

บทที่ 3

ผลการทดลอง

จากการออกเก็บตัวอย่างอุจจาระสุกรโดยวิธี rectal swab จากฟาร์มสุกรในท้องที่จังหวัด
 เลข ในระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึงเดือน มิถุนายน 2553 จำนวน 25 ตัวอย่าง และตัวอย่างอุจจาระ
 สุกรจากโรงฆ่าสุกรในท้องที่จังหวัดขอนแก่นในระหว่างเดือน กรกฎาคม ถึงเดือน สิงหาคม 2553
 จำนวน 75 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 100 ตัวอย่างจากสุกร 100 ตัวที่มาจากฟาร์มต่างๆกันที่เตรียมเข้ามา
 มาเพาะแยกเชื้อและทดสอบทางชีวเคมีเพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อ *E. coli* ได้ทั้งสิ้น 21 สายพันธุ์ จากนั้น
 นำเชื้อทั้ง 21 สายพันธุ์ มาทดสอบการคัดต่อยาได้ผลดังตารางที่ 1 และภาพที่ 2

Table 1 Interpretative zone diameter (mm) with eight antibiotics of 21 representatives
E. coli strains isolated from fattening pigs

Bacteria strains	Antibiotics							
	P (10µg)	AMP (10µg)	E (15µg)	TE (30µg)	VA (30µg)	CN (10µg)	SXT (25µg)	MTZ (50µg)
A1	0 (R)	0 (R)	20 (MS)	0 (R)	0 (R)	10 (R)	27 (S)	0 (R)
A2	0 (R)	0 (R)	22 (MS)	11 (R)	0 (R)	28 (S)	33 (S)	0 (R)
G5	0 (R)	18 (MS)	20 (MS)	28 (S)	13 (R)	20 (S)	28 (S)	0 (R)
G8	0 (R)	0 (R)	20 (MS)	0 (R)	0 (R)	11 (R)	0 (R)	0 (R)
G10	0 (R)	0 (R)	21 (MS)	0 (R)	0 (R)	25 (S)	20 (S)	0 (R)
G13	0 (R)	0 (R)	20 (MS)	9 (R)	0 (R)	27 (S)	31(S)	0 (R)
N1	8 (R)	11 (R)	19 (MS)	0 (R)	12 (R)	25 (S)	25 (S)	0 (R)
N2	0 (R)	19 (MS)	25 (S)	0 (R)	14 (R)	22 (S)	31 (S)	0 (R)
N3	0 (R)	12 (R)	22 (MS)	0 (R)	0 (R)	26 (S)	22 (S)	0 (R)
N4	0 (R)	19 (MS)	20 (MS)	0 (R)	0 (R)	22 (S)	26 (S)	0 (R)
N5	0 (R)	0 (R)	22 (MS)	0 (R)	13 (R)	22 (S)	*28 (S)	0 (R)
N6	9 (R)	12 (R)	21 (MS)	27 (S)	0 (R)	23 (S)	28 (S)	0 (R)
N7	0 (R)	19 (MS)	22 (MS)	0 (R)	0 (R)	27(S)	0 (R)	0 (R)
N8	0 (R)	19 (MS)	25 (S)	26 (S)	0 (R)	28 (S)	29 (S)	0 (R)
N9	0 (R)	19 (MS)	26 (S)	0 (R)	0 (R)	29 (S)	0 (R)	0 (R)
N10	0 (R)	16 (R)	23 (S)	10 (R)	10 (R)	23 (S)	0 (R)	0 (R)
T1	0 (R)	0 (R)	19 (MS)	10 (R)	0 (R)	9 (R)	0 (R)	0 (R)
T2	0 (R)	0 (R)	17 (MS)	0 (R)	0 (R)	*22 (S)	0 (R)	0 (R)
T3	0 (R)	0 (R)	20 (MS)	0 (R)	0 (R)	8 (R)	0 (R)	0 (R)
T8	0 (R)	0 (R)	18 (MS)	10 (R)	10 (R)	25 (S)	29 (S)	0 (R)
T11	9 (R)	19 (MS)	21 (MS)	10 (R)	10 (R)	24 (S)	16 (MS)	0 (R)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0 (R)	0 (R)	27 (S)	0 (R)	11 (R)	29 (S)	0 (R)	0 (R)

Susceptibility expressed as (R), resistant; (MS), moderately susceptible; (S),
 sensitive; susceptible

P=penicillin; AMP= ampicillin; E=erythromycin; TE=tetracycline; VA=vancomycin;
 CN= gentamicin; SXT= sulfamethoxazole-trimethoprim; MTZ= metronidazole
 ATCC= American Type Culture Collection

*Bacteria isolates showed pin point colonies appearance within inhibition zones to
 these antibiotics.

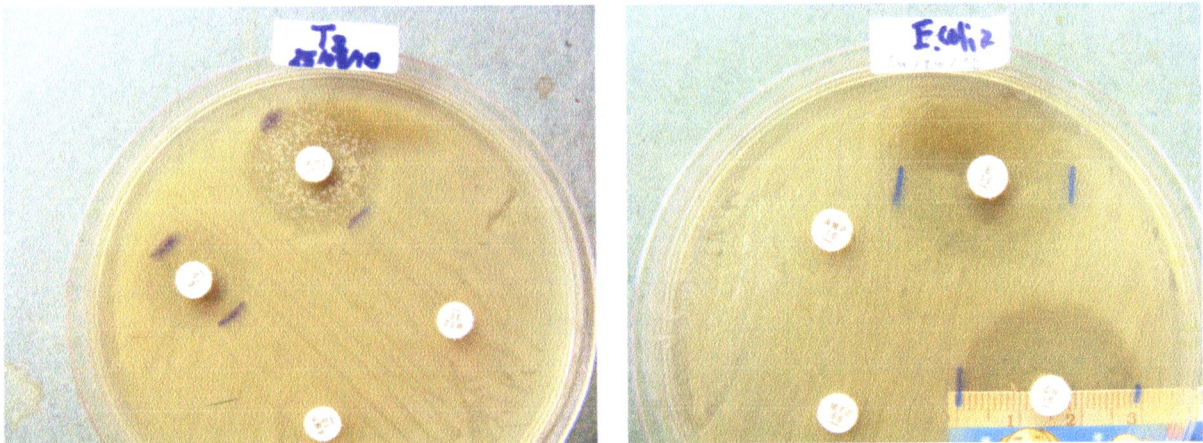


Figure 2 Antimicrobial susceptibility tests of *E. coli* strains using the disk diffusion method



Figure 3. Metallic sheen and dark colonies of *E. coli* in EMB agar



Figure 4. *E.coli* isolates stocks in nutrient agar slant with 40% glycerol added

จากการออกเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากบริเวณโรงฆ่าสุกรในท้องที่จังหวัดขอนแก่น (โรงฆ่าสุกรเดียวกันกับที่เก็บตัวอย่างอุจจาระสุกร) จำนวน 100 ตัวอย่างเพื่อแยกหา bacteriophage ที่จำเพาะต่อเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธี double layer agar นั้น พบ phage ที่สามารถทำลาย host ที่เป็น *E.coli* (มองเห็นลักษณะ plaques ได้ชัดเจน) ได้ 2 สายพันธุ์ คือ *E. coli* phage P01 และ *E. coli* phage P05 (ภาพที่ 5) จากนั้นนำ phage ที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์และเก็บไว้ที่ 4 °C เพื่อรอการทดสอบ ประสิทธิภาพการทำลายเชื้อ *E. coli* ในหลอดทดลองและในลูกสุกรอย่างนมต่อไป



Figure 5 Single phage plaques appeared in the *E.coli* host strain

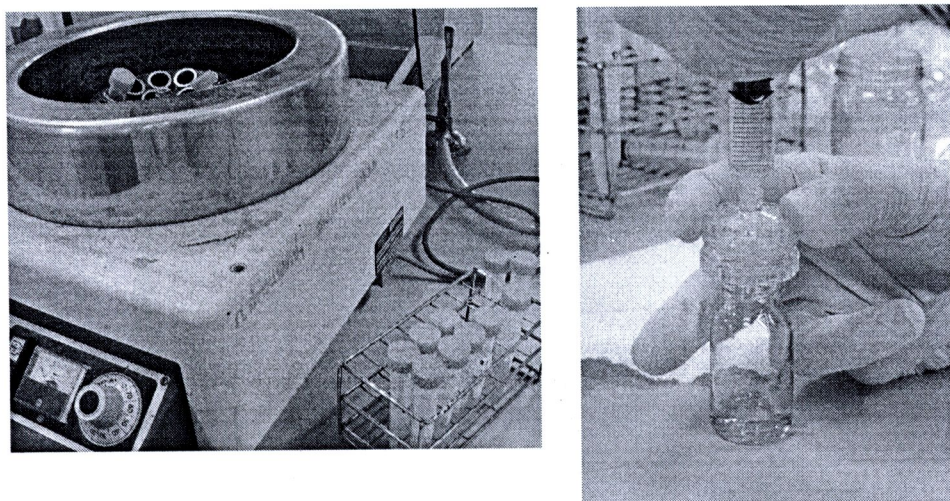


Figure 6. Phage isolation process

ผลการตรวจ serogroup ของเชื้อ *E. coli* ทั้ง 21 สายพันธุ์ ด้วยน้ำยาแอนตี้ซีรัมสำหรับตรวจแยก serogroup ของ *E. coli* (O&K) polyvalent 11 โดยส่งตรวจที่ สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ และทดสอบ serotype O157:H7 ของเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธี latex agglutination test (*Escherichia coli* O157 latex test; Oxoid Ltd.) พบว่า ทุกสายพันธุ์ให้ผลลบต่อ serotype O157:H7 และให้ผลบวกต่อ O serogroup 13 serogroups ได้แก่ O28ac จำนวน 2 สายพันธุ์, O29 จำนวน 3 สายพันธุ์, O141 จำนวน 6 สายพันธุ์ และ O55, O86, O111, O114, O119, O124, O125, O138, O139, O142 จำนวนอย่างละ 1 สายพันธุ์

การทดสอบผลการต้านเชื้อ *E. coli* O141 ของ bacteriophage P01 ในลูกสุกรหย่านม ได้แสดงดังภาพที่ 7, 8 และตารางที่ 2, 3



Figure 7 The second day of postweaning pigs after sprayed with *E. coli* O141 and bacteriophage P01

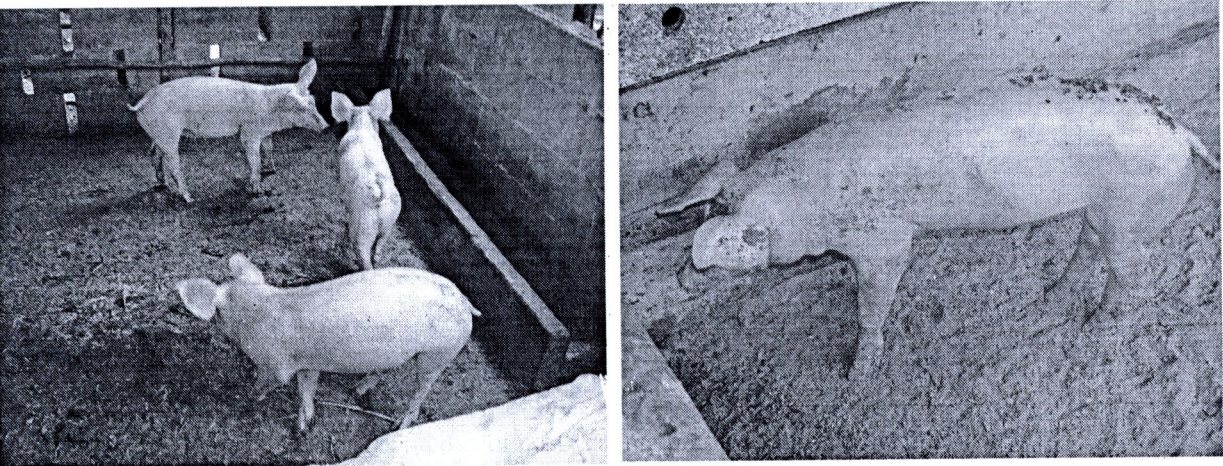


Figure 8 The second day of postweaning pigs after sprayed with *E. coli* O141 without bacteriophage P01 spraying

Table 2 Effect of bacteriophage P01 on *Escherichia coli* counts in the fecal samples of pigs¹

Treatment groups ²	Population of <i>E. coli</i> (log CFU /g)						
	Time after bacterial spraying (d)						
	0	1	2	3	7	14	21
Group I	2.95±0.14 ^a	7.30±0.11 ^b	6.35±0.15 ^b	5.92±0.20 ^b	4.47±0.17 ^a	4.63±0.22 ^a	4.38±0.14 ^a
Group II	2.81±0.27 ^a	5.89±0.15 ^c	5.53±0.20 ^c	5.48±0.20 ^b	4.15±0.19 ^a	4.23±0.21 ^a	4.12±0.13 ^a
Group I (D)	-	8.85±0.24 ^a	9.23±0.21 ^a	8.87±0.18 ^a	8.45	-	-

¹Data were presented as mean±SD (n=10).
²Group I: control group, in which the pigs were sprayed with *E.coli* O141 without treatment; Group II was sprayed with *E. coli* and treated with bacteriophage P01; Group I (D) included the dead pigs from group I . A dash (-) indicates no dead pigs
^{abc} means in the same column with different superscripts were significantly different (p<0.05).

Table 3 Effect of bacteriophage P01 on the isolation of *Escherichia coli* from the blood samples of pigs

Treatment groups ¹	n pigs positive/total							Mortality rate (%)
	Time after bacteriophage spraying (d)							
	0	1	2	3	7	14	21	
Group I	0/10	1/10	3/9	1/6	1/5	0/5	0/5	50
Group II	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0

¹Group I: control group, in which the pigs were sprayed with *E.coli* O141 without treatment; Group II was sprayed with *E. coli* and treated with bacteriophage P01