

THE STUDY OF RABIES ANTIBODIES AMONG DOGS IN BANGKOK

Torntun CHINARAK¹, Preeyaporn PLOYPICHAI¹, Benyapa KRIEBKAJON¹, Jirasin SRIDAPHAN¹, Anamika KRITIYAKAN¹, Noppadol PRASERTSINCHAROEN¹, Worawut RERKAMNUAYCHOKE², Nattakarn NAIMON^{1*} and Thanmaporn PHICHITRASLIP^{1*}

1 Faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University, Thailand; cvtttp@ku.ac.th (T. P.); cvtnkn@ku.ac.th (N. N.) (Corresponding Author)

2 Faculty of Veterinary Medicine, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Thailand

ARTICLE HISTORY

Received: 16 February 2024

Revised: 8 March 2024

Published: 15 March 2024

ABSTRACT

Recently, the trend of rabies disease situation in animals from brain tissue in Thailand became 848, 1476, 377, 239, 191, and 236 heads in 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, and 2022 respectively. Even though vaccination in animals is the best way to control and reduce rabies, the exact efficacy of the vaccine program is unclear. Since it depends on the quality of the vaccine, the vaccination process as well as animal conditions. Therefore, the determination of rabies antibody titer is useful and necessary monitoring strategy for control and elimination of rabies. A total of 157 sera of dogs from Bangkok Metropolis were performed by using the ELISA method. The result showed that only 41.4% (65/157) had positive antibodies for rabies. On the point of the vaccination history by owner interviews, dogs that vaccinated within one year shown the positive titer of antibodies against rabies for 31.8% (7/22), dogs that vaccinated more than one year showed 37.5% (3/8), while 43.7% (55/126) dogs with unknown vaccinated history shown for 43.7% (55/126) and unvaccinated dogs shown for 0.0% (0/1). Statistical analysis shows no significant difference in vaccination history ($p>0.05$). These findings indicate that the ratio of dogs that show positive titer of antibodies against rabies in Bangkok Metropolis is lower than World Health Organization criteria and the vaccination history shows that dog owners pay insufficient attention to their pet vaccination.

Keywords: Antibody Titer, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Bangkok Metropolis, Rabies, Rabies Virus

CITATION INFORMATION: Chinarak, T., Ploypichai, P., Kriebkajon, B., Sridaphan, J., Kritiyakan, A., Prasertsincharoen, N., Rerkamnuaychoke, W., Naimon, N., & Phichitraslip, T. (2024). The Study of Rabies Antibodies among Dogs in Bangkok. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 2(3), 22

การศึกษาภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในสุนัขจากกรุงเทพมหานคร

ธรณ์ธันย์ ชินารักษ์¹, ปรียาภรณ์ พลอยพิชัย¹, เบญญาภา กลีบขจร¹, จิรสิน ศรีตาพันธ์¹, อนามิกา กฤติยาภรณ์¹, นพดล ประเสริฐสินเจริญ¹, วรุฒิ ฤกษ์อำนาจโชค², ญัฐกาญจน์ นามมอญ^{1*} และ ธรรมาพร พิจิตราศิลป์^{1*}

1 คณะเทคนิคการสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน; cvtttp@ku.ac.th (ธรรมาพร); cvtnkn@ku.ac.th (ญัฐกาญจน์) (Corresponding Author)

2 Faculty of Veterinary Medicine, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Thailand

บทคัดย่อ

แนวโน้มสถานการณ์โรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์จากการตรวจเนื้อเยื่อสมองในประเทศไทยล่าสุด พบตัวอย่างสัตว์ติดโรคพิษสุนัขบ้า 848, 1476, 377, 239, 191, และ 236 หัว ในปี พ.ศ.2560, 2561, 2562, 2563, 2564 และ 2565 ตามลำดับ แม้การฉีดวัคซีนจะเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการควบคุมและลดการติดโรคพิษสุนัขบ้า แต่ยังไม่มียุทธศาสตร์เกี่ยวกับประสิทธิภาพของโปรแกรมวัคซีน เนื่องจากขึ้นอยู่กับคุณภาพของวัคซีน กระบวนการฉีดวัคซีน ตลอดจนปัจจัยของสัตว์แต่ละตัว ดังนั้น การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันจึงเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์และจำเป็นสำหรับการติดตามเพื่อควบคุมและกำจัดโรคพิษสุนัขบ้า โดยการเก็บตัวอย่างซีรัมจากสุนัข 157 ตัวในกรุงเทพมหานคร และตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าด้วยเทคนิค ELISA ผลการศึกษาพบว่า มีสุนัขเพียง 41.4% (65/157) มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า ในส่วนของข้อมูลจากการชันสูตรการฉีดวัคซีนจากเจ้าของ พบว่าสุนัขที่เคยได้รับวัคซีนไม่เกิน 1 ปี พบภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า 31.8% (7/22), ในสุนัขเคยได้รับวัคซีนเกิน 1 ปี 37.5% (3/8), ในสุนัขไม่ทราบประวัติวัคซีน 43.7% (55/126) และในสุนัขไม่เคยฉีดวัคซีน 0.0% (0/1) เมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของประวัติวัคซีนทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าอัตราส่วนของสุนัขที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในประเทศไทยยังคงอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าองค์การอนามัยโลกกำหนด และจากประวัติการทำวัคซีนพบว่าเจ้าของสุนัขยังขาดความตระหนักถึงความสำคัญในการฉีดวัคซีนในสัตว์เลี้ยง

คำสำคัญ: กรุงเทพมหานคร, ปฏิกริยาเอ็นไซม์อิมมูโนแอสเสย์, ระดับแอนติบอดี, โรคพิษสุนัขบ้า, ไวรัสเรบีส์

ข้อมูลการอ้างอิง: ธรณ์ธันย์ ชินารักษ์, ปรียาภรณ์ พลอยพิชัย, เบญญาภา กลีบขจร, จิรสิน ศรีตาพันธ์, อนามิกา กฤติยาภรณ์, นพดล ประเสริฐสินเจริญ, วรุฒิ ฤกษ์อำนาจโชค, ญัฐกาญจน์ นามมอญ และ ธรรมาพร พิจิตราศิลป์. (2567). การศึกษาภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในสุนัขจากกรุงเทพมหานคร. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 2(3), 22

บทนำ

โรคพิษสุนัขบ้า หรือโรคกลัวน้ำ เป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่คนที่สำคัญ และมีการแพร่ระบาดไปมากกว่า 150 ประเทศทั่วโลก มีอัตราการตายถึง 100% เมื่อแสดงอาการป่วย (Hemachudha et al., 2013) ไวรัสชนิดนี้สามารถติดต่อได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยเฉพาะสุนัขที่เป็นพาหะหลักในการนำโรค (Thanapongtharm et al., 2021) ในประเทศไทยนอกจากสุนัขจะเป็นสัตว์เลี้ยงที่ได้รับความนิยมแล้ว ในขณะเดียวกัน สุนัขยังเป็นแหล่งกักเก็บหลักของโรคพิษสุนัขบ้า และมีบทบาทสำคัญในวงจรการแพร่ของโรคพิษสุนัขบ้าในคนและสัตว์ (Fooks et al., 2017; Kasempimolporn et al., 2008) ปัจจุบันยังมีรายงานว่ามีสุนัขยังคงมีการติดเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าเป็นประจำทุกปี แคมเปญการฉีดวัคซีนในสุนัขและแมวจะดำเนินการเป็นประจำทุกปี แต่โรคพิษสุนัขบ้ายังคงเป็นโรคประจำถิ่นและมีสุนัขเป็นพาหะหลัก (กระทรวงสาธารณสุข, 2018) จากรายงานนี้ เนื่องจากการฉีดวัคซีนไม่ครอบคลุมเพียงพอที่จะสามารถทำลายวงจรการแพร่กระจายของโรคพิษสุนัขบ้าในสุนัขจรจัด (Kasempimolporn et al., 2008) โดยมีการรายงานการพบโรคพิษสุนัขบ้าในตัวอย่างเนื้อเยื่อสมองของหัวสัตว์ที่มีการส่งตรวจตั้งแต่ปี พ.ศ.2560 จนถึงปี 2565 พบ 848, 1476, 377, 239, 191, และ 236 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ข้อมูล ณ วันที่ 31 ธันวาคม 2566) ส่วนสถานการณ์โรคพิษสุนัขบ้าในกรุงเทพมหานคร แม้มีการรายงานการติดโรคพิษสุนัขบ้าในคนล่าสุดเมื่อปี 2559 ที่เขตบางนา แต่ยังคงมีรายงานการพบสัตว์ติดเชื้อพิษสุนัขบ้าในสัตว์ตั้งแต่ปี พ.ศ.2560 จนถึงปี 2565 พบ 47, 19, 7, 0, 0, และ 1 ตัว ตามลำดับ (กรมปศุสัตว์, 2567) การป้องกันและหยุดวงจรการแพร่ระบาดที่ดีที่สุด คือการฉีดวัคซีนในสุนัข ตามองค์การอนามัยโลกซึ่งว่าต้องมีการทำวัคซีนมากกว่า 70% ของประชากรจึงสามารถควบคุมโรคและก่อให้เกิดภูมิคุ้มกันหมู่ สามารถลดการระบาดและการแพร่กระจายของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ (World Health, 2018) จากรายงานผลการตรวจภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในสุนัขจำนวน 23 ตัวที่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาแล้วที่ประเทศญี่ปุ่น เมื่อปี ค.ศ.2014 ทำการตรวจโดยวิธี ELISA พบว่า มีสุนัข 20 ตัว (86.96%) ที่ให้ผลตรวจเป็นบวก คือตรวจพบภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า ในขณะที่มีสุนัข 3 ตัว (13.04%) ที่ให้ผลตรวจเป็นลบ คือตรวจไม่พบภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า จากข้อมูลข้างต้นบ่งชี้ว่าการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในสุนัข ไม่สามารถยืนยันได้ว่าสัตว์ทุกตัวจะสามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้ 100% แม้ได้รับวัคซีนแล้วก็ตาม ส่วนสาเหตุอื่นๆ อาจมีหลายประการ เช่น คุณภาพของวัคซีน กระบวนการให้วัคซีน ตลอดจนลักษณะเฉพาะตัวของสัตว์ (Kennedy et al., 2007) ดังนั้นการตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในสุนัข มีข้อดีคือทำให้ทราบถึงสัดส่วนของสัตว์ที่มีและไม่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าเมื่อเปรียบเทียบจำนวนสัตว์ในกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้จะช่วยเป็นแนวทางในการวางแผนมาตรการควบคุมและป้องกันความเสี่ยงที่จะเกิดการระบาดของโรคพิษสุนัขบ้า อีกทั้งสามารถนำผลการตรวจนี้ไปช่วยยืนยันหรือบ่งชี้ถึงความทั่วถึงหรือครอบคลุมพื้นที่ในการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์ได้เป็นอย่างดี วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้านี้ เพื่อศึกษาสถานะภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าของสุนัขในพื้นที่กรุงเทพมหานคร โดยใช้เทคนิค ELISA

การทบทวนวรรณกรรม

โรคพิษสุนัขบ้า เป็นโรคจากสัตว์สู่คน ก่อให้เกิดการตายในมนุษย์เป็นจำนวนมากในแต่ละปี โดยโรคนี้เกิดจากการติดเชื้อไวรัสเรบีส (Rabies virus ; RABV) เป็น อาร์เอ็นเอ ไวรัส (RNA virus) ชนิดสายเดี่ยวและมีเปลือกหุ้ม จัดอยู่ในตระกูล *Mononegavirales* วงศ์ *Rhabdoviridae* สกุล *Lyssavirus* (Kuzmin & Tordo, 2012) ตรวจพบครั้งแรกก่อนคริสต์ศักราช 2000 ปี (Baer, 2007) ไวรัสสามารถติดเชื้อในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้ทุกชนิด สามารถพบได้ทั่วโลก ยกเว้นทวีปออสเตรเลีย ทวีปแอนตาร์กติกา และเกาะบางเกาะ โดยพบว่าสุนัขเป็นสาเหตุหลักมากกว่า 99% ที่ทำให้มนุษย์ติดเชื้อและเสียชีวิตจากโรคพิษสุนัขบ้า และมีผู้เสียชีวิตทั่วโลกจากโรคชนิดนี้ประมาณ 50,000 กว่ารายต่อปี โดยผู้เสียชีวิตส่วนใหญ่มักพบในแถบทวีปเอเชียและแอฟริกา โดยบริเวณนี้ไม่สามารถควบคุมจำนวนประชากรสุนัขจรจัดหรือการให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าได้ครอบคลุม (World Health, 2018)

ประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศที่มีการระบาดของโรคพิษสุนัขบ้าอย่างต่อเนื่องและยาวนาน โดยเฉพาะช่วงปี พ.ศ. 2561 และมากกว่า 87% ตรวจพบในสุนัข (1,286/1,475) โดยคาดการณ์ว่าเกิดจากสภาพปัญหาการฉีดวัคซีนป้องกันโรคหลายพื้นที่ดำเนินได้อย่างไม่ทั่วถึง อีกทั้งการปล่อยทิ้งสุนัขในที่สาธารณะซึ่งเป็นสาเหตุหลักทำให้มีสุนัขจรจัดเพิ่มขึ้น และประชากรบางส่วนยังขาดความรู้ ความเข้าใจที่ถูกต้อง ในการควบคุมป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Kasempimolporn et al., 2008) ส่งผลให้การควบคุมโรคเป็นไปได้ยากและยังคงพบรายงานการระบาดของโรคทุกๆ ปี การติดต่อของโรคพิษสุนัขบ้า จะผ่านจากการสัมผัสโดยตรงของน้ำลาย หรือเนื้อเยื่อระบบประสาทของสัตว์ติดเชื้อผ่านเข้าบริเวณผิวหนังที่มีบาดแผล, เยื่อบุตา (ocular) หรือทางเยื่อบุจมูก (nasal mucosa) โดยส่วนใหญ่มักผ่านการกัดหรือข่วนของสัตว์ที่ติดเชื้อ นอกจากนี้มีรายงานว่าสามารถติดผ่านการสัมผัสกับค้างคาว การปลูกถ่ายอวัยวะจากผู้บริจาคที่ติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ การสัมผัสละอองฝอย (aerosol route) ความเสี่ยงติดเชื้อขึ้นอยู่กับปริมาณไวรัสที่ออกมากับน้ำลายและช่องทางการเข้าระหว่างเยื่อบุตาหรือเยื่อบุจมูก (Fooks et al., 2017)

การป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ซึ่งทำได้โดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคในสุนัข เพิ่มการเฝ้าระวังโรค เพิ่มความตระหนักรู้ให้กับเจ้าของสุนัขเกี่ยวกับโรคและการฉีดวัคซีน โดยการฉีดวัคซีนเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการป้องกันโรค โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคพิษสุนัขบ้าจัดเป็นวัคซีนหลัก (core vaccine) โดยข้อมูลจาก สมาคมสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์เล็กโลก (Vaccination Guidelines Group, World Small Animal Veterinary Association: VGG-WSAVA) แนะนำให้ฉีดวัคซีนในลูกสุนัขตั้งแต่อายุ 3 เดือน และทำการกระตุ้นซ้ำที่ 2-4 สัปดาห์ถัดมา จากนั้นควรฉีดวัคซีนกระตุ้นทุกๆ 1 ปี โดยระยะเวลาที่มีภูมิคุ้มกัน จะขึ้นอยู่กับชนิดและยี่ห้อของวัคซีน (Day et al., 2016)

การติดตามผลของการฉีดวัคซีนเป็นสิ่งที่สำคัญ เพื่อเป็นการยืนยันประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันหลังการฉีดวัคซีนเพียงพอป้องกันโรคได้หรือไม่ โดยการตรวจด้วยเทคนิค Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) เพื่อตรวจวัดระดับแอนติบอดีจำเพาะโดยดูการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นโดยใช้ เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ซึ่งเป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้ทดแทนเทคนิค Rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) (Debnath et al., 2019) ข้อดีคือ ไม่จำเป็นต้องใช้เชื้อเป็น อีกทั้งอุปกรณ์และค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก ขั้นตอนการทำไม่ซับซ้อน แต่ข้อจำกัดของวิธีการนี้คือ จะต้องใช้แอนติบอดีทุติยภูมิที่มีความจำเพาะต่อชนิดสัตว์ที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งจะตรวจได้เฉพาะ isotype ของอิมมูโนโกลบูลินได้บางชนิด

มีรายงานการศึกษาการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในหลายประเทศ พบสุนัขที่เคยฉีดวัคซีน และมีภูมิคุ้มกันต่อโรคเพียง 62.37% (58/93) เมื่อตรวจด้วยเทคนิค ELISA ในประเทศอินเดีย (Savaliya et al., 2015) นอกจากนี้การศึกษาในประเทศจีน เมื่อตรวจด้วยเทคนิค ELISA พบสัดส่วนของสุนัขมีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า ในปี ค.ศ. 2015-2017 เพิ่มขึ้นจาก 46.13 % เป็น 73.38% และสูงขึ้นถึง 90.9% ในปี 2021 หลังจากการทำแคมเปญการฉีดวัคซีน และการสร้างความตระหนักรู้เกี่ยวกับโรคพิษสุนัขบ้าของประชาชนมากขึ้น (Ji et al., 2023) จากการศึกษาในแอฟริกาตะวันตก ในสุนัขที่ไม่เคยฉีดวัคซีน พบสุนัข 25.2% (68/270) มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า และพบว่าในประเทศบราซิล ได้ทำการศึกษานสุนัขที่เข้าร่วมแคมเปญวัคซีน พบภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า 70.6% (310/440) และศึกษาแบบสุ่มในสุนัขทั่วไปพบ 42.3% (127/300) เมื่อตรวจด้วยเทคนิค RFFIT (Fernandes et al., 2017)

ปัจจัยที่มีผลต่อระดับภูมิคุ้มกันโรคพิษสุนัขบ้า พบว่าปัจจัยอายุ สภาพร่างกายสัตว์ จำนวนครั้งการฉีดวัคซีน ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างหลังฉีดวัคซีน ประวัติวัคซีน ยี่ห้อวัคซีน เป็นปัจจัยที่ล้วนมีผลต่อระดับภูมิคุ้มกันโรคพิษสุนัขบ้าทั้งสิ้น โดยสุนัขที่มีอายุมากกว่า 1 ปี มีแนวโน้มตรวจพบภูมิคุ้มกันมากกว่าสุนัขที่อายุน้อยกว่า 1 ปี เพราะมีโอกาสได้รับวัคซีนมากกว่า 1 ครั้ง (Ji et al., 2023) และพบว่า ภูมิคุ้มกันจะสูงขึ้นภายใน 30 วัน หลังจากการฉีดวัคซีน โดยพบว่าสุนัขที่เคยฉีดวัคซีนมาก่อน จะมีระดับภูมิคุ้มกันมากกว่า และคงอยู่ได้ยาวนานกว่าสุนัขที่ไม่เคยฉีดวัคซีนมาก่อน (Pimbura et al., 2017) นอกจากนี้ มีการศึกษาในประเทศอินโดนีเซีย (Wera et al., 2021) พบว่าปัจจัยภาวะทุพโภชนาการ จะมีแนวโน้มทำให้มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันลดลง และการศึกษาการตอบสนองภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนโรค

พิษสุนัขบ้า พบสุนัขสายพันธุ์ขนาดใหญ่ มีแนวโน้มตอบสนองภูมิคุ้มกันได้ไม่ดีเท่าในสายพันธุ์เล็ก (Kennedy et al., 2007)

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง

เก็บเลือดสุนัขตำแหน่ง Cephalic vein ปริมาณ 3 ซีซี ใส่ในหลอดเก็บเลือดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (Clotted blood) ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที ทำการปั่นแยกซีรัมออกจากเลือด โดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifugation) โดยใช้ความเร็ว 3,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเก็บซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจวิเคราะห์ต่อไป

การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าด้วยเทคนิค The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

เคลือบเพลท 96 หลุมด้วย Rabies Antigen และ Mock antigen ที่ความเข้มข้น 5 µg/ml ใน coating buffer หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำการล้างเพลท ด้วย 1X Phosphate buffer saline with tween (1X PBS-T) เติม 1% Blocking buffer 200 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และล้างเพลทด้วย 1X PBS-T ทำใส่ซีรัมด้วยอัตราส่วนเจือจาง 100 เท่า 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และล้างเพลทด้วย 1X PBS-T ใส่ Secondary Antibody ที่ติดฉลากด้วย Horseradish peroxidase ทำการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และล้างเพลทด้วย 1X PBS-T และเติม 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid 100 ไมโครลิตร ทำการเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที เติม 1% Sodium dodecyl sulfate และทำการอ่านค่าที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Absorbance Microplate Reader

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นบวกโดยพิจารณาจากค่าตัดสินเป็นบวก (Cut-off value) ที่วัดได้ มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้ Chi-square (Kim, 2017) โดยกำหนดค่า $p < 0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัย

ผลจากการทำการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในตัวอย่างซีรัมจากสุนัข 157 ตัว ในช่วงเดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม พ.ศ.2564 ด้วยเทคนิค Inhouse-ELISA พบสุนัขมีระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าอยู่ที่ 41.4% (65/157) (ตารางที่ 1)

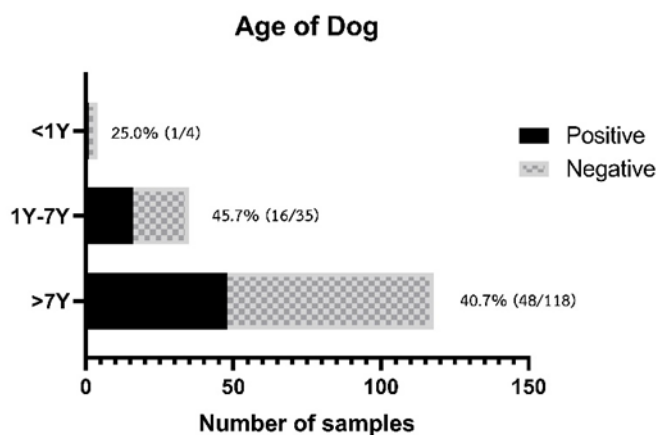
ตารางที่ 1 แสดงความชุกของระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในสุนัข

ตัวอย่าง	จำนวน	ผลบวก	เปอร์เซ็นต์ (%)
สุนัข	157	65	41.4%

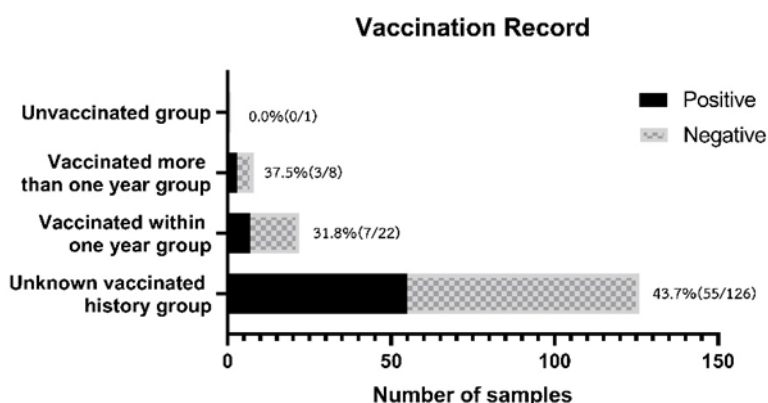
ในการศึกษา ได้มีการแบ่งช่วงอายุออกเป็น 3 ช่วงอายุ คือ อายุต่ำกว่า 1 ปี อายุ 1-7 ปี และอายุมากกว่า 7 ปี พบว่าสุนัขมีระดับของภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าอยู่ที่ 25.0% (1/4), 45.7% (16/35) และ 40.7% (48/118) ตามลำดับ และเมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละช่วงอายุทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ $\chi^2(2, N = 157) = 0.9490, p = .949$ (ภาพที่ 1)

เมื่อทำการศึกษาผลของภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าโดยแบ่งกลุ่มการศึกษาเป็น 4 กลุ่มคือ 1) สุนัขไม่เคยได้รับวัคซีน 2) สุนัขที่ได้รับวัคซีนโรคพิษสุนัขบ้าเกิน 1 ปี 3.) กลุ่มสุนัขที่ได้รับวัคซีนโรคพิษสุนัขบ้าไม่เกิน 1 ปี และ 4) สุนัขไม่ทราบประวัติวัคซีน พบว่ามีภูมิคุ้มกันอยู่ที่ 0.0% (0/1), 37.5% (3/8), 31.8% (7/22), และ 43.7% (55/126) ตามลำดับ

เมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของประวัติวัคซีนกับระดับภูมิคุ้มกันทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ $\chi^2(3, N = 157) = 1.245, p = .265$ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 แสดงการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในสุนัข ในแต่ละช่วงอายุสุนัข



ภาพที่ 2 การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าเมื่อแบ่งตามประวัติวัคซีนของสุนัข

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

โรคพิษสุนัขบ้า (Rabies) เป็นโรคติดต่อของระบบประสาทส่วนกลาง พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และยังคงติดต่อมาสู่มนุษย์ พาหะนำโรคที่สำคัญที่สุด คือ สุนัข 87.19% รองลงมาคือ แมว โค กระบือ และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นๆ โรคพิษสุนัขบ้าในประเทศไทยยังคงมีการตรวจพบอย่างต่อเนื่องในทุกปี (กรมปศุสัตว์, 2567)

จากการรายงานขององค์การอนามัยโลก พบว่า สุนัขจะสามารถสร้างภูมิคุ้มกันหมู่ได้ เมื่อประชากรสุนัขมีระดับภูมิคุ้มกันโรคพิษสุนัขบ้าตั้งแต่ 70% ขึ้นไป (World Health, 2018) รายงานสัดส่วนของสุนัขที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการได้รับวัคซีนจากหลายประเทศทั่วโลก (Savaliya et al., 2015; Fernandes et al., 2017; Roland et al., 2022) พบว่า สุนัขมีภูมิคุ้มกันไม่ถึง 70% ส่งผลทำให้สุนัขมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดการระบาดของโรคพิษสุนัขบ้าได้ จากผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า สอดคล้องกับการรายงานที่กล่าวมาข้างต้น โดยสุนัขในกรุงเทพมหานคร มีระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าอยู่ที่ 41.4% (65/157) ซึ่งให้เห็นว่า สุนัขในกรุงเทพมหานครไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันหมู่ได้

ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระดับภูมิคุ้มกันโรคพิษสุนัขบ้า ผลของการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าแต่ละช่วงอายุไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า สุนัขในช่วงอายุ 6 เดือน ถึง 5 ปี มีแนวโน้มที่จะตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ดีที่สุด และสุนัขอายุมากมักมีแนวโน้มที่จะตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ไม่ดีพอ (HogenEsch & Thompson, 2010) และเมื่อทำการวิเคราะห์ปัจจัยในเรื่องของอายุร่วมกับ

ประวัติการฉีดวัคซีนร่วมกัน พบว่า สัตว์ที่มีอายุมากกว่า 1 ปี มีแนวโน้มที่จะฉีดวัคซีนมากกว่า 1 เข็ม ทำให้มีระดับภูมิคุ้มกันที่มากกว่าสัตว์ที่อายุน้อยกว่า 1 ปี (Ji et al., 2022) ในกรณีการศึกษานี้อาจเกิดจากจำนวนตัวอย่างในกลุ่มสุนัขอายุน้อยกว่า 1 ปี และ อายุระหว่าง 1 ถึง 7 ปี มีจำนวนน้อย จะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนมากขึ้น

นอกจากนี้ มีรายงานการศึกษาในภาคเหนือตอนบนพบว่าสุนัขที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าอย่างน้อยหนึ่งครั้ง สามารถตรวจพบโรคพิษสุนัขบ้าได้ถึง 30.5% (สลักจิต ชุตุงษ์วิเวท และคณะ, 2015) และจากรายงานของกรมควบคุมโรค พบสุนัขและแมวที่ตรวจพบโรคพิษสุนัขบ้า มีประวัติเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า 7.65% (401/3,043) (กรมปศุสัตว์, 2567) การที่สุนัขไม่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า แม้จะมีการฉีดวัคซีนแล้ว อาจเกิดจากได้หลายสาเหตุ เช่น การไม่ได้รับการฉีดกระตุ้น คุณภาพวัคซีน ปริมาณโดส บริเวณที่ฉีด ปัจจัยตัวสัตว์เอง อาทิเช่น อายุ สุขภาพและความพร้อมของสัตว์ เป็นต้น (Berndtsson et al., 2011; Kennedy et al., 2007) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษารายงานประวัติการได้รับวัคซีนในสุนัขของพวกเราในแต่ละกลุ่ม พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และจากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า อัตราส่วนของสุนัขที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าในกรุงเทพมหานครยังคงอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าองค์การอนามัยโลกกำหนด และเจ้าของสุนัขยังขาดความตระหนักถึงความสำคัญในการฉีดวัคซีนในสัตว์เลี้ยง จึงทำให้สุนัขมีความเสี่ยงที่จะติดโรคพิษสุนัขบ้าได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ Prof. Ken Maeda, Dr. Keita Ishijima, Dr. Yudai Kuroda, Dr. Masakatsu Taira, Dr. Kango Tatemoto, Dr. Eunsil Park, Dr. Milagros Virhuez Mendoza, Dr. Yusuke Inoue, Dr. Michiko Harada, Dr. Tsukasa Yamamoto, Dr. Ayano Nishino และ Dr. Aya Matsuu จากแผนกวิทยาศาสตร์ทางสัตวแพทย์ (Department of Veterinary Science) สถาบันวิจัยโรคติดต่อในสัตว์แห่งชาติ ประเทศญี่ปุ่น (The National Institute of Infectious Diseases; NIID) ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการถ่ายทอดความรู้ พร้อมทั้งอำนวยความสะดวกสำหรับสารเคมี อุปกรณ์ รวมถึงสถานที่ในการทำงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบพระคุณการสนับสนุนจากงบประมาณทุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Baer, G. M. (2007). *1-The History of Rabies*. In A. C. Jackson & W. H. Wunner (Eds.), *Rabies* (Second Edition) (pp. 1-22). Academic Press.
- Berndtsson, L. T., Nyman, A.-K. J., Rivera, E., & Klingeborn, B. (2011). Factors associated with the success of rabies vaccination of dogs in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53(1), 22.
- Day, M. J., Horzinek, M. C., Schultz, R. D., & Squires, R. A. (2016). WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *J Small Anim Pract*, 57(1), E1-e45.
- Debnath, A., Pathak, D. C., Ramamurthy, N., Mohd, G., Pandey, A. B., Upmanyu, V., Tiwari, A. K., Saravanan, R., Chellappa, M. M., & Dey, S. (2019). Serological profiling of rabies antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay and its comparative analysis with rapid fluorescent focus inhibition test in mouse model. *Vet World*, 12(1), 126-130.
- Fernandes, K. G., Martins, M., Amaral, B. P., Cargnelutti, J. F., Weiblen, R., & Flores, E. F. (2017). Antibodies against rabies virus in dogs with and without history of vaccination in Santa Maria-RS-Brazil. *Ciência Rural*, 47.

- Fooks, A. R., Cliquet, F., Finke, S., Freuling, C., Hemachudha, T., Mani, R. S., Müller, T., Nadin-Davis, S., Picard-Meyer, E., Wilde, H., & Banyard, A. C. (2017). Rabies. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17091.
- Hemachudha, T., Ugolini, G., Wacharapluesadee, S., Sungkarat, W., Shuangshoti, S., & Laothamatas, J. (2013). Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. *The Lancet Neurology*, 12(5), 498-513.
- HogenEsch, H., & Thompson, S. (2010). Effect of ageing on the immune response of dogs to vaccines. *J Comp Pathol*, 142 Suppl 1, S74-77.
- Ji, C., Feng, J., Li, S., Yang, H., Wang, H., Geng, X., Wang, H., Liu, Z., Zhang, T., He, Y., & Liu, W. (2022). Factors Associated with Dog Rabies Immunization in Changsha, China: Results of a Cross-Sectional Cluster Survey, 2015-2021. *Viruses*, 15(1).
- Ji, C., Feng, J., Li, S., Yang, H., Wang, H., Geng, X., Wang, H., Liu, Z., Zhang, T., He, Y., & Liu, W. (2023). Factors Associated with Dog Rabies Immunization in Changsha, China: Results of a Cross-Sectional Cluster Survey, 2015-2021. *Viruses*, 15(1), 138.
- Kasempimolporn, S., Sichanasai, B., Saengseesom, W., Puempumpanich, S., & Sitprijia, V. (2008). Stray dogs in Bangkok, Thailand: rabies virus infection and rabies antibody prevalence. *Dev Biol (Basel)*, 131, 137-143.
- Kennedy, L. J., Lunt, M., Barnes, A., McElhinney, L., Fooks, A. R., Baxter, D. N., & Ollier, W. E. R. (2007). Factors influencing the antibody response of dogs vaccinated against rabies. *Vaccine*, 25(51), 8500-8507.
- Kim, H. Y. (2017). Statistical notes for clinical researchers: Chi-squared test and Fisher's exact test. *Restor Dent Endod*, 42(2), 152-155.
- Kuzmin, I. V., & Tordo, N. (2012). Genus Lyssavirus. *Rhabdoviruses: molecular taxonomy, evolution, genomics, ecology, host-vector interactions, cytopathology and control*, 37-58.
- Pimburage, R. M. S., Gunatilake, M., Wimalaratne, O., Balasuriya, A., & Perera, K. (2017). Sero-prevalence of virus neutralizing antibodies for rabies in different groups of dogs following vaccination. *BMC Vet Res*, 13(1), 133.
- Savaliya, B. F., Mathakiya, R. A., Bhanderi, B. B., & Jhala, M. K. (2015). Evaluation of phenotypic factors for anti-rabies antibody in vaccinated pet dogs. *Virusdisease*, 26(4), 282-287.
- Thanapongtharm, W., Suwanpakdee, S., Chumkaeo, A., Gilbert, M., & Wiratsudakul, A. (2021). Current characteristics of animal rabies cases in Thailand and relevant risk factors identified by a spatial modeling approach. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 15(12), e0009980.
- Wera, E., Warembourg, C., Bulu, P. M., Siko, M. M., & Dürr, S. (2021). Loss of binding antibodies against rabies in a vaccinated dog population in Flores Island, Indonesia. *PLoS Negl Trop Dis*, 15(9), e0009688.
- World Health, O. (2018). *WHO expert consultation on rabies: third report*. World Health Organization.
- กรมปศุสัตว์. (2567). ระบบสารสนเทศเพื่อการเฝ้าระวังโรคพิษสุนัขบ้า กรมปศุสัตว์. สืบค้นจาก <http://www.thairabies.net/trn/>.
- กระทรวงสาธารณสุข. (2018). *Rabies สรุปสถานการณ์รายปี*. สืบค้นจาก <http://www.boe.moph.go.th/boedb/surdata/disease.php?dcontent=situation&ds=42>.

สลักจิต ชุตพงษ์วิเวท, เกษร บุญรักษโยธิน และ วารินทร์ บุญเย็น. (2015). โรคพิษสุนัขบ้าในเขตภาคเหนือตอนบน. *Journal of Associated Medical Sciences*, 25(1), 5.

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Conflicts of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.



Copyright: © 2024 by the authors. This is a fully open-access article distributed under the terms of the Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).