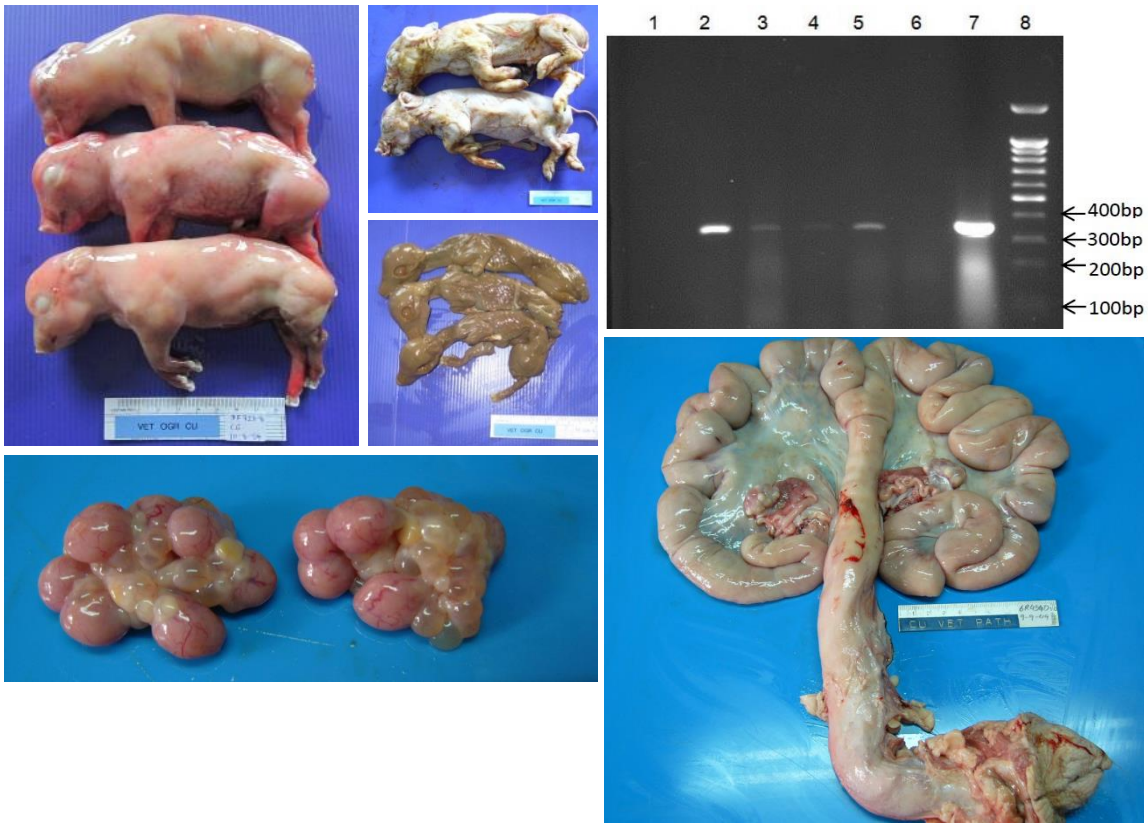
รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง

ผลของโรคเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 ต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในแม่สุกร

(Effect of porcine circovirus type 2 on reproductive performance in sows)



โดย

รศ.น.สพ.ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พฤษภาคม ๒๕๕๗

กิตติกรรมประกาศ
(Acknowledgement)

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๖ (ตุลาคม ๒๕๕๕- กันยายน ๒๕๕๖)

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณท่านเจ้าของฟาร์ม และบุคลากรในฟาร์มทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ เอื้อเฟื้อข้อมูล และอำนวยความสะดวกในการทำงานในฟาร์ม

ขอบคุณ **ผศ.น.สพ.ดร.คมกฤช เทียนคำ** หัวหน้าหน่วยพยาธิวิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้สถานที่และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างตลอดจนอุปกรณ์ในการเก็บรักษาและย้อมสีชิ้นเนื้อ

ขอบคุณ **ผศ.สพ.ญ.ดร.ศยามณ ศรีสุวัฒนาสกุล** ที่ให้ความช่วยเหลือด้านเทคนิคในการตรวจชันสูตรชิ้นเนื้อด้วยวิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

ขอบคุณ **น.สพ.รชฎ ตันติเลิศเจริญ** หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลในการชันสูตรโรคเซอร์โคไวรัส และให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ ตลอดจนการฝึกเทคนิคเบื้องต้นในการตรวจชันสูตรโรคเซอร์โคไวรัส ด้วยวิธี PCR

บทคัดย่อ

เชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกร (porcine circovirus, PCV) เป็นเชื้อไวรัสในสกุล Circoviridae ที่ถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อ ปี ค.ศ. 1982 ในประเทศไทยมีรายงานการตรวจพบเชื้อ PCV ครั้งแรก ในสุกรอนุบาล ในปี ค.ศ. 1999 เชื้อ PCV โดยทั่วไปแบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่ PCV type 1 (PCV1) และ PCV type 2 (PCV2) โดย PCV1 เป็นเชื้อที่ไม่ทำให้เกิดโรคในสุกร ในขณะที่ PCV2 ถูกค้นพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติหลายอย่างในสุกร เช่น ทำให้เกิดกลุ่มอาการ postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) กลุ่มอาการ porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) กลุ่มอาการความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ (porcine respiratory disease complex, PRDC) และความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์ (porcine reproductive disorders) ปัจจุบันอุบัติการณ์ และรูปแบบการก่อโรคของเชื้อ PCV2 มีการวิจัยจำนวนมาก อย่างไรก็ดีการวิจัยส่วนใหญ่ทำในสุกรอนุบาล และสุกรรุ่น-ขุน การวิจัยในสุกรแม่พันธุ์ และผลกระทบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรแม่พันธุ์ยังมีน้อย โดยเฉพาะการศึกษาในภาคสนาม การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1.) ศึกษาผลของการติดเชื้อ PCV2 ในฝูงสุกรพ่อแม่พันธุ์ต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกร 2.) ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้วัคซีน PCV2 ในสุกรอุ้มท้องต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกร และ 3.) เพื่อศึกษาอุบัติการณ์ของเชื้อ PCV2 ในลูกสุกรแท้ง มัมมี่ และตายแรกคลอด ทำการศึกษาในฟาร์มสุกรพ่อแม่พันธุ์ขนาด 1,700 แม่ แห่งหนึ่งในประเทศไทย ศึกษาผลของการทำวัคซีน PCV2 ในสุกรสาวทดแทน และแม่สุกรอุ้มท้องต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน โดยทำการสุ่มเจาะเลือดแม่สุกรหลังการทำวัคซีนที่ 0 2 4 และ 6 สัปดาห์ และทำการติดตามสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกรภายหลังการทำวัคซีน อวัยวะทางระบบสืบพันธุ์ทั้งภายนอกและภายใน ประกอบด้วย รังไข่ และ มดลูก ถูกเก็บจากสุกรสาวที่ถูกส่งโรงฆ่าสัตว์ และตัวอย่างลูกสุกรแท้ง (n=14) มัมมี่ (n=17) และตายแรกคลอด (n=9) ถูกเก็บมาจากฟาร์มสุกรที่พบปัญหาในภาคสนาม ทั้งหมดถูกนำมาตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส PCV2 ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) ทำการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส PCV-2 โดยใช้ชุดทดสอบ ELISA ผลการทดลองพบว่าดีเอ็นเอของเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรถูกตรวจพบใน 92.5% (37/40 ตัวอย่าง) ของเนื้อเยื่อที่ทำการตรวจ โดยพบว่าดีเอ็นเอของเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรถูกตรวจพบใน 92.8% (13/14 ตัวอย่าง) ของตัวอ่อนที่แท้ง 94.1% (16/17 ตัวอย่าง) ของมัมมี่ และ 88.8% (8/9 ตัวอย่าง) ของลูกสุกรตายแรกคลอด (P>0.05) การทำวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรช่วยลดความแปรปรวนของระดับแอนติบอดีทั้งในสุกรสาวและสุกรนางโดยค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน ลดลงจาก 38.9% ก่อนการฉีดวัคซีน เหลือ 23.5% 20.2% และ 18.0% ภายในเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ สมรรภาพทางการสืบพันธุ์ของทั้งสุกรสาวและสุกรนางภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรครั้งแรกยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) ดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส PCV2 ถูกตรวจพบใน 45% (46/102) ของมดลูก และใน 30% (21/70) ของรังไข่ ในการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่าเชื้อ PCV2 อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในภาคสนาม จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมอย่างระมัดระวังเพื่อวิเคราะห์ผลกระทบของเชื้อ PCV2 ต่อการทำงานของทั้งรังไข่และมดลูกในสุกรสาวต่อไป

คำสำคัญ แท้ง มัมมี่ พีซีอาร์ เชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 ระบบสืบพันธุ์

ABSTRACT

Porcine circovirus (PCV) is classified in Circoviridae family and has been detected since 1982 In Thailand, the first PCV detection was reported in nursery pigs in 1999. PCV is classified into 2 types, i.e., PCV type 1 (PCV1) and PCV type 2 (PCV2) PCV1 is not pathogenic, while PCV2 was found to be a primary cause of many clinical symptoms in pigs, e.g., postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS), porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS), porcine respiratory disease complex, PRDC) and porcine reproductive disorders. The incidence and the disease pattern of PCV2 have been intensively studied during recent years. However, most study focus on nursery and fattening pigs, study on gilts and sows, especially clinical study, is limited. The objectives of the present study were to 1.) determine the influence of PCV2 infection in gilts and sows on their reproductive performance 2.) study the efficacy of PCV2 vaccination in gilts and sows on reproductive performances and 3.) investigate the prevalence of PCV2 detection in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets. The study was conducted in a 1,700 sows-on production swine breeding herd in Thailand. The antibody titer response after PCV2 vaccination in gilts and sows was investigated. Blood samples were randomly collected from gilts and sows at 0, 2, 4 and 6 weeks after vaccination. Reproductive performance before and after vaccination were analyzed. Reproductive organs, including ovaries and uteri, were collected from slaughtered house and aborted fetuses (n=14), mummified fetuses (n=17) and stillborn piglets (n=9) were collected from swine herds under field conditions. All samples were submitted for PCV2 DNA detection by using PCR. PCV2 antibody titer was determined by using ELISA. The results revealed that PCV2 DNA was detected in 92.5% (37/40 samples) of the analyzed samples. The PCV2 DNA was found in 92.8% (13/14 samples) of aborted fetuses, 94.1% (16/17 samples) of mummified fetuses, and 88.8% (8/9 samples) of aborted fetuses ($P>0.05$). Vaccination against PCV2 in gilts and sows significantly reduced the variation of antibody titers. The CV of the antibody titer reduced from 38.9% to 23.5%, 20.2% and 18.0% within 2, 4, and 6 weeks after vaccination, respectively. Reproductive performances in both gilts and sows did not alter significantly ($P>0.05$). Additionally, PCV2 DNA was detected in 45% (46/102) of the uterus and in 30% 30% (21/70) of the ovaries of slaughtered gilts. These findings indicated that PCV2 may involve in reproductive disturbances in gilts and sows under field conditions. Further comprehensively studies on the reproductive failures associated with PCV2 detection in the ovary and uterus are required.

Keywords: Abortion, Mummy, PCR, Porcine Circovirus type 2, Reproduction

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

เรื่อง	หน้า
บทนำ	**1**
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	**3**
ผลของโรคเซอร์โคไวรัสต่อระบบสืบพันธุ์สุกร	4
การควบคุมและป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2	5
วิธีดำเนินการวิจัย	**6**
สถานที่ทำการวิจัย	6
ฟาร์มทดลอง	6
ผลของการทำวัคซีน PCV2	6
การเก็บตัวอย่างเลือด	6
การเก็บตัวอย่างอวัยวะระบบสืบพันธุ์	6
ลูกสุกรมัมมี่ แท้ง และตายแรกคลอด	7
การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส PCV2	7
การตรวจดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 ด้วยวิธี PCR	8
สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์	8
การวิเคราะห์ทางสถิติ	8
ผลการวิจัย	**9**
ความชุกของการตรวจพบเชื้อเซอโคไวรัสชนิดที่ 2 ในเนื้อเยื่อของตัวอ่อน ลูกสุกรแท้ง มัมมี่ และลูกสุกรตายแรกคลอดในฟาร์มสุกรเชิงพาณิชย์ ในประเทศไทย	11
สมรรถภาพการสืบพันธุ์ในแม่สุกรหลังการทำวัคซีนป้องกัน โรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร	12
การตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 ในเนื้อเยื่อรังไข่และมดลูกสุกรสาว	12
บทสรุปและวิจารณ์	**14**
เอกสารอ้างอิง	**16**
ภาคผนวก	**17**
ผลงานตีพิมพ์	17

สารบัญตาราง (List of Tables)

ตารางที่		หน้า
1	แอนติบอดีต่อเชื้อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรที่ 0 2 4 และ 6 สัปดาห์ ภายหลังการทำวัคซีนป้องกันเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกร ชนิดที่ 2 ในสุกรสาวและสุกรนาง	9
2	การสะสมของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันในเยื่อบุโพรงมดลูกของสุกรสาว สัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2	9
3	จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวสัมพันธ์กับการตรวจพบดีเอ็นเอของ เชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 ในเนื้อเยื่อรังไข่และมดลูกของสุกรสาวทดแทน ด้วยวิธี polymerase chain reaction	10
4	ผลการตรวจหาเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 (porcine circovirus type 2) จากตัวอย่างที่ส่งตรวจที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยระหว่างปี ค.ศ. 2006-2010	11
5	สมรรภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรสาว (สุกรท้องแรก) และสุกรนาง ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 ครั้งแรก	12
6	เปอร์เซนต์ของการตรวจพบเชื้อไวรัส PCV2 ในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาว (102 ตัว) จำแนกตามสาเหตุการคัดทิ้ง	13
7	เปอร์เซนต์ของการตรวจพบเชื้อไวรัส PCV2 ในเนื้อเยื่อรังไข่ของสุกรสาว (70 ตัว) จำแนกตามสาเหตุการคัดทิ้ง	13

สารบัญภาพ (List of Illustration)

รูปที่		หน้า
1	แสดงผลการตรวจพบเชื้อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรด้วยวิธี Polymerase chain reaction ที่ตำแหน่ง ORF1 ของเชื้อ PCV2 เลน 1 กลุ่มควบคุมลบ (negative control) และ เลน 6 กลุ่มควบคุมบวก (positive control) เลน 2 และ 4 เชื้อ PCV2 ที่ตรวจพบจากตัวอย่างชิ้นเนื้อมดลูก และเลน 7 แสดง 100 bp DNA ladder	10
2	ลักษณะการตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR) เลน 1 (กลุ่มควบคุมลบ) เลน 2-5 (ตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อไวรัส) เลน 6 (ตัวอย่างที่ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส) เลน 7 (กลุ่มควบคุมบวก) และ เลน 8 เป็นแถบดีเอ็นเอขนาด 100 bp	11
3	แอนติบอดีไตเตอร์ต่อเชื้อ PCV2 ที่ 0 2 4 6 12 16 และ 20 สัปดาห์ หลังการทำวัคซีนป้องกันโรค PCV2 ในสุกรเพศเมีย	13

สัญลักษณ์และคำย่อ
(List of Abbreviations)

ADG = Average daily gain (อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน)
ADV = Aujeszky's disease virus (เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเทียม)
AFM = Age at first mating (อายุที่สุกรคลอดครั้งแรก)
AI = artificial insemination (ผสมเทียม)
bp = base pair
CL = corpora lutea (คอปัสลูเทียม)
CSFV = Classical swine fever virus (เชื้อไวรัสอหิวาต์สุกร)
DNA = deoxyribonucleic acid
ELISA = enzyme-linked immunosorbent assays
FMDV = Foot and mouth disease virus (เชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย)
IHC = immunohistochemistry
NPD = Non-productive days (วันสูญเสีย)
OD = optical density
ORF = open reading frame
PBS = Phosphate buffered solution
PCR = Polymerase chain reaction
PCV1 = porcine circovirus type 1 (เชื้อไวรัสเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 1)
PCV-2 = Porcine circo virus type 2 (เชื้อไวรัสเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2)
PCVAD = porcine circovirus associated disease (โรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกร)
PDNS = porcine dermatitis and nephropathy syndrome
pH = power of hydrogen ion
PK-15 = porcine kidney cell line 15
PMWS = post weaning mutisystemic wasting syndrome (โรคซูบผอมหลังหย่านมในสุกร)
PPV = Porcine parvo virus (โรคพาร์โวไวรัสในสุกร)
PRRS = Porcine reproductive and respiratory syndrome (โรคพีอาร์อาร์เอส)
PRRSV = Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส)
SAS = Statistical analysis system
SD = standard deviation (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
WSI = Weaning-to-fist-service interval (ระยะหย่านมถึงผสม)

บทที่ 1

บทนำ

เชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกร (porcine circovirus, PCV) เป็นเชื้อไวรัสในสกุล Circoviridae ที่ถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อ ปี ค.ศ. 1982 (Tischer et al., 1982) ในประเทศไทยมีรายงานการตรวจพบเชื้อ PCV ครั้งแรก ในสุกรอนุบาล ในปี ค.ศ. 1999 (Tantilertcharoen et al., 1999) เชื้อ PCV เป็นเชื้อไวรัสที่มีขนาดเล็ก มีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีลักษณะโครงสร้างเป็นวงกลม (circular) และมีลักษณะเป็นดีเอ็นเอไวรัสสายเดี่ยว (Tischer et al., 1982) เชื้อ PCV โดยทั่วไปแบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่ PCV type 1 (PCV1) และ PCV type 2 (PCV2) โดย PCV1 เป็นเชื้อที่ไม่ทำให้เกิดโรคในสุกร ในขณะที่ PCV2 ถูกค้นพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติหลายอย่างในสุกร เช่น ทำให้เกิดกลุ่มอาการ postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) กลุ่มอาการ porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) กลุ่มอาการความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ (porcine respiratory disease complex, PRDC) และความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์ (porcine reproductive disorders) (Opriessnig et al., 2007)

การติดเชื้อ PCV2 สามารถเกิดได้หลายทาง ได้แก่ ทางปากและจมูก (oro-nasal route) ทางเยื่อเมือก (intranasal) และ ชั้นใต้ผิวหนัง (subcutaneous) การติดเชื้อไวรัสจะทำให้มีการแพร่กระจายไปทั่วร่างกายผ่านทางของเหลวในร่างกาย ดังนั้น เชื้อ PCV2 จึงพบว่าจะตรวจพบจากการเก็บตัวอย่างจากเยื่อเมือกบริเวณโพรงจมูก (nasal swab) ได้นานถึง 35 วันหลังจากสุกรติดเชื้อ (Krakowka et al., 2000) ดังนั้นการติดเชื้อระหว่างสุกรจึงเกิดจากการติดจากการแพร่เชื้อจากสุกรที่ป่วยผ่านทางระบบทางเดินหายใจ (การไอและจาม) เป็นหลัก นอกจากนี้ยังมีการวิจัยพบว่า ในขณะที่แม่สุกรที่ป่วย เชื้อ PCV2 สามารถแพร่ผ่านรกไปยังลูกสุกรได้ด้วย (Park et al., 2005) นอกจากนี้ ในการศึกษาภาคสนามยังเคยมีการตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 จากนมน้ำเหลืองแม่สุกรที่มีสุขภาพปกติด้วย (Shibata et al., 2006) เมื่อไม่นานมานี้มีการทดลองเพื่อยืนยันการติดเชื้อ PCV2 ผ่านทางนมน้ำเหลืองแม่สุกรในประเทศเกาหลี (Ha et al., 2009) โดยทำการแยกเชื้อ PCV2 จากต่อมน้ำเหลืองสุกรป่วย แล้วนำมาทำให้แม่สุกรที่ปลอดโรค PCV2 และโรคอื่นๆ เช่น PRRS และพาร์โวไวรัส โดยการพ่นจมูก จำนวน 6 ตัว ที่ระยะอุ้มท้อง 93 วัน แล้วให้แม่สุกรเข้าคลอดตามปกติ ผลการทดลองพบว่าแม่สุกรที่คลอดส่วนใหญ่มีสุขภาพปกติและคลอดตรงตามกำหนด (114-115 วัน) โรงเรือนสำหรับคลอดถูกล้างทำความสะอาดและพักคอก 21 วัน และไม่มีแม่สุกรตัวอื่นๆ คลอดเลย การเก็บตัวอย่างน้ำนมก็ทำโดยปลอดเชื้อ เก็บนมน้ำเหลืองและนมปกติทุก 3 วันจากแม่สุกรทุกตัวจนถึง 27 วัน ตัวละ 5 มิลลิลิตร ทำการปั่นแยกไขมันออกแล้วนำหางนมมาตรวจหาเชื้อ PCV2 ด้วยวิธีพีซีอาร์

ผลการทดลองสามารถตรวจพบเชื้อ PCV2 ด้วยวิธีพีซีอาร์ในนมน้ำเหลืองของสุกรที่ติดเชื้อทุกตัว และตรวจพบเชื้อ PCV2 ในน้ำนมปกติของแม่สุกรได้ระหว่าง วันที่ 3-27 ของการให้นม (Ha et al., 2009) การค้นพบนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ PCV2 สามารถแพร่กระจายไปยังต่อมสร้างน้ำนมได้หลังการติดเชื้อ และเกิดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสตามกระแสเลือด (viremia) การติดเชื้อในกระแสเลือดของแม่สุกรมีความสัมพันธ์กับการตายของลูกสุกรหลังคลอดด้วย เชื้อ PCV2 สามารถเจริญและแบ่งตัวได้ในเซลล์แมคโครฟาจ และในต่อมน้ำนม (mammary gland) ก็พบแมคโครฟาจจำนวนมาก ผลการศึกษานี้ยืนยันว่าเชื้อ PCV2 สามารถแพร่ผ่านทางน้ำนมแม่สุกรได้ภายหลังการติดเชื้อในช่วงระหว่างอุ้มท้อง (Ha et al., 2009) ในประเทศไทย Tummaruk et al. (2009) รายงานการตรวจพบการติดเชื้อ PCV2 ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหา

ไม่เป็นสัด และหนองไหล และการติดเชื้อในสุกรสาวทุกตัวพบการติดเชื้อร่วมกับโรคอื่นๆ ได้แก่ พาร์โวไวรัส พีอาร์อาร์เอส และ พิษสุนัขบ้าเทียม ปัจจุบันอุบัติการณ์ และรูปแบบการก่อโรคของเชื้อ PCV2 มีการวิจัยจำนวนมาก อย่างไรก็ดีการวิจัยส่วนใหญ่ทำในสุกรอนุบาล และสุกรรุ่น-ขุน การวิจัยในสุกรแม่พันธุ์ และผลกระทบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรแม่พันธุ์ยังมีน้อย โดยเฉพาะการศึกษาในภาคสนาม

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของการติดเชื้อ PCV2 ในฝูงสุกรพ่อแม่พันธุ์ต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกร
2. ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้วัคซีน PCV2 ในสุกรอุ้มท้องต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกร
3. เพื่อศึกษาอุบัติการณ์ของเชื้อ PCV2 ในลูกสุกรแท้ง มัมมี่ และตายแรกคลอด

ขอบเขตของโครงการวิจัย

เป็นการวิจัยที่ศึกษาข้อมูลในภาคสนาม ในฟาร์มที่มีปัญหาโรค PCV2 และทำวัคซีน ทำการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนในการควบคุมโรค โดยประเมินจากการควบคุมการแพร่กระจายเชื้อในฝูง และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของแม่สุกร

ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ผลกระทบของโรค PCV2 ในสุกรแม่พันธุ์อุ้มท้อง เลี้ยงลูก และสุกรสาวทดแทน ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน และในหลายการทดลองพบว่า สุกรที่ได้รับเชื้อจะเกิดปัญหาภูมิคุ้มกันบกพร่อง ประสิทธิภาพของการทำวัคซีน PCV2 ในสุกรอนุบาล ได้ผลเป็นที่น่าพอใจระดับหนึ่ง แต่การทำวัคซีนในแม่พันธุ์ยังไม่มีการวิจัยผลกระทบของโรค PCV2 ต่อระบบสืบพันธุ์ควรได้รับการศึกษา และประเมินความสูญเสีย

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกร (porcine circovirus, PCV) เป็นเชื้อไวรัสในสกุล Circoviridae ที่ถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1982 (Tischer et al., 1982) ในประเทศไทยมีรายงานการตรวจพบเชื้อ PCV ครั้งแรก ในสุกรอนุบาล ในปี ค.ศ. 1999 (Tantilertcharoen et al., 1999) เชื้อ PCV เป็นเชื้อไวรัสที่มีขนาดเล็ก มีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีลักษณะโครงสร้างเป็นวงกลม (circular) และเป็นดีเอ็นเอไวรัสสายเดี่ยว (Tischer et al., 1982) เชื้อ PCV โดยทั่วไปแบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่ PCV1 และ PCV2 โดย PCV1 เป็นเชื้อที่ไม่ทำให้เกิดโรคในสุกร ในขณะที่ PCV2 ถูกค้นพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติหลายอย่างในสุกร เช่น ทำให้เกิดกลุ่มอาการ postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) กลุ่มอาการ porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) กลุ่มอาการความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ (porcine respiratory disease complex, PRDC) และความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์ (porcine reproductive disorders) (Opriessnig et al., 2007)

การติดเชื้อ PCV2 สามารถเกิดได้หลายทาง ได้แก่ ทางปากและจมูก (oro-nasal route) ทางเยื่อเมือก (intranasal) และ ชั้นใต้ผิวหนัง (subcutaneous) การติดเชื้อไวรัสจะทำให้มีการแพร่กระจายไปทั่วร่างกายผ่านทางของเหลวในร่างกาย ดังนั้น เชื้อ PCV2 จึงพบว่าจะตรวจพบจากการเก็บตัวอย่างจากเยื่อเมือกบริเวณโพรงจมูก (nasal swab) ได้นานถึง 35 วันหลังจากสุกรติดเชื้อ (Krakowka et al., 2000) ดังนั้นการติดเชื้อระหว่างสุกรจึงเกิดจากการติดจากการแพร่เชื้อจากสุกรที่ป่วยผ่านทางระบบทางเดินหายใจ (การไอและจาม) เป็นหลัก นอกจากนี้ยังมีการวิจัยพบว่า ในขณะที่แม่สุกรที่ป่วย เชื้อ PCV2 สามารถแพร่ผ่านรกไปยังลูกสุกรได้ด้วย (Park et al., 2005) นอกจากนี้ ในการศึกษาภาคสนามยังเคยมีการตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 จากนมน้ำเหลืองแม่สุกรที่มีสุขภาพปกติด้วย (Shibata et al., 2006) เมื่อไม่นานมานี้มีการทดลองเพื่อยืนยันการติดเชื้อ PCV2 ผ่านทางนมน้ำเหลืองแม่สุกรในประเทศเกาหลี (Ha et al., 2009) โดยทำการแยกเชื้อ PCV2 จากต่อมน้ำเหลืองสุกรป่วย แล้วนำมาทำให้แม่สุกรที่ปลอดโรค PCV2 และโรคอื่นๆ เช่น PRRS และพาร์โวไวรัส โดยการพ่นจมูก จำนวน 6 ตัว ที่ระยะอุ้มท้อง 93 วัน แล้วให้แม่สุกรเข้าคลอดตามปกติ ผลการทดลองพบว่าแม่สุกรที่คลอดส่วนใหญ่มีสุขภาพปกติและคลอดตรงตามกำหนด (114-115 วัน) โรงเรือนสำหรับคลอดถูกล้างทำความสะอาดและพักคอก 21 วัน และไม่มีแม่สุกรตัวอื่นๆ คลอดเลย การเก็บตัวอย่างน้ำนมก็ทำโดยปลอดเชื้อ เก็บนมน้ำเหลืองและนมปกติทุก 3 วันจากแม่สุกรทุกตัวจนถึง 27 วัน ตัวละ 5 มิลลิลิตร ทำการปั่นแยกไขมันออกแล้วนำหางนมมาตรวจหาเชื้อ PCV2 ด้วยวิธีพีซีอาร์

ผลการทดลองสามารถตรวจพบเชื้อ PCV2 ด้วยวิธีพีซีอาร์ในนมน้ำเหลืองของสุกรที่ติดเชื้อทุกตัว และตรวจพบเชื้อ PCV2 ในน้ำนมปกติของแม่สุกรได้ระหว่าง วันที่ 3-27 ของการให้นม (Ha et al., 2009) การค้นพบนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ PCV2 สามารถแพร่กระจายไปยังต่อมสร้างน้ำนมได้หลังการติดเชื้อ และเกิดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสตามกระแสเลือด (viremia) การติดเชื้อในกระแสเลือดของแม่สุกรมีความสัมพันธ์กับการตายของลูกสุกรหลังคลอดด้วย เชื้อ PCV2 สามารถเจริญและแบ่งตัวได้ในเซลล์แมคโครฟาจ และในต่อมน้ำนม (mammary gland) ก็พบแมคโครฟาจจำนวนมาก ผลการศึกษานี้ยืนยันว่าเชื้อ PCV2 สามารถแพร่ผ่านทางน้ำนมแม่สุกรได้ภายหลังการติดเชื้อในช่วงระหว่างอุ้มท้อง (Ha et al., 2009) ในประเทศไทย Tummaruk et al. (2009) รายงานการตรวจพบการติดเชื้อ PCV2 ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาไม่เป็นสัด และหนองไหล และการติดเชื้อในสุกรสาวทุกตัวพบการติดเชื้อร่วมกับโรคอื่นๆ ได้แก่ พาร์โวไวรัส พี

อาร์อาร์เอส และ พิษสุนัขบ้าเทียม ปัจจุบันอุบัติการณ์ และรูปแบบการก่อโรคของเชื้อ PCV2 มีการวิจัยจำนวนมาก อย่างไรก็ดีการวิจัยส่วนใหญ่ทำในสุกรอนุบาล และสุกรรุ่น-ขุน การวิจัยในสุกรแม่พันธุ์ และผลกระทบต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรแม่พันธุ์ยังมีน้อย โดยเฉพาะการศึกษาในภาคสนาม

ผลของโรคเซอร์โคไวรัสต่อระบบสืบพันธุ์สุกร

ในสุกรที่ติดเชื้อเซอร์โคไวรัสสุกรชนิดที่ 2 (PCV2) สามารถแสดงอาการออกมาได้หลายรูปแบบ เช่น อาการซูบผอมเรื้อรังในสุกร (post-weaning multisystemic wasting syndrome, PMWS) (Clark, 1996) การติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจซับซ้อน (porcine respiratory disease complex, PRDC) มีอาการปอดบวมและมีเนื้อตาย (proliferative and necrotizing pneumonia) ในสุกรขุน (Kim et al., 2003; Grau-Roma and Segalés, 2007) และ อาการผิวหนังและไตอักเสบ (porcine dermatitis and nephropathy syndrome, PDNS) (Saoulidis, et al., 2002) จึงเรียกรวมกลุ่มอาการเหล่านี้ว่า PCV2-associated disease (PCVAD) (Opriessnig et al., 2007) ซึ่งนอกเหนือจากอาการที่กล่าวมาแล้ว ปัญหาต่อระบบสืบพันธุ์จาก PCV2 (PCV2-associated reproductive failure) ยังเป็นอีกส่วนหนึ่งที่ก่อปัญหาได้เช่นกัน

ปัจจุบันการผสมพันธุ์สุกรได้เปลี่ยนมาใช้การผสมเทียม (Artificial insemination, AI) เกือบทั้งหมด ซึ่งจะทำให้พ่อสุกรหนึ่งตัวสามารถแพร่น้ำเชื้อไปให้แม่สุกรได้มากขึ้นถึง 1 ตัว ต่อ 1,500-2,000 ตัว ซึ่งข้อควรระวังคือโรคที่สามารถแพร่ผ่านทางน้ำเชื้อได้ โดยเชื้อ PCV2 นั้นสามารถถูกตรวจพบได้ในเนื้อเยื่ออัณฑะและ accessory sex gland ได้ (Opriessnig et al., 2006) และหลังติดเชื้อ สามารถแพร่ผ่านทางน้ำเชื้อได้ภายใน 5 วัน นานถึง 90 วัน โดยพ่อสุกรที่โตเต็มที่มักไม่แสดงอาการป่วยใดๆ (Larochelle et al., 2000; Madson et al., 2008) และคุณภาพน้ำเชื้อยังปกติอีกด้วย (McIntosh et al., 2006) ซึ่งเป็นความเสี่ยงที่จะแพร่เชื้อ PCV2 ไปยังสุกรเพศเมียได้ ซึ่งจากรายงานของ Madson et al., (2009) ที่มีการลองใช้น้ำเชื้อที่มี PCV2a และ PCV2b ในการผสมเทียมปรากฏว่าสามารถทำให้เกิด ลูกตายแรกคลอด (still birth) และ ลูกมัมมี่ (mummified fetus) ได้

แม้ PCV2 จะไม่มีผลทำลายตัวอสุจิแต่สามารถทำลายตัวอ่อน (embryo) ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสียตัวอ่อนระยะแรกของการตั้งท้อง (early embryonic death) ได้ (Mateusen et al., 2007) สำหรับการติดเชื้อระยะกลางและท้ายของการตั้งท้อง (mid and late gestation) เชื้อ PCV2 สามารถติดเข้าสู่ตัวอ่อน (fetus) และแบ่งตัวได้ตั้งแต่วันที่ 55 ของการตั้งท้อง โดยตัวอ่อนที่ติดเชื้อมีรอยโรค คั่งเลือด (congestion) และเลือดออก (haemorrhages) ที่อวัยวะภายใน (internal organs) ตับโต (enlarged liver) กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ (West et al., 1999; Saha et al., 2010) โดยสอดคล้องกับการตรวจพบ เชื้อ PCV2 ใน ลูกมัมมี่ (mummified fetus) ลูกแท้ง (aborted fetus) หรือ ลูกตายแรกคลอด (still born piglet) ได้ (O'Connor et al., 2001; Pittman, 2008)

การสูญเสียตัวอ่อนที่กล่าวมานั้นล้วนเป็นอาการจากการติดเชื้อ PCV2 เข้าสู่มดลูก (in utero infection) ซึ่งการติดเชื้อเข้าสู่มดลูกนอกจากจะสามารถทำให้เกิดความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ (reproductive failure) แล้ว การติดเชื้อเข้าสู่มดลูกแบบไม่แสดงอาการ (subclinical infection) ก็สามารถเกิดได้เช่นกัน โดยสามารดูได้จากการตรวจพบ PCV2 DNA หรือ ตรวจพบ แอนติบอดี ต่อ PCV2 ในซีรั่มของลูกสุกรก่อนดูดนมน้ำเหลือง (presuckle serum) โดยไม่พบรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาหรืออาการความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ แต่อย่างใด (Madson and Opriessnig; 2011)

สำหรับในแม่สุกรนั้น จากการศึกษาพบว่า ในแม่สุกรที่มีแอนติบอดีต่อ PCV2 นั้นสามารถตรวจพบ PCV2 DNA ได้ในอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ได้ถึง 84 % โดย สามารถตรวจพบใน น้ำล้างมดลูก (uterine flush)

36% เยื่อบุมดลูก (endometrium) 78% ท่อนำไข่ (oviduct) 56% ของเหลวในฟอลลิเคิล (follicular fluid) 22% ไข่ (oocyte) 11% (Bielanski et al., 2004) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อเข้าสู่ตัวอ่อนนั้นอาจเป็นไปได้จากหลายทางนอกเหนือไปจาก ทางกระแสเลือดโดยอาจติดผ่านรก หรือ ทางน้ำเชื้อ แล้ว แม่ที่มีเชื้ออยู่ภายในมดลูกหรืออวัยวะสืบพันธุ์อื่นๆ อยู่แล้วก็น่าจะสามารถก่อปัญหา reproductive failure ได้เช่นกัน โดยไม่จำเป็นต้องเป็นปัญหา แท้ง การให้ลูกมัมมี่ หรือ ให้ลูกตายแรกคลอด เสมอไป เพราะสุกรที่ติดเชื้อสามารถเป็น subclinical ต่อการตายของตัวอ่อน ได้ ซึ่งปัญหาอื่น เช่น การคลอดช้า มากกว่า 118 วัน (delayed farrowing) (Ladekjær-Mikkelsen et al., 2001) ก็มีส่วนเกี่ยวข้องกับ PCV2 เช่นกัน

นอกจากปัญหาเหล่านี้แล้วการคัดทิ้งในสุกรสาวเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ เช่น ไม่แสดงอาการเป็นสัด (silent heat) ภาวะหนองไหลจากช่องคลอด (vaginal discharge) ผสมไม่ติด ล้วนเป็นปัญหาสำคัญในการคัดทิ้ง ซึ่งเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาว่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ PCV2 เข้าสู่อวัยวะสืบพันธุ์หรือไม่

การควบคุมและป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2

เชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 เป็นไวรัสชนิดดีเอ็นเอสายเดี่ยวไม่มีเยื่อหุ้ม ประกอบด้วย 3 open reading frames (ORF) ได้แก่ ORF1, ORF2 และ ORF3 เชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 ก่อให้เกิดโรค porcine circovirus associated disease (PCVAD) วิธีการที่ใช้ในการควบคุมโรค PCVAD ประกอบด้วยทั้งการจัดการ และการทำวัคซีน ในประเทศไทย วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 เป็นที่นิยมใช้กันมากในสุกรอนุบาล การวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าลูกสุกรที่มาจากแม่สุกรที่มีแอนติบอดีต่อเชื้อเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 สูงมีอัตราการตายต่ำกว่าลูกสุกรที่มาจากแม่ที่มีระดับแอนติบอดีต่อเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 ต่ำ (Calsamiglia et al. 2007) แสดงให้เห็นว่าระดับของภูมิคุ้มกันถ่ายทอดอาจมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโรค PCVAD

บทที่ 3

การดำเนินการวิจัย

สถานที่ทำการวิจัย

- คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
- ฟาร์มสุกรเอกชน

ฟาร์มทดลอง

ทำการศึกษาในฟาร์มสุกรพ่อแม่พันธุ์ขนาด 1,700 แม่ ฟาร์มทดลองมีการจดบันทึกการจัดการสุกรสาวทดแทน และมีระบบการบันทึกข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์มาแล้วอย่างน้อย 2 ปี พันธุ์ของสุกรเป็นสุกรพันธ์ผสม แลนด์เรซxยอร์กเชียร์

ผลของการทำวัคซีน PCV2

ศึกษาผลของการทำวัคซีน PCV2 ในสุกรสาวทดแทน และแม่สุกรอุ้มท้องต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน โดยทำการสุ่มเจาะเลือดแม่สุกรหลังการทำวัคซีนที่ 0 2 4 และ 6 สัปดาห์ และทำการติดตามสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกรภายหลังการทำวัคซีน

การเก็บตัวอย่างเลือด

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่คอ (jugular vein) แม่สุกรท้อง 1 2-5 และ >6 กลุ่มละ 10 ตัว เพื่อทำการตรวจแอนติบอดี การเก็บตัวอย่างเลือดจะเก็บโดยไม่ใช้สารป้องกันการแข็งตัว ปั่นแยกซีรั่ม และเก็บรักษาซีรั่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และนำไปทำการวิเคราะห์หาระดับแอนติบอดีไตเตอร์ต่อโรค PCV2

การเก็บตัวอย่างอวัยวะระบบสืบพันธุ์

อวัยวะทางระบบสืบพันธุ์ทั้งภายนอกและภายใน ประกอบด้วย รังไข่ ท่อนำไข่ มดลูก คอมดลูก ช่องคลอด และปากช่องคลอด ถูกเก็บจากสุกรสาวที่ถูกส่งโรงฆ่าสัตว์ เก็บข้อมูลประวัติสุกรสาว ได้แก่ เบอร์หู วันที่คัดทิ้ง สาเหตุการคัดทิ้ง วันผสม วันที่เป็นสัด และ วันเกิด อวัยวะของสุกรแต่ละตัวถูกแยกเก็บใส่ถุงพลาสติกติดเบอร์ แล้วใส่กล่องโฟมที่มีน้ำแข็งปิดผนึกส่งห้องชันสูตรภายใน 24 ชั่วโมง อวัยวะของสุกรถูกแยกชันสูตรเป็นส่วนๆ ได้แก่ รังไข่ (ovaries) ชั่งน้ำหนักแต่ละข้าง ตรวจว่าอยู่ระยะใดของวงจรการเป็นสัด แบ่งเป็น ก่อนวัยเจริญพันธุ์ ระยะฟอลลิคูล่า (follicular phase) และ ระยะลูเทียล (luteal phase) ตรวจความผิดปกติ วัดความยาว และความกว้าง มดลูก (uterus) หลังจากตัดเยื่อ mesometrium ออกแล้ว ชั่งน้ำหนัก วัดความยาวแต่ละด้าน และความยาวของตัวมดลูก (uterine body) หลังจากนั้นเปิดผ่าตามแนวยาวทางด้านนอก ตรวจลักษณะของเยื่อบุโพรงมดลูกด้านใน (endometrium) เก็บส่วนมดลูกด้านละ 3 ชิ้น ส่วนต้น กลาง และท้าย เป็นชิ้นขนาด 1x3 เซนติเมตร เก็บไว้ใน 10% neutral buffer formalin สำหรับการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ทั้งนี้เพื่อตรวจดูความผิดปกติที่อาจเกิดขึ้นภายในเยื่อบุโพรงมดลูก คอมดลูก (cervix) ชั่งน้ำหนัก วัดความกว้างและยาว ผ่าตามยาวตรวจลักษณะภายใน มดลูกจะถูกเก็บมาตรวจพยาธิสภาพทางจุลพยาธิวิทยา โดยชิ้นเนื้อที่

เก็บใน 10% neutral buffer formalin นำมาใส่ในพาราฟินเหลวและย้อมสี H&E ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง

ลูกสุกรมัมมี่ แท้ง และตายแรกคลอด

ตัวอย่างลูกสุกรแท้ง (n=14) มัมมี่ (n=17) และตายแรกคลอด (n=9) ถูกเก็บมาจากฟาร์มสุกรที่พบปัญหาในภาคสนาม และนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง (รูปที่ 1) โดยตัวอย่างลูกสุกรทั้งตัวถูกเก็บในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็ง ตรวจชันสูตรลักษณะทางพยาธิวิทยา ตัวอย่างอวัยวะภายใน ได้แก่ ต่อมน้ำเหลือง ม้าม ตับ และ ปอด ถูกนำมารวมกันแล้วตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส PCV2 ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) (Tantilertcharoen et al., 1999) ข้อมูลความยาวจากหัวถึงโคนหาง (crown rump length, CRL) ของลูกอ่อนสุกรถูกวัดเพื่อนำมาคำนวณอายุของตัวอ่อน (อายุของตัวอ่อน = 21.07 + (0.311 x CRL) (Ullrey et al., 1965) อายุของตัวอ่อนที่คำนวณได้ถูกแบ่งกลุ่มๆ ได้แก่ ระยะกลางของการอุ้มท้อง (31-70 วัน, n=7) และระยะท้าย (71-115 วัน, n=22)

รูปที่ 1 ตัวอย่างลักษณะของลูกสุกรแท้ง ตายแรกคลอด และมัมมี่

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส PCV2

ทำการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส PCV-2 โดยใช้ชุดทดสอบ PCV2 virus antibody test kit (SERELISA®, PCV2 Ab Mono Blocking, Synbiotics Europe SAS, Lyon, Cedex 07, France) วัดค่า OD ด้วยเครื่อง ELISA reader ที่ความเข้มแสง 450 นาโนมิเตอร์

การตรวจดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 ด้วยวิธี PCR

ตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ถูกตรึงในพาราฟฟินจำนวนทั้งสิ้น 172 ตัวอย่าง ถูกนำมาใช้ในการศึกษา ตัวอย่างชิ้นเนื้อประกอบด้วยรังไข่ 70 ตัวอย่าง และ มดลูก 102 ตัวอย่าง ทุกตัวอย่างถูกเก็บมาจากสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ในการศึกษาก่อนหน้านี้ (Tummaruk et al., 2009) สุกรสาวที่นำมาศึกษาถูกคัดทิ้งเนื่องจาก ไม่เป็นสัด 28 ตัว แท้ง 7 ตัว ผสมซ้ำ 7 ตัว หนองไหลจากช่องคลอด 40 ตัว และ ปัญหาอื่นๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ (ได้แก่ หัวนมบอด ขาเจ็บ และ ลักษณะไม่ดี) 20 ตัว โดยเฉลี่ยสุกรสาวเหล่านี้มีอายุ 280±37 วัน และ มีน้ำหนักตัว 144±18 กิโลกรัม ตัวอย่างชิ้นเนื้อถูตัดด้วยใบมีดปลอดเชื้อและถูกนำไปเข้าสู่กระบวนการสกัดดีเอ็นเอ สายดีอ็นเอของเชื้อไวรัส PCV2 ถูกแยกด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (NucleoSpin® RNA virus, MACHEREY-NAGEL, Germany) การตรวจหาเชื้อ PCV2 ทำโดยวิธี PCR ไพรเมอร์ที่ใช้ ได้แก่ ATG CCC AGC AAG AAG AAT GGA AGA AG (forward primer sequence) และ AGG TCA CTC CGT TGT TGT CCT TGA GAT C (reverse primer sequence) สถานะของ PCR ถูกปรับไว้ที่ 95 ºC นาน 20 วินาที annealing ที่ 55 ºC นาน 30 วินาที และ extension ที่ 72 ºC นาน 45 วินาที วิธีการนี้ถูกทำซ้ำ 35 รอบ เพื่อ amplify 350 bp product

สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์

วิเคราะห์ข้อมูลสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์จากฟาร์มสุกรเชิงพาณิชย์แห่งหนึ่งในประเทศไทย ก่อนและภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร โดยการวิเคราะห์ข้อมูล 1 ปี ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2555 ถึง เดือนสิงหาคม 2556 ฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรทั้งในสุกรสาวและสุกรนาง (Porcilis® PCV, Intervet International BV, The Netherlands) โดยในสุกรสาวได้รับการฉีดวัคซีนที่อายุ 19 และ 21 สัปดาห์ และแม่สุกรได้รับการฉีดวัคซีนที่ 12 สัปดาห์ของการอุ้มท้อง เก็บตัวอย่างซีรั่มจากสุกรสาว 75 ตัว และสุกรนาง 90 ตัว ในสัปดาห์มที่ 0 2 4 และ 6 ของการทำวัคซีน ตัวอย่างซีรั่มทั้งหมดถูกนำมาตรวจระดับแอนติบอดีต่อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร ด้วยวิธี indirect enzyme-linked immunosorbent assay โดยใช้ recombinant truncated capsid protein ของเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรที่ได้รับการพัฒนาขึ้นจากการศึกษาก่อนหน้านี้ (Jittimanee et al., 2012) เก็บข้อมูลขนาดครอกแรกคลอดในสุกร ประกอบด้วย จำนวนลูสุกรทั้งหมดต่อครอก (total born, TB) จำนวนลูกสุกรมีชีวิตต่อครอก (born alive, BA) เปอร์เซนต์มัมมี่ (%) เปอร์เซนต์ลูกสุกรตายแรกคลอด (%) และน้ำหนักแรกคลอด

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลถูกประมวลผลและวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SAS version 9.0 ข้อมูลเชิงปริมาณถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี General linear mixed model (MIXED) ความถี่ของการตรวจพบเชื้อ PCV2 ถูกเปรียบเทียบระหว่างชนิดของตัวอ่อน (แท้ง มัมมี่ และ ตายแรกคลอด) และระหว่างกลุ่มอายุของลูกที่แท้ง (ระยะกลาง และระยะท้าย) การเปรียบทำโดยวิธี Fisher's exact test ข้อมูลสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี multiple ANOVA โมเดลทางสถิติประกอบด้วยผลของลำดับครอก (1, 2-6) การทำวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร (ทำ และ ไม่ทำ) เวลาที่คลอด (มกราคม 2555 – สิงหาคม 2556) และ interaction ระหว่างลำดับครอกและการทำวัคซีน ค่าเฉลี่ย least-square ถูกคำนวณและนำมาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มด้วยวิธี least significant different (LSD) test ค่า $P<0.05$ จะถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

บทที่ 4

ผลการทดลอง

รูปที่ 1 แสดงผลการตรวจพบเชื้อไวรัส PCV2 ด้วยวิธี Polymerase chain reaction ที่ตำแหน่ง ORF1 ของเชื้อ PCV2 ที่ตรวจพบจากตัวอย่างชิ้นเนื้อมดลูก

แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส PCV2 ที่สัปดาห์ที่ 0 2 4 และ 6 สัปดาห์ภายหลังการทำวัคซีน แสดงในตารางที่ 1 ผลการตรวจการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันภายใต้เยื่อบุโพรงมดลูกสุกรสาวสัมพันธุ์กับการตรวจพบเชื้อไวรัส PCV2 แสดงในตารางที่ 2

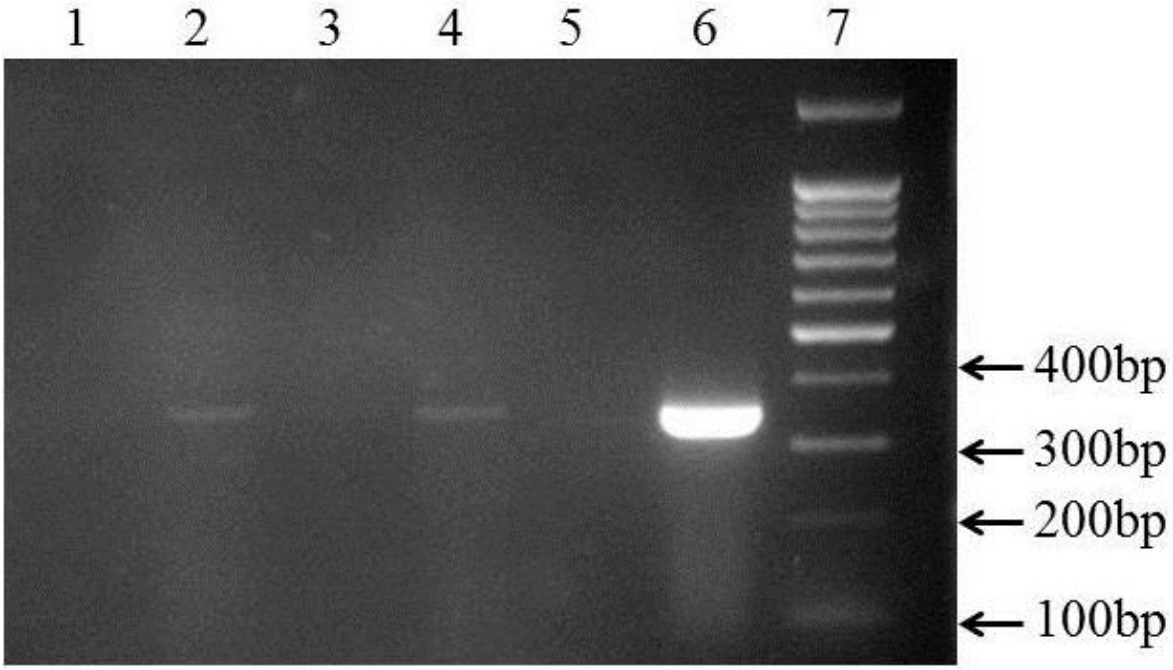
ตารางที่ 1 แอนติบอดีต่อเชื้อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรที่ 0 2 4 และ 6 สัปดาห์ ภายหลังการทำวัคซีนป้องกันเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร ในสุกรสาวและสุกรนาง

สัปดาห์ที่หลังการทำวัคซีน	สุกรสาว (n=75)	สุกรนาง (n=90)
0	1.24±0.68[a]	1.03±0.28[a]
2	1.32±0.33[a]	1.55±0.31[b]
4	1.59±0.38[b]	1.67±0.25[b]
6	2.06±0.41[c]	1.95±0.29[c]

[a,b] ตัวอักษรยกที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ตารางที่ 2 การสะสมของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันในเยื่อบุโพรงมดลูกของสุกรสาวสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร

เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน	การตรวจพบเชื้อไวรัส PCV2		*P* value
	ไม่พบเชื้อ (n=18)	พบเชื้อ (n=14)	
Neutrophils	53.1±16.1	61.4±28.7	0.791
Lymphocytes	47.4±9.1	91.1±32.9	0.220
Macrophage	2.0±0.9	1.9±1.0	0.965
Eosinophils	49.9±14.2	17.7±5.4	0.046
Plasma cells	39.5±11.6	74.9±26.3	0.235



รูปที่ 1 แสดงผลการตรวจพบเชื้อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรด้วยวิธี Polymerase chain reaction ที่ตำแหน่ง ORF1 ของเชื้อ PCV2 เลน 1 กลุ่มควบคุมลบ (negative control) และ เลน 6 กลุ่มควบคุมบวก (positive control) เลน 2 และ 4 เชื้อ PCV2 ที่ตรวจพบจากตัวอย่างชิ้นเนื้อมดลูก และเลน 7 แสดง 100 bp DNA ladder

จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวสัมพันธ์กับการตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส PCV2 ในเนื้อเยื่อรังไข่และมดลูกของสุกรสาวทดแทนด้วยวิธี polymerase chain reaction แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 จำนวนและเปอร์เซนต์ของสุกรสาวสัมพันธ์กับการตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรในเนื้อเยื่อรังไข่และมดลูกของสุกรสาวทดแทนด้วยวิธี polymerase chain reaction

อาการทางคลินิก	จำนวน	จำนวนที่ตรวจพบผลบวก	
		รังไข่	มดลูก
ไม่เป็นสัด	28	9 (32%)[a]	15 (53%)[b]
หนองไหล	8	2 (25%)[a]	5 (62%)[b]
แท้ง	7	4 (57%)[a]	6 (85%)[b]
ผสมซ้ำ	7	1(14%)[a]	2 (28%)[b]
ทั้งหมด	50	16 (32%)	28 (56%)

[a,b] ตัวอักษรยกที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ตารางที่ 4 แสดงให้เห็นถึงผลของการตรวจหาเชื้อ porcine circovirus type 2 จากตัวอย่างที่ส่งตรวจที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยระหว่างปี ค.ศ. 2006-2010 ผลการสำรวจความชุกของเชื้อ PCV2 ในประเทศไทยระหว่างปี ค.ศ. 2006-2010 พบว่าเชื้อ PCV2 มีความชุกระหว่าง 40.2-65.2% โดยในปี ค.ศ. 2007 พบเชื้อไวรัสสูงที่สุด

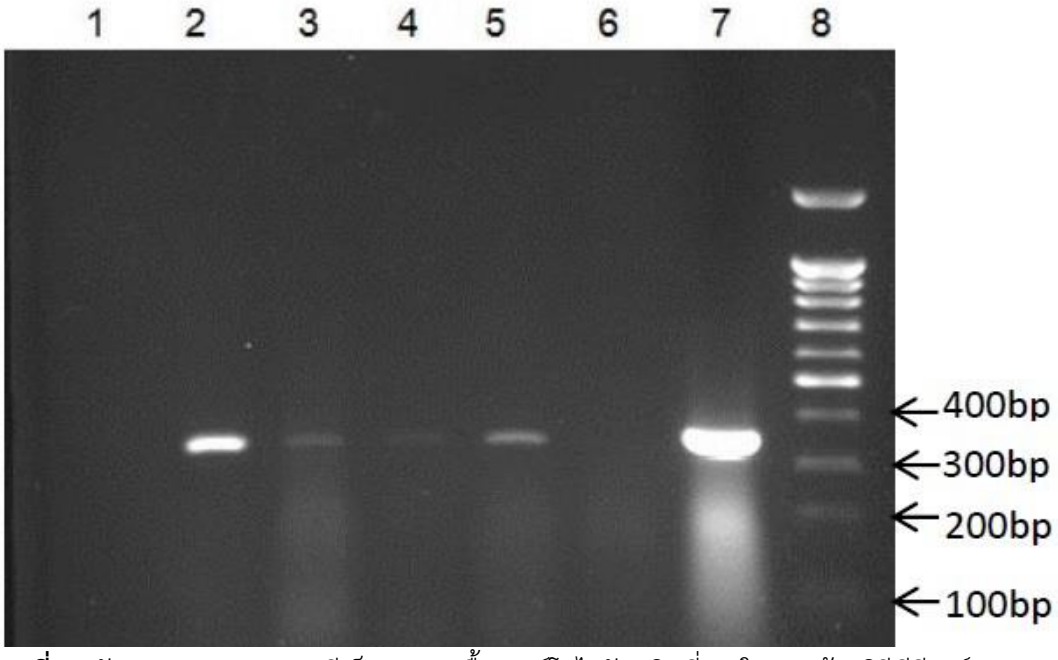
ตารางที่ 4 ผลการตรวจหาเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร (porcine circovirus type 2) จากตัวอย่างที่ส่งตรวจที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยระหว่างปี ค.ศ. 2006-2010

ปี (ค.ศ.)	จำนวน	จำนวนที่ตรวจพบผลบวก	เปอร์เซนต์
2006	261	105	40.2[a]
2007	184	120	65.2[b]
2008	326	132	40.5[a]
2009	194	80	41.2[a]
2010	311	168	54.0[c]

[a,b,c] ตัวอักษรยกที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ความชุกของการตรวจพบเชื้อเซอโคไวรัสชนิดที่ 2 ในเนื้อเยื่อของตัวอ่อนลูกสุกรแท้ง มัมมี่ และลูกสุกรตายแรกคลอดในฟาร์มสุกรเชิงพาณิชย์ในประเทศไทย

ผลการทดลองพบว่าดีเอ็นเอของเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรถูกตรวจพบใน 92.5% (37/40 ตัวอย่าง) ของเนื้อเยื่อที่ทำการตรวจ โดยพบว่าดีเอ็นเอของเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรถูกตรวจพบใน 92.8% (13/14 ตัวอย่าง) ของตัวอ่อนที่แท้ง 94.1% (16/17 ตัวอย่าง) ของมัมมี่ และ 88.8% (8/9 ตัวอย่าง) ของลูกสุกรตายแรกคลอด ($P>0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าดีเอ็นเอของเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรถูกตรวจพบทั้งในระยะกลาง (6/7 ตัวอย่าง) และระยะท้าย (20/22 ตัวอย่าง) ของการอุ้มท้อง (86.0% และ 91.0% ตามลำดับ $P>0.05$)



รูปที่ 2 ลักษณะการตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR) เลน 1 (กลุ่มควบคุมลบ) เลน 2-5 (ตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อไวรัส) เลน 6 (ตัวอย่างที่ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส) เลน 7 (กลุ่มควบคุมบวก) และ เลน 8 เป็นแถบดีเอ็นเอขนาด 100 bp

สมรรถภาพการสืบพันธุ์ในแม่สุกรหลังการทำวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร

การทำวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรช่วยลดความแปรปรวนของระดับแอนติบอดีทั้งในสุกรสาวและสุกรนางโดยค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) ลดลงจาก 38.9% ก่อนการฉีดวัคซีน เหลือ 23.5% 20.2% และ 18.0% ภายในเวลา 2 4 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ สมรรภาพทางการสืบพันธุ์ของทั้งสุกรสาวและสุกรนางภายหลังการฉีดวัคซีน (ครั้งแรก) แสดงในตารางที่ 5 จากตารางพบว่าสมรรภาพทางการสืบพันธุ์ของทั้งสุกรสาวและสุกรนางภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร ครั้งแรกยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05)

ตารางที่ 5 สมรรภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรสาว (สุกรท้องแรก) และสุกรนางภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร ครั้งแรก (least squares means±SEM)

สมรรภาพทางการสืบพันธุ์	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
สุกรท้องแรก	n=729	n=80
จำนวนลูกสุกรทั้งหมด/ครอก	12.0±0.1[a]	11.3±0.4[a]
จำนวนลูกสุกรมีชีวิต/ครอก	10.8±0.1[a]	10.2±0.4[a]
มัมมี่ (%)	3.2±0.3[a]	4.8±1.0[a]
ตายแรกคลอด (%)	6.5±0.4[a]	4.6±1.4[a]
น้ำหนักแรกคลอด (กิโลกรัม)	1.52±0.01[a]	1.42±0.03[b]
สุกรนาง	n=3,541	n=174
จำนวนลูกสุกรทั้งหมด/ครอก	12.7±0.1[a]	12.6±0.3[a]
จำนวนลูกสุกรมีชีวิต/ครอก	11.1±0.1[a]	10.7±0.3[a]
มัมมี่ (%)	4.6±0.1[a]	5.0±0.8[a]
ตายแรกคลอด (%)	7.5±0.2[a]	9.4±1.1[a]
น้ำหนักแรกคลอด (กิโลกรัม)	1.59±0.01[a]	1.62±0.02[a]

[a,b] ตัวอักษรยกที่แตกต่างกันภายในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

การตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 ในเนื้อเยื่อรังไข่และมดลูกสุกรสาว

ดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส PCV2 ถูกตรวจพบใน 45% (46/102) ของมดลูก และใน 30% (21/70) ของรังไข่ สัดส่วนของการตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส PCV2 ในเนื้อเยื่อมดลูก และรังไข่ แบ่งตามสาเหตุการคัดทิ้งของสุกรสาว แสดงในตารางที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 เปอร์เซนต์ของการตรวจพบเชื้อไวรัส PCV2 ในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาว (102 ตัว) จำแนกตามสาเหตุการคัดทิ้ง

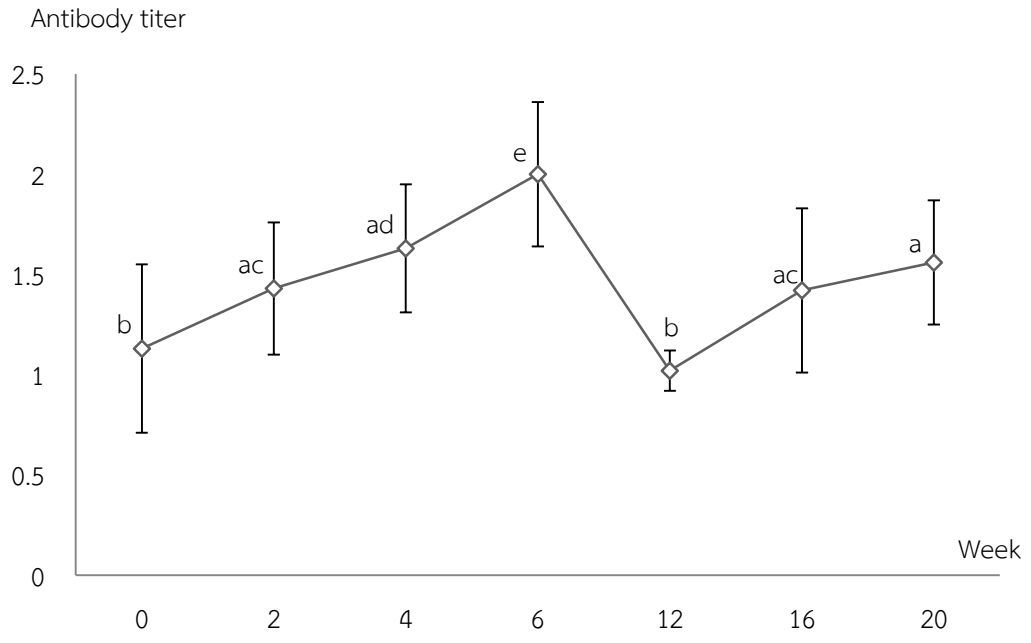
สาเหตุการคัดทิ้ง	จำนวน	จำนวน (เปอร์เซนต์) ของเนื้อเยื่อมดลูกที่ตรวจพบเชื้อ PCV2
ไม่เป็นสัด	28	15 (53%) [a]
แท้ง	7	6 (85%) [c]
ผสมซ้ำ	7	2 (28%) [ab]
หนองไหลจากช่องคลอด	40	19 (47%) [ac]
ไม่ใช่ระบบสืบพันธุ์	20	4 (20%) [b]

[a,b,c] ตัวอักษรยกที่แตกต่างกันภายในคอลัมป์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

ตารางที่ 7 เปอร์เซนต์ของการตรวจพบเชื้อไวรัส PCV2 ในเนื้อเยื่อรังไข่ของสุกรสาว (70 ตัว) จำแนกตามสาเหตุการคัดทิ้ง

สาเหตุการคัดทิ้ง	จำนวน	จำนวน (เปอร์เซนต์) ของเนื้อเยื่อรังไข่ที่ตรวจพบเชื้อ PCV2
ไม่เป็นสัด	28	9 (32%) [a]
แท้ง	7	4 (57%) [a]
ผสมซ้ำ	7	1 (14%) [a]
หนองไหลจากช่องคลอด	8	2 (25%) [a]
ไม่ใช่ระบบสืบพันธุ์	20	5 (25%) [a]

[a,b,c] ตัวอักษรยกที่แตกต่างกันภายในคอลัมป์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)



รูปที่ 3 แอนติบอดีไตเตอร์ต่อเชื้อ PCV2 ที่ 0 2 4 6 12 16 และ 20 สัปดาห์ หลังการทำวัคซีนป้องกันโรค PCV2 ในสุกรเพศเมีย

บทที่ 5

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรผ่านมดลูกของสุกรอุ้มท้อง เป็นสิ่งที่เกิดขึ้นได้บ่อยมาในภาคสนาม นอกจากนี้การติดเชื้อร่วมกันระหว่างเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรและเชื้อไวรัสอื่นๆ เช่น พาร์โวไวรัส พีอาร์อาร์เอสไวรัส และเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเทียม ก็เคยมีรายงานมาแล้วในการศึกษาก่อนหน้านี้ (Kim et al., 2004; Madson and Opriessnig, 2011; Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012) ผลการวิจัยเหล่านี้บ่งชี้ว่าเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร เป็นเชื้อไวรัสที่พบได้มากที่สุดชนิดหนึ่งในสุกรที่อาจนำไปสู่ปัญหาความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ทั้งในสุกรสาวและสุกรนางอุ้มท้องในฟาร์มสุกรเชิงพาณิชย์ในประเทศไทย

สุกรสาวสามารถติดเชื้อเซอร์โคไวรัสสุกรได้ภายหลังการสัมผัสกับเชื้อไวรัสที่มดลูกดดยตรงโดยผ่านการผสมเทียม (Madson et al., 2009) เชื้อเซอร์โคไวรัสสุกรถูกตรวจพบในตัวอ่อนของสุกรในครรภ์ของแม่สุกรที่มีระดับแอนติบอดีต่ำก่อนการผสมเทียมที่ติดเชื้อไวรัส (Saha et al., 2010; Dias et al., 2013) จากการศึกษาในภาคสนาม ระดับแอนติบอดีต่อเชื้อเซอร์โคไวรัสสุกรมีความแปรปรวนสูงมากทั้งในสุกรสาวทดแทนและในแม่สุกรนาง (Pearodwong et al., 2013) ด้วยเหตุนี้จึงเป็นความเสี่ยงที่จะทำให้เกิดความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ได้ และยังส่งผลกระทบต่อความแปรปรวนของระดับภูมิคุ้มกันถ่ายทอดในลูกสุกรด้วย (passive immunity) การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าการทำวัคซีนป้องกันโรค PCV2 ทั้งในสุกรสาวและสุกรนางจะช่วยกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีในสุกรได้ภายใน 2-4 สัปดาห์หลังการฉีดวัคซีน (Pearodwong et al., 2013) การกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้สูงขึ้นทั้งในสุกรสาวและสุกรนางก่อนการผสมพันธุ์เป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยลดความเสี่ยงในการติดเชื้อผ่านรกระหว่างการตั้งครรภ์ และอาจจะช่วยเพิ่มสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ได้ อย่างไรก็ดี ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการทำวัคซีนป้องกันโรค PCV2 เพียงครั้งเดียวยังไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกร การศึกษาเพิ่มเติมถึงผลในระยะยาวของการฉีดวัคซีนป้องกันโรค PCV2 ซ้ำจึงมีความจำเป็นต้องทำต่อไป

เชื้อไวรัส PCV2 ถูกตรวจพบทั้งในมดลูกปกติ (17/46) และ ในมดลูกที่มีความผิดปกติในลักษณะต่างๆ กัน ได้แก่ มีความผิดปกติแต่กำเนิด (22/41) มดลูกเป็นหนอง (6/9) และ อื่นๆ (1/6) ในทำนองเดียวกัน เชื้อไวรัส PCV2 ก็ถูกตรวจพบทั้งในรังไข่ปกติ (14/53) ในรังไข่ที่มีถุงน้ำชนิดใบเดียว (1/5) ในรังไข่ที่มีถุงน้ำหลายใบ (4/9) และ ในรังไข่ที่มีลักษณะผิดปกติแบบอื่นๆ (2/3) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ในรังไข่และมดลูกสุกรที่เก็บมาแบบสดโดยไม่ผ่านการตรึงด้วยฟอร์มาลิน (Bielanskiet al., 2004) ดังนั้นการตรวจพบเชื้อไวรัส PCV2 ทั้งในมดลูกและรังไข่จึงไม่เกินความคาดหมาย แม้กระนั้น การค้นพบครั้งนี้ช่วยยืนยันได้ว่าเชื้อ PCV2 มีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์ในสุกรสาว การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าเชื้อ PCV2 ก่อให้เกิดลักษณะการอักเสบของเส้นเลือดบริเวณรังไข่ ได้ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง (Langohr et al., 2010) ในการศึกษาครั้งนี้ดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส PCV2 ถูกพบในสุกรสาวที่มีปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ในลักษณะที่แตกต่างกัน บ่งชี้ว่าเชื้อ PCV2 อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในภาคสนาม จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมอย่างระมัดระวังเพื่อวิเคราะห์ผลกระทบของเชื้อ PCV2 ต่อการทำงานของทั้งรังไข่และมดลูกในสุกรสาวต่อไป

สรุป

- เชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรถูกตรวจพบได้บ่อยในลูกสุกรที่ตายในครรภ์ทุกประเภท และพบได้ทั้งในช่วงกลางและช่วงท้ายของการอุ้มท้องในสุกร
- การทำวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกรช่วยลดความแปรปรวนของระดับแอนติบอดีทั้งในสุกรสาวและสุกรนาง
- การทำวัคซีนป้องกันโรคเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร (ครั้งแรก) ไม่สามารถเพิ่มสมรรถภาพการสืบพันธุ์ในสุกรสาวและแม่สุกรได้
- ดีเอ็นเอของเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรชนิดที่ 2 ถูกตรวจพบใน 45% ของเนื้อเยื่อมดลูก และใน 30% ของเนื้อเยื่อรังไข่ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์

เอกสารอ้างอิง

Bielanski, A., Larochelle, R., Algire, J. and Magar, R. 2004. Distribution of PCV-2 DNA in the reproductive tract, oocytes and embryos of PCV-2 antibody-positive pigs. Vet. Rec. 155: 597-598.

Clark, E. 1996. Post-weaning multisystemic wasting syndrome. In: Proceeding of the Western Can. Assoc. Swine Pract. 19-20.

Grau-Roma, L. and Segalés, J., 2007. Detection of porcine reproductiveand respiratory syndromevirus, porcine circovirus type 2, swine influenza virus and Aujeszky's disease virus in cases of porcine proliferativeand necrotizing pneumonia (PNP). Spain Vet. Microbiol. 119: 144–151.

Kim, J., Chung, H.-K. and Chae, C. 2003. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. Vet. J. 166: 251–256.

Kim, J., Jung, K., Chae, C., 2004. Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. Vet. Rec. 155: 489-492.

Langohr, I.M., Stevenson, G.W., Nelson, E.A., Lenz, S.D., HogenEsch, H., Wei, H., Pogranichniy, R.M., 2010. Vascular lesions in pigs experimentally infected with porcine circovirus type 2 serogroup B. Vet Pathol. 47: 140-147.

Larochelle, R., Bielanski, A., Muller, P. and Magar, R. 2000. PCR detection and evidence of shedding of porcine circovirus type 2 in boar semen. Journal of clinical Microbiology. 38: 4629-4632.

Ladekjær-Mikkelsen, A.S., Nielsen, J., Storgaard, T., Bøtner, A., Allan, G. and McNeilly, F. 2001. Transplacental infection with PCV-2 associated with reproductive failure in a gilt. Vet. Rec. 148: 759-760.

Madson, D.M., Ramamoorthy, S., Kuster, C., Pal, N., Meng, X.J., Halbur,P.G. and Opriessnig, T. 2008. Characterization of shedding patterns of porcine circovirus types 2a and 2b in experimentally inoculated mature boars. J. Vet. Diag. Invest. 20: 725-734.

Madson, D.M., Patterson, A.R., Ramamoorthy, S., Pal, N., Meng, X.J. and Opriessnig, T. 2009. Reproduction failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. Vet. Pathol. 46: 707-716.

Madson, D.M. and Opriessnig, T. 2011. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on reproduction: disease, vertical transmission, diagnostics and vaccination. Anim. Health Res. Rev. 12: 47-65.

Mateusen, B., Maes, D.G.D., Van Soom, A., Lefebvre, D. and Nauwynck, H.J. 2007. Effect of a porcine circovirus type 2 infection on embryos during early pregnancy. Theriogenology. 68: 896-901.

McIntosh, K.A., Harding, J.C., Parker, S., Ellis, J.A. and Appleyard, G.D. 2006. Nested polymerase chain reaction detection and duration of porcine circovirus type 2 in semen

with sperm morphological analysis from naturally infected boars. J. Vet. Diag. Invest. 18: 380-384.

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.

Opriessnig, T., Kuster, C., Halbur, P.G. 2006. Demonstration of porcine circovirus type2 in the testes and accessory sex glands of a boar. J. Swine Health Prod. 14: 42-45.

Opriessnig, T., Meng, X.-J. and Halbur, P.G. 2007. Porcine circovirus type 2–associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. J. Vet. Diagn. Invest. 19: 591–615.

Pearodwong, P., Teankum, K., Sang-Gassanee, K., Tummaruk, P., 2013. Serological response of gilt and sow after field vaccination with PCV2 ORF2 vaccine in Thailand. Proceedings of the 6th Asian Pig Veterinary Society Congress, The White Palace Convention Center, Ho Chi Minh City, Vietnam, September 23-25, 2013, P. OR54.

Pittman, J.S. 2008. Reproductive failure associated with porcine circovirus type 2 in gilts. J. Swine Health Prod. 16: 144-148.

Saha, D., Lefebvre, D.J., Van Doorsselaere, J., Atanasova, K. Barbe, F., Geldhof, M., Karniychuk, U.U. and Nauwynck, H.J. 2010. Pathologic and virologic findings in mid-gestational porcine fetuses after experimental inoculation with PCV2a or PCV2b. Vet. Microbiol. 145: 62-68.

Saoulidis, K., Kyiakis, S.C., Kennedy, S., Lekkas, S., Miliotis, Ch.C., Allan, G., Balkamos, G.C. and Papoutsis, P.A. 2002. First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome in pigs in Greece. J. Vet. Med. B. 49: 202–205.

Tummaruk, P., 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.

West, K.H., Bystrom, J.M., Wojnarowicz, C., Shantz, N., Jacobson, M., Allan, G.M., Haines, D.M., Clark, E.G., Krakowka, S., McNeilly, F., Konoby, C., Martin, K. and Ellis, J.A. 1999. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. J. Vet. Diag. Invest. 11: 530-532.

ภาคผนวก

บทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการแล้ว (ถ้ามี)

บทความทางวิชาการ

1. Tummaruk, P., Pearodwong, P., Olanratmanee, E., 2014. Infectious causes of infertility in swine in Thailand: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV), Aujeszky's Disease Virus, (ADV), Porcine Parvovirus (PPV) and Porcine Circovirus Type 2 (PCV2). **Thai Journal of Veterinary Medicine** 44 (Suppl. 1): 19-24.

การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. Pearodwong, P., Teankum, K., Sang-Gassanee, K., Tummaruk, P., 2013. Serological response of gilt and sow after field vaccination with PCV2 ORF2 vaccine in Thailand. Proceedings of the 6th Asian Pig Veterinary Society Congress, The White Palace Convention Center, Ho Chi Minh City, Vietnam, September 23-25, 2013, P. OR54. (oral presentation)
2. Pearodwong, P., Limsaranrom, C., Wangpeerawong, Y., Phetpa, P., Jaisomkhom, A., Tantilertcharoen, R., Tummaruk, P., 2013. Porcine circovirus type 2 associated with the infiltration of immune cells in the endometrium of gilts with vulva discharge syndrome. Proceedings of the 6th Asian Pig Veterinary Society Congress, The White Palace Convention Center, Ho Chi Minh City, Vietnam, September 23-25, 2013, P. PO180.

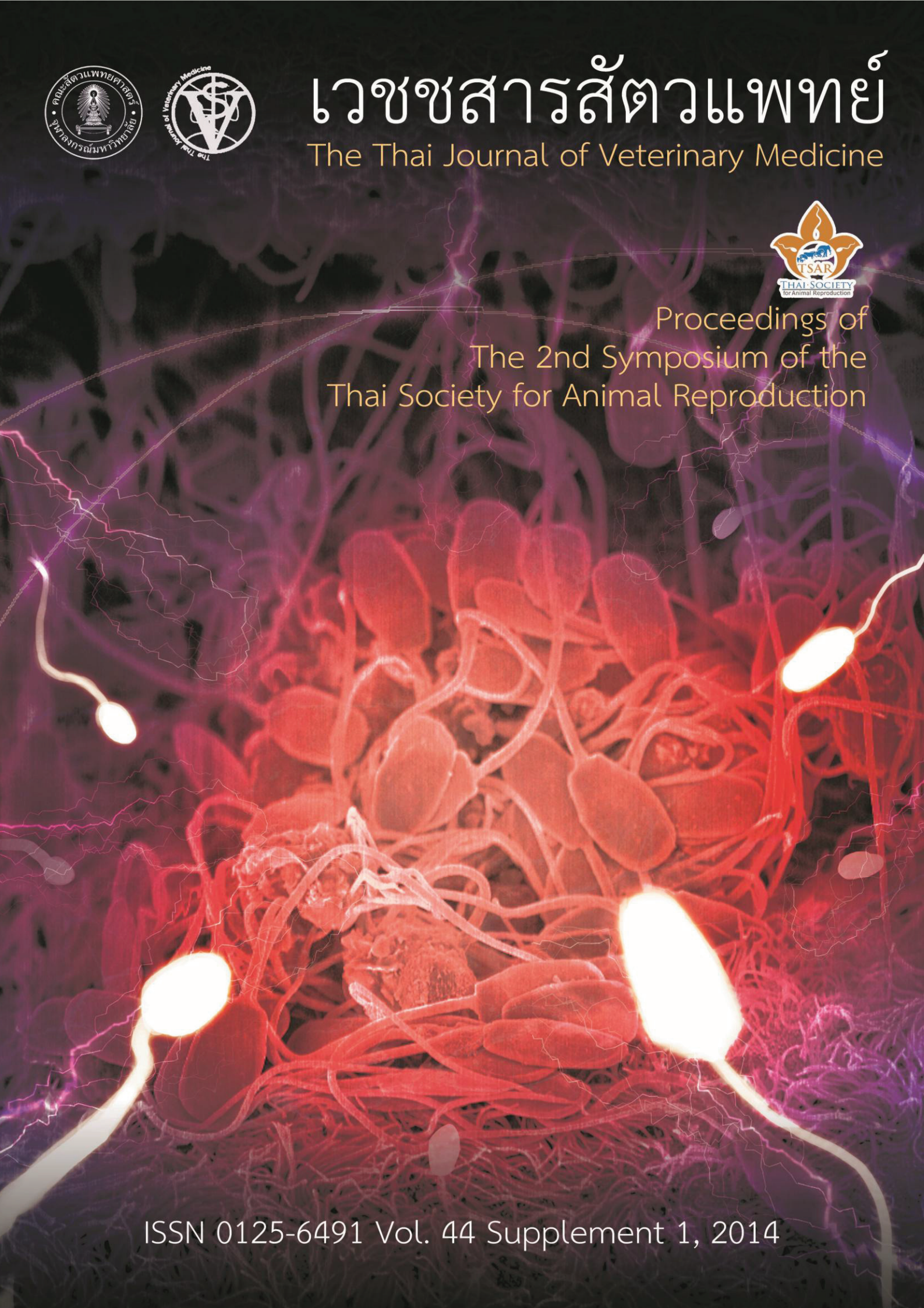
การประชุมวิชาการระดับชาติ

1. Pearodwong, P., Tantilertcharoen, R., Teankum, K., Tummaruk, P., 2013. Seasonal influence on porcine circovirus type 2 detection in Thailand during 2006-2010. Proc. 51th Kasetsart University Annual Conference, 5-7 February 2013, Bangkok, Thailand, 8 pages.
2. Pearodwong, P., Tantilertcharoen, R., Teankum, K., Tummaruk, P., 2013. Porcine circovirus detection associated with gilt's reproductive disturbance. 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. 327-329.
3. Pearodwong, P., Tantilertcharoen, R., Teankum, K., Tummaruk, P., 2014. PCR detection of porcine circovirus type 2 DNA in the ovarian and uterine tissues of gilts with reproductive disturbances. Thai J. Vet. Med. 44 (Suppl. 1): 133-134. (oral presentation)
4. Pearodwong, P., Teankum, K., Tummaruk, P., 2014. Long term antibody response after vaccination with PCV2 ORF2 subunit vaccine under field conditions in gilts and sows. Thai J. Vet. Med. 44 (Suppl. 1): 177-178.

เวชชสารสัตวแพทย์

The Thai Journal of Veterinary Medicine

Proceedings of
The 2nd Symposium of the
Thai Society for Animal Reproduction



ISSN 0125-6491 Vol. 44 Supplement 1, 2014

Review Article

Inducing Infectious Causes of Infertility in Swine in Thailand: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV), Aujeszky's Disease Virus (ADV), Porcine Parvovirus (PPV) and Porcine Circovirus Type 2 (PCV2)

Padet Tummaruk[1]* Pachara Pearodwong Em-on Olanratmanee

Abstract

The present study aims to review the prevalence of important reproductive diseases in swine commercial herds in Thailand with special emphasize on porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus (ADV), porcine parvovirus (PPV) and porcine circovirus type 2 (PCV2). Retrospective data in swine commercial herds in Thailand found that PRRSV and ADV were detected in approximately 80% and 5% of the pigs, respectively. Furthermore, in the replacement gilts, PRRSV, ADV and PPV were detected in 88%, 4% and 99%, respectively. Interestingly, in the gilts culled due to reproductive failure, the prevalence of PRRSV, ADV and PPV was 74%, 28%, and 86%, respectively. Additionally, recent studies found that artificial insemination (AI) with semen spiked with PCV2 in naïve sows causes reproductive failures, i.e., mummified fetuses and stillborn piglets. The reproductive failure associated with PCV2 can also be manifested as irregular return to estrus, abortion, and low litter size at birth. The review addressed that PPV is an enzootic disease in all of the herds and the replacement gilts are commonly exposed to PPV rather early in their lives. Replacement gilts were an important source of introducing PRRSV into the breeding herds. The prevalence of ADV was higher in gilts culled due to reproductive disturbance than in healthy gilts. Immunization of replacement gilts against PRRSV, PPV and maybe also PCV2, along with the elimination of ADV is the important issue in the swine breeding herds in Thailand.

Keywords: reproduction, health, disease, acclimatization, pig

[1]*Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand*
[2]*Faculty of Veterinary Medicine, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi 20110, Thailand*
***Corresponding author E-mail:** Padet.T@chula.ac.th*

Introduction

In general, the viral pathogens causing a large impact to the swine industry in Thailand during the last decade include classical swine fever virus (CSFV), foot and mouth disease virus (FMDV), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus (ADV), porcine parvovirus (PPV) and porcine circovirus type 2 (PCV2). The last four pathogens also contribute to reproductive disorders in gilts and sows (Maldonado et al. 2005). Nowadays, co-infection of these pathogens is commonly observed in the modern swine industry (López-Soria et al. 2010; Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). The co-infection in pigs may cause complicated clinical signs, e.g., porcine respiratory disease complex (PRDC) and post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) (Opriessnig et al. 2007). Although the influence of these complex diseases is well established in nursery and fattening pigs, information related to their influences on reproductive problems in gilts and sows are limited. Studies on the association among PPV, PRRSV, ADV and PCV2 may be important for investigation to understand the causes of reproductive failure in gilts raised in Thai swine herds (Tummaruk et al. 2009a). Therefore, this review aims to investigate the prevalence of viruses causing reproductive disorders from different groups of pigs in commercial swine herds in Thailand with special emphasis on PRRSV, ADV, PPV and PCV2.

Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), caused by the PRRSV, is one of the most important diseases in the pig production industry throughout the world (Zimmerman et al., 2006; Tummaruk et al., 2013). PRRS virus is an enveloped RNA virus that is divided into two genotypes, i.e., European (EU or type 1) and North American (NA or type 2) (Meng, 2000). The virus can infect many organs including the lung, liver, spleen, tonsil, lymph node, and uterus of pigs and remain in the tissue for many days (Benfield et al., 2000; Laohasittikul et al., 2004; Olanratmanee et al., 2011). PRRSV infection also causes reproductive failures in gilts and sows, e.g., increased return rate and abortion rate, decreased farrowing rate, increased percentage of mummified foetuses per litter, and increased percentage of stillborn piglets per litter (Chung et al., 1997; Olanratmanee et al., 2013). In addition, the number of weak-born piglets and sow mortality rate are also increased (Zimmerman et al., 2006). The major economic losses caused by the PRRSV in herds is mainly due to a decrease in the number of piglets weaned per sow per year, long farrowing intervals, and an increase in the replacement rate (Brouwer et al., 1994). Many management strategies including biosecurity system, acclimatisation of replacement gilts, serological profiling, and vaccination with inactivated and/or modified live virus (MLV) vaccines have been used to minimise the economic loss due to PRRS virus infection (Thanawongnuwech and Suradhat, 2010; Olanratmanee et al., 2013). However, in practice, a high variation in gilt and sow reproductive performance in the herds where PRRS-MLV vaccines have been implemented is still commonly found (Alexopoulos et al., 2005; Martelli et al., 2007; Olanratmanee et al., 2013). In Thailand, the PRRSV has been detected since 1989 (Damrongwatanapokin et al., 1996). Nowadays, the PRRSV of both genotypes 1 and 2 have been identified (Amonsin et al., 2009).

Our recent study on the herds monitoring data revealed that the percentage of PRRSV-positive pigs in swine commercial herds in Thailand during 2004-2007 was 79% (4,492/5,664 pigs) (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). Nevertheless, the proportion of PRRSV-positive pigs differed among years and herds. The prevalence of PRRSV was significantly increased year after year from 2004 to 2007 (from 65% to 88%). The prevalence of PRRSV was higher in fatteners (84%), gilts (83%), sows (82%) and boars (79%) than in nursery pigs (48%) (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012).

A serological survey in replacement gilts indicated that 88% of the gilts had antibody titer against PRRSV (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). The S/P ratio of the PRRSV-seropositive gilts varied from 0.428 to 3.673. The percentages of PRRSV-seropositive gilts before and after acclimatization were 84.0% and 92.0%, respectively. However, the percentage of PRRSV-seropositive gilts varied among herds from 55% to 100%. More specifically, in the pregnant gilts, the S/P ratio of PRRSV can vary from 0.03 to 3.7; 87% of them were PRRSV-seropositive (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012).

Our recent study based on PRRSV PCR detection in Thailand found that the strain of PRRSV isolated during 2005 to 2010 was genotype 2 (54.5%), genotype 1 (31.0%) and mixed genotypes (14.5%) (Tummaruk et al., 2013). It was found that PRRSV was detected by PCR 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 (Tummaruk et al., 2013).

Tummaruk and Tantilertcharoen (2012) found that the number of PRRSV-seropositive gilts was lower in those culled due to abnormal vaginal discharge than those culled from anestrus. The replacement gilts are an important source of introducing PRRSV into the breeding herds. However, only antibody titer (S/P ratio) might not be a good indicator for the existence of PRRSV in tissues or blood circulation of the pigs (Thanawongnuwech and Suradhat 2010; Olanratmanee et al. 2011). Olanratmanee et al. (2011) demonstrated that the virus could be found in the uterine tissue of the gilts with either high or low antibody titer. PRRSV antibody titer differed considerably among the herds.

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

Aujeszky's disease virus (ADV)

In 1995, a serological survey on glycoprotein I (gI) of ADV from 15 swine herds in Thailand indicated that 98% (597/608 samples) of the pig samples are positive (Wongwatcharadumrong and Platt 1995). It is known that the gI of ADV indicates natural infection (Mengeling et al. 1997). Therefore, monitoring of ADV gI-positive pigs in the herd is an important key for ADV elimination program. At the present time, the prevalence of ADV in Thailand has been declined because ADV vaccine is extensively used, together with the surveillance of ADV-gI is routinely performed. However, the prevalence of ADV causing different types of reproductive failure in gilts has never been investigated in Thailand. Recently, Tummaruk and Tantilertcharoen (2012) demonstrated that the percentage of ADV seropositive pigs from selected commercial herds was 5.3% (70/1332 pigs). However, the percentage of ADV-seropositive pigs varied among herds from 0 to 18%. Furthermore, it was found that the prevalence of ADV was higher in sows (11.9%), boars (4.6%) and nursery pigs (3.2%) than in gilts (0.0%) and fatteners (0.9%) (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). Across the herds, the prevalence of ADV also varied among years. The prevalence of ADV was 3.8%, 3.4%, 8.5% and 2.3% from 2004 to 2007, respectively (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). In replacement gilts, the antibody titer against ADV was found in 4.0% from a randomly selected gilts (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). Of the ADV-seropositive gilts, 2 out of 8 were observed before acclimatization, while the rest was observed after acclimatization (during pregnancy).

Porcine parvovirus (PPV)

In general, PPV antigen can be detected in the sow's serum after infection up to 10 days (Miao et al. 2009). PPV antibody titer varies between 1:32 and 1:512 after vaccination. However, it may reach 1:40960 within 19 days after challenging with field-strained PPV (Józvik et al. 2009). A high level of PPV antibody titer is commonly observed in both gilts and sows under field conditions. This is unlikely to be the result of PPV vaccination. Instead, it is associated with herd size, parity number and reused of storage open vials vaccine (Oravainen et al. 2005). In the Thai swine herds, the replacement and pregnant gilts were PPV-seropositive with a titer of ≥1:128 (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). Of these gilts, 99.0% had high PPV antibody titer (>1:512) and 97.0% had very high PPV titer (≥1:4096). High PPV titer was found in the gilts culled due to abnormal vaginal discharge more than the others (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). Under field conditions, the PPV antibody titer ranged from 1:32 to 1:32768 (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). It was found that 86.0% of the gilts had PPV antibody titer of >1:512 (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). Besides, 72% of them had PPV antibody titer of ≥1:4096. Interestingly, under field conditions, 75.5% of the culled gilts were exposed to at least two viruses, 18.9% of them were exposed to all the three viruses and 45.9% of them were exposed to both PRRSV and PPV.

Porcine circovirus type 2 (PCV2)

Porcine circovirus type 2 (PCV2) is a non-enveloped single stranded DNA virus containing 3 open reading frames(ORF), i.e., ORF1, ORF2, and ORF3 (Olvera et al., 2007). Up to date, the virus has been divided into at least five subtypes, i.e., PCV2a, PCV2b, PCV2c, PCV2d, and PCV2e (Jantafong et al., 2011; Trible et al., 2012; Buapaichit et al., 2013). In general, a single infection of PCV2 rarely induces clinical symptoms in pigs, however the virus is usually act as a primary causative agent of porcine circovirus-associated disease (PCVAD) (Opriessnig and Hulbur, 2012; Meng, 2013). PCVAD is referred as clinical symptoms involving PCV2 infection in pigs including postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS), porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS), enteric diseases, respiratory diseases, and reproductive disorders (Segalés, 2012). The clinical symptoms of PCVAD are varied depending on many factors, e.g., age, breed, immune systems, and concurrent infections

(Opriessnig et al., 2006; Opriessnig and Hulbur et al., 2012; Shen et al., 2012). Madson et al. (2009) found that artificial insemination (AI) with semen spiked with PCV2 in naïve sows causes reproductive failures, i.e., mummified fetuses and stillborn piglets. Interestingly, the virus can also be detected in up to 88% of the live-born piglets in sows experimentally challenged with PCV2 during AI (Madson et al., 2009). In addition, reproductive failure associated with PCV2 can also be manifested as irregular return to estrus, abortion, and low litter size at birth (Madson and Opriessnig, 2011). The PCV2 antigen is commonly detected in the myocardium of the dead fetuses by immunohistochemistry (IHC) (West et al., 1999). In Thailand, a study on PCV2 detection in PWMS pigs indicate that PCV2 DNA could be detected from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues of the pigs (Kiatipattanasukul-Bunlunara et al., 2002). Tummaruk et al. (2009) found that PCV2 antibody was detected in 10% of the PCV2 non-vaccinated gilts culled due to reproductive disturbance (e.g., anestrus and abnormal vaginal discharge). Furthermore, a co-infection between PCV2 and other viruses (e.g., porcine parvovirus (PPV), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), and Aujezsky's disease virus (ADV)) has also been reported (Kim et al., 2004).

General discussion

The present review provided information concerning with antibody titers against the selected reproductive diseases in the pigs raised in Thailand. It was found that most of the replacement gilts were exposed to PRRSV (84%), PPV (97%) and ADV (4%) before entering the breeding houses. Furthermore, up to 75.5% of the culled gilts were exposed to at least two viruses, and almost 20% of them were exposed to all the three selected viruses. The data in the culled gilts indicated that they had a relatively delayed age at first mating (265.5 days) and low ADG (461.3 gram/day) (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012). The gilts with a poor growth performance, as well as those with a delayed age at first mating might have health problems and/or had exposed to extremely hot and humid climates during their growing periods. Tummaruk et al. (2009b) demonstrated that the replacement gilts reared under tropical climate attained puberty at approximately 200 days of age, which is about 2 weeks later than those in Europe and North America (Karlbom 1982; Patterson et al. 2010). Furthermore, it has been demonstrated that the gilts with a superior ADG attained puberty earlier than those with inferior ADG (Tummaruk et al. 2009b). These data indicated that the health status of the gilts might, partially, influence their reproductive functions and subsequent reproductive performance.

Conclusions

Most of the replacement gilts were exposed to PRRSV (84%), PPV (97%) and ADV (4%) before entering the breeding house. PPV was an enzootic disease in all of the selected herds; the replacement gilts were commonly exposed to PPV rather early in their lives. Replacement gilts were an important source of introducing PRRSV into the breeding herds. The prevalence of ADV was higher in gilts culled due to reproductive disturbance than in healthy gilts. Recent data on PCV2 indicated that the PCV2 potentially caused reproductive failure in swine. Thus additional studies on PCV2 should be addressed. Practically, immunization of replacement gilts against PRRSV, PPV, and maybe also PCV2 along with the elimination of ADV was the important issue which should be addressed in the swine breeding herds in Thailand.

Acknowledgements

The financial support of these studies was mainly provided by The National Research Council of Thailand and partly by Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund, Chulalongkorn University.

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. Vet Microbiol. 111:151–157.

Buapaichit, K., Tuanthap, S., Yimpring, N., Assavacheep, P., Tantilertcharoen, R. and Wattanaphansak, S., 2013. Phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 from Thai swine finisher during 2012-2013. In: Proceedings 6th Asian Pig Veterinary Society Congress, Ho Chi Minh City, Vietnam, pp. 167.

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

Jantafong, T., Boonsoongnern, A., Poolperm, P., Urairong, K., Lekcharoensuk, C. and Lekcharoensuk, P. 2011. Genetic characterization of porcine circovirus type 2 in piglets from PMWS-affected and -negative farms in Thailand. Virol J. 8: 88.

Karlbom, I., 1982. Attainment of puberty in female pigs: Influence of boar stimulation. Anim Reprod Sci. 4: 313–319.

Kiatipattanasakul-Banlunara, W., Tantilertcharoen, R., Suzuki, K., Albarenque, S.M., Thanawomhnuwech, R., Nakayama, H. and Doi, K., 2002. Detection of porcine circovirus 2 (PCV-2) DNA by nested PCR from formalin-fixed tissues of post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) pigs in Thailand. J Vet Med Sci. 64: 449–452.

Kim, J., Jung, K. and Chae, C., 2004. Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. Vet Rec. 155: 489–492.

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.

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

Madson, D.M. and Opriessnig, T., 2011. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on reproduction: disease,vertical transmission, diagnostics and vaccination. Anim Health Res Rev. 12: 47–65.

Madson, D.M., Patterson, A.R., Ramamoorthy, S., Pal, N., Meng, X.J. and Opriessnig, T. 2009. Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. Vet Pathol. 46: 707–716.

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

Meng, X.J. 2013. Porcine circovirus type 2(PCV2): pathogenesis and interaction with the immune system. Annu Rev Anim Biosci.1: 43–64.

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

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

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

Olvera, A., Cortey, M. and Segalés, J., 2007. Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes:Phylogeny and clonality. Virology 357: 175–185.

Opriessnig, T. and Halbur, P.G. 2012. Concurrent infections are important for expression of porcine circovirus associated disease. Virus Res. 164: 20–32.

Opriessnig, T., Fenaux, M., Thomas, P., Hoogland, M.J., Rothschild, M.F., Meng, X.J. and Halbur, P.G. 2006. Evidence of breed dependent differences in susceptibility to porcine circovirus type-2-associated disease and lesions. Vet Pathol. 43: 281–93.

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

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

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

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

Segalés, J., 2012. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. Virus Res. 164: 10–19.

Shen, H.G., Loiacono, C.M., Halbur, P.G. and Opriessnig, T., 2012. Age-dependent susceptibility to porcine circovirus type 2 infections is likely associated with declining levels of maternal antibodies. J Swine Health Prod. 20: 17–24.

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

Trible, B.R. and Rowland, R.R. 2012. Genetic variation of porcine circovirus type 2 (PCV2) and its relevance to vaccination, pathogenesis and diagnosis. Virus Res. 164: 68–77.

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

Tummaruk, P., Surapat, P., Sriariyakun, S., Seemakram, O., Olanratmanee, E., Tantilertcharoen, R., 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. Trop Anim Health Prod. 45: 771–779.

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

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.

West, K.H., Bystrom, J.M., Wojnarowicz, C., Shantz, N., Jacobson, M., Allan, G.M., Haines, D.M., Clark, E.G., Krakowka, S., McNeilly, F., Konoby, C., Martin, K., Ellis, J.A. 1999. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. J Vet Diag Invest. 11: 530–532.

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

SEROLOGICAL RESPONSE OF GILT AND SOW AFTER FIELD VACCINATION WITH PCV2 ORF2 SUBUNIT VACCINE IN THAILAND

Pachara Pearodwong[1] Komkrich Teankum[2] Kridtasak Sang-Gassanee[3] Padet Tummaruk[1]*

[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction and [2]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, Thailand, [3]Intervet (Thailand) Ltd., 183 Rajanakarn Bldg., AA[th] Fl South Sathorn Rd., Yannawa, Sathorn, Bangkok, 10120, Thailand
Padet.t@.chula.ac.th

Keywords: Immunity, PCV2, Pig, Reproduction, Vaccine

Introduction

Porcine circovirus type 2 (PCV2) is a non-enveloped single stranded DNA virus containing 3 open reading frames (ORF1, ORF2 and ORF3) and can be divided into a and b subtypes[4]. In Thailand, PCV2b is predominated field isolate associated with porcine circovirus associated disease (PCVAD)[2]. Under field conditions, strategies to control PCVAD include either management or vaccination or both. In Thailand, PCV2 vaccine is commonly used in nursery pigs[5]. A previous study found that piglet mortality in the litter that comes from sows with high PCV2 antibody titer was lower than those from sows with low antibody titer[1]. This implies that maternal antibody may play an important role in PCVAD. To fulfill knowledge concerning the gilts and sows immunity against PCV2 under field conditions, information on serological response of PCV2 vaccination in gilts and sows is needed. The present study was performed to investigate serological response after PCV2 ORF2 subunit vaccination under field conditions in Thailand.

Materials and Methods

The present study was conducted in a commercial swine herd in the eastern region of Thailand between November 2012 and March 2013. PCV2 vaccination was used for the first time in gilts and sows by using PCV2 ORF2 subunit vaccine (Porcilis® PCV, Intervet International BV, The Netherlands). The gilts were vaccinated at 19 and 21 week of age and the sows were vaccinated at 12 week of pregnancy. Serum samples from 75 gilts and 90 sows were collected at 0, 2, 4 and 6 weeks of vaccination. All serums samples were tested for PCV2 antibody titers by an indirect enzyme-linked immunosorbent assay using a recombinant truncated capsid protein of PCV2[3]. Data were presented as mean±SD. Data analyses were carried out by multiple ANOVA. The statistical models included effects of group of animals (gilts and sow), weeks after vaccination (0, 2, 4 and 6) and interaction. Least square means was calculated and was compared among groups by LSD test. $P<0.05$ were considered statistically significant.

Results

Antibody titer against PCV2 at 0, 2, 4 and 6 weeks of PCV2 vaccination in gilts and sows are presented in Table 1.

Table 1 Antibody titer against PCV2 at 0, 2, 4 and 6 weeks of PCV2 vaccination in gilts and sows

Weeks after vaccination	Gilt (n=75)	Sow (n=90)
0	1.24±0.68[a]	1.03±0.28[a]
2	1.32±0.33[a]	1.55±0.31[b]
4	1.59±0.38[b]	1.67±0.25[b]
6	2.06±0.41[c]	1.95±0.29[c]

[a,b] different super script within column differed significantly ($P<0.05$)

Discussion and Conclusions

A recent study has found that PCV2-seropositive gilts can be infected with PCV2 after intrauterine exposure of the virus via artificial insemination[6]. Furthermore, PCV2 positive fetuses were found in the animal with low anti-PCV2 titer before insemination[6]. Under filed conditions, a huge variation of anti-PCV2 titer was observed in both gilts and sows. This might be a risk factor causing a high variation on the passive immunity against PCV2 of the piglets. The present study demonstrated that vaccination PCV2 in both gilts and sows significantly increased the antibody titers of the animals within 2-4 weeks of vaccination. Enhancing the gilts and sow immunity against PCV2 may, at least in part, reduced the risk of transplacental infection and hence minimize the number of PCV2 infected fetuses. In conclusion, PCV2 vaccination in gilts and sows significantly increased antibody titer against PCV2 within 2-4 weeks after vaccination.

Literature cited

1. Calsamiglia M. et al. 2007. Res Vet Sci 82:299-304.
2. Jittimanee S. et al. 2011. Thai J Vet Med 41:163-169.
3. Jittimanee S. et al. 2012. J Vet Diagn Invest 24:1129-1132.
4. Olvera A. et al. 2007. Virology 357:175-185.
5. Paphavasit T. et al. 2009. Thai J Vet Med 39:145-155.
6. Sarli, G. et al. 2012. Acta Vet Scand 54:51.

PORCINE CIRCO VIRUS TYPE 2 ASSOCIATED WITH THE INFILTRATION OF IMMUNE CELLS IN THE ENDOMETRIUM OF GILTS WITH VULVA DISCHARGE SYNDROME

Pachara Pearodwong[1] Chutimun Limsaranrom Yanika Wangpeerawong Phajongporn Phetpa Atitaya Jaisomkhom Rachod Tantilertcharoen[2] Padet Tummaruk[1]*

[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand; [2]Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand
Padet.t@.chula.ac.th
Keywords: Endometritis, Immune, PCV2, Pig, Reproduction

Introduction

Porcine circovirus type 2 (PCV2) is a small DNA virus associated with reproductive failures, e.g., irregular return to estrus, pregnancy failure, abortion and reduced litter size[1]. The present study investigates the prevalence of PCV2 detection in the uterus of gilt and determines association between local immune cells infiltration in the endometrium and the PCV2 detection in gilts culled due to vulva discharge syndrome.

Materials and Methods

In total, 32 genital organs were collected from gilts culled due to vulva discharge syndrome. The samples were fixed in 10% neutral buffer formalin for 48 h, processed in an automatic tissue processor and embedded in a paraffin block. The paraffin embeddings were cut and submitted for DNA extraction. The viral DNA was extracted by using a commercial extraction kit (NucleoSpin® RNA virus, Germany). The forward primer sequence was ATG CCC AGC AAG AAG AAT GGA AGA AG and reverse primer sequence was AGG TCA CTC CGT TGT TGT CCT TGA GAT C. The PCR condition consisted of denaturing at 95 ºC for 20 sec, annealing at 55 ºC for 30 sec and extension at 72 ºC for 45 sec. The procedure was repeated for 35 cycles to amplify 350 bp product. After expanding process, the products were run on the 2% agarose gel in tris-borate EDTA buffer, stained with RedSafeTM nucleic staining solution (iNtRON Biotechnology, Inc., Switzerland), and visualized under a UV trans-illuminator. Local immune cells, i.e., neutrophils, lymphocytes, eosinophils, macrophages, and plasma cells in subepithelial connective tissue layers of the endomeytrium were quantified under light microscope in 20 randomly microscopic fields per endometrial layer. The number of immune cells counted was reported as the total number of cells per 20 microscopic fields (312,500 μm^2, 400x). Data were presented as mean±SD. The data were compared by using student *t*-test.

Results

PCV2 was detected in 43.8% (14/32 samples) of the uterine tissue of the gilts. The infiltrations of local immune cells in the sub-epithelial layer of the endometrium of gilts associated with PCV2 detection are presented in Table 1. As can be seen from the table, eosinophils was significantly reduced in the endometrium of gilts contained PCV2. Other local immune cells, i.e., neutrophils, lymphocyte, macrophage and plasma cells were not difference between the endometrium with and without PCV2 detection (Table 1).

Table 1 Infiltration of local immune cells in the endometrium of gilts (mean±SEM) in relation to PCV2 detection

Local immune cells	PCV2 detection		*P* value
	Negative (n=18)	Positive (n=14)	
Neutrophils	53.1±16.1	61.4±28.7	0.791
Lymphocytes	47.4±9.1	91.1±32.9	0.220
Macrophage	2.0±0.9	1.9±1.0	0.965
Eosinophils	49.9±14.2	17.7±5.4	0.046
Plasma cells	39.5±11.6	74.9±26.3	0.235

Discussion and Conclusion

Endometritis contributed up to 14% of the gilts culled due to reproductive failure in Thailand[3]. In the present study, PCV2 antigen was detected in 43.8% of the uterine tissue in gilts culled due to vulva discharge syndrome. Furthermore, number of eosinophils in the subepithelial layer of the endometrium tended to be reduced in the uterine tissue containing PCV2 antigen. This may be caused by an immunosuppressive condition in the uterus of gilts infected by PCV2. Therefore, PCV2 infection in replacement gilts may be one of the primary cause or predisposing factor of vaginal discharge syndrome in replacement gilts.

Literature cited

1. Sarli, G. et al. 2012. Acta Vet Scand 54:51.
2. Teamsuwan, Y. et al. 2010. Thai J Vet Med 40:31-40.
3. Tummaruk, P. et al. 2009. Theriogenology 71:369-375.

อิทธิพลของฤดูกาลต่อการตรวจพบเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในประเทศไทย ระหว่างปี ค.ศ. 2006-2010

Seasonal influence on porcine circovirus type 2 detection in Thailand during 2006-2010

พชระ เพียรอดวงษ์[1] รชฎ ตันติเลิศเจริญ[2] คมกฤช เทียนคำ[3] เผด็จ ธรรมรักษ์[1]

Pachara Pearodwong[1] Rachod Tantilertcharoen[2] Komkrich Teankum[3] Padet Tummaruk[1]

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของฤดูกาลต่อการตรวจพบเชื้อเซอร์โคไวรัส ชนิดที่ 2 ในสุกรของประเทศไทย ในช่วงปี ค.ศ. 2006-2010 ข้อมูลประกอบด้วยตัวอย่างจากสุกรที่ส่งตรวจหาเชื้อเซอร์โคไวรัสที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 1,276 ตัวอย่าง เชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ถูกตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลประวัติและวิเคราะห์ความถี่ของการตรวจพบเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรในแต่ละเดือน (มกราคม-ธันวาคม) และ ปี (2006-2010) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สมการถดถอยโลจิสส์ติก ทำการคำนวณค่าเฉลี่ยลิสสแคว์และเปรียบเทียบโดยวิธี LSD ผลการศึกษาพบเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในปี ค.ศ. 2006-2010 เท่ากับ 40.2% 65.2% 40.5% 41.2% และ 54.0% ตามลำดับ โดยพบเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกร ปี ค.ศ. 2007 สูงกว่าปี ค.ศ. 2006 2008 และ 2009 อย่างมีนัยสำคัญ ผลการตรวจพบเชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกร ตั้งแต่ เดือนมกราคม-ธันวาคม เท่ากับ 41.3% 34.2% 51.9% 46.3% 47.4% 43.7% 38.9% 50.2% 51.9% 65.0% 46.7% และ 46.6% ตามลำดับ โดยเฉลี่ยตรวจพบเชื้อเซอร์โคไวรัสในเดือนตุลาคมสูงกว่าเดือนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นความถี่ของการตรวจพบเชื้อเซอร์โคไวรัส ชนิดที่ 2 ในประเทศไทยในช่วง 5 ปี ที่ผ่านมา โดยพบมากที่สุดในปี ค.ศ. 2007 การตรวจพบเชื้อเซอร์โคไวรัสมีความแตกต่างกันในแต่ละเดือนบ่งชี้ว่าฤดูกาลมีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของเชื้อเซอร์โคไวรัสในฟาร์มสุกร

Key words: pig, porcine circovirus type 2, season, Thailand

e-mail address: Pachara.Pea@student.chula.ac.th

[1]ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

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

[2]หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[2]*Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330*

[3]*ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330*

[3]*Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330*

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate influence of season on porcine circovirus type 2 (PCV2) detection in Thailand during 2006-2010. The data included 1276 PCV2 samples submitted for PCV2 detection at the Chulalongkorn University-Veterinary Diagnostic Laboratory from 2006-2010. The historical data of each sample were collected and frequency analysis was used to determine the frequency of PCV2 detection in different months (January-December) and years (2006-2010). Logistic regression analysis was used to analyse the percentage data among months and years. Least squares means were obtained and were compared by using LSD test. It was found that the detection of PCV2 during 2006-2010 was 40.2%, 65.2%, 40.5%, 41.2% and 54.0% respectively. The PCV2 detection in 2007 was significantly higher than that found in 2006, 2008 and 2009 ($P<0.05$). PCV2 detection from January to December was 41.3%, 34.2%, 51.9%, 46.3%, 47.4%, 43.7%, 38.9%, 50.2%, 51.9%, 65.0%, 46.7% and 46.6% respectively. On average, the PCV2 detection in October (65.0%) was significantly higher than other months. This result revealed the frequency of PCV2 detection in Thailand during the past 5 years, which was highest in 2007. The PCV2 detection differed among months of the years, indicating that season may influence the PCV2 distribution in swine herds.

INTRODUCTION

Porcine circovirus type2 (PCV2) is known to be associated with many pathogens and causes many clinical signs in pig, e.g., post weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) (Ellis et al., 1999), porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) (Saoulidis et al., 2002), necrotic enterocolitis (Zlotowski et al., 2009) and PCV2-associated reproductive failure (Opreissnig et al., 2007). Under field conditions, PCV2 associated reproductive failures included abortion, stillbirth, fetal mummification and increased piglets pre-weaning mortality (West et al., 1999). Experimentally, intrauterine administration of PCV2 causes fetal death between 42 and 105 days of gestation (Madson et al., 2009).

During the last decade, a relatively high prevalence of PCV2-associated disease has been reported in many countries worldwide, e.g., 31-41% in England (Grierson et al., 2004), 47% in North America (Shen et al., 2010), 100% in Germany (Reiner et al., 2010), 9.8% in Australia (Raye et al., 2005), 23% in Japan (Kawashima et al., 2007) and 50% in Korea (Kim et al., 2011). In Thailand, PCV2 has been reported for the first time in 1999 in nursery pigs (Tantilertcharoen et al., 1999) and a retrospective study on PCV2 detection in the paraffin-embedded tissue revealed that the virus has been observed in Thailand since 1993 (Kiatipattanasakul-Banlunara et al., 2002). Recently, a phylogenetic analysis of PCV2 in Thailand revealed that based on field isolates of PCV2 in Thailand, all of the virus were categorized in PCV2b subtype (Jantafong et al., 2011; Jittimanee et al., 2011). However, study concerning the prevalence of PCV2 in Thailand associated with season and year has not been done.

The objectives of the present study were to determine the prevalence of PCV2 in pigs in Thailand during 2006-2010 associated with season.

MATERIALS AND METHODS

1. Data

The data were collected from Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Thailand (CU-VDL) during 2006-2010. Historical data of each sample were collected and scrutinized for correctness. The data included 1,276 samples (661 serums, 25 semen and 574 pooled organs) from nursery pig, grower-finisher pig, sow and boar from 26 provinces in Thailand. PCV2 detection was performed within 24 hours after the samples arrival using polymerase chain reaction.

2. Polymerase Chain reaction

The viral DNA was extracted by using a NucleoSpin® tissue kit manufacturer's instruction and was tested for the presence of ORF1 gene. The forward primer sequence was ATG CCC AGC AAG AAG AAT GGA AGA AG and reverse primer sequence was AGG TCA CTC CGT TGT TGT CCT TGA GAT C. The polymerase chain reaction (PCR) condition consisted of denaturing at 95 ^{o}C for 20 second, annealing at 55 ^{o}C for 30 second and extension at 72 ^{o}C for 45 second. The procedure was repeated for 35 cycles to amplify 370 bp product. After expanding process, the products were run on the 2% agarose gel in tris-borate EDTA buffer and stained with Ethidium bromide and visualized under a UV trans-illuminator.

3. Statistical analysis

Frequency analysis was used to analyse and describe the frequency of PCV2 detection in different months (January-December) and years (2006-2010). The data were presented as percentage. Logistic regression analysis was used to analyse the percentage data among months and years. Least squares means were obtained and were compared by using least significant different test. The differences with $P<0.05$ were considered statistically significant.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Detection of porcine circovirus type 2

The percentage of PCV2 detection from 2006 to 2010 are presented in Table 1

Table 1 The detection of porcine circovirus type 2 from samples submitted to the Veterinary Diagnostic Laboratory, Chulalongkorn University from 2006 to 2010

Year	Number of sample	Number of positive sample	Percentage of positive sample
2006	261	105	40.2[a]
2007	184	120	65.2[b]
2008	326	132	40.5[a]
2009	194	80	41.2[a]
2010	311	168	54.0[c]

[a,b,c] different superscript within column differ significantly ($P<0.05$)

As can be seen from Table 1, the frequency of PCV2 detection was highest in 2007 (65.2%). The percentage of PCV2 detection by months is presented in Table 2. As can be seen from the table, the percentage of PCV2 detection varied among months of the years. On average, the prevalence of PCV2 detection was highest in October (Table 2).

Table 2 The percentage of porcine circovirus type 2 detection from samples submitted to the Veterinary Diagnostic Laboratory, Chulalongkorn University by months

Month	Number of sample	Number of positive sample	Percentage of positive sample
January	75	31	41.3[bc]
February	79	27	34.2[cd]
March	77	40	51.9[bd]
April	41	19	46.3[bc]
May	97	46	47.4[b]
June	112	49	43.7[bc]
July	136	53	38.9[c]
August	189	95	50.2[b]
September	127	66	51.9[b]
October	103	67	65.0[a]
November	107	50	46.7[bc]
December	133	62	46.6[bc]

[a,b,c,d] One letter in common did not differ significantly ($P>0.05$)

The percentage of PCV2 detection during 2006-2010 in this study confirm the previous evidence of PCV2 detections from both clinical cases (Tantilertcharoen et al., 1999) and from paraffin embedded tissue section (Kiatipattanasakul-Banlunara et al., 2002). Furthermore, this implies that PCV2

is still a problem in the Thai swine industry. It is well established that a PCV2 seropositive or infected pigs have to receive some contributing factors such as co-infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine parvovirus (PPV) or bacterial infection to generate the clinical symptoms of PCV2 associated disease (PCVAD) (Rovira et al., 2002; Opriessnig et al., 2004; Sharma and Saikumar 2010; Wieland et al., 2012). In Thailand during 2005-2008, the prevalence of PRRSV was 73-87% in replacement gilt (Tummaruk and Tantilertcharoen 2012). Such a high prevalence of PRRSV may contribute to PCVAD. Moreover, other farm management factors, such as the isolation of sick piglets and poor replacement management, can also enhance PCVAD in the swine herd (Alarcon et al., 2011.)

The relationship between season and PCV2 detection has not been investigated before. The percentage of PCV2 detection in Thailand was high from August to October and in March. An increase of the PCV2 detection may contribute to an inferior litter size at birth of pigs and high mummified fetuses that usually found among the pregnant gilts and sows during rainy seasons (Tummaruk et al., 2004; 2010). The high daily temperature and relative humidity may cause moderate and chronic stress in some animal. The animals that are under stress conditions are easily infected by many pathogens that persist in the environment. Previous studies have demonstrated that PCV2 is highly resists to disinfectants and heat treatment. For instance, using formaldehyde or 70% ethyl alcohol for 10 min cannot effectively reduce the viral titer (Royer et al., 2001). Formaldehyde fumigation effectively inactivates PCV2 at a contact time over 12 h (Kim et al., 2009). These data indicated that PCV2 may be persist in environments in many swine herds and transmitted to the pig by many pathways. It has been shown that transmission of the PCV2 among pigs can be occurred by exposure to many types of secretion, e.g., nasal secretion, saliva, urine and feces from PCV2 infected pigs (Segalés et al., 2005). This information implies that poor sanitation swine herds may lead to a high transmission and distribution of PCV2 both within and between herds. In the present study, a high percentage of PCV2 detection was found in rainy and hot season. This indicated that season may influence the distribution and transmission of PCV2 among swine herds in Thailand.

CONCLUSION

The detection of PCV2 indicates that PCV2 is still a problem in the Thai swine industry during the past 5 years. Awareness of PCV2 infection as well as PCV2-associated disease prevention and control should be raised. A high prevalence of PCV2 during rainy (i.e., August to October) and hot (i.e., March) seasons implies that hot and humid climates may contribute to the existence and the transmission of the virus in the swine herds in Thailand.

REFERENCES

Alarcon, P., Velasova, M., Mastin, A., Nevel, A., Stärk, K.D.C., Wieland, B. 2011. Farm level risk factors associated with severity of post-weaning multi-systemic wasting syndrome. **Preventive Veterinary Medicine**. 101: 182-191.

Ellis, J., Krakowka, S., Lairmore, M., Haines, D., Bratanich, A., Clark, E., Allan, G., Konoby, C., Hassard, L., Meehan, B., Martin, K., Harding, J., Kennedy, S. and McNeilly, F. 1999. Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic piglets. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. 11: 3-14.

Grierson, S.S., King, D.P., Sandvik, T., Hicks, D., Spencer, Y., Drew, T.W. and Banks, M. 2004. Detection and genetic typing of type 2 porcine circoviruses in archived pig tissues from the UK. **Archives of Virology**. 149: 1171-1183.

Jantafong, T., Boonsoongnern, A., Poolperm, P., Urairong, K., Lekcharoensuk, C. and Lekcharoensuk, P. 2011. Genetic characterization of porcine circovirus type 2 in piglets from PMWS-affected and negative farms in Thailand. **Virology Journal**. 8: 88.

Jittimanee, S., Nuntawan Na Ayudhya, S., Kedkovid, R., Teankum, K. and Thanawongnuwech, R. 2011. Genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 in Thai pigs with porcine circovirus associated diseases (PCVAD) during 2007-2010. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**. 41: 163-169.

Kawashima, K., Katsuda, K. and Tsunemitsu, H. 2007. Epidemological investigation of the prevalence and features of postweaning multisystemic wasting syndrome in Japan. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. 19: 60-68.

Kiatipattanasakul-Banlunara, W., Tantilertcharoen, R., Suzaki, K., Albarenque, S.M., Thanawongnuwech, R., Nakayama, H., Doi, H. and Doi, K. 2002. Detection of porcine circovirus 2 (PCV-2) DNA by nested PCR from formalin-fixed tissues of post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) pigs in Thailand. **The Journal of Veterinary Medical Science**. 64: 449-452.

Kim, H.B., Lyoo, K.S. and Joo, H.S. 2009. Efficacy of different disinfectants in vitro against porcine circovirus type 2. **The Veterinary Record**. 164: 599-600.

Kim, D., Ha, Y., Oh, Y. and Chae, C. 2011. Prevalence of porcine circovirus types 2a and b in pigs with and without post-weaning multi-systemic wasting syndrome. **The Veterinary Journal**. 188: 115-117.

Madson, D.M., Patterson, A.R., Ramamoorthy, S., Pal, N., Meng, X. J. and Opriessnig, T. 2009. Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. **Veterinary Pathology**. 46: 707-716.

Opriessnig, T., Thacker, E.L., Yu, S., Fenaux, M., Meng, X.-J. and Halbur, P.G. 2004. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2. **Veterinary Pathology**. 41: 624-640.

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

Raye, W., Muhling, J., Warfe, L., Buddle, J.R., Palmer, C. and Wilcox, G.E. 2005. The detection of porcine circovirus in the Australian pig herd. **Australian Veterinary Journal**. 83: 300-304.

Reiner, G., Bronnert, B., Hohloch, C., Fresen, C. Haack, I., Willems, H. and Reinacher, M. 2010. Qualitative and quantitative distribution of PCV2 in wild boars and domestic pigs in Germany. **Veterinary Microbiology**. 145: 1-8.

Rovira, A., Balasch, M., Segalés, J., García, L., Plana-Durán, J., Rosell, C., Ellerbrok, H., Mankertz, A. and Domingo, M. 2002. Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. **Journal of Virology**. 76: 3232-3239.

Royer, R.L., Nawagitgul, P., Halbur, P.G. and Paul, P.S. 2001. Susceptibility of porcine circovirus type 2 to commercial and laboratory disinfectants. **Journal of Swine Health and Production**. 9: 281-284.

Saoulidis, K., Kyriakis S. C., Kennedy, S., Lekkas, S., Miliotis, CH. C., Allan, G., Balkamos, G. C. and Papoutsis, P. A. 2002. First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome in pigs in Greece. **Journal of Veterinary Medicine**. 49: 202-205.

Segalés, J., Calsamiglia, M., Olvera, A., Sibila, M., Badiella, L. and Domingo, M. 2005. Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in serum and tonsillar, nasal, tracheo-bronchial, urinary and faecal swabs of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). **Veterinary Microbiology**. 111: 223-229.

Sharma, R. and Saikumar, G. 2010. Porcine parvovirus- and porcine circovirus 2-associated reproductive failure and neonatal mortality in crossbred Indian pigs. **Tropical Animal Health and Production**. 42: 515-522.

Shen, H., Wang, C., Madson, D.M. and Opriessnig, T. 2010. High prevalence of porcine circovirus viremia in newborn piglets in five clinically normal swine breeding herds in North America. **Preventive Veterinary Medicine**. 97: 228-236.

Tantilertcharoen, R., Kiatipattanasakul, W. and Thanawongnuwech, R. 1999. A report of circovirus infection in pigs in Thailand. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**. 29: 73-83.

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 sow in Thailand. **Journal of Veterinary Medical Science**. 66: 477-482.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A. 2010. Seasonal influences on the litter size at birth of pigs are more pronounced in the gilt than sow litters. **Journal of Agricultural Science**. 148: 421-432.

Tummaruk, P. and Tantilertcharoen, R. 2012. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome, Aujezsky's disease, and porcine parvovirus in replacement gilts in Thaiand. **Tropical Animal Health and Production**. 44: 983-989.

West, K.H., Bystrom, J.M., Wojnarowicz, C., Shantz, N., Jacobson, M., Allan, G.M., Haines, D.M., Clark, E.G., Krakowka, S., McNeilly, F., Konoby, C., Martin, K. and Ellis, J.A. 1999. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. 11: 530-532.

Wieland, B., Werling, D., Nevel, A., Grierson, S., Rycroft, A., Demmers, T.G., Cook, A.J.C., Done, S.H., Armstrong, D., Wathes, C. M. 2012. Porcine circovirus type 2 infection before and during an outbreak of postweaning multisystemic wasting syndrome on a pig farm in the UK. **Veterinary Record**. 170: 596.

Zlotowski, P., Corrêa, A.M.R., Barcellos, D.E.S.N., Cruz, C.E.F., Asanome, W., Barry, A.F., Alfieri, A.A. and Driemeier, D. 2009. Intestinal lesions in pigs affected with postweaning multisystemic wasting syndrome. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**. 28: 313-318.

Porcine circovirus type 2 detection associated with gilt's reproductive disturbances

Pachara Pearodwong[1]* Rachod Tantilertcharoen[2] Komkrich Teankum[3] Padet Tummaruk[1]

[1]*Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand*
[2]*Veterinary Diagnostic Laboratory, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, Thailand 10330*
[3]*Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330*
*Corresponding author e-mail address: Pachara.Pea@student.chula.ac.th
Keywords: Pig, PCV2, Reproduction, Ovary, Uterus

Introduction

Today, many reproductive disturbances have been found to be related to PCV2 infection [6,12]. PCV2 has been detected in oocyte, oviduct, follicular fluid and uterus [1]. PCV2 infection in the female genital organs often leads to embryonic loss [7]. The PCV2 inoculation into an amniotic cavity leads to the spread of the virus to other fetuses [10]. Gross lesions of the PCV2 infected fetus include subcutaneous oedema, abdominal distension, haemorrhage and enlargement of the liver [10]. The cells that often contain PCV2 consist of cardiomyocyte and macrophage [11]. This infection leads to mummification, abortion and stillborn piglets [4].

PCV2 infection has been found in swine breeding herds without clinical symptoms [12]. A previous study found that PCV2 causes arteritis in tubaric branches of ovarian artery [5]. However, only few studies have been focused on swine reproductive disorders in relation to PCV2 [5, 9]. The present study aims to determine the relationship between reproductive disorders in replacement gilts and the detection of PCV2 in the female genital organs (i.e., ovary and uterus).

Materials and method

General management. Herds in the present study were located in the northeastern and middle parts of Thailand. The number of sow-on-production was 3000 and 3500 heads, respectively. The sows were kept in a conventional open-housing system. The heat stress was reduced by using a water sprinklers and fans. Both herds produced replacement gilts and used their own grandparent stock. The health of the animals was monitored by veterinarians. The gilts were vaccinated against foot-and-mouth disease, classical swine fever, Aujeszky's disease, and porcine parvovirus between 154 and 210 days of age. No PCV2 vaccination has been done in these herds. Gilts were kept in each pen with a group size of 10-15 gilts per pen with a density of 1.5-2.0 m^2 per gilt. The herds were recommended to breed the replacement gilts at 224 days of age onwards with a body weight of at least 130 kg at the second or later observed oestrus. The mating technique for all herds was performed by artificial insemination.

Samples collection. In total, 58 tissue samples from ovary (n=29) and uterus (n=29) were collected from slaughtered gilts (n=29). The samples were fixed in 10% neutral buffer formalin for 48 h before paraffin embedment. The uterine tissues were processed in an automatic tissue processor (Histokinette2000 automatic tissue processor, Reichert-Jung, London, UK). Each sample was embedded in a paraffin block using an embedding instrument (Tissue-Tek TEC, Sakura, Tokyo, Japan). The paraffin embeddings were cut by blade (ASTRA®, Gillette, Russia) and submitted for DNA extraction.

DNA extraction and PCV2 detection. The paraffin-embedded tissue (0.01 gram) was deparafinized by xylene and ethanol, and stored at -20 ºC. The viral DNA was extracted by using a commercial extraction kit (NucleoSpin® RNA virus, MACHEREY-NAGEL, Germany). The forward primer sequence was ATG CCC AGC AAG AAG AAT GGA AGA AG and reverse primer sequence was AGG TCA CTC CGT TGT TGT CCT TGA GAT C. The PCR condition consisted of denaturing at 95 ºC for 20 sec, annealing at 55 ºC for 30 sec and extension at 72 ºC for 45 sec. The procedure was repeated for 35 cycles to amplify 350 bp product. After expanding process, the products were run on the 2% agarose gel in tris-borate EDTA buffer, stained with RedSafeTM nucleic staining solution (iNtRON Biotechnology, Inc., Lucerna-Chem AG., Luzern, Switzerland), and visualized under a UV trans-illuminator.

Serological test of PCV2 antibody. PCV2 antibody was tested by using a commercial competitive enzyme-linked immunosorbent assay test kit (SERELISA® PCV2 Ab Mono Blocking, Synbiotics, Lyon, Cedex, France). Briefly, the average of optical density (OD) of serum sample/OD of negative control (S/N) ratio was calculated to PCV2 titer. The PCV2 titer below 350 indicated no PCV2 antibody in serum.

Statistical analysis. The statistical analyses were carried out by using SAS (SAS Institute Inc., 2002). Categorical data were expressed as percentage and were compared by using Chi-square test. Continuous data were presented as mean±SD.

The data were compared by using student *t*-test. $P<0.05$ were considered statistically significant.

Result and Discussion

The gilts were culled due to anoestrus (n=14), abortion (n=5), repeated service (n=5) and vaginal discharge (n=5). The age and body weight at culling was 153±21 kg and 285±40 days, respectively.

PCV2 was detected by 41% (12/29) of the uterus and 38% (11/29) of the ovary. The percentage of PCV2 detection by reproductive problem is presented in Table 1.

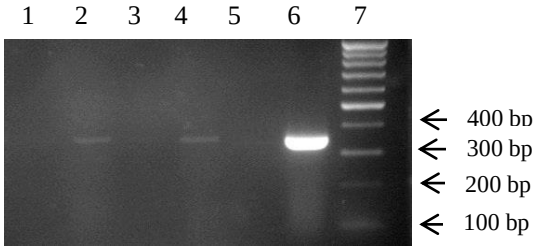


Figure 1. Polymerase chain reaction of ORF1 PCV2, lane 1, negative and lane 6, positive control, lane 2 and 4, PCV2 positive samples, and lane 7, 100 bp DNA ladder.

Table 1. Percentage of PCV2 detection in uterine and ovarian tissues by reproductive problems

Reproductive Problem	PCV2 positive	
	Uterus	Ovary
Anoestrus	36% (5/14)	36% (5/14)
Abortion	60% (3/5)	60% (3/5)
Repeated service	20% (1/5)	40% (2/5)
Vaginal discharge	60% (3/5)	20% (1/5)

PCV2 was detected in both the uterus with gross lesions, e.g., abscess (1/1), congestion and edema (7/17), and normal uterus (4/7), and in both normal ovary (8/20) and the ovary with pathological lesions, e.g., follicular haemorrhage (1/2) and multiple cyst (2/5). This was in agreement with PCV2 detection in the fresh ovary and uterus in sows [1]. Cardiomyocytes, hepatocytes and macrophages are target cells of PCV2 in fetus, while only macrophage is a target cell of PCV2 in post-natal pigs [11]. PCV2 could also induce apoptosis of lymphocyte [2]. Macrophage was found in both uterus and ovary in all stages of oestrus cycle [14]. Thus, the detection of PCV2 in both the uterus and ovary was not surprised. However, the association between PCV2 detection and reproductive problems has not been investigated before. Previous study demonstrated that PCV2 caused acute and chronic vasculitis of ovarian arteries [5]. In the present study, PCV2 was detected in gilts with various reproductive problems. Recent study found that PCV2 was detected by 6.0% of the uterus, in which the most common gross pathology was endometritis [9].

PCV2 antibody titer is presented in Table 2. PCV2 antibody titer varied from 150 to 2484. In general, PCV2 antibody could be detected within 7 days post-infection and specific antibody rose 2-3 week thereafter [13]. In the present study, antibody titer in PCR-negative-ovarian-tissue gilts was higher than it was in PCR-positive-ovarian-tissue gilts ($P=0.004$). Meerts et al. [8] found that low neutralizing antibody titer was associated with increasing of PCV2 replication. These indicated that gilts with low antibody titer and/or those with PCV2 positive might have had viral replication and maybe subsequently cause reproductive disturbances.

Table 2. PCV2 antibody titer of gilts that had PCV2 in uterus and/or ovary

Organ	PCV2 antibody titer	
	PCR positive	PCR negative
Uterus	1283 ± 851^{a}	1517 ± 923^{a}
Ovary	951 ± 567^{a}	1669 ± 954^{b}

[a,b] Different superscript within row differ significantly ($P<0.05$)

In conclusion, PCV2 was detected by 41% of the uterus and 38% of the ovary of gilts culled due to reproductive disturbances. Gilts with positive PCV2 detection in the ovarian tissue had a lower PCV2 antibody titer than those with negative PCV2 detection in the ovarian tissue.

Reference

1. Bielanski, A., et al., 2004. Vet. Rec. 155: 597-598.
2. Gauger, P.C., et al. 2011 Vet. Microbiol. 154: 185-190.
3. Kiatipattanasakul-Banlunara, W., et al., 2002. J. Vet. Med. Sci. 64: 449-452.
4. Kim, J., et al., 2004. Vet. Rec. 155: 489-492.
5. Langohr, I. et al., 2010. Vet. Pathol. 47: 140-147.
6. Madson, D. M. and Opriessnig, T. 2011. Anim. Health Res. Rev. 12: 47-65.
7. Mateusen, B., 2007. Theriogenology. 68: 896-901.
8. Meerts, P., et al., 2005. Viral Immunol. 18: 333-341.
9. Ritterbusch, G.A. et al., 2012. Res. Vet. Sci. 92: 519-523.
10. Saha, D., et al., 2010. Vet. Microbiol.145: 62-68.
11. Sanchez, R.E., et al., 2003. Vet. Microbiol. 95: 15-25.
12. Segalés, J., et al., 2012. Virus Res. 164: 10-19.
13. Steiner, E., et al., 2009. BMC Vet. Res. 5: 45.
14. Teamsuwan, Y., et al., 2010. Thai J. Vet. Med. 40: 31-40.

PCR detection of porcine circovirus type 2 DNA in the ovarian and uterine tissues of gilts with reproductive disturbances

Pachara Pearodwong[1] Rachod Tantilertcharoen[2] Komkrich Teankum[3] Padet Tummaruk[1]*

[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, [2]Veterinary Diagnostic Laboratory, [3]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand
*Corresponding author: Pachara.Pea@student.chula.ac.th

Keywords: Pig, PCV2, Reproduction, Ovary, Uterus

Introduction

Porcine circovirus type 2 (PCV2) is the main causative agent of porcine circovirus-associated disease (PCVAD) (1). The PCVAD involves many clinical symptoms in pigs including reproductive failure. The common features of PCV2 associated reproductive failure consists of abortions, stillbirth and mummification (2). Furthermore, PCV2 has also been detected in the oocyte, oviduct, follicular fluid and uterus of the sows under experimental conditions (3). However, under filed conditions, the PCV2 has often been detected in swine breeding herds without any clinical symptoms (4). To our knowledge, no comprehensively study on the association between reproductive disorders and PCV2 DNA detection in replacement gilts has been done. The objective of the present study was to determine the association between reproductive disorders in replacement gilts and the detection of PCV2 DNA in their ovarian and uterine tissues.

Materials and methods

In total, 172 paraffin-embedded tissues from 70 ovaries and 102 uteri of slaughtered gilts obtained from our previous study (5) were included. The gilts were culled due to anoestrus (n=28), abortion (n=7), repeated service (n=7), abnormal vaginal discharge (n=40), and non-reproductive causes (n=20). The age and body weight at culling was 280±37 days and 144±18 kg, respectively. The paraffin embed tissues were cut by sterile blade and submitted for DNA extraction processes. The viral DNA was extracted by using a commercial extraction kit (NucleoSpin® RNA virus, MACHEREY-NAGEL, Germany). PCV2 detection was carried out by PCR technique. The forward primer sequence was ATG CCC AGC AAG AAG AAT GGA AGA AG and reverse primer sequence was AGG TCA CTC CGT TGT TGT CCT TGA GAT C. The PCR condition consisted of denaturing at 95 ºC for 20 sec, annealing at 55 ºC for 30 sec and extension at 72 ºC for 45 sec. The procedure was repeated for 35 cycles to amplify 350 bp product.

The statistical analyses were carried out by using SAS. Categorical data were expressed as percentage and were compared by using Chi-square test. $P<0.05$ were considered statistically significant.

Result and Discussion

PCV2 was detected in 45% (46/102) of the uterus and in 30% (21/70) of the ovary.

The percentages of PCV2 DNA detection in the ovarian and uterine tissues of the gilts classified by a noticed clinical symptom of the gilts before culling (i.e., the reason for culling) are presented in Table 1 and 2, respectively.

Table 1 Percentage of PCV2 detection in uterine tissues of gilts (n=102) by clinical symptom

Clinical symptom	n	PCV2 positive uterus
Anestrus	28	15 (53%) [a]
Abortion	7	6 (85%) [c]
Repeated service	7	2 (28%) [ab]
Vaginal discharge	40	19 (47%) [ac]
Non-reproductive	20	4 (20%) [b]

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

Table 2 Percentage of PCV2 detection in ovarian tissues of gilts (n=70) by clinical symptom

Clinical symptom	n	PCV2 positive ovary
Anestrus	28	9 (32%) [a]
Abortion	7	4 (57%) [a]
Repeated service	7	1 (14%) [a]
Vaginal discharge	8	2 (25%) [a]
Non-reproductive	20	5 (25%) [a]

Different superscript within column differ significantly ($P<0.05$)

PCV2 was detected in both normal (17/46) uteri and in uteri with congenital abnormality (22/41), endometritis (6/9), and miscellaneous (1/6). Likewise, the PCV2 DNA was also found both the normal ovaries (14/53) and in the ovary with, single cyst (1/5), multiple cyst (4/9), and miscellaneous (2/3). This wis in agreement with PCV2 DNA detection in the fresh ovaries and uteri in sows (3). Thus, the detection of PCV2 in both the uteri and ovaries was not surprised. Nevertheless, this finding confirmed a strong

association between PCV2 and reproductive disturbances in gilts. A previous study found that PCV2 caused acute and chronic vasculitis of ovarian arteries (6). In the present study, PCV2 DNA was detected in gilts with various reproductive problems. This indicated the risk of PCV2 associated reproductive failure in the replacement gilts under filed conditions. Additional studies should be carried out to carefully determine the influence of the PCV2 DNA on the ovarian and uterine function of replacement gilts.

In conclusion, PCV2 DNA was detected in 45% of the uterus and in 30% of the ovary of gilts culled due to reproductive disturbances under field conditions.

Acknowledgement

National Research Council of Thailand.

Reference

1. Meng, 2013. Annu Rev Anim Biosci. 1:43-64.
2. Madson et al., 2009. Vet Pathol. 46: 707-716.
3. Bielanskiet al., 2004. Vet Rec. 155: 597-598.
4. Segalés et al., 2012. Virus Res. 164: 10-19.
5. Tummaruk et al., 2009. Theriogenology 71:369-375.
6. Langohr et al., 2010. Vet Pathol. 47: 140-147.

Long term antibody response after vaccination with PCV2 ORF2 subunit vaccine under field conditions in gilts and sows

Pachara Pearodwong[1], Komkrich Teankum[2], Padet Tummaruk[1]*

[1]Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, [2]Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand
Corresponding author: Pachara.Pea@student.chula.ac.th

Keywords: Immunity, PCV2, Pig, Reproduction, Vaccine

Introduction

Porcine circovirus type 2 (PCV2) is a non-enveloped single stranded DNA virus containing 3 open reading frames (ORF1, ORF2 and ORF3) and can be divided at least five subtypes a, b, c, d and e (1). PCV2 is the primary causative agent of porcine circovirus–associated disease (PCVAD). In Thailand, PCV2b is predominated field isolate of PCVAD (2). Under field conditions, strategies to control PCVAD include either management or vaccination or both. In Thailand, PCV2 vaccine is commonly used in nursery pigs (3). A previous study found that piglet mortality in the litter that comes from sows with high PCV2 antibody titer was lower than those from sows with low antibody titer (4). This implies that maternal antibody may play an important role in PCVAD. To fulfill knowledge concerning the gilts and sows immunity against PCV2 under field conditions, information on a long term serological response of PCV2 vaccination in gilts and sows is required. The objective of the present study was to investigate a long term serological response after PCV2 ORF2 subunit vaccination under field conditions in gilts and sows.

Materials and Methods

The present study was conducted in a commercial swine herd in the eastern part of Thailand between November 2012 and June 2013. PCV2 vaccination was used for the first time in gilts and sows by using PCV2 ORF2 subunit vaccine (Porcilis® PCV, Intervet International BV, The Netherlands). The gilts were vaccinated at 19 and 21 week of age and the sows were vaccinated at 84 days of gestation. Serum samples from 125 gilts and 127 sows were collected at 0, 2, 4, 6, 12, 16 and 20 weeks after vaccination. All serums samples were tested for PCV2 antibody titers by an indirect enzyme-linked immunosorbent assay using a recombinant truncated capsid protein of PCV2 (5). Data were presented as mean±SD. Data analyses were carried out by multiple ANOVA. The statistical models included effects of group of animals (gilts and sow), weeks after vaccination (0, 2, 4, 6 12, 16, and20) and interaction. Least square means was calculated and was compared among groups by LSD test. $P<0.05$ were considered statistically significant.

Results and Discussion

Antibody titer against PCV2 at 0, 2, 4, 6, 12, 16 and 20 weeks after vaccination in gilts and sows are presented in Table 1.

Table 1 Antibody titer against PCV2 at 0, 2, 4, 6, 12, 16 and 20 weeks of PCV2 vaccination in gilts and sows (LSmeans±SEM)

Weeks after vaccination	Gilt (n=125)	Sow (n=127)
0	1.24±0.62^{ae}	1.03±0.28^{b}
2	1.32±0.33^{ac}	1.54±0.30^{ac}
4	1.59±0.38^{b}	1.67±0.25^{ac}
6	2.06±0.41^{g}	1.95±0.28^{ad}
12	0.96±0.03^{ad}	1.09±0.13^{b}
16	1.17±0.38^{a}	1.67±0.26^{ace}
20	1.38±0.26^{af}	1.74±0.24^{a}

^{a,b,c,d,e,f,g} different super script within column differed significantly ($P<0.05$)

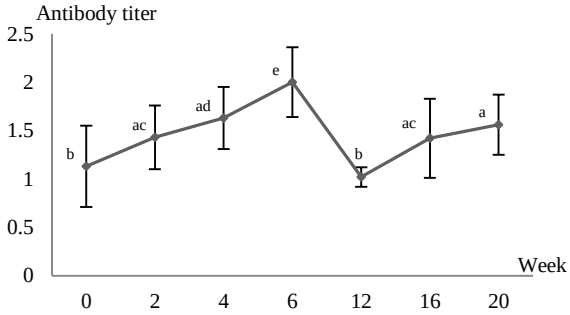


Figure 1 Antibody titer against PCV2 at 0, 2, 4, 6, 12, 16 and 20 weeks of PCV2 vaccination in females

A recent study has found that PCV2-seropositive gilts can be infected with PCV2 after intrauterine exposure of the virus via artificial insemination (6). Furthermore, PCV2 positive fetuses were found in the animal with low anti-PCV2 titer before insemination (6). Under filed conditions, a huge variation of anti-PCV2 titer was observed in both gilts and sows. This might be a risk factor causing a high variation on the passive immunity against PCV2 of the piglets. The present study

demonstrated that vaccination PCV2 in both gilts and sows significantly increased the antibody titers of the animals within 2-4 weeks of vaccination then increase to the highest level at the sixth week of vaccination. Enhancing the gilts and sow immunity against PCV2 may, at least in part, reduced the risk of transplacental infection and hence minimize the number of PCV2 infected fetuses. In conclusion, PCV2 vaccination in gilts and sows significantly increased antibody titer against PCV2 within 2-4 weeks after vaccination.

Acknowledgement

National Research Council of Thailand

References

1. Buapaichit K. et al. 2013. In: Proceedings 6th Asian Pig Veterinary Society Congress, Ho Chi Minh City, Vietnam, pp. 167.
2. Jittimanee S. et al. 2011. Thai J Vet Med 41:163-169.
3. Paphavasit T. et al. 2009. Thai J Vet Med 39:145-155.
4. Calsamiglia M. et al. 2007. Res Vet Sci 82:299-304.
5. Jittimanee S. et al. 2012. J Vet Diagn Invest 24:1129-1132.
6. Sarli, G. et al. 2012. Acta Vet Scand 54:51.

Prevalence of porcine circovirus type 2 detection in aborted fetuses, mummified fetuses, and stillborn piglets in swine commercial herds in Thailand

*Pachara Pearodwong[1] Em-on Olanratmanee[2] Rachod Tantilertcharoen[1] Padet Tummaruk[1]**

[1]Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand
[2]Faculty of Veterinary Medicine, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi, 20110, Thailand
*Corresponding author e-mail address: Padet.t@chula.ac.th
Keywords: Fetus, PCV2, Reproduction, Thailand

Introduction

Porcine circovirus type 2 (PCV2) is known to be associated with many pathogens and causes various clinical symptoms including PCV2 associated reproductive failures (2,3). The common reproductive disorders associated with PCV2 include abortion, stillbirth, mummified fetuses and piglets pre-weaning mortality. In Thailand, PCV2 associated with postweaning multisystemic wasting syndrome has been reported for the first time in 1999 (4). However, study concerning an occurrence of PCV2 associated reproductive failure in Thailand has not been done. The objective of the present study was to determine the frequency of PCV2 detection in aborted fetuses, mummified fetuses, and stillborn piglets in swine commercial herds in Thailand.

Materials and Methods

Aborted fetuses (n=14), mummified fetuses (n=17), and stillborn piglets (n=9) were collected from fields during 2010-2011 (Figure 1). The detection of PCV2 DNA was carried out by polymerase chain reaction (PCR) method (Figure 2). Visceral organs of the fetuses including lymph node, spleen, liver, and lung were pooled and were used for the PCV2 detection. The crown rump length (CRL) of the fetuses was measured to determine the fetal age. The age of the death fetuses was classified as mid (31 to 70 days, n=7) and late (71 to 115 days, n=22) stages of gestation. The frequency of PCV2 detection was compared between types of the fetuses (aborted, mummified, and stillborn) and between the fetal age class (mid and late). The comparisons were made by using Fisher's exact test.

Results and Discussion

It was found that PCV2 DNA was detected in 92.5% (37/40) of the tissue samples. The PCV2 DNA was detected in 92.8% (13/14) of aborted fetuses, 94.1% (16/17) of mummified fetuses, and 88.8% (8/9) of stillborn piglets (P>0.05). The PCV2 DNA was detected both during mid (6/7) and late (20/22) stages of gestation (86.0% and 91.0%, P>0.05).

The present study revealed that trans-uterine infection of PCV2 in pregnant gilts and sows is commonly occurred under field conditions. Furthermore, a co-infection between PCV2 and other viruses (e.g., PPV, PRRSV, and ADV) has also been reported (1). These findings indicate that PCV2 is one of the most common viral pathogens that could lead to reproductive failures in pregnant gilts and sows in swine commercial herds in Thailand. In conclusions, PCV2 was frequently detected in all type of the death fetuses both during mid and late stages of gestation.

Figure 1 Aborted fetuses, stillborn piglets and mummified fetuses

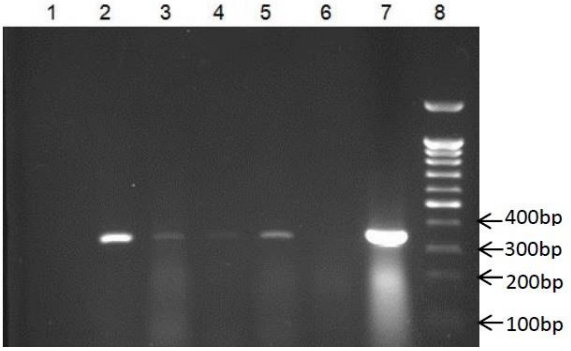


Figure 2 PCR of ORF1 PCV2, lane 1 (negative control), lane 2-5 (positive samples), lane 6 (negative sample), lane 7 (positive control) and lane 8, 100 bp DNA ladder.

Acknowledgements

National Research Council of Thailand.

References

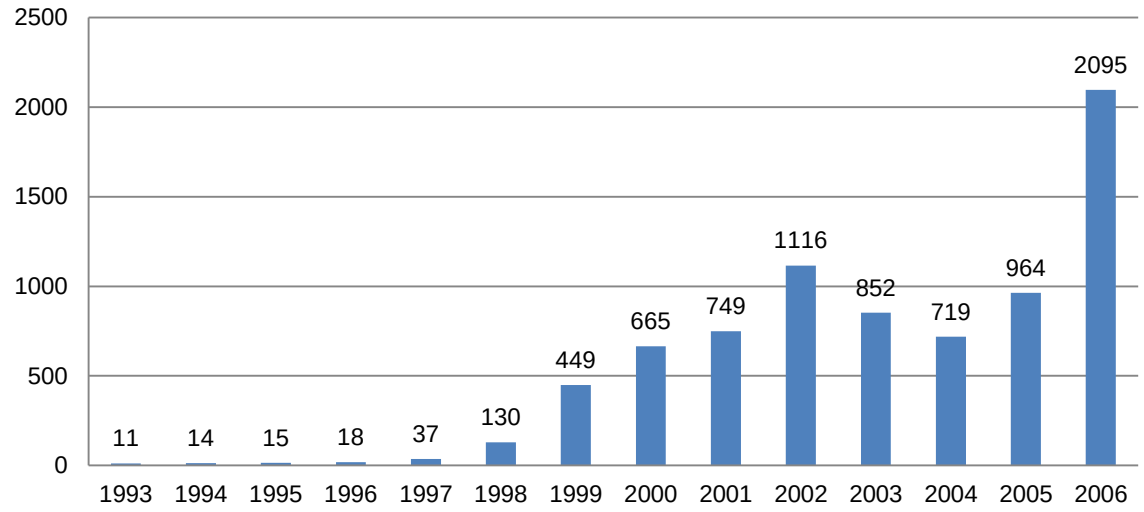
1. Kim, J., et al., 2004. Vet. Rec. 155: 489-492.
2. Madson, D.M. and Opriessnig, T. 2011. Anim. Health Res. Rev. 12: 47-65.
3. Segalés, J., et al., 2012. Virus Res. 164: 10-19.
4. Tantilertcharoen, R., et al., 1999. Thai J. Vet. Med. 29: 73-83.

ความเป็นมาของโรคเซอร์โคไวรัสในสุกร

น.สพ. พชระ เพียรอดวงษ์
รศ.น.สพ.ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์

เซอร์โคไวรัสเป็นไวรัสที่อยู่ในวงศ์เซอร์โควิริดี(circoviridae)ไม่มีเยื่อหุ้มเซลล์(non enveloped virus) มีขนาดเล็กประมาณ 15-17 นาโนเมตร มีโปรตีนห่อหุ้ม(capsid protein) มีสารพันธุกรรมเป็นวงดีเอ็นเอสายเดี่ยว สามารถทำให้เกิดโรคเซอร์โคไวรัสในสุกรได้(porcine circovirus associated disease, PCVAD)

เชื้อเซอร์โคไวรัสในสุกรสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ เซอร์โคไวรัสชนิดที่ 1 (PCV1) และ ชนิดที่2 (PCV2) โดยPCV1 ถูกตรวจพบและรายงานตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1974 จากการปนเปื้อนอยู่กับเซลล์เพาะเลี้ยงไตสุกร (porcine kidney,PK-15)แต่ PCV1 ไม่ก่อโรคในสุกร (Tischer et al., 1986) ต่อมาใน ปีค.ศ.1991พบการเกิดขึ้นของกลุ่มอาการซูบผอมเรื้อรังในสุกร (post-weaningmultisystemic wasting syndrome, PMWS) ในประเทศแคนานดา (Clark, 1996)ภายหลังจากพบอย่างเป็นครั้งคราว(sporadic case) ในทวีปยุโรป เช่น ประเทศอังกฤษ (Grierson et al., 2004)จากนั้นจึงมีรายงานอุบัติการณ์ของโรค PMWS ตามมาอีกหลายประเทศเช่นสหรัฐอเมริกา (Kiupel et al., 1998) สเปน (Segalés et al., 1997) ฝรั่งเศส (LeCann et al., 1997) อังกฤษ ไอร์แลนด์เหนือ นิวซีแลนด์ (Allan et al., 1999)ซึ่งจากการตรวจย้อนหลัง(retrospective identification) ของประเทศที่มีการรายงานการเกิด PMWS พิสูจน์พบว่ากลุ่มอาการ PMWS มีความเกี่ยวข้องกับเชื้อPCV2 โดยพบว่าเชื้อ PCV2 อยู่ในประเทศเหล่านั้นก่อนเกิดการอุบัติการของโรค PMWS ในประเทศเบลเยี่ยมพบเชื้อPCV2 ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1969 อังกฤษ ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1970 ไอร์แลนด์ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1973 แคนาดาและสเปน พบตั้งแต่ ค.ศ. 1985 (Opriessnig et al., 2007) และจากนั้นได้เกิดการระบาดของ PCV2 ในประเทศแคนาดาแถบตะวันออกในช่วงปี ค.ศ. 2004-2008ตามมา(Poljak et al., 2010)ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมสามารถแบ่งเชื้อPCV2 ออกเป็น 2 ชนิด คือ PCV2a และ PCV2b (Carman et al., 2006)ซึ่งเชื้อPCV2a พบในสุกรป่วยในช่วงปี ค.ศ.1986-2003 ส่วนเชื้อPCV2b พบมากในการระบาดของโรค PMWS ในช่วงปี ค.ศ. 2004-2005



*รูปที่ 1*แสดงจำนวนตัวอย่างที่ได้ผลบวกต่อ PCV2 ในแต่ละปีจากห้องปฏิบัติการวินิจฉัยโรคทางสัตวแพทย์มหาวิทยาลัยแห่งมลรัฐไอโอวา(Veterinary Diagnostic Laboratory at Iowa State University) (Opriessnig et al., 2007)

สำหรับการรายงานแนวโน้มการเกิดโรคเซอร์โคไวรัสในสุกรนั้น รายงานจากประเทศสหรัฐอเมริกามีรายงานของตัวอย่างที่ตรวจพบ PCV2แนวโน้มสูงขึ้นในช่วงตั้งแต่ปี 1993-2006 (Opriessnig et al., 2007) (รูปที่ 1)

เชื้อ PCV2 เป็นสาเหตุให้เกิดกลุ่มอาการต่างๆในสุกรได้หลายชนิด เช่น ปัญหาPMWSและ อาการต่อมน้ำเหลืองโตทั่วร่างกาย(generalize lymphadenopathy) (Allan et al., 1999; Sorden, 2000)การติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจซับซ้อน(porcine respiratory disease complex, PRDC)มีอาการปอดบวมและมีเนื้อตาย (proliferative and necrotizing pneumonia) ในสุกรขุน (Kim et al., 2003; Grau-Roma and Segalés, 2007) และ การชักแต่กำเนิดในลูกสุกร(congenital tremors) (Stevenson et al., 2001)อาการผิวหนังและไตอักเสบ (porcine dermatitis and nephropathy syndrome, PDNS) (Saoulidis, et al., 2002) ลำไส้อักเสบแบบมีเนื้อตาย (necrotic enterocolitis) (Zlotowski et al., 2008) เป็นต้น

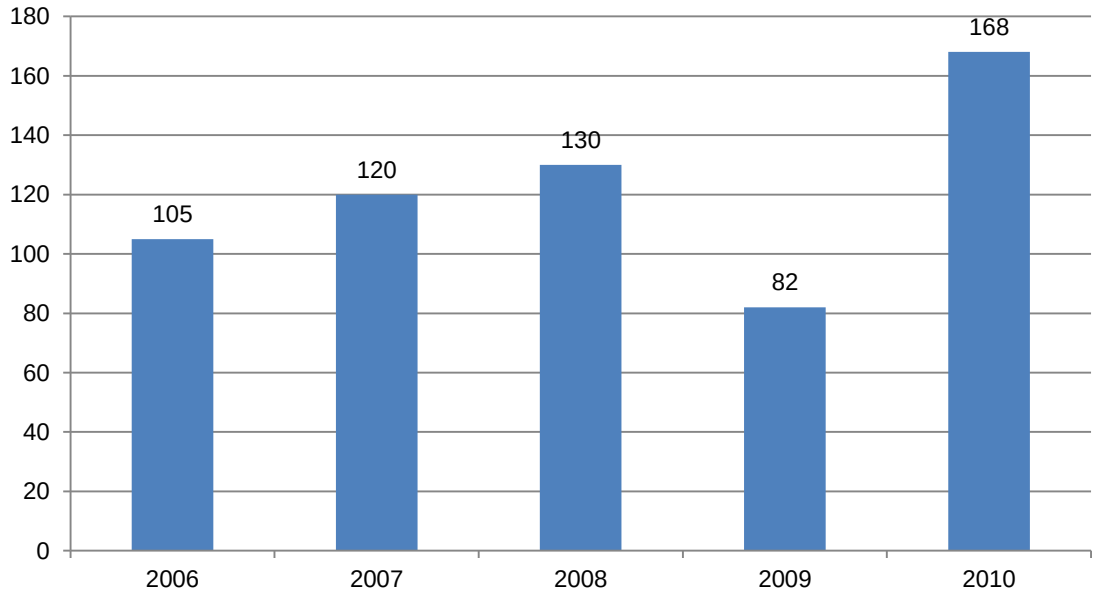
การติดเชื้อ PCV2 นั้นบางครั้งสุกรจะป่วยแต่ไม่แสดงอาการเป็นการติดเชื้อแบบซ่อนเร้น ดังนั้นการติดเชื้อ PCV2 ในแม่สุกรนั้นอาจทำให้แสดงอาการแท้งหรือไม่ก็ได้แต่จะสามารถแพร่เชื้อให้แก่ลูกได้ซึ่งมีการสำรวจพบความเกี่ยวข้องระหว่างลูกสุกรแท้งในทุกช่วงอายุกับ PCV2 ถึง 13% (46/350)(Kim et al., 2004) ซึ่งสอดคล้องกับที่มีรายงานว่าเชื้อPCV2 สามารถก่อให้เกิดกลุ่มอาการความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ (reproduction failure)เช่น ท้องเทียม (pseudopregnancy) แท้ง(abortion) ลูกเกิดเป็นมัมมี่ (fetal mummification) ลูกตายแรกคลอด(stillbirth) และ เพิ่มอัตราการตายก่อนหย่านม(pre-weaning mortality) (West et al., 1999)

จากการทดลองตรวจชิ้นเนื้อของลูกสุกรแท้งพบรอยโรคกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ(non-suppurative to necrotizing myocarditis)พบเชื้อPCV2 ในรอยโรคนั้นและจากการทำการทดลองฉีดเชื้อเข้ามดลูก (intrauterine infection of fetus)พบว่าเนื้อเยื่อที่เชื้อ PCV2 เข้าไปแบ่งตัวมากคือกล้ามเนื้อหัวใจของลูกสุกร (West et al., 1999; Saha et al., 2010) และ ระยะเวลาในการติดเชื้อ(infection)ที่ตัวอ่อนที่ต่างกันนั้นก็ทำให้ผลต่อตัวอ่อนต่างกันด้วย คือ ช่วงแรกของการอุ้มท้อง(early stage of gestation) มักทำให้เกิดการตายของตัวอ่อน (embryonic death)ในช่วงกลาง(mid stage of gestation) มักเกิดการตายแบบมัมมี่

(mummified fetus)และ ระยะท้าย(late stage of gestation) จะทำให้เกิดการตายแบบมัมมี่ แท้ง ลูกอ่อนแอแรกคลอด ตายแรกคลอด (West et al., 1999) และคลอดช้ากว่ากำหนด(Ladekjær-Mikkelsen et al., 2001) ส่วนรายงานเกี่ยวกับพยาธิกำเนิด(pathogenesis) ตลอดจนรอยโรคเกี่ยวกับอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ เช่น รังไข่และมดลูกนั้นยังไม่เคยมีการวิจัยที่ชัดเจน

สำหรับซอร์โคไวรัสในประเทศไทยนั้นมีรายงานสุกรป่วยด้วย PCV2ครั้งแรกที่จังหวัดนครปฐม (Tantilertcharoen et al., 1999) ต่อมาจึงได้มีการชันสูตรซากสุกรที่สงสัยติดเชื้อ PCV2 ในช่วงปี ค.ศ.2001-2003 พบผลบวก 38%(50/129) อวัยวะที่ให้ผลบวกมากสุดคือต่อมน้ำเหลือง 40%(35/86) จากการศึกษานี้ยืนยันว่าเชื้อPCV2 ในสุกรเป็นปัญหาที่มีความสำคัญในประเทศไทย (Kiatipattanasakul-Banlunara et al., 2002) สำหรับการวิจัยเกี่ยวกับเชื้อPCV2 ในประเทศไทยยังขาดข้อมูลในหลายๆด้าน เช่น ความชุก (prevalence)ระบาดวิทยา การควบคุมและป้องกันโรค พยาธิกำเนิด และผลกระทบของการติดเชื้อ PCV2 ในสุกรสาวทดแทนต่ออวัยวะในระบบสืบพันธุ์ของสุกร จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเป็นข้อมูลที่จะใช้ประโยชน์ในการควบคุมป้องกันปัญหาที่เกิดจากโรคนี้ต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรต่อไป

จากการรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นของผู้เขียนจากผลการตรวจพบเชื้อ PCV2 ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR)จากตัวอย่างที่ส่งตรวจที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยระหว่างปี ค.ศ.2006-2010 ได้ผลดังรูปที่ 2



*รูปที่2*แสดงจำนวนตัวอย่างที่ได้ผลบวกต่อเชื้อPCV2 ระหว่างปี ค.ศ. 2006-2010จากหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่2แสดงให้เห็นว่าในช่วงปี ค.ศ. 2006-2010 เชื้อ PCV2 เป็นเชื้อไวรัสในสุกรที่พบได้บ่อยชนิดหนึ่งในประเทศไทยแต่อย่างไรก็ตามควรต้องมีการวิเคราะห์ทางสถิติถึงความสัมพันธ์ของข้อมูลเหล่านี้ต่อไปในอนาคตนอกจากนี้ข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษาถึงผลของเชื้อPCV2 ต่ออวัยวะในระบบสืบพันธุ์ของแม่สุกรนั้นยังมีไม่มาก เช่น ผลกระทบต่อรังไข่และคุณภาพของไข่การเจริญของฟอลลิเคิลมดลูกและต่อมน้ำเหลืองที่ใกล้กับอวัยวะสืบพันธุ์ อวัยวะเหล่านี้ล้วนส่งผลกระทบต่อความสำเร็จในการผสมพันธุ์และการตั้งท้องทั้งสิ้น แม่สุกร

เป็นส่วนสำคัญในการผลิตลูกสุกรให้ได้ตามเป้าหมายจึงควรศึกษาถึงผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ดังกล่าวเพื่อเป็นข้อมูลในการควบคุมและป้องกันโรคนี้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Allan, G.M., McNeilly, F., Meehan, B.M., Kennedy, S., Mackie, D.P., Ellis, J.A., Clark, E.G., Espuna, E., Saubi, N., Riera, P., Botner, A. and Charreyree, C.E. 1999. Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. Vet. Microbiol. 66: 115-123.

Carman, S., McEwen, B., DeLay, J., van Dreumel, T., Lusis, P., Cai, H. and Fairles, J. 2006. Porcine circovirus-2 associated disease in swine in Ontario(2004 to 2005). Can. Vet. J. 47: 761-762.

Clark, E. 1996.Post-weaning multisystemic wasting syndrome. In: Proceeding of the Western Can. Assoc. Swine Pract. 19-20.

Grau-Roma,L.and Segalés, J., 2007.Detection of porcine reproductiveand respiratory syndromevirus, porcine circovirus type 2, swine influenza virus andAujeszky's disease virus in cases of porcine proliferativeand necrotizing pneumonia (PNP).Spain Vet.Microbiol. 119: 144–151.

Grierson, S.S., King, D.P., Sandvik, T., Hicks, D., Spencer, Y., Drew, T.W.andBanks, M. 2004. Detection and genetic typing of type 2 porcine circoviruses in archived pig tissues from the UK. Arch. Virol. 149:1171–1183.

Kiatipattanasakul-Banlunara, W., Tantilertcharoen, R., Suzaki, K., Albarenque, S.M., Thanawongnuwech, R., Nakayama, H., Doi, H. and Doi, K. 2002.Detection of porcine circovirus 2 (PCV-2) DNA by nested PCR from formalin-fixed tissues of post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) pigs in Thailand. J. Vet. Med. Sci. 64: 449-452.

Kim, J., Chung, H.-K.andChae, C. 2003. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. Vet. J. 166: 251–256.

Kim, J., Jung, K. and Chae, C. 2004. Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. Vet. Rec. 155: 489-492.

Kiupel, M.G., Stevenson,W., Mittal, S. K., Clark, E. G. and Haines, D. M. 1998.Circovirus-like viral associated disease in weaned pigs in Indiana. Vet. Pathol. 35: 303-307.

Ladekjær-Mikkelsen, A.S., Nielsen, J., Storgaard, T., Bøtner, A., Allan, G. and McNeilly, F. 2001.Transplacental infection with PCV-2 associated with reproductive failure in a gilt. Vet. Rec. 148: 759–760.

LeCann, P., Albina, E., Madec, F., Cariolet, R.andJestin, A.1997.Piglet wasting disease. Vet. Rec. 141: 660.

Opriessnig, T., Meng, X.-J.andHalbur, P.G. 2007. Porcine circovirus type 2–associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. J. Vet. Diagn. Invest. 19: 591–615.

Poljak, Z., Dewey, C. E., Rosendal, T., Friendship, R. M., Young, B. andBerke, O. 2010. Spread of porcine circovirus associated disease (PCVAD) in Ontario (Canada) swine herds: Part I. exploratory spatial analysis. BMC Vet. Res. 6:59.

Saha, D., Lefebvre, D.J., Van Doorsselaere, J., Atanasova, K. Barbe, F., Geldhof, M., Karniychuk, U.U. and Nauwynck, H.J. 2010.Pathologic and virologic findings in mid-gestational porcine fetuses after experimental inoculation with PCV2a or PCV2b. Vet.Microbiol. 145: 62–68.

Saoulidis, K., Kyiakis, S.C., Kennedy, S., Lekkas, S., Miliotis, Ch.C., Allan, G., Balkamos, G.C. and Papoutsis, P.A. 2002. First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome in pigs in Greece. J. Vet. Med. B. 49: 202–205.

Segalés, J., Sitjar, M., Domingo, M., Dee, S., Del Poza, M., Noval, R., Sacristan, C., De Las Heras, A., Ferro, A. and Latimer, K.S. 1997. First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs in Spain. Vet. Rec. 141: 600-601.

Sorden, S.D. 2000. Update on porcine circovirus and post weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). J. Swine Health Prod. 8: 133-136.

Stevenson, G.W., Kiupel, M., Mittal, S.K., Choi, J., Latimer, K.S.andKanitz, C.L. 2001.Tissue distribution and genetic typing of porcine circoviruses in pigs with naturally occurring congenital tremors. J. Vet. Diagn. Invest. 13: 57–62.

Tantilertcharoen, R., Kiatipattanasakul, W. and Thanawongnuwech, R.1999.A report of circovirus infection in pigs in Thailand. Thai J. Vet. Med. 29: 73-83.

Tischer, I., Mields, W., Wolff, D., Vagt, M., Griem, W. 1986.Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. Arch. Virol. 91: 271-276.

West, K.H., Bystrom, J.M., Wojnarowicz, C., Shantz, N., Jacobson, M., Allan, G.M., Haines, D.M., Clark, E.G., Krakowka, S., McNeilly, F., Konoby, C., Martin, K. and Ellis, J.A. 1999. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. J. Vet. Diag. Invest. 11: 530–532.

Zlotowski, P., Corrêa, A.M.R., Barcellos, D.E.S.N., Cruz, C.E.F., Asanome, W., Barry, A.F., Alfieri, A.A. and Driemeier, D. 2008. Intestinal lesions in pigs affected with postweaningmultisystemic wasting syndrome. Pesq. Vet. Bras. 28: 313-318.