



องค์ความรู้ในปัจจุบันเกี่ยวกับเชื้อพาร์โวไวรัสที่พบในประเทศไทย

ทิพวัลย์ จันทะฟอง^{1, #}

¹ภาควิชาฟริคลินิก สาขาไวรัสวิทยาและภูมิคุ้มกันวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
หนองจอก กรุงเทพมหานคร 10530

บทคัดย่อ: โรคลำไส้อักเสบในสุนัข (canine viral enteritis) เป็นโรคติดเชื้อที่สำคัญและมักพบได้บ่อยในสุนัข โดยเชื้อที่เป็นสาเหตุหลักในการก่อโรค คือ canine parvovirus type 2 (CPV-2) อาการทางคลินิกที่พบได้บ่อยคือ มีไข้ อาเจียน และท้องเสียทั้งมีและไม่มีเลือดปน และพบอัตราการตายสูงในลูกสุนัขเนื่องจาก ภาวะ ขาดน้ำ (dehydration) และ กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ (myocarditis) เชื้อ CPV-2 ถูกค้นพบครั้งแรกในช่วงทศวรรษที่ 1970 และแพร่กระจายไปในประชากรสุนัขทั่วโลกภายในระยะเวลาเพียง 2 ปี ต่อมาพบการ เปลี่ยนแปลงที่บริเวณ antigenic sites บนยีน VP2 ของเชื้อไวรัส ทำให้เกิดเชื้อไวรัส CPV-2 สายพันธุ์ใหม่เกิดขึ้น คือ CPV-2a และ CPV-2b โดยพบการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสทั้งสองสายพันธุ์ไปอย่างกว้างขวางทั่วโลก รวมถึงในประเทศไทย หลังจากนั้นไม่นานจึงมีการพบเชื้อไวรัสสายพันธุ์ CPV-2c โดยไวรัสสายพันธุ์นี้ สามารถก่อโรคได้รุนแรงและพบอัตราการตายสูงในสุนัขได้มากกว่าเชื้อ CPV-2 สายพันธุ์อื่น และอีกทั้งยังสามารถก่อโรครุนแรงได้ในแมว จากการศึกษาระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลชี้ให้เห็นว่าเชื้อ CPV-2c มีการแพร่กระจายไปแล้วทั่วโลกและมีความชุกที่เพิ่มมากขึ้น การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ CPV-2 ด้วยวิธีการทั่วไป (traditional method) สามารถทำการวิเคราะห์ได้หลายวิธี เช่น การเพาะแยกเชื้อไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด Madin-Darby canine kidney (MDCK) และการยืนยันการติดเชื้อไวรัสด้วยวิธี hemagglutination assay (HA) เป็นต้น อย่างไรก็ตามวิธีการเหล่านี้มีข้อเสียบางประการคือ มีความไวต่ำและใช้เวลานาน ดังนั้นวิธี ทางอณูชีววิทยา (molecular method) เช่น ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR), nested PCR และ Multiplex PCR จึงถูกพัฒนาขึ้นเพื่อช่วยในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสให้มีประสิทธิภาพและสะดวกมากยิ่งขึ้น องค์ความรู้จากบทความฉบับนี้อาจเป็นประโยชน์ สำหรับนักศึกษาสัตวแพทย์ นักศึกษาเทคนิคการสัตวแพทย์ สัตวแพทย์ ตลอดจนนักวิจัยที่มีความสนใจศึกษาเกี่ยวกับเชื้อพาร์โวไวรัส

คำสำคัญ: เชื้อพาร์โวไวรัส วิวัฒนาการทางพันธุกรรม ประเทศไทย

[#]ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2564. 16(1): 173-185.

E-mail address: jantafong1980@gmail.com

The Current Knowledge of Canine parvovirus type 2 in Thailand

Tippawan Jantafong^{1,#}

¹Department of Pre-clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Mahanakorn University of Technology,
140 Cheum-samphan road, Nongchok, Bangkok 10530 Thailand

Abstract: Canine viral enteritis is one of the most important viral diseases in dogs. Canine parvovirus type 2 (CPV-2) can cause fever, vomiting and diarrhea or bloody diarrhea. In certain cases, an increased mortality rate has been observed in puppies with systemic complications such as severe dehydration and myocarditis. CPV-2 dissemination occurred rapidly among dog population worldwide within two years after its first report in late 1970s. Subsequently, the genetic and antigenic changes in VP2 gene of CPV-2 resulted in two new variant strains, CPV- 2a and CPV-2b. The outbreaks of these two strains has been reported in various countries including Thailand. Recently, an emerging CPV-2c strain has been shown higher virulence and pathogenicity in adult dogs than CPV-2a and CPV-2b strains and increased potential infectivity to feline species. The molecular epidemiology studies have indicated that the CPV-2c strain has already been circulated globally and has shown increasing prevalence. Whereas CPV-2 infection can be detected using several methods such as virus isolation from Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells and virus identification by hemagglutination assay (HA); however, these techniques were less sensitive and time-consuming. Therefore, the molecular biology-based methods such as Polymerase Chain Reaction (PCR), nested PCR and Multiplex PCR are more efficient for clinical diagnosis due to high sensitivity and less laborious process. The information from this review article may be valuable for veterinary students, veterinary technology students, veterinarians and researchers interested in CPV-2.

Keywords: Canine parvovirus type 2 (CPV-2), Genetic evolution, Thailand

[#]Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2021 16(1): 173-185.

E-mail address: jantafong1980@gmail.com

บทนำ

สุนัขถือว่าเป็นสัตว์ที่มีบทบาทสำคัญในชีวิตมนุษย์ เนื่องจากสุนัขเป็นสัตว์เลี้ยงที่มีอุปนิสัยที่ดี มีความจงรักภักดี ซื่อสัตย์ และมีความสามารถรอบตัว จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น ใช้ดูแลฝูงปศุสัตว์ ใช้

ค้นหายาเสพติด ใช้เป็นสุนัขนำทางสำหรับผู้พิการทางสายตา ใช้บำบัดความเครียดและคลายเหงาให้ผู้สูงอายุ เป็นต้น จึงอาจกล่าวได้ว่าสุนัขเป็นสัตว์เลี้ยงที่ดีที่สุดของมนุษย์ เปรียบเสมือนสมาชิกภายในครอบครัวในปัจจุบัน การอุบัติใหม่ของเชื้อก่อโรค ส่งผลให้เกิดการแพร่กระจาย

ของเชื้อโรคไปยังประชากรสุนัขเพิ่มขึ้น และเป็นสาเหตุที่ทำให้โรคที่เกิดในสุนัขมีความซับซ้อนมากขึ้น โดยโรคที่มักพบบ่อย ได้แก่ โรคระบบทางเดินหายใจในสุนัข (canine infectious respiratory diseases; CIRF) ที่มีสาเหตุจากไวรัสในกลุ่ม canine respiratory viruses (CRV) และโรคลำไส้อักเสบในสุนัข (canine viral enteritis) ที่มีสาเหตุจากไวรัสในกลุ่ม canine enteric viruses (CEV) (Pesavento and Murphy, 2014) โรคลำไส้อักเสบในสุนัข พบได้ทั่วไปในสุนัขที่มีอาการอาเจียนและท้องร่วง โดยมีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัสในกลุ่ม CEV ประกอบด้วย canine adenovirus type 2 (CAV-2), canine circovirus (CanineCV), canine coronavirus (CCoV) และ canine parvovirus type 2 (CPV-2) (Pollock and Carmichael, 1983)

เชื้อพาร์โวไวรัส หรือ canine parvovirus type 2 (CPV-2) จัดเป็นสาเหตุหลักในการก่อโรคลำไส้ อักเสบติดต่อในสุนัข โดยเฉพาะในลูกสุนัขที่ไม่ได้ทำวัคซีนหรือได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่ไม่เพียงพอ เชื้อ CPV-2 ก่อให้เกิดกลุ่มอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) โดยอาการทางคลินิกที่มักพบได้บ่อย คือ ซึมเบื่ออาหาร อาเจียน และท้องเสียเป็นมูกหรือมีเลือดปน อาจพบภาวะขาดน้ำ (dehydration) เป็นไข้ และภาวะเม็ดเลือดขาวในเลือดต่ำร่วมด้วย (Decaro et al., 2005) พบอัตราการตายจากการติดเชื้อ CPV-2 ได้สูงถึงร้อยละ 70 ในลูกสุนัข แต่มักจะน้อยกว่าร้อยละ 1 ในสุนัขโต (Greene and Decaro, 2012) ในปัจจุบันยังไม่มียาต้านไวรัสที่ใช้ได้ผลในการรักษาโรคลำไส้อักเสบติดต่อในสุนัข การรักษาจึงทำได้เพียงรักษาตามอาการและใช้ยาปฏิชีวนะป้องกันการติดเชื้อแทรกซ้อน เชื้อ CPV-2 เป็นไวรัสที่มีวิวัฒนาการมาจาก ไวรัส feline panleukopenia virus (FPV) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโฮสต์ (host variant) จากเดิมก่อโรคในแมวเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรมของเชื้อไวรัสทำให้สามารถติดเชื้อในสุนัขได้ ในระหว่างปี ค.ศ. 1979 ถึง 1981 พบการเปลี่ยนแปลงที่

บริเวณ antigenic sites บนยีน VP2 ของเชื้อ CPV-2 ทำให้เกิดเชื้อ CPV-2 สายพันธุ์ใหม่เกิดขึ้นคือ CPV-2a และ CPV-2b โดยพบการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสทั้งสองสายพันธุ์เกิดขึ้นทั่วโลก ต่อมาจึงมีการพบเชื้อไวรัสสายพันธุ์ CPV-2c โดยมีรายงานการพบเชื้อไวรัสครั้งแรกในประเทศอิตาลี เมื่อปี ค.ศ. 2000 เชื้อ CPV-2c สามารถก่อโรคได้รุนแรงและมีอัตราการตายสูงในสุนัขโตเต็มวัย ได้มากกว่าเชื้อ CPV-2 สายพันธุ์อื่น ซึ่งในปัจจุบันเชื้อไวรัสสายพันธุ์ดังกล่าวได้มีการแพร่กระจายไปยังประชากรสุนัขทั่วโลก (Decaro et al., 2008)

ดังนั้นการมีองค์ความรู้เกี่ยวกับเชื้อพาร์โวไวรัสทั้งในด้านลักษณะของเชื้อพาร์โวไวรัส ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไวรัสสายพันธุ์ CPV-2a CPV-2b และ CPV-2c ข้อมูลและสถานการณ์ปัจจุบันเกี่ยวกับสายพันธุ์ของเชื้อพาร์โวไวรัสที่แพร่ระบาดในประเทศไทย ตลอดจนการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคต่างๆ จึงเป็นสิ่งจำเป็นและเป็นประโยชน์ต่อนักศึกษาสัตวแพทย์ นักศึกษาเทคนิคการสัตวแพทย์ สัตวแพทย์ และนักวิจัยที่มีความสนใจศึกษาเกี่ยวกับเชื้อพาร์โวไวรัส เพื่อเป็นการทบทวนและช่วยให้เกิดการพัฒนาของความรู้เกี่ยวกับเชื้อพาร์โวไวรัสในด้านต่างๆ

เชื้อพาร์โวไวรัส (Canine Parvovirus type-2)

โครงสร้างและลักษณะของเชื้อพาร์โวไวรัส

CPV-2 เป็นเชื้อไวรัสที่มีขนาดเล็ก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 25 นาโนเมตร ที่ไม่มีเยื่อหุ้ม (non-enveloped) มีโปรตีนเปลือกหุ้มเป็นทรงกลม (spherical capsid) สารพันธุกรรมเป็นดีเอ็นเอ ชนิดเส้นเดี่ยว มีความยาวประมาณ 5.2 กิโลเบส และภายในจีโนมประกอบด้วย 2 กรอบการอ่านรหัส (open reading frames; ORFs) โดย ORF-1 เป็นกรอบการอ่านรหัสของโปรตีนชนิดไม่ใช้โครงสร้าง (non-structural protein; NS) 2 ชนิด คือ NS1 และ NS2 ส่วน ORF-2 เป็นกรอบการอ่านรหัสของโปรตีนชนิดโครงสร้าง (structural viral

protein; VP) 2 ชนิด คือ VP1 และ VP2 โดย VP2 เป็นโปรตีนหลักที่มีคุณสมบัติความเป็นแอนติเจนที่ดี (strong antigenic) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัส นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในการจับกับเซลล์เป้าหมายของโฮสต์ (Hueffer et al., 2003; Nelson et al., 2007) หากมีการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งของกรดอะมิโนเพียงเล็กน้อยจะส่งผลให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อไวรัสได้ โดยยีน VP2 มีความยาวของลำดับเบสเป็น 1,755 เบส (Parrish et al., 1986) ในปัจจุบันสามารถจำแนกเชื้อไวรัสได้เป็น 4 สายพันธุ์หลัก ตามความแตกต่างของแอนติเจน (antigenic types) บนยีน VP2 ได้แก่ CPV-2, CPV-2a, CPV-2b, และ CPV-2c (Decaro et al., 2006)

การจัดเรียงจีโนมของเชื้อพาร์โวไวรัส

จีโนมของเชื้อพาร์โวไวรัสมีโครงสร้างส่วนปลายที่มีลักษณะเป็น palindromic sequence (ลำดับเบส ที่สมมาตรหรือกลับหลังได้) ในปลายแต่ละข้าง โดยมีหน้าที่เป็นตำแหน่งเริ่มต้นของกระบวนการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรม (replication) และยังเป็นตำแหน่งที่ช่วยให้สารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสเข้าไปอยู่ในโปรตีน capsid (encapsidation) โดยบริเวณปลายจีโนมด้าน 5' มีการเติม 7-methylguanosine หรือ 5'-cap ส่วนปลาย 3' จะมีการเรียงตัวของเบส Adenine (A) เรียงต่อกันเป็นสายยาวแบบ poly (A) tail การจัดเรียงจีโนมของเชื้อพาร์โวไวรัสแสดงในตารางที่ 1 โดยยีน VP1 และ VP2

บรรจุอยู่ภายใน ORF-2 และถูก encode อยู่ในสาย mRNA สายเดียวกัน ซึ่งยีน VP2 บรรจุอยู่ภายในยีน VP1 ในขณะที่ยีน NS1 และ NS2 มีหน้าที่ในสังเคราะห์เอนไซม์ helicase และ endonuclease ที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง DNA เส้นใหม่ (MacLanhan and Dubovi, 2016)

อนุกรมวิธานของเชื้อพาร์โวไวรัส

CPV-2 จัดอยู่ใน family *Parvoviridae* ซึ่งประกอบด้วยสอง subfamily ได้แก่ *Parvovirinae* และ *Densovirinae* โดยเชื้อไวรัสใน *Densovirinae* จะก่อโรคในสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (invertebrate) เช่น พวกแมลง ในขณะที่เชื้อไวรัสที่พบใน *Parvovirinae* จะก่อโรคในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง (vertebrate) เท่านั้น subfamily *Parvovirinae* ประกอบด้วย 5 genus คือ *Protoparvovirus*, *Erythrovirus*, *Dependovirus*, *Amdovirus* และ *Bocavirus* โดยเชื้อ CPV-2 จัดอยู่ใน genus *Protoparvovirus* ร่วมกับไวรัสอีก 3 species ได้แก่ feline panleukopenia virus (FPV), mink enteritis virus (MEV) และ raccoon parvovirus (RPV) (Tijssen et al., 2014) โดยเชื้อ CPV-2 สามารถติดต่อได้ในสัตว์หลายชนิด ส่วนมากจะอยู่ในอันดับ (order) Carnivora ได้แก่ family Canidae, Mustelidae และ Procyonidae (Parrish, 1990; Truyen et al., 1995; Kapil et al., 2007)

ตารางที่ 1 แสดงตำแหน่งของยีนภายในจีโนมของ CPV-2

ยีน	ตำแหน่ง nucleotide	ขนาดของยีน	CPV-2 สายพันธุ์อ้างอิง
5'UTR	1 – 269	269	CPV-SH14 (KT382542)
NS1	270 – 2276	2007	
NS2	270 – 2239	1970	
VP1	2283 – 4538	2256	
VP2	2784 – 4538	1755	
3'UTR	4539 – 5062	524	

ดัดแปลงจาก National Center for Biotechnology Information, 2018

สายพันธุ์ของเชื้อพาร์โวไวรัส

(Subtyping CPV-2 Strains)

สายพันธุ์เชื้อพาร์โวไวรัส ชนิด CPV-2

เชื้อ CPV-2 ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ.1977 โดยมีวิวัฒนาการมาจาก FPV ที่มีการเปลี่ยนแปลงโฮสต์จากแมวมาติดเชื้อในสุนัขและพบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนบนยีน VP2 ระหว่างไวรัส FPV และ CPV-2 ที่ตำแหน่งกรดอะมิโน (residues) 80, 93, 103, 323, 564 และ 568 โดยมีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนดังนี้ ที่ตำแหน่ง 80 เปลี่ยนจาก Lysine (K) เป็น Arginine (R) ที่ตำแหน่ง 93 เปลี่ยนจาก Lysine (K) เป็น Asparagine (N) ที่ตำแหน่ง 103 เปลี่ยนจาก Valine (V) เป็น Alanine (A) ที่ตำแหน่ง 323 เปลี่ยนจาก Aspartic acid (D) เป็น Asparagine (N) ที่ตำแหน่ง 564 เปลี่ยนจาก Asparagine (N) เป็น Serine (S) และที่ตำแหน่ง 568 เปลี่ยนจาก Alanine (A) เป็น Glycine (G) (รูปที่ 1) เชื้อไวรัสถูกระบุชื่อว่า เคโน พาร์โวไวรัส ชนิดที่ 2 (Canine Parvovirus Type-2; CPV-2) เพื่อป้องกันความสับสนจากเชื้อไวรัส มินิท ไวรัส ในสุนัข (Minute virus of canine; MCV) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เคโน พาร์โวไวรัส ชนิดที่ 1 (Canine Parvovirus Type-1 ; CPV-1) ต่อมาในช่วงต้นของปี ค.ศ. 1978 เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อ CPV-2 ไปทั่วเอเชีย ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ อเมริกา และยุโรป อย่างไรก็ตามจากหลักฐานทางระบาดวิทยาเชิงโมเลกุล (molecular epidemiology) และแผนภูมิวิวัฒนาการ phylogenetic tree ชี้ให้เห็นว่าเชื้อ CPV-2 น่าจะเกิดขึ้นมาหลายปีก่อนการค้นพบไวรัส (Parrish et al., 1988; Shackelton et al., 2005; Hoelzer et al., 2008) โดยมีการรายงานการทดสอบหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสในซีรัมของสุนัขครั้งแรกในประเทศกรีซและ เบลเยียม ระหว่างปี ค.ศ. 1974 และ 1976 ตามลำดับ ในขณะที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น และออสเตรเลีย พบแอนติบอดีต่อเชื้อ CPV-2 ครั้งแรก

ในช่วงต้นของปี ค.ศ. 1978 นับตั้งแต่นั้นมาเชื้อ CPV-2 มีการแพร่ระบาด ในสุนัขไปทั่วโลก (Parrish, 1999)

สายพันธุ์เชื้อพาร์โวไวรัส ชนิด CPV-2a

ในปี ค.ศ. 1979 มีการค้นพบเชื้อ CPV-2a ในประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นครั้งแรก โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนบนยีน VP2 ระหว่างไวรัสสายพันธุ์ CPV-2 และ CPV-2a ที่ตำแหน่งกรดอะมิโน 87, 101, 300, 305 และ 555 โดยมีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนดังนี้ ที่ตำแหน่ง 87 เปลี่ยนจาก Methionine (M) เป็น Leucine (L) ที่ตำแหน่ง 101 เปลี่ยนจาก Isoleucine (I) เป็น Threonine (T) ที่ตำแหน่ง 300 เปลี่ยนจาก Alanine (A) เป็น Glycine (G) ตำแหน่ง 305 เปลี่ยนจาก Aspartic acid (D) เป็น Tyrosine (Y) และที่ตำแหน่ง 555 เปลี่ยนจาก Valine (V) เป็น Isoleucine (I) (รูปที่ 1) ในช่วงปี ค.ศ. 1979-1982 เชื้อ CPV-2a กลายเป็นเชื้อไวรัสสายพันธุ์หลักที่มีการแพร่ระบาดในพื้นที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น เบลเยียม ออสเตรเลีย ฝรั่งเศส และ เดนมาร์ก (Thomas et al., 1984; Parrish et al., 1988) โดยเชื้อไวรัสสายพันธุ์ CPV-2 ได้ถูกแทนที่ด้วยเชื้อ CPV-2a ไปทั่วโลกในระยะเวลาเพียง 2-3 ปี ชี้ให้เห็นว่าเชื้อ CPV-2a มีการระบาดรุนแรงมากกว่าเชื้อ CPV-2 นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ CPV-2a มีความสามารถในการติดเชื้อในแมวได้ และกลายเป็นเชื้อไวรัสที่พบบ่อยที่สุดในสัตว์กินเนื้อชนิดอื่นๆ เชื้อ CPV-2a กลายเป็นเชื้อสายพันธุ์หลักซึ่งมักพบการเปลี่ยนแปลงภายในสารพันธุกรรม เช่น การกลายพันธุ์เฉพาะจุด (point mutation) อยู่ตลอดเวลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณ capsid protein ของเชื้อไวรัส (Tsao et al., 1991; Truyen et al., 1996)

สายพันธุ์เชื้อพาร์โวไวรัส ชนิด CPV-2b และ CPV-2C

การเปลี่ยนแปลงจากเชื้อ CPV-2a ไปเป็นเชื้อ CPV-2b เกิดจาก amino acid substitution ที่ตำแหน่ง 426 และ 555 บนยีน VP2 โดยมีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนดังนี้ ที่ตำแหน่ง 426 เปลี่ยน

จาก Asparagine (N) เป็น Aspartic acid (D) และที่ตำแหน่ง 555 เปลี่ยนจาก Isoleucine (I) เป็น Valine (V) ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงจากเชื้อ CPV-2b ไปเป็นเชื้อ CPV-2c เกิดจาก amino acid substitution ที่ตำแหน่ง 426 บนยีน VP2 โดยเปลี่ยนจาก Aspartic acid (D) เป็น Glutamic acid (E) (รูปที่ 1) โดยเชื้อ CPV-2b ถูกค้นพบครั้งแรกที่ประเทศสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1984 (Parrish et al., 1991) และเชื้อสายพันธุ์ CPV-2c ถูกพบครั้งที่ประเทศอิตาลีในปี ค.ศ. 2000 (Buonavoglia et al., 2001) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Decaro et al. (2007a) รายงานว่าเชื้อสายพันธุ์ CPV-2c สามารถตรวจพบได้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1996 ที่ประเทศเยอรมัน ซึ่งความแตกต่างบริเวณ antigenic site ของทั้งสามสายพันธุ์ เกิดขึ้นที่ตำแหน่ง 426 บนยีน VP2 โดยการกลายพันธุ์ (mutation) ดังกล่าว มีผลต่อตำแหน่ง major antigenic (Epitope A) ซึ่งบริเวณดังกล่าวอยู่บน spike protein ของเชื้อไวรัสและเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันภายในโฮสต์ (Parrish et al., 1991; Organtini et al., 2015) นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อ CPV-2b และ CPV-2C มีความสามารถในการติดเชื้อได้ทั้งในสุนัขและแมว

วิวัฒนาการทางพันธุกรรมของเชื้อพาร์โวไวรัสที่พบในประเทศไทย (Genetic evolution of CPV-2)

สำหรับประเทศไทยรายงานการวิจัยเกี่ยวกับเชื้อ CPV-2 และระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลเกี่ยวกับสายพันธุ์ของไวรัส มีอยู่ค่อนข้างจำกัด โดย Sakulwira et al. (2001) ได้ทำการตรวจหาและจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ CPV-2 ในสุนัขที่มีอาการลำไส้อักเสบโดยใช้วิธี semi-nested PCR และ restriction fragment length polymorphism (RFLP) ในช่วงเดือน พฤษภาคม ปี ค.ศ. 1999 ถึง กุมภาพันธ์ ปี ค.ศ. 2000 โดยทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระสุนัขที่มีอาการทางคลินิกและสุนัขสุขภาพดี อย่างละ 55 ตัวอย่าง จากจังหวัดปทุมธานี ทำ

การทดสอบการติดเชื้อไวรัสจากตัวอย่างทั้งสองกลุ่ม ด้วยเทคนิค semi-nested PCR พบการติดเชื้อ CPV-2 ในสุนัข ที่ป่วยเท่านั้น โดยคิดเป็นร้อยละ 61.8 หลังจากนั้นทำการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค RFLP เปรียบเทียบกันระหว่าง vaccine strain และ wild type virus (CPV-2a และ/หรือ CPV-2b) พบว่าไวรัสทั้งหมดเป็นสายพันธุ์ CPV-2a และ/หรือ CPV-2b ซึ่งมีความแตกต่างจากวัคซีนที่ใช้ในขณะนั้น (CPV-2 ถูกใช้ เป็นสายพันธุ์ต้นแบบในการผลิตวัคซีน) จากการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าไวรัส CPV-2 ที่เป็นสาเหตุหลักในการก่อโรคในสุนัขคือสายพันธุ์ CPV-2a และ CPV-2b ต่อมา Sakulwira et al. (2003) ได้ทำการศึกษาความชุกของเชื้อไวรัส canine coronavirus (CCoV) และ CPV-2 ในประชากรสุนัขในประเทศไทยที่มีอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบ จำนวน 70 ตัวอย่าง ในพื้นที่ภาคกลาง ช่วงเดือน พฤษภาคม ปี ค.ศ. 1999 ถึง ธันวาคม ปี ค.ศ. 2001 ด้วยเทคนิค semi-nested PCR พบการติดเชื้อ CPV-2 คิดเป็นร้อยละ 62.8 และพบการติดเชื้อ CCoV ร้อยละ 12.8 ในปี ค.ศ. 2009 Suksawat et al. (2009) ได้ทำการสำรวจการติดเชื้อไวรัส CPV-2 และ CCoV ในสุนัขที่มีอาการถ่ายเป็นเลือด จำนวน 200 ตัวอย่าง ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 4 จังหวัด ประกอบด้วย จังหวัดขอนแก่น มหาสารคาม นครราชสีมา และอุบลราชธานี โดยใช้ชุดตรวจหาแอนติเจนของ ไวรัสสำเร็จรูปชนิด CPV/CCV Ag Test Kit ผลการศึกษาพบการติดเชื้อ CCoV ร้อยละ 5 และพบการติดเชื้อ CPV-2 สูงถึงร้อยละ 42 นอกจากนี้ยังพบการติดเชื้อร่วมกันระหว่างเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิด ร้อยละ 10 ดังนั้นจาก ผลการศึกษาทั้งสอง (Sakulwira et al., 2003; Suksawat et al., 2009) ชี้ให้เห็นว่าสาเหตุหลักของโรคลำไส้อักเสบติดต่อในสุนัขในประเทศไทยเกิดจากเชื้อ CPV-2 สำหรับการศึกษาระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลของ CPV-2 เริ่มมีรายงานโดย Phromnoi et al. (2010) ได้ทำการเก็บตัวอย่างจากสุนัขที่มีอาการทางคลินิกของโรคลำไส้อักเสบติดต่อ ที่เข้า

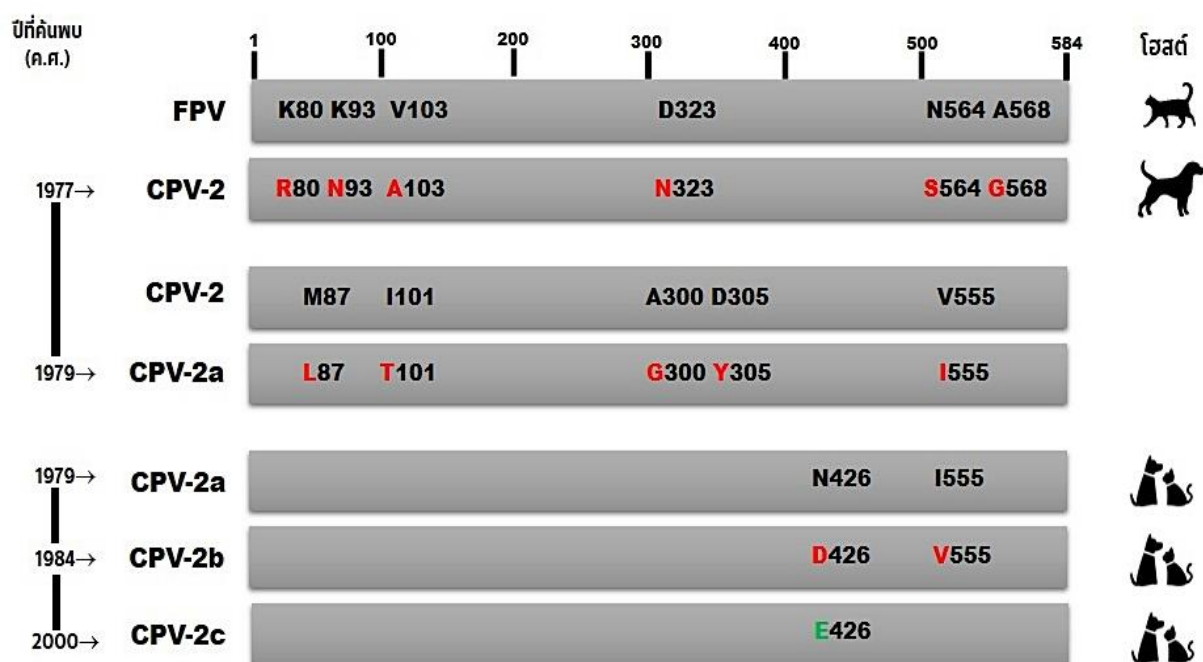
รับการรักษาในโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในช่วงปี ค.ศ. 2003 ถึง 2009 จำนวน 26 ตัวอย่าง หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ยีน VP2 แบบเต็มสายด้วยวิธี PCR และ sequence analysis ผลการวิเคราะห์พบว่าเป็น CPV-2a จำนวน 19 ตัวอย่าง และอีก 7 ตัวอย่าง เป็น CPV-2b ซึ่งจากการรวบรวมข้อมูลจากงานวิจัยที่ผ่านมา (Sakulwira et al., 2001; Phromnoi et al., 2010) สรุปได้ว่าสายพันธุ์ของเชื้อ CPV-2 ที่พบในประเทศไทย ระหว่างปี ค.ศ. 1999 ถึง 2009 มีเพียง 2 สายพันธุ์คือ CPV-2a และ CPV-2b โดยสายพันธุ์ CPV-2a เป็นไวรัสสายพันธุ์หลักที่มีการแพร่ระบาดในประชากรสุนัขของประเทศไทย (ตารางที่ 2) แต่เมื่อไม่นานมานี้ Charoenkul et al. (2019) พบการอุบัติใหม่ของเชื้อ CPV-2c เป็นครั้งแรกในประเทศไทย โดยในการศึกษาดังกล่าวได้ทำการเฝ้าระวังการเกิดโรคลำไส้อักเสบติดต่อที่เกิดจากเชื้อพาร์โวไวรัสในสุนัขและแมวในประเทศไทย ระหว่างปี ค.ศ. 2016 ถึง 2018 โดยทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระด้วยวิธี rectal swabs จากสุนัขและแมว ทั้งที่มีและไม่มีอาการทางคลินิกแล้วจึงทำการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ (primer) ที่จำเพาะต่อยีน VP2 ของเชื้อ CPV-2 พบผลบวกต่อเชื้อ CPV-2 ในสุนัขและเชื้อ FPV ในแมว คิดเป็นร้อยละ 29.95 และ 58.73 ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับเบส (DNA sequence analysis) และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัส โดยใช้แผนภูมิวิวัฒนาการ phylogenetic tree พบเชื้อ CPV-2 ในประเทศไทยทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CPV-2a, CPV-2b และ CPV-2c นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อ CPV-2c ที่พบในประเทศไทยเป็นครั้งแรกนั้น จัดอยู่ใน Asian CPV-2c cluster และยังมีความใกล้เคียงกับเชื้อ CPV-2c ที่แยกได้จากประเทศเวียดนาม อินโดนีเซีย และจีน อีกด้วย จากข้อมูลดังกล่าวอาจทำให้สรุปได้ว่า เชื้อ CPV-2c ที่มีการแพร่ระบาดในประเทศไทย มีการเคลื่อนย้ายของเชื้อไวรัส (virus movement) จาก

ประเทศจีนมายังเวียดนาม และมีการแพร่ระบาดไปยังประเทศอื่นๆ ในภูมิภาคอาเซียน รวมถึงประเทศไทย ซึ่งอาจเกิดจากการลักลอบนำเข้าสุนัขแบบผิดกฎหมายจากประเทศต้นทาง ต่อมา Inthong et al. (2020) ได้ทำการศึกษาวิวัฒนาการการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (dynamic evolution) ของ CPV-2 ในประเทศไทย โดยทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระในสุนัขที่มีอาการอาการทางคลินิกของโรคลำไส้อักเสบ จำนวน 60 ตัวอย่างในปี ค.ศ. 2010 และ 25 ตัวอย่างในปี ค.ศ. 2018 ทำการวิเคราะห์จำแนกสายพันธุ์ของไวรัสด้วยเทคนิค PCR และทำการศึกษาวิวัฒนาการการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมด้วยแผนภูมิวิวัฒนาการ phylogenetic tree ผลการศึกษาพบว่าในปีค.ศ. 2010 พบเชื้อไวรัสสายพันธุ์ CPV-2a จำนวน 29 ตัวอย่าง CPV-2b จำนวน 31 ตัวอย่าง และในปีค.ศ. 2018 พบเชื้อไวรัสสายพันธุ์ CPV-2a จำนวน 5 ตัวอย่าง CPV-2c จำนวน 19 ตัวอย่าง โดยไม่พบไวรัสสายพันธุ์ CPV-2b เลย นอกจากนี้ยังพบไวรัส FPV ในสุนัข 1 ตัวอย่าง ผลการศึกษาดังกล่าว (Charoenkul et al., 2019; Inthong et al., 2020) ชี้ให้เห็นว่าประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรม CPV-2 ที่เพิ่มมากขึ้นจากในอดีต โดย CPV-2a ยังคงเป็นไวรัสสายพันธุ์หลักที่มีการแพร่ระบาดในประชากรสุนัขของประเทศไทย อย่างไรก็ตามไวรัสสายพันธุ์ CPV-2c มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 2) ดังนั้นจึงควรมีการเฝ้าระวังและติดตามการติดเชื้อพาร์โวไวรัสในสุนัขอย่างต่อเนื่อง เพื่อการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใหม่ๆในประชากรสุนัขของประเทศไทยได้อย่างมีประสิทธิภาพและทันทั่วถึง

การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัส CPV-2

วิธีการทั่วไป (Traditional methods)

ความแม่นยำในการวินิจฉัยเชื้อไวรัส CPV-2 เป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากลักษณะอาการทางคลินิกของโรคลำไส้อักเสบติดต่อในสุนัข มีความคล้ายคลึงกับการติด



รูปที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนบนยีน VP2 ระหว่างไวรัส FPV CPV-2 CPV-2a CPV-2b และ CPV-2c ปีที่ค้นพบไวรัส และโฮสต์ของไวรัสแต่ละสายพันธุ์

ตารางที่ 2 สายพันธุ์เชื้อพาร์โวไวรัสที่พบในประเทศไทย ระหว่างปี ค.ศ. 1999 ถึง 2018

ปีที่พบไวรัส (ค.ศ.)	สายพันธุ์เชื้อพาร์โวไวรัส (ร้อยละ)			อ้างอิง
	CPV-2a	CPV-2b	CPV-2c	
1999-2000	8.61 ¹		0	Sakulwira et al., 2001
1999-2001	62.8 ¹		0	Sakulwira et al., 2003
2003	54.11	54.11	0	Phromnoi et al., 2010
2004	26.92	3.85	0	
2008	15.38	54.11	0	
2009	19.23	0	0	
2009	42 ¹		0	Suksawat et al., 2009
2016	63.63	4.55	31.82	Charoenkul et al., 2019
2017	43.10	3.45	53.45	
2018	54.72	0	45.28	
2010	48.33	51.56	0	Inthong et al., 2020
2018	20	0	76	

¹ หมายถึง ไม่ได้ทำการจำแนกว่าเป็นสายพันธุ์ใด อาจเป็น CPV-2a หรือ CPV-2b

เชื้อปรสิตและเชื้อแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Campylobacter* sp. หรือ *Salmonella* sp. นอกจากนี้ อาจเกิดจากการที่สุนัขกินสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย การได้รับสารพิษ ก็สามารถก่อให้เกิดอาการที่คล้ายกับ อาการทางคลินิกของโรคได้ ในกรณีที่ลูกสุนัขไม่ได้ทำ วัคซีนหรือสุนัขที่อยู่ร่วมกับสุนัขที่ติดเชื้อ ควรถูกสงสัยว่า อาจมีการติดเชื้อ CPV-2 สุนัขที่ติดเชื้อมักจะมีภาวะกด การสร้างเม็ดเลือด (panleukopenia) โดยเฉพาะการพบ ภาวะนิวโทรฟิลต่ำ (neutropenia) ซึ่งการทำ blood smear สามารถใช้เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยแยกโรค (rule out) ได้ในเบื้องต้น (Barr and Bowman, 2006) การเพาะแยกเชื้อไวรัส (viral isolation) จากสิ่งส่งตรวจ ทางคลินิก สามารถเพาะเลี้ยงไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง (continuous cell lines) หลายชนิด เช่น Crandell Feline Kidney cell line (CRFK), Madin Darby canine Kidney cell line (MDCK) และ Walter Reed Canine Cell line (WRCC) ส่วน primary cell lines ที่ เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงไวรัสคือ เซลล์ไตและปอด ของสุนัข สามารถตรวจหาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ เพาะเลี้ยงที่มีการติดเชื้อไวรัส (cytopathic effect; CPE) โดยเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสจะมีลักษณะกลม รวมทั้ง อาจพบ inclusion body ภายในเซลล์ (Desario et al., 2005) อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อเสียคือ มีความไวต่ำและใช้ เวลานาน ส่วนการยืนยันการติดเชื้อไวรัสสามารถทำได้ หลายวิธี เช่น ยืนยันการติดเชื้อไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอน การทดสอบ hemagglutination assay (HA) จากตัวอย่างอุจจาระ และการทดสอบ hemagglutination inhibition (HI) จากตัวอย่างซีรัม นอกจากนี้ยังสามารถตรวจหาเชื้อไวรัสด้วยชุดทดสอบ อิมมูโนโครมาโทกราฟี (immunochromatographic test; IC) แม้วิธีนี้จะมีความสะดวกและนิยมใช้ในการ ตรวจเบื้องต้น แต่พบว่าค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (detection limit) ของชุดตรวจค่อนข้างสูง (Desario et al., 2005; Barr and Bowman, 2006) การทดสอบการ

ติดเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค fluorescent antigen testing (FA) เป็นการตรวจอีกวิธีที่ได้รับความนิยม โดยสามารถ ตรวจหาเชื้อ CPV-2 บนเนื้อเยื่อต่างๆได้ เช่น ลิ้น เนื้อเยื่อ จากคอหอย หลอดอาหาร ชั้นเยื่อเมือกของลำไส้เล็ก ไช กระดู ม้าม ต่อมไทมัส ต่อมน้ำเหลืองที่บริเวณเยื่อลำไส้ ต่อมทอลซิลที่บริเวณเพดานเหงือกและกล้ามเนื้อหัวใจ ในขณะที่การผ่าซากและการเก็บตัวอย่างอวัยวะหรือ เนื้อเยื่อหลังการตายสามารถช่วยในการยืนยันการติดเชื้อ CPV-2 ได้ (Greene, 2006) วิธีการทดสอบอีกวิธีที่นิยม ใช้ในการวินิจฉัยคือ การเก็บตัวอย่างอุจจาระมาทำการ ตรวจหาแอนติเจนด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) วิธีการนี้สามารถทำ ได้โดยทั่วไปในห้องปฏิบัติการ เป็นวิธีที่มีความไวและมี ความแม่นยำในการตรวจหาเชื้อ CPV-2 (Greene, 2006) นอกจากนี้วิธีดังกล่าวยังมีชุดตรวจสำเร็จรูป ทางการค้า (commercial ELISA test kit) จึงทำให้การ ทดสอบ สะดวกมากยิ่งขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจ วินิจฉัยด้วยวิธีดังกล่าวอาจพบความคลาดเคลื่อนได้ ผล การตรวจที่ได้จึงควรนำมาพิจารณาร่วมกับประวัติสัตว์ ป่วย อาการทางคลินิก และผลที่ได้จากการทำ blood smear ในกรณีที่ผลการตรวจเป็นลบ แต่แท้จริงแล้วอาจ เป็นผลลบเทียม (false negative) เพราะการติดเชื้อใน ระยะแรกจะมี ระยะเวลาการแพร่เชื้อที่สั้น (Barr and Bowman, 2006) โดยปกติแล้วเชื้อ CPV-2 จะพบใน อุจจาระได้หลังจากการติดเชื้อ 10-12 วัน และประมาณ 5-7 วัน หลังจากเริ่มแสดงอาการทางคลินิก แอนติบอดี สามารถส่งผ่านไปยัง lumen ของลำไส้โดยผ่านทาง หลอดเลือดฝอยและส่งผ่านไปยังอุจจาระ อีกทางหนึ่งคือ แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสผ่านมาทางลำไส้ไปจับกับตัวเชื้อ ส่งผลให้ชุดตรวจไม่สามารถที่จะตรวจพบตัวเชื้อไวรัสได้ ความคลาดเคลื่อนอีกรูปแบบที่อาจเกิดขึ้นคือ การให้ผล บวกเทียม (false positive) ในสัตว์หลังจากทำ วัคซีน ชนิด Modified live virus (MLV) (Greene, 2006) สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ CPV-2 นิยมใช้วิธี

indirect ELISA เนื่องจากสามารถตรวจหาแอนติบอดีชนิด Immunoglobulin M (IgM) ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่บ่งบอกถึงการติดเชื้อล่าสุดของสุนัขได้ (Florent, 1986)

วิธีทางอณูชีววิทยา (Molecular methods)

การวินิจฉัยการติดเชื้อ CPV-2 ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา เป็นการทดสอบที่รวดเร็ว ใช้แรงงานน้อย และไม่จำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการอ่านผล จึงถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์การติดเชื้อ CPV-2 อย่างกว้างขวางในปัจจุบัน การทดสอบด้วยวิธี nucleic acid hybridization assay เริ่มใช้ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1990 (Remond et al., 1992) ต่อมาได้มีการพัฒนาการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสด้วยวิธี PCR หลากหลายชนิด โดยเทคนิค PCR ได้รับการยอมรับให้เป็น routine diagnostic test สำหรับการตรวจหาเชื้อ CPV-2 เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะมากกว่าการตรวจด้วยวิธี HA test โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวอย่างส่งตรวจที่เป็นตัวอย่างอุจจาระ นอกจากนี้เทคนิค PCR ยังมีความไวกว่าการตรวจการติดเชื้อไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ถึง 100 เท่า และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่า detection limit ระหว่าง วิธี PCR กับ ELISA พบว่า PCR สามารถตรวจหาเชื้อ CPV-2 ในตัวอย่างอุจจาระที่มีปริมาณไวรัสต่ำได้ถึง 10^3 PFU/g ในขณะที่ ELISA สามารถตรวจหาเชื้อ CPV-2 ในตัวอย่างอุจจาระที่มีปริมาณไวรัส 10^6 PFU/g (Uwatoko et al., 1995) ในขณะที่เทคนิคทางอณูชีววิทยาอื่นๆ ได้ถูกพัฒนาขึ้นในการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด เช่น เทคนิค Multiplex PCR เป็นวิธีที่สามารถตรวจจับเชื้อโรคหลายชนิดพร้อมกันได้ภายในหลอดทดลองเดียวและราคาไม่แพง ทำให้เทคนิคนี้ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในการตรวจหาสายพันธุ์ของเชื้อพาร์โวไวรัส (Parthiban et al., 2010) และเทคนิค nested PCR ได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อเพิ่มความจำเพาะในการตรวจหาสายพันธุ์ของเชื้อพาร์โวไวรัส (Kumar et al., 2011)

บทสรุป

แม้ว่าเชื้อไวรัส CPV-2 จะเป็น DNA virus แต่มีอัตราการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมสูงใกล้เคียงกับ RNA virus ส่งผลให้ไวรัสเกิดการกลายพันธุ์ได้ง่ายและรวดเร็ว (Shackelton et al., 2005) ดังนั้น การศึกษาระบาดวิทยาเชิงโมเลกุล (molecular epidemiology) และความหลากหลายทางพันธุกรรมของไวรัส (genetic diversity) จึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่อาจเกิดขึ้น และเพื่อนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้สำหรับการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัย การพัฒนาวัคซีนหรือการเลือกใช้วัคซีนให้เหมาะสมกับสายพันธุ์ของไวรัสที่แพร่ระบาดในขณะนั้น ตลอดจนแนวทางในการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อ CPV-2 ในอนาคตสำหรับประเทศไทย แม้ไวรัสสายพันธุ์ CPV-2a จะเป็นไวรัสสายพันธุ์หลักที่มีการแพร่ระบาดในประชากรสุนัข อย่างไรก็ตามไวรัสสายพันธุ์ CPV-2c มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นนับตั้งแต่มีการพบไวรัสเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 2016 และอาจกลายเป็นไวรัสสายพันธุ์หลักที่มีการแพร่ระบาดในอนาคต ในขณะที่ไวรัสสายพันธุ์ CPV-2b มีแนวโน้มลดลงอย่างเห็นได้ชัด

เอกสารอ้างอิง

- Barr, S.C. and D.D. Bowman. 2006. The Five-Minute Veterinary Consult Clinical Companion: Canine and Feline Infectious Diseases and Parasitology. 1st ed. Blackwell Publishing. Ames. p. 110-117.
- Buonavoglia, C., V. Martella, A. Pratelli, M. Tempesta, A. Cavalli, D. Buonavoglia, G. Bozzo, G. Elia, N. Decaro and L. Carmichael. 2001. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. J. Gen. Virol. 82(12): 3021-3025.

- Charoenkul, K., R. Tangwangvivat, T. Janetanakit, S. Boonyapisitsopa, N. Bunpapong, S. Chaiyawong and A. Amonsin. 2019. Emergence of canine parvovirus type 2c in domestic dogs and cats from Thailand. *Transbound. Emerg. Dis.* 66(4): 1518-1528.
- Decaro, N., C. Desario, D.D. Addie, V. Martella, M.J. Vieira, G. Elia, A. Zicola, C. Davis, G. Thompson, E. Thiry, U. Truyen and C. Buonavoglia. 2007. The study molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 13(8): 1222-1224.
- Decaro, N., C. Desario, G. Elia, V. Martella, V. Mari, A. Lavazza, M. Nardi and C. Buonavoglia. 2008. Evidence for immunisation failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c. *New Microbiol.* 31(1): 125-130.
- Decaro, N., G. Elia, C. Desario, S. Roperto, V. Martella, M. Campolo, A. Lorusso, A. Cavalli and C. Buonavoglia. 2006. A minor groove binder probe real time PCR assay for discrimination between type-2 based vaccines and field strains of canine parvovirus. *J. Virol. Methods.* 136(1-2): 65-70.
- Decaro, N., M. Campolo, C. Desario, G. Elia, V. Martella, E. Lorusso and C. Buonavoglia. 2005. Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. *Biologicals.* 33(4): 261-267.
- Desario, C., N. Decaro, M. Campolo, A. Cavalli, F. Cirone, G. Elia, V. Martella, E. Lorusso, M. Camero and C. Buonavoglia. 2005. Canine parvovirus infection: which diagnostic test for virus. *J. Virol. Methods.* 121(1-2): 179-185.
- Florent, G. 1986. Enzyme-linked immunosorbent assay for single serum diagnosis of canine parvovirus disease. *Vet. Rec.* 119: 479.
- Greene, C.E. 2006. Canine viral enteritis. In: Greene, C.E., ed. *Infectious Disease of the Dog and Cat.* 3rd ed. W.B. Saunders. Philadelphia. p. 63-73.
- Greene, C.E. and N. Decaro. 2012. Canine viral enteritis. In: Greene, C.E., ed. *Infectious Disease of the Dog and Cat.* 4th ed. W.B. Saunders. St. Louis. p. 67-75.
- Hoelzer, K., L.A. Shackelton, C.R. Parrish and E.C. Holmes. 2008. Phylogenetic analysis reveals the emergence, evolution and dispersal of carnivore parvoviruses. *J. Gen. Virol.* 89(9): 2280-2289.
- Hueffer, K., J.S. Parker, W.S. Weichert, R.E. Geisel, J.Y. Sgro and C.R. Parrish. 2003. The natural host range shift and subsequent evolution of canine parvovirus resulted from virus-specific binding to the canine transferrin receptor. *J. Virol.* 77(3): 1718-1726.
- Inthong, N., S. Kaewmongkol, N. Meekhanon, K. Sirinarumit and T. Sirinarumitr. 2020. Dynamic evolution of canine parvovirus in Thailand. *Vet World.* 13(2): 245-255.
- Kapil, S., E. Cooper, C. Lamm, B. Murray, G. Rezabek, L. Johnston, G. Campbell and B.

- Johnson. 2007. Canine Parvovirus Types 2c and 2b circulating in North American dogs in 2006 and 2007. *J. Clin. Microbiol.* 45(12): 4044-4047.
- Kumar, M., S. Chidri and S. Nandi. 2011. A sensitive method to detect canine parvoviral DNA in faecal samples by nested polymerase chain reaction. *Indian J. Biotechnol.* 10:183-187.
- MacLachlan, N.J. and E. J. Dubovi. 2016. *Fenner's Veterinary Virology*. 5th ed. Elsevier Inc. London. P. 245-257.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2018. Canine parvovirus isolate CPV SH14, complete genome. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KT382542>. (Accessed 23 February 2019).
- Nelson, C.D., L.M. Palermo, S.L. Hafenstein and C.R. Parrish. 2007. Different mechanisms of antibody-mediated neutralization of parvoviruses revealed using the fab fragments of monoclonal antibodies. *Virology* 361(2): 283–293.
- Organtini, L.J., A.B. Allison, T. Lukk, C.R. Parrish and S. Hafenstein. 2015. Global displacement of canine parvovirus by a host-adapted variant: structural comparison between pandemic viruses with distinct host ranges. *J. Virol. Methods.* 89(3): 1909-1912.
- Parrish, C.R. 1990. Emergence, natural history, and variation of canine, mink and feline parvoviruses. *Adv. Virus Res.* 38: 403-450.
- Parrish, C.R. 1999. Host range relationships and the evolution of canine parvovirus. *Vet. Microbiol.* 69(1-2): 29-40.
- Parrish, C.R. and L.E. Carmichael. 1986. Characterization and recombination mapping of an antigenic and host range mutation of canine parvovirus. *Virology* 148(1): 121-132.
- Parrish, C.R., C.F. Aquadro, M.L. Strassheim, J.F. Evermann, J.Y. Sgro and H.O. Mohammed. 1991. Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. *J Virol.* 65(12): 6544-6552.
- Parrish, C.R., P. Have, W.J. Foreyt, J.F. Evermann, M. Senda and L.E. Carmichael. 1988. The global spread and replacement of canine parvovirus strains. *J. Gen. Virol.* 69(5): 1111-1116.
- Parthiban, S., H.K. Mukhopadhyay, P.X. Antony and R.M. Pillai. 2010. Molecular typing of canine parvovirus occurring in Pondicherry by multiplex PCR and PCR-RFLP. *Indian J Virol.* 21(1): 86-89.
- Pesavento, P.A. and B.G. Murphy. 2014. Common and emerging infectious diseases in the animal shelter. *Vet Pathol.* 51(2): 478-491.
- Phromnoi, S., K. Sirinarumitr and T. Sirinarumitr. 2010. Sequence analysis of VP2 gene of canine parvovirus isolates in Thailand. *Virus Genes.* 41(1): 23-29.
- Pollock, R.V. and L.E. Carmichael. 1983. Canine viral enteritis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 13(3): 551-566.

- Remond, M., P. Boireau and F. Lebreton. 1992. Partial DNA cloning and sequencing of a canine parvovirus vaccine strain: application of nucleic acid hybridization to the diagnosis of canine parvovirus disease. *Arch. Virol.* 127(1): 257-269.
- Sakulwira, K., K. Oraveerakulb and Y. Poovorawanc. 2001. Detection and genotyping of canine parvovirus in enteritic dogs by PCR and RFLP. *Science Asia.* 27: 143-147.
- Sakulwira, K., P. Vanapongtipagorn, A. Theamboonlers, K. Oraveerakul and Y. Poovorawan. 2003. Prevalence of canine coronavirus and parvovirus infections in dogs with gastroenteritis in Thailand. *Veterinarni Medicina.* 48(6): 163-167
- Shackelton, L.A., C.R. Parrish, U. Truyen and E.C. Holmes. 2005. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. *PNAS* 102(2): 379-384.
- Suksawat, F., C. Somkiat, T. Sangmo, T. Kittimongkol and N. Swasdipan. 2009. Survey of Canine Coronavirus and Parvovirus from Dogs with Bloody Diarrhea in Khon Kaen, Mahasarakham, Nakhonrachasima, and Ubolrachathani Provinces. *KKU. Vet. J.* 19(1): 64-71. (in Thai)
- Thomas, N.J., W.J. Foreyt, J.F. Evermann, L.A. Windberg and F.F. Knowlton. 1984. Seroprevalence of canine parvovirus in wild coyotes from Texas, Utah, and Idaho (1972 to 1983). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185(11): 1283-1287.
- Tijssen, P., M. Agbandje-McKenna, J.M. Almendral, M. Bergion, T.W. Flegel, K. Hedman, J. Kleinschmidt, Y. Li, D.J. Pintel and P. Tatatersall. 2014. The family *Parvoviridae*. *Arch. Virol.* 159(5): 1239-1247.
- Truyen, U., A. Gruenberg, S.F. Chang, B. Obermaier, P. Veijalainen and C.R. Parrish. 1995. Evolution of the feline-subgroup parvoviruses and the control of canine host range *in vivo*. *J. Virol.* 69(8): 4702-4710.
- Truyen, U., J.F. Evermann, E. Vieler and C.R. Parrish. 1996. Evolution of canine parvovirus involved loss and gain of feline host range. *Virol. J.* 215(2): 186-189.
- Tsao, J., M.S. Chapman, M. Agbandje, W. Keller, K. Smith, H. Wu, M. Luo, T.J. Smith, M.G. Rossmann, R.W. Compans and C.R. Parrish. 1991. The three-dimensional structure of canine parvovirus and its functional implications. *Science* 251(5000): 1456-1464.
- Uwatoko, K., M. Sunairi, M. Nakajima and K. Yamaura. 1995. Rapid method utilizing the polymerase chain reaction for detection of canine parvovirus in faeces of diarrheic dogs. *Vet. Microbiol.* 43: 315-323.

