

การอภิปรายผล

นกกระทามีความสามารถเป็นโฮสต์ตัวกลางในการผลิตไวรัสลูกผสมของเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิดเอสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้ เนื่องจากนกกระทาไวต่อการติดเชื้อไข้หวัดนกและไข้หวัดใหญ่สุกร (Makarova et al., 2003) รวมทั้งมีตัวรับที่จำเพาะต่อไวรัสทั้งสองชนิด (Wan and Perez, 2006) จึงมีโอกาสที่เชื้อไข้หวัดนกและไข้หวัดใหญ่สุกรจะเกิดการติดเชื้อพร้อมกันในนกกระทาและเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมกันได้ ส่งผลให้เกิดการติดต่อข้ามไปยังสัตว์ชนิดอื่นได้ อย่างไรก็ตามปัจจุบันการศึกษาความไวต่อการติดเชื้อและลักษณะทางพยาธิวิทยาของเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรงและเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรมีจำนวนน้อย งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาหาความสามารถในการรองรับการติดเชื้อและความสามารถในการแพร่กระจายของเชื้อไข้หวัดใหญ่ที่มีต้นกำเนิดจากเป็ดและสุกรในนกกระทา โดยศึกษาจากลักษณะทางพยาธิวิทยา การติดต่อและแพร่กระจายเชื้อ รวมถึงการปลดปล่อยไวรัส

วัตถุประสงค์ของการทำการตรวจวิเคราะห์หาลำดับพันธุกรรมก่อนพันธุกรรมที่เหลือของเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 และเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 เพื่อเป็นการยืนยันต้นกำเนิดของยีนที่แตกต่าง ๆ ว่ามาจากสุกรและสัตว์ปีกตามลำดับ โดยผลการตรวจวิเคราะห์หาลำดับพันธุกรรมพบว่าไวรัสที่ใช้ในการศึกษาทั้งสองชนิดมีที่มาจากสุกรและสัตว์ปีกตามที่ตั้งสมมติฐานไว้

จากการศึกษาความไวของนกกระทาต่อการติดเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 พบว่าเชื้อไวรัสทั้งสองสายพันธุ์สามารถเพิ่มจำนวนในนกกระทาได้และมีการปลดปล่อยเชื้อออกมาทางทางเดินหายใจและทางเดินอาหารโดยนกจะไม่แสดงอาการป่วยตาย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่านกกระทาสามารถปลดปล่อยเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรงสายพันธุ์ H1-H15 รวมถึงเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ H1N1, H1N2 และ H3N2 โดยไม่แสดงอาการทางคลินิก (Makarova et al., 2003) นอกจากนี้นกกระทาสามารถปลดปล่อยไวรัสโดยมากออกมาทางระบบทางเดินหายใจ ดังนั้นตำแหน่งที่มีการเพิ่มจำนวนของไวรัสทั้งสองสายพันธุ์ในนกกระทาจะอยู่ที่ระบบทางเดินหายใจซึ่งคล้ายคลึงกับของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่มีความแตกต่างจากสัตว์ปีกชนิดอื่น ๆ เช่น เป็ด นกน้ำ ที่ตำแหน่งการเพิ่มจำนวนของไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอจะอยู่ที่ระบบทางเดินอาหารเป็นส่วนมาก (Webster et al., 1978) ซึ่งผลการปลดปล่อยไวรัสดังกล่าวสอดคล้องกับการพบตัวรับ α -2,3 linkage sialic acid และตัวรับ α -2,6 linkage sialic acid ที่บริเวณท่อนลมและปอดของนกกระทา (Yu et al., 2011) การศึกษาครั้งนี้พบว่านกกระทามีความไวต่อการติดเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 มากกว่าเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 เนื่องจากนกกระทามีการปลดปล่อยเชื้อไวรัสไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 ออกมาทางทางเดินหายใจในปริมาณที่มากกว่าเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้จากการที่เชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 สามารถเพิ่มจำนวนในนกกระทาได้ ถึงแม้ว่าจะมีการปลดปล่อยไวรัสออกมาในปริมาณต่ำ อาจมีความเป็นไปได้ที่เชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 จะสามารถเกิดการติดเชื้อพร้อมกันในนกกระทาและเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมกันได้ เป็นที่น่าสังเกตว่าเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีสารพันธุกรรมท่อนใน (internal genes) มาจากสัตว์ปีก (avian origin) จึงอาจเป็นข้อได้เปรียบทำให้เชื่อดังกล่าวสามารถเพิ่มจำนวนในสัตว์ปีกได้ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Makarova และคณะ (2003) และ Perez และคณะ (2003) อย่างไรก็ตามเนื่องจากนกกระทาปลดปล่อย

เชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 ออกมาในปริมาณที่ต่ำกว่าเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 มาก แสดงให้เห็นถึงความจำเป็นที่เชื้อดังกล่าวต้องมีการปรับตัวหรือเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมเพื่อให้มีการเพิ่มจำนวนในนกกระทาได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้จากการที่ไม่สามารถตรวจพบเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 จากทอลมของนกกระทาในวันที่ 1 ถึงวันที่ 3 หลังการให้เชื้อ อาจเนื่องมาจากนกกระทาอาจมีการปลดปล่อยไวรัสออกมาในปริมาณที่ต่ำมากจนไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยวิธี virus titration หรืออาจเกิดจากนกกระทามีการปลดปล่อยไวรัสออกมาเป็นช่วงๆ จากผลการศึกษาการติดต่อและการแพร่กระจายของเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 ในนกกระทา พบว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์สามารถติดต่อไปยังนกกระทาที่เป็น contact bird บางตัวได้ในวันที่ 2 หลังการให้เชื้อ ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Liu และคณะ (2003) พบว่าเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 ที่แยกได้จากไก่ สามารถติดต่อไปยังนกกระทาที่เป็น contact bird ได้ และผลการศึกษาของ Perez และคณะ (2003a) พบว่าเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H9 ที่แยกได้จากเป็ด สามารถติดต่อไปยังนกกระทาที่เป็น contact bird ได้ อย่างไรก็ตามผลการทดลองดังกล่าวมีความแตกต่างกับผลการศึกษาของ Makarova และคณะ (2003) ที่พบว่าเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N8 และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 ไม่สามารถติดต่อไปยังนกกระทาที่เป็น contact bird ได้

จากผลการสังเกตอาการทางคลินิก อัตราการป่วย และอัตราการตาย พบว่านกกระทาทุกกลุ่มที่ได้รับเชื้อรวมถึงนกกระทาที่เป็น contact birds ยังคงปกติและไม่พบการป่วยตายจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Makarova และคณะ (2003), Liu และคณะ (2003) และ Perez และคณะ (2003) นอกจากนี้ลักษณะรอยโรคของนกกระทาหลังได้รับเชื้อไวรัสพบว่า รอยโรคส่วนใหญ่พบที่ระบบทางเดินหายใจและระบบทางเดินอาหารของนกกระทา ซึ่งเป็นอวัยวะที่มีการรายงานว่าเป็นอวัยวะแรก (primary site) ที่เชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรงใช้ในการเพิ่มจำนวนในสัตว์ปีก (Mo et al., 1997; Spickler et al., 2008; Swayne, 1997) ผลการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Nili และคณะ (2007) พบว่าเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H9N2 สามารถทำให้เกิดรอยโรคที่ระบบทางเดินหายใจของนกกระทาที่ได้รับเชื้อ ได้แก่ moderate-to-severe lung hemorrhage และ infiltration of inflammatory cells in the lung อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีผลการศึกษาการติดสีของโปรตีนของไวรัสในเนื้อเยื่อเพื่อแสดงถึงการติดเชื้อ (infectivity) ของไวรัสในเนื้อเยื่อในนกกระทาที่ได้รับเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรงและเชื้อไข้หวัดสุกร ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการติดสีของโปรตีนของไวรัสใน macrophage ในลำไส้ส่วน duodenum ของนกกระทาที่ได้รับเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 ขณะเดียวกับผลการศึกษาของ Jeong และคณะ (2009) พบการติดสีของโปรตีนของไวรัสใน parenchyma cells ในอวัยวะต่างๆของนกกระทาที่ได้รับเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H5N1 ยกเว้นอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่พบการติดสีของโปรตีนของไวรัสในนกกระทาที่ได้รับเชื้อไข้หวัดสุกร ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าไม่พบการติดสีของโปรตีนของไวรัสในสัตว์ปีกที่ได้รับเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง (Mo et al., 1997; Mutinelli et al., 2003; Pillai et al., 2010; Pillai et al., 2008) จากผลการศึกษาลักษณะทางทางพยาธิวิทยาและผลการแสดงอาการทางคลินิกในนกกระทาที่ได้รับเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 จะเห็นได้ว่านกกระทาที่ได้รับเชื้อไวรัสทั้งสองสายพันธุ์ โดยเฉพาะเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 ไม่พบการป่วยตายหรือแสดงอาการทางคลินิก รวมถึงไม่พบการติดสีของโปรตีนของไวรัสในอวัยวะต่างๆ อย่างไรก็ตามสามารถตรวจพบระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 ได้ตั้งแต่วันที่ 3 หลังการให้เชื้อ บ่งบอกว่ามีการติดเชื้อ

ไวรัสดังกล่าวในนกกระทาแต่เป็นการติดเชื้อที่ไม่รุนแรงจนทำให้สัตว์แสดงอาการทางคลินิก (subclinical infection) อย่างไรก็ตามไม่สามารถตรวจพบระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 ในนกกระทาที่ได้รับเชื้อได้ ทั้งที่นกกกระทากลุ่มที่ได้รับเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 มีการปลดปล่อยไวรัสออกมาทางระบบทางเดินหายใจในปริมาณที่ค่อนข้างสูงและพบว่ามีรอยโรคทางพยาธิวิทยาในนกกกระทากลุ่มดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ตรวจไม่พบระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดนกในเปิดทดลอง (Kida et al., 1980) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการตรวจหาแอนติบอดีในซีรัมสัตว์ปีกด้วยวิธี HI นั้นมีความไวต่ำเนื่องจากความหลากหลายของ IgY (Warr et al., 1995) และอาจเนื่องมาจากการใช้เม็ดเลือดแดงจากไก่ในการทำ HI เพื่อตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดนก เนื่องจากมีรายงานว่าบนผิวเม็ดเลือดแดงจากไก่มีตัวรับทั้ง α -2,3 linkage sialic acid และ α -2,6 linkage sialic acid ในขณะที่ผิวเม็ดเลือดแดงจากไก่วงมีแต่ตัวรับทั้ง α -2,3 linkage sialic acid (Suzuki et al., 2000) ทำให้เม็ดเลือดแดงไก่วงมีความไวในการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดนกมากกว่าเม็ดเลือดแดงไก่ สอดคล้องกับการทดลองของ Humbert และคณะ (2006) ซึ่งพบว่าการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดนกด้วยวิธี HI โดยใช้เม็ดเลือดแดงไก่วงใน ring-necked pheasants และ chukar partridges ให้ผลบวกมากกว่าการใช้เม็ดเลือดแดงไก่ โดยรวมการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 ทำให้เกิดรอยโรคทางพยาธิวิทยาในนกกระทาที่ได้รับเชื้อรุนแรงกว่าเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1

จากผลการศึกษาความไวของนกกระทาต่อการติดเชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 รวมถึงลักษณะทางพยาธิวิทยา การติดต่อและแพร่กระจายเชื้อ สนับสนุนบทบาทการเป็นโฮสต์ตัวกลางของนกกระทาในการผลิตไวรัสลูกผสมของเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิดเอสายพันธุ์ต่างๆได้ ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่เชื้อไข้หวัดนกชนิดไม่รุนแรง H3N2 และเชื้อไข้หวัดใหญ่สุกร H1N1 จะสามารถเกิดการติดเชื้อพร้อมกันในนกกระทาและเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมกันได้ ดังนั้นควรมีการเฝ้าระวังและทำสำรวจการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอในนกกระทาอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นการลดโอกาสการเกิดไวรัสสายพันธุ์ใหม่ที่มีความรุนแรงและมีโอกาสทำให้เกิดการระบาดครั้งใหญ่ต่อไป