วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.
KKU Veterinary Journal
ISSN 0858-2297



RESEARCH ARTICLE

Epidemiology of *Streptococcus suis* in pork meat, pig's organs, and samples from pigs collected from farms in Khon Kaen Province: Molecular serotyping and antibiotic susceptibility

Kochakorn Direksin[1*], Nusara Suwannachote[2], Chuleeporn Saksangawong[3]

[1] *Division of Livestock Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kean, 40002, Thailand*
[2] *Division of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kean, 40002, Thailand*
[3] *Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand*
[*]***Corresponding author*** *E-mail: kochakrn@kku.ac.th*

Received 4 May 2023, **Revised** 25 July 2023 **Accepted** 29 August 2023, **Published** 30 October 2023

Abstract

Objective: To survey, classify serotypes, and test for antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* in edible pig meat and organs and in pigs on farms.

Materials and Methods: The study was conducted in Khon Kaen Province between June 2019 and December 2020. A total of 417 samples were collected, including pig meat sold at markets (n = 200), edible pig organs (n = 120), oral swabs of piglets (n = 15), oral swabs of nursery pigs (n = 13), vaginal swabs of sows (n = 11), and stillborn pigs (n = 58). Bacterial culture was performed on the samples, followed by molecular identification, molecular serotyping, and antibiotic disc diffusion tests against 14 drugs (7 antibiotic groups).

Results: *S. suis* was found in pork (6/200; 3%), edible pig organs (14/120; 11.7%), oral cavity of piglets (1/15; 6.7%), oral cavity of nursery pigs (1/13; 7.7%), and stillborn pigs (8/58; 13.6%), but the bacterium was not found in samples from the sow's vagina. The most common strain was serotype 2 (n = 16), followed by serotype 7 (n = 6), serotype 9 (n = 6), and other serotypes (n = 2) that were not classified in this study. Among the 30 isolates, most were susceptible to Penicillins, Cephalosporins, and Fluoroquinolones but resistant to Erythromycin, Kanamycin, and Oxytetracycline.

Conclusion: Consumption of pork sold in Khon Kaen has a relatively low risk of *S. suis* infection because of low contamination rates. *S. suis* detection in pigs' organs and live pigs, on the other hand, indicates *S. suis* infections in the pigs. In addition, the presence of *S. suis* in the oral cavity of live pigs suggests an oronasal transmission route, which can easily occur in intensive pig production systems. The dominant serotype 2 (or 1/2) found in this study indicates widespread infection among pigs and consequent pork contamination by this strain.

Keywords: Antibiotic susceptibility, molecular serotyping, multiplex-PCR, pork, pig, *Streptococcus suis*

บทความวิจัย

ระบาดวิทยาของเชื้อ *Streptococcus suis* ในเนื้อสุกร อวัยวะสุกร และตัวอย่างจากสุกรที่เก็บจากฟาร์มในจังหวัดขอนแก่น: จำแนกซีโรไทป์โดยเทคนิคอณูชีวโมเลกุล และความไวต่อยาต้านจุลชีพ

กชกร ดิเรกศิลป์[1*], นุสรา สุวรรณโชติ[2], ชุลีพร ศักดิ์สง่าวงศ์[3]

[1] *กลุ่มวิชาอายุรศาสตร์ปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002 ประเทศไทย*

[2] *กลุ่มวิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002 ประเทศไทย*

[3] *กลุ่มวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002 ประเทศไทย*

**ผู้ประพันธ์บรรณกิจ อีเมล์: kochakrn@kku.ac.th*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อสำรวจ จำแนกซีโรไทป์ และทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Streptococcus suis* ในเนื้อสุกรและอวัยวะสุกรที่จำหน่ายเพื่อเป็นอาหาร และในสุกรที่อยู่ในฟาร์ม

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ เก็บตัวอย่างในจังหวัดขอนแก่นในช่วงระหว่างเดือนมิถุนายน 2562 ถึงเดือนธันวาคม 2563 รวมทั้งสิ้น 417 ตัวอย่างประกอบด้วย เนื้อสุกร 200 ตัวอย่าง อวัยวะที่จำหน่ายในตลาด 120 ตัวอย่าง ตัวอย่างป้ายปาก (Oral swab) จากลูกสุกร (n = 15) ตัวอย่างป้ายปากจากสุกรอนุบาล (n = 13) ตัวอย่างป้ายช่องคลอด (Vaginal swab) แม่สุกร (n = 11) และตัวอ่อนสุกรที่ตายในขณะคลอด (n = 58) ทำการเพาะแยกเชื้อ *S. suis* พิสูจน์เชื้อและจำแนกซีโรไทป์ด้วยวิธีอณูชีวโมเลกุล และทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะทั้งหมด 14 ชนิด (7 กลุ่มยา)

ผลการศึกษา พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. suis* ในเนื้อสุกร (6/200; 3%) ในอวัยวะของสุกรที่วางจำหน่ายเพื่อนำไปประกอบเป็นอาหาร (14/120; 11.7%) ในช่องปากของลูกสุกร (1/15; 6.7%) ในช่องปากของสุกรอนุบาล (1/13; 7.7%) และในตัวอ่อนสุกรที่ตายในขณะคลอด (8/58; 13.6%) แต่ไม่พบเชื้อในตัวอย่างจากช่องคลอดของแม่สุกร ซีโรไทป์ 2 (n = 16) เป็นสายพันธุ์ที่พบได้มากที่สุด รองลงมาคือซีโรไทป์ 7 (n = 6) ซีโรไทป์ 9 (n = 6) และซีโรไทป์อื่นที่จำแนกไม่ได้ในการศึกษานี้ (n = 2) จากทั้งหมด 30 ไอโซเลตที่แยกได้ เชื้อส่วนใหญ่มีความไวต่อยาทุกตัวในกลุ่ม Penicillins, Cephalosporins และ Fluoroquinolones แต่ดื้อต่อยา Erythromycin, Kanamycin และ Oxytetracycline

สรุป การบริโภคเนื้อสุกรที่จำหน่ายในจังหวัดขอนแก่น มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *S. suis* ค่อนข้างต่ำเพราะพบการปนเปื้อนในเนื้อสุกรน้อยมาก อย่างไรก็ตาม การตรวจพบเชื้อนี้ในอวัยวะของสุกรและในสุกรที่อยู่ในฟาร์มบ่งชี้ถึงการติดเชื้อนี้ในสุกร นอกจากนี้การพบเชื้อในช่องปากของสุกรที่มีชีวิต แสดงให้เห็นว่าสิ่งคัดหลั่งจากช่องปากหรือน้ำลายของสุกร เป็นทางการแพร่กระจายเชื้อระหว่างสุกรที่เลี้ยงแบบหนาแน่นในฟาร์ม ในการศึกษานี้ พบ S. suis ซีโรไทป์ 2 (หรือ 1/2) มีการแพร่กระจายการติดเชื้อในสุกรและปนเปื้อนมากับเนื้อและอวัยวะของสุกรมากที่สุด

คำสำคัญ: ความไวต่อยาต้านจุลชีพ, ซีโรไทป์ (อณูชีวโมเลกุลเทคนิค), มัลติเพล็กซ์-พีซีอาร์ , เนื้อสุกร, สุกร, *สเตร็ปโตคอคคัส ซูอิส*

บทนำ

เชื้อ *Streptococcus suis* เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในสุกร (Bi et al., 2014) ส่วนการติดเชื้อ *S. suis* ในคนมีอาการคล้ายคลึงกันกับในสุกร คือทำให้เกิดภาวะเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ข้ออักเสบ การติดเชื้อในกระแสเลือด เยื่อบุและเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ และช่องหูอักเสบ (Huong et al., 2018) การเกิดโรคในคนอาจมีความรุนแรงจนถึงขั้นเสียชีวิตภายในระยะเวลาอันรวดเร็ว (Mancini et al., 2016; Xu et al., 2021) หรือส่วนใหญ่มักทำให้หูดับถาวร (Huong et al., 2018) จึงเป็นที่มาของชื่อโรคไข้หูดับในคน ดังนั้น *S. suis* จึงนับว่าเป็นเชื้อก่อโรคจากสัตว์สู่คน (zoonosis) ที่ร้ายแรงและเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขในหลายประเทศ โดยเฉพาะประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Pappas, 2013) เชื้อ *S. suis* สามารถเข้าสู่ร่างกายได้ทั้งทางการหายใจ ทางบาดแผล และทางปาก (Murase et al., 2019) โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางการกินพบได้บ่อยที่สุด ทั้งนี้เพราะวัฒนธรรมการบริโภคเนื้อสุกรที่ปรุงไม่สุกของภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ เช่น ลาบหรือลู่ ซึ่งในการประกอบอาหารประเภทนี้ เนื้อสุกรจะต้องเป็นเนื้อสดที่ไม่ผ่านกระบวนการแช่เย็นหรือแช่แข็งมาก่อน และในบางครั้งมีการเติมเลือดสุกรสดลงไปในอาหารด้วย รวมทั้งการปรุงอาหารที่ทำจากเนื้อหรืออวัยวะสุกรที่ใช้อุณหภูมิต่ำหรือใช้ระยะเวลาในการปรุงอาหารสั้นเกินไป เช่น การปิ้งย่างหมูกระทะ เป็นต้น จากรายงานการสอบสวนการระบาดโรคในประเทศไทยและเวียดนาม ทำให้เชื่อว่า *S. suis* ติดต่อสู่คนได้โดยการบริโภคอาหารประเภทเนื้อสุกรดิบ เลือดสด และอวัยวะภายใน เช่น ลำไส้ ตับ ไต ที่ผ่านการปรุงด้วยอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมในการทำลายเชื้อ (Rayanakorn et al., 2019; Wongnak et al., 2020) นอกจากนี้ รายงานล่าสุดมีการยืนยันอย่างชัดเจนถึงการติดเชื้อ *S. suis* ที่ประเทศสหรัฐเอมริกาในคนที่บริโภคเนื้อสุกรดิบในช่วงเดินทางกลับไปเยี่ยมบ้านที่ประเทศฟิลิปปินส์ (Wongjittraporn et al., 2014)

สุกรเป็นปศุสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และเป็นสัตว์ที่ให้ผลผลิตในปริมาณมากในระยะเวลาที่รวดเร็ว เนื้อสุกรนับว่าเป็นอาหารโปรตีนที่สำคัญต่อมนุษยชาติ และเป็นที่นิยมบริโภคของคนส่วนใหญ่ ดังเช่น ในประเทศจีน ซึ่งมีความชื่นชอบในการบริโภคเนื้อสุกรมากที่สุดเมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์ชนิดอื่น (Direksin et al, 2018) แต่ทว่า เนื้อสุกรอาจเป็นแหล่งของเชื้อ *S. suis* ในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของเชื้อนี้ในคนกว่าหนึ่งร้อยรายในแต่ละปี (Wiwanitkit, 2017) และนอกจากนี้ผลการศึกษาในประเทศไทย มีข้อสรุปว่าเชื้อ *S. suis* เป็นสาเหตุของโรคเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบสูงถึง 54.5% ของคนไข้จำนวน 213 ราย (Nakaranurack et al., 2017) และที่สำคัญ คนที่ติดเชื้อนี้ มักมีประวัติสัมผัสสุกร หรือทำงานในฟาร์มสุกร หรือทำงานในโรงชำแหละสุกร และมีประวัติการบริโภคเนื้อสุกรที่ปรุงไม่สุก (Dutkiewicz et al., 2018) ดังนั้นเนื้อสุกรที่ปนเปื้อนเชื้อ *S. suis* จึงเป็นทางแพร่กระจายที่สำคัญของเชื้อนี้มาสู่คน ในประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ จึงมักพบรายงานการระบาดของโรคได้ค่อนข้างสูง เนื่องมาจากวัฒนธรรมการบริโภคเนื้อสุกรที่ปรุงไม่สุก ดังนั้น การชำแหละสุกรที่ปลอดเชื้อ *S. suis* และการคัดกรองคุณภาพความปลอดภัยของอาหารจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อสุขภาพของประชาชน

ในโรงฆ่าสัตว์ที่ได้มาตรฐานของกรมปศุสัตว์ สุกรที่เข้ากระบวนการเชือดต้องมาจากฟาร์มขนาดใหญ่หรือฟาร์มที่ได้รับการรับรองมาตรฐานทางการเกษตรที่ดี แต่ทั้งนี้ไม่ได้หมายความว่าสุกรที่เลี้ยงภายในฟาร์มจะปลอดจากเชื้อ *S. suis* ทั้งนี้เพราะเชื้อ *S. suis* สามารถพบได้ทั้งในสุกรป่วยและสุกรปกติ (Meekhanon et al., 2017) โดยทั่วไป สุกรที่แสดงอาการป่วยมักจะไม่ผ่านการอนุญาตให้เชือด เว้นแต่สุกรที่มีอาการปกติแต่เป็นพาหะนำเชื้อซึ่งมีโอกาสหลุดรอดจากการตรวจพบ ส่วนตามตลาดสดหรือตลาดนัดนั้น เนื้อสุกรได้มาจากฟาร์มขนาดเล็กหรือเลี้ยงตามบ้าน มาตรฐานในการคัดกรองก่อนนำสุกรเข้าชำแหละค่อนข้างต่ำหรือไม่มี ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงให้ความสนใจเนื้อสุกรที่จำหน่ายในตลาดสด ตลาดนัด และห้างสรรพสินค้า เพื่อติดตามและเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเชื้อนี้มาสู่คน การศึกษานี้จึงได้ทำการสำรวจว่าเนื้อสุกรที่บริโภคในจังหวัดขอนแก่นมีการปนเปื้อนเชื้อนี้หรือไม่ และมีลักษณะทางชีววิทยา เช่น ซีโรไทป์ (Serotype) ใกล้เคียงกับ *S. suis* ในสุกรในฟาร์มและมีซีโรไทป์เหมือนกันกับที่เคยรายงานในคนหรือไม่ รวมทั้งลักษณะของเชื้อมีความไวหรือดื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิดใด เพื่อเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวัง และเป็นแนวทางการรักษา ผลการศึกษานี้มีประโยชน์ต่อการนำไปพิจารณาปรับปรุงตั้งแต่กระบวนการเลี้ยงสุกร การใช้ยาต้านจุลชีพในฟาร์ม การตรวจคัดกรองสุกรก่อนเข้าโรงเชือด การจัดการในโรงเชือดและการจัดจำหน่ายในตลาดเพื่อลดการปนเปื้อนข้ามระหว่างซากสุกร ซึ่งนับว่าเป็นมาตรการที่จะช่วยลดอุบัติการณ์การระบาดของโรคนี้

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

พื้นที่ และการเก็บตัวอย่าง

คำนวณขนาดตัวอย่างโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางระบาดวิทยาเวอร์ชัน 3.01 (OpenEpi, http://www.openepi.com/) โดยกำหนดค่า “ข้อผิดพลาดที่อนุญาต” (Error) เท่ากับ 10% และ “อัลฟ่า” (Confidence Level) เท่ากับ 95% เมื่อพิจารณาจาก

ความชุกที่คาดหวังของการตรวจหาเชื้อ *S. suis* เท่ากับ 85% จากผลการศึกษาในเนื้อและอวัยวะของสุกรในภาคกลาง (Boonyong et al., 2019) เป็นผลให้ขนาดตัวอย่างเนื้อสุกรหรืออวัยวะของสุกรขั้นต่ำเท่ากับ 49 ตัวอย่าง และเมื่อพิจารณาจากความชุกเท่ากับ 37% ในสุกรในภาคกลางของประเทศไทย (Meekhanon et al., 2017) เป็นผลให้ขนาดตัวอย่างสุกรขั้นต่ำเท่ากับ 90 ตัวอย่าง สำหรับวิธีการเก็บตัวอย่างในสุกรผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยสัตว์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น (IACUC-KKU 102/2562)

ในช่วงระหว่างเดือนมิถุนายน 2562 ถึงเดือนธันวาคม 2563 ทำการเก็บตัวอย่างจากตลาดรวมทั้งหมดจำนวน 320 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากฟาร์มสุกรทั้งสิ้น 97 ตัวอย่างซึ่งได้มาจากฟาร์ม 3 แห่งในจังหวัดขอนแก่น ดังรายละเอียดต่อไปนี้ ตัวอย่างเนื้อสุกร และอวัยวะของสุกรที่จำหน่ายเพื่อการบริโภค คือตับหรือปอดหรือไต ขนาดตัวอย่างละประมาณ 100 กรัม จากตลาดสดเทศบาล ตลาดออจิระ ตลาดคำไฮ ตลาดบ้านสำราญ ตลาดนัดค้าเนื้อสัตว์ย่อยอื่นๆ ในชุมชน และห้างสรรพสินค้าใหญ่และย่อย ในจังหวัดขอนแก่น ได้ตัวอย่างเนื้อสุกรรวมทั้งสิ้น 200 ตัวอย่าง และตัวอย่างอวัยวะที่จำหน่ายในตลาดรวม 120 ตัวอย่าง และทำการเก็บตัวอย่างจากสุกรในฟาร์มซึ่งไม่เกี่ยวข้องกันกับแหล่งที่ส่งสุกรเข้าโรงเชือด โดยใช้ก้านสำลีปลอดเชื้อชนิด Amies Culture Transport Swab (ZRMED Medical, China) ตัวอย่างจากสุกรในฟาร์ม ประกอบไปด้วย ฟาร์มที่ 1 เก็บตัวอย่างป้ายปาก (Oral swab) จากลูกสุกร (n= 15) ฟาร์มที่ 2 เก็บตัวอย่างป้ายปากจากสุกรอนุบาล (n =13) และฟาร์มที่ 3 เก็บตัวอย่างป้ายช่องคลอด (Vaginal swab) แม่สุกร (n =11) และตัวอ่อนสุกรที่ตายในขณะคลอด (n = 58) สำหรับตัวอ่อนแต่ละตัวทำการวิเคราะห์หาเชื้อโดยใช้อวัยวะรวม สมอง ปอด ตับ ไต ลำไส้เล็ก น้ำในกระเพาะอาหาร รวมจำนวนตัวอย่างจากฟาร์มสุกรทั้งหมดเท่ากับ 97 ตัวอย่าง

การเพาะแยกเชื้อ *S. suis* และยืนยันลักษณะทางชีวเคมี

เตรียมตัวอย่างโดยตัดตัวอย่างเป็นชิ้นเล็กๆ ด้วยกรรไกรปลอดเชื้อ ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม แล้วเติม 0.85% (w/v) NaCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่อง homogenizer นาน 1 นาที ปิเปตตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร เกลี่ยเชื้อ (spread) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเลือดแกะที่มียาปฏิชีวนะ (NNCC agar) ซึ่งประกอบด้วย Todd-Hewitt broth (BD, Sparks, MD, USA) 30 กรัม, Bacto-agar (BD) 15 กรัม, 5% (v/v) defibrinated sheep blood, Sodium azide (Sigma, St. Louis, MO, USA) 50 มิลลิกรัม, nalidixic acid (Sigma) 25 มิลลิกรัม, colistin (Sigma) 12.5 มิลลิกรัม และ crystal violet (Sigma) 2 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บ่มจานเพาะเลี้ยงใน candle jar ที่ 37 องศาเซลเซียส (℃) นาน 24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีที่มี Alpha-hemolysis บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NNCC agar จำนวนไม่เกิน 10 โคโลนี เพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนแต่ละโคโลนี (sub-culture) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเลือดแกะที่ไม่ใส่ยาปฏิชีวนะ (sheep blood agar) บ่มจานเพาะเลี้ยงใน candle jar ที่ 37 ℃ นาน 24 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้ไปทดสอบชีวเคมีเบื้องต้นโดยเพาะเลี้ยงใน Todd-Hewitt Broth และ 6.5% (w/v) NaCl peptone บ่มที่ 37 ℃ นาน 24 ชั่วโมง เลือกเชื้อที่ให้ผลลบต่อ 6.5% NaCl peptone และ Voges-Proskauer test มาย้อมสีแกรมและทดสอบเอนไซม์ catalase และเอนไซม์ oxidase นำเชื้อที่ผลย้อมสีแกรมเป็น positive cocci และผลทดสอบเอนไซม์ catalase และ oxidase เป็นลบ ไปตรวจสอบขั้นต่อไปด้วยวิธี multiplex PCR (m-PCR) ตามวิธีของ Kerdsin และคณะ (Kerdsin et al., 2016)

การเตรียม DNA template

ปิเปตเชื้อที่เลี้ยงใน Todd-Hewitt Broth (ที่ผ่านผลการตรวจสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นแล้ว) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร (µL)ใส่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 20 µL เพื่อเตรียม bacterial cell pellet ทำการสกัด DNA จากเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างและเชื้อควบคุมมาตรฐานจำนวน 4 สายพันธ์ได้แก่ *S. suis* ซีโรไทป์ 1, 2, 7 และ 9 ด้วยวิธีต้ม (heat-lysis) ที่ 95 ℃ นาน 20 นาที ทำให้เย็นโดยทันทีในน้ำแข็งนาน 5 นาที ทิ้งส่วนใสแล้วเติมน้ำกลั่น 0.1 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนเชื้อ จากนั้นนำไปต้มให้เดือดนาน 10 นาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีโดยแช่ในน้ำแข็ง และนำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที เก็บส่วนใสไว้ที่อุณหภูมิ -20 ℃ เพื่อใช้เป็น DNA template

การพิสูจน์เชื้อและจำแนกซีโรไทป์ ด้วยวิธี Multiplex Polymerase chain reaction (m-PCR)

ไพรเมอร์ที่ใช้ตรวจมีทั้งหมด 8 คู่ ประกอบไปด้วยไพรเมอร์จำเพาะต่อ *S. suis* ทุกซีโรไทป์ (*gdh* gene) และ capsular (*cps*) genes ของ *S. suis* ที่จำเพาะต่อซีโรไทป์ 1 (หรือ 14), 2 (หรือ 1/2), 3, 4, 5, 7 และ 9 (Table1) โดยใช้ไพร์เมอร์ที่ออกแบบไว้แล้วก่อนนี้ (Kerdsin et al., 2012) และวิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียทำตามวิธี m-PCR ของ Kerdsin และคณะ (Kerdsin et al., 2016) โดยปรับวิธีการและสารเคมีที่ใช้ต่างกันเล็กน้อย น้ำยาทดสอบประกอบด้วย 1 X i-Taq PCR master mix (iNtRON Biotechnology, Gyeonggi-do, Korea), 0.5 µM ของ primer แต่ละชนิด, DNA template 2 µL ปรับ

ปริมาตรทั้งหมดเป็น 20 µL ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (DNase-free distilled water) เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง Thermal cycler (MyCycler, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) หลังจากอุ่นเครื่องที่อุณหภูมิ 95 ℃ นาน 5 นาที ตั้งค่าปฏิกิริยา 30 รอบ ซึ่งมีโปรแกรมดังนี้คือ denaturation ที่ 95 ℃ นาน 30 วินาที, primer annealing และ extension ที่ 62 ℃ นาน 90 วินาที และ final extension ที่ 72 ℃ นาน 5 นาที เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยานำตัวอย่างในหลอดไปแยกแถบ DNA บน 2.0% (w/v) agarose gel ใน 1 x TBE buffer (Tris-Borate-EDTA) ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 40 นาที ย้อม agarose gel ด้วย 0.1 กรัม/มิลลิลิตร ethidium bromide ล้าง agarose gel (de-staining) ด้วยน้ำประปานาน 10 นาที แล้วนำไปส่องแถบ DNA ภายใต้แสง UV ในเครื่อง ultraviolet light transilluminator อ่านผลเทียบกับเชื้ออ้างอิงมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ประเทศไทย (*S. suis* serotype 1 DMST 26745, serotype 2 DMST 18783, serotype 5 DMST 26749, serotype 7 DMST 26750, และ serotype 9 DMST 26752) และเชื้อมาตรฐานจากห้องปฏิบัติการของทีมวิจัย *S. suis* serotype 3 และ serotype 4

การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ

ทำการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธี disk diffusion test โดยใช้ยาต้านจุลชีพ 7 กลุ่มประกอบไปด้วยยาต้านจุลชีพจำนวนทั้งสิ้น 14 ชนิด (Oxoid, Hampshire, UK) ดังนี้ คือ กลุ่มที่ 1. Penicillins: Penicillin G (10 unit), Ampicillin (10µg), Amoxicillin (25 µg), Amoxicillin/clavulanic acid (30 µg), และ Cloxacillin (5 µg) กลุ่มที่ 2. Cephalosporins: Cephalothin (30 µg) กลุ่มที่ 3. Fluoroquinolones: Enrofloxacin (5 µg), Norfloxacin (10 µg), และ Ciprofloxacin (5 µg) กลุ่มที่ 4. Macrolides: Erythromycin (15 µg) กลุ่มที่ 5. Aminoglycosides: Gentamicin (10 µg) และ Kanamycin (30 µg) กลุ่มที่ 6. Tetracyclines: Oxytetracycline (30 µg) และกลุ่มที่ 7. Cotrimoxazole: Trimethoprim/sulfamethoxazole (25 µg) การอ่านผลการทดสอบใช้ค่าเทียบมาตรฐานในคู่มือ Clinical Laboratory International Standards (Dolinsky et al., 2018) และทำการทดสอบควบคุมคู่กับแบคทีเรียมาตรฐาน *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, and *E. faecalis* ATCC 29212

Table 1. Primers, nucleotide sequences, and PCR product sizes specific for *S. suis* and serotypes examined in this study.

Genus/ Serotype	Primer	Sequence (5'- 3')	Amplicon size (bp)	Reference
All serotypes	gdh- (F) gdh- (R)	TTCTGCAGCCTATTCTGTCAAACG TGTTCCATGGACAGATAAAGATGG	695	(Kerdsin et al., 2012)
1 (or 14)	cps1J-(F) cps1J-(R)	AATCATGGAATAAAGCGGAGTACAG ACAATTGATACGTCAAAATCCTCACC	550	(Kerdsin et al., 2012)
2 (or 1/2)	cps2J-(F) cps2J-(R)	GATTTGTCGGGAGGGTTACTTG TAAATAATATGCCACTGTAGCGTCTC	450	(Kerdsin et al., 2012)
3	cps3J-(F) cps3K-(R)	TGGGAGAAGGCAGAAAGTACGAGA ACCCCCAGAAGAGCCGAAGGA	1273	(Kerdsin et al., 2012)
4	cps4M-(F) cps4N-(R)	ACTTGGAGTTGTCGGAGTAGTGCT ACCGCGATGGATAGGCCGAC	783	(Kerdsin et al., 2012)
5	cps5N-(F) cps5N-(R)	TGATGGCGGAGTTTGGGTCGC CGTAACAACCGCCCCAGCCG	166	(Kerdsin et al., 2012)
7	Cps7H-(F) Cps7H-(R)	GATGATTTATGGCACCCGAGTAAGC AGTCACAATTGCTGGTCCTGACACC	150	(Kerdsin et al., 2012)
9	Cps9H-(F) Cps9H-(R)	GGGATGATTGCTCGACAGAT CCGAAGTATCTGGGCTACTG	300	(Kerdsin et al., 2012)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

เปรียบเทียบข้อมูลของสัดส่วนตัวอย่างแต่ละกลุ่มที่พบเชื้อ *S. suis* นำเสนอด้วยสถิติแบบพรรณนาคำนวณช่วงความเชื่อมั่น 95% (95% Confidence Interval; 95%CI) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางระบาดวิทยาบนเว็บ OpenEpi (http://www.OpenEpi.com/) ใช้ระดับนัยทางสถิติที่ $p < 0.05$

ผลการศึกษา

การปรากฏของเชื้อ *S. suis* ในตัวอย่าง

ยืนยันเชื้อที่เพาะแยกได้ว่าเป็น *S. suis* โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่ m-PCR จะเห็นการปรากฏผลผลิตของยีน *gdh* ซึ่งมีแถบขนาด 695 base pairs (bp) บน agarose gel ร่วมกันกับผลิตผลของยีนตามขนาดเฉพาะของแต่ละซีโรไทป์ ดังเช่น ตัวอย่างเนื้อสุกร และอวัยวะของสุกร แสดงผลบวกต่อเชื้อ *S. suis* ร่วมกันกับบ่งชี้ซีโรไทป์ 9 โดยเป็นผลผลิตของยีน *cps9H* ขนาด 300 bp (Figure 1) ในการศึกษาครั้งนี้ทำการวิเคราะห์ซีโรไทป์ 1, 2, 3, 4, 5, 7 และ 9 เท่านั้น ดังนั้นเชื้อ *S. suis* ที่ไม่สามารถจำแนกซีโรไทป์ (none-typable; NT) ได้ใน m-PCR ของการศึกษาในครั้งนี้ จะขึ้นเฉพาะแถบของผลผลิต *gdh* gene เท่านั้น (Figure 2)

สัดส่วนและจำนวนตัวอย่าง รวมทั้งผลการตรวจพบเชื้อและซีโรไทป์แสดงไว้ใน Table 2 จากตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจจำนวน 417 ตัวอย่าง พบการปรากฏของเชื้อ *S. suis* ในตัวอย่างเนื้อสุกร อวัยวะสุกรที่วางจำหน่ายในตลาดสดและห้างสรรพสินค้า และในสุกรที่อยู่ในฟาร์มสุกรในจังหวัดขอนแก่น จำนวนรวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 7.2 (30/417) ของจำนวนทั้งหมดที่ตรวจ เมื่อจำแนกเป็นจำนวนและสัดส่วนการพบเชื้อ *S. suis* ในตัวอย่างแต่ละชนิด มีดังนี้คือ ในตัวอย่างเนื้อสุกรจำนวน 6/200 (3.0%) ในอวัยวะของสุกรที่วางจำหน่ายในตลาดเท่ากับ 14/120 (11.7%) ในตัวอย่างอวัยวะสุกรขุนมีอัตราการตรวจพบเชื้อ *S. suis* สูงกว่าในเนื้อสุกรอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อคิดเนื้อสุกรรวมกับอวัยวะสุกรที่จำหน่ายเพื่อเป็นอาหารมีอัตราการพบเชื้อเท่ากับ 6.3% (20/320) การปรากฏของเชื้อ *S. suis* ในช่องปากของลูกสุกร คิดเป็น 6.7% (1/15) ในช่องปากของสุกรอนุบาลเท่ากับ 7.7% (1/13) ไม่พบเชื้อจากตัวอย่างป้ายเชื้อจากช่องคลอดของแม่สุกร (0/11) แต่พบเชื้อในลูกสุกรที่ตายในขณะคลอดเท่ากับ 13.8% (8/58) และคิดเป็นอัตราการตรวจพบเชื้อ *S. suis* ในสุกรในฟาร์มสุกรจะเท่ากับ 10.3% (10/97)

ซีโรไทป์ที่พบคือ 2, 7, 9 และซีโรไทป์อื่นที่ไม่ใช่ 1 (14), 2 (1/2), 3, 4, 7, และ 9 ผลการสำรวจในเนื้อและอวัยวะของสุกรขุนพบซีโรไทป์ 2 (1/2) จำนวน 3 ไอโซเลต (isolate) ซีโรไทป์ 7 จำนวน 3 ไอโซเลต และซีโรไทป์ 9 จำนวน 1 ไอโซเลต สำหรับตัวอย่างจากลูกสุกรดูดนมและสุกรอนุบาล พบเฉพาะซีโรไทป์ 2 (1/2) เท่านั้นซึ่งเพาะแยกเชื้อได้เพียงหนึ่งตัวอย่างต่อกลุ่มเท่านั้น และในตัวอ่อนสุกรที่ตายในขณะคลอดพบซีโรไทป์ 2 จำนวน 6 ไอโซเลต และซีโรไทป์อื่น (NT: non-typable serotpye) จำนวน 2 ไอโซเลต (Table2)

ความไวต่อยาต้านจุลชีพ

เชื้อที่จำแนกได้ทั้งหมดจำนวน 30 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะให้ผลการทดสอบ (Table 3) แบ่งออกเป็นกลุ่มกว้างๆ ดังต่อไปนี้ 1. ไวต่อยาทุกตัวภายในกลุ่มยาเดียวกัน 2. ไวต่อยาแตกต่างกันสำหรับยาแต่ละตัวภายในกลุ่มยาเดียวกัน 3. ไวต่อยาและดื้อต่อยาครึ่งต่อครึ่ง 4. เชื้อส่วนใหญ่ดื้อต่อยาที่ทดสอบ 1). เชื้อส่วนใหญ่ไวต่อยาทั้งหมดในกลุ่ม Penicillins และ Cephalosporins โดยมีสัดส่วนของเชื้อไวต่อยากลุ่ม Penicillins มีสัดส่วนตามวงเล็บท้ายชื่อยา ดังนี้ คือ Penicillin G (65.0%), Ampicillin (85.0%), Amoxicillin (94.7%), Amoxicillin/clavulanic acid (98.5%) และCloxacillin (89.8%) สำหรับกลุ่ม Cephalosporins ทำการทดสอบยาเพียงชนิดเดียว และพบว่าเชื้อมีความไวต่อยา Cephalothin คิดเป็นร้อยละ 98.5 2). สำหรับยาในกลุ่ม Fluoroquinolones มีความแตกต่างในความไวของเชื้อต่อยาแต่ละชนิดในกลุ่มเดียวกัน ดังนี้คือ Enrofloxacin (69.4%) และ Ciprofloxacin (74.3%) แต่สำหรับ Norfloxacin เชื้อกลับไวต่อยานี้เพียงแค่ร้อยละ 15 เท่านั้น และเชื้อส่วนใหญ่ (50.0%) มีความไวปานกลาง (Intermediate susceptibility) ต่อยา Norfloxacin และมีสัดส่วนการดื้อยา Norfloxacin คิดเป็นร้อยละ 35 สำหรับยาในกลุ่ม Aminoglycosides เชื้อมีความไวต่อยาแตกต่างกันระหว่างยา 2 ชนิดที่ตรวจสอบในการศึกษานี้ ซึ่งเชื้อร้อยละ 82 มีความไวต่อยา Gentamicin แต่สำหรับยา Kanamycin เชื้อเกินกว่าครึ่งกลับมีการดื้อต่อยา Kanamycin (62.6%) และมีความไวปานกลางต่อยานี้ (21.4%) 3). สำหรับยากลุ่ม Cotrimoxazole ทำการทดสอบยาเพียงชนิดเดียว และพบว่าเชื้อกึ่งหนึ่งไวต่อยา Trimethoprim/sulfamethoxazole (50.0%) และอีกครึ่งหนึ่งกลับดื้อต่อยานี้ 4). เชื้อส่วนใหญ่ดื้อต่อยา Erythromycin (75.5%) Kanamycin (62.6%) และ Oxytetracycline (86.4%)

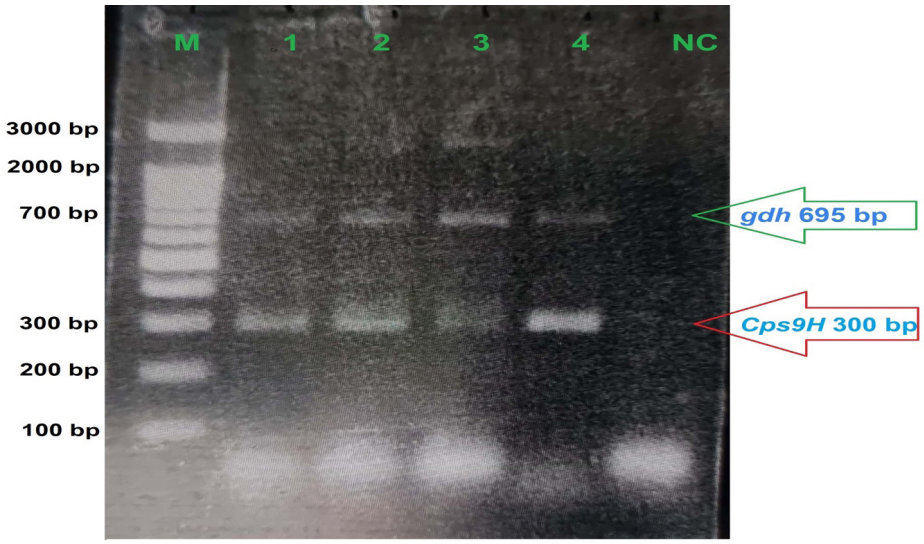


Figure 1. A photograph result of the polymerase chain reaction shows two amplicons of each isolate, indicating *S. suis* (695 bp) and serotype 9 (300 bp). M: molecular weight marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA ladder; Thermo Fisher Scientific). Numbers 1 to 4 represent the isolated samples. NC: negative control.

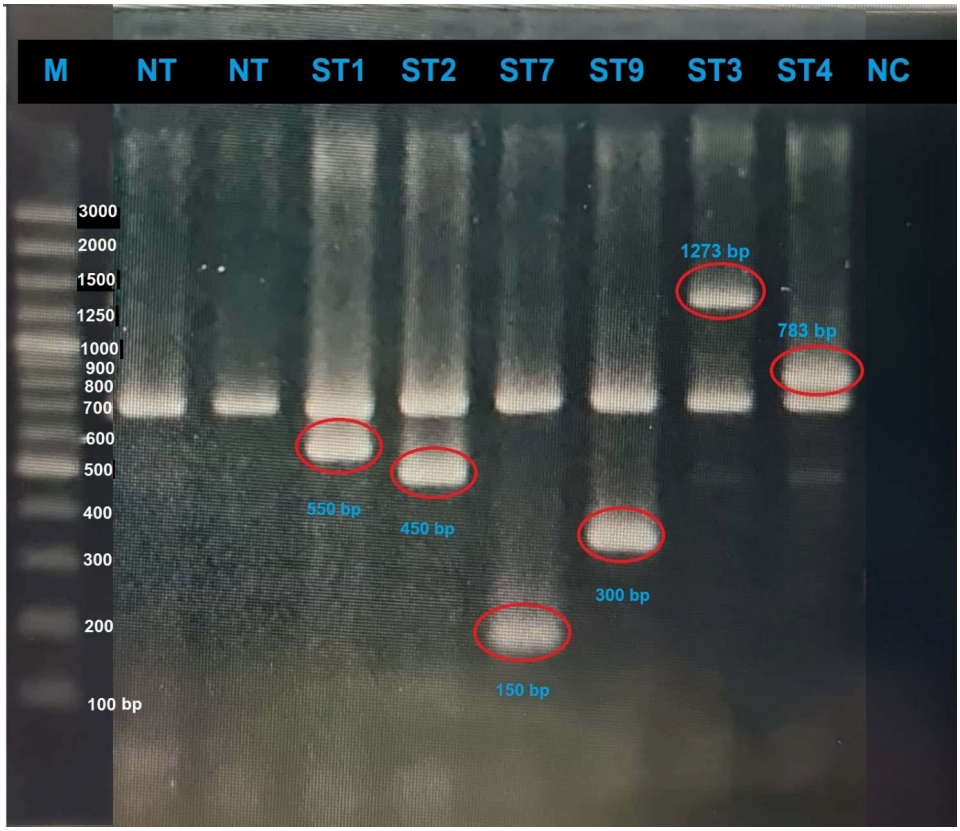


Figure 2. The photograph displays PCR products indicating *S. suis* (695 bp) and serotypes. M: molecular weight marker (GeneRuler 100 bp Plus DNA ladder; Thermo Fisher Scientific). NT: none-typable serotype in this study (has only a 695 bp band). The second band of specific sizes indicates serotypes of *S. suis*. ST1: serotype 1 (550 bp), ST2: serotype 2 (450 bp), ST7: serotype 7 (150 bp), ST3: serotype 3 (1,273 bp), ST4: serotype 4 (783 bp), NC: negative control (no band).

Table 2. Results of *S. suis* detection in pork and pig samples in this study.

Samples	No. tested	No. (%) positive	95% CI[#]	Serotype; ST (No. positive)
Pork meat	200	6 (3.0)	1.38 - 6.39	ST2 (n =3), ST7 (n =2), ST9 (n=1)
Organs of Finishing pigs	120	14 (11.7)	7.08 - 18.63	ST2 (n =5), ST7 (n =4), ST9 (n=5)
Total Food of pig origin	320	20 (6.3)	4.08 - 9.46	-
Oral swabs of suckling piglets	15	1 (6.7)	1.19 -29.81	ST2 (n=1)
Oral swabs of nursery pigs	13	1 (7.7)	1.37 - 33.31	ST2 (n=1)
Vaginal swabs of lactating sows	11	0 (0.0)	-	-
Stillborn fetuses	58	8 (13.8)	7.16 - 24.93	ST2 (n=6), NT*(n=2)
Total Pigs in the farm	97	10 (10.3)	5.70 - 17.95	-
Grand Total	417	30 (7.2)	5.09 - 10.08	-

* NT = Other serotypes but not ST1 (14), 2 (1/2), 3, 4, 7, and 9, due to the limit of the type strains in this study.
[#] 95% Confidence Interval, Results from OpenEpi, Version 3, open-source calculator.

วิจารณ์

ผลการตรวจหาเชื้อ *S. suis* ในเนื้อสุกรส่วนใหญ่ให้ผลเป็นลบเกือบทุบตัวอย่าง ดังนั้น จึงไม่สามารถวิเคราะห์ความชุกของเชื้อในเนื้อสุกรในแต่ละเดือนได้ นอกจากนี้ยังไม่สามารถเก็บตัวอย่างอวัยวะของสุกรที่วางจำหน่ายได้อย่างสม่ำเสมอ และตัวอย่างอวัยวะที่เก็บส่วนใหญ่ได้มาจากตลาดนัดรายย่อยเท่านั้น แม้ว่าการสำรวจเชื้อ *S. suis* ในเนื้อสุกรและอวัยวะของสุกรที่ใช้ประกอบอาหารในภาคกลางของประเทศไทย พบความชุกของเชื้อ *S. suis* ในระดับที่สูงมากถึง 85% (Boonyong et al., 2019) แต่จากผลการศึกษาในครั้งนี้ กลับพบเชื้อ *S. suis* ในเนื้อสุกรน้อยมาก คือเพียงแค่ 3% เท่านั้น ส่วนอวัยวะของสุกรที่จำหน่ายเพื่อประกอบเป็นอาหารมีโอกาสพบเชื้อได้มากกว่าเนื้อสุกรอย่างมีนัยสำคัญคือสูงถึง 11.7% การพบเชื้อในอวัยวะของสุกรมีความเป็นได้ค่อนข้างสูงว่าสุกรมีการติดเชื้อแบบกระจายทั่วร่างกาย (systemic infection) มากกว่าการปนเปื้อนจากเชื้อที่อาศัยอยู่ในทอนซิลที่เกิดขึ้นในขณะการชำแหละซาก การตรวจในครั้งนี้พบเชื้อในเนื้อสุกรที่เป็นตัวอย่างที่มาจากตลาดนัดรายย่อยเท่านั้น คาดว่าเป็นสุกรที่มีการชำแหละรายตัวแบบหลังบ้านโดยไม่ได้ผ่านระบบของโรงฆ่าสัตว์มาตรฐาน ดังนั้นจึงมีโอกาสค่อนข้างสูงที่อาจจะเป็นสุกรป่วยหรือไม่ผ่านการตรวจสุขภาพ รวมทั้งการวางจำหน่ายโดยกองรวมกันระหว่างเนื้อสุกรและอวัยวะอาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อข้ามมายังเนื้อสุกรได้ แม้ว่าเคยมีรายงานการพบเชื้อในต่อมทอนซิลของสุกรขุนที่มีสุขภาพปกติได้ในอัตราค่อนข้างสูง (Hoa et al., 2011) แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเกิดการปนเปื้อนของเชื้อ *S. suis* ในเนื้อสุกรได้น้อยมาก อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้ยังไม่สามารถตัดข้อสงสัยเรื่องการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสุกร การใช้สารป้องกันการเน่าเสียของเนื้อสุกร หรือการแช่แข็งเนื้อสุกรก่อนวางจำหน่าย อันอาจส่งผลให้ผลการเพาะแยกเชื้อล้มเหลวในครั้งนี้ได้

การสำรวจและพบเชื้อในสุกรช่วงวัยอื่นๆ ที่เลี้ยงภายในฟาร์ม บ่งชี้ได้ว่าสุกรเป็นแหล่งรังโรคของเชื้อ *S. suis* ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนนี้ที่พบว่าเชื้อ *S. suis* สามารถพบได้ทั้งในสุกรป่วยและสุกรสุขภาพปกติ (Meekhanon et al., 2017) ในสุกรมักพบเชื้อ *S. suis* ได้ที่ระบบทางเดินหายใจส่วนต้น โดยเฉพาะที่ต่อมทอนซิล ที่ระบบสืบพันธุ์ และในระบบทางเดินอาหาร (Gottschalk et al., 2010) ดังนั้น การแพร่กระจายเชื้อระหว่างสุกร มักจะส่งต่อเชื้อผ่านทางสารคัดหลั่งทางช่องจมูก ช่องปาก และช่องคลอด (Murase et al., 2019) การศึกษานี้พบเชื้อในตัวอย่างจากการป้ายปากลูกสุกรดูดนมและสุกรอนุบาล แสดงให้เห็นว่าเชื้อสามารถแพร่กระจายทางน้ำลายได้ การเลี้ยงสุกรอย่างหนาแน่นภายในฟาร์มจะส่งเสริมให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อได้รวดเร็วยิ่งขึ้น และนอกจากนี้การพบเชื้อในระดับสูงที่สุด (13.8%) ในอวัยวะของตัวอ่อนสุกรที่ตายในขณะคลอด แสดงให้เห็นถึงการติดเชื้อในตัวอ่อนสุกร ซึ่งนับว่า *S. suis* อาจเป็นปัญหาการติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์ได้มากกว่าการปนเปื้อนจากช่องคลอดของแม่สุกรในขณะคลอด เพราะตัวอย่างที่เก็บโดยการป้ายเชื้อจากช่องคลอดของแม่สุกรทุกตัวอย่างให้ผลเป็นลบ แต่ทั้งนี้

Table 3. Antimicrobial drug sensitivity of the *S. suis* isolates (*n* = 30) in this study.

Order	Drug group / Antibiotic disc	Susceptibility No. (%)	Intermediate No. (%)	Resistance No. (%)
Group 1	Penicillins			
1	Penicillin G (10unit)	20 (65.0)	0 (0.0)	11 (35.0)
2	Ampicillin (10µg)	26 (85.0)	2 (7.3)	2 (6.7)
3	Amoxicillin (25µg)	28 (94.7)	2 (5.3)	0 (0.0)
4	Amoxicillin/clavulanic acid (30µg)	30 (98.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
5	Cloxacillin (5µg)	27 (89.8)	0 (0.0)	3 (9.2)
Group 2	Cephalosporins			
6	Cephalothin (30µg)	30 (98.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
Group 3	Fluoroquinolones			
7	Enrofloxacin (5µg)	21 (69.4)	2 (6.3)	7 (24.3)
8	Norfloxacin (10µg)	5 (15.0)	15 (50.0)	11 (35.0)
9	Ciprofloxacin (5µg)	22 (74.3)	1 (2.4)	7 (23.3)
Group 4	Macrolides			
10	Erythromycin (15µg)	2 (7.3)	5 (17.0)	23 (75.5)
Group 5	Aminoglycosides			
11	Gentamicin (10µg)	25 (82.0)	1 (4.4)	4 (13.7)
12	Kanamycin (30µg)	5 (16.0)	6 (21.4)	19 (62.6)
Group 6	Tetracyclines			
13	Oxytetracycline (30µg)	1 (2.4)	3 (11.2)	26 (86.4)
Group 7	Cotrimoxazole			
14	Trimethoprim/sulfamethoxazole (25µg)	15 (50.0)	0 (0.0)	15 (50.0)

No: number of isolates, %: percentage

อาจเกิดจากการให้ยาปฏิชีวนะแก่แม่สุกรหลังคลอดจึงทำให้ผลการเพาะเชื้อล้มเหลวก็เป็นไปได้เช่นกัน ข้อจำกัดในการศึกษาครั้งนี้คือฟาร์มมีขนาดและวัตถุประสงค์การผลิตสุกรที่แตกต่างกัน จึงไม่สามารถเก็บตัวอย่างจากสุกรแต่ละช่วงวัยได้จำนวนละเท่าเทียมกัน และไม่สามารถเปรียบเทียบเป็นรายฟาร์มได้ การศึกษานี้ใช้ตัวอย่างเพื่อเป็นตัวแทนสุกรจากฟาร์มในจังหวัดขอนแก่นเท่านั้น ในอนาคต การศึกษาเชิงลึกในระดับฟาร์มที่มีการผลิตสุกรแบบครบทุกช่วงอายุจะทำให้เห็นรูปแบบการแพร่กระจายเชื้อ *S. suis* รวมทั้งความแตกต่างของแต่ละฟาร์มอันเป็นผลมาจากการจัดการว่ามีผลในการลดอุบัติการณ์ของเชื้อนี้ได้ในสุกรหรือไม่ อย่างไรก็ตาม ณ ปัจจุบัน ทั่วโลกยังไม่มีฟาร์มใดที่ปลอดจากเชื้อ *S. suis* และนอกจากนี้ยังจำเป็นต้องศึกษาว่าเชื้อ *S. suis* ทุกสายพันธุ์เป็นเชื้อก่อโรคหรือไม่

เชื้อ *S. suis* มีหลากหลายซีโรไทป์ ปัจจุบันมีรายงานในสุกรมากถึง 32 ซีโรไทป์ ซึ่งจำนวนนี้ได้ตัดลดทอนลงจาก 35 ซีโรไทป์แล้ว เนื่องจากมีข้อผิดพลาดในเทคนิคการพิสูจน์เชื้อก่อนหน้านี้ (Ishida et al., 2014; Okura et al., 2016) การศึกษานี้ทำการเพาะเชื้อและจำแนกโดยวิธีทางชีวเคมีในเบื้องต้นก่อน แล้วจึงตรวจหา *gdh* gene ที่จำเพาะต่อเชื้อ *S. suis* เพื่อยืนยันการวินิจฉัยอีกขั้นตอนหนึ่ง อนึ่ง การจำแนกซีโรไทป์ตามวิธีดั้งเดิมสำหรับเชื้อ *S. suis* จะใช้การตรวจทางซีรัมวิทยาโดยวิธี Coag-

glutination test ซึ่งจะต้องมีแอนติซีรัม (antiserum) มาตรฐานในการทดสอบ และพบได้บ่อยว่าเชื้อไม่ทำปฏิกิริยากับ แอนติซีรัมหรือไม่สามารถระบุซีโรไทป์ได้นั่นเอง ทั้งนี้เพราะเชื้อบางสายพันธุ์มี *cps* gene แต่ไม่สร้างแคปซูล (capsular polysaccharide) ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีทางอณูชีวโมเลกุล อาทิ เช่น m-PCR ที่ระบุซีโรไทป์ได้แน่ชัดกว่าวิธีดั้งเดิม ซึ่งเป็นการตรวจหายีนที่จำเพาะต่อการสร้างแคปซูลของเชื้อ และ m-PCR ยังสามารถตรวจได้ทั้งยีนที่ใช้ระบุเชื้อ *S. suis* และจำแนกหลายซีโรทป์ไปได้พร้อมกันในหนึ่งปฏิกิริยาลูกโซ่ จากการศึกษานี้พบซีโรไทป์ 2 จำนวน 16 ไอโซเลต และซีโรไทป์ 7 กับ 9 พบจำนวนเท่ากันคืออย่างละ 6 ไอโซเลต และอีก 2 ไอโซเลต ไม่สามารถจำแนกซีโรไทป์ในครั้งนี้ได้ คาดว่าน่าจะเป็นซีโรไทป์อื่นที่ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ในครั้งนี้ โดยทั่วไปสำหรับสุกรพบเชื้อ *S. suis* ได้ทุกซีโรไทป์เพราะสุกรเป็นโฮสต์ตามธรรมชาติของเชื้อนี้ แต่ส่วนใหญ่ที่มีรายงานการพบเชื้อ *S. suis* ทั้งในสุกรและคนมักเป็นซีโรไทป์ 2 ตรงกันมากที่สุด (Nga et al., 2011; Schultsz et al., 2012) ซึ่งตรงกันกับผลการศึกษาในครั้งนี้ อย่างไรก็ตาม ซีโรไทป์ 2 อาจเป็นซีโรไทป์ 1/2 ก็ได้ซึ่งไพรเมอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ในครั้งนี้ไม่สามารถแยกระหว่าง 2 กับ 1/2 ได้นั่นเอง (Matiasovic et al., 2020) และสรุปได้ว่าซีโรไทป์ 2 หรือ 1/2 น่าจะเป็นสายพันธุ์ที่รุนแรง และมีการแพร่กระจายในประชากรสุกรมากที่สุด รองลงมาคือซีโรไทป์ 7 และ 9 จากการศึกษาก่อนนี้ระบุว่าซีโรไทป์ 2 และ 9 จัดได้ว่าเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคที่รุนแรงที่สุดในสุกร (Chuzeville et al., 2017; Rieckmann et al., 2017) และนอกจากนี้ยังมีรายงานถึงการเพิ่มขึ้นของการระบาดของโรคนี้ในคนทั่วโลกอันเกิดจากการติดเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 9 (Gottschalk, 2015) เมื่อพิจารณาจากรายงานผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *S. suis* ในประเทศไทย ซีโรไทป์ที่มักก่อโรคในคนคือ 5, 9, 24 และ 31 (Hatrongjit et al., 2015; Kerdsin et al., 2018) ส่วนในประเทศจีนรายงานระบุว่าซีโรไทป์ 2 และ 7 พบการระบาดในคนมากที่สุด (Zhou et al., 2017) การศึกษาก่อนนี้ในจังหวัดทางภาคเหนือของประเทศไทยพบผู้ป่วยติดเชื้อ *S. suis* ซีโรไทป์ 2 เป็นส่วนใหญ่ (Takeuchi et al., 2012; Wangkaew et al., 2006) เมื่อพิจารณาจากผลการศึกษาในครั้งนี้และรายงานการการเกิดโรคในคน ทำให้สรุปได้ว่าคนที่ติดเชื้อ *S. suis* มักมีซีโรไทป์ที่ตรงกันกับซีโรไทป์ที่พบในเนื้อสุกรขุนหรืออวัยวะของสุกรที่จำหน่ายเป็นอาหารสำหรับการบริโภค ผลของการศึกษาซีโรไทป์นี้บ่งชี้ถึงความเชื่อมโยงของเชื้อ *S. suis* ที่ระบาดในคนและในสุกรนั่นเอง

สำหรับสุกรนั้นจะพบเชื้อนี้ได้หลากหลายซีโรไทป์มากกว่าในคน ทำให้เห็นได้ชัดเจนว่าบางซีโรไทป์เท่านั้นที่ก่อโรครุนแรงได้ในคน และเนื่องจากสุกรเป็นโฮสต์ตามธรรมชาติ จึงพบเชื้อนี้ได้หลายสายพันธุ์ซึ่งอาจมีทั้งที่ก่อโรคและไม่ก่อโรค ดังจะเห็นได้จากผลการสำรวจซีโรไทป์ของ *S. suis* ในสุกรที่เลี้ยงในจังหวัดพะเยาซึ่งพบซีโรไทป์ 23 มากที่สุด (20/196; 10.2%) รองลงมาคือซีโรไทป์ 9 (16/196; 8.2%) ซีโรไทป์ 7 (16/196; 8.2%) และซีโรไทป์ 2 (11/196; 5.6%) (Thongkamkoon et al., 2017) ในขณะที่ซีโรไทป์ที่พบในสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนคือซีโรไทป์ 2, 7, 8 และ 9 (Nutravong et al., 2014) การศึกษาเชิงลึกถึงความเกี่ยวเนื่องระหว่างเชื้อ *S. suis* ที่พบในคนและสุกร มีความสำคัญที่จะบ่งชี้ถึงการติดต่อของเชื้อจากสุกรสู่คน การเลี้ยงสุกรให้ปลอดเชื้อ *S. suis* นับว่ายังมีความยุ่งยากและจำเป็นต้องค้นหาวิธีที่เหมาะสม เนื่องจากเชื้อ *S. suis* อาศัยเป็นปกติได้ในสุกร (commensal bacteria) และพบได้ทั่วโลก (Niazy et al., 2022) หรือในอนาคตจำเป็นต้องศึกษาเชิงลึกในการจำแนกเชื้อ *S. suis* สายพันธุ์ก่อโรคกับสายพันธุ์ที่เป็นเชื้อที่อาศัยเป็นปกติในสุกร

การดื้อยาและไวยาต่อต้านจุลชีพของเชื้อ *S. suis* จะสะท้อนถึงการใช้ยาภายในฟาร์มได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้เพราะเชื้อ *S. suis* มีการแพร่กระจายอยู่ในประชากรสุกรเป็นวงกว้าง ซึ่งพบได้ทั้งในสุกรสุขภาพปกติและสุกรป่วย (Seitz et al., 2016) จึงมีโอกาสสูงในการสัมผัสกับยาปฏิชีวนะ อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบครั้งนี้พบว่า ยาในทั้งสามกลุ่มยาต่อไปนี้จัดได้ว่านี้เหมาะสมในการใช้รักษาการติดเชื้อ *S. suis* ในสุกร ทั้งนี้เพราะเชื้อส่วนใหญ่ไวต่อยาทุกตัวที่ทำการตรวจสอบในกลุ่ม Penicillins, Cephalosporins และ Fluoroquinolones และให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาเชื้อนี้ที่แยกได้จากสุกรในประเทศบราซิล ซึ่งพบว่ากว่า 80% ของเชื้อจำนวน 260 ไอโซเลต ไวต่อยาในกลุ่ม Penicillins และ Cephalosporins (Soares et al., 2014) ในการศึกษานี้พบว่าสำหรับยา Trimethoprim/sulfamethoxazole นั้นเชื้อมีสัดส่วนการดื้อยาและไวต่อยาครึ่งหนึ่งเท่ากัน ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Soares et al., (2014) ที่พบการดื้อต่อยา Trimethoprim/sulfamethoxazole สูงถึง 100% ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากการใช้ยาแตกต่างกันในแต่ละฟาร์ม หรืออีกกรณีหนึ่งคือการออกฤทธิของยากลุ่มนี้ค่อนข้างจำเพาะต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแกรมบวกนั่นเอง เชื้อส่วนใหญ่ดื้อต่อยา Erythromycin ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Macrolides แม้ว่าไม่มีการใช้ Erythromycin ในฟาร์มสุกรก็ตาม แต่นิยมใช้ยาตัวอื่นๆ ในกลุ่มนี้ที่ขึ้นทะเบียนสำหรับใช้ในฟาร์มสุกร เช่น Tylosin, Tiamulin, Tulathromycin และ Tilmicosin เป็นต้น (Correa-Fiz et al., 2020) ดังนั้นจึงอาจเป็นผลทำให้เชื้อเกิดการดื้อต่อ Erythromycin ซึ่งจัดเป็นยาตัวแรกๆ ของกลุ่มนี้นั่นเอง นอกจากนี้แล้วยังพบว่าเชื้อส่วนใหญ่ดื้อต่อยา Oxytetracycline ซึ่งเป็นยาที่นิยมใช้อย่างแพร่

หลายและใช้ติดต่อกันมาเป็นระยะเวลาที่ยาวนานในฟาร์ม (Waack and Nicholson, 2018) ผลการดื้อยาของเชื้อ *S. suis* ต่อยา Erythromycin และ Oxytetracycline สอดคล้องกันกับรายงานผลการศึกษาเชื้อนี้ในประเทศจีน (Huan et al., 2020) สำหรับยาในกลุ่ม Aminoglycosides เป็นยาที่ออกฤทธิ์ได้ดีต่อเชื้อแกรมลบเป็นหลัก และออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกได้บางตัว เมื่อก่อนเคยมีการใช้ยากลุ่มนี้ เช่น Streptomycin ร่วมกับยากลุ่ม Beta-lactam antibiotics ในการรักษาการติดเชื้อ Streptococci ในคนไข้ การศึกษาปัจจุบันพบว่าเชื้อ *S. suis* มีความไวต่อ Gentamicin มากกว่า Kanamycin และเกินกว่าครึ่งพบการดื้อต่อยา Kanamycin ทั้งนี้ผลของยาในกลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียสัมพันธ์กับขนาดยาที่ใช้ (concentration-dependent bactericidal) สำหรับ Kanamycin อาจต้องใช้ในขนาดที่สูงกว่า 30 µg อย่างไรก็ตาม Aminoglycosides ไม่ใช่ยากลุ่มที่เหมาะสมกับหรับรักษาการติดเชื้อ *S. suis*

สรุป

พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. suis* ในเนื้อสุกรน้อยมาก การบริโภคเนื้อสุกรที่จำหน่ายในตลาดและห้างสรรพสินค้าในจังหวัดขอนแก่น มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *S. suis* ค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตาม การตรวจพบเชื้อนี้ในอวัยวะของสุกรที่วางจำหน่ายเพื่อนำไปประกอบเป็นอาหาร และในอวัยวะของตัวอ่อนสุกรที่ตายในขณะคลอด บ่งชี้ถึงการติดเชื้อ *S. suis* นอกจากนี้การพบเชื้อ *S. suis* ได้ในช่องปากของลูกสุกรดูดนมและสุกรอนุบาลภายในฟาร์ม แสดงให้เห็นว่าสิ่งคัดหลั่งจากช่องปากหรือน้ำลายของสุกร นับเป็นทางการแพร่กระจายเชื้อระหว่างสุกรที่อยู่ภายในฟาร์ม และเป็นทางที่เกิดขึ้นได้ง่ายและรวดเร็ว เพราะสุกรอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม มีการกินน้ำและอาหารร่วมกัน ผลการศึกษาในครั้งนี้ช่วยให้ตระหนักถึงความสำคัญในการเลี้ยงสุกรให้ปลอดเชื้อ *S. suis* ณ ปัจจุบันทั่วโลกยังไม่มีฟาร์มปลอดเชื้อ *S. suis* จำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อค้นหาวิธีในเชิงลึกต่อไป ซีโรไทป์ 2 หรือ 1/2 เป็นสายพันธุ์ที่พบได้มากที่สุดในสุกรในจังหวัดขอนแก่น แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการแพร่กระจายในฟาร์มสุกรได้มากที่สุดกว่าซีโรไทป์อื่นๆ รองลงมาคือซีโรไทป์ 7 และ 9 โดยทั่วไป การติดเชื้อ *S. suis* ที่ก่อให้เกิดอาการรุนแรงในสุกร ทำให้สุกรป่วยและตายและสิ้นสุดวงจร ณ ฟาร์ม แต่ทว่า สุกรที่ไม่แสดงอาการป่วย แต่เป็นพาหะของเชื้อ อาจมีโอกาสผ่านเข้าสู่โรงฆ่าสัตว์ หรือสุกรป่วยที่ถูกนำไปชำแหละหลังบ้านโดยไม่ผ่านการคัดกรอง ซึ่งมักจะนำมาจำหน่ายตามตลาดนัด การปนเปื้อนของเชื้อ *S. suis* ไม่ว่าจะมาจากสุกรรายตัว หรือปนเปื้อนข้ามซาก (cross-contamination) ในขั้นตอนจากโรงฆ่าสัตว์หรือจากกระบวนการจัดจำหน่ายในตลาดแต่ละแห่ง เนื้อสุกรนับได้ว่าเป็นทางที่มนุษย์จะมีโอกาสได้รับเชื้อ *S. suis* มากที่สุดผ่านทางการกิน นอกจากนี้การพบเชื้อในปอดสุกร เป็นทางที่เชื้อพร้อมจะแพร่กระจายไปทางอากาศโดยส่งผ่านทางการหายใจ ดังนั้นการเฝ้าระวังติดตามเชื้อ *S. suis* ในเนื้อและอวัยวะดังกล่าวของสุกร รวมถึง การตรวจคัดกรองสุกรก่อนเข้าโรงเชือด การจัดการในโรงเชือดและการจัดจำหน่ายในตลาดเพื่อลดการปนเปื้อนข้ามระหว่างซากสุกรนับว่าเป็นมาตรการที่จะช่วยลดอุบัติการณ์การระบาดของโรคนี้ในคน หากเกิดการติดเชื้อ *S. suis* ที่มาจากสุกรในพื้นที่ ยาที่เหมาะสมในการรักษาคือยาในกลุ่ม Penicillins, Cephalosporins และ Fluoroquinolones

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้ได้รับสนับสนุนงบประมาณโครงการจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปีงบประมาณ 2561 ขอบคุณฟาร์มสุกรที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Bi Y, Li J, Yang L, Zhang S, Li Y, Jia X, Liu W, 2014. Assessment of the pathogenesis of *Streptococcus suis* type 2 infection in piglets for understanding streptococcal toxic shock-like syndrome, meningitis, and sequelae. Vet Microbiol 173, 299–309. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.08.010

Boonyong N, Kaewmongkol S, Khunbutsri D, Satchasataporn K, Meekhanon N, 2019. Contamination of *Streptococcus suis* in pork and edible pig organs in central Thailand. Vet World 12, 165–169. https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.165-169

Chuzeville S, Auger JP, Dumesnil A, Roy D, Lacouture S, Fittipaldi N, Grenier D, Gottschalk M, 2017. Serotype-specific role of antigen I/II in the initial steps of the pathogenesis of the infection caused by *Streptococcus suis*. Vet Res 48. https://doi.org/10.1186/s13567-017-0443-4

Correa-Fiz F, Neila-Ibáñez C, López-Soria S, Napp S, Martinez B, Sobrevia L, Tibble S, Aragon V, Migura-Garcia L, 2020. Feed additives for the control of post-weaning *Streptococcus suis* disease and the effect on the faecal and nasal microbiota. Sci Rep 10, 20354. https://doi.org/10.1038/s41598-020-77313-6

Direksin K, Liu D, 2020. Chinese Consumers' opinion about safe and premium quality pork: Survey at Beibei District, Chongqing, People's Republic of China. J Appl Anim Sci 13(1), 9-18.

Dolinsky AL, CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018. M100 performance standards for antimicrobial susceptibility testing. J Serv Mark. https://doi.

org/10.1108/08876049410065598

Dutkiewicz J, Zając V, Sroka J, Wasiński B, Cisak E, Sawczyn A, Kloc A, Wójcik-Fatla A, 2018. *Streptococcus suis*: A re-emerging pathogen associated with occupational exposure to pigs or pork products. Part II – pathogenesis. Ann Agric Environ Med 25, 186–203. https://doi.org/10.26444/aaem/85651

Gottschalk M. 2015. Emergence of *Streptococcus suis* serotype 9 infection in humans. J Microbiol Immunol Infect 16, 10–11. https://doi.org/10.1016/j.jmii.2015.06.011

Hatrongjit R, Kerdsin A, Gottschalk M, Takeuchi D, Hamada S, Oishi K, 2015. First human case report of sepsis due to infection with *Streptococcus suis* serotype 31 in Thailand. BMC Infect Dis 15, 1–7. https://doi.org/10.1186/s12879-015-1136-0

Hoa NT, Chieu TTB, Nga TTT, Dung NV, Campbell J, Anh PH, Huu Tho H, Van Vinh Chau N, Bryant JE, Hien TT, Farrar J, Schultsz C, 2011. slaughterhouse pigs are a major reservoir of *Streptococcus suis* serotype 2 capable of causing human infection in Southern Vietnam. PLoS One 6, e17943. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017943

Huan H, Jiang L, Tang L, Wang Y, Guo S, 2020. Isolation and characterization of *Streptococcus suis* strains from swine in Jiangsu province, China. J Appl Microbiol 128. https://doi.org/10.1111/jam.14591

Huong VTL, Long HB, Kinh NV, Ngan TTD, Dung VTV, Nadjm B, van Doorn HR, Hoa NT, Horby P, Wertheim HFL, 2018. Long-term outcomes of patients with *Streptococcus suis* infection in Viet Nam: A case-control study. J Infect 76. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2017.09.019

Ishida S, Hong L, Tien 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. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.09.003

Kerdsin A, Akeda Y, Hatrongjit R, Detchawna U, Sekizaki T, Hamada S, Gottschalk M, Oishi K, 2016. *Streptococcus suis* serotyping by a new multiplex PCR. J Med Microbiol 63, 824–830. https://doi.org/10.1099/jmm.0.069757-0

Kerdsin A, Akeda Y, Takeuchi D, Dejsirilert S, Gottschalk M, Oishi K, 2018. Genotypic diversity of *Streptococcus suis* strains isolated from humans in Thailand. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 37, 917–925. https://doi.org/10.1007/s10096-018-3208-8

Kerdsin A, Dejsirilert S, Akeda Y, Sekizaki T, Hamada S, Gottschalk M, Oishi K, 2012. Fifteen *Streptococcus suis* serotypes identified by multiplex PCR. J Med Microbiol 61, 1669–1672. https://doi.org/10.1099/jmm.0.048587-0

Mancini F, Adamo F, Creti R, Monaco M, Alfarone G, Pantosti A, Ciervo A, 2016. A fatal case of streptococcal toxic shock syndrome caused by *Streptococcus suis* carrying tet (40) and tet (O/W/32/O), Italy. J Infect Chemother 22, 774–776. https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.05.011

Matiasovic J, Zouharova M, Nedbalcova K, Kralova N, Matiaskova K, Simek B, Kucharovicova I, Gottschalk M, 2020. Resolution of *Streptococcus suis* Serotypes 1/2 versus 2 and 1 versus 14 by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Method. J Clin Microbiol 58. https://doi.org/10.1128/JCM.00480-20

Meekhanon N, Kaewmongkol S, Phimpraphai W, Okura M, Osaki M, Sekizaki T, Takamatsu D, 2017. Potentially hazardous *Streptococcus suis* strains latent in asymptomatic pigs in a major swine production area of Thailand. J Med Microbiol 66, 662–669. https://doi.org/10.1099/jmm.0.000483

Murase K, Watanabe T, Arai S, Kim H, Tohya M, Ishida-Kuroki K, Võ TH, Nguyễn TPB, Nakagawa I, Osawa R, Nguyễn NH, Sekizaki T, 2019. Characterization of pig saliva as the major natural habitat of *Streptococcus suis* by analyzing oral, fecal, vaginal, and environmental microbiota. PLoS One 14, e0215983. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215983

Nakaranurack C, Puttilerpong C, Suwanpimolkul G, 2017. A decennium of etiology and antimicrobial susceptibility patterns in patients with infective endocarditis at a university hospital, Thailand. Jpn J Infect Dis 70, 295–300. https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2016.294

Niazy M, Hill S, Nadeem K, Ricker N, Farzan A, 2022. Compositional analysis of the tonsil microbiota in relationship to *Streptococcus suis* disease in nursery pigs in Ontario. Anim Microbiome 4. https://doi.org/10.1186/s42523-022-00162-3

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.

Okura M, Osaki M, Nomoto R, Arai S, Osawa R, Sekizaki T, Takamatsu D, 2016. Current Taxonomical Situation of *Streptococcus suis*. Pathogens 5, 45. https://doi.org/10.3390/pathogens5030045

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 Trop Med Public Health 41, 1454–1461.

Pappas G, 2013. Socio-economic, industrial, and cultural parameters of pig-borne infections. Clin Microbiol Infect. https://doi.org/10.1111/1469-0691.12262

Rayanakorn A, Katip W, Goh BH, Oberdorfer P, Lee LH, 2019. Clinical manifestations and risk factors of *Streptococcus suis* mortality among Northern Thai population: Retrospective 13-year cohort study. Infect Drug Resist 12. https://doi.org/10.2147/IDR.S233326

Rieckmann K, Müller K, Moter A, Baums CG, Seydel A, 2017. *Streptococcus suis* serotype 9 endocarditis and subsequent severe meningitis in a growing pig despite specific bactericidal humoral immunity. JMM Case Reports 4. https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.005093

Seitz M, Valentin-Weigand P, Willenborg J, 2016. Use of antibiotics and antimicrobial resistance in veterinary medicine as exemplified by the swine pathogen *Streptococcus suis*. Curr Top Microbiol Immunol 398, 103–121. https://doi.org/10.1007/82_2016_506

Soares TCS, Paes AC, Megid J, Ribolla PEM, Paduan KS, Gottschalk M, 2014. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* isolated from clinically healthy swine in Brazil. Can J Vet Res 78.

Takeuchi D, Kerdsin A, Pienpringam A, Loetthong P, Samerchea S, 2012. Population-Based Study of *Streptococcus suis* Infection in Humans in Phayao Province in Northern Thailand. PLoS One 7. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031265

Thongkamkoon P, Kiatyingangsulee T, Gottschalk M, 2017. Serotypes of *Streptococcus suis* isolated from healthy pigs in Phayao Province, Thailand. BMC Res Notes 10. https://doi.org/10.1186/s13104-016-2354-2

Waack U, Nicholson TL, 2018. Subinhibitory concentrations of amoxicillin, lincomycin, and oxytetracycline commonly used to treat swine increase *Streptococcus suis* biofilm formation. Front Microbiol 9. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02707

Wangkaew S, Chaiwarith R, Tharavichitkul P, 2006. *Streptococcus suis* infection: a series of 41 cases from Chiang Mai University Hospital.J infect 52(6), 455–460. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2005.02.012

Wiwanitkit V, 2017. *Streptococcus suis* meningitis in Thailand: A summary of case 101 reports. J Neuroinfectious Dis 08. https://doi.org/10.4172/2314-7326.1000264

Wongjittraporn S, Teerasukjinda O, Yee M, Chung HH, 2014. *Streptococcus suis* meningoencephalitis with seizure from raw pork ingestion: a case report. Hawaii J Med Public Health 73, 13–14.

Wongnak P, Wiratsudakul A, Nuanualsuwan S, 2020. A risk assessment of pathogenic *Streptococcus suis* in pork supply chains and markets in Thailand. Food Control 118, 107432. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107432

Xu X, Tang Q, Luo R, 2021. Purulent meningitis caused by *Streptococcus suis*: a case report. Chinese J Neurol 54. https://doi.org/10.3760/cma.j.cn113694-20200512-00347

Zhou Y, Dong X, Li Z, Zou G, Lin L, Wang X, Chen H, Gasser RB, Li J, 2017. Predominance of *Streptococcus suis* ST1 and ST7 in human cases in China, and detection of a novel sequence type, st658. Virulence 8. https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1243193