



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสูญเสียลูกสุกรที่เกี่ยวข้องกับการตรวจพบเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส เชื้อพาร์โวไวรัส
และเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิด 2 ในสุกร

एमर ओपाररतनंमणी

เมษายน 2563

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสูญเสียลูกสุกรที่เกี่ยวข้องกับการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เชื้อพาร์โวไวรัส และเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิด 2 ในสุกร

ผู้วิจัย

เอมอร โอฬารรัตน์มณี

เผด็จ ธรรมรักษ์

สั่งกัก

คณะสัตวแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

คณะสัตวแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและต้นสังกัด

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.และต้นสังกัดไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : TRG5780082

ชื่อโครงการ : การสูญเสียลูกสุกรที่เกี่ยวข้องกับการตรวจพบเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส เชื้อพาร์โวไวรัส และเชื้อ
เซอร์โคไวรัสชนิด 2 ในสุกร

ชื่อนักวิจัยและสถาบัน : เอมอร โอฬารรัตน์มณี คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล
ตะวันออก

E-mail Address : em-on_ol@rmutto.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

บทคัดย่อ :

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส (PRRSV) เชื้อพาร์โวไวรัส (PPV) และเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิด 2 (PCV2) ในสุกรที่เกี่ยวข้องกับการสูญเสียลูกสุกรในฟาร์มสุกรอุตสาหกรรมในประเทศไทย ลูกสุกรแท้ง (n=25) ลูกกรอก (n=35) และลูกสุกรตายแรกคลอด (n=40) จากแม่สุกรจำนวน 100 แม่ใน 10 ฟาร์มถูกเก็บมาทำการศึกษา โดยนำชิ้นเนื้อจากอวัยวะต่าง ๆ ของตัวอย่างไปตรวจหาเชื้อ PRRSV (n=100) โดยวิธี reverse transcription-polymerase chain reaction (PCR) และตรวจหาเชื้อ PPV (n=60) และ PCV2 (n=60) โดยวิธี PCR ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 ถูกตรวจพบ 66.0%, 0% (0/60) และ 93.3% (56/60) ตามลำดับ จากตัวอย่างที่ตรวจพบ PRRSV พบเป็น genotype 1, genotype 2 และพบทั้ง 2 genotype เป็น 30.3% (20/66), 37.9% (25/66) และ 31.8% (21/66) ตามลำดับ ($P=0.728$) การติดเชื้อร่วมกันของเชื้อ PRRSV และ PCV2 คือ 60.0% (36/60) โดยการติดเชื้อร่วมของไวรัสทั้ง 2 ชนิดในลูกสุกรแท้ง ลูกกรอก และลูกสุกรตายแรกคลอดคือ 13.3% (8/60), 30.0% (18/60) และ 16.7% (10/60) ตามลำดับ การตรวจพบเชื้อ PRRSV และ PCV2 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละกลุ่มของลำดับท้องและช่วงอายุของลูกสุกร การศึกษานี้สามารถบ่งชี้ได้ว่าเชื้อ PRRSV และ PCV2 มีความเกี่ยวข้องกับการสูญเสียของลูกสุกรในฟาร์มสุกรระบบอุตสาหกรรมในประเทศไทยเป็นอย่างมาก ฟาร์มควรให้ความสำคัญด้านการติดตามและเฝ้าระวังโรคทั้งสองต่อไป

คำสำคัญ : เชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส เชื้อพาร์โวไวรัส เชื้อเซอร์โคไวรัสชนิด 2 ความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ การสูญเสียลูกสุกร สุกร

Abstract :

The objective of the present study was to investigate the prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine parvovirus (PPV) and porcine circovirus type 2 (PCV2) infection associated with fetal losses in Thai swine commercial herds. Aborted fetuses (n=25), mummified fetuses (n=35) and stillborn piglets (n=40) from 100 sows in 10 swine herds were included in this study. Pooled organs from each case were homogenized and submitted to PRRSV (n=100) detection using reverse transcription-polymerase chain reaction (PCR) technique and were submitted to PPV (n=60) and PCV2 (n=60) detection using PCR technique. The results revealed that PRRSV, PPV and PCV2 were detected in 66.0%, 0% (0/60) and 93.3% (56/60), respectively. From the PRRSV positive samples, PRRSV genotype 1, genotype 2 and mixed genotype were detected in 30.3% (20/66), 37.9% (25/66) and 31.8% (21/66), respectively ($P=0.728$). Co-infection of PRRSV and PCV2 was 60.0% (36/60). Co-infection of PRRSV and PCV2 in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets were 13.3% (8/60), 30.0% (18/60) and 16.7% (10/60), respectively. PRRSV and PCV2 detection were not differed statistically among groups of parity and age groups of fetuses. These finding indicated that PRRSV and PCV2 were strongly associated with fetal losses in Thai swine commercial herds. The diseases monitoring and surveillance should be further emphasized.

Keywords : porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine parvovirus (PPV), porcine circovirus type 2 (PCV2), reproductive failure, fetal loss, swine

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โดยทั่วไป เป้าหมายสำคัญของฟาร์มสุกรแม่พันธุ์ในระบบอุตสาหกรรมการผลิตสุกรคือการผลิตลูกสุกรหย่านมต่อแม่ต่อปีให้ได้มากที่สุด แต่ในกระบวนการผลิตจะพบปัจจัยต่าง ๆ มากมายที่มีผลต่อการลดลงของจำนวนลูกสุกรหย่านมต่อแม่ต่อปีของฟาร์ม เช่น ระยะเลี้ยงลูกที่นานขึ้น ระยะวันสูญเสียที่นานขึ้น จำนวนลูกแรกเกิดและแรกเกิดมีชีวิตต่ำ และอัตราการตายก่อนหย่านมสูง เป็นต้น การสูญเสียลูกสุกรจากการแท้งลูกกรอก และการตายแรกคลอดนับเป็นสาเหตุสำคัญที่พบได้มากที่สุดที่จะส่งผลให้จำนวนลูกสุกรแรกเกิดมีชีวิตลดลง และนำไปสู่การสูญเสียทางเศรษฐกิจของระบบอุตสาหกรรมการผลิตสุกรอย่างมาก ซึ่งปัญหานี้ก็จัดเป็นปัญหาสำคัญที่พบในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรของประเทศไทยเช่นกัน จากการศึกษาสมรรถภาพทางระบบสืบพันธุ์ของฟาร์มสุกรในประเทศไทยก่อนหน้านี้พบว่า อัตราการแท้งอยู่ระหว่าง 0.5-5.2% เปอร์เซ็นต์ลูกกรอกอยู่ระหว่าง 2.2-4.5% และเปอร์เซ็นต์ลูกสุกรตายแรกคลอดอยู่ระหว่าง 3.5-7.0% (Olanratmanee, et al., 2010a, b; Olanratmanee et al., 2013)

การสูญเสียลูกสุกรในสุกรสาวและสุกรนางมีสาเหตุได้ทั้งจากการติดเชื้อและการไม่ติดเชื้อ เชื้อก่อโรคที่สำคัญและพบได้บ่อยในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรที่ทำให้เกิดความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์และการสูญเสียลูกสุกรในสุกรสาวและสุกรนางได้แก่ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (porcine reproductive and respiratory syndrome virus : PRRSV) เชื้อไวรัสออสเทสกี (Aujeszky's disease virus : ADV) เชื้อพาร์โวไวรัสในสุกร (porcine parvovirus : PPV) เชื้ออหิวาต์สุกร (classical swine fever virus : CSFV) และเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิด 2 ในสุกร (porcine circovirus type 2 : PCV2) (Dias et al., 2012; Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012; Tummaruk et al., 2013) เชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 เป็นเชื้อที่พบได้บ่อยในฟาร์มของประเทศไทย และสามารถแยกเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ได้ในฟาร์มสุกรของประเทศไทยมากกว่า 10 ปี (Wongwatcharadumrong and Platt, 1995; Parchariyanon et al., 2000; Sirinarumit et al., 2000; Thanawongnuwech et al., 2004) โดยในปัจจุบันนี้ ประเทศไทยจัดเป็นพื้นที่ที่มีการพบเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้อย่างสม่ำเสมอ

อาการสำคัญทางระบบสืบพันธุ์ของสุกรสาวและสุกรนางที่ติดเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 คือการล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ ได้แก่ การแท้ง การเกิดลูกกรอก และการตายแรกคลอด (West et al., 1999; Done et al., 1996; Mengeling et al., 2000) นอกจากนั้น การติดเชื้อร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้มักพบได้บ่อยในฟาร์มสุกรและส่งผลให้ความรุนแรงของอาการที่แสดงออกรุนแรงขึ้น อีกทั้งยังทำให้การควบคุมการติดเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ยากมากขึ้นอีกด้วย จากการศึกษาผลสำรวจทางซีรัมวิทยาต่อการติดเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด

นี้ของฟาร์มสุกรในประเทศไทยก่อนหน้านี้พบว่า สุกรสาวทดแทนมีผลเลือดเป็นบวกต่อเชื้อ PRRSV และ PPV 87.5% และ 99.0% ตามลำดับ (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012) และยังพบว่าสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากสาเหตุการแท้งมีผลเลือดเป็นบวกต่อเชื้อ PRRSV และ PPV 81.0% และ 75.0% ตามลำดับ (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012) ความชุกของการติดเชื้อ PCV2 ในสุกรสาวและสุกรนางของฟาร์มสุกรในประเทศไทยก็มีรายงานเช่นกัน โดยพบว่าสุกรทุกกลุ่มอายุ (สุกรอนุบาล สุกรรุ่น สุกรขุน พ่อพันธุ์ และแม่พันธุ์) ตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อ PCV2 ระหว่าง 40.2-65.2% (Pearodwong et al., 2013b) และจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบรายงานว่าเชื้อ PCV2 สามารถพบได้ในลูกสุกรที่แท้งและลูกสุกรตายแรกคลอด 1.0-46.0% ในประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก (Lyoo et al., 2001; Kim et al., 2004; Maldonado et al., 2005; Castro et al., 2012)

จากการที่เชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 สามารถทำให้เกิดความสูญเสียลูกสุกรและเกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจต่ออุตสาหกรรมการผลิตสุกรได้เป็นอย่างมาก อีกทั้งยังไม่มีการศึกษาที่ชัดเจนเกี่ยวกับความชุกของการติดเชื้อของเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ในรายที่เกิดความสูญเสียลูกสุกรในประเทศไทย ดังนั้น การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการสูญเสียลูกสุกรที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 ในสุกรในประเทศไทยจึงมีความจำเป็น เพื่อจะได้เข้าใจถึงความชุกของการติดเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ที่เป็นสาเหตุของการสูญเสียลูกสุกรของฟาร์มในประเทศไทย อันจะนำไปสู่การวางแผนเพื่อควบคุมการสูญเสียลูกสุกรในระบบอุตสาหกรรมการผลิตสุกรของประเทศไทยต่อไป

บททวนวรรณกรรม

ความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ ได้แก่ การแท้ง การเกิดลูกกรอก และการตายแรกคลอด ในสุกรสาวและสุกรนางเกิดได้ทั้งสาเหตุจากการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ เชื้อไวรัสก่อโรคที่สำคัญที่ทำให้เกิดความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ในสุกรโดยตรงได้แก่ เชื้อ เชื้อไวรัสพอร์อาร์เอส (porcine reproductive and respiratory syndrome virus : PRRSV) เชื้อไวรัสอูเจสกี (Aujeszky's disease virus : ADV) เชื้อพาร์โวไวรัสในสุกร (porcine parvovirus : PPV) เชื้ออหิวาต์สุกร (classical swine fever virus : CSFV) และเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิด 2 ในสุกร (porcine circovirus type 2 : PCV2) โดยเชื้อที่พบได้บ่อยในสุกรที่มีความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ในฟาร์มสุกรทั่วไปในประเทศไทยได้แก่เชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 ซึ่งความชุกของเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้มีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศ เช่น ความชุกของเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 ในสุกรที่มีความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ในประเทศสเปนคือ 10.0%, 0.0% และ 1.0% ตามลำดับ

(Maldonado et al., 2005) ในขณะที่ในประเทศเกาหลีมีรายงานสูงถึง 10.7%, 67.3% และ 30.7% ตามลำดับ (Kim et al., 2004) สำหรับประเทศไทยในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาอย่างชัดเจนถึงความชุกของการติดเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 ในสุกรสาวและสุกรนางที่มีความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ รวมถึงการติดเชื้อร่วมกันของไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสุกรสาวทดแทนในประเทศไทยมีผลเลือดเป็นบวกทางซีรัมวิทยาต่อเชื้อ PRRSV และ PPV 87.5% และ 99.0% ตามลำดับ (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012) และนอกจากนั้นยังพบว่าสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากสาเหตุการแท้งมีผลเลือดเป็นบวกต่อเชื้อ PRRSV และ PPV สูงถึง 81.0% และ 75.0% ตามลำดับ (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012)

เชื้อ PRRSV ก่อให้เกิดโรค porcine reproductive and respiratory syndrome หรือโรคพอร์อาร์เอส โดยเชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อไวรัสชนิด RNA สายเดี่ยว เชื้อไวรัสชนิดนี้ถูกจัดอยู่ใน family *Arteriviridae*, genus *Arterivirus* (Benfield et al., 1992; Cavanagh, 1997) เชื้อ PRRSV ถูกจำแนกตามความแตกต่างของลักษณะพันธุกรรม ความเป็นแอนติเจน และพยาธิกำเนิดออกเป็น 2 genotype ได้แก่ genotype 1 (สายพันธุ์ยุโรป : EU strain) และ genotype 2 (สายพันธุ์อเมริกา : NA strain) (Nelson et al., 1993; Meng, 2000) ความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ที่พบได้ในฝูงสุกรที่ติดเชื้อ PRRSV ได้แก่ อัตราการเข้าคลอดลดลง อัตราการแท้งเพิ่มขึ้นซึ่งอาจพบได้ตั้งแต่ 10-50% จำนวนสุกรกลับสัดหลังผสมเพิ่มสูงขึ้น เพอร์เซ็นต์ลูกกรอกและลูกสุกรตายแรกคลอดต่อครอกเพิ่มสูงขึ้น จำนวนลูกสุกรอ่อนแอแรกเกิดเพิ่มสูงขึ้น และอัตราการตายของลูกสุกรก่อนหย่านมเพิ่มสูงขึ้นซึ่งอาจพบได้สูงถึง 60% (Done et al., 1996; Mengeling et al., 1996; Chung et al., 1997; Cho and Dee, 2006; Zimmerman et al., 2006; Olanratmanee et al., 2013) จากการศึกษาพบว่าเชื้อ PRRSV สามารถแทรกผ่านรกในสุกรที่กำลังตั้งท้องโดยเฉพาะในการท้องระยะท้าย ซึ่งเชื้อ PRRSV ที่แพร่ผ่านทางรกจะเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์เนื้อเยื่อรกแบบ apoptosis ได้ ส่งผลให้เกิดการแท้งในสุกรอัมท้อง (Karniychuk et al., 2011) นอกจากนี้ การแพร่ผ่านรกของเชื้อไวรัสไปยังตัวอ่อนยังทำให้ตัวอ่อนตายได้ และส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ลูกสุกรตายแรกคลอดต่อครอกเพิ่มสูงขึ้น (Zimmerman et al., 2006) ในทางปฏิบัติของฟาร์มสุกร ได้มีการจัดการหลากหลายวิธีเพื่อควบคุมการแสดงอาการของภาวะการติดเชื้อ PRRSV เช่น การคลุกสุกร การจัดการสุกรสาวทดแทน และการทำวัคซีนทั้งชนิดเชื้อตายและชนิดเชื้อเป็น (modified-live virus : MLV) อย่างไรก็ตาม เชื้อ PRRSV ยังสามารถก่อปัญหาความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ เช่น การแท้ง การเกิดลูกกรอก และการตายแรกคลอดในฟาร์มที่มีการติดเชื้อแม้ว่าจะมีการทำวัคซีนชนิดเชื้อเป็นแล้วก็ตาม (Olanratmanee et al., 2013)

เชื้อ PPV เป็นเชื้อไวรัสชนิด DNA สายเดี่ยวใน family *Parvoviridae*, subfamily *Parvovirina*, genus *Parvovirus* อาการของสุกรที่ติดเชื้อ PPV จะพบความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์เพียงระบบเดียวเท่านั้น (Mengeling et al., 2000) โดยอาการที่พบจะสัมพันธ์กับระยะของการอุ้มท้องเมื่อได้รับเชื้อ พยาธิกำเนิดของโรคยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีการสันนิษฐานว่าเกิดจากเชื้อไวรัสแพร่ผ่านเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันไปยังตัวอ่อนที่แม่สุกรอุ้มท้อง ซึ่งตัวอ่อนในครอกเดียวกันอาจติดเชื้อในระยะอุ้มท้องที่แตกต่างกันเนื่องจากเชื้อไวรัสจะค่อย ๆ กระจายไปตามมดลูก (Mengeling et al., 2000) การสูญเสียลูกสุกรจากการติดเชื้อ PPV ขึ้นกับระยะของการอุ้มท้อง โดยถ้าเป็นการอุ้มท้องระยะต้น ตัวอ่อนจะตายและถูกดูดซึมกลับ (Mengeling et al., 1980) ถ้าเป็นการอุ้มท้องระยะกลางซึ่งตัวอ่อนมีการสร้างกระดูกแล้ว ตัวอ่อนจะตายแบบลูกกรอก และถ้าเป็นการอุ้มท้องระยะท้าย ตัวอ่อนจะตายแบบตายแรกคลอดหรือเกิดมาอ่อนแอ (Mengeling et al., 2000) การทำวัคซีนต่อเชื้อ PPV เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการป้องกันและควบคุมการติดเชื้อ PPV ในฟาร์มสุกรระบบอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะมีการทำวัคซีนต่อเชื้อ PPV ในสุกรสาวและสุกรนางแล้ว แต่ก็ยังพบว่าสุกรหลายตัวมีระดับแอนติบอดีที่สูงโดยไม่แน่ใจว่าแอนติบอดีที่เกิดจากการทำวัคซีน (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยหลายอย่างมีผลต่อประสิทธิภาพของวัคซีนของเชื้อ PPV ในระดับฟาร์ม (Oravainen et al., 2005)

เชื้อ PCV2 เป็นเชื้อไวรัสชนิด DNA สายเดี่ยวใน family *Circoviridae* (Tischer et al., 1982) เชื้อไวรัสชนิดนี้ก่ออาการทางคลินิกได้หลากหลายอาการ ได้แก่ กลุ่มอาการ post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) (Clark, 1996) กลุ่มอาการ porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) (Rosell et al., 2000) กลุ่มอาการ porcine respiratory disease complex (PRDC) (Kim et al., 2003) อาการลำไส้อักเสบชนิด necrotic enterocolitis (Zlotowski et al., 2009) และความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับ PCV2 เช่น การแท้ง การเกิดลูกกรอก การตายแรกคลอด และการตายก่อนหย่านม (West et al., 1999; Opreissnig et al., 2007) อย่างไรก็ตาม พยาธิกำเนิดของเชื้อ PCV2 ต่อความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่พบว่าตัวอ่อนสุกรมีความไวรับต่อเชื้อ PCV2 (Mateusen et al., 2004) การติดเชื้อ PCV2 ในระยะกลางของการอุ้มท้องจะพบการตายของตัวอ่อนแบบลูกกรอกได้ ในขณะที่การติดเชื้อระยะท้ายของการอุ้มท้องจะพบการตายของตัวอ่อนแบบตายแรกคลอด (West et al., 1999; Pensaert et al., 2004) นอกจากนั้นการติดเชื้อ PCV2 ในขณะอุ้มท้องระยะท้ายยังพบการแท้งและการคลอดก่อนกำหนดได้อีกด้วย (West et al., 1999; Park et al., 2005) การจัดการฟาร์มหลากหลายวิธีและการทำวัคซีนถูกนำมาใช้ในการควบคุมการติดเชื้อ PCV2 ในระดับฟาร์ม ซึ่งพบว่าการทำวัคซีนสามารถเพิ่ม

อัตราการเข้าคลอด จำนวนลูกสุกรแรกเกิดมีชีวิต และจำนวนลูกสุกรหย่านมต่อครอกได้ (Pejsak et al., 2012) อย่างไรก็ตาม สุกรที่มีระดับแอนติบอดีในกระแสเลือดต่อเชื้อ PCV2 ยังสามารถติดเชื้อ PCV2 ได้อยู่ และระดับของแอนติบอดีก็มีความแตกต่างกันในฝูงที่ทำวัคซีน ซึ่งส่งผลให้ระดับภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดไปยังลูกสุกรมีความแตกต่างกันเช่นกันและนำไปสู่การเกิดการสูญเสียของลูกสุกรตามมาได้ (Sarli et al., 2012; Pearodwong et al., 2013a, b)

จากการที่เชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 สามารถทำให้เกิดความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์และการสูญเสียลูกสุกรในระบบอุตสาหกรรมการผลิตสุกรได้เป็นอย่างมาก ซึ่งรวมถึงในประเทศไทยเองด้วยเช่นกัน ดังนั้น จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัสและความเกี่ยวข้องระหว่างเชื้อไวรัสกับการสูญเสียลูกสุกรในประเทศไทย ข้อมูลจากการศึกษาในครั้งนี้อาจช่วยให้สัตวแพทย์และเกษตรกรเข้าใจถึงการสูญเสียลูกสุกรที่เกิดจากการติดเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 ได้มากขึ้น ซึ่งอาจนำไปสู่การหาแนวทางลดความสูญเสียของการสูญเสียลูกสุกรในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทยได้

วัตถุประสงค์

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัสพาร์วัวร์ส เชื้อพาร์โวไวรัส และเชื้อเซอร์โคไวรัสชนิด 2 ในสุกรที่เกี่ยวข้องกับการสูญเสียลูกสุกรในประเทศไทยจากการตรวจหาเชื้อไวรัสโดยวิธี polymerase chain reaction (PCR)

ระเบียบวิธีวิจัย

ฟาร์มสุกร

การศึกษานี้ทำในฟาร์มสุกรแม่พันธุ์ที่เลี้ยงระบบอุตสาหกรรมในประเทศไทยจำนวน 10 ฟาร์ม ในภาคตะวันออก ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ระหว่างปี 2557-2562 โดยแต่ละฟาร์มมีสุกรแม่พันธุ์ใช้งาน 800-5,000 แม่ต่อฝูง และเป็นฟาร์มที่เคยมีรายงานการตรวจพบเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 ในฟาร์มมาก่อน ระบบการเลี้ยงสุกรภายในฟาร์มทั้งหมดเป็นระบบโรงเรือนเปิด สุกรได้รับอาหารพลังงาน 3,000-3,250 กิโลแคลอรี/กิโลกรัมอาหาร โปรตีนหยาบ 16-18% และมีไขมัน 0.85-1.10% สุขภาพของสุกรภายในฟาร์มอยู่ภายใต้การดูแลโดยสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์ม ระบบการผสมพันธุ์ใช้การผสมเทียมทั้งหมด สุกรสาวได้รับการคลุกสุกรและทำวัคซีนก่อนนำไปใช้งาน โดยสุกรสาวและสุกรนางของทุกฟาร์มได้รับการทำวัคซีนหลักในสุกร ได้แก่ โรคปากและเท้าเปื่อย โรคอหิวาต์สุกร โรคอูเจสกี และโรคพาร์โวไวรัสอย่าง

สม่ำเสมอ แม่สุกรจำนวน 100 แม่ที่พบการแท้ง การตายของตัวอ่อนแบบลูกกรอก หรือการตายแรกคลอดถูกนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้

การเก็บข้อมูลและการเก็บตัวอย่าง

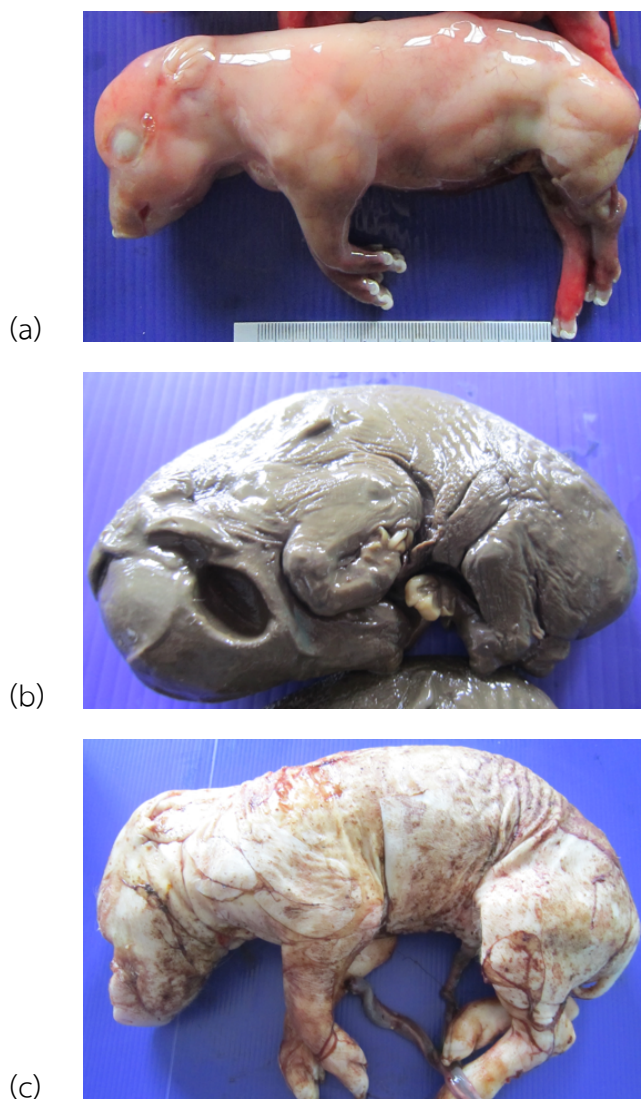
ตัวอ่อนจากการแท้ง (n=25) ลูกกรอก (n=35) และลูกสุกรตายแรกคลอด (n=40) (ภาพที่ 1) ถูกเก็บจากแม่สุกรจำนวน 100 แม่ จากนั้นนำตัวอย่างแช่เย็นและส่งเข้าห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง ลูกกรอกจะถูกทำการวัดความยาวตั้งแต่กะโหลกศีรษะถึงสะโพก (crown-rump-length : CRL) เพื่อใช้ในการคำนวณอายุของตัวอ่อนขณะที่ตาย โดยอายุของลูกสุกร = $21.07 + (3.11 \times \text{CRL})$ (Ullery et al., 1965) ตัวอย่างชิ้นเนื้ออวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ ปอด ตับ ม้าม หัวใจ ต่อมไทมัส ต่อมทอนซิล และต่อมน้ำเหลืองของลูกสุกรแท้งและลูกสุกรตายแรกคลอด (ภาพที่ 2) และตัวอย่างชิ้นเนื้ออวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ ปอด ตับ ม้าม และหัวใจของลูกกรอกถูกเก็บรวมกันเป็นรายตัวและนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปตรวจหาเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 โดยวิธี PCR หรือ reverse transcription PCR (RT-PCR) ข้อมูลฟาร์มที่เกี่ยวข้องกับสุกรตัวอย่างที่นำมาศึกษา ได้แก่ ฟาร์ม เบอร์แม่สุกร สายพันธุ์ การทำวัคซีน ลำดับท้องของแม่สุกร วันที่ทำการผสม วันที่คลอดหรือแท้ง และขนาดครอก (จำนวนลูกสุกรแรกเกิดทั้งหมด จำนวนลูกสุกรแรกเกิดมีชีวิต จำนวนลูกกรอก และจำนวนลูกสุกรตายแรกคลอด) ถูกเก็บเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ผลการศึกษา เปอร์เซ็นต์ลูกกรอกต่อครอกและเปอร์เซ็นต์ลูกสุกรตายแรกคลอดต่อครอกถูกคำนวณจากจำนวนลูกสุกรแรกเกิดทั้งหมด อายุของลูกสุกรแท้งคำนวณจากระยะเวลาตั้งแต่วันผสมถึงวันที่แท้ง และอายุของลูกสุกรตายแรกคลอดคำนวณจากระยะเวลาตั้งแต่วันผสมถึงวันที่คลอด

การตรวจหาเชื้อไวรัสโดยวิธี PCR และ RT-PCR

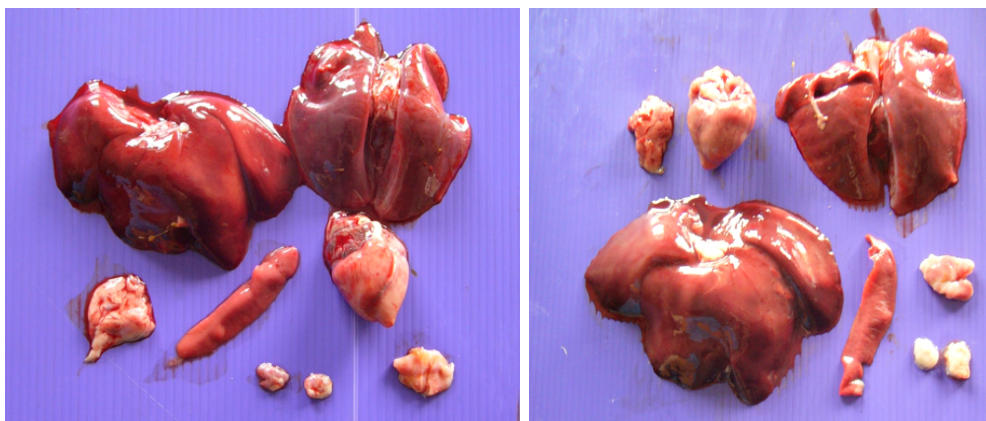
ตัวอย่างเนื้อเยื่อแต่ละรายถูกนำมาบดและสกัดสารพันธุกรรมโดยใช้ชุดสกัดสารพันธุกรรมสำเร็จรูป (NucleoSpin® RNA virus test kit) ตามวิธีที่ระบุในคู่มือปฏิบัติของชุดสกัดสำเร็จรูป และนำไปเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสด้วยวิธี RT-PCR สำหรับเชื้อ PRRSV (n=100) และวิธี PCR สำหรับเชื้อ PPV (n=60) และ PCV2 (n=60) ตามวิธีของการศึกษาก่อนหน้านี้ (Thanawongnuwech et al., 2004; Pearodwong et al., 2015) และตามการตรวจของหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากนั้นนำไปตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสด้วยวิธี electrophoresis

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS) version 9.0 อายุของลูกสุกร จำนวนลูกสุกรแรกเกิดทั้งหมดต่อครอก จำนวนลูกสุกรแรกเกิดมีชีวิตต่อครอก เปอร์เซ็นต์ ลูกกรอกต่อครอก และเปอร์เซ็นต์ลูกสุกรตายแรกคลอดต่อครอกแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean) $\pm$ ความกระเจิงของค่าเฉลี่ย (standard error of mean) และค่าช่วงข้อมูล (range) ความชุกของการตรวจพบเชื้อไวรัสแสดงเป็นค่าเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบระหว่างลำดับท้องของแม่สุกร (0, 1, 2-4, 5-11 และไม่ทราบลำดับท้อง) ชนิดของตัวอย่าง (ลูกสุกรแท้ง ลูกกรอก และลูกตายแรกคลอด) และอายุของตัวอ่อน (น้อยกว่า 70 วัน และตั้งแต่ 70 วันขึ้นไป) โดยใช้วิธี *chi-square* ค่า $P < 0.05$ แสดงถึงการแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 1 ตัวอย่างลูกสุกรแท้ง (a) ลูกกรอก (b) และลูกสุกรตายแรกคลอด (c)



ภาพที่ 2 ตัวอย่างการเก็บอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ ปอด ตับ ม้าม หัวใจ
ต่อมไทมัส ต่อมทอนซิล และต่อมน้ำเหลืองจากลูกสุกรตายแรกคลอด

ผลการศึกษา

จำนวนลูกสุกรแรกเกิดทั้งหมดมีค่าเฉลี่ย 13.5 ± 0.5 ตัวต่อครอก (6 - 22 ตัวต่อครอก) จำนวนลูกสุกรแรกเกิดมีชีวิตมีค่าเฉลี่ย 8.0 ± 0.8 ตัวต่อครอก (0 - 15 ตัวต่อครอก) เปอร์เซ็นต์ลูกสุกรรอดต่อครอกมีค่าเฉลี่ย 22.0 ± 4.3 เปอร์เซ็นต์ (0 - 100 เปอร์เซ็นต์) และเปอร์เซ็นต์ลูกสุกรตายแรกคลอดต่อครอกมีค่าเฉลี่ย 23.4 ± 4.4 ตัวต่อครอก (0 - 100 เปอร์เซ็นต์) ค่าเฉลี่ยอายุของลูกสุกรคือ 97.7 ± 3.0 วัน (31 - 123 วัน) ค่าเฉลี่ยอายุของสุกรแท้ง ลูกกรอก และลูกสุกรตายแรกคลอดคือ 69.1 ± 6.1 วัน (31 - 107 วัน), 110.2 ± 2.7 วัน (73 - 121 วัน) และ 107.6 ± 2.4 วัน (62 - 123 วัน) ตามลำดับ

ผลการตรวจเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 ตามชนิดของตัวอย่างเป็นดังตารางที่แสดงในตารางที่ 1 เชื้อ PRRSV ถูกตรวจพบ 66.0% (66/100) เชื้อ PPV ถูกตรวจพบ 0% (0/60) และเชื้อ PCV2 ถูกตรวจพบ 93.3% (56/60) จากตัวอย่างที่ตรวจพบ PRRSV จำนวน 66 ตัวอย่างพบเป็น genotype 1 (EU strain) 30.3% (20/66), genotype 2 (NA strain) 37.9% (25/66) และพบการติดเชื้อร่วมกันของทั้ง 2 genotype 31.8% (21/66) ($P=0.728$) (ตารางที่ 2) การติดเชื้อร่วมกันของเชื้อ PRRSV และ PCV2 คือ 60.0% (36/60) โดยการติดเชื้อร่วมของไวรัสทั้ง 2 ชนิดในลูกสุกรแท้ง ลูกกรอก และลูกสุกรตายแรกคลอดคือ 13.3% (8/60), 30.0% (18/60) และ 16.7% (10/60) ตามลำดับ

การตรวจพบเชื้อ PRRSV ในตัวอย่างลูกสุกรแท้ง ลูกกรอก และลูกสุกรตายแรกคลอดคือ 52.0% (13/25), 62.9% (22/35) และ 77.5% (31/40) ตามลำดับ ($P=0.096$) การตรวจพบเชื้อ PCV2 ในตัวอย่างลูกสุกรแท้ง ลูกกรอก และลูกสุกรตายแรกคลอดคือ 94.1% (16/17), 96.7% (29/30) และ 84.6% (11/13) ตามลำดับ ($P=0.343$) (ตารางที่ 1) การตรวจพบเชื้อ PRRSV และ PCV2 ในสุกรแต่ละลำดับห้องแสดงในตาราง

ที่ 3 โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการพบเชื้อ PRRSV และ PCV2 ในแต่ละลำดับห้อง ($P=0.997$ และ $P=0.131$ ตามลำดับ) การตรวจพบเชื้อ PRRSV และ PCV2 ในแต่ละช่วงอายุของลูกสุกรพบว่า ลูกสุกรที่มีอายุน้อยกว่า 70 วัน และอายุตั้งแต่ 70 วันขึ้นไปตรวจพบเชื้อ PRRSV 56.4% (22/39) และ 72.1% (44/61) ตามลำดับ ($P=0.106$) และตรวจพบเชื้อ PCV2 95.2% (20/21) และ 92.3% (36/39) ตามลำดับ ($P=0.664$) อายุลูกสุกรเฉลี่ยของสุกรที่ตรวจพบเชื้อ PRRSV และ PCV2 คือ 98.9 ± 3.5 วัน และ 98.0 ± 3.8 วัน ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ผลการตรวจพบเชื้อ PRRSV, PPV และ PCV2 ตามชนิดของตัวอย่าง

ชนิดตัวอย่าง	ผลการตรวจพบเชื้อ		
	PRRSV	PPV	PCV2
ลูกสุกรแท้ง	52.0% (13/25)	0.0% (0/17)	94.1% (16/17)
ลูกกรอก	62.9% (22/35)	0.0% (0/30)	96.7% (29/30)
ลูกสุกรตายแรกคลอด	77.5% (31/40)	0.0% (0/13)	84.6% (11/13)
รวมทั้งสิ้น	66.0% (66/100)	0.0% (0/60)	93.3% (56/60)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจพบเชื้อ PRRSV ตามชนิดของตัวอย่างและสายพันธุ์ของเชื้อที่ตรวจพบ

ชนิดตัวอย่าง	การตรวจพบเชื้อ PRRSV	สายพันธุ์ของเชื้อ PRRSV ที่ตรวจพบ		
		Genotype 1	Genotype 2	Mixed genotype
ลูกสุกรแท้ง	52.0% (13/25)	0% (0/25)	40% (10/25)	12% (3/25)
ลูกกรอก	62.9% (22/35)	25.7% (9/35)	17.1% (6/35)	20% (7/35)
ลูกสุกรตายแรกคลอด	77.5% (31/40)	27.5% (11/40)	22.5% (9/40)	27.5% (11/40)
รวมทั้งสิ้น	66.0% (66/100)	20% (20/100)	25% (25/100)	21% (21/100)

ตารางที่ 3 ผลการตรวจพบเชื้อ PRRSV และ PCV2 ในแต่ละลำดับห้อง

ลำดับห้อง	ผลการตรวจพบเชื้อ	
	PRRSV	PCV2
0	60.0% (3/5)	100.0% (4/4)
1	71.4% (15/21)	100.0% (12/12)
2-4	61.1% (11/18)	90.0% (9/10)
5-11	64.7% (11/17)	71.4% (5/7)
ไม่ทราบลำดับห้อง	66.7% (26/39)	96.3% (26/27)
รวมทั้งสิ้น	66.0% (66/100)	93.3% (56/60)

สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ขนาดครอก (จำนวนลูกสุกรแรกเกิดทั้งหมด จำนวนลูกสุกรแรกเกิดมีชีวิต เพอร์เซ็นต์ลูกกรอกต่อครอก และเปอร์เซ็นต์ลูกตายแรกคลอดต่อครอก) ของสุกรในการศึกษานี้มีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้และใกล้เคียงกับฟาร์มสุกรอื่น ๆ ในประเทศไทย (Olanratmanee et al., 2010b; Olanratmanee et al., 2013; Olanratmanee et al., 2014) เชื้อ PRRSV และ PCV2 ตรวจพบได้มากในลูกสุกรที่แท้ง ลูกกรอก และลูกสุกรตายแรกคลอด โดยพบมากถึง 66.0% และ 93.3% ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อ PPV ตรวจไม่พบในตัวอย่างที่ทำในการศึกษานี้ ซึ่งการศึกษานี้ได้ยืนยันว่าเชื้อ PRRSV และ PCV2 ยังเป็นเชื้อที่สำคัญที่ส่งผลต่อการสูญเสียทางระบบสืบพันธุ์ในสุกรระบบอุตสาหกรรมของประเทศไทย ผลการศึกษานี้เป็นไปในทางเดียวกันกับการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่าเชื้อ PRRSV ตรวจพบได้ 67.4% ในตัวอ่อนของสุกรสาวและสุกรนางที่มีปัญหาความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์โดยวิธี quantitative PCR (Olanratmanee et al., 2015) และตรวจพบได้ 70.0% และ 33.0% ในเนื้อเยื่อรังไข่และมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากปัญหาระบบสืบพันธุ์โดยวิธี immunohistochemistry ตามลำดับ (Tummaruk et al., 2015; Olanratmanee et al., 2011) และพบว่าเชื้อ PCV2 ตรวจพบได้ 30.0% และ 45.1% จากเนื้อเยื่อรังไข่และมดลูกที่เก็บในบล็อควารายของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากปัญหาระบบสืบพันธุ์โดยวิธี PCR (Pearodwong et al., 2015)

เชื้อ PRRSV และ PCV2 มีรายงานการถูกตรวจพบได้ในอวัยวะต่าง ๆ ของลูกสุกรที่ติดเชื้อมาผ่านทางมดลูก เช่น หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ต่อมทอนซิล ต่อมไทมัส และต่อมน้ำเหลือง (Cheon and Chae, 2001;

Rowland, 2010; Saha et al., 2010) จากการศึกษาในครั้งนี้ เชื้อ PRRSV ทั้ง genotype 1 และ 2 พบได้ในตัวอย่างลูกสุกรที่สูญเสียและสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ (Olanratmanee et al., 2015) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อ PRRSV ทั้ง 2 genotype ยังมีความสำคัญในประเทศไทย และทั้ง 2 genotype มีความเกี่ยวข้องกับการสูญเสียของลูกสุกรอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่า 21.0% ของตัวอย่างยังมีการติดเชื้อร่วมกันของ genotype 1 และ 2 ซึ่งการติดเชื้อร่วมกันของ genotype ทั้งสองในสุกรตัวเดียวกันอาจทำให้เกิดการรวมกันของสารพันธุกรรมได้เป็นเชื้อที่มีความแตกต่างจากเชื้อต้นแบบ ซึ่งอาจไม่มีการป้องกันทางภูมิคุ้มกันข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ส่งผลให้การควบคุมการติดเชื้อ PRRSV ทำได้ยากยิ่งขึ้น (Yuan et al., 1999; Nilubol et al., 2013) จากการศึกษาในครั้งนี้ เชื้อ PCV2 ถูกตรวจพบในตัวอย่างลูกสุกรที่สูญเสียสูงถึง 93.3% แม้ว่าพยาธิกำเนิดของการตายของตัวอ่อนจากเชื้อ PCV2 ยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่มีรายงานการพบพยาธิสภาพต่าง ๆ ในตัวอ่อนที่ได้รับเชื้อ PCV2 ในขณะอัมพาต ซึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้ตัวอ่อนเกิดการตาย และลักษณะการตายของตัวอ่อนขึ้นอยู่กับระยะของตัวอ่อนในขณะที่ได้รับเชื้อ (Saha et al., 2010; Madson and Opriessnig, 2011)

การศึกษานี้ยังพบอีกว่าลูกสุกรที่สูญเสียมีการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อ PRRSV และ PCV2 สูงถึง 60.0% โดยพบการติดเชื้อร่วมได้ทั้งจากลูกสุกรแท้ง ลูกกรอก และลูกสุกรตายแรกคลอด เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้มีเซลล์เป้าหมายหลักคือเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งการติดเชื้อของไวรัส 2 ชนิดนี้จะส่งผลให้เกิดการกดภูมิคุ้มกันของร่างกายและทำให้สุกรมีความไวรับต่อเชื้อก่อโรคชนิดอื่นเพิ่มสูงขึ้น การติดเชื้อร่วมกันของเชื้อไวรัส 2 ชนิดนี้จะยังทำให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานด้วยประสิทธิภาพลงมากยิ่งขึ้น ส่งผลให้การทางคลินิกของโรคทั้งสองรุนแรงมากขึ้น รวมถึงสุกรอาจติดเชื้อแทรกซ้อนได้ง่ายทำให้การดูแลสุขภาพสุกรเป็นไปได้ยากยิ่งขึ้นอีกด้วย (Ouyang et al., 2019) นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อ PRRSV และ PCV2 ทำให้เชื้อ PCV2 อยู่ในกระแสเลือดและแพร่ออกนอกร่างกายได้นานขึ้นกว่าการติดเชื้อ PCV2 เพียงชนิดเดียว (Sinha et al., 2011) อีกทั้งยังพบว่าการติดเชื้อร่วมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของเชื้อ PRRSV เพิ่มมากขึ้น (Yin et al., 2013) ซึ่งอาจทำให้ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ PRRSV ที่ร่างกายมีอยู่ไม่สามารถทำลายเชื้อที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมได้อีกด้วย ซึ่งผลของการติดเชื้อร่วมกันนี้จะทำให้การควบคุมการติดเชื้อ PRRSV และ PCV2 ยากมากขึ้น อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะพบการรายงานการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดในลูกสุกรที่แท้งและลูกสุกรตายแรกคลอดจากฟาร์มสุกรที่มีอัตราการแท้งเพิ่มสูงขึ้น (Mak et al., 2018) แต่การศึกษาถึงผลกระทบของการติดเชื้อร่วมของเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้ต่อระบบสืบพันธุ์โดยตรงในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาอย่างเป็นที่แน่ชัด

จากการศึกษาในครั้งนี้นี้พบว่าเชื้อ PRRSV และ PCV2 สามารถตรวจพบได้ในทุกชนิดของตัวอ่อน (ลูกสุกรแท้ง ลูกกรอก และลูกสุกรตายแรกคลอด) ทุกลำดับท้องของแม่สุกร (0, 1, 2-4, 5-11 และไม่ทราบลำดับท้อง) และทุกช่วงอายุของตัวอ่อน (อายุน้อยกว่า 70 วันและอายุมากกว่า 70 วันขึ้นไป) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นปัญหาสำคัญในแม่สุกรทุกอายุ และทำให้เกิดการสูญเสียตัวอ่อนได้หลายรูปแบบโดยความสูญเสียที่พบเกิดได้ตลอดช่วงอายุของการอุมท้อง มีการศึกษาพบว่าแม่สุกรที่มีอายุท้องมากกว่า 90 วันจะมีความไวต่อการติดเชื้อ PRRSV ในลูกสุกรมากกว่าแม่สุกรที่มีอายุท้องน้อยกว่า 90 วัน (Rowland, 2010) ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้นี้มีความสอดคล้องกันโดยพบว่าลูกสุกรที่มีอายุมากกว่า 70 วันมีแนวโน้มการตรวจพบเชื้อ PRRSV มากกว่าลูกสุกรที่มีอายุน้อยกว่า 70 วัน อย่างไรก็ตาม ในการเจริญเติบโตของตัวอ่อนในสุกรพบว่าลูกสุกรจะมีการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันที่อายุประมาณ 70 วันของการอุมท้อง ดังนั้นลูกสุกรจะสามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อต้านการติดเชื้อต่าง ๆ และกำจัดเชื้อบางส่วนในร่างกายได้

โดยทั่วไปอาการสำคัญที่พบในแม่สุกรที่ได้รับเชื้อ PPV คือการตายของลูกสุกรแบบลูกกรอกและลูกสุกรตายแรกคลอด การแท้งของแม่สุกรจากการติดเชื้อ PPV มักพบในฝูงแม่สุกรที่ไม่เคยได้รับเชื้อหรือมีภูมิคุ้มกันมาก่อน (Truyen and Streck, 2012) จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า เปอร์เซ็นต์ลูกกรอกและลูกสุกรตายแรกคลอดต่อครอกในฝูงแม่สุกรที่มีการทำวัคซีนต่อเชื้อ PPV ทั้งในสุกรสาวทดแทนและแม่สุกรทุกลำดับท้องมีเปอร์เซ็นต์น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญในฝูงแม่สุกรที่มีการทำวัคซีนเฉพาะในสุกรสาวทดแทนเท่านั้น (Olanratmanee et al., 2014; Tummaruk and Olanratmanee, 2015) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการทำวัคซีนอย่างสม่ำเสมอทั้งในสุกรสาวทดแทนและแม่สุกรทุกลำดับท้องสามารถลดความสูญเสียของลูกสุกรได้ จากผลการศึกษาในครั้งนี้นี้พบว่า ลูกสุกรที่เกิดการสูญเสียตรวจไม่พบเชื้อ PPV ทั้งนี้ฟาร์มสุกรที่ถูกเลือกมาในการศึกษาครั้งนี้มีการทำวัคซีนต่อเชื้อ PPV ในสุกรสาวทดแทนและแม่สุกรทุกลำดับท้องอย่างสม่ำเสมอ จึงอาจเป็นไปได้ว่าการสูญเสียของลูกสุกรในฟาร์มกลุ่มนี้ไม่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ PPV ในลูกสุกร ดังนั้นฟาร์มสุกรจึงควรมีการทำวัคซีนต่อเชื้อ PPV ทั้งในสุกรสาวทดแทนและแม่สุกรทุกลำดับท้องทุก 4-6 เดือนอย่างสม่ำเสมอ และควรมีการตรวจเฝ้าระวังการติดเชื้อ PPV ในสุกร รวมถึงการเฝ้าระวังระดับภูมิคุ้มกันของแม่สุกรในฝูงอย่างเข้มงวดอีกด้วย

โดยสรุป การสูญเสียของลูกสุกรในฟาร์มระบบอุตสาหกรรมในประเทศไทยพบได้ทั้งลูกแท้ง ลูกกรอก และลูกสุกรตายแรกคลอด ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการตรวจพบเชื้อ PRRSV และ PCV2 เป็นอย่างมาก โดยเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ตรวจพบได้ในทุกลำดับท้องและทุกช่วงอายุของตัวอ่อน อีกทั้งยังพบการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้อีกด้วย การเฝ้าระวังและติดตามการติดเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ยังมีความสำคัญอยู่มาก รวมถึงการ

จัดการด้านต่าง ๆ เพื่อควบคุมการติดเชื้อนี้ยังควรได้รับการดำเนินการเพื่อลดความสูญเสียของลูกสุกรที่อาจเกิดขึ้นได้ นอกจากนั้น การทำวัคซีนต่อเชื้อ PPV ทั้งในสุกรสาวทดแทนและสุกรนางทุกลำดับท้องอย่างสม่ำเสมอจะช่วยลดความสูญเสียของลูกสุกรจากการติดเชื้อ PPV ได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณการสนับสนุนทุนสำหรับการทำวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก (รหัสโครงการ TRG5780082) รวมถึงความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างและข้อมูลจากผู้ดูแลฟาร์มสุกรและผู้เลี้ยงสุกรในฟาร์มเป็นอย่างดี และขอขอบคุณบุคลากรจากหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออกสำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือพร้อมทั้งอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัย

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

1. การศึกษาในครั้งนี้พบการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อ PRRSV และ PCV2 สูง ซึ่งการศึกษาถึงผลกระทบโดยตรงของการติดเชื้อร่วมของเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้ต่อระบบสืบพันธุ์และความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ยังมีการศึกษากันไม่มาก ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาการติดเชื้อร่วมของเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดนี้ โดยเฉพาะการติดเชื้อในภาคสนามของฟาร์มสุกรอุตสาหกรรมในประเทศไทย ซึ่งจะช่วยให้สัตวแพทย์และเกษตรกรผู้เลี้ยงสุกรเข้าใจสาเหตุของความล้มเหลวทางระบบสืบพันธุ์ในฟาร์มมากขึ้น อันจะส่งผลให้สามารถวางแผนทางการแก้ไขปัญหาและลดความสูญเสียภายในฟาร์มได้ดียิ่งขึ้น
2. การศึกษาต่อยอดถึงผลของการทำวัคซีนเชื้อพาร์โวไวรัสโปรแกรมต่าง ๆ ที่มีผลต่อการตรวจพบเชื้อพาร์โวไวรัสในลูกสุกรที่สูญเสียจะช่วยให้สามารถวางแผนการควบคุมการสูญเสียลูกสุกรจากเชื้อพาร์โวไวรัสได้ดียิ่งขึ้น

ผลลัพธ์ที่ได้จากโครงการวิจัย

ผลงานนำเสนอในที่ประชุมวิชาการ

- | | |
|----------------------|--|
| 1. ชื่อเรื่อง | Percentage of mummified fetuses is associated with porcine parvovirus vaccination schedule in Thailand |
| ชื่องานประชุมวิชาการ | 39 th International Conference on Veterinary Science (ICVS) 2014 |
| วันที่จัดงานประชุม | 16-18 ธันวาคม 2557 |

สถานที่จัดงานประชุม	อิมแพค เมืองทองธานี จังหวัดนนทบุรี
2. ชื่อเรื่อง	Reproductive performances in sows in relation to porcine parvovirus vaccination schedule in Thailand : A field study
ชื่องานประชุมวิชาการ	14 th Chulalongkorn University Veterinary Conference (CUVC) 2015
วันที่จัดงานประชุม	20-22 เมษายน 2558
สถานที่จัดงานประชุม	ศูนย์การค้าสยามพารากอน กรุงเทพมหานคร

ผลงานที่คาดว่าจะตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

Olanratmanee, E., Pearodwong, P. and Tummaruk, P. Fetal losses associated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine parvovirus (PPV) and porcine circovirus type 2 (PCV2) detection in Thai swine commercial herds. (Manuscript in preparation) (ภาคผนวก)

ปัญหาและอุปสรรคที่พบ

ในช่วงแรกของการศึกษาพบการระบาดของโรคปากและเท้าเปื่อย (foot and mouth disease) ในโคและกระบือในพื้นที่ใกล้กับฟาร์มที่ทำการศึกษ และต่อมาโรคได้เกิดการแพร่กระจายติดในฟาร์มสุกรที่เข้าร่วมโครงการวิจัยบางฟาร์ม ซึ่งโรคนี้นอกจากจะแพร่กระจายได้รวดเร็วและทำให้แสดงอาการสุกรป่วยแล้วยังส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ในสุกรได้อีกด้วย โดยสุกรที่กำลังอุ้มท้องอาจพบอาการแท้งและการตายของตัวอ่อนทั้งแบบลูกกรอกและลูกสุกรตายแรกคลอดได้ ดังนั้นระหว่างการระบาดของโรครวมถึงภายหลังการระบาดในระยะหนึ่งจึงต้องงดการเข้าเยี่ยมฟาร์ม และหยุดการเก็บตัวอย่างงานวิจัยเพื่อลดการแพร่กระจายโรคออกจากฟาร์มและป้องกันผลกระทบของโรคระบาดที่มีต่อผลการศึกษางานวิจัย ทำให้การวิจัยเกิดความล่าช้าเป็นเวลานาน ต่อมาในช่วงปลายปี 2561 ได้พบการระบาดของโรคอหิวาต์สุกรแอฟริกัน (African swine fever) ในประเทศจีน และแพร่กระจายไปยังประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก ซึ่งโรคดังกล่าวจัดเป็นโรคที่ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมากเนื่องจากสุกรที่ได้รับเชื้อมีอัตราการตายสูงถึง 100% ทำให้การเฝ้าระวังโรคในฟาร์มสุกรของประเทศไทยเข้มข้นขึ้นอย่างมาก โดยห้ามมิให้คนภายนอกเข้าฟาร์ม และห้ามเคลื่อนย้ายสุกรและซากสุกรออกจากพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วประเทศ ทำให้การศึกษาวิจัยในช่วงท้ายเกิดความติดขัดล่าช้าและได้ตัวอย่างน้อยกว่าแผนที่วางไว้

เอกสารอ้างอิง

- Benfield, D.A., Nelson, E., Collins, J.E., Harris, L., Goyal, S.M., Robison, D., Christianson, W.T., Morrison, R.B., Goryca, D. and Chladek, D. 1992. Characterization of swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus (isolate ATCC VR-2332). *J. Vet. Diagn. Invest.* 4: 127-133.
- Castro, A.M.M.G., Cruz, T.F., Salgado, V.R., Kanashiro, T.M., Ferrari, K.L., Araujo Jr, J.P., Brandao, P.E. and Richtzenhain, L.J. 2012. Detection of porcine circovirus genotypes 2a and 2b in aborted fetuses from infected swine herds in the State of Sao Paulo, Brazil. *Acta Vet. Scand.* 54: 29.
- Cavanagh, D. 1997. Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Arch Virol.* 142(3): 629-633.
- Cheon, D.S. and Chae, C. 2001. Distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in stillborn and liveborn piglets from experimentally infected sows. *J. Comp. Pathol.* 124: 231-237.
- Cho, J.G. and Dee, S.A. 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 66: 655-662.
- Chung, W.B., Lin, M.W., Chang, W.F., Hsu, M. and Yang, P.C. 1997. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in intensive farrow-to- finish pig herds. *Can. J. Vet. Res.* 61(4): 292-298.
- Clark, E.G. 1996. Pathology of the post-weaning multisystemic wasting syndrome of pigs. *Proc. West. Can. Assoc. Swine Pract.* 5: 15-18.
- Dias, A.S., Gerber, P.F., Araujo, A.S., Auler, P.A., Gallinari, G.C. and Lobato, Z.I.P. 2012. Lack of antibody protection against Porcine circovirus 2 and Porcine parvovirus in naturally infected dams and their offspring. *Res. Vet. Sci.* 94(2): 341-345.
- Done, S.H., Paton, D.J. and White, M.E.C. 1996. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): a review with emphasis on pathological, virological and diagnostic aspects. *Br. Vet. J.* 152(2): 153-174.

- Karniychuk U.U., Saha, D., Geldhof, M., Vanhee, M., Cornillie, P., Broeck, W.V.D. and Nauwynck, H.J. 2011. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) causes apoptosis during its replication in fetal implantation sites. *Microb. Pathogenesis* 51: 194-202.
- Kim, J., Chung, H.-K. and Chae, C. 2003. Association of porcine circovirus type 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.
- Lyoo, K.S., Park, Y.H. and Park, B.K. 2001. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus from aborted fetuses and pigs with respiratory problems in Korea. *J. Vet. Sci.* 2: 201-207.
- 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(1): 47-65.
- Mak, C.K., Yang, C., Jeng, C.-R., Pang, V.F. and Yeh, K.-S. 2018. Reproductive failure associated with coinfection of porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. Vet. J.* 59(5): 525-530.
- Maldonado, J., Segales, J., Martinez-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.
- Mateusen, B., Sanchez, R.E., Van Soom, A., Meerts, P., Meas, D.G. and Nauwynck, H.J. 2004. Susceptibility of pig embryos to porcine circovirus type 2 infection. *Theriogenology* 61: 91-101.
- Meng, X.J. 2000. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Vet. Microbiol.* 74(4): 309-329.

- Mengeling, W.L., Paul, P.S. and Brown, T.T.Jr. 1980. Transplacental infection and embryonic death following maternal exposure to porcine parvovirus near the time of conception. *Arch. Virol.* 65: 55-62.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C. and Brockmeier, S.L. 1996. Comparison among strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus for their ability to cause reproductive failure. *Am. J. Vet. Res.* 57: 834-839.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M. and Vorwald, A.C. 2000. The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 199-210.
- Nelson, E.A., Christopher-Hennings, J., Drew, T., Wenswoort, G., Collins, J.E. and Benfield, D.A. 1993. Differentiation of United States and European isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 31: 3184-3189.
- Nilubol, D., Tripipat, T., Hoonsuwan, T. and Piriyaongsa, J. 2013. Genetic diversity of the ORF5 gene of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) genotype I and II in Thailand. *Arch. Virol.* 158: 943-953.
- Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P. 2010a. Abortion rate in gilts and sows in porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) sero-positive herds in Thailand. *Proc. 36th ICVS*, Nonthaburi, Thailand.
- Olanratmanee, E., Kunavongkrit, A., Tummaruk, P. 2010b. Impact of porcine epidemic diarrhea virus infection at different periods of pregnancy on subsequent reproductive performance in gilts and sows. *Anim. Reprod. Sci.* 122: 42-51.
- Olanratmanee, E., Wangnaitam, 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.
- Olanratmanee, E., Nuntawan Na Ayudhya, S., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P. 2013. Reproductive parameters following a PRRS outbreak where a whole-

- herd PRRS MLV vaccination strategy was instituted post-outbreak. *Trop. Anim. Health Prod.* 45(5): 1099-1106.
- Olanratmanee, E., Roongsitthichai, A. and Tummaruk, P. 2014. Percentage of mummified fetuses is associated with porcine parvovirus vaccination schedule in Thailand. *Proc. 39th ICVS, Nonthaburi, Thailand.* 62-63.
- Olanratmanee, E., Wongyanin, P., Thanawongnuwech, R. and Tummaruk, P. 2015. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets using quantitative polymerase chain reaction. *J. Vet. Med. Sci.* 77(9): 1071-1077.
- 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.
- Oravainen, J., Heinonen, M., Tast, A., Virolainen, J. and Peltoniemi, O. 2005. High porcine parvovirus antibodies in sow herds: prevalence and associated factors. *Reprod. Domest. Anim.* 40: 57-61.
- Ouyang, T., Zhang, X., Liu, X. and Ren, L. 2019. Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses* 11(2): 185.
- Parchariyanon, S., Inui, K., Pinyochon, W., Damrongwatanapokin, S. and Takahashi, E. 2000. Genetic grouping of classical swine fever virus by restriction fragment length polymorphism of the E2 gene. *J. Viral Methods* 87(1-2): 145-149.
- Park, J.S., Kim, J., Ha, Y., Jung, K., Choi, C., Lim, J.K., Kim, S.H. and Chae, C. 2005. Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *J. Comp. Pathol.* 132(2-3): 139-144.
- Pearodwong, P., Teankum, K., Sang-Gassanee, K. and Tummaruk, P. 2013a. Serological response of gilts and sows after field vaccination with PCV2 ORF2 subunit vaccine in Thailand. *Proc. 6th APVS Congress, Ho Chi Minh City, Vietnam.*

- Pearodwong, P., Tantilertcharoen, R., Teankum, K. and Tummaruk, P. 2013b. Seasonal influence on porcine circovirus type 2 detection in Thailand during 2006-2010. Proc. 51st KU Annual Conference, Bangkok, Thailand.
- Pearodwong, P., Srisuwatanasagul, S., Teankum, K., Tantilertcharoen, R. and Tummaruk, P. 2015. Prevalence of porcine circovirus-2 DNA-positive ovarian and uterine tissues in gilts culled due to reproductive disturbance in Thailand. *Trop. Anim. Health Prod.* 47: 833-840.
- Pejsak, Z., Kusior, G., Pomorska-Mol, M. and Podgorska, K. 2012. Influence of long-term vaccination of a breeding herd of pigs against PCV2 on reproductive parameters. *Polish J. Vet. Sci.* 15(1): 37-42.
- Pensaert, M.B., Sanchez, R.E.Jr., Ladekjaer-Mikkelsen, A.S., Allan, G.M. and Nauwynck, H.J. 2004. Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Vet. Microbiol.* 98: 175-183.
- Rosell, C., Segales, J., Ramos-Vara, J.A., Folch, J.M., Rodriguez-Arrioja, G.M., Duran, C.O., Balasch, M., Plana-Duran, J. and Domingo, M. 2000. Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet. Rec.* 146: 40-43.
- Rowland, R.R.R. 2010. The interaction between PRRSV and the late gestation of pig fetus. *Virus Res.* 154: 114-122.
- Saha, D., Lefebvre, D.J., Van Doorselaere, J., Atanasova, K., Barbe, F., Geldhof, M., Karniychuk, U.U. and Nauwynck, H.J. 2010. Pathological and virological findings in mid-gestational porcine foetuses after experimental inoculation with PCV2a or PCV2b. *Vet. Microbiol.* 145(1-2): 62-68.
- Sarli, G., Morandi, F., Panarese, S., Bacci, B., Ferrara, D., Bianco, C., Fusaro, L., Bacci, M.L., Galeati, G., Dottori, M., Bonilauri, P., Lelli, D., Leotti, G., Vila, T., Joisel, F., Allan, G., Benazzi, C. and Ostanello, F. 2012. Reproduction in porcine circovirus type 2 (PCV2) seropositive gilts inseminated with PCV2b spiked semen. *Acta Vet. Scand.* 54:51.
- Sinha, A., Shen, H.G., Schalk, S., Beach, N.M., Huang, Y.M., Meng, X.J., Halbur, P.G. and Opriessnig, T. 2011. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (prrsv) influences infection

- dynamics of porcine circovirus type 2 (pcv2) subtypes pcv2a and pcv2b by prolonging pcv2 viremia and shedding. *Vet. Microbiol.* 152: 235-246.
- Sirinaramit, T., Morozov, I., Nawagitgul, P., Sorden, S.D., Harms, P.A. and Paul, P.S. 2000. Utilization of a rate enhancement hybridization buffer system for rapid in situ hybridization for the detection of porcine circovirus in cell culture and in tissues of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12(6): 562-565.
- Tischer, I., Gelderblom, H., Vettermann, W. and Koch, M.A. 1982. A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. *Nature* 295(7): 64-66.
- Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Tatsanakit, A. and Damrongwatanapokin, S. 2004. Genetics and geographical variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Thailand. *Vet. Microbiol.* 101: 9-21.
- Truyen, U. and Streck, A.F. 2012. Porcine parvovirus In: *Disease of swine 10th edition* Zimmerman, J.J., Karriker, L.A., Ramirez, A., Schwartz, K.J. and Stevenson, G.W. (eds) John Wiley & Sons, Inc., West Sussex, UK. p.447-455.
- Tummaruk, P. and Tantilertcharoen, R. 2012. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome, Aujeszky's disease and porcine parvovirus in replacement gilts in Thailand. *Trop. Anim. Health Prod.* 44: 983-989.
- Tummaruk, P., Surapat, P., Sriariyakun, S., Seemakram, O., Olanratmanee, E., Tantilertcharoen, R. and Thanawongnuwech, R. 2013. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection in Thailand during 2005-2010 in relation to clinical problems, pig types, region, and seasons. *Trop. Anim. Health Prod.* 45(3): 771-779.
- Tummaruk, P., Phoophitphong, D., Olanratmanee, E. and Thanawongnuwech, R. 2015. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the ovary of gilts culled due to reproductive disturbances. *Comp. Clin. Pathol.* 24: 903-910.
- Tummaruk, P. and Olanratmanee, E. 2015. Reproductive performances in sows in relation to porcine parvovirus vaccination schedule in Thailand: A field study. *Proc. 14th CUVC*, Bangkok, Thailand. 315-316.

- Ullrey, D.E., Sprague, J.I., Becker, D.E. and Miller, E.R. 1965. Growth of the swine fetus. *J. Anim. Sci.* 24: 711-717.
- West, K.H., Bystrom, J.M., Wojnarowicz, C., Shantz, N., Jacobsen, M., Allan, G.M., Haines, D.M., Clark, E.G., Krakowka, S.J., 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. Diagn. 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 gl indirect and blocking ELISAS. *Trop. Anim. Health Prod.* 27(2): 83-88.
- Yin, S.H., Xiao, C.T., Gerber, P.F., Beach, N.M., Meng, X.J., Halbur, P.G. and Opriessnig, T. 2013. Concurrent porcine circovirus type 2a (pcv2a) or pcv2b infection increases the rate of amino acid mutations of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (prsv) during serial passages in pigs. *Virus Res.* 178: 445-451.
- Yuan, S., Nelsen, C.J., Murtaugh, M.P., Schmitt, B.J. and Faaborg, K.S. 1999. Recombination between North American strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Res.* 61: 87-98.
- Zimmerman, J., Benfield, D.A., Murtaugh, M.P., Osorio, F., Stevenson, G.W. and Torremorel, M. 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (Porcine Arterivirus) In: *Disease of swine* 9th edition Straw, B.E., Zimmerman, J.J., D'Allaire, S., Taylor, D.J. (eds) Blackwell Publishing Professional, Iowa, USA. p.387-417.
- Zlotowski, P., Correa, 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 Vet. Brasil.* 28: 313-318.

ภาคผนวก

Fetal losses associated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine parvovirus (PPV) and porcine circovirus type 2 (PCV2) detection in Thai swine commercial herds.

Em-on Olanratmanee^{1*} Pachara Pearodwong² Padet Tummaruk²

¹Faculty of Veterinary Medicine, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi, 20110, Thailand

²Department of obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand

*Corresponding author : Em-on_ol@rmutto.ac.th, Tel. : +663-313-6099 (1485)

Abstract

The objective of the present study was to investigate the prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine parvovirus (PPV) and porcine circovirus type 2 (PCV2) infection associated with fetal losses in Thai swine commercial herds. Aborted fetuses (n=25), mummified fetuses (n=35) and stillborn piglets (n=40) from 100 sows in 10 swine herds were included in this study. Pooled organs from each case were homogenized and submitted to PRRSV (n=100) detection using reverse transcription-polymerase chain reaction (PCR) technique and were submitted to PPV (n=60) and PCV2 (n=60) detection using PCR technique. The results revealed that PRRSV, PPV and PCV2 were detected in 66.0%, 0% (0/60) and 93.3% (56/60), respectively. From the PRRSV positive samples, PRRSV genotype 1, genotype 2 and mixed genotype were detected in 30.3% (20/66), 37.9% (25/66) and 31.8% (21/66), respectively ($P=0.728$). Co-infection of PRRSV and PCV2 was 60.0% (36/60). Co-infection of PRRSV and PCV2 in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets were 13.3% (8/60), 30.0% (18/60) and 16.7% (10/60), respectively. PRRSV and PCV2 detection were not differed statistically among groups of parity and age groups of fetuses. These finding indicated that PRRSV and PCV2 were strongly associated with fetal losses in Thai swine commercial herds. The diseases monitoring and surveillance should be further emphasized.

Keywords : porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine parvovirus (PPV), porcine circovirus type 2 (PCV2), reproductive failure, fetal loss, swine

1 Introduction

2 The main target of swine commercial herds is to produce the maximize piglets
3 weaned per sow per year. However, several factors, e.g., low piglets total born, low piglets
4 born alive, high preweaning mortality and long non-productive days, affect the number of pig
5 production. Fetal loss, i.e., abortion, mummification and stillborn, is one of the major problems
6 commonly found in the swine herds and resulted in lower piglets born alive. The fetal loss in
7 gilts and sows influenced by both infectious and non-infectious causes. The major infectious
8 agents associated with reproductive failure and fetal loss in pig industry worldwide including
9 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), Aujeszky's disease virus, porcine
10 parvovirus (PPV), classical swine fever virus and porcine circovirus type 2 (PCV2) (Dias et al.,
11 2012; Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012; Olanratmanee et al., 2015; Pearodwong et al.,
12 2015). The prevalence of PRRSV, PPV and PCV2 infection associated with reproductive failure
13 varied among pig producing countries, e.g., 10.0%, 0.0% and 1.0%, respectively, in Spain and
14 10.7%, 67.3% and 30.7%, respectively, in Korea (Maldonado et al., 2005; Kim et al., 2004). In
15 Thailand, no comprehensive study on the prevalence of these viruses and their co-infection
16 in cases of reproductive failure and fetal loss were performed. However, it was found that the
17 replacement gilts in Thai swine commercial herds were sero-positive to PRRSV and PPV in
18 87.5% and 99.0%, respectively, and the gilts that were culled due to abortion was sero-positive
19 to PRRSV and PPV in 81.0% and 75.0%, respectively (Tummaruk and Tantilertcharoen, 2012).
20 In addition, the gilts that were culled due to reproductive disturbances were detected the
21 PRRSV and PCV2 in the uterine tissues in 33.0% and 45.1%, respectively (Olanratmanee et al.,
22 2011; Pearodwong et al., 2015).

23 PRRSV is a single stranded RNA virus and is classified into 2 genotypes by its genetic,
24 antigenic and pathogenic differences, i.e., genotype 1 (European strain) and genotype 2 (North
25 American strain) (Meng, 2000). The reproductive failure in PRRSV infected herds including lower
26 farrowing rate, higher abortion rate which may up to 10-50%, higher return to estrus after
27 mating, higher mummified fetuses and stillborn piglets, higher weak born piglets and higher

1 preweaning mortality which may up to 60% (Done et al., 1996; Mengeling et al., 1996; Chung
2 et al., 1997; Cho and Dee, 2006; Zimmerman et al., 2006; Olanratmanee et al., 2013). PRRSV
3 can transmits via placenta in pregnant female pigs, especially in late stage of gestation, and
4 induces the apoptosis of fetal implantation sites which might resulted in abortion (Karniychuk
5 et al., 2011). In addition, the transplacental transmission to the fetuses may induces the fetal
6 death, which is resulted in an increasing of mummified fetuses and stillborn piglets
7 (Zimmerman et al., 2006). Under the field condition, several managements were carried out
8 to control the clinical signs of PRRSV infection, such as acclimatization, replacement gilts
9 management and also vaccination with killed or modified-live virus (MLV). However, although
10 the MLV vaccination had been performed in the infected herd, the reproductive failure caused
11 by PRRSV infection still occurred (Olanratmanee et al., 2013).

12 PPV is a single stranded DNA virus. Reproductive failure is the major and only clinical
13 sign indicated the PPV infection (Truyen and Streck, 2012). The pathogenesis of PPV infection
14 causes reproductive failure is still unclear, but the virus can cross the placenta, reach the
15 fetuses progressively and induce the fetal death (Mengeling et al., 2000). The clinical signs of
16 PPV infection related to the stage of gestation. In early stage of gestation, PPV infection mostly
17 induce the embryonic death and subsequently reabsorbed. In middle stage of gestation, when
18 the fetal bone formation is occurred, fetal death in the stage is resulted in fetal
19 mummification. In late stage of gestation, PPV infection cause stillborn piglets or weak born
20 piglets (Mengeling et al., 1980; Mengeling et al., 2000). Vaccination against PPV is the most
21 common method to control PPV infection in swine commercial herds. Nonetheless, although
22 PPV vaccination had been performed in gilts and sows, some of them were found the high
23 level of antibody titer which might not the response of the vaccination (Tummaruk and
24 Tantilertcharoen, 2012). This indicated that several factors affect the efficacy of PPV
25 vaccination in herd level (Oravainen et al., 2005).

26 PCV2 is a single stranded DNA virus. This virus causes the clinical signs in several
27 systems called ‘porcine circovirus associated diseases’ including post-weaning multisystemic

wasting syndrome (Clark, 1996), porcine dermatitis and nephropathy syndrome (Rosell et al., 2000), porcine respiratory disease complex (Kim et al., 2003), necrotic enterocolitis (Zlotowski et al., 2009) and reproductive failure which is characterized by abortion, fetal mummification, stillborn piglets, preweaning mortality and premature farrowing (West et al., 1999; Pensaert et al., 2004; Park et al., 2005; Opreissnig et al., 2007). The pathogenesis of PCV2 infection causes reproductive failure is still unclear, but it was found that the fetuses were susceptible to PCV2 infection (Mateusen et al., 2004). Several managements were carried out to control PCV2 infection in herd level including vaccination. It was found that PCV2 vaccination in sows could increase farrowing rate, number of piglets born alive and number of piglets weaned per litter (Pejsak et al., 2012). However, it was found that the pigs with high level of antibody against PCV2 could still infected by PCV2. Furthermore, the antibody level of sows was varied among vaccinated herds which might resulted in ununiformed maternal antibody in piglets and subsequently difficult to control PCV2 infection in the herds (Sarli et al., 2012).

Since PRRSV, PPV and PCV2 infection in gilts and sows cause the reproductive failure and fetal loss in infected herds worldwide, including Thailand, the prevalence of these virus infection should be investigated. Thus, the objective of the present study was to investigate the prevalence of PRRSV, PPV and PCV2 infection associated with fetal losses in Thai swine commercial herds using polymerase chain reaction (PCR) and reverse transcription PCR (RT-PCR) technique.

Materials and methods

Herd location and general management

The present study was conducted in 10 swine commercial herds in Thailand during 2014-2019. The herds were located in middle, eastern, northeastern and southern parts of Thailand. The number of sows on production were 800-5,000 sows per herd. All of the herds were defined as PRRSV, PPV and PCV2 positive herds according to the herd's monitoring data. Gilts and sows were kept in a conventional open housing system supplied with water sprinklers

and fans to reduce the impact of high temperatures. In general, gilts and sows were fed with about 3 kg of feed per animal per day of corn-soybean-fish based feed contained 16-18% crude protein, 3,000-3,250 kcal/kg metabolizable energy and 0.85-1.10% lysine. Water was provided up to *ad libitum* via water nipples. Herd health was monitored under supervision of herd veterinarian. All of the herds using artificial insemination. Gilts were acclimatized and vaccinated before being sent to the breeding herds. Gilts and sows in all of the herds including in the present study were routinely vaccinated with core vaccines against foot and mouth disease virus, classical swine fever virus, pseudorabies virus and PPV. A total of 100 gilts and sows were subjected to the present study.

Historical data and specimen collection

Aborted fetuses (n=25), mummified fetuses (n=35) and stillborn piglets (n=40) were collected from 100 gilts and sows. The specimen were kept on ice and transported to the laboratory within 24 hours. The mummified fetuses were measured the crown-rump-length (CRL) for calculating the fetal age at dead as the following formula : fetal age = $21.07 + (3.11 \times \text{CRL})$ (Ullery et al., 1965). Tissues of lung, liver, spleen, heart, thymus, tonsil and lymph node of aborted fetus and stillborn piglets, and tissues of lung, liver, spleen and heart of mummified fetuses were collected individually and were kept in -80°C until virus detection. The historical data including herd, animal identity, breed, parity number, date of mating, date of farrowing or abortion, number of piglets total born per litter (TB), number of piglets born alive per litter (BA), number of mummified fetuses per litter and number of stillborn piglets per litter were collected for analysis. The percentage of mummified fetuses per litter (MM) and the percentage of stillborn piglets per litter (SB) were calculated. Age of aborted fetuses and stillborn piglets were calculated form duration between date of mating to date of abortion or farrowing.

Viral detection using RT-PCR and PCR technique

Pooled organs from each case were homogenized and were subjected to DNA and RNA extraction using a commercial kit (NucleoSpin® RNA virus test kit, Macherey-Nagel Inc., Duren, Germany). The extraction protocol was carried out according to the manufacturer's instructions. The extracted genetic materials were then subjected to replicate for PRRSV (n=60) detection using RT-PCR technique and for PPV (n=60) and PCV2 (n=60) detection using PCR technique. The RT-PCR technique for PRRSV detection was conducted as described by Thanawongnuwech et al. (2004), whereas the PCR technique for PCV2 detection was conducted as described by Pearodwong et al. (2015) and for PPV detection was conducted by routine service at the Chulalongkorn University Veterinary Diagnostic Laboratory. The electrophoresis technique was performed to detect the products from RT-PCR and PCR techniques.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using Statistical Analysis System (SAS) version 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Descriptive statistics (means $\pm$ standard error of mean) were conducted for the continuous data, i.e., age of fetus, TB, BA, MM and SB. Frequency analysis were conducted for the percentage of PRRSV, PPV and PCV2 detection. The percentage of PRRSV, PPV and PCV2 detection were compared among groups of parity number (0, 1, 2-4, 5-11 and unknown parity), types of specimen (aborted fetus, mummified fetus and stillborn piglets) and groups of age of fetus (<70 days of gestation and $\geq$ 70 days of gestation) using *chi-square* analyses. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

On average, TB, BA, MM, SB and age of fetuses were 13.5 ± 0.5 piglets/litter (range 6-22 piglets/litter), 8.0 ± 0.8 piglets/litter (range 0-15 piglets/litter), 22.0 ± 4.3 percent (range 0-100 percent), 23.4 ± 4.4 percent (range 0-100 percent) and 97.7 ± 3.0 days (range 31-123 days), respectively. The average age of fetus in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn

1 piglets were 69.1 ± 6.1 days (range 31 - 107 days), 110.2 ± 2.7 days (range 73 - 121 days) and
2 107.6 ± 2.4 days (range 62 - 123 days), respectively.

3 The percentage of PRRSV, PPV and PCV2 detection by type of specimen is presented
4 in Table 1. PRRSV, PPV and PCV2 were detected in 66.0% (66/100), 0.0% (0/60) and 93.3%
5 (56/60), respectively. Of the PRRSV positive samples, genotype 1, genotype 2 and mixed
6 genotype were detected in 30.3% (20/66), 37.9% (25/66) and 31.8% (21/66), respectively
7 ($P=0.728$) (Table 2). The co-infection of PRRSV and PCV2 was 60.0% (36/60). The co-infection
8 of PRRSV and PCV2 in aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets were 13.3%
9 (8/60), 30.0% (18/60) and 16.7% (10/60), respectively.

10 In aborted fetuses, mummified fetuses and stillborn piglets, the PRRSV were
11 detected in 52.0% (13/25), 62.9% (22/35) and 77.5% (31/40), respectively ($P=0.096$), whereas
12 the PCV2 were detected in 94.1% (16/17), 96.7% (29/30) and 84.6% (11/13), respectively
13 ($P=0.343$) (Table 1). The percentage of PRRSV and PCV2 by groups of parity number is
14 presented in Table 3. PRRSV and PCV2 detection was highest in sows parity number 1, which
15 were 71.4% and 100.0%, respectively. However, no statistical differences of PRRSV and PCV2
16 detection among groups of parity number ($P=0.997$ and $P=0.131$, respectively). PRRSV
17 detection in fetus <70 days of age and ≥ 70 days of age were 56.4% (22/39) and 72.1% (44/61),
18 respectively ($P=0.106$), whereas PCV2 detection were 95.2% (20/21) and 92.3% (36/39),
19 respectively ($P=0.664$). The average age of fetuses with PRRSV and PCV2 positive were $98.9 \pm$
20 3.5 days and 98.0 ± 3.8 days, respectively.

21 22 Discussion

23 From the present study, it was found that litter size (TB, BA, SB and MM) was in the
24 acceptable level relative to its peers in Thailand (Olanratmanee et al., 2010, Olanratmanee et
25 al., 2013, Olanratmanee et al., 2014). In addition, the present study revealed that PRRSV and
26 PCV2 were frequently detected in cases of fetal loss which were 66.0% and 93.3%,
27 respectively, while PPV were not detected in the present study. The results indicated that

PRRSV and PCV2 is still the major pathogens cause the reproductive failure and fetal loss in Thai swine producing industry. Likewise in the previous studies, PRRSV and PCV2 had been reported to be found in several organs of *in utero* infected fetuses including heart, lung, liver, spleen, tonsil, thymus and lymph node (Choen and Chae, 2001; Rowland, 2010; Saha et al., 2010). In addition, PRRSV was detected in 67.4% of fetuses from gilts and sows with fetal losses using quantitative PCR technique (Olanratmanee et al., 2015) and was detected in 70.0% and 33.0% in ovarian and uterine tissues, respectively, of gilts culled due to reproductive disturbance using immunohistochemistry (Tummaruk et al., 2015; Olanratmanee et al., 2011). Furthermore, PCV2 was detected in 30.0% and 45.1% in ovarian and uterine tissues of gilts culled due to reproductive disturbance which were embedded in paraffin block using PCR technique (Pearodwong et al., 2015).

In the present study, likewise in the previous study, it was found that both genotype 1 and 2 of PRRSV were detected in cases of fetal losses (Olanratmanee et al., 2015). This indicated that both genotypes of PRRSV are still existed in Thai swine herds and were associated with fetal losses in the herds. Additionally, it was found that 21.0% of the specimen were co-infection with genotype 1 and 2 of PRRSV. This might resulted in the genetic recombination among multiple isolates and subsequently produced the new isolates which might no cross protection with the endemic isolates (Yuan et al., 1999; Nilubol et al., 2013). Thus, the control of PRRSV infection in the herd level might more difficult. The present study also found that PCV2 was detected as high as 93.3%. Although the pathogenesis of fetal loss caused by PCV2 is still unclear, several reports revealed the lesions in *in utero* PCV2 infected fetuses which might the causes of fetal death (Saha et al., 2010; Madson and Opriessnig, 2011).

Co-infection of PRRSV and PCV2 in the present study was found in all types of fetal loss, which was as high as 60.0%. It was well-established that the main target of these viruses is the immune cells. Co-infection could induce a strong immunosuppression which might contribute to the higher susceptibility of other pathogens infection and caused more severe of clinical signs (Ouyang et al., 2019). It had been reported that co-infection of PRRSV and

PCV2 induced longer viremia and shedding of PCV2 compared with PCV2 infection alone (Sinha et al., 2011). Furthermore, genetic variation of PRRSV isolates was higher in pigs with co-infection of these viruses (Yin et al., 2013). Since the cross protection of antibody against heterologous strains of PRRSV was quite low, the control of PRRSV infection in this case was more difficult. However, although the co-infection of these viruses had been reported in aborted fetuses and stillborn piglets from the herds with and increasing of abortion rate (Mak et al., 2018), but the effect of co-infection of PRRSV and PCV2 on the reproductive failure and fetal loss has not been comprehensively studied.

In the present study, PRRSV and PCV2 were detected in all types of specimen, groups of parity number and groups of fetal age. It was found that sows with gestation length higher than 90 days were more sensitive to PRRSV infection than sows with gestation length lower than 90 days (Rowland, 2010). Likewise, the present study found that the fetus with higher than 70 days of age tended to be higher percentage of PRRSV detection than fetus with lower than 70 days of age. In addition, since the fetal immune system was developed around 70 days of gestation, thus, the potential of viral elimination was increased during the late stage of gestation.

In general, an increasing of the number of mummified fetuses and stillborn piglets are the obvious clinical signs of PPV infection. Abortion in PPV infected sows mostly found in the naïve herds (Truyen and Streck, 2012). From the previous studies, all of the fetuses which were born from PPV vaccinated sows were negative to PPV detection using quantitative PCR after challenged the sows with homologous and heterologous strain of PPV (Foerster et al., 2016; Jozwik et al., 2009). These indicated that PPV vaccination could prevent the fetal death. In the present study, no PPV was detected in these cases of fetal loss. According to the previous study, this might be due to the continuous vaccination both in gilts and sows against PPV in the herds which were carried out in the present study. Thus, it could be suggested that PPV vaccination should be performed both in gilts and all parity numbers of sows continuously

(every 4-6 months). Additionally, PPV infection in the herds, and also the level of antibody titer against PPV, should be monitored intensively.

In conclusion, Fetal losses, i.e., abortion, fetal mummification and stillborn piglets, in Thai swine commercial herds were strongly associated with the detection of PRRSV and PCV2. These viruses could be detected in all parity number of gilts and sows and in all ages of fetuses. Furthermore, co-infection of these viruses was high. Therefore, monitoring and surveillance of PRRSV and PCV2 infection in the herd level should be emphasized, and also the general management to control the viral infection is still important. Finally, PPV vaccination should be continuously carried out both in gilts and all parity numbers of sows.

Acknowledgement

Financial support of the present study was provided by Thailand Science Research and Innovation and Rajamangala University of Technology Tawan-ok (TRG5780082). The authors gratefully acknowledge the pig farmers for the co-operation of data and sample collection.

References

- Cheon, D.S. and Chae, C. 2001. Distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in stillborn and liveborn piglets from experimentally infected sows. *J. Comp. Pathol.* 124: 231-237.
- Cho, J.G. and Dee, S.A. 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 66: 655-662.
- Chung, W.B., Lin, M.W., Chang, W.F., Hsu, M. and Yang, P.C. 1997. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in intensive farrow-to-finish pig herds. *Can. J. Vet. Res.* 61(4): 292-298.
- Clark, E.G. 1996. Pathology of the post-weaning multisystemic wasting syndrome of pigs. *Proc. West. Can. Assoc. Swine Pract.* 5: 15-18.

- 1 Dias, A.S., Gerber, P.F., Araujo, A.S., Auler, P.A., Gallinari, G.C. and Lobato, Z.I.P. 2012. Lack of
2 antibody protection against Porcine circovirus 2 and Porcine parvovirus in naturally
3 infected dams and their offspring. *Res. Vet. Sci.* 94(2): 341-345.
- 4 Done, S.H., Paton, D.J. and White, M.E.C. 1996. Porcine reproductive and respiratory syndrome
5 (PRRS): a review with emphasis on pathological, virological and diagnostic aspects. *Br. Vet.*
6 *J.* 152(2): 153-174.
- 7 Foerster, T., Streck, A.F., Speck, S., Selbitz, H.-J., Lindner, T. and Truyen, U. 2016. An inactivated
8 whole-virus porcine parvovirus vaccine protects pigs against disease but does not prevent
9 virus shedding even after homologous virus challenge. *J. Gen. Virol.* 97: 1408-1413.
- 10 Jozwik, A., Manteufel, J., Selbitz, H.-J. and Truyen, U. 2009. Vaccination against porcine
11 parvovirus protects against disease, but does not prevent infection and virus shedding
12 after challenge infection with a heterologous virus strain. *J. Gen. Virol.* 90: 2437-2441.
- 13 Karniychuk U.U., Saha, D., Geldhof, M., Vanhee, M., Cornillie, P., Broeck, W.V.D. and Nauwynck,
14 H.J. 2011. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) causes apoptosis
15 during its replication in fetal implantation sites. *Microb. Pathogenesis* 51: 194-202.
- 16 Kim, J., Chung, H.-K. and Chae, C. 2003. Association of porcine circovirus type 2 with porcine
17 respiratory disease complex. *Vet. J.* 166: 251-256.
- 18 Kim, J., Jung, K. and Chae, C. 2004. Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses
19 and stillborn piglets. *Vet. Rec.* 155: 489-492.
- 20 Madson, D.M. and Opriessnig, T. 2011. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on
21 reproduction: disease, vertical transmission, diagnostics and vaccination. *Anim. Health*
22 *Res. Rev.* 12(1): 47-65.
- 23 Mak, C.K., Yang, C., Jeng, C.-R., Pang, V.F. and Yeh, K.-S. 2018. Reproductive failure associated
24 with coinfection of porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory
25 syndrome virus. *Can. Vet. J.* 59(5): 525-530.

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

4 Mateusen, B., Sanchez, R.E., Van Soom, A., Meerts, P., Meas, D.G. and Nauwynck, H.J. 2004.
5 Susceptibility of pig embryos to porcine circovirus type 2 infection. *Theriogenology* 61:
6 91-101.

7 Meng, X.J. 2000. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus:
8 implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Vet. Microbiol.*
9 74(4): 309-329.

10 Mengeling, W.L., Paul, P.S. and Brown, T.T.Jr. 1980. Transplacental infection and embryonic
11 death following maternal exposure to porcine parvovirus near the time of conception.
12 *Arch. Virol.* 65: 55-62.

13 Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C. and Brockmeier, S.L. 1996. Comparison among
14 strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus for their ability to cause
15 reproductive failure. *Am. J. Vet. Res.* 57: 834-839.

16 Mengeling, W.L., Lager, K.M. and Vorwald, A.C. 2000. The effect of porcine parvovirus and
17 porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive
18 performance. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 199-210.

19 Nilubol, D., Tripipat, T., Hoonsuwan, T. and Piriyaongsa, J. 2013. Genetic diversity of the ORF5
20 gene of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) genotype I and II in
21 Thailand. *Arch. Virol.* 158: 943-953.

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

25 Olanratmanee, E., Wangnaitham, S., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and Tummaruk,
26 P. 2011. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)

1 antigen-positive uterine tissues in gilts culled due to reproductive disturbance in Thailand.
2 Trop. Anim. Health Prod. 43: 451-457.

3 Olanratmanee, E., Nuntawan Na Ayudhya, S., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and
4 Tummaruk, P. 2013. Reproductive parameters following a PRRS outbreak where a whole-
5 herd PRRS MLV vaccination strategy was instituted post-outbreak. Trop. Anim. Health
6 Prod. 45(5): 1099-1106.

7 Olanratmanee, E., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A. and Tummaruk, P. 2014.
8 Reproductive performance of sows with and without PRRS modified live virus vaccination
9 in PRRS-virus-seropositive herds. Trop. Anim. Health Prod. 46: 1001-1007.

10 Olanratmanee, E., Wongyanin, P., Thanawongnuwech, R. and Tummaruk, P. 2015. Prevalence
11 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus detection in aborted fetuses,
12 mummified fetuses and stillborn piglets using quantitative polymerase chain reaction. J.
13 Vet. Med. Sci. 77(9): 1071-1077.

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

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

20 Ouyang, T., Zhang, X., Liu, X. and Ren, L. 2019. Co-infection of swine with porcine circovirus
21 type 2 and other swine viruses. Viruses 11(2): 185.

22 Pearodwong, P., Srisuwatanasagul, S., Teankum, K., Tantilertcharoen, R. and Tummaruk, P.
23 2015. Prevalence of porcine circovirus-2 DNA-positive ovarian and uterine tissues in gilts
24 culled due to reproductive disturbance in Thailand. Trop. Anim. Health Prod. 47: 833-840.

25 Pejsak, Z., Kusior, G., Pomorska-Mol, M. and Podgorska, K. 2012. Influence of long-term
26 vaccination of a breeding herd of pigs against PCV2 on reproductive parameters. Polish J.
27 Vet. Sci. 15(1): 37-42.

1 Pensaert, M.B., Sanchez, R.E.Jr., Ladekjaer-Mikkelsen, A.S., Allan, G.M. and Nauwynck, H.J. 2004.
2 Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine
3 circovirus 2 infection. *Vet. Microbiol.* 98: 175-183.

4 Park, J.S., Kim, J., Ha, Y., Jung, K., Choi, C., Lim, J.K., Kim, S.H. and Chae, C. 2005. Birth
5 abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *J. Comp.*
6 *Pathol.* 132(2-3): 139-144.

7 Rosell, C., Segales, J., Ramos-Vara, J.A., Folch, J.M., Rodriguez-Arrioja, G.M., Duran, C.O., Balasch,
8 M., Plana-Duran, J. and Domingo, M. 2000. Identification of porcine circovirus in tissues of
9 pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet. Rec.* 146: 40-43.

10 Rowland, R.R.R. 2010. The interaction between PRRSV and the late gestation of pig fetus. *Virus*
11 *Res.* 154: 114-122.

12 Saha, D., Lefebvre, D.J., Van Doorselaere, J., Atanasova, K., Barbe, F., Geldhof, M., Karniychuk,
13 U.U. and Nauwynck, H.J. 2010. Pathological and virological findings in mid-gestational
14 porcine foetuses after experimental inoculation with PCV2a or PCV2b. *Vet. Microbiol.*
15 145(1-2): 62-68.

16 Sarli, G., Morandi, F., Panarese, S., Bacci, B., Ferrara, D., Bianco, C., Fusaro, L., Bacci, M.L., Galeati,
17 G., Dottori, M., Bonilauri, P., Lelli, D., Leotti, G., Vila, T., Joisel, F., Allan, G., Benazzi, C. and
18 Ostanello, F. 2012. Reproduction in porcine circovirus type 2 (PCV2) seropositive gilts
19 inseminated with PCV2b spiked semen. *Acta Vet. Scand.* 54:51.

20 Sinha, A., Shen, H.G., Schalk, S., Beach, N.M., Huang, Y.M., Meng, X.J., Halbur, P.G. and Opriessnig,
21 T. 2011. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (prrsv) influences infection
22 dynamics of porcine circovirus type 2 (pcv2) subtypes pcv2a and pcv2b by prolonging
23 pcv2 viremia and shedding. *Vet. Microbiol.* 152: 235-246.

24 Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Tatsanakit, A. and Damrongwatanapokin, S. 2004. Genetics
25 and geographical variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)
26 in Thailand. *Vet. Microbiol.* 101: 9-21.

1 Truyen, U. and Streck, A.F. 2012. Porcine parvovirus In: Disease of swine 10th edition
2 Zimmerman, J.J., Karriker, L.A., Ramirez, A., Schwartz, K.J. and Stevenson, G.W. (eds) John
3 Wiley & Sons, Inc., West Sussex, UK. p.447-455.

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

7 Tummaruk, P., Phoophitphong, D., Olanratmanee, E. and Thanawongnuwech, R. 2015.
8 Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the ovary of gilts
9 culled due to reproductive disturbances. Comp. Clin. Pathol. 24: 903-910.

10 Ullrey, D.E., Sprague, J.I., Becker, D.E. and Miller, E.R. 1965. Growth of the swine fetus. J. Anim.
11 Sci. 24: 711-717.

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

16 Yin, S.H., Xiao, C.T., Gerber, P.F., Beach, N.M., Meng, X.J., Halbur, P.G. and Opriessnig, T. 2013.
17 Concurrent porcine circovirus type 2a (pcv2a) or pcv2b infection increases the rate of
18 amino acid mutations of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (prsv)
19 during serial passages in pigs. Virus Res. 178: 445-451.

20 Yuan, S., Nelsen, C.J., Murtaugh, M.P., Schmitt, B.J. and Faaberg, K.S. 1999. Recombination
21 between North American strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus.
22 Virus Res. 61: 87-98.

23 Zimmerman, J., Benfield, D.A., Murtaugh, M.P., Osorio, F., Stevenson, G.W. and Torremorel, M.
24 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (Porcine Arterivirus) In: Disease
25 of swine 9th edition Straw, B.E., Zimmerman, J.J., D'Allaire, S., Taylor, D.J. (eds) Blackwell
26 Publishing Professional, Iowa, USA. p.387-417.

- 1 Zlotowski, P., Correa, A.M.R., Barcellos, D.E.S.N., Cruz, C.E.F., Asanome, W., Barry, A.F., Alfieri,
- 2 A.A. and Driemeier, D. 2009. Intestinal lesions in pigs affected with postweaning
- 3 multisystemic wasting syndrome. Pesquisa Vet. Brasil. 28: 313-318.
- 4

- 1 **Table 1** The percentage of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV),
- 2 porcine parvovirus (PPV) and porcine circovirus type 2 (PCV2) detection by types of specimen

Types of specimen	The percentage of viral detection		
	PRRSV	PPV	PCV2
Aborted fetuses	52.0% ^a (13/25)	0.0% ^a (0/17)	94.1% ^a (16/17)
Mummified fetuses	62.9% ^a (22/35)	0.0% ^a (0/30)	96.7% ^a (29/30)
Stillborn piglets	77.5% ^a (31/40)	0.0% ^a (0/13)	84.6% ^a (11/13)
Total	66.0% (66/100)	0.0% (0/60)	93.3% (56/60)

- 3 ^{a, b} Different superscript letters within columns indicate statistically significant differences
- 4 ($P < 0.05$).

- 1 **Table 2** The percentage of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)
- 2 detection by types of specimen and genotypes of the virus

Types of specimen	PRRSV detection	Genotypes of PRRSV		
		Genotype 1	Genotype 2	Mixed
Aborted fetuses	52.0% (13/25)	0% (0/25)	40% (10/25)	12% (3/25)
Mummified fetuses	62.9% (22/35)	25.7% (9/35)	17.1% (6/35)	20% (7/35)
Stillborn piglets	77.5% (31/40)	27.5% (11/40)	22.5% (9/40)	27.5% (11/40)
Total	66.0% (66/100)	20% (20/100)	25% (25/100)	21% (21/100)

3

- 1 **Table 3** The percentage of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and
- 2 porcine circovirus type 2 (PCV2) detection by parity number

Parity number	The percentage of viral detection	
	PRRSV	PCV2
0	60.0% ^a (3/5)	100.0% ^a (4/4)
1	71.4% ^a (15/21)	100.0% ^a (12/12)
2-4	61.1% ^a (11/18)	90.0% ^a (9/10)
5-11	64.7% ^a (11/17)	71.4% ^a (5/7)
Unknown parity	66.7% ^a (26/39)	96.3% ^a (26/27)
Total	66.0% (66/100)	93.3% (56/60)

- 3 ^{a, b} Different superscript letters within columns indicate statistically significant differences
- 4 ($P < 0.05$).