

บทคัดย่อ

ตัวอย่างไวรัสพอร์อาร์เอส จำนวนทั้งหมด 137 ตัวอย่าง จากงานบริการของหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับการทดสอบยืนยันการปรากฏตัวของไวรัสโดยใช้ Monoclonal antibody (SDOW-17) และยืนยันชนิดของสายพันธุ์โดยวิธี nested multiplex RT-PCR (nm RT-PCR) ของ ORF-1b สามารถจำแนกสายพันธุ์ได้เป็นสายพันธุ์อเมริกา (US) จำนวน 46 ตัวอย่าง (28.97%) และสายพันธุ์ ยุโรป (EU) จำนวน 91 ตัวอย่าง (71.03%) โดยใช้ไวรัสควบคุม SVI25 (US strain) สำหรับสายพันธุ์ US และ Lelystad virus สำหรับสายพันธุ์ EU รวมทั้งได้ทดสอบความไวของ nm RT-PCR พบว่าสามารถตรวจพบไวรัสที่ปริมาณไตเตอร์น้อยที่สุดน้อยกว่า 10^1 TCID₅₀/ml ทำการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างของทั้งสองสายพันธุ์ เพื่อนำมาตรวจหาการเรียงตัวของลำดับเบสของ ORF-5 พบว่าตัวอย่างไวรัสพอร์อาร์เอส สายพันธุ์อเมริกาที่แยกได้ในเมืองไทย (00CS1, 01NP1, 01UD6, 02CB13, 02KK1, 02PB1, 02SP2 และ 02SP3) มีสายพันธุ์กรรมใกล้เคียงกับ ไวรัสพอร์อาร์เอส ที่แยกได้จากประเทศแคนาดา (IAF-EXP91) ส่วนตัวอย่างไวรัสพอร์อาร์เอส สายพันธุ์ยุโรป (01CB1, 01RB1, 02BR1, 02CB12, 02SB2 และ 03RB1) มีสายพันธุ์กรรมใกล้เคียงกับ ไวรัสพอร์อาร์เอส ดันแบบ (Lelystad virus) บ่งบอกถึงการระบาดของไวรัสพอร์อาร์เอสในประเทศไทยอาจมาจากการนำเข้าสุกรพันธุ์จากประเทศดังกล่าว นอกจากนี้พบว่าการกระจายของไวรัสพอร์อาร์เอสในแต่ละท้องถิ่นไม่ขึ้นอยู่กับภูมิประเทศเนื่องจากมีความเหมือนของไวรัสพอร์อาร์เอสที่แยกได้แต่ละท้องถิ่นที่ห่างไกลกัน ไวรัสพอร์อาร์เอสสายพันธุ์ EU 02CB12 มีความเหมือนของการเรียงตัวของลำดับเบสของ ORF5 มากกว่า 99% กับไวรัสวัคซีน (Porcillis) ที่ยังไม่เคยมีรายงานการใช้ในประเทศไทย ไม่พบ genetic recombination ของทั้งสองสายพันธุ์

Abstracts

The Thai isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) were obtained from the Chulalongkorn University-Veterinary Diagnostic Laboratory (CU-VDL). Virus isolation was confirmed by immunoperoxidase monolayer assay (IPMA) using SDOW-17. The virus genotype was determined using nested multiplex RT-PCR (nm RT-PCR) of ORF-1b. SVI275 (US genotype) and Lelystad virus (EU genotype) were used as the positive control. The nm RT-PCR was able to detect at least 10^1 TCID₅₀/ml of PRRSV. Of 137 Thai isolates, 71.03% belonged to the European genotype and 28.97% was the US genotype. ORF-5 products of the US strain (00CS1, 01NP1, 01UD6, 02CB13, 02KK1, 02PB1, 02SP2 and 02SP3) and the EU strain (01CB1, 01RB1, 02BR1, 02CB12, 02SB2 and 03RB1) were amplified for DNA sequencing. The US strains of the Thai isolates are clustered within the same group and are more closely related to the IAF-EXP91 from Canada (89-90% nucleotide identity), whereas the EU strains were very similar to the EU prototype, Lelystad virus (87-97.5% nucleotide identity). The ORF5 nucleotide identities within the US genotype tested in this study compared with the US prototype, VR-2332 varied from 83.7-85.2%, whereas 83.5-85.5% amino acid identities were found. Based on the phylogenetic tree, each pair of the Thai isolates (01NP1 and 02KK1, 00CS1 and 01UD6, and 01CB1 and 01RB1) were identical, despite they were from different provinces. Therefore, there was no geographic influence on the spreading of PRRSV in Thailand. Interestingly, 02CB12 (EU) shared over 99% similarity of the ORF-5 nucleotide sequence and 98.6% of amino acid identity with the Porcillis vaccine (AF378819). No evidence of genetic recombination between the two genotypes was found in this study.