รายงานโครงการวิจัยเงินทุนคณะสัตวแพทยศาสตร์

(ฉบับสมบูรณ์)

ความชุกของโรคบิดมูกเลือดในฟาร์มสุกร ในเขตภาคกลางของประเทศไทย

(The prevalence of swine dysentery in pig farms in the middle part of Thailand)

ผศ. น.สพ. ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์

ผศ. น.สพ. ดร. ณุวีร์ ประภัสระกุล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความชุกของโรคบิดมูกเลือดในฟาร์มสุกรในเขตภาคกลางของประเทศไทย

(The prevalence of swine dysentery in pig farms in the middle part of Thailand)

เผด็จ ธรรมรักษ์[1] ณุวีร์ ประภัสระกูล[2]

Padet Tummaruk[1] Nuvee Prapasarakul[2]

[1] ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์, [2]ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[1] Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, [2] Department of Veterinary microbiology, Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand 10330 E-mail address: Padet.T@chula.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาความชุกของเชื้อ *Brachyspira spp.* จากสุกรที่แสดงอาการท้องเสียปนเลือด หรือสุกรจากฟาร์มที่เคยมีประวัติของการถ่ายอุจจาระปนเลือด ตัวอย่างที่ทำการศึกษาได้จากการเก็บ อุจจาระ หรือจากเยื่อบุผนังลำไส้สุกร ตัวอย่างทั้งหมดที่เก็บได้มีจำนวน 126 ตัวอย่าง ได้จากสุกรที่มีอาการถ่ายเหลวปนเมือกและ/หรือปนเลือดจำนวน 74 ตัวอย่าง กับสุกรที่ถ่ายปกติจำนวน 52 ตัวอย่าง ทำการดูลักษณะเบื้องต้นของเชื้อ *Brachyspira spp.* โดยการทำ fresh smear และย้อมสีแกรม หลังจากนั้นทำการแยกเชื้อโดยวิธีเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ ภายใต้สภาพไร้ออกซิเจน และยืนยันผลจาก ลักษณะรูปร่างของโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คุณสมบัติการย่อยเม็ดเลือดแดง และผลทดสอบทางชีวเคมี การทดลองพบว่าสามารถแยกเชื้อ *Brachyspira spp.* ได้จำนวน 15 ตัวอย่าง จากสุกรที่มีปัญหาท้องเสีย จำนวน 74 ตัว ตัวอย่างที่ได้จากสุกรที่ถ่ายปกติ 52 ตัวอย่าง ผลการตรวจไม่พบเชื้อ *Brachyspira spp.* แม้จะมีเคยมีประวัติการเกิดโรคนี้ในฟาร์ม ความชุกของการพบเชื้อคิดเป็นร้อยละ 20.3 (15/74) ของประชากรสุกรที่มีอาการถ่ายเหลว มีฟาร์มที่พบเชื้อ *Brachyspira hyodysenteriae* จำนวน 9 ฟาร์มจาก 19 ฟาร์มคิดเป็นร้อยละ 47.3 สุกรที่ตรวจพบเชื้อส่วนใหญ่เป็นสุกรขุนอายุ 20-24 สัปดาห์ และ หนึ่งตัวอย่างแยกได้จากแม่สุกร จากการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อพบว่าเชื้อสไปโรคีททั้งหมดติดสีแกรมลบ มีรูปร่างยาวและเป็นเกลียว เชื้อแสดงการแตกของเม็ดเลือดแดงชนิดเบต้าอย่างรุนแรงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเลือดแกะ 10% ให้ผลลบต่อปฏิกิริยา hippurate hydrolysis เชื้อจำนวน 14 ตัวอย่างจาก 15 ตัวอย่าง ให้ผลบวกต่อปฏิกิริยา indole และ 1 ตัวอย่างจาก 15 ตัวอย่างให้ผลลบต่อปฏิกิริยา indole จากการเปรียบเทียบกับเชื้ออ้างอิงพบว่าเชื้อสไปโรคีททั้งหมดที่แยกได้เป็น *Brachyspira hyodysenteriae*

คำสำคัญ : สุกร ท้องเสียปนเลือด บิดมูกเลือด ความชุก

ABSTRACT

The objective of the present study is to investigate the prevalence of *Brachyspira spp* in bloody diarrhea pig. The fecal samples and intestinal mucosa were obtained from the pigs with clinical symptoms of bloody diarrhea and from pig in the herd with a history of bloody diarrhea. A total number of 126 samples, 74 bloody diarrhea/mucosal diarrhea and 52 normal feces, were submitted for bacterial culture and identification. The samples were primarily investigated for the organisms by fresh smear and gram staining. All samples were cultured with a specific media in anaerobic environment. The colonies were determined under light microscope and were tested for hemolysis and biochemical properties including indole and hippurate hydrolysis test. Fifteen isolates were obtained from 74 fecal samples of diarrheal pig. *Brachyspira hyodysenteriae* could not be isolated from the pigs with normal feces (n=52), although the herds had a history of bloody diarrhea. The prevalence was 20.3% (15/74) among the pig with diarrhea. *Brachyspira hyodysenteriae* was found 9 out of 19 herds in this study representing 47.3% of the prevalence among the herd. Most of the pig that found the spirochete was between 20-24 wk of age and one sample was isolated from a sow. It was revealed that the bacteria were a gram negative staining, long and spiral shape and had a strong beta hemolysis properties in 10% sheep blood agar. Most of the spirochetes were positive for indole test (14/15) and negative for hippurate hydrolysis test (15/15). One strain of indole negative spirochetes (1/15) was also isolated. Compared with the references stain, all of the spirochetes were identified as *Brachyspira hyodysenteriae*.

Keywords: Pig, Bloody diarrhea, Swine dysentery, Prevalence

บทนำ

โรคบิดมูกเลือด (Swine Dysentery, SD) เป็นโรคที่มักก่อให้เกิดความเสียหายกับสุกรน้ำหนักระหว่าง 15-70 กิโลกรัม และอาจพบได้ในแม่สุกรและลูกสุกรก่อนหย่านมเป็นบางครั้งเช่นกัน (Pearce, 1999; Barcellos *et al*., 2000) ลักษณะเด่นของโรคนี้คือสุกรถ่ายอุจจาระเป็นสีเข้ม (black scours) หรือมีเลือดปน (bloody scours) หรืออาจท้องเสียมีมูกปนเลือด (mucohemorrhagic diarrhea) (Wills, 2000) โรคนี้เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นเกลียว (spirochete) และมีคุณสมบัติในการเจริญเติบโตแบบไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobic) ย้อมติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ (motile) และมีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ (hemolytic) (Fellström and Gunnarsson, 1995) เชื้อนี้ชื่อ *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae* โรคนี้ถูกค้นพบครั้งแรกตั้งแต่ปี ค.ศ. 1921 ปัจจุบันโรคนี้พบได้ทั่วโลก อุบัติการของการเกิดโรคค่อนข้างสูง เท่าที่มีรายงาน เช่น ใน

สหรัฐอเมริการายงานเมื่อปี ค.ศ. 1993 พบว่ามีฝูงที่เป็นโรคสูงถึง 11% ในแถบตะวันตกของประเทศออสเตรเลียพบอุบัติการสูงถึง 33% ในปี ค.ศ. 1992 และในอังกฤษพบว่าโรคนี้เป็นโรคที่พบได้บ่อยมากเป็นอันดับสองรองจากโรคลำไส้อักเสบจากเชื้ออีโคไล (enteric colibacillosis) ปัจจุบันยังมีการศึกษาและพัฒนายาและวัคซีนสำหรับโรคนี้อย่างต่อเนื่อง (Harris *et al*., 1999) โรคนี้ติดต่อได้โดยการกินเป็นหลัก สุกรจะติดโรคโดยการกินอาหารหรือสิ่งที่ปนเปื้อนอุจจาระของสุกรป่วยหรือสุกรปกติที่เป็นพาหะนำโรค พบว่าสัตว์ที่เป็นโรคนี้แล้วหายป่วยเป็นเวลา 70 วัน แล้ว ก็ยังสามารถแพร่โรคได้อยู่ นอกจากนี้โรคยังอาจติดต่อได้จากคนเลี้ยงสัตว์ที่ไม่เปลี่ยนเสื้อผ้าหรือรองเท้าบู๊ทเมื่อเดินผ่านระหว่างยูนิตที่มีสัตว์เป็นโรคและสัตว์สุขภาพดี การจัดระบบการขนส่งและหมุนเวียนสุกรที่ทำให้แม่สุกรได้มีโอกาสสัมผัสกับสิ่งปนเปื้อนเชื้อโรคก็เป็นอีกทางหนึ่งในการเกิดการระบาดโรคบิดมูกเลือด (Wills, 2000) ได้มีการศึกษาความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่เกิดจากโรคบิดมูกเลือดที่สหรัฐอเมริกาในปี 1990 พบว่าในฝูงที่เป็นโรคบิดมูกเลือดต้องใช้ค่ายาสูงถึง 8.30 $ /สุกรขุน 1 ตัว แต่หลังจากโรคนี้ถูกกำจัดออกไปค่ายาลดลงเหลือ 0.08 $ /สุกรขุน 1 ตัว (Harris *et al*., 1999) นอกจากนี้การสูญเสียค่าใช้จ่ายในเรื่องของยารักษาโรคแล้ว โรคนี้ยังก่อให้เกิดความเสียหายอื่นๆ เช่น ทำให้สุกรตายได้ ลดอัตราการเจริญเติบโตและทำให้ FCR สูง ส่วนใหญ่สุกรที่ไม่แสดงอาการจะเป็นตัวที่ทำให้ FCR และ ADG ในฝูงไม่ดี (Pearce, 1999) การแสดงอาการของโรคบิดมูกเลือดมักจะเกิดขึ้นหมุนเวียนเป็นวงจร ในฝูงขนาดใหญ่ที่มีการติดเชื้อ สัตว์มักจะแสดงอาการอีกภายใน 3-4 สัปดาห์ หลังจากหายเป็นปกติ (Harris *et al*., 1999; Wills, 2000) การกลับมาแสดงอาการใหม่มักเกิดจากการหยุดให้ยาในอาหารหรือน้ำ ด้วยเหตุนี้ต้นทุนค่ายาจึงสูงมากในฝูงที่มีโรคนี้อยู่ เชื้อ *Brachyspira hyodysenteriae* มีความคงทนค่อนข้างสูงในสิ่งแวดล้อม สัตว์ที่เคยเป็นโรคแล้วอาจเป็นได้ใหม่อีกแต่ส่วนใหญ่จะสามารถสร้างภูมิขึ้นมาป้องกันตัวเองได้ ถึงแม้สัตว์ที่หายป่วยจะไม่แสดงอาการใดๆ แต่ก็จะเป็นตัวแพร่โรคได้โดยจะขับเชื้อออกทางอุจจาระ มีรายงานว่าแม่สุกรสามารถแพร่เชื้อไปยังลูกสุกรดูดนมได้โดยปนเปื้อนไปกับอุจจาระ แต่ลูกสุกรดูดนมมักจะยังไม่แสดงอาการจนกระทั่งหย่านมและลงอนุบาล ทั้งนี้เนื่องจากภูมิคุ้มกันที่ได้จากแม่ในขณะดูดนม (Harris *et al*., 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าน้ำจากบ่อน้ำในฝูงที่มีโรคบิดมูกเลือดอยู่สามารถทำให้เกิดโรคได้ด้วย เชื้อโรคบิดมูกเลือดเคยแยกได้จากพื้นคอก สุนัข หนู นก และ แมลงวัน ในการทดลองละลายอุจจาระที่ปนเปื้อนเชื้อโรคลงในน้ำเย็น 5^0C พบว่าเชื้ออยู่ได้นานถึงประมาณ 2 เดือน ในขณะที่เชื้อจะอยู่ได้นานถึง 7 วันในอุจจาระที่มีอุณหภูมิประมาณ 25^0C ในดินที่อุณหภูมิ 4^0C เชื้อจะอยู่ได้นาน 18 วัน เชื้อนี้สามารถแยกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80^0C เป็นเวลานานกว่า 10 ปี (Harris *et al*., 1999) การวินิจฉัยโรคนอกจากการดูประวัติสัตว์ป่วยและฟาร์ม อาการ รอยโรคที่พบทั้งทางการผ่าซากและภายใต้กล้องจุลทรรศน์แล้ว การเพาะแยกเชื้อ *Brachyspira hyodysenteriae* มีความจำเป็นในการแยกสาเหตุของโรคออกจากโรค Proliforative enteritis (*Lawsonia intracellularis)* และ colitis ที่เกิดจากเชื้อ *Brachyspira pilosicoli* (PIS) (Calderaro *et al*., 2001) สุกร

ที่ป่วยแสดงอาการเฉียบพลันมักจะปล่อยเชื้อออกมาทางอุจจาระจำนวนมาก (10^8-10^9/กรัมอุจจาระ) ในขณะที่สุกรที่ไม่แสดงอาการอาจปล่อยเชื้อได้เป็นบางครั้งบางคราว การใช้ยารักษาหรือป้องกันอาจลดจำนวนเชื้อที่จะปล่อยออกมาในแต่ละครั้ง การใช้ Polymerase Chain Reaction (PCR) ช่วยในการตรวจหาเชื้อสามารถทำได้และให้ผลที่แม่นยำถึงแม้จะมีปริมาณเชื้อเพียงเล็กน้อย ในประเทศไทยเคยมีรายงานการเพาะแยกเชื้อ การทดสอบการตอบสนองต่อยา และ การตรวจระดับแอนติบอดี้โดยวิธี Enzyme Linked Immuno Assay (ELISA) (Kramomtong *et al*., 1996) แต่ยังไม่มีรายงานการสำรวจความชุกของโรคโดยเฉพาะในฝูงสุกรพ่อแม่พันธุ์ ประเทศอังกฤษ เกาหลี บราซิล และฟินแลนด์ มีการสำรวจความชุกของโรคและพบอุบัติการของโรคค่อนข้างสูง (Pearce, 1999; Bacellos *et al*., 2000; Heinonen *et al*., 2000; Choi *et al*., 2002)

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาการเพาะแยกเชื้อและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Brachyspira spp.* และ ศึกษาความชุกของการพบเชื้อ *Brachyspira hyodysenteriae* จากสุกรที่มีอาการท้องเสียปนเลือดในฟาร์มสุกรในประเทศไทย

วัสดุและวิธีการ

แผนการทดลอง

เป็นการศึกษาในเชิงสำรวจ (Survey study) ความชุกของโรคบิดมูกเลือดในกลุ่มสุกรที่มีอาการท้องเสียปนมูกเลือดหรือในฟาร์มสุกรที่เคยมีรายงานการสูญเสียด้วยโรคท้องเสียปนมูกเลือด การศึกษาทำโดยการสำรวจปัญหาและเก็บตัวอย่างสุกรที่มีอาการท้องเสียปนมูกเลือด ระหว่าง เดือน ก.พ.-ธ.ค. 2546 ตัวอย่างที่เก็บทำโดยการไปเก็บมาจากฟาร์มสุกรที่เคยพบปัญหาสุกรท้องเสียปนเลือดโดยตรง หรือ เก็บจากลำไส้ของสุกรที่ถูกส่งมาทำการผ่าซากเพื่อการตรวจวินิจฉัยโรค ที่โรงพยาบาลปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัด นครปฐม ที่มีปัญหาสุกรท้องเสียปนเลือด

การเก็บตัวอย่างอุจจาระ

ตัวอย่างอุจจาระถูกเก็บจากสุกรที่แสดงอาการถ่ายอุจจาระปนเลือดหรือเป็นสีเข้มผิดปกติภายในเวลาไม่เกิน 1 สัปดาห์หลังแสดงอาการ หรือเก็บจากลำไส้ของสุกรที่ถูกส่งมาทำการผ่าซากเพื่อการตรวจวินิจฉัยโรค ที่โรงพยาบาลปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัด นครปฐม ในสุกรที่ยังมีชีวิต ตัวอย่างอุจจาระถูกเก็บประมาณ 10 กรัมจากโดยตรงทางทวารหักหรือทันทีที่ถ่าย ตัวอย่างอุจจาระถูกเก็บใส่ถุงพลาสติกแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วส่งห้องปฏิบัติการเพื่อเพาะแยกเชื้อภายใน 24 ชั่วโมง หรือเก็บที่อุณหภูมิ –20 °C กรณีต้องการเก็บ

รักษานานกว่า 24 ชั่วโมง จนกระทั่งนำมาเพาะแยกเชื้อ ข้อมูลของตัวสุกร ได้แก่ เบอร์หู อายุ ลำดับครอก ฟาร์ม วันที่ทำการเก็บตัวอย่าง และประวัติการใช้ยาก่อนทำการเก็บตัวอย่างถูกบันทึก

การเพาะแยกเชื้อและการจำแนกชนิดของเชื้อสไปโรคีต

ตัวอย่างอุจจาระถูกทำละลายที่อุณหภูมิห้องแล้วทำการตรวจหาตัวเชื้อด้วยวิธี fresh smear การย้อมสีแกรม และ ทำการเพาะแยกเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (trypticase soy agar) ซึ่งมีเลือดแกะ 5% (v/v) spectinomycin 400 µg/ml colistin 25 µg/ml และ vancomycin 25 µg/ml (Jenkinson and Wingar, 1981) และแยกเชื้อบริสุทธิ์ออกมาเลี้ยง (Olson, 1996) จานเพาะเชื้อถูกเก็บภายใต้สภาพไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 °C และตรวจการขึ้นของเชื้อ *Brachyspira spp.* ทุกๆ 3-4 วัน จนกระทั่ง 10-12 วัน ชนิดของเชื้อ *Brachyspira spp.* ถูกแยกแยะตามวิธีของ Fellström and Gunnarsson (1995) และ Prapasarakul *et al.* (2002) และถูกแยกมาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เชื้อที่แยกได้ถูกวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวเคมีโดยการทดสอบผลบวกของ Indole test (คุณสมบัติของ *B. hyodysenteriae* และ *B. intermedia*) และ การทดสอบ hydrolysis of hippurate (คุณสมบัติของ *B. pilosicoli*) จากเชื้อที่แยกได้เปรียบเทียบกับเชื้อที่ใช้อ้างอิง (ตารางที่ 1)

การตรวจโดยวิธี fresh smear

ใช้น้ำกลั่น 1 หยดหยดลงบนสไลด์กระจกที่สะอาดแล้วใช้ลูป (loop) แตะหรือเขี่ยตัวอย่างผสมกับน้ำกลั่นบนสไลด์แก้ว ปิดด้วยกระจกบาง (cover slip) แล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างกำลังขยาย 40 เท่า ผลบวกจะเห็นเชื้อแบคทีเรียสไปโรคีทรูปร่างยาวและเป็นเกลียว การเคลื่อนไหวไปข้างหน้ามีลักษณะคล้ายงู (serpentine movement) ทำการบันทึกข้อมูลจากการตรวจเป็นผลบวก (positive) หรือผลลบ (negative) ก่อนนำไปเพาะแยกเชื้อต่อไป

การตรวจโดยวิธีย้อมสีแกรม

เขี่ยตัวอย่างอุจจาระลงบนสไลด์กระจกทำให้ติดแน่น (fix) ด้วยความร้อน ย้อมด้วย crystal violet solution ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ ย้อมด้วย iodine solution ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำใส่ decolourizing solution จนไม่เห็นสีม่วงที่ละลายออกจากเชื้อที่ป้ายบนสไลด์ ล้างออกด้วยน้ำย้อมด้วย safranin solution ทิ้งไว้ 45 วินาทีล้างน้ำแล้วซับให้แห้ง ก่อนตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างกำลังขยาย 100 เท่า ผลบวกจะเห็นเชื้อแบคทีเรียสไปโรคีท รูปร่างเกลียว ขนาดประมาณ 6-8.5 ไมโครเมตร ติดสีชมพูหรือสีแดง (แกรมลบ) ทำการบันทึกข้อมูลจากการตรวจเป็นผลบวก (positive) หรือผลลบ (negative) ก่อนนำไปเพาะแยกเชื้อต่อไป

การเพาะแยกเชื้อ

นำอุจจาระ 0.5 กรัมเจือจางกับใน trypticase soy broth (TSB) 4.5 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง ปั่นให้ส่วนผสมเข้ากันโดยใช้เครื่องปั่น (vortex) ใช้ไปเปตดูดส่วนผสม 0.5 มิลลิลิตร เจือจางครั้งละ 10 เท่า (serial 10-fold dilution) จนถึงที่ความเข้มข้น 10^{-9} นำสารละลายที่ความเข้มข้น 10^{-4}-10^{-9} จำนวน 100 ไมโครลิตรถ่ายลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ trypticase soy agar (TSA) ซึ่งส่วนผสมที่มี คือ เลือดแกะ 5 % (V/V) สเปกติโน-มัยซิน (spectinomycin) 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และโคลิสติน (colistin) 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Jenkinson and Winger, 1981) คนสารละลายให้ทั่วจานเพาะเชื้อ แล้วเก็บจานเพาะเชื้อในภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic jar) นำไปบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิ 37 °C (Fellström and Gunnarsson, 1995) เปิด anaerobic jar หลังจากเพาะเชื้อได้ 5-7 วัน ตรวจการเกิดขึ้นของเชื้อ *Brachyspira spp.* โดยสังเกตจากลักษณะโคโลนี (colony) ที่มีลักษณะแบน (flat) และโปร่งแสง (translucent) เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-4 มิลลิเมตร (Hudson and Alexander, 1976) เชื้อจะมีส่วนใสรอบๆ (clear zone) ซึ่งเป็นบริเวณที่อาหารเลี้ยงเชื้อใส เนื่องจากเม็ดเลือดแดงถูกย่อยสลาย (hemolysis) นำโคโลนีเชื้อ *Brachyspira spp.* มาเพาะเชื้อต่อ (subculture) ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ซึ่งมีส่วนผสมคือ เลือดแกะ 5 % ไม่ผสมยาปฏิชีวนะ ตรวจการเจริญของเชื้อในวันที่ 3-4 หลังการเพาะเชื้อ (subculture) หลังจากนั้นเพาะเชื้อต่อให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์ทั้งจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีเชื้อ *Brachyspira spp* บริสุทธิ์แล้วมาตัดเป็นชิ้น (block) ใส่ eppendorf หรือปั่นแยกเชื้อ (harvest) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ – 80 °C

การทดสอบคุณสมบัติการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง

นำเชื้อ *Brachyspira spp.* ที่แยกได้มาเพาะเชื้อซ้ำเพื่อตรวจการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (hemolysis) โดยการเพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ซึ่งมีส่วนผสม คือ เลือดแกะ 10 % (Prapasarakul *et al.,* 2002) เปรียบเทียบกับเชื้อ *Brachyspira spp.* ที่ใช้อ้างอิง คือ สเตรน *B. hyodysenteriae* ATCC 31212 *B. pilosicoli* ATCC 51193 และ *B. innocens* ATCC 29796 (Fellström and Gunnarsson, 1995) (ตารางที่ 1)

การทดสอบปฏิกริยา Indole

นำเชื้อ *Brachyspira spp.* ที่แยกได้ลงในสารละลาย indole broth นำไปบ่มในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หยด Kovacs' reagent 5 หยด (Smibert and Krieg, 1981) เขย่าเบาๆ สังเกตการเปลี่ยนสี ผลบวก (positive) จะมีสีแดงเข้ม (deep red) ผลลบ (negative) จะไม่เห็นการเปลี่ยนสี เปรียบเทียบกับเชื้อ *Brachyspira spp.* ที่ใช้อ้างอิง (ตารางที่ 1)

การทดสอบปฏิกริยา hippurate hydrolysis

นำเชื้อ *Brachyspira spp.* ที่แยกได้ลงในสารละลาย 1% hippurate solution นำไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หยด 3.5% ninhydrin reagent 2 หยด นำไปอุ่นใน water bath 10 นาที (Fellström and Gunnarsson, 1995) สังเกตการเปลี่ยนสีโดยเชื้อที่ให้ผลผลบวก (positive) จะมีสีม่วงเข้ม (deep purple) ผลลบ (negative) จะมีสีฟ้าอ่อน (light blue) หรือไม่เปลี่ยนสี เปรียบเทียบกับเชื้อ *Brachyspira spp.* ที่ใช้อ้างอิง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบความแตกต่างของเชื้อสไปโรคีท โดยแยกจากการเกิด hemolytic zone บน blood agar และการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมี indole production และ hippurate hydrolysis (Fellström and Gunnarsson, 1995)

Brachyspira spp	Hemolysis	Indole production	Hippurate hydrolysis
B. hyodysenteriae ATCC 31212	strong	+	-
B .innocens ATCC 29796	weak	-	-
B. pilosicoli ATCC 51193	weak	-	+

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรม SAS version 8.02 (SAS, 1996) ความชุกของการตรวจพบเชื้อ *Brachyspira spp.* ชนิดต่างๆ แสดงเป็นค่าสัดส่วน (proportion) โดยใช้ ตาราง r x k วิเคราะห์ผลของกลุ่มอายุ ต่อความชุกของโรคบิดมูกเลือดโดยวิธี Fisher's exact test โดยใช้ PROC FREQ ของโปรแกรม SAS ค่า $P<0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

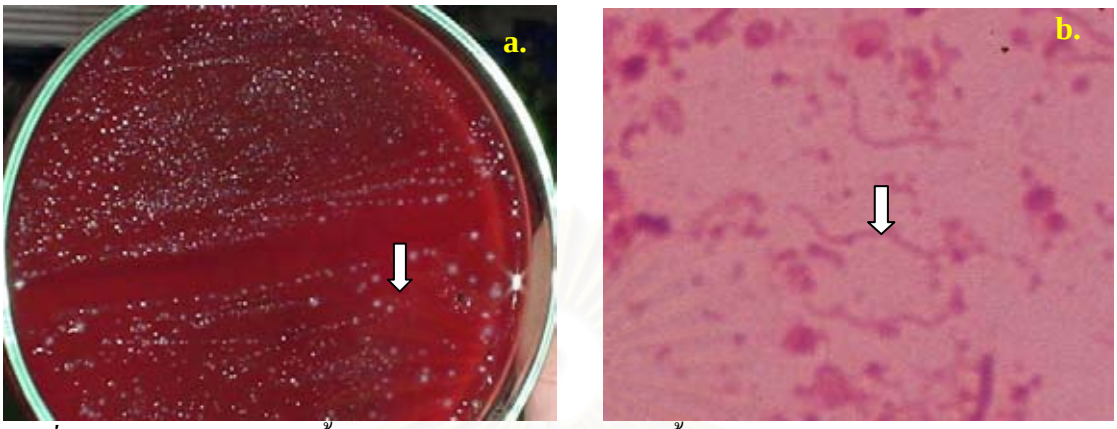
ผล

อุจจาระและเยื่อบุผนังลำไส้ 126 ตัวอย่าง ได้จากสุกรที่มีอาการท้องเสียปนเลือด 74 ตัวอย่าง และสุกรปกติ 52 ตัวอย่าง ผลการตรวจหาเชื้อบิดมูกเลือดในสุกร โดยการสุ่มตัวอย่างทำการหาเชื้อโดยวิธี fresh smear จำนวน 45 ตัวอย่าง พบเชื้อสไปโรคีท 9 ตัวอย่าง (20%) การตรวจหาเชื้อด้วยวิธี fresh smear พบเชื้อเฉพาะในกลุ่มสุกรที่มีอาการท้องเสีย ไม่พบเชื้อในสุกรปกติ

ผลการการย้อมสีแกรม จำนวน 36 ตัวอย่าง จากกลุ่มสุกรที่มีอาการท้องเสียพบเชื้อสไปโรคีทติดสีแกรมลบ (รูปที่ 1) 14 ตัวอย่าง (38.8%) และการการย้อมสีแกรม จำนวน 52 ตัวอย่างในกลุ่มสุกรปกติ พบเชื้อสไปโรคีท 3 ตัวอย่าง (5.8%)

สุกรที่มีปัญหาท้องเสียสามารถแบ่งลักษณะอุจจาระได้เป็น 3 ลักษณะ คือ อุจจาระเหลว 26 ตัวอย่าง (35%) อุจจาระเหลวเป็นมูก 15 ตัวอย่าง (20%) และอุจจาระเป็นมูกเลือด 33 ตัวอย่าง (45%)

(ตารางที่ 2) สุกร 1 ตัว พบอาการท้องเสียปนเลือดร่วมกับการพบตัวเต็มวัยของพยาธิแส้ม้า (*Trichuris suis*)



รูปที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อสไปโรคีท (a.) และลักษณะเชื้อจากการย้อมสีแกรม (b.)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจพบเชื้อ *Brachyspira spp.* ตามลักษณะของตัวอย่างอุจจาระ

ลักษณะอุจจาระ	จำนวน	ผลบวก (%)
อุจจาระปกติ	52	0 (0) [a]
อุจจาระเหลว	16	3 (18.75) [b]
อุจจาระเหลวเป็นมูก	8	0 (0) [a]
อุจจาระเป็นมูกเลือด	26	9 (34.62) [b]

[a, b] อักษรยกต่างกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.001)

ผลการเพาะแยกเชื้อ

จากการศึกษาพบว่า เชื้อ *Brachyspira spp.*สามารถถูกเพาะแยกได้จากตัวอย่างอุจจาระ 15 ตัวอย่าง โดยใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 6.7±1.1 วัน (5–10 วัน) ในสุกรที่มีปัญหาท้องเสีย 74 ตัว (20.3%) พบฟาร์มที่สามารถเพาะเชื้อบิดมูกเลือด 9 ฟาร์มจาก 19 ฟาร์ม (47.3%) ผลการตรวจสุกรที่มีอุจาระปกติจำนวน 52 ตัว จากฟาร์มสุกรที่เคยมีประวัติการเกิดปัญหาท้องเสียปนเลือดไม่พบเชื้อบิดมูกเลือด อุจจาระของสุกรที่สามารถถูกเพาะแยกเชื้อได้ มาจากสุกรขุนอายุระหว่าง 10-24 สัปดาห์ 8 ตัวอย่าง และมาจากแม่สุกร 1 ตัวอย่าง อีก 6 ตัวอย่างไม่ได้บันทึกชนิดของสุกรที่เป็นแหล่งที่มา (ตารางที่ 3) จากการเปรียบเทียบสัดส่วนของการพบเชื้อ *Brachyspira spp.*ระหว่างกลุ่มสุกรขุนและแม่สุกรที่มีอาการถ่ายอุจจาระเหลวปนมูกเลือดพบว่าไม่มีความแตกต่างของความชุกอย่างมีนัยสำคัญ (P=0.47) (ตารางที่ 3)

เชื้อบิดมูกเลือดที่แยกได้พบว่า มาจากฟาร์มในเขตจังหวัด นครปฐม 9 ตัวอย่าง และราชบุรี 5 ตัวอย่าง อีก 1 ตัวอย่างไม่ได้บันทึกแหล่งที่มา (ตารางที่ 4) การเปรียบเทียบความชุกของการพบเชื้อ *Brachyspira spp.* ระหว่างจังหวัด นครปฐม และราชบุรี พบว่า ความชุกของโรคบิดมูกเลือดในจังหวัดนครปฐมสูงกว่าราชบุรีอย่างมีนัยสำคัญ (52.4% กับ 13.6 %, P=0.01)

เชื้อบิดมูกเลือดพบทั้งในอุจจาระที่มีลักษณะเหลวแต่ไม่มีมูกและเลือด และในตัวอย่างอุจจาระที่มีลักษณะเหลวปนมูกและเลือด แต่ตรวจไม่พบเชื้อในอุจจาระปกติและอุจาระที่มีลักษณะเหลวปนมูกแต่ไม่มีเลือด (ตารางที่ 2) การเปรียบเทียบความชุกของการพบเชื้อ *Brachyspira spp.* ระหว่างอุจจาระที่มีลักษณะเหลวปนมูกและเลือดและอุจจาระที่มีลักษณะเหลวไม่มีมูกและเลือด พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P=0.73)

ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจหาเชื้อสไปโรคีตโดยวิธี Fresh smear หรือ การย้อมสีแกรม กับการแยกเชื้อ *Brachyspira hyodysentery* จากอุจาระ โดยตัวอย่างอุจจาระที่พบผลบวกจากวิธี Fresh smear 9 ตัวอย่าง สามารถเพาะแยกเชื้อได้ 1 ตัวอย่าง (11%) (P=0.52) และอุจจาระที่พบผลบวกจากการย้อมสีแกรม 13 ตัวอย่าง สามารถเพาะแยกเชื้อได้ 4 ตัวอย่าง (30%) (P=0.41) อย่างไรก็ดีการตรวจหาเชื้อสไปโรคีตโดยวิธี Fresh smear มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการพบเชื้อสไปโรคีตจากการย้อมสีแกรม โดยพบว่าถ้าตรวจพบเชื้อด้วยวิธี Fresh smear จะมีโอกาสพบเชื้อสไปโรคีตจากการย้อมสีแกรมด้วยสูงถึง 70% (P=0.002)

ตารางที่ 3 ผลการตรวจพบเชื้อ *Brachyspira spp.* แยกตามช่วงอายุของสุกร

ช่วงอายุของสุกร	จำนวน	ผลบวก (%)
สุกรอนุบาล (4-9 สัปดาห์)	11	0 (0) [a]
สุกรรุ่น-ขุน (10-24 สัปดาห์)	64	9 (12.33) [a]
แม่พันธุ์สุกร	5	1 (16.67) [a]

[a, b] อักษรยกต่างกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

คุณสมบัติทางชีวเคมี

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Brachyspira spp.* ที่แยกได้ 15 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) พบว่าเชื้อ 14 ตัวอย่าง (93.3%) เป็นเชื้อที่มีคุณสมบัติ strong hemolysis ให้ผลลบต่อปฏิกริยา hippurate hydrolysis และให้ผลบวกต่อปฏิกริยา indole จากการเปรียบเทียบกับเชื้ออ้างอิงพบว่าเชื้อสไปโรคีททั้ง 14 ตัวอย่าง เป็น *Brachyspira hyodysenteriae*

เชื้อ *Brachyspira spp.*ที่แยกได้ 1 ตัวอย่าง (6.7%) มีคุณสมบัติ strong hemolysis ให้ผลลบต่อปฏิกริยา hippurate hydrolysis และให้ผลลบต่อปฏิกริยา indole (ตารางที่ 4) จากการเปรียบเทียบกับเชื้ออ้างอิงพบว่าเชื้อสไปโรคีทชนิดนี้ เป็นเชื้อที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ *Brachyspira*

hyodysenteriae มากที่สุด แต่แตกต่างจากเชื้ออ้างอิงคือ ไม่ตอบสนองต่อปฏิกริยา indole (indole-negative strain)

ตารางที่ 4 ผลการตรวจคุณสมบัติการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง และการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีของตัวอย่างที่แยกเชื้อได้ (+ = positive, - = negative, NA=ไม่มีข้อมูล)

ลำดับ	หมายเลข	กลุ่มอายุ	จังหวัด	ลักษณะอุจาระ	Hemolysis	Indole	Hippurate
1	P1/11/6	แม่สุกร	นครปฐม	เหลว	strong	+	-
2	P1/16/7	23 สัปดาห์	นครปฐม	มูกเลือด	strong	+	-
3	P1/19/9	NA	นครปฐม	มูกเลือด	strong	+	-
4	P1/21/8	NA	ราชบุรี	เหลว	strong	+	-
5	P1/24/10	NA	ราชบุรี	มูกเลือด	strong	-	-
6	P11/1/4	24 สัปดาห์	นครปฐม	NA	strong	+	-
7	P12/1/4	24 สัปดาห์	นครปฐม	มูกเลือด	strong	+	-
8	P13/1/4	24 สัปดาห์	นครปฐม	มูกเลือด	strong	+	-
9	P14/1/4	24 สัปดาห์	นครปฐม	มูกเลือด	strong	+	-
10	P15/1/4	24 สัปดาห์	นครปฐม	มูกเลือด	strong	+	-
11	P2/19/9	NA	นครปฐม	มูกเลือด	strong	+	-
12	P2/21/7	10 สัปดาห์	ราชบุรี	เหลว	strong	+	-
13	P2/29/10	20 สัปดาห์	ราชบุรี	เหลว	strong	+	-
14	P2/29/9	NA	NA	NA	strong	+	-
15	P4/6/10	NA	ราชบุรี	มูกเลือด	strong	+	-

วิจารณ์

จากการศึกษาพบว่าความชุกของเชื้อบิดมูกเลือดในกลุ่มสุกรที่มีอาการท้องเสีย ที่มีลักษณะถ่ายเหลวปนมูก หรือ มีมูกเลือด คิดเป็นร้อยละ 20.3 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Fellström *et al.* (1998) ซึ่งพบความชุกของ *B. hyodysenteriae* ในประเทศสวีเดน (ปี 1996-1997) เท่ากับร้อยละ 27 การศึกษาความชุกของโรคบิดมูกเลือดในประเทศไทย โดยการเพาะเชื้อจากอุจจาระจากฟาร์มสุกรในเขตภาคกลาง พบเชื้อร้อยละ11 (อินทิรา และคณะ 1992) และ การศึกษาความชุกของโรคนี้โดยการตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคด้วยวิธีทางซีรั่มวิทยาพบความชุกร้อยละ 14 (อินทิรา และคณะ 1991)

การศึกษาครั้งนี้พบอุบัติการของโรคบิดมูกเลือด 9 ฝูง จาก 19 ฝูง คิดเป็น ร้อยละ 47.3 ใกล้เคียงกับการศึกษาความชุกของบิดมูกเลือดด้วยวิธีทางซีรั่มวิทยา โดยอินทิรา และคณะ (1991)

ซึ่งพบความชุกในระดับฝูงสุกรร้อยละ 42.9 แสดงให้เห็นว่าความชุกของโรคบิดมูกเลือดในประเทศไทยทั้งในระดับฝูงและเป็นรายตัวมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น บ่งชี้ว่าโรคนี้ยังคงเป็นปัญหาในฝูงสุกรในประเทศไทย สาเหตุส่วนหนึ่งอาจเนื่องจากฟาร์มสุกรส่วนใหญ่นิยมใช้ยาปฏิชีวนะอย่างต่อเนื่องในอาหาร ทำให้เชื้อโรคไม่ถูกกำจัดออกจากฝูง แต่สุกรที่ติดเชื้อไม่แสดงอาการเท่านั้น ทำให้สุกรที่เป็นตัวอมโรคยังคงอยู่ในฝูง นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจุบันการรักษาโรคนี้ด้วยยาปฏิชีวนะบางครั้งไม่ได้ผลเนื่องจาก พบอุบัติการณ์ของเชื้อดื้อยามากขึ้น (Prapasarakul *et al.*, 2004) ทำให้การแสดงอาการของโรคยังคงมีอยู่ การวินิจฉัยจึงจำเป็นต่อการรักษาได้อย่างถูกต้อง อย่างไรก็ดี การศึกษาครั้งนี้ยังไม่ครอบคลุมจังหวัดในเขตภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ และตะวันออก ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมที่ครอบคลุมมากขึ้น และมีการวางแผนในการกำจัดโรคออกจากฟาร์มอย่างจริงจัง

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อสไปโรคีทที่แยกได้ เชื้อ *Brachyspira spp.* ที่แยกได้ในการศึกษาครั้งนี้เป็น *Brachyspira hyodysenteriae* ทั้งหมดไม่พบอุบัติการณ์ของเชื้อ *Brachyspira spp.* ชนิดอื่นๆ จากฟาร์มที่ทำการศึกษาจำนวน 19 ฟาร์ม บ่งชี้ว่า *Brachyspira hyodysenteriae* เป็นเชื้อที่พบความชุกและก่อปัญหากับฟาร์มสุกรมากที่สุดในกลุ่ม *Brachyspira spp.* อย่างไรก็ดีเคยมีรายงานการตรวจพบ *Brachyspira pilosicoli* ในประเทศไทย ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction ซึ่งมีความไวในการตรวจสูงกว่าการเพาะแยกเชื้อซึ่งใช้ในการศึกษาครั้งนี้ (อภัสราและวันทนีย์ 2002) คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Brachyspira hyodysenteriae* ส่วนใหญ่จะให้ผลบวกต่อปฏิกริยา indole อย่างไรก็ดีภายหลังพบว่าเชื้อ *Brachyspira hyodysenteriae* บางสายพันธุ์ให้ผลลบต่อปฏิกริยา indole (Fellström *et al*., 1999) การศึกษานี้เป็นครั้งแรกในประเทศไทยที่พบเชื้อ *Brachyspira hyodysenteriae* สายพันธุ์ที่ให้ผลลบต่อปฏิกริยา indole ซึ่งเชื้อสายพันธุ์นี้เคยแยกได้ในประเทศเบลเยียม และแคนาดาเช่นกัน (Hommez *et al*. 1998; Belanger and Jacques, 1991) สาเหตุที่พบเชื้อบิดมูกเลือดทั้งสองสายพันธุ์ในประเทศไทยอาจเกิดจาก ประเทศไทยมีการนำเข้าสุกรจากประเทศต่างๆ ทั่วโลก รวมทั้งแคนาดาและเบลเยี่ยม บ่งชี้ว่าประเทศไทยควรมีมาตรการในการควบคุมการนำโรคเข้าประเทศที่เข้มงวดขึ้น เพื่อลดความเสี่ยงต่อเกิดปัญหาบิดมูกเลือดที่ควบคุมได้ยากในฟาร์มสุกร

โดยปกติโรคบิดมูกเลือดพบได้ในสุกรเกือบทุกช่วงอายุ แต่ส่วนใหญ่พบว่าสุกรขุนมีโอกาสเป็นโรคนี้ได้มากที่สุด (Alexander and Taylor, 1969) จากการศึกษาครั้งนี้ เมื่อจำแนกสุกรตามกลุ่มอายุ พบว่าสามารถแยกเชื้อบิดมูกเลือดได้จากสุกรขุนช่วงอายุ 20-24 สัปดาห์มากที่สุด เหตุผลส่วนหนึ่งอาจเกิดจากสุกรขุนในระยะนี้มักไม่ได้รับยาปฏิชีวนะในอาหารแล้วเนื่องจากเป็นระยะหยุดยาก่อนส่งโรงฆ่า ทำให้เชื้อสามารถเพิ่มจำนวนได้และก่อปัญหาในฟาร์ม อย่างไรก็ดี สามารถแยกเชื้อได้จากแม่สุกรเช่นกัน บ่งชี้ว่าแม่พันธุ์อาจเป็นแหล่งอมโรคที่สำคัญอีกแหล่งในฟาร์มสุกรที่ผลิตทั้งสุกรขุนและสุกรพ่อแม่พันธุ์

ในการศึกษาครั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างส่วนใหญ่ถูกส่งมาจากจังหวัดนครปฐมและราชบุรีจึงตรวจพบเชื้อจากสองจังหวัดนี้มากที่สุด อย่างไรก็ดีผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของอินทิราและคณะ (1991) ที่ตรวจพบความชุกของเชื้อบิดมูกเลือดสูงสุดในสองจังหวัดที่มีพื้นที่ติดต่อกัน คือ จังหวัดนครปฐมและราชบุรี ซึ่งเป็นแหล่งที่มีการเลี้ยงสุกรอย่างหนาแน่นทำให้โรคนี้มีโอกาสติดต่อจากฟาร์มหนึ่งไปยังอีกฟาร์มหนึ่งได้ค่อนข้างง่าย การนำสุกรจากแหล่งที่มีความชุกของโรคนี้สูงเข้ามาในฟาร์มจึงควรมีการระมัดระวัง ควรทำการกักโรคก่อนนำฝูงสุกรใหม่เข้าฟาร์มและตรวจสอบแหล่งที่มาว่าไม่มีประวัติการระบาดของโรคนี้ก่อน อย่างไรก็ดีควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในจังหวัดอื่นๆ และจำนวนตัวอย่างที่นำมาศึกษาควรมีปริมาณที่ใกล้เคียงกันในแต่ละจังหวัดที่ทำการศึกษา

โดยทั่วไปสุกรที่ป่วยเป็นโรคบิดมูกเลือดหลังจากหายป่วยแล้ว ยังสามารถแพร่โรคได้อยู่เป็นเวลาถึง 70 วันหรืออาจกลับมาแสดงอาการอีกภายใน 3-4 สัปดาห์หลังจากหายเป็นปกติ (Harris *et al*., 1999) ฟาร์มที่เคยมีประวัติการเกิดโรคนี้จึงอาจตรวจพบเชื้อบิดมูกเลือดได้ในสุกรที่ปกติ Kramomtong *et al*. (1996) พบอัตราการติดเชื้อในฟาร์มสุกรที่มีประวัติการติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการถึงร้อยละ 23 โดยใช้การตรวจทางซีรั่มวิทยา อย่างไรก็ดีในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบเชื้อบิดมูกเลือดจากสุกรปกติจำนวน 52 ตัว เหตุผลอาจเกิดจากจำนวนตัวอย่างที่สุ่มตรวจยังไม่มากพอ หรือการที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาที่ได้ผลอาจลดจำนวนเชื้อที่ปล่อยออกมาในแต่ละครั้งจนต่ำกว่าระดับที่สามารถตรวจพบได้

สุกรท้องเสียที่ตรวจพบเชื้อบิดมูกเลือดในการศึกษาครั้งนี้ ส่วนใหญ่มาจากฟาร์มที่มีการระบาดใหม่อีกครั้งหลังจากที่โรคสงบไปแล้วเนื่องจากการหยุดใช้ยา แสดงว่ามีการติดเชื้อวนเวียนอยู่ในฟาร์ม ดังนั้นการตรวจหาสุกรที่เป็นสุกรที่เป็นตัวอมโรคในฟาร์ม สัตว์อื่นๆ เช่น นก หนู สุนัข ที่อาจเป็นตัวนำโรคในฟาร์มเป็นเรื่องที่จะต้องมีการศึกษาและวางมาตรการในการกำจัดแหล่งที่มาของโรคในฟาร์มต่อไป การเฝ้าระวังโรคอย่างสม่ำเสมอโดยการส่งตัวอย่างอุจจาระสุกรที่สงสัยว่าเป็นบิดมูกเลือดส่งตรวจในห้องปฏิบัติการ การตรวจสอบแหล่งที่มาของสุกร และการมีสุขศาสตร์การป้องกันโรคภายในฟาร์มที่ดีเป็นสิ่งที่ต้องทำควบคู่กันไป (Taylor, 1995)

การศึกษาในครั้งนี้สามารถเพาะแยกเชื้อบิดมูกเลือดได้จากสุกรที่แสดงอาการถ่ายเหลวปนเลือดร่วมกับการพบตัวเต็มวัยของพยาธิแส้ม้า (*Trichuris suis*) ในอุจจาระในฟาร์มสุกรแห่งหนึ่ง บ่งชี้ว่าอาการท้องเสียปนเลือดในสุกรขุนอาจไม่ได้เกิดจากเพียงสาเหตุเดียว การวินิจฉัยแยกแยะโรคบิดมูกเลือดจึงมีความจำเป็นต้องทำควบคู่ไปกับการตรวจพยาธิแส้ม้า หรือโรคอื่นๆ ที่ไม่ได้ทำการตรวจในการศึกษาครั้งนี้ เช่น *Lawsonia intracellularis*. และ *Salmonella spp.* เป็นต้น

สรุป

สุกรที่แสดงอาการท้องเสียปนเลือดหรือปนมูกตรวจพบว่ามีความชุกของเชื้อ *Brachyspira hyodysenteriae* ร้อยละ 20.3 และสามารถตรวจพบเชื้อทั้งในสุกรขุนและแม่พันธุ์ เชื้อ *Brachyspira hyodysenteriae* ที่แยกได้ในประเทศไทยสามารถแยกตามคุณสมบัติทางชีวเคมีได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ให้ผลบวกต่อปฏิกริยา indole (indole-positive strain) และกลุ่มที่ให้ผลลบต่อปฏิกริยา indole (indole-negative strain)

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ น.สพ.ไพรวัน สีพั่ว น.สพ. อมร อดิเรกลาภ และ น.สพ. เติมสิทธิ์ ปภาวสิทธิ์ ที่ช่วยวินิจฉัยเบื้องต้นและเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจเพาะแยกเชื้อ ขอขอบคุณ คุณวารี นิยมธรรม และ คุณธิติมา ไตรพิพัฒน์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเพาะแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

อภัสรา วรราช และ วันทนีย์ เนรมิตมานสุข 2002 (2545) การตรวจพบเชื้อ *Brachyspira pilosicoli* จาก caecum ของสุกรท้องเสีย. สัตวแพทยสาร 52 (1): 25-33

อินทิรา กระหม่อมทอง วันทนีย์ เนรมิตมานสุข และ จตุพร สมิตานนท์ 1991 (2534) ความชุกของโรคบิดมูกเลือดในสุกรในเขตภาคกลาง รายงานวิจัยการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ ครั้งที่ 18 4-9 พฤศจิกายน 2534 หน้า 163-169

อินทิรา กระหม่อมทอง วันทนีย์ เนรมิตมานสุข ทิพา ตันติเจริญยศ และ คัมภีร์ กอธีระกุล 1992 (2535) การตรวจซีโรไทป์ของเชื้อ *ทริโปนีมา ไฮโอดิสเซนเทอเรีย* ที่แยกได้จากสุกรป่วยด้วยโรคบิดมูกเลือดในเขตภาคกลาง เวชชสารสัตวแพทย์ 22 (3): 147-154

Alexander, T.J.L., Taylor D.J., 1969. The clinical signs, diagnosis and control of swine dysentery. Vet. Rec. 85: 95-63.

Barcellos, D.E.S.N., Mathiesen, M.R., De Uzeda, M., Kader, I.I.T.A. and Duhamel, G.E. 2000. Prevalence of *Brachyspira species* isolated from diarrhoeic pigs in Brazil. Vet. Rec. 146: 398-403.

Belanger, M. and Jacques, M. 1991. Evaluation of An-Iden system and an indole spot test for rapid identification of porcine treponemes. J. Clin. Miclobiol. 29: 1727-1729.

Calderaro, A., Merialdi, G., Perini, S., Ragni, P., Guegan, R., Dettori, G. and Chezzi, C. 2001. A novel method for isolation of *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae* from pigs with swine dysentery in Italy. Vet Microbiol. 80: 47-52.

Choi, C., Han, D.U., Kim, J., Cho, W-S., Chung, H.K., jung, T., Yoon, B.S. and Chae, C., 2002. Prevalence of Brachispira pilosicoli in Korean pigs, determined using a nested PCR. Vet. Rec. 150: 217-218.

Fellström, C. and Gunnarsson, A. 1995. Phynotypical characterization of intestinal spirochetes isolated from pigs. Res. Vet. Sci. 59:1-4.

Fellström, C., Karlsson, M., Petterson, B., Zimmerman, U., Gunnarsson, A. and Aspan, A. 1999. Emended descriptions of indole negative and indole positive isolates of *Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae*. Vet. Microbiol. 70: 225-238.

Fellström, C., Melin, L., Wierup, M. and Gunnarsson, A. 1998. Isolation of Serpulina spicies in Swedish pig herds with diarrhoea. Proceedings of the 15th IPVS Congress. Birmingham, UK. 2: 59.

Harris, D.L., Hampson, D.J. and Glock, R.D. 1999. Swine Dysentery. In: Straw, B.E., D' Allaire, S., Mengeling, W.L. and Taylor, D.J. (Eds.). Diseases of Swine. 8th Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A. pp 579-600.

Heinonen, M., Fossi, M., Jalli, J-P., Saloniemi, H. and Touvinen, V. 2000. Detectability and prevalence of brachyspira species in herd rearing health class feeder pigs in Finland. Vet. Rec. 146: 343-347.

Hommez, J., Crastryck, F., Haesebrouck, F. and Deveiese, L.A. 1998. Identification of porcine *Serpulina* strains in routine diagnostic bacteriology. Vet. Microbiol. 62: 163-169.

Hudson, M.J. and Alexander, T.J.L.1976. Diagnosis of swine dysentery: Spirochaetes which may be confused with *Treponema hyodysenteriae*. Vet. Rec. 99:498-500.

Jenkinson, S.R. and Winger, C.R. 1981. Selective media for isolation of *Treponema hyodysenteriae*. Vet. Rec. 109: 384-385.

Kramomtong. I., Neramitmansook, W., Whipp, S.C., Joens, LA. and Limawongpranee, S. 1996. Comparison of ELISA and selective culture in the diagnosis of swine dysentery in Thailand. Vet. Rec. 116: 207-216.

Olson, L.D., 1996. Enhance isolation of *Serpulina hyodysenteriae* by using slice agar media. J. Clin. Microb. 34: 2937-2941.

Pearce, G.P. 1999. Epidemiology of enteric disease in growing – finishing pigs: a postal survey of pig producers in England. Vet. Rec. 144: 338-342.

Prapasarakul, N., Momma, N., Tatsu, C. and Adochi, Y. 2002. Genetic and serological characterization of Japanese canine intestinal spirochetes. Proc 17th IPVS Congress. Iowa, USA. 2: 59.

Prapasarakul, N., Niyomthom, W., Tripipat, T., Tummaruk, P., Sukchai, S. and Thanawongnuwech, R. 2004. In vitro activities of antimicrobial agents against *B. hyodysenteriae* isolates from pig with recurrent dysentery in Thailand. Proc 18th IPVS Congress. Hamburg, Germany. 2: 2064.

SAS Institute Inc., 1996. SAS User's guide. Statistic version 6.12. Cary, NC, USA.

Smibert, R.M. and Krieg, N.R. 1981. General characterization. In: Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Costilow, R.N., Nester, E.W., Wood, W.A., Krieg, N.T. and Phillips, G.B. (eds), Manual of Methods for General Bacteriology, Am. Soc. Microbiol: 409-443.

Taylor, D.J. 1995. Swine Dysentery. In: Pig diseases. 6th ed St Edmundsbury Press. P 140-147.

Wills, R.W. 2000. Diarrhea in growing-finishing swine. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 16: 135-161.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย