

ชีววิทยาของยุงพาหะโรคไข้เลือดออกและซีโรทัยป์ ของเชื้อไวรัสเดงกีในวงจรการเกิดโรคในประเทศไทย

อุษาวดี ถาวระ* พายุ ภักดีนวน* อภิวัฏ ธวัชสิน* จักรวาล ชมภูศรี* ชญาดา ขำสวัสดิ์*
ยุทธนา ภูทรัพย์* อัจฉรา ภูมิ** อธิกรมล เพ็งสกุล*** เเผด็จ สิริยะเสถียร** สมชาย แสงกิจพร*

* สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

** คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

*** คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

บทคัดย่อ คณะผู้วิจัยได้ออกสำรวจและเก็บตัวอย่างยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) และยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) จากภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์การติดเชื้อไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ต่าง ๆ รวมถึงศึกษาข้อมูลด้านชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไข้เลือดออกของยุงพาหะทั้งสองชนิดดังกล่าว ผลการสำรวจในพื้นที่ 25 จังหวัดของประเทศไทยพบยุงพาหะทั้งสองชนิดได้ในทุกจังหวัด โดยพบยุงลายบ้านได้จนถึงระดับความสูง 1,509 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล ในขณะที่ยุงลายสวนพบได้จนถึงระดับความสูง 1,928 เมตร ทั้งนี้พบว่ายุงทั้งสองชนิดมีนิสัยชอบกัดดูดเลือดคนต่างไปจากเดิมโดยเริ่มกัดตั้งแต่เช้ามืดจนถึงพลบค่ำ นอกจากนี้ยังพบอีกว่ายุงทั้งสองชนิดออกหากินในเวลากลางคืนอีกด้วย ผลการศึกษาอัตราการกัดของยุงทั้งสองชนิดพบว่ายุงลายบ้านมีอัตราการกัดสูงสุดในฤดูร้อน ในขณะที่ยุงลายสวนมีอัตราการกัดสูงสุดในฤดูหนาว และจากการศึกษาอัตราการติดเชื้อของยุงพาหะในธรรมชาติ โดยตรวจหาเชื้อไวรัสเดงกีในยุงทั้งสองชนิดที่จับได้ในพื้นที่วิจัยทั้ง 25 จังหวัดด้วยเทคนิค semi-nested RT-PCR ผลพบเชื้อไวรัสเดงกีทั้ง 4 ซีโรทัยป์ในยุงทั้งสองชนิดที่จับได้ในพื้นที่วิจัย ได้แก่ DEN-1, DEN-2, DEN-3 และ DEN-4 โดยที่อัตราการพบเชื้อไวรัสเดงกีแต่ละซีโรทัยป์ในยุงลายบ้านและยุงลายสวนแตกต่างกันในแต่ละจังหวัด ทั้งนี้ยุงลายบ้านมีอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีสูงกว่ายุงลายสวน ค่าสูงสุดพบในภาคใต้เท่ากับร้อยละ 37.75 ในยุงลายบ้าน ขณะที่ค่าสูงสุดในยุงลายสวนพบในภาคใต้เช่นกันเท่ากับร้อยละ 24.2 นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อไวรัสเดงกีในลูกน้ำยุงและยุงเพศผู้แสดงว่ามีการถ่ายทอดเชื้อจากยุงรุ่นแม่ไปสู่รุ่นลูก ทำให้เกิดวัฏจักรการติดเชื้อของยุงในธรรมชาติ และพบว่าเชื้อไวรัสเดงกีสองซีโรทัยป์ ภายในยุงตัวเดียวกันอีกด้วย ซึ่งพบทั้งในยุงลายบ้านและยุงลายสวน ปรากฏการณ์นี้บ่งบอกว่าพื้นที่ที่พบนั้น ๆ มีความเสี่ยงต่อการระบาดของโรคไข้เลือดออกเนื่องจากยังคงมีเชื้ออยู่ในยุงพาหะ จำเป็นต้องแนะนำให้ประชาชนป้องกันตนเองจากการถูกยุงกัดและกำจัดแหล่งเพาะพันธุ์ยุง

Accepted for publication, 29 May 2015

บทนำ

โรคไข้เดงกีและไข้เลือดออกเกิดจากการติดเชื้อไวรัสเดงกีประกอบด้วย 4 ซีโรทัยป์ คือ ไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ 1 (DEN-1), ไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ 2 (DEN-2), ไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ 3 (DEN-3) และ ไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ 4 (DEN-4) ติดต่อกันผ่านการกัดของยุงพาหะ⁽¹⁾ ในประเทศไทยมีรายงานพบยุงพาหะโรคไข้เลือดออกที่สำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ ยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) โดยมียุงลายบ้านเป็นพาหะหลัก⁽²⁾ ปัจจุบันถึงแม้จะมีการผลิตวัคซีนสำหรับโรคดังกล่าว แต่พบว่ายังคงเป็นแค่วัคซีนที่อยู่ในระหว่างการทดลองและผลที่ได้ยังไม่ครอบคลุมทุกซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีและทุกช่วงอายุของกลุ่มประชากร^(3, 4) จึงนับได้ว่าโรคไข้เลือดออกเป็นโรคที่ยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญมากโรคหนึ่งของประเทศ

การเฝ้าระวังเกี่ยวกับผู้ป่วยและเชื้อไวรัสไข้เลือดออก เป็นหนึ่งในแนวทางการควบคุมโรคไข้เลือดออกที่สำคัญ แต่ถึงแม้จะมีการเฝ้าระวังผู้ป่วยและสุ่มตัวอย่างเลือดนำมาตรวจ แต่การพบผู้ป่วยและเชื้อไวรัสไข้เลือดออกในผู้ป่วยนี้ มักเริ่มเข้าสู่ช่วงต้นของการระบาดแล้ว ซึ่งหากมาตรการในการควบคุมโรคไม่มีประสิทธิภาพและรวดเร็วพอ โรคจะแพร่กระจายออกไปอย่างกว้างขวางจนเกินกำลังที่จะควบคุม⁽⁵⁾ เหตุนี้จึงจำเป็นต้องหามาตรการที่มีประสิทธิภาพในเชิงรุก และมีการประชาสัมพันธ์แจ้งเตือนภัยก่อนเกิดการระบาดแทนการเฝ้าระวังโดยใช้ข้อมูลผู้ป่วยดังกล่าวข้างต้น

ปัจจุบันข้อมูลพื้นฐานด้านชีววิทยา นิเวศวิทยาและการติดเชื้อไวรัสเดงกีในยุงที่เป็นปัจจุบัน สำหรับนำไปใช้แจ้งเตือนภัยและควบคุมยุงพาหะให้มีประสิทธิภาพยังไม่มี ประกอบกับในบางพื้นที่ของประเทศไทยยังคงมีรายงานจำนวนผู้ป่วยไข้เลือดออกสูงขึ้น ทั้งที่เจ้าหน้าที่สาธารณสุขจังหวัดได้ดำเนินการควบคุมยุงลายบ้านซึ่งเป็นพาหะหลักอย่างสม่ำเสมอ ทำให้เกิดสมมติฐานว่าสาเหตุการป่วยด้วยโรคไข้เลือดออกอาจเกิดจากยุงลายสวนที่เป็นพาหะรอง ซึ่งมีแหล่งเพาะพันธุ์แตกต่างกันด้วย โดยที่ยุงลายบ้านมีแหล่งเพาะพันธุ์ที่สำคัญอยู่ในภาชนะบริเวณชายคาบ้าน เช่น ตุ่มใส่น้ำดื่ม น้ำใช้ บ่อคอนกรีตในห้องน้ำ จานรองขาตู้กันมด ยางรถยนต์ จานรองกระถางต้นไม้ เป็นต้น ในขณะที่ยุงลายสวนมีแหล่งเพาะพันธุ์ที่สำคัญอยู่นอกชายคาบ้าน และส่วนใหญ่เป็นสิ่งที่มิมีในธรรมชาติและวัสดุเหลือทิ้ง เช่น กระบอกไม้ไผ่ กะลามะพร้าว โพรงต้นไม้ ขวดพลาสติกและขวดแก้ว เป็นต้น⁽⁶⁾ ปัจจุบันการรณรงค์กำจัดลูกน้ำยุงพาหะส่วนใหญ่พุ่งเป้าไปที่แหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายบ้าน ทำให้ไม่ครอบคลุมไปถึงแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายสวน จึงทำให้ความชุกชุมของยุงลายสวนเพิ่มมากขึ้นและวัฏจักรของโรคไข้เลือดออกยังคงมีอยู่ ซึ่งต้องปรับกลยุทธ์ในการควบคุมยุงพาหะ การศึกษาศักยภาพในการเป็นพาหะโรคไข้เลือดออกของยุงลายบ้านเปรียบเทียบกับยุงลายสวนในแต่ละภาคของประเทศไทย ตลอดจนศึกษาข้อมูลด้านชีววิทยาและนิเวศวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมของยุงลายบ้านและยุงลายสวน จะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการแจ้งเตือนภัยโรคไข้เลือดออก และช่วยกระตุ้นให้ประชาชนตื่นตัวในการร่วมมือจัดการแหล่งเพาะพันธุ์ยุง อีกทั้งสามารถนำข้อมูลไปปรับใช้ประกอบการวางแผนควบคุมโรคไข้เลือดออก ลักษณะการนำเสนอจะใช้ภาษาและวิธีการที่สามารถเข้าใจได้ง่าย เพื่อให้เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง นำข้อมูลไปเผยแพร่สู่ประชาชนเพื่อก่อให้เกิดความกระตือรือร้นที่จะร่วมมือควบคุมพาหะนำโรค ผลการวิจัยจะได้เกิดประโยชน์ต่อสาธารณะ

วัสดุและวิธีการ

การคัดเลือกพื้นที่วิจัย

พื้นที่วิจัยเป็นพื้นที่ที่เสี่ยงต่อโรคไข้เลือดออก ซึ่งเกิดโรคไข้เลือดออกซ้ำซากในรอบ 5 ปี และอยู่ในเขตอุตสาหกรรมหรือแหล่งท่องเที่ยว โดยคัดเลือกจำนวน 25 จังหวัดทั่วทุกภาคของประเทศ ประกอบด้วยพื้นที่ในภาคกลาง 6 จังหวัด ได้แก่ นนทบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี นครสวรรค์ เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ภาคเหนือ 5 จังหวัด ได้แก่ เพชรบูรณ์ ตาก พิษณุโลก เชียงราย และเชียงใหม่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 6 จังหวัด ได้แก่ นครราชสีมา ขอนแก่น

หนองคาย บุรีรัมย์ ร้อยเอ็ด และอุบลราชธานี ภาคตะวันออก 2 จังหวัด ได้แก่ ระยอง และจันทบุรี ภาคใต้ 6 จังหวัด ได้แก่ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ ตรัง สงขลา และพัทลุง โดยดำเนินการเก็บข้อมูลระหว่างปี พ.ศ. 2549-2553

การหาอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีของยุงลายบ้านและยุงลายสวน

เก็บตัวอย่างยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) ด้วยการใช้สวิงโฉบในพื้นที่วิจัย 25 จังหวัด โดยเก็บตัวอย่างจังหวัดละ 2 อำเภอๆ ละ 2 ตำบล โดยแบ่งเก็บตัวอย่างยุงแต่ละบ้านเป็น pool ของระยะลูกน้ำ ตัวเต็มวัยเพศผู้ และตัวเต็มวัยเพศเมีย pool ละ 5 ตัว รวมอย่างน้อย 160 pools ต่อจังหวัด

สำหรับการเก็บตัวอย่างเพื่อหาอัตราการติดเชื้อ 2 ซีโรทัยป์ในยุงตัวเดียวกัน ตัวอย่างยุงลายบ้านและยุงลายสวนเพศเมีย จะถูกตรวจแยกเป็นตัวย่อย ชนิดละ 50 ตัวต่อจังหวัด ทั้งนี้การจำแนกชนิดของยุงลายใช้หลักอนุกรมวิธานของแมลง⁽⁷⁾ จากนั้นตัวอย่างลูกน้ำและยุงตัวเต็มวัยที่เก็บได้จะถูกแช่ในไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen) เพื่อนำกลับมาตรวจหาเชื้อไวรัสเดงกีทั้ง 4 ซีโรทัยป์ด้วยวิธี semi-nested reverse transcription-polymerase chain reaction (semi-nested RT-PCR) เพื่อหาซีโรทัยป์ของเชื้อเดงกีในยุง แล้วนำผลการศึกษามาได้มาเปรียบเทียบกับข้อมูลซีโรทัยป์ในคนในพื้นที่เดียวกัน (ที่มาของข้อมูลซีโรทัยป์ในผู้ป่วย : จากห้องปฏิบัติการฝ่ายอาชีวไวรัส สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข) โดยแสดงผลในรูปของกราฟ

วิธี semi-nested RT-PCR

สกัดอาร์เอ็นเอของไวรัสเดงกีจากยุงระยะตัวเต็มวัยและลูกน้ำ โดยใช้ชุดสำเร็จรูป Invisorb® Spin Virus RNA MiniKit ตามวิธีที่ระบุในคู่มือการใช้งาน จากนั้นนำอาร์เอ็นเอที่ได้มาเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยวิธี semi-nested RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ D1 (5'-TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG-3'), TS1 (5'-CGTCTCAGTGATCGGGG-3'), TS2 (5'-CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'), TS3 (5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3') และ TS4 (5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3')⁽⁸⁾ ปฏิกริยา RT-PCR ประกอบด้วย 2X Reaction Mix (0.4 mM dNTP, 3.2mM MgSO₄) ปริมาตร 12.5 µl,ไพรเมอร์ D1, TS1, TS2, TS3 และ TS4 ชนิดละ 1.0 µl, อาร์เอ็นเอตัวอย่างปริมาตร 5.0 µl, Super Script III™ Taq (ผลิตภัณฑ์ของ Invitrogen®) จำนวน 1.0 µl แล้วเติม ddH₂O จนครบปริมาตร 25.0 µl โดยใช้ขั้นตอนดังนี้คือ ขั้นตอนการสังเคราะห์ cDNA โดยใช้อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 30 นาที ตามด้วยขั้นตอนการแยกสายดีเอ็นเอที่ได้ให้เป็นเส้นเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลา 2 นาที และขั้นตอนการเพิ่มปริมาณสายดีเอ็นเอจำนวน 40 รอบซึ่งประกอบด้วยการใช้อุณหภูมิ 94°C, 50°C และ 72°C ช่วงอุณหภูมิละ 30 วินาที และสุดท้ายจึงทำการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ที่อุณหภูมิ 72°C โดยใช้เวลา 7 นาที หลังจากปฏิบัติกริยา RT-PCR เสร็จสิ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิบัติกริยาจะถูกนำไปตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอ โดยใช้วิธีแยกด้วยกระแสไฟฟ้าบน agarose gel ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยที่ขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์จากไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ DEN-1, DEN-2, DEN-3 และ DEN-4 มีขนาด 482 bp, 119 bp, 290 bp และ 392 bp ตามลำดับ สุดท้ายจึงทำการบันทึกข้อมูลจากการถ่ายภาพเปรียบเทียบกับขนาดดีเอ็นเอมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์ผลต่อไป

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของยุงลายบ้านและยุงลายสวน

ศึกษาพฤติกรรมการกัดของยุงลายบ้านและยุงลายสวนในพื้นที่อำเภอบางบัวทอง จ.นนทบุรี โดยอาสาสมัคร 6 คนนั่งจับยุงในภาคสนามทุกชั่วโมงๆ ละ 20 นาที โดยเริ่มจับตั้งแต่วเวลา 06.00 น. จนถึง 06.00 น. ของวันถัดไป

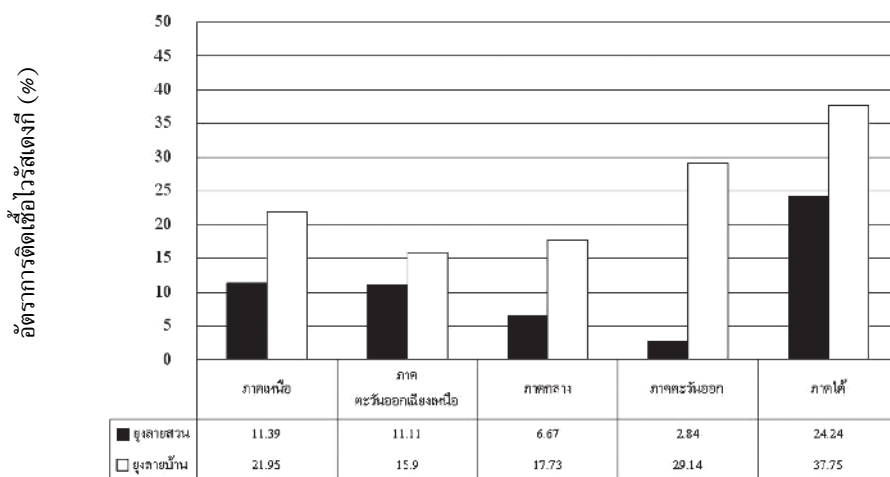
จากนั้นนำยุงที่จับได้มาจำแนกชนิด เพศ ตามหลักอนุกรมวิธานของแมลง⁽⁷⁾ แล้วคำนวณหาอัตราการกัดเป็นจำนวนยุง/คน/ชั่วโมงและศึกษาข้อมูลด้านการแพร่กระจายของยุงลายบ้านและยุงลายสวนบนพื้นที่สูงในจังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่ อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง และอุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ พื้นที่สูงในจังหวัดเชียงราย ได้แก่ ดอยตุง โดยเก็บตัวอย่างยุง ทั้งระยะลูกน้ำและตัวเต็มวัยในพื้นที่ดังกล่าวและนำกลับมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

ผล

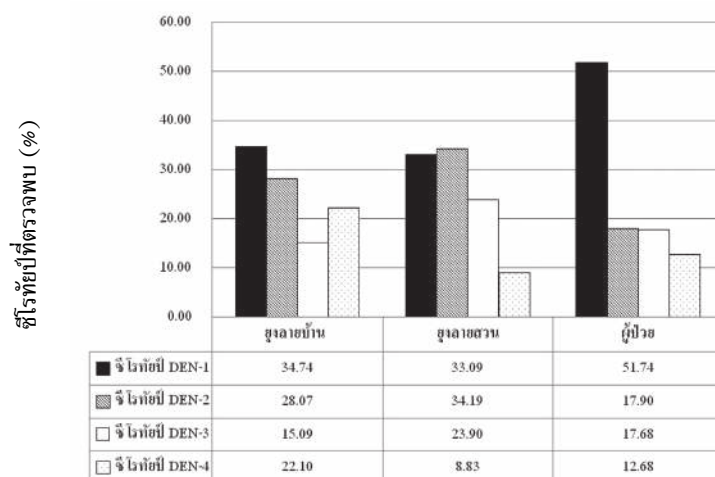
อัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีของยุงลายบ้านและยุงลายสวน

ผลการศึกษาพบว่าอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีของยุงลายบ้านและยุงลายสวนในภาคใต้ของประเทศไทย มีอัตราการติดเชื้อสูงสุดคือร้อยละ 37.75 และ 24.24 (ภาพที่ 1)

จากเชื้อไวรัสเดงกีที่ตรวจพบในยุงลายบ้านและยุงลายสวน เมื่อวิเคราะห์ซีโรทัยป์พบว่า พบทั้ง 4 ซีโรทัยป์ โดยพบซีโรทัยป์ DEN-1 และ DEN-2 มากที่สุด นอกจากนี้พบว่าซีโรทัยป์ของเชื้อไวรัสเดงกีที่ตรวจพบในผู้ป่วย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549-2553 มากที่สุดคือ ซีโรทัยป์ DEN-1 (ภาพที่ 2)

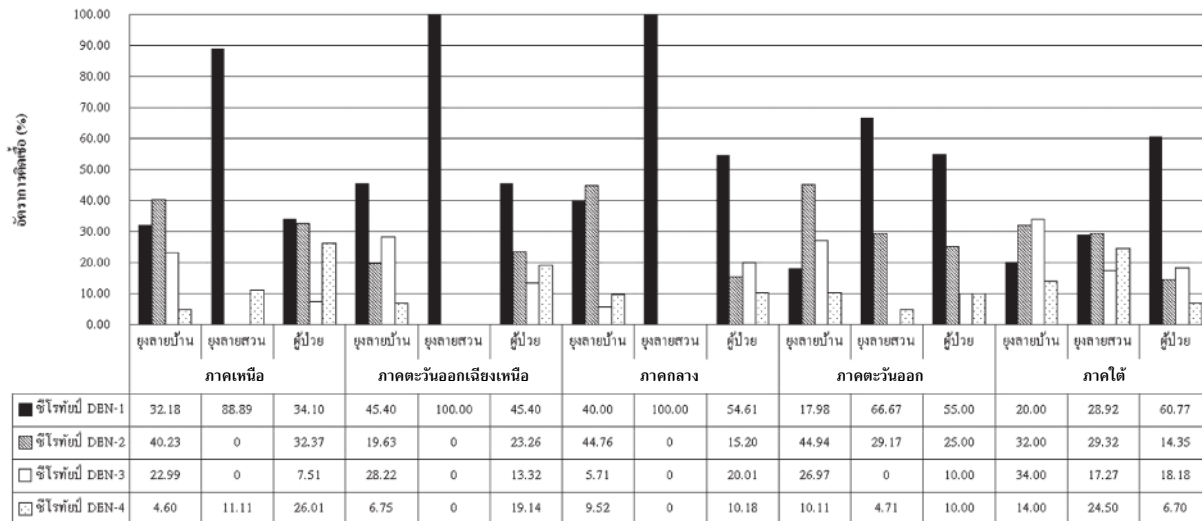


ภาพที่ 1 อัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีของยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) ในภาคต่างๆ ของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2549 - 2553



ภาพที่ 2 ซีโรทัยป์ของเชื้อไวรัสเดงกีในยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) ยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) และในผู้ป่วย ระหว่าง ปี พ.ศ. 2549- 2553

เมื่อวิเคราะห์ซีโรทัยป์ของเชื้อไวรัสเดงกีในยุงลายบ้าน ยุงลายสวน และผู้ป่วย ในปี พ.ศ. 2549–2553 โดยแยกตามภาคต่างๆ พบว่าเชื้อไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ DEN-1 ถูกตรวจพบมากที่สุดในยุงลายสวนและผู้ป่วยในทุกภาคของประเทศไทย (ภาพที่ 3)

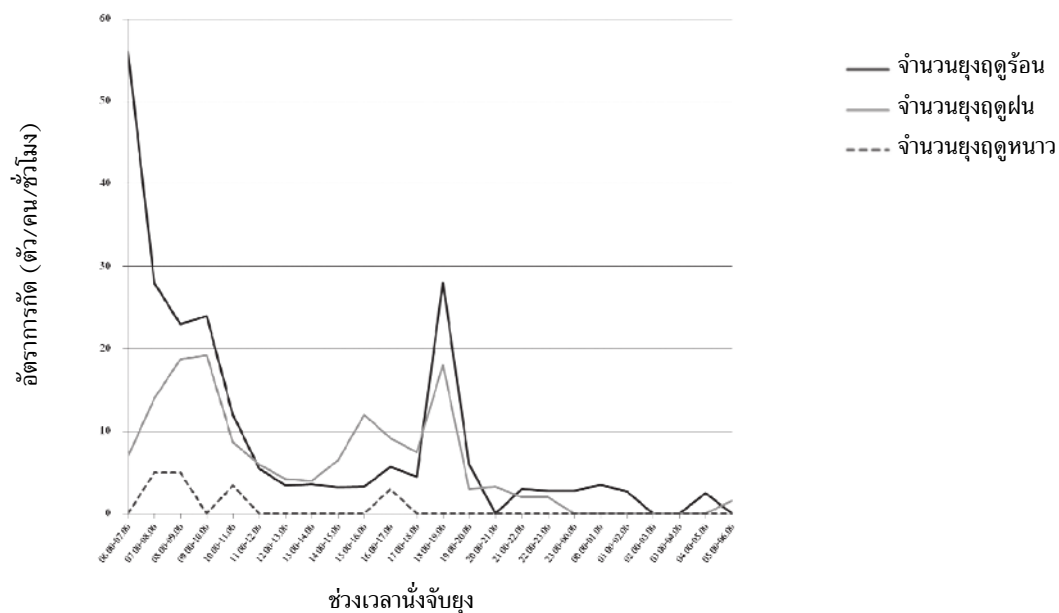


ภาพที่ 3 อัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีแต่ละซีโรทัยป์ของยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) ยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) และจากข้อมูลผู้ป่วย ในปี พ.ศ. 2549–2553 แยกตามภาคต่างๆ ของประเทศไทย

นอกจากนี้ ผลการศึกษายังพบอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีในยุงลายเพศผู้ยุงลายบ้านและยุงลายสวน ทั้งสองชนิด ร้อยละ 19.5 (780/4,000 pools) และพบอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีในลูกน้ำร้อยละ 18.7 (748/4,000 pools) ทั้งนี้ยังพบการติดเชื้อไวรัสเดงกี 2 ซีโรทัยป์ในยุงตัวเดียวกัน ทั้งในยุงลายบ้านและยุงลายสวนเพศเมียอีกด้วย โดยที่ในยุงลายบ้านซีโรทัยป์ที่พบในยุงตัวเดียวกัน คือ DEN-1 กับ DEN-4, DEN-1 กับ DEN-2 และ DEN-2 กับ DEN-4 โดยพบอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีร้อยละ 1.6 (4/250 pools), 1.2 (3/250 pools) และ 0.4 (1/250 pools) ตามลำดับ ส่วนในยุงลายสวนซีโรทัยป์ที่พบในยุงตัวเดียวกันคือ DEN-2 กับ DEN-3 ซึ่งพบอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีร้อยละ 6.8 (17/250 pools)

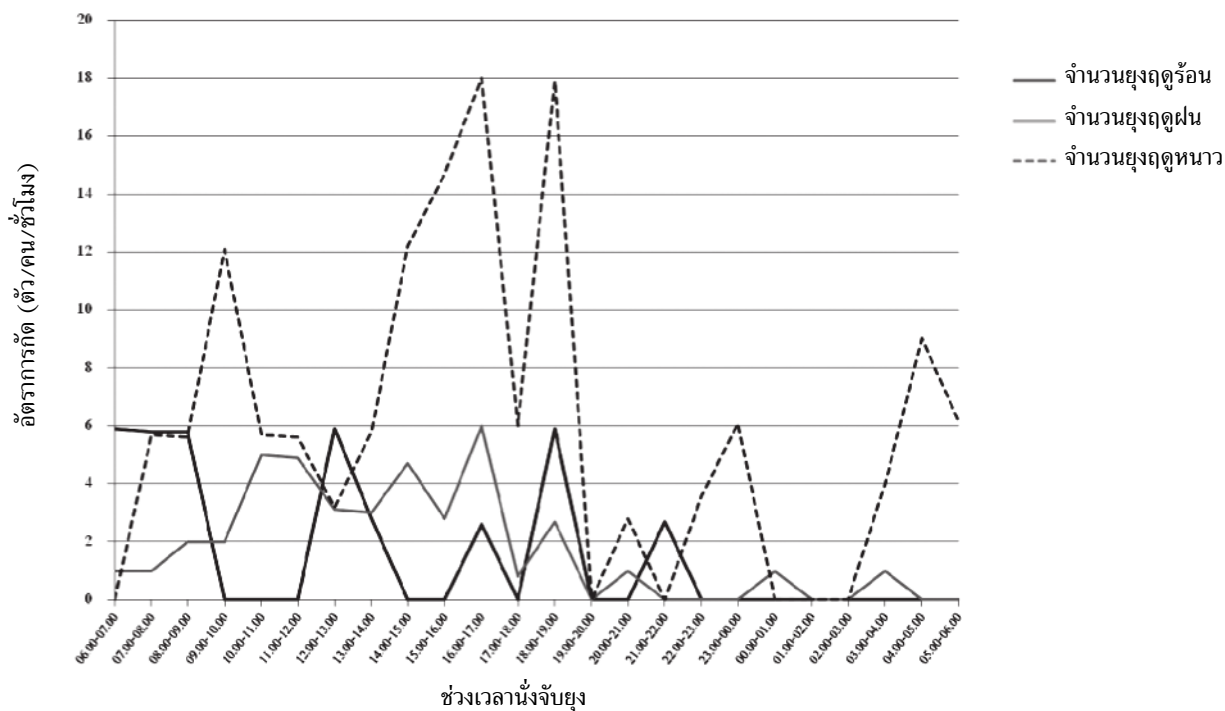
ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของยุงลายบ้านและยุงลายสวน

ผลการศึกษาพฤติกรรมการกัดของยุงลายบ้านและยุงลายสวน พบว่ายุงลายบ้านมีอัตราการกัดสูงสุดในฤดูร้อนคือ ช่วงเวลา 06.00–10.00 น. และ 18.00–19.00 น. รองลงมาในฤดูฝน คือ ช่วงเวลา 09.00–10.00 น., 15.00–16.00 น. และ 18.00–19.00 น. และอัตราการกัดต่ำสุดในฤดูหนาว คือ ช่วงเวลา 07.00–08.00 น., 10.00–11.00 น. และ 17.00–18.00 น. (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 อัตราการกัดของยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) ในช่วงฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว

ส่วนยุงลายสวนมีอัตราการกัดสูงสุดในฤดูหนาว คือ ช่วงเวลา 16.00-17.00 น. และ 18.00-19.00 น. รองลงมาคือฤดูร้อนในช่วงเวลา 06.00-10.00 น., 12.00-13.00 น. และ 18.00-19.00 น. และอัตราการกัดต่ำสุดในฤดูฝนในช่วงเวลา 16.00-17.00 น. (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 อัตราการกัดของยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) ในช่วงฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว

จากการสำรวจยุงลายบ้านและยุงลายสวนบนพื้นที่สูงในจังหวัดเชียงใหม่ ณ อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ และพื้นที่ดอยตุง จังหวัดเชียงราย พบว่าพบยุงลายบ้านจนถึงระดับความสูง 1,509 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล (ดอยตุง) แต่ที่ระดับความสูง 1,928 เมตร (ดอยอ่างขาง) พบเฉพาะยุงลายสวน ในขณะที่ที่ระดับความสูง 2,565 เมตร (ดอยอินทนนท์) สํารวจไม่พบยุงลายทั้งสองชนิด

วิจารณ์

งานวิจัยนี้ศึกษาเกี่ยวกับอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกี ในยุงพาหะใช้เลือดออกได้แก่ ยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) และยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) ในภาคต่างๆ ของประเทศไทย พบว่าอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีทั้งในยุงลายบ้านและยุงลายสวน พบสูงสุดในภาคใต้โดยเมื่อพิจารณาถึงสภาพภูมิศาสตร์และภูมิอากาศของภาคใต้ของประเทศไทยแล้วพบว่ามีความร้อนชื้นและฝนตกเกือบตลอดทั้งปี ซึ่งเป็นลักษณะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยุงพาหะ ประกอบกับเป็นพื้นที่ที่อุดมไปด้วยแหล่งเพาะพันธุ์ เนื่องจากการทำสวนยางพาราและปาล์มน้ำมันเป็นจำนวนมาก ทั้งนี้ยังอุดมไปด้วยแหล่งท่องเที่ยวทางธรรมชาติอย่างอุทยาน น้ำตกและสวนสาธารณะ จึงทำให้จำนวนยุงพาหะที่พบมีจำนวนมากกว่าภาคอื่นๆ⁽⁹⁾ และพบรายงานผู้ป่วยไข้เลือดออกสูงในทุกปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปี 2550 และ 2553 ซึ่งพบอัตราป่วยสูงสุดในภาคใต้ เมื่อเทียบกับภาคอื่นๆ (137.96 ต่อประชากรแสนคน และภาคเหนือ 73.25 ต่อประชากรแสนคน และสำหรับใน พ.ศ. 2553 ซึ่งเป็นปีที่พบผู้ป่วยไข้เลือดออกสูงมาก (116,947 ราย, สำนักโรคติดต่อฯ โดยแมลงปี 2553) โดยพบอัตราป่วยสูงสุดในภาคใต้ (332.21 ต่อประชากรแสนคน) รองลงมา คือ ภาคเหนือ (179.61 ต่อประชากรแสนคน) ภาคกลาง (166.04 ต่อประชากรแสนคน) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (138 ต่อประชากรแสนคน) เนื่องจากภาคใต้มีจำนวนผู้ป่วยสูงสุด และมีจำนวนยุงพาหะสูง จึงทำให้พบอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีในยุงสูงตามไปด้วย จะเห็นได้ว่าหากอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีในยุงสูงจะพบอัตราป่วยไข้เลือดออกสูงด้วยเช่นกัน อนึ่งยังพบว่าอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีในยุงลายบ้านสูงกว่าในยุงลายสวนในทุกภาคของประเทศไทย ซึ่งอาจเนื่องจากลักษณะนิสัยการหาเหยื่อของยุงลายบ้านซึ่งหาแหล่งเลือดภายในบ้านทำให้มีโอกาสเจอแหล่งเลือดมากกว่ายุงลายสวน ประกอบกับลักษณะแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายบ้านที่เกิดจากวัสดุที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น ตุ่มน้ำ บ่อคอนกรีต เป็นต้น ซึ่งจะมีน้ำเต็มตลอดเวลาแม้แต่ในฤดูแล้ง ทำให้ยุงลายบ้านสามารถเพาะพันธุ์ได้ตลอดทั้งปี⁽¹⁰⁾ ตรงกันข้ามกับยุงลายสวนที่หากินในสวนทำให้มีโอกาสเจอแหล่งเลือดน้อยกว่า และแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายสวนยังอยู่กลางแจ้งจึงอาจแห้งในฤดูร้อน และถูกชะทำลายโดยน้ำฝนได้ง่ายกว่าอีกด้วย⁽¹¹⁾ พบอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีในยุงลายสวนร้อยละ 2.8-24.2 โดยพบสูงสุดในภาคใต้เช่นกันซึ่งจากการค้นพบดังกล่าวเป็นข้อบ่งชี้ว่ายังคงมียุงลายสวนที่เป็นพาหะอยู่ในพื้นที่ ซึ่งหากต้องการตัดวงจรโรคไข้เลือดออก จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องควบคุมยุงลายสวนเหล่านี้นด้วย

เมื่อพิจารณาถึงซีโรทัยป์ของไวรัสเดงกีที่ตรวจพบในยุงลายบ้านตามภาคต่างๆ พบว่าภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง ตรวจพบซีโรทัยป์ DEN-2 มากที่สุด ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบซีโรทัยป์ DEN-1 มากที่สุดและภาคใต้พบซีโรทัยป์ DEN-3 มากที่สุด ในขณะที่ในยุงลายสวนตรวจพบซีโรทัยป์ DEN-1 มากกว่าซีโรทัยป์อื่นๆ ในทุกภาค ยกเว้นภาคใต้พบซีโรทัยป์ DEN-1, DEN-2 และ DEN-4 มีจำนวนใกล้เคียงกัน อนึ่งในภาพรวมทั้งประเทศในยุงลายบ้านตรวจพบเชื้อไวรัสเดงกีซีโรทัยป์ DEN-2 สูงสุด ส่วนในยุงลายสวนพบซีโรทัยป์ DEN-1 สูงสุด ในขณะที่ในผู้ป่วยพบซีโรทัยป์ DEN-1 สูงสุด ทั้งนี้ในพื้นที่ที่มีซีโรทัยป์ไม่ครบทั้ง 4 ซีโรทัยป์ประชากรในพื้นที่นั้นจะเสี่ยงต่อการเป็นโรคไข้เลือดออก

นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อไวรัสเดงกี 2 ซีโรทัยป์ภายในยุงตัวเดียวกันอีกด้วยซึ่งตรงกับรายงานผลการวิจัยที่พบได้ทั้งในผู้ป่วย⁽¹²⁾ และในตัวยุง⁽¹³⁾ ปรากฏการณ์นี้บ่งบอกว่าพื้นที่นั้น มีความเสี่ยงในการระบาดของโรคไข้เลือดออกและพบการติดเชื้อไวรัสเดงกีในยุงลายเพศผู้ทั้งยุงลายบ้านและยุงลายสวนสูงถึงร้อยละ 19.5 และในลูกน้ำยุงร้อยละ 18.7 อีกด้วย สอดคล้องกับรายงานของ Thavara *et al.*⁽¹³⁾ และ Chompoosri⁽¹⁴⁾ ซึ่งพบได้จาก

การตรวจเชื้อไวรัสซิกนุกุนยาในยุงลายบ้านและยุงลายสวนด้วยเช่นกัน⁽⁸⁾ แสดงให้เห็นว่ามีการถ่ายทอดเชื้อจากยุงรุ่นแม่ไปสู่รุ่นลูก (transovarial transmission) ทำให้เกิดเป็นวัฏจักรการติดเชื้อมาตรึงในธรรมชาติ ซึ่งยากต่อการตัดวงจรการระบาดของโรคไข้เลือดออก

จากผลการศึกษาชีววิทยาของยุงลายบ้านและยุงลายสวน พบยุงทั้งสองชนิดได้ในทุกจังหวัดที่วิจัย โดยสามารถพบยุงลายบ้านได้จนถึงระดับความสูง 1,509 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล ในขณะที่ยุงลายสวนพบได้จนถึงระดับความสูง 1,928 เมตร ข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการระบาดของโรคไข้เลือดออกในพื้นที่ภูเขาสูงของประเทศไทย (สูงกว่า 1,500 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล) มีโอกาสสูงที่พาหะจะเป็นยุงลายสวน ดังนั้นการควบคุมโรคไข้เลือดออกในหมู่บ้านชาวเขาจึงควรให้ความสำคัญกับแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายสวนให้มากขึ้นด้วย

สภาพภูมิอากาศและอุณหภูมิเป็นตัวแปรที่สำคัญอย่างมากต่อยุงพาหะนำโรคไข้เลือดออก เนื่องจากมีผลต่อระยะเวลาพัฒนาในวงจรชีวิตของยุงพาหะ ซึ่งอาจช่วยยืดชีวิตของยุงพาหะออกไปทำให้มีเวลาในการส่งผ่านเชื้อนานขึ้น หรือทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตลดลงทำให้ปริมาณของยุงพาหะเพิ่มมากขึ้นและมีอัตราการกัดสูงขึ้นเป็นต้น⁽¹⁵⁻¹⁸⁾ ทั้งนี้ประเทศไทยตั้งอยู่ในภูมิศาสตร์เขตร้อนชื้นที่อุณหภูมิของทั้ง 3 ฤดู (ฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว) แตกต่างกันไม่มาก แต่มีปริมาณความชื้นและน้ำฝนที่เป็นปัจจัยสำคัญต่อการระบาดของโรคไข้เลือดออก⁽¹⁸⁾ แตกต่างกันชัดเจน ซึ่งจากการศึกษาพฤติกรรมการกัดของยุงลายทั้งสองชนิดในแต่ละฤดูพบว่า ยุงลายบ้านมีพฤติกรรมการกัดเปลี่ยนแปลงไปจากรายงานของ Yasuno และ Tonn⁽¹⁹⁾ ที่พบว่ายุงลายมีอัตราการกัดสูงสุดที่ 3 ชั่วโมงก่อนพระอาทิตย์ตกดินคือ เวลาประมาณ 14.00 – 17.00 น. โดยการทดลองนี้พบว่าในฤดูร้อนและฤดูฝนยุงลายบ้านมีช่วงเวลากัดสูงหลายช่วงในแต่ละวัน โดยที่ช่วงเวลากัดสูงสุดในฤดูร้อนพบในช่วงเช้าระหว่างเวลา 06.00-10.00 น. และช่วงเย็นเวลา 18.00-19.00 น. ฤดูฝนช่วงเวลากัดสูงสุดมี 3 ช่วง คือเวลา 09.00-10.00 น., 15.00-16.00 น. และ 18.00-19.00 น. ในขณะที่ฤดูหนาวช่วงเวลากัดสูงสุดมี 3 ช่วงคือเวลา 07.00-08.00 น., 10.00-11.00 น. และ 17.00-18.00 น. นอกจากนี้ยังพบอีกว่ายุงทั้งสองชนิดมีพฤติกรรมกัดในช่วงกลางคืนด้วย

ผลการศึกษาพฤติกรรมการกัดของยุงลายสวนพบว่า ฤดูร้อนช่วงเวลากัดสูงสุดมี 3 ช่วงคือ เวลา 06.00-10.00 น., 12.00-13.00 น. และ 18.00-19.00 น. ฤดูฝนช่วงเวลากัดสูงสุดคือ เวลา 16.00-17.00 น. และฤดูหนาวช่วงเวลากัดสูงสุดมี 2 ช่วงคือ 15.00-16.00 น. และ 18.00-19.00 น. พบว่ายุงลายสวนมีอัตราการกัดสูงสุดในฤดูหนาว ซึ่งอาจเป็นเพราะในปีที่ทำการวิจัยมีปริมาณน้ำฝนมากทำให้แหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายสวนที่อยู่กลางแจ้งถูกชะทำลายจนทำให้เวลาในการเพิ่มจำนวนของยุงในช่วงฤดูฝนชะลอตัวและเริ่มเพิ่มมากขึ้นในช่วงต้นของฤดูหนาว ซึ่งปรากฏการณ์ดังกล่าว ทำให้เกิดการเลื่อนเวลาการระบาดได้⁽¹¹⁾ ผลจากการศึกษาพฤติกรรมการกัดของยุงในแต่ละฤดูนี้จึงสามารถสรุปได้ว่าสภาพภูมิอากาศมีผลอย่างมากต่อพฤติกรรมการกัดของยุงลาย

สรุป

จากการศึกษาข้อมูลด้านชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไข้เลือดออกของยุงลายบ้านและยุงลายสวน พบว่าช่วงเวลาที่ยุงทั้งสองชนิดชอบกัดดูดเลือดคนเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมโดยเริ่มกัดตั้งแต่เช้ามืดจนถึงพลบค่ำรวมทั้งในเวลากลางคืนด้วย ทั้งนี้ยุงลายบ้านมีอัตราการกัดสูงสุดในฤดูร้อน ในขณะที่ยุงลายสวนมีอัตราการกัดสูงสุดในฤดูหนาว จากการศึกษาอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีของยุงทั้งสองชนิดในธรรมชาติ พบว่ายุงลายบ้านมีอัตราการติดเชื้อไวรัสเดงกีมากกว่ายุงลายสวน และตรวจพบเชื้อไวรัสเดงกีได้ในลูกน้ำยุงและยุงเพศผู้ นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อไวรัสเดงกีสองซีโรทัยป์ภายในยุงตัวเดียวกัน ทั้งในยุงลายบ้านและยุงลายสวนอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผชช.สุรภี อนันตปรีชา และเจ้าหน้าที่ฝ่ายอาชีวไวรัส สำหรับข้อมูลซีโรทัยป์ของเชื้อไวรัสในผู้ป่วย และเจ้าหน้าที่ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข สำหรับการออกสำรวจและเก็บตัวอย่างภาคสนาม รวมถึงเจ้าหน้าที่จากสำนักงานป้องกันควบคุมโรคและสำนักงานสาธารณสุขจังหวัด ที่ช่วยประสานงานการเก็บตัวอย่างในพื้นที่วิจัย และขอขอบคุณ ผทว.ปรางณี ขวลิตรำรง ผชช.นพพร อนันตสินกุล และคุณอารีรัตน์ ส่งแสง ที่ได้ให้คำแนะนำตลอดจนตรวจแก้ผลงาน

เอกสารอ้างอิง

- Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. Clin Microbiol Rev 1998; 11(3): 480-96.
- Strickman D, Kittayapong P. Dengue and its vectors in Thailand: introduction to the study and seasonal distribution of Aedes larvae. Am J Trop Med Hyg 2002; 67(3): 247-59.
- Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. Trends Microbiol 2002; 10(2): 100-3.
- Capeding MR, Tran NH, Hadinegoro SR, Ismail HI, Chotpitayasunondh T, Chua MN, et al. Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3, randomised, observer-masked, placebo-controlled trial. Lancet 2014; 384(9951): 1358-65.
- ดวงพร ศรีสวัสดิ์, ชัยวัฒน์ วาศศิริ, บรรณาธิการ. คู่มือการป้องกันและควบคุมโรคไข้เลือดออกสำหรับองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น. นนทบุรี : กลุ่มโรคไข้เลือดออก สำนักโรคติดต่ออันตรายโดยแมลง กระทรวงสาธารณสุข; 2551.
- Arunachalam N, Tana S, Espino F, Kittayapong P, Abeyewickreme W, Wai KT, et al. Eco-bio-social determinants of dengue vector breeding: a multicountry study in urban and periurban Asia. Bull World Health Organ 2010; 88(3): 173-84.
- Rueda LM. Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with dengue virus transmission. Zootaxa 2004; 589: 1-60.
- Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1992, 30(3): 545-51.
- Thavara U, Tawatsin A, Pengsakul T, Bhakdeenuan P, Chanama S, Anantapreecha S, et al. Out-break of chikungunya fever in Thailand and virus detection in field population of vector mosquitoes, *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). Southeast Asian J Trop Med Public Health 2009; 40(5): 951-62.
- Thavara U, Tawatsin A, Chansang C, Kong-ngamsuk W, Paosriwong S, Boon-Long J, et al. Larval occurrence, oviposition behavior and biting activity of potential mosquito vectors of dengue on Samui Island, Thailand. J Vector Ecol 2001; 26(2): 172-80.
- Wongkoon S, Jaroensutasinee M, Jaroensutasinee K. Climatic variability and dengue virus transmission in Chiang Rai, Thailand. Biomedica 2011; 27: 5-13.
- Wang WK, Chao DY, Lin SR, King CC, Chang SC. Concurrent infections of two dengue virus serotypes among dengue patients in Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2003; 36(2): 89-95.
- Thavara U, Siriyasatien P, Tawatsin A, Asavadachanukorn P, Anantapreecha S, Wongwanich R, et al. Double infection of heteroserotypes of dengue viruses in field populations of *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and serological features of dengue viruses found in patients in southern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006; 37(3): 468-76.

14. Chompoosri J, Thavara U, Tawatsin A, Anantapreecha S, Siriyasatien P. Seasonal monitoring of dengue infection in *Aedes aegypti* and serological feature of patients with suspected dengue in 4 central provinces of Thailand. Thai J Vet Med 2012; 42(2): 185-93.
 15. Watts DM, Burke DS, Harrison BA, Whitmire RE, Nisalak A. Effect of temperature on the vector efficiency of *Aedes aegypti* for dengue 2 virus. Am J Trop Med Hyg 1987; 36(1): 143-52.
 16. Russell RC. Mosquito-borne arboviruses in Australia: the current scene and implications of climate change for human health. Int J Parasitol 1998; 28(6): 955-69.
 17. Karim MN, Munshi SU, Anwar N, Alam MS. Climatic factors influencing dengue cases in Dhaka city: a model for dengue prediction. Indian J Med Res 2012; 136(1): 32-9.
 18. Reiter P. Climate change and mosquito-borne disease. Environ Health Perspect 2001; 109(Suppl 1): 141-61.
 19. Yasuno M, Tonn RJ. A study of biting habits of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand. Bull World Health Organ 1970; 43(2): 319-25.
-

Biology of Dengue Vectors and Serotypes of Dengue Virus in infectious Cycle in Thailand

Usavadee Thavara* Payu Bhakdeenuan* Apiwat Tawatsin*
 Jakkrawarn Chompoosri* Chayada Khumsawads* Yuttana Phusup*
 Atchara Phumee** Theerakamol Pengsakul*** Padet Siriyasatien**
 Somchai Sangkitporn*

* National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

** Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

*** Faculty of Medical Technology, Prince of Songkla University, Songkhla 90110, Thailand.

Running title: *Biology of Dengue Vectors and Serotypes of Dengue Virus*¹

ABSTRACT Biological studies on dengue vectors, *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* and prevalence of dengue viruses found in both species were carried out in 25 provinces of Thailand. Both vectors were usually found in all provinces; however, *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* could be found up to 1,509 and 1,928 meters above sea level, respectively. It was found that the biting rhythm of dengue vectors was different from previous studies. Both species frequently fed on humans during daytime from dawn to dusk, but they sometimes also seek for blood meal at night. Biting rates of *Ae. aegypti* were high in summer while those of *Ae. albopictus* were in winter. The semi-nested RT-PCR technique was used to detect dengue virus in both species to demonstrate prevalence of the virus in mosquito vectors. It was found that 4 serotypes of dengue viruses were detected in both vector collected from 25 provinces. The prevalence of each serotype of dengue viruses found in each vector varied from province to province, while the infection rates in *Ae. aegypti* were higher than those of *Ae. albopictus*. Occurrence of dengue viruses found in larvae and adult male mosquitoes reveals the role of transovarial transmission of dengue viruses in field populations of the vectors and elucidates circulation of dengue viruses in vectors in endemic areas. Double infections of two serotypes of dengue viruses were also detected in individual *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. The incidence of multi-serotypes of dengue viruses found in field populations of both vectors in the same areas is suspected to initiate epidemic of dengue fever. Therefore, it needs to get rid of larval breeding places and personal protection from mosquito bites.

Key words: *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, Biology, Dengue infection rate