai Suthisunk, Noppawan Buamitoop, Prateep Duengkae, Patarapol Maneeorn, Sanipa Suradhat, Rachod Tantilertcharoen, Pierre Rollin, Henry Wilde, Thiravat Hemachudha. Assessing the risk of Nipah virus emergence in Thailand. Processing in Prince Mahidol Award Conference 2013. Bangkok, 31 JANUARY 2013.
3. Supaporn Wacharapluesadee, Prateep Duengkae, Patarapol Maneeorn, Sanipa Suradhat, Rachod Tantilertcharoen, Michael V Callahan, Pierre Rollin, Henry Wilde, Thiravat Hemachudha. “One Health” Surveillance for Nipah virus in Thailand. Abstract in International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance, Vienna, Austria February 16, 2013.
4. Hemachudha T, Ugolini G, Wacharapluesadee S, Sungkarat W, Shuangshoti S, Laothamatas J. Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. *Lancet Neurol*. 2013 May;12(5):498-513.

6. บรรณานุกรม

เอกสารอ้างอิง

- วรพันธุ์ ภูมณี. 2555. การเลือกพื้นที่เกาะนอนของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (*Pteropus lylei* K. Andersen, 1908) ในพื้นที่ตอนกลางของประเทศไทย วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
- Anthony SJ, Goldstein T, Rejmanek D, Sanchez MD, Seimon T, Fair J, Schneider B, Epstein J, Lipkin I. Laboratory Protocols for PREDICT Surveillance. Version 2: 2013-03.
- Clayton BA, Middleton D, Bergfeld J, Haining J, Arkinstall R, Wang L, Marsh GA. Transmission routes for nipah virus from Malaysia and Bangladesh. *Emerg Infect Dis*. 2012 Dec;18(12):1983-93.

- Chua KB, Bellini WJ, Rota PA, Harcourt BH, Tamin A, Lam SK, Ksiazek TG, Rollin PE, Zaki SR, Shieh W, Goldsmith CS, Gubler DJ, Roehrig JT, Eaton B, Gould AR, Olson J, Field H, Daniels P, Ling AE, Peters CJ, Anderson LJ, Mahy BW. Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science*. 2000 May 26;288(5470):1432-5.
- DeBuysscher BL, de Wit E, Munster VJ, Scott D, Feldmann H, Prescott J. Comparison of the pathogenicity of Nipah virus isolates from Bangladesh and Malaysia in the Syrian hamster. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 Jan;7(1):e2024
- Epstein JH, Prakash V, Smith CS, Daszak P, McLaughlin AB, Meehan G, Field HE, Cunningham AA. Henipavirus infection in fruit bats (*Pteropus giganteus*), India. *Emerg Infect Dis*. 2008 Aug;14(8):1309-11.
- Homaira N, Rahman M, Hossain MJ, Epstein JH, Sultana R, Khan MS, Podder G, Nahar K, Ahmed B, Gurley ES, Daszak P, Lipkin WI, Rollin PE, Comer JA, Ksiazek TG, Luby SP. Nipah virus outbreak with person-to-person transmission in a district of Bangladesh, 2007. *Epidemiol Infect*. 2010 Nov;138(11):1630-6.
- Rahman MA, Hossain MJ, Sultana S, Homaira N, Khan SU, Rahman M, Gurley ES, Rollin PE, Lo MK, Comer JA, Lowe L, Rota PA, Ksiazek TG, Kenah E, Sharker Y, Luby SP. Date palm sap linked to Nipah virus outbreak in Bangladesh, 2008. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2012 Jan;12(1):65-72.
- Sohayati AR, Hassan L, Sharifah SH, Lazarus K, Zaini CM, Epstein JH, Shamsyul Naim N, Field HE, Arshad SS, Abdul Aziz J, Daszak P; Henipavirus Ecology Research Group. Evidence for Nipah virus recrudescence and serological patterns of captive *Pteropus vampyrus*. *Epidemiol Infect*. 2011 Oct;139(10):1570-9.
- Wacharapluesadee S, Lumlertdacha B, Boongird K, Wanghongsa S, Chanhom L, Rollin P, Stockton P, Rupprecht CE, Ksiazek TG, Hemachudha T. Bat Nipah virus, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(12):1949-51.
- Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Duplex nested RT-PCR for detection of Nipah virus RNA from urine specimens of bats. *J Virol Methods*. 2007 Apr;141(1):97-101.
- Wacharapluesadee S, Boongird K, Wanghongsa S, Ratanasetyuth N, Supavonwong P, Saengsen D, Gongal GN, Hemachudha T. A longitudinal study of the prevalence of Nipah virus in *Pteropus lylei* bats in Thailand: evidence for seasonal preference in disease transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2010 Mar;10(2):183-90.

Yob JM, Field H, Rashdi AM, Morrissy C, van der Heide B, Rota P, bin Adzhar A, White J, Daniels P, Jamaluddin A, Ksiazek T. Nipah virus infection in bats (order Chiroptera) in peninsular Malaysia. Emerg Infect Dis. 2001 May-Jun;7(3):439-41.

7.ภาคผนวก

1. ภาคผนวกตาราง: ตารางที่ S1-S7

- ตารางที่ S1 แสดงชนิดและจำนวนค้างคาวที่จับได้ในบริเวณโรงเรียนเลี้ยงสุกร 2 แห่ง และแหล่งที่อยู่อาศัยค้างคาว (วัดหลวงพรหมवास) รายเดือน ระหว่าง มกราคม – ธันวาคม พ.ศ. 2555
- ตารางที่ S2 แสดงชนิดและจำนวนค้างคาว และชนิดตัวอย่างที่เก็บได้ จาก 4 พื้นที่ศึกษา ระหว่าง มกราคม-ธันวาคม 2555
- ตารางที่ S3 แสดงชนิดและจำนวนค้างคาวที่จับได้จาก 5 พื้นที่ศึกษา ภาคตะวันออก
- ตารางที่ S4 แสดงผลการตรวจแอนติบอดี (IgG) ต่อไวรัสนิปาห์จากค้างคาวที่จับได้ใน 3 พื้นที่ศึกษา อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี และ วัดโพธิ์ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา ระหว่าง มกราคม-ธันวาคม 2555 จำแนกตามชนิดค้างคาว
- ตารางที่ S5 ผลการตรวจ Nipah antibody จากค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง จาก 3 พื้นที่ศึกษา อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี และ วัดโพธิ์ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา ระหว่าง มกราคม-ธันวาคม 2555 จำแนกรายเดือน
- ตารางที่ S6 แสดงผลการตรวจแอนติบอดี (IgG) ต่อไวรัสนิปาห์ จาก 5 พื้นที่ศึกษา 5 จังหวัดภาคตะวันออก
- ตารางที่ S7 แสดงผลการตรวจตรวจสารพันธุกรรมต่อไวรัสนิปาห์ จาก 5 พื้นที่ศึกษา 5 จังหวัดภาคตะวันออก

2. ผลงานตีพิมพ์

2.1 Wacharapluesadee S, Sintunawa C, Kaewpom T, Khongnomnan K, Olival KJ, Epstein JH, Rodpan A, Sangsri P, Intarut N, Chindamporn A, Suksawa K, Hemachudha T. Identification of Group C Betacoronavirus from Bat guano fertilizer, Thailand. Emerg Infect Dis. Aug 2013, DOI: 10.3201/eid1908,130119.

2.2 Supaporn Wacharapluesadee, Nuttavadee Pamaranon, Apai Suthisunk, Noppawan Buamitoop, Prateep Duengkae, Patarapol Maneeorn, Sanipa Suradhat, Rachod Tantilertcharoen, Pierre Rollin, Henry Wilde, Thiravat Hemachudha. Assessing the risk of Nipah virus emergence in Thailand. Processing in Prince Mahidol Award Conference 2013. Bangkok, 31 JANUARY 2013.

2.3 Supaporn Wacharapluesadee, Prateep Duengkae, Patarapol Maneeorn, Sanipa Suradhat, Rachod Tantilertcharoen, Michael V Callahan, Pierre Rollin, Henry Wilde, Thiravat Hemachudha. “One Health” Surveillance for Nipah virus in Thailand. Abstract in International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance, Vienna, Austria February 16, 2013.

2.4 Hemachudha T, Ugolini G, Wacharapluesadee S, Sungkarat W, Shuangshoti S, Laothamatas J. Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. *Lancet Neurol.* 2013 May;12(5):498-513.

ภาคผนวก 1

ตารางที่ S1 แสดงชนิดและจำนวนค้างคาวที่จับได้ในบริเวณโรงเรียนเลี้ยงสุกร 2 แห่ง และแหล่งที่อยู่อาศัย
ค้างคาว(วัดหลวงพรหมาวาส) รายเดือน ระหว่าง มกราคม – ธันวาคม พ.ศ. 2555

เดือน พ.ศ.2555	จำนวน/ชนิด ค้างคาวที่จับได้ (ตัว)			รวม (ตัว)
	ฟาร์ม 1 (คุณสนั่น ใจงาม)	ฟาร์ม 2 (คุณบุญเลิศพุ่มจันทร์)	วัดหลวงพรหมาวาส	
ม.ค.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 2 ค้างคาวเพดานใหญ่= 1 รวม 3 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 2 ค้างคาวขอบหูขาวกลาง= 1 รวม 3 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 11 รวม 11 ตัว	17
ก.พ.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 2 รวม 2 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 1 รวม 1 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 11 รวม 11 ตัว	14
มี.ค.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 1 ค้างคาวเพดานเล็ก= 1 รวม 2 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง=0 รวม 0 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 19 รวม 19 ตัว	21
เม.ย.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 1 ค้างคาวเพดานใหญ่= 1 รวม 2ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 4 ค้างคาวเพดานใหญ่= 1 ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก=1 ค้างคาวขอบหูขาวกลาง=1 รวม 7 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 44 รวม 44 ตัว	53
พ.ค.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 16 ค้างคาวขอบหูขาวกลาง= 1 รวม 17 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 6 รวม 6 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 17 รวม 17 ตัว	40
มิ.ย.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 19 ค้างคาวเพดานเล็ก= 2 รวม 21 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 3 ค้างคาวเพดานใหญ่= 1 ค้างคาวขอบหูขาวกลาง= 2 รวม 6 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 10 รวม 10 ตัว	37
ก.ค.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 20 ค้างคาวเพดานใหญ่= 1 รวม 21 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 15 ค้างคาวขอบหูขาวกลาง= 1 รวม 16 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 10 รวม 10 ตัว	47
ส.ค.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 14 รวม 14 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 5 รวม 5 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 16 รวม 16 ตัว	35
ก.ย.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 17 ค้างคาวขอบหูขาวกลาง= 1 รวม 18 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 6 ค้างคาวเพดานใหญ่= 1 รวม 7 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 12 รวม 12 ตัว	37
ต.ค.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 7 รวม 7 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 4 รวม 4 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 16 รวม 16 ตัว	27

พ.ย.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 1 ค้างคาวเพดานใหญ่= 1 รวม 2 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 2 ค้างคาวเล็บกุด= 1 ค้างคาวเพดานใหญ่=1 รวม 4 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 34 รวม 34 ตัว	40
ธ.ค.	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 3 รวม 3 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 1 รวม 1 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 22 รวม 22 ตัว	26
รวม	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 103 ค้างคาวเพดานใหญ่= 4 ค้างคาวเพดานเล็ก = 3 ค้างคาวขอบหูขาวกลาง = 2 รวม 112 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง= 49 ค้างคาวเพดานใหญ่= 4 ค้างคาวขอบหูขาวกลาง =5 ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก = 1 ค้างคาวเล็บกุด=1 รวม 60 ตัว	ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง รวม 222 ตัว	394

ตารางที่ S2 แสดงชนิดและจำนวนค้างคาว และชนิดตัวอย่างที่เก็บได้ จาก 4 พื้นที่ศึกษา ระหว่าง มกราคม-ธันวาคม 2555

ชนิดค้างคาว	จำนวน ณ แหล่งต่างๆ				รวม
- ชนิดตัวอย่าง	ฟาร์ม 1	ฟาร์ม 2	วัดหลวงฯ	วัดโพธิ์ ฯ	
ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (ตัว) (<i>Pteropus lylei</i>)	105	51	218	23	397
- Saliva (ตัวอย่าง)	105	51	218	23	397
- Serum (ตัวอย่าง)	96	46	212	23	377
- Urine (ตัวอย่าง)	21	17	82	6	126
- Rectal swab/feces (ตัวอย่าง)	<u>105</u>	<u>51</u>	<u>218</u>	<u>23</u>	<u>397</u>
จำนวนตัวอย่างรวม	327	165	733	75	1,297
ค้างคาวขอบหูขาวกลาง (ตัว) (<i>Cynopterus sphinx</i>)	1	6	0	0	7
- Saliva (ตัวอย่าง)	1	6			7
- Serum (ตัวอย่าง)	1	5			6
- Urine (ตัวอย่าง)	1	2			3
- Rectal swab/feces (ตัวอย่าง)	<u>1</u>	<u>6</u>			<u>7</u>
จำนวนตัวอย่างรวม	4	19			23

ค้างคาวเพดานใหญ่ (ตัว) (<i>Scotophilus heathii</i>)	4	4	0	0	8
- Saliva (ตัวอย่าง)	4	4			8
- Serum (ตัวอย่าง)	4	4			8
- Urine (ตัวอย่าง)	2	0			2
- Rectal swab/feces	<u>4</u>	<u>4</u>			<u>8</u>
(ตัวอย่าง)จำนวนตัวอย่างรวม	14	12			26
ค้างคาวเพดานเล็ก (ตัว) (<i>Scotophilus kuhlii</i>)	3	0	0	0	3
- Saliva (ตัวอย่าง)	3				3
- Serum (ตัวอย่าง)	3				3
- Urine (ตัวอย่าง)	1				1
- Rectal swab/feces	<u>3</u>				<u>3</u>
(ตัวอย่าง)จำนวนตัวอย่างรวม	10				10
ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก (ตัว) (<i>Myotis horsfieldi</i>)	0	1	0	0	1
- Saliva (ตัวอย่าง)		1			1
- Serum (ตัวอย่าง)		1			1
- Urine (ตัวอย่าง)		0			0
- Rectal swab/feces		<u>1</u>			<u>1</u>
(ตัวอย่าง)จำนวนตัวอย่างรวม		3			3
ค้างคาวเล็บกุด (ตัว) (<i>Eonycteris spelaea</i>)		1			1
- Saliva (ตัวอย่าง)		1			1
- Serum (ตัวอย่าง)		1			1
- Urine (ตัวอย่าง)		0			0
- Rectal swab/feces		<u>1</u>			<u>1</u>
(ตัวอย่าง)จำนวนตัวอย่างรวม		3			3
รวม	355	202	733	75	1,362

ตารางที่ S3 แสดงชนิดและจำนวนค้างคาวที่จับได้จาก 5 พื้นที่ศึกษา ภาคตะวันออก

ชนิดค้างคาว	สถานที่					รวม
	ถ้ำแรด	ถ้ำฉกรรจ์	ถ้ำสาธิต	อ่าง แฉ่ง	วน.เกษตร	
Family Pteropodidae						
ค้างคาวเล็บกุด (<i>Eonycteris spelaea</i>)	0	0	0	10	2	12
ค้างคาวหน้ายาวใหญ่ (<i>Macroglossus sobrinus</i>)	0	0	0	1	1	2
ค้างคาวขอบหูขาวกลาง (<i>Cynopterus sphinx</i>)	0	0	0	2	2	4
ค้างคาวขอบหูขาวเล็ก (<i>Cynopterus brachyotis</i>)	0	0	0	7	3	10
ค้างคาวขอบหูดำเหนือ (<i>Megaerops niphanae</i>)	0	0	0	1	0	1
ค้างคาวบัวพันกลม (<i>Rousettus amplexicaudatus</i>)	0	0	3	0	0	3
Family Vespertilionidae						
ค้างคาวปีกพับดำใหญ่ (<i>Miniopterus magnater</i>)	0	28	0	0	0	28
ค้างคาวปีกพับใหญ่ (<i>Miniopterus schreibersii</i>)	0	22	0	0	0	22
ค้างคาวเพดานเล็ก (<i>Scotophilus kuhlii</i>)	0	1	0	0	0	1
ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก (<i>Myotis horsfieldi</i>)	0	4	0	0	0	4
ค้างคาวหูหนูตีนเล็กเขี้ยวขาว (<i>Myotis muricola</i>)	0	0	0	1	0	1
Family Rhinolophidae						
ค้างคาวมงกุฎปลอมใหญ่ (<i>Rhinolophus cf.shameli</i>)	0	39	0	0	0	39
ค้างคาวมงกุฎเล็ก (<i>Rhinolophus pusillus</i>)	0	1	0	0	0	1
ค้างคาวมงกุฎใหญ่ (<i>Rhinolophus luctus</i>)	0	0	0	0	1	1
ค้างคาวมงกุฎเลียนมลายูหางสั้นเล็ก (<i>Rhinolophus microglobosus</i>)	0	0	0	0	1	1
Family Hipposideridae						
ค้างคาวหน้ายักษ์ทศกรรณ (<i>Hipposideros armiger</i>)	57	2	0	0	0	59
ค้างคาวหน้ายักษ์สามหีบ (<i>Hipposideros larvatus</i>)	0	15	0	0	0	15

ค้างคาวหน้ายักษ์หมอบุญส่ง (<i>Hipposideros lekaguli</i>)	1	86	0	0	0	87
Family Emballonuridae						
ค้างคาวปีกถุงเคราดำ (<i>Taphozous melanopogon</i>)	0	40	27	0	0	67
ค้างคาวปีกถุงต่อมคาง (<i>Taphozous longimanus</i>)	22	5	0	0	0	27
รวม	80	243	30	22	10	385

ตารางที่ S4 แสดงผลการตรวจแอนติบอดี (IgG) ต่อไวรัสชนิดต่างๆ จากค้างคาวที่จับได้ใน 3 พื้นที่ศึกษา อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี และ วัดโพธิ์ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา ระหว่าง มกราคม-ธันวาคม 2555 จำแนกตามชนิดค้างคาว

ชนิดค้างคาว	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนที่ตรวจ	ผลการตรวจ
ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (<i>Pteropusylei</i>)	Plasma/serum 1:10	380	380	Positive = 40 ตัว - Titer 1:400 = 31 ตัว - Titer 1:1,600 = 8 ตัว - Titer 1:6,400 = 1 ตัว
ค้างคาวขอบหูขาวกลาง (<i>Cynopterus sphinx</i>)	Serum 1:10	6	6	All Negative
ค้างคาวเพดานใหญ่ (<i>Scotophilusheathii</i>)	Serum 1:10	8	8	All Negative
ค้างคาวเพดานเล็ก (<i>Scotophilus kuhlii</i>)	Serum 1:10	3	3	All negative
ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก (<i>Myotis horsfieldi</i>)	Serum 1:10	1	1	Negative
ค้างคาวเล็บกุด (<i>Eonycteris spelaea</i>)	Serum 1:10	1	1	Negative
รวม		399	399	40

ตารางที่ S5 ผลการตรวจ Nipah antibody จากค้างควแม่ไก่ภาคกลาง จาก 3 พื้นที่ศึกษา อ.พนัสนิคม จ. ชลบุรีและ วัดโพธิ์ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา ระหว่าง มกราคม-ธันวาคม 2555 จำแนกรายเดือน

เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบผลบวก/ จำนวนที่ตรวจ (% positive)			
	ฟาร์ม 1 (คุณสนั่น)	ฟาร์ม 2 (คุณเลิศ)	วัดหลวง พรหมवास	วัดโพธิ์ บางคล้า
มกราคม 55	0/3 (0%)	0/2 (0%)	0/10 (0%)	
กุมภาพันธ์ 55	0/2 (0%)	0/1 (0%)	2/11 (18.18%)	
มีนาคม 55	0/1 (0%)	0/0 (0%)	2/19 (10.52%)	
เมษายน 55	0/1 (0%)	0/0 (0%)	8/41 (19.51%)	
พฤษภาคม 55	1/10 (10%)	1/6 (16.66%)	4/17 (23.52%)	
มิถุนายน 55	0/19 (0%)	0/3 (0%)	2/10 (20%)	
กรกฎาคม 55	0/17 (0%)	2/15 (13.33%)	2/10 (20%)	
สิงหาคม. 55	0/14 (0%)	0/5 (0%)	2/16 (12.5%)	
กันยายน 55	1/17 (5.88%)	1/5 (20%)	3/12 (25%)	
ตุลาคม 55	0/7 (0%)	1/4 (25%)	3/16 (18.75%)	
พฤศจิกายน 55	0/2 (0%)	0/4 (0%)	1/31 (3.2%)	2/23(8.69%)*
ธันวาคม 55	0/3 (0%)	0/1 (0%)	2/22 (9.1%)	
รวม	2/96 (2.08%)	5/46 (10.86%)	31/215 (14.4%)	2/23 (8.69%)

หมายเหตุ ค้างควแม่ไก่ภาคกลางที่วัดโพธิ์บางคล้า มีการจับเพื่อศึกษาพร้อมกับการตีดวิฑู เพียง 1 ครั้งใน เดือนพฤศจิกายน 2555

ตารางที่ S6 แสดงผลการตรวจแอนติบอดี (IgG) ต่อไวรัสซิคาห์ จาก 5 พื้นที่ศึกษา 5 จังหวัดภาคตะวันออก

ชนิดค้างคาว	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนที่ตรวจ	ผลการตรวจ
ค้างคาวปีกถุงเคราดำ	Serum (1:10)	67	67	All negative
ค้างคาวปีกถุงต่อมคาง	Serum (1:10)	27	27	All negative
ค้างคาวมงกุฎปลอมใหญ่	Serum (1:10)	38	38	All negative
ค้างคาวมงกุฎเล็ก	Serum (1:10)	1	1	All negative
ค้างคาวหน้ายักษ์ทศกรรณ	Serum (1:10)	58	58	All negative
ค้างคาวหน้ายักษ์หมอบูญส่ง	Serum (1:10)	83	83	All negative
ค้างคาวมงกุฎใหญ่	Serum (1:10)	1	1	Negative
ค้างคาวมงกุฎเลียนมลายูหางสั้นเล็ก	Serum (1:10)	1	1	Negative
ค้างคาวเล็บกุด	Serum (1:10)	12	12	All negative
ค้างคาวหน้ายาวใหญ่	Serum (1:10)	2	2	All negative
ค้างคาวขอบหูขาวกลาง	Serum (1:10)	4	4	All negative
ค้างคาวขอบหูขาวเล็ก	Serum (1:10)	10	10	All negative
ค้างคาวขอบหูดำเหนือ	Serum (1:10)	1	1	Negative
ค้างคาวบัวฟันกลม	Serum (1:10)	3	3	All negative
ค้างคาวหูหนูตีนเล็กเขี้ยวยาว	Serum (1:10)	1	1	Negative
ค้างคาวปีกพับดำใหญ่	Serum (1:10)	25	25	All negative
ค้างคาวปีกพับใหญ่	Serum (1:10)	19	19	All negative
ค้างคาวเพดานเล็ก	Serum (1:10)	1	1	Negative
ค้างคาวหน้ายักษ์สามหีบ	Serum (1:10)	12	12	All negative
ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก	Serum (1:10)	3	3	All negative
รวม	-	369	369	All negative

ตารางที่ S7 แสดงผลการตรวจตรวจสอบสารพันธุกรรมต่อไวรัสชนิดต่างๆ จาก 5 พื้นที่ศึกษา 5 จังหวัดภาคตะวันออก

ชนิดค้างคาว	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวน pool	ผลการตรวจ (pool)
ค้างคาวปีกถุงเคราดำ (<i>Taphozous melanopogon</i>)	Saliva	67	24	All negative
	Urine	8	5	All negative
ค้างคาวปีกถุงต่อมคาง (<i>Taphozous longimanus</i>)	Saliva	27	10	All negative
	Urine	6	2	All negative
ค้างคาวปีกพับดำใหญ่ (<i>Miniopterus magnater</i>)	Saliva	25	9	All negative
	Urine	7	3	All Negative
ค้างคาวปีกพับใหญ่ (<i>Miniopterus schreibersii</i>)	Saliva	22	9	All negative
	Urine	8	3	All negative
ค้างคาวเพดานเล็ก (<i>Scotophilus kuhlii</i>)	Saliva	1	1	Negative
	Urine	1	1	Negative
ค้างคาวมงกุฎปลอมใหญ่ (<i>Rhinolophus shameli</i>)	Saliva	38	13	Positive = 1
	Urine	8	3	All negative
ค้างคาวมงกุฎเล็ก (<i>Rhinolophus pusillus</i>)	Saliva	1	1	Negative
	Urine	1	1	Negative
ค้างคาวหน้ายักษ์ทศกรรณ (<i>Hipposideros armiger</i>)	Saliva	59	21	All negative
	Urine	29	11	All negative
ค้างคาวหน้ายักษ์สามลิบ (<i>Hipposideros larvatus</i>)	Saliva	15	6	All negative
	Urine	3	1	All negative
ค้างคาวหน้ายักษ์หมอบูญสง (<i>Hipposideros lekaguli</i>)	Saliva	86	31	Positive = 1
	Urine	18	9	All negative
ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก (<i>Myotis horsfieldi</i>)	Saliva	4	3	All negative
	Urine	2	2	All negative
ค้างคาวมงกุฎใหญ่ (<i>Scotophilus heathii</i>)	Saliva	1	1	Negative
	Urine	0	0	-
ค้างคาวมงกุฎเลียนมลายูหางสั้นเล็ก (<i>Rhinolophus microglobosus</i>)	Saliva	1	1	Negative
	Urine	0	0	-
ค้างคาวเล็บกุด (<i>Eonycteris spelaea</i>)	Saliva	12	6	All negative
	Urine	8	4	All negative
ค้างคาวหน้ายาวใหญ่ (<i>Macroglossus sobrinus</i>)	Saliva	2	2	All negative
	Urine	1	1	

ค้างคาวขอบหูขาวกลาง (<i>Cynopterus sphinx</i>)	Saliva	4	3	All negative
	Urine	2	2	All negative
ค้างคาวขอบหูขาวเล็ก (<i>Cynopterus brachyotis</i>)	Saliva	10	5	All Negative
	Urine	5	2	All negative
ค้างคาวขอบหูดำเหนือ (<i>Megaerops niphanae</i>)	Saliva	1	1	Negative
	Urine	0	0	-
ค้างคาวบัวพันกลม (<i>Rousettus amplexicaudatus</i>)	Saliva	3	2	All Negative
	Urine	0	0	-
ค้างคาวหูหนูตีนเล็กเขี้ยวขาว (<i>Myotis muricola</i>)	Saliva	1	1	Negative
	Urine	0	0	-
รวม	Saliva	380	150	Positive =2
	Urine	107	50	All negative

these, 41.2% were characterized as GII.3 (mostly with a GII.Pb pol), 26.5% as GII. Pg_GII.1, and 17.6% as GII.4 variants. From spring to fall 2012, the variant New Orleans 2009 became the predominant GII.4 strain, and the variant Sydney 2012 strain apparently disappeared.

During November–December 2012 and January 2013, ISGEV detected NoV infection in 90 (28.9%) of 311 children hospitalized for gastroenteritis. This finding is comparable to a prevalence of 25.2% in the same period (November–January) of the 2011–12 winter season. A representative subset of 45 samples was randomly selected for sequencing, and 26 (74.3%) of 35 fully typed strains were characterized as GII.4 Sydney 2012, which suggested that the new NoV variant had become the predominant strain in Italy.

Our surveillance seem to mirror observations of a report from Denmark that documented the onset and circulation at low prevalence of the variant GII.4 Sydney 2012 at the beginning of 2012 with a marked increase in the prevalence only by the end of 2012 (10). Our surveillance detected the emergence of this variant in Italy at the end of 2011 and provided us with one of the earliest strains of the variant GII.4 Sydney 2012. This novel variant has a common ancestor with the NoV GII.4 variants Apeldoorn 2008 and New Orleans 2009 and has several amino acid changes on the main epitope in the capsid P2 domain (10).

Sequence analysis of these early strains of the GII.4 variant Sydney 2012 could help clarify the mechanisms driving its global emergence and spread. Continued surveillance for NoV infections through ISGEV and additional data on clinical and epidemiologic features will enable further assessment of the public health implications of the new variant GII.4 Sydney 2012 in Italy.

This study was supported by the grants “Studio dei meccanismi evolutivi

dei calicivirus umani” (Italian Scientific Research Fund PRIN 2008), “Caratterizzazione molecolare di norovirus circolanti nella popolazione pediatrica” (University of Palermo, Italy, Fondi di Ateneo 2007), and “Epidemiologia molecolare e studio dei meccanismi evolutivi di norovirus” (University of Parma, Italy, Fondi di Ateneo 2008).

**Giovanni M. Giammanco,
Simona De Grazia,
Fabio Tummolo,
Floriana Bonura,
Adriana Calderaro,
Alessio Buonavoglia,
Vito Martella, and
Maria C. Medici**

Author affiliations: Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italy (G.M. Giammanco, S. De Grazia, F. Bonura); Università degli Studi di Parma, Parma, Italy (F. Tummolo, A. Calderaro, M.C. Medici); Medical Practitioner, Bari, Italy (A. Buonavoglia); and Università Aldo Moro di Bari, Valenzano, Italy (V. Martella)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201.130119>

References

- Green KY. Caliciviridae. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, et al., editors. *Fields virology*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 949–79.
- Kroneman A, Vega E, Vennema H, Vinjé J, White PA, Hansman G, et al. Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Arch Virol*. 2013; April 25. Epub ahead of print.
- Bok K, Abente EJ, Realpe-Quintero M, Mitra T, Sosnovtsev SV, Kapikian AZ, et al. Evolutionary dynamics of GII.4 noroviruses over a 34-year period. *J Virol*. 2009;83:11890–901. <http://dx.doi.org/10.1128/JVI.00864-09>
- Siebenga JJ, Vennema H, Renckens B, de Bruin E, van der Veer B, Siezen RJ, et al. Epochal evolution of GGII.4 norovirus capsid proteins from 1996 to 2006. *J Virol*. 2007; 81:9932–41. <http://dx.doi.org/10.1128/JVI.00674-07>
- van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, Eden J, Fonager J, Hewitt J, et al. Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012. *Euro Surveill*. 2013;18:8–9.
- Medici MC, Tummolo F, Albonetti V, Abelli LA, Chezzi C, Calderaro A. Molecular detection and epidemiology of astrovirus, bocavirus, and sapovirus in Italian children admitted to hospital with acute gastroenteritis, 2008–2009. *J Med Virol*. 2012;84:643–50. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.23231>
- Giammanco GM, Rotolo V, Medici MC, Tummolo F, Bonura F, Chezzi C, et al. Recombinant norovirus GII.g/GII.12 gastroenteritis in children. *Infect Genet Evol*. 2012;12:169–74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2011.10.021>
- De Grazia S, Martella V, Chironna M, Bonura F, Tummolo F, Calderaro A, et al. Nationwide surveillance study of human astrovirus infections in an Italian paediatric population. *Epidemiol Infect*. 2013;141:524–8. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268812000945>
- Kroneman A, Vennema H, Deforche K, Avoort HVD, Peñaranda S, Oberste MS, et al. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses. *J Clin Virol*. 2011;51:121–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2011.03.006>
- Fonager J, Hindbaek L, Fischer T. Rapid emergence and antigenic diversification of the norovirus 2012 Sydney variant in Denmark, October to December, 2012. *Euro Surveill*. 2013;18:pii: 20413.

Address for correspondence: Giovanni M. Giammanco, Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute e Materno Infantile “G. D’Alessandro,” Via del Vespro 133, 90127, Palermo, Italy; email: giovanni.giammanco@unipa.it

Group C Betacoronavirus in Bat Guano Fertilizer, Thailand

To the Editor: Bats play a critical role in the transmission and origin of zoonotic diseases, primarily viral zoonoses associated with high case-fatality rates, including those caused by Nipah virus (NiV) and severe acute respiratory syndrome (SARS)-like coronavirus (CoV) infections (1). Recently, the World Health Organization (WHO) reported 44 confirmed cases of human infection with Middle East

respiratory syndrome CoV, resulting in 22 deaths. Full-genome and phylogenetic analyses of these Middle East respiratory syndrome CoVs have been published elsewhere (2). The identified viruses from 2 patients (previously referred to as England/Qatar/2012 and EMC/2012) are genetically related and belong to group C betacoronavirus, which is most related to CoVs from *Nycteris* bats in Ghana and *Pipistrellus* bats in Europe (2,3). In addition, bat CoVs HKU4 and HKU5 originated from *Tylonycteris pachypus* and *Pipistrellus abramus* bats, respectively, in the People's Republic of China (4). Bats are also known to harbor and transmit nonviral zoonotic pathogens, including the fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*, which causes histoplasmosis in humans (5).

Bat guano is sold for use as a fertilizer in several countries, including Thailand, Indonesia, Mexico, Cuba, and Jamaica. The practice of collecting and harvesting bat guano may pose a considerable health risk because guano miners have a high level of contact and potential exposure to bat-borne pathogens. To assess pathogens in bat guano, we examined bat guano from a cave in the Khao Chong Phran Non-hunting Area (KCP-NHA) in Ratchaburi Province, Thailand, where bat guano was sold as agricultural fertilizer, for the presence of NiV, CoV, and *H. capsulatum* fungi. Bats from 14 species in 7 families have been found roosting within this area. *Tadarida plicata* bats are the most abundant species (2,500,000 bats), and 3 other species of bats found at the site each had thousands of members: *Taphozous melanopogon*, *Taphozous theobaldi*, and *Hipposideros larvatus*.

A random sample of dry bat guano, ≈ 100 g, was collected in a sterile plastic bag weekly from the main cave at KCP-NHA from September 2006 through August 2007. The specimens were sent for analysis by express mail

(at room temperature within 2–3 days) to the WHO Collaborating Centre for Research and Training in the Viral Zoonoses Laboratory at Chulalongkorn University. Samples were frozen immediately at -80°C until nucleic acids were extracted and PCR assays were run. A total of 52 collected bat guano specimens were examined in this study.

Two aliquots of feces from each weekly specimen (104 samples total) were screened for CoV, NiV, and *H. capsulatum* by PCR. RNA was extracted from 10 mg of fecal pellet by using the QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany). CoV RNA was detected by using nested reverse transcription PCR with the degenerated primers to amplify the RNA-dependent RNA polymerase (*RdRp*) gene (6). NiV RNA was detected by duplex nested reverse transcription PCR (7). To detect *H. capsulatum* and other fungi, we extracted genomic DNA directly from bat guano by using the silica-guanidine thiocyanate protocol, NucliSense Isolation Reagent (bioMérieux, Boxtel, the Netherlands), according to the manufacturer's protocol. We tested for fungal ribosomal DNA (rDNA) in extracted total nucleic acid specimens by using the PCR protocol designed to amplify all rDNA from 4 major fungus phyla at the internal transcribed spacer 1 and 2 regions (8).

Four (3.8%) of 104 samples were positive for CoV. They were collected on September 2, 2006 (KCP9), October 26, 2006 (KCP12), November 14, 2006 (KCP15), and March 4, 2007 (KCP31). Three of the 4 positive CoV sequences (KCP9, KCP12, and KCP15) were identical at 152 nt of the *RdRp* region (ATCGTGCTATGCCTAATATGTGTAGGATTTTGCATCTCTCATATTAGCTCGTAAACACAATACTTGTTGTAGTGTTCAGACCGCTtTtATAGACTTGCaAACGAGTGTGCGCAAGTCTTGAGTGAGTATGTGCTATGTGGTGGTGGCTAT) and phylogenetically clustered with

the group C betacoronavirus (Figure), with 76%, 80%, and 77% nt identity to bat CoV HKU4, bat CoV HKU5, and human CoV EMC and England1_CoV, respectively. The other CoV sequence (KCP31: ATCGTGCACTTCCCAATATGATACGCATGATTTCCGCCATGATTTTGGGATCAAAGCATGTACTTGCTGTGACACATCTGATAAGTATTACCGTCTTTGTATGAGCTtGCACAAGTTTTCAGAGGTTGTTTATTCTAATGGTGGTTTC) showed 82% nt identity with bat CoV HKU8, an alphacoronavirus. Although we recognize that longer sequences or full genomes may alter the topology of the phylogeny slightly and give stronger branch support, we expect that the overall topology and placement of these CoVs would remain consistent. Samples from particular bat species could not be identified because bats of different species roost in this cave, and samples were pooled during collection for bat guano fertilizer. The detection of CoVs in bat guano from the KCP-NHA cave in Ratchaburi was consistent with the previous finding of alphacoronavirus from *Hipposideros armiger* bats from the same province in 2007, but those researchers tested fresh bat feces (9).

All bat guano samples screened by PCR were negative for NiV and *Histoplasma* spp. but were positive for group C betacoronavirus. The natural reservoir and complete geographic distribution of this CoV are currently unknown. Although we did not isolate live virus from these samples, the detection of nucleic acid and previous isolation of viruses from bat feces and urine (10) warrants some concern that guano miners might be exposed to bat pathogens in fresh excreta as well as in soil substances. We suggest that guano miners use preventive measures of personal hygiene and improved barrier protection to reduce the possibility of exposure to zoonotic pathogens.

This research was supported by the Thailand Research Fund (DBG5180026, RDG5420089); the Higher Education Research Promotion and National Research University Project of Thailand, Office of the Higher Education Commission (HR1160A-55); the Thai Red Cross Society, Thailand; the Naval Health Research Center BAA-10-93 under Cooperative Agreement no. W911NF-11-2-004; the Centre National de la Recherche Scientifique; a nonbiodefense Emerging Infectious Diseases Research Opportunities Award from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases of the National Institutes of Health (1 R01 AI079231-01); and the United States Agency for International Development Emerging Pandemic Threats Program, PREDICT project, under the terms of Cooperative Agreement no. GHN-A-OO-09-00010-00.

**Supaporn Wacharapluesadee,
Chirapol Sintunawa,
Thongchai Kaewpom,
Kritsada Khongnomnan,
Kevin J. Olival,
Jonathan H. Epstein,
Apaporn Rodpan,
Paiboon Sangsri, Nirun Intarut,
Ariya Chindamporn,
Kanyarat Suksawa, and
Thiravat Hemachudha**

Author affiliations: Chulalongkorn University and King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok, Thailand (S. Wacharapluesadee, T. Kaewpom, K. Khongnomnan, A. Rodpan, N. Intarut, A. Chindamporn, K. Suksawa, T. Hemachudha); Mahidol University, Nakornpathom, Thailand (C. Sintunawa); EcoHealth Alliance, New York, New York, USA (K.J. Olival, J.H. Epstein); and Ministry of Natural Resources and Environment, Bangkok (P. Sangsri)

DOI: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1908.130119>

References

- Olival KJ, Epstein JH, Wang LF, Field HE, Daszak P. Are bats unique viral reservoirs? In: Aguirre AA, Ostfeld RS, Daszak P, editors. *New directions in conservation medicine: applied cases of ecological health*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 2012. p. 195–212.
- Cotten M, Lam TT, Watson SJ, Palser AL, Petrova V, Grant P, et al. Full-genome deep sequencing and phylogenetic analysis of novel human betacoronavirus. *Emerg Infect Dis*. 2013;19:736–42. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1905.130057>
- Annan A, Baldwin HJ, Corman VM, Klose SM, Owusu M, Nkrumah EE, et al. Human betacoronavirus 2c EMC/2012-related viruses in bats, Ghana and Europe. *Emerg Infect Dis*. 2013;19:456–9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1903.121503>
- Woo PC, Lau SK, Li KS, Poon RW, Wong BH, Tsoi HW, et al. Molecular diversity of coronaviruses in bats. *Virology*. 2006;351:180–7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2006.02.041>
- Lyon GM, Bravo AV, Espino A, Lindsley MD, Gutierrez RE, Rodriguez I, et al. Histoplasmosis associated with exploring a bat-inhabited cave in Costa Rica, 1998–1999. *Am J Trop Med Hyg*. 2004;70:438–42.
- Tong S, Conrardy C, Ruone S, Kuzmin IV, Guo X, Tao Y, et al. Detection of novel SARS-like and other coronaviruses in bats from Kenya. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:482–5. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1503.081013>
- Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Duplex nested RT-PCR for detection of Nipah virus RNA from urine specimens of bats. *J Virol Methods*. 2007;141:97–101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.11.023>
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. New York: Academic Press, Inc.; 1990. p. 315–22.
- Gouilh MA, Puechmaille SJ, Gonzalez JP, Teeling E, Kittayapong P, Manu-guerra JC. SARS-coronavirus ancestor's foot-prints in South-East Asian bat colonies and the refuge theory. *Infect Genet Evol*. 2011;11:1690–702. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2011.06.021>
- Chua KB, Koh CL, Hooi PS, Wee KF, Khong JH, Chua BH, et al. Isolation of Nipah virus from Malaysian Island flying-foxes. *Microbes Infect*. 2002;4:145–51. [http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579\(01\)01522-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579(01)01522-2)

Address for correspondence: Supaporn Wacharapluesadee, WHO Collaborating Centre for Research and Training on Viral Zoonoses, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand; email: spwa@hotmail.com

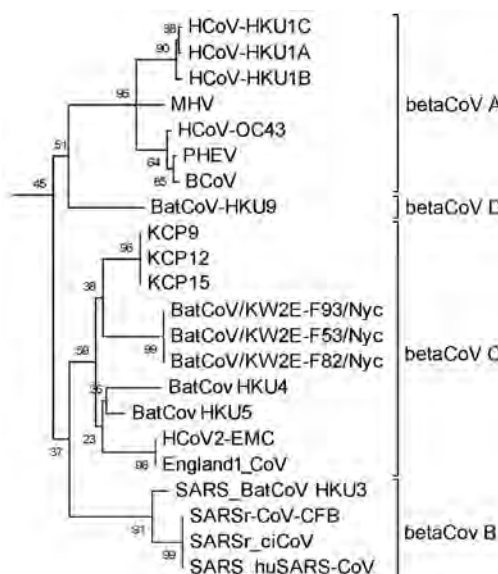


Figure. Phylogenetic tree of 3 coronaviruses (CoVs) isolated from bat guano collected in this study (KCP9, KCP12, and KCP15); 19 additional human and animal CoVs from the National Center for Biotechnology Information database are included. Construction of the tree was based on 152 nt of the *RNA-dependent RNA polymerase* gene region by maximum-likelihood method and GTR+I model with the 1,000 bootstrap resampling method implemented in MEGA5 (<http://megasoftware.net/>). Numbers on branches indicate percentages of bootstrap support from 1,000 replicates. The scale bar indicates the estimated 0.1 nt substitutions per site. HCoV-HKU1C, human CoV HKU1C (DQ415913); HCoV-HKU1A, human CoV HKU1A (DQ415903); HCoV-HKU1B, human CoV HKU1B (AY884001); MHV, murine hepatitis virus (NC001846); HCoV-OC43, human CoV OC43 (AY585229); PHEV, porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus (DQ011855); BCoV, bovine CoV (AF391541); BatCoV-HKU9, *Rousettus* bat CoV HKU9 (NC009021); BatCoV/KW2E-F93/Nyc, *Nycteris* bat CoV (JX899383); BatCoV/KW2E-F53/Nyc, *Nycteris* bat CoV (JX899384); BatCoV/KW2E-F82/Nyc, *Nycteris* bat CoV (JX899382); BatCoV HKU4, *Tylonycteris* bat CoV HKU4 (NC009019); BatCoV HKU5, *Pipistrellus* bat CoV HKU5 (NC_009020); HCoV-EMC, human betacoronavirus 2c EMC/2012 (JX869059); England1_CoV, human betacoronavirus England 1 (NC_019843); SARS_BatCoV HKU3, severe acute respiratory syndrome (SARS)-related *Rhinolophus* bat CoV HKU3 (DQ022305); SARSr-CoV-CFB, SARS-related Chinese ferret badger CoV (AY545919); SARSr-ciCoV, SARS-related palm civet CoV (AY304488); SARS_huSARS-CoV, SARS human CoV (NC_004718). An expanded version is online at wwwnc.cdc.gov/EID/article/19/8/13-0119-F1.htm



PRINCE MAHIDOL AWARD CONFERENCE

A large, stylized circular graphic composed of two concentric arcs. The outer arc is teal and features silhouettes of hands of various sizes. The inner arc is yellow and features silhouettes of leaves and paw prints. The central text is positioned within the circle.

A World United Against Infectious Diseases:
**CROSS-SECTORAL
SOLUTIONS**

Jan 28th - Feb 2nd, 2013 | Bangkok, Thailand

PRINCE MAHIDOL
AWARD CONFERENCE
2013

1st GLOBAL CONFERENCE
ON REGIONAL SURVEILLANCE NETWORKS

2nd INTERNATIONAL
ONE HEALTH CONGRESS

CENTENNIAL COMMEMORATION
of the Rockefeller Foundation

humans | animals | the environment

CENTARA GRAND & BANGKOK CONVENTION CENTRE
AT CENTRALWORLD, BANGKOK, THAILAND

2.7

PREPAREDNESS FOR NIPAH VIRUS OUTBREAKS

in At-Risk Countries

BACKGROUND

Nipah virus (NiV) is a lethal bat-borne paramyxovirus that first emerged in Malaysia in 1998-9, killing pigs and people. It is now known that Nipah virus is distributed widely across South and southeast Asia, with related henipaviruses found in Australia and Africa. In Malaysia NiV moved from bats into pig farms close to fruit bat habitat, then into people, suggesting that countries with large pig populations where this virus occurs are at-risk of future outbreaks. However, in Bangladesh, NiV has repeatedly been transmitted directly from bats to people as a food-borne infection. Furthermore, it has shown capacity to move person-to-person. The wide distribution of the virus and its reservoir hosts, the large human population in these countries and diverse farming and cultural practices suggest that the risk of future outbreaks is high.

MODERATOR

Jonathan EPSTEIN

Associate Vice President

EcoHealth Alliance
USA

OBJECTIVES

To demonstrate the value of a One Health approach to dealing with the emergence of henipaviruses in 3 different countries, with different impact and involving wildlife, livestock and humans. Each speaker will tell the 'story' of how NiV or HeV emerged in their country, how they mobilized resources to deal with it, and what this means for preventing the risk of emergence in the future. Each talk will touch on:

- how open communication and sharing of reagents and samples among countries helped rapid identification of cause and limited the size of outbreaks
- the public perception of these viruses in their countries

SPEAKERS

- **Emergence of Nipah Virus in Malaysia**
Ramalan bin Mohamed, Director,
Veterinary Research Institute, Malaysia
- **Assessing the risk of Nipah virus emergence in Thailand**
Supaporn Wacharapluesadee, Laboratory Chief,
Faculty of Medicine,
Chulalongkorn University, Thailand
- **Repeated emergence of Nipah virus in Bangladesh via novel pathways**
Stephen Luby, Professor, Stanford University, USA
- **The Application of One Health Approaches to Henipavirus Research**
Hume Field, Principal Scientist,
Queensland Centre for Emerging Infectious Diseases, Australia



Dr. Jonathan Epstein is a veterinary epidemiologist and Associate Vice President of Conservation Medicine at EcoHealth Alliance (www.ecohealthalliance.org). He is the Asia Regional Coordinator under the USAID-funded Emerging Pandemic Threats: PREDICT program, a global effort to establish an early warning system for emerging viruses with pandemic potential through targeted wildlife disease surveillance. He also directs the One Health Alliance of South Asia (OHASA), a multi-lateral science and policy network with members from India, Pakistan, Bangladesh, Nepal, and Bhutan, focused on the control and prevention of trans-boundary zoonotic diseases. His current research activities are focused on understanding the ecology of emerging zoonotic viruses such as Nipah virus, Ebola and SARSCoV; which spill over through human-animal interfaces such as agriculture and trade. He is currently part of a large international collaboration that is investigating the ecology of Nipah virus in Bangladesh, where outbreaks occur in people almost every year with mortality rates reaching 90%.

Dr. Epstein is also the Executive Director of the Consortium for Conservation Medicine (CCM) based at EcoHealth Alliance. The CCM is a unique collaborative multi-institutional partnership including Johns Hopkins School of Public Health, Tufts School of Veterinary Medicine, University of Pittsburgh School of Public Health, University of Wisconsin-Madison, and the USGS National Wildlife Health Center. The CCM is the first formal inter-institutional partnership to applied conservation medicine - linking ecology, conservation, and health (both human and animal).

He holds adjunct faculty positions at Columbia University's Mailman School of Public Health; Tufts Cummings School of Veterinary Medicine and Tufts School of Medicine; and Mount Sinai School of Medicine. He holds advisory positions on two committees in the International Union for the Conservation of Nature (IUCN): the Wildlife Health Specialist Group and the Bat Species Specialist Group. His work has been published in several leading scientific journals including Science, PNAS, PLoS Pathogens, Emerging Infectious Diseases, The Annals of the NY Academy of Science, and The Journal of Applied Ecology. Dr. Epstein has been an invited speaker at several US and international meetings including those held by the Institute of Medicine, The American Society of Microbiology, The CSIRO Australian Animal Health Laboratory, The Food and Agriculture Organization, and the World Health Organization.

JONATHAN EPSTEIN

Associate Vice President

EcoHealth Alliance
USA



Dr Hume Field is an internationally recognized authority on emerging diseases associated with bats. He is a veterinary epidemiologist with particular expertise in Hendra virus and Australian bat lyssavirus (the focus of his PhD research), Nipah virus (he worked with US Centres for Disease Control colleagues to control the 1999 Malaysian outbreak and identify the natural reservoir) and SARS coronaviruses (he worked with Australian, Chinese and US colleagues to identify the origins of SARS in 2003-4).

He has been a temporary advisor to the United Nations World Health Organisation (on henipaviruses and SARS), the United Nations Food and Agricultural Organisation (on SARS), and the World Organisation for Animal Health (on rabies and other lyssaviruses). He strongly believes that human, livestock, wildlife and environmental health are inextricably linked, and has long championed a 'One Health' approach to emerging infectious diseases associated with wildlife. He coordinated the Ecology of Emerging Infectious Diseases research program for the Australian Biosecurity Cooperative Research Centre from 2003-2010.

He developed the Wildlife Epidemiology component of the Master of Veterinary Public Health course for the University of Western Sydney in 2004-5. He was visiting Professor of Zoonoses at the University of Malaysia, Sarawak in 2009-10.

His current research is focused on identifying risk factors for Hendra virus spillover. He is Principal Scientist in the Queensland Centre for Emerging Infectious Diseases in Brisbane.

HUME FIELD

Principal Scientist

*Queensland Centre
for Emerging Infectious
Diseases
Australia*



Stephen Luby is Professor of Medicine with the Division of Infectious Diseases and Geographic Medicine; Deputy Director for Research at the Center for Global Health Innovation; Senior Fellow at the Woods Institute and Senior Fellow at the Freeman Spogli Institute for International Studies at Stanford University.

Prior to his current appointment, Dr. Luby served for eight years at the International Center for Diarrheal Diseases Research, Bangladesh (ICDDR,B), where he directed the Centre for Communicable Diseases. Dr. Luby was seconded from the US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and was the Country Director for CDC in Bangladesh.

Dr. Luby studied philosophy and earned a Bachelor of Arts summa cum laude from Creighton University in 1981. Dr. Luby earned his medical degree from the University of Texas Southwestern Medical School at Dallas in 1986 and completed his internship and residency in internal medicine at the University of Rochester-Strong Memorial Hospital. He studied epidemiology and public health in the Epidemic Intelligence Service (EIS) and the Preventive Medicine Residency of the Centers for Disease Control and Prevention.

Dr. Luby's career has included an EIS assignment to the South Carolina Department of Health and Environmental Control 1990-91; work with the CDC Malaria Branch in 1992; from 1993-98 Dr. Luby directed the Epidemiology Unit of the Community Health Sciences Department at the Aga Khan University in Karachi, Pakistan; and from 1998-2004 worked as a Medical Epidemiologist in the Foodborne and Diarrheal Diseases Branch of the CDC in Atlanta exploring causes and prevention of diarrheal disease in settings where diarrhea is a leading cause of childhood death.

Dr. Luby's research has addressed a number of public health issues. During his time in Bangladesh he lead a research group that explored the epidemiology of Nipah virus including detailed studies of villager's perspective on and response to the outbreaks and studies of virus circulation in its bat reservoir and spillover into domestic animals and humans. He has published over 200 scientific manuscripts.

STEPHEN LUBY

Professor

Stanford University
USA



Dr. Ramlan earned his Bachelor of Science degree in Biochemistry from University of Malaya, Kuala Lumpur in 1988. He received his Master of Science degree in Clinical Biochemistry in 2000 from the University Putra Malaysia. After 14 years of service in the government he was awarded post-graduate scholarship and obtained his PhD in 2006 from University of Sheffield, United Kingdom in Molecular Biology and Biotechnology. Dr. Ramlan joined the Department of Veterinary Services in 1991 as Research Officer specializing in animal's vaccine development.

During Nipah outbreak in 1998/1999, he was involved directly and responsible in laboratory diagnosis and testing Nipah. He was appointed as the director of Veterinary Research Institute in 2007 and served as reference laboratory for all animal's diseases in the country. He has been active in scientific publication and currently serving as Chief Editor of the Malaysian Journal of Veterinary Research.

He also serves as panel reviewer for research proposal under Ministry of Science and Technology.

**RAMALAN
BIN MOHAMED**

Director

*Veterinary Research
Institute
Malaysia*



Dr. Supaporn Wacharapluesadee is the laboratory chief of Neuroscience Center for Research and Development and associate director of WHO Collaborating Centre for Research and Training on Viral Zoonoses, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok Thailand. She received her undergraduate degree in Medical Technology at Chiang Mai University, earned her master's degree in Biochemistry at Mahidol University and her Ph.D. in Biomedical Science at Chulalongkorn University, Bangkok Thailand.

During 1994-1997, she worked in the malaria research laboratory at the Department of Entomology, Armed Forces Research Institute of Medical Sciences. In 1997, she worked at Chulabhorn Research Institute in cancer research areas. During 1998-2000, she worked in HIV research at The HIV/AIDS Collaboration Thai-USA. She started working at Chulalongkorn University in 2000, in the Neurology Division, Department of Medicine.

Dr. Wacharapluesadee's current research focus is in the area of viral encephalitis and zoonoses. She is a molecular biologist and field virologist. Her interests are on diagnostics, pathogenesis, and surveillance researches. She has developed several nucleic acid amplification methods for ante-mortem detection of rabies virus in humans and post-mortem diagnosis in animals. Doctor Wacharapluesadee and her colleagues are interested in the causes and mechanisms that differentiate rabies as furious or paralytic forms. She has developed the PCR protocols for Nipah virus detection from biological samples which is the most sensitive and reliable among others published protocol. Dr. Wacharapluesadee and her colleagues have engaged in wildlife research since 2002. Her group has found that Nipah virus infected bats in Thailand and demonstrated the seasonal prevalence of Nipah virus transmission in *Pteropus lylei*. This finding correlate with the seasonal outbreaks found in Bangladesh.

**SUPAPORN
WACHARAPLUESADEE**

Laboratory Chief

*Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Thailand*

Dr. Wacharapluesadee's surveillance team included various scientific disciplines for example medical doctors, veterinarians, wildlife veterinarians, wildlife zoologists and scientists. The one health approach is being used in her current research. The collaboration involved the government sectors, academic sectors and the local community. She believed that the community or village-based initiation is the most powerful tool for the success of disease control and prevention, particularly with zoonoses.

ASSESSING THE RISK OF NIPAH VIRUS EMERGENCE in Thailand

Supaporn Wacharapluesadee¹, Nuttavadee Pamaranon², Apai Suthisunk², Noppawan Buamitoop², Prateep Duengkae³, Patarapol Maneeorn⁴, Sanipa Suradhat⁵, Rachod Tantilertcharoen⁵, Pierre Rollin⁶, Henry Wilde¹, Thiravat Hemachudha¹

Since the initial outbreak of Nipah virus pneumonia/encephalitis in Malaysian abattoir pig workers in 1998 (Chua et al., 2000), there have been more than 25 human outbreaks in India and Bangladesh. Outbreaks in Bangladesh have occurred almost every year since 2001 and tended to be seasonal (Luby et al., 2009; Lo et al., 2012). Pteropid bats are the primary natural reservoirs (Yob et al., 2001; Halpin et al. 2011; Yadav et al. 2012). Their distribution ranges across the tropical regions of Asia and Africa. Viral transmission occurs among bats and spills over to other dead end host species including humans. Humans develop disease from having contact with virus contaminated tissues from infected pigs (Malaysia) (Chua, 2003) or otherwise by drinking bat-contaminated fresh date palm sap (Bangladesh) (Luby et al., 2006). Human-to-human transmission poses a serious threat and has been only documented in Bangladesh (Gurley et al., 2007).

To date there has been no report of pig or human cases of Nipah virus (NiV) infection in Thailand.

However, there are several factors which could allow NiV emergence in Thailand. Thailand borders Malaysia where NiV outbreaks have been documented in 1998. Thailand harbors at least 20 million bats with 138 species among which several have been reported as NiV reservoirs. There are approximate 9.7 million pigs in this country and this has led to a preparedness initiative program. It consists of cooperation and joint activities among inter-sectoral organizations concerned with surveillance of wildlife, pigs and active testing for NiV infection in patients with encephalitis. Evaluation of health status and determination of risk behaviors as well as serology screening of residents in NiV prevalent zones are being conducted. This has been done in parallel with studies of bat ecology, behavior, population size and relation to seasons.

The Department of Livestock Development (DLD) under the Ministry of Agriculture and Cooperatives of Thailand has conducted sero-surveillance for Nipah infection in pigs since 1998. Regions 8th and 9th adjacent to Malaysia and regions 2nd and 7th

¹ WHO-CC for Research and Training on Viral Zoonoses, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University Bangkok,

² Department of Livestock Development, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok,

³ Faculty of Forestry, Kasetsart University, Bangkok,

⁴ Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation, Ministry of Natural Resources and Environment,

⁵ Center of Excellence in Emerging Infectious Diseases in Animals, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University (CU-EIDAs),

⁶ Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA

with high density of pigs were chosen from a total of 9 regions. Serum samples were collected from pigs at both farms and backyards for seroprevalence study. During 1998-2010, 44,658 pig sera were all negative by ELISA testing. In 2011, 3,352 tested pig sera from twenty (of 77) provinces were also negative. Passive surveillance was performed by postmortem examination of pig lung tissues with interstitial pneumonia. A total of 1,996 lung tissue specimens during 1998-2011 were all negative. This surveillance plan has been continually updated and adjusted, based on the previously obtained information. This included risk-based surveillance, according to the geographical location and seasonal preferences. For effective incident management and coordination of emergency responses, DLD has developed a Manual on Emergency Preparedness and Contingency Plan for NiV outbreaks. This manual has been distributed to the relevant DLD officers.

Further surveys of NiV infection in Thai bats is being conducted since 2002. Three species of flying foxes (genus *Pteropus*); *P. lylei*, *P. hypomelanus*, and *P. vampyrus*, have now been shown to be major reservoirs of NiV in Thailand (Wacharapluesadee et al., 2005). Although NiV infection has been found mainly in 3 species, *P. lylei* is dominant reservoir due to its population size and distribution. Furthermore, its habitat is closer to humans compared to the other two *Pteropus* species. Genetic characterization of NiV found in *P. lylei* in Thailand, based on 357 base pairs of nucleoprotein gene, indicated 2 existing genotypes: Bangladesh- and Malaysian- like (Wacharapluesadee and Hemachudha, 2007). Seasonal prevalence of NiV transmission in *P. lylei* has been shown during April-May (Wacharapluesadee et al., 2010). Although both strains are co-circulating, the Bangladesh-like genotype dominates in *P. lylei* bat populations.

Assessing the risk of Nipah virus emergence at the high risk areas, has been conducted in villagers, pigs, and bats at the areas where NiV infection has been demonstrated in bats. Bats were trapped monthly at two pig farms, using mist nets and harp traps. Blood, saliva and urine specimens were collected from each bat for further identification. Numbers of bats that were captured at the pig farms were highest in May, which is the weaning period that juvenile started to fly. Bats that were captured at pig farms were NiV positive only in May (by serology and/or viral RNA). The findings of seasonal preference in May were similar to our previous findings from pooled urine samples at bat roosts (Wacharapluesadee et al., 2010). The finding of NiV infected bats at the pig farms raises concern of possible NiV transmission to pigs. Although there were no evidence of NiV infection in pigs in the same study, measures to prevent bats from coming into contact with pigs and avoidance of feeding pigs with partially eaten fruits must be actively promoted.

To ensure that there is no human transmission of NiV, a community in Chonburi province located near a temple inhabited by NiV infected bats (*P. lylei*), was chosen for community-level study. After obtaining written consent, a standard questionnaire which included questions related to potential risk behaviors was administered to 418 local residents. Blood samples were assayed for NiV antibody using an indirect ELISA for IgG antibodies against NiV-infected cell lysate. Positive criteria for NiV infection was a dilution $\geq 1:400$. No NiV-specific IgG antibodies were found. The low NiV prevalence in *P. lylei* (9.3%) and different culture of not drinking fresh date palm sap may have negative impact upon emergence of infection in Thailand. This is in

contrast with the finding in Bangladesh. People living in risk regions are being educated to avoid risk behavior and monitored continuously concerning symptoms possibly related to NiV infection. Febrile patients and those with respiratory or encephalitis symptoms living in or near NiV zones require particular attention. To date, transmission to human has not been identified in Thailand. Cerebrospinal fluid of 232 patients with encephalitis admitted to King Chulalongkorn Memorial Hospital during 2001-2012, were tested negative for NiV RNA.

Inter-sectoral cooperation among wildlife-animal-human departments in preparedness response to emergence of NiV outbreak in Thailand is a successful example of a transboundary “one health” approach. Establishment of alert system and promotion of awareness from the bottom level (village-based) is also the key of the success for this one health initiative. The ultimate goal of the whole process cannot be achieved without public recognition and willingness, otherwise this cannot be sustainable. Policy makers must value this as an opportunity in strengthening public health infrastructure.

Acknowledgements:

We acknowledge active support from the Thai Red Cross Society, Chulalongkorn University, Department of Livestock Development, Department of National Parks Wildlife and Plant Conservation, Department of Disease Control, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), and the enthusiastic help of our villagers. Financial supports came from the Thailand Research Fund, the Higher Education Research Promotion and

National Research University Project of Thailand, Office of the Higher Education Commission and by the US Naval Health Research Center BAA-10-93 under Cooperative Agreement Number W911NF-11-2-0041. Ethic approval was obtained from the Institution Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

The authors have no conflict of interest to report.

Chua KB, Bellini WJ, Rota PA, Harcourt BH, Tamin A, Lam SK, et al. Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science*. 2000; 288:1432-5.

Chua KB. Nipah virus outbreak in Malaysia. *J Clin Virol*. 2003; 26:265-75.

Gurley ES, Montgomery JM, Hossain MJ, Bell M, Azad AK, Islam MR, Molla MA, Carroll DS, Ksiazek TG, Rota PA, Lowe L, Comer JA, Rollin P, Czub M, Grolla A, Feldmann H, Luby SP, Woodward JL, Breiman RF. Person-to-person transmission of Nipah virus in a Bangladeshi community. *Emerg Infect Dis*. 2007 Jul;13(7):1031-7.

Halpin K, Hyatt AD, Fogarty R, Middleton D, Bingham J, Epstein JH, et al. Pteropid bats are confirmed as the reservoir hosts of henipaviruses: a comprehensive experimental study of virus transmission. *Am J Trop Med Hyg*. 2011; 85: 946-51.

Lo MK, Lowe L, Hummel KB, Sazzad HM, Gurley ES, Hossain MJ, et al. Characterization of Nipah virus from outbreaks in Bangladesh, 2008-2010. *Emerg Infect Dis*. 2012; 18:248-55.

Luby SP, Rahman M, Hossain MJ, Blum LS, Husain MM, Gurley E, et al. Foodborne transmission of Nipah virus, Bangladesh. *Emerg Infect Dis*. 200; 12:1888-94.

Luby SP, Hossain MJ, Gurley ES, Ahmed BN, Banu S, Khan SU, et al. Recurrent zoonotic transmission of Nipah virus into humans, Bangladesh, 2001-2007. *Emerg Infect Dis*. 2009; 15:1229-35.

Wacharapluesadee S, Lumlertdacha B, Boongird K, Wanghongsa S, Chanhom L, Rollin P, et al. Bat Nipah virus, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1949-51.

Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Duplex nested RT-PCR for detection of Nipah virus RNA from urine specimens of bats. *J Virol Methods*. 2007; 141:97-101.

Wacharapluesadee S, Boongird K, Wanghongsa S, Ratanasetyuth N, Supavonwong P, Saengsen D, et al. A Longitudinal Study of the Prevalence of Nipah Virus in Pteropus lylei Bats in Thailand: Evidence for Seasonal Preference in Disease Transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2010; 10:183-90.8.

Yadav PD, Raut CG, Shete AM, Mishra AC, Towner JS, Nichol ST, et al. Detection of Nipah Virus RNA in Fruit Bat (*Pteropus giganteus*) from India. *Am J Trop Med Hyg*. 2012; 87:576-8.

Yob JM, Field H, Rashdi AM, Morrissy C, van der Heide B, Rota P, et al. Nipah virus infection in bats (order Chiroptera) in peninsular Malaysia. *Emerg Infect Dis*. 2001; 7:439-41.



predispose this kingdom to emergence as terminal pathogens in natural populations. Anthropogenic activity is a key factor in forcing spatial and temporal increases in fungal infection rates by increasing long-distance dispersal, creating novel selection arenas, and by modifying natural environments to the detriment of host immunity. I demonstrate these concepts using global spatial genetic data from a variety of fungal systems including non-pathogenic and pathogenic species of ascomycete *Penicillium*, basidiomycete species of *Cryptococcus* and amphibian-infecting chytrids. I argue that ongoing 'fungal pollution' will increasingly cause the attrition of biodiversity, human health and nutrition unless steps are taken to tighten global biosecurity for this class of emerging pathogens.

SESSION 07 (Invited Presentation)

Of Bats and Men: Nipah and Other Infections

Saturday, February 16, 2013

Room: Park Congress • Ground Level

14:30–16:00

07.001 Understanding the ecology of Nipah virus in frugivorous bats in Bangladesh

J. H. Epstein

EcoHealth Alliance, New York, NY, USA

Nipah virus (NiV) is an emerging zoonosis that has caused near-annual outbreaks of encephalitis in Bangladesh since 2001, with >75% mortality. Human infections are seasonal (Dec–Apr) and almost exclusively detected within a western region of the country termed the “Nipah Belt.” *Pteropus* bat species are a reservoir for henipaviruses in other parts of their range, though little is understood about NiV in bats in Bangladesh. We are studying NiV dynamics in batsto determine how they relate to human infection patterns. Here we provide preliminary epidemiological data for bat species in Bangladesh. We collected blood, urine, and saliva from three bat species: *Rousettus leschenaulti* (n=140), *Cynopterus spp* (n=75), and *Pteropus giganteus* (n=2600) between 2006 and 2012. We sampled 800 *Pteropus giganteus* at 4 locations within and 4 outside the “Nipah Belt,” and fitted 16 bats with satellite transmitters to trace movements. We sampled 1800 *P. giganteus* from a single population within the Nipah Belt quarterly for five years. Samples were screened for antibodies using indirect ELISA and Luminex assays; and for NiV RNA using RT-PCR. Bat NiV sequence data were compared to published human NiV sequences. Neither antibodies nor RNA were detected in species other than *P. giganteus*. In *P. giganteus*, antibodies were found with varying prevalence (20%–56%) depending on location. To date, we have detected Nipah virus RNA during and beyond the Nipah season, though in <1% of bats tested. We found little NiV sequence diversity in a single bat population over time compared to diversity seen among human sequences from different districts in Bangladesh during a similar period. Telemetry primarily showed short-range, year-round movement patterns with few long-distance movements. Our study provides evidence that *P. giganteus* is a natural reservoir for NiV in Bangladesh. Roost fidelity and limited migratory movement may limit intermingling among disparate populations, which supports our early findings of low NiV strain diversity over time in a single population. Strain diversity in humans suggests that there may be regional strain diversity in bats. Human activities within the Nipah Belt that increase contact with bat excreta may be particularly important for explaining observed human infection patterns.

07.002 From bats to human-to-human transmission of Nipah Virus in Bangladesh

H. S. Sazzad

icddr,b, Dhaka, Bangladesh

From 2001–2012, 215 cases of human Nipah virus (NiV) infection were identified in 14 outbreaks in Bangladesh; 160 persons (75%) died.

A multidisciplinary investigation team from the Institute of Epidemiology Disease Control and Research and icddr,b, including epidemiologists, anthropologists and veterinarians, explored pathways of transmission of NiV from its reservoir, the fruit bat, to humans.

In half of these outbreaks the risk factor associated with NiV infection was consumption of raw date palm sap, collected by shaving the upper stem of date palm trees during December to April, winter season in Bangladesh. Images from infrared cameras identified *Pteropus* bats frequently visiting the date palm trees and licking the sap at night. During 2011–2012, in two outbreaks, cases drank traditional liquor made of fermented date palm sap. NiV has also been isolated from human respiratory secretions, saliva and urine. Half of the human NiV cases in Bangladesh have developed NiV infection following contact with a NiV infected person. These secondary cases have been among family members, relatives and friends who came in close physical contact with the NiV cases when providing close personal care as per social norms in Bangladesh. In 2010, one case's only exposure was preparing a corpse for burial by removing oral secretions and anogenital excreta with a cloth and bare hands. In Dinajpur in 2011, the only known exposure for one case was hugging a NiV infected corpse of a case. In 2010, when NiV cases were admitted in the hospital, NiV infection was identified in a physician who came in close contact with unidentified meningoencephalitis cases while physically examining them without any personal protective equipment (PPE) and hand-washing. In 2011, another NiV case was a cleaner of a hospital where NiV outbreak and sporadic cases were admitted. She cleaned the medical waste of NiV cases without PPE.

Avoiding raw date palm sap consumption, promoting hand washing by family care givers following patient care giving, and ensuring family and health care providers avoid contamination from bodily secretions of febrile case with altered mental status by using PPE could prevent further outbreaks and NiV transmission.

07.003 “One Health” Surveillance for Nipah virus in Thailand

S. Wacharapluesadee¹, P. Duengkae², P. Maneeorn³, S. Suradhat⁴, R. Tantilertcharoen⁴, M. V. Callahan⁵, P. Rollin⁶, H. Wilde¹, T. Hemachudha¹

¹Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, ²Kasetsart University, Bangkok, Thailand, ³Ministry of Natural Resources and Environment, Bangkok, Thailand, ⁴Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, ⁵Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA, ⁶Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Background: Thailand borders Malaysia where Nipah virus (NiV) outbreaks were documented in 1998. There are an estimated 20 million bats in Thailand belonging to 138 species including several that are both migratory and which are confirmed reservoirs of NiV. Thailand also has over 9.7 million pigs, which come in contact with fruit-eating bat species in commercial and backyard fruit orchards. To date there has been no reports of pig or human cases of NiV infection in Thailand.

Objective: This study seeks to demonstrate that a “One Health” approach to disease surveillance can help investigators gain insight into epidemiologic factors influencing disease transmission and thus help public health authorities to implement effective control of zoonotic diseases originating from wildlife.

Methods: The risk of NiV exposure was assessed by longitudinal surveillance of villagers and domestic pigs in Wat Luang sub-district, Chonburi province where NiV is endemic in fruit-eating bats, (*Pteropus lylei*). Villagers living among NiV-positive bat colonies were evaluated for high-risk behaviors, for recent cases of encephalitis and underwent serology screening for NiV exposure. This study was done in parallel with studies of NiV transmission within local bat colonies. Bats were



trapped monthly at two commercial pig farms. Blood, saliva and urine was collected from each bat for further investigation. Pig's blood samples from these two farms were collected and tested for NiV IgG antibody.

Results: This study found no positive NiV serologies and no cases of encephalitis for the preceding annum among the 418 villagers who were evaluated. The study did identify an increase in seasonal fluctuations and differences in NiV transmission, and the number of bat visit to pig farms in May. There was no evidence of NiV infection in pigs in this study. The community-based network for monitoring disease outbreak was successfully established.

Conclusion: Inter-sectoral cooperation among wildlife-animal-human sectors assists in recognition and response to emergence of NiV outbreak in Thailand. This study successfully demonstrates the viability of the transboundary "One Health" approach. Establishment of alert system and promotion of awareness at the level of rural villages is a second key success for this "One Health" initiative.

SESSION 08 (Oral Presentations)

'Contagion': Contemporary Viral Pathogens

Saturday, February 16, 2013

Room: Klimt Ballroom 2-3 • Upper Level

14:30-16:00

08.001 Hepatitis E Virus Antigen Detection: An Early Diagnostic Marker

R. Ratho¹, M. Majumdar², M. P. Singh², Y. Chawla²

¹Postgraduate Institute of Medical Education and Research, Chandigarh, Chandigarh, India, ²Postgraduate Institute of Medical Education and Research, Chandigarh, India

Background: Hepatitis E virus (HEV) is an important cause of epidemic and sporadic hepatitis in developing countries. Most of the epidemics are reported and diagnosed based on serology alone. Molecular characterization of the circulating strains is important for epidemiological purposes.

Objectives: The aim of our study was to find the usefulness of Hepatitis E virus antigen (HEVAg) detection in an outbreak setting and to carry out phylogenetic analysis of the strains responsible for the outbreaks.

Methods and Materials: Seventy one serum samples from acute viral hepatitis patients and 61 from the apparently health controls (HC) of the affected region were collected during various outbreaks from North India. Samples were tested for markers of viral hepatitis E; anti-HEV IgM, IgG and HEVAg. Nested reverse transcriptase PCR was carried out for HEV RNA detection and phylogenetic analysis.

Results: Out of 71 samples, 65 (91.5%), 39 (55%), 35 (49.2%) were positive for anti-HEV IgM, HEVAg and HEV-RNA respectively. A concordance of 77.5% was observed between HEVAg detection and HEV-RNA positivity. PCR and HEVAg detection gave highest positivity (100%) within first 3 days of illness. By day 4 to 7 the positivity of PCR declined to 57.5%, whereas antigen and IgM detection were 78.7% and 93.9% respectively. Fourteen HC (22.9%) were positive for both anti-HEV IgM and IgG. On further evaluation eleven (78.5%) showed the presence of high avidity anti-HEV IgG (90-100%), while in 3 avidity ranged between 40-50%. Molecular characterization showed strains responsible for the outbreaks in North India belonged to Genotype I, Subtype 1a

Conclusion: HEV antigen was found to be an early diagnostic marker of acute infection up to 4th day of illness. HEV antigen could detect 4 extra cases in early phase (1-3 Days), which were missed by the conventional serology (anti-HEV IgM). After day 7 anti-HEV IgM was the main indicator of acute infection. HEV antigen based ELISA has the prospect for wider usage in endemic, resource poor countries as it requires same instruments as for anti-HEV IgM detection. We document subclinical infections in healthy controls of endemic region, which needs further investigation to understand the epidemiology of Hepatitis E.

08.002 Evolution of H3N2 influenza viruses from the Philippines

B. C. Torres¹, Y. C. F. Su², M. S. H. Chua², H. Guo², A. K. Cruz¹,
D. C. Klinzing¹, G. J. D. Smith², F. F. Natividad¹

¹St. Luke's Medical Center, Quezon City, Philippines, ²Duke-National University of Singapore, Singapore, Singapore

Background: Influenza is a major respiratory infection of humans, with annual epidemics occurring in temperate regions, and more variable seasonal patterns observed in the tropics. The Philippines has a large population of approximately 12.5 million overseas workers in over 30 countries. However, few studies have investigated the evolution of influenza virus in the Philippines, particularly with regard to the global migration of influenza in the human population. Since August 2011 we have been conducting clinical surveillance for influenza virus in patients presenting at St Luke's Medical Center, Quezon City, Philippines, with symptoms of acute respiratory infection.

Objectives: The objective of this study is to describe the evolutionary dynamics of influenza viruses in the Philippines within a global context.

Methods and Materials: Nasal swabs collected at St Luke's Medical Center from August 2011 to March 2012, were tested for the influenza virus M gene by PCR. Positives were passaged in MDCK-SIAT1 cells for virus isolation. Viruses were tested by RT-PCR for influenza A and B, with flu A positives subtyped for seasonal H3N2 and pandemic H1N1. H3N2 viruses were selected for full genome sequencing and phylogenetically analyzed along with data available in public databases.

Results: We isolated a total of 44 influenza viruses from the 100 PCR positive samples—42 influenza A (H3N2) and two influenza B. No pandemic H1N1 viruses were detected during the surveillance period. Genetic analysis indicated that all newly generated H3N2 sequences from the Philippines were closely related and formed a clade with viruses sampled globally. The Philippine sequences are distributed throughout this clade, suggesting that multiple independent introductions of H3N2 viruses occurred but with no clear pattern of introduction from any particular location observed. The majority of introductions did not result in sustained transmission within the Philippines but local clusters were detected in December 2011 and January 2012.

Conclusion: Surveillance of influenza virus coupled with complete genome sequencing can provide significant insights into virus transmission and evolution both regionally and globally. Surveillance and sequencing will continue, with estimation of divergence times and population dynamics of H3N2 viruses estimated to understand the global transmission of influenza.

08.003 Influence of the viral membrane, inherited from different host species, on survival of influenza A viruses in water

S. Shigematsu, A. Dublineau, L. I. O. Sawoo,

I. Leclercq, J.-C. Manuguerra
Institut Pasteur, Paris, France

Background: Influenza A viruses (IAV) are major pathogens for animals and humans. These segmented single-stranded negative RNA viruses are composed of an envelope taken from the host in which two glycoproteins: the hemagglutinin (HA) and the neuraminidase (NA) are anchored. The viral structure is directly linked to its genetic make-up except for the glycosylation moieties and the composition of the lipid bilayer, which depend on the host cell. Besides, being in direct contact with the environment (such as air or water), they should play an important role in virus survival and thus for viral transmission from contaminated waters in the case of wild aquatic birds or from contaminated surfaces/air in the case of humans. Here, we investigated whether the origin species of the host cell has an influence on IAV survival. We therefore determined the persistence in water at 35°C of A(H5N1) and A(H1N1) viruses either grown on mammalian cells or avian cells.

Objectives: Establish a link between IAV survival and the nature of the viral lipid bilayer

Methods and Materials: Persistence of IAVs amplified on mammalian or avian cells was evaluated in water at 35°C. Viral infectivity was assessed over time by microtiter endpoint titration and viral genome was quantified using qRT-PCR.



Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management

Thiravat Hemachudha, Gabriella Ugolini, Supaporn Wacharapluesadee, Witaya Sungkarat, Shanop Shuangshoti, Jiraporn Laothamatas

Lancet Neurol 2013; 12: 498–513

WHO Collaborating Centre for Research and Training on Viral Zoonoses, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University and King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok, Thailand (Prof T Hemachudha MD, S Wacharapluesadee PhD, Prof S Shuangshoti MD); Neurobiology and Development (UPR3294), Institute of Neurobiology Alfred Fessard, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Gif-sur-Yvette, France (G Ugolini PhD); Advanced Diagnostic Imaging (AIMC) and Department of Radiology, Ramathibodi Hospital, Faculty of Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand (W Sungkarat PhD, J Laothamatas MD)

Correspondence to: Prof Thiravat Hemachudha, WHO Collaborating Centre for Research and Training on Viral Zoonoses, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University and King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok 10330, Thailand
fmedthm@gmail.com
th-cu@usa.net

Rabies is an almost invariably fatal disease that can present as classic furious rabies or paralytic rabies. Recovery has been reported in only a few patients, most of whom were infected with bat rabies virus variants, and has been associated with promptness of host immune response and spontaneous (immune) virus clearance. Viral mechanisms that have evolved to minimise damage to the CNS but enable the virus to spread might explain why survivors have overall good functional recovery. The shorter survival of patients with furious rabies compared with those with paralytic rabies closely corresponds to the greater amount of virus and lower immune response in the CNS of patients with the furious form. Rabies virus is present in the CNS long before symptom onset: subclinical anterior horn cell dysfunction and abnormal brain MRI in patients with furious rabies are evident days before brain symptoms develop. How the virus produces its devastating effects and how it selectively impairs behaviour in patients with furious rabies and the peripheral nerves of patients with paralytic rabies is beginning to be understood. However, to develop a pragmatic treatment strategy, a thorough understanding of the neuropathogenetic mechanisms is needed.

Introduction

Rabies caused by rabies virus (RABV) genotype 1 is one of the most common fatal infections worldwide. It is mainly associated with dog bites in Europe, Asia, and Africa and with bats in the Americas.¹ Two-thirds of patients infected with dog RABV variants present with classic furious rabies (characterised by fluctuating consciousness and changed mental status, phobic or inspiratory spasms, and autonomic stimulation signs). The remaining third develop paralytic rabies, which resembles Guillain-Barré syndrome, although progression to coma, myoedema, and bladder incontinence clearly differentiate these two disorders (table).^{2,3} Rabies associated with bat RABV variants has atypical features, such as focal brainstem signs, myoclonus, hemichorea, and signs and symptoms of Horner's syndrome.^{3,4}

In other infectious encephalitides, damage can be shown by gross pathology, whereas in rabies the CNS seems healthy post mortem, with only minimal neuronal loss and varying degrees of evidence of inflammatory reactions. This finding might be explained by the unique multilevel strategy that RABV has evolved to prevent viral clearance; RABV uses replication mechanisms that delay severe compromise of host cell metabolism and has the capacity to prevent apoptosis and evade innate and adaptive immune responses, which otherwise would promote changes in blood–brain barrier permeability and combat viral progression.¹⁰ MRI of the brain of patients with rabies reveals only subtle changes and the absence of gadolinium-enhanced lesions.^{6,7} With contrast imaging, mild to intense inflammation is noted mainly in patients with rabies contracted after organ transplantation and in comatose patients infected with dog RABV variants.^{6,7,11,12}

Attempts to treat symptomatic patients infected with dog RABV variants with therapeutics and intensive care support are usually unsuccessful. A few patients who survived infection with bat RABV variants with good functional recovery had evidence of an early immune

response, measured by neutralising or non-neutralising antibody to RABV in blood and CSF, with no RNA or virus detected in samples of biological fluids or hair follicles.^{13–18} Therefore, a good outcome might depend on the promptness of the host response in the eradication of virus in both the CNS and periphery.¹⁴

In this Review, we summarise relevant data acquired from our studies of patients infected with dog RABV variants and from animal models associated with RABV genotype 1 infection. We extrapolate these data to explain the various clinical phases in furious and paralytic rabies caused by infection with dog RABV variants. We use a dog model with naturally acquired rabies to explain clinical diversities; this model exhibits clinical patterns similar to those seen in man, with an incubation period of weeks to months, and it allows in-vivo studies of CNS abnormalities and blood–brain barrier status by MRI. Results suggest that the immune system is unlikely to have a role in the acceleration of death, especially in furious rabies.^{3,19}

Clinical features

The clinical stages of rabies are: incubation, prodrome, acute neurological signs, coma, and death.³ Average survival (from clinical onset to death, with partial or no intensive care support) of 80 patients with furious rabies and 35 with paralytic rabies after infection with a dog RABV variant in Thailand between 1988 and 2004 was 5.7 and 11 days, respectively (data compiled from previously published reports; table).² These survival times did not substantially differ from those reported in India between 1980 and 2007.^{20,21} Survival can be extended to 1 month or longer in patients receiving intensive care support.¹²

Weakness at the bitten extremities might be evident at initial presentation, although subsequent progression can be in the form of either furious or paralytic rabies.^{5,22} Although all cardinal features of furious rabies (eg, fluctuating consciousness, hydrophobia or aerophobia,

	Furious	Paralytic
General features in patients infected with dog RABV variants		
Prevalence ²	2/3 (67%)	1/3 (33%)
Average survival without intensive care support ²	5·7 days (n=80)	11 days (n=35)
Location of bite and relation to unsuccessful immunisation ²⁻⁴	Anywhere; not related	Anywhere; not related
Prodromal symptoms ²⁻⁴	Non-specific with local neuropathic pain in a third of patients	Non-specific with local neuropathic pain in a third of patients
Rabies characteristics ^{*2-4}	Present, but might not be seen at all stages	None or minimal, phobic spasms in only half, inspiratory spasms might not be obvious due to weakness of neck muscles and diaphragm; percussion myoedema at deltoids and chest wall (in the absence of hyponatraemia, renal failure, hypothyroidism, and severe cachexia)
Sensory deficits ²⁻⁴	At bitten segment due to ganglionitis; loss of pinprick sensation followed by loss of joint position sense	At bitten segment due to ganglionitis; loss of pinprick sensation followed by loss of joint position sense
Flaccid weakness with areflexia ²⁻⁴	Appears only when comatose	Ascending pure motor weakness, predominantly involving proximal and facial musculature as initial manifestation, while consciousness is fully preserved
Electrophysiological features ^{2,5}	Subclinical anterior horn cell dysfunction; sensory neuronopathy in patients with local neuropathic symptoms	Evidence of peripheral demyelination or axonopathy; sensory neuronopathy in patients with local neuropathic symptoms
MRI findings in patients infected with dog RABV variants^{6,7}		
Prodromal phase	Enhancing hypersignal T2 changes along the brachial plexus and associated spinal nerve roots at levels corresponding with the bitten extremity; non-enhancing ill-defined mild hypersignal T2 changes of the spinal cord, temporal lobe cortices, hippocampal gyri, and cerebral white matter	Enhancing hypersignal T2 changes along the brachial plexus and associated spinal nerve roots at levels corresponding with the bitten extremity; non-enhancing ill-defined mild hypersignal T2 changes of the spinal cord, temporal lobe cortices, hippocampal gyri, and cerebral white matter
Acute neurological (non-comatose) phase	Progression of abnormal hypersignal T2 changes	Progression of abnormal hypersignal T2 changes
Comatose phase	Moderate gadolinium enhancement, especially in limbic structures, thalamus, substantia nigra, tectal plates, brainstem, deep grey matter, cranial nerve nuclei, spinal cord, and cranial and spinal nerve roots	Moderate gadolinium enhancement, especially in limbic structures, thalamus, substantia nigra, tectal plates, brainstem, deep grey matter, cranial nerve nuclei, spinal cord, and cranial and spinal nerve roots
General features of early-stage rabies in naturally infected dogs⁷⁻⁹		
Viral load in brain structures ⁸	Several times greater than paralytic at all 12 regions examined	Several times lower than furious at all 12 regions examined
Cytokine or chemokine mRNA transcripts ⁸	Barely detected; TNF α detectable but at non-significant concentration	TNF α , interferon γ , and interleukin 1 β
FLAIR signal abnormality indicative of macrocellular damage revealed by MRI ^{†8}	Faint signal in cervical cord, brainstem, temporal lobes, and cerebral hemispheres [†]	Moderate-to-intense signal in hypothalamus, brainstem, cervical cord, and temporal lobes [†]
Blood-brain barrier status (examined by presence or absence of contrast-enhanced lesion) ^{†8}	Intact; no contrast-enhanced lesion	Intact; no contrast-enhanced lesion
Neuropathology ⁹	Caudal-rostral polarity of viral antigen; greater viral antigen reported in many regions, including frontal and occipital cortices and most spinal cord levels; inflammation generally mild throughout the CNS	Prominent inflammation in brainstem, in association with lower extent of viral antigen; caudal-rostral polarity of viral antigen
RABV=rabies virus. TNF α =tumour necrosis factor α . FLAIR=fluid-attenuated inversion recovery. *Change in consciousness, phobic spasms, spontaneous inspiratory spasms, and autonomic dysfunctions. †See figure 4 for more details.		
Table: Features of furious and paralytic rabies in patients infected with dog RABV variants and in naturally infected dogs		

inspiratory spasms, signs of autonomic dysfunction) are seen in most patients with this form of the disease, they might not be evident at the same time, and disappear during coma. Comatose patients with furious rabies (or those near to coma) develop flaccid limb weakness, which has been frequently misinterpreted as paralytic rabies. Conversely, lower motor neuron ascending weakness with only motor disturbance is

the initial manifestation of paralytic rabies,⁵ in which consciousness is preserved until the preterminal phase (table).²

Atypical signs and symptoms of rabies associated with infection with either bat or dog RABV variants have been increasingly recognised.^{3,4,13,23} Presentation of transverse myelitis as neuromyelitis optica or tetanus-like symptoms with locked jaw have been reported.^{24,25}

Pathogenesis and pathophysiology

The transfer of RABV-containing saliva from a bite from an infected animal is the most efficient route of transmission. Other routes of transmission include: inhalation of aerosolised RABV; tissue and organ transplants; handling and skinning of infected carcasses; and contamination of an open wound, scratch, abrasion, or mucous membrane by infected saliva or neural tissue.³ The efficiency of bite transmission depends on virus inocula and viral tissue tropism. The likelihood of infection with dog RABV variants is highest after deep bites that reach the muscle, because the virus can only infect motor endplates in the muscle, and uptake by sensory and sympathetic nerve endings in the muscle does not occur.^{26–34} Entry via the motor route is determined by the presence at the neuromuscular junction (but not at sensory or autonomic endings) of the nicotinic acetylcholine receptor (on the postsynaptic site), which binds RABV, promoting neural cell adhesion molecule-mediated uptake by motor endplates.^{28,35} Viraemia does not occur.³⁶ Whether a sensory pathway occurs after infection with dog RABV variants through a cutaneous lesion (ie, no access to motor endplates) is still unclear, because confirmatory experiments have not yet been done. Postexposure prophylaxis (PEP) with vaccine alone is needed in patients with minor skin lesions inflicted by a dog infected with RABV.

By contrast, patients with a negligible scratch to the skin inflicted by a bat infected with RABV are at very high risk of infection³ because bat RABV variants, unlike dog RABV variants, are able to multiply in epidermal cells *in vitro*.³⁷ The higher incidence of local neuropathic pain in patients with bat RABV variant rabies (70%) than in dog-related cases (30%),^{3,4} and signs and symptoms of Horner's syndrome and other atypical rabies features, might suggest additional (or alternative) transmission of bat RABV variants via sensory or sympathetic skin innervation, which should be investigated.²⁸

Incubation period

The incubation period or eclipse phase can vary from weeks to years, but lasts 1–2 months on average. The

incubation period is an intriguing feature in rabies and does not depend on bite location or clinical form.³ During most of the incubation, RABV lies in the muscle as a so-called smouldering, or low-replication-rate, infection³⁸ that remains confined to the inoculated portion of the muscle.^{28,31} Immune recognition at this focal site might not be adequate. Dendritic cells—ie, antigen-presenting cells that have a key role in triggering both innate and adaptive immune responses³⁹—are insufficiently activated by naturally acquired (street) RABV infection.^{40–42} The long incubation period is probably caused by low titre inocula and by the existence of endogenous RNA-silencing mechanisms or microRNAs (miRNAs) that slow down viral replication in the muscle.⁴³ In fact, the muscle-specific miRNA mir-133, which is predicted to bind to both the nucleoprotein and glycoprotein transcripts of RABV,⁴⁴ has been shown to substantially reduce expression of rabies viral protein in transfected Neuro-2a cells.⁴⁵ With high titre inocula, however, RABV is able to infect motor endplates without previous replication in the muscle, as shown in rodent and primate models;^{28–31} moreover, with high titre inocula, uptake without previous replication can also occur by motor axons after inoculation directly into nerves.^{46,47} This finding might explain the exceptionally short incubation times in human rabies that usually occur in association with penetrating nerve injury.³

Mechanisms for clinical diversity in furious and paralytic rabies in man

By the time a patient develops the first prodromal symptoms, such as fever, flu-like symptoms, and gastrointestinal disturbances, the virus is already widely disseminated throughout the CNS.^{5,6} A more localised prodrome or neuropathic pain (eg, paraesthesia, allodynia, burning sensation) is a sign of dorsal root ganglia dysfunction as a result of immune attack (table).⁵ A case study of the clinical features of a patient with furious rabies is described in panel 1 and figure 1, and of a patient with the paralytic form in panel 2.

Pathways of propagation of RABV and relation with clinical prodrome

The spinal propagation sequence of RABV in man after a deep bite to the left wrist (as in the patient with furious rabies in panel 1 and figure 1) has been extrapolated from a combined analysis of studies of RABV propagation in animal models^{28,29,31,32,38,49–55} (ie, intramuscular inoculation of naturally acquired RABV in skunks^{38,53} and hamsters,^{50–52} and intramuscular inoculations of fixed RABV challenge virus standard [CVS] strain or derived recombinants in rodents^{29,54,55} and primates^{28,31,32,49}) and knowledge of spinal connectivity (figure 2).^{56–58} The relation between the spinal propagation sequence and prodromal symptoms and signs in the patient with furious rabies described in panel 1 and figure 1 is summarised (figure 3). Notably, when classic

Panel 1: Clinical features of a patient with furious rabies

A man aged 50 years who had been bitten by a dog on his left wrist 7 weeks earlier⁶ had prodromal symptoms of severe aching pain and paraesthesias on his left hand and arm (figure 1). MRI of the brain, 3 days after onset, showed an ill-defined mild hyperintensity change involving the deep and subcortical white matter, hippocampal gyri, brainstem, and cervical cord.⁶ Slight progression of MRI disturbances was noted on day 7. CSF examination showed two lymphocytes and 40 mg/dL protein. Rabies viral RNA was detected in his saliva 2 days after admission, but not in the CSF specimen.⁴⁸ He survived for 8 days.

experimental studies of naturally acquired RABV propagation^{50–53} are revisited in the context of recent neuroanatomical investigations, taking into account current knowledge on CNS connectivity, the propagation properties of naturally acquired RABV of canine origin seem to be indistinguishable from those of fixed RABV (CVS strain), which is consistent with retrograde transneuronal transfer via the motor route.

Centripetal propagation

From the infected muscles, centripetal propagation of RABV occurs only via the motor route and is mediated exclusively by retrograde transneuronal transfer from motor neurons, which begins 2 days after uptake from motor endplates and proceeds at high speed (12-h intervals for each synaptic step, irrespective of distance).^{28,49} By day 4 after onset of infection in the motor neurons, connected spinal interneurons and ipsilateral (low cervical and upper thoracic) dorsal root ganglia innervating the bitten arm are heavily infected.^{53,54} Dorsal root ganglia infection first involves large neurons in dorsal root ganglia (proprioceptive Ia and II afferents and other large myelinated afferents targeting infected motor neurons and interneurons; figure 2); proprioceptive dorsal root ganglia innervating motor neurons of antagonist muscles are also infected (via Ia inhibitory interneurons). Small dorsal root ganglia neurons (unmyelinated and small myelinated afferents), which target higher-order interneurons in the dorsal horn, are infected later in the course of infection (figure 2). Via spinal interneuronal pathways, the infection rapidly involves bilateral cervical and thoracic dorsal root ganglia supplying the contralateral arm, the neck and back, and, later, lumbosacral dorsal root ganglia (figure 2).^{51,53} In parallel, retrograde transneuronal transfer leads to infection of brainstem and corticospinal pathways targeting the infected spinal motor neurons and interneurons, and higher-order CNS neurons.^{28,29,32,49,50,53,55}

Centrifugal propagation

A slow phase of centrifugal (anterograde) propagation can only begin 2 days after replication in each infected neuronal population, and leads to viral transport to the ventral and dorsal roots and centrifugal spread to extraneural organs via their sensory innervations^{38,50–52,59}—ie, to muscle spindles (via large dorsal root ganglia neurons), skin (via cutaneous afferents from large and small dorsal root ganglia neurons), and to immune and visceral organs, including the salivary glands, heart, and blood vessels (via small dorsal root ganglia neurons). Centrifugal viral propagation to visceral organs⁵⁹ is probably mediated by dorsal root ganglia neurons that supply, via dichotomising axons, both somatic and visceral nerves and organs (eg, left ulnar nerve and the heart) and several visceral organs.^{60,61} These pathways form an anatomical substrate for referred pain and cross-organ sensitisation. Centrifugal propagation to extraneural

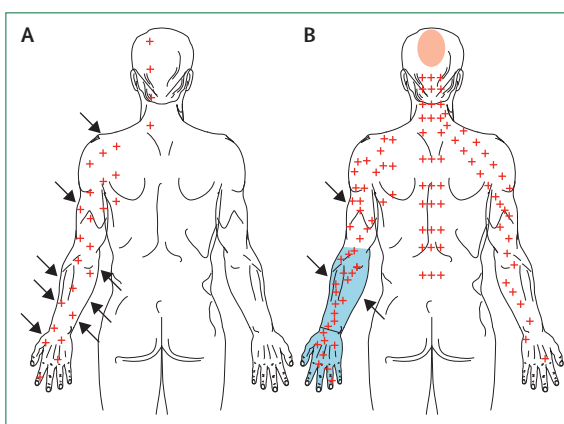


Figure 1: Clinical diversity in a patient with furious rabies

See panel 1 for background information. On day 3 after onset (A), the patient's mental state was clear but he had pain in his left arm (arrows). The only abnormality on electrodiagnostic studies was the presence of abundant fibrillations and positive sharp waves in left C5–C8 limb and cervical paraspinal muscles (+). His motor and sensory functions were intact. Diminished-to-absent deep tendon reflexes were noted in the left arm. On day 5 (not shown), sensory nerve action potential (SNAP) amplitudes had reduced by about 50% in the left upper limb nerves compared with those on the right side. Diminished pinprick sensation up to his elbow was noted (shaded area in B) and the pain became intense. By day 6 (B), SNAP amplitudes had reduced further on the left upper extremity, and fibrillations and positive sharp waves involving bilateral C5–C7 limb and paraspinal muscles had progressed (+). Results of motor conduction studies, including F-waves, remained normal. Mild weakness of left hand and wrist muscles was detected. Pain was less severe than in previous days and tolerable. The diminished sensation in the area up to the left elbow (shaded area in B) had progressed slightly, along with absence of deep tendon reflexes and joint position sense of the left arm. He was confused and disoriented (circle in B), and he died on day 8. Reproduced from Hemachudha and colleagues,²³ by permission of Springer.

Panel 2: Clinical features of a patient with paralytic rabies

A man aged 34 years who had been bitten by a dog on his right ankle 2 months earlier had severe itching and piloerection on his right leg that progressed to his left leg within 2 days after presentation.⁵ On admission (day 3 after onset), he showed no detectable weakness. Reflexes were 1+ (diminished) in the right lower limb and 2+ (normal) in the other limbs. Hypoaesthesia to pinprick sensation was present on his right leg up to the groin. By day 4, paraparesis was noted, and reflexes were absent in both lower limbs and highly diminished in the upper limbs. On day 6, facial diaphoresis and bulbar dysfunction were noted, and he was later intubated. He became agitated on day 7 and died on day 9. His CSF was acellular with 70 mg/dL protein. RNA was detected in the CSF on day 3 but not on day 7; saliva was negative for RNA on days 3 and 7.⁴⁸

organs is related to the topography of viscerotopic sensory innervation⁶⁰ and is distance-dependent; because anterograde axonal transport of RABV is inefficient,^{28,49} it might take weeks to reach remote organs. Progressive functional changes in infected sensory innervation of extraneural organs (including the heart and autonomic plexuses) might explain organ dysfunction and possibly

even dysautonomia in patients with rabies. Although extraneural organs from which RABV can be detected also receive autonomic innervation, the autonomic nerve supply is unlikely to contribute to centrifugal spread. Experimental evidence after RABV inoculation into skeletal muscles shows that autonomic involvement (of spinal preganglionic neurons in the central autonomic area) is a rare and indirect event that is not indicative of peripheral uptake and might only begin quite late, via intraspinal pathways.^{28,29} Similarly, post-mortem ultrastructural findings in a case report of a patient with furious rabies showed that cytoplasmic virus inclusions were abundant in sensory ganglia but rarely detected in sympathetic ganglia.⁶²

During centrifugal spread, RABV antigen can also be carried to lymph nodes,⁶³ both directly via their sensory innervation⁶⁴ and indirectly via virus budding from

axons⁵¹ and draining of antigen to the lymph nodes. We postulate that high virus load in extraneural organs due to centrifugal spread^{38,50–52,59} helps dendritic cell activation and migration, triggering T-cell stimulation in lymph nodes and the adaptive immune response. In both cases (ie, direct or indirect transport of virus to lymph nodes), virus and activated dendritic cells will first reach regional lymph nodes, which explains why T-lymphocyte activation occurs earlier in regional lymph nodes than in lymph nodes at other locations.⁶⁵ Although the clinical stages of rabies are too advanced to enable any definite conclusions to be drawn, it is possible in a patient such as the one with furious rabies presented in figure 1 and 2 and panel 1, that once RABV has reached spinal motor neurons, it would take 3–4 days to infect the cervical dorsal root ganglia innervating the arm and skin of the neck,^{51,52} a further 2 days before centrifugal transport in sensory axons begins, another 3 days for transport to neck hair follicles and skin,^{51,52} and maybe 4 more days before reaching the regional (neck or axillary) lymph nodes. A further 4 days might then pass before T-cell activation in lymph nodes occurs⁶⁶ and maybe another

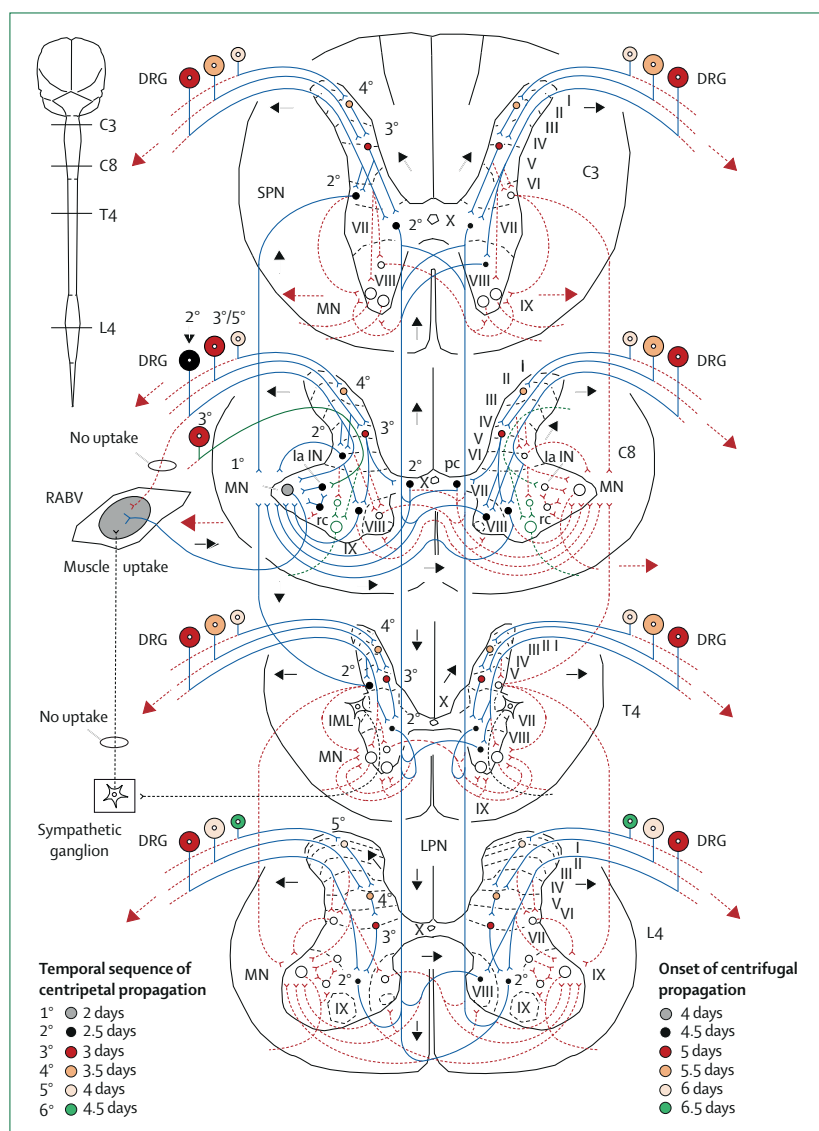


Figure 2: Pathways of propagation of RABV to and from the spinal cord

The diagram depicts propagation after a deep bite by a rabid animal on the left wrist (as in the patient described in panel 1 and figure 1). Spinal cord line drawing (top left) shows location of spinal segments. Fine dashed black lines in main image show borders of spinal laminae (I–X). Rabies virus (RABV) uptake from the muscle occurs exclusively via the motor route (first-order neurons [1°]), with no infection of sensory (proprioceptive dorsal root ganglia) and autonomic neurons innervating the same muscle.^{28,29,49} Centripetal propagation to the spinal cord is represented by solid blue lines (solid green for antagonists at C8) and coloured circular markers (colour-coded according to synaptic order, see key on left side of figure); black arrows show transport direction. RABV propagates exclusively by retrograde transneuronal transfer, from infected motor neurons (1°, grey-coloured circular marker, C8 left) to monosynaptically connected spinal interneurons and dorsal root ganglia populations (second-order neurons [2°], black-coloured circular markers).^{29,54,55} Dorsal root ganglia populations include: large proprioceptive dorsal root ganglia neurons (group Ia and II afferents) of low cervical or first thoracic segments ipsilaterally;^{54,55,57} short propriospinal neurons ipsilaterally in laminae V–VII (lateral part) of cervical or upper thoracic segments, which receive both dorsal root ganglia afferents and corticospinal, rubrospinal, and reticulospinal inputs and innervate arm muscles ipsilaterally;^{56,57} and long propriospinal neurons bilaterally in laminae VII, VIII, and X (including cholinergic populations in lamina X⁵⁹ and partition cells⁶⁴), which connect nearly the entire length of the spinal cord and innervate motor neurons of axial, proximal, and distal muscles bilaterally. The long propriospinal neurons receive both dorsal root ganglia afferents and reticulospinal, vestibulospinal, and corticospinal pathways, are involved in a variety of reflex pathways, and are part of spinal locomotor networks.^{36–58} Among 2° in lamina VII are Renshaw cells, Ia inhibitory interneurons, and Ib and II interneurons (in VII–VI). Further steps of retrograde transneuronal transfer from 2° result in infection of higher-order interneurons and dorsal root ganglia populations. Proprioceptive dorsal root ganglia innervating motor neurons of antagonist muscles (3°, solid green pathway at C8) are also infected (via Ia interneurons, 2°, which are pathways for reciprocal inhibition). Centrifugal (anterograde) propagation of RABV (open coloured circular markers and dashed red lines, or dashed green lines for antagonists at C8) is a slow (distance-dependent) process (see key on right side of figure), causing infection of other interneurons and motor neurons. Centrifugal transport of RABV from the spinal cord occurs in motor and sensory axons^{50–52} (large red arrows), leading to infection of extraneural organs via their sensory innervation.^{38,50–52,59} DRG=dorsal root ganglia. Ia IN=Ia inhibitory interneurons. IML=intermediolateral cell group. LPN=long propriospinal neurons. MN=motor neuron. pc=partition cell. rc=Renshaw cells. SPN=short propriospinal neurons.

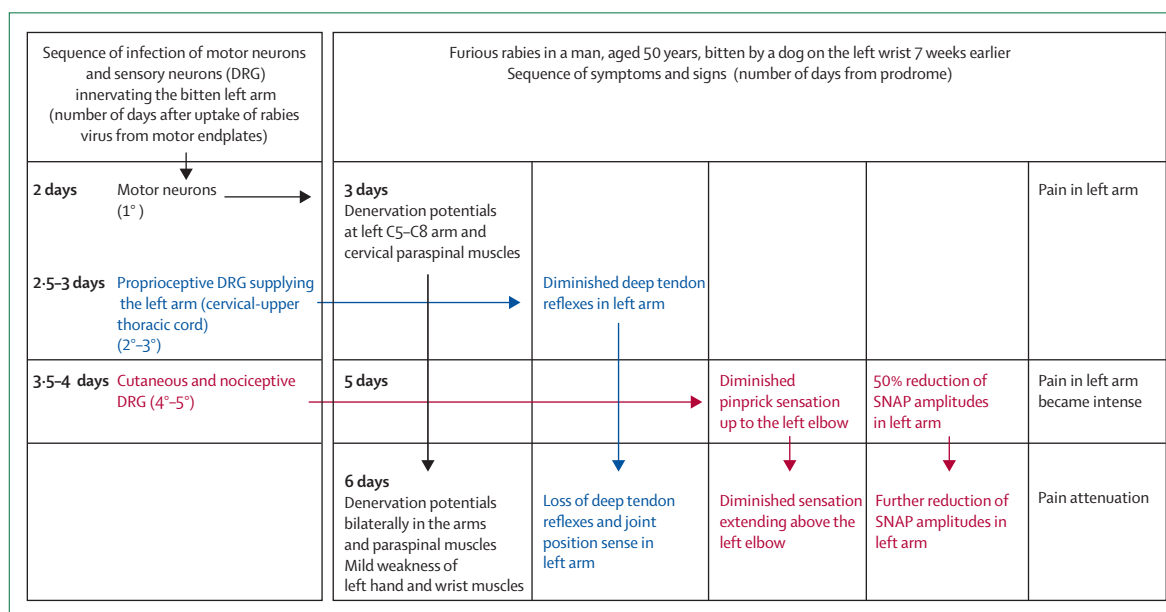


Figure 3: Association between prodromal symptoms and signs and spinal propagation of rabies virus in a patient with furious rabies

1°=first-order neuron. 2°=second-order neuron. 3°=third-order neuron. 4°=fourth-order neuron. 5°=fifth-order neuron. DRG=dorsal root ganglia. SNAP=sensory nerve action potential.

3 days for ganglionopathy and neuropathic pain to begin (prodrome onset). The total estimated period (3 weeks) is well below the 7-week incubation in the patient described in figure 1 and panel 1, suggesting that he might have had low-level infection in his muscles for up to 4 weeks. The extensive centripetal and centrifugal viral propagation that had already occurred in this patient during incubation was shown by MRI changes (panel 1) and recovery of virus from his saliva at prodrome onset, which is mediated only by centrifugal spread to the salivary glands via their innervation.^{28,67}

The sequence of prodromal symptoms and signs closely parallels the proposed viral propagation sequence. Motor neurons and connected proprioceptive dorsal root ganglia supplying the bitten arm are the first nerve cells to be infected and the first to show progressive functional changes (figures 2 and 3). Preferential entry via the motor route could explain why denervation potentials (detectable by day 3) precede sensory loss (day 5) and are initially localised to the bitten arm and ipsilateral neck paraspinal muscles (by day 3) but extend to the opposite arm and paraspinal muscles by day 6. Similarly, early and heavy infection of proprioceptive (Ia) dorsal root ganglia of agonist and antagonist muscles of the bitten arm (see above and figure 2), which mediate deep tendon reflexes, might explain the diminished deep tendon reflexes of the same arm by day 3 and their subsequent extinction (figures 1 and 3). Late onset of infection of cutaneous (vs proprioceptive) dorsal root ganglia might explain why sensory function in the bitten arm is still intact on day 3, but affected by day 5 (figure 3). Finally, focal deficits (eg, weakness of left hand or wrist muscles, loss of deep

tendon reflexes and position sense, pain attenuation) by day 6 might signify progressive neuronal dysfunction and ganglionopathy. The same logic might also apply to prodromal symptoms and signs in patients with paralytic rabies. An association between the location of the bite and the topography of prodromal symptoms and signs has been noted, which could be explained by RABV propagation in spinal pathways and dorsal root ganglia that are synaptically connected with motor neurons innervating the bitten limb. For example, in the patient with paralytic rabies described in panel 2, RABV propagation from motor neurons supplying the bitten right ankle to connected spinal interneurons and (lumbosacral) dorsal root ganglia might explain why pain, diminished deep tendon reflexes, and hypoaesthesia are initially localised to the right leg. Preferential infection via the motor route might also explain why Wallerian-like degeneration and inflammatory changes were much more severe in the ventral than in the dorsal spinal roots in a patient with paralytic rabies.⁶⁸

Death in furious rabies: immune-mediated or virus-mediated mechanism?

The immune response to RABV has been hypothesised to contribute to the disease process, on the basis of experimental evidence that survival can be prolonged in immunosuppressed mice, whereas paralysis and death ensue with the return of immune responsiveness after passive transfer of immune serum or cells.¹⁹ The finding that patients who had cellular immunity to RABV antigen and raised serum cytokine concentrations tended to have furious rather than paralytic rabies^{19,69} led to the belief

that furious manifestations are immune-mediated (and associated with production of proinflammatory cytokines and nitric oxide),³ and that vaccination should be withheld in patients with symptomatic rabies because it might accelerate death.^{70,71} However, accumulating evidence seems to prove otherwise. Attempts to prolong the clinical course of patients with rabies with high-dose steroids, antithymocyte globulin, or other immunosuppressive drugs have failed.^{14,72} Moreover, studies in dogs with early-stage furious or paralytic rabies did not show an exaggerated immune response in infected brains.⁸ On the contrary, cytokine and chemokine mRNA transcripts were barely detectable in the brain, particularly in dogs with furious rabies.⁸ A greater amount of rabies viral RNA was reported in the brains of

furious dogs than in those of paralytic dogs, suggesting that furious manifestations are virus-mediated and associated with more extensive propagation of RABV to the brain than are paralytic manifestations.

Impaired neural tract integrity at brainstem and survival in paralytic rabies

In-vivo MRI examination showed greater signal abnormalities in the brainstem, hypothalamus, and temporal lobe of dogs with paralytic rabies than in the same parts of the brain in dogs with furious rabies, despite paralytic dogs having a lower viral titre overall (table and figure 4).⁸ No evidence of blood–brain barrier leakage was reported in dogs with either furious or paralytic rabies. MRI studies showed that abnormalities in the brainstem were prominent in paralytic dogs with early-stage rabies,^{7,8} which might suggest that viral propagation is interrupted in paralytic dogs, resulting in less virus reaching the cerebral hemispheres. Post-mortem examination of brain (five furious and five paralytic cases) and spinal cord specimens (three of each clinical form) was done in ten naturally infected rabid dogs, including some that had MRI.⁹ To observe early pathological changes, all animals were killed shortly after developing signs of rabies. In both clinical forms, caudal–rostral distribution of RABV antigen, from greatest to least, was reported in the following order: spinal cord, brainstem, cerebellum, midline structures (caudate, thalamus), hippocampus, and cerebrum. By contrast, RABV RNA was most abundant in cerebral midline structures. More RABV antigen was detected in many more CNS regions in dogs with furious rabies than in those with paralytic rabies. Significantly higher RNA concentrations were noted in the cerebral cortex, thalamus, midbrain, and medulla of dogs with the furious subtype than in those with the paralytic subtype, whereas RNA concentrations in the spinal cord were similar in both clinical forms. Inflammation reported in the brainstem of dogs with paralytic rabies substantially correlated with increased MRI disturbances and increased extent of CNS immune response (table and figure 4).^{7–9} Thus, brainstem inflammation might impede viral propagation towards the cerebrum, resulting in longer survival in patients with paralytic rabies.

Diffusion tensor imaging (DTI) provides quantitative values compared with normal controls and has greater sensitivity than basic MRI for the detection of microstructural and macrostructural damage (neural tract integrity), as shown by diminished fractional anisotropy and increased fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) signals, respectively,⁷ and it is useful for the assessment of blood–brain barrier status. Our preliminary DTI data in rabid dogs suggest similar findings to those seen on MRI, with evidence of compromised neural tract integrity in the brainstems of paralytic dogs.⁷ Mean diffusivity or blood–brain barrier leakage was not increased in either furious or paralytic

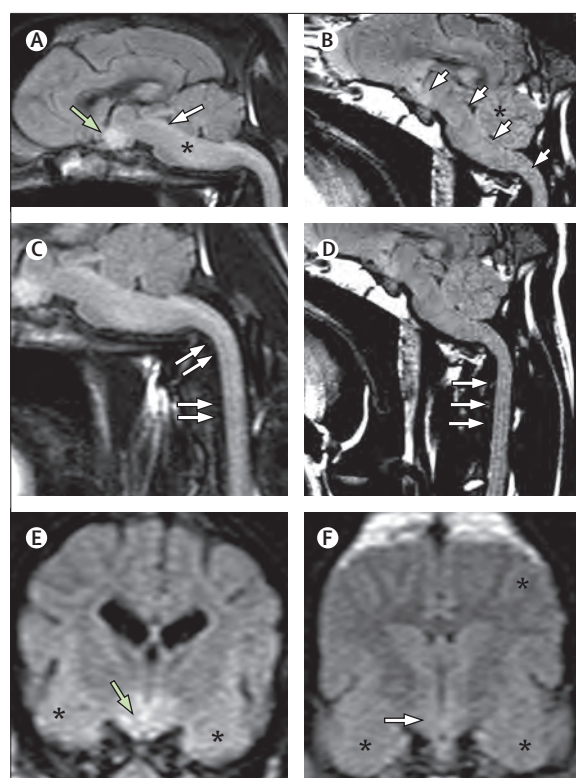


Figure 4: MRI in canine rabies

Images are mid-sagittal fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) MRI images of the hypothalamus, midbrain, brainstem, cerebellum, and upper cervical cord of a dog with early-stage paralytic rabies (A and C) and a dog with early-stage furious rabies (B and D). Also shown are coronal FLAIR images of the temporal lobe, frontal lobe, thalamus/hypothalamus, and basal ganglia of a dog with early-stage paralytic rabies (E) and a dog with early-stage furious rabies (F). The dog with paralytic rabies has moderate-to-substantial abnormal hypersignal T2 change at the hypothalamus (green arrow in A and E), dorsal midbrain (white arrow in A), brainstem (asterisk in A), and upper cervical cord (double white arrows in C). Also noted is moderate hypersignal T2 change at bilateral temporal lobes (asterisks in E) sparing the frontal and parietal lobes. The dog with furious rabies has less well defined mild-to-moderate diffuse hypersignal T2 change involving the hypothalamus, midbrain, brainstem, and upper cervical cord (white arrows in B, D, and F) and cerebellum (asterisk in B). It has more diffuse but less well defined mild hypersignal T2 change involving the temporal lobes, frontal lobes, and parietal lobes (asterisks in F) than the paralytic dog. Reproduced from Laothamatas and colleagues,⁸ by permission of Informa Healthcare.

dogs with early-stage rabies. However, cytotoxic brain oedema (decreased mean diffusivity) was noted almost exclusively in paralytic dogs.⁷

Specific virus variants in furious and paralytic rabies

One hypothesis to explain clinical diversities in rabies would be the presence of furious and paralytic virus variants. However, a bite from the same dog was shown to have caused furious rabies in one patient and the paralytic form in another, which provides evidence against this hypothesis,¹⁹ although, theoretically, this finding would not rule out viral pathogenicity changes due to spontaneous point mutations after exposure. Mutations of the glycoprotein gene at amino acid position 333 (Arg) abolish virulence,⁷³ whereas a substitution in the same gene at 194 (Asn) enhances pathogenicity.⁷⁴ Other substitutions at positions 318 (Phe) and 352 (His), related to p75 neurotrophin receptor binding, might affect viral maturation and transport into the cell,^{35,75} whereas substitutions at positions 273 (Glu) and 394 (Gln) of the RABV nucleoprotein gene enhance immune evasion and increase pathogenicity.⁷⁶

Analysis of RABV nucleoprotein, phosphoprotein, and glycoprotein genes from samples obtained from patients with either furious or paralytic rabies did not show specific patterns.⁷⁷ Mutations in the RABV samples did not differ between the two groups at positions 333 (Arg), 194 (Asn), 318 (Phe), or 352 (His) of the G gene, at positions 273 (Gln) and 394 (Glu) of the N protein gene, or at the carboxyl-terminal PDZ domain-binding motif, which is responsible for neuronal survival and apoptosis.⁷⁸

However, this does not rule out the theory that mutations in the virus explain clinical diversity, because only the sequences of the glycoprotein, nucleoprotein, and phosphoprotein genes were analysed in brainstem samples, whereas other genes involved in pathogenicity (eg, the matrix protein gene) were not examined.^{79,80}

Poor immune response in rabies-infected CNS

The CNS cannot mount an adaptive immune response to RABV because it does not contain any primary immune organs (ie, no antigen presenting cells and classic lymphatic drainage); the adaptive immune response has to be triggered in the periphery. Yet, infected neurons and glial cells are able to mount innate antiviral type I interferon (α or β) and inflammatory cytokine responses after recognition of viral RNA by two classes of innate sensors: the endosomal transmembrane Toll-like receptors (TLRs) 3 and 7/8, and the cytoplasmic retinoic acid inducible gene 1-like helicases RIG-I (also known as DDX58) and MDA5 (also known as IFIH1).^{81–83} Interferon α and interferon β exert antiviral functions via JAK/STAT signal transduction pathways,⁸⁴ whereas the major transcription factor for proinflammatory cytokines, such as tumour necrosis factor α (TNF α) and interleukins, is nuclear factor κ B (NF- κ B), which also supports early interferon transcription (interferon β , interferon α 4).^{83,85}

Despite being attacked by different defence mechanisms, RABV successfully invades its host and reaches the brain (figure 5). Although neurons have the machinery to sense RABV infection and trigger innate immune responses,⁸⁶ the virus has evolved several strategies to escape or lower activation of innate sensors and the antiviral effects of interferons. These strategies might allow preservation of neuronal integrity so that the virus can propagate between neurons. Human brain neurons express the innate sensor TLR3,⁸⁷ which can trigger cell death in the presence of interferons.⁸⁸ However, the virus uses TLR3 as an evasive strategy,¹⁰ by sequestering it in Negri bodies where it plays a part in RABV multiplication (figure 5).⁸⁹ The presence of RABV also activates the innate sensors RIG-I and MDA5^{90,91} and triggers type 1 interferon (via activation of interferon regulatory factor [IRF] 3 and 7 in association with activator protein 1 [AP-1] and NF- κ B). However, the RABV phosphoprotein counteracts interferon antiviral effects, because it prevents transcription of interferon α/β genes by blocking phosphorylation of IRF3 and IRF7 by the kinases TBK1 and IKK-i (also known as IKBKE)⁹² and it also inhibits STAT signalling, the pathway by which interferon exerts antiviral activity,^{83,93–96} whereas activation of NF- κ B is not disturbed (figure 5). The virus nucleoprotein (amino acid positions 273 and 394) is also important for evasion of host RIG-I-mediated antiviral response.⁷⁶ Thus, interferon induction in RABV-infected CNS is reduced⁹⁷ and neuroinflammation is moderate.

RABV is also able to evade the adaptive immune response in the CNS. Activation and entry into the CNS are not limiting factors for T cells and monocytes, which can infiltrate the CNS despite an intact blood–brain barrier (figure 5). After mice were infected with a virulent RABV strain, their brains were infiltrated with T cells expressing a marker of activation (Cd69) and Crmp2 (also known as Dpysl2), a marker of T-cell polarisation and migration.⁹⁸ Invading T cells and monocytes, however, undergo apoptosis shortly after entry into the infected brain parenchyma (figure 5). Post-mortem immunohistochemical studies of the brains of human beings with rabies revealed that leucocytes were the only cells undergoing apoptosis.⁹⁹ In post-mortem human brains infected with a vampire bat RABV variant, only infiltrating adaptive immune T cells (CD4+ and CD8+) were apoptotic, whereas natural killer cells, macrophages, astrocytes, or neurons were not.¹⁰⁰ Paradoxically, RABV uses the innate immune response to induce apoptosis of infiltrating T cells. This strategy was demonstrated in a transgenic mouse model overexpressing Lgp2 (also known as Dhx58) to impair the RIG-I-mediated innate immune response; after RABV infection, lower morbidity and more viral clearance in the brain were noted in mice overexpressing Lgp2 than in a C57BL/6 strain of mice, with reduction of infiltrating CD4+ T cells but less disappearance of infiltrating CD8+ T cells,¹⁰¹ showing that host innate immune response favours the infiltration of

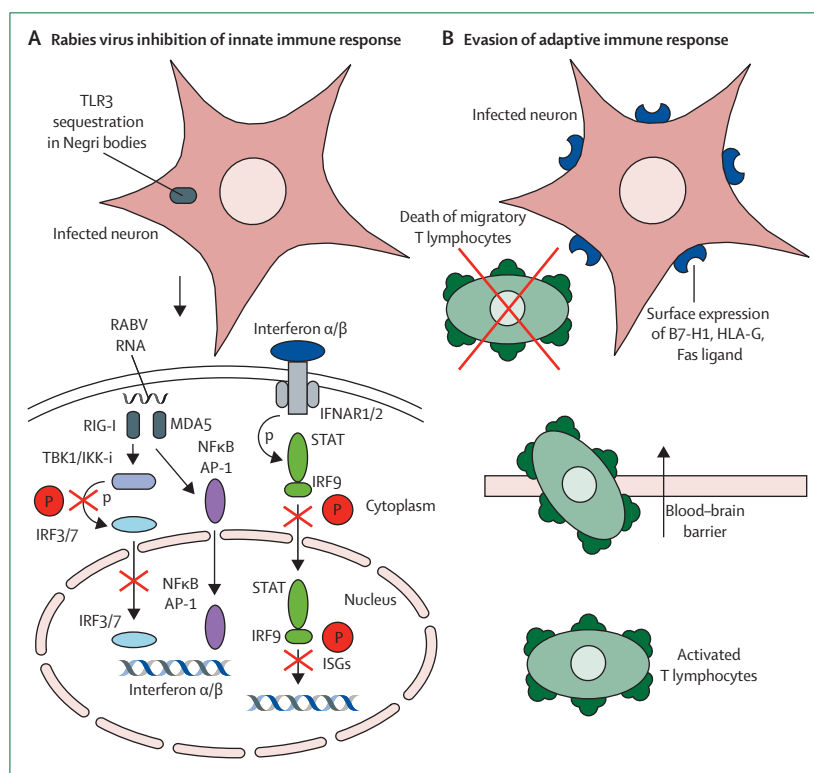


Figure 5: RABV immune-evasion mechanisms

The diagram depicts rabies virus (RABV) inhibition of innate immune response (A) and evasion of adaptive immune response (B) in the CNS. In infected neurons, RABV prevents activation of innate sensor Toll-like receptor 3 (TLR3) by sequestering it in Negri bodies (A). In the neuronal cytoplasm, viral RNA is recognised by immune sensors RIG-I and MDA5 (A, centre-left), which normally triggers transcription of innate antiviral type I interferon α/β via formation of a protein complex (not shown, including adaptor protein IPS-1 together with TRAF3, TBKBP1, NAP1, TANK, TRADD, RIP1, and FADD) that triggers phosphorylation of IRF3/7 by TBK1/IKK-i. Phosphorylated IRF3/7 is transported to the nucleus to induce transcription of interferon α/β in conjunction with activator protein (AP-1) and nuclear factor κ B (NF- κ B); AP-1 is activated via mitogen-activated protein kinases and NF- κ B by NEMO (not shown). The RABV phosphoprotein (P, in red circle) alters transcription of interferon α/β genes by blocking phosphorylation of IRF3/7 and its nuclear import (red crosses), while activation of AP-1 and NF- κ B is not disturbed. The RABV phosphoprotein also inhibits the STAT signalling pathway. Interferon α/β binds to cell surface receptors (grey, IFNAR1/2) and induces STAT phosphorylation (p) by kinases JAK1/TYK2 (not shown); phosphorylated STAT/IRF9 complex is imported to the nucleus, where it activates interferon-stimulated genes (ISGs) that have antiviral activities. The RABV phosphoprotein prevents transcription of ISGs by binding to phosphorylated STAT in the cytoplasm, blocking its nuclear import, and by binding to the STAT/IRF9 complex in the nucleus (mediated by a shorter version of phosphoprotein).⁸³ Activated T cells and monocytes can cross the blood-brain barrier and invade the CNS (B), despite intactness of this barrier in patients with rabies. Surface expression of the immunosubversive molecules B7-H1, HLA-G, and Fas ligand (dark blue markers) by infected neurons leads to binding of T cells expressing the corresponding receptors, rapidly followed by death of migrating T cells (red cross).¹⁰

T cells but simultaneously promotes CD8⁺ T-cell elimination. Elimination of infiltrating T cells is mediated by upregulation of immunosubversive molecules on the neuronal surface, such as B7-H1 (also known as CD274)¹⁰² and HLA-G,^{103,104} which are interferon dependent, and Fas ligand, which is interferon independent.^{97,105} Surface expression of B7-H1, HLA-G, and Fas ligand by infected neurons triggers death of migrating T cells expressing the corresponding receptors (figure 5).⁹⁷

Although an intact blood-brain barrier in rabies is not an obstacle for migration of activated lymphocytes into the CNS, efficient entry, particularly of B cells, needs disruption of the blood-brain barrier.^{106–108} Failure to open

the blood-brain barrier and deliver immune effectors was a crucial factor in the lethality of the virus in mice infected with a silver-haired bat RABV variant.¹⁰⁷ Intrathecal production of rabies antibody by infiltrated B cells is needed for viral clearance from the CNS in mice infected with attenuated RABV.¹⁰⁶

Neuroinflammation might inhibit the neuro-invasiveness (ie, ability to invade the CNS) of RABV. Comparative analysis of cytokine and chemokine mRNA transcripts in 12 brain regions of dogs with naturally acquired, early-stage rabies revealed greater inflammatory cytokine transcription in the dogs with paralytic rabies than in those with the furious form (table).⁸ Interferon γ and interleukin 1 β were detected exclusively in paralytic dogs. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukins 2, 4, 5, 8, and 10 were not detected in dogs with furious rabies. TNF α was detected in dogs with furious rabies and in those with the paralytic form, but was considered significantly increased only in those with paralytic rabies, whereas only CCL2 and VEGF were significantly increased in dogs with furious rabies. Interleukin 6, TNF α , interleukin 1 α , interleukin 1 β , and interferon γ cytokines have been reported to increase blood-brain barrier permeability in vitro and in vivo (by direct brain injection into piglets and rats) and to augment leucocyte CNS infiltration.¹⁰⁹ In the dogs depicted in figure 4, the blood-brain barrier remained intact despite the presence of cytokines. Inflammatory cytokine transcription was associated with a lower viral load (in all CNS regions) in paralytic dogs than in furious dogs. Greater disturbances seen with MRI in dogs with paralytic rabies were associated with greater immune responses and less brain neuroinvasiveness (figure 4) than in furious dogs.⁸ During the late stage of disease, however, almost no cytokines were detected in the CNS in both rabies types, and similar viral quantities were detected in both forms.⁸

Proteomic profiling studies of the brains of dogs with late-stage rabies showed upregulation of immunoglobulin heavy chain in the brainstem of paralytic dogs and interferon α 4 and SARM1 protein in the hippocampus of dogs with furious rabies.¹¹⁰ CRMP-2, a marker of activated infiltrating T cells, was down-regulated in the spinal cord in both rabies forms, but was upregulated in the brainstem of dogs with paralytic rabies. Examination of 25 brains of patients with furious and paralytic rabies revealed no correlation between inflammation or viral antigen distribution and expression of interleukin 1 β and TNF α (in microglia, macrophages, and lymphocytes).²¹ This might be explained by advanced stage of disease at examination.

A case study¹¹¹ described a patient infected with a bat RABV variant who received treatment with a neuroprotective regimen of midazolam, ketamine, and propofol together with rabies immunoglobulin, ribavirin, and amantadine; the regimen was discontinued 48 days later because no neurological recovery occurred, and the patient died more than 2 months after disease onset.¹¹¹

CSF analysis before death (3 weeks after cessation of the regimen, which is potentially immunosuppressive) and post-mortem brain examination showed robust inflammatory responses in the brain and CSF. The investigators propose that such a response at a very late stage might be related to immune reconstitution inflammatory syndrome.¹¹¹

Preservation of neuronal integrity

RABV is transcribed and replicates in neuronal cell bodies and dendrites. Maintenance and preservation of these structures and the axon, where the complete enveloped particle is transported, might be as important for the virus as its ability to evade immune responses.¹⁰ RABV infection causes neuronal dysfunction rather than neuronal death.^{112,113} Survival of infected neurons is ensured by the capacity of virulent RABV strains to prevent apoptosis by maintaining viral gene expression below threshold levels and by interfering with proapoptotic factors.^{73,112,114} Prevention of apoptosis is the hallmark of naturally acquired RABV infection; it depends on restricted expression of the glycoprotein protein and the glycoprotein gene sequence, including four amino acids at the carboxyl-terminal PDZ domain-binding motif that can bind cellular PDZ proteins, which control cell polarity and apoptosis.^{73,78,115} The matrix protein amino acid residues Arg 77 and Glu 81 might be associated with delayed apoptosis and increased pathogenicity of naturally acquired RABV.⁸⁰ Thus, neurons that have been infected with RABV for several days (asymptomatic period) do not exhibit cytopathic changes and remain metabolically viable *in vivo*, expressing their neurotransmitters and transporting other markers.^{29–31,33,49,116} Yet, when severe clinical disease has developed, wild-type RABV infection in mice results in changes to host protein expression, particularly expression of proteins involved in ion homeostasis and docking and fusion of synaptic vesicles to presynaptic membranes,¹¹⁷ which might lead to the defective neurotransmission recognised in rabies.¹¹³ Neuronal dysfunction might also be related to oxidative damage.^{118,119} In moribund mice, mild structural damage involving exclusively neuronal processes (beading and fragmentation of axons and dendrites, with vacuoles that correspond with swollen mitochondria) was recognised;¹²⁰ it was shown *in vitro* to be the result of oxidative stress, through virus-induced inhibition of NF- κ B signalling, which plays a crucial role in axonal growth, neuronal survival, and antiviral responses.^{118,119}

Studies of human brains infected with naturally acquired RABV show that the virus is capable of preserving neuronal integrity to support its propagation. Apoptosis was evident in inflammatory cells but not in neurons.^{99,121} Cytochrome c leakage and evidence of mitochondrial membrane permeabilisation were absent in spinal cord and brainstem in patients with rabies, explaining the absence of anterior horn cell weakness and preservation of consciousness until the preterminal stage.¹²²

Pathogenesis of paralytic rabies in man

Peripheral nerve dysfunction, axonopathy, or myelinopathy causes weakness in patients with paralytic rabies.^{2,68,123} Axonopathy was reported in three patients with paralytic rabies (one Chinese, one Mexican, and one Thai, infected in their respective countries) who had an acute motor axonal Guillain-Barré syndrome variant.^{5,22,68} Wallerian-like degeneration and inflammatory changes were more abundant in the ventral than in the dorsal nerve roots in the Chinese patient.⁶⁸ Deposition of IgG and complement proteins on RABV-positive axons was also shown, suggesting an antibody-mediated complement attack. In support of this finding, one patient with furious rabies who received intravenous human rabies immunoglobulin developed weakness of the facial, limb, and neck flexor muscles 36 h after administration.¹²⁴ However, the mechanism is unclear, since CSF rabies neutralising antibodies were not detected in this patient, or in another 30 Thai patients infected with dog RABV variants, 14 of whom had paralytic rabies.² Antiglycolipid antibodies were not detected in one patient with axonal and two with demyelinating paralytic rabies;⁵ this finding is important because the exact pathogenic mechanism in paralytic rabies is unknown, and one hypothesis is that the humoral immune response plays a part.

Segmental demyelination and remyelination, or myelinated nerve fibre loss of the spinal roots and peripheral nerves, were characteristic findings in 11 patients with paralytic rabies.¹²³ None of these patients had Wallerian-like degeneration as the only pathological feature. Such demyelination was absent in patients with furious rabies.¹²⁵ Another two patients with electrophysiological evidence of demyelinating Guillain-Barré syndrome variants had inflammation of the dorsal and ventral spinal nerve roots that was more severe than in the spinal cord.⁵

Neuroimaging and molecular techniques in antemortem diagnosis

MRI abnormalities provide clues for differential diagnosis with other encephalitides, in terms of preferential sites and extent of involvement (brain only or whole neuroaxis), presence of oedema (cytotoxic or vasogenic) or minute haemorrhage, and extent of signal intensity.⁷ MRI of patients with rabies can vary, since abnormalities can result from infection, host reaction, or complications (hypoxia, shock, bleeding, and metabolic derangements).^{3,5–7,126,127} Typically, MRI abnormalities are hypersignal T2 changes without contrast enhancement involving the spinal cord, brainstem, thalamus, limbic structures, and white matter during the non-comatose phase (figure 6). Both clinical forms of rabies in man have similar MRI features (table).^{6,7} Lesions in the brachial plexus, spinal cord, and nerve roots are already seen at the prodromal stage as signal intensity abnormalities or enhancement.⁶ During the comatose phase, widespread

T2 hyperintense lesions in the brainstem and forebrain can be seen; these are probably due to virus-induced neuronal injury and superimposed hypoxic insult.⁷ Neuronal injury might be related to oxidative stress, as shown in an animal model infected with fixed RABV (CVS strain).¹¹⁸ Blood–brain barrier breakdown is evident only during the late or comatose phase of the disease, as gadolinium-enhanced lesions along the brainstem and other midline structures.⁶⁷ MRI images are similar in patients with dog or bat RABV variants in terms of location and pattern of abnormal signal intensity.^{22,128,129} MRI might help with diagnosis when it is combined with clinical data and staging of disease severity and with knowledge of whether the patient is also affected with metabolic, electrolyte, or haematological disturbances or has a compromised cardiovascular status. Lesion characteristics at different stages have been reviewed in detail elsewhere.⁷

Antibody assay might not be useful in the diagnosis of rabies associated with dog RABV variants. RABV neutralising antibody in serum (and not in CSF) was detected in only six of 31 Thai patients and in none of 43 unvaccinated patients with dog RABV variants from Cambodia, Madagascar, and Senegal.^{3,130} Immune

recognition of rabies nucleoprotein and neutralising antibody titre development is inadequate in these patients.¹³¹ 21 of 43 patients in the USA (1960–2009) had neutralising serum antibody; 18 were infected with bat RABV variants, two with dog variants, and one with a bobcat variant.¹³ Only recently have antibody assays been considered in dog RABV variant endemic countries because of the potential to assess chance of recovery, particularly when viral RNA is not detected.^{15–18} However, patients with neutralising antibody in their serum or CSF but no detected viral RNA have died despite intensive care support.¹³

RABV RNA can be detected in saliva, extracted hair follicles or a biopsy sample of skin tissue from the nape of the neck that contains hair follicles, CSF, and urine.^{48,130,132–134} Descriptions of the biological samples and molecular methods for detection have been detailed elsewhere.¹³⁵ Frequently used techniques, such as hemi-nested reverse transcription (RT) PCR (targeting the large polymerase [L] gene) and TaqMan real-time RT-PCR (nucleoprotein gene), had similar degrees of sensitivity when serial dilutions of purified RNA from RABV-infected dog brain tissue were used.¹³⁶ When

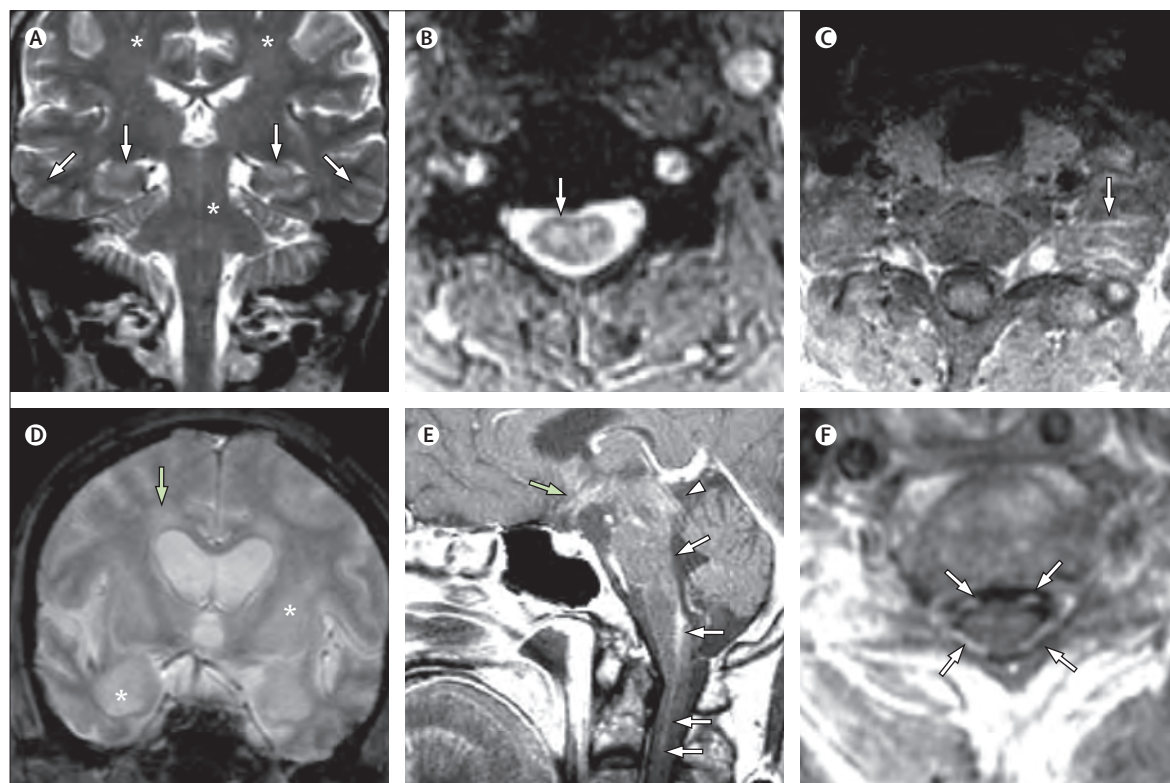


Figure 6: MRI in patients with rabies

Images depict a conscious patient with furious rabies (A–C) and a comatose patient with paralytic rabies (D–F). (A) Coronal spin echo T2-weighted MRI of the brain showing diffuse ill-defined mild hypersignal T2 change involving the cerebral white matter and brainstem (asterisks), hippocampi, and temporal lobes (white arrows). (B) Ill-defined hypersignal T2 change seen in spinal cord (white arrow). (C) Enhancing left brachial plexus (white arrow) between the anterior and middle/posterior scalene muscles of the bitten limb. (D) Marked diffuse hypersignal T2 change involving the basal ganglia, hippocampi (asterisks), and cerebral white matter (green arrow). (E) Moderate ill-defined enhancing hypothalamus (green arrow), tectal plate and midbrain (white arrowhead), and the dorsal pons and medulla and anterior cervical cord (white arrows). (F) Moderate enhancement of the intrathecal ventral and dorsal nerve roots (white arrows). Reproduced from Laothamatas and colleagues,⁷ by permission of Elsevier.

previously positive clinical samples (saliva) from ten patients with rabies, and RABV-infected dog and human brain tissue, were tested, results with each technique were similar.¹³⁶ However, the volume of tissue might be crucial for adequate sensitivity.¹³⁶ Hemi-nested RT-PCR assay of nuchal skin biopsy specimens containing hair follicles (diameter roughly 4 mm; total volume 20 mm³) is almost 100% sensitive.¹³⁰ Similar sensitivity was obtained when at least three serial saliva samples were examined or when three types of specimen (saliva, CSF, urine, or hair follicles) were assayed simultaneously.^{134,136} This result, however, might apply with certainty only to patients with furious rabies, since results were negative in half (three of six) of patients with the paralytic form.¹³⁴ Negative results were higher in patients with paralytic rabies than in those with furious rabies: saliva samples (seven of nine (78%) vs eight of 53 [15%]), CSF (three of five [60%] vs 14 of 25 [56%]), urine (five of five (100%) vs 20 of 36 [56%]).¹³⁴ Hair follicle tests showed negative results in 12 of 25 (48%) patients with the furious form compared with one of one with the paralytic form.¹³⁴

Management

Recovery after rabies has been reported in four patients.^{15–18} Prediction of which patients are likely to recover is not possible, although most survivors with good functional recovery had bat RABV variant rabies.^{15–18} Patients infected with bat RABV variants (who died or survived) had clinical manifestations that differed in many respects from those who have survived classic forms of dog RABV variant rabies.^{3,4,13,23} Differences in cellular tropism³⁷ or in the routes of spread, or both, might account for these discrepancies.²⁸ Because only a few experimental studies are available of the propagation of bat RABV variants *in vivo*,^{37,137} it is unclear whether higher chances of survival in patients with bat RABV variant rabies might be related to differences in the modalities of propagation of bat versus dog RABV variants. Importantly, all four rabies survivors described in the scientific literature with good recovery, with or without treatment, had a vigorous and early immune response, with autosterilisation (ie, no detected virus or RNA in tissue or biological fluids) and rabies antibodies detected in serum and CSF.^{13–18} Two received coma induction therapy,^{16,18} one had standard intensive care support,¹⁵ and another had presumptive abortive infection¹⁷ and did not receive any intensive support. Two patients, one of whom did not receive coma induction therapy, had non-neutralising antibodies, suggesting that other mechanisms played a part in eradication of the virus.^{17,18}

The suffering that patients with furious rabies go through cannot be readily explained by pain in the throat or phobic spasms. We have routinely used benzodiazepines, barbiturates, ketamine, or even intravenous morphine. However, deepening of consciousness by the use of sedatives to the extent that ventilatory support is needed should be avoided.

Search strategy and selection criteria

We searched PubMed for English language articles published from 1967, to Dec 1, 2012, containing the terms “rabies” in conjunction with other key terms, including “encephalitis”, “human”, “virus”, “pathophysiology”, “pathology”, “treatment”, “propagation”, and “transneuronal”. Data for this review also came from references on neural connectivity and those contained within older relevant review articles. Most of the review articles that we have cited contain clinical data of many individual cases or case series, as well as many original references of basic science studies and experiments in animal models.

So far, no proven standard treatment for rabies exists. Combination therapy with rabies immunoglobulin (polyclonal or monoclonal) plus vaccination, ribavirin (antiviral drug), ketamine (with some NMDA receptor antagonistic effect), and interferon α has been advocated.¹³⁸ Large doses of intravenous human rabies immunoglobulin (25 g for 4 consecutive days) were given to a patient with furious rabies. Anti-rabies antibody was not detected in the CSF after treatment, confirming the intactness of the blood–brain barrier;¹²⁵ however, this treatment was able to attenuate the autonomic symptoms.

The Milwaukee protocol initially aimed to induce coma with an electroencephalographic stage of burst suppression.¹⁶ Various sedatives (midazolam, barbiturates, ketamine), amantadine, which is supposed to reduce brain excitotoxicity,¹³⁹ and ribavirin were given to a patient who then recovered with minimal sequelae.¹⁶ However, following the protocol did not save more than two dozen fully alert, previously healthy, young, or middle-aged patients with symptomatic rabies.^{12,14,129,140–142} The role of excitotoxic mechanisms and the benefit of ketamine in *in-vitro* and *in-vivo* experiments are not supported by the data and scientific evidence.^{12,14,140,143,144} The current Milwaukee protocol consists of ketamine and midazolam, similar to what is used by physicians in dog RABV variant endemic countries to relieve suffering and dysautonomia. Coma induction is no longer recommended in the protocol. Nimodipine has also been added to the protocol to relieve vasospasm.^{145,146} However, data have been conflicting; neuroimaging and post-mortem examination did not reveal findings compatible with territorial spasm in patients with dog RABV variant rabies.^{6,7,147} Whether territorial spasm might be specifically related to bat RABV variants is not known. In view of autonomic disturbances in patients with rabies, nimodipine should be administered with extreme caution because it potentially poses the risk of severe hypotension and shock.³

Conclusions and future directions

Rabies is unique because it carries the highest fatality rate among all viral encephalitides. The mechanisms that

allow this virus to invade and partly hide from the host's immune defences, sometimes for extensive periods of time, before overwhelming the host are fascinating for scientists and clinicians.

Improved understanding of the mechanisms underlying rabies neuropathogenesis in man and animal models is necessary for the development of new therapeutic approaches. Temporary blood–brain barrier disruption by the use of ultrasound and microbubbles, and therapeutic miRNAs or nanoengineered molecules, together with generalised or regional brain cooling methods are prospective treatment options.^{14,45,148,149} A live-attenuated triple-glycoprotein RABV variant is a promising vaccine candidate for both pre-exposure and postexposure prophylaxis of rabies because it induces immune mechanisms capable of containing experimental CNS infection with pathogenic RABV.^{150,151} Any new drugs or treatment protocol should be proven not to pose any potentially harmful risk to already seriously ill patients.

Physicians and neurologists need to promote awareness of the absolute requirement of prompt administration of evidence-based prophylactic treatment to all individuals exposed to RABV. This approach is still deficient or even non-existent in many parts of the world. Equally, if not more importantly, is the need to control this disease in its main vector, the dog. The knowledge and means to do so are available, but the will and appropriate support from societies and governments are often not.

Contributors

All authors contributed to the scientific literature search and the writing and revision of the paper.

Conflicts of interest

We declare that we have no conflicts of interest.

Acknowledgments

Research by the authors described in this Review article was sponsored by the Thailand Research Fund (DBG5180026, RDG5420089), the Higher Education Research Promotion and National Research University Project of Thailand, Office of the Higher Education Commission (HR1160A-55), the Thai Red Cross Society, the US Naval Health Research Center BAA-10-93 under cooperative agreement number W911NF-11-2-004, the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), France, and the European Union (QLRT-2001-00151, EUOKINESIS, and BIO4-CT98-0546, TransVirus). The views and conclusions contained in this document are those of the authors.

References

- Wilde H, Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Lumlertdacha B, Tepsumethanon V. Rabies in Asia: the classical zoonosis. *Curr Top Microbiol Immunol* 2012; published online June 8. DOI:10.1007/82_2012_228.
- Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Mitrabhakdi E, Wilde H, Morimoto K, Lewis RA. Pathophysiology of human paralytic rabies. *J Neurovirol* 2005; **11**: 93–100.
- Hemachudha T, Laothamatas J, Rupprecht CE. Human rabies: a disease of complex neuropathogenetic mechanisms and diagnostic challenges. *Lancet Neurol* 2002; **1**: 101–09.
- Hemachudha T, Phuapradit P. Rabies. *Curr Opin Neurol* 1997; **10**: 260–67.
- Mitrabhakdi E, Shuangshoti S, Wannakrairot P, et al. Difference in neuropathogenetic mechanisms in human furious and paralytic rabies. *J Neurol Sci* 2005; **238**: 3–10.
- Laothamatas J, Hemachudha T, Mitrabhakdi E, Wannakrairot P, Tulayadaechanon S. MR imaging in human rabies. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; **24**: 1102–09.
- Laothamatas J, Sungkarat W, Hemachudha T. Neuroimaging in rabies. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 309–27.
- Laothamatas J, Wacharapluesadee S, Lumlertdacha B, et al. Furious and paralytic rabies of canine origin: neuroimaging with virological and cytokine studies. *J Neurovirol* 2008; **14**: 119–29.
- Shuangshoti S, Thepa N, Phukpattaranont P, et al. Reduced viral burden in paralytic compared to furious canine rabies is associated with prominent inflammation at the brainstem level. *BMC Vet Res* 2013; **9**: 31.
- Lafon M. Evasive strategies in rabies virus infection. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 33–53.
- Srinivasan A, Burton EC, Kuehnert MJ, et al. Transmission of rabies virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med* 2005; **352**: 1103–11.
- Maier T, Schwarting A, Mauer D, et al. Management and outcomes after multiple corneal and solid organ transplantations from a donor infected with rabies virus. *Clin Infect Dis* 2010; **50**: 1112–19.
- Feder HM Jr, Petersen BW, Robertson KL, Rupprecht CE. Rabies: still a uniformly fatal disease? Historical occurrence, epidemiological trends, and paradigm shifts. *Curr Infect Dis Rep* 2012; **14**: 408–22.
- Jackson AC. Therapy of human rabies. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 365–75.
- Hattwick MA, Weis TT, Stechschulte CJ, Baer GM, Gregg MB. Recovery from rabies. A case report. *Ann Intern Med* 1972; **76**: 931–42.
- Willoughby RE Jr, Tieves KS, Hoffman GM, et al. Survival after treatment of rabies with induction of coma. *N Engl J Med* 2005; **352**: 2508–14.
- Presumptive abortive human rabies—Texas, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010; **59**: 185–90.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recovery of a patient from clinical rabies—California, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2012; **61**: 61–65.
- Hemachudha T, Phanuphak P, Sriwanthana B, et al. Immunologic study of human encephalitic and paralytic rabies. Preliminary report of 16 patients. *Am J Med* 1988; **84**: 673–77.
- Gadre G, Satishchandra P, Mahadevan A, et al. Rabies viral encephalitis: clinical determinants in diagnosis with special reference to paralytic form. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; **81**: 812–20.
- Solanki A, Radotra BD, Vasishta RK. Correlation of cytokine expression with rabies virus distribution in rabies encephalitis. *J Neuroimmunol* 2009; **217**: 85–89.
- Mader EC Jr, Maury JS, Santana-Gould L, et al. Human rabies with initial manifestations that mimic acute brachial neuritis and Guillain-Barré syndrome. *Clin Med Insights Case Rep* 2012; **5**: 49–55.
- Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Laothamatas J, Wilde H. Rabies. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2006; **6**: 460–68.
- Human rabies—Minnesota, 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008; **57**: 460–62.
- Shantavasinkul P, Tantawichien T, Wacharapluesadee S, et al. Failure of rabies postexposure prophylaxis in patients presenting with unusual manifestations. *Clin Infect Dis* 2010; **50**: 77–79.
- Lewis P, Fu Y, Lentz TL. Rabies virus entry at the neuromuscular junction in nerve-muscle cocultures. *Muscle Nerve* 2000; **23**: 720–30.
- Lentz TL, Burrage TG, Smith AL, Crick J, Tignor GH. Is the acetylcholine receptor a rabies virus receptor? *Science* 1982; **215**: 182–84.
- Ugolini G. Rabies virus as a transneuronal tracer of neuronal connections. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 165–202.
- Tang Y, Rampin O, Giuliano F, Ugolini G. Spinal and brain circuits to motoneurons of the bulbospongiosus muscle: retrograde transneuronal tracing with rabies virus. *J Comp Neurol* 1999; **414**: 167–92.
- Graf W, Gerrits N, Yatim-Dhiba N, Ugolini G. Mapping the oculomotor system: the power of transneuronal labelling with rabies virus. *Eur J Neurosci* 2002; **15**: 1557–62.
- Ugolini G, Klam F, Doldan Dans M, et al. Horizontal eye movement networks in primates as revealed by retrograde transneuronal transfer of rabies virus: differences in monosynaptic input to “slow” and “fast” abducens motoneurons. *J Comp Neurol* 2006; **498**: 762–85.

- 32 Rathelot JA, Strick PL. Muscle representation in the macaque motor cortex: an anatomical perspective. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103**: 8257–62.
- 33 Morcuende S, Delgado-Garcia JM, Ugolini G. Neuronal premotor networks involved in eyelid responses: retrograde transneuronal tracing with rabies virus from the orbicularis oculi muscle in the rat. *J Neurosci* 2002; **22**: 8808–18.
- 34 Baer GM, Shaddock JH, Quirion R, Dam TV, Lentz TL. Rabies susceptibility and acetylcholine receptor. *Lancet* 1990; **335**: 664–65.
- 35 Lafon M. Rabies virus receptors. *J Neurovirol* 2005; **11**: 82–87.
- 36 Reaves EJ, Salmon-Mulanovich G, Guevara C, et al. Susceptibility and lack of evidence for a viremic state of rabies in the night owl monkey, *Aotus nancymaae*. *Virol J* 2012; **9**: 95.
- 37 Morimoto K, Patel M, Corisdeo S, et al. Characterization of a unique variant of bat rabies virus responsible for newly emerging human cases in North America. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 5653–58.
- 38 Charlton KM, Nadin-Davis S, Casey GA, Wandeler AI. The long incubation period in rabies: delayed progression of infection in muscle at the site of exposure. *Acta Neuropathol* 1997; **94**: 73–77.
- 39 Becker Y. Immunological and regulatory functions of uninfected and virus infected immature and mature subtypes of dendritic cells—a review. *Virus Genes* 2003; **26**: 119–30.
- 40 Li J, McGettigan JP, Faber M, Schnell MJ, Dietzschold B. Infection of monocytes or immature dendritic cells (DCs) with an attenuated rabies virus results in DC maturation and a strong activation of the NFkappaB signaling pathway. *Vaccine* 2008; **26**: 419–26.
- 41 Sarmento L, Li XQ, Howerth E, Jackson AC, Fu ZF. Glycoprotein-mediated induction of apoptosis limits the spread of attenuated rabies viruses in the central nervous system of mice. *J Neurovirol* 2005; **11**: 571–81.
- 42 Kuang Y, Lackay SN, Zhao L, Fu ZF. Role of chemokines in the enhancement of BBB permeability and inflammatory infiltration after rabies virus infection. *Virus Res* 2009; **144**: 18–26.
- 43 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; **116**: 281–97.
- 44 Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet* 2006; **38**: 228–33.
- 45 Israsena N, Mahavithakanont A, Hemachudha T. Rabies virus infection and microRNAs. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 329–44.
- 46 Ugolini G. Specificity of rabies virus as a transneuronal tracer of motor networks: transfer from hypoglossal motoneurons to connected second-order and higher order central nervous system cell groups. *J Comp Neurol* 1995; **356**: 457–80.
- 47 Ugolini G. Use of rabies virus as a transneuronal tracer of neuronal connections: implications for the understanding of rabies pathogenesis. *Dev Biol (Basel)* 2008; **131**: 493–506.
- 48 Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Nucleic-acid sequence based amplification in the rapid diagnosis of rabies. *Lancet* 2001; **358**: 892–93.
- 49 Ugolini G. Advances in viral transneuronal tracing. *J Neurosci Methods* 2010; **194**: 2–20.
- 50 Murphy FA, Bauer SP. Early street rabies virus infection in striated muscle and later progression to the central nervous system. *Intervirology* 1974; **3**: 256–68.
- 51 Murphy FA, Bauer SP, Harrison AK, Winn WC Jr. Comparative pathogenesis of rabies and rabies-like viruses. Viral infection and transit from inoculation site to the central nervous system. *Lab Invest* 1973; **28**: 361–76.
- 52 Murphy FA, Harrison AK, Winn WC, Bauer SP. Comparative pathogenesis of rabies and rabies-like viruses: infection of the central nervous system and centrifugal spread of virus to peripheral tissues. *Lab Invest* 1973; **29**: 1–16.
- 53 Charlton KM, Casey GA, Wandeler AI, Nadin-Davis S. Early events in rabies virus infection of the central nervous system in skunks (*Mephitis mephitis*). *Acta Neuropathol* 1996; **91**: 89–98.
- 54 Stepien AE, Tripodi M, Arber S. Monosynaptic rabies virus reveals premotor network organization and synaptic specificity of cholinergic partition cells. *Neuron* 2010; **68**: 456–72.
- 55 Coulon P, Bras H, Vinay L. Characterization of last-order premotor interneurons by transneuronal tracing with rabies virus in the neonatal mouse spinal cord. *J Comp Neurol* 2011; **519**: 3470–87.
- 56 Jankowska E. Interneuronal relay in spinal pathways from proprioceptors. *Prog Neurobiol* 1992; **38**: 335–78.
- 57 Jankowska E, Edgley SA. Functional subdivision of feline spinal interneurons in reflex pathways from group Ib and II muscle afferents; an update. *Eur J Neurosci* 2010; **32**: 881–93.
- 58 Kuypers HGJM. Anatomy of the descending pathways. In: Brooks V, ed. Handbook of physiology, section 1: neurophysiology, vol 2, part 1. Bethesda, MD: American Physiological Society, 1981: 579–666.
- 59 Jackson AC, Ye H, Phelan CC, et al. Extraneural organ involvement in human rabies. *Lab Invest* 1999; **79**: 945–51.
- 60 Christianson JA, Davis BM. The role of visceral afferents in disease. In: Kruger L, Light AR, eds. Translational pain research: from mouse to man. Boca Raton, FL: CRC Press, 2010.
- 61 McNeill DL, Burden HW. Convergence of sensory processes from the heart and left ulnar nerve onto a single afferent perikaryon: a neuroanatomical study in the rat employing fluorescent tracers. *Anat Rec* 1986; **214**: 441–44, 396–97.
- 62 Sung JH, Hayano M, Matri AR, Okagaki T. A case of human rabies and ultrastructure of the Negri body. *J Neuropathol Exp Neurol* 1976; **35**: 541–59.
- 63 Vural SA, Alcigir G, Berkin S. Immunohistochemical and histopathological studies of fixed rabies virus in goats. *Onderstepoort J Vet Res* 2001; **68**: 83–89.
- 64 Mignini F, Streccioni V, Amenta F. Autonomic innervation of immune organs and neuroimmune modulation. *Auton Autacoid Pharmacol* 2003; **23**: 1–25.
- 65 Irwin DJ, Wunner WH, Ertl HC, Jackson AC. Basis of rabies virus neurovirulence in mice: expression of major histocompatibility complex class I and class II mRNAs. *J Neurovirol* 1999; **5**: 485–94.
- 66 Bousso P. T-cell activation by dendritic cells in the lymph node: lessons from the movies. *Nat Rev Immunol* 2008; **8**: 675–84.
- 67 Charlton KM, Casey GA, Campbell JB. Experimental rabies in skunks: mechanisms of infection of the salivary glands. *Can J Comp Med* 1983; **47**: 363–69.
- 68 Sheikh KA, Ramos-Alvarez M, Jackson AC, Li CY, Asbury AK, Griffin JW. Overlap of pathology in paralytic rabies and axonal Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 2005; **57**: 768–72.
- 69 Hemachudha T, Panpanich T, Phanuphak P, Manatsathit S, Wilde H. Immune activation in human rabies. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993; **87**: 106–08.
- 70 Held JR, Tierkel ES, Steele JH. Rabies in man and animals in the United States, 1946–65. *Public Health Rep* 1967; **82**: 1009–18.
- 71 Willoughby RE Jr. “Early death” and the contraindication of vaccine during treatment of rabies. *Vaccine* 2009; **27**: 7173–77.
- 72 WHO. WHO Expert Committee on Rabies. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1992; **824**: 1–84.
- 73 Schnell MJ, McGettigan JP, Wirblich C, Papaneri A. The cell biology of rabies virus: using stealth to reach the brain. *Nat Rev Microbiol* 2010; **8**: 51–61.
- 74 Faber M, Faber ML, Papaneri A, et al. A single amino acid change in rabies virus glycoprotein increases virus spread and enhances virus pathogenicity. *J Virol* 2005; **79**: 14141–48.
- 75 Langevin C, Tuffereau C. Mutations conferring resistance to neutralization by a soluble form of the neurotrophin receptor (p75NTR) map outside of the known antigenic sites of the rabies virus glycoprotein. *J Virol* 2002; **76**: 10756–65.
- 76 Masatani T, Ito N, Shimizu K, et al. Amino acids at positions 273 and 394 in rabies virus nucleoprotein are important for both evasion of host RIG-I-mediated antiviral response and pathogenicity. *Virus Res* 2011; **155**: 168–74.
- 77 Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Lumlerdaecha B, et al. Sequence analysis of rabies virus in humans exhibiting encephalitic or paralytic rabies. *J Infect Dis* 2003; **188**: 960–66.
- 78 Prehaud C, Wolff N, Terrien E, et al. Attenuation of rabies virulence: takeover by the cytoplasmic domain of its envelope protein. *Sci Signal* 2010; **3**: ra5.
- 79 Mita T, Shimizu K, Ito N, et al. Amino acid at position 95 of the matrix protein is a cytopathic determinant of rabies virus. *Virus Res* 2008; **137**: 33–39.
- 80 Larrous F, Gholami A, Mouhamad S, Estaquier J, Bourhy H. Two overlapping domains of a lyssavirus matrix protein that acts on different cell death pathways. *J Virol* 2010; **84**: 9897–906.

- 81 Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 2010; **11**: 373–84.
- 82 Yoneyama M, Fujita T. Recognition of viral nucleic acids in innate immunity. *Rev Med Virol* 2010; **20**: 4–22.
- 83 Rieder M, Conzelmann KK. Interferon in rabies virus infection. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 91–114.
- 84 Jensen S, Thomsen AR. Sensing of RNA viruses: a review of innate immune receptors involved in recognizing RNA virus invasion. *J Virol* 2012; **86**: 2900–10.
- 85 Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2007; **8**: 49–62.
- 86 Prehaud C, Megret F, Lafage M, Lafon M. Virus infection switches TLR-3-positive human neurons to become strong producers of beta interferon. *J Virol* 2005; **79**: 12893–904.
- 87 Jackson AC, Rossiter JP, Lafon M. Expression of Toll-like receptor 3 in the human cerebellar cortex in rabies, herpes simplex encephalitis, and other neurological diseases. *J Neurovirol* 2006; **12**: 229–34.
- 88 Chiron D, Pellat-Deceunynck C, Amiot M, Bataille R, Jegou G. TLR3 ligand induces NF- κ B activation and various fates of multiple myeloma cells depending on IFN- α production. *J Immunol* 2009; **182**: 4471–78.
- 89 Menager P, Roux P, Megret F, et al. Toll-like receptor 3 (TLR3) plays a major role in the formation of rabies virus Negri bodies. *PLoS Pathog* 2009; **5**: e1000315.
- 90 Faul EJ, Wanjalla CN, Suthar MS, Gale M, Wirblich C, Schnell MJ. Rabies virus infection induces type I interferon production in an IPS-1 dependent manner while dendritic cell activation relies on IFNAR signaling. *PLoS Pathog* 2010; **6**: e1001016.
- 91 Hornung V, Ellegast J, Kim S, et al. 5'-triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. *Science* 2006; **314**: 994–97.
- 92 Brzozka K, Finke S, Conzelmann KK. Identification of the rabies virus alpha/beta interferon antagonist: phosphoprotein P interferes with phosphorylation of interferon regulatory factor 3. *J Virol* 2005; **79**: 7673–81.
- 93 Vidy A, Chelbi-Alix M, Blondel D. Rabies virus P protein interacts with STAT1 and inhibits interferon signal transduction pathways. *J Virol* 2005; **79**: 14411–20.
- 94 Vidy A, El Bougrini J, Chelbi-Alix MK, Blondel D. The nucleocytoplasmic rabies virus P protein counteracts interferon signaling by inhibiting both nuclear accumulation and DNA binding of STAT1. *J Virol* 2007; **81**: 4255–63.
- 95 Brzozka K, Finke S, Conzelmann KK. Inhibition of interferon signaling by rabies virus phosphoprotein P: activation-dependent binding of STAT1 and STAT2. *J Virol* 2006; **80**: 2675–83.
- 96 Moseley GW, Lahaye X, Roth DM, et al. Dual modes of rabies P-protein association with microtubules: a novel strategy to suppress the antiviral response. *J Cell Sci* 2009; **122**: 3652–62.
- 97 Lafon M. Immune evasion, a critical strategy for rabies virus. *Dev Biol (Basel)* 2008; **131**: 413–19.
- 98 Vuillat C, Varrin-Doyer M, Bernard A, et al. High CRMP2 expression in peripheral T lymphocytes is associated with recruitment to the brain during virus-induced neuroinflammation. *J Neuroimmunol* 2008; **193**: 38–51.
- 99 Suja MS, Mahadevan A, Madhusudana SN, Shankar SK. Role of apoptosis in rabies viral encephalitis: a comparative study in mice, canine, and human brain with a review of literature. *Patholog Res Int* 2011; **2011**: 374286.
- 100 Fernandes ER, de Andrade HF Jr, Lancellotti CL, et al. In situ apoptosis of adaptive immune cells and the cellular escape of rabies virus in CNS from patients with human rabies transmitted by *Desmodus rotundus*. *Virus Res* 2011; **156**: 121–26.
- 101 Choppy D, Pothlichet J, Lafage M, et al. Ambivalent role of the innate immune response in rabies virus pathogenesis. *J Virol* 2011; **85**: 6657–68.
- 102 Lafon M, Megret F, Meuth SG, et al. Detrimental contribution of the immuno-inhibitor B7-H1 to rabies virus encephalitis. *J Immunol* 2008; **180**: 7506–15.
- 103 Lafon M, Prehaud C, Megret F, et al. Modulation of HLA-G expression in human neural cells after neurotropic viral infections. *J Virol* 2005; **79**: 15226–37.
- 104 Megret F, Prehaud C, Lafage M, et al. Modulation of HLA-G and HLA-E expression in human neuronal cells after rabies virus or herpes virus simplex type 1 infections. *Hum Immunol* 2007; **68**: 294–302.
- 105 Baloul L, Camelo S, Lafon M. Up-regulation of Fas ligand (FasL) in the central nervous system: a mechanism of immune evasion by rabies virus. *J Neurovirol* 2004; **10**: 372–82.
- 106 Hooper DC, Phares TW, Fabis MJ, Roy A. The production of antibody by invading B cells is required for the clearance of rabies virus from the central nervous system. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; **3**: e535.
- 107 Roy A, Hooper DC. Lethal silver-haired bat rabies virus infection can be prevented by opening the blood-brain barrier. *J Virol* 2007; **81**: 7993–98.
- 108 Roy A, Phares TW, Koprowski H, Hooper DC. Failure to open the blood-brain barrier and deliver immune effectors to central nervous system tissues leads to the lethal outcome of silver-haired bat rabies virus infection. *J Virol* 2007; **81**: 1110–18.
- 109 Bailey SL, Carpentier PA, McMahon EJ, Begolka WS, Miller SD. Innate and adaptive immune responses of the central nervous system. *Crit Rev Immunol* 2006; **26**: 149–88.
- 110 Thanomsridetchai N, Singht N, Tepsumethanon V, et al. Comprehensive proteome analysis of hippocampus, brainstem, and spinal cord from paralytic and furious dogs naturally infected with rabies. *J Proteome Res* 2011; **10**: 4911–24.
- 111 Reinke SN, Resch L, Maingat F, et al. Metagenomic and metabolomic characterization of rabies encephalitis: new insights into the treatment of an ancient disease. *J Infect Dis* 2012; published online Aug 21. DOI:10.1093/infdis/jis479.
- 112 Dietzschold B, Morimoto K, Hooper DC. Mechanisms of virus-induced neuronal damage and the clearance of viruses from the CNS. *Curr Top Microbiol Immunol* 2001; **253**: 145–55.
- 113 Fu ZF, Jackson AC. Neuronal dysfunction and death in rabies virus infection. *J Neurovirol* 2005; **11**: 101–06.
- 114 Morimoto K, Hooper DC, Spitsin S, Koprowski H, Dietzschold B. Pathogenicity of different rabies virus variants inversely correlates with apoptosis and rabies virus glycoprotein expression in infected primary neuron cultures. *J Virol* 1999; **73**: 510–18.
- 115 Javier RT, Rice AP. Emerging theme: cellular PDZ proteins as common targets of pathogenic viruses. *J Virol* 2011; **85**: 11544–56.
- 116 Guigoni C, Coulon P. Rabies virus is not cytolytic for rat spinal motoneurons in vitro. *J Neurovirol* 2002; **8**: 306–17.
- 117 Dhingra V, Li X, Liu Y, Fu ZF. Proteomic profiling reveals that rabies virus infection results in differential expression of host proteins involved in ion homeostasis and synaptic physiology in the central nervous system. *J Neurovirol* 2007; **13**: 107–17.
- 118 Jackson AC, Kammouni W, Zherebitskaya E, Fernyhough P. Role of oxidative stress in rabies virus infection of adult mouse dorsal root ganglion neurons. *J Virol* 2010; **84**: 4697–705.
- 119 Kammouni W, Hasan L, Saleh A, Wood H, Fernyhough P, Jackson AC. Role of nuclear factor-kappaB in oxidative stress associated with rabies virus infection of adult rat dorsal root ganglion neurons. *J Virol* 2012; **86**: 8139–46.
- 120 Scott CA, Rossiter JP, Andrew RD, Jackson AC. Structural abnormalities in neurons are sufficient to explain the clinical disease and fatal outcome of experimental rabies in yellow fluorescent protein-expressing transgenic mice. *J Virol* 2008; **82**: 513–21.
- 121 Jackson AC, Randle E, Lawrance G, Rossiter JP. Neuronal apoptosis does not play an important role in human rabies encephalitis. *J Neurovirol* 2008; **14**: 368–75.
- 122 Juntrakul S, Ruangvejvorachai P, Shuangshoti S, Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Mechanisms of escape phenomenon of spinal cord and brainstem in human rabies. *BMC Infect Dis* 2005; **5**: 104.
- 123 Chopra JS, Banerjee AK, Murthy JM, Pal SR. Paralytic rabies: a clinico-pathological study. *Brain* 1980; **103**: 789–802.
- 124 Hemachudha T, Sunsaneewitayakul B, Mitrahakdi E, et al. Paralytic complications following intravenous rabies immune globulin treatment in a patient with furious rabies. *Int J Infect Dis* 2003; **7**: 76–77.
- 125 Tangchai P, Vejjajiva A. Pathology of the peripheral nervous system in human rabies. A study of nine autopsy cases. *Brain* 1971; **94**: 299–306.
- 126 Awasthi M, Parmar H, Patankar T, Castillo M. Imaging findings in rabies encephalitis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001; **22**: 677–80.
- 127 Desai RV, Jain V, Singh P, Singhi S, Radotra BD. Radiculomyelitic rabies: can MR imaging help? *AJNR Am J Neuroradiol* 2002; **23**: 632–34.

- 128 Pleasure SJ, Fischbein NJ. Correlation of clinical and neuroimaging findings in a case of rabies encephalitis. *Arch Neurol* 2000; **57**: 1765–69.
- 129 van Thiel PP, de Bie RM, Eftimov F, et al. Fatal human rabies due to Duvenhage virus from a bat in Kenya: failure of treatment with coma-induction, ketamine, and antiviral drugs. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; **3**: e428.
- 130 Dacheux L, Reynes JM, Buchy P, et al. A reliable diagnosis of human rabies based on analysis of skin biopsy specimens. *Clin Infect Dis* 2008; **47**: 1410–17.
- 131 Kasempimolporn S, Hemachudha T, Khawplod P, Manatsathit S. Human immune response to rabies nucleocapsid and glycoprotein antigens. *Clin Exp Immunol* 1991; **84**: 195–99.
- 132 Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Urine samples for rabies RNA detection in the diagnosis of rabies in humans. *Clin Infect Dis* 2002; **34**: 874–75.
- 133 Hemachudha T, Wacharapluesadee S. Antemortem diagnosis of human rabies. *Clin Infect Dis* 2004; **39**: 1085–86.
- 134 Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Ante- and post-mortem diagnosis of rabies using nucleic acid-amplification tests. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; **10**: 207–18.
- 135 Dacheux L, Wacharapluesadee S, Hemachudha T, et al. More accurate insight into the incidence of human rabies in developing countries through validated laboratory techniques. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; **4**: e765.
- 136 Wacharapluesadee S, Phumesin P, Supavonwong P, Khawplod P, Intarut N, Hemachudha T. Comparative detection of rabies RNA by NASBA, real-time PCR and conventional PCR. *J Virol Methods* 2011; **175**: 278–82.
- 137 Preuss MA, Faber ML, Tan GS, et al. Intravenous inoculation of a bat-associated rabies virus causes lethal encephalopathy in mice through invasion of the brain via neurosecretory hypothalamic fibers. *PLoS Pathog* 2009; **5**: e1000485.
- 138 Jackson AC, Warrell MJ, Rupprecht CE, et al. Management of rabies in humans. *Clin Infect Dis* 2003; **36**: 60–63.
- 139 Nigg AJ, Walker PL. Overview, prevention, and treatment of rabies. *Pharmacotherapy* 2009; **29**: 1182–95.
- 140 Hemachudha T, Sunsaneewitayakul B, Desudchit T, et al. Failure of therapeutic coma and ketamine for therapy of human rabies. *J Neurovirol* 2006; **12**: 407–09.
- 141 McDermid RC, Saxinger L, Lee B, et al. Human rabies encephalitis following bat exposure: failure of therapeutic coma. *CMAJ* 2008; **178**: 557–61.
- 142 Hunter M, Johnson N, Hedderwick S, et al. Immunovirological correlates in human rabies treated with therapeutic coma. *J Med Virol* 2010; **82**: 1255–65.
- 143 Weli SC, Scott CA, Ward CA, Jackson AC. Rabies virus infection of primary neuronal cultures and adult mice: failure to demonstrate evidence of excitotoxicity. *J Virol* 2006; **80**: 10270–73.
- 144 Jackson AC, Kammouni W, Fernyhough P. Role of oxidative stress in rabies virus infection. *Adv Virus Res* 2011; **79**: 127–38.
- 145 Willoughby RE, Roy-Burman A, Martin KW, et al. Generalised cranial artery spasm in human rabies. *Dev Biol (Basel)* 2008; **131**: 367–75.
- 146 Sing TM, Soo MY. Imaging findings in rabies. *Australas Radiol* 1996; **40**: 338–41.
- 147 Tirawatnpong S, Hemachudha T, Manatsathit S, Shuangshoti S, Phanthumchinda K, Phanuphak P. Regional distribution of rabies viral antigen in central nervous system of human encephalitic and paralytic rabies. *J Neurol Sci* 1989; **92**: 91–99.
- 148 McDannold N, Arvanitis CD, Vykhodtseva N, Livingstone MS. Temporary disruption of the blood-brain barrier by use of ultrasound and microbubbles: safety and efficacy evaluation in rhesus macaques. *Cancer Res* 2012; **72**: 3652–63.
- 149 Israsena N, Supavonwong P, Ratanasetyuth N, Khawplod P, Hemachudha T. Inhibition of rabies virus replication by multiple artificial microRNAs. *Antiviral Res* 2009; **84**: 76–83.
- 150 Faber M, Li J, Kean RB, Hooper DC, Alugupalli KR, Dietzschold B. Effective preexposure and postexposure prophylaxis of rabies with a highly attenuated recombinant rabies virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; **106**: 11300–05.
- 151 Li J, Ertel A, Portocarrero C, et al. Postexposure treatment with the live-attenuated rabies virus (RV) vaccine TriGAS triggers the clearance of wild-type RV from the central nervous system (CNS) through the rapid induction of genes relevant to adaptive immunity in CNS tissues. *J Virol* 2012; **86**: 3200–10.



โครงการ การประชุมภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในการดำเนินโครงการ ครั้งที่ 1
และการประชุมประสานงานเพื่อติดตามความก้าวหน้าของชุดโครงการ
“การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

เสนอต่อ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

โดย

รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สันนิภา สุรทัตต์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ การประชุมภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในการดำเนินโครงการ ครั้งที่ 1 (Inception meeting) และ
การประชุมประสานงานเพื่อติดตามความก้าวหน้าของชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อม
รับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

หัวหน้าโครงการ	:	รศ.สพ.ญ.ดร. สันนิภา สุรทัตต์
หน่วยงานต้นสังกัด	:	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
หน่วยงานร่วมโครงการ	:	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ
วันที่-เวลา	:	17 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 เวลา 9:00 น. ถึง 18:00 น.
สถานที่	:	ห้อง Renoir โรงแรมโนโวเทล สยามสแควร์

หลักการและเหตุผล

ตามที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อทำการศึกษาวิจัย เรื่อง “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ” เป็นเวลา 18 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน พ.ศ. 2554 ถึง 28 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556 อันเป็นผลสืบเนื่องจากการลงนามในบันทึกข้อตกลงระหว่างสกว. และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อวันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2554 โครงการดังกล่าว มีวัตถุประสงค์เพื่อ

- 1) พัฒนาวិชาการด้านโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ (emerging and re-emerging diseases) ครบวงจร
- 2) สนับสนุนให้มีกระบวนการจัดการองค์ความรู้ และการประสานภาคีเครือข่ายโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำทั้งในส่วนวิชาการ ภาครัฐ เอกชน และชุมชนที่เกี่ยวข้องและ
- 3) เพื่อพัฒนาทรัพยากรบุคคลที่มีความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ ผ่านการดำเนินโครงการวิจัยย่อยจำนวน 3 โครงการ ซึ่งดำเนินการโดยคณะนักวิจัยกลุ่มในสาขาแพทย์และการสาธารณสุข สัตวแพทย์ และสัตว์ป่า ที่มีการวางแผนการดำเนินงานแบบบูรณาการร่วมกัน ได้แก่

โครงการย่อยที่ 1) บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว

โครงการย่อยที่ 2) การสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน และ

โครงการย่อยที่ 3) การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว

ในการนี้เพื่อให้การดำเนินชุดโครงการวิจัยนี้สามารถบรรลุวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ คณะผู้วิจัยจึงเห็นควรให้มีการจัดประชุมกลุ่มภาคีเครือข่ายผู้เกี่ยวข้องในแต่ละส่วนร่วมกันเพื่อให้มีการชี้แจงถึงวัตถุประสงค์ของการดำเนินงาน นำเสนอแผนการดำเนินงานโครงการวิจัยเบื้องต้น รวมทั้งเปิดโอกาสให้มีการรับฟังคำแนะนำ ข้อคิดเห็น และการมีส่วนร่วมในการวางแผนการดำเนินโครงการ และการนำผลงานที่ได้ไปใช้ประโยชน์ร่วมกันในอนาคต

นอกจากนี้คณะผู้วิจัยตระหนักถึงความสำคัญและความจำเป็นที่จะต้องมีการประชุมเพื่อนำเสนอและติดตามความก้าวหน้าของงานวิจัยในแต่ละโครงการย่อยทั้งสามโครงการเป็นระยะๆ เพื่อให้สามารถวางแผนงานในการปฏิบัติงานวิจัยและบูรณาการ และทำการวิเคราะห์ข้อมูลร่วมกันอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด คณะผู้วิจัยจึงเห็นควรให้มีการจัดประชุมประสานงาน เพื่อติดตามความก้าวหน้าไปในคราวเดียวกันนี้ด้วย

วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อจัดประชุมชี้แจงรายละเอียดและแผนการดำเนินงานของโครงการแก่กลุ่มภาคีเครือข่ายผู้เกี่ยวข้อง
- 2) เพื่อรับฟังคำแนะนำ ข้อคิดเห็นโดยรวม และส่งเสริมการมีส่วนร่วมในการวางแผนการดำเนินโครงการจากกลุ่มภาคีเครือข่ายผู้เกี่ยวข้อง
- 3) เพื่อเปิดโอกาสให้มีการอภิปราย และการวางแผนการดำเนินงานวิจัยร่วมกันระหว่างคณะนักวิจัยและสมาชิกในกลุ่มภาคีเครือข่าย
- 4) เพื่อนำเสนอและติดตามความก้าวหน้าของการดำเนินงานวิจัยในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมา และวางแผนการทำงานวิจัยในขั้นถัดไปร่วมกันระหว่างโครงการย่อยทั้งสามโครงการ

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) เครือข่ายผู้เกี่ยวข้อง รับทราบถึงที่มา วัตถุประสงค์โดยรวมของโครงการ และแผนการดำเนินงานในแต่ละโครงการย่อย และให้ความเห็นชอบในการดำเนินโครงการร่วมกัน
- 2) คณะนักวิจัยได้รับฟังความคิดเห็น และข้อเสนอแนะจากทุกภาคส่วนสามารถระบุผู้ประสานงานหรือผู้รับผิดชอบหลักจากกลุ่มภาคีเครือข่าย (contact person) ซึ่งจะทำงานร่วมกันกับแต่ละส่วนของโครงการย่อย
- 3) ได้แผนการดำเนินงานโครงการ (draft work plan) ในแต่ละโครงการย่อย และแนวทางการประสานงานเพื่อการวิจัยแบบบูรณาการ (timing, collaborative framework, etc.)

- 4) คณะผู้วิจัยนำเสนอรายงานความก้าวหน้า และรับทราบผลการดำเนินงานของโครงการย่อยต่างๆ รวมทั้งรับทราบภาพรวมของการดำเนินชุดโครงการวิจัยในรอบ 6 เดือนที่ผ่านมา
- 5) คณะนักวิจัยร่วมกันแก้ปัญหาและวางแผนในการปฏิบัติงานวิจัยในช่วงเวลาต่อไป

วัน เวลา สถานที่

วันที่ 17 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 เวลา 9:00 น. ถึง 18:00 น.

ณ ห้อง Renoir โรงแรมโนโวเทล สยามสแควร์

ผู้เข้าร่วมประชุม ประมาณ 45 คน ประกอบด้วยผู้แทนจาก

- สกว.
- องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ
- ผู้ทรงคุณวุฒิในสาขาที่เกี่ยวข้อง
- ภาควิชาที่เกี่ยวข้อง

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

- คณะนักวิจัยจาก 3 โครงการย่อย

งบประมาณ ขออนุมัติใช้งบประมาณค่าใช้จ่ายจาก สกว. ตามรายละเอียดดังนี้

รายละเอียดค่าใช้จ่าย	จำนวนเงิน (บาท)
1. งบสำหรับการประชุมประสานงานของชุดโครงการ (32,700 บาท)	
- ค่าใช้จ่ายในการประชุมสำหรับ นักวิจัยและผู้ทรงคุณวุฒิ จำนวน 20คน (คนละ 1,090 บาท)	32,700
2. งบสำหรับการจัดประชุมทุกภาคส่วน (30,000 บาท)	
- ค่าใช้จ่ายในการประชุมสำหรับ ผู้แทนภาควิชาที่เกี่ยวข้อง จำนวน 25คน (คนละ 1,090 บาท)	27,250
- ค่าจัดทำเอกสารประกอบการประชุม	2,750
รวม (หกหมื่นสองพันเจ็ดร้อยบาทถ้วน)	62,700

หมายเหตุ : หากมีค่าใช้จ่ายส่วนที่เกินให้นำมาหักจากงบประมาณของแต่ละโครงการย่อย

กำหนดการ

การประชุมภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในการดำเนินโครงการ ครั้งที่ 1 (Inception meeting)

และการประชุมประสานงานเพื่อติดตามความก้าวหน้าของชุดโครงการ

“การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

วันที่ 17 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 เวลา 9:00 น. ถึง 18:00 น.

ณ ห้อง Renoir โรงแรมโนโวเทล สยามสแควร์

เวลา	กำหนดการ
9:00-9:30 น.	ลงทะเบียน และอาหารว่าง
9:30-9:45 น.	กล่าวต้อนรับ และเปิดงานประชุม โดย ผู้อำนวยการ ฝ่ายเกษตร สกว. และ คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
9:45-10:15 น.	แนะนำผู้เข้าร่วมประชุม และที่มาของโครงการ (สพ.ญ.ดร.วันชัย กัลป์ประวิทย์)
10:15-11:30 น.	กรอบแนวคิด และภาพรวมของชุดโครงการวิจัย “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ” โดย รศ.สพ.ญ.ดร.สันนิษา สุรทัตต์ (15 นาที) การนำเสนอโดยโครงการวิจัยย่อย (โครงการละ 20 นาที) โครงการย่อยที่ 1) บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว โครงการย่อยที่ 2) การสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน และ โครงการย่อยที่ 3) การศึกษาในนิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว
11:30-12:00 น.	ตอบข้อซัก-ถาม อภิปรายภาพรวมของโครงการโดยสมาชิกในภาคีเครือข่าย
12:00-13:00 น.	อาหารกลางวัน
13:00-14:00 น.	อภิปรายกลุ่ม 3 กลุ่มย่อย (การวางแผนปฏิบัติงานในแต่ละโครงการย่อย)
14:00-14:30 น.	นำเสนอผลการอภิปราย และวางแผนงานโดยรวม
14:30-15:00 น.	วางแผนและแนวทางการประสานงานร่วมกัน ปิดประชุมในส่วนภาคีเครือข่าย
15:00-15:30 น.	พัก กาแฟ-ชา

เฉพาะกลุ่มนักวิจัยและ สกว./FAO	
15:30-18:00 น.	ประชุมประสานงานชุดโครงการ และวางแผนการดำเนินงานในขั้นถัดไป
	วาระการประชุม - สรุปผลการประชุมภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในช่วงเช้า-บ่าย - ติดตามรายงานความก้าวหน้าในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา - ชี้แจงแผนการดำเนินงานในแต่ละกลุ่มงานในช่วงถัดไป - วางแผนการดำเนินงานร่วมกันสำหรับช่วงถัดไป
18:00 น.	ปิดประชุม

รายงานการประชุมภาคีเครือข่ายและการประชุมประสานงานชุดโครงการ

“การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

วันที่ กุมภาพันธ์ 17 พ.ศ. 2555 เวลา 9.00 -18.00 น.

ณ โรงแรมโนโวเทล สยามสแควร์ กรุงเทพมหานคร

รายละเอียดการประชุม

9.30 น. กล่าวต้อนรับ และเปิดการประชุม

โดย ศ.น.สพ. มงคล เตชะกำพุ คณะบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
และ รศ.ดร.จันทร์จิรัส ธีรเวคชะ ผอ.ฝ่ายเกษตร สกว.

9.50 น. แนะนำผู้เข้าร่วมประชุมทั้งผู้วิจัยและจากทางภาคีเครือข่าย และที่มาของโครงการ

โดย น.สพ.ดร. คเชนทร์ วงศ์สถาพรชัย โดยมีเนื้อหาโดยสรุปดังนี้

การประชุมภาคีเครือข่าย ครั้งที่ มีผู้เข้าร่วมประชุมจากทีมของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ 1 มหาวิทยาลัย ทีมของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทีมจากกรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและ สำน.พันธุ์พืช กรมปศุสัตว์ สกวกโรคติดต่ออุบัติใหม่ กรมควบคุมโรค สำนักงานสาธารณสุข และโรงพยาบาล ส่งเสริมสุขภาพตำบลจากอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี และตัวแทนจากอาหารและการเกษตรแห่ง สหประชาชาติ (FAO) โดยมีวัตถุประสงค์ ได้แก่ เพื่อชี้แจงแผนการดำเนินงานในเบื้องต้น และรับฟังข้อคิดเห็น และร่างแผนการดำเนินงานร่วมกันระหว่างภาคีเครือข่าย ผลที่คาดว่าจะได้รับ คือ แผนการดำเนินงานร่วมกัน ระหว่างภาคีเครือข่าย (joint work plan) และกรอบและแนวทางการประสานงานความร่วมมือ (collaborative framework)

โรคอุบัติใหม่เกิดขึ้นได้ตลอดเวลา ทุกวัน ทุกวินาที ยกตัวอย่างย้อนไป 15 ปี โรคอุบัติใหม่ในสุกร เริ่ม ตั้งแต่ปี 1997 โรค Menangle เกิดในบางส่วนของประเทศออสเตรเลีย ปี 1998 โรค porcine circovirus ใน ประเทศแคนาดา และโรค Nipah ในประเทศมาเลเซีย เป็นพื้นฐานในการพัฒนาการวิจัยของโครงการนี้ขึ้นมา ปี 2003 เกิดโรค SARS ที่ประเทศจีน ปี 2008 เกิดโรค Reston Ebola ที่ประเทศฟิลิปปินส์ ปี 2009 เกิดโรค Borna ในประเทศจีน และปี 2010 เกิด porcine Boca-like virus ที่ประเทศจีน เชื่อเหล่านี้มีวิวัฒนาการมาเรื่อยๆ

ปัจจุบันปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคอุบัติใหม่มีความซับซ้อนและเอื้ออำนวยให้โรคอุบัติใหม่ การ แพร่กระจายของโรค และการผสมข้ามสายพันธุ์ของเชื้อเกิดได้ง่ายและสร้างปัญหา ได้แก่ การเดินทางที่ สะดวกสบาย การแลกเปลี่ยนสินค้าปศุสัตว์ ฯลฯ ปัญหาในแง่ของการทำลายป่าไม้ ทำให้เกิดโรคภัยต่างๆ เช่น Nipah Hendra และ Ebola ขึ้นมาได้ โรคที่เคยเกิดขึ้นในสัตว์ป่าก็ย้ายมาติดสัตว์ปศุสัตว์ หรือโรคที่เคย เกิดในสัตว์ปศุสัตว์ก็ย้ายไปติดในสัตว์ป่าได้ รวมไปถึงพฤติกรรมของคนในการนำสัตว์ป่ามาบริโภคหรือขาย เป็น

สาเหตุพื้นฐานให้เกิดโรคในคนได้หลายโรค เช่น HIV (เดิมเคยอยู่ใน Chimpanzee) นอกจากนี้ยังเกิดเนื่องจากการนำสัตว์ป่ามาเลี้ยงในฟาร์ม เป็นสาเหตุพื้นฐานการเกิดโรค SARS ในประเทศจีน ยิ่งไปกว่านั้นการขายสัตว์ป่าก็เป็นสาเหตุพื้นฐานในการทำให้เกิด Monkey pox รวมทั้งสัตว์ที่เป็นพาหะนำโรคและแมลงที่เป็นพาหะนำโรคต่างๆ เช่น ปัญหา Chikungunya ในภาคใต้ในประเทศไทย ดังนั้นจึงต้องมีการป้องกันและควบคุมการเคลื่อนย้ายสัตว์ รวมไปถึงการเตรียมความพร้อมก็มีความสำคัญมากด้วยเช่นกัน ยกตัวอย่างการเกิดโรคนี้ปาห์ที่มาเลเซียเมื่อปี 1998 ผลกระทบที่เกิดขึ้นจากโรคอุบัติใหม่นั้นมีความรุนแรงมากเกินกว่าที่เราจะคาดถึง คนป่วยมากถึง 258 คน เสียชีวิตอย่างน้อย 100 คน สูญรณทำลายไป 46% ของสุกรทั้งประเทศ เศรษฐกิจสูญเสียไปมาก และยังมีผลกระทบทางสังคมอีกด้วย ดังนั้นการเตรียมความพร้อมก่อนถือว่าเป็นสิ่งสำคัญทั้งในแง่ของการเตรียมความพร้อมเพื่อที่จะควบคุมโรคถ้าโรคจะเกิดขึ้นจริงๆ รวมไปถึงให้มีผลกระทบเกิดขึ้นน้อยที่สุด

สกว. จึงมีแนวคิดที่จะสนับสนุนองค์ความรู้ทางด้านนี้ ภาครัฐก็เริ่มมีการขับเคลื่อนทางด้านนี้มาเป็นระยะเวลาหนึ่ง แต่สิ่งที่ประเทศไทยยังขาดอยู่คือ incidence เมื่อภาควิชาการก็ต้องการขับเคลื่อนองค์ความรู้ทางด้านนี้ด้วยเช่นกัน จึงเห็นว่าภาครัฐและภาควิชาการสามารถสนับสนุนซึ่งกันและกันได้ ภาครัฐจะสมบูรณ์ได้ก็ต้องมีงานวิจัยเข้ามาช่วยสนับสนุน และประเทศไทยก็มีจุดแข็งด้านวิชาการ สกว.จึงเข้ามาสนับสนุนในเรื่อง. บัติใหม่ในคน ส่วนในมองเห็นว่าคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยมีศูนย์เฝ้าระวังโรคติดต่อ.นี้ สกว. ด้านคณะสัตวแพทยศาสตร์ก็มีศูนย์วิจัยโรคอุบัติใหม่ฯ ในสัตว์ และทางด้านคณะแพทยศาสตร์ก็มีการติดต่อทำงานกับกรมอุทยานฯ มาเป็นระยะเวลายาวนาน จึงเกิดความร่วมมือระหว่างจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในฝั่งของคณะแพทยศาสตร์ และคณะสัตวแพทยศาสตร์ กับสกว. ขึ้นมา

เมื่อวันที่ 20 พฤษภาคม 2554 ได้มีการเซ็นสัญญา MOU ระหว่าง สกว. และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เรื่อง “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ” ขึ้น เพื่อให้มีกลไกและการสนับสนุนการประสานงานระหว่างหน่วยงาน องค์กร และภาคส่วนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างองค์ความรู้ทางด้านวิชาการที่เกี่ยวข้องกับโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำและมีวิธีการบริหารจัดการเพื่อให้เกิดการนำไปใช้ประโยชน์ในการเตรียมความพร้อมสำหรับประเทศไทย ซึ่งมีภาคีเครือข่าย ได้แก่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช กรมปศุสัตว์ สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

10.25 น. กล่าวถึงกรอบแนวคิด และภาพรวมของชุดโครงการวิจัย

โดย รศ.สพ.ญ.ดร. สันนิภา สุรทัตต์ โดยมีเนื้อหาโดยสรุปดังนี้

การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ เป็นบันทึกข้อตกลงระหว่าง 2 หน่วยงาน ได้แก่ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีพยานซึ่งเป็นกลไกสำคัญสำหรับการทำงานของชุดโครงการวิจัยนี้ ก็คือ องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ

(FAO) และกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช มีวัตถุประสงค์ของโครงการ ได้แก่ เพื่อการพัฒนาทางวิชาการด้านโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ (emerging and re-emerging diseases) แบบครบวงจร เพื่อสนับสนุนให้มีกระบวนการจัดการองค์ความรู้ และการประสานภาคีเครือข่ายโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำทั้งในส่วนวิชาการ ภาครัฐ เอกชน และชุมชนที่เกี่ยวข้อง และเพื่อพัฒนาทรัพยากรบุคคลให้มีความพร้อมในการรับมือกับโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ กรอบความร่วมมือของสกว. กับจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยนั้นค่อนข้างกว้าง ซึ่งส่วนมากจะเป็นการสนับสนุนด้านงบประมาณเพื่อการวิจัย ด้านบุคลากรที่เข้ามาในศูนย์วิจัยฯ และการขับเคลื่อนผลการวิจัยให้เป็นประโยชน์ต่อสมาชิก

องค์ประกอบชุดโครงการมี 3 โครงการย่อย

โครงการย่อยที่ 1) บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว (รับผิดชอบโดยคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีหัวหน้าโครงการ คือ รศ.สพ.ญ.ดร.สันนิษา สุรทัตต์)

โครงการย่อยที่ 2) การสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน (รับผิดชอบคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีหัวหน้าโครงการ คือ ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา)

โครงการย่อยที่ 3) การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว (โดยความร่วมมือของกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และคณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มีหัวหน้าโครงการ คือ ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤกษชาติ)

ทั้ง 3 โครงการต้องมีการติดต่อกันสม่ำเสมอ ทำงานร่วมกัน มีการประชุมเป็นประจำ มีการปรึกษากับภาคีเครือข่ายต่างๆ วิธีการดำเนินงานของทั้ง 3 ชุดโครงการ คือ สำรวจและหาบริเวณที่มีความเสี่ยงสูงที่เหมาะสมต่อการที่จะเข้าไปศึกษา หลังจากนั้นจึงวางแผนการวิจัยในลักษณะ interface studies มองความสัมพันธ์ของคน สัตว์เลี้ยง แมลง และค้างคาวไปพร้อมๆ กัน นำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยไปสร้างความเข้มแข็งและเสริมสร้างความรู้ให้กับชุมชนได้ สร้างองค์ความรู้ที่จะสามารถนำไปใช้เป็นโมเดลในการทำงานร่วมกันได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลความสัมพันธ์ บทบาท และปัจจัยเสี่ยงของแมลงพาหะนำโรค สัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า ต่อการเกิดโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำในประเทศไทย
2. ได้องค์ความรู้ และวิธีการบริหารจัดการการเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำสำหรับประเทศไทย
3. ได้แนวทาง ข้อเสนอแนะ คู่มือ และสื่อประชาสัมพันธ์

4. ได้ข้อมูลเพื่อการตัดสินใจ และหรือข้อเสนอเชิงนโยบาย
5. ได้บุคลากรที่มีความรู้และประสบการณ์ในการศึกษาวิจัย
6. ได้ผลงานวิจัยตีพิมพ์ในระดับชาติ และระดับนานาชาติ

ผลลัพธ์ที่คาดว่าจะได้รับการดำเนินงานของชุดโครงการ

1. เกิดกลไกการประสานงานระหว่างหน่วยงาน องค์กร และภาคส่วนต่างๆ
2. เกิดการมีส่วนร่วมของชุมชนในพื้นที่เสี่ยงในการเฝ้าระวังและป้องกันโรค
3. เพิ่มขีดความสามารถของบุคลากรที่มีส่วนเกี่ยวข้อง และประชาชนกลุ่มเสี่ยงให้มีความรู้และมีความพร้อมรับมือกับโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ
4. ได้ risk communication ของการป้องกันการติดเชื้อโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำของประเทศไทยที่ได้รับการยอมรับจากองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และองค์การอนามัยโลก (WHO)
5. ได้ต้นแบบความร่วมมือของภาคส่วนต่างๆ ในการสนับสนุนบุคลากร ข้อมูล เครื่องมือ และงบประมาณเพื่อการวิจัยการเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ

10.45 น. การนำเสนอโดยโครงการย่อย

โครงการย่อยที่ 1 บทบาทบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว โดย น.สพ.รชฏ ดันติเลิศเจริญ

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของการได้รับเชื้อนิปาห์ และหรือโรคอุบัติใหม่อื่นๆ ในสุกรและ/สัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ในเขตพื้นที่ที่มีค้างคาวที่พบเชื้อไวรัสนิปาห์ ศึกษาบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคในนิเวศวิทยาของโรคไวรัสนิปาห์ และและศึกษาปัจจัย หรือโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษา/หรือแมลงพาหะนำโรคสู่สุกร และสัตว์เลี้ยงในพื้นที่/เสี่ยงที่มีผลต่อการแพร่เชื้อจากค้างคาว และที่ทำการศึกษา

การดำเนินการวิจัย เริ่มจากการสำรวจพื้นที่ โดยมีเกณฑ์การคัดเลือกพื้นที่ในการวิจัยดังนี้ คือ เป็นพื้นที่ที่มีค้างคาวอาศัยอยู่อย่างหนาแน่น เป็นพื้นที่ที่มีฟาร์มสุกรหรือสุกรหลังบ้านอยู่ใกล้แหล่งค้างคาว และสามารถเข้าพื้นที่อย่างต่อเนื่องได้ และได้รับความร่วมมือจากสมาชิกในท้องถิ่น ต่อไปเป็นการสำรวจฟาร์ม ซึ่งมีเกณฑ์การคัดเลือกฟาร์มสุกร ได้แก่ เป็นคอกสุกรในครัวเรือน หรือเป็นฟาร์มสุกรขนาดเล็ก ควรจะมีสัตว์เลี้ยงอื่นๆ ในครัวเรือน โดยที่ทั้งสุกรและสัตว์เลี้ยงอื่นๆ มีโอกาสที่จะสัมผัสค้างคาวได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม และที่สำคัญคือ เจ้าของยินดีให้ความร่วมมืออย่างต่อเนื่อง

กิจกรรมในการดำเนินงาน เช่น การเก็บข้อมูลฟาร์ม (ชุกประวัติ ปัจจัยเสี่ยง รูปแบบการเลี้ยง ประวัติการป่วย การป้องกันโรค สัตว์เลี้ยงอื่นๆ ในฟาร์ม การเคลื่อนย้ายสุกร เป็นต้น) การเก็บตัวอย่างจากค้างคาว

(โครงการย่อยที่ 2) การเก็บตัวอย่างยุง เก็บตัวอย่างจากสุกร (ตัวอย่างเลือดและตัวอย่างเชื้อจากการป้ายจมูก) การเก็บตัวอย่างจากสัตว์เลี้ยงอื่นๆ (ตัวอย่างเลือดและตัวอย่างเชื้อจากการป้ายจมูก) นอกจากนี้ยังตรวจหาเชื้อก่อโรคที่สำคัญในสุกรและตรวจสถานะภูมิคุ้มกันโรคติดเชื้อที่สำคัญในสุกร โรคที่เป็นโรคสัตว์สู่คน เช่น Nipah Virus Influenza Virus Japanese encephalitis และ โรคติดเชื้อที่สำคัญในสุกร เช่น PRRS PCV2 และยังมีการตรวจหาเชื้อก่อโรคในสัตว์ที่เป็นโรคสัตว์สู่คนที่มียุงเป็นพาหะ ได้แก่ Chikungunya Japanese encephalitis West Nile Virus Nipah Virus รวมไปถึงการให้ความรู้ในการเลี้ยงสัตว์อย่างปลอดภัย

จังหวัดชลบุรี อำเภอบางคล้า จังหวัด บริเวณที่เป็นเป้าหมายในการเก็บตัวอย่าง คือ อำเภพนสนธิคม ฉะเชิงเทรา และอำเภอมะนัง จังหวัดปราจีนบุรี

โครงการย่อยที่ 1 บทบาทบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว โดย ผศ.น.สพ.ดร.สนธยา เตียวศิริทรัพย์

เรื่องการศึกษาบทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคในนิเวศวิทยาของนิปาห์ และโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่ที่ทำการศึกษา ซึ่งพื้นที่ที่ทำการศึกษาค้นคว้าจากการเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว และฟาร์มสุกรในบริเวณพื้นที่ใกล้เคียงกับแหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาว โดยเฉพาะอย่างยิ่งฟาร์มสุกรที่เป็นฟาร์มเปิดและพบว่ามีค้างคาวบินเข้ามาหาอาหารกิน

การศึกษาชนิด ปริมาณ และการติดเชื้อในยุง โดยเก็บตัวอย่างยุงจากพื้นที่โดยใช้กับดักยุงชนิด CDC light trap และน้ำแข็งแห้งในการล่อยุง จากนั้นนำยุงมาจำแนกชนิด และนับจำนวนของยุง แล้วจึงสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อจากตัวอย่างยุง เพื่อตรวจหาเชื้อในตัวอย่างด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา (RT-PCR) ต่อไป ซึ่งมีระยะเวลาที่ศึกษาตั้งแต่เดือนกันยายน 2554 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2555 และทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 เดือนหรือประมาณ 4 ครั้งต่อปี

โครงการย่อยที่ 2 การสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน โดย ดร.สุภาภรณ์ วัชรพุกษาศิ

ไวรัสนิปาห์มีการระบาดครั้งแรกที่ประเทศมาเลเซีย ในเวลา 9 เดือน มีคนเสียชีวิต 105 ราย มีการสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจของปศุสัตว์ และการท่องเที่ยว ไวรัสนิปาห์มีค้างคาวเป็นแหล่งรังโรค และมีสุกรเป็นตัวพาหะเชื้อ และที่ประเทศบังคลาเทศก็มีการระบาดของไวรัสนิปาห์เช่นกัน ซึ่งเกิดขึ้นตั้งแต่ปี 2001 ถึงปัจจุบัน มีคนเสียชีวิตไปแล้ว 248 ราย เมื่อปี 2011 ที่ประเทศบังคลาเทศมีคนติดเชื้อ 28 รายและเสียชีวิตทั้งหมด (อัตราการเสียชีวิต 100%) พฤติกรรมการติดเชื้อไวรัสนิปาห์ที่ประเทศบังคลาเทศเกิดจากการดื่มน้ำอินทผลัมสดซึ่งมีค้างคาวไปกิน มีการศึกษาวิจัยแล้วว่าเชื้อนิปาห์ไวรัสนั้นอยู่ในน้ำลายและปัสสาวะของค้างคาว รวมทั้งเลือดด้วย อาการป่วยของผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อไวรัสนิปาห์ คือ ไข้สมองอักเสบ (มีไข้สูง อาการ

เหมือนเป็นหวัด ไม่ค่อยรู้สึกตัว การรับรู้เปลี่ยนแปลงไป ที่ประเทศบังคลาเทศจะมีอาการของระบบทางเดินหายใจร่วมด้วย) ที่ประเทศไทยพบเชื้อไวรัสซิกาในค้างคาวแต่ยังไม่พบในคน เมื่อเปรียบเทียบการระบาดของไวรัสซิกาที่ประเทศมาเลเซียและบังคลาเทศจะพบว่าที่ประเทศมาเลเซียนั้นมีการระบาดแค่ครั้งเดียว กำจัดสุกรครึ่งประเทศแล้วการระบาดจบลง จนถึงตอนนี้ก็ยังไม่มียางานอีกเลย อาการของผู้ป่วยมีเพียงสมองอักเสบอย่างเดียว ส่วนที่ประเทศบังคลาเทศนั้นเกิดการนิสัยการบริโภค ทำให้การระบาดเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง อาการของผู้ป่วยมีทั้งสมองอักเสบร่วมกับระบบทางเดินหายใจ จึงเป็นที่มาว่าที่ประเทศบังคลาเทศมีการติดต่อของโรคจากคนสู่คนได้นอกเหนือจากการดื่มน้ำอินทผลัม เป็นไปได้ว่าสาธารณสุขของทั้ง 2 ประเทศนั้นมีความแตกต่างกัน

สืบเนื่องมาจากการทำงานวิจัยร่วมกับกรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืชตั้งแต่ปี 2002 ในการสำรวจและเก็บตัวอย่างจากค้างคาว ในปี 2005 จึงมีการรายงานการพบเชื้อไวรัสซิกาในประเทศไทยในค้างคาวหลายชนิด ซึ่งเชื้อไวรัสซิกาที่พบนั้นมีทั้งสเตรนที่มาจากประเทศมาเลเซียและประเทศบังคลาเทศ จึงมี 2 ความเสี่ยงในประเทศไทย ทั้งหมดนี้จึงเป็นที่มาของโครงการนี้

สำหรับการสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ต้องการสร้างความรู้ให้กับชุมชนที่มีความเสี่ยง โดยสร้างหลักสูตรในการเตรียมความพร้อมให้กับประชาชนให้รับมือได้กับโรคอุบัติใหม่ และมีการประเมินพฤติกรรมความเสี่ยง สร้างเครือข่ายระดับท้องถิ่น

โครงการแรกเป็นโครงการสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัสซิกาในประชาชนกลุ่มเสี่ยง โดยเจาะเลือดประชาชนในพื้นที่เสี่ยง มาตรวจว่ามี seropositive หรือมีระดับแอนติบอดีขึ้นต่อเชื้อไวรัสซิกา การพบแอนติบอดีหมายความว่าประชาชนในพื้นที่นั้นอาจจะเคยติดเชื้อมาก่อน ซึ่งจากการสำรวจพื้นที่เสี่ยงพบที่วัดหลวงพรหมवास อำเภอพนสนิม จังหวัดชลบุรี มีค้างคาวโคโลนีใหญ่อาศัยอยู่ นอกจากนี้ยังมีแบบสอบถามถึงพฤติกรรมเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อไวรัสซิกา

โครงการที่ 2 คือ โครงการเตรียมความพร้อมประชาชนและบุคลากร สร้างอาสาสืบสวนโรค เพื่อพัฒนาศักยภาพของอสม. ในพื้นที่เสี่ยง แล้วแจ้งให้ทีมงานทราบในกรณีที่พบผู้ป่วยที่เป็นโรคสมองอักเสบ จะส่งทีมแพทย์ลงไปตรวจสอบเจาะเลือดไปตรวจที่โรงพยาบาลจุฬาฯ นอกจากนี้ยังต้องการสร้างความ “รู้...สู้...ปาร์” เพื่อให้ประชาชนและนักท่องเที่ยวมีความรู้ ตอนนี้กำลังสร้างสื่อที่มีเนื้อเรื่องเกี่ยวกับโรคภัยไข้เจ็บที่อาจเกิดขึ้นอันเนื่องมาจากค้างคาว รวมทั้งเป็นสื่อที่บอกถึงการอยู่ร่วมกันกับค้างคาวอย่างถูกต้อง โดยก่อนสร้างสื่อจะให้ทำแบบประเมินระดับความรู้ของคนในพื้นที่เรื่องโรคจากสัตว์สู่คนทั้งเรื่องโรคพิษสุนัขบ้า โรคชิคางัว รวมทั้งโรคอุบัติใหม่เพื่อนำมาปรับให้สื่อที่จะสร้างมีความเหมาะสมและได้ผลกับประชาชนในพื้นที่ สื่อเป็นโปสเตอร์ภาษาอังกฤษ ซึ่งกำลังจะแปลเป็นภาษาไทย

โครงการย่อยที่ 3 การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว

โดย ดร.สุภาภรณ์ วัชรพุกษาคี และ อ.ดร.ประทีป ด้วงแค

ปี 2005 มีรายงานการพบเชื้อไวรัสนิปาห์ในค้างคาวในประเทศไทย ค้างคาวที่สำรวจ 12 ชนิด มีอยู่ 4 ชนิดที่พบเชื้อไวรัสนิปาห์ ได้แก่ ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ค้างคาวแม่ไก่ป่าฝน ค้างคาวกินแมลง และค้างคาวหน้ายักษ์สามหลืบ ส่วนการทำ PCR พบ RNA virus ในค้างคาวจากการศึกษาแรกก็คือ ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง และค้างคาวหน้ายักษ์สามหลืบ สำหรับเลือดค้างคาวที่ได้นำมาทำ PCR รายงานผลว่า การต้มเลือดค้างคาวมีอันตรายสามารถติดเชื้อไวรัสนิปาห์จากค้างคาวได้ จากการลงพื้นที่สำรวจปัสสาวะค้างคาวเป็นเวลา 2 ปีพบว่าเชื้อไวรัสนิปาห์มีกลไกแพร่เชื้อแบบเป็นฤดูกาล ลงพื้นที่ทั้งหมด 7 วัดในภาคกลาง เริ่มตั้งแต่ชลบุรี ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี สระบุรี สิงห์บุรี ออยุธยา และอ่างทอง ค้างคาวปล่อยเชื้อไวรัสนิปาห์มากในช่วงเดือนพฤษภาคม เดือนกุมภาพันธ์กับเดือนตุลาคมไม่พบเชื้อไวรัสนิปาห์ ในช่วงที่พบเชื้อไวรัสนิปาห์มากที่สุดก็พบค้างคาวมากที่สุดเช่นกัน เพราะว่าเป็นช่วงที่ลูกค้างคาวแยกออกจากแม่ ทำให้นับค้างคาวได้จำนวนมากที่สุด

การศึกษาว่าค้างคาวกับสุกรมีความเกี่ยวข้องกันอย่างไร เริ่มจากการสำรวจพื้นที่ศึกษาซึ่งได้แก่ คอกสุกรแบบเปิด และต้องพิสูจน์ว่าค้างคาวมาที่คอกสุกร โดยต้องทำการติดวิทยุที่ตัวค้างคาว และภายในฟาร์มสุกรต้องมีต้นผลไม้เป็นต้นดึงดูดให้ค้างคาวมากินผลไม้ ค้างคาวตัวเดิมจะกลับมาที่ฟาร์มเดิมเพื่อเฝ้าดูการเติบโตของผลไม้ตั้งแต่ออกช่อจนลูกสุก ค้างคาวตัวเดิมจะมี flyway เดิม ดำเนินการเก็บตัวอย่างจากค้างคาวทุกเดือน โดยตั้งตาข่ายดักจับค้างคาวมากกว่า 10 ผืนต่อฟาร์มหรือบ้าน และสถานที่อื่นๆ เช่น ถ้า อุทยานแห่งชาติในแถบภาคตะวันออก เมื่อเสร็จสิ้นโครงการให้ได้จำนวน 1,200 ตัว หลังจากจับค้างคาวได้แล้วให้แยกชนิดของค้างคาว วัดขนาด ชั่งน้ำหนัก เก็บตัวอย่างเลือด ตัวอย่างน้ำลาย มูล และปัสสาวะ แล้วนำไปตรวจแอนติบอดีด้วยอีไลซา ตรวจเชื้อไวรัสนิปาห์ เชื้ออีโบลาระสตันในห้องปฏิบัติการ (ถ้ามีงบเหลือก็จะตรวจเชื้อไวรัสโคโรนาและซิกุนกุนยาด้วย) ซึ่งเป็นโรคที่มีความสำคัญในค้างคาวและสุกร รวมถึงคนด้วย อีกโครงการหนึ่งคือโครงการศึกษาชนิดของสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสนิปาห์ที่พบในประเทศไทยในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางในแต่ละพื้นที่ว่าจะมีความเชื่อมโยงกับการที่จะเกิดโรคระบาดในคน และจากค้างคาวสู่สุกรได้มากน้อยเพียงใด นอกจากนี้ก็งานวิจัยคือ การเก็บปัสสาวะค้างคาวในเขตวัดที่เคยไปมาแล้ว ได้แก่ วัดหลวงพรหมาวาส อำเภอพนสนธิคม จังหวัดชลบุรี วัดโพธิ์ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา วัดท่าซุง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา วัดจันทาราม จังหวัดอ่างทอง วัดเก้าซึ้ง จังหวัดสิงห์บุรี วัดเทวบุตร จังหวัดปราจีนบุรี วัดมงคลทิปาราม จังหวัดสระบุรี ซึ่งทั้ง 7 วัดนี้ใช้วิธีปูพลาสติกเก็บปัสสาวะค้างคาว โดยจะเลือกช่วงเดือนเมษายน และพฤษภาคมที่สามารถพบเชื้อไวรัสนิปาห์ได้

12.00 น. อาหารกลางวัน

13.00 น. อภิปรายกลุ่มย่อย

16.00 น. ตอบข้อซักถาม และการอภิปรายภาพรวมของโครงการโดยสมาชิกในภาคีเครือข่าย

สรุปการตอบข้อซักถามและการอภิปราย

1. เมืองไทยเคยพบว่ามีอุบัติการณ์ของการเกิดโรคชิคาจากันมะพร้าว หรือต้นตาลหรือไม่?
ตอบ ยังไม่มีรายงานคิดว่าส่วนหนึ่งมาจากการต้มหรือเคี้ยวก่อนดื่ม มีรายงานวิจัยว่าเชื้อไวรัสชิคากาอยู่ในน้ำผลไม้ได้ 2-3 วัน
2. เคยได้ยินมาว่าทางกรมอุทยานฯ มีโครงการศึกษาวิจัยค้างคาวที่เกี่ยวข้องกับชิคากาในปี 2555 ซึ่งเป็นค้างคาวกินผลไม้ ตอนนี้งานดำเนินไปอย่างไรแล้ว?
ตอบ แผนการดำเนินงานตอนนี้ออกมาแล้ว อยู่ในขั้นตอนที่จะทำคำสั่งปฏิบัติงานให้เจ้าหน้าที่ มีทั้งหมด 20 โคโลนี วัดหลวงพรหมวาสักเป็นหนึ่งนั้น เก็บตัวอย่างในเดือนเมษายน มิถุนายน และสิงหาคม ตัวอย่างส่งตรวจที่สถาบันสุขภาพสัตว์ ทั้งหมด 300 ตัวอย่าง ทำเป็นแนวการเฝ้าระวังทั่วประเทศ จึงพยายามให้ครอบคลุมทั่วประเทศทุกโคโลนี ถ้าสถาบันสุขภาพสัตว์มีงบประมาณให้ตรวจมากกว่า 300 ตัวอย่างก็อยากจะทำ
ข้อเสนอแนะ ทางกรมปศุสัตว์ก็มีโครงการด้านนี้เช่นกัน ดำเนินการมาระยะหนึ่งแล้ว มีการเฝ้าระวัง มีการสุ่มเก็บตัวอย่างในสุกร และพื้นที่ที่ก็เป็นพื้นที่ใกล้เคียงกันกับกรมอุทยานฯ และใกล้เคียงกับที่โครงการวิจัยฯ นี้ทำงานอยู่ด้วย ก็น่าจะลิงค์การทำงานของกรมอุทยานฯ เข้ามาด้วยน่าจะเป็นประโยชน์มาก อย่างที่วัดหลวงพรหมวาสักจะเป็นจุดที่มีกิจกรรมของทั้งคน ค้างคาว และสัตว์เลี้ยง ค่อนข้างจะครบที่สุด อาจจะเอาตรงนี้เป็นจุดเริ่มต้น แล้วก็ดูว่าจากโครงการวิจัยจะสามารถลิงค์กิจกรรมต่างๆ ระหว่างกันได้หรือไม่ ให้ไม่ซ้ำซ้อนกัน หรือด้านการตรวจตัวอย่างก็ตาม
3. ทางกรมปศุสัตว์มีการเก็บตัวอย่างของสุกรตรวจเป็นประจำอยู่แล้ว ปีหนึ่งหลายพันตัวอย่าง แล้วส่วนของโครงการวิจัยก็ทำด้วย ที่นี้จะซ้ำซ้อนกันหรือเปล่า?
ตอบ โครงการวิจัยจะลงในรายละเอียดที่ลึกกว่า ส่วนกรมปศุสัตว์จะเป็นการ surveillance ในระดับประเทศมากกว่า และช่วงเวลาก็อาจจะไม่เหมือนกัน
เพิ่มเติม โครงการของกรมปศุสัตว์ทำมาเกือบ 5 ปีแล้ว criteria เป็นบริเวณที่เลี้ยงสุกรหนาแน่น เป็นพื้นที่ที่เคยมีการระบาด และอยู่ใกล้ๆ สวนผลไม้ เพราะฉะนั้นในหนึ่งปีจะอยู่ที่ประมาณ 20-30 จังหวัด ตัวอย่างที่เก็บก็มีจำนวนไม่มาก โดยแบ่งเป็นสุกรที่เลี้ยงในระบบฟาร์มและสุกรที่เลี้ยงในระบบรายย่อย เท่าที่ดำเนินงานมาก็คือ ส่งตัวอย่างไปตรวจที่สถาบันสุขภาพสัตว์ ไม่ได้ตรวจไต่เตอร์ แต่ก็พบว่าบางตัวอย่างที่เป็น reactor จึงจะส่งไปยืนยันที่ออสตรเลียอีกทีหนึ่ง ซึ่งผลออกมาก็ยังเป็นลบอยู่ ที่กรมปศุสัตว์ทำจะไม่ลงในรายละเอียดลึกเท่าโครงการวิจัย แต่ที่คุยกันวันนี้ก็สามารถเอามารวมเข้าด้วยกันได้ กรมปศุสัตว์จะดำเนินงานในเดือนมิถุนายน ซึ่งถ้าได้ข้อมูลจากการวิจัยว่าค้างคาวจะปล่อยเชื้อไวรัสออกมามากในช่วงไหนก็อาจจะมีการปรับเปลี่ยนได้ และอาจจะทำงานกับคณะ

นักวิจัยของโครงการนี้ได้เพื่อที่จะช่วยให้คณะวิจัยมีความสะดวกมากขึ้นในการลงไปเก็บตัวอย่าง เพราะว่าอาจจะมีเจ้าหน้าที่ของกรมเข้าไปมีส่วนร่วมด้วย

4. ในกรณีที่ซีรัมของค่างคาวที่ส่งไปเกิด positive แบบ reactor แล้วทางสถาบันจะรายงานว่าเป็น positive หรือจะต้องส่งไปตรวจที่ออสเตรเลีย หรือว่าสามารถรายงานได้เลย? (ฝ่ายกรมปศุสัตว์ถามสถาบันสุขภาพสัตว์)
5. ถ้าเกิดการระบาดขึ้นมาจริงๆ จะเตือนประชาชนอย่างไร จะรายงานหรือไม่?

ตอบ ในส่วนของโรคติดต่ออุบัติใหม่ที่ดูในคนอยู่ทั้งหมดที่ทำอยู่ก็คือ กำลังพัฒนายุทธศาสตร์แผนโรคติดต่ออุบัติใหม่ ซึ่งจะไปเข้าร่วมอภิปรายในเดือนมีนาคม สำหรับการตรวจถ้าผลการตรวจออกมา positive อยากให้ไป alert ในกลุ่มก่อนเรื่องการเฝ้าระวังในแต่ละภาคส่วนทั้งคน สัตว์เลี้ยง สัตว์ป่า หรือสิ่งแวดล้อม กลไกในการแจ้งข่าวของแต่ละภาคส่วนจะเป็นอย่างไรนั้นต้องมาคุยกันอีกครั้งหนึ่ง นอกจากนี้ในส่วน of one health กำลังพัฒนาเว็บไซต์อยู่ ถ้ามีอะไรเกิดขึ้นสามารถเข้ามาแบ่งปันและแลกเปลี่ยนข้อมูลได้

รายงานสรุปการอภิปรายกลุ่มย่อย
การประชุมภาคีเครือข่ายและการประชุมประสานงานชุดโครงการ
“การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”
วันที่ 2555 .ศ.กุมภาพันธ์ พ 17 เวลา .น 16.00- 13.00

โครงการย่อยที่ 1 บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของ
โรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว

ผู้เข้าร่วมอภิปรายกลุ่มย่อยที่ 1

- | | |
|--------------------------------------|--|
| 1. รศ.สพ.ญ.ดร. สันนิภา สุรทัตต์ | คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
หัวหน้าโครงการย่อยที่ 1 / FAO |
| 2. ผศ.น.สพ.ดร. ภาวิน ผดุงทศ | FAO-RAP |
| 3. รศ.สพ.ญ.ดร. อรสิริ ชื่นทรงวง | คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| 4. น.สพ. โรจน์ชนะ ปรากฏชื่อ | สคบ. กรมปศุสัตว์ |
| 5. สพ.ญ. อรพันธ์ ภาสกรกุล | สคบ. กรมปศุสัตว์ |
| 6. สพ.ญ. วิรงค์รอง หุ่นสุวรรณ | สคบ. กรมปศุสัตว์ |
| 7. น.สพ.ดร. คเชนทร์ วงศ์สถาพรชัย | FAO/สคบ. กรมปศุสัตว์ |
| 8. สพ.ญ. ณัฐวดี ภมรานนท์ | สคบ. กรมปศุสัตว์ |
| 9. ผศ.น.สพ.ดร. สนธยา เตียวศิริทรัพย์ | ผู้วิจัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| 10. อ.สพ.ญ.ดร. จุฑาทิพย์ เขียวเจริญ | ผู้วิจัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| 11. น.สพ. รชฎ ดันติเลิศเจริญ | ผู้วิจัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |

สรุปผลการอภิปราย

1. นำเสนอผลการดำเนินงานเบื้องต้นของโครงการ ประเด็นปัญหาที่พบ และขอแนวทางการแก้ไขปัญหา
 - ปัญหาหลักคือการขอความร่วมมือเกษตรกรในพื้นที่ค่อนข้างยาก เนื่องจากความไม่ไว้วางใจ และมีสถานการณ์การระบาดของโรคบางชนิด เช่น โรคปากเท้าเปื่อย
 - การติดต่อประสานงานเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ในพื้นที่ยังไม่ราบรื่นเท่าที่ควร
 - ปัญหาการเก็บตัวอย่างไม่ได้ตามช่วงเวลาที่กำหนดไว้ในแผน เนื่องจากปัญหาอุทกภัยในปลายปี 2554
2. ขยายความร่วมมือของโครงการวิจัยไปยังกรมปศุสัตว์
 - แจ้งให้กรมปศุสัตว์ทราบถึงการดำเนินงานโครงการ โดยการทำบันทึกเรียนท่านอธิบดีกรมปศุสัตว์

- เสนอให้มีผู้วิจัยร่วม หรือผู้ประสานงานจากส่วนงานที่เกี่ยวข้องของกรมปศุสัตว์
 - การประสานงานเจ้าหน้าที่ในพื้นที่ปฏิบัติงาน ขอความร่วมมือในการเข้าพื้นที่หรือร่วมสำรวจเก็บตัวอย่าง อาจติดต่อขอความร่วมมือจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ (ศวพ.) หรือ สำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ (สคบ.) หรือ ศูนย์พัฒนาระบบงานระบาดวิทยาทางสัตวแพทย์
 - เชื่อมโยงกิจกรรมของแต่ละหน่วยงานเข้าด้วยกัน เช่น กิจกรรมเฝ้าระวังโรคของกรมปศุสัตว์ กรมอุทยานแห่งชาติฯ และโครงการวิจัย ทำให้มีการแบ่งปันตัวอย่าง ข้อมูล หรือกำลังผู้ปฏิบัติงานอย่างมีประสิทธิภาพ
 - กระบวนการแจ้งหรือรายงานผลในกรณีตรวจพบโรคที่ต้องรายงานให้ติดต่อ สคบ.
3. ขยายพื้นที่เป้าหมายในการศึกษา

โครงการย่อยที่ 2 สร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากร ต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน

ผู้เข้าร่วมอภิปรายกลุ่มย่อยที่ 2

- | | |
|---------------------------------|--|
| 1. พญ. อภิษฎา พิณ สาระยา | ผู้วิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| 2. น.ส. ณัฐภาณินี ถนอมศรีเดชชัย | ผู้วิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย |
| 3. น.ส. สนใจ พรพัฒนานิคม | ผู้วิจัย โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลวัดหลวง
อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี |
| 4. นายภาคภูมิ วสิริรัตน์ | ภาคีเครือข่าย สำนักงานสาธารณสุข
อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี |
| 5. พญ. รงนา วัฒนรังสรรค์ | ภาคีเครือข่าย (ส่วนกลาง) สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่
กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข |

แผนงานที่ได้ดำเนินการไปแล้ว

1. การสำรวจภาวะการติดเชื้อโรคสองอักเสบไวรัสนิปาห์ในประชากรกลุ่มเสี่ยง ในพื้นที่ตำบลวัดหลวง อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี โดยได้ดำเนินการสัมภาษณ์ สอบถามพฤติกรรมเสี่ยง ตรวจสุขภาพทั่วไป เจาะเลือดเพื่อตรวจนิปาห์แอนติบอดี
2. การสร้างแบบสืบสวนโรค โดยอาศัยความร่วมมือกับรพสต. อสม. ในชุมชน สร้างแนวทางสืบสวนโรค
 - โดยได้ดำเนินการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการเพื่อฝึกฝนการใช้แบบสืบสวนโรคใช้สมองอักเสบ เมื่อเดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 และเพิ่มพูนทักษะความรู้เกี่ยวกับเรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คนให้กับอสม.

- จากการอบรมได้สรุป ประเด็นปัญหา และข้อสงสัยในการใช้แบบสืบสวนโรคและปรับแก้ไขให้เหมาะสมยิ่งขึ้น ก่อนจะให้อบรม. วัดหลวงนำไปใช้งานจริง ในเดือนมีนาคม 2555 ซึ่งทางทีมผู้วิจัย จะลงพื้นที่ไปตรวจติดตามวิธีการที่สม.ใช้ในการสืบสวนโรค เพื่อที่จะได้ปรับแบบสืบสวนโรคที่ใช้อยู่ให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากที่สุด
3. การสร้างความรู้ในเรื่องโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน
- ได้ดำเนินการสร้างแบบสอบถาม เพื่อนำมาใช้ประเมินความรู้ของคนในพื้นที่เสี่ยงว่ามีความรู้เรื่องโรคสัตว์สู่คนมากน้อยเพียงใด เพื่อนำข้อสรุปที่ได้มาพัฒนาสื่อให้ความรู้ที่เหมาะสมกับคนในพื้นที่เสี่ยงต่อไป

ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

- ทางทีมผู้วิจัย เห็นควรมีการตรวจติดตามการเจ็บป่วยของคนที่มีพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคสองอักษะไวรัสชิคาโก
- นอกเหนือจากการเตรียมความพร้อมของคนในพื้นที่เสี่ยงแล้ว ทางทีมผู้วิจัยจะขยายไปที่โรงพยาบาลพนัสนิคม ในการช่วยตรวจติดตามผู้ป่วยที่เป็นโรคสมองอักเสบที่เข้ามารับการรักษาที่โรงพยาบาล โดยจะทำจดหมายถึงผู้อำนวยการโรงพยาบาล เพื่อขอประสานในการขอข้อมูล และรับตัวอย่างที่ส่งตรวจ ในกรณีที่สงสัยว่าเป็นโรคสมองอักเสบ
- ทางรพสตเสนอให้มีการลงพื้นที่เพิ่มเติม ในวันศุกร์แรก .ของเดือนที่จะมีการประชุมของชมรมผู้สูงอายุของตำบลวัดหลวง เพื่อให้ความรู้ความเข้าใจแก่ผู้ที่อาศัยอยู่ในชุมชนนี้เพิ่มขึ้น
- ทางสำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข จะมีการจัดประชุม One Health จะขอความร่วมมือ เชิญทีมผู้วิจัยของโครงการนี้ เข้าร่วมการประชุม เพื่อนำโครงการนี้ไปประชาสัมพันธ์ เผยแพร่เพื่อเป็นโครงการต้นแบบ ให้กับหน่วยงานอื่นๆ

โครงการย่อยที่ 3 การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว

ผู้เข้าร่วมอภิปรายกลุ่มย่อยที่ 3

- | | |
|-----------------------------|---|
| 1. ดร. สุภาภรณ์ วัชรพุกษาศิ | คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผู้วิจัย หัวหน้าโครงการย่อยที่ 3 |
| 2. ดร. ประทีป ดั่งแคน | ผู้วิจัย คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| 3. น.สพ. ภัทรพล มณีอ่อน | ผู้วิจัย กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช |
| 4. สพ.ญ. พิมพ์ชนก สรรมงคล | ผู้วิจัย กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช |
| 5. น.ส. บุษบง กาญจนสาขา | ภาคีเครือข่าย กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช |

- | | |
|------------------------------------|--|
| 6. นางวัลยา ไชยภักดี | ภาคีเครือข่าย กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช |
| 7. นายพร้อมพงษ์ วิริยะ | ภาคีเครือข่าย หัวหน้าอุทยานแห่งชาติเขาชะเมาเขาวง- |
| 8. นายพรชัย วันสุรจัน | ภาคีเครือข่าย หัวหน้าอุทยานแห่งชาติเขาคิชฌกูฏ |
| 9. นายอภิสิทธิ์ ปิตทอง | ภาคีเครือข่าย หัวหน้าเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาสอยดาว |
| 10. นายสว่าง ทิพนุกูล | ภาคีเครือข่าย หัวหน้าเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า |
| | คลองเครือหวายเฉลิมพระเกียรติ |
| 11. ว่าที่ ร.ต. ไชยพร ชารีแสน | ผู้วิจัยร่วม หัวหน้าสถานีวิจัยสัตว์ป่าฉะเชิงเทรา |
| 12. นายบุญชู อยู่ภู | ภาคีเครือข่าย หัวหน้าเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาอ่างฤๅไน |
| 13. น.สพ.ดร. บริพัตร ศิริอรุณรัตน์ | FAO-RAP |

สรุปผลการอภิปราย

1. ทางกรมอุทยานฯ มีงบประมาณโครงการโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำซึ่งต่อเนื่องมาจากโรคไข้หวัดนก เป็นกิจกรรมภายใต้แผนงานอนุรักษ์ ซึ่งมีงานดังนี้ (เป็นแผนงานประจำปี)
 - งานหน่วยปฏิบัติการเคลื่อนที่
 - งานตรวจค้นหาโรค
 - งานศึกษาวิจัย
 - งานประชาสัมพันธ์
2. ในส่วนของค่างคว ทางกรมอุทยานฯ จะมีการเก็บตัวอย่างในค่างควแม่ไก่ โคโลนี เป็นจำนวน 20 และมีคำแนะนำจากในกลุ่มอภิปรายว่า การเก็บตัวอย่าง ตัวอย่าง เนื่องจากงบประมาณมีจำกัด 300 จำนวนน้อยๆ อาจจะทำให้ผลเป็นลบทั้งหมดสูงมาก จึงอาจจะมีการปรับแผนในการเก็บตัวอย่างในช่วงที่มีอุบัติการณ์การพบเชื้อสูง (ช่วงเดือน เม.ย. – พ.ค.)
3. จุดประสงค์ของการทำงานกรมอุทยานฯ เป็นลักษณะของการสำรวจให้ทั่วถึงและการเฝ้าระวัง อาจจะไม่ได้เก็บตัวอย่างเป็น stock ไว้ เนื่องจากระเบียบทางราชการจะไม่เก็บเกินที่โครงการกำหนด และขอบเขตของงานที่ต้องเก็บอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอทุกปี จึงไม่เก็บ stock ไว้
4. โครงการในปีนี้จะเก็บตัวอย่างจาก จังหวัดทั่วประเทศจะมีนักวิจัยเข้าไปสำรวจ จากนั้นนำข้อมูล 35 มาทำแผนการทำงานร่วมกับสัตวแพทย์
5. โครงการที่กรมอุทยานฯ อนุมัตินั้น จะทำการเก็บตัวอย่างครอบคลุมป่ารอยต่อ 5 จังหวัด 5 ปี (ถึงปี 2559)
6. หัวหน้าหน่วยงานภาคสนามของกรมอุทยานฯ ให้ข้อมูลว่า เรื่องงบประมาณอาจจะไม่สำคัญ ถ้าหน่วยงานสนใจก็ยินดีหางบมาสนับสนุน
7. สิ่งสำคัญที่ควรตระหนักคือ ความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน จะมีการจัดทำคู่มือชีวนามันเกี่ยวกับ สัตว์ป่าและ biosecurity

8. คำถามที่มักพบจากทางกรมอุทยานฯ คือ เมื่อเจอเชื้อแล้วจะอย่างไร คำตอบจากการอภิปรายร่วมกันคือ ให้เขียนรายงานผลการวิจัยตามปกติ
9. กรณีเกิดโรคระบาดสัตว์ตาม พรบโรคระบาดสัตว์ กรมปศุสัตว์จะเป็นผู้ประกาศ แต่อาจจะมีการแก้กฎหมายว่าในกรณีสัตว์ป่าให้ทางกรมอุทยานเข้าไปร่วมด้วย
10. กรมอุทยานฯ เริ่มก้าวเข้ามาสู่อีกระดับของการทำงานร่วมกับหน่วยงานอื่น หากมีความต้องการอะไรแล้วทางภาคีหรือทางองค์กรระหว่างประเทศสามารถเพิ่มเติมได้ ให้เสนอมามีการเรียกประชุมหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

รายชื่อผู้เข้าร่วมประชุมและข้อมูลการติดต่อ

การประชุมภาคีเครือข่ายและการประชุมประสานงานชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”

วันที่ 17 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 เวลา 9.00 -18.00 น. ณ โรงแรมโนโวเทล สยามสแควร์ กรุงเทพมหานคร

รายชื่อ/ตำแหน่ง - สกว.

ที่	ชื่อ - สกุล	สถานะ	หน่วยงาน	Email ติดต่อ	เบอร์โทรศัพท์
1	รศ.ดร.จันทร์จรัส เรียวเดชะ	ผอ.ฝ่ายเกษตร สกว.	สกว.	chancharat@trf.or.th	
2	คุณวรรณพร จันทร์หอม		สกว.	wannaporn@trf.or.th	02-278-8221
3	สพ.ญ.พรจุษา เลิศชัยศักดิ์		สกว.	trf.animal.health@gmail.com	085-100-6624

รายชื่อ/ตำแหน่ง - FAO-RAP

ที่	ชื่อ - สกุล	สถานะ	หน่วยงาน	Email ติดต่อ	เบอร์โทรศัพท์
1	สพ.ญ.ดร.วันทนีย์ กัลลประวิทย์		FAO-RAP	Wantanee.kalpravidh@fao.org	
2	น.สพ.ดร.คเชนทร์ วงศ์สถาพรชัย		FAO-RAP	Kachen.wongsathapornchai@fao.org	
3	น.สพ.ดร.บริพัตร ศิริอรุณรัตน์		FAO-RAP	Boripat.siriarunrat@fao.org	
4	น.สพ.ดร.ภาวิน ผดุงทศ		FAO-RAP	Pawin.padungtod@fao.org	

รายชื่อ/ตำแหน่ง - กรมปศุสัตว์

ที่	ชื่อ - สกุล	สถานะ	หน่วยงาน	Email ติดต่อ	เบอร์โทรศัพท์
1	สพ.ญ. อรพันธ์ ภาสวรกุล	นายสัตวแพทย์เชี่ยวชาญ	กรมปศุสัตว์	orapanp@dld.go.th	
2	สพ.ญ.วิรงรอง หุ่นสุวรรณ	นายสัตวแพทย์เชี่ยวชาญ	กรมปศุสัตว์	w_hoonsuwan@hotmail.com	
3	สพ.ญ.นพวรรณ บัวมีรูป	นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ	กรมปศุสัตว์	dcontrol5@dld.go.th	
4	สพ.ญ.ดวงดาว รักษากุล	นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ	กรมปศุสัตว์		
5	สพ.ญ.ณัฐวดี ภมรานนท์	นายสัตวแพทย์ชำนาญการ	กรมปศุสัตว์	nutavadee.p@gmail.com	โทรศัพท์ 02-653-4444 ต่อ 4121, 089-104-8961

รายชื่อ/ตำแหน่ง - โครงการย่อย 1

ที่	ชื่อ - สกุล	สถานะ	หน่วยงาน	สถานที่ติดต่อ	เบอร์โทรศัพท์
1	รศ.สพ.ญ.ดร.สันนิภา สุรทัตต์	ผู้วิจัย	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330	โทรศัพท์ 02-218-9583 โทรสาร 02-251-1656
2	น.สพ.รชฏ ตันติเลิศเจริญ	ผู้วิจัย	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่	โทรศัพท์ 02-218-9604 โทรสาร 02-218-9532

				เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330	
3	ผศ.น.สพ.ดร.สนธยา เตียวศิริทรัพย์	ผู้วิจัย	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	หน่วยปริสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ แขวง วังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330	โทรศัพท์ 02-218-9664 โทรสาร 02-218-9666
4	อ.สพ.ญ.ดร.จุฑาทิพย์ เขียวเจริญ	ผู้วิจัย	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	หน่วยไวรัสวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ แขวง วังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330	โทรศัพท์ 02-218-9655
5	สพ.ญ.นภวัลย์ บรรพพงศ์	ผู้วิจัย	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ศูนย์วิจัยโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330	โทรศัพท์ 02-218-9604
6	สพ.ญ.มัชฌมณ แก้วพฤษชัย	ผู้วิจัย	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ศูนย์วิจัยโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330	โทรศัพท์ 02-218-9604
7	น.ส.รณิดา ต่วนอุดม	ผู้วิจัย	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	หน่วยไวรัสวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.อังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330	โทรศัพท์ 02-218-9655

รายชื่อ/ตำแหน่ง - โครงการย่อย 2

ที่	ชื่อ - สกุล	สถานะ	หน่วยงาน	สถานที่ติดต่อ	เบอร์โทรศัพท์
1	ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา	ผู้วิจัย	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง ตึก อปรชั้น 9 ห้อง 901/20 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ถนนพระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330	โทรศัพท์ 02-256-4000 ต่อ 3598 โทรสาร 02-652-3122
2	พญ.อภิษฎาแพทย์ สาระยา	ผู้วิจัย	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง ตึก อปรชั้น 9 ห้อง 901/17 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ถนนพระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330	โทรศัพท์ 02-256-4000 ต่อ 3559 โทรสาร 02-652-3122
3	น.ส.ณัฐภาณินี ถนอมศรีเดชชัย	ผู้วิจัย	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง ตึก อปรชั้น 9 ห้อง 901/22 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ถนนพระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330	โทรศัพท์ 02-256-4000 ต่อ 3561 โทรสาร 02-652-3122
4	นส.สนใจ พรพัฒนานิคม	ภาคีเครือข่าย	โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพ ตำบลวัดหลวง	ตำบลวัดหลวง อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี kanyarwasikarat@hotmail.com	038-475-607, 086- 665-0795
5	อธิบดีกรมควบคุมโรค	ภาคีเครือข่าย (ส่วนกลาง)	กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข	กรมควบคุมโรค 88/21 ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000	โทรศัพท์ 02-590-3000
6	ผู้อำนวยการสำนักโรคติดต่ออุบัติ	ภาคีเครือข่าย	กรมควบคุมโรค	สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่	โทรศัพท์ 02-590-3155,

	ใหม่ (นพ.รุ่งเรือง กิจผาติ)	(ส่วนกลาง)	กระทรวงสาธารณสุข	กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000	081-989-1978 โทรสาร 02-589-2155
7	สาธารณสุขอำเภอนนทบุรี (น.ส.สมฤดี สุขอุดม)	ภาคีเครือข่าย	สำนักงานสาธารณสุข อำเภอนนทบุรี	ถนนสุขประยูร ตำบลพนสนธิคม อำเภอนนทบุรี จังหวัดชลบุรี 20140	โทรศัพท์ 038-462-300 โทรสาร 038-463-174
8	นายแพทย์สาธารณสุขจังหวัด ชลบุรี (นายมรุต จิรเศรษฐสิริ)	ภาคีเครือข่าย	สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ชลบุรี	ตำบลบ้านสวน อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20000	โทรศัพท์ 038-932-450 โทรสาร 038-932-478
9	ผู้อำนวยการโรงพยาบาลพนสนธิคม (นายประยุทธ์ หมีนหน้า)	ภาคีเครือข่าย	โรงพยาบาลพนสนธิคม	68 หมู่ 6 ตำบลกุฎไฉ อำเภอนนทบุรี จังหวัดชลบุรี 20140	โทรศัพท์ 038-460-333 โทรสาร 038-461-333
10	สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ (นางวิภา ภัคดีสิริวิชัย)	ภาคีเครือข่าย	กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข		โทรศัพท์ โทรสาร
11	สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ (พญ.รจนา วัฒนรังสรรค์)	ภาคีเครือข่าย	กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข	Rochana0907@hotmail.com	โทรศัพท์ 085-256-3541 โทรสาร
12	นายภาคภูมิ วสิกรณ์	ภาคีเครือข่าย	สำนักงานสาธารณสุข อำเภอนนทบุรี ชลบุรี	Pak_wasika@hotmail.com	โทรศัพท์ 086-889-7809 โทรสาร

รายชื่อ/ตำแหน่ง - โครงการย่อย 3

ที่	ชื่อ - สกุล	สถานะ	หน่วยงาน	สถานที่ติดต่อ	เบอร์โทรศัพท์
1	ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษาดี	ผู้วิจัย	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง ตึก อปรชั้น 9 ห้อง 901/22 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ถนนพระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330	โทรศัพท์ 02-256-4000 ต่อ 3561 โทรสาร 02-652-3122
2	ดร.ประทีป ดั่งแว	ผู้วิจัย	ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะ วนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน 50 พหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900	โทรศัพท์ 02-579-0176 ต่อ 511 โทรสาร 02-942-8107
3	น.สพ.ภัทรพล มณีอ่อน	ผู้วิจัย	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช	สำนักบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 1 กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช 61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900	โทรศัพท์ 081-751-3484 โทรศัพท์และโทรสาร 02- 579-4621
4	สพ.ญ.พิมพ์ชนก สรงมงคล	ผู้วิจัย	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช	สำนักบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 12 กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช 61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขต จตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900	โทรศัพท์ 089-538 5307 โทรศัพท์ และ โทรสาร 02- 579-4621
5	สพ.ญ. กิตติยาภรณ์ เอี่ยมสะอาด	ผู้วิจัย	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช	สำนักอนุรักษ์สัตว์ป่า กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช	081-934527 / 02-579- 4621

				61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขต จตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900	
6	อธิบดีกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ ป่า และพันธุ์พืช	ภาคีเครือข่าย (ส่วนกลาง)	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช 61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900	02-579 8115, 02-561 0777 ต่อ1999,1901,1902
7	ผู้อำนวยการส่วนอำนวยการ สำนักอนุรักษ์สัตว์ป่า (นางดวงรัตน์ โพธิ์เที่ยง)	ภาคีเครือข่าย (ส่วนกลาง)	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช	สำนักอนุรักษ์สัตว์ป่า กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช 61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900	โทรศัพท์ 02-940-7159 โทรสาร 02-579-9874
8	นางวัลยา ไชยภักดี (089-2207261)	ภาคีเครือข่าย (ส่วนกลาง)	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช	สำนักอนุรักษ์สัตว์ป่า กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช 61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900	โทรศัพท์ 02-940-7159 โทรสาร 02-579-9874
9	น.ส.บุษบง กาญจนสาขา	ภาคีเครือข่าย (ส่วนกลาง)	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช	สำนักอนุรักษ์สัตว์ป่า กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช 61 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900	โทรศัพท์ 02-940-7159 โทรสาร 02-579-9874
10	หัวหน้าอุทยานแห่งชาติเขาชะ เมา-เขาวง (นายพร้อมพงษ์ วิริยะ)	ภาคีเครือข่าย	อช.เขาชะเมา-เขาวง	อุทยานแห่งชาติเขาชะเมา-เขาวง ตู้ ปณ.11 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง 21110	โทรศัพท์ 038-020-510 , 038-894-378 โทรสาร 038-894-378

11	หัวหน้าอุทยานแห่งชาติเขาคิชฌกูฏ (นายพรชัย วนัสรุจน์)	ภาคีเครือข่าย	อช.เขาคิชฌกูฏ	อุทยานแห่งชาติเขาคิชฌกูฏ ตำบลพลวง อำเภอเขาคิชฌกูฏ จังหวัดจันทบุรี 22210	โทรศัพท์ 039-452-074 โทรสาร 039-452-069
12	หัวหน้าอุทยานแห่งชาติน้ำตกพลิ้ว	ภาคีเครือข่าย	อช.น้ำตกพลิ้ว	อุทยานแห่งชาติน้ำตกพลิ้ว ตำบลพลิ้ว อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี 22190	โทรศัพท์ 039-434-528 โทรสาร 039-434-528
13	หัวหน้าอุทยานแห่งชาติเขาสิบห้า ชั้น	ภาคีเครือข่าย	อช.เขาสิบห้าชั้น	อุทยานแห่งชาติเขาสิบห้าชั้น ตำบลขุนซ่อง อำเภอแก่งหางแมว จังหวัดจันทบุรี 22160	โทรศัพท์ 089-550-3639 โทรสาร 039-308-187
14	หัวหน้าอุทยานแห่งชาติน้ำตกคลองแก้ว	ภาคีเครือข่าย	อช.น้ำตกคลองแก้ว	อุทยานแห่งชาติน้ำตกคลองแก้ว ตำบลบ่อพลอย อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด 23140	โทรศัพท์ 039-522-039 โทรสาร 039-522-039
15	หัวหน้าเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขา อ่างฤๅไน (นายบุญชู อยู่ภู)	ภาคีเครือข่าย	ขสป.เขาอ่างฤๅไน	สำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาอ่างฤๅไน ตู้ ปณ. 4 อำเภอสนามชัยเขต จังหวัดฉะเชิงเทรา 24160	โทรศัพท์ 038-090-071 โทรสาร 038-502-001
16	หัวหน้าเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขา สอยดาว (นายอภิสิทธิ์ ปิตทอง)	ภาคีเครือข่าย	ขสป.เขาสอยดาว	สำนักงานเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาสอยดาว ตำบลทรายขาว อำเภอสอยดาว จังหวัดจันทบุรี 22140	โทรศัพท์ 039-486-337, 039-421-106

17	หัวหน้าเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า คลองเครือหวายเฉลิมพระเกียรติ (นายสว่าง ทิพนุกูล)	ภาคีเครือข่าย	ขสป.คลองเครือหวาย เฉลิมพระเกียรติ	เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าคลองเครือหวายเฉลิมพระ เกียรติ หมู่ที่ 9 ตำบลปอวี อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี 22150	โทรสาร 02-579-6886 โทรสาร 038-770-116
18	หัวหน้าสถานีวิจัยสัตว์ป่า ฉะเชิงเทรา (ว่าที่ร.ต.ไชยพร ชารีแสน)	ภาคีเครือข่าย	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช	สถานีวิจัยสัตว์ป่าฉะเชิงเทรา ตู้ ปณ. 2 ปทจ. สนาม ชัยเขต อำเภอสนามชัยเขต จังหวัดฉะเชิงเทรา 24160	081-768-5868
19	ผศ.ดร.จิรพล สีนธนูวา	ที่ปรึกษาโครงการ	คณะสิ่งแวดล้อมและ ทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล	คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล 999 ถนนพุทธมณฑล สาย 4 ตำบลศาลายา อำเภอฟุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170	โทรศัพท์ 02-800-2442



โครงการ การนำเสนอผลงานวิจัย และรับฟังความเห็นจากภาคส่วนที่
เกี่ยวข้องในการนำผลงานวิจัย ชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อม
รับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ” ไปใช้ประโยชน์

เสนอต่อ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

โดย

รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สันนิภา สุรทัตต์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ **โครงการ การนำเสนอผลงานวิจัย และรับฟังความเห็นจากภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในการนำ
ผลงานวิจัย ชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ
เชิงบูรณาการ” ไปใช้ประโยชน์**

หัวหน้าโครงการ	:	รศ.สพ.ญ.ดร. สันนิภา สุรทัตต์
หน่วยงานต้นสังกัด	:	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
หน่วยงานร่วมโครงการ	:	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ
วันที่-เวลา	:	วันพุธที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2556 เวลา 9:00 น. ถึง 18:00 น.
สถานที่	:	ห้อง Jamjuree Ballroom A โรงแรมปทุมวัน ปริ๊นเซส กรุงเทพมหานคร

หลักการและเหตุผล

ตามที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อทำการศึกษาวิจัย เรื่อง “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ” เป็นเวลา 18 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน พ.ศ. 2554 ถึง 28 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556 อันเป็นผลสืบเนื่องจากการลงนามในบันทึกข้อตกลงระหว่างสกว. และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อวันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2554 โครงการดังกล่าว มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) พัฒนาวិชาการด้านโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ (emerging and re-emerging diseases) ครบวงจร 2) สนับสนุนให้มีกระบวนการจัดการองค์ความรู้ และการประสานภาคีเครือข่ายโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำทั้งในส่วนวิชาการ ภาครัฐ เอกชน และชุมชนที่เกี่ยวข้องและ 3) เพื่อพัฒนาทรัพยากรบุคคลที่มีความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ ผ่านการดำเนินโครงการวิจัยย่อยจำนวน 3 โครงการ ซึ่งดำเนินการโดยคณะนักวิจัยกลุ่มในสาขาแพทยและการสาธารณสุข สัตวแพทย์ และสัตว์ป่า ที่มีการวางแผนการดำเนินงานแบบบูรณาการร่วมกัน ได้แก่

- โครงการย่อยที่ 1) บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว
- โครงการย่อยที่ 2) การสร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน และ

โครงการย่อยที่ 3) การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาว

ชุดโครงการวิจัยนี้ได้ดำเนินการครบกำหนดเวลา 18 เดือนและมีผลงานวิจัยที่บรรลุตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้คณะผู้วิจัยจึงเห็นควรให้มีการจัดประชุมกลุ่มภาคีเครือข่ายผู้เกี่ยวข้องในแต่ละส่วนร่วมกันเพื่อให้มีการนำเสนอผลงานวิจัยจากดำเนินงานโครงการวิจัยที่ผ่านมา รวมทั้งเปิดโอกาสให้มีการรับฟังคำแนะนำ ข้อคิดเห็น ข้อเสนอแนะ และการมีส่วนร่วมในการนำผลงานวิจัยที่เกิดขึ้นในครั้งนี้ไปใช้ประโยชน์ร่วมกันเพื่อการวางแผน ป้องกันและรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำในประเทศไทย

วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อนำเสนอผลงานวิจัยจากชุดโครงการวิจัยแก่กลุ่มภาคีเครือข่ายผู้เกี่ยวข้อง
- 2) เพื่อเปิดโอกาสให้มีการอภิปรายผลการดำเนินงานวิจัย ระหว่างคณะนักวิจัยและสมาชิกในกลุ่มภาคีเครือข่าย
- 3) เพื่อรับฟังคำแนะนำ ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็นโดยรวม และส่งเสริมการมีส่วนร่วมดำเนินงานจากกลุ่มภาคีเครือข่ายผู้เกี่ยวข้อง

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ภาคีเครือข่ายเครือข่ายผู้เกี่ยวข้อง รับทราบถึงที่มา วัตถุประสงค์โดยรวมของโครงการ และข้อสรุปจากผลการดำเนินงานในแต่ละโครงการย่อยเมื่อสิ้นสุดโครงการ
- 2) คณะนักวิจัยได้รับฟัง แลกเปลี่ยนความคิดเห็นและข้อเสนอแนะจากทุกภาคส่วนเพื่อใช้ประโยชน์ในการ อภิปรายและการพัฒนาข้อสรุปโครงการวิจัยในรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ให้สอดคล้องกับการ ความเห็นและข้อเสนอแนะจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง
- 3) ได้ข้อสรุปผลการดำเนินงานวิจัยในแต่ละโครงการย่อย และแนวทางการดำเนินงานเชิงบูรณาการในอนาคต เพื่อการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์อย่างเป็นรูปธรรม

วัน เวลา สถานที่

วันพุธที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2556 เวลา 9:00 น. ถึง 18:00 น.

ณ ห้อง Jamjuree Ballroom A โรงแรมปทุมวัน ปริ๊นเซส กรุงเทพมหานคร

ผู้เข้าร่วมประชุม ประมาณ 50 คน ประกอบด้วยผู้แทนจาก

- สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
- องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO)
- USAID
- ผู้ทรงคุณวุฒิในสาขาที่เกี่ยวข้อง
- ภาควิชาที่เกี่ยวข้อง
- คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 - คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 - กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
 - กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
 - กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- คณะนักวิจัยจาก 3 โครงการย่อย (จำนวน 20 คน)

งบประมาณ ขออนุมัติใช้งบประมาณค่าใช้จ่ายจาก สกว. โดย

- งบสำหรับประชุมประสานงานฯ (สำหรับนักวิจัย จำนวน 20 คน)
- งบสำหรับการจัดประชุมทุกภาคส่วน (สำหรับผู้แทนภาควิชาที่เกี่ยวข้อง จำนวน 30 คน)

หมายเหตุ : หากมีค่าใช้จ่ายส่วนที่เกินให้นำมาหักจากงบประมาณของแต่ละโครงการย่อย

กำหนดการ
การนำเสนอผลงานวิจัย เรื่อง
“การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ”
วันที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2556 เวลา 9:00 น. ถึง 14:30 น.
ณ ห้อง Jamjuree Ballroom A โรงแรมปทุมวัน ปริ้นเซส กรุงเทพฯ

เวลา	กำหนดการ
8.30 - 9.00	ลงทะเบียน
9.00 - 9.15	กล่าวต้อนรับ และเปิดงานประชุม โดย ผู้อำนวยการ ฝ่ายเกษตร สกว. และ คณบดีคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
9.15 - 9.25	แนะนำผู้เข้าร่วมประชุม และที่มาของโครงการ โดย รศ.สพ.ญ.ดร.สันนิษา สุรทัตต์คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
9.25 - 10.00	การบรรยายพิเศษเรื่อง ทำไม...หมอต้องสนใจ One Health? โดย ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
10.00 - 10.20	ถ่ายภาพกลุ่มผู้เข้าประชุม และอาหารว่าง
10.20 - 10.40	การนำเสนอผลงานวิจัยเรื่อง “One Health” Surveillance of Nipah virus in Thailand โดย ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษชาติ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
10.40 - 11.00	การนำเสนอผลงานวิจัยเรื่อง การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค้างคาวกับฟาร์มเลี้ยงสุกร อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี โดย ดร.ประทีป ดั่งแคะและ นางสาวพัชรกิติ เพ็งสกุล
11.00 - 11.20	การนำเสนอผลงานวิจัยเรื่อง “บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรค และสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้างคาว” โดย รศ.น.สพ.ดร.สนธยา เดียวศิริทรัพย์ และ น.สพ.รชฏ ดันติเลิศเจริญ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
11.20 - 11.40	การนำเสนอผลงานวิจัยเรื่อง Warning system in real life โดย พญ.อภิษฎา พิณ สารยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
11.40 - 12.00	ซักถาม
12.00 - 13.00	พัก อาหารกลางวัน
13.00 - 14.30	การอภิปราย และระดมสมอง - ความเห็นของภาคีเครือข่ายต่อโครงการฯและการนำผลงานไปใช้ประโยชน์ - ร่วมคิด ร่วมค้น มาตรการป้องกันการแพร่ระบาดของไวรัสซิกาในประเทศไทย - แนวทางการเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการสำหรับประเทศไทย ดำเนินการโดย รศ.สพ.ญ.ดร.สันนิษา สุรทัตต์
14.30	ปิดประชุม (ภาคภาคีเครือข่าย)
14.30-15.00	พัก กาแฟ-ชา

เฉพาะกลุ่มนักวิจัยสกว.และ FAO	
15:00-18:00น.	การประชุมสรุปผลการดำเนินงานชุดโครงการ
	วาระการประชุม - สรุปผลการประชุมภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในช่วงเช้า-บ่าย - ติดตามผลกาดำเนินงานชุดโครงการวิจัยตลอด 18 เดือน - แนวทางการจัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์เสนอต่อ สกว. และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง - ข้อเสนอแนะจาก สกว.และ FAO ต่อผลงานวิจัยและการนำไปใช้ประโยชน์
18:00 น.	ปิดประชุม

รายงานการประชุมนำเสนอผลงานและรับฟังความคิดเห็นจากภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในการนำเสนอผลงานวิจัย
ชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ” ไปใช้ประโยชน์
วันที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2556 เวลา 9:00 – 18.00 น.

ณ ห้อง Jamjuree Ballroom A โรงแรมปทุมวัน ปริ๊นเซส กรุงเทพมหานคร

รายชื่อผู้เข้าร่วมประชุม

1	ศ.นพ. สุทธิพันธ์ จิตพิมลมา	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
2	รศ.ดร. จันทร์จรัส เรียวเดชะ	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
3	น.สพ.ดร. คเชนทร์ วงศ์สถาพรชัย	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
4	สพ.ญ. พรจุฑา เลิศชัยศักดิ์	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
5	คุณวรรณภรณ์ จันทร์หอม	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
6	สพ.ญ.ดร. วันทนี กัลป์ประวิทย์	FAO-RAP
7	น.สพ.ดร. บริพัตร ศิริอรุณรัตน์	FAO-RAP
8	ดร. สุดาร์ตน์ ดำรงวัฒนโกคิน	USAID
9	รศ.นพ. ไชยณ นภาธร	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
10	ศ.นพ. อีระวัฒน์ เหมะจุฑา	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
11	ดร. สุภาภรณ์ วัชรพฤษชาติ	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
12	พญ. อภิษฎา คุ้ม สาระยา	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
13	น.ส. อภินิษฐ์ จิตต์มิตรภาพ	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
14	นายแสงชัย ยิ่งศักดิ์มงคล	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
15	นายธงชัย แก้วผม	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
16	นายพีระพัฒน์ เกตุทอง	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
17	น.ส. นันทภรณ์ สิทธิเดชบริพัฒน์	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
18	น.ส. อุบล สุทธิสาร	คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
19	รศ.ดร. อรสิริ ชื่นทรวง	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
20	รศ.น.สพ.ดร. สนธยา เตียวศิริทรัพย์	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
21	น.สพ. รชฏ ตันติเลิศเจริญ	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
22	สพ.ญ. นภวัลย์ บรรพพงศ์	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
23	สพ.ญ. มัชฌมณ แก้วพฤษชัย	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
24	น.ส. รินดา ต่วนอุดม	คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
25	ดร. ประทีป ตัวแฉ	คณะวนศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
26	น.ส. พัชรกิติ เฟื่องสกุล	คณะวนศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

27	นายวชิรพล คำบุชา	คณะวนศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
28	น.ส.ยวดี พลพิทักษ์	คณะวนศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
29	น.ส.สุธาสินี เสาสูง	คณะวนศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
30	นายพงษ์สิทธิ์ ศรีคุณเมือง	คณะวนศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
31	ผศ.ดร. จิรพล สิ้นธนาภา	คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
32	สพ.ญ. อรพันธ์ ภาสวรกุล	กรมปศุสัตว์
33	สพ.ญ. วิรงรอง หุ่นสุวรรณ	กรมปศุสัตว์
34	สพ.ญ. ดวงดาว รักษากุล	กรมปศุสัตว์
35	น.สพ. ไรจน์ชนะ ปรากฏชื่อ	กรมปศุสัตว์
36	น.สพ. ภัทรพล มณีอ่อน	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช
37	สพ.ญ. พิมพ์ชนก สรวงมงคล	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช
38	นายประทีป โรจนดิลก	กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช
39	นายแพทย์รุ่งเรือง กิจผาติ	สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ กรมควบคุมโรค
40	ส.พญ. อภิรมย์ พวงหัตถ์	สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค
41	ส.พญ. วิมวิการ์ ศักดิ์ชัยนานนท์	สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค
42	ส.พญ. อรพริษฐ์ สการะเศรณี	สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค
43	น.สพ. พรพิทักษ์ พันธุ์หล้า	สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค
44	นางพรรณราย สมิตสุวรรณ	สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค

รายละเอียดการประชุม

- 9.00 น. กล่าวต้อนรับ และเปิดงานประชุม
โดย ศ.นพ. สุทธิพันธ์ จิตพิมลมาศ ผู้อำนวยการ สกว.
และ รศ.นพ. ไสภณ นภาธร คณบดีคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 9.15 น. ถ่ายรูปหมู่
- 9.25 น. การบรรยายพิเศษเรื่อง “ทำไม หมอต้องสนใจ...One Health?”
โดย ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทำไมหมอหรือสัตวแพทย์ ต้องสนใจเรื่องสุขภาพหนึ่งเดียว (One health) คำถามนี้เป็นคำถามที่น่าสนใจ และเป็นสิ่งที่หมอหรือผู้ที่อยู่ในวงการแพทย์คงย้อนถามตัวเอง อย่างที่ทราบกันดีว่า ปัจจุบันโรคติดเชื้อในคนมีไม่ต่ำกว่าร้อยละ 60 ที่เกิดจากเชื้อที่มีต้นตอจากสัตว์ป่า (มากกว่าร้อยละ 80 เกิดจากเชื้อไวรัส) ซึ่งโรคเหล่านี้สามารถแพร่กระจายโดยที่สัตว์ไม่จำเป็นต้องมีอาการและทำตัวเป็นแหล่งพักพิงเพาะเชื้อ (Reservoir) ในการที่เชื้อเข้ามาโดยตรงยังคน สัตว์เลี้ยง หรือผ่านมาทาง ยุง แมลง (เห็บ ไร รื่น) การแพร่กระจายของโรคเกิดจากความหนาแน่นของประชากรทั้งคนและสัตว์ รวมถึงความสะดวกรวดเร็วในการเดินทาง แพทย์เป็นด่านแรกที่จะ

สามารถตรวจจับการระบาดของโรคได้ ทั้งนี้แพทย์ต้องตระหนักถึงความผิดปกติของอัตราการป่วย อัตราการตาย และศักยภาพการแพร่กระจายของโรคอย่างรวดเร็ว

การดูแลคนไข้ควรจะเป็นแบบ one to one basis แต่ในความเป็นจริงแล้วการรักษาจะเป็น many to one basis ที่มีแพทย์เฉพาะทางแต่ละโรคในการรักษาคนไข้ ทำให้การรักษาไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน นอกจากนี้การเรียนการสอนนิสิตแพทย์ในปัจจุบันยังไม่มีส่งเสริมให้เข้าใจเรื่องของการป้องกันโรค (prevention) อย่างแท้จริง การเรียนการสอนควรมุ่งเน้นให้นักศึกษามีความรู้ความเข้าใจ เป็น patient center ไม่ใช่ student center นอกจากนี้ควรฝึกหัดให้แพทย์เป็น general practice ไม่ใช่ specialist มีความเข้าใจ และสามารถเข้าถึงคนไข้ได้อย่างถูกต้องตามเชื้อชาติและหลักศาสนาอย่างที่เป็นในประเทศอังกฤษ

รัฐควรจัดให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (restructure) ของหน่วยงานต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงศึกษาธิการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ให้มาทำงานร่วมกันอย่างเป็นระบบ สามารถจัดทำคำแนะนำกลาง (guideline) ในการเฝ้าระวังโรคหรือระบบการเตือนภัยการระบาดของโรค รวมไปถึงให้การตรวจรักษาโรคต่างๆได้ จากนั้นจึงพัฒนาระบบการศึกษาให้เป็นองค์รวมต่อไป

9.50 น. แนะนำผู้เข้าร่วมประชุม และที่มาของโครงการ

โดย รศ.น.สพ.ดร. สนธยา เตียวศรีทรัพย์

ชุดโครงการวิจัยเรื่อง “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ” เป็นผลจากบันทึกข้อตกลง ในการพัฒนาโครงการและงานวิจัยด้านโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำร่วมกันระหว่าง สกว. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ ชุดโครงการนี้ มีวัตถุประสงค์ คือ

- 1) เพื่อพัฒนาวิชาการรู้ด้านโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำครบวงจร
- 2) เพื่อสนับสนุนให้มีกระบวนการจัดการองค์ความรู้ และการประสานภาคีเครือข่ายโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำทั้งในส่วนวิชาการ ภาครัฐ เอกชน และชุมชนที่เกี่ยวข้อง
- 3) เพื่อพัฒนาทรัพยากรบุคคลที่มีความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำ

ชุดโครงการ “การเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ” นี้ จัดเป็นโครงการต้นแบบซึ่งมีการดำเนินการซึ่งเน้นหลักการดำเนินงานแบบสุขภาพหนึ่งเดียว (One Health approach) และการมีส่วนร่วมของทุกภาคส่วนในการวางแผนและดำเนินงานวิจัยมีระยะเวลาดำเนินการทั้งสิ้น 1.5 ปี ผ่านการดำเนินงาน 3 โครงการย่อยคือ

- 1) โครงการย่อยที่ 1 บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคและสัตว์เลี้ยงในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค่างควาย ภายใต้ความร่วมมือระหว่างคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและกรมปศุสัตว์
- 2) โครงการย่อยที่ 2 สร้างความตระหนักและเตรียมความพร้อมของประชาชนและบุคลากรต่อโรคอุบัติใหม่จากสัตว์สู่คน ภายใต้ความร่วมมือระหว่างคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลวัดหลวง อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี และหน่วยงานอื่นๆ ของกระทรวงสาธารณสุข

- 3) โครงการย่อยที่ 3 การศึกษานิเวศวิทยาและความเสี่ยงของโรคติดต่ออุบัติใหม่ในค้างคาวภายใต้ความร่วมมือระหว่างคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช
- การประชุมในครั้งนี้จัดขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์คือ

- 1) เพื่อนำเสนอผลงานวิจัยจากชุดโครงการวิจัยแก่กลุ่มภาคีเครือข่ายที่เกี่ยวข้อง
- 2) เพื่อเปิดโอกาสให้มีการอภิปรายผลการดำเนินการวิจัย ระหว่างคณะนักวิจัยและสมาชิกในกลุ่มภาคีเครือข่าย
- 3) เพื่อรับฟังคำแนะนำ ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็นโดยรวม และส่งเสริมการมีส่วนร่วมดำเนินงานจากกลุ่มภาคีเครือข่ายที่เกี่ยวข้อง

10.00 น. รับประทานว่าง

10.20 น. การบรรยายพิเศษเรื่อง “Thailand Emerging Infectious Diseases Strategic Plan”
โดย นพ. รุ่งเรือง กิจผาติ สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

การจัดทำแผนยุทธศาสตร์ด้านการสาธารณสุข (Thailand Emerging Infectious Diseases Strategic Plan) เป็นการระดมความคิดและความร่วมมือของหน่วยงานและองค์กรต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชน เพื่อเพิ่มความสำเร็จในการป้องกันและการเตรียมความพร้อมรับมือกับโรคอุบัติใหม่และโรคอุบัติซ้ำ เพื่อตั้งรับการระบาดของเชื้อต่างๆ ที่มีแนวโน้มจะระบาดในประเทศไทย อาทิเช่น เชื้อไวรัส Influenza สายพันธุ์ H7N9 เชื้อ Coronavirus ที่ก่อให้เกิดโรค Middle East respiratory syndrome (MERS) เป็นต้น การทำงานจะเป็นการบูรณาการร่วมกันระหว่างองค์กรต่างๆ ต้องมีการเตรียมความพร้อมทั้ง vertical และ horizontal เพื่อให้กลไกต่างๆ ขับเคลื่อนไปพร้อมกัน ทั้งทางด้านทรัพยากร บุคคล การเงิน และต้องกระบบ Collective leadership เป็นการผลักดันในหลายๆ หน่วยงาน มีการสร้างเครือข่าย พัฒนาโมเดลเพื่อนำมาใช้จริง การมีส่วนร่วมต้องรวมไปถึงภาคประชาชน เพื่อให้เกิดความสำเร็จคือความร่วมมืออย่างยั่งยืน (sustainability) และการทำงานให้ได้ผลจริง

10.45 น. การนำเสนอผลงานวิจัย เรื่อง “One Health: Surveillance of Nipah virus in Thailand”
โดย ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษาติ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้กล่าวถึงสาเหตุและความสำคัญในการศึกษา โดยเน้นถึงชุมชนในพื้นที่เสี่ยงว่าต้องมีการปรับตัวในการรับมือและตอบโต้กับโรคอุบัติใหม่ เพื่อให้ชุมชนปลอดภัย และกล่าวถึงการระบาดของไวรัสชนิดใหม่ในมาเลเซียที่ทำให้ต้องทำลายหมูเป็นจำนวนมาก ซึ่งพบว่าการระบาดมาจากค้างคาวผู้สุกร และสุกรผู้คน โดยมีค้างคาวแม่ไก่

(Pteropus spp.) เป็นพาหะที่สำคัญ ในประเทศไทยได้มีการสำรวจในสัตว์และในคน ในสัตว์ได้มีการสำรวจหาแอนติบอดี IgG ต่อไวรัสฮันนีในสุกรในประเทศไทยในช่วง 2003-2011 โดยวิธี ELISA พบว่าให้ผลลบทั้งหมด ส่วนในคนทางโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ได้ทำการตรวจผู้ป่วยที่มีอาการ acute encephalitis ตั้งแต่ปี 2001-2012 จำนวน 232 รายเพื่อหาเชื้อไวรัสฮันนีด้วยวิธี PCR พบว่าให้ผลเป็นลบทั้งหมด และนอกจากค้างคาวแม่ไก่แล้ว ยังตรวจพบแอนติบอดี และ RNA ของเชื้อไวรัสฮันนีในค้างคาวกินแมลงที่มีในประเทศไทยอีก 3 ชนิด

ในบังคลาเทศ พบการติดเชื้อไวรัสฮันนีและมีอัตราการตายที่สูงถึงร้อยละ 88 อยู่ในช่วงอายุตั้งแต่ 8 เดือนจนถึง 60 ปี โดยการติดจากการกินน้ำจากต้นอินทผลัมสดที่ค้างคาวแม่ไก่ไปเยี่ยมไว้ ซึ่งเป็นช่องทางการติดต่อที่สำคัญ

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาเชื้อไวรัสฮันนีพบว่ามี 2 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์มาเลเซีย และบังคลาเทศ ซึ่งมีความแตกต่างกันในการติดต่อ โดยที่มาเลเซียมีสุกร เป็นตัวกลางในการระบาด ส่วนในบังคลาเทศสามารถติดจากค้างคาวได้โดยตรง จนเป็นที่มาของการศึกษาในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อฮันนีไวรัส คือ ต.วัดหลวง อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี ซึ่งมีการตรวจพบไวรัสฮันนีในค้างคาวแม่ไก่ มีฟาร์มสุกรแบบเปิดที่มีค้างคาวเข้าไปหาอาหาร และมีโรงเรียนอยู่ในบริเวณที่ค้างคาวอาศัยอยู่ โดยแบ่งการศึกษาเป็น การสำรวจหาการติดเชื้อฮันนีในชุมชนที่มีความเสี่ยง การสำรวจการติดเชื้อฮันนีในสุกรที่มีความเสี่ยง การสำรวจค้างคาวที่มีการสัมผัสกับค้างคาว และการให้ความรู้และความเข้าใจกับชุมชน โดยการสำรวจการติดเชื้อฮันนีในค้างคาวบริเวณที่มีความเสี่ยง ได้ทำการเลือกฟาร์มสุกรเปิด 2 แห่งที่อยู่ใกล้กับวัดหลวงพรมาวาส ซึ่งเป็นที่อยู่อาศัยของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (*Pteropus lylei*) โดยฟาร์มที่ 1 และฟาร์มที่ 2 ห่างจากวัด 5.5 กิโลเมตรและ 600 เมตรตามลำดับ ทำการเก็บตัวอย่างค้างคาว เช่น เลือด น้ำลาย เยื่อ และขี้ค้างคาว และเมื่อเก็บเสร็จแล้วก็จะทำการปล่อยกลับคืน

การตรวจทางซีรัมวิทยาหาแอนติบอดีต่อเชื้อฮันนีในค้างคาวแม่ไก่ที่จับได้พบผลบวกได้เกือบตลอดทั้งปี จากการเปรียบเทียบผลทางซีรัมวิทยาและ PCR ในค้างคาวแม่ไก่ พบว่าการตรวจพบแอนติบอดีต่อเชื้อฮันนีในค้างคาวแม่ไก่ไม่มีฤดูกาลที่จำเพาะ ไม่เหมือนกับการตรวจพบไวรัสด้วยวิธี PCR คือพบในช่วงมีนาคม จนถึงเดือนกรกฎาคม โดยพบค้างคาวที่ให้ผลบวกด้วยวิธี PCR จำนวน 8 ตัว พบที่วัดจำนวน 5 ตัว และจากฟาร์มสุกรจำนวน 3 ตัว ในเดือนพฤษภาคม และกรกฎาคม ซึ่งค้างคาวแม่ไก่สามารถที่จะแพร่เชื้อให้กับสุกรได้ในช่วงนั้น และนอกจากนี้ทางโครงการ ร่วมกับ PRIDICT ได้ทำการตรวจเชื้ออื่น ๆ ด้วยวิธี PCR ในตัวอย่างค้างคาว ประกอบด้วย Family Coronavirus, Paramyxovirus, Filovirus และ Alphavirus พบเชื้อที่น่าสงสัย เช่น Coronavirus และ Paramyxovirus ที่ต้องศึกษาต่อไปว่าจะนำโรคสู่คนได้หรือไม่

สรุปการร่วมมือกันระหว่างหน่วยงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์ป่าและมนุษย์ ช่วยสนับสนุนการรับมือกับการเกิดการระบาดของเชื้อไวรัสฮันนีในประเทศไทย เข้าใจระบบนิเวศวิทยาของค้างคาวที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์ ทำให้เกิดความเข้าใจถึงการติดต่อของโรค ยังผลไปถึงการควบคุมและป้องกันโรคอุบัติใหม่จากสัตว์ป่า การสร้างระบบการเตือนภัย และตระหนักถึงความสำคัญของชุมชนซึ่งเป็นกุญแจสำคัญที่จะทำให้ประสบความสำเร็จในการเริ่ม One Health

- 11.10 น. การนำเสนอผลงานวิจัย เรื่อง “การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค้างคาวกับฟาร์มเลี้ยงสุกร อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี” โดย ดร.ประทีป ดั่งแคว และ นางสาวพัชรกิติ เพ็งสกุล คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในช่วงแรก ดร.ประทีป ได้กล่าวแนะนำผู้ร่วมนำเสนอ พูดถึงที่มาที่ไปของการเข้าร่วมโครงการฯ และความเชื่อของตนเองต่อสมมุติฐาน ในการพิสูจน์ว่าการติดต่อของโรคนิปาห์ มาจากค้างคาว ติดสู่สุกร และจากสุกร มาสู่คน ซึ่งมีความเชื่อบางเรื่องที่แตกต่างกันจากความคิดของคนที่ทำทางด้านสัตว์ป่า จึงทำให้เป็นที่มาของการศึกษา ในครั้งนี้ และต่อยอดถึงการศึกษาพฤติกรรมของค้างคาวแม่ไก่ด้วยการติดวิทยุ เป็นต้น

น.ส.พัชรกิติ นักศึกษา ป.โท ของโครงการวิจัย ได้นำเสนอผลสรุปของการศึกษาในครั้งนี้ โดย แบ่งเป็น 2 การศึกษาย่อย คือ การหาความสัมพันธ์ของค้างคาวกับพื้นที่โรงเรือนสุกรแบบเปิด และ การศึกษาเส้นทางการบิน และแหล่งหากินของค้างคาวแม่ไก่ ที่อาศัยอยู่ในวัดหลวงพรหมवास ต.วัดหลวง อ.พนัสนิคม จ.ชลบุรี ด้วยการติด วิทยุ โดยการศึกษาแรก ทำการศึกษาค้างคาวที่จับได้ด้วยวิธีการกางตาข่ายในฟาร์ม จำนวน 2 แห่งในพื้นที่ที่เป็น ฟาร์มสุกรแบบเปิด มีต้นไม้ที่ให้ผล พบร่องรอยการกิน และทำการศึกษาค้างคาวในวัดหลวงฯ เพื่อเป็นตัวอย่าง ควบคุม การศึกษาครั้งนี้เริ่มทำการเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงเดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2555 โดยเมื่อจับได้ จะทำการวัด คุณลักษณะจำเพาะของตัวค้างคาว และแยกชนิด (species) ร่วมกับการศึกษาต้นไม้ภายในฟาร์มที่ให้ ดอกและผล จากการศึกษาได้ค้างคาวจำนวน 394 ตัว แบ่งเป็นค้างคาวแม่ไก่ (*Pteropus lylei*) จำนวน 374 ตัว และค้างคาวอีกจำนวน 5 ชนิด คือ ค้างคาวขอบหูขาวกลาง (*Cynopterus sphinx*) จำนวน 7 ตัว ค้างคาว เพดานใหญ่ (*Scotophilus heathii*) จำนวน 8 ตัว ค้างคาวเพดานเล็ก (*Scotophilus kuhlii*) จำนวน 3 ตัว ค้างคาวหูหนูตีนโตเล็ก (*Myotis horsfieldi*) จำนวน 1 ตัว และ ค้างคาวเล็บงู (*Eonycteris spelaea*) จำนวน 1 ตัว ตามลำดับ และแสดงกราฟ การจำนวนค้างคาวแยกตัวอ่อนและตัวเต็มวัยที่จับได้ในแต่ละฟาร์ม ในช่วง 1 ปี ที่ผ่านมา รวมไปถึงกราฟแสดงปริมาณผลไม้ที่พบในแต่ละเดือนโดยพบว่า การเพิ่มขึ้นของค้างคาวที่ถูกจับได้ใน ฟาร์มที่ 1 (ฟาร์มคุณสนั่น) พบมากในช่วงเดือนมีนาคม จนถึงเดือน พฤษภาคม ซึ่งเป็นช่วงกำลังหัดบิน และ ฟาร์ม ที่ 2 (ฟาร์มคุณบุญเลิศ) ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึง กรกฎาคม สัมพันธ์กับปริมาณผลไม้ในแนวทางเดียวกัน

การศึกษาที่ 2 เป็นการศึกษาเส้นทางการบินและแหล่งหากินของค้างคาวแม่ไก่อบริเวณพื้นที่เสี่ยงต่อการ เกิดโรคนิปาห์ในสุกร โดยทำการติดวิทยุบนหลังค้างคาวแม่ไก่ที่มีน้ำหนักมากกว่า 500 กรัม แบ่งการศึกษาเป็น 2 ช่วงเวลา คือ ช่วงที่ผลไม้สุก เดือนเมษายน จำนวน 10 ตัว โดยเป็นเพศผู้ทั้งหมด และช่วงแล้งเดือนพฤศจิกายน จำนวน 11 ตัว มีทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยเมื่อติดเสร็จแล้ว ได้มีการตั้งการรับและดูดสัญญาณในช่วง 10:00 – 13:00 น. ในแต่ละวัน และมีการสำรวจภาคพื้นดินตามจุดที่ค้างคาวหยุดพัก โดยดูถึงร่องรอยการกินอาหาร การ เกาะจับ และรอยขีดเขียนของค้างคาว เป็นต้น โดยพบว่าพืชอาหารในช่วงเดือนเมษายน จะเป็นลูกหว้า มะม่วง กล้วยน้ำว่า ลูกไทร และตะขบ ส่วนช่วงเดือน พฤศจิกายน จะเป็นยอดกระถินณรงค์ กล้วยน้ำว่า ลูกตำลึง มะขาม และจากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า ค้างคาวกับสุกรมีโอกาสที่จะพบกัน โดยมีทั้งค้างคาวชนิดที่กินแมลงและกิน ผลไม้ ชนิดค้างคาวที่จับได้จากฟาร์มสุกรทั้ง 2 แห่ง ส่วนใหญ่เป็นค้างคาวแม่ไก่อากาศกลางในฟาร์มที่ 1 คิดเป็นร้อยละ 92 และในฟาร์มที่ 2 คิดเป็นร้อยละ 82 และพบว่าปัจจัยเชื่อมโยงกับจำนวนค้างคาวที่ตกจับได้มีความ

เกี่ยวข้องกับชนิด/การออกดอก/ผลของต้นไม้บริเวณฟาร์มที่เป็นพื้นที่ศึกษา และค้ำควาแม่ไก่มีเส้นทางออกหากินในทุกทิศทางจากบริเวณที่เกาะนอน ระยะทางตั้งแต่ 0.6 – 23 กิโลเมตร เส้นทางการบินของค้ำควาส่วนใหญ่ที่ศึกษามีรูปแบบการบินออกหากินในช่วง 10 วันที่ทำการศึกษาในลักษณะ high site fidelity คือ ค้ำควาตัวเดิมจะออกหากินซ้ำในทิศทางเดิม และแผนการดำเนินงานต่อไป ได้วางแผนในการใช้แบบจำลองที่ได้จากแผนที่ 1 และ 2 มาศึกษาพื้นที่เกาะนอนอีก 15 โคโลนีทั่วประเทศ เพื่อหาพื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของไวรัสชิคาห์ทั่วประเทศ และใช้ PTT satellite transmitter เพื่อติดตามการเคลื่อนที่ได้เป็นระยะเวลามากกว่า 1 ปี ทำการวิเคราะห์โดยใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ (Geographic information system : GIS) ร่วมกับการใช้แบบจำลอง Maximum entropy method (MaxEnt) ในฟาร์มทั่วประเทศ

- 11.45 น. การนำเสนอผลงานวิจัย เรื่อง “บทบาทและความสัมพันธ์ของแมลงพาหะนำโรคในนิเวศวิทยาของโรคติดต่ออุบัติใหม่จากค้ำควา” โดย รศ.น.สพ.ดร. สนธยา เดียวศิริทรัพย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาแมลงพาหะนำโรคซึ่งในนิเวศวิทยาของโรคอุบัติใหม่ในพื้นที่วัดหลวงพรหมवास จ.ชลบุรี และฟาร์มหมายเลข 1, 2, 4 เพื่อศึกษาชนิดของยุงในแต่ละพื้นที่ว่ามียุงชนิดใดและมีการติดเชื้ออะไรอยู่บ้าง โดยทำการเก็บตัวอย่างจากยุงในพื้นที่คือตามแหล่งที่อยู่อาศัยของค้ำควาและฟาร์มสุกร นำมาทำการแยกชนิดของยุงและนำมาสกัดหสพันธุกรรมจากตัวยุง จากนั้นตรวจสอบด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา

จากการเก็บตัวอย่างยุงครั้งแรกเดือนสิงหาคม 2555 ตัวอย่างยุงได้มาจากฟาร์มสุกร 2 แหล่ง และบริเวณวัดหลวงพรหมवास เนื่องจากฟาร์มหมายเลข 3 เป็นฟาร์มปิด ยุงที่จับได้จากในฟาร์มนี้จะมีจำนวนค่อนข้างน้อย ส่วนฟาร์มหมายเลข 2 เป็นฟาร์มแบบเปิดยุงจึงมีจำนวนค่อนข้างมาก โดยส่วนใหญ่ยุงที่จับได้จะเป็นยุงสกุล *Culex* 2 ชนิด คือ *Culex gelidus* และ *Culex tritaeniorhynchus* ซึ่งทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นพาหะของโรคไข้สมองอักเสบส่วนครั้งที่ 2 ในเดือนมกราคม 2555 ไม่ได้เก็บตัวอย่างจากฟาร์มที่ 3 เนื่องจากเป็นฟาร์มปิด เก็บตัวอย่างเฉพาะจากฟาร์มเปิด เดือนนี้จำนวนยุงมีค่อนข้างน้อยลงและเป็นยุง 2 ชนิดที่พบข้างต้น ครั้งที่ 3 เดือนเมษายน 2555 ยุงเริ่มมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและส่วนมากคือยุง 2 ชนิดเดิม การเก็บตัวอย่างครั้งที่ 4 เดือนกรกฎาคม 2555 มีจำนวนยุงเพิ่มมากขึ้น และครั้งที่ 5 เดือนตุลาคม 2555 จำนวนของยุงค่อนข้างสูงขึ้นอีกครั้ง ให้สังเกตว่าแหล่งที่อยู่อาศัยของค้ำควาจะมีจำนวนยุงมากในช่วงเดือนตุลาคม ส่วนในฟาร์มสุกรคือเดือนตุลาคมเช่นเดียวกัน

หลังจากนั้นก็นำตัวอย่างยุงมาแบ่งเป็นกลุ่มตัวอย่าง (ยุง 50 ตัวต่อ 1 กลุ่มตัวอย่าง) นำมาสกัดอาร์เอ็นเอเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยา และเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสที่สำคัญคือ เชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคไข้สมองอักเสบ (Japanese encephalitis; JE) และ เชื้อไวรัสเวสต์ไนล์ (West Nile virus; WNV) ซึ่งยังไม่มีข้อมูลว่าก่อให้เกิดโรคในประเทศไทยพบหรือไม่พบตัวอย่างที่ให้ผลบวก

สรุปจากการศึกษาเกี่ยวกับยุงจากทั้ง 2 ที่ ได้แก่ บริเวณแหล่งที่อยู่อาศัยของค้ำควาและในฟาร์มสุกรพบยุงอยู่ 5 สกุลด้วยกัน ได้แก่ ยุงลาย (*Aedes*) ยุงก้นปล่อง (*Anopheles*) ยุงสวน (*Armigeres*) ยุงรำคาญ (*Culex*) ยุงเสือ (*Mansonia*) ซึ่งเมื่อศึกษาถึงลงไปถึงระดับ สปีชีส์มี 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Culex gelidus*, *Culex*

tritaeniorhynchus และ *Mansonia uniformis* แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบทั้งเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาและเชื้อไวรัสในกลุ่มฟลาวิไวรัสในยุง ซึ่งในโครงการนี้มีนิสิตชั้นปีที่ 6 เข้าร่วมโครงการ 4 คน และมีนิสิตปริญญาเอกอีก 1 คน เข้าร่วมโครงการด้วย จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้เราได้แบบจำลองการศึกษานิเวศวิทยาของโรคติดเชื่อที่มีแมลงเป็นพาหะนำโรค ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับการศึกษาในอนาคตต่อไป

11.55 น. การนำเสนอผลงานวิจัย เรื่อง “บทบาทและความสัมพันธ์ของสัตว์เลื้อยในนิเวศวิทยาของโรคติดเชื่ออุบัติใหม่จากค้างคาว” โดย น.สพ.รชฏ ดันติเลิศเจริญ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการนี้ทำการศึกษาบทบาทและความสัมพันธ์ของสุกรสัตว์เลื้อยอื่นๆ และค้างคาว เพื่อหาว่าเชื้อไวรัสนิปาห์ติดจากค้างคาวสู่สุกรได้หรือไม่ โดยเริ่มจากการสำรวจพื้นที่ที่มีค้างคาวอยู่อย่างหนาแน่นและฟาร์มสุกรที่มีการพบค้างคาวบินลงมาหรือหากินในบริเวณนั้น และอาศัยผลการศึกษาของโครงการย่อยที่ 3 เพื่อพิสูจน์ข้อเท็จจริงดังกล่าว ซึ่งพื้นที่ฟาร์มที่พบค้างคาวจะมีความเสี่ยงต่อการสัมผัสและรับเชื้ออย่างมาก นอกจากนี้ยังศึกษารวมไปถึงสัตว์เลื้อยชนิดอื่นๆ เช่น สุนัข แมว ที่เลี้ยงในบริเวณฟาร์มด้วย เนื่องจากการเลี้ยงอย่างอิสระ จึงอาจเป็นตัวพาเชื้อเข้าไปถึงตัวสุกรได้ทางอ้อม

ทางผู้วิจัยได้คัดเลือกฟาร์มทั้งหมด 9 ฟาร์มในพื้นที่ 2 จังหวัด โดยเน้นหนักไปที่อำเภอนนทบุรี จังหวัดชลบุรี โดยเลือกทำการศึกษาทั้งหมด 4 ฟาร์ม เป็นการศึกษาแบบ longitudinal study 2 ฟาร์ม และ cross sectional study 2 ฟาร์ม ส่วนที่จังหวัดปราจีนบุรีซึ่งมีแหล่งค้างคาวขนาดใหญ่ที่วัดเทวบุตร อำเภอมือง จังหวัดปราจีนบุรี จะเป็นการเก็บตัวอย่างเพียงครั้งเดียว (cross sectional study) ซึ่งลักษณะของฟาร์มที่เลือกมามีความหลากหลายตั้งแต่เลี้ยงรายย่อยคือเป็นฟาร์มหลังบ้าน (backyard) ลักษณะฟาร์มจะเป็นโรงเรือนเปิด ฟาร์มขนาดกลางที่มีทั้งโรงเรือนเปิดและปิด มีการเลี้ยงตั้งแต่ 100 แม่สุกรขึ้นไป โดยลักษณะของคำว่าโรงเรือนปิดหมายถึงว่ามีรั้วรอบขอบชิดอาจจะมีมุ้งกันอยู่โดยรอบ ส่วนฟาร์มขนาดใหญ่ที่เป็นอุตสาหกรรมจะมีโรงเรือนลักษณะปิดแบบแท้จริงคือ โรงเรือน evaporative cooling system ค้างคาวไม่สามารถเข้าไปในโรงเรือนได้ จึงไม่เลือกฟาร์มลักษณะนี้มาทำการศึกษา หลังจากเลือกฟาร์มสุกรแล้วจึงทำการเก็บข้อมูลต่างๆ ของฟาร์ม เพื่อรวบรวมข้อมูลที่ปัจจัยเสี่ยงต่างๆ เช่น รูปแบบการเลี้ยง ประวัติการป่วยของสุกร มาตรการการป้องกันโรคของ และทำการเก็บตัวอย่างโดยการเจาะเลือดและเก็บ nasal swab จากสุกรเพื่อนำมาตรวจโรคในสุกรที่เกี่ยวข้อง รวมถึงการเก็บตัวอย่างสัตว์เลื้อยที่อยู่ในครัวเรือนนั้นด้วยคือ สุนัข และแมว

ในกลุ่มของอำเภอนนทบุรี จังหวัดชลบุรี ได้เลือกฟาร์มไว้ทั้งหมด 4 ฟาร์ม ทำ cross sectional study อยู่ 2 ฟาร์ม ได้แก่ ฟาร์มหมายเลข 3 และ 4 ฟาร์มหมายเลข 1 และ 2 ทำ longitudinal study คือ ทำการเก็บตัวอย่างตลอดทั้งปี ทุกๆ 3 เดือน สำหรับฟาร์มที่สามารถดักจับค้างคาวได้คือ ฟาร์มหมายเลข 1 และ 2 ส่วนฟาร์มหมายเลข 4 เป็นฟาร์มที่เลี้ยงแบบอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ มีระบบการป้องกันโรคค่อนข้างดีมาก แต่ฟาร์มขนาดใหญ่ก็มีโรงเรือนที่เป็นลักษณะโรงเรือนเปิดอยู่ในฟาร์มด้วย เช่น ในกลุ่มสุกรสาวทดแทน เมื่อนำเข้ามาอาจจะอยู่ที่โรงเรือนเปิดสักพักหนึ่งแล้วค่อยย้ายไปที่โรงเรือนปิด จึงถือว่ามีความเสี่ยงอยู่ระดับหนึ่ง ทุกฟาร์มจะมีไม่ผลอย่าง

น้อย 1 ชนิดอยู่ภายในบริเวณฟาร์มที่พบมากคือมะม่วง กล้วย สำหรับในกลุ่มจังหวัดปราจีนบุรีฟาร์มจะอยู่รอบๆ วัดเทวบุตรที่ค้ำคาวค่อนข้างหนาแน่น จะทำ cross sectional study เก็บตัวอย่างครั้งเดียว กลุ่มนี้เป็นลักษณะฟาร์มรายย่อยเกือบทั้งหมด มี 1 ฟาร์มเท่านั้นที่มีลักษณะโรงเรือนค่อนข้างจะมิดชิด ผลไม้ที่พบมากที่สุดก็คือกล้วย คอกสุกรที่เป็นโรงเรือนแบบเปิดมีสัตว์เลี้ยงที่สามารถเดินเข้าไปถึงตัวสุกรได้โดยตรงรวมไปถึงค้ำคาวด้วย โดยค้ำคาวที่พบในคอกสุกรเป็นค้ำคาวกินแมลง ไม่พบที่เป็นค้ำคาวแม่ไก่ หรือค้ำคาวกินผลไม้ที่สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสสปีด ซึ่งในประเด็นนี้อาจจะมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต

จากการทำการเก็บตัวอย่างเลือดทั้ง longitudinal study และ cross sectional study เพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสสปีด ให้ผลคือไม่พบหลักฐานการติดเชื้อ และทำการเก็บสิ่งคัดหลั่งจากจมูก (nasal swab) นำไปตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ เพื่อหาเชื้อไวรัสสปีด ให้ผลเป็นลบทั้งหมด

การศึกษาในครั้งนี้ได้ตรวจโรคอื่นๆ ที่สำคัญในสัตว์ปศุสัตว์ที่อาจจะเป็นโรคอุบัติซ้ำ เริ่มจากการตรวจโรคไข้หวัดใหญ่สุกรด้วยวิธีพีซีอาร์ให้ผลลบทั้งหมด ยกเว้นฟาร์มหมายเลข 4 ซึ่งเป็นฟาร์มที่มีขนาดใหญ่ และมีการเลี้ยงแบบเป็นระบบปิด มีระบบการป้องกันทางชีวภาพดีมาก และมีการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดใหญ่สุกรสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ H3N2 จาก nasal swab ซึ่งเป็นเชื้อที่เกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรม (reassortment) ระหว่างเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ pandemic H1N1 กับ swine H1N1 ที่เป็นของสุกรเอง กล่าวคือ internal genes ของไวรัสเหมือนกับของเชื้อ pandemic H1N1 ส่วน HA และ NA gene เป็น H3N2 สายพันธุ์ที่พบในสุกร ซึ่งอาจเป็นเชื้อที่มีศักยภาพที่จะก่อให้เกิดปัญหาต่อไปในอนาคตได้ เมื่อศึกษาหลักฐานการติดเชื้อจากเลือด (seroconversion) ในเขตจังหวัดปราจีนบุรีตรวจไม่พบหลักฐานการสัมผัสหรือการติดเชื้อ ในขณะที่ในพื้นที่ของจังหวัดชลบุรีพบหลักฐานการติดเชื้อค่อนข้างสูงมาก และพบข้อสังเกตว่าโรคไข้หวัดใหญ่สุกรจะเป็นฤดูกาลซึ่งพบมากช่วงเดือนตุลาคม ช่วงอายุที่พบคือ สุกรแม่พันธุ์ที่ยืนโรงนานๆ อยู่เป็นปี มีโอกาสสัมผัสเชื้ออยู่ตลอดเวลา

การศึกษาเกี่ยวกับโรคคหิวหัดสุกร (swine fever) ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญในสุกร พบว่าฟาร์มในพื้นที่จังหวัดชลบุรีและปราจีนบุรี มีเฉพาะกลุ่มสุกรสาวเท่านั้นที่มีระดับของแอนติบอดีต่อโรคคหิวหัดสุกรอยู่ในระดับสูงถึงขั้นที่เรียกว่าป้องกันโรคได้ ส่วนกลุ่มอายุอื่นๆ มีระดับต่ำมากจนเรียกว่ามีความเสี่ยงเกือบทั้งหมด ถึงแม้ว่าจะมีประวัติการฉีดวัคซีนก็ตาม ซึ่งอาจจะเกิดการขาดความรู้ความเข้าใจเรื่องการฉีดวัคซีนของเกษตรกรเอง จากการตรวจโรคพีอาร์อาร์เอส (porcine reproductive and respiratory syndrome; PRRS) ที่ทำให้เกิดปัญหาทั้งในระบบหายใจและระบบสืบพันธุ์ พบว่ามีเชื้อวนเวียนอยู่ในฟาร์มอยู่ตลอดเวลาไม่ว่าจะเป็นฟาร์มในขนาดใดก็ตาม มีข้อสังเกตว่าในฟาร์มขนาดเล็กที่เลี้ยงหลังบ้านถึงแม้จะตรวจพบ seroconversion หรือพบเชื้อแต่สุกรเหล่านี้ไม่ได้แสดงอาการป่วยจากโรคเหล่านี้ และในฟาร์มขนาดเล็กจะพบเชื้อ porcine circovirus type 2 (PCV2) วนเวียนอยู่ตลอดเวลา สุกรมีอัตราการติดเชื้อค่อนข้างสูงมาก แต่สุกรจะไม่ได้แสดงอาการทางคลินิก

โดยสรุป โครงการนี้ได้ทำการศึกษาและเก็บตัวอย่างจากฟาร์มสุกร สัตว์เลี้ยง และยุ้งซึ่งเป็นแหล่งพาหะนำโรค ที่อยู่ในบริเวณที่เป็นแหล่งที่อยู่ หากิน และบินผ่านของฝูงค้ำคาวอย่างเป็นระบบทำให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการเข้าใจถึงบทบาทและความสัมพันธ์ของสัตว์เลี้ยงและแมลงพาหะนำโรค ในนิเวศวิทยาของโรค

อุบัติใหม่ที่จะเกิดขึ้นจากค้างคาว ก่อให้เกิดองค์ความรู้ และเป็นต้นแบบการบูรณาการองค์ความรู้ และข้อมูลเพื่อนำไปใช้ในการศึกษา การเฝ้าระวัง และการเตรียมพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำที่อาจเกิดขึ้นในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพและทัน่วงที่ต่อไป

12.10 น. การนำเสนอผลงานวิจัย เรื่อง “Warning system in real life” โดย พญ.อภิษฎาแพทย์ สาธารณคณแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปัจจุบันระบบสาธารณสุขของไทยมีความหลากหลายทั้งของภาครัฐและเอกชน ดังนั้นการเก็บข้อมูลระบาดวิทยาจากโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพประจำตำบล (รพสต.) เพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอและไม่ทันเวลา ฉะนั้นการสร้างความร่วมมือแก่ประชาชนและบุคลากรสาธารณสุข เป็นการสร้างความตระหนักในการเฝ้าระวังการเกิดโรคระบาด ซึ่งการสร้างหน่วยเฝ้าระวังในชุมชนพื้นที่เสี่ยงนั้นจะเป็นผู้ติดต่อแพทย์และเจ้าหน้าที่ศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมองโดยตรงทำให้การเก็บข้อมูลการเจ็บป่วยของคนในชุมชนเป็นแบบ real-time และต่อเนื่องจากข้อมูลเหล่านี้จะถูกเก็บเป็นข้อมูลระบาดวิทยาสำหรับชุมชนเพื่อสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงทุกเดือน เมื่อมีข้อมูลที่เปลี่ยนแปลงไปจากระบาดวิทยาเดิม เช่น มีอัตราการป่วยเป็นไข้หวัดสูงผิดปกติในเดือนที่ไม่เหมาะสม จึงต้องทำการวิเคราะห์ถึงสาเหตุที่ทำให้ข้อมูลเหล่านี้เปลี่ยนแปลงไปจากการระบาดเดิม และวิเคราะห์แนวโน้มของเชื้อที่น่าจะพบการระบาด การศึกษานี้ทำที่ชุมชนตำบลวัดหลวง จังหวัดชลบุรี โดยมีไวรัสชนิดนี้เป็นแม่แบบ เนื่องจากเป็นบริเวณพื้นที่เสี่ยง ถึงแม้ว่าตามข้อมูลยังไม่พบการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ในประเทศไทย แต่อาจเป็นเพราะไม่มีการตรวจสอบการติดเชื้อที่ชัดเจน จึงทำให้ไม่สามารถตรวจพบก็เป็นได้

การสร้างแนวทางรับมือต่อโรคอุบัติใหม่โดยจัดอบรมให้กับอสม. ชุมชนตำบลวัดหลวงจำนวน 60 คน มีการสร้างเครื่องมือในลักษณะแบบสอบถาม ประกอบไปด้วยข้อมูลทั่วไป, อาการเจ็บป่วยในแบบต่างๆ (เน้นอาการเจ็บป่วยทางระบบประสาทสำหรับนิพาห์ไวรัส), ประวัติที่เป็นปัจจัยเสี่ยง (การเลี้ยงหมู, สัมผัสค้างคาว, และการสัมผัสสัตว์ตาย) และในส่วนของกรณีศึกษาโรคเบื้องต้นการอบรมเป็นลักษณะการสร้างสถานการณ์จำลองโดยเจ้าหน้าที่แสดงอาการตามกลุ่มโรค เพื่อให้อสม. สรุปการวินิจฉัยเบื้องต้นโดยการซักประวัติสอบถามอาการ โดยการทำเครื่องหมายลงในแบบสอบถามหลังจากนั้นเจ้าหน้าที่ทำการตรวจแบบสอบถามตามอาการและกลุ่มโรคที่แสดง เพื่อตรวจสอบว่าอสม. สามารถวินิจฉัยโรคได้ถูกต้องหรือไม่ จากผลการประเมินความรู้ของอสม. พบว่าสามารถวินิจฉัยโรคได้ถูกต้องเกินร้อยละ 90 ซึ่งอสม. 1 คนจะรับผิดชอบ 5 หลังคาเรือนในชุมชน ฉะนั้นข้อมูลที่ได้รับเป็นลักษณะเชิงลึกและรวดเร็ว

จากข้อมูลระบาดวิทยาของตำบลวัดหลวงที่ได้รับในระยะเวลา 1 ปี (พฤษภาคม 2555-เมษายน 2556) ไม่พบอาการชักหรืออาการเจ็บป่วยที่ทำให้สงสัยว่าเป็นโรคไข้สมองอักเสบโดยโรคทางสมองที่พบอยู่ในกลุ่มของไมเกรนและอาการชาตามปลายมือ ปลายเท้า อย่างไรก็ตามโรคที่พบมากที่สุด คือ โรคทางเดินหายใจส่วนบน (ร้อยละ 87.8) รองลงมาคือ โรคระบบทางเดินอาหาร (ร้อยละ 6.4) และเยื่อตาอักเสบ (ร้อยละ 5) หากพิจารณาตามเดือนพบว่า มีผู้ป่วยมากที่สุดในช่วงเดือนกรกฎาคม-สิงหาคมเนื่องจากเป็นฤดูฝนการเก็บข้อมูลทางระบาดวิทยาเหล่านี้มีประโยชน์เพื่อให้ชุมชนได้ตระหนักและเฝ้าระวังการเกิดโรคระบาดในพื้นที่เสี่ยง

12.45 น. รับประทานอาหารกลางวัน

13.45 น. การอภิปรายและระดมสมอง

- ความเห็นของภาคีเครือข่ายต่อโครงการฯ และการนำผลงานไปใช้ประโยชน์
- ร่วมคิด ร่วมค้น มาตราการป้องกันการแพร่ระบาดของไวรัสซิกาในประเทศไทย
- แนวทางการเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ สำหรับประเทศไทย

โดย สพ.ญ.ดร.วันทนี กัลป์ประวิทย์ ที่ปรึกษาสำนักประสานงานวิจัยและพัฒนา “สุขภาพสัตว์และสาธารณสุข”

การประชุมนำเสนอผลงานและรับฟังความคิดเห็นจากภาคส่วนที่เกี่ยวข้องครั้งนี้ ประกอบด้วยผู้เข้าร่วมประชุมจากหน่วยงานต่างๆ ประกอบด้วย คณะผู้วิจัยจากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะผู้วิจัยจากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะผู้วิจัยจากคณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะผู้วิจัยและตัวแทนจากกรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่าและพันธุ์พืช ตัวแทนจากกรมปศุสัตว์ กรมควบคุมโรค สกว. และตัวแทนจากอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO)

การนำเสนอผลงานวิจัยในครั้งนี้ มีประเด็นสำคัญที่วิทยากร (ดร.วันทนี) สรุปดังนี้

- ทำไม...(ทุกภาคส่วน)..ต้องให้ความสำคัญต่อการศึกษาในลักษณะ One Health
- ต้องมอง One Health ด้วยใจ-ส่วนรวม
- หน่วยงานของรัฐ รับผิดชอบต่อพิจารณาด้วย
- ชาวบ้านในพื้นที่ศึกษาวิจัยได้สะท้อนความคิดเห็นต่อโครงการว่า
 - “ดีที่มาตรวจก่อน จะได้ป้องกันก่อนเกิดโรค”
 - “ไม่เคยรู้(โรค)มาก่อน โชคดีที่รู้จะได้ระวัง
 - งานวิจัยที่ทำนี้ “เพื่อประเทศชาติ เพื่อประชาชน เพื่อชาวบ้าน”

งานวิจัยนี้ใช้ความสัมพันธ์ระหว่างค่างคาวและไวรัสซิกาเป็นตัวอย่างตั้งต้น โดยผลงานวิจัยที่ได้ออกมาในรูปแบบของโมเดลหรือต้นแบบการศึกษาทาง Ecology, Risk communication ที่ออกมาในรูปแบบของ public value ไม่ใช่ commercial value ซึ่งนักวิจัยต้องการให้ภาครัฐรับไปพิจารณาใช้จริงในชุมชน และต่อยอดเพื่อให้ได้ประโยชน์สูงสุด และสามารถนำไปใช้ได้จริง ดังที่แสดงในรูปแบบที่ 1 และ 2

Gaps analysis

- Implementation
 - Knowledge มีประเด็นการวิเคราะห์และข้อเสนอแนะจากภาคีเครือข่าย ที่ควรศึกษาเพิ่มเติม ดังนี้
1. เรื่องของอาการไข้ไม่ทราบสาเหตุ (Pyrexia with Unknown Origin: PUO) ที่พบว่าร้อยละ 40% ยังไม่สามารถหาสาเหตุได้ อาจมีการติดเชื้อจากสาเหตุอื่นๆ น่าจะศึกษาเพิ่มเติมว่าเกิดจากเชื้ออะไรรวมถึงปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสดังนั้นด้วย
 2. ประเด็นการวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอุบัติใหม่ เพื่อ early warning
 - Risk mapping ยังไม่มีแบบจำลองเชิงพยากรณ์ (Predictive model) ที่ชัดเจน
 - Risk reduction and management การทำสัมปทานที่เกี่ยวกับช้างควรงดไม่สามารถยกเลิกได้ สิ่งที่สามารถทำได้คือ การศึกษาเรื่องอาชีวอนามัย (Occupational health) ที่เกี่ยวข้อง
 - Seasonal pattern
 - Risk communication ยังไม่มีโมเดลในสัตว์ มีเฉพาะในคน มีความจำเป็นต้องให้การศึกษาเรื่องอาชีวอนามัย (Occupational health) เนื่องจากคนส่วนใหญ่ยังขาดความรู้ความเข้าใจอยู่มาก ดังนั้นจึงน่าจะทำคู่มือที่เกี่ยวข้องกับโรคและอาชีพให้เรียบร้อย และทำเป็นภาษาอื่นๆ ในกรณีที่มีการใช้แรงงานต่างชาติ
 - Risk education
 - ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมด้านภาวะการติดเชื้อ ของคนในกลุ่มเสี่ยง
 3. ประเด็นที่เกี่ยวข้องกับค่างคว
 - การศึกษา seasonal prevalence ของไวรัสชนิดที่พบเชื้อในค่างควเด็ก ควรศึกษาเชื้อในค่างควผู้ใหญ่ว่ารูปแบบเป็นอย่างไร (ความเห็นนักวิจัย: มี seasonal pattern ของการแพร่เชื้อไวรัสจริงในช่วงที่มีการพบค่างควเด็กจำนวนมากว่าเดือนอื่นๆ แต่การพบเชื้อพบในค่างควผู้ใหญ่)
 - การศึกษา risk interface factors เพิ่มเติมรวมถึงเรื่องปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม และสัตว์ชนิดอื่นๆ
 - ผลไม้อื่นๆ ที่พบในท้องถื่น เช่นตะขบ ที่เกินอาหารหลักของค่างคว แต่อาจเป็นปัจจัยแพร่โรค การศึกษาด้าน Agro-ecological activities จะช่วยให้เข้าใจปัจจัยเสี่ยงเพิ่มขึ้น
 - ควรมีการศึกษาในค่างควที่เป็นโรค และไม่เป็นโรค และปัจจัยทำให้เกิดการติดเชื้อเพิ่มเติม ร่วมกับการศึกษาพฤติกรรมของค่างคว และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับ Climate change เพิ่มเติม
 4. Vector: ยุง และแมลงบนตัวค่างคว เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ เช่น ไข้เลือดออก เป็นต้น และเป็นตัวแพร่กระจายโรคอื่นได้ น่าจะศึกษาเพิ่มเติมด้วย
 5. สิ่งแวดล้อม
 - ปัจจุบันเรื่องของ One Health เน้นการศึกษาในคนและสัตว์ซึ่งจัดเป็นกลางทางและปลายทางมากกว่าเรื่องการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมเช่นอุณหภูมิ ความชื้น ที่เป็นต้นทาง น่าจะมีการ

รวบรวมวิเคราะห์และเชื่อมโยงข้อมูลต่างๆ เช่นการเพิ่มจำนวนของค้างคาว การย้ายถิ่น เพื่อให้เห็นภาพรวมและมีความเข้าใจอย่างแท้จริง

- ควรเพิ่มตัวอย่างในการศึกษา (Scale up) ในการตรวจหาไวรัสชิคาและพฤติกรรมของค้างคาว ซึ่งควรบูรณาการเรื่อง prevalence และ สิ่งแวดล้อมให้มากขึ้น รวมถึงการศึกษาประโยชน์ของค้างคาว เช่นการผสมเกสรดอกไม้ เป็นต้น นอกเหนือไปจากการเป็นแหล่งรังโรคร่วมด้วย
6. Conservation and wildlife health
- จากผลการวิจัยค้างคาวที่พบในวัดมีสุขภาพแย่เนื่องจากเชื้ออื่น ชากที่ตาย มีสุนัขและสัตว์อื่นๆ มาสัมผัส ซึ่งน่าจะศึกษาเชื้อในกลุ่มนี้ด้วย
 - ควรสนใจในสุขภาพของสัตว์ป่าอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการกระจายของโรค เช่น ในลิงที่วัดเขาฉกรรจ์ที่พบเป็นจำนวนมาก และสุขภาพแย่ อาจทำให้เกิดการแพร่ของโรคในลิง และมาสู่คนได้ นอกจากนี้ควรให้ความรู้แก่ผู้นำในชุมชน หรือบุคคลที่คนในชุมชนให้ความเคารพเช่น พระภิกษุ เป็นต้น เพื่อให้สามารถเหนี่ยวนำ หรือชักจูงให้คนในชุมชนปฏิบัติตามในสิ่งที่ถูกต้องเหมาะสม ไม่ใช่เพียงความปรารถนาดีเพียงอย่างเดียว
7. ควรมีการเตรียมความพร้อมเพื่อรับมือกับการระบาดของโรคต่างๆ ที่จะทำให้เกิดภาวะฉุกเฉินทางด้านสาธารณสุข ให้ลงถึงภาคปฏิบัติ เช่น การจัดห้องแยกสำหรับการตรวจและการดูแลรักษา และควรมีการเตรียมพร้อมด้านการรักษา เช่นเครื่องช่วยหายใจขนาดเล็กและมีราคาถูกลง รวมไปถึงการเฝ้าระวังการแพร่กระจายของโรคด้วย

ประเด็นที่ควรนำไปศึกษาวิจัยต่อ

1. ค้างคาว ในประเด็น นิเวศวิทยาทางการเกษตร (Argro-ecology) และปัจจัยเสี่ยง (Risk factors)
2. อาชีวอนามัย (Occupational health) และปัจจัยเสี่ยง (Risk factors)
3. แบบจำลองเชิงพยากรณ์ (Predictive model)
4. การเพิ่มจำนวนตัวอย่าง พื้นที่/ในการศึกษา (Scale-up)

สรุปการตอบข้อซักถามและการอภิปราย

1. ผลไม้ที่ค้างคาวชอบกิน เช่น ตะขบ อาจจะเป็นส่วนสำคัญในการติดต่อมาสู่คนได้ (Risk environment factor) มากกว่าลูกตำลึงหรือไม่ รวมถึงเรื่องเส้นทางการบินและลักษณะนิสัยการหากินของค้างคาวขึ้นอยู่กับปัจจัยอะไร

ตอบ พฤติกรรมการกินของค้างคาวไม่ได้กินผลไม้ในสถานที่เก็บได้ แต่จะหิ้วไปกินที่อื่น ยกเว้นลูกตะขบค้างคาวจะกินได้ต้นตะขบ ค้างคาวโดยส่วนใหญ่จะไม่กินตรงนั้น แต่จะเด็ดและบินไปกินตรงจุดอื่น ซึ่งอาจจะเป็นจุดที่สำคัญของการแพร่เชื้อไปยังสัตว์อื่นๆ ได้ ส่วนการบินของค้างคาวจะไปได้ไกลเท่าไรขึ้นกับความสมบูรณ์ของค้างคาวและสภาพแหล่งอาหาร ถ้านอกฤดูผลไม้เส้นทางการบินจะไกลออกไปเรื่อยๆ

2. เชื้อ Coronavirus ที่พบในซี้คังคาวที่เขาส่งพราน จังหวัดราชบุรี มีความแตกต่างของเชื้อ Coronavirus ในคนอย่างไร สามารถติดต่อได้หรือไม่ และได้มีการศึกษา seroprevalence ในคนงานที่เป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงเพื่อหาระดับภูมิคุ้มกัน เปรียบเทียบกับชาวบ้านในบริเวณใกล้เคียง รวมไปถึงการให้ความรู้แก่คนงานที่เข้าไปเก็บด้วยหรือไม่

ตอบ เนื่องจากการเก็บตัวอย่างทำเฉพาะหน้าถ้า ไม่ได้เก็บสดเหมือนกลุ่มอื่นๆ การจำแนกชนิดคังคาวจึงทำไม่ได้ รวมทั้งการเพาะเชื้อจึงเป็นไปได้ยากจึงไม่สามารถตอบได้ว่าเป็นเชื้อในระยะติดต่อหรือไม่ แต่จะพบเชื้อในเดือนที่ใกล้ๆ กัน อยู่ระหว่างการดำเนินการขอทุนดำเนินการต่อ

ไม่ได้มีการศึกษา seroprevalence แต่มีการสอบถามประวัติการป่วยด้วยโรคต่างๆ ย้อนหลัง 2 ปี ของคนงานที่เก็บมูลคังคาวเปรียบเทียบกับชาวบ้านในบริเวณใกล้เคียงที่ไม่ได้เก็บมูล พบว่ามีอาการปกติ ไม่พบการติดเชื้อแต่อย่างใด และอยู่ระหว่างการดำเนินการเตรียมให้ความรู้แก่คนงานและชาวบ้านในบริเวณใกล้เคียง แต่โดยปกติคนงานจะมีการป้องกันตนเองอยู่แล้วโดยจะใส่ถุงมือผ้า หมวกคลุม ปิดปาก และใส่รองเท้าบูท

3. การรายงานผลงานทางวิชาการจากการตรวจพบเชื้อต่างๆ มีระบบของการรายงานอย่างไร เรื่องของการตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิจัย การแจ้งเตือนประชาชน รวมถึงการให้ข่าวกับสื่อ (press release) สามารถทำได้หรือไม่หรือควรทำอย่างไร

ตอบ ดร. สุภาภรณ์ให้ความเห็นว่า ปัจจุบันการรายงานการพบเชื้อจากสัตว์ป่าในโครงการของ PREDICT (EPT program, USAID) จะมีตัวแทนจากกรมควบคุมโรคกรมปศุสัตว์ และกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช ที่เป็นหน่วยงานของรัฐร่วมรับทราบอยู่อย่างเป็นระบบที่ต้องได้รับความเห็นชอบจากภาครัฐก่อนมีการนำไปเผยแพร่สู่ public ซึ่งจะมีการสร้างแผนที่การพบเชื้อโรคจากการสำรวจในรูปแบบเดียวกับการรายงานโรคติดต่อของประเทศต่างๆ Health map

การตีพิมพ์ผลงานวิชาการเพื่อรายงานผลการพบเชื้อ ผู้อำนวยการสำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ (นพ. รุ่งเรือง กิตผาติ) ได้ให้ความเห็นว่าเป็นสิ่งที่สามารถทำได้เลยโดยไม่จำเป็นต้องรอความเห็นจากภาครัฐ เนื่องจากเป็นผลงานวิชาการ แต่หากจะต้องมีการเผยแพร่ในสื่อสาธารณะ เช่น การจัด press conference หรือบทความในหนังสือพิมพ์ จะขอให้นักวิจัยส่งเนื้อหาที่จะเผยแพร่ให้กับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องก่อนการเผยแพร่ เพื่อให้มีการประเมินความเสี่ยงก่อนที่จะออกข่าว การให้ข่าวต้องโปร่งใส ให้ข้อมูลอย่างชัดเจน ว่าใครมีหน้าที่อะไร และต้องทำอะไร และมีเตรียมการรับมืออย่างไร

ปิดการประชุมเวลา 16.00 น.

ผู้บันทึก คณะนักวิจัยการเตรียมความพร้อมรับมือโรคอุบัติใหม่และอุบัติซ้ำเชิงบูรณาการ

ผู้ตรวจทาน ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษาติ