



เชียงใหม่สัตวแพทยสาร
Chiang Mai Veterinary Journal

ISSN; 1685-9502 (print) 2465-4604 (online)

Website; www.vet.cmu.ac.th/cmvej



บทความต้นฉบับ

ความชุกและความหลากหลายพันธุกรรมของเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 จากสุกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่

ประยูทธ แซ่ไคว่ และ วินา จูเปีย

ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

บทคัดย่อ ungulate tetraparvovirus 3 เป็นเชื้อไวรัสที่สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมจากสุกรในหลายภูมิภาคทั่วโลก ถึงแม้ว่าการก่อโรคของเชื้อไวรัสในสุกรยังไม่ทราบอย่างแน่ชัด แต่พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 ได้ในหลายภูมิภาค ในการศึกษาความชุกของการติดเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 จากสุกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสพบความชุกร้อยละ 41 (41/100) เมื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน VP1 จำนวน 18 ตัวอย่าง ด้วยวิธีทางสายวิวัฒนาการสามารถจัดกลุ่มได้จำนวน 5 กลุ่มโดยมี 2 กลุ่มที่พบความสัมพันธ์ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เคยมีรายงานจากเขตจังหวัดเชียงใหม่ ในขณะที่ 3 กลุ่มไม่พบความสัมพันธ์ แสดงให้เห็นว่ายังคงมีการติดเชื้อนี้ อีกทั้งยังมีการคงอยู่ของสารพันธุกรรมของเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 จากสุกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่

คำสำคัญ พาร์โวไวรัส พีซีอาร์ สุกร เชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ ประยูทธ แซ่ไคว่ ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100 โทรศัพท์ 053-948-046 โทรสาร 053-948-065 อีเมล: Prayuth.saekhow@cmu.ac.th, Prayuth_saekhow101@yahoo.co.th

ข้อมูลบทความ วันที่ได้รับบทความ 18 สิงหาคม พ.ศ.2560 วันที่ได้รับการตีพิมพ์ 27 กันยายน พ.ศ.2560 วันที่ตีพิมพ์ออนไลน์ 2 ตุลาคม พ.ศ.2560

Original Article

Prevalence and genetic diversity of ungulate tetraparvovirus 3 in swine in Chiang Mai province.

Prayuth Saekhow^{*} and Vena Chupia

¹ *Department of Veterinary Bioscience and Veterinary Public Health Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University,
Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100*

Abstract The ungulate tetraparvovirus 3 has been detected in various parts of the world. Although pathogenesis of ungulate tetraparvovirus 3 is still unclear, previous study showed that there was a genetic diversity of ungulate tetraparvovirus3. In this study, the prevalence of ungulate tetraparvovirus 3 in Chiang Mai was 41% (41/100) using polymerase chain reaction. The phylogenetic analysis was used to investigate genetic diversity of ungulate tetraparvovirus3 using 18 nucleotide sequences of VP1 gene which was from Chiang Mai. This found that there were five groups distributed by the phylogenetic analysis. Two of five groups have related with previous report nucleotide sequences and the other three have not related with previous study. The result of this study evoked that ungulate tetraparvovirus 3 in Chiang Mai has still existed.

Keywords: parvovirus, PCR, porcine, Chiang Mai

Corresponding author: Prayute Saekhow Department of Veterinary Bioscience and Veterinary Public Health Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Maehia, Muang, Chiang Mai 50100 Tel: 053-948-046 FaX : 053-948-065 E-mail address: Prayuth.saekhow@cmu.ac.th, Prayuth_saekhow101@yahoo.co.th

Article history; received manuscript: 11 August 2017, accepted manuscript: 27 September 2017, published online: 2 October 2017

บทนำ

Ungulate tetraparvovirus 3 เป็นสมาชิกของวงศ์ *Parvoviridae* คุณสมบัติโดยทั่วไปของสมาชิกในกลุ่ม *parvoviruses* เป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวและมีความยาวของสารพันธุกรรมตั้งแต่ 5 ถึง 6 กิโลเบส ประกอบด้วย open reading frame 1 เป็นบริเวณที่กำหนดการสร้างโปรตีน NS1 และ NS2 ในขณะที่ open reading frame 2 เป็นบริเวณที่กำหนดการสร้างโปรตีน VP1 และ VP2 (Liu et al., 2017) การจัดจำแนกสมาชิกภายในวงศ์ *Parvoviridae* แบ่งเป็น 2 วงศ์ย่อยคือวงศ์ย่อย *Densovirinae* ตรวจพบในแมลง และวงศ์ย่อย *Parvovirinae* ตรวจพบการติดเชื้อในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ภายในวงศ์ย่อย *Parvovirinae* สามารถแบ่งเป็น 8 สกุล ได้แก่ *Amdoparvovirus*, *Aveparvovirus*, *Bocaparvovirus*, *Copiparvovirus*, *Dependoparvovirus*, *Erythroparvovirus*, *Protoparvovirus*, และ *Tetraparvovirus* (Cotmore et al., 2014) สำหรับสมาชิกกลุ่ม *parvoviruses* ที่มีรายงานการตรวจพบในสุกรชนิดแรกคือ ungulate protoparvovirus 1 หรือ porcine parvovirus 1 ซึ่งอยู่ในสกุล *Protoparvovirus* สำหรับ ungulate tetraparvovirus 3 หรือ porcine parvovirus 2 นั้นเป็นเชื้อไวรัสลำดับที่สองของ *parvoviruses* ที่ตรวจพบการติดเชื้อในสุกร ซึ่งมีรายงานการตรวจพบครั้งแรกเป็นการค้นพบสารพันธุกรรมของ ungulate tetraparvovirus 3 จากซีรัมของสุกรจากประเทศเมียนมาโดยที่สารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสนั้นมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่กำหนดการสร้าง phospholipase A2 อันเป็นคุณลักษณะสำหรับเชื้อในวงศ์ *Parvoviridae* แต่อย่างไรก็ตามเมื่อศึกษาด้วยวิธีสายวิวัฒนาการพบความแตกต่างไปจาก ungulate protoparvovirus 1 ที่มีรายงานมาแต่เดิมจึงได้เรียกชื่อไวรัสชนิดใหม่นี้ว่า porcine parvovirus 2 (Hijikata et al., 2001) หลังจากนั้นต่อมา มีรายงานการค้นพบเชื้อนี้จากสุกรในหลายประเทศ ดังนั้น International

Committee on Taxonomy of Viruses ได้กำหนดชื่อเชื้อไวรัสคือ ungulate tetraparvovirus 3 (Cotmore et al., 2014)

พยาธิกำเนิดของเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 ยังไม่ทราบแน่ชัดเนื่องจากสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสสามารถตรวจพบได้จากทั้งสุกรที่ไม่แสดงอาการป่วย (Saekhow et al., 2014; Streck et al., 2015) และสุกรที่แสดงอาการป่วยโดยสามารถตรวจพบได้ในสุกรที่อาการไข้สูง (Wang et al., 2010) และสุกรที่ป่วยในกลุ่มอาการ Porcine circovirus associated disease (Xiao et al., 2013) เชื้อ Ungulate tetraparvovirus 3 เป็นเชื้อไวรัสที่มีรายงานการติดเชื้อในสุกรได้จากหลายภูมิภาคทั่วโลก ทวีปเอเชียได้แก่ ประเทศเมียนมา (Hijikata et al., 2001) ประเทศจีน (Wang et al., 2010) ประเทศญี่ปุ่น (Saekhow et al., 2014) ประเทศเกาหลีใต้ (Lee et al., 2017) และประเทศไทย (Saekhow and Ikeda, 2015) ทวีปยุโรปได้แก่ ประเทศอิตาลี (Csagola et al., 2012) ประเทศเยอรมัน (Streck et al., 2013) ประเทศโรมาเนีย ประเทศเซอร์เบีย ประเทศโปแลนด์ และประเทศโครเอเชีย (Cadar et al., 2013) ทวีปอเมริกาได้แก่ ประเทศสหรัฐอเมริกา (Opriessnig et al., 2014; Xiao et al., 2013) และประเทศบราซิล (Campos et al., 2016) จากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีรายงานพบว่าเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 สามารถตรวจพบความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณที่กำหนดการสร้างโปรตีน VP1 และ VP2 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของสมาชิกในวงศ์ *Parvoviridae* คาดว่าเกิดจากกลไกการกลายพันธุ์ของสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส (Lau et al., 2011) และกระบวนการรีคอมบิเนชัน (recombination) สารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสที่มีการติดเชื้อไวรัสสองสายพันธุ์ในหนึ่งเซลล์ (Weigel-Kelley and Srivastava, 2002) ซึ่งการศึกษาลักษณะความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัส ทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงของพันธุกรรม

ของเชื้อ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อในกลุ่ม parvoviruses พบชนิดใหม่ที่มีรายงานในการติดเชื้อในสุกรเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสเหล่านี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานด้านระบาดวิทยาเมื่อตรวจพบเชื้อไวรัสที่มีคุณลักษณะใกล้เคียงกัน ungulate tetraparvovirus 3 จากสุกรที่เลี้ยงในเขตจังหวัดเชียงใหม่ในปี พ.ศ. 2559 ถึงแม้ว่าเคยมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ ungulate tetraparvovirus 3 จากสุกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่ที่มีการเก็บตัวอย่างในปี พ.ศ. 2554 ซึ่งระยะเวลาแตกต่างระหว่างทั้งสองการศึกษาเป็นระยะเวลา 5 ปี การศึกษาอย่างต่อเนื่องทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสชนิดนี้ได้ อย่างละเอียดมากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างและประชากรในการศึกษา

ตัวอย่างการศึกษาในครั้งใช้ทอนซิลของสุกรอายุ 6 เดือนจากโรงฆ่าสัตว์ของสหกรณ์ผู้เลี้ยงสุกรจังหวัดเชียงใหม่และลำพูนจำนวน 100 ตัวอย่าง โดยช่วงระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2559 ตัวอย่างทั้งหมดเก็บลงในหลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตรภายใต้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสตลอดการศึกษา

การสกัดสารพันธุกรรม และการตรวจหาสารพันธุกรรมของ ungulate tetraparvovirus 3

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส ungulate tetraparvovirus 3 ใช้วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส เริ่มจากการเตรียมตัวอย่างสำหรับการสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสจากทอนซิลสุกร โดยตัดทอนซิลขนาด 0.1 มิลลิกรัมเติมในสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 จำนวน 1000 ไมโครลิตรในหลอด

ทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร ซึ่งภายในหลอดทดลองบรรจุเม็ดเซรามิกมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ทำการบดย่อยสารละลายทอนซิลทำด้วยเครื่อง Mini-Beadbeater-1 (Biospec, Bartlesville, OK, USA) จากนั้นปั่นสารละลายทอนซิลที่ 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที การสกัดสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสด้วยการใช้สารละลายใสด้านบนโดยใช้ชุดสกัด QIAgen DNA blood minikit (QIAgen, GmbH, Germany) ขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมทำตามของบริษัทแนะนำ

การตรวจสอบความถูกต้องโดยการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อบริเวณยีน NS1 (Hijikata et al., 2001) เป็นดังนี้

Q1 (5'-GCGCATTGCGCAAAGTAGCTC-3')

Q2 (5'-GTTTGCCCTTAATG CGATCC-3')

ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสสำหรับ 1 ตัวอย่างประกอบด้วย สารละลายสารพันธุกรรมจำนวน 1 ไมโครลิตร สารละลาย Quick Taq HS Dyemix) จำนวน 10 ไมโครลิตร (Toyobo, Osaka, Japan ไพรเมอร์ 1 คู่จำนวน 1.6 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 8.2 ไมโครลิตร รวมทั้งสิ้น 25 ไมโครลิตร อุณหภูมิและเวลาสำหรับการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสเริ่มต้นด้วยที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที ตามด้วยอุณหภูมิและเวลาสำหรับการทำปฏิกิริยาลูกโซ่จำนวน 35 รอบโดยใน 1 รอบประกอบด้วย การแยกสายดีเอ็นเอเกลียวคู่ออกจากกันที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วินาที การเข้าคู่ของไพรเมอร์และดีเอ็นเอต้นแบบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วินาที การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วินาที และขั้นตอนสุดท้ายที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที ผลผลิตพีซีอาร์สำหรับไพรเมอร์คู่นี้คือ 199 คู่เบส

การตรวจสอบความหลากหลายทาง

พันธุกรรมของ ungulate tetraparvovirus 3

การตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน VP1 ของเชื้อ Ungulate tetraparvovirus 3 เพื่อใช้ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรมสำหรับการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (Saekhow et al., 2014) เป็นดังนี้

CnvirusF (5'TTACGAGTTTCCCAGTCTCG-3') และ Q17 (5'-CCAGATATCGTCCTCGTA-3')

การตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ทำโดยบริษัท Marcrogen จำกัด ประเทศเกาหลี การศึกษาสายวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 18 ตัวอย่างด้วยโปรแกรม MEGA7 (Kumar et al., 2016) เทียบเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Clustal W (Kumar et al., 2015) การสร้างสายวิวัฒนาการโดยวิธี Maximum likelihood และวิเคราะห์ค่า Bootstrapping จำนวนทั้งสิ้น 1000 ครั้ง (Zhou et al., 2016)

ผลการศึกษา

ผลการตรวจความชุกการติดเชื้อ ungulate tetraparvovirus3 ในทอนซิลของสุกรอายุ 6 เดือนจากโรงฆ่าสัตว์ของสหกรณ์ผู้เลี้ยงสุกรจังหวัดเชียงใหม่และลำพูนจำนวนทั้งสิ้น 100 ตัวอย่างโดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสโดยไพรเมอร์ที่จำเพาะบริเวณยีน NS1 นั้นพบความชุกร้อยละ 41 (41/100) ช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 เท่ากับ 31.3 ถึง 51.3

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 โดยการตรวจหาความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน VP1 ความยาว 331 คู่เบสเทียบกับเชื้อ Ungulate tetraparvovirus 3 จำนวน 7 ตัวอย่างที่มีการศึกษาจากสุกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่ก่อนหน้านี้ และจากภูมิภาคอื่นทั่วโลกที่มีในฐานข้อมูล GenBank แสดงในแผนภาพของสายวิวัฒนาการจำนวน 32

ตัวอย่าง (รูปที่ 1) การจัดกลุ่มตามลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน VP1 ตรวจจากกลุ่มของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มาจากปมเดียวกัน (Saekhow et al., 2014) ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถแบ่งออกเป็น 2 เคลด (Clade) โดย 18 ตัวอย่างมีการกระจายสายวิวัฒนาการแบ่งเป็น 5 กลุ่ม (Groups) ด้วยวิธีทางสายวิวัฒนาการ เคลดที่ I ประกอบด้วยกลุ่ม I พบจำนวน 2 ตัวอย่าง กลุ่ม II พบจำนวน 6 ตัวอย่าง และกลุ่ม III พบจำนวน 6 ตัวอย่าง ในขณะที่เคลดที่ II จัดได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม IV จำนวน 4 ตัวอย่าง และกลุ่ม V จำนวน 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่พบมากที่สุดกลุ่ม II และ III ในขณะที่กลุ่ม V พบเพียง 1 ตัวอย่าง นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์กลุ่มตัวอย่างจำนวน 5 กลุ่มที่ได้ในการศึกษาครั้งนี้ร่วมกับตัวอย่างที่ได้จากการศึกษาที่มีรายงานมาก่อนและเก็บตัวอย่างในปี ค.ศ. 2011 จากสุกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่ (Saekhow and Ikeda, 2015) พบว่ากลุ่ม III และกลุ่ม IV พบความสัมพันธ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน VP1 บนแผนภาพวิวัฒนาการระหว่างสองการศึกษา

วิจารณ์ผล

การศึกษาครั้งเป็นการศึกษาต่อเนื่องโดยการตรวจหาความชุกและการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 จากสุกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่โดยการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ผลการศึกษาครั้งนี้ตรวจพบความชุกร้อยละ 41 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในปี ค.ศ. 2015 พบความชุกร้อยละ 85 (Saekhow and Ikeda, 2015) สำหรับความชุกของทั้งสองการศึกษามีความแตกต่างของระยะเวลาและฟาร์มสุกรถึงแม้ว่าจะเป็นสุกรในเขตเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากรายละเอียดของพยาธิกำเนิดของโรคของเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 ยังไม่ได้มีการศึกษาอย่างแพร่หลาย

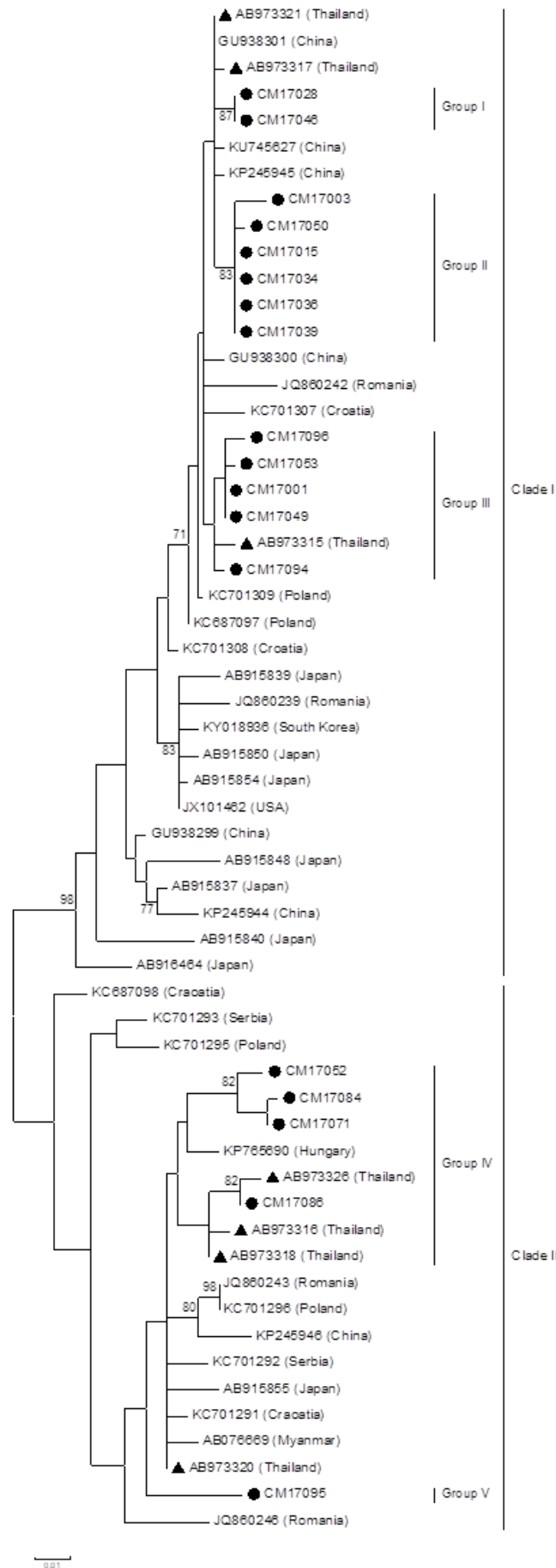


Figure 1. The distribution of 18 nucleotide sequence of ungulate tetraparvovirus 3 examined in this study. The phylogenetic tree was constructed base on 331 base pair. Black circular meant in this study nucleotide sequences and black triangular meant in 2010 nucleotide sequences

ปัจจัยที่อาจมีผลต่อความชุกทั้งสองการศึกษา อาจเกิดจากมาตรการป้องกันโรคของฟาร์ม โดยพบว่าเชื้อในวงศ์ *Parvoviridae* ที่มีการติดเชื้อในสุกร ได้แก่ ungulate protoparvovirus 1 porcine parvovirus), ungulate tetraparvovirus 2 (hokovirus), ungulate tetraparvovirus 3, ungulate copiparvovirus 2 (porcine parvovirus 4) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ungulate tetraparvovirus 3 สามารถตรวจพบร่วมกับการติดเชื้อ porcine circovirus 2 (Opriessnig et al., 2014; Saekhow et al., 2016; Sun et al., 2015) สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ได้ตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ porcine circovirus 2 พบการติดเชื้อจำนวน 68 ตัวอย่างโดยตรวจพบสารพันธุกรรมของทั้งสองเชื้อไวรัส 36 ตัวอย่าง สำหรับกลไกการติดเชื้อ porcine circovirus 2 ร่วมกับ porcine parvovirus พบว่าสุกรที่มีการติดเชื้อไวรัส porcine circovirus 2 มีการสร้างไซโตไคน์มีความผิดปกติโดยเฉพาะอย่างยิ่งอินเตอร์เฟอรอนแอลฟาและอินเตอร์เฟอรอนแกมมา ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันซึ่งมีผลต่อการกำจัดเชื้อไวรัสลดลงทำให้เชื้อไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนได้ (Opriessnig et al., 2017) ซึ่งประชากรที่ใช้ศึกษาที่มีความแตกต่างกันอาจมีที่มาที่แตกต่างกันจึงอาจทำให้สุกรทั้งสองการศึกษาได้รับการปฏิบัติที่ต่างกันส่งผลทำให้ความชุกทั้งสองการศึกษามีความแตกต่างกันได้

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสจากทอนซิลสุกรจากสุกรอายุ 6 เดือน สำหรับตัวอย่างที่มาจากเนื้อเยื่อน่าจะเป็นตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาเนื่องมาจากการศึกษาจากสุกรในประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่าการตรวจตัวอย่างจากปอดพบความชุกร้อยละ 21 และการตรวจจากเลือดพบความชุกร้อยละ 35 นอกจากนั้นแล้ว การศึกษาที่ใช้ทอนซิลโดยเป็นการศึกษาจากสุกรประเทศเยอรมันพบความชุกร้อยละ 78 (Streck et al., 2013) ญี่ปุ่นพบความชุกร้อยละ 58 (Saekhow et al., 2014) จีนพบความชุกร้อยละ 39 (Sun et al., 2015)

ไทยพบความชุกร้อยละ 83 (Saekhow and Ikeda, 2015) และ 41 (การศึกษาคั้งนี้) เมื่อเปรียบเทียบกับ การศึกษาจากซีรัมของสุกรประเทศจีนพบความชุกร้อยละ 26 (Wang et al., 2011) ประเทศเมียนมาพบความชุกร้อยละ 25 (Hijikis et al., 2001) ประเทศฮังการีพบความชุกร้อยละ 6 (Csagola et al., 2012) ประเทศโรมาเนียพบความชุกร้อยละ 25 ประเทศเซอร์เบียพบความชุกร้อยละ 26 ประเทศโปแลนด์พบความชุกร้อยละ 28 ประเทศโครเอเชียพบความชุกร้อยละ 19 (Cadar et al., 2013) ถึงแม้ว่ารายงานความชุกที่พบในแต่ละภูมิภาคมีความแตกต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบประชากรที่พบความชุกสูงในการศึกษาจากประเทศไทยและเยอรมันซึ่งเก็บตัวอย่างจากทอนซิลของสุกรทั้งนี้ อาจเป็นผลมาจากธรรมชาติของเชื้อในวงศ์ *Parvoviridae* นั้นมีความชอบต่อเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์เม็ดเลือดขาวทำให้สามารถตรวจพบเชื้อได้ในทอนซิลมากกว่าที่จะตรวจพบในเลือด อีกทั้งเป็นไปได้ว่าการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสในกระแสเลือดนั้นมีระยะเวลาสั้นทำให้โอกาสการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสจากเลือดต่ำกว่า (Csagola et al., 2016) ดังนั้นการใช้ทอนซิลของสุกรอาจมีเป็นอวัยวะที่ความเหมาะสมสำหรับใช้สำหรับการแยกเชื้อไวรัส และหากสามารถเพาะเลี้ยงไวรัสได้ก็ทำให้สามารถทำให้การศึกษาพยาธิกำเนิดของโรคได้ดียิ่ง

สำหรับอายุของสุกรที่ทำการศึกษาคั้งนี้เป็น การใช้สุกรอายุ 6 เดือน จากการศึกษาในประเทศฮังการีพบว่าสุกรเริ่มพบการติดเชื้อได้ในช่วงอายุ 2 เดือนและสามารถตรวจพบการติดเชื้อได้ตลอดช่วงการเลี้ยงสุกร (Csagola et al., 2016) ซึ่งสุกรในช่วงอายุ 2 เดือนเป็นช่วงที่ภูมิคุ้มกันจากแม่สุกรลดลงจนกระทั่งไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัส (Dias et al., 2013) อีกทั้งเชื้อในวงศ์ วงศ์ *Parvoviridae* เป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง (Fritch Lilla et al., 2015; Karrasch et al., 2017) จึงทำให้สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสในทุกช่วงอายุ เนื่องจากการติดเชื้อแบบเรื้อรังของ ungulate tetraparvovirus 3

เป็นผลทำให้เชื้อต้องมีการปรับตัวโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเปลี่ยนแปลงโดยเฉพาะแคปซิดโปรตีนของเชื้อไวรัส (Streck et al., 2015) โดยพบการเปลี่ยนแปลงบริเวณที่ open reading frame 2 อันเป็นบริเวณที่กำหนดการ สร้างแคปซิดโปรตีน อีกทั้งพบว่าอัตราตายพันธุ์ของ เชื้อ canine parvovirus 2 เป็น 7.1×10^{-3} ต่อตำแหน่ง ของลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อปี (Hoelzer et al., 2008) และพบการเกิดรีคอมบิเนชันระหว่างเชื้อไวรัสสองสาย พันธุ์ที่มีการติดเชื้อในเซลล์เดียวกันผลของการเกิดรีคอม บิเนชันนี้สามารถทำให้เกิดเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใหม่เช่น ตัวอย่างของเชื้อ human bocavirus 2 ซึ่งเกิดจากการ รีคอมบิเนชันระหว่าง human bocavirus1 และ human bocavirus1 (Fu et al., 2011) ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ได้ทำ การตรวจสอบหาความหลากหลายพันธุกรรมของเชื้อ ungulate tetraparvovirus3 จำนวน 18 ตัวอย่างร่วมกับ ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ จาก ลักษณะตำแหน่งของตัวอย่างที่ปรากฏบนแผนภูมิสาย วิวัฒนาการสามารถแบ่งกลุ่มของลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ เป็น 2 แคลดซึ่งเป็นไปได้ว่าแหล่งต้นกำเนิดของเชื้อไวรัส ที่พบการติดเชื้อในเขตจังหวัดเชียงใหม่มีที่มาจากต่าง กัน ซึ่งตัวอย่างที่ทำการศึกษานี้ยังสามารถแบ่งได้เป็น จำนวน 5 กลุ่มพบว่าตัวอย่างจำนวน 2 กลุ่มที่พบ ความสัมพันธ์ระหว่างจากที่เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ แสดงให้เห็นว่าเชื้อ ungulate tetraparvovirus3 ที่ ยังคงพบการติดเชื้อในสุกรนั้นมีแหล่งต้นกำเนิดเดียวกัน สำหรับตัวอย่างอีกจำนวน 3 กลุ่มที่ไม่พบความสัมพันธ์ ระหว่างจากที่เคยมีรายงานไว้สามารถเกิดขึ้นได้ในสอง ลักษณะดังนี้ ลักษณะแรกมีการติดเชื้อในสุกรแต่ไม่ สามารถตรวจพบได้ในการศึกษาในครั้งนี้แล้วแต่ สามารถตรวจพบในการศึกษาในครั้งนี้ และลักษณะที่ สองเชื้อมีการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมจนกระทั่งเป็น เชื้อไวรัสที่มีลักษณะที่ตรวจพบเฉพาะสุกรในเขตจังหวัด เชียงใหม่ อย่างไรก็ตามเชื้อในกลุ่มที่พบเฉพาะเขต จังหวัดเชียงใหม่พบจำนวนน้อยหากต้องการทราบ รายละเอียดของระบาดวิทยาของเชื้อ ungulate

tetraparvovirus3 เพิ่มมากขึ้นนั้นควรมีการศึกษาความ หลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อจากประชากรของ สุกรกลุ่มอื่นเช่น สุกรป่า สุกรพื้นเมือง และสุกรที่เลี้ยง หลังบ้าน เพื่อให้ทราบลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ ไวรัสได้ละเอียดเพิ่มมากขึ้น

การศึกษาค้นคว้ามุ่งเน้นไปยังเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 เท่านั้น โดยการก่อโรคของเชื้อไวรัส ยังไม่แน่ชัด และเชื้อในวงศ์ *Parvoviridae* ที่ตรวจพบได้ ในสุกรมีรายงานชนิดใหม่ๆมีเพิ่มมากขึ้นกว่าในอดีตที่ ผ่านมาเนื่องจากการเพิ่มจำนวนของสุกรและวิธีการ ตรวจที่สามารถตรวจได้ละเอียดเพิ่มมากขึ้น การศึกษา ครั้งนี้เป็นประโยชน์ในด้านระบาดวิทยาเพื่อเป็นแนวทาง ในการติดตามและเฝ้าระวังโรคส่งผลทำให้สุกรมีสุขภาพ แข็งแรงปลอดภัยสำหรับการบริโภค

สรุป

การศึกษาค้นคว้านี้ได้ทำการตรวจหาความชุก ของการติดเชื้อ ungulate tetraparvovirus 3 พบความ ชุกร้อยละ 41 ของสุกรที่เลี้ยงในเขตจังหวัดเชียงใหม่ใน ปี ค.ศ. 2016 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ายังคงพบการ แพร่กระจายของเชื้อไวรัสชนิดนี้ในประชากรสุกร อีกทั้ง ยังพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมของเชื้อ ทำให้พบความหลากหลายของพันธุกรรม ทำให้ทราบ ข้อมูลเบื้องต้นของเชื้อไวรัสอันสามารถนำไปใช้ในการ วางแผน ควบคุมและป้องกันโรคต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ ที่มอบทุนวิจัย อ.ดร. วิไลวรรณ เพชรโสภณสกุล ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และ อ.ดร. นลินี เปรมประชา ที่ ได้ช่วยแนะนำแก้ไขต้นฉบับจนสำเร็จลุล่วง

เอกสารอ้างอิง

- Cadar, D., Lorincz, M., Kiss, T., Novosel, D., Podgorska, K., Becskei, Z., Tuboly, T., Csagola, A., 2013. Emerging novel porcine parvoviruses in Europe: origin, evolution, phylodynamics and phylogeography. *J Gen Virol.* 94, 2330-2337.
- Campos, F.S., Kluge, M., Franco, A.C., Giongo, A., Valdez, F.P., Saddi, T.M., Brito, W.M.E.D., Roehe, P.M., 2016. Complete Genome Sequence of Porcine Parvovirus 2 Recovered from Swine Sera. *Genome Announcements.* 4.
- Cotmore, S.F., Agbandje-McKenna, M., Chiorini, J.A., Mukha, D.V., Pintel, D.J., Qiu, J., Soderlund-Venermo, M., Tattersall, P., Tijssen, P., Gatherer, D., Davison, A.J., 2014. The family Parvoviridae. *Arch Virol.* 159, 1239-1247.
- Csagola, A., Lorincz, M., Cadar, D., Tombacz, K., Biksi, I., Tuboly, T., 2012. Detection, prevalence and analysis of emerging porcine parvovirus infections. *Arch Virol.* 157, 1003-1010.
- Csagola, A., Zadori, Z., Meszaros, I., Tuboly, T., 2016. Detection of Porcine Parvovirus 2 (Ungulate Tetraparvovirus 3) Specific Antibodies and Examination of the Serological Profile of an Infected Swine Herd. *PloS one.* 11, e0151036.
- Dias, A.S., Gerber, P.F., Araujo, A.S., Auler, P.A., Gallinari, G.C., Lobato, Z.I., 2013. Lack of antibody protection against Porcine circovirus 2 and Porcine parvovirus in naturally infected dams and their offspring. *Res Vet Sci.* 94, 341-345.
- Fritch Lilla, S.A., Burgett, S.E., McGann, K.A., Wechsler, D.S., 2015. Persistent and Prolonged Parvovirus B19 Viremia in a Pediatric Patient With Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 4, e38-40.
- Fu, X., Wang, X., Ni, B., Shen, H., Wang, H., Zhang, X., Chen, S., Shao, S., Zhang, W., 2011. Recombination analysis based on the complete genome of bocavirus. *Virol J.* 8, 182.
- Hijikata, M., Abe, K., Win, K.M., Shimizu, Y.K., Keicho, N., Yoshikura, H., 2001. Identification of new parvovirus DNA sequence in swine sera from Myanmar. *Jpn J Infect Dis.* 54, 244-245.
- Karrasch, M., Schmidt, V., Hammer, A., Hochhaus, A., Rosee, P., Petersen, I., Sauerbrei, A., Baier, M., Sayer, H.G., Hermann, B., 2017. Chronic persistent parvovirus B19 bone marrow infection resulting in transfusion-dependent pure red cell aplasia in multiple myeloma after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation and severe graft versus host disease. *Hematology.* 22, 93-98.
- Kumar, R., Rajak, K.K., Chandra, T., Muthuchelvan, D., Saxena, A., Chaudhary, D., Kumar, A., Pandey, A.B., 2015. Sequence-based comparative study of classical swine fever virus genogroup 2.2 isolate with pestivirus reference strains. *Veterinary world.* 8, 1059-1062.
- Lau, S.K., Woo, P.C., Yip, C.C., Li, K.S., Fu, C.T., Huang, Y., Chan, K.H., Yuen, K.Y., 2011. Co-existence of multiple strains of two novel porcine bocaviruses in the same pig, a previously undescribed phenomenon in members of the family Parvoviridae, and evidence for inter- and intra-host genetic diversity and recombination. *J Gen Virol.* 92, 2047-2059.
- Lee, J.Y., Kim, E.J., Cho, I.S., Lee, K.K., Shin, Y.K., 2017. Complete Genome Sequences of Porcine Parvovirus 2 Isolated from Swine in the Republic of Korea. *Genome Announc.* 5.
- Liu, P., Chen, S., Wang, M., Cheng, A., 2017. The role of nuclear localization signal in parvovirus life cycle. *Virol J.* 14, 80.
- Opriessnig, T., Gerber, P.F., Matzinger, S.R., Meng, X.J., Halbur, P.G., 2017. Markedly different immune responses and virus kinetics in littermates infected with porcine circovirus type 2 or porcine parvovirus type 1. *Vet Immunol Immunopathol.* 191, 51-59.

- Opriessnig, T., Xiao, C.T., Gerber, P.F., Halbur, P.G., 2014. Identification of recently described porcine parvoviruses in archived North American samples from 1996 and association with porcine circovirus associated disease. *Vet Microbiol.* 173, 9-16.
- Saekhow, P., Ikeda, H., 2015. Prevalence and genomic characterization of porcine parvoviruses detected in Chiangmai area of Thailand in 2011. *Microbiol. Immunol.* 59, 82-88.
- Saekhow, P., Kishizuka, S., Sano, N., Mitsui, H., Akasaki, H., Mawatari, T., Ikeda, H., 2016. Coincidental detection of genomes of porcine parvoviruses and porcine circovirus type 2 infecting pigs in Japan. *J Vet Med Sci* 77. 1581-1586.
- Saekhow, P., Mawatari, T., Ikeda, H., 2014. Coexistence of multiple strains of porcine parvovirus 2 in pig farms. *Microbiol. Immunol.* 58, 382-387.
- Streck, A.F., Canal, C.W., Truyen, U., 2015. Molecular epidemiology and evolution of porcine parvoviruses. *Infect Genet Evol.* 36, 300-306.
- Streck, A.F., Homeier, T., Foerster, T., Fischer, S., Truyen, U., 2013. Analysis of porcine parvoviruses in tonsils and hearts from healthy pigs reveals high prevalence and genetic diversity in Germany. *Arch Virol.* 158, 1173-1180.
- Sun, J., Huang, L., Wei, Y., Wang, Y., Chen, D., Du, W., Wu, H., Liu, C., 2015. Prevalence of emerging porcine parvoviruses and their co-infections with porcine circovirus type 2 in China. *Arch Virol.* 160, 1339-1344.
- Wang, F., Wei, Y., Zhu, C., Huang, X., Xu, Y., Yu, L., Yu, X., 2010. Novel parvovirus sublineage in the family of Parvoviridae. *Virus Genes.* 41, 305-308.
- Weigel-Kelley, K.A., Srivastava, A., 2002. Recombinant human parvovirus B19 vectors. *Pathol. Biol. (Paris)* 50, 295-306.
- Xiao, C.T., Halbur, P.G., Opriessnig, T., 2013. Molecular evolutionary genetic analysis of emerging parvoviruses identified in pigs. *Infect Genet Evol.* 16,