

การสำรวจเชื้อ *Streptococcus suis* และความไวต่อยาต้านจุลชีพใน สุกรจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย

วัลลภา วงษ์จันทอง* เนตรชนก จีวากานนท์ วิจารย์ น้อยเมล์

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40260

* ผู้รับผิดชอบบทความ : โทรศัพท์ 0-4326-2050 โทรสาร 0-4326-1246 E-mail : walayaw@dld.go.th

บทคัดย่อ

Streptococcus suis (*S. suis*) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่อาศัยอยู่ในช่องทางเดินหายใจของสุกร ในสภาวะเครียดหรือภูมิคุ้มกันอ่อนแอเชื้อนี้จะสามารถก่อโรคได้ โดยเฉพาะซีโรไทป์ 2 ที่ก่อโรคได้รุนแรง ทำให้สุกรมีอาการสมองอักเสบ ข้ออักเสบ โลหิตเป็นพิษ คนที่ได้รับเชื้อนี้จากสุกรทางบาดแผลหรือรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อโดยไม่ผ่านการปรุงสุกจะมีอาการเยื่อหุ้มสมองอักเสบ หากเชื้อกระจายสู่กระแสโลหิตทำให้โลหิตเป็นพิษเสียชีวิตได้ ส่วนผู้ป่วยที่หายจากโรคอาจสูญเสียการได้ยิน เพื่อที่จะสำรวจหาเชื้อ *Streptococcus suis* พร้อมทั้งจำแนกซีโรไทป์และทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ ในระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 จึงทำการเก็บตัวอย่างสวอปจากสุกร สุกรขุนและแม่สุกรในฟาร์ม รวม 602 ตัวอย่าง ต่อมทอนซิลสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ 150 ตัวอย่าง ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 10 จังหวัด แล้วนำมาเพาะแยกเชื้อและยืนยันชนิดของเชื้อด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) ผลการสำรวจ พบ *S. suis* จากสวอปจากสุกร 46% (46/100) สุกรขุน 30.56% (114/373) และแม่สุกร 8.53% (11/129) ต่อมทอนซิลสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ 23.33% (35/150) เมื่อจำแนกซีโรไทป์ด้วยวิธี Multiplex PCR พบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2, 7 และ 9 คิดเป็น 2.43% (5/206), 3.88% (8/206) และ 0.97% (2/206) ตามลำดับ ผลการทดสอบความไวของเชื้อ *S. suis* ต่อยาต้านจุลชีพโดยวิธี agar disc diffusion พบว่ามี ความไวต่อ amoxicillin/clavulanic acid (98.5%), cephalothin (98.5%) และ amoxicillin (94.7%) ในขณะที่ดื้อต่อยา oxytetracycline (86.4%), erythromycin (75.5%) และ kanamycin (62.6%) สรุปได้ว่าพบเชื้อ *S. suis* ได้ทั้งในช่องจมูกของสุกรปกติทุกช่วงอายุและในต่อมทอนซิลสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปวิเคราะห์ จัดทำแผนการเฝ้าระวัง ป้องกัน ควบคุมและรักษาต่อไป

คำสำคัญ : *Streptococcus suis*, สุกร, ยาต้านจุลชีพ, Multiplex PCR

บทนำ

Streptococcus suis (*S. suis*) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร สามารถสร้างสารพิษที่สลายเม็ดเลือดแดงได้ไม่สมบูรณ์ (alpha-hemolysis) โดยปกติเชื้อ *S. suis* อาศัยอยู่ในช่องทางเดินหายใจส่วนบนของสุกร เช่น ช่องจมูก และอาจพบที่อวัยวะอื่นโดยเฉพาะที่ร่องของต่อมทอนซิล ช่องคลอด และทางเดินอาหารของสุกร (Higgins and Gottschalk, 1999) โดยที่สุกรไม่แสดงอาการป่วยแต่จะเป็นแหล่งรังโรค ในภาวะที่สุกรเครียดเนื่องจากความแออัด อากาศไม่เหมาะสม ความสกปรก หรืออยู่ในสภาวะที่ภูมิคุ้มกันอ่อนแอ จะทำให้เชื้อเพิ่มจำนวนและสามารถแพร่กระจายไปยังสุกรตัวอื่นๆ ในฝูงได้ เชื้อนี้สามารถจำแนกได้ 33 ซีโรไทป์ ซีโรไทป์ 1 ทำให้เกิดข้ออักเสบในลูกสุกรแรกคลอด 2-8 สัปดาห์ ซึ่งจะพบเป็นครั้งคราว ขณะที่ซีโรไทป์ 2 ก่อโรคได้รุนแรงในลูกสุกรหลังหย่านมและสุกรขุน ส่วนใหญ่จะแสดงอาการโลหิตเป็นพิษ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ข้ออักเสบ และเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (Arends and Zanen, 1988) รายงานจากประเทศฟินแลนด์และเดนมาร์คพบว่า *S. suis* ซีโรไทป์ 7 พบได้บ่อยและเป็นปัญหาก่อโรคในสุกร (Boether et al., 1987; Sihvonen et al., 1988) ในขณะที่ประเทศออสเตรเลียและเนเธอร์แลนด์จะพบซีโรไทป์ 9 เป็นส่วนใหญ่ (Gogolewski et al., 1990)

นอกจากนี้เชื้อ *S. suis* ยังสามารถแพร่กระจายไปสู่คนได้ด้วยการสัมผัสกับสุกรที่มีเชื้อ โดยเชื้อจะเข้าสู่ร่างกายทางบาดแผลที่ผิวหนัง (Suankratay et al., 2004) ทางลมหายใจ รวมทั้งการบริโภคเนื้อหรือเลือดสุกรที่ไม่ผ่านการปรุงสุก (Fongcom et al., 2001; Khadthasima et al., 2007) ผู้ป่วยจะมีอาการ ปวดศีรษะ มีไข้ คอแข็ง ข้ออักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ภายหลังที่หายจากอาการป่วยอาจมีความผิดปกติในการทรงตัวหรือสูญเสียการได้ยิน ในรายที่รุนแรงอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้เนื่องจากเชื้อเข้าสู่กระแสโลหิต (Higgin et al., 1995; Wangkaew et al., 2006) มีรายงานการติดเชื้อ *S. suis* ในคนจากประเทศต่างๆ ทั่วโลกได้แก่ อิตาลี สเปน อังกฤษ เบลเยียม โครเอเชีย ออสเตรีย นิวซีแลนด์ สวีเดน ฝรั่งเศส เยอรมัน ไอร์แลนด์ ฮังการี กรีซ ออสเตรเลีย อาร์เจนตินา ฮองกง สิงคโปร์ ใต้หวัน ญี่ปุ่น จีน รวมทั้งประเทศไทย (Gottschalk et al., 2007) การระบาดครั้งใหญ่ที่สุดของการติดเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ในคนเกิดขึ้นในปี 2005 ที่มณฑลเสฉวน สาธารณรัฐประชาชนจีน มีผู้ป่วยทั้งสิ้น 215 ราย และเสียชีวิต 39 ราย (Yu et al., 2006) สำหรับในประเทศไทยมีรายงานติดเชื้อ *S. suis* ในคนครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2530 (Phuapradit et al., 1987) และมีรายงานผู้ป่วยและเสียชีวิตจากการติดเชื้อนี้เรื่อยมา เช่นในปี พ.ศ. 2542-2543 มีรายงานผู้เสียชีวิต 10 ราย ใน จ.ลำพูน (สำนักโรคติดต่อทั่วไป, 2550) ปีพ.ศ. 2550 สำนักโรคติดต่อวิทยาได้รับรายงานผู้ป่วยติดเชื้อ *S. suis* รวม 150 ราย เสียชีวิต 23 ราย และในปีเดียวกันนี้เองได้เกิดการระบาดครั้งใหญ่ที่จังหวัดพะเยามีผู้ป่วย 32 รายและเสียชีวิต 3 ราย สาเหตุเกิดจากการรับประทานเนื้อและเลือดสุกรที่ติดเชื้อโดยไม่ผ่านการปรุงสุก การติดเชื้อ *S. suis* ในประเทศไทยส่วนใหญ่จะพบที่จังหวัดในเขตภาคเหนือ (ธีรศักดิ์, 2550) สำหรับภาคตะวันออกเฉียงเหนือแม้สถิติผู้ป่วยจะไม่สูงเท่าในภาคเหนือ แต่ก็มีรายงานการพบผู้ป่วยจำนวน 7 ราย ในปี พ.ศ. 2553 (กรรณิการ์และธีรศักดิ์, 2554)

จากข้อมูลทางระบาดวิทยาของเชื้อที่เพาะแยกได้จากผู้ป่วยในประเทศไทย ในระหว่าง พ.ศ. 2541-2545 พบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 มากที่สุดถึงร้อยละ 95 (Takamatsu et al., 2008) ในขณะที่ข้อมูลด้านระบาดวิทยาในปศุสัตว์มีรายงานน้อยมากทำให้ไม่ทราบถึงอุบัติการณ์ที่แท้จริงของโรคนี้ การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและจำแนกซีโรไทป์ 1, 2, 7 และ 9 ของเชื้อ *S. suis* พร้อมทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ เนื่องจาก 4 ซีโรไทป์นี้เป็นปัญหาสำคัญในสุกรและมีรายงานการพบบ่อยในต่างประเทศ นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ จัดทำแผนการเฝ้าระวัง ป้องกัน ควบคุม และรักษาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่าง

ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 เจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนร่วมกับเจ้าหน้าที่ของปศุสัตว์จังหวัดทำการเก็บตัวอย่างสวอปจมูกสุกร ในลูกสุกร สุกรขุนและแม่สุกร รวม 602 ตัวอย่าง จากฟาร์มใน 10 จังหวัด (กาฬสินธุ์ ขอนแก่น นครพนม มหาสารคาม มุกดาหาร เลย สกลนคร หนองคาย หนองบัวลำภู และอุดรธานี) และตัวอย่างทอนซิล 150 ตัวอย่าง จากโรงฆ่าสัตว์ใน 5 จังหวัด (ขอนแก่น นครพนม มุกดาหาร สกลนคร และอุดรธานี)

การเพาะแยกเชื้อ

นำตัวอย่างสวอปจมูกสุกรและทอนซิลมาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 % Sheep Blood agar (Difco, England) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในบรรยากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5-10 โดยบ่มใน candle jar เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีสีเทาขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร ที่สามารถสร้างสารพิษทำลายเม็ดเลือดแดงได้ไม่สมบูรณ์ (α -haemolysis) ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และเพิ่มปริมาณเชื้อ คัดเลือกเชื้อที่มีรูปร่างกลม ติดสีแกรมบวก และให้ผลลบต่อการทดสอบ catalase และ oxidase

การพิสูจน์เชื้อด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) และจำแนกซีโรไทป์ด้วยวิธี Multiplex PCR

การเตรียม DNA template

เชื้อโคโลนีของเชื้อประมาณ 15-20 โคโลนี ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุน้ำกลั่น 1 มิลลิตร ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ McFarland no.4 นำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 rpm นาน 5 นาที ทิ้งส่วนใสและล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิตร ปั่นที่ความเร็ว 12,000 rpm นาน 5 นาที ทิ้งส่วนใสแล้วเติมน้ำกลั่น 0.1 มิลลิตร เพื่อละลายตะกอนเชื้อ จากนั้นนำไปต้มให้เดือดนาน 10 นาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีโดยแช่ในน้ำแข็ง และนำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 rpm นาน 5 นาที เก็บส่วนใสไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อใช้เป็น DNA template

ไพรเมอร์

ไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจมี 5 คู่ ประกอบด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อ *S.suis* 1 คู่ (16S rRNA) (Marois et al., 2004) และไพรเมอร์จำเพาะต่อ capsular genes ของ *S.suis* ซีโรไทป์ 1(14), 2(1/2), 7 และ 9 จำนวน 4 คู่ (Smith et al.,1999a,1999b) (ตารางที่ 1)

การพิสูจน์เชื้อ *S. suis* ด้วยวิธี PCR

นำ DNA template ปริมาณ 2.5 ไมโครลิตร ใส่ในหลอด PCR ที่บรรจุ master mix (Qiagen,USA) ปริมาตร 17.5 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย PCR buffer ($MgCl_2$ 1.5 mM), 5xQ-solution, 2.5 unit Hotstar taq DNA polymerase, 200 μ M ของ dNTP each, น้ำกลั่น และเติม primer (1 μ M of 16S_s and 16S_as) อย่างละ 2.5 ไมโครลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่อง Gene Amp® (Applied Biosystems) โดย preheating ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 15 นาที denaturation 94°C 45 วินาที, annealing 54°C 45 วินาที, extension 72°C 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 10 นาที

การจำแนกซีโรไทป์ด้วยวิธี Multiplex PCR

เติม DNA template 2.5 ไมโครลิตร ลงในหลอด PCR ซึ่งบรรจุ Multiplex PCR master mix (Qiagen, USA) 12.5 ไมโครลิตร, Q-solution 2.5 ไมโครลิตร, น้ำกลั่น 5 ไมโครลิตร และเติม primer mix ของ *S. suis* ซีโรไทป์ 1(14), 2(1/2), 7 และ 9 (2 μ M of 16s, cps1, cps2, cps7 and 1 μ M of cps9) อย่างละ 2.5 ไมโครลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่อง Gene Amp® (Applied Biosystems) โดย preheating ที่อุณหภูมิ 95 °C นาน 15 นาที denaturation ที่ 94 °C 1 นาที, annealing ที่ 57 °C 1.30 นาที, extension ที่ 72 °C 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 10 นาที

นำ PCR product ที่ได้มาวิเคราะห์ด้วย gel electrophoresis บน agarose gel เข้มข้น 1.5 % ที่ผสม ethidium bromide 0.5 μ g/ml แล้วดูแถบ DNA ที่เกิดขึ้นภายใต้แสง UV โดยเทียบกับแถบ DNA marker (GelPilot) มีเชื้ออ้างอิงมาตรฐานเป็น positive control และน้ำกลั่นเป็น negative control

การจำแนกซีโรไทป์โดยวิธีทางซีรัมวิทยา

เนื่องจากการจำแนกซีโรไทป์ด้วยวิธี Multiplex PCR ไม่สามารถแยกเชื้อ *S. suis* บางซีโรไทป์ได้ การตรวจยืนยันซีโรไทป์ทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี slide agglutination และ precipitation ใน capillary tubes จึงถูกนำมาใช้วิธีการเตรียมและวิธีการทดสอบตามรายงานของพรเพ็ญและคณะ (2552)

ทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

นำเชื้อ *S. suis* มาทดสอบหาความไวต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธี agar disc diffusion ตามวิธีมาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008) โดยใช้ยาต้านจุลชีพ 14 ชนิด ดังนี้ amoxicillin, amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin, cephalothin, ciprofloxacin, cloxacillin, enrofloxacin, erythromycin, gentamicin, kanamycin, norfloxacin, oxytetracycline, penicillin G, trimethoprim/sulfamethoxazole

ผลการทดลอง

ผลการตรวจหาเชื้อ *S. suis* จากสวอปจมูกสุกรในฟาร์ม และต่อมทอนซิลสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 10 จังหวัด พบเชื้อ *S. suis* ในทุกจังหวัด โดยพบเชื้อ *S. suis* จากสวอปจมูกสุกรรวม 22.74% แยกเป็นรายจังหวัดดังนี้ เลย 19.67% (12/61), กาฬสินธุ์ 21.67% (13/60), หนองคาย 21.67% (13/60), หนองบัวลำภู 21.67% (13/60), ขอนแก่น 22.58% (14/62), สกลนคร 25% (15/60), อุตรธานี 30% (18/60), มุกดาหาร 32.20% (19/59), นครพนม 36.67% (22/60), และมหาสารคาม 53.33% (32/60) ตามลำดับ โดยพบในลูกสุกร 46% (46/100), สุกรขุน 30.56% (114/373) และแม่สุกร 8.53% (11/129) ส่วนต่อมทอนซิลสุกรจากโรงฆ่าสัตว์พบรวม 23.33% (35/150) (ตารางที่ 2)

จำแนกซีโรไทป์เชื้อทั้งหมดที่เพาะแยกได้ด้วยวิธี multiplex PCR พบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 2.43% (5/206), ซีโรไทป์ 7 3.88% (8/206) และซีโรไทป์ 9 0.97% (2/206) แต่ไม่พบซีโรไทป์ 1 สำหรับเชื้อที่มีผลจาก multiplex PCR เป็นซีโรไทป์ 2 เมื่อนำทดสอบกับ *S. suis* antiserum ซีโรไทป์ 1 และ 2 พบว่าให้ผลบวกกับ ซีโรไทป์ 2 เมื่อแยกตาม กลุ่มอายุ ลูกสุกรพบเฉพาะซีโรไทป์ 2 2.17% (1/46) แม่สุกรพบเฉพาะซีโรไทป์ 7

9.09% (1/11) สำหรับสุกรขุนตรวจพบทั้งซีโรไทป์ 2, 7 และ 9 คิดเป็น 1.75% (2/11), 3.51% (4/114) และ 0.88% (1/114) ตามลำดับ สำหรับตัวอย่าง ต่อมทอนซิลจากโรงฆ่าสัตว์พบซีโรไทป์ 2, 7 และ 9 5.71 % (2/35), 8.57 % (3/35) และ 2.86 % (1/35) ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ผลการทดสอบความไวของเชื้อ *S. suis* ต่อยาต้านจุลชีพ 14 ชนิด จำนวน 206 ตัวอย่าง พบว่ามีความไวต่อยาต้านจุลชีพตามตารางที่ 4

ตารางที่ 1 primer และขนาดของ PCR products

Primer	Nucleotide (5'-3')	PCR product length (bp)
16S-s	CAG TAT TTA CCG CAT GGT AGA TAT	294 ¹
16S-as	GTA AGA TAC CGT CAA GTG AGA A	
cps1(F)	GGC GGT CTA GCA GAT GCT CG	440 ²
cps1(R)	GCG AAC TGT TAG CAA TGA C	
cps2(F)	CAA ACG CAA GGA ATT ACG GTA TC	675 ²
cps2(R)	GAG TAT CTA AAG AAT GCC TAT TG	
cps7(F)	GAA TCA ATC CAG TCA GTG TTG G	541 ³
cps7(R)	CTA ATT CGA TAC GAA GCT AAA C	
cps9(F)	GGC TAC ATA TAA TGG AAG CCC	390 ²
cps9(R)	CCG AAG TAT CTG GGC TAC TG	

¹ Marois et al. (2004) ² Smith et al. (1999b) ³ Smith et al. (1999a)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจหาเชื้อ *Streptococcus suis* จากสวอปจมูกสุกรในฟาร์ม และต่อมทอนซิลสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 10 จังหวัด

จังหวัด	สวอปจมูกสุกร n/N (%)			รวม	ต่อมทอนซิลสุกรจากโรงฆ่าสัตว์
	ลูกสุกร	แม่สุกร	สุกรขุน		
กาฬสินธุ์	-	0/8	13/52(25) ^{T2=1}	13/60(21.67)	-
ขอนแก่น	2/12(16.67)	2/25(8)	10/25(40) ^{T2=1}	14/62(22.58)	9/30(30)
นครพนม	18/25(72)	1/25(4)	3/10(30)	22/60(36.67)	2/30(6.67)
มหาสารคาม	-	-	32/60(53.33)	32/60(53.33)	-
มุกดาหาร	7/9(77.78)	1/10(10)	11/40(27.50) ^{T7=3}	19/59(32.20)	12/30(40) ^{T2=1, T9=1}
เลย	8/16(50)	1/9(11.11)	3/36(8.33)	12/61(19.67)	-
สกลนคร	0/18	0/2	15/40(37.50) ^{T7=1}	15/60(25)	5/30(16.67) ^{T7=2}
หนองคาย	-	3/30(10) ^{T7=1}	10/30(33.33) ^{T9=1}	13/60(21.67)	-
หนองบัวลำภู	3/10(30)	1/10(10)	9/40(22.50)	13/60(21.67)	-
อุดรธานี	8/10(80) ^{T2=1}	2/10(20)	8/40(20)	18/60(30)	7/30(23.33) ^{T2=1, T7=1}
รวม	46/100(46)	11/129(8.53)	114/373(30.56)	171/602(22.74)	35/150(23.33)

n/N คือ จำนวนตัวอย่างที่พบ/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ, (%) คือ เปอร์เซ็นต์, - คือ ไม่มีตัวอย่าง

T2 คือ *S. suis* ซีโรไทป์ 2, T7 คือ *S. suis* ซีโรไทป์ 7, T9 คือ *S. suis* ซีโรไทป์ 9

ตารางที่ 3 ผลการจำแนกซีโรไทป์ของเชื้อ *Streptococcus suis* จำนวน 206 ตัวอย่าง

ซีโรไทป์	สวอปจุ่มกสุกร n/N (%)			ต่อมทอนซิล	รวม
	ลูกสุกร	แม่สุกร	สุกรขุน	สุกรจากโรงฆ่าสัตว์	
ซีโรไทป์ 1	0/46	0/11	0/114	0/35	0/206(0)
ซีโรไทป์ 2	1/46(2.17)	0/11	2/114(1.75)	2/35(5.71)	5/206(2.43)
ซีโรไทป์ 7	0/46	1/11(9.09)	4/114(3.51)	3/35(8.57)	8/206(3.88)
ซีโรไทป์ 9	0/46	0/11	1/114(0.88)	1/35(2.86)	2/206(0.97)

n/N คือ จำนวนตัวอย่างที่พบ/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ, (%) คือ เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Streptococcus suis* (n=206)

Drugs	S (%)	I (%)	R (%)
Amoxicillin (25µg)	195(94.7)	11(5.3)	0(0)
Amoxicillin/clavulanic acid (30µg)	203(98.5)	3(1.5)	0(0)
Ampicillin (10µg)	175(85)	15(7.3)	16(7.8)
Cephalothin (30µg)	203(98.5)	3(1.5)	0(0)
Ciprofloxacin (5µg)	153(74.3)	5(2.4)	48(23.3)
Cloxacillin (5µg)	185(89.8)	2(1)	19(9.2)
Enrofloxacin (5µg)	143(69.4)	13(6.3)	50(24.3)
Erythromycin (15µg)	15(7.3)	35(17)	156(75.5)
Gentamicin (10µg)	169(82)	9(4.4)	28(13.7)
Kanamycin (30µg)	33(16)	44(21.4)	129(62.6)
Norfloxacin (10µg)	31(15)	103(50)	72(35)
Oxytetracycline (30µg)	5(2.4)	23(11.2)	178(86.4)
Penicillin G (10unit)	134(65)	0(0)	72(35)
Trimethoprim/sulfamethoxazole (25µg)	103(50)	0(0)	103(50.2)

S = เชื้อไวต่อยาระดับสูง I = เชื้อไวต่อยาระดับปานกลาง R = เชื้อดื้อต่อยา

วิจารณ์

จากการสำรวจเชื้อ *S. suis* ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 10 จังหวัด (กาฬสินธุ์ ขอนแก่น นครพนม มหาสารคาม มุกดาหาร เลย สกลนคร หนองคาย หนองบัวลำภู และอุดรธานี) จากตัวอย่างสวอปจุ่มกสุกรในฟาร์ม และต่อมทอนซิลจากโรงฆ่าสัตว์ สามารถพบเชื้อ *S. suis* ได้ในทุกจังหวัด ซึ่งตัวอย่างสวอปจุ่มกสุกรครั้งนี้พบเชื้อรวม 22.74% และอัตราการพบเชื้อในแต่ละจังหวัดอยู่ในช่วง 19.67–36.67% โดยจังหวัดมหาสารคามพบเชื้อสูงที่สุด 53.33% นอกจากนี้ยังพบเชื้อได้ในแม่สุกร 8.53%, สุกรขุน 30.56% และลูกสุกร 46% ซึ่งการพบเชื้อ *S. suis* ในกลุ่มลูกสุกรนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Clifton-Hadley และคณะ (1984) ที่กล่าวว่าลูกสุกรมีอัตราการพบเชื้อ *S. suis* สูงในช่วงอายุ 4-10 สัปดาห์ โดยที่เชือนี้สามารถติดต่อจากแม่สู่ลูกผ่านทางช่องคลอด (Sandra et al., 1996) และสอดคล้องกับการศึกษาของพรเพ็ญและคณะ (2552) กับเพชรรัตน์และเจษฎา (2551) ที่กล่าวว่าสุกรที่มีอายุมามากขึ้นอัตราการพบเชือน้อยลง สำหรับอัตรา

การตรวจพบเชื้อในต่อมทอนซิลสุกรจากโรงฆ่าสัตว์อยู่ที่ 23.33% สูงกว่ารายงานของพรเพ็ญและคณะ (2552) เล็กน้อยที่ทำการศึกษาในภาคตะวันออก (14.3%) และภาคตะวันตก (14.4%) ของประเทศไทย ในขณะที่ผลการศึกษาของ Moreau และคณะ (1989) รายงานว่าพบเชื้อในตัวอย่างต่อมทอนซิลสูงถึง 65% ทั้งนี้อัตราการตรวจพบเชื้อที่แตกต่างกันอาจเป็นเพราะภูมิอากาศและสภาพการเลี้ยงซึ่งแตกต่างกัน นอกจากนี้อัตราการพบเชื้อยังขึ้นอยู่กับสภาวะการเกิดโรคในฟาร์มด้วย (Marois et al., 2007)

จากการจำแนกซีโรไทป์ทั้ง 4 พบซีโรไทป์ 2, 7 และ 9 แต่ไม่พบซีโรไทป์ 1 จากตัวอย่างทั้งในสวอป จมูกสุกรและต่อมทอนซิลจากโรงฆ่าสัตว์ ในขณะที่พบซีโรไทป์ 2 เพียง 2.43% ใกล้เคียงกับการศึกษาของ เพชรรัตน์ และเจษฎา (2551) ที่พบ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 จำนวน 2.11% ในภาคตะวันตกของประเทศไทยและสอดคล้องกับการศึกษาของ Marois และคณะ (2007) ที่พบว่าตัวอย่างจากฟาร์มสุกรที่ไม่มีการป่วย พบ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 หรือ 1/2 หรือทั้งสองซีโรไทป์ไม่ถึง 5% และการศึกษารั้งนี้พบซีโรไทป์ 7 และ 9 คิดเป็น 3.88% และ 0.97% ตามลำดับ ซึ่งถือว่าค่อนข้างต่ำในขณะที่ประเทศฟินแลนด์และเดนมาร์กพบ *S. suis* ซีโรไทป์ 7 ได้บ่อยและเป็นปัญหาก่อโรคในสุกร ในขณะที่ประเทศออสเตรเลียและเนเธอร์แลนด์จะพบซีโรไทป์ 9 เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งการพบซีโรไทป์ที่แตกต่างกันเป็นเพราะความแตกต่างของสถานที่ ภูมิภาค และช่วงเวลา (Gottschalk and Segura, 2000) ผลจากการตรวจแยกซีโรไทป์ดังกล่าวแสดงว่าเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2, 7 และ 9 สามารถพบได้ในสุกรปกติที่สุขภาพดีและไม่แสดงอาการเจ็บป่วย อัตราการตรวจพบในแต่ละซีโรไทป์ อาจแตกต่างกันได้ในแต่ละภูมิภาค สถานที่และช่วงเวลา และแม้ว่าผลการศึกษารั้งนี้จะพบสายพันธุ์ที่ก่อความรุนแรงในอัตราที่ค่อนข้างต่ำ แต่ผลการศึกษาที่ได้นี้ยังเป็นข้อมูลให้กับเจ้าหน้าที่เพื่อเฝ้าระวังและป้องกันในพื้นที่ และในอนาคตอาจจะมีการพัฒนาวิธีเพื่อตรวจหาซีโรไทป์อื่นที่ก่อความรุนแรงได้นอกเหนือจาก 4 ซีโรไทป์ที่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ต่อไป

การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ 14 ชนิดของเชื้อ *S. suis* พบว่าเชื้อมีความไวต่อ amoxicillin/clavulanic acid (98.5%), cephalothin (98.5%) และ amoxicillin (94.7%) ซึ่งสอดคล้องกับ ภูมิภาคอื่นๆ ของประเทศไทย เช่นการศึกษาของอุโม และคณะ (2548) ในภาคใต้มีความไวสูงต่อยา amoxicillin/clavulanic acid (96.9%) และ cephalothin (95.9%) รายงานของเพชรรัตน์ และเจษฎา (2551) ในภาคตะวันตกซึ่งมีความไวต่อยา amoxicillin (96.7%), cephalothin (95.7%) และ amoxicillin/clavulanic acid (92.5%) รวมทั้งสอดคล้องกับรายงานของพรเพ็ญและคณะ (2552) ที่ทำการสำรวจความชุกของเชื้อ *S. suis* ในสุกร และคนเลี้ยงสุกรใน 11 จังหวัดในภาคตะวันออกและภาคตะวันตกซึ่งครอบคลุมแหล่งเลี้ยงสุกรที่ใหญ่ที่สุดของประเทศไทย รายงานว่าเชื้อ *S. suis* มีความไวต่อยา amoxicillin/clavulanic acid (96.8%), amoxicillin (89.7%) และ cephalothin (89.1%) ในขณะที่การศึกษานี้พบการดื้อต่อยา oxytetracycline (86.4%) erythromycin (75.5%) และ kanamycin (62.6%) ซึ่งสอดคล้องกับอุโม และคณะ (2548) ที่รายงานว่าเชื้อดื้อต่อยาทั้ง 3 ชนิดนี้ในเปอร์เซ็นต์ที่ค่อนข้างสูง และรายงานของเพชรรัตน์ และเจษฎา (2551) ที่กล่าวว่าพบการดื้อยา tetracycline มากถึง 93.54% ซึ่ง tetracycline จัดเป็นยาในกลุ่มเดียวกันกับ oxytetracycline นอกจากนี้ยังพบการดื้อต่อยา kanamycin และ erythromycin ด้วยเช่นกัน ซึ่งแสดงว่าเชื้อ *S. suis* ที่แยกจากสุกรใน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตอนบนมีความไวและการดื้อต่อยาต้านจุลชีพคล้ายคลึงกับภูมิภาคอื่นๆ ของประเทศไทย

สรุป

จากการสำรวจเชื้อ *S. suis* สามารถพบเชื้อนี้ได้ทุกจังหวัดในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนและสามารถตรวจพบในสุกรปกติที่สุขภาพดีและไม่แสดงอาการเจ็บป่วยทั้งในช่องจมูกและต่อมทอนซิล ตรวจพบซีโรไทป์ 2, 7 และ 9 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ก่อความรุนแรงและพบเป็นปัญหาบ่อยในบางประเทศในอัตราที่ค่อนข้างต่ำ ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *S. suis* มีความไวต่อ amoxicillin/clavulanic acid, cephalothin และ amoxicillin แต่ ตื้อต่อยา oxytetracycline, erythromycin และ kanamycin

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สพ.ญ.มาณวิกา ผลภาค ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนที่ให้การสนับสนุนในการเสนอผลงาน รวมทั้งเจ้าหน้าที่สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดเจ้าหน้าที่ศูนย์ฯ ที่อำนวยความสะดวกและร่วมมือในการเก็บตัวอย่าง เจ้าหน้าที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติที่ช่วยตรวจวิเคราะห์ด้านเทคนิคในห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

- กรรณิการ์ หมอนพั่งเทียม และธีรศักดิ์ ชักน้า. 2554. สถานการณ์โรคติดเชื้อสเตรปโตค็อกคัส ซูอิส ปี พ.ศ. 2553. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์. ปีที่ 42 (ฉบับที่ 35): 549.
- ธีรศักดิ์ ชักน้า. 2550. โรคติดเชื้อสเตรปโตค็อกคัส ซูอิส. สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค 2550 สำนักระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข. หน้า 60-61.
- พรเพ็ญ พัฒนโสภณ วัชรชัย ณรงค์ศักดิ์ อภัสรา วรราช สมหมาย ยุวพานิชสัมพันธ์ และพลายยงค์ สการะเสถณี. 2552. ความชุกของเชื้อ *Streptococcus suis* ในสุกรและคนเลี้ยงสุกรใน 11 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันตกของประเทศไทย. สัตวแพทยสาร. 60(1-3): 49 – 61.
- เพชรรัตน์ ศักดินันท์ และเจษฎา จุลไวกุลสุจริต. 2551. ความชุกและความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Streptococcus suis* จากสุกรในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย. วารสารสำนักสัตวศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 2. ปีที่ 6 (ฉบับที่ 14): 163-175.
- สำนักโรคติดต่อทั่วไป. 2550. แนวทางการป้องกันควบคุมโรคติดเชื้อสเตรปโตค็อกคัส ซูอิส. สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. หน้า 2-4.
- อุไม บิลหมัด กมลสิริ คอยเกษม และอัญญรัตน์ ทิพย์ธารา. 2548. การติดเชื้อ *Streptococcus* ในสุกรและความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพในภาคใต้ของประเทศไทย. วารสารสัตวแพทย์. 15(2): 52-59.
- Arends, J.P. and Zanen, H.C. 1988. Meningitis caused by *Streptococcus suis* in humans. Rev Infect Dis. 10 (1): 131-137.
- Boetner, A.G, Binder, M. and Bille-Hansen, V. 1987. *Streptococcus suis* infections in Danish pigs and experimental infection with *Streptococcus suis* serotype 7. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B 95 (4):233-239.
- Clifton-Hadley, F.A., Alexander, T.J., Upton, I. and Duffus, W.P.H. 1984. Further studies in the subclinical carries state of *Streptococcus suis* type 2 in pigs. Vet. Rec. 114:513-518.
- Clinical and laboratory standards institute (CLSI). 2008. Document M31-A3 performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 3rd ed. CLSI. Wayne, Pennsylvania, USA. 99 p.
- Fongcom, A., Mongkol, R., Yoonim, N., Pruksakorn, S. and Tharavichikul, P. 2001. *Streptococcus suis* infection in northern Thailand. J Med Assoc Thai. 84: 1502-1508.

- Gogolewski, R.P., Cook, R.W. and O'Connell, C.J. 1990. *Streptococcus suis* serotypes associated with disease in weaned pig. Aust Vet J. 67:202-204.
- Gottschalk, M. and Segura, M. 2000. The pathogenesis of the meningitis caused by *Streptococcus suis*: The unresolved questions. Vet Microbiol. 76: 259-272.
- Gottschalk, M., Segura, M. and Xu, J. 2007. *Streptococcus suis* infections in humans: the Chinese experience and the situation in North America. Anm. Health Res. Rev. 8(1): 29-45.
- Higgins, R., and Gottschalk, M. 1999. Streptococcal diseases. In: Diseases of swine. 8th ed., edited by B.E. Straw, S. D'Allaire, W.L. Mengeling, and D.J. Taylor. Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A. p.563-578.
- Higgins, R., Gottschalk, M., Boudreau, A. and Henrichsen, J. 1995. Description of six new capsular types (29-34) of *Streptococcus suis*. J Vet Diagn Invest. 7(3) : 405-406.
- Khadthasima, N., Sutdan, D., Noimoh, T., Chalamat, M., Thanawitjaya, P., Areechokkechai, D., et al. 2007. Outbreak investigation of *Streptococcus suis* in Phusang district, Payao province, May 2007. Weekly epidemiological surveillance report 2007. 38:393-398.
- Marois, C., Bougeard, S., Gottschalk, M. and Kobisch, M. 2004. Multiplex PCR assay for detection of *Streptococcus suis* species and serotype 2 and 1/2 in tonsils of live and dead pigs. J. Clin Microbiol. 42(7): 3169 – 3175.
- Marois, C., Devendec, L., Gottschalk, M. and Kobisch, M. 2007. Detection and molecular typing of *Streptococcus suis* in tonsil from live pigs in France. Can. J. Vet. Res. 71: 14-22.
- Moreau, A., Higgins, R., Bigras-Poulin, M. and Nadeau, M. 1989. Rapid detection of *Streptococcus suis* serotype 2 in weaned piglets. Am.J. Vet. Res. 50: 1667-1671.
- Phuapradit, P., Boongrid, P. and Boonyakarnkul, S. 1987. Meningitis caused by *Streptococcus suis*. Intern. Med. 3: 120-122.
- Sandra, F., Kirk Clark, L., Kay Knox, Ching Ching Wu and Michael, A. 1996. *Streptococcus suis* colonization of piglets during parturition. Swine health and production. 6(4):269-272.
- Sihvonen, L., Kurl, D.N. and Henrichsen, J. 1988. *Streptococcus suis* isolated from pigs in Finland. Acta Vet Scand. 29:95-97.
- Smith, H. E., van Bruijnsvoort, L., Buijs, H., Wisselink, H. J. and Smits, M. A. 1999a. Rapid PCR test for *Streptococcus suis* serotype 7. FEMS Microbiol. Lett. 178: 265-270.
- Smith, H.E., Venbergen, V., Velde, J., Damman, M., Wisselink, H.J. and Smits, M.A. 1999b. The cps genes of *Streptococcus suis* serotypes 1,2, and 9 : Development of rapid serotype-specific PCR assays. J. Clin Microbiol. 37(10): 3140 – 3152.
- Suankratay, C., Intalaparom, P., Nunthapisud, P., Arunyingmongkol, K. and Wild, H. 2004. *Streptococcus suis* meningitis in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 35: 868-76.
- Takamatsu, D., Wongsawan, K., Osaki, M., Nishio, H., Ishiji, T. and Tharavichikul, P. 2008. *Streptococcus suis* in Humans, Thailand. Emerg Infect Diseases. 14: 181-183.
- Wangkaew, S., Chaiwarith, R., Tharavichikul, P. and Supparatpinyo, K. 2006. *Streptococcus suis* infection : a series of 41 cases from Chiang Mai University Hospital. J Infect. 52(6) : 455-460.
- Yu, H., Jing, H., Chen, Z., Zheng, H., Zhu, H., Wang, H., Wang, S., Liu, L., Zu, R., Luo, L., Xing, N., Liu, H., Liu, X., Shu, Y., Lee, S. S., Chuang, S. K., Wang, Y., Xu, J. and Yang, W. 2006. *Streptococcus suis* outbreak. Sichuan, China. Emerg. Infect. Dis. 12: 914-920.

Survey and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from swine in the upper northeastern Thailand

Wanlaya Wongchanthong^{*} Netchanok Jiwakanon Wijarn Noymay

Veterinary Research and Development Center (Upper Northeastern region).Thapra, Muang, KhonKaen 40260

* Corresponding author : Tel.0-4326-2050 / Fax. 0-4326-1246, E-mail : Walayaw@dld.go.th

Abstract

Streptococcus suis (*S. suis*) is gram-positive coccus that inhabits the nasal cavity and tonsil of normal healthy pigs. *S. suis* serotype 2 is the most pathogenic and causes meningitis, arthritis and septicemia in pigs. Humans can be infected with *S. suis* by penetration of this pathogen via cuts, abrasion or ingestion of contaminated raw pork and show signs of meningitis, septicemia and hearing loss. In order to survey, serotype and test for antimicrobial susceptibility of *S. suis*, 602 nasal swabs of piglets, sows and fattening pigs and 150 tonsil samples from slaughterhouses were collected from 10 provinces in the upper northeastern region during June to August 2008. *S. suis* was identified by bacterial culture and reconfirmed by Polymerase Chain Reaction (PCR). *S. suis* from nasal swabs was found 46% (46/100) in piglets, 30.56% (114/373) in fattening pigs and 8.53% (11/129) in sows whereas *S. suis* was found 23.33% (35/100) in tonsil samples. Serotyping of *S. suis* by multiplex PCR found serotype 2, 7 and 9 [2.43% (5/206) 3.88% (8/206) and 0.97% (2/206) respectively]. Antimicrobial susceptibility of *S. suis* isolates from this study using agar disc diffusion revealed that *S. suis* was sensitive to amoxicillin/clavulanic acid (98.5%), cephalothin (98.5%) and amoxicillin (94.7%) but it was resistant to oxytetracycline (86.4%), erythromycin (75.5%) and kanamycin (62.6%). It was indicated that *S. suis* was localized in nasal cavities and tonsils of clinically healthy swine at all ages. The results from this study could be useful for treatment and prevention of streptococcosis in pigs.

Keywords : *Streptococcus suis*, swine, antimicrobial drug, Multiplex PCR