

6-1-1990

## ซีโรไทป์ของเชื้อฮิโมฟิลัสพลาสมาโมนิตี ที่แยกได้ในประเทศไทย

วันทนีย์ เนรมิตมานสุบ

ไพโรจน์ มินเต็น

จิรา วาญโชติ

รัชณี ศิลยสิทธิ์

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

### Recommended Citation

เนรมิตมานสุบ, วันทนีย์; มินเต็น, ไพโรจน์; วาญโชติ, จิรา; and ศิลยสิทธิ์, รัชณี (1990) "ซีโรไทป์ของเชื้อฮิโมฟิลัสพลาสมาโมนิตี ที่แยกได้ในประเทศไทย," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 20: Iss. 2, Article 3.

DOI: <https://doi.org/10.56808/2985-1130.1546>

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol20/iss2/3>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

# เชื้อโรโทปของเชื้อฮีโมฟิลัสพลูโรนิวโมนีอ์ ที่แยกได้ในประเทศไทย

วันทนี เนรมิตมานสุข<sup>1</sup>  
จิรา วายโชติ\*

ไพโรจน์ มินเด็น<sup>1</sup>  
รัตน์ ศิลปสิทธิ์

## บทคัดย่อ

จากสุกรที่ตายด้วยโรคพลูโรนิวโมนีอ์ 5 ฟาร์ม ผลการตรวจ มหพยาธิและจุลพยาธิ บ่งชี้ว่าเป็นปอดบวมชนิดพลูโรนิวโมนีอ์ จากการเพาะแยกเชื้อทางแบคทีเรียพบ *Haemophilus pleuropneumoniae* การตรวจหาซีโรโทปของเชื้อที่แยกได้ พบซีโรโทป 1, 2, 3, 5 โดยวิธี rapid plate agglutination test และ agar gel diffusion test สำหรับการตรวจหาความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ พบว่าเชื้อเหล่านี้ไวต่อแอมพิซิลินมากที่สุด

คำสำคัญ : ฮีโมฟิลัส พลูโรนิวโมนีอ์, ซีโรโทป, ประเทศไทย

## บทนำ

โรคพลูโรนิวโมนีอ์ในสุกร เกิดจากเชื้อแบคทีเรียชื่อ *Haemophilus pleuropneumoniae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ต้องการ "V factor" ในการเจริญเติบโตโรคพลูโรนิวโมนีอ์เป็นโรคระบบทางเดินหายใจที่สำคัญของสุกรทั่วโลก (Nicolet, 1986) เริ่มพบมีการระบาดของโรคนี้ตั้งแต่

ปี ค.ศ. 1957 ที่ประเทศอังกฤษ (Pattison et al., 1957) ค.ศ. 1963 ที่อเมริกา (Olander, 1963) ค.ศ. 1974 ที่ออสเตรเลีย (Mylrea, 1974) ค.ศ. 1976 ที่ไต้หวัน (Hsu et al., 1976) ค.ศ. 1978 ที่ประเทศญี่ปุ่น (Chang, 1978) สุกรที่ไม่เคยมีภูมิคุ้มกันของโรคนี้อยู่ อัตราการตายจะค่อนข้างสูง สำหรับสุกรที่ติดเชื

<sup>1</sup> สถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตสัตว์แห่งชาติ กองวิชาการ กรมปศุสัตว์

\* National Animal Health and Production Institute

ในลักษณะเรื้อรังจะเป็นตัวในการแพร่โรค (Nielsen and Mandrop, 1977) โรคนี้ มีอาการคล้ายกับโรคทางระบบหายใจอื่น ๆ คือ มีไข้ หายใจลำบาก ไอ เบื่ออาหาร ใน 4 วันแรกที่เกิดโรคระบาดสัตว์จะตาย เป็นจำนวนมาก หลังจากนั้นการตายจะลดลง แม้ว่าในประเทศไทยจะมีรายงานการพบโรคปอดบวมชนิดพลุโรนิวโมเนีย ในลูกวัวแล้วก็ตาม (เทอด, 1986) แต่ยังไม่มียารายงานการแยกเชื้อ *H. pleuropneumoniae* ที่เป็นสาเหตุของโรค เนื่องจากมีความจำเป็นเกี่ยวข้องกับการป้องกัน ควบคุม และการใช้ยาที่ถูกต้องในการรักษาโรคนี้ คณะผู้รายงานจึงได้พยายามแยกเชื้อ *H. pleuropneumoniae* จากเนื้อเยื่อปอด เพื่อทดสอบหา serotype ว่าแต่ละฟาร์มเป็น serotype ใดระบาด และมีความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดใดบ้าง

**อุปกรณ์และวิธีการ**

ซากสัตว์และตัวอย่างปอด ที่นำส่งตรวจที่สถาบันสุขภาพสัตว์และผลิตภัณฑ์แห่งชาติ ได้ทำการตรวจดังนี้

1. ดูวิธีการด้วยตาเปล่า (มหัพยาธิ)
2. ดูวิธีการด้วยกล้องจุลทรรศน์ (จุลพยาธิ) โดยใช้เนื้อเยื่อปอดที่แช่ 10% buffer formalin ผ่านขบวนการวิธีมาตรฐานทางพยาธิวิทยา
3. เพาะแยกเชื้อ *H. pleuropneumoniae* ใน blood agar (5% sheep blood) และขีดทับด้วยเชื้อ *Staphylococcus*

*epidermidis* ที่เป็นตัวให้ "V" factor อบเชื้อในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

แยกเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เพาะลงใน Sawata's agar (Kume et al., 1978) เพื่อนำไปตรวจดูรูปร่างและลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ ตามวิธีของ Biberstein (1977)

4. ตรวจหา serotype โดยวิธี rapid plate agglutination test และ agar gel diffusion test ทั้งนี้ใช้ antiserum ที่ทำจากกระต่ายพันธุ์ Newzealand white โดยฉีดเชื้อ *H. pleuropneumoniae* serotype 1 ถึง serotype 10 (strain 4074, 1536, 1421, M62 K17, FemØ WF83, X-1, CVJ 13261, D13039 ตามลำดับ)

Plate agglutination test ใช้เชื้อ *H. pleuropneumoniae* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากสัตว์ เพาะใน Sawatas agar 6 ช.ม. นำ 1 ลูบของเชื้อผสมให้เข้ากับ antiserum บนแผ่นกระดาษ อ่านผลโดยดูปฏิกิริยาแอกกลูตินเนชั่นของเชื้อ

สำหรับ agar gel diffusion test ทำตามวิธีของ Gunnarsson (1979) โดยใช้ phenol extract water antigen จากเชื้อที่แยกได้

5. การหาความไวของเชื้อต่อยา-  
ต้านจุลชีพ ใช้เชื้อบริสุทธิ์ ที่แยก  
ได้จากสัตว์ ทำตามวิธี Single  
disc diffusion method  
(Bauer et al, 1966) แต่ได้  
เพิ่ม DPNH ขนาด 5 ไมโคร-  
กรัมต่อ 1 มล. ของอาหาร  
เลี้ยงเชื้อ

**ผล**

1. การตรวจซาก พบปอดและเยื่อหุ้ม  
ปอดอักเสบเป็นสีแดงเข้มไปจนคล้ำ บริเวณ  
ที่อักเสบมี fibrin สีเหลืองปกคลุม บาง  
ส่วนของ fibrin ติดกับผนังช่องอก
2. การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์  
พบวิธีการของ necrotizing pleuro-

pneumonia ซึ่งประกอบด้วยหย่อมเลือด  
(hemorrhages) fibrin, debris  
และ inflammatory cell ชนิด mono-  
nuclear cell พบ thrombosis ใน  
ปอดคู่กร 1 ตัว พยาธิสภาพของปอดที่กล่าว  
ข้างต้นร่วมกับเยื่อหุ้มปอดอักเสบ (pleu-  
ritis) ซึ่งเป็นวิธีการเฉพาะของ (pleu-  
ropneumonia (Nicolet, 1986)

3. ผลการเพาะเชื้อแบคทีเรีย พบ  
เชื้อ *H. pleuropneumoniae*

4. ผลการตรวจ serotype ของ  
เชื้อที่แยกได้ทั้ง rapid plate agglu-  
tination test และ agar gel dif-  
fusion test พบ serotype 1,2,3,5

5. ผลการทดสอบหาความไวของเชื้อ  
ต่อยาด้านจุลชีพตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การทดสอบความไวของเชื้อ *H. pleuropneumoniae* ต่อยาด้านจุลชีพ

Drug / ฟาร์มที่	1	2	3	4	5
Ampicillin (10 ug, Difco)	S	S	S	S	S
Chloramphenical (30 ug, Difco)	S	S	S	S	R
Gentamycin (10 ug, Difco)	S	R	R	R	R
Polymycin B (300 units, Difco)	S	R	S	S	R
Terramycin (30 ug, Difco)	R	R	R	R	R
Colistin (10 ug, Difco)	R	R	R	R	R
Streptomycin (10 ug, Difco)	R	R	R	R	R
Sulfamethoxazole+Trimethoprim (23.75 ug, 1.25 ug, Difco)	S	R	R	S	R

R = resistance, S = Sensitive

## วิจารณ์

การศึกษาถึง serotype ที่มีอยู่ในประเทศ เป็นสิ่งสำคัญทางด้านระบาดวิทยา เพื่อการกักกันสัตว์ การกำจัด และควบคุมโรค รวมถึงการผลิตและการใช้วัคซีนให้ได้ผล จากการทดสอบเชื้อ *H. pleuropneumoniae* ในประเทศไทย ครั้งนี้พบ serotype 1,2,3,5 ซึ่งคล้ายกับที่พบได้ในประเทศแคนาดาคือ serotype 1,2,3,5 และ untyped (Sebunya, 1983) ในปัจจุบันนี้เชื้อ *H. pleuropneumoniae* ทั่วโลกมีมากกว่า 10 Serotype (Nielsen, 1986) และ serotype ที่มีการระบาดในแต่ละประเทศแตกต่างกัน (Gunnarsson et al., 1978) ประเทศไทยได้มีการนำเข้าสุกรจากหลายประเทศ ถ้าได้นำการสำรวจอย่างทั่วถึงอาจพบ serotype มากกว่าที่พบในครั้งนี้

การเพาะแยกเชื้อจากสุกรที่ตายด้วยโรคพูลโมเนียวโมเนีย อย่างกระชั้นชิด แยกได้เชื้อ *H. pleuropneumoniae* ที่ค่อนข้าง

ข้างบริสุทธิ์ ส่วนในรายที่เป็นแบบเรื้อรังพบเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นปะปนอยู่มาก เช่น *P. Multocida*, *E. coli*, *Streptococcus spp.* *Proteus spp.* ทำให้ยากต่อการแยกเชื้อ *H. pleuropneumoniae* เชื้อ *H. pleuropneumoniae* ที่แยกได้ครั้งนี้มีความไวต่อยา แอมพิซิลิน ทุกตัว ดังนั้นการรักษาจึงควรใช้ยา แอมพิซิลินยาที่ทดสอบแล้วให้ผลลบได้แก่ Streptomycin, Colistin, และ Terramycin ซึ่งพบว่า เชื้อมีการต้านทานยาก่อนข้างสูงอาจทำให้เป็นปัญหาในการรักษาได้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผศ. นายสัตวแพทย์ รัชชัย ศักดิ์ภู่อรัมย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้อนุเคราะห์เชื้อ *Haemophilus pleuropneumoniae* standard strain บางตัวเพื่อใช้ในการเตรียม antiserum

**เอกสารอ้างอิง**

- เทอด เทศประทีป. 1986 (2529). โรคปอดบวม (ปอดอักเสบ) ในสุกร. J. of Thai Vet. Practitioner circle 8 (1):29-37.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., and Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol, 45:493.
- Biberstein, E.L., Gunnarsson, A., and Hurvell, B. 1977. Cultural and biochemical criteria for the identification of *Haemophilus* spp. from swine. Am. J. Vet. Res. 38:7-11.
- Chang, C., Yamamoto, K., and Konishi, S. et al. 1978. Isolation and antigenic characterization of *Haemophilus parahaemolyticus* from porcine pneumonia. Jpn. J. Vet. Sci. 40:103-107.
- Gunnarsson, A., Hurvell, B., and Biberstein, E.L. 1978. Serologic studies of porcine strains of *Haemophilus parahaemolyticus* (pleuropneumonia) antigenic specificity and relationship between serotypes. Am. J. Vet. Res. 39:1286-1292.
- Gunnarsson, A. 1979. Serologic studies on porcine strains of *Haemophilus parahaemolyticus* (pleuropneumonia): Extraction of type specific antigens. Am. J. Vet. Res. 40:469-472.
- Hsu, F.S., Weng, C.N., and Chou, N.Y., et al. 1976. Pathogenicity of *Haemophilus parahaemolyticus* for swine. 4<sup>th</sup> Int. Pig. Vet. Soc. Congr. p. 20.
- Kume, K., Sawata, A., and Nakase, Y. 1978. *Haemophilus* infections in chickens. 1. Characterization of *Haemophilus paragallinarum* isolated from chickens affected with coryza. Jpn. J. Vet. Sci. 40:65-73.
- Mylrea, P.J., Fraser, G., and Mac Queen, P., et al. 1974. Pleuropneumonia in pigs caused, by *Haemophilus parahaemolyticus*. Aust. Vet. J. 70: 255-259.
- Nicolet, J. 1986. *Haemophilus* infections. In : Diseases of swine, 6<sup>th</sup> ed. Iowa state University Press. USA. 428-433.
- Nielsen, R., and Mandrup, M. 1977. Pleuropneumonia in swine caused by *Haemophilus parahaemolyticus* : a study of the epidemiology of the infection. Nord. Veteriner. Med. 29:465-473.
- Nielsen, R. 1986. Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains and proposal of a new serotype : serotype 12. Acta. Vet. Scand. 27:453-455.
- Olander H.J. 1963. A septicemic disease of swine and its causative agent, *Haemophilus parahaemolyticus*. PhD Thesis. University of California, Davis.
- Pattison, I.H. Howell, DC., and Elliott, J. 1957. A *Haemophilus* - like organism isolated from pig lung and the associated pneumonic lesion. J. Comp. Pathol. 67:320-329.
- Sebunya, T.N.K., and Saunder, J.R. 1983. *Haemophilus pleuropneumoniae* infection in swine, JAVMA, Vol. 182: 1331-1337.

## Serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* isolates in Thailand

*Wantanee Neramitmansook*<sup>1</sup>  
*Chira Vayuchote*<sup>1</sup>

*Pairoj Minden*<sup>1</sup>  
*Rachanee Sinlapasith*<sup>1</sup>

### Abstract

A distinctive pneumonic lesions were discovered from pig's lungs dying of swine pneumonia outbreaks from 5 different farm. Necropsy and *microscopical* findings revealed leuropneumonic lesions, that which *Haemophilus peluropneumoniae* were isolated. Serotyping by rapid plate agglutination test and agar gel diffusion test exhibited the serotypes 1,2,3 and 5. The organisms were highly susceptible to ampicillin.

**Keyword (s) : *Haemophilus pleuropneumoniae*, serotyping, Thailand**

---

<sup>1</sup>National Animal Health and Production Institute