รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2557

การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย

Ecology and Biodiversity Studies of Ticks and their Microorganisms at Songkhla and Satun Provinces of Thailand

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

นางสาววันวิภา หนูมา มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ผศ.วัชรีพร ตฤณชาติวณิชย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

พฤศจิกายน 2559

2557A15661001

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2557

การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย

Ecology and Biodiversity Studies of Ticks and their Microorganisms at Songkhla and Satun Provinces of Thailand

คณะผู้วิจัย

นางสาววันวิภา หนูมา มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ผศ.วัชรีพร ตฤณชาติวณิชย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดย สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัย
ในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปี 2557

เลข Bib# 1140063
วันที่ 27 มิ.ย. 2560
เลขเรียกหนังสือ 595.4 ก115ก

บทคัดย่อ

การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทยเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเห็บและจุลินทรีย์ในเห็บโดยการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR) และหาลำดับเบส พบว่าพื้นที่ชุมชนต่างๆ ของจังหวัดสงขลา และสตูล มีเห็บจาก 3 สกุล จำนวน 5 ชนิด ดังนี้ *Hemahysalis wellingtoni*, *H. lagrangei*, *Rhipicepharus sanguineus*, *R. microplus* และ*Amblyomma varanense* เมื่อศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บ พบจุลชีพในกลุ่ม Babesia คือ *Babesia canis* จากเห็บสปีชีส์ *H. lagrangei* ที่เก็บได้จากโฮสต์คือสมเสร็จ ซึ่งเป็นเชื้อนำโรค babesiosis สามารถติดต่อถ่ายทอดสู่คนได้ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลชีพของเห็บ

คำสำคัญ : เห็บ ความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บ จุลชีพก่อโรคที่มีเห็บเป็นพาหะ ประเทศไทย

Abstract

The ecology and biodiversity of ticks and the microorganisms found in ticks located in Songkhla and Satun, Thailand were investigated to study the relations between the ticks and the microbiota. The investigations were performed via Polymerase Chain Reaction (PCR) and DNA sequencing techniques. The results showed that there were three genus and five species of ticks including *Hemahysalis wellingtoni*, *Hemahysalis lagrangei*, *Rhipicepharus sanguineus*, *Rhipicepharus microplus* and *Amblyomma varanense* found in the communities of Songkhla and Satun. In addition, one of the microflora found in *Hemahysalis lagrangei* was *Babesia canis* belonging to Babesia group that isolated from the tapir hosts. *Babesia canis* was the pathogenic bacteria causing babesiosis and it can be transmitted to human. Thus, it is particularly important to study the ecology and biodiversity of ticks and their microbiota.

keywords : Tick, Ecology of tick, Biodiversity of tick, Tick-microorganisms, Thailand

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	**ข**
บทคัดย่อ	**ค**
สารบัญเรื่อง	**ง**
สารบัญตาราง	**ช**
สารบัญภาพ	**ช**
บทที่ 1 บทนำ	**1**
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1
ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	**3**
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง	3

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	**5**
การเก็บตัวอย่างเห็บ	5
การจำแนกชนิดของเห็บ	5
การศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บ	6
การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ	8
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	**10**
นิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูล	10
เห็บและจุลินทรีย์ในเห็บ	15
บทที่ 5 สรุปผล	**17**
สรุปผล	17
ผลผลิต	**18**
รายงานสรุปการเงินประจำปีงบประมาณ 2557	**19**
บรรณานุกรม	**20**

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	24
ประวัติผู้วิจัย	25

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ระยะของเห็บและชนิดเห็บตามสัณฐานวิทยา จำแนกตามเขตจังหวัด อำเภอ และhost	13
2 การตรวจเชื้อในเห็บ *R. sanguineus* จากสุนัข และ *H. lagrangei* จากสมเสร็จ	15

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 *Hemahysalis wellingtoni*	11
2 *Hemahysalis lagrangei*	11
3 *Rhipicepharus sanguineus*	11
4 *Rhipicepharus microplus*	11
5 *Amblyomma varanense*	12
6 Phylogenetic tree ของ Theileria spp. 16 S rRNA gene	16

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

จังหวัดสงขลาและสตูลเป็นเขตจังหวัดชายทะเลในภาคใต้ของประเทศไทยมีเขตแดนติดต่อกับจังหวัดชายแดนภาคใต้ และเป็นพื้นที่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจกล่าวคือ เป็นแหล่งเศรษฐกิจ การท่องเที่ยวและมีชุมชนขนาดใหญ่อาศัยอยู่ในท้องถิ่นนี้เช่น อำเภอหาดใหญ่ เป็นต้น โดยลักษณะพื้นที่ที่มีทั้งป่าเขาชายฝั่งทะเลและชุมชนบ้านเมืองของมนุษย์ เป็นแหล่งอาศัยของพาหะนำโรคที่กล่าวถึงในที่นี้คือเห็บและจุลชีพในเห็บได้เป็นอย่างดี เช่น เห็บจากปศุสัตว์เป็นพาหะนำเชื้อโรคหลายชนิดทั้งในกลุ่มแบคทีเรียและโปรโตซัว ซึ่งก่อให้เกิดความสูญเสียคุณค่าทางเศรษฐกิจมากมายในแต่ละปี เห็บจากสัตว์เลี้ยง เช่น หมา แมว และเห็บป่า ซึ่งอาศัยอยู่ในสัตว์ป่าตามระบบนิเวศของผืนป่าซึ่งเป็นแหล่งท่องเที่ยวของมนุษย์ โดยโรคในสัตว์ที่เกิดขึ้นจากพาหะชนิดนี้ มีหลายชนิดเช่น anaplasmosis, babesiosis, ehrlichiosis และ rickettsiosis สามารถติดต่อถ่ายทอดสู่คนได้ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษานิเวศวิทยา และความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลชีพของเห็บในท้องที่นี้ เพราะมีการศึกษาในเรื่องเหล่านี้น้อยมาก จนทำให้การเรียนรู้ การควบคุมเห็บพาหะนำโรคและโรคที่เกิดจากเห็บในท้องที่ไม่สามารถทำได้หรือ ไม่เคยเป็นที่รู้จักเลยถึงจะมีโรคต่าง ๆ ดังกล่าวแฝงตัวและเกิดขึ้นแล้วในชุมชนก็ตาม ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขและสุขภาพทำให้สูญเสียทรัพยากรมนุษย์ และงบประมาณแผ่นดินเป็นอย่างมาก ที่อาจได้ข้อมูลที่สำคัญในการบ่งชี้ต้นตอของโรคและการแก้ไขปัญหาอย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อศึกษาระบบนิเวศและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย

2) เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ของเห็บในจังหวัดสงขลา และสตูลของประเทศไทย

3) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเห็บและจุลินทรีย์ในเห็บและข้อมูลพื้นฐานของ การกระจายเชื้อก่อโรคในท้องถิ่นดังกล่าว

4) เพื่อศึกษาวิวัฒนาการของเห็บและเชื้อในเห็บในท้องถิ่นดังกล่าว

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บ และจุลชีพก่อโรคที่มีเห็บเป็นพาหะในชุมชน จังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย และพิจารณาถึงกลไกพื้นฐานของการเกิดโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งการถ่ายทอดของจุลชีพก่อโรคที่มีเห็บเป็นพาหะซึ่งอาจมีผลกระทบมาจากชนิดของเห็บและระบบนิเวศจำเพาะซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของมัน รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเห็บและจุลชีพก่อโรค ที่มีเห็บเป็นพาหะโดย Phylogenetic analysis

ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ในชุมชนจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย มีความหลากหลายของเห็บและจุลชีพก่อโรคที่มีเห็บเป็นพาหะชนิดใหม่ๆ ที่ยังไม่ได้มีการค้นพบหรือถูกรายงานหลายชนิด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ เช่น การเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร ฯลฯ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

ด้านวิชาการ: เผยแพร่ผลงานวิจัย

ด้านสังคมและชุมชน: รู้จักเห็บชนิดต่างๆ และเชื้อที่มีเห็บเป็นพาหะเพื่อความเข้าใจที่ถูกต้อง การตระหนักรู้ถึงปัญหาที่อาจเกิดขึ้น การป้องกัน และแก้ไขปัญหาในท้องถิ่น

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

เห็บจัดเป็นพาหะที่มีความสำคัญทางการแพทย์เป็นอย่างมาก ซึ่งอยู่ในกลุ่มสัตว์ขาปล้อง (Arthropoda) อยู่ในคลาส Arachnida มีบทบาทเป็นปรสิตภายนอกร่างกายของสัตว์มีกระดูกสันหลังหลายชนิด และมีบทบาทในทางระบาดวิทยาเนื่องจากเป็นที่อยู่อาศัยของจุลชีพก่อโรคหลายกลุ่ม ทั้งแบคทีเรีย โปรโตซัวและไวรัส ในระหว่างที่เห็บดูดกินเลือดสัตว์ชนิดต่างๆ จุลชีพจะสามารถถ่ายทอดไปสู่สัตว์ตัวอื่นๆ ได้ ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อโรคและมีโอกาสถ่ายทอดมาสู่คนได้เช่นกัน

สำหรับโรคที่มีเห็บเป็นพาหะในประเทศไทยมีหลายชนิด บางชนิดเกิดการแพร่กระจายอยู่ในป่าเนื่องจากอาศัยสัตว์ป่าเป็นรังโรค และมีบางชนิดพบว่าแพร่ระบาดในสัตว์เลี้ยงที่อยู่ใกล้ตัวเรา สำหรับโรคที่มีเห็บเป็นพาหะ ที่พบได้ในป่า ตามพื้นที่อุทยานแห่งชาติหรือเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า ได้แก่โรคไทฟัส (thyphus) ซึ่งมีเชื้อแบคทีเรียกลุ่มริกเกตเซีย (*Rickettsiae*) เป็นสาเหตุ จากการศึกษาด้าน seroepidemiology ในประเทศไทย พบว่า ประมาณ 3-30% ของผู้ป่วยที่เป็นไข้ไม่ทราบสาเหตุ เกิดจากการติดเชื้อริกเกตเซีย และจากรายงานของสุภาณี และคณะเมื่อปี 2548 พบว่ามีเห็บแข็งชนิด *Haemaphysalis ornithophila* ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่และเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาอ่างฤาไน และเห็บแข็งชนิด *Amblyomma testudidinarium* ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่มีเชื้อกลุ่มริกเกตเซียนี้ด้วยด้วยเช่นกัน นอกจากจุลชีพก่อโรคที่มีอยู่ในพื้นที่แล้ว โอกาสที่จะแพร่มาสู่คนนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอีกหลายประการ หนึ่งในนั้นก็คือ ชนิดของเห็บที่มีอยู่ในพื้นที่ การที่มีเห็บหลากหลายชนิดและชุกชุมย่อมเพิ่มโอกาสในการแพร่กระจายของโรคได้มากขึ้น จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความชุกชุมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมกับความหลากชนิดและการกระจายตัวของเห็บแข็งในอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ โดยภาวินี อริยะกุลวงศ์ และคณะ (2549) พบว่ามีเห็บแข็งจำนวน 8 ชนิด จาก 3 สกุล และชนิดที่พบมากที่สุดคือ *Haemaphysalis lagrangei* สำหรับโรคติดต่อที่มีเห็บเป็นพาหะ ที่พบในสัตว์เลี้ยงไม่ว่าจะเป็น สุนัขหรือแมวนั้นมีรายงานในอัตราไม่สูงมากนัก ยกตัวอย่างเช่น จากผลงานการวิจัยของอนุชัย นิเวศน์ ปฐมวัฒน์ และคณะเมื่อปี 2549 ได้รายงานว่าพบโรค ehrlichiosis และ babesiosis ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่มีเห็บเป็นพาหะในตัวอย่างเลือดสุนัขจากพื้นที่กรุงเทพมหานคร ในอัตราร้อยละ 4.8 และ 0.8 ตามลำดับ นอกจากนี้แล้วยังมีรายงานการพบ จุลชีพในกลุ่มบาบีเซีย (*Babesiae*) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค babesiosis ในแมวเขตพื้นที่

กรุงเทพมหานคร และในโคนมเขตจังหวัดราชบุรี รายงานโดยสถาพร จิตตปาลพงศ์และคณะ สำหรับเชื้อในกลุ่มบาบีเซียมีรายงานพบบ่อยในเห็บวัว (*Rhipicephalus microplus*)

โรคที่มีเห็บเป็นพาหะในประเทศไทยนั้น ถือว่ายังมีการศึกษาวิจัยไม่แพร่หลายนัก แต่นับว่ามีความสำคัญต่อสุขภาพ การแพทย์ ไปจนถึงการปศุสัตว์และอุตสาหกรรมซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เห็บจึงถือเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศของเราและมีความเกี่ยวข้องในด้านระบาดวิทยาเป็นอย่างยิ่ง

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างเห็บ

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างเห็บโดยการสุ่มจากทั่วพื้นที่ชุมชนต่างๆในจังหวัดสงขลา และสตูล ของประเทศไทย ตัวอย่างเห็บจะถูกเก็บแบบสุ่มทั่วทั้งพื้นที่และบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น พิกัดของสถานที่ ระบบนิเวศ และสภาพอากาศ แล้วจึงเก็บตัวอย่างในหลอดพลาสติกที่มีช่องเปิดให้อากาศผ่านได้ จากนั้นนำเห็บมาแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิ -80°C เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพของสารพันธุกรรม (ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ)

การจำแนกชนิดของเห็บ

ตัวอย่างเห็บทั้งหมดจะถูกจำแนกและแบ่งกลุ่มเบื้องต้นในภาคสนาม โดยขณะเก็บตัวอย่างเห็บจะถูกแยกเป็นระยะต่างๆ โดยระยะตัวอ่อนเห็บจะมีขาเพียงสามคู่ ซึ่งแตกต่างจากตัวกลางวัยและตัวเต็มวัยมีขาสี่คู่ เห็บในระยะตัวกลางวัย ไม่มีช่องเปิดอวัยวะสืบพันธุ์ (genital opening) ทางด้านท้องของลำตัว ซึ่งช่องเปิดนี้จะปรากฏในตัวเต็มวัยเท่านั้น จากนั้นระบุเพศของเห็บแต่ละตัวโดยพิจารณาจากลักษณะของ scutum ซึ่งเป็นโครงสร้างแข็งที่ปกคลุมร่างกายด้านหลังของเห็บ ในเห็บเพศเมีย scutum จะปกคลุมเฉพาะด้านบนของลำตัวทางด้านหน้าในขณะเห็บเพศผู้ scutum จะปกคลุมด้านบนของลำตัวทั้งหมด

การจำแนกชนิดของเห็บแต่ละตัวจะทำในห้องปฏิบัติการตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยอ้างอิงตามเอกสารทางวิชาการดังนี้

1. Tanskul, P and Inlao, I (1989). Key to The Haemaphysalis Koch,1844, in Thailand with Note on Changes in Taxonomy (Acari: Ixodoidea: Ixodidae). J. Med. Entomol. 26(6): 573-601

2. Cornet, JP (2002). Laboratory and Field Documents Volume 1 Ticks of Thailand: A Field Key.

การจำแนกชนิดของเห็บในระดับโมเลกุลจะถูกเลือกใช้ตามความเหมาะสม เช่น ในกลุ่มเห็บชนิดที่มีความซับซ้อนและยากแก่การจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการใช้เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลต่าง ๆ เช่น PCR, DNA extraction, Gel electrophoresis, DNA sequencing

การศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บ

การศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ในร่างกายเห็บทำได้โดยการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR) ของจุลชีพที่สนใจ ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ คณะผู้วิจัยจะศึกษาจุลชีพในกลุ่มที่เป็นจุลชีพก่อโรคที่เคยมีรายงานว่าอาศัยอยู่กับเห็บ ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มริกเกตเซีย *Rickettsia* spp. ที่ก่อให้เกิดโรค rickettsial diseases มีความสำคัญต่อสุขภาพและการแพทย์เป็นอย่างมาก มีรายงานว่าพบการกระจายตัวของเชื้อริกเกตเซียในหลายพื้นที่ทั่วโลก (Tsui et al., 2007) ทำให้มีความน่าสนใจที่จะศึกษาเชื้อชนิดนี้ในประเทศไทย จุลชีพกลุ่มต่อมาที่มีความน่าสนใจ ได้แก่ *Wolbachia* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์ขาปล้องและแมลงหลายชนิด (Kittayapong et al., 2008) ทำให้มีความน่าสนใจที่จะศึกษาจุลชีพกลุ่มนี้ในเห็บ ซึ่งจะเป็นข้อมูลใหม่ที่มีประโยชน์และเป็นความรู้ในทางวิวัฒนาการร่วมของจุลชีพกับสัตว์ขาปล้องและแมลงต่าง ๆ การศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บนั้น นอกเหนือจากนี้ จะมีการตรวจเพิ่มแบคทีเรียและโปรโทซัวชนิดอื่นๆเพิ่มด้วย ประกอบด้วยขั้นตอนย่อย ๆ ดังนี้

1. สกัดดีเอ็นเอเห็บ เนื่องจากงานวิจัยนี้มีความสนใจศึกษาจุลชีพที่อยู่ภายในเห็บจึงต้องกำจัดสิ่งปนเปื้อนภายนอกตัวเห็บ โดยล้างด้วย 70% เอทานอล 3 ครั้ง แล้วล้างในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 3 ครั้ง แล้วล้างผ่านน้ำกลั่นอีก 3 ครั้ง จากนั้น ผ่าเห็บออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วบดในสารละลาย STE (Sodium Chloride-Tris-EDTA) ปริมาณ 100 µl 1 นาทีแล้วต้มที่อุณหภูมิ 95°C นาน 5 นาที ปั่นเหวี่ยงที่อัตรา 12,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที แล้ววางไว้บนน้ำแข็ง นาน 2 นาที จากนั้นเก็บไว้ที่ความเย็น -20°C

2. ตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์16s+1ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้ 5'CTGCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGTGG3' และ 5'CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT3'

โดยมีส่วนประกอบต่อหนึ่งปฏิกิริยา ในปริมาตรรวม 20 µl ดังนี้

1) ddH_2O 11.2 µl
2) 10Xbuffer (Fermentas) 2 µl
3) 25 mM MgCl2 2 µl
4) 10 mM dNTP 0.5 µl

5) 10 mM forward primer 1 µl

6) 10 mM reverse primer 1 µl

7) DNA template 2 µl

8) Taq polymerase 0.3 µl

สำหรับการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมใช้อุณหภูมิ ต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

Pre-heating	94 °C เป็นเวลา 2 นาที	1 รอบ
Denaturation	94 °C เป็นเวลา 45 วินาที	34 รอบ
Annealing	55 °C เป็นเวลา 45 วินาที	
Extension	72 °C เป็นเวลา 45 วินาที	
Final extension	72 °C เป็นเวลา 7 นาที	1 รอบ (V. Roux and D. Raoult, 2000)

จากนั้นแยกขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรฟอรีซิส โดยใช้อะกาโรสเจล 1% ย้อมสีด้วยแอดทิเดียมโบรมายด์ ที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์นาน 30 นาทีโดยแบนด์ที่สนใจมีขนาด 460 bp.

3. นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตรวจสอบแล้วพบว่ามีดีเอ็นเอของเห็บมากพอ มาใช้เป็นเทมเพลตในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเช่น กลุ่ม *Rickettsia* spp. และ *Wolbachia* spp. และอาจศึกษาจุลชีพอื่นๆ เพิ่มเติมเพื่อให้ครอบคลุมกับรายงานการพบเชื้อต่างๆ ในเห็บตามการค้นคว้าเอกสารวิจัย

- กลุ่ม *Rickettsia* spp. (ทั้งกลุ่ม Spotted fever และ typhus) ใช้ ไพรเมอร์ Rr 17 ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้ 5' GCTCTTGCAACTTCTATGTT 3' และ 5' CATTGTTCAGGTTGGCG 3' โดยมีส่วนประกอบต่อหนึ่งปฏิกริยา ในปริมาตรรวม 20 µl ใช้เหมือนกับไพรเมอร์ในข้อ 3.2 แต่เปลี่ยนอุณหภูมิต่าง ๆ ดังนี้

Pre-heating	94 °C เป็นเวลา 30 วินาที	1 รอบ
Denaturation	94 °C เป็นเวลา 30 วินาที	29 รอบ
Annealing	52 °C เป็นเวลา 30 วินาที	
Extension	72 °C เป็นเวลา 2 นาที	
Final extension	72 °C เป็นเวลา 5 นาที	1 รอบ (Noda et al.,1997)

แล้วแยกขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรฟอรีซิส โดยใช้อะกาโรสเจล 1% ย้อมสีด้วยแอดทิเดียมโบรมายด์ ใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์นาน

30 นาที โดยแบนด์ที่สนใจมีขนาด 434 bp. จากนั้น นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตรวจสอบแล้วพบว่ามีดีเอ็นเอของริกเกตเซียซึ่งอาจเป็นกลุ่ม Spotted fever หรือ typhus มาใช้เป็นเทมเพลตในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอริกเกตเซียกลุ่ม Spotted fever ต่อไปโดยใช้ ไพรเมอร์ RCSF ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้ 5' TTTGTAGCTCTTCTCATCCTATGGC 3' และ 5' CCCAAGTTCCTTTAATACTTCTTTGC 3' โดยมีส่วนประกอบต่อหนึ่งปฏิกิริยาในปริมาตรรวม 20 µl ที่ใช้เหมือนกับไพรเมอร์ในข้อ 3.2 แต่ใช้อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้

Denaturation: 94°C เป็นเวลา 1 นาที 35 รอบ

Annealing: 50°C เป็นเวลา 1 นาที 1 รอบ

Extension: 72°C เป็นเวลา 1 นาที 1 รอบ (สุภาณี และคณะ, 2003)

แล้วแยกขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรฟอรีซิส โดยใช้อะกาโรสเจล 1% ย้อมสีด้วยแอดทิเดียมโบรมายด์ ใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์นาน 30 นาทีโดยแบนด์ที่สนใจมีขนาด 617 bp.

- กลุ่ม *Wolbachia* spp. ใช้ไพรเมอร์ ftsZ 5' GTATGCCGATTGGAGAGCTTG 3' และ 5' GCCATGAGTAATGACTTGGCT 3' โดยมีส่วนประกอบต่อหนึ่งปฏิกิริยา ในปริมาตรรวม 20 µl และอุณหภูมิต่าง ๆ ที่ใช้เหมือนกับไพรเมอร์ Rr17 แล้วแยกขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรฟอรีซิส โดยใช้อะกาโรสเจล 1% ย้อมสีด้วยแอดทิเดียมโบรมายด์ ใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์นาน 30 นาที โดยแบนด์ที่สนใจมีขนาด 769 bp.

3.4 หาลำดับเบสของดีเอ็นเอ ซึ่งจำเพาะกับไพรเมอร์ต่างๆ จาก PCR product ที่ purify ด้วยชุด Nucleospin Extract II จากนั้นเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้โดยใช้ Blast search เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ NCBI : http://blast.ncbi.nlm.nih.gov

การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

การสร้าง Phylogenetic tree เพื่อศึกษาวิวัฒนาการเริ่มต้นด้วยการใช้สายนิวคลีโอไทด์ของยีนเป้าหมายเพื่อสืบหาสายนิวคลีโอไทด์ที่มีความคล้ายกันของลำดับเบส ในฐานข้อมูล nr/nt ในฐานข้อมูลบ NCBI โดยนำสายนิวคลีโอไทด์ 50 ลำดับแรกที่มีความเหมือนกันมากที่สุดมาคัดกรอง เส้นที่มีค่า Percent Identity Matrix (ที่คำนวณจากโปรแกรม ClustalW) น้อยกว่า 92% ออก จากนั้นนำสายนิวคลีโอไทด์ที่เหลือ 26 เส้นและสายดีเอ็นเอของยีนเป้าหมายไปทำ multiple sequence alignment โดยใช้โปรแกรม ClustalW

ผ่านโปรแกรม MEGA 7 แล้วจึงนำผลการทำ alignment ไปสร้าง Phylogenetic tree โดยวิธีการ Neighbor-joining และวิเคราะห์ความน่าเชื่อถือของกิ่งต่างๆใน Tree โดยวิธีการ Bootstrap ผ่านการทำซ้ำ 1000 รอบ โดยใช้ MEGA 7

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

นิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูล

1. ชนิดของเห็บ

จากการสำรวจในพื้นที่ชุมชนต่างๆ ของจังหวัดสงขลาและสตูลพบเห็บที่รวบรวมจากโฮสต์ได้จำนวน 594 ตัว จำแนกได้ 3 สกุล จำนวน 5 ชนิด ดังนี้ *Hemahysalis wellingtoni* พบบนลำตัวไก่, *H. lagrangei* พบบนลำตัวสุนัข แพะ กวาง และสมเสร็จ, *Rhipicepharus sanguineus* พบบนลำตัวสุนัข, *R. microplus* พบบนลำตัววัวและสุนัข และ *Amblyomma varanense* พบบนลำตัวตะกวด มีรายละเอียดของรูปร่างลักษณะภายนอกของเห็บแต่ละชนิด ดังนี้

1) *Hemahysalis wellingtoni* พบในไก่ พัลพ์สั้นและกว้าง ตรงฐานของปล้องที่ 2 มีสันยื่นออกมา มี basis capitulum รูปสี่เหลี่ยมหนามของ palpi ปล้องที่ 3 ส่วนล่างของลำตัว (Posteroventral spur) มีลักษณะปลายแหลมชิดแนบชิดเข้าด้านในติดกับส่วนของ Hypostome (ภาพที่ 1)

2) *H. lagrangei* พบในสุนัข แพะ กวาง และสมเสร็จ เพศเมียจะมีแผ่น scutum ปกคลุมส่วนหน้า มีรูปร่างกลมๆ คล้ายรูปไข่ ลำตัวมีสีน้ำตาลแดง จะมี basis capitulum เป็นรูปสี่เหลี่ยม เป็นเห็บปากสั้น เห็บในสกุลนี้จะเป็นเห็บที่ไม่มีตาทั้งเพศผู้ และเพศเมีย และมี anal groove หนามของ palpi ปล้องที่ 3 ส่วนล่างของลำตัว (Posteroventral spur) มีลักษณะยาวปลายแหลมยื่นออกมาทับกับ palpi ปล้องที่สอง (ภาพที่ 2)

3) *R. sanguineus* พบในสุนัขเห็บสกุลนี้มีลักษณะคล้ายเห็บในสกุล *Boophilus* แต่มี festoons ลำตัวจะมีสีน้ำตาลแดงเป็นเห็บปากสั้นมี basis capitulum รูปร่างเป็นรูปหกเหลี่ยมเพศเมียจะมีแผ่น scutum ปกคลุมส่วนหน้า มีลักษณะเป็นรูปกลมรี มีเส้นขนรอบตัว มี genital groove ส่วน adanal plate มีลักษณะคล้ายสามเหลี่ยม หรือคล้ายเมล็ดถั่วเขียว (ภาพที่ 3)

4) *R. microplus* พบในวัวและสุนัข มีสีน้ำตาลแดง รูปร่างคล้ายถั่วแดง เป็นเห็บปากสั้น basis capitulum รูปหกเหลี่ยม pedipalp จะอัดแน่นซ้อนกัน ส่วนของ cheliserae จะยาวกว่า pedipalp และมีเส้นขนอยู่ส่วนปลาย มีแผ่น scutum ปกคลุมทั้งลำตัวส่วนเห็บตัวเมียจะปกคลุมเฉพาะส่วนหน้าระยะตัวกลางวัยมี genital groove เจริญไม่เต็มที่ ส่วนระยะตัวเต็มวัย genital groove เจริญเต็มที่ไม่มี festoons ด้านหลังมี median goove อยู่ตรงกลางคั่นระหว่าง marginal groove ทั้ง 2 ข้างพบ anal groove ล้อมรอบทวารหนัก มี adanal

plate 1 คู่ อยู่บริเวณทวารหนักทางตอนท้ายด้านหลัง และด้านท้องมีขนเล็กๆ ตามลำตัว เพศผู้มีหางเล็กๆ (caudal process) 1 หาง อยู่ท้ายลำตัว (ภาพที่ 4)

5) *Amblyomma varanense* พบในตะกวด มีขนาดใหญ่ที่สุด มีสีสันลวดลายบนลำตัว ขายาวมีแถบพาด ตัวผู้ไม่มี ventral plate ปากจะยาว พัลพ์ปล้องที่ 2 ยาวกว่าปล้องที่ 3 มีตาบนขอบ scutum (ภาพที่ 5)

ภาพที่ 1 *Hemahysalis wellingtoni* (A, female B, male)

ภาพที่ 2 *Hemahysalis lagrangei* (A, female B, male)

ภาพที่ 3 *Rhipicepharus sanguineus* (A, female B, male)

ภาพที่ 4 *Rhipicepharus microplus* (A, female B, male)

ภาพที่ 5 *Amblyomma varanense* (A, female B, male)

2. นิเวศวิทยา ระยะและจำนวนของเห็บที่ศึกษาในพื้นที่จังหวัดสงขลาและสตูล

ตัวอย่างเห็บที่ศึกษาจากจังหวัดสงขลาและสตูลมีจำนวนทั้งหมด 594 ตัว โดยพบ 3 ระยะ ได้แก่ ระยะตัวอ่อน ตัวกลางวัย และตัวเต็มวัย ซึ่งเก็บได้จากโฮสต์ 7 ชนิด คือ ไก่ วัว สุนัข แพะ กวาง ตะกวด และสมเสร็จ และจากสิ่งแวดล้อมที่ไม่ใช่สัตว์โดยการเดินป่า แบ่งเป็น ตัวเต็มวัย 520 ตัว (ร้อยละ 87.54) ระยะตัวกลางวัย 64 ตัว (ร้อยละ 10.78) และ ระยะตัวอ่อน 10 ตัว (ร้อยละ 1.68) (ตารางที่ 1) เห็บ 5 ชนิด สามารถเจริญเติบโตและดำรงชีวิตจังหวัดสงขลาและสตูลได้ จากการสังเกตขณะสำรวจพบคนในชุมชนที่สำรวจประกอบอาชีพ เลี้ยงวัว เลี้ยงไก่ รวมทั้งเลี้ยงสุนัขเป็นสัตว์เลี้ยง ทั้งแบบกักขังสัตว์ภายในคอก และปล่อยอิสระ และมีทุ่งหญ้าสำหรับที่หากินของสัตว์เลี้ยง โดยการพบเห็บในโฮสต์แต่ละชนิดมีความจำเพาะ โดยจากการศึกษาพบ *Hemahysalis wellingtoni* ได้ในกลุ่มสัตว์ปีก คือไก่ ส่วน *R. microplus* เป็นเห็บที่มีความจำเพาะต่อวัว ควาย พื้นที่ที่สำรวจมีการเลี้ยงวัวเป็นส่วนใหญ่ แต่จากการศึกษานี้พบในสุนัขด้วยซึ่งเคยมีรายงานพบเห็บชนิดนี้ในสุนัข (Nithikathkul et al., 2002) อาจเนื่องจากเห็บชนิดนี้แพร่กระจายจากวัวสู่สุนัขเนื่องจากโฮสต์ทั้ง 2 ชนิดมีความใกล้ชิดในบริเวณพื้นที่เดียวกัน ส่วน *R. sanguineus* มีสุนัขเป็นโฮสต์หลัก ไข่และตัวอ่อนสามารถทนอุณหภูมิต่ำที่ 8 องศาเซลเซียสได้ถึง 60 วัน (Dantas-Torres et al., 2010) และสามารถมีชีวิตที่อุณหภูมิสูงได้ (Adejinmi & Akinboade, 2011) จึงมีชีวิตรอดในสภาวะแวดล้อมที่หลากหลาย และกระจายอยู่ทั่วไปอีกทั้งพื้นที่ที่สำรวจมีสภาพพื้นที่เป็นเมืองมีที่อยู่อาศัยของประชาชนค่อนข้างมากสุนัขที่เลี้ยงส่วนใหญ่เป็นแบบกักขังภายในเขตรั้วบ้านเห็บก็จะวางไข่ภายในบริเวณบ้าน ดังนั้นการติดเห็บของสุนัขจึงมีโอกาสถูกเห็บที่ฟักออกมาจากไข่ที่อยู่ในบริเวณบ้านเกาะดูดเลือด นอกจากนี้เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จะสามารถเกาะกับผิวหนังของคนได้ดียิ่งขึ้น (Parola et al., 2008) จากความสามารถในการเป็นพาหะที่สำคัญของเชื้อโรคต่างๆ และสามารถเกาะผิวของคนได้ดี ประกอบกับจังหวัดสงขลาและสตูลเป็นพื้นที่ที่มีอุณหภูมิสูงตลอดทั้งปีจึงมีโอกาศเสี่ยงต่อการติดเชื้อต่างๆ เช่น *A.marginale*, *B. canis* และ *Coxiella burnetii* ซึ่งมี *R. sanguineus* เป็นพาหะ (Dantas-Torres et al., 2010) มากขึ้น สำหรับ *H. lagrangei* เป็นเห็บแข็งที่มีถิ่นอยู่อาศัยในป่าสามารถเปลี่ยนโฮสต์อาศัยได้หลายชนิดประกอบกับสภาพพื้นที่

ที่เป็นทุ่งหญ้าและป่าจึงเหมาะกับการเจริญของเห็บ (ภาวินี อริยะกุลวงศ์, 2549; Hoogstraal et al., 1973) ซึ่งจากการสำรวจพบ *H. lagrangei* บนลำตัว แพะ กวาง และสมเสร็จ โดยสภาพพื้นที่ที่ออกสำรวจเป็นทุ่งหญ้าซึ่งติดกับพื้นที่ป่า ส่วนที่พบในสุนัขเนื่องจากสุนัขอาจเป็นโฮสต์ที่ถูกเห็บชนิดนี้อาศัยโดยบังเอิญ เพราะในชุมชนมีทั้งที่เลี้ยงสุนัขภายในบ้านและปล่อยอิสระ และ *A. varanense* พบบนลำตัวตะกวด ซึ่งเห็บสกุล *Amblyomma* มีรายงานพบในกลุ่มสัตว์เลื้อยคลานบางชนิด และพบว่ามีเชื้อก่อโรคในกลุ่ม spotted fever rickettsiae (Sumrandee et al., 2014)

ตารางที่ 1 ระยะของเห็บและชนิดเห็บตามสัณฐานวิทยา จำแนกตามเขตจังหวัด อำเภอ และ host

Location		Host	Stage				Species
			Larva	Nymph	Adult		
					Male	Female	
จ.สตูล	อ.ละงู	ไก่ 3 ตัว	-	-	37	8	*H. wellingtoni*
		สุนัข 7 ตัว	-	14	49	37	*Haemaphysalis* sp. *R. sanguineus* *Rhipicephalus* sp.
		แมว 2 ตัว	-	8	-	-	*Haemaphysalis* sp.
		แพะ 1 ตัว	-	1	-	1	*H. lagrangei* *Haemaphysalis* sp.
		วัว 1 ตัว	-	-	-	1	*R. microplus*
		ตะกวด 2 ตัว	-	1	11	8	*A. varanense* *Amblyomma* sp.
	อ.ทุ่งหว้า	สุนัข 5 ตัว	-	19	36	25	*R. sanguineus* *Rhipicephalus* sp.
		วัว 2 ตัว	-	-	-	6	*R. microplus*
	อ.ควนกาหลง	สุนัข 1 ตัว	-	-	-	1	*R. sanguineus*
รวม			**-**	**43**	**133**	**87**	**263**

ตารางที่ 1 ระยะของเห็บและชนิดเห็บตามสัณฐานวิทยา จำแนกตามเขตจังหวัด อำเภอ และ host (ต่อ)

Location		Host	Stage				Species
			Larva	Nymph	Adult		
					Male	Female	
จ.สงขลา	อ.ระโนด	สุนัข 4 ตัว	-	6	12	14	*R. sanguineus* *Rhipicephalus* sp.
		วัว 3 ตัว	-	-	2	9	*R. microplus*
	อ.จะนะ	แมว 1 ตัว	-	2	-	-	*Haemaphysalis* sp.
	อ.สิงหนคร	สุนัข 4 ตัว	-	-	4	5	*R. sanguineus*
		แมว 1 ตัว	-	3	-	-	*Haemaphysalis* sp.
	อ.หาดใหญ่	กวาง 1 ตัว	-	-	2	10	*H. lagrangei*
		สุนัข 1 ตัว	-	-	8	4	*R. sanguineus*
		เดินป่า	10	-	-	-	*Haemaphysalis* sp.
	อ.เมือง	สุนัข 30 ตัว	-	10	54	58	*R. sanguineus* *Rhipicephalus* sp. *R. microplus*
		สมเสร็จ 1 ตัว	-	-	10	6	*H. lagrangei*
		วัว 21 ตัว	-	-	12	73	*R. microplus*
		ไก่ 9 ตัว	-	-	11	6	*H. wellingtoni*
รวม			**10**	**21**	**115**	**185**	**331**

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

เห็บและจุลินทรีย์ในเห็บ

1. ความสัมพันธ์ระหว่างเห็บและจุลินทรีย์ในเห็บ

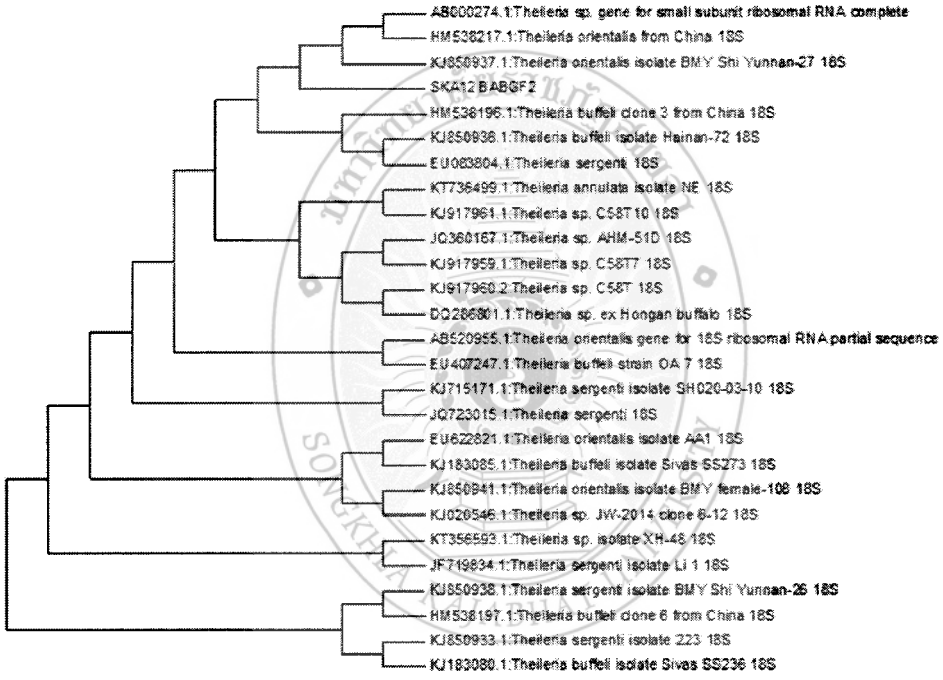
เมื่อศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บใน จังหวัดสงขลา อำเภอเมือง โดย *R. sanguineus* เป็นเห็บที่พบจากสุนัข 3 ตัว ซึ่งเมื่อทดสอบจุลินทรีย์ไม่พบ *Rickettsia* spp. และ *Babesia canis* ในเห็บ ส่วน *H. lagrangei* เป็นเห็บที่พบจากสมเสร็จ 1 ตัว ไม่พบเชื้อ *Rickettsia* spp. แต่มีเชื้อ *Babesia canis* ร้อยละ 8.33 ซึ่งเป็นเชื้อนำโรค babesiosis จะส่งผลต่อสุขภาพโดยตรง โดยทำให้เกิดสภาพโลหิตจาง สัตว์อายุน้อยจะทำให้เจริญเติบโตช้า แคระแกร็น รวมทั้งติดต่อสู่คนได้ สำหรับ *H. lagrangei* เป็นเห็บแข็งมีถิ่นอาศัยในป่าสามารถเปลี่ยนโฮสต์อาศัยได้หลายชนิดประกอบกับสภาพพื้นที่ที่เป็นทุ่งหญ้าและป่าจึงเหมาะกับการเจริญของเห็บ (ภาวินี อริยะกุลวงศ์, 2549; Hoogstraal et al., 1973) ซึ่งจากการสำรวจพบ *H. lagrangei* บนลำตัว แพะ กวาง และสมเสร็จ ความจำเพาะของเห็บกับโฮสต์เกิดจากการวิวัฒนาการร่วมกัน ในระหว่างดูดเลือดโฮสต์เห็บจะปล่อยน้ำลายออกมา ในน้ำลายของเห็บมีสารบางชนิดที่มีคุณสมบัติลดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในบริเวณที่ดูดเลือดและมีสารขยายหลอดเลือดทำให้เห็บสามารถดูดเลือดโดยไม่ทำให้โฮสต์มีอาการเจ็บปวดหรือการตอบสนองที่รุนแรง (Mans & Neitz, 2004) จากการตรวจเชื้อเบื้องต้นพบ *Babesia canis* อาศัยร่วมกับเห็บอาจส่งผลต่อสุขภาพสัตว์ ซึ่งจะต้องตรวจสอบเชื้อชนิดอื่นๆต่อไป เนื่องจากยังไม่มีรายงานการสำรวจเห็บจากสมเสร็จมาก่อน

ตารางที่ 2 การตรวจเชื้อในเห็บ *R. sanguineus* จากสุนัข และ *H. lagrangei* จากสมเสร็จ

Location	Host	Ticks Species	Sex of ticks		Total	Pathogens			
			Male	Female		*Rickettsia* spp.		*Babesia canis*	
						Negative	Positive	Negative	Positive
จังหวัดสงขลา อำเภอเมือง	สุนัข 3 ตัว	*R. sanguineus*	3	8	11	100	0	100	0
	สมเสร็จ 1 ตัว	*H. lagrangei*	6	6	12	100	0	91.67	8.33

2. การศึกษาวิวัฒนาการของเชื้อในเห็บสมเสร็จ

การวิเคราะห์ Phylogenetic tree ของเชื้อที่พบในเห็บจากสมเสร็จแสดงดังภาพที่ 6 ผลการวิเคราะห์บ่งชี้ว่าเชื้อจุลชีพหนึ่งที่ตรวจพบในเห็บชนิด *H.lagrangei* จากโฮสต์สมเสร็จ (SKA12BABGF2) มีวิวัฒนาการใกล้เคียงที่สุดกับ *Theileria orientalis* (KJ850937.1: isolate BMY Shi Yunnan-27 18S), *Theileria orientalis* (HM538217.1: from China 18S), และ*Theileria sp.* (AB000274.1: gene for small subunit ribosomal RNA complete) ตามลำดับ



ภาพที่ 6 Phylogenetic tree ของ Theileria spp. 16 S rRNA gene

บทที่ 5

สรุปผล

สรุปผล

การเก็บตัวอย่างเห็บจากโฮสต์ในพื้นที่ชุมชนต่างๆ จังหวัดสงขลา และสตูล ของประเทศไทยพบเห็บ 3 สกุล จำนวน 5 ชนิด ดังนี้ *H. wellingtoni* พบบนลำตัวไก่, *H. lagrangei* พบบนลำตัวสุนัข แพะ กวาง และสมเสร็จ, *R. sanguineus* พบบนลำตัวสุนัข, *R. microplus* พบบนลำตัววัวและสุนัข และ *A. varanense* พบบนลำตัวตะกวด ชนิดของเห็บที่พบแตกต่างกันในแต่ละโฮสต์ ขึ้นอยู่กับความสามารถในการยึดเกาะกับโฮสต์และวงจรชีวิตของเห็บ ซึ่งจากการสำรวจพบว่าทั้ง 2 จังหวัดนี้มีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิต และการเจริญเติบโตของเห็บ 5 ชนิดเป็นอย่างดี เนื่องจาก มีสัตว์ที่หลากหลายทั้งที่เลี้ยงเพื่อประกอบอาชีพทั้งแบบกักขังภายในคอกและปล่อยอิสระ เลี้ยงเพื่อเป็นสัตว์เลี้ยง และสัตว์ป่า รวมทั้งมีทุ่งหญ้าที่เหมาะกับการดำรงชีวิตของสัตว์

เมื่อศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บ พบจุลชีพต่างๆทั้งที่เป็นผู้ร่วมอาศัยและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่น่าสนใจอย่างยิ่งที่สรุปได้ในที่นี้คือพบเชื้อก่อโรค *B. canis* จากเห็บสปีชีส์ *H. lagrangei* ที่เก็บได้จากโฮสต์คือสมเสร็จซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาและค้นพบเชื้อในเห็บจากสมเสร็จ โดยจุลชีพในกลุ่ม Babesia เป็นเชื้อนำโรค babesiosis ซึ่งสามารถติดต่อถ่ายทอดสู่คนได้จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษานิเวศวิทยา และความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลชีพของเห็บในท้องที่นี้เพิ่มเติม อีกทั้งเป็นงานวิจัยต่อเนื่องที่ต้องทำเพิ่มเติมในปีที่ 2 จากงบประมาณสนับสนุนการวิจัยจาก สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปี 2558 งานวิจัยจึงจะมีความสมบูรณ์มากขึ้น

ผลผลิต

ด้านวิชาการ: นำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ

นูรอารานี สาแม, นูรียะห์ สามะ, มิติ เจียรพันธุ์ และวันวิภา หนูมา. 2558. ความหลากหลายของเห็บในตำบลเขารูปช้าง ตำบลเกาะแต้ว และตำบลทุ่งหวัง จังหวัดสงขลา. การประชุมวิชาการระดับชาติ "ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา ครั้งที่ 3" 28-29 พฤษภาคม 2558 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

วันวิภา หนูมา. 2558. การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย. การประชุมใหญ่โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 3 (HERP congress III) 9-11 มีนาคม 2558 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

ด้านสังคมและชุมชน: รู้จักเห็บชนิดต่าง ๆ และเชื้อที่มีเห็บเป็นพาหะเพื่อความเข้าใจที่ถูกต้อง การตระหนักรู้ถึงปัญหาที่อาจเกิดขึ้น การป้องกัน และแก้ไขปัญหาในท้องถิ่น

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

รายงานสรุปการเงิน ประจำปีงบประมาณ 2557

รหัสโครงการ 2557A15661001

โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

ชื่อมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ชื่อโครงการ การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์ ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย อ.วันวิภา หนูมา

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 9 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2558 **ถึงวันที่** 9 กรกฎาคม 2559

ระยะเวลาดำเนินการ จำนวน 2 ปี

รายจ่าย

หมวด	งบประมาณรวมทั้งโครงการ (บาท)	ค่าใช้จ่ายงวดปัจจุบัน (บาท)	คงเหลือ (หรือเกิน) (บาท)
1.ค่าตอบแทน	50,000	31,140	18,860
2.ค่าวัสดุ	149,200	236,951.50	-87,751.50
3.ค่าใช้สอย	293,800	231,048	80,752
4.ค่าใช้จ่ายอื่นๆ -ค่าสาธารณูปโภค	7,000	-	-
รวม	500,000	481,139.50	18,860.50

จำนวนงบประมาณที่ได้รับ

- งวดที่ 1 จำนวน 300,000 บาท เมื่อ .....

- งวดที่ 2 จำนวน 100,000 บาท เมื่อ .....

รวม 400,000 บาท

วันวิภา

.....

ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

วันที่ ๙ ธันวาคม ๒๕๕๙

วันวิภา

.....

ลงนามเจ้าหน้าที่การเงินโครงการ

วันที่ ๙ ธันวาคม ๒๕๕๙

บรรณานุกรม

Ahantarig, A., Malaisri, P., Hirunkanokpun, S., Sumrandee, C., Trinachartvanit, W. and Baimai V. 2011. Detection of *Rickettsia* and a novel *Haemaphysalis shimoga* symbiont bacterium in ticks in Thailand. Curr Microbiol. 62:1496-1502.

Ahantarig, A., Trinachartvanit, W. and Milne, J.R. 2008. Tick-borne pathogens and diseases of animals and humans in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 39:1015-32. (Review)

Anderson, B.E., Dawson, J.E., Jones, D.C. and Wilson KH. 1991. *Ehrlichia chaffeensis*, a new species associated with human ehrlichiosis. J Clin Microbiol 29: 2838–2842.

Chen, SM., Dumler, J.S., Bakken, J.S and Walker, D.H. 1994. Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. J Clin Microbiol 32: 589–595.

Cleaveland, S., Laurenson, M.K. and Taylor, L.H. 2001. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 356:991-999.

Dantrakool, A., Somboon, P., Hashimoto, T. and Saito-Ito1A. 2004. Identification of a New Type of *Babesia* Species in Wild Rats (*Bandicota indica*) in Chiang Mai Province, Thailand. J of Clin Micro. 42: 850-854.

Dawson, J. E., K. L. Biggie, C. K. Warner, K. Cookson, S. Jenkins, J. F. Levine, and J. G. Olson. 1996. Polymerase chain reaction evidence of *Ehrlichia chaffeensis*, an etiologic agent of human ehrlichiosis, in dogs from southeast Virginia. Am. J. Vet. Res. 57:1175–1179.

Dawson, J.E., Anderson, B.E., Fishbein, D.B., Sanchez, J.L., Goldsmith, C.S., Wilson, K.H. and Duntley, C.W. 1991. Isolation and characterization of an *Ehrlichia* sp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis. J Clin Microbiol. 29: 2741–2745.

Dennis, D.T. and Piesman, J.F. 2005. Overview of tick-borne infections of humans. In: Goodman, J.L, Dennis, D.T., Sonenshine, D.E, eds. Tick-borne diseases of Humans. Washington, DC: American Society for Microbiology Press 3-11.

Donatein, A., and F. Lestoguard. 1935. Existance in Algerie dune *Rickettsia* du chein. Bull. Soc. Pathol. Exot. 28:418–419.

Doornbos, K., Sumrandee, C., Ruang-Areerate, T., Baimai, V., Trinachartvanit, W. and Ahantarig A. *Rickettsia* sp. closely related to *Rickettsia raoultii* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in an *Amblyomma helvolum* (Acarina: Ixodidae) tick from a *Varanus salvator* (Squamata: Varanidae) in thailand. J Med Entomol 2013. 50(1):217-220.

Ewing, S. A., W. R. Robertson, R. G. Buckner, and C. S. Hayat. 1971. A new strain of *Ehrlichia canis*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 159:1771–1774.

Fujita, O., Tatsumi, M., Tanabayashi, K. and Yamada, A. 2006. Development of A Real-time PCR Assay for Detection and Quantitation of *Francisella tularensis*. Jpn. J. Infect. Dis. 59: 46-51.

Gorenflot, A., K. Moubri, E. Precigout, B. Carcy, and T. P. Schetters. 1998. Human babesiosis. Ann. Trop. Med. Parasitol. 92:489–501.

Harvey, J. W., C. F. Simpson, and J. M. Gaskin. 1978. Cyclic thrombocytopenia induced by a rickettsia-like agent in dogs. J. Infect. Dis. 137:182–188.

Hirunkanokpun, S., Kittayapong, P., Cornet, JP. and Gonzalez, JP. Molecular evidence for novel tick-associated spotted fever group *Rickettsiae* from Thailand. J Med Entomol 2003; 40: 230-237.

Homer, M. J., D. I. Aguilar, S. R. I. Telford, P. J. Krause, and D. H. Persing. 2000. Babesiosis. Clin. Microbiol. Rev. 13:451–469. Hoogstraal, H. 1985. Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. Adv. Parasitol. 24: 135-238.

Hoogstraal, H. 1985. Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. Adv. Parasitol 24: 135-238.

Jones-Engel, L., Engel, G., Heidrich, J., Chalise, M., Poudel, N., Viscidi, R., Barry, PA., Allan, JS., Grant, R. and Kyes R. 2006. Temple monkeys and health implications of commensalisms, Kathmandu, Nepal. Emerg Infect Dis 12:900-906.

Kakoma, I., R. D. Hansen, B. E. Anderson, T. A. Hanley, K. G. Sims, L. Liu, C. Bellamy, M. T. Long, and B. Baek. 1994. Cultural, molecular, and immunological characterization of the etiologic agent for atypical canine *ehrlichiosis*. J. Clin. Microbiol. 32:170–175.

Kollar, T.M., Tippayachai, B., and Bodhdatta, D. 2001. Shart report: Thai tick typhus, *Rickettsia honei* and a unique *Rickettsia* detected in *Ixodes granulatus* (*Ixodidae: Acari*) from Thailand. Am J of Trop Med and Hyg. 65: 535-537.

Kularatne, S.A.M., Edirisingha, J.S., Gawarammana, I.B., Urakami, H., Chenchittikul, M. and Kaiho, I.. 2003. Emerging rickettsial infections in Sri Lanka: the pattern in the hilly Central Province. Trop Med and Inter Health. 8: 803-811.

Maeda K, Markowitz N, Hawley RC, Ristic M, Cox D. 1987. Human infection with *Ehrlichia canis*, a leukocytic rickettsia. N Engl J Med 316: 853– 856.

Mans, B.J. and Neitz, A.W.H. 2004. Adaptation of ticks to a blood-feeding environment evolution from a functional perspective. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 34, 1-17.

Pichon B, Egan D, Rogers M, Gray J. 2003. Detection and identification of pathogens and host DNA in unfed host-seeking *Ixodes ricinus* L. (Acari: Ixodidae). J Med Entomol 40(5):723-731.

Randolph, SE. 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. Parasitology. 129: S37-S65.

Sonenshine, D.E. 1994. Biology of ticks. Vol 2. 1st ed. Oxford University Press, New York.

Sparagano, O. and Jongejan, F. 1999. Molecular characterization of ticks and tick-borne pathogens. Parassitologia. Sep;41 Suppl 1:101-5. Review.

Suksawas, J., Pitulle, C., Arraga-alvado, C. 2001. Coinfection with Three *Ehrlichia* Species in Dogs from Thailand and Venezuela with Emphasis on consideration of 16S Ribosomal DNA Secondary Structure. J of Clin Micro. 39: 90-93.

Sumrandee, C., Hirunkanokpun, S., Doornbos, K., Kitthawee, S., Baimai, V., Grubhoffer, L., Trinachartvanit, W. and Ahantarig, A. (2014). Molecular detection of Rickettsia species in Amblyomma ticks collected from snakes in Thailand. Ticks and Tick-borne Diseases. 5(6): 632–640.

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาคผนวก

ภาพแสดงการออกพื้นที่เก็บตัวอย่างเห็บจากโฮสต์ชนิดต่างๆ

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ว
595.4
ก116ก

27 มิ.ย. 2560

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาววันวิภา หนูมา

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Wanwipa Nooma

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ถ.กาญจนวนิช ต.เขารูปช้าง อ.เมือง จ.สงขลา โทรศัพท์ 080-0376704 โทรสาร 074-336950

E-mail wanwipa.no@gmail.com

ประวัติการศึกษา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยทักษิณ จังหวัดสงขลา (พ.ศ. 2551-2554)

วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยทักษิณ จังหวัดสงขลา (พ.ศ. 2547-2551)

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ ชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์, เนื้อเยื่อวิทยา

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

งานวิจัยที่สำเร็จแล้ว

ชื่อโครงการวิจัย : ผลของวิตามินซีและอีต่อการเจริญเติบโต, อัตราแลกเนื้อ, ประสิทธิภาพอาหาร, การรอดตาย, องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา, องค์ประกอบเลือดและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)

แหล่งทุน : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

สถานภาพ : หัวหน้าโครงการวิจัย/โครงการสำเร็จแล้ว (28 ตุลาคม 2553 – 28 เมษายน 2554)

ผลงานวิชาการใน Conference proceedings/Abstract books/Presentation

Nooma, W., Malee, F. and Kiriratnikom, S. (2009). "Study on histology of the integument and respiratory system of Nieuhofii's catfish (*Clarias nieuhofii*)," in The 35th congress on science and technology of thailand (STT 35) "Science and technology for a better future," (pp. 240). October 15-17, 2009 The Tide Resort, Chonburi, Thailand. Chonburi : Burapha University.

วันวิภา หนูมา และสุภฎา คีรีรัฐนิคม. (2554). "ผลของวิตามินซีและอีต่อการเจริญเติบโต, อัตราแลกเนื้อ, การรอดตาย, องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และ การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาดุกลำพัน

(*Clarias nieuhofii*)," ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ "มหาวิทยาลัยบูรพา 2554". (ซีดีรอม). วันที่ 6-7 กรกฎาคม 2554 ณ อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี : มหาวิทยาลัยบูรพา.

วันวิภา หนูมา และสุภฎา คีรีรัฐนิคม. (2554). "ผลของวิตามินซีและอีต่อองค์ประกอบเลือดของปลาดุกลำพัน" ใน การประชุมวิชาการประมง ครั้งที่ 6 "เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ". (หน้า 102 - 103). วันที่ 1-3 ธันวาคม 2554 ณ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่. เชียงใหม่ : คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

สุภฎา คีรีรัฐนิคม อานุช คีรีรัฐนิคม และวันวิภา หนูมา. "ความต้องการไขมันในอาหารของปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*) ระยะปลานิ้ว". ในงานประชุม โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 1 รหัสโครงการ HERP (1)-54(1) สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาแห่งชาติ (สกอ.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554

ศิรินุช ทองขาว มุติตา หล่อศรี และวันวิภา หนูมา. ผลของสารอินทรีย์เสริม 3 ชนิดในอาหารสูตร VW และอาหารสูตร ½ MS ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มว่านหางช้างในสภาพปลอดเชื้อ งานประชุมวิชาการระดับชาติ วลัยลักษณ์วิจัย ครั้งที่ 6 วันที่ 3-4 กรกฎาคม 2557 ณ อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีและพัฒนานวัตกรรม มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์.

นูรอารานี สาแม, นูรียะห์ สามะ, มิติ เจียรพันธุ์ และวันวิภา หนูมา. 2558. ความหลากหลายของเห็บในตำบลเขารูปช้าง ตำบลเกาะแต้ว และตำบลทุ่งหวัง จังหวัดสงขลา. การประชุมวิชาการระดับชาติ "ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา ครั้งที่ 3" 28-29 พฤษภาคม 2558 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

วันวิภา หนูมา. 2558. การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย. การประชุมใหญ่โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 3 (HERP congress III) 9-11 มีนาคม 2558 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

ภควดี รักษทอง, วันวิภา หนูมา, วัชรีพร ตฤณชาติวณิชย และอรุณี อหันทริก. 2015. ความหลากหลายทางชีวภาพและการกระจายตัวของเห็บในภาคใต้ของประเทศไทย. Rajabhat J. Sci. Humanit. Soc. Sci. 16(2): 310-319.

<u>งานวิจัยที่กำลังทำ</u> : ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

1. **พัฒนาการของคัพภะปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*) โดยใช้เทคนิคเนื้อเยื่อวิทยา ทุนมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ทำไปแล้ว 50%**

ผู้ร่วมวิจัย

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว วัชรีพร ตฤณชาติวณิชย์

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Wachareeporn Trinachartvanit

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก สังกัดภาควิชา/หน่วยงานชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โทรศัพท์ 02-201-5380 โทรสาร 02-354-7161

E-mail wachareeporn.tri@mahidol.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปริญญาเอก EcologyEthologyandEvolution สถาบัน UniversityofIllinoisatUrbana-Champaign มลรัฐ Illinois ประเทศ USA

ปริญญาโท สาขาชีววิทยาสภาวะแวดล้อม สถาบัน มหาวิทยาลัยมหิดล ประเทศไทย

ปริญญาตรี สาขาชีววิทยา สถาบัน มหาวิยาลัยมหิดล ประเทศไทย

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

พันธุศาสตร์และนิเวศวิทยาของเห็บ แมลงพาหะ และพาหะนำโรค

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัยหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: ชื่อแผนงานวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

การศึกษาเชื้อแบคทีเรียและโปรโตซัวในเห็บสัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์ในประเทศไทย

ผู้ร่วมโครงการวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

เห็บและจุลชีพชนิดใหม่ที่อยู่ร่วมกับเห็บ (หรืออาจก่อโรคในโฮสต์ ในประเทศไทย)

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

1) Ahantarig A*, **Trinachartvanit W**, Baimai V, Grubhoffer, L. Hard ticks and their bacterial endosymbionts (or would be pathogens). Folia Microbiol. In press. 2013:DOI10.1007/s12223-013-0222-1 **ทุนมหาวิทยาลัยมหิดล**
2) Doornbos K, Sumrandee C, Ruang-Areerate T, Baimai V, **Trinachartvanit W,** Ahantarig A*. Rickettsia sp. closely related to rickettsia raoultii (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in an amblyommahelvolum (Acarina: Ixodidae) tick from a varanussalvator (Squamata: Varanidae) in thailand. J Med Entomol 2013. 50(1):217-220. IF= 1.762 **ทุนมหาวิทยาลัยมหิดล**

3) Ahantarig A, Malaisri P, Hirunkanokpun S, Sumrandee C, **Trinachartvanit W***, Baimai V. Detection of Rickettsia and a novel Haemaphysalisshimogasymbiont bacterium in ticks in Thailand. CurrMicrobiol 2011; 62(5):1496-1502. IF = 1.51.**ทุนมหาวิทยาลัยมหิดลและทุน BRT**

4) Ahantarig A*, **Trinachartvanit W**, Milne JR. Tick-borne pathogens and diseases of animals and humans in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health Dec 2008;39(6):1015-32. (Review) Indexed in : SCOPUS, SciFinder.

5) Ahantarig A*, **Trinachartvanit W**, Chauvatcharin N, Kittayapong P, Baimai V. Wolbachia and Bacteriophage WO-B Density of Wolbachia A-Infected Aedesalbopictus mosquito. Folia Microbiol 2008;53(6):547-550. IF = 0.989

6) Ahantarig A*, **Trinachartvanit W**, Kittayapong P. Relative Wolbachia density of field-collected Aedesalbopictus mosquitoes in Thailand. J Vector Ecol Jun 2008;33(1):173-177. IF = 0.814

<u>งานวิจัยที่กำลังทำ</u>: ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัยลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

1. เห็บและจุลชีพชนิดใหม่ที่อยู่ร่วมกับเห็บ (หรืออาจก่อโรคในโฮสต์ในประเทศไทย ทุนมหาวิทยาลัยมหิดล ทำไปแล้ว 65%

2. การศึกษาเชื้อแบคทีเรีย และโปรโตซัวในเห็บสัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์ในประเทศไทยทุนมหาวิทยาลัยมหิดล ทำไปแล้ว 65%