



วิทยานิพนธ์

การศึกษา *Campylobacter jejuni* ในไก่กระทางและไก่พื้นเมือง โดยใช้
อาหารเลี้ยงเชื้อ Preston broth กับ อาหารเลี้ยงเชื้อ Charcoal
Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA)

Study on *Campylobacter jejuni* in Broiler and Native Chicken by
Preston broth and Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar
(CCDA)

นายณที แจ่มมงคล

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์)
ปริญญญา

การผลิตสัตว์	สัตว์บาล
สาขา	ภาควิชา
เรื่อง การศึกษา <i>Campylobacter jejuni</i> ในไก่กระตังและไก่พื้นเมือง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Preston broth กับ อาหารเลี้ยงเชื้อ Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA)	
Study on <i>Campylobacter jejuni</i> in Broiler and Native Chicken by Preston broth and Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA)	

นามผู้วิจัย นายนที แจ่มมงคล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุเจตน์ ชื่นชม, Dr.Med.Vet.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์กัญจนะ มากวิจิตร, Dr.Med.Vet.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์สุมาลี บุญมา, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศิธร นาคทอง, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อุดมามงกูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วันัย อางคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 2 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2550

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษา *Campylobacter jejuni* ในไก่กระທงและไก่พื้นเมือง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Preston broth
กับ อาหารเลี้ยงเชื้อ Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA)

Study on *Campylobacter jejuni* in Broiler and Native Chicken by Preston broth and Charcoal
Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA)

โดย

นายณที แจ่มมงคล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสะดวกแห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์)

พ.ศ. 2550

นที แจ่มมงคล 2550: การศึกษา *Campylobacter jejuni* ในไก่กระທงและไก่พื้นเมือง
โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Preston broth กับ อาหารเลี้ยงเชื้อ Charcoal Cefoperazone
Desoxycholate Agar (CCDA). ปรญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์) สาขา
การผลิตสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล ปรธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุเจตน์
ชื่นชม, Dr.Med.Vet. 48 หน้า

การศึกษาการเพาะเชื้อ *C. jejuni* ในไก่กระທงและไก่พื้นเมือง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ
Preston broth (Enrichment media) และอาหารเลี้ยงเชื้อ Charcoal Cefoperazone Desoxycholate
Agar (Selective media, CCDA) โดยใช้ตัวอย่างอุจจาระจากการป้ายทวารหนักไก่กระທง จำนวน
800 ตัวอย่าง ของเหลวจาก caecum จำนวน 10 ตัวอย่าง และตัวอย่างอุจจาระจากการป้ายทวาร
หนักไก่พื้นเมือง จำนวน 55 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนเมษายน ปี พ.ศ. 2549 ถึง เดือนพฤษภาคม พ.ศ.
2550 เพื่อศึกษาความชุกของ *C. jejuni* พบว่าจากตัวอย่างไก่กระທง จำนวน 810 ตัวอย่าง ไม่พบเชื้อ
Campylobacter spp. แต่พบ *Campylobacter* spp. จำนวน 11 ตัวอย่าง จากไก่พื้นเมือง จำนวน 55
ตัวอย่าง เมื่อทดสอบทางชีวเคมี พบว่าเป็น *C. jejuni* จำนวน 3 ตัวอย่างคิดเป็น 5.45 เปอร์เซ็นต์

นที แจ่มมงคล

ลายมือชื่อนิติ

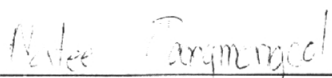
สุเจตน์

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

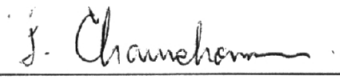
๒๕ / ๐๙ / ๕๐

Natee Jangmongkol 2007: Study on *Campylobacter jejuni* in Broiler and Native Chicken by Preston broth and Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA). Master of Science (Animal Production), Major Field: Animal Production, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Assistant Professor Sujate Chaunchom, Dr.Med.Vet. 48 pages.

The study of isolation of *C. jejuni* in broiler and native chicken was carried out by use of Preston broth (enrichment media) and Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (selective media, CCDA). The samples were collected from 800 cloaca swab and 10 caecum contents in broiler chicken and 55 cloaca swabs in native chicken since April 2006 to May 2007 to determine prevalence of *C. jejuni*. The results showed that 810 samples from broiler were no *Campylobacter* spp. but 11 from 55 samples in native chicken found *Campylobacter* spp. For biochemical test found 3 samples (5.45 %) of *C. jejuni*.



Student's signature



Thesis Advisor's signature



กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ. ดร.สุเจตน์ ชื่นชม ประธานกรรมการ ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.กัญจนะ มากวิจิตร รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สุมาลี บุญมา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศิธร นาคทอง กรรมการวิชาเอก ที่ได้ช่วยชี้แนะงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

การทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากเจ้าของฟาร์มไก่กระทงในเขตจังหวัดชลบุรี ระยอง และนครปฐม ขอขอบพระคุณอาจารย์เสาวลักษณ์ ผ่องลำเจียก ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตผลจากสัตว์ สถาบันสุวรรณวาทกกลิกกิจฯ น.สพ.แสงชัย ยิ่งศักดิ์มงคล สพ.ญ.ปรมา หันหาบุญ คุณวนิดา พัสตุรักษ์ คุณอรวรารักษ์ นฤนาท และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพาะเชื้อ ภาควิชาจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกัน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คุณศรีสมัย วิทย์รัมย์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหน่วยจุลวิทยา ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุขศาสตร์และการบริการวินิจฉัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ขอขอบพระคุณ คุณทรรยพร จันทรงมี ที่คอยให้กำลังใจและช่วยเหลือตั้งแต่จัดหาฟาร์มไก่กระทง และเป็นธุระจัดการเรื่องการเดินทางให้ตลอดระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง ขอขอบพระคุณ คุณพีรียา เกียรติชนะไพบุลย์ คุณหฤทัย โฉมงาน คุณธิดิพงศ์ โพธิ์สุทธิ์ และคุณคณิศว์ คลอดเพ็ง ที่เป็นบุคคลที่คอยเตือนสติให้ข้าพเจ้าให้รู้จักหน้าที่ของตนเองตลอดเวลา ขอขอบพระคุณ คุณ ประเทือง ทองดอนเหมือน คุณบุญเสริม เล่าเปี่ยม คุณเฉลิม รื่นนุสาร คุณจอม รื่นนุสาร และคุณบุญรอด ศรีแสงฉาย ที่เป็นพี่ๆที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้าน และขอขอบพระคุณ คุณสุรัชย์ เปี่ยมคล้า และ น้องๆปริญญโททุกคนในศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตผลจากสัตว์ สถาบันสุวรรณวาทกกลิกกิจฯ

สุดท้ายขอกราบขอขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ พี่น้องที่ให้โอกาสทางการศึกษาจนมีข้าพเจ้าในวันนี้

นที แจ่มมงคล

ตุลาคม 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
ลักษณะโดยทั่วไป	3
โรค Campylobacteriosis	3
การระบาดและการปนเปื้อนในอาหาร	4
วิธีการเพาะแยกเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp.	10
ลักษณะทางชีวเคมี	12
อุปกรณ์และวิธีการ	14
อุปกรณ์	14
วิธีการ	16
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	25
สรุปผลการทดลอง	33
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	34
ภาคผนวก	43

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 รายงานการเปรียบเทียบจำนวนผู้ป่วยโรค <i>Campylobacteriosis</i> ในประเทศต่าง ๆ	5
2 อับัติการณ์ของเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. ในสุกรและไก่ในจังหวัดเชียงใหม่ และ ลำปางในปี ค.ศ. 2000 - 2003	6
3 จำนวนตัวอย่างและตัวอย่างที่พบเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. ในโรงพยาบาลจังหวัด เชียงใหม่และลำพูน	7
4 รายงานการแพร่กระจายของเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. ในผลิตภัณฑ์สัตว์ปีกใน ประเทศต่างๆ	8
5 ความชุกของเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. ในไก่กระทง สุกร และโคนม ในจังหวัด เชียงใหม่ และลำปาง ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2000 – 2003	9
6 ความชุกของเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. ในสุกรและไก่ในจังหวัดเชียงใหม่	9
7 การทดสอบทางชีวเคมี ของเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp.	13
8 ผลการเพาะแยกเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. จากตัวอย่างไก่กระทงในฟาร์ม A, B, C, D และ E	25
9 การเพาะแยกเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. จากตัวอย่างการป่ายทวารหนัก ที่ได้จาก ไก่ พื้นเมืองฟาร์ม F และ G	29
10 ผลการทดสอบเชื้อ <i>Campylobacter jejuni</i> ทางชีวเคมี	30

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แสดงจำนวนผู้ป่วยโรค <i>Campylobacteriosis</i> ในประเทศไทยปี ค.ศ. 1997-2006	6
2 แผนผังการสุมเก็บตัวอย่างภายในโรงเรือนไก่กระทุง	17
3 ขั้นตอนการเพาะเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. จากตัวอย่าง Cloaca swab	21
4 ขั้นตอนการเพาะเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. จากตัวอย่าง Caecum	22
ภาพผนวกที่	
a. ลักษณะโคโลนีของเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CCDA	46
b. ลักษณะโคโลนีของเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp. แบบเคียว บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CCDA	46
c. ภาพเชื้อ <i>Campylobacter</i> spp.	47
d. การทดสอบทางชีวเคมี Catalase test ให้ผลเป็นบวก	47
e. การทดสอบทางชีวเคมี Oxidase test ให้ผลเป็นบวก	48
f. การทดสอบทางชีวเคมี Hippuric acid ให้ผลเป็นบวกของฟาร์ม F	48
g. การทดสอบทางชีวเคมี Hippuric acid ให้ผลเป็นบวกของฟาร์ม F	49
h. การทดสอบทางชีวเคมี hippurate acid ให้ผลเป็นบวกของฟาร์ม G	49

**การศึกษา *Campylobacter jejuni* ในไก่กระทางและไก่พื้นเมือง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ
Preston broth กับ อาหารเลี้ยงเชื้อ Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar
(CCDA)**

**Study on *Campylobacter jejuni* in Broiler and Native Chicken by Preston broth
and Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA)**

คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคคำนึงถึงความปลอดภัยของอาหารมากขึ้น โดยเรื่องที่ทำให้ผู้บริโภคให้ความสนใจคือ “แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร” (Food borne) และจะพบว่าแบคทีเรียอยู่หลายชนิดที่เป็นปัญหาอยู่ในปัจจุบันนี้เช่นเชื้อ *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* แต่ที่มีความสำคัญไม่แพ้กันก็คือเชื้อ *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) (Slutsker et al., 1998) ซึ่ง *C. jejuni* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค Campylobacteriosis มีผลต่อระบบกระเพาะและลำไส้ของมนุษย์ทำให้เกิดอาการท้องร่วง ถ่ายเป็นเลือด และยังทำให้เกิดภาวะกระดูกเป็นพิษ ในหญิงตั้งครรภ์ มีการรายงานการพบผู้ป่วยโรค Campylobacteriosis ในสหรัฐอเมริกา มีจำนวนเพิ่มขึ้นทุกปี เช่นเดียวกันกับประเทศอังกฤษ (Cary et al., 2000) แต่โรคที่มีความสำคัญหลังจากการติดเชื้อ *C. jejuni* คือโรค Guillain Barre Syndrome (GBS) เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนปลาย คล้ายกับโรคอัมพาตเฉียบพลัน แหล่งที่มีการพบเชื้อ *C. jejuni* ได้บ่อยครั้งก็คือการพบในสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ปีก (Skirrow, 1991)

โดยที่ประเทศไทย เป็นประเทศที่มีการผลิตสัตว์ปีกเพื่อการบริโภค และเป็นสินค้าเพื่อการส่งออกจำนวนมากในแต่ละปี นอกจากนี้ยังมีรายงานการป่วยที่เกิดจาก *C. jejuni* ที่มีสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีกเป็นแหล่งของการติดเชื้อที่สำคัญ จึงเป็นจุดเริ่มต้นของการศึกษานี้ เพื่อที่จะได้ทราบถึง ความชุกของเชื้อ *C. jejuni* ในไก่กระทางและไก่พื้นเมือง รวมไปถึงวิธีการในการเพาะเชื้อ เพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้และวิธีการมาประยุกต์ใช้การศึกษาอื่นๆ ต่อไป

คำสำคัญ: *C. jejuni*, ไก่กระทาง, Preston broth, Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA)

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเชื้อ *Camplobacter jejuni* ในไก่กระพงและไก่พื้นเมือง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Preston broth และ Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA)

ตรวจเอกสาร

Campylobacter jejuni

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อ

Campylobacter jejuni เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นแท่งเกลียวคล้ายรูปตัวเอส ขนาด 0.2-0.5 x 0.5-5 ไมโครเมตร (Park, 2002) ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้ โดยใช้เส้นที่บริเวณปลายขั้ว (polar flagellum) เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 30.5 - 45.0 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อมากที่สุดคือ 42 องศาเซลเซียส *C. jejuni* มีความไวต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 55 - 60 องศาเซลเซียส จะถูกทำลายภายในเวลา 0.21-2.5 นาที แต่เชื้อสามารถมีชีวิตได้เป็นเวลาหลายสัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Fritzerald *et al.*, 2001; FAO/ WHO, 2003) *C. jejuni* เป็นเชื้อไมโครแอโรบิก (microaerobic) ซึ่งต้องการบรรยากาศที่มีปริมาณ ออกซิเจน 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ และไนโตรเจน 85 เปอร์เซ็นต์ หากขาดก๊าซออกซิเจน จะไม่สามารถที่จะเจริญได้ (Keener *et al.*, 2004) และ *C. jejuni* สามารถเจริญได้ในช่วงความเป็นกรดเป็นด่าง 4.9 - 9.0 ช่วงที่เหมาะสมที่สุดกับการเจริญเติบโตของเชื้ออยู่ที่ 6.5 - 7.5 (Lake *et al.*, 2003) นอกจากนี้โคโลนีของ *C. jejuni* มี 2 ลักษณะคือ มีลักษณะแบนสีเทาหรือไม่มีสี เนื้อโปร่งแสง ขอบโคโลนีไม่เรียบ เจริญตามรอย streak ไม่แยกเป็นโคโลนีเดี่ยว และอีกหนึ่งลักษณะของโคโลนีจะมีสีขาวครีม ขอบเรียบ โคโลนีมีขนาดเล็กมากจนถึงปานกลาง (จริยาและสุวณี, 2543)

โรค Campylobacteriosis

Campylobacter spp. มีหลายสายพันธุ์ โดย *C. jejuni* เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่มีความสำคัญต่อมนุษย์มากที่สุด ซึ่ง *C. jejuni* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคถึงร้อยละ 85 ของผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *Campylobacter spp.* โดยโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *C. jejuni* มีชื่อเรียกว่าโรคแคมไพโลแบคทีเรียโอซิส (Campylobacteriosis) ทำให้เกิดการอักเสบของกระเพาะและลำไส้ อาการผู้ป่วยโรคแคมไพโลแบคทีเรียโอซิส จะมีอาการปวดท้อง ไม่มีแรง อ่อนเพลีย ไข้สูง ท้องเสีย ถ่ายเป็นน้ำ ระยะต่อมาอาจทำให้มีอาการถ่ายเป็นเลือด เป็นตะคริวที่บริเวณท้อง หาวสั้น คลื่นไส้ อาเจียน (Skirrow, 1991)

กลไกการก่อโรคที่สำคัญของ *C. jejuni* คือ เชื้อสามารถผลิตเอนเทอโรทอกซินที่ทนความร้อนได้ดี เอนเทอโรทอกซินชนิดนี้ทำให้เกิดการกระตุ้นการหลั่งของเหลวในลำไส้ใหญ่ ทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วง สภาวะที่ *C. jejuni* ผลิตสารพิษได้ดีที่สุดคือที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส และหากมีสารปฏิชีวนะพวกโพลีมัยซินจะมีฤทธิ์ช่วยเสริมการสร้างเอนเทอโรทอกซิน นอกจากนี้ *C. jejuni* ยังสร้าง Cytotoxin มีผลต่อเนื้อเยื่อต่างๆ โดยจะเกิดการทำลาย lamina propria และ mesenteric lymph nodes ของลำไส้ใหญ่ ซึ่งเชื่อจะใช้แฟลกเจลลาเป็นตัวยึดเกาะกับผนังลำไส้ ทำให้เกิดการอักเสบของลำไส้ใหญ่ มีอาการปวดท้องอย่างรุนแรง เชื่อดังกล่าวยังสามารถเพิ่มจำนวนได้บริเวณลำไส้เล็กในส่วนของเจจูนัม อีเลียม และลำไส้ใหญ่ส่วนโคลอนทำให้ผิวเยื่อเมือกบวม น้ำ และมีลักษณะเป็นแผลเปื่อย มีการอักเสบเป็นหนอง ผู้ป่วยมีอาการปวดท้องรุนแรง อุจจาระมีมูกเลือดปน (Pickett, 2000) นอกจากนี้ *C. jejuni* ยังสามารถก่อให้เกิดโรคหลังการติดเชื้อ ที่มีผลต่อระบบประสาท ที่มีชื่อว่า Guillain Barre syndrome (GBS) โดยจะทำให้เกิดการอักเสบของระบบเยื่อประสาท ทำให้ผู้ป่วยมีอาการไข้ ปวดบวม อ่อนแรง จากนั้นนำไปสู่อาการเปลี่ยน ไม่สามารถควบคุมระบบการทำงานของร่างกายได้ มีลักษณะคล้ายโรคโปลิโอ (Hariharan *et al.*, 2004)

การระบาดและการปนเปื้อนในอาหาร

C. jejuni เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงในคน (Friendman *et al.*, 2000) จากรายงานของ Dachet *et al.* (2004) สามารถแยก *C. jejuni* ได้จากลำไส้ของผู้ป่วยที่เป็นโรคแคมไพโลแบคทีเรียโอซิส ได้ถึง 68 เปอร์เซ็นต์ และ Ali *et al.* (2003) พบว่าโรคท้องร่วงและลำไส้อักเสบที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *C. jejuni* มักพบได้ในเด็กโดยมีความสัมพันธ์กันกับการบริโภคเนื้อไก่และน้ำดื่มที่ไม่ผ่านการจัดการที่ดี นอกจากนี้ Kelly *et al.*, 2001; Chang and Chen, (2000) รายงานการป่วยด้วยโรคแคมไพโลแบคทีเรียโอซิส จำนวนมากในประเทศอังกฤษและสหรัฐอเมริกา ส่วนในประเทศอังกฤษและเวลส์ มีรายงานการพบผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Campylobacter* ในปี ค.ศ. 1998 จำนวน 58,000 ราย เพิ่มขึ้น 16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับจำนวนผู้ป่วยในปี ค.ศ. 1997 (Kramer *et al.*, 2000) ในประเทศเดนมาร์ก มีจำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้น 3 เท่าในช่วง 7 ปีหลัง โดยในปี ค.ศ. 1992 มีผู้ป่วยจำนวน 22 รายต่อประชากร 100,000 ราย ส่วนในปี ค.ศ. 1999 มีผู้ป่วยจำนวน 78 รายต่อประชากร 100,000 ราย (Nielsen *et al.*, 2000) นอกจากนี้พบการเกิดโรคที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อ *Campylobacter* spp. จำนวน 6 คน ต่อประชากร 100,000 คน ในปี ค.ศ. 1988 และ 87 คน ต่อประชากร 100,000 คน ในปี ค.ศ. 1990 ในประเทศอังกฤษ (Cary *et al.*, 2000) มีการรายงานข้อมูลอัตราการเกิดโรคแคมไพโลแบคทีเรียโอซิส ของประเทศต่าง ๆ ดังนี้ในปี ค.ศ. 2001 ประเทศนิวซีแลนด์มีอัตราการเกิดโรคแคมไพโลแบคทีเรียโอซิส ในอัตรา 271.5 รายต่อประชากร 100,000

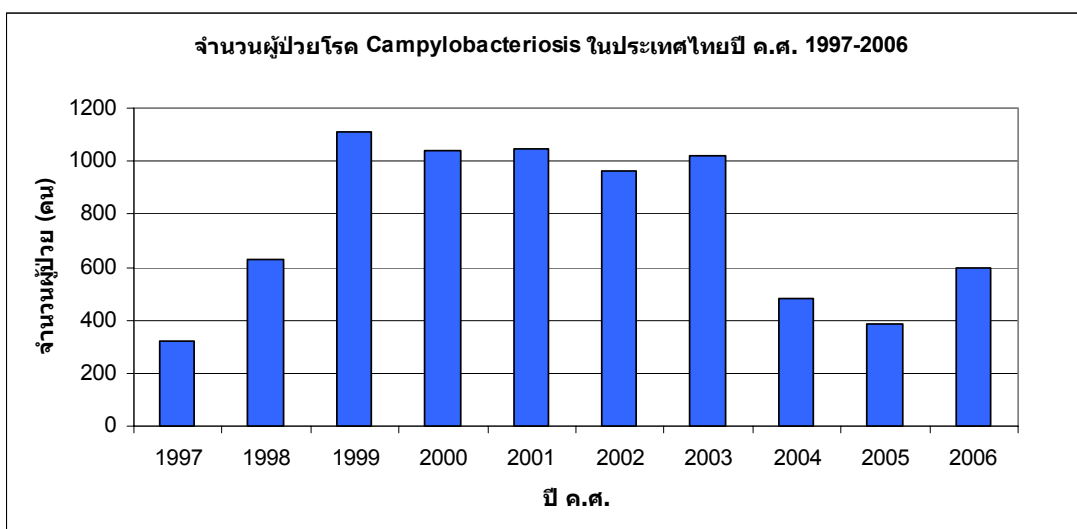
ราย (Sneyd *et al.*, 2002) ประเทศออสเตรเลีย ในปี ค.ศ. 2000 มีอัตราการเกิดโรค 107 รายต่อประชากร 100,000 ราย (Communicable Diseases Australia, 2001) ประเทศแคนาดา ในปี ค.ศ. 1987-1999 มีอัตราการเกิดโรค 38-54 รายต่อประชากร 100,000 ราย (Health Canada, 2001) ประเทศเดนมาร์ก ในปี ค.ศ. 1999 มีอัตราการเกิดโรค 78 รายต่อประชากร 100,000 ราย (Dansk Zoonosecenter, 2000) ประเทศอังกฤษและเวลส์ มีอัตราการเกิดโรค 111 รายต่อประชากร 100,000 ราย (Tam, 2001) Yildirim *et al.* (2005) เพาะแยกเชื้อ *Campylobacter spp.* จากการป้ายทวารหนัก (rectal swab) ไป่กระทั่ง พบว่าสามารถเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter spp.* ได้ 92.9 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อที่พบมากที่สุดคือ *C. jejuni* 92.4 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 1.

ตารางที่ 1 รายงานการเปรียบเทียบจำนวนผู้ป่วยโรค Campylobacteriosis ในประเทศต่าง ๆ

ประเทศ	ปี ค.ศ.	อัตราการเกิดโรค/ประชากร 100,000 คน
นิวซีแลนด์	2001	271.5
ออสเตรเลีย	2000	107
แคนาดา	1987-1999	38-54
เดนมาร์ก	1999	78
อังกฤษและเวลส์	1998	111

ที่มา: Frost (2001)

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาการเกิดโรคลำไส้อักเสบที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย จากตัวอย่างเด็กที่มีอายุ 1 เดือน ถึง 12 ปี พบว่า 28 เปอร์เซ็นต์ มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ *Campylobacter spp.* โดย 80 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างที่มีการติดเชื้อ เป็นการติดเชื้อ *C. jejuni* ส่วนอีก 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นการติดเชื้อ *C. coli* (Bodhidatta *et al.*, 2002) ซึ่งเด็กทารกเป็นกลุ่มที่มีการติดเชื้อ *Campylobacter* มากที่สุด พบการติดเชื้อ 14 รายในประชากรทุกๆ 100,000 รายต่อปี และเมื่อมีอายุมากขึ้นพบว่าการติดเชื้อลดลง (Altekruse *et al.*, 2004)



1 ภาพที่ 1 แสดงจำนวนผู้ป่วยโรค Campylobacteriosis ในประเทศไทยปี ค.ศ. 1997-2006
ที่มา: คัดแปลงมาจาก The Swedish Institute for Infectious Disease Control. (2007)

Padungtod and Kaneene (2005) รายงานอุบัติการณ์ของเชื้อ *Campylobacter* spp. ในจังหวัดเชียงใหม่ และ ลำปาง ซึ่งพบว่าคนงานฟาร์มเลี้ยงสัตว์พบอุบัติการณ์ 4.6 เปอร์เซ็นต์ และผู้ป่วยที่มีอาการท้องร่วง พบอุบัติการณ์ 17.6 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความชุกของเชื้อ *Campylobacter* spp. ในประชากรกลุ่มต่าง ๆ ในจังหวัดเชียงใหม่ และ ลำปาง ในปี 2000 – 2003

กลุ่มประชากร	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่เป็นบวก	ความชุก(%)
คนงานในฟาร์ม	อุจจาระ	197	9	4.6
คนงานโรงฆ่า	อุจจาระ	4	0	0
คนทั่วไป	อุจจาระ	100	0	0
ผู้ป่วยโรคท้องร่วง	ปัสสาวะ	205	36	17.6

ที่มา: คัดแปลงมาจาก Padungtod and Kaneene (2005)

ภาวินและคณะ (2546) รายงานความชุกการพบ *Campylobacter* spp. จากผู้ป่วยด้วยอาการท้องร่วง ที่ทำการตรวจรักษาในโรงพยาบาลจังหวัดเชียงใหม่ และลำพูนจำนวน 3 แห่งพบว่า เปอร์เซ็นต์การพบความชุกเฉลี่ย 17.56 เปอร์เซ็นต์ โดยโรงพยาบาลที่พบความชุกมากที่สุดคือ โรงพยาบาลศูนย์สุขภาพเขต 10 พบความชุก 20.90 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 จำนวนตัวอย่างและจำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ *Campylobacter* spp. ในโรงพยาบาลจังหวัดเชียงใหม่ และลำพูน

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง ที่เป็นบวก	ความชุก (%)
โรงพยาบาล มหาราช	67	14	16.81
โรงพยาบาลศูนย์สุขภาพเขต 10	113	19	20.90
โรงพยาบาลลำพูน	25	3	12.00
รวม	205	36	17.56

ที่มา: ดัดแปลงจาก ภาวินและคณะ (2546)

สำหรับผลิตภัณฑ์สัตว์พบเชื้อ *C. jejuni* และ *C. coli* ในเขตที่ขับโปโร เกาะฮอกไกโด ประเทศญี่ปุ่น จำนวน 81.5 เปอร์เซ็นต์ และ 18.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Sallam, 2006) การศึกษาการเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp. จาก เนื้อไก่ เนื้อแกะ เนื้อวัว นมสด ผักสด ชีส และ แชนดว์ิชในประเทศปาเกีสถาน พบการปนเปื้อน จำนวน 21.45 เปอร์เซ็นต์ โดยเป็นการปนเปื้อน *C. jejuni* สูงถึง 70.6 เปอร์เซ็นต์ และ *C. coli* 29.4 เปอร์เซ็นต์ (Hussain *et al.*, 2006) Leke *et al.* (2003) รายงานการพบเชื้อ *Campylobacter* spp. ในผลิตภัณฑ์จากประเทศต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 รายงานการแพร่กระจายของเชื้อ *Campylobacter* spp. ในผลิตภัณฑ์สัตว์ปีกในประเทศต่างๆ

ประเทศ	ชนิดผลิตภัณฑ์	จำนวนตัวอย่าง	%ที่พบเชื้อ <i>Campylobacter</i>
เบลเยียม	ชิ้นส่วนไก่และไก่ทรง	60	40
อียิปต์	ตับไก่	50	40
อียิปต์	ตับเป็ด	50	36
อียิปต์	ไก่ทรง	50	30
ฝรั่งเศส	ไส้กรอกสัตว์ปีก	115	10
ญี่ปุ่น	สัตว์ปีกนำเข้า	54	3.7
ญี่ปุ่น	สัตว์ปีกภายในประเทศ	33	45.8
เม็กซิโก	ไก่	92	36
ไอร์แลนด์เหนือ	ชิ้นส่วนไก่	120	38
ไอร์แลนด์เหนือ	ปีกไก่	153	65
สวิตเซอร์แลนด์	ตับสัตว์ปีกสด	139	31
สวิตเซอร์แลนด์	ตับสัตว์ปีกแช่แข็ง	144	16
ไต้หวัน	ไก่ทั้งตัว	22	68
ไต้หวัน	หน้าอก/ปีก/น่อง	17	53
ไต้หวัน	ก้น/ตับ	15	60
สหรัฐอเมริกา	ตับไก่	117	48

ที่มา: Lake *et al.* (2003)

Padungtod and Kaneene (2005) ศึกษาอุบัติการณ์ของ *Campylobacter* spp. ในไก่ กระทง สุกร และโคนม ในจังหวัดเชียงใหม่ และลำปาง พบอุบัติการณ์ในไก่กระทง 63.9 เปอร์เซ็นต์ สุกร 72.6 เปอร์เซ็นต์ และโคนม 14.4 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 5 ส่วนในไก่ และสุกรจากแหล่งที่มาต่าง ๆ ในจังหวัดเชียงใหม่พบความชุกของเชื้อ *Campylobacter* spp. ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ความชุกของเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่กระทง สุกร และโคนม ในจังหวัด
เชียงใหม่และลำปาง ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2000 – 2003

ชนิดสัตว์	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่ เป็นบวก	ความชุก (%)
ไก่กระทง	ปัสสาวะหร่าน	415	265	63.9
สุกร	มูล	361	262	72.6
โคนม	มูล	125	18	14.4

ดัดแปลงมาจาก: Pawin and Kaneene (2005)

ภาวิน (2547) รายงานความชุกของเชื้อ *Campylobacter* spp. ในสุกรและไก่ในจังหวัด
เชียงใหม่ พบว่าในไก่จากฟาร์มมีการพบ *Campylobacter* มากที่สุดคือ 86.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใน
สุกรจากฟาร์มมีการพบ *Campylobacter* มากที่สุดคือ 81.40 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 6 ความชุกของเชื้อ *Campylobacter* spp. ในสุกรและไก่ในจังหวัดเชียงใหม่

ชนิดสัตว์	แหล่งที่มา	ความชุก (%)
ไก่	ฟาร์ม	86.67
	โรงฆ่าสัตว์	36.99
	ตลาดสด	47.22
สุกร	ฟาร์ม	81.40
	โรงฆ่าสัตว์	52.51
	ตลาดสด	23.19

ที่มา: ภาวิน (2547)

วิธีการเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp.

ปัจจุบันการเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* สามารถแยกได้โดยใช้ Enrichment Broth และ Selective media โดย enrichment broth ที่นิยมใช้คือ Bolton broth, *Campylobacter* Enrichment broth, Brucella broth และ Preston broth ส่วน selective media ที่นิยมใช้คือ Karmali agar, Preston agar, Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA) และ Brucella agar

Padungtod and Kaneene (2005) เพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp. จากไก่กระตัง ด้วยวิธีการป้ายทวารหนัก โดยใช้อาหาร Bolton broth (Oxoid, Hampshire, England) เป็นอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อ (Enrichment media) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะ microaerophilic เวลา 48 ชั่วโมง และนำตัวอย่างที่ได้เพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Karmali agar (Selective media) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะ microaerophilic เวลา 120 ชั่วโมง สังเกตลักษณะของโคโลนีต้องสงสัย และทดสอบทางชีวเคมีต่อไป ปรากฏว่าพบความชุกของเชื้อ *Campylobacter* spp. ของไก่กระตังที่เลี้ยงไว้ภายในฟาร์มจำนวน 63.9 เปอร์เซ็นต์

Kulkarni *et al.* (2002) เพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp. แบบ membrane filter technique โดยเก็บตัวอย่างจากการป้ายทวารหนัก และใส่ transport media เพิ่มเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Prestons broth (Oxoid, Hampshire, England) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำตัวอย่างที่ได้ หยดลงผ่าน cellulose acetate membrane (0.45µm) จำนวน 8 จุด บน Blood agar base No. 2 (Oxoid, Hampshire, England) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic ชั่วโมง สังเกตลักษณะของโคโลนีต้องสงสัย และทดสอบทางชีวเคมีต่อไป ผลการทดสอบปรากฏว่ามีตัวอย่าง 12 ให้ผลเป็นบวก จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 343 ตัวอย่าง คิดเป็น 3.5 เปอร์เซ็นต์

Yildirim *et al.* (2005) ศึกษาการระบาดของเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่กระตัง โดยเพาะแยกเชื้อจากการป้ายทวารหนัก 57 ตัวอย่าง และตัวอย่างจาก Caecum 93 ตัวอย่าง ใช้วิธีแยกเชื้อ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ mCCDA แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะไมโครแอโรบิก (microaerobic) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลการเพาะเชื้อพบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp. 53 ตัวอย่าง จากการป้ายทวารหนัก และ 85 ตัวอย่าง จากตัวอย่าง Caecum

Frediani – Wolf and R Stephan (2003) เพาะเชื้อ *Campylobacter spp.* จากหนังกอไก่กระทง โดยเพิ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brucella broth ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไมโครแอโรบิก (microaerobic) ถ่ายตัวอย่าง ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Brucella agar ด้วยวิธีเจี่ยเชื้อ เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไมโครแอโรบิก (microaerobic) ผลการเพาะเชื้อพบ ตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter spp.* จำนวน 195 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 800 ตัวอย่าง คิดเป็น 24.37 เปอร์เซ็นต์

Hook *et al.* (2005) เพาะเชื้อ *C. jejuni* จากตัวอย่าง rectal swab และ caecum ของไก่กระทง โดยเก็บตัวอย่างใน carry-blair เพิ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Preston Campylobacter Selective Enrichment Broth เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไมโครแอโรบิก (microaerobic) ถ่ายตัวอย่างลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Preston Campylobacter Selective agar plate ด้วยวิธีเจี่ยเชื้อ เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไมโครแอโรบิก (microaerobic) ผลการเพาะเชื้อพบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter spp.* จำนวน 220 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 250 ตัวอย่าง คิดเป็น 88 เปอร์เซ็นต์

Sallam (2006) เพาะเชื้อ *Campylobacter* จากส่วนต่าง ๆ ของไก่กระทงในเมืองซัปโปโร ประเทศญี่ปุ่น เพิ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Bolton broth เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และ 42 องศาเซลเซียส อีก 48 ชั่วโมง (Baylis *et al.*, 2000) ถ่ายตัวอย่างเชื้อ ลงบน Blood Free *Campylobacter* Selective Agar Base (CM0739, Oxoid) ที่เติม Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar Supplement (CCDA Selective Supplement) (SR0155, Oxoid) เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไมโครแอโรบิก (microaerobic) ผลการเพาะเชื้อพบตัวอย่าง ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter spp.* จำนวน 110 ตัวอย่าง คิดเป็น 64.7 เปอร์เซ็นต์

Hussain *et al.* (2006) เพาะเชื้อ *Campylobacter spp.* จากเนื้อไก่ เนื้อแกะ เนื้อวัว นำนมดิบ ผักสด และชีส ในประเทศปากีสถาน โดยเพิ่มเชื้อ ใน Campy Pack broth ที่เติมเลือดม้า 5 เปอร์เซ็นต์ เก็บที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นถ่ายเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ mCCDA แล้วเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไม

โครแอโรบิก (microaerobic) อาหารที่เลี้ยงเชื้อและปรับสภาวะแวดล้อมตามแบบของ Peterson *et al.* (2001), Nye *et al.* (2001) โดยผลการเพาะเชื้อพบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp. จำนวน 351 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 1636 ตัวอย่าง คิดเป็น 21.45 เปอร์เซ็นต์

Atanassova *et al.* (2006) เพาะเชื้อ *Campylobacter* spp. จากตัวอย่างเนื้อไก่สด โดยเพิ่มจำเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Preston broth (Oxoid, Basingstoke, UK) เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไมโครแอโรบิก (microaerobic) ถ่ายเชื้อลงสู่ selective media 2 ชนิด คือ CCDA (Oxoid) และ Karmali (Oxoid) บ่มตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไมโครแอโรบิก (microaerobic) พบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อ จำนวน 42 ตัวอย่าง คิดเป็น 29.2 เปอร์เซ็นต์

ลักษณะทางชีวเคมี

ลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ *Campylobacter* spp. และ *C. jejuni* มีดังนี้ โดยเชื้อ *Campylobacter* spp. บางสายพันธุ์เจริญได้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เช่น *C. fetus* แต่สายพันธุ์ ส่วนใหญ่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส รวมไปถึง *C. jejuni* โดยเชื้อ *Campylobacter* spp. และ *C. jejuni* มีการเคลื่อนที่ แบบคorkscrew (corkscrew) และ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ การทดสอบ Oxidase และ Catalase จะให้ผลเป็นบวกทั้ง *Campylobacter* spp. และ *C. jejuni* โดยการทดสอบ Oxidase นั้นเมื่อนำเชื้อมาทดสอบแล้วจะมีสีม่วงเกิดขึ้น ส่วนการทดสอบ Catalase เมื่อนำเชื้อมาทำการทดสอบจะมีฟองอากาศเกิดขึ้น ทั้ง *Campylobacter* spp. และ *C. jejuni* ส่วนการทดสอบ Indoxyl acetate hydrolysis นั้นบางสายพันธุ์จะให้ผลเป็นลบเช่น *C. lari* และ *C. fetus* ส่วน *C. jejuni* จะให้ผลเป็นบวก และอีกการทดสอบหนึ่งที่มีความสำคัญได้แก่การทดสอบ Hippurate Hydrolysis โดยที่เชื้อ *Campylobacter* spp.จะให้ผลเป็นลบ ส่วน *C. jejuni* จะให้ผลเป็นบวกเพียงสายพันธุ์เดียว โดยเมื่อนำเชื้อมาทำการทดสอบแล้วจะให้สีม่วง ส่วนการทดสอบการต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ nalidixic และ cephalothin นั้น โดย *C. jejuni* จะมีความไวต่อ nalidixic และ จะต่อต้าน cephalothin ดังแสดงผลการทดสอบทั้งหมดใน ตารางที่ 7 (Public Health Laboratory Service, 1999)

ตารางที่ 7 การทดสอบทางชีวเคมี ของเชื้อ *Campylobacter* spp.

ลักษณะการทดสอบ	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>C. fetus</i>
เจริญเติบโตที่ 25 องศาเซลเซียส	-	-	-	-	+
เจริญเติบโตที่ 42 องศาเซลเซียส	+	+	+	+	-
Catalase test	+	+	+	+	+
Oxidase test	+	+	+	+	+
Hippurate hydrolysis	+	-	-	-	-
Indoxyl acetate hydrolysis	+	+	-	+	-
Nalidixic acid	S	S	R	S	R
Cephalothin	R	R	R	S	S

S = Sensitive and R = Resistant

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Public Health Laboratory Service. (1999)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อ *Campylobacter jejuni* มาตรฐาน (ATCC 33291 NIS, Thailand)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 2.1 Trypticase Soy Agar (CM67, Oxiod Ltd, Basingstoke, Hampshire,UK)
- 2.2 Preston Campylobacter Selective Supplement (SR117, Oxiod Ltd, Basingstoke, Hampshire,UK)
- 2.3 Campylobacter Growth Supplement, Liquid (SR232, Oxiod Ltd, Basingstoke, Hampshire,UK)
- 2.4 Lysed horse blood (SR48, Oxiod Ltd, Basingstoke, Hampshire,UK)
- 2.5 Campylobacter Blood-free Agar Base (CM739, Oxiod Ltd, Basingstoke, Hampshire,UK)
- 2.6 CCDA Selective Supplement SR155 (Oxiod Ltd, Basingstoke, Hampshire,UK)
- 2.7 Carry-blair

สารเคมี

- 3.1 Hippuric broth
- 3.2 สารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์ tetramethyl-P-phenylenediamine dichloride
- 3.3 สารละลาย 3 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
- 3.4 สารละลาย 3.5 เปอร์เซ็นต์ ninhydrin
- 3.5 Peptone Water
- 3.6 ลีซอมแกรม
- 3.7 สารละลาย 70 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์

เครื่องมือ

- 4.1 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator), Memmert model 600, Germany.
- 4.2 ตู้เย็น (Refrigerator), Sanyo SR-NF-138, Thailand
- 4.3 เครื่องผสมสารละลาย (Vertex mixer), model G-560 E, U.S.A.
- 4.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง (Balance), Precisa 300A, France
- 4.5 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave), Sanyo MLS 3780, Japan
- 4.6 ตู้เขี่ยเชื้อ (Bio safety cabinet), NUAIRE NH 425-300, UK
- 4.7 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) Olympus Co11, Japan
- 4.8 นาฬิกาจับเวลา (Timer), Heathrow Scientific
- 4.9 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
- 4.10 เครื่องกวนแม่เหล็กแบบให้ความร้อน (Magnetic stirrer hot plate)

สัตว์ทดลอง

ใช้กระต่ายลูกผสมสายพันธุ์ทางการค้าละเพศ และใช้พื้นเมืองละเพศอายุตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป

วิธีการ

1. โรงเรือน และการจัดการน้ำ และอาหาร

1.1 ลักษณะของโรงเรือน

โรงเรือนไก่กระทง เป็นระบบปิดแบบ ควบคุมสภาพแวดล้อมภายในด้วยระบบระเหยไอน้ำ (evaporative cooling system) โดยทำการติดตั้งอุปกรณ์ควบคุม ระบบการเปิด - ปิด ปั๊มน้ำที่จะไหลผ่านรังผึ้ง (cooling pad) ที่เรียกว่า เทอร์โมสแตท (Thermostat) ตั้งบริเวณจุดกึ่งกลางของโรงเรือน และมีการกันห้องเป็นระยะ แผงที่ใช้กันมีความสูงประมาณ 18 นิ้ว (45 เซนติเมตร) ระยะห่างระหว่างแผงกันประมาณ 100 ฟุต (30 เมตร) แผงกันเป็นตาข่ายโปร่งแสง สามารถเลี้ยงไก่ได้ 15 ตัวต่อตารางเมตร และมีใบรับรองมาตรฐานฟาร์มที่ออกโดยกรมปศุสัตว์เขตจังหวัด ระยอง จำนวน 3 ฟาร์ม (ฟาร์ม A, B และ C) ชลบุรี จำนวน 1 ฟาร์ม (ฟาร์ม D) และนครปฐม จำนวน 3 ฟาร์ม (ฟาร์ม E, F และ G) รวมทั้งหมดจำนวน 7 ฟาร์ม โรงเรือนไก่พื้นเมือง เป็นโรงเรือนทรงจั่วแบบเปิด ผนังทำด้วยลวดตาข่าย มีคอนให้ไก่นอน

1.2 การจัดการน้ำ และอาหาร

ไก่กระทง

น้ำที่ใช้เป็นน้ำบาดาล ซึ่งผสมคลอรีน 5 ppm ทิ้งไว้หนึ่งคืน ก่อนใช้ส่วนอาหารที่ใช้เป็นอาหารสำเร็จรูปจากบริษัทที่มีกระบวนการผลิตที่ได้มาตรฐาน มีการตรวจสอบย้อนกลับได้ และมีใบรับรองจากหน่วยงานราชการที่กำกับดูแล โดยมีน้ำและอาหารให้กินอย่างเต็มที่ตลอดเวลา

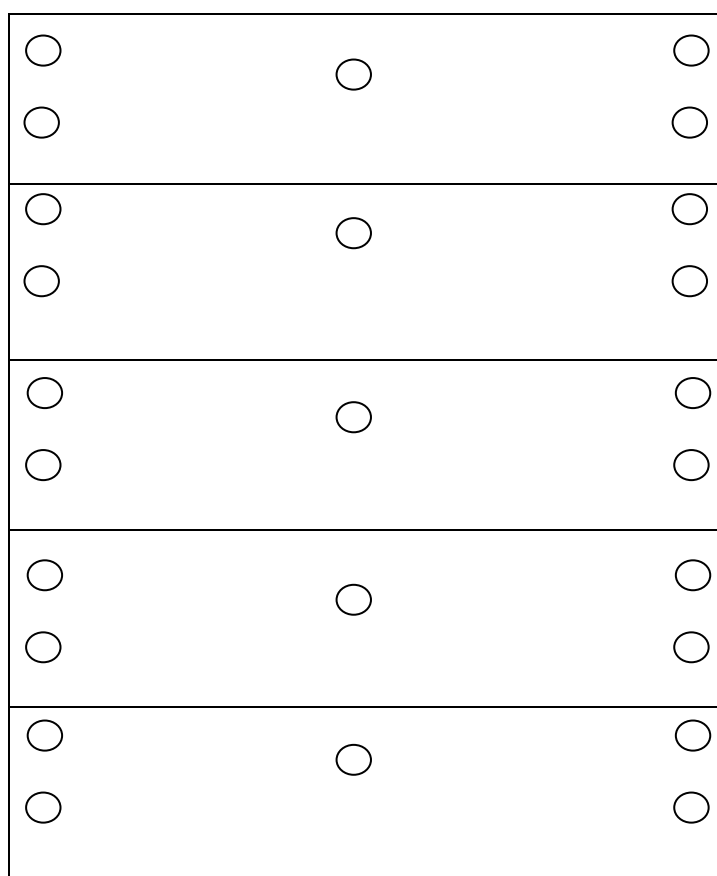
ไก่พื้นเมือง

น้ำที่ให้เป็นน้ำประปา ส่วนอาหารเป็นข้าวเปลือกให้กิน 2 เวลา คือ เช้า – เย็น กลางวัน ปล่อยให้ไก่หากินตามธรรมชาติ

2. การสุ่มเก็บตัวอย่าง

2.1 วิธีคัดเลือกไก่กระทงเพื่อสุ่มเก็บตัวอย่าง

สุ่มคัดเลือกจากไก่กระทงทั้งโรงเรือน โดยแบ่งโรงเรือนออกเป็น 5 ส่วน (ตามแนวความยาวของโรงเรือน) และแบ่งแต่ละ ส่วนออกเป็น 5 จุด (มุมซ้ายบน มุมซ้ายล่าง มุมขวาบน มุมขวาล่าง และตรงกลาง) และเก็บตัวอย่างในแต่ละจุด จุดละ 2 ตัว ดังแสดงในภาพที่ 3 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในไก่กระทงที่มีสุขภาพแข็งแรง ไม่พิการ หรือสงสัยว่ามีอาการป่วย และมีน้ำหนักใกล้เคียงกัน



2 ภาพที่ 2 แผนผังการสุ่มเก็บตัวอย่างภายในโรงเรือนไก่กระทง

โดยเก็บตัวอย่างอุจจาระจากการปัสสาวะของฟาร์ม A, B และ C ฟาร์มละ 200 ตัวอย่างจากไก่กระทงฟาร์มละ 5,000 ตัว ฟาร์ม D เก็บตัวอย่างอุจจาระจากการปัสสาวะของ 100 ตัวอย่างจากไก่กระทง 6,000 ตัว ฟาร์ม E เก็บตัวอย่างอุจจาระจากการปัสสาวะของ 100 ตัวอย่าง

และเก็บตัวอย่างของเหลวใน caecum จำนวน 10 ตัวอย่างจากไก่กระทง 2,000 ตัวตามลำดับ ฟาร์ม F เก็บตัวอย่างอุจจาระจากการปัสสาวะหนักรับ 33 ตัวอย่างจากไก่พื้นเมือง 200 ตัว และฟาร์ม G เก็บตัวอย่างอุจจาระจากการปัสสาวะหนักรับ 22 ตัวอย่างจากไก่พื้นเมือง 150 ตัว

2.2 การเก็บตัวอย่างจากการปัสสาวะหนัก (Cloaca swab)

สุ่มเก็บตัวอย่างอุจจาระจากการปัสสาวะหนักจากฟาร์ม A, B และ C จำนวนฟาร์มละ 200 ตัว จำนวน 4 ครั้ง ครั้งละ 50 ตัว ฟาร์ม D และ E สุ่มเก็บตัวอย่างอุจจาระจากการปัสสาวะหนักจำนวนฟาร์มละ 100 ตัว ฟาร์ม F สุ่มเก็บตัวอย่างอุจจาระจากการปัสสาวะหนักในไก่พื้นเมืองจำนวน 22 ตัว และฟาร์ม G เก็บตัวอย่างอุจจาระจากการปัสสาวะหนักในไก่พื้นเมืองจำนวน 33 ตัว เก็บตัวอย่างโดยใช้สำลีพันปลายไม้ที่ปราศจากเชื้อ (cotton swab sterile) ที่มีขนาดเหมาะสมกับอายุของไก่กระทง โดยสอดสำลีพันปลายไม้ที่ปราศจากเชื้อเข้าไปในบริเวณทวารของไก่ พยายามให้มีสิ่งที่บรรจุ (content) อยู่ในทวารติดออกมาให้ชุ่มสำลีพันปลายไม้ที่ปราศจากเชื้อ และระวังไม่ให้สำลีพันปลายไม้ที่ปราศจากเชื้ออันดังกล่าว สัมผัสกับส่วนอื่นๆ ทั้งจากตัวไก่กระทงและสิ่งแวดล้อมภายนอกเพื่อป้องกันการปนเปื้อน เก็บสำลีพันปลายไม้ที่เก็บตัวอย่างเรียบร้อยแล้วใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Preston broth และนำตัวอย่างส่งห้องปฏิบัติการทันทีเพื่อทำการเพาะเชื้อต่อไป

2.3 การสุ่มเก็บตัวอย่าง Caecum

สุ่มเลือกไก่กระทงจากฟาร์ม E จำนวน 10 ตัว ฆ่าและเปิดซากหาตำแหน่งของ caecum เมื่อได้ตำแหน่งของ caecum เรียบร้อยแล้วจึงใช้เชือกผูกส่วนต้นของ caecum ใช้กรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อตัดตรงบริเวณที่สูงกว่าตำแหน่งที่ผูกเชือกด้วยประมาณ 0.5 เซนติเมตร และนำปากคีบ (forceps) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อคีบ caecum ลงในถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิท และเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส และนำตัวอย่างส่งห้องปฏิบัติการเพื่อทำการเพาะเชื้อต่อไป

2.4 การเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อนำส่งห้องปฏิบัติการ

เก็บตัวอย่างที่ได้ในภาชนะที่มีน้ำแข็งอยู่ (อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส) และนำส่งห้องปฏิบัติการภายในเวลา 12 ชั่วโมง

3. การเพาะเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่างที่ได้จากการป้ายทวารหนัก (Cloaca swab)

3.1 การเพิ่มจำนวนเชื้อจากตัวอย่างที่ได้จากการป้ายทวารหนัก

นำตัวอย่างที่ได้จากการป้ายทวารหนัก เข้าสู่ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนเชื้อ (Enrichment) เริ่มจากการถ่ายตัวอย่างจากอาหารเลี้ยงเชื้อ Carry-Blair ใส่ลงใน Prestons broth ในขั้นตอนการเพิ่มจำนวนเชื้อ ผู้ปฏิบัติงานใช้ปากกิบที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว กีบสำลิจนปลายไม้ที่ใช้เก็บตัวอย่างจำนวน 10 อันใส่ลงในอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อ Prestons broth ที่มีปริมาณ 9 มิลลิลิตร รวมเป็น 1 ตัวอย่าง จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ในสภาวะเฉพาะ microaerophilic (O_2 5%, CO_2 10%, N_2 85%) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ในการเพาะเชื้อทุกครั้งทำ Positive Control ควบคู่ไปด้วยทุกขั้นตอน)

3.2 การคัดแยกเชื้อและการบ่มเชื้อ

เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่เพิ่มจำนวนแล้วมาทำการแยกเชื้อ (Direct streak plate technique) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA) ภายในตู้เขี่ยเชื้อ ด้วยวิธีที่ปราศจากเชื้อ และเก็บในสภาวะ micro aerophilic ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3 การตรวจนับโคโลนีที่ได้จากการเพาะเชื้อ

เมื่อครบระยะเวลา 48 ชั่วโมง จึงทำการตรวจผลการเพาะเชื้อ โดยจะทำการเลือกตามลักษณะ Typical colony จะมี 2 ลักษณะคือ แบคทีเรียหรือไม่มีสี เนื้อละเอียดโปร่งแสง ขอบไม่เรียบ มักจะเจริญตามรอยเขี่ยเชื้อ ไม่แยกเป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ หรืออีกชนิดจะมีลักษณะเป็นโคโลนีกลม นูน ขอบเรียบ โคโลนีมีขนาดเล็กมากจนถึงปานกลาง เนื้อมัน โปร่งแสง

3.4 การตรวจด้วยวิธีการย้อมสี

เมื่อได้โคโลนีที่สงสัย ทำการตรวจสอบเชื้อโดยการย้อมสีแกรมลบ และมีรูปร่างเป็นท่อนโค้ง งอ คล้ายปีกนก หรือเป็นเกลียวมีการเคลื่อนที่หมุนควงส่ววน ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ *Campylobacter* spp. ให้ทำการทดสอบทางชีวเคมีต่อไป (Baylis *et al.*, 2000)

4. การเพาะเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่าง Caecum

4.1 การเพิ่มจำนวนเชื้อ (enrichment) จากตัวอย่าง caecum

นำตัวอย่าง caecum ของไก่กระทงเข้าสู่ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนเชื้อ โดยสิ่งที่ต้องการนำมาทำการเพาะเชื้อคือของเหลว (Content) ใน caecum เริ่มจากนำตัวอย่าง caecum มาทำการตัดเป็นช่องที่มีความกว้างประมาณ 1 ตารางเซนติเมตร ด้วยกรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นใช้อุปกรณ์ตักของเหลวอยู่ในไส้ตันน้ำหนักประมาณ 1 กรัมแล้วใส่ลงในหลอดอาหาร Preston broth 9 มิลลิลิตร สำหรับใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ จากนั้นทำตามขั้นตอนการเพิ่มจำนวนเชื้อเหมือนกับ ข้อ 3.1

4.2 การคัดแยกเชื้อและการบ่มเชื้อ

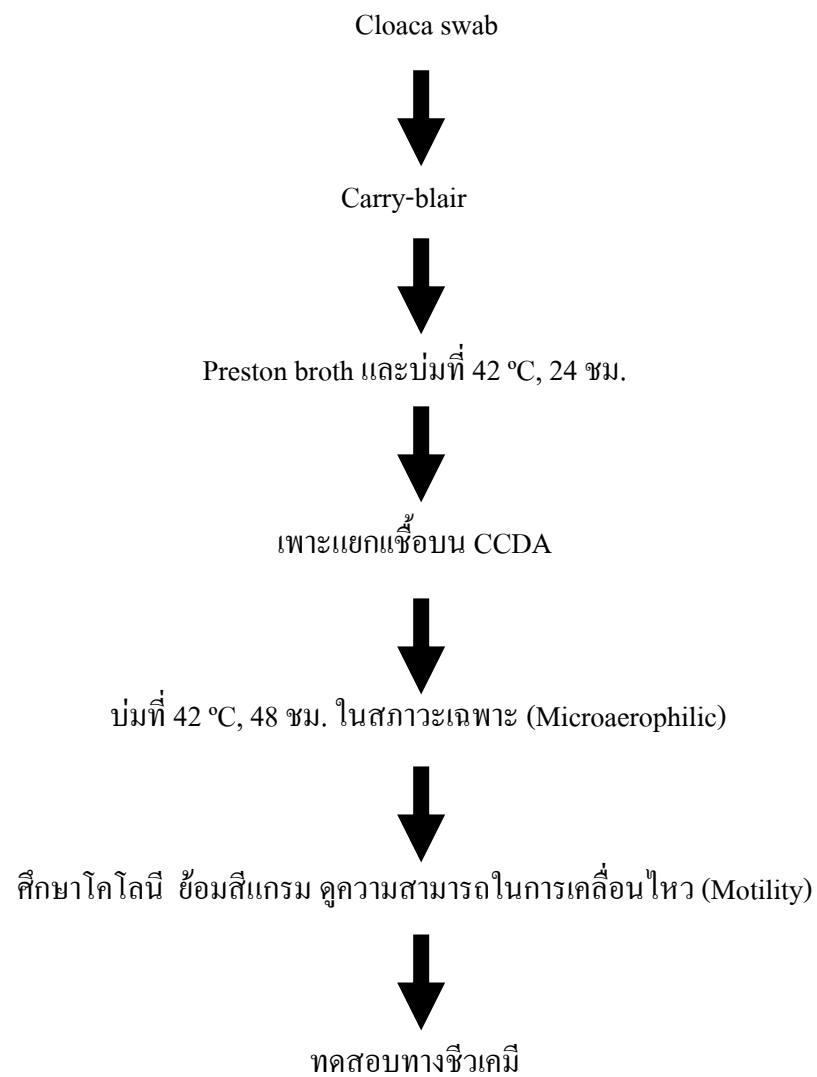
เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่เพิ่มจำนวนแล้วมาทำการแยกเชื้อเป็นโคโลนีเดี่ยว (Direct streak plate technique) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CCDA ภายในตู้เจียเชื้อ ด้วยวิธีที่ปราศจากเชื้อ (sterile technique) เพื่อลดการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม และทำการเก็บไว้ในสภาวะ micro aerophilic ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.3 การตรวจนับโคโลนีที่ได้จากการเพาะเชื้อ

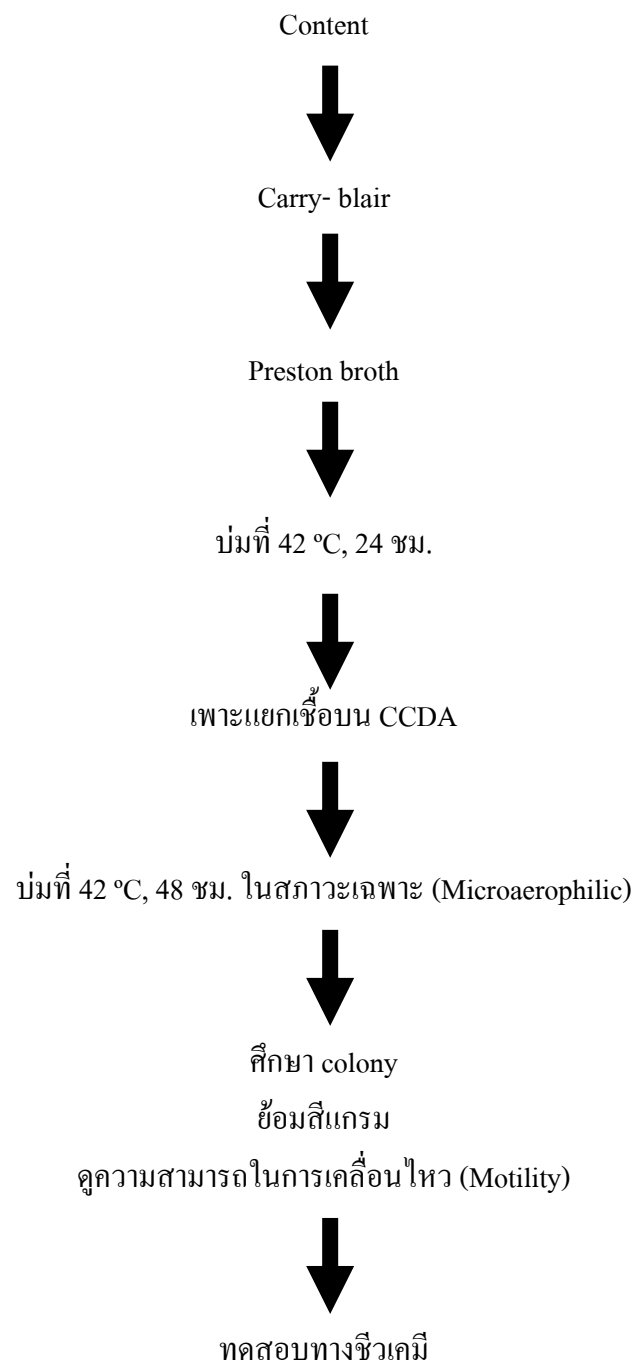
เมื่อครบระยะเวลา 48 ชั่วโมง จึงทำการเช็คผลการเพาะเชื้อ โดยจะทำการเลือกตามลักษณะ typical colony จะมี 2 ลักษณะคือ แบคทีเรียหรือไม่มีสี เนื้อละเอียดโปร่งแสง ขอบไม่เรียบ มักจะเจริญตามรอยเจียเชื้อ ไม่แยกเป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ หรืออีกชนิดจะมีลักษณะเป็นโคโลนี กลม นูน ขอบเรียบ โคโลนีมีขนาดเล็กมากจนถึงปานกลาง เนื้อมัน โปร่งแสง

4.4 การตรวจด้วยวิธีการย้อมสี

เมื่อได้โคโลนีที่ต้องสงสัยแล้ว เพื่อทำการตรวจสอบเชื้อที่พบจะต้องทำการย้อมสี โดยวิธีการย้อมสีที่ใช้ในการทดลองนี้ ใช้การย้อมสีแกรม หากพบว่าเซลล์มีการติดสีแกรมลบ และมีรูปร่างเป็นท่อนโค้ง งอ คล้ายปีกนก หรือเป็นเกลียวมีการเคลื่อนที่หมุนควงส่ววน ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ *Campylobacter* spp. ให้ทำการทดสอบทางชีวเคมีต่อไปอีกครั้งหนึ่ง (Baylis et al., 2000)



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการเพาะเชื้อ *Campylobacter* spp. จากตัวอย่าง Cloaca swab



ภาพที่ 4 ขั้นตอนการเพาะเชื้อ *Campylobacter* spp. จากตัวอย่าง Caecum

5. การทดสอบเชื้อทางชีวเคมี

5.1 การทดสอบหาเอนไซม์ Catalase test

หยดสารละลาย 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงบนสไลด์จากนั้นถ่ายเชื้อ *Campylobacter* ที่เลี้ยงไว้ 48 ชั่วโมง ลงไป ดูการเกิดฟองแก๊ส ถ้ามีแสดงมี เอนไซม์ catalase ผลการทดสอบ *C. jejuni* ให้ผลทดสอบเป็นบวก

5.2 การทดสอบหาเอนไซม์ Oxidase test

ใช้กระดาษกรอง Whatman filter paper No.1 ชุบสารละลาย 1% tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride จากนั้นถ่ายเชื้อที่เลี้ยงไว้ 48 ชั่วโมงมา 1 ลูบจี้กลงบนกระดาษกรองที่ชุบน้ำยา ถ้าเกิดสีม่วงภายใน 5-10 วินาที *C. jejuni* ผลการทดสอบเป็นบวก

5.3 Hippuric acid

C. jejuni ให้ผลบวก สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงเข้มภายในเวลา 10 หรือ 30 นาที ขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลาย ninhydrin (3.5% หรือ 2% ตามลำดับ) (Public Health Laboratory Service, 1999)

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

1. สถานที่ทำการทดลอง

ฟาร์มไก่กระต๊อบแบบเอกชน จำนวน 5 ฟาร์ม

ฟาร์มไก่พื้นเมือง จำนวน 2 ฟาร์ม

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาจุลชีววิทยาและภูมิคุ้มกัน คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข
ศาสตร์และการวินิจฉัย คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

2. ระยะเวลาทำการวิจัย

เดือนเมษายน 2549 ถึงสิ้นเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2550

ผลและวิจารณ์

1. การเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter jejuni* จากตัวอย่าง ที่ทำการเก็บจากไก่กระทงฟาร์ม A, B, C, D และ E

ผลจากการเพาะแยกเชื้อ *C. jejuni* จากตัวอย่าง การป้ายทวารหนักของไก่กระทงฟาร์ม A, B, C, D และ E จำนวน 800 ตัวอย่าง และ จากตัวอย่าง caecum ที่ได้จากฟาร์ม E จำนวน 10 ตัวอย่าง ปรากฏว่าไม่พบตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวก (positive test) ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 8 ผลการเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp. จากตัวอย่างไก่กระทงในฟาร์ม A, B, C, D และ E

ฟาร์ม	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่เป็นบวก	ความชุก (%)
A	ป้ายทวารหนัก	200	0	0
B	ป้ายทวารหนัก	200	0	0
C	ป้ายทวารหนัก	200	0	0
D	ป้ายทวารหนัก	100	0	0
E	ป้ายทวารหนัก	100	0	0
E	Caecum	10	0	0
รวม		810	0	0

จากตารางที่ 8 แสดงให้เห็นว่าไม่พบ *Campylobacter* spp. จากตัวอย่างการป้ายทวารหนัก และ caecum ของไก่กระทง โดยผลการจากศึกษานี้ สอดคล้องกับการรายงานของ Moore *et al.* (2003) ซึ่งรายงานว่า อัตราการพบเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่กระทงที่ยังมีชีวิต จะอยู่ในช่วงระหว่าง 0- 100 เปอร์เซ็นต์ และสอดคล้องกับ Jacobs-Reitsma (2000) ซึ่งพบความผันแปรของการพบเชื้อในสัตว์ปีกนั้นเป็นช่วงที่มีความกว้างมาก คือจาก 0 เปอร์เซ็นต์ ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ รวมไปถึง การงานการศึกษาของ ภาวินและคณะ (2546) ที่ไม่พบเชื้อ *Campylobacter* spp. ในการเพาะเชื้อ โดยคณะผู้วิจัยให้เหตุผลว่าอาจจะเนื่องมาจาก การใช้อาหารที่เสื่อมคุณภาพ และความคลาดเคลื่อนของ อุณหภูมิภายในตู้บ่มเชื้อ โดยทำการทดลองซ้ำถึง 4 ครั้ง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองดังกล่าว คือ Brucella agar บ่มเชื้อไว้ที่ อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 ถึง 48 ชั่วโมง

ผลการเพาะเชื้อ *Campylobacter* spp. ในการศึกษาครั้งนี้ขัดแย้งกับรายการศึกษาของ Padungtod and Kaneene (2005) ที่มีการพบเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่ที่อยู่ภายในฟาร์ม 265 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 415 ตัวอย่าง คิดเป็น 63.9 เปอร์เซ็นต์ โดยฟาร์มที่ใช้ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง อยู่ในจังหวัดเชียงใหม่ และลำปาง ขนส่งตัวอย่างเข้าสู่ห้องปฏิบัติได้ ภายใน 3 ชั่วโมง ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง ในไก่กระโทงที่มีอายุน้อยกว่า 2 สัปดาห์ ก่อนเข้าโรงฆ่า อาหารเลี้ยงที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ คือ Bolton broth และ อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ คือ Karmali agar ระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน และบ่มเชื้อ คือ 48 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งเป็นสิ่งที่แตกต่างกับการศึกษาครั้งนี้ และเหตุผลที่ผู้ทำการศึกษาดังกล่าวรายงานไว้ ถึงสาเหตุของการพบความชุกในระดับที่สูง อาจจะเป็นผลมาจาก ระดับการป้องกันภัยทางชีวภาพที่ต่ำของฟาร์มที่ใช้ในสุ่มเก็บตัวอย่าง เนื่องจากฟาร์มดังกล่าวเป็นฟาร์มที่ผลิตไก่เพื่อการบริโภคภายในท้องถิ่นเท่านั้น จึงอาจทำให้ความเข้มงวดในการเฝ้าระวังอยู่ในระดับที่ต่ำหรืออาจไม่มีมาตรการป้องกันภัยทางชีวภาพเลย ถ้าเทียบกับฟาร์มที่ผลิตไก่กระโทงเพื่อการส่งออก จึงทำให้เชื้อที่มีอยู่ตามสภาพแวดล้อมภายในฟาร์มแพร่กระจายเข้าสู่ฝูงสัตว์ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Chuma *et al.* (1997) ที่พบว่า สิ่งแวดล้อมแหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ *Campylobacter* spp. ในตัวสัตว์ ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเสี่ยงในการติดเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่กระโทงภายในฟาร์ม ซึ่งได้แก่ อากาศภายในโรงเรือนที่ไม่ถ่ายเท จำนวนคนเลี้ยงไก่ต่อโรงเรือน และ ความหนาแน่นของโรงเรือนภายในฟาร์ม (Refregier-Petton *et al.*, 2001)

นอกจากการรายงานดังกล่าวยังมีการรายงานอื่นๆ ที่ขัดแย้งกับการศึกษาครั้งนี้ โดยการศึกษาของ Pezzotti *et al.* (2003) รายงานความชุกของการตรวจพบเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่กระโทงของประเทศไทย ที่มีมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการรายงานของ Yildirim *et al.* (2005) ที่ตรวจพบเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่กระโทง จากการป้ายทวารหนัก 92.9 เปอร์เซ็นต์ และ จาก caecum 91.7 เปอร์เซ็นต์ ในประเทศตุรกี นอกจากนี้ยังมีการตรวจพบเชื้อ *Campylobacter* spp. 220 ตัวอย่าง จาก ตัวอย่างทั้งหมด 250 ตัวอย่าง โดยวิธีการป้ายทวารหนักและตัวอย่าง caecum ในไก่กระโทงที่เลี้ยงอยู่ในฟาร์ม ของประเทศสวีเดน (Hook *et al.*, 2005) มีการตรวจพบเชื้อ *Campylobacter* spp. 195 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 800 ตัวอย่าง โดยพบ ไก่กระโทง จำนวน 19 ฝูง คิดเป็น 47.5 เปอร์เซ็นต์ จากทั้งหมด 40 ฝูง มีการติดเชื้อ *Campylobacter* spp. (Frediani-Wolf *et al.*, 2003)

นอกจากนี้ประเทศในแถบเอเชียมีการรายงานพบเชื้อ *Campylobacter* spp. ที่ขัดแย้งกับการรายงานครั้งนี้เช่นกัน โดยในประเทศปากีสถาน มีการนำตัวอย่างที่ได้จากไก่มาทำการเพาะหาเชื้อ *Campylobacter* spp. ปรากฏว่ามีตัวอย่าง 236 ตัวอย่าง จากตัวอย่าง ทั้งหมด 492 ตัวอย่าง คิดเป็น 48 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp. สอดคล้องกับการรายงานของ Sallam (2006) ที่ทำการเพาะเชื้อ จากตัวอย่างที่มาจากไก่กระທง จำนวน 170 ตัวอย่าง ผลปรากฏว่า พบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp. จำนวน 110 ตัวอย่าง คิดเป็น 64.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในประเทศไทย มีรายงานการตรวจพบเชื้อ *Campylobacter* spp. ของไก่กระທง ในจังหวัดเชียงใหม่ สูงถึง 86.67 เปอร์เซ็นต์ (ภาวิน, 2547)

จากผลการเพาะเชื้อในไก่กระທง แล้วปรากฏว่าไม่พบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp. อาจจะมีหลายปัจจัยที่ทำให้ไม่พบเชื้อ ได้แก่ อายุของไก่ที่ใช้ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เนื่องจากมีรายงานการเพาะเชื้อที่ไม่พบตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp. ที่อายุต่ำกว่า 2 สัปดาห์ (Sahin *et al.*, 2001) สอดคล้องกับการรายงานของ Hook *et al.* (2005) ที่ไม่พบตัวอย่าง ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่กระທงอายุ 7 วัน โดยการแพร่กระจายของเชื้อ *Campylobacter* spp. มีความสัมพันธ์โดยตรงกับอายุไก่กระທงที่เพิ่มมากขึ้น (Bouwknegt *et al.*, 2004)

มาตรการป้องกันภัยทางชีวภาพนั้น เป็นอีกหนึ่งวิถีทางในการลดความเสี่ยงจากการแพร่ระบาดของเชื้อ *Campylobacter* spp. จากสิ่งแวดล้อมสู่ฝูงสัตว์ เนื่องฟาร์มที่ใช้ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง เป็นฟาร์มที่มีระบบการป้องกันภัย ได้มาตรฐาน ของกรมปศุสัตว์ หลังจากมีการระบาดของโรคไข้หวัดนก สายพันธุ์ H5N1 (Viseshakul *et al.*, 2004) โดยมีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการพบเชื้อ *Campylobacter* spp. ได้แก่ การควบคุมการเข้าสู่ฟาร์มของทั้งคน สัตว์ และยานพาหนะ รวมไปถึง การทำความสะอาดและพักโรงเรือนตามข้อกำหนด (Corry and Atabay 2001) การบำบัดน้ำดื่มด้วยคลอรีน (Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health, 2000) นอกจากนี้ในฟาร์มที่ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างยังมีระบบการเลี้ยงแบบ เข้าพร้อมกัน ออกพร้อมกัน (All – in, All – out System) ซึ่งเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพสามารถควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อได้ (Evans and Sayers, 2000) มีระบบการถ่ายเทของอากาศภายในโรงเรือน ที่ดี และจำนวนโรงเรือนภายในฟาร์มก็ไม่หนาแน่น เพื่อเป็นการลดความเสี่ยงในการติดเชื้อ *Campylobacter* ของไก่กระທงภายในฝูง (Refregier-Petton *et al.*, 2001)

อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อก็มีผลต่อการศึกษาเช่นกัน อาหารที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ใช้ Preston Broth เป็นอาหารที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (Enrichment media) โดยมีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบ ประสิทธิภาพในการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *Campylobacter* spp. ของอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด พบว่า Preston Broth ช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดี แต่ไม่ช่วยในการยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่น ๆ เช่น เชื้อ *E. coli* และ *Pseudomonas* spp. จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้ Preston Broth มีประสิทธิภาพที่ด้อยกว่า อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น ในการเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp. จากตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อตามธรรมชาติ (Baylis *et al.*, 2000)

ความแตกต่างของวิธีการในการเพาะแยกเชื้อก็เป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อ จำนวน และสายพันธุ์ที่พบ (Madden *et al.*, 2000) โดยการเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp. ด้วยวิธีการกรองเชื้อผ่านกระดาษกรอง เปรียบเทียบกับวิธีการเจียเชื้อ พบว่าวิธีการกรองเชื้อผ่านกระดาษกรอง จะมีผลทำให้ได้จำนวนของเชื้อ *Campylobacter* มากกว่าวิธีเจียเชื้อถึง 2 เท่า (จริยา และสุวณิ, 2543)

ส่วนระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ นั้นมีรายงานการศึกษาที่สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ ที่ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Frediani – Wolf and Stephan, 2003; Hook *et al.*, 2005) แต่ก็พบรายงานการศึกษาที่ใช้เวลาในการเพิ่มเชื้อที่ขัดแย้งกับการศึกษานี้เช่นกัน โดยที่จะใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนเชื้อที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (Padungtod and Kaneene, 2005; Sallam, 2006; Hussain *et al.*, 2006; Atanassova *et al.*, 2006)

ในเรื่องของระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มเชื้อก็เช่นกัน มีรายงานที่สอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ โดยที่จะใช้เวลาในการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (Frediani – Wolf and Stephan, 2003; Hook *et al.*, 2005; Sallam, 2006; Hussain *et al.*, 2006; Atanassova *et al.*, 2006) แต่จะขัดแย้งกับบางรายงานที่ใช้เวลาในการบ่มเชื้อ 120 ชั่วโมง (Padungtod and Kaneene, 2005) ซึ่งจากการเปรียบกับการรายงานต่าง ๆ ที่ผ่านมา ในเรื่องของเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ และบ่มเชื่อนั้น ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน

2. การเพาะเชื้อ *Campylobacter* spp. จากตัวอย่างการป้ายทวารหนัก (Cloaca swab) ของไก่พื้นเมืองฟาร์ม F และ G

ผลการเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp. จากตัวอย่างการป้ายทวารหนักของไก่พื้นเมืองฟาร์ม F และ G จำนวน 55 ตัวอย่าง ปรากฏว่าพบตัวอย่างที่พบ *Campylobacter* spp. จำนวน 11 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 20 แบ่งเป็น จากฟาร์ม F 18.1 เปอร์เซ็นต์ และจากฟาร์ม G 22.7 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp. จากตัวอย่างการป้ายทวารหนัก ที่ได้จากไก่พื้นเมืองของ ฟาร์ม F และ G

ฟาร์ม	ชนิดของ ตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง ที่เป็นบวก	ความชุก (%)
F	ป้ายทวารหนัก	33	6	18.1
G	ป้ายทวารหนัก	22	5	22.7
รวม		55	11	20

จากตารางที่ 9 พบว่าไก่พื้นเมืองที่มีการเลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติ มีการปนเปื้อนเชื้อ *Campylobacter* spp. 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ บงกชรัตน์และคณะ (2547) ที่มีการตรวจพบเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่ที่เลี้ยงในระบบเปิด โดยการเลี้ยงในระบบเปิดนั้นมีปัจจัยที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อได้ ไม่ว่าจะเป็น น้ำใช้ภายในฟาร์มที่ไม่ผ่านการบำบัดหรือบำบัดได้ไม่เพียงพอ รวมไปถึงพื้นดิน พื้นทรายที่ใช้ในการเลี้ยง ก็เป็นสาเหตุเช่นกัน (Trachoo and Frank, 2002)

ในไก่พื้นเมืองที่มีการตรวจพบเชื้อ *Campylobacter* spp. เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการปนเปื้อนเชื้อ ทั้งจากลักษณะของการเลี้ยงแบบปล่อยหากินตามพื้นดินทั่วไป (Anderson *et al.*, 2003) มีความใกล้ชิดกับสัตว์พาหะอื่น ๆ (Fernandez *et al.*, 1994) แมลงก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งในการแพร่กระจายของเชื้อ *Campylobacter* spp. เช่นกัน (Khalil *et al.*, 1994) โดยพฤติกรรมในการหาอาหารของไก่พื้นเมืองก็เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อได้ เนื่องจากดินและแหล่งน้ำที่อยู่ตามผิวดินมีเชื้อ *Campylobacter* spp. ปนเปื้อนอยู่โดยสาเหตุที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนในดินและแหล่งน้ำนั้นมาจากนกต่าง ๆ (Pearson *et al.*, 1996) สัตว์เลี้ยง เช่น สุกร วัว กระบือ โดย

พบว่าเชื้อ *Campylobacter* spp. อาศัยอยู่ในบริเวณลำไส้ของสัตว์ต่าง ๆ เหล่านี้ สัตว์พาหะอีกชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในไก่พื้นเมืองก็คือ สัตว์ฟันแทะที่มีอยู่ในบริเวณที่มีการเลี้ยงไก่พื้นเมือง ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อ *Campylobacter* spp. ในไก่พื้นเมือง (Evans and Sayer, 2000; Anderson *et al.*, 2003)

เมื่อนำผลทดสอบที่ให้ผลเป็นบวกมาทำการตรวจสอบ hippuric acid พบว่าตัวอย่างที่ได้จากฟาร์ม F พบการปนเปื้อนเชื้อ *C. jejuni* จำนวน 2 ตัวอย่าง ของจำนวนที่สงสัย 6 ตัวอย่าง คิดเป็น 33.3 เปอร์เซ็นต์ และฟาร์ม G จำนวน 1 ตัวอย่าง ของจำนวนที่สงสัย 5 ตัวอย่าง คิดเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ แสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบเชื้อ *C. jejuni* ทางชีวเคมี

ตัวอย่างที่*	Catalase	Oxidase	Hippuric acid
1	+	+	-
2	+	+	-
3	+	+	-
4	+	+	+
5	+	+	+
6	+	+	-
7	+	+	+
8	+	+	-
9	+	+	-
10	+	+	-
11	+	+	-

หมายเหตุ: *ตัวอย่างที่ 1-6 เป็นตัวอย่างจากฟาร์ม F ตัวอย่างที่ 7-11 เป็นตัวอย่างจากฟาร์ม G

จากผลการทดสอบทางชีวเคมี พบว่าสามารถเพาะแยกเชื้อ *C. jejuni* จากตัวอย่างการป้าย ทวารหนักของไก่พื้นเมืองในฟาร์ม F จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็น 3.64 เปอร์เซ็นต์ และฟาร์ม G จำนวน 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 1.81 เปอร์เซ็นต์

โดยผลการเพาะแยกเชื้อที่นั่นขัดแย้งกับการศึกษาอื่น ๆ ก่อนหน้านี้ ที่มีการพบ *C. jejuni* 46.4 เปอร์เซ็นต์ จากตัวอย่างไก่กระต๊อที่อยู่ในฟาร์ม (Padungtod and Kaneene, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงาน Sallam (2006) ที่ตรวจพบความชุกของเชื้อ *C. jejuni* ในไก่กระต๊อสูงถึง 86.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไปในทิศทางเดียวกันกับการรายงานของ Frediani – Wolf and Stephan (2003) ที่มีการตรวจพบเชื้อ *C. jejuni* ในทุกตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 190 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการรายงานของ Yildirim *et al.* (2005) ที่ตรวจพบเชื้อ *C. jejuni* ในไก่กระต๊อ จากการป้ายทวารหนัก 92.4 เปอร์เซ็นต์ โดยไก่อ้มักจะเป็นแหล่งของ *C. jejuni* การปนเปื้อนจะพบได้ 50 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Skirrow, 1991)

โดยปัจจัยที่ทำให้มีการพบเชื้อ *C. jejuni* ในไก่พื้นเมืองระดับที่ต่ำอาจเกิดจาก อาหารเลี้ยงเชื้อ Preston Broth อาจจะไม่เหมาะสมต่อการเพาะแยกเชื้อจากตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนตามธรรมชาติ เนื่องจากในระบบกระเพาะและลำไส้ของไก่พื้นเมือง นั้นมีเชื้อแบคทีเรียอยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นเชื้อเหล่านั้น จึงเจริญเติบโตแข่งกับเชื้อ *C. jejuni* ทำให้ผลที่ได้เกิดความคลาดเคลื่อน โดยเมื่อทำการเปรียบเทียบกับวิธีการเพาะเชื้อของ Padungtod and Kaneene (2005) ที่ใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ Bolton broth เป็น enrichment media และ Karmali agar เป็น selective media พบว่าสามารถเพาะแยกเชื้อได้สูงถึง 265 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 415 ตัวอย่าง คิดเป็น 63.9 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในการศึกษาของ Sallam (2006) โดยใช้ Bolton broth เป็น enrichment media และใช้ CCDA เป็น selective media พบว่าเพาะแยกเชื้อได้ 110 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 170 ตัวอย่าง คิดเป็น 64.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Madden *et al.* (2000) ความแตกต่างของ อาหารที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนและเลี้ยงเชื้อรวมไปถึงขั้นตอนต่าง ๆ ในการเพาะเชื้อมีผลต่อจำนวนและสายพันธุ์ของเชื้อ *Campylobacter* spp. ที่ตรวจพบ และมีรายงานการเปรียบเทียบประสิทธิภาพ enrichment media ระหว่าง Preston broth และ Bolton broth พบว่า Bolton broth มีประสิทธิภาพในการเพาะแยกเชื้อ *Campylobacter* spp. ได้ดีกว่า Preston broth (Baylis *et al.*, 2000)

วิธีการเพาะแยกเชื้อ อาจจะเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้เพาะเชื้อ *Campylobacter* spp. ได้น้อย เมื่อทำการเปรียบเทียบการใช้วิธีการกรองเชื้อผ่านกระดาษกรอง เนื่องจากการใช้กระดาษกรองนั้น จะช่วยกรอง จุลินทรีย์ ที่เราไม่ต้องการออกไป ทำให้ เชื้อที่เราต้องการสามารถอยู่รอดได้มากขึ้น (จรียา และสุวณี, 2003) จากการศึกษาเปรียบเทียบการ เพาะเลี้ยง เชื้อ *Campylobacter* spp ผ่าน กระดาษกรองมีประโยชน์ในการกำจัดเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ได้ (พรเพ็ญ และวัชรชัย, 2548)

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาการเพาะเชื้อ *C.jejuni* ในไก่กระตังและไก่พื้นเมือง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Preston Broth และ อาหารเลี้ยงเชื้อ Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (CCDA) พบว่าไม่พบเชื้อ *C.jejuni* ในไก่กระตัง แต่พบเชื้อ *C.jejuni* ในไก่พื้นเมือง 5.45 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ และอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งในด้านประสิทธิภาพ และต้นทุนของอาหารแต่ละชนิด โดยทดสอบกับตัวอย่างเชื้อบริสุทธิ์ และตัวอย่างที่สุ่มเก็บตามธรรมชาติ เพื่อคัดเลือกชนิดอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีประสิทธิภาพเหมาะสมกับ *C. jejuni* และชนิดของตัวอย่างที่สุ่มเก็บ
2. ควรศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการเพาะเชื้อแบบกรองเชื้อผ่านกระดาษกรอง กับวิธีเขี่ยเชื้อ เพื่อทราบถึงประสิทธิภาพของทั้งสองวิธีการ โดยควรนำข้อมูลที่ได้มาประกอบการวางแผนการทดลองของการศึกษาอื่น ๆ ต่อไป เพื่อความแม่นยำสูงสุด
3. ควรศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของระยะเวลาในการเพิ่มจำนวนและบ่มเชื้อ *Campylobacter* spp. เพื่อให้ได้เวลาในการเพิ่มจำนวนและเวลาบ่มเชื้อที่เหมาะสม
4. ควรศึกษาเปรียบเทียบการเพาะเชื้อ *C. jejuni* จากฟาร์มไก่กระตังที่รับมาตรฐานฟาร์ม กับฟาร์มไก่กระตังทั่วไป เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลการเพาะเชื้อและปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเพาะเชื้อ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จรียา สีนเดิมสุข และ สุวณี สุขเวชย์. 2543. การตรวจหาเชื้อ *Campylobacter* spp. ในเนื้อไก่สดแช่เย็น จากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตต่างๆ ในกรุงเทพมหานคร. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากประมาณแผ่นดินประจำปี 2539.
- บงกชรัตน์ นพผล, นพมาศ ตระการรังสี และ ชารินี ชัชวาลชลธีระ. 2547. การตรวจแยกเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์จากฟาร์มไก่เนื้อ 2 จังหวัด ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วารสารสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 14 (1): 19-25.
- พรเพ็ญ พัฒนโสภณ และ วัชรชัย ณรงค์ศักดิ์. 2548. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจแยกเชื้อ *Thermophilic Campylobacter* จากลำไส้ไก่จากโรงฆ่าโดยวิธีเพาะเลี้ยงผ่านกระดาศกรองกับวิธีการเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Karmali. Available Source:
www.dld.go.th/niah/Research/2548/40.pdf
- ภาวิน ผดุงทศ. 2547. แบคทีเรียก่อโรคในอาหาร. เชียงใหม่: สัตวแพทยสาร. 2: 51-65.
- ภาวิน ผดุงทศ, ดวงพร พิษผล, ทองกร มีเยี่ยม และ นิตยา ชะนะญาติ. 2546. การตรวจความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อแคมไพโลแบคเตอร์และซัลโมเนลลาจากผู้ป่วยด้วยอาการท้องเสียในเชียงใหม่. รายงานการวิจัยเสนอต่อโครงการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ประจำปี 2546.
- Ali, A.M., A.H. Qureshi, S. Rafi, E. Roshan, I. Khan, A.M. Malik and A.M. Shahid. 2003. Frequency of *Campylobacter jejuni* in diarrhea/dysentery in children in Rawalpindi and Islamabad. **J. Pak. Med. Assoc.** 53(11): 517 – 520.
- Altekruse, S.F., N.J. Stern, P.I. Fields and D.L. Swerdlow. 2004. *Campylobacter jejuni*-
An emerging food pathogen. Available Source:
<http://www.cdc.gov/ncidod/vol5nol/altekruse.htm>, July 9, 2004.

- Anderson, S., B.B. Christensen, A. Fazil, E. Hartnett, A. Lammerding, M. Nauta, G. Paoli and H. Rosenquist. 2003. **A draft risk assessment of *Campylobacter* spp.** In Broiler Chicken. Joint FAO/WHO activities on risk assessment of microbiological hazards in food.
- Atanassova, V., F. Reich, L. Beckmann and G. Klein. 2006. Prevalence of *Campylobacter* spp. in turkey meat from a slaughterhouse and in turkey meat retail products. **FEMS. Immunol. Med. Microbiol.** 49:141-145.
- Baylis, C.L., S. Macphee, K.W., Martin, T.J., Humphrey and R.P. Betts. 2000. Comparison of three enrichment media for isolation of *Campylobacter* spp. from foods. **J. Appli. Microbiol.** 89: 884-891.
- Bodhidatta, L., N. Vithayasai, B. Eimpokalarp, C. Pitarangsi, O. Serichantaler and D.W. Isenbarger. 2002. Bacterial enteric pathogens in children with acute dysentery in Thailand: increasing importance of quinolone-resistant *Campylobacter*. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public.** 33 (4): 752 – 757.
- Bouwknegt, M., A.W. Van de Giessen, W.D.C. Dam-Deisz, A.H. Havelar, J.D. Nagelkerken and A.M. Henken. 2004. Risk factors for the presence of *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. **Preventive Veterinary Medicine.**
- Cary, J.W., J.E.Linz and D. Bhatnagar. 2000. **Microbial foodborne diseases.** Technomic Publishing Company. Lancaster, United States of America. 550 p.
- Chang, M.H. and T.C. Chen. 2000. Reduction of *Campylobacter jejuni* in a simulated chicken digestive tract by lactobacilli culture. **J. Food Prot.** 63, 1594 – 1597.
- Chuma, T. K., Makino, K. Okamoto and H. Yugi. 1997. Analysis of distribution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in broiler by using restriction fragment polymorphism of flagellin gene. **J. Vet. Med. Sci.** 59: 1011 – 1015.

Communicable Diseases Australia. 2001. Available Source:

<http://www.health.gov.au/pubhlth/cdihtml.htm>

Corry, J.E.L. and H.I. Atabay. 2001. Poultry as source of *Campylobacter* and related organisms.

J. Appl. Microbiol. 90: 96-114.

Dachet, F., V. Prouzet-Mauleon, M. Oleastro, F. Megraud and A. Menard. 2004. **Identification**

par PCR en temps reel et FRET des *Campylobacters* les plus frequents. In 6 National Congress of the French Society of Microbiology

Dansk Zoonosecenter. 2000. **Annual report on zoonoses in Denmark 1999.**

<http://130.226.165.6/annualreport1999/index.html>

Evans, S.J. and A.R. Sayers. 2000. A longitudinal. Study of *Campylobacter* infection of broiler

flocks in Great Britain. **Preventive Veterinary Medicine.** 46: 209-223.

FAO/WHO. 2003. **A draft risk assessment of *Campylobacter* spp. In broiler chickens.** Joint

FAO/WHO Activities on Risk Assessment of Microbiological Hazards in Foods.

Prepared by Steve Anderson, Bjarke Bak Christensen, Aamir Fazil, Emma Hartnett,

Anna Lammerding; Maarten Nauta, Greg Paoli and Hanne Resenquist

Fernandez, H., K. Kahler, R. Salazar and M.A. Rios. 1994. Prevalence of thermotolerant

species of *Campylobacter* and their biotypes in children and domestic birds and dogs in southern Chile. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao. Paulo.** 36(5): 433-436.

Frediani-Wolf, V. and R. Stephan. 2003. Resistance patterns of *Campylobacter* spp. strains

isolate from poultry carcasses in a big Swiss poultry slaughterhouse. **J. Food. Microbiol.** 89: 233-240.

- Friedman, C.R., J. Neimann, H.C. Wegener and R.V. Tause. 2000. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* Infections in United States and other Industrialized Nations, American Society for Microbiology Press, Washington, D.C., 538 p.
- Frizgerald, C., K. Stanley, S. Andrew and K. Jone. 2001. Use of Pulsed – Field Gel Electrophoresis and Flagellin Gene. Typing in Identifying Clonal Groups of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in farm and Clinical Environments. **Appl. Environ. Microbiol.** 1429 - 1436
- Frost, J.A. 2001. Current epidemiological issues in human campylobacteriosis. **J. Appl. Microbiol.** 85-95.
- Hariharan, H., G.A. Murphy and I. Kempf. 2004. *Campylobacter jejuni*: Public health hazards and potential control methods in poultry: a review. **Vet. Med. Czech.** 49: 441 – 446.
- Health Canada. 2001. Notifiable Diseases On-line Laboratory Centre for Diseases Control of Health Canada. http://cythera.ic.gc.ca/dsol/ndis/c_ind_e.html#top_list
- Hook, H., M.A. Fattah, H. Ericsson, I. Vagsholm and M.L.D. Tham. 2005. Genotype dynamics of *Campylobacter jejuni* a boiler flock. **Vet. Microbiol.** 106: 109-117.
- Hussain, I., M.S. Mahmood, M. Akhtar and A. Khan. 2006. Prevalence of *Campylobacter* species in meat, milk and other food commodities in Pakistan. **J. Food Microbiol.** 24 (3): 219-222
- Jacobs-Reitsma, W.F. 2000. ***Campylobacter in food supply***. In Nachamkin, I., M.J. Blaser, (Eds.) *Campylobacter*, second ed. American Society for Microbiology, Washington, DC. 467- 481.

- Keener, K.M., M.P. Bashor, P.A. Curtis, B.W. Sheldon and S. Kathariou. 2004. Comprehensive Review of *Campylobacter* and poultry processing. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 3: 105-116.
- Kelly, A.F., S.F. Park, R. Bovil and B.M. Mackey. 2001. Survival of *Campylobacter jejuni* during stationary phase: evidence for the absence of a phenotypic stationary- phase response. **Appl. Environ. Microbiol.** 67: 2248 - 2254
- Khalil, K., G.B. Lindblom, K. Mazhar and B. Kaijser. 1994. Flies and water as reservoirs for bacterial enteropathogens in urban and rural areas in and around Lahore, **Pakistan. Epidemiol. Infect.** 133 (3): 435-44.
- Kramer, J.M., J.A. Frost, F.J. Bolton and D.R.A. Wareing. 2000. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: Identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. **J. Food. Protect.** 63: 1654 – 1659.
- Kulkarni, S.P., S. Lever, J.M.J. Logan, A.J. Lawson, J. Stanley and M.S. Shafi. 2002. Detection of *Campylobacter* species: a comparison of culture and polymerase chain reaction base method. **J. Clin. Pathol.** 55: 749 – 753.
- Lake, R.J., A. Hudson, P. Cressey and G. Nortje. 2003. Risk Profile: *Campylobacter jejuni/coli* in Poultry. Institute of Environmental Science & Reserch Limited. Chrishchurch Science Centre
- Madden, R., L. Moran and P. Scates. 2000. Optimising recovery of *Campylobacter* spp. From The lower porcine gastrointestinal tract. **J. Microb. Medthods**. 42: 115-119.
- Moore, J.E., T.S. Wilson, D.R.A. Wareing and P.G. Murphy. 2003. Occurrence and characterization of thermophilic *Campylobacter* spp. in poultry processing plant in Northern Ireland. **Vet. J.** 56: 47 – 56.

- Nielsen, E.M., J. Engberg, V. Fussing, L. Pertersen, C.H. Brogren and S.L.W. On. 2000. Evaluation of phenotypic and genotypic methods for subtyping *Campylobacter jejuni* isolates from humans, poultry and cattle. **J. Clin. Microbiol.** 38: 3800-3810.
- Nye, K.J., T. Turner, D.J. Colman, D. Fallon, B. Gee, S. Messer, R.E. Warren and N. Andrew. 2001. A comparison of the isolation rates of *Salmonella* and thermophilic *Campylobacter* species after direct inoculation of the media with a dilute faecal suspension and undiluted faecal material. **J. Med. Microbiol.** 50: 659-662.
- Park, P. 2002. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. **Int. J. Food Microbiol.** 74: 177-188.
- Padungtod, P. and J. B. Kaneene. 2005. *Campylobacter* in Food Animals and Humans in Northern Thailand. **J. Food Prot.** 68 (12): 133-140.
- Pearson, A.D., M.H. Greenwood and R.K.A. Feltham. 1996. "Microbial ecology of *Campylobacter jejuni* in a United Kingdom chicken supply chain : Intermittent common source, vertical transmission, and amplification by flock propagation." **Appl. Environ. Microbiol.** 62: 4614 -4620.
- Pedersen, K. and A. Wedderkopp. 2003. Resistance to quinolones in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Danish broilers at farm level. **J. Appl. Microbiol.** 94: 111-119.
- Petersen, L., E.M. Nielsen, and S.L.A. On. 2001. Serotypes and genotype diversity and hatchery transmission of *Campylobacter jejuni* in commercial poultry flocks. **Vet. Microbiol.** 82: 141-154.
- Pezzotti, G., A. Serafin, I. Luzzi, R. Mioni, M. Milan and R. Perin. 2003. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in Northeastern Italy. **Int. J. Food Microbiol.** 82: 281-287.

- Public Health Laboratory Service (PHLS). 1999. **Detection of *Campylobacter* species**. Public Health Laboratory Service. Colindale Avenue, London.
- Pickett, C.L. 2000. ***Campylobacter* toxins and their role in pathogenesis**. In: Nachamkin I., M.J. Blaser (eds.): *Campylobacter*. 2nd ed. ASM Press, Washington, D.C., U.S.A.
- Refregier-Petton, J., N. Rose, M. Denis and G. Salvat. 2001. Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. **Prev. Vet. Med.** 50: 89 – 100.
- Sahin, O., Zhang, C. Meizler K. and S. Harr. 2001. Prevalence, Antigenic Specificity and Bactericidal Activity of Poultry Anti – *Campylobacter* Maternal antibodies. **Appl. Environ. Microbiol.** 3951-3957.
- Sallam, Kh.I. 2006. Prevalence of *Campylobacter* in chicken and chicken by-products retailed in Sapporo area, Hokkaido, Japan. **Food Control** 18 (9): 1113-1120.
- Scientific Committee on Veterinary Measures Relating To Public Health. 2000. **Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating To Public Health on Foodborne Zoonose**. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out32_en.pdf
- Skirrow, M.B. 1991. Epidemiology of *Campylobacter* enteritis. **Int. J. Food Microbiol.** 12: 9-16.
- Slutsker, L., S.F. Altekruse and P. Pork. 1997. Outbreak of *Campylobacter* enteritis in Thai children: a preliminary study. **J. Parasit. Trop. Med. Assoc. Thai.** 8: 14-17.
- Sneyd, E., L. Lopez, M.Eglinton, R. McDowell and T. Margolin. 2002. Annual surveillance summary 2001. Client Report FW0156.

- Tam, C.C. 2001. *Campylobacter* reporting at its peak year of 1998; don't count your chickens yet. *Communible Disease and Public Health*; 4(3): 194 - 199
- The Swedish Institute for Infectious Disease Control. 2007. **Campylobacteriosis**. Available
Source: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/in-english/statistics/campylobacteriosis/>
- Trachoo, N. and J.F. Frank. 2002. Effectiveness of chemical sanitizers against *Campylobacter jejuni*-Containing biofilms. **J. Food Prot.** 65 (7): 1117-1121.
- Viseshakul, N., R. Thanawongnuwech, A. Amonsin, S. Suradhat, S. Payungporn, J. Keawchareon, K. Oraveerakul, P. Wongyanin, S. Plitkul, A. Theamboonlers and Y. Poovorawan. 2004. The genome sequence analysis of H5N1 avian influenza A virus isolated from the outbreak among poultry populations in Thailand. **Virology** 328: 169-176.
- Yildirim, M., E. Istanbuluoglu and B. Ayvali. 2005. Prevalence and Antibiotic Susceptibility of Thermophilic *Campylobacter* Species in Broiler Chickens. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.** 29: 655-660.

ภาคผนวก

สูตรและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Preston broth

1.1 Trypticase soy broth (CM67)

ส่วนประกอบ	14	กรัม
Tryptone (pancreatic digest of casein)	7.9	กรัม
Soyton (papaic digest of soybean meal)	1.4	กรัม
Dextrose	1.2	กรัม
Sodium chloride	2.3	กรัม
Dipotassium phosphate	1.2	กรัม

1.2 Preston Campylobacter Selective Supplement (SR 117)

ส่วนประกอบ 1 หลอด (vial) สำหรับ Trypticase soy broth ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

Polymyxin B	2,500	IU
Rafampicin	5	mg
Trimethoprim	5	mg
Cycloheximide	50	mg

1.3 Campylobacter Growth Supplement (SR 232)

1.4 Lysed horse blood (SR 48)

ชั่ง Trypticase soy broth 14 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้อากาศดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางทิ้งไว้ในเย็นจนอุณหภูมิลดลงเหลือ 50 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติม Preston campylobacter selective supplement (SR 117) ที่ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรและ อะซิโตน 1 มิลลิลิตร จำนวน 1 หลอด จากนั้นเติม Campylobacter growth supplement (SR 232) จำนวน 1 หลอด และเติม Lysed horse blood (SR 48) ลงไป 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วตวงใส่หลอดทดลองขนาด 9 มิลลิลิตร

2. Modified Charcoal Cefoperazone Desoxycholate Agar (Modified CCDA-Preston)

2.1 Campylobacter Blood Free Selective Agar Base (CM 739)

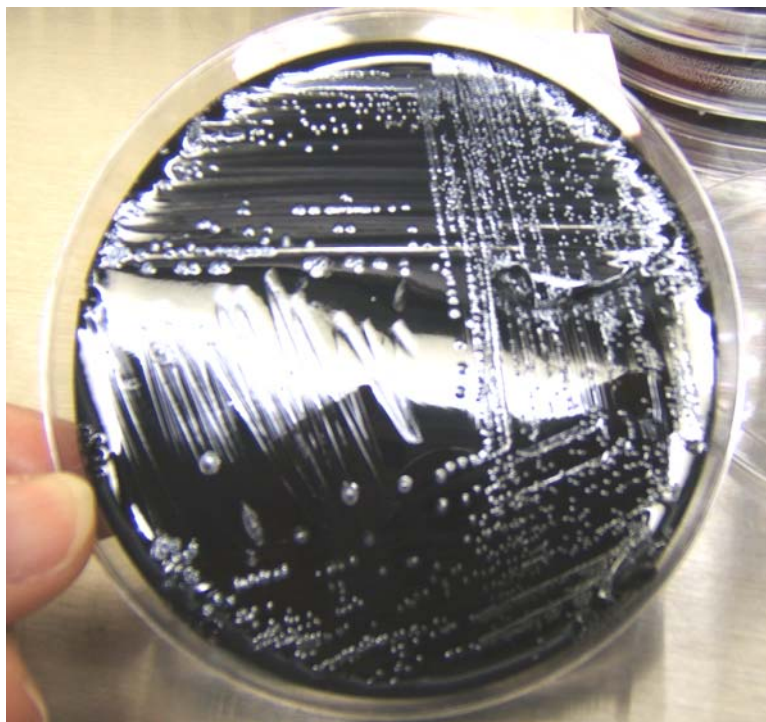
ส่วนประกอบ	22.75	กรัม
Nutrient broth No. 2	12.5	กรัม
Bacteriological charcoal	2	กรัม
Casein hydrolysate	1.5	กรัม
Sodium deoxycholate	0.5	กรัม
Ferrous sulphate	0.125	กรัม
Sodium pyruvate	0.125	กรัม
Agar	6	กรัม
pH	7.4	

2.2 CCDA Selective Supplement (SR 155)

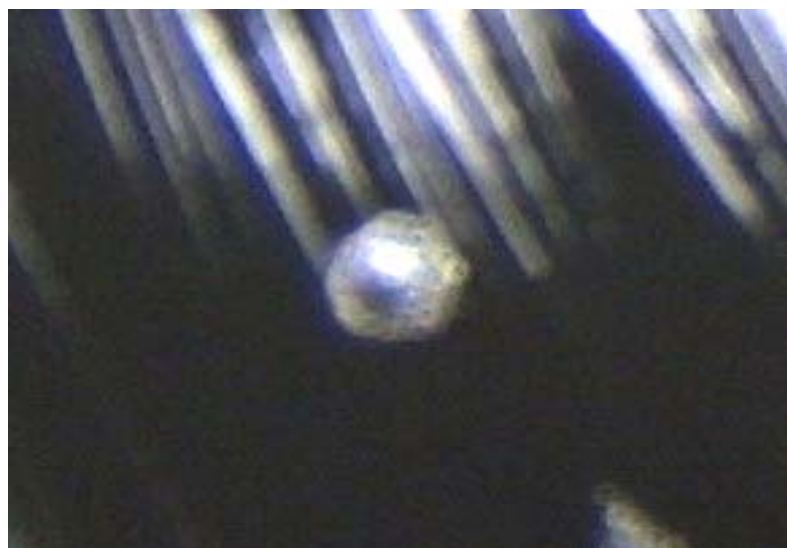
ส่วนประกอบ 1 หลอด (vial) สำหรับอาหาร Campylobacter Blood Free Selective Agar Base (CM 739) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

Cefoperazone	16	mg
Amphotericin	5	mg

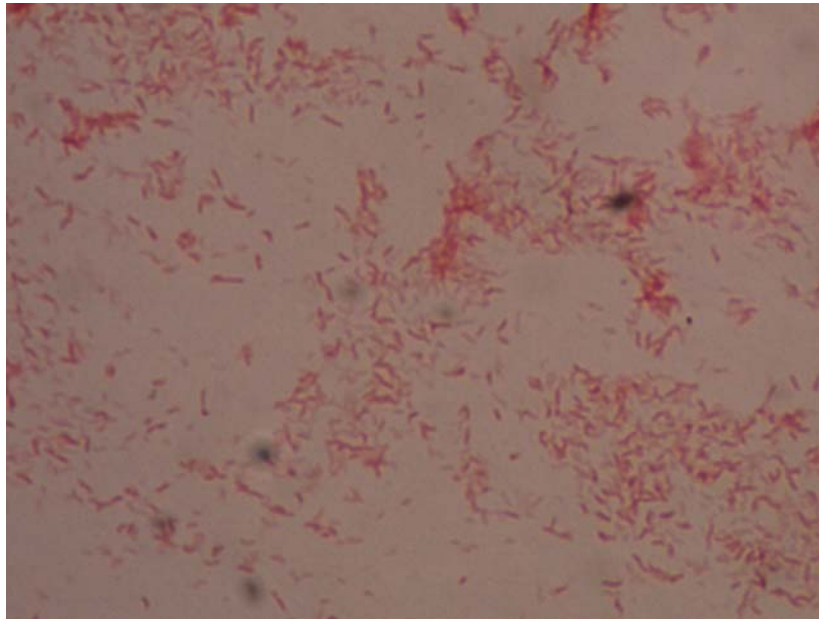
ชั่ง Campylobacter Blood Free Selective Agar Base (CM 739) 22.75 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้อากาศดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางทิ้งไว้ในเย็นจนอุณหภูมิลดลงเหลือ 50 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติม CCDA Selective Supplement (SR 155) ที่ละลายในน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร จำนวน 1 หลอด ผสมให้เข้ากันกับอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วเทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเชื้อ



ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Campylobacter* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CCDA



ภาพผนวกที่ 2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Campylobacter* spp. แบบเดี่ยว บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CCDA



ภาพผนวกที่ 3 ภาพเชื้อ *Campylobacter* spp.



ภาพผนวกที่ 4 การทดสอบทางชีวเคมี catalase test ให้ผลเป็นบวก



ภาพผนวกที่ 5 การทดสอบทางชีวเคมี oxidase test ให้ผลเป็นบวก



ภาพผนวกที่ 6 การทดสอบทางชีวเคมี hippurate acid ให้ผลเป็นบวก ของตัวอย่างจากฟาร์ม F



ภาพผนวกที่ 7 การทดสอบทางชีวเคมี hippurate acid ให้ผลเป็นบวก ของตัวอย่างจากฟาร์ม F



ภาพผนวกที่ 8 การทดสอบทางชีวเคมี hippurate acid ให้ผลเป็นบวก ของตัวอย่างจากฟาร์ม G

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล

นายณที แจ่มมงคล

วัน เดือน ปี ที่เกิด

31 มีนาคม พ.ศ. 2520

สถานที่เกิด

จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ประวัติการศึกษา

วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2542)