213752

บทคัดย่อ

โรคไข้หวัดนก (Avian influenza) เกิดจากเชื้อไวรัส Influenza type A สายพันธุ์ H5N1 ในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนกในสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด รวมทั้งคน การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อคัดเลือกเชื้อไข้หวัดนกจำนวน 3 ตัวอย่าง ที่แยกได้จาก ไก่ (A/chicken/Thailand/CU-K2/04) เป็ด (A/duck/Thailand/CU-328/07) และ เสือ (A/tiger/Thailand /CU-T7/04) และทดสอบผลการติดเชื้อไข้หวัดนกทั้ง 3 ตัวอย่าง จากการเพาะเลี้ยงหลอดลมของไก่จำนวน 12 ตัว และสุกรจำนวน 12 ตัว วิธีดำเนินการวิจัยประกอบด้วย ระยะที่ 1 คัดเลือกและศึกษาลักษณะของเชื้อไข้หวัดนกที่จะใช้ในการทดสอบ (เชื้อไข้หวัดนกจากไก่ เป็ด และ เสือ) ระยะที่ 2 ศึกษาผลของการติดเชื้อไข้หวัดนกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากอวัยวะ ในระยะเวลา 0-72 ชั่วโมงหลังการทำให้เกิดการติดเชื้อ (T0-T72) ระยะที่ 3 วิเคราะห์ผลการศึกษาด้านพยาธิวิทยา ไวรัสวิทยา อณูชีววิทยา และรหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนก ผลการวิจัยครั้งนี้ พบว่า รหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนก 3 ตัวอย่าง มีจุดที่มีความแตกต่างในยีน HA ที่บริเวณ antigenic site E (กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 86) ในยีน PB1 ที่บริเวณ virulent determinant (กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 317) และในยีน PB2 ที่บริเวณ virulent determinant (กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 627) และกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับ host specificity (กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 119) ผลการศึกษาด้านไวรัสวิทยา พบว่ามีการติดเชื้อไวรัสในเซลล์เยื่อบุหลอดลมของสุกรและไก่ มีการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัส และมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะในเชื้อไข้หวัดนกที่ติดเชื้อในหลอดลมของไก่ ผลการศึกษาด้านพยาธิวิทยาพบว่ามีการหนาตัวของเซลล์เยื่อบุ และมีการเพิ่มจำนวนขึ้นของเซลล์คัดหลั่ง (goblet cells) ในบริเวณชั้นเยื่อบุของหลอดลม เมื่อมีการติดเชื้อไวรัสในระยะแรก (T6-T12) และพบการตายและการลอกหลุดของเซลล์เยื่อบุหลอดลม เมื่อมีการติดเชื้อในระยะท้าย (T24-48) นอกจากนี้ยังสามารถพิสูจน์ยืนยันการติดเชื้อไข้หวัดนกในเซลล์เยื่อบุหลอดลมจากการย้อมสีด้วยเทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมี ผลการศึกษาด้านรหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกก่อนและหลังการติดเชื้อในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากหลอดลมสุกรและไก่ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของรหัสพันธุกรรมของเชื้อไวรัสทั้ง 3 ตัวอย่าง การวิจัยครั้งนี้มีประโยชน์ โดยทำให้ได้ข้อมูลความสามารถในการเพิ่มจำนวนของเชื้อไข้หวัดนกในแต่ละสายพันธุ์ที่มีในประเทศไทย (ไก่ เป็ด เสือ) ต่อชนิดของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากอวัยวะของสัตว์ทดสอบ (ไก่และสุกร) ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่ทำให้เกิดความเข้าใจในการก่อโรคของเชื้อไข้หวัดนกได้ดียิ่งขึ้น ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นข้อมูลสนับสนุนในการป้องกันหรือควบคุมการติดเชื้อไข้หวัดนกในอนาคต

Avian influenza (AI) is caused by influenza type A (H5N1) virus. The virus causes severe disease and death in several avian and mammal species. The objectives of this study were to select 3 AI viruses isolated from chicken (A/chicken/Thailand/CU-K2/04), duck (A/duck/Thailand/CU-328/07), and (A/tiger/Thailand /CU-T7/04) and to study the effect of viral infection using tracheal ring culture assay of chicken (n=12) and pig (n=12). In this study, we conducted the experiment into 3 phases. Phase 1: Selection and characterization of AI viruses used in this study (AI viruses isolated from chicken, duck and tiger). Phase 2: Study the effect of viral infection using tracheal ring culture assay at 0-72 hrs after infection (T0-T72). Phase 3: Analysis of pathological changes, virus titer and nucleotide changes of the viruses and tracheal samples. Our results showed that 3 AI viruses have some polymorphisms in HA gene at antigenetic site E (position 86), in PB1 gene at virulent determinant (position 317) and in PB2 gene at virulent determinant (position 627) and host specificity (position 119). The analysis for virus titer showed evidences that viruses infect and replicate in tracheal epithelial cells of chicken and swine. The increasing of virus titers in this study is statistically significant especially in the chicken epithelium cells. The study of pathological changes showed tracheal epithelium cells thickening and growing of goblet cells at T6-T12, while cell lysis and detachment of tracheal epithelium cells were found at T24-48. The results from immunohistochemistry assay were also confirmed viral infection in tracheal epithelium cells. In addition, the analysis for nucleotide changes after infection indicated no changes of viral nucleotides. In summary, the results of this study provided the information of each virus (from chicken, duck and tiger) on viral replication in organ culture assay (from chicken and swine). This information will be useful for better understanding the pathogenesis of AI virus infection and will support disease prevention and control strategies in the future.