



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสเตรปโตคอคคัส
ซูอิส ที่กระจายตัวอยู่ในการผลิตสุกร ภาคกลางของประเทศไทย
(Genetic diversity of *Streptococcus suis* isolates distributing in
swine production in central Thailand)

โดย อ.สพ.ญ.ดร.ณัฐกานต์ ลักษณะกิจเจริญ

กรกฎาคม 2559

สัญญาเลขที่ TRG5780267

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสเตรปโตคอคคัส
ซูอิส ที่กระจายตัวอยู่ในการผลิตสุกร ภาคกลางของประเทศไทย
(Genetic diversity of *Streptococcus suis* isolates distributing in
swine production in central Thailand)

ผู้วิจัย

อ.สพ.ญ.ดร.ณัฐกานต์ ลักษณะกิจเจริญ

สังกัด

คณะเทคนิคการสัตวแพทย์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย
สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

Abstract (บทคัดย่อ)

Project Code : TRG5780267

(รหัสโครงการ)

Project Title : Genetic diversity of *Streptococcus suis* isolates distributing in swine

(ชื่อโครงการ) production in central Thailand

(ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ที่กระจายตัวอยู่ในการผลิต
สุกร ภาคกลางของประเทศไทย)

Investigator : อ.สพ.ญ.ดร.ณัฐกานต์ มีขนอน (ลักษณะกิจเจริญ)

(ชื่อนักวิจัย)

E-mail Address : lnattakan@yahoo.com

Project Period : 15 กรกฎาคม 2557- 14 กรกฎาคม 2559

(ระยะเวลาโครงการ)

Abstract

Streptococcus suis is an important swine pathogen and is recognized as an emerging zoonotic pathogen, which can be transmitted to human through diseased pigs and contaminated pork products. More importantly, the carrier pigs have been considered as the major reservoir of *S. suis* and could be a significant source of human infection; therefore, in this study, we investigated the prevalence and characteristics of *S. suis* lurking in asymptomatic pigs in the pig farming area of central Thailand and compared the data with those previously reported in other regions. The prevalence of *S. suis* found in this study was 37% (125/340 pigs). The most prevalent genotype of the isolates was *mrp*⁻/*epf*⁻/*sly*⁻. Among 16 serotypes identified in 135 isolates, serotype 16 was the most frequently isolated (11%), whereas 43% of the isolates were nontypable. We additionally found serotypes 2, 9, 21, 24 and 31, which have been reported to cause human infections. As with the strains causing human sepsis in Thailand, two serotype 9 isolates and a serotype 24 isolate from slaughtered pigs belonged to sequence types (STs) 16 and 221, respectively. All the isolated serotype 2 strains belonged to ST104, the unique ST commonly found in Thai patients; however, in contrast to the endemic areas, the prevalence of *S. suis* serotype 2 was relatively low (2%), and no ST1 isolate was found. These results showed the population structure differences between *S. suis* in central Thailand and other regions; however, potential zoonotic *S. suis* is certainly lurking in asymptomatic pigs in the intensive swine production area.

บทคัดย่อ

เชื้อ *Streptococcus suis* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสุกรและยังจัดเป็นเชื้อติดต่อกันจากสัตว์สู่คนที่สำคัญ ซึ่งมนุษย์สามารถติดเชื้อได้จากสุกรป่วยโดยตรงหรือจากเนื้อหรือผลิตภัณฑ์จากสุกรที่มีการปนเปื้อนเชื้อ นอกจากนี้สุกรปกติที่เป็นพาหะของเชื้อยังจัดเป็นแหล่งกักเก็บเชื้อ *S. suis* ที่สำคัญซึ่งทำให้เกิดการติดเชื้อในมนุษย์ได้ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาความชุกและลักษณะของเชื้อ *S. suis* ที่พบในสุกรปกติในบริเวณที่มีการเลี้ยงสุกรอย่างหนาแน่นในเขตภาคกลางของประเทศไทยและทำการเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้กับข้อมูลที่มีรายงานในพื้นที่อื่น ซึ่งความชุกของเชื้อ *S. suis* ที่พบในการศึกษานี้อยู่ที่ 37% (125/340) และลักษณะจีโนมไทป์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ *mrp⁻/epf⁻/sly⁻* โดยพบว่าเชื้อที่แยกได้ทั้ง 135 เชื้อนั้นจัดอยู่ใน 16 ซีโรไทป์ โดยพบว่าซีโรไทป์ 16 เป็นซีโรไทป์ที่พบมากที่สุด (11%) ในขณะที่ 43% ของเชื้อที่แยกได้นั้นไม่สามารถหาซีโรไทป์ได้ (nontypable) นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2, 9, 21, 24 และ 31 ซึ่งจัดเป็นซีโรไทป์ที่เคยพบรายงานการก่อโรคในผู้ป่วย และในการศึกษานี้ยังพบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 9–Sequence type (ST) 16 จำนวน 2 เชื้อ และเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 24–ST221 จำนวน 1 เชื้อจากสุกรหลังผ่านกระบวนการชำแหละ ซึ่งเชื้อ *S. suis* ทั้งสองสายพันธุ์นี้เป็นเชื้อที่มีรายงานการติดเชื้อในผู้ป่วยที่พบในประเทศไทย นอกจากนี้ เชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ที่พบจากการศึกษานี้จัดอยู่ใน ST104 ซึ่งเป็น ST ที่พบเฉพาะในประเทศไทย และมักพบว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในผู้ป่วยไทยอีกด้วย อย่างไรก็ตามพบว่าความชุกของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ที่ได้จากการศึกษานี้ค่อนข้างต่ำ (2%) เมื่อเทียบกับความชุกของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคและยังไม่พบ ST1 จากเชื้อในการศึกษานี้อีกด้วย ผลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของโครงสร้างประชากรของเชื้อ *S. suis* ที่พบในเขตภาคกลางของประเทศไทยและในพื้นที่อื่น แต่อย่างไรก็ตามเชื้อ *S. suis* บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากสุกรปกติในพื้นที่ที่มีการเลี้ยงสุกรจำนวนมากในการศึกษานี้จัดเป็นเชื้อที่สามารถก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้

Keywords : *Streptococcus suis*, healthy pig, Thailand

(คำหลัก) เชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิสสุกร ประเทศไทย

วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อศึกษาลักษณะของเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากสุกรที่กระจายตัวในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรภาคกลางของประเทศไทย
- 2) เพื่อเปรียบเทียบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากสุกรในภาคกลางของประเทศไทยกับเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากพื้นที่อื่น

วิธีทดลอง

1) การเก็บตัวอย่าง

ดำเนินการเก็บตัวอย่างในระหว่างเดือนตุลาคม 2557 – กรกฎาคม 2558 โดยเก็บตัวอย่างน้ำลายและตัวอย่างจากสำลีพันปลายไม้ (Transwab[®], UK) ป้ายบริเวณจมูก (nasal swab) หรือปาก (oral swab) ของสุกรจำนวน 340 ตัว แบ่งเป็นแม่สุกร 75 ตัว ลูกสุกรดูนม 75 ตัว สุกรขุน 115 ตัว และ สุกรหลังผ่านกระบวนการชำแหละ 75 ตัว โดยเก็บตัวอย่างจากฟาร์มสุกร 5 แห่งในเขตจังหวัดนครปฐมและราชบุรี และจากโรงฆ่าสุกร 2 แห่งซึ่งตั้งอยู่ในจังหวัดนครปฐม โดยหลังจากเก็บตัวอย่าง สำลีพันปลายไม้จะถูกเก็บไว้ใน Stuart transport medium และแช่เย็น ก่อนนำไปเพาะเชื้อยังห้องปฏิบัติการซึ่งรายละเอียดของประเภทและจำนวนตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 1

2) การเพาะแยกเชื้อและพิสูจน์เอกลักษณ์ของเชื้อ *S. suis*

นำตัวอย่างมา streak ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Columbia blood agar (Oxoid, UK) ที่มีส่วนประกอบของเลือดแกะ (5%) และ Streptococcus Selective Supplement (Oxoid, UK) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้สภาวะที่มี 5% CO₂ เป็นเวลา 18-24 ชม. เลือกโคโลนีที่มีลักษณะคล้ายเชื้อในกลุ่ม streptococci มาตัวอย่างละไม่เกิน 6 โคโลนีมาเพาะเลี้ยงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Todd-Hewitt agar แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C ภายใต้สภาวะที่มี 5% CO₂ เป็นเวลา 18-24 ชม. นำโคโลนีที่สงสัยมาทดสอบเบื้องต้นโดยการย้อมสีแกรมและทดสอบ catalase จากนั้นสกัดดีเอ็นเอจากเชื้อที่แยกได้ โดยใช้ InstaGene Matrix (BIO-RAD) ตามวิธีที่ผู้ผลิตแนะนำและยืนยันเชื้อด้วย species-specific PCR (*recN*) ตามการศึกษาของ Ishida *et al.* (2014) ซึ่งมีวิธีการโดยย่อดังนี้ นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปผ่านกระบวนการ PCR โดยใช้ Quick Taq[®] HS DyeMix (TOYOBO, Osaka, Japan) นำเข้าเครื่อง thermocycler ซึ่งตั้งโปรแกรมดังนี้ 94°C 2 นาที 1 รอบ, 94°C 30 วินาที 60°C 10 วินาที 68°C 30 วินาที 30 รอบ และ 68°C 5 นาที 1 รอบ ดูผลโดยใช้ agarose gel electrophoresis แล้วส่องภายใต้แสงยูวี (UV illumination) ไฟร์เมอร์ที่ใช้สำหรับ *recN* PCR ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยใช้ *S. suis* สายพันธุ์ P1/7 เป็นตัวควบคุมบวกในการทดสอบยืนยันเชื้อด้วย *recN* PCR

3) การตรวจหาซีโรไทป์ของเชื้อ *S. suis* โดยวิธีทางอณูชีววิทยาและการทดสอบ co-agglutination โดยแอนติซีรัมต่อซีโรไทป์ 1 และ 2

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจหาซีโรไทป์ของเชื้อด้วยวิธี Two-Step Multiplex PCR ตามการศึกษาของ Okura *et al.*, 2014 โดยใช้ Qiagen multiplex master mix (Qiagen, Hilden, Germany) ซึ่งมีหลักการโดยย่อดังนี้ นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปผ่านกระบวนการ PCR ในขั้นที่ 1 เพื่อจำแนกกลุ่มของเชื้อ ส่วน PCR ในขั้นที่ 2 นั้นจะเลือกใช้ไพรเมอร์ตามกลุ่มที่แยกได้ในขั้นที่ 1 ซึ่งผลของ PCR ในขั้นที่ 2 จะทำให้บ่งบอกซีโรไทป์ของเชื้อได้ โดยโปรแกรมที่ใช้ คือ 95°C 15 นาที 1 รอบ, 94°C 30 วินาที 60°C (สำหรับ PCR ขั้นที่ 1) หรือ 58°C (สำหรับ PCR ขั้นที่ 2) 90 วินาที 68°C 30 วินาที 30 รอบ และ 68°C 5 นาที 1 รอบ อย่างไรก็ตาม การตรวจหาซีโรไทป์ของเชื้อด้วยวิธี Two-Step Multiplex PCR ไม่สามารถแยกเชื้อซีโรไทป์ 2 และ 1/2 ออกจากกันได้ ดังนั้นเชื้อที่มียีนที่จำเพาะต่อซีโรไทป์ 2 และ 1/2 จึงได้ถูกนำมาทดสอบหาซีโรไทป์ด้วยวิธีการทดสอบ co-agglutination โดยแอนติซีรัมต่อซีโรไทป์ 1 และ 2 ตามวิธีที่ได้รายงานไว้ (Gottschalk *et al.*, 1989; Lakkitjaroen *et al.*, 2011)

4) การตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ (Virulence-associated gene profiling)

ทำการตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ 3 ยีน ได้แก่ *mrp*, *epf* และ *sly* ในเชื้อ *S. suis* ทุกเชื้อที่แยกได้ ด้วยวิธี PCR ตามที่ Silva *et al.* (2006) ได้รายงานไว้ โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งเบื้องต้นได้ทำการตรวจหายีนทั้ง 3 ยีนด้วยวิธี multiplex PCR โดยใช้ Qiagen multiplex master mix ตามวิธีที่ผู้ผลิตแนะนำ และหากพบเชื้อที่มียีน *mrp* จะนำ DNA ของเชื้อมาตรวจหายีน *mrp* ที่แปรผันไปด้วยวิธี PCR โดยใช้ TaKaRa Ex Taq polymerase (Takara Bio Inc., Kusatsu, Japan) ตามวิธีที่ผู้ผลิตแนะนำ ทั้งนี้ *S. suis* สายพันธุ์ P1/7 เป็นตัวควบคุมบวกในการทดสอบ

5) การตรวจวิเคราะห์โดย Multilocus sequence typing (MLST)

สำหรับการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี MLST นั้น ทำโดยใช้การตรวจสอบลำดับเบสของ housekeeping genes จำนวน 7 ยีน (*aroA*, *cpn60*, *dpr*, *gki*, *mutS*, *recA*, *thrA*) ตามวิธีที่ได้รายงานไว้ (King *et al.*, 2002, Rehm *et al.*, 2007) โดยเลือกตัวแทนเชื้อ *S. suis* มาสกัด DNA โดยใช้ E.Z.N.A. Bacterial DNA kit (Omega Bio-Tek, GA, USA) แล้วจึงนำมาเป็นต้นแบบในการเพิ่มจำนวน housekeeping genes โดยใช้ TaKaRa Ex Taq polymerase (Takara Bio Inc., Kusatsu, Japan) ตามวิธีที่ผู้ผลิตแนะนำ จากนั้นจึงนำ PCR product ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ QIA quick PCR purification kit (Qiagen) และนำไปหาลำดับเบสโดย ABI3730xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) จากนั้นจึงเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้กับลำดับเบสที่อยู่ในฐานข้อมูล MLST ของเชื้อ *S. suis* (<http://ssuis.mlst.net> และ <http://pubmlst.org/ssuis/>) เพื่อกำหนด MLST allele และ Sequence type (ST) โดยโครงสร้างประชากรของเชื้อ *S. suis* ได้ถูกวิเคราะห์โดย eBURST program (<http://eburst.mlst.net>)

ผลการทดลอง

เชื้อ *S. suis* ที่พบในสุกรปกติในภาคกลางของประเทศไทย

จากตัวอย่างน้ำลายและตัวอย่าง nasal swab หรือ oral swab ของสุกรปกติจำนวนทั้งสิ้น 340 ตัว พบตัวอย่างที่มีเชื้อ *S. suis* จำนวน 125 ตัวอย่าง (37%) จากแม่สุกร (25/75) ลูกสุกรคุดนม (16/75) สุกรขุน (52/115) และสุกรหลังผ่านกระบวนการชำแหละ (32/75) โดยพบเชื้อ *S. suis* จากตัวอย่างทั้งสิ้น 135 เชื้อ แบ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากแม่สุกร 28 เชื้อ ลูกสุกรคุดนม 16 เชื้อ สุกรขุน 57 เชื้อ และสุกรหลังผ่านกระบวนการชำแหละ 34 เชื้อ (ตารางที่ 1 และ รูปที่1)

ซีโรไทป์ของเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากตัวอย่าง

จากการหาซีโรไทป์ของเชื้อ *S. suis* ด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา (molecular serotyping) และการทดสอบ co-agglutination พบว่าสามารถระบุซีโรไทป์ของเชื้อจำนวน 76 เชื้อ จาก 135 เชื้อ (56%) ได้ โดยพบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2, 3, 8, 9, 10, 11, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 24, 28, 29 และ 31 อย่างไรก็ตามมีเชื้อจำนวน 59 เชื้อ (44%) ที่ไม่สามารถระบุซีโรไทป์ได้ (nontypable) (รูปที่ 1 และ 2) โดยเชื้อที่ไม่สามารถระบุซีโรไทป์ได้นั้นส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่าง oral swab ของสุกรขุน (21/59) และตัวอย่างน้ำลายของแม่สุกร (16/59) สำหรับเชื้อที่สามารถแยกซีโรไทป์ได้นั้น พบว่าซีโรไทป์ที่พบบ่อย ได้แก่ ซีโรไทป์ 16 (15/76), 8 (10/76), 9 (8/76) และ 3 (7/76) ในขณะที่พบเชื้อซีโรไทป์ 2 ค่อนข้างน้อย (3/76) โดยส่วนใหญ่พบเชื้อ 1 เชื้อ ต่อ 1 ตัวอย่าง อย่างไรก็ตาม มีตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่างที่พบเชื้อ 2 เชื้อที่มีซีโรไทป์ที่แตกต่างกันในแต่ละตัวอย่าง

ส่วนตัวอย่างที่เก็บจากแม่สุกรและลูกสุกรจำนวน 34 คู่ พบตัวอย่างที่มีเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากแม่สุกรหรือลูกสุกรเพียงตัวใดตัวหนึ่ง จำนวน 27 คู่ และพบเชื้อที่แยกได้จากทั้งแม่สุกรและลูกสุกร จำนวน 7 คู่ แต่พบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์เดียวกันจากตัวอย่างของแม่สุกรและลูกสุกรเพียง 1 คู่เท่านั้น

ผลการตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ (*mrp*, *epf* และ *sly*)

พบเชื้อ *S. suis* ประมาณ 26% มียีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้ออย่างน้อย 1 ยีน โดยพบว่าเชื้อทั้งหมดที่แยกได้มีจีโนไทป์ $mrp^-/epf^-/sly^-$ มากที่สุด (99/135) (73%) ตามด้วย $mrp^+/epf^-/sly^+$ (15/135) (11%) และ $mrp^-/epf^+/sly^+$ (12/135) (9%) ส่วนจีโนไทป์รูปแบบอื่นที่พบในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ $mrp^{***}/epf^+/sly^+$, $mrp^{UT}/epf^+/sly^+$ และ $mrp^*/epf^+/sly^+$ (ตารางที่ 3) จากการทำ PCR โดยใช้ไพรเมอร์ *mrp_F* และ *mrp_R* พบว่ามีเชื้อจำนวน 3 เชื้อ ที่มีขนาดของยีน *mrp* แตกต่างไปจากที่เคยรายงานไว้ (ประมาณ 500-bp และ 700-bp) แสดงให้เห็นถึงชนิดของความผันแปรของ *mrp* รูปแบบใหม่ (mrp^{UT}) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2, 11, 18 และ 19 ทุกเชื้อที่แยกได้จากการศึกษานี้ มียีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงอย่างน้อย 1 ยีน อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าไม่มีเชื้อตัวใดเลยที่มียีน *epf*

ผลการตรวจวิเคราะห์โดย MLST

จากเชื้อ *S. suis* ที่สามารถระบุซีโรไทป์ได้จำนวน 76 เชื้อ พบว่ามีเชื้อจำนวน 31 เชื้อจัดอยู่ในซีโรไทป์ที่เคยมีรายงานการติดเชื้อในผู้ป่วย (ซีโรไทป์ 2, 9, 16, 21, 24 และ 31) ซึ่งจากการวิเคราะห์เชื้อกลุ่มนี้ด้วย MLST พบว่าเชื้อ *S. suis* ทั้ง 31 เชื้อจัดอยู่ใน ST ที่แตกต่างกัน 20 STs ในจำนวนนี้พบว่ามี 16 STs ที่จัดเป็น STs ใหม่ (ST715-ST724, ST726-ST727, ST771-ST774) (ตารางที่ 3) เป็นที่น่าสังเกตว่าเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ทั้งหมดที่แยกได้จากการศึกษานี้จัดอยู่ใน ST104 ซึ่งเป็น ST สำคัญที่พบในประเทศไทยเท่านั้น นอกจากนี้ ยังพบว่าเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 9 จำนวน 2 เชื้อที่แยกได้จากสุกรหลังผ่านกระบวนการชำแหละจัดอยู่ใน ST16 ซึ่งเป็น ST ที่เคยมีรายงานการก่อโรคในผู้ป่วยทางภาคเหนือของประเทศไทย และ ST16 ยังเป็น ST ที่พบมากในสุกรป่วยในประเทศแถบทวีปยุโรปอีกด้วย และจากการศึกษาในครั้งนี่ยังพบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 24-ST221 จากสุกรหลังผ่านกระบวนการชำแหละ ซึ่งเชื้อซีโรไทป์ 24-ST221 นี้เป็นสายพันธุ์ที่พบในผู้ป่วยติดเชื้อ *S. suis* ในภาคเหนือของประเทศไทย อย่างไรก็ตาม แม้ว่าเคยมีรายงานการติดเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 16-ST106 ในผู้ป่วยประเทศเวียดนาม แต่เชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 16 ที่แยกได้จากการศึกษานี้พบว่าไม่มีเชื้อใดที่จัดอยู่ใน ST106 และส่วนใหญ่จัดเป็น STs ใหม่ นอกจากนี้ พบว่ามีเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 16 จำนวน 1 เชื้อที่จัดอยู่ใน ST375 ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดียวกับเชื้อที่แยกได้จากต่อมทอนซิลของสุกรพาหะที่พบในประเทศไทย (id 1124; <http://pubmlst.org/ssuis/>)

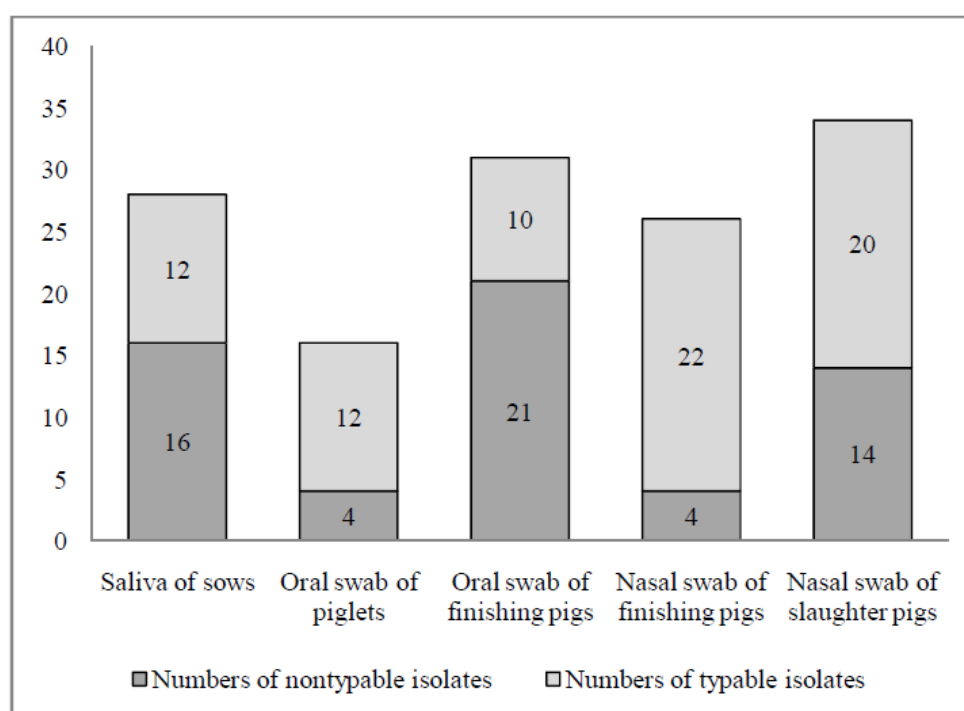
ตารางที่ 1 จำนวนเชื้อ *S. suis* ที่พบในการศึกษานี้

แหล่งที่มาของตัวอย่าง	แม่สุกร	ลูกสุกร	สุกรขุน		สุกรหลังผ่าน กระบวนการ ชำแหละ	รวม
	น้ำลาย	Oral swab	Nasal swab	Oral swab	Nasal swab	
จำนวนสุกร	75	75	55	60	75	340
จำนวนสุกรที่พบเชื้อ <i>S. suis</i>	25 (33%)	16 (21%)	22 (40%)	30 (50%)	32 (43%)	125 (37%)
จำนวนเชื้อ <i>S. suis</i> ที่แยกได้	28	16	26	31	34	135

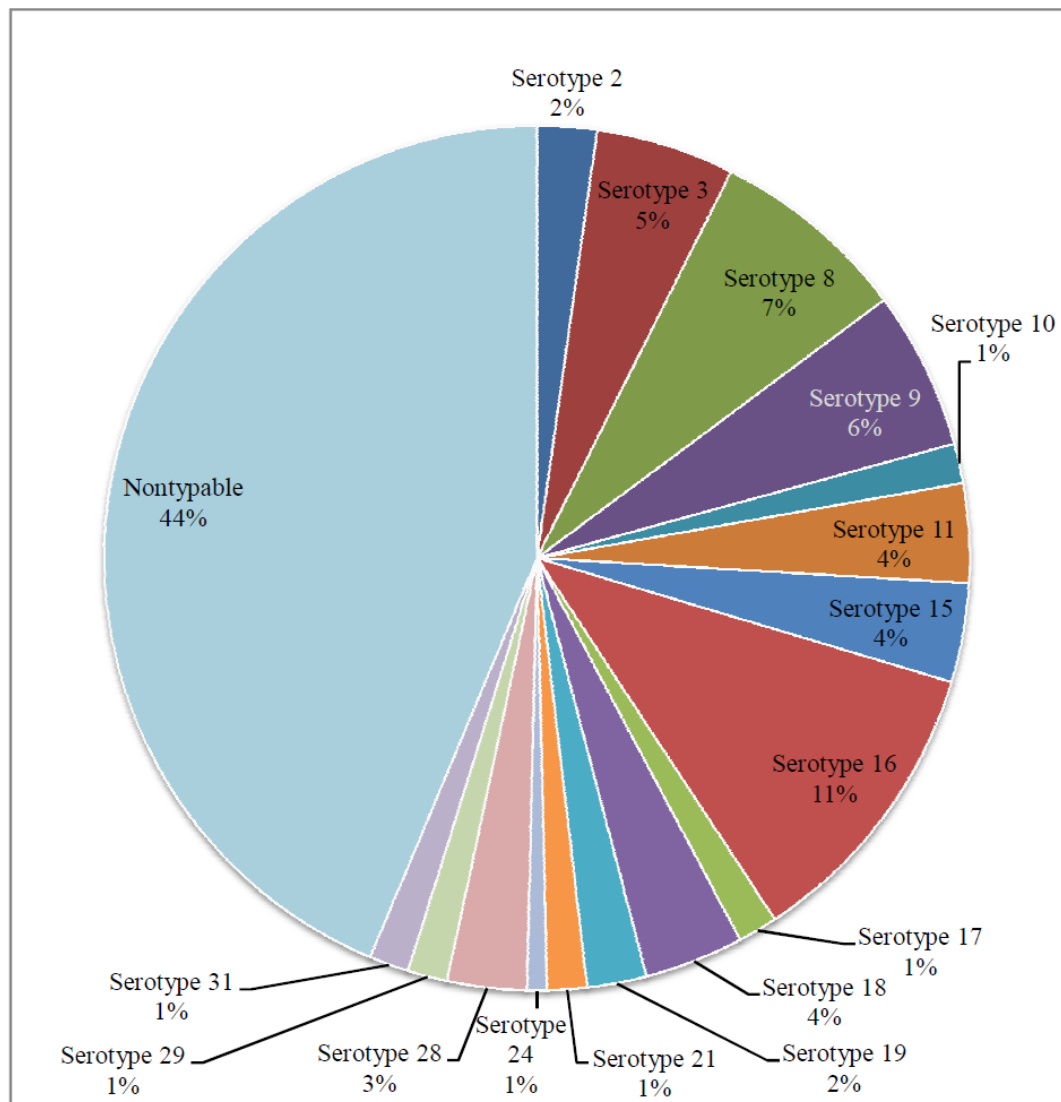
ตารางที่ 2 โพรเมอร์ที่ใช้สำหรับการบ่งชี้ชนิดของเชื้อ *S. suis* และการหาถิ่นที่เกี่ยวข้อกับความรุนแรงของเชื้อ

ยีน	ชื่อโพรเมอร์	Primer sequence (5' - 3')	ขนาดของ PCR product (bp)	แหล่งที่มา
<i>recN</i>	<i>recN_F</i>	CTACAAACAGCTCTCTTCT	336	Ishida, et al. (2014)
	<i>recN_R</i>	ACAACAGCCAATTCATGGCGTGATT		
<i>mrp</i>	<i>mrp_F</i>	ATTGCTCCACAAGAGGATGG	188	Silva, et al. (2006)
	<i>mrp_R</i>	TGAGCTTTACCTGAAGCGGT		
<i>epf</i>	<i>epf_F</i>	CGCAGACAACGAAAGATTGA	744	Silva, et al. (2006)
	<i>epf_R</i>	AAGAATGTCTTTGGCGATGG		
<i>sly</i>	<i>sly_F</i>	GCTTGACTTACGAGCCACAA	248	Silva, et al. (2006)
	<i>sly_R</i>	CCGCGCAATACTGATAAGC		
<i>mrp</i> variant	<i>mrpV_F</i>	GACAGATGGTGAGGAAAATGG	1148 for <i>mrp</i> *	Silva, et al. (2006)
	<i>mrpV_R</i>	TGAGCTTTACCTGAAGCGGT	1556 for <i>mrp</i> ~ 1600 for <i>mrp</i> ** ~ 2000 for <i>mrp</i> ***	

รูปที่ 1 จำนวนเชื้อ *S. suis* ที่ใช้ในการศึกษานี้



รูปที่ 2 ผลการตรวจหาซีโรไทป์ของเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากตัวอย่าง



ตารางที่ 3 ผลการตรวจหาซีโรไทป์ ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ และผลการตรวจวิเคราะห์ด้วย MLST ของเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากการศึกษา

ชนิดตัวอย่าง	ซีโรไทป์	ST	จำนวนเชื้อ <i>S. suis</i>						รวม
			Virulence-associated gene profile						
			<i>mrp</i> ⁻ / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁻	<i>mrp</i> ⁻ / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	<i>mrp</i> ^{UT} / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	<i>mrp</i> ⁺ / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	<i>mrp</i> [*] / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	<i>mrp</i> ^{***} / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	
น้ำลายจากแม่สุกร	9	771	1	0	0	0	0	0	1
	9	772	1	0	0	0	0	0	1
	9	773	3	0	0	0	0	0	3
	10	ND	2	0	0	0	0	0	2
	11	ND	0	0	0	0	0	1	1
	16	716	1	0	0	0	0	0	1
	16	719	1	0	0	0	0	0	1
	28	ND	2	0	0	0	0	0	2
Nontypable	ND	16	0	0	0	0	0	16	
Oral swab จาก	11	ND	0	0	0	0	0	3	3
ลูกสุกร	16	715	1	0	0	0	0	0	1
	16	716	3	0	0	0	0	0	3
	16	717	2	0	0	0	0	0	2
	16	718	1	0	0	0	0	0	1
	16	719	1	0	0	0	0	0	1
	16	724	1	0	0	0	0	0	1
	Nontypable	ND	4	0	0	0	0	0	4
Oral swab จาก สุกรขุน	11	ND	0	1	0	0	0	0	1
	15	ND	1	1	2	0	0	0	4
	16	375	1	0	0	0	0	0	1
	16	723	1	0	0	0	0	0	1

ชนิดตัวอย่าง	ซีโรไทป์	ST	จำนวนเชื้อ <i>S. suis</i>						รวม
			Virulence-associated gene profile						
			<i>mrp⁻/epf^f</i> <i>/sly⁻</i>	<i>mrp⁻/epf^f</i> <i>/sly⁺</i>	<i>mrp^{UT}/epf^f</i> <i>/sly⁺</i>	<i>mrp⁺/epf^f</i> <i>/sly⁺</i>	<i>mrp[*]/epf^f</i> <i>/sly⁺</i>	<i>mrp^{***}/epf^f</i> <i>/sly⁺</i>	
	28	ND	1	0	0	0	0	0	1
	31	722	1	0	0	0	0	0	1
	31	727	1	0	0	0	0	0	1
	Nontypable	ND	20	0	1	0	0	0	21
Nasal swab จาก สุกรขุน	2	104	0	1	0	0	0	0	1
	3	ND	0	0	0	5	0	0	5
	8	ND	0	4	0	0	0	0	4
	15	ND	0	1	0	0	0	0	1
	16	721	1	0	0	0	0	0	1
	16	723	1	0	0	0	0	0	1
	17	ND	1	0	0	1	0	0	2
	18	ND	0	0	0	2	0	0	2
	19	ND	0	0	0	3	0	0	3
	21	726	1	0	0	0	0	0	1
	29	ND	1	0	0	0	0	0	1
	Nontypable	ND	3	0	0	1	0	0	4
Nasal swab จาก สุกรหลังผ่าน กระบวนการ ฆ่าเชื้อ	2	104	0	2	0	0	0	0	2
	3	ND	2	0	0	0	0	0	2
	8	ND	4	2	0	0	0	0	6
	9	774	1	0	0	0	0	0	1
	9	16	0	0	0	0	2	0	2
	18	ND	0	0	0	3	0	0	3
	21	720	1	0	0	0	0	0	1

ชนิดตัวอย่าง	ซีโรไทป์	ST	จำนวนเชื้อ <i>S. suis</i>						รวม
			Virulence-associated gene profile						
			<i>mrp</i> ⁻ / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁻	<i>mrp</i> ⁻ / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	<i>mrp</i> ^{UT} / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	<i>mrp</i> ⁺ / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	<i>mrp</i> [*] / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	<i>mrp</i> ^{***} / <i>epf</i> ⁻ / <i>sly</i> ⁺	
	24	221	1	0	0	0	0	0	1
	28	ND	1	0	0	0	0	0	1
	29	ND	1	0	0	0	0	0	1
	Nontypable	ND	14	0	0	0	0	0	14
	รวม		99	12	3	15	2	4	135

ND, Not done

mrp^{UT}, The *mrp* gene of the isolate was detected by primers reported by Silva et al., 2006, but the variant type could not be determined by the *mrp* variant PCR reported in the same publication.

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

เชื้อ *S. suis* จัดเป็นเชื้อสาเหตุของโรคติดต่อจากสัตว์สู่คนที่สำคัญและยังพบผู้ป่วยติดเชื้อนี้ในหลายประเทศทั่วโลก โดยมากกว่า 90% ของผู้ป่วยติดเชื้ออยู่ในทวีปเอเชีย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ประเทศเวียดนาม ไทย และจีน (Goyette-Desjardins et al., 2014) จากสถิติรายงานจำนวนสุกรที่เลี้ยง ณ เดือนมิถุนายน 2558 (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์; http://ict.dld.go.th/th2/images/stories/stat_web/yearly/2558/province/4.buffpig_province.pdf) พบว่ามีสุกรขุนจำนวนประมาณ 6 ล้านตัวที่เลี้ยงอยู่ในประเทศไทย โดยประชากรสุกรขุนมากกว่าครึ่งหนึ่ง (3.2 ล้านตัว) เลี้ยงอยู่ในเขตภาคกลาง โดยเฉพาะในจังหวัดราชบุรีและนครปฐม และจากรายงานที่ได้กล่าวว่าจำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *S. suis* มีแนวโน้มสูงขึ้นในพื้นที่ที่มีการเลี้ยงสุกร (Wertheim et al., 2009) ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการสำรวจความชุกและลักษณะของเชื้อ *S. suis* ที่พบในสุกรในเขตภาคกลางของประเทศไทย ซึ่งพบว่าความชุกของเชื้อ *S. suis* ที่พบในสุกรปกติในเขตภาคกลางของประเทศไทยอยู่ที่ 37% (125/340) และสัดส่วนสุกรที่เป็นพาหะของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 อยู่ที่ 0.9% (3/340) แม้ว่าอุปกรณ์และวิธีการที่ใช้ในการเพาะแยกเชื้อ การบ่งชี้ชนิดของเชื้อ และการตรวจหาซีโรไทป์ของเชื้อจะแตกต่างกันในแต่ละการศึกษา แต่พบว่าสัดส่วนสุกรที่เป็นพาหะของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ในเขตภาคกลางใกล้เคียงกับสัดส่วนสุกรขุนที่เป็นพาหะของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (0.13%, 1/741) (Nutravong et al., 2014) ส่วนสัดส่วนนี้น้อยกว่าที่พบในสุกรปกติในโรงฆ่าสัตว์ของประเทศเวียดนาม (8%, 45/542) (Ngo et al., 2011)

จากการศึกษาพบว่าสุกรพาหะในเขตภาคกลางมีเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 16 จำนวนมากที่สุด (11%) ตามด้วยซีโรไทป์ 8 (7%) และซีโรไทป์ 9 (6%) ในขณะที่พบเชื้อซีโรไทป์ 2 เพียง 2% ส่วนผลการตรวจหาชนิดที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ พบจีโนไทป์ $mrp^-/epf^-/sly^-$ มากที่สุด (73%) นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีเชื้อใดที่มียีน *epf* และยังพบเพิ่มเติมว่าเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ทุกเชื้อที่พบในการศึกษานี้ มีจีโนไทป์ $mrp^-/epf^-/sly^+$ เป็นที่น่าสังเกตว่าผลที่ได้นี้แตกต่างกับโครงสร้างประชากรของเชื้อ *S. suis* ที่พบในพื้นที่ประเทศไทยตลอดจนพื้นที่ในประเทศใกล้เคียงที่มีการระบาดของเชื้อนี้ โดยผลการศึกษาเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จาก submaxillary gland ของซากสุกรในจังหวัดเชียงใหม่ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคติดเชื้อนี้ (Wongsawan et al., 2015) พบว่า เชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 3 (17.5%) และ 2 (12.5%) เป็นซีโรไทป์ที่พบได้มากที่สุด และจีโนไทป์ที่พบบ่อย คือ $mrp^+/epf^-/sly^-$ ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกับการศึกษาของ Padungtod et al. (2010) ที่พบว่าเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 (43%, 12/28) เป็นซีโรไทป์ที่พบได้มากที่สุดในสุกรปกติในจังหวัดเชียงใหม่และยังพบว่าเชื้อที่ทำการศึกษาทั้ง 28 เชื้อมียีน *mrp* และ *sly* ส่วนการศึกษาโดย Maneerat et al. (2013) พบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 จำนวน 7 เชื้อ จาก 194 เชื้อที่แยกได้จากต่อมทอนซิลของสุกรปกติในจังหวัดพะเยา ซึ่งเป็นอีกจังหวัดหนึ่งในภาคเหนือที่พบผู้ป่วยติดเชื้อ *S. suis* เป็นจำนวนมาก โดยมีเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 จำนวน 5 เชื้อ จาก 7 เชื้อ มีลักษณะจีโนไทป์แบบ $mrp^+/epf^+/sly^+$ ส่วนอีก 2 เชื้อ มีลักษณะจีโนไทป์แบบ $mrp^+/epf^-/sly^+$ และ $mrp^-/epf^-/sly^+$ สำหรับการศึกษาเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากต่อมทอนซิล

ของสุกรในโรงฆ่าสัตว์ ประเทศเวียดนาม (Ngo et al., 2011) พบว่า เชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 เป็นซีโรไทป์ที่พบได้มากที่สุด (14.2%) โดยที่ 77.8% ของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ที่แยกได้ จัดอยู่ใน ST1 และพบว่ามียีน *epf*⁺/*sly*⁺ หรือ *epf*^{*}/*sly*⁺ ส่วนการศึกษาในประเทศจีนโดย Wang et al. (2013) พบว่าเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 7 เป็นซีโรไทป์ที่พบได้มากที่สุด (17.6%) ตามด้วยซีโรไทป์ 2 (13.7%) ซึ่งจะเห็นได้ว่าความชุกของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ที่แยกได้จากสุกรปกติในภาคกลางของประเทศไทยนั้นน้อยกว่าความชุกของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ที่แยกได้จากในพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้อในผู้ป่วย ตลอดจนลักษณะรูปแบบของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงที่พบก็แตกต่างกันด้วย แม้ว่าจะพบการติดเชื้อ *S. suis* ในผู้ป่วยในภาคกลางของประเทศไทยเป็นครั้งแรกแต่ถือว่ายังมีจำนวนน้อยเมื่อเทียบกับผู้ป่วยในภาคเหนือ ผลจากการศึกษานี้ยังชี้ให้เห็นว่านอกจากพฤติกรรมรับประทานอาหารที่ปรุงไม่สุกรของประชาชนในทางภาคเหนือของประเทศไทยแล้ว ความชุกของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ที่พบน้อยในพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทยอาจเป็นสาเหตุสำคัญสาเหตุหนึ่งที่ทำให้พบผู้ป่วยจำนวนไม่มากในพื้นที่นี้ นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ยังชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างของโครงสร้างประชากรของเชื้อ *S. suis* ที่พบในสุกรพาหะในพื้นที่ที่แตกต่างกันอีกด้วย

Wongsawan et al. (2015) ได้รายงานการพบเชื้อที่ไม่สามารถระบุซีโรไทป์ได้คิดเป็น 37.5% ของเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากสุกรในจังหวัดเชียงใหม่ เช่นเดียวกับผลของการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่า 43% ของเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากตัวอย่างสุกรปกติเป็นเชื้อที่ไม่สามารถระบุซีโรไทป์ได้ ซึ่งเชื้อเหล่านี้อาจจัดเป็นเชื้อซีโรไทป์ใหม่ที่ยังไม่เคยมีการศึกษากลุ่มยีนที่สร้างแคปซูลอย่างแน่ชัด นอกจากนี้เชื้อบางส่วนยังแสดงผลการตรวจหาซีโรไทป์ด้วยวิธี two-step multiplex PCR ที่แตกต่างจากเชื้อมาตรฐานของทุกซีโรไทป์ ซึ่งอาจแสดงให้เห็นว่าเป็นกลุ่มยีนสร้างแคปซูลใหม่ หรือการที่ไม่สามารถระบุซีโรไทป์ได้โดยวิธี PCR นี้ อาจเกิดเนื่องจากการ mutation ของยีนที่สร้างแคปซูล จึงทำให้ไพรเมอร์ไม่สามารถจับบริเวณจำเพาะของยีนได้ ซึ่งมีรายงานการเกิด mutation ของยีนที่สร้างแคปซูลได้บ่อยในเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากสุกรที่พบภาวะการอักเสบของเนื้อเยื่อปอดหัวใจ และทำให้เชื้อสูญเสียแคปซูลได้ (Lakkitjaroen et al., 2011, 2014)

สายพันธุ์ของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ที่พบว่าเกี่ยวข้องกับการก่อโรคในมนุษย์มากที่สุด คือเชื้อที่จัดอยู่ใน ST1 อย่างไรก็ตาม สำหรับในประเทศไทยยังพบว่าเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ที่จัดอยู่ใน ST1 อื่นสามารถก่อให้เกิดโรคในผู้ป่วยได้เช่นกัน โดยพบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2-ST104 ที่แยกได้จากเลือดของผู้ป่วยในประเทศไทยซึ่งต่อมาได้เสียชีวิตลง (Takamatsu et al., 2008) นอกจากนี้ Kerdin et al. (2011a) ยังรายงานว่าในกลุ่มของเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 ที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในผู้ป่วยในประเทศไทย เชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2-ST104 เป็นเชื้อสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดเป็นอันดับ 2 (25.5%) รองจาก ST1 นอกจากนี้เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในผู้ป่วยแล้ว เชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2-ST104 ยังก่อให้เกิดโรคในสุกรได้อีกด้วย (Maneerat et al., 2013) แม้จะไม่พบเชื้อ ST1 แต่ในการศึกษานี้พบเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2-ST104 ในตัวอย่าง nasal swab ของสุกรขุนและสุกรหลังผ่านกระบวนการชำแหละ ซึ่งเชื้อที่แยกได้นี้มีลักษณะจีโนมไทป์ *mrp*⁻/*epf*⁻/*sly*⁺ ซึ่งตรงกับเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2-ST104 ที่แยกได้จากผู้ป่วยในประเทศไทย นอกจากนี้ซีโรไทป์ 2 แล้ว ยังพบว่าเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 9-ST16 และ ซีโรไทป์ 24-ST221 เป็นเชื้อที่พบในผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดในภาคเหนือของประเทศไทย

ไทย (Kerdsin et al., 2011b; Kerdsin et al., 2015) ซึ่งในการศึกษานี้สามารถแยกเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ได้จากตัวอย่าง nasal swab ของสุกรหลังผ่านกระบวนการฆ่าและ ข้อมูลดังกล่าวนี้ชี้ให้เห็นว่าสุกรปกติที่กระจายตัวอยู่ในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรของประเทศไทยสามารถเป็นแหล่งกักเก็บเชื้อ *S. suis* ที่สามารถติดต่อสู่มนุษย์ได้

แม่สุกรจัดเป็นแหล่งที่อาจทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อ *S. suis* ในฟาร์มได้ โดยลูกสุกรสามารถติดเชื้อจากแม่สุกรที่มีเชื้อ *S. suis* ในมดลูกหรือช่องคลอดได้ (Staats et al., 1997) นอกจากนี้สุกรปกติที่เป็นพาหะของเชื้อยังเป็นแหล่งแพร่กระจายของเชื้ออีกแหล่งหนึ่งที่ทำให้เกิดการติดเชื้อระหว่างกันภายในฟาร์ม โดยเชื้อสามารถติดต่อผ่านเข้าทางจมูกหรือปาก (Lun et al., 2007) แต่ในการศึกษานี้พบว่าเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากน้ำลายแม่สุกรและ oral swab จากลูกสุกรของแม่สุกรตัวนั้นๆ มีเพียงคู่เดียวที่เป็นเชื้อซีโรไทป์เดียวกัน ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากการติดต่อของเชื้อผ่านทางอื่น เช่น ได้รับเชื้อจากแม่และลูกสุกรที่อยู่ใกล้เคียง เชื้อปนเปื้อนไปกับสิ่งของหรือคนภายในฟาร์ม ตลอดจนการปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ การศึกษาของ Bonifait et al. (2014) พบว่าเชื้อ *S. suis* สามารถติดต่อผ่านอากาศได้อีกด้วย อย่างไรก็ตาม จากวิธีการทดลองที่เลือกเชื้อที่สงสัยเพียงตัวอย่างละไม่เกิน 6 โคโลนี อาจทำให้เชื้อบางส่วนไม่ได้ถูกเลือกเพื่อมาทำการทดสอบ และการศึกษานี้ไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างจากมดลูกและช่องคลอดของแม่สุกรจึงอาจทำให้จำนวนเชื้อที่แยกได้จากแม่สุกรน้อยกว่าความเป็นจริง

ข้อสรุปจากการศึกษานี้พบว่าโครงสร้างประชากรของเชื้อ *S. suis* ที่พบในเขตภาคกลางของประเทศไทยแตกต่างกับเชื้อ *S. suis* ที่พบในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคติดเชื้อนี้ในมนุษย์ทั้งในประเทศไทยและประเทศใกล้เคียง นอกจากนี้เชื้อบางสายพันธุ์ที่แยกได้จากสุกรปกติในพื้นที่ที่เลี้ยงสุกรกันอย่างหนาแน่น เป็นเชื้อที่สามารถก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ ดังนั้นจึงควรส่งเสริมให้มีการตระหนักและเห็นถึงความสำคัญในทุกขั้นตอนของการผลิตสุกรก่อนไปยังผู้บริโภค ทั้งด้านมาตรฐานการปฏิบัติงานในโรงฆ่าสัตว์ ตลอดจนสุขอนามัยส่วนบุคคลของผู้ที่ทำงานในฟาร์มสุกร ผู้ค้าย่อยสุกร และผู้ปรุงอาหาร และนำไปปฏิบัติอย่างจริงจัง เพื่อป้องกันการติดต่อของเชื้อจากสัตว์สู่คนและยังเป็นการช่วยลดการระบาดของเชื้อ *S. suis* ในผู้ป่วยได้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

- Bonifait, L., Veillette, M., Letourneau, V., Grenier, D. & Duchaine, C. (2014). Detection of *Streptococcus suis* in bioaerosols of swine confinement buildings. *Appl Environ Microbiol* **80**, 3296-3304.
- Gottschalk, M., Higgins, R., Jacques, M., Mittal, K.R. & Henrichsen, J. (1989). Description of 14 new capsular types of *Streptococcus suis*. *J Clin Microbiol* **27**, 2633-2636.
- Goyette-Desjardins, G., Auger, J.P., Xu, J., Segura, M. & Gottschalk, M. (2014). *Streptococcus suis*, an important pig pathogen and emerging zoonotic agent-an

- update on the worldwide distribution based on serotyping and sequence typing. *Emerg Microbes Infect* **3**, e45.
- Ishida, S., Tien le, H.T., Osawa, R., Tohya, M., Nomoto, R., Kawamura, Y., Takahashi, T., Kikuchi, N., Kikuchi, K. & Sekizaki, T. (2014). Development of an appropriate PCR system for the reclassification of *Streptococcus suis*. *J Microbiol Methods* **107**, 66-70.
- Kerdsin, A., Dejsirilert, S., Puangpatra, P., Sripakdee, S., Chumla, K., Boonkerd, N., Polwichai, P., Tanimura, S., Takeuchi, D. & other authors. (2011a). Genotypic profile of *Streptococcus suis* serotype 2 and clinical features of infection in humans, Thailand. *Emerg Infect Dis* **17**, 835-842.
- Kerdsin, A., Dejsirilert, S., Sawanpanyalert, P., Boonnark, A., Noithachang, W., Sriyakum, D., Simkum, S., Chokngam, S., Gottschalk, M. & other authors. (2011b). Sepsis and spontaneous bacterial peritonitis in Thailand. *Lancet* **378**, 960.
- Kerdsin, A., Hatrongjit, R., Gottschalk, M., Takeuchi, D., Hamada, S., Akeda, Y. & Oishi, K., (2015). Emergence of *Streptococcus suis* serotype 9 infection in humans. *J Microbiol Immunol Infect* pii, S1684-1182(15)00822-1.
- King, S.J., Leigh, J.A., Heath, P.J., Luque, I., Tarradas, C., Dowson, C.G. & Whatmore, A.M., (2002). Development of a multilocus sequence typing scheme for the pig pathogen *Streptococcus suis*: identification of virulent clones and potential capsular serotype exchange. *J Clin Microbiol* **40**, 3671-3680.
- Lakkitjaroen, N., Takamatsu, D., Okura, M., Sato, M., Osaki, M. & Sekizaki, T. (2011). Loss of capsule among *Streptococcus suis* isolates from porcine endocarditis and its biological significance. *J Med Microbiol* **60**, 1669-1676.
- Lakkitjaroen, N., Takamatsu, D., Okura, M., Sato, M., Osaki, M. & Sekizaki, T. (2014). Capsule loss or death: the position of mutations among capsule genes sways the destiny of *Streptococcus suis*. *FEMS Microbiol Lett* **354**, 46-54.
- Lun, Z.R., Wang, Q.P., Chen, X.G., Li, A.X. & Zhu, X.Q. (2007). *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen. *Lancet Infect Dis* **7**, 201-209.
- Maneerat, K., Yongkiettrakul, S., Kramomtong, I., Tongtawe, P., Tapchaisri, P., Luangsuk, P., Chaicumpa, W., Gottschalk, M. & Srimanote, P. (2013). Virulence genes and genetic diversity of *Streptococcus suis* serotype 2 isolates from Thailand. *Transbound Emerg Dis* **60**, 69-79.
- Ngo, T.H., Tran, T.B., Tran, T.T., Nguyen, V.D., Campbell, J., Pham, H.A., Huynh, H.T., Nguyen, V.V., Bryant, J.E. & other authors. (2011). Slaughterhouse pigs are a major

- reservoir of *Streptococcus suis* serotype 2 capable of causing human infection in southern Vietnam. *PloS One* **6**, e17943.
- Nutravong, T., Angkititrakul, S., Jiwakanon, N., Wongchanthong, W., Dejsirilerts, S. & Nawa, Y. (2014). Identification of major *Streptococcus suis* serotypes 2, 7, 8 and 9 isolated from pigs and humans in upper northeastern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* **45**, 1173-1181.
- Okura, M., Lachance, C., Osaki, M., Sekizaki, T., Maruyama, F., Nozawa, T., Nakagawa, I., Hamada, S., Rossignol, C. & other authors. (2014). Development of a two-step multiplex PCR assay for typing of capsular polysaccharide synthesis gene clusters of *Streptococcus suis*. *J Clin Microbiol* **52**, 1714-1719.
- Padungtod, P., Tharavichitkul, P., Junya, S., Chaisowong, W., Kadohira, M., Makino, S. & Sthitmatee, N. (2010). Incidence and presence of virulence factors of *Streptococcus suis* infection in slaughtered pigs from Chiang Mai, Thailand. *Southeast Asian J Tropic Med Public Health* **41**, 1454-1461.
- Rehm, T., Baums, C.G., Strommenger, B., Beyerbach, M., Valentin-Weigand, P. & Goethe, R. (2007). Amplified fragment length polymorphism of *Streptococcus suis* strains correlates with their profile of virulence-associated genes and clinical background. *J Med Microbiol* **56**, 102-109.
- Silva, L.M., Baums, C.G., Rehm, T., Wisselink, H.J., Goethe, R. & Valentin-Weigand, P. (2006). Virulence-associated gene profiling of *Streptococcus suis* isolates by PCR. *Vet Microbiol* **115**, 117-127.
- Staats, J.J., Feder, I., Okwumabua, O. & Chengappa, M.M. (1997). *Streptococcus suis*: past and present. *Vet Res Commun* **21**, 381-407.
- Takamatsu, D., Wongsawan, K., Osaki, M., Nishino, H., Ishiji, T., Tharavichitkul, P., Khantawa, B., Fongcom, A., Takai, S. & Sekizaki, T. (2008). *Streptococcus suis* in humans, Thailand. *Emerg Infect Dis* **14**, 181-183.
- Wang, K., Zhang, W., Li, X., Lu, C., Chen, J., Fan, W. & Huang, B. (2013). Characterization of *Streptococcus suis* isolates from slaughter swine. *Curr Microbiol* **66**, 344-349.
- Wertheim, H.F., Nghia, H.D., Taylor, W. & Schultsz, C. (2009). *Streptococcus suis*: an emerging human pathogen. *Clin Infect Dis* **48**, 617-625.

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

ควรทำการศึกษาเชื้อ *S. suis* ที่แยกได้จากการศึกษานี้เพิ่มเติมโดยเฉพาะการศึกษาเกี่ยวกับการดื้อยาต้านจุลชีพ เนื่องจากปัจจุบันยังมีการใช้ยาต้านจุลชีพบางกลุ่มเสริมลงไปในการสุกรเพื่อเร่งการเจริญเติบโต รวมถึงการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อการป้องกันและรักษาโรคกันอย่างแพร่หลาย อาจทำให้เชื้อในสุกรพัฒนาการดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่มต่างๆเพิ่มขึ้น แต่ในประเทศไทยเองยังขาดข้อมูลที่บ่งชี้ถึงแนวโน้มของการดื้อยา ตลอดจนกลุ่มยาปฏิชีวนะที่สามารถใช้รักษาการติดเชื้อได้อย่างได้ผล ซึ่งเมื่อเกิดการระบาดขึ้นอาจทำให้การรักษาล่าช้า และขาดประสิทธิภาพ ส่งผลให้อัตราการตายเพิ่มสูงขึ้น แม้ว่าข้อมูลจากการศึกษารูปแบบและแนวโน้มการดื้อยาของเชื้อ *S. suis* จะมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการวางแผนการรักษาการติดเชื้อทั้งในคนและสุกร แต่ข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบันนี้ยังไม่เพียงพอที่จะนำไปกำหนดแนวทางการรักษาที่เหมาะสมเมื่อเกิดการระบาดขึ้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะทำการศึกษาค้นคว้าหาความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *S. suis* ตลอดจนแนวโน้มและรูปแบบการดื้อยาของเชื้อที่แยกได้จากสุกร เนื่องจากเชือดังกล่าวมีโอกาสถ่ายทอดไปยังคนและอาจทำให้ผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อเสียชีวิตได้ โดยนอกจากข้อมูลที่ได้รับจะมีผลต่อการเลือกยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันและรักษาการติดเชื้อในสุกรแล้ว ยังเป็นข้อมูลที่สำคัญยิ่งต่อการเลือกใช้ยาเมื่อเกิดการระบาดขึ้นในคน อีกทั้งข้อมูลที่ได้ก็นำไปสู่การกำหนดมาตรการเพื่อควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ เพื่อลดอัตราการดื้อยา และเพื่อลดอันตรายที่อาจเกิดขึ้นกับผู้บริโภคอีกด้วย

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

- ผลงานที่ดำเนินการแล้ว

นำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติในงานประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 54 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Boonyong N., Siriariyak R., Yiamsupachok A., Kaewmongkol S. & Meekhanon N. 2016.

Streptococcus suis isolated from finishing pigs in Nakhon Pathom and Ratchaburi provinces. The 54th Kasetsart University Annual Conference 1: 594-600.

- ผลงานที่กำลังดำเนินการ

เตรียมต้นฉบับงานวิจัยเพื่อส่งตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

Journal of Medical Microbiology

Meekhanon N., Kaewmongkol S., Phimpraphai W., Okura M., Osaki M., Sekizaki T. & Takamatsu D. Potentially hazardous *Streptococcus suis* strains lurking in asymptomatic pigs in a major swine production area of Thailand