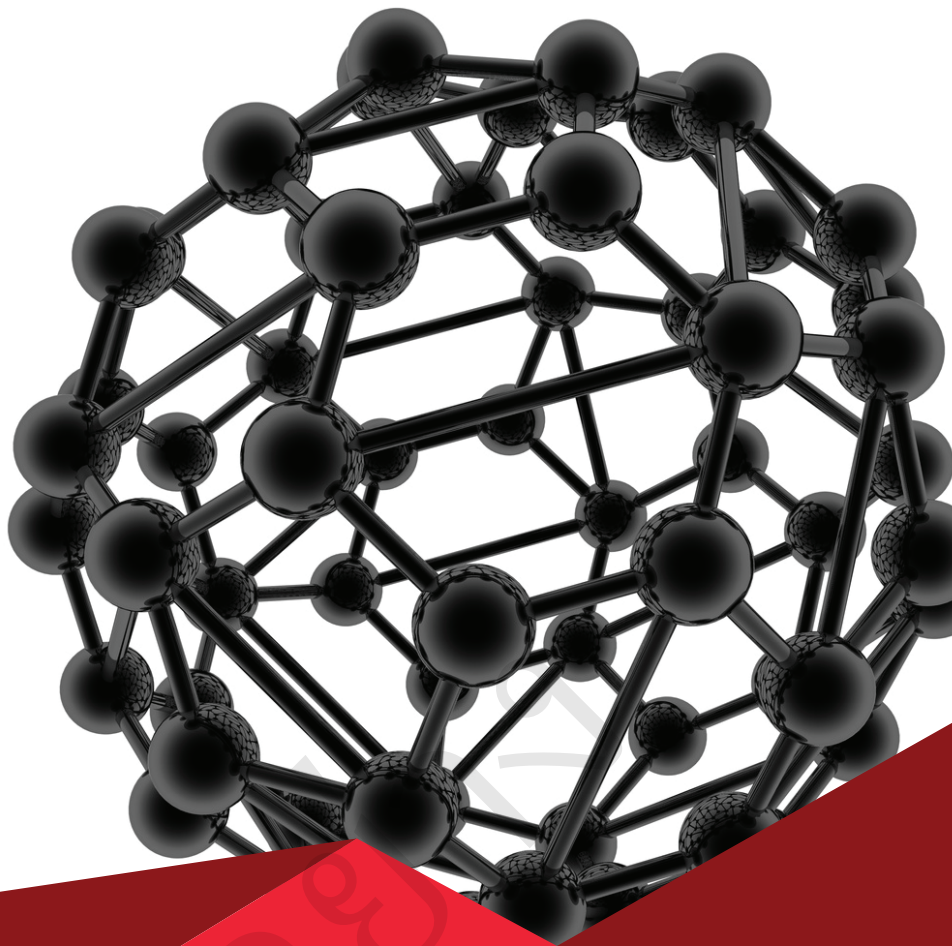




MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

IN VETERINARY MEDICINE

ระบาดวิทยาระดับโมเลกุลทางสัตวแพทย์



ภาคภูมิ ตาดี
Pakpoom Tadee

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE, CHIANGMAI UNIVERSITY

คำนำ

หนังสือ “ระบาดวิทยาระดับโมเลกุลทางสัตวแพทย์ (Molecular Epidemiology in Veterinary Medicine)” เล่มนี้จัดทำขึ้นมาจากใจของผู้เขียน เพื่อให้เป็นส่วนหนึ่งในการพัฒนาความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับระบาดวิทยาทางสัตวแพทย์ โดยเฉพาะสำหรับนักศึกษาและบุคลากรทางสัตวแพทย์ เช่น นายสัตวแพทย์หรือบุคคลที่ทำงานวิจัยในสาขาที่เกี่ยวข้องกับสัตวแพทย์และระบาดวิทยา ในอดีตที่ผ่านมาแนวคิดของศาสตร์นี้อาจได้รับความสนใจในวงจำกัด แต่ปัจจุบันองค์ความรู้ดังกล่าวกลับมีความสำคัญในการตีความและตรวจสอบข้อสมมติฐานทางระบาดวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการวิจัยและการตรวจพิสูจน์ผลในห้องปฏิบัติการชั้นนำ

ผู้เขียนมีความตั้งใจที่จะบรรยายความรู้พื้นฐานและแนวคิดในการดำเนินการวิจัยทางระบาดวิทยาระดับโมเลกุล โดยอธิบายลำดับขั้นตอนในการทำงานและการวิเคราะห์ข้อมูลของเชื้อก่อโรคให้ชัดเจนและเข้าใจง่าย เพื่อให้ผู้อ่านสามารถนำไปใช้ในการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม หนังสือเล่มนี้อาจไม่สามารถครอบคลุมทุกเทคนิคทางระบาดวิทยาระดับโมเลกุลและจะไม่กล่าวถึงการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อโรคในกลุ่มยูแคริโอต (eukaryote) เช่น โรคติดเชื้อรา (fungal infection) หรือโปรโตซัวและปรสิต (protozoal and parasitic infestations) เนื่องจากความแตกต่างของโครงสร้างทางพันธุกรรมและหน้าที่ทางชีววิทยา ซึ่งจะทำให้เนื้อหาที่มีความซับซ้อนและยาวเกินไป อีกประเด็นที่ผู้เขียนอยากชี้แจงคือ การใช้คำทับศัพท์ในหนังสือเล่มนี้ค่อนข้างมาก เพื่อให้สามารถเข้าใจได้ในบริบทสากลและความหมายที่ชัดเจน โดยเฉพาะการเรียกชื่อเชื้อก่อโรคและการใช้คำศัพท์เฉพาะสำหรับแต่ละเทคนิคทางโมเลกุลที่มักไม่ได้มีการแปลเป็นภาษาไทย ซึ่งการใช้คำทับศัพท์จะช่วยให้สื่อความหมายและสื่อสารในวงกว้างได้ดีกว่า

ผู้เขียนขอขอบคุณบิดา มารดา ครู อาจารย์ ที่ได้เลี้ยงดูอบรมและให้ความรู้ รวมถึงนิสิตนักศึกษาสัตวแพทย์ที่เป็นลูกศิษย์ที่นำข้อสงสัยหรือคำถามมาปรึกษาร่วมกัน เป็นอีกหนึ่งแรงบันดาลใจสำคัญในการจัดทำหนังสือเล่มนี้ ขอขอบคุณ น.สพ.วัชร เกษมสุข ที่ช่วยออกแบบหน้าปกหนังสือ ขอขอบคุณ “นาฮีโดซอนซู นักฟุตบอลทีมชาติไทย ดนตรีรีด และจักรยานเสือหมอบ” ที่เติมแรงขับเคลื่อนทางใจให้กับผู้เขียนอยู่เสมอ

สุดท้าย หนังสือเล่มนี้ไม่สามารถสำเร็จลงได้โดยปราศจากความช่วยเหลือจาก รศ.น.สพ.ดร. ประภาส พงษ์นิ (ได้รับการอนุมัติให้ดำรงตำแหน่งศาสตราจารย์ จากสภามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทั้งนี้ อยู่ระหว่างการทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ แต่งตั้ง) ที่ให้คำแนะนำในการวางโครงสร้างของหนังสือ และช่วยไขข้อสงสัยนับร้อยพันของผู้เขียนอยู่เสมอ ขอขอบคุณ สพ.ญ. ดร. นันทินี กิตติวรรณ ที่คอยให้คำปรึกษาชี้แนะและทบทวนรายละเอียดของกระบวนการในเชิงปฏิบัติการ และ ผศ.สพ.ญ.ดร. พชรพร ตาดี ภรรยาของผู้เขียน ในการตรวจพิสูจน์อักษรและตรวจสอบความถูกต้องของต้นฉบับ หากหนังสือเล่มนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ผู้เขียนขออภัยและยินดีรับคำติชมจากท่านผู้อ่าน ท่านสามารถส่งคำติชมหรือข้อคิดเห็นมายังที่อยู่สำหรับติดต่อทางไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (email address) ของผู้เขียนที่ pakpoom.ta@cmu.ac.th เพื่อปรับปรุงและทำให้หนังสือเล่มนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

รศ.น.สพ.ดร. ภาควุมิ ตาดี

กุมภาพันธ์ 2568

สารบัญ

คำนิยม	iii
คำนำ	iv
สารบัญ	v
สารบัญรูป	viii
สารบัญตาราง	xi
1 ระบาดวิทยาพื้นฐานและกระบวนการค้นคว้าทางระบาดวิทยาระดับโมเลกุล	1
Basic Epidemiology and Paradigm of Molecular Epidemiology	
1.1 บทนำ	1
1.2 การแบ่งประเภทของการศึกษาระบาดวิทยาแบบดั้งเดิม	2
1.3 ระบาดวิทยาระดับโมเลกุล	5
1.4 เทคนิคต่าง ๆ ทางระบาดวิทยาระดับโมเลกุลและข้อพิจารณาการเลือกใช้	9
1.5 ตัวอย่างกรณีศึกษาการจำแนกรูปแบบทางชีววิทยาระดับโมเลกุลกับการประยุกต์ใช้ทางระบาดวิทยา	15
บรรณานุกรม	19
2 ชีวสารสนเทศศาสตร์พื้นฐาน ฐานข้อมูลรหัสทางพันธุกรรมและการประยุกต์ใช้	23
Basic Bioinformatics GenBank-database and its Application	
2.1 บทนำ	23
2.2 ฐานข้อมูล GenBank	28
2.3 การใช้ BLAST ในการเปรียบเทียบ sequence ในฐานข้อมูล GenBank	31
บรรณานุกรม	39
3 การสร้างและวิเคราะห์ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์	41
Generation and Analysis of Phylogenetic Tree	
3.1 บทนำ	41
3.2 ขั้นตอนวิธี (algorithm) ในการสร้างต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์	44
บรรณานุกรม	51

4

พัลส์ฟิลด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส

Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

53

4.1	บทนำ	53
4.2	หลักการของเทคนิค Pulse Field Gel Electrophoresis	56
4.3	ลำดับขั้นตอนและวิธีการของ Pulse Field Gel Electrophoresis	58
4.4	การวิเคราะห์ข้อมูล PFGE	61
4.5	การประยุกต์ใช้เทคนิค PFGE ในงานวิจัยของผู้เขียน บรรณานุกรม	66 71

5

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยใช้ลำดับซ้ำ

Repetitive Element Sequence-Based PCR (rep-PCR)

73

5.1	บทนำ	73
5.2	หลักการของเทคนิค rep-PCR	75
5.3	ลำดับขั้นตอนและวิธีการของ rep-PCR	77
5.4	การวิเคราะห์ข้อมูล rep-PCR	78
5.5	การประยุกต์ใช้เทคนิค rep-PCR ในงานวิจัยของผู้เขียน บรรณานุกรม	80 85

6

มัลติโลคัสซีควเन्ซไทป์

Multilocus Sequence Typing (MLST)

89

6.1	บทนำ	89
6.2	หลักการของเทคนิค MLST	91
6.3	ลำดับขั้นตอนและวิธีการของ MLST	93
6.4	การวิเคราะห์ข้อมูล MLST	95
6.5	การประยุกต์ใช้เทคนิค MLST ในงานวิจัยของผู้เขียน บรรณานุกรม	102 108

7

การถอดรหัสทั้งจีโนม

Whole Genome Sequencing (WGS)

111

7.1	บทนำ	111
7.2	หลักการของเทคนิค whole genome sequencing	114
7.3	ลำดับขั้นตอนและวิธีการของ whole genome sequencing	120
7.4	การวิเคราะห์ข้อมูล whole genome sequencing	121
7.5	การประยุกต์ใช้เทคนิค whole genome sequencing ในงานวิจัยของผู้เขียน บรรณานุกรม	134 141



8

เมตาจีโนมิกส์

Metagenomics

145

8.1 บทนำ	145
8.2 หลักการของเทคนิค Metagenomics	148
8.3 ลำดับขั้นตอนและวิธีการของ metagenomics	150
8.4 การวิเคราะห์ข้อมูล metagenomics	156
8.5 การประยุกต์ใช้เทคนิค metagenomics ในงานวิจัยของผู้เขียน บรรณานุกรม	164 176

ดัชนี

179

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า	
1.1	Epidemic curve แสดงจำนวนอุบัติการณ์ของผู้ป่วยโรค X แยกตามเพศ แบ่งตามรายวัน ในโรงพยาบาลแห่งหนึ่ง ในช่วงเวลาตั้งแต่ 1-21 มีนาคม	3
1.2	แสดงผลการคำนวณทางสถิติจากตัวอย่างโดยใช้เครื่องมือออนไลน์	4
1.3	ตัวอย่างรูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อที่แยกได้จากแหล่งที่มาต่าง ๆ	6
1.4	การกระจายตัวของ Salmonella ซีโรไทป์จำนวน 20 ตัวอย่าง	13
1.5	ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ที่ตรงกันทั้ง 3 แหล่งที่มา	16
1.6	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์จากการวิเคราะห์ MLST ของเชื้อ <i>M. hyopneumoniae</i> ที่กระจายตัวในฟาร์มสุกรเขตจังหวัดเชียงใหม่-ลำพูน ในปี 2016-2017	17
1.7	แผนที่แสดงพิกัดของฟาร์มสุกรที่พบลักษณะทางพันธุกรรมเฉพาะ ST1 (จุดแดง) และ ST2 (จุดดำ) จากผลวิเคราะห์ด้วยเทคนิค MLST ของเชื้อ <i>M. hyopneumoniae</i> ในปี 2016-2017	17
2.1	ความเกี่ยวข้องของศาสตร์แขนงต่าง ๆ ที่ประกอบกันเป็นชีวสารสนเทศศาสตร์	23
2.2	ภาพเจลที่ได้จากการทำ PFGE ของเชื้อ <i>Salmonella</i> Rissen (A) (Tadee et al., 2014) และ ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนพื้นฐาน (housekeeping genes) ของเชื้อ <i>M. hyopneumoniae</i> (B)	24
2.3	หน้าแรกของเว็บไซต์ GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)	28
2.4	ตัวอย่างการใช้คำสำคัญในการค้นหา Hemagglutinin gene ของเชื้อ Influenza virus ในประเทศไทย ใน GenBank	29
2.5	รายละเอียดของยีนที่แสดงใน GenBank	29
2.6	วิธีบันทึกไฟล์ FASTA ลงใน hard disk ส่วนตัว	30
2.7	ลักษณะไฟล์ FASTA เมื่อเรียกเปิดด้วยโปรแกรม Notepad	31
2.8	หน้าแรกของ BLAST บนหน้าเว็บไซต์ https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi	31
2.9	ตัวอย่างการกรอกข้อมูลตัวอย่างลำดับเบสเพื่อที่จะทำนายยีนใน	32
2.10	ผลของการทำนายยีนจากตัวอย่างลำดับเบส unknown ใน BLAST	33
2.11	ตัวอย่างการกรอกข้อมูลตัวอย่างลำดับเบสเพื่อที่จะเปรียบเทียบความเหมือน- แตกต่าง ใน BLAST	34
2.12	ผลของการวิเคราะห์ตัวอย่างลำดับเบสของ H5 จากแหล่งต่าง ๆ	35

รูปที่	หน้า	
2.13	บางส่วนของ การเปรียบเทียบแต่ละเบสระหว่างตัวอย่าง AY555153.1 (query) และ HM172456.1 (sbjct) หลังจากการจัดเรียงด้วย pairwise alignment view	36
2.14	บางส่วนของ การเปรียบเทียบแต่ละเบสระหว่างตัวอย่าง AY555153.1 (query) และ HM172456.1 (sbjct) หลังจากการจัดเรียงด้วย pairwise with dots for identities alignment view	37
2.15	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์แสดงความสัมพันธ์ของข้อมูลตัวอย่างลำดับเบส ที่วิเคราะห์	37
3.1	วิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตใน phylum Chordata	42
3.2	คำศัพท์ต่าง ๆ ที่ใช้แทนแต่ละส่วนของต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์	43
3.3	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่มี topology เดียวกัน	43
3.4	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์เดียวกันแต่มีการสลับกันของปม	44
3.5	แสดงขั้นตอนของการสร้างต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ จากตัวอย่างการเปรียบเทียบลำดับเบสด้วยวิธี UPGMA ผ่านเมทริกซ์	46
3.6	แสดงขั้นตอนบางส่วนของ การสร้างต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์จากตัวอย่าง ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี UPGMA ผ่านเมทริกซ์	47
3.7	แสดงรูปแบบของต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่เป็นไปได้ทั้งหมดจากข้อมูล ทั้งหมด 4 OTUs	48
3.8	แสดงขั้นตอนการสร้างต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์จากข้อมูลลำดับเบสของ ตัวอย่างด้วยวิธี Maximum Parsimony	49
3.9	แสดงรูปแบบของต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่เป็นไปได้ทั้งหมดจากข้อมูล ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ 4 OTUs	49
3.10	แสดงขั้นตอนการสร้างต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์จากข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วยวิธี Maximum Parsimony	50
4.1	แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ของซีโรไทป์ของเชื้อ Salmonella และโฮสต์ ที่เป็นแหล่งสะสมเชื้อ (reservoir)	54
4.2	chord diagram ที่แสดงถึงความสัมพันธ์ของชนิดของเนื้อสัตว์เพื่อการบริโภค และซีโรไทป์ของเชื้อ Salmonella ที่พบการปนเปื้อน	54
4.3	ลักษณะการเคลื่อนที่ (migrate) ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอภายใต้การแยกสาร ด้วยกระแสไฟฟ้าในเจล	55

รูปที่	หน้า
4.4	Pulse electric field 57
4.5	ทิศทางของการวางกระแสไฟฟ้าและทิศทางการเคลื่อนที่ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอบนเจล เปรียบเทียบระหว่างสนามไฟฟ้าแบบพัลส์และสนามไฟฟ้าแบบปกติ 57
4.6	สรุปภาพรวมของขั้นตอนการวิเคราะห์ PFGE 60
4.7	ตัวอย่างรูปแบบของลายพิมพ์ของเชื้อ Salmonella ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ XbaI โดยตัวอย่างแรกและสุดท้ายคือตัวอย่าง reference (Salmonella Braenderup H9812) 60
4.8	ชนิดของ experiment type ที่ต้องเลือกก่อนการวิเคราะห์ PFGE 62
4.9	การปรับเปลี่ยนสีรูปเจลสำหรับการทำวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอในโปรแกรม Bionumerics 63
4.10	การแบ่ง lane สำหรับแต่ละตัวอย่างของเชื้อด้วยโปรแกรม Bionumerics 63
4.11	การเทียบ references สำหรับการทำ normalization ด้วยโปรแกรม Bionumerics 64
4.12	การกำหนด band สำหรับการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม Bionumerics 65
4.13	การกำหนดตัวแปรเสริมสำหรับการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม Bionumerics 65
4.14	ผลการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากโปรแกรม Bionumerics 66
4.15	ร้อยละของความชุกของเชื้อ Salmonella ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่ต่างกันในระดับฟาร์ม 68
4.16	ร้อยละของความชุกของเชื้อ Salmonella ที่ปนเปื้อนในตัวอย่างที่ต่างกันในระดับการฆ่าและชำแหละ 68
4.17	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่วิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ Salmonella ที่แยกได้จากห่วงโซ่การผลิตสุกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่-ลำพูน ในช่วงปี ค.ศ. 2011-2016 ด้วยเทคนิค PFGE 70
5.1	สรุปขั้นตอนและหลักการของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส 74
5.2	ตัวอย่างผลการใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสสำหรับการวินิจฉัยโรค PRRSV 75
5.3	สรุปหลักการของ rep-PCR 76
5.4	แสดงภาพ gel ของเทคนิค rep-PCR หลังจากการปรับสี (invert) ด้วยโปรแกรม Bionumerics 79

รูปที่	หน้า
5.5 ตัวอย่างผลการวิเคราะห์ rep-PCR ในโปรแกรม Bionumerics	80
5.6 แผนภูมิแสดงจำนวนผู้ป่วย salmonellosis ที่เข้ามาได้รับการรักษาใน โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ แยกตามช่วงอายุ	82
5.7 ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่วิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ Salmonella ที่แยกได้จากเนื้อสัตว์เพื่อการบริโภคและผู้ป่วยในเขตจังหวัดเชียงใหม่-ลำพูน ในช่วงปี ค.ศ. 2017 ด้วยเทคนิค rep-PCR	83
6.1 ตัวอย่างโครงสร้าง ddNTP เปรียบเทียบกับ dNTP	90
6.2 ขั้นตอนของการถอดรหัสลำดับเบสด้วยเทคนิคของแซงเกอร์	91
6.3 สรุปหลักการของ MLST	92
6.4 ผลของการถอดรหัสลำดับเบสของยีน <i>adk</i> ของเชื้อ <i>M. hyopneumoniae</i>	93
6.5 ตัวอย่างหน้าจอแสดงผลของคำสั่ง Batch sequence query ใน www.pubMLST.org	94
6.6 ตัวอย่างหน้าจอแสดงผลของคำสั่ง Batch sequence query ใน www.pubMLST.org	94
6.7 การเปรียบเทียบความต่างทางลักษณะพันธุกรรมของเชื้อ Salmonella จำนวน 2 ตัวอย่าง	95
6.8 การเปรียบเทียบลำดับเบสที่แปรผันใน housekeeping gene ที่สนใจ	96
6.9 ตัวอย่างการเตรียมข้อมูลตารางสำหรับการวิเคราะห์ MLST ด้วยโปรแกรม Bionumerics	96
6.10 ข้อมูลของ Salmonella ที่เคยถูกค้นพบและบันทึกในฐานข้อมูล pubMLST	97
6.11 ชนิดของ experiment type และ การนำเข้าข้อมูลจาก Excel file	98
6.12 การเชื่อมโยงข้อมูลจาก Excel file มายัง Bionumerics	99
6.13 การเชื่อมโยงข้อมูลคุณลักษณะที่สนใจจาก Excel file เพื่อวิเคราะห์ MLST ใน Bionumerics	99
6.14 การเลือก experiment card	100
6.15 การเลือกตัวแปรเสริมและอัลกอริทึมสำหรับการวิเคราะห์ MLST ด้วยโปรแกรม Bionumerics	100
6.16 ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ MLST จากตัวอย่างเชื้อ Salmonella ที่เพาะแยกในกระบวนการฆ่าและชำแหละสุกร	101

รูปที่	หน้า
6.17	MST ที่ได้จากการวิเคราะห์ MLST ของเชื้อ <i>Salmonella</i> ที่กระจายอยู่ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ 102
6.18	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ของเชื้อ <i>Salmonella</i> ที่เพาะแยกได้จากเนื้อสัตว์เพื่อการบริโภคในเขตลุ่มแม่น้ำโขงตอนกลาง 106
6.19	Minimum spanning tree แสดงปฏิสัมพันธ์ของเชื้อ <i>Salmonella</i> ที่กระจายตัวอยู่ในเขตพื้นที่นครหลวงเวียงจันทน์ สปป. ลาว 107
7.1	หลักการของการถอดรหัสแบบช็อตกัน 113
7.2	ประวัติและลำดับเหตุการณ์ของการทำถอดรหัสดีเอ็นเอในยุคต่าง ๆ 114
7.3	ภาพรวมของขั้นตอนการจัดเรียงแบบดีโนโว 116
7.4	ตัวอย่างไฟล์ข้อมูล FASTQ 116
7.5	ตัวอย่างไฟล์ข้อมูล WGS ที่ถูกเรียกเปิดด้วยโปรแกรม Notepad 117
7.6	ตัวอย่างของจีโนมสมมติเพื่อประกอบคำอธิบายของ depth และ coverage 118
7.7	ตัวอย่างของ genome สมมติที่มีความยาว 1 Mbp ที่ประกอบไปด้วยหลาย scaffolds หรือ contigs ที่ต่อเนื่องกัน 118
7.8	สรุปภาพรวมของขั้นตอนการถอดรหัสลำดับเบสทั่วจีโนม 121
7.9	การใช้ข้อมูล WGS ในการหาชนิดยีนจาก ResFinder ver. 4.5.0 123
7.10	ตัวอย่างผลแสดงยีนดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ <i>Salmonella Rissen</i> จากการ ใช้ข้อมูล WGS ในการตรวจในฐานข้อมูล ResFinder 123
7.11	ตัวอย่างผลแสดงการตรวจหาพลาสมิดจากการใช้ข้อมูล WGS ในการตรวจ ใน ResFinder database 124
7.12	การใช้ข้อมูล WGS ในการหาชนิดก่อโรคจาก VirulenceFinder ver. 2.0 125
7.13	ตัวอย่างเพียงส่วนหนึ่งของผลการตรวจหาชนิดก่อโรคจากการใช้ข้อมูล WGS ใน VirulenceFinder database 126
7.14	การใช้ข้อมูล WGS ในการหาหมายเลขอัลลีลสำหรับ MLST แบบดั้งเดิม 127
7.15	หน้าต่างเริ่มต้นของเครื่องมือออนไลน์ “In silico restriction map and PFGE” จาก http://insilico.ehu.eus/digest/ 128
7.16	ตัวอย่างผลการจำลองการใช้ XbaI ตัดย่อยจีโนมของเชื้อ <i>Salmonella</i> <i>Chorelaesuis</i> 129
7.17	ตัวอย่างผลที่รวบรวม 17-mers ของจีโนม <i>Rosa roxburghii</i> แจกแจงตาม จำนวน depth และความถี่ที่พบ 130

รูปที่	หน้า
7.18	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ที่สร้างมาจากข้อมูล wgSNPs 131
7.19	แผนภาพแมนฮัตตันแสดงตำแหน่งของ SNPs ที่มีผลต่อการดื้อ penicillin ของเชื้อ <i>S. pneumoniae</i> 132
7.20	แผนภาพเวนนแสดงจำนวน loci ที่มีร่วมกันของเชื้อ <i>Campylobacter jejuni</i> จำนวน 4 ตัวอย่าง 133
7.21	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์แสดงความสัมพันธ์ของ monophasic <i>S. Typhimurium</i> จำนวน 19 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค cgMLST และ pgMLST 134
7.22	ความชุกของยีนก่อโรคที่พบใน <i>Salmonella</i> ที่เพาะแยกได้จากเนื้อสุกรที่จำหน่ายในร้านค้าปลีกในเขตพื้นที่เชียงใหม่และลำพูน 135
7.23	MST แสดงลักษณะทางพันธุกรรมของ <i>Salmonella</i> ในแถบประเทศจีน ประเทศลาว และประเทศไทย 136
7.24	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อ <i>S. Weltevreden</i> จำนวน 7 ตัวอย่าง ซึ่งสร้างจากเทคนิค cgMLST และ pgMLST 138
7.25	ต้นไม้วิวัฒนาการชาติพันธุ์ และแผนภาพแสดงยีนก่อโรคเทียบกับความสัมพันธ์ของเชื้อ <i>Salmonella</i> จำนวน 43 ตัวอย่าง 139
7.26	MST แสดงลักษณะทางพันธุกรรมด้วย cgMLST ของ <i>Salmonella</i> ที่จัดอยู่ในกลุ่มซีโรไทป์ที่พบเจอได้น้อย ที่เพาะแยกได้ในประเทศไทย 140
8.1	ชีวนิเวศน์จุลชีพที่แตกต่างกันตามอวัยวะของมนุษย์ 146
8.2	ชีวนิเวศน์จุลชีพที่แตกต่างกันตามช่วงอายุของมนุษย์ 146
8.3	ยีน 16S rRNA 149
8.4	รายละเอียดขั้นตอนของ amplicon และ shotgun metagenomics 151
8.5	ความแตกต่างของ OUT และ ASV 152
8.6	เส้นโค้ง rarefaction จากการทำถอดรหัสจาก 2 ตัวอย่างชุมชนชีพ 152
8.7	ตัวอย่างแสดงการเปรียบเทียบค่า richness และ evenness 153
8.8	ผลของการวิเคราะห์ด้วย Chao1, Shannon และ Simpson index ในกลุ่มตัวอย่าง 154
8.9	PCA plot เปรียบเทียบชีวนิเวศน์จุลชีพในทางเดินอาหารระหว่างไก่พื้นเมือง (PD) และไก่ที่เลี้ยงในระบบฟาร์ม (CC) 155
8.10	% relative abundance ของ top 10 taxa จากตัวอย่างลำไส้ไก่ แยกตาม class 157

รูปที่	หน้า
8.11 % relative abundance ของ top 10 taxa จากตัวอย่างลำไส้ไก่ แยกตาม genus	157
8.12 แผนผังแสดงการเปรียบเทียบ relative abundance ของชีวนิเวศน์จุลชีพใน ทางเดินอาหารในระดับ genus ระหว่างตัวอย่างลำไส้ไก่พื้นเมือง (PD) เปรียบเทียบกับไก่ที่เลี้ยงในระบบฟาร์ม (CC) ด้วยวิธีทางสถิติ T-test	158
8.13 Flower plot แสดงความคาบเกี่ยวกันของชนิดของเชื้อจุลชีพในระดับ family ของตัวอย่าง ลำไส้ไก่จำนวน 15 ตัวอย่าง	159
8.14 Ternary plot เปรียบเทียบร้อยละของ relative abundance ในระดับ genus ที่พบในการศึกษาชีวนิเวศน์ในทางเดินอาหารจาก 3 ตัวอย่าง	160
8.15 Heat map แสดงปริมาณและความสัมพันธ์ของชีวนิเวศน์ในทางเดินอาหาร ของหนูทดลองที่ได้รับอาหารต่างชนิด	161
8.16 Heatmap แสดง functional profiles ของแบคทีเรียที่อยู่ในดินที่ได้รับการดูแล จัดการดินที่แตกต่างกัน	162
8.17 แสดงถึงความสัมพันธ์ของ absolute abundance ของชีวนิเวศน์จุลชีพ ของสุกรอายุ 21 วัน	163
8.18 Evolutionary tree ของ top 100 genus ที่พบในตัวอย่างของชุมชนแบคทีเรีย ในปอดของสุกรปกติ (normal) และปอดสุกรที่มีรอยโรค (pneumonic)	164
8.19 แผนภูมิแท่งแสดง % relative abundance ในระดับ phylum ของชีวนิเวศน์ ในลำไส้สุกรจำนวน 5 ตัวอย่าง	165
8.20 แผนภูมิแท่งแสดง % relative abundance ในระดับ genus ของชีวนิเวศน์ ในลำไส้สุกรจำนวน 5 ตัวอย่าง	166
8.21 Ballon plot แสดง functional profiles ของชีวนิเวศน์ในลำไส้สุกรจำนวน 5 ตัวอย่าง	167
8.22 Binary heatmap แสดงการมีอยู่ของยีนดื้อยาปฏิชีวนะและชนิดของกลุ่มยา ที่เกี่ยวข้อง ที่พบในลำไส้สุกรทั้ง 5 ตัวอย่าง	168
8.23 Boxplot chart แสดงการกระจายตัวของน้ำหนักของสุกรทั้ง 510 ตัวที่เข้าสู่ กระบวนการฆ่าและชำแหละ	170
8.24 ภาพถ่ายของปอดทั้ง 24 ตัวอย่างในการศึกษารังนี้	172
8.25 Boxplot chart แสดงความหลากหลายของเชื้อแบคทีเรียระหว่างกลุ่มตัวอย่าง ด้วยดัชนี Chao1, Shannnon และ Simpson	172

รูปที่	หน้า
8.26	PCoA และ NMD plot สำหรับการประเมินความหลากหลายของเชื้อแบคทีเรียระหว่างกลุ่มการทดลอง 173
8.27	% relative abundance ของเชื้อในแต่ละตัวอย่าง แสดงในระดับ phylum (A) และ genus (B) และความแตกต่างที่มีนัยสำคัญของสมาชิกในแต่ละ taxa ในระดับของ phylum (C) และ genus (D) 174
8.28	% relative abundance ของเชื้อในแต่ละตัวอย่าง แสดงในระดับ species 174

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
1.1	รายละเอียดของจำนวนผู้ที่บริโภคหอยนางรมและผู้ป่วยจากการเข้าร่วมงานเลี้ยง	4
1.2	คำจำกัดความของระดับวิทยาระดับโมเลกุล	7
1.3	ตัวอย่างเทคนิคต่าง ๆ ที่นิยมใช้ในการตรวจสอบข้อสันนิษฐานทางระบาดวิทยา	9
1.4	การแจกแจงการคำนวณ Shannon's diversity index จากตัวอย่าง	13
1.5	ตัวอย่างสมมติของการศึกษาการจำแนกแยกแยะเชื้อ Salmonella จำนวน 10 ตัวอย่าง	14
2.1	ฐานข้อมูลของชีวสารสนเทศหลัก ที่สามารถเข้าถึงได้ด้วยระบบออนไลน์	27
4.1	เอนไซม์ตัดย่อยที่เหมาะสมกับการตัดย่อยชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดให้ได้ขนาดและปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ PFGE	59
4.2	หลักเกณฑ์เบื้องต้นในการแปลผลการวิเคราะห์ PFGE	61
4.3	ปัจจัยที่ลดการปนเปื้อนของ Salmonella ในกระบวนการฆ่าและชำแหละสุกร	69
4.4	การปนเปื้อนของเชื้อ Salmonella ในระดับร้านค้าปลีก	69
5.1	สายดีเอ็นเอตั้งต้นที่ถูกเลือกมาใช้ในการเทคนิค rep-PCR ตามชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ	78
5.2	ตารางแสดงผลของปนเปื้อนเชื้อ Salmonella ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เพื่อการบริโภค ในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ปี ค.ศ. 2017	81
6.1	ตัวอย่างของเชื้อและยีนสำหรับการทำ MLST แบบดั้งเดิม	92
6.2	ความชุกของเชื้อ Salmonella ที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์เพื่อการบริโภคในแถบลุ่มแม่น้ำโขงตอนกลาง	104
6.3	ความผันแปรของยีนที่ทำให้เชื้อ Salmonella ที่พบในเขตลุ่มแม่น้ำโขงตอนกลางที่ไม่สามารถระบุ ST ได้	105
7.1	รายละเอียดของแต่ละแพลตฟอร์มของการถอดรหัสจีโนมที่นิยมใช้	120
7.2	ตัวอย่างกรอบความคิดอย่างง่ายของการวิเคราะห์ mGWAS	132
8.1	สัดส่วนโดยประมาณของ genus ที่ถูกพบในแต่ละตัวอย่างอ้างอิงตามรูปที่ 8.14	160
8.2	รายละเอียดโรคปอดอักเสบทั้ง 24 ตัวอย่างที่ถูกใช้ในการศึกษา	171



ระบาดวิทยาพื้นฐานและกระบวนทัศน์ ทางระบาดวิทยาระดับโมเลกุล

Basic Epidemiology and Paradigm of Molecular Epidemiology

1.1 บทนำ

ความหมายของระบาดวิทยา (epidemiology) ตามบริบทดั้งเดิม คือ การศึกษาถึงลักษณะการกระจายตัวของโรคหรือความผิดปกติใด ๆ รวมถึงการค้นหปัจจัยหรือสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคหรือความผิดปกตินั้นในประชากร (the study of distribution and determinants of disease in population) คำว่า “epidemiology” มาจากรากศัพท์ในภาษากรีก 3 คำได้แก่ “epi” “demo” และ “logo” หมายถึง “upon” “population” และ “study” ในภาษาอังกฤษตามลำดับ ดังนั้น นิยามของคำว่าระบาดวิทยาจะหมายถึงการศึกษาในประชากร (study of that which is upon the people) แต่เดิมการศึกษาระบาดวิทยาเป็นวิชาที่เกี่ยวข้องกับการระบาดของโรคในประชากรมนุษย์เท่านั้น ส่วนระบาดวิทยาในสัตว์นั้นมักจะใช้คำว่า “epizootiology” (รากศัพท์ในภาษากรีก zoo หมายถึง animal ในภาษาอังกฤษ) ซึ่งได้รวมถึง “zoonoses” นั่นก็คือโรคที่มีในประชากรสัตว์แล้วสามารถกระจายหรือติดต่อไปในประชากรมนุษย์ เช่น โรคแท้งติดต่อ (brucellosis) โรคฉี่หนู (leptospirosis) หรือ โรคติดเชื้อซัลโมเนลลา (salmonellosis) เป็นต้น ทั้งนี้นิยามและคำศัพท์ต่าง ๆ สามารถนำมาใช้ในบริบทที่แตกต่างกันไปขึ้นกับสถานการณ์ สำหรับหนังสือเล่มนี้จะใช้คำว่า “ระบาดวิทยา” ในความหมายของการกระจายตัวของโรคและเชื้อสาเหตุของโรคในประชากรมนุษย์และสัตว์ รวมถึงโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน

วัตถุประสงค์ของการศึกษาทางระบาดวิทยาอาจมีได้หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นการค้นหาแหล่งรังโรค ค้นหาสาเหตุของการเกิดโรค การสอบสวนและควบคุมโรค หรือการหาข้อมูลการเกิดโรคตามสภาพแวดล้อมและธรรมชาติของการเกิดโรค ซึ่งสิ่งเหล่านี้มักจะนำไปสู่การวางแผน การตรวจติดตาม การประเมินสถานการณ์ การควบคุมโรค และท้ายที่สุดอาจจะนำไปสู่การประเมินผลทางเศรษฐกิจเมื่อมีการเกิดโรค รวมถึงการวิเคราะห์ต้นทุนและข้อได้เปรียบทางเศรษฐศาสตร์ในการวางแผนการควบคุมโรคในสถานการณ์ที่เปลี่ยนไป

1.2 การแบ่งประเภทของการศึกษาระบาดวิทยาแบบดั้งเดิม

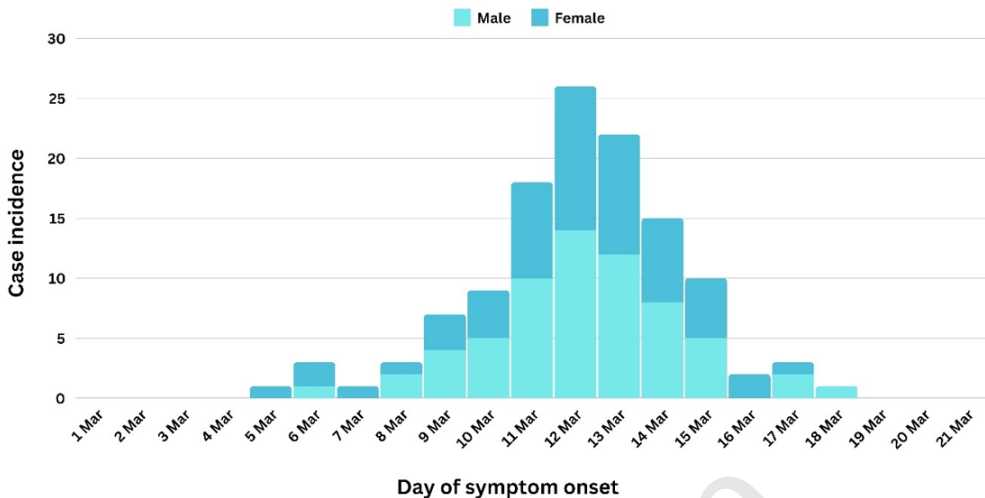
การแบ่งประเภทของการศึกษาทางระบาดวิทยาสามารถแบ่งได้ 2 ชนิดตามลักษณะและรูปแบบของวิธีการศึกษา ได้แก่

1. ระบาดวิทยาเชิงพรรณนา (descriptive epidemiology) เป็นการศึกษาโดยไม่มีการกำหนดสมมติฐานเฉพาะไว้ล่วงหน้า ไม่มีการแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็นกลุ่มย่อยเพื่อทำการเปรียบเทียบ ระบาดวิทยาเชิงพรรณนาเป็นขั้นแรกของการศึกษาทางระบาดวิทยา โดยการสังเกตข้อมูล เรื่องราวที่เกิดขึ้น บรรยายลักษณะ หรือรูปแบบของโรค ว่าเกิดขึ้นกับกลุ่มสัตว์ (person) สถานที่ (place) เวลา (time) โดยนำความรู้ด้านการวัดความถี่ของการเกิดโรค (measurement of disease frequency) เช่น ความชุกของโรค (prevalence) อุบัติการณ์ของโรค (incidence) อัตราป่วย (morbidity) อัตราตาย (mortality) หรือดัชนีสุขภาพอื่นที่มีความสัมพันธ์กันมาประยุกต์ในการพรรณนาโรค เพื่อใช้วางแผนป้องกันและควบคุมโรค ซึ่งการศึกษาระบาดวิทยาเชิงพรรณนาคือคำตอบคำถาม 4 คำถาม ได้แก่

- ใคร (who) โรคที่เกิดขึ้นเกิดกับสัตว์กลุ่มใด
- อะไร (what) เกิดโรคอะไร หรืออะไรทำให้เกิดโรค
- ที่ไหน (where) สถานที่ที่เกิดโรคอยู่ที่ไหน
- เมื่อไร (when) เกิดขึ้นเมื่อใด

รูปแบบของการตอบคำถามทางระบาดวิทยาเชิงพรรณนาที่นักระบาดวิทยาพบเห็นเป็นประจำ ยกตัวอย่างได้ในรูปแบบที่ง่ายที่สุดก็คือ การสำรวจหาความชุกของโรค (prevalence survey) เป็นการศึกษาสัดส่วนของการเกิดโรคในกลุ่มตัวอย่าง (sample) เพื่อที่จะอนุมานปัญหาไปถึงกลุ่มประชากร (population) ซึ่งมีอยู่ในพื้นที่ ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง โดยเริ่มต้นจากการเลือกกลุ่มประชากรที่ต้องการศึกษา กำหนดหน่วยที่สนใจ (unit of interest; อาจจะเป็นสัตว์รายตัว หรือมองเป็นภาพรวมรายฟาร์ม หรือรายฝูง) จากนั้นคำนวณตัวอย่าง และสิ้นสุดที่ตรวจโรคในกลุ่มตัวอย่างแล้วจึงสรุปผล ตัวเลขที่ได้ก็อาจจะสรุปออกมาเป็นร้อยละ (%) ของความชุก และร้อยละ 95 ของความเชื่อมั่น (95% confidence interval; 95% CI) ของความชุกกำกับไว้ หากช่วงที่ว่ามีขอบเขตที่แคบย่อมจะสื่อถึงประสิทธิภาพที่ดีของการสุ่มตัวอย่างในการศึกษาครั้งนั้น

อีกรูปแบบหนึ่งของระบาดวิทยาเชิงพรรณนาที่ผู้เขียนเชื่อว่านักระบาดวิทยาก็น่าจะมีชำนาญรอบรู้เช่นกัน คือ การรายงานโรคย้อนหลังจากแผนภาพแสดงอัตราการเกิดโรค ณ เวลาต่าง ๆ ด้วยแผนภูมิเส้นโค้งการระบาด (epidemic curve) ดังตัวอย่างที่แสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 Epidemic curve แสดงจำนวนอุบัติการณ์ของผู้ป่วยโรค X แยกตามเพศแบ่งตามรายวัน
ในโรงพยาบาลแห่งหนึ่ง ในช่วงเวลาตั้งแต่ 1 มีนาคม จนถึง 21 มีนาคม (โดย ภาควิทยา ตาติ)

ลักษณะของแผนภูมิเส้นโค้งการระบาดเป็นแผนภูมิที่แสดงการแจกแจงความถี่ที่มีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมมุมฉากเรียงติดต่อกันบนแกนนอน (histogram) แสดงถึงการกระจายตัวของอุบัติการณ์จำนวนผู้ป่วยใหม่ในช่วงเวลานั้น ซึ่งปกติในแกนตั้ง (y-axis) แทนค่าของจำนวนผู้ป่วย ส่วนแกนนอน (x-axis) แทนค่าของเวลาที่ผ่านไป ทำให้ทราบถึงข้อมูลของจำนวนผู้ป่วย (size) รูปแบบของการระบาด (pattern of spread) แนวโน้มของการระบาด (time trend) และเวลาที่สัมผัสสิ่งก่อโรค (exposure period) เป็นต้น

2. ระบาดวิทยาเชิงวิเคราะห์ (analytical epidemiology) เป็นการศึกษาที่มีการกำหนดสมมติฐานเฉพาะ (specific hypotheses) ไว้ล่วงหน้าโดยอาจทำการแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็นกลุ่มย่อย ได้แก่ กลุ่มควบคุม (control) และกลุ่มทดสอบ (treatment) ซึ่งเป็นกลุ่มสัตว์ป่วย (case) หรือกลุ่มที่ได้รับปัจจัยที่คาดว่าจะเป็สาเหตุของการเจ็บป่วย (exposure) เพื่อให้ทราบว่าทำไมจึงเกิดอุบัติการณ์และการกระจายของโรค โดยการนำข้อมูลที่รวบรวมรายละเอียดมาวิเคราะห์ให้ทราบถึงลักษณะเฉพาะของโรคแล้วค้นให้พบว่าจะอะไรที่มีอิทธิพลต่อความชุกหรืออุบัติการณ์และการกระจายของโรค การวิเคราะห์ลักษณะนี้จะเป็นแนวทางไปสู่วิธีการทางระบาดวิทยาที่ได้รับความรู้ใหม่เพิ่มขึ้น อาจกล่าวได้ว่าระบาดวิทยาเชิงวิเคราะห์ เป็นการหาความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคและผลของโรคนั้น (measurement of association) ระบาดวิทยาเชิงวิเคราะห์สามารถตอบคำถามทางระบาดวิทยาได้ 2 คำถาม ได้แก่

- ทำไม (why) ทำไมจึงเกิดโรคขึ้น
- อย่างไร (how) โรคเกิดขึ้นได้อย่างไร

ผู้เขียนจะขออนุญาตสมมติตัวอย่างขึ้นมาเพื่อให้เห็นภาพของระบาดวิทยาเชิงวิเคราะห์ให้มากขึ้น ดังนี้ ณ งานเลี้ยงแห่งหนึ่งในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งมีผู้ร่วมงานประมาณ 1,000 คน ได้เกิดอุบัติการณ์ของอาการท้องเสีย (diarrhea) เป็นจำนวนมาก ผู้สอบสวนโรคสงสัยว่าการบริโภคหอยนางรมในงานเลี้ยงน่าจะเป็นสาเหตุของอาการดังกล่าว ทั้งนี้ผู้สอบสวนโรคได้สุ่มซักถามย้อนหลังแก่ผู้ที่เข้าร่วมงานจำนวน 150 คน ว่ามีการรับประทานหอยนางรมและมีภาวะท้องเสียหรือไม่ ได้คำตอบแจกแจงเป็นตัวเลขที่แสดงในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 รายละเอียดของจำนวนผู้ที่บริโภคหอยนางรมและผู้ป่วยจากการเข้าร่วมงานเลี้ยง (โดย ภาควิชา ตาดี)

	รับประทานหอยนางรม	ไม่ได้รับประทานหอยนางรม
ท้องเสีย	60	15
สุขภาพดี	11	64

จากตารางนี้ผู้อ่านน่าจะเข้าใจได้ดีว่าคือการศึกษาระยะย้อนหลัง (retrospective study หรือจะเปรียบเทียบกับเป็น case-control study ได้เช่นกัน) ซึ่งก็คือเป็นการศึกษาที่เริ่มจากผลลัพธ์ (outcome) แยกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่เป็นโรค (case) กับ กลุ่มสุขภาพดี (control) จากนั้นทำการซักประวัติถามย้อนกลับไ้ว่ามีการสัมผัสปัจจัยเสี่ยงหรือไม่ ทั้งนี้เมื่อนำตัวเลขในตารางผ่านการคำนวณวิธีทางสถิติด้วย Fisher's test จะพบว่าได้ค่า P-value < 0.05 นั้นแสดงถึงการบริโภคหอยนางรมมีความสัมพันธ์กับการแสดงอาการท้องเสียอย่างมีนัยสำคัญ หากพิจารณาคำนวณอัตราส่วนแต้มต่อ (odds ratio) ของตารางนี้จะมีค่าเท่ากับ 23.27 ($60 \times 64 / 11 \times 15$) แปลผลได้ว่า ผู้ที่บริโภคหอยนางรมมีโอกาส (chance) ที่จะท้องเสียมากกว่าผู้ที่ไม่ได้บริโภคถึง 23.27 เท่า (รูปที่ 1.2)

Easy Fisher Exact Test Calculator

Success! The Fisher exact test statistic and statement of significance appear beneath the table. Blue means you're dealing with dependent variables; red, independent.

Results			
	Oyster	non-Oyster	Marginal Row Totals
diarrhea	60	15	75
healthy	11	64	75
Marginal Column Totals	71	79	150 (Grand Total)

The Fisher exact test statistic value is < 0.00001. The result is significant at $p < .05$.

Result

Odds Ratio = 23.27.

รูปที่ 1.2 แสดงผลการคำนวณทางสถิติจากตัวอย่างโดยใช้เครื่องมือออนไลน์จาก www.socscistatistics.com/

เห็นได้ว่าระบาดวิทยาเชิงพรรณนาจะเป็นการพูดถึงความเป็นจริง และระบาดวิทยาเชิงวิเคราะห์จะเป็นการใช้ตัวอย่างที่สุ่มออกมาเพื่อใช้เป็นตัวแทนในการอธิบายการโรคในกลุ่มประชากร ระบาดวิทยาแบบดั้งเดิมทั้ง 2 ประเภทนั้นมีการใช้สถิติ (statistics) แนวโน้ม (trend) หรือความน่าจะเป็น (probability) ในการได้มาซึ่งผลลัพธ์ โดยสิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นแนวคิดเชิงคณิตศาสตร์ทั้งสิ้น แต่กระบวนทัศน์ (paradigm) นี้จะเปลี่ยนไปเมื่อมีการเข้าถึงของเครื่องมือที่เรียกว่า ระบาดวิทยาระดับโมเลกุล หรือ molecular epidemiology

1.3 ระบาดวิทยาระดับโมเลกุล

ระบาดวิทยาระดับโมเลกุล (molecular epidemiology) เป็นการศึกษาถึงลักษณะการกระจายตัวของโรคหรือความผิดปกติใด ๆ รวมถึงการค้นหาปัจจัยหรือสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคหรือความผิดปกตินั้นในประชากรโดยใช้ข้อมูล “ชีววิทยาระดับโมเลกุล” (the study of distribution and determinants of disease in population by “molecular biology”) กล่าวได้ว่าเป็นการศึกษาทางระบาดวิทยาแขนงหนึ่งที่ใช้เทคนิคทางชีวเคมี (biochemistry) และเครื่องหมายทางชีววิทยาระดับโมเลกุล (molecular biological marker) ยกตัวอย่างเช่น ข้อมูลของกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) หรือ ข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์เบส (nucleotide base sequence) ร่วมกับการผสมผสานระหว่างกระบวนการที่ใช้ข้อมูลทางระบาดวิทยาเชิงพรรณนาและระบาดวิทยาเชิงวิเคราะห์เพื่อการศึกษาถึงการกระจายตัวของโรคในประชากร สำหรับคำว่า “molecular epidemiology” ถูกใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1973 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวอเมริกันชื่อ Edwin D. Kilbourne ในบทความที่ชื่อว่า “The molecular epidemiology of influenza” ที่กล่าวถึงความก้าวหน้าในการตรวจวินิจฉัยและการค้นพบตัวแปรแอนติเจน (antigenic variant) ของโรคไข้หวัดใหญ่ (influenza) หลังจากนั้นก็ได้มีการใช้คำศัพท์เฉพาะเหล่านี้อย่างเป็นทางการมากขึ้นในงานวิจัยหรือการศึกษาต่าง ๆ

ส่วนระบาดวิทยาระดับโมเลกุลของโรคติดเชื้อ (molecular epidemiology in infectious disease) ที่ผู้เขียนใช้เป็นแนวคิดหลักของหนังสือเล่มนี้ จะเป็นการศึกษาถึงการวิวัฒนาการของเชื้อก่อโรค (evolution of disease pathogens) รวมถึงคุณลักษณะเฉพาะ (determinant หรือ characteristic) ของเชื้อก่อโรคในประชากรคนหรือสัตว์ในสถานที่และเวลาที่แตกต่างกัน หรืออาจจะมองความสัมพันธ์ในแง่ของแหล่งที่มา อันได้แก่ โฮสต์ (host) เชื้อก่อโรค (agent) และสิ่งแวดล้อม (environment) ได้เช่นกัน

เหตุการณ์สมมติในรูปที่ 1.3A: พบผู้ป่วยเป็นมนุษย์ติดเชื้อ X ยังเป็นที่สงสัยว่าเชือดังกล่าวนี้น่าจะติดต่อผ่านมาจากสัตว์พาหะชนิดใดระหว่างสุกรและโค โดยตามแนวทางของการวิเคราะห์ระบาดวิทยาระดับโมเลกุล นักระบาดฯ จะทำการแยกเชื้อจากโฮสต์ แล้วเลือกเทคนิควิธีการเพื่อทำการแยกแยะ (typing) เชื้อก่อโรค เพื่อให้ได้ตัวบ่งชี้ทางชีววิทยาระดับโมเลกุล ในที่นี้ทางผู้เขียนขอสมมติเป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอ หรือที่เรียกกันว่า “DNA fingerprint” ซึ่งเป็นรูปแบบการจัดเรียงของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มีขนาดไม่เท่ากันหลาย ๆ ชิ้นของเชื้อที่ผ่านการเคลื่อนที่ภายใต้การแยกสารด้วยกระแสไฟฟ้า

ในเจล (gel electrophoresis) จากนั้นนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาเปรียบเทียบกัน ในเหตุการณ์นี้สรุปได้ว่าผู้ป่วยมีแนวโน้มติดเชื้อจากสุกร เนื่องจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากโฮสต์ทั้งสองมีความเหมือนกันจนไม่สามารถแยกแยะออกจากกันได้ (ในภาษาอังกฤษมักจะใช้คำในทำนองที่ว่า shared fingerprint pattern หรือ indistinguishable strains) ส่วนเหตุการณ์สมมติในรูปที่ 1.3B สรุปได้ว่าเชื้อ X ที่แยกได้จากประเทศไทยมีความสัมพันธ์และเกี่ยวข้องกับประเทศสหรัฐอเมริกามากกว่าประเทศจีน อาจจะแปลผลว่าเชื้อที่แยกได้จาก 2 ประเทศมาจากบรรพบุรุษร่วมกัน (same lineage หรือ common ancestor) หรือมีการส่งผ่านเชื้อระหว่าง 2 ประเทศ (disease spreading between areas) หรือแม้กระทั่งทั้ง 2 ประเทศนี้ได้รับเชื้อมาจากแหล่งเดียวกัน (common source of infection) เป็นต้น โดยความสัมพันธ์หรือความเกี่ยวข้องกันตามสถานการณ์ของ “TIME/PLACE/PERSON” หรือ “HOST/AGENT/ENVIRONMENT” ที่พบนั้นไม่จำเป็นต้องอาศัยความถี่ (frequency) จำนวนมากเพื่อยืนยันข้อสันนิษฐานทางระบาดวิทยา อาจจะกล่าวได้เลยว่าแค่เพียง 1 ความสัมพันธ์ที่พบสามารถใช้อ้างอิงเลยก็ได้ ซึ่งเป็นกระบวนการที่คนใหม่ที่เพิ่มขึ้นที่ทำให้ระบาดวิทยาระดับโมเลกุลแตกต่างจากระบาดวิทยาแบบดั้งเดิม จากที่กล่าวมานี้เป็นเพียงการสรุปข้อมูลให้กระชับเพื่อที่จะทำให้ผู้อ่านเข้าใจถึงหลักคิดของระบาดวิทยาระดับโมเลกุลได้ง่ายขึ้น แต่ในสถานการณ์จริงแล้วอาจจะต้องมีบริบทอื่น ๆ ที่การเชื่อมโยงถึงความเป็นไปได้ของหลักความเป็นจริงเข้ามาช่วยในการวิเคราะห์ อีกทั้งเทคนิควิธีการทางระบาดวิทยาแต่ละชนิด อาจจะมีความข้อเด่น-ข้อด้อย หรือความเหมาะสมในการใช้มาก-น้อย แตกต่างกัน โดยรายละเอียดเหล่านี้ก็จะถูกกล่าวถึงเพิ่มเติมในเนื้อหาถัดไป



รูปที่ 1.3 ตัวอย่างรูปแบบของลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อที่แยกได้จากแหล่งที่มาต่าง ๆ (โดย ภาคภูมิ ตาดี)

ทั้งนี้ Foxman และ Riley 2001 ได้สรุปจุดประสงค์หรือประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ข้อมูลทางชีววิทยาระดับโมเลกุลไว้อย่างน่าสนใจเป็น 6 ประเด็น ได้แก่

- การสำรวจโรคระบาด (outbreak investigation)
- การเฝ้าระวังโรค (surveillance)
- การหาเส้นทางการติดต่อ-ส่งผ่านโรค (describe the transmission route)
- การเพิ่มความเข้าใจของระบาดวิทยา (increase understanding of the epidemiology)
- ระบุเชื้อที่ไม่สามารถทำการเพาะแยกได้ (identify uncultivable microbes)
- เข้าใจข้อมูลเชิงลึกในหน้าที่การทำงานของยีนของเชื้อก่อโรค รวมไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์กับตัวเชือนั้น (provide insight into pathogen gene and host-microbe interaction)

หากผู้อ่านทำความเข้าใจรายละเอียดในหนังสือเล่มนี้ทั้งหมด ก็จะมีทั้ง 6 จุดประสงค์นี้สอดแทรกไว้ในตัวเล่มตามบทต่าง ๆ แต่อย่างไรก็ตามในแง่ของความหมายของระบาดวิทยาระดับโมเลกุล ก็ได้มีการให้คำนิยามที่แตกต่างกันออกไป แต่โดยใจความหลักก็จะยึดแนวคิดพื้นฐานไว้แบบเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 คำจำกัดความของระบาดวิทยาระดับโมเลกุล (ดัดแปลงจาก Foxman & Riley 2001)

ผู้แต่ง	คำจำกัดความ
McMichael, 1994	การใช้ตัววัดทางชีววิทยาระดับโมเลกุลเพื่อศึกษาหรือหาคำตอบระบาดวิทยา
Groopman et al., 1995	การพิสูจน์ความสัมพันธ์ระหว่างการสัมผัสเชื้อสาเหตุและผลที่ตามมาในกลุ่มของปัจเจกในประชากร
Hall, 1996	การวิเคราะห์กรดนิวคลีอิกและโปรตีนสำหรับการศึกษาถึงคุณลักษณะเฉพาะของการเกิดโรคในประชากร
Higginson, 1997	การประยุกต์วิธีการที่ซับซ้อนเพื่อใช้ศึกษาทางระบาดวิทยาของข้อเท็จจริงในทางชีวศาสตร์
Levin et al., 1999	การหาความสัมพันธ์ของตัวเชื่อมกับการเกิดโรคและการระบุแหล่งที่มา เส้นทางการติดต่อ รวมไปถึงการศึกษาในระดับยีนที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรค ลักษณะของแอนติเจน หรือการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ
Field et al., 2014	การใช้วิธีการจำแนกชนิดของเชื้อก่อโรคในระดับโมเลกุลในการศึกษาการกระจายตัวพลวัตและคุณลักษณะจำเพาะในประชากร
Sammarco et al., 2014	การประยุกต์ใช้วิธีการจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อก่อโรคในจุดประสงค์ของการเฝ้าระวังโรค การสอบสวนการระบาดและการควบคุมโรค
Gupte et al., 2016	การศึกษาเกี่ยวกับการกระจายตัวและคุณลักษณะจำเพาะของอุบัติการณ์การเกิดโรคในประชากร โดยใช้ความรู้ทางชีววิทยาระดับโมเลกุล

การศึกษาทางระบาดวิทยาระดับโมเลกุลแท้จริงแล้วไม่ใช่แค่เพียงเทคนิคทางอนุกรมวิธาน (taxonomy) หรือการจัดกลุ่มของสิ่งมีชีวิตตามวงศ์วานวิวัฒนาการ (phylogeny) หรือไม่ใช่แม้กระทั่งพันธุศาสตร์ประชากร (population genetics) แต่ระบาดวิทยาระดับโมเลกุลเป็นการนำเอาเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลมาใช้เพื่อระบุวัตถุประสงค์หรือตอบข้อสันนิษฐานทางระบาดวิทยา ดังนั้นกระบวนการทัศน์ของระบาดวิทยาระดับโมเลกุลและระบาดวิทยาดั้งเดิม แท้จริงแล้วไม่มีความแตกต่างกัน เพียงแต่มีการนำเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาคุณลักษณะอันเป็นลักษณะจำเพาะของสารชีวเคมีหลัก ๆ 2 ชนิด ซึ่งก็คือ ลำดับเบสและกรดอะมิโน และเมื่อนำเทคนิคดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาระบาดของวิทยาจะยังผลให้เพิ่มความสามารถในการวัดความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบหรือสาเหตุที่สงสัยกับผลที่เกิดขึ้นซึ่งในที่นี้หมายถึงโรค อาการทางคลินิก หรือผลการรักษาที่สนใจ เมื่อก้าวโดยสรุปเทคนิคทางระบาดวิทยาระดับโมเลกุลมักจะถูกนำมาใช้ในการสัตวแพทย์เพื่อตอบสนองวัตถุประสงค์หลัก คือ เพื่อการตรวจหาและจำแนกชนิดของเชื้อก่อโรค เพื่อศึกษาแหล่งที่มา การแพร่กระจายของเชื้อก่อโรค รวมไปถึงการศึกษาวิวัฒนาการและความรุนแรงของเชื้อเหล่านั้น

หากมองในแง่ของการประยุกต์ใช้ระบาดวิทยาระดับโมเลกุลในพื้นที่จริง (field practice) การนำเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ในทางระบาดวิทยาในบางกรณีอาจไม่สามารถทดแทนเทคนิคทางห้องปฏิบัติการดั้งเดิมที่ได้รับการยอมรับมานานได้ และเทคนิคทางห้องปฏิบัติการดั้งเดิมก็อาจจะยังถือได้ว่าเป็นมาตรฐานสูงสุด (gold standard test) ในบางกรณีได้เช่นกัน ยกตัวอย่างเช่น การศึกษาและสำรวจการปนเปื้อนเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารอย่างเชื้อ *Salmonella* ในสุกร การเพาะแยกเชื้อด้วยวิธีการเพาะเชื้อทางแบคทีเรีย (conventional bacteriological culture) ยังเป็นวิธีที่ให้ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ในระดับอ้างอิง อย่างไรก็ตาม ผลจากห้องปฏิบัติการดั้งเดิม ในบางครั้งไม่สามารถตอบคำถามที่มีความจำเพาะทางระบาดวิทยาได้ ยกตัวอย่างเช่นคำถามที่ว่าเชื้อ *Salmonella* ที่เพาะแยกได้จากสุกรในฟาร์ม เป็นสาเหตุของการปนเปื้อนของเชื้อในระหว่างกระบวนการฆ่าและชำแหละในโรงฆ่าหรือไม่ หรือเชื้อ *Salmonella* ที่เพาะแยกได้จากกระบวนการฆ่าเป็นต้นตอของการกระจายเชื้อไปยังกระบวนการตกแต่งซากและแปรงค้ำเนื้อสุกรในตลาด และสุดท้าย salmonellosis ที่เกิดขึ้นในมนุษย์นั้นเชื้อสาเหตุมีต้นกำเนิดมาจากสุกรในฟาร์มหรือไม่ แต่เมื่อพิจารณาถึงผลการทดสอบทางชีววิทยาระดับโมเลกุลเช่นการใช้เทคนิคพัลส์ฟิลด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (pulsed field gel electrophoresis; PFGE) เพื่อแสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Salmonella* ที่แยกจากกระบวนการฆ่าและชำแหละสุกร และเชื้อ *Salmonella* ที่แยกได้จากระดับฟาร์ม จะทำให้สามารถตอบคำถามได้อย่างชัดเจนว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจากสิ่งแวดล้อม สุกร และผู้ปฏิบัติงานในสถานที่นั้น ๆ (ไม่ว่าจะเป็นฟาร์ม โรงฆ่าและชำแหละสุกร ตลาด) นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนของเชื้อเดิมอย่างต่อเนื่องในบางสถานที่ รวมไปถึงการพบการปนเปื้อนของเชื้อจากฟาร์ม สุโรงฆ่าและชำแหละและตลาดค้ำเนื้อสุกร ซึ่งเป็นสาเหตุของการเจ็บป่วยในมนุษย์ในที่สุด

1.4 เทคนิคต่าง ๆ ทางระบาดวิทยาระดับโมเลกุลและข้อพิจารณาการเลือกใช้

อย่างไรก็ดีเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลที่นำมาเป็นเครื่องมือในการศึกษาทางระบาดวิทยาในปัจจุบัน อาจกลายเป็นเทคนิคทางห้องปฏิบัติการที่ล้าสมัย เมื่อมีเทคโนโลยีใหม่เข้ามาแทนที่มากขึ้น การนำเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลมาประยุกต์ใช้อาจจะช่วยตอบโจทย์ในทางเทคนิคทางห้องปฏิบัติการดั้งเดิมที่ไม่สามารถกระทำได้ หรือมีประโยชน์ในแง่มุมอื่น เช่น ใช้แรงงานน้อยกว่า ใช้เวลาสั้นกว่า ค่าดำเนินการในห้องปฏิบัติการน้อยกว่า เป็นต้น ยกตัวอย่างการวิเคราะห์ลายพิมพ์พลาสมิด (plasmid profile analysis) เป็นเทคนิคที่นิยมในสมัยหนึ่ง แต่ในปัจจุบันถูกแทนที่ด้วยการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอื่น ๆ เช่น PFGE ฯลฯ ดังตารางที่ 1.3 และจะได้กล่าวในรายละเอียดของเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลที่นิยมใช้ในปัจจุบันในบทต่อ ๆ ไปในหนังสือเล่มนี้

ตารางที่ 1.3 ตัวอย่างเทคนิคต่าง ๆ ที่นิยมใช้ในการตรวจสอบข้อสันนิษฐานทางระบาดวิทยา (ดัดแปลงจาก Foxman & Riley 2001)

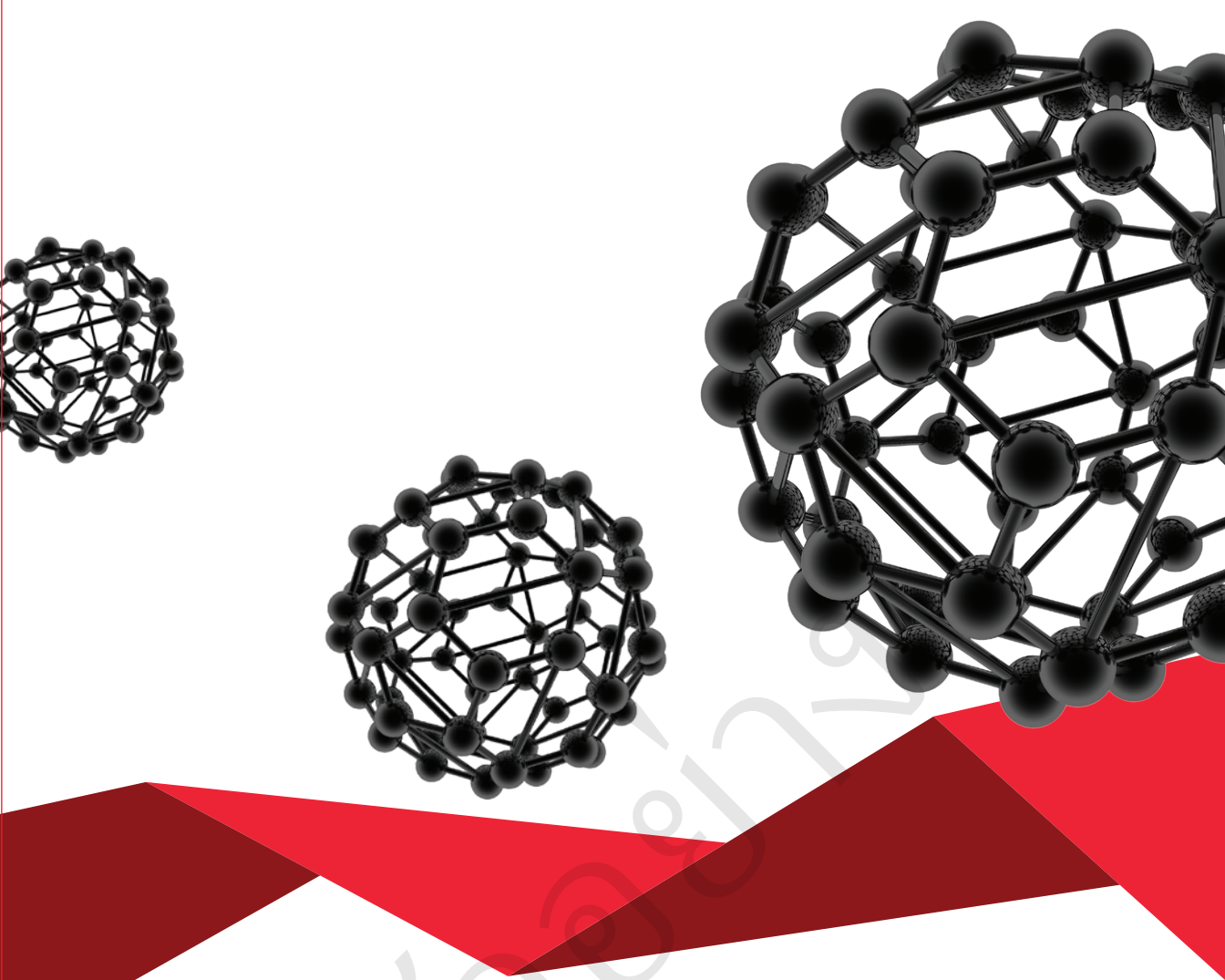
Application	Method	Technique
Identification	Conventional	Culture Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) Enzyme Immunosorbent Assay (EIA) Monoclonal antibody
	Nucleic acid based	DNA hybridization
	Amplification of target	Polymerase Chain Reaction (PCR)
	DNA based	
Typing	Protein based	Western blot
	Conventional	Serotyping Antimicrobial Susceptibility Testing
	Nucleic acid based	Plasmid profiles Restriction Fragment Polymorphism (RFLP) Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE) Multilocus Sequence Typing (MLST)
		Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)
		Repetitive Sequence-based Polymerase Chain Reaction (rep-PCR)
		Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)
	Amplification of target	Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)
	DNA based	
		Multilocus Enzyme Electrophoresis (MLEE)
	Protein based	

จากข้อมูลในตารางที่ 1.3 เห็นได้ว่าการประยุกต์ใช้เทคนิคต่าง ๆ ในการตรวจสอบข้อสันนิษฐานทางระบาดวิทยา แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ นั่นก็คือ การจำแนก (identification) และการแยกแยะ (typing) หากพิจารณาแยกตามคำจำกัดความแล้ว “การจำแนก” เป็นการวิเคราะห์จำแนกที่ลึกที่สุดได้เพียงในระดับสปีชีส์ (species) หรือระดับต่ำกว่าสปีชีส์ (sub-species) เท่านั้น ส่วน “การแยกแยะ” จะเป็นการจำแนกในระดับที่ลึกกว่า โดยเชื้อที่มีลักษณะเหมือนกันจากการแยกแยะจะถือว่าเป็นเชื้อที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (clonal strains) ซึ่งจะทำให้เกิดความเข้าใจในกระบวนการสรุปสมมติฐานทางระบาดวิทยาได้ชัดเจนกว่า

เทคนิคการแยกแยะทางระบาดวิทยาชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในปัจจุบันมีค่อนข้างหลากหลาย ในแต่ละเทคนิควิธีการนั้นก็มีข้อเด่น-ข้อด้อยแตกต่างกัน ทั้งนี้ในการเลือกชนิดของเทคนิคที่เหมาะสมกับข้อมูล จุดประสงค์การศึกษา หรือข้อจำกัดด้วยบริบทใด ๆ ย่อมจะทำให้การหาคำตอบ หรือการอธิบายความเป็นไปที่เกี่ยวข้องกับระบาดวิทยามีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น โดยเกณฑ์หรือข้อควรพิจารณาสำหรับการเลือกใช้เทคนิคการแยกแยะทางระบาดวิทยาชนิดต่าง ๆ มีดังนี้

1. ความสามารถในการจำแนก (typing ability) หมายถึง เทคนิควิธีการนั้น ๆ สามารถจะทำการกำหนดประเภทของเชื้อได้ กล่าวคือ หากทำการจำแนกเชื้อด้วยวิธีการหาซีโรไทป์ (serotyping) เทคนิคดังกล่าวจะมีความสามารถในการจำแนกสูงก็ต่อเมื่อทุกสายพันธุ์ (isolates หรือ strain) ของเชื้อที่ทำการทดสอบสามารถจำแนกเป็นซีโรไทป์ได้ (ซึ่งไม่ควรพบ un-typeable isolates) ในอีกแง่หนึ่งของความหมายของความสามารถในการจำแนกคือ ความครอบคลุมในการกำหนดประเภทของเชื้อ ยกตัวอย่างเช่น หากใช้สีขนในการจำแนกพันธุ์ของแมว แมวที่มีขนสีขาว เราอาจจะให้ชื่อพันธุ์ว่า “ขาว” แมวที่มีขนสีดำเราจะให้ชื่อพันธุ์ว่า “ดำ” แต่หากแมวตัวนั้น ๆ ไม่มีขนก็จะทำให้เราไม่สามารถระบุชนิดพันธุ์ได้ จากประเด็นดังกล่าวนี้ หากพิจารณาในรูปแบบของตัวเชื้อก่อโรค การวิเคราะห์รูปแบบของพลาสมิดที่เชื้อถืออยู่ ถูกพิจารณาว่าเป็นเทคนิคที่ให้ความสามารถในการจำแนกต่ำ (low typing ability) เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียบางสายพันธุ์อาจจะไม่มีพลาสมิด ดังนั้นการใช้เทคนิคดังกล่าวจึงไม่มีความเหมาะสมในการจำแนกเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ในการสอบสวนการระบาด

2. ความแม่นยำหรือความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) เป็นเกณฑ์การพิจารณาในการเลือกใช้เทคนิคทางการแยกแยะทางระบาดวิทยาที่มีความสำคัญที่สุด โดยแนวคิดของการทำซ้ำได้นั้นขึ้นอยู่กับเสถียรภาพของเครื่องหมายทางชีววิทยาที่ได้รับการคัดเลือก (marker stability) เมื่อทำซ้ำด้วยวิธีจำแนกเดียวกันจะต้องให้ผลเหมือนเดิมไม่ว่าในห้องปฏิบัติการใดก็ตาม (same results by same technique on same strains) ยกตัวอย่างเทคนิควิธีการที่ชื่อว่า ปฏิริยา ลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยใช้ลำดับซ้ำ (repetitive sequence based-PCR; rep-PCR) จะอาศัยลำดับดีเอ็นเอตั้งต้น (primers) ในการจับแบบสุ่มไปทั่วส่วนของลำดับเบสที่ไม่ได้แปลงเป็นกรดอะมิโน



"ระบาดวิทยาระดับโมเลกุลทางสัตวแพทย์" (Molecular Epidemiology in Veterinary Medicine)

ในปัจจุบันวิทยาศาสตร์การสัตวแพทย์ได้ก้าวไปสู่การใช้ข้อมูลและเทคโนโลยีในการวินิจฉัยโรคและตรวจสอบข้อสันนิษฐานทางระบาดวิทยา หนังสือเล่มนี้จะเปิดมุมมองเหล่านี้ด้วยการนำเสนอหลักวิธีการในภาษาและแนวคิดที่เข้าใจง่าย

ผู้เขียนคาดหวังว่า หนังสือเล่มนี้จะเป็นส่วนหนึ่งของแหล่งข้อมูลสำคัญสำหรับนักวิจัย นักศึกษา และผู้ที่มีความสนใจในระบาดวิทยา ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยในโลกของชีวสารสนเทศศาสตร์ได้ไม่มากนัก



CHIANG MAI
UNIVERSITY PRESS



9 786166 200140