

Bat Lyssavirus in Thailand

Boonlert Lumlertdacha, DVM*, Supaporn Wacharapluesadee, MSc**,
Lawan Chanhome, DVM*, Thiravat Hemachudha, MD**

* Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society

** Molecular Biology Laboratory for Neurological Diseases, Department of Medicine, Chulalongkorn University

A study of bat lyssavirus survey was done in Thailand from 2001 to 2003. A total of 932 bats of 11 species were captured in 8 provinces for blood collection and testing for neutralizing antibodies against rabies virus (RABV), Australian bat lyssavirus (ABLV) and broader panel of other lyssaviruses (Irkut, Aravan and Khujand). All Thai bat samples were negative to RABV. Sixteen samples of 394 with sufficient volume of serum had detectable neutralizing antibodies against Irkut, Aravan, Khujand and ABL viruses. Another 13 samples were also found to have antibody to ABLV. However, due to insufficient volume, further analysis to other lyssaviruses could not be performed. Nevertheless, this showed that the prevalence of lyssavirus infection in Thai bats could be as high as 7.3% (29/396). The present study showed that natural occurrence of lyssavirus antibodies found in Thai bats were related to newer putative lyssavirus genotype(s) other than those previously described. These data also suggest that several lyssaviruses are in circulation throughout Thailand as well as other Asian countries, such as in the Philippines, Central Asia, and in certain parts of Russia.

The present study and preparation of this article was supported by grants from the Thailand Research Fund and the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Thailand

Keywords: Rabies, Lyssavirus, Bat, Zoonosis, Thailand

J Med Assoc Thai 2005; 88(7): 1011-4

Full text. e-Journal: <http://www.medassocthai.org/journal>

ไวรัสลิสสา (Lyssavirus) เป็นสกุล (genus) ไวรัสที่จัดอยู่ในวงศ์ Rhabdoviridae ของลำดับ (order) Mononegavirales ซึ่งได้รวมถึง RNA ไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคสมองและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เป็นไวรัสที่เหมาะสมแก่การทำให้เกิดโรคในสัตว์ที่อยู่ในลำดับ Carnivora และ Chiroptera⁽¹⁾ การศึกษาเปรียบเทียบลำดับสารพันธุกรรมของจีน N, G และ pseudogene ของไวรัสลิสสาต่าง ๆ ทำให้สามารถจำแนกไวรัสที่ได้ออกได้เป็น 7 สายพันธุ์ (genotype, GT): สายพันธุ์ที่ 1: RABV (GT1), สายพันธุ์ที่ 2: Lagos bat virus (LAG, GT2), สายพันธุ์ที่ 3: Mokola virus (MOK, GT3), สายพันธุ์ที่ 4: Duvenhage virus (DUV, GT4), สายพันธุ์ที่ 5: European bat lyssavirus 1 (EBLV1, GT5), สายพันธุ์ที่ 6: European bat lyssavirus 2 (EBLV2, GT6) และสายพันธุ์ที่ 7: Australian bat lyssavirus (ABLV, GT7)⁽²⁾ ในบรรดาสายพันธุ์ทั้ง 7 นั้นสุนัขในประเทศแถบเอเชียเป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญที่สุดของสายพันธุ์ที่ 1 ขณะเดียวกับที่ค้างคาวในลำดับ Chiroptera ของอาณาจักรสัตว์เป็นแหล่งรังโรคของสายพันธุ์ที่ 1, 2, 4, 5, 6 และ 7 ในประเทศสหรัฐอเมริกา ประเทศในยุโรป และออสเตรเลีย ในปี ค.ศ. 1996 ในมลรัฐควีนส์แลนด์ มีผู้ติดเชื้อ ABLV และเสียชีวิตจากการที่ถูกค้างคาวกัดและได้รับเชื้อทางน้ำลาย⁽³⁾ ต่อมาเชื้อ ABLV ได้ถูกพบในกลุ่มค้างคาวแม่ไก่ 4 ชนิด ได้แก่ *Pteropus alecto*,

Correspondence to : Lumlertdacha B, Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society, Rama 4 Rd, Bangkok 10330, Thailand. Phone: 0-2252-0161 ext 127, Fax: 0-2254-0212, E-mail: Qsmibld@yahoo.com

P. poliocephalus, *P. scapulatus* และ *P. conspicillatus* และค้างคาวกินแมลง *Saccolaimus flaviventris* ซึ่งพบในมลรัฐควีนส์แลนด์ นิวเซาท์เวล และนอร์ธเทอริทอรี^(4,5)

การศึกษาเร็ว ๆ นี้ในประเทศฟิลิปปินส์ที่มีการจับค้างคาวจำนวน 821 ตัวจำแนกเป็น 14 ชนิด (species) ทั้งชนิดกินแมลง (insectivorous) และกินผลไม้ (frugivorous) เป็นอาหาร ประกอบด้วย 5 ใน 6 วงศ์ของค้างคาวที่พบในประเทศ⁽⁶⁾ ค้างคาวที่จับได้ถูกวางยาสลบด้วย ketamine hydrochloride ขนาด 0.05-0.1 มก. เข้าชั้นกล้ามเนื้อ และถูกทำให้เสียชีวิตด้วยการฉีดยาเข้าหัวใจ หลังจากนั้นซีรัม (serum) ถูกเจาะเก็บไว้เพื่อทำการตรวจหาภูมิคุ้มกันต้านทานด้วยวิธี rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT)⁽⁷⁾ อย่างไรก็ตาม มีเพียง 231 ตัวอย่างเท่านั้นที่มีปริมาณซีรัมเพียงพอต่อการตรวจทดสอบ ในจำนวนนี้พบว่า 22 ราย (9.5%) มีภูมิคุ้มกันต้านทานต่อ ABLV มีเพียง 1 ใน 209 รายที่ทำลายไวรัส สายพันธุ์ที่ 1 (CVS-11) ได้ ซึ่งยืนยันว่าไวรัสลิสสาที่ไม่ใช่สายพันธุ์ที่ 1 เป็นกลุ่มที่มีการติดเชื้ออยู่ในประชากรค้างคาวโลกเก่า (old world bats) ขณะที่ RABV ในสหรัฐอเมริกาเป็นการติดเชื้อเฉพาะในค้างคาวโลกใหม่ (new world bats) สมองจากค้างคาวทั้ง 821 ตัวถูกนำไปตรวจหาเชื้อโดยวิธี direct fluorescent antibodies (DFA) test⁽⁸⁾ ไม่ปรากฏว่าพบเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าหรือลิสสาไวรัสแต่อย่างใด

ในประเทศไทย มีการพบค้างคาว 112 ชนิด⁽⁹⁾ ซึ่งสามารถจัดหมวดหมู่ออกเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่กินผลไม้จำนวน 18 ชนิด โดยมี Pteropid หรือกลุ่มค้างคาวแม่ไก่เป็นค้างคาวจำพวกกินผลไม้เป็นอาหารทั้งหมด และกลุ่มที่กินแมลงเป็นอาหารอีก 94 ชนิด การศึกษานี้กระทำในปี พ.ศ. 2544 ถึง พ.ศ. 2546 โดยจับค้างคาว 932 ตัวจาก 8 จังหวัดในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ของประเทศไทย⁽¹⁰⁾ ค้างคาวที่จับได้มี 11 ชนิดทั้งชนิดกินผลไม้และชนิดกินแมลงเป็นอาหาร เมื่อค้างคาวถูกวางยาสลบด้วยการฉีด ketamine hydrochloride ปริมาณ 0.2-0.5 มก. เข้ากล้ามเนื้อ จึงทำการตรวจวัดขนาดแยกเพศ และทำเครื่องหมายโดยการขลิบเล็บแล้ว จะทำการเจาะเลือดจากเส้นเลือดที่ปีก หรือโดยการเจาะเก็บจากหัวใจโดยที่ค้างคาวไม่ตาย และเก็บเลือดในภาชนะที่เป็นหลอดพลาสติก แช่เก็บในกระติกน้ำแข็งจนกว่าจะปั่นแยกซีรัมออกมา ในจำนวน 932 ตัวอย่างของค้างคาวทั้งหมด มีเพียง 394 ตัวอย่างเท่านั้นที่มีซีรัมปริมาณพอเพียงเพื่อการตรวจหาภูมิคุ้มกันต้านทานได้โดยวิธี RFFIT⁽⁶⁾ ต่อเชื้อ RABV และ ABLV ผลตรวจไม่แสดงว่ามีภูมิคุ้มกันต่อ RABV เลยแต่พบว่า 16 ตัวอย่าง (4%) มีภูมิคุ้มกันต้านทานเฉพาะต่อ ABLV (ตารางที่ 1) ตัวอย่างที่พบมีภูมิคุ้มกันต้านทานต่อ ABLV ได้ถูกนำไปทดสอบกับไวรัสลิสสาสายพันธุ์อื่น ๆ ได้แก่ Aravan, Khujand, และ Irkut และพบตัวอย่างซีรัมที่ทำปฏิกิริยาต่อสายพันธุ์ต่าง ๆ เรียงตามลำดับคือ 10/16, 7/16, และ 14/16 ตัวอย่าง สำหรับค้างคาวที่เสียชีวิตในระหว่างการเก็บตัวอย่างจำนวน 16 ตัว สมองถูกนำไปตรวจหาไวรัสลิสสา ด้วยวิธี DFA และการเพาะเชื้อในหนูทดลอง (mouse inoculation test, MI)⁽⁷⁾ แต่ไม่พบเชื้อไวรัสแต่ประการใด จากการตรวจ

ตารางที่ 1. ซีรัมค้างคาวที่ทดสอบความต้านทานต่อ ABLV (positive/จำนวนทั้งหมด)

| ชนิด (Species) | จังหวัด | | | | | รวม |
|-------------------------------|---------|-----------|--------|------------|--------------|--------|
| | ชลบุรี | สิงห์บุรี | อยุธยา | ฉะเชิงเทรา | สุราษฎร์ธานี | |
| <i>Hipposideros armiger</i> | 1/8 | | | | 0/5 | 1/13 |
| <i>Eonycteris spelaea</i> | 0/22 | 0/23 | | | | 0/45 |
| <i>Rousettus leschenaulti</i> | 0/1 | | | | | 0/1 |
| <i>Pteropus lylei</i> | 8/136 | 4/58 | 2/105 | 1/36 | | 15/335 |
| รวม | 9/167 | 4/81 | 2/105 | 1/36 | 0/5 | 16/394 |

เพิ่มเติมในซีรัมอีก 13 ตัวอย่างพบว่ามี 2 ตัวอย่างที่มีปฏิกิริยาต้านทาน ABLV อย่างสูง แต่ตัวอย่างชุดนี้มีซีรัมไม่เพียงพอสำหรับการทดสอบความต้านทานต่อไวรัสลิสสาสายพันธุ์อื่น ๆ ดังนั้นสรุปจากตัวอย่างที่ใช่ตรวจได้ให้ผลบวกจึงพบมากถึงร้อยละ 7.3 (29/396)

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าจากการที่มีภูมิต้านทานต่อ Aravan, Khujand, Irkut และต่อ ABLV โดยที่ไม่มีความจำเพาะต่อไวรัสชนิดใดชนิดหนึ่ง และการที่พบว่าซีรัมทั้งหมดไม่ตอบสนองต่อ RABV แสดงว่ามีการติดเชื้อไวรัสลิสสาสายพันธุ์อื่น ๆ ที่ไม่ใช่ RABV Aravan, Khujand, Irkut และช่วยอธิบายได้ว่าทำไมจึงไม่พบการระบาดของโรคพิษสุนัขบ้า สายพันธุ์ที่ 1 ในธรรมชาติจากค้างคาวในประเทศไทย การศึกษานี้ยังสนับสนุนแนวคิดที่ว่าไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าสายพันธุ์อื่น ๆ ที่มีการติดต่อกันในประเทศต่าง ๆ ในเอเชียเช่นที่ฟิลิปปินส์ เอเชียกลาง และบางส่วนของประเทศรัสเซีย (6,11-13)

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัย และบทความนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และทุนส่งเสริมกลุ่มนักวิจัยอาชีพ ประจำปี 2546 ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

References

1. Badrane H, Tordo N. Host switching in lyssavirus history from the chiroptera to the carnivora orders. *J Virol* 2001; 77: 8096-104.
2. Badrane H, Bahloul C, Perrin P, Tordo N. Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. *J Virol* 2001; 75: 3268-76.
3. Allworth A, Murray K, Morgan J. A human case of encephalitis due to a lyssavirus recently identified in fruit bats. *Commun Dis Intell* 1996; 20: 504.
4. Gould AR, Hyatt AD, Lunt R, Kattenbelt JA, Hengstberger S, Blacksell SD. Characterization of a novel lyssavirus isolated from pteropid bats in Australia. *Virus Res* 1998; 54: 165-87.
5. Field H, McCall B, Barrett J. Australian bat lyssavirus infection in a captive juvenile black flying fox. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 438-40.
6. Arguin PM, Murray-Lillibridge K, Miranda ME, Smith JS, Calaor AB, Rupprecht CE. Serologic evidence of lyssavirus infections among bats, the Philippines. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 258-62.
7. Smith JS, Yager PA, Baer GM. A rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) for determining rabies virus-neutralizing antibody. In: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski, eds. *Laboratory techniques in rabies*. 4th ed. Geneva: World Health Organization, 1996: 181-92.
8. World Health Organization, 1992. WHO expert committee on rabies. WHO technical report series 824.
9. Boonkird K, Wanghongsa S. Variation of bats found in Thailand. Annual report, Department of National Park, Ministry of Agriculture. 2003: 183-95.
10. Lumlertdacha B, Boongird K, Wanghongsa S, Wacharapluesadee S, Chanhom L, Khawplod P, et al. Survey for bat lyssaviruses, Thailand. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 232-6.
11. Botvinkin AD, Poleschuk EM, Kuzmin IV, Borisova TI, Gazaryan SV, Yager P, et al. Novel lyssaviruses isolated from bats in Russia. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 1623-5.
12. Arai YT, Kuzmin IV, Kameoka Y, Botvinkin AD. New lyssavirus genotype from the lesser mouse-eared bat (*Myotis blythi*), Kyrgyzstan. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 333-7.
13. Kuzmin IV, Orciari LA, Arai YT, Smith JS, Hanlon CA, Kameoka Y, et al. Bat lyssaviruses (Aravan and Khujand) from central Asia: phylogenetic relationships according to N, P and G gene sequences. *Virus Res* 2003; 97: 65-79.

การศึกษาไวรัสลิสสาในค้างคาวไทย

บุญเลิศ ลำเลิศเดชา, สุภาภรณ์ วัชรพฤษชาติ, ลาวัญญ์ จันทโรทัย, ธีระวัฒน์ เหมะจุธา

การจับค้างคาวเชิงอนุรักษ์เพื่อศึกษาการติดเชื้อไวรัสลิสสาในค้างคาวไทยดำเนินระหว่างปี พ.ศ. 2544-2546 จากจำนวนทั้งสิ้น 932 ตัวใน 8 จังหวัด เพื่อเจาะเก็บเลือดตรวจหาภูมิคุ้มกันต้านต่อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (RABV) ไวรัสลิสสาสายพันธุ์ออสเตรเลีย (Australian Bat Lyssavirus, ABLV) และไวรัสลิสสาสายพันธุ์อื่น ๆ (Irkut, Aravan และ Khujand) ไม่พบว่าภูมิคุ้มกันต้านต่อไวรัสพิษสุนัขบ้า (RABV) แต่ 16 ตัวอย่างจากจำนวน 394 ที่สามารถตรวจได้พบว่าภูมิคุ้มกันต้านต่อ Irkut, Aravan, Khujand และ ABLV จากการตรวจเพิ่มเติมในอีก 13 ตัวอย่างพบว่าอีก 2 ตัวอย่างที่มีปฏิกิริยาต้านทาน ABLV อย่างสูง แต่ตัวอย่างชุดนี้มีซีรัมไม่เพียงพอสำหรับการทดสอบความต้านทานต่อไวรัสลิสสาสายพันธุ์อื่น ๆ ดังนั้นสรุปจากตัวอย่างที่ตรวจได้ทำให้ผลบวกจึงพบมากถึงร้อยละ 7.3 (29/396) การศึกษานี้ให้ข้อสรุปว่าภูมิคุ้มกันที่พบในกระแสเลือดของค้างคาวไทยมีความสัมพันธ์กับไวรัสลิสสาที่เป็นสายพันธุ์อื่นของไวรัสพิษสุนัขบ้า และมีร่องรอยว่ามีปรากฏของไวรัสลิสสาสายพันธุ์อื่น ๆ ในค้างคาวไทย
