

돼지인플루엔자바이러스 A형 H3 국내 분리주에 대한 혈청학적 역학조사

김종란, 이재영, 송대섭, 오진식, 박봉균*

서울대학교 수의과대학 수의학과

(계재승인 : 2002년 12월 6일)

Sero-prevalence against a H3 subtype isolate of swine influenza virus

Jong-Rhan Kim, Jay-Young Rhie, Dae-Sub Song, Jin-Sik Oh and Bong-Kyun Park*

College of Veterinary Medicine and School of Agricultural Biotechnology,

Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

(Accepted : December 6, 2002)

Abstracts : A Total of 703 swine sera from 55 swine farms (Mar. 1998 through Feb. 2001) were nation-wide collected for the presence of the antibody to influenza A virus H3 subtype isolate. The presence of antibody was tested by hemagglutination inhibition with chicken red blood cells and seropositivity was determined by HI titer ≥ 1 : 40. Sero-prevalence was evaluated based on year, season, region and age, respectively. In consequence, there were some differences by year, season and region, respectively. High susceptibility was routinely observed in 60 and 90 day-old piglets. Therefore, it seems that the sero-prevalence to swine influenza virus H3 subtype isolate is useful for the prevention and control of swine influenza in Korea.

Key words : Influenza A virus, H3 subtype, Hemagglutination inhibitor, Sero-prevalence

서 론

Influenza virus는 사람, 말, 조류, 돼지 등의 동물에서 질병을 일으키며, 이들 종간에도 서로 감염된다는 보고가 많다^{1,2}. 이 바이러스는 주로 상부 호흡기도에 감염되어 경미한 호흡기 증상을 나타내지만 때로 2차적인 세균감염을 유발하여 심한 호흡기 증상을 야기할 수 있기 때문에 주목되고 있다. 1918년의 사람에서의 대유행 때 돼지의 것과 유사한 influenza virus가 원인체였고, 또 이후로 사람이 돼지 influenza virus에 감염되는 경우가 많았다^{2,6}. 돼지는 사람의 influenza virus에 감수성이 있어 H1N1, H3N2의 잠재적인 reservoir 역할을 할 수 있다³.

1970년 후반 이후로 아시아 지역에서 돼지 인플루엔자에 대한 보고가 나오고 있으며, 대체로 H1N1과 H3N2에 의한 것이었다⁷. 한편 중국에서 분리한 돼지의 H3N2가 사람의 것과 비슷하다고 보고된 바 있으며⁸, 캐나다에서는 H1N1과 H3N2의 감염이 돼지의 influenza H3N2 감염과 연관이 있으며 그것은 사람의 H3N2와 유사한 것으로 보고하였다⁹.

우리나라에서는 1997년 권 등¹⁰이 호흡기 증상을 나타낸 자돈의 폐조직에서 닭 적혈구에 강하게 응집하는 A형 돼지 인플루엔자 바이러스를 분리 동정하였다. 그 후 1998년에 김 등¹¹이 호흡기 증상 나타낸 돼지 폐에서 분리한 인플루엔자바이러스 A/Swine/Kyunggi/NVRI-1/

이 논문의 일부는 두뇌한국 21 사업 및 서울대학교 수의과대학 부설 수의과학연구소 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

* Corresponding author: Bong-Kyun Park

College of Veterinary Medicine & School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University Suwon 441-744, Korea

E-mail : parkx026@snu.ac.kr

96(H1N1)로 항원의 분포를 알아보고 국내 분리 돼지인 플루엔자바이러스가 병원성이 있음을 밝혔다. 1997년에 H3N2 아형에 대하여 모돈과 출하돈 혈청 760 두에 대해 적혈구 응집억제 항체가를 조사하였던 바, 그 항체 양성율이 4.7%로 나왔고 모돈이 출하돈 보다 항체 양성율이 높은 것으로 보아 이 바이러스가 국내에서 감염되며, 각종 호흡기질병과 혼합 감염시 피해 증가 요인이 될 수 있다고 보고했다¹⁰. 또한 최와 김¹²에 의해 영남지방 돼지의 혈청학적 역학 조사가 이루어 졌는데, H1N1형의 돼지 인플루엔자에 대한 혈구응집억제항체는 실험대상 개체의 14.7%만이 1:10이상을 보였으나 H3N2형에 대해서는 75.5%가 응집억제항체가 1:160이상으로 나타나 H3N2형이 주로 유행하고 있음을 보고하였다. 또 류, 김¹³에 의해 H3N2 아형에 대하여 우리나라에서 각 지역별, 계절별로 얼마나 영향을 받고 있는지에 대한 혈청학적 역학 조사가 수행되었다. 그러나 이상의 H3N2 아형에 대한 혈청학적 조사는 국내 분리 바이러스에 대한 것은 아니었다.

이 실험에서는 우리나라에서 순수 분리한 H3 아형 바이러스를 공시바이러스로 사용하여 전국의 55개 양돈장에서 1998년 3월부터 2001년 2월까지 3년간 703두의 돼지로부터 수집한 혈청을 닭 적혈구를 이용한 혈구응집억제 반응으로 항체가를 측정하여 연도별, 지역별, 계절별, 일령별로 분석하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시 바이러스

이 연구에서 분리주는 서울대학교 수의과대학 바이러스 연구실에서 1998년 12월 경기도에서 호흡기 증상을 보이는 돼지의 폐에서 분리한 SIV A/Sw/Suwon/107/98(H3N2)를 사용하였다. 바이러스는 10일령 SPF 계태아의 요막강에 접종하여 37℃에서 72시간 배양하여 증식시켰다^{1,6,14,15}. 접종 24시간 이내에 죽은 계태아는 버리고

48-72시간에 살아있는 계태아만을 선택하여 allantoic fluid를 채취하여 사용하였다.

가검 혈청

1998년 3월부터 2001년 2월까지 이 대학 바이러스 연구실에 의뢰된 돼지혈청을 경기, 충남, 경북, 경남, 전남 등의 5개 도에서 각 연도별, 3-5월을 봄, 6-8월을 여름, 9-11월을 가을, 12월에서 다음 해 2월까지를 겨울로 보고 각 계절별로 분류하였으며, 30일령 이하, 60일령 이하, 90일령 이하, 120일령 이하, 120일령 이상의 5단계 일령으로 나누었다. 5개 도별로 총 55개 농장에서 703개의 혈청을 선정하였다. 이 실험에서는 분석하고자 한 연도와 계절에 맞게 수집된 농장의 혈청만을 사용하였고 그 내역은 표 1과 같다. 같은 농장, 같은 일령의 다른 개체의 혈청으로 3회 반복을 원칙으로 실험하였다.

혈구응집억제반응

혈구응집억제용 바이러스는 계태아에서 harvest해 사용하였으며, 닭 적혈구는 wing vein에서 뽑아 Alsever's 용액에 혼합하였으며 1:1 PBS에 섞어 1,500 rpm에서 5분간 원심분리를 한 후, 그 상층액과 buffy coat 층을 버리고 같은 처리를 2회 더 반복했다. 혈구를 pipette으로 잘 따서 0.75%의 농도가 되도록 PBS에서 RBC를 제조하였다¹⁶. 혈청 처리는 혈청을 비동화 시킨 뒤, 혈청 100 μ l에 냉장 PBS 400 μ l, 혈청 내의 실험에 영향을 줄 수 있는 비특이 물질을 제거하기 위해 25% kaoline 현탁액을 넣어 총 1ml을 만들었고 8시간 이상 냉장온도에서 흡착시켰다. 이후 4,000 rpm으로 5분간 원심분리를 해서 그 상층액을 사용했다. 혈구응집억제반응은 96 well microtiter-U-plate에서 실시하였으며 최종 희석배율이 1:10인 혈청을 2단계 희석하여 1 well당 50 μ l씩 들어가게 했다. 12번째 well은 RBC control로 조정하였다. 이후 8HA unit/50 μ l로 역가 조정된 바이러스를 50 μ l 넣고 한 시간동안 실온에서 감작 시킨 후, 준비된 0.75% 닭 적혈구를 50 μ l씩

Table 1. Swine serum distribution collected from Mar. 1998 through Feb. 2001 in Korea

Year	Province					Total
	Kyonggi	Chungnam	Kyongbuk	Kyongnam	Cheonnam	
1998	40(3)	34(3)	45(4)	24(2)	30(3)	173(15)
1999	55(4)	48(4)	55(4)	60(4)	44(4)	262(20)
2000	56(4)	51(4)	47(4)	57(4)	57(4)	268(20)
Total	151(11)	133(11)	147(12)	141(10)	131(11)	703(55)

* No. of swine serum tested (No. of swine farm)

넣어 실온에서 90분간 정치 후 판독했다¹⁶. 돼지 인플루엔자 바이러스의 경우 혈청 역가 40배 이상을 양성으로 판정하였다¹⁷.

결 과

연도별 H3 아형에 대한 항체보유율

1998년, 1999년, 2000년을 총체적으로 비교해 볼 때 (Fig. 1), 1998년은 90일령의 돼지에서 88%로 최고치를 나타내며 감소했고, 1999년과 2000년 60일령의 돼지에서 각각 90%, 87%를, 120일령의 돼지에서 89%와 90%로 최고치를 나타냈다. 평균치를 비교해 볼 때, 1998년은 76.8%, 1999년은 83.2%, 2000년은 81.6%으로 1998년이 가장 낮았으며 이는 1998년 가을부터 유행이 있었으므로 그 이후로 항체 양성율이 높아졌을 것으로 보인다.

계절별 H3 아형에 대한 항체보유율

Fig. 2에서 나타낸 바와 같이, 1998년은 60일령의 돼지에서 가을에 100%가 나왔고, 겨울에는 90일령의 돼지에서 100%를 기록했다. 1999년은 봄에 60일령의 돼지에서 100%, 여름에 120일령의 돼지에서 100%를 나타냈다. 가을에는 서서히 증가해 120일령 이상의 돼지에서 100%가 나타났고 겨울은 60일령이 되어 증가하다가 90일령에서 감소, 120일령에서 90%로 최고치를 나타낸 후 다시 감소하는 경향을 보였다. 2000년에는 봄에 60일령의 돼지에서 100%, 여름에 120일령의 돼지에서 100%를 나타냈다. 결국 1999년과 2000년의 봄에는 60일령의 돼지에서, 같은 해 여름에는 120일령의 돼지에서, 가을은 1998년의 60일령 돼지와 1999년의 120일령 이상의 돼지에서, 겨울에는 1998년의 90일령의 돼지에서 100%를 나타냈다. 이는 1998년 가을과 겨울부터 유행이 시작되어 항체 양성율이 점점 높아지며 1999년 봄까지 그 유행이 이어지고 1999년 가을과 2000년 봄에 산발적인 유행이 있었음을 암시한다.

지역별 H3 아형에 대한 항체보유율

Fig. 3에서 나타낸 바와 같이, 경기 지방의 항체 양성율을 분석하면 1998년에는 90일령의 돼지에서 100%로 최고치를 보이고 1999년에는 120일령 이상의 돼지에서 100%를 보인다. 이후 2000년에는 30일령의 돼지에서 100%로 최고치를 보인다. 이는 1999년에 높은 항체를 갖는 모돈에서 비롯된 모체 이행 항체로 판단 된다. 즉 1998년 90일령의 돼지에서 높은 감수성을 보이며 유지하다가 2000년의 포유기 자돈까지 이어졌다고 볼 수 있다. 충남 지방은 1998년 90일령의 돼지에서 100%로 최

고치를 보이고 1999년과 2000년에 모두 120일령의 돼지에서 100%가 나타났다. 1998년에는 경북 지방도 90일령의 돼지에서 100%를 나타내며 다시 감소하는 추세로 충남 지방과 비슷했다. 1999년에는 대체로 안정된 경향을 보였으며 2000년에는 120일령의 돼지에서 100%의 항체 양성율을 나타냈다. 경남 지방은 1998년에 90일령과 120일령의 자돈에서 100%를 나타내었고 1999년 60, 90일령의 돼지에서 100%를, 2000년에는 30일령의 돼지에서 모체 이행 항체로 인한 항체 양성율 92%를 나타냈다. 전남 지방은 전반적으로 다른 지방에 비해 일령이 증가할수록 점차 양성율이 증가함을 보였다. 1998년과 2000년에는 120일령 이상의 돼지에서, 1999년에는 120일령의 돼지에서 100%를 나타냈다. 경기, 충남, 경북, 경남, 전남 지방은 모두 시간의 흐름에 따라 양성돈이 증가함을 나타냈고 자돈으로 이어지는 mode가 비슷하게 나타났으나, 120일령, 120일령 이상의 돼지에서는 외부 환경에서 오랜 기간 사육되는 동안 자연 감염에 의한 항체 생성이 이루어 졌다고 볼 수 있다.

일령별 H3 아형에 대한 항체보유율

각 일령대별로 1998년 봄부터 2000년 여름까지 시간의 흐름에 따라 나타나는 경향을 보면, 30일령의 돼지는 1998년 겨울과 1999년 여름, 가을, 2000년 봄에 높은 양성율을 보였지만 60일령의 돼지에 비해서는 모두 낮은 수치들이었다. 60일령의 돼지에서 1998년 봄에는 40%로 최저치를 기록하다가 급격히 증가해 1998년 가을에 100%를 기록하는 등 1999년 봄, 2000년 봄에도 100%를 나타냈다. 2000년 여름에 잠시 낮은 양성율을 보였지만 큰 차이는 없었다. 90일령의 돼지는 1998년 봄에 낮은 수치를 보이다가 점차 증가해 같은 해 겨울에 100%를 기록했고, 1999년 겨울까지 낮아지다가 2000년 봄, 여름에 증가 후, 2000년 가을에 다시 낮아지는 현상을 보였다. 120일령의 돼지는 1999년 여름, 2000년 여름에 100%로 최고치를 보였고 1999년 봄에 좀 낮은 양성율을 보였지만 전체적으로 별다른 차이가 없이 안정된 경향을 보였다(Fig. 4). 120일령 이상의 돼지도 1999년 가을과 2000년 여름에 증가한 것을 제외하고는 전반적으로 비슷한 추이를 보여 120일령 이하의 자돈과 마찬가지로 안정된 경향을 보였다. 즉, 환경에 따라 변이가 심한 60일령에서 90일령의 돼지가 돼지인플루엔자바이러스 H3 아형에 감수성이 높다는 결과를 얻을 수 있었다.

고 찰

돼지인플루엔자바이러스는 돼지에 갑작스럽게 발병하여 기침, 호흡 곤란, 발열, 쇠약 등을 가져와 심각한

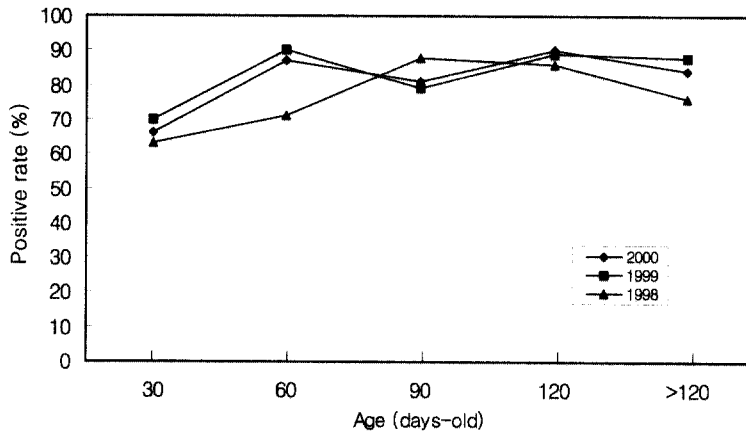


Fig. 1. Sero-prevalence against H3 subtype isolate of swine influenza virus by year.

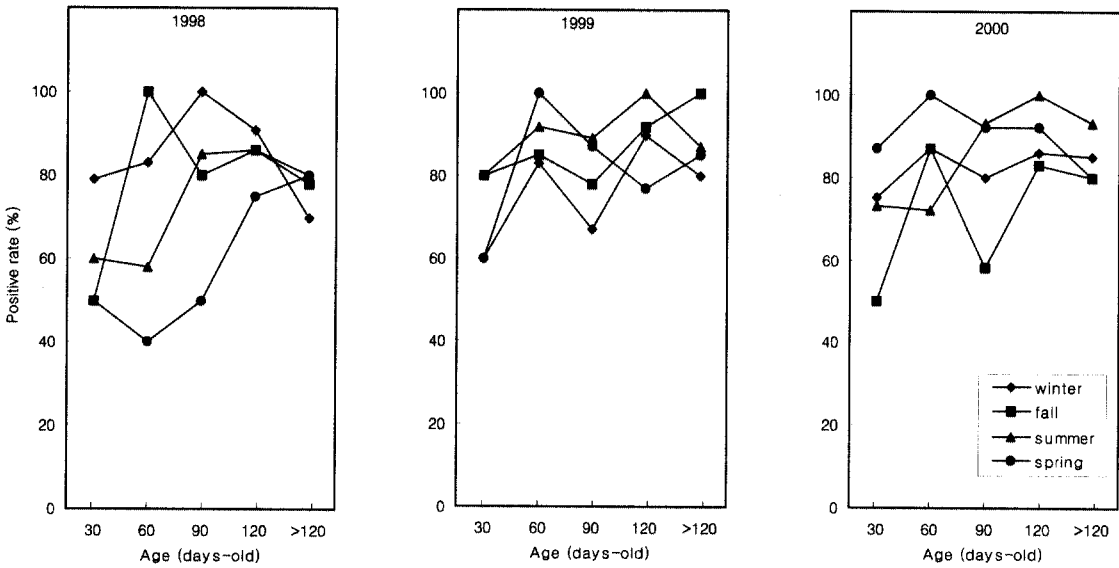


Fig. 2. Sero-prevalence against H3 subtype isolate of swine influenza virus by season.

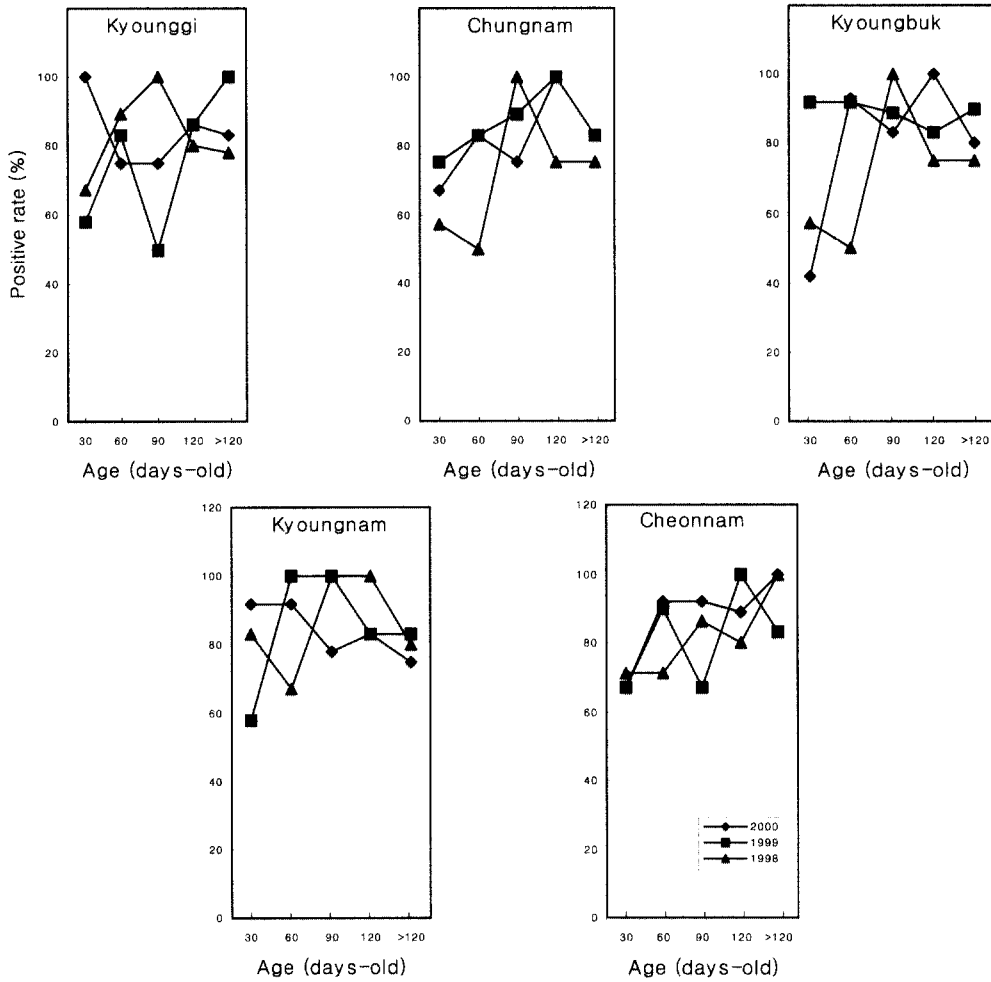


Fig. 3. Sero-prevalence against H3 subtype isolate of swine influenza virus by region.

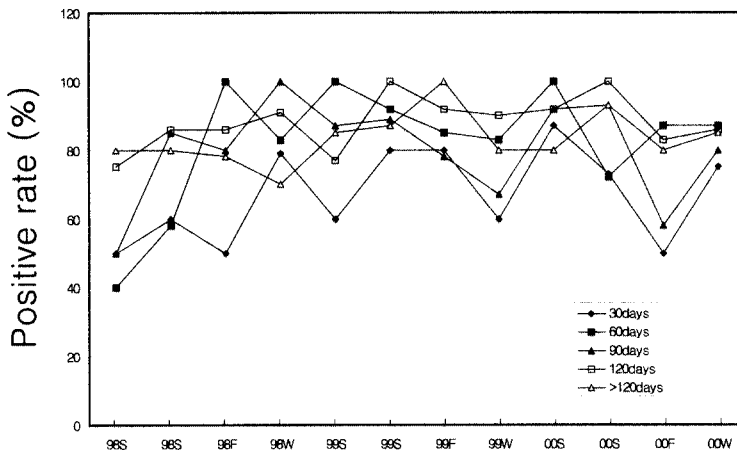


Fig. 4. Sero-prevalence against H3 subtype isolate of swine influenza virus by age from Mar. 1998 through Feb. 2001.

호흡기 질병을 일으키고 생산능력의 저하를 가져온다¹⁸. 이 바이러스는 농장에 경제적 손실을 일으키고 돼지생식기호흡기증후군(porcine reproductive and respiratory syndrome: PRRS)바이러스와 복합 감염이 일어나 더 심각한 증상을 야기한다¹⁹. 돼지인플루엔자바이러스의 H1N1, H3N2 아형이 미국과 유럽에서 심각한 임상적 증상을 일으켰고¹⁸, 이는 아시아에서도 임상적으로 많은 문제를 일으키고 있으며 바이러스의 분리가 보고되었다^{8,20-22}.

국내의 H1에 대한 분리, 동정, 혈청학적 역학조사는 보고된 바 있으나 H3에 대하여는 국내 분리주를 사용한 역학조사가 이루어지지 않았으므로 1998년 12월에 분리한 국내 H3를 사용해 본 실험을 수행하였다. 그 결과로 1998년의 유행에 이어 1999년, 2000년에 상재화 된 경향이 있음을 확인 할 수 있었다. 좀 더 구체적으로 보면, 1998년 가을부터 1999년 봄까지 지속적인 유행이 있는 후, 1999년 가을과 2000년 봄에 산발적 유행이 있었음을 암시하였다. 지역별로는 경기, 충남, 경북, 경남 그리고 전남이 서로 다른 역학적 mode를 보였다.

1996년 5월부터 1997년 4월까지 수집된 혈청의 역학조사에서 influenza A virus 전체에 대한 항체 양성율은 59%가 나왔고, H1 아형에 대한 항체가 검사에서 강원 27%, 충청 57%, 전라 15%, 경기 40%, 경상 30% 등 전국적으로 35%의 양성 판정이 나왔다. H3 아형은 A/Port Chalmers/1/73으로 이를 공시바이러스로 사용해 HI test를 한 결과 강원 34%, 충청 45%, 전라 31%, 경기 47%, 경상 36% 등 전국적으로 44%의 양성율을 보고한 바 있다¹³. 이 보고는 외국의 혈청 검사를 한 자료와 비교를 했는데, 1990-1991년 미국에서 도축돈을 대상으로 실시한 항체검사 결과 H1N1에 대한 항체 양성율 25%, H3N2에 대한 항체 양성율 40% 수준보다는 약간 낮은 편이었으나 유의성 있는 큰 차이는 없었고, 국내 조사에서도 H3 influenza virus에 대한 항체가 더 높거나 다른 실험결과와 비슷한 경향을 보였다고 한다. 이것은 국내 조사에서는 다양한 일령을 포함하여, 모체 이행항체가 소실되고 재감염이 이루어지기 전의 항체가 낮은 자돈이 시험에 공해졌기 때문일 수 있다¹³.

또한 1998년 류와 김¹³의 보고에서 밝힌 우리나라 돼지의 혈청검사 결과로 볼 때, 국내에서도 H1과 H3 아형의 바이러스가 공존하고 있으며 두 아형 간에는 혈청학적으로 교차반응을 나타냄이 확인되었다. 이는 국내 돼지 유전자원이 대다수 미국 및 유럽에서 수입된 것을 감안하면 역학적으로 일치하는 결과임을 알 수 있다. 복합감염 된 예를 합산하여 계절별로 수집한 혈청을 비교했을 때, H3의 경우는 계절에 상관없이 일정하게 40-45%

의 항체 양성 수준을 유지했고, 여름과 가을 사이에는 약간은 낮아지는 경향을 보였다. H1의 경우는 전체적으로 30-47% 정도의 항체가 양성율을 나타냈으며, 봄부터 여름 사이에 항체가 수준이 높아졌으며, 여름 이후 가을까지는 낮아지는 양상을 보였다. 이 결과는 Kupradinum 등²²이 1986년 태국에서 혈청역학 조사를 하였을 때, 계절에 따른 뚜렷한 항체가의 차이를 보였던 것과는 달리 국내에서는 계절변동에 따른 항체가의 현격한 차이가 없는 것으로 나타났는데, 이는 국내에 유행기가 포함되지 않은 시기에 조사되었기 때문으로 생각된다. 유행기가 조사 시기에 포함된 본 연구의 결과가 계절 변동에 따른 항체가의 차이가 있었음을 고려할 때 충분히 가능한 이유가 될 것으로 사료된다. 또한 Kupradinum 등²²에 따르면 같은 아형의 바이러스를 항원으로 HI test를 했어도 항원 virus strain에 따라 값의 차이가 있을 것으로 예상된다고 보고했다.

30일령의 돼지에서 높은 양성율을 보이는 경우, 이는 모돈의 항체가 포유기에 있는 돼지에 이행 된 결과라고 할 수 있으며, 60일령에서 90일령의 돼지는 이유, 육성기로 모체로부터 받은 항체가 거의 소실되는 시기이므로, 이 때 높은 양성율을 보이는 것은 주위 환경으로부터 바이러스의 감염으로 인한 체내 항체 생성 때문으로 볼 수 있다. 120일령 이상의 돼지는 항체 보유율이 거의 안정된 상태로 유지되므로 유행에 그리 민감하다고 할 수는 없었다. 따라서 60일령에서 90일령에 있는 돼지에서 감수성이 높음을 알 수 있었고, 이 일령대의 돼지의 혈청학적 역학조사는 H3 아형에 대한 감염 정도를 파악하는 데 유효할 것으로 보인다.

결론

우리나라에서 순수 분리한 H3 아형 돼지인플루엔자 바이러스를 공시바이러스로 사용하여 전국 55개 양돈장에서 1998년 3월부터 2001년 2월까지 3년간 703두의 돼지로부터 수집한 혈청에 대해 역학조사를 연도별, 계절별, 지역별, 일령별로 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 연도별로는 1998년의 유행에 이어 1999년, 2000년에 상재화 된 경향을 보였다. 계절별로는 1998년 가을부터 1999년 봄까지 지속적인 유행이 있는 후, 1999년 가을과 2000년 봄에 산발적 유행이 있었음을 암시하였다. 지역별로는 경기, 충남, 경북, 경남 그리고 전남이 서로 다른 역학적 mode를 보였으며 60일령에서 90일령에 있는 돼지에서 감수성에 전형적인 mode를 나타냄을 알 수 있었다.

참고 문헌

1. Luoh SM, McGregor, Hinshaw VS. Haemagglutinin mutation related to antigenic variation in H1 swine influenza virus. *J Virol*, 66:1066-1073, 1992.
2. Rota PA, Rocha EP, Harmon MW, et al. Laboratory characterization of a swine influenza virus isolated from a fatal case of human influenza. *J Clin Microbiol*, 27:1413-1416, 1989.3. Hinshaw VS, Bean Jr WJ, Webster RG, et al. The prevalence of influenza viruses in swine and antigenic and genetic relatedness of influenza viruses from man and swine. *Virology*, 84:51-62, 1978.
4. Patriarca PA, Kendal AP, Zakowski PC, et al. Lack of significant person to person spread of swine influenza like virus following fatal infection of an immunocompromised child. *Am J Epidemiol*, 119:152-158, 1984.
5. Wells DL, Hopfensperger DJ, Adren NH, et al. Swine influenza virus infection. *J Am Med Assoc*, 256:478-481, 1991.
6. Wentworth DE, Thompson BL, Xu X, et al. An influenza A(H1N1) virus, closely related to swine influenza virus, responsible for a fatal case of human influenza. *J Virol*, 68:2051-2058, 1994.
7. Hsu FS, Joseph RL, Chang CR, et al. An epizootic of swine in Taiwan. *Proc Int Pig Vet Soc* 4:16, 1976.
8. Kida H, Shortridge KF, Webster RG. Origin of the hemagglutinin gene of H3N2 influenza viruses from pigs in China. *Virology*, 162(1):160-166, 1988.
9. Bikour MH, Frost EH, Deslandes S, et al. Persistence of a 1930 swine influenza A (H1N1) virus in Quebec. *J Gen Virol*, 76(10):2539-2547, 1995.
10. 권준현, 김병한, 탁동섭 등. 돼지 인플루엔자 바이러스 분리 및 혈청학적 역학조사. *대한수의학회지*, 37(부록3):47-48, 1997.
11. 김재훈, 노인순, 진영화 등. 국내분리 돼지 인플루엔자바이러스 시험감염예의 병리소견 및 항원검출. *대한수의학회지*, 38(부록3):108, 1998.
12. 최정수, 김봉환. 영남지방 돼지의 주요 바이러스성 질병에 대한 혈청학적 역학조사. *대한수의학회지*, 38(부록3):117, 1998.
13. 류영수, 김로미. 돼지 인플루엔자 바이러스의 혈청학적 역학조사 및 유전학적 분석. *대한수의학회지*, 38(1):53-63, 1998.
14. Brown IH, Manvell RJ, Alexander DJ, et al. Swine influenza outbreaks in England due to a new H1N1 virus. *Vet Rec*, 132:461-462, 1993.
15. Noble S, McGregor MW, Wentworth DE. Antigenic and genetic conservation of the hemagglutinin in H1N1 swine influenza virus. *J Gen Virol*, 74:1197-1200, 1993.
16. Catbrey EA, Beard C, Cooper R, et al. Hemagglutination and hemagglutination-inhibition tests with Newcastle disease virus-microtiter technique. In: Serologic microtiter techniques for diagnostic virology. Veterinary Service Diagnostic Laboratory, Animal and Plant Health Inspection Service, Ames, IA, 14-18, 1973.
17. Schneider JD, Yoon KJ. Characterization of H3N2 swine influenza viruses in Iowa swine. *Proc Am Assoc Swine Vet*, 23-25, 2001.
18. Straw BE, D'allaire S, Mengeling WL, et al. Swine influenza. In: Disease of Swine, ed. Easterday BC, 8th ed., pp.277-290. Iowa State University Press, Ames, IA, 1999.
19. Olsen CW, Carey S, Hinshaw L, et al. Virologic and serologic surveillance for human, swine and avian influenza virus infections among pigs in the north-central United States. *Arch Virol*, 145:1399-1419, 2000.
20. Chew LM, Ng CY. Recurrent viruses in a Singapore intensive pig farming estate. *Ann Acad Med Singapore*, 16(4):651-654, 1987.
21. Guan Y, Shortridge KF, Krauss S, et al. Emergence of avian H1N1 influenza viruses in pigs in China. *J Virol*, 70:8041-8046, 1996.
22. Kupradinum S, Peanpigit P, Bhodhiksoom C, et al. The first isolation of swine H1N1 influenza viruses from pigs in Thailand. *Arch Virol*, 118(3-4):289-297, 1991.