

การเฝ้าระวังโรคไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในสัตว์ปีก ใน 3 จังหวัดภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปี พ.ศ. 2554-2555

Monitoring of bird flu subtype H5N1 in poultry of the 3 northeastern provinces of Thailand in the years of 2011-2012

กชกร ดิเรกศิลป์^{1*}, มนตรา มานะกุล² และ เทอดศักดิ์ คำเหม็ง³

Kochakorn Direksin^{1*}, Montra Manakul² and Terdsak Kummeng³

บทคัดย่อ: การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อเฝ้าระวังการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในพื้นที่ 3 จังหวัดภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยการตรวจทางซีรัมวิทยาและยืนยันการเกิดโรคในกรณีที่มีสัตว์ปีกป่วยหรือตายด้วยการตรวจหาไวรัสเก็บตัวอย่างเลือดจากสัตว์ปีกที่เลี้ยงโดยเกษตรกรรายย่อยรวมทั้งสิ้น 794 ตัวอย่าง ในจังหวัดขอนแก่น มหาสารคาม และกาฬสินธุ์ แบ่งออกเป็นจังหวัดขอนแก่น จำนวน 381 ตัวอย่าง เก็บในช่วงเดือน สิงหาคม ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2554 (ไก่ จำนวน 344 และ เป็ด จำนวน 37 ตัวอย่าง) ในจังหวัดมหาสารคามเก็บในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2554 จำนวน 78 ตัวอย่าง (ตัวอย่างไก่ทั้งหมด) และในจังหวัดกาฬสินธุ์ เก็บตัวอย่างในช่วงเดือน มิถุนายน ถึง กันยายน พ.ศ. 2554 และ มกราคม พ.ศ. 2555 จำนวน 335 ตัวอย่าง (ไก่ จำนวน 331 และ เป็ด จำนวน 4 ตัวอย่าง) ไม่พบแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในทุกตัวอย่าง เมื่อตรวจโดย H5 AIV Ab ELISA kit (Anigen Animal Genetics Inc., Korea) และ ฮีแมกกลูตินินอินฮิบิชัน (HI test) ในเดือนมกราคม 2555 ที่อำเภอท่าคันโท จังหวัดกาฬสินธุ์ ไก่แสดงอาการทางเดินหายใจ จึงทำการเพาะแยกเชื้อไวรัสจากการป้ายกัน (Cloacal swab) ของไก่ จำนวน 126 ตัวอย่าง พบว่าให้ผลลบ แสดงให้เห็นว่าไม่พบหลักฐานของการติดเชื้อในไก่และเป็ดในพื้นที่ดังกล่าวในช่วงระยะเวลาที่ศึกษา

คำสำคัญ: ไข้หวัดนก H5N1 ไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ สัตว์ปีก

ABSTRACT: The aim of this study was to monitor avian influenza subtype H5N1 infection in poultry in 3 northeastern provinces of Thailand. A total of 794 sera from chickens and ducks of local farmers were serology tested. In Khon Kaen, a total of 381 samples (chicken = 344, duck = 37) were collected from August to December 2011. In Mahasarakam, 78 chicken sera were collected in August 2011. In Karasin, a total of 335 samples (chicken = 331, duck = 4) were collected from June to September 2011 and January 2012. All of the sera were antibody negative by H5 AIV Ab ELISA kit (Anigen Animal Genetics Inc., Korea) and Hemagglutination inhibition test (HI). Chickens of a farm in Takanto district of Karasin province exhibited respiratory signs in late January, 2012. Cloacal swabs were taken from these chickens for additional virus isolation. All of the 126 cloacal swabs were H5N1 virus negative. From the study, there was no evidence of H5N1 infection in poultries of the studied areas during 2011 and the first month of 2012.

Keywords: Bird flu, H5N1, Avian influenza type A, poultry

¹ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

² นักวิชาการสัตวบาล ชำนาญการ สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดกาฬสินธุ์ 46000

Senior Animal Health Officer, Province Office of Animal Health, Karasin 46000, Thailand

³ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

* Corresponding author: kochakrn@kku.ac.th

บทนำ

โรคไข้หวัดนกมีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัส Avian Influenza type A จัดอยู่ในตระกูล Orthomyxoviridae พบการก่อโรคในสัตว์ต่างๆ เช่น สุกร ม้า สัตว์ปีกทุกชนิด และในคน (สำนักกระบาดวิทยา, 2547) ที่เปลือกหุ้ม (Envelope) ของไวรัสมีโครงสร้างหลักประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิด ได้แก่ Hemagglutinin (H) แบ่งย่อยออกเป็น 15 ชนิด และ Neuraminidase (N) แบ่งย่อยออกเป็น 9 ชนิด แบ่งสายพันธุ์ไวรัสตามชนิดของ H และ N (Tam, 2002) ปัจจุบันเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ที่ก่อโรคแบบรุนแรงมาก (highly pathogenic strains) ได้แก่ สายพันธุ์ H1, H5, H7, H9 (พบในไก่), สายพันธุ์ H3, H4/6 (พบในเป็ด) และ สายพันธุ์ H1, H2, H3 (พบในคน) (Alexander 2003; Tiensin et al., 2004; Viseshakul et al., 2004) สายพันธุ์ชนิดที่ก่ออาการรุนแรงน้อย (low pathogenic strains) เช่น สายพันธุ์ H2, H3, H4/6, H8, H10/11, H13 (พบในไก่), สายพันธุ์ H1, H2, H5, H7, H8, H9, H10/11, H12, H14, H15 (พบในเป็ด) และ สายพันธุ์ H5, H7, H9 (พบในคน) (Alexander 2003; Tiensin et al., 2004; Viseshakul et al., 2004)

ในปี พ.ศ. 2547 พบการระบาดของสัตว์ปีกสู่คนในประเทศไทย และ เวียดนาม จากรายงานการแพร่ระบาดของโรคไข้หวัดนกในช่วงเดือนมกราคม ถึง สิงหาคม 2547 คาดว่าคนติดเชื้อไวรัสไข้หวัดนกจากการสัมผัสสัตว์ป่วยหรือซากสัตว์ปีก นอกจากนี้แหล่งแพร่กระจายเชื้อไวรัสทางอื่นๆ ที่สำคัญคือมูลนก (Li, 2004; Puthavathana et al., 2005) ในประเทศไทย การระบาดเกิดครั้งแรกในฟาร์มสัตว์ปีกจากเชื้อไวรัสสายพันธุ์ H5N1 นอกจากนี้ยังพบการติดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ H5N1 ในคนที่ประเทศฮ่องกง (Li, 2004; Puthavathana et al., 2005) จำนวน 6 รายที่ประเทศไทย จำนวน 18 ราย และที่ประเทศเวียดนาม จำนวน 10 ราย ส่วนในทวีปยุโรป ที่ประเทศเนเธอร์แลนด์ พบผู้ติดเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H7N7 จำนวน 5 ราย (CDC, 2004; Tinh, 2004; Koopman, 2004)

จะเห็นได้ว่าเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ที่รุนแรงซึ่งก่อให้เกิดการระบาดทั้งในสัตว์ปีกและมนุษย์ คือ H5N1

จากรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนกที่กล่าวมา พบว่าแหล่งรังโรคที่สำคัญต่อการระบาดในมนุษย์คือสัตว์ปีก ดังนั้นการเฝ้าระวังโรคนี้ในสัตว์ปีกจึงมีความสำคัญต่อการป้องกันการเกิดโรคในคน งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องจากปี พ.ศ. 2550-2551 เพื่อเป็นการเฝ้าระวังไข้หวัดนกซึ่งอาจเกิดการระบาดซ้ำได้อีกในอนาคต

วิธีการศึกษา

1. เก็บตัวอย่างเลือดจากสัตว์ปีก

สัตว์ปีก ซึ่งได้แก่ ไก่ และเป็ด ตั้งแต่อายุรุ่นไปจนถึงโตเต็มวัย ที่เลี้ยงรายย่อยตามหมู่บ้านต่างๆ ที่จังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ และ มหาสารคาม โดยเลือกเก็บตัวอย่างเลือดสัตว์ปีกในพื้นที่เดิมหรือใกล้เคียงกับการสำรวจเมื่อปี พ.ศ. 2550-2551 (Direksin et al., 2010) เก็บเลือดจากเส้นเลือดดำหรือแดงที่บริเวณใต้ปีกของเป็ดหรือไก่ ทิ้งไว้ให้เลือดแข็งตัว ทำการปั่นแยกเม็ดเลือดออกจากซีรัมด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เก็บเฉพาะส่วนที่เป็นซีรัมแบ่งออกเป็น 2 ชุด สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีลงบันทึกหมายเลข และเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส (C) จนกว่าจะทำการตรวจหาพร้อมๆ กันทุกตัวอย่าง

2. ตรวจแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 โดยวิธี ELISA

ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสสายพันธุ์ H5N1 โดยชุดตรวจสำเร็จรูป (Test kit) H5 AIV Ab ELISA (Anigen Animal Genetics, Inc., Korea; Cat. No. EB45-03) ซึ่งใช้หลักการของ Competitive ELISA สามารถตรวจหาแอนติบอดีในซีรัม พลาสมา หรือไข่จากไก่ เป็ด และ นก ระยะเวลาที่ใช้ตรวจจนกระทั่งทราบผลประมาณ 45 นาที และวิธีนี้สามารถตรวจพบแอนติบอดีในสัตว์ปีกได้เร็วที่สุดคือ 7 วันหลังจากการติดเชื้อ (จากผลการวิจัยของ Anigen Animal

Genetics, Inc., Korea) ในชุดตรวจสำเร็จรูปประกอบไปด้วยไมโครเพลต (microplate) ที่เคลือบด้วยแอนติเจนจากไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 (recombinant protein H5 antigen) การตรวจทำโดยเติมซีรัมที่ต้องการทดสอบลงไปในแต่ละหลุมของไมโครเพลต บ่มที่ 37 C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำปฏิกิริยากับแอนติเจน (H5 antigen) หลังจากล้างเพลตด้วยบัฟเฟอร์แล้วจึงเติมแอนติบอดีทุติยภูมิ (secondary antibody) ที่คอนจูเกต (conjugate) อยู่กับเอ็นไซม์ (Mab-HRP) (เพื่อไปแข่งขันกับแอนติบอดีในซีรัมเพื่อจับแอนติเจนบนไมโครเพลต) บ่มที่ 37 C เป็นเวลา 30 นาที ดังนั้นปฏิกิริยาการเกิดสีเมื่อเติมสารตั้งต้น (substrate) ลงไปทำปฏิกิริยากับเอ็นไซม์จึงเป็นสัดส่วนตรงกันข้าม (inversely proportion) กับปริมาณแอนติบอดีในซีรัม ขั้นตอนสุดท้ายคือเติมสารเคมีลงไปในแต่ละหลุมของไมโครเพลตเพื่อหยุดปฏิกิริยาแล้วจึงอ่านค่าดูดกลืนแสง (optical density; OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ช่วงแสง 450nm และ 620nm การแปลผล คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างลบควบคุม (negative control) เปรียบเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (PI; percent inhibition) ถ้าค่า PI น้อยกว่า 75 ถือว่าให้ผลลบ ถ้าเท่ากับหรือมากกว่า 75 ถือว่าให้ผลบวก โดยสูตรดังนี้คือ $PI\ value = [1 - (OD_{450\ sample} \div mean\ OD_{450\ negative})] \times 100$

3. ตรวจแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 โดยวิธี Hemagglutination Inhibition test (HI)

ตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธี HI โดยปฏิบัติตามมาตรฐานของห้องปฏิบัติการกรมปศุสัตว์ (ศูนย์ควบคุมโรคไข้หวัดนก, 2549) โดยใช้ไวรัสสายพันธุ์ H5N1 ที่

แยกได้จากสัตว์ปีกในประเทศไทย (ไม่เปิดเผยแหล่งที่มาของไวรัส) ทำการตรวจ ณ ห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ตำบลท่าพระ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ใช้ไวรัสในปริมาณ 4 HA units ผสมกับซีรัมเพื่อทำปฏิกิริยากันระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจน ถ้าในซีรัมมีแอนติบอดีที่สามารถจับไวรัสทำให้หมดสภาพหรือไวรัสไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มตกตะกอนได้ ดังนั้น การอ่านผลบวกคือเมื่อซีรัมที่เจือจางตั้งแต่ 1:16 ขึ้นไปสามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงได้

ผลการศึกษา

ผลที่ได้จากการตรวจตัวอย่างเลือดจากสัตว์ปีกจำนวนรวมทั้งสิ้น 794 ตัวอย่าง คือไม่พบแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในทั้งวิธี ELISA และ HI โดยแบ่งออกเป็นจังหวัดขอนแก่นจำนวนทั้งหมด 381 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างในระหว่างเดือน สิงหาคม ถึง ธันวาคม 2554 เป็นเลือดไก่ จำนวน 344 ตัวอย่าง และเป็นเลือดเป็ด จำนวน 37 ตัวอย่าง (Table 1) ในจังหวัดมหาสารคามเก็บในเดือนสิงหาคม 2554 จำนวนทั้งหมด 78 ตัวอย่าง ทั้งหมดเป็นตัวอย่างจากไก่ (Table 2) และในจังหวัดกาฬสินธุ์ เก็บตัวอย่างในช่วงเดือน มิถุนายน ถึง กันยายน 2554 และเดือนมกราคม 2555 จำนวนทั้งหมด 335 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างไก่ จำนวน 331 ตัวอย่าง และ เป็ด จำนวน 4 ตัวอย่าง (Table 3) ในเดือนมกราคม 2555 ที่อำเภอท่าคันโท จังหวัดกาฬสินธุ์ ไก่แสดงอาการทางเดินหายใจ จึงทำการเพาะแยกเชื้อไวรัสจากการป้ายกันไก่อ (Cloacal swab) จำนวน 126 ตัวอย่าง เพิ่มเติมจากการเก็บซีรัม และตรวจไม่พบไวรัสไข้หวัดนก

Table 1 Areas and dates of serum collection in Khon Kaen province resulted in negative H5N1 antibody.

County	District	Zone	Date of collection	Chicken (n)	Duck (n)	Total (n)
Pralab	Muang	9	19 August, 2011	21	0	21
Sila	Muang	9, 13, 16, 25	24, 26 August, 2011	30	5	35
Koksi	Muang	3, 4	26 August, 2011	5	15	20
Nymuang	Muang	9	24 August, 2011	8	12	20
Samran	Muang	3	27 August, 2011	10	1	11
Nymuang	Muang	Not known	11 November, 2011	8	0	8
Koksi	Muang	13, 14	19 November, 2011	24	0	24
Buengniem	Muang	8	20 November, 2011	40	0	40
Kookam	Zumsoong	5	13 December, 2011	39	0	39
Takraserm	Nampong	4, 10, 11,	15 December, 2011	40	0	40
Dondo	Nongsonghong	12	16 December, 2011	35	0	35
Noneudom	Chumpae	11	23 December, 2011	44	0	44
Nanongtum	Chumpae	5	24 December, 2011	40	5	45
Total				344	37	381

Table 2 Areas and dates of serum collection in Mahasarakam province resulted in negative H5N1 antibody.

County	District	Zone	Date of collection	Chicken (n)	Duck (n)	Total (n)
Ladpattana	Muang	2	24 August, 2011	20	0	20
Kootong	Chaingyin	1, 2	24 August, 2011	8	0	8
Haukwang	Kosum	3, 4	25 August, 2011	50	0	50
Total				78	0	78

Table 3 Areas and dates of serum collection in Karasin province resulted in negative H5N1 antibody and virus.

County	District	Zone	Date of collection	Chicken (n)	Duck (n)	Total (n)
Kumsangtiang	Samchai	1-2	16 June, 2011	48	0	48
kungkao	Takanto	1, 4	19 July, 2011	44	4	48
Natal	Takanto	6	25 July, 2011	49	0	49
Kungkao	Takanto	4	23 August, 2011	25	0	25
Yangum	Takanto	6	20 September, 2011	38	0	38
Kungkao	Takanto	4, 9	18 January, 2012	50	0	50
Kungkao	Takanto	5	25 January, 2012	20	0	20
Dongsomboon	Takanto	2	25 January, 2012	36	0	36
Natal	Takanto	6	25 January, 2012	20	0	20
Total				331	4	335

สรุปและวิจารณ์

โรคไข้หวัดนกเป็นโรคติดต่อร้ายแรงทั้งในคนและสัตว์ ส่งผลเสียทางเศรษฐกิจและการเลี้ยงสัตว์ปีกรวมทั้งทำให้เกิดความหวาดวิตกของประชาชนเป็นอย่างมาก นโยบายในการควบคุมโรคระดับประเทศและระดับสากลคือการฆ่าและทำลายสัตว์ปีก เพราะในคนที่ป่วยมักมีประวัติสัมผัสกับสัตว์ปีกหรือซากสัตว์ปีกที่ติดเชื้อไวรัสไข้หวัดนก นอกจากการฆ่าและทำลายสัตว์ปีกแล้ว ควรมีวิธีวินิจฉัยโรคที่มีความไวสูง และตรวจสอบได้ทุกระยะของการติดเชื้อเพื่อรู้เท่าทันต่อการเกิดโรค การวินิจฉัยโรคไข้หวัดนกตามวิธีมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก คือการเพาะแยกเชื้อไวรัส ซึ่งทำโดยเพิ่มจำนวนไวรัสในไข่ไก่ฟักหรือเพิ่มจำนวนไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง และยืนยันชนิดของไวรัสด้วยวิธี HI test ใช้เวลาในการตรวจจนทราบผลประมาณ 4-7 วัน ในปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคการตรวจยืนยันหาเชื้อไวรัสโดยการตรวจหาสารพันธุกรรมที่สามารถจำแนกสายพันธุ์ (subtype) ได้อย่างแม่นยำด้วยเทคนิค Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) และวิธี Real time reverse transcriptase polymerase chain reaction (RRT-PCR) ซึ่งสามารถตัดขั้นตอนการเพาะเชื้อในไข่ไก่ฟักออกไป (Payungporn et al., 2004; Spackman et al., 2002) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าจะมีเทคนิคการตรวจหาไวรัสที่มีความไวและจำเพาะสูง แต่ระยะเวลาที่ไวรัสอยู่ในร่างกายพบได้ในช่วงระยะเวลาสั้นๆ หรือในช่วงที่สัตว์กำลังแสดงอาการของโรคเท่านั้น ภายหลังจากการติดเชื้อร่างกายของสัตว์ป่วยจะมีการสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อไวรัส ซึ่งเป็นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและแอนติบอดีนี้จะคงอยู่ในร่างกายได้นานกว่าไวรัสวิธีทางอ้อมที่บ่งชี้ถึงการติดเชื้อไวรัสคือการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันหรือวิธีซีรัมวิทยา (Serology) โดยการตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธี HI test หรือ ELISA (Gavin, 2003) ข้อดีของวิธีซีรัมวิทยาคือทำให้เพิ่มโอกาสในการค้นหาสัตว์ปีกที่อาจเป็นพาหะของโรค และสามารถตรวจตัวอย่างได้เป็นจำนวนมากภายในระยะเวลาที่

รวดเร็วและเครื่องมือราคาไม่สูง ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเลือกซีรัมวิทยาเป็นวิธีหลักในการค้นหาการติดเชื้อในสัตว์ปีก

การศึกษาในครั้งนี้ไม่พบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในสัตว์ปีกที่เลี้ยงรายย่อยในท้องถิ่น ดังนั้น สัตว์ปีกที่มีอาการปกติจึงไม่น่าจะเป็นพาหะของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก หรือแสดงให้เห็นว่าไม่มีการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสไข้หวัดนกในสัตว์ปีกในพื้นที่ที่ศึกษา อย่างไรก็ตาม หากมองในอีกแง่มุมหนึ่งคือสายพันธุ์ H5N1 เป็นไวรัสไข้หวัดนกที่มีความรุนแรงมาก เมื่อเกิดการติดเชื้อจึงทำให้มีอัตราการรอดชีวิตน้อยหรืออาจไม่มีเลยหรืออาจเป็นเพราะประชากรสัตว์ปีกมีจำนวนลดลงเป็นอย่างมากภายหลังจากนโยบายการฆ่าและทำลายของกรมปศุสัตว์ รวมทั้งเกิดอุทกภัยในปี พศ. 2553-2554 ทำให้เกษตรกรบางรายเลิกเลี้ยงสัตว์ปีก จึงทำให้การเก็บตัวอย่างได้ไม่ครอบคลุมทุกเดือน

ที่จังหวัดกาฬสินธุ์พบไก่ป่วยด้วยโรคทางเดินหายใจและมีการตายค่อนข้างสูง จึงเก็บตัวอย่างซีรัมเพิ่มมากขึ้นและเก็บซ้ำในฟาร์มเดิม อย่างไรก็ตามผลการตรวจชันสูตรโรคพบว่าไก่ป่วยด้วยโรคทางเดินหายใจเรื้อรังและตายด้วยโรคแทรกซ้อนที่ไม่เกี่ยวข้องกับโรคไข้หวัดนก และจากตัวอย่างป้ายเชื้อจากกัน (Cloacal swab) ให้ผลลบต่อการตรวจหาเชื้อไวรัสไข้หวัดนกโดยวิธีเพาะแยกเชื้อไวรัสในไข่ไก่ฟัก ผลของการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยครั้งก่อนที่สำรวจในปี พศ. 2550 (Direksin et al., 2010)

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักบริหารการวิจัยฝ่ายวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น สำนักงานและเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์จังหวัดขอนแก่น มหาสารคาม และกาฬสินธุ์ ที่ให้ข้อมูลและการประสานงานความร่วมมือกับเกษตรกรในพื้นที่และศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- ศูนย์ควบคุมโรคใช้หวัดนก. 2549. คู่มือการปฏิบัติงานควบคุมโรคใช้หวัดนก. กรมปศุสัตว์. กรุงเทพฯ.
- สำนักโรคระบาดวิทยา. 2547. ใช้หวัดนกและความสำคัญของการแพร่เชื้อสู่คน รายงานการเฝ้าระวังทางด้านระบาดวิทยา 35:49-55.
- Alexander, D.J. 2003. A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol.* 74:3-13.
- Direksin, K., M. Manakul, T., Nutrawong, A., Chatchawancholtheera and P., Papirom. 2010. Serologic monitoring of Bird flu in 3 Northeastern provinces of Thailand. P. 208. In: *Proceedings of The 36th International of Veterinary Science.* November 2-5, 2010. Impact MuangThong Thani, Bangkok.
- Gavin, P. 2003. Review of rapid diagnostic tests for influenza. *Clinical and Applied Immunology Reviews.* 4:151-72.
- CDC. 2004. Cases of influenza (H5N1)—Thailand. *MMWR weekly report.* 53:100-103. Available: <http://www.cdc.gov/flu/index.htm>. Accessed February 13, 2004.
- Koopman, S.M., B. Wilbrink, M. Conyn, G. Natropat, H. Vennema, A. Meijer, J.V. Steenbergan, R. Fouchier, A. Osterhaus and A. Bosman. 2004. Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands. *Lancet.* 363:587-593.
- Li, K.S., Y. Guan, J. Wang, G.J. Smith, K.M. Xu, L. Duan, A.P. Rahardjo, P. Puthavathana, C. Buranathai, T.D. Nguyen, A.T. Estoepangestie, A. Chaisingh, P. Auewarakul, H.T. Long, N.T. Hanh, R.J. Webby, L.L. Poon, H. Chen, K.F. Shortridge, K.Y. Yuen, R.G. Webster, and J.S. Peiris. 2004. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature.* 430:209-213.
- Puthavathana, P., P. Auewarakul, P.C. Charoenying, K. Sangsiriwut, P. Pooruk, K. Boonnak, R. Khanyok, P. Thawachsupa, R. Kijphati and P. Sawanpanyalert. 2005. Molecular characterization of the complete genome of human influenza H5N1 virus isolates from Thailand. *J Gen Virol.* 86:423-433.
- Payungporn, S., P. Phakdeewitot, S. Chutinimitkul, A. Theamboonlers, J. Keawcharoen, and K. Oraveerakul. 2004. Single-step multiplexreverse transcription - polymerase chain reaction (RT-PCR) for influenza A virus subtype H5N1 detection. *Viral immunol.* 17:88-593.
- Spackman, E., D.A. Seene, T.J. Meyers, L.L. Bulaga, L.P. Garber, M.L. Perdue, K. Lohman, L.T. Daum and D.L. Suarez. 2002. Development of a Real-Time Reverse Transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 Hemagglutinin subtypes. *J. Clin. Microbiol.* 40:3256-3260.
- Tam, J.S. 2002. Note Influenza A (H5N1) in Hong Kong: an overview. *Vaccine.* 20:S77-S81.
- Tiensen, T, P. Chaitaweesub, T. Songserm, A. Chaisingh, W. Hoonsuwan and C. Buranathai. 2004. Highly pathogenic avian influenza H5N1, Thailand, 2004. *Emerg. Infect. Dis.* 11:1664-1672.
- Tinh, T., N.T. Liem, N.T. Dung, L.T. San, P.P. Mai and N.V. Chau. 2004. WHO international Avian influenza investigation on Avian influenza A(H5N1) in 10 patients in Vietnam. *New England J. Med.* 350: 1179-1188.
- Viseshakul, N., R. Thanawongnuwech, A. Amonsin, S. Suradhat, S. Payungporn and J. Kaewchareon. 2004. The genome sequence analysis of H5N1 avian influenza A virus isolated from the outbreak among poultry populations in Thailand. *Virology* 328:169-176.