เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2553;8(1): 59 – 68.

นิพนธ์ต้นฉบับ

รูปแบบของยีนก่อความรุนแรง และซีโรไทป์ของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ที่แยกได้จากสุกร และผู้ป่วยในประเทศไทย

สุพรรษา จรรยา[1], **รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช**[2], **ประสิทธิ์ ธราวิจิตรกุล**[3], **กัญญ์ฤทัย วงศ์ษาวรรณ**[1], **ณัฐวุฒิ สถิตเมธี**[1], **ภาวิน ผดุงทศ**[4]

[1]*ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*

[2]*ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

[3]*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*

[4] *FAO Regional Office for Asia and the Pacific*

บทคัดย่อ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบรูปแบบของยีนก่อความรุนแรง และซีโรไทป์ของเชื้อ สเตรปโตคอคคัส ซูอิส ระหว่างเชื้อที่แยกได้จากสุกรปกติ 28 ตัวอย่าง สุกรป่วย 10 ตัวอย่าง และผู้ป่วย 20 ตัวอย่าง ทำการตรวจสอบยืนยัน แยกซีโรไทป์ และรูปแบบของยีนก่อความรุนแรง *(epf, mrp และ sly)* ด้วยวิธีมัลติเพล็กพีซีอาร์ ผลการศึกษาพบว่าซีโรไทป์ 2 ซึ่งเป็นซีโรไทป์เดียวที่พบในผู้ป่วยสามารถตรวจพบได้ในสุกรปกติ (ร้อยละ 42.86) มากกว่าสุกรป่วย (ร้อยละ 10) (p=0.06) ซึ่งแสดงว่าผู้บริโภคเนื้อจากสุกรปกติที่ไม่มีอาการป่วยทางคลินิกมีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นที่จะติดเชื้อนี้จากสุกรปกติที่มีเชื้อได้ ส่วนผลการตรวจรูปแบบของยีนก่อความรุนแรงพบว่า *epf* $^{+}$*mrp*$^{+}$*sly*$^{+}$ เป็นรูปแบบที่ตรวจพบได้จากทั้งสุกรปกติ (ร้อยละ 57.14) สุกรป่วย (ร้อยละ 80) และผู้ป่วย (ร้อยละ 100) โดยตรวจพบได้ในสุกรป่วยมากกว่าสุกรปกติ (p=0.18) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาแสดงได้ว่าโอกาสพบเชื้อก่อโรคสเตรปโตคอคคัส ซูอิสที่เป็นซีโรไทป์ 2 และมียีน *epf* $^{+}$ ในสุกรปกติเป็น 0.245 และสุกรป่วยเป็น 0.08 ซึ่งอาจแสดงได้ว่าคนมีโอกาสติดเชื้อก่อโรคสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ที่เป็นซีโรไทป์ 2 และมียีน *epf* $^{+}$ จากสุกรปกติที่มีเชื้อได้มากกว่าสุกรป่วย **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร** 2553;8(1) : 59 – 68.

คำสำคัญ : เชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส, สุกร, ผู้ป่วย, รูปแบบของยีนก่อความรุนแรง, มัลติเพล็กพีซีอาร์

บทนำ

สเตรปโตคอคคัส ซูอิส (*Streptococcus suis*) เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในลูกสุกร สามารถตรวจพบได้บ่อยบริเวณต่อมทอนซิล และรูจมูกของสุกร ทำให้เกิดเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โลหิตเป็นพิษ และอาจทำให้ตายอย่างกะทันหันได้[(1)] ที่สำคัญเชื้อยังสามารถติดต่อมาสู่คนได้โดยเชื้อจะเข้าสู่ร่างกายจากรอยแผลที่ผิวหนัง[(2)] หรืออาจได้รับเชื้อทางลมหายใจ การกินเนื้อหรือเลือดสุกรที่ไม่สุก[(3, 4)] ก่อให้เกิดเยื่อหุ้มสมองอักเสบติดเชื้อในกระแสโลหิต ซึ่งถ้ามีอาการช็อกจากพิษของเชื้อ (Toxic syndrome shock) อาจทำให้เสียชีวิตอย่างรวดเร็วถึงร้อยละ 17.8 [(5)]

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่ : สุพรรษา จรรยา, ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100; E-mail: aumo_vet@hotmail.com
ได้รับบทความวันที่ 17 ธันวาคม 2552

ความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยทั้งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับโฮลท์ไม่ว่าจะเป็นคนหรือสุกร และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับตัวเชื้อได้แก่ แคปซูลหุ้มตัวเชื้อ (Capsular polysaccharide) และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ ได้แก่ Muraminidase related protein (MRP), Extracellular factor (EF), Suilysin (SLY) และ Adhesins[6] จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 ขึ้นอยู่กับรูปแบบของยีนก่อความรุนแรง และซีโรไทป์ที่ตรวจพบ[7, 8]

ได้มีรายงานการระบาดของการติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ในคนจากหลายประเทศในแถบเอเชีย ได้แก่ ญี่ปุ่น[9] ไต้หวัน[10] รวมถึงประเทศไทย[4] จากข้อมูลทางระบาดวิทยาของเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยที่ติดเชื้อ สเตรปโตคอคคัส ซูอิส ในประเทศไทย ในระหว่าง พ.ศ. 2541-2545 พบเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 มากที่สุดถึงร้อยละ 95 (n = 20)[11] และในระหว่างปี พ.ศ. 2546-2549 พบผู้ป่วยที่ติดเชื้อในโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ จำนวน 40 ราย จากการสอบประวัติพบว่าจำนวน 2 ใน 3 มีประวัติกินเนื้อและเลือดสุกรดิบ[3] และจากการศึกษาเบื้องต้นในสุกรปกติที่ไม่แสดงอาการทางคลินิกในจังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนมีนาคมถึงมิถุนายน พ.ศ. 2551 พบเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ในต่อมทอนซิลของสุกรรวมร้อยละ 9 (n = 212) แสดงว่าในประเทศไทยโดยเฉพาะพื้นที่ภาคเหนือมีสุกรปกติที่เป็นแหล่งของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส อย่างไรก็ตามยังไม่มีหลักฐานแน่ชัดว่าเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ที่ก่อโรคในคนเป็นเชื้อชนิดเดียวกับที่ก่อโรคในสุกร การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจะเปรียบเทียบรูปแบบของยีนก่อความรุนแรง และซีโรไทป์ของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ระหว่างเชื้อที่แยกได้จากสุกรปกติ เชื้อที่แยกได้จากสุกรป่วย และเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย ผลการศึกษาดังกล่าวอาจชี้ให้เห็นถึงพยาธิกำเนิด (Pathogenesis) และวิธีการติดต่อของเชื้อจากแหล่งต่างๆ จากสุกรสู่คน ซึ่งอาจนำไปสู่การควบคุมและป้องกันการระบาดของโรคติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ต่อไป

วิธีการศึกษา

กลุ่มตัวอย่าง

เชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ที่ใช้ในการศึกษาแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ เชื้อที่แยกได้จากต่อมทอนซิลของสุกรปกติ 28 ตัวอย่าง จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (พ.ศ. 2551) เชื้อที่แยกได้จากอวัยวะรอยโรคของสุกรป่วย 10 ตัวอย่าง จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (พ.ศ. 2549-2550) และเชื้อที่แยกได้จากเลือดผู้ป่วย 20 ตัวอย่าง จากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (พ.ศ. 2550)

วิธีดำเนินงานวิจัย

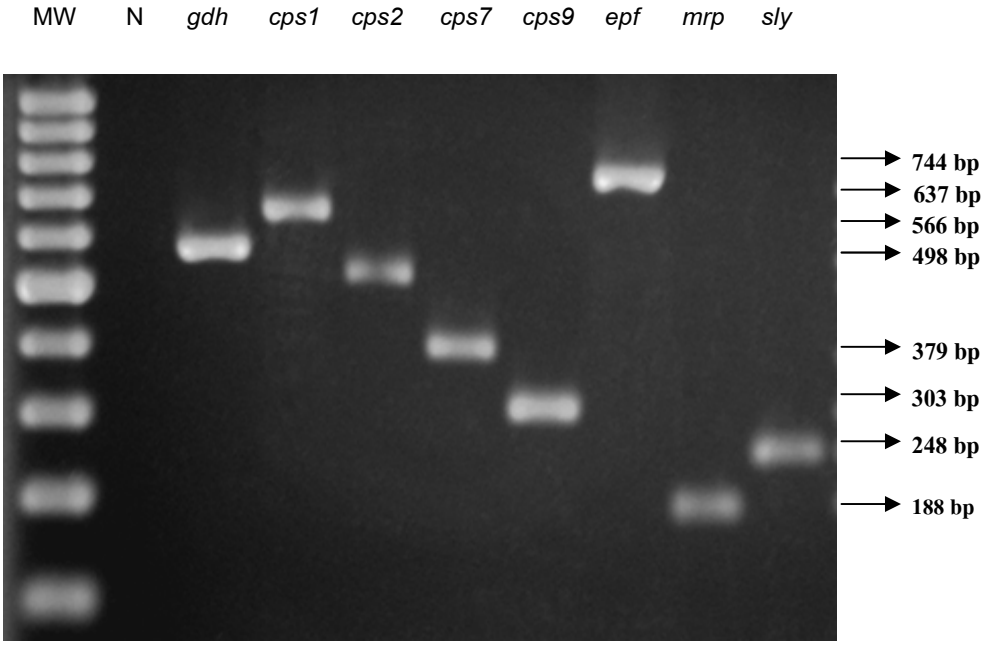
การเพาะเลี้ยง และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส

นำเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ทั้ง 3 กลุ่ม มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5% Sheep blood agar (Merck®, NJ) และนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ในบรรยากาศที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5-7 ลักษณะโคโลนีที่ได้จะมีขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-3 มิลลิเมตร สีค่อนข้างเทา และรอบ ๆ โคโลนีจะเป็นสีเขียวใส หลังจากนั้นนำโคโลนีที่มีลักษณะดังกล่าวไปทดสอบ

คุณสมบัติทางชีวเคมีโดยใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป API 20 Strep (BioMérieux®, France)

การตรวจยืนยัน แยกซีโรไทป์ และรูปแบบของยีนก่อความรุนแรงของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ด้วยวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์

นำตัวอย่างเชื้อที่ให้ผลทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีว่าเป็นเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ไปทำการสกัดสารพันธุกรรมด้วยวิธี CTAB[12] นำสารพันธุกรรมที่ได้ทั้งหมดไปตรวจสอบยืนยันเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ด้วยวิธีมัลติเพล็กซ์พีซีอาร์ (Multiplex PCR)[13] โดยการตรวจสอบยืนยันเชื้อจะใช้ *gdh* primer ในการตรวจหา Glutamate dehydrogenase (*gdh*) การแยกซีโรไทป์ (Serotype) จะใช้ *cps1J* primer, *cps2J* primer, *cps7H* primer และ *cps9H* primer ในการตรวจหา Capsule polysaccharide biosynthesis genes ของ serotype 1 และ14, serotype 2 และ1/2 , serotype 7 และ serotype 9 ตามลำดับ ส่วนการตรวจลักษณะของยีนก่อความรุนแรงของเชื้อ (Virulence-associated genes) จะใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบมาสำหรับตรวจหายีน *epf, mrp* และ *sly* ตามลำดับ หลังจากปฏิกิริยาทั้งหมดเสร็จสิ้นนำผลผลิตของปฏิกิริยาที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยวิธี Agarose gel electrophoresis โดยใช้ 1.0% Agarose gel (Bio-rad®, CA) ย้อมด้วย Ethidium bromide 0.5 ug/ul (AMRESCO®,USA) แล้วนำไปอ่านผลภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต และบันทึกผลการทดลองที่ได้ โดยผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยามัลติเพล็กซ์พีซีอาร์แสดงไว้ในภาพ 1



ภาพ 1 ขนาดผลผลิตที่คาดว่าจะได้จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส จากรูปช่อง MW คือ 100 bp DNA ladder (Fermentas®, EU), ช่อง N คือ Negative control, ช่องที่ 1 คือ *gdh*, ช่องที่ 2 คือ *cps1*, ช่องที่ 3 คือ *cps2*, ช่องที่ 4 คือ *cps7*, ช่องที่ 5 คือ *cps9*, ช่องที่ 6 คือ *epf*, ช่องที่ 7 คือ *mrp* และ ช่องที่ 8 คือ *sly*

การตรวจลำดับเบสของสารพันธุกรรม

ตรวจหาลำดับเบสของสารพันธุกรรมเป้าหมาย (Sequencing) ที่พบ เพื่อยืนยันผลการตรวจโดยวิธี Sanger's dideoxy sequencing โดยใช้ชุด BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit chemistry (Applied Biosystems, USA) หลังจากนั้นนำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบความเหมือนกัน (% Identities) กับฐานข้อมูลลำดับเบสที่มีการรายงานไว้ใน National Center for Biotechnology Information (NCBI) โดยใช้โปรแกรม Basic Local Alignment Search Tool (BLAST; http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)

ผลการตรวจสอบยืนยัน และแยกซีโรไทป์ของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส

การตรวจสอบยืนยันเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส พบว่าเชื้อที่ใช้ศึกษาทั้งหมดจำนวน 58 ตัวอย่าง เป็นเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส โดยเชื้อเหล่านี้ได้ให้ผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเท่ากับ 688 คู่เบส ซึ่งเหมือนกับเชื้อ P1/7 strain ที่ใช้เป็น Positive control (Reference strain serotype 2 ที่แยกได้จากสุกรป่วย และมีลักษณะของยีนก่อความรุนแรงเป็น *epf*$^{+}$*mrp*$^{+}$*sly*$^{+}$)

การตรวจแยกซีโรไทป์ของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส พบว่าซีโรไทป์ 2 และ 1/2 ตรวจพบได้ในสุกรปกติ ร้อยละ 42.86 (n = 28) พบในสุกรป่วยร้อยละ 10 (n = 10) นอกจากนั้นยังสามารถตรวจพบซีโรไทป์ 1 และ 14 ซีโรไทป์ 7 และซีโรไทป์ 9 ได้ในสุกรปกติ และสุกรป่วยดังแสดงในตาราง 1

การตรวจลำดับเบสของสารพันธุกรรมเพื่อยืนยันผลการตรวจแยกซีโรไทป์ที่ได้จากการศึกษาพบว่าลำดับเบสของยีนแต่ละตัว ได้แก่ *cps1J, cps2J, cps7H* และ *cps9H* มีความเหมือนกันอย่างมาก (ร้อยละ 96-100) กับลำดับเบสของยีนที่ใช้ในการออกแบบ primer

ตาราง 1 แสดงการตรวจแยกซีโรไทป์ (Serotype) ของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส

ซีโรไทป์	จำนวน (ร้อยละ) เชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส			รวม ($\sum$n=58)
	สุกรปกติ (n_1=28)	สุกรป่วย (n_2=10)	ผู้ป่วย (n_3=20)	
1 และ 14	1 (3.57)	2 (20)	0	3 (5.17)
2 และ 1/2	12 (42.86)	1 (10)	20	33 (56.90)
7	4 (14.29)	0 (0)	0	4 (6.90)
9	1 (3.57)	2 (20)	0	3 (5.17)
ซีโรไทป์อื่น ๆ	10 (35.71)	5 (50)	0	15 (25.86)
รวม	28 (100)	10 (100)	20 (100)	58 (100)

การตรวจพบรูปแบบของยีนก่อความรุนแรงของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส

จากผลการตรวจสามารถแบ่งรูปแบบของยีนก่อความรุนแรงออกเป็น 2 รูปแบบ ได้แก่ *epf*$^{-}$*mrp*$^{+}$*sly*$^{+}$ และ *epf*$^{+}$*mrp*$^{+}$*sly*$^{+}$ โดยพบว่ารูปแบบที่ 2 คือ *epf*$^{+}$*mrp*$^{+}$*sly*$^{+}$ ตรวจพบได้มากที่สุดร้อยละ 75.86 (n = 58) ซึ่งตรวจพบได้จากสุกรปกติร้อยละ 57.14 (n = 28) สุกรป่วยร้อยละ 80 (n = 10) และผู้ป่วยร้อยละ 100 (n = 20) ส่วนที่เหลือเป็นการตรวจพบรูปแบบที่ 1 คือ *epf* $^{-}$*mrp*$^{+}$*sly*$^{+}$ ร้อยละ 24.14 (n = 58) ซึ่งรูปแบบนี้ตรวจพบได้จากสุกรปกติร้อยละ 42.86 (n = 28) และสุกรป่วยร้อยละ 20 (n = 28) ผลการตรวจพบรูปแบบของยีนก่อความรุนแรงดังแสดงในตาราง 2

การตรวจลำดับเบสของสารพันธุกรรมเพื่อยืนยันผลการตรวจพบรูปแบบของยีนก่อความรุนแรงของเชื้อที่ได้จากการศึกษา ได้แก่ *epf, mrp* และ *sly* มีความเหมือนกันอย่างมาก (ร้อยละ 99-100) กับลำดับเบสของยีนที่ใช้ในการออกแบบ primer

วิจารณ์ และสรุปผล

จากการตรวจสอบยืนยันและแยกซีโรไทป์ของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส พบว่าเชื้อที่ใช้ศึกษาทั้งหมดจำนวน 58 ตัวอย่าง เป็นเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส โดยเชื้อจากสุกรส่วนใหญ่ตรวจพบว่าเป็นซีโรไทป์ 2 และ 1/2 โดยตรวจพบได้ในสุกรปกติร้อยละ 42.86 (n = 28) มากกว่าสุกรป่วยร้อยละ 10 (n = 10) (p=0.06) ซึ่งสัมพันธ์กับการศึกษาเบื้องต้นในสุกรปกติที่ไม่แสดงอาการทางคลินิกในจังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนมีนาคมถึงมิถุนายน พ.ศ. 2551 ที่พบเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ในต่อมทอนซิลของสุกรรวมร้อยละ 9 (n = 212) อาจแสดงได้ว่าผู้บริโภคเนื้อสุกรมีความเสี่ยงเพิ่มขึ้นที่จะติดเชื้อจากสุกรปกติที่มีเชื้อได้ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าสุกรที่ถูกส่งไปโรงฆ่าสัตว์อาจเป็นสุกรปกติที่เป็นพาหะของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 แบบไม่แสดงอาการ และอาจเกิดการปนเปื้อนของเชื้อในซากสุกรจากขบวนการฆ่าชำแหละที่ไม่ถูกวิธี รวมทั้งอาจเกิดการปนเปื้อนในระหว่างการเก็บรักษา และการขนส่งซากที่ไม่ถูกต้อง และยังพบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถอยู่ในซากสัตว์ได้นานถึง 6 สัปดาห์[14] ในขณะที่สุกรป่วยจะไม่ถูกส่งไปโรงฆ่าสัตว์ นอกจากนั้นการตรวจพบ ซีโรไทป์ดังกล่าวทั้งในสุกรปกติ และสุกรป่วยได้สัมพันธ์กับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ตรวจพบเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 ร้อยละ 94 (n = 67) ในผู้ป่วยจากจังหวัดเชียงใหม่ และลำพูน (15) พบร้อยละ 95 (n = 20) จากผู้ป่วยในประเทศไทย (11) ร้อยละ 99 (n = 116) จากผู้ป่วยในประเทศเวียดนาม[16] และพบร้อยละ 100 (n = 204) ในรายงานการระบาดของโรคติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ในเมืองจื้อหยาง มณฑลเสฉวน[17] เชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 มีความสามารถก่อโรคได้อย่างรุนแรงในคนทำให้เกิดเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ติดเชื้อในกระแสเลือด ช็อก เยื่อบุหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ ข้ออักเสบ และผิวหนังอักเสบ[16, 18, 19] โดยอัตราการตายจะน้อยกว่าร้อยละ 10 ในผู้ป่วยเยื่อหุ้มสมองอักเสบจากเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 แต่อัตราการตายจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 70 หากมีการติดเชื้อในกระแสโลหิต และมีอาการช็อกจากพิษของเชื้อ[16] และอาจจะเสียชีวิตอย่างรวดเร็วภายใน 24-48 ชั่วโมง หากมีอาการอื่นแทรกซ้อน เช่น ไตวายเฉียบพลัน และ อาการหายใจล้มเหลวอย่างรุนแรง[3] ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้ได้ตรวจพบเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 จากทั้งสุกรปกติ และ

ตาราง 2 แสดงการตรวจพบรูปแบบของยีนก่อความรุนแรง (Virulence gene-associated profile) ของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส

รูปแบบของยีนก่อความรุนแรง	จำนวน (ร้อยละ) เชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส			รวม ($\sum$n=58)
	สุกรปกติ (n_1=28)	สุกรป่วย (n_2=10)	ผู้ป่วย (n_3=20)	
epf$^-$*mrp*$^+$*sly*$^+$	12 (42.86)	2 (20)	0 (0)	14 (24.14)
epf$^+$*mrp*$^+$*sly*$^+$	16 (57.14)	8 (80)	20 (100)	44 (75.86)
รวม	28 (100)	10(100)	20 (100)	58 (100)

สุกรป่วยเช่นกัน[13, 20-23] นอกจากนั้นในการศึกษานี้ยังตรวจพบซีโรไทป์ 1 และ 14 ซีโรไทป์ 7 และซีโรไทป์ 9 ได้ในสุกรปกติ และสุกรป่วย ซึ่งสัมพันธ์กับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ตรวจพบซีโรไทป์ดังกล่าวได้ในสุกรปกติ และสุกรป่วย[13, 20] จากผลการตรวจแยกซีโรไทป์ดังกล่าวแสดงได้ว่าเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 1 และ 14 ซีโรไทป์ 2 และ 1/2 ซีโรไทป์ 7 และ ซีโรไทป์ 9 พบได้ทั่วไปจากทั้งสุกรปกติ และสุกรป่วย แต่อัตราการตรวจพบอาจจะขึ้นอยู่กับอวัยวะที่ใช้ในการแยกเชื้อ หรืออาจแปรผันตามซีโรไทป์ของเชื้อที่พบตามสภาพภูมิศาสตร์ได้[20, 24]

จากการตรวจพบรูปแบบของยีนก่อความรุนแรงของเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส แบ่งการตรวจพบเป็น 2 รูปแบบ ได้แก่ *epf*$^-$*mrp*$^+$*sly*$^+$ และ *epf*$^+$*mrp*$^+$*sly*$^+$ โดยพบว่ารูปแบบที่ 2 คือ *epf*$^+$*mrp*$^+$*sly*$^+$ ตรวจพบได้มากที่สุด ร้อยละ 75.86 (n = 58) ซึ่งเป็นรูปแบบที่สามารถก่อโรคได้อย่างรุนแรงในสุกร ทำให้ตายกะทันหัน หรืออาจเกิดการติดเชื้อทั่วทั้งระบบได้[8, 25] โดยทำการยืนยันความรุนแรงในการก่อโรคด้วยการทดลองในหนูพบว่าสามารถทำให้หนูตายร้อยละ 87.5 (n = 80)(23) และยังสามารถพบรูปแบบนี้ได้ในเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยเยื่อหุ้มสมองอักเสบแบบเฉียบพลัน[22]

จากการศึกษาสามารถตรวจพบรูปแบบนี้ได้จากทั้งสุกรปกติร้อยละ 57.14 (n = 28) สุกรป่วยร้อยละ 80 (n = 10) และผู้ป่วยทั้งหมด (n = 20) โดยตรวจพบได้ในสุกรป่วยมากกว่าสุกรปกติ ซึ่งสรุปได้ว่าสามารถตรวจพบยีน *epf*$^+$ ได้ในสุกรป่วยมากกว่าสุกรปกติ (p=0.18) ซึ่งอาจแสดงได้ว่ายีน *epf*$^+$ มีความสัมพันธ์กับการก่อโรคในสุกรป่วย โดยสัมพันธ์กับการศึกษาที่ผ่านมาที่พบยีนนี้ในสุกรป่วยด้วยเช่นกัน[7, 20, 23, 25] แต่รูปแบบของยีนก่อความรุนแรงที่พบดังกล่าวมีความแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ระหว่างปีพ.ศ. 2545 - 2548 ที่พบรูปแบบนี้ในผู้ป่วยจากจังหวัดเชียงใหม่ และลำพูนเพียงร้อยละ 3 (n = 67)(15) และพบร้อยละ 15 (n = 20) จากผู้ป่วยในประเทศไทย[11] โดยจากการศึกษาก่อนหน้านี้มักจะพบเป็นรูปแบบอื่นมากกว่า เช่น *epf*$^-$*mrp*$^+$*sly*$^-$(ร้อยละ 70.1), *epf*$^+$*mrp*$^+$*sly*$^-$ (ร้อยละ 11.9), *epf*$^-$*mrp*$^-$*sly*$^+$ (ร้อยละ 9) และ *epf*$^-$*mrp*$^-$*sly*$^-$ (ร้อยละ 3)[15] นอกจากนั้นการศึกษาที่ผ่านมาได้ตรวจพบรูปแบบนี้ได้ทั้งในสุกรป่วยและสุกรปกติเช่นกัน แต่อาจจะตรวจพบได้น้อยกว่า[13, 20, 23] ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษา จำนวนและแหล่งที่มาของเชื้อต่างกัน จึงทำให้รูปแบบของยีนก่อความรุนแรงที่พบแตกต่างกันได้[22] รวมทั้งเชื้ออาจมีการเปลี่ยนแปลง

ลักษณะทางพันธุกรรม หรือมีวิวัฒนาการเพื่อทำให้สามารถอยู่รอด หรือก่อโรคในโฮสท์ต่อไปได้[26] ซึ่งสัมพันธ์กับผลการศึกษาที่พบว่ายีน *epf* $^{+}$ ที่ตรวจพบได้ในเชื้อที่แยกได้จากสุกรนั้นมีความสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อ สเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 โดยพบว่าสามารถตรวจพบยีนนี้ในเชื้อ สเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 ได้มากกว่าซีโรไทป์อื่น ๆ (p=0.42) จากผลการศึกษายังแสดงได้ว่าโอกาสพบเชื้อก่อโรคที่เป็นซีโรไทป์ 2 และมียีน *epf* $^{+}$ ในสุกรปกติเป็น 0.245 และโอกาสพบเชื้อก่อโรคที่เป็นซีโรไทป์ 2 และมียีน *epf* $^{+}$ ในสุกรป่วยเป็น 0.08 ซึ่งแสดงได้ว่าคนมีโอกาสติดเชื้อก่อโรคสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ซีโรไทป์ 2 และมียีน *epf* $^{+}$ จากสุกรปกติที่มีเชื้อได้มากกว่าสุกรป่วย ซึ่งสัมพันธ์กับการศึกษาก่อนหน้านี้ทั้งในจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่ที่ได้รายงานว่าพบผู้ป่วยติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส ที่มีประวัติกินเนื้อและเลือดสุกรดิบ(ร้อยละ 66.67 และร้อยละ 70 ตามลำดับ, n = 10)[3] และยังพบการติดเชื้อนี้ในผู้ป่วยที่เป็นคนงานในฟาร์มเลี้ยงสุกร และชอบบริโภคเนื้อสุกรสุก ๆ ดิบ ๆ[27]

จากผลการศึกษาทำให้พบว่าคนสามารถติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิสได้จากทั้งสุกรป่วย และสุกรปกติที่มีเชื้อ แต่อาจจะมีโอกาสติดเชื้อก่อโรคจากสุกรปกติที่มีเชื้อได้มากกว่าสุกรป่วย ด้วยเหตุนี้การให้ความรู้คำแนะนำเกี่ยวกับโรคติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส ซูอิส น่าจะเป็นหนทางหนึ่งที่สำคัญในการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อจากสุกรมาสู่คน โดยเน้นการให้ความรู้และคำแนะนำ ดั้งนี้ ให้ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโรคสเตรปโตคอคคัส ซูอิส แกบุคคลที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ เจ้าของฟาร์ม ผู้เลี้ยง หรือ คนงานในฟาร์มสุกร โรงฆ่าสัตว์โรงงานชำแหละเนื้อ และผู้จำหน่ายเนื้อสุกรตามเขียง รวมทั้งมาตรการต่างๆ ที่ลดความเสี่ยงต่อการสัมผัสเชื้อ เช่น หลีกเลี่ยงการจับ หรือสัมผัสสุกรป่วย ต้องล้างมือฟอกสบู่ทุกครั้งที่สัมผัสสุกร หรือเนื้อสุกรดิบ ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อบริเวณที่ปนเปื้อน หรือแหล่งการติดเชื้อ ให้ความรู้และคำแนะนำแก่ผู้เลี้ยงสุกรในเรื่องมาตรฐานฟาร์มสุกร การจัดการการเลี้ยงสุกรที่ถูกต้อง โดยไม่เลี้ยงแออัดจนเกินไป อากาศในโรงเรือนถ่ายเทสะดวก มีการตรวจโรคอย่างสม่ำเสมอ หากพบสุกรป่วยให้แจ้งเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์เพื่อทำการตรวจโรค และไม่ควรนำสุกรที่ตายผิดปกติไปชำแหละ หรือรับประทาน รวมทั้งให้ความรู้ในเรื่องสุขอนามัยที่ถูกต้องแก่ประชาชน เช่น ไม่ควรบริโภคเนื้อสุกรและเลือดสุกรดิบ หรือสุก ๆ ดิบ ๆ ควรบริโภคเนื้อสุกรสุกที่ผ่านความร้อนอย่างน้อย 70 องศาเซลเซียส รวมไปถึงผู้ที่ให้การรักษาพยาบาลควรใช้หลักข้อควรปฏิบัติมาตรฐาน เพื่อป้องกันตัวเอง แม้ยังไม่มีรายงานการติดต่อของโรคระหว่างคนสู่คน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้สนับสนุนทุนวิจัย โดยโครงการนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (TRF-MRG-WII515S075) และขอขอบคุณภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้กรุณาให้ตัวอย่างเชื้อ และให้ความอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย ตลอดจนอาจารย์ทุกท่านที่ให้คำปรึกษา และแนะนำแนวทางในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Facklam R. What happened to the Streptococci : Overview of taxonomix and nomenclature changes. Clin microbiol rev 2002; 15: 613-30.
2. Suankratay C, Intalapaporn P, Nunthapisud P, Arunyingmongkol K, Wilde H. *Streptococcus suis* meningitis in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2004; 35: 868-76.
3. Fongcom A, Mongkol R, Yoonim N, Pruksakorn S, Tharavichikul P. *Streptococcus suis* infection in northern Thailand. J Med Assoc Thai 2001; 84: 1502-8.
4. Khadthasima N, Sutdan D, Noimoh T, Chalamat M, Thannawitjaya P, Areechokkechai D, et al. Outbreak investigation of *Streptococcus suis* in Phusang district, Payao province, May 2007. Weekly epidemiological surveillance report 2007; 38: 393-8.
5. Lun Z, Wang Q, Chen X, Li A, Zhu X. *Streptococcus suis* : an emerging zoonotic pathogen Lancet Infect Dis 2007; 7: 201-9.
6. Gottschalk M, Segura M. The pathogenesis of the meningitis caused by *Streptococcus suis*: The unresolved questions. Vet Microbiol 2000; 76: 259 -72.
7. Vecht U, Wisselink HJ, Jellema ML, Smith HE. Identification of two proteins associated with virulence of *Streptococcus suis* type 2. Infect Immun 1991; 59: 3156-62.
8. Vecht U, Wisselink HJ, vanDijk JE, Smith HE. Virulence of *Streptococcus suis* type 2 strains in newborn germfree pigs depends on phenotype. Infect Immun 1992; 60: 550-6.
9. Chang B, Wada A, Ikebe T, Ohnishi M, Mita K, Endo M, et al. Characteristics of *Streptococcus suis* isolated from patients in Japan. J Infect Dis 2006; 56: 397-9.
10. Huang Y, Teng L, Ho S, Hsueh P. *Streptococcus suis* infection. J Microbiol immunol infect 2005; 38: 306-13.
11. Takamatsu D, Wongsawan K, Osaki M, Nishio H, Ishiji T, Tharavichikul P, et al. *Streptococcus suis* in Humans, Thailand. Emerg Infect Diseases 2008; 14: 181-3.
12. Ausubel F, Brent R, Kingston R, Moore D, Seidman JG, Smith J, et al. Short Protocols in Molecular Biology. 4th ed. New York: John Wiley, 1999.
13. Silva L, Baums C, Rehm T, Wisselink H, Goethe R, Valentin-Weigand P. Virulence-associated gene profiling of *Streptococcus suis* isolates by PCR. Vet Microbiol 2006; 155: 117-27.
14. Staats JJ, Feder I, Okwumabua O, Chengappa MM. *Streptococcus suis*: past and present. Vet Res Commun 1997; 21: 381-407.
15. Wongsawan K, Takenami N, Pruksakorn S, Fongcom A, Gottschalk M, Supjatura V, et al. Genetic diversity of *Streptococcus suis* isolated from pigs and humans in Chiang Mai and Lamphun province, Thailand. Int Congr Ser 2006; 1289: 151- 4.
16. Nghia HDT, Hoa NT, Linh LD, Campbell J, Diep TS, Chau NVV, et al. Human Case of *Streptococcus suis* Serotype 16 Infection. Emerg Infect Dis 2008; 14: 155-7.
17. Tang J, Wang C, Feng Y, Yang W, Song H, Chen Z, et al. Streptococcal Toxic Shock Syndrome Caused by *Streptococcus suis* Serotype 2. PLoS Med 2006; 3: 0668-76.
18. Wangkaew S, Chaiwarith R, Tharavichitkul P, Supparatpinyo K. *Streptococcus suis* infection: a series of 41 cases from Chiang Mai University Hospital. J Infect 2006; 52: 455-60.
19. Yu H, Jing H, Chen Z, Zheng H, Zhu X, Wang H, et al. Human *Streptococcus suis* outbreak, Sichuan, China. Emerg Infect Dis 2006; 12: 914-20.
20. Berthelot-Hérault F, Morvan H, Kéribin A, Gottschalk M, Kobisch M. Production of muraminidase-released protein (MRP), extracellular factor (EF) and suilysin by field

isolates of *Streptococcus suis* capsular types 2, 1/2, 9, 7 and 3 isolated from swine in France. Vet Res 2000; 31: 473-9.

21. Tarradas C, Luque I, Andrés DD, Shahein YEA-A, Pons P, González F, et al. Epidemiological Relationship of Human and Swine *Streptococcus suis* Isolates. J Vet Med B 2001; 48: 347-55.
22. Martinez G, Castro AFPd, Pagnani KJR, Nakazato G, Silveira WDd, Gottschalk M, et al. Clonal distribution of an atypical MRP+, EF+, and suilysin+ phenotype of virulent *Streptococcus suis* serotype 2 strains in Brazil. Can J Vet Res 2003; 67: 52-5.
23. Wei Z, Li R, Zhang A, He H, Hua Y, Xia J, et al. Characterization of *Streptococcus suis* isolates from the diseased pigs in China between 2003 and 2007. Vet Microbiol 2009; 137: 196-201.
24. Wisselink H, Smith H, Stockhofe-Zurwieden N, Peperkamp K, Vecht U. Distribution of capsular types and production of muramidase-released protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries. Vet Microbiol 2000; 74: 237-48.
25. Staats J, Plattner B, Stewart G, Chengappa M. Presence of the Streptococcus suis suilysin gene and expression of MRP and EF correlates with high virulence in *Streptococcus suis* type 2 isolates. Vet Microbiol 1999; 70: 201-11.
26. ภาวิน ผดุงทศ. ระบาดวิทยาทางสัตวแพทย์. กรุงเทพฯ: หมอชาวบ้าน, 2550.
27. Vilaichone R, Vilaichone W, Nunthapisud P, Wilde H. *Streptococcus suis* infection in Thailand. J Med Assoc Thai 2002; 85: 109-17.