



การศึกษาระดับความชุกทางซีรัมของโรคไข้วัดใหญ่ชนิด เอ ของสัตว์ตระกูลม้าในเขตพื้นที่ จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดกาญจนบุรี

อิสราภาพ มณีเล็ก¹ ปรีดา เลิศวัชรสารกุล² สิริลักษณ์ จาละ³ อารีย์ ไหลกุล¹ วีรวัฒน์ ปัญควิจฉาณ⁴
และวรกิจ เชิดชูธรรม^{1, #}

¹ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์ใหญ่และสัตว์ป่า; ²ภาควิชาพยาธิวิทยา; ³หน่วยงานชันสูตรโรคสัตว์กำแพงแสน

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140;

⁴กรมการสัตว์ทหารบก จ.นครปฐม 73000

บทคัดย่อ: การสำรวจความชุกทางซีรัมของโรคไข้วัดใหญ่ชนิด เอ ของสัตว์ตระกูลม้า (ม้า ลา และล่อ) ในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนเมษายน ถึง พฤษภาคม พ.ศ.2560 เก็บตัวอย่างเลือดจากสัตว์ตระกูลม้า จำนวน 285 ตัว ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ 132 ตัว และเขตจังหวัดกาญจนบุรี 153 ตัว ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไข้วัดใหญ่ชนิด เอ ด้วยวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) การตรวจได้ค่าเฉลี่ย S/N ratio ของสัตว์ตระกูลม้าตามกลุ่มช่วงอายุที่ศึกษาคือกลุ่มอายุน้อยกว่า 1 ปี กลุ่มอายุ 1-2 ปี และกลุ่มอายุมากกว่า 2 ปี (ค่าเฉลี่ยอายุเท่ากับ 8 ปี) คือ 0.86, 0.85 และ 0.86 ตามลำดับ และค่าเฉลี่ย S/N ratio ของสัตว์ตระกูลม้าของกลุ่มพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดกาญจนบุรี คือ 0.79 และ 0.91 ตามลำดับ โดยค่า S/N ratio น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.60 อ่านผลเป็นบวก การศึกษาครั้งนี้ไม่พบระดับแอนติบอดีต่อเชื้อไข้วัดใหญ่ชนิด เอ ในม้า ลา และล่อ ทุกกลุ่มอายุของทั้งสองจังหวัด

คำสำคัญ: ไข้วัดใหญ่ชนิด เอ สัตว์ตระกูลม้า ซีรัม อีไลซ่า

#ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2563. 15(1): 57-68.

E-mail address: fvetwkc@ku.ac.th

Seroprevalence Study of Influenza Type A of Equidae in Chiangmai and Kanchanaburi Provinces

Issaraparb Maneelek¹, Preeda Lertwatcharasarakul², Siriluk Jala³, Aree Laikul¹,
Weerawat Punquejana⁴, and Worakij Cherdchutham^{1,#}

¹Department of Large Animal and Wildlife Clinical Sciences; ²Department of Pathology; ³Kamphaeng Saen Veterinary Diagnosis Center, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140; ⁴Veterinary and Remount Department, Nakhon Pathom, 73000

Abstract: A seroprevalence survey of Influenza virus type A of *Equidae* (horse, donkey and mule) was conducted in area of Chiangmai and Kanchanaburi provinces between April to May in 2017. The blood samples collected from total 285 animals, 132 samples from Chiangmai and 153 from Kanchanaburi province, were tested for influenza virus type A antibody by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mean values of S/N ratio from Equid group age of younger than 1 year old, group 1-2 years old and group older than 2 years old (average 8 years old) were 0.86, 0.85 and 0.86 respectively. The mean values of S/N ratio of Equid from Chiangmai and Kanchanaburi provinces were 0.79 and 0.91 respectively. The S/N ratio value equals or lower than 0.60 was considered positive. In this study, the influenza virus type A antibody was not found from horse, donkey and mule in all age groups of both provinces.

Keywords: Influenza type A, Equidae, Serum, ELISA

#Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2020 15(1): 57-68.

E-mail address: fvetwkc@ku.ac.th

บทนำ

ไวรัสไข้หวัดใหญ่ (Influenza virus) เป็นเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจของคนและสัตว์หลายชนิด ทั้งในสัตว์ปีก เช่น ไก่ เป็ด ห่าน และนกต่าง ๆ รวมถึงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น สุนัข แมว เสือ วาฬ แมวน้ำ และ ม้า (Songserm et al., 2006) ซึ่งสามารถติดต่อได้อย่างแพร่หลาย

และรวดเร็ว โดยจากทั้งทางอากาศและสารคัดหลั่ง สัตว์ที่ติดเชื้อมักพบมีน้ำมูก ไอ ปอดอักเสบ (Major and Jones, 2011; Stephen, 2002) เชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ สามารถแบ่งได้ 3 สายพันธุ์ คือ เอ บี และซี ตามความหลากหลายของชนิดสัตว์ (host range) ที่ไวรัสทำให้เกิดโรค และตามความรุนแรงของไวรัสที่สามารถทำให้โฮสต์แสดงอาการป่วย

(symptom severity) คนสามารถติดไวรัสไข้หวัดใหญ่ได้ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ถูกแบ่งเป็นชนิดย่อย (subtype) ตามความแตกต่างของแอนติเจนไกลโคโปรตีนที่ยื่นอยู่บนผิวของอนุภาคของไวรัส 2 ชนิด คือ ฮีแมกกลูตินิน (Hemagglutinin, HA) และนิวรามินิเดส (Neuraminidase, NA) ปัจจุบันมีฮีแมกกลูตินินที่แอนติเจนต่างกันถึง 18 ชนิด และนิวรามินิเดส ที่ต่างกันอีก 11 ชนิด (CDC, 2017) โดยชนิด เอ มีความสามารถในการแพร่เชื้อและกระจายตัวได้มากที่สุด เช่น ไข้หวัดนก (H5N1) และ ไข้หวัดม้า (H3N8) เป็นต้น การเรียกชื่อของไข้หวัดใหญ่จะเรียกชื่อตามสัตว์หรือสิ่งมีชีวิตที่ติดเชื้อและแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว สาเหตุที่เชื้อไข้หวัดใหญ่เป็นหนึ่งในโรคควบคุมขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) เนื่องจากธรรมชาติของเชื่อนั้นมีความหลากหลายและมีโอกาสเปลี่ยนแปลงกลายพันธุ์ได้ค่อนข้างสูง ทำให้ต้องมีการติดตามการดำเนินไปของโรคอยู่เสมอ (Fouchier et al., 2003; Cullinane et al., 2010; Jang et al., 2017) การติดเชื้อมนุษย์เป็นโอกาสให้ไวรัสได้มีการพัฒนาและปรับเปลี่ยนโฮสต์เพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมและสามารถคงอยู่ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้มากขึ้น ดังนั้น การเฝ้าระวังการดำเนินไปของโรคจึงไม่ควรจำกัดในสัตว์ชนิดใดชนิดหนึ่ง แต่ต้องมีการเฝ้าระวังในทุกสัตว์ที่ไวรัสสามารถดำรงอยู่ได้ เพื่อป้องกันการระบาดทั้งในคนและสัตว์

มีการรายงานการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ ข้ามชนิดสัตว์อยู่หลายครั้ง โดยพบไข้หวัดม้าที่เพาะแยกได้จากสุนัขพันธุ์เกรย์ฮาวด์ในประเทศอังกฤษเมื่อปี ค.ศ. 2005 (Crawford et al., 2005) พบเชื้อไข้หวัดนก (H5N1) ที่แยกได้จากลา ที่ประเทศอียิปต์ในปี

ค.ศ. 2010 (Abdel-Moneim et al., 2010) มีรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดใหญ่ที่รุนแรงหลายครั้งทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมาก อาทิ ในประเทศอังกฤษเมื่อปี ค.ศ. 2003 จากม้าแข่ง (Barquero et al., 2007) ปี ค.ศ. 2007 ที่ประเทศออสเตรเลียเกิดการระบาดของโรคไข้หวัดม้า ซึ่งเป็นประเทศที่ไม่เคยพบโรคไข้หวัดม้ามาก่อน (Anon, 2008) ปี ค.ศ. 2008 พบการระบาดที่ประเทศอินเดีย หลังจากไม่มีรายงานมา 20 ปี (Virmani et al., 2010) ปี ค.ศ. 2016 ที่ประเทศมาเลเซีย มีรายงานการพบเชื้อไวรัสไข้หวัดม้า ในม้าโปโล (OIE, 2016) ในประเทศไทยนั้นมีการสำรวจโรคไข้หวัดม้าสายพันธุ์ H3N8 และ H7N7 เมื่อปี ค.ศ. 2006 โดยไม่พบ แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสในทุกตัวอย่าง (Vitoonpong et al., 2006) นอกจากนั้นพบว่าม้ายังเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่สามารถติดเชื้อจากสัตว์ปีกได้ เนื่องจากมีตัวรับ (receptor) ซึ่งเป็นตัวรับที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสไข้หวัดที่มาจากสัตว์ปีก โดยตัวรับชนิดนี้ก็ปรากฏในเซลล์เยื่อบุหลอดลมใหญ่ของม้ายด้วย (Suzuki et al., 2000) วิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เป็นวิธีใช้ตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ที่สะดวกและรวดเร็ว มีรายงานการใช้ตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในม้า (Mesako et al., 2016; Hemida et al., 2019) ลา (Chenchev et al., 2011; Wegdan et al., 2016) ใช้ตรวจระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ จากม้าแข่งพันธุ์เธอโรเบอร์ดา ภายหลังที่มีการติดเชื้อและแสดงการป่วยจากไข้หวัดม้าแล้ว (Happold and Rubira, 2011) และเป็นวิธีที่ยอมรับในการใช้ตรวจระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไข้หวัดม้า จากม้าที่ยังไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันไข้หวัดม้าและไม่เคย

ป่วยเป็นไข้หวัดมาก่อน (Galvin et al., 2013) วิธี ELISA จึงเป็นเทคนิคการตรวจที่ใช้ในการศึกษาความชุกทางซีรัมของการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ อย่างแพร่หลาย

พื้นที่ภาคตะวันตกและภาคเหนือของประเทศไทยเป็นพื้นที่ส่วนที่ใกล้เคียงกับประเทศที่เคยพบการเกิดโรคไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ที่ก่อโรคในม้า เช่น ประเทศอินเดีย (Virmani et al., 2010; Mavadiya et al., 2012) และสาธารณรัฐประชาชนจีน (Chang et al., 2014; Wang et al., 2015) ซึ่งพื้นที่ของประเทศไทย เช่น จังหวัดกาญจนบุรีและจังหวัดเชียงใหม่ของประเทศไทยมีฟาร์มเพาะพันธุ์ม้าของเกษตรกรรวมทั้งม้า ลา และล่อของหน่วยงานราชการ และภาคเอกชน ทั้งนี้ตัวเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ สามารถแพร่กระจายได้ทาง สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่เป็นโฮสต์ตามธรรมชาติ (natural host) และนกน้ำ (aquatic birds) ที่มีการอพยพตามธรรมชาติ (Ducatez et al., 2008) พบมีรายงานพบไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในกลุ่มนกป่าอพยพ (Avian Influenza H5) ในช่วงเปลี่ยนฤดูจากทางภาคเหนือไปที่มีมณฑลยูนนานทางตอนใต้ของสาธารณรัฐประชาชนจีน (Chang et al., 2014) อย่างไรก็ตาม ปัจจัยและกลไกที่ช่วยในการระบาดของไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ระหว่างโฮสต์และการเกิดเชื้อสายใหม่ (novel lineages) ของไวรัส ยังไม่สรุปเป็นที่แน่นอน (Neumann and Kawaoka, 2015) ดังนั้นการเฝ้าระวังและควบคุมโรคไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในพื้นที่เลี้ยงและเพาะพันธุ์ม้ายังคงเป็นเรื่องจำเป็น ทั้งนี้จากข้อมูลที่มีผู้วิจัยสืบค้น ตั้งแต่มีรายงานการสำรวจระดับแอนติบอดีของไวรัสไข้หวัดม้า ซึ่งอยู่ในกลุ่มไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ของประเทศไทยในปี พ.ศ.2549 (Vitoonpong et al., 2006) ก็ยังไม่พบรายงานการ

สำรวจความชุกทางซีรัมของกลุ่มไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในสัตว์ตระกูลม้าในประเทศไทยอีกเลย ดังนั้นข้อมูลการสำรวจระดับแอนติบอดีของไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ จะช่วยให้ฟาร์มม้าของภาครัฐและเอกชนมีข้อมูลในการควบคุมโรคได้อย่างต่อเนื่อง การวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาถึงระดับความชุกทางซีรัมของโรคไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในสัตว์ตระกูลม้าของพื้นที่ภาคตะวันตกในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี และภาคเหนือในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ของประเทศไทย ซึ่งจะเป็นการเฝ้าระวังการระบาดของสามารถใช้ผลการศึกษาเป็นข้อมูลทางระบาดวิทยา และเป็นแนวทางการจัดการป้องกันโรคที่อาจสามารถพัฒนาสู่คนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นๆ

อุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

เก็บข้อมูลจากสัตว์ตระกูลม้า (ม้า ลา และ ล่อ) ที่อยู่ในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดกาญจนบุรี ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2560 (ฤดูร้อน) ที่ไม่มีประวัติได้รับการฉีดวัคซีนไข้หวัดม้า ลักษณะการเลี้ยงทั้งสองแห่งคือ ฟาร์มอยู่ในพื้นที่มีภูเขาล้อมรอบตามธรรมชาติ มีการเลี้ยงโดยแบ่งกลุ่มสัตว์ตระกูลม้าตามการใช้งานและช่วงอายุ คอกมีลักษณะถ่ายเทอากาศได้ดีไม่มีมุ้งลวด ระหว่างคอกเลี้ยงมีรั้วไม้หรือคาน้ำกันเป็นสัดส่วน มีแปลงหญ้าปล่อยสัตว์และเล็มเฉพาะเวลากลางวันตามช่วงเวลาที่แน่นอน พื้นที่ศึกษาสุ่มตัวอย่างด้วยวิธี Cluster sampling (area sampling) โดยแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่มตามช่วงอายุ คือ กลุ่มที่หนึ่งอายุน้อยกว่า 1 ปี กลุ่มที่สองอายุ 1 ปี ถึง 2 ปี กลุ่มที่สามอายุมากกว่า 2 ปี โดยกำหนด ค่า $P = 12.02\%$ (Mavadiya et al., 2012) ซึ่งทำการสุ่มตัวอย่างแบบ

non-probability sampling ชนิด convenience sampling (OIE, 2016)

วิธีเก็บตัวอย่าง

เก็บเลือดที่ตำแหน่งเส้นเลือดดำใหญ่ที่คอ (Jugular vein) โดยใช้เข็มขนาด เบอร์ 18 ความยาว 1 นิ้วครึ่ง กระบอกฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร และ หลอดเก็บเลือดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด จำนวน 2 หลอด หลอดละ 4 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่าง ทั้งหมดในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปปั่น แยกซีรัม ภายใน 24 ชั่วโมง ตามขั้นตอนการปฏิบัติ ของห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จากนั้นเก็บรักษาซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปตรวจวัดค่าระดับภูมิคุ้มกัน ต่อไป

การตรวจสอบซีรัมด้วยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

ชุดตรวจ InfA Multi ELISA (BioChek®) เป็น ชุดตรวจหาแอนติบอดีใช้หัววัดใหญ่ชนิด เอ ด้วยวิธีการ direct competitive ELISA โดยสามารถตรวจได้ใน หลายชนิดสัตว์รวมถึงม้า ซึ่งทำการเตรียมตัวอย่าง โดยนำ diluent reagent เจือจางกับตัวอย่างใน อัตราส่วน 1 : 50 (ตัวอย่าง 5 ไมโครลิตรและ diluent 245 ไมโครลิตร) จากนั้นทำการเติมตัวอย่าง ที่เจือจางลงในเพลทแต่ละหลุมปริมาณ 50 ไมโครลิตร ตามด้วยการเติม conjugate reagent ปริมาณ 50 ไมโครลิตรในแต่ละหลุม ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง (22-27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 60 นาที หลังจาก นั้นล้างเพลท 4 ครั้ง ด้วยสารละลาย buffer เติม สารละลาย substrate reagent จำนวน 100 ไมโครลิตรต่อหลุม จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นใส่สารละลาย stop

solution จำนวน 100 ไมโครลิตร และทำการวัดค่า การดูดกลืนแสงที่ความกว้างแสง 405 นาโนเมตร โดยเครื่อง ELISA reader รุ่น Infinite F50, TECAN® จากประเทศสวิตเซอร์แลนด์

การอ่านผล เป็นค่า S/N ratio [Mean of test sample (S) / Mean of negative control (N)] โดย ค่า S/N ratio เท่ากับหรือมากกว่า 0.601 อ่านผล เป็นลบ (Negative) และน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.600 อ่านผลเป็นบวก (Positive)

การทดสอบทางสถิติ

กรณีที่พบผลบวกจะนำค่าเฉลี่ยของ S/N ratio ของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง (ตามกลุ่มช่วงอายุ และพื้นที่) มาเปรียบเทียบทางสถิติโดยใช้ ANOVA กำหนดให้ ค่า P-value < 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญ

ผลการทดลอง

ได้ข้อมูลสัตว์ตระกูลม้า 3 กลุ่มตามช่วงอายุ คือ กลุ่มที่หนึ่งอายุน้อยกว่า 1 ปี จำนวน 85 ตัว แบ่งเป็น ม้า 49 ตัว ลา 2 ตัว และล่อ 34 ตัว กลุ่มที่สองอายุ 1 ปี ถึง 2 ปี จำนวน 93 ตัว แบ่งเป็นม้า 52 ตัว ลา 7 ตัว และล่อ 34 ตัว กลุ่มม้าอายุ มากกว่า 2 ปี (โดยมีค่าเฉลี่ยอายุที่ 8 ปี) จำนวน 107 ตัว แบ่งเป็น ม้า 83 ตัว ลา 23 ตัว และล่อ 1 ตัว โดยรวมเป็นจำนวนทั้งหมด 285 ตัว และ แบ่งเป็น สัตว์ตระกูลม้าของกลุ่มพื้นที่กาญจนบุรี และเชียงใหม่ 153 และ 132 ตัว ตามลำดับ (ตาราง ที่ 1)

ผลการตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อใช้หัววัดใหญ่ ชนิด เอ ด้วยวิธีการ direct competitive ELISA (antibody competition) โดยชุดตรวจ InfA Multi ELISA จากกลุ่มสัตว์ตระกูลม้าในเขตพื้นที่

จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดกาญจนบุรีในทุกกลุ่มช่วงอายุ ไม่พบแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ ในทุกตัวอย่าง จากตัวอย่างในกลุ่มอายุน้อยกว่า 1 ปี ทั้งหมดจำนวน 85 ตัวอย่าง กลุ่มอายุ 1-2 ปี จำนวน 93 ตัวอย่าง และในกลุ่มอายุ 2 ปีขึ้นไป จำนวน 107 ตัวอย่าง แบ่งตามชนิดสัตว์ได้เป็น ม้า จำนวน 184 ตัว ลาจำนวน 32 ตัว และล่อจำนวน 69 ตัว โดยม้า ลา และล่อ กลุ่มที่มีอายุน้อยกว่า 1 ปี มีค่าเฉลี่ย S/N ratio อยู่ที่ 0.86 มากกว่าในกลุ่มม้า ลา และล่อ ที่มีอายุ 1-2 ปี ซึ่งมีค่าเฉลี่ย S/N ratio อยู่ที่ 0.85 และค่าเฉลี่ย S/N ratio ในกลุ่มอายุน้อยกว่า 1 ปีและกลุ่ม 2 ปีขึ้นไปมีค่าเท่ากัน ส่วนในม้า ลา และล่อ กลุ่มจังหวัดเชียงใหม่มีค่าเฉลี่ย S/N ratio อยู่ที่ 0.79 ซึ่งน้อยกว่าในม้า ลา ล่อ ในกลุ่มจังหวัดกาญจนบุรี โดยมีค่าเฉลี่ย

S/N ratio อยู่ที่ 0.91 เนื่องจากผลตรวจของทุกตัวอย่างให้ผลเป็นลบจึงไม่มีการคำนวณค่าทางสถิติ

วิจารณ์และสรุป

มีรายงานความชุกของไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ (H7N9) เพิ่มขึ้นหรือลดลงในสิ่งแวดล้อมตามฤดูกาล (Wang et al., 2015) ดังนั้นการศึกษาความชุกทางซีรัมของไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ของสัตว์ตระกูลม้า ในช่วงเดือน เมษายนถึงเดือนพฤษภาคม ซึ่งเป็นช่วงฤดูร้อนของประเทศไทย อาจเป็นช่วงเวลาที่มีการย้ายถิ่นของนกอพยพที่หนีสภาพอากาศที่หนาวเย็นจากประเทศทางตอนเหนือ เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน มาที่ประเทศไทยได้ โดยการศึกษาในครั้งนี้ ใช้ค่า S/N ratio เป็น ค่าแสดงระดับแอนติบอดี

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนสัตว์ตระกูลม้า (ตัว) โดยแบ่งเขตพื้นที่และช่วงอายุ

พื้นที่	น้อยกว่า 1 ปี			1-2 ปี			มากกว่า 2 ปี			รวม
	ม้า	ลา	ล่อ	ม้า	ลา	ล่อ	ม้า	ลา	ล่อ	
เชียงใหม่	2	2	34	2	7	34	27	23	1	132
กาญจนบุรี	47	0	0	50	0	0	56	0	0	153
รวม	49	2	34	52	7	34	83	23	1	285

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ย S/N ratio (ตัวหนา) และจำนวนสัตว์ตระกูลม้า โดยแบ่งตามเขตพื้นที่และช่วงอายุ

	น้อยกว่า 1 ปี	1-2 ปี	มากกว่า 2 ปี	จำนวนรวม	ค่าเฉลี่ย S/N ratio	SD
เชียงใหม่	38	43	51	132	0.79	0.06
กาญจนบุรี	47	50	56	153	0.91	0.09
รวม	85	93	107	285		
ค่าเฉลี่ย S/N ratio	0.86	0.85	0.86			
SD	0.10	0.09	0.09			

SD=standard deviation

ต่อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ (Mesako et al. 2016) ของสัตว์ตระกูลม้าที่ใช้ศึกษา โดยมีผลการตรวจไม่พบ แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในกลุ่มช่วงอายุทั้ง 3 กลุ่ม และพบมีค่า S/N ratio ที่ใกล้เคียงกันมาก อย่างไรก็ตาม ในปี ค.ศ. 2015 Pusterla และคณะ ได้มีการศึกษาในเรื่องปัจจัยของการจัดการและสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการระบาดของไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในม้า ที่ประเทศไอซ์แลนด์ โดยเก็บตัวอย่างจากสารคัดหลั่งบริเวณจมูกและซีรัม จากม้าที่แสดงอาการโรคทางเดินหายใจและตรวจด้วยวิธี Real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) จากสารคัดหลั่งบริเวณจมูก วิธีทางซีรัมวิทยาจากตัวอย่างเลือด โดยตรวจหาแอนติบอดีของเชื้อโดยวิธี HI (Hemagglutination-Inhibition) และตรวจปริมาณแอนติบอดีด้วยวิธี single radial hemolysis (SRH) โดยแบ่งม้าเป็นกลุ่มช่วงอายุต่างๆ กัน ม้าที่แสดงอาการป่วยและอยู่ในช่วงอายุ ระหว่าง 1-5 ปี พบเชื้อไข้หวัดใหญ่ได้มากกว่าช่วงอายุอื่น หรือกล่าวคือม้าที่มีอายุน้อยมีความเสี่ยง ในการพบโรคมากกว่าม้าที่อายุมาก (Morley et al., 2000) จากผลการศึกษาครั้งนี้ การที่ค่า S/N ratio ในผลการสำรวจของม้าทั้ง 3 กลุ่ม ในแต่ละพื้นที่ไม่แตกต่างกันไปได้อาจมีการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มอายุที่น้อยเกินไป ซึ่งทั้งนี้ทางผู้ทำการศึกษามุ่งเน้นไปกลุ่มสัตว์ตระกูลม้าที่อายุดังกล่าวเนื่องจากมีความเสี่ยงในการได้รับเชื้อไวรัสมากโดยมีประวัติไม่ได้รับการฉีดวัคซีนไข้หวัดม้า มาก่อนซึ่งไวรัสที่ก่อโรคไข้หวัดม้าอยู่ในกลุ่มไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ทั้งนี้ในม้าใช้งานทั่วไปในพื้นที่ศึกษาที่มีอายุมากกว่ากลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา จะมีการฝึกใช้งาน เช่น การขี่แข่งขันกีฬาขี่ม้า โดยจะได้รับการฉีดวัคซีนเพื่อป้องกันโรคไข้หวัดม้าก่อนที่จะมีการเคลื่อนย้ายไปทำกิจกรรมยังพื้นที่อื่นๆ

นอกจากนี้ในกลุ่มม้าของพื้นที่ศึกษาที่อายุมากกว่า 10 ปี ขึ้นไปจะเป็นม้าที่ไม่ทราบประวัติการได้รับการฉีดวัคซีนไข้หวัดม้าอย่างแน่ชัด ทั้งนี้ในกลุ่มผู้เลี้ยงม้าใช้งานทั่วไป ม้าที่มีช่วงอายุ ไม่เกิน 3 ปี นั้นจะพบได้มากโดยลูกม้าในช่วงอายุ 1-2 ปี จะหย่านนมแม่แล้ว และสามารถกินอาหารขั้นได้ ทำให้สะดวกต่อการเลี้ยงดู เกษตรกรมักทำการซื้อขาย และลูกม้าเพศเมียอายุ 2-3 ปีในบางครั้งก็เริ่มทำการผสมพันธุ์ทำให้เป็นที่ต้องการของเกษตรกรมากกว่า

จากการศึกษาครั้งนี้ผลการตรวจยังแสดงถึงการไม่พบแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ของสัตว์ตระกูลม้าทั้งในจังหวัดกาญจนบุรี และ เชียงใหม่ โดยการเปรียบเทียบค่า S/N ratio ของพื้นที่ที่ใช้ศึกษาพบว่าระดับเฉลี่ย S/N ratio ที่ตรวจพบจากสัตว์ตระกูลม้าในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่นั้น มีระดับต่ำกว่าค่าเฉลี่ย S/N ratio ของสัตว์ตระกูลม้าในเขตพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งในประเทศเพื่อนบ้านในพื้นที่ชายแดนภาคเหนือเคยมีรายงานการระบาดของไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ มาก่อน (Wang et al., 2015; OIE, 2016) หรือประเทศที่พบการระบาดทางภาคตะวันตกของประเทศไทย เช่น ประเทศ อินเดีย (Mavadiya et al., 2012) โดยจังหวัด เชียงใหม่ก็มีภูมิประเทศติดต่อทางชายแดนกับประเทศพม่าและสาธารณรัฐประชาชนจีน และสัตว์จำพวก ลา และ ล่อ ที่อยู่ในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ก็มีความเสี่ยงในการติดโรคได้จากลักษณะการใช้งานในพื้นที่ทุรกันดารหรือการเคลื่อนย้ายในภูมิประเทศต่าง ๆ ในเขตพื้นที่ป่าและภูเขาที่ติดกับชายแดน อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาในพื้นที่ดังกล่าว ค่าแอนติบอดีต่อเชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ยังเป็นผลลบในทุกตัวอย่าง อาจแสดงถึงมาตรการในการป้องกันโรคในพื้นที่เสี่ยงได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยฟาร์มม้าใน

พื้นที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดกาญจนบุรีนั้น มีการแยกเลี้ยงสัตว์ตามกลุ่มช่วงอายุอย่างชัดเจน โดยสถานที่เลี้ยงมีการแบ่งแยกพื้นที่เลี้ยงตามกลุ่มอายุ ซึ่งแบ่งแยกโดยใช้ร่องน้ำ ถนน และรั้วกันโดยรอบ ซึ่งสามารถช่วยแยกกลุ่มม้าและช่วยป้องกันโรคได้ดีในระดับหนึ่ง ในการปล่อยแปลงหรือต้อนฝูงม้าไปเลี้ยงจะไม่มีปะปนกันระหว่างกลุ่มสัตว์ ทั้งนี้การปล่อยม้าในแปลงปล่อยแพะเล็มยังเป็นการช่วยลดความเครียด (stress) ที่อาจจะเกิดขึ้นในฝูง โดยมีรายงานว่า การเลี้ยงม้าที่หนาแน่นจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้มีการระบาดของเชื้อไข้หวัดใหญ่ได้อย่างรวดเร็วหากมีการแพร่เชื้อเข้าในกลุ่มม้า (Happold and Rubira, 2011; Hemida et al., 2019) ฟาร์มที่ใช้ในการศึกษามีระบบการจัดการความสะอาดในพื้นที่เลี้ยง โรงเรือนมีการถ่ายเทอากาศได้ดี รวมถึงมีการจัดระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosecurity) เบื้องต้น เช่น มีพื้นที่กักม้าที่ขนย้ายเข้ามาใหม่ก่อนการรวมกลุ่มในโรงเรือนเดียวกัน มีบ่อจุ่มเท้าก่อนเข้าออกโรงเรือน เป็นต้น ทั้งนี้ฟาร์มทั้งสองแห่งยังมีความเหมาะสมในเรื่องของพื้นที่ตั้งฟาร์มซึ่งมีภูเขาล้อมรอบในเขตเลี้ยงม้าทั้งสองพื้นที่ โดยสามารถป้องกันสัตว์อื่นที่จะเข้ามาในพื้นที่ได้ในระดับหนึ่ง โดยถือเป็นการป้องกันโรคติดต่อได้อย่างดีทางหนึ่ง มีข้อมูลแสดงให้เห็นว่าฟาร์มม้าที่มีขอบเขตของภูมิประเทศแยกเป็นสัดส่วน เช่น มีสันเขาหรือหุบเขา หรือมีแนวต้นไม้หนาแน่นกันเป็นแนว จะช่วยในการกักกันม้าได้เมื่อมีการระบาดของโรค (Major and Jones, 2011) อย่างไรก็ตามมีรายงานการติดเชื้อโดยทางอ้อมผ่านทางเสื้อผ้า วัสดุอุปกรณ์ของสัตว์ อุปกรณ์ที่ใช้ของสัตว์ด้วยกัน จึงยังคงมีความเสี่ยงติดโรคจากปัจจัยดังกล่าว (Pusterla et al., 2015)

มาตรการป้องกันไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในกรณีม้าที่ไม่มีอาการป่วย ควรมีการระวังอาการทางคลินิกและสังเกตอาการผิดปกติของม้ายู่สม่ำเสมอโดยผู้เลี้ยงหรือสัตวแพทย์ที่ควบคุมฟาร์ม การฉีดวัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดม้าแก่ม้าที่เข้ามาในพื้นที่ดูแลและตรวจสอบประวัติการได้รับวัคซีนรวมถึงมีการกระตุ้นการฉีดวัคซีนป้องกันกันไข้หวัดม้าอย่างสม่ำเสมอตามระยะเวลาที่กำหนด โดยเฉพาะในม้าอายุน้อยหากได้รับวัคซีนตามกำหนดไม่ครบนั้น สามารถเพิ่มความเสี่ยงในการติดเชื้อไข้หวัดม้าได้ พบม้าที่ติดเชื้อถึงร้อยละ 75 เป็นม้าที่ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนกระตุ้นจากเข็มแรกภายในระยะเวลา 6 เดือน (Gildea et al., 2013) ควรหลีกเลี่ยงการเลี้ยงม้าในคอกหรือสถานที่ที่อากาศไม่ถ่ายเท ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อได้ โดยในงานวิจัยของ Morley และคณะในปี ค.ศ. 2000 พบว่าในคอกม้าที่มีอากาศถ่ายเทไม่สะดวกจะมีโอกาสที่จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่เพิ่มมากกว่าในคอกม้าปกติถึง 4 เท่า ซึ่งสัตว์ตระกูลม้าในพื้นที่ที่ศึกษาครั้งนี้ถูกเลี้ยงในบริเวณที่ลักษณะคอกม้ามีอากาศถ่ายเทสะดวก คอกลักษณะโปร่ง มีเพดานสูงทำให้มีอากาศถ่ายเทตลอด จำนวนสัตว์ต่อโรงเรือนไม่แออัด โดยอาจเป็นเหตุผลสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้ลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัส แต่มีรายงานพบว่าม้าที่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคไข้หวัดม้า หากเลี้ยงอยู่ในรัศมีระยะทาง 200 เมตรใกล้กับม้าที่แสดงอาการทางคลินิกจากการป่วยเป็นไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ก็สามารถติดเชื้อไวรัสนี้ได้ (Major and Jones, 2011) โดยการกระจายเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ มักแพร่กระจายได้ดีในเวลา กลางคืนที่มีหมอกและลมพัดอ่อนๆ แต่หากมีลมร้อนในกลางวันที่มีแสงอาทิตย์จ้ามักจะทำให้เชื้อไวรัสถูกทำลาย (Major and Jones, 2011) ดังนั้นการเก็บม้า

อยู่ในคอกเลี้ยงหรือหลีกเลี่ยงการปล่อยม้าในแปลงหญ้าในเวลากลางคืนที่มีอุณหภูมิเย็น และหมอกลง จัดอาจมีส่วนช่วยลดการได้รับเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ได้

ในกรณีม้ามีอาการของโรคทางเดินหายใจ หรือ สงสัยในการติดเชื้อไวรัสโรคไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ นั้น ให้ทำการแยกม้าที่มีอาการผิดปกติทันที แล้วทำการ ยืนยันโรคด้วยวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการ (Gildea et al. 2011) เช่น RT-PCR หรือ ตรวจหา เชื้อไวรัส (viral isolation) เป็นต้น ทำการฉีดวัคซีน ป้องกันไข้หวัดม้าแก่ม้าตัวที่ไม่แสดงอาการเพื่อ กระตุ้นการสร้างระดับภูมิคุ้มกัน เป็นการลดการเกิด สัตว์ป่วยตัวใหม่ (Gildea et al., 2011) และให้ จัดการเรื่องการป้องกันทางชีวภาพ เพื่อป้องกันการ แพร่กระจายของเชื้อในทางอากาศ อุปกรณ์ หรือวัสดุ ปุรองนอนต่าง ๆ ที่สามารถติดเชื้อได้โดยทางอ้อม (Gildea et al., 2013) มีรายงานว่าเชื้อไข้หวัดใหญ่ นั้นสามารถคงอยู่บนพื้นผิวแข็ง (hard surfaces) ได้นานถึง 24-48 ชั่วโมง และสามารถคงอยู่ในน้ำปัสสาวะที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้นาน 14 วัน (Yadav et al., 1993) อย่างไรก็ตามพบว่าในการปฏิบัติการ ป้องกันทางชีวภาพของฟาร์มม้าทั่วไปยังมีข้อจำกัดอยู่ เนื่องจากในฟาร์มยังต้องมีการเคลื่อนย้ายม้าไปทำ กิจกรรมนอกฟาร์ม มีบุคคลเข้าออกฟาร์มอยู่เสมอ โรคมีระยะฟักตัว (incubation period) และยังมี แหล่งแพร่โรคในธรรมชาติ (Weese 2014)

ทั้งนี้ การสำรวจความชุกในงานวิจัยครั้งนี้ได้ มุ่งเน้นไปที่กลุ่มม้าที่มีอายุน้อย โดยมีเหตุผลจาก งานวิจัยของ Morley และคณะในปี ค.ศ. 2000 พบว่าในม้าที่มีอายุน้อยนั้นมีความเสี่ยงในการติดเชื้อ ไข้หวัดใหญ่มากกว่าม้าที่มีอายุมาก โดยจากการศึกษา เป็นเวลา 3 ปี ในประเทศแคนาดา ซึ่งเป็นประเทศที่มี

โรคไวรัสไข้หวัดใหญ่ในม้าเป็นโรคประจำถิ่น อย่างไรก็ตาม เชื้อไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ สามารถมีการติดเชื้อ ข้ามสายพันธุ์และสามารถกลายพันธุ์ได้ตามลักษณะ ของตัวเชื้อ (Abdel-Moneim et al., 2010) โดยมี รายงานการกลายพันธุ์ส่งผลให้เกิดการระบาดอย่าง รุนแรงในคน ดังนั้นจึงควรต้องมีการติดตามเฝ้าระวัง ในเชิงสาธารณสุข จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าไม่ พบระดับแอนติบอดีของไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ จากซีรัม ของสัตว์ตระกูลม้าในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และ จังหวัดกาญจนบุรี ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2560 โดยข้อมูลการศึกษานี้ สามารถนำไปใช้ประกอบการจัดการเรื่องการป้องกัน โรคไข้หวัดใหญ่ชนิด เอ ในสัตว์ตระกูลม้า ของ ประเทศไทยในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จากสถาบันวิจัยและ พัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ รหัสโครงการ ป-3.1(ด)89.61

เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Moniem, A., A. E. Abdel-Ghany, and S. A. Shany. 2010. Isolation and characterization of highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N1 from donkeys. J. Biomed. Sci. 17: 25.
- Anon. 2008. Summary of the Australian equine influenza outbreak. Vet. Rec. 163: 378.
- Barquero, N., J. M. Daly, and J. R. Newton, 2007. Risk factors for influenza infection

- in vaccinated racehorses: lessons from an outbreak in Newmarket, UK in 2003. *Vaccine*. 25: 7520–7529.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2017. (cited 1 April 2017). Influenza Type A Virus. Available from: <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/influenza-a-virus-subtypes.htm>.
- Chang, H., F. Dai, Z. Liu, F. Yuan, S. Zhao, X. Xiang, F. Zou, B. Zeng, Y. T. Fan, and G. Duan. 2014. Seroprevalence survey of avian influenza A (H5) in wild migratory birds in Yunnan Province, Southwestern China. *Virol. J.* 11:18.
- Chenchev, Iv., N. Rusenova, and N. Sandev. 2011. Seroepidemiological studies of donkeys' blood for detection of some virus infections on ungulates. *Trakia J. Sci.* 9(2): 82-86.
- Crawford, P. C., E. J. Dubovi, W. L. Castleman, I. Stephenson, E. P. Gibbs, L. Chen, C. Smith, R. C. Hill, P. Ferro, J. Pompey, R. A. Bright, M. J. Medina, C. M. Johnson, C. W. Olsen, N. J. Cox, A. I. Klimov, J. M. Katz, and R. O. Donis. 2005. Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science*. 310: 482.
- Cullinane, A., D. Elton, and J. Mumford. 2010. Equine influenza – surveillance and control. *Influenza and other Respiratory Viruses*, Blackwell, UK, 339-344.
- Ducatez, M. F., R. G. Webster, and R. J. Webby. 2008. Animal influenza epidemiology. *Vaccine*. 12 (Suppl. 26): D67-D69.
- Fouchier, R. A. M., A. D. M. E Osterhaus, and I. H. Brown. 2003. Animal influenza virus surveillance. *Vaccine*. 21:1754-1757.
- Galvin, P., S. Gildea, S. Arkins, C. Walsh, and A. Cullinane. 2013. The evaluation of a nucleoprotein ELISA for the detection of equine influenza antibodies and the differentiation of infected from vaccinated horses (DIVA). *Influenza Other Respir. Viruses*. 7 (Suppl. 4): 73-80.
- Gildea, S., S. Arkins, and A. Cullinane. 2011. Management and environmental factors involved in equine influenza outbreaks in Ireland 2007-2010. *Equine Vet. J.* 43(5): 608-617.
- Gildea, S., D. A. Fitzpatrick, and A. Cullinane. 2013. Epidemiological and virological investigations of equine influenza outbreaks in Ireland (2010-2012). *Influenza Other Respir. Viruses* (Suppl. 4): 61-72.
- Happold, J. and R. Rubira. 2011. Equine influenza: patterns of disease and seroprevalence in Thoroughbred studs and implications for vaccination. *Aust. Vet. J.* 89 (Suppl. 1): 135-137.

- Hemida, M. G., R. A. P. M. Perera, D. K. W. Chu, A. A. Alnaeem, and M. Peiris. 2019. Evidence of equine influenza A (H3N8) activity in horses from Eastern and Central Saudi Arabia: 2013-2015. *Equine Vet. J.* 51: 218-221.
- Jang, H., Y. K. Jackson, J. B. Daniels, A. Ali, K. Kang, M. Elaish, and C-W. Lee. 2017. Seroprevalence of three influenza A viruses (H1N1, H3N2, and H3N8) in pet dogs presented to a veterinary hospital in Ohio. *J. Vet. Sci.* 18(S1): 291-298.
- Major, D. A. and B. Jones. 2011. Behaviour of equine influenza virus in a naïve population: a practitioner's perspective. *Aust. Vet. J.* 89(Suppl. 1): 13-14.
- Mavadiya, S. V., S. K. Raval, S. A. Mehta, A. N. Kanani, A. A. Vagh, P. H. Tank, and P. R. Patel. 2012. Epidemiology survey of equine influenza in horses in India. *Rev. sci. tech. Off. int. EpiZ.* 31(3): 871-875.
- Meseko, C. A., D. O. Ehizibolo, E. C. Nwokike, and Y. S. Wungak. 2016. Serological evidence of equine influenza virus in horse stables in Kaduna, Nigeria. *J. Equine Sci.* 27(3): 99-105.
- Morley, P. S., H. G. Townsend, J. R. Bogdan, and D. M. Haines. 2000. Risk factors for disease associated with influenza virus infections during three epidemics in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 216: 545-550.
- Neuman, G. and Y. Kawaoka. 2015. Transmission of influenza A viruses. *Virology* 479-480: 234-246.
- Office International des Epizooties (OIE). 2016 (cited 1 January 2016) Equine influenza Malaysia. Available from: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?reportid=19160.
- Pusterla, N., P. H. Kass, S. Mapes, C. Wademan, N. Akana, C. Barnett, C. MacKenzie, and W. Vaala. 2015. Voluntary Surveillance Program for Equine Influenza Virus in the United States from 2010 to 2013. *J. Vet. Intern. Med.* 29: 417-422.
- Songserm, T., A. Amonsin, R. Jam-on, N. Sae-Heng, N. Meemak, N. Pariyothorn, S. Yayungporn, A. Theamboonlers, and Y. Poo-vorawan. 2006. Avian influenza H5N1 naturally infected domestic cat. *Emerg. Infect. Dis.* 12: 681-683.
- Stephen, C. 2002. Isolation of influenza A virus from a 7-day-old foal with bronchointerstitial pneumonia. *Can. Vet. J.* 43: 55-56.
- Suzuki, Y., T. Ito, T. Suzuki, R. E. Jr. Holland, T. M. Chambers, M. Kiso, H. Ishida, and Y. Kawkoka. 2000. Sialic acid species as a determinant of the host range of

- influenza A viruses. *J. Virol.* 74: 11825-11831.
- Virmani, N., B. K. Singh, B. R. Gulati, and S. Kumar. 2010. Equine influenza outbreak in India (2008-09): Virus isolation, sero-epidemiology and phylogenetic analysis of HA gene. *Vet. Microbiol.* 143: 224-237.
- Vitoonpong, R. K., C. Sirivan, and R. D. Punyahotra. 2006. Serological study of equine influenza in Thailand. *J. Thai Vet. Med. Assoc.* 57: 59-67. (in Thai)
- Wang, X., S. Liu, H. Mao, Z. Yu, E. Chen, and C. Chai. 2015. Surveillance of avian H7N9 in various environments of Zhejiang Province, China before and after live poultry markets were closed in 2013-2014. *PloS ONE* 10(8): e0135718.
- Weese, J. S. 2014. Infection control and biosecurity in equine disease control. *Equine Vet. J.* 46: 654-660.
- Wegdan, H. A., K. S. Intisar, M. M. Shaza, O. A. Algezoli, A. Ballal, H. A. Ihsan, M. E. Sahar, A. M. Baraa, K. M. Taha, E. M. Nada, Y. M. Nouri, and Y. H. Ali. 2016. Investigation on influenza virus A infection I different animals in Sudan. *Sudan J. Sci. Tech.* 17(2): 57-64.
- Yadav, M. P., P. K. Uppal, and J. A. Mumford. 1993. Physico-chemical and biological characterization of A / Equi-2 virus isolated from 1987 equine influenza epidemic in India. *Int. J. Anim. Sci.* 8: 93-98.

