

การศึกษายีนสร้างสารพิษ รอยโรคทางพยาธิวิทยา และความไวต่อยาต้านจุลชีพ
ของเชื้อ *E. coli* ที่ก่อโรคความน้ำในสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน
ของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2555 ถึง 2564

Study of toxin producing genes, pathological gross lesions and
antimicrobial susceptibility test of *E. coli* causing swine edema disease
in upper northeastern Thailand during 2012–2021

สมพงษ์ จันทะหาร^{1*} เนตรชนก จิวากานนท์²

Sompong Jantahan^{1*} Netchanok Jiwakanon²

Abstract

Backgrounds: The upper northeastern Thailand during 2012–2021, found sick and dead pigs caused by hemolytic *E. coli*, and the swine edema disease pathological gross lesions were found but toxin producing genes were not detected. The aim of this study is to detect toxin producing genes of hemolytic *E. coli*, data collection about age interval, pathological gross lesions, antimicrobial susceptibility test, the correlation between pathological gross lesions and toxin producing genes.

Methods: 32 isolates of hemolytic *E. coli* from internal organs of swine edema disease in upper northeastern Thailand from 2012 to 2021 and kept in -80 degree celsius were collected. The samples were detected for six types of toxin producing genes, such as *LT*, *ST1a*, *ST1b*, *Stx1*, *Stx2* and *Stx2e* using PCR method. The data were collected including age interval, pathological gross lesions, sensitivity testing results of 12 different antimicrobial drugs and the statistical correlation between pathological gross lesions and toxin producing genes was determined using Fisher's Exact test.

Results: All 32 isolates of hemolytic *E. coli*, the *Stx2e* producing gene was detected in swine edema disease group 100% (28/28). And the *Stx2e* and *ST* producing gene was found in swine edema disease with diarrhea group 100% (4/4). The highest incidence of the disease occurred in post weaning pigs (> 4–8 weeks old). The pathological gross lesions of swine edema disease group included mesenteric lymph node enlargement and congestion, lung edema and congestion. And found edema lesions of internal organs, such as the spiral colon, stomach, eyes, and brain. The pathological gross lesions of swine edema disease with diarrhea group showed same lesions of swine edema disease group and found watery content in small intestine lumen and thin intestinal wall. The antimicrobial susceptibility test, the result showed that hemolytic *E. coli* was sensitive to gentamicin norfloxacin ciprofloxacin and enrofloxacin as 84.38%, 78.12%, 75.00% and 65.62%, respectively. And the correlation between pathological gross lesions and toxin was found significantly (p -value<0.05).

Conclusions: Pathogenic *E. coli* in shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) can produce *Stx2e* toxin, which the causative agent of swine edema disease in post weaning pigs. The pathological gross lesions and the *Stx2e* toxin producing gene were statistically significant correlates (p -value<0.05). The antimicrobial drugs suggested for treating in swine edema disease in the upper northeastern of Thailand are gentamicin, norfloxacin, ciprofloxacin, and enrofloxacin.

Keywords: toxin producing genes, susceptibility test, swine edema disease, hemolytic *E. coli*

¹ Veterinary Research and Development Center (Eastern Region), Chonburi, 20220, Thailand

² Veterinary Research and Development Center (North-Eastern Region), Khon Kaen, 40260, Thailand

*Corresponding author: Tel. 038-742119 Fax. 038-742120 E-mail: sompongj@dld.go.th

¹ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี 20220 ประเทศไทย

²ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40260 ประเทศไทย

*ผู้เขียน/ผู้รับผิดชอบ โทรศัพท์ 038-742119 โทรสาร 038-742120 E-mail: sompongj@dld.go.th

บทคัดย่อ

ที่มาของการศึกษา: พบสุกรป่วยและตายจากการติดเชื้อ hemolytic *E. coli* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2555 ถึง 2564 และพบรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าของโรคบวมน้ำในสุกร แต่ไม่ได้ทำการตรวจว่าเชื้อ hemolytic *E. coli* เป็นชนิดก่อโรคชนิดใด การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหายีนสร้างสารพิษของเชื้อ hemolytic *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของโรคบวมน้ำในสุกรรวบรวมช่วงอายุสุกรที่เกิดโรค รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่า ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ และหาความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่ากับยีนสร้างสารพิษ

วิธีการ: รวบรวมเชื้อ hemolytic *E. coli* จำนวน 32 isolates ที่แยกได้จากตัวอย่างอวัยวะภายในสุกรที่ได้รับบริการวินิจฉัยว่าเป็นโรคบวมน้ำในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2564 ซึ่งเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นำมาตรวจหายีนสร้างสารพิษทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *LT*, *ST1a*, *ST1b*, *Stx1*, *Stx2* และ *Stx2e* โดยวิธี PCR รวบรวมช่วงอายุสุกร รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่า ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ 12 ชนิด และหาความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่ากับยีนสร้างสารพิษโดยใช้ Fisher's Exact test

ผล: เชื้อ hemolytic *E. coli* ทั้ง 32 isolates ตรวจพบยีนสร้างสารพิษ *Stx2e* ในกลุ่มโรคบวมน้ำในสุกร 100% (28/28) และตรวจพบยีนสร้างสารพิษ *Stx2e* ร่วมกับยีนสร้างสารพิษ *ST* ในกลุ่มโรคบวมน้ำในสุกรร่วมกับท้องเสีย 100% (4/4) ช่วงอายุสุกรที่เกิดโรคสูงที่สุดคือ สุกรหลังหย่านม (> 4-8 สัปดาห์) รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าในกลุ่มโรคบวมน้ำในสุกรได้แก่ พบต่อมน้ำเหลืองบริเวณเยื่อแฉวยในลำไส้เล็กขยายใหญ่และมีเลือดคั่ง ปอดบวมน้ำและมีเลือดคั่ง และบวมน้ำตามอวัยวะต่าง ๆ เช่น เยื่อแฉวยในลำไส้ใหญ่ กระเพาะอาหาร ตา และสมอง ส่วนรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าในกลุ่มโรคบวมน้ำในสุกรร่วมกับท้องเสีย พบรอยโรคคล้ายกับกลุ่ม

โรคบวมน้ำในสุกร และพบของเหลวในลำไส้เล็กมีน้ำปนในปริมาณมากและผนังลำไส้เล็กบางกว่าปกติ ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ได้แก่ gentamicin, norfloxacin, ciprofloxacin และ enrofloxacin พบความไว 84.38%, 78.12%, 75.00% และ 65.62% ตามลำดับ และหาความสัมพันธ์ระหว่างรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่ากับสารพิษ พบความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value<0.05)

สรุป: *E. coli* ชนิดก่อโรคกลุ่ม shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) สามารถสร้างสารพิษ Stx2e ซึ่งเป็นสารพิษที่ทำให้เกิดโรคบวมน้ำในสุกรหลังหย่านม และพบว่ารอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่ามีความสัมพันธ์กันกับการพบยีนที่สร้างสารพิษ Stx2e ของเชื้อที่ก่อโรค อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value<0.05) และยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมในการรักษาสุกรป่วยด้วยโรคบวมน้ำในสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ได้แก่ gentamicin, norfloxacin, ciprofloxacin และ enrofloxacin

คำสำคัญ: ยีนสร้างสารพิษ ความไวต่อยาต้านจุลชีพ โรคบวมน้ำในสุกร hemolytic *E. coli*

บทนำ

โรคบวมน้ำในสุกร (swine edema disease) เป็นโรคที่ทำให้เกิดการบวมน้ำในหลายอวัยวะ บางครั้งมีอาการทางระบบประสาท และท้องเสียร่วมด้วย โรคนี้ทำให้สุกรป่วยและตายอย่างรวดเร็วภายใน 24 ชั่วโมง (กิจจา, 2530; Oanh *et al.*, 2012) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *E. coli* ชนิดก่อโรคกลุ่ม shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) สามารถสร้าง shiga toxin (Stx) ที่เป็นปัจจัยก่อความรุนแรง (virulence factor) ทำให้เซลล์เยื่อบุหลอดเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเสียหาย ทำให้เกิดการบวมน้ำในหลายอวัยวะ (Uemura *et al.*, 2003; Arimitsu *et al.*, 2016) shiga toxin เดิมเรียกว่า verotoxin (วัชรชัยและอภิสร, 2548) แยกออกเป็น 3 ชนิด คือ shiga toxin type 1 (Stx1) แบ่งออกเป็น 3 subtype ได้แก่ Stx1a, Stx1c และ Stx1d ส่วน shiga

toxin type 2 (Stx2) แบ่งออกเป็น 7 subtype ได้แก่ Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f และ Stx2g (Scheutz *et al.*, 2012; Baranzoni *et al.*, 2016) โดย Stx1 และ บาง subtype ของ Stx2 ทำให้เกิดโรค hemolytic uremic syndrome (Scheutz *et al.*, 2012) ส่วน shiga toxin type 2e (Stx2e) เป็นสาเหตุของโรค บวมในสุกร (Meng *et al.*, 2014; Tseng *et al.*, 2015) นอกจากนี้เชื้อ *E. coli* ที่ก่อโรคบวมในสุกรสามารถตรวจพบได้ทั้งยีนสร้างสารพิษ Stx2e และ enterotoxin (โยธกานต์และธรรมรัฐ, 2556; Baldo *et al.*, 2020) ซึ่ง สารพิษ enterotoxin สามารถแบ่งได้ 2 ชนิด คือ heat-labile (LT) และ heat-stable (ST) โดย LT ทำให้ ท้องเสียและขาดน้ำรุนแรงกว่า ST (Moxley, 2000) แต่ LT ตรวจพบได้น้อยกว่า ST (Vangroenweghe *et al.*, 2020) ในส่วนของ ST แบ่งออกเป็น ST1 และ ST2 โดย ST1 สามารถก่อโรคในสัตว์และคน ซึ่งแยกเป็น 2 subtype ได้แก่ ST1a พบได้ในสุกร โค และคน และ ST1b พบในคน ส่วน ST2 ไม่ก่อโรคทั้งในสัตว์และคน (วัชรชัยและอภิสร่า, 2548)

โรคบวมในสุกร ส่วนมากพบการเกิดโรคในสุกร หลังหย่านมและสุกรขุน (Baldo *et al.*, 2020) และอาจ พบการเกิดโรคในลูกสุกรคุดนม (กิจจา, 2530) อาการทาง คลินิกของโรคบวมในสุกร ระยะแรกอาจพบสุกรตาย แบบกระทันหันโดยไม่ทันสังเกตอาการ สุกรที่ตายเป็นตัว ที่มีขนาดใหญ่และแข็งแรงที่สุดในครอก ระยะต่อมาพบสุกร ป่วยเพิ่มขึ้น โดยแสดงอาการทางประสาท เช่น เดินโซเซ ขาไม่สัมพันธ์กัน เนื่องจากการทำงานของกล้ามเนื้อไม่ปกติ ในรายที่เป็นรุนแรงอาจชัก หรือ เป็นอัมพาต บางตัวร้อง เสียงแหลม หลังจากเริ่มแสดงอาการทางประสาทพบการ บวมที่บริเวณรอบดวงตา ปาก และใต้คาง (กิจจา, 2530; Tabaran and Tabaran, 2019) จากการศึกษาของ Bergeland and Kurtz (2000) พบว่าสุกรที่ป่วยเป็นระยะ เวลาหลายวันไม่ค่อยตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้าน จุลชีพ เนื่องจากสารพิษที่เชื้อ *E. coli* สร้างขึ้นแพร่กระจาย ไปตามส่วนต่างๆของร่างกาย รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่

ตรวจพบด้วยตาเปล่า พบต่อมน้ำเหลืองบริเวณเยื่อแฉวน ลำไส้เล็กขยายใหญ่และมีเลือดคั่ง ปอดบวม น้ำ เยื่อแฉวน ลำไส้ใหญ่บวม น้ำ กระเพาะอาหารบวม น้ำ และบวมน้ำใต้ ผิวหนังบริเวณรอบตา (Horzmann and Ramos-Vara, 2014)

ด้านการศึกษาความไวต่อยาต้านจุลชีพ วัลญาและ อาจอง (2555) ได้ศึกษาความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ hemolytic *E. coli* ที่แยกได้จากอวัยวะสุกรที่เป็นโรค บวมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ด้วยวิธี Agar Disc Diffusion พบเชื้อมีความไวต่อยา gentamicin, norfloxacin, ciprofloxacin, enrofloxacin, sulfa-trimethoprim และ nalidixic acid

ในปัจจุบันได้มีการตรวจหายีนสร้างสารพิษด้วย เทคนิคทางด้านอณูชีวโมเลกุล ได้แก่ วิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ให้ผลรวดเร็ว แม่นยำ มีความจำเพาะและความไวสูง (โยธกานต์ และธรรมรัฐ, 2556) จากผลการตรวจวินิจฉัยทางห้อง ปฏิบัติการของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาค ตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ระหว่างปีพ.ศ. 2555-2564 พบสุกรป่วยและตายจากการติดเชื้อ hemolytic *E. coli* ในทุกจังหวัดของภูมิภาค และพบรอยโรคทางพยาธิวิทยา ที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าของโรคบวมในสุกร แต่ไม่ได้ ทำการตรวจว่าเชื้อ hemolytic *E. coli* เป็นชนิดก่อโรค และมีปัจจัยก่อความรุนแรงแบบใด การศึกษารังนี้มี วัตถุประสงค์ตรวจหายีนสร้างสารพิษของเชื้อ hemolytic *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของโรคบวมในสุกร รวบรวมช่วง อายุสุกรที่เกิดโรค รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วย ตาเปล่า ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ และหาความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างรอยโรคทางพยาธิ วิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่ากับยีนสร้างสารพิษ เพื่อเป็น แนวทางให้เจ้าหน้าที่ทางห้องปฏิบัติการใช้ในการตรวจ วินิจฉัยการเกิดโรคบวมในสุกร และเจ้าหน้าที่ของ กรมปศุสัตว์ในพื้นที่ที่สามารถนำผลการศึกษาไปใช้วินิจฉัย โรคบวมในสุกรและเลือกใช้อย่างถูกต้องอย่างถูกต้อง เหมาะสม เพื่อรักษาโรคในเบื้องต้น เป็นการช่วยลดความ สูญเสียของเกษตรกรผู้เลี้ยงสุกร

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่าง

เชื้อ hemolytic *E. coli* จำนวน 32 isolates ที่เพาะแยกได้จากตัวอย่างอวัยวะภายในสุกรที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคบวมน้ำในพื่นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน จำนวน 32 ตัว ซึ่งเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นำมาเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด tryptic soy broth และ 7% defibrinated sheep blood agar ตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบลักษณะของโคโลนี ย้อมสีแกรม และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ตามวิธีของ Quinn *et al.* (1994)

การรวบรวมข้อมูลช่วงอายุสุกร

รวบรวมข้อมูลช่วงอายุสุกรที่เป็นโรคบวมน้ำจำนวน 32 ตัว โดยแบ่งเป็น 3 ช่วงอายุได้แก่ ลูกสุกรดูคนม (แรกเกิด-4 สัปดาห์) สุกรหลังหย่านม (> 4-8 สัปดาห์) และสุกรขุน (> 8-12 สัปดาห์)

สารพันธุกรรมของเชื้ออ้างอิงมาตรฐาน

สารพันธุกรรมชนิด DNA ของเชื้อ *E. coli* 6 สายพันธุ์ ที่มียีนสร้างสารพิษ ได้แก่ ATCC 35401 (*LT*), ATCC 31619 (*ST1a*), ATCC 43896 (*ST1b*), ATCC 43890 (*Stx1*), ATCC 43889 (*Stx2*) และ ATCC 23546 (*Stx2e*) โดยได้รับความอนุเคราะห์ จากกลุ่มแบคทีเรียและเชื้อรา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

การตรวจหาอินที่สร้างสารพิษโดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR)

การเตรียม DNA template

นำเชื้อ hemolytic *E. coli* ที่เพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy agar ทั้ง 32 isolates จำนวน 1-2 โคโลนี ใส่ลงใน Microcentrifuge tubes ขนาด 1.5 ml ที่บรรจุ Phosphate Buffer Saline (PBS) ปริมาตร 0.5

ml นำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 rpm นาน 5 นาที ที่มีส่วนน้ำใสแล้วล้างตะกอนเชื้อด้วย PBS อีกครั้ง เทน้ำส่วนใสที่เติมน้ำกลั่น 0.1 ml เพื่อละลายตะกอนเชื้อ จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที แล้วทำให้เย็นทันที ก่อนนำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 rpm นาน 5 นาที เก็บส่วนน้ำใสเพื่อใช้เป็น DNA template และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (วัชรชัย และอภิสร่า, 2548)

การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม โดยวิธี PCR ทั้ง 6 ปฏิกริยาแยกกันในแต่ละยีนต่อหนึ่งตัวอย่าง โดยใช้ primers จำนวน 6 คู่ ซึ่งจำเพาะต่อยีนที่ควบคุมการสร้างสารพิษแต่ละชนิด ได้แก่ *LT*, *ST1a*, *ST1b*, *Stx1*, *Stx2* และ *Stx2e* ดัง ตารางที่ 1 (วัชรชัย และอภิสร่า, 2548) ตัวควบคุมบวก ใช้ DNA ของเชื้ออ้างอิงมาตรฐาน *E. coli* 6 สายพันธุ์ ตัวควบคุมลบ (No Template Control) ใช้ น้ำกลั่นชนิด DNase/RNase-Free Water โดยมีขั้นตอนดังนี้ ใส่ DNA template ปริมาตร 2.5 μ l ลงใน PCR tube ขนาด 0.2 ml ซึ่งบรรจุ PCR master mix 22.5 μ l ที่ประกอบด้วย PCR buffer ($MgCl_2$ 5 mM), Q-solution, Hotstar taq DNA polymerase 1.25 unit (QIAGEN, Germany), dNTP 200 μ M (each), น้ำกลั่น และ primers 0.4 μ M จากนั้นนำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Biometra, UK) โดย preheating ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งโปรแกรม denaturation 94 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที annealing temperature ตามตารางที่ 1 นาน 45 วินาที extension 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำผลผลิต PCR ที่ได้มาผสมกับสีย้อม novel juice (Bio-Helix, Taiwan) หยอดบน agarose gel เข้มข้น 1.5 % จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี gel electrophoresis แล้วดูแถบ DNA ที่เกิดขึ้นภายใต้แสง UV โดยเทียบกับ DNA marker 100 bp (Biotechrabbit, Germany)

ตารางที่ 1 ลำดับของไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีนสร้างสารพิษแต่ละชนิด และขนาดของผลผลิต PCR ที่ได้ (วัชรชัย และอภิสร่า, 2548)

Toxin gene	Primer	Oligonucleotide sequence (5' – 3')	Size of PCR product (bp)	Annealing temperature (°C)
<i>LT</i>	LT-F	CCG TCT CTA TAT TCC CTG TT	450	54
	LT-R	GGC GAC AGA TTA TAC CGT GC		
<i>ST1a</i>	ST1a-F	TCT GTA TTA TCT TTC CCC TC	186	48
	ST1a-R	ATA ACA TCC AGC ACA GGC		
<i>ST1b</i>	ST1b-F	CCC TCA GGA TGC TAA ACC AG	166	54
	ST1b-R	TTA ATA GCA CCC GGT ACA AGC		
<i>Stx1</i>	Stx1-F	CAT TGT CTG GTG ACA GTA GCT	732	58
	Stx1-R	CCC GTA ATT TGC GCA CTG AG		
<i>Stx2</i>	Stx2-F	CCA TGA CAA CGG ACA GCA GTT	779	58
	Stx2-R	CCT GTC AAC TGA GCA CTT TG		
<i>Stx2e</i>	Stx2e-F	CCT TAA CTA AAA GGA ATA TA	230	48
	Stx2e-R	CTG GTG GTG TAT GAT TAA TA		

การรวบรวมผลการตรวจรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่า

รวบรวมผลการตรวจทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าตามอวัยวะที่สำคัญ ได้แก่ สมอง ทอนซิล ปอด ตับ ม้าม ไต หัวใจ กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ และต่อมเหงื่อบริเวณเยื่อแขวนลำไส้เล็ก จากตัวอย่างสุกรระหว่างปี พ.ศ. 2555 ถึง 2564 จำนวน 32 ตัว โดยแบ่งรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มอาการโรคบวมน้ำในสุกร จำนวน 28 ตัวและกลุ่มอาการโรคบวมน้ำในสุกรร่วมกับท้องเสีย จำนวน 4 ตัว

การรวบรวมผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

รวบรวมผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ gentamicin, ciprofloxacin, enrofloxacin, norfloxacin, tetracycline, oxytetracycline, streptomycin, penicillin, sulfamethoxazole/trimethoprim, amoxicillin, ampicillin และ neomycin จาก hemolytic *E. coli* จำนวน 32 isolates ระหว่างปี พ.ศ. 2555 ถึง 2564 ซึ่ง

ทดสอบด้วยวิธี Agar Disc Diffusion ตามวิธีมาตรฐานของ VET01 (CLSI, 2018) และแปลผลตามค่า breakpoint ของ VET01s (CLSI, 2020)

การวิเคราะห์ผล

นำผลการตรวจหาอี็นสร้างสารพิษ ช่วงอายุ รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่า และผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ มาวิเคราะห์ผลด้วยสถิติเชิงพรรณนา และหาความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างสารพิษกับรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่า โดยใช้ Fisher's Exact test (R studio version 2021.09.1, Austria)

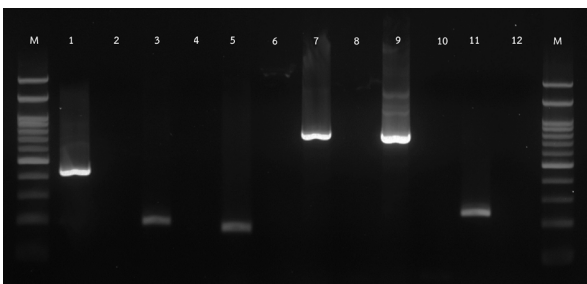
ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาช่วงอายุสุกรที่เกิดโรคบวมน้ำในสุกรจำนวน 32 ตัว อายุระหว่างแรกเกิด ถึง 12 สัปดาห์ (ตารางที่ 2) พบช่วงอายุที่เกิดโรคสูงที่สุดคือ สุกรหลังหย่านม (>4–8 สัปดาห์) สอดคล้องกับการศึกษาของ Tabaran and Tabaran (2019); Moxley (2000) ที่พบการเกิดโรคส่วนใหญ่ในสุกรหลังหย่านม และพบช่วงอายุที่เกิดโรคต่ำที่สุด คือ สุกรขุน (>8–12 สัปดาห์) และจากรายงานของ Francis (2002) ที่พบว่าสุกรที่มีอายุมากกว่า 8 สัปดาห์ มีความต้านทานต่อการติดเชื้อ hemolytic *E. coli* ดังนั้นผู้เลี้ยงสุกรจึงควรเฝ้าระวังการติดเชื้อนี้ในลูกสุกรหลังหย่านม โดยทำความสะอาดคอกตลอด ซึ่งต้องทำให้จำนวนเชื้อในคอก เหลือตกค้างน้อยที่สุด และป้องกันไม่ให้เกิดการแพร่เชื้อจากแม่สุกรไปยังลูกสุกร การจัดการคอกตลอด โดยพ่นน้ำยาฆ่าเชื้อทุกครั้งหลังการหย่านมลูก ทั้งไว้ให้แห้ง และพักคอกไว้อย่างน้อยที่สุด 3–4 วัน ก่อนนำแม่สุกรตัวใหม่เข้าคอกตลอด สำหรับปัญหาในคอกอนุบาลอาจจะป้องกันได้โดยหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนอาหารในวันหย่านม และเมื่อจะมีการเปลี่ยนอาหารควรมีการให้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมในรูปเม็ด หรือ กิน ซึ่งจะให้ผลค่อนข้างดี (กิจจา, 2530)

ตารางที่ 2 ร้อยละของจำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ hemolytic *E. coli* แบ่งตามช่วงอายุและจังหวัด

จังหวัด	จำนวน Isolates	จำนวน isolates แยกตามช่วงอายุ		
		ลูกสุกรตุนม (แรกเกิด-4 สัปดาห์)	สุกรหลังหย่านม (>4-8 สัปดาห์)	สุกรขุน (>8-12 สัปดาห์)
ขอนแก่น	7	2	5	0
อุดรธานี	5	2	3	0
สกลนคร	4	0	4	0
มุกดาหาร	3	2	1	0
มหาสารคาม	2	0	2	0
หนองคาย	2	1	1	0
ร้อยเอ็ด	2	0	2	0
กาฬสินธุ์	2	0	1	1
นครพนม	2	1	1	0
หนองบัวลำภู	1	0	1	0
เลย	1	0	1	0
บึงกาฬ	1	0	1	0
รวม	32	25.00% (8/32)	71.88% (23/32)	3.12% (1/32)

สารพันธุกรรม ของเชื้อ *E. coli* ทั้ง 6 สายพันธุ์ ที่เป็นตัวควบคุมบวกของยีนที่สร้างสารพิษทั้ง 6 ชนิด ของเชื้อ *E. coli* แสดงใน รูปที่ 1

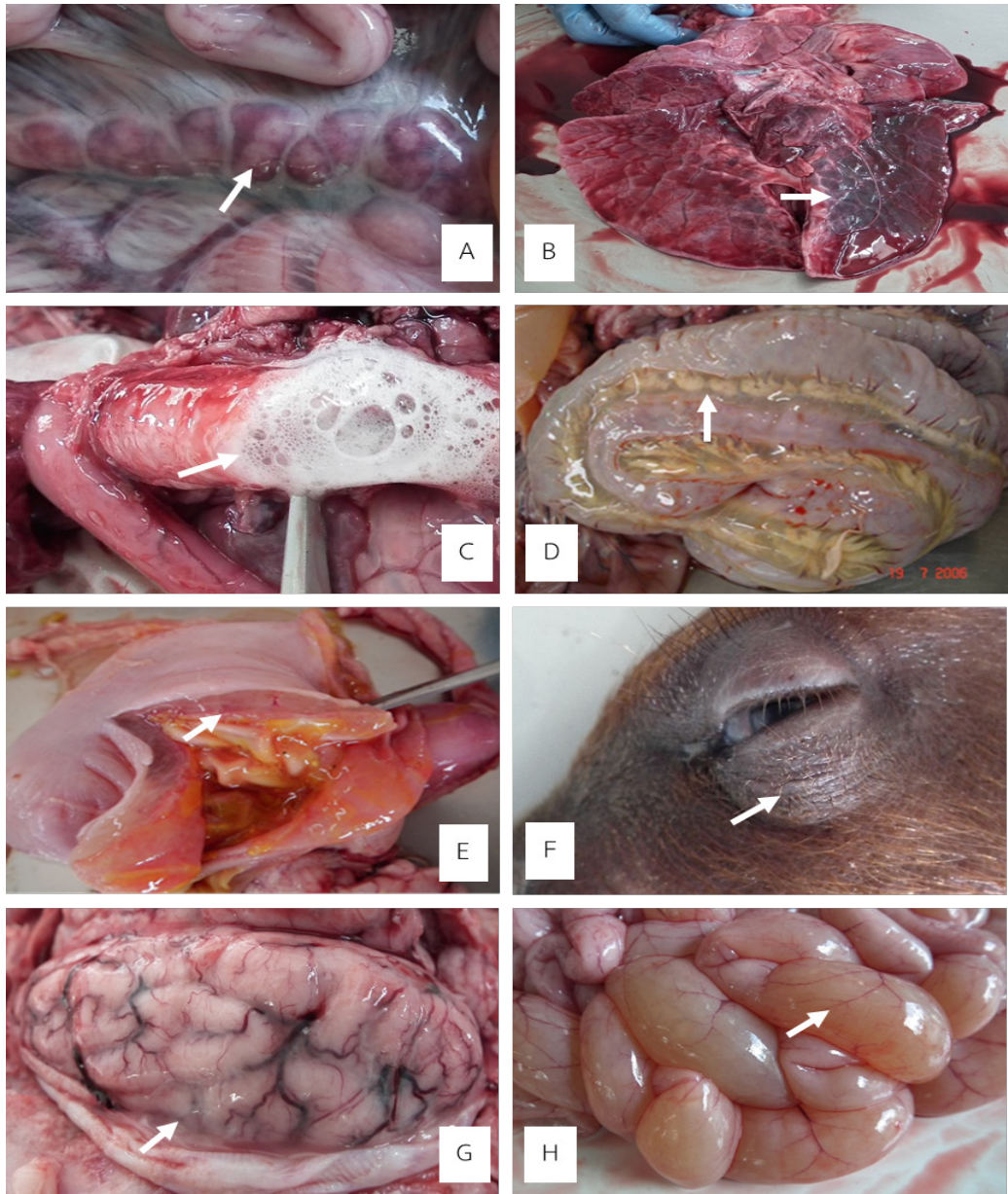


รูปที่ 1 แสดงภาพ DNA ของเชื้อ *E. coli* 6 สายพันธุ์ ที่เป็นตัวควบคุมบวกของยีนที่สร้างสารพิษทั้ง 6 ชนิด ดังนี้คือ แถว 1: ATCC 35401 (*LT*), แถว 3: ATCC 31619 (*ST1a*), แถว 5: ATCC 43896 (*ST1b*), แถว 7: ATCC 43890 (*Stx1*), แถว 9: ATCC 43889 (*Stx2*) และแถว 11: ATCC 23546 (*Stx2e*) ส่วนแถวที่ 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 เป็น negative control ของยีนที่สร้างสารพิษทั้ง 6 ชนิด ตามลำดับ และ M คือ DNA marker 100 bp (Biotechrabbit, Germany)

จากผลการตรวจหายีนที่สร้างสารพิษโดยวิธี PCR ทั้ง 32 isolates โดยทำ 6 ปฏิบัติการ ต่อ isolate ตรวจพบยีนที่สร้างสารพิษ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *ST1a*, *Stx2* และ *Stx2e* แต่ตรวจไม่พบยีนที่สร้างสารพิษชนิด *LT*, *ST1b* และ *Stx1* การตรวจพบยีนที่สร้างสารพิษ *ST1a* เนื่องจากการตรวจในสุกร เพราะยีนที่สร้างสารพิษ *ST1a* พบได้ในสุกร โค และคน (วัชรชัยและอภิสร่า, 2548) การตรวจ

พบยีนที่สร้างสารพิษชนิด *Stx2* และ *Stx2e* สอดคล้องกับวัชรชัยและอภิสร่า (2548) ที่กล่าวว่า การตรวจพบยีนที่สร้างสารพิษ *Stx2e* ต้องตรวจพบยีนที่สร้างสารพิษ *Stx2* ด้วยทุกครั้ง และการตรวจพบยีนที่สร้างสารพิษ *Stx2e* แสดงให้เห็นว่าสามารถพบสารพิษ *Stx2e* ในทุกตัวอย่างสุกรที่ป่วยและตายจากโรคบวมน้ำในสุกร สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Wieczorek and Osek (2020) ที่ตรวจพบยีนที่สร้างสารพิษ *Stx2e* ในซากสุกรทุกตัวที่ตายด้วยโรคบวมน้ำในสุกร แต่จากการศึกษาในครั้งนี้ตรวจไม่พบยีนสร้างสารพิษชนิด *LT* เนื่องจากยีนที่สร้างสารพิษชนิด *LT* สามารถตรวจพบได้น้อยกว่ายีนที่สร้างสารพิษชนิด *ST* (Vangroenweghe *et al.*, 2020) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Blanco *et al.* (1997); Kwon *et al.* (2002); Chen *et al.* (2004); Toledo *et al.* (2012) และในการศึกษารุ่นนี้มีตัวอย่างสุกรที่มีอาการท้องเสียเพียง 4 ตัวอย่างเท่านั้น จึงทำให้มีโอกาสตรวจพบน้อย การตรวจไม่พบยีนที่สร้างสารพิษ *ST1b* เนื่องจากยีนนี้เป็นยีนสร้างสารพิษที่พบในคน (วัชรชัย และอภิสร่า, 2548) และการตรวจไม่พบยีนที่สร้างสารพิษ *Stx1* เนื่องจากสารพิษ *Stx1* ทำให้เกิดโรค hemolytic uremic syndrome (Scheutz *et al.*, 2012) และตัวอย่างสุกรทั้งหมดเป็นสุกรที่ป่วยและตายด้วยโรคบวมน้ำในสุกร จากการศึกษาครั้งนี้แสดงว่าเชื้อ hemolytic *E. coli* สามารถสร้างสารพิษ *Stx2e* ที่ทำให้เกิดโรคบวมน้ำในสุกร

รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าตามอวัยวะที่สำคัญ จำแนกตามสารพิษที่เชื้อสร้างขึ้น แสดงจำนวนสุกรทั้ง 2 กลุ่ม ดังแสดงใน รูปที่ 2 และ ตารางที่ 3 กลุ่มที่ตรวจพบสารพิษ *Stx2e* ชนิดเดียว พบรอยโรคต่อมน้ำเหลืองบริเวณเยื่อแขวนลำไส้เล็กขยายใหญ่และมีเลือดคั่ง (รูปที่ 2-A) 100% (28/28) ปอดบวมน้ำและมีเลือดคั่ง (รูปที่ 2-B) และพบสารคัดหลั่งเป็นฟองในแขนงหลอดลม (รูปที่ 2-C) 100% (28/28) และเยื่อแขวนลำไส้ใหญ่บวมน้ำ (รูปที่ 2-D) 100% (28/28) เป็นรอยโรคที่ตรวจพบในสุกรทั้ง 32 ตัว ที่ป่วยและตายจากโรคบวมน้ำในสุกร สอดคล้องกับการศึกษาของ MacLeod *et al.* (1991); Horzmann and Ramos-Vara (2014) ส่วนรอยโรคที่พบได้แต่ไม่พบในสุกรทุกตัวที่ป่วยและตายจากโรคบวมน้ำในสุกร ได้แก่ กระเพาะอาหารบวมน้ำ



รูปที่ 2 แสดงรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าของโรคบวมน้ำในสุกร

- A รอยโรคต่อมน้ำเหลืองบริเวณเยื่อแฉวยลำไส้เล็กขยายใหญ่และมีเลือดคั่ง (ศรชี้)
- B รอยโรคปอดบวมน้ำและมีเลือดคั่ง (ศรชี้)
- C รอยโรคสารคัดหลั่งเป็นฟองในช่องท้อง (ศรชี้)
- D รอยโรคเยื่อแฉวยลำไส้ใหญ่บวมน้ำ (ศรชี้)
- E รอยโรคผนังกระเพาะอาหารบวมน้ำ (ศรชี้)
- F รอยโรคบวมน้ำใต้ผิวหนังบริเวณรอบตา (ศรชี้)
- G รอยโรคสมองบวมน้ำ (ศรชี้)
- H รอยโรคของเหลวในลำไส้เล็กมีน้ำปนในปริมาณมากและผนังลำไส้เล็กบางกว่าปกติ (ศรชี้)

(รูปที่ 2-E) 75.00% (21/28) บวมน้ำใต้ผิวหนังบริเวณรอบตา (รูปที่ 2-F) 60.71% (17/28) และสมองบวมน้ำ (รูปที่ 2-G) 35.71% (10/28) รอยโรคที่พบดังกล่าวเป็นรอยโรคของโรคบวมน้ำในสุกรที่เกิดจากผลของสารพิษ Stx2e ทำให้เกิดการเสื่อมของผนังหลอดเลือดแดงฝอยเป็นผลให้คุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของผนังหลอดเลือดแดงฝอยลดลง และทำให้เกิดการซึมผ่านของสารน้ำจากภายในหลอดเลือดแดงฝอยออกสู่บริเวณเนื้อเยื่อโดยรอบ จึงเกิดการบวมน้ำของเนื้อเยื่อ (Crepeau *et al.*, 2012; Arimitsu *et al.*, 2016)

สำหรับกลุ่มที่ตรวจพบสารพิษ Stx2e ร่วมกับสารพิษ ST พบรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าคล้ายกับกลุ่มที่ตรวจพบสารพิษ Stx2e ชนิดเดียว โดยพบรอยโรคต่อมน้ำเหลืองบริเวณเยื่อแวนลำไส้เล็ก ขยายใหญ่และมีเลือดคั่ง (รูปที่ 2-A) 100% (4/4) ปอดบวมน้ำและมีเลือดคั่ง (รูปที่ 2-B) และพบสารคัดหลั่งเป็นฟองในแขนงหลอดลม (รูปที่ 2-C) 100% (4/4) และเยื่อแวนลำไส้ใหญ่บวมน้ำ (รูปที่ 2-D) 100% (4/4) เป็นรอยโรคที่ตรวจพบในสุกรทั้ง 4 ตัว ที่ป่วยและตายจากโรคบวมน้ำในสุกร ส่วนรอยโรคที่ไม่พบในสุกรทุกตัว ได้แก่ ผนังกระเพาะอาหารบวมน้ำ (รูปที่ 2-E) 50.00% (2/4) บวมน้ำใต้ผิวหนังบริเวณรอบตา (รูปที่ 2-F) 25.00% (1/4) และสมองบวมน้ำ (รูปที่ 2-G) 25.00% (1/4) นอกจากนี้สุกรกลุ่มนี้ยังพบของเหลวในลำไส้เล็กมีน้ำปนในปริมาณมาก และผนังลำไส้เล็กบางกว่าปกติ (รูปที่ 2-H) 100% (4/4) ซึ่งตรวจพบในสุกรทุกตัวที่ป่วยและตายจากโรคบวมน้ำในสุกร ร่วมกับโรคท้องเสียในสุกร รอยโรคของอาการท้องเสียในสุกรนี้เป็นผลของสารพิษ ST ซึ่งมีกลไกก่อโรคโดยทำให้เกิดการหลั่งของเหลว และ electrolyte ออกมาปริมาณมากในลำไส้เล็ก ส่งผลให้สุกรมีอาการท้องเสียและถ่ายเหลว (Bin *et al.*, 2018)

จาก ตารางที่ 3 ตรวจพบยีนสร้างสารพิษ Stx2e จากเชื้อ hemolytic *E. coli* 100% (32/32) แสดงให้เห็นว่ายีนสร้างสารพิษ Stx2e สามารถตรวจพบได้ในทุกตัวอย่างสุกรที่ป่วยและตายจากโรคบวมน้ำ ยิ่งไปกว่านั้นยังตรวจพบยีนสร้างสารพิษ Stx2e ชนิดเดียว 87.50% (28/32) และตรวจพบยีนสร้างสารพิษ Stx2e ร่วมกับยีนสร้างสารพิษ ST 12.50% (4/32) สอดคล้องกับการศึกษา

ของ วัชรชัยและอภิสร่า (2548); โยธกานต์และธรรมรัฐ (2556); Wajjawalku *et al.* (2002) ที่ตรวจพบยีนสร้างสารพิษ Stx2e ร่วมกับยีนสร้างสารพิษ ST ซึ่งมีปัจจัยก่อความรุนแรงมากกว่าหนึ่งชนิด แสดงให้เห็นว่าการเกิดโรคบวมน้ำในสุกรสามารถพบสารพิษได้หลายชนิดร่วมกัน

ตารางที่ 3 รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าจำแนกตามชนิดของยีนที่สร้างสารพิษที่ตรวจพบ

รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่า	จำนวน isolate ที่ตรวจพบยีนที่สร้างสารพิษ (ร้อยละ)	
	Stx2e (n= 28)	Stx2e+ST (n= 4)
- ต่อมน้ำเหลืองบริเวณเยื่อแวนลำไส้เล็กขยายใหญ่และมีเลือดคั่ง	100% (28/28)	100% (4/4)
- ปอดบวมน้ำและมีเลือดคั่ง และพบสารคัดหลั่งเป็นฟองในแขนงหลอดลม	100% (28/28)	100% (4/4)
- เยื่อแวนลำไส้ใหญ่บวมน้ำ	100% (28/28)	100% (4/4)
- ผนังกระเพาะอาหารบวมน้ำ	75.00% (21/28)	50.00% (2/4)
- บวมน้ำใต้ผิวหนังบริเวณรอบตา	60.71% (17/28)	25.00% (1/4)
- สมองบวมน้ำ	35.71% (10/28)	25.00% (1/4)
- ของเหลวในลำไส้เล็กมีน้ำปนในปริมาณมาก และผนังลำไส้เล็กบางกว่าปกติ	0% (0/0)	100% (4/4)

เมื่อหาความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่ากับสารพิษ โดยใช้ Fisher's Exact test พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value<0.05) ดัง ตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างรอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่าตามกลุ่มอาการ และสารพิษที่ตรวจพบ โดยใช้ Fisher's Exact test

สารพิษ	รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่า		p-value
	กลุ่มอาการโรคบวมน้ำในสุกร (n=28)	กลุ่มอาการโรคบวมน้ำในสุกรร่วมกับท้องเสีย (n=4)	
Stx2e	100% (28/28)	0% (0/4)	0.00002781
Stx2e+ST	0% (0/28)	100% (4/4)	(<0.0001)

ผลการทดสอบความไวของเชื้อ hemolytic *E. coli* ต่อยาต้านจุลชีพ 12 ชนิด แสดงใน ตารางที่ 5 พบว่าเชื้อมีความไวต่อยา gentamicin สูงที่สุด (84.38%) เป็นไปได้ว่ายา gentamicin ไม่นิยมนำมาใช้ผสมในอาหารสัตว์เพื่อป้องกันโรค ทำให้โอกาสที่เชื้อแบคทีเรียที่เรื้อรังชนิดนี้เป็นไปได้น้อย รองลงมาคือ norfloxacin (78.12%), ciprofloxacin (75.00%) และ enrofloxacin (65.62%) ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของวัลญาและอาจอง

(2555) ที่ทำการศึกษาคความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ hemolytic *E. coli* ที่เพาะแยกได้จากอวัยวะสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ระหว่างปี พ.ศ. 2549–2553 พบว่าเชื้อมีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิดเดียวกัน ส่วนผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยา streptomycin, ampicillin, amoxicillin, penicillin, tetracycline และ oxytetracycline มีผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาอยู่ในระดับต่ำ สอดคล้องกับผลการศึกษาของวัลญาและอาจอง (2555) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่ายาเหล่านี้ถูกนำมาใช้ในสัตว์เป็นระยะเวลานาน เพื่อป้องกันและรักษาโรครวมทั้งการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างไม่เหมาะสมสามารถทำให้เกิดการดื้อยาได้ จึงไม่ควรนำมาเลือกใช้ในการรักษาสุกรที่ป่วยด้วยโรคบวมน้ำในสุกร การศึกษาผลการทดสอบความไวของเชื้อ hemolytic *E. coli* ต่อยาต้านจุลชีพในครั้งนี้เป็นการศึกษาจากเชื้อที่เพาะแยกได้จากตัวอย่างชนิดเดียวกันแต่ศึกษาต่อเนื่องจากระยะเวลาทำการศึกษาของวัลญาและอาจอง (2555) ที่ได้ทำการศึกษาไว้ พบว่ายาต้านจุลชีพที่เหมาะสมกับการใช้รักษาสุกรป่วยจากโรคบวมน้ำในสุกรในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ยังคงเป็นยาต้านจุลชีพชนิดเดิม ได้แก่ gentamicin, norfloxacin, ciprofloxacin และ enrofloxacin

ตารางที่ 5 ผลการตรวจความไวต่อยาต้านจุลชีพ 12 ชนิดของเชื้อ hemolytic *E. coli* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ระหว่างปี พ.ศ. 2555-2564 ที่เพาะแยกได้จากตัวอย่างลำไส้เล็กและต่อมน้ำเหลืองบริเวณเยื่อแขวนลำไส้เล็กของสุกร (n =32) โดยวิธี Agar Disc Diffusion ตามวิธีมาตรฐานของ VET01 (CLSI, 2018)

Antimicrobials	% Susceptible (S)	% Intermediate (I)	% Resistant (R)
Gentamicin	84.38	9.38	6.24
Norfloxacin	78.12	12.50	9.38
Ciprofloxacin	75.00	6.25	18.75
Enrofloxacin	65.62	15.63	18.75
sulfamethoxazole/ trimethoprim	50.00	12.50	37.50
Neomycin	40.63	28.12	31.25
Streptomycin	15.63	12.50	71.87
Ampicillin	12.50	3.12	84.38
Amoxycillin	9.38	3.12	87.50
penicillin	9.38	6.24	84.38
Tetracycline	6.25	3.12	90.63
Oxytetracycline	6.25	3.12	90.63

สรุปและข้อเสนอแนะ

สุกรที่ป่วยและตายด้วยโรคบวมน้ำในสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน เกิดจากเชื้อ Shiga toxin-producing *E. coli* ที่สามารถสร้างสารพิษ Stx2e โดยตรวจพบยีนที่สร้างสารพิษ Stx2e ในกลุ่มอาการโรคบวมน้ำในสุกร และตรวจพบยีนที่สร้างสารพิษ Stx2e ร่วมกับยีนที่สร้างสารพิษ ST ในกลุ่มอาการโรคบวมน้ำในสุกรร่วมกับอาการท้องเสียทุกตัวอย่าง ช่วงอายุสุกรที่พบการเกิดโรคสูงที่สุดคือ สุกรหลังหย่านม รอยโรคทางพยาธิวิทยาที่ตรวจพบด้วยตาเปล่ากับสารพิษ มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value<0.05) และยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมในการรักษาสุกรป่วยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ได้แก่ gentamicin, norfloxacin, ciprofloxacin และ enrofloxacin อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับยาต้านจุลชีพชนิดอื่น ๆ เช่น marbofloxacin, orbifloxacin, ibafloxacin, ceftiofur, ceftriaxone, cefotaxime, cefuroxime เป็นต้น เพื่อเป็นตัวเลือกหากเกิดการดื้อยาต้านจุลชีพทั้ง 4 ชนิด ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการแบคทีเรียวิทยาและเชื้อรา ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ที่ให้ความอนุเคราะห์การตรวจตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการ กลุ่มแบคทีเรียและเชื้อรา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ที่ให้ความอนุเคราะห์สารพันธุกรรมชนิด DNA ของเชื้ออ้างอิงมาตรฐาน และการถ่ายภาพการตรวจหายีนสร้างสารพิษทางห้องปฏิบัติการ และ สพ.ญ.กัญญาธิป แสงอรุณ ที่ช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในการจัดทำผลงานวิชาการในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กิจจา อุไรรงค์. 2530. โรคที่เกิดจากการติดเชื้ออี.โคไล. *แนวทางการวินิจฉัย รักษา และควบคุมโรคสุกร*. โรงพิมพ์สารมวลชน. กรุงเทพมหานคร. หน้า 239-250.
- โยธกานต์ สิงห์วงศ์ และธรรมรัฐ หรพพร้อม. 2556. การตรวจหาชนิดที่ควบคุมการสร้างสารพิษของเชื้อ β -hemolytic *Escherichia coli* จากสุกรป่วยในภาคเหนือตอนล่างโดยวิธี polymerase chain reaction. *จุลสารศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง*. 10 (36): 1-9.
- วัชรชัย ณรงค์ศักดิ์ และอภิสราร วรราช. 2548. การตรวจหาเชื้อ *Escherichia coli* ชนิดที่สร้างสารพิษในสุกรท้องเสีย โดยวิธี Polymerase chain reaction. *การประชุมวิชาการปศุสัตว์ครั้งที่ 20*. กรมปศุสัตว์ กรุงเทพฯ. หน้า 53.
- วัลญา วงษ์จันทอง และอาจอง อ่อนหวาน. 2555. ความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ Hemolytic *Escherichia coli* ที่เพาะแยกได้จากอวัยวะสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ระหว่างปี 2549-2553. *วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ*. 7 (2): 52-61.
- Arimitsu, H., Sasaki, K. and Tsuji, T. 2016. Development of a simple and rapid diagnosis method for swine edema disease to specifically detect Stx2e protein by immunochromatographic test. *Microbiol. Immunol.* 60 (5): 334-342.
- Baldo, V., Salogni, C., Giovannini, S., D'Incau, M., Boniotti, M.B., Birbes, L., Pitozzi, A., Formenti, N., Grassi, A., Pasquali, P. and Alborali, G.L. 2020. Pathogenicity of Shiga toxin type 2e *Escherichia coli* in pig colibacillosis. *Front. Vet. Sci.* 658.
- Baranzoni, G. M., Fratamico, P. M., Gangiredla, J., Patel, I., Bagi, L. K., Delannoy, S., Fach, P., Boccia, F., Anastasio, A., and Pepe, T. 2016. Characterization of Shiga toxin subtypes and virulence genes in porcine Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*, 7, 574.
- Bergeland, M. and Kurtz, H. 2000. Edema disease (Gut edema *E.coli* enterotoxaemia). Health; Livestock series. Colorado State University Cooperative Extension. Colorado, USA. p. 24.
- Bin, P., Tang, Z., Liu, S., Chen, S., Xia, Y., Liu, J., Wu, H. and Zhu, G. 2018. Intestinal microbiota mediates Enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced diarrhea in piglets. *BMC Vet. Res.* 14 (1): 385. doi: 10.1186/s12917-018-1704-9.
- Blanco, M., Blanco, J.E., Gonzalez, E.A., Mora, A., Jansen, W., Gomes, T.A., Zerbini, L.F., Yano, T., Castro, A.F. and Blanco, J. 1997. Genes coding for enterotoxins and verotoxins in porcine *Escherichia coli* strains belonging to different O: K: H serotypes: relationship with toxic phenotypes. *J. Clin. Microb.* 35 (11): 2958-2963.
- Chen, X., Gao, S., Jiao, X., and Fan, Liu. X. 2004. Prevalence of serogroups and virulence factors of *Escherichia coli* isolates isolated from pigs with postweaning diarrhoea in eastern China. *Vet Microbiol.* 103: 13-20. doi: 10.1016/j.vetmic.2004.06.014.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2018. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. CLSI standard VET01. 5th edition. Pennsylvania, U.S.A. 156 pages.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2020. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. CLSI supplement VET01S 5th ed. Pennsylvania, U.S.A. 226 pages.
- Crepeau, R., Matar, A., Spitzer, T.R., Robson, S., Pathiraja, V., Sachs, D.H., Huang, C.A. and Duran-Struuck, R. 2012. Edema and tetraparesis in a miniature pig after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Comp. Med.* 62 (4): 298-302.
- Francis, D.H. 2002. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in pigs and its diagnosis. *J. Swine Hlth. Prod.* 10 (4): 171-175.
- Horzmann, K.A. and Ramos-Vara, J.A. 2014. Pathology in practice. Edema disease in a pig. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 244 (7): 795-797. doi: 10.2460/javma.244.7.795.
- Kwon, D., Choi, C., Jung, T., Chung, H.K., Kim, J.P., Bae, S.S., Cho, W.S., Kim, J. and Chae, C. 2002. Genotypic prevalence of the fimbrial adhesins (F4, F5, F6, F41 and F18) and toxins (LT, STa, STb and Sbc2e) in *Escherichia coli* isolated from postweaning pigs with diarrhoea or oedema disease in Korea. *Vet. Rec.* 150: 35-37. doi: 10.1056/NEJMoa1716153.
- MacLeod, D.L., Gyles, C.L. and Wilcock, B.P. 1991. Reproduction of edema disease of swine with purified Shiga-like toxin-II variant. *Vet. Pathol.* 28 (1): 66-73.
- Meng, Q., Bai, X., Zhao, A., Lan, R., Du, H., Wang, T., Shi, C., Yuan, X., Bai, X., Ji, S., Jin, D., Yu, B., Wang, Y., Sun, H., Liu, K., Xu, J., and Xiong, Y. 2014. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from healthy pigs in China. *BMC Microbiol.* 14:5. doi: 10.1186/1471-2180-14-5.
- Moxley, R.A. 2000. Edema disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 16 (1): 175-185.

- Oanh, T.K.N., Nguyen, V.K., De Greve, H. and Goddeeris, B.M. 2012. Protection of piglets against Edema disease by maternal immunization with Stx2e toxoid. *Infect. Immun.* 80 (1): 469-473.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. and Carter, G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolf Publishing. Spain. 648 pages.
- R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [Online] Available: <https://www.R-project.org/>. Accessed August 19, 2022.
- Scheutz, F., Teel, L.D., Beutin, L., Piérard, D., Buvens, G., Karch, H., Mellmann, A., Caprioli, A., Tozzoli, R., Morabito, S., Strockbine, N.A., Melton-Celsa, A.R., Sanchez, M., Persson, S., and O'Brien, A.D. 2012. Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. *J. Clin. Microbiol.* 50 (9): 2951-2963.
- Tabaran, F. and Tabaran, A. 2019. Edema disease of swine: a review of the pathogenesis. *Porcine Res.* 9 (1): 7-14.
- Toledo, A., Gomez, D., Cruz, C., Carreon, R., Lopez, J., Giono, S. and Castro, M. 2012. Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* isolates isolated from piglets in the suckling and weaning period in Mexico. *J. Med. Microbiol.* 61: 148–156. doi: 10.1099/jmm.0.031302-0.
- Tseng, M., Fratamico, P.M., Bagi, L., Manzinger, D. and Funk, J.A. 2015. Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) in swine: Prevalence over the finishing period and characteristics of the STEC isolates. *Epidemiol. Infect.* 143 (3): 505-514.
- Uemura, R., Sueyoshi, M., Nagayoshi, M. and Nagatomo, H. 2003. Antimicrobial susceptibilities of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from pigs with edema disease in Japan. *Microbiol. Immunol.* 47 (1): 57-61.
- Vangroenweghe, F., Luppi, A. and Thas, O. 2020. Prevalence of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Pathotypes and Virotypes Isolated from Piglets Suffering from Post-Weaning Diarrhea in Belgium and the Netherlands. *Arch. Vet. Anim. Sci.* 2(2). doi: 10.5281/zenodo.3812470.
- Wajjawalku, W., Siripattarapivat, K., Bilhmad, U. and Chandodom, U. 2002. Frequency of virulent factors in hemolytic *Escherichia coli* isolated from pigs by using Polymerase Chain Reaction. *The 17th Congress of International Pig Veterinary society*. Iowa State University. Iowa, USA. p. 57.
- Wieczorek, K. and Osek, J. 2020. Identification and molecular characteristics of verotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC) from bovine and pig carcasses isolated in Poland during 2014-2018. *Food Microbiol.* 92: 103587.