วารสารวิชาการสาธารณสุข
ปีที่ 31 ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน - ธันวาคม 2565

Journal of Health Science
Vol. 31 No. 6, November - December 2022

นิพนธ์ต้นฉบับ *Original article*

นวัตกรรมการเฝ้าระวังเชื้อไวรัสเด็งกี่ ไวรัสชิคุนกุนยา และไวรัสซิกาในยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* และยุงลายสวน *Aedes albopictus*

สุรชาติ โกยดุลย์ ปร.ด. (ชีววิทยา), วท.ม. (โรคติดเชื้อและระบาดวิทยา), ส.บ. (สาธารณสุขศาสตร์), ส.บ. (บริหารสาธารณสุข)
สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช

วันรับ: 4 พ.ย. 2564
วันแก้ไข: 8 ส.ค. 2565
วันตอบรับ: 18 ส.ค. 2565

บทคัดย่อ การวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) ประเมินประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อไวรัสเด็งกี่ ไวรัสชิคุนกุนยา และไวรัสซิกาในระดับโมเลกุลในยุงลายพาหะนำโรคด้วยวิธีอาร์ทีพีซีอาร์ และ (2) วิเคราะห์แหล่งแพร่เชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดในพื้นที่ศึกษา เก็บตัวอย่าง pool ของยุงลาย สำรวจอาคารบ้านเรือน และนิเวศวิทยา ระหว่างเดือนสิงหาคมถึงกันยายน 2560 ประกอบด้วย 6 พื้นที่เสี่ยงสูงต่อโรคไข้เลือดออก ได้แก่ (1) หมู่ 2 และ หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี (2) ตำบลกะทู้ อำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต และ (3) ตำบลกะไหล อำเภอตะกั่วทุ่ง จังหวัดพังงา ดำเนินการสำรวจอาคารบ้านเรือน และนิเวศวิทยาอย่างน้อยพื้นที่ละ 200 หลัง โดยใช้แบบสำรวจและบันทึกตำแหน่งอาคารบ้านเรือน โดยใช้เครื่องวัดพิกัด GPS และเก็บตัวอย่าง pool ของยุงลายพื้นที่ละ 100 pools โดยใช้เครื่องดูดยุง เพื่อทำการสกัดอาร์เอ็นเอและใช้เป็นแม่พิมพ์ในการตรวจอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัสเด็งกี่ ไวรัสชิคุนกุนยา และไวรัสซิกา เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมบวกและตัวอย่างควบคุมลบ โดยใช้วิธี RT-PCR ผลการวิจัยพบการติดเชื้อร่วมระหว่างเชื้อไวรัสเด็งกี่ ซีโรไทป์ 1, 2 และ 3 กับเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในตัวอย่าง pool ของยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* จำนวน 1 pool (ร้อยละ 1.0) ซึ่งเก็บได้จากพื้นที่ศึกษาจังหวัดสุราษฎร์ธานี และพบการติดเชื้อไวรัสเด็งกี่ ซีโรไทป์ 1 ในตัวอย่าง pool ของยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* จำนวน 1 pool (ร้อยละ 1.0) ซึ่งเก็บได้จากพื้นที่ศึกษาจังหวัดภูเก็ต สำหรับพื้นที่ศึกษาจังหวัดพังงา ไม่พบการติดเชื้อไวรัสชนิดใดเลยในตัวอย่าง pool ของยุงลายบ้าน ในขณะที่ ไม่พบการติดเชื้อไวรัสชนิดใดเลยในตัวอย่าง pool ของยุงลายสวน *Ae. albopictus* ซึ่งเก็บได้เฉพาะจากพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานีเท่านั้น เทคนิค RT-PCR มีความไวและความจำเพาะสูงเพื่อตรวจเชื้อไวรัสเด็งกี่ ไวรัสชิคุนกุนยา และไวรัสซิกา ในตัวอย่าง pool ของยุงลาย และสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการประเมินระบาดวิทยาโดยตรง เพื่อวิเคราะห์แหล่งที่มาของการแพร่กระจายไวรัสเด็งกี่และไวรัสชิคุนกุนยาในยุงลาย ในรัศมี 100 เมตร จากบ้านที่พบยุงลายติดเชื้อในพื้นที่ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี และเช่นเดียวกันกับการแพร่กระจายไวรัสเด็งกี่ในยุงลาย ในรัศมี 100 เมตร จากบ้านที่พบยุงลายติดเชื้อในพื้นที่ตำบลกะทู้ อำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต โดยอาศัยข้อมูลสารสนเทศภูมิศาสตร์ ข้อมูลระบาดวิทยา ข้อมูลกีฏวิทยา และข้อมูลการสำรวจอาคารบ้านเรือน นวัตกรรมการเฝ้าระวังทางกีฏวิทยาและไวรัสวิทยานี้ มีประโยชน์ในการระบุการแพร่ของไวรัสเด็งกี่ ไวรัสชิคุนกุนยา และไวรัสซิกาได้ตั้งแต่แรกเริ่ม และควบคุมพาหะนำโรคได้ทันเวลาและตรงพื้นที่เป้าหมาย

คำสำคัญ: **ไวรัสเด็งกี่; ไวรัสชิคุนกุนยา; ไวรัสซิกา; ยุงลายบ้าน; ยุงลายสวน; อาร์ทีพีซีอาร์**

บทนำ

ไวรัสเด็งกี่ (dengue virus: DENV) ไวรัสชิคุนกุนยา (chikungunya virus: CHIKV) และไวรัสซิกา (Zika virus: ZIKV) เป็นเชื้อ Arboviruses ซึ่งมีสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอเส้นเดี่ยว (positive single-stranded RNA) ก่อให้เกิดโรคติดต่อที่นำโดยยุงลาย (*Aedes* borne communicable diseases) ได้แก่ โรคไข้เลือดออก โรคไข้ปวดข้อยุงลาย และโรคติดเชื้อไวรัสซิกา ตามลำดับ การแพร่กระจายของเชื้ออาร์โบไวรัสเหล่านี้ มีคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็นโฮสต์ธรรมชาติ (natural hosts) และมียุงลายเป็นพาหะนำโรค พลวัตการแพร่กระจายเชื้ออาร์โบไวรัสดังกล่าวข้างต้นเกิดจากปัจจัยด้านต่าง ๆ ได้แก่ การตั้งถิ่นฐานประชากร การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นประชากร การเคลื่อนย้ายประชากร สัตว์ที่มีคุณสมบัติเป็นโฮสต์ต่างกัน (animal host preferences) การเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดินและสิ่งปกคลุมดิน (landscape changes: land use and land cover) พลวัตประชากรยุงลายระหว่างลายบ้าน *Aedes aegypti* และยุงลายสวน *Aedes albopictus* และการดื้อต่อสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลายพาหะนำโรค (insecticide resistance in *Aedes* vectors)[1-3]

โรคติดต่อนำโดยยุงลายที่เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ โรคไข้เลือดออก โรคไข้ปวดข้อยุงลาย และโรคติดเชื้อไวรัสซิกา โรคไข้เลือดออกมีรายงานผู้ป่วยครั้งแรกในประเทศไทย เมื่อ พ.ศ. 2492 พบผู้ป่วยประปรายมาจนกระทั่งเกิดการระบาดใหญ่ในกรุงเทพมหานครครั้งแรกใน พ.ศ. 2501 หลัง พ.ศ. 2510 เป็นต้นมา โรคไข้เลือดออกมีการแพร่กระจายในวงกว้าง ลักษณะการระบาดมักจะระบาดแบบปีเว้นสองปีหรือปีเว้นปี แนวโน้มของจำนวนผู้ป่วยในระยะยาวสูงขึ้นตลอดมา พบผู้ป่วยได้ทุกเดือนตลอดทั้งปี นอกฤดูกาลระบาดยังคงพบผู้ป่วย 500 – 1,000 รายต่อเดือน และอาจสูงมากถึง 20,000 – 30,000 ราย ในช่วงที่การระบาด[4] โรคไข้ปวดข้อยุงลายพบกระจายเป็นกลุ่มก้อนในหลายจังหวัดของประเทศไทย พบผู้ป่วยได้ทุกเดือนตลอดทั้งปี สถานการณ์การระบาดตั้งแต่ พ.ศ. 2560 พบเหตุการณ์การระบาดสูงสุด พ.ศ. 2562 จำนวน 52 เหตุการณ์ ผู้ป่วยสะสม ตั้งแต่ 1 มกราคม – 25 พฤษภาคม 2565 จำนวน 94 ราย คิดเป็นอัตราป่วย 0.14 ต่อประชากรแสนคน[5] โรคติดเชื้อไวรัสซิกา ในประเทศไทยมีรูปแบบการระบาดไม่แน่นอน พบการระบาดหนัก พบผู้ป่วยสูงสุดในปี พ.ศ. 2559 จำนวน 1,121 ราย สถานการณ์โรครายเดือนในปี พ.ศ. 2564 และ พ.ศ. 2565 (ถึงเดือนมิถุนายน 2565) พบว่า ทุกเดือนมีจำนวนผู้ป่วยต่ำกว่าค่ามัธยฐานย้อนหลัง 5 ปี[6] สถานการณ์การระบาดของโรคติดต่อนำโดยยุงลายทั้งสามโรคดังกล่าวข้างต้น ในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ภูเก็ต และพังงา มีรูปแบบการระบาดเหมือนกับภาพรวมของประเทศไทย[7]

การดำเนินการเฝ้าระวังโรคติดต่อนำโดยยุงลายในประเทศไทยใช้ระบบการเฝ้าระวังเชิงรับ (passive surveillance) เป็นหลัก ซึ่งผู้ให้บริการตามสถานบริการสาธารณสุข ทำการบันทึกข้อมูลตามบัตรรายงานเมื่อพบโรคและปัญหาที่อยู่ในข่ายการเฝ้าระวัง ระบบการเฝ้าระวังเชิงรับนี้ ยังมีข้อจำกัด/โอกาสในการพัฒนาหลายประการ ได้แก่ ข้อมูลไม่ครบถ้วน ผู้ป่วยบางรายไม่มีอาการจึงไม่ได้รับการวินิจฉัยและไม่ได้เข้าสู่ระบบเฝ้าระวัง ผู้ป่วยส่วนน้อยที่มารักษาที่สถานบริการสาธารณสุข ผู้ป่วย/ผู้ติดเชื้อจำนวนมากที่อยู่ในชุมชนไม่ได้มารักษา หรืออาจมีข้อจำกัดในระบบบริการสาธารณสุข หรือบางพื้นที่ยังไม่มีระบบเฝ้าระวังโรคที่มีประสิทธิภาพมากนัก[8] ด้วยข้อจำกัดดังกล่าว ทำให้การระบาดของโรคสามารถกระจายไปในวงกว้าง ยากต่อการป้องกันควบคุม และต้องใช้ทรัพยากรจำนวนมากในการควบคุมโรคให้สำเร็จแต่ละครั้ง

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อก่อโรคของสัตว์มีกระดูกสันหลังโดยใช้ตัวอย่างยุง (xenosurveillance)[9-11] เป็นการเฝ้าระวังที่สามารถตรวจจับเชื้อก่อโรคในยุงพาหะนำโรคก่อนที่เกิดการระบาดของโรคในชุมชน ในปัจจุบันวิธีการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV ใน

ระดับโมเลกุลในยุงลายพาหะนำโรค[4-6] ยังไม่ได้รับการพัฒนาเป็นวิธีมาตรฐานที่จะนำไปใช้เป็นเครื่องมือการประเมินทางระบาดวิทยาโดยตรง (direct epidemiological assessment tool) ในชุมชน เพื่อตรวจ จำแนก และติดตามตรวจหาเชื้ออาร์โบไวรัสทั้งสามชนิดในตัวอย่างยุงลาย *Ae. aegypti* และ *Ae. albopictus* ในพื้นที่แพร่โรคหรือพื้นที่เสี่ยงต่อการแพร่โรค ในขณะที่การดำเนินงานเฝ้าระวังและควบคุมพาหะนำโรค (vector surveillance and control) ในประเทศไทย ยังไม่มีวิธีการและแนวทางการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV ในยุงลาย *Aedes* vectors (*Ae. aegypti* และ *Ae. albopictus*) ในลักษณะ one-step diagnosis โดยใช้ตัวอย่าง RNA ของตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัยที่จับได้จากพื้นที่เสี่ยง (transmission risk area) หรือพื้นที่เฝ้าระวังโรค (sentinel site) ในช่วงก่อน ระหว่าง หรือหลังการระบาดของโรค อีกทั้ง ยังไม่มีวิธีการและแนวทางการสุ่มตัวอย่าง Pool ของยุงลายตัวเต็มวัยที่จับได้จากพื้นที่เสี่ยงหรือพื้นที่เฝ้าระวัง ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวแทนสำหรับการติดตามอัตราการติดเชื้อ (infection rate) และการแพร่เชื้อ (infectivity rate) ของเชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV ในยุงลาย *Aedes* vectors รวมถึง การแพร่กระจายเชื้อไวรัส (virus circulation) ทั้งสามในพื้นที่เสี่ยงหรือพื้นที่เฝ้าระวังโรค

ดังนั้น ผู้วิจัย จึงดำเนินการวิจัยครั้งนี้ โดยกำหนดวัตถุประสงค์ 2 ประการ ได้แก่ (1) ประเมินประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV ในระดับโมเลกุลในยุงลายพาหะนำโรค และ (2) วิเคราะห์แหล่งแพร่เชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV เพื่อที่นำไปสู่การพัฒนาคู่มือการตรวจเชื้ออาร์โบไวรัส การพัฒนาแนวทางเฝ้าระวังทางกีฏวิทยาสำหรับยุงลายพาหะนำโรค/การเฝ้าระวังโรคติดต่อนำโดยยุงลาย และถ่ายทอดนวัตกรรม/เทคโนโลยีสู่เครือข่ายบริการสุขภาพในเขตสุขภาพที่ 11 และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

วิธีการศึกษา

รูปแบบการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษากึ่งทดลอง (quasi-experimental study)

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ผู้วิจัยคำนวณประชากรคือจำนวนอาคารบ้านเรือนที่คาดว่าเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายทั้งสองสปีชีส์ในพื้นที่เขตเมือง จำนวนประชากรหลังคาเรือนทั้งหมด 39,420 หลัง (N) จากพื้นที่ศึกษาสามจังหวัดได้แก่ จังหวัดสุราษฎร์ธานี จังหวัดภูเก็ต และจังหวัดพังงา เพื่อกำหนดขนาดตัวอย่าง (n) จากการสุ่มแบบหลายขั้นตอน[12] คำนวณจากสูตร

$$n = \frac{Z^2_{\alpha/2} . N\, pq}{Z^2_{\alpha/2} . pq + (N-1)d^2} \times DesignEffect$$

n = ขนาดตัวอย่างของอาคาร/ครัวเรือน

Z = ค่าสถิติมาตรฐานใต้โค้งปกติ ที่สอดคล้องกับระดับนัยสำคัญ (0.05) = 1.96

p = อัตราการแพร่พันธุ์ยุงลายพาหะนำโรคในพื้นที่เขตเมืองของพื้นที่ศึกษา = 0.494

q = 1 − p

d = ความผิดพลาดที่ยอมรับได้ (5.0%)

Design Effect = อัตราส่วนของความแปรปรวนระหว่างการสุ่มแบบกลุ่มและสุ่มอย่างง่าย (=1.5)

ขนาดตัวอย่างของอาคาร/บ้านเรือนที่คาดว่าจะเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงลายทั้งสองสปีชีส์ในพื้นที่เขตเมือง (n) = 380.4 × 1.5 ≈ 570.6

จากการคำนวณขนาดตัวอย่างที่กล่าวไว้ข้างต้น ผู้วิจัยเก็บข้อมูลในกลุ่มตัวอย่างอาคาร/บ้านเรือนที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ยุงลายทั้งสองสปีชีส์ในพื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัด จำนวนไม่น้อยกว่า 600 หลัง โดยสุ่มเลือกอาคารบ้านเรือนจากแต่ละพื้นที่ศึกษาระดับหมู่บ้าน/ชุมชนไม่น้อยกว่า 200 หลัง

กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาและพื้นที่ศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาในการวิจัยครั้งนี้ หมายถึง กลุ่มตัวอย่างอาคารบ้านเรือน และกลุ่มตัวอย่างยุงลายเกาะพักในอาคารบ้านเรือน ซึ่งใช้เป็นหน่วยการวิเคราะห์ สามารถแบ่งออกเป็น 3 ระดับ ได้แก่

ระดับที่ 1 หน่วยวิเคราะห์ระดับพื้นที่

พื้นที่ศึกษาระดับหมู่บ้านหรือชุมชนของแต่ละจังหวัด ได้แก่ (1) หมู่ 2 และ หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี (2) ชุมชนเก็ตโฮ่ และชุมชนตากแดด ตำบลกะทู้ อำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต และ (3) หมู่ 2 และหมู่ 9 ตำบลกะไหล อำเภอตะกั่วทุ่ง จังหวัดพังงา

ระดับที่ 2 หน่วยวิเคราะห์ระดับครัวเรือน (household level)

หน่วยวิเคราะห์ระดับครัวเรือน หมายถึง อาคารบ้านเรือนที่สำรวจยุงลายเกาะพักในบ้านในแต่ละพื้นที่ศึกษาระดับหมู่บ้านหรือชุมชน อาคารบ้านเรือนทุกหลัง ดำเนินการเก็บรวบรวมตัวอย่างยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน การสำรวจยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน สภาพนิเวศวิทยาและสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ จำนวนอาคารบ้านเรือนที่ทำการสำรวจทั้งหมด 691 หลัง แบ่งเป็นอาคารบ้านเรือนที่ทำการสำรวจในพื้นที่ศึกษาแต่ละหมู่บ้านหรือชุมชน ได้แก่

1) หมู่ 2 จำนวน 123 หลัง และหมู่ 6 จำนวน 105 หลัง ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี รวมจำนวน 228 หลัง

2) ชุมชนเก็ตโฮ่ จำนวน 158 หลัง และชุมชนตากแดด จำนวน 76 หลัง ตำบลกะทู้ อำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต รวมจำนวน 234 หลัง

3) หมู่ 2 จำนวน 117 หลัง และ หมู่ 9 จำนวน 112 หลัง ตำบลกะไหล อำเภอตะกั่วทุ่ง จังหวัดพังงา รวมจำนวน 229 หลัง

อาคารบ้านเรือนที่สำรวจยุงลายเกาะพักในบ้านในแต่ละพื้นที่ศึกษาระดับหมู่บ้าน นำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อบ่งชี้อาคารบ้านเรือนที่เป็นแหล่งแพร่พันธุ์ยุงลาย (*Aedes*-infested household) โดยใช้ค่าดัชนีทางกีฏวิทยาสำหรับการประเมินแหล่งแพร่พันธุ์ยุงลาย และวิเคราะห์แหล่งแพร่เชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV

ระดับที่ 3 หน่วยวิเคราะห์ระดับ Pool ยุงลาย (*Aedes* pool level)

หน่วยวิเคราะห์ระดับ Pool ยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน หมายถึง ตัวอย่าง Pool ของจำนวนยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน ที่จับได้จากอาคารบ้านเรือนที่สำรวจพบยุงลายตัวเต็มวัยในแต่ละหลัง จำแนกเป็นเพศเมียและเพศผู้ โดยตัวอย่างในทุก ๆ 1 Pool ประกอบด้วยยุงลายตัวผู้ จำนวน 5 ตัว และยุงลายตัวเมีย จำนวน 5 ตัว โดยไม่ได้คำนึงถึงชนิดของยุงลาย เพื่อทำการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV ด้วยวิธี RT-PCR

ชนิดการติดเชื้ออาร์โบไวรัส (Arboviral infection type) หมายถึง ตัวอย่าง Pool ของยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้านที่พบการติดเชื้อไวรัส DENV หรือ CHIKV หรือ ZIKV สามารถจำแนกเป็น 2 ลักษณะ ได้แก่ (1) การติดเชื้อชนิดเดียวของเชื้อไวรัส DENV หรือ CHIKV หรือ ZIKV และ (2) การติดเชื้อผสมของเชื้อไวรัส DENV หรือ CHIKV หรือ ZIKV สำหรับการติดเชื้อไวรัส DENV ในที่นี้ ได้ทำการจำแนกการติดเชื้อไวรัส DENV ชนิดเดียวของซีโรไทป์ DENV-1, DENV-2, DENV-3 หรือ DENV-4 รวมถึงการติดเชื้อซีโรไทป์ผสมของเชื้อไวรัส DENV

ตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัยที่ให้ผลบวกด้วยวิธี RT-PCR (RT-PCR positive Pool) หมายถึง ตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน ที่ให้ผลบวกด้วยวิธี RT-PCR โดยที่จำนวนยุงลายตัวเต็มวัยอย่างน้อย 1 ตัว ในตัวอย่างหนึ่ง pool ไม่ว่าเป็นเพศเมีย หรือเพศผู้ หรือทั้งสองเพศมีการติดเชื้อไวรัสชนิดใดชนิดหนึ่ง ไม่ว่าจะเป็น DENV, CHIKV หรือ ZIKV หรืออาจมีการติดเชื้อผสม

ตัวอย่าง Pool ของยุงลายตัวเต็มวัยที่ให้ผลลบด้วยวิธี RT-PCR (RT-PCR negative pool) หมายถึง ตัวอย่าง Pool ของยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน ที่ให้ผลลบด้วยวิธี RT-PCR โดยที่ไม่มีจำนวนยุงลายตัวเต็มวัยตัวใดเลย

ในตัวอย่างหนึ่ง pool ไม่ว่าเป็นเพศเมีย หรือเพศผู้ หรือทั้งสองเพศไม่มีการติดเชื้อไวรัสชนิดใดชนิดหนึ่ง ไม่ว่าจะเป็น DENV, CHIKV หรือ ZIKV

ค่าความไว (sensitivity) หมายถึง ค่าความไวของวิธีการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV, CHIKV หรือ ZIKV ด้วยวิธี RT-PCR โดยที่ ปริมาณจีโนมของเชื้อไวรัสที่น้อยที่สุดที่สามารถตรวจได้ในตัวอย่างหนึ่ง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย

ค่าความจำเพาะ (specificity) หมายถึง ค่าความจำเพาะของวิธีการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV, CHIKV หรือ ZIKV ด้วยวิธี RT-PCR โดยที่ จีโนมของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อปรสิต หรือน้ำกลั่น ในตัวอย่างหนึ่ง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย ให้ผลลบด้วยวิธี RT-PCR

การวิเคราะห์การติดเชื้อไวรัสเด็งกี่ ไวรัสชิคุนกุนยา และไวรัสซิกาในระดับโมเลกุล

การเตรียมอาร์เอนเอของตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย

ทำการสกัดอาร์เอ็นเอจากตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัยด้วยชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป QIAamp Viral RNA Mini Kit หรือ QIAamp MinElute Virus Spin Kit ตัวอย่างอาร์เอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย ได้ถูกนำไปวิเคราะห์คุณภาพและปริมาณ และเก็บไว้ที่ -80 °C จนกว่าทำการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นด้วยวิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธี RT-PCR

ทำการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธี RT-PCR ที่มีความไวและความจำเพาะสูงสำหรับการตรวจอาร์เอ็นเอ (RNA) ของเชื้อไวรัส DENV โดยใช้ primers ที่มีความจำเพาะและเทคนิควิธีการ RT-PCR ที่พัฒนาโดย Lanciotti RS และคณะ[13,14] สำหรับ RNA ของเชื้อไวรัส CHIKV ใช้ primers ที่มีความจำเพาะ และเทคนิควิธีการ RT-PCR ที่พัฒนาโดย Hamel และคณะ[15] และ Lanciotti และคณะ[16] และสำหรับ RNA ของเชื้อไวรัส ZIKV ใช้ primers ที่มีความจำเพาะซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ในที่นี้ RNA ของเชื้อไวรัส DENV ที่เตรียมได้จากวิธีการเลี้ยงเชื้อไวรัส ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยหรือยุงลายติดเชื้อนั้น ได้นำมาใช้เป็นตัวอย่างควบคุมบวก (positive control หรือ gold standard) ตลอดการศึกษา

การวิเคราะห์ผลผลิตหรือชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากวิธี RT-PCR

ทำการวิเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มีขนาดจำเพาะต่อเชื้อ DENV, CHIKV และ ZIKV โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูปและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง RT-PCR ของบริษัท BIO-RAD

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลด้านสภาพภูมิทัศน์ สภาพภูมิศาสตร์ และสภาพนิเวศวิทยาสิ่งแวดล้อมของอาคารบ้านเรือน ข้อมูลกีฏวิทยาของยุงลายเกี่ยวกับความชุกของอาคารบ้านเรือนที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ยุงลาย และความหนาแน่นยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในอาคารบ้านเรือน ข้อมูลนิเวศวิทยาของยุงลายตัวเต็มวัย และปัจจัยทางนิเวศวิทยาที่สัมพันธ์กับการสัมผัสระหว่างคนและยุงลาย ข้อมูลเหล่านี้ทำการเก็บรวบรวมในระหว่างการสำรวจยุงลายตัวเต็มวัย ตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2559 จนถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2560 โดยทีมสหสาขาวิชา ซึ่งประกอบด้วย หัวหน้าทีม นักกีฏวิทยา เจ้าหน้าที่สนามสำรวจอาคารบ้านเรือนและสิ่งแวดล้อม และอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน (อสม.) ทีมสหสาขาวิชา ได้รับการอบรมการเก็บรวบรวมข้อมูล โดยใช้วิธีการ กระบวนการ และเครื่องมือต่างๆ ที่พัฒนาขึ้นโดยผู้วิจัย

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์การติดเชื้อไวรัส DENV, CHIKV หรือ ZIKV ในกลุ่มตัวอย่าง pool ของยุงลาย และประสิทธิภาพของวิธีการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV, ZIKV หรือ CHIKV

สำหรับค่าประมาณการติดเชื้อไวรัส DENV, CHIKV หรือ ZIKV ในกลุ่มตัวอย่าง pool ของยุงลาย จำแนกตามพื้นที่ศึกษานั้น ใช้อัตราการติดเชื้อไวรัส และ 95%CI สำหรับค่าคาดประมาณแบบช่วง สำหรับประสิทธิภาพของ

วิธีการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV, ZIKV หรือ CHIKV ใช้การคำนวณค่าความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) และค่าประสิทธิภาพ (accuracy)

การวิเคราะห์แหล่งแพร่เชื้อไวรัส (hotspot) และความเสี่ยงต่อการแพร่โรคติดต่อนำโดยยุงลาย

การวิเคราะห์ความเสี่ยงต่อการแพร่โรคติดต่อนำโดยยุงลาย ขึ้นอยู่กับโอกาสเสี่ยงที่เกิดจากการสัมผัสระหว่างคนและยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* vectors) ที่เกาะพักในบ้าน (*Aedes* indoor resting) ในกลุ่มอาคารบ้านเรือนที่พบยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้านในพื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัด ปัจจัยเสี่ยงต่อการแพร่โรคติดต่อนำโดยยุงลาย พิจารณาจากปัจจัยด้านโฮสท์ ได้แก่ ความหนาแน่นสมาชิกครัวเรือน ความหนาแน่นสมาชิกครัวเรือนที่เคยป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก โรคไข้ปวดข้อยุงลาย และปัจจัยด้านยุงลายพาหะนำโรค ได้แก่ ความหนาแน่นยุงลายบ้านและความหนาแน่นยุงลายบ้านเพศเมีย (*Aedes aegypti* adult females) สถิติที่ใช้ ได้แก่ การทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test) เพื่อทดสอบตัวแปรสองตัวแปรมีความสัมพันธ์หรือเป็นอิสระจากกัน โดยใช้ตาราง 2 X 2 หรือรูปแบบตารางอื่นขึ้นอยู่กับจำนวนกลุ่มของแต่ละตัวแปร ระดับนัยความเชื่อมั่น 95% สำหรับการคำนวณอัตราเสี่ยงสัมพันธ์ (relative risk) หรือ Odds ratio ที่ และ 95% Confidence interval (CI) ใช้เพื่อวัดขนาดของความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร

จริยธรรมวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ ผ่านความเห็นชอบและอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข รหัสโครงการวิจัย 7/59-059 เลขที่อนุมัติ PWA 00013622 เมื่อวันที่ 22 กรกฎาคม 2559

ผลการศึกษา

ความชุกของอาคารบ้านเรือนที่เป็นแหล่งแพร่พันธุ์ยุงลาย (*Aedes*-infested households)

การสำรวจยุงลายตัวเต็มวัยในอาคารบ้านเรือนในการศึกษานี้ ได้สำรวจอาคารบ้านเรือนรวมทั้งหมด 691 หลัง จากพื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัด ประกอบด้วย จังหวัดสุราษฎร์ธานี รวม 228 หลัง จังหวัดภูเก็ต รวม 234 หลัง และจังหวัดพังงา รวม 229 หลัง ความชุกของอาคารบ้านเรือนที่เป็นแหล่งแพร่พันธุ์ยุงลาย (*Aedes*-infested households) พิจารณาจากอัตราการเกาะพักของยุงลายในอาคารบ้านเรือน (*Aedes* indoor resting rate หรือ AIR) เท่ากับ ร้อยละอาคารบ้านเรือนที่สำรวจพบยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน ซึ่งใช้เป็นดัชนีทางกีฏวิทยาสำคัญ การสำรวจยุงลายตัวเต็มวัยในอาคารบ้านเรือนในพื้นที่ศึกษาทั้ง 3 จังหวัด พบว่า AIR ของจังหวัดสุราษฎร์ธานี มีแนวโน้มสูงกว่าจังหวัดภูเก็ต และจังหวัดพังงา (ตารางที่ 1) จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีอาคารบ้านเรือนที่พบยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน จำนวน 168 หลัง คิดเป็นร้อยละ 73.7 จังหวัดภูเก็ต มีอาคารบ้านเรือนที่พบยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน จำนวน 158 หลัง คิดเป็นร้อยละ 67.5 จังหวัดพังงา มีอาคารบ้านเรือนที่พบยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน จำนวน 130 หลัง คิด

ตารางที่ 1 ความชุกของอาคารบ้านเรือนที่สำรวจพบยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน จำแนกตามพื้นที่ศึกษา

พื้นที่ศึกษา	อาคารบ้านเรือนที่สำรวจ (จำนวนหลัง)	อาคารบ้านเรือนที่พบยุงลายตัวเต็มวัย		อาคารบ้านเรือนที่ไม่พบยุงลายตัวเต็มวัย		p-value*
		จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ	
จังหวัดสุราษฎร์ธานี	228	168	73.7	60	26.3	0.001
จังหวัดภูเก็ต	234	158	67.5	76	32.5	
จังหวัดพังงา	229	130	56.8	99	43.2	
รวม	691	456	66.0	235	34.0	

เป็นร้อยละ 56.8 เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเกาะพักของยุงลายในอาคารบ้านเรือน (AIR) ระหว่างพื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัด พบว่า อัตราการเกาะพักของยุงลายในอาคารบ้านเรือน (AIR) ระหว่างพื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 14.94$, df = 2, P = 0.001) (ตารางที่ 1)

การติดเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ในตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย

ผลการศึกษาการติดเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ในตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย ในพื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัด พบว่า ตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย ในพื้นที่ศึกษาจังหวัดสุราษฎร์ธานีและจังหวัดภูเก็ตเท่านั้น ที่พบการติดเชื้อไวรัส DENV กล่าวคือ พบการติดเชื้อไวรัส DENV ในยุงลาย *Aedes* จำนวน 1 pool คิดเป็นร้อยละ 1.0 เท่ากันในทั้งสองพื้นที่ศึกษา ในขณะที่ไม่พบการติดเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ในพื้นที่ศึกษาจังหวัดพังงาเลย (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ การติดเชื้อไวรัส DENV ในตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย *Aedes* ในพื้นที่ศึกษาจังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นการติดเชื้อร่วมกับไวรัสชิคุนกุนยา (CHIKV)

ประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ไวรัสชิคุนกุนยา (CHIKV) และไวรัสซิกา (ZIKV) โดยใช้อาร์เอ็นเอแม่พิมพ์ของตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย ด้วยวิธี RT-PCR ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ไวรัสชิคุนกุนยา (CHIKV) และไวรัสซิกา (ZIKV)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ไวรัสชิคุนกุนยา (CHIKV) และไวรัสซิกา (ZIKV) โดยใช้อาร์เอ็นเอแม่พิมพ์ของตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย ด้วยวิธี RT-PCR ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ไวรัสชิคุนกุนยา (CHIKV) และไวรัสซิกา (ZIKV) พบว่า ประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด มีความจำเพาะ ความไว และประสิทธิภาพ เท่ากับ ร้อยละ 100.0 (ตารางที่ 3)

การวิเคราะห์แหล่งแพร่เชื้อไวรัส (Hotspot) และความเสี่ยงต่อการแพร่โรคติดต่อนำโดยยุงลาย

แหล่งแพร่เชื้อไวรัสในพื้นที่ศึกษา หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี จากการสำรวจอาคารบ้านเรือนที่พบยุงลายตัวเต็มวัย ในพื้นที่หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่ามีจำนวนอาคารบ้านเรือนที่พบยุงลาย *Ae. aegypti* ทั้งหมด 73 หลัง (ภาพที่ 1) หรือคิดเป็นร้อยละ 69.5 ของจำนวนอาคารบ้านเรือนทั้งหมด 105 หลังที่ทำการสำรวจ

เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่สัมพันธ์กับการแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV ในพื้นที่หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่าการแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV ในละแวกบ้านที่พบยุงลายติดเชื้อไวรัสในรัศมี 50.0 -100 เมตร มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปัจจัยด้าน

ตารางที่ 2 การติดเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ในตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย ในพื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัด

พื้นที่ศึกษา	จำนวนตัวอย่าง pool ของยุงลาย Aedes	การติดเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV)		p-value*
		จำนวน pool	ร้อยละ	
จังหวัดสุราษฎร์ธานี	100[a]	1[b]	1.0	1.000
จังหวัดภูเก็ต	100	1	1.0	
จังหวัดพังงา	100	0	0.0	
รวม	300	2	0.7	

หมายเหตุ: a รวม pool (n=1) ของยุงลายสวน *Ae. albopictus*

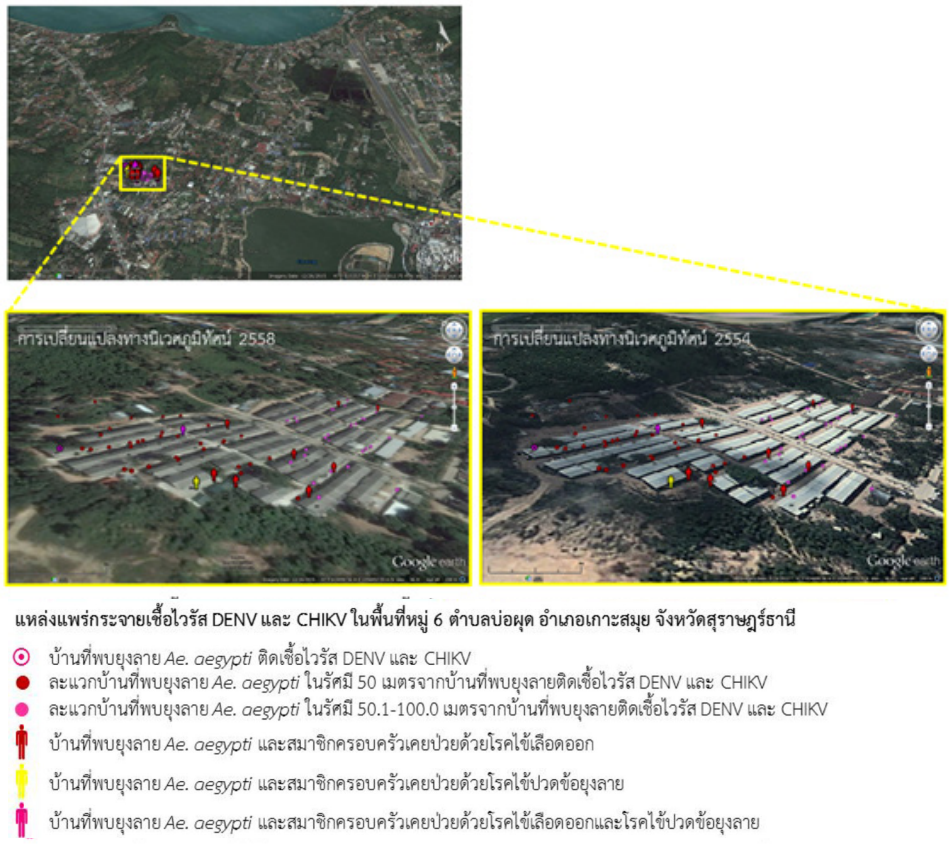
b pool ของยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ติดเชื้อร่วมกับไวรัสชิคุนกุนยา

* Fisher's Exact Test

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ไวรัสชิคุนกุนยา (CHIKV) และไวรัสซิกา (ZIKV) โดยใช้อาร์เอ็นเอแม่พิมพ์ของตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัย ด้วยวิธี RT-PCR ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสเด็งกี่ (DENV) ไวรัสชิคุนกุนยา (CHIKV) และไวรัสซิกา (ZIKV)

ชนิดไวรัส	ตัวอย่าง pool ของยุงลาย Aedes	การตรวจเชื้อไวรัสด้วยวิธี RT-PCR	ความจำเพาะ (%) (specificity)	ความไว (%) (sensitivity)	ประสิทธิภาพ (accuracy)
ไวรัส DENV	100	1	100	100	100
ไวรัส ZIKV	100	0	100	100	100
ไวรัส CHIKV	100	1	100	100	100

ภาพที่ 1 แหล่งแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV (hotspot) ในพื้นที่หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี



ความหนาแน่นยุงลาย (p=0.12) ความหนาแน่นประชากร (p=0.06) และสมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก (p<0.09) (ตารางที่ 4) และเมื่อพิจารณาถึงความเสี่ยงสัมพัทธ์ (relative risk หรือ risk ratio) พบว่า ละแวกบ้านที่พบยุงลาย *Ae. aegypti* ในรัศมี 50 – 100 เมตร มีปัจจัยที่ทำให้เกิดโอกาสเสี่ยงต่อการแพร่กระจายเชื้อไวรัส ได้แก่ ความหนาแน่นยุงลาย ≥3 ตัว มีโอกาสเสี่ยงเป็น 2.4 เท่า (95%CI=1.1–5.0) เมื่อเทียบกับความหนาแน่นยุงลาย < 3 ตัวต่อบ้าน ความหนาแน่นประชากร ≥3 คนต่อบ้าน มีโอกาสเสี่ยงเป็น 1.9 เท่า

ตารางที่ 4 ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV ในละแวกบ้านที่พบยุงลายติดเชื้อ (n = 39) ในพื้นที่หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี

ปัจจัย	อาคารบ้านเรือนที่พบยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน		p-value
	รัศมี 50.1 – 100.0 เมตร (n=24)	รัศมี 0 – 50.0 เมตร (n=15)	
	จำนวน (%)	จำนวน (%)	
ความหนาแน่นยุงลาย			0.012a
≥3 ตัว	19 (79.2)	5 (33.3)	
<3 ตัว	5 (20.8)	10 (66.7)	
ความหนาแน่นประชากร			0.065b
≥3 คนต่อบ้าน	18 (75.0)	6 (40.0)	
<3 คนต่อบ้าน	6 (25.0	9 (60.0)	
อายุเฉลี่ยของสมาชิกครอบครัว			0.196c
≥32 ปี	13 (54.2)	12 (80.0)	
<32 ปี	11 (45.8)	3 (20.0)	
สมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก			0.095d
มี	4 (16.7)	0 (0.0)	
ไม่มี	20 (83.3)	15 (100.0)	
สมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้ชิคุนกุนยา			0.251e
มี	2 (8.3)	0 (0.0)	
ไม่มี	22 (91.7)	15 (100)	

หมายเหตุ Yates' corrected chi-square สำหรับตัวแปรอันดับ: a χ^2 = 6.37, b χ^2 = 3.41 และ c χ^2 = 1.67
Contingency coefficient chi-square สำหรับตัวแปรเชิงกลุ่ม: d χ^2 = 0.26 และ e χ^2 = 0.18

(95%CI =1.0–3.6) เมื่อเทียบกับความหนาแน่นยุงลาย < 3 คนต่อบ้าน สมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก มีโอกาสเสี่ยงเป็น 1.8 เท่า (95%CI=1.3–2.3) เมื่อเทียบกับสมาชิกครอบครัวที่ไม่เคยมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก และสมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้ปวดข้อยุงลาย มีโอกาสเสี่ยงเป็น 1.7 เท่า (95%CI=1.3–2.2) เมื่อเทียบกับสมาชิกครอบครัวที่ไม่เคยมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้ปวดข้อยุงลาย (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ปัจจัยเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV ในละแวกบ้านที่พบยุงลายติดเชื้อ (n = 39) ในพื้นที่หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี

อาคารบ้านเรือนที่พบยุงลาย	อาคารบ้านเรือนที่อยู่ในรัศมี 50.0 – 100.0 เมตร ของ Hotspot จำนวน (%)	RR	95%CI
ความหนาแน่นยุงลาย			
≥3 ตัวต่อบ้าน	19 (79.2)	2.38	1.13–5.00
<3 ตัวต่อบ้าน	5 (33.3)		

ตารางที่ 5 ปัจจัยเสี่ยงที่สัมพันธ์กับการแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV ในละแวกบ้านที่พบยุงลายติดเชื้อ (n = 39) ในพื้นที่หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ต่อ)

อาคารบ้านเรือนที่พบยุงลาย	อาคารบ้านเรือนที่อยู่ในรัศมี 50.0 - 100.0 เมตร ของ Hotspot จำนวน (%)	RR	95%CI
ความหนาแน่นประชากร			
≥3 คนต่อบ้าน	18 (75.0)	1.88	1.00–3.63
<3 คนต่อบ้าน	6 (40.0)		
อายุเฉลี่ยของสมาชิกครอบครัว			
≥32 ปี	13 (52.0)	0.662	0.42–1.05
<32 ปี	11 (78.6)		
สมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก			
มี	4 (16.7)	1.75	1.31–2.33
ไม่มี	10 (83.3)		
สมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้ปวดข้อยุงลาย			
มี	2 (8.3)	1.68	1.29–2.19
ไม่มี	12 (91.7)		

วิจารณ์

พื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัด เป็นพื้นที่ที่มีการพัฒนาการใช้ประโยชน์ที่ดินแบบผสมผสาน (Mix-use development) แต่การใช้ประโยชน์ที่ดินและสิ่งปกคลุมดินนั้นแตกต่างกัน พื้นที่ศึกษาตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี พื้นที่ศึกษาตำบลกะทู้ อำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต และพื้นที่ศึกษาตำบลกะไหล อำเภอตะกั่วทุ่ง จังหวัดพังงา ต่างก็พัฒนาพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ชุมชนและสิ่งปลูกสร้าง ร่วมกับพื้นที่เกษตรกรรม พื้นที่น้ำ พื้นที่เบ็ดเตล็ด และพื้นที่ป่าไม้ แต่พื้นที่ศึกษาตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี พื้นที่ศึกษาตำบลกะทู้ อำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต มีการกระจายของอาคารบ้านเรือนในพื้นที่ชุมชนพักอาศัยหนาแน่นปานกลาง ในขณะที่พื้นที่ศึกษาตำบลกะไหล อำเภอตะกั่วทุ่ง จังหวัดพังงา มีการกระจายของอาคารบ้านเรือนในพื้นที่ชุมชนพักอาศัยหนาแน่นน้อยกว่า แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อสำรวจยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้านระหว่างพื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัด การกระจายอาคารบ้านเรือนที่พบยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน มีการกระจายเป็นกลุ่มก้อน ซึ่งสอดคล้องกับชีวนิสัยของยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) กล่าวคือ ยุงลายบ้าน ชอบวางไข่ตามภาชนะรองรับน้ำในบ้านและรอบบ้าน มีระยะบินในการออกหากินเลือดและแหล่งเกาะพักเป็นช่วงสั้น ๆ มากกว่าช่วงยาว จึงไม่น่าแปลกใจว่า ทำไมระยะห่างระหว่างอาคารบ้านเรือนที่พบยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้านจึงใกล้กันมาก ข้อค้นพบนี้ ชี้ให้เห็นว่าพื้นที่ชุมชนพักอาศัย อาจเป็นปัจจัยกำหนดสำคัญอย่างหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อพลวัตประชากรยุงลาย และการแพร่พันธุ์ของยุงลาย[1-3]

วิธี PCR ที่ใช้ในการศึกษานี้ มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV ในตัวอย่าง pool ของยุงตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้านของยุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) ซึ่งใช้เป็นอาร์เอ็นเอแม่พิมพ์ในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV วิธี RT-PCR ดังกล่าว มีค่าความ

จำเพาะ (specificity) ร้อยละ 100 ในการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV โดยให้ผลบวกกับตัวอย่างควบคุมบวกหรือไม่ให้ผลบวกปลอมกับตัวอย่างควบคุมลบ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาอื่น ๆ[9,11,17] ในทำนองเดียวกัน วิธี RT-PCR มีค่าความไว (sensitivity) และค่าความถูกต้อง (accuracy) ร้อยละ 100 ในการตรวจหาเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV ข้อค้นพบนี้ ชี้ให้เห็นว่าวิธี RT-PCR เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจหาเชื้อไวรัสดังกล่าวในตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน โดยใช้ตัวอย่างอาร์เอ็นเอจากยุงลายตัวเต็มวัย (RNA load of *Ae. aegypti* adults) จำนวน 10 ตัว

จากการพบการติดเชื้อร่วมระหว่างเชื้อไวรัส DENV ทั้งสามซีโรไทป์ (DENV-1, DENV-2 และ DENV-3) และ CHIKV ในตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน (*Ae. aegypti* adults) ที่จับได้จากพื้นที่ศึกษา หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี ประเด็นคำถามที่น่าสนใจ คือ การแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV มีแหล่งที่มาอย่างไร ทั้ง ๆ ที่ตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน จับได้จากบ้านซึ่งมีสภาพแวดล้อมรอบบ้านเป็นสวนที่ลาดเชิงเขา และสมาชิกครอบครัวไม่เคยมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออกและโรคไข้ปวดข้อยุงลาย ตัวอย่าง pool ของยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้านดังกล่าวประกอบด้วยยุงลายตัวเต็มวัยเพศเมียกินเลือด จำนวน 1 ตัว ยุงลายตัวเต็มวัยเพศเมียไม่กินเลือด จำนวน 4 ตัว และยุงลายตัวเต็มวัยเพศผู้ จำนวน 5 ตัว ประเด็นที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่ง คืออาจเป็นไปได้ที่ตัวอย่างยุงที่พบเชื้อ DENV อาจเป็นยุงรุ่นลูกที่ได้รับเชื้อไวรัสผ่านทางไข่ยุง (transovarial transmission)[18,19] แต่เมื่อพิจารณา “hotspot” ของแหล่งที่มาของการติดเชื้อและปัจจัยต่าง ๆ ที่สัมพันธ์กับการแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV ในพื้นที่หมู่ 6 ตำบลบ่อผุด อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่า การแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV ในละแวกบ้านที่พบยุงลายติดเชื้อไวรัสในรัศมี 50 – 100 เมตร มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความหนาแน่นยุงลาย ความหนาแน่นประชากร และสมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก และเมื่อพิจารณาถึงความเสี่ยงต่อการแพร่กระจายเชื้อไวรัสในละแวกบ้านที่พบยุงลาย *Ae. aegypti* ในรัศมี 50 – 100 เมตร ปัจจัยเสี่ยง ได้แก่ ความหนาแน่นยุงลาย ≥3 ตัว มีโอกาสเสี่ยงเป็น 2.4 เท่า เมื่อเทียบกับความหนาแน่นยุงลาย <3 ตัวต่อบ้าน ความหนาแน่นประชากร ≥3 คนต่อบ้าน มีโอกาสเสี่ยงเป็น 1.9 เท่า เมื่อเทียบกับความหนาแน่นยุงลาย <3 คนต่อบ้าน สมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก มีโอกาสเสี่ยงเป็น 1.8 เท่า เทียบกับสมาชิกครอบครัวที่ไม่เคยมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก และสมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้ปวดข้อยุงลาย มีโอกาสเสี่ยงเป็น 1.7 เท่า เมื่อเทียบกับสมาชิกครอบครัวที่ไม่เคยมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้ปวดข้อยุงลาย ข้อค้นพบนี้ ชี้ให้เห็นว่า การแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV และ CHIKV น่าจะมีแหล่งที่มาในชุมชนพักอาศัย และอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับวัฏจักรการแพร่กระจายโรคไข้เลือดออกเป็นแบบวัฏจักรเมือง (urban cycle) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาอื่น ๆ[20,21]

ในกรณีการพบการติดเชื้อไวรัส DENV ซีโรไทป์ DENV-1 ในตัวอย่าง pool ของยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน (*Ae. aegypti* adults) ที่จับได้จากพื้นที่ศึกษา ชุมชนเก็ตโฮ่ ตำบลกะทู้ อำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต ในละแวกบ้านที่พบยุงลาย *Ae. aegypti* ในรัศมี 50 – 100 เมตร กลับไม่พบปัจจัยเสี่ยง หรือไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับปัจจัยด้านความหนาแน่นยุงลาย ความหนาแน่นประชากร สมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้เลือดออก และสมาชิกครอบครัวมีประวัติเจ็บป่วยด้วยโรคไข้ปวดข้อยุงลาย ข้อค้นพบนี้ ชี้ให้เห็นว่าการแพร่กระจายเชื้อไวรัส DENV-1 น่าจะมีแหล่งที่มาในชุมชนพักอาศัย แต่ยังไม่สามารถชี้ให้ชัดเจนว่าเกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายโรคไข้เลือดออกเป็นแบบวัฏจักรเมืองอย่างไร

นอกจากนี้ พื้นที่ศึกษาทั้งสามจังหวัด มีแนวโน้มของ

ความชุกและความหนาแน่นยุงลายตัวเต็มวัยค่อนข้างสูง แม้ว่าการเพิ่มขึ้นของประชากรยุงลาย อาจจะเกิดขึ้นตามกลไกและกระบวนการโดยธรรมชาติ เช่น ฤดูกาล อุณหภูมิ การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ การเปลี่ยนแปลงสภาพนิเวศภูมิทัศน์ หรืออาจเกิดขึ้นจากกิจกรรมของมนุษย์ แต่สัดส่วนประชากรยุงลายเพศเมียต่อเพศผู้ก็อาจคงที่เสมอ ข้อมูลเหล่านี้ ชี้ให้เห็นว่า การคงที่ของสัดส่วนประชากรยุงลายเพศเมียต่อเพศผู้ ย่อมมีอิทธิพลต่อการคงที่ของโครงสร้างประชากรยุงลายบ้าน *Ae. aegypti* ตามแหล่งแพร่พันธุ์ที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ และอาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการแพร่โรคไข้เลือดออก โรคไข้ปวดข้อยุงลาย และโรคติดเชื้อไวรัสซิกา

ข้อเสนอแนะเพื่อใช้ประโยชน์

1. สามารถใช้เป็นเครื่องมือในการประเมินระบาดวิทยาโดยตรง เพื่อวิเคราะห์แหล่งที่มาของการแพร่กระจายไวรัสเด็งกี่ไวรัสชิคุนกุนยา และไวรัสซิกาในยุงลาย

2. สามารถพัฒนาเป็นคู่มือ/แนวทาง/ข้อเสนอแนะเชิงนโยบาย การตรวจเชื้ออาร์โบไวรัส การเฝ้าระวังทางกีฏวิทยาสำหรับยุงลายพาหะนำโรค การเฝ้าระวังโรคติดต่อนำโดยยุงลาย และถ่ายทอดนวัตกรรม/เทคโนโลยีสู่เครือข่ายบริการสุขภาพในเขตสุขภาพที่ 11 และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

ข้อเสนอแนะเพื่อศึกษาวิจัยต่อยอด

1. ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับจำนวนตัวอย่าง Pool ของยุงลายตัวเต็มวัยเกาะพักในบ้าน ที่จับได้จากพื้นที่ที่มีสภาพนิเวศวิทยาสิ่งแวดล้อมต่างกันจากหลายจังหวัดที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไข้เลือดออก โรคติดเชื้อไวรัสซิกา และโรคไข้ปวดข้อยุงลาย

2. ศึกษาต่อไปในอนาคตว่า ยุงลายตัวเต็มวัยเพศผู้หรือยุงที่มีความสำคัญทางการแพทย์ชนิดอื่น ๆ มีความไวรับต่อการติดเชื้อไวรัส DENV, CHIKV และ ZIKV มากน้อยเพียงใด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกรมควบคุมโรค ที่สนับสนุนงบประมาณในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณทีมวิจัยภาคสนาม ที่ร่วมเก็บข้อมูลวิจัย รวมถึงหน่วยงานที่เกี่ยวข้องที่สนับสนุนให้กระบวนการศึกษาวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. สุรชาติ โกยดุลย์. การใช้วิธีการทางด้านนิเวศ-ชีวะ-สังคมในการประเมินพลวัตรการแพร่เชื้อของโรคไข้เลือดออกในประเทศไทย [ดุษฎีนิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาชีววิทยา] นครปฐม: มหาวิทยาลัยมหิดล; 2553. 211 หน้า.
2. Koyadun S, Butraporn P, Kittayapong P. Ecologic and sociodemographic risk determinants for dengue transmission in urban areas in Thailand [Internet]. 2012 [Cited 2020 Jan 20]. Avalaible from: https://www.hindawi.com/journals/ipid/contents/year/2012
3. สุรชาติ โกยดุลย์, อดิศักดิ์ ภูมิรัตน์, รัชพล สัมพุทธานนท์, วิชุตา แซ่เจีย, ประภัสสร ดำแป้น, สุนทร พิมพ์นนท์. การพัฒนาแบบจำลองการแพร่โรคไข้เลือดออกในสภาวะการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและภูมิทัศน์ในพื้นที่ท่องเที่ยวและเขตเมืองของจังหวัดภูเก็ต. นนทบุรี: กรมควบคุมโรค; 2561.
4. สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค. รายงานการประเมินผลการเฝ้าระวัง ป้องกัน ควบคุมโรคไข้เลือดออกระดับประเทศ ปี 2559 – 2560. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์; 2561.
5. กองโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค. สถานการณ์โรคไข้ปวดข้อยุงลาย (Chikungunya fever) ประเทศไทย [อินเทอร์เน็ต]. [สืบค้นเมื่อ 26 พ.ค. 2565]. แหล่งข้อมูล: https://datastudio.google.com/reporting/d65ea341-d007-4929-bbc1-6e797050b5cc/page/GKWfC
6. สุมาลี ชะนะมา, ภัทร วงษ์เจริญ, ศิริรัตน์ แนมขุนทด, ลัดดาวัลย์ มีแผนดี, อริสรา โปษณเจริญ, พงศ์ศิริ ตาลทอง,

และคณะ. ระบาดวิทยาโรคติดเชื้อไวรัสซิกา ประเทศไทย ช่วงปี พ.ศ. 2559-2563. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2565;63(3):607-17.

7. กองโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค. สถานการณ์โรคติดนำโดยแมลง [อินเทอร์เน็ต]. [สืบค้นเมื่อ 26 พ.ค. 2565]. แหล่งข้อมูล: https://drive.google.com/drive/folders/1D5qQj_9LLV4NIYtQSSxhbmF2BGkaIOXp8
8. สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือวิชาการโรคติดเชื้อเดงกี และโรคไข้เลือดออกเดงกีด้านการแพทย์และสาธารณสุข. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์; 2558.
9. Fauver JR, Gendernalik A, Weger-Lucarelli J, Grubaugh ND, Brackney DE, Foy BD, et al. The use of xenosurveillance to detect human bacteria, parasites, and viruses in mosquito bloodmeals. Am J Med Hyg 2017; 97(2):324-29.
10. Grubaugh ND, Sharma S, Krajacich BJ, FaKoli III LS, Bolay FK, Diclaro II JW, et al. Xenosurveillance: A novel mosquito-based approach for examining the human-pathogen landscape. PLOS NTDs 2015;9(3):1-18.
11. Barrio-Nuevo KM, Cunha MS, Luchs A, Fernandes A, Rocco IM, Mucci LF, et al. Detection of Zika and dengue viruses in wild-caught mosquitoes collected during field surveillance in an environmental protection area in Sao Paulo, Brazil. PLOS ONE 2020;15(10):1-13.
12. Naing L, Winn T, Rusli BN. Practical issues in calculating the sample size for prevalence studies. Archiv Orofacial Sci 2006;1:9-14.
13. 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;30:545-51.
14. Lanciotti RS. Molecular amplification assays for the detection of flaviviruses. Adv Virus Res 2003;61:67-99.
15. Hamel R, Dejarnac O, Wichit S, Ekchariyawat P, Neyret A, Luplertlop N, et al. Biology of Zika virus infection in human skin cell. J Virol, 2015;89(17): 8880-96.
16. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, Stanfield SM, Duffy MR. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. Emerg Infect Dis 2008;14:1232-39.
17. García-Rejón JE, Loroño-Pino MA, Farfán-Ale JA, Flores-Flores LF, López-Uribe MP, Najera-Vazquez Mdel R, et al. Mosquito infestation and dengue virus infection in *Aedes aegypti* females in schools in Mérida, México. Am J Trop Med Hyg 2011;84(3):489-96.
18. สุรชาติ โกยดุลย์, อดิศักดิ์ ภูมิรัตน์. นิเวศระบาดวิทยาและพลวัตการแพร่ไวรัสเด็งกี่. วารสารสาธารณสุขมหาวิทยาลัยบูรพา 2565;17(1);44-57.
19. Dzul-Manzanill F, Martinez NE, Cruz-Nolasco M, Gutierrez-Gastro C, Lopez-Damian L, Ibarra-Lopez J, et al. Evidence of vertical transmission and co-circulation of chikungunya and dengue viruses in field populations of Aedes aegypti (L.) from Guerrero, Mexico. Trans R Soc Trop Med Hyg 2016;110(2):141-4.
20. Khan J, Khan I, Camarena AH, Amin I. A comprehensive entomological, serological and molecular study of 2013 dengue outbreak of Swat, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. PLOS ONE 2016; 11(2):1-18.
21. Chiuya T, Masiga DK, Falzon LC, Bastos ADS, Fevre EM, Villinger J. A survey of mosquito-borne and insect-specific viruses in hospitals and livestock markets in western Kenya. PLOS ONE 2021;16(5):1-21.

Abstract: Innovative Surveillance of Dengue, Chikungunya, and Zika Viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*

Surachart Koyadun, Ph.D. (Biology), M.Sc. (Infectious Diseases and Epidemiology), B.P.H. (Public Health), B.P.H. (Public Health Administration)

Office of Disease Prevention and Control, Region 11 Nakhon Si Thammarat, Thailand

Journal of Health Science 2022;31(6):1071-84.

The purposes of this research were to (1) assess the accuracy of RT-PCR technique to detect dengue (DENV), chikungunya (CHIKV), and zika (ZIKV) viruses in *Aedes* vectors and (2) analyze the sources of transmission of DENV, CHIKV and ZIKV viruses. Six representative study sites for collecting *Aedes* pools and surveying households with their ecology between August and September 2017 included village No. 2 and No. 6, Boput subdistrict, Samui district, Suratthani province, Getho community and Takdad community, Kathu subdistrict, Kathu district, Phuket province, and village No 2 and No. 9, Kalai subdistrict, Takuathung district, Phangnga province. Approximately 200 houses of each study site (totally 619) were surveyed using a survey form and geo-referenced using GPS device and 100 *Aedes* pools (totally 300) were collected using the handheld aspirators. All *Aedes* pool samples were used for preparing the RNA extracts as templates subjected to the RNA amplification of DENV, CHIKV, and ZIKV by RT-PCR, as compared to positive and negative controls. Research findings demonstrated the coinfection of DENV (DENV 1, DENV 2, and DENV 3) and CHIKV found in one pool (1.0%) of *Ae. aegypti* obtained from Suratthani, and the DENV 1 infection in one pool (1.0%) of *Ae. aegypti* obtained from Phuket. As for Phangnga, none was positive for any virus. The RT-PCR was found to be highly sensitive and specific for the detection of DENV, CHIKV, and ZIKV present in *Aedes* pools. This technique could be used as direct epidemiological assessment tool for identifying the hotspot of DENV and CHIKV in *Ae. aegypti* that circulated within 100-m radius of an *Aedes*-infected house in Boput subdistrict, Samui district, Suratthani. Similarly, it assessed the hotspots of DENV in *Ae. aegypti* that circulated within 100-m radius of an *Aedes*-infected house in Kathu subdistrict, Kathu district, Phuket, based on the information on geographics, epidemiology, entomology, and house survey. This innovative entomo-virological surveillance could identify early circulation of DENV, CHIKV และ ZIKV and provide a trigger for timely and focalized vector control actions.

Keywords: Dengue virus; Chikungunya virus; Zika virus; *Aedes aegypti; Aedes albopictus*; RT-PCR