

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อทางระบบทางเดินหายใจในสุนัขนับว่าเป็นโรคที่มีความซับซ้อนที่เกิดได้จากหลายสาเหตุ เชื้อไวรัสสุนัขมีบทบาทสำคัญในการก่อโรคและการดำเนินไปของโรค ซึ่งยังไม่มีการศึกษาอย่างแท้จริงในประเทศไทย การศึกษาในครั้งนี้จึงได้พัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์เพื่อใช้ในการสำรวจโรค โดยเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ สามารถใช้ในการตรวจคัดกรองโรคเบื้องต้นได้อย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับเทคนิคพีซีอาร์แบบทำทีละปฏิกิริยาหรือชุดตรวจสำเร็จรูปข้างตัวสัตว์ ทำการเก็บตัวอย่างจากเยื่อช่องจมูกและช่องคอหอยส่วนปากในสุนัขที่แสดงอาการป่วยทางระบบทางเดินหายใจ เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสก่อโรคระบบทางเดินหายใจซับซ้อนในสุนัขด้วยเทคนิคมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ และศึกษาทางด้านระบาดวิทยาของเชื้อไวรัสก่อโรคที่พบบ่อย ได้แก่ ไวรัสอินฟลูเอนซา ไวรัสพาราอินฟลูเอนซา ไวรัสไข้หัดสุนัข ไวรัสโคโรนาในระบบทางเดินหายใจ ไวรัสอะดีโนชนิดที่สอง และไวรัสเฮอร์ปีส์ชนิดที่หนึ่ง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ความเกี่ยวข้องของระดับความรุนแรงของอาการแสดงกับแหล่งที่อาจติดโรคและจำนวนเชื้อไวรัสที่ตรวจพบ ผลการศึกษาในครั้งนี้ยังค้นพบเชื้อไวรัสใหม่ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ไวรัสโบคาชนิดที่สอง และไวรัสเซอร์โค ซึ่งแยกได้จากสุนัขที่มีอาการทางระบบทางเดินหายใจแต่ให้ผลลบทั้งหมดกับเชื้อไวรัสที่พบบ่อยข้างต้นเมื่อตรวจด้วยเทคนิคมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ การค้นพบอาศัยเทคโนโลยีขั้นสูงในการถอดรหัสพันธุกรรมและการวิเคราะห์เมตาจีโนมิก สำหรับไวรัสโบคาสายพันธุ์ที่ค้นพบนี้ (CBov TH-2016) มีรหัสพันธุกรรมที่แตกต่างจากที่มีรายงานในประเทศฮ่องกงและเกาหลีใต้ ในขณะที่ไวรัสเซอร์โค (CanineCV TH-2016) พบการผสมกันระหว่างสายพันธุ์ที่มีต้นกำเนิดจากประเทศสหรัฐอเมริกาและจากประเทศจีน หลังจากการวิเคราะห์ความเหมือนกันของลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่าไวรัสที่พบใหม่ทั้ง 2 สายพันธุ์มีลักษณะจำเพาะ และสามารถจำแนกได้ว่าเป็นสายพันธุ์ใหม่ โดยสรุป การศึกษาในครั้งนี้ได้เน้นถึงการตรวจหาไวรัสก่อโรคในระบบทางเดินหายใจในสุนัขได้สำเร็จ และยังค้นพบเชื้อไวรัสใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทย ซึ่งจะช่วยยกระดับการเฝ้าระวังโรคและการวินิจฉัยโรคให้กับสัตวแพทย์ได้

คำสำคัญ โรคติดเชื้อทางระบบทางเดินหายใจในสุนัข ไวรัสอุบัติใหม่ ระบาดวิทยา เมตาจีโนมิก
มัลติเพล็กซ์พีซีอาร์

Abstract

Canine infectious respiratory disease (CIRD) is a complex disease caused by multifactorial etiologies. Infectious pathogens, particularly viruses, play an important role for the disease progression that is not fully documented yet in Thailand. In this present study, the developed diagnostic modules, multiplex polymerase chain reaction (mPCR), were established for disease surveillance, yielding simultaneously effective method for disease screening when compared with single PCR assay and rapid immunogenic test kits. Furthermore, both nasal and oropharyngeal samples were prospectively collected from respiratory ill dogs residing in Thailand, for CIRDC associated virus detection using developed mPCR assays. Epidemiology of viral associated respiratory disease complex was achieved and has been suggested that all the common CIRDC-viruses including canine influenza virus (CIV), canine parainfluenza virus (CPIV), canine distemper virus (CDV), canine respiratory coronavirus (CRCoV), canine adenovirus type 2 (CAV-2) and canine herpesvirus type 1 (CaHV-1), have been circulating in Thailand. In addition, risk factors of infections, severity of clinical presentations among different possible sources of infections and numbers of detected viruses were investigated. Interestingly, two novel virus strains, canine bocavirus type 2 (CBoV-2) and canine circovirus (CanineCV), were discovered from PCR-negative CIRDC respiratory suffering dogs by applying next generation sequencing (NGS) and metagenomics analysis. For CBoV-2 isolated from this study, named CBoV TH-2016 strain, showed different sequences from previously described CBoV-2 strain isolated from Hong Kong and South Korea. Concordantly, the phylogenetic analysis of our CanineCV TH-2016 isolates presented the recombinant strains among USA- and China-derived CanineCV strains. After pairwise identity matrix analysis, it revealed that both viruses were unique and subjected to novel strains. In conclusion, this study emphasized the viruses associated with respiratory problems in dogs and are currently circulating in Thailand. The discovered novel viruses also raised awareness of veterinarian for disease monitoring and diagnosis.

Keywords: Canine infectious respiratory disease, Emerging virus, Epidemiology, Metagenomics, Multiplex PCR