บทสรุป

ช้างเอเชียเป็นสัตว์กินพืชขนาดใหญ่ ถูกจัดอยู่ในสัตว์ป่าใกล้สูญพันธุ์ อนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งชนิดสัตว์ป่าและพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ กลุ่มที่ ๑ (CITES) มีถิ่นที่อยู่อาศัยใน ๑๓ ประเทศของทวีปเอเชีย ปัจจุบันมีช้างป่าราวๆ ๔๐,๐๐๐ - ๕๐,๐๐๐ ตัว และมีช้างเลี้ยงอยู่กับมนุษย์ประมาณ ๑๓,๐๐๐ เชือก ทั้งนี้มีช้างเอเชียอีกอย่างน้อย ๑,๗๐๐ เชือกที่เลี้ยงอยู่นอกถิ่น เช่น อเมริกา ยุโรป ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น เป็นต้น ในปัจจุบันช้างประสบปัญหาจำนวนพื้นที่ป่าที่อยู่อาศัยลดน้อยลง ถูกบุกรุกถิ่นที่อยู่อาศัย ทำให้ช้างในป่าต้องใช้พื้นที่ร่วมกับสัตว์ป่าอื่นๆ ปศุสัตว์ และมนุษย์ ซึ่งมีแนวโน้มที่เกิดความขัดแย้งกันระหว่างคนกับช้างสูงมากขึ้น และยิ่งไปกว่านั้นยังเกิดปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพ โรคติดต่อต่างๆ อันเนื่องมาจากความเป็นอยู่ที่ไม่เหมาะสม จนส่งผลต่อจำนวนประชากรช้างในที่สุด (Chapter 1) โรคติดเชื้อที่มีผลกระทบกับช้างได้แก่ วัณโรค ซึ่งเป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่คน และ โรคเฮอร์ปีส์ในช้าง ซึ่งตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาคร่าชีวิตลูกช้างเป็นจำนวนมาก (Chapter 2) โดยโรคต่างๆเหล่านี้ล้วนมีผลต่อเนื่องถึงเศรษฐกิจ การทำมาหากินของประชาชน คนเลี้ยงช้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการท่องเที่ยว

วิทยานิพนธ์นี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อการเฝ้าระวังและควบคุมโรคติดเชื้อ ทั้ง ๒ โรคนี้ โดยการปรับปรุงวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคและศึกษาปัจจัยความเสี่ยงที่ก่อให้เกิดโรค ทั้งนี้เคยมีรายงานการเกิดโรควัณโรคและเฮอร์ปีส์จากทั่วโลก ในช้างเลี้ยงและช้างป่า ซึ่งในส่วนของประเทศไทยที่คนเลี้ยงช้างกับช้างมีความใกล้ชิดกันจึงมีโอกาสและความเสี่ยงที่จะเกิดการติดต่อกันระหว่างคนกับช้างโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อวัณโรค ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องพัฒนาการตรวจวินิจฉัยโรคที่สามารถตรวจหาเชื้อได้ตั้งแต่ระยะแรกของการติดเชื้อและมีความถูกต้อง แม่นยำอีกด้วย ซึ่งจากการศึกษา (Chapter 3) พบว่ามีช้าง ๔ เชือกที่แสดงอาการของโรควัณโรค โดยพบว่าช้าง ๓ เชือกให้ผลบวกต่อชุดตรวจซีรั่มวิทยา (TB STAT Pak) หนึ่งในนั้นตรวจพบว่าให้ผลบวกก่อนที่จะตรวจพบเชื้อก่อโรค (เพาะเชื้อจากตัวอย่างที่เก็บผ่านน้ำล้างงวง) ถึง ๒๓ เดือน หากแต่ในช้างเชือกที่ ๔ ซึ่งแสดงอาการป่วยวัณโรคอย่างชัดเจน กลับให้ผลลบต่อชุดตรวจดังกล่าว ซึ่งตรวจจากซีรั่มช้างเชือกนี้เพียง ๗ วันก่อนที่ช้างจะเสียชีวิตในเวลาต่อมา ช้างทั้งหมดนี้ได้รับการตรวจและเพาะเชื้อยืนยันผลทางชีวโมเลกุล (PCR) โดย ๓ เชือกเก็บตัวอย่างจากการผ่าซาก ส่วนอีก ๑ เชือกเก็บตัวอย่างจากการเก็บน้ำล้างงวง (ให้ผลบวก ๒ จาก ๖๐ ตัวอย่าง) ซึ่งช้างเชือกนี้ได้รับการดูแลจำกัดพื้นที่ภายหลังจากให้ยาปฏิชีวนะเพื่อรักษาแต่ไม่สัมฤทธิ์ผลต้องหยุดการให้ยาเนื่องจากช้างแสดงอาการปฏิเสธยา ซึม เหม่อลอย เบื่ออาหาร และเดินโซเซ รวมทั้งปัญหาการทำงานของตับและไตจากการตรวจทางเคมีชีววิทยา

ผลจากการตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลของเชื้อ *M. tuberculosis* ที่ตรวจได้จากช้างทั้ง ๔ เชือก สามารถจำแนกชนิดย่อยของเชื้อด้วยการดู *M. tuberculosis* specific deletion (TbD1) พบว่ามี ๑ เชือกเป็น ancient strains และมี ๓ เชือกเป็น modern strains ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับ *M. tuberculosis* ATCC 2794 เช่น Beijing, Haarlem and African *M. tuberculosis* cluster เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าแหล่งของการติดเชื้อของช้างทั้ง ๓ เชือกที่เป็น modern strains นั้น มาจากแหล่งที่มาที่แตกต่างกัน จากการวิเคราะห์ typing ของ ETR-A gene ด้วยการใช้ Mycobacterial interspersed, repetitive unit variable-number tandem-repeat

/แม้ว่า...

แม้ว่าจะยังมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อวัณโรคในช้างไม่มากนัก อย่างไรก็ตามเราสามารถใช้ฐานความรู้จากการศึกษาการตรวจวินิจฉัยและกระบวนการเกิดโรคในมนุษย์ ไพรเมต และสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ (Chapter 4) ซึ่งการตรวจระดับของไซโตไคที่ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนของ *M. tuberculosis* ได้แก่ interferon gamma (IFN-γ) สามารถใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคในระยะแรกของการติดเชื้อได้ เราเริ่มต้นงานวิจัยจากการโคลน recombinant Elephant IFN-γ (rEpIFN-γ) และผลิตแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อ IFN-γ ของช้างขึ้นมา จากนั้นจึงออกแบบและตรวจวัดหาแอนติบอดี้ที่ดีที่สุดด้วยวิธีการตรวจ capture ELISA จากการทำไตเตรตพบว่าสามารถตรวจวัดระดับ rEpIFN-γ ได้ระหว่าง ๑-๑๐,๐๐๐ พิโคกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังสามารถตรวจ native elephant IFN-γ ที่อยู่ในเลือดช้างเอเชียและช้างแอฟริกาได้อีกด้วย

ในเลือดช้างที่นำมากระตุ้น ประกอบด้วย ที-เซลที่สัมผัสกับ positive control และ negative control ,แอนติเจนจำเพาะของ *M .Tuberculosis* ได้แก่ ESAT-6, CFP-10, MPB-83 รวมทั้ง PPD-B และ PPD-A ซึ่ง native elephant IFN-γ ที่ได้จากการกระตุ้นจะอยู่ใน culture supernatants และตรวจวัดระดับด้วยวิธี capture ELISA (Chapter 4) จากการศึกษาในเลือดของกลุ่มช้างที่ปกติ (non infected) หลังจากที่กระตุ้นด้วย ESAT-6/CFP-10, PPD-B และ PPD-A ให้ผลลบเช่นเดียวกับกลุ่มช้างที่สงสัยว่าเคยสัมผัสเชื้อ (suspected) สำหรับกลุ่มช้างที่ติดเชื้อ (infected) ให้ผลบวกคือตรวจพบ elephant IFN-γ ในทุกแอนติเจนที่กระตุ้น รวมทั้ง PPD-A ที่ใช้เป็นตัวควบคุมลบสำหรับเชื้อที่อาจพบได้ในสิ่งแวดล้อม หากแต่มีระดับต่ำกว่าแอนติเจนอื่นๆ

เพื่อให้การตรวจวินิจฉัยวัณโรคในช้างครอบคลุมและนำไปใช้ได้ในทุกระยะของการติดเชื้อ เนื่องจากการตรวจวัดระดับ IFN-γ มีความยุ่งยากเกี่ยวกับการเก็บตัวอย่างและอาจยังไม่เหมาะสมสำหรับประเทศไทย เราจึงพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยวัณโรคช้างในช่วงระยะถัดมาของการติดเชื้อ ซึ่งสามารถติดตามพัฒนาการของโรค รวมทั้งอาการของโรคได้ ด้วยการใช้แอนติเจนที่จำเพาะต่อ *M .Tuberculosis* ประกอบด้วย ESAT-6, CFP-10 และ MPB-83 ตรวจด้วยวิธี ELISA รวมทั้งนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจทางซีรั่มวิทยาอื่นๆ ได้แก่ TB Stat Pak เพื่อมาวิเคราะห์หาปัจจัยการเกิดโรค (Chapter 5) ผลการตรวจ ELISA จากซีรั่มช้าง ๗๐๘ เชือก นำไปวิเคราะห์ Latent Class Analysis (LCA) เพื่อประเมินสถานะการติดเชื้อซึ่งขึ้นอยู่กับเมื่อเทียบระหว่างประชากรต่อรายตัว พบว่ากลุ่มให้ผลบวกร้อยละ ๑๕-๑๗.๓, ผลลบร้อยละ ๓๔-๓๕ และให้ผลระหว่างบวก/ลบร้อยละ ๔๘.๗-๕๐

ค่าความสัมพันธ์ระหว่างแอนติเจนของ ELISA มีความสัมพันธ์กันสูงแต่ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับวิธี TB Stat Pak และ ในการหาปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรควัณโรคในช้าง ได้กำหนดตามพื้นฐานด้านประชากรศาสตร์ของช้างได้แก่ เพศ, ความสมบูรณ์ของร่างกาย, อายุ, ระยะเวลาการทำงาน, การให้อาหาร, ระบบการเลี้ยง, ขนาดของปาง และ ภูมิภาคที่ช้างอยู่ ทั้งนี้ได้กำหนดค่า cut off จาก การวิเคราะห์ ROC ผลการวิเคราะห์พบว่าช้างที่มีอายุมากมีโอกาสเสี่ยงมากกว่าช้างอายุน้อยในการแสดงผลบวกต่อวัณโรค, ช้างที่ทำงาน ๗ ชั่วโมงต่อวันและช้างที่มีความสมบูรณ์ของร่างกายที่ดี (๗-๑๑) มีความเสี่ยงน้อยกว่าที่จะแสดงผลบวกต่อวัณโรค, ช้างที่อยู่บนปางช้างขนาดประชากร ๓๑-๕๐ เชือกมีความเสี่ยงต่อโรคมากกว่าปางช้างอื่นๆ

/นอกจากนี้...

นอกจากนี้ยังพบว่าช้างในภาคตะวันตกมีความเสี่ยงต่อโรคสูงกว่าภูมิภาคอื่นๆในประเทศ โดยพบว่าช้างในภาคเหนือมีความเสี่ยงต่ำที่สุด

วิธีการตรวจวินิจฉัยวัณโรคในช้างทั้งสองวิธียังจำเป็นต้องพัฒนาเพื่อให้สามารถนำไปใช้ในทางปฏิบัติได้ ทั้งนี้การผสมผสานการตรวจทั้งสองอย่างเข้าด้วยจะช่วยให้การตรวจวินิจฉัยโรคมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตรวจเพื่อวินิจฉัยระหว่างช้างที่ติดเชื้อและไม่เชื้อเช่นเดียวกันกับการหาปัจจัยเสี่ยงที่เป็นแนวโน้มของการเกิดโรค

โรคเฮอร์ปีส์ (EEHV) ในช้าง (Chapter 6) ส่วนใหญ่ช้างที่ติดเชื้อมักเสียชีวิต และเชื่อกันว่าช้างที่รอดชีวิตมักเกิดจากภูมิคุ้มกันจากแม่ที่ยังเหลืออยู่ ทำให้ป้องกันการติดเชื้อทุติยภูมิได้ การวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาหาความชุก (prevalence) ของโรค EEHV จากตัวอย่างซีรั่มช้างจำนวน ๙๙๔ เชือกในช่วงเวลาหนึ่ง โดยใช้แอนติเจน EEHV1 glycoprotein B ในการตรวจด้วยวิธี ELISA พบว่า ให้ผลบวกร้อยละ ๔๒.๓ และผลลบร้อยละ ๕๗.๗ โดยกำหนดว่า ช้างที่ให้ผลบวก จะต้องมีผลตรวจ ELISA เป็นบวกอย่างน้อย ๑ ความเข้มข้นในความเข้มข้น ๑:๑๐๐ และ ๑:๒๐๐

ผลตรวจ ELISA ที่ได้ นำไปวิเคราะห์เพื่อหาปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดโรค EEHV ในช้าง ซึ่งปัจจัยที่ใช้ในการวิเคราะห์ประกอบด้วย อายุ (น้อยกว่า ๑๑ ปี, ๑๑-๕๐ ปี, มากกว่า ๕๐ ปี), เพศ, จำนวนช้างในแต่ละพื้นที่ ที่อยู่อาศัย (น้อยกว่า ๑๐ เชือก, ๑๐-๕๐ เชือก, มากกว่า ๕๐ เชือก), ระบบการเลี้ยง (เลี้ยงแบบปิด และ เลี้ยงแบบปล่อย), ช่วงเวลาเก็บตัวอย่าง (ฤดูฝน และ ฤดูแล้ง) และ ภูมิภาคที่ช้างอยู่ (ภาคกลาง, ตะวันออก, เหนือ, ตะวันออกเฉียงเหนือ, ใต้, ตะวันตก) ทุกปัจจัยนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี univariable regression model พบว่า มีเพียง ๒ ปัจจัยที่เป็นปัจจัยเสี่ยงคือ ระบบการเลี้ยงช้างแบบเปิดมีความเสี่ยงต่อโรค และ ช้างในภาคเหนือมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคสูงกว่าภูมิภาคอื่นๆ โดยภาคกลาง, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออกมีความเสี่ยงน้อยที่สุด สำหรับการวิเคราะห์ใน multivariable regression model พบว่าภูมิภาคเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อโรคเพียงปัจจัยเดียว และให้ผลเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ univariable regression model

ในท้ายที่สุด เป้าหมายของการศึกษาในวิทยานิพนธ์นี้คือการศึกษาพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรควัณโรค และ เฮอร์ปีส์ในช้างเพื่อที่จะเฝ้าระวังและควบคุมโรคดังกล่าวให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งศึกษาหาปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดโรค ซึ่งผลงานดังกล่าวได้แสดงให้เห็นว่าวัณโรคในช้างไทยเกิดจากเชื้อ *M. tuberculosis* หลากหลายสายพันธุ์ย่อย การป้องกัน หรือแม้แต่ลดการเกิดโรค การติดต่อกันระหว่างคนกับช้าง เครื่องมือที่ใช้ตรวจวินิจฉัยโรคที่มีประสิทธิภาพเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งยวด รวมไปถึงการตรวจระดับไซโตไค IFN-γ ที่ได้รับการพัฒนาให้มีความไวจนสามารถตรวจวินิจฉัยโรคได้ หากแต่การนำไปใช้ในทางปฏิบัติจำเป็นต้องปรับปรุง โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณภาพของตัวอย่าง ดังนั้นการยกระดับ พัฒนาห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยวัณโรคช้างในระดับภูมิภาคของประเทศจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง สำหรับการตรวจวินิจฉัยวัณโรคทางซีรั่มวิทยายังคงต้องพัฒนาปรับปรุง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการวินิจฉัยแยกโรคระหว่างกลุ่มที่ให้ผลบวกกับกลุ่มที่ให้ผลก้ำกึ่งระหว่างบวกหรือลบ (inconclusive) ซึ่งมีความคาบเกี่ยวกันค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตามการผสมผสานวิธีการตรวจวินิจฉัยวัณโรคในช้างระหว่างทางซีรั่มวิทยาและการตรวจวัดระดับ IFN-γ สามารถช่วยให้การวินิจฉัยมีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น รวมถึงการนำข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคไปใช้ในการจัดการด้วยอีกทางหนึ่ง

/จากผลการ...

จากผลการศึกษาความชุกของโรค EEHV พบว่ามีอัตราค่อนข้างสูง ซึ่งถือว่าเป็นภัยคุกคามต่อประชากรช้างไทย โดยเฉพาะช้างทางภาคเหนือที่มีความเสี่ยงสูง จำเป็นต้องคำนึงถึงเรื่องการจัดการเกี่ยวกับการอยู่ด้วยกัน การสัมผัสกันของช้างในวัยเด็ก ดังนั้นการเฝ้าระวัง การติดตามการเกิดโรค ด้วยการตรวจทางซีรั่มวิทยา ชีวโมเลกุล และเก็บตัวอย่างสารคัดหลั่งต่างๆ เพื่อให้ทราบถึงกระบวนการเกิดโรคเป็นสิ่งที่พึงกระทำ รวมไปถึงการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคยังคงเป็นสิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

หวังว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะช่วยกระตุ้นให้ผู้เชี่ยวชาญ ผู้คนในวงการช้าง และ สาธารณชนทั่วไปได้ตระหนักถึงภัยคุกคามและให้ความสำคัญในการปกป้อง ดูแล รักษาให้รอดพ้นจากโรควัณโรค และโรคเฮอร์ปีส์ (EEHV) ที่เกิดขึ้นกับช้างในประเทศไทยของเราอยู่ทั้งในวันนี้และในอนาคตต่อไป

.....