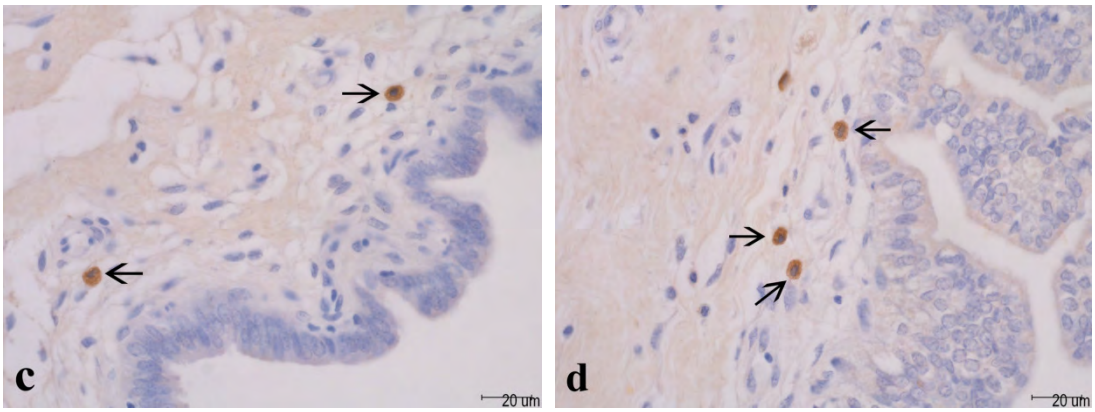
รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง

ผลของการใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในฟาร์มสุกรต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรสาวทดแทนและแม่สุกรอุ้มท้อง (ปีที่ ๑)

สัญญาเลขที่ GRB_APS_๑๖_๕๔_๓๑_๐๑



โดย

รศ.น.สพ.ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กุมภาพันธ์ ๒๕๕๕

กิตติกรรมประกาศ
(Acknowledgement)

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๔ (ตุลาคม ๒๕๕๓- กันยายน ๒๕๕๔)

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณท่านเจ้าของฟาร์ม และบุคลากรในฟาร์มทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ เอื้อเฟื้อข้อมูล และอำนวยความสะดวกในการทำงานในฟาร์ม

ขอบคุณ **ผศ.น.สพ.ดร. คมกฤษ เทียนคำ** หัวหน้าหน่วยพยาธิวิทยา และ **ศ.น.สพ.ดร. รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช** หัวหน้าภาควิชาพยาธิวิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้สถานที่และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างตลอดจนอุปกรณ์ในการเก็บรักษาและย้อมสีชิ้นเนื้อ ขอบคุณ **คุณสุประดิษฐ์ หวังในธรรม** ที่อำนวยความสะดวกในการใช้วัสดุอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง และให้ความช่วยเหลือด้านเทคนิคในการเก็บชิ้นเนื้อ และการตรวจชันสูตรทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

ขอบคุณ **รศ.น.สพ.ดร. อลงกรณ์ อมรศิลป์** หัวหน้าภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการตรวจหาเชื้อพีอาร์อาร์เอส ด้วยวิธี real time PCR และ ขอบคุณ **ดร. ปิยะ วงศ์ยานิน** ที่ให้ความช่วยเหลือด้านเทคนิคทางด้าน real time PCR

ขอบคุณ **น.สพ. รชฎ ตันติเลิศเจริญ** หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลในการชันสูตรโรคพีอาร์อาร์เอส และให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือวัสดุอุปกรณ์ ตลอดจนการฝึกเทคนิคเบื้องต้นในการตรวจชันสูตรโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธี PCR

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการสำรวจความชุกทางซีรั่มของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (PRRSV) ในสุกรสาวทดแทนจากฟาร์มสุกรในประเทศไทยที่ถูกคัดเลือกจำนวน 5 ฟาร์ม การศึกษาประกอบด้วย 3 ส่วน ส่วนแรกเป็นการศึกษาย้อนหลังเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้านความชุกทางซีรั่มของเชื้อ PRRSV ในสุกรสาว แม่สุกร พ่อสุกร สุกรอนุบาล และสุกรขุนจำนวน 7,030 ตัวอย่าง ส่วนที่สองเป็นการศึกษาความชุกทางซีรั่มของเชื้อ PRRSV ณ ช่วงเวลาหนึ่งในสุกรสาว จำนวน 200 ตัว ส่วนสุดท้ายเป็นการศึกษาความชุกทางซีรั่มของเชื้อ PRRSV ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากปัญหาความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ จำนวน 166 ตัว จากฟาร์มทั้งหมดพบว่ามีความชุกทางซีรั่มของเชื้อ PRRSV เป็น 79.3% จากการศึกษา ณ ช่วงเวลาหนึ่งพบว่า 87.5% ของสุกรสาวทดแทนมีการติดเชื้อ PRRSV ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์มีความชุกทางซีรั่มของเชื้อ PRRSV เป็น 73.5% การศึกษานี้สรุปได้ว่าสุกรสาวทดแทนส่วนใหญ่จะมีการสัมผัสเชื้อ PRRSV ก่อนจะถูกผสมพันธุ์ นอกจากนี้งานวิจัยยังได้ศึกษาความชุกของการตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากมีปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ และศึกษาความสัมพันธ์กับอายุของสุกรเมื่อถูกคัดทิ้ง สาเหตุการคัดทิ้ง ฟาร์ม และการทำวัคซีนพีอาร์เอส โดยรวบรวมชิ้นเนื้อมดลูกจากสุกรสาวจำนวน 100 ตัว จากฟาร์มสุกรในประเทศไทย จำนวน 6 ฟาร์ม ทำการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในชิ้นเนื้อโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีโดยใช้เทคนิค Polymer-based non-avidin-biotin ผลการศึกษาพบว่า แอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกตรวจพบในไซโตพลาสซึมของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจที่อยู่ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อยู่ใต้ชั้นผิวเยื่อบุของมดลูก โดยพบได้ 33% ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้ง การตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแตกต่างกันในแต่ละฟาร์ม โดยพบตั้งแต่ 14.3% ถึง 80.0% (P=0.018) การตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกที่อายุต่างๆ กันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตรวจพบ 29.6% 39.4% และ 40.9% ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งที่อายุ 6-8 9-10 และ 11-16 เดือน ตามลำดับ P=0.698) เช่นเดียวกันกับสาเหตุการคัดทิ้ง (P=0.929) แอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์-เอสถูกพบใน 24.5% ของสุกรสาวที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นพีอาร์อาร์เอสสเตรนยุโรป และ 23.1% ของสุกรสาวที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นพีอาร์อาร์เอสสเตรนอเมริกา (P=0.941) ปริมาณแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไม่มีผลต่อการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูก และการตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไม่มีความแตกต่างกันในสุกรสาวที่ไม่เคยถูกผสมพันธุ์ (35.4%) และสุกรสาวที่ได้รับการผสมพันธุ์ก่อนถูกคัดทิ้ง (30.8%) (P=0.622) โดยสรุป เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถคงอยู่ในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่ได้รับเชื้อเป็นเวลาหลายเดือนแม้ว่าสุกรสาวนั้นจะได้รับการวัคซีนหรือการคลุกโรคแล้วก็ตาม

คำสำคัญ: สุกร ระบบสืบพันธุ์ โรคพีอาร์อาร์เอส การแท้ง การทำวัคซีน

ABSTRACT

The present study investigated the seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in replacement gilts from selected five swine herds in Thailand. The study consisted of three parts. First, a retrospective data analysis on the seroprevalence of PRRSV in gilts, sows, boars, nursery and fattening pigs in five herds (n=7,030). Second, a cross-sectional study on seroprevalence of PRRSV (n=200) in replacement gilts. Last, the seroprevalence of PRRSV in gilts culled due to reproductive failure (n=166). Across the herds, the seroprevalence of PRRSV was 79.3%. The cross-sectional study revealed that 87.5% of the replacement gilts were infected with PRRSV. In the gilts culled due to reproductive failure, the seroprevalence of PRRSV was 73.5%. It could be concluded that most of the replacement gilts were exposed to PRRSV before entering the breeding house. In addition, the study was also determine the prevalence of PRRSV antigen positive uterine tissue in gilts culled due to reproductive disturbance in relation to age at culling, reasons for culling, herds and PRRSV vaccination. Uterine tissues of 100 gilts from 6 swine herds in Thailand were collected. The immunohistochemistry was performed to detect the PRRSV antigen using a polymer-based non-avidin-biotin technique. PRRSV was detected in the cytoplasm of the macrophages in the sub-epithelial connective tissue layers of the endometrium in 33.0% of the culled gilts. The detection of PRRSV antigen varied among the herds from 14.3% to 80.0% (P=0.018). The detection of PRRSV in the uterine tissues at different ages was not statistically different (29.6%, 39.4% and 40.9% in gilts culled at 6-8, 9-10 and 11-16 months of age, respectively, P=0.698), similar to the reasons for culling (P=0.929). PRRSV antigen was found in 24.5% of the gilts vaccinated against the EU-strain-modified-live PRRSV vaccine and in 23.1% of the gilts vaccinated against the US-strain-modified-live PRRSV (P=0.941). The level of antibodies titers against PRRSV had no impact on PRRSV antigen detection in the uterine tissues. Similarly, the detection of PRRSV antigen did not differ between the virgin gilts (35.4%) and the gilts mated before culling (30.8%) (P=0.622). It can be concluded that PRRSV remain in the uterine tissue of the infected gilts for several months even though vaccinations and acclimatization have been carried out.

Keywords: Pig, Reproduction, PRRS, Abortion, Vaccination

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

เรื่อง	หน้า
บทนำ	**1**
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	**3**
โรคติดเชื้อไวรัสในสุกร	4
การติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในแม่สุกรอุ้มท้อง	5
การทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในสุกรสาวอุ้มท้อง	6
สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในฟาร์มสุกรที่ทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น	8
การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อระบบสืบพันธุ์ของพ่อสุกร	10
การกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส	11
วิธีดำเนินการวิจัย	**16**
สถานที่ทำวิจัยและฟาร์มสุกร	16
การจัดการฟาร์ม	16
การเก็บตัวอย่างเลือด	16
การตรวจทางซีรั่มวิทยา	17
การตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส	18
การตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี	18
การตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีน--พีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น	19
การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ผล	19
การวิเคราะห์ทางสถิติ	19
ผลการวิจัย	**21**
สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์	21
ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและพิษสุนัขบ้าเทียมในฟาร์มสุกร	21
ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียม และพาร์โวไวรัส-ในสุกรสาวทดแทน	21
ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียม และพาร์โวไวรัส-ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้ง	22
ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอส-ชนิดเชื้อเป็น	24

เรื่อง **หน้า**

ผลผลิตและสาเหตุการคัดทิ้ง 24
การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 25
ผลของอายุเมื่อถูกคัดทิ้ง สาเหตุการคัดทิ้ง และการผสมต่อการตรวจพบ-เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 25
ผลของระดับแอนติบอดี้ต่อการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 26

บทสรุปและวิจารณ์ **28**
ความชุกของโรคพีอาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียม และพาร์โวไวรัสในสุกร 28
การตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูก-ของสุกรสาว 30
ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอส-ชนิดเชื้อเป็น 31
สรุป 32

เอกสารอ้างอิง **33**

ภาคผนวก **38**
ผลงานตีพิมพ์ 38

สารบัญตาราง (List of Tables)

ตารางที่		หน้า
1	ผลการสังเกตสุขภาพแม่สุกรหลังคลอด และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกรที่ฉีดและไม่ฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น	9
2	อุบัติการณ์ของโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ที่ตรวจพบในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในประเทศไทย	12
3	เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในกลุ่มสุกรที่ต่างกันในฟาร์มสุกรอุตสาหกรรมในประเทศไทยระหว่างปี 2547-2550	22
4	อายุเมื่อถูกคัดทิ้ง (วัน) น้ำหนักตัวเมื่อคัดทิ้ง (กิโลกรัม) อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวันจากแรกเกิดถึงถูกคัดทิ้ง (ADG; กรัมต่อวัน) อายุเมื่อผสมครั้งแรก (วัน) และจำนวนไข่ที่ตกในสุกรสาวตามสาเหตุการถูกคัดทิ้ง	23
5	จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งและเป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เชื้อไวรัสเอดี และเชื้อพาร์โวไวรัส	23
6	จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมส่วน gI และเชื้อพาร์โวไวรัส (n=159)	24
7	อัตราส่วน S/P (ค่าเฉลี่ย±ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานเฉลี่ย) เปอร์เซนต์ของซีรั่มที่ให้ผลบวกในสุกรสาวและสุกรนางและการพบไวรัสพีอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีน	24
8	ข้อมูลผลผลิตของสุกรสาวทดแทนที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์	25
9	จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวที่สัมพันธ์กับการพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกโดยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมีและระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสตามสาเหตุการคัดทิ้ง	26
10	ข้อมูลการผลิตของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ที่สัมพันธ์กับเปอร์เซนต์สุกรสาวที่เป็นบวกต่อการตรวจทาง ELISA และผลการตรวจทางอิมมูโนฮีสโตเคมี	27

สารบัญภาพ (List of Illustration)

รูปที่		หน้า
1	อัตราการตาย (mortality rate) และอัตราการคัดทิ้ง (culling rate) เฉลี่ยต่อปีของแม่สุกรในฟาร์มสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ระหว่าง ปี ค.ศ. 2007-2009 จากการสำรวจในฟาร์มสุกรจำนวน 7 ฟาร์ม ในประเทศไทย ฟาร์ม A B และ C ทำวัคซีนเชื้อเป็น และฟาร์มที่เหลือไม่เคยทำวัคซีนเชื้อเป็นต่อโรคพีอาร์อาร์เอส	13
2	การแสดงออกของแอนติเจนต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเยื่อบุโพรงมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางการสืบพันธุ์ (a) กลุ่มควบคุมบวก (เนื้อเยื่อปอด) (b) กลุ่มควบคุมลบ (c-d) เยื่อบุโพรงมดลูกสุกรสาวที่แสดงการปรากฏของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ลูกศรสีดำแสดงเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส	26

สัญลักษณ์และคำย่อ
(List of Abbreviations)

ADG = Average daily gain (อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน)
ADV = Aujeszky's disease virus (เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเทียม)
AFM = Age at first mating (อายุที่สุกรคลอดครั้งแรก)
CSFV = Classical swine fever virus (เชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร)
EU strain = สายพันธุ์ยุโรป
FMDV = Foot and mouth disease virus (เชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย)
HI = Haemagglutination inhibition
NPD = Non-productive days (วันสูญเสีย)
NSP = non-structural protein
ORF = open reading frame
PBS = Phosphate buffered solution
PCV-2 = Porcine circo virus type 2 (เชื้อไวรัสเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร)
PPV = Porcine parvo virus (โรคพาร์โวไวรัสในสุกร)
PRRS = Porcine reproductive and respiratory syndrome (โรคพีอาร์อาร์เอส)
PRRSV = Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส)
RT-PCR = Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SAS = Statistical analysis system
US strain = สายพันธุ์อเมริกา
WSI = Weaning-to-fist-service interval (ระยะหย่านมถึงผสม)

บทที่ 1

บทนำ

โรค Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) หรือโรคพีอาร์อาร์เอส ในสุกร เป็นโรคที่สำคัญในวงการอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรทั่วโลก สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อไวรัส PRRS ซึ่งมี 2 สายพันธุ์ คือ ไวรัส PRRS สายพันธุ์อเมริกา (US) และไวรัส PRRS สายพันธุ์ยุโรป (EU) ทั้งสองสายพันธุ์มีความใกล้เคียงทางลักษณะพันธุกรรมกันเพียง 55-65% สำหรับในประเทศไทยสามารถแยกเชื้อไวรัสได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ (รุ่งโรจน์ และสันนิภา, 2546)

ผลกระทบของโรค PRRS สามารถสร้างความเสียหายได้กับสุกรทุกช่วงอายุ โดยมักพบลักษณะของโรคในแม่พันธุ์เป็นการแท้งในระยะกลางถึงระยะท้ายของการตั้งท้อง ลูกสุกรตายแรกคลอดสูง จำนวนลูกสุกรเกิดมีชีวิตลดลง จำนวนลูกสุกรอ่อนแอแรกเกิดสูงขึ้น และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของแม่สุกรลดลง และพบลักษณะของโรคระบบทางเดินหายใจในสุกรอนุบาล ฟาร์มที่มีปัญหาจากโรค PRRS จะมีความสูญเสียทางเศรษฐกิจได้สูง ความสูญเสียที่เกิดขึ้นเกิดจากจำนวนลูกสุกรต่อแม่ต่อครอกลดลง ระยะห่างระหว่างการให้ลูกของแม่สุกรที่ยาวขึ้น และอัตราการทดแทนแม่สุกรที่เพิ่มสูงขึ้น (Done et al., 1996; Chung et al., 1997)

แนวทางการควบคุมและป้องกันโรค PRRS ทางหนึ่งที่ผู้เลี้ยงสุกรใช้กันมาก คือ การทำวัคซีน ซึ่งมีทั้งวัคซีนชนิดเชื้อเป็น (modified-live virus vaccine) และวัคซีนชนิดเชื้อตาย (inactivated vaccine) วัคซีนเหล่านี้ถูกนำมาใช้ในการควบคุมโรคทั้งในลูกสุกร และแม่สุกรพันธุ์ วัคซีนเชื้อตายเป็นวัคซีนที่อนุญาตให้ใช้ได้ในแม่พันธุ์อุ้มท้อง เนื่องจากไม่มีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ วัคซีนเชื้อตายเคยมีการใช้ทั้งในฟาร์มและในห้องทดลอง และได้รับการพิสูจน์แล้วว่าไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกร อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาพบว่า การใช้วัคซีนเชื้อตาย แม้ว่าจะมีความปลอดภัยค่อนข้างสูง แต่ประสิทธิภาพของวัคซีนในการต่อต้านเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสค่อนข้างต่ำ ไม่เพียงพอในการป้องกันโรคในระยะยาว (Osorio et al., 1998; Scortti et al., 1999) ซึ่งต่างจากการใช้วัคซีนเชื้อเป็น ซึ่งเชื้อสามารถเพิ่มจำนวนในร่างกายและกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานได้นานขึ้นและมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคมากขึ้น แต่ความปลอดภัยของวัคซีนยังไม่มาก เนื่องจากมีการพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสในวัคซีนเชื้อเป็นก่อโรคในฟาร์มที่มีการทำวัคซีนเชื้อเป็น และยังพบว่าวัคซีนเชื้อเป็นที่ใช้เชื้อไวรัสสายพันธุ์เดียวไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการป้องกันการติดเชื้อจากไวรัสสายพันธุ์อื่นที่พบได้ในฟาร์ม ในระยะแรกวัคซีนเชื้อเป็นของโรค PRRS ทั้งสายพันธุ์ยุโรปและอเมริกา ผลิตออกมาเพื่อป้องกันโรคทางระบบทางเดินหายใจในลูกสุกรและสุกรรุ่น ผลการวิจัยพบว่าวัคซีนเชื้อเป็นเหล่านี้ช่วยป้องกันอาการป่วย และลดความสูญเสียได้ดี แต่ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ (Thanawongnuwech and Suradhat, 2010)

ความปลอดภัยของการใช้วัคซีนเชื้อเป็น PRRS ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน และในหลายการทดลองพบว่าสุกรที่ได้รับวัคซีนแสดงอาการป่วยจากเชื้อไวรัส (viraemia) และมีการแพร่เชื้อไวรัสออกมาได้ แม้จะมีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคด้วยก็ตาม วัคซีนเชื้อเป็นชนิดที่ผลิตในสหรัฐอเมริกา ได้รับการรับรองให้ใช้ได้ในสัตว์ที่ไม่ท้อง และมีการวิจัยหลายครั้งที่ให้การรับรองด้านความปลอดภัยในสัตว์ที่ไม่ท้อง ในขณะที่การทำวัคซีนเชื้อเป็นในสุกรอุ้มท้อง มีการววิจัยหลายครั้งพบว่า เชื้อไวรัสจากวัคซีนสามารถแพร่ผ่านรกจากแม่เข้าสู่ตัวลูกสุกรในครรภ์ได้ โดยเฉพาะถ้าฉีดวัคซีนประมาณ 90 วันของการอุ้มท้อง จากความสามารถในการแพร่ผ่านรกได้นั้น ทำให้ผลที่ตามมา คือ ลูกสุกรสามารถคลอดออกมาเป็นลูกสุกรที่ติดเชื้อไว้รัส PRRS และแพร่เชื้อได้ ส่งผลให้กระทำวัคซีนเชื้อเป็นนี้เป็นตัวการในการแพร่เชื้อสู่ลูกสุกรที่ไม่มีเชื้อ และเพิ่มโอกาสในการกลายพันธุ์ของเชื้อ

ไวรัสให้มีความรุนแรงมากขึ้น การระบาดของโรค PRRS ซึ่งแสดงออกโดย การพบอัตราการแท้งสูง และพบการตายของแม่สุกรสูงขึ้น ก็เคยมีรายงานในฟาร์มที่ทำวัคซีนเชื้อเป็นสายพันธุ์อเมริกา เช่นกัน (Mengeling et al., 1999)

ปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้วัคซีน PRRS เชื้อเป็นในการควบคุมและป้องกันการเกิดโรค PRRS กันแพร่หลายมากขึ้น วิธีการทำมีหลายรูปแบบมาก หลายครั้งพบว่าวัคซีนที่ทำไม่ตรงกับเชื้อที่มีการระบาดในฟาร์ม และบางฟาร์มพบว่ามีการระบาดของเชื้อ PRRS ในสุกรอุ้มท้องทั้งสายพันธุ์ยุโรปและสายพันธุ์อเมริกา ปัจจุบันการศึกษาถึงความปลอดภัยและประสิทธิภาพในการควบคุมและป้องกันปัญหาจากโรค PRRS ยังมีการศึกษากันน้อย ทำให้ยังไม่สามารถประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อเป็นในการนำไปใช้จริงในฟาร์มได้ และยังทำให้การประยุกต์ใช้วัคซีนเพื่อให้เหมาะสมในการควบคุมและป้องกันปัญหาจากโรคพีอาร์อาร์เอส เป็นไปได้ยาก ดังนั้นการศึกษาถึงผลของการใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกร จะช่วยให้ทราบถึงข้อดีและข้อเสียของการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในฟาร์มสุกรในประเทศไทย ซึ่งจะสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุมปัญหาจากโรคพีอาร์อาร์เอสได้ดียิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของการใช้วัคซีน PRRS เชื้อเป็นต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกร
2. ศึกษาความปลอดภัยและประสิทธิภาพของการใช้วัคซีน PRRS เชื้อเป็นในสุกรอุ้มท้อง

ขอบเขตของโครงการวิจัย

เป็นการวิจัยที่ศึกษาข้อมูลในภาคสนาม ในฟาร์มที่มีปัญหาโรค PRRS และทำวัคซีน ทำการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนในการควบคุมโรค โดยประเมินจากการควบคุมการแพร่กระจายเชื้อในฝูง และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของแม่สุกรภายหลังการทำวัคซีน

ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ความปลอดภัยของการใช้วัคซีนเชื้อเป็น PRRS ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน และในหลายการทดลองพบว่าสุกรที่ได้รับวัคซีนแสดงอาการป่วยจากเชื้อไวรัส (viraemia) และมีการแพร่เชื้อไวรัสออกมาได้ แม้จะมีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคด้วยก็ตาม ประสิทธิภาพของการทำวัคซีน PRRS ที่ผ่านมาในประเทศไทยควรได้รับการประเมินว่าควรทำต่อไป หรือหยุดทำ โดยศึกษา ความปลอดภัย และประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรหลังการทำวัคซีน

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โรค Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) หรือโรคพีอาร์อาร์เอส ในสุกร เป็นโรคที่สำคัญในวงการอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรทั่วโลก สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อไวรัส PRRS ซึ่งเป็น enveloped RNA virus (Cavanagh, 1997) ซึ่งมี 2 สายพันธุ์ คือ ไวรัส PRRS สายพันธุ์อเมริกา (US strain) และไวรัส PRRS สายพันธุ์ยุโรป (EU strain) โดยทั้งสองสายพันธุ์มีความใกล้เคียงทางลักษณะพันธุกรรมกันเพียง 55-65% (Meng et al., 1995; Murtaugh et al., 1995; Gagnon and Dea, 1998; Dea et al., 2000) สำหรับในประเทศไทยสามารถแยกเชื้อไวรัสได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ (Thanawongnuwech et al., 2004; Tummaruk and Tantilertlertcharoen, 2007; Amonsin et al., 2009)

ผลกระทบของโรค PRRS สามารถสร้างความเสียหายได้กับสุกรทุกช่วงอายุ โดยพบลักษณะของโรคในแม่พันธุ์เป็นการแท้งในระยะกลางถึงระยะท้ายของการตั้งท้อง ลูกสุกรตายแรกคลอดสูง จำนวนลูกสุกรเกิดมีชีวิตลดลง จำนวนลูกสุกรอ่อนแอแรกเกิดสูงขึ้น และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของแม่สุกรลดลง (Done et al., 1996; Chung et al., 1997) และจะพบลักษณะของโรคระบบทางเดินหายใจในสุกรอนุบาล (Meng, 2000) ฟาร์มที่มีปัญหาจากโรค PRRS จะมีความสูญเสียทางเศรษฐกิจได้สูง ความสูญเสียที่เกิดขึ้นเกิดจากจำนวนลูกสุกรต่อแม่ต่อครอกลดลง ระยะห่างระหว่างการให้ลูกของแม่สุกรที่ยาวขึ้น และอัตราการทดแทนแม่สุกรที่เพิ่มสูงขึ้น (Brouwer et al.,1994)

แนวทางการควบคุมและป้องกันโรค PRRS ทางหนึ่งที่ผู้เลี้ยงสุกรใช้กันมาก คือ การทำวัคซีน ซึ่งมีทั้งวัคซีนชนิดเชื้อเป็น (modified-live virus vaccine) และวัคซีนชนิดเชื้อตาย (inactivated vaccine) วัคซีนเหล่านี้ถูกนำมาใช้ในการควบคุมโรคทั้งในลูกสุกร และแม่สุกรพันธุ์ วัคซีนเชื้อตายเป็นวัคซีนที่อนุญาตให้ใช้ได้ในแม่พันธุ์อุ้มท้อง เนื่องจากไม่มีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ วัคซีนเชื้อตายเคยมีการใช้ทั้งในฟาร์มและในห้องทดลอง และได้รับการพิสูจน์แล้วว่าไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกร อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาพบว่า การใช้วัคซีนเชื้อตาย แม้ว่าจะมีความปลอดภัยค่อนข้างสูง แต่ประสิทธิภาพของวัคซีนในการต่อต้านเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสค่อนข้างต่ำ ไม่เพียงพอในการป้องกันโรคในระยะยาว (Osorio et al., 1998; Scortti et al., 1999) ซึ่งต่างจากการใช้วัคซีนเชื้อเป็น ซึ่งเชื้อสามารถเพิ่มจำนวนในร่างกายและกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานได้นานขึ้นและมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคมากขึ้น (Mengeling et al., 2003) แต่ความปลอดภัยของวัคซีนยังไม่มาก เนื่องจากมีการพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสในวัคซีนเชื้อเป็นก่อโรคในฟาร์มที่มีการทำวัคซีนเชื้อเป็น (Botner et al., 1997; Storgaard et al., 1999) และยังพบว่าวัคซีนเชื้อเป็นที่ใช้เชื้อไวรัสสายพันธุ์เดียวไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการป้องกันการติดเชื้อจากไวรัสสายพันธุ์อื่นที่พบได้ในฟาร์ม (Meng, 2000; Diaz, 2005) ในระยะแรกวัคซีนเชื้อเป็นของโรค PRRS ทั้งสายพันธุ์ยุโรปและอเมริกา ผลิตออกมาเพื่อป้องกันโรคทางระบบทางเดินหายใจในลูกสุกรและสุกรรุ่น ผลการวิจัยพบว่า วัคซีนเชื้อเป็นเหล่านี้ช่วยป้องกันอาการป่วย และลดความสูญเสียได้ดี แต่ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ (Mengeling et al., 2003) Martelli et al. (2007) พบว่าวัคซีน PRRS เชื้อเป็นสามารถให้ได้ทั้งการฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular) และการให้เข้าชั้นผิวหนัง (intradermal) โดยใช้อุปกรณ์ที่ปราศจากเข็ม ในลูกสุกรอายุ 4 สัปดาห์ได้ผลใกล้เคียงกัน และสามารถลดอาการป่วยและลดการสูญเสียลูกสุกรจากการฉีดเชื้อพิษทับได้

ความปลอดภัยของการใช้วัคซีนเชื้อเป็น PRRS ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน และในหลายการทดลองพบว่าสุกรที่ได้รับวัคซีนแสดงอาการป่วยจากเชื้อไวรัส (viraemia) และมีการแพร่เชื้อไวรัสออกมาได้ แม้จะมีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคด้วยก็ตาม วัคซีนเชื้อเป็นชนิดที่ผลิตในสหรัฐอเมริกา ได้รับการรับรองให้ใช้ได้ในสัตว์ที่ไม่ท้อง และมีการวิจัยหลายครั้งที่ให้การรับรองด้านความปลอดภัยในสัตว์ที่ไม่ท้อง ในขณะที่การทำวัคซีนเชื้อเป็นในสุกรอุ้มท้อง มีการวิจัยหลายครั้งพบว่า เชื้อไวรัสจากวัคซีนสามารถแพร่ผ่านรกจากแม่เข้าสู่ตัวลูกสุกรในครรภ์ได้ โดยเฉพาะถ้าฉีดวัคซีนประมาณ 90 วันของการอุ้มท้อง จากความสามารถในการแพร่ผ่านรกได้นั้น ทำให้ผลที่ตามมา คือ ลูกสุกรสามารถคลอดออกมาเป็นลูกสุกรที่ติดเชื้อไว้รัส PRRS และแพร่เชื้อได้ ส่งผลให้กระทำวัคซีนเชื้อเป็นนี้เป็นตัวการในการแพร่เชื้อสู่ลูกสุกรที่ไม่มีเชื้อ และเพิ่มโอกาสในการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสให้มีความรุนแรงมากขึ้น การระบาดของโรค PRRS ซึ่งแสดงออกโดย การพบอัตราการแท้งสูง และพบการตายของแม่สุกรสูงขึ้น ก็เคยมีรายงานในฟาร์มที่ทำวัคซีนเชื้อเป็นสายพันธุ์อเมริกา เช่นกัน (Mengeling et al., 1999)

ปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้วัคซีน PRRS เชื้อเป็นในการควบคุมและป้องกันการเกิดโรค PRRS กันแพร่หลายมากขึ้น (Tummaruk and Tantilerdcharoen, 2007, 2008a, 2008b) วิธีการทำมีหลายรูปแบบมาก หลายครั้งพบว่าวัคซีนที่ทำไม่ตรงกับเชื้อที่มีการระบาดในฟาร์ม และบางฟาร์มพบว่ามีการระบาดของเชื้อ PRRS ในสุกรอุ้มท้องทั้งสายพันธุ์ยุโรปและสายพันธุ์อเมริกา ปัจจุบันการศึกษาถึงความปลอดภัยและประสิทธิภาพในการควบคุมและป้องกันปัญหาจากโรค PRRS ยังมีการศึกษากันน้อย ทำให้ยังไม่สามารถประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อเป็นในการนำไปใช้จริงในฟาร์มได้ และยังทำให้การประยุกต์ใช้วัคซีนเพื่อให้เหมาะสม ในการควบคุมและป้องกันปัญหาจากโรคพีอาร์อาร์เอส เป็นไปได้ยาก ดังนั้น การศึกษาถึงผลของการใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกร จะช่วยให้ทราบถึงข้อดีและข้อเสียของการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในฟาร์มสุกรในประเทศไทย ซึ่งจะสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุมปัญหาจากโรคพีอาร์อาร์เอสได้ดียิ่งขึ้น

โรคติดเชื้อไวรัสในสุกร

เชื้อไวรัสที่สำคัญที่ทำให้เกิดผลกระทบอย่างสูงต่ออุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทยช่วง 10 ปีที่ผ่านมาได้แก่ เชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร (CSFV) เชื้อไวรัสปากและเท้าเปื่อย (FMDV) เชื้อไวรัสเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร (PCV-2) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (PRRS) เชื้อไวรัสเอดี (ADV) และเชื้อพาร์โวไวรัสในสุกร (PPV) นอกจากนั้นเชื้อโรค 3 ชนิด สุดท้ายยังมีส่วนทำให้เกิดปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกรด้วย (Maldonado et al., 2005) นอกจากนี้ การติดเชื้อร่วมกันของเชื้อโรคเหล่านี้ยังพบได้บ่อยในฟาร์มสุกรทั่วไป (López-Soria et al., 2010) การติดเชื้อร่วมกันของโรคต่างๆ นี้ ส่งผลให้อาการทางคลินิกของสุกรมีความซับซ้อน และรุนแรงมากขึ้น เช่น การเกิดกลุ่มอาการ porcine respiratory disease complex และ post-weaning multisystemic wasting syndrome เป็นต้น (Opriessnig et al., 2007) แม้ว่าผลกระทบของโรคที่ซับซ้อนเหล่านี้จะมีการศึกษาในสุกรอนุบาลและสุกรขุนแล้ว แต่ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกรยังมีจำกัด

ในทางปฏิบัติสุกรสาวจะได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรคติดเชื้อต่างโดยผ่านทางการคลุกสุกรหรือการทำวัคซีนก่อนนำสุกรสาวเข้าฝูง โดยทั่วไปแม่สุกรหย่านมที่ถูกคัดทิ้ง สุกรอนุบาล หรือสุกรขุน จะถูกนำมาใช้ในการคลุกสุกรสาว ฟาร์มสุกรเชิงพาณิชย์ในประเทศไทยส่วนใหญ่จะฉีดวัคซีน ป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเทียม (ADV) และเชื้อติดเชื้อพาร์โวไวรัสในสุกร (PPV) ให้แก่สุกรสาวทดแทน แต่วัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส (PRRSV) ถูกในมาใช้ในฟาร์มสุกรบางฟาร์มเท่านั้น จากการศึกษาทางซีรั่มวิทยา

พบว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกพบครั้งแรกในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 (Oraveerakul et al. 1995) ในปัจจุบันประเทศไทยสามารถแยกเชื้อได้ทั้งสายพันธุ์ยุโรปและสายพันธุ์อเมริกา (Thanawongnuwech et al. 2004) ในปี พ.ศ. 2538 ได้มีการสำรวจทางซีรั่มเพื่อตรวจหา glycoprotein I (gI) ของเชื้อไวรัสเอดีจากฟาร์มสุกรในประเทศไทยจำนวน 15 ฟาร์ม พบว่า 98% (597/608 ตัวอย่าง) ของตัวอย่างจากสุกรให้ผลบวก (Wongwatcharadumrong and Platt 1995) ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีกว่าการตรวจพบส่วน gI ของเชื้อไวรัสเอดีบ่งบอกถึงการติดเชื้อตามธรรมชาติ (Mengeling et al. 1997) ดังนั้นการเฝ้าระวังสุกรในฟาร์มที่ให้ผลบวกต่อส่วน gI ของเชื้อไวรัสเอดีจึงเป็นจุดสำคัญในการวางแผนกำจัดเชื้อไวรัสเอดี ในปัจจุบันความชุกของเชื้อไวรัสเอดีในประเทศไทยได้ลดลง เนื่องจากมีการใช้วัคซีนเชื้อไวรัสเอดีกันอย่างแพร่หลายร่วมกับการเฝ้าระวังการตรวจพบส่วน gI ของเชื้อไวรัสเอดีอย่างสม่ำเสมอ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงความชุกของเชื้อไวรัสเอดีที่ทำให้เกิดความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ชนิดต่างๆ ในสุกรสาวในประเทศไทย

โรคติดเชื้อพาร์โวไวรัสในสุกรเป็นอีกโรคหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผลิตสุกรเชิงพาณิชย์ในประเทศไทย โดยทั่วไปเชื้อพาร์โวไวรัสในสุกรสามารถตรวจพบได้ในซีรั่มของแม่สุกรภายหลังการติดเชื้อได้นาน 10 วัน (Miao et al. 2009) ระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสอยู่ระหว่าง 1:32 และ 1:512 ภายหลังการทำวัคซีน และอาจมีระดับแอนติบอดี้สูงถึง 1:40,960 ภายใน 19 วันหลังจากฉีดเชื้อพาร์โวไวรัสเข้าสู่ร่างกายสุกร (Józwik et al. 2009) ระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสที่เพิ่มสูงขึ้นพบได้เป็นปกติในสุกรสาวและแม่สุกรในภาคสนาม ซึ่งไม่น่าจะเป็นผลจากการทำวัคซีน และพบว่าการสูงขึ้นของระดับแอนติบอดีต่อเชื้อพารโวไวรัสในแม่สุกรมีความสัมพันธ์กับ ขนาดฝูง ลำดับท้อง และการเก็บรักษาวัคซีนที่เปิดใช้แล้ว (Oravainen et al. 2005) การศึกษาความชุกของการติดเชื้อพาร์โวไวรัส และ เชื้อไวรัสเอดี สัมพันธ์กับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส จึงมีความสำคัญต่อการศึกษาเพื่อให้สามารถทำกสนวินิจฉัยแยกแยะโรคได้ และเข้าใจถึงสาเหตุของการเกิดความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ของสุกรสาวและแม่สุกรในฟาร์มสุกรในประเทศไทยได้ (Tummaruk et al. 2009a)

การติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในแม่สุกรอุ้มท้อง

โรคพีอาร์อาร์เอสในสุกรมีความสำคัญมากต่อการผลิตสุกรทั่วโลก ในประเทศสหรัฐอเมริกามีการประเมินความสูญเสียที่เกิดจากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไว้ประมาณ 560 ล้านดอลล่าห์ต่อปี (Neumann et al., 2005) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเป็นอาร์เอ็นเอไวรัส มีขนาดเล็ก อยู่ในตระกูล Arterivirus ลักษณะสำคัญของความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ที่เกิดจากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ประกอบด้วย การแท้งในระยะท้าย (late-term abortion) การคลอดก่อนกำหนด (early farrowing) การตายแรกคลอดและมัมมี่เพิ่มมากขึ้น และลูกสุกรคลอดออกมาอ่อนแอ (weak-born piglets) ปัจจุบันความรู้ความเข้าใจของกลไกในการเกิดความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในสุกรที่เกิดจากเชื้อพีอาร์อาร์เอสยังไม่เป็นที่เข้าใจชัดเจนมากนัก

ก่อนหน้านี้เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถติดเชื้อผ่านมดลูก และเข้าสู่ตัวอ่อนได้ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถแพร่กระจายและฝังตัวอยู่ในส่วนต่างๆ ของลูกสุกร (Cheon and Chae, 2001) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถตรวจพบได้ในปอด ต่อมไทมัส ตับ ต่อมทอลซิล ม้าม หัวใจ ไต และต่อมน้ำเหลืองของลูกสุกรที่ตายแรกคลอดและที่มีชีวิต อย่างไรก็ดีไม่มีการพบรอยโรคที่รุนแรงในอวัยวะภายในของลูกสุกรที่ตายแรกคลอด บ่งชี้ว่าการตายของตัวอ่อนสุกรระหว่างตั้งครรภ์อาจไม่ได้เกิดจากการแบ่งตัวของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในอวัยวะเหล่านี้

โดยทั่วไปทั้งแม่สุกรและลูกสุกรสามารถติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้ทุกระยะของการตั้งท้อง แต่ในแม่สุกรที่ติดเชื้อไวรัส อาการทางคลินิกมักแสดงออกในช่วงท้ายๆ ของการอุ้มท้อง (Mengeling et al., 1994; Mengeling et al., 1998) บ่งชี้ว่าจุดที่เกิดการฝังตัวของลูกสุกรน่าจะมีบทบาทสำคัญต่อการก่อโรคของเชื้อ

ไวรัสพีอาร์อาร์เอส เยื่อบุโพรงมดลูกของแม่สุกร และรกอาจมีความทนทานต่อการติดโรคพีอาร์อาร์เอสในช่วงต้นและกลางของการอุ้มท้อง แต่อาจมีความไวรับเพิ่มสูงขึ้นในช่วงท้ายของระยะอุ้มท้อง สิ่งต่างๆ โดยรอบเยื่อบุโพรงมดลูกและรกมีความสำคัญมากต่อการคงอยู่ของการอุ้มท้อง การติดเชื้อไวรัส แบคทีเรีย หรือปรสิตบางชนิด และมีการแบ่งตัวในบริเวณที่เกิดการฝังตัวของตัวอ่อนอาจส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์ได้ การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวและการคงอยู่ของเชื้อไวรัสที่บริเวณเยื่อบุโพรงมดลูกในสุกรยังมีน้อยมาก โดยเมื่อไม่นานมานี้ Olanratmanee et al. (2011) ตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเยื่อบุโพรงมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อ (apoptosis) ในอวัยวะต่างๆ เช่น ปอด อัณฑะ ต่อมน้ำเหลือง และต่อมไทมัส นอกจากนี้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจที่ติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสในที่สุดก็จะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการตายในที่สุด มีการศึกษาพบว่าตัวรับของไซอาโรเอสฮีซิน (sialoadhesin receptor) และเซลล์ CD163 มีบทบาทสำคัญต่อการเข้าสู่เซลล์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ที่เยื่อบุโพรงมดลูกของแม่สุกรปกติมีการตรวจพบเซลล์ทั้งสองชนิดนี้ (Karniychuk et al., 2011) ดังนั้นบริเวณเยื่อบุโพรงมดลูกตลอดจนตำแหน่งที่จะเกิดการฝังตัวของตัวอ่อนจึงเป็นแหล่งที่เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถเพิ่มจำนวนได้ และทำให้เกิดความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์ตามมาในที่สุด

การทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในสุกรสาวอุ้มท้อง

โรคพีอาร์อาร์เอส (PRRS) เป็นโรคที่สามารถก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจในลูกสุกร และเกิดความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกร โรค PRRS เกิดจากเชื้อไวรัสในกลุ่ม Arteriviridae เชื้อนี้เป็น RNA ไวรัส มีขนาดเล็ก และ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เชื้อไวรัส PRRS ถูกแบ่งเป็น 2 สายพันธุ์ใหญ่ๆ ได้แก่ สายพันธุ์ยุโรป (EU) และสายพันธุ์อเมริกา (US) โดยอาศัยคุณลักษณะทางพันธุกรรม ลักษณะโครงสร้าง และความสามารถในการก่อโรคที่แตกต่างกัน (Meng, 2000)

การเกิดขึ้นของโรค PRRS ในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร ส่งผลกระทบอย่างสูง ทำให้เกิดการพัฒนาวัคซีนหลายชนิดขึ้นมาเพื่อแก้ไขปัญหา วัคซีน PRRS ประกอบด้วย 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ วัคซีนเชื้อตาย (inactivated vaccine) และวัคซีนเชื้อเป็น (modified-live virus vaccine) วัคซีนเหล่านี้ถูกนำมาใช้ในการควบคุมโรคทั้งในลูกสุกร และสุกรแม่พันธุ์ วัคซีนเชื้อตายเป็นวัคซีนที่อนุญาตให้ใช้ได้ในแม่พันธุ์อุ้มท้อง เนื่องจากไม่มีผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ วัคซีนเชื้อตายเคยมีการใช้ในภาคสนามและในห้องทดลอง และได้รับการพิสูจน์แล้วว่าไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกร อย่างไรก็ดีประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีนเชื้อตายค่อนข้างต่ำและไม่เพียงพอในการป้องกันโรคในระยะยาว ในทางตรงข้ามวัคซีนเชื้อเป็นของโรค PRRS ทั้งสายพันธุ์ยุโรปและอเมริกา เริ่มต้นผลิตออกมาเพื่อป้องกันโรคทางระบบทางเดินหายใจในลูกสุกรและสุกรรุ่น ผลการวิจัยพบว่า วัคซีนเชื้อเป็นเหล่านี้ช่วยป้องกันอาการป่วย และลดความสูญเสียได้ดี แต่ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ (Mengeling et al., 2003) ในประเทศอิตตาลี Martelli et al. (2007) พบว่าวัคซีน PRRS เชื้อเป็นสามารถให้ได้ทั้งการฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular) และการให้เข้าชั้นผิวหนัง (intradermal) โดยใช้อุปกรณ์ที่ปราศจากเข็ม ในลูกสุกรอายุ 4 สัปดาห์ได้ผลใกล้เคียงกัน และสามารถลดอาการป่วยและลดการสูญเสียลูกสุกรจากการฉีดเชื้อพิษทับได้

ความปลอดภัยของการใช้วัคซีนเชื้อเป็น PRRS ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน และในหลายการทดลองพบว่าสุกรที่ได้รับวัคซีนแสดงอาการป่วยจากเชื้อไวรัส (viraemia) และมีการแพร่เชื้อไวรัสออกมาได้ แม้จะมีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคด้วยก็ตาม วัคซีนเชื้อเป็นชนิดที่ผลิตในสหรัฐอเมริกา ได้รับการรับรองให้ใช้ได้ในสัตว์ที่ไม่ท้อง และมีการวิจัยหลายครั้งที่ให้การรับรองด้านความปลอดภัยในสัตว์ที่ไม่ท้อง ในขณะที่การทำวัคซีนเชื้อเป็น

ในสุกรอุ้มท้อง มีการวิจัยหลายครั้งพบว่า เชื้อไวรัสจากวัคซีนสามารถแพร่ผ่านรกจากแม่เข้าสู่ตัวลูกสุกรในครรภ์ได้ โดยเฉพาะถ้าฉีดวัคซีนประมาณ 90 วันของการอุ้มท้อง จากความสามารถในการแพร่ผ่านรกได้นั้น ทำให้ผลที่ตามมา คือ ลูกสุกรสามารถคลอดออกมาเป็นลูกสุกรที่ติดเชื้อไว้รัส PRRS และแพร่เชื้อได้ ส่งผลให้กระทำวัคซีนเชื้อเป็นนี้เป็นตัวการในการแพร่เชื้อสู่ลูกสุกรที่ไม่มีเชื้อ และเพิ่มโอกาสในการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสให้มีความรุนแรงมากขึ้น การระบาดของโรค PRRS ซึ่งแสดงออกโดย การพบอัตราการแท้งสูง และพบการตายของแม่สุกรสูงขึ้น ก็เคยมีรายงานในฟาร์มที่ทำวัคซีนเชื้อเป็นสายพันธุ์อเมริกา เช่นกัน (Mengeling et al., 1999)

วัคซีนเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป ปัจจุบันมีการนำมาใช้กันในทวีปยุโรป และมีการใช้กันมากขึ้นเรื่อยๆ ในฟาร์มสุกร เพื่อป้องกันการระบาดของโรค PRRS อย่างไรก็ดี ข้อมูลที่บ่งชี้ถึงความปลอดภัย (safety) ของการใช้วัคซีนชนิดนี้ยังมีค่อนข้างน้อย ข้อมูลส่วนใหญ่เป็นการทำวัคซีนสายพันธุ์อเมริกา แต่ในฟาร์มที่มีการระบาดของไวรัสทั้ง 2 ชนิด หรือการทำวัคซีนต่างชนิดกันกับเชื้อที่มีการระบาด ปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่เพียงพอ โดยเฉพาะการทดลองในสภาพแวดล้อมแบบฟาร์มสุกร

ในประเทศไทย การทำวัคซีนเชื้อเป็น PRRS มีการใช้กันมานานกว่า 2 ปีแล้ว ทั้ง 2 ชนิด วิธีการทำมีหลายรูปแบบมาก หลายครั้งพบว่าวัคซีนที่ทำไม่ตรงกับเชื้อที่มีการระบาดในฟาร์ม และบางฟาร์มพบว่ามีการระบาดของเชื้อ PRRS ในสุกรอุ้มท้องทั้งสายพันธุ์ยุโรปและสายพันธุ์อเมริกา จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาความปลอดภัยของการใช้วัคซีนเชื้อเป็นทั้ง 2 ชนิดในฟาร์มสุกร ตลอดจนศึกษาผลกระทบต่อผลผลิตสุกรในฟาร์มด้วย

ในประเทศสเปน Scortti et al. (2006) ศึกษาผลของการทำวัคซีนเชื้อเป็นในสุกรสาวอุ้มท้อง 90 วัน จำนวน 16 ตัว ที่ไม่มีแอนติบอดี้ต่อโรค PRRS โดยแบ่งสุกรออก เป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมลบ กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มควบคุมบวก ฉีดเชื้อไวรัสที่มีความรุนแรงที่แยกได้จากภาคสนามในประเทศสเปน กลุ่มที่ 3 ได้รับวัคซีน PRRS เชื้อเป็นชนิด VP-046Bis และกลุ่มที่ 4 ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นชนิด All-183 สุกรกลุ่มที่ 2-4 ได้รับเชื้อไวรัส PRRS เมื่ออุ้มท้องได้ 90 วัน หลังจากนั้นทำการศึกษาอาการทางคลินิกทุกวัน และเก็บตัวอย่างเลือดและน้ำมูกจนกระทั่งคลอด ถ้ามีลูกตายแรกคลอดก็เก็บตัวอย่างอวัยวะภายในมาตรวจด้วย ผลการทดลองพบว่า สุกรทุกกลุ่มมีอาการค่อนข้างปกติยกเว้น กลุ่มที่ 2 ที่มีอาการเบื่ออาหารและมีไข้ประมาณ 2-3 วันหลังติดเชื้อไวรัส เม็ดเลือดขาวของสุกรกลุ่มนี้ก็ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ ในวันที่ 2 หลังติดเชื้อ สมรรถภาพทางระบบสืบพันธุ์ของสุกรสาวที่ได้รับวัคซีนขณะอุ้มท้อง ไม่แตกต่างจากสุกรปกติ และดีกว่าสุกรที่ไม่ทำวัคซีนแล้วได้รับการฉีดเชื้อพิษ โดยพบว่าสุกรที่ไม่ทำวัคซีน พบจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอด ลูกสุกรอ่อนแอแรกคลอดและอัตราการตายของลูกสุกรหลังคลอดสูงกว่าสุกรกลุ่มที่ไม่ติดเชื้อและกลุ่มที่ทำวัคซีนก่อนติดเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ (Scortti et al., 2006) อย่างไรก็ดี ในสุกรสาวที่ฉีดวัคซีน PRRS เชื้อเป็น ยังมีการตรวจพบเชื้อไวรัสในกระแสเลือดประมาณ 3-5 วัน หลังการฉีดเชื้อพิษทับ เช่นเดียวกับสุกรสาวกลุ่มที่ไม่ทำวัคซีน นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อไวรัสได้ในลูกสุกรบางตัวอีกด้วย การทดลองส่วนใหญ่ในสุกรอุ้มท้องมักทำในยูนิตทดลองขนาดเล็กไม่เกิน 10 ตัวต่อกลุ่ม แต่ในภาวะการจัดการในฟาร์มสุกร การติดเชื้อไวรัสในสุกรบางตัวในฝูง อาจทำให้เกิดความไม่สม่ำเสมอของภูมิคุ้มกันในฝูง และเสี่ยงต่อการกระจายของเชื้ออย่างต่อเนื่องได้ การทำวัคซีนเชื้อเป็น PRRS ในสุกรอุ้มท้องในฟาร์มจึงยังควรที่จะมีการประเมินประสิทธิภาพ และความปลอดภัยต่อไป

สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในฟาร์มสุกรที่ทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น

โรคพีอาร์อาร์เอสในสุกรทำให้เกิดความสูญเสียทางระบบสืบพันธุ์ในแม่สุกร และส่งผลกระทบต่อระบบทางเดินหายใจในสุกร อนุบาล รุ่น และ ขุน ความรุนแรงของโรค พีอาร์อาร์เอส มีความแปรปรวนสูง ตั้งแต่ไม่พบการแสดงอาการใดๆ เลย จนถึงอาการรุนแรง ทั้งระบบสืบพันธุ์ และระบบทางเดินหายใจ

ลักษณะของความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ที่พบบ่อย ได้แก่ พบการคลอดก่อนกำหนดเพิ่มขึ้น อัตราเข้าคลอดลดต่ำลง จำนวนลูกสุกรที่คลอดผิดปกติ เช่น มัมมี่ ตายแรกคลอด อ่อนแอ และ ขากางแต่กำเนิด (splay-legged) พบเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ จำนวนลูกมีชีวิตแรกคลอด และจำนวนลูกสุกรหย่านมลดลง (Chung et al., 1997) ในฟาร์มที่เกิดระบาดของโรค พีอาร์อาร์เอส แล้ว ฝูงสุกรก็มักจะเข้าสู่ระยะของการเสียหายแบบ ‘เรื้อรัง’ (Chronic loss) โดยยังคงพบความเสียหายในสุกรขุน ในขณะที่ฝูงแม่พันธุ์อาจจะเกิดการะบาดได้อีกเป็นครั้งคราว (Stevenson et al., 1993; Kim et al., 2002)

แนวทางการกำจัดโรคพีอาร์อาร์เอสมีหลายกระบวนการ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำให้การหมุนเวียนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในฟาร์มมีความสม่ำเสมอ (stable herd) ตัวอย่างของแนวทางในการจัดการประกอบด้วย การหย่าเร็วขึ้น (segregated early weaning) การใช้ระบบเข้าหมด-ออกหมด (all-in-all-out) อย่างไรก็ดีการจัดการต่างๆ เหล่านี้ไม่ประสบความสำเร็จในทุกฟาร์ม เนื่องจากผลสำเร็จมักขึ้นอยู่กับลักษณะของโรงเรือน และโครงสร้างอื่นๆ ในฟาร์มด้วย

การทำวัคซีนเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่มีหลายฟาร์มให้ความสนใจ ถึงแม้ว่าที่ผ่านมาจะไม่มีการการันตีความสำเร็จในทุกฟาร์มก็ตาม การฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น ได้มีการประเมินผลกันมาแล้วค่อนข้างมาก แต่ส่วนใหญ่ทำการทดลองในสุกรอนุบาลและสุกรขุน มีน้อยการทดลองที่ศึกษาศักยภาพของวัคซีนในการควบคุมโรคในฝูงแม่พันธุ์

สิ่งที่ควรต้องคำนึงถึง ในการทำวัคซีนเชื้อเป็นของโรคพีอาร์อาร์เอสในแม่พันธุ์ ได้แก่

1. เชื้อไวรัสจะยังคงสามารถมีชีวิตอยู่ได้หลายสัปดาห์หรืออาจนานหลายเดือน
2. เชื้อไวรัสสามารถแพร่จากสุกรที่ทำวัคซีนไปยังสุกรที่มีความไวรับต่อโรคได้ (naïve pigs)
3. เชื้อไวรัสสามารถติดเข้าสู่ฝูงพ่อพันธุ์ และแพร่ผ่านน้ำเชื้อได้
4. เชื้อไวรัสสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกันที่ป้องกันโรคได้ ซึ่งเกิดขึ้นอย่างช้าๆ
5. เชื้อไวรัสสามารถแพร่ผ่านรกและทำให้เกิดการติดเชื้อในลูกสุกรแต่กำเนิดได้ (congenital infection)

มีการวิจัยโดยใช้ข้อมูลจากภาคสนามพบว่า การฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอส ทั้งในฟาร์มที่ติดเชื้อพีอาร์อาร์เอส และฟาร์มที่ไม่ติดเชื้อ จำนวน 47 ฟาร์ม ในประเทศแคนาดา ในแม่สุกรที่กำลังอุ้มท้อง พบการสูญเสียทางระบบสืบพันธุ์โดยเฉพาะการทำวัคซีนในช่วง 4 สัปดาห์สุดท้ายของการอุ้มท้อง การสูญเสียที่เกิดขึ้นประกอบด้วย จำนวนลูกสุกรมีชีวิตแรกคลอดลดลง จำนวนลูกสุกรหย่านมลดลง ลูกสุกรตายแรกคลอดและมัมมี่เพิ่มสูงขึ้น (Dewey et al., 1999)

ประสิทธิผลของการทำวัดซีนเชื้อเป็นพีอาร์อาร์เอส ยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของไวรัสในวัคซีนด้วย (vaccine strain) เป็นที่ทราบกันดีว่า สายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส มีความหลากหลายค่อนข้างสูง ทั้งลักษณะปรากฏและการก่อโรค ความแตกต่างกันของสายพันธุ์ยุโรปและอเมริกา ถูกยกเป็นกรณีเป็นตัวอย่างของการทำวัคซีนที่ไม่ได้ผลบ่อยครั้ง ในยุโรปสายพันธุ์ของพีอาร์อาร์เอส ส่วนใหญ่ที่แยกได้มีความคล้ายคลึงกับสายพันธุ์ Lelystad ที่แยกได้จากประเทศเนเธอร์แลนด์ นอกจากนี้ในการศึกษาระยะหลังๆ ยังมีการพบความแตกต่างของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ภายในกลุ่มสายพันธุ์ยุโรปด้วยกันเองอีกด้วย มีการศึกษาพบว่า ในกลุ่มของไวรัสสายพันธุ์ยุโรปด้วยกัน วัคซีนพีอาร์อาร์เอส ก็มักจะมีประสิทธิภาพต่อการป้องกันโรคที่ เกิดจากสายพันธุ์ที่

มีความเหมือนกันเท่านั้น (Labarque et al., 2004) จากข้อมูลที่ผ่านมาพบว่า เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ที่มีต้นกำเนิดมาจากยุโรปมักตอบสนองได้ผลดีกับวัคซีนที่ผลิตจากยุโรป เมื่อไม่นานมานี้มีการทดลองฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น ในฟาร์มสุกร ขนาด 250 แม่ ในประเทศกรีซ ฟาร์มนี้พบการระบาดของพีอาร์อาร์เอส มานานกว่า 1 ปี แล้ว และปัจจุบันพบว่า 80% ของแม่สุกรมีผลตรวจเลือดพีอาร์อาร์เอสเป็นบวก ทำการทดลองโดยแบ่งแม่สุกรออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 100 ตัว กลุ่มแรกไม่ฉีดวัคซีน เป็นกลุ่มควบคุม และ กลุ่มที่ 2 ทำวัคซีน 1 เข็มในสุกรสาวอายุ 179.4±3.8 วัน และในแม่สุกรหลังคลอด 10 วัน สุกรที่ฉีดวัคซีนและไม่ฉีดวัคซีน แยกคลอดต่างโรงเรือนกัน แต่ละกลุ่มมีสุกรที่เข้าคลอด กลุ่มละ 10 ชุด การจัดการทุกอย่างทำเหมือนกันทั้งสองชุด ทำการสังเกตอาการป่วยในแม่สุกรหลังคลอดทั้ง 2 กลุ่ม โดยเน้นศึกษากลุ่มอาการไข้นมหลังคลอด (MMA) เปรียบเทียบจำนวนแม่กลับสัด แท้ง และคัดทิ้ง ในแม่สุกรทั้ง 2 กลุ่ม เปรียบเทียบอัตราเข้าคลอดในแม่สุกรทั้ง 2 กลุ่ม ผลการศึกษาแสดงใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการสังเกตสุขภาพแม่สุกรหลังคลอด และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกรที่ฉีดและไม่ฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น (ที่มา: Alexopoulos et al., 2005)

	ไม่ทำวัคซีน	ทำวัคซีน	ผลต่างทางสถิติ
อัตรากลับสัด (%)	20	10	P=0.053
อัตราแท้ง (%)	1	1	NS
อัตราคัดทิ้ง (%)	22	11	P<0.05
อัตราเข้าคลอด (%)	78	89	P<0.05
แม่สุกรป่วยหลังคลอด (%)	15.4	5.6	P<0.05

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกรดีขึ้นหลังการทำวัคซีนเชื้อเป็นพีอาร์อาร์เอส ถึงแม้ว่ามีแม่สุกรบางตัวแสดงอาการป่วยหลังการทำวัคซีน แต่ในกลุ่มที่ทำวัคซีน มีแม่สุกรถูกคัดทิ้งหลังผสมพันธุ์น้อยกว่า และมีแนวโน้มการกลับสัดน้อยกว่าในกลุ่มที่ไม่ทำวัดซีน ในขณะที่อัตราเข้าคลอด ในสุกรที่ทำวัคซีนสูงขึ้นอย่างชัดเจน ในขณะที่จำนวนลูกสุกรแรกคลอดทั้งหมดไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ดีจำนวนลูกสุกรมีชีวิตในกลุ่มที่ทำวัคซีนสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ทำวัคซีน และจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอดและจำนวนมัมมี่ ในกลุ่มที่ทำวัคซีนต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ทำวัคซีน และสุดท้ายจำนวนลูกสุกรหย่านมในกลุ่มที่ทำวัดซีนสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ทำวัดซีน 0.7 ตัว/ครอก (Alexopoulos et al., 2005)

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นผลในด้านบวกของการทำวัดซีนเชื้อเป็นพีอาร์อาร์เอสในแม่สุกร จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การทำวัดซีนมีความปลอดภัยและช่วยลดการป่วยในช่วงหลังคลอดในแม่สุกรและลดการสูญเสียลูกสุกรได้ อย่างไรก็ดีก่อนหน้านี้เคยมีการศึกษาพบว่าการฉีดวัคซีนในช่วงท้าย (4 สัปดาห์ก่อนคลอด) มีผลเสีย คือ พบการตายแรกคลอดสูงขึ้น นอกจากนี้เป็นที่ทราบดีว่าวัคซีนเชื้อเป็นพีอาร์อาร์เอส สามารถแพร่กระจายในสุกรอุ้มท้องได้ แสดงว่าความปลอดภัยในการใช้งานของวัคซีนเชื้อเป็น ทั้งทางตรงและทางอ้อมยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกต่อไป อย่างไรก็ดีการฉีดวัคซีนเชื้อเป็น PRRS หลังคลอด 10 วัน พบว่าได้ผลดี (ตารางที่ 1) โดยพารามิเตอร์ที่ดีขึ้นประกอบด้วย ระยะอุ้มท้องนานขึ้น (ลดปัญหาการคลอดก่อนกำหนด) การกลับสัดลดลง การคัดทิ้งหลังผสมลดลง อัตราเข้าคลอดดีขึ้น การป่วยของแม่สุกรหลังคลอดลดลง จำนวนลูกสุกรตายแรกคลอดและมัมมี่ลดลง และจำนวนลูกสุกรหย่านม เพิ่มมากขึ้น

การศึกษานี้เป็นตัวอย่างของการประสบความสำเร็จในการใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น ที่ตรงกับสายพันธุ์ของเชื้อที่ระบาดในฟาร์ม จึงช่วยแก้ปัญหาได้หลายประการ ซึ่งแสดงออกได้โดยตัวชี้วัดดังกล่าว ตัวชี้วัดเหล่านี้จึงน่าจะเป็นตัวชี้วัดความสำเร็จของการทำวัดซีนพีอาร์อาร์เอส ในฟาร์มอื่นๆ ในประเทศไทยได้เช่นเดียวกัน

การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อระบบสืบพันธุ์ของพ่อสุกร

โรคพีอาร์อาร์เอส เกิดจากอาร์เอ็นเอ (RNA) ไวรัส เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเจริญและเพิ่มจำนวนในเซลล์แมคโครฟาจทั้งที่ปอดและที่เนื้อเยื่ออื่นๆ อาการที่พบในแม่สุกร ส่วนใหญ่ที่เป็นปัญหาของความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ ได้แก่ แท้ง คลอดก่อนกำหนด คลอดลูกสุกรตายแรกคลอด และลูกสุกรแรกคลอดที่อ่อนแอ ในลูกสุกรพบอัตราการตายก่อนหย่านมสูง และมักมีปัญหาจากการติดเชื้ออื่นๆ แทรกซ้อน ในพ่อสุกร มักพบว่าพ่อสุกรจะซึม เบื่ออาหาร มีไข้ และความกำหนัดลดลง นอกจากนี้ การติดเชื้อไวรัส พีอาร์อาร์เอสในพ่อสุกรยังทำให้คุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกรลดลง เช่น อัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิลดลง และจำนวนอสุจิที่มีหยดน้ำที่หางเพิ่มมากขึ้น พ่อสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถแพร่เชื้อไวรัสผ่านทางน้ำเชื้อและทำให้แม่สุกรติดเชื้อจากการผสมพันธุ์ได้ (Prieto et al., 1997; Nilubol et al., 2006) แต่บางรายงานเชื่อว่าการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยผ่านทางน้ำเชื้อเป็นไปได้น้อย เนื่องจากปริมาณไวรัสในน้ำเชื้อมีไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการติดเชื้อได้ (Prieto and Castro, 2000) การแพร่เชื้อไวรัสผ่านทางน้ำเชื้อสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสโดยวิธี อาร์ที-พีซีอาร์ (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) ได้ตั้งแต่ 4-92 วันภายหลังพ่อสุกรได้รับเชื้อ (Christopher-Hennings et al., 1995) และเชื้อไวรัสที่อยู่ในน้ำเชื้อสามารถทำให้เกิดพยาธิสภาพของเซลล์เพาะเลี้ยงได้ในช่วง 4-10 วันภายหลังการได้รับเชื้อ (Prieto et al., 2003)

จากการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อจากทางเดินระบบสืบพันธุ์ของพ่อสุกรพบว่า อัณฑะที่ได้จากพ่อสุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส จะพบลักษณะของเซลล์แบบ ‘multinucleated giant cell’ ภายในท่อสร้างอสุจิ (seminiferous tubule) จำนวนมากโดยเฉพาะท่อสร้างอสุจิที่พบการเสื่อมร่วมด้วย โดย ‘multinucleated giant cell’ จะพบมากในวันที่ 7-9 หลังได้รับเชื้อไวรัส ซึ่งเซลล์กลุ่มนี้สันนิษฐานว่าเป็นเซลล์สืบพันธุ์ที่มีการแบ่งเซลล์ไม่สมบูรณ์ การพบเซลล์ลักษณะนี้สามารถบ่งชี้ถึงภาวะการสร้างตัวอสุจิที่ลดลงได้ นอกจากนี้ยังพบการตายแบบ ‘apoptosis’ ของเซลล์สืบพันธุ์ในท่อสร้างอสุจิในระยะแรกของการติดเชื้อด้วย โดยจะพบมากในช่วงวันที่ 7-25 หลังได้รับเชื้อ และลดลงในวันที่ 30-60 หลังจากพ่อสุกรได้รับเชื้อ (Sur et al., 1997) เมื่อศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสในเนื้อเยื่อจากอัณฑะโดยวิธี ‘in situ hybridization’ ตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อสร้างอสุจิ ในท่อนำน้ำเชื้อ (epididymis) และในเซลล์สืบพันธุ์ที่อยู่ในท่อสร้างอสุจิด้วย (Shin and Molitor, 2002) การตรวจพบเชื้อไวรัสในเซลล์สืบพันธุ์เป็นการพบเชื้อไวรัสในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ของเซลล์ต้นกำเนิดของอสุจิ (spermatocyte และ spermatid) พบได้มากในวันที่ 7-9 หลังได้รับเชื้อ และสามารถพบได้นานถึงวันที่ 25 และการตรวจพบเชื้อไวรัสในเนื้อเยื่อรอบท่อสร้างอสุจิและท่อนำอสุจินี้ เป็นการพบเชื้อไวรัสในเซลล์มาโครฟาจ โดยจะพบในช่วง 7-30 วันหลังได้รับเชื้อ (Sur et al., 1997) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในทางเดินระบบสืบพันธุ์มักพบมากที่ส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนท้ายของท่อนำน้ำเชื้อ ตามลำดับ การพบเชื้อไวรัสในปริมาณที่ต่างกันของท่อนำน้ำเชื้อแต่ละส่วน มีความเกี่ยวข้องกับจำนวนเซลล์มาโครฟาจที่พบในเนื้อเยื่อบริเวณนั้น โดยพบว่าท่อนำอสุจิส่วนต้นจะมีจำนวนเซลล์มาโครฟาจมากกว่าส่วนอื่น (Prieto et al., 2003) และจากการศึกษาการตรวจหาเชื้อพีอาร์อาร์เอส ในเนื้อเยื่อของต่อมสร้างน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ (accessory sex gland) ต่างๆ ในระบบสืบพันธุ์ พบเชื้อไวรัสได้

ในต่อมลูกหมาก (prostate gland) ต่อมบัลโบยูรีทรัล (bulbourethral gland) และ และต่อมเซมินอลเวสซิเคิล (vesicular gland) (Prieto et al., 2003)

เมื่อทำการตรวจน้ำเชื้อพ่อสุกรที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส พบว่ามีกลุ่มเซลล์ที่ไม่ใช่อสุจิปนออกมาในปริมาณมากซึ่งเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของอสุจิ (spermatocytes, spermatids และ multinucleated giant cells) โดยเซลล์กลุ่มนี้เป็นเซลล์ที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เซลล์ที่มีการติดเชื้อเหล่านี้จะเริ่มพบในน้ำเชื้อได้ภายใน 3 วัน หลังได้รับเชื้อไวรัส และพบปริมาณสูงที่สุดในวันที่ 7-14 และลดลงจนตรวจไม่พบเซลล์ที่มีการติดเชื้อในวันที่ 46 หลังได้รับเชื้อไวรัส (Sur et al., 1997)

จากผลการวิจัยที่มีการตรวจพบเชื้อไวรัสในเนื้อเยื่อจากทางเดินระบบสืบพันธุ์พ่อสุกร แสดงให้เห็นว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อของเซลล์สืบพันธุ์ รวมทั้งกลุ่มเซลล์ที่ไม่ใช่เซลล์อสุจิได้เช่นกัน ซึ่งเซลล์ที่มีการติดเชื้อเหล่านี้จะถูกปล่อยออกมาในน้ำเชื้อ ทำให้เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถติดต่อผ่านทางน้ำเชื้อได้ นอกจากนี้การติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในพ่อสุกรจะทำให้พ่อสุกรเกิดภาวะอัณฑะอักเสบและมีผลกระทบต่อกระบวนการสร้างตัวอสุจิของพ่อสุกรอีกด้วย

การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์เกิดจากการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสผ่านทางเลือดไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ โดยเชื้อไวรัสจะไปกับเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจ เซลล์ที่มีการติดเชื้อจะเข้าไปแทรกในเนื้อเยื่อรอบๆ ท่อสร้างอสุจิ จากนั้นเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจจะแพร่กระจายไปยังเซลล์ใกล้เคียงที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์ในท่อสร้างอสุจิ โดยอาจเป็นการแพร่ของเชื้อไวรัสจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่งโดยตรง หรือเกิดจากการแพร่เชื้อไวรัสไปตามช่องว่างระหว่างเซลล์ทำให้เซลล์สืบพันธุ์เกิดการติดเชื้อและมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์สืบพันธุ์ได้ (Sur et al., 1997) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ที่เจริญในเซลล์ระบบสืบพันธุ์จะถูกขับออกมาในน้ำเชื้อได้ เชื้อไวรัสที่พบในน้ำเชื้อเป็นเชื้อไวรัสที่ถูกขับออกมาจากทางเดินระบบสืบพันธุ์ที่มีการเจริญของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เนื่องจากไม่พบการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสในกระแสเลือด อย่างไรก็ดีปริมาณของเชื้อไวรัสที่ตรวจพบมักอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ (Prieto et al., 2003)

โดยสรุป เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในพ่อสุกรมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ อีกทั้งยังอาจทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสไปยังแม่พันธุ์ได้ ดังนั้นการใช้งานพ่อสุกรในการผสมพันธุ์ ทั้งการผสมจริงและการผสมเทียมจึงควรจะต้องมีการคำนึงถึงและเฝ้าระวังการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในพ่อสุกรด้วย พ่อสุกรที่ตรวจพบเชื้อไวรัสในน้ำเชื้อ และ/หรือ ในกระแสเลือด ไม่ควรใช้ในการผสมพันธุ์

การกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

โดยทั่วไปโรคพีอาร์อาร์เอสก่อให้เกิดปัญหาต่อสุกรที่สำคัญๆ คือ ทำให้แม่สุกรที่อุ้มท้องเกิดความล้มเหลวในการอุ้มท้อง (Olanratmanee et al., 2010) และก่อให้เกิดปัญหาในระบบทางเดินหายใจในลูกสุกรและสุกรรุ่น โรคนี้มีรายงานการเกิดโรคครั้งแรกในปี ค.ศ. 1987 ในทวีปอเมริกาเหนือ (Keffaber, 1989) โรคพีอาร์อาร์เอสกลายเป็นโรคที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจเป็นอันดับต้นๆ ในประเทศที่ผลิตสุกรทั่วโลก ในประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (PRRSV) ในฝูงสุกรครั้งแรกในปี ค.ศ. 1995 (Oraveerakul et al., 1995) และจากการศึกษาย้อนหลังสามารถตรวจพบการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในประเทศไทยได้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1989 (Damrongwatanapokin et al., 1996) ปัจจุบันฟาร์มสุกรส่วนใหญ่ในประเทศไทยติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส และ โรคพีอาร์อาร์เอส ก่อให้เกิดการสูญเสียสุกรสาวเนื่องจากความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์เป็นลำดับต้นๆ (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2007; 2008) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 อุบัติการณ์ของโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ที่ตรวจพบในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในประเทศไทย (ที่มา: Tummaruk and Tantilertcharoen 2008)

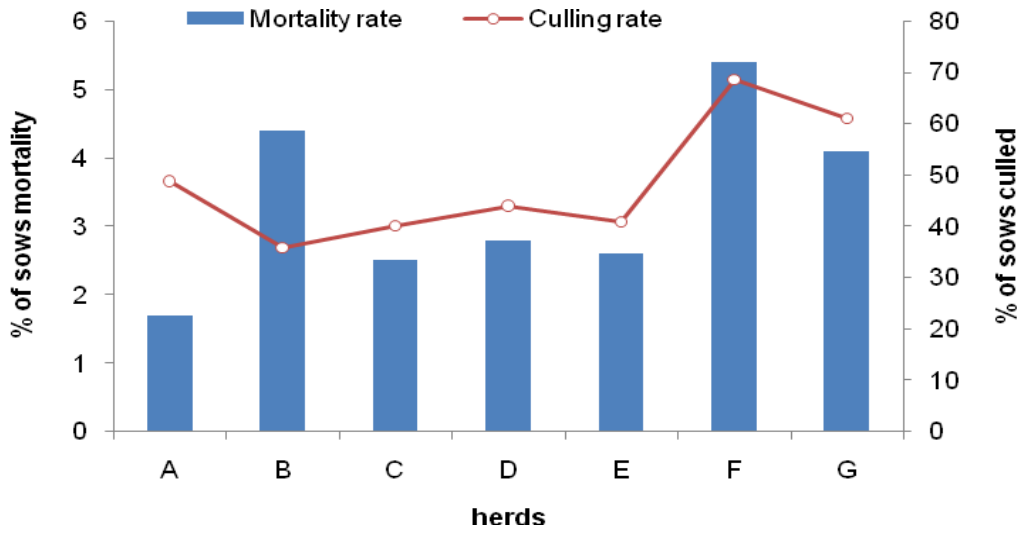
สาเหตุการคัดทิ้ง	จำนวน	PRRSV	ADV	PPV[1]	Brucellosis
แท้ง	16	13 (81%)[ab]	8 (50%)[ab]	7 (44%)[a]	0
ไม่เป็นสัด	85	65 (76%)[a]	10 (12%)[c]	64 (79%[2])[b]	0
ผสมซ้ำ	26	21 (81%)[ab]	16 (62%)[a]	12 (46%)[a]	0
หนองไหล	39	23 (59%)[b]	13 (33%)[b]	31 (89%[3])[b]	0
ทั้งหมด	166	122 (73%)	47 (28%)	114 (72%)	0

[1] จำนวนสุกรสาวที่มรไตเตอร์ $\geq$4096; [2] ไม่มีข้อมูล 3 ตัว; [3]ไม่มีข้อมูล 4 ตัว

เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเป็นเชื้อไวรัสขนาดเล็ก มีเยื่อหุ้มเซลล์ และมีสายอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว ขนาดโมเลกุล 15.4 kb เชื้อไวรัสชนิดนี้อยู่ในสกุล Arteriviridae และในสายพันธุกรรมประกอบด้วย 9 open reading frame (ORF) โดย ORF1a และ ORF1b คิดเป็น 75% ของสายพันธุกรรมของไวรัสทั้งหมด ในส่วนนี้ประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิดที่สำคัญ คือ 1a และ 1b ส่วนของโปรตีนทั้งสองส่วนนี้ประกอบด้วย non-structural protein (NSP) 13 ชนิด ซึ่งเกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวและขยายพันธุ์ของไวรัส เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในทวีปอเมริกาเหนือและยุโรปมีความแตกต่างกันในลักษณะของสายอาร์เอ็นเออย่างชัดเจน (sequence diversity) ดังนั้นอาศัยกลไกทางพันธุกรรมและความสามารถในการแสดงออกของเชื้อ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส จึงถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ พันธุกรรมยุโรป และพันธุกรรมอเมริกา ทั้งสองพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส มีความเหมือนกันประมาณ 60% ในระดับยีนส์ (genomic sequence) ภายในกลุ่มพันธุ์เดียวกันเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ก็มีความหลายหลายสูงมากเช่นเดียวกัน และพบความแตกต่างกันได้สูงถึง 20%

โปรตีน GP5 เป็นโปรตีนที่สำคัญอีกชนิดของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ และเชื่อว่าทำหน้าที่ในการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส (virus neutralizing antibody) และเป็นโปรตีนที่มีความหลากหลายมาก ทั้งโปรตีน GP5 และ NSP2 มีความหลากหลายมาก และการทำหน้าที่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทยมีการเพาะแยกเชื้อและทำการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมไว้แล้ว และพบทั้งไวรัสพันธุกรรมในกลุ่มอเมริกาและยุโรป (Amonsin et al., 2009) โดยเฉลี่ยอัตราการตายของแม่สุกรในฟาร์มสุกรที่ผลิตสุกรเชิงการค้าในประเทศไทยทั้งที่ทำและไม่ทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส มีความแปรปรวนระหว่าง 1.7%-5.4% ต่อปี

ในช่วงต้นปี ค.ศ. 2006 มีการตรวจพบการระบาดของโรคติดเชื้อในสุกรที่มีความรุนแรงในการก่อโรคสูงมากในภาคกลางของประเทศจีน (Li et al., 2007) โรคนี้ทำให้เกิดอาการเด่นๆ คือ สุกรมีไข้สูงมาก (>41°C) เป็นระยะเวลานาน ซึม เบื่ออาหาร ลำตัวและใบหูเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม โรคนี้มีการระบาดสู่สุกรที่อยู่ใกล้เคียงได้อย่างรวดเร็ว และกระจายอย่างรวดเร็วสู่ฟาร์มอื่นๆ ในบริเวณใกล้เคียง อัตราการป่วย 50-100% และอัตราการตายเกิดขึ้นระหว่าง 20-100% อัตราการตายระดับนี้ถือว่าสูงมากในกลุ่มของโรคที่เคยมีรายงานในสุกรในเขตทวีปเอเชีย ฟาร์มที่มีการระบาดของโรคนี้และมีการตายของสุกรสามารถแยกเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้จากทุกฟาร์ม และจากการตรวจลักษณะบนจีโนมของเชื้อไวรัสพบว่ามีความแตกต่างจากเชื้อไวรัสที่เคยแยกได้จากที่อื่นๆ ในประเทศจีน (Li et al., 2007)



รูปที่ 1 อัตราการตาย (mortality rate) และอัตราการคัดทิ้ง (culling rate) เฉลี่ยต่อปีของแม่สุกรในฟาร์มสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ระหว่าง ปี ค.ศ. 2007-2009 จากการสำรวจในฟาร์มสุกรจำนวน 7 ฟาร์ม ในประเทศไทย ฟาร์ม A B และ C ทำวัคซีนเชื้อเป็น และฟาร์มที่เหลือไม่เคยทำวัคซีนเชื้อเป็นต่อโรคพีอาร์อาร์เอส (ที่มา: Olanratmanee et al., 2011)

Zhou และคณะ (2008) ทำการตรวจลักษณะของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส จำนวน 56 เชื้อ จากกรณีศึกษาที่มีการระบาดในภาคสนามและทำการสรุปคุณสมบัติทางจีโนมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ที่แยกได้ใหม่ โดยการนำชิ้นส่วนของอวัยวะมาตรวจและเพาะแยกเชื้อ ได้แก่ ปอด ไต ตับ และต่อมน้ำเหลือง ทุกส่วนถูกเก็บมาจากสุกรที่ป่วยจาก 14 จังหวัดในประเทศจีน ชิ้นเนื้อจากเนื้อเยื่อต่างๆ ถูกนำมาบดรวมกัน แยกอาร์เอ็นเอ เพาะเชื้อไวรัส และเก็บไว้ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกแยกด้วยวิธี RT-PCR และนำผลผลิตที่แยกได้ไปตรวจลักษณะของกรดอะมิโนบนยีนส์ และตรวจสอบการกลายพันธุ์ของเชื้อพีอาร์อาร์เอสโดยตรวจโปรตีน NSP2 และยืนยันผลโดยการนำเชื้อไวรัสที่แยกได้ฉีดให้กับสุกรอนุบาลที่ปลอดเชื้อเพื่อตรวจการแสดงอาการทางคลินิกของสุกร เปรียบเทียบกับอาการที่พบในสุกรในภาคสนามในปี ค.ศ. 2006

ในประเทศจีน การระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ใหม่ ในปี ค.ศ. 2006 ทำให้สุกรประมาณ 2 ล้านตัว ติดเชื้อ และพบการตาย 400,000 ตัว ในช่วงแรกเรียกโรคนี้ว่า “โรคไข้สูงในสุกร” (pig high fever syndrome) เนื่องจากอาการที่ตรวจพบ ได้แก่ มีไข้สูง 41°C มีจุดเลือดออกตามขาและใบหู ซึม เบื่ออาหาร ไอ มีความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ และท้องเสีย ในสุกรเหล่านี้ตรวจไม่พบโรคอหิวาต์สุกร อหิวาต์สุกรแอฟริกัน และโรคพิษสุนัขบ้าเทียมเลย เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเป็นเชื้อชนิดเดียวที่แยกได้

เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ที่แยกได้มีขนาด 15,320 bp มีจำนวนนิวคลีโอไทด์สั้นกว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ VR2332 (สายพันธุ์อเมริกา) 92 นิวคลีโอไทด์ และมีความยาวกว่าสายพันธุ์จีนเดิม 12 นิวคลีโอไทด์ การเปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิม พบว่ามีการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ใน 2 ส่วน โดยส่วนที่ 1 หายไปจำนวน 3 นิวคลีโอไทด์ และส่วนที่ 2 หายไปจำนวน 87 นิวคลีโอไทด์ การขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ส่งผลให้เกิดการขาดหายไปของกรดอะมิโนจำนวน 30 ตัว โดย 29 ตัวอยู่ในตำแหน่ง NSP2 (Zhou et al., 2008) จากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทั้ง 56 เชื้อ ที่แยกได้พบการขาดหายไปของกรดอะมิโนในตำแหน่งเดียวกันเหมือนกันทุกตัว และอยู่บริเวณตำแหน่ง NSP2 เหมือนกัน และจากการทดสอบความเหมือนกันบนสายนิวคลีโอไทด์พบว่ามีความเหมือนกันสูงถึง 94.7-100% ในขณะที่มีความเหมือนกับสายพันธุ์อเมริกาสายพันธุ์เก่าที่เคยแยกได้ใน

อเมริกาเหนือเพียง 65.7-93.2% เท่านั้น ลักษณะของกรดกลูตามิกบนโปรตีน NSP2 ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงก็มีความเด่นชัดในทุกสเตรนที่แยกได้ ลักษณะของโปรตีน GP5 ก็มีความแปรปรวนสูงมากเมื่อเทียบกับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์สายพันธุ์อเมริกาปกติ นอกจากนี้ยังตรวจพบลักษณะของการกลายพันธุ์โดยมีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนจากอาจินีนเป็นกลูตามีนในบางตำแหน่งและอื่นๆ ที่คล้ายคลึงกัน เคยมีนักวิจัยแนะนำไว้ว่าลักษณะของการเปลี่ยนแปลงบน GP5 โปรตีนนี้อาจเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรค (Allende et al., 2000) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ใหม่นี้ถูกบรรจุเข้ามาในโครงสร้างของสายพันธุ์ไวรัสพีอาร์อาร์เอสใหม่ในกลุ่มของสายพันธุ์อเมริกา แต่ก็มีความแตกต่างกันมากพอสมควรในแง่ของลักษณะทางโปรตีนบนไวรัส บ่งชี้ว่าไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ระบาดในประเทศจีนเกิดการกลายพันธุ์และเปลี่ยนรูปแบบในทางระบาดวิทยาออกไป

เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสชนิดใหม่ที่แยกได้จากประเทศจีนนี้ เมื่อนำไปให้สุกรที่ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอส อายุ 60 วัน จำนวน 5 ตัว โดยให้เชื้อผ่านทางจมูก พบว่าภายใน 1 วันสุกรจะมีไข้สูง 40-41°C และคงสูงอยู่จนกระทั่งลูกสุกรตาย ลูกสุกรแสดงอาการเบื่ออาหารและนอนซมเป็นเวลา 3 วันหลังติดเชื้อ ในวันที่ 5 และ 6 ผิวหนังบางส่วนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดงโดยเฉพาะตามขา ใต้ท้อง และลำคอ ใบหูเป็นสีม่วงในวันที่ 10 สุกรที่ติดเชื้อเริ่มตายตั้งแต่วันที่ 7 จนถึงวันที่ 21 หลังติดเชื้อ ในสุกรทุกตัวที่ได้รับเชื้อไวรัสพบการสูงขึ้นของแอนติบอดี้ในวันที่ 8 หลังฉีดเชื้อ และ S/P ratio สูงขึ้นถึงระดับ 2.0 ภายในเวลา 10 วัน สุกรที่ตายทำการตรวจอวัยวะภายในพบการอักเสบของปอด พบเลือดออกในกระเพาะอาหาร และพบเลือดออกที่ต่อมน้ำเหลืองบริเวณลำไส้ ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาพบการหนาตัวของผนังถุงลมปอด (interstitial pneumonia) และมีการเข้ามาของกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนนิวเคลียร์เซลล์ พบรอยโรคลักษณะ perivascular cuffing ในสมอง พบการเสื่อมของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันที่ต่อมน้ำเหลือง ม้าม และไต เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกแยกได้จากเลือดและเนื้อเยื่อของสัตว์ที่ป่วย และเมื่อนำเชื้อไวรัสที่แยกได้มาตรวจดูลักษณะของกรดอะมิโนพบความเหมือนกันกับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ฉีดเข้าไป 100% (Zhou et al., 2008)

โดยปกติเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ระบาดในช่วง 20 ปีที่ผ่านมาทำให้เกิดการแท้งในแม่สุกร และการตายด้วยปัญหาระบบทางเดินหายใจในสุกรรุ่นและลูกสุกร แต่อัตราการตายโดยทั้งไปพบในสัดส่วนที่ไม่สูงมากนักต่างจากอัตราการตายของสุกรในประเทศจีนที่พบได้ในเปอร์เซ็นต์ที่สูงมาก โดยการเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อในครั้งนี้และเพิ่มอัตราการตายของสุกรนี้นับเป็นครั้งแรก โดยลักษณะทางพยาธิวิทยาพบลักษณะหูเป็นสีม่วงเป็นลักษณะที่ โดยปกติจะพบในเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ยุโรปมากกว่าอเมริกา แต่ก็มาพบในสายพันธุ์จีนซึ่งมีความใกล้ชิดกับสายพันธุ์อเมริกามากกว่าด้วย แตกต่างจากสายพันธุ์อเมริกาปกติ ลักษณะทางพันธุกรรมเด่นๆ คือ การขาดหายไปบางส่วนของโปรตีน NSP2 และด้วยเหตุผลนี้คุณสมบัติบางประการของเชื้อไวรัสจึงเปลี่ยนไป แต่ NSP2 จะเกี่ยวข้องกับความรุนแรงหรือไม่ ก็ยังไม่ทราบ นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงของ GP5 ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างแอนติบอดี้ที่จำเพาะกับเชื้อไวรัส (neutralizing antibodies) ด้วยเช่นกัน

วัคซีนที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีลักษณะของไวรัสที่แตกต่างจากไวรัสที่ระบาดในพื้นที่ ดังนั้นประสิทธิภาพในการป้องกันโรคจึงต่ำมาก การขาดหายไปของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ GP5 อาจจะมีผลถึงระบบการจดจำสิ่งแปลกปลอมของระบบภูมิคุ้มกันในตัวสัตว์ได้ด้วยหรืออาจทำให้เชื้อไวรัสที่กลายพันธุ์นี้มีความสามารถในการหลบหนีจากระบบภูมิคุ้มกันของตัวสัตว์มากขึ้น นอกจากนี้ในการศึกษาของ Zhou และคณะ (2008) ยังพบอีกว่าเชื้อไวรัส 8 เชื้อ จาก 56 ตัวอย่าง ที่แยกได้ มีลักษณะเหมือนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในวัคซีนสายพันธุ์อเมริกา แสดง ว่าอาจไม่ใช่ไวรัสที่ก่อความรุนแรงแต่เกิดการแพร่กระจายในตัวสัตว์ร่วมกัน เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์

เอสที่กลายพันธุ์และก่อโรคที่มีความรุนแรงมากในประเทศจีนนี้ยังจำเป็นต้องศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเพื่อหากลไกของการก่อโรคและลักษณะทางพันธุกรรมเพื่อจะได้ควบคุมได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สถานที่ทำวิจัยและฟาร์มสุกร

การวิจัยดำเนินการที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ โดยในระหว่างการดำเนินการวิจัย มีการเก็บตัวอย่าง เยี่ยมฟาร์ม และเก็บข้อมูลจากฟาร์มสุกรเอกชนที่ร่วมทดลอง จำนวน 20 ฟาร์ม ฟาร์มสุกรที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 20 ฟาร์ม เป็นฟาร์มสุกรพ่อแม่พันธุ์ขนาด 300-4,000 แม่ ฟาร์มทดลองมีการจดบันทึกการจัดการสุกรสาวทดแทน และมีระบบการบันทึกข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ จำนวนแม่สุกรที่ทำการศึกษาทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว พันธุ์ของสุกรที่คัดเลือกมาศึกษาเป็นสุกรพันธ์ผสมแลนด์เรซxยอร์กเชียร์

การจัดการฟาร์ม

สุกรสาวถูกนำเข้าฝูงเมื่อมีน้ำหนักตัว 92.2±1.1 กิโลกรัม (อายุ 164.2±1.7 วัน) และถูกส่งเข้าฝูงแม่พันธุ์เพื่อผสมพันธุ์ที่น้ำหนักตัว 130.3±2.0 กิโลกรัม (อายุ 218.9±2.7 วัน) สุกรสาวในฝูงสุกรสาวถูกเลี้ยงรวมกันในคอก 6-15 ตัวต่อคอกโดยมีพื้นที่ต่อตัว 1.5-2 ตารางเมตร น้ำให้กินไม่จำกัดโดยใช้จุ๊บน้ำ อาหารส่วนประกอบหลัก คือ ข้าวโพด ถั่ว และปลา มีโปรตีนหยาบ 16-18% พลังงานที่ใช้ได้ 3,000-3,400 กิโลแคลอรี่ต่อกิโลกรัม และมีไลซีน 0.85-1.00%) ให้กินประมาณ 3 กิโลกรัมต่อวันต่อตัว โดยทั่วไปสุกรสาวจะได้รับวัคซีนป้องกันเชื้อไวรัสปากและเท้าเปื่อย เชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร เชื้อไวรัสเอดี และเชื้อพาร์โวไวรัสในสุกรในช่วงอายุ 22 - 30 สัปดาห์ และบางฟาร์มทำวัคซีนป้องกันเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส โรคโพรงจมูกอักเสบติดต่อในสุกร โรคไมโคพลาสมา และโรค *Actinobacillosis pleuropheumoniae* ส่วนใหญ่แม่สุกรหย่านมที่ถูกคัดทิ้งจะนำไปใช้ในการคลุกสุกรสาวทดแทนนาน 4 สัปดาห์ด้วยอัตราส่วนแม่สุกร 1 ตัวต่อสุกรสาว 6-10 ตัว และจะมีการเปลี่ยนแม่สุกรทุกสัปดาห์ หลังจากการคลุกสุกรสาวแล้วแม่สุกรเหล่านี้จะถูกนำออกจากฝูง โปรแกรมการคลุกสุกรสาวจะทำเมื่อสุกรสาวทดแทนอายุ 22–28 สัปดาห์เพื่อให้สุกรสาวได้รับการกระตุ้นภูมิตามธรรมชาติจากแม่สุกรหย่านม จากขั้นตอนการคลุกสุกรสาวจะทำให้สุกรสาวได้สัมผัสกับเชื้อไวรัสหลากหลายชนิดที่วนเวียนอยู่ในฝูง (เช่น เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ในฟาร์ม และเชื้อเอนเทอโรไวรัส) ก่อนนำขึ้นฝูงแม่พันธุ์ โดยทั่วไปแล้วสุกรสาวทดแทนจะได้รับการผสมที่อายุ 32 สัปดาห์ขึ้นไป และน้ำหนักตัวอย่างน้อย 130 กิโลกรัมที่การเป็นสัดรอบที่ 2 หรือมากกว่า การผสมพันธุ์ใช้การผสมเทียมทุกฟาร์ม

การเก็บตัวอย่างเลือด

ทำการศึกษาทางซีรั่มวิทยาความชุกของโรคติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียมและพาร์โวไวรัส จากฟาร์มสุกรจำนวน 5 ฟาร์ม (A B C D และ E) โดยเก็บข้อมูลย้อนหลังระหว่างปี พ.ศ. 2547 ถึงปี พ.ศ. 2550 จากสุกร 7,030 ตัว (พ่อสุกร 764 ตัว, สุกรสาว 3,364 ตัว, แม่สุกร 1,613 ตัว สุกรอนุบาลอายุ 4-9 สัปดาห์ 646 ตัว และสุกรขุนอายุ 10-26 สัปดาห์ 643 ตัว) โดยทั่วไปการตรวจทางซีรั่มวิทยาต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจะทำทุกเดือนในสุกรสาวทดแทน และ 1-2 ครั้งต่อปีในสุกรกลุ่มอื่นๆ การตรวจทางซีรั่มวิทยาต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมตรวจปีละ 1 ครั้งในสุกรทุกกลุ่ม การตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและการตรวจหาโปรตีนส่วน gl ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมตรวจโดยห้องปฏิบัติการที่เป็นมาตรฐานในประเทศไทยส่วนใหญ่ (ยกเว้นฟาร์ม E) ตรวจที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในการศึกษาแบบเก็บข้อมูลเพิ่มเติม ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 200 ตัวอย่าง (สุกรสาว 40 ตัวต่อฟาร์ม) โดยเก็บมาจากหลอดเลือดดำของสุกรสาวทดแทนสุขภาพดี (อายุเฉลี่ย 244.7±5.8 วัน) ในช่วงเวลาเดียวกัน ตัวอย่างเลือดถูกเก็บมาจากสุกร 3 กลุ่มได้แก่ สุกรก่อนคลุก (50 ตัว) สุกรหลังคลุก (50 ตัว) และสุกรตั้งท้องระยะกลาง (68.8±1.4 วัน) (100 ตัว) ในส่วนสุดท้ายตัวอย่างเลือด อวัยวะสืบพันธุ์

ข้อมูลทางซีรั่มวิทยาในสุกรสาวที่มีปัญหาทางการสืบพันธุ์ เก็บมาจากสุกรสาวที่ถูกส่งโรงฆ่าสัตว์จำนวน 166 ตัว ตัวอย่างถูกเก็บบนน้ำแข็งในภาชนะปิดสนิทและนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมงหลังการคัดทิ้ง ข้อมูลที่เก็บมาจากแต่ละฟาร์มประกอบด้วยเบอร์สุกรสาว วันเกิด วันที่นำเข้าฝูง วันผสม วันคัดทิ้ง น้ำหนักตัวเมื่อคัดทิ้ง และเหตุผลในการคัดทิ้ง อายุที่ผสมครั้งแรกและอายุที่ถูกคัดทิ้งถูกนำมาคำนวณ อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (ADG) ตั้งแต่เกิดถึงคัดทิ้งถูกคำนวณโดย อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัมต่อวัน) = (น้ำหนักตัวเมื่อคัดทิ้ง - 1.5 /อายุเมื่อคัดทิ้ง) x 1,000 (Tummaruk et al. 2009b) อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวันถูกคำนวณเพื่อใช้ในการดูสถานะทางสุขภาพของสุกรสาวในช่วงที่กำลังเจริญเติบโต เหตุผลในการคัดทิ้งแบ่งเป็น 4 กลุ่มได้แก่ แท้ง ไม่เป็นสัด ผสมซ้ำ และมีสิ่งคัดหลั่งผิดปกติจากช่องคลอด ข้อมูลทางกายวิภาคแสดงไว้ในการศึกษาครั้งก่อน (Tummaruk et al. 2009a) ในส่วนที่สองและส่วนสุดท้าย ตัวอย่างซีรั่มทั้งหมดถูกวิเคราะห์ที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจทางซีรั่มวิทยา

ตัวอย่างเลือดถูกทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เลือดแข็งตัวแล้วเอาซีรั่มไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการตรวจทางซีรั่มวิทยาต่อไป การตรวจหาแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในฟาร์มส่วนใหญ่ (ยกเว้นฟาร์ม E) ใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป HerdChek® PRRSV antibody test kit 2XR (IDEXX Laboratories, Inc., USA) โดยใช้วิธีการตรวจตามคู่มือของชุดทดสอบ วิธีโดยสังเขป ได้แก่ ตัวอย่างควบคุมที่เป็นบวกและลบจะทดสอบพร้อมกับตัวอย่าง ค่าสัดส่วนของ serum sample/positive control (S/P) จะถูกคำนวณ ถ้าสัดส่วน S/P ต่ำกว่า 0.4 หมายถึง ตัวอย่างไม่มีแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (ลบ) แต่ถ้าสัดส่วน S/P มากกว่าหรือเท่ากับ 4 หมายถึง ตัวอย่างเป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในฟาร์ม E การตรวจหาแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในช่วงแรกของการศึกษาใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป HIPRA PRRSV antibody test kit (HIPRA Laboratories, Inc., Spain) ตัวอย่างจะถูกแปลผลเป็นบวกถ้ามีค่า percentage relative index มากกว่า 20 การตรวจหาแอนติบอดี้ต่อโปรตีนส่วน gI ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในทุกฝูงใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป HerdChek® Anti-PRV gpI test kit (IDEXX Laboratories, Inc., USA) โดยใช้วิธีการตรวจตามคู่มือของชุดทดสอบ

การตรวจหาแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสใช้วิธี Haemagglutination inhibition (HI) วิธีทดสอบโดยสังเขป ได้แก่ นำซีรั่ม 0.2 มิลลิลิตรไปทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียสนาน 30 นาที และผสมกับสารแขวนลอย 25% Kaolin 0.6 มิลลิลิตรในสารละลาย phosphate buffer solution (PBS) ทิ้งตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที จากนั้นนำไปปั่นและผสมกับเม็ดเลือดแดงหนูตะเภาในสารละลาย PBS ความเข้มข้น 50% ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องต่อนาน 1 ชั่วโมง เติมตัวทำละลายลงในเพลทและผสมกับตัวอย่างซีรั่ม 50 ไมโครลิตร ตัวอย่างที่ถูกเจือจางเป็นลำดับ (เจือจาง 1:2 ในทุกครั้ง) จำนวน 12 ความเข้มข้น (1:4 ถึง 1:4,096) ถูกเติมลงในเพลทโดยใช้ไมโครปิเปตชนิดหลายช่องพร้อมกับตัวอย่างควบคุมที่เป็นบวกและลบ เติม hemagglutination unit ของเชื้อพาร์โวไวรัส 8 unit ปริมาณ 25 ไมโครลิตรและเม็ดเลือดแดงของหนูตะเภา 0.6% ลงในทุกช่องแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 60-90 นาที หรือจนกระทั่งสังเกตเห็นการตกตะกอน ระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสที่น้อยกว่า 1:8 หมายถึงไม่มีการเพิ่มขึ้นของ

ระดับแอนติบอดี้ ระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสตั้งแต่ 1:16 ถึง 1:512 หมายถึงมีการเพิ่มขึ้นของระดับแอนติบอดี้ในระดับกลาง และระดับแอนติบอดี้ที่มากกว่า 1:512 หมายถึงมีแอนติบอดี้อยู่ในระดับสูง (Oravainen et al., 2005) ถ้าผลตรวจเป็นบวกต่อเชื้อพาร์โวไวรัส ระดับแอนติบอดี้จะถูกจัดเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ระดับต่ำ (≤1:512) และระดับสูง (>1:512) การตรวจทางซีรั่มวิทยาในส่วนที่สองและส่วนสุดท้ายของการศึกษาตรวจโดยห้องปฏิบัติการเดียวกัน (หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ ประเทศไทย)

การตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

ตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสโรคพีอาร์อาร์เอส โดยใช้ชุดทดสอบ HerdChek PRRS Virus Antibody Test Kit 2XR (IDEXX Laboratories, Inc.) โดยมีขั้นตอนโดยสรุป ดังนี้ เจือจางตัวอย่างซีรั่มใน plate U shape (diluting plate) ให้เจือจาง 40 เท่า โดยใส่ตัวทำเจือจาง 195 µl ต่อตัวอย่างซีรั่ม 5 µl ใส่ซีรั่มควบคุมบวกและลบ ใน strip หลุมละ 100 µl โดยไม่ต้องเจือจาง ดูดซีรั่มใน diluting plate ใส่ใน strip coat plate หลุมละ 100 µl โดยซีรั่มหนึ่งตัวอย่างต้องใส่ในหลุมที่เคลือบด้วยแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (PRRS) 1 หลุมและ normal host cell (NHC) 1 หลุม หลังจากนั้น incubate 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เสร็จแล้วเตรียม Washing solution โดยเจือจางจาก stock ลง 10 เท่า ล้าง Strip 4 ครั้ง ๆ ละ 300 µl ใส่ Conjugate หลุมละ 100 µl ชนิด Anti - Porcine : HRPO Conjugate incubate 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นล้าง Strip 4 ครั้ง ๆ ละ 300 µl แล้วใส่ Substrate หลุมละ 100 µl ชนิด TMB Substrate incubate 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วใส่ Stop solution หลุมละ 100 µl วัดค่า OD ด้วยเครื่อง ELISA READER ที่ความเข้มแสง 650 นาโนมิเตอร์ ทำการแปลผล โดยหาค่า serum sample/ positive control (S/P) จากสูตร (OD ซีรั่มตัวอย่างส่งตรวจหลุม PRRS-OD ซีรั่มตัวอย่างส่งตรวจหลุม NHC)/(OD เฉลี่ยของซีรั่มควบคุมบวกหลุม PRRS–OD เฉลี่ยของซีรั่มควบคุมบวกหลุม NHC) S/P ที่มีค่าน้อยกว่า 0.4 หมายถึงตัวอย่างนั้นไม่มีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส S/P ที่มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.4 หมายถึงตัวอย่างนั้นมีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

การตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี

การตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมีทำตามขั้นตอนการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ทำในเนื้อเยื่อปอดโดยมีการเปลี่ยนแปลงบางส่วน (Laohasittikul et al. 2004) โดยสังเขปคือตัวอย่างจะถูกฝังไว้ในพาราฟิน จากนั้นนำไปตัดเป็นแผ่นหนา 4 ไมครอนแล้วนำไปวางบนแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วย 3-aminopropyl-triethoxysilane นำสไลด์ชิ้นเนื้อไปละลายพาราฟินออกในไซลีนและ rehydrate ในแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นลำดับ การศึกษาครั้งนี้ใช้เทคนิค polymer-based non-avidin-biotin โดยสังเขปคือเพิ่มปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี้โดยใช้เอมไซม์ 0.1% trypsin ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ล้างด้วย phosphate buffered solution (PBS) แล้วยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ endogenous peroxidase โดยการจุ่มสไลด์ลงใน 0.3% hydrogen peroxide (H_2O_2) ใน absolute methanol นาน 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสไลด์ชิ้นเนื้อไปจุ่มใน 1% bovine serum albumin ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับ primary monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies, Inc., USA) ที่เจือจางในอัตราส่วน 1:1,000 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสข้ามคืน (12-15 ชั่วโมง) หลังจากล้างสไลด์ใน PBS แล้วจึงหยด dextran ที่จับกับ peroxidase molecules และ goat secondary antibody (Dako REAL™ Envision™/HRP, Rabbit/Mouse®, Dako, Denmark) ลงบนสไลด์

แล้วนำไปอบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที ในขั้นตอนสุดท้ายทำให้เกิดสี (สีน้ำตาล) โดยใช้ 0.05% 3,3'–diaminobenzidine tetrahydrochloride (0.01 M Tris-HCl ที่ pH 7.6) นาน 4-15 นาที สไลด์ชิ้นเนื้อทุกแผ่นย้อมด้วยสี Mayer's hematoxylin ดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้อ แล้วนำไปปิดด้วยกระจกปิดสไลด์เพื่อนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดแสง ชิ้นเนื้อควบคุมที่เป็นลบทำเช่นเดียวกันยกเว้นไม่ใส่ primary antibody ชิ้นเนื้อปอดและต่อมน้ำเหลืองที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกนำมาใช้เป็นตัวควบคุมที่เป็นบวก สไลด์ชิ้นเนื้อจะถูกแปลผลว่าเป็นบวกถ้ามีเซลล์บวก (ติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซึม, รูปที่ 1) อย่างน้อย 1 เซลล์

การตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น

งานวิจัยส่วนนี้ทำขึ้นในช่วงระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกันยายน กับสุกรนางจำนวน 1,200 ตัว จากฝูงสุกรในประเทศไทยซึ่งมีการผลิตสุกรสาวทดแทนของตัวเองและไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสมาก่อน ทำการเก็บข้อมูลของการแท้งในสุกรนางในเดือนมกราคม และพบว่ามีเชื้อพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์อเมริกาในซีรั่มของสุกรนางที่แท้งโดยใช้การตรวจจาก RT-PCR ทำการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสแบบ MLV (Ingelvac® PRRSTM MLV, Boehringer-Ingelheim, Vetmedica Inc., St.Josept, Missouri, USA) ในสุกรสาวและสุกรนางจำนวน 2 โด๊ส ห่างกัน 3 สัปดาห์และกระตุ้นซ้ำที่ 14 สัปดาห์ และ 3 เดือน จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากสุกรสาวทดแทนและสุกรสาวสุกรนางที่ตั้งท้อง (36 ตัวอย่าง) 1 วันก่อนการฉีดวัคซีน (สัปดาห์ที่ 0) และสัปดาห์ที่ 2 5 9 12 18 หลังการฉีดวัคซีน แล้วเก็บซีรั่มเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสโดยใช้วิธี RT-PCR และวิเคราะห์แอนติบอดี้ต่อโรคพีอาร์อาร์เอสโดยใช้วิธี ELISA (HerdChek® PRRS virus antibody test kit 2XR, IDEXX Laboratories, Inc., USA) จากนั้นเปรียบเทียบเปอร์เซนต์ของซีรั่มที่ติดเชื้อของสุกรสาวและสุกรนาง และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของอัตราส่วนซีรั่มตัวอย่างและซีรั่มควบคุมที่ให้ผลบวก (S/P)

การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ผล

ในการวิจัยปีที่ 1 สามารถคัดเลือกฟาร์มสุกรในการศึกษาได้ 8 ฟาร์ม โดยเป็นฟาร์มสุกรพ่อแม่พันธุ์ขนาด 900-4,000 แม่ มีจำนวนข้อมูลการผสมพันธุ์ทั้งหมด 192,765 ข้อมูล จากแม่สุกรจำนวน 67,537 ตัว โดยการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นพบว่าฟาร์มเหล่านี้ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมาแล้วไม่ต่ำกว่า 5 ปี ฟาร์มที่ 1-3 มีการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น แต่มีรูปแบบการทำวัคซีนที่แตกต่างกัน โดยฟาร์มที่ 1 ฉีดวัคซีนปูพรมทุก 3 เดือน ฟาร์มที่ 2 ทำแบบไม่ต่อเนื่อง และฟาร์มที่ 3 ทำวัคซีนเฉพาะในสุกรสาวทดแทน ในขณะที่อีก 5 ฟาร์มยังไม่เคยทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอส

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม Statistical Analysis System (SAS) version 9.0 (SAS Inst. Inc., Cary, NC., USA) ข้อมูลเชิงปริมาณนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±SEM และข้อมูลเชิงคุณภาพนำเสนอเป็นค่าร้อยละ (เปอร์เซนต์) ในการศึกษาแรก เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส โปรตีนส่วน gI ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อพาร์โวไวรัส (แอนติบอดี้มากกว่า 1:512) ถูกคิดจากการวิเคราะห์ความถี่ (ตาราง *r x k* contingency) ค่าสัดส่วนถูกนำมาเปรียบเทียบระหว่างฟาร์ม (5 ฟาร์ม) ปี (2547-2550) และกลุ่มอายุของสุกร (อนุบาล ขุน สุกรสาว แม่สุกร และพ่อสุกร) ด้วยวิธี logistic regression โดยใช้ GENMOD procedure ของโปรแกรม SAS ในการศึกษาที่สอง สุกรสาวทดแทนถูกจัดกลุ่มเป็น 3 กลุ่ม (ได้แก่ ก่อนคลุก หลังคลุก และช่วงกลางของการอุ้มท้อง) เปรียบเทียบเปอร์เซนต์ของสุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

โปรตีนส่วน gI ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อพาร์โวไวรัสระหว่างกลุ่มโดยใช้การทดสอบชนิด Chi-squares การศึกษาส่วนสุดท้าย สุกรสาวถูกจัดกลุ่มตามเหตุผลของการถูกคัดทิ้ง เปรียบเทียบเปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส โปรตีนส่วน gI ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อพาร์โวไวรัสโดยใช้การทดสอบชนิด Chi-squares การวิเคราะห์ข้อมูลต่อเนื่องซึ่งได้แก่อายุเมื่อถูกคัดทิ้ง (วัน) น้ำหนักตัวเมื่อถูกคัดทิ้ง (กิโลกรัม) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (กรัมต่อวัน) อายุเมื่อผสมครั้งแรก (วัน) และจำนวนการตกไข่ (จำนวนของคอร์ปัสลูเทียม) ใช้วิธี general linear model สาเหตุการคัดทิ้งถูกนำไปใช้เป็นตัวแปรต้นในการวิเคราะห์ทางสถิติ คำนวณค่า least-squares means และเปรียบเทียบโดยใช้ Tukey-Kramer adjustment $P<0.05$ หมายถึงมีนัยสำคัญทางสถิติ

บทที่ 4

ผลการวิจัย

สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์

สามารถคัดเลือกฟาร์มสุกรเพื่อเป็นรูปแบบในการศึกษาได้แล้ว 8 ฟาร์ม มีจำนวนข้อมูลการผสมพันธุ์ทั้งหมด 192,765 ข้อมูล จากแม่สุกรจำนวน 67,537 ตัว โดยการวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นพบว่าฟาร์มเหล่านี้ติดเชื้อ PRRSV มาแล้วไม่ต่ำกว่า 5 ปี ผลการวิเคราะห์อัตราการแท้งในฟาร์มทั้งหมดด้วย Logistic regression models พบว่า อัตราการแท้งโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.9% โดยพบการแท้ง 2.4% 0.7% 2.2% 1.2% 2.8% 0.5% 1.3% และ 2.6% ในฟาร์มที่ 1-8 ตามลำดับ โดยเฉลี่ยพบอัตราการแท้งสูงที่สุดในสุกรสาว (2.4%) และ ต่ำที่สุดในแม่สุกรท้องที่ 1 (1.8%) และ 2-5 (1.9%)

ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและพิษสุนัขบ้าเทียมในฟาร์มสุกร

จากข้อมูลการการสำรวจระดับแอนติบอดีต่อโรคไวรัสของฟาร์มพบว่าทุกฟาร์มมีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมากกว่า 4 ปี โดยมีเปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 79.3% (4,492/5,664 ตัว) เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสต่างกันระหว่างปีและฟาร์มอย่างมีนัยสำคัญ เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้แก่ 64.8% 74.8% 83.8% และ 87.7% ในปี 2547 2548 2549 และ 2550 ตามลำดับ ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทุกปีตั้งแต่ปี 2547 ถึง 2550 (P<0.001) เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้แก่ 81.7% 67.9% 60.6% 80.9% และ 79.3% ในฟาร์ม A C D และ E ตามลำดับ ฟาร์ม A D และ E มีเปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสูงกว่าฟาร์ม B (P<0.001) และ C (P<0.001) ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างฟาร์ม A D และ E (P>0.05) ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในสุกรขุน (84.1%) สุกรสาว (82.6%) แม่สุกร (82.0%) และพ่อสุกร (79.4%) สูงกว่าในสุกรอนุบาล (48.4%; P<0.001; ตารางที่ 3)

เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมจากทุกฟาร์ม ได้แก่ 5.3% (70/1,332 ตัว) เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมได้แก่ 17.8% 5.9% 0.8% 0.0% และ 2.2% ในฟาร์ม A ถึง E ตามลำดับ (P<0.001) ความชุกของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในฟาร์ม A สูงกว่าฟาร์ม B (P<0.001) ฟาร์ม C (P=0.001) ฟาร์ม D (P<0.001) และ ฟาร์ม E (P<0.001) ฟาร์ม B มีความชุกของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมสูงกว่าฟาร์ม C (P=0.052) ฟาร์ม D (P<0.001) และฟาร์ม E (P=0.016) ความชุกของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในแม่สุกร (11.9%) พ่อสุกร (4.6%) และสุกรอนุบาล (3.2%) สูงกว่าในสุกรสาว (0.0%) และสุกรขุน (0.9%; P<0.001; ตารางที่ 1) ความชุกของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในทุกฟาร์มมีความแตกต่างระหว่างปี ความชุกของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม ได้แก่ 3.8% 3.4% 8.5% และ 2.3% ในปี 2547 ถึง 2550 ตามลำดับ (P<0.001) ความชุกของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในปี 2549 สูงกว่าในปี 2547 (P=0.008) ปี 2548 (P=0.005) และปี 2550 (P=0.009)

ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียม และพาร์โวไวรัส ในสุกรสาวทดแทน

โดยเฉลี่ยสุกรสาวถูกผสมพันธุ์ครั้งแรกเมื่ออายุ 242.7±2.5 วัน (พิสัย 212-348 วัน) อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวันตั้งแต่แรกเกิดถึงผสมพันธุ์ครั้งแรกเท่ากับ 588.6±5.9 กรัมต่อวัน (พิสัย 485.6-434.4 กรัมต่อวัน)

โดยรวม 87.5% (175/200) ของสุกรสาวมีแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ค่าสัดส่วน S/P ของสุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแปรผันตั้งแต่ 0.428 ถึง 3.673 เปอร์เซนต์ของสุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสก่อนและหลังคลุก 84.0% และ 92.0% ตามลำดับ (P=0.218) เปอร์เซนต์สุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ได้แก่ 85% 95% 100% 55% และ 100% ในฟาร์ม A B C D และ E ตามลำดับ สุกรสาวที่ตั้งท้องมีค่าสัดส่วน S/P แปรผันตั้งแต่ 0.03 ถึง 3.7 และ 87% เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

แอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมพบได้ 4.0% จากสุกรสาวทั้งหมด (8/200) จากสุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม 2 ใน 8 เป็นบวกตั้งแต่ก่อนคลุก ในขณะที่เหลือเป็นบวกหลังคลุก (ช่วงตั้งท้อง) อย่างไรก็ตาม สุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมพบได้เฉพาะฟาร์ม A เท่านั้น

สุกรสาวทดแทนและสุกรสาวอุ้มท้องทั้งหมดพบว่าเป็นบวกต่อเชื้อพาร์โวไวรัสที่ระดับแอนติบอดี้ ≥1:128 จากสุกรจำนวนนี้ 99.0% มีแอนติบอดี้อยู่ในระดับสูง (>1:512) และ 97.0% มีแอนติบอดี้อยู่ในระดับสูงมาก (≥1:4,096)

ตารางที่ 3 เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในกลุ่มสุกรที่ต่างกันในฟาร์มสุกรอุตสาหกรรมในประเทศไทยระหว่างปี 2547-2550

กลุ่มสุกร	เปอร์เซนต์สุกรที่เป็นบวก	
	เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม	เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส
สุกรอนุบาล	3.2 (5/158)[ab]	48.4 (235/486)[a]
สุกรขุน	0.9 (3/341)[b]	84.1 (254/302)[b]
สุกรสาว	0 (0/178)[b]	82.6 (2,616/3,168)[b]
แม่สุกร	11.9 (52/436)[c]	82.0 (955/1<164)[b]
พ่อสุกร	4.6 (10/219)[a]	79.4 (432/544)[b]
ทั้งหมด	5.3 (70/1,332)	79.3 (4,492/5,664)

ค่าที่แสดงในวงเล็บเป็นจำนวนสุกรที่เป็นบวก/จำนวนสุกรที่ตรวจ

[a,b,c] ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมภ์แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียม และพาร์โวไวรัสในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้ง

โดยเฉลี่ย สุกรสาวถูกคัดทิ้งที่อายุ 313.1±3.6 วัน (211-504 วัน) ที่น้ำหนักตัว 143.7±1.8 กิโลกรัม (92.0 ถึง 205.5 กิโลกรัม) ข้อมูลการผลิตและสาเหตุการคัดทิ้งของสุกรสาวกลุ่มนี้ถูกแสดงไว้ในตารางที่ 4 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของสุกรสาวตั้งแต่แรกเกิดจนถึงคัดทิ้ง 461.3±7.0 กรัมต่อวัน (ตั้งแต่ 197.0-689.0 กรัมต่อวัน) อายุเมื่อได้รับการผสมครั้งแรก 265.5±3.6 วัน (ตั้งแต่ 204-347 วัน) จำนวนไข่ที่ตก 15.6±0.4 ใบต่อตัว (ตั้งแต่ 2-25 ใบ)

จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อพาร์โวไวรัสแสดงไว้ในตารางที่ 5 ค่าสัดส่วน S/P ของสุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแปรผันตั้งแต่ 0.41 ถึง 2.43 จำนวนสุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากหนองไหล ต่ำกว่าสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากการไม่เป็นสัด (P<0.05) อุบัติการณ์ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากแท้งและผสมซ้ำสูงกว่าสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากการไม่เป็นสัดและหนองไหล (P<0.05; ตารางที่ 5) ระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสในระดับสูงพบในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากมีสิ่งคัด

หลังจากช่องคลอดผิดปกติมากกว่ากลุ่มอื่น (P<0.05; ตารางที่ 5) ระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสแปรผันตั้งแต่ 1:32 ถึง 1:32,768 สุกรสาว 86.0% มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัส >1:512 นอกจากนั้น 72% ของสุกรสาวมีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัส ≥1:4,096 จากสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งทั้งหมด 75.5% มีการสัมผัสกับเชื้อไวรัสอย่างน้อย 2 ชนิด 18.9% มีการสัมผัสกับเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด และ 45.9% มีการสัมผัสกับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและเชื้อพาร์โวไวรัส (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 4 อายุเมื่อถูกคัดทิ้ง (วัน) น้ำหนักตัวเมื่อคัดทิ้ง (กิโลกรัม) อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวันจากแรกเกิดถึงถูกคัดทิ้ง (ADG; กรัมต่อวัน) อายุเมื่อผสมครั้งแรก (วัน) และจำนวนไข่ที่ตกในสุกรสาวตามสาเหตุการถูกคัดทิ้ง

สาเหตุการคัดทิ้ง	จำนวน	อายุ	น้ำหนักตัว	ADG	อายุเมื่อผสมครั้งแรก	จำนวนไข่ที่ตก
แท้ง	16	312.3±7.6[ab] (252-367)	153.2±5.2[ab] (166-193)	489.5±20.9[a] (375-673)	260.2±8.0[a] (204-302)	16.2±0.9[a] (10-21)
ไม่เป็นสัด	85	308.9±4.9[b] (211-504)	139.4±2.5[b] (95-198)	455.8±10.8[a] (197-689)	-	16.1±0.7[a] (5-25)
ผสมซ้ำ	26	341.6±11.6[a] (274-479)	160.0±4.0[a] (117-205)	470.9±17.5[a] (283-661)	264.5±6.5[a] (224-347)	15.2±1.0[a] (2-22)
หนองไหล	39	303.5±6.0[b] (240-405)	138.6±3.2[b] (92-173)	455.5±11.3[a] (342-625)	269.9±4.8[a] (227-323)	15.0±0.7[a] (4-20)
ทั้งหมด	166	313.1±3.6 (211-504)	143.7±1.8 (92-205)	461.3±7.0 (197-689)	265.5±3.6 (204-347)	15.6±0.4 (2-25)

ค่าในวงเล็บคือช่วงของข้อมูล

[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมภ์หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ตารางที่ 5 จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งและเป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เชื้อไวรัสเอดี และเชื้อพาร์โวไวรัส

สาเหตุการคัดทิ้ง	จำนวน	เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส	เชื้อไวรัสเอดี	เชื้อพาร์โวไวรัส[a]
แท้ง	16	13 (81%)[bc]	8 (50%)[bc]	12 (75%)[b]
ไม่เป็นสัด	85	65 (76%)[b]	10 (12%)[d]	70 (85%)[bc]
ผสมซ้ำ	26	21 (81%)[bc]	16 (62%)[c]	21 (81%)[b]
หนองไหล	39	23 (59%)[c]	13 (33%)[c]	34 (97%)[c]
ทั้งหมด	166	122 (73%)	47 (28%)	137 (86%)[e]

[a] จำนวนสุกรสาวที่มีระดับแอนติบอดี้ >1:512

[b,c,d] ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมภ์หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ตารางที่ 6 จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมส่วน gI และเชื้อพาร์โวไวรัส (n=159)

เชื้อพาร์โวไวรัส[a]	เชื้อไวรัพีอาร์อาร์เอส	เชื้อไวรัสเอดี	จำนวน	เปอร์เซนต์
ลบ	ลบ	ลบ	5	3.1
ลบ	บวก	ลบ	11	6.9
ลบ	บวก	บวก	6	3.8
บวก	ลบ	ลบ	23	14.5
บวก	ลบ	บวก	11	6.9
บวก	บวก	ลบ	73	45.9
บวก	บวก	บวก	30	18.9

[a] สุกรสาวที่มีแอนติบอดี้ระดับสูง >1:512

ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น

จากการทดลองไม่พบว่ามีการแพร่เชื้อระหว่างสัปดาห์ที่ 2-8 หลังการฉีดวัคซีน (ตารางที่ 7) ก่อนการฉีดวัคซีนพบว่ามีสุกรที่ไวต่อการติดพีอาร์อาร์เอส 11.1% (4/36) และลดลงเหลือ 6.1% ภายใน 18 สัปดาห์หลังฉีดวัคซีน (P=0.401) อัตราส่วน S/P เพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่ 2 สัปดาห์หลังการฉีดวัคซีนและลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ 18 สัปดาห์หลังการฉีดวัคซีน (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 อัตราส่วน S/P (ค่าเฉลี่ย±ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานเฉลี่ย) เปอร์เซนต์ของซีรั่มที่ให้ผลบวกในสุกรสาวและสุกรนางและการพบไวรัสพีอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีน

สัปดาห์ที่	อัตราส่วน S/P	%ซีรั่มที่ให้ผลบวก	RT-PCR
0	1.61±0.19ab	88.89a	Negative
2	1.88±0.16a	94.44a	Negative
5	1.47±0.16b	86.11a	Negative
9	1.32±0.15b	88.89a	Negative
12	1.46±0.17b	85.29a	Negative
18	1.23±0.07b	93.94a	Negative
All	1.50±0.06	89.57	Negative

a,b แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ผลผลิตและสาเหตุการคัดทิ้ง

ข้อมูลผลผลิตของสุกรสาวที่ถูกส่งโรงฆ่าแสดงในตารางที่ 8 โดยเฉลี่ยสุกรสาวถูกคัดทิ้งที่อายุ 303.1±53.0 วัน และน้ำหนักตัว 149.0±20.8 กิโลกรัม สุกรสาวกลุ่มนี้ถูกนำเข้าฝูงที่อายุ 218.9±53.1 วัน และถูกคัดทิ้งที่ 84.4±57.1 วันภายหลังนำเข้าฝูง จากสุกรสาวทั้งหมด 52 ตัว (52%) ได้รับการผสมพันธุ์ และระยะเวลาตั้งแต่พบการเป็นสัดครั้งแรกถึงผสมพันธุ์คิดเป็น 20.8±17.2 วัน (แปรปรวนตั้งแต่ 0 ถึง 63 วัน) สาเหตุการคัดทิ้งของสุกรสาวได้แก่ ไม่เป็นสัด มีสิ่งคัดหลั่งผิดปกติจากช่องคลอด แท้ง ผสมซ้ำ และไม่ท้อง (ตารางที่ 8) โดยเฉลี่ย อายุของสุกรสาวเมื่อถูกคัดทิ้งเป็น 273.8 298.0 311.3 342.9 และ 368.9 วัน และ

ระยะเวลาตั้งแต่สุกรสาวถูกนำเข้าฝูงถึงคัดทิ้งเป็น 73.0 67.6 68.3 111.4 และ 142.8 วันในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากไม่เป็นสัด และมีสิ่งคัดหลั่งผิดปกติจากช่องคลอด แท้ง ผสมซ้ำ และไม่ท้อง ตามลำดับ

ตารางที่ 8 ข้อมูลผลผลิตของสุกรสาวทดแทนที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์

พารามิเตอร์	จำนวน	ค่าเฉลี่ย±SD	พิสัย
อายุเมื่อถูกคัดทิ้ง (วัน)	100	303.3±53.0	209-489
น้ำหนักตัวเมื่อถูกคัดทิ้ง (กิโลกรัม)	96	149.0±20.8	104.5-205.5
อายุเมื่อเข้าฝูง (วัน)	98	218.9±53.1	94-365
อายุเมื่อเป็นสัดครั้งแรก (วัน)	69	229.3±30.5	156-322
อายุเมื่อผสมครั้งแรก (วัน)	52	256.8±24.4	211-322
อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (กรัม/วัน)	96	496.2±78.2	245.6-674.5
วันที่ไม่ให้ผลผลิต (วัน)	98	84.4±57.1	0-250

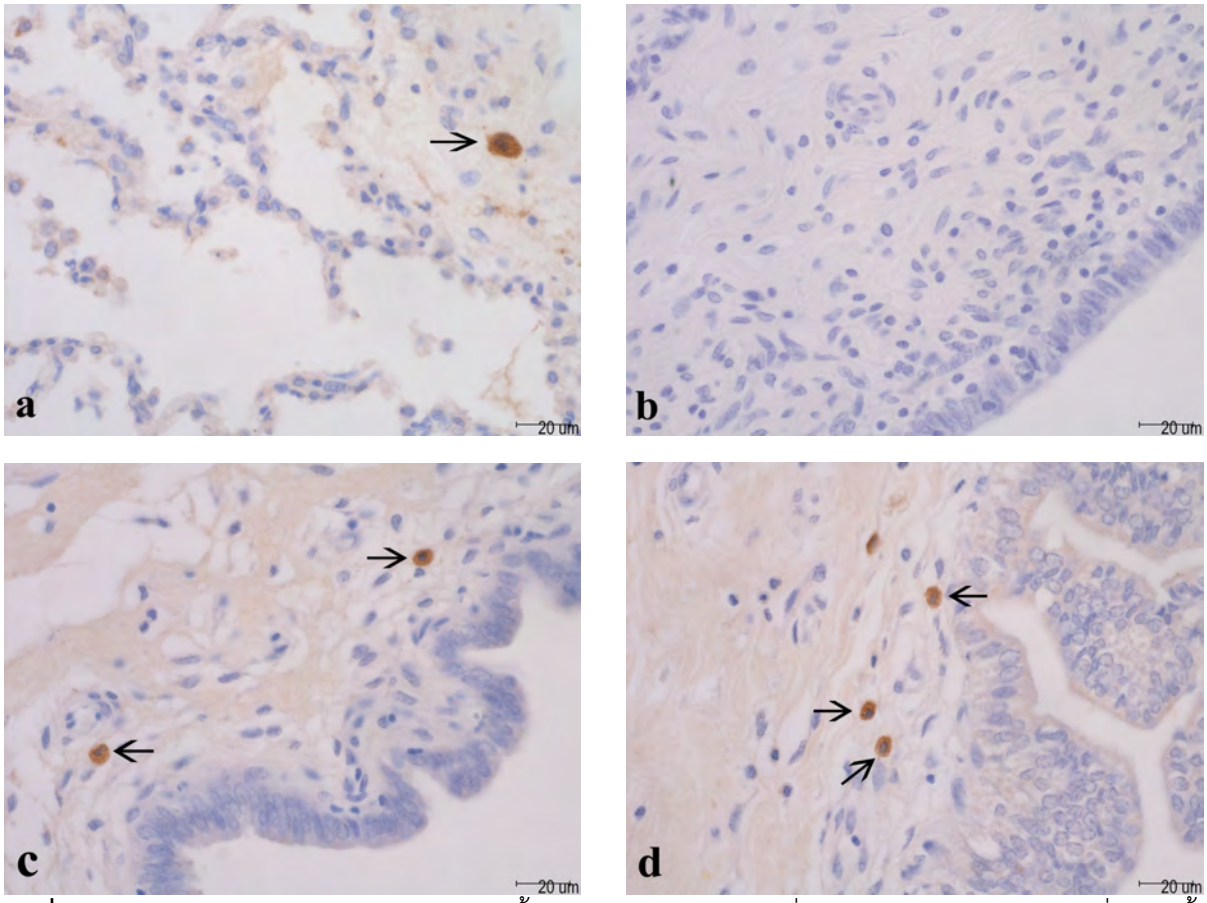
อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยตั้งแต่เกิดถึงคัดทิ้ง; วันที่ไม่ให้ผลผลิตหมายถึงระยะจากเข้าฝูงถึงคัดทิ้ง

การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

เซลล์ที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสซึ่งเป็นเซลล์มาโครฟาจที่ติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซึมที่อยู่บริเวณชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เยื่อบุของผนังมดลูกชั้นในถูกพบในเนื้อเยื่อมดลูก 33% ของสุกรสาว (33/100 ตัว) (รูปที่ 2) การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวแปรผันตามฟาร์มตั้งแต่ 14.3% จนถึง 80% (*P*=0.018) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกพบใน 24.5% ของสุกรสาวที่ทำวัคซีนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรป และ 23.1% ของสุกรสาวที่ทำวัคซีนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์อเมริกา (*P*=0.941) การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่มาจากฟาร์มที่ไม่ได้ทำวัคซีน (17/34 ตัว, 50%) สูงกว่าในสุกรที่มาจากฟาร์มที่ทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ยุโรป (13/53 ตัว, 24.5%, *P*=0.023) และสายพันธุ์อเมริกา (3/13 ตัว, 23.1%, *P*=0.105)

ผลของอายุเมื่อถูกคัดทิ้ง สาเหตุการคัดทิ้ง และการผสมต่อการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

โดยเฉลี่ย สุกรสาวที่พบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกถูกคัดทิ้งที่อายุ 307.2±54.1 วัน (แปรปรวนตั้งแต่ 240 ถึง 439 วัน) ในขณะที่สุกรสาวที่ไม่มีเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกถูกคัดทิ้งที่อายุ 301.3±52.8 วัน (แปรปรวนตั้งแต่ 209 ถึง 489 วัน) (P=0.605) โดยคำนวณพบวันที่ไม่ให้ผลผลิต (non-productive day) ของสุกรสาวในกลุ่มนี้เป็น 92.0±59.6 วัน (แปรปรวนตั้งแต่ 0 ถึง 225 วัน) และพบว่าสุกรสาวมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันเป็น 488.1±80.6 กรัม/วัน อุบัติการณ์ของการพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวคิดเป็น 29.6% 39.4% และ 40.9% ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งที่อายุ 6-8 เดือน 9-10 เดือน และ 11-16 เดือนตามลำดับ (P=0.698) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกพบใน 33.3% 28.6% 27.3% 41.2% และ 33.3% ของเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากไม่เป็นสัด หนองไหล แท้ง ผสมซ้ำ และไม่ท้องตามลำดับ (P=0.929) (ตารางที่ 9) การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสุกรสาวที่ยังไม่เคยได้รับการผสมพันธุ์ (35.4%) และสุกรสาวที่เคยถูกผสมพันธุ์มาก่อนถูกคัดทิ้ง (30.8%) (P=0.622)



รูปที่ 2 การแสดงออกของแอนติเจนต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเยื่อบุโพรงมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางการสืบพันธุ์ (a) กลุ่มควบคุมบวก (เนื้อเยื่อปอด) (b) กลุ่มควบคุมลบ (c-d) เยื่อบุโพรงมดลูกสุกรสาวที่แสดงการปรากฏของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ลูกศรสีดำแสดงเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส

ตารางที่ 9 จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวที่สัมพันธ์กับการพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกโดยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมีและระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสตามสาเหตุการคัดทิ้ง

สาเหตุการคัดทิ้ง	จำนวน	จำนวนสุกรสาวที่เป็นบวกโดยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี	จำนวนสุกรสาวที่เป็นบวกโดยการตรวจ ELISA
ไม่เป็นสัด	42	14 (33.3%)	29 (80.6%)a
หนองไหล	21	6 (28.6%)	14 (73.7%)a
แท้ง	11	3 (27.3%)	8 (80%)a
ผสมซ้ำ	17	7 (41.2%)	10 (58.8%)a
ไม่ท้อง	9	3 (33.3%)	0 (0%)a
รวม	100	33 (33.3%)	61 (73.5%)

ตัวอักษรต่างกันในคอลัมภ์หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ผลของระดับแอนติบอดี้ต่อการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

จากสุกรสาวทดแทน 100 ตัว 83 ตัวอย่างซีรั่มถูกนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จากสุกรสาวทั้งหมด 61 ตัว จาก 83 ตัว (73.5%) เป็นบวกต่อการตรวจทาง ELISA เปอร์เซนต์สุกรสาวที่เป็นบวกสูงที่สุด (29/36 ตัว

80.6%) พบในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากการไม่เป็นสัด เปอร์เซนต์สุกรสาวที่เป็นบวกที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาหนองไหล แท้ง ผสมซ้ำ และไม่ท้อง ได้แก่ 73.7% 80.0% 58.8% และ 0.0% ตามลำดับ (ตารางที่ 9) จากสุกรสาวจำนวน 61 ตัวที่เป็นบวกต่อการตรวจทาง ELISA สุกรสาว 22 ตัว (36.1%) เป็นบวกต่อการตรวจทางอิมมูโนฮีสโตเคมี จากสุกรสาวจำนวน 22 ตัวที่เป็นลบต่อการตรวจทาง ELISA สุกรสาว 5 ตัว (22.7%) เป็นบวกต่อการตรวจทางอิมมูโนฮีสโตเคมี จากสุกรสาวทั้งหมดที่เป็นบวกต่อการตรวจทางอิมมูโนฮีสโตเคมี 81.5% (22/27 ตัว) เป็นบวกต่อการตรวจทาง ELISA (ตารางที่ 10) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกพบในเนื้อเยื่อมดลูกคิดป็น 28.2% 31.0% 47.1% และ 33.3% ของสุกรสาวที่มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ 0.00-0.39 0.40-0.99 1.00-1.49 และ 1.50-2.92 ตามลำดับ (P=0.577)

ตารางที่ 10 ข้อมูลการผลิตของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ที่สัมพันธ์กับเปอร์เซนต์สุกรสาวที่เป็นบวกต่อการตรวจทาง ELISA และผลการตรวจทางอิมมูโนฮีสโตเคมี

ผลการตรวจทางอิมมูโนฮีสโตเคมี	จำนวน	ค่าเฉลี่ย ± SD			เปอร์เซนต์สุกรสาวที่เป็นบวกต่อการตรวจทาง ELISA
		อายุเมื่อถูกคัดทิ้ง (วัน)	วันที่ไม่ให้ผลผลิต (วัน)	ADG (กรัม/วัน)	
บวก	33	307.2±54.1a	92.0±59.6a	488.1±80.6a	81.5a
ลบ	67	301.3±52.8a	80.8±56.0a	500.4±77.2a	69.6a

ตัวอักษรต่างกันในคอลัมภ์หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05); วันที่ไม่ให้ผลผลิตหมายถึงระยะจากเข้าฝูงถึงคัดทิ้ง; ADG อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันตั้งแต่เกิดถึงคัดทิ้ง

บทที่ 5

บทสรุปและวิจารณ์

ความชุกของโรคพีอาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียม และพาร์โวไวรัสในสุกร

การศึกษาครั้งนี้ได้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับระดับแอนติบอดี้ต่อโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ของสุกรที่สำคัญในประเทศไทยโดยเน้นที่สุกรสาวทดแทน จากข้อมูลทางซีรั่มวิทยาในการวิจัยนี้พบว่าสุกรสาวทดแทนส่วนใหญ่ได้รับการสัมผัสกับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (84%) เชื้อพาร์โวไวรัส (97%) และเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม (4%) ก่อนถูกส่งเข้าฝูงแม่พันธุ์ นอกจากนั้นมากกว่า 75.5% ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งมีการสัมผัสเชื้อไวรัสอย่างน้อย 2 ชนิด และเกือบ 20% ของสุกรสาวกลุ่มนี้มีการสัมผัสเชื้อไวรัสครบทั้ง 3 ชนิด จากข้อมูลในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งบ่งชี้ว่าสุกรสาวกลุ่มนี้มีอายุเมื่อผสมพันธุ์ครั้งแรกค่อนข้างช้า (265.5 วัน) และมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันค่อนข้างต่ำ (461.3 กรัม/วัน) สุกรสาวที่มีประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตที่ไม่ดีรวมทั้งสุกรสาวที่มีอายุเมื่อผสมพันธุ์ครั้งแรกช้าอาจมีปัญหาทางสุขภาพ และ/หรือมีการสัมผัสกับสภาพอากาศที่ร้อนจัดและความชื้นที่สูงในช่วงที่เจริญเติบโต การศึกษาของ Tummaruk และคณะ (2009b) พบว่าสุกรสาวทดแทนที่อยู่ในเขตสภาพอากาศร้อนชื้นจะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ที่อายุประมาณ 200 วัน ซึ่งช้ากว่าสุกรสาวในยุโรปและอเมริกาประมาณ 2 สัปดาห์ (Karlbom 1982; Patterson et al. 2010) นอกจากนั้นยังพบว่าสุกรสาวที่มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันดีจะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์เร็วกว่าสุกรสาวที่มีอัตราการเจริญเติบโตไม่ดี (Tummaruk et al. 2009b) ข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ว่าสุขภาพของสุกรสาวอาจจะมีผลต่อระบบสืบพันธุ์และประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์

สุกรสาวในทุกฟาร์มที่ศึกษาในครั้งนี้มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสในระดับสูง แม้ว่าจะมีการทำวัคซีนป้องกันเชื้อพาร์โวไวรัสในทุกฟาร์มแต่ระดับแอนติบอดี้ที่สูงในระดับที่ตรวจพบนี้ไม่น่าจะเป็นผลมาจากการทำวัคซีน เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อพาร์โวไวรัสทำให้เกิดการตายของเอมบริโอและตัวอ่อนในสุกรสาวและแม่สุกรที่ตั้งท้อง แอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสสามารถตรวจพบได้เร็วสุดที่ 5 วันหลังจากสัมผัสกับเชื้อไวรัสที่มีชีวิตและคงอยู่ได้นานหลายปี (Mengeling et al. 2000; Józwik et al. 2009) โรคพาร์โวไวรัสเป็นโรคประจำถิ่นในฟาร์มสุกรส่วนใหญ่ (Oravainen et al. 2005) เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ที่บ่งชี้ว่าโรคพาร์โวไวรัสเป็นโรคประจำถิ่นในฟาร์มสุกรทุกฟาร์มที่นำมาศึกษา นอกจากนั้นการศึกษาครั้งนี้ยังบ่งชี้ว่าสุกรสาวทดแทนมักจะมีการสัมผัสกับเชื้อพาร์โวไวรัสในช่วงแรกๆ ที่ทำเข้าฝูง โดยทั่วไปสุกรสามารถแพร่เชื้อพาร์โวไวรัสได้ในช่วงประมาณ 2 สัปดาห์ภายหลังการสัมผัสเชื้อ และในคอกสุกรนั้นจะมีการคงอยู่ของเชื้ออย่างน้อย 4 เดือน (Mengeling et al. 2000) เนื่องจากภูมิคุ้มกันถ่ายทอดที่สุกรสาวได้รับมาจากแม่ (passive immunity) ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสลดต่ำลงที่อายุประมาณ 22 สัปดาห์ (Too and Love 1985) สุกรสาวอาจมีการสัมผัสเชื้อไวรัสตั้งแต่ช่วงเริ่มคลุกโรค ซึ่งโดยส่วนมากมักเป็นช่วงก่อนได้รับวัคซีนพาร์โวไวรัสครั้งแรก จากข้อเท็จจริงนี้บ่งชี้ว่าสุกรสาวส่วนใหญ่ในการศึกษาส่วนที่สองในครั้งนี้มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสสูงอยู่แล้วตั้งแต่ก่อนคลุกโรค นอกจากนั้นยังมีรายงานพบความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อพาร์โวไวรัสในการศึกษาระยะหลังหลายการศึกษา (Zimmermann et al. 2006; Józwik et al. 2009; Miao et al. 2009) เชื้อพาร์โวไวรัสจากภาคสนามในประเทศเยอรมันมีพันธุกรรมแตกต่างจากสายพันธุ์ต้นแบบและสายพันธุ์วัคซีน (Zimmermann et al 2006) การวิเคราะห์ทางพันธุกรรมของเชื้อพาร์โวไวรัสบ่งชี้ว่าอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ที่ได้รับการยืนยันมีความสามารถในการเป็นแอนติเจนได้แตกต่างกัน ความแตกต่างทางพันธุกรรมของเชื้อพาร์โวไวรัสทำให้ระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อพาร์โวไวรัสสูงในสุกรสาวและแม่สุกรแม้ว่าจะได้รับวัคซีนแล้วก็ตาม (Józwik

et al. 2009; Miao et al. 2009) จากการศึกษายังไม่พบรายงานความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อพาร์โวไวรัสในเอเชีย อย่างไรก็ตามสุกรส่วนใหญ่ที่ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในฟาร์มสุกรเชิงพาณิชย์ในประเทศไทยมักนำเข้ามาจากประเทศในยุโรป ดังนั้นความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อพาร์โวไวรัสในฟาร์สุกรในประเทศไทยน่าจะพบได้ นอกจากนั้นถ้าระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อพาร์โวไวรัสในสุกรสาวและแม่สุกรยังไม่พัฒนาดีอาจพบปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ เช่น ผสมซ้ำ และแท้ง ได้ ข้อมูลในประเทศไทยจากการศึกษาก่อนหน้านี้บ่งชี้ว่าเปอร์เซนต์ลูกกรอกในครอกของสุกรสาวมีระดับค่อนข้างสูง (3.1%) (Tummaruk et al. 2010) ผู้วิจัยแนะนำว่าควรมีการควบคุมเชื้อพาร์โวไวรัสโดยการทำวัคซีนสุกรสาวทดแทน 2 ครั้งก่อนผสมพันธุ์ และทำวัคซีนซ้ำอีกทุกๆ 4-6 เดือน ในแม่สุกร นอกจากนั้นยังควรเฝ้าระวังเชื้อพาร์โวไวรัสอย่างต่อเนื่องอีกด้วย

ในการศึกษาครั้งนี้ สุกรสาวทดแทนในทุกฟาร์มมีการสัมผัสเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทั้งก่อน ระหว่างและหลังคลุกโรค ทั้งในฟาร์มที่ทำและไม่ทำวัคซีนโดยใช้การเพิ่มสูงขึ้นของแอนติบอดี้ในซีรั่มเป็นตัวบ่งชี้ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า สุกรสาวทดแทนเป็นแหล่งสำคัญในการนำเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเข้าสู่ฝูงแม่พันธุ์ อย่างไรก็ตาม การตรวจเฉพาะระดับแอนติบอดี้ (สัดส่วน S/P) อาจยังไม่เป็นตัวบ่งชี้ที่ดีในการบ่งบอกการคงอยู่ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อหรือในกระแสเลือดของสุกร (Thanawongnuwech and Suradhat 2010; Olanratmanee et al. 2011) Olanratmanee และคณะ (2011) แสดงให้เห็นว่าเชื้อไวรัสพบได้ในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวทั้งที่มีระดับแอนติบอดี้สูงหรือต่ำ การศึกษาในครั้งนี้พบความแตกต่างของระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสระหว่างฟาร์ม สัดส่วนของสุกรสาวที่ซีรั่มเป็นลบต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในฟาร์ม D สูงกว่าในฟาร์มอื่น ซึ่งอาจเกิดจากความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ระหว่างฟาร์ม นอกจากนั้นฟาร์ม E ยังมีการทำวัคซีนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นด้วย เนื่องจากการสร้างแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมีความเกี่ยวข้องอย่างมากกับความแปรปรวนทางพันธุกรรมและลำดับกรดอะมิโนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (Kim et al. 2009) ดังนั้นเฉพาะระดับแอนติบอดี้อาจยังไม่เพียงพอต่อการตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่วนเวียนอยู่ในฟาร์ม แต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีการตรวจระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในสุกรสาวในฟาร์มสุกรในประเทศไทยที่ไม่ได้ทำวัคซีนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสหลายครั้งก่อนสุกรสาวจะถูกส่งไปยังฝูงแม่พันธุ์ ในฝูงแม่พันธุ์บางฝูง วัคซีนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นถูกนำมาใช้กับสุกรสาวทดแทนเพื่อควบคุมเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (Cho and Dee 2006) อย่างไรก็ตามการใช้วัคซีนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นควรระมัดระวังเนื่องจากภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ที่แตกต่างกันยังเป็นข้อถกเถียงกันอยู่ และการแพร่ของเชื้อไวรัสจากสุกรที่ได้รับวัคซีนก็พบได้มากในช่วงสัปดาห์แรกๆ หลังการทำวัคซีน (Alexopoulos et al. 2005; Scortti et al. 2006; Kim et al. 2009; Thanawongnuwech and Suradhat 2010) นอกจากนั้นในบางกรณี การติดเชื้อร่วมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและเชื้อพาร์โวไวรัสและ/หรือเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมยังอาจเกิดขึ้นได้ในสุกรสาวทดแทน ซึ่งจะทำให้โรคเกิดความซับซ้อนและนำไปสู่การลดประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรสาวได้ เพราะเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเป็นเชื้อก่อโรคที่กดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายสัตว์ (Thanawongnuwech and Suradhat 2010) เมื่อไม่นานมานี้ Olanratmanee และคณะ (2011) พบว่าแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสอยู่ในทางเดินระบบสืบพันธุ์ของสุกรสาวทดแทนได้หลายเดือน (มากกว่าอายุ 11 เดือน) ในกรณีนี้ควรพิจารณาเลื่อนการผสมพันธุ์ครั้งแรกของสุกรสาวออกไป ข้อมูลที่พบจากการวิจัยครั้งนี้บ่งชี้ว่าสุขภาพของสุกรสาวทดแทนเป็นประเด็นสำคัญที่ควรคำนึงถึงก่อนตัดสินใจทำการผสมพันธุ์สุกรในครั้งแรก

ในการศึกษาครั้งนี้ ฟาร์ม C และ D มีอุบัติการณ์ของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมต่ำหรือเป็นลบ ในขณะที่ฟาร์ม B และ E เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม อย่างไรก็ตามไม่มีการนำสุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมเข้ามาในฟาร์มตลอดช่วงที่ทำการศึกษา ในฟาร์ม A ยังคงพบการนำเข้าสุกรสาวที่เป็น

บวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม ซึ่งอาจเกิดจากสุกรสาวทดแทนถูกผลิตภายในฟาร์มที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม ดังนั้นโปรแกรมการกำจัดเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในฟาร์มนี้ควรได้รับการปรับปรุง แม้ว่าความชุกของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมจะต่ำ แต่ก็ยังพบการวนเวียนของเชื้อไวรัสใน 3 จาก 5 ฟาร์มได้ นอกจากนั้นยังไม่เคยมีการศึกษาที่ตรวจพบเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งมาก่อน การศึกษาครั้งนี้เป็นรายงานครั้งแรกที่พบเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในสุกรสาวทดแทนที่ถูกคัดทิ้ง ในการศึกษาส่วนสุดท้ายของการศึกษาครั้งนี้พบว่าความชุกของสุกรสาวที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมค่อนข้างสูง ซึ่งบ่งชี้ว่าการติดเชื้อตามธรรมชาติของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมในสุกรสาวอาจมีผลต่อความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ และอาจนำไปสู่การคัดทิ้งสุกรสาว ปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม ได้แก่ แท้งและผสมซ้ำ (Mengeling et al. 1997) อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมยังถูกพบในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากไม่เป็นสัดและมีสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดผิดปกติอีกด้วย

โดยสรุป สุกรสาวทดแทนส่วนใหญ่มีการสัมผัสเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (84%) เชื้อพาร์โวไวรัส (97%) และเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม (4%) ก่อนถูกนำเข้าฝูงแม่พันธุ์ เชื้อพาร์โวไวรัสเป็นโรคประจำถิ่นในทุกฟาร์มที่ศึกษา และสุกรสาวทดแทนมักสัมผัสเชื้อพาร์โวไวรัสตั้งแต่ช่วงแรกที่นำเข้าฝูง สุกรสาวทดแทนเป็นแหล่งสำคัญในการนำเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเข้าสู่ฝูงแม่พันธุ์ ความชุกของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมพบในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์มากกว่าในสุกรสาวที่สุขภาพดี การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสุกรสาวทดแทนต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เชื้อพาร์โวไวรัส และเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม ร่วมกับการกำจัดเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมเป็นประเด็นสำคัญที่ควรนำไปใช้กับฟาร์มสุกรในประเทศไทย

การตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาว

การวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นการตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าสุกรสาวทดแทนเป็นปัจจัยเสี่ยงในการนำเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเข้าสู่ฝูงแม่พันธุ์แม้ว่าจะมีการทำวัคซีนหรือการคลุกโรคสุกรสาวแล้วก็ตาม นอกจากนั้นการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวทดแทนไม่ได้ลดลงเมื่ออายุที่ถูกคัดทิ้งเพิ่มขึ้น และเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถตรวจพบได้แม้ในสุกรสาวที่อายุมากกว่า 11 เดือน ในประเทศไทย สุกรสาวส่วนใหญ่จะถูกผสมพันธุ์ระหว่างอายุ 8-9 เดือน (Tummaruk et al. 2007) การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกแปรผันตามฟาร์ม ตั้งแต่ 14.3% จนถึง 80.0% ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าในภาคสนามมีสุกรสาวจำนวนมากที่ถูกผสมพันธุ์ในขณะที่มีแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสคงอยู่ในเนื้อเยื่อมดลูก ดังนั้นประสิทธิภาพทางการผลิตของสุกรสาวกลุ่มนี้อาจลดลงได้

เซลล์ที่มีเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกพบในชั้นใต้เยื่อบุของผนังมดลูกชั้นใน ซึ่งสามารถอธิบายได้โดยความเป็นจริงที่ว่าการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเป็นการติดเชื้อในหลายระบบ ซึ่งพบเชื้อไวรัสได้ในกระแสเลือดตามมาด้วยการกระจายและการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสในหลายอวัยวะ (Thanawongnuwech et al. 1997) จากการศึกษาทางอิมมูโนฮีสโตเคมีพบว่าแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกตรวจพบได้ 56-100% ในปอด 8-36% ในหัวใจ 40-43% ในต่อมน้ำเหลือง 38-100% ในทอนซิล 8-54% ในไธมัส 4-50% ในม้าม 25-60% ในลำไส้ และ 20-75% ในตับ (Larochelle and Magar 1997; Laohasittikul et al. 2004) ดังนั้นจึงไม่น่าแปลกใจที่สามารถตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 33.0% ของเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้ง เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสส่งผลให้เกิดการกระจายของเชื้อไวรัสผ่านทางกระแสเลือด และเชื้อไวรัสยังสามารถตรวจพบได้ในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจในหลายๆ อวัยวะ ในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาว มาโครฟาจพบได้ในทุกชั้นของผนังมดลูกชั้นในในทุกระยะของวงรอบการเป็นสัด

(Teamsuwan et al. 2010) นอกจากนั้นยังพบว่าอย่างน้อย 73.5% ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยดูได้จากการตอบสนองทางซีรั่ม

มีการศึกษาที่พบว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถถูกตรวจพบได้อย่างน้อย 42 วันหลังได้รับเชื้อไวรัสในปอดและทอนซิลโดยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมีและอินซิตูไฮบริไดเซชั่น (Sur et al. 1996) อย่างน้อย 59 วันหลังได้รับเชื้อไวรัสในสมองโดยวิธีอินซิตูไฮบริไดเซชั่น (Shin and Molitor 2002) และอย่างน้อย 15 วันหลังได้รับเชื้อไวรัสในปอด ตับ ต่อมน้ำเหลืองขั้วปอด ม้าม ทอนซิล กระดูกเทอบิเนต และหัวใจโดยวิธีอิมมูโนฮีสโตเคมี (Laohasittikul et al. 2004) ในอวัยวะทางระบบสืบพันธุ์ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกตรวจพบโดยวิธีอินซิตูไฮบริไดเซชั่นในมาโครฟาจในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของอัณฑะระหว่าง 7-30 วันหลังได้รับเชื้อไวรัส และในท่อสร้างอสุจิโดยเฉพาะเซลล์สเปอร์มาโตไซต์และสเปอร์มาติดนานถึง 25 วันหลังได้รับเชื้อไวรัส (Sur et al. 1997) นอกจากนั้นเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสยังถูกพบในอัณฑะ ท่อเก็บอสุจิ ต่อมลูกหมาก และต่อมบัลโบยูรีทรัลที่ 7 วันหลังได้รับเชื้อไวรัส และในอัณฑะและท่อเก็บอสุจิอย่างน้อย 59 วันหลังได้รับเชื้อไวรัส (Shin and Molitor 2002) ในการศึกษาครั้งนี้ระยะเวลาที่แน่นอนของการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในสุกรสาวทดแทนไม่สามารถระบุได้ แต่น่าจะเป็นช่วงที่มีการทำวัคซีนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นและช่วงที่คลุกสุกรสาว การจัดการนี้มักทำในช่วงเดือนแรกหลังจากที่นำสุกรสาวเข้าสู่ฟาร์ม สุกรสาวส่วนใหญ่ถูกคัดทิ้งที่เกือบ 3 เดือน หลังนำเข้าฝูง ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถอยู่ในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่ติดเชื้อได้นานหลายเดือน หรืออาจมีการติดเชื้อซ้ำร่วมด้วย ในพ่อสุกรการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทำให้เกิดการแพร่เชื้อไวรัสผ่านทางน้ำเชื้อได้นานหลายเดือน (Christopher-Hennings et al. 1995)

ในการศึกษาครั้งนี้ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสพบได้ใน 6.0% ของเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่ไม่มีแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส มีรายงานพบว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแพร่กระจายในระบบทางเดินหายใจและระบบน้ำเหลืองของสุกรภายใน 1-2 วันหลังได้รับเชื้อไวรัส (Halbur et al. 1996) และในตับ ลำไส้เล็ก ไต และกระดูกเทอบิเนตภายใน 5 วัน หลังได้รับเชื้อไวรัส (Laohasittikul et al. 2004) แอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกตรวจพบได้อย่างเร็วที่ 7-14 วันหลังการติดเชื้อโดยใช้ชุดตรวจสำเร็จ ELISA โดยระดับแอนติบอดี้สูงสุดที่ 30-50 วันหลังการติดเชื้อ และไม่สามารถตรวจพบได้อีกที่ 4-6 เดือนหลังการติดเชื้อ (Benfield et al. 1999) ดังนั้นจึงอาจตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสได้ในขณะที่ยังไม่สามารถตรวจพบแอนติบอดี้ได้ การศึกษานี้สรุปได้ว่าแอนติเจนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถตรวจพบได้ในเนื้อเยื่อมดลูก 33.0% ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ เปอร์เซนต์สุกรสาวที่เนื้อเยื่อมดลูกมีเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไม่แตกต่างกันระหว่างฟาร์มที่ทำวัคซีนสุกรสาวด้วยวัคซีนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปและสายพันธุ์อเมริกา แต่มีแนวโน้มว่าสุกรสาวที่ไม่ได้ทำวัคซีนจะมีเปอร์เซนต์ที่ตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกได้สูงกว่าสุกรสาวที่ทำวัคซีน อุบัติการณ์ของสุกรสาวที่มีเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกแปรผันระหว่างฟาร์มตั้งแต่ 14.3% ถึง 80.0%

ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น ให้กับสุกรทั้งฝูงในสุกรสาวและสุกรนางที่ตั้งท้องไม่เป็นสาเหตุของการแพร่เชื้อระหว่างช่วง 2-18 สัปดาห์หลังการฉีดวัคซีน และอาจเป็นการลดจำนวนสุกรที่ไวต่อการติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสในฝูงสุกรที่ติดโรคพีอาร์อาร์เอส อย่างไรก็ตามการแพร่เชื้อของไวรัสพีอาร์อาร์เอสระหว่างสัปดาห์ที่ 0-2 หลังการฉีดวัคซีน และสมรรถภาพของระบบสืบพันธุ์ในสุกรสาวและสุกรนางควรที่จะทำการศึกษาในอนาคตต่อไป

สรุป

การวิจัยในครั้งนี้สรุปได้ว่า

- สุกรสาวทดแทนส่วนใหญ่มีการสัมผัสเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (84%) เชื้อพาร์โวไวรัส (97%) และเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม (4%) ก่อนถูกนำเข้าฝูงแม่พันธุ์
- เชื้อพาร์โวไวรัสยังคงเป็นโรคประจำถิ่นในทุกฟาร์มที่ศึกษา และสุกรสาวทดแทนสัมผัสเชื้อพาร์โวไวรัสตั้งแต่ช่วงแรกที่นำเข้าฝูง
- สุกรสาวทดแทนเป็นแหล่งสำคัญในการนำเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเข้าสู่ฝูงแม่พันธุ์
- ความชุกของเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมพบในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์มากกว่าในสุกรสาวที่สุขภาพดี
- การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสุกรสาวทดแทนต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส และเชื้อพาร์โวไวรัส ร่วมกับการกำจัดเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมเป็นประเด็นสำคัญที่ควรนำไปใช้กับฟาร์มสุกรในประเทศไทย
- การฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น ให้กับสุกรทั้งฝูง (mass vaccination) ในสุกรสาวและสุกรนางที่ตั้งท้องไม่พบการแพร่เชื้อในช่วง 2-18 สัปดาห์หลังฉีดวัคซีน และช่วยลดจำนวนสุกรที่ไวต่อการติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสในฝูงสุกร (subpopulation)
- เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถตรวจพบได้ในเนื้อเยื่อมดลูก 33.0% ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์
- เปอร์เซนต์สุกรสาวที่เนื้อเยื่อมดลูกมีเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไม่แตกต่างกันระหว่างฟาร์มที่ทำวัคซีนสุกรสาวด้วยวัคซีนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นสายพันธุ์ยุโรปและสายพันธุ์อเมริกา
- อุบัติการณ์ของสุกรสาวที่มีเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกแปรผันระหว่างฟาร์มตั้งแต่ 14.3% ถึง 80.0%

เอกสารอ้างอิง

รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช และ สันนิภา สุรทัตถ์ 2003 (2546) การศึกษาพยาธิกำเนิดของไวรัส พี อาร์ อาร์ เอส สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย รายงานผลงานวิจัย ทุนวิจัยกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Alexopoulos, C., Kritas, S.K., Kyriakis, C.S, Tzika, E., Kyriakis, S.C., 2005. Sow performance in an epidemically porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)- infected farm after sow vaccination with an attenuated PRRS vaccine. Vet Micro. 111:151-157.

Allende, R., Kutish, G.F., Laegreid, W., Lu, Z., Lewis, T.L., Rock, D.L., Friesen, J., Galeota, J.A., Doster, A.R., Osorio, F.A., 2000. Mutation in the genome of porcine reproductive and respiratory syndrome virus responsible for the attenuation phenotype. Arch. Virol. 145: 1149-1161.

Amonsin, A., Kedkovid, R., Puranaveja, S., Wongyanin, P., Suradhat, S., Thanawongnuwech, R., 2009. Comparative analysis of complete nucleotide sequence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in Thailand (US and EU genotype). Virology Journal, 6: 143.

Botner A., B. Strandbygaard, K. J. Sorensen, P. Have, K. G. Madsen, E. S. Madsen, and S. Alexandersen. 1997. Appearance of acute PRRS-like symptoms in sow herds after vaccination with a modified live PRRS vaccine. Vet. Rec. 141: 497–499.

Brouwer J., Frankena K., de Jong M.F., Voets R., Dijkhuizen A., Verheijden J. and Komijn R.E. 1994. PRRS: effect on herd performance after initial infection and risk analysis. Vet. Q. 16(2): 95-100.

Cavanagh D. 1997. Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. Arch. Virol. 142: 629-633.

Cheon, D.S., Chae, C., 2001. Distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in stillbirth and live born piglets from experimentally infected sows. J. Comp. Pathol. 124: 231-237.

Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Hines, R.J., Nelson, J.K., Swenson, S.L., Zimmerman, J.J., Chase, C.C.L., Yaeger, M.J. and Bemfield, D.A. 1995. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. J. Vet. Diagn. Invest. 7:456–464.

Chung W. B., W. F. Chang, M. Hsu and P. C. Yang. 1997. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in intensive farrow-to-finish pig herds. Can. J. Vet. Res. 61: 292–298.

Damrongwatanapokin, S., Arsayuth, K., Kongkrong, C., Parchariyanon, S., Pinyochon, W., Tantaswasdi, U., 1996. Serological studies and isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in Thailand. Journal of the Thai Veterinary Medical Assocciation, 47: 19-31.

Dea S., Gagnon C. A., Mardassi H., Pirzadeh B. and Rogan D. 2000. Current knowledge on the structural proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus: comparison of the North American and European isolates. Arch. Virol. 145: 659–688.

Dewey, C.E., Wilson, S., Buck, P., Leyenaar, J.K., 1999. The reproductive performance of sows after PRRS vaccination depends on stage of gestation. Prev. Vet. Med. 40:233-241.

Done S. H., D. J. Paton and M. E. C. White. 1996. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): a review with emphasis on pathological, virological and diagnostic aspects. Br. Vet. J. 152: 153–174.

Gagnon C. A. and Dea S. 1998. Differentiation between porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates by restriction fragment length polymorphism of their ORFs 6 and 7 genes. Can. J. Vet. Res. 62: 110–116.

Karniychuk, U.U., Saha, D., Geldhof, M., Vanhee, M., Cornillie, P., Van den Breock, W., Nauwynck, H.J., 2011. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) causes apoptosis during its replication in fetal implantation sites. Microb. Pathogenesis. 51: 194-202.

Keffaber, K.K., 1989. Reproductive failure of unknown etiology. Am. Assoc. Swine Pract. Newsl. 1: 1-10.

Kim, S.M., Han, T.U., Kang, S.Y., Shin, K.S., Kim, C.J., Kim, J.T., Kim, H.S., 2002. Seroprevalence of antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in diagnostic submissions. J. Vet. Sci. 3, 159-161.

Labarque, G., Van Reeth, K., Nauwynck, H., Drexler, C., Van Gucht, S., Pensaert, M., 2004. Impact of genetic diversity of European-type porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains on vaccine efficacy. Vaccine 22: 4183-4190.

Li, Y., Wang, X., Bo, K., Wang, X., Tang, B., Yang, B., Jiang, W., Jiang, P., 2007. Emergence of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the Mid-Eastern region of China. Vet. J. 174: 577-584.

Martelli, P., Cordioli, P., Alborali, L.G., Gozio, S., de Angelis, E., Ferrari, L., Lombardi, G., Borghetti, P., 2007. Protection and immune response in pigs intradermally vaccinated against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) and subsequently exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain. Vaccine 25: 3400-3408.

Meng X. J. 2000. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. Vet. Microbiol. 74(4): 309–329.

Meng X. J., Paul P. S., Halbur P. G. and Lum M. A. 1995. Phylogenetic analyses of the putative M (ORF 6) and N (ORF 7) genes of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): implication for the existence of two genotypes of PRRSV in the U.S.A. and Europe. Arch. Virol. 140: 745–755.

Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorvald, A.C., 1994. Temporal characterization of transplacental infection of porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Am. J. Vet. Res. 55: 1391-1398.

Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorvald, A.C., 1998. Clinical consequences of exposing pregnant gilts to strains of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus isolated from field cases of "atypical" PRRS. Am. J. Vet. Res. 59: 1540-1544.

Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., Clouser, D.F., 2003. Comparative safety and efficacy of attenuated single-strain and multi-strain vaccines for porcine reproductive and respiratory syndrome. Veterinary Microbiology 93, 25-38.

Mengeling, W.L., Larger, K.M., Vorwald, A.C., 1999. Safety and efficacy of vaccination of pregnant gilts against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. American Journal of Veterinary Research. 60: 796-801.

Murtaugh M. P., Elam M. R. and Kakach L. T. 1995. Comparison of the structural protein coding sequences of the VR-2332 and Lelystad virus strains of the PRRS virus. Arch. Virol. 140: 1451–1460.

Neumann, E.J., Kliebenstein, J.B., Johnson, C.D., Mabry, J.W., Bush, E.J., Seitzinger, A.H., et al. 2005. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the united states. J. Am. Vet. Med. Assoc. 227: 385-392.

Nilubon, D., Singlor, J. and Tummaruk, P. 2006. The effect of modified live PRRS vaccine in boar. Proc 19th IPVS. Copenhagen, Denmark, P. 59.

Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2010. Abortion rate in gilts and sows in porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRS) sero-positive herds in Thailand. Proc. 36th International Conference in Veterinary Science (ICVS), Nonthaburi, Thailand, 3-5 November 2010.

Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2011. Sows mortality in porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) sero-positive herds in Thailand. Proc. 5th Asian Pig Veterinary Society Congress, 7-9 March 2011, Pattaya, Thailand, P. P24.

Olanratmanee, E., Wangnaitham,' S., Thanawongnuwech,' R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2011. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen positive uterine tissues in gilts culled due to reproductive disturbance in Thailand. Trop. Anim. Health. Prod. 43:451-457.

Oraveerakul, K., Punarriwatana, D., Luengyosluechakul, S., Tantasuparuk, W., Kunavongkrit, A., 1995. The seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus among swine breeding farms in the central and north-eastern part of Thailand. Thai Journal of Veterinary Medicine 25: 233-240.

Osorio F.A., Zuckermann F., Wills R., Meier W., Christian S., Galeota J. and Doster A. 1998. PRRSV: Comparison of commercial vaccines in their ability to induce protection against current PRRSV strains of high virulence. Allen D. Leman Swine Conf, University of Minnesota College of Veterinary Medicine: p. 176-182.

Prieto, C. and Castro, J.M. 2000. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in gestating sows. Vet. Res. 31:56–57.

Prieto, C., Garcia, C., Simarro, I. and Castro, J.M. 2003. Temporal localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in reproductive tissues of experimentally infected boars. Theriogenology 60:1505-1514.

Prieto, C., Suarez, P., Simarro, I., Garcia, C., Martin-Rillo, S. and Castro, J.M. 1997. Insemination of susceptible and preimmunized gilts with boar semen containing porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Theriogenology 47:647–654.

Scortti M., Jimenez R., Prieto C., Rio C.,Simarro I. and Castro J.M. 1999. Efficacy in gilts of fan inactivated PRRS vaccine against PRRS-induced reproductive disease. Proc. 3rd International Symposium on PRRS and Aujeszky's disease. Ploufragan, France: p. 289-289.

Scortti, M., Prieto, C., Martínez-Lobo, F.J., Simarro, I., Castro, J.M., 2006. Effect of two commercial European modified-live vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pregnant gilts. The Veterinery Journal 172: 506-514.

Shin, J-H. and Molitor, T.W. 2002. Localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in boars by in situ hybridization. J. Vet. Sci. 3: 87-95.

Stevenson, G.W., Van Alstine, W.G., Kantz, C.L., Keffaber, K.K., 1993. Endemic porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of nursery pigs in two swine herds without current reproductive failure. J. Vet. Diagn. Invest. 5, 432-434.

Storgaard T., M. Oleksiewicz and A. Botner. 1999. Examination of the selective pressures on a live PRRS vaccine virus. Arch. Virol. 144: 2389–2401.

Sur, J-H., Doster, A.R., Christian, J.S., Galeota, J.A., Wills, R.W., Zimmerman, J.J. and Osorio, F.A. 1997. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus replicates in testicular germ cell, alter spermatogenesis, and induces germ cell death by apoptosis. J. Virol. 71: 9170-9179.

Tummaruk, P., Tantilertcharoen, R. 2007. The antibody titer against PRRS and the viral detection by RT-PCR in replacement gilts. Proceeding of 33rd Thai Veterinary Medical Association, Sofitel Centara Grand, Bangkok, 31 October-2 November 2007. pp. 195-198.

Tummaruk, P., Tantilertcharoen, R. 2008a. Reproductive data and incidence of some reproductive diseases in gilts culled due to reproductive disturbance in Thailand. Proc 15th Congress of the Federation of Asian Veterinary Association, 27-30 October 2008, Bangkok, Thailand pp. P179-P180.

Tummaruk, P., Tantilertcharoen, R. 2008b. Seroepidemiological data on some reproductive diseases in replacement gilts in Thailand. Proc 15th Congress of the Federation of Asian Veterinary Association, 27-30 October 2008, Bangkok, Thailand pp. P181-P183.

Zhou, Y.J., Hao, X.F., Tian, Z.J., Tong, G.Z., Yoo, D., An, T.Q., Zhou, T., Li, G.X., Qiu, H.J., Wei, T.C., Yuan, X.F. 2008. Highly virulent porcine reproductive and respiratory syndrome virus emerged in China. Transboundary and Emerging Diseases 55: 152-164.

ภาคผนวก

บทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการแล้ว (ถ้ามี)

วารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. Olanratmanee, E., Wangnaitham,' S., Thanawongnuwech,' R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2011. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen positive uterine tissues in gilts culled due to reproductive disturbance in Thailand. **Trop. Anim. Health. Prod.** 43: 451-457.
2. Tummaruk, P., Tantilertcharoen, R., 2011. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome, Aujeszky's disease and porcine parvovirus in replacement gilts in Thailand. **Trop. Anim. Health Prod.** (inpress). DOI 10.1007/s11250-011-9999-6

การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. Tummaruk, P., Tantilertcharoen, R., 2009. The seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in vaccinated and non-vaccinated herds: a retrospective study. **Proc. The 4th ASVP Conf. & Ann Meeting TAVLD**, pp. 394-395.
2. Olanratmanee, E., Wangnaitham, S., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2009. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus antigen detection in the uterine tissue of gilts correlated to the antibody titer. **Proc. The 4th ASVP Conf. & Ann Meeting TAVLD,** pp. 396-397.
3. Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2010. Antibody titer against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) after modified live PRRSV vaccination. **Proc. The 21th International Pig Veterinary Society (IPVS) Congress, Vancouver, Canada,** July 18-21, 2010, p. 542.
4. Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2010. Abortion rate in gilts and sows in porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRS) sero-positive herds in Thailand. **Proc. The 36th International Conference in Veterinary Science (ICVS), Nonthaburi, Thailand,** 3-5 November 2010.
5. Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2011. Sows mortality in porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) sero-positive herds in Thailand. **Proc. The 5th Asian Pig Veterinary Society Congress, 7-9 March 2011, Pattaya, Thailand,** P. P24.

การประชุมวิชาการระดับชาติ

1. Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2011. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in the

serum of gilts and sows after modified-lived PRRS vaccination. **Proc. The 10th Chulalongkorn University Veterinary Annual Conference**, P. S40.

2. Olanratmanee, E., Nuntawan Na Ayudhya, S., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P. 2011. Fertility of gilts and sows after modified live PRRSV mass vaccination in a PRRSV-positive herd. **Proc. The 12th Royal Golden Jubilee (RGJ) Ph.D. Program, The Thailand Research Fund, April 1-3, 2011, Jomtien Palm Beach Resort, Pattaya, Chonburi,** Thailand.P. 330.
3. Olanratmanee, E., Nuntawan Na Ayudhya, S., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P. 2011. Litter size at birth of sows in a PRRSV-positive herd after modified-live PRRSV mass vaccination. **Proc. The 2nd Royal Golden Jubilee (RGJ) Ph.D. Program, The Thailand Research Fund, April 20th, 2011, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Thailand.**
4. Olanratmanee, E., Wangnaitham, S., Thanawongnuwech, R., Tummaruk, P., 2011. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen in ovarian tissue of gilts culled due to reproductive disturbances. **Thai J. Vet. Med. Suppl.** 41: 131-132.
5. Surapat, P., Sriariyagul, S., Seemakram, O., Olanratmanee, E., Tantilertcharoen, R., Thanawongnuwech, R., Tummaruk, P., 2011. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) strains isolated from sows and boars in Thailand during 2005-2010. **Thai J. Vet. Med. Suppl.** 41: 122-123.

Trop Anim Health Prod (2011) 43:451–457
DOI 10.1007/s11250-010-9713-0

ORIGINAL RESEARCH

Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen-positive uterine tissues in gilts culled due to reproductive disturbance in Thailand

Em-on Olanratmanee · Supradit Wangnaitham · Roongroje Thanawongnuwech · Annop Kunavongkrit · Padet Tummaruk

Accepted: 28 September 2010 / Published online: 16 October 2010
© Springer Science+Business Media B.V. 2010

Abstract The objective of the present study was to determine the prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen-positive uterine tissue in gilts culled due to reproductive disturbance in relation to age at culling, reasons for culling, herds, and PRRSV vaccination. Uterine tissues of 100 gilts from six swine herds in Thailand were collected. The immunohistochemistry was performed to detect the PRRSV antigen using a polymer-based non-avidin–biotin technique. PRRSV was detected in the cytoplasm of the macrophages in the subepithelial connective tissue layers of the endometrium in 33.0% of the culled gilts. The detection of PRRSV antigen varied among the herds from 14.3% to 80.0% (P=0.018). The detection of PRRSV in the uterine tissues at different ages was not statistically different (29.6%, 39.4%, and 40.9% in gilts culled at 6–8, 9–10, and 11–16 months of age, respectively, P=0.698), similar to the reasons for culling (P=0.929). PRRSV antigen was found in 24.5% of the gilts vaccinated against the EU-strain-modified-live PRRSV vaccine and in 23.1% of the gilts vaccinated against the US-strain-modified-live PRRSV (P=0.941). The level of antibody titers against PRRSV had no impact on PRRSV antigen detection in the uterine tissues. Similarly, the detection of PRRSV antigen did not differ between the virgin gilts (35.4%) and the gilts mated before culling (30.8%) (P=0.622). It can be concluded that PRRSV remains in the uterine tissue of the infected gilts for several months even though vaccinations and acclimatization have been carried out.

Keywords Pig · PRRSV detection · Reproductive failure · Uterus · Immunohistochemistry

E.-o. Olanratmanee · A. Kunavongkrit · P. Tummaruk (✉)
Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproduction,
Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University,
Bangkok, Thailand 10330
e-mail: Padet.t@chula.ac.th

S. Wangnaitham · R. Thanawongnuwech
Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science,
Chulalongkorn University,
Bangkok, Thailand 10330

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is caused by the PRRS virus (PRRSV), a member of *Arterivirus*, family *Arteriviridae* (Amonsin et al. 2009). The disease was discovered in the USA in 1987 (Keffaber 1989). PRRSV was first identified in Lelystad, the Netherlands, in 1990 (Wensvoort et al. 1991). In 1992, PRRSV was classified by genetic, antigenic, and pathogenic differences into two strains, i.e., American (US) and European (EU) strains (Meng 2000). In Thailand, PRRSV infection in swine herds has been reported since 1995 and has become one of the most common diseases causing reproductive failure in gilts and sows (Oraveerakul et al. 1995). A retrospective study based on serological testing indicates that the antibody against PRRSV is detected for the first time in Thailand in early 1989 (Damrongwatanapokin et al. 1996). Both EU and US strains have been reported in Thailand (Thanawongnuwech et al. 2004). Presently, PRRSV has been found in most major pig-producing areas throughout the world (Benfield et al. 1999; Carlsson et al. 2009). The infection of PRRSV in gilts and sows is characterized by late-term abortion, mummified fetuses, stillborn piglets, and low-viability piglets at birth (Mengeling et al. 1996; Chung et al. 1997).

Under field conditions, the mode of transmission of PRRSV consists of direct contact, needle share for vaccination/medical injection, insects, and artificial insemination (Cho and Dee 2006; Pringprao et al. 2006). The control and prevention of PRRSV in swine commercial herds include intensive acclimatization, management of replacement gilts, monitoring the prevalence of infection by serological profiling, and vaccination with PRRS modified-live virus (MLV) vaccine and/or killed vaccines (Cho and Dee 2006). The vaccination of gilts and pregnant sows against PRRSV has been practiced in Thailand for over a decade. However, no comprehensive study has been carried out on whether the use of PRRS vaccination and/or different types of management programs is able to effectively control the transmission of the virus from the infected animals to the seronegative pregnant gilts/sows.

It has been suggested that the replacement gilts are a major source of introducing new strains of PRRSV into the herd. In practice, an intensive acclimatization of the replacement gilts with culled sows or infected nursery pigs is commonly practiced in most swine-breeding herds in Thailand. However, a high variability of the antibody titer against PRRSV of the gilts is observed both within and among herds (Tummaruk and Tantilertcharoen 2007). This problem causes difficulties for the farmer to mate the gilts. In our previous study, we have found that 73% (122/166) of the replacement gilts in Thailand culled due to reproductive disturbances were infected with PRRSV. A high proportion of PRRSV-seropositive gilts were found in the gilts culled due to abortion (81%) and repeat breeding (81%) (Tummaruk and Tantilertcharoen 2008).

In general, PRRSV primarily infects pulmonary alveolar macrophages during acute infection (Sur et al. 1997). It is well-established that the alveolar macrophages as well as macrophages from other tissues are the primary cell type that sustains the in vivo replication of the virus (Thanawongnuwech et al. 2000). Using immunohistochemical (IHC) evaluation of formalin-fixed tissues, we found that 66% and 100% of the lung tissue of piglets infected with either US or EU strain of Thai PRRSV, respectively, were observed (Laohasittikul et al. 2004). An earlier study based on PRRSV antigen detection by the IHC technique has demonstrated that 75.0%, 50.0%, 37.5%, 37.5%, 37.5%, and 25.0% of PRRSV was found in liver, spleen, tonsil, turbinate bone, pulmonary lymph node, and ileum, respectively, of the experimentally infected piglets (Laohasittikul et al. 2004). In addition, PRRSV antigen is found in microglia-like cells and mononuclear cells in the brain sections by IHC associated with neurovascular lesions (Thanawongnuwech et al. 1997). Using in situ hybridization (ISH), we found that PRRSV is also detected in the epithelial germ cells of the seminiferous tubules, primarily spermatids and spermatocytes and macrophages of the testis (Sur et al. 1997; Shin and Molitor 2002). However, to our knowledge, the presence of PRRSV in the uterine tissues of the gilts has not been demonstrated. Thus, the objective of this study is to determine the prevalence of PRRSV antigen in the uterine tissues of the gilts culled due to reproductive disturbances associated with age at culling, culling reason, herds, and PRRSV vaccination in selected swine commercial herds in Thailand.

Materials and methods

Animals and samples

One hundred uterine tissues were obtained from gilts culled due to reproductive disturbance from six swine herds (A, B, C, D, E, and F) in Thailand. Blood samples were collected from the jugular vein prior to culling. After the swine were slaughtered, the ovary and uterus were collected, placed on ice, and transported to the laboratory within 24 h. Tissue samples were collected from the uterus of the gilts, fixed in 10% neutral buffered formalin and embedded in paraffin blocks. Historical data for all culled gilts were also recorded, including the herd and gilt identity and breed. Also, the date of birth, entry into the herd, first observed estrus, insemination, and culling, as well as body weight at culling and reason for culling, were recorded. Ages at entry, at first observed estrus, at first insemination, and at culling were calculated. The average daily gain (ADG) from birth to culling was calculated: ADG (g/day)=(body weight at culling−1.5/age at culling)× 1,000. Non-productive days (NPD) of the culled gilts were defined as the interval from entry into the herd to culling.

General management and vaccination

The herds in the present study are breeding herds located in the northeastern (A and B), middle (C), western (E), and eastern (D and F) parts of Thailand. The sows-on-production numbers were 900–3,500 sows per herd. Herds A and B produced replacement gilts within the herd using their own grandparent stock, while herds C, D, E, and F bought the replacement gilts from other breeders. The gilts in all herds were housed in a conventional open-housing system facilitated with a water sprinkler and fan for reducing heat stress. The health status of the herds was monitored routinely by the herd veterinarians. In general, the recommended gilt vaccination program consisted of foot-and-mouth disease, classical swine fever, Aujeszky's disease, and porcine parvovirus at between 22 and 30 weeks of age. Some herds were also given some extra vaccines against PRRSV, atrophic rhinitis, *Mycoplasma hyopneumo-*

niae, and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In herds B, E, and F, the replacement gilts were not vaccinated with PRRSV vaccine, while in herds A and D, they were vaccinated using the EU strain PRRS MLV vaccine (AMERVAC®, Laboratorios Hipra, Girona, Spain). Herd C, the replacement gilts, was vaccinated using the US strain PRRS MLV vaccine (Ingelvac® PRRS™ MLV, Boehringer-Ingelheim Vetmedica Inc., St. Joseph, MO, USA). The gilts were vaccinated against PRRSV twice during 22–30 weeks of age before being sent to the breeding house. Gilts were kept in each pen with a group size of 6–15 gilts per pen (depending on the herd) with a density of 1.5–2.0 m^2 per gilt. In general, the herds were recommended to breed the replacement gilts at about 32 weeks of age onwards with a body weight of at least 130 kg at the second or later observed estrus. The mating technique for all herds was performed by artificial insemination.

Immunohistochemistry

Immunohistochemistry was carried out according to previous protocol in the lung tissue with some modification (Laohasittikul et al. 2004). Briefly, the samples were embedded in paraffin blocks, cut in 4-μm-thick sections, and placed on 3-aminopropyl-triethoxysilane-coated slides. The sections were deparaffinized in xylene and rehydrated in graded alcohol. A polymer-based non-avidin–biotin technique was applied in the present study. Briefly, the antigen retrieval technique was used in order to enhance the reaction between antigen and antibody by enzymatic treatment using 0.1% trypsin at 37°C for 30 min. After washing in phosphate-buffered saline (PBS), endogenous peroxidase activity was inhibited by immersing the sections in 0.3% hydrogen peroxide (H_2O_2) in absolute methanol for 30 min at room temperature. The sections were then blocked with 1% bovine serum albumin at 37°C for 30 min and incubated overnight (12–15 h) at 4°C with primary monoclonal antibody SDOW17 (Rural Technologies, Inc., USA) diluted 1:1,000. After washing in PBS, a dextran coupled with peroxidase molecules and goat secondary antibody (Dako REAL™ Envision™/HRP, Rabbit/Mouse®, Dako, Denmark) was applied on the sections and incubated at 37°C for 45 min. In the final step, the color of the bound enzyme (brown color) was obtained using 0.05% 3,3′-diaminobenzidine tetrahydrochloride (0.01 M Tris–HCl, pH 7.6) for 4–15 min. All sections were counterstained with Mayer's hematoxylin, dehydrated, and mounted for investigation under a light microscope. Negative control procedures included an omission of primary antibody. Known PRRSV-infected lung and lymph node tissues served as positive controls. The sections were interpreted as positive if they contained at least one positive cell (brown intracytoplasmic staining, Fig. 1).

Serological test

The blood samples were allowed to clot at room temperature, and the sera were obtained and were kept at −20°C for analyzing the antibody titers against PRRSV. The antibody against PRRSV was determined using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay test kit (ELISA, HerdChek® PRRS virus antibody test kit 2XR, IDEXX Laboratories, Inc., USA). The protocol followed the kit's instructions. The serum sample/positive control (S/P) was calculated. The S/P ratio below 0.4 indicated that the sample had no antibody to PRRSV (negative), while the S/P ratio ≥0.4 indicated that the sample had antibody to PRRSV (positive).

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using Statistical Analysis System (SAS) version 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Descriptive statistics (means, standard deviation, and range) and frequency tables were conducted for all reproductive parameters. The percentage of positive tissue was compared between groups of age at culling (6–8, 9–10, and 11–16 months), reason for culling (anestrus, vaginal discharge, repeat breeding, abortion, and not being pregnant), type of MLV vaccine against PRRSV (US and EU strain), and the detection of antibody titers against PRRSV by using ELISA (0.00–0.39, 0.40–0.99, 1.00–1.49, and 1.50–2.92) using $r \times k$ contingency table and *Fisher's exact* test. Logistic regression was performed to analyze the multiple effects of age at culling and the use of PRRSV vaccine on the incidence of PRRSV detection in the uterine tissues of the gilts. The analysis was carried out using the GLIMMIX macro of SAS. The statistical model included the effect of age at culling and PRRSV vaccination as independent variables. Least-square means of the *logit* scale were obtained and were compared by using the least significant different test. A value of $P<0.05$ was considered to be statistically significant.

Results

Reproductive data and culling reason

Reproductive data of the slaughtered gilts are presented in Table 1. On average, the gilts were culled at 303.3±53.0 days of age and a body weight of 149.0±20.8 kg. They entered the herds at 218.9±53.1 days of age and were culled at 84.4±57.1 days after entering the herd. Of all the gilts, 52 gilts (52.0%) had been mated, and the interval from the first observed estrus to mating was 20.8±17.2 days (range 0 to 63 days). The reasons for culling of the gilts

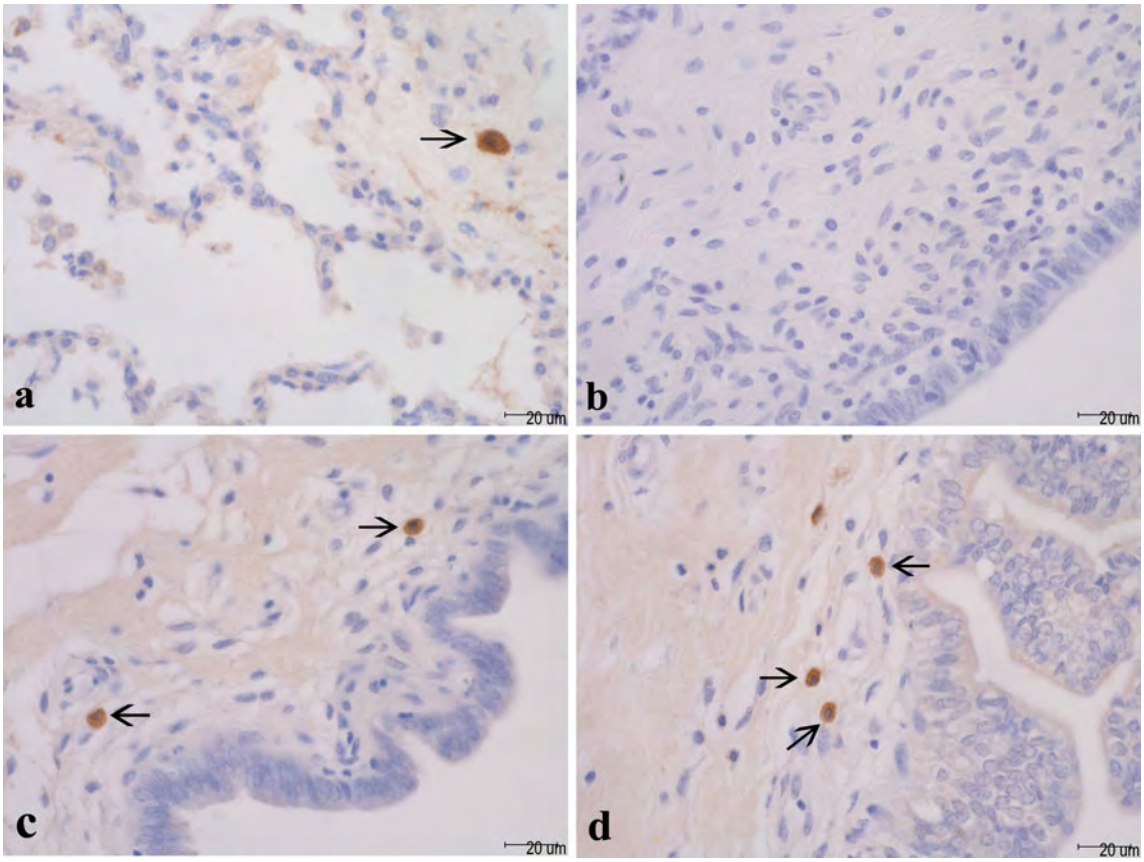


Fig. 1 Expression of PRRSV antigen in the uterine tissue of gilts: **a** positive control (lung tissue); **b** negative control; **c**, **d** uterine tissue from gilts culled due to reproductive disturbance which expressed PRRSV antigen. *Black arrows* indicate positive staining cell

included anestrus, abnormal vaginal discharge, abortion, repeat breeding, and not being pregnant (Table 2). On average, the age at culling was 273.8, 298.0, 311.3, 342.9, and 368.9 days, and the interval from entry to culling was 73.0, 67.6, 68.3, 111.4, and 142.8 days for gilts culled due to anestrus, abnormal vaginal discharge, abortion, repeat breeding, and not being pregnant, respectively.

Detection of PRRSV

The PRRSV-positive cells characterized by brown intracytoplasmic-stained macrophages in the subepithelial connective tissue layer of the endometrium were detected in the uterine tissue in 33% of gilts (33/100 gilts) (Fig. 1). The detection of PRRSV in the uterine tissue of the gilts varied among the herds from 14.3% to 80.0% (P=0.018). PRRSV was found in 24.5% of the gilts vaccinated against EU strain PRRS MLV vaccine and in 23.1% of the gilts vaccinated against US strain PRRS MLV vaccine (P=0.941). The detection of PRRSV in the uterine tissue of the gilts collected from non-vaccinated herds (17/34 gilts, 50.0%) was higher than the herds whose gilts were vaccinated against EU (13/53 gilts, 24.5%, P=0.023) and US (3/13 gilts, 23.1%, P=0.105) strains of PRRSV.

Table 1 Descriptive statistics for reproductive data of the replacement gilts culled due to reproductive failure

Parameters	Number of gilts	Mean ± SD	Range
Age at culling (day)	100	303.3±53.0	209–489
Body weight at culling (kg)	96	149.0±20.8	104.5–205.5
Age at entry (day)	98	218.9±53.1	94–365
Age at first estrus (day)	69	229.3±30.5	156–322
Age at first mating (day)	52	256.8±24.4	211–322
ADG (g/day)	96	496.2±78.2	245.6–674.5
NPD (day)	98	84.4±57.1	0–250

ADG average daily gain from birth to culling, *NPD* non-productive day (the interval from entry into the herd to culling)

Table 2 Number and percentage of gilts in relation to the presence of PRRSV antigen in the uterine tissue by IHC and the antibody titer against PRRSV by culling reason

Culling reason	Number of gilts	Number of IHC positive gilts	Number of ELISA-positive gilts
Anestrus	42	14 (33.3%)	29 (80.6%)a
Abnormal vaginal discharge	21	6 (28.6%)	14 (73.7%)a
Abortion	11	3 (27.3%)	8 (80.0%)a
Repeat breeding	17	7 (41.2%)	10 (58.8%)a
Not being pregnant	9	3 (33.3%)	0 (0%)a
Total	100	33 (33.0%)	61 (73.5%)

Different letters within columns differ significantly ($P \leq 0.05$)

Influence of age at culling, reasons for culling, and mating

On average, gilts that had PRRSV in the uterine tissue were culled at 307.2±54.1 days of age (range 240 to 439 days), while those that had no PRRSV in the uterine tissue were culled at 301.3±52.8 days of age (range 209 to 489 days) ($P=0.605$). NPD of these gilts was 92.0±59.6 (range 0 to 225 days), and ADG was 488.1±80.6 g/day. The incidence of PRRSV manifestation in the uterine tissues of the gilts was 29.6%, 39.4%, and 40.9% in the gilts culled at 6–8, 9–10, and 11–16 months of age, respectively ($P=0.698$). PRRSV was found in 33.3%, 28.6%, 27.3%, 41.2%, and 33.3% of the uterine tissues of the gilts culled due to anestrus, abnormal vaginal discharge, abortion, repeat breeding, and not being pregnant, respectively ($P=0.929$) (Table 2). The detection of PRRSV in the uterine tissue of the gilts did not differ significantly between the virgin gilts (35.4%) and the gilts that were mated before culling (30.8%) ($P=0.622$).

Influence of antibody titer against PRRSV

Of the 100 replacement gilts, 83 serum samples were included in the present study. Of all the gilts, 61 of 83 gilts (73.5%) were positive to ELISA. The highest percentage of positive gilts (29/36 gilts, 80.6%) was observed in gilts culled due to anestrus. The percentage of positive gilts culled for abnormal vaginal discharge, abortion, repeat breeding, and not being pregnant, was 73.7%, 80.0%, 58.8%, and 0.0%, respectively (Table 2). Of the 61 gilts that were positive to ELISA, 22 gilts (36.1%) were positive to IHC. Of the 22 gilts that were negative to ELISA, five gilts (22.7%) were positive to IHC. According to all gilts that were positive to IHC, 81.5% (22/27 gilts) were positive to ELISA (Table 3). PRRSV was detected in the uterine tissue in 28.2%, 31.0%, 47.1%, and 33.3% of the gilts with antibody titers against PRRSV at 0.00–0.39, 0.40–0.99, 1.00–1.49, and 1.50–2.92, respectively ($P=0.577$).

Discussion

The presence of PRRSV antigen in the uterine tissues of the gilts culled due to reproductive failure was demonstrated. Apparently, the findings indicated that the replacement gilts remained at risk of introducing PRRSV into the breeding herd even though vaccinations and acclimatization have been carried out. Furthermore, the detection of PRRSV in the uterine tissue of the replacement gilts did not decrease when age at culling increased; PRRSV could be found even in the gilts older than 11 months of age. In Thailand, most of the gilts were usually mated between 8 and 9 months of age (Tummaruk et al. 2007). The detection of PRRSV in the uterine tissue varied considerably among the herds, from 14.3% to 80.0%. This indicated that, under field conditions, numerous gilts might be mated when the PRRSV antigen

Table 3 Reproductive data of gilts culled due to reproductive disturbances in relation to percentage of ELISA-positive gilts to the results of IHC test

Results of IHC	Number of gilts	Mean ± SD			Percentage of ELISA-positive gilts
		Age at culling (day)	NPD (day)	ADG (kg/day)	
Positive	33	307.2±54.1a	92.0±59.6a	488.1±80.6a	81.5a
Negative	67	301.3±52.8a	80.8±56.0a	500.4±77.2a	69.6a

Different letters within columns differ significantly ($P \leq 0.05$)

NPD non-productive day (the interval from entry into the herd to culling), *ADG* average daily gain from birth to culling

remained in their uterine tissue. Therefore, the reproductive performance of these gilts might be compromised.

Cells containing PRRSV are found in the subepithelial layer of the endometrium. This could be explained by the fact that PRRSV infection is a multisystemic disease characterized by viremia and, subsequently, viral distribution and replication in multiple organs (Thanawongnuwech et al. 1997). Using IHC, PRRSV antigen has been detected at 56–100% in the lungs, 8–36% in the heart, 40–43% in the lymph node, 38–100% in the tonsil, 8–54% in the thymus, 4–50% in the spleen, 25–60% in the intestine, and 20–75% in the liver (Larochelle and Magar 1997; Laohasittikul et al. 2004). Therefore, it is not surprising to detect the PRRSV antigen in 33.0% of the uterine tissues of the culled gilts since the infection of PRRSV results in the distribution of the virus via the blood system, and the virus is also detected in the macrophages of many organs. In the uterine tissue of the gilts, some macrophages have been observed in all tissue layers of the endometrium at all stages of the estrous cycle (Teamsuwan et al. 2010). Moreover, it is found that at least 73.5% of the culled gilts are infected with PRRSV as demonstrated by the serological response.

It has been demonstrated that PRRSV can be detected for at least 42 days post-infection in the lungs and in the tonsil by using IHC and ISH (Sur et al. 1996), at least 59 days post-infection in the brain stem by using ISH (Shin and Molitor 2002) and at least 15 days post-infection in the lung, liver, pulmonary lymph node, spleen, tonsil, turbinate bone, and heart by using IHC (Laohasittikul et al. 2004). In the reproductive organs, PRRSV can be detected by using ISH in the macrophages in the interstitium of the testis during 7–30 days post-infection and in the seminiferous tubules primarily in spermatocytes and round spermatids up to 25 days post-infection (Sur et al. 1997). Moreover, PRRSV has been found in the testis, epididymis, prostate gland, and bulbourethral gland at 7 days post-infection and in testis and epididymis at least 59 days post-infection (Shin and Molitor 2002). In this study, the exact timing of PRRSV infection in the replacement gilts is not known, but it is likely to be the period during PRRS MLV vaccination and acclimatization. These management practices are usually performed within a month after the gilts enter the herds. Most of these gilts are culled nearly 3 months after entering the herds. This indicates that PRRSV may remain in the uterine tissue of the infected gilts for several months, or re-infection might have occurred. In the boar, PRRSV infection causes viral shedding in semen for several months (Christopher-Hennings et al. 1995).

In this study, PRRSV is found in 6.0% of the uterine tissues of the gilts having no antibody titer against PRRSV. It has been demonstrated that PRRSV is widespread in the respiratory and lymphoid system of the pig by 1–2 days post-infection (Halbur et al. 1996) and in liver, ileum, kidney, and turbinate bone by 5 days post-infection (Laohasittikul et al. 2004). PRRSV antibodies can be detected early at 7–14 days post-infection using commercial ELISA; peak titers are seen by 30–50 days post-infection and undetectable titers by 4–6 months after infection (Benfield et al. 1999). Thus, the antigen of the virus can be detected while the antibody was undetected.

It can be concluded that PRRSV antigen is detected in the uterine tissues in 33.0% of the gilts culled due to reproductive failure. The percentage of the gilts' uterine tissues containing PRRSV did not differ between herds with the gilts vaccinated with the EU strain and the US strain MLV PRRS vaccines but tended to be lower than the non-vaccinated gilts. The incidence of the gilts having uterine tissues containing PRRSV antigen varied among the herds from 14.3% to 80.0%.

Acknowledgements Financial support for the present study was provided by the National Research Council of Thailand. E. Olanratmanee is a grantee of the Royal Golden Jubilee (RGJ) Ph.D. Program, the Thailand Research Fund. Language revision of the manuscript is coordinated by Chula Unisearch, Chulalongkorn University.

References

Amonsin, A., Kedkovid, R., Puranaveja, S., Wongyanin, P., Suradhat, S., Thanawongnuwech, R., 2009. Comparative analysis of complete nucleotide sequence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in Thailand (US and EU genotype). Virology Journal, 6, 143 (doi:10.1186/1743-422X-6-143).

Benfield, D.A., Collins, J.E., Dee, S.A., Halbur, P.G., Joo, H.S., Lager, K.M., Mengeling, W.L., Murtaugh, M.P., Rossow, K.D., Stevenson, G.W., Zimmerman, J.J., 1999. Porcine reproductive and respiratory syndrome. In: Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J. (Eds.), Diseases of swine, 8th edition. Iowa State University Press, Ames, pp. 201–232.

Carlsson, U., Wallgren, P., Renstrom, L.H.M., Lindberg, A., Eriksson, H., Thoren, P., Eliasson-Selling, L., Lundeheim, N., Norregard, E., Thorn, C., Elvander, M., 2009. Emergence of porcine reproductive and respiratory syndrome in Sweden: detection, response and eradication. Transboundary and Emerging Diseases, 56, 121–131.

Cho, J.G., Dee, S.A., 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Theriogenology, 66, 655–662.

Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Hines, R.J., Nelson, J.K., Swenson, S.L., Zimmerman, J.J., Chase, C.C.L., Yaeger, M.J., Benfield, D.A., 1995. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 7, 456–464.

Chung, W.B., Chang, W.F., Hsu, M., Yang, P.C., 1997. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in intensive farrow-to-finish pig herds. Canadian Journal of Veterinary Research, 61, 292–298.

Damrongwatanapokin, S., Arsayuth, K., Kongkrong, C., Parchariyanon, S., Pinyochon, W., Tantaswasdi, U., 1996. Serological studies and isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in Thailand. Journal of the Thai Veterinary Medical Association, 47, 19–31.

Halbur, P.G., Paul, P.S., Frey, M.L., Landgraf, J., Eernisse, K., Meng, X.-J., Andrews, J.J., Lum, M.A., Rathje, J.A., 1996. Comparison of the antigen distribution of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. Veterinary Pathology, 33, 159–170.

Keffaber, K.K., 1989. Reproduction failure of unknown etiology. American Association of Swine Practitioners Newsletter, 1, 1–9.

Laohasittikul, P., Boonarpha, N., Pongprapachuen, Y., Kesdangsakonwut, S., Wangnaitham, S., Thanawongnuwech, R., 2004. Antigen distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Thai crossbred pigs using immunohistochemistry. Thai Journal of Veterinary Medicine, 34, 39–48.

Larochelle, R., Magar, R., 1997. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in paraffin-embedded tissues: comparison of immunohistochemistry and in situ hybridization. Journal of Virological Methods, 63, 227–235.

Meng, X.J., 2000. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. Veterinary Microbiology, 74, 309–324.

Mengeling, W.L., Vorwald, A.C., Lager, K.M., Brockmeier, S.L., 1996. Comparison among strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus for their ability to cause reproductive failure. American Journal of Veterinary Research, 57, 834–839.

Oraveerakul, K., Punarriwatana, D., Luengyosluechakul, S., Tantasuparuk, W., Kunavongkrit, A., 1995. The seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus among swine breeding farms in the central and north-eastern part of Thailand. Thai Journal of Veterinary Medicine, 25, 233–240.

Pringprao, K., Chungpivat, S., Panyathong, R., Thanawongnuwech, R., 2006. *Culex tritaeniorhynchus* is likely to be a vector for the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). Thai Journal of Veterinary Medicine, 36, 21–31.

Shin, J.H., Molitor, T.W., 2002. Localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in boars by in situ riboprobe hybridization. Journal of Veterinary Science, 3, 87–95.

Sur, J.H., Cooper, V.L., Galeota, J.A., Hesse, R.A., Doster, A.R., Osorio, F.A., 1996. In vivo detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus RNA by in situ hybridization at different times postinfection. Journal of Clinical Microbiology, 34, 2280–2286.

Sur, J.H., Doster, A.R., Christian, J.S., Galeota, J.A., Wills, R.W., Zimmerman, J.J., Osorio, F.A., 1997. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus replicates in testicular germ cells, alters spermatogenesis, and induces germ cell death by apoptosis. Journal of Virology, 71, 9170–9179.

Teamsuwan, Y., Kaeoket, K., Tienthai, P., Tummaruk, P., 2010. Morphological changes and infiltration of immune cells in the endometrium of anoestrus gilt in relation to the ovarian appearance and serum progesterone. Thai Journal of Veterinary Medicine, 40, 31–40.

Thanawongnuwech, R., Halbur, P.G., Andrews, J.J., 1997. immunohistochemical detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus antigen in neurovascular lesions. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 9, 334–337.

Thanawongnuwech, R., Halbur, P.G., Thacker, E.L., 2000. The role of pulmonary intravascular macrophages in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. Animal Health Research Review, 1, 95–102.

Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Tatsanakit, A., Damrongwatanapokin, S., 2004. Genetics and geographical variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Thailand. Veterinary Microbiology, 101, 9–21.

Tummaruk, P., Tantilertcharoen, R., 2007. The antibody titer against PRRS and the viral detection by RT-PCR in replacement gilts. Proc. 33rd Thai Veterinary Medical Association (TVMA), Bangkok, Thailand, 195–198.

Tummaruk, P., Tantilertcharoen, R., 2008. Reproductive data and incidence of some reproductive disease in gilts culled due to reproductive disturbance in Thailand. Proc. 15th FAVA, Bangkok, Thailand, 179–180.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M., Kunavongkrit, A., 2007. Age, body weight and back fat thickness at first observed oestrus in crossbred Landrace x Yorkshire gilts, seasonal variations and their influence on their subsequent reproductive performance. Animal Reproduction Science, 99, 167–181.

Wensvoort, G., Terpstra, C., Pol, J.M.A., ter Laak, E.A., Bloemraad, M., de Kluyver, E.P., Kragten, C., van Buiten, L., Den Besten, A., Wagenaar, F., Broekhuijsen, J.M., Moonen, P.L.J.M., Zeststra, T., de Boer, E.A., Tibben, H.J., de Jong, M.F., van Veld, P., Groenland, G.J.R., van Gennep, J.A., Voets, M., Verheijden, J.H. M., Bramskamp, J., 1991. Mystery swine disease in the Netherlands: the isolation of Lelystad virus. Veterinary Quarterly, 13, 121–130.

Trop Anim Health Prod
DOI 10.1007/s11250-011-9999-6

ORIGINAL RESEARCH

Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome, Aujeszky's disease, and porcine parvovirus in replacement gilts in Thailand

Padet Tummaruk · Rachod Tantilertcharoen

Accepted: 26 October 2011
© Springer Science+Business Media B.V. 2011

Abstract The present study investigated the seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Aujeszky's disease virus (ADV), and porcine parvovirus (PPV) in replacement gilts from selected five swine herds in Thailand. The study consisted of three parts. First, a retrospective data analysis on the seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and ADV glycoprotein I (gI) in gilts, sows, boars, nursery, and fattening pigs in five herds (n=7,030). Second, a cross-sectional study on seroprevalence of PRRSV, ADV, and PPV (n=200) in replacement gilts. Last, the seroprevalence of PRRSV, ADV, and PPV in gilts culled due to reproductive failure (n=166). Across the herds, the seroprevalence of PRRSV and ADV was 79.3% and 5.3%, respectively. The cross-sectional study revealed that 87.5%, 4.0%, and 99.0% of the replacement gilts were infected with PRRSV, ADV, and PPV, respectively. In the gilts culled due to reproductive failure, the seroprevalence of PRRSV, ADV, and PPV was 73.5%, 28.3%, and 86.0%, respectively. Of these culled gilts, 75.5% had been infected with at least two viruses and 18.9% had been infected with all three viruses. It could be concluded that most of the replacement gilts were exposed to PRRSV (84%), PPV (97%), and ADV (4%) before entering the breeding house. PPV was an enzootic disease among the selected herds. The prevalence of ADV was higher in gilts culled due to reproductive disturbance than in the healthy gilts.

Keywords Pig · Reproduction · Health · Disease · Acclimatization

P. Tummaruk (✉)
Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand
e-mail: Padet.t@chula.ac.th

R. Tantilertcharoen
Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

Introduction

In practice, the replacement gilts have to be immunized against a number of pathogens via either acclimatization or vaccination before entering the herd. Generally, weaned sows selected for culling, nursery pigs, or fattening pigs are used for acclimatization. In most commercial herds in Thailand, replacement gilts are routinely vaccinated against Aujeszky's disease virus (ADV) and porcine parvovirus (PPV). But porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine is applied only in some herds. The viral pathogens causing a large impact to the swine industry in Thailand during the last decade include classical swine fever virus (CSFV), foot-and-mouth disease virus (FMDV), porcine circovirus type 2 (PCV-2), PRRSV, ADV, and PPV. Furthermore, the last three pathogens contribute to reproductive disorders in gilts and sows (Maldonado et al. 2005). Nowadays, co-infection of these pathogens is commonly observed in the modern swine industry (López-Soria et al. 2010). The co-infection in pigs may cause complicated clinical signs, such as porcine respiratory disease complex and post-weaning multisystemic wasting syndrome (Opriessnig et al. 2007). Although the influence of these complex diseases is well established in nursery and fattening pigs, information related to their influences on reproductive problems in gilts and sows are limited.

Based on serological examination, PRRSV has been first detected in Thailand in early 1989 (Oraveerakul et al.

Published online: 09 November 2011

1995). Nowadays, both European (EU) and North American strains are isolated in Thailand (Thanawongnuwech et al. 2004). In 1995, a serological survey on glycoprotein I (gI) of ADV from 15 swine herds in Thailand indicated that 98% (597/608 samples) of the pig samples are positive (Wongwatcharadumrong and Platt 1995). It is known that the gI of ADV indicates natural infection (Mengeling et al. 1997). Therefore, monitoring of ADV-gI-positive pigs in the herd is an important key for ADV elimination program. At the present time, the prevalence of ADV in Thailand has declined because ADV vaccine is extensively used, together with the surveillance of ADV-gI is routinely performed. However, the prevalence of ADV causing different types of reproductive failure in gilts has never been investigated in Thailand. In general, PPV antigen can be detected in the sow's serum after infection up to 10 days (Miao et al. 2009). PPV antibody titer varies between 1:32 and 1:512 after vaccination. However, it may reach 1:40,960 within 19 days after challenging with field-strained PPV (Józwik et al. 2009). A high level of PPV antibody titer is commonly observed in both gilts and sows under field conditions. This is unlikely to be the result of PPV vaccination. Instead, it is associated with herd size, parity number, and reused of storage open vials vaccine (Oravainen et al. 2005). A study on the seroprevalence of high PPV antibody titer in replacement gilts in association with PRRSV and ADV may be important for investigation to understand the causes of reproductive failure in gilts raised in Thai swine herds (Tummaruk et al. 2009a). The objective of the present study was to investigate the seroprevalence of viruses causing reproductive disorders (PRRSV, ADV, and PPV) from different groups of pigs in commercial swine herds in Thailand with special emphasis on replacement gilts and gilts culled due to reproductive failures.

Materials and methods

Animals and blood samples

In the first part, herd monitoring data were collected from five commercial swine herds (A, B, C, D, and E) in Thailand between 2004 and 2007. The data totally included 7,030 pigs [764 boars, 3,364 gilts, 1,613 sows, 646 nursery pigs (4–9 weeks of age) and 643 fatteners (10–26 weeks of age)]. In general, the serological survey on PRRSV was done on a monthly basis in replacement gilts, and once or twice a year in the others. The serological survey for ADV was performed once a year in all pig groups. Both PRRSV and ADV-gI protein were examined in standardized laboratories in Thailand [most (except herd E) were done at the Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University]. In the laboratories, PRRSV antibody was determined using HerdChek® PRRSV antibody test kit 2XR (IDEXX Laboratories, Inc., USA), while ADV-gI protein was examined using HerdChek® Anti-PRV gpI test kit (IDEXX Laboratories, Inc., USA). In herd E, PRRSV antibody was monitored using *HIPRA* PRRSV antibody test kit (*HIPRA* Laboratories, Inc., Spain; see below). In the second part, 200 blood samples (40 gilts per herd) were randomly collected from the jugular vein of healthy replacement gilts (244.7±5.8 days of age) at the same period (April to May 2005). The blood samples were collected from three groups of gilts, i.e., before acclimatization (n=50), after acclimatization (n=50) and mid-period of gestation (68.8±1.4 days, means±SEM) (n=100). In the last part, blood samples, genital organs, and reproductive data were collected from 166 slaughtered gilts from May 2005 to October 2008. The samples were kept on ice in the closed containers and transported to the laboratory within 24 h after culling. Data including gilt's identity, birth date, herd entry date, insemination date, culling date, body weight at culling, and reason for culling were collected from each herd. Age at first insemination and age at culling were calculated. Average daily gain (ADG) from birth to culling was calculated: ADG (grams per day)=(BW at culling−1.5/age at culling)×1,000 (Tummaruk et al. 2009b). The ADG was calculated to partially determine the health status of the gilts during their growing period. Culling reasons were classified into four groups, i.e., abortion, anestrus, repeated breeding, and abnormal vaginal discharge. Data relevant to gross morphological findings were presented in our previous study (Tummaruk et al. 2009a). In the second and the last parts, all serum samples were analyzed at the Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University (see below).

Herd management

In the present study, the number of sows on production was 3,200, 1,700, 2,700, 3,500, and 900 sows in herd A, B, C, D, and E, respectively. The gilts entered the herd at a body weight of 92.2±1.1 kg (164.2±1.7 days of age) and they were sent to the breeding house at a body weight of 130.3±2.0 kg (218.9±2.7 days of age). In the gilt pools, the gilts were kept in a pen with a group size of 6 to 15 gilts/pen with space allowance of 1.5 to 2 m^2/gilt. Water was ad libitum provided from water nipples. The feed (a corn–soybean–fish base, 16–18% CP, 3,000–3,400 kcal/kg ME, 0.85–1.00% lysine) was provided about 3 kg/day/head. In general, the gilts were vaccinated against FMDV, CSFV, ADV, and PPV between 22 and 30 weeks of age. Apart from these, vaccination in herd E also included PRRSV, atrophic rhinitis, mycoplasmosis, and *Actinobacillosis*

pleuropneumoniae. In most cases, the weaned sows selected for culling were taken to acclimatize the replacement gilts for about 4 weeks with a ratio of one sow per six to ten gilts; and were rotated on a weekly basis. After acclimatization, these sows were removed from the herds. The acclimatization program was applied in the replacement gilts at 22–28 weeks of age in order to naturally immunize the gilts via the weaned sows. Using this acclimatization process, the replacement gilts were exposed to many types of viral antigens circulating within the herds (e.g., field-strained PRRSV and enterovirus) before sending to the breeding houses. In general, it was recommended to breed the replacement gilts at 32 weeks of age onwards with a body weight of at least 130 kg at the second or later observed estrus. The mating technique for all herds was performed by artificial insemination.

Serological analyses

The blood samples were left at room temperature to clot, then the sera were obtained and kept at −20°C for further serological analyses. Antibody against PRRSV in most herds (except herd E) was determined using HerdChek® PRRSV antibody test kit 2XR (IDEXX Laboratories, Inc., USA). The analysis was performed according to the manufacturer's instructions. Briefly, positive and negative controls were carried in the same plate as the sample. The serum sample/positive control (*S*/*P*) ratio was calculated. The *S*/*P* ratio below 0.4 indicated that the sample had no PRRSV antibody (negative), while *S*/*P* ratio ≥0.4 indicated that the sample was positive to PRRSV. In herd E, in the first part of the study, PRRSV antibody was examined using *HIPRA* PRRSV antibody test kit (*HIPRA* Laboratories, Inc., Spain). The cut-off value of the positive samples was set at >20 percentage relative index. Antibody against ADV-gI protein in all herds was determined using HerdChek® Anti-PRV gpI test kit (IDEXX Laboratories, Inc., USA). The procedures followed the kit's instructions. The antibody against PPV was determined by means of haemagglutination inhibition (HI) test. Briefly, 0.2 ml of serum was incubated at 56°C for 30 min and mixed with 0.6 ml of 25% Kaolin suspension in phosphate buffer solution (PBS). The samples were left at room temperature for 20 min, were centrifuged and were mixed with 0.1 ml of 50% guinea pig red blood cells in PBS, then were left at room temperature for 1 h. Diluents were added into microplate and mixed with 50 μl of serum samples. Serial dilutions (the samples were diluted for 1:2 each time) were carried out on the microplate using a multichannel micropipette for 12 dilutions (1:4 to 1:4,096). Positive and negative controls were also included in all plates. A 25 μl of PPV 8 hemagglutination unit was added to all channels with 0.6% guinea pig red blood cells and was left at room temperature for 60–90 min or until the precipitation was observed. A PPV antibody titer of <1:8 indicated no seroconversion, 1:16 to 1:512 indicated intermediate seroconversion and >1:512 indicated high level antibody (Oravainen et al. 2005). Since all the samples tested for PPV were positive, the antibody titer was divided into two groups, i.e., low (≤1:512) and high (>1:512). All serological examinations, in the second and last parts of the study, were carried out in the same laboratory (Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand).

Statistical analyses

The statistical analysis was performed using SAS Version 9.0 (SAS Inst. Inc., Cary, NC., USA.). Continuous data were presented as means±SEM and categorical data were expressed as percentage. In the first study, the percentage of pigs which were seropositive to PRRSV, ADV-gI protein, and PPV (titer >1:512) were obtained by using frequency analysis ($r \times k$ contingency table). The proportional data were compared among herds (five herds), years (2004–2007), and age groups of pigs (nursery, fattener, gilt, sow, and boar) by logistic regression using GENMOD procedure of SAS. In the second study, the replacement gilts were classified into three groups (i.e., before acclimatization, after acclimatization, and mid-period of gestation). The percentage of pigs which were seropositive to PRRSV, ADV-gI protein, and PPV were compared among groups by Chi-squares test. In the last study, the gilts were classified according to the reasons for culling. The percentage of pigs which were seropositive to PRRSV, ADV-gI protein, and PPV were compared by Chi-squares test. Continuous data including age at culling (days), body weight at culling (kilogram), ADG (grams per day), age at first mating (day) and number of ovulation (number of corpora lutea) were analyzed by using general linear model procedure. Reasons for culling were included in the statistical models as an independent variable. Least-squares means were obtained from the statistical models and were compared using Tukey–Kramer adjustment. Values of $P<0.05$ were considered statistically significant.

Results

Herds monitoring data

Herds monitoring data revealed that all herds had been infected with PRRSV for more than four years. The overall percentage of PRRSV-positive pigs was 79.3% (4,492/5,664 pigs). The percentage of PRRSV-positive pigs differed significantly among years and herds. The percentage of PRRSV-seropositive pigs was 64.8%, 74.8%, 83.8%,

and 87.7% in 2004, 2005, 2006, and 2007, respectively. The prevalence of PRRSV was significantly increased year after year from 2004 to 2007 ($P<0.001$). The percentage of PRRSV-seropositive pigs was 81.7%, 67.9%, 60.6%, 80.9%, and 79.3% in herds A, B, C, D, and E, respectively. Herd A, D, and E had a higher percentage of PRRSV-positive pigs than herd B ($P<0.001$) and C ($P<0.001$). The prevalence of PRRSV was not significantly different among herds A, D, and E ($P>0.05$). The prevalence of PRRSV was higher in fatteners (84.1%), gilts (82.6%), sows (82.0%), and boars (79.4%) than in nursery pigs (48.4%; $P<0.001$; Table 1).

The percentage of ADV-seropositive pigs from all herds was 5.3% (70/1,332 pigs). The percentage of ADV-seropositive pigs was 17.8%, 5.9%, 0.8%, 0.0%, and 2.2% in herds A to E, respectively ($P<0.001$). Herd A had a higher prevalence of ADV than herd B ($P<0.001$), C ($P=0.001$), D ($P<0.001$), and E ($P<0.001$). Herd B had a higher prevalence of ADV than herd C ($P=0.052$), D ($P<0.001$), and E ($P=0.016$). The prevalence of ADV was higher in sows (11.9%), boars (4.6%), and nursery pigs (3.2%) than in gilts (0.0%) and fatteners (0.9%; $P<0.001$; Table 1). Across the herds, the prevalence of ADV also varied among years. The prevalence of ADV was 3.8%, 3.4%, 8.5%, and 2.3% from 2004 to 2007, respectively ($P<0.001$). The prevalence of ADV in 2006 was higher than in 2004 ($P=0.008$), 2005 ($P=0.005$), and 2007 ($P=0.009$).

Replacement gilts

On average, the gilts were first mated at 242.7±2.5 days of age (range 212–348 days); the ADG from birth to first mating was 588.6±5.9 g/day (range 485.6–434.4 g/day). Across the herds, 87.5% (175/200) of the gilts had antibody titer against PRRSV. The *S*/*P* ratio of the PRRSV-seropositive gilts varied from 0.428 to 3.673. The percentage of PRRSV-seropositive gilts before and after acclimatization were 84.0% and 92.0%, respectively ($P=0.218$). The percentage of PRRSV-seropositive gilts was 85%, 95%, 100%, 55%, and 100% in herds A, B, C, D, and E, respectively. In the pregnant gilts, the *S*/*P* ratio of PRRSV varied from 0.03 to 3.7; 87.0% of them were PRRSV seropositive.

The antibody titer against ADV was found 4.0% from all gilts (8/200). Of the ADV-seropositive gilts, two out of eight were observed before acclimatization, while the rest was observed after acclimatization (during pregnancy). However, the ADV-positive gilts were found only in herd A.

All of the replacement and pregnant gilts were PPV seropositive with a titer of ≥1:128. Of these gilts, 99.0% had high PPV antibody titer (>1:512) and 97.0% had very high PPV titer (≥1:4,096).

Culled gilts

The gilts were culled at 313.1±3.6 days of age (range 211–504 days) at a body weight of 143.7±1.8 kg (range 92.0–205.5 kg). Reproductive data and reasons for culling of them are presented in Table 2. The ADG of the gilts from birth to culling was 461.3±7.0 g/day (range 197.0–689.0 g/day). The age at first mating was 265.5±3.6 days (range 204–347 days). The number of ovulations was 15.6±0.4 ova per gilt (range 2–25 ova).

Number and percentage of the gilts that were positive to PRRSV, ADV, and PPV are presented in Table 3. The *S*/*P* ratio of PRRSV-seropositive gilts ranged from 0.41 to 2.43. The number of PRRSV-seropositive gilts was lower in those culled due to abnormal vaginal discharge than those culled from anestrus ($P<0.05$). The incidence of ADV was higher in the gilts culled due to abortion and repeated breeding than those culled due to anestrus and abnormal vaginal discharge ($P<0.05$) (Table 3). High PPV titer was found in the gilts culled due to abnormal vaginal discharge more than the others ($P<0.05$; Table 3). PPV antibody titer ranged from 1:32 to 1:32,768. It was found that 86.0% of the gilts had PPV antibody titer of >1:512. Besides, 72% of them had PPV antibody titer of ≥1:4,096. Of all the culled gilts, 75.5% of them were exposed to at least two viruses, 18.9% of them were exposed to all the three viruses and 45.9% of them were exposed to both PRRSV and PPV (Table 4).

Table 1 Percentage of pigs which were seropositive to Aujeszky's disease virus (ADV) and porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRSV) in different groups of pigs in commercial herds in Thailand during 2004–2007

Group of pigs	Percentage of seropositive pigs	
	ADV	PRRSV
Nursery	3.2 (5/158)[ab]	48.4 (235/486)[a]
Fattener	0.9 (3/341)[b]	84.1 (254/302)[b]
Gilt	0 (0/178)[b]	82.6 (2,616/3,168)[b]
Sow	11.9 (52/436)[c]	82.0 (955/1,164)[b]
Boar	4.6 (10/219)[a]	79.4 (432/544)[b]
All	5.3 (70/1,332)	79.3 (4,492/5,664)

The parenthesized figures are the number of tested positive/number of the tested sample

[a,b,c] Different letters within column differed significantly ($P<0.05$)

Discussion

The present study provided information concerning with antibody titers against the selected reproductive diseases in the pigs raised in Thailand with special emphasis on

Table 2 Age at culling (days), body weight at culling (kilogram), average daily gain from birth to culling (ADG; grams per day), age at first mating (AFM; days) and number of ovulation in gilts by culling reasons

Culling reason	*N*	Age at culling	Body weight	ADG	AFM	Ovulation
Abortion	16	312.3±7.6[ab]	153.2±5.2[ab]	489.5±20.9[a]	260.2±8.0[a]	16.2±0.9[a]
		(252–367)	(116–193)	(375–673)	(204–302)	(10–21)
Anestrus	85	308.9±4.9[b]	139.4±2.5[b]	455.8±10.8[a]	–	16.1±0.7[a]
		(211–504)	(95–198)	(197–689)		(5–25)
Repeated breeding	26	341.6±11.6[a]	160.0±4.0[a]	470.9±17.5[a]	264.5±6.5[a]	15.2±1.0[a]
		(274–479)	(117–205)	(283–661)	(224–347)	(2–22)
Abnormal vaginal discharge	39	303.5±6.0[b]	138.6±3.2[b]	455.5±11.3[a]	269.9±4.8[a]	15.0±0.7[a]
		(240–405)	(92–173)	(342–625)	(227–323)	(4–20)
Total	166	313.1±3.6	143.7±1.8	461.3±7.0	265.5±3.6	15.6±0.4
		(211–504)	(92–205)	(197–689)	(204–347)	(2–25)

Numbers in parenthesis are range of the data

[a,b] Different superscripts within column differed significantly ($P<0.05$)

replacement gilts. It was found that most of the replacement gilts were exposed to PRRSV (84%), PPV (97%), and ADV (4%) before entering the breeding houses. Furthermore, up to 75.5% of the culled gilts were exposed to at least two viruses, and almost 20% of them were exposed to all the three selected viruses. The data in the culled gilts indicated that they had a relatively delayed age at first mating (265.5 days) and low ADG (461.3 gram/day). The gilts with a poor growth performance, as well as those with a delayed age at first mating might have health problems and/or had exposed to extremely hot and humid climates during their growing periods. Tummaruk et al. (2009b) demonstrated that the replacement gilts reared under tropical climate attained puberty at approximately 200 days of age, which is about 2 weeks later than those in Europe and North America (Karlbom 1982; Patterson et al. 2010). Furthermore, it has been demonstrated that the gilts with a superior ADG attained puberty earlier than those with inferior ADG (Tummaruk et al. 2009b). These data indicated that the health status of the gilts might, partially, influence their reproductive functions and subsequent reproductive performance.

The gilts in all herds, in this study, had a high PPV antibody titer. Although PPV vaccination was applied in every herd, such high a level of the antibody titer is unlikely to be the result of the vaccination. It is well established that PPV caused embryonic and fetal mortality in pregnant gilts and sows. The antibody against PPV could be detected as early as 5 days after live-virus exposure and could be persistent for years (Mengeling et al. 2000; Józwik et al. 2009). PPV has been recognized as an enzootic disease in most swine herds (Oravainen et al. 2005). Likewise, the present results indicated that PPV was an enzootic disease in all of the selected herds. Furthermore, the present study indicated that replacement gilts were commonly exposed to PPV rather early in their lives. It has been shown that the pigs transmitted PPV for about 2 weeks after an exposure, and the pen in which they were kept remained infectious for at least 4 months (Mengeling et al.

Table 3 Number and percentage of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus (ADV), and porcine parvovirus (PPV) seropositive culled gilts

Culling reason	*N*	PRRSV	ADV	PPV[a]
Abortion	16	13 (81%)[bc]	8 (50%)[bc]	12 (75%)[b]
Anestrus	85	65 (76%)[b]	10 (12%)[d]	70 (85%)[bc]
Repeated breeding	26	21 (81%)[bc]	16 (62%)[c]	21 (81%)[b]
Abnormal vaginal discharge	39	23 (59%)[c]	13 (33%)[c]	34 (97%)[c]
Total	166	122 (73%)	47 (28%)	137 (86%)[e]

[a] Number of gilts with titer >1:512

[b,c,d] Different superscripts within column differed significantly ($P<0.05$)

[e] Seven missing values

Table 4 Number and percentage of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus (ADV) gI and porcine parvovirus (PPV)-seropositive culled gilts ($n=159$)

PPV[a]	PRRSV	ADV	Number	Percentage
Negative	Negative	Negative	5	3.1
Negative	Positive	Negative	11	6.9
Negative	Positive	Positive	6	3.8
Positive	Negative	Negative	23	14.5
Positive	Negative	Positive	11	6.9
Positive	Positive	Negative	73	45.9
Positive	Positive	Positive	30	18.9

[a] Gilts are defined as high antibody titer (positive) when the titer >1:512

2000). Since passive immunity against PPV declined around 22 weeks of age (Too and Love 1985), the gilts might be exposed to the virus during the beginning of the acclimatization period, in most cases, before the first PPV vaccination. This indicated by the fact that, in the second part of the present study, most of the gilts already had high PPV antibody titer before acclimatization. In addition, the genetic variation of PPV was reported in many recent studies (Zimmermann et al. 2006; Józwik et al. 2009; Miao et al. 2009). The PPV field isolate in Germany was genetically different from the reference and vaccine strain (Zimmermann et al. 2006). The phylogenetic analyses of PPV indicated that at least two genotypes have been defined; their antigenicity was also different. The genetic variation of PPV caused a high titer against PPV in gilts and sows although vaccination had been performed (Józwik et al. 2009; Miao et al. 2009). To our knowledge, genetic variation on PPV has never been reported in Asia. However, most of the pigs utilized as the parentstock in Thai swine industry were regularly imported from European countries. Therefore, the genetic diversity of PPV in Thai swine herds might have occurred. In addition, if the immunity against PPV of gilts and sows could not be properly developed, reproductive failures, e.g., repeated breeding and abortion, could occur. Recent data in Thailand indicated that the percentage of mummified fetus in the gilts' litter was relatively high (3.1%) compared to what was reported in the literature (Tummaruk et al. 2010). We suggest that PPV should be properly controlled by vaccinating the replacement gilts twice before mating, and every 4–6 months in sows. Furthermore, careful herd monitoring on PPV should be performed regularly.

In the present study, the replacement gilts in all herds were exposed to PRRSV before, during, and after acclimatization as indicated by the seroconversion both in non-vaccinated and vaccinated herds. This signified that the replacement gilts were an important source of introducing PRRSV into the breeding herds. However, only antibody titer (*S*/*P* ratio) might not be a good indicator for the existence of PRRSV in tissues or blood circulation of the pigs (Thanawongnuwech and Suradhat 2010; Olanratmanee et al. 2011). Olanratmanee et al. (2011) demonstrated that the virus could be found in the uterine tissue of the gilts with either high or low antibody titer. In the present study PRRSV antibody titer differed considerably among the herds. The proportion of PRRSV-seronegative gilts in herd D was higher than the others. The reason might be due to genetic variation of PRRSV among the herds. Furthermore, PRRS modified live-virus vaccine has also been performed in herd E. Since the antibody formation of PRRSV was greatly affected by genetic variation and amino acid sequence of PRRSV (Kim et al. 2009); therefore, only antibody titers may not be enough to examine the PRRSV circulation within the herds. Nevertheless, the antibody titer of PRRSV, in many PRRSV non-vaccinating herds in Thailand, was intensively examined in replacement gilts for several times prior to being introduced to the breeding houses. In some breeding herds, PRRS modified live-virus vaccine was used in the replacement gilts to control PRRSV (Cho and Dee 2006). However, the use of PRRS modified live-virus vaccine should be carefully considered due to cross-protection among different strains of PRRSV still is controversial; the shedding of virus from vaccinated pigs was commonly observed during the first few weeks after vaccination (Alexopoulos et al. 2005; Scortti et al. 2006; Kim et al. 2009; Thanawongnuwech and Suradhat 2010). Furthermore, in some cases, co-infection of PRRSV and PPV and/or ADV might possibly occur in the replacement gilts. This may cause a more complicated situation and lead to inferior subsequent reproductive performance in the gilts, because PRRSV has been regarded as an immune-suppressive pathogen (Thanawongnuwech and Suradhat 2010). Recently, Olanratmanee et al. (2011) demonstrated that the PRRSV antigen could remain in the female reproductive tract of the replacement gilts for several months (up to 11 months of age). In this case, the postponement of first mating in gilts should be considered. These findings indicated that the health status of the replacement gilts was an important issue which should be considered before first mating decision.

In the present study, herd C and D could have either negative or low incidence of ADV, while herd B and E obviously were ADV positive. However, no ADV-positive gilt was introduced into the herds during the study period. In herd A, the introduction of ADV-positive gilts was still observed. This might be due to the fact that the replacement gilts were produced within the ADV-positive herd. Therefore, the elimination program for ADV in this herd should be revised. Although the prevalence of ADV was relatively low, the circulation of the virus was still observed in three out of five herds. In addition, to our knowledge, ADV has never been found separately in the culled gilts in earlier studies. The present study has been the first report on the presence of ADV in the culled replacement gilts. In the last part of the present study, it was found that the prevalence of ADV-seropositive gilts was relatively high. This indicated that natural infection with ADV among gilts may partially result in reproductive failures and may lead to culling of the gilts. The reproductive disturbance that has previously connected with ADV infection included abortion and repeated breeding (Mengeling et al. 1997). However, in the present study, ADV was also found in the gilts culled due to anestrus and abnormal vaginal discharge.

In conclusion, most of the replacement gilts were exposed to PRRSV (84%), PPV (97%), and ADV (4%) before entering the breeding house. PPV was an enzootic disease in all of the selected herds; the replacement gilts

were commonly exposed to PPV rather early in their lives. Replacement gilts were an important source of introducing PRRSV into the breeding herds. The prevalence of ADV was higher in gilts culled due to reproductive disturbance than in healthy gilts. Immunization of replacement gilts against PRRSV and PPV, along with the elimination of ADV was the important issue which should be addressed in the swine breeding herds in Thailand.

Acknowledgments The financial support for the present study was provided by Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund 2010, Chulalongkorn University and The National Research Council of Thailand. We would also like to thank Chula Unisearch, Chulalongkorn University and Dr. Atthaporn Roongsitthichai for coordinating language edition.

References

Alexopoulos, C., Kritas, S.K., Kyriakis, C.S., Tzika E., and Kyriakis, S.C., 2005. Sow performance in an epidemically porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)-infected farm after sow vaccination with an attenuated PRRS vaccine, Veterinary Microbiology, 111, 151–157.

Cho, J.G. and Dee, S.A., 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Theriogenology, 66, 655–662.

Józwik, A., Manteufel, J., Selbitz H.-J. and Truyen, U., 2009. Vaccination against porcine parvovirus protects against disease, but does not prevent infection and virus shedding after challenge infection with a heterologous virus strain, Journal of General Virology, 90, 2437–2441.

Karlbom, I., 1982. Attainment of puberty in female pigs: Influence of boar stimulation, Animal Reproduction Science, 4, 313-319.

Kim, H.K., Yang, J.S., Moon, H.J., Park, S.J., Luo, Y., Lee, C.S., Song, D.S., Kang, B.K., Ann, S.K., Jun, C.H. and Park, B.K., 2009. Genetic analysis of ORF5 of recent Korean porcine reproductive and respiratory syndrome viruses (PRRSVs) in viremic sera collected from MLV-vaccinating or non-vaccinating farms, Journal of Veterinary Science, 10, 121-130.

López-Soria, S., Maldonado, J., Riera, P., Nofrarías, M., Espinal, A., Valero, O., Blanchard, P., Jestin, A., Casal, J., Domongo, M., Artigas C. and Segalés, J., 2010. Selected swine viral pathogens in indoor pigs in Spain. Seroprevalence and farm-level characteristics, Transboundary and Emerging Diseases, 57, 171–179.

Maldonado, J., Segalés, J., Martínez-Puig, D., Calsamiglia, M., Riera, P., Domingo M. and Artigas, C., 2005. Identification of viral pathogens in aborted fetuses and stillborn piglets from cases of swine reproductive failure in Spain, The Veterinary Journal, 169, 454–456.

Mengeling, W.L., Brockmeier, S.L., Lager K.M. and Vorwald, A.C., 1997. The role of biotechnologically engineered vaccines and diagnostics in pseudorabies (Aujeszky's Disease) eradication strategies, Veterinary Microbiology, 55, 49–60.

Mengeling, W.L., Lager K.M. and Vorwald, A.C., 2000. The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance, Animal Reproduction Science, 60-61, 199–210.

Miao, L.F., Zhang, C.F., Chen C.M. and Cui, S.J., 2009. Real-time PCR to detect and analyze virulent PPV loads in artificially challenged sows and their fetuses, Veterinary Microbiology, 138, 145–149.

Olanratmanee, E.-O., Wangnaitham,' S., Thanawongnuwech,' R., Kunavongkrit A. and Tummaruk, P., 2011. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen positive uterine tissues in gilts culled due to reproductive disturbance in Thailand, Tropical Animal Health and Production 43, 451–457.

Opriessnig, T., Meng X.-J. and Halbur, P., 2007. Porcine circovirus type 2-associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention stratigies, Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 19, 591–615.

Oravainen, J., Heinonen, M., Tast, A., Virolainen, J. and Peltoniemi, O., 2005. High porcine parvovirus antibodies in sow herds: prevalence and associated factors, Reproduction in Domestic Animal, 40, 57–61.

Oraveerakul, K., Punarriwatana, D., Luengyosluechakul, S., Tantasuparuk W., and Kunavongkrit, A., 1995. The seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus among swine breeding farms in the central and north-eastern part of Thailand, The Thai Journal of Veterinary Medicine, 25, 233–240.

Patterson, J.L., Beltranena, E. and Foxcroft, G.R., 2010. The effect of gilt age at first estrus and breeding on third estrus on sow body weight changes and long-term reproductive performance, Journal of Animal Science, 88, 2500-2513.

Scortti, M., Prieto, C., Martínez-Lobo, F.J., Simarro, I., and Castro, J. M., 2006. Effect of two commercial European modified-live vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pregnant gilts, The Veterinary Journal, 172, 506–514.

Thanawongnuwech, R. and Suradhat, S., 2010. Taming PRRSV: Revisiting the control strategies and vaccine design, Virus Research, 154, 133–140.

Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Tatsanakit, A. and Damrongwatanapokin, S., 2004. Genetics and geographical variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Thailand, Veterinary Microbiology, 101, 9–21.

Too, H.L. and Love, R.J., 1985. Persistence of passive immunity to porcine parvovirus, Australian Veterinary Journal, 62, 282–284.

Tummaruk, P., Kesdangsakonwut, S. and Kunavongkrit, A., 2009a. Relationships among specific reason for culling, reproductive data and gross-morphology of the genital tracts in gilts culled due to reproductive failure in Thailand, Theriogenology, 71, 369–375.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A., 2009b. The association between growth rate, body weight, backfat thickness and age at first observed oestrus in crossbred Landrace × Yorkshire gilts, Animal Reproduction Science, 110, 108–122.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A., 2010. Seasonal influence on the litter size at birth of pig are more pronounced in the gilt than sow litter, Journal of Agricultural Science, 148, 421–432.

Wongwatcharadumrong, R. and Platt, K.B., 1995. Preliminary survey of pseudorabies virus prevalence in swine herds of Thailand and comparison of the relative efficacy of gI indirect and blocking ELISA, Tropical Animal Health and Production, 27, 83–88.

Zimmermann, P., Ritzmann, M., Selbitz, H.-J., Heinritzi, K. and Truyen, U., 2006. VP1-sequence of German porcine parvovirus isolates define two genetic lineages, Journal of General Virology, 87, 295–301.

The Seroprevalence of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in Vaccinated and Non-vaccinated herds: a Retrospective Study

P. Tummaruk[1*], R. Tantilertcharoen[2]

[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, [2]Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330 [*]Corresponding author: Padet.T@chula.ac.th

Keywords: *pig, PRRS, reproduction, seroprevalence*

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is caused by an envelope, single-stranded positive-sense RNA virus known as PRRS virus (PRRSV) (1). The disease was observed first time in the United States of America (USA) since the late 1980s (2) and was found in Europe since 1990 (3). In Thailand, PRRSV sero-positive pig has been observed as early as 1989 (4). In 1995, the seroprevalence of PRRS was, on average, 64% with a variation among the herds from 20% to 90% (5). In general, PRRSV is classified according to their genotype as North American (US) and European (EU) strains (1, 4). In Thailand, both US and EU strains have been isolated (4). PRRSV causes many signs of reproductive failure in gilts and sow, such as infertility, abortion, death of sows and pre-weaning mortality (1, 6). Under field conditions, the infected sows develop a protective immunity and usually produce normal litters after rebreeding although the virus still circulate within the herds (7). The duration of the protective immunity is in fact unknown, but at least 604 days post infections have been proposed (7). Larger et al. (8) demonstrated that homologous PRRSV protective immunity was produced within 90 days post exposure and the virus-specific antibody was detected for at least 110 days post exposure in adult pig. Up to date, intensive acclimatization and/or vaccination in replacement gilts are commonly practiced in most breeding herds. However, high variability of the antibody titer against PRRS of the gilts is still observed both within and between herds. The objective of the present study was to retrospectively investigate the seroprevalence of PRRS antibody in pigs in 5 commercial herds in Thailand during 2004-2007. Furthermore, the seroprevalence of PRRSV between herds that vaccinated the gilts and sows with modified live virus (MLV) vaccine and those that performed intensive acclimatization in replacement gilts were compared.

Materials and Methods

Animals and data: The study was conducted in 5 commercial swine herds (A, B, C, D and E) in Thailand during January 2004 to December 2007. A total of 5,664 blood samples from 544 boars, 1,164 sows, 3,168 replacement gilts, 486 nursery pigs and 302 fattener pigs were collected and determined for PRRSV-specific antibody titer.

Herd location, management and vaccination: The herds in the present study are located in the eastern (A, E), middle (B), western (C) and northeastern (D) of Thailand between latitude 13° and 17°N and between longitude 100° and 104°E. All herds included in the present study were breeding herd and the sows on production numbering about 900-3,500 sows/herd. Two herds (A and D) produced the replacement gilts within the herds, while 3 herds (B, C, E) bought the replacement gilts from other breeders. In general, the gilts entered the gilt pools at about 22-24 wk of age at 80-100 kg body weight (BW). Water was provided to *ad lib* from water nipples. The feed were provided twice a day (about 3 kg/day). The gilts were kept in a pen with a group size of between 6-15 gilts/pen with a space allowance of 1.5-2.0 m2/gilt and pregnant gilts and sows were kept in individual stall. Lactating sows were kept in individual pens. In most cases, the herds breed the replacement at ≥32 week of age with a BW of ≥130 kg at the second or later observed oestrus. Boar contact and estrous detection was applied to the gilts between 24-35 wk of age. The health of the herds was controlled by the herd veterinarian. In all herds, removal sows were taken to acclimatize the gilts for about 4 weeks period with a ratio of 1 sow per 6-10 gilts. The acclimatized sows were rotated weekly. Before breeding, the gilts were vaccinated against Foot-and-mouth disease (FMD), Swine fever (SF), Aujeszky's disease (AD) and Porcine Parvo virus (PPV) vaccine during 22-30 week of age. In herd B, the gilts, sows and nursery pigs were also vaccinated against US-strain of MLV vaccine (Ingelvac® PRRS™ MLV, Boehringer-Ingelheim Vetmedica Inc., Missouri, USA), and in herd C and E, the EU-strain of MLV vaccine (AMERVAC®, Lab. Hipra, Spain) were used.

Serological test: Antibody of PRRS virus was tested by using HerdCheck PRRS virus antibody test kit 2XR® (IDEXX Lab., Inc., USA) (herd A, B, C and D). Briefly, the positive and negative control was also carried in the same plate as the sample. 100 µl of serum samples was added to the testing plated that coated with PRRS antigen and to the normal host cell (NHC) and incubated at room temperature for 30 min. Anti-Porcine: HRPO conjugate was added into the plate 100 µl for each sample and incubated. 100 µl of TMB substrate was added and incubated and then 100 µl of stop solution was added. OD was measured using ELISA reader at 650 nm. The serum sample/positive control (S/P) was calculated. The S/P ratio below 0.4 indicated that the sample had no antibody of PRRSV (negative), while S/P ratio ≥ 0.4 indicated that the sample had antibody of PRRSV (positive).

Statistical analyses: The statistical analyzed was performed using SAS (SAS version 9.0, Cary NC, USA.). Frequency analysis was conducted using PROC FREQ of SAS. The proportional data were analyzed using Chi-squared test. $p<0.05$ were regarded to be statistical significance.

Results and Discussion

Of all 5,664 tested samples, 4,492 pigs (79.3%) had antibody titer against PRRSV. The proportion of PRRS positive pigs were 79.4%, 82.0%, 82.6%, 84.1% and 48.4% in boars, sows, gilts, fattener and nursery pigs, respectively (Figure 1). The proportion of PRRS positive pigs were 81.7%, 67.9%, 60.6%, 80.9% and 79.3% in herds A, B, C, D and E, respectively (p<0.001). The S/P ratios were 1.5±1.1 (range 0-4.5), 1.3±1.2 (range 0-4.9), 1.0±0.9 (range 0-3.7), 1.4±0.9 (range 0-4.3) in herds A, B, C and D, respectively. Across the herds, the proportion of PRRS negative pigs varied among years from 36.6% in 2004 to 25.6%, 15.7% and 11.3% in 2005, 2006 and 2007, respectively (p<0.001). The proportion of PRRS positive boars varied among years from 69.2% in 2004 to 80.0%, 74.1% and 83.3% in 2005, 2006 and 2007, respectively (p=0.03). In the fattener, the proportion of PRRS positive pigs varied from 82.3% to 89.1% among years (p=0.7). The proportion of PRRS positive gilts were 62.1%, 78.6%, 91.5% and 94.4% in 2004, 2005, 2006 and 2007, respectively (p<0.001). The proportion of PRRS positive nursery pigs were 58.2%, 40.8%, 46.5% and 55.0% in 2004, 2005, 2006 and 2007, respectively (p=0.03). Proportion of PRRS positive pigs from 2004 to 2007 in the MLV PRRSV-vaccinated and non-vaccinated herds are demonstrated in Figure 2. Comparing between the PRRSV vaccinated and non-vaccinated herds, the proportion of PRRS positive pig was demonstrated in Figure 2. A higher proportion of PRRS-specific antibodies fattener pig was observed in the PRRSV-non-vaccinated herds than the PRRSV-vaccinated herds (p<0.05) (Fig. 3).

The present study provided descriptive data on the prevalence of PRRSV infection in 5 swine commercial herds in Thailand. The data indicated that the proportion of pigs infected with PRRS differed among herds, years and groups of pigs. The infection was found to be highest in the fattener (84.1%) and lowest in the nursery pigs (48.3%). High proportion of PRRS positive pigs were also observed in replacement gilts (82.6%) and sows (82.0%). Surprisingly, a relatively high prevalence of PRRS was found in the boars (79.4%). These indicate that the PRRSV circulation and re-infection remain relatively high either in vaccinated or in non-vaccinated herds. Boars, sows and replacement gilts seem to be the important reservoir of the virus. Interestingly, the exposure of PRRSV in the fattener pigs tended to be lower the vaccinated than the non-vaccinated herds.

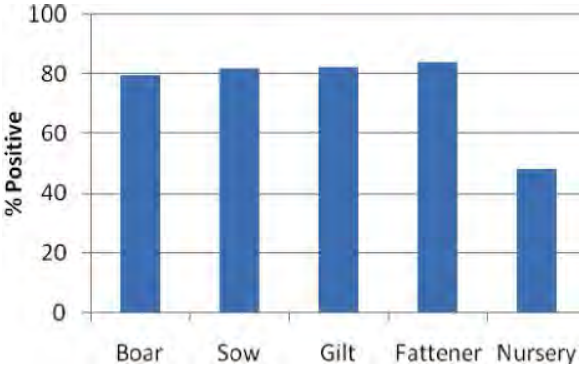


Fig. 1 Percentage of PRRS positive pigs by groups

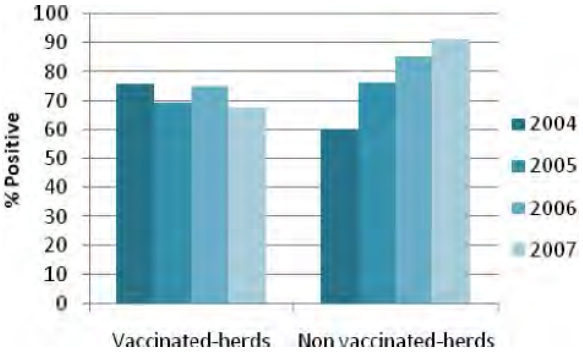


Fig. 2 Proportion of PRRS positive pigs in PRRSV vaccinated and non vaccinated herds

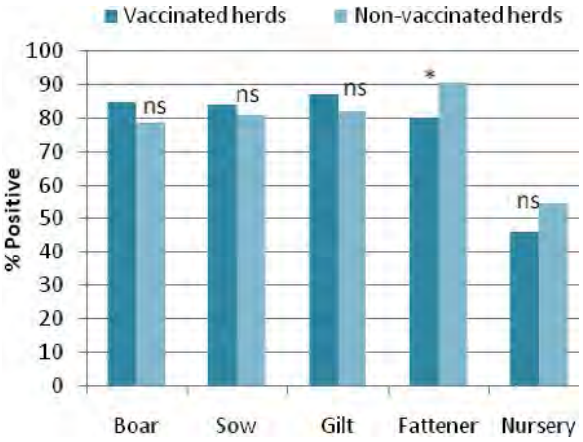


Fig. 3 Proportion of PRRS positive pigs in PRRSV vaccinated and non-vaccinated herds by groups; $^{*}p$<0.05

Acknowledgement

The financial supported was provided by The National Research Council of Thailand.

References

1. Cho and Dee, 2006. Theriogenology. 66: 655-662.
2. Keffaber, 1989. Am. Assoc. Swine Pract. 1: 1-10.
3. Wensvoort et al., 1991. Vet. Q. 13: 121-130.
4. Thanawongnuwech et al., 2004. Vet. Microbiol. 101: 9-21.
5. Ornveerakul, 1995. Thai J. Vet. Med. 25: 233-240.
6. Goldberg et al., 2000. Prev. Vet. Med. 43: 293-302.
7. Lager et al., 1997. Vet. Microbiol. 58: 127-133.
8. Lager et al., 1997. Vet. Microbiol. 58: 113-125.

Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Antigen Detection in the Uterine Tissue of Gilts Correlated to the Antibody Titer

E. Olanratmanee[1*], S. Wangnaitham[2], R. Thanawongnuwech[2], A. Kunavongkrit[1], P. Tummaruk[1]

[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction [2]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330 [*]Corresponding author

Keywords: *immunohistochemistry, pig, PRRS, reproduction, uterus*

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is caused by PRRS virus (PRRSV), a member of Arterivirus, family Arteriviridae (1). In general, the infection of PRRS in gilts and sows is characterized by late term abortion, mummified fetuses, stillborn piglets and low viability piglets at birth (2-4). The antibody titers against PRRSV infection are detected by 7-14 days after the animals are infected and remain for several months before declining (5). Under farm condition, intensive acclimatization and/or vaccination in replacement gilts are commonly practiced in most breeding herds. However, high variability of the antibody titer against PRRSV of the gilts is observed both within and between herds. This problem causes difficulties for the farmer to make decision to mate the gilts. Additional knowledge concerning the antibody titer of PRRS in the replacement gilts in different herds is needed to be investigated. It has been suggested that replacement management of gilts is a major source of introducing new strains of PRRSV into the herd. Our previous study has found that 73% (122/166) of the replacement gilts culled due to reproductive disturbance had been infected with PRRSV. In addition, a higher proportion of seropositive gilts was particularly found in those that were culled due to abortion (81%) and repeat breeding (81%) (6). It is well established that alveolar macrophages as well as macrophages from other tissues are the primary cell type sustaining the in vivo replication of the viruses (7). Using Immunohistochemistry (IHC) for evaluating formalin-fixed tissues, it was found that 66% and 100% of the lung tissue of piglets infected with US and EU stains of PRRS have been observed, respectively (7). An earlier study has demonstrated that 75.0%, 50.0%, 37.5%, 37.5%, 37.5% and 25.0% of IHC positive cells was observed in liver, spleen, tonsil, turbinate bone, pulmonary lymph node and ileum of the infected piglets, respectively (7). To our knowledge, the expression of PRRSV in the uterine tissue of gilts has not been dem onstrated. The objective of the present study was to determine the incidence of PRRSV in the uterine tissue of gilts in relation to the level of antibody titers.

Materials and Methods

Uterine tissues from 50 replacement gilts were collected from three commercial swine herds (A, B and C) in Thailand. All of the gilts were culled due to reproductive disturbance. The culling reasons included anestrus (n=29), vaginal discharge (n=10), repeat breeding (n=5), abortion (n=5) and not being pregnant (n=1). Historical data for all gilts was collected. All herds included in the present study were breeding herds and the sows on production were between 900-3,500 sows/herd. Herd A produced replacement gilts within the herd using their own grand parent (GP) stock, while herds B and C bought the replacement gilts from other breeders. The gilts in all herds were housed in a conventional open housing system facilitated with a water sprinkler and fan. The health of the herds was monitored by the herd veterinarian. In general, the veterinarian gave the recommendation to vaccinate the gilts against foot-and-mouth disease, classical swine fever, Aujeszkyís disease and porcine parvovirus (PPV) at between 22-30 weeks of age. In addition, herd B vaccinated the replacement gilts using US-strain modified-live virus (MLV) vaccine (Ingelvac® PRRS™ MLV, Boehringer-Ingelheim Vetmedica Inc., St. Josept, Missouri, USA), while herd A and C vaccinated the gilts using EU-strain MLV vaccine (AMERVAC®, Lab. Hipra, Girona, Spain). Blood samples were collected from jugular vein of the gilts prior to culling. Serum were obtained and kept at -20°C for analyzing antibody titer of PRRSV. After slaughter, the ovary and uterus were collected, placed on ice and transported to the laboratory within 24 h of culling. Tissue samples were collected from the uterus of the gilts, fixed in 10% neutral buffered formalin for at least 24 h and embedded in paraffin blocks. Immunohistochemistry (IHC) was performed on the uterine tissues of the gilts using the protocol of the lung tissue with some modification (7). A polymer-based non-avidin-biotin technique was applied in the present study. Primary monoclonal antibody SDOW17 (Rural Tech., Inc., USA) diluted 1:1000 was used. Negative control procedures included omission of primary antibody. Known PRRSV-positive lung and lymph node tissues served as positive controls. The sections were interpreted as positive if contained at least 1 positive cell (brown intracytoplasmic staining, Fig. 1). PRRSV antibody was

determined using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay test kit (ELISA, HerdChek® PRRS virus antibody test kit 2XR, IDEXX Lab., Inc., USA). The protocol followed the kit's instructions. The serum sample/positive control (S/P) was calculated. The S/P ratio below 0.4 indicated that the sample had no PRRSV antibody (negative), while S/P ratio ≥ 0.4 indicated that the sample had PRRSV antibody (positive). Statistical analyses were performed using SAS (SAS, 2002). The percentage of positive tissue was compared with the detection of antibody titers against PRRSV by using ELISA (positive and negative) using Fisherís exact test. $p<0.05$ was considered as statistically significant.

Results and Discussion

PRRSV antigens were detected in the cytoplasm of macrophage-like cells in the sub-epithelial connective tissue layers of the endometrium in 28% (14/50) of the gilts. The PRRSV positive cells were observed in the cytoplasm of the macrophages in the endometrium (Figure 1). Of all the gilts, 77.6% (38/49 gilts) were positive to the ELISA test (Table 1). Of the seropositive gilts, 28.9% (11/38) had PRRSV antigen in the uterine tissues, while 18.2% (2/11) of the seronegative gilts had PRRSV antigen in the uterine tissues (p=0.70). Compared to the seronegative gilts, seropositive gilts had a 1.83 (95% confidence interval=0.34-9.89) higher odds for detecting PRRSV antigen in the uterine tissue. Among the seropositive gilts, high level of antibody titer (S/P ratio ≥1.2) was found in 47.4% of the gilts. The incidence of IHC-PRRSV positive staining cells was found in 33.3% of the high antibody titer gilts and in 25.0% of low antibody titer gilts (p=0.72).

The present study demonstrated the present of PRRSV in the uterine tissue of gilts. The site of positive cells was at the subepithelial layer of endometrium. PRRSV infection is a multisystemic disease which is characterized by viremia and subsequent virus distribution and replication in multiple organs (8). In the present study, it was found that gilts that had PRRSV antigen in the uterine tissue were culled at 287 days of age. Most of these gilts have been sent into the breeding herd and might shed the virus to the susceptible pigs in the herd. In the present study, the percentage of gilts culled due to reproductive disturbance that were detected the antibody against PRRSV was in agreement with the earlier study (6). It was not surprise to see both seropositive and seronegative gilts had PRRSV antigen presented in the uterine tissue of the culled gilts since PRRSV antibody titer cannot determine the persistent infection. Although the proportion of IHC-PRRS positive gilts tended to be higher in the gilts that had a high level of S/P ratio, a certain amount of the IHC-PRRSV positive uterine tissue were also observed in the gilts with low S/P ratio and even in the PRRSV seronegative gilts. This imply that the use of antibody titer as a criteria to introduce replacement gilts into the breeding house may not be good enough and remain a risk of introducing IHC-PRRS positive gilts into the herds. It has been demonstrated that the duration of protective immunity against homologous strain of PRRSV may persist for at least 604 days post experimental exposure to the field PRRSV, while the duration of detectable PRRSV-specific antibodies that develop in sows following natural infection is thought to be as short as 4-8 months (9). These findings suggested that replacement gilts must be allowed to expose homologous strain of PRRSV before entering the breeding herds.

Table 1 the number of gilts that were positive to IHC test in relation to the results of ELISA test

	IHC +	IHC -	Total
ELISA +	11	27	38
ELISA -	2	9	11
Total	13	36	49

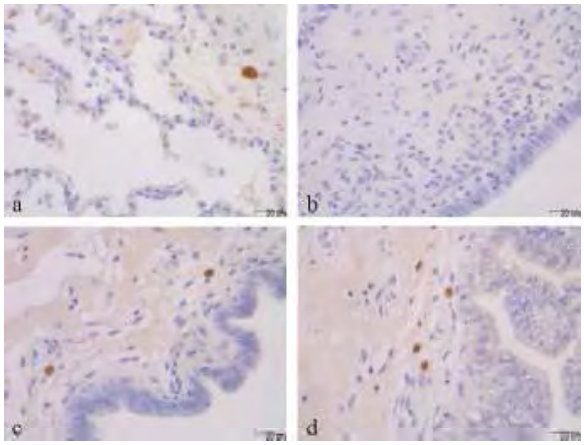


Fig. 1 Demonstration of PRRSV antigen in (a) the positive control (lung tissue), (b) the negative control and (c-d) the uterine tissue of gilts

Acknowledgements

The financial support for the present study was provided by The National Research Council of Thailand. E. Olanratmanee is a grantee of the Royal Golden Jubilee (RGJ) Ph.D. Program, the Thailand Research Fund.

References

1. Meulenberg et al., 1993. Virology 192: 62-72.
2. Done et al., 1996. Br. Vet. J. 152: 153-174.
3. Mengeling et al., 1996. Am. J. Vet. Res. 57(6): 834-839.
4. Chung et al., 1997. Can. J. Vet. Res. 61: 292-298.
5. Murtaugh et al., 2002. Viral Immunol. 15(4): 533-547.
6. Tummaruk and Tantilertcharoen. 2008. Proc. 15th FAVA: 179-180.
7. Laohasittikul et al., 2004. Thai J. Vet. Med. 34(1): 39-48.
8. Thanawongnuwech et al., 1997. J. Vet. Diagn. Invest. 9: 334-337.
9. Lager et al., 1997. Vet. Microbiol. 58: 127-133.

Abortion rate in gilts and sows in porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) sero-positive herds in Thailand

Em-on Olanratmanee[1]*, Roongroje Thanawongnuwech[2],
Annop Kunavongkrit[1], Padet Tummaruk[1]

[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, [2]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

Abstract

PRRSV was discovered in USA since 1987 and currently, veterinarians control PRRSV in swine breeding herds via several types of strategies including acclimatization, housing management, monitoring and vaccination. The present study investigated abortion rate in gilts and sows in 8 selected PRRSV sero-positive swine herds in Thailand. Reproductive data of 192,765 mating records from 67,537 gilts and sows were collected during 2007-2009 from 8 swine herds (A, B, C, D, E, F, G and H) in Thailand. All herds had been infected with PRRSV for over 5 years. PRRSV vaccination was applied regularly (every 3 months) in herd A, irregularly in herd B, and only in replacement gilts in herd C, while the rest were not vaccinated. Abortion rate were compared among the herds using logistic regression. The statistical models included parity, mating month, mating year, herds and interaction between parity and herds. On average, abortion rate was 1.9%, which were varied among herds (2.4%, 0.7%, 2.2%, 1.2%, 2.8%, 0.5%, 1.3% and 2.6% in herds A to H, respectively (P=0.048)). Abortion rate was 2.3%, 1.8%, 1.9% and 2.0% in gilts and sows parity 1, 2-5 and >6, respectively (P<0.01). The results indicated that the impact of PRRSV on abortion rate among swine commercial herds in Thailand were relatively low. This implies that pregnancy failure in pig caused by PRRSV during the past 3 years in these herds could be effectively controlled by several types of management strategies including either vaccination or non-vaccination strategies.

Keywords: Pig, Reproduction, PRRSV

*Corresponding author: email: em_on.o@hotmail.com

Sows mortality in porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) sero-positive herds in Thailand

Em-on Olanratmanee[1]*, Roongroje Thanawongnuwech[2], Annop Kunavongkrit[1], Padet Tummaruk[1]

[1]*Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction;* [2]*Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330*
E-mail: Em_on.o@hotmail.com; Roongroje.t@chula.ac.th; Annop.k@chula.ac.th; Padet.t@chula.ac.th

Introduction

In general, the infection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in gilts and sows cause reproductive signs including of abortion, mummified fetuses, stillborn piglets, low viability piglets at birth, infertility and an increase of sow mortality rate [2, 5, 8]. In practice, PRRSV in breeding herds is controlled by several types of strategies including acclimatization, housing management, monitoring and vaccination [1]. Under field conditions, most (73%) of the replacement gilts are infected with PRRSV [7] and PRRSV antigen in the uterine tissue has been found in 33% of the gilts culled due to reproductive disturbances [6]. In USA, the annual sow mortality account for 5.7% of the breeding females, where 42% of sows are culled annually [3]. The aim of the present study was to investigate the mortality of gilts and sows in selected PRRSV sero-positive herds in Thailand.

Materials and methods

Data from 26,435 culled gilts and sows were collected from 7 swine herds (A, B, C, D, E, F and G) in Thailand during 2007-2009. All herds had been infected with PRRSV for over 5 years. PRRSV vaccination was applied regularly (every 3 months) in herd A, irregularly in herd B, and in replacement gilts in herd C, while the remaining herds were not vaccinated the gilts and sows against PRRSV. Sow mortality rate and culling rate were analyzed by using frequency analysis and logistic regression.

Results

On average, culling rate and mortality rate for the breeding females were 48.5% and 3.4%, respectively. The mortality rate and culling rate for breeding females varied between 1.7-5.4% and 35.9-68.5% among herds (Fig. 1). Mortality of gilts and sows in the selected herds accounted for 6.8% (n=1,789) of the removal sows. Of the removal females (n=26,435), 9,539 females (36%) were removed at parity ≤2. Of these females, 879 females were found dead (9.2%). Of all the dead females, 49% died at parity number ≤2. The percentage of sow mortality by parity was demonstrated in Fig. 2.

Discussion

The results indicated that the mortality of gilts and sows in PRRSV sero-positive herds in Thailand are varied in both PRRSV vaccinated (A-C) and non-vaccinated (D-G) herds. However, the mortality rate of gilts and sows based on the number of sows on production was in acceptable level. It has been demonstrated that at least three litters are required from sows before a positive cash flow could be obtained [4]. In the present study, a relatively high mortality was found in young sows (parity number ≤2). This might reduce the overall herd reproductive performances due to the decrease of sow's longevity. It has been reported that the occurrence of sow mortality in PRRSV positive herds varied between 1-4% and is, in most case, associated with respiratory sings [8].

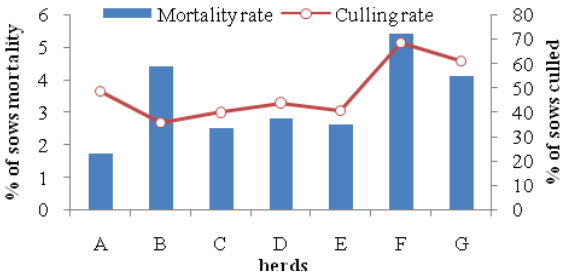


Figure 1 Mortality rate and culling rate of gilts and sows by herds

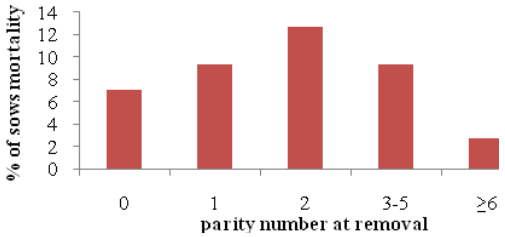


Figure 2 Mortality of gilts and sows by parity number at removal

Acknowledgments: E.-O. Olanratmanee is a grantee of the RGJ Ph.D. Program, the Thailand Research Fund.

References

1. Cho, J.G., Dee, S.A., 2006. Theriogenology 66:655-662.
2. Goldberg et al., 2000. Prev. Vet. Med. 43 : 293-302.
3. Koketsu, Y., 2000. Prev. Vet. Med. 46:249-256.
4. Lucia et al., 2000. Livest. Prod. Sci. 63: 213-222.
5. Mengeling et al. 1996. Am. J. Vet. Res. 57: 834-839.
6. Olanratmanee et al. 2010. Trop. Anim. Health Prod. DOI 10.1007/s11250-010-9713-0.
7. Tummaruk and Tantilertcharoen. 2008. Proc. 15th FAVA. P. 179-180.
8. Zimmerman et al., 2006. Disease of swine 9th edition. p 387-417.

P.236

Antibody titer against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) after modified live PRRSV vaccination

Em-on Olanratmanee; Roongroje Thanawongnuwech; Annop Kunavongkrit; Padet Tummaruk
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) can be detected in the lymphoid tissue of pig up to 8-9 months post infection (1). During this period, the virus can be replicated continuously at a low level and transmitted to susceptible animals via direct contact. In the PRRSV endemic herds, the present of PRRSV subpopulations (susceptible pigs) may lead to reoccurrence of the disease in the herds. Herd closure, gilts acclimatization and mass exposure have been recommended to eliminate the subpopulations (2). The use of vaccination to immunize the pigs has been evaluated, in most cases, at individual level. However, only few studies on the immune response of PRRSV in the infected herd have been evaluated. Earlier study has demonstrated that vaccination of the entire herd (mass vaccination) could reduce persistence and duration of shedding even though the wild type of virus was not eliminated from the pigs (3). However, the successful results are varied among the herds and a limited information on the immune response of PRRS modified live virus (MLV) vaccine is available in pregnant gilts and sows. The present study aims to evaluate the humoral immune response of gilts/sows after mass vaccination of PRRS MLV vaccine in a PRRSV infected herd in Thailand.

Materials and Methods

The present study was conducted between May and September, 2009 in a 1,200-sow inventory swine herd in Thailand, which produced their own replacement gilts. The herd has never been vaccinated the gilts and sows with PRRSV vaccine. An occurrence of abortion in sows was observed in January 2009 and an American strain of PRRSV was detected in serum of aborted sows using reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Gilts/sows were vaccinated against PRRS MLV vaccine (Ingelvac® PRRSTM MLV, Boehringer-Ingelheim, Vetmedica Inc., St. Josept, Missouri, USA) 2 doses 3 weeks apart and booster at 14 week and 3 months. Blood samples were collected from replacement gilts and pregnant gilt/sow (36 samples) one day prior to first vaccination (week 0) and subsequently at 2, 5, 9, 12 and 18 weeks after vaccinations in the same animals. The sera were obtained for viral detection using RT-PCR technique (pooled serum) and analyzing antibodies against PRRSV using ELISA (HerdChek® PRRS virus antibody test kit 2XR, IDEXX Laboratories, Inc., USA). The percentage of sero-positive gilt/sow was compared using logistic regression. The differences of means of the serum sample/positive control (S/P) ratio were compared using pair t-test. $P<0.05$ was considered as statistically significant.

Results and Discussion

It was found that no viral shedding was detected during 2 to 18 weeks post vaccination (Table 1). Before vaccination, 11.1% (4/36) PRRSV susceptible pigs were observed. The percentage of PRRSV subpopulation was reduced to 6.1% within 18 week post vaccination ($P=0.401$). The S/P ratio was slightly increased two weeks post vaccination and significantly decreased at 5 weeks post vaccination (Table 1).

Table 1. *The S/P ratio (means±S.E.M.), the percentage of sero-positive gilts and sows and the viral detection by weeks post vaccination*

weeks	S/P ratio	% positive	RT-PCR
0	1.61 ± 0.19^{ab}	88.89^{a}	Negative
2	1.88 ± 0.16^{a}	94.44^{a}	Negative
5	1.47 ± 0.16^{b}	86.11^{a}	Negative
9	1.32 ± 0.15^{b}	88.89^{a}	Negative
12	1.46 ± 0.17^{b}	85.29^{a}	Negative
18	1.23 ± 0.07^{b}	93.94^{a}	Negative
All	1.50±0.06	89.57	Negative

^{a,b} different letters differ significantly ($P<0.05$)

The present study demonstrated that mass vaccination of PRRSV MLV in pregnant gilts and sows did not cause viral shedding during 2-18 weeks post vaccination and might possibly minimize the number of PRRS subpopulations in the PRRSV infected herds. However, the shedding of PRRSV during 0-2 weeks post vaccination and reproductive performance of pregnant gilts/sows should be evaluated further.

References

1. Wills et al., 2003. J. Clin. Microbiol. 41: 58-62.
2. Cano et al., 2007. Vaccine 25: 4382-4391.
3. Cano et al., 2007. Am. J. Vet. Res. 68: 565-571.

Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in the serum of gilts and sows after modified-live PRRSV vaccination

E. Olanratmanee[1] R. Thanawongnuwech[2] A. Kunavongkrit[3] P. Tummaruk[1]
[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction; [2]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science; [3]The Office of the Commission on Agricultural Resource Education, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand
Keywords: pigs, PRRSV, vaccination

Introduction and objectives

PRRSV infection cause a number of reproductive failures in gilts and sows including abortion, high mummified fetuses, stillborn and weak-born piglets, and increase sow mortality rate [1-3]. The reoccurrence of PRRS in the sow herds mostly depends on the number of subpopulation pigs in the herds especially replacement gilts and old sows. To minimize the subpopulations, herd closure, gilts acclimatization and/or vaccination have been recommended [4]. Earlier studies have shown that the PRRSV modified-live virus (MLV) vaccination can reduce the duration of the viral shedding, although the virus still persist in the pigs [4-6]. However, under filed conditions, the duration of the viral shedding after vaccination varied among herds. The present study investigates the evidence of PRRSV detection in the serum of gilts and sows after PRRS MLV vaccination under field conditions.

Materials and methods

The present study was conducted in a 2,700 sows on production swine herd in Thailand. The gilts and sows were vaccinated against PRRS MLV vaccine (Ingelvac PRRS^{TM} MLV, Boehringer-Ingelheim Vetmedica Inc., St. Josept, Missouri, USA) at Day 0. Blood samples were collected from the jugular vein of gilts and sows at Day 0, 2, 4, 11, 13 and 15 after vaccination (n=6 per group). The serum were obtained and pooled in each group for PRRSV detection by reverse transcription-polymerase chain reaction. The strain of PRRSV was also identified. The percentages of positive sample were compared between first (Day 0, 2 and 4) and second weeks (Day 11, 13 and 15) after vaccination by Fisher's exact test.

Results

PRRSV was detected in all groups (6/6) of the pig during the first week of vaccination (Day 0, 2, 4 after vaccination). In the second week of vaccination, PRRSV was detected in only 33% (2/6) of the pig (Day 13) (P=0.06). The strain of all the PRRSV isolates was identified as NA strain.

Discussion

The present study demonstrated that the PRRSV MLV vaccination may caused viral shedding in both gilts and sows in the first week of vaccination (100%) and this proportion is reduced during the second week of vaccination (33%). This result is in agreement with an earlier study [4] and supports our previous study that viremia may not be observed in gilts and sows during 2-18 weeks post vaccination [6].

Reference

1. Done, S.H., et al., 1996. Br. Vet. J. 152: 153–174.
2. Mengeling, W.L., et al., 1996. Am. J. Vet. Res. 57: 834-839.
3. Chung, W.B., et al., 1997. Can. J. Vet. Res. 61: 292–298.
4. Cano, J.P., et al., 2007. Vaccine 25: 4382-4391.
5. Cano, J.P., et al., 2007. Am. J. Vet. Res. 68: 565-571.
6. Olanratmanee, E., et al., 2010. Proc. 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada. P. 542.

Litter size at birth of sows in a PRRSV-positive herd after modified-live PRRSV mass vaccination

E. Olanratmanee[1] S. Nuntawan Na Ayudhya[2] R. Thanawongnuwech[2] A. Kunavongkrit[3] P. Tummaruk[1]
[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, [2]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science,
[3]The Office of the Commission on Agricultural Resource Education, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330

Introduction and objective

The infection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in gilts and sows cause reproductive failure including abortion, high mummified fetuses, high stillborn piglets, low viability piglets at birth, infertility and an increase of sow mortality rate [1]. The present study aims to evaluate the litter traits i.e., the number of piglets total born per litter (TB), the number of piglets born alive per litter (BA), the percentage of stillbirth piglets per litter (SB) and the percentage of mummified fetuses per litter (MM) of sows after PRRS modified-lived virus (MLV) vaccination in a PRRSV-positive herd in Thailand.

Methods

The study was conducted in a 1,200-sow inventory PRRSV positive swine commercial herd during 2007-2010. Mass vaccination was done for the first time in May 2009 twice 3 weeks apart in all pigs and repeated every 3 months. Data of 6,793 litters from 2,468 sows were included. General linear models (GLM) of SAS were used. $P<0.05$ was considered as statistically significant.

Results

The litter traits of sows before PRRSV outbreak (July 2007-June 2008), during outbreak (July 2008-June 2009), which were characterized by high abortion in gilts and sows and respiratory signs in nursery pigs, and after mass vaccination (July 2009-June 2010) were shown in Figure 1. After PRRSV vaccination, TB of sows parity≤2 was returned to normal, whereas TB of sow parity>2 were still lower than the period before outbreak ($P<0.001$).

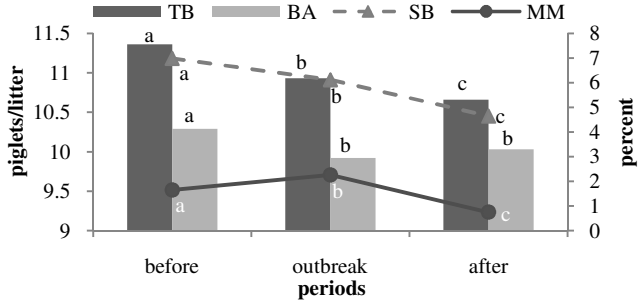


Figure 1 Litter size at birth of sows before during and after PRRS-MLV mass vaccination

Conclusion

Our study demonstrated that PRRS MLV vaccination resulted in an improvement of some reproductive performance, i.e., SB and MM [2]. However, the vaccination may cause some unfavourable outcome, such as, low litter size at birth [3]. Furthermore, the young sows had more response to the PRRS MLV vaccination than the older sows.

Keywords: pig, PRRSV, reproduction, vaccination

Acknowledgement: The financial support was provided by the NRCT and RGJ-PhD Program, TRF.

Selected references:

1. Zimmerman J, Benfield DA, Murtaugh MP, Osorio F, Stevenson GW, Torremorel M. *Disease of swine 9th edition* 2006; 387-417.
2. Scortti M, Prieto C, Martinez-Lobo FJ, Simarro I, Castro JM. Vet J 2006; 172: 506-514.
3. Dewey CE, Wilson S, Buck P, Leyenaar JK. Prev Vet Med 2004; 62: 299-307.

Fertility of gilts and sows after modified live PRRSV mass vaccination in a PRRSV-positive herd

Em-on Olanratmanee,[a] Suparlark Nuntawan Na Ayudhya,[b] Roongroje Thanawongnuwech,[b] Annop Kunavongkrit[c] and Padet Tummaruk[a]

[a]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.
[b]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.
[c]The Office of the Commission on Agricultural Resource Education, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Introduction and Objective

The infection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in gilts and sows cause reproductive signs including of abortion, high mummified fetuses, high stillborn piglets, low viability piglets at birth, infertility and an increase of sow mortality rate [1]. The present study aims to evaluate return rate (RR), abortion rate (AR) and farrowing rate (FR) of gilts and sows after mass vaccination of PRRS modified lived virus vaccine in a PRRSV-positive herd in Thailand.

Methods

The study was conducted in a 1,200-sow inventory swine commercial herd during 2007-2010. Mass vaccination was done for the first time in May 2009 twice 3 weeks apart in all pigs and repeated every 3 months. Data of 6,793 litters from 2,468 sows were included. Generalized linear-mixed models (GLIMMIX) of SAS were used. $P<0.05$ was considered as statistically significant.

Results

On average, return rate (RR), abortion rate (AR) and farrowing rate (FR) before mass vaccination (July 2007-June 2008) were 5.2%, 1.7% and 90.7%. During the PRRSV outbreak (July 2008-June 2009) RR and AR were increased to 9.1% ($P<0.001$) and 5.4% ($P<0.001$), resp., and FR was decreased to 82.5% ($P<0.001$). After vaccination (July 2009-June 2010), AR was decreased to 1.1% ($P<0.001$), while RR (11.0%, $P=0.24$) and FR (84.3%, $P=0.08$) were not differed significantly compared to the outbreak period. After vaccination, RR was higher ($P<0.001$) and FR ($P<0.001$) was lower than the control period (July 2007-June 2008), while AR was returned to normal.

Conclusion

Our study demonstrated that PRRS MLV vaccination might result in an improvement of some reproductive performance, i.e., AR [2, 3]. However, the vaccination may cause some unfavourable outcome, such as, low litter size at birth [2].

Keywords: Pigs, PRRSV, reproduction, vaccination

Selected References:

1. Zimmerman, J.; Benfield, D.A.; Murtaugh, M.P.; Osorio, F.; Stevenson, G.W.; Torremorel, M. *Disease of swine 9th edition*, **2006**, 387-417.
2. Dewey, C.E.; Wilson, S.; Buck, P.; Leyenaar, J.K. *Prev. Vet. Med.*, **1999**, 40, 233-241.
3. Nielsen, J.; Botner, A.; Bille-Hansen, V.; Oleksiewicz, M.B.; Storgaard, T. *Vet. Microbiol.*, **2002**, 84, 1-13.

Em-on Olanratmanee (เอมอร โอพารัตน์มณี), RGJ-industrial link program 10
Chulalongkorn University, Thailand, Veterinary Science, D.V.M. 2006
Research field: swine, reproduction, disease, PRRSV

Detection of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) Antigen in Ovarian Tissue of Gilts Culled due to Reproductive Disturbances

***E. Olanratmanee*[*1], *S. Wangnaitham*[2], *R. Thanawongnuwech*[2], *P. Tummaruk*[1]

[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, [2]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand
*Corresponding author: em_on.o@hotmail.com
Keywords: immunohistochemistry, ovary, pig, PRRSV

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is caused by the PRRS virus (PRRSV). It is well established that macrophages are the primary cell type sustaining the *in vivo* replication of the viruses (1). Immunohistochemically (IHC), the PRRSV antigen is observed in several tissues of the infected piglets, e.g., lung, liver, spleen, tonsil, pulmonary lymph node and ileum (2). Replacement gilts are a major source of introducing new strains of PRRSV into the herd. Our previous study found that 73% of them were infected with PRRSV before entering the herd (3). Furthermore, PRRSV antigen is observed in the uterine tissue in 33% of the replacement gilts culled due to reproductive disturbance (4). The objective of the present study was to determine the incidence of PRRSV antigen positive ovarian tissue in gilts culled due to reproductive disturbance.

Materials and Methods

Ovarian tissues from 100 replacement gilts culled due to reproductive disturbance were collected from 2 commercial swine herds in Thailand. After slaughter, the ovarian tissues were collected, fixed in 10% neutral buffered formalin, embedded in paraffin blocks and cut into 4-µm-thick sections. IHC, a polymer-based non-avidin-biotin technique, was applied to all ovarian tissues for PRRSV detection according to our previous protocol in the uterine tissue (4). Primary monoclonal antibody SDOW17 (Rural technologies, Inc., USA) diluted to 1:1000 was used. Negative control procedures included omission of primary antibody. Known PRRSV-positive lung tissues were served as positive controls. The sections would be interpreted as positive if they contained at least 1 positive cell (brown intracytoplasmic staining, Fig 1). Statistical analyses were performed using SAS (SAS, 2002). The percentage of positive tissue was compared with the reasons for culling using the Chi-square test. $P<0.05$ was considered statistically significant.

Results and Discussion

PRRSV antigens were detected in the ovarian medulla (Fig 1) of 70% of the culled gilts. The percentage of positive tissue in different culling reasons is shown in Table 1. No significance of the percentage of positive tissue was found among culling reason groups ($p=0.496$).

Table 1 The percentage of gilts with PRRSV antigen positive ovarian tissue by culling reasons

Culling reason	Number of gilts	% IHC positive gilts
Anestrus	50	78.0
Vaginal discharge	17	64.7
Abortion	10	60.0
Repeated breeding	9	66.7
Miscellanies	14	57.1
Total	100	70.0

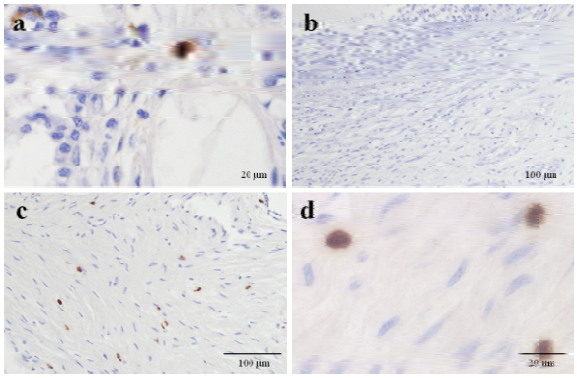


Fig 1. PRRSV antigen in (a) positive control (lung tissue), (b) negative control and (c-d) ovarian tissues

Acknowledgements

The financial support was provided by the National Research Council of Thailand. E. Olanratmanee is a grantee of the Royal Golden Jubilee (RGJ) Ph.D. Program, the Thailand Research Fund.

References

1. Thanawongnuwech et al., 2000. Anim Health Res Rev. 1: 95-102.
2. Laohasittikul et al., 2004. Thai J Vet Med. 34(1): 39-48.
3. Tummaruk and Tantilertcharoen, 2008. Proc. 15th FAVA, Bangkok, Thailand: 179-180.
4. Olanratmanee et al., 2011. Trop Anim Health Prod. 43: 451-457.

Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) Strains Isolated from Sows and Boars in Thailand during 2005-2010

P. Surapat[1], S. Sriariyagul[1], O. Seemakram[1], E. Olanratmanee[2], R. Tantilertcharoen[3], R. Thanawongnuwech[4], ***P. Tummaruk[2]****

[1]Sixth Year Veterinary Students, [2]Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproduction, [3]Veterinary Diagnostic Laboratory, [4]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330
*Corresponding author: Padet.t@chula.ac.th
Keywords: pig, PRRSV, reproduction, RT-PCR

Introduction

Common infectious agents causing reproductive failures in pig include porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus (ADV), porcine Parvo-virus (PPV), Enterovirus (PEV), classical swine fever virus (CSFV), encephalomyocarditis virus (EMCV) and porcine circo virus type 2 (PCV-2) (1, 2). These viruses are able to infect the fetuses through placenta and result in fetal mortality (3). Maldonado et al. (2) found 9% of PRRSV and 1% of PRRSV combined with PCV2 positive samples from 100 clinical cases of aborted fetuses and stillborn piglet in Spain, while ADV and PPV were not detected in any tissue samples. This indicates that, under field conditions, PRRSV remains the most common virus in aborted fetuses or premature birth. It was suggested that this evidence could be a result of either PRRSV modified live virus vaccination commonly practiced in the pig industry and/or that PRRSV had becomes one of an enzootic disease in the commercial swine herds. PRRSV is classified into 2 genotypes, i.e. European (EU) and North American (NA) genotypes (4). PRRSV develops and replicates in macrophage in lung and other visceral organs including uterus of gilts (5). Common reproductive clinical symptoms of PRRSV in the sows include abortion, premature birth, stillborn piglet, weakborn piglet and high pre-weaning mortality rate in suckling piglets due to secondary infection. The purposes of the present study were to determine the prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in boars and sows in swine commercial herds in Thailand during 2005-2010.

Materials and Methods

A total of 355 samples (27 tissues, 132 serum and 196 semen samples) from 213 boars and 142 sows submitted for PRRSV detection at the veterinary diagnostic laboratory, Chulalongkorn University was included in the analyses. PRRSV was detected using RT-PCR (6). The strain of the virus was classified into three categories, i.e. NA, EU and mixed strains (both EU and NA). Frequency analysis was conducted for the present or absence of PRRSV. Logistic regression analyses were conducted to evaluate the prevalence of PRRSV. The statistical model included effect of type of samples (serum, semen and tissue), year of the sample collection (2005-2010) and groups of the pig (boars and sows).

Results and Discussion

PRRSV was detected in 23.4% (83/355) of the cases submitted for RT-PCR. PRRSV was found in 13.6% (29/213) of the boars and 38.0% (54/142) of the sows (P=0.023). The virus was also found in 48.2%, 13.4% and 32.6% of the tissue, semen and serum samples, respectively (p<0.05). The percentage of PRRSV positive sample was 39.7% (29/73), 14.0% (16/114), 38.8% (26/67), 23.1% (6/26), 13.2% (5/38) and 2.7% (1/37) in 2005, 2006, 2007, 2008, 2009

and 2010, respectively. The prevalence of PRRSV in 2005 and 2007 were higher than 2006, 2008, 2009 and 2010 (p<0.05). Across the year, the EU, NA and mixed strain of the PRRSV were 26.3%, 45.0% and 28.7%, respectively. However, the proportion of PRRSV strains differed among the years. The proportion of NA strain was 33.0%, 50.0%, 46.2%, 40.0%, 80.0% and 100.0% from 2005 to 2010, respectively (Table 1).

Table 1 Strains of PRRSV detected in sows and boars during 2005-2010

Year	N[1]	EU	NA	Mixed
2005	27	9	9	9
2006	26	5	8	3
2007	26	4	12	10
2008	5	2	2	1
2009	5	1	4	0
2010	1	0	1	0
All	80	21 (26.3%)	36 (45.0%)	23 (28.7%)

[1]N: number of PRRSV positive sample

A previous study from 137 PRRSV isolates obtained during 2000-2003 in Thailand found that 66.4% of PRRSV isolated belong to EU genotypes and 33.6% belonged to NA genotype (6). The present study demonstrated the PRRSV strains isolated from sows and boars from the Thai swine herds during 2005-2010. Our data revealed that 73.7% of the sample contained NA genotypes of PRRSV and 55.0% of the samples contained EU genotype of PRRSV. Furthermore, more than one forth (28.7%) of the samples had both NA and EU genotypes. These data represented the strain of virus involved with reproductive problems among the swine breeding herds in Thailand. It was found that during 2005-2010, NA strain was more common than EU strains in sows and boars. The reasons might be because PRRSV modified live virus vaccination has been registered and become commonly practiced in the Thai pig industry since 2007. The isolation of the vaccine strain of PRRSV under field conditions has been shown by a genetic analysis on ORF5 of PRRSV in Korea (7). Also, the high frequency of PRRSV isolation during this period indicates that PRRSV may become one of an enzootic disease in the commercial swine herds in Thailand.

Acknowledgements

The financial supported was provided by The National Research Council of Thailand 2010-2011.

References

1. O'Connor et al., 2001. Can Vet J. 42: 551-553.
2. Maldonado et al., 2005. Vet J. 169: 454-456.
3. Christianson, 1992. Vet Clin North Am Food Anim Prac. 8: 623-639.
4. Meng, 2000. Vet Microbiol. 74: 309-324.
5. Olanratmanee et al., 2011. Trop Anim Health Prod. 43: 451-457.
6. Thanawongnuwech et al., 2004. Vet Microbiol. 101: 9-21.
7. Kim et al., 2009. J Vet Sci. 10: 121-130.