



สารเสาวภา

Queen Saovabha Memorial Institute Bulletin

(QSMI Bulletin)

ISSN 1685 – 6341

ปีที่ 23 ฉบับที่ 1 / 2567

VOLUME 23, NO. 1 / 2024



สถานเสาวภา สภากาชาดไทย  
Queen Saovabha Memorial Institute



## สารเสาวภา

## Queen Saovabha Memorial Institute Bulletin

## (QSMI Bulletin)

คณะดำเนินการ	สถานเสาวภา สภากาชาดไทย	
ที่ปรึกษา	วิศิษฎ์ สิตปรีชา	ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร
บรรณาธิการ	สุสุขชา สุนทรารชุน	
รองบรรณาธิการ	ลาวัลย์ จันทน์โฮม อรรวรรณ แซ่ไคว่	บุญเลิศ ลำเลิศเดชา สุรศักดิ์ เอกโสวรรณ
กองบรรณาธิการ	สุจิตตรา ขุนทรัพย์ สุดา พันธุ์จันทร์ ทักษะ เวสารัชชพงษ์ ณัฐวดี มนต์อ่อน ศรัณยา หวังเจริญตระกูล	ธรรมบุญ ดวงโสน สุเมธ โพธิกุล ปณิธิ ละอองบัว ชานนท์ ฝาเงิน ศันสนีย์ กาญจนวีรวิทย์
จัดพิมพ์และเผยแพร่โดย	สถานเสาวภา สภากาชาดไทย 1871 ถนนพระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0 2252 0161 www.saovabha.org	
ออกแบบปกโดย	ศรัณยา หวังเจริญตระกูล	

ISSN 1685 – 6341

\* เนื้อหาบทความทางวิชาการในวารสารนี้เป็นความคิดเห็นและความรับผิดชอบของผู้เขียน

## บทบรรณาธิการ

สารเสาวภาคฉบับนี้เป็นฉบับที่ 1 ประจำปีที่ 23 พ.ศ. 2567 โดยเนื้อหาของสารเสาวภาคยังคงมุ่งเน้นในการเผยแพร่ผลงานทางวิชาการด้านวิทยาศาสตร์ตามพันธกิจของสถานเสาวภาค มีการเรียบเรียงผลงานเป็นภาษาไทยที่ง่ายต่อการอ่าน อาจมีขั้นตอนการทำการทดลองหรือวิธีการคร่าวๆ และบทสรุปวิเคราะห์ในตอนท้าย

สารเสาวภาคฉบับนี้มีเนื้อหาทั้งบทความวิจัยและบทความวิชาการที่มีความหลากหลาย และน่าสนใจสำหรับนักวิชาการและประชาชนผู้สนใจทางวิทยาศาสตร์ ประกอบด้วยบทความวิจัย 3 เรื่องที่เกี่ยวข้องกับโรคพิษสุนัขบ้า คือ ความเข้าใจในไวรัสพิษสุนัขบ้าที่สามารถแพร่กระจายต่อการทำงานของไตในสุนัขป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้าได้หรือไม่ และการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพิษงูและงูพิษ คือ การเพิ่มขนาดสายเปปไทด์สังเคราะห์ของพิษงูเห่าไทยเพื่อฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกระต่าย และการทดสอบสร้างรั้วเพื่อการป้องกันงูเห่าไทย นอกจากนี้ ยังมีบทความวิชาการอีก 2 เรื่อง ซึ่งเกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้เทคนิคทางด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลกับการศึกษาวิจัยในงู และโรคติดเชื้อริกเก็ตเซีย: โรคสัตว์สู่คนที่ถูกมองข้าม

กองบรรณาธิการสารเสาวภาค ขอขอบคุณผู้สนับสนุนทุกท่านที่ได้สละเวลาในการเผยแพร่ความรู้อันมีค่าทางวิชาการ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าสารเสาวภาคฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้อ่านทุกท่าน พบกันใหม่ในฉบับหน้า

สุนุชชา สุนทรารชุน

บรรณาธิการ



## สารเสาวภา

# Queen Saovabha Memorial Institute Bulletin

ปีที่ 23 ฉบับที่ 1 / 2567

VOLUME 23 NO. 1 / 2024 ISSN 1685 – 6341

- ความเข้าใจไวรัสพิษสุนัขบ้าสามารถแพร่กระทบต่อการทำงานของไตได้หรือไม่ในสุนัขป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้า 1 - 6  
[Understanding whether rabies virus can be transmitted to affect kidney function in rabid dogs](#)  
บุญเลิศ ลำเลิศเดชา ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร
- การเพิ่มขนาดสายเปปไทด์สังเคราะห์ของพิษงูเห่าไทยเพื่อฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกระต่าย 7 - 12  
[Modification of cobra venom peptide for immunization](#)  
สุจิตตรา ขุนทรัพย์ ปณิธิ ละอองบัว จุรีพร น้อยพรหม นรารัตน์ เหล่าพิเชียรพงษ์  
สุนุชชา สุนทรารชุน รัตนา สุทธิศรี
- การทดสอบสร้างรั้วเพื่อการป้องกันงูเห่าไทย (*Naja kaouthia*) 13 - 18  
[The experiment on monocled cobras for a snake-proof fence \(\*Naja kaouthia\*\)](#)  
ปณิธิ ละอองบัว ธนวัฒน์ จินจาร์ักษ์ บุญนำ ย้อยผลอย
- การประยุกต์ใช้เทคนิคทางด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลกับการศึกษาวิจัยในงู 19 - 23  
[Application of molecular techniques in snake study](#)  
นรารัตน์ เหล่าพิเชียรพงษ์
- โรคติดเชื้อริกเก็ตเซีย: โรคสัตว์สู่คนที่ถูกมองข้าม 25 - 33  
[Rickettsiosis: A neglected zoonotic disease](#)  
ชานนท์ ฝาเงิน



สารเสาวภา

Queen Saovabha Memorial Institute Bulletin



## ความเข้าใจไวรัสพิษสุนัขบ้าสามารถแพร่กระทบต่อการทำงานของไตได้หรือไม่ในสุนัขป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้า

### Understanding whether rabies virus can be transmitted to affect kidney function in rabid dogs

บุญเลิศ ลุ่มเลิศดา<sup>1</sup> ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร<sup>2</sup>

Boonlert Lumlertdacha<sup>1</sup>, Narongsak Chaiyabutr<sup>2</sup>

1 ฝ่ายชันสูตรและวิจัยโรคในสัตว์ สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

2 ฝ่ายวิชาการ สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

1 Department of Diagnosis and Animal Research, Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society

2 Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society

**บทคัดย่อ:** สายพันธุ์ไวรัสพิษสุนัขบ้า (จีโนไทป์ที่ 1) อยู่ในวงศ์ Rhabdoviridae สกุล Lyssavirus ซึ่งมีสมาชิกรวม 17 สายพันธุ์ ที่สามารถก่อโรคสมองอักเสบ ซึ่งสร้างรอยโรคที่ระบบประสาทส่วนกลางนำไปสู่การเสียชีวิต อย่างไรก็ตาม จากรายงานถึงกรณีที่มีผู้ติดเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้ามีชีวิตรอดต่างๆ ที่ไม่มีข้อยืนยันที่แน่ชัดในการพบเชื้อไวรัสจากกระแสเลือดที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพของระบบประสาทส่วนกลาง คณะผู้เขียนมีความสนใจและรายงานผลการศึกษาวีรัสพิษสุนัขบ้ากับการทำงานของไต เนื่องจากมีรายงานว่าผู้ที่ได้รับการปลูกถ่ายไต 2 ราย เสียชีวิตจากโรคพิษสุนัขบ้า โดยในการผลิตวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าทั่วไปจะมาจากการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สกัดได้จากไต จึงเกิดคำถามว่าไวรัสพิษสุนัขบ้าสามารถเพิ่มจำนวนและส่งผลกระทบต่อการทำงานของไตขณะมีชีวิตได้หรือไม่ การรายงานนี้เป็นกรณีศึกษาถึงผลที่มีการศึกษาการทำงานของไตโดยมีการวัดค่าการทำงานของไต ระบบไหลเวียนเลือด และค่าเคมีในเลือดในสุนัขป่วยโรคพิษสุนัขบ้า จำนวน 5 ตัว เปรียบเทียบกับค่าในสุนัขปกติ เพื่อให้เกิดความเข้าใจในการก่อโรคของไวรัสพิษสุนัขบ้าได้มากขึ้น

**คำสำคัญ:** ไวรัสพิษสุนัขบ้า, สุนัขป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้า, การทำงานของไต

**ABSTRACT:** The rabies virus (genotype 1) belongs to the virus family Rhabdoviridae and the genus Lyssavirus. It is one of the 17 isolates that cause a rabies-like encephalitic syndrome. This virus targets the central nervous system, ultimately leading to inevitable death. However, there are documented cases of survivors from the infection. Despite this, there is still no credible evidence that the hematogenous spread of the rabies virus to the central nervous system plays a significant role in rabies pathogenesis. We are interested in kidney function during the progression of other clinical signs, as previous kidney transplantation could result in fatal rabies in the two recipients thereafter. Additionally, kidney-derived tissue culture is widely used for rabies vaccine manufacturing or for rabies virus isolation processes. Should there be relevance to rabies viral growth specifically in the kidney in vivo? This review reports the evidence for rabid dogs and their renal functions by reviewing experimental data on measuring renal functions, blood pressure, heart rate, and blood chemistry in five rabid dogs and comparing them with healthy animals for a better understanding.

**Keywords:** Rabies virus, Rabid dogs, Renal functions

## บทนำ

โรคพิษสุนัขบ้าเกิดจากเชื้อไวรัส Rhabdovirus ชื่อ Rabies virus หรือไวรัสพิษสุนัขบ้า ซึ่งเป็นสายพันธุ์แยกย่อยมาจากสกุล Lyssavirus ถูกจำแนกออกเป็น 17 สายพันธุ์ย่อยในปัจจุบันที่ก่อให้เกิดอาการสมองอักเสบเหมือนโรคพิษสุนัขบ้า (Rohde and Rupprecht, 2020) ไวรัสก่อให้เกิดความเสียหายต่อระบบประสาทส่วนกลาง (Hemachudha et al., 2013; Alan, 2016; Fooks et al., 2017) และนำไปสู่การเสียชีวิตของผู้ป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้าในที่สุด ถึงแม้จะเป็นโรคที่รักษาไม่หาย แต่เคยมีรายงานว่าผู้รอดชีวิตจากการติดเชื้อจำนวนหนึ่ง (Reeta et al., 2019) เป็นที่น่าสนใจว่าในระหว่างการกักโรคพิษสุนัขบ้าร่างกายตรวจไม่พบเชื้อไวรัสในกระแสเลือดเลย (Alan, 2011) จากผลรายงานดังกล่าวจึงไม่ควรจะมีความเสียหายหรือร่องรอยโรคของอวัยวะอื่นนอกจากสมองภายในร่างกาย เช่น ไต เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงไวรัสพิษสุนัขบ้าในห้องปฏิบัติการนิยมใช้เซลล์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากไต เช่น Vero cell tissue culture หรือใช้สำหรับการทดสอบหาความต้านทานการก่อโรคจากไวรัสดังกล่าว จึงมีคำถามว่าไวรัสพิษสุนัขบ้าทำงานกับเซลล์ไตที่นอกตัวหรือภายในตัวสัตว์อย่างไร? เท่าที่ทราบยังไม่มีการรายงานการทำงานของไตในผู้ป่วยโรคพิษสุนัขบ้า นอกจากรายงานการศึกษาในสัตว์ทดลอง (Chaiyabutr et al., 1994) ที่มีการนำเสนอผลการศึกษาในการประชุมวิชาการ โดยกลุ่มสัตวแพทย์จากคลินิกโรคหัวใจในสัตว์ สถานเสวภา ได้ทำการศึกษาการทำงานของไตในสุนัขป่วยที่แสดงอาการของโรคพิษสุนัขบ้าที่ยังไม่เสียชีวิต เปรียบเทียบกับค่าการทำงานของไตในสุนัขปกติ เพื่อให้เกิดความเข้าใจในกระบวนการก่อโรคของไวรัสได้ดียิ่งขึ้น การรายงานในครั้งนี้เป็นการรายงานผลการศึกษาทางสรีรวิทยาวิทยาในร่างกายของสุนัขป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้าเป็นรายตัวโดยวัดค่าการทำงานของไต ระบบไหลเวียนเลือด และค่าเคมีในเลือดในสุนัขป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้าเปรียบเทียบกับค่าในสุนัขปกติ

## ขั้นตอนและวิธีการ

### การเตรียมสุนัข

สุนัขป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้า จำนวน 5 ตัว อายุโตเต็มวัย คละเพศ ได้รับการตรวจอาการโดยสัตวแพทย์ สุนัขป่วยมีอาการของโรคพิษสุนัขบ้าชัดเจนทั้งชนิดแสดงอาการดุร้ายและชนิดแสดงอาการซึม มีการแสดงอาการทางประสาทกล้ามเนื้อลำตัวและขากระตุก ม่านตาขยาย กระสับกระส่าย ลูกถี่ลูกกลน ตื่นตัวตลอดเวลา กลืนน้ำและอาหารลำบาก เหาเสียงแหบ เดินลำตัวแข็ง บางตัวมีอาการอาเจียนหรือแสดงอาการดุร้ายร่วมด้วย ภายหลังจากศึกษาแล้วสุนัขที่นำมาศึกษาทุกตัวจะมีการตรวจเนื้อสมองด้วยวิธี Direct fluorescent antibody test (DFA) เพื่อยืนยันเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าในเนื้อสมอง

### การตรวจวัดอัตราการเต้นหัวใจ ความดันเลือด และการทำงานของไต

วิธีการศึกษาสุนัขป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้า วิธีการโดยย่อ ทำให้สุนัขป่วยสลบด้วยการฉีด Pentobarbital sodium (25 mg/kg) เข้าหลอดเลือดดำที่ขาหลัง ทำการผ่าตัดบริเวณขาหลังแยกหาหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่ต้นขา (Femoral artery and vein) โดยหลอดเลือดแดงที่ต้นขาใช้เพื่อบันทึกอัตราการเต้นของหัวใจและความดันเลือดด้วยการสอดท่อโพลีเอทิลีน (Polyethylene OD 1.5 mm) เข้าหลอดเลือดแดงที่ต้นขาและปลายท่ออีกด้านต่อกับเครื่อง Pressure transducer และเครื่องบันทึกความดันเลือดและอัตราการเต้นหัวใจ (Harvard physiograph) ส่วนหลอดเลือดดำที่ต้นขา ใช้เป็นที่ฉีดสารละลายในการวัดอัตราการการทำงานของไต ผ่านท่อโพลีเอทิลีนที่สอดเข้าหลอดเลือดทำการเปิดผ้าบริเวณด้านข้างซ้ายของลำตัวตรงกับระดับตำแหน่งไตซ้ายโดยวิธี Retroperitoneal เพื่อสอดท่อสวนโพลีไวนิล (Polyvinyl catheter; PV 190) เข้าไปยังหลอดเลือดซ้ายเพื่อการเก็บตัวอย่างปัสสาวะ ในการศึกษาการทำงานของไตทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะผ่านท่อสวนโพลีไวนิล ทุกๆ 10 นาทีพร้อมกับเก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดแดงใส่ในหลอดที่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัวชนิดเฮพาริน (Heparin) ไปพร้อมๆ กัน แล้วแยกส่วนพลาสมาไปตรวจวัดอัตราการ

กรองและอัตราการไหลของเลือดสู่ไต โดยวิธีเคลียร์แรนซ์เทคนิค (Clearance techniques) ที่มีการฉีดสารละลาย Inulin และ p-Aminohippuric acid (PAH) เข้าหลอดเลือดดำอย่างต่อเนื่องในอัตรา 1.5 ml/min

#### การตรวจค่าพารามิเตอร์ต่างๆ

ตัวอย่างพลาสมา และปัสสาวะ นำไปตรวจวัดระดับความเข้มข้นของ PAH และ Inulin โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ตรวจวัดระดับโซเดียม ( $\text{Na}^+$ ) และโพแทสเซียม ( $\text{K}^+$ ) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์หาคะด้วยเปลวไฟโฟโตมิเตอร์ (Flame photometer) ระดับคลอไรด์ ( $\text{Cl}^-$ ) วัดด้วยเครื่อง Chloridometer และค่าออสโมลาริตี (Osmolarity) วัดด้วยเครื่อง Freezing point osmometer (Advance osmometer model 3)

ตรวจค่าส่วนประกอบของสารในพลาสมา (Plasma compositions) ได้แก่ BUN Creatinine SGOT SGPT และ

Glucose ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก (Kodak Ektachem DT system)

#### การคำนวณ

ค่าระดับความเข้มข้นของ Inulin และ PAH ในตัวอย่างพลาสมา และในปัสสาวะใช้ในการคำนวณค่าเคลียร์แรนซ์ ใช้สำหรับวัดค่าอัตราการกรอง (Glomerular filtration rate; GFR) และอัตราการไหลพลาสมาสู่ไต (Renal plasma flow; RPF) ค่าอัตราการไหลของเลือดสู่ไต (Renal blood flow; RBF) ได้จากค่า RPF ทหารด้วย 1- PCV/100

ค่าความต้านทานของหลอดเลือดไต (Renal vascular resistance; RVR) ได้จากการหารค่าความดันเลือด ด้วยค่า RBF ค่า Filtration fraction (FF) ได้จากการหารค่า GFR ด้วยค่า RPF ค่า Fractional excretion of electrolytes (FE) ได้จากการหารค่า Clearance of electrolyte ด้วย ค่า GFR ค่า Free water clearance ได้จากการหักลบค่า Osmolar clearance ออกจากค่าอัตราการขับปัสสาวะ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย อัตราการเต้นหัวใจ ความดันเลือด น้ำหนักตัว และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) ของสุนัขที่ป่วยเป็นโรคพิษสุนัขบ้า

พารามิเตอร์	สุนัข I	สุนัข II	สุนัข III	สุนัข IV	สุนัข V	ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าอ้างอิง*
น้ำหนักตัว (kg)	7.4	5.0	12.0	5.0	9.0	7.7 $\pm$ 2.9	---
อัตราการเต้นหัวใจ (ครั้ง/นาที)	158	162	138	156	120	147 $\pm$ 18	146 (138-154)
ความดันเลือด (mm/Hg)	88	140	213	106	116	133 $\pm$ 48	115 (109-121)
PCV (%)	39	25	46	27	45	36 $\pm$ 10	30 (27-33)

\* ค่าอ้างอิงเฉลี่ยคิดจากตัวอย่างสุนัขปกติ 30 ตัว.

ตารางที่ 2 อัตราการกรอง (GFR) อัตราการไหลพลาสมาสู่ไต (RPF) อัตราการไหลของเลือดสู่ไต (RBF) ค่าความต้านทานหลอดเลือดไต (RVR) ค่า Filtration fraction (FF) และอัตราการขับปัสสาวะ (V) ของสุนัขป่วยเป็นโรคพิษสุนัขบ้า

พารามิเตอร์	สุนัข I	สุนัข II	สุนัข III	สุนัข IV	สุนัข V	ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าอ้างอิง*
GFR (mL/min/kg)	1.56	1.69	0.58	0.91	0.61	1.07 $\pm$ 0.52	1.56 (1.45-1.67)
RPF (mL/min/kg)	5.79	6.03	3.10	3.47	4.36	4.55 $\pm$ 1.32	6.70 (5.77-7.63)
RBF (mL/min/kg)	8.15	8.04	5.74	4.75	7.93	6.92 $\pm$ 1.57	9.62 (8.54-10.70)
V ( $\mu\text{L}/\text{min}/\text{kg}$ )	17.6	32.0	16.1	11.8	8.1	17.1 $\pm$ 9.1	33.2 (28.7-37.7)
FF (%)	27	28	19	26	14	23 $\pm$ 6	24 (22-26)
RVR (mmHg/mL/min/kg)	10.8	17.4	37.1	22.4	14.7	20.5 $\pm$ 10.2	12.0 (10.6-13.4)

\* ค่าอ้างอิงเฉลี่ยคิดจากตัวอย่างสุนัขปกติ 30 ตัว.

ตารางที่ 3 แสดงค่าความเข้มข้นในพลาสมาและค่าสัดส่วนการขับทิ้งของอิเล็กโทรไลต์ (Fractional excretion; FE) ของ Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> และ Cl<sup>-</sup> ในสุนัขป่วยด้วยโรคพิษสุนัขบ้า

พารามิเตอร์	สุนัข I	สุนัข II	สุนัข III	สุนัข IV	สุนัข V	ค่าเฉลี่ย ± S.D.	ค่าอ้างอิง*
พลาสมา Na <sup>+</sup> (mEq/L)	133	130	148	140	130	136.2±7.0	141 (138.9-143.9)
FE Na <sup>+</sup>	0.25	1.04	0.19	1.19	0.23	0.58±0.49	1.8 (1.4-2.2)
พลาสมา K <sup>+</sup> (mEq/L)	4.0	2.4	3.3	2.3	3.9	3.18 ± 0.80	3.7 (3.5-4.0)
FE K <sup>+</sup>	0.8	0.5	1.8	0.4	1.2	0.94±0.5	0.5-1.5
พลาสมา Cl <sup>-</sup> (mEq/L)	112	107	118	109	104	110.2±5.7	106 (103-109)
FE Cl <sup>-</sup>	0.18	0.81	0.12	0.84	0.16	0.42 ± 0.36	2.1(1.5-2.6)

\* ค่าอ้างอิงเฉลี่ยคิดจากตัวอย่างสุนัขปกติ 30 ตัว.

ตารางที่ 4 แสดงค่าส่วนประกอบของสารในพลาสมา (Plasma compositions) ของสุนัขป่วยเป็นโรคพิษสุนัขบ้า

พารามิเตอร์	สุนัข I	สุนัข II	สุนัข III	สุนัข IV	สุนัข V	ค่าเฉลี่ย ± S.D.	ค่าอ้างอิง*
Glucose (mg/dl)	239	151	75	38	76	115±80	67-147
BUN (mg/dl)	12	7	24	21	57	24±19	5-30
Creatinine (mg/dl)	0.8	0.5	1.8	0.4	1.2	0.94±0.5	0.5-1.5
SGOT (Units)	108	102	100	60	130	100±25	67-147
SGPT (Units)	6	6	47	32	12	21±18	3-50

\* ค่าอ้างอิงจากเครื่องวิเคราะห์หัตถ์โนมิตทางเคมีคลินิก (Kodak Ektachem DT system)

ตารางที่ 5 แสดงค่า Plasma osmolarity (Posm), Osmolar clearance (Cosm), Free water clearance (CH<sub>2</sub>O), และ Urine osmolarity/Plasma osmolarity ratio (Uosm/Posm) ของสุนัขป่วยเป็นโรคพิษสุนัขบ้า

พารามิเตอร์	สุนัข I	สุนัข II	สุนัข III	สุนัข IV	สุนัข V	ค่าเฉลี่ย ± S.D.
Posm (mosm/kg)	306	289	312	286	307	300±12
Cosm (mL/min)	0.40	0.24	0.39	0.31	0.15	0.29±0.11
CH <sub>2</sub> O (mL/min)	-0.27	-0.08	-0.20	-0.26	-0.08	-0.18±0.09
Uosm/Posm ratio	3.1	1.5	2.1	5.3	2.1	2.8±1.5



## ผลและวิจารณ์

จากการวัดอัตราการเต้นหัวใจของสุนัขป่วยที่แสดงอาการโรคพิษสุนัขบ้าทุกตัว จะอยู่ในช่วงเกณฑ์ปกติเทียบกับของสุนัขปกติ แต่มีค่าความดันเลือดสูงในสุนัขหมายเลข II และ III ที่ชัดเจน ส่วนค่าการตรวจความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง (Hematocrit) ในสุนัขตัวที่ I, III และ IV มีค่าสูงเล็กน้อย เป็นไปได้ว่าร่างกายสุนัขป่วยมีอาการพร่องน้ำอาจเป็นเพราะสัตว์ป่วยกินน้ำไม่ได้ กลืนน้ำและอาหารลำบาก เหาเสียงแหบ มีอาการอาปากลิ้นห้อยเป็นผลให้มีการเสียน้ำออกจากร่างกาย จึงอาจทำให้ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) มีค่าสูงขึ้นได้ (ตารางที่ 1) ผลของการทำงานไตแสดงใน ตารางที่ 2 แสดงค่าอัตราการกรอง (GFR) และอัตราการไหลพลาสมาสู่ไต (RPF) โดยที่สุนัขตัวที่ III, IV และ V มีอัตราต่ำกว่าสุนัขปกติ สำหรับค่า RVR มีค่าสูงขึ้นอย่างชัดเจนในสุนัขป่วย 4 ราย ค่า Filtration fraction (FF) มีความผันแปรในสุนัขแต่ละตัวแต่อยู่ในช่วงของการทำงานปกติของไต ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของอิเล็กโทรไลต์  $\text{Na}^+$  และ  $\text{Cl}^-$  ในพลาสมาของกลุ่มสุนัขป่วยไม่แตกต่างจากค่าเฉลี่ยเทียบกับค่าในสุนัขปกติ แต่ระดับค่า  $\text{K}^+$  ในพลาสมาของสุนัขป่วย 2 ตัว มีค่าต่ำกว่าปกติอย่างชัดเจน อาจมีผลทำให้กล้ามเนื้อของขาอ่อนแรงในสุนัขป่วยอาจทำให้การยืนทรงตัวลำบากได้ สัดส่วนการขับทิ้งของอิเล็กโทรไลต์ (Fractional excretion) ของ  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  และ  $\text{Cl}^-$  มีค่าอยู่ในช่วงเดียวกับสุนัขปกติ ใน ตารางที่ 4 แสดงค่าส่วนประกอบของสารในพลาสมา ระดับน้ำตาลกลูโคส (Glucose) มีความผันแปรมากทั้งภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycemia) และภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) ในสุนัขป่วยโรคพิษสุนัขบ้า สำหรับค่า BUN Creatinine และ SGPT ในสุนัขป่วยโรคพิษสุนัขบ้า มีค่าอยู่ในช่วงปกติ แต่ค่า SGOT มีแนวโน้มสูงเมื่อเทียบกับค่าในสุนัขปกติ

จากผลการศึกษาอาจสรุปได้ว่าสุนัขป่วยโรคพิษสุนัขบ้าไม่พบความผิดปกติโดยตรงที่ไต

และต่อทางเดินปัสสาวะแต่ในสุนัขป่วยโรคพิษสุนัขบ้า จะมีการเสียดุลของปริมาณน้ำในร่างกาย เนื่องจากสัตว์ป่วยไม่สามารถกินน้ำได้ แต่ได้ยังสามารถทำงานได้ตามปกติในการควบคุมปริมาณน้ำในร่างกาย โดยได้ยังทำหน้าที่ในการดูดน้ำกลับ (Renal water reabsorption) ทำให้ปัสสาวะเข้มข้น อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้วัดค่าฮอร์โมนบางชนิดที่สร้างจากสมอง เช่น Vasopressin ที่ออกฤทธิ์ที่ไตโดยตรง ซึ่งน่าจะยังคงขับหลังตามปกติเมื่อร่างกายมีการพร่องน้ำในขณะแสดงอาการป่วยจึงมีผลต่อการทำงานของไตในการกักน้ำโดยมีการการดูดน้ำกลับที่ท่อไต ทำให้พบอัตราการขับน้ำทิ้งที่ต่ำลง จึงพบค่า  $\text{CH}_2\text{O}$  มีค่าลบในสุนัขป่วยทุกราย

อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงไวรัสพิษสุนัขบ้าในห้องปฏิบัติการ มีการใช้เซลล์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากไต เช่น Vero cell tissue culture หรือใช้สำหรับการทดสอบหาความต้านทานการก่อโรคจากไวรัสดังกล่าว แม้การตรวจการทำงานของไตจะอยู่ในเกณฑ์ปกติ แต่จากที่เคยมีรายงานว่า มีผู้รอดชีวิตจากการติดเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า (Reeta et al., 2019) เป็นที่น่าสนใจในระหว่างการก่อโรคของไวรัสพิษสุนัขบ้าในร่างกายตรวจไม่พบเชื้อไวรัสในกระแสเลือดเลย (Alan, 2011) ตามข้อสันนิษฐานดังกล่าวจึงไม่น่าจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของไต หรือพบรอยโรคจากเนื้อเยื่อไต แต่ในปี 2004 มีรายงานผู้เสียชีวิต 4 คน ที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะจากผู้บริจาคอวัยวะคนเดียวกัน (เปลี่ยนไต 2 ราย เปลี่ยนตับ 1 ราย และปลูกถ่ายผนังเส้นเลือด 1 ราย) ซึ่งทราบในเวลาต่อมาว่าผู้บริจาคอวัยวะเสียชีวิตเพราะติดเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า (Srinivasan et al., 2005) จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจจากผลการศึกษาที่พบ ไม่มีการแสดงการทำงานผิดปกติของอวัยวะต่างๆ นอกจากการตรวจพบ Negri body ในสมองของสุนัขป่วยที่ศึกษาเพื่อยืนยันโรคพิษสุนัขบ้า ถ้าเป็นจริงก็ย่อมแสดงว่าไวรัสพิษสุนัขบ้ากับการหลบซ่อนภายในอวัยวะต่างๆ เป็นเรื่องที่ซับซ้อนมาก ในการเปลี่ยนปลูกถ่ายอวัยวะเพื่อความรอบคอบจึงควรตรวจสอบประวัติผู้บริจาคอวัยวะด้วย

**เอกสารอ้างอิง**

- Alan, C. J. 2011. Update on Rabies. Res. Rep. Trop. Med. Feb 2, 31-43.
- Alan, C. J. 2016. Human Rabies: a 2016 Update. Curr. Infect. Dis. Rep. Nov. 18 (11), 38.
- Chaiyabutr, N., Lumlertdacha, B., Mitmoonpitak, C., Tepsumethanon, W., Sitprija, V. 1994. Renal function and blood chemistry in dog with rabies. In: 4<sup>th</sup> Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases. December 4-7, PICC, Manila, Philippines, 77.
- Fooks, A. R., Cliquet, F., Finke, S., Freuling, C., Hemachudha, T., Mani, R. S., Muller, T., Nadin-Davis, S., Picard-Meyer, E., Wilde, H., Banyard, A. C. 2017. Rabies. Nat. Rev. Dis. Primers 3, 17091.
- Hemachudha, T., Ugolini, G., Wacharapluesadee, S., Sungkarat, W., Shuangshoti, S., Laothamatas, J. 2013. Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. Lancet Neurol. 12, 498–513.
- Mani, R. S., Damodar, T., Divyashree, S., Domala, S., Gurung, B., Jadhav, V., Konanki, R., Lingappa, L., Loganathan, S. K., Salagare, R., Tambi, P. 2019. Case Reports: survival from Rabies: Case Series from India. Am. J. Trop. Med. Hyg. Jan. 100(1), 165–169.
- Rohde, R. E., Rupprecht, C. E. 2020. Update on lyssaviruses and rabies: will past progress play as prologue in the near term towards future elimination? Fac. Rev. 9, 9.
- Srinivasan, A., Burton, E. C., Kuehnert, M. J., Rupprecht, C., Sutker, W. L., Ksiazek, T. G., Paddock, C. D., Guarner, J., Shieh, W. J., Goldsmith, C., Hanlon, C. A., Zoretic, J., Fischbach, B., Niezgodna, M., El-Feky, W. H., Orciari, L., Sanchez, E. Q., Likos, A., Klintmalm, G. B., Cardo, D., LeDuc, J., Chamberland, M. E., Jernigan, D. B., Zaki, S. R. 2005. Transmission of rabies virus from an organ donor to four transplant recipients. N. Engl. J. Med. 352, 11.
-



สารเสาวภา

Queen Saovabha Memorial Institute Bulletin



## การเพิ่มขนาดสายเปปไทด์สังเคราะห์ของพิษงูเห่าไทยเพื่อฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกระต่าย

### Modification of cobra venom peptide for immunization

สุจิตตรา ขุนทรัพย์<sup>1</sup> ปณิธิ ละอองบัว<sup>2</sup> จุรีพร น้อยพรหม<sup>1</sup> นรารัตน์ เหล่าพิเชียรพงษ์<sup>1</sup> สุนุชชา สุนทรารชุน<sup>1</sup>  
รัตนา สุทธิศรี<sup>1</sup>

Suchitra Khunsap<sup>1</sup>, Panithi Laoungbua<sup>2</sup>, Jureporn Noiprom<sup>1</sup>, Nararat Laopichienpong<sup>1</sup>,  
Sunutcha Suntrarachun<sup>1</sup>, Rattana Sutthisri<sup>1</sup>

1 ฝ่ายวิจัยและพัฒนา สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

2 สวนงู สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

1 Department of Research and Development, Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society

2 Snake Farm, Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society

**บทคัดย่อ:** โปรตีนหรือเปปไทด์ขนาดเล็กพบว่ามีปัญหาในการกระตุ้นระดับภูมิคุ้มกันในสัตว์ได้ต่ำ การปรับขนาดของโมเลกุลโปรตีนหรือเปปไทด์ดังกล่าวให้มีขนาดใหญ่ขึ้น ด้วยการเชื่อมต่อเข้ากับโปรตีนขนาดใหญ่ เพื่อทำให้โมเลกุลเหล่านั้นมีคุณสมบัติในการกระตุ้นระดับภูมิคุ้มกันดีขึ้น งานวิจัยนี้ทำการเตรียมสายเปปไทด์ Three-finger toxin (3FTXs) ของพิษงูเห่าไทย (*Naja kaouthia*) เพื่อการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกระต่าย โดยใช้การสังเคราะห์สายเปปไทด์ที่มีขนาด 12 กรดอะมิโนบริเวณส่วนของเอนไซม์ที่โมเลกุลของสารตั้งต้นจับกันและเกิดปฏิกิริยาทางเคมี (Active site) ของ 3FTXs จากนั้นเชื่อมต่อเข้ากับ Keyhole limpet hemocyanin (KLH) ด้วย Impact EDC conjugation kit และนำมาฉีดกระตุ้นในกระต่ายเพื่อสร้างภูมิคุ้มกันที่มีต่อพิษงูเห่าไทย แล้ววัดระดับ ด้วยวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และวัดความสามารถในการทนต่อพิษงูในสัตว์ทดลอง จากผลการทดลองพบว่าสายเปปไทด์ที่มีขนาด 12 กรดอะมิโน ที่ได้จากบริเวณส่วนของเอนไซม์ที่โมเลกุลของสารตั้งต้นจับกันและเกิดปฏิกิริยาทางเคมีของ 3FTXs สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อพิษงูเห่าไทยได้

**คำสำคัญ:** Three-finger toxin (3FTXs) พิษงูเห่าไทย Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) โปรตีนตัวพา สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

**ABSTRACT:** Small proteins, or peptides, have been found to have problems stimulating low levels of immunity in animals. Modification of these molecules by conjugating them with large proteins has improved their immunogenic properties. This work was an alteration of 12 amino acid sequences of the conserved region three-finger toxin (3FTXs) by using keyhole limpet hemocyanin (KLH) as a carrier protein. The 3FTXs-KLH molecule was injected into rabbits to produce anti-FTXs. The rabbit serum was collected and measured using ELISA and neutralization methods. The results found that the anti-FTXs of 3FTXs-KLH molecules effected a whole cobra venom.

**Keywords:** Three-finger toxin (3FTXs), *Naja kaouthia*, Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH), Carrier protein, Immunogenic

## บทนำ

พิษงูเห่าไทย (*Naja kaouthia*) ประกอบด้วย โมเลกุล Three-finger toxins (3FTXs) สัดส่วนประมาณ 77.5% (Cytotoxins 24.3% และ Neurotoxins 53.2%) Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) 13.5% และองค์ประกอบอื่นๆ ประมาณ 9% จากหลักฐานของระดับความเป็นพิษ (Toxicity score) พบว่าองค์ประกอบในพิษงูเห่าไทยที่มีความเป็นพิษสูง คือ Short-chain  $\alpha$ -neurotoxin มีขนาดโมเลกุลเพียง 7,579.5±0.591 ดาลตัน (Diganta et al., 2015) ซึ่งเป็นตัวการหลักที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทในผู้ป่วยที่ได้รับพิษงูเห่าไทย การศึกษาการแยกองค์ประกอบของอิมมูโนโกลบูลิน ชนิด G (IgG) ในเลือดคนที่ได้รับพิษงูเห่าไทย พบ IgG ที่ตอบสนองต่อองค์ประกอบขนาดใหญ่ของพิษงูเห่าไทย ในปริมาณสูง ขณะที่พบ IgG ที่ตอบสนองต่อโมเลกุลของ Short-chain  $\alpha$ -neurotoxin ที่มีขนาดเล็กในปริมาณต่ำ ดังนั้นการใช้พิษทั้งหมดในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อผลิตเซรุ่มอาจส่งผลทำให้ได้ Specific- $\alpha$ -neurotoxin IgG ต่ำ และเป็นสาเหตุทำให้ประสิทธิภาพการต้านพิษงูเห่าไทยต่ำด้วย ส่งผลต่อประสิทธิภาพของเซรุ่มแก้พิษงูเห่าโดยรวม (Laustsen et al., 2015)

ปัจจัยที่มีผลต่อการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์ทดลอง ได้แก่ การเลือกใช้สัตว์ที่มีความเหมาะสม เช่น ม้าหรือแกะ คุณสมบัติของพิษและองค์ประกอบต่างๆ ในพิษงูมีความเหมาะสมในการเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Immunogen) เพื่อให้เกิดการตอบสนองที่ดี เช่น ขนาดโมเลกุลของพิษไม่เล็กเกินไป (Brown and Landon 2010; Williams et al., 2011) นอกจากนี้ ยังต้องพิจารณาองค์ประกอบอื่นๆ เช่น การเลือกใช้สารเสริมภูมิคุ้มกัน (Adjuvant) เช่น การใช้ Complete Freund's adjuvant หรือ Incomplete Freund's adjuvant ร่วมกับการฉีดที่เหมาะสม เช่น การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ การฉีดเข้าเส้นเลือด และการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อใช้ในกระบวนการผลิตเซรุ่มในปัจจุบันยังคงใช้พิษงู (Whole venom) ซึ่งประกอบไปด้วยสารพิษหลากหลายชนิด (Mixture-toxins) จำนวนมาก ทำให้ได้ภูมิคุ้มกัน (Antibody) ที่เป็นทั้ง Toxin-neutralizing antibodies และภูมิคุ้มกันต่อองค์ประกอบ

อื่นๆ ที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการรักษา ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ป่วยที่ได้รับเซรุ่มแก้พิษงูที่มีภูมิคุ้มกันต่อองค์ประกอบอื่นๆ ที่ไม่จำเป็นในการรักษาเขาไปด้วย อีกทั้งในขั้นตอนการผลิตยังมีต้นทุนสูงในการกำจัดสิ่งที่ไม่จำเป็นเหล่านี้ออกซึ่งจะส่งผลทำให้เซรุ่มแก้พิษงูมีราคาสูง

โมเลกุล 3FTXs เป็นองค์ประกอบหลักของพิษงูที่มีความเป็นพิษสูง แต่มีความเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ไม่ดี ไม่เหมาะสมต่อการนำมาฉีดกระตุ้นเนื่องจากมีขนาดโมเลกุลที่เล็กเกินไป ดังนั้น จึงต้องมีวิธีการเพื่อเพิ่มความเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน นำมาซึ่งการตอบสนองภูมิคุ้มกันที่ดีและมีประสิทธิภาพให้แก่โมเลกุลของพิษงู

## เปปไทด์สังเคราะห์ (Synthetic peptides)

การสังเคราะห์สายเปปไทด์เลียนแบบโปรตีนจากธรรมชาติเฉพาะส่วนที่ต้องการใช้งาน มีสาเหตุมาจากโปรตีนต้นแบบที่ต้องการมีปริมาณน้อยมาก หรือ การแยกเปปไทด์ส่วนที่ต้องการทำได้ยาก หรือส่วนที่แยกได้ไม่บริสุทธิ์เพียงพอที่นำไปใช้งานต่อ ดังนั้น การสังเคราะห์สายเปปไทด์เลียนแบบโปรตีนจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมในการแก้ปัญหารวมถึงประหยัดเวลา นอกจากนี้ ยังทำให้ได้สายเปปไทด์ที่มีความบริสุทธิ์ มีความจำเพาะสูง เพราะสามารถเลือกออกแบบตามลำดับกรดอะมิโนที่ต้องการได้ นำไปสู่การกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อเปปไทด์เพียงชนิดเดียว ง่ายต่อการศึกษาคูสมบัติต่างๆ ปัจจุบันจึงมีการสังเคราะห์สายเปปไทด์จากพิษต่างๆ มาใช้เป็นตัวกระตุ้นหรือแอนติเจน (Antigen) เพื่อใช้ในการพัฒนาวัคซีนหรือกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่างๆ อย่างแพร่หลาย (Trier et al., 2011) ตัวอย่างเช่น เปปไทด์จากพิษแมงป่อง แมงมุม (Camperi et al., 2020)

ปัจจุบันการเพิ่มประสิทธิภาพของการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยการเชื่อมโมเลกุลเป้าหมายเข้ากับโปรตีนโมเลกุลขนาดใหญ่หรือโปรตีนตัวพา (Carrier protein) ที่มีคุณสมบัติในการช่วยให้กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้น ซึ่งโปรตีนตัวพาที่ใช้อยู่มีหลายชนิดขึ้นอยู่กับลักษณะของงาน เช่น Polyethylene glycol, Nanoparticle Polymers (O'Brien et al., 2016) ตัวอย่างโมเลกุลขนาดใหญ่ที่นิยมนำมาใช้เป็นโปรตีนตัวพา ได้แก่ Keyhole Limpet

Hemocyanin (KLH), Bovine Serum Albumin (BSA), Ovalbumin (OVA)

## โปรตีนตัวพา (Carrier proteins)

### 1. Polyethylene Glycol (PEG)

กระบวนการ PEGylation คือการเชื่อมต่อนสารสังเคราะห์เอทิลีนไกลคอล (Ethylene glycol; PEG) กับโมเลกุลเป้าหมายหรือยา ซึ่งได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) ว่าปลอดภัยสูง ไม่เป็นพิษ ไม่กระตุ้นภูมิคุ้มกันและมีโครงสร้างทางเคมีที่เหมาะสมซึ่งสามารถใช้ในมนุษย์ได้อย่างปลอดภัย PEG ถูกนำมาใช้ในการผลิตสารชีววัตถุต่างๆอย่างกว้างขวาง ตัวอย่างเช่น การศึกษาการเพิ่มขนาดโมเลกุลจากพิษของผึ้งเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกระตุ้นระดับภูมิคุ้มกัน พบว่า PEG-protein complex สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี แต่มีการตรวจพบภูมิคุ้มกันต่อ PEG ในอาสาสมัครประมาณ 22-25% จึงเป็นข้อจำกัดหนึ่งในการใช้ PEG เพื่อการรักษาในมนุษย์ (Garay and Labaune, 2011) อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันยังมีการใช้ PEG เป็นโปรตีนตัวพาเพื่อเพิ่มขนาดและน้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ Thrombin-like serine protease ในพิษงูกลุ่ม Viperidae Crotalidae และ Colubridae ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดปัญหาในระบบเลือด เช่น Coagulation Fibrinolysis และ Platelet aggregation เป็นต้น จึงถือเป็นการพัฒนาการผลิตสารชีววัตถุเพื่อใช้ในทางการรักษาต่อไป (da-Silva-Freitas et al., 2015)

### 2. Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH)

โปรตีน Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) เป็นโปรตีนขนาดใหญ่ น้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่  $4 \times 10^5$ - $1 \times 10^7$  ดาลตัน ในโมเลกุลประกอบด้วยโปรตีนที่มีทองแดง (Copper-containing protein) ซึ่งได้มาจากหอยฝาเดียวชนิด *Megathura crenulate* มีคุณสมบัติในการกระตุ้น Immunogenic T-cell ซึ่งใช้ในการเพิ่มระดับภูมิคุ้มกัน (Swaminathan et

al., 2014) ปัจจุบัน KLH ถูกใช้อย่างแพร่หลายและได้รับการยอมรับว่ามีประสิทธิภาพสูงในการช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เมื่อเทียบกับโปรตีนตัวพาอื่นๆ เช่น PEG หรือ Beta-glucosidase เป็นต้น อีกทั้งไม่เป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกันเสียเอง ทำให้ไม่เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันต่อตัว KLH จึงไม่รบกวนต่อวิธีการตรวจสอบผลผลิตของระดับภูมิคุ้มกันที่ต้องการ ด้วยวิธี ELISA หรือ Western blotting อย่างไรก็ตาม ขนาดและโครงสร้างของ KLH สามารถละลายน้ำได้ดีในระดับหนึ่ง จึงทำให้มองเห็นส่วนผสมของ KLH ว่าเป็นความขุ่นหรือฝ้าขาว แต่ไม่มีผลต่อการฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ตัวอย่างการใช้ KLH เชื่อมเข้ากับลำดับอะมิโนของสารยับยั้งพิษงู  $\gamma$ -Type phospholipase A<sub>2</sub> เพื่อสร้างเซรุ่มแก้พิษงู (Antivenom) ที่มีความจำเพาะต่อ  $\gamma$ -Type phospholipase A<sub>2</sub> จึงเป็นอีกวิธีทางหนึ่งในการสร้างภูมิคุ้มกันที่จำเพาะ (Li et al., 2017) คล้ายกับผลการทดลองนำลำดับอะมิโนของ C-type lectin เชื่อมต่อ KLH แล้วนำไปฉีดกระตุ้นในกระต่าย แยกซีรัมจากกระต่ายที่สร้างภูมิคุ้มกันต่อ C-type lectin มาใช้ในการตรวจจำแนก Snake venom C-type lectin ด้วยวิธี Two dimensional electrophoresis western blot assay (2DE-WB) ในพิษงูได้ (Ning et al., 2020)

### 3. Bovine Serum Albumin (BSA)

โปรตีน BSA เป็นพลาสมาโปรตีนที่ได้จากสัตว์มีขนาดโมเลกุล  $6.7 \times 10^4$  ดาลตัน ซึ่งเล็กกว่า KLH จึงทำให้มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีกว่า มีความคงตัวสูง โมเลกุลของ BSA ประกอบด้วยไลซีน (Lysine) 59 หน่วย สามารถเชื่อมต่อกับโมเลกุลเป้าหมายได้ประมาณ 30-35 โมเลกุล ข้อเสียเล็กน้อยของ BSA คือถูกนำไปใช้เป็นสารละลาย Blocking reagent ดังนั้น เมื่อนำ Complex peptide-BSA ไปฉีดกระตุ้นภูมิคุ้มกัน แล้วนำแอนติซีรัมดังกล่าวไปตรวจด้วยเทคนิคต่างๆที่มี BSA reagent เป็นส่วนประกอบ อาจทำให้เกิดค่าบวกเทียมเกิดขึ้น จึงควรระวังขั้นตอนการตรวจสอบหากมีการใช้

BSA เป็นโปรตีนตัวพา

ตัวอย่างการใช้ BSA เป็นโปรตีนตัวพาเพื่อเชื่อมต่อ Rhamnose และแอนติเจนที่เกี่ยวข้องกับเนื้องอก (sTn) (sTn- BSA-Rha) ในการสร้างวัคซีนสำหรับการรักษาโรคมะเร็ง ซึ่งพบว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีและช่วยส่งเสริมการนำส่งวัคซีนได้ดียิ่งขึ้น (Lin et al., 2020) นอกจากนี้ การใช้ BSA เป็นตัวเชื่อมต่อเปปไทด์หรือโมเลกุลของยา เช่น ยา รักษาโรคมะเร็งต้านมะเร็ง (Chemotherapeutic drugs) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของยา รวมถึงมีการดัดแปลงโครงสร้างของโมเลกุลยาให้เหมาะแก่การเข้าถึงเป้าหมายหรือตัวรับเป้าหมาย (Receptor) ลดความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ ลดการต่อ ยา เป็นต้น (Kumar et al., 2020)

#### 4. Ovalbumin (OVA)

โปรตีน OVA เป็นโปรตีนที่พบมากในไข่ น้ำหนักโมเลกุล  $4.5 \times 10^4$  ดาลตัน มักถูกใช้ในการเชื่อมเปปไทด์ปลาย N/C terminal ด้วยเทคนิคการเชื่อมต่อแบบ Maleimide คือการต่อของกรดอะมิโนซิสเตอีน (Cysteine residue) ของสายเปปไทด์กับ OVA ดังนั้นหากเปปไทด์ใดไม่มีกรดอะมิโนซิสเตอีนตรงปลายสาย ต้องเติมให้เรียบร้อยก่อน ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นขั้นตอนการทำงาน โดยปกติ OVA จะใช้ควบคู่ไปกับ KLH และ BSA เพื่อเปรียบเทียบกับกัน

#### การเพิ่มขนาดโปรตีนหรือเปปไทด์แบบอื่นๆ

นอกจากนี้ ยังมีรายงานการใช้ Calcium phosphate nanoparticles (CPN) ร่วมกับพิษงูที่ถูกทำให้อ่อนฤทธิ์ (Detoxify venom) ของพิษงูเห่าอียิปต์ (*Naja haje*) พบว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้สูงกว่าปกติ และสามารถต้านพิษงูได้ดีกว่าเซรัมที่เตรียมด้วยวิธีปกติ (Karam et al., 2015) รายงานการสร้างโมเลกุลของพิษงู เช่น การสร้าง 3FTX complexes ของพิษงูเห่าแอฟริกันริงฮัลล์ (African ringhals cobra venom) และนำ 3FTXs จากพิษงูแมมบ้า (Mamba venom) เชื่อมกับ Angusticeps-type toxins ทำให้ประสิทธิภาพการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของทั้งสองโมเลกุลเพิ่มขึ้น (Xiong and Huang, 2018) รายงานการเชื่อมต่อโมเลกุลของยาบางชนิดเข้ากับแอนติบอดีและโปรตีนบางชนิด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษามะเร็งในเซลล์เป้าหมาย

หมายและโรคต่างๆ พบว่าสามารถเพิ่มความจำเพาะ เพิ่มประสิทธิภาพของยามากขึ้น จนกระทั่งแอนติบอดีและโปรตีนเหล่านั้นได้รับการยอมรับและขึ้นทะเบียนจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (FDA) เป็นจำนวนมาก (Feng et al., 2014) ดังนั้นการนำโมเลกุลที่สนใจศึกษามาเชื่อมต่อกัน เป็นการเพิ่มขนาดโมเลกุลของพิษงูให้มีความใหญ่ขึ้น เป็นการเพิ่มการเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Immunogenic) ของโมเลกุลดังกล่าว และเป็นเทคนิคที่มีการนำมาใช้งานอย่างกว้างขวาง

#### การใช้ KLH เชื่อมต่อสายเปปไทด์สังเคราะห์ของ 3FTXs

ผู้เขียนและคณะได้ทำการทดสอบโดยใช้การสังเคราะห์สายเปปไทด์ที่มีขนาด 12 กรดอะมิโนบริเวณส่วนของเอนไซม์ที่โมเลกุลของสารตั้งต้นจับกันและเกิดปฏิกิริยาทางเคมี (Active site) ของ 3FTXs จากพิษงูเห่า ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ออกฤทธิ์เป็นหลัก โดยการเชื่อมต่อเข้ากับโปรตีนพาชนิด KLH เพื่อสร้างให้เป็นสารก่อภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ทำให้ได้เซรัมแก่พิษงูเห่าที่จำเพาะต่อโมเลกุลที่ก่อให้เกิดพิษร้ายแรง (Lethal toxin) ลดโปรตีนแปลกปลอมในผลิตภัณฑ์และลดความเสี่ยงในการแพ้เซรัมแก่พิษงูในผู้ป่วย เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของเซรัมแก่พิษงูเห่า อีกทั้งอาจเป็นแนวทางหนึ่งในการลดจำนวนสัตว์ ทดลองที่ใช้ในการฉีดกระตุ้น เป็นการลดต้นทุนการผลิต ส่งผลทำให้ราคาของเซรัมแก่พิษงูลดลงได้

การดำเนินการโดยสรุปดังนี้ นำ 12 กรดอะมิโนละลายในสารละลาย Impect EDC conjugation buffer ปริมาณ 450 ไมโครลิตร นำไปผสมกับ 2 mcKLH carrier protein ปริมาณ 200 ไมโครลิตร จากนั้นเติม EDC ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม ปริมาณ 50 ไมโครลิตรทันที บ่มทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลานำไปกำจัดเกลือออกด้วยการทำไดอะไลซิส (Dialysis) ใน PBS 7.2 การฉีดกระตุ้นในกระต่าย โดยนำ 12 Amino acid fragment-complex ผสมกับ Complete Freund's adjuvant อัตราส่วน 1:1 ฉีดบริเวณสะโพกกระต่าย 5 จุด จุดละ 200 ไมโครลิตร ในครั้งแรก และเข็มกระตุ้น 4 ครั้ง วันที่ 21 42 63 และ 84 โดยใช้ 12 Amino acid fragment-complex ผสมกับ

Incomplete Freund's adjuvant อัตราส่วน 1:1 ฉีดบริเวณสะโพกกระต่าย 5 จุด จุดละ 200 ไมโครลิตร ทำการเจาะเลือดเก็บซีรัมกระต่ายทุกตัว ทุกๆ วันที่ 7 เป็นจำนวน 4 ครั้ง หลังจากเข็มกระตุ้นวันที่ 63 เพื่อนำซีรัมส่งตรวจทางชีวเคมี และทดสอบการหักล้างในหนูทดลองเปรียบเทียบกับเลือดกระต่ายที่ได้รับพิษงูเห่าปกติ

ผลการทดลองพบว่า การนำสายสังเคราะห์ 12 กรดอะมิโน โดยใช้ลำดับ 3FTXs ของพิษงูเห่าเป็นต้นแบบแล้วเชื่อมเข้ากับ KLH สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในการตายได้อย่างไร้ที่ตาม ความสามารถในการต้านพิษงูเห่าของเซรัมแก่พิษงูเห่ามากที่สุดที่ความเข้มข้น 8.56 ไมโครกรัม หรือ 2 เท่าของความแรงพิษงูเห่าที่ทำให้หนูตาย 50% (LD<sub>50</sub>) เท่านั้น ซึ่งไม่สูงพอที่จะนำมาใช้ในการฉีดกระตุ้นเพื่อทำเซรัมแก่พิษงูเห่า การใช้กรดอะมิโนเพียง 12 ตัว กระตุ้นภูมิคุ้มกันในการตายได้ในระดับต่ำอาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น วิธีการเตรียมแอนติเจน การเชื่อมต่อของแอนติเจนและโปรตีนตัวพา (Antigen-carrier protein conjugated) อาจไม่ดีพอทั้งในด้านของพันธะหรืออัตราส่วนในการจับกัน ตลอดจนวิธีการฉีดหรือการเลือกสัตว์ทดลองอาจไม่มีความเหมาะสม รวมถึงความเข้มข้นของแอนติเจน (Antigen-carrier protein complex) ที่ใช้ฉีดกระตุ้นอาจน้อยเกินไป ดังนั้น วิธีการศึกษาครั้งนี้ยังไม่ครอบคลุมที่จะสรุปได้ว่าการเตรียมด้วยวิธีการนี้ดีหรือไม่ หรือสาเหตุที่แท้จริงเกิดจากอะไร ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้เพียงการใช้ 12 กรดอะมิโนของ 3FTXs ของพิษงูเห่าเชื่อมเข้ากับ KLH สามารถกระตุ้นระดับภูมิคุ้มกันในการตายได้ วิธีนี้เป็นแนวทางการสร้างแอนติบอดีต่อลำดับเปปไทด์สั้นๆ ที่จำเพาะ เพื่อนำไปใช้งานที่มีความต้องการใช้ปริมาณน้อย เช่น การนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยต่างๆ หรือการใช้ในการตรวจวินิจฉัย เช่น รายงานการศึกษาวิจัยการเชื่อมสายเปปไทด์สังเคราะห์ 13 กรดอะมิโน ที่จำลองจาก C-type lectin ของพิษงูกลุ่ม Crotalinae และ Viperinae เข้ากับ KLH แล้วนำไปฉีดกระตุ้นในกระต่าย พบว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อสายเปปไทด์ แล้วสามารถนำ Anti-C-type lectin มาใช้เป็นเครื่องมือตรวจ C-type lectin ในพิษงูด้วยวิธี 2DE-western blot ได้ (Ning et al., 2020) นอกจากนี้การเชื่อมต่อโมเลกุลของเปปไทด์ให้มีขนาดใหญ่

ขึ้นแล้ว อาจทำร่วมกับการดัดแปลงโครงสร้างของเปปไทด์เป็นการเพิ่มความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเปปไทด์ได้อีกทางหนึ่งด้วย ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนโครงสร้างของเปปไทด์ Diphtheria toxin ให้เป็น Retro-inverso diphtheria พบว่ากระตุ้นภูมิคุ้มกันได้สูงจากแบบฉีดและแบบกิน (Fischer et al., 2007)

ดังนั้น โปรตีนหรือเปปไทด์ขนาดเล็ก รวมถึงโมเลกุลต่างๆ ที่มีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่ำ สามารถนำมาเพิ่มขนาดหรือพัฒนาคุณสมบัติให้มีความเป็นแอนติเจนที่สร้างภูมิคุ้มกันหรือสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ ด้วยการเชื่อมต่อเข้ากับโปรตีนตัวพาที่มีขนาดใหญ่ เช่น KLH BSA PEG หรือ OVA เป็นต้น ขึ้นอยู่กับลักษณะงานและข้อจำกัดต่างๆ ของโมเลกุลเป้าหมาย นอกจากนี้ เทคโนโลยีในปัจจุบันยังส่งเสริมให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโปรตีนหรือเปปไทด์เพื่อสามารถเชื่อมต่อเข้ากับโปรตีนขนาดใหญ่ได้ง่ายขึ้นอีกด้วย

#### เอกสารอ้างอิง

- Brown, N., Landon, J., 2010. Antivenom: the most cost-effective treatment in the world. *Toxicology* 55, 1405-1407.
- Camperi, S.A., Acosta, G., Barredo, G.R., Iglesias-García, L.C., da Silva Caldeira, C.A., Martínez-Ceron, M.C., Giudicessi, L.S., Cascone, O., Albericio, F., 2020. Synthetic peptides to produce anti venoms against the Cys-rich toxins of arachnids. *Toxicology* 6, 100038.
- da-Silva-Freitas, D., Boldrini-França, J., Arantes, E.C., 2015. PEGylation: a successful approach to improve the biopharmaceutical potential of snake venom thrombin-like serine protease. *Protein & Pept. Lett.* 22, 1133-1139.
- Das, D., Sharma, M., Das, K. H., Sahu, P.P., Doley, R., 2015. Purification and characterization of Nk-3FTx: A three finger toxin from the venom of northeast Indian monod cobra. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 30(2), 59-70. Doi: 10.1002/jbt.21734

- Feng, Y., Zhu, Z., Chen, W., Prabakaran, P., Lin, K., Dimitrov, D.S. 2014. Conjugates of small molecule drugs with antibodies and other proteins. *Bio medicines*. 2(1),1-13. Doi:10.3390/biomedicines2010001
- Fisher, P., Comis, A., Tyler, M., Howden, M. 2007. Oral and parenteral immunization with synthetic retro-inverso peptides induce antibodies that cross-react with native peptides and parent antigens. *Indian J. Biochem. Biophys.* 44,140-144.
- Garay, R.P., Labaune, J.P. 2011. Immunogenicity of Polyethylene Glycol (PEG). *The Open Conference Proceeding Journal* 2, 104-107.
- Karam, H., Shaaban, E., Mohamed, F.A., Saki, H., Kenawy, A.S. 2015. New approach for improving production of *Naja haje* snake antivenom. *Int. J. Sci. Res. Publ.* 5(3),1-11.
- Kumar, R., Choudhary, D.K., Debnath, M. 2020. Development of BSA conjugated on modified surface of quercetin loaded lipid nanocarriers for breast cancer treatment. *Mater. Res. Express.* 7 (015411), 1-13. Doi: 10.1088/2053-1591/ab6774.
- Laustsen, H.A., Gutierrez, M.J., Lohse, B., Rasmussen, R.A., Fernandez, J., Milbo, C., Lomonte, B. 2015. Snake venomomics of monocle cobra (*Naja kaouthia*) and investigation of human IgG response against venom toxins. *Toxicon* 99, 23 -35.
- Li, J., Xiong, Y., Sun, S., Yu, L., Huang, C. 2017. Preparation of monoclonal antibodies against gamma-type phospholipase A2 inhibitors and immunodetection of these proteins in snake blood. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.* 23(37), 1-9. Doi 10.1186/s40409-017-0128-5.
- Lin, H., Hong, H., Wang, J., Li, C., Zhou, Z., Wu, Z. 2020. Rhamnose modified bovine serum albumin as a carrier protein promotes the immune response against sTn antigen. *Chem. Commun. (Camb)*. 56(90):13959-13962. Doi: 10.1039/d0cc05263a.
- Ning, W., Yuanyuan, L., Lipeng, Z., Xiang, L., Chunhong, H. 2020. Targeted identification of C-type lectins in snake venom by 2DE and western blot. *Toxicon* 185, 57-63.
- O'Brien, J., Lee, S-H., Onogi, S., Shea, J.K. 2016. Engineering the protein corona of a synthetic polymer nanoparticle for broad-spectrum sequestration and neutralization of venomous biomacromolecules. *J. Am. Chem. Soc.* 138(51), 16604-16607.
- Swaminathan, A., Lucas, R., M., Dear, K., McMichael J. A. 2014. Keyhole limpet haemocyanin- a model antigen for human immunotoxicological studies. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 78(5), 1135-1142.
- Trier, H. N., Hansen, R. P., Houen, G. 2011. Production and characterization of peptide antibodies. *Methods* 56, 136-144.
- Williams, J. D., Gutierrez, J. M., Calvete, J. J., Wüster, W., Ratanabanangkoon, K., Paiva, O., Brown, I. N., Casewell, R. N., Harrison, A. R., Rowley, D. P., O'Shea, M., Jensen, D. S., Winkel, D.K., Warrell, D. A. 2011. Ending the drought: new strategies for improving the flow of affordable, effective antivenoms in Asia and Africa. *J. Proteomics* 74, 1735-1767.
- Xiong, S., Huang, C. 2018. Synergistic strategies of predominant toxins in snake venoms. *Toxicol. Lett.* 287, 142-154.





สารเสาวภา

Queen Saovabha Memorial Institute Bulletin



## การทดสอบสร้างรั้วเพื่อการป้องกันงูเห่าไทย (*Naja kaouthia*)

### The experiment on monocled cobras (*Naja kaouthia*) for a snake-proof fence

ปณิธิ ละอองบัว<sup>1</sup> ธนวัฒน์ จินจาร์กุล<sup>2</sup> บุญนำ ย้อยฝอย<sup>1</sup>

Panithi Laoungbua<sup>1</sup>, Thanawat Jinjaruk<sup>2</sup>, Boonnum Yoyfoy<sup>1</sup>

1 สวนงู สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

2 ศูนย์วิจัยและนวัตกรรมเพื่อความยั่งยืน (RISC) บริษัท แมกโนเลีย ควอลิตี้ ดีVELOPMENT คอร์ปอเรชั่น จำกัด

1 Snake farm, Queen Saovabaha Memorial Institute, Thai Red Cross society

2 Research & Innovation for Sustainability Center (RISC) Magnolia Quality Development Corporation Limited

**บทคัดย่อ:** ในธรรมชาติงูเป็นสัตว์นักล่าและเหยื่อที่สำคัญ การเสียชีวิตและการทุพพลภาพของคนอาจเป็นผลมาจากปัญหาการถูกงูกัด หนึ่งใน การจัดการและป้องกันอันตรายจากงูคือการควบคุมไม่ให้งูเข้าพื้นที่โดยการป้องกันงูด้วยรั้วเป็นการป้องกันทางกายภาพที่นำศึกษาถึง ประสิทธิภาพอีกวิธีหนึ่งเพื่อช่วยป้องกันงู การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหารูปแบบและความสูงของรั้วสำหรับป้องกันงู โดยสร้างกล่อง ทดสอบที่สามารถปรับระดับความสูงได้ ทดสอบโดยใช้งูเห่าไทย (*Naja kaouthia*) จำนวน 3 ตัวเป็นกลุ่มตัวอย่าง ความยาวเฉลี่ย  $162 \pm 12$  เซนติเมตร ปล่อยให้อยู่ในกล่องทดสอบที่ปรับระดับความสูง 65 75 85 95 และ 105 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยปล่อยงูเห่า ครั้งละ 1 ตัว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทดสอบว่างูสามารถปีนออกจากกล่องทดสอบได้หรือไม่เพื่อจำลองการปีนข้ามรั้วของงู ผลการ ทดสอบพบว่าที่ความสูง 105 เซนติเมตร งูที่ใช้ในการทดสอบทุกตัวไม่สามารถปีนออกจากกล่องทดสอบได้ เมื่อเพิ่มการติดตั้งขอบยื่นเข้า มาด้านในกล่องความยาว 15 เซนติเมตร ทำมุม 90 องศาที่ขอบกล่อง และติดตั้งขอบยื่นเข้ามาด้านในกล่องความยาว 40 เซนติเมตร ทำมุม 30 องศาที่ขอบด้านบนของกล่อง พบว่างูที่ใช้ทดสอบทั้งหมดไม่สามารถปีนออกจากกล่องทดสอบได้ที่ความสูง 95 เซนติเมตร ผลที่ได้จากการทดสอบครั้งนี้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาวิธีการสร้างรั้วป้องกันงูเพื่อลดปัญหางูกัดคนต่อไป

**คำสำคัญ:** รั้วกันงูเห่าไทย

**ABSTRACT:** Reducing human-snake interactions can prevent fatalities and injuries from snakebite. An effective way to prevent snake entry into human households is physical barriers such as fences. The objectives of this study are to determine the fence heights and to design the fences or walls to deter snakes. An experimental box with adjustable floor levels was made in order. Three monocled cobras (*Naja kaouthia*) measuring an average length of  $162 \pm 12$  centimeters were chosen for the experiments. Each of these snakes was placed individually into a test box with walls varied in the height of 65, 75, 85, 95, and 105 centimeters, respectively. After twenty-four hours of video recording, each snake was watched to determine whether it could overcome the obstacle. The findings show that none of the tested snakes were able to successfully breach the wall at a height of 105 centimeters. Further experiments with the installation of inward-projecting flanges that were 15 centimeters long and angled 90 degrees to the edge of the box, as well as inward-projecting flanges that were 40 centimeters long and angled 30 degrees to the vertical wall, present similar results: no snakes were able to escape the inward-projecting flanged wall when the wall height was set at 95 centimeters. The results of this experiment reveal the first information for designated snake-proof fencing techniques to lessen future snakebite.

**Keywords:** Snake-proof fence, Monocled cobra

## บทนำ

งูเป็นสัตว์นักล่าและเหยื่อที่สำคัญในธรรมชาติ ทั้งนี้ยังเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดปัญหาทางกักคนและก่อให้เกิดการเสียชีวิตของคนทั่วโลก โดยในประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นซึ่งสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศเหมาะสมแก่การอยู่อาศัยของงูได้เป็นอย่างดี จากข้อมูลของสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2558 ในประเทศไทยมีผู้ถูกงูพิษกัดเฉลี่ยปีละ 6,155 ราย โดยที่แนวโน้มรายงานผู้ถูกงูพิษกัดค่อยๆ ลดลง ทั้งนี้ในการจัดการกับปัญหาทางกักคนที่สำคัญคือการหลีกเลี่ยงไม่ให้โดนงูกัด ดังนั้น การหาวิธีควบคุมไม่ให้งูเข้าพื้นที่ทำให้อันตรายเป็นคนจึงเป็นหนึ่งวิธีที่สามารถลดปัญหาการถูกงูกัดได้ โดยเฉพาะการควบคุมไม่ให้งูเข้ามาถึงพื้นที่อยู่อาศัยของคน รั้วบ้านหรือรั้วของพื้นที่จึงเป็นแนวป้องกันแรกที่จะป้องกันไม่ให้งูเข้ามาได้ มากกว่า 10 ปีที่ผ่านมา มีการศึกษาและพัฒนารั้วเพื่อป้องกันงู โดยการเลือกวัสดุชนิดต่างๆ เช่น ผ้าตาข่ายสำหรับป้องกันการกัดเซาะ (Erosion cloth) (Walley et al., 2005; OMNR, 2013; Baxter-Gilbert et al., 2015) ลวดตาข่าย (Anderson et al., 1998) คอนกรีต (Vice and Pitzler, 2000; Perry et al., 2001) หรือแม้กระทั่งการจ่ายกระแสไฟฟ้าเข้าไปยังพื้นผิวของรั้วที่ใช้วัสดุชนิดต่างๆ กัน (Hayashi et al., 1983; Perry et al., 1998; Campbell, 1999) โดยในบางรูปแบบของรั้วจะพบว่ามึงตายจากรั้ว เช่น การถูกไฟดูด หรือตัวงูรัดพันกับตาข่ายของรั้ว (Walley et al., 2005; Kapfer and Paleski, 2011) การสร้างรั้วที่สามารถป้องกันงูได้ ตามหลักการจะต้องคำนึงถึงความสูงของรั้ว มีการสร้างขอบยื่นออกมาจากจุดสูงสุดของรั้ว (Overhang) โดยทำมุมบ้านหรือตั้งฉากกับรั้ว และการเลือกใช้วัสดุทำรั้วที่มีพื้นผิวเรียบ (Perry et al., 1998)

ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานการทดลองความสูงของรั้วกันงูกับงูในประเทศไทย ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้จะเป็นการทดลองสร้างรั้วจำลองในลักษณะในรูปแบบกล่อง โดยเลือกวัสดุที่สามารถหาได้ง่ายในประเทศ และทดสอบการเลื้อยปีนออกของงูเพื่อทดสอบความสามารถของรั้วในการ

ป้องกันงู โดยเลือกชนิดงูที่พบได้ง่ายในประเทศไทย ซึ่งจะ เป็นข้อมูลในการพัฒนารั้วป้องกันงูที่มีประสิทธิภาพต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

พื้นที่ดำเนินการ สวนงู สถานเสวภา สภาอากาศไทย

### อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

1. กล่องทดสอบขนาด กว้าง 1.1 เมตร ยาว 1.1 เมตร สูง 1.45 เมตร ได้ถูกสร้างขึ้นโดยมีการใช้ผนังเป็นลวดตาข่าย ลวดมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 มิลลิเมตร เคลือบพลาสติก ขนาดตาข่ายตาข่ายประมาณ 1.25X1.25 เซนติเมตร โดยมีโครงของกล่องทดสอบเป็นราวเหล็กประกอบอยู่ด้านนอก ผนังกล่องใช้แผ่นบอร์ดซีเมนต์ (ผลิตโดย Shera ประเทศไทย) ความหนา 1 นิ้ว โดยที่ผนังกล่องถูกออกแบบให้สามารถเปลี่ยนความสูงของกล่องได้ ลวดตาข่ายที่ใช้เป็นผนัง ถูกประกอบเข้ากับโครงเหล็กด้วยลวดโลหะ ในการประกอบผนังด้านในไม่มีส่วนของวัสดุโครงสร้างโพลีหรือยื่นเข้ามาเพื่อไม่ให้งูสามารถใช้เป็นจุดยึดในการปีนขึ้นมาได้ (รูปที่ 1)

2. ขอบกล่องทดสอบที่สามารถประกอบเข้ากับขอบด้านบนของกล่องทดลอง ถูกสร้างขึ้นด้วยแผ่นบอร์ดซีเมนต์ประกอบเข้ากับราวเหล็ก โดยในการทดลองนี้จะใช้ลักษณะของขอบกล่องจะมีอยู่ 2 แบบ คือ

2.1 ขอบยื่นเข้ามาด้านในกล่องทดลอง ความยาว 15 เซนติเมตร ยื่นมาในลักษณะตั้งฉาก 90 องศา กับขอบกล่อง (รูปที่ 2)

2.2 ขอบยื่นเข้ามาด้านในกล่องทดลองความยาว 40 เซนติเมตร ทำมุม 30 องศา กับขอบกล่อง (รูปที่ 3)

3. กล่องวงจรปิด (รุ่น MUSXJ10CM ผลิตโดย Xiaomi ประเทศจีน) ที่สามารถบันทึกวิดีโอย้อนหลังได้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง จำนวน 2 ตัว ติดตั้งบริเวณด้านบนของกล่องและภายในกล่องเพื่อให้เห็นลักษณะการปีนของงูในกล่อง

### วิธีการเตรียมตัวงูเพื่อใช้ในการทดสอบ

งูเห่าไทย (*Naja kaouthia*) จำนวน 3 ตัว ขนาดความยาวเฉลี่ย  $162 \pm 12$  เซนติเมตร ถูกเลี้ยงอยู่ในกล่องพลาสติกเจาะรู ขนาดกว้าง 40 เซนติเมตร ยาว 60 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร มีการให้แหล่งน้ำดื่ม ที่หลบ-

ช้อนตลอดเวลาที่เลี้ยงและมีการให้อาหารเป็นกบสดทุกสัปดาห์ โดยยุงทุกตัวเป็นยุงมาจากธรรมชาติที่ถูกนำมาบริจาคให้กับสวนงูสถานเสาวภาและผ่านการกักโรคและตรวจสอบสุขภาพโดยสัตวแพทย์ของสวนงูสถานเสาวภาแล้ว

### การทดสอบการเลื้อยปีนของงู

ทำการปล่อยงูเห่าไทยครั้งละ 1 ตัวลงในกล่องทดสอบโดยให้งูอยู่ในกล่องทดสอบเป็นเวลาไม่เกิน 24 ชั่วโมง กล่องทดสอบจะถูกตั้งอยู่ในห้องที่ใช้เลี้ยงงูของสวนงูสถานเสาวภา ใช้แสงจากธรรมชาติภายนอก อุณหภูมิระหว่างวัน 25-32 องศาเซลเซียส โดยการทดสอบการเลื้อยปีนของงูจะแบ่งออกได้เป็น 3 รูปแบบตามลักษณะของกล่องทดสอบ ดังนี้

1. กล่องทดสอบที่ไม่มีขอบยื่นจากด้านบน ระดับความสูงของผนังกล่องเริ่มจากระดับ 65 75 85 95 105 115 125

135 และ 145 เซนติเมตร ตามลำดับ

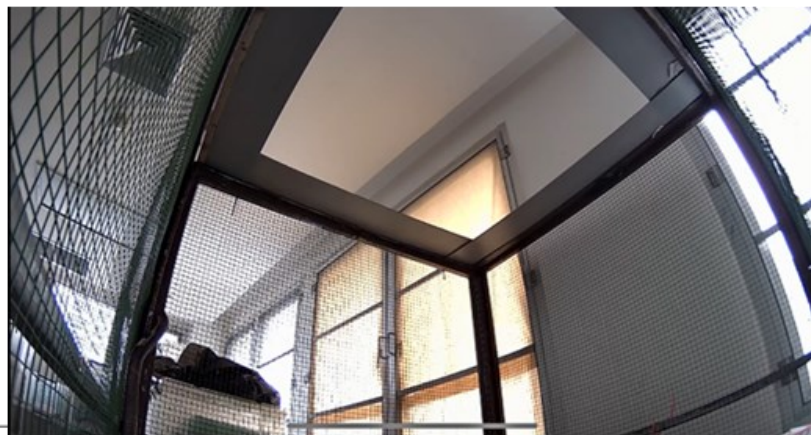
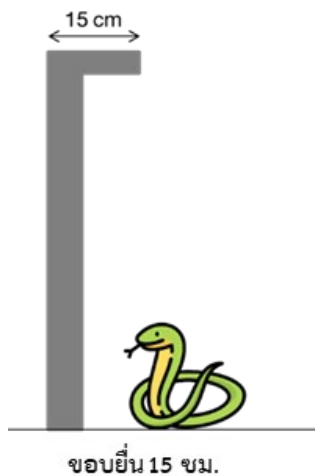
2. กล่องทดสอบที่มีขอบยื่น 15 เซนติเมตร ทำมุม 90 องศา กับขอบกล่อง ระดับความสูงของผนังกล่องเริ่มจากระดับ 65 75 85 95 105 115 125 135 และ 145 เซนติเมตร ตามลำดับ

3. กล่องทดสอบที่มีขอบยื่น 40 เซนติเมตร ทำมุม 30 องศา กับขอบกล่อง ระดับความสูงของผนังกล่องเริ่มจากระดับ 65 75 85 95 105 115 125 135 และ 145 เซนติเมตร ตามลำดับ

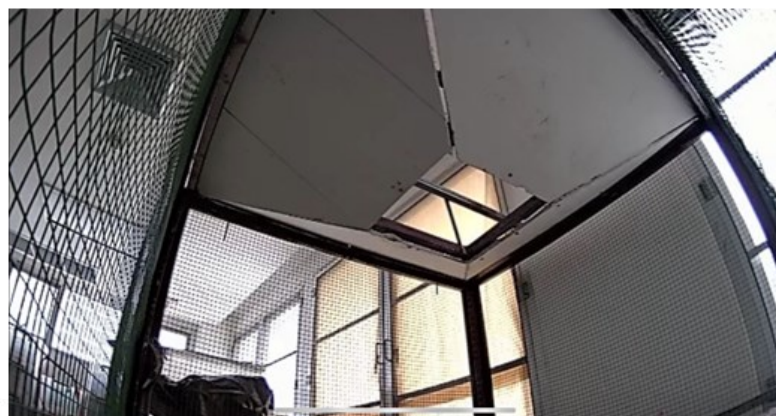
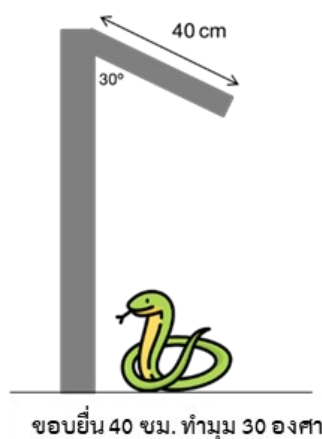
ในการทดสอบจะบันทึกที่ระดับความสูงเมื่องูไม่สามารถปีนออกได้ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง หากงูเลื้อยปีนออกจากกล่องทดสอบได้จะเพิ่มความสูงจนถึง 145 เซนติเมตรและไม่ทำการทดสอบที่ระดับความสูงมากกว่านี้และงูตัวดังกล่าวจะถูกนำไปทดสอบกับกล่องทดสอบรูปแบบต่อไป จนครบทั้ง 3 รูปแบบของกล่อง



รูปที่ 1 ภาพกล่องทดสอบที่ไม่มีขอบยื่นด้านบนและงูเห่าไทยขณะทดสอบ



รูปที่ 2 ลักษณะขอบยื่น 15 เซนติเมตร ทำมุม 90 องศากับขอบกล่อง



รูปที่ 3 ลักษณะขอบยื่น 40 เซนติเมตร ทำมุม 30 องศากับขอบกล่อง

### ผลและการอภิปราย

ในการทดสอบกับกล่องทดสอบที่ไม่มีขอบยื่น พบว่า งูเห่าไทยทั้งสามตัว ความยาวเฉลี่ย  $162 \pm 12$  เซนติเมตร ไม่สามารถเลื้อยปีนออกจากกล่องทดสอบที่ระดับความสูง 105 เซนติเมตร แต่สามารถเลื้อยปีนออกจากกล่องที่มีระดับความสูง 65-95 เซนติเมตรได้ทุกตัว

ในการทดสอบกับกล่องทดสอบที่มีขอบยื่น 15 เซนติเมตร ทำมุม 90 องศากับขอบกล่อง พบว่างูทั้งสามตัว ไม่สามารถเลื้อยปีนออกจากกล่องทดสอบที่ระดับความสูง 95 เซนติเมตร แต่สามารถเลื้อยปีนออกจากกล่องที่มีระดับความสูง 65-85 เซนติเมตรได้ทุกตัว

ในการทดสอบกับกล่องทดสอบที่มีขอบยื่น 40 เซนติเมตร ทำมุม 30 องศากับขอบกล่อง พบว่างูทั้งสามตัว ไม่สามารถเลื้อยปีนออกจากกล่องทดสอบที่ระดับความสูง 95 เซนติเมตร แต่สามารถเลื้อยปีนออกจากกล่องที่มีระดับความสูง 65-85 เซนติเมตรได้ทุกตัว

จากผลการทดสอบสามารถอนุมานได้ว่าการใส่ขอบยื่นบนกล่องทดสอบจะช่วยลดความสูงที่ทำให้งูไม่สามารถเลื้อยปีนออกจากกล่องทดสอบได้ ทั้งในรูปแบบมุมฉากและรูปแบบเอียงทำมุม 30 องศา สามารถลดความสูงที่งูเลื้อยปีนออกได้ 10 เซนติเมตร จากการบันทึกของกล่องวงจรปิด ผู้

ทดสอบสังเกตว่าเมื่อกลองทดสอบมีขอบยื่นออกมาจะต้องพยายามเอียงตัวออกมาเพื่อเกี่ยวกับขอบเพื่อปล่อยป็นออก จึงทำให้เสียสมดุลและตกลงมา นอกจากนี้จะสังเกตเห็นว่างูมักจะเลื้อยขึ้นมาจากมุมกลองทดสอบด้านใดด้านหนึ่งเสมอ ผู้ทดสอบตั้งข้อสังเกตว่าการเลื้อยที่บริเวณมุม เกิดที่งูจะสามารถสัมผัสกับผนังได้มากขึ้น (รูปที่ 4)

ทำให้ช่วยเพิ่มแรงเสียดทานช่วยให้งูเลื้อยขึ้นไปได้สูงกว่าบริเวณที่ไม่ใช่มุม แต่ในบางครั้งงูสามารถใช้แรงลำตัวป็นออกได้โดยไม่สัมผัสมุม (รูปที่ 5) สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมากที่พบว่างูสามารถใช้แรงมากกว่าปกติถึง 3 เท่าในการปีนป่าย (Bymes and Jayne , 2014)



รูปที่ 4 งูเท่าไทยขณะปีนออกจากรอบทดสอบเสริมขอบ 15 เซนติเมตร ทำมุม 90 องศากับขอบกลอง



รูปที่ 5 งูเท่าไทยขณะปีนออกจากรอบทดสอบ เสริมขอบ 40 เซนติเมตร ทำมุม 30 องศากับขอบกลอง

จากการศึกษาความสูงของรั้วป้องกันงูที่ผ่านมา พบว่าระยะความสูงที่แนะนำในการป้องกันงูจะมีความสูงประมาณ 1 เมตร (Baxter-Gilbert et al., 2015) ถึง 2 เมตร (OMNR, 2013) นอกจากนี้ ยังมีการทดลองใช้รั้วกันงูกับงู Brown tree snake (*Boiga irregularis*) ซึ่งเป็นงูชนิดอาศัยอยู่บนต้นไม้เป็นหลัก (Arboreal snake) เป็นงูที่มีความยาวเฉลี่ยประมาณ 1-2 เมตร โดยงูชนิดนี้เป็นงูที่สามารถ เลื้อยปีนขึ้นลงต้นไม้ได้ชำนาญ จากผลการทดลองพบว่ารั้วที่มีความสูง 1.1 เมตรถึง 1.4 เมตร โดยมีขอบยื่นออกมาความยาว 20 เซนติเมตร ในแนวตั้งฉากจุดสูงสุดของรั้ว สามารถป้องกันงูชนิดนี้เลื้อยปีนข้ามกำแพงได้ (Campbell, 1999; Perry et al., 2001; Rodda et al., 2007) จากข้อมูลในช่วงต้นพบว่าความสูงของรั้วที่ทดสอบและความยาวของงูมีความสอดคล้องกับการทดสอบในครั้งนี้ อย่างไรก็ตาม ในการทดสอบครั้งนี้เป็นการทดสอบกับงูเห่าไทยและทดลองจากงูทั้งหมด 3 ตัวเท่านั้น แต่ในประเทศไทยมีงูหลายชนิด งูบางชนิดมีความยาวเมื่อโตเต็มวัยมากกว่างูเห่าไทย เช่น งูเห่า (Malayopython reticulatus) ที่สามารถมีขนาดความยาวเมื่อโตเต็มวัยได้มากกว่า 5 เมตร เป็นต้น ทำให้การทดสอบในครั้งนี้ไม่สามารถเป็นบรรทัดฐานในการสร้างรั้วป้องกันงูทุกชนิดได้ อย่างไรก็ตาม การทดสอบในครั้งนี้สามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานในการทดลองเกี่ยวกับความสูง วัสดุในการสร้างรั้วป้องกันงูที่เหมาะสมในประเทศไทยต่อไป

### เอกสารอ้างอิง

- ชำนาญ ม่วงแดง. 2558. งูพิษกัด. ใน: แสงโสม ศิริพานิช (บรรณาธิการ), สรุปรายงานการเฝ้าระวัง ประจำปี 2558. [ออนไลน์]. สืบค้นเมื่อ 15 กุมภาพันธ์ 2567 จาก <http://boe.moph.go.th>.
- Anderson, R. D., Beauprez, G. M., Searle, A. D. 1998. Creation of a snake-free area on Guam using trapping and barrier technology. Brown tree snake research symposium. Honolulu, Hawaii, USA
- Baxter-Gilbert, J. H., Riley, J. L., Lesbarères, D., Litzgus, J. D. 2015. Mitigating reptile road mortality: fence failures compromise ecopassage effectiveness. PLoS ONE 10, e0120537. Doi:10.1371/journal.pone.0120537.
- Byrnes, G., Jayne, B. C. 2014. Gripping during climbing of arboreal snakes may be safe but not economical. Biol. Lett. 10, 20140434. Doi:10.1098/rsbl.2014.0434.
- Campbell III, E. W. 1999. Barriers to movements of the brown tree snake (*Boiga irregularis*). In: Rodda, G. H., Sawai, Y., Chiszar, D., Tanaka, H. (Eds.). Problem snake management: the Habu and the brown tree snake, Ithaca, New York, Cornell Univ. Press, 306-312.
- Hayashi, Y., Tanaka, J., Wada, Y., Mishima, S. 1983. The electric fence for preventing invasion of *Trimeresurus flavoviridis*, Habu, the venomous snake. Jpn. J. Exp. Med. 53, 165-172.
- Kapfer, J.M., Paloski, R. A. 2011. On the threat to snakes of mesh deployed for erosion control and wildlife exclusion. Herpetol. Conserv. Bio. 6, 1-9.
- OMNR. 2013. Reptile and amphibian exclusion fencing: Best practices, version 1.0 Species at risk branch technical note. Prepared for the Ontario ministry of natural resources, Peterborough, Ontario, 11.
- Perry, G., Campbell, E. W., Rodda, G. H., Fritts, T. H. 1998. Managing island biotas: brown tree snake control using barrier technology, Proceedings of the 18th vertebrate pest conference (R.O. Baker & A.C. Crabb, Eds.). Univ. of Calif, 138-143.
- Perry, G., Rodda, G. H., Fritts, T. H., Qualls, F. J. 2001. Snake control using barrier technology: a final report on studies to develop temporary and permanent barriers for blocking movement of brown tree snakes (*Boiga irregularis*). Report to US department of the Interior, Washington, D.C., USA.
- Rodda, G. H., Farley, J. L., Bischof, R., Reed, R.N. 2007. New developments in snake barrier technology: fly-ash covered wall offers a feasible alternative for permanent barriers to brown tree snakes (*Boiga irregularis*). Herpetol. Conserv. Bio. 2(2), 157-163.
- Vice, D. S., Pitzler, M. E. 2000. Brown tree snake control: Economy of scales. Human conflicts with wildlife considerations. In: Clark, L. (Ed.). Proceedings of the 3<sup>rd</sup> NWRC special symposium. Fort Collins, CO., 127-131.
- Walley, J. D., King, R. B., Ray, J. M., Robinson, J. 2005. Erosion mesh netting: a major threat hazard to snakes. Bull. Md. Herpetol. 42, 37-39
- Weisser, M., Creamer, D., Smith, D., Gallagher, G. R. 2017. Anatomy of a snake fence intended to prevent escape of non-venomous rat snakes (*Elaphe obsoleta*) from an enclosure. In: Morin, D. J., Cherry, M. J. (Eds.). Proceedings of the 17<sup>th</sup> wildlife damage management conference, 80-84.



สารเสาวภา

Queen Saovabha Memorial Institute Bulletin



## การประยุกต์ใช้เทคนิคทางด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลกับการศึกษาวิจัยในงู

### Application of molecular techniques in snake study

นรารัตน์ เหล่าพิเชียรพงษ์

Nararat Laopichengpong

ฝ่ายวิจัยและพัฒนา สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

Department of Research and Development, Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society

**บทคัดย่อ:** ปัจจุบันการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับงูพบว่ามีการใช้เทคนิคทางด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลกันอย่างแพร่หลาย เช่น การระบุชนิดของงูแต่ละชนิดในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ และการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดรวมกับการศึกษาในระดับสัณฐานวิทยา การระบุเพศของงูโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอจากยีนบนโครโมโซมเพศ การใช้เทคโนโลยีด้านเครื่องหมายดีเอ็นเอมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคของงู การศึกษาข้อมูลจีโนมโปรไฟล์ของงู การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของงูในประเทศไทย การศึกษาวิจัยทางด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลมีบทบาทสำคัญ และมีความเจริญก้าวหน้าอย่างรวดเร็วต่อการศึกษาวิจัยในด้านการศึกษา ด้านการเกษตร ด้านอุตสาหกรรม ด้านการแพทย์ และสาธารณสุข มีการพัฒนาเทคนิคต่าง ๆ ในระดับโมเลกุลและนำมาประยุกต์ใช้กันอย่างต่อเนื่องมากยิ่งขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยในอดีตที่มีข้อจำกัดทางด้านเทคโนโลยี

**คำสำคัญ:** พันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล เครื่องหมายดีเอ็นเอ ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

**ABSTRACT:** Molecular techniques are commonly used in snake research. For example, DNA barcode for species identification of snakes in Thailand, molecular sexing markers from snake gametologous genes, molecular markers for the diagnosis of snake diseases, the snake genome project, genetic diversity of snakes based on population and geography, diversification, and phylogenetic relationships of snakes. Molecular genetics plays an important role in research, education, agriculture, industry, medical treatment, and public health. Currently, the development of molecular techniques is used to be applied in research continuously, compared with research in the past, which had limitations of research technology.

**Keywords:** Molecular genetics, DNA marker, DNA barcode, Phylogenetic relationship

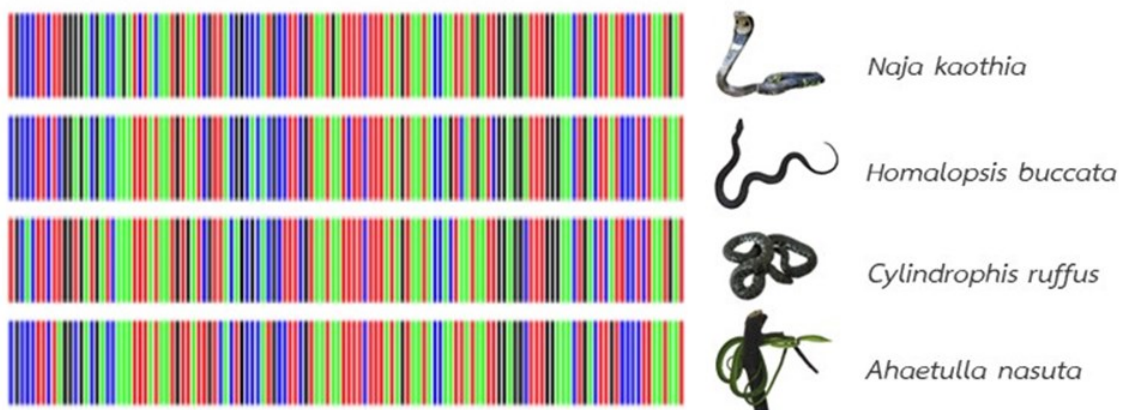
**บทนำ**

เทคนิคทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลเข้ามามีบทบาทสำคัญเป็นอย่างมากต่อการศึกษาวิชาญด้านต่าง ๆ เช่น การระบุชนิดของสิ่งมีชีวิต (Species identification) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม (Genetic diversity) การตรวจวินิจฉัยโรคทางคลินิก (Clinical diagnosis) การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic relationship) การทำแผนที่จีโนมของสิ่งมีชีวิต (Genome mapping) และการศึกษาข้อมูลจีโนมโปรไฟล์ (Whole genome sequencing) เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีด้านเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้กับการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตมากมาย การระบุชนิดในงูสามารถทำได้โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด (DNA barcode) ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายสั้น ๆ จากยีนไมโทคอนเดรีย คล้ายกับบาร์โค้ดบนฉลากของสินค้าต่าง ๆ ที่อยู่ตามห้างสรรพสินค้า โดยจะสามารถบ่งบอกข้อมูลได้ว่าสินค้านั้นเป็นสินค้าชนิดไหน จัดอยู่ในหมวดหมู่ใด ตลอดจนสามารถบอกถึงแหล่งผลิตและที่มาของสินค้า ซึ่งใช้เป็นตัวแทนข้อมูลของสินค้านั้น ๆ โดยปกติแล้วการจำแนกชนิดของงูสามารถจำแนกได้จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น สีของลำตัว ลวดลายบนลำตัว ขนาดลำตัว ตลอดจนโครงสร้างต่าง ๆ ซึ่งจะต้องอาศัยความรู้และความเชี่ยวชาญทางด้านอนุกรมวิธาน (Taxonomy) ร่วมกับการเปรียบเทียบ

ความแตกต่างทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต โดยใช้หลักทางชีววิทยาระดับโมเลกุล ซึ่งจะสามารถช่วยในการระบุชนิดของสิ่งมีชีวิตได้อย่างแม่นยำมากยิ่งขึ้น

**พันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลกับการระบุชนิดของงู**

ปัจจุบันสามารถจำแนกชนิดของงูในประเทศไทยได้โดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในการระบุชนิดของงูได้มากถึง 21 ชนิด โดยใช้ยีนไมโทคอนเดรีย Cytochrome c oxidase I (COI) และ Cytochrome b (Cytb) (Laopichienpong et al., 2016) ข้อดีของการใช้เทคนิคทางด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลช่วยให้ทราบถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมของงูแต่ละชนิด หรือภายในชนิดเดียวกันได้ (รูปที่ 1) การทำดีเอ็นเอบาร์โค้ดสามารถใช้แยกความแตกต่างของงูในกรณีที่มีลักษณะภายนอกที่มีความคล้ายคลึงกัน สามารถแยกความแตกต่างได้ยาก หรือเป็นชนิดซ้อนเร้น (Cryptic species) เช่น ในกลุ่มงูเขียวหางไหม้ เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของงูชนิดเดียวกัน แต่ภูมิศาสตร์ต่างกันก็ได้ เช่น การศึกษาในงูสามเหลี่ยม (*Bungarus fasciatus*) ได้มีการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยใช้ยีนไมโทคอนเดรีย ซึ่งสามารถจัดจำแนกงูสามเหลี่ยมออกเป็น 3 กลุ่ม ตามลักษณะทางภูมิศาสตร์และถิ่นที่อยู่อาศัย (Bakzuala et al., 2023)



รูปที่ 1 ดีเอ็นเอบาร์โค้ดกับการจำแนกชนิดของงู

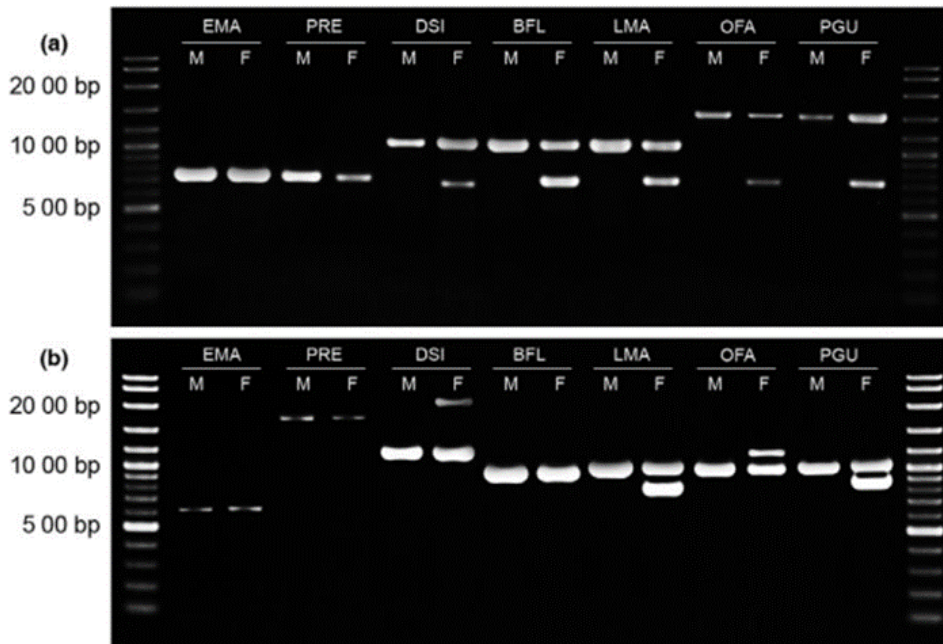


### การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอในการจำแนกเพศของงู

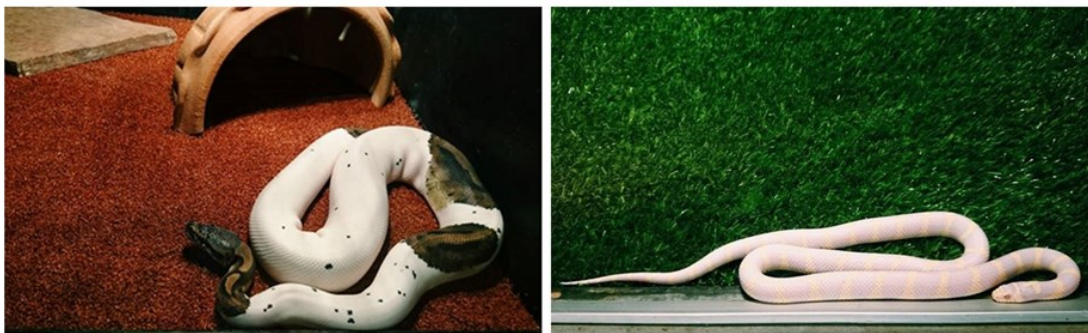
นอกจากการจำแนกชนิดของงูแล้ว เครื่องหมายดีเอ็นเอยังสามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกเพศของงูได้ โดยทั่วไปการจำแนกเพศของงูสามารถจำแนกได้ 3 วิธีการ ได้แก่ 1) การเปรียบเทียบจากความยาวของหาง (Visual identification) 2) การปลิ้นดูอวัยวะสืบพันธุ์ (Cloacal popping) และ 3) การใช้ไฟบรอสโคปีความยาวตรงช่องทวาร (Cloacal probing) อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวมีข้อจำกัด ซึ่งจะต้องเป็นผู้ที่มีความรู้ความชำนาญในการเปรียบเทียบคุณลักษณะ และบางวิธีการอาจสร้างความเจ็บปวดให้กับงูได้ ในขณะที่มีการตรวจสอบจำแนกเพศ ดังนั้น จึงได้มีการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการจำแนกเพศของงูขึ้นมา โดยใช้ยีนแกมีโตล็อก (Gametologous gene) ได้แก่ ยีน CTNNB1 และยีน WAC ซึ่งเป็นยีนที่อยู่บนโครโมโซมเพศของงู พบว่าสามารถนำมาใช้ในการจำแนกเพศของงูได้ 16 ชนิด ซึ่งเป็นกลุ่มงูสมัยใหม่ (Caenophidian snake) (Laopichienpong et al., 2017) โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ เพศผู้จะแสดงแถบดีเอ็นเอ 1 แถบ ที่ได้จากยีนแกมีโตล็อกบนโครโมโซม Z และเพศเมียจะแสดงแถบดีเอ็นเอ 2 แถบ ที่ได้จากยีนแกมีโตล็อกบนโครโมโซม Z

และโครโมโซม W เนื่องจากระบบการกำหนดเพศของงูเป็นรูปแบบ ZZ/ZW (เพศผู้มีโครโมโซมเป็น ZZ และเพศเมียมีโครโมโซมเป็น ZW) ซึ่งจะตรงข้ามกับระบบการกำหนดเพศของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (รูปที่ 2) นอกจากนี้เครื่องหมายดีเอ็นเอดังกล่าวยังสามารถนำมาใช้ตรวจสอบเพศของงูได้จากตัวอย่างที่เป็น Non-invasive โดยสามารถนำมาทดสอบตัวอย่างที่ได้จากคราบเลือดและคราบงู (Tawichasri et al., 2017)

การวิจัยพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ในการจำแนกเพศของงู สามารถเป็นประโยชน์กับงาน ด้านการอนุรักษ์ และด้านการเพาะเลี้ยงผสมพันธุ์ ซึ่งในปัจจุบันวงการสัตว์เลี้ยงแปลก (Exotic pet) เป็นที่นิยมอย่างมากทั่วโลก และในประเทศไทยวงการสัตว์เลี้ยงแปลกสามารถสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจได้เป็นอย่างมาก และงูก็เป็นหนึ่งในสัตว์เลี้ยงที่เป็นที่นิยมในกลุ่มสัตว์เลี้ยงหายาก เนื่องจากงูไม่มีพิษบางชนิดจะมีลวดลายสีสันที่สวยงาม มีความหลากหลายของลักษณะที่ปรากฏ (Phenotype) เช่น งูหลามบอล (*Python regius*) งูคอรีน (*Pantherophis guttatus*) เป็นต้น (รูปที่ 3)



รูปที่ 2a และ 2b การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอในการจำแนกเพศของงูโดยใช้ยีนแกมีโตล็อก  
ที่มา: Laopichienpong et al., 2017



รูปที่ 3 งูหลามบอล (*Python regius*) (ภาพซ้าย) และงูคอร์น (*Pantherophis guttatus*) (ภาพขวา)

### การพัฒนาเครื่องมือเอ็นเอในการตรวจวินิจฉัยโรคในงู

งูจัดเป็นสัตว์เลื้อยคลานซึ่งอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมภายนอกมีผลต่อการทำงานของระบบต่าง ๆ ภายในร่างกาย โดยอุณหภูมิของร่างกายจะแปรผันไปตามสิ่งแวดล้อม สาเหตุของโรคที่พบได้บ่อยครั้งในงูเกิดจากการติดเชื้อไวรัสก่อโรคที่ส่งผลกระทบต่อระบบต่าง ๆ ของงู ได้แก่ ระบบประสาท ระบบทางเดินอาหาร ระบบหายใจ และระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดการดำเนินงานที่ผิดปกติ และมีอาการเจ็บป่วยแสดงออกมาได้ การศึกษาและทำความเข้าใจเกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยาจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง โดยในปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีด้านเครื่องมือเอ็นเอมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยระบุชนิดของเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรค การพัฒนาเทคนิคทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลจะเป็นอีกวิธีการหนึ่งในการช่วยตรวจวินิจฉัยโรคของงูให้เป็นอย่างถูกต้อง และมีความแม่นยำ ควบคู่ไปกับการตรวจวินิจฉัยทางคลินิก โดยการใช้เครื่องมือเอ็นเอจากการออกแบบไพรเมอร์ซึ่งเป็นโอลิโกนิวคลีโอไทด์สายสั้น ๆ ให้มีความจำเพาะกับเชื้อไวรัสแต่ละชนิด ด้วยคุณสมบัติการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากยีนเป้าหมายด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase chain reaction, PCR) ยกตัวอย่างในการศึกษาในงานวิจัย มีการใช้เทคนิค PCR ในการตรวจหาเชื้อไวรัสชนิด (Nido virus) ในงูหลามบอล และยังสามารถช่วยในการระบุชนิดของเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของการแพร่ระบาดของโรคในงูได้ (Uccellini et al., 2014; Rampacci et al., 2019; Leineweber and Marschang, 2023)

### การศึกษาข้อมูลจีโนมโปรไฟล์ และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของงู

ปัจจุบันการศึกษาข้อมูลจีโนมโปรไฟล์ของงูมีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย ยกตัวอย่างเช่น การศึกษาข้อมูลจีโนมของงูเห่าอินเดีย (*Naja naja*) โดยการใช้เทคโนโลยีวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์แบบใหม่ (Next Generation Sequencing) ด้วยแพลตฟอร์ม PacBio ที่ได้ชุดข้อมูลแบบ Long read data แพลตฟอร์ม Illumina ที่ได้ชุดข้อมูลแบบ Short-read data และการทำ Hi-C library preparation and sequencing ที่จะได้ชุดข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของโครโมโซมแต่ละแท่ง (Chromosome-scale assemblies) (Suryamohan et al., 2020) และนอกจากนี้ยังมีการศึกษาจีโนมโปรไฟล์ของงูเห่าไทย (*Naja kaouthia*) โดยการการทำ Genome Wide SNP จากเทคนิค Diversity Array Technology (DArTseq™) (Laopichienpong et al., 2021) โดยการเปรียบเทียบข้อมูลจีโนมระหว่างงูเห่าไทยเทศผู้และเทศเมีย เพื่อทราบถึงความแตกต่างของยีนแคมีโตลิกบนโครโมโซมเพศ และนำไปสู่การประเมินกระบวนการวิวัฒนาการของโครโมโซมเพศในกลุ่มของงูได้ การศึกษาวิจัยโดยการใช้เทคนิคทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลกับการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของงูสามารถเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของงูแต่ละชนิด และนำมาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ (Phylogenetic tree) โดยอาศัยองค์ความรู้ทางด้านชีววิทยาสารสนเทศมาประกอบรวมด้วย (Bioinformatics) จากการศึกษาในงานวิจัยของ Pyron และคณะ ในปี 2013

ได้มีการจัดจำแนกและศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในกลุ่ม Squamate (กลุ่มตระกูลกิ้งก่า และงู) ทั้งหมด 4,161 ชนิด โดยมีการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์จากยีนทั้งหมด 12 ยีน โดยจัดเป็นยีนในนิวเคลียส 7 ยีน และยีนในไมโทคอนเดรีย 5 ยีน (Pyron et al., 2013)

อาจสรุปได้ว่าเทคนิคทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลมีบทบาทสำคัญต่อการศึกษาวิวัฒนาการในปัจจุบันเป็นอย่างมาก และมีความเจริญก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว มีการนำมาประยุกต์ใช้กับการศึกษาวิวัฒนาการที่มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น ทำให้เกิดการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงทางเทคโนโลยีทางพันธุศาสตร์ที่มีความสำคัญต่อการต่าง ๆ ทั้งทางด้านการศึกษา ด้านการเกษตร ด้านอุตสาหกรรม ด้านการแพทย์ และสาธารณสุข

#### เอกสารอ้างอิง

- Biakzuala, L., Lalremsanga, H. T., Santra, V., Dhara, A., Ahmed, M. T., Mallick, Z. B., Kuttalam, S., Amarsinghe, A. A. T., Malhotra, A. 2023. Molecular phylogeny reveals distinct evolutionary lineages of the banded krait, *Bungarus fasciatus* (Squamata, Elapidae) in Asia. *Sci. Rep.* 13(1), 2061.
- Laopichienpong, N., Kraichak, E., Singchat, W., Sillapaprayoon, S., Muangmai, N., Suntrarachun, S., Baicharoen, S., Peyachoknagul, S., Chanhom, L., Ezaz, T., Srikulnath, K. 2021. Genome-wide SNP analysis of Siamese cobra (*Naja kaouthia*) reveals the molecular basis of transitions between Z and W sex chromosomes and supports the presence of an ancestral super-sex chromosome in amniotes. *Genomics* 113(1 Pt 2), 624–636.
- Laopichienpong, N., Muangmai, N., Supikamolseini, A., Twilprawat, P., Chanhom, L., Suntrarachun, S., Peyachoknagul, S., Srikulnath, K. 2016. Assessment of snake DNA barcodes based on mitochondrial COI and Cytb genes revealed multiple putative cryptic species in Thailand. *Gene* 594(2), 238–247.
- Laopichienpong, N., Tawichasri, P., Chanhom, L., Phacharakullawarawat, R., Singchat, W., Kantachumpoo, A., Muangmai, N., Suntrarachun, S., Matsubara, K., Peyachoknagul, S., Srikulnath, K. 2017. A novel method of caenophidian snake sex identification using molecular markers based on two gametologous genes. *Ecol. and Evol.* 7(13), 4661–4669.
- Leineweber, C., Marschang, R. E. 2023. Detection of nidoviruses in samples collected from captive snakes in Europe between 2016 and 2021. *Vet. Rec.* 192(6), e2588.
- Pyron, R. A., Burbrink, F. T., Wiens, J. J. 2013. A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4,161 species of lizards and snakes. *BMC Evol. Biol.* 13, 93.
- Rampacci, E., Masi, M., Origgi, F. C., Stefanetti, V., Bottinelli, M., Selleri, P., Coletti, M., Passamonti, F. 2019. First molecular detection of ball python nidovirus in Italy - Short communication. *Acta Vet. Hung.* 67(1), 127–134.
- Suryamohan, K., Krishnankutty, S. P., Guillory, J., Jevit, M., Schröder, M. S., Wu, M., Kuriakose, B., Mathew, O. K., Perumal, R. C., Koludarov, I., Goldstein, L. D., Senger, K., Dixon, M. D., Velayutham, D., Vargas, D., Chaudhuri, S., Muraleedharan, M., Goel, R., Chen, Y. J., Ratan, A., Seshagiri, S. 2020. The Indian cobra reference genome and transcriptome enables comprehensive identification of venom toxins. *Nat. Genet.* 52(1), 106–117.
- Tawichasri, P., Laopichienpong, N., Chanhom, L., Phacharakullawarawat, R., Singchat, W., Koomgun, T., Prasongmaneerut, T., Rerkamnuaychoke, W., Sillapaprayoon, S., Muangmai, N., Suntrarachun, S., Baicharoen, S., Peyachoknagul, S., Srikulnath, K. 2017. Using blood and non-invasive shed skin samples to identify sex of caenophidian snakes based on multiplex PCR assay. *Zool. Anz.* 271, 6–14.
- Uccellini, L., Ossiboff, R. J., de Matos, R. E., Morrissey, J. K., Petrosov, A., Navarrete-Macias, I., Jain, K., Hicks, A. L., Buckles, E. L., Tokarz, R., McAloose, D., Lipkin, W. I. 2014. Identification of a novel nidovirus in an outbreak of fatal respiratory disease in ball pythons (*Python regius*). *Viol. J.* 11, 144.





สารเสาวภา

Queen Saovabha Memorial Institute Bulletin



## โรคติดเชื้อริกเก็ตเซีย: โรคสัตว์สู่คนที่ถูกมองข้าม

### Rickettsiosis: A Neglected Zoonotic Disease

ชานนท์ ฝาเงิน

Chanon Fangoen

ฝ่ายชันสูตรและวิจัยโรคในสัตว์ สภานเสาวภา สภากาชาดไทย

Department of Animal Diagnosis and Investigation, Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society

**บทคัดย่อ:** โรคติดเชื้อริกเก็ตเซีย (Rickettsiosis) เป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่คน เกิดจากแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในสัตว์ขาปล้องดูดเลือด เช่น ไร เห็บ เหาและหมัด สามารถแบ่งกลุ่มโรคได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ สครับไทฟัส (Scrub typhus) ไทฟัส (Typhus) และ ไข้ต่าง (Spotted fever) โรคเหล่านี้จัดอยู่ในประเภทของโรคเขตร้อนที่ถูกกละเลย (Neglected tropical diseases) ซึ่งส่งผลกระทบต่อผู้คนที่พำนักอยู่ในประเทศด้อยพัฒนาหรือประเทศกำลังพัฒนา ส่งผลให้การวินิจฉัย การรักษา และการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคในกลุ่มนี้มีจำกัดและล่าช้า อีกทั้งยังพบว่าผู้คนที่ในประเทศเหล่านี้มักขาดความรู้และตระหนักถึงความสำคัญของโรคที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของตนเอง เมื่อเร็ว ๆ นี้ มีงานวิจัยที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างมนุษย์กับแบคทีเรีย *Rickettsia* spp. ที่มาจากสัตว์เลี้ยงโดยเฉพาะสุนัขและแมวในเขตเมืองอย่าง กรุงเทพมหานครและปริมณฑล ซึ่งเป็นหลักฐานเกี่ยวกับความเสี่ยงที่มนุษย์จะสัมผัสกับโรคนี้จากสัตว์เลี้ยงอย่างสุนัขและแมวซึ่งอยู่ใกล้ชิดกับมนุษย์ ซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มปัจจุบันของ "Pet humanization" การที่มนุษย์มีปฏิสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสัตว์เลี้ยงอาจเพิ่มโอกาสในการแพร่เชื้อโรค

**คำสำคัญ:** สครับไทฟัส ไทฟัส ไข้ต่าง โรคสัตว์สู่คน

**ABSTRACT:** Rickettsiosis is a zoonotic disease transmitted from animals to humans, caused by bacteria that reside in blood-sucking arthropods such as mites, ticks, and fleas. It can be categorized into three groups of diseases: scrub typhus, typhus, and spotted fever. These diseases fall under the category of neglected tropical diseases, impacting over a billion people living in underdeveloped or developing countries. Consequently, the diagnosis, treatment, and vaccine development for diseases in this group are limited and delayed compared to ideal timelines. People in these countries often lack awareness of the significance of these potentially dangerous diseases in their health. Recently, there has been research investigating the likelihood of contact between humans and *Rickettsia* spp. from pets, particularly dogs and cats, in urban areas such as Bangkok and its surrounding regions. This research is crucial as it provides evidence of the risk of human exposure to *Rickettsia* spp. from companion animals like dogs and cats, which are close to humans. This corresponds to the prevailing trend of "Pet humanization", in which humans closely interact with their pets, posing a potential risk of disease transmission.

**Keywords:** Scrub typhus, Typhus, Spotted fever, Zoonosis

## บทนำ

ช่วงเวลากว่าทศวรรษที่โครงสร้างทางสังคม ครอบครัว และวิถีชีวิตของมนุษย์เราเปลี่ยนไป ผู้คนจำนวนมากหันมาเลี้ยงสัตว์เลี้ยงเพิ่มมากขึ้น (Irvine and Cilia, 2017; Guo et al., 2021) สัตว์เลี้ยงส่วนใหญ่ได้รับการปฏิบัติเหมือนสมาชิกในครอบครัวมากกว่าที่จะเป็นเพียงแค่ "สัตว์เลี้ยง" ซึ่งเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า "Pet humanization" เจ้าของสัตว์เลี้ยงมองว่าตัวเองเป็นพ่อแม่ของสัตว์เลี้ยงมากกว่าการเป็นเพียงเจ้าของ ทำให้รูปแบบการเลี้ยงสัตว์เลี้ยงมีความคล้ายคลึงกับมนุษย์มากขึ้นทั้งในด้านอาหาร การดูแล หรือแม้แต่การนอนในบ้านหรือเตียงเดียวกันกับเจ้าของ มีการพาสัตว์เลี้ยงไปเดินห้างสรรพสินค้า ร้านอาหาร ซึ่งอาจส่งผลให้มนุษย์มีโอกาสติดเชื้อจากสัตว์เลี้ยงเพิ่มมากขึ้นจากความใกล้ชิดกับสัตว์และเพิ่มโอกาสการแพร่เชื้อโรคได้มากยิ่งขึ้น (Joosten et al., 2020)

โรคติดเชื้อริกเก็ตเซีย (Rickettsiosis) เป็นหนึ่งในกลุ่มโรคจากสัตว์สู่คน (Zoonosis) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียซึ่งอาศัยอยู่ในสัตว์ขาปล้องดูดเลือด (Blood-sucking arthropods) เช่น เห็บ หมัด เหา และไร โดยมีกลุ่มสัตว์ฟันแทะ สุนัข แมว วัว ควาย และสัตว์ป่าจำนวนมากเป็นโฮสต์ตามธรรมชาติ (Natural hosts) ของสัตว์ขาปล้องดูดเลือดเหล่านี้ (Low et al., 2020) โรคติดเชื้อริกเก็ตเซีย สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มโรคคือ สครับไทฟัส (Scrub typhus) ไทฟัส (Typhus) และ ไข้ดำ (Spotted fever) (Balcells et al., 2011) โดยพบว่าโรคติดเชื้อริกเก็ตเซียเป็นสาเหตุสำคัญของการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเป็นสาเหตุในอันดับที่ 4 ของการเจ็บป่วยในนักท่องเที่ยวที่เดินทางกลับจากประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้หรือตะวันออกเฉียงใต้รองลงมาจากโรคมาลาเรีย (Malaria) ไข้เลือดออก (Dengue fever) และโรคจูบ (Mononucleosis) (Aung et al., 2014) และโรคเหล่านี้ก็จัดเป็นโรคเขตร้อนที่ถูกกละเลย (Neglected tropical disease) ซึ่งส่งผลกระทบต่อผู้คนกว่าพันล้านคนที่อาศัยอยู่ในประเทศเขตร้อนที่ด้อยพัฒนาหรือกำลังพัฒนา ดังนั้นการวินิจฉัย การรักษา และการพัฒนาวัคซีนสำหรับโรคในกลุ่มนี้จึงมีอย่างจำกัดและล่าช้ากว่าที่ควรจะเป็น ผู้คนในประเทศเหล่านี้ก็มักไม่ทราบถึงความสำ

คัญของโรคกลุ่มนี้ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของพวกเขา

## อนุกรมวิธาน

แบคทีเรียริกเก็ตเซีย (Rickettsia) เป็นแบคทีเรีย Coccobacilli แกรมลบ อยู่ในวงศ์ (Family) Rickettsiaceae โดยมี 2 สกุล (Genus) ได้แก่ ริกเก็ตเซีย (*Rickettsia*) และ โอเรียนเทีย (*Orientia*) ซึ่งสกุล *Rickettsia* แบ่งออกเป็นสองกลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มไทฟัส และกลุ่มไข้ดำ ผู้ค้นพบสกุลริกเก็ตเซีย คือ Howard Ricketts ขณะกำลังสืบสวนการแพร่ระบาดของโรค Rocky mountain spotted fever ในปี พ.ศ. 2449-2450 (Ricketts, 1909) โดยหลังจากนั้นสกุลริกเก็ตเซีย มีการค้นพบเพิ่มอีก 2 สกุล คือ Ancestral group และ Transitional group แบคทีเรียในตระกูลนี้ไม่สามารถอยู่รอดได้ในสิ่งแวดล้อมและสามารถเติบโตได้ภายในไซโตพลาสซึมเท่านั้น (Obligate intracellular organisms)

สกุลโอเรียนเทีย (*Orientia*) จัดอยู่ในอันดับ (Order) Rickettsiales โดยมีการแยกสกุลออกจากสกุลริกเก็ตเซีย ซึ่งโอเรียนเทียมีลักษณะเป็นท่อนสั้นขนาด 0.5-1.5 ไมครอนที่สามารถย้อมด้วยสี Giemsa ได้ สามารถเจริญเติบโตใน Yolk sacs ของไข่ไก่ เซลล์ไลน์ L929 เซลล์ Mouse fibroblast และเซลล์ Vero โดยแบคทีเรียสกุลนี้จะเติบโตในไซโตพลาสซึมของเซลล์โฮสต์และแบ่งตัวเหมือนกระบวนการแตกหน่อ (Budding) และต้นออกจากเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (Cytoplasmic membrane) เหมือนไวรัส สำหรับสกุลโอเรียนเทียจะแตกต่างจากสกุลริกเก็ตเซีย ที่ Outer leaflet ของผนังเซลล์ซึ่งจะหนากว่าส่วนของ Inner leaflet โดยสกุลนี้ประกอบด้วยสองสายพันธุ์ ได้แก่ *Orientia tsutsugamushi* และ *Orientia chuto* (Balcells et al., 2011) สกุลนี้จะมีความทนทานต่อเพนิซิลลิน (Penicillin) มากกว่าสกุลริกเก็ตเซีย

สกุลริกเก็ตเซีย มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3-0.5 ไมครอน และยาวประมาณ 0.8-2.0 ไมครอน ผนังเซลล์มีองค์ประกอบเหมือนกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบทั่วไปที่มี Peptidoglycan และ Lipopolysaccharide (LPS) เยื่อหุ้มชั้นนอก (Outer membrane) และ Cytoplasmic membrane มีชั้นโปรตีนโมโครแคปซูลที่เรียกว่า Crystal-

line ซึ่งมีแอนติเจนโปรตีนบนพื้นผิวที่จำเพาะต่อสปีชีส์ (190 kDa rOmpA และ 120 kDa rOmpB) นอกจากนี้ ริคเก็ตเซียยังมีโปรตีนเฉพาะสกุลคือ 17 kDa Lipoprotein ที่ทำให้ริคเก็ตเซียแตกต่างจากแบคทีเรียตัวอื่น

### การแพร่กระจายเชื้อ

วงจรชีวิตตามธรรมชาติของแบคทีเรียกลุ่มนี้อาศัยอยู่ในเซลล์ของสัตว์ขาปล้องดูดเลือด เช่น หมัด เห็บ เหา และไร ซึ่งเป็นปรสิตภายนอกของสัตว์และมนุษย์ สัตว์ขาปล้องดูดเลือดที่มีแบคทีเรียริคเก็ตเซียก็ถือเป็นทั้ง โฮสต์กักเก็บโรค (Reservoir host) และ พาหะ (Vector) เพราะเมื่อสัตว์ขาปล้องเหล่านี้ดูดเลือด น้ำเหลืองหรือกัดกินผิวหนังของโฮสต์ แบคทีเรียเหล่านี้ที่อาศัยอยู่ในน้ำลายหรืออุจจาระของสัตว์ขาปล้องดูดเลือดจะเข้าสู่ร่างกายของโฮสต์ผ่านทางบาดแผล ทำให้โฮสต์ติดเชื้อริคเก็ตเซีย และกลายเป็นโฮสต์กักเก็บโรค

สำหรับกลไกการแพร่กระจายเชื้อของหมัดสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ การแพร่เชื้อแบบ Propagative transmission และ Transovarian transmission ซึ่งการติดเชื้อของหมัดเริ่มต้นจากการได้รับแบคทีเรียริคเก็ตเซียในเลือดของโฮสต์โดยการกัดและดูดเลือดที่มีแบคทีเรียริคเก็ตเซียเข้าไปในกระเพาะอาหาร การติดเชื้อริคเก็ตเซียเริ่มต้นในลำไส้ของหมัด ซึ่งแบคทีเรียริคเก็ตเซียสามารถบุกรุกไซโตพลาสซึมของเซลล์เยื่อบุผิวในลำไส้ได้ แบคทีเรียจะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วภายในเซลล์เยื่อบุผิวของลำไส้แล้วหลังจากนั้นจะหลุดออกจากเซลล์โดยไม่ทำให้เซลล์ตาย แบคทีเรียเหล่านี้แพร่กระจายผ่านโพรงในตัวหมัดเข้าไปในระบบทางเดินอาหารของหมัด (Gut lumen) และส่วนอื่นๆ ของหมัด แบคทีเรียริคเก็ตเซียจะถูกขับออกมาพร้อมกับอุจจาระของหมัดภายใน 40 วันหลังการติดเชื้อ (Walker et al., 2003) นอกจากนี้ แบคทีเรียเหล่านี้ยังเติบโตในอวัยวะของหมัดต่อมน้ำลาย และรังไข่ ซึ่งทำให้ไข่ติดเชื้อ หมัดที่ฟักออกมาจากไข่ก็จะมีแบคทีเรียริคเก็ตเซียเช่นกัน ซึ่งเป็นวิธีการถ่ายทอดโรคจากหมัดตัวแม่ไปสู่รุ่นลูกต่อไป ลักษณะนี้ทำให้หมัดทำหน้าที่เป็นทั้งพาหะและแหล่งกักเก็บของแบคทีเรียเหล่านี้ หมัดที่ติดเชื้อแบคทีเรียริคเก็ตเซีย จะแพร่กระจายแบคทีเรีย

อย่างต่อเนื่องผ่านทางอุจจาระของหมัด และกลายเป็นพาหะไปยังโฮสต์อื่นๆ เช่น หนู สุนัข และแมว การติดเชื้อแบคทีเรียริคเก็ตเซีย เกิดขึ้นเมื่อหมัดที่ติดเชื้อกัด ดูดเลือด และถ่ายอุจจาระไปยังแผลที่ถูกหมัดกัด การกัดเหล่านี้จะทำให้โฮสต์ระคายเคืองเกิดการเกาซึ่งทำให้เกิดบาดแผลบริเวณที่ถูกหมัดกัด หลังจากนั้นแบคทีเรียริคเก็ตเซียจะแพร่กระจายไปยังโฮสต์ผ่านทางบาดแผล

กลไกการแพร่เชื้อในกลุ่มของไรเกิดจากตัวเต็มวัยของไรอาศัยอยู่ในหญ้าและวางไข่บนพื้น ไข่จะฟักเป็นตัวอ่อนไรที่เรียกว่า "Chigger mite" ซึ่งจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มและกระโดดขึ้นไปอยู่บนสัตว์ที่เป็นโฮสต์ โดยแบคทีเรียโอเรียนเทีย ในเลือดของโฮสต์จะผ่านเข้าสู่ลำไส้ของตัวอ่อนไรและอาศัยใน Hemocoele และต่อมน้ำลาย หลังจากนั้นแบคทีเรียโอเรียนเทียจะเพิ่มจำนวนทวีคูณมากขึ้นในอวัยวะเหล่านี้ ตัวอ่อนไรที่ติดเชื้อจะโตเต็มวัยพร้อมผสมพันธุ์และวางไข่ แบคทีเรียเหล่านี้จะเข้าสู่ไข่ ทำให้มีการถ่ายทอดผ่านรังไข่ จากนั้นไข่ที่ติดเชื้อจะฟักออกมาและตัวอ่อนจะกลายเป็นตัวอ่อนไรที่ติดเชื้อ

กลไกสำหรับการส่งผ่านแบคทีเรียริคเก็ตเซีย ในเห็บเกิดขึ้นเมื่อเห็บถูกบดขยี้บนผิวหนังของโฮสต์ แบคทีเรียจากเห็บจะเข้าสู่ร่างกายของโฮสต์ผ่านทางบาดแผลที่ผิวหนังหรือผ่านเยื่อเมือกหรือทางเดินหายใจ เป็นต้น หรือจากการดูดเลือดโฮสต์ของเห็บซึ่งใช้ปาก (Chelicerae) ทำลายผิวหนังของโฮสต์ จากนั้นใช้ Hypostome เจาะเส้นเลือดฝอยของโฮสต์ ซึ่งแบคทีเรียที่อยู่ในน้ำลายของเห็บจะถูกปล่อยเข้าสู่ร่างกายของโฮสต์ ซึ่งแบคทีเรียจะไปเจริญเติบโตในเซลล์บุผนังหลอดเลือด ทั้งนี้เห็บสามารถติดเชื้อจากการแพร่เชื้อจากแม่สู่ลูก โดยผ่านทางรังไข่ได้เช่นกัน (Brumin et al., 2012)

### ระบาดวิทยา

โรคสครับไทฟัส เกิดจากการติดเชื้อ *Orientia tsutsugamushi* โรคนี้พบครั้งแรกในประเทศจีนเมื่อ 2,000 ปีก่อน เป็นโรคที่พบบ่อยในพื้นที่ชนบทของเอเชียใต้ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และหมู่เกาะแปซิฟิก (Parola et al., 2013) โรคสครับไทฟัส เกิดขึ้นได้ตลอดทั้งปีในพื้นที่เขตร้อน แต่จะพบเฉพาะตามฤดูกาลในพื้นที่เขตอบอุ่นบางแห่งเท่า-

นั้น สภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของเชื้อสคริปไทฟัส คืออุณหภูมิต่ำและมีฝนตก ซึ่งทำให้อัตราการเกิดโรคจะสูงที่สุดในช่วงฤดูฝนและฤดูหนาว สำหรับในส่วนของ กองไม้พุ่มที่ปศุสัตว์ และกลุ่มสัตว์ฟันแทะในบริเวณใกล้เคียงที่อยู่อาศัย ล้วนถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญในการติดเชื้อสคริปไทฟัส (Kelly et al., 2009)

กลุ่มโรคไทฟัส แบ่งได้เป็น 2 โรคคือ Murine typhus และ Epidemic typhus โดยโรค Murine typhus เกิดจากการติดเชื้อ *Rickettsia typhi* ที่มีหมัดเป็นพาหะ และมีสัตว์ฟันแทะเป็นโฮสต์ตามธรรมชาติและโฮสต์กักเก็บโรค สำหรับมนุษย์ซึ่งเป็นโฮสต์โดยบังเอิญ (Accidental host) จะได้รับการติดเชื้อจากการถูกหมัดกัดพร้อมกับอุจจาระที่ปนเปื้อนซึ่งมีเชื้อ *R. typhi* (Civen and Ngo, 2008) หนูสายพันธุ์ *Rattus rattus* และ *Rattus norvegicus* เป็นแหล่งรังโรค และมีหมัด *Xenopsilla cheopsis* เป็นพาหะ (Sangkasuwan et al., 2007) หมัดได้รับเชื้อโรคจากหนูและติดตัวไปตลอดชีวิต การติดเชื้อในมนุษย์แพร่กระจายได้หลายวิธี สำหรับการแพร่เชื้อที่แพร่หลายที่สุดในมนุษย์มาจากอุจจาระของหมัดเข้าสู่บาดแผลบริเวณที่ถูกกัด (Civen and Ngo, 2008)

โรค Epidemic typhus เป็นโรคที่มีการระบาดตั้งแต่สมัยโบราณที่เกิดจากเชื้อ *Rickettsia prowazekii* โรคนั้นแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในช่วงสงครามโลกครั้งที่ 1 และ 2 ส่งผลให้ทหารจำนวนมากเจ็บป่วยและเสียชีวิต จนถึงปี พ.ศ. 2538-2541 ก็ได้กลับมาปรากฏอีกครั้งในหลายประเทศ เช่น บรูไนดี รัสเซีย และเปรู (Kelly et al., 2002) โรค Epidemic typhus มีเหาเป็นพาหะซึ่งแตกต่างจากแบคทีเรียริกเก็ตเซียชนิดอื่นเพราะมนุษย์เป็นทั้งโฮสต์ตามธรรมชาติและโฮสต์กักเก็บโรค มนุษย์ที่มีขนตามร่างกายมากมักเป็นที่อยู่อาศัยของเหาโดยเฉพาะในประเทศที่มีอากาศหนาวเย็นและมีสุขาภิบาลและสาธารณสุขที่ไม่ดี

โรคไขต่าง (Spotted Fever) คือการติดเชื้อแบคทีเรียริกเก็ตเซียที่เกิดจากเห็บ ซึ่งมีสายพันธุ์อยู่ทั่วโลกมากกว่า 30 สายพันธุ์ โฮสต์ตามธรรมชาติของแบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ สัตว์ฟันแทะ กระรอก กระต่าย สุนัข แมว ฯลฯ แบคทีเรียเหล่านี้มีอยู่ในน้ำลายของเห็บ และโฮสต์จะติดเชื้อ

จากการถูกเห็บกัด โดยมีเห็บหลายสายพันธุ์ที่เป็นพาหะและแหล่งกักเก็บโรค เช่น *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Amblyomma*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis* และ *Demacantor* สำหรับในมนุษย์จำนวนผู้ป่วยโรคไขต่างมีจำนวนเพิ่มขึ้นในทุกๆ ปี เนื่องจากการเดินทางของมนุษย์ และเห็บยังติดตัวไปกับสัตว์ชนิดต่างๆ การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่ทำให้เห็บจากเดิมพบในเขตร้อนมีการขยายพื้นที่อาศัยขึ้นไปทางด้านตอนเหนือมากขึ้น (Satjanadumrong et al., 2019)

ตามรายงานฝ่ายระบาดวิทยาประจำปีของกรมควบคุมโรค ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา มีรายงานผู้ป่วยประมาณ 4,674-10,976 รายต่อปี โดยเฉลี่ยที่ 8,195 รายต่อปี อัตราการเจ็บป่วยอยู่ที่ประมาณร้อยละ 7.04-16.99 ต่อประชากรแสนคน โดยมีรายงานสูงสุดในปี 2556 มีผู้ป่วย 10,976 ราย อัตราการเจ็บป่วยอยู่ที่ร้อยละ 16.99 ต่อประชากรแสนคน และต่ำสุดในปี 2563 จำนวน 4,674 ราย มีรายงานผู้เสียชีวิต 1-11 รายในแต่ละปี และมีอัตราการเสียชีวิตร้อยละ 0.01-0.15 จำนวนผู้เสียชีวิตสูงสุด 11 รายในปี 2560 (อัตราการเสียชีวิตร้อยละ 0.15) โดยมีผู้เสียชีวิตน้อยที่สุด 1 ราย ในปี 2562 มีรายงานการพบโรคสคริปไทฟัส ในปี 2563 จำนวนถึง 70 จังหวัด โดยจังหวัดที่มีอัตราการเจ็บป่วยสูงสุด 10 อันดับแรก ได้แก่ แม่ฮ่องสอน 177.6 ต่อประชากร 100,000 คน รองลงมาคือ เชียงราย (43.80) พังงา (39.10) เชียงใหม่ (35.08) น่าน (34.98) ตาก (28.00) สุราษฎร์ธานี (27.34) ศรีสะเกษ (25.38) ระนอง (24.24) และร้อยเอ็ด (14.13) ส่วนผู้เสียชีวิต 3 ราย 1 รายอยู่ที่จังหวัดพะเยา สุราษฎร์ธานี และสงขลา โรคนี้นับได้ในผู้ป่วยตลอดทั้งปี พบมากในช่วงฤดูฝนถึงต้นฤดูหนาว (พฤษภาคม-พฤศจิกายน) จำนวนผู้ป่วยสูงสุดคือในเดือนสิงหาคม (599 ราย) และจำนวนผู้ป่วยต่ำสุดคือในเดือนเมษายน (191 ราย) (Annual epidemiological surveillance report 2020, 2021)

#### อาการทางคลินิก

โรคสคริปไทฟัส ลักษณะอาการของโรคคือแผลที่ผิวหนังบริเวณที่ถูกกัดจะเป็นสีดำที่เรียกว่า Eschar (คล้ายกับแผลไหม้จากพุทรี) ซึ่งจะเกิดรอยแผลประมาณ 6-18 วัน



หลังการติดเชื้อ อาการนี้จะพบได้ประมาณร้อยละ 30-40 ของผู้ป่วย ซึ่งต่อมาผู้ป่วยจะมีไข้สูง ปวดศีรษะรุนแรง โดยเฉพาะบริเวณขมับและหน้าผาก คลื่นไส้ อาเจียน ต่อม น้ำเหลืองอักเสบ โดยเฉพาะต่อมน้ำเหลืองบริเวณไทรอย แผล Eschar และอาจพบภาวะ ตับโต ม้ามโต หลังจากมีไข้ ประมาณ 4-5 วัน ในบางรายอาจมีผื่นตามร่างกายลามไปจนถึงแขนขา ผื่นเหล่านี้จะหายไปภายใน 2-3 วัน อาการที่พบบ่อยอีกอย่างหนึ่งคือการไอ การเอ็กซเรย์ปอดมักพบการอักเสบของเนื้อเยื่อปอด ผู้ป่วยที่รุนแรงอาจพบอาการเหล่านี้ เช่น ภาวะช็อกจากการติดเชื้อ ไตวายเฉียบพลัน ตับวายเฉียบพลัน เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ปอดอักเสบ หายใจล้มเหลวเฉียบพลัน กลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลัน โรคหลอดเลือดแข็งตัวแบบแพร่กระจาย กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ และโคมา การวินิจฉัยและการรักษาโรคสครับไทฟัสที่ไม่เหมาะสมอาจทำให้เสียชีวิตได้ (Shikino et al., 2016; Blanton, 2019)

อาการของโรค Murine Typhus ได้แก่ ไข้สูง ปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ คลื่นไส้และอาเจียน ไม่มีรายงานการเกิดแผล Eschar ในผู้ป่วย Murine typhus ผื่นที่ผิวหนังบริเวณต้นแขนและต้นขา มักเกิดขึ้นในผู้ป่วยหลังมีไข้ 3-5 วัน ผื่นเริ่มเป็นจุดชัดเจนแล้วลุกลามไปสู่ผื่นแดง พบผื่นในผู้ป่วยเพียงร้อยละ 28 ผู้ป่วยอาจมีภาวะแทรกซ้อนที่ไม่เฉพาะเจาะจง เช่น ตับโต ม้ามโต ไอ ชัก และอาการรุนแรง เช่น

ภาวะช็อก โรคนี้รักษาได้ด้วยยา Doxycycline หรือ Chloramphenicol เช่นเดียวกับโรคอื่นๆ ในกลุ่มนี้ อย่างไรก็ตาม ไข้จะลดลงเองภายใน 2 สัปดาห์ในผู้ป่วยที่มีสุขภาพดีโดยไม่ต้องรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ (Goldman and Green, 2015; Blanton, 2019)

ในส่วนของ Epidemic typhus จะมีอาการปวดเมื่อยก่อนจะมีไข้และปวดศีรษะ อาการที่ไม่เฉพาะเจาะจงที่เกี่ยวข้องได้แก่ หนาวสั่น ปวดศีรษะ และปวดกล้ามเนื้อ ผู้ป่วยจะมีผื่นขึ้นในวันที่ 4-7 ของการมีไข้ ผื่นเริ่มแรกจะปรากฏเป็นผื่นแบบ Maculopapular ซึ่งจะเริ่มขึ้นตามร่างกายและลามไปที่แขนขา ผื่นจะมีลักษณะหนาแน่นบริเวณรักแร้ และมักไม่ปรากฏบนฝ่ามือ ฝ่าเท้า และใบหน้า โรคนี้จะไม่พบจุดคล้ายแผลไหม้จากบุหรี่ (Eschar) ในบางรายอาจมีอาการรุนแรง เช่น ชัก หมดสติ ปอดอักเสบ ตับและไตอักเสบ และอาจมีเกล็ดเลือดต่ำ มีรายงานในบางประเทศ ว่าอัตราการเสียชีวิตสูงถึงร้อยละ 1 ถ้าไม่ได้รับการรักษา (Civen and Ngo, 2008; Blanton, 2019)

โรคไข้ต่างจะแสดงอาการหลังจากติดเชื้อ 2-14 วัน ผู้ป่วยมักมีไข้สูงหลายวัน มีผื่นเป็นลักษณะเฉพาะของโรคที่ปรากฏในผู้ป่วยเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์แรกของไข้ ผื่นเม็ดเลือดแดงจะพบได้ในระยะแรกของโรคนี้ ผื่นจะเริ่มขึ้นที่ข้อมือและข้อเท้า และลามไปทั่วร่างกาย นอกจากนี้ยังพบผื่นที่ฝ่ามือและฝ่าเท้า อาการที่ไม่เฉพาะเจาะจงที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ปวด



รูปที่ 1 อาการของโรคสครับไทฟัส จากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Orientia tsutsugamushi* ที่มา: Shikino et al., 2016

ศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ เชื่องซึม เบื่ออาหาร คลื่นไส้ และอาเจียน และในบางรายอาจมีอาการ ปวดท้อง อูจจาเรเหลว และไอ อาจตรวจพบเกล็ดเลือดต่ำและโรคโลหิตจาง ผู้ป่วยจะมีไข้มาจนถึง 3 สัปดาห์ถ้าไม่ได้รับการรักษา เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่สองของไข้ มักมีอาการรุนแรงมากขึ้น รวมถึงอาการที่เกี่ยวข้องกับทางระบบประสาท ปอด หัวใจ ลำไส้ ตับ และไต ผู้ป่วยอาจเกิดอาการช็อกและเกิดการแข็งตัวของหลอดเลือดที่แพร่กระจายซึ่งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิต (Parola et al., 2013)

### บทวิจารณ์

เมื่อไม่นานมานี้มีงานวิจัยที่ศึกษาพบว่าสุนัขและแมวเลี้ยงในเขตเมืองอย่างกรุงเทพมหานครและปริมณฑลมีการสัมผัสเชื้อแบคทีเรีย *Rickettsia* spp. (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อมีถิ่นกำเนิดในเอเชีย โดยการศึกษาที่มีความสำคัญอย่างยิ่งเนื่องจากเป็นหลักฐานที่แสดงถึงความเสี่ยงในการสัมผัสโรคของมนุษย์ต่อ *Rickettsia* spp. จากสัตว์เลี้ยงในเขตเมืองอย่างเช่นสุนัขและแมวที่มีความใกล้ชิดกับมนุษย์ (Fangoen et al., 2024) อาจสันนิษฐาน

ได้ว่าสุนัขและแมวเลี้ยงจำนวนมาก ที่มีภูมิคุ้มกันต่อแบคทีเรียที่เรียกว่า *Rickettsia* spp. ซึ่งอาจเกิดจากการสัมผัสกับสัตว์ขาปล้องดูดเลือดอย่างเช่น เห็บ เหา ไร ที่อาจมีแบคทีเรียกลุ่มนี้อาศัยอยู่ ซึ่งก็สอดคล้องกับรายงานที่มีการกล่าวถึงการระบาดของ *Rickettsia* spp. ในสัตว์เลี้ยงดูดเลือด เช่น *Ctenocephalides felis felis* ในประเทศไทย สหรัฐอเมริกา หรือในอีกหลายๆประเทศ เป็นต้น (Ahmed et al., 2016) นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับหมัดแมว (*Ctenocephalides felis felis*) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยที่มีผลการทดสอบเชื้อ *R. asembonensis* เป็นผลบวก (Phomjareet et al., 2020) ในขณะที่มีรายงาน เห็บ หมัด และตัวอ่อนไรทางภาคใต้ของประเทศไทย พบว่ามีเชื้อ *O. tsutsugamushi* (Rungroj et al., 2021) ทั้งนี้ รูปแบบการเลี้ยงสัตว์ในหลายๆ ครอบครัวที่มีการเลี้ยงสัตว์ในระบบเปิด ปล่อยสุนัขและแมวให้อยู่นอกบ้านอาจทำให้สัตว์เลี้ยงต้องเผชิญกับปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น สัตว์ตัวอื่นๆ ปรสิตร่างกายนอก แบคทีเรีย ไวรัส และอันตรายจากสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างเช่น สัตว์เลี้ยงระบบเปิดอาจติดต่อกับสัตว์อื่นๆ รวมถึงสัตว์จรจัดที่อาจเป็นพาหะนำโรค นอกจากนี้



รูปที่ 2 อาการของโรคไข้น้ำแดงเมดิเตอร์เรเนียน (Mediterranean spotted fever) จากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Rickettsia conorii* ที่มา: Parola et al., 2013

สัตว์เลี้ยงระบบเปิดยังมีความเสี่ยงสูงที่จะพบกับปรสิตภายนอก เช่น หมัด เห็บ และไร ซึ่งตัวอย่างงานวิจัยที่พบว่าแมงที่อยู่นอกบ้านมีแนวโน้มที่จะติดเชื้อปรสิต *Toxoplasma gondii* (Hill and Dubey, 2002) และ *Bartonella henselae* (Chomel et al., 2006) การเลี้ยงสัตว์เลี้ยงในระบบเปิดยังเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญสำหรับการติดเชื้อปรสิต โดยมีงานวิจัยที่ระบุไว้ว่าแมงที่ออกไปข้างนอกมีแนวโน้มที่จะติดเชื้อปรสิตมากกว่าแมงที่เลี้ยงในบ้านถึง 2.77 เท่า (Chalkowski et al., 2019) อย่างไรก็ตาม สิ่งสำคัญที่ต้องทราบก็คือ การเลี้ยงสัตว์เลี้ยงระบบเปิดอาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพแก่เจ้าของได้เช่นกัน (Hill and Dubey, 2002; Chomel et al., 2006; Loyd et al., 2013; Lepczyk et al., 2015)

ปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่ต้องพิจารณาคือ โอกาสที่สุนัขและแมวจะสัมผัสกับแบคทีเรียในกลุ่ม *Rickettsia* spp.

ซึ่งเป็นโรคที่อาจติดต่อมาจากสัตว์ฟันแทะ โดยเฉพาะหนูท้องขาว (Oriental house rat) ที่มีถิ่นอาศัยแพร่หลายและปรับตัวได้ในทุกภูมิภาครวมถึงกรุงเทพมหานครและเมืองใหญ่ๆ ในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย (Blasdel et al., 2015; Kosoy et al., 2015) การศึกษาในประเทศไทยแสดงให้เห็นว่าหนูสายพันธุ์ *Rattus tanezumii* ในจังหวัดนครปฐม มีภูมิคุ้มกันต่อ *O. tsutsugamushi*, *R. typhi* และ *R. honei* (Prompiram et al., 2020) นอกจากนี้ยังพบหลักฐานระดับโมเลกุลของเชื้อ *R. typhi* และ *R. felis* ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมขนาดเล็กที่จับมาจากสวนสาธารณะในเขตกรุงเทพฯ (Rungroj et al., 2021) ข้อมูลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าสัตว์พาหะอย่างกลุ่มของหนูชนิดต่างๆ ที่มีอยู่ทั่วไปทั้งในเมืองและในชนบทอาจสัมผัสใกล้ชิดกับสัตว์เลี้ยงทำให้เป็นเรื่องที่น่ากังวล การเลี้ยงสัตว์เลี้ยงในระบบปิดและทำโปรแกรมวัคซีนให้สัตว์เลี้ยงอย่างเหมาะสมจึงเป็นหนึ่งในการป้องกันโรคดังกล่าวมาสู่มนุษย์ได้

ตารางที่ 1 ผลการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อกลุ่มโรคติดเชื้อริกเก็ตเซีย ในสุนัขและแมวเลี้ยงบริเวณพื้นที่กรุงเทพมหานครและปริมณฑล ด้วยวิธี ELISA ที่มา: Fa-ngoan et al., 2024

กลุ่มโรค	Seropositive	
	สุนัขเลี้ยง (n=367)	แมวเลี้ยง (n=187)
สครับไทฟัส	79 (ร้อยละ21.53)	53 (ร้อยละ28.34)
ไทฟัส	16 (ร้อยละ4.36)	8 (ร้อยละ4.28)
ไข้ต่าง	4 (ร้อยละ1.09)	12 (ร้อยละ6.42)
สครับไทฟัสและไทฟัส	10 (ร้อยละ2.72)	8 (ร้อยละ4.28)
สครับไทฟัสและไข้ต่าง	1 (ร้อยละ0.27)	10 (ร้อยละ5.35)
ไทฟัสและไข้ต่าง	-	6 (ร้อยละ3.21)
สครับไทฟัส, ไทฟัส และไข้ต่าง	1 (ร้อยละ0.27)	20 (ร้อยละ10.69)
รวม	111 (ร้อยละ30.25)	117 (ร้อยละ62.56)

## บทสรุป

งานศึกษาวิจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องกับโรคติดเชื้อริกเก็ตเซีย (Rickettsiosis) แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงที่มนุษย์จะสัมผัสกับโรคนี้นอกจากสัตว์เลี้ยงซึ่งอยู่ใกล้ชิดกับมนุษย์ ข้อมูลทางภูมิคุ้มกันวิทยายังบ่งบอกเป็นนัยว่าสุนัขและแมวที่เลี้ยงมักสัมผัสกับโรคนี้น้อยครั้ง และอาจเป็นแหล่งสะสมของโรคติดเชื้อริกเก็ตเซีย ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสุนัขและแมวที่เลี้ยงไว้อาจสามารถสัมผัสกับเชื้อโรคผ่านทางสัตว์ฟันแทะหรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (เห็น หมด ไร) การควบคุมเวกเตอร์อย่างสัตว์ขาปล้องเลือด (เห็บ หมัด ไร) การควบคุมเวกเตอร์อย่างสัตว์ขาปล้องเลือดที่เป็นปรสิตภายนอกของสัตว์เลี้ยงอาจเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการป้องกันการแพร่เชื้อของโรค ประกอบกับแนวโน้มปัจจุบันของกระแส "Pet humanization" ซึ่งมนุษย์มีปฏิสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสัตว์เลี้ยงเป็นอย่างมากซึ่งอาจเพิ่มโอกาสในการแพร่เชื้อโรคเหล่านี้ได้ การเข้าใจและศึกษาถึงความสำคัญของโรคสัตว์สู่คนจึงเป็นสิ่งจำเป็นและไม่ควรมองข้าม การนำสัตว์เลี้ยงไปตรวจสุขภาพกับสัตวแพทย์จึงเป็นสิ่งที่ควรทำเป็นประจำเพื่อป้องกันการเกิดโรคทั้งในสัตว์เลี้ยงและเจ้าของ

## เอกสารอ้างอิง

- Ahmed, R., Paul, S. K., Hossain, M. A., Ahmed, S., Mahmud, M. C., Nasreen, S. A., Ghosh, S. 2016. Molecular detection of *Rickettsia felis* in humans, cats, and cat fleas in Bangladesh, 2013–2014. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 16(5), 356-358.
- Annual epidemiological surveillance report 2020. 2021. Nonthaburi Thailand: Department of disease control, Ministry of public health
- Aung, A. K., Spelman, D. W., Murray, R. J., Graves, S. 2014. Rickettsial infections in Southeast Asia: implications for local populace and febrile returned travelers. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 91 (3), 451.
- Brumin, M., Levy, M., Ghanim, M. 2012. Transovarial transmission of *Rickettsia* spp. and organ-specific infection of the whitefly *Bemisia*

*tabaci*. *Appl. Environ. Microb.* 78(16), 5565-5574.

- Chalkowski, K., Wilson, A. E., Lepczyk, C. A., Zohdy, S. 2019. Who let the cats out? a global meta-analysis on risk of parasitic infection in indoor versus outdoor domestic cats (*Felis catus*). *Biol. Lett.* 15(4), 20180840.
- Chomel, B. B., Boulouis, H. J., Maruyama, S., Breitschwerdt, E. B. 2006. *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. *Emerg. Infect. Dis.* 12(3), 389.
- Civen, R., Ngo, V. 2008. Murine typhus: an unrecognized suburban vectorborne disease. *Clin. Infect. Dis.* 46(6), 913-918.
- Fa-ngoen, C., Kaewmongkol, G., Inthong, N., Tanganuchit-chamchai A., Abdal M. Y., Siengsanant-Lamont J. 2024. Serological detection of *Rickettsia* spp. and evaluation of blood parameters in pet dogs and cats from Bangkok and neighboring provinces. *PLoS ONE* 19 (3): e0297373.
- Guo, Z., Ren, X., Zhao, J., Jiao, L., Xu, Y. 2021. Can pets replace children? The interaction effect of pet attachment and subjective socioeconomic status on fertility intention. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 18(16), 8610. Doi: 10.3390/ijerph18168610.
- Hill, D., Dubey, J. 2002. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin. Microbiol Infect.* 8(10), 634-640.
- Irvine, L., Cilia, L. More-than-human families: pets, people, and practices in multispecies households. *Sociology Compass.* 2017;11(2), e12455. Doi: 10.1111/soc4.12455
- Joosten, P., Van Cleven, A., Sarrazin, S., Paepe, D., De Sutter, A., Dewulf, J. 2020. Dogs and their owners have frequent and intensive contact. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 17(12), 4300.

- Doi: 10.3390/ijerph17124300.
- Kelly, D. J., Fuerst, P. A., Ching, W.-M., Richards, A. L. 2009. Scrub typhus: the geographic distribution of phenotypic and genotypic variants of *Orientia tsutsugamushi*. Clin. Infect. Dis. 48 (Supplement\_3), S203-S230.
- Kelly, D. J., Richards, A. L., Temenak, J., Strickman, D., Dasch, G. A. 2002. The past and present threat of rickettsial diseases to military medicine and international public health. Clin. Infect. Dis. 34 (Supplement\_4), S145-S169.
- Kosoy, M., Khlyap, L., Cosson, J. F., Morand, S. 2015. Aboriginal and invasive rats of genus *Rattus* as hosts of infectious agents. Vector Borne Zoo. Dis. 15(1), 3-12.
- Lepczyk, C. A., Lohr, C. A., Duffy, D. C. 2015. A review of cat behavior in relation to disease risk and management options. Appl. Anim. Behav. Sci. 173, 29-39.
- Low, V. L., Tan, T. K., Khoo, J. J., Lim, F. S., AbuBakar, S. 2020. An overview of rickettsiae in South-east Asia: Vector-animal-human interface. Acta Trop. 202, 105282.
- Loyd, K., Hernandez, S., Abernathy, K., Shock, B., Marshall, G. 2013. Risk behaviours exhibited by free-roaming cats in a suburban US town. Vet Rec. 173(12), 295-295.
- Parola, P., Miller, R. S., McDaniel, P., Telford III, S. R., Rolain, J. M., Wongsrichanalai, C., Raoult, D. 2003. Emerging rickettsioses of the Thai-Myanmar border. Emerg Infect Dis. 9(5), 592.
- Parola, P., Paddock, C. D., Socolovschi, C., Labruna, M. B., Mediannikov, O., Kernif, T., Fournier, P.E. 2013. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. Clin Microbiol. Rev. 26(4), 657-702.
- Prompiram, P., Poltep, K., Pamonsupornvichit, S., Wongwadhunyoo, W., Chamsai, T., Rodkvanmtook, W. 2020. Rickettsiae exposure related to habitats of the oriental house rat (*Rattus tanezumi*, Temminck, 1844) in Salaya suburb, Thailand. Int. J. Parasitol. Parasites Wildl. 13, 22-26.
- Ricketts, H. T. 1909. A micro-organism which apparently has a specific relationship to Rocky Mountain spotted fever: A preliminary report. JAMA 52, 379-380.
- Rungroj, A., Chaisiri, K., Paladsing, Y., Morand, S., Junjhon, J., Blacksell, S. D., Ekcharyawat, P. 2021. Prevalence and molecular characterization of *Rickettsia* spp. from wild small mammals in public parks and urban areas of Bangkok metropolitan, Thailand. Trop. Med. Infect. Dis. 6(4), 199.
- Sangkasuwan, V., Chatyingmongkol, T., Sukwit, S., Eamsila, C., Chuenchitra, T., Rodkvanmtook, W., Jones, J. W. 2007. Description of the first reported human case of spotted fever group rickettsiosis in urban Bangkok. Am. J. Trop. Med. Hyg. 77(5), 891-892.
- Satjanadumrong, J., Robinson, M. T., Hughes, T., Blacksell, S. D. 2019. Distribution and ecological drivers of spotted fever group *Rickettsia* in Asia. Ecohealth. 16, 611-626.
- Shikino, K., Ohira, Y., Ikusaka, M. 2016. Scrub typhus (Tsutsugamushi disease) presenting as fever with an eschar. J. Gen. Intern. Med. 31(5), 582.
- Walker, D. H., Valbuena, G. A., Olano, J. P. 2003. Pathogenic mechanisms of diseases caused by *Rickettsia*. Ann. NY. Acad. Sci. 990(1), 1-11.

สารเสาวภา  
(QUEEN SAOVABHA MEMORIAL INSTITUTE BULLETIN; QSMI Bulletin)  
คำชี้แจงการส่งบทความ

<b>1. ประเภทของบทความ</b>	มีรายละเอียดดังนี้
<b>บทความวิชาการ (Academic Article)</b>	เป็นบทความทางวิชาการเชิงวิทยาศาสตร์ ที่มีเนื้อหาที่เป็นประโยชน์และสร้างสรรค์ ความยาวไม่น้อยกว่า 5 หน้าและไม่เกิน 10 หน้า
<b>2. การเตรียมต้นฉบับ</b>	มีรายละเอียดดังนี้
<b>ภาษา</b>	เป็นภาษาไทย พิมพ์ด้วย Word for windows XP โดยเว้นระยะห่างระหว่างบรรทัด 1.5 เท่า รูปแบบตัวอักษร TH SarabunPSK ขนาด 16 มีเลขหน้ากำกับทางมุมขวาบนและใส่หมายเลขบรรทัดกำกับไว้ด้วย คำย่อให้ใช้เฉพาะที่เป็นสากลเท่านั้นและต้องบอกคำเต็มไว้ครั้งแรกก่อน ในส่วนของบทความจะต้องมีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
<b>ตาราง แผนภูมิ ภาพประกอบ</b>	ต้นฉบับที่มีตาราง แผนภูมิ และภาพประกอบ ให้ใส่หลังจากมีการกล่าวถึงในเนื้อหา โดยวางไว้กึ่งกลางหน้ากระดาษ มีความละเอียด 300 dpi และบันทึกภาพโดยใช้นามสกุล .jpg หรือ .tif เพื่อความชัดเจนในการจัดพิมพ์ สำหรับคำอธิบายตาราง แผนภูมิ และภาพประกอบ ให้พิมพ์ใต้ภาพหรือเหนือตาราง
<b>3. ส่วนประกอบของบทความ</b>	ประกอบด้วย
<b>ชื่อเรื่อง</b>	ควรตั้งให้สั้น กระชับ แต่ได้ใจความ ครอบคลุมหรือเกี่ยวข้องกับบทความ ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
<b>ชื่อผู้เขียน</b>	เขียนตัวเต็มทั้งชื่อตัวและนามสกุลทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่ต้องระบุปริญญาหรือตำแหน่งทางวิชาการ ในกรณีที่มีผู้แต่งหลายคน ให้ระบุชื่อผู้รับผิดชอบบทความและที่อยู่ติดต่อได้
<b>ชื่อหน่วยงาน</b>	ระบุชื่อหน่วยงานและสถาบันของผู้ร่วมงานทุกคนที่สามารถติดต่อได้ ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
<b>บทคัดย่อ</b>	ย่อเฉพาะเนื้อหาสำคัญเท่านั้น ความยาวไม่ควรเกิน 120 คำหรือ 12 บรรทัด ให้มีบทคัดย่อเป็นภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
<b>คำสำคัญ</b>	ไม่ควรเกิน 5 คำ ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ
<b>เนื้อหา</b>	อาจแบ่งเป็นหัวข้อเพื่อให้ง่ายต่อการอ่าน เช่น บทนำ เนื้อเรื่อง อาจมีขั้นตอนการทำงานหรือวิธีการคร่าวๆ บทสรุป วิเคราะห์และวิจารณ์ เอกสารอ้างอิง

<p><b>4. การอ้างอิง</b></p>	<p><b>การอ้างอิงในเนื้อหา</b></p> <p>1. ใช้การอ้างอิงแบบ นาม-ปี ไว้ในวงเล็บท้ายประโยคที่ต้องการอ้างอิง โดยภาษาไทยระบุ ชื่อ-นามสกุลผู้แต่งตามด้วยปีที่พิมพ์ ภาษาอังกฤษระบุเฉพาะชื่อสกุลของผู้แต่ง ตามด้วยปีที่พิมพ์ แต่ถ้าชื่อผู้แต่งที่อ้างถึงเป็นส่วนหนึ่งของเนื้อหาที่จะเขียนต่อไป ให้วงเล็บเฉพาะปีที่พิมพ์</p> <p>2. การอ้างอิงบทความที่มีผู้แต่งมากกว่า 1 คน ภาษาไทยให้อ้างชื่อ-นามสกุล ภาษาอังกฤษให้อ้างเฉพาะชื่อสกุล</p> <p>2.1 ผู้แต่ง 2 คน ให้ใช้ชื่อ-นามสกุล/ชื่อสกุลของผู้แต่งทั้ง 2 คน ภาษาไทยใช้ชื่อ-นามสกุลจริงเชื่อมด้วย “และ” ภาษาอังกฤษใช้ชื่อสกุลเชื่อมด้วย “and”</p> <p>2.2 ผู้แต่ง 2 คนขึ้นไป ให้ใช้ชื่อ-นามสกุล ภาษาอังกฤษระบุเฉพาะชื่อสกุลของผู้แต่งคนแรก ตามด้วย “และคณะ” (ภาษาอังกฤษตามด้วยคำว่า “et al.”) แล้วตามด้วยปีที่พิมพ์ ในทุกครั้งของการอ้างอิง</p> <p>2.3 กรณีอ้างอิงผลงานมากกว่า 1 ชิ้น ให้ใช้เครื่องหมาย “;” คั่นระหว่างบทความแต่ละเรื่อง และเรียงลำดับอ้างอิงตามปี โดยเรียงจากปีเก่ามาปีที่ใหม่สุด ตามลำดับ</p> <p><b>การอ้างอิงท้ายบทความ</b></p> <p>1. การเรียงลำดับเอกสารอ้างอิง ให้เรียงเอกสารภาษาไทยขึ้นก่อน ตามด้วยเอกสารภาษาอังกฤษ โดยเรียงลำดับตามอักษรพยัญชนะ</p> <p>2. ถ้ามาจากเอกสารภาษาไทย ให้ใช้ชื่อ-นามสกุลเป็นภาษาไทย ถ้ามาจากเอกสารภาษาอังกฤษ ให้ใช้ชื่อผู้เขียนเป็นภาษาอังกฤษ ให้เขียนชื่อสกุลตัวเต็ม นำหน้า ตามด้วยอักษรย่อชื่อต้นและชื่อกลาง</p>
<p><b>5. เอกสารอ้างอิง</b></p>	<p><b>วารสาร</b></p> <p>ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อบทความ. ชื่อวารสาร ฉบับที่ (เลขที่), หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.</p> <p><b>หนังสือ/ตำรา</b></p> <p>ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อหนังสือ. พิมพ์ครั้งที่ (ถ้ามี). ชื่อเมือง (ใช้ชื่อเมืองชื่อแรกชื่อเดียว). สำนักพิมพ์, หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.</p> <p><b>บทหนึ่งในหนังสือ/ตำรา</b></p> <p>ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. ใน: ชื่อบรรณาธิการ. ชื่อหนังสือ. พิมพ์ครั้งที่ (ถ้ามี). ชื่อเมือง: สำนักพิมพ์, หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.</p> <p><b>สื่ออิเล็กทรอนิกส์</b></p> <p>ชื่อผู้เขียน. ปีที่เผยแพร่สารนิเทศบนอินเทอร์เน็ต (ถ้ามี). ชื่อเรื่อง/ชื่อบทความ. สืบค้น วัน เดือน ปี, จาก <a href="http://www">http://www</a> .....</p>

	<p><b>เอกสารประกอบการสัมมนา/ประชุมวิชาการ</b>                  ชื่อผู้เขียน. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง/ชื่อบทความ. ใน: ชื่อการสัมมนา/ประชุมวิชาการ ครั้งที่(ถ้ามี) ประจำปี. หน่วยงานที่รับผิดชอบ. วันที่จัดการสัมมนา/ประชุม. หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.</p> <p><b>เอกสารแบบไม่มีชื่อผู้เขียน</b>                  ชื่อเรื่อง/ชื่อบทความ/ชื่อหนังสือ. ปีที่พิมพ์. ฉบับที่ (เลขที่), หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.</p>
<p><b>6. การรับเรื่องพิมพ์</b></p>	<p>ส่งต้นฉบับในรูปแบบของไฟล์ มาที่                  E-mail: sunutcha.s@redcross.or.th หรือ sunutcha@yahoo.com</p>
<p><b>7. สถานที่ติดต่อ</b></p>	<p>สุนุชชา สุนทรารชุน                  บรรณาธิการ สารเสวภา                  ฝ่ายวิจัยและพัฒนา สถานเสวภา สภากาชาดไทย                  1871 ถ. พระราม 4 ปทุมวัน                  กรุงเทพฯ 10330                  โทร. (02) 252-0161-4 ต่อ 82534                  E-mail: sunutcha.s@redcross.or.th หรือ sunutcha@yahoo.com</p>