

1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัยและการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

Bacteriophages หรือ phages (ฟาจ) เป็นไวรัสซึ่งสามารถเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรีย ในระยะ lytic phages จะทำให้เซลล์ของแบคทีเรียแตกออกซึ่งจะทำให้เชื้อแบคทีเรียตายในที่สุด การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียกำลังเป็นปัญหาที่สำคัญทั่วโลก การใช้ฟาจรักษาโรคเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพซึ่งมีการพัฒนาเพื่อนำไปใช้รักษาทางคลินิกทั้งในยุโรปและอเมริกา (Pirisi, 2000)

ฟาจไวรัสที่อาศัยในเซลล์แบคทีเรียแต่ละชนิดมีความจำเพาะต่อโฮสต์สูง ฟาจไวรัสสามารถคัดเลือกและแยกได้จากสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น น้ำเสีย ทางระบายน้ำเสีย อุจจาระ ดิน น้ำพุ เป็นต้น ฟาจสามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคที่ดื้อยาปฏิชีวนะได้ ป้องกันการติดเชื้อได้และสามารถใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะได้ ฟาจที่มีความจำเพาะต่อแบคทีเรียที่ก่อโรคได้จะมีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสัตว์เนื่องจากฟาจไวรัสมีความจำเพาะต่อโฮสต์ที่เป็นแบคทีเรียสูง สามารถให้กิน ทา ฉีด หรือใช้ในขบวนการผ่าตัดได้ ฟาจไวรัสที่ถูกคัดเลือกให้มีความจำเพาะที่จะฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคนั้นๆ จะไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อของโฮสต์ และแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรคในโฮสต์ ไวรัสนี้จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เพียงแค่ให้ครั้งเดียว ปริมาณเล็กน้อยก็มีผลเพียงพอต่อการรักษาได้ (Sandeep, 2006; Weber-Dabrowska et al., 2003) มีรายงานการใช้ฟาจในการรักษาและป้องกันโรคจากแบคทีเรียในสัตว์ทดลองตั้งแต่ปี 1980 ได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio vulnificus*, *Salmonella* spp., *Enterococcus faecium* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น (Matsuzaki et al., 2005)

โรค Colibacillosis ยังมักพบในสุกรช่วงหลังหย่านม และที่มีความเครียดสูงจากการเปลี่ยนอาหาร การตอน การทำวัคซีน การรวมฝูง ทำให้เชื้อที่มีปกติในลำไส้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และสร้างสารพิษขึ้น ทำให้สุกรตายได้ สำหรับเชือนี้ค่อนข้างง่าย การรักษาไม่ได้ผล พบเกิดบ่อยมากในลูกสุกรแรกคลอดและอนุบาล ลูกสุกรอุจจาระร่วง สีขาวเทา ไข้สูง ขาดน้ำรุนแรง ตาจมลึกตาย เป็นในสุกรอายุ 3 วัน - 12 สัปดาห์ และลูกโคอายุต่ำกว่า 2 สัปดาห์ มีอาการรุนแรงและอัตราการตายสูง ส่วนใหญ่เกิดกับลูกโคตั้งแต่แรกเกิด ถึง 5 วัน โดยทั่วไปลูกโคจะแสดงอาการทันทีด้วยการถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ มีสีเหลืองปนขาวหรือขาว (White scour) มีเลือดปน กลิ่นเหม็น ชิม มีไข ไม่กินอาหาร มีอาการขาดน้ำ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ขนหยาบกระด้าง ก้าวเดินไม่ค่อยออก อาจมีอาการปวดท้อง หรืออาการทางประสาทร่วมด้วย ทำให้ลูกโคตาย ภายใน 1-3 วัน ลูกโคที่เป็นอย่างเฉียบพลันจะตายทันทีโดยไม่แสดงอาการท้องร่วงหรือมีไขในรายที่เป็นเรื้อรังจะชูปนม ท้องป่อง ท้องเสีย แคระแกรน มักมีอาการปอดบวม ข้ออักเสบ เยื่อช่องท้องอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ หรือเยื่อหัวใจอักเสบร่วมด้วย (<http://www.thaicattle.com/knowledge/know12.php>)

สำหรับโรคที่เกิดจากเชื้อ *Campylobacter* spp. จากรายงานการศึกษา *Campylobacter* phages ซึ่งแยกได้จากลำไส้ของไก่เนื้อ เป็ด และน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ ฟาจ 12 อันถูกนำไปทดสอบ

ความสามารถในการติดต่อเข้าไปในเชื้อ *Campylobacter* Penner serotypes ซึ่งก่อโรคในสัตว์ปีก และคนในประเทศเดนมาร์กพบว่าฟาจ 89% สามารถติดต่อเข้าไปใน *Campylobacter jejuni* และ 14% ติดต่อเข้าไปใน *Campylobacter coli* จากการตรวจด้วยกล้อง EM พบว่าฟาจเหล่านี้อยู่ใน Family *Myoviridae* ผลจากการศึกษาครั้งนี้จะถูกนำไปใช้ในการควบคุมโรค *Campylobacteriosis* ในไก่เนื้อในประเทศเดนมาร์ก (Hansen et al., 2007) ได้มีการศึกษาประเมินประสิทธิผลของ *Pseudomonas* phages ที่แยกได้จากแม่น้ำที่มีความสกปรกสูงในเมืองโคชิ ประเทศญี่ปุ่นโดยใช้เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* แล้วนำมารักษาหนูไมซ์ที่ทดลองติดเชื้อนี้ทางระบบเดินอาหาร โดยการป้อนฟาจทางปากพบว่าลดอัตราการตายของหนูทดลองโดยมีอัตราการรอดตาย 66.70% และ 0% ในหนูที่ป้อนด้วยน้ำเกลือ พบนอกจากนี้จำนวนเชื้อในอุจจาระ Inflammatory cytokines ในเลือดและตับอยู่ในระดับต่ำกว่าหนูที่รับเชื้อและป้อนด้วยน้ำเกลือ แสดงให้เห็นว่าฟาจที่ให้ทางปากมีผลต่อต้านเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในระบบทางเดินอาหารของหนูไมซ์ (Watanabe et al., 2007) และได้มีการทดลองใช้ *Enterococcus* phages ซึ่งแยกได้จากน้ำเสียของเทศบาล แล้วนำมาทดลองรักษาหนูไมซ์ที่ติดเชื้อทางกระเพาะเลือดจาก *Enterococcus faecium* ที่เคื้อยา Vancomycin โดยฉีดเชื้อเข้าช่องท้อง (i.p.) หนูไมซ์ขนาด 10^6 CFU แล้วฉีดฟาจ (i.p.) ขนาด 3×10^8 PFU หลังฉีดเชื้อ 45 นาทีครั้งเดียว พบว่าอัตราการรอดตายของหนูไมซ์ 100% (Biswas et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีการใช้ประยุกต์ใช้ฟาจในการควบคุมเชื้อที่ก่อโรคในระบบการบำบัดน้ำเสียโดยใช้ Coliphages ในการกำจัดเชื้อ *E.coli* และ *Salmonella* phages ในการกำจัดเชื้อ *Salmonella* เป็นต้น (Withey et al., 2005) มีรายงานงานการใช้ Bacteriophage Esc-A ที่แยกได้จากน้ำเสียขนาด 10^5 CFU ให้ไก่กินทุกวันเพื่อรักษาโรคท้องเสียในไก่ที่เกิดจากเชื้อ *E.coli* สายพันธุ์ 3-1 ไม่พบไก่แสดงอาการท้องเสียใน 2 สัปดาห์ เทียบกับกลุ่มที่ไม่ใช้ฟาจ ผลการรักษาให้ผลดีโดยเปรียบเทียบกับการใช้ยาปฏิชีวนะ Chloromycetin (Xie et al., 2005)

เนื่องจากปัจจุบันเชื้อ *E.coli* ได้มีการพัฒนาคือยาปฏิชีวนะหลายชนิด จากข้อดีของฟาจไวรัสดังกล่าวมาแล้วและสามารถค้นหาและแยกตัวฟาจจากธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมในบริเวณสัตว์ที่อาศัยอยู่ได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการแยกหาฟาจและใช้ฟาจที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *E.coli* แต่ละสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค Colibacillosis ในลูกสุกรในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยนำมาพัฒนาเพื่อใช้ในการป้องกัน รักษาและควบคุมโรค Colibacillosis ในลูกสุกรในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือในระยะต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 แยกหาฟาจจากธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *E.coli* ที่ก่อโรค Colibacillosis ในลูกสุกรในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

1.2.2 ศึกษาประสิทธิผลของฟาจในการป้องกันและรักษาโรค Colibacillosis ในลูกสุกรทดลอง

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1. เก็บตัวอย่างอุจจาระและน้ำเสียจากฟาร์มสุกร อุจจาระสุกรและน้ำเสียจากโรงฆ่าสุกรในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือเพื่อคัดแยกหาฟาจที่มีความจำเพาะต่อ *E.coli* แต่ละสายพันธุ์จำนวน 100 ตัวอย่าง ระยะเวลาการศึกษา 1 ปี

1.3.2 ทุกตัวอย่างส่งตรวจแยกเชื้อ *E.coli* และทดสอบการดื้อยาที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวแพทยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ส่วนการแยกไทป์ของ *E.coli* จะส่งตรวจที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์

1.3.3 ทุกตัวอย่างส่งตรวจคัดแยกหาฟาจที่จำเพาะต่อเชื้อ *E.coli* ที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวแพทยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

1.3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของฟาจในการทำลายเชื้อ *E.coli* ในห้องปฏิบัติการแบบ *In Vitro* ที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวแพทยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

1.3.5 การทดสอบประสิทธิภาพของฟาจในการป้องกันและรักษาโรค Colibacillosis ในลูกสุกรจำนวน 20 ตัว

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1.4.1 ได้ฟาจที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *E.coli* การดื้อยา และไทป์ในลูกสุกรที่เลี้ยงในพื้นที่ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

1.4.2 ทราบประสิทธิภาพของฟาจต่อป้องกันและรักษาโรคจากเชื้อ *E.coli* ในลูกสุกร

1.4.3 หน่วยงานที่น่าผลวิจัยไปใช้ประโยชน์

-กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์