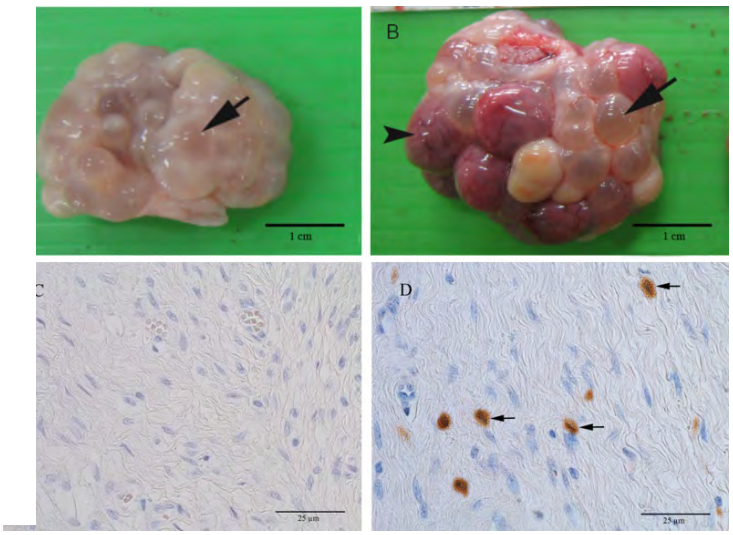
รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง

ผลของการใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในฟาร์มสุกรต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรสาวทดแทนและแม่สุกรอุ้มท้อง (ปีที่ ๒)



โดย

รศ.น.สพ.ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรกฎาคม ๒๕๕๖

กิตติกรรมประกาศ

(Acknowledgement)

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๕ (ตุลาคม ๒๕๕๔- กันยายน ๒๕๕๕) **สพ.ญ.ดร. เอมอร โอฬารรัตน์มณี** ได้รับทุนการศึกษาจากโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณท่านเจ้าของฟาร์ม และบุคลากรในฟาร์มทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์เอื้อเฟื้อข้อมูล และอำนวยความสะดวกในการทำงานในฟาร์ม

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

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

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

ขอบคุณ **Dr. Jeffrey Zimmerman** (Iowa State University, Ames, IA) สำหรับการช่วยตรวจทานแก้ไขบทความ

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรมต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของฝูง การติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในกระแสเลือด และระดับแอนติบอดีในกลุ่มสุกรแม่พันธุ์ของฟาร์มสุกรอุตสาหกรรมขนาด 1,200 แม่ในประเทศไทย วัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นถูกนำมาใช้ในฟาร์มแบบปูพรม 2 ครั้งภายหลังจากการระบาดของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส โดยทำวัคซีนห่างกัน 3 สัปดาห์และหลังจากนั้นทุกๆ 3 เดือน ข้อมูลสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของฟาร์มในช่วง 3 ปีถูกนำมาวิเคราะห์ ตัวอย่างซีรั่มถูกเก็บทั้งก่อนและหลังการทำวัคซีนเพื่อนำมาทดสอบด้วยชุดทดสอบ ELISA และตรวจหาไวรัสด้วยวิธี reverse transcription polymerase chain reaction ผลการศึกษาพบว่าการทำวัคซีนมีความสัมพันธ์ทางสถิติกับการลดลงของอัตราการแท้ง (1.4 เทียบกับ 1.6 %) อัตราการเข้าคลอด (83.8 เทียบกับ 90.0 %) จำนวนลูกสุกรแรกคลอด (10.6 เทียบกับ 11.4 ตัวต่อครอก) จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต (10.0 เทียบกับ 10.3 ตัวต่อครอก) จำนวนลูกสุกรตายแรกคลอด (4.6 เทียบกับ 7.0 %) จำนวนลูกสุกรมัมมี่ (0.7 เทียบกับ 1.6 %) และการเพิ่มขึ้นของอัตราการกลับสัด (11.3 เทียบกับ 5.9 %) เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเวลาก่อนการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอส แม่สุกรอุ้มท้องที่ทำวัคซีนในช่วงต้นของการตั้งท้องมีจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตน้อยกว่าและมีจำนวนลูกสุกรมัมมี่มากกว่าแม่สุกรอุ้มท้องที่ทำวัคซีนในช่วงอื่น ในขณะที่แม่สุกรอุ้มท้องที่ทำวัคซีนในช่วงท้ายของการตั้งท้องมีอัตราการเข้าคลอดน้อยกว่า การทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรมในฝูงสุกรฝูงนี้มีผลต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของฝูงโดยมีทั้งผลที่เป็นกลาง เป็นบวก และเป็นลบ ดังนั้นการตัดสินใจทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรมควรพิจารณาระหว่างผลประโยชน์ที่จะได้รับจากการปรับปรุงสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ ได้แก่ ช่วยลดอัตราการแท้ง จำนวนลูกสุกรตายแรกคลอด และจำนวนลูกสุกรมัมมี่ และผลกระทบจากการทำวัคซีนในแม่สุกรที่ตั้งท้อง

คำสำคัญ ไวรัสพีอาร์อาร์เอส วัคซีนเชื้อเป็น การทำวัคซีนแบบปูพรม สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ การตั้งท้อง

ABSTRACT

This study assessed the effect of whole-herd PRRS modified-live virus (MLV) vaccination on herd-level reproductive performance, PRRSV viremia, and antibody in a subset of females in a 1,200-sow commercial herd in Thailand. Following a PRRSV outbreak, the entire herd was vaccinated with PRRS MLV twice at 3-week intervals and at 3 month intervals, thereafter. Reproductive performance data over a three year period were available for analysis. Serum samples were collected before and after vaccination and tested by PRRSV ELISA and RT-PCR. Vaccination was statistically associated with a lower abortion rate (1.4% vs. 1.6%), farrowing rate (83.8% vs. 90.0%), total born (10.6 vs. 11.4 piglets per litter), liveborn (10.0 vs. 10.3 piglets per litter), stillbirths (4.6% vs. 7.0%), mummies (0.7% vs. 1.6%) and a higher return rate (11.3% vs. 5.9%) when compared with the period before the PRRSV outbreak. Pregnant females vaccinated during early gestation farrowed fewer live born and more mummies than the comparison group, whereas females vaccinated during late gestation had a lower farrowing rate. In this herd, PRRS whole-herd vaccination had neutral, positive, and negative effects on reproductive performance. Thus, the decision to implement whole-herd vaccination should be balanced between the benefits derived from reproductive performance improvements, e.g., fewer abortions, stillborn piglets and mummified fetuses, and the effect of vaccination on pregnant females.

Keywords: PRRSV, modified-live virus vaccine, whole-herd vaccination, reproductive performance, gestation

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

เรื่อง	**หน้า**
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	3
ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
โรคติดเชื้อไวรัสในสุกร	5
การติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในแม่สุกรอุ้มท้อง	6
การทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในสุกรสาวอุ้มท้อง	7
สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในฟาร์มสุกรที่ทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น	9
การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อระบบสืบพันธุ์ของพ่อสุกร	11
การกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส	12
วิธีดำเนินการวิจัย	17
การทดลองที่ 1	
การออกแบบการทดลอง	17
การจัดการฝูงสุกรและการทำวัคซีน	17
ข้อมูลการเฝ้าระวังโรคพีอาร์อาร์เอส	17
การทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสและการเก็บตัวอย่างเลือด	17
แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและการทดสอบโดยวิธี RT-PCR	18
ข้อมูลสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์	18
การวิเคราะห์ทางสถิติ	19
การทดลองที่ 2	
ข้อมูล	19
นิยาม	19
การตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธี Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction	20
การวิเคราะห์ทางสถิติ	20

ผลการวิจัย 21

การทดลองที่ 1

ผลการตรวจซีรั่ม 21

สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ 21

การทดลองที่ 2

การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 28

ผลของที่ตั้งของฟาร์ม 29

ผลของฤดูกาล เดือน และปี 31

สายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 33

บทสรุปและวิจารณ์ 35

การทดลองที่ 1 35

การทดลองที่ 2 36

สรุป 39

เอกสารอ้างอิง 40

ภาคผนวก 48

ผลงานตีพิมพ์ 48

สารบัญตาราง (List of Tables)

ตารางที่		หน้า
1	ผลการสังเกตสุขภาพแม่สุกรหลังคลอด และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกรที่ฉีดและไม่ฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น	10
2	อุบัติการณ์ของโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ที่ตรวจพบในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในประเทศไทย	13
3	ผลการตรวจซีรั่มเป็นรายสัปดาห์ภายหลังการทำวัคซีนเชื้อเป็นป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส	21
4	เปรียบเทียบตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผสมตามลำดับท้องในช่วงเวลาต่างๆ	23
5	เปรียบเทียบตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิต (means ± SEM) ตามลำดับท้องในช่วงเวลาต่างๆ	24
6	เปรียบเทียบตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผสมตามระยะต่างๆ ของการตั้งท้องในขณะที่ได้รับวัคซีน	26
7	เปรียบเทียบตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิต (means ± SEM) ตามระยะต่างๆ ของการตั้งท้องในขณะที่ได้รับวัคซีน	27
8	ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อพีอาร์อาร์เอสแยกตามชนิดตัวอย่าง	28
9	ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อพีอาร์อาร์เอสแยกตามชนิดของสุกร	28
10	ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแยกตามอาการทางคลินิก (ปัญหาระบบทางเดินหายใจ และระบบสืบพันธุ์)	29
11	ร้อยละของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแยกตามฤดูกาล	32
12	ร้อยละของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแยกตามฤดูกาล	32

สารบัญภาพ (List of Illustration)

รูปที่		หน้า
1	อัตราการตาย (mortality rate) และอัตราการคัดทิ้ง (culling rate) เฉลี่ยต่อปี ของแม่สุกรในฟาร์มสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ระหว่าง ปี ค.ศ. 2007-2009 จากการสำรวจในฟาร์มสุกรจำนวน 7 ฟาร์ม ในประเทศไทย ฟาร์ม A B และ C ทำวัคซีนเชื้อเป็น และฟาร์มที่เหลือไม่เคยทำวัคซีนเชื้อเป็นต่อโรคพีอาร์อาร์เอส	14
2	(a) อัตราการเข้าคลอด (FR) อัตราการแท้ง (AR) และอัตราการกลับสัด (RR) (b) และจำนวนลูกสุกรแรกคลอดต่อครอก (TB) จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตต่อครอก (BA) เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอดต่อครอก (SB) และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่ต่อครอก (MM) ลูกศรแสดงวันที่มีการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น	22
3	จำนวนตัวอย่างและร้อยละของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส แยกตามภูมิภาคของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2548-2553	30
4	จำนวนของการพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแยกตามเดือน	31
5	จำนวนของตัวอย่างที่นำมาทดสอบและตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ตั้งแต่ปี พ.ศ.2548-2553	32
6	Phylogenetic tree ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทย และมีรายงานในฐานข้อมูลของ NCBI ระหว่างปี พ.ศ. 2546-2554 (แยกได้ 62 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน ORF5 ในประเทศไทย และ 13 ลำดับสิวคลีโอไทย์ จากต่างประเทศ) ทำการวิเคราะห์ Phylogenetic tree was analyzed ด้วย MEGA 5.5 และสร้างโดย neighbor joining method และพิสูจน์โดยใช้ bootstrap method	34

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

NA strain = สายพันธุ์อเมริกา

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

WSI = Weaning-to-fist-service interval (ระยะหย่านมถึงผสม)

บทที่ 1

บทนำ

ความสูญเสียในระยะท้ายของการอุ้มท้อง (เช่น การแท้ง และการคลอดก่อนกำหนด) ในสุกรสาว และสุกรนางนั้นมีอิทธิพลมาจากสาเหตุจากการติดเชื้อ และไม่ใช่การติดเชื้อ ในภาคสนามภาวะล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ในสุกรโตเต็มวัยจากสาเหตุการติดเชื้อพบประมาณ 30-40% ในขณะที่สาเหตุที่ไม่ใช่การติดเชื้อ (เช่น สารพิษ สภาพแวดล้อม และความเครียด) คิดเป็น 60-70% (Maldonado et al., 2005) ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมามีการศึกษาพบว่าเชื้อโรคที่พบได้บ่อยว่าเป็นสาเหตุของความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกร ได้แก่ porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus (ADV), porcine parvovirus (PPV), enterovirus, classical swine fever virus, encephalomyocarditis และ porcine circovirus ชนิดที่ 2 (PCV2) (O'Connor et al., 2001; Maldonado et al., 2005; Tummaruk and Tantilertcharoen 2012) การติดเชื้อไวรัสเหล่านี้สามารถทำให้ตัวอ่อนตายได้ โดยเชื้อโรคจะแพร่ผ่านทางรก (Christianson, 1992) ในประเทศสเปน Maldonado et al. (2005) ได้ศึกษาถึงความชุกของการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเทียม เชื้อพาร์โวไวรัส และ เชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 จากชิ้นเนื้อ 293 ตัวอย่าง จาก แม่สุกร 100 ตัวที่พบการแท้งลูก และมีการตายแรกคลอด พบว่ามีเพียง 9% ที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส และ 1% ที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสร่วมกับ เชื้อฌซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 แต่ไม่พบทั้งเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเทียมและเชื้อพาร์โวไวรัส โดยทางคณะผู้วิจัยสรุปว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในภาคสนามสามารถพบได้บ่อยในลูกที่แท้งและลูกที่ตายแรกคลอดในประเทศสเปน

โรคพีอาร์อาร์เอสเกิดจากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสซึ่งเป็นเชื้อไวรัสในสกุล *Arteriviridae* โดยทั่วไปการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในสุกรสาวและแม่สุกรอุ้มท้องจะทำให้เกิดการแท้งในระยะท้าย และการเพิ่มขึ้นของจำนวนลูกสุกรมัมมี่ต่อครอก ลูกสุกรตายแรกคลอดต่อครอก และจำนวนลูกสุกรแรกคลอดอ่อนแอ (Chung et al., 1997) โรคพีอาร์อาร์เอสถูกรายงานครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1987 และสามารถแยกเชื้อไวรัสได้ในครั้งแรกที่เมือง Lelystad ประเทศเนเธอร์แลนด์ในปี ค.ศ. 1990 (Wensvoort et al., 1991) ในปี ค.ศ. 1992 เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกจำแนกเป็น 2 จีโนไทป์ ได้แก่ ไทป์ 1 (สายพันธุ์ยุโรป) และไทป์ 2 (สายพันธุ์อเมริกาเหนือ) โดยจำแนกจากความแตกต่างทางพันธุกรรม ความเป็นแอนติเจน และพยาธิกำเนิด (Meng, 2000)

ปัจจุบันนี้โรคพีอาร์อาร์เอสถูกพบในพื้นที่เลี้ยงสุกรส่วนใหญ่ทั่วโลก (Zimmerman et al., 2006) การศึกษาทางซีรั่มวิทยาย้อนหลังพบว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกพบในประเทศไทยตั้งแต่ปี ค.ศ. 1989 (Damrongwatanapokin et al., 1996) และในปี ค.ศ. 1995 พบว่า 64% ของฟาร์มสุกรอุตสาหกรรมในประเทศไทยมีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (Oraveerakul et al., 1995) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทั้งไทป์ 1 และ 2 ถูกจำแนกได้ในประเทศไทย (Thanawongnuwech et al., 2004)

ในฝูงสุกรที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส การมีฝูงสุกรย่อยที่มีความไวรับต่อเชื้ออาจทำให้เกิดการหมุนเวียนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในฝูงอย่างต่อเนื่อง การปิดฝูง การคลุกสุกรสาว และการทำให้สุกรได้สัมผัสกับเชื้อไวรัสหรือการทำวัคซีนถูกแนะนำเพื่อใช้ในการลดจำนวนฝูงสุกรย่อย (Cano et al., 2007a, b) วัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสที่มีจำหน่ายในประเทศไทยมีทั้งวัคซีนชนิดเชื้อเป็นและวัคซีนเชื้อตาย การนำวัคซีนมาใช้เพื่อกระตุ้นภูมิต้านทานของสุกรถูกนำมาประเมินซึ่งส่วนมากจะเป็นระดับเฉพาะตัวของสุกรและมักทำในฝูงสุกร

อนุบาล (Martelli et al., 2009) มีการรายงานว่าการทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นสามารถลดรอยโรคในปอดของสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส และช่วยลดจำนวนและระยะเวลาของการติดเชื้อไวรัสในกระแสเลือดภายหลังการทดลองฉีดเชื้อไวรัสด้วยไวรัสที่เหมือนกับเชื้อไวรัสในวัคซีน (Foss et al., 2002; Mengeling et al., 2003) นอกจากนี้ การทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรมยังช่วยลดการคงอยู่และระยะเวลาของการแพร่เชื้อไวรัส แม้ว่าเชื้อไวรัสจะไม่ได้ถูกกำจัดออกไปก็ตาม (Cano et al., 2007a, b) อย่างไรก็ตาม ผลกระทบของการทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นยังมีความแปรปรวนระหว่างฝูง (Alexopoulos et al., 2005; Martelli et al., 2007) และนอกจากนั้น ข้อมูลด้านสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกรที่ตั้งท้องภายหลังการทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นยังมีจำกัด

โดยทั่วไปเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ยุโรป (EU, genotype 1) และสายพันธุ์อเมริกาเหนือ (NA, genotype 2) (Meng, 2000) โดยทั่วไปเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สามารถเจริญเติบโตและแบ่งตัวได้ในแมคโคฟาจ (macrophage) ในปอด และอวัยวะภายในอื่นๆ รวมทั้งมดลูกของสุกรสาว (Karniychuk et al., 2011; Olanratmanee et al., 2011) อาการทางคลินิกทางระบบสืบพันธุ์ของการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ได้แก่ แท้ง คลอดก่อนกำหนด ลูกตายแรกคลอด ลูกอ่อนแอ และอัตราการตายก่อนหย่านมสูงในลูกสุกรดูดนมเนื่องมาจากการติดเชื้อแทรกซ้อน (Baysinger et al., 1997; Lager et al., 2003; Scortti et al., 2006) การทำวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส พบในหลายฟาร์มทั่วโลก แต่ประสิทธิภาพยังไม่เป็นที่แน่นอน (Lager et al., 2003; Dewey et al., 2004; Scortti et al., 2006; Martelli et al., 2009) การทดลองใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็น (modified live PRRSV vaccine) ส่วนใหญ่ทำในสุกรอนุบาลและสุกรขุน แต่พบน้อยในสุกรอุ้มท้องและแม่สุกร (Dewey et al., 1999; Scortti et al., 2006) ในประเทศแคนาดาการใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นทำให้เกิดความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ในแม่สุกรอุ้มท้องหากมีการทำวัคซีนในช่วงสี่สัปดาห์สุดท้ายของการอุ้มท้อง (Dewey et al., 1999) ภาวะล้มเหลงทางระบบสืบพันธุ์ที่เกิดจากการทำวัคซีน ได้แก่ ลูกสุกรมีชีวิตแรกคลอดลดลง ลูกสุกรหย่านมลดลง ลูกสุกรตายแรกคลอดและมัมมี่เพิ่มขึ้น (Dewey et al., 1999) ประสิทธิภาพของการทำวัคซีนชนิดเชื้อเป็น ยังขึ้นอยู่กับความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วย (Labarque et al., 2004) ความแตกต่างในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (antigenicity) ระหว่างสายพันธุ์ที่ 1 (genotype 1, EU) และสายพันธุ์ที่ 2 (genotype 2, NA) ถืออีกเป็นหนึ่งในปัจจัยที่สำคัญในการทำวัคซีนที่ไม่ประสบความสำเร็จในหลายฟาร์ม โดยปกติ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ยุโรปมีความคล้ายคลึงกับไวรัส Lelystad ในเนเธอแลนด์ ในขณะที่สายพันธุ์อเมริกา มีความคล้ายคลึงกับไวรัสสเตรน VR2332 ในสหรัฐอเมริกา ยิ่งไปกว่านั้น ยังพบความผันแปรทางพันธุกรรมภายในแต่ละสายพันธุ์อีกด้วย (Amonsin et al., 2009)

ในประเทศไทยหลายฟาร์มมีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส และมีหลายวิธีในการควบคุมความล้มเหลวทั้งทางระบบทางเดินหายใจและระบบสืบพันธุ์ อย่างไรก็ตามปัญหาที่พบทางคลินิกรวมทั้งความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ยังพบในภาคสนามอยู่และได้กลายเป็นหนึ่งในโรคที่สำคัญที่ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมสุกรมาเป็นเวลานาน

ในประเทศไทย ในปี ค.ศ. 2011 พบรายงานว่ามีสุกร (สุกรสาว แม่สุกร และพ่อสุกร) จำนวน 2,877,592 ตัว ที่ได้ขึ้นทะเบียนกับกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โดยในจำนวนนี้พบว่า 10.2% 16.7% 20.1% 21.6% 19.9% และ 11.5% พบอยู่ในบริเวณภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคเหนือ ภาคตะวันตก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ตามลำดับ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นฟาร์มขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ที่ผลิตสุกรขุน โดยทั่วไปทุกภูมิภาคสามารถส่งตัวอย่างมาที่ห้องปฏิบัติการชันสูตรโรคสัตว์ (CU-VDL) ที่กรุงเทพได้ แต่ส่วนมากเป็นตัวอย่างจากภาค

กลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันตก เนื่องจากระยะทางระหว่างฟาร์มและห้องปฏิบัติการอยู่ไม่ไกลกัน ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) เป็นวิธีปกติที่ใช้ตรวจสอบหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ห้องปฏิบัติการชันสูตรมาเป็นเวลาหลายปี ซึ่งวิธี PCR มีความจำเพาะสูงมากในการตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส การตรวจหาเชื้อโดยตรงสามารถทำได้โดยวิธี PCR โดยอาศัยวิธี reverse transcription จาก RNA ของไวรัส (Suarez et al., 1994) ซึ่งเป็นวิธีที่เสถียรในการตรวจสอบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2547 (Thanawongnuwech et al., 2004)

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสถานะของโรคพีอาร์อาร์เอส (แอนติบอดีและการติดเชื้อไวรัสในกระแสเลือด) ในกลุ่มสุกรสาวและแม่สุกร และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ระดับฝูงในฟาร์มสุกรแม่พันธุ์ที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสภายหลังการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรม
2. ศึกษาความปลอดภัยและประสิทธิภาพของการใช้วัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในสุกรอุ้มท้อง
3. เพื่อศึกษาความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในฟาร์มสุกรในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 ถึง พ.ศ. 2553 สัมพันธ์กับชนิดของสุกร ตัวอย่างเนื้อเยื่อ ปี ฤดูกาล และพื้นที่ฟาร์ม

ขอบเขตของโครงการวิจัย

เป็นการวิจัยที่ศึกษาข้อมูลในภาคสนามในฟาร์มที่มีปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอสและทำวัคซีน ทำการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนในการควบคุมโรค โดยประเมินจากการควบคุมการแพร่กระจายเชื้อในฝูง และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของแม่สุกรภายหลังการทำวัคซีน

ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ความปลอดภัยของการใช้วัคซีนเชื้อเป็นป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสในสุกรยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน และในหลายการทดลองพบว่า สุกรที่ได้รับวัคซีนแสดงอาการป่วยจากเชื้อไวรัส (viraemia) และมีการแพร่เชื้อไวรัสออกมาได้ แม้จะมีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคด้วยก็ตาม ประสิทธิภาพของการทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสที่ผ่านมาในประเทศไทยควรได้รับการประเมินว่าควรทำต่อไปหรือหยุดทำ โดยศึกษาความปลอดภัยและประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรหลังการทำวัคซีน

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 อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาพบว่า 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

ความปลอดภัยของการใช้วัคซีนเชื้อเป็นป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน และในหลายการทดลองพบว่า สุกรที่ได้รับวัคซีนแสดงอาการป่วยจากเชื้อไวรัส (viraemia) และมีการแพร่เชื้อไวรัสออกมาได้ แม้จะมีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคด้วยก็ตาม วัคซีนเชื้อเป็นชนิดที่ผลิตในสหรัฐอเมริกา ได้รับการรับรองให้ใช้ได้ในสัตว์ที่ไม่ท้อง และมีการวิจัยหลายครั้งที่ให้การรับรองด้านความปลอดภัยในสัตว์ที่ไม่ท้อง ในขณะที่การทำวัคซีนเชื้อเป็นในสุกรอุ้มท้อง มีการวิจัยหลายครั้งพบว่า เชื้อไวรัสจากวัคซีนสามารถแพร่ผ่านรกจากแม่เข้าสู่ตัวลูกสุกรในครรภ์ได้ โดยเฉพาะถ้าฉีดวัคซีนประมาณ 90 วันของการอุ้มท้อง จากความสามารถในการแพร่ผ่านรกได้นั้น ทำให้ผลที่ตามมา คือ ลูกสุกรสามารถคลอดออกมาเป็นลูกสุกรที่ติดเชื้อไว้รัสพีอาร์อาร์เอส และแพร่เชื้อได้ ส่งผลให้กระทำวัคซีนเชื้อเป็นนี้เป็นตัวการในการแพร่เชื้อสู่ลูกสุกรที่ไม่มีเชื้อ และเพิ่มโอกาสในการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสให้มีความรุนแรงมากขึ้น การระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสซึ่งแสดงออกโดย การพบอัตราการแท้งสูง และพบการตายของแม่สุกรสูงขึ้น ก็เคยมีรายงานในฟาร์มที่ทำวัคซีนเชื้อเป็นสายพันธุ์อเมริกา เช่นกัน (Mengeling et al., 1999)

ปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้วัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นในการควบคุมและป้องกันการเกิดโรคพีอาร์อาร์เอสกันแพร่หลายมากขึ้น (Tummaruk and Tantilerdcharoen, 2007, 2008a, 2008b) วิธีการทำมีหลายรูปแบบมาก หลายครั้งพบว่าวัคซีนที่ทำไม่ตรงกับเชื้อที่มีการระบาดในฟาร์ม และบางฟาร์มพบว่ามีการระบาดของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในสุกรอุ้มท้องทั้งสายพันธุ์ยุโรปและสายพันธุ์อเมริกา ปัจจุบันการศึกษาถึงความปลอดภัยและประสิทธิภาพในการควบคุมและป้องกันปัญหาจากโรคพีอาร์อาร์เอส 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 ป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสเอดี (ADV) และเชื้อติดเชื้อพาร์โวไวรัสในสุกร (PPV) ให้แก่สุกรสาวทดแทน แต่วัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส (PRRSV) ถูกในมาใช้ในฟาร์มสุกรบางฟาร์มเท่านั้น จากการศึกษาทางซีรั่มวิทยาพบว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกพบครั้งแรกในประเทศไทย

ตั้งแต่ปี 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) ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อพาร์โวไวรัสอยู่ระหว่าง 1:32 และ 1:512 ภายหลังการทำวัคซีน และอาจมีระดับแอนติบอดีสูงถึง 1:40,960 ภายใน 19 วันหลังจากฉีดเชื้อพาร์โวไวรัสเข้าสู่ร่างกายสุกร (Józwik et al. 2009) ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อพาร์โวไวรัสที่เพิ่มสูงขึ้นพบได้เป็นปกติในสุกรสาวและแม่สุกรในภาคสนาม ซึ่งไม่น่าจะเป็นผลจากการทำวัคซีน และพบว่าการสูงขึ้นของระดับแอนติบอดีต่อเชื้อพารโวไวรัสในแม่สุกรมีความสัมพันธ์กับ ขนาดฝูง ลำดับท้อง และการเก็บรักษาวัคซีนที่เปิดใช้แล้ว (Oravainen et al. 2005) การศึกษาความชุกของการติดเชื้อพาร์โวไวรัสและ 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) บ่งชี้ว่าจุดที่เกิดการฝังตัวของลูกสุกรน่าจะมีบทบาทสำคัญต่อการก่อโรคของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เยื่อบุโพรง

มดลูกของแม่สุกร 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 ลักษณะโครงสร้างและความสามารถในการก่อโรคที่แตกต่างกัน (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 ในทางตรงข้าม วัคซีนเชื้อเป็นของโรค 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 และในหลายการทดลองพบว่า สุกรที่ได้รับวัคซีนแสดงอาการป่วยจากเชื้อไวรัส (viraemia) และมีการแพร่เชื้อไวรัสออกมาได้ แม้จะมีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคด้วยก็ตาม วัคซีนเชื้อเป็นชนิดที่ผลิตในสหรัฐอเมริกา ได้รับการรับรองให้ใช้ได้ในสัตว์ที่ไม่ท้อง และมีการวิจัยหลายครั้งที่ให้การรับรองด้านความปลอดภัยในสัตว์ที่ไม่ท้อง ในขณะที่การทำวัคซีนเชื้อเป็นในสุกรอุ้มท้อง มีการวิจัยหลายครั้งพบว่า เชื้อไวรัสจากวัคซีนสามารถแพร่ผ่านรกจากแม่เข้าสู่ตัวลูกสุกรในครรภ์ได้ โดยเฉพาะถ้าฉีดวัคซีนประมาณ 90

วันของการอุ้มท้อง จากความสามารถในการแพร่ผ่านรกได้นั้น ทำให้ผลที่ตามมา คือ ลูกสุกรสามารถคลอดออกมาเป็นลูกสุกรที่ติดเชื้อไว้รัส PRRS และแพร่เชื้อได้ ส่งผลให้กระทำวัคซีนเชื้อเป็นนี้เป็นตัวการในการแพร่เชื้อสู่ลูกสุกรที่ไม่มีเชื้อ และเพิ่มโอกาสในการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสให้มีความรุนแรงมากขึ้น การระบาดของโรค PRRS ซึ่งแสดงออกโดยการพบอัตราการแท้งสูง และพบการตายของแม่สุกรสูงขึ้น ก็เคยมีรายงานในฟาร์มที่ทำวัคซีนเชื้อเป็นสายพันธุ์อเมริกาเช่นกัน (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 ที่ไม่มีแอนติบอดีต่อโรค 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 สุกรทุกกลุ่มมีอาการค่อนข้างปกติยกเว้นกลุ่มที่ 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 และเสี่ยงต่อการการะจายของเชื้ออย่างต่อเนื่องได้ 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) ตัวอย่างของแนวทางในการจัดการ ประกอบด้วย 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 ทั้งในฟาร์มที่ติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสและฟาร์มที่ไม่ติดเชื้อ 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 ส่วนใหญ่ที่แยกได้มีความคล้ายคลึงกับ สายพันธุ์ Lelystad ที่แยกได้จากประเทศเนเธอร์แลนด์ นอกจากนี้ในการศึกษาระยะหลังๆ ยังมีการพบความแตกต่างของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ภายในกลุ่มสายพันธุ์ยุโรปด้วยกันเองอีกด้วย มีการศึกษาพบว่า ในกลุ่มของไวรัสสายพันธุ์ยุโรปด้วยกัน วัคซีนพีอาร์อาร์เอส ก็

มักจะมีประสิทธิภาพต่อการป้องกันโรคที่ เกิดจากสายพันธุ์ที่มีความเหมือนกันเท่านั้น (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 และกลุ่มที่ 2 ทำวัคซีน 1 เข็มในสุกรสาวอายุ 179.4$\pm$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) 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 พบเชื้อไวรัสได้ในต่อมลูกหมาก (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 นอกจากนี้การติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในพ่อสุกรจะทำให้พ่อสุกรเกิดภาวะอัณฑะอักเสบ และมีผลกระทบต่อกระบวนการสร้างตัวอสุจิของพ่อสุกรอีกด้วย

การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์เกิดจากการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสผ่านทางเลือดไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ โดยเชื้อไวรัสจะไปกับเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจ เซลล์ที่มีการติดเชื้อจะเข้าไปแทรกในเนื้อเยื่อรอบๆ ท่อสร้างอสุจิ จากนั้นเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจจะแพร่กระจายไปยังเซลล์ใกล้เคียงที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์ในท่อสร้างอสุจิ โดยอาจเป็นการแพร่ของเชื้อไวรัสจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่งโดยตรง หรือเกิดจากการแพร่เชื้อไวรัสไปตามช่องว่างระหว่างเซลล์ ทำให้เซลล์สืบพันธุ์เกิดการติดเชื้อและมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์สืบพันธุ์ได้ (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)

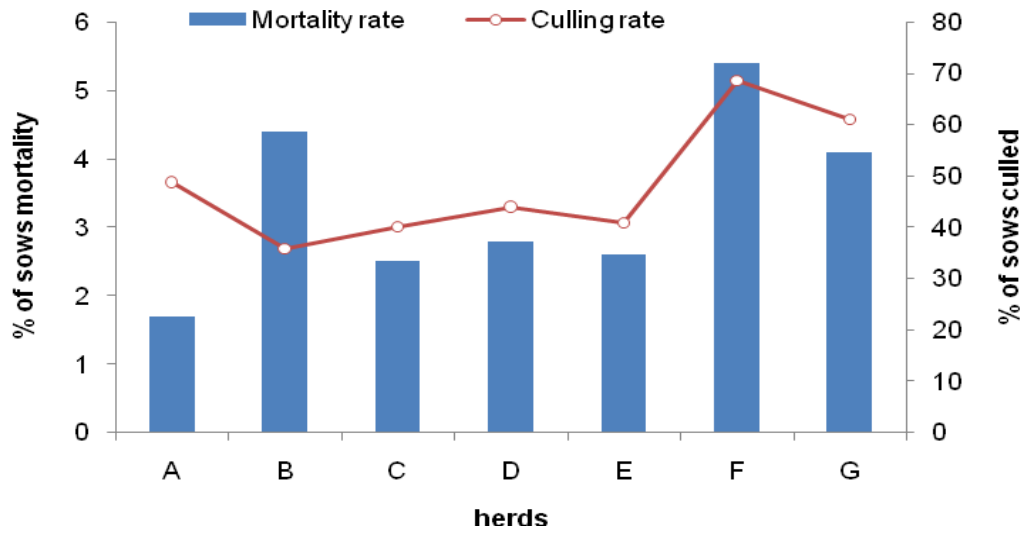
สาเหตุการคัดทิ้ง	จำนวน	PRRSV	ADV	PPV[1]	Brucellosis
แท้ง	16	13 (81%)[ab]	8 (50%)[ab]	7 (44%)[a]	0
ไม่เป็นสัด	85	65 (76%)[a]	10 (12%)[c]	64 (79%[2])[b]	0
ผสมซ้ำ	26	21 (81%)[ab]	16 (62%)[a]	12 (46%)[a]	0
หนองไหล	39	23 (59%)[b]	13 (33%)[b]	31 (89%[3])[b]	0
ทั้งหมด	166	122 (73%)	47 (28%)	114 (72%)	0

[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 เชื้อที่แยกได้พบการขาดหายไปของกรดอะมิโนในตำแหน่งเดียวกันเหมือนกันทุกตัว และอยู่บริเวณตำแหน่ง NSP2 เหมือนกัน และจากการทดสอบความเหมือนกันบนสายนิวคลีโอไทด์พบว่ามีความเหมือนกันสูงถึง 94.7-100%

ในขณะที่มีความเหมือนกับสายพันธุ์อเมริกาสายพันธุ์เก่าที่เคยแยกได้ในอเมริกาเหนือเพียง 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 ในสุกรทุกตัวที่ได้รับเชื้อไวรัสพบการสูงขึ้นของแอนติบอดีในวันที่ 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 แต่อัตราการตายโดยทั้งไปพบในสัดส่วนที่ไม่สูงมากนัก ต่างจากอัตราการตายของสุกรในประเทศจีนที่พบได้ในเปอร์เซ็นต์ที่สูงมาก โดยการเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อในครั้งนี้และเพิ่มอัตราการตายของสุกรนี้นับเป็นครั้งแรก โดยลักษณะทางพยาธิวิทยาพบลักษณะหูเป็นสีม่วงเป็นลักษณะที่ โดยปกติจะพบในเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ยุโรปมากกว่าอเมริกา แต่ก็มาพบในสายพันธุ์จีนซึ่งมีความใกล้ชิดกับสายพันธุ์อเมริกามากกว่าด้วย แตกต่างจากสายพันธุ์อเมริกาปกติ ลักษณะทางพันธุกรรมเด่นๆ คือ การขาดหายไปบางส่วนของโปรตีน NSP2 และด้วยเหตุผลนี้คุณสมบัติบางประการของเชื้อไวรัสจึงเปลี่ยนไป แต่ NSP2 จะเกี่ยวข้องกับความรุนแรงหรือไม่ ก็ยังไม่ทราบ นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงของ GP5 ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะกับเชื้อไวรัส (neutralizing antibodies) ด้วยเช่นกัน

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

ประเทศจีนนี้ยังจำเป็นต้องศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเพื่อหากลไกของการก่อโรคและลักษณะทางพันธุกรรมเพื่อจะได้ควบคุมได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1

การออกแบบการทดลอง

ข้อมูลสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ถูกเก็บมาจากฟาร์มสุกรอุตสาหกรรมก่อน ระหว่าง และภายหลังจากระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสและการทำวัคซีนในสุกรสาวและแม่สุกรด้วยวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรม (Ingelvac® PRRS MLV, Boehringer-Ingelheim Vetmedica, Inc., St. Joseph, Missouri) ข้อมูลถูกนำมาวิเคราะห์เพื่อศึกษาผลของการทำวัคซีนต่อ (1) การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการทดสอบด้วยวิธี ELISA และการติดเชื้อไวรัสในกระแสเลือด (2) ตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผสม (อัตราการเข้าคลอด อัตราการกลับสัด และอัตราการแท้ง) และ (3) ตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิตลูกสุกร (จำนวนลูกสุกรแรกคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต จำนวนลูกสุกรตายแรกคลอด และจำนวนลูกสุกรมัมมี่)

การจัดการฝูงสุกรและการทำวัคซีน

การศึกษาในครั้งนี้ทำการศึกษาในฟาร์มสุกรแม่พันธุ์อุตสาหกรรมขนาด 1,200 แม่ ในภาคกลางของประเทศไทยซึ่งเป็นฟาร์มที่ใช้สุกรสาวทดแทนที่ผลิตเองภายในฟาร์มจากสุกรพ่อแม่พันธุ์ สุกรสาวทดแทนถูกคลุกในช่วงอายุ 22-30 สัปดาห์ก่อนถูกส่งเข้าฝูงแม่พันธุ์โดยคาดหวังว่าสุกรสาวทดแทนทุกตัวจะเป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สุกรสาวและแม่สุกรถูกเลี้ยงในโรงเรือนแบบเปิด ได้แก่ พื้นสแลตและผนังเปิด โปรแกรมการจัดการสุขภาพของฝูงดูแลโดยสัตวแพทย์ประจำฟาร์ม สุกรสาวและแม่สุกรไม่เคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสมาก่อน แต่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคโรคปากเท้าเปื่อย (2 สัปดาห์ก่อนเข้าคลอด) โรคอหิวาต์สุกร (2 สัปดาห์หลังคลอด) โรคพิษสุนัขบ้าเทียม (ปูพรมทุก 4 เดือน) และโรคพาร์โวไวรัสในสุกร (สุกรสาวทดแทนก่อนส่งเข้าฝูงแม่พันธุ์ หลังจากนั้นทำที่ 2 สัปดาห์หลังคลอดทุกๆ 3 ลำดับท้อง)

ข้อมูลการเฝ้าระวังโรคพีอาร์อาร์เอส

สุกรสาวและแม่สุกร (จำนวน 20-30 ตัว) ถูกนำมาตรวจปีละ 2 ครั้ง ด้วยชุดทดสอบ ELISA (HerdChek® PRRSV antibody test kit 2XR®, IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine) เป็นเวลา 3 ปีก่อนมีการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสในฟาร์ม จากผลการตรวจเฝ้าระวังโรคพบว่าฝูงสุกรเป็นบวกต่อโรคพีอาร์อาร์เอสแต่สถานะของโรคคงที่ ในช่วงต้นของเดือนมกราคมปี 2009 พบความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ โดยพบการแท้งในสุกรสาวและแม่สุกรที่ถูกผสมในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคมปี ค.ศ. 2008 การเพิ่มขึ้นของอัตราการกลับสัดหลังผสม และการเพิ่มขึ้นของอัตราการตายในลูกสุกรดูดนมและลูกสุกรหย่านมในเดือนมกราคมปี ค.ศ. 2009 มีการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไทป์ 2 โดยวิธี reverse transcription polymerase reaction (RT-PCR) ในตัวอย่างซีรั่มจากแม่สุกรและลูกสุกรที่ถูกส่งมาตรวจที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสและการเก็บตัวอย่างเลือด

วันที่ 15 เดือนพฤษภาคมปี ค.ศ. 2009 สุกรสาวและแม่สุกรทุกตัวในฝูงได้รับวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นห่างกัน 3 สัปดาห์ ได้แก่ สัปดาห์ที่ 0 และ 3 หลังจากนั้นสุกรสาวและแม่สุกรทุกตัว (ทั้งที่กำลังตั้งท้องและไม่ได้ตั้ง

ท้อง) ได้รับวัคซีนทุกๆ 3 เดือน ภายหลังจากการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสครั้งแรก สุกร 6 กลุ่มอายุซึ่งแต่ละกลุ่มประกอบด้วยสุกรกลุ่มละ 6 ตัวถูกเลือกมาสำหรับการตรวจเฝ้าระวังโรคพีอาร์อาร์เอส ได้แก่ (1) สุกรสาวทดแทนอายุ 7-8 เดือน (2) สุกรสาวผสมอายุ 9-11 เดือน (3) แม่สุกรลำดับท้องที่ 1 (4) แม่สุกรลำดับท้องที่ 2 (5) แม่สุกรลำดับท้องที่ 3-4 และ (6) แม่สุกรลำดับท้องที่ 5-6 ตัวอย่างเลือดถูกเก็บจากสุกรที่เลือกมาทั้ง 36 ตัว 1 วันก่อนทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอส และวันที่ 2 5 9 12 และ 18 ภายหลังการทำวัคซีน ตัวอย่างเลือดถูกตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างซีรั่มและทำการทดสอบหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทันทีหรือเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อทำการตรวจภายหลัง ตัวอย่างซีรั่ม (จำนวน 6 ตัวอย่าง) ถูกนำมารวมกันตามกลุ่มอายุและทดสอบหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธี RT-PCR

แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและการทดสอบโดยวิธี RT-PCR

ตัวอย่างซีรั่มทุกตัวอย่างถูกนำไปทดสอบหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป ซึ่งวิธีการทดสอบทำตามวิธีการที่แนะนำโดยผู้ผลิตชุดทดสอบ ตัวอย่างซีรั่มที่รวมกันแล้วถูกนำไปทดสอบหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป (AccessQuick™ RT-PCR system, Promega Corporation, Madison, Wisconsin) เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนพันธุกรรมส่วน open reading frame 7 ทั้งเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไทป์ 1 และ 2 ปฏิกิริยาการทดสอบประกอบด้วย primer ชนิดไปข้างหน้าและไปข้างหลัง (Amonsin et al., 2009) avian myelobalastosis virus reverse transcriptase (Promega Corporation) และชิ้นส่วน RNA ขั้นตอนกระบวนการ reverse transcription และการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยวิธี PCR ทำตามวิธีการที่แนะนำโดยผู้ผลิตชุดทดสอบ ชิ้นส่วนพันธุกรรมที่เพิ่มจำนวนแล้วและสารละลายมาตรฐาน (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, Fermentas Inc., Glen Burnie, Maryland) ถูกนำไปทดสอบโดยวิธี electrophoresis ด้วย agarose gel 1% และย้อมเจลด้วย ethidium bromide การจำแนกจีโนไทป์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจำแนกจากขนาดของชิ้นส่วนพันธุกรรมที่เพิ่มจำนวนแล้ว ได้แก่ 390 bp สำหรับไทป์ 1 และ 430 bp สำหรับไทป์ 2

ข้อมูลสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์

ข้อมูลสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ถูกเก็บตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2007 ถึงเดือนมิถุนายน 2010 จากบันทึกผลผลิตของฟาร์ม (PigCHAMP®, version 4.10, Minnesota) นิยามของตัวชี้วัดสมรรถภาพต่างๆยึดถือตามนิยามและการคำนวณตามอุตสาหกรรมผลิตสุกรทั่วไป การผสมพันธุ์ (mating) คือการผสมพันธุ์สุกรสาวหรือแม่สุกรในช่วง 10 วัน ที่สุกรอยู่ในระยะเป็นสัดและมีการผสมเทียมหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งครั้งในช่วงที่มีการเป็นสัด (Takai and Koketsu, 2009) การกลับสัด การแท้ง และการคลอด แสดงผลเป็น 2 ลักษณะ (0 และ 1) (binomial data) อัตราการเข้าคลอด อัตราการกลับสัด และอัตราการแท้งคำนวณจากจำนวนแม่สุกรที่กลับสัดหรือแท้งหรือเข้าคลอดหารด้วยจำนวนแม่สุกรที่ได้รับการผสมแล้วคูณด้วย 100 จำนวนลูกสุกรแรกคลอดทั้งหมด (total number of piglet born per litter) คิดจากผลรวมของจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตบวกด้วยจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอดและจำนวนลูกสุกรมัมมี่ เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอด และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่คำนวณจากจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอดหรือลูกสุกรมัมมี่หารด้วยจำนวนลูกสุกรแรกคลอดทั้งหมดคูณด้วย 100 สุกรอุ้มท้องถูกจำแนกเป็นกลุ่มตามสถานะการทำวัคซีนโดยใช้การทำวัคซีนที่เกิดขึ้นในวันที่ 15 พฤษภาคม 2009 เป็นเกณฑ์ในการจำแนก ได้แก่ (1) ทำวัคซีนในช่วงระยะ 0-30 วันของการตั้งท้อง (2) 31-60 วันของการตั้งท้อง และ (3) 61-90 วันของการตั้งท้อง และ (4) ทำวัคซีนในช่วงระยะมากกว่า 90 วันของการตั้งท้อง ข้อมูลดิบประกอบด้วยจำนวนการผสม 8,162 ครั้งและการคลอด 6,975 ครั้งจากแม่สุกรจำนวน

2,543 ตัว ข้อมูลที่มีการบันทึกไม่ครบถ้วนถูกคัดออกจากการวิเคราะห์ เหลือข้อมูลการผสมทั้งสิ้น 7,914 ครั้งและการคลอด 6,793 ครั้ง จากแม่สุกรจำนวน 2,337 ตัว ข้อมูลที่เก็บ ได้แก่ เบอร์แม่สุกร ลำดับท้องขณะผสม วันผสม จำนวนครั้งที่ได้รับการผสม ผลของการผสม จำนวนวันที่แม่กลับสัดหลังจากผสม วันคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต จำนวนลูกสุกรตายแรกคลอด และจำนวนลูกสุกรมัมมี่

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติทำโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SAS (SAS® version 9.0, SAS® Institute Inc., Cary, North Carolina) ในส่วนแรก ตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผสม (อัตราการกลับสัด อัตราการแท้ง และอัตราการเข้าคลอด) และตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิตลูกสุกร (จำนวนลูกสุกรแรกคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอด และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่) ถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี generalized linear-mixed model ตามระยะเวลาต่างๆ ได้แก่ ก่อนการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (เดือนกรกฎาคม 2007 ถึงเดือนมิถุนายน 2008) ระหว่างการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในภาคสนาม (เดือนกรกฎาคม 2008 ถึงเดือนมิถุนายน 2009) และภายหลังการทำวัคซีน (เดือนกรกฎาคม 2009 ถึงเดือนมิถุนายน 2010) สถานะการทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส ลำดับท้อง (0 1 2-4 และมากกว่า 5) ลำดับท้องตามเวลา และลำดับท้องตามสถานะการทำวัคซีน การเปรียบเทียบหลายกลุ่มใช้การปรับข้อมูลด้วยวิธีของ Tukey-Kramer ค่า *P* value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในซีรั่มที่ทดสอบด้วยวิธี ELISA เชิงปริมาณ (ค่าสัดส่วน S/P) ถูกวิเคราะห์ตามสัปดาห์ที่เก็บตัวอย่าง (0 2 5 9 12 และ 18) โดยใช้วิธี paired *t* test การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในซีรั่มที่ทดสอบด้วยวิธี ELISA เชิงคุณภาพ (บวก และลบ) ถูกวิเคราะห์โดยใช้สมการถดถอยด้วยวิธี generalized linear-mixed model ซึ่งรวมผลของสัปดาห์ที่ทำการเก็บตัวอย่าง (0 2 5 9 12 และ 18) และกลุ่มของแม่สุกร (สุกรสาวทดแทน สุกรสาวผสม และแม่สุกรลำดับท้องที่ 1 2 3-4 และ 5-6)

การทดลองที่ 2

ข้อมูล

ข้อมูลจาก 2,273 ตัวอย่าง ที่ส่งตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้มาจากหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ (CU-VDL) คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ ประเทศไทย ในช่วงระหว่างมกราคม 2548 ถึงธันวาคม 2553 โดยตัวอย่างถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ เนื้อเยื่อ (เช่น ปอด ทอนซิล ม้าม ตัว ฯลฯ) (n=636) น้ำเชื้อ (n=210) และซีรั่ม (n=1,427) ข้อมูลประกอบด้วยวันที่ส่งตัวอย่าง ที่ตั้งของฟาร์ม (ภาคเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตก และภาคใต้ของประเทศไทย) และชนิดของสุกร (พ่อสุกร แม่สุกร ลูกสุกร สุกรอนุบาล และสุกรขุน) ข้อมูลได้จากสมุดหน้าเล้าที่บันทึกตั้งแต่ปี 2548-2553 และบันทึกลงในคอมพิวเตอร์ (Microsoft Excel 2007, WA., USA.) ฤดูกาลแบ่งออกเป็นฤดูร้อน (กุมภาพันธ์-พฤษภาคม) ฤดูฝน (มิถุนายน-กันยายน) และฤดูหนาว (ตุลาคม-กุมภาพันธ์)

นิยาม

ตัวอย่างที่ศึกษา ถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มที่มีปัญหาระบบทางเดินหายใจ (respiratory case) และกลุ่มที่มีปัญหาระบบสืบพันธุ์ (reproductive case) ตัวอย่างน้ำเชื้อจากพ่อสุกร รวมทั้งซีรั่ม และตัวอย่างเนื้อเยื่อจากพ่อสุกร แม่สุกร ลูกสุกรดูดนม เป็น “reproductive cases” และตัวอย่างจากสุกรอนุบาล และสุกรขุนถือเป็น

“respiratory cases” ตัวอย่างที่ถูกส่งรวมกันมา (pool samples) ถือเป็นหนึ่งตัวอย่าง ผลการตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เป็น ‘0’ ถือว่าเป็นลบ และ ‘1’ ถือว่าเป็นบวก ชนิดของไวรัสแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 2 และ พบทั้งสายพันธุ์ที่ 1 และ 2

การตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธี Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction

การตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทำได้โดยวิธี Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) โดยวิธีของ Thanawongnuwech et al. (2004) กล่าวโดยย่อ คือ one-step RT-PCR (QIAGEN, USA) ใช้เพื่อเพิ่มจำนวนจีโนมของ ORF1b โดยใช้ thermoregulator PTC-200 (MJ Research, USA). PCR 2 ไมโครลิตร ถูกใช้เพื่อเป็นสายต้นแบบสำหรับ nested multiplex PCR ภายใต้เงื่อนไขเดียวกัน ขนาดของ expected multiplex PCR products (ORF1b) คือ 186 และ 107 bp สำหรับสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 ตามลำดับ มีการใส่ตัวควบคุมผลบวก (positive control) โดยเป็นไวรัส Lelystad และ SVI275 สำหรับ สายพันธุ์ที่ 1 and 2 ตามลำดับ ผลการตรวจสอบเชื้อไวรัสแต่ละชนิดสามารถระบุได้ว่าเป็น สายพันธุ์ที่ 1 2 และ พบทั้งสองสายพันธุ์ Phylogenetic tree ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทยมีรายงานในฐานข้อมูลของ NCBI ระหว่างปี 2543-2554 (ในประเทศไทยพบ 62 ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แยกได้จากยีน ORF5 และ 13 ลำดับนิวคลีโอไทด์จากต่างประเทศ) ถูกนำมาวิเคราะห์โดย MEGA 5.5 และสร้างโดย neighbor joining method และพิสูจน์โดย bootstrap method

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรม SAS (SAS version 9.0, Cary, NC., USA.) ทำการวิเคราะห์ความถี่สำหรับการปรากฏของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส และความถี่ของแต่ละสายพันธุ์ (สายพันธุ์ที่ 1 2 และ พบทั้งสอลสายพันธุ์) ทำได้โดยใช้ PROC FREQ ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในแต่ละประเภท รายงานเป็นร้อยละ การประเมินผลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสใช้การวิเคราะห์แบบ generalized linear model procedure (PROC GENMOD) ค่า $P<0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1

ผลการตรวจซีรั่ม

ไม่พบสุกรที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในกระแสเลือดโดยการตรวจด้วยวิธี RT-PCR ทั้งก่อนและหลังการทำวัคซีน จากสุกรทั้งหมด 36 ตัว ที่ทำการตรวจเฝ้าระวังโรคพีอาร์อาร์เอสพบว่า 88.9% (32/36) ตรวจพบแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA ก่อนการทำวัคซีน (ตารางที่ 3) ภายหลังการทำวัคซีนพบว่าเปอร์เซนต์ซีรั่มที่เป็นบวกแปรปรวนระหว่าง 85.3% ถึง 94.4% ในช่วง 18 สัปดาห์ ที่ทำการตรวจเฝ้าระวัง ค่าเฉลี่ยสัดส่วน S/P จากการตรวจด้วยวิธี ELISA แปรปรวนระหว่าง 1.61 ในช่วงก่อนการทำวัคซีนถึง 1.23 ในสัปดาห์ที่ 18 ภายหลังการทำวัคซีน

ตารางที่ 3 ผลการตรวจซีรั่มเป็นรายสัปดาห์ภายหลังการทำวัคซีนเชื้อเป็นป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส

สัปดาห์ที่	ผลตรวจ ELISA (ค่าเฉลี่ยสัดส่วน S/P)	ELISA ที่เป็นบวก	ผลตรวจ RT-PCR
0	1.61±0.19[ab]	32/36 (88.9%)[a]	ลบ
2	1.88± 0.16[a]	34/36 (94.4%)[a]	ลบ
5	1.47± 0.16[b]	31/36 (86.1%)[a]	ลบ
9	1.32± 0.15[b]	32/36 (88.9%)[a]	ลบ
12	1.46± 0.17[b]	29/34 (85.3%)[a]	ลบ
18	1.23± 0.07[b]	31/33(93.9%)[a]	ลบ

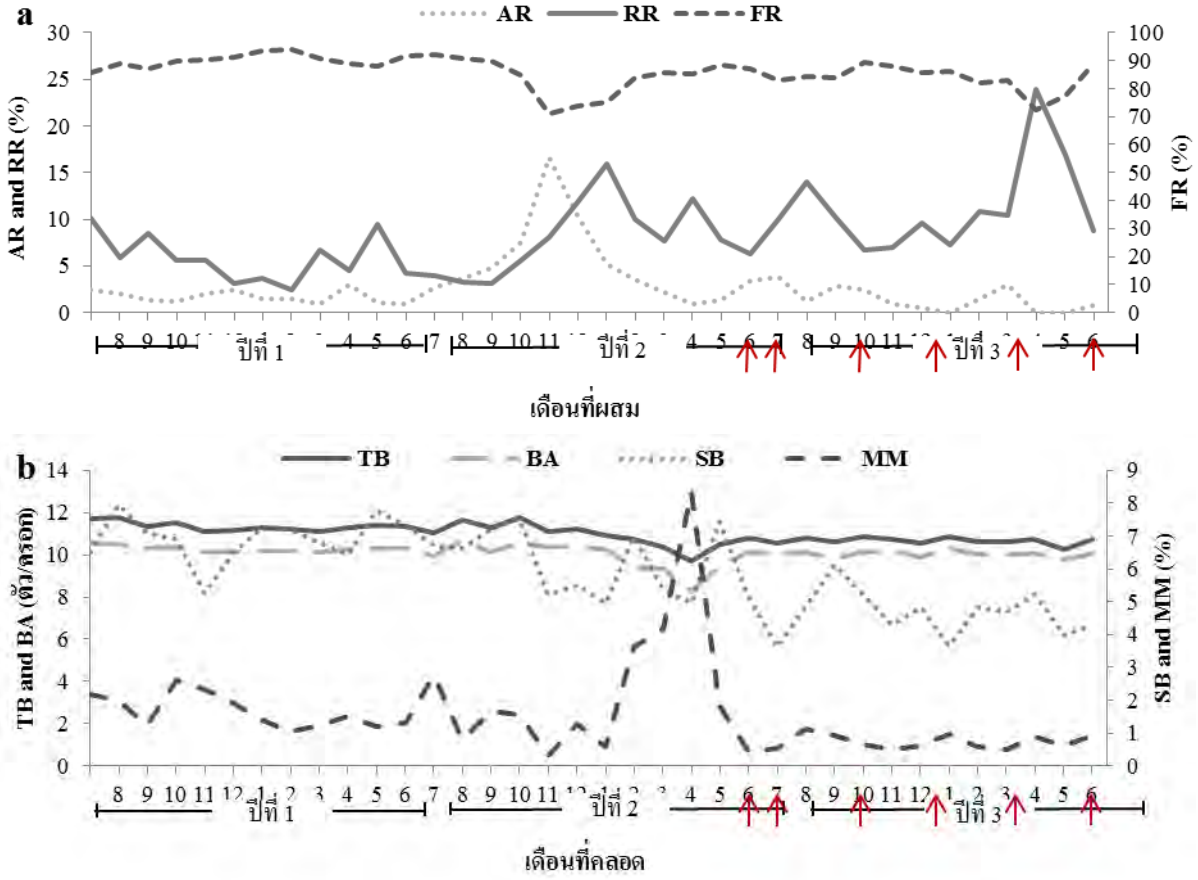
ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a และ b) ภายในคอลัมภ์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์

ตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพทางการผสมของฝูง (อัตราการเข้าคลอด อัตราการกลับสัด และอัตราการแท้ง) และตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพทางการผลิตลูกสุกร (จำนวนลูกสุกรแรกคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอด และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่) ตามช่วงระยะเวลาสรุปไว้ในรูปที่ 2a, b และตารางที่ 3 และ 4 ตามลำดับ

ก่อนเกิดการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอส อัตราการเข้าคลอด อัตราการแท้ง อัตราการกลับสัด เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอด และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่เป็น 90.0% 1.6% 5.9% 7.0% และ 1.6% ตามลำดับ ในขณะที่จำนวนลูกสุกรแรกคลอดและจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตเป็น 11.4 และ 10.3 ตัวต่อครอกตามลำดับ ในช่วงที่เกิดการระบาดโดยเฉพาะเดือนพฤศจิกายน 2008 ถึงเดือนมกราคม 2009 พบการเพิ่มขึ้นของอัตราการแท้ง (16.7%) และการลดลงของอัตราเข้าคลอด (71.2%) จำนวนลูกสุกรแรกคลอดและจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตที่ต่ำสุด ได้แก่ 9.7 และ 8.3 ตัวต่อครอกตามลำดับ และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่สูงสุด (8.4%) ถูกพบในสุกรสาวและแม่สุกรที่คลอดในเดือนเมษายน 2009 (ถูกผสมในเดือนมกราคม 2009) ในช่วงที่เกิดการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสพบผลกระทบต่อ

สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงก่อนการระบาด ได้แก่ อัตราเข้าคลอด (83.9% กับ 90.0%, *P*<0.001) อัตราการแท้ง (5.2% กับ 1.6%, *P*<0.001) อัตราการกลับสัด (8.0% กับ 5.9 %, *P*=0.048) จำนวนลูกสุกรแรกคลอด (10.9 กับ 11.4 ตัวต่อครอก, *P*<0.001) จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต (9.9 กับ 10.3 ตัวต่อครอก, *P*<0.001) และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่ (2.2% กับ 1.6%, *P*=0.004)



รูปที่ 2 (a) อัตราการเข้าคลอด (FR) อัตราการแท้ง (AR) และอัตราการกลับสัด (RR), (b) และจำนวนลูกสุกรแรกคลอดต่อครอก (TB) จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตต่อครอก (BA) เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอดต่อครอก (SB) และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่ต่อครอก (MM) ลูกศรแสดงวันที่มีการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผสมตามลำดับท้องในช่วงเวลาต่างๆ

ตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผสม	ปีที่ 1 ก.ค.2007–มิ.ย.2008 (ก่อนการระบาด)	ปีที่ 2 ก.ค.2008–มิ.ย.2009 (ระหว่างการระบาด)	ปีที่ 3 ก.ค.2009–มิ.ย.2010 (หลังการทำวัคซีน)
จำนวนแม่สุกร	1,332	1,253	1,452
จำนวนครั้งการผสม	2,582	2,540	2,792
อัตราการเข้าคลอด (%)	90.0[a]	83.9[b]	83.8[b]
ลำดับท้องที่ 0	86.6[a]	87.0[a]	87.2[a]
ลำดับท้องที่ 1	91.2[a]	84.4[a]	85.8[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	91.5[a]	82.1[b]	84.3[b]
ลำดับท้องที่ ≥5	88.0[a]	84.6[ab]	78.3[b]
อัตราการกลับสัด (%)	5.9[a]	8.0[a]	11.3[b]
ลำดับท้องที่ 0	7.5[a]	8.4[a]	10.1[a]
ลำดับท้องที่ 1	5.4[a]	8.6[a]	10.9[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	5.4[a]	8.9[b]	10.0[b]
ลำดับท้องที่ ≥5	6.0[a]	5.5[a]	14.8[b]
อัตราการแท้ง (%)	1.6[a]	5.2[b]	1.4[a]
ลำดับท้องที่ 0	1.8[a]	2.8[a]	1.0[a]
ลำดับท้องที่ 1	1.3[a]	4.4[a]	1.0[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	1.4[a]	5.9[b]	1.7[a]
ลำดับท้องที่ ≥5	2.9[ab]	6.5[b]	1.6[a]

อาการของโรคพีอาร์อาร์เอสพบในปลายปี ค.ศ. 2008 โดยตรวจพบเชื้อไวรัสในซีรั่มโดยวิธี RT-PCR ในเดือนมกราคม ค.ศ. 2009 วัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นถูกนำมาใช้ครั้งแรกวันที่ 15 พฤษภาคม ค.ศ. 2009

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a และ b) ภายในแถวเดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิต (means ± SEM) ตามลำดับท้องในช่วงเวลาต่างๆ

ตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิต	ปีที่ 1 ก.ค.2007–มิ.ย.2008 (ก่อนการระบาด)	ปีที่ 2 ก.ค.2008–มิ.ย.2009 (ระหว่างการระบาด)	ปีที่ 3 ก.ค.2009–มิ.ย.2010 (หลังการทำวัคซีน)
จำนวนแม่สุกร	1,233	1,120	1,365
จำนวนครั้งการคลอด	2,362	2,116	2,315
ลูกแรกคลอด	11.4± 0.1[a]	10.9± 0.1[b]	10.6± 0.1[c]
ลำดับท้องที่ 1	10.3± 0.1[a]	10.2± 0.1[a]	10.2± 0.1[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	11.6± 0.1[a]	11.0± 0.1[b]	10.8± 0.1[b]
ลำดับท้องที่ ≥5	11.6± 0.1[a]	11.2± 0.1[a]	10.7± 0.1[b]
ลูกแรกคลอดมีชีวิต	10.3± 0.1[a]	9.9±0.1[b]	10.0± 0.1[c]
ลำดับท้องที่ 1	9.3±0.1[a]	9.0±0.1[a]	9.4±0.1[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	10.6± 0.1[a]	10.1± 0.1[b]	10.3± 0.1[ab]
ลำดับท้องที่ ≥5	10.4± 0.1[a]	10.1± 0.1[a]	10.1± 0.1[a]
ลูกตายแรกคลอด (%)	7.0±0.2[a]	6.1±0.2[b]	4.6±0.2[c]
ลำดับท้องที่ 1	7.2±0.5[a]	6.9±0.5[a]	5.8±0.4[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	6.3±0.2[a]	5.3±0.3[a]	4.1±0.2[b]
ลำดับท้องที่ ≥5	8.2±0.4[a]	6.9±0.4[a]	4.6±0.3[b]
ลูกมัมมี่ (%)	1.6±0.1[a]	2.2±0.2[b]	0.7±0.1[c]
ลำดับท้องที่ 1	1.8±0.3[a]	3.7±0.6[b]	1.4±0.3[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	1.6±0.2[a]	2.1±0.3[a]	0.6±0.1[b]
ลำดับท้องที่ ≥5	1.6± 0.2[ab]	1.8±0.3[a]	0.5±0.1[b]

อาการของโรคพีอาร์อาร์เอสพบในปลายปี 2008 โดยตรวจพบเชื้อไวรัสในซีรั่มโดยวิธี RT-PCR ในเดือนมกราคม 2009 วัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นถูกนำมาใช้ครั้งแรกวันที่ 15 พฤษภาคม 2009

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a, b และ c) ภายในแถวเดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ภายหลังการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสพบว่า อัตราการแท้งลดลงจากช่วงที่มีการระบาด (1.4 เทียบกับ 5.2 %, *P*<0.001) และกลับเข้าสู่ระดับเดียวกับช่วงก่อนมีการระบาด (1.4 เทียบกับ 1.6 %, *P*>0.05) ในขณะที่อัตราการกลับสัดยังคงสูงกว่าช่วงที่มีการระบาด (11.3 เทียบกับ 5.9 %, *P*<0.001) หรือช่วงที่มีการระบาด (11.3 เทียบกับ 8.0 %, *P*<0.001) (ตารางที่ 4) อัตราการเข้าคลอดไม่แตกต่างจากช่วงที่มีการระบาด (83.8 เทียบกับ 83.9 %, *P*>0.05) แต่ยังคงต่ำกว่าช่วงก่อนการระบาด (83.8 เทียบกับ 90.0 %, *P*<0.001) (ตารางที่ 4) จำนวนลูกสุกรแรกคลอดและจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตต่ำกว่าช่วงก่อนการระบาด (10.6 เทียบกับ 11.4 ตัวต่อครอก, *P*<0.001 และ 10.0 เทียบกับ 10.3 ตัวต่อครอก, *P*=0.012 ตามลำดับ) (ตารางที่ 4) แต่อย่างไรก็ตาม ขณะที่จำนวนลูกสุกรแรกคลอดต่ำกว่าในช่วงที่มีการระบาด (10.6 เทียบกับ 10.9 ตัวต่อครอก, *P*=0.015) จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตกลับสูงกว่า (10.0 เทียบกับ 9.9 ตัวต่อครอก, *P*=0.012) (ตารางที่ 5) เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอดและเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่ต่ำกว่าทั้งช่วงก่อนมีการระบาด (4.6 เทียบกับ 7.0 %, *P*<0.001 และ 0.7 เทียบกับ 1.6 %, *P*<0.001 ตามลำดับ) และช่วงที่มีการระบาด (4.6 เทียบกับ 6.1 %, *P*<0.001 และ 0.7 เทียบกับ 2.2 %, *P*<0.001 ตามลำดับ) (ตารางที่ 5) อัตราการตายก่อนหย่านมช่วงก่อนที่มีการระบาด ระหว่างการระบาด และภายหลังการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นได้แก่ 4.7, 8.5 และ 4.4% ตามลำดับ ซึ่งคำนวนมาจากจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต 24,302 ตัว และจำนวนลูกสุกรหย่านม 23,254 ตัว ในช่วงก่อนการระบาด จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต 20,999 ตัว และจำนวนลูกสุกรหย่านม 19,217 ตัว ในช่วงที่มีการระบาด และจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต 23,228 ตัว และจำนวนลูกสุกรหย่านม 22,196 ตัว ในช่วงหลังการทำวัคซีน

ภายหลังการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสพบว่า อัตราการเข้าคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต และจำนวนลูกสุกรมัมมี่แปรปรวนตามระยะเวลาการตั้งท้องในขณะที่สุกรได้รับวัคซีน (ตารางที่ 6 และ 7) สุกรสาวและแม่สุกรที่ได้รับวัคซีนในช่วงมากกว่า 90 วัน ของการตั้งท้องจะมีอัตราการเข้าคลอดที่ต่ำกว่าสุกรที่ได้รับวัคซีนในช่วง 0-30 วันของการตั้งท้อง (77.3 เทียบกับ 88.3 %, *P*=0.008) ช่วง 31-60 วันของการตั้งท้อง (77.3 เทียบกับ 85.1 %, *P*=0.055) และช่วง 61-90 วันของการตั้งท้อง (77.3 เทียบกับ 84.7 %, *P*=0.176) (ตารางที่ 6) อัตราการกลับสัดและอัตราการแท้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสถานะการทำวัคซีน แม้ว่าค่าที่พบจะมีความแตกต่างกันทางตัวเลขก็ตาม เช่นกันกับอัตราการเข้าคลอด อัตราการกลับสัด และอัตราการแท้งที่พบความแตกต่างกันระหว่างลำดับท้องต่างๆ แต่ก็ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6) จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตต่ำที่สุด (9.2 ตัวต่อครอก) และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่สูงที่สุด (5.3 ตัวต่อครอก) พบในสุกรที่ทำวัคซีนในช่วง 0-30 วันของการตั้งท้อง (ตารางที่ 7) อย่างไรก็ดีจำนวนลูกสุกรแรกคลอดและเปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอดไม่มีความแตกต่างกันระหว่างลำดับท้องต่างๆ หรือระยะของการตั้งท้องในขณะที่สุกรได้รับวัคซีน

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผสมตามระยะต่างๆ ของการตั้งท้องในขณะที่ได้รับวัคซีน

ตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผสม	ระยะการตั้งท้อง			
	0 - 30 วัน	31 - 60 วัน	61 - 90 วัน	>90 วัน
จำนวนสุกร	213	222	228	216
อัตราการเข้าคลอด (%)	88.3[a]	85.1[ab]	84.7[ab]	77.3[b]
ลำดับท้องที่ 0	93.6[a]	86.5[a]	92.3[a]	82.5[a]
ลำดับท้องที่ 1	94.9[a]	95.1[a]	81.8[a]	78.4[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	81.8[a]	77.5[a]	82.6[a]	77.2[a]
ลำดับท้องที่ ≥5	90.9[a]	89.1[a]	86.1[a]	72.3[a]
อัตราการกลับสัด (%)	8.5[a]	11.3[a]	8.8[a]	13.4[a]
ลำดับท้องที่ 0	3.2[a]	13.5[a]	5.1[a]	10.0[a]
ลำดับท้องที่ 1	5.1[a]	4.9[a]	9.1[a]	13.5[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	11.4[a]	16.8[a]	11.9[a]	16.3[a]
ลำดับท้องที่ ≥5	9.1[a]	5.4[a]	2.8[a]	10.6[a]
อัตราการแท้ง (%)	0.9[a]	0.9[a]	2.6[a]	5.6[a]
ลำดับท้องที่ 0	0.0[a]	0.0[a]	0.0[a]	7.5[a]
ลำดับท้องที่ 1	0.0[a]	0.0[a]	2.3[a]	5.4[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	2.3[a]	1.1[a]	1.8[a]	5.4[a]
ลำดับท้องที่ ≥5	0.0[a]	1.8[a]	8.3[a]	4.3[a]

วัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นถูกทำในวันที่ 15 พฤษภาคม 2009

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a, b และ c) ภายในแถวเดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิต (means ± SEM) ตามระยะต่างๆ ของการตั้งท้องในขณะที่ได้รับวัคซีน

ตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิต	ระยะการตั้งท้อง			
	0 - 30 วัน	31 - 60 วัน	61 - 90 วัน	>90 วัน
จำนวนครั้งการคลอด	188	189	193	167
ลูกแรกคลอด	10.5±0.2[a]	10.6±0.2[a]	11.0±0.2[a]	11.1±0.2[a]
ลำดับท้องที่ 1	9.8±0.6[a]	9.6±0.6[a]	10.0±0.4[a]	10.4±0.5[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	10.1±0.3[a]	10.8±0.3[a]	11.3±0.3[a]	11.1±0.3[a]
ลำดับท้องที่ ≥5	11.2±0.3[a]	10.9±0.4[a]	11.0±0.3[a]	11.6±0.4[a]
ลูกแรกคลอดมีชีวิต	9.2±0.2[a]	9.4±0.2[a]	10.3±0.2[b]	10.3±0.2[b]
ลำดับท้องที่ 1	8.1±0.6[a]	8.4±0.5[a]	9.2±0.4[a]	9.5±0.4[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	8.6±0.3[a]	9.9±0.3[ab]	10.6±0.2[b]	10.4±0.3[b]
ลำดับท้องที่ ≥5	10.2±0.3[a]	9.1±0.4[a]	10.5±0.3[a]	10.4±0.3[a]
ลูกตายแรกคลอด (%)	6.0±0.6[a]	6.5±0.9[a]	4.8±0.6[a]	5.6±0.7[a]
ลำดับท้องที่ 1	6.1±1.7[a]	4.8±1.7[a]	6.4±1.4[a]	7.1±1.8[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	5.7±1.0[a]	5.2±0.9[a]	4.9±1.0[a]	3.9±0.8[a]
ลำดับท้องที่ ≥5	6.2±0.9[a]	9.0±2.1[a]	3.5±0.9[a]	7.4±1.3[a]
ลูกมัมมี่ (%)	5.3±1.3[a]	4.2±1.1[ac]	0.7±0.3[bc]	1.6±0.5[c]
ลำดับท้องที่ 1	9.9±4.1[a]	5.3±2.9[a]	0.7±0.5[a]	1.4±1.0[a]
ลำดับท้องที่ 2-4	6.9±2.2[a]	2.7±1.5[a]	0.7±0.4[b]	1.5±0.8[ab]
ลำดับท้องที่ ≥5	1.5±1.1[a]	5.6±2.0[a]	0.7±0.7[a]	1.8±0.9[a]

วัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นถูกทำในวันที่ 15 พฤษภาคม 2009

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a, b และ c) ภายในแถวเดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

การทดลองที่ 2

การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

จากตัวอย่างทั้งหมด 2,273 ตัวอย่าง พบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 740 ตัวอย่าง คิดเป็น 32.6% โดยมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิดของตัวอย่าง (ตารางที่ 8) โดยพบในตัวอย่างเนื้อเยื่อ (43.1%) มากกว่าในน้ำเชื้อ (15.7%, $P<0.001$) และมากกว่าในตัวอย่างซีรั่ม (30.3%, $P=0.002$) ไวรัสที่ตรวจพบในน้ำเชื้อมีจำนวนน้อยกว่าที่ตรวจพบในตัวอย่างซีรั่ม ($P=0.02$) (ตารางที่ 8) ในพ่อสุกรพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 15.4% (35/227) ในสุกรสาว/แม่สุกร 37.5% (54/144) ในลูกสุกร 35.9% (61/170) ในสุกรอนุบาล 43.7% (160/366) และในสุกรขุน 26.6% (54/203) (ตารางที่ 9) ตัวอย่างที่พบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ได้จากตัวอย่างที่มาจากปัญหาระบบทางเดินหายใจ (respiratory cases) 37.6% ซึ่งมากกว่าตัวอย่างจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ (reproductive cases) 27.7% (ตารางที่ 10) ตัวอย่างที่พบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแยกตามสายพันธุ์ แสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อพีอาร์อาร์เอสแยกตามชนิดตัวอย่าง

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนบวก	ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกแยกตามสายพันธุ์		
		(%)	EU	NA	Mixed
เนื้อเยื่อ	636	43.1[a]	23.7	62.6	13.7
น้ำเชื้อ	210	15.7[b]	29.0	64.5	6.5
ซีรั่ม	1,427	30.3[c]	35.5	48.8	15.7
รวม	2,273	32.6	31.0	54.5	14.6

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a b และ c) ภายในคอลัมภ์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$)

ตารางที่ 9 ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อพีอาร์อาร์เอสแยกตามชนิดของสุกร

ชนิดของสุกร	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนบวก	ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกแยกตามสายพันธุ์		
		(%)	EU	NA	Mixed
พ่อสุกร	227	15.4[a]	33.3	60.6	6.1
แม่สุกร	144	37.5[bc]	18.9	41.5	39.6
ลูกสุร	170	35.9[bc]	22.9	65.6	11.5
สุกรอนุบาล	366	43.7[c]	39.9	46.2	13.9
สุกรขุน	203	26.6[b]	37.0	53.7	9.3

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a b และ c) ภายในคอลัมภ์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$)

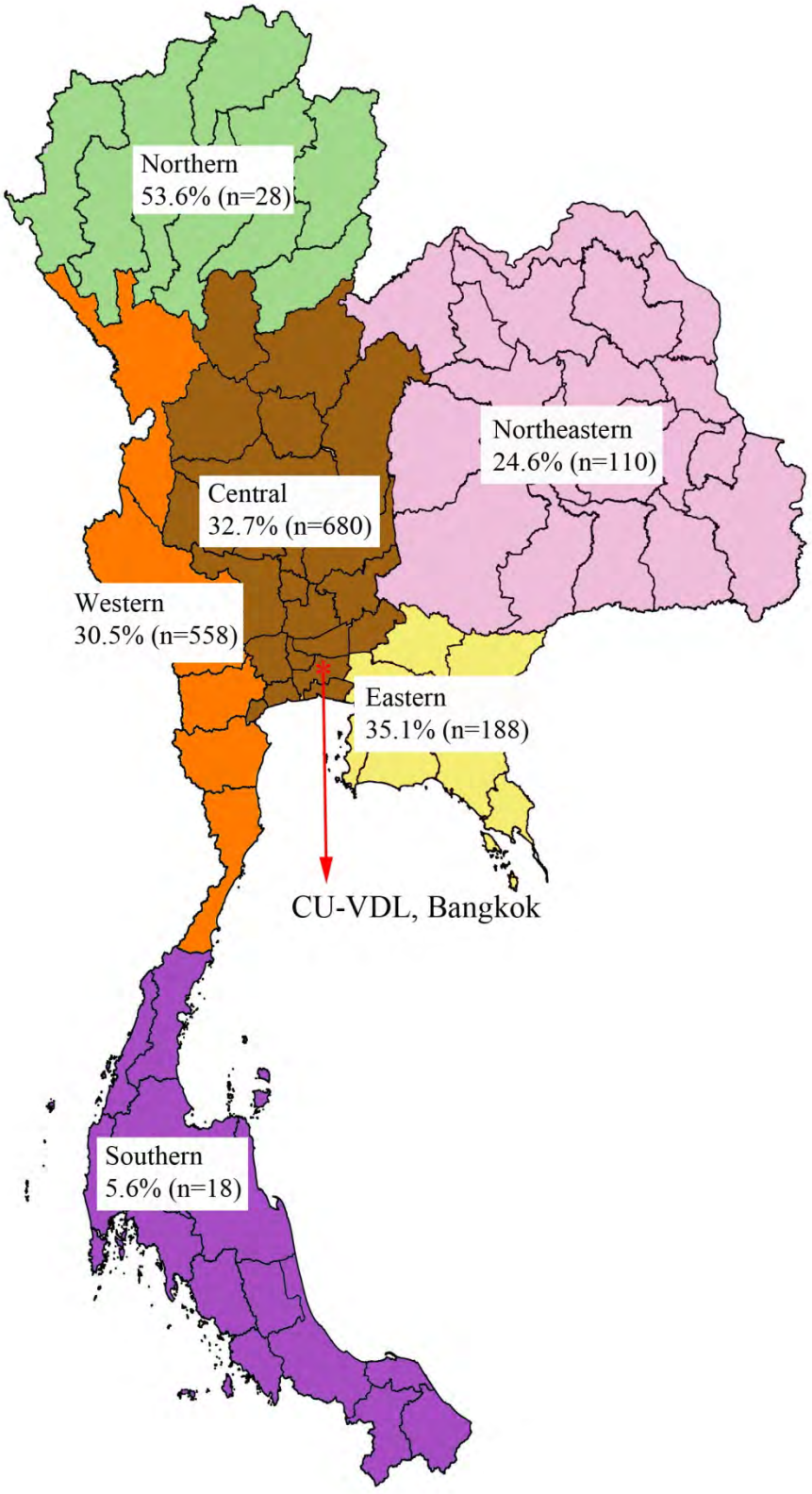
ตารางที่ 10 ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแยกตามอาการทางคลินิก (ปัญหาระบบทางเดินหายใจ และระบบสืบพันธุ์)

อาการทางคลินิก	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนบวก (%)	ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกแยกตามสายพันธุ์		
			EU	NA	Mixed
ระบบสืบพันธุ์	541	27.7[a]	23.8	55.8	20.4
ระบบทางเดินหายใจ	569	37.6[b]	39.2	48.1	12.7

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a b และ c) ภายในคอลัมภ์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ผลของที่ตั้งของฟาร์ม

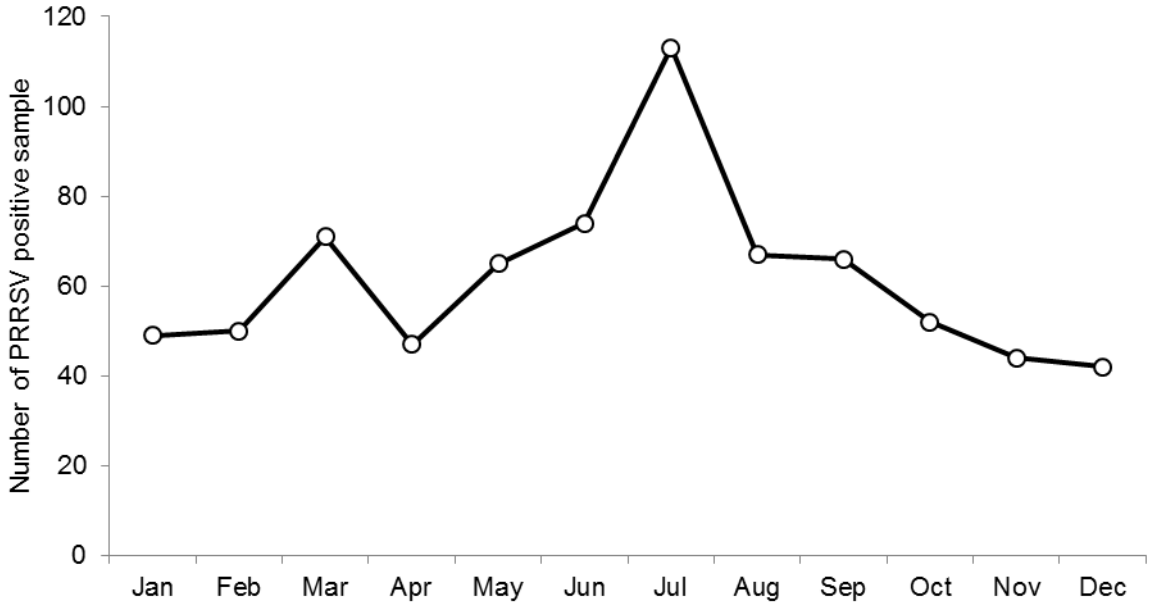
บริเวณที่ตั้งฟาร์มมีอิทธิพลต่อความชุกของโรคพีอาร์อาร์เอสอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 3) โดยตรวจพบ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 35.1% (66/188) 32.7% (222/680) และ 30.5% (170/558) ในตัวอย่างที่ได้จากภาคตะวันออก ภาคกลาง และภาคตะวันตกของประเทศไทย ตามลำดับ โดยสายพันธุ์ที่ 1 (53.3%) พบมากที่สุดจในภาคเหนือ สายพันธุ์ที่ 2 (57.8%) พบมากที่สุดในภาคกลางของประเทศไทย สัดส่วนของสายพันธุ์ที่ 2 ที่พบในภาคตะวันออก ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้ของประเทศไทย ได้แก่ 46.9% 55.6% 57.5% and 0% ตามลำดับ



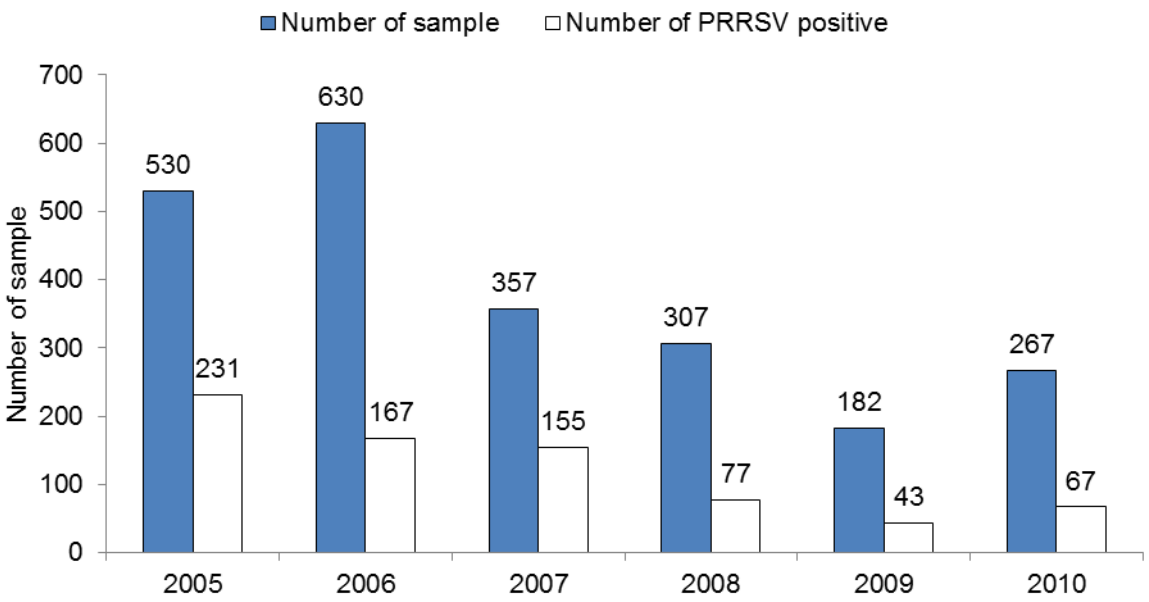
รูปที่ 3 จำนวนตัวอย่างและร้อยละของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแยกตามภูมิภาคของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2548-2553

ผลของฤดูกาล เดือน และปี

ความชุกของโรคพีอาร์อาร์เอสในฤดูร้อน (34.9%) สูงกว่าในฤดูหนาว (28.1%, *P*=0.018) แต่ไม่มีความแตกต่างจากฤดูฝน (34.0%, *P*=0.486) โดยในฤดูฝนมีแนวโน้มที่จะมีความชุกสูงกว่าฤดูหนาว (*P*=0.062) (ตารางที่ 11) จำนวนการตรวจพบเชื้อไวรัสพีร์อาร์อาร์เอสในแต่ละเดือนได้แสดงไว้ในรูปที่ 4 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพิ่มสูงขึ้นอย่างมากตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม แล้วค่อยๆ ลดลงตั้งแต่เดือนกรกฎาคมไปจนถึงเดือนธันวาคม (รูปที่ 4) ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสยังมีความแตกต่างกันในแต่ละปีด้วย โดยพบมากที่สุดในปี พ.ศ. 2548 และ 2550 (ตารางที่ 12) และจำนวนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในแต่ละปีได้แสดงไว้ในรูปที่ 5 ซึ่งพบว่าจำนวนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้สูงสุดพบในปี พ.ศ. 2548 และลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงปี พ.ศ. 2552 ส่วนในปี พ.ศ. 2553 พบว่ามีจำนวนเพิ่มขึ้นไม่มาก (รูปที่ 5)



รูปที่ 4 จำนวนของการพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแยกตามเดือน



รูปที่ 5 จำนวนของตัวอย่างที่นำมาทดสอบและตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสตั้งแต่ปี พ.ศ.2548-2553

ตารางที่ 11 ร้อยละของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแยกตามฤดูกาล

ฤดูกาล	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนบวก	ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกแยกตามสายพันธุ์		
		(%)	EU	NA	Mixed
หนาว	665	28.1[a]	21.3	70.5	8.2
ร้อน	667	34.9[b]	33.1	50.8	16.1
ฝน	941	34.0[ab]	34.9	47.9	17.1

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a และ b) ภายในคอลัมภ์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 12 ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกและร้อยละของสายพันธุ์เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548-2553

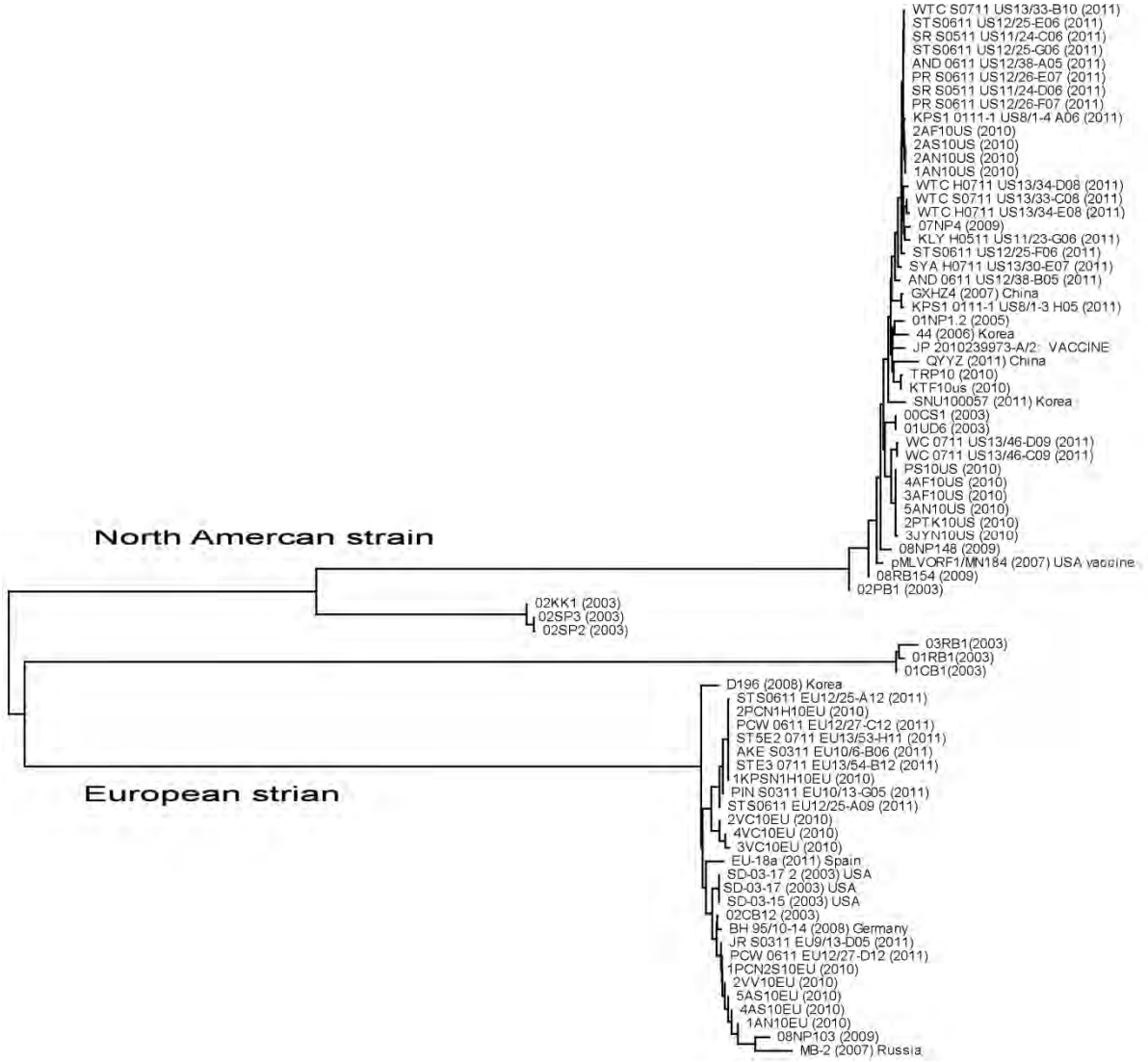
ปี	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนบวก	ร้อยละของตัวอย่างที่ให้ผลบวกแยกตามสายพันธุ์		
		(%)	EU	NA	Mixed
2548	530	43.6[a]	38.5	39.8	21.7
2549	630	26.5[b]	41.5	43.8	14.8
2550	357	43.4[a]	31.8	48.0	20.1
2551	307	25.1[c]	11.8	86.8	1.3
2552	182	23.6[c]	19.0	78.6	2.4
2553	267	25.1[bc]	4.6	95.5	0.0

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a b และ c) ภายในคอลัมภ์เดียวกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

สายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

สายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในการศึกษาครั้งนี้ แสดงในตารางที่ 7 โดยจากสายพันธุ์ที่แยกได้ทั้งหมด (n=740) พบสายพันธุ์ที่ 1 (EU) สายพันธุ์ที่ 2 (NA) และ พบทั้งสองสายพันธุ์ (Mixed) จำนวน 31.0% 54.5% และ 14.6% ตามลำดับ แต่สัดส่วนของสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส มีความผันแปรตามชนิดของตัวอย่าง (ตารางที่ 8) กลุ่มอายุของสุกร (ตารางที่ 9) อาการทางคลินิก (ตารางที่ 10) ภูมิภาค ฤดูกาล (ตารางที่ 11) และปี (ตารางที่ 12) ตัวอย่างเช่น เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส จำนวน 64.5% ที่แยกได้จากน้ำเชื้อเป็นสายพันธุ์ที่ 2 ในขณะที่มีเพียง 48.8% ของไวรัสที่แยกได้จากซีรั่มที่เป็นสายพันธุ์ที่ 2 นอกจากนี้ยังพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สายพันธุ์ที่ 2 จำนวน 55.8% ในตัวอย่างที่มีปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ ในขณะที่ตัวอย่างที่มีปัญหาจากระบบทางเดินหายใจพบเพียง 48.1% (ตารางที่ 10) ส่วนการพบทั้งสองสายพันธุ์ พบ 20.4% ของตัวอย่างที่มีปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ (พ่อสุกร แม่สุกร และลูกสุกร) และพบ 12.7% ในตัวอย่างที่มีปัญหาระบบทางเดินหายใจ (สุกรอนุบาล และสุกรขุน) ยิ่งไปกว่านั้นสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่พบยังผันแปรตามปีอีกด้วย โดยในปี พ.ศ. 2548 พบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สายพันธุ์ที่ 2 จำนวน 39.8% ในขณะที่ปี พ.ศ. 2553 พบถึง 95.5% ของตัวอย่างที่ทำการตรวจ (ตารางที่ 12) เป็นที่น่าสนใจว่าสัดส่วนของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ชนิดที่ 2 มีการเพิ่มขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 เป็นต้นมา (ตารางที่ 12) Phylogenetic tree ของเชื้อ PRRSV ที่แยกได้ในประเทศไทย แสดงไว้ในรูปที่ 6

รูปที่ 6 แสดงตำแหน่งของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสบน Phylogenetic tree โดยส่วนใหญ่เป็นเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทยโดยปีที่ทำการรายงานผลระบุไว้ในแต่ละตัวของเชื้อไวรัสที่แยกได้ (isolate) เชื้อไวรัสไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศอื่นๆ ได้แก่ ประเทศจีน เกาหลี และญี่ปุ่น ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสที่แยกได้ในประเทศไทยแสดงให้เห็นใน Phylogenetic tree โดยมีชื่อประเทศต่อท้าย นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อไวรัสที่แยกได้ในช่วงปี ค.ศ. 2009-2011 มีความใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสที่แยกได้จากวัคซีนสายพันธุ์ที่ 2 (NA) มีเพียงเชื้อไวรัสที่แยกได้ในปี ค.ศ. 2003 เท่านั้นที่มีความแตกต่างจากเชื้อไวรัสในวัคซีนอย่างชัดเจน ในกลุ่มของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ 1 (EU) จำนวนเชื้อไวรัสที่รายงานในประเทศไทยในช่วงปี ค.ศ. 2009-2011 มีน้อยกว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ 2 (NA) และมีความแตกต่างจากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์เดียวกันที่แยกได้ในช่วงปี ค.ศ. 2003 อย่างชัดเจน (รูปที่ 6) นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทยมีความคล้ายคลึงกับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ 1 ที่แยกได้ในประเทศเสปน เยอรมันนี สหรัฐอเมริกา และเกาหลี (รูปที่ 6) อย่างไรก็ดีผลจากรายงานในครั้งนี้เป็นเพียงส่วนหนึ่งของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทยทั้งหมด ยังคงมีเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสอีกจำนวนมากที่แยกได้แต่ไม่มีการตรวจดีเอ็นเอ ดังนั้นการแปรผลการศึกษาครั้งนี้จึงอยู่บนพื้นฐานของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้และมีลักษณะดีเอ็นเอที่ชัดเจนเท่านั้น



รูปที่ 6 Phylogenetic tree ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทย และมีรายงานในฐานข้อมูลของ NCBI ระหว่างปี พ.ศ. 2546-2554 (แยกได้ 62 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน ORF5 ในประเทศไทย และ 13 ลำดับสิวคลีโอไทย์จากต่างประเทศ) ทำการวิเคราะห์ Phylogenetic tree was analyzed ด้วย MEGA 5.5 และสร้างโดย neighbor joining method และพิสูจน์โดยใช้ bootstrap method

บทที่ 5

บทสรุปและวิจารณ์

การทดลองที่ 1

โดยทั่วไปแล้วสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรฝูงนี้อยู่ในเกณฑ์ดีเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ทำในประเทศไทย (Olanratmanee et al., 2010; Tummaruk et al., 2010) อย่างไรก็ดี สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ที่ลดลง ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของการแท้งและลูกมัมมี่ยังพบได้เป็นเวลาหลายเดือนก่อนการตัดสินใจใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอส สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ที่ลดลงนั้นเกิดจากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ซึ่งยืนยันจากประสบการณ์ทางคลินิกของสัตวแพทย์ประจำฟาร์ม และผลจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เช่นผลบวกจากการทดสอบหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี RT-PCR ข้อมูลผลการตรวจเหล่านี้ถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจในการทำวัคซีนแม่สุกรทั้งฝูงด้วยวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรมโดยไม่ได้คำนึงถึงสถานภาพทางการสืบพันธุ์ของแม่สุกรแต่ละตัว เมื่อมองย้อนกลับไปจะพบว่าถ้าได้ทำวัคซีนเร็วขึ้น 6 เดือน (ในช่วงที่มีการแท้งสูงสุด) อาจจะทำให้ปัญหาความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในภาพรวมสั้นขึ้นได้ (รูปที่ 2a)

ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่าการทำวัคซีนทำให้เกิดการตอบสนองที่สามารถวัดได้ทั้งในด้านการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนสุกรที่ให้ผลบวกทางซีรั่มและการเพิ่มขึ้นค่าเฉลี่ยสัดส่วน S/P ที่ตรวจโดยวิธี ELISA (Murtaugh et al., 2002; Scortti et al., 2006b) ถึงแม้ว่าแอนติบอดีที่ตรวจได้จากวิธี ELISA ไม่สามารถใช้บ่งบอกถึงแอนติบอดีที่มีฤทธิ์ในการจำกัดเชื้อไวรัส (Yoon et al., 1995; Foss et al., 2002) แต่ก็ไม่พบสุกรที่ทำการตรวจเฝ้าระวังมีการติดเชื้อไวรัสในกระแสเลือดในช่วง 2 ถึง 18 สัปดาห์ภายหลังการทำวัคซีน

การทำวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสในสุกรที่ไม่ได้ตั้งท้องไม่ทำให้เกิดผลทางลบต่อระบบสืบพันธุ์ และยังช่วยปรับปรุงสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์บางอย่างได้ เช่น อัตราการเข้าคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอด และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่ (Dewey et al., 2004; Alexopoulos et al., 2005) นอกจากนี้การทำวัคซีนป้องกันเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสยังช่วยลดปัญหาความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ได้ด้วย Scortti และคณะ (2006b) พบว่าการฉีดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสให้กับสุกรสาวที่ซีรั่มเป็นลบต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและไม่ได้รับวัคซีนในช่วง 90 วันของการตั้งท้องทำให้เกิดลูกสุกรตายแรกคลอด 43.4% ลูกสุกรแรกคลอดอ่อนแอ 20% และอัตราการตายก่อนหย่านม 76.7% ในทางตรงกันข้าม การฉีดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสให้กับสุกรสาวที่ได้รับวัคซีนในช่วง 90 วัน ของการตั้งท้องทำให้เกิดลูกสุกรตายแรกคลอดเพียง 5.2% และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์อื่นๆ ไม่แตกต่างจากสุกรกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับเชื้อไวรัส (Scortti et al., 2006b) นอกจากนี้ Scortii และคณะ (2006a) ยังพบว่าการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นในสุกรที่กำลังตั้งท้องไม่ทำให้เกิดอาการทางคลินิกหรือกระทบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ อย่างไรก็ดีมีรายงานผลทางลบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์จากการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสในสุกรที่กำลังตั้งท้องโดยเฉพาะในช่วงท้ายของการตั้งท้อง ได้แก่ การลดลงของจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต ลูกสุกรตายแรกคลอด ลูกสุกรมัมมี่ และลูกสุกรหย่านมต่อครอกลดลง และการเพิ่มขึ้นของอัตราการตายในช่วงสุกรอนุบาล (Nielsen et al., 2002; Dewey et al., 2004)

จากข้อมูลที่ได้ทำการวิเคราะห์ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า การทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรมให้ผลทั้งที่เป็นกลาง เป็นบวก และเป็นลบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกร ซึ่งระยะการตั้งท้องขณะที่สุกรได้รับวัคซีนมีผลกระทบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกร อัตราการเข้าคลอดที่ลดลงพบได้ในสุกรสาวและแม่สุกรที่ได้รับวัคซีนในช่วงมากกว่า 90 วันของการตั้งท้อง ในขณะที่จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตลดลงและสัดส่วนลูกสุกรมัมมี่เพิ่มขึ้นพบได้ในสุกรที่ได้รับวัคซีนในช่วง 0-30 วันของการตั้งท้อง ในระดับฝูง การทำวัคซีนแบบปูพรมช่วยลดอัตราการแท้ง เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอด และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่ได้ แต่ไม่ช่วยปรับปรุงอัตราการเข้าคลอดให้ดีกว่าช่วงที่มีการระบาดได้ และการทำวัคซีนแบบปูพรมยังสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของอัตราการกลับสัดและการลดลงของจำนวนลูกสุกรแรกคลอดและลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตด้วย

จากการศึกษางานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าผลการศึกษาในครั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาอื่นๆ ที่พบว่าการทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสในฝูงสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถลดระยะเวลาการแพร่เชื้อไวรัสได้ (Cano et al., 2007a, b) และช่วยปรับปรุงสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์บางอย่างได้ เช่น อัตราการเข้าคลอด จำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิต เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอด และเปอร์เซนต์ลูกสุกรมัมมี่ (Alexopoulos et al., 2005) ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าการตัดสินใจนำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นมาใช้ในฟาร์มแบบปูพรมควรประเมินระหว่างผลที่จะได้จากการปรับปรุงสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ เช่น การแท้ง ลูกตายแรกคลอด และลูกมัมมี่ที่ลดลง กับผลกระทบของการทำวัคซีนต่อสุกรที่กำลังตั้งท้อง

การทดลองที่ 2

เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกตรวจพบในฟาร์มสุกรในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 (Oraveerakul et al., 1995) ปัจจุบันมีทั้งสายพันธุ์ที่ 1 (EU) และ 2 (NA) (Thanawongnuwech et al., 2004; Amonsin et al., 2009; Thanawongnuwech and Suradhat, 2010) ในช่วงปี พ.ศ. 2543-2546 มีการศึกษาเกี่ยวกับสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 137 ตัวอย่างในประเทศไทย และพบว่า 66.4% เป็นสายพันธุ์ที่ 1 และ 33.6% เป็นสายพันธุ์ที่ 2 (Thanawongnuwech et al., 2004) ในทางตรงกันข้าม การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ที่ 2 เป็นสายพันธุ์ที่พบมากในช่วงปี พ.ศ. 2548-2553 โดยเฉพาะอย่างยิ่งตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 เป็นต้นมา โดยปกติสุกรที่ใช้ผลิตพ่อแม่พันธุ์ในประเทศไทย ส่วนมากถูกนำเข้ามาจากทวีปยุโรป โดยเฉพาะประเทศเดนมาร์ค ดังนั้นเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ 1 อาจถูกนำเข้ามาจากประเทศในทวีปยุโรปด้วย แต่ในปี พ.ศ. 2551 พบว่ามีการขึ้นทะเบียนวัคซีนเชื้อเป็น (modified live virus vaccine) สำหรับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ 2 (NA strain) และมีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในฟาร์มสุกรประเทศไทย ดังนั้นเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ 2 จึงได้แพร่กระจายอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการทำวัคซีนชนิดดังกล่าวในฟาร์มหลายแห่งในประเทศไทย นอกจากนี้เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ 2 ยังได้ถูกนำเข้ามาจากประเทศเดนมาร์คหลังจากปี พ.ศ. 2539 เนื่องจากมีการทำวัคซีนเชื้อเป็นสำหรับสายพันธุ์ที่ 2 ในประเทศเดนมาร์ค (Mortensen et al., 2002) ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาทั้งสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 ได้แพร่กระจายอย่างกว้างขวางในฟาร์มสุกรประเทศเดนมาร์ค และประเทศข้างเคียง (Beilage et al., 2009; Noremark et al., 2009) มีหลักฐานยืนยันเป็นจำนวนมาก ระบุว่าพบการแพร่เชื้อไวรัสจากสุกรที่ทำวัคซีนตั้งแต่ในช่วงสัปดาห์แรกๆ หลังจากได้รับวัคซีน (Alexopoulos et al., 2005; Scortti et al., 2006; Kim et al., 2009; Thanawongnuwech and Suradhat, 2010; Olanratmanee et al., 2011) ดังนั้นเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นสายพันธุ์ที่มาจากวัคซีน การแยกชนิดของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในภาคสนามนั้นทำได้โดยการวิเคราะห์พันธุกรรม ORF5 จากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (Kim et al.,

2009) การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจำนวนมากในช่วงนี้ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเป็นโรคที่พบบ่อยในฟาร์มสุกรของประเทศไทย

การศึกษาครั้งนี้พบว่า พบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพียงชนิดเดียวมากกว่าพบสายพันธุ์ผสม โดยสายพันธุ์ผสมพบในตัวอย่างที่มีปัญหาระบบสืบพันธุ์ (พ่อสุกร แม่สุกร และลูกสุกร) มากกว่าตัวอย่างที่มีปัญหาระบบทางเดินหายใจ (สุกรอนุบาล และสุกรขุน) โดยน่าจะเป็นไปได้ว่าพ่อสุกร และแม่สุกรส่วนมากอยู่ในฝูงเป็นเวลายาวนานกว่าสุกรอนุบาล และสุกรขุน จึงอาจได้รับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสหลายสายพันธุ์มากกว่าในสุกรอนุบาลและสุกรขุน เมื่อไม่นานมานี้ Tummaruk and Tantilertcharoen (2012) พบว่าสุกรสาวได้รับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ตั้งแต่ในช่วงแรกของชีวิต (ก่อนหรือระหว่างการคลุก โดยดูจากผล seroconversion ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทั้งในฟาร์มที่มีการทำและไม่ได้ทำวัคซีน) นอกจากนี้สุกรสาวทดแทนยังเป็นแหล่งถ่ายทอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่สำคัญให้กับฟาร์มอีกด้วย Olanratmanee et al. (2011) พบว่าสามารถพบไวรัสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาว โดยมีระดับของภูมิคุ้มกันทั้งระดับต่ำและสูง ตั้งแต่สุกรสาวอายุ 11 เดือน นอกจากนี้ในบางตัวอย่างมีการติดเชื้อร่วมกันระหว่างเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและพาร์โวไวรัส และ/หรือ เชื้อพิษสุนัขบ้าเทียม (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012) ซึ่งอาจทำให้เกิดสถานการณ์ที่ซับซ้อนและนำไปสู่สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ที่แย่ลงในสุกรสาวได้เนื่องจากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ถือว่าเป็นเชื้อโรคที่กดภูมิคุ้มกัน (Thanawongnuwech and Suradhat, 2010) การศึกษาเหล่านี้ได้ชี้แนวทางให้เห็นถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสว่าเป็นประเด็นที่ต้องให้ความสำคัญเพื่อที่จะปรับปรุงกลยุทธ์ต่างๆ เพื่อควบคุมเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทย

การศึกษานี้พบว่า การตรวจพบเชื้อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เพิ่มขึ้นในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม ซึ่งเป็นช่วงเดียวกันกับที่พบปัญหาความไม่สมบูรณ์พันธุ์ในสุกรสาวและสุกรนางที่ได้รับการผสมพันธุ์ในช่วงนี้ (Tummaruk et al., 2004; Tummaruk et al., 2010a,b) Tummaruk et al. (2010a) ได้รายงานว่าสุกรสาว และสุกรนางที่ได้รับการผสมพันธุ์ในช่วงฤดูร้อน และคลอดในช่วงปลายฤดูใบไม้ร่วง และฤดูหนาว ให้ลูกสุกรแรกคลอดต่ำกว่าสุกรสาว และแม่สุกรที่ผสมในช่วงฤดูหนาวอย่างมีนัยสำคัญ หากมีการเพิ่มการติดเชื้อไวรัสในช่วงฤดูร้อน อาจทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับสมรรถภาพทางระบบสืบพันธุ์ในสุกรสาว และแม่สุกรในประเทศไทยที่ได้รับการผสมในฤดูร้อนมากขึ้นได้ นอกจากนี้ในช่วงฤดูร้อนมีดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นค่อนข้างสูง (Tummaruk et al., 2010a) และอาจเป็นไปได้ที่จะเหนี่ยวนำให้สุกรเกิดภาวะเครียดจากอุณหภูมิในระดับปานกลางถึงรุนแรง การพบไวรัสในกระแสเลือดและการติดเชื้อไวรัสอาจเกิดขึ้นได้ง่ายในสัตว์ที่อยู่ภายในภาวะเครียดจากสภาพการถูกกดภูมิคุ้มกัน (Suradhat, 2006) ยิ่งไปกว่านั้นทั้งอุณหภูมิและความชื้นที่สูงอาจเป็นสภาพที่ทำให้เกิดการส่งผ่านเชื้อไวรัสทางอากาศได้ง่ายอีกด้วย

ในประเทศไทยมีการพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทั้งสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 ในฟาร์มสุกร โดยมีสัดส่วนของทั้งสองสายพันธุ์แตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาค ซึ่งในแต่ละภูมิภาคมีพันธุ์สุกร และการจัดการที่ล้ายคลึงกัน แต่ฟาร์มสุกรในภาคเหนือและภาคใต้จะไม่หนาแน่นเท่ากับในภาคตะวันตก ภาคตะวันออก และภาคกลาง สภาพอากาศระหว่างภาคเหนือและภาคใต้ก็มีแตกต่างกัน ความชื้นสัมพัทธ์ และฝนตก พบได้บ่อยในภาคใต้มากกว่าภาคเหนือ ทั้งภาคใต้และภาคเหนือพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สายพันธุ์ที่ 1 มากกว่า 2 ส่วนในภูมิภาคอื่นๆ พบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ 2 มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในประเทศไทยก่อนหน้านี้ (Thanawongnuwech et al., 2004; Amonsin et al., 2009) แต่เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สายพันธุ์ที่ 2 ถือว่าเป็นชนิดที่พบมากในประเทศอื่นในแถบเอเชียเช่นกัน เช่น ในประเทศจีน (Li et al., 2010) ญี่ปุ่น (Yoshii et al., 2005) และเกาหลี (Cha et al. 2006; Kim et al. 2009) Li et al. (2010) วิเคราะห์ถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เชื้อสายจีนจำนวน 66 ตัวอย่าง ตั้งแต่ในปี พ.ศ. 2539 จนถึง พ.ศ. 2552 พบว่า ทุกตัวอย่างเป็นสายพันธุ์ที่ 2 นอกจากนี้ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ก่อ

โรครุนแรงที่ทำให้เกิดอัตราการตายของสุกรสูงมากในปี พ.ศ. 2549 ในประเทศจีน และทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในปี พ.ศ. 2552-2553 ก็เป็นสายพันธุ์ที่ 2 (Zhou and Yang, 2010) หลายประเทศในทวีปยุโรปมีการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทั้งสายพันธุ์ที่ 1 และ 2 (Mortensen et al., 2002; Beilage et al., 2009) แต่การปรากฏของสายพันธุ์ NA ในประเทศต่างๆ ในทวีปยุโรปนั้น ส่วนมากมักเกี่ยวข้องกับการทำวัคซีนเชื้อเป็นสายพันธุ์อเมริกาเหนือ (Mortensen et al., 2002; Beilage et al., 2009) ในประเทศเยอรมนีมีการศึกษาโดยการชันสูตรซากสุกร 902 ตัวพบว่า 18.5% ของตัวอย่างที่ส่งตรวจมีผลบวกต่อ wild type EU strains ในขณะที่สายพันธุ์ EU และ NA ในวัคซีนสามารถตรวจพบได้เพียง 1.3% และ 8.9% ตามลำดับ (Beilage et al., 2009) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทยมีความใกล้เคียงกับสายพันธุ์ในประเทศกลุ่มยุโรปมากกว่าประเทศในทวีปเอเชีย และทวีปอเมริกาเหนือ มีการศึกษาเกี่ยวกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทย พบว่าสายพันธุ์ Thai EU น่าจะมีพัฒนาการมาจาก EU prototype ในขณะที่สายพันธุ์ Thai NA อาจมาจากเชื้อไวรัสในวัคซีนหรืออนุพันธุ์ของวัคซีน (Amonsin et al. 2009) นอกจากนี้ การศึกษา phylogenetic study ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทย ทำให้ทราบว่ามีการนำเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเข้ามาในประเทศไทยหลายครั้ง (Tun et al. 2011) การศึกษาดังกล่าวทำให้เราทราบว่าเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้ถูกนำเข้ามาสู่ประเทศไทยหลายครั้งจากทั้งยุโรปและสหรัฐอเมริกา ความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในแต่ละภูมิภาคนั้นอาจเป็นเนื่องมาจากผู้ผลิตสุกรมักจะนำเข้าสุกร และ/หรือน้ำเชื้อจากประเทศในทวีปยุโรป เพื่อเป็นการปรับปรุงพันธุกรรม นอกจากนี้ วัคซีนเชื้อเป็นที่มีสายพันธุ์อเมริกาเหนือยังถูกนำเข้า และมีการใช้อย่างต่อเนื่องในฟาร์มสุกรประเทศไทยในปัจจุบัน และเนื่องด้วยมีการขึ้นทะเบียนวัคซีนในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2550 เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สายพันธุ์ที่ 2 จึงกลายเป็นสายพันธุ์ที่พบบ่อยในประเทศไทย ซึ่งในการศึกษานี้พบเชื้อไวรัสสายพันธุ์ดังกล่าว 78-85% ของเชื้อไวรัสที่แยกได้ในช่วงปี พ.ศ. 2551-2553

ข้อจำกัดของการศึกษานี้ได้แก่ การใช้ข้อมูลจากห้องปฏิบัติการวินิจฉัยเพื่อบรรยายความชุกของโรค และตัวอย่างที่ได้มาเป็นตัวอย่างที่สงสัยปัญหาเชื้อการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ดังนั้นความชุกที่ได้อาจค่อนข้างสูง นอกจากนี้ชุดของข้อมูลขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่เก็บได้จากผู้ผลิต และสัตวแพทย์ที่เลือกที่จะส่งตัวอย่างมา CU-VDL แต่ไม่ได้มีข้อมูลจากห้องปฏิบัติการอื่น อย่างไรก็ตาม CU-VDL ตั้งอยู่ใจกลางกรุงเทพมหานคร และเป็นอิสระจากบริษัทเอกชนและผู้ผลิตต่างๆ ดังนั้นการวิเคราะห์สามารถดำเนินการได้โดยไม่มีผลประโยชน์ที่ทับซ้อนกัน

โดยสรุป ความชุกของเชื้อไวรัส PRRSV ในประเทศไทยตั้งแต่ปี 2548-2553 พบ 32.6% ของตัวอย่างที่ส่งตรวจ โดยมีความผันแปรตามชนิดของตัวอย่าง กลุ่มอายุของสุกร ฤดูกาล ปี และที่ตั้งฟาร์ม เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสตรวจพบในตัวอย่างเนื้อเยื่อมากกว่าในตัวอย่างน้ำเชื้อ และตัวอย่างซีรั่ม ความชุกสูงสุดของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสพบในสุกรอนุบาล และฤดูที่พบมากที่สุด คือ ฤดูร้อน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยด้านอากาศอาจมีผลต่อความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทย จากตัวอย่างที่ส่งตรวจพบว่าเป็นเชื้อไวรัส สายพันธุ์ที่ 1 2 และ ทั้งสองสายพันธุ์ 31.0% 54.5% และ 14.5% ตามลำดับ

สรุป

การวิจัยในครั้งนี้สรุปได้ว่า

- สุกรสาวทดแทนเป็นแหล่งสำคัญในการนำเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเข้าสู่ฝูงแม่พันธุ์
- แม่สุกรที่ทำวัคซีนในช่วงต้นของการตั้งท้องมีจำนวนลูกสุกรแรกคลอดมีชีวิตน้อยกว่าและมีจำนวนลูกสุกรมัมมี่มากกว่าแม่สุกรอุ้มท้องที่ทำวัคซีนในช่วงอื่นๆ
- แม่สุกรอุ้มท้องที่ทำวัคซีนในช่วงท้ายของการตั้งท้องมีอัตราการเข้าคลอดน้อยกว่าช่วงเวลาก่อนการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอส
- การทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรมในฝูงสุกรฝูงนี้มีผลต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของฝูงโดยมีทั้งผลที่เป็นกลาง เป็นบวก และเป็นลบ ดังนั้นการตัดสินใจทำวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแบบปูพรมควรพิจารณาระหว่างผลประโยชน์ที่จะได้รับจากการปรับปรุงสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ ได้แก่ ช่วยลดอัตราการแท้ง จำนวนลูกสุกรตายแรกคลอด และจำนวนลูกสุกรมัมมี่ และผลกระทบจากการทำวัคซีนในแม่สุกรที่ตั้งท้อง
- ความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548-2553 พบ 32.6% ของตัวอย่างที่ส่งตรวจ โดยมีความผันแปรตามชนิดของตัวอย่าง กลุ่มอายุของสุกร ฤดูกาล ปี และที่ตั้งฟาร์ม
- เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ตรวจพบในตัวอย่างเนื้อเยื่อมากกว่าในตัวอย่างน้ำเชื้อ และตัวอย่างซีรั่ม
- ความชุกสูงสุดของเชื้อพีอาร์อาร์เอส พบในสุกรอนุบาล และฤดูที่พบมากที่สุด คือ ฤดูร้อน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยด้านอากาศอาจมีผลต่อความชุกของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทย
- จากตัวอย่างที่ส่งตรวจพบว่าเป็นเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ 1 2 และ พบทั้งสองสายพันธุ์ 31.0% 54.5% และ 14.5% ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

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. Vet Microbiol. 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. and 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. and Thanawongnuwech, R., 2009. Comparative analysis of complete nucleotide sequence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in Thailand (US and EU genotype). Virol. J. 6: 143.

Beilage, E.G., Nathues, H., Meemken, D., Harder, T.C., Doherr, M.G., Grotha, I. and Greiser-Wilke, I., 2009. Frequency of PRRS live vaccine virus (European and North American genotype) in vaccinated and non-vaccinated pigs submitted for respiratory tract diagnostics in North-Western Germany. Prev. Vet. Med. 92: 31–37.

Botner, A., Strandbygaard, B., Sorensen, K. J., Have, P., Madsen, K. G., Madsen, E. S., and Alexandersen, S., 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: 95-100.

Cano, J.P., Dee, S.A., Murtaugh, M.P. and Pijoan, C., 2007a. Impact of a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine intervention on a population of pigs infected with a heterologous isolate. Vaccine 25: 4382–4391.

Cano, J.P., Dee, S.A., Murtaugh, M.P., Trincado, C.A. and Pijoan, C.B., 2007b. Effect of vaccination with a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine on dynamics of homologous viral infection in pigs. Am. J. Vet. Res. 68: 565–571.

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

Cha, S-H., Choi, E-J., Park, J-H., Yoon, S-R., Song, J-Y., Kwon, J-H., Song, H-J. and Yoon, K-J., 2006. Molecular characterization of recent Korean porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) viruses and comparison to other Asian PRRS viruses. Vet. Microbiol. 117: 248–257.

Cheon, D.S. and 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.

Christianson, W.T., 1992. Stillbirth, mummies, abortions and early embryonic death. Veterinary Clinical of North America: Food Animal Practice 8: 623–639.

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., Chang, W.F., Hsu, M. and Yang, P.C. 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. J. Thai Vet. Med. Assoc. 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. and Leyenaar, J.K., 2004. Effects of porcine reproductive and respiratory syndrome vaccination in breeding-age animals. Prev. Vet. Med. 62: 299–307.

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

Foss, D.L., Zilliox, M.J., Meier, W., Zuckermann, F. and Murtaugh, M.P., 2002. Adjuvant danger signals increase the immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Viral Immunol. 15: 557–566.

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. and 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, 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. J. Vet. Sci. 10: 121–130.

Kim, S.M., Han, T.U., Kang, S.Y., Shin, K.S., Kim, C.J., Kim, J.T. and 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. and Pensaert, M., 2004. Impact of genetic diversity of European-type porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains on vaccine efficacy. Vaccine 22: 4183-4190.

Lager, K.M., Mengeling, W.L. and Wesley, R.D., 2003. Strain predominance following exposure of vaccinated and naïve pregnant gilts to multiple strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Can. J. Vet. Res. 67: 121–127.

Li, B., Fang, L., Liu, S., Zhao, F., Jiang, Y., He, K., Chen, H. and Xiao, S., 2010. The genomic diversity of Chinese porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates from 1996 to 2009. Vet. Microbiol. 146: 226–237.

Li, Y., Wang, X., Bo, K., Wang, X., Tang, B., Yang, B., Jiang, W. and 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.

Maldonado, J., Segalés, J., Martinez-Puig, D., Calsamiglia, M., Domingo, M. and Artigas, C., 2005. Identification of viral pathogens in aborted fetuses and stillborn piglets from cases of swine reproductive failure in Spain. Vet. J. 169: 454–456.

Martelli, P., Cordioli, P., Alborali, L.G., Gozio, S., de Angelis, E., Ferrari, L., Lombardi, G. and 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.

Martelli, P., Gozio, S., Ferrari, L., Rosina, S., De Angelis, E., Quintavalla, C., Bottarelli, E. and Borghetti, P., 2009. Efficacy of modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in pigs naturally exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain: Clinical protection and cell-mediated immunity. Vaccine 27: 3788–3799.

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

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

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. and 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. and 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. and Clouser, D.F., 2003. Comparative safety and efficacy of attenuated single-strain and multi-strain vaccines for porcine reproductive and respiratory syndrome. Vet. Microbiol. 93: 25-38.

Mengeling, W.L., Larger, K.M. and Vorwald, A.C., 1999. Safety and efficacy of vaccination of pregnant gilts against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Am. J. Vet. Res. 60: 796-801.

Mortensen, S., Stryhn, H., Sogaard, R., Boklund, A., Stark, K.D.C., Christensen, J. and Willeberg, P., 2002. Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. Prev. Vet. Med. 53: 83–101.

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.

Murtaugh, M.P., Xiao, Z. and Zuckermann, F., 2002. Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. Viral Immunology 15: 533–547.

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.

Nielsen, J., Botner, A., Bille-Hansen, V., Oleksiewicz, M.B. and Storgaard, T., 2002. Experimental inoculation of late term pregnant sows with a field isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome vaccine-derived virus. Vet. Microbiol. 84: 1–13.

Noremark, M., Lindberg, A., Vagsholm, I. and Lewerin, S.S., 2009. Disease awareness, information retrieval and change in biosecurity routines among pig farmers in association with the first PRRS outbreak in Sweden. Prev. Vet. Med. 90: 1–9.

O'Connor, B., Gauvreau, H., West, K., Bogdan, J., Ayroud, M., Clark, E.G., Konoby, C., Allan, G. and Ellis, J.A., 2001. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. Can. Vet. J. 42: 551–553.

Olanratmanee, E., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P., 2010b. Impact of porcine epidemic diarrhea virus infection at different periods of pregnancy on subsequent reproductive performance in gilts and sows. Anim. Reprod. Sci. 122: 42–51.

Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P., 2010a. 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. and Tummaruk, P., 2011a. 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., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P., 2011c. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in the serum of gilts and sows after modified-lived PRRS vaccination. Proc. 10th Chulalongkorn-Veterinary Annual Conference, p. S40.

Olanratmanee, E., Wangnaitham, S., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P., 2011b. 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. 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. Thai J. Vet. Med. 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.

Rathje, J.A., Andrews, J.J., Lum, M.A., Halbur, P.G., Paul, P.S. and Meng, X.J., 1996. Comparative pathogenicity of nine US porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-derived, colostrum-deprived pig model. J. Vet. Diagn. Invest. 8: 11–20.

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. and Castro, J.M., 2006a. Effect of two commercial European modified-live vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pregnant gilts. Vet. J. 172: 506-514.

Scortti, M., Prieto, C., Simarro, I. and Castro, J.M., 2006b. Reproductive performance of gilts following vaccination and subsequent heterologous challenge with European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Theriogenology 66: 1884–1893.

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. and 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., Oleksiewicz, M. and Botner, A., 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.

Suradhat, S., 2006. Relationships between the immune system and stress reactivity in pig: visualizing the immune-neuroendocrine framework in action. Thai J. Vet. Med. 36: 9–18.

Takai, Y. and Koketsu, Y., 2009. Double and triple matings associated with reproductive performance in first-serviced and reserviced female pigs in commercial herds. J. Vet. Med. Sci. 71: 635–639.

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. Vet. Microbiol. 101: 9–21.

Thanawongnuwech, R., Brown, G.B., Halbur, P.G., Roth. J.A., Royer. R.L. and Thacker, B.J., 2000. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced increase in Suscept to *Streptococcus suis*. Vet. Pathol. 37: 143–152.

Tummaruk, P. and 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. and 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. and 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.

Tummaruk, P. and Tantilertcharoen, R., 2012. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome, Aujeszky's disease and porcine parvovirus in replacement gilts in Thailand. Trop. Anim. Health Prod. 44: 983–989.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A., 2010. Influence of repeat-service and weaning-to-first-service interval on farrowing proportion of gilts and sows. Prev. Vet. Med. 96: 194–200.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A., 2004. Effect of season and outdoor climate on litter size at birth in purebred Landrace and Yorkshire sows in Thailand. J. Vet. Med. Sci. 66: 477–482.

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. J. Agri. Sci. 148: 421–432.

Tun, H.M., Shi, M., Wong, C.L.Y., Ayudhya, S.N.N., Amonsin, A., Thanawongnuwech, R. and Leung, F.C.C., 2011. Genetic diversity and multiple introductions of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in Thailand. Vir. J. 8: 164.

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't Veld, P., Groenland, G.J.R., van Gennep, J.A., Voets, M., Verheijden, J.H.M. and Bramskamp, J., 1991. Mystery swine disease in the Netherlands: the isolation of Lelystad virus. Vet. Quart. 13: 121–130.

Yoon, K.-J., Zimmerman, J.J., Swenson, S.L., McGinley, M.J., Eernisse, K.A., Brevik, A., Rhinehart, L.L., Frey, M.L., Hill, H.T. and Platt, K.B., 1995. Characterization of the humoral immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection. J. Vet. Diag. Invest. 7: 305–312.

Yoshii, M., Kaku, Y., Murakami, Y., Shimizu, M., Kato, K. and Ikeda, H., 2005. Genetic variation and geographic distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan. Arch Virology 150: 2313–2324.

Zhou, L. and Yang, H., 2010. Porcine reproductive and respiratory syndrome in China. Virus Research 154: 31–37.

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. and Yuan, X.F. 2008. Highly virulent porcine reproductive and respiratory syndrome virus emerged in China. Transboundary and Emerging Diseases 55: 152-164.

Zimmerman, J., Benfield, D.A., Murtaugh, M.P., Osorio, F., Stevenson, G.W. and Torremorell, M., 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (Porcine Arterivirus), In: Straw, B.E., Zimmerman, J., D'Allaire, S., Taylor, D.J. (Eds.), Disease of swine, 9th edition. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp. 387–417.

บทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการแล้ว (ถ้ามี)

วารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. Tummaruk, P., Surapat, P., Sriariyakun, S., Seemakram, O., Olanratmanee, E., Tantilertcharoen, R. and Thanawongnuwech, R., 2013. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection in Thailand during 2005-2010 in relation to clinical problems, pig types, regions, and seasons. **Tropical Animal Health and Production. 45: 771-779.** Impact factor (2011) 1.115
2. Olanratmanee, E., Nuntawan Na Ayudhya, S., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P., 2013. Reproductive parameters following a PRRS outbreak where a whole-herd PRRS MLV vaccination strategy was instituted post-outbreak. **Tropical Animal Health and Production. 45: 1099-1106.** Impact factor (2011) 1.115

การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. Tummaruk, P., Olanratmanee, E., Tantilertcharoen, R., Thanawongnuwech, R., 2012. Seasonal influence on the prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Thailand. Proc. 22nd International Pig Veterinary Society Congress, 10-13 June, 2012, Jeju, South-Korea. P. 1032.
2. Phoophitphong, D., Olanratmanee, E., Srisuwatanasagul, S., Wangnaitham, S., Thanawongnuwech, R., Tummaruk, P., 2012. Follicle development and number of ovulation in the ovarian tissue of gilts infected by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Proc. 22nd International Pig Veterinary Society Congress, 10-13 June, 2012, Jeju, South-Korea. P. 277.
3. Olanratmanee, E., Wongyanin, P., Thanawongnuwech, R., Tummaruk, P., 2012. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets in Thailand using real-time PCR. Proc. 22nd International Pig Veterinary Society Congress, 10-13 June, 2012, Jeju, South-Korea. P. 1034.
4. Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2013. Preweaning mortality in porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) sero-positive herds in Thailand. Proc. 38th International Conference on Veterinary Science 2013 FAO Joint Symposium. 16-18 January 2013, Grand Diamond Ballroom, IMPACT Forum, Muang Thong Thani, Thailand. P. 316-318.
5. Phoophitphong, D., Olanratmanee, E., Srisuwatanasagul, S., Tummaruk, P., 2013. Effect of PRRS virus infection in the ovarian tissue on follicle growth in prepubertal and pubertal gilts. Proc. 38th International Conference on Veterinary Science 2013 FAO Joint Symposium. 16-18 January 2013, Grand Diamond Ballroom, IMPACT Forum, Muang Thong Thani, Thailand. P. 311-313.

6. Tienthai, P., Borhirunrat, W., Chalemchaikit, C., Kootpetch, P., Laprom, W., Tummaruk, P., 2013. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus causes histological changes in endometrium of culling gilts. Proc. 38th International Conference on Veterinary Science 2013 FAO Joint Symposium. 16-18 January 2013, Grand Diamond Ballroom, IMPACT Forum, Muang Thong Thani, Thailand. P. 319-321.

การประชุมวิชาการระดับชาติ

1. Phoophitphong, D., Olanratmanee, E., Srisuwatanasagul, S., Tummaruk, P., 2013. Impact of PRRS virus detection in the ovarian tissue of replacement gilts on granulosa cells proliferation in the developing follicles. Proc. 51th Kasetsart University Annual Conference, 5-7 February 2013, Bangkok, Thailand, 7 pages.

Trop Anim Health Prod (2013) 45:771–779
DOI 10.1007/s11250-012-0288-9

REGULAR ARTICLES

Porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection in Thailand during 2005–2010 in relation to clinical problems, pig types, regions, and seasons

Padet Tummaruk · Pannin Surapat · Sutharat Sriariyakun · Oraphan Seemakram · Em-on Olanratmanee · Rachod Tantilertcharoen · Roongroj Thanawongnuwech

Accepted: 5 October 2012 / Published online: 13 October 2012
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2012

Abstract The objectives of the present study were to determine the prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Thailand between 2005 and 2010. The study was conducted by retrospectively investigating the detection of PRRSV from different pig types including boars, sows, piglets, nursery pigs, and fattening pigs from six regions of Thailand, i.e., the northern, eastern, northeastern, central, western, and southern parts. The data were obtained from cases submitted to the Chulalongkorn University Veterinary Diagnostic Laboratory for PRRSV detection between 2005 and 2010. Frequency analyses and generalized linear models were used to evaluate the prevalence of PRRSV in relation to various factors. In total, 2,273 tissues (n=636), semen (n=210) and serum (n=1,427) samples were included. PRRSV was detected in 32.6 % (740/2,273) of the pigs. The virus was found in 43.1 %, 15.7 %, and 30.3 % in the tissues, semen, and serum samples, respectively (P<0.001). The prevalence of PRRSV was highest in 2005 (43.6 %) and lowest in 2009 (23.6 %) (P<0.001). The prevalence of PRRSV was highest in nursery pigs (43.7 %) and lowest in boars (15.4 %) (P<0.001). The prevalence of PRRSV in the hot season (34.9 %) was higher than that found in the cool season (28.1 %, P=0.018) but did not differ significantly compared to rainy season (34.0 %, P=0.486). The strain of PRRSV isolated in the present study was genotype 2 (54.5 %), genotype 1 (31.0 %), and mixed genotypes (14.5 %). It can be concluded that PRRSV was detected in the tissue samples more frequently than the semen and serum samples. The prevalence of PRRSV was high in the nursery pigs. A high prevalence of PRRSV was found in the hot season, indicating that climatic factors may also contribute to the prevalence of PRRSV in Thailand. Of all the PRRSV detected, 31.0 %, 54.5 %, and 14.5 % belonged to genotype 1, genotype 2, and mixed genotypes, respectively.

Keywords Pig · Reproduction · Prevalence · PRRSV · RT-PCR

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

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

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

Introduction

Late pregnancy loss (e.g., late term abortion and premature birth) in gestating gilts and sows is influenced by either infectious or noninfectious causes. Under field conditions, infectious agents directly cause reproductive disturbance in adult female pigs accounting for 30–40 %, while noninfectious causes (e.g., toxin, environment, and stress) account for up to 60–70 % of the clinical observations (Maldonado et al. 2005). Over the past decades, major infectious agents causing reproductive disturbance in pigs include porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus (ADV), porcine parvovirus (PPV), enterovirus, classical swine fever virus, encephalomyocarditis and porcine circovirus type 2 (PCV2) (O'Connor et al. 2001; Maldonado et al.

2005; Tummaruk and Tantilertcharoen 2012). Infection with these viruses leads to transplacental infection and cause fetal mortality (Christianson 1992). In Spain, Maldonado et al. (2005) investigated the prevalence of PRRSV, ADV, PPV, and PCV2 infections in 293 tissue samples from 100 clinical cases of sows with aborted fetuses and stillborn piglets and could detect only 9 % of PRRSV and 1 % of PRRSV in combination with PCV2, while neither ADV nor PPV was detected. The authors stated that, under field conditions, PRRSV remains the most common virus in aborted fetuses and stillborn piglets in Spain.

In general, PRRSV is classified into two genotypes, i.e., European (EU, genotype 1) and North American (NA, genotype 2) genotypes (Meng 2000). PRRSV develops and replicates in the macrophage in the lung and other visceral organs including the uterus of gilts (Karniychuk et al. 2011; Olanratmanee et al. 2011b). The common reproductive clinical symptoms of PRRSV infection include abortion, premature birth, stillborn piglets, weak-born piglets and a high pre-weaning mortality rate in suckling piglets due to secondary infection (Baysinger et al. 1997; Lager et al. 2003; Scortti et al. 2006). PRRSV vaccination has been introduced to many commercial pig farms around the world. Nevertheless, the efficacy of PRRSV vaccine has not yet been guaranteed in many countries and is still under investigation (Lager et al. 2003; Scortti et al. 2006; Martelli et al. 2009). Most of the modified live PRRSV vaccination trials have been conducted in nursery and fattening pigs, while limited number of the trials has been done in gestating gilts and sows (Dewey et al. 1999; Scortti et al. 2006). In Canada, it has been shown that the use of modified live PRRSV vaccination causes reproductive failure in pregnant sows if the vaccination is implemented during the last 4 weeks of the gestation period (Dewey et al. 1999). The reproductive failures induced by vaccination include a decrease in the number of piglets born alive per litter, a decrease in the number of weaning piglet and an increase in the proportion of stillborn and mummified fetuses per litter (Dewey et al. 1999). The efficiency of modified live PRRSV vaccination also depends on the genetic variation of the PRRSV field strains (Labarque et al. 2004). The antigenicity difference between genotype 1 (EU) and genotype 2 (NA) strains is one of the most important factors for unsuccessful vaccination in many commercial pig herds. In general, the EU strain is similar to the Lelystad virus in The Netherlands, while the NA strain is similar to VR2332 virus in the USA. Moreover, a high genetic variation within each strain is also found (Amonsin et al. 2009).

In Thailand, many commercial swine herds are infected with PRRSV and many strategies to control either respiratory or reproductive failures have been implemented. Nevertheless, clinical problems as well as reproductive failure caused by PRRSV are still frequently observed under field conditions, and it has become one of the most important diseases causing economic loss in the Thai swine industry over the last decade.

During 2011, 2,877,592 swine breeders (gilts, sows, and boars) are registered to the department of livestock development, ministry of agriculture and cooperative, Bangkok, Thailand. Of these pigs, 10.2 %, 16.7 %, 20.1 %, 21.6 %, 19.9 %, and 11.5 % are distributed in the central, eastern, northern, western, northern, and southern parts of Thailand, respectively. Most of the swine herds are medium–large independent farrowing-to-finishing producers. In general, all segments of the swine commercial herds can submit the samples to Chulalongkorn University Veterinary Diagnostic Laboratory (CU-VDL) in Bangkok. However, most of the cases are obtained from the central, eastern, and western regions of Thailand due to a short distance between the farm and the laboratory. In general, polymerase chain reaction (PCR) is a method routinely used for PRRSV detection at CU-VDL for many years. PCR is a method highly specific for PRRSV detection. A direct detection of PRRSV can be obtained via PCR based on reverse transcription of the viral RNA coupled to DNA amplification by PCR (Suarez et al. 1994). This method has been stabilized for PRRSV detection in Thailand since 2004 (Thanawongnuwech et al. 2004). The objective of the present study was to retrospectively investigate the prevalence of PRRSV in commercial swine herds in Thailand between 2005 and 2010 in relation to pig types, tissue sample, year, season, and herd locations.

Material and methods

Data

Data from 2,273 samples were collected from the CU-VDL, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand during the period from January 2005 to December 2010. The samples were sent to the CU-VDL for PRRSV detection. The types of sample were classified into three groups including tissue (i.e., lung, tonsil, spleen, liver, etc.) (n=636), semen (n=210), and serum (n=1,427). Data included date of sample submission to the laboratory, geographical location of the herds (northern, eastern, northeastern, central, western, and southern parts of Thailand), and pig types (boars, sows, piglets, nursery pigs, and fattening pigs). The data were manually collected from the laboratory registration book from 2005 to 2010; an individual case was manually recorded in a computer software program (Microsoft Excel 2007, WA, USA.). Types of sample and pig types were identified from the registration and the history book of the submitted cases. Season of the year was classified as hot (February-May), rainy (June-September) and cool (October–January).

Definition

Clinical cases were classified into two major groups, i.e., reproductive and respiratory problems. Semen samples from boars as well as serum and tissue samples from boars, sows, and suckling piglets were defined as "reproductive cases," and samples from nursery and fattening pigs were defined as "respiratory cases." Cases submitted as pooled samples were regarded as one single case. The results of PRRSV detection were regarded as a binomial trait, i.e., '0' was PRRSV negative and '1' was PRRSV positive samples. The identified genotype of the virus was classified into three categories, i.e., genotype 1, genotype 2, and mixed genotypes (i.e., both genotypes 1 and 2 were detected).

Reverse transcriptase–polymerase chain reaction

The detection of PRRSV was conducted by routine reverse transcriptase–polymerase chain reaction (RT-PCR) at the CU-VDL as described by Thanawongnuwech et al. (2004). Briefly, one-step RT-PCR (Qiagen, USA) was used to amplify the common genome of ORF 1b using the thermoregulator PTC-200 (MJ Research, USA). A total of 2 μL of the PCR product was utilized as a template in the nested multiplex PCR with the same conditions. The sizes of the expected multiplex PCR products (ORF 1b) were 186 and 107 bp for genotypes 1 and 2, respectively. Positive control of both genotypes 1 and 2 were included in each analysis. The Lelystad and SVI275 viruses were used as the positive controls for genotype 1 and 2, respectively. The viral detection result of each case was also identified as genotype 1, genotype 2, and mixed genotypes. A phylogenetic tree of PRRSV isolated in Thailand and published in NCBI database during 2003–2011 (62 Thai isolates nucleotide sequence of ORF5 gene and 13 isolates from other countries) was analyzed by MEGA 5.5 and was constructed by neighbor joining method and proved by bootstrap method.

Statistical analyses

The statistical analyses were carried out using SAS (SAS version 9.0, Cary, NC, USA.). Frequency analysis was conducted for the presence or absence of PRRSV and the frequency of each genotype (genotypes 1, 2, and mixed genotypes) using PROC FREQ of SAS. The prevalence of PRRSV detection in each category was expressed as a percentage. The generalized linear models were conducted to evaluate the effect of various factors that influence the prevalence of PRRSV using the generalized linear model procedure (PROC GENMOD) of SAS. The generalized linear models allowed the mean of a population to depend on a linear predictor through a nonlinear link function. The statistical models included three logistic models for binary data. Generalized estimating equations were used to analyze the data. Three statistical models were conducted to analyze the influence of multiple factors influencing the proportion of PRRSV detection. Model 1 included the effect of sample types (tissue, semen, and serum), the pig types (boars, sows, piglets, nursery pigs, fatteners, and unidentified group) nested within samples types, the year of the sample collection (2005–2010), the month of the sample collection (January to December) and the herd location (northern, eastern, northeastern, central, western, and southern parts). Model 2 included the effect of clinical cases (reproductive and respiratory cases), year, month, and herd location. Model 3 included the effect of sample types (tissue, semen, and serum), the pig types (boars, sows, piglets, nursery pigs, fattening pigs, and unidentified group) nested within sample types, year, season (hot, rainy, and cool), and herd location. The binomial data were transformed to logit number, and least square means were estimated based on binomial distribution analyses. Maximum likelihood fitting method was used to estimate the scale parameter; the scaled deviance was used to assess the statistical models. The least square means were compared using least significant different test. $P<0.05$ were regarded to be statistically significant.

Results

PRRSV detection

Of all the samples (n=2,273), PRRSV was found in 740 samples (32.6 %). The percentage of PRRSV detection differed among types of samples (Table 1). A higher percentage of PRRSV was found in the tissue sample (43.1 %) than the semen (15.7 %, $P<0.001$) and the serum samples (30.3 %, $P=0.002$). The percentage of PRRSV detection in semen was lower than in the serum samples ($P=0.02$) (Table 1). PRRSV was found in 15.4 % (35/227) of the boars, 37.5 % (54/144) of the gilts and sows, 35.9 % (61/170) of the piglets, 43.7 % (160/366) of the nursery pigs,

Table 1 Percentage of positive samples and percentage of PRRSV strains by type of sample

Type of sample	Number of samples	Number positive (%)	Percent of positive samples by strain		
			EU	NA	Mixed
Tissue	636	43.1a	23.7	62.6	13.7
Semen	210	15.7b	29.0	64.5	6.5
Serum	1,427	30.3c	35.5	48.8	15.7
All	2,273	32.6	31.0	54.5	14.6

Different letters within a column differ significantly ($P<0.05$)

and 26.6 % (54/203) of the fattening pigs (Table 2). The percentage of PRRSV-positive samples obtained from respiratory cases (37.6 %) was higher than those from reproductive cases (27.7 %) (Table 3). The percentages of PRRSV-positive samples by strain for both reproductive and respiratory cases are present in Table 3.

Effect of herd location

Herd location significantly influenced the prevalence of PRRSV (Fig. 1). PRRSV was detected in 35.1 % (66/188), 32.7 % (222/680), 30.5 % (170/558) of the samples collected from the eastern, central, and western parts of Thailand, respectively. Of the positive samples, the highest proportion of genotype 1 (53.3 %) was found in the northern part, while the highest proportion of genotype 2 (57.8 %) was found in the central part of Thailand. The proportions of genotype 2 were 46.9 %, 55.6 %, 57.5 %, and 0 % in the eastern, northern, northeastern, western, and southern parts of Thailand, respectively.

Effect of season, month, and year

The prevalence of PRRSV in the hot season (34.9 %) was higher than that found in the cool season (28.1 %, $P=0.018$) but did not differ significantly compared to rainy seasons (34.0 %, $P=0.486$). The prevalence of PRRSV in the rainy season tended to be higher than that found in the cool season ($P=0.062$) (Table 4). The number of PRRSV detections by month is demonstrated in Fig. 2. As shown in the figure, the detection of PRRSV dramatically increased from April to July and then slowly declined from July to December (Fig. 2). The prevalence of PRRSV also differed among years. The prevalence of PRRSV in 2005 and 2007 was significantly higher than other years (Table 5). Number of PRRSV isolations by years is presented in Fig. 3. It was found that the highest number of PRRSV isolations was observed in 2005 and then continuously declined until 2009. In 2010, a slight increase in the number of PRRSV isolations was observed (Fig. 3).

Table 2 Percentage of positive samples and percentage of PRRSV strains by pig types

Pig types	Number of samples	Number positive (%)	Percent of positive samples by strain		
			EU	NA	Mixed
Boar	227	15.4a	33.3	60.6	6.1
Sow	144	37.5bc	18.9	41.5	39.6
Piglet	170	35.9bc	22.9	65.6	11.5
Nursery	366	43.7c	39.9	46.2	13.9
Fattening pig	203	26.6b	37.0	53.7	9.3

Different letters within a column differ significantly ($P<0.05$)

Table 3 Percentage of positive samples and percentage of PRRSV strains by clinical problems (reproductive and respiratory problems)

Clinical problems	Number of samples	Number positive (%)	Percent of positive samples by strain		
			EU	NA	Mixed
Reproductive	541	27.7a	23.8	55.8	20.4
Respiratory	569	37.6b	39.2	48.1	12.7

Different letters within a column differ significantly ($P<0.05$)

PRRSV genotypes

The genotypes of PRRSV isolated in the present study are demonstrated in Table 1. Of all the isolations ($n=740$), genotype 1, genotype 2, and mixed genotypes accounted for 31.0 %, 54.5 %, and 14.6 %, respectively. However, the proportion of PRRSV genotypes varied according to type of the sample (Table 1), the age group of the pigs (Table 2), clinical symptoms (Table 3), regions, seasons (Table 4), and years (Table 5). For instance, 64.5 % of the PRRSV that were isolated from semen was classified as genotype 2, while only 48.8 % of the virus isolated from serum was classified as genotype 2. PRRSV genotype 2 was found in 55.8 % of the cases associated with reproductive problems, while it was found in 48.1 % of the cases involving respiratory problems (Table 3). The detection of mixed genotypes was found in 20.4 % of the samples collected from reproductive problems cases (boars, sows, and piglets) and in 12.7 % of the samples collected from respiratory problems cases (nursery pigs and fattening pigs). Furthermore, the percentage of PRRSV genotypes varied among years. In 2005, PRRSV genotype 2 was detected in 39.8 % of the samples, while in 2010, PRRSV genotype 2 was detected in up to 95.5 % of the samples (Table 5). Interestingly, the proportion of PRRSV genotype 2 dramatically increased from 2008 onwards (Table 5). A phylogenetic tree of PRRSV isolated in Thailand is presented in Fig. 4.

Discussion

PRRSV has been serologically detected in Thai commercial swine herds since 1989 (Oraveerakul et al. 1995). Nowadays, both genotypes 1 (EU) and 2 (NA) have been isolated and have been comprehensively investigated in Thailand over the last decade (Thanawongnuwech et al. 2004; Amonsin et al. 2009; Thanawongnuwech and Suradhat 2010). During 2000–2003, a study based on 137 PRRSV isolates in Thailand found that 66.4 % of the

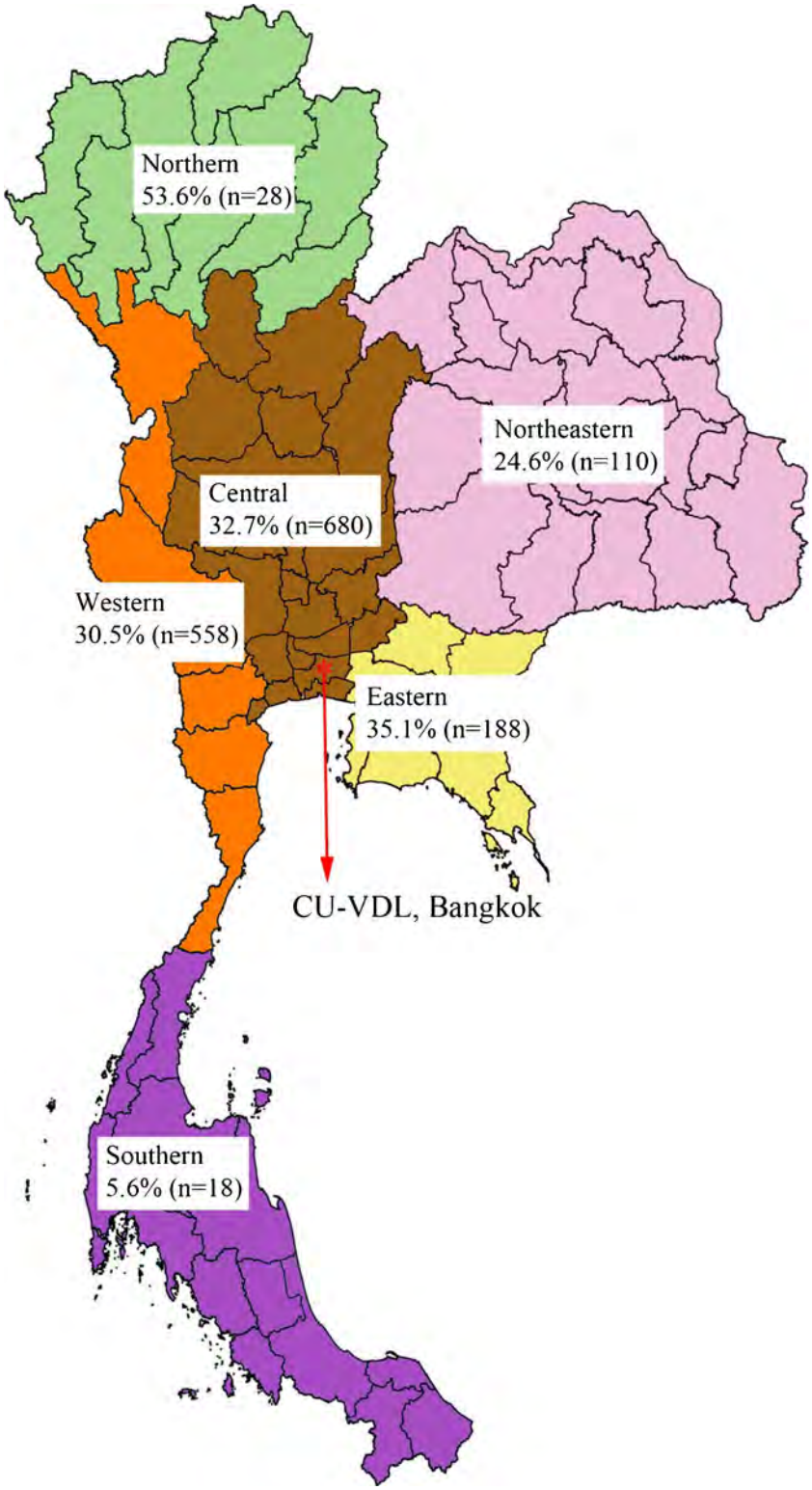


Fig. 1 Number of samples and percentage of positive samples of PRRSV by region in Thailand during 2005–2010

PRRSV isolated belong to genotype 1 and 33.6 % belong to genotype 2 (Thanawongnuwech et al. 2004). In contrast, the present study revealed that genotype 2 has become dominantly seen during 2005–2010, especially from 2008 onwards. In general, most of the great grandparent stock of pigs in Thailand was imported from Europe, especially from Denmark. Therefore, the PRRSV genotype 1 might have been introduced from European countries. However, in 2007, the PRRSV modified live virus vaccine belonging to genotype 2 was registered and became commonly practiced in the Thai commercial swine herds. PRRSV genotype 2, therefore, might have been quickly distributed due to the

Table 4 Percentage of positive samples and percentage of PRRSV strains by season

Season	Number of samples	Number positive (%)	Percent of positive samples by strain		
			EU	NA	Mixed
Cool	665	28.1a	21.3	70.5	8.2
Hot	667	34.9b	33.1	50.8	16.1
Rainy	941	34.0ab	34.9	47.9	17.1

Different letters within a column differ significantly ($P<0.05$)

Table 5 Number of samples, percentage of positive samples and percentage of PRRSV strains in Thailand from 2005 to 2010

Year	Number of samples	Number positive (%)	Percent of positive samples by strain		
			EU	NA	Mixed
2005	530	43.6a	38.5	39.8	21.7
2006	630	26.5b	41.5	43.8	14.8
2007	357	43.4a	31.8	48.0	20.1
2008	307	25.1c	11.8	86.8	1.3
2009	182	23.6c	19.0	78.6	2.4
2010	267	25.1bc	4.6	95.5	0.0

Different letters within a column differ significantly ($P<0.05$)

implementation of the PRRSV modified live virus vaccine in many commercial swine herds in Thailand since then. Additionally, PRRSV genotype 2 was introduced to Denmark after 1996 due to the use of PRRSV modified live virus vaccination based on genotype 2 of virus (Mortensen et al. 2002). Since then, both genotypes 1 and 2 of PRRSV have been also widely distributed among the Danish swine herds and also in some neighboring European countries (Beilage et al. 2009; Noremark et al. 2009). It is well documented that viral shedding from vaccinated pigs is commonly observed during the first few weeks after PRRS modified live virus vaccination (Alexopoulos et al. 2005; Scortti et al. 2006; Kim et al. 2009; Thanawongnuwech and Suradhat 2010; Olanratmanee et al. 2011a). Hence, the PRRSV isolates in the present study might, at least in part, belong to the vaccine strain. The isolation of the vaccine strain of PRRSV under field conditions has been shown by a genetic analysis on ORF5 of PRRSV in Korea (Kim et al. 2009). Furthermore, the high frequency of PRRSV detection during this period indicates that PRRS is a common disease in the commercial swine herds of Thailand.

In the present study, detection of a single genotype of PRRSV (either genotype 1 or genotype 2) was more common than mixed genotypes. The detection of mixed genotypes was found in the samples collected from reproductive problem cases (boars, sows, and piglets) more than those collected from respiratory problem cases (nursery pigs and fattening pigs). The reasons might be that sows and boars, in most cases, stay in the herd for a longer period than nursery pigs and fattening pigs. Thus, they might have been exposed to several more PRRSV genotypes than nursery pigs or fattening pigs. Recently, Tummaruk and Tantilertcharoen (2012) demonstrated that replacement gilts have been exposed to PRRSV rather early in their life, either before, during, or after acclimatization as indicated by the seroconversion against PRRSV both in non-vaccinated and vaccinated herds. Furthermore, the replacement gilts are an important source of introducing a new strain of PRRSV into the breeding herds. Olanratmanee et al. (2011b) demonstrated that the virus could be found in the uterine tissue of gilts with either high or low antibody titer up to 11 months of age. Furthermore, in some cases, coinfection of PRRSV and PPV and/or ADV might possibly occur in the replacement gilts (Tummaruk and Tantilertcharoen 2012). 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). These studies imply that understanding the factors that influence the

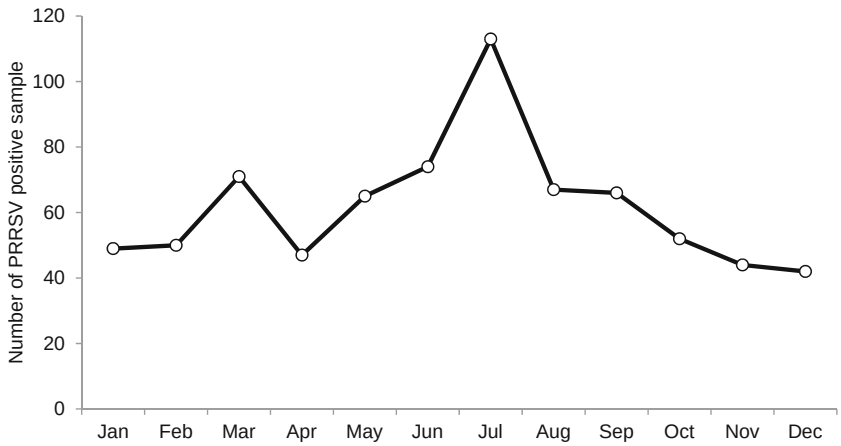


Fig. 2 Number of PRRSV detection by month

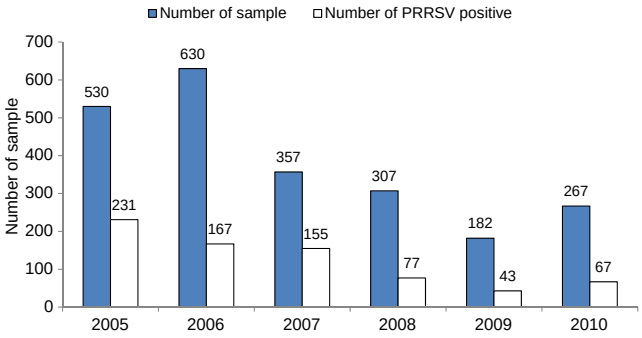


Fig. 3 Number of tested samples and number of PRRSV-positive samples from 2005 to 2010

prevalence of PRRSV is an important issue to be addressed in order to modify the management strategy of PRRSV control in Thailand.

In the present study, an increase in the number of PRRSV detections was found from April to July. This synchronized with an increase of infertility problems in gilts and sows mated during this period of the year (Tummaruk et al. 2004; Tummaruk et al. 2010a,b). Tummaruk et al. (2010a) has demonstrated that gilts and sows that were mated during the hot season and farrowed during late autumn and the cool season had a significantly lower number of total piglets born per litter than gilts and sows that were mated in cool season. These findings indicate that an increment in the viral detection during hot season may possibly contribute to a poor reproductive performance of gilts and sows mated during hot season in Thailand. In addition, during hot seasons, the temperature–humidity index is relatively high (Tummaruk et al. 2010a), and this could possibly induce moderate to severe heat stress in the pigs. Viremia as well as viral infections might be easily obtained from an animal under

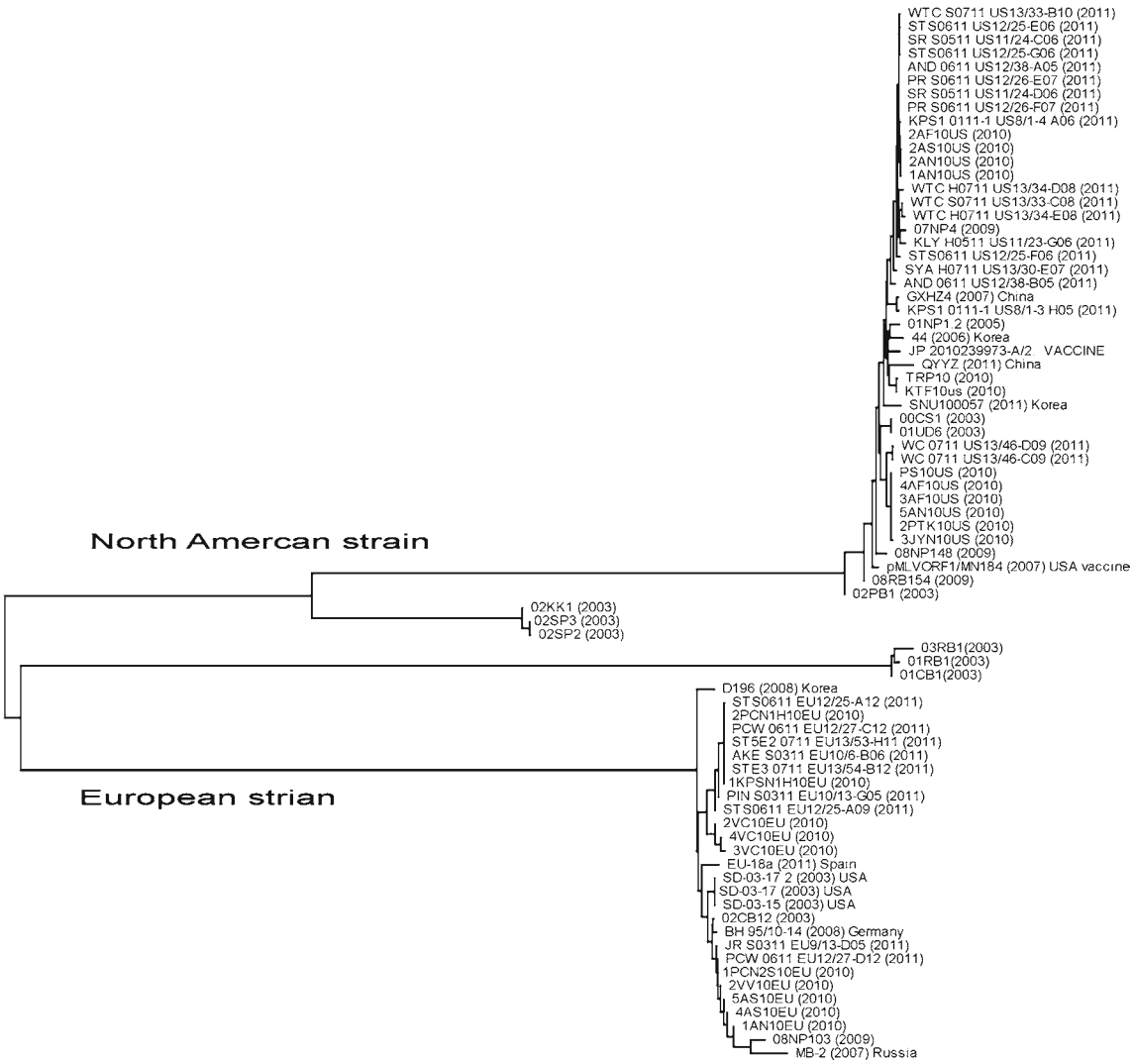


Fig. 4 Phylogenetic tree of PRRSV isolated in Thailand and published in NCBI database during 2003–2011 (62 Thai isolates nucleotide sequence of ORF5 gene and 13 isolates from other countries). The phylogenetic tree was analyzed by MEGA 5.5 and was constructed by neighbor joining method and proved by bootstrap method

stress due to its immunosuppressive conditions (Suradhat 2006). Furthermore, both high temperature and high humidity could be the favorable climatic condition for airborne transmission of the virus.

In Thailand, both genotype 1 and genotype 2 of PRRSV exist among Thai swine herds. The proportion of genotype 1 and 2 PRRSV also varies among regions. In general, the breed of pigs and management are similar among regions. However, the distribution of swine herds in northern and southern regions is not as dense as those in the western, eastern, and central regions. The climates are also different between the northern and southern regions. The relative humidity as well as the rain is more common in the southern than in the northern regions. In the northern and southern part of Thailand, genotype 1 can be isolated more frequently than genotype 2. On the other hand, genotype 2 is more dominant than genotype 1 in the rest of the country. This is in agreement with earlier studies in Thailand (Thanawongnuwech et al. 2004; Amonsin et al. 2009). However, genotype 2 of PRRSV is the dominant strain of PRRSV in other Asian countries, e.g., China (Li et al. 2010), Japan (Yoshii et al. 2005) and Korea (Cha et al. 2006; Kim et al. 2009). Li et al. (2010) analyzed the genetic diversity of 66 Chinese PRRSV field strains isolated from 1996 to 2009 and found that all of the tested samples belonged to genotype 2. Furthermore, the highly pathogenic PRRSV strains causing a high mortality rate in pigs in China in 2006 and in Southeast Asia in 2009–2010 also belonged to genotype 2 (Zhou and Yang 2010). In many countries in Europe, both genotypes 1 and 2 of PRRSV have also been detected (Mortensen et al. 2002; Beilage et al. 2009). But the presence of NA strains among European countries is, in most cases, associated with the introduction of North American type modified live virus vaccine (Mortensen et al. 2002; Beilage et al. 2009). In Germany, a study of postmortem examinations in 902 pigs found that 18.5 % of the samples were positive for wild-type EU strains, while EU and NA genotype vaccine viruses were also detected in 1.3 % and 8.9 % of the tissue samples, respectively (Beilage et al. 2009). These findings indicate that PRRSV genotypes in Thailand are closely related to European countries rather than other Asian countries and North America. A recent study on a complete nucleotide sequence of the Thai PRRSV isolates has suggested that the Thai EU isolate is likely to have evolved from the EU prototype, whereas the Thai NA isolate may originate from the vaccine virus or its derivatives (Amonsin et al. 2009). In addition, a recent phylogenetic study on PRRSV isolated in Thailand indicated that at least four independent introductions of PRRSV genotype 1 and three independent introductions of PRRSV genotype 2 had been observed (Tun et al. 2011). These findings indicate that PRRSV has been introduced to Thailand many times from both Europe and North America. The difference of PRRSV strains among regions might also be due to the fact that the Thai swine producers regularly import live pigs and/or semen from European countries for genetic improvement purposes. In addition, the North American type of the modified live virus vaccine are also continuously imported and have become nowadays commercially available in Thailand. Since the vaccine was registered in Thailand in 2007, the genotype 2 of PRRSV has become the most common genotype of the PRRSV isolates. The present study revealed that 78–95 % of the PRRSV isolated from 2008 to 2010 belong to genotype 2 (NA).

The limitations of the present study included the use of data from diagnostic laboratory to describe disease prevalence. The samples were mostly obtained from cases with suspicious PRRSV problems. Hence, the prevalence might be relatively high. Furthermore, the present data set was only based on samples collected from producers and veterinarians that choose to submit specimens to CU-VDL. Data from other laboratories were not included. Nevertheless, the CU-VDL is situated in the central part of Bangkok, and it is independent from private companies and producers. Thus, the analyses can be accomplished without any conflict of interest.

It can be concluded that the prevalence of PRRSV in Thailand between 2005 and 2010 accounted for 32.6 % of the cases submitted for viral detection. The prevalence of PRRSV varied according to the type of sample, the age group of the pigs, season, year, and herd location. PRRSV was detected in the tissue samples more frequently than the semen and serum samples. A high prevalence of PRRSV detection was found in the nursery pigs. A high prevalence of PRRSV was found in the hot season, indicating that climatic factors may also contribute to the prevalence of PRRSV in Thailand. Of all the PRRSV detected, 31.0 %, 54.5 %, and 14.5 % belonged to genotype 1, genotype 2, and mixed genotypes, respectively.

Acknowledgments 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. We would also like to thank Asst. Prof. Simon Wright, Chulalongkorn University for coordinating language editing.

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.

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

Beilage, E.G., Nathues, H., Meemken, D., Harder, T.C., Doherr, M.G., Grotha, I. and Greiser-Wilke, I., 2009. Frequency of PRRS live vaccine virus (European and North American genotype) in vaccinated and non-vaccinated pigs submitted for respiratory tract diagnostics in North-Western Germany, Preventive Veterinary Medicine 92, 31–37.

Cha, S-H., Choi, E-J., Park, J-H., Yoon, S-R., Song, J-Y., Kwon, J-H., Song, H-J. and Yoon, K-J., 2006. Molecular characterization of recent Korean porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) viruses and comparison to other Asian PRRS viruses, Veterinary Microbiology 117, 248–257.

Christianson, W.T., 1992. Stillbirth, mummies, abortions and early embryonic death, Veterinary Clinical of North America: Food Animal Practice 8, 623–639.

Dewey, C.E., Wilson, S., Buck, P. and Leyenaar, J.K., 1999. The reproductive performance of sows after PRRS vaccination depends on stage of gestation, Preventive Veterinary Medicine, 40, 233–241.

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

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.

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

Lager, K.M., Mengeling, W.L. and Wesley, R.D., 2003. Strain predominance following exposure of vaccinated and naïve pregnant gilts to multiple strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Canadian Journal of Veterinary Research, 67, 121–127.

Li, B., Fang, L., Liu, S., Zhao, F., Jiang, Y., He, K., Chen, H. and Xiao, S., 2010. The genomic diversity of Chinese porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates from 1996 to 2009, Veterinary Microbiology, 146, 226–237.

Maldonado, J., Segalés, J., Martinez-Puig, D., Calsamiglia, M., 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.

Martelli, P., Goziob, S., Ferraria, L., Rosinaa, S., Angelisa, E.D., Quintavallaa, C., Bottarellia, E. and Borghettia, P., 2009. Efficacy of a modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in pigs naturally exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain: Clinical protection and cell-mediated immunity, Vaccine 27, 3788–3799.

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.

Mortensen, S., Stryhn, H., Sogaard, R., Boklund, A., Stark, K.D.C., Christensen, J. and Willeberg, P., 2002. Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus, Preventive Veterinary Medicine, 53, 83–101.

Noremark, M., Lindberg, A., Vagsholm, I. and Lewerin, S.S., 2009. Disease awareness, information retrieval and change in biosecurity routines among pig farmers in association with the first PRRS outbreak in Sweden, Preventive Veterinary Medicine, 90, 1–9.

O'Connor, B., Gauvreau, H., West, K., Bogdan, J., Ayroud, M., Clark, E.G., Konoby, C., Allan, G. and Ellis, J.A., 2001. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit, Canadian Veterinary Journal, 42, 551–553.

Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P., 2011a. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in the serum of gilts and sows after modified-lived PRRS vaccination, Proceeding of the 10th Chulalongkorn-Veterinary Annual Conference, page S40.

Olanratmanee, E., Wangnaitham, S., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P., 2011b. 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.

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.

Scortti, M., Prieto, C., Simarro, I. and Castro, J.M., 2006. Reproductive performance of gilts following vaccination and subsequent heterologous challenge with European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome vius, Theriogenology, 66, 1884–1893.

Suarez, P., Zardoya, R., Prieto, C., Solana, A., Tabares, E., Bautista, J.M. and Castro, J.M., 1994. Direct detection of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus by reverse polymerase chain reaction (RT-PCR), Archives of Virology, 135, 89–99.

Suradhat, S., 2006. Relationships between the immune system and stress reactivity in pig: visualizing the immune-neuroendocrine framework in action, Thai Journal of Veterinary Medicine, 36, 9–18.

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.

Tummaruk, P. and Tantilertcharoen, R., 2012. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome, Aujeszky's disease and porcine parvovirus in replacement gilts in Thailand, Tropical Animal Health and Production, 44, 983–989.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A., 2004. Effect of season and outdoor climate on litter size at birth in purebred Landrace and Yorkshire sows in Thailand, Journal of Veterinary Medical Science, 66, 477–482.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A., 2010a. 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.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A., 2010b. Influence of repeat-service and weaning-to-first-service interval on farrowing proportion of gilts and sows, Preventive Veterinary Medicine 96, 194–200.

Tun, H.M., Shi, M., Wong, C.L.Y., Ayudhya, S.N.N., Amonsin, A., Thanawongnuwech, R. and Leung, F.C.C., 2011. Genetic diversity and multiple introductions of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in Thailand, Virology Journal, 8, 164.

Yoshii, M., Kaku, Y., Murakami, Y., Shimizu, M., Kato, K. and Ikeda, H., 2005. Genetic variation and geographic distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Japan, Arch Virology, 150, 2313–2324.

Zhou, L. and Yang, H., 2010. Porcine reproductive and respiratory syndrome in China, Virus Research, 154, 31–37.

Trop Anim Health Prod (2013) 45:1099–1106
DOI 10.1007/s11250-012-0332-9

REGULAR ARTICLES

Reproductive parameters following a PRRS outbreak where a whole-herd PRRS MLV vaccination strategy was instituted post-outbreak

Em-on Olanratmanee · Suparlark Nuntawan Na Ayudhya · Roongroje Thanawongnuwech · Annop Kunavongkrit · Padet Tummaruk

Accepted: 21 November 2012 / Published online: 2 December 2012
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2012

Abstract This study assessed the effect of whole-herd porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) modified-live virus (MLV) vaccination on herd-level reproductive performance, PRRS virus (PRRSV) viremia, and antibody in a subset of females in a 1,200-sow commercial herd in Thailand. Following a PRRSV outbreak, the entire herd was vaccinated with PRRS MLV twice at 3-week intervals and at 3-month intervals, thereafter. Reproductive performance data over a 3-year period were available for analysis. Serum samples were collected before and after vaccination and tested by PRRSV ELISA and reverse transcription-polymerase chain reaction. Vaccination was statistically associated with a lower abortion rate (1.4 vs. 1.6 %), farrowing rate (83.8 vs. 90.0 %), total born (10.6 vs. 11.4 piglets/litter), liveborn (10.0 vs. 10.3 piglets/litter), stillbirths (4.6 vs. 7.0 %), mummies (0.7 vs. 1.6 %), and a higher return rate (11.3 vs. 5.9 %) when compared with the period before the PRRSV outbreak. Pregnant females vaccinated during early gestation farrowed fewer liveborn and more mummies than the comparison group, whereas females vaccinated during late gestation had a lower farrowing rate. In this herd, PRRS whole-herd vaccination had neutral, positive, and negative effects on reproductive performance. Thus, the decision to implement whole-herd vaccination should be balanced between the benefits derived from reproductive performance improvements, e.g., fewer abortions, stillborn piglets, and mummified fetuses, and the effect of vaccination on pregnant females.

Keywords PRRSV · Modified-live virus vaccine · Whole-herd vaccination · Reproductive performance · Gestation

E. Olanratmanee · 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. Nuntawan Na Ayudhya
Pfizer (Thailand) Limited, 323, Silom Rd,Bangrak, Bangkok, Thailand 10500

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

A. Kunavongkrit
The Office of the Commission on Agricultural Resource Education, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is caused by PRRS virus (PRRSV), a member of family *Arteriviridae*. In general, PRRSV infection in pregnant gilts and sows is characterized by late-term abortions and an increase in mummified fetuses per litter, stillborn piglets per litter, and low viability piglets at birth (Chung et al. 1997). The disease was reported for the first time in the USA in 1987, and the virus was identified for the first time in Lelystad, the Netherlands, in 1990 (Wensvoort et al. 1991). In 1992, PRRSV was divided into two genotypes, i.e., types 1 (European genotype) and 2 (North American genotype) on the basis of genetic, antigenic, and pathogenic differences (Meng 2000).

To date, PRRSV has been found in most major pig-producing areas throughout the world (Zimmerman et al.

2006). A retrospective serological study determined that PRRSV was present in Thailand since 1989 (Damrong watanapokin et al. 1996) and in 1995, it was estimated that 64 % of the commercial swine herds in Thailand were PRRSV-infected (Oraveerakul et al. 1995). Both types 1 and 2 PRRSV genotypes have been isolated in Thailand (Thanawongnuwech et al. 2004).

In the PRRSV-endemic herds, the presence of subpopulations of susceptible pigs may lead to the continual circulation of PRRSV. Herd closure, gilts acclimatization, and whole-herd exposure to wild-type virus or vaccines have been recommended to eliminate these subpopulations (Cano et al. 2007a, b). The types of PRRSV vaccine available in Thailand include both modified-live virus (MLV) and inactivated virus vaccines. The use of vaccination to immunize pigs has been evaluated, in most cases, at the individual pig level and in nursery populations (Martelli et al. 2009). It has been demonstrated that PRRS MLV vaccination can reduce lung lesions in the PRRSV-infected pig and decrease the level and duration of viremia after challenge with homologous virus (Foss et al. 2002; Mengeling et al. 2003). In addition, PRRS MLV vaccination of the entire herd (whole-herd vaccination) was shown to reduce the persistence and duration of the viral shedding, even though wild-type virus was not eliminated (Cano et al. 2007a, b). However, the effect of PRRSV vaccination varies among herds (Alexopoulos et al. 2005; Martelli et al. 2007) and, furthermore, limited information is available on reproductive performance in pregnant gilts and sows following PRRS MLV vaccination. Therefore, the objective of the present study was to monitor the PRRSV status (antibody and viremia) of a subset of gilts and sows and the herd-level reproductive performance over time of a PRRSV-positive breeding herd following whole-herd PRRS MLV vaccination.

Materials and methods

Project design

Reproductive data were collected in a commercial breeding herd prior to, during, and after a PRRSV outbreak and mass vaccination of gilts and sows with a PRRSV MLV vaccine (Ingelvac® PRRS MLV, Boehringer-Ingelheim Vetmedica, Inc., St. Joseph, Missouri). The data were analyzed for the effect of mass vaccination on (1) PRRSV ELISA response and viremia, (2) fertility parameters (farrowing rate, return rate, and abortion rate), and (3) litter parameters (total born, live born, stillbirths, and mummified fetuses).

Herd management and vaccination protocols

The study was conducted in a 1,200-sow commercial breeding herd in central Thailand in which in-herd replacement gilts were produced using grandparent stock. Replacement gilts were acclimatized at 22–30 weeks of age, before entering the breeding herd and were assumed to be PRRSV positive. Gilts and sows were housed in a conventional open housing system, i.e., slatted floors and open sides, and the herd health management program was under the supervision of a herd veterinarian. Gilts and sows had never been vaccinated against PRRSV but did receive vaccines against foot-and-mouth disease (2 weeks before farrowing), classical swine fever (2 weeks after farrowing), Aujeszky's disease (mass vaccination every 4 months), and porcine parvovirus (gilts prior to placement in breeding herd, then 2 weeks after farrowing every 3rd parity).

PRRSV monitoring data

Gilts and sows (n=20–30) were tested biannually using a commercial PRRS ELISA assay (HerdChek® PRRSV antibody test kit 2XR®, IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine) for the 3 years prior to the PRRSV outbreak. Based on monitoring results, the herd was considered PRRSV positive, but stable. At the beginning of January 2009, reproductive failure characterized by abortions in gilts and sows mated during October to December 2008, increased return to estrus after mating, and increased mortality in suckling and weaned piglets were noted. In January 2009, a type 2 PRRSV was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) in serum samples from sows and piglets submitted for testing at the Veterinary Diagnostic Laboratory, Chulalongkorn University (Bangkok, Thailand).

PRRSV vaccination and blood collection

On 15 May 2009, all gilts and sows in the herd were vaccinated with a PRRSV MLV vaccine at 3-week intervals, i.e., weeks 0 and 3. Thereafter, all gilts and sows (both pregnant and nonpregnant) were vaccinated every 3 months. Concurrently with the first PRRS vaccination, six age groups composed of six animals each were selected for PRRSV monitoring: (1) 7- to 8-month-old replacement gilts, (2) 9- to 11-month-old breeding gilts, (3) parity one sows, (4) parity 2 sows, (5) parity 3–4 sows, and (6) parity 5–6 sows. Blood samples were collected from these 36 animals one day before PRRSV vaccination and then 2, 5, 9, 12, and 18 weeks after the first vaccination. Blood samples were allowed to clot at room temperature, after which serum was harvested and either tested immediately for PRRSV antibodies or stored at −20 °C for later testing. Serum samples (n=6) were pooled by age group and tested immediately by PRRSV RT-PCR.

PRRSV antibody and RT-PCR assay

Individual serum was tested for PRRSV antibody using a commercial assay performed according to the manufacturer's

protocol. Pooled serum samples were tested for PRRSV using a commercial RT-PCR assay (AccessQuick™ RT-PCR system, Promega Corporation, Madison, Wisconsin) capable of amplifying open reading frame 7 of either type 1 or 2 PRRSV genotypes. The reaction consisted of upstream and downstream primers (Amonsin et al. 2009), avian myelobalastosis virus reverse transcriptase (Promega Corporation), and RNA template. The reverse transcription and PCR amplification conditions were performed according to kit instructions. The amplified products and standards (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, Fermentas Inc., Glen Burnie, Maryland) were electrophoresed on 1.0 % agarose gel and stained with ethidium bromide. PRRSV genotypes were differentiated on the basis of the size of the products, i.e., 390 bp for type 1 and 430 bp for type 2 genotypes.

Reproductive performance dataset

Reproductive performance data were collected for the period from July 2007 to June 2010 from breeding productivity records (PigCHAMP®, version 4.10, Minnesota). The data dictionary was based on conventional definitions of industry terms and formulas. A mating was defined as the insemination of a gilt/sow during a 10-day estrus period and a service included one or more mating events during estrus (Takai and Koketsu 2009). Return-to-estrus, abortion, and farrowing were defined as binomial traits (0, 1). The farrowing rate (FR), the return rate (RR), and the abortion rate (AR) were calculated as the number of females that returned to estrus or aborted or farrowed divided by the number of mated females multiplied by 100. Total born per litter (TB) was defined as the sum of born alive (BA) plus the number of stillborn piglets (SB) plus the number of mummified fetuses (MM). The percentage of SB and percentage of MM were calculated as the number of SB or MM divided by TB multiplied by 100. Pregnant females were classified in terms of PRRSV vaccination status relative to the blanket vaccination that occurred on 15 May 2009: (1) 0 to 30 days of gestation at the time of blanket vaccination; (2) 31 to 60 days of gestation; (3) 61 to 90 days of gestation; and (4) vaccination at >90 days of gestation. The raw data consisted of 8,162 matings and 6,975 farrowing records from 2,543 sows. Records with missing data were removed from the dataset, leaving a total of 7,914 matings and 6,793 farrowings from 2,337 sows for the analysis. Records included sow identity, parity number at service, mating date, number of inseminations, mating result, days until the sow returned to estrus after mating, farrowing date, TB, BA, SB, and MM.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using SAS statistical software (SAS® version 9.0, SAS® Institute, Inc., Cary, North Carolina). Initially, fertility parameters (RR, AR, and FR) and litter parameters (TB, BA, SB, and MM) were analyzed for differences over time, i.e., before PRRSV infection (July 2007 to June 2008), during PRRSV field infection (July 2008 to June 2009), and after vaccination (July 2009 to June 2010), PRRSV vaccination status, parity (0, 1, 2–4, and ≥5), parity by time, and parity by vaccination status using generalized linear-mixed models. Tukey–Kramer adjustments were used for multiple comparisons. $P<0.05$ was considered statistically significant. Quantitative serum ELISA responses (S/P ratios) were evaluated by week of collection (0, 2, 5, 9, 12, and 18) using paired *t* tests. The qualitative ELISA response (positive vs. negative) was analyzed by logistic regression using generalized linear-mixed models that included the week of sample collection (0, 2, 5, 9, 12, and 18) and female classification (replacement gilt, bred gilt, and sow parity numbers 1, 2, 3-4, and 5–6).

Results

Serum testing results

No viremic animals were detected by PRRSV RT-PCR either before or after PRRS vaccination. Among the 36 animals monitored over time, 88.9 % (32/36) were PRRS ELISA antibody positive prior to vaccination (Table 1). After mass vaccination, the percentage of seropositive animals in this group ranged from 85.3 % to a high of 94.4 % for the 18 weeks over which the animals were monitored. Mean ELISA S/P ratios varied from 1.61 prior to vaccination to 1.23 at week 18 post-vaccination.

Reproductive performance

Herd fertility parameters (FR, RR, and AR) and litter parameters (TB, BA, SB, and MM) over time are summarized in Fig. 1a, b and Tables 2 and 3, respectively. Before the PRRSV outbreak, FR, AR, RR, SB, and MM were 90.0, 1.6, 5.9, 7.0, and 1.6 % respectively, while TB and BA were 11.4 and 10.3 piglets per litter, respectively. During the outbreak, especially November 2008 to January 2009, a high AR (16.7 %) and a low FR (71.2 %) were observed. The lowest TB and BA, 9.7 and 8.3 piglets/litter, respectively, and the highest MM (8.4 %) were observed in gilts and sows that farrowed in April 2009 (mated in January 2009). During the PRRSV outbreak, reproductive parameters were significantly affected compared with pre-outbreak levels, i.e., FR (83.9 vs. 90.0 %, $P<0.001$), AR (5.2 vs. 1.6 %, $P<0.001$), RR (8.0 vs. 5.9 %, $P=0.048$), TB (10.9 vs. 11.4 piglets/litter, $P<0.001$), BA (9.9 vs. 10.3 piglets/litter, $P<0.001$), and MM (2.2 vs. 1.6 %, $P=0.004$).

Table 1 Serum testing results by week post-vaccination

Weeks	PRRS ELISA (mean S/P ratio)	ELISA positive	PRRSV RT-PCR
0	1.61±0.19 a, b	32/36 (88.9 %) a	Negative
2	1.88±0.16 a	34/36 (94.4 %) a	Negative
5	1.47±0.16 b	31/36 (86.1 %) a	Negative
9	1.32±0.15 b	32/36 (88.9 %) a	Negative
12	1.46±0.17 b	29/34 (85.3 %) a	Negative
18	1.23±0.07 b	31/33 (93.9 %) a	Negative

Different lowercase letters (a and b) within columns indicate statistically significant differences ($P \leq 0.05$)

Following vaccination against PRRSV, the AR decreased from the outbreak period (1.4 vs. 5.2 %, $P<0.001$) and returned to pre-outbreak levels (1.4 vs. 1.6 %, $P>0.05$), whereas RR remained higher than before the outbreak (11.3 vs. 5.9 %, $P<0.001$) or during outbreak (11.3 vs. 8.0 %, $P<0.001$) (Table 2). The FR did not differ from the outbreak period (83.8 vs. 83.9 %, $P>0.05$), but it remained lower than before the outbreak (83.8 vs. 90.0 %, $P<0.001$) (Table 2). TB and BA were lower than before outbreak (10.6 vs. 11.4 piglets/litter, $P<0.001$ and 10.0 vs. 10.3 piglets/litter, $P=0.012$, respectively) (Table 3). However, while TB was lower than during the outbreak period (10.6 vs. 10.9 piglets/litter, $P=0.015$), BA was higher (10.0 vs. 9.9 piglets/litter, $P=0.012$) (Table 3). SB and MM were both lower than before the outbreak (4.6 vs. 7.0 %, $P<0.001$ and 0.7 vs. 1.6 %, $P<0.001$, respectively) and during outbreak (4.6 vs. 6.1 %, $P<0.001$ and 0.7 vs. 2.2 %, $P<0.001$, respectively) (Table 3). Preweaning mortality before the outbreak, during the outbreak, and following PRRS MLV vaccination was 4.7, 8.5, and 4.4 %, respectively. These estimates are based on pre-outbreak piglet numbers of 24,302 (BA) and 23,254 (weaned), outbreak piglet numbers of 20,999 (BA) and 19,217 (weaned), and post-vaccination numbers of 23,228 (BA) and 22,196 (weaned).

After PRRS vaccination, FR, BA, and MM varied by the state of gestation at the time of vaccination (Tables 4 and 5). Gilts and sows vaccinated at ≥90 days of gestation had a lower FR than those vaccinated at 0–30 (77.3 vs. 88.3 %, $P=0.008$), 31–60 (77.3 vs. 85.1 %, $P=0.055$), and 61–90 days of gestation (77.3 vs. 84.7 %, $P=0.176$) (Table 4). RR and AR were not significantly different among PRRSV vaccination status, although numeric differences were observed. Likewise, FR, RR, and AR varied by parity, but were not statistical significant (Table 4). BA was lowest (9.2 piglets/litter) and MM was highest (5.3 piglets/litter) in females vaccinated at 0–30 days of gestation (Table 5). However, TB and SB did not differ by parity or stage of gestation at the time of vaccination.

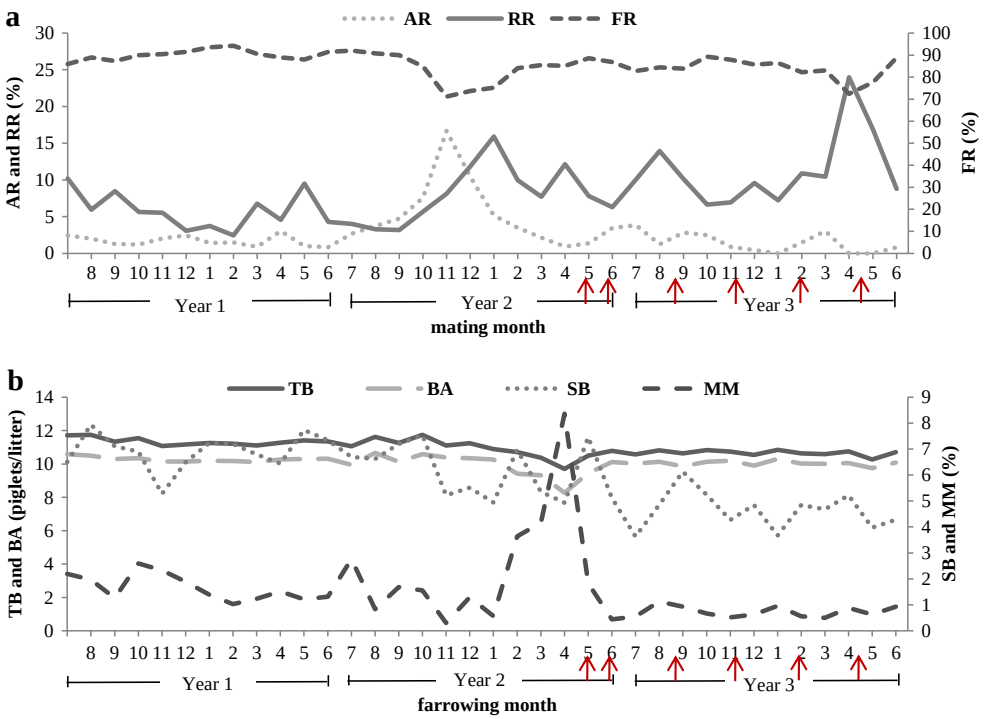


Fig. 1 **a** Farrowing rate (*FR*), abortion rate (*AR*), and return rate (*RR*); **b** the number of total piglets born per litter (*TB*), the number of piglets born alive per litter (*BA*), the percentage of stillborn piglets per litter (*SB*), and the percentage of mummified fetuses per litter (*MM*). *Arrow* indicates dates of PRRS MLV vaccination

Table 2 Comparison of fertility parameters by parity over time

Fertility parameters	Year 1 (July 2007-June 2008 (before outbreak))	Year 2 (July 2008–June 2009 (during outbreak))	Year 3 (July 2009–June 2010 (post-vaccination))
Number of sows	1,332	1,253	1,452
Number of mating	2,582	2,540	2,792
Farrowing rate (%)	90.0 a	83.9 b	83.8 b
Parity 0	86.6 a	87.0 a	87.2 a
Parity 1	91.2 a	84.4 a	85.8 a
Parity 2–4	91.5 a	82.1 b	84.3 b
Parity ≥5	88.0 a	84.6 a, b	78.3 b
Return rate (%)	5.9 a	8.0 a	11.3 b
Parity 0	7.5 a	8.4 a	10.1 a
Parity 1	5.4 a	8.6 a	10.9 a
Parity 2–4	5.4 a	8.9 b	10.0 b
Parity ≥5	6.0 a	5.5 a	14.8 b
Abortion rate (%)	1.6 a	5.2 b	1.4 a
Parity 0	1.8 a	2.8 a	1.0 a
Parity 1	1.3 a	4.4 a	1.0 a
Parity 2–4	1.4 a	5.9 b	1.7 a
Parity ≥5	2.9 a, b	6.5 b	1.6 a

Clinical signs suggestive of PRRS in late 2008, with virus detected in serum by RT-PCR in January 2009. PRRS MLV vaccination begun 15 May 2009. Different lowercase letters (a and b) across rows indicate statistically significant differences ($P \leq 0.05$)

Discussion

In general, the reproductive performance of this herd was good relative to its peers in Thailand (Olanratmanee et al. 2010; Tummaruk et al. 2010). However, a decline in reproductive performance, i.e., an increase in abortions and mummified fetuses, was noted for several months before the use of the PRRSV vaccine. The decline in reproductive parameters was attributed to PRRSV based on the clinical experience of the herd veterinarians and the results of diagnostic testing, e.g., positive PRRSV RT-PCR testing. These data justified the decision to vaccinate the entire sow herd with PRRSV MLV vaccine, regardless of individual animals' stage in the reproductive cycle. In hindsight, taking this course of action 6 months earlier (at the peak of abortions) might have foreshortened overall reproductive losses (Fig. 1a).

Table 3 Fertility parameters by stage of gestation subsequent to blanket vaccination

Fertility parameter	Stage of gestation			
	0–30 days	31–60 days	61–90 days	>90 days
Number of animals	213	222	228	216
Farrowing rate (%)	88.3 a	85.1 a, b	84.7 a, b	77.3 b
Parity 0	93.6 a	86.5 a	92.3 a	82.5 a
Parity 1	94.9 a	95.1 a	81.8 a	78.4 a
Parity 2–4	81.8 a	77.5 a	82.6 a	77.2 a
Parity ≥5	90.9 a	89.1 a	86.1 a	72.3 a
Return rate (%)	8.5 a	11.3 a	8.8 a	13.4 a
Parity 0	3.2 a	13.5 a	5.1 a	10.0 a
Parity 1	5.1 a	4.9 a	9.1 a	13.5 a
Parity 2–4	11.4 a	16.8 a	11.9 a	16.3 a
Parity ≥5	9.1 a	5.4 a	2.8 a	10.6 a
Abortion rate (%)	0.9 a	0.9 a	2.6 a	5.6 a
Parity 0	0.0 a	0.0 a	0.0 a	7.5 a
Parity 1	0.0 a	0.0 a	2.3 a	5.4 a
Parity 2–4	2.3 a	1.1 a	1.8 a	5.4 a
Parity ≥5	0.0 a	1.8 a	8.3 a	4.3 a

PRRS MLV vaccination on 15 May 2009. Different lowercase letters (a–c) across rows indicate statistically significant differences ($P \leq 0.05$)

Table 4 Litter parameters (means±SEM) by parity over time

Litter parameters	Year 1 (Jul 2007–Jun 2008 (before outbreak))	Year 2 (Jul 2008–Jun 2009 (during outbreak))	Year 3 (Jul 2009–Jun 2010 (post-vaccination))
Number of sows	1,233	1,120	1,365
Number of farrowing	2,362	2,116	2,315
Total born	11.4±0.1 a	10.9±0.1 b	10.6±0.1 c
Parity 1	10.3±0.1 a	10.2±0.1 a	10.2±0.1 a
Parity 2-4	11.6±0.1 a	11.0±0.1 b	10.8±0.1 b
Parity ≥5	11.6±0.1 a	11.2±0.1 a	10.7±0.1 b
Born alive	10.3±0.1 a	9.9±0.1 b	10.0±0.1 c
Parity 1	9.3±0.1 a	9.0±0.1 a	9.4±0.1 a
Parity 2-4	10.6±0.1 a	10.1±0.1 b	10.3±0.1 a, b
Parity ≥5	10.4±0.1 a	10.1±0.1 a	10.1±0.1 a
Stillbirths (%)	7.0±0.2 a	6.1±0.2 b	4.6±0.2 c
Parity 1	7.2±0.5 a	6.9±0.5 a	5.8±0.4 a
Parity 2-4	6.3±0.2 a	5.3±0.3 a	4.1±0.2 b
Parity ≥5	8.2±0.4 a	6.9±0.4 a	4.6±0.3 b
Mummified fetuses (%)	1.6±0.1 a	2.2±0.2 b	0.7±0.1 c
Parity 1	1.8±0.3 a	3.7±0.6 b	1.4±0.3 a
Parity 2-4	1.6±0.2 a	2.1±0.3 a	0.6±0.1 b
Parity ≥5	1.6±0.2 a, b	1.8±0.3 a	0.5±0.1 b

Clinical signs suggestive of PRRS in late 2008, with virus detected in serum by RT-PCR in January 2009. PRRS MLV vaccination begun 15 May 2009. Different lowercase letters (a–c) across rows indicate statistically significant differences ($P \leq 0.05$)

In agreement with previous reports, vaccination produced a measureable response both in terms of an increased proportion of seropositive animals and an increase in mean PRRSV ELISA S/P values (Murtaugh et al. 2002; Scortti et al. 2006b). Although the antibody ELISA does not measure neutralizing antibodies (Yoon et al. 1995; Foss et al. 2002), none of the monitored animals were viremic during the 2 to 18 week observation period post-vaccination.

Vaccination against PRRSV in nonpregnant pigs has been shown to produce no negative reproductive consequences and improve some measures of reproductive performance, e.g., FR, BA, SB, and MM (Dewey et al. 2004; Alexopoulos

Table 5 Litter parameters (means±SEM) by stage of gestation subsequent to blanket vaccination*

Litter parameter	Stage of gestation			
	0–30 days	31–60 days	61–90 days	>90 days
Number of farrowing	188	189	193	167
Total born	10.5±0.2 a	10.6±0.2 a	11.0±0.2 a	11.1±0.2 a
Parity 1	9.8±0.6 a	9.6±0.6 a	10.0±0.4 a	10.4±0.5 a
Parity 2-4	10.1±0.3 a	10.8±0.3 a	11.3±0.3 a	11.1±0.3 a
Parity ≥5	11.2±0.3 a	10.9±0.4 a	11.0±0.3 a	11.6±0.4 a
Born alive	9.2±0.2 a	9.4±0.2 a	10.3±0.2 b	10.3±0.2 b
Parity 1	8.1±0.6 a	8.4±0.5 a	9.2±0.4 a	9.5±0.4 a
Parity 2-4	8.6±0.3 a	9.9±0.3 a, b	10.6±0.2 b	10.4±0.3 b
Parity ≥5	10.2±0.3 a	9.1±0.4 a	10.5±0.3 a	10.4±0.3 a
Stillborn (%)	6.0±0.6 a	6.5±0.9 a	4.8±0.6 a	5.6±0.7 a
Parity 1	6.1±1.7 a	4.8±1.7 a	6.4±1.4 a	7.1±1.8 a
Parity 2-4	5.7±1.0 a	5.2±0.9 a	4.9±1.0 a	3.9±0.8 a
Parity ≥5	6.2±0.9 a	9.0±2.1 a	3.5±0.9 a	7.4±1.3 a
Mummified fetuses (%)	5.3±1.3 a	4.2±1.1 a, c	0.7±0.3 b, c	1.6±0.5 c
Parity 1	9.9±4.1 a	5.3±2.9 a	0.7±0.5 a	1.4±1.0 a
Parity 2-4	6.9±2.2 a	2.7±1.5 a	0.7±0.4 b	1.5±0.8 a, b
Parity ≥5	1.5±1.1 a	5.6±2.0 a	0.7±0.7 a	1.8±0.9 a

PRRSV MLV vaccination on 15 May 2009. Different lowercase letters (a–c) across rows indicate statistically significant differences ($P \leq 0.05$)

et al. 2005). Furthermore, vaccination against PRRSV has been shown to provide protection against reproductive losses. Scortti et al. (2006b) reported that inoculation of unvaccinated, seronegative gilts with PRRSV at 90 days of pregnancy resulted in 43.4 % stillborn piglets, 20 % weak-born piglets, and 76.7 % pre-weaning mortality. In contrast, vaccinated gilts challenged with PRRSV at 90 days of pregnancy farrowed 5.2 % stillborn and reproductive performance otherwise indistinguishable from the negative control group (Scortti et al. 2006b). Overall, Scortti et al. (2006a) concluded that PRRS MLV vaccination did not cause clinical signs or affect reproductive performance in pregnant gilts. However, PRRS vaccination in pregnant pigs, especially during late gestation, has also been shown to have negative consequences in terms of the number of BA, SB, MM, pigs weaned per litter, and an increase of the mortality rate in nursery pigs (Nielsen et al. 2002; Dewey et al. 2004).

Based on the data analyzed in this study, PRRS whole-herd vaccination had neutral, positive, and negative effects on reproductive performance. In particular, the stage of gestation at the time of vaccination affected the reproductive outcome. A lower FR was noted in gilts and sows vaccinated at >90 days of gestation; whereas, a lower BA and a higher proportion of MM was observed in animals vaccinated at 0–30 days of gestation. At the herd level, whole-herd vaccination reduced AR and SB and MM, but did not improve the FR over that observed during the outbreak period and was associated with an increased return rate and a lower TB and BA.

A review of the literature showed that these data are compatible with previous reports that PRRS vaccination in PRRSV-infected herds reduced the duration of PRRSV shedding (Cano et al. 2007a, b) and improved some reproductive performance parameters, e.g., FR, BA, SB, and MM (Alexopoulos et al. 2005). Thus, it may be concluded that the decision to implement whole-herd vaccination using a PRRSV MLV vaccine should be balanced between the benefits derived from reproductive performance improvements, e.g., fewer abortions, stillborn piglets, and mummified fetuses and the effect of vaccination on pregnant females.

Acknowledgments Financial support for the study was provided by the 90th Anniversary of Chulalongkorn University Fund (Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund). E. Olanratmanee is a grantee of the Royal Golden Jubilee (RGJ) Ph.D. Program, the Thailand Research Fund. The authors gratefully thank Dr. Jeffrey Zimmerman (Iowa State University, Ames, IA) for his comprehensive revision of the manuscript.

References

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

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

Cano, J.P., Dee, S.A., Murtaugh, M.P. and Pijoan, C., 2007. Impact of a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine intervention on a population of pigs infected with a heterologous isolate, Vaccine, 25, 4382–4391.

Cano, J.P., Dee, S.A., Murtaugh, M.P., Trincado, C.A. and Pijoan, C.B., 2007. Effect of vaccination with a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine on dynamics of homologous viral infection in pigs, American Journal of Veterinary Research, 68, 565–571.

Chung, W.B., Chang, W.F., Hsu, M. and 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. and 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.

Dewey, C.E., Wilson, S., Buck, P. and Leyenaar, J.K., 2004. Effects of porcine reproductive and respiratory syndrome vaccination in breeding-age animals, Preventive Veterinary Medicine, 62, 299–307.

Foss, D.L., Zilliox, M.J., Meier, W., Zuckermann, F. and Murtaugh, M.P., 2002. Adjuvant danger signals increase the immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Viral Immunology, 15, 557–566.

Martelli, P., Cordioli, P., Alborali, L.G., Gozio, S., Angelis, E.D., Ferrari, L., Lombardi, G. and 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.

Martelli, P., Gozio, S., Ferrari, L., Rosina, S., De Angelis, E., Quintavalla, C., Bottarelli, E. and Borghetti, P., 2009. Efficacy of modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in pigs naturally exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain: Clinical protection and cell-mediated immunity, Vaccine, 27, 3788–3799.

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., Lager, K.M., Vorwald, A.C. and 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.

Murtaugh, M.P., Xiao, Z. and Zuckermann, F., 2002. Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection, Viral Immunology, 15, 533–547.

Nielsen, J., Botner, A., Bille-Hansen, V., Oleksiewicz, M.B. and Storgaard, T., 2002. Experimental inoculation of late term pregnant sows with a field isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome vaccine-derived virus, Veterinary Microbiology, 84, 1–13.

Olanratmanee, E.O., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P., 2010. Impact of porcine epidemic diarrhea virus infection at different periods of pregnancy on subsequent reproductive performance in gilts and sows, Animal Reproduction Science, 122, 42–51.

Oraveerakul, K., Punarriwatana, D., Luengyosluechakul, S., Tuntasuparak, 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, Thai Journal of Veterinary Medicine, 25, 233–240.

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

Scortti, M., Prieto, C., Simarro, I. and Castro, J.M., 2006b. Reproductive performance of gilts following vaccination and subsequent heterologous challenge with European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Theriogenology, 66, 1884–1893.

Takai, Y. and Koketsu, Y., 2009. Double and triple matings associated with reproductive performance in first-serviced and reserviced female pigs in commercial herds, Journal of Veterinary Medical Science, 71, 635–639.

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.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A., 2010. Influence of repeat-service and weaning-to-first-service interval on farrowing proportion of gilts and sows, Preventive Veterinary Medicine, 96, 194–200.

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't Veld, P., Groenland, G.J.R., van Gennep, J.A., Voets, M., Verheijden, J.H.M. and Bramskamp, J., 1991. Mystery swine disease in the Netherlands: the isolation of Lelystad virus, Veterinary Quarterly, 13, 121–130.

Yoon, K.-J., Zimmerman, J.J., Swenson, S.L., McGinley, M.J., Eernisse, K.A., Brevik, A., Rhinehart, L.L., Frey, M.L., Hill, H.T. and Platt, K.B., 1995. Characterization of the humoral immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection, Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 7, 305–312.

Zimmerman, J., Benfield, D.A., Murtaugh, M.P., Osorio, F., Stevenson, G.W. and Torremorell, M., 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (Porcine Arterivirus), In: Straw, B.E., Zimmerman, J., D'Allaire, S., Taylor, D.J. (Eds.), Disease of swine, 9th edn. Blackwell, Ames, pp. 387–417.

VP-673

Seasonal influence on the prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Thailand

P. Tummaruk[1], E. Olanratmanee[1], R. Tantilertcharoen[2], R. Thanawongnuwech[3]
[1]*Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction,* [2]*Veterinary Diagnostic Laboratory,* [3]*Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330,* Padet.t@chula.ac.th

Introduction

PRRSV has been serologically detected in Thai commercial swine herds since 1989[1]. Nowadays, both genotypes 1 (EU) and 2 (NA) have been isolated and have been being comprehensively investigated in Thailand over the last decade[2]. In Thailand, many commercial swine herds are infected with PRRSV and clinical problems as well as reproductive failure caused by PRRSV are frequently observed. PRRSV has become one of the most important diseases causing economic loss in the Thai swine industry. The objective of the present study was to retrospectively investigate the seasonal influence on the prevalence of PRRSV in swine herds in Thailand between 2005 and 2010.

Materials and Methods

Data from a total of 2,273 samples were collected from the Chulalongkorn University-Veterinary Diagnostic Laboratory (CU-VDL), Bangkok, Thailand during January 2005 to December 2010. The types of sample included tissue (e.g., lung, tonsil, spleen, liver, etc.) (n=636), semen (n=210) and serum (n=1,427). Data included the date when the samples were collected, the location of the herds and the group of the pigs (boars, sows, piglets, nurseries and fattening pigs). Season of the year when the samples were collected was classified as hot (Feb-May), rainy (Jun-Sep) and cool (Oct-Jan) seasons. The data were collected from the registration book of the laboratory and each case was manually recorded. PRRSV was detected by routine RT-PCR at the CU-VDL[2]. The virus was classified into 3 genotypes, i.e., genotypes 1, 2 and mixed genotypes. Frequency analysis was conducted for the present or absence of PRRSV and the frequency of each genotype. Logistic regression was used to analyze the data.

Results

PRRSV was found in 740 out of 2,273 samples (32.6%). The PRRSV detection differed among types of samples. A higher percentage of PRRSV was found in the tissue sample (43.1%) than the semen (15.7%, $P<0.001$) and the serum samples (30.3%, $P=0.002$). Of all the isolations (n=740), genotypes 1, 2 and mixed genotypes accounted for 31.0%, 54.5% and 14.6%, respectively.

The prevalence of PRRSV in the hot season (34.9%) was higher than that found in the cool season (28.1%, $P=0.018$) but did not differ significantly compared to rainy seasons (34.0%, $P=0.486$). The prevalence of PRRSV in the rainy season tended to be higher than that found in the cool season ($P=0.062$). The number of PRRSV isolation by month is demonstrated in Figure 1. The detection of PRRSV dramatically increased from April to July and then slowly declined from July to December.

Figure 1. Number of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) detection by months

Conclusions and Discussion

In the present study, an increase in the number of PRRSV detections was found from April to July. This synchronized with an increase of infertility problems in gilts and sows mated during this period of the year[3]. Tummaruk et al.[3] has demonstrated that gilts and sows that were mated during the hot season and farrowed during late autumn and the cool season had a significantly lower number of total piglets born per litter than gilts and sows that were mated in cool season. These findings indicate that an increment in the viral isolation during hot season may possibly contribute to a poor reproductive performance of gilts and sows mated during hot season in Thailand. In addition, during hot seasons, the temperature-humidity index is relatively high[3] and this could possibly induce moderate to severe heat stress in the pigs. Viremia as well as viral infections might be easily obtained from an animal under stress due to its immuno-suppressive conditions. It can be concluded that the prevalence of PRRSV in Thailand between 2005 and 2010 accounted for 32.6% of the cases submitted for viral detection. A high prevalence of PRRSV was found in the hot and rainy seasons in Thailand. Of all the isolates, 31.0%, 54.5% and 14.5% belonged to EU, NA and mixed genotypes, respectively.

References

1. Tummaruk, P. and Tantilertcharoen, R. 2011. Trop. Anim. Health Prod. (in press)
2. Thanawongnuwech, R., et al., 2004. Vet. Microbiol. 101: 9–21.
3. Tummaruk, P. et al., 2010. J. Agri. Sci.148:421-432.

VP-675

Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets in Thailand using real-time PCR

E. Olanratmanee[1], P. Wongyanin[2], R. Thanawongnuwech[3], P. Tummaruk[1]
[1]*Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction,* [2]*Department of Microbiology,* [3]*Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330,* Padet.t@chula.ac.th

Introduction

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 increasing of sow mortality rate[1]. In Thailand, the seroprevalence of PRRSV in gilts and sows during 2004-2007 was 79.3%[2]. The objective of the present study was to investigate the prevalence of PRRSV detection in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets in Thailand using real-time polymerase chain reaction.

Materials and Methods

A total of 89 cases of aborted fetuses (n=22), mummified fetuses (n=28) and stillborn piglets (n=39) from gilts and sows which had reproductive failure from 10 swine commercial herds in Thailand were included. The tissues samples were obtained from either modified live PRRSV vaccinated pigs (n=23) or non-vaccinated pigs (n=66). Pooled organs of lung, liver, spleen, thymus, tonsil, lymph node and umbilical cord were homogenized and the RNA was extracted using NucleoSpin® RNA virus test kit (Macherey-Nagel Inc., Germany). The extracted RNA was subjected for cDNA synthesis using Omniscript® (QIAGEN, Germany). Quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) was carried out on ORF7 of the viral genome using EXPRESS qPCR SuperMix Universal® (Invitrogen, USA) and the fluorogenic probe was used to amplify the qPCR product. The primers, probes and real-time PCR condition for gene detection were carried out according to previous study with some modification [3].

Results

It was found that PRRSV was detected in 67.4% (60/89) of the samples (i.e., 54.6%, 64.3% and 76.9% in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets, respectively) (Table 1). The prevalence of North American (NA) and European (EU) strains were 48.3% and 41.6%, respectively (P>0.05) (Table 1). Moreover, the prevalence of PRRSV in PRRS modified live virus vaccinated pigs did not significantly differ compared to the non-vaccinated pigs (65.2% vs. 68.2%, respectively, P>0.05).

Table 1. Percentage of PRRSV detection by type of samples

Sample	PRRSV detection			
	Negative	EU strain	NA strain	Both strains
AF	45.5	0.0	40.9	13.6
MF	35.7	25.0	17.9	21.4
SP	23.1	25.6	23.1	28.2
total	32.6	19.1	25.8	22.5

AF=aborted fetuses, MF=mummified fetuses, SP=stillborn piglets

Conclusions and Discussion

The present study revealed that PRRSV was commonly found among gilts and sows with reproductive failures in Thailand. Although, PRRSV is well recognized as a causative agent of reproductive failure, some other viral pathogens may play a role in the reproductive failure but not investigated in this study. However, it could be speculated that PRRSV involved at least 2/3 of reproductive failure in gilts and sows in Thailand. Furthermore, co-infection of both PRRSV genotypes was found up to 22.5% of the clinical cases. This current situation manifests difficulty in PRRSV control by using only a single strain of PRRSV vaccination due to no cross protection against heterologous strains. The control of viral spreading from these reproductive failure cases are important because it can reduce the viral load within the herd and reduce the risk of infection in PRRSV subpopulation pigs.

References

1. Zimmerman, J. et al., 2006. Disease of swine 9th edition: 387-417.
2. Tummaruk, P. and Tantilertcharoen, R. 2011. Trop. Anim. Health Prod. (in press)
3. Egli, C. et al., 2001. J. Virol. Methods 98: 63-75.

Acknowledgement

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

RO-203

| Reproduction/Breeding/Genetics-BREEDING |

Follicle development and number of ovulation in the ovarian tissue of gilts infected by porcine reproductive and respiratory syndrome virus

D. Phoophitphong[1], E. Olanratmanee[1], S. Srisuwatanasagul[2], S. Wangnaitham[3], R. Thanawongnuwech[3], P. Tummaruk[1]
[1]*Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction,* [2]*Department of Anatomy,* [3]*Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand*, little_goy@yahoo.com

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) has been isolated from the ovary of the female pigs and may be involve with the reproductive failure in gilts and sows[5]. PRRSV can induce apoptosis in germ cells from testes, alveolar macrophage and mononuclear cells from lymphoid tissues[3,4]. Nevertheless, little information about the pathogenesis of PRRSV infection in the gilts ovary has been done[5]. Furthermore, the influence of PRRSV infection in the ovary on follicle development has not been elucidated. The aim of the present study was to determine follicles development and number of ovulation in the ovarian tissue of gilts infected by PRRSV.

Materials and Methods

Ovarian tissue sections were obtained from 19 Landrace x Yorkshire crossbred gilts aged 267.8±19.2 days and weighted 145.7±11.8 kg. The genital organs were collected from slaughterhouses, placed on ice and transported to the laboratory within 24 h of culling. Ovulation rate was defined as the total number of corpora lutea (CL) from both ovaries. The ovaries were fixed in 10% neutral-buffered formalin for 24-48 h, processed by an automatic tissue processor and embedded in paraffin block. The paraffin embeddings were cut into 5 μm thick by using microtome. At each ovarian tissue, two sections were cut and each section was placed on a separate slide. One section was used to determine PRRSV infection using immunohistochemistry[2], while another was stained by PCNA immuno-histochemistry. For the PCNA sections, the follicles were categorized as primordial, primary and growing follicles and were quantified under light microscope. The number of follicles was expressed as the total number of follicles per 100 μm^2 of the tissue section. The gilts were classified on the criterion of body weight (≥150 kg, n=7 versus <150 kg, n=12) and the present or absent of PRRSV in the ovarian tissue (positive, n=10 versus negative, n=9). Multiple analysis of variance was used to analyze the effect of body weight and PRRSV infection on the number of follicles. $P<0.05$ were regarded to be statistically significant.

Results

On average, the total number of follicles in negative and positive PRRSV ovarian tissue was 21.6±3.1 and 19.2±2.7, respectively ($P=0.56$). Number of primordial, primary and growing follicles and ovulation rate in PRRSV positive and negative ovarian tissues are presented in Table 1. The number of primary follicles in gilts with a body weight of ≥150 kg was higher than gilts with a body weight of <150 kg (8.9±1.1 *versus* 4.6±0.8, $P=0.007$).

Table 1. Number of primordial, primary and growing follicles in PRRSV positive and negative ovarian tissue

Follicle	PRRSV	
	Positive	Negative
Primordial	12.2±6.7[a]	14.0±7.4[a]
Primary	6.4±4.5[a]	6.0±1.3[a]
Growing	0.6±0.2[a]	0.5±0.2[a]
Ovulation rate	15.0±2.9[a]	16.7±5.3[a]

[a] The same superscript within a row do not differ significantly (P>0.05)

Conclusions and Discussion

PRRSV in the gilt ovary is mainly found in the macrophages in the ovarian tissue[5]. Follicular count using PCNA immunohistochemistry revealed that no differences between number of follicles in negative and positive PRRSV ovarian tissues. This indicated that PRRSV might not affect the number and type of follicles in the gilts ovarian tissue. This is in agreement with earlier studies[1, 5]. However, a high variation on the number of primary follicles in the PRRSV positive ovarian tissues was remarked (Table 1). This indicated that abnormal follicles development may occurred only in some gilts. Additional works will be carried to determine the occurrence of apoptosis and also some additional number of gilts will be added.

References

1. Benson, J.E. et al., 2001. Theriogenology 56:777-785.
2. Olanratmanee, E. et al., 2011. Trop. Anim. Health Prod. 43:451-457.
3. Sur, J.H. et al., 1997. J. Virol. 71:9170-9179.
4. Sur, J.H. et al., 1998. Vet. Pathol. 35:506-514.
5. Sur, J.H. et al., 2001. Vet. Pathol. 38:58-66.

Acknowledgement

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

38th Thailand 2013 ICVS

International Conferrence on Veterinary Science 2013

FAO Joint Symposium

Global Green Guarantee for Foods & Friends

3G

16-18 January 2013

Grand Diamond Ballroom

IMPACT Forum, Muang Thong Thani, THAILAND

A053-SW015 Preweaning 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, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.*

[2]*Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.*

*Corresponding author e-mail address: em_on.o@hotmail.com

Keywords: Pig, Reproduction, PRRSV, Vaccine, Preweaning mortality

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in gilts and sows cause reproductive disorders, i.e., infertility, abortion, mummified fetuses, stillborn piglets, weak-born piglets, and sow mortality (1). In general, preweaning mortality in swine herds is around 10% (2). Preweaning mortality in PRRSV infected piglets may be as high as 60%, which is mostly associated with listlessness, emaciation, splay-legged posture, hyperpnea, dyspnea, and chemosis (1). Under field condition, several strategies are used to control PRRSV infection in swine breeding herds including intensive acclimatization, replacement gilts management, serological monitoring, and PRRSV vaccination (3). Preweaning mortality in PRRSV positive herds in USA has been reported to be varied from 45.0% to 58.4% (4-5). To our knowledge, no study on the preweaning mortality in PRRSV positive herds in Thailand has been done. The aim of the present study was to investigate the pre-weaning mortality in selected PRRSV sero-positive herds in Thailand.

Materials and Methods

Data of 150,147 weaning records from 58,542 sows were collected during 2005-2009 from 8 swine commercial breeding herds (A, B, C, D, E, F, G, and H) in the central, eastern, and north-eastern parts of Thailand. All herds were PRRSV sero-positive for over 5 years. North American (NA) strain of PRRS modified live virus (MLV) vaccine (Ingelvac® PRRS™ MLV, Boehringer-Ingelheim Vetmedica Inc., St. Josept, Missouri, USA) was used in herd A every 3 months as mass vaccination. Both NA and European (EU) strain of PRRS MLV vaccine (AMERVAC®, Laboratories Hipra, Girona, Spain) was used in herd B irregularly. EU strain of PRRS MLV vaccine was used in replacement gilts in herd C. In herds D-H, the gilts and sows has never been vaccinated against PRRSV. Sows with lactation length <18 days or >28 days were excluded from the analyses. Preweaning mortality rate (PWM) calculated by: PMN (%) = [(Number of litter mates after cross fostering – number of piglets at weaning) / number of litter mate] x 100. Due to a skew distribution of PWM data, the PWM were log transformed and were analyzed by multiple ANOVA. Other variables, i.e., the number of piglets born alive per litter (BA), the percentage of stillborn piglets per litter (SB), the percentage of mummified fetuses per litter (MM), and the number of piglets weaned per litter (WP), were analyzed and compared among herds using general linear model. The statistical models included the effect of vaccination (yes, no), herds (A-H) nested within vaccination, parity number, and month. Least square means were obtained from each class of the factors and were compared by using Tukey-Kramer test. $P<0.05$ was regarded to be statistically significant.

Results and Discussion

Preweaning mortality was presented in Figure 1. On average, preweaning mortality was 12.9%, which was varied among herds from 6.4% to 18.9% ($P<0.001$). Preweaning mortality in PRRSV vaccinated herds (mean=16.7%, ranged 13.6% to 18.9%) was higher than non-vaccinated herds (mean=10.8%, ranged 6.4% to 17.0%) ($P<0.001$) (Figure 1).

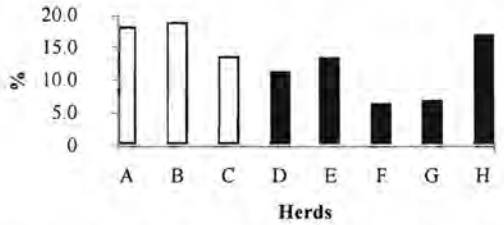


Figure 1. Preweaning mortality of sows by herd (A-C PRRSV vaccinated herds and D-H PRRSV non-vaccinated herds)

BA, SB, MM and WP in vaccinated and non-vaccinated groups are presented in Table 1. On average BA in PRRSV vaccinated herd was higher than non-vacinated herd. The litter traits of sows by herd are presented in Table 2.

Table 1. Means of the number of piglets born alive per litter (BA), stillborn piglets per litter (SB, %), mummified fetuses per litter (MM, %), and piglets weaned per litter (WP) by vaccination

Herds	BA	SB	MM	WP
Non-vaccinated	10.0^a	6.6^a	3.2^a	9.3^a
Vaccinated	10.5^b	5.0^b	2.1^b	9.3^a

^{a,b} Different superscripts within columns indicate statistically significant differences ($P<0.05$)

Table 2. Means of the number of piglets born alive per litter (BA), stillborn piglets per litter (SB, %), mummified fetuses per litter (MM, %), and piglets weaned per litter (WP) by herd

Herds	BA	SB	MM	WP
A	10.1	3.9	1.4	8.9
B	10.0	6.4	1.9	8.9
C	11.6	5.1	3.2	10.1
D	9.8	5.2	4.9	9.1
E	9.6	6.0	1.6	8.5
F	10.3	8.2	2.9	10.0
G	10.5	7.2	1.9	9.6
H	10.0	7.2	2.5	9.1
Total	10.2	5.9	2.8	9.3

The results indicated that the preweaning mortality of sows in PRRSV sero-positive herds in Thailand can be varied from 6.4% to 18.9% among herds. A previous study has demonstrated that PRRSV vaccination in gilts and sows could reduce the odds of preweaning mortality (5). However, in the present study, preweaning mortality in vaccinated herds was higher than in non-vaccinated herds.

Acknowledgments

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

References

1. Zimmerman et al., 2006. Disease of swine 9th edition. p 387-417.
2. Shankar et al., 2009. Vet. World. 2(6): 236-239.
3. Cho and Dee, 2006. Theriogenology. 66: 655-662.
4. Goldberg et al., 2000. Prev. Vet. Med. 43: 293-302.
5. Young et al., 2010. Can. J. Vet. Res. 74(3): 170-177.

A051-SW013 Effect of PRRS virus infection in the ovarian tissue on follicle growth in prepubertal and pubertal gilts

Duangkamol Phoophitphong[1]* Em-on Olanratmanee[1] Sayamon Srisuwatanasagul[2] Padet Tummaruk[1]

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

*Corresponding author e-mail address: Phoophitphong.D@gmail.com

Keywords: gilts, granulosa cells, ovary, proliferating cell nuclear antigen, PRRS

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus has been isolated from ovary of the gilts (1). However, the involvement of PRRS virus in the follicle growth has not been clearly determined. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) is an auxiliary protein that necessary for DNA synthesis. It has been demonstrated that PCNA expression in the ovary involves with follicle growth in many species (2, 3). The purpose of the present study was to evaluate the effect of PRRS virus infection in the porcine ovarian tissue on follicle growth in prepubertal and pubertal gilts.

Materials and Methods

Ovarian tissue sections were obtained from 37 Landrace x Yorkshire crossbred gilts. For each gilt, two sections were cut and each section was placed on a separated slide. One section was used to determine PRRS virus infection by using immunohistochemistry and another was stained by PCNA immuno-histochemistry (3). The gilts were classified on the criterion of an immunohistochemical expression of PRRS virus in the ovarian tissues as positive (n=20) and negative (n=17) groups (Figure 1A and 1B). Stages of the reproductive cycle were classified according to the ovarian appearance and structures that is corpus luteum (CL) and follicles (4). Gilts with ovaries having only small follicles (<5 mm) were defined as a prepubertal (n=10) and those with ovaries having CL were defined as a pubertal (n=27) (Figure 1C and 1D). For the PCNA sections, a total of 273 follicles (197 pre-antral and 76 antral follicles) were determined for the proportion of PCNA expression under light microscope. The positive areas of granulosa cells with positive PCNA staining were calculated using Image-Pro® Plus software.

The statistical analyses were carried out using multiple ANOVA. The statistical model include effect of follicle type (preantral and antral), PRRS virus infection (positive and negative), ovarian status (prepubertal and pubertal), reason for culling (abortion, anestrus, repeat service, vaginal discharge and non-reproductive causes) and interaction between follicle type and PRRSV, follicle type and ovarian status and PRRSV and ovarian status. Least square means were obtained from each class of the factor and were compared by using least significant difference test. $P<0.05$ were regarded to be statistically significant.

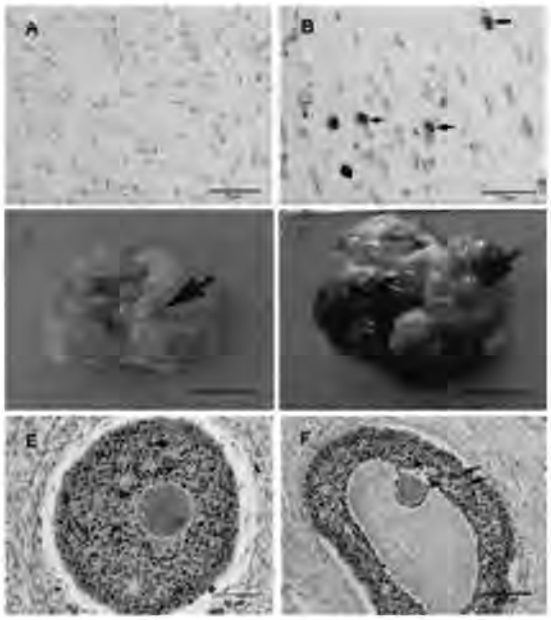


Figure 1. (A-B) Immunohistochemical expression of negative (A) and positive (B) PRRSV in macrophages of the gilt's ovarian tissue. (C-D) Small follicles (arrow) of ovary in prepubertal gilt and corpus luteum (arrow-head) in the ovary of pubertal gilt (bar = 1 cm). (E-F) PCNA immuno-staining of growing follicle demonstrate positively stained granulosa cells (arrow) and negatively stained granulosa cells (arrow-head) in pre-antral (E) and antral (F) follicles.

Result and Discussion

The follicle growth was demonstrated by the percentage of granulosa cells proliferation stained by PCNA (Figure 1E and 1F). The proportion of PCNA expression in the growing follicles of PRRSV negative and positive ovarian tissue is presented in Table 1. The present study demonstrated that the growth of the ovarian follicle of pubertal gilt was higher than pre-pubertal gilt in negative PRRS group but not in PRRS positive group (Table 1).

Table 1. Percentage of granulosa cells proliferation (least-squares means±SEM) in the ovarian tissue of gilts infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus.

Gilt status	PRRS virus infection	
	negative	positive
Prepubertal	$36.6\pm6.5^{a,A}$ (n=33)	$49.8\pm7.6^{a,A}$ (n=26)
Pubertal	$76.6\pm3.7^{a,B}$ (n=82)	$59.9\pm4.6^{b,A}$ (n=132)

n=number of follicle, ^{a,b,} Different letters within row differed significantly ($P<0.05$), ^{A,B} Different capital letters within column differed significantly ($P<0.05$).

This indicated that PRRS infection in the ovarian tissue of gilt influence the proliferation of granulosa cells and may lead to poor follicle growth as well as poor quality of oocyte. However, infection of PRRS virus in the ovarian tissue of prepubertal gilt did not influence the proliferation of granulosa cell of the follicle. This indicated that the acclimatization and/or vaccination should be introduced to the replacement gilt during prepubertal stage. The introduction of PRRS live virus to pubertal gilt is therefore not recommended. Additionally, the immunohistochemical expression of PCNA of granulosa cells in gilt can be applied to study the folliculogenesis in pig.

It could be conclude that PRRS virus infection effect the granulosa cell proliferation of pubertal gilts but not in pre-pubertal gilts.

Acknowledgement

Financial support of this present study was provided by The National Research Council of Thailand. D. Phoophitphong is a grantee of the Royal Golden Jubilee (RGJ) Ph.D. program, the Thailand Research Fund.

References

1. Sur et al., 2001. Vet. Pathol. 38: 58-66.
2. Picut et al., 2008. Toxicol. Pathol. 36: 674-679.
3. Phoophitphong et al., 2012. Livest. Sci. 150: 425-431.
4. Tummaruk et al., 2009. Theriogenology. 71: 369-385.

A056-SW016 Porcine reproductive and respiratory syndrome virus causes histological changes in endometrium of culling gilts

Paisan Tienthai[1]* Weerapong Borhirunrat[2] Chakorn Chalermchaikit[2] Prakorn Kootpetch[2]
Watcharain Laprom[2] Padet Tummaruk[3]

[1]*Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330 Thailand.*
[2]*6th year student, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330 Thailand.*
[3]*Department of Obstetrics, Gynaecology Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330 Thailand.*

*Corresponding author e-mail address: Paisan.T@chula.ac.th

Keywords: morphology, endometrium, pig, PRRSV

Introduction

At present, porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is considered to be the most important disease in the swine production and influences on the economic loss worldwide (1). It is known that PRRS virus (PRRSV) is capable to induce reproductive disorder in pregnant pigs and it combined with other bacteria, viruses or toxins causing respiratory malfunction in young pigs (2). The PRRSV-induced reproductive failure is often restricted to the last stage of gestation in sows and primarily characterized by late abortion, early farrowing, elevated mummified and dead fetuses as weak-born piglets (3). Interestingly, about 73% of replacement gilts in Thailand which were culled due to the reproductive failure had been infected with PRRSV (4). Although, most of these culling gilts exhibited the PRRSV antigen in the uterine tissue (5), the PRRSV mechanisms caused reproductive failures in gilts by the morphological changes in the uterus are not yet described. Therefore, the objective of the present study was to observe the histological changes by using light microscopy (LM) in the culling gilts infected with PRRSV.

Materials and Methods

Sixty four Landrace × Yorkshire crossbred culling gilts from commercial swine herds in Thailand were used in this study. The gilts were classified into the PRRSV infected groups (n=24) and control groups (n=40) by the serological test and the appearance of PRRSV antigens in the uterine tissue as already performed by previous study (5). The infected gilts were culled due to variable of reproductive disorders comprising of anestrus, repeat breeding, abortion or abnormal discharge vaginal whereas the control group was culled by non-reproductive problems. The uterine horns collected from each group were dissected, fixed in 10% buffered formalin, embedded in paraffin and cut into 5 mm thickness. The tissue slides were stained with hematoxylin and eosin (H&E) for further evaluation. The following parameters compose of 1) the general abnormalities and 2) the edema scores (0-3) of the endometrium were routinely observed under LM at 200×, 3) the height (mm) of uterine epitheliumwas measured by use of the digital camera (Micropublisher 5.0, Qimage, Surrey, Canada) via the program Image-Pro Plus version 6.0 (Media Cybernatics Inc., MD, USA) at 400× and 4) the number of vessels nearby uterine epithelium was counted by the ocular micrometer with 25 squares corresponded to 125,000 mm^2 at 200×. All data was analyzed by using the GLM procedure (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) and expressed as mean ± SD. The mean values were compared by Student's *t*-test with $p<0.05$.

Results and Discussions

As shown, the infiltration of immune cells within the subepithelial layer and the uterine epithelial surface was more obviously seen in the PRRSV infected gilts (Fig. 1a). Remarkably, most of the infected group was found the sloughing of uterine epithelium (Fig 1b). Besides, the increase in the height of uterine epithelial surface (Fig. 2), the estimating edematous scores (Fig. 3), and the number of blood vessels underneath subepithelial layer (Fig. 4) were also significantly ($p<0.05$) detected in the PRRSV infected gilts. To be our knowledge, this study was the first research that attempted to investigate the morphological changes in the endometrium of the culling gilts infected with PRRSV in Thailand.

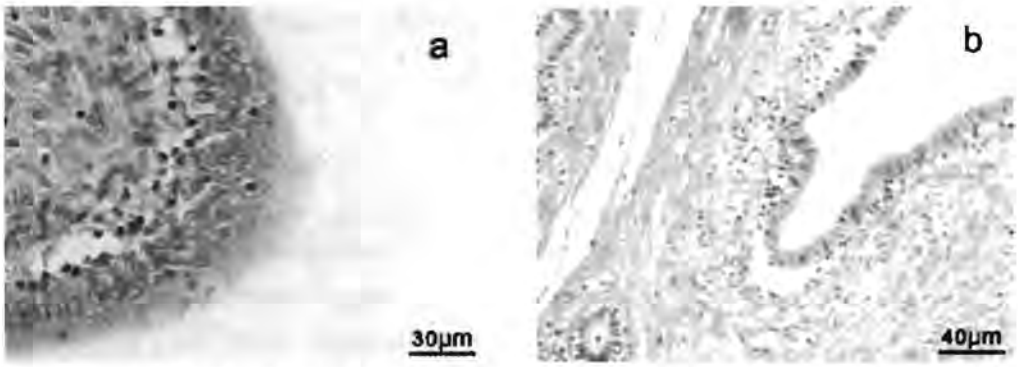


Figure 1. Characteristics of gilt endometrium infected with PRRSV by LM showed the infiltration of immune cells into uterine epithelium (a) and the detachment of epithelial surface from the subepithelial layer (b).

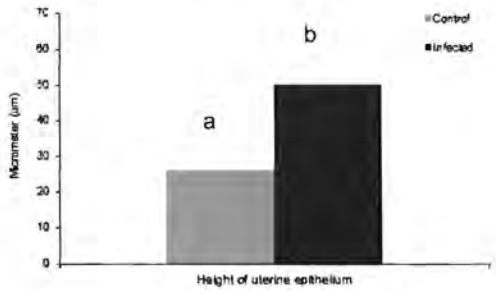


Figure 2. The height of uterine epithelial surface in the endometrium of control and infected PRRSV gilts. Different letters represent significantly difference.

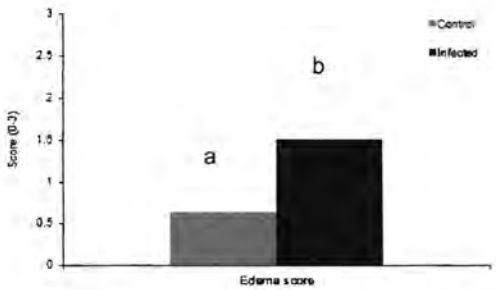


Figure 3. The estimating of edema scores observed in the subepithelial layer of gilt endometrium compared between control and infected PRRSV gilts. Different letters represent significantly difference.

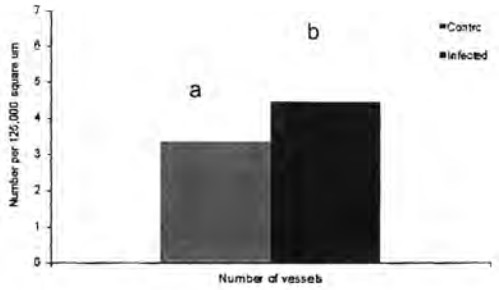


Figure 4. The number of blood vessels counted in the subepithelial layer nearby the uterine epithelium of gilt endometrium of control and infected PRRSV gilts. Different letters represent significantly difference.

In Thailand, more than 84% the replacement gilts were exposed to PRRSV and up to 73% of these were culled due to reproductive failure (4). Our results exhibited the deteriorated morphological changes occurred in the infectious endometrial gilts indicating the influence of PRRSV can cause the damage of endometrium. Simply explanation, several studies suggested that PRRSV induced the apoptosis and necrosis both in the cell culture (6) and the fetal implantation sites (7). Therefore, the lesions observed in this study might be the earlier evidence inducing the endometritis (8). Of course, this data might be enough to prove that PRRSV was the viral pathogen causing the reproductive disturbances in replacement gilts in Thailand. However, the apoptotic and necrotic detection need to be done in the near future.

Acknowledgement

The present study was financial supported by Faculty of Veterinary Science Research Fund, 2012, Chulalongkorn University.

References

1. Neumann et al., 2005. J. Am. Vet. Med. Assoc. 227, 385-392.
2. Plana et al., 1992. Vet. Microbiol. 33, 203-211.
3. Rowland, 2010. Virus Res. 154, 114-122.
4. Tummaruk & Tantilertcharoen, 2012. Trop. Anim. Health Prod. 44, 983-989.
5. Olanratmanee et al., 2011. Trop. Anim. Health Prod. 43, 451-457.
6. Miller & Fox, 2004. Vet. Immunol. Immunopathol. 102, 131-142.
7. Karniychuk et al., 2011. Microb. Pathog. 51, 194-202.
8. Christianson et al., 1993. Can. J. Vet. Res. 57, 262-268.

ผลกระทบของการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อรังไข่ของสุกรสาวทดแทนต่อการงอกขยายของแกรนูโลซาเซลล์ในฟอลลิเคิลที่กำลังเจริญเติบโต

Impact of PRRS virus detection in the ovarian tissue of replacement gilts on granulosa cells proliferation in the developing follicles

Duangkamol Phoophitphong[1] Em-on Olanratmanee[1] Sayamon Srisuwatanasagul[2] Padet Tummaruk[1]

ดวงกมล ภูพิชญ์พงษ์[1] เอมอร โอฬารรัตน์มณี[1] ศยามณ ศรีสุวัฒนาสกุล[2] เผด็จ ธรรมรักษ์[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลกระทบของการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (PRRS) ในเนื้อเยื่อรังไข่ของสุกรสาวทดแทนต่อการงอกขยายของแกรนูโลซาเซลล์ในฟอลลิเคิลที่กำลังเจริญเติบโต เก็บรังไข่จากสุกรสาวพันธุ์ผสมแลนด์เรซและยอร์กเชียร์ จำนวน 12 ตัว แบ่งเป็นกลุ่มที่ให้ผลบวก (n=6) และลบ (n=6) ต่อการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส บนเนื้อเยื่อรังไข่จากการตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี นำเนื้อเยื่อรังไข่จากสุกรสาวทั้งหมดมาผ่านกระบวนการอิมมูนโนฮิสโตเคมี เพื่อตรวจหาการงอกขยายของกรานูโลซาเซลล์บนฟอลลิเคิลที่กำลังเจริญเติบโตจำนวน 56 ใบ โดยฟอลลิเคิลที่ทำการศึกษาประกอบด้วย 2 ระยะ ได้แก่ ระยะพรีแอนทรัม 41 ใบ และระยะแอนทรัม 15 ใบ ตรวจวัดสัดส่วนของกรานูโลซาเซลล์ที่พบโปรตีนพีซีเอ็นเอภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่างแล้วทำการประเมินด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ แล้วเปรียบเทียบสัดส่วนของกรานูโลซาเซลล์ที่กำลังมีการงอกขยาย (ติดสีพีซีเอ็นเอ) ในฟอลลิเคิลทั้ง 2 ระยะ บนรังไข่ที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เปรียบเทียบกับรังไข่ที่ไม่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ผลการทดลองพบว่าในฟอลลิเคิลระยะพรีแอนทรัม กลุ่มเนื้อเยื่อรังไข่ที่ตรวจไม่พบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส มีสัดส่วนของแกรนูโลซาเซลล์ที่กำลังมีการงอกขยายจำนวนสูงกว่ากลุ่มเนื้อเยื่อรังไข่ที่ตรวจพบเชื้อไวรัส พีอาร์อาร์เอส (57.4±5.8% และ 36.6±5.7% ตามลำดับ P=0.01) ส่วนในฟอลลิเคิลระยะแอนทรัมพบว่ากลุ่มเนื้อเยื่อรังไข่ที่ตรวจไม่พบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส มีสัดส่วนของแกรนูโลซาเซลล์ที่กำลังมีการงอกขยายไม่แตกต่างจากกลุ่มที่เนื้อเยื่อรังไข่ที่ตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (P=0.800) การศึกษานี้สรุปว่าการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในเนื้อเยื่อรังไข่ของสุกรสาวทดแทนทำให้การเกิดการงอกขยายของแกรนูโลซาเซลล์ลดลงในฟอลลิเคิลระยะพรีแอนทรัม แต่ไม่มีผลต่อฟอลลิเคิลระยะแอนทรัม ผลกระทบนี้อาจทำให้ฟอลลิเคิลระยะพรีแอนทรัมมีการพัฒนาช้าลงและทำให้คุณภาพของโอโอไซต์ต่ำลง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของปัญหาการไม่เป็นสัดและความไม่สมบูรณ์พันธุ์ในสุกรสาวได้

Keywords: granulosa cell, PRRSV, Proliferating cell nuclear antigen, gilts

E-mail address: Phoophitphong.D@gmail.com

[1]ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ 10330
Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok
[2]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ 10330
Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the influence of PRRSV detection on the granulosa cells proliferation during follicle development in replacement gilts. The gilts were classified on the criterion of the PRRSV immunohistochemical expression in the ovarian tissues as positive (n=6) and negative (n=6) groups. Ovarian sections were evaluated for PCNA by use of immuno-histochemistry and categorized as pre-antral (n=41) and antral follicles (n=15). The proportion of PCNA expression in granulosa cells were determined under light microscope and calculated using Image-Pro® Plus software. The proportion of proliferating granulosa cells in either preantral and antral follicles were compared between PRRS positive and PRRS negative ovarian tissue. The results revealed that pre-antral follicle with negative PRRSV had a higher percentage of proliferative marker than those with positive PRRSV (57.4±5.8% and 36.6±5.7%, respectively, P=0.01). For antral follicles, the negative PRRSV had no difference in PCNA expression of granulosa cells compared with the positive PRRSV (P=0.800). It could be concluded that PRRSV infection in the gilt ovarian tissues reduced the proliferation of granulose cells in pre-antral follicles, but did not influence antral follicles. This impact may result in a delay follicle development and reduce the oocytes quality and subsequently caused abnormal estrus behavior and infertility problem in replacement gilts.

Introduction

Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) has been isolated from the ovary of the gilts (Sur *et al.*, 2001; Olanratmanee *et al.*, 2011b). In boar, it has been clearly demonstrated that the virus is able to induces apoptosis of the testicular germ cells (Sur *et al.*, 2001), while in the female's gonad, only limited information is known. To our knowledge, only one study has demonstrated that PRRS virus can penetrate the resident macrophages of the ovary, but its involvement in the follicle development, ovulation and corpus luteum formation has not been clearly determined (Sur *et al.*, 2001).

Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) is an auxillary protein of DNA polymerase delta that necessary for DNA synthesis (Kurki *et al.*, 1986; Bravo *et al.*, 1987). The expression of PCNA increases during G1 phase, gets to the highest level in S-phase and decreases during G2/M phases of the cell cycle (Kurki *et al.*, 1988). An earlier study has demonstrated that the expression of PCNA in the ovary involve with follicular development in many species, e.g. rat (Oktay *et al.*, 1995), cow (Wandji *et al.*, 1996), baboon (Wandji *et al.*, 1995), pig (Tománek and Chronowska, 2006; Phoophitphong *et al.*,

2012) and human (Kelsey *et al.*, 2010). The purpose of the present study was to evaluate the granulosa cells proliferation during follicle development (pre-antral and antral stages) in the ovarian tissue of replacement gilts with and without PRRSV detection.

Material and methods

Animals and management

Ovarian tissue sections were obtained from 12 Landrace x Yorkshire crossbred gilts aged 275.2±34.2 days and weighted 142.7±19.1 kg. The gilts were obtained from two commercial swine herd in the middle and northern parts of Thailand. The replacement gilts were kept in the gilt pools for at least 60 days before sending to the breeding unit. All the replacement gilts were vaccinated against foot-and-mouth disease virus (FMDV), classical swine fever virus (CSFV), Aujeszky's disease virus (ADV), porcine parvovirus (PPV) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) between 154 and 210 days of age. Moreover, an acclimatization was conducted before service, by grouping the replacement gilts with the weaned sows selected for removal for about 28 days. The acclimatization process was initiated by introducing such weaned sows to the gilts' pen at 154–196 days of age with a ratio of one sow per 6-10 gilts. The sows used for acclimatization were rotated on a weekly basis and were removed from the herd after acclimatization. Using this acclimatization process, the gilts were exposed to many types of viral pathogens circulating within the herds (e.g., PRRSV, PPV and enterovirus) before sending to the breeding unit.

Sample collection and immunohistochemistry

The genital organs were collected from slaughterhouses, placed on ice and transported to the laboratory within 24 h of culling. Ovulation rate was defined as the total number of corpora lutea (CL) from both ovaries. The ovaries were fixed in 10% neutral-buffered formalin for 24-48 h, processed by an automatic tissue processor and embedded in paraffin block. At each ovarian tissue, two sections were cut and each section was placed on a separated slide. One section was used to determine PRRS virus infection using immunohistochemistry (Olanratmanee *et al.*, 2011b), while another was stained by PCNA immuno-histochemistry. PCNA immuno-staining technique has been modified after previous studies in the rat's ovarian tissue (Mushkelishvili *et al.*, 2005; Picut *et al.*, 2008). The slides were incubated with mouse monoclonal anti-PCNA (clone PC10, DAKO, Carpinteria, CA, USA) as a primary antibody at a dilution of 1:200 overnight at 4°C. After incubation with the primary antibody, the sections were incubated with DAKO EnVision™ reagent for 45 min at room temperature. The primary antibody was visualized by 3,3' -diaminobenzidine tetrahydrochloride hydrate (DAB, Sigma, Germany) for 3 min at room temperature. For negative control, PBS was used instead of the primary antibody.

Follicles categorization

The gilts were classified on the criterion of an immunohistochemical expression of PRRS virus in the ovarian tissues as positive (n=6) (Figure 1) and negative (n=6) groups. The follicles were classified into 2 categories as described earlier (Oktay *et al.*, 1995; Picut *et al.*, 2008). Pre-antral follicles were follicles having a central oocyte and visible zona pellucida surrounded by multiple layers of granulosa cells with no antral formation (Figure 2). Antral follicles were follicles having an oocyte and zona pellucida surrounded by multiple layers of granulosa cells with antral formation. For the PCNA sections, a total of 56 follicles were categorized as pre-antral (n=41) and antral follicles (n=15) and were determined for the proportion of PCNA expression under light microscope. The positive areas of granulosa cells with positive PCNA staining were calculated using Image-Pro® Plus software.

Statistical analysis

The statistical analyses were carried out using SAS version 9.0 (SAS institute Inc., Cary, NC, USA). The proportion of PCNA positive area was analyzed by using general linear model (GLM) procedure. The statistical model included follicle type (pre-antral and antral), PRRSV infection (positive and negative) and interaction between follicle type and PRRSV infection. Least squared means were obtained from the statistical models and were compared by using least significant different (LSD) test. $P<0.05$ were regarded to be statistically significant.

Result and Discussion

Figure 1 demonstrated PRRS virus detection in the ovarian tissue of replacement gilts and Figure 2 demonstrated the PCNA immnostaining of granulosa cells in a pre-antral and antral follicles. Regardless to the follicle types, follicles in the negative PRRS virus ovarian tissue tended to have a higher percentage of proliferative marker than those with positive PRRS virus ovarian tissue (57.0±5.2% versus 44.9±6.0%, $P=0.132$). For pre-antral follicles, negative PRRS virus ovarian tissue had 20.8% higher PCNA expression granulosa cells than the positive PRRS virus ovarian tissues (57.4±5.8% versus 36.6±5.7%, $P=0.01$). For antral follicles, the proliferation of granulosa cells in PRRS virus negative and PRRS virus positive ovarian tissue did not differ significantly (56.6±8.6% versus 53.2±10.5%, $P=0.800$) (Table 1). The proliferation of granulosa cells in antral and pre-antral follicles did not differ significantly (54.9±6.8% versus 47.0±4.1%, respectively, $P=0.324$).

In the present study, based on immunological detection of PRRSV in the ovarian tissue, 6 gilts were classified as positive and other 6 gilts were classified as negative. However, all of the reproductive organs were obtained from PRRSV sero-positive herds and PRRSV vaccination was

also performed in all replacement gilts. Thus, all of the gilts had been sero-positive gilts. Of these gilts, one group (n=6) detected PRRSV in the ovarian tissue, while another group (n=6) did not detected PRRSV in their ovarian tissue. Our hypothesis is that, if the gilts expose to PRRSV and the virus remains in their ovary until the time of insemination (i.e., at age >220 days). Would it be any significant impact on the follicles development and/or the oocyte qualities? It was found that the presence of PRRSV in the ovarian tissue of gilts significantly reduce granulosa cells proliferation of pre-antral follicles for 20% (36.6 versus 57.4%). This may reduce some of the ovarian growth factors (Sirotkin, 2011) and subsequently cause poor follicles development, reduced steroidogenesis and impair the oocyte's qualities. However, additional research should be carried to determine some more parameters indicating the ovarian function (e.g., apoptosis, expression of steroid receptor) as well as some ovarian growth factors.

Table 1 Granulosa cells proliferation (least-squares means±SEM) in the ovarian tissue of gilts infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus

	PRRS virus negative	PRRS virus positive
Pre-antral follicle	57.4±5.8%[a]	36.6±5.7%[b]
Antral follicle	56.6±8.6%[a]	53.2±10.5%[a]

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

Conclusions

It could be concluded that PRRS virus infection in the ovarian tissue of gilts significantly reduced proliferation of granulose cells of pre-antral follicles. This may subsequently resulted in an increase in the number of poor quality oocytes, poor steroidogenesis and may cause poor estrus behavior and/or infertility problems in replacement gilts.

Acknowledgement

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

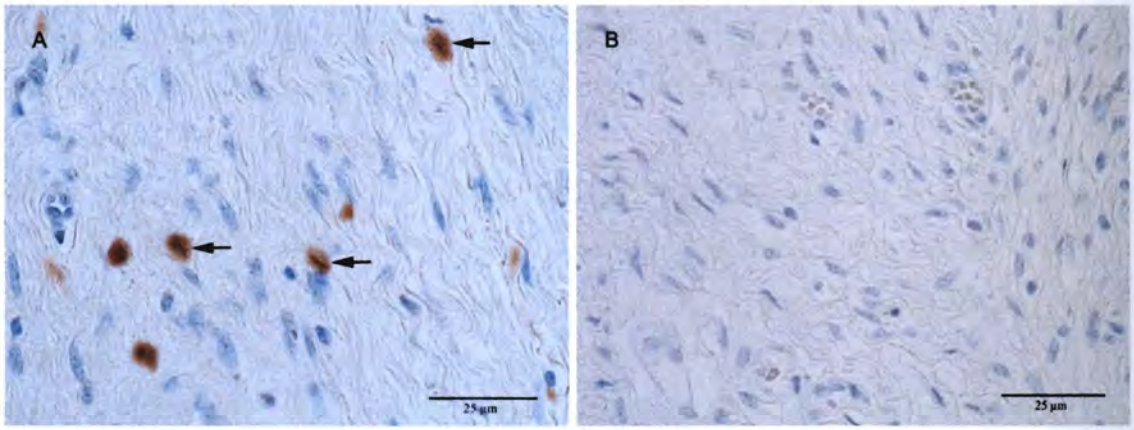


Figure 1 Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in macrophages of ovarian medulla (A) and negative PRRS infection (B) (magnification 400x).

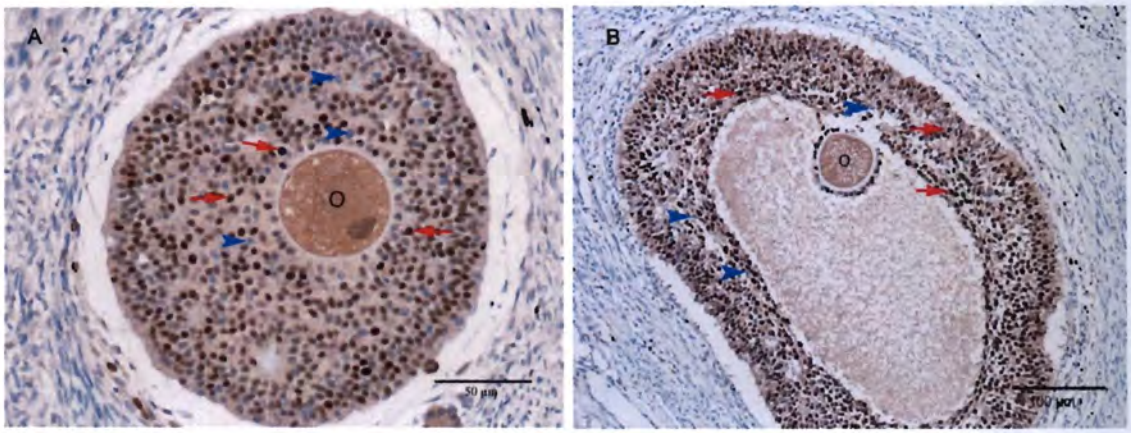


Figure 2 Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immuno-staining of growing follicles. Positive stained granulosa cells (arrow) and negative stained granulosa cells (arrow-head) in pre-antral (A) and antral (B) follicles. (magnification 200x and 100x).

References

Bravo, R. and McDonald-Bravo, H. 1987. Existence of two populations of cyclin proliferating cell nuclear antigen during the cell-cycle-association with DNA-replication sites. **J. Cell Biol.** 105: 1549-1554.

Kelsey, W.T., Caserta, B., Castillo, L., Wallace, B.H.W. and Gonzalvez, C.F. 2010. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) allows the automatic identification of follicles in microscopic images of human ovarian tissue. **J. Pathol. Lab. Med. Int.** 2: 99-105.

Kurki, P., Ogata, K. and Tan, E.M. 1988. Monoclonal-antibodies to proliferating cell nuclear antigen (PCNA) cyclin as probes for proliferating cells by immunofluorescence microscopy and flow-cytometry. **J. Immunol. Methods.** 109: 49-59

Kurkit, P., Vanderlaan, M., Dolbeard, F., Gray, J. and Tan, E.M. 1986. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA/cyclin) during the cell cycle. **Exp. Cell Res.** 166: 209-219.

Mushkelishvili, L., Wingard, K.S. and Latendress, R.J. 2005. Proliferating cell nuclear antigen-A marker for ovarian follicle count. **Toxicol. Pathol.** 33: 365-368.

Oktay, K., Schenken, S.R. and Nelson, F.J. 1995. Proliferating cell nuclear antigen marks the initiation of follicular growth in the rat. **Biol. Reprod.** 53: 295-301.

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

Olanratmanee, E., Wangnaitham, S., Thanawongnuwech, R., Tummaruk, P., 2011b. 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.

Phoophitphong, D., Wangnaitham, S., Srisuwatanasagul, S. and Tummaruk, P. 2012. The use of proliferating cells nuclear antigen (PCNA) immuno-staining technique to determine the number and type of follicles in the gilt ovary. **Livest. Sci.** (inpress) doi: 10.1016/j.livsci.2012.10.008.

Picut, A.C., Swanson, L.C., Scully, L.K., Roseman, C.V., Parker, F.R. and Remick, K.A. 2008. Ovarian follicle counts using proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and semi-automated image analysis in rats. **Toxicol. Pathol.** 36: 674-679.

Sirotkin, V.A. 2011. Growth factors controlling ovarian functions. **J. Cell. Physiol.** 226: 2222-2225.

Sur, J.H., Doster, R.A., Galeota, A.J. and Osorio, A.F. 2001. Evidence for the localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antigen and RNA in ovarian follicles in gilts. **Vet. Pathol.** 38: 58-66.

Tománek, M. and Chronowska, E. 2006. Immunohistochemical localization of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in the pig ovary. **Folia Histochem. Cyto.** 44: 269-274.

Tummaruk, P., Kesdangsakonwut, S. and Kunavongkrit, A. 2009. 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.

Wandji, S.A., Sršeò, V., Nathanielsz, P.W., Eppig, J.J. and Fortune, J.E. 1997. Initiation of growth of baboon primordial follicles. **Hum. Reprod.** 12: 1993-2001.

Wandji S.A, Sršeò V, Voss AK, Eppig JJ, Fortune JE (1996) Initiation in vitro of growth of bovine primordial follicles. **Biol. Reprod.** 55: 942-948.