รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

พรรณพิศ สุวรรณกล. 2004 (2547). ไข้หวัดใหญ่และไข้หวัดนก. สารราชวิทยาลัยอายุรแพทย์ฯ. 1: 21-34.

เพิ่มศักดิ์ ธนะวัง ชนิดา แย้มกลีบบัว กฤษณ์ก้อง ศรียันต์ รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช สว่าง เกษแดงสกล วุฒิ สุประดิษฐ์ หวังในธรรม และสันนิภา สุรทัตต์. 2004 (2547). การศึกษาปริมาณการสร้างอินเตอร์ลิวคิน 10 จากน้ำล้างปอดของสุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสพี อาร์ อาร์ เอส. เวชชสารสัตวแพทย์. 34(1): 29-38.

ภาวพันธ์ ภัทรโกศล. 2006 (2549). ไวรัสไข้หวัดใหญ่และไข้หวัดนก ใน: ภาวพันธ์ ภัทรโกศล และประเสริฐ เอื้อวรากุล บรรณาธิการ. ไข้หวัดใหญ่/ไข้หวัดนก.กรุงเทพมหานคร. บริษัท โนว์เลจด์ เพรส จำกัด. หน้า 13-21.

รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช. 2004 (2547). การตรวจทางเซลล์วิทยาของระบบทางเดินหายใจ ใน : รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช และสมพร เตชะงามสุวรรณ บรรณาธิการ. พยาธิวิทยาเฉพาะระบบทางสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร. หสน. ปอยท์ กราฟิค. หน้า 51-59.

อนุเทพ รังสีพิพัฒน์. 2004 (2547). พยาธิวิทยาระบบขับถ่ายปัสสาวะ ใน : รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช และสมพร เตชะงามสุวรรณ บรรณาธิการ. พยาธิวิทยาเฉพาะระบบทางสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร. หสน. ปอยท์ กราฟิค. หน้า 141-161.

อัจฉริยา ไศละสูต และคมกฤช เทียนคำ. 2002 (2545). พยาธิวิทยาภูมิคุ้มกัน ใน: อนุเทพ รังสีพิพัฒน์ บรรณาธิการ. พยาธิวิทยาทั่วไปทางสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร. หสน. ปอยท์ กราฟิค. หน้า 183-248.

อัจฉริยา ไศละสูต อนุเทพ รังสีพิพัฒน์ สมพร เตชะงามสุวรรณ เทอด เทศประทีป เล็ก อัศวพลังชัย สมลักษณ์ พวงชมภู รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช วิจิตร บรรลุนารา และสว่าง เกษแดงสกลวุฒิ. 2004 (2547). การชันสูตรซากสัตว์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร. หสน. ปอยท์ กราฟิค 304 หน้า.

ภาษาอังกฤษ

Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pober, J.S. 2000. Cellular and Molecular Immunology. 4th ed. Philadelphia, USA. W.B. Saunders company. 553.

Alexander, R., Hurt, A.C., Lamb, D., Wong, F.Y., Hampson, A.W. and Barr, I.G. 2005. A comparison of a rapid test for influenza with laboratory-based diagnosis in a paediatric population. CDI. 23(3): 272-276.

Choi, Y.K., Goyal, S.M., Kang, S.W., Farnham, M.W. and Joo, H.S. 2002. Detection and suptyping of swine influenza H1N1, H1N2 and H3N2 viruses in clinical samples using two multiplex RT-PCR assays. J. Virol. Methods. 102: 53-59.

Clavijo, A., Tresnan, B.D., Jolie, R. and Zhou, E. 2002. Comparison of embryonated chicken eggs with MDCK cell culture for the isolation of swine influenza virus. Can. J. Vet. Res. 66: 117-121.

Collins, J., Gramer, M. and Rossow, K. 2002. Diagnostic Method to Detect Swine Influenza Virus. Scientific Symposium on Swine Influenza.Proceeding, June 2nd, Iowa. 5-8.

Cross, K.J., Burleigh, L.M. and Steinhauer, D.A. 2001. Mechanisms of cell entry by influenza virus. Exp. Rev. Mol. Med. 6 August. [online] Available from: http//www-ermm.cbcu.cam.ac.uk.

Damrongwatanapokin, S., Parchariyanon, S. and Pinychon, W. 2003. Serological study of swine influenza virus H1N1 infection in pigs of Thailand. 4th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Disease-Rome June 29th-July 2nd . Rome. 261.

Damrongwatanapokin, S., Pinychon, W., Parchariyanon, S. and Damrongwatanapokin, T. 2006. Serological study and isolation of influenza A virus infection of pigs in Thailand. The 19th IPVS Congress. Proceeding, Copenhagen, Denmark. 2:09-16.

Dee, S.A. 2005. Respiratory Disease of Pigs. In :The Merck Veterinary Manual. 9th ed. Philadelphia, Pensylvania, USA. National Publishing Inc. 1228.

Easterday, B.C. and Van Reeth, K. 1999. Swine Influenza. In :Desease of Swine. 8th ed. B.E. Straw, S.D'Allaire, W.L. Mengeling and D.J. Taylor (ed). Iowa State Press, Ames, USA. 277-287.

Fouchier, R.A., Munster, V., Wallensten, A.,Bestebroer, T.M., Herfst, S., Smith, D., Rimmelzwaan, F.G., Olsen, B. and Osterhaus, A.D. 2005. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. J. Virol. 79:2814-2822.

Frederick, A., Murphy, E., Gibbs, P.J., Horzinek, M.C. and Studdert, M.J. 1999. Immune Response to Viral Infections. In: Veterinary virology. 3rd ed. Califonia, USA. 127-468.

Halbur, P.G., Paul, P.S., Frey, M.L., Landgraf, J., Eernisse, K., Meng, X.J., Lum, M.A., Andrews, J.J. and Rathje, J.A. 1995. Comparison of the pathogenicity of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. Vet. Pathol. 33(6): 648-660

Haller, O., Kochs, G. and Weber, F. 2006. The interferon response circuit: Induction and suppression by pathogenic viruses. Virology. 344: 119-130.

Heinen, P. 2003. Swine influenza : a zoonosis. Vet. Sci. Tomorrow (Serial online). [online] Available from: http//www.vetscite.org.

Herman, M., Haugerud, S., Malik, Y.S. and Goyal, S.M. 2005. Improved in vitro cultivation of swine influenza virus. Intern. J. Appl. Res. Vet. Med. 3(2): 124-128.

Jung, K., Ha, Y. and Chae, C. 2005. Pathogenesis of Swine Influenza Virus Subtype H1N2 Infection in Pigs. J. Comp. Path. 132: 179-184.

Jung, K. and Chae, C. 2006. Expression of Mx protein and interferon-α in pigs experimentally infected with swine influenza virus. Vet. Pathol. 43: 161-167.

Karasin, A.I., Olsen, C.W. and Anderson, G. 2000. Fast-Track Communication : Genetic Characterization of an H1N2 Influenza Virus Isolated from a Pig In Indiana. J. Clin. Microbiol. 38 (6): 2453-2456.

Karasin, A.I., Landgraf, J., Swenson, S., Erickson, G., Goyal, S., Woodruff, M., Scherba, G., Anderson, G. and Olsen, C.W. 2002. Genetic Characterization of H1N2 Influenza A Viruses Isolated from Pigs throughout the United States. J. Clin. Microbiol. 40 (3):1073-1079.

Kitikoon, P., Nilubol, D., Erickson, B.J., Janke, B.H., Hoover, T.C., Sornsen, S.A. and Thacker, E.L. 2006. The immune response and maternal antibody interference to a heterologous H1N1 swine influenza virus infection following vaccination. Vet. Immunol. Immunopathol.112: 117-128.

Kupradinun, S., Peanpijit, P., Bhodhikosoom, C., Yoshioka, Y., Endo, A. and Nerome, K. 1990. The first isolation of swine H1N1 influenza viruses from pigs in Thailand. Arch. Virol. 118 (3-4): 289-297.

Landolt, G.A., Karasin, A.I., Phillips, L. and Olsen, C.W. 2003. Comparison of the Pathogenesis of Two Genetically Different H3N2 Influenza A Viruses in Pigs. J. Clin. Microbiol. 41 (5): 1936-1941.

Lekcharoensuk, P., Lager, K.M., Vemulapalli, R., Woodruff, M., Vincent, A.L. and Richt, J.A. 2006. Novel swine Influenza virus subtype H3N1, United States. Emerg. Infect. Diseases. 12 (5): 787-794.

Li, H., Yu, K., Xin, X., Yang, H., Li, Y., Qin, Y., Bi, Y., Tong, G. and Chen, H. 2004. Serological and virologic surveillance of swine influenza in China from 2000 to 2003. Int. Congr. Ser. 1263: 754-757.

Ma, W., Germer, M., Rossow, K. and Yoon, K. 2006. Isolation and Genetic Characterization of New Reassortant H3N1 Swine Influenza Virus from Pigs in the Midwestern United States. J. Virol. 80(10): 5092-5096.

Merozin, S., Gregory, V., Cameron, K., Bennett, M., Valette, M., Aymard, M., Foni, E., Barigazzi, G., Lin, Y. and Hay, A. 2002. Antigenic and genetic diversity among swine influenza A H1N1 and H1N2 viruses in Europe. J. Gen. Virol. 83: 735-745.

Mitteiholzer, C.M. 2006. Influenza virus - Protection and Adaptation. Thesis for Ph.D. Karolinska Institutet. Stockholm. 61p.

Myers, K.P., Olsen, C.W., Setterquist, S.F., Capuano, A.W., Donham, K.J., Thacker, E.L., Merchant, J.A. and Gray, G.C. 2006. Are Swine Workers in the United States at Increased Risk of Infection with Zoonotic Influenza Virus?. CID. 42: 14-20.

Manoir, J.M., Albright, B.N., Stevenson, G., Thompson, S.H., Mitchell, G.B., Clark, M.E. and Caswell, J.L. 2002. Variability of neutrophil and pulmonary alveolar macrophage function in swine. Vet. Immunol. And Immunopathol. 89: 175-186.

Neumann, M. and Gabel, D. 2002. Simple method for reduction of autofluorescence in fluorescence microscope. J. Histochem. Cytochem. 50(3): 437-439.

Okada, M., Asai, T., Ono, M., Sakano, T. and Sato, S. 2000. Cytological and immunological changes in bronchoalveolar lavage fluid and histological observation of lung lesions in pigs immunized with *Mycoplasma hyopneumoniae* inactivated vaccine prepared from broth culture supernate. Vaccine. 18: 2825-2831.

Olsen, C.W. 2002. Review: The emergence of novel swine influenza viruses in North America. Virus Research. 85:199-210.

Olsen, C.W., Brammer, L., Easterday, B.C., Arden, N., Belay, E., Baker, I. and Cox, N.J. 2002. Serologic Evidence of H1 Swine Influenza Virus Infection in Swine Farm Residents and Employees. Emerg. Infect. Diseases. 8 (8): 814-819.

Parchariyanon, S., Damrongwatanapokin, S., Pinychon W., Chuxnum, T., Soawapak, H. and Choomkasien, P. 2006. Investigation of influenza A virus infection in pigs from 5 reported AIV outbreak provinces in 2004. The 19th IPVS Congress. Proceeding, Copenhagen, Denmark. 2:09-17.

Payungporn, S., Phakdeemirot, P., Chutinimitkul, S., Theamboonless, A., Keawcharoen, J., Oraveerakul, K., Amonsin, A. and Poovorawan, Y. 2004. Single-Step Multiplex Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) for Influenza A Virus Subtype H5N1 Detection. Viral Immunol. 17 (4): 588-593.

Pensaert, M.B. 1989. Virus infections of porcines. In: Virus infections of vertebrates volume 2. Belgium Elsevies science publishers. B.V. Netherlands. 283p.

Richt, J.A., Lager, K.M., Janke, B.H., Woods, R.D., Webster, R.G. and Webby, R.J. 2003. Pathogenic and Antigenic Properties of Phylogenetically Distinct Reassortant H3N2 Swine Influenza Viruses Cocirculating in the United States. J. Clin. Microbiol. 41 (7): 3198-3205.

Seo, S.H., Goloubeva, O., Webby, R. and Webster, G.R. 2001. Characterization of a Porcine Lung Epithelial Cell Line Suitable for Influenza Virus Studies. J. Virol. 75(19): 9517-9525.

Shin, J., Song, M., Lee, E.H., Lee, Y., Kim, S., Kim, K., Choi, J., Kim, C., Webby, R. and Choi, Y. 2006. Isolation and characterization of novel H3N1 swine influenza viruses from pigs with respiratory disease in Korea. J. Clin. Microbiol. accepted

Slemons, R.D. 2002. History, Structure and Function of Swine Influenza Virus. Scientific Symposium on Swine Influenza.Proceeding, June 2nd, Iowa. 1-4.

Smit, M., Beynon, K.A., Murdoch, D.R. and Jennings, L.C. 2007. Comparison of the NOW Influenza A&B, NOW Flu A, and Directigen flu A&B assays, and immunofluorescence with viral culture for the detection of influenza A and B viruses. Diagn Microbiol and Infect Dis. 57: 67-70.

Spickler A.R. 2004."Influenza. in The Center for Food Security & Public Health". [online] Available: http://www.cfcph.iastate.edu.

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

Taubenberger, J.K. and Layne, S.P. 2001. Diagnosis of influenza virus: Coming to grips with the molecular era. Molecular Diagnosis. 6(4): 291-302.

Taubenberger, J.K. and Morenst, D.M. 2006. 1918 Influenza: the Mother of all Pandemics. Emerg. Infect. Diseases. 12 (1): 15-21.

Thacker, E.L., Thacker, B.J. and Janke, B.H. 2001. Interaction between *Mycoplasma hyopneumoniae* and Swine Influenza Virus. J. Clin. Microbiol. 39 (7): 2525-2530.

Thomas, P.G., Keating, R., Hulse-Post, D.J. and Doherty, P.C. 2006. Cell-mediated Protection in Influenza Infection. Emerg. Infect. Diseases. 12(1): 48-53. [online] Available: www.cdc.gov/eid.

Van Reeth, K. 2000. Cytokines in the pathogenesis of influenza. Vet. Microbiol. 74: 109-116.

Van Reeth, K., Clercq, D.S. and Pensaert, M. 2001. Lack of cross-protection between European H1N1 and H1N2 swine influenza viruses. Int. Congr. Ser. 1219: 341-345.

Van Reeth, K., Gregory, V., Hay, A. and Pensaert, M. 2003. Protection against a European H1N2 swine influenza virus in pigs previously infected with H1N1 and/or H3N2 subtypes. Vaccine. 21: 1375-1381.

Vincent, A.M., Lager, K.M., Ma, W., Lekcharoensuk, P., Gramer, M.R., Loiacono, C. and Richt, J.A. 2006. Evaluation of hemagglutinin subtype 1 swine influenza viruses from the U.S. Vet. Microbiol. 118: 212-222.

Webby, J.R., Swenson, L.S., Krauss, L.S., Goyal, M.S., Rossow, D.K. and Webster, G.R. 2001. Evolving H3N2 and emerging H1N2 swine influenza viruses in the United States. Int. Congr. Ser. 1219: 241-249.

Webster, R., Cox, N. and Stohi, K. 2002. WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. World Health Organization. 15-67.

Wesley, R.D. and Larger, K.M. 2006. Overcoming maternal antibody interference by vaccination with human adenovirus 5 recombinant viruses expressing the hemagglutinin and the nucleoprotein of swine influenza virus. Vet. Microbiol. 118: 67-75.

World Organization for Animal Health. 2004. Swine Influenza. Update 23.07. [online] Available: http://www.OiE.int/

Yazawa, S., Okada, M., Ono, M., Fujii, S., Okada, Y., Shibata, I. and Kida, H. 2004. Experimental dual infection of pigs with an H1N1 swine influenza virus (A/Sw/Hok/2/81) and *Mycoplasma hyopneumoniae*. Vet. Microbiol. 98: 221-228.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ขั้นตอนการตรวจด้วย Hemagglutination inhibition test

1. ใส่ PBS ใน 96 well plate ทุกหลุมๆ ละ 25 ไมโครลิตร โดยใช้ไมโครไปเปต ยกเว้นแถวแรก

2. ใส่ตัวอย่างซีรัมที่ผ่านขั้นตอนการกำจัด non-specific destroying enzyme ในแถวแรก หลุมละ 50 ไมโครลิตร ตัวอย่างละ 2 หลุม ทำสารละลายเจือจาง 2 เท่า (2 fold dilution) โดยดูดสารละลายจากแถวแรก 25 ไมโครลิตร ใส่ในแถวที่ 2 ผสมให้เข้ากัน แล้วดูดไปใส่ในแถวถัดไปเรื่อยๆ จนถึงแถวรองสุดท้ายให้ดูดสารละลายทิ้ง (แถวสุดท้ายเป็น negative control)

3. เติมสารละลายไวรัสจากน้ำไข่ฟักที่มีค่าเท่ากับ 8 HA unit หลุมละ 25 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

4. เติมเม็ดเลือดแดงไก่ 0.5% (ใน PBS) ทุกหลุมๆ ละ 50 ไมโครลิตร

5. เคาะเบาๆ เพื่อให้สารละลายผสมกัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 45 นาที

6. อ่านผล

ผลบวก	ไม่เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง
ผลลบ	เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

การกำจัด non-specific destroying enzyme **ในซีรัมด้วย** Trypsin-Heat-Periodate treatment

1. เติมสารละลายทริปซิน 0.8% (ใน phosphate buffer pH 8.2) 50 ไมโครลิตร กับซีรัม 100 ไมโครลิตร พลิกหลอดขึ้นลงเบาๆ เพื่อให้สารละลายผสมกัน

2. บ่มสารละลายที่ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

3. ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที เพื่อให้สารละลายเย็นตัวลง

4. เติม 0.011M ของ KIO_4 300 ไมโครลิตร

5. พลิกหลอดขึ้นลงเบาๆ เพื่อให้สารละลายผสมกัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 20 นาที

6. เติม glyceral 1% (ใน PBS) 300 ไมโครลิตร

7. พลิกหลอดขึ้นลงเบาๆ เพื่อให้สารละลายผสมกัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที

8. เติม saline 0.85% 250 ไมโครลิตร จะได้ซีรัมที่มีความเข้มข้น 1:10

9. เติมเม็ดเลือดแดงไก่ 10% 50 ไมโครลิตร พลิกหลอดขึ้นลงเบาๆ เพื่อให้สารละลายผสมกัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที

10. ปั่นเหวี่ยงที่ 800 g นาน 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

11. ดูดเก็บส่วนใส

การเตรียมสารละลายไวรัสขนาด 8 HA unit ด้วย Hemagglutination test

1. ใส่ PBS ใน 96 well plate ทุกหลุมๆ ละ 50 ไมโครลิตร โดยใช้ไมโครไปเปต

2. เติมสารละลายไวรัสจากน้ำไข่ฟัก 4 passages ในแถวแรก หลุมละ 50 ไมโครลิตร ตัวอย่างละ 2-4 หลุม ดูดและปล่อยสารละลายขึ้นลงเพื่อให้ผสมกันดี

3. ทำสารละลายเจือจาง 2 เท่า (2 fold dilution) โดยดูดสารละลายจากแถวแรก 50 ไมโครลิตร ใส่ในแถวที่ 2 ผสมให้เข้ากัน แล้วดูดไปใส่ในแถวถัดไปเรื่อยๆ จนถึงแถวรองสุดท้ายให้ดูดสารละลายทิ้ง (แถวสุดท้ายเป็น negative control)

4. เติมเม็ดเลือดแดงไก่ 0.5% (ใน PBS) ทุกหลุมๆ ละ 50 ไมโครลิตร

5. เคาะเบาๆ เพื่อให้สารละลายผสมกัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 45 นาที

6. อ่านผลและเลือกใช้สารละลายไวรัสที่มีค่าเท่ากับ 8 HA unit หรือเจือจางสารละลายด้วย PBS ตรวจสอบอีกครั้งจนได้สารละลายตามที่ต้องการ

ผลบวก	เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง
ผลลบ	ไม่เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

การเตรียมเม็ดเลือดแดงไก่ 0.5%

1. เจาะเลือดไก่จากเส้นเลือดที่ปีก 3 มล. ใส่ในสารละลาย Alsever's อัตราส่วน 1:1

2. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที

3. ดูดส่วนใสทิ้ง

4. เติม PBS ประมาณ 10 มล. พลิกหลอดขึ้นลงเบาๆ เพื่อให้สารละลายผสมกัน

5. ทำซ้ำข้อ 2, 3 และ 4 จำนวน 3 รอบ

6. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที

7. ดูดส่วนใสทิ้ง

8. เติม PBS 10 เท่า จะได้เม็ดเลือดแดงที่มีความเข้มข้น 10% เก็บ 4 องศาเซลเซียส

9. ดูดสารละลายในข้อ 8 ปริมาตร 1 มล. เติม PBS 20 มล.จะได้เม็ดเลือดแดงที่มีความเข้มข้น 0.5% ผสมเม็ดเลือดแดงให้เข้ากันทุกครั้งก่อนใช้งาน

ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรด้วยเซลล์เพาะเลี้ยง

1. เตรียมเซลล์เพาะเลี้ยง MDCK มาเพาะเลี้ยงในขวดสำหรับเลี้ยงเซลล์ขนาด 25 ซม^3 โดยใช้อัตราส่วน 1:3 เท่า ในอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ (MEM) ที่มี 5% bovine serum albumin (BSA) ใส่ขวดละ 10 มล.

2. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2 นานประมาณ 48 ชั่วโมง จนเซลล์โตเต็มที่ มีลักษณะแผ่ขยายเป็นชั้นเดียวจนเต็มพื้นขวด (monolayer)

3. ล้างเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ใส่ BSA 3 ครั้งๆ ละ 1.5 มล. เทออกให้หมด

4. เติมสารละลายไวรัส 0.5-1 มล. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2 นาน 60 นาที

5. ดูดสารละลายตัวอย่างทิ้ง

6. เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ 10 มล. ที่มีส่วนผสมของ MEM, 2% BSA และทริบซิน 5 มก./มล. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2

7. สังเกตการเกิด CPE ทุกวัน เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง

8. เก็บเซลล์พร้อมอาหารเลี้ยงเซลล์ โดยการแช่แข็งที่ -80 องศาเซลเซียส จนแข็งตัวและนำออกมาละลายที่ 4 องศาเซลเซียส สลับกัน 3 รอบ นำไปตรวจปริมาณไวรัสโดยการไตเตรทและย้อมด้วยเทคนิค IPMA

ขั้นตอนการตรวจหาปริมาณไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรโดยการไตเตรท

1. เตรียมเซลล์เพาะเลี้ยง MDCK มาเพาะเลี้ยงในจานอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม โดยใช้อัตราส่วน 1:3 เท่า ในอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ (MEM) ที่มี 5% bovine serum albumin (BSA) ใส่หลุมละ 200 ไมโครลิตร

2. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2 นานประมาณ 48 ชั่วโมง จนเซลล์โตเต็มที่ มีลักษณะแผ่ขยายเป็นชั้นเดียวจนเต็มพื้นหลุม (monolayer)

3. ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง

4. ล้างเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ใส่ BSA 3 ครั้งๆ ละ 100 ไมโครลิตร/หลุม

5. เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของ MEM, 2% BSA และทริบซิน 5 มก./มล. ทุกหลุมๆ ละ 100 ไมโครลิตร

6. เติมสารละลายไวรัสในแถวแรก หลุมละ 10 ไมโครลิตร ทำสารละลายเจือจาง 10 เท่า (10 fold dilution) โดยดูดสารละลายจากแถวแรก 10 ไมโครลิตร ใส่ในแถวที่ 2 ผสมให้เข้ากัน แล้วดูดไปใส่ในแถวถัดไปเรื่อยๆ จนถึงแถวรองสุดท้ายให้ดูดสารละลายทิ้ง (แถวสุดท้ายเป็น negative control)

7. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2 นาน 72 ชั่วโมง

8. นำไปย้อมด้วยเทคนิค IPMA

ขั้นตอนการย้อม immunoperoxidase monolayer assay (IPMA)

1. นำเพลทมาสะบัดอาหารเลี้ยงเซลล์ทิ้ง และตรึงสภาพเซลล์ด้วย 4% ฟอร์มาลินที่เจือจางด้วย 0.5% PBST หลุมละ 100 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

2. สะบัดฟอร์มาลินทิ้ง แล้วล้างด้วย 0.5% PBST หลุมละ 100-200 ไมโครลิตร ล้าง 3 ครั้ง ครั้งที่ 3 ให้แช่ทิ้งไว้ 5 นาที

3. เติมแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวรัสไข้หวัดใหญ่ (anti-influenza A nucleoprotein monoclonal antibody) อัตราส่วน 1: 2,000 เจือจางด้วย 0.5% PBST ที่มี 1% BSA (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) ใส่หลุมละ 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที

4. สะบัดเพลทให้แห้ง แล้วล้างด้วย 0.5% PBST ทำเหมือนข้อ 2

5. เติม anti-mouse IgG conjugate (Dako, Denmark) ในอัตราส่วน 1:300 เจือจางด้วย 0.5% PBST ที่มี 1% BSA (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) ใส่หลุมละ 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที

6. สะบัดเพลทให้แห้ง แล้วล้างด้วย 0.5% PBST ทำเหมือนข้อ 2

7. เติมสับเสตรทของ conjugate หลุมละ 100 ไมโครลิตร มีส่วนประกอบดังนี้

AEC: acetate buffer: 30% H_2O_2 ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตร : 19 มิลลิลิตร : 20 ไมโครลิตร (ปริมาตรนี้ใช้กับตัวอย่างทั้งหมด 2 เพลท) ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที

8. การอ่านผล

ผลบวก	ติดสีน้ำตาลแดงภายในนิวเคลียส
ผลลบ	ไม่ติดสีภายในนิวเคลียส

สารเคมี

1. anti-influenza A nucleoprotein monoclonal antibody
2. anti-mouse IgG conjugate (Dako, Denmark)
3. 4% ฟอร์มาลิน
4. amino acid-9-ethyl-carbazole (AEC)
5. acetate buffer
6. 30% hydrogenperoxide (H_2O_2)

ขั้นตอนการตรวจหาแอนติเจนของไวรัสไข้หวัดใหญ่โดยเทคนิค immunohistochemistry

การย้อมอิมมูนโนฮีสโตเคมีแบบ Avidin-Biotin peroxidase Complex (ABC)

1. ทำการละลายพาราฟินออกจากชิ้นเนื้อ โดยแช่ในไซลีนและจุ่มในแอลกอฮอล์ 100%, 95%, 80% และ 70% ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำประปาและน้ำกลั่น

2. ทำการเผยแอนติเจน (antigen retrieval) ด้วยเอนไซม์ proteinase K 0.1% ที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 10 นาที

3. ล้างด้วย PBS 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

4. ต่อจากนั้น block non-specific endogenous peroxidase ด้วย 3% H_2O_2 ใน absolute methanol นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

5. ล้างด้วย PBS 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

6. ทำการ block non-specific binding bovine serum albumin 1% ใน phosphate buffer saline (PBS) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

7. ล้างด้วย PBS 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

8. นำไปทำปฏิกิริยาต่อกับ monoclonal anti-NP influenza A antibody ความเข้มข้น 1:300 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 12-14 ชั่วโมง

9. ล้างด้วย PBS 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

10. นำไปทำปฏิกิริยาต่อกับ biotinylate rabbit anti- mouse IgG ความเข้มข้น 1:400 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

11. ล้างด้วย PBS 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

12. แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับ avidin-biotin peroxidase solution (ABC kit, Dako, Denmark) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

13. ล้างด้วย PBS 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที

14. ทำให้เกิดสีด้วย DAB 0.05% (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride 0.01 M Tris-HCL, pH 7.6) (Sigma, USA)

15. ล้างด้วยน้ำกลั่น 1 นาที

16. ย้อมทับด้วยสี Mayer's hematoxylin นาน 45 วินาที

17. ล้างด้วยน้ำประปาไหลผ่าน 5 นาที

10. ทำการดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้ออย่างรวดเร็วโดยใช้แอลกอฮลล์ 70%, 80%, 95% และ 100% ตามลำดับ แล้วปิดทับด้วยแผ่นสไลด์

ผลบวก ติดสีน้ำตาลดำภายในนิวเคลียส

ผลลบ ไม่ติดสีภายในนิวเคลียส

การเพาะแยกเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรจากภาคสนามด้วยเซลล์เพาะเลี้ยง

1. เตรียมเซลล์เพาะเลี้ยง MDCK มาเพาะเลี้ยงในจานอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ขนาด 24 หลุม โดยใช้อัตราส่วน 1:3 เท่า ในอาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์ (MEM) ที่มี 5% BSA ใส่หลุมละ 1 มล.

2. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2 นานประมาณ 48 ชั่วโมง จนเซลล์โตเต็มที่ มีลักษณะแผ่ขยายเป็นชั้นเดียวจนเต็มพื้นหลุม (monolayer)

3. ล้างเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ใส่ BSA 3 ครั้งๆ ละ 0.5 มล./หลุม

4. เติมสารละลายตัวอย่างหลุมละ 200 ไมโครลิตร นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2 นาน 60 นาที

5. ดูดสารละลายตัวอย่างทิ้ง

6. เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของ MEM, 2% BSA และทริบซิน 5 มก./มล. ทุกหลุมๆ ละ 1 มล. นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% CO_2

7. สังเกตการเกิด CPE ทุกวัน เป็นเวลา 5 วัน

8. เก็บเซลล์พร้อมอาหารเลี้ยงเซลล์ โดยการแช่แข็งที่ -80 องศาเซลเซียส จนแข็งตัวและนำออกมาละลายที่ 4 องศาเซลเซียส สลับกัน 3 รอบ นำไปตรวจสอบด้วย HA test และ PCR ต่อไป

Polymerase Chain Reaction

การสกัด RNA ด้วย QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Germany) โดยทำตามคำแนะนำของบริษัท โดยการนำสารละลายตัวอย่างป้ายจมูก 200 ไมโครลิตรมาสกัด RNA ด้วย VB Buffer 400 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที แล้วเติม 70% ethanol 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันนาน 15 วินาที นำไปปั่น นำสารละลายทั้งหมดมากรองด้วยแผ่นกรองในคอลัมน์ ล้างคอลัมน์ด้วย AW1 และ AW2 อย่างละ 500 ไมโครลิตร แล้วจึงละลาย RNA ที่ติดอยู่ในคอลัมน์ด้วย RNase-free water 50 ไมโครลิตร เก็บ RNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำ RT-PCR ต่อไป

RT-PCR เตรียม Master mix จากชุด Promega One step RT-PCR (Promega, USA) ตามสูตรดังนี้

RNAse free water	8	ไมโครลิตร
Master mix	12.5	ไมโครลิตร
Primer MF (25pmol/ul)	0.5	ไมโครลิตร
Primer MR (25pmol/ul)	0.5	ไมโครลิตร
Enzyme Reverse Transcriptase	0.5	ไมโครลิตร

โดยมีลำดับเบสของ primers ที่ใช้ในปฏิกิริยาจาก 5' – 3' ดังนี้

Downstream primer: GCA AAA GCA GGT AGA TAT TGA A

Upstream primer: GTC CCA ATT GTC CTC ATT GC

แบ่ง Master Mix ใส่ PCR tube หลอดละ 22 ไมโครลิตร จากนั้นเติม viral RNA จากขั้นตอนการสกัดตัวอย่างละ 3 ไมโครลิตร ปิดฝาหลอด PCR แล้ว นำไปใส่เครื่อง PCR โดยมีโปรแกรม ดังนี้

Reverse transcription	48 องศาเซลเซียส	45	นาที	
Initial PCR activation	95 องศาเซลเซียส	2	นาที	
Denaturation	94 องศาเซลเซียส	20	วินาที	
Annealing	55 องศาเซลเซียส	30	วินาที	35 รอบ
Extension	72 องศาเซลเซียส	30	วินาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส	15	นาที	

เมื่อเสร็จสิ้นขั้นตอน นำไปตรวจหา PCR product ด้วย 1.5% gel electrophoresis

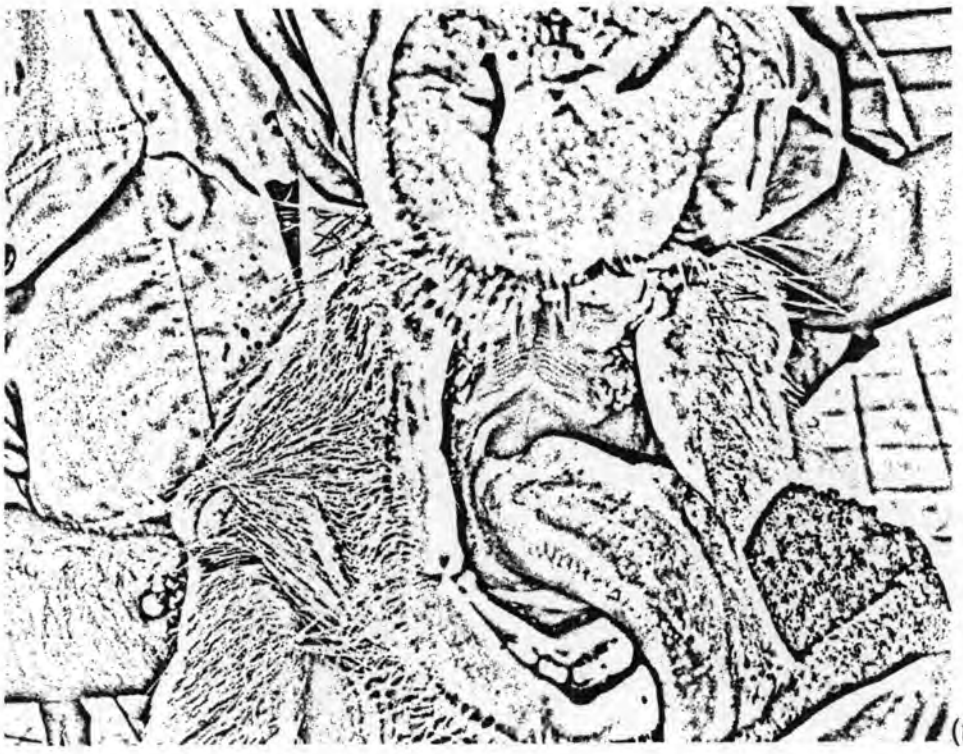
ขั้นตอนการฉีดสารละลายไวรัสทางหลอดลม

1. ใช้ท่อสอดให้อาหาร (feeding tube) ใส่ในท่อของท่อสอดหลอดลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางท่อขนาด 5 มิลลิเมตร เพื่อลดปริมาณการคั่งค้างของสารละลาย

2. จับบังคับสุกรทดลองอ้าปากและใช้ผ้าจับดึงลิ้นไว้ด้านข้างปาก รอจังหวะที่สุกรร้องเพื่อให้ฝาปิดกล่องเสียงเปิด

3. สอดท่อสอดหลอดลมเข้าที่ทางเปิดของฝาปิดกล่องเสียงอย่างรวดเร็ว ลึกประมาณ 2-3 เซนติเมตร

4. ดันสารละลายเข้าทางท่อสอดให้อาหารจนหมด พร้อมกับดันลมตามอีกประมาณ 1 มิลลิลิตร เพื่อให้แน่ใจว่าสารละลายได้เข้าไปในหลอดลมจนหมดทั้ง 5 มิลลิลิตร



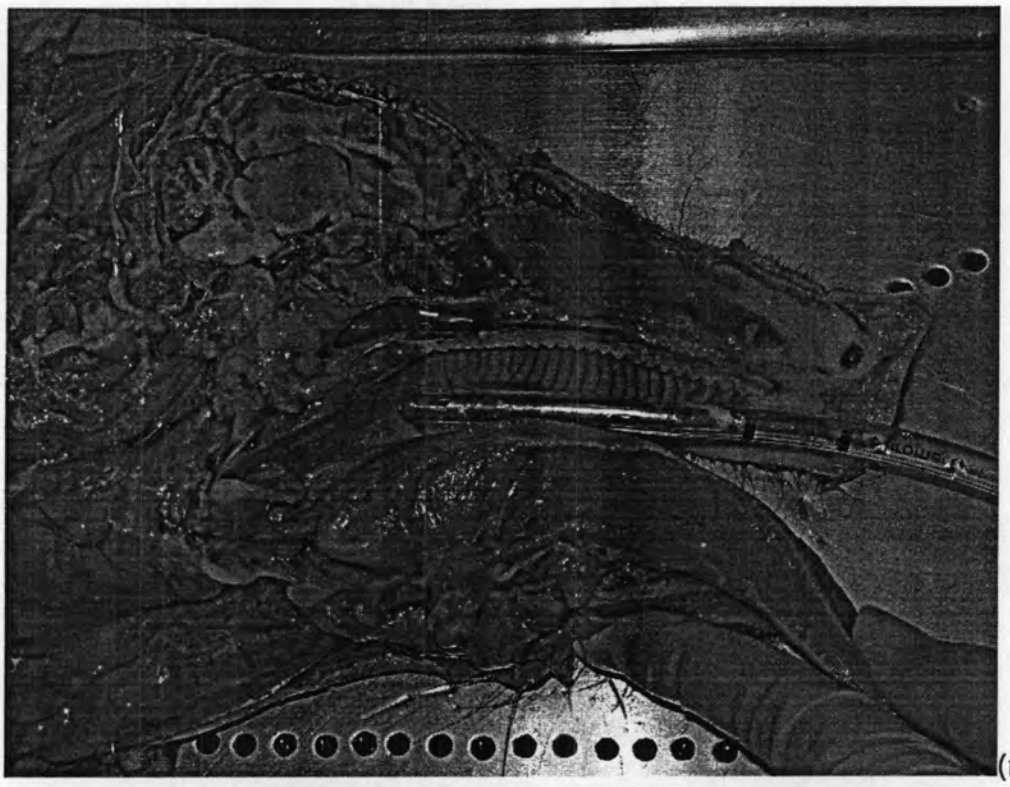
(ก)

(ข)

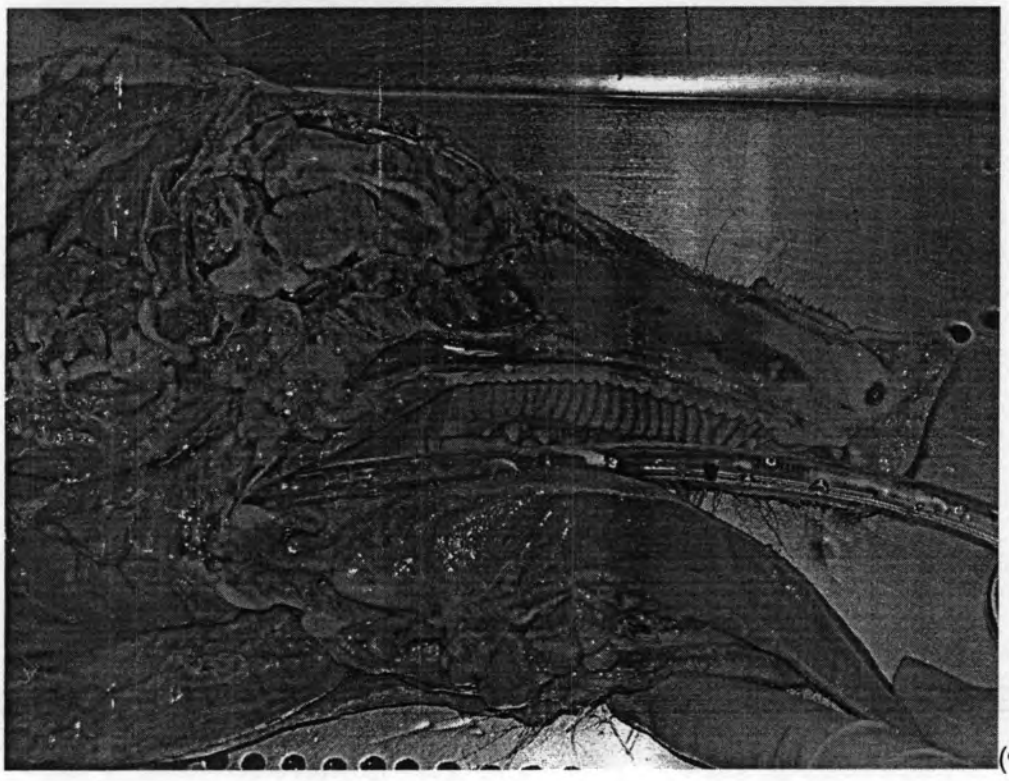
ภาพที่ 13 แสดงตำแหน่งและท่าทางในการสอดท่อสอดหลอดลม

(ก) ตำแหน่งฝาปิดกล่องเสียง

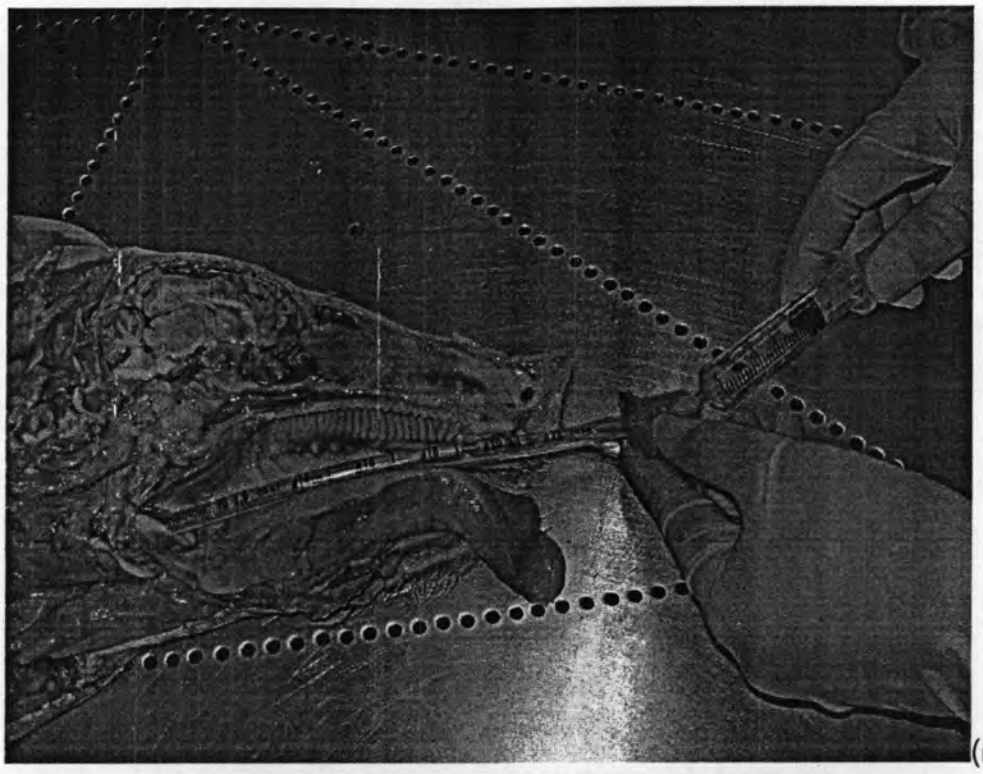
(ข) การจับสุกรเพื่อสอดท่อสอดหลอดลม



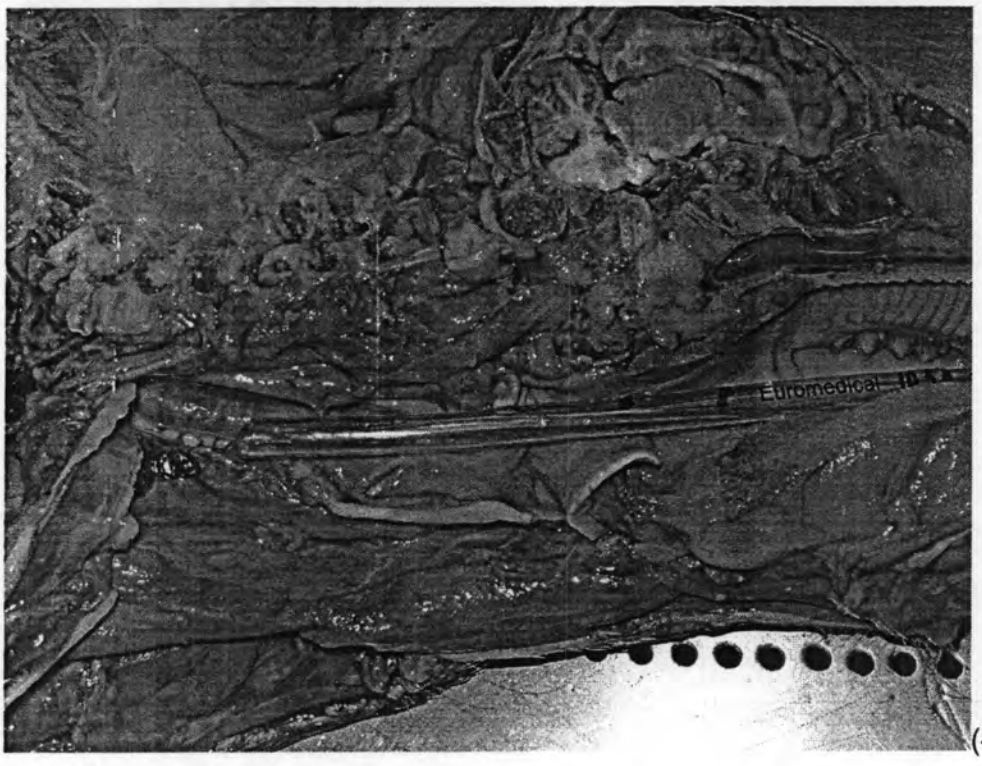
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

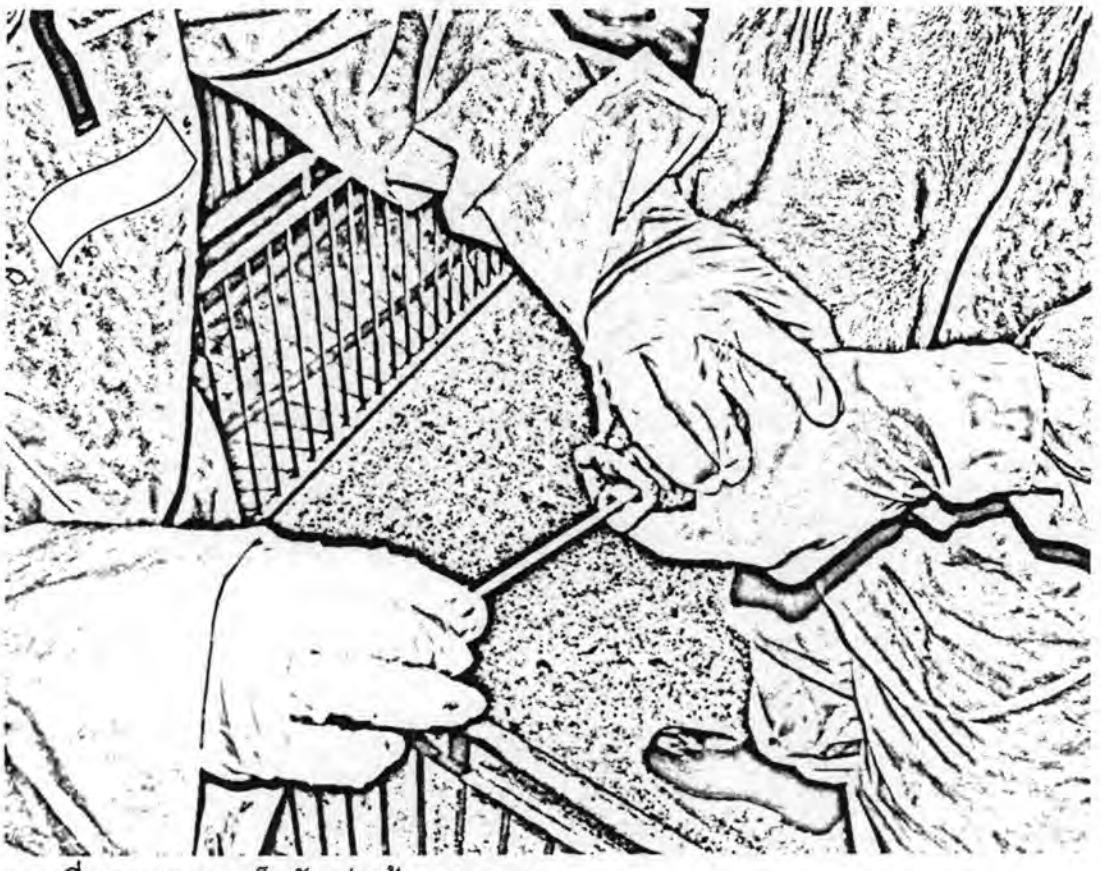
ภาพที่ 14 แสดงตำแหน่งของท่อสอดหลอดลมระหว่างการสอดท่อสอดหลอดลม

(ก) ปลายท่ออยู่ที่เพดานปาก

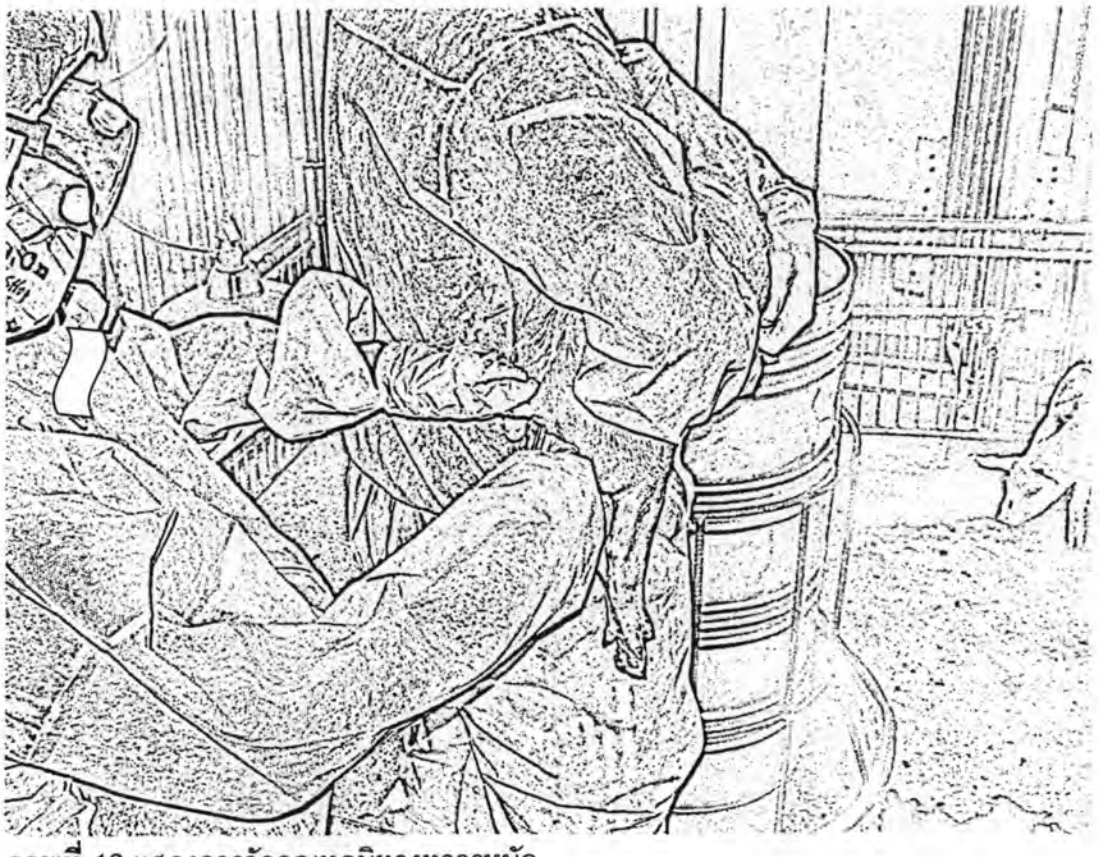
(ข) ปลายท่ออยู่ที่ทางเปิดของฝาปิดกล่องเสียง

(ค) ปลายท่ออยู่ในหลอดลมพร้อมกับเติมสารละลาย

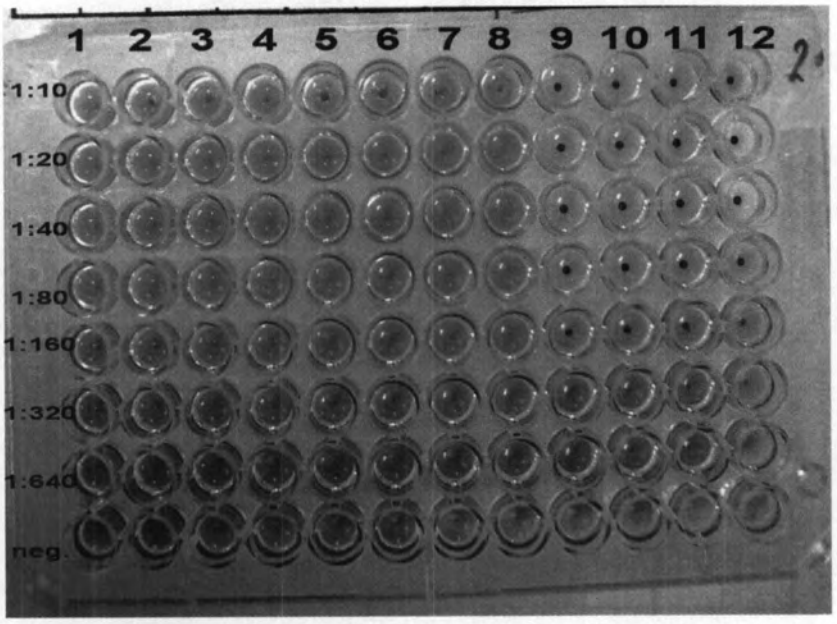
(ง) แสดงตำแหน่งปลายท่อในหลอดลมขณะเติมสารละลาย



ภาพที่ 15 แสดงการเก็บตัวอย่างป้ายหลอดลม



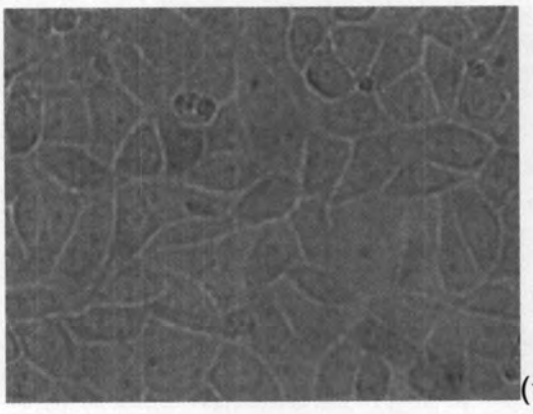
ภาพที่ 16 แสดงการวัดอุณหภูมิทางทวารหนัก



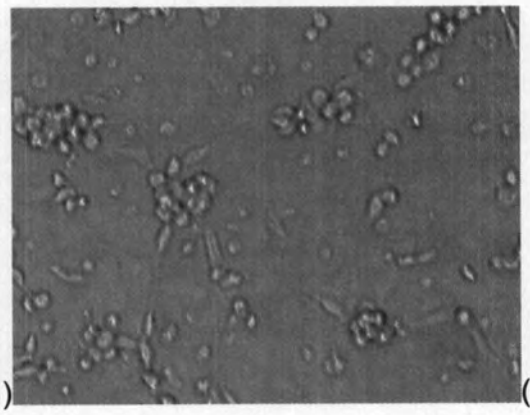
ภาพที่ 17 แสดงผลบวกและผลลบของ HI test

ผลบวก คือ แถวที่ 9 -12 ความเข้มข้น 1:10 – 1:160

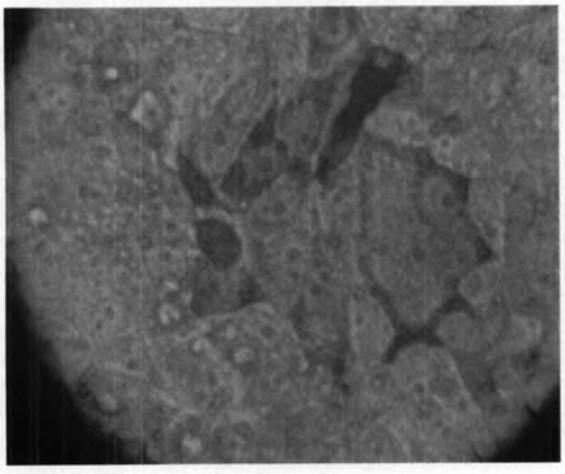
ผลลบ คือ แถวที่ 1 - 8 และแถวที่ 9 -12 ความเข้มข้น 1:320 – 1: 640



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 18 แสดงเซลล์เพาะเลี้ยง MDCK

(ก) เซลล์เพาะเลี้ยง MDCK อายุ 48 ชั่วโมง ลักษณะเป็น monolayer

(ข) เซลล์เพาะเลี้ยง MDCK ที่เกิด CPE จากการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H3N2

(ค) เซลล์เพาะเลี้ยง MDCK ที่ให้ผลบวกจาก IPMA(ติดไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ H3N2)

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 13 แสดงค่าโลหิตวิทยาก่อนการทดลอง

No.	Hct. %	Hb. g/dl	RBC /µl	WBC / µl	Neu %	Band %	Eo. %	Baso %	Lymph %	Mono %	Plt.
mock	37	12.1	6.52	6600	14	-	4	-	77	4	378
	34	12.2	6.44	7450	14	-	7	-	76	3	548
	42	14.1	6.77	6250	24	-	-	1	69	5	528
T1 (H3N2)	25	8.6	4.67	6650	35	-	-	-	60	5	476
	37	12.7	6.58	10950	37	-	2	1	54	6	225
	37	12.8	6.44	12300	11	1	4	-	75	9	200
	35	11.9	6.21	5150	17	-	-	-	77	4	222
	37	12.7	6.51	8300	22	-	5	-	66	7	465
	41	13.9	6.88	6250	17	-	2	-	73	7	188
H1N2	42	13.8	6.86	12150	24	-	-	-	69	7	210
	41	13.5	6.82	6975	4	-	-	-	91	5	225
	36	11.9	5.74	6275	16	-	1	-	82	1	260
	41	13.6	6.73	9350	40	2	1	-	53	4	310
	37	12.2	6.16	5500	25	-	1	-	68	6	285
	37	12.3	6.09	7625	28	-	1	1	65	5	340

ตารางที่ 14 แสดงค่าโลหิตวิทยา ณ วันที่ 2 หลังการทดลอง

No.	Hct. %	Hb. g/dl	RBC /µl	WBC / µl	Neu. %	Band %	Eo. %	Baso. %	Lymph. %	Mono. %	Plt.
mock	37	12.3	5.42	18400	32	1	1	-	61	5	554
	38	11.4	5.86	11200	39	-	1	1	49	10	406
	41	12.8	6.62	15400	29	1	1	-	58	11	122
H3N2	25	8.2	3.56	8200	31	-	-	-	64	5	266
	37	12.2	5.94	14600	29	-	1	-	59	11	418
	37	12.3	5.64	15200	41	-	1	-	54	4	94
	36	12.1	5.92	15100	42	1	1	1	49	6	166
	35	10.4	5.53	17500	35	1	-	-	60	4	85
	37	12.4	6.14	14700	41	5	1	-	44	9	468
H1N2	42	13.8	6.82	18450	35	-	3	-	61	1	324
	40	13.2	6.64	23600	51	-	1	-	48	-	368
	35	11.5	5.83	11450	18	-	4	-	78	-	232
	42	13.9	6.85	11400	18	-	3	-	77	2	196
	38	12.5	6.34	14500	41	-	1	1	56	1	271
	37	12.1	6.17	8950	51	-	-	-	46	3	185

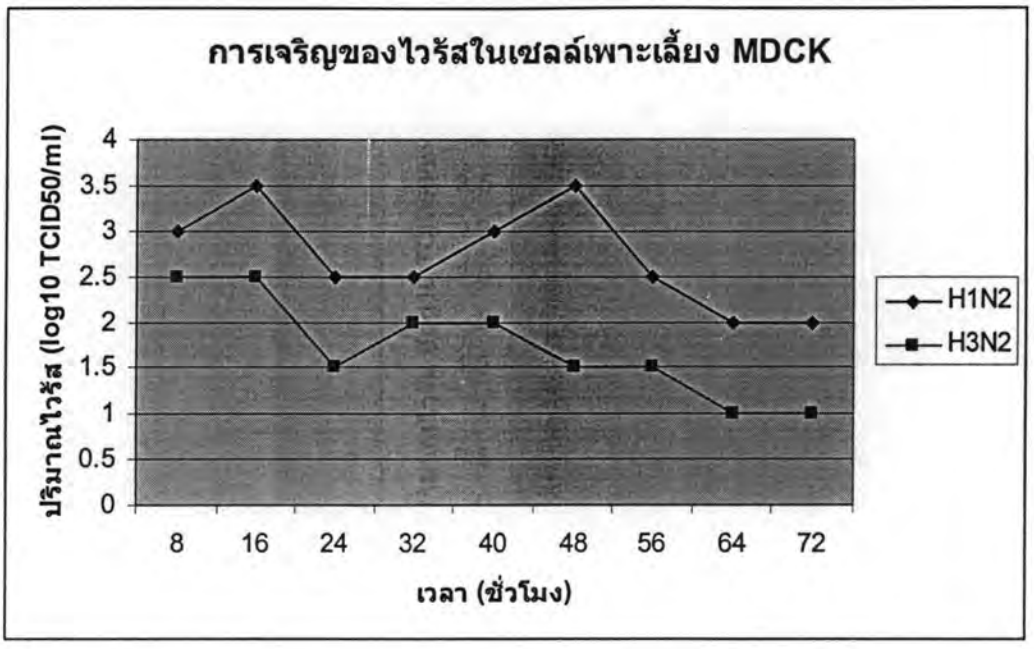
ตารางที่ 15 แสดงค่าโลหิตวิทยา ณ วันที่ 4 หลังการทดลอง

No.	Hct. %	Hb. g/dl	RBC /µl	WBC / µl	Neu. %	Band %	Eo. %	Baso. %	Lymph. %	Mono. %	Plt.
mock	30	9.8	4.81	14750	29	2	2	1	64	2	310
	38	12.5	6.44	13950	35	1	2	-	53	9	280
H3N2	19	6.2	3.55	7900	20	1	1	-	78	-	95
	35	11.6	7.40	8900	11	1	-	-	87	1	102
	35	11.5	6.06	15150	36	2	5	-	56	1	542
	36	12.4	5.97	11000	34	1	-	-	58	7	594
H1N2	37	12.2	6.16	19750	46	-	1	-	47	6	231
	38	12.4	6.2	17350	31	1	-	-	64	3	282
	32	10.4	5.14	10900	37	-	-	-	60	3	314
	35	11.2	5.82	12400	33	-	-	-	61	5	350

ตารางที่ 16 แสดงค่าโลหิตวิทยา ณ วันที่ 12 หลังการทดลอง

No.	Hct. %	Hb. g/dl	RBC /µl	WBC / µl	Neu. %	Band %	Eo. %	Baso. %	Lymph. %	Mono. %	Plt.
mock	28	9.3	4.45	17150	26	5	1	-	62	6	664
H3N2	37	12.1	5.94	13100	29	2	-	1	60	8	134
	36	11.8	5.82	17400	33	7	2	-	45	13	296
H1N2	37	12.1	6.22	26650	32	-	-	-	64	4	219
	35	11.4	5.74	13800	36	-	1	-	61	2	256

ภาพที่ 19 แสดงการเจริญของไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ H3N2 และ H1N2



แสดงลำดับเบสบนยีน M ของไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ A/swine/Thailand/CB2/05 (H3N2)

ATGAGTCTTCTAACCGAGGTCGAAACGTACGTTCTTTCTATCATCCCGTCAGGCCCC
CTCAAAGCCGAGATCGCGCAGAGACTGGAAGGTGTCTTTGCAGGGAAGAACACAGA
TCTTGAGGCTCTCATGGAATGGtTAAAGACAAGACCAATCCTGTCACCTCTGACTAAG
GGAATTTTAGGATTCGTGTTCACGCTCACCGTGCCCAGTGAGCGAGGACTGCAGCG
TAGACGCTTTGTCCAAAATGCCCTAAATGGAAATGGGGAtCCGAATAAtATGGATAGA
GCTGTCAAATTGTACAAGAAGCTCAAAAGAGAAATAACGTTCCATGGGGCCAAAGAG
GTGTCACTAAGCTACTCAACTGGTGCCCTTGCCAGTTGCATGGGCCTCATATACAAC
AGAATGGGAACAGTGACCACAGAAGCTGCTTTTGGTCTAGTGTGTGCCACTTGTGAG
CAGATTGCTGACTCGCAACATAGGTCTCACAGACAAATGGCTACCACCACCAACCCA
CTAATTAGACATGAAAACAGAATGGTGCTGGCTAGCACTACAGCTAAGGCTATGGAA
CAGATGGCCGGATCGAGTGAACAGGCAGCAGAGGCCATGGAGGT

ซึ่งผลจากการเทียบกับลำดับเบสของยีน M ใน gene bank พบว่ามีความใกล้เคียงกับไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์อื่นๆ ดังนี้

1. A/Thailand/271/2005 (H1N1) 97 %
2. A/swine/Bakum/8602/99 (H3N2) 96%

3. A/swine/Belzig/2/2001(H1N1) 96%
4. A/swine/Spain/54008/2004 (H3N2) 96 %

แสดงลำดับเบสบนยีน M ของไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์ A/swine/Thailand/CB1/05 (H1N2)

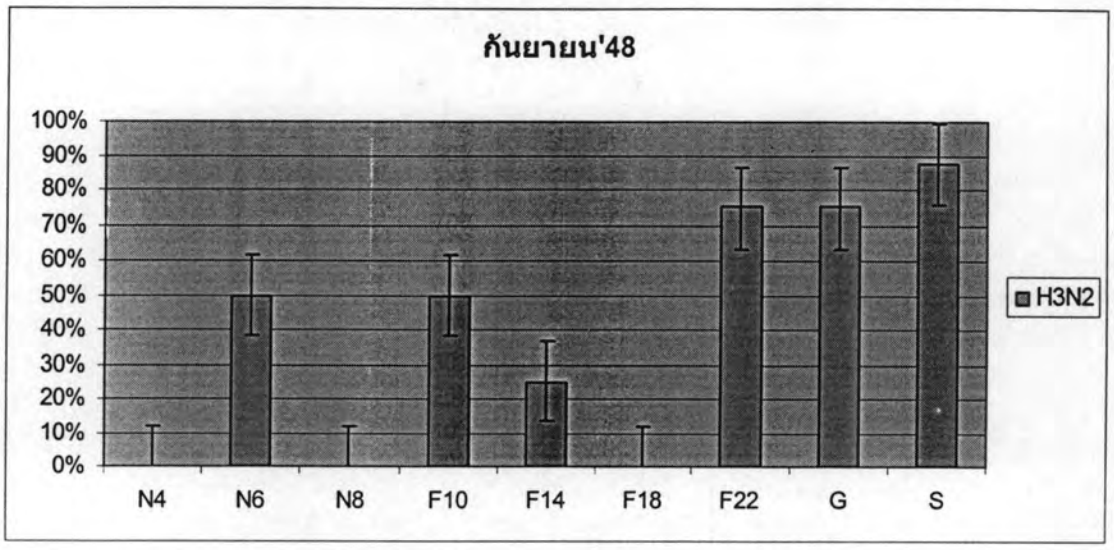
GATGAGTCTTCTAACCGAGGTCGAAACGTACGTTCTTTCTATCATCCCGTCAGGCCCC
CTCAAAGCCGAGATCGCGCAGAGACTGGAAGGTGTCTTTGCAGGGAAGAACACAGA
TCTTGAGGCTCTCATGGAATGGTTAAAGACAAGACCAATCCTGTCACCTCTGACTAAG
GGAATTTTAGGATTCGTGTTCACGCTCACCGTGCCCAGTGAGCGAGGACTGCAGCGT
AGACGCTTTGTCCAAAATGCCCTAAATGGAAATGGGGATCCGAATAATATGGATAGAG
CTGTCAAATTGTACAAGAAGCTCAAAAGAGAAATAACGTTCCATGGGGCCAAAGAGGT
GTCACTAAGCTACTCAACTGGTGCCCTTGCCAGTTGCATGGGCCTCATATACAACAGA
ATGGGAACAGTGACCACAGAAGCTGCTTTTGGTCTAGTGTGTGCCACTTGTGAGCAGA
TTGCTGACTCGCAACATAGGTCTCACAGACAAATGGCTACcACCACCAACCCACTAAT
TAGACATGAAAACAGAATGGTGCTGGCTAGCACTACAGCTAAGGCTATGGAACAGAT
GGCCGGATCGAGTGAACAGGCAGCAGAGGCCATGGAGGTTGCCAGTCAGACTAGG
CAGATGGTGC

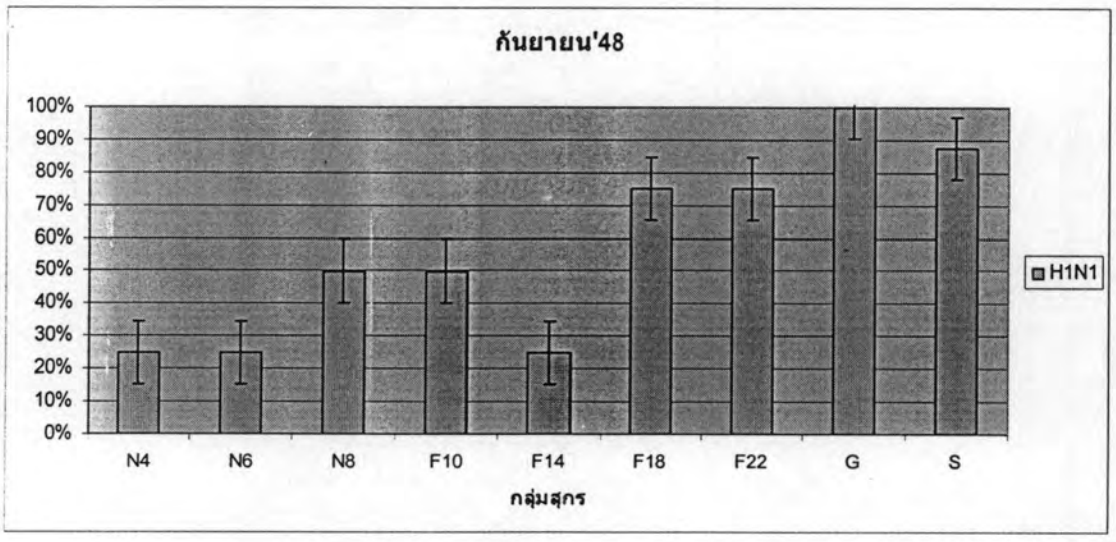
ซึ่งผลจากการเทียบกับลำดับเบสของยีน M **ใน** gene bank **พบว่ามีความใกล้เคียงกับไวรัสไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์อื่นๆ ดังนี้**

1. Influenza A virus (A/Thailand/271/2005 (H1N1) 97%
2. Influenza A virus (A/swine/Bakum/8602/99 (H3N2) 96%
3. Influenza A virus (A/swine/Belzig/2/2001(H1N1) 96 %
4. Influenza A virus (A/swine/Spain/54008/2004 (H3N2) 96 %

สรุปว่าทั้ง ยีน M **ของไวรัสไข้หวัดใหญ่สุกรสายพันธุ์** A/swine/Thailand/CB2/05 (H3N2) **และ** A/swine/Thailand/CB2/05 (H1N2) **มีความใกล้เคียงกับไวรัสไข้หวัดใหญ่ในมนุษย์สายพันธุ์** A/Thailand/271/2005 (H1N1) **ที่แยกได้ในประเทศไทย พ.ศ. 2548 มากที่สุด คือร้อยละ** 97

ภาพที่ 20 แสดงร้อยละของผลบวกจากการตรวจแอนติบอดีด้วย ELISA ในฟาร์มสุกรที่สามารถแยกไวรัส A/swine/Thailand/CB2/05 (H3N2) และ A/swine/Thailand/CB1/05 (H1N2)





N4 N6 และ N8 คือสุกรอนุบาลอายุ 4 6 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ

F10 F14 F18 และ F22 คือสุกรขุนอายุ 10 14 18 และ 22 สัปดาห์ ตามลำดับ

G คือสุกรสาวทดแทน

S คือสุกรแม่พันธุ์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวดลฤทัย ศรีทะ เกิดวันที่ 4 ตุลาคม พ.ศ. 2515 จังหวัดขอนแก่น สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปีการศึกษา 2540 ทำงานตำแหน่งอาจารย์สังกัดคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก เมื่อปี พ.ศ. 2546 จนถึงปัจจุบัน และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพยาธิชีววิทยาทางสัตวแพทย์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2548