

การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคไข้หวัดใหญ่ (influenza) เกิดจากเชื้อไวรัสที่มีสารพันธุกรรมเป็นชนิด RNA จัดอยู่ในตระกูล *Orthomyxoviridae* สามารถแบ่งย่อยออกเป็น 4 วงศ์ (genus) ได้แก่ A, B, C และ thogotovirus ไวรัสไข้หวัดใหญ่ทั้ง 4 วงศ์ สามารถก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ และพบว่าไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ สามารถติดเชื้อและก่อโรคในมนุษย์และสัตว์หลายชนิด เช่น สุนัข ม้า เสือ สุนัข และแมว และเป็นเพียงวงศ์เดียวที่มีรายงานการติดเชื้อและก่อโรคในสัตว์ปีก (Amonsin et al., 2006; Taubenberger and Morens, 2010; Thanawongnuwech et al., 2005; Webster et al., 1992) ส่วนไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดบี พบรายงานการติดเชื้อและก่อโรคในมนุษย์ โดยไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอและบี สามารถแยกจากกันได้ โดยอาศัยความแตกต่างของลักษณะทางพันธุกรรมของโปรตีน nucleocapsid (NP) และ matrix (M) (Lee and Saif, 2009; Webster et al., 1992) ในขณะที่ไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดซี สามารถก่อโรคในมนุษย์และสัตว์บางชนิด เช่น หมูและสุนัข (Guo et al., 1983; Webster et al., 1992; Youzbashi et al., 1996)

ปัจจุบันไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ สามารถจำแนกออกเป็นสายพันธุ์ (subtype) ตามลักษณะทางแอนติเจนของโปรตีนส่วนเปลือกหุ้ม คือ hemagglutinin (HA) 16 subtypes (H1-H16) และ neuraminidase (NA) 9 subtypes (N1-N9) (Fouchier et al., 2005; Molla et al., 2002)

1. ลักษณะของไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ

ไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ มีโครงสร้างภายนอกเป็นเปลือกหุ้ม มีสารพันธุกรรมเป็น RNA สายเดี่ยวชนิดลบที่มีลักษณะเป็นท่อนจำนวน 8 ท่อน (enveloped negative sense-single strand RNA viruses) ได้แก่ PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M และ NS ซึ่งทำหน้าที่กำหนดการสร้างโปรตีน 12 ชนิด ได้แก่ polymerase basic protein 2 (PB2), polymerase basic protein 1 (PB1), polymerase basic protein 1 frame 2 (PB1-F2), polymerase acidic protein (PA), hemagglutinin (HA), nucleoprotein (NP), neuraminidase (NA), matrix protein 1 และ (M1 และ M2), non-structural protein 1 และ 2 (NS1 and NS2), และ novel PB1-related protein (PB1-N40) (Chen et al., 2001; Webster et al., 1992; Wise et al., 2009)

ส่วนของเปลือกหุ้มของอนุภาคเชื้อไวรัสสร้างขึ้นจากชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ของโฮสต์ (host-derived lipid bilayer) ซึ่งมีส่วนของ glycoprotein ของเชื้อไวรัสแทรกอยู่ 3 ส่วน คือ (1) โปรตีน HA ซึ่งมีรูปร่างเป็นแท่ง ทำหน้าที่เป็นตัวรับของเชื้อไวรัส (viral receptor) (2) โปรตีน NA ที่มีรูปร่างคล้ายกับ

ดอกเห็ด ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ เพื่อแยกส่วน terminal sialic acid residue บนเซลล์โฮสต์ออกและปล่อยเชื้อไวรัสตัวใหม่ออกจากเซลล์ และ (3) โปรตีน M2 ทำหน้าที่เป็น ion channel ส่วนของท่อนสารพันธุกรรม (RNA segments) ของเชื้อไวรัสถูกปิดคลุมด้วยโปรตีน NP ซึ่งทำให้เกิดโครงสร้าง ribonucleoprotein complexes (Brown, 2000; De Jong et al., 2000; Hughes et al., 2001; Webster et al., 1992) เนื่องจากลักษณะของสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสที่เป็นอาร์เอ็นเอ ทำให้ไวรัสใช้หวัดใหญ่ มีการเปลี่ยนแปลงที่เล็กละน้อยและมีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสได้ (genetic drift) นอกจากนี้เนื่องจากเชื้อไวรัสมีสารพันธุกรรมที่เป็นท่อน ทำให้ไวรัสใช้หวัดใหญ่สายพันธุ์ต่างๆ มีโอกาสเกิดการแลกเปลี่ยนท่อนสารพันธุกรรมเกิดขึ้น และทำให้ลักษณะของเชื้อไวรัสเปลี่ยนแปลงไปจนเกิดเป็นเชื้อไวรัสตัวใหม่ (genetic shift) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ดังกล่าวสามารถทำให้เชื้อไวรัสผ่านแนวป้องกันภูมิคุ้มกันของโฮสต์ได้ ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการระบาดครั้งใหญ่ของโรคไข้หวัดใหญ่ (pandemic influenza)

2. ไวรัสไข้หวัดใหญ่ในนกกระทา

นกกระทามีตัวรับที่จำเพาะต่อไวรัสไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ปีก ซึ่งเป็นชนิด sialic acid 2,3-galactose linked receptors และไวรัสไข้หวัดใหญ่ในคน ซึ่งเป็นชนิด sialic acid 2,6-galactose linked receptors โดยตัวรับจะพบได้ที่หลอดลม (trachea) และลำไส้ (intestine) ของนกกระทา นอกจากนี้ยังพบว่าตัวรับทั้งสองชนิดนี้สามารถจับกับไวรัสไข้หวัดใหญ่ที่มาจากสัตว์ต่างชนิดกันได้ (Wan and Perez, 2006) ดังนั้นนกกระทาจึงสามารถทำหน้าที่เป็น mixing vessel ที่รับไวรัสไข้หวัดใหญ่ทั้งจากสัตว์ปีกและสัตว์ชนิดอื่น และเป็นที่เกิดการณ์กันว่าถ้าหากโฮสต์ที่มีตัวรับทั้งสองชนิดนี้ เช่น นกกระทาหรือสุกรติดไวรัสไข้หวัดใหญ่สองชนิด อาจทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนท่อนสารพันธุกรรม (genetic reassortment) ทำให้ได้เชื้อไวรัสสายพันธุ์ใหม่ ซึ่งหากเป็นการแลกเปลี่ยนที่ทำให้ได้ยีน hemagglutinin (HA) และ ยีน neuraminidase (NA) ชนิดใหม่ จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางแอนติเจนไปอย่างมาก เรียกว่า "Antigenic shift" (Webster et al., 1982) และอาจทำให้เกิดการระบาดของเชื้อไวรัสอย่างกว้างขวางขยายไปทั่วโลก

นอกจากจะมีรายงานการพบไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H5N1 ในนกกระทาลแล้ว จากฐานข้อมูล GenBank พบไวรัสไข้หวัดใหญ่ 14 สายพันธุ์ที่แยกได้จากนกกระทา ทั้งในทวีปอเมริกาเหนือ ยุโรป และเอเชีย ได้แก่ H1N1, H3N6, N4N6, H5N1, H5N2, H6N1, H6N2, H7N1, H7N2, H7N3, H7N6, H9N2, H10N7 และ H10N8 โดยมีข้อมูลของไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H9N2 ในประเทศจีนมากที่สุด ความสำคัญของการติดไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ต่างๆ ในนกกระทา คือบทบาทของนกกระทาที่อาจทำ

หน้าที่เป็น mixing vessel โดยสามารถรับไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ต่าง ๆ เข้ามา จนอาจเกิดการแลกเปลี่ยนท่อนสารพันธุกรรมได้

รายงานการศึกษาวิวัฒนาการของไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H9N2 ในนกกระทา ที่พบทางตอนใต้ของประเทศไทย พบว่ามีการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงของเชื้อไวรัสที่มาจากไก่ แล้วเชื้อไวรัสสามารถติดต่อสู่สัตว์ปีกชนิดอื่นได้ (Xu et al., 2007) นอกจากนี้ยังเป็นที่น่าสนใจว่า มีรายงานการติดไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H9N2 ในคนในประเทศไทย (Guo et al., 1999) และฮ่องกง (Peiris et al., 1999) การศึกษาหสพันธุกรรมของไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H9N2 ที่แยกได้จากนกกระทา (Qa/ST/2061/00) มีการเรียงตัวของกรดอะมิโนของยีน HA ในตำแหน่งของ connecting peptide เป็นแบบ R-S-R-R ซึ่งต่างจากเชื้อไวรัสตัวอื่นที่มีการเรียงตัวของกรดอะมิโนแบบ R-S-S-R ซึ่งการเรียงตัวแบบนี้เป็นลักษณะพื้นฐานที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของเชื้อไวรัสในไก่ (Steinhauer, 1999)

จากการศึกษาหสพันธุกรรมของไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H6N1 ในสัตว์ปีกทางตอนใต้ของประเทศไทย พบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H5N1 และ H9N2 โดยพบว่านอกจากไวรัสสายพันธุ์ H9N2 จะเป็นตัวให้ (donor) ยีนภายในทั้ง 6 ท่อนแก่ไวรัสสายพันธุ์ H5N1 แล้ว ยังทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนท่อนสารพันธุกรรมกับไวรัสสายพันธุ์ H6N1 ทำให้ได้ไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่คือ H6N2 ขึ้น อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการแพร่ของเชื้อไวรัสมาสู่คน ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่เชื้อไวรัสสายพันธุ์นี้จะไม่ก่อโรครุนแรงในคน (Cheung et al., 2007)

สำหรับในประเทศไทยนั้นแม้จะมีรายงานการพบไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H5N1 ในนกกระทาเป็นระยะๆ แต่ยังไม่มีการศึกษาวิจัยว่าสามารถพบไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใดบ้างในนกกระทาที่เลี้ยงในประเทศไทย ทั้งนี้เพื่อเป็นการตรวจติดตามและเฝ้าระวังการเกิดการระบาดของไวรัสไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ปีก รวมถึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับโมเลกุลและความเป็นไปได้ที่อาจเกิดการระบาดของไวรัสสายพันธุ์อื่นๆ จากสัตว์ปีกเข้าสู่สัตว์ชนิดอื่น รวมถึงมนุษย์

3. การศึกษาผลการติดไวรัสไข้หวัดใหญ่ในนกกระทา

ในประเทศไทยมีการศึกษาการติดไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H5N1 ในนกกระทา ซึ่งเป็นการติดเชื้อตามธรรมชาติ พบว่าเชื้อไวรัสสามารถแพร่กระจายและเพิ่มจำนวนในเนื้อเยื่ออวัยวะหลายแห่ง ได้แก่ ปอด หลอดลม หัวใจ ม้าม ตับ ไต สมอง เป็นต้น (Antarasena et al., 2006) และยังพบว่าการตรวจพบเชื้อไวรัสจะพบได้มากในไก่และนกกระทา โดยเฉพาะในกล้ามเนื้อหัวใจ ระบบทางเดินหายใจ และทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาการแพร่กระจายของไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์

H5N1 ในนกกระทา โดยพบว่าสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสได้ในไข่ (egg) และท่อนำไข่ (oviduct) ของนกกระทา (Promkuntod et al., 2006) ส่วนการศึกษาผลการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H5N1 “A/chicken/Hong Kong/220/97” ซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อโรครุนแรงในไก่ เมื่อนำมาศึกษาด้านพยาธิวิทยา การก่อโรคในสัตว์ปีกหลายชนิด รวมทั้งนกกระทา พบว่าสามารถทำให้เกิดอัตราการตาย 70-100% และทำให้เกิดพยาธิสภาพในอวัยวะภายในหลายชนิด (Perkins and Swayne, 2001)

จากการทดลองให้ไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอสายพันธุ์ H1 ถึง H15 (จำนวน 15 สายพันธุ์) แก่ นกกระทา พบว่าไวรัสไข้หวัดใหญ่อย่างน้อย 14 สายพันธุ์ สามารถแบ่งตัว (replication) และแพร่เชื้อ (transmission) ผ่านทางนกกระทาได้และยังพบอีกว่าการแบ่งตัวของเชื้อไวรัสมักเกิดขึ้นที่ระบบทางเดินหายใจ (respiratory tract) เป็นหลัก อย่างไรก็ตามเชื้อไวรัสจะสามารถแพร่กระจายออกจากนกกระทาได้ดี อาจจำเป็นต้องมีการปรับตัว (adaptation) ให้เหมาะสมต่อการติดเชื้อระหว่างสัตว์ (Makarova et al., 2003) ส่วนการศึกษาความรุนแรงของไวรัสไข้หวัดใหญ่ A/turkey/Ontario/7732/66(H5N9) ซึ่งก่อโรครุนแรงในไก่ พบว่านกกระทาสามารถติดเชื้อไวรัสนี้ได้ แต่ไม่แสดงอาการทางคลินิก (Slemons and Easterday, 1972) แต่เมื่อให้ไวรัสได้มีเวลาปรับตัวโดยการให้เชื้อเข้าสู่นกกระทา แล้วนำนกกระทาปลอดเชื้อ (contact bird) มาเลี้ยงไว้ร่วมกับนกกระทาที่ให้เชื้อไวรัส พบว่าไวรัสสามารถก่อให้เกิดความรุนแรงแก่นกกระทาปลอดเชื้อได้ (Tashiro et al., 1987)

4. วิธีการตรวจวินิจฉัยไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอทางห้องปฏิบัติการ

ในปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ จำเป็นต้องอาศัยวิธีการต่างๆ ประกอบกัน นอกเหนือจากการซักประวัติ และสังเกตรอยโรคเบื้องต้น การตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นวิธีการที่จำเป็นเพื่อยืนยันการวินิจฉัย วิธีตรวจหาเชื้อไวรัสซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับโดยองค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (OIE, 2009) ว่ามีความไวสูงและถือเป็นวิธีมาตรฐาน โดยเฉพาะตัวอย่างที่เก็บจากสัตว์ปีกคือ การแยกเชื้อไวรัส (virus isolation) โดยวิธีฉีดเข้าไข่ไก่ฟัก (embryonated egg inoculation) อายุประมาณ 9-11 วัน โดยเป็นไข่ไก่ฟักที่ปลอดจากเชื้อไวรัสและไม่มีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส แล้วฟักต่อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นดูดเก็บน้ำไข่ฟัก (allantoic fluid) มาตรวจลักษณะทางแอนติเจนด้วยวิธีทดสอบปฏิกิริยาจับกลุ่มเม็ดเลือดแดง (Hemagglutination test, HA test) ที่อาศัยคุณสมบัติของ hemagglutinin (HA) protein ซึ่งจะเกาะติดกับเม็ดเลือดแดง หรือโดยวิธีการตรวจการยับยั้งการจับกลุ่มเม็ดเลือดแดง (Hemagglutination inhibition test, HI) ถ้าพบผลบวกจากขั้นตอนนี้จะนำมาตรวจพิสูจน์ ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (Molecular technique) คือ เทคนิค real time RT-PCR เพื่อตรวจความจำเพาะต่อยีน M ของไวรัส หลังจากนั้นจะใช้เทคนิค RT-PCR เพื่อจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสต่อไป