การพิสูจน์ทราบ และจำแนกลักษณะเฉพาะของเชื้อริคเค็ทเซียที่แยกได้จากผู้ติดเชื้อ พาหะ และแหล่งรังโรคในประเทศไทย: ระยะที่ 1

จริยาณาฏ เกวี[1], ปิยเนตร ศัลยกำธร[1], พิมพ์มาดา เจียมวัฒนาเลิศ[1], วุฒิกรณ์ รอดความทุกข์[1], นพดล แสงจันทร์[1], ขวัญใจ วิพุทธิกุล[1], สถาพร ธิติวิเชียรเลิศ[2], สุภารัชต์ กาญจนวณิชย์[3], สุนทร ชินประสาทศักดิ์[4], ราม รังสินธุ์[5], ณรงค์ฤทธิ์ ศิริโสภณา[1] และ สรชัย นิตยพันธ์[1]

1 สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร, 2 โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า, 3 โรงพยาบาลนครพิงค์ จ.เชียงใหม่, 4 โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา จ.นครราชสีมา, 5 วิทยาลัยแพทยศาสตรพระมงกุฎเกล้า

บทคัดย่อ

หลักการและเหตุผล: การศึกษาระบาดวิทยาทางน้ำเหลืองของผู้ป่วยไข้ไม่ทราบสาเหตุในประเทศไทยพบว่าประมาณ 3-30% เกิดจากการติดเชื้อริคเค็ทเซีย ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดกรัมลบ มีสัตว์ในตระกูลขาข้อดูดเลือดเป็นพาหะนำโรค และมีแหล่งรังโรคเป็นสัตว์ฟันแทะ เชื้อริคเค็ทเซียแบ่งเป็น 2 กลุ่ม เนื่องจากความแตกต่างของแอนติเจน การติดต่อ และลักษณะการก่อโรค คือ กลุ่มไทฟัส (Typhus group) และกลุ่มไข้ผื่น (Spotted fever group) ในประเทศไทย มีรายงานพบการติดเชื้อทั้งสองกลุ่ม แต่ไม่ระบุชนิดสายพันธุ์ของเชื้อก่อโรคอย่างชัดเจน ความรู้เกี่ยวกับชนิดสายพันธุ์ของเชื้อที่ก่อโรคเฉพาะถิ่นตลอดจนวงจรการติดเชื้อ มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวางแผนป้องกันและควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์: เพื่อจำแนกพิสูจน์ทราบชนิดสายพันธุ์ของเชื้อริคเค็ทเซียก่อโรคในประเทศไทย แล้วแยกเพาะเชื้อก่อโรคเฉพาะถิ่นเก็บไว้ศึกษาวิจัยต่อยอดในทางลึก

วิธีการศึกษา: ตรวจพิสูจน์ทราบการติดเชื้อริคเค็ทเซียในตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยมีไข้ไม่ทราบสาเหตุ และจำแนกชนิดสายพันธุ์ด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล (PCR+RFLP/Sequencing) แล้วทำการแยกเพาะเชื้อริคเค็ทเซียเฉพาะถิ่นที่สนใจด้วยวิธีแยกเพาะในเซลล์เพาะเลี้ยง และในสัตว์ทดลอง

ผลการศึกษา: พัฒนาเครื่องมือเพื่อใช้ตรวจประเมินการติดเชื้อริคเค็ทเซียในตัวอย่างทางคลินิค คือ *Rickettsia-Orientia* duplex nested PCR ซึ่งมีจุดเด่นคือ สามารถตรวจเชื้อในสกุลริคเค็ทเซียได้สองยีนัสพร้อมกันในการตรวจหนึ่งครั้ง โดยมีความไวที่จะตรวจพบยีนของเชื้อยีนัสริคเค็ทเซีย และของเชื้อยีนัสโอเรียนเทียได้จำนวน 10 copies และ 3 copies ตามลำดับ และมีความจำเพาะเท่ากับ 100% เมื่อใช้เครื่องมือนี้ตรวจตัวอย่างเลือดผู้ป่วยมีไข้ที่ส่งมาจากภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2546 ถึงเดือนเมษายน 2550 จำนวน 607 ตัวอย่าง พบว่า ติดเชื้อวงศ์ริคเค็ทเซียเลส 17% (103/607) แยกเป็นเชื้อยีนัสริคเค็ทเซีย 7.60% (46/607) เชื้อยีนัสโอเรียนเทีย 9.40% (57/607) และติดเชื้อร่วมสองยีนัส 2 ราย การพิสูจน์ทราบชนิดสายพันธุ์ด้วยเทคนิค RFLP หรือการถอดรหัสพันธุกรรม (Sequencing) พบเชื้อก่อโรคยีนัสริคเค็ทเซียทั้งสองกลุ่ม คือ กลุ่มไทฟัสเป็นเชื้อ *Rickettsia typhi* ที่มีหมัดเป็นพาหะนำโรคทั้งหมด 22 ราย กลุ่มไข้ผื่น (Spotted fever group) ที่ส่วนมากมีเห็บเป็นพาหะนำโรค 24 ราย เป็นสายพันธุ์ *R. honei, R. felis, R. rickettsii* และสายพันธุ์ใหม่เฉพาะถิ่นที่คล้ายกับ *R. japonica* ส่วนเชื้อก่อโรคในยีนัสโอเรียนเทีย ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มสายพันธุ์ Karp ที่ใกล้เคียงกับเชื้อก่อโรคในประเทศไต้หวัน (Taiwanese strains) และกลุ่ม Gilliam การค้นพบที่

น่าสนใจคือ การติดเชื้อวงศ์ริคเค็ทเซียเลสร่วมสองยีนัสในผู้ป่วย จำนวน 2 ราย โดยติดเชื้อยีนัสริคเค็ทเซียกลุ่มไข้ผื่น *R. honei* ร่วมกับเชื้อยีนัสโอเรียนเทีย *Orientia tsutsugamushi*, Taitung-2 strain 1 ราย และอีกรายร่วมกับ *O. tsutsugamushi,* strain TW45R การแยกเพาะเชื้อสามารถแยกเพาะเชื้อก่อโรคได้ 3 ตัวอย่าง คือ เชื้อยีนัสริคเค็ทเซียกลุ่มไข้ผื่น สายพันธุ์ใหม่เฉพาะถิ่นที่คล้ายกับ *R. japonica, R. felis* และ *R. typhi* แต่ไม่สามารถเพิ่มขยายผลผลิตเชื้อในรุ่นที่สองได้

สรุปผลศึกษา: การศึกษาในระยะแรกนี้ได้พัฒนาเครื่องมืออณูชีวโมเลกุลที่สามารถใช้ตรวจพิสูจน์ทราบการติดเชื้อริคเค็ทเซียในตัวอย่างตรวจทางคลินิค พร้อมทั้งพิสูจน์ทราบชนิดสายพันธุ์ได้ ทำให้ทราบว่าเชื้อก่อโรคริคเค็ทเซียที่แพร่ระบาดในสามภูมิภาคตอนบนของประเทศไทย เป็นทั้งชนิดที่มีหมัด เห็บ และไรเป็นพาหะ ข้อมูลเหล่านี้มีความสำคัญต่อบุคลากรทางแพทย์ของประเทศที่ให้การดูแลรักษาและควบคุมป้องกันโรคติดเชื้อ อีกทั้งยังเป็นข้อมูลสำคัญที่จะนำไปสู่การศึกษาต่อยอดระยะที่สอง ซึ่งเป็นการสืบสวนวงจรการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับพาหะนำโรค และแหล่งรังโรค ข้อมูลทั้งหมดเกี่ยวกับเชื้อก่อโรคริคเค็ทเซียและวงจรการติดเชื้อมีความสำคัญอย่างยิ่งในการป้องกันและควบคุมโรคติดเชื้อวงศ์ริคเค็ทเซียที่จำเพาะในประเทศไทย