Review Articles

Avian Influenza Vaccination in Poultry and Avian Influenza Virus mutation

Anuwat Wiratsudakul* and Kamlang Chumpolbanchorn

Faculty of Veterinary Science, Mahidol University, Salaya, Phutthamonthon, Nakhon-pathom, Thailand 73170
***Corresponding author, E-mail address: neoart23026@yahoo.com**

Abstract

Avian influenza (AI) vaccines have been widely used in many countries. AI virus may remain in the poultry and lead to mutation, followed by pandemics in human population. The objective of this review is to study the impacts of using AI vaccines on viral mutation. There were evidences that two third of human influenza pandemics in 20th century originated from human and avian influenza virus reassortment, whereas the another one may occurred from reassortment of human and swine influenza viruses. Since AI vaccines can prevent disease but not infection, so the chance of reassortment among influenza viruses is increasing and mutation may be its consequence. An antigenic drift occurred in Mexico was the result of using poultry AI vaccines for 7-consecutive years. Consequently, there were AI outbreaks in Mexico and its neighboring countries. Therefore, only vaccinations are not sufficient for prevention and control of outbreaks and mutation of AI viruses. Farm-biosecurity, monitoring and surveillance of viral mutation and viral subtype matched vaccine production are needed in addition of preventive measures. These will play the roles in decreasing the opportunity of AI outbreaks, virus mutation and human influenza pandemics through influenza virus reassortment.

การใช้วัคซีนไข้หวัดนกในสัตว์ปีก และการกลายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดนก

อนุวัตน์ วิรัชสุดากุล* และ กำลัง ชุมพลบัญชร

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170
***ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: neoart23026@yahoo.com**

บทคัดย่อ

วัคซีนป้องกันไข้หวัดนกถูกใช้ในสัตว์ปีกอย่างกว้างขวางในบางประเทศ เพื่อจุดประสงค์ในการป้องกันและควบคุมโรค ถึงแม้สามารถควบคุมโรคให้สงบลง แต่ยังมีรายงานการพบเชื้ออยู่ในสัตว์ปีกได้โดยไม่แสดงอาการป่วยตาย และเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อจนระบาดข้ามมายังมนุษย์ได้ การศึกษาเชิงทบทวนบทความครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาถึงผลของการใช้วัคซีนไข้หวัดนกต่อการกลายพันธุ์ของเชื้อดังกล่าว จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า การระบาดของไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์ในศตวรรษที่ 20 สองในสามครั้งมีหลักฐานยืนยันว่าเกิดจากการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ปีกและมนุษย์ ในขณะที่อีกครั้งหนึ่งอาจเกิดจากการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างเชื้อไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์และหมู แม้ว่าการทำวัคซีนในสัตว์ปีกจะสามารถใช้เพื่อควบคุมโรค แม้สัตว์ที่ได้รับวัคซีนส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการก็ตาม แต่ยังคงมีการติดเชื้ออยู่ จึงทำให้มีโอกาสที่เชื้อจะเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมกับเชื้อสายพันธุ์อื่นที่อยู่ในแหล่งรังโรค ตัวอย่างของการใช้วัคซีน คือ การใช้วัคซีนที่ประเทศเม็กซิโกเป็นเวลา 7 ปีติดต่อกัน สามารถพบเชื้อเกิดการกลายพันธุ์แบบ Antigenic Drift จนทำให้เกิดการระบาดของเชื้อในประเทศเม็กซิโกและประเทศข้างเคียง ดังนั้น จะเห็นได้ว่าการใช้วัคซีนอย่างเดียวไม่เพียงพอที่จะป้องกันและควบคุมการระบาดรวมทั้งการกลายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดนกได้ จึงต้องมีการใช้หลักของความปลอดภัยทางชีวภาพในการจัดการฟาร์ม การเพิ่มมาตรการในการเฝ้าระวัง การติดตามการกลายพันธุ์และการผลิตวัคซีนที่ตรงกับสายพันธุ์ที่กำลังระบาดอยู่ สิ่งเหล่านี้จะมีประโยชน์ในการช่วยลดโอกาสในการระบาดของเชื้อในสัตว์ปีกและการกลายพันธุ์ ในกรณีที่จำเป็นต้องใช้วัคซีนไข้หวัดนกได้

คำสำคัญ : วัคซีน, ไข้หวัดนก, ไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์, การกลายพันธุ์, เอช 5 เอ็น 1

บทนำ

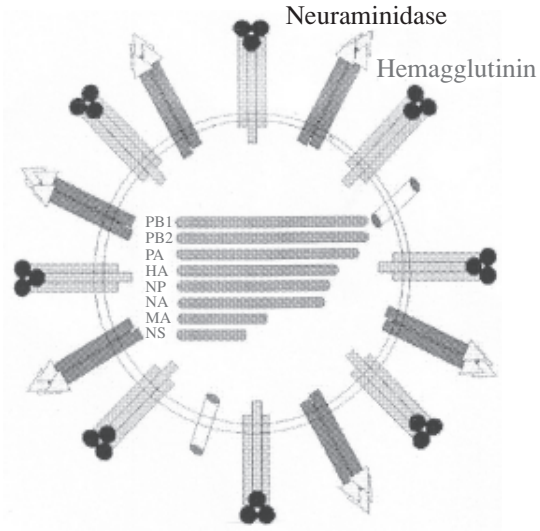
ไข้หวัดนกหรือไข้หวัดใหญ่สัตว์ปีกเป็นโรคที่มีความสำคัญทั้งในทางสัตวแพทย์และทางสาธารณสุข เนื่องจากเชื้อไข้หวัดใหญ่สัตว์ปีกบางสายพันธุ์สามารถติดต่อได้ทั้งในสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด รวมทั้งมนุษย์ (Swayne, 2000) ในช่วงศตวรรษที่ผ่านมามีการระบาดใหญ่ของไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์ครั้งใหญ่ 3 ครั้งด้วยกัน คือ ในปี ค.ศ. 1918 1957 และ 1968 ตามลำดับ การระบาดในปี 1957 และ 1968 เกิดจากการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างเชื้อไข้หวัดใหญ่ที่พบในมนุษย์และในสัตว์ปีก(Williams et al., 2002; Reid and Taubenberger, 2003; Reid et al., 2004) การระบาดของไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ที่ฮ่องกงในปี ค.ศ. 1997 นับเป็นหลักฐานชิ้นแรกที่ยืนยันว่าไข้หวัดนกสามารถติดต่อมายังมนุษย์ได้โดยตรง (Hatta and Kawaoka, 2002) ซึ่งนอกจาก H5N1 แล้วยังมีอีก 2 สายพันธุ์ คือ H7N7 และ H9N2 ที่สามารถติดต่อถึงมนุษย์ได้โดยตรงเช่นกัน จากการระบาดของเชื้อไข้หวัดนกในประเทศต่างๆ ทั่วโลก (pandemic) จึงเกิดการหวั่นเกรงว่าอาจจะเกิดการระบาดครั้งใหญ่ของเชื้อไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์ในระยะเวลาอันใกล้ (Normile, 2004; Webster and Hulse, 2004; Horimoto and Kawaoka, 2005)

เนื่องจากโรคไข้หวัดนกสร้างความเสียหายให้แก่เศรษฐกิจอย่างมหาศาล โดยเฉพาะอย่างยิ่งในวงการสัตว์ปีก จึงทำให้เกิดการพัฒนาวัคซีนขึ้นเพื่อป้องกันโรคในสัตว์ดังกล่าว วัคซีนไข้หวัดนกแบ่งเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ 1) Inactivated whole virus vaccines 2) Vectored recombinant Vaccines ซึ่งการใช้วัคซีนในสัตว์ปีกสามารถลดอัตราการป่วย อัตราการตาย รวมทั้งลดการระบาดของโรคได้ (Arriola, 2000) แต่การใช้วัคซีนไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ ทำได้เพียงป้องกันการเกิดโรคและช่วยลดการติดต่อรวมทั้งการแพร่เชื้อออกสู่สิ่งแวดล้อมเท่านั้น (Swayne and Halvorson, 2003)

การใช้วัคซีนในสัตว์ปีกจึงเป็นที่ถกเถียงกันว่าสมควรที่จะใช้อยู่หรือไม่ ในการทบทวนวรรณกรรมครั้งนี้จะศึกษาถึงผลของการใช้วัคซีนในสัตว์ปีกในการระบาดที่เคยเกิดขึ้นในประเทศต่างๆ รวมทั้งผลกระทบของการใช้วัคซีนต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกที่อาจก่อให้เกิดการระบาดครั้งใหญ่ของไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์ได้ ตลอดจนการเสนอแนวทางที่เหมาะสมต่อการป้องกันและควบคุมปัญหาดังกล่าวต่อไป

ไวรัสวิทยาของเชื้อไข้หวัดนก

เชื้อไข้หวัดนกจัดอยู่ในกลุ่มเชื้อไข้หวัดใหญ่ซึ่งเป็นอาร์เอ็นเอไวรัส อยู่ใน Family Orthomyxoviridae สารพันธุกรรมประกอบไปด้วยชิ้นส่วนของอาร์เอ็นเอ 8 ชิ้น (Stephenson and Zambon, 2002; Reid et al., 2004) ซึ่งควบคุมการสร้างโปรตีนของไวรัสอยู่ 10 ชนิดด้วยกัน โดยแบ่งได้ 3 กลุ่ม ดังนี้ คือ : 1) โปรตีนเปลือกนอกของไวรัส 2) โปรตีนภายใน และ 3) โปรตีนที่ไม่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้าง เชื้อไข้หวัดใหญ่สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิดด้วยกัน คือ ชนิดเอ ชนิดบี และชนิดซี ซึ่งแบ่งตามความแตกต่างของนิวคลีโอโปรตีน และแมทริกซ์โปรตีน ไข้หวัดใหญ่ชนิดเอสามารถติดต่อได้ในมนุษย์ ม้า หมู สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด และสัตว์ปีกชนิดต่างๆ ในขณะที่ชนิดบีและซีสามารถติดต่อได้เฉพาะในมนุษย์เท่านั้น (Suarez and Schultz-Cherry, 2000) ไข้หวัดใหญ่สัตว์ปีกจึงจัดอยู่ในไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ โดยเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอสามารถแบ่งเป็นชนิดย่อย(subtype)โดยใช้สารประกอบโปรตีนที่ปรากฏอยู่บนผิวของเปลือกนอกของไวรัส 2 ชนิด คือ ฮีมแมกกลูตินิน (H) และนิวรามินิเดส (N) ในปัจจุบันโปรตีนฮีมแมกกลูตินินแบ่งเป็น 16 ชนิดย่อย (H1-H16) และนิวรามินิเดสแบ่งได้ 9 ชนิด (N1-N9) (Horimoto and Kawaoka, 2005)



รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างเซลล์ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก (จาก Suarez and Schultz-Cherry, 2000)

โปรตีนฮีมแมกกลูตินิน ทำหน้าที่หลัก 2 อย่างด้วยกันคือ 1) เป็นส่วนที่ใช้จับกับตัวรับที่ผิวเซลล์และ 2) มีองค์ประกอบที่จำเป็นต่อการเข้าสู่เซลล์ของสัตว์ที่ติดเชื้อ ส่วนโปรตีนนิวรามินิเดส ทำหน้าที่เป็นเอ็นไซม์มีบทบาทในการย่อยตัวรับและทำให้เชื้อสามารถหลุดออกจากผิวของเซลล์ได้ (Suarez and Schultz-Cherry, 2000)

การเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อแบบ Antigenic Drift และ Antigenic Shift

เนื่องจากคุณสมบัติของเชื้อไวรัสที่มีสารพันธุกรรมเป็นอาร์เอ็นเอ การแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่จะขาดคุณสมบัติในการตรวจสอบความถูกต้องและแก้ไขความผิดพลาดในระหว่างการคัดลอกสายอาร์เอ็นเอ จึงทำให้มีโอกาสเกิดการกลายพันธุ์ได้สูง ซึ่งหากเกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนเพียงบางจุดบนโปรตีนที่ปรากฏอยู่บนผิวของเปลือกนอกของไวรัสจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแอนติเจนของไวรัส ซึ่งอาจมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้สัตว์ที่เคยได้รับเชื้อมาก่อนสามารถติดเชื้อได้อีก การเปลี่ยนแปลงนี้เรียกว่า "Antigenic Drift" (Stephenson and Zambon, 2002)

ส่วนการกลายพันธุ์แบบที่มีการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของสารพันธุกรรมระหว่างกันหรือเรียกว่า "Antigenic Shift" เกิดจากการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่ 2 ชนิดในโฮสต์เดียวกัน(รูปที่ 2) สามารถทำให้เกิดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ที่มีรูปแบบของโปรตีนที่ปรากฏอยู่บนผิวของเปลือกนอกของ

ตารางที่ 1 ลักษณะของการระบาดในวงกว้างและในวงจำกัดของเชื้อไข้หวัดใหญ่ (จาก Stephenson et al., 2004)

ชนิดของการระบาด	สาเหตุ	ภูมิคุ้มกันของประชากร	ผลกระทบ
การระบาดในวงกว้าง	Antigenic Shift : เกิดจากการอุบัติขึ้นของเชื้อตัวใหม่ (emerging) หรือ การกลับมาระบาดใหม่ของเชื้อที่เคยระบาดมาก่อน (Re-emerging)	มีน้อยหรือไม่มีเลย(จะมีภูมิคุ้มกันบางส่วนในประชากรที่ทีอายุมากหากเกิดจากการกลับมาระบาดใหม่ของเชื้อ)	อัตราการป่วยและอัตราการตายสูงในทุกกลุ่มประชากร
การระบาดในวงจำกัด	Antigenic Drift : เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเชื้อที่มีอยู่แล้ว	ประชากรอายุมากจะมีภูมิคุ้มกันบางส่วนจากเชื้อที่ใกล้เคียงกัน	อัตราการป่วยและอัตราการตายสูงมีความผันแปรตามอายุประชากร

ไวรัสและโปรตีนภายในที่เปลี่ยนไปจากเดิมมาก ได้มีสมมุติฐานว่าหากเชื้อไข้หวัดนกเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมกับเชื้อไข้หวัดใหญ่ของมนุษย์หรือเชื้อไข้หวัดใหญ่ของหมู ก็อาจเกิดเป็นเชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ และอาจสามารถทำให้เกิดการระบาดในวงกว้างได้ เนื่องจากประชากรส่วนใหญ่ไม่มีภูมิต้านทานที่จำเพาะต่อไวรัสไข้หวัดใหญ่ที่กลายพันธุ์ (Zeitlin and Maslow, 2005)

แหล่งรังโรคและการแพร่โรคของเชื้อไข้หวัดนก

เชื้อไข้หวัดนกสามารถติดต่อกันในกลุ่มสัตว์ปีกได้ทั้งทางการหายใจและการกิน (Swayne, 2000; Tumpey et al., 2005) แต่การติดเชื้อส่วนใหญ่จะเป็นการติดโดยการกินมากกว่าการหายใจ (Horimoto and Kawaoka, 2005) เชื้อไข้หวัดนกมีแหล่งรังโรคมีอยู่ 2 แหล่งหลักด้วยกัน คือ นกป่า และตลาดสัตว์ปีกมีชีวิต (Tumpey et al., 2005)

นกป่าถือได้ว่าเป็นแหล่งรังโรคอันดับหนึ่ง ซึ่งฮีมแมกกลูตินินและนิวรามินิเดสทุกชนิด สามารถตรวจพบได้ในนกป่าโดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ปีกจำพวกนกน้ำ (Alexander, 2000; Stephenson and Zambon, 2002; Tumpey et al., 2005) การติดไข้หวัดนกในนกน้ำ โดยทั่วไป มักไม่ทำให้เกิดโรค แต่สามารถแพร่กระจายเชื้อไวรัสได้ ทำให้นกเหล่านี้เป็นตัวแพร่โรคที่สำคัญไปยังสัตว์ปีกที่มนุษย์เลี้ยง (Swayne and Halvorson, 2003; Stephenson et al., 2004; Kaye and Pringle, 2005) และเป็นตัวนำเชื้อจากฟาร์มหนึ่งไปยังอีกฟาร์มหนึ่งได้ (Swayne, 2000) อย่างไรก็ตาม ในเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม 2005 ได้เกิดการระบาดของเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ขึ้นที่ทะเลสาบ Qinghai ประเทศจีน เป็นผลให้นกน้ำตายในการระบาดครั้งนี้หลายพันตัว (Zhou et al., 2006) ทว่ามีรายงานการเฝ้าระวังโรคไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในนกธรรมชาติในประเทศไทยระหว่างปี 2004 -2007 ระบุว่าความชุกของการติดเชื้อดังกล่าวค่อนข้างต่ำ คือประมาณ 1% เท่านั้น (Siengsanan et al., 2009)

แหล่งของการแพร่โรครองลงมาจะเป็นตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิต ซึ่งจะทำให้สัตว์จากที่ต่างๆมาอยู่รวมกัน จึงสามารถเกิดการติดเชื้อระหว่างกันได้ง่ายขึ้น รวมทั้งเพิ่มโอกาสในการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมของเชื้อมากขึ้น จนอาจเกิดการกลายพันธุ์ได้ (Webster and Hulse, 2004)

การติดเชื้อไข้หวัดนกในมนุษย์

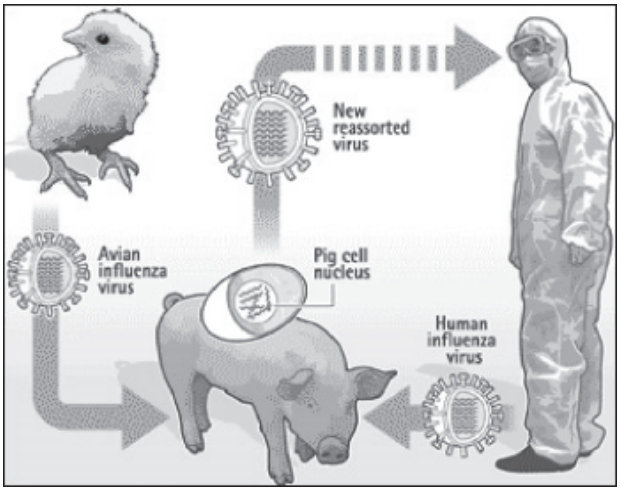
ก่อนการระบาดของไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 เป็นครั้งแรกที่ฮ่องกงในปี ค.ศ. 1997 เชื่อกันว่าเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์อื่นๆ ในอดีตไม่สามารถติดต่อมายังมนุษย์ได้โดยตรง แต่การระบาดของไวรัส H5N1 ดังกล่าวทำให้มีผู้ป่วย 6 ใน 18 รายเสียชีวิต นอกจากไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 แล้ว ยังพบว่าไข้หวัดนกสายพันธุ์อื่น คือ H7 และ H9 มีการติดมนุษย์ดังแสดงในตารางที่ 2 และพบว่าเชื้อไข้หวัดนกสามารถติดต่อมายังมนุษย์ได้โดยตรง โดยไม่จำเป็นต้องผ่านโฮสต์ตัวกลางที่สำคัญ คือ สุกร เป็นต้น (Reid and Taubenberger, 2003) ช่องทางหลักที่เชื้อจะติดมายังมนุษย์ คือ ได้รับเชื้อจากการสัมผัสโดยตรงกับสัตว์ป่วย หรือสัมผัสสิ่งของที่มีการปนเปื้อนของสิ่งคัดหลั่งจากสัตว์ป่วย การกินและการหายใจเอาเชื้อที่ปนเปื้อนกับละอองจากการจามและไอเข้าไป

โดยปกติ การติดเชื้อไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์ ส่วนใหญ่จะใช้ตัวรับ (receptor)ที่เป็นน้ำตาล scialic acid α 2, 6-N-acetylneuraminic acid-galactose ส่วนเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ปีก มักใช้ตัวรับชนิด α 2, 3-N-acetylneuraminic acid-

galactose ซึ่งตัวรับมีความแตกต่างในแต่ละชนิดสัตว์ (Stephenson et al., 2004; Kaye and Pringle, 2005) แต่หมูเป็นสัตว์ที่มีตัวรับทั้งแบบที่เชื้อไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์และไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ปีกใช้สำหรับจับเพื่อเข้าเซลล์ จึงทำให้มีโอกาสที่หมูอาจเกิดการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์จะเกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างกัน และทำให้เกิดเชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ ส่งผลให้โอกาสในการเกิดการระบาดในวงกว้างในทั้งสัตว์ปีกและมนุษย์มีมากขึ้น (Enserink, 2003; Enserink and Kaiser, 2004)

ตารางที่ 2 การติดเชื้อไข้หวัดนกในมนุษย์ (จาก Malik, 2009)

สายพันธุ์ย่อย	ปี/สถานที่	แหล่งที่มาของเชื้อ	จำนวนผู้ติดเชื้อ (ตาย)	อาการทางคลินิก
H7N7	1980/สหรัฐอเมริกา	แมวน้ำ	3(0)	เยื่อบุตาขาวอักเสบ
H7N7	1995/สหราชอาณาจักร	เป็ดเลี้ยง	1(0)	เยื่อบุตาขาวอักเสบ
H5N1(HPAI) Clade 0	1997/ฮ่องกง	สัตว์ปีกเลี้ยง	18(6)	ภาวะเจ็บป่วยคล้ายไข้หวัดใหญ่ ปวดบวม
H9N2(LPAI)	1999/ฮ่องกง	ไม่ระบุ	2(0)	ภาวะเจ็บป่วยคล้ายไข้หวัดใหญ่
H9N2(LPAI)	1998/จีน	สัตว์ปีกเลี้ยง	5(0)	ภาวะเจ็บป่วยคล้ายไข้หวัดใหญ่
H7N7(HPAI)	2003/เนเธอร์แลนด์	สัตว์ปีกเลี้ยง	89(1)	เยื่อบุตาขาวอักเสบภาวะเจ็บป่วยคล้ายไข้หวัดใหญ่ปวดบวม
H5N1(HPAI) Clade 1	2003/ฮ่องกง (เพิ่งเดินทางกลับจากฟูเจียน จีน)	ไม่ระบุ	2(1) (มีอีก 1 รายที่เกี่ยวข้องตายในฟูเจียน)	ปอดบวม
H5N1(HPAI) Clade 7	2003/จีน	ไม่ระบุ	1(1)	ปอดบวม
H9N2(LPAI)	2003/ฮ่องกง	ไม่ระบุ	1(0)	ภาวะเจ็บป่วยคล้ายไข้หวัดใหญ่
H7N2(LPAI)	2003/สหรัฐอเมริกา	สัตว์ปีกเลี้ยง	1(0)	ติดเชื้อทั้งทางเดินหายใจส่วนบนและส่วนล่าง
H7N2(LPAI)	2002/สหรัฐอเมริกา	ไก่งวง	1(0)	ภาวะเจ็บป่วยคล้ายไข้หวัดใหญ่
H7N3	2004/แคนาดา	สัตว์ปีกเลี้ยง	2(0)	เยื่อบุตาขาวอักเสบ
H9N2(LPAI)	2007/ฮ่องกง	ไม่ระบุ	1(0)	ภาวะเจ็บป่วยคล้ายไข้หวัดใหญ่
H7N3(LPAI)	2006/สหราชอาณาจักร	สัตว์ปีกเลี้ยง	1(0)	เยื่อบุตาขาวอักเสบ
H7N2(LPAI)	2007/สหราชอาณาจักร	สัตว์ปีกเลี้ยง	1(0)	เยื่อบุตาขาวอักเสบ
H5N1(HPAI) Clade 1,2.1,2.2,2.3.4	ธันวาคม 2003 ถึง 10 กันยายน 2008, ใน 15 ประเทศในเอเชียและแอฟริกา	ระบุใน Malik, 2009	387(245)	ระบุใน Malik, 2009



รูปที่ 2 แสดงบทบาทของหมูที่อาจเป็นตัวกลางในการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ปีกและมนุษย์ และเกิดเป็นเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใหม่ จนทำให้เกิดการระบาดเป็นวงกว้างในมนุษย์ได้
(จาก http://www.hsph.harvard.edu/review/rvw_winter06/rvwwinter06_flucatchers.html)

ความสัมพันธ์ของไข้หวัดนกกับการระบาดของไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์

ในศตวรรษที่ 20 พบการระบาดใหญ่ (pandemic) ของไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์เพียง 3 ครั้ง ได้แก่ ครั้งแรกเป็นการระบาดครั้งใหญ่ที่สุดในประวัติศาสตร์ เรียกว่า ไข้หวัดใหญ่สเปน (ค.ศ.1918-1919) เกิดจากเชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H1N1 การระบาดครั้งนี้ทำให้มีผู้เสียชีวิตทั่วโลกประมาณ 40 ล้านคน (Horimoto and Kawaoka, 2005) สาเหตุของการระบาดในครั้งนี้ยังไม่เป็นที่แน่ชัด Taubenberger et al. (2005) ได้เสนอว่าเชื้อที่เกิดการระบาดในปี 1918 เป็นเชื้อที่มาจากสัตว์ปีก แต่ก็มีการศึกษาอื่นที่โต้แย้งว่าเชื้อดังกล่าวมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อไข้หวัดใหญ่ในสุกร (“Classic” Swine Influenza virus) (Vana and Westover, 2008)

การระบาดใหญ่ครั้งที่สอง เรียกว่า ไข้หวัดใหญ่เอเชีย (Reid and Taubenberger, 2003) เกิดการระบาดจากเชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H2N2 โดยที่เชื้อนี้มีชิ้นส่วนทางพันธุกรรมที่มาจากไข้หวัดใหญ่จากสัตว์ปีก 3 ชนิดด้วยกัน คือ ฮีมแมกกลูตินิน, นิวรามินิเดส และ Polymerase basic protein 1 gene (PB1) ส่วนชิ้นส่วนทางพันธุกรรมอื่นๆ จะมาจากไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์ และการระบาดใหญ่ครั้งสุดท้าย คือ ไข้หวัดฮ่องกง ในปี 1968 เกิดจากเชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H3N2 การระบาดในครั้งนี้มีชิ้นส่วนทางพันธุกรรมที่มาจากไข้หวัดใหญ่จากสัตว์ปีกเพียง 2 ชนิด คือ ฮีมแมกกลูตินิน และ PB1 สำหรับชิ้นส่วนทางพันธุกรรมอื่นๆมาจากไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์เช่นเดียวกับ H2N2 (Horimoto and Kawaoka, 2005)

การระบาดใหญ่ทั้ง 3 ครั้งนี้ เกิดจากเชื้อกลายพันธุ์แบบ Antigenic Shift ทั้งสิ้น (Williams et al., 2002) เป็นผลทำให้เกิดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ที่มนุษย์ไม่เคยสัมผัสมาก่อน ดังนั้นประชากรมนุษย์จึงไม่มีภูมิต้านทานต่อเชื้อ เป็นผลให้เกิดการระบาดในวงกว้างตามมา ซึ่งทำให้อัตราการป่วยและอัตราการตายสูง (Suarez, 2000a) ดังนั้นหากเกิด Antigenic Shift ได้เชื้อไวรัสลูกผสมกับเชื้อที่กำลังระบาดอยู่ในปัจจุบัน คือ H5N1 H7N7 และ H9N2 ในอนาคตก็อาจจะทำให้เกิดเหตุการณ์เหมือนในอดีตทั้ง 3 ครั้งก็เป็นได้

วัคซีนไข้หวัดนกในสัตว์ปีก

การระบาดของไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในปี 2004 ทำให้เกิดความตระหนักถึงความจำเป็นในการใช้วัคซีนในสัตว์ปีกยิ่งขึ้น(Stephenson et al., 2004) เนื่องจากการทำวัคซีนเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการป้องกันและควบคุมโรค (Lee et al., 2004; Schwartz and Gellin, 2005) เนื่องด้วยยาต้านไวรัสที่ใช้ในมนุษย์อย่างเช่น อะแมนตาดีนและไรแมนตาดีน มีราคาสูงมาก และเชื้อบางสายพันธุ์ในปัจจุบันเกิดการดื้อยาในกลุ่มนี้แล้ว นอกจากนี้ ยังไม่มีข้อบ่งใช้และการทดสอบประสิทธิภาพในสัตว์ (Swayne, 2000) วัคซีนสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายโดยอาศัยโปรตีนบนเปลือกนอกของไวรัส โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ฮีมแมกกลูตินิน และนิวรามินิเดสมีส่วนร่วมด้วย การกระตุ้นภูมิคุ้มกันดังกล่าวเป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อสายพันธุ์ที่ทำวัคซีนเท่านั้น ไม่สามารคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ได้ (Beard, 2000) จึงเป็นข้อจำกัดที่สำคัญประการหนึ่ง คือ ต้องทำวัคซีนต่อฮีมแมกกลูตินินและนิวรามินิเดสหลายกลุ่มจากไวรัสหลายสายพันธุ์ ยกตัวอย่างเช่น กรณีการระบาดของไข้หวัดนก ในไก่งวง จำนวน 26 ฝูง ที่รัฐมินนิโซตา ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่จำเป็นต้องทำวัคซีนที่แตกต่างกัน 4 ชนิด เพื่อให้ครอบคลุมเชื้อไข้หวัดนกที่มีสารประกอบโปรตีนชนิดฮีมแมกกลูตินินแตกต่างกันอย่างน้อย 6 สายพันธุ์ ดังนั้นเป้าหมายของการพัฒนาวัคซีนก็คือ การผลิตวัคซีนที่สามารถป้องกันการเกิดโรคจากทุกสายพันธุ์ได้ ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนดังกล่าว (Suarez and Schultz-Cherry, 2000) อย่างไรก็ตาม วัคซีนไข้หวัดใหญ่ในสัตว์ปีกที่มีใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ได้แก่

1) วัคซีนเชื้อตาย (Whole inactivated virus Vaccines) เป็นวัคซีนที่มีการพัฒนาและใช้กันมาเป็นเวลานานและยังใช้เป็นชนิดหลักในปัจจุบัน โดยวัคซีนชนิดนี้จะกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยใช้ไวรัสที่ถูกทำให้ตายแล้วทั้งตัว ซึ่งวัคซีนชนิดนี้จะสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (Humoral immunity) ได้ดี แต่จะกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (Cell-Mediated immunity) ได้น้อย ข้อเสียที่สำคัญที่สุดของวัคซีนชนิดนี้ก็คือ หากเลือกใช้ชนิดของไวรัสสำหรับผลิตวัคซีนเป็นชนิดเดียวกับที่ระบาดในพื้นที่จะไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสัตว์ที่ติดโรคตามธรรมชาติกับสัตว์ที่ทำวัคซีนได้ จึงทำให้นักระบาดวิทยาสืบสวนและติดตามโรคได้ยากขึ้น (Suarez, 2000b; Fuchs, 2009)

2) วัคซีนชนิดตัดต่อยีนเข้าสู่เชื้อพาหะ(Vectored recombinant vaccine) เป็นวัคซีนที่นำยีนเพียงชนิดเดียวมาใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มโรค ที่นิยมใช้จะเป็นชนิดที่มีการตัดต่อเข้ากับยีนของตัวพา (Vectored recombinant vaccine) ซึ่งตัวพาอาจจะเป็น แบคทีเรีย พลาสมิด หรือไวรัส สำหรับยีนของไวรัสไข้หวัดนกที่นำมาตัดต่อและสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีจะเป็นฮีมแมกกลูตินิน โดยทั่วไปที่มีการผลิตและใช้อย่างกว้างขวางจะเป็น Fowlpox Vector Recombinant Vaccines ซึ่งใช้ Fowlpox virus เป็นตัวพาฮีมแมกกลูตินินของไวรัสไข้หวัดนกเข้าไปกระตุ้นภูมิคุ้มกัน วัคซีนชนิดนี้ได้รับการอนุญาตและประสบความสำเร็จในการใช้ที่สหรัฐอเมริกา เม็กซิโกและอีกหลายประเทศ (Beard, 2000; Suarez, 2000a; 2005) ข้อดีของวัคซีนชนิดนี้ คือ สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสัตว์ที่ติดเชื้อโดยธรรมชาติกับสัตว์ที่ติดเชื้อโดยการทำวัคซีนได้ แต่ข้อเสียของวัคซีนชนิดนี้ก็คือ หากสัตว์เคยติดเชื้อที่ใช้เป็นตัวพาหะมาก่อน เช่น Fowlpox จะทำให้การป้องกันไข้หวัดนกใช้ไม่ได้ผลไปด้วย(Suarez and Schultz-Cherry, 2000)

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคใหม่สำหรับการทำวัคซีนนั่นคือ DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) เทคนิคนี้จะช่วยให้สามารถแยกแยะระหว่างสัตว์ที่ติดเชื้อโดยธรรมชาติกับสัตว์ที่ติดเชื้อโดยการทำวัคซีนได้ (Capua et al., 2004) โดยประเทศอิตาลีเคยใช้และประสบความสำเร็จในการควบคุมการระบาดของไข้หวัดนกสายพันธุ์ H7N1 โดยใช้วัคซีนเชื้อตาย (Whole inactivated virus Vaccines) ที่ผลิตจากเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H7N3 แต่ข้อจำกัดของวิธีนี้คือ วัคซีนต่อการระบาดที่มีความสอดคล้องกันของฮีมแมกกลูตินินและนิวรามินิเดสมีอยู่น้อย และจากการทดลองพบว่า เชื้อไข้หวัดนกที่มีฮีมแมกกลูตินิน เหมือนกันสามารถนำไปทำเป็นวัคซีนได้ แต่จากการใช้จริงพบว่าประสิทธิภาพของการใช้ลดลงกว่าเดิม เมื่อมีการใช้กับเชื้อที่มีฮีมแมกกลูตินินเหมือนกันแต่นิวรามินิเดสต่างกัน เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงมีการใช้ระบบ Reverse Genetics เข้ามาช่วยในการคัดเลือกฮีมแมกกลูตินินและนิวรามินิเดส ที่เหมาะสมในการทำวัคซีนให้มีประสิทธิภาพสูงสุด และในอนาคตคาดว่า วัคซีนชนิดนี้จะถูกนำไปใช้ในการควบคุมการระบาดมากขึ้น (Capua et al., 2004; Lee et al., 2004)

การใช้วัคซีนในสัตว์ปีกกับการกลายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดนก

เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าการใช้วัคซีนไข้หวัดนกในสัตว์ปีก จะทำให้สัตว์ไม่แสดงอาการของโรค แต่เมื่อสัตว์ได้รับเชื้อ เชื้อดังกล่าวก็ยังสามารถที่จะติดและแฝงอยู่ในสัตว์ปีกนั้น และถ้าสัตว์ได้รับเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์อื่นร่วมด้วย ก็อาจจะทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมระหว่างกัน อันจะนำไปสู่การกลายพันธุ์ของเชื้อต่อไปได้

ตั้งแต่ปี 2004 ถึง 2008 ประเทศจีนได้มีการใช้วัคซีนชนิด Whole-virus inactivated vaccine Recombinant fowlpox vaccine และ Recombinant Newcastle disease virus vaccine ไปกว่า 55,000 ล้านโด้ส เพื่อควบคุมการระบาดของเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ร่วมกับการทำลายสัตว์ปีกในพื้นที่เกิดโรค มาตรการดังกล่าวสามารถทำให้อุบัติการณ์ของติดเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในสัตว์ปีกเลี้ยง จำนวนไวรัสในสิ่งแวดล้อมและจำนวนคนป่วยจากการติดเชื้อชนิดนี้ลดลง แต่ปัญหาหนึ่งก็คือ จีนจะยังไม่สามารถกำจัดเชื้อที่คงค้างอยู่ในสัตว์ปีกให้หมดไปได้จากการใช้มาตรการนี้ (Chen, 2009a; 2009b)

ประเทศอิตาลีได้นำวัคซีนแบบ DIVA มาใช้ในการควบคุมการระบาดของเชื้อไข้หวัดนกตั้งแต่ปี 2000 และมีการใช้อีกหลายครั้งจนถึงเดือนมีนาคม 2008 จนทำให้สามารถกำจัด (eradicate) เชื้อไข้หวัดนกแบบความรุนแรงต่ำ (low pathogenic) สายพันธุ์ H7N1 H7N3 และ H5N2 ออกไปจากประเทศได้ ประเทศอิตาลียังเป็นประเทศแรกที่มีการใช้โปรแกรมวัคซีนร่วม H5/H7 (bivalent H5/H7 prophylactic vaccination program) แต่ได้หยุดไปในเดือนธันวาคม 2006 นอกจากนี้ ประเทศฝรั่งเศสและเนเธอร์แลนด์เป็นอีกสองประเทศในยุโรปที่มีการนำวัคซีนไข้หวัดนกมาใช้ เนื่องจากมีการระบาดของเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในยุโรปในปี 2005 และ2006 แต่เน้นกลุ่มประชากรเป้าหมายต่างจาก

ของประเทศอิตาลีและทำในระยะเวลาอันสั้น จากข้อมูลการใช้วัคซีนไข้หวัดนกในประเทศอิตาลีเป็นเวลา 6 ปี ตั้งแต่ปี 2000 ถึงปี 2006 แสดงให้เห็นว่า การใช้วัคซีนต่อเชื้อไข้หวัดนกเป็นมาตรการที่ดีในการควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อ และประเทศอิตาลีได้ใช้มาตรการนี้อย่างยืดหยุ่นจึงทำให้การค้าระหว่างประเทศยังคงดำเนินไปได้ (Marangon et al., 2004; Capua and Marangon, 2007; Capua et al., 2009)

อย่างไรก็ตาม ประเทศเม็กซิโกได้มีการใช้วัคซีนต่อเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N2 เป็นเวลานาน 7 ปีติดต่อกัน แล้วทำให้เชื้อเกิดการกลายพันธุ์แบบ Antigenic Drift แม้ว่าวัคซีนยังคงสามารถป้องกันการเกิดโรคได้ แต่ไม่สามารถป้องกันการแพร่เชื้อได้อย่างสมบูรณ์ ทำให้ยังคงมีการระบาดทั้งในประเทศเม็กซิโกเอง รวมทั้งประเทศเพื่อนบ้าน คือ กัวเตมาลาและเอลซาวาดอร์ (Normile, 2004)

จะเห็นได้ว่าการใช้วัคซีนในสัตว์ปีกสามารถควบคุมการระบาดได้ แต่ก็เป็นปัจจัยโน้มนำให้เกิดการกลายพันธุ์เพื่อหลบเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ได้เช่นกัน ซึ่งจะต้องใช้ระยะเวลาในการเฝ้าระวังและติดตามการกลายพันธุ์ จากการศึกษาการใช้วัคซีนระดับมหภาค (Massive Vaccination) โดยไม่มีมาตรการอื่นในการควบคุม มีโอกาสทำให้เชื้ออยู่ในสัตว์ปีกได้เป็นจำนวนมากและนานขึ้น เป็นผลทำให้โอกาสในการกลายพันธุ์จนถึงขั้นเกิดการระบาดในวงกว้างมีมากขึ้น และอาจเกิดการระบาดข้ามมายังมนุษย์ได้ (Lee et al., 2004)

บทสรุปและแนวทางในการใช้วัคซีนเพื่อลดโอกาสเกิดการระบาดข้ามไปยังมนุษย์

การทำลายสัตว์ป่วยโดยขีดวงรอบการระบาด นับว่าเป็นวิธีที่ช่วยในการควบคุมการระบาดที่ดี ซึ่งการทำลายสัตว์ป่วยในสถานการณ์การระบาดแบบจำกัดพื้นที่ อาจจะเป็นตัวเลือกที่ดีกว่าการใช้วัคซีน (มรกตและอ้อมใจ 2548) แต่เนื่องจากจะทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นจำนวนมาก หลายประเทศจึงตัดสินใจใช้วัคซีนในสัตว์ปีก และเป็นที่น่าสังเกตว่า แม้วัคซีนจะป้องกันการเกิดโรคได้ แต่การระบาดครั้งใหม่ก็ยังคงเกิดขึ้นอยู่ (Suarez and Schultz-Cherry, 2000) ทั้งนี้น่าจะมาจากการที่ตัวเชื้อไข้หวัดนกมีความสามารถในการกลายพันธุ์ได้ตลอดเวลา ดังนั้นถ้าจำเป็นจะต้องใช้วัคซีนจะต้องมีมาตรการการติดตามการกลายพันธุ์ การเฝ้าระวัง และเลือกใช้วัคซีนที่ตรงกับสายพันธุ์ที่ระบาดอยู่ เพราะวัคซีนแต่ละชนิดไม่สามารถป้องกันการเกิดโรคข้ามสายพันธุ์ได้ เพื่อลดโอกาสการแพร่เชื้อ และการระบาดข้ามมายังมนุษย์ (Monto, 2005; Bruschke et al., 2009) วัคซีนที่มีประสิทธิภาพที่สุดในปัจจุบัน คือ วัคซีนที่เกิดจากระบบ Reverse Genetics ซึ่งสามารถทำให้ได้วัคซีนต่อสายพันธุ์ที่ระบาดอย่างทันท่วงที โดยจะมีการพัฒนาเพื่อให้ราคาถูกลงและใช้ในการควบคุมการระบาดต่อไป(Swayne, 2003) การทำวัคซีนอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการควบคุมการระบาดและการกลายพันธุ์ จะต้องอาศัยการทำลายสัตว์ป่วย การใช้หลักของความปลอดภัยทางชีวภาพร่วมด้วย (Takada et al., 1999; Frame, 2000) ซึ่งได้แก่ ระบบการป้องกันและควบคุมโรคในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ที่มีประสิทธิภาพเป็นที่ยอมรับอย่างสากล สามารถป้องกันมิให้เชื้อโรคโดยเฉพาะเชื้อไข้หวัดนกจากภายนอกฟาร์มที่อาจติดมายังคน สัตว์ สิ่งของ และอุปกรณ์ต่างๆ ตลอดจนยานพาหนะ แพร่เข้าสู่ในฟาร์มได้ (ปานเทพและกำลัง 2548) ในการจัดการกับเชื้อไข้หวัดนกโดยอาศัยหลักดังกล่าว มีหลักในการปฏิบัติ 2 ข้อด้วยกัน คือ การป้องกันการติดเชื้อ และการควบคุมการแพร่กระจายเชื้อจากที่หนึ่งสู่อีกที่หนึ่ง ส่วนเรื่องของการควบคุมการแพร่กระจายเชื้อ มีหลักปฏิบัติ 3 ข้อ คือ ประการแรก การสร้างความรู้ความเข้าใจต่อผู้ที่เลี้ยงสัตว์ปีกเกี่ยวกับการควบคุมและการป้องกันการระบาดของไข้หวัดนก ประการที่สอง ต้องมีการเฝ้าระวังและติดตามการกลายพันธุ์ของเชื้ออยู่เสมอ และประการสุดท้าย ต้องสร้างความเข้าใจต่อผู้เลี้ยงสัตว์ปีกว่าจะต้องทำอย่างไรบ้างเมื่อเกิดการระบาดขึ้น (Halvorson, 2000) โดยสรุปการใช้วัคซีนในสัตว์ปีกจะต้องกระทำร่วมกับมาตรการควบคุมอื่นๆ ที่กล่าวมาแล้ว จึงจะช่วยป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคไข้หวัดนกได้ นอกจากนี้ยังเป็นการลดโอกาสในการเกิดการกลายพันธุ์ข้ามมายังมนุษย์ด้วย

เอกสารอ้างอิง

ปานเทพ รัตนากร กำลัง ชุมพลบัญชร (2548) ระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ(Biosecurity). คู่มือชาวบ้านและเกษตรกรเพื่อพลิกโฉมการเลี้ยงไก่เพื่อสู้ภัยไข้หวัดนกด้วยระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ : 9-16.

มรกต ตันเจริญ อ้อมใจ ไทรงาม (2548) บทที่ 5 วัคซีนไข้หวัดนก. หนังสือเพื่อความรู้ความเข้าใจเรื่องไข้หวัดนก : "ไข้หวัดนก"โรคอุบัติใหม่บนโลกใบเก่า: 35-40

Alexander, D. J. (2000). How dangerous are avian influenza viruses for humans? World Poultry, 16(11). 11-12.

Arriola, J. M. (2000). The Mexican experience. World Poultry, 16(11). 23-24.

Beard, C. (2000). Vaccination can help to control AI. World Poultry, 16(11). 18-19.

Bennink, J. R. and Palmore, T. N. (2004). The promise of siRNAs for the treatment of influenza. Trends Mol Med, 10(12). 571-574.

Bruschke, C. J., Pittman, M., Laddomada, A. (2009). International regulations and standards for avian influenza, including the vaccine standards of the World Organisation for Animal Health. Rev Sci Tech, 28(1). 379-389.

Capua, I., Cattoli, G. and Marangon, S. (2004). DIVA—a vaccination strategy enabling the detection of field exposure to avian influenza. Dev Biol (Basel), 119. 229-233.

Capua, I. and Marangon, S. (2003). Vaccination policy applied for the control of avian influenza in Italy. Dev Biol (Basel), 114. 213-219.

Capua, I. and Marangon, S. (2007). The use of vaccination to combat multiple introductions of Notifiable Avian Influenza viruses of the H5 and H7 subtypes between 2000 and 2006 in Italy. Vaccine, 25(27). 4987-4995.

Capua, I., Schmitz, A., Jestin, V., Koch, G., Marangon, S. (2009). Vaccination as a tool to combat introductions of notifiable avian influenza viruses in Europe, 2000 to 2006. Rev Sci Tech, 28(1). 245-259.

Chen, H. (2009a). Avian influenza vaccination: the experience in China. Rev Sci Tech, 28(1). 267-274.

Chen, H. (2009b). H5N1 avian influenza in China. Sci China Ser C-Life Sci, 52(5). 419-427.

Enserink, M. (2003). Infectious diseases. Avian flu outbreak sets off alarm bells. Science, 300(5620). 718.

Enserink, M. and Kaiser, J. (2004). Virology. Avian flu finds new mammal hosts. Science, 305(5689). 1385.

Fernandez del Campo, J. A. (2004). [Present data on influenza virus isolated from ducks and chickens, and influenza virus C. Anti-influenza drugs]. An R Acad Nac Med (Madr), 121(2). 305-330.

Frame, D. (2000). H7N3 outbreak halted by vaccine. World Poultry, 16(11). 20.

Fuchs, W., Romer-Oberdorfer, A., Veits, J., Mettenleiter, T. C. (2009). Novel avian influenza virus vaccines. Rev Sci Tech, 28(1). 319-332.

Gibbs, M.J. and Gibbs, A.J. (2006). Molecular virology: was the 1918 pandemic caused by a bird flu? Nature. 440(7088):E8; discussion E9-10.

Hatta, M. And Kawaoka, Y. (2002). The continued pandemic threat posed by avian influenza viruses in Hong Kong. Trends Microbiol. 10(7). 340-344

Halvorson, D. A. (2000). The importance of biosecurity. World Poultry, 16(11). 26-27.

Hollenbeck, J. E. (2005). An Avian Connection as a Catalyst to the 1918-1919 Influenza Pandemic. Int J Med Sci, 2(2). 87-90.

Horimoto, T. and Kawaoka, Y. (2005). Influenza: lessons from past pandemics, warnings from current incidents. Nat Rev Microbiol, 3(8). 591-600.

Joseph, T. and Subbarao, K. (2005). Human infections with avian influenza viruses. Md Med, 6(1). 30-32.

Kaye, D. and Pringle, C. R. (2005). Avian influenza viruses and their implication for human health. Clin Infect Dis, 40(1). 108-112.

Lee, C. W., Senne, D. A. and Suarez, D. L. (2004). Generation of reassortant influenza vaccines by reverse genetics that allows utilization of a DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals)

strategy for the control of avian influenza. Vaccine, 22(23-24). 3175-3181.

Malik Peiris, J. S. (2009). Avian influenza viruses in humans. Rev Sci Tech, 28(1). 161-173.

Marangon, S., Capua, I., Pozza, G., Santucci, U. (2004). Field experiences in the control of avian influenza outbreaks in densely populated poultry areas. Dev Biol (Basel), 119. 155-164.

Monto, A. S. (2005). The threat of an avian influenza pandemic. N Engl J Med, 352(4). 323-325.

Nicolson, C., Major, D., Wood, J. M. and Robertson, J. S. (2005). Generation of influenza vaccine viruses on Vero cells by reverse genetics: an H5N1 candidate vaccine strain produced under a quality system. Vaccine, 23(22). 2943-2952.

Normile, D. (2004). Influenza: girding for disaster. Vaccinating birds may help to curtail virus's spread. Science, 306(5695). 398-399.

Perdue, M. L. (2000). How can a virus suddenly become very pathogenic? World Poultry, 16(11). 9-10.

Quirk, M. (2005). Avian influenza vaccine clinical trial begins in USA. Lancet Infect Dis, 5(5). 266.

Reid, A. H., Fanning, T. G., Janczewski, T. A., Lourens, R. M. and Taubenberger, J. K. (2004). Novel origin of the 1918 pandemic influenza virus nucleoprotein gene. J Virol, 78(22). 12462-12470.

Reid, A. H. and Taubenberger, J. K. (2003). The origin of the 1918 pandemic influenza virus: a continuing enigma. J Gen Virol, 84. 2285-2292.

Saito, T., Lim, W. and Tashiro, M. (2004). Attenuation of a human H9N2 influenza virus in mammalian host by reassortment with an avian influenza virus. Arch Virol, 149(7). 1397-1407.

Schwartz, B. and Gellin, B. (2005). Vaccination strategies for an influenza pandemic. J Infect Dis, 191(8). 1207-1209.

Siengsanan, J., Chaichoune, K., Phonaknguen, R., Sariya, L., Prompiram, P., Kocharin, W., Tangsudjai, S., Suwanpukdee, S., Wiriyarat, W., Pattanarangsan, R., Robertson, I., Blacksell, S. D., Ratanakorn, P. (2009). Comparison of outbreaks of h5n1 highly pathogenic avian influenza in wild birds and poultry in Thailand. J Wildl Dis, 45(3). 740-747.

Simmerman, J. M., Thawatsupha, P., Kingnate, D., Fukuda, K., Chaising, A. and Dowell, S. F. (2004). Influenza in Thailand: a case study for middle income countries. Vaccine, 23(2). 182-187.

Sluis, W. v. d. (2000). AI in Shouthern Asia and the Middle East. World Poultry, 16(11). 25.

Smirnov, Y. A., Gitelman, A. K., Govorkova, E. A., Lipatov, A. S. and Kaverin, N. V. (2004). Influenza H5 virus escape mutants: immune protection and antibody production in mice. Virus Res, 99(2). 205-208.

Stephenson, I., Nicholson, K. G., Wood, J. M., Zambon, M. C. and Katz, J. M. (2004). Confronting the avian influenza threat: vaccine development for a potential pandemic. Lancet Infect Dis, 4(8). 499-509.

Stephenson, I. and Zambon, M. (2002). The epidemiology of influenza. Occup Med (Lond), 52(5). 241-247.

Stohr, K. (2005). Avian influenza and pandemics—research needs and opportunities. N Engl J Med, 352(4). 405-407.

Suarez, D. L. (2000a). Bright future for AI vaccines. World Poultry, 16(11). 16.

Suarez, D. L. (2000b). Evolution of avian influenza viruses. Vet Microbiol, 74(1-2). 15-27.

Suarez, D.L. (2005). Overview of avian influenza DIVA test strategies. Biologicals, 33. 221-226.

Suarez, D. L. and Schultz-Cherry, S. (2000). Immunology of avian influenza virus: a review. Dev Comp Immunol, 24(2-3). 269-283.

Swayne, D. E. (2000). Avian influenza : the virus and the disease. World Poultry, 16(11). 4-6.

Swayne, D. E. (2003). Vaccines for List A poultry diseases: emphasis on avian influenza. Dev Biol (Basel), 114. 201-212.

Swayne, D. E. and Halvorson, D. A. (2003). Influenza, 11th Edition Disease of Poultry (pp. 135-153). Iowa: A Black well Publishing Company.

Swayne, D. E., Perdue, M. L., Beck, J. R., Garcia, M. and Suarez, D. L. (2000). Vaccines protect chickens against H5 highly pathogenic avian influenza in the face of genetic changes in field viruses over multiple years. Vet Microbiol, 74(1-2). 165-172.

Takada, A., Kuboki, N., Okazaki, K., Ninomiya, A., Tanaka, H., Ozaki, H., Itamura, S., Nishimura, H., Enami, M., Tashiro, M., Shortridge, K. F. and Kida, H. (1999). Avirulent Avian influenza virus as a vaccine strain against a potential human pandemic. J Virol, 73(10). 8303-8307.

Taubenberger, J.K., Reid, A.H., Lourens, R.M., Wang, R., Jim, G., Fanning, T.G. (2005). Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. Nature 437, 889-893.

Tumpey, T. M., Alvarez, R., Swayne, D. E. and Suarez, D. L. (2005). Diagnostic approach for differentiating infected from vaccinated poultry on the basis of antibodies to NS1, the nonstructural protein of influenza A virus. J Clin Microbiol, 43(2). 676-683.

Ungchusak, K., Auewarakul, P., Dowell, S. F., Kitphati, R., Auwanit, W., Puthavathana, P., Uiprasertkul, M., Boonnak, K., Pittayawonganon, C., Cox, N. J., Zaki, S. R., Thawatsupha, P., Chittaganpitch, M., Khontong, R., Simmerman, J. M. and Chunsutthiwat, S. (2005). Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). N Engl J Med, 352(4). 333-340.

Vana G and Westover KM. (2008). Origin of the 1918 Spanish influenza virus: a comparative genomic analysis. Mol Phylogen Evol, 47(3). 1100-1110.

Webster, R. G. and Hulse, D. J. (2004). Microbial adaptation and change: avian influenza. Rev Sci Tech, 23(2). 453-465.

Weir, E., Wong, T. and Gemmill, I. (2004). Avian influenza outbreak: update. Cmaj, 170(5). 785-786.

Williams, J. R., Chen, P. Y., Cho, C. T. and Chin, T. D. (2002). Influenza: prospect for prevention and control. Kaohsiung J Med Sci, 18(9). 421-434.

Wuethrich, B. (2003). Infectious disease. An avian flu jumps to people. Science, 299(5612). 1504.

Zeitlin, G. A. and Maslow, M. J. (2005). Avian Influenza. Curr Infect Dis Rep, 7(3). 193-199.

Zeng, Y. B., Jiao, X. A., Pan, Z. M., Huang, J. L., Zhang, P. H., Zhang, S. H., Sun, Q. Y. and Liu, X. F. (2004). Preparation and characterization of monoclonal antibodies against the hemagglutinin of H9 subtype of avian influenza virus. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi, 20(6). 702-704.

Zhou, J. Y., Shen, H. G., Chen, H. X., Tong, G. Z., Liao, M., Yang, H. C., Liu, J. X. (2006). Characterization of a highly pathogenic H5N1 influenza virus derived from bar-headed geese in China. J Gen Virol, 87(Pt7).1823-1833.