

บทนำ

เชื้อซัลโมเนลลา เป็นสาเหตุทำให้เกิดท้องร่วงในคน พบได้ทั่วโลกและมีอัตราการเกิดโรคเพิ่มขึ้นทุกปี ส่วนใหญ่การติดเชื้อในคนเกิดจากการบริโภคอาหารและผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนจากผลิตภัณฑ์จากสัตว์ โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์จากไข่ไก่ (Saitanu *et al.*, 1994) และไก่ (Sasipreeyajan *et al.*, 1996) จากตลาด ซึ่ง Boonmar *et al.* (1998) ได้รายงานการแยกเชื้อ *Salmonella* spp. ในระหว่างปี พ.ศ. 2536-2539 ในประเทศไทย จากเนื้อไก่แช่แข็ง 7,285 ตัวอย่าง ซึ่งชนิดของซีโรวาร์ที่พบมากที่สุด ในเนื้อไก่แช่แข็งคือ *S. Enteritidis* (25.6%) ส่วน Padungtod and Kaneene (2006) ได้สำรวจความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ระหว่างปี 2543-2546 จากตัวอย่างทั้งหมด 2,141 ตัวอย่าง พบเชื้อซัลโมเนลลาร้อยละ 4, 9 และ 57 ในฟาร์มไก่, โรงเชือดไก่ และเนื้อไก่จากตลาดตามลำดับ ส่วน Minami *et al.* (2010) ได้ทำการสำรวจเชื้อ *Salmonella*, *E. coli* O157, *L. monocytogenes*, *Shigella* และ *V. parahaemolyticus* จากตัวอย่างเนื้อวัว เนื้อไก่ เนื้อหมู กุ้ง และหอยนางรมจากตลาดสดและตลาดซูเปอร์มาร์เก็ต ในปทุมธานีและกรุงเทพฯ โดยเฉพาะเชื้อ *Salmonella* ที่แยกเนื้อไก่พบว่ามีความถี่ของการติดเชื้อที่มากกว่า 3 ชนิดที่พบมากที่สุดคือ Sul-Tet-Sul (13/45 ตัวอย่าง) นอกจากนี้ยังมีการสำรวจความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาในโรงฟักไข่ จังหวัด ชลบุรี นครราชสีมา ลำพูน และสระบุรี ระหว่างปี 2545 – 2550 จากตัวอย่างมูลลูกไก่แรกเกิด และ/หรืออวัยวะ ภายในของลูกไก่ในไข่ตายโคม จำนวน 8,465 ตัวอย่าง พบเชื้อซัลโมเนลลา 16.6% (1,405/8,465 ตัวอย่าง) ซีโรวาร์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ *S. Enteritidis* 9.7% (825/8,456 ตัวอย่าง) รองลงมา ได้แก่ *S. Mbandaka* (1.4%), *S. Altona* (0.7%), *S. Kentucky* (0.5%) และ *S. Stanley* (0.4%) (ลัดดา และสมหมาย, 2551) ซึ่งการพบเชื้อในโรงฟักไข่จะทำให้ลูกไก่มีการติดเชื้อซัลโมเนลลาไปด้วย ซึ่งจะเป็นปัญหาต่อการเลี้ยงและยังอาจพบการปนเปื้อนของเชื้อในการชำแหละไก่ด้วย

เมื่อนำเชื้อที่แยกได้ในโรงฟักมาทดสอบการดื้อยาต้านจุลชีพจำนวน 13 ชนิด ด้วยวิธี disk diffusion ต่อ เชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้พบว่าดื้อต่อยา nalidixic acid สูง (62.9%) และมีอัตราการดื้อยาต่ำต่อ colistin (2.5%), norfloxacin (4.5%) และ gentamicin (8.7%) สำหรับเชื้อ *S. Enteritidis* มีแนวโน้มดื้อต่อยา 3 ชนิดเพิ่มขึ้น ได้แก่ nalidixic acid จาก 60.9% ในปี 2545 เป็น 80% ในปี 2549, amoxicillin จาก 0 ในปี 2545 เป็น 31.6% ในปี 2550 และ ampicillin จาก 3.7% ในปี 2545 เป็น 31.6% ในปี 2550 การศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่า *S. Enteritidis* เป็นปัญหาสำคัญในโรงฟัก ไข่ซึ่งต้องมีมาตรการในการควบคุมอย่างเข้มงวด (ลัดดา และสมหมาย, 2551)

ปัจจุบันประเทศไทยมีการเลี้ยงสัตว์ปีกในระบบ อุตสาหกรรม มีการส่งออกไก่และผลิตภัณฑ์ไปจำหน่ายต่างประเทศ ซึ่งปี 2552 มีมูลค่าส่งออกถึง 49,038 ล้านบาท (แนวน้ำ, 2553) โดยส่งไปจำหน่ายประเทศในสหภาพยุโรปมากที่สุด ซึ่งได้ออกมาตรการด้านความปลอดภัยของอาหาร มีการห้ามนำเข้าสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลา โดยเฉพาะ *S. Enteritidis* (SE) และ *S. Typhimurium* (ST) สหภาพยุโรปจึงได้มีมาตรการควบคุมโรคซัลโมเนลลาใน ฟาร์มสัตว์ปีก รวมทั้งเฝ้าระวังการดื้อยาเพื่อลดปัญหาการดื้อยาใน สัตว์ และคน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่
2. เพื่อแยกชนิดซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่
3. เพื่อศึกษารูปแบบการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่

การตรวจเอกสาร

ลักษณะของเชื้อ *Salmonella* spp.

เชื้อ *Salmonella* spp. จัดอยู่ในวงศ์ *Enterobacteriaceae* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีรูปร่างเป็นท่อนสั้น มีขนาดความกว้าง 0.5 μm และยาว 2-4 μm ไม่สร้างสปอร์ และแคปซูล เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบตัว (peritrichous flagella) ยกเว้น *S. Pullorum* และ *S. Gallinarum* (Jordan and Pattison, 1996) เชื้อสามารถเจริญได้ในอุณหภูมิตั้งแต่ 8-45 ° C และสามารถทนต่อความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำได้ดีแม้ในสถานะแช่แข็ง ซึ่งเชื้อจะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตและสามารถเพิ่มจำนวนได้ใหม่เมื่อนำมาไว้ในอุณหภูมิห้อง (Janda and Abbott, 1998) เชื้อสามารถสร้างกรดและก๊าซ H_2S จากการหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส และให้ผลบวกต่อการทดสอบ catalase, citrate แต่ให้ผลลบต่อการทดสอบ oxidase และ urease (Quinn *et al.*, 1994)

การจัดกลุ่มเชื้อ *Salmonella* spp.

เชื้อ *Salmonella* spp. แบ่งออกได้เป็น 2 สปีชีส์ (species) คือ *Salmonella bongori* และ *Salmonella enterica* โดย *Salmonella enterica* สามารถแบ่งออกได้อีก 6 สปีชีส์ย่อย (subspecies) คือ *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* และ *S. enterica* subsp. *indica* ส่วน *Salmonella bongori* มีเพียง 1 สปีชีส์ย่อย (subspecies) คือ *S. bongori* subsp. *bongori* โดย มีการจำแนกซีโรวาร์ของเชื้อตามหลักการของ Kauffmann-White และปรับปรุงอยู่เป็นประจำจนถึงปี ค.ศ. 2001 ตรวจได้จำนวนมากกว่า 2,500 ซีโรวาร์ดังตารางที่ 1 (Popoff, 2001)

ตารางที่ 1 เชื้อ *Salmonella* spp. ที่มีการจำแนกซีโรวาร์ในปี ค.ศ.2001

Species	Subspecies	Serovar
<i>Salmonella enterica</i>	subsp. <i>enterica</i>	1478
	subsp. <i>salamae</i>	489
	subsp. <i>arizonae</i>	94
	subsp. <i>diarizonae</i>	327
	subsp. <i>houtenae</i>	71
	subsp. <i>indica</i>	12
<i>Salmonella bongori</i>	subsp. <i>bongori</i>	21
รวม		2,501

ที่มา : Popoff (2001)

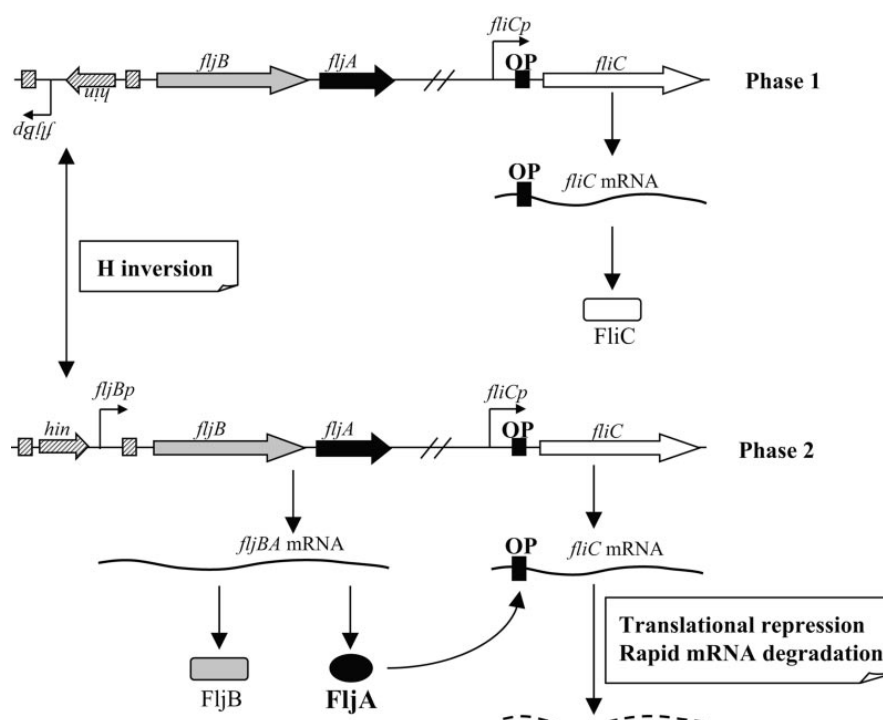
โครงสร้างแอนติเจนของเชื้อ *Salmonella* spp.

ลักษณะโครงสร้างของแอนติเจน O และ H ที่มีความแตกต่างกันในเชื้อ *Salmonella* spp. ทำให้สามารถจำแนกเชื้อออกได้เป็นซีโรวาร์ต่างๆ ได้ตามหลักการของ Kauffmann- White คือ

1. แอนติเจน O (somatic antigen) เป็นสารประกอบไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ (LPS) อยู่บนผิวชั้นนอกของผนังเซลล์ ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วนที่ต่างกัน คือ ส่วนแรกเป็นส่วนที่มีหน่วยซ้ำๆ กันของ oligosaccharide ทำหน้าที่เป็น O แอนติเจน ซึ่ง O แอนติเจนสามารถแบ่งออกได้หลาย O group แต่ละ O group จะมี O factor ย่อยๆ เป็นองค์ประกอบ ซึ่งใช้ในการแยกซีโรไทป์ของเชื้อ *Salmonella* spp. (Fitzgerld *et al.*, 2003) ส่วนที่สองของผนังเซลล์ เป็นส่วนของ core polysaccharide และส่วนที่สามเป็นส่วนของ lipid A

2. แอนติเจน H (flagella antigen) เป็นส่วน filament ของ flagella ซึ่งแอนติเจน H ประกอบด้วยสารโปรตีน ที่เรียกว่า flagellin ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของ flagella ที่อยู่ตรงส่วนกลางของ flagella โดยการแสดงออก (expression) ของ flagellin antigen ถูกควบคุมโดยยีนที่จะ

สร้าง flagellin แต่ละ type เช่น type B flagellin (FljB), inhibitor (FljA) และ type C flagellin (FliC) การสร้างเส้น (flagella) ของเชื้อ *Salmonella* spp. ควบคุมโดยยีน *fljB*, *fljA* และ *fliC* โดยการสร้าง phase 1 เกิดจากการทำงานของโปรโมเตอร์ (*fliCp*) ที่ควบคุมยีน *fliC* ทำให้มีการสร้าง type C flagellin (FliC) ออกมา ซึ่งในขั้นตอนนี้ยีน *fljB* และ *fljA* จะไม่ทำงานทำให้ไม่มีการสร้าง type B flagellin (FljB) และ inhibitor (FljA) ออกมา ส่วนการสร้าง phase 2 นั้นโปรโมเตอร์ (*fljBp*) ที่ควบคุมการทำงานของยีน *fljB* และยีน *fljA* ทำงานทางส่วน downstream ทำให้ยีน *fljB* สร้าง type B flagellin (FljB) ส่วนยีน *fljA* จะสร้าง inhibitor (FljA) ออกมา และ inhibitor (FljA) จะทำหน้าที่กีดการสร้าง type C flagellin (FliC) โดย inhibitor (FljA) จะเข้าไปจับกับ 5'-UTR ของ *fliC* mRNA ทำให้ไม่สามารถสร้าง type C flagellin (FliC) ออกมาได้ (ภาพที่ 1) (Yamamoto and Kutsukake, 2006) ถ้าเชื้อ *Salmonella* spp. สร้าง flagellin antigen 1 เส้นเรียกว่า monophasic จะเกิดขึ้นได้บางซีโรวาร์เช่น *S. Enteritidis*, *S. Typhi* เป็นต้น ถ้าสร้างทั้ง 2 เส้นจะเรียกว่า diphasic เช่น *S. Typhimurium* เป็นต้น (Todar, 2008) ซึ่ง phase 1 จะกำหนดแทนด้วยอักษรตัวเล็ก a ถึง z (z_1 - z_{59}) ส่วน phase 2 กำหนดด้วยหมายเลข (Popoff, 2001) (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 1 การควบคุมการสร้าง phase 1, 2 ของเชื้อ *Salmonella* spp.

ที่มา : Yamamoto and Kutsukake (2006)

ตารางที่ 2 ตัวอย่างของรูปแบบซีโรวาร์ (serotypic profile) จำแนกตามหลักการของ Kauffmann-White

ซีโรวาร์	กลุ่ม	แอนติเจน O	แอนติเจน H	
			phase 1	phase 2
<i>S. Paratyphi</i>	A	1, 2, 12	a	[1, 5]
<i>S. Typhimurium</i>	B	1, 4, [5], 12	i	1, 2
<i>S. Virchow</i>	C	6, 7, <u>14</u>	r	1, 2
<i>S. Enteritidis</i>	D	<u>1</u> , 9, 12	g, m	-
<i>S. Gallinarum</i>	D	1, 9, 12	-	-
<i>S. Anatum</i>	E ₁	3, 10 [<u>15</u>] [<u>15</u> , <u>34</u>]	e, h	1, 6

หมายเหตุ สัญลักษณ์ _ คือ O factor ที่สามารถตรวจพบหรือตรวจไม่พบ โดยมีความสัมพันธ์กับ phage ถ้าตรวจไม่พบให้ตรวจ phage ต่อ

[] คือ O หรือ H factor ที่สามารถตรวจพบหรือตรวจไม่พบโดยไม่มี

ความสัมพันธ์กับ phage เช่น [5] ซึ่งเป็น O แอนติเจนของกลุ่ม B

ส่วน H factor ที่อยู่ใน [] หมายถึงตรวจพบได้แต่ไม่พบใน wild strains

[] คือ O factor ที่มีอยู่ในเชื้ออาจตรวจพบหรือตรวจไม่พบ ถ้าตรวจไม่พบให้ตรวจ phage typing ต่อ

ที่มา: คัดแปลงจาก Popoff (2001)

โรคติดเชื้อ *Salmonella* spp. ในคน

อาการสำคัญของการติดเชื้อ *Salmonella* spp. ในคนที่สำคัญ ได้แก่

1. กระเพาะและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) โดยเชื้อก่อโรคที่พบบ่อยคือ *S. Typhimurium* และ *S. Enteritidis* ผู้ป่วยจะแสดงอาการประมาณ 6-48 ชั่วโมง หลังจากได้รับเชื้อที่ปนเปื้อนในอาหาร และน้ำเข้าไป ผู้ป่วยจะมีอาการ คลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายอุจจาระแต่ไม่มีมูกเลือด บางครั้งอาจพบอาการ มีไข้ ปวดเกร็งท้อง และปวดศีรษะ อาการแบบนี้อาจพบได้ในช่วง 2-7 วัน ก่อนการหายของโรค (Murray *et al.*, 1998)

2. ไข้เอนเทอริก (enteric fever) หรือไข้ไทฟอยด์ (typhoid fever) เกิดจากการกินเชื้อ *S. Typhi* เข้าไป ทำให้เกิดลำไส้อักเสบ เชื้อจะผ่านเข้าเยื่อเมือกของลำไส้และถูกกินโดยเซลล์ macrophage หลังจากนั้นเชื้อจะเพิ่มจำนวนและกระจายไปยังตับ ม้ามและไขกระดูก (Murray *et al.*, 1998) ในช่วงแรกของการได้รับเชื้อผู้ป่วยจะมี ไข้ ครั่นเนื้อครั่นตัว ชี้นิ้ว ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อและปวดศีรษะ ในช่วงนี้ เชื้อจะกระจายเข้าสู่กระแสเลือดไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย ต่อมาเชื้อจะกลับสู่ระบบทางเดินอาหาร สามารถพบเชื้อในอุจจาระและน้ำดีและลำไส้ ซึ่งจะช่วยให้ลำไส้อักเสบและเกิดแผลหลุม ระยะนี้ผู้ป่วยจะมี อาการไข้สูง (40°C) ปวดท้อง ท้องเสีย และอาเจียน ประมาณ 3% ของผู้ป่วยที่หายจากไข้ไทฟอยด์ จะเป็นพาหะของโรคและขับเชื้อออกมากับอุจจาระ (Jensen *et al.*, 1997)

3. โลหิตเป็นพิษ (septicemia) เชื้อ *Salmonella* spp. หลายซีโรวาร์ สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดได้ โดยเฉพาะ *S. Choleraesuis*, *S. Paratyphi* และ *S. Typhi* อาการของโรคจะรุนแรงในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง อาการของโรคทั่วไปคล้ายกับอาการของการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในกระแสเลือด อย่างไรก็ตามพบว่า 10 % ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อกลุ่มนี้จะพบอาการกระดูกอักเสบ ข้ออักเสบ และเยื่อหุ้มโพรงหัวใจอักเสบ (Murray *et al.*, 1998)

การติดต่อของโรค

การติดเชื้อ *Salmonella* spp. ในคนเกิดจากการรับประทานอาหารหรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ เช่น เนื้อไก่ ไข่ และผลิตภัณฑ์จากน้ำนม ส่วนในเด็กสามารถติดเชื้อโดยตรงจากการปนเปื้อนเชื้อจากอุจจาระของเด็กป่วยไปยังเด็กปกติได้ (Murray *et al.*, 1998)

ความชุกของเชื้อ *Salmonella* spp. ในประเทศไทย

Boonmar *et al.* (1998) ได้รายงานการแยกเชื้อ *Salmonella* spp. ในระหว่างปี พ.ศ.2536-2539 ในประเทศไทย พบเชื้อจำนวน 8,775 ตัวอย่าง โดยเป็นเชื้อจากเนื้อไก่แช่แข็ง 7,285 ตัวอย่าง อาหารปรุงสุก 1,014 ตัวอย่าง และกุ้งแช่แข็ง 476 ตัวอย่าง ซึ่งเชื้อที่พบมากที่สุดภายในเนื้อไก่แช่แข็งคือ *S. Enteritidis* (25.6%) อาหารปรุงสุกคือ *S. Anatum* (15.6%) และในกุ้งแช่แข็งคือ *S. Weltevreden* (25.0%) ส่วนการแยกเชื้อจากผู้ป่วยพบเชื้อจำนวน 18,722 ตัวอย่าง เป็นเชื้อในอุจจาระผู้ป่วย 16,122 ตัวอย่าง เลือด 2,172 ตัวอย่าง และจากส่วนอื่นๆ เช่น น้ำปัสสาวะ นอนงู น้ำไขสันหลัง 428 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่าง

จากอุจจาระพบ *S. Weltevreden* (13.4%) มากที่สุด ในเลือดพบมากที่สุดคือ *S. Enteritidis* (41.4%) ส่วนตัวอย่างจากส่วนอื่นๆพบ *S. Enteritidis* (47.2%) มากที่สุด

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้ทำการแยกเชื้อ *Salmonella* spp. จากผู้ป่วยในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2536-2545 พบ 5 ซีโรวาร์แรกคือ *S. Weltevreden* (12.5%), *S. Enteritidis* (11.4%), *S. Anatum* (7.4%), *S. Derby* (6.6%), *Salmonella* 1, 4, 5, 12: i: - (6.4%) (Bangtrakulnonth *et al.*, 2004b) และระหว่างปี พ.ศ. 2546-2549 มีการแยกเชื้อจากผู้ป่วยอีกพบ 5 ซีโรวาร์แรกคือ *S. Enteritidis* (12.6%) *S. Stanley* (11.1%) *S. Weltevreden* (8.3%) *S. Rissen* (7.7%) และ monophasic *Salmonella* (7.1%) (Bangtrakulnonth *et al.*, 2003; Bangtrakulnonth *et al.*, 2004a; Bangtrakulnonth *et al.*, 2005; Bangtrakulnonth and Tishyadhigama, 2006) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เชื้อ *Salmonella* spp. 5 ซีโรวาร์แรกที่ตรวจพบในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2546-2549

ซีโรวาร์	ปี พ.ศ. และจำนวนตัวอย่าง (%)				
	2546	2547	2548	2549	รวม
Enteritidis	393 (11.2)	370 (10.6)	403 (11.0)	541 (18.5)	1,707 (12.6)
Stanley	293 (8.3)	448 (12.9)	456 (12.4)	313 (10.7)	1,510 (11.1)
Weltevreden	380 (10.8)	365 (10.5)	176 (4.8)	202 (6.9)	1,123 (8.3)
Rissen	218 (6.2)	300 (8.6)	327 (8.9)	224 (7.6)	1,069 (7.7)
monophasic	235 (6.7)	235 (6.8)	259 (7.1)	236 (8.1)	965 (7.1)

หมายเหตุ monophasic *Salmonella* : S. I. 4, 5, 12: i: - , S. I. 4, 12: i: - , S. I. 1, 4, 5, 12: i: - ,
 S. I. 1, 4, 5, 12, 27: i: - , S. I. 4, 5, 12, 27: i: - , S. I. 4, 12, 27: i: - , S. I. 1, 4, 12: i: - ,
 S. I. 4, 5, 12: b: - , S. I. 4, 5, 12: -: - , S. I. 4, 12: b: - , S. I. 6, 7: c: - ,
 S. I. 1, 4, 12: d: - , S. I. 4, 5, 12: d: - , S. I. 4, 5, 12: eh: - , S. I. 4, 5, 12: z₁₀: - ,
 S. I. 4, 5, 12: H rough

ที่มา: Bangtrakulnonth *et al.* (2003); Bangtrakulnonth *et al.* (2004a); Bangtrakulnonth *et al.* (2005); Bangtrakulnonth and Tishyadhigama (2006)

การดื้อยาของเชื้อ *Salmonella* spp.

การดื้อยาด้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นและซับซ้อนมากขึ้น ส่งผลกระทบต่อสุขภาพและเศรษฐกิจ ซึ่งการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียอาจเกิดจากการปรับตัวของเชื้อดื้อยา โดยวิธีการต่างๆ เช่นการสร้างเอนไซม์ เพื่อที่จะขัดหรือลดประสิทธิภาพของยาด้านจุลชีพ และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเชื้อทำให้ยาไม่สามารถเข้าไปทำลายได้ (ตารางที่ 4)

การดื้อยาของเชื้อ *Salmonella* spp. ในประเทศไทย ซึ่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ทดสอบการดื้อยาด้านจุลชีพของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่เก็บระหว่างปี 2546-2548 โดยการสุ่มเข้ามาจำนวน 694 ตัวอย่าง พบว่าเชื้อดื้อต่อยา ampicillin (38.65%), chloramphenicol (23.20%), nalidixic acid (65.68%) และ sulfamethoxazole-trimethoprim (34.58%) (Pulsrikarn *et al.*, 2006)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการดื้อยาของเชื้อ *Salmonella* spp. เพื่อหาความสัมพันธ์ของเชื้อระหว่างสัตว์และคน โดย Angkititrakul *et al.* (2005) ได้ทดสอบการดื้อยาของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่แยกจากเนื้อไก่ จำนวน 30 ตัวอย่างและเนื้อสุกรจำนวน 26 ตัวอย่าง จากตลาดในจังหวัดขอนแก่น และตัวอย่างจากผู้ป่วยที่มีอาการท้องเสียในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 54 ตัวอย่าง พบว่าทุกตัวอย่าง (110 ตัวอย่าง) ดื้อต่อยา streptomycin และ sulfamethoxazole แต่ไม่พบการดื้อต่อยา norfloxacin และ ciprofloxacin โดยตัวอย่างจากเนื้อไก่ดื้อยา amoxicillin (30.0%), chloramphenicol (26.7%), gentamicin (6.7%), sulfamethoxazole-trimethoprim (71.3%), tetracycline (100.0%) และ ตัวอย่างจากเนื้อสุกรดื้อยา amoxicillin (15.4%), chloramphenicol (15.4%), gentamicin (3.9%), sulfamethoxazole-trimethoprim (15.4%) และ tetracycline (88.5%) ส่วนตัวอย่างจากผู้ป่วยพบการดื้อยา amoxicillin (27.8.4%), chloramphenicol (20.4%), gentamicin (5.6%) sulfamethoxazole-trimethoprim (31.5%) และ tetracycline (92.6%) และยังพบว่าการดื้อยาไม่มีความแตกต่างของแหล่งที่มาของตัวอย่างด้วยมีความเป็นไปได้ว่ามีการปนเปื้อนเชื้อจากเนื้อไก่และเนื้อสุกรมาสู่ผู้บริโภค เพชรรัตน์ และคณะ (2548) ทำการตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อไก่ ตั้งแต่ พฤศจิกายน 2547 ถึง พฤษภาคม 2548 โดยเก็บตัวอย่างจากโรงฆ่าสัตว์ 7 จังหวัด คือ กาญจนบุรี นครปฐม ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สมุทรสงคราม และสมุทรสาคร พบเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อไก่ 52.13% (196/376) จังหวัดที่พบการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อไก่สูงตามลำดับ ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ (75.00%) เพชรบุรี (72.65%) สมุทรสาคร (60.00%) นครปฐม (47.95%) และสมุทรสงคราม (33.33%) ตามลำดับ

ตารางที่ 4 กลไกการออกฤทธิ์และกลไกการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย

สารต้านจุลชีพ	กลไกการออกฤทธิ์	กลไกการดื้อยา
β -lactams	Inhibition of cell wall biosynthesis and assembly, stimulation of autolysins	Enzymatic modification of drug
Glycopeptides	Inhibition of cell wall synthesis	Structural modification of peptidoglycan
Aminoglycosides	Inhibition of protein synthesis Inhibition of initiation of DNA synthesis	Enzymatic modification of drug, efflux Alterations in energy of uptake, mutation of target
Macrolides	Inhibition of protein synthesis	Target modification
Tetracycline	Inhibition of protein synthesis	Increased efflux
Chloramphenicol	Inhibition of protein synthesis	Enzymatic modification of drug
Quinolones	Inhibition of DNA gyrase	Target modification, decreases uptake
Fluoroquinolones		due to porin modification
Fusidans	Inhibition of polypeptide chain elongation	Efflux
Novobiocin	Inhibition of DNA gyrase	Efflux
Rifamycins	Inhibition of nucleic acid synthesis	Target modification
Sulfonamides	Inhibition of folic acid synthesis	Target modification, efflux
Trimethoprim	Inhibition of folic acid synthesis	Target modification, efflux
Polymyxins	Disruption of outer membrane	LPS modification
Colistin		

ที่มา: Macfarlane and Hancock (2000)

วิธีการวิจัย

การวิจัยแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนคือ

1. การเก็บตัวอย่างเนื้อไก่
2. การแยกเชื้อซัลโมเนลลาจากเนื้อไก่
3. การตรวจแยกซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลา
4. การทดสอบการก่อสารต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลา
5. การวิเคราะห์ข้อมูล

สถานที่ทำการวิจัยคือ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์คณะเทคโนโลยีการเกษตร

1. การเก็บตัวอย่างเนื้อไก่

ตัวอย่างเนื้อไก่เก็บจากตลาดสดทุกอำเภอในจังหวัดปทุมธานี จำนวน 100 ตัวอย่าง ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะใช้ส่วนของคอ ช่องทวาร เครื่องในของไก่ เก็บในถุงพลาสติกกันน้ำแล้วแช่เย็นในกล่องเก็บความเย็น นำส่งห้องปฏิบัติการเพื่อการเพาะแยกเชื้อต่อไป (Patricia *et al.*, 2003)

2. การแยกเชื้อซัลโมเนลลาจากเนื้อไก่

การแยกเชื้อใช้วิธีตามมาตรฐานของ ISO 6579 (1993) เติร์ชม Pre-enrichment medium โดยใช้ตัวอย่าง 25 กรัมบดให้เป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นใส่ลงใน Buffered Peptone Water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ° C นาน 18-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นหาคู Pre-enrichment medium ปริมาตร 1.0, 0.1 มิลลิลิตร ลงใน Tetrathionate broth และ Rappaport-Vassiliadis soy peptone (RVS) broth ตามลำดับ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ° C และ 42 ° C นาน 18-24 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นหาคู Tetrathionate broth และ Rappaport-Vassiliadis soy peptone (RVS) broth อย่างละ 10 ไมโครลิตรลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD และ BGA agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ° C นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจแยกเชื้อด้วยการทดสอบทางชีวเคมี เช่น ทดสอบกับ TSI, Urea, Lysine decarboxylase broth, Citrat และ Indole test

3. การตรวจแยกซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลา

เชื้อซัลโมเนลลาที่ผ่านการคัดแยกจะถูกนำมาตรวจหาซีโรวาร์ด้วยการตกตะกอนซีรัม โดยใช้แอนติซีรัมมาตรฐานที่มีความจำเพาะต่อ O และ H แอนติเจน (S&A Laboratory Ltd., Thailand) ตามวิธี

Gard technique (Gard, 1938) ผลที่ได้จะถูกนำมาเปรียบเทียบกับชนิดของซีโรวาร์ตามหลักการ Kauffmann-White scheme (ภาพผนวกที่ 1) (Popoff, 2001)

4. การทดสอบการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลา

เชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากเนื้อไก่แล้วทำการตรวจแยกซีโรวาร์ จะนำมาทดสอบหารูปแบบการดื้อยาด้วยวิธี disk diffusion test (NCCLS, 2003) โดยใช้แผ่นสารต้านจุลชีพ คือ amoxicillin(10 µg), ampicillin(10 µg), cephalothin(30 µg), colistin(10 µg), doxycycline(30 µg), enrofloxacin(5 µg), gentamicin(10 µg), kanamycin(30 µg), norfloxacin(10 µg), streptomycin(10 µg), trimethoprim(5 µg), sulfamethoxazole(25 µg), tetracycline(30 µg) และ nalidixic acid (30 µg) เชื้อควบคุมคุณภาพการทดลอง คือ *Escherichia coli* สายพันธุ์ ATCC 25922 และวิเคราะห์ค่า breakpoint อ้างอิงจาก National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2002)

ผลการวิจัย

1. การศึกษาความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่

ผลการตรวจหาความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่ในตลาดต่างๆในจังหวัดปทุมธานี ระหว่างเดือน มกราคม ถึงเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2555 จำนวน 100 ตัวอย่าง พบเชื้อซัลโมเนลลา จำนวน 38 ตัวอย่าง (38 %)

2. การแยกชนิดซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่

ผลการตรวจแยกชนิดของซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาจากเนื้อไก่จากตลาดต่างๆในจังหวัดปทุมธานี จำนวน 38 ตัวอย่างพบจำนวน 13 ซีโรวาร์ คือ *S. Corvallis* จำนวน 13 ตัวอย่าง (34.21 %), *S. Albany* จำนวน 7 ตัวอย่าง (18.42 %), *S. Schwarzengrund* จำนวน 3 ตัวอย่าง (7.89 %), *S. Stanley* จำนวน 3 ตัวอย่าง (7.89 %), *S. Bovismorbificans* จำนวน 2 ตัวอย่าง (5.26 %), *S. Mbandaka* จำนวน 2 ตัวอย่าง (5.26 %), *S. Enteritidis* จำนวน 2 ตัวอย่าง (5.26 %) และ *S. Kentucky*, *S. Rissen*, *S. enteric ser.6,8:-:1,5*, *S. Give*, *S. Agona* และ *S. Hadar* อย่างละ 1 ตัวอย่าง (2.63 %)

3. การศึกษารูปแบบการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่

ผลการศึกษาการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่ในตลาดจังหวัดปทุมธานี จำนวน 38 ตัวอย่างด้วยวิธี disk diffusion test (NCCLS, 2003) และวิเคราะห์ค่า breakpoint อ้างอิงจาก National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2002) พบว่าเชื้อซัลโมเนลลามีความไวต่อสารต้านจุลชีพมากที่สุด 5 ลำดับแรกคือ colistin จำนวน 37 ตัวอย่าง (97.37 %) cephalothin จำนวน 34 ตัวอย่าง (89.47 %) gentamicin จำนวน 32 ตัวอย่าง (84.21 %) norfloxacin จำนวน 29 ตัวอย่าง (76.31 %) และ doxycycline จำนวน 26 ตัวอย่าง (68.42 %) ส่วนเชื้อที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพมากที่สุด 5 ลำดับแรกคือ sulfamethoxazole จำนวน 36 ตัวอย่าง (94.74 %) streptomycin จำนวน 36 ตัวอย่าง (94.74 %) kanamycin จำนวน 35 ตัวอย่าง (92.10 %) nalidixic acid จำนวน 27 ตัวอย่าง (71.05 %) และ enrofloxacin จำนวน 26 ตัวอย่าง (68.42 %) และมี 1 ตัวอย่าง

(CM 21) ไม่พบการสื่อสารด้านจุลชีพ รูปแบบการดื้อที่พบมากที่สุด คือ AMC-AMP-ENR-SMZ-STR-TMP 2 ตัวอย่าง (5.26 %) และรูปแบบอื่นๆอีก 35 รูปแบบ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 รูปแบบการสื่อสารด้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่ในตลาด
จังหวัดปทุมธานี ระหว่างเดือนมกราคม- ธันวาคม พ.ศ. 2555

รูปแบบการสื่อสารด้านจุลชีพ	เชื้อตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง (%)
AMC-CET-SMZ-STR-TMP	CM 1	1 (2.62)
AMC-AMP-ENR-SMZ-STR-TMP	CM 2,CM 3	2 (5.26)
AMC-AMP-CET-DOX-SMZ-STR-TMP-TET	CM 4	1 (2.62)
DOX-ENR-SMZ-STR-TET	CM 5	1 (2.62)
CET-SMZ-STR	CM 6	1 (2.62)
SMZ-STR	CM 7	1 (2.62)
NAL-SMZ-STR	CM 8	1 (2.62)
KAN-NAL-SMZ-STR	CM 9	1 (2.62)
AMC-AMP-DOX-GEN-KAN-NAL-SMZ-STR-TMP-TET	CM 10	1 (2.62)
AMC-AMP-DOX-ENR-GEN-KAN-NAL-NOL-SMZ-STR-TMP-TET	CM 11	1 (2.62)
AMC-AMP-NAL-SMZ	CM 12	1 (2.62)
SMZ-STR	CM 13	1 (2.62)
DOX-SMZ-TET	CM 14	1 (2.62)
AMC-AMP-DOX-SMZ-STR-TET	CM 15	1 (2.62)
AMC-AMP-GEN-NAL-SMZ	CM 16	1 (2.62)
SMZ	CM 17	1 (2.62)
AMC-AMP-COL-ENR-NAL-SMZ-STR-TMP-TET	CM 18	1 (2.62)
AMP-SMZ-STR-TMP	CM 19	1 (2.62)
AMC-AMP-ENR-NAL-SMZ-STR-TMP-TET	CM 20	1 (2.62)
AMC-ENR-GEN-KAN-SMZ-STR	CM 22	1 (2.62)
NAL-SMZ-STR-TET	CM 23	1 (2.62)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

รูปแบบการดื้อสารต้านจุลชีพ	เชื้อตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง (%)
AMC-AMP-NAL-SMZ-STR-TET	CM 27	1 (2.62)
COL-NAL-SMZ-TET	CM 24	1 (2.62)
ENR-NAL-SMZ	CM 25	1 (2.62)
ENR-NAL-NOR-SMZ-STR	CM 26	1 (2.62)
ENR-NAL-SMZ-STR	CM 28	1 (2.62)
AMC-AMP-NAL-SMZ-STR-TMP-TET	CM 29	1 (2.62)
COL-ENR-SMZ-STR-TMP-TET	CM 30	1 (2.62)
ENR-NAL-NOR	CM 31	1 (2.62)
DOX-ENR-SMZ-STR-TET	CM 32	1 (2.62)
AMC-AMP-KAN-NAL-SMZ-STR-TMP-TET	CM 33	1 (2.62)
DOX-ENR-GEN-NAL-SMZ-STR-TET	CM 34	1 (2.62)
DOX-ENR-KAN-SMZ-STR-TET	CM 35	1 (2.62)
SMZ-STR	CM 36	1 (2.62)
AMC-AMP-NAL-SMZ-STR-TMP-TET	CM 37	1 (2.62)
STR-TMP	CM 38	1 (2.62)
เชื้อที่ไม่ดื้อสารต้านจุลชีพ	CM 21	1 (2.62)
		38

หมายเหตุ

CM : chicken meat

AMC: amoxicillin (10 µg), AMP: ampicillin (10 µg), CET: cephalothin (30 µg),

COL: colistin (10 µg), DOX: doxycycline (30 µg), ENR: enrofloxacin (5 µg),

GEN: gentamicin (10 µg) KAN: kanamycin (30 µg), NAL: nalidixic acid (30 µg),

NOR: norfloxacin (10 µg), SMZ: sulfamethoxazole (25 µg), STR: streptomycin(10 µg) ,

TMP: trimethoprim (5 µg), TET: tetracycline (30 µg)

วิจารณ์และอภิปรายผล

1. จากการตรวจเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อไก่จากตลาดสดของจังหวัดปทุมธานีพบเชื้อซัลโมเนลลา 38 % ซึ่งพบการปนเปื้อนค่อนข้างสูงสอดคล้องกับรายงานของ เพชรรัตน์ และคณะ (2548) ที่ตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อสุกร เนื้อไก่ และเนื้อโคในภาคตะวันตกของประเทศไทยของ พบเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อไก่ 52.13% สูงกว่าเนื้อสุกร 44.39% และเนื้อโค 40% ส่วนรายงานของพรศิริ และอนิรุทธ (2548) ทำการศึกษาการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. ในเนื้อสัตว์จากตลาดในภาคเหนือพบเชื้อซัลโมเนลลาในเนื้อสุกร (13.58%) มากกว่าเนื้อไก่(10.19%)

2. จากการแยกซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดคือ *S. Corvallis* (34.21 %) รองลงมาคือ *S. Albany* (18.42 %) ซึ่งต่างจากรายงานของ Angkititrakul *et al.*, (2005) เรื่องระบาดวิทยาของการดื้อยาในเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากเนื้อสุกร เนื้อไก่ และคน ในเขตจังหวัดขอนแก่น ซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดใ้เนื้อไก่ คือ *S. Anatum* (33.3%) รองลงมาคือ *S. Rissen* (16.7%) และรายงานของ พรศิริ และอนิรุทธ (2548) ทำการตรวจหา *Salmonella* spp. จากตัวอย่างเนื้อสัตว์ในตลาดสดเขตภาคเหนือพบว่า *S. Rissen* พบมากที่สุด จาการรายงานการตรวจพบซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลามีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพื้นที่และแหล่งของเนื้อไก่ซึ่งการปนเปื้อนของเชื้ออาจพบตั้งแต่ฟาร์มเลี้ยงไก่ โรงเชือดตลาดและคนขาย

3. จากการศึกษาการทดสอบเชื้อซัลโมเนลลากับสารต้านจุลชีพพบว่าเชื้อมีความไวต่อสารต้านจุลชีพมากที่สุด คือ colistin รองลงมาคือ cephalothin ส่วนเชื้อดื้อต่อสารต้านจุลชีพมากที่สุด คือ sulfamethoxazole รองลงมา คือ streptomycin และพบการดื้อแบบ multi-drug resistance สูงถึง 84.21 %

สรุปผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่จากตลาดต่างๆในจังหวัดปทุมธานี ระหว่างเดือนมกราคม-ธันวาคม พ.ศ. 2555 พบการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาร้อยละ 38

2. ผลการตรวจแยกชนิดของซีโรวาร์ของเชื้อซัลโมเนลลาจากเนื้อไก่จากตลาดต่างๆในจังหวัดปทุมธานี พบจำนวน 13 ซีโรวาร์ คือ *S. Corvallis* จำนวน 13 ตัวอย่าง (34.21 %), *S. Albany* จำนวน 7 ตัวอย่าง (18.42 %), *S. Schwarzengrund* จำนวน 3 ตัวอย่าง (7.89 %), *S. Stanley* จำนวน 3 ตัวอย่าง (7.89 %), *S. Bovismorbificans* จำนวน 2 ตัวอย่าง (5.26 %), *S. Mbandaka* จำนวน 2 ตัวอย่าง (5.26 %), *S. Enteritidis* จำนวน 2 ตัวอย่าง (5.26 %) ส่วน *S. Kentucky*, *S. Rissen*, *S. enteric ser.6,8:-:1,5*, *S. Give*, *S. Agona* และ *S. Hadar* พบอย่างละ 1 ตัวอย่าง (2.63 %)

3. ผลการศึกษารูปแบบการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่พบว่าเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกจากเนื้อไก่ในตลาดจังหวัดปทุมธานีจำนวน 38 ตัวอย่างมีความไวต่อสารต้านจุลชีพมากที่สุด 5 ลำดับแรกคือ colistin (37 ตัวอย่าง) , cephalothin (34 ตัวอย่าง), gentamicin (32 ตัวอย่าง), norfloxacin (29 ตัวอย่าง) และ doxycycline (26 ตัวอย่าง) ส่วนเชื้อดื้อต่อสารต้านจุลชีพมากที่สุด 5 ลำดับแรกคือ คือ sulfamethoxazole (36 ตัวอย่าง), streptomycin (36 ตัวอย่าง), kanamycin (35 ตัวอย่าง), nalidixic acid (27 ตัวอย่าง) และ enrofloxacin (26 ตัวอย่าง) และมีตัวอย่างเนื้อไก่ 1 ตัวอย่าง (CM21) ไม่พบการดื้อสารต้านจุลชีพ รูปแบบการดื้อสารต้านจุลชีพที่พบมาก คือ AMC-AMP-ENR-SMZ-STR-TMP จำนวน 2 ตัวอย่าง (5.26 %) และรูปแบบอื่นๆอีก 35 รูปแบบ (ตารางที่ 5)

เอกสารอ้างอิง

แนวหน้า. 2553. กรุงเทพฯ; 1 เมษายน 2553.

เพชรรัตน์ ศักดินันท์ สุกัญญา นาคสุนทร และเจษฎา จุลไถวัลสุจริต. 2548. การตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนในเนื้อสุกร เนื้อไก่ และเนื้อโค ในภาคตะวันตกของประเทศไทย. น. 9. ใน **ประมวลผลงานการประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 20 ประจำปี 2548**. กรมปศุสัตว์, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

พรศิริ พรหมกิ่งแก้ว และอนิรุทธ เนื่องแม็ก. 2548. การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella spp.* และ *Staphylococcus aureus* ในเนื้อสัตว์จากตลาดสดในภาคเหนือ. น. 12. ใน **ประมวลผลงานการประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 20 ประจำปี 2548**. กรมปศุสัตว์, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ลัดดา มุลิกา และสมหมาย ชูวาณิชสัมพันธ์. 2551. การสำรวจความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาในโรงพักไข่และการดื้อยาต้านจุลชีพ. น. 307-312. ใน **ประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9 “สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้”**. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น

Angkititrakul, S., C. Chomvarin, T. Chaita, K. Kanistanon And S. Waethewutajarn. 2005. Epidemiology of Antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from pork, chicken meat and humans in Thailand. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**. 36:1510-1515.

Bangtrakulnonth, A., G. Bunyaraksyotin and P. Nantanawoot. 2004a. **Annual report of confirmed *Salmonella* and *Shigella* in Thailand 2004**. The National *Salmonella* and *Shigella* Center, National Institute of Health, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Thailand.

_____ and P. Tishyadhigama. 2006. **Annual report of confirmed *Salmonella* and *Shigella* in Thailand 2006.** The National *Salmonella* and *Shigella* Center, National Institute of Health, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Thailand.

_____, _____, G. Bunyaraksyotin and P. Nantanawoot. 2003. **Annual report of confirmed *Salmonella* and *Shigella* in Thailand 2003.** The National *Salmonella* and *Shigella* Center, National Institute of Health, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Thailand.

Bangtrakulnonth, A., S. Pornreongwong and C. Pulsrikarn. 2005. **Annual report of confirmed *Salmonella* and *Shigella* in Thailand 2005.** The National *Salmonella* and *Shigella* Center, National Institute of Health, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Thailand.

_____, _____, _____, P. Sawanpanyalert, R. S. Hendriksen, D. M. A. Lo Fo Wong and F. M. Aarestrup. 2004b. *Salmonella* serovars from humans and other sources in Thailand, 1993–2002. **Emerg. Infect. Dis.** 10:131-136.

Boonma, S., A. Bangtrakulnonth, S. Pornrunangwong, N. Marnrim, K. Kaneko and M. Ogawa. 1998. Predominant serovars of *Salmonella* in humans and foods from Thailand. **J. Vet. Med. Sci.** 60: 877-880.

Gard, A. 1938. Das Schwarmphanomen in der *Salmonella*-gruppe und seine praktische Ausnutzung. **Z. Hyg. Infektionskr.** 120: 615-619.

ISO 6579, 1993. **Microbiology. General Guidance on Methods for the Detection of *Salmonella*.** International Organization of Standardization, Geneva, Switzerland.

Janda, J. M. and S. L. Abbott. 1998. **The Enterobacteria.** Lippincott-Raven publishers. Philadelphia, New York.

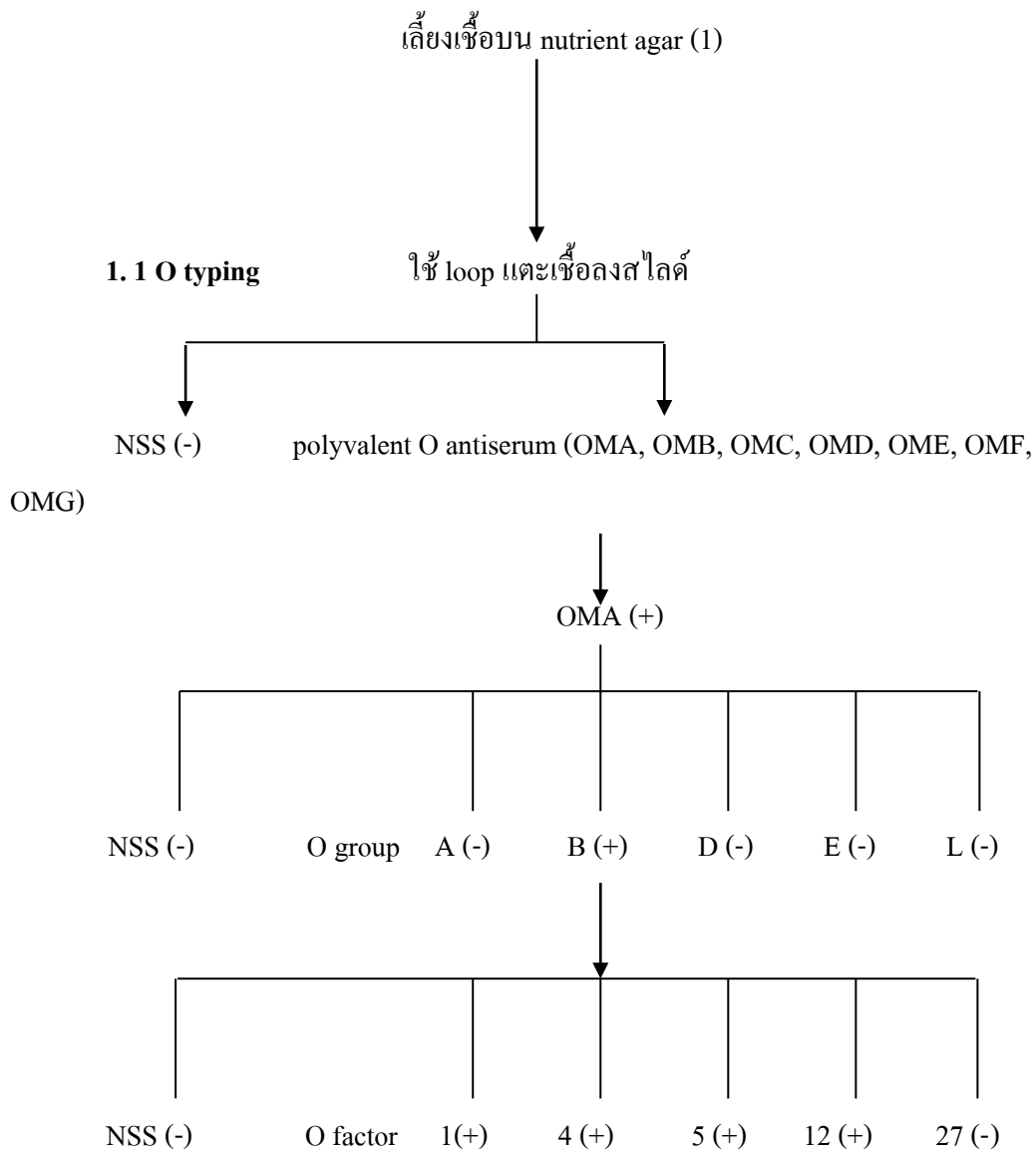
- Jensen, M. M., D. N. Wright and R. A. Robinson. 1997. **Microbiology for the Health Sciences**, 4th ed. Prentice-Hall International, Inc. London, England.
- Jordan, F.T. W. and M. Pattison. 1996. **Poultry diseases**. 4th ed. W. B. Saunders Company Ltd. London, England.
- Macfarlane, E. L. A. and R. E. W. Hancock. 2000. Antibiotic resistance and survival in the host, pp. 93-104. *In* K.A. Brogden, J. A. Roth, T. B. Stanton, C. A. Bolin, F. C. Minion and M. J. Wannemuehler, eds. **Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens**. 3rd ed. ASM Press, Washington, D.C.
- Minami, A., C. Wanpen, C-N. Manas, S. Seksun, M. Shuko, T. Kouichi, M. Sou-ichi and K. Keiko. 2010. Prevalence of foodborne pathogens in open markets and supermarkets in Thailand. **Food Control**. 21: 221-226
- Murray, P.R., K. S. Rosenthal, G. S. Kobayashi and M. A. Pfaller. 1998. **Medical Microbiology**. 3rd ed. United States of America, Harcourt health sciences.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard, 2nd ed. M31-A2. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, Wayne, Pa.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved standard, 8th ed. M2-A8. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, Wayne, Pa.
- Padungtod, P. and J. B. Kaneene. 2006. Salmonella in food animals and humans in northern Thailand. **International Journal of Food Microbiology** .108: 346–354

- Patricia A., R. Cristina, J. C. Sousa, L. Peixe and N. Pestana. 2003. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. **International Journal of Food Microbiology**. 82: 97-103
- Popoff, M. Y. 2001. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, 8th ed. **W. H. O. Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella***. Institute Pasteur, Paris, France.
- Pulsrikarn, C., A. Bangtrakulnonth, S. Pornruangwong, T. Sriyapai and P. Sawanpanyalert. 2006. **Prevalence of non – typhoidal *Salmonella* isolated from human blood and antimicrobial resistance in Thailand, 2003 -2005**. Available Source: http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_5_001c.asp?info_id=1106, August 10, 2010
- Quinn P. J., M. E. Cater, B. K. Markey and G. R. Cater. 2004. **CLINICAL VETERINARY MICROBIOLOGY**. Wolfe Publishing, Mosby-Year Book Europe Limited.
- Saitanu, K., C. Koowatananukul, J. Jerngklinchan and J. Sasipreeyajan. 1994. Detection of *Salmonellae* in hen eggs in Thailand. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**. 25: 324- 327
- Sasipreeyajan, J., J. Jerngklinchan, C. Koowatananukul and K. Saitanu. 1996. Prevalence of *Salmonellae* in broiler, layer and breeder flocks in Thailand. **Trop. Animal Health and Prot.** 28: 174-180
- Yamamoto, S. and K. Kutsukake. 2006. FljA-mediated posttranscriptional control of phase 1 flagellin expression in flagellar phase variation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **J. Bacteriol.** 188: 958-967.

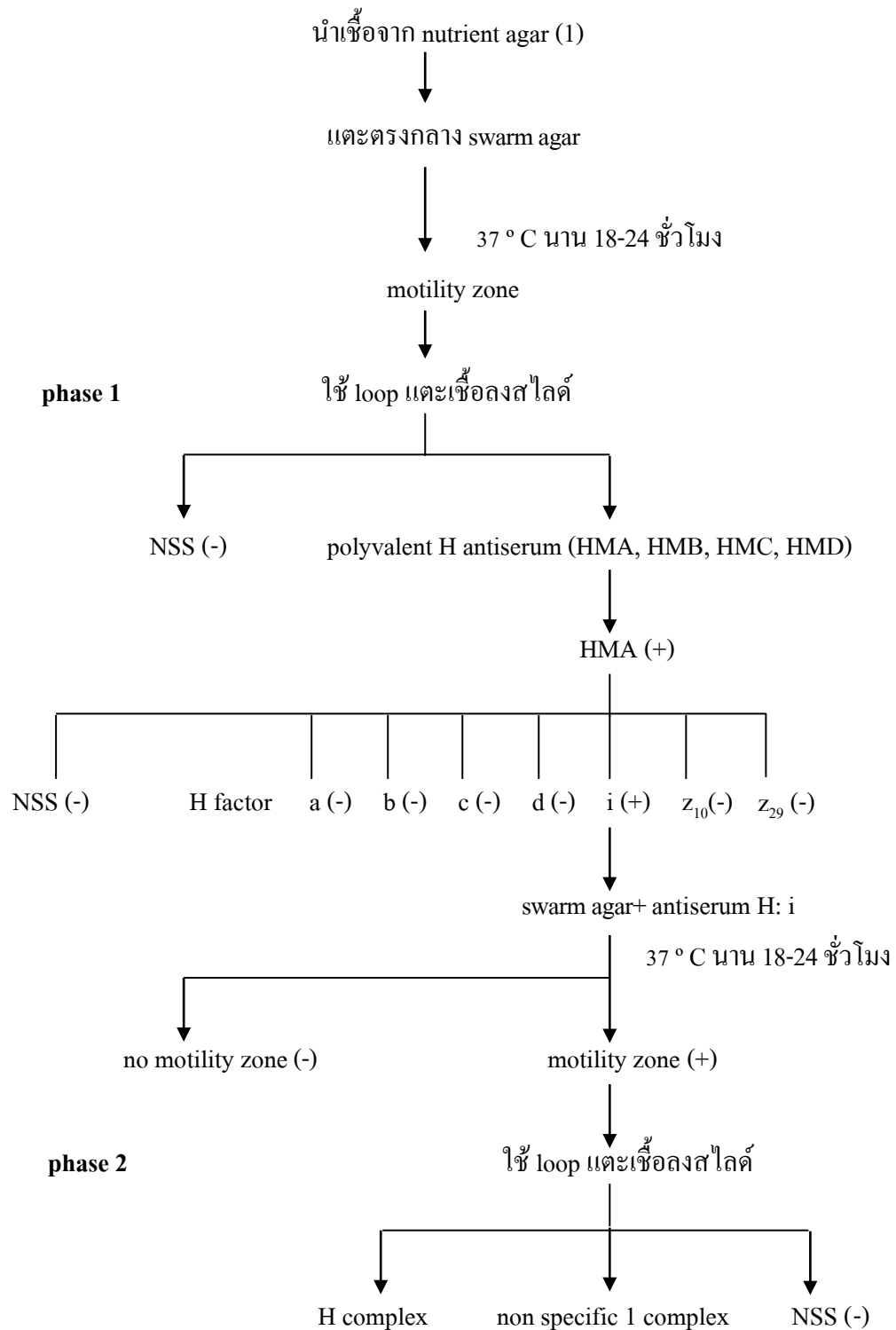
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ขั้นตอนการทดลอง

1. การตรวจซีโรวาร์ด้วยวิธี Gard technique (Gard, 1938)



1.2 H typing



1.3 O typing - H typing → Kauffmann-White scheme (Popoff, 2001)

ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนการตรวจซีโรไทป์ของ *Salmonella* spp.

2. การหาค่า Minimum inhibitory concentrations (MICs)

2.1 การเตรียมเชื้อตัวอย่าง

เพาะเลี้ยงเชื้อตัวอย่างบน MacConkey agar (Merck, USA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 ° C นาน 18-24 ชั่วโมง เลือกลโคโลนีเดี่ยวๆ 3-5 โคโลนี เขี่ยลงในหลอด Mueller-Hinton broth (Merck, USA) ปริมาตร 2 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ° C แล้วนำมาวัดความขุ่นเท่ากับ McFarland No.0.5 (1.5×10^8 CFU/ml) แล้วเจือจางเชื้อในอัตราส่วน 1: 10 (1.0 ml ใน MHB 9.0 ml) (1.5×10^7 CFU/ml) ก่อนนำเชื้อไปป้ายให้ทั่วใน Mueller-Hinton agar (Merck, USA)

2.2 การวางแผนสารต้านจุลชีพบน Mueller-Hinton agar

วางแผนสารต้านจุลชีพ 14 ชนิด คือ amoxicillin(10 µg), ampicillin(10 µg), cephalothin(30 µg), colistin(10 µg), doxycycline(30 µg), enrofloxacin(5 µg), gentamicin(10 µg), kanamycin(30 µg), norfloxacin(10 µg), streptomycin(10 µg), trimethoprim(5 µg), sulfamethoxazole(25 µg), tetracycline(30 µg) และ nalidixic acid (30 µg) ลงบน Mueller-Hinton agar จากนั้น 7 ชนิดของแผ่นสารต้านจุลชีพ โดยเชื้อตัวอย่างทดสอบ 1 ตัวอย่าง ใช้ Mueller-Hinton agar 2 จาน โดยใช้ *Escherichia coli* ATCC 25922 เป็นเชื้อตัวอย่างควบคุม แล้วนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่วางแผนสารต้านจุลชีพไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ° C นาน 18-24 ชั่วโมง (Quinn *et al.*, 2004)

2.3 การวัดค่า MICs

หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37 ° C นาน 18-24 ชั่วโมงแล้วนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่วางแผนสารต้านจุลชีพมาวัดความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสรอบแผ่นสารต้านจุลชีพแต่ละชนิดแล้วนำไปเทียบค่า breakpoint อ้างอิงจาก National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2002)

ภาคผนวก ข
ผลการทดลอง