

รายงานการวิจัย

โครงการวิจัยนำร่อง

การติดตามและประเมินความเสี่ยงการติดเชื้อไวรัสนิปาห์ในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

Monitoring and Risk assessment of Nipah virus infection in *Pteropus lylei*

โครงการส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูง

กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

โดย

ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา

ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษาดี

นส.พรพรรณ สุภวรรณวงศ์

มีนาคม 2554

รายงานการวิจัย

โครงการวิจัยนำร่อง

การติดตามและประเมินความเสี่ยงการติดเชื้อไวรัสนิปาห์ในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

Monitoring and Risk assessment of Nipah virus infection in *Pteropus lylei*

โครงการส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูง
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

โดย

ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา

ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษาดี

นส.พรพรรณ สุกวรรณวงศ์

มีนาคม 2554

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

โครงการนำร่อง เรื่อง การติดตามและประเมินความเสี่ยงการติดเชื้อไวรัสซิกาในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก โครงการส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูง กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช (CU-CLUSTER-FUND)

Project Title: Monitoring and risk assessment of Nipah virus infection in *Pteropus lylei*.

Name of the Investigators: Thiravat Hemachudha, Supaporn Wacharapluesadee, Pompun Supavonwong

Year: March 2010

Abstracts

Pteropus bat is a main reservoir for Nipah Virus. Nipah Viral RNA was identified in urine of lylei bat roosting in central part of Thailand. This indicates risk of infection in both human and animal especially pig. Detection of viral RNA by PCR method (product size of 357 base pairs) from bat urine specimen can be used as a tool for monitoring and assessment the risk of Nipah virus transmission from bat to human and other mammals. Two studied sites (Wat Luang, Chonburi province and Wat Thasung, Ayutaya province), where Nipah virus positive from bat's urine had been reported, were selected in the study. Pooled bat urine specimens were collected under the bat roosting trees using plastic sheet. Eighteen of 50 specimens from Wat Luang were positive by nested PCR while only 4 of 50 specimens from Wat Thasung were. Analysis of 357 base pair nucleotide sequences of Nipah virus revealed genetic diversity from specimens at Wat Luang (4 of 18 versus only one unique pattern of 4 at Wat Thasung). The finding of Nipah viral RNA in lylei bats for 6 consecutive years since 2005 confirms that lylei bat is an important reservoir for Nipah virus transmission in Thailand. The surveillance for Nipah virus infection in bats is mandatory for prevention and control of the outbreak of this virus in both human and livestock health.

ชื่อโครงการวิจัย การติดตามและประเมินความเสี่ยงการติดเชื้อไวรัสซิกาในค่างวแม่ไก่ภาคกลาง
ชื่อผู้วิจัย ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา, ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษชาติ, นส.พรพรรณ สุภวรรณวงศ์

เดือน และ ปี ที่ทำวิจัยเสร็จ มีนาคม 2554

บทคัดย่อ

ไวรัสซิกามีค่างวแม่ไก่เป็นแหล่งรังโรคสำคัญ การพบเชื้อไวรัสในค่างวแม่ไก่ภาคกลางในประเทศไทย เป็นเครื่องชี้วัดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบาดจากไวรัสซิกา ทั้งในคนและสัตว์ โดยเฉพาะสุกร การตรวจหาเชื้อไวรัสซิกาจากเยื่อค่างวด้วยวิธี PCR เป็นการช่วยติดตามและประเมินความเสี่ยงของการแพร่เชื้อไวรัสจากค่างวสู่สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมอื่นๆ พื้นที่ๆเลือกในการศึกษานี้เป็นพื้นที่ๆมีรายงานการพบเชื้อนิปาห์จากเยื่อค่างวแม่ไก่ภาคกลางมาก่อน ใน การศึกษานี้ใช้วิธีการเก็บเยื่อค่างวได้ต้นไม้ในช่วงเวลาที่มีการรายงานการพบเชื้อ (เมษายน - พฤษภาคม) ผลการตรวจพบว่าทั้งสองพื้นที่ที่มีการพบเชื้อไวรัสในเยื่อค่างวในจำนวนที่แตกต่างกัน คือ ที่วัดหลวงพรหมาวาส จังหวัดชลบุรี พบเชื้อ 18 ใน 50 ตัวอย่าง (pooled Urine) ในขณะที่พบเชื้อ 4 ใน 50 ตัวอย่างที่วัดท่าซุง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยเมื่อศึกษารหัสพันธุกรรมของไวรัสซิกาที่พบ พบว่าไวรัสที่พบจากวัดหลวงพรหมาวาสมีความหลากหลายสูงกว่าวัดท่าซุงที่พบเพียง 1 แบบ ที่มีความคล้ายคลึงกันอย่างมาก ในขณะที่วัดหลวงพบความหลากหลาย 4 แบบ จาก 18 ตัวอย่าง ทั้งนี้ อาจเป็นผลมาจากจำนวนประชากรค่างวรวมของวัดหลวงที่มีมากกว่าวัดท่าซุงประมาณ 3 เท่า จาก การเฝ้าติดตามการแพร่เชื้อไวรัสจากเยื่อค่างวแม่ไก่ภาคกลางที่พบการติดเชื้ออย่างต่อเนื่องนานกว่า 6 ปี เป็นเครื่องยืนยันว่าค่างวแม่ไก่ภาคกลางเป็นตัวอมโรคของไวรัสซิกา และควรเฝ้าติดตามอย่างสม่ำเสมอเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดสู่คน สัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์

สารบัญเรื่อง

	หน้า
1. บทนำ	1
2. เนื้อเรื่อง	2
3. ผลการวิจัย	7
4. อภิปรายและวิจารณ์ผล	9
5. ข้อเสนอแนะและข้อสรุป	11
6. บรรณานุกรม	12
7. ภาคผนวก	13

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 Primer sequences ที่ใช้ในการทดสอบ	5
ตารางที่ 2 แสดงรายการผลการตรวจไวรัสซิปป่าห้วยด้วยวิธี PCR	7

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 แสดงภาพ PCR product บนเจล	6
รูปที่ 2 แสดง Phylogenetic tree ของเชื้อไวรัสสึนโท	8

บทนำ

ไวรัสนิปาห์ (Nipah virus) เป็นไวรัสที่ถูกค้นพบใหม่เมื่อปี พ.ศ.2541 จัดอยู่ในตระกูล Paramyxoviridae, genus Henepavirus พบการระบาดครั้งแรกที่ประเทศมาเลเซียในระหว่างเดือนกันยายน2541 ถึง เดือน เมษายน2542 ทำให้มีผู้ติดเชื้อ 265 คนและเสียชีวิต 105 ราย^(1,2) โดยมีสูตรที่ติดเชื้อเป็นสาเหตุของการติดต่อมาสู่คน และทำให้รัฐบาลมาเลเซียต้องฆ่าสุกรจำนวน 1.1 ล้านตัวจากทั้งหมด 2.4 ล้านตัว ทั่วประเทศ เพื่อหยุดยั้งการแพร่ระบาดของโรค และจากการรายงานขององค์การอนามัยโลกยังพบการระบาดอย่างต่อเนื่องในประเทศอินเดียและบังกลาเทศระหว่างปี พ.ศ.2544-2551 โดยก่อให้เกิดโรคสมองอักเสบในคนที่มีอัตราการเสียชีวิตเฉลี่ยร้อยละ 52 โดยการระบาดที่บังกลาเทศและอินเดียมีอัตราการเสียชีวิตสูงกว่าคือ ร้อยละ 70.8 เมื่อเปรียบเทียบกับมาเลเซียที่มีอัตราการเสียชีวิตที่ร้อยละ 40

ต้นเหตุของการระบาดของเชื้อไวรัสที่ประเทศมาเลเซียที่แท้จริงคือ ค้างคาว โดยค้างคาวแพร่เชื้อมาสู่สุกรผ่านทางน้ำลายหรือเยื่อ ส่วนการระบาดที่บังกลาเทศและอินเดียไม่พบว่ามีสุกรหรือสัตว์อื่นเป็นพาหะนำโรค นอกจากพบการติดเชื้อในค้างคาวแม่ไก่ *Pteropus giganteus*⁽³⁾ โดยพบหลักฐานสนับสนุนการแพร่เชื้อว่าอาจเกิดได้หลายทางเช่น การป็นต้นไม้ การสัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วยหรือการคั้นน้ำอินทผลัมสดที่ปนเปื้อนเชื้อไวรัส เป็นต้น⁽⁴⁾

จากการสำรวจการติดเชื้อในค้างคาวในภูมิภาคเอเชีย พบว่าค้างคาวที่เป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญคือ ค้างคาวกินผลไม้ โดยเฉพาะในตระกูลค้างคาวแม่ไก่ *Pteropus* โดยค้างคาวเหล่านี้ล้วนมีถิ่นอาศัยในประเทศไทยทุกชนิด แต่มีเพียง 4 ชนิดที่รายงานพบการติดเชื้อ ที่มีการสำรวจโดยคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้แก่ ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง (*P. lylei*), ค้างคาวแม่ไก่ป่าฝน (*P. vampyrus*), ค้างคาวแม่ไก่เกาะ (*P. hypomelanus*) และ ค้างคาวหน้ายักษ์สามลิบ (*Hipposideros larvatus*)⁽⁵⁾ ซึ่งมีการพบสารพันธุกรรม (RNA) ของไวรัสทั้งใน เยื่อและน้ำลายค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

การศึกษาล่าสุดของคณะผู้วิจัยนี้ พบว่ารูปแบบการพบไวรัสนิปาห์ในเยื่อค้างคาวเป็นแบบขึ้น-ลงตามฤดูกาล ซึ่งชุกชุมในช่วง 5 เดือนแรกของปี และมีความสัมพันธ์บ้างกับฤดูกาลผสมพันธุ์ของค้างคาว การแพร่เชื้อไวรัสระหว่างค้างคาวด้วยกันเอง อาจเกิดได้ทั้งจากการสัมผัสโดยตรงหรือผ่านจากแม่สู่ลูก ดังที่พบในกรณีของไวรัส Hendra ที่พบไวรัสได้ทั้งในรกและตัวอ่อน⁽⁶⁾ และการพบไวรัสนิปาห์ในมดลูกค้างคาว⁽⁷⁾ การสัมผัสกันโดยตรงของค้างคาวในช่วงฤดูที่เกี่ยวข้องกับการผสมพันธุ์เกิดได้ในหลายลักษณะ เช่นการแต่งงาน การเกี่ยวพาราฮี หรือ ช่วงผสมพันธุ์ อย่างไรก็ตามการพบเชื้อไวรัสนิปาห์ในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางในประเทศไทยไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณ

น้ำฝนหรือ อุณหภูมิในแต่ละเดือน หรือตำแหน่งที่อยู่อาศัย โดยที่มีรายงานการพบเชื้อไวรัสชนิดนี้ใน
ค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางในเดือนพฤษภาคม แต่ไม่พบในเดือนกุมภาพันธ์และเดือนตุลาคม พ.ศ.2549
ในแหล่งที่อยู่อาศัยอีก 5 แห่งคือ จังหวัด ปราจีนบุรี สระบุรี อ่างทอง สิงห์บุรี และพระนครศรีอยุธยา
(8)

ประเทศไทยยังไม่พบรายงานการติดเชื้อไวรัสในคน แม้ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จะมีการ
ตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการในผู้ป่วยทุกรายที่สงสัย ซึ่งอาจอธิบายได้จากการพบไวรัสปริมาณ
น้อยๆในสิ่งคัดหลั่งจากค้างคาว แต่การเข้าใจอย่างลึกซึ้งถึงอัตราการติดเชื้อไวรัสชนิดนี้ในค้างคาวมี
ความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวางแผนยุทธศาสตร์ในการบริหารจัดการความเสี่ยงของการระบาดโรค
สมองอักเสบชนิดนี้โดยเฉพาะประเทศที่มีค้างคาวเป็นแหล่งรังโรคตามธรรมชาติของค้างคาว

การศึกษาวินิจฉัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชุกและรหัสพันธุกรรมของ
ไวรัสชนิดนี้ที่พบใน 2 แหล่งที่อยู่อาศัยของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

เนื้อเรื่อง

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างเย็บค้างคาว

การเก็บตัวอย่างเย็บค้างคาวใช้วิธีการปูพลาสติกเก็บใต้ต้นไม้ ที่ค้างคาวอาศัยอยู่⁽⁹⁾
โดยการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกเก็บจากแหล่งที่อยู่อาศัยค้างคาว 2 แห่ง คือ วัดหลวงพรหมมาวาส อำเภอ
พนัสนิคม จังหวัดชลบุรี (13° 30'18.9"N, 101°09'54.9"E, 6m asl) ทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 25
เมษายน พ.ศ.2553 และ วัดท่าซุง อำเภอบางไทร จังหวัดพระนครศรีอยุธยา (14°09'13.3"N,
100°30'14.9"E, 7m asl) ทำการเก็บตัวอย่างวันที่ 1 พฤษภาคม พ.ศ. 2553 โดยทำการปูพลาสติก 2 ชั้น
(ชั้นบนเป็นพลาสติกใสชนิดใช้แล้วทิ้ง และชั้นล่างเป็นพลาสติกสีขาวขุ่น) ในเวลา 5.00 น. ใน
บริเวณใต้ต้นไม้ตรงจุดที่มีค้างคาวเกาะนอน จำนวน 26 จุด (อักษร A-Z) ทิ้งไว้นาน 1 ชั่วโมง จึงทำการ
เก็บตัวอย่างเย็บค้างคาวที่ตกลงมาบนพลาสติกโดยมีเป้าหมายในการเก็บเย็บค้างคาวจำนวน 2
หลอดต่อผืน ให้ได้จำนวนรวมวัดละ 50 หลอด ซึ่งอาจมีบางผืนที่ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้

การเก็บตัวอย่างเย็บค้างคาวใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อเพื่อเก็บเย็บปริมาตร 1-2 ml ใส่
ลงในหลอด Lysis Buffer ซึ่งมีสาร guanidine thiocyanate เป็นส่วนประกอบที่มีคุณสมบัติในการฆ่า
เชื้อไวรัสและยับยั้งการทำงานของสาร nuclease จึงช่วยถนอมสารพันธุกรรมระหว่างการเก็บและ
ขนส่งตัวอย่างในพื้นที่

2. การตรวจสอบสารพันธุกรรมไวรัสชนิดอีโบลา

2.1 การสกัดสารพันธุกรรม ใช้ชุดสกัด total nucleic acid สำเร็จรูป ชนิด mini mag (bioMerieux ประเทศเนเธอร์แลนด์) ตามวิธีการที่แนะนำใน package insert โดยย่อคือ หลังจากเอาไม้พันสำลีออกจากหลอดน้ำยา lysis buffer ทำตามขั้นตอนดังนี้

- ปั่นที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที
- คูดสารละลายด้านบนใส่ในหลอดทดลองใหม่
- คูดเม็ด magnetic bead ปริมาตร 50 ul ใส่ลงในสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที
- ปั่นที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที
- คูดสารละลายด้านบนทิ้ง
- เติม buffer 1 ปริมาตร 400 ul ลงในตะกอน magnetic bead ทำการ re-suspend
- คูดทั้งหมด (magnetic bead และสารละลาย) ใส่ในหลอด 1.5 ml เติม
- ปั่นล้างด้วยเครื่อง MiniMag ด้วย buffer ต่างๆตามลำดับดังนี้ wash buffer 1 จำนวน 2 ครั้งๆละ 400 ul wash buffer 2 จำนวน 2 ครั้งๆละ 500 ul และ wash buffer 3 ปริมาตร 500 ul จำนวน 1 ครั้ง
- เติม elution buffer และทำการอุ่นที่อุณหภูมิ 60 °C นาน เขย่าที่ 1400 รอบต่อนาที นาน 5 นาที คูดแยกเอาสารละลายใสด้านบนออก เพื่อนำไปทำปฏิกิริยาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมต่อไป

2.2. การตรวจสอบสารพันธุกรรม RNA ของไวรัสชนิดอีโบลาด้วยวิธี duplex nested RT-PCR ทำตามวิธีการที่คณะผู้วิจัยได้รายงานไว้แล้ว⁽¹⁰⁾ ดังนี้

- Master mix condition

1) First round one step RT-PCR

	(final conc.)	vol (μl)
1. H ₂ O (มากับkit)	-	23.75
2. 5x Buffer	1x	10
3. 25mMMgCl ₂	0.5mM	1.0
4. 10mMdNTP	0.2mM	2.0
5. 20μM CONINT 1F	0.2 μM	0.5
6. 20μM CONINT 1R	0.2 μM	0.5

7.	20 μ M BATNP 1F	0.6 μ M	1.5
8.	20 μ M BATNP 1R	0.6 μ M	1.5
9.	40U/ μ l RNase inhibitor	10 U	0.25
10.	Enzyme mix		2.0
	Total		43.0
11.	Internal Control		2.0
12.	Template		5.0

2) Nested PCR

	(final conc.)	vol (μ l)
1. H ₂ O	-	29.5
2. 5x Buffer	1X	10.0
3. 25mMMgCl ₂	2 mM	4.0
4. 10mMdNTP	0.2 mM	1.0
5. 20 μ M Kana F	0.2 μ M	0.5
6. 20 μ M Kana R	0.2 μ M	0.5
7. 20 μ M Nipah 2F	0.6 μ M	1.5
8. 20 μ M Nipah 2	0.6 μ M	1.5
9. 5U/ μ l Tag Enzyme	2.5 Unit	0.5
Total		49
Template (first round PCR product)		1.0

- PCR profile

1) First round RT-PCR

50°C 35 min

95°C 15 min

30 cycle of

94°C 1 min

55°C 1 min

72°C 1 min

Then

72°C 10 min

25°C forever

2) Nested PCR

94°C 5 min

35 cycle of

94°C 30 s

55°C 30 s

72°C 1 min

Then

72°C 5 min

4°C forever

ตารางที่ 1 Primer sequences ที่ใช้ในการทดสอบ

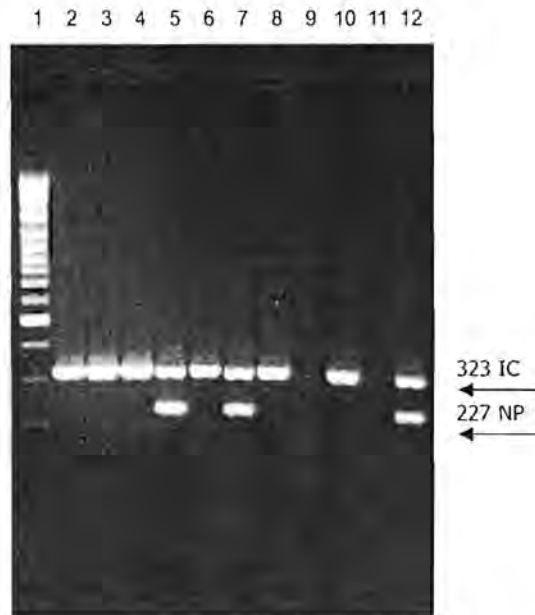
Primer's name	5'-3' sequence
Nipah 1 F	CTT GAG CCT ATG TAT TTC AGA C
Nipah 1 R	GCT TTT GCA GCC AGT CTT G
CONINT1F	CTG GCC TGT TGA ACA AGT CT
CONINT1R	GAT CTG ATC CTT CAA CTC AGC
Nipah 2 F	CTG CTG CAG TTC AGG AAA CAT CAG
Nipah 2 R	ACC GGA TGT GCT CAC AGA ACT G
Kana F 5	GCCATTCTCACCGGATTCAGTCGTC
Kana R	AGCCGCCGTCCCGTCAAGTCAG

2.3 ตรวจสอบ PCR product โดยการ run gel electrophoresis ใน 2% agarose

การแปลผล

ผลการทดสอบที่ยอมรับได้คือ มี band ของ internal control ขึ้นที่ขนาด 323 bp ใน negative control และในตัวอย่างตรวจ หรือ กรณีที่ตัวอย่างมีเฉพาะ band ของ Nipah ที่ 227bp แต่ internal control ไม่ขึ้น

หากไม่มี band ของ internal control ขึ้นในตัวอย่างตรวจสอบแสดงว่ามี PCR inhibitor ปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างให้ทำการ repeat โดยทำ dilution ของตัวอย่าง nucleic acid ด้วย DNase RNase free water ที่ 1:5



รูปที่ 1 แสดงภาพ PCR product บนเจล โดย internal control มีขนาด 323 base pairs (bp) และ เชื้อไวรัสนิปาห์มีขนาด 227 bp

3. การถอดรหัสพันธุกรรมเชื้อไวรัสนิปาห์จากตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธี PCR

นำ first round PCR product ของตัวอย่างที่พบผลบวกจากการทำ duplex nested PCR ไปเพิ่มปริมาณด้วยวิธี Hemi-nested PCR โดยการทำ 2 ปฏิกริยาแยกกันด้วย primer 2 คู่ คือ ปฏิกริยาแรก ใช้ primer Nipah 1 F กับ Nipah 2 R ส่วนปฏิกริยาที่ 2 ใช้ primer Nipah 2 F กับ Nipah 1 R โดยใช้ condition และ PCR profile เหมือนกับรอบ nested PCR หลังจากการแยกขนาด PCR product บน agarose gel และทำให้บริสุทธิ์แล้ว ทำการหาลำดับพันธุกรรมด้วย หลักการ Sanger ทั้งนี้ผลการถอดรหัสพันธุกรรมจากทั้ง 2 ปฏิกริยารวมกัน จะอ่าน ได้รวม 357 bp

4. การวิเคราะห์ผลรหัสพันธุกรรม

- เปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมด้วยโปรแกรม Clustal X
- เปรียบเทียบวิวัฒนาการของเชื้อที่พบด้วยวิธี Neighbor-Joining

ผลการวิจัย

1. ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสซิปป่าด้วยวิธี duplex nested RT-PCR

- วัดหลวงพรหมวาส พบผลบวก 18 ใน 50 ตัวอย่าง
- วัดท่าซุง พบผลบวก 4 ใน 50 ตัวอย่าง

โดยมีรายละเอียดของตัวอย่างที่ให้ผลบวกแสดงในตารางที่ 2

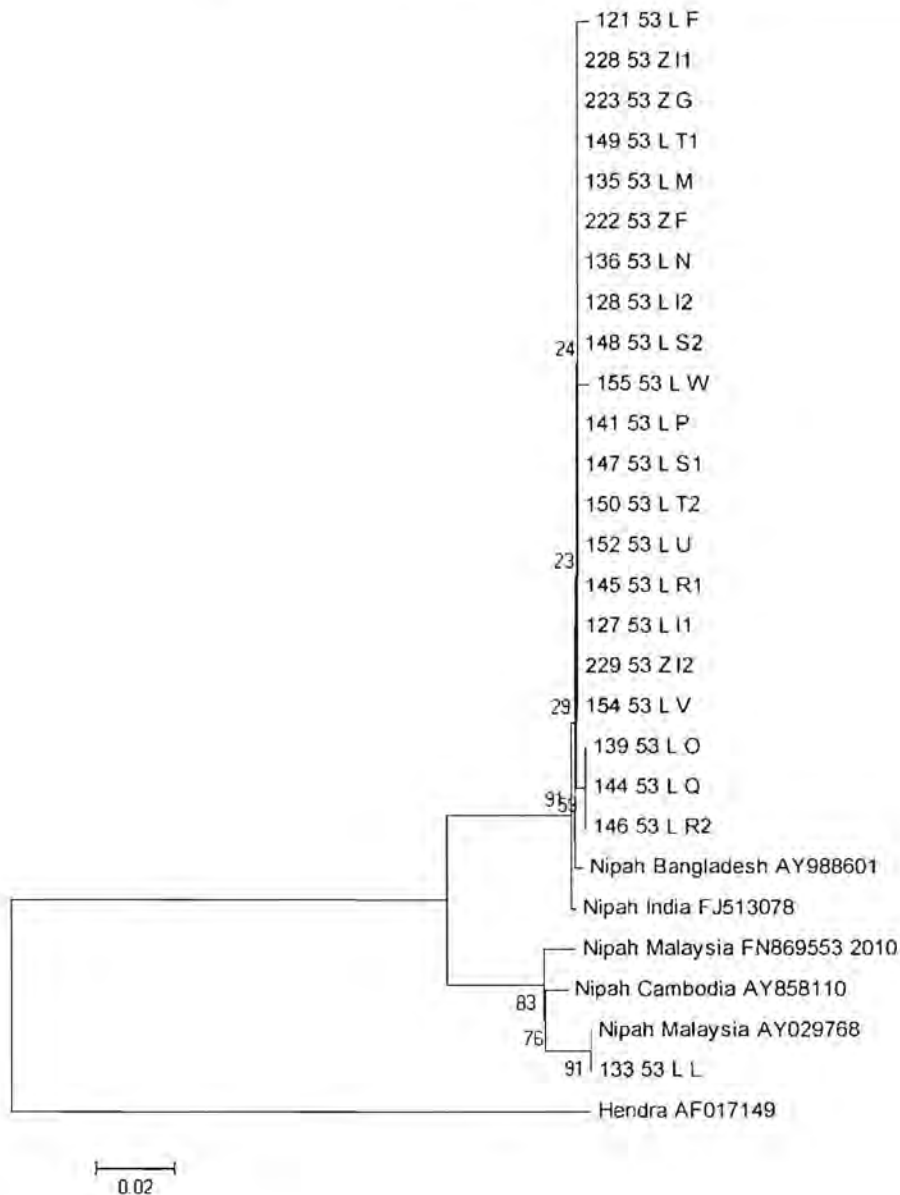
ตารางที่ 2 แสดงรายการผลการตรวจไวรัสซิปป่าด้วยวิธี PCR

No.	Code ผ้า พลาสติก	Collection date	Location	specimen type	comment	Group*	species
121	F	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B13	P.lylei
127	I	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
128	I	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
133	L	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	M	P.lylei
135	M	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
136	N	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
139	O	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B4	P.lylei
141	P	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
144	Q	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B4	P.lylei
145	R	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
146	R	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B4	P.lylei
147	S	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
148	S	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
149	T	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
150	T	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
152	U	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
154	V	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B1	P.lylei
155	W	Apr 25,2010	Wat Luang,Chonburi	urine	plastic	B14	P.lylei
222	F	May 1.2010	Wat Tasung Ayuthya	urine	plastic	B1	P.lylei
223	G	May 1.2010	Wat Tasung Ayuthya	urine	plastic	B1	P.lylei
228	I	May 1.2010	Wat Tasung Ayuthya	urine	plastic	B1	P.lylei
229	I	May 1.2010	Wat Tasung Ayuthya	urine	plastic	B1	P.lylei

* จัดกลุ่มไวรัสตามความเหมือนของรหัสพันธุกรรม อ้างอิงกับไวรัสต้นแบบที่มีการรายงานในประเทศ
บังกลาเทศ (B) และ ประเทศมาเลเซีย (M)

2. การถอดรหัสพันธุกรรมตัวอย่างที่พบเชื้อไวรัสนิปาห์

ตารางที่ 2 ได้แสดงผลการถอดรหัสพันธุกรรมเบื้องต้นของตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากทั้ง 2 แห่ง และเมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อที่พบด้วย Phylogenetic tree โดยใช้โปรแกรม Neighbor-Joining ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดง Phylogenetic tree ของเชื้อไวรัสนิปาห์ที่พบจาก 2 แห่ง คือวัดหลวงพรหมาวาส จังหวัดชลบุรี (L) และ วัดท่าซุง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา (Z)

อภิปรายและวิจารณ์ผล

1. ความชุก

รายงานก่อนหน้านี้นี้ ระหว่างปี 2005-2007⁽⁸⁾ การศึกษาเปรียบเทียบความชุกของการพบเชื้อไวรัสหัดน้ำ โดยการศึกษาเปรียบเทียบความชุกของการพบเชื้อไวรัสหัดน้ำ โดยการสุ่มตรวจเย็บค้ำความแม่ไก่ภาคกลางจากผ้าพลาสติก ที่วัดหลวงพรหมาวาส จังหวัดชลบุรี พบว่ามีการพบเชื้อในช่วงที่พบสูงสุดของปีในเดือนพฤษภาคม ในอัตรา 6/48 หลอด ในปี 2005 4/51 หลอดในปี 2006 และ 4/99 ในปี 2007 ในขณะที่การศึกษานี้ ในปี 2010 พบเชื้อในช่วงปลายเดือนเมษายน จำนวน 18 ใน 50 หลอด ซึ่งการพบเชื้อบวกรวมมีอัตราเพิ่มขึ้นจากที่เคยมีการรายงานไว้ และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการตรวจในปี 2008 พบเชื้อ 4/50 หลอด และ 7/50 หลอด ในปี 2009 (ข้อมูลยังไม่ได้รายงาน)

การตรวจพบเชื้อไวรัสหัดน้ำจากวัดท่าซุงในปี 2010 ที่ทำการศึกษานี้พบผลบวก 4/50 หลอด ซึ่งมีจำนวนผลบวกต่ำกว่าที่พบจากวัดหลวงเมื่อเทียบจากจำนวนหลอด pooled urine ที่เก็บแบบสุ่ม ทั้งนี้จำนวนประชากรค้ำคาวที่วัดหลวงนับเมื่อปี 2548 มีประมาณ 12,000 ตัว ในขณะที่จำนวนประชากรค้ำคาวที่วัดท่าซุงเมื่อปี 2544 มีประมาณ 4,000 ตัว ซึ่งจำนวนค้ำคาวที่แตกต่างกันอาจมีผลต่อการพบผลบวกในเย็บค้ำคาว

อย่างไรก็ตามวิธีการสุ่มตัวอย่างไม่สามารถใช้ในการคำนวณอัตราการติดเชื้อได้เนื่องจากการเก็บตัวอย่าง pooled urine จากค้ำคาวมากกว่า 1 ตัวที่อาศัยอยู่บริเวณผ้าพลาสติกเดียวกัน แต่สามารถบอกทิศทางการพบเชื้อในแต่ละปีได้ หากมีการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีเดียวกัน ในช่วงเวลาเดียวกัน อย่างต่อเนื่อง ผลบวกที่พบเพิ่มขึ้นอาจเป็นผลมาจากมีอัตราการติดเชื้อในประชากรค้ำคาวสูงขึ้น หรือมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนค้ำคาว โดยมีอัตราการติดเชื้อเท่าเดิมทำให้จำนวนตัวที่มีเชื้อไวรัสมีสัดส่วนสูงตามไปด้วย

การตรวจตัวอย่างจากวัดหลวงฯ เมื่อแยกตามจำนวนผ้าใบพลาสติก พบว่าพบผลบวก 14 ใน 26 ผืนที่ทำการวาง โดยมีผืนที่พบผลบวกทั้ง 2 หลอด จำนวน 4 ผืน ได้แก่ code I, R, S, T โดยตัวอย่างจากผ้าพลาสติก No. I, S และ T ให้ผลรหัสพันธุกรรมเหมือนกันทั้ง 2 ตัวอย่าง ในขณะที่พบตัวอย่างไวรัสที่แตกต่างกัน 2 ชนิด (B1 และ B4) ในผ้าพลาสติก No. R จึงมีความเป็นไปได้ว่ามีค้ำคาวอย่างน้อย 2 ตัวในบริเวณผ้าพลาสติกขนาด 1.5x1.5 เมตร โดยในการเก็บตัวอย่างเย็บคาวบนผ้าพลาสติกจะมีการแยกโซนการเก็บระหว่างตัวอย่างทั้ง 2 หลอด การเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการนี้เป็นวิธีการที่ง่าย ไม่ทำร้ายสัตว์ ถึงแม้ไม่สามารถบอกอัตราการติดเชื้อที่แน่ชัดได้

2. การศึกษารหัสพันธุกรรม

Phylogenetic tree ที่ได้จากการศึกษารหัสพันธุกรรมของไวรัสชนิดนี้พบจากการศึกษาครั้งนี้ สามารถแบ่งไวรัสออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ไวรัสที่มีรหัสพันธุกรรมเหมือนกับไวรัสที่พบในประเทศมาเลเซียจำนวน 1 ตัวอย่าง (No.133) และกลุ่มที่มีความเหมือนใกล้เคียงกับไวรัสที่พบในประเทศบังกลาเทศและอินเดีย ซึ่งเป็นกลุ่มใหญ่ของการศึกษานี้ (21 ตัวอย่าง) ที่สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้อีก 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 (B13) ประกอบด้วย 1 ตัวอย่างคือ No.121 กลุ่มที่ 2 (B14) ประกอบด้วย 1 ตัวอย่างคือ No.155 กลุ่มที่ 3 (B4) ประกอบด้วย 3 ตัวอย่าง ได้แก่ No.139, 144 และ 146 กลุ่มที่ 4 (B1) ประกอบด้วย 16 ตัวอย่างที่เหลือ อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวยังไม่สามารถนำมาศึกษาถึง virus evolution ได้ เนื่องจากมีขนาดของข้อมูลพันธุกรรมน้อยเกินไป จึงทำได้เพียงการแยกกลุ่มเท่านั้น การศึกษารหัสพันธุกรรมไวรัสที่ยาวขึ้น เช่น whole N gene อาจช่วยในการศึกษาเรื่องนี้ได้

การถอดรหัสพันธุกรรม ของเชื้อไวรัสชนิดนี้ที่พบในการศึกษาขนาด 357 bp รหัสพันธุกรรมแบบ B1 ที่พบมากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ มีลักษณะคล้ายกับเชื้อไวรัสที่พบจากการรายงานในผู้ป่วยชาวบังกลาเทศ โดยมีรหัสพันธุกรรมต่างกันเพียง 1 ใน 357 bp (ตารางที่ 1 และ ภาคผนวกที่ 1) และเป็นชนิดที่พบผลบวกมากที่สุดเท่าที่มีการพบเชื้อไวรัสชนิดนี้ในค้างคาวแม่ไก่ภาคกลางในประเทศไทย (ผู้วิจัย ข้อมูลยังไม่ได้รายงาน) นอกจากนี้ยังพบว่าสายพันธุ์ไวรัสที่พบจากวัดท่าซุงนั้นเป็นชนิด B1 ทั้งจากการสำรวจในการศึกษานี้ และผลการสำรวจย้อนหลังเมื่อปี พ.ศ.2549 จำนวน 1 ตัวอย่าง⁽⁸⁾ และพ.ศ.2552 จำนวน 15 ตัวอย่าง (ผู้วิจัย ข้อมูลยังไม่ได้รายงาน)

ตัวอย่างไวรัสชนิดนี้ที่พบอีก 6 ตัวอย่างที่วัดหลวงพรหมาวาส เป็นชนิด B4 จำนวน 3 ตัวอย่าง B13, B14, M อีกอย่างละ 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2) โดยตัวอย่าง No. 133 ที่พบผลเป็นแบบ M นั้น รหัสพันธุกรรมมีความเหมือน 100 % กับที่รายงานในประเทศมาเลเซียทั้งจากคนและค้างคาวแม่ไก่เกาะ (*P.hypomelanus*) ที่มีประวัติการนำโรคจากค้างคาวสู่สุกรและจากสุกรสู่คน ในขณะที่ไวรัสสายพันธุ์ที่พบในประเทศบังกลาเทศนั้นพบว่าการติดเชื้อเกิดจากค้างคาวสู่คนและจากคนสู่คน⁽¹¹⁾

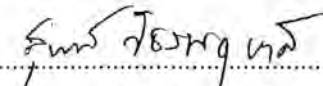
ความหลากหลายของสายพันธุ์ไวรัสชนิดนี้ที่ในวัดหลวงพบมากกว่าวัดท่าซุงอาจเป็นผลมาจากจำนวนค้างคาวที่พบในวัดหลวงที่มากกว่าถึง 3 เท่า หรือ วัดหลวงฯอยู่ในพื้นที่จังหวัดชลบุรีที่ใกล้ทะเลซึ่งมีค้างคาวแม่ไก่เกาะ อาศัยที่เกาะ เช่นเกาะคราม จังหวัดชลบุรี ที่พบค้างคาวมีผลบวก antibody ต่อไวรัสชนิดนี้ แต่ยังไม่มียารายงานการพบเชื้อในเขี้ยวค้างคาว ที่อาจมีการติดเชื้อข้าม species หรือ มีค้างคาวแม่ไก่เกาะมาอาศัยใน colony ของค้างคาวแม่ไก่ภาคกลาง

ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ

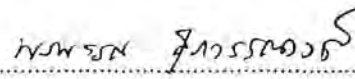
1. การสำรวจและเฝ้าระวังโรคในประชาชนที่อาศัยหรือมีกิจกรรมใกล้ชิดกับค้างคาว มีความสำคัญในการเกิดโรคระบาดเพราะมีการพบเชื้อไวรัสชนิดเดียวกับที่พบในประเทศบังกลาเทศ ที่สามารถติดเชื้อจากค้างคาวสู่คนได้โดยตรง
2. การศึกษารหัสพันธุกรรมของไวรัสและอัตราการติดเชื้อเชิงเปรียบเทียบ โดยการเก็บตัวอย่างเยื่อค้างคาวได้ดัดไม้ ในช่วงเวลา รูปแบบและวิธีการเดิม เพื่อเฝ้าสังเกตการณ์เพิ่มขึ้นของเชื้อไวรัสสายพันธุ์มาเลเซีย (M) หากพบสัดส่วนของ M เพิ่มขึ้น จะเป็นสัญญาณเตือนที่ต้องเพิ่มความเข้มข้นการเฝ้าระวังการติดเชื้อในสุกรต่อไป

ลงนาม..... 

ศ.นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุฑา
(หัวหน้าโครงการวิจัย)

ลงนาม..... 

ดร.สุภากรณ์ วัชรพฤษชาติ
(ผู้ร่วมโครงการวิจัย)

ลงนาม..... 

นส.พรพรรณ สุภวรรณวงศ์
(ผู้ร่วมโครงการวิจัย)

บรรณานุกรม

1. Chua KB, Goh KJ, Wong KT, Kamarulzaman A, Tan PS, Ksiazek TG, et al. Fatal encephalitis due to Nipah virus among pig-farmers in Malaysia. *Lancet* 1999;354:1257-1259.
2. Goh KJ, Tan CT, Chew NK, Tan PS, Kamarulzaman A, Sarji SA, et al. Clinical features of Nipah virus encephalitis among pig farmers in Malaysia. *N Engl J Med* 2000;342:1229-1235.
3. Hsu VP, Hossain MJ, Parashar UD, Ali MM, Ksiazek TG, Kuzmin I, et al. Nipah virus encephalitis reemergence, Bangladesh. *Emerg Infect Dis* 2004;10:2082-2087.
4. Montgomery JM, Hossain MJ, Gurley E, Carroll GD, Croisier A, Bertherat E, et al. Risk factors for Nipah virus encephalitis in Bangladesh. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1526-1532.
5. Wacharapluesadee S, Lumlertdacha B, Boongird K, Wanghongsa S, Chanhom L, Rollin P, et al. Bat Nipah virus, Thailand. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1949-1951.
6. Williamson MM, Hooper PT, Selleck PW, Westbury HA, Slocombe RF. Experimental hendra virus infection in pregnant guinea-pigs and fruit Bats (*Pteropus poliocephalus*). *J Comp Pathol* 2000;122:201-207.
7. Middleton DJ, Morrissy CJ, van der Heide BM, Russell GM, Braun MA, Westbury HA, et al. Experimental Nipah virus infection in pteropid bats (*Pteropus poliocephalus*). *J Comp Pathol* 2007;136:266-272.
8. Wacharapluesadee S, Boongird K, Wanghongsa S, Ratanasetyuth N, Supavonwong P, Saengsen D, et al. A Longitudinal Study of the Prevalence of Nipah Virus in *Pteropus lylei* Bats in Thailand: Evidence for Seasonal Preference in Disease Transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10:183-90.
9. Chua, KB. A novel approach for collecting samples from fruit bats for isolation of infectious agents. *Microbes Infect* 2003; 5:487-490.
10. Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Duplex nested RT-PCR for detection of Nipah virus RNA from urine specimens of bats. *J Virol Methods.* 2007 Apr;141:97-101.
11. Luby SP, Hossain MJ, Gurley ES, Ahmed BN, Banu S, Khan SU, Homaira N, Rota PA, Rollin PE, Comer JA, Kenah E, Ksiazek TG, Rahman M. Recurrent zoonotic transmission of Nipah virus into humans, Bangladesh, 2001-2007. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:1229-35.

ภาคผนวก

1. การเปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมของเชื้อไวรัสนิปาห์ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ โดยมีรหัสพันธุกรรมไวรัสนิปาห์อ้างอิงจากประเทศต่างๆ ได้แก่ บังกลาเทศ (AY988601), อินเดีย (FJ513078) มาเลเซีย (FN869553, AY029768), กัมพูชา (AY858110) และไวรัส Hendra (AF017149)

	11	20	31	41	50	61	71	81	90	100			
Nipah_Bangladesh_AY988601	TAGGCCAA	AAATCAGCA	DGTCACCA	TGCTGGG	GGGSAITG	ATCAGACAT	GGCGA	TAGGAT	TAGTCAAA	TCAAAG	TGCRGAC	TCGGC	TGCCGC
Nipah_India_FJ513078
Nipah_Malaysia_FN869553_2010
Nipah_Malaysia_AY029768
Nipah_Cambodia_AY858110
139_53_L_O
144_53_L_Q
146_53_L_R2
141_53_L_P
121_53_L_F
222_53_E_F
135_53_L_M
147_53_L_S1
136_53_L_N
149_53_L_T1
150_53_L_T2
128_53_L_I2
223_53_E_G
152_53_L_U
148_53_L_S2
228_53_E_I1
133_53_L_L
145_53_L_R1
127_53_L_I1
229_53_E_I2
154_53_L_V
155_53_L_W
Hendra_AF017149	T...A...G	...A...A...	...T...C...	...A...A...	...T...A...	...T...A...	...A...TG...	...G...C...

	211	220	231	240	250	260	270	281	290	301
Nipah_Bangladesh_AY988601	GTCGACGAGAGGAAAGAACCTATAGAACAGAGTGGCCGACAGTCAGTTACTTTC	AAACGGGAAATGAGTATTTC	CACTCTCTTGCTGACAGCGT	SCCGAGCA						
Nipah_India_FJ513078										
Nipah_Malaysia_FN869553_2010	A		A		C		G		C	C
Nipah_Malaysia_AY029758	A		A		C		G		C	A
Nipah_Cambodia_AY858110			A		C		G		C	
139_53_L_O										
144_53_L_Q										
146_53_L_R2										
141_53_L_P										
121_53_L_F										
222_53_Z_F										
135_53_L_M										
147_53_L_S1										
136_53_L_N										
149_53_L_T1										
150_53_L_T2										
128_53_L_I2										
223_53_Z_G										
152_53_L_U										
148_53_L_S2										
228_53_Z_I1										
133_53_L_L	A		A		C		G		C	A
145_53_L_R1										
127_53_L_I1										
229_53_Z_I2										
154_53_L_V										
155_53_L_W					G					
Hendra_AF017149	A	T	D	G	A	G	C	T	T	A
	G	C	T	T	A	G	G	G	A	C
	C	G	C	G	C	A	C	A	C	A

	310	320	330	340	350
Nipah_Bangladesh_AY988601	GTTC	TGTGAGCACCC	CAGGTGGGACCAGAT	TGACTAATCTCT	TGGCTAAACCTCAGAT
Nipah_India_FJ513078
Nipah_Malaysia_FN869553_2010	A..C..	C..	A..A..
Nipah_Malaysia_AY029768	A..C..	A..A..
Nipah_Cambodia_AY658110	A..C..	A..A..
133_53_L_O
144_53_L_Q
146_53_L_R2
141_53_L_P
121_53_L_F
222_53_Z_F
135_53_L_M
147_53_L_S1
136_53_L_N
149_53_L_T1
150_53_L_T2
128_53_L_I2
223_53_Z_G
152_53_L_U
148_53_L_S2
228_53_Z_I1
133_53_L_L	A..C..	A..A..
145_53_L_R1
127_53_L_I1
229_53_Z_I2
154_53_L_V
155_53_L_W
Hendra_AF017149	A.....T..A..C..A..A..G.....A.....	C..A..C..G..T.....

ประวัตินักวิจัยและคณะ พร้อมหน่วยงานสังกัด

ชื่อหัวหน้าโครงการ

(ภาษาไทย) นพ.ธีระวัฒน์ เหมะจุธา..... ตำแหน่งทนายวิชาการ ศาสตราจารย์...ระดับ 11.....

(ภาษาอังกฤษ) Professor Thiravat Hemachudha.....

สังกัดภาควิชา.....อายุรศาสตร์.....คณะ/สถาบันแพทยศาสตร์.....

โทรศัพท์02 2564000 ต่อ 3598... โทรสาร ...02 652 3122..... E-mail.....fmedthm@gmail.com.

ที่อยู่ปัจจุบัน 144 สุขุมวิท 39 กรุงเทพฯ 10110..... โทรศัพท์081 622 7766.....

มหาวิทยาลัย ปริญญา สาขาวิชา ปีที่ได้รับ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วท.บ. (เกียรตินิยม) วิทยาศาสตร์การแพทย์ 2520

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.บ. (เกียรตินิยม) แพทยศาสตร์ 2519

แพทยสภา ว.ว.(วุฒิบัตรผู้เชี่ยวชาญ) อายุรศาสตร์ 2524

แพทยสภา ว.ว.(วุฒิบัตรผู้เชี่ยวชาญ) ประสาทวิทยา 2526

Johns Hopkins University School of Medicine Fellowship Neurology /

Neuroimmunology 2529

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่พิมพ์)

PUBLICATIONS:

RABIES AND RELATED TOPICS

1. Hemachudha T, Giffels JJ, Griffin DE, Johnson RT. Immune responses during allergic neuraxitis induced by postexposure rabies immunization. *Neurology* 1986;36 (4suppl 1):311-2.
2. Hemachudha T, Griffin DE, Giffels JJ, Johnson RT, Moser AB, Phanuphak P. Myelin basic protein as an encephalitogen in encephalomyelitis and polyneuritis following rabies vaccination. *N Engl J Med* 1987;316:369-74.
3. Hemachudha T, Phanthumchinda K, Phanuphak P, Manutsathit S. Myoedema as a clinical sign in paralytic rabies. *Lancet* 1987;1210.
4. Hemachudha T, Phanuphak P, Johnson RT, Griffin DE, Ratanavongsiri J, Siriprasomsup W. Neurologic complications of Semple type rabies vaccine: clinical and immunologic studies. *Neurology* 1987;37:550-6.
5. Hemachudha T, Griffin DE, Chen WW, Johnson RT. Immunological studies of rabies vaccination induced Guillain Barre Syndrome. *Neurology* 1988;38:375-8.

6. Hemachudha T, Griffin DE, Johnson RT, Giffels JJ. Immunological studies of patients with chronic encephalitis induced by postexposure Semple rabies vaccine, *Neurology* 1988;38: 42-4.
7. Hemachudha T, Phanuphak P, Sriwanthana B, Manutsathit S, Phanthumchinda K, Siriprasomsup W, Ukachoke C, Rasameechan S, Kaoroptham S. Immunologic study of human encephalitic and paralytic rabies. A preliminary study of 16 patients. *Am J Med* 1988;84:673-6.
8. Vishawapoka U, Hemachudha T, Tepsumethanon W, Polsuwan C, Tirawatnpong S, Phanuphak P. Detection of rabies antigen in canine parotid glands by dot-blot technique. *Lancet* 1988;1:881.
9. Hemachudha T, Tirawatnpong S, Phanuphak P. Pathogenesis study of human encephalitic and paralytic rabies: virologic and immunologic aspects. *Asian Pacific J Allergy Immunology* 1988;6:140.
10. Griffin DE, Hemachudha T, Johnson RT. Postinfectious and postvaccinal encephalomyelitis. In: Gildea DH, Lipton H, eds. *Clinical and molecular aspects of viral illnesses of the nervous system*. Boston: Martinus Nijhoff 1989:501-27.
11. Wilde H, Choomkasien P, Hemachudha T, Supich C. Rabies postexposure treatment failures in Thailand. *Vaccine* 1989;7:49-52.
12. Hemachudha T. Human encephalitic and paralytic rabies: clinical and immunologic aspects. *Progress in Rabies Control*. Thraenhart O, Koprowski H, Bogel K, Sureau P, eds. Wells Medical Limited 1989:54-67.
13. Hemachudha T. Chapter on Rabies. In: Vinken PJ, Bruyn GW, Klawans HL, eds. *Handbook of clinical neurology. Viral Disease*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1989:383-404.
14. Tirawatnpong S, Hemachudha T, Manatsathit S, Shuangshoti S, Phanthumchinda K, Phanuphak P. Regional distribution of rabies viral antigen in central nervous system of human encephalitic and paralytic rabies. *J Neurol Sci* 1989;92:91-9.
15. Sriwanthana B, Hemachudha T, Griffin DE, Manatsathit S, Tweardy D, Phanuphak P. Lymphocyte subsets in human encephalitic and paralytic rabies. *Acta Neuro Scand* 1989;80:287-9.
16. Hemachudha T, Tirawatnpong S, Phanthumchinda K. Seizures as the initial manifestation of paralytic rabies. *J Neurol Neurosurgery Psychiatry* 1989;52:808-10.
17. Hemachudha T, Khawplod P, Phanuphak P, Griffin DE. Enhanced antibody response to rabies virus in patients with neurologic complications following brain tissue-derived rabies vaccination. *Asian Pacific J Allergy Immunol* 1989;7:47-50.
18. Ubol S, Hemachudha T, Whitaker JN, Griffin DE. Antibody to peptides of human MBP in post-rabies vaccine encephalomyelitis sera. *J Neuroimmunol* 1990;26:107-11.
19. Chaleomchan W, Hemachudha T, Sakulramrung R, Deesomchoke U. Anticardiolipin antibodies in patients with rabies vaccination induced neurologic complications and other neurological diseases. *J Neurol Sci* 1990;96:143-51.
20. Griffin DE, Hemachudha T. Encephalomyelitis after rabies vaccine. *Clin Immunol. Newsletter* 1991.

21. Kasempimolporn S, Hemachudha T, Khawplod P, Manaisathit S. Humoral immune response to rabies N and G proteins in human rabies. *Clin Exp Immunol* 1991;84:195-9.
22. Tepsumethanon V, Polsuwan C, Lumlerdaecha B, Chiewbammungkiat M, Khawplod P, Hemachudha T, Phanuphak P, Chutivongse S. Immune response to rabies in Thai dogs after vaccination. *Vaccine* 1991;9:627-30.
23. Hemachudha T, Chutivongse S, Wilde H, Phanuphak P. Latent rabies. *N Engl J Med* 1991;324:1890-1.
24. Chutivongse S, Wilde H, Fishbein DB, Baer GM, Hemachudha T. One-year study of the 2-1-1 intramuscular postexposure rabies vaccine regimen in 100 severely exposed Thai patients using rabies immune globulin and Verocell rabies vaccine. *Vaccine* 1991;9:573-6.
25. Panpanich T, Hemachudha T, Piyasirisilp S, Manatsathit S. Cells with natural killer activity in human rabies. *Clin Exp Immunol* 1992;89:414-8.
26. Hemachudha T, Kamolvarin N, Tirawatnpong T, Tirawatnpong S, Panpanich T, Khawplod P, Wilde H, Chutivongse S. Ante- and postmortem diagnosis of rabies in man and animal by PCR using nested primers. *Neurology* 1992;42(suppl 3):370.
27. Siwasontiwat D, Lumlerdaecha B, Polsuwan C, Hemachudha T, Chutivongse S, Wilde H. Rabies: is provocation of the biting dog relevant for risk assessment? *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1992;86:443.
28. Hemachudha T, Panpanich T, Manatsathit S, Phanuphak P. Immune activation in human rabies. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1993;87:106-8.
29. Kamolvarin N, Tirawatnpong T, Rattanasiwamoke R, Panpanich T, Tirawatnpong S, Hemachudha T. Diagnosis of rabies by polymerase chain reaction using nested primers. *J Infect Dis* 1993;167:207-10.
30. Sage G, Khawplod P, Wilde H, Lobaugh C, Hemachudha T, Tepsumethanon W, Lumlerdaecha B. Immune response to rabies vaccine in Alaskan dogs: failure to achieve a consistently protective antibody response. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1993;87:593-5.
31. Hemachudha T, Wilde H. Rabies. In: Johnson RT, Griffin JW, eds. *Current Therapy in Neurological Disease*, 4th ed. Morby Year Book 1993:143-6.
32. Wilde H, Chutivongse S, Hemachudha T. Rabies and its prevention. *Med J Aust* 1994;160:83-7.
33. Hemachudha T. Human Rabies: Clinical aspects, pathogenesis and potential therapy. In: Rupprecht CE, Koprowski H, eds. *Current Topics in Microbiology and Immunology. Lyssavirus*. Springer Verlag 1994:121-43.
34. Piyasirisilp S, Khawplod P, Hemachudha T. Immune response to rabies virus in cirrhotic patients after vaccination. Presented at Chulalongkorn University Hospital Annual Scientific Meeting 1994.
35. Lucia Alvarez H, Ramon Fajardo V, Elvia Lopez M, Rina Pedroza F, Hemachudha T, Kamolvarin N, Gilberto Cortez C, Baer GM. Partial recovery from rabies in a 9 year old boy. *Ped Infect Dis J* 1994;13:1154-5.

36. Dumrongphol H, Srikiatkachorn A, Hemachudha T, Kotchabhakdi N, Govitrapong P. Alteration of muscarinic acetylcholine receptors in rabies-viral infected dog brains. *J Neurol Sci* 1996;137:1-6.
37. Hemachudha T. Rabies. In: Roos KL. ed. *CNS infectious diseases and therapy*. Marcel Dekker, Inc. 1997;573-600.
38. Hemachudha T, Phuapradit P. Rabies. In: Johnson RT, Frackowiak R, Coyle P. (eds). *Current opinion in Neurology*. Rapid Science Publishers 1997;10: 260-267.
39. Hemachudha T, Phuapradit P. Rabies. *Ramathibodi Medical Journal* 1997;20:204-21.
40. Laothamathas J, Hemachudha T, Tulayadechanont S, Mitrabhakdi E. Neuroimaging in paralytic rabies (preliminary study). *Ramathibodi Medical Journal* 1997;20:149-56.
41. Hemachudha T, Mitrabhakdi E, Wilde H, Vejabhuti A, Siripataravanit S, Kingnate D. Additional reports of failure to respond to treatment after rabies exposure in Thailand. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 143-144.
42. Piyasirisilp S, Schmeckpeper BJ, Chandanayingyoung D, Hemachudha T, Griffin DE. Association of HLA and T cell receptor gene polymorphisms with Semple rabies vaccine induced autoimmune encephalomyelitis. *Ann Neurology* 1999; 45: 595-600.
43. Piyasirisilp S, Hemachudha T, Griffin DE. B-cell responses to myelin basic protein and its epitopes in autoimmune encephalomyelitis induced by Semple rabies vaccine. *J Neuroimmunol* 1999;98:96-104.
44. Hemachudha T, Mitrabhakdi E, Wilde H, Kingnate D. Therapeutic failures with rabies vaccine and immunoglobulin. *Clin Infect Dis* 1999;29:1606. (Reply)
45. Hemachudha T, Mitrabhakdi E. Rabies. In: Kennedy PR, Davis LE. (eds). *CNS infectious diseases*. Butterworth-Heinemann. 2000, 401-444.
46. Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Rapid diagnosis of human rabies using nucleic acid sequence based amplification. *Lancet* 2001;358:892-93.
47. Hemachudha T, Mitrabhakdi E, Wacharapluesadee S. Clinical features of human encephalitic and paralytic rabies. *Rabies control in Asia*. John Libbey Eurotext, Paris 2001, 10-18.
48. Wilde H, Khawplod P, Hemachudha T, Sitprija V. Postexposure treatment of rabies infection: Can it be done without immunoglobulin? *Clin infect disease* 2002; 34:477-80.
49. Mitrabhakdi E, Wilde H, Hemachudha T, . Chapter on Rabies. Nath A, Berger JR (eds). *Clinical Neurovirology*. Marcel-Dekker 2003; pp309-25.
50. Hemachudha T, Laothamathas J, Rupprecht CE. Rabies. *Lancet Neurology* 2002; 1:101-9.
51. Rupprecht CE, Hanlon C, Hemachudha T. Rabies: Re-examined. *Lancet Infectious Disease* 2002; 2:337-53.
52. Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Urine as a source of rabies RNA detection in human rabies diagnosis. *Clin Infect Dis* 2002; 34:874-875.
53. Wilde H, Khawplod P, Hemachudha T, Sitprija V. Reply to Warrell MJ, Warrell DA. Intradermal regimens for rabies postexposure prophylaxis: more confusion. *Clin Infect Dis* 2002;35:215.

54. Laothamatas J, Hemachudha T, Mitrabhakdi E, Tulyadaechanont S, . MR imaging in human encephalitic and paralytic rabies. *Am J Neuroradiology* 2003; 24:1102-9.
55. Kamoltham T, Wilde H, Hemachudha T. Affordable world wide rabies postexposure prophylaxis. *Vaccine*. 2003; 21:2691.
56. Hemachudha T, Sunsaneewitayakul B, Mitrabhakdi E, Suankratay C, Laothamathas J, Wacharapluesadee S, Khawplod P, Wilde H. Paralytic complications following intravenous rabies immune globulin treatment in a patient with furious rabies. *Int J Infect Dis* 2003;7:76-7.
57. Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Lumlertdaecha B, Orciari LA, Rupprecht CE, La-ongpant M, Juntrakul S, Denduangboripani J. Sequence analysis of rabies virus in humans exhibiting furious or paralytic rabies. *J Infect Dis* 2003; 188:960-6.
58. Wacharapluesadee S, Phumesin P, Hemachudha T. Dried brain spot in the diagnosis of human and animal rabies. *Clin Infect Dis* 2003; 36:674-5.
59. Wilde H, Briggs DJ, Meslin FX, Hemachudha T, Sitprija V. Rabies update for travel medicine advisors. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 96-100.
60. Sriarron C, Daviratanasilpa S, Sansomranjai P, Khawplod P, Hemachudha T, Khamoltham T, Wilde H. Rabies in a Thai child treated with the eight-site post-exposure regimen without rabies immune globulin. *Vaccine* 2003;21:3525-6.
61. Sitprija V, Sriarron C, Lumlertdaecha B, Phumesin P, Khawplod P, Wacharapluesadee S, Wilde H, Hemachudha T. Does contact with urine and blood of a rabies infected dog represent rabies risk? *Clin Infect Dis* 2003; 37:1399-400.
62. Kamoltham T, Wilde H, Hemachudha T. Affordable worldwide rabies post-exposure treatment. *Vaccine* 2003; 21: 2691.
63. Hemachudha T, Rupprecht CE. Rabies. In: Roos K, ed. *Principle of Neurological Infectious Disease* (companion to Harrison's *Principle of Internal Medicine*). McGraw Hill. 2004, p151-174.
64. Rupprecht CE, Hemachudha T. Rabies. In: Scheld M, Whitley RJ, Marra C (eds). *Infections of the central nervous system*. Lippincott Williams&Wilkins. 2004; 243-59.
65. Suja MS, Mahadevan A, Sundaram C, Mani J, Sagar BC, Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Madhusudana SN, Shankar SK. Rabies encephalitis following fox bite- histological and immunohistochemical evaluation of lesions caused by virus. *Clin Neuropatho* 2004; 23:271-6.
66. Hemachudha T, Wacharapluesadee. Ante mortem diagnosis of human rabies. *Clin Infect Dis* 2004; 39:1085-6.
67. Sintunawa C, Wacharapluesadee S, Wilde H, Hemachudha T. Paradigm shift in rabies control: a system approach. *J Med Assoc Thai* 2004; 87: 1530-8.
68. Wilde H, Khawplod P, Hemachudha T. Simulated post-exposure rabies vaccination: comments on article by Madhusudana et al. *Int J Infect Dis* 2004; 8: 374-5.

69. Wilde H, Hemachudha T, Tantawichien T, Khawplod P. Rabies and other lyssavirus diseases. *Lancet* 2004; 363:1906.
70. Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Mitrabhakdi E, Wilde H, Morimoto K, Lewis RA. Pathophysiology of human paralytic rabies. *J Neurovirol* 2005;11:93-100.
71. Hemachudha T. Rabies and dog population control in Thailand: success or failure? *J Med Assoc Thai* 2005; 88:120-3.
72. Wilde H, Hemachudha T. Prophylaxis against rabies. *N Engl J Med* 2005; 352:1608-10.
73. Wilde H, Khawplod P, Khamoltham T, Hemachudha T, Tepsumethanon V, Lumlertdacha B, Mitmoonpitak C, Sitprija V. Rabies control in South and Southeast Asia. *Vaccine*. 2005;23:2284-9.
74. Lumlertdacha B, Boongird K, Wanghongsa S, Wacharapluesadee S, Chanhom L, Khawplod P, Hemachudha T, Kuzmin I, Rupprecht CE. Survey for bat Lyssaviruses in Thailand. *Emerg Infect Dis* 2005;11:232-6.
75. Wacharapluesadee S, Ruangvetvorachai P, Hemachudha T. A simple method for detection of rabies viral sequences in 16 year old formalin fixed paraffin embedded archival brain specimens. *J Virol Methods* 2006 Mar 7; [Epub ahead of print].
76. Denduangboripant J, Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Genetic evolution of rabies virus in Thailand. A search through archives of formalin fixed paraffin embedded tissue. Manuscript in preparation.
77. Denduangboripant J, Wacharapluesadee S, Lumlertdacha B, Ruankaew N, Hoonsuwan W, Puanghat A, Hemachudha T. Transmission dynamics of rabies virus in Thailand: Implications for rabies control. *BMC Infect Dis*. 2005 Jun 29;5:52 [Epub ahead of print].
78. Lumlertdacha B, Kassawat S, Inoue S, Yamada A, Hemachudha T. Clinical diagnosis of canine rabies by artificial intelligent rabies expert. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* (in press).
79. Lumlertdacha B, Wacharapluesadee S, Denduangboripant J, Ruankaew N, Hoonsuwan W, Puanghat A, Sakarasaranee P, Briggs D, Hemachudha T. Complex genetic structure of rabies virus in Bangkok city and its surrounding provinces: Implications for canine rabies control. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 2006:276-81. Epub 2005 Dec 13.
80. Wacharapluesadee S, Lumlertdacha B, Boonkird K, Wanghongsa S, Chanhom L, Rollin P, Rupprecht CE, Ksaizek T, Hemachudha T. Survey for bat Nipah virus in Thailand. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1949-51.
81. Mitrabhakdi E, Shungshoti S, Wannakrairot P, Susuki S, Laothamatas J, Lewis RA, Hemachudha T. Difference in neuropathogenetic mechanisms in human encephalitic and paralytic rabies. *J Neurol Sci* 2005;238(1-2):3-10. Epub 2005 Oct 14.
82. Hemachudha T, Wilde H. Rabies survival. *N Engl J Med*. 2005 Sep 8;353(10):1068-9; author reply 1068-9.
83. Juntrakul S, Ruangvejvorachai P, Shungshoti, Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Mechanisms of escape phenomenon of spinal cord and brainstem in human rabies. *BMC Infect Dis*. 2005 Nov 16;5(1):104 [Epub ahead of print].

84. Wilde H, Hemachudha T. How far can the antigen content of tissue culture rabies vaccine be reduced safely? *Vaccine*. 2005 Oct 26; [Epub ahead of print]
85. Kietdumrongwong P, Hemachudha T. Pneumomediastinum as initial presentation of paralytic rabies: a case report. *BMC Infect Dis*. 2005 Oct 25;5:92.
86. Tepsumethanon V, Wilde H, Hemachudha T. Intratesticular injection of a balanced zinc solution for permanent sterilization of dogs. *J Med Assoc Thai*. 2005 May;88(5):686-9.
87. Hemachudha T. Rabies. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. Brust JCM, Fahn F, Jubelt B (eds), Current Science, Inc. 2006;6:460-8.
88. Wacharapluesadee S, Boonkird K, Wanghongsa S, Hemachudha T. Drinking bat's blood may be hazardous to your health. *Clin Infect Dis* 2006;43:269.
89. Hemachudha T, Sunsaneewitayskul B, Desudchit T, Suankratay C, Sittipunt C, Wacharapluesadee S, Khawplod P, Wilde H, Jackson AC. Failure to treat a rabies patient with coma induction therapy. *J Neurovirol* 2006;12:407-9.
90. Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Duplex nested RT-PCR for detection of Nipah virus RNA from bat's urine specimens. *J Virol Methods* 2007.
91. Hemachudha T, Wilde H. Rabies. PIER (Physicians' information and educational resource) module. American College of Physicians 2008 (updated annually).
92. Bonnert J, Wilde H, Tepsumethanon V, Lumlerdacha B, Hemachudha T. Organ transplantation and rabies transmission. *J Travel Med* 2007; 14: 177-80.
93. Laothamatas J, Wacharapluesadee S, Lumlerdacha B, Ampawong S, Vera Tepsumethanon V, Phumesin P, Asavaphatiboon S, Worapruekjaru L, Hemachudha T. Canine furious and paralytic rabies: virological, cytokines, and neuroimaging studies. *J Neurovirol* 2008;14:119-129..
94. Wacharapluesadee S, Sutipanva J, Damrongwatanapokin S, Phumesin P, Chamanpood P, Leowijuk , Hemachudha T. Development of a TaqMan real-time RT-PCR assay for the detection of rabies virus. *J Virol methods* 2008; 151:317-20.
95. Wilde H, Wacharapluesadee S, Hemachudha T, Tepsumethanon V. Rabies. *International Encyclopedia of Public Health*. Editor HK Heggenhaugen. Academic Press. San Diego, Cal. 2008
96. Wilde H, Hemachudha T, Jackson AC. Viewpoint: management of human rabies. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008 Oct;102(10) 979-82
97. Israsena N, Ratanasetyuth N, Supavonwong P, Hemachudha T. Inhibition of rabies virus replication by designed microRNAs. *Antiviral Res*. 2009 Oct;84(1):76-83.
98. Wacharapluesadee S, Boongird K, Wanghongsa S, Ratanasetyuth, Supavonwong P, Sawngsen D, Gongal GN, Hemachudha T. A Longitudinal Study of the Prevalence of Nipah Virus in *Pteropus lylei* Bats in Thailand: evidence for seasonal preference in disease transmission." *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2009 Apr 29.
99. Wilde H, Hemachudha T. Rabies vaccination in Japan. *Lett. Vaccine* 2009; 27: 181

100. Wilde H, Hemachudha T, Wacharapluesadee S. Rabies chapter. *Tropical Diseases in Travelers*. Blackwell. To be released in 2009.
101. Wilde H, Khawplod P, Hemachudha T. Post-exposure rabies prophylaxis in patients with AIDS. *Vaccine*. 2009 Sep 25;27(42):5726-7.
102. Shantavasinkul P, Tantawichien T, Wacharapluesadee S, Jeamanukoolkit A, Udomchaisakul P, Chattranukulchai P, Wongsaroj P, Khawplod P, Wilde H, Hemachudha T. Failure of rabies postexposure prophylaxis in patients presenting with unusual manifestations. *Clin Infect Dis*. 2010 Jan 1;50(1):77-9.
103. Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Ante- and post-mortem diagnosis of rabies using nucleic acid-amplification tests. *Expert Rev Mol Diagn* 2010;10:207-18.
104. Saraya A, Wacharapluesadee S, Khawplod P, Tepsumethanon S, Briggs D, Aswavichienjinda T, Hemachudha T. A preliminary study of chemo- and cytokine responses in rabies vaccine recipients of intradermal and intramuscular regimens. *Vaccine*. 2010 Jun 23;28(29):4553-7.
105. Dacheux L, Wacharapluesadee S, Hemachudha T, Meslin FX, Buchy P, Reynes JM, Bourhy H. More Accurate Insight into the Incidence of Human Rabies in Developing Countries through Validated Laboratory Techniques. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010 Nov 30;4(11):e765.

NEUROLOGICAL DISEASES AND RELATED TOPICS

1. Wongthim S, Hemachudha T, Phanthumchinda K. Acute hepatic porphyria. *Chula Med J* 1983;27(suppl): A-7.
2. Hemachudha T, Phanthumchinda K. Ataxic hemiparesis from intraventricular bleeding. *Chula Med J* 1984;28:1399-402.
3. Hemachudha T, Phanthumchinda K, Indrakoses A, Wilde H. Intractable hiccups (singultus) as a presenting manifestation of Japanese encephalitis. *J Med Assoc Thailand* 1984;67:620-3.
4. Wongthim S, Hemachudha T, Limthongkul S. Major airway obstruction. *Chula Med J* 1984;28:805-12.
5. Phanthumchinda K, Hemachudha T, Swasdikul D. Sarcoidosis presenting as pseudotumor cerebri and nephrotic syndrome. *J Med Assoc Thailand* 1984;67:694-700.
6. Hemachudha T, Suwanvela N, Phanthumchinda K, Indrakoses A. Aseptic cerebral sinovenous occlusion: a report of 6 cases and successful treatment without anticoagulants. *Intern Med* 1985;1:203-8.
7. Suwanvela N, Lerdlum S, Phanuphak P, Hanvanich M, Jimakorn P, Vajarapongse K, Chomdej S, Vajaragupta, Hemachudha T, Locharoenkul C. Radiologic aspects of AIDS in Thailand. *Chula Med J* 1988;32:43-58.
8. Phanthumchinda K, Likasit C, Hemachudha T, Locharoenkul C. Myasthenia gravis: analysis of 55 cases with review of literatures. *Chula Med J* 1988;32:137-48.

9. Phanthumchinda K, Lochareonkul C, Hemachudha T. Creutzfeld-Jakob disease. *Chula Med J* 1988;32:431-40.
10. Phanthumchinda K, Hemachudha T. Tolosa-Hunt syndrome: analysis of 24 cases. *J Med Assoc Thailand* 1988;71:366-72.
11. Hemachudha T, Phanuphak P, Sirivichayakul S, Phanthumchinda K. Serum antibodies to HTLV-1 in Thai patients with chronic progressive myelopathy, myopathy, multiple sclerosis and in HIV-seropositive intravenous drug abusers. *Asian Pacific J of Allergy and Immunology* 1989;7:33-5.
12. Hemachudha T, Phanuphak P, Phanthumchinda K. Proximal motor neuropathy, IgA para-proteinemia, antimyelin associated glycoprotein reactivity. *Post Grad Med J* 1989;65:662-4.
13. Kamolvarin N, Hemachudha T, Ongpipattanakul B, Phanuphak P, Vidayakorn P, Sueblinvong T. Plasma C3c changes in myasthenia gravis patients receiving high dose intravenous immunoglobulin treatment during crisis. *Acta Neuro Scand* 1989;80:324-6.
14. Phanthumchinda K, Lochareonkul C, Hemachudha T, Kaoroptham S. Increased intracranial pressure associated with spinal cord astrocytoma: a case with CSF dynamic study. *J Med Assoc Thailand* 1989;72:400-3.
15. Wongthim S, Hemachudha T, Phanthumchinda K. Respiratory insufficiency associated with acute hepatic porphyria. *J Med Assoc Thailand* 1989;72:655-9.
16. Phanthumchinda K, Piyasirisilpa S, Hemachudha T. Guillain-Barre syndrome. *Chula Med J* 1989;33:359-605.
17. Phanthumchinda K, Lochareonkul C, Hemachudha T. Intermittent exophthalmos. *J Med Assoc Thai* 1989;72:351-4.
18. Phanthumchinda K, Hemachudha T. AIDS and its neurological complications. *Chula Med J* 1990;34:411-9.
19. Phanthumchinda K, Hemachudha T, Lochareonkul C. Paraneoplastic syndrome of the nervous system. *Chula Med J* 1990;34:457-66.
20. Kamolvarin N, Hemachudha T, Ongpipattanakul B, Sueblinvong T. Plasma C3c in immune mediated neurological diseases. *Acta Neurol Scand* 1991;83:382-7.
21. Hemachudha T, Phanuphak P. T cell vaccination for autoimmune diseases and malignancies. *Bulletin Thai Neurol Assoc* 1991.
22. Hemachudha T, Niruthisard S, Sirivichayakul S, Wilde H, Phanuphak P. HTLV-1 has reached Thailand via heterosexual route. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1992;86:434.
23. Phanthumchinda K, Hemachudha T. Superior orbital fissure syndrome as a presenting symptom in hepatocellular carcinoma. *J Med Assoc Thailand* 1992;75:62-5.
24. Suwanwela N, Phanthumchinda K, Hemachudha T. Neuro-Behcet's disease. *Chula Med J* 1992;36:729-34.
25. Hemachudha T, Phanthumchinda K. Encephalitis in Southeast Asia. *Travel Medicine International* 1994;12:207-13.

26. Piyasirisilp S, Hemachudha T, Tangkanakul C, Rajaborirux K, Sirivichayakul S, Phanuphak P. Neuropsychiatric manifestations in HIV infected patients. A study of 36 patients. Proceedings Harvard AIDS Institute and Ministry of Public Health, Thailand, 1994.
27. Hemachudha T, Tangkanakul C, Siriarchawatana W, Srikiatkachorn A, Tirawatnpong S. Tirawatnpong T. Extended Pulse therapy in Guillain Barre syndrome. Abstract presented at annual meeting of Royal College Physicians of Thailand 1994.
28. Tirawatnpong T, Tirawatnpong S, Hemachudha T, Tanprasert S, Nuchprayoon C, Kupatawintu S, Viddayhakorn P, Yossundharakul C. Diagnosis of HIV infection by nested multiplex PCR. Abstract presented at annual meeting of Royal College of Physicians of Thailand 1994.
29. Tangkanakul C, Hemachudha T, Laothammathat J, Siriarchawatana W, Srikiatkachorn A. Thrombosis profiles in middle aged and elderly patients with spontaneous cerebral sinovenous occlusion. Abstract presented at annual meeting of Royal College of Physicians 1995.
30. Tangkanakul C, Hemachudha T, Laothammathat J, Siriarchawatana W, Srikiatkachorn A. Thrombosis profiles in ischemic stroke. A study of 203 cases. Abstract presented at annual meeting of Royal College of Physician 1995.
31. Wongsrichanalai C, Hemachudha T. Malaria. In Neurobase-program for personal computers. Gilman S. (Chief Editor). Arbor Publishing Corp. Rochester, New York 2003.
32. Srikiatkachorn A, Hemachudha T. Tetanus. In Neurobase-program for personal computers. Gilman S. (Chief Editor). Arbor Publishing Corp., Rochester, New York 2004.
33. Phanthumchinda K, Sinswaiwong S, Hemachudha T, Yodnophaklao P. Idiopathic hypertrophic cranial pachymeningitis: An unusual cause of subacute and chronic headache. *Headache* 1997;37:249-52.
34. Wongsrichanalai C, Hemachudha T. Malaria. *Ramathibodi Med J* 2000.
35. Hemachudha T. Conflict of interest and medical science. *J Med Assoc Thai* 1999; 82: 844-7.
36. Hemachudha T, Wilde H. Disclosure of author contributions in scientific publications. *J Med Assoc Thai* 2000; 83: 213-5.
37. Mitrabhakdi E, Hemachudha T, Laothamatas J, Wannakrairot P. Benign asymmetric cervical radiculoplexopathies (BACR) associated with lymphadenopathy or arthritis: a typical variant of CIDP. *Neurology* 2001; 56: suppl 3, A 202.
38. Piyasirisilp S, Hemachudha T. Neurological adverse events associated with vaccination. *Curr Opin Neurol* 2002; 15:333-8.
39. Phaovasadi S, Sitprija V, Wilde H, Hemachudha T. Ethical issues in research grant applications. *J Med Assoc Thai*. 2002;85:638-40.
40. Avihingsanon Y, Phumesin P, Benjachat T, Akkasilpa S, Kittikowit V, Praditpornsilpa K, Wongpiyabavorn J, Eiam-Ong S, Hemachudha T, Tungsanga K. Measurement of Urinary Chemokine and Growth Factor

Messenger RNAs: A Non-invasive Monitoring in Lupus Nephritis. *Kidney International*. *Kidney Int.* 2006
Feb;69:747-53.

ผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) ดร.สุภาภรณ์ วัชรพลญาติ

(ภาษาอังกฤษ) Supaporn Wacharapluesadee

วันเดือนปีเกิด.....25 กรกฎาคม 2512.....

สังกัด...ศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง อาคาร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 02 256 4000 ต่อ 3561

โทรสาร 02 652 3122

E-mail – address spwa@hotmail.com

ประวัติการศึกษา (ปริญญาตรี – เอก ; สาขาและสถาบัน)

2530-2534 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชา เทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2534-2537 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา ชีวเคมี. มหาวิทยาลัยมหิดล

2547-2548 วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติการทำงาน : มิถุนายน 2537-กุมภาพันธ์ 2540

แผนกกีฏวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร ฝ่ายอเมริกัน

- Determination of scrub typhus antibody by ELISA
- Determination of malarial antigen in mosquitoes by ELISA
- Preparation of scrub typhus antigen ; cell culture, protein purification
- Viability assay of *Plasmodium* sporozoites under fluorescent microscope
- In vitro micro test for drug resistance of *P.falciparum* and *P.vivax*

มีนาคม 2540 – สิงหาคม 2540

นักวิจัย แผนกภูมิคุ้มกันวิทยา สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์

- Study the mechanism of apoptosis in cancer cell ; Cell culture,
Western blot, PCR

กันยายน 2540 – กันยายน 2543

นักเทคนิคการแพทย์ ศูนย์ความร่วมมือการวิจัยโรคเอดส์ ไทย-สหรัฐ

- HIV Test by PCR, NASBA, EIA, Western blot, FACScan, PBMC
Preparation

ตุลาคม 2543 – ปัจจุบัน

หัวหน้าห้องปฏิบัติการ ศูนย์ปฏิบัติการ โรคทางสมอง

ศูนย์ความร่วมมือองค์การอนามัยโลกด้านค้นคว้าและอบรม โรคติดเชื้อไวรัสสัตว์สู่คน

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Research Topics

- งานวิจัย พัฒนา และวินิจฉัยโรคพิษสุนัขบ้า
- งานวิจัยกลไกการเกิดโรคพิษสุนัขบ้า
- งานวิจัย พัฒนา และวินิจฉัยโรคสมองอักเสบในคน
- การศึกษาระบาดวิทยาเชิงโมเลกุล ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า ใน-นอก ประเทศไทย
- การศึกษาโรคอุบัติใหม่ที่น่าโดยค้างคาว
- การศึกษาการติดเชื้อไวรัสในป่าในค้างคาว
- การศึกษา Biomarkers ในผู้ป่วยโรคทางสมอง เช่น โรคหลอดเลือดสมอง โรคอัลไซเมอร์

รางวัลผลงานวิจัยที่เคยได้รับ

1. วิทยานิพนธ์เรื่อง “การสำรวจภาวะการติดเชื้อไวรัส Nipah ของค้างคาวในประเทศไทย” ได้รับ รางวัลสภาวิจัยแห่งชาติรางวัลวิทยานิพนธ์ ระดับชมเชย ประจำปี 2550 จากสำนักงาน คณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
2. รางวัลผลงานวิจัยดีเด่น สำหรับนิสิตชั้นดุริยบัณฑิตกองทุนรัชดาภิเษกสม โภช ประจำปี 2548 จากผลงานวิทยานิพนธ์ เรื่อง Survey for Nipah virus infection among bats in Thailand. จาก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ มีนาคม 2549
3. รางวัลดีเด่น จากการประกวดผลงานวิจัยนิสิตประเภทหลักสูตรดุริยบัณฑิต งานประชุม วิชาการประจำปี คณะแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 47 ปี 2549 จากผลงานวิทยานิพนธ์ เรื่อง Survey for Nipah virus infection among bats in Thailand. จาก คณะกรรมการประชุมวิชาการ คณะ แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ มิถุนายน 2549

ผลงานตีพิมพ์

1. Dacheux L, Wacharapluesadee S, Hemachudha T, Meslin FX, Buchy P, Reynes JM, Bourhy H. More Accurate Insight into the Incidence of Human Rabies in Developing Countries through Validated Laboratory Techniques. PLoS Negl Trop Dis. 2010 Nov 30;4(11):e765.

2. Tenzin, Wacharapluesadee S, Denduangboripant J, Dhand NK, Dorji R, Tshering D, Rinzin K, Raika V, Dahal N, Ward MP. Rabies virus strains circulating in Bhutan: implications for control. *Epidemiol Infect.* 2010 Nov 26:1-6.
3. Saraya A, Wacharapluesadee S, Khawplod P, Tepsumethanon S, Briggs D, Asawavichienjinda T, Hemachudha T. A preliminary study of chemo- and cytokine responses in rabies vaccine recipients of intradermal and intramuscular regimens. *Vaccine.* 2010 May 12.
4. Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Ante- and post-mortem diagnosis of rabies using nucleic acid-amplification tests. *Expert Rev Mol Diagn.* 2010 Mar;10(2):207-18.
5. Shantavasinkul P, Tantawichien T, Wacharapluesadee S, Jeamanukoolkit A, Udomchaisakul P, Chattranukulchai P, Wongsaroj P, Khawplod P, Wilde H, Hemachudha T. Failure of rabies postexposure prophylaxis in patients presenting with unusual manifestations. *Clin Infect Dis.* 2010 Jan 1;50(1):77-9.
6. Wacharapluesadee S, Boongird B, Wanghongsa S, Ratanasetyuth N, Supavonwong P, Saengsen D, Gongal G. N., Hemachudha T. A Longitudinal Study of the Prevalence of Nipah Virus in *Pteropus lylei* Bats in Thailand: evidence for seasonal preference in disease transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009 Apr 29. [Epub ahead of print]
7. Wilde H, Wacharapluesadee S, Hemachudha T and Tepsumethanon V. Rabies. In: Kris Heggenhougen and Stella Quah, editors *International Encyclopedia of Public Health*, Vol 5. San Diego: Academic Press; 2008. pp. 463-470.
8. Wacharapluesadee S, Sutipanya J, Damrongwatanapokin S, Phumesin P, Chamnanpood P, Leowijuk C, Hemachudha T. Development of a TaqMan real-time RT-PCR assay for the detection of rabies virus. *J Virol Methods.* 2008 Aug;151(2):317-20.
9. Laothamatas J, Wacharapluesadee S, Lumlerdacha B, Ampawong S, Tepsumethanon V, Shuangshoti S, Phumesin P, Asavaphatiboon S, Worapruekjaru L, Avihingsanon Y, Israsena N, Lafon M, Wilde H, Hemachudha T. Furious and paralytic rabies of canine origin: neuroimaging with virological and cytokine studies. *J Neurovirol.* 2008 Apr;14(2):119-29.
10. Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Duplex nested RT-PCR for detection of Nipah virus RNA from urine specimens of bats. *J Virol Methods.* 2007 Apr;141(1):97-101.
11. Hemachudha T, Wacharapluesadee S, Laothamatas J, Wilde H. Rabies. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2006 Nov;6(6):460-8. Review.
12. Hemachudha T, Sunsaneewitayakul B, Desudchit T, Suankratay C, Sittipunt C, Wacharapluesadee S, Khawplod P, Wilde H, Jackson AC. Failure of therapeutic coma and ketamine for therapy of human rabies. *J Neurovirol.* 2006 Oct;12(5):407-9.
13. Wacharapluesadee S, Boongird K, Wanghongsa S, Phumesin P, Hemachudha T. Drinking bat blood may be hazardous to your health. *Clin Infect Dis.* 2006;43:269

14. [Wacharapluesadee S](#), Ruangvejvorachai P, Hemachudha T. A simple method for detection of rabies viral sequences in 16-year old archival brain specimens with one-week fixation in formalin. *J Virol Methods*. 2006;134:267-71.
15. [Wacharapluesadee S](#), Lumlertdacha B, Boongird K, Wanghongsa S, Chanhom L, Rollin P, Stockton P, Rupprecht CE, Ksiazek TG, Hemachudha T. Bat Nipah virus, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11:1949-51.
16. Lumlertdacha B, [Wacharapluesadee S](#), Denduangboripant J, Ruankaew N, Hoonsuwan W, Puanghat A, Sakarasaeranee P, Briggs D, Hemachudha T. Complex genetic structure of the rabies virus in Bangkok and its surrounding provinces, Thailand: implications for canine rabies control. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006;100:276-81.
17. Juntrakul S, Ruangvejvorachai P, Shuangshoti S, [Wacharapluesadee S](#), Hemachudha T. Mechanisms of escape phenomenon of spinal cord and brainstem in human rabies. *BMC Infect Dis*. 2005; 5:104.
18. Lumlertdacha B, [Wacharapluesadee S](#), Chanhom L, Hemachudha T. Bat lyssavirus in Thailand. *J Med Assoc Thai*. 2005; 88:1011-4.
19. [Wacharapluesadee S](#), Hemachudha T. Rabies diagnosis in human. *J Med Assoc Thai*. 2005; 88:859-66.
20. Sintunawa J, [Wacharapluesadee S](#), Wilde H, Hemachudha T. Paradigm shift in rabies control. *J Med Assoc Thailand* 2004; 87:1530-8.
21. Lumlertdacha B, Boongird K, Wanghongsa S, [Wacharapluesadee S](#), Chanhom L, Khawplod P, Hemachudha T, Kuzmin I, Rupprecht CE. Survey for Bat Lyssaviruses in Thailand. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:232-236.
22. Hemachudha T, [Wacharapluesadee S](#), Mitrabhakdi E, Wilde H, Morimoto K, Lewis RA. Pathophysiology of human paralytic rabies. *J Neurovirol* 2005;11:93-100.
23. Hemachudha T, [Wacharapluesadee S](#). Ante mortem diagnosis of human rabies. *Clin Infect Dis* 2004; 39:1085-6.
24. Suja MS, Mahadevan A, Sundaram C, Mani J, Chandrashekhara Sagar B, Hemachudha T, [Wacharapluesadee S](#), Denduangboripant J, Madhusudana SN, Shankar SK. Rabies encephalitis following fox bite. Histological and Immunohistochemical evaluation of lesions caused by virus. *Clin Neuropathol*. 2004; 23:271-6.
25. Sitprija V, Sriarron C, Lumlertdacha B, Phumesin P, Khawplod P, [Wacharapluesadee S](#), Wilde H, Hemachudha T. Does contact with urine and blood of a rabies infected dog represent rabies risk? *Clin Infect Dis* 2003;37:1399-400.
26. Hemachudha T, [Wacharapluesadee S](#), Lumlertdacha B, Orciari LA, Rupprecht CE, La-ongpant M, Juntrakul S, Denduangboripant J. Sequence analysis of rabies virus in humans exhibiting furious or paralytic rabies. *J Infect Dis* 2003;188:960-6.

27. Hemachudha T, Sunsaneewitayakul B, Mitrabhakdi E, Suankratay C, Laothamathas J, Wacharapluesadee S, Khawplod P, Wilde H. Paralytic complications following intravenous rabies immune globulin treatment in a patient with furious rabies. *Int J Infect Dis* 2003;7:76-7
28. Wacharapluesadee S, Phumesin P, Hemachudha T. Dried brain spot in the diagnosis of human and animal rabies. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 674-5.
29. Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Urine as a source of rabies RNA detection in the diagnosis of human rabies. *Clinical Infectious Diseases*. 2002; 34:874-5.
30. Hemachudha T, Mitrabhakdi E, Wacharapluesadee S. Clinical features of human encephalitic and paralytic rabies. *Rabies control in Asia*. John Libbey
31. Wacharapluesadee S, Hemachudha T. Rapid diagnosis of human rabies using nucleic acid sequence based amplification. *Lancet* 2001;358:892-93. Eurotext, Paris 2001; 10-19.

ตำราต่างประเทศ

1. Hemachudha T, Mitrabhakdi E, Wacharapluesadee S. Clinical features of human encephalitic and paralytic rabies. *Rabies control in Asia*. John Libbey Eurotext, Paris 2001, 10-18.
2. Wilde H, Wacharapluesadee S, Hemachudha T, Tepsumethanon V. Rabies. *International Encyclopedia of Public Health*. Editor HK Heggenhaugen. Academic Press. San Diego, Cal. 2008.
3. Wilde H, Hemachudha T, Wacharapluesadee S. Rabies chapter. *Tropical Diseases in Travelers*. Blackwell. 2009.

2. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย).....นางสาว พรพรรณ สุภวรรณวงศ์.....
(ภาษาอังกฤษ).....Miss Pornpun Supavonwong.....

สังกัด...ศูนย์ปฏิบัติการโรคทางสมอง อาคาร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 02 256 4000 ต่อ 3576

โทรสาร 02 652 3122

E-mail – address mtpornpun@gmail.com

2544 - 2548 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชา เทคนิคการแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2548 - 2551 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลงานวิจัย

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติและนานาชาติ

1. Wacharapluesadee S, Boongird B, Wanghongsa S, Ratanasetyuth N, Supavonwong P, Saengsen D, Gongal G. N., Hemachudha T. A Longitudinal Study of the Prevalence of Nipah Virus in Pteropus lylei Bats in Thailand: evidence for seasonal preference in disease transmission. Vector Borne Zoonotic Dis. 2009 Apr 29.
2. Israsena N, Supavonwong P, Ratanasetyuth N, Khawplod P, Hemachudha T. Inhibition of rabies virus replication by multiple artificial microRNAs. Antiviral Res. 2009 Oct; 84(1): 76-83. Epub 2009 Jul 29.