

การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Salmonella* ser. Typhimurium และ *Salmonella* ser. Enteritidis ที่แยกได้จากเนื้อสัตว์ในภาคตะวันตก

เพชรรัตน์ ศักดินันท์ * สุภาพร มีบุญ

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก กรมปศุสัตว์ ตู้ ปณ. 18 อ.จอมบึง จ.ราชบุรี 70150

* ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ โทร. 0-3222-8419 โทรสาร. 0-3222-8379 e-mail: petcharats@dld.go.th

บทคัดย่อ

ศึกษารูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Salmonella* ser. Typhimurium (*S. Typhimurium*) และ *Salmonella* ser. Enteritidis (*S. Enteritidis*) จำนวน 67 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากเนื้อสัตว์ซึ่งเก็บจาก โรงฆ่าและสถานที่จำหน่ายในพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 7 ระหว่างเดือนตุลาคม 2551-กันยายน 2554 ด้วยวิธี disk diffusion โดยใช้ยาต้านจุลชีพ 11 ชนิด พบว่ารูปแบบและอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ซึ่งแยกได้จากเนื้อสัตว์ต่างชนิดมีความแตกต่างกัน โดยเชื้อ *S. Typhimurium* พบรูปแบบการดื้อยา 1-10 ชนิด และมีรูปแบบการดื้อยาร่วมกันตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป 70.0% แต่เชื้อยังคงมีความไวต่อยา nalidixic acid (95.0%), sulfamethoxazole/trimethoprim (85.0%), ciprofloxacin (73.3%), chloramphenicol (71.7%) และ cefotaxime (70.0%) โดยมีอัตราการดื้อยาสูงต่อ gentamicin และ penicillin (70.0%) และดื้อต่อยา streptomycin (66.7%) เชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อโคมีอัตราการดื้อยา gentamicin และ kanamycin (66.6%) ส่วนเชื้อที่แยกได้จากเนื้อสุกรดื้อยา gentamicin, penicillin, streptomycin (73.6%) และดื้อต่อยา tetracycline และ ampicillin (60.4%) ในขณะที่เชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่มีอัตราการดื้อต่อยา ampicillin, ciprofloxacin, penicillin และ tetracycline 50.0% เท่ากัน ส่วนเชื้อ *S. Enteritidis* ซึ่งแยกได้จากเนื้อสุกรและเนื้อไก่ พบรูปแบบการดื้อยา 1-4 ชนิด และมีรูปแบบการดื้อยาร่วมกันตั้งแต่ 3 ชนิดขึ้นไป 57.1% เชื้อมีความไวสูงสุดต่อ chloramphenicol, cefotaxime และ sulfamethoxazole/trimethoprim (100%) และไวต่อยา tetracycline (85.7%) โดยเชื้อที่แยกได้จากเนื้อสุกรซึ่งมีเพียง 1 ตัวอย่างไม่พบการดื้อต่อยาทั้ง 11 ชนิดที่ใช้ทดสอบ ส่วนเชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่มีอัตราการดื้อยามากที่สุดต่อ nalidixic acid (100%) และดื้อต่อยา ampicillin, ciprofloxacin และ penicillin (83.3%)

การศึกษานี้บ่งชี้ว่า เชื้อดื้อยาสายพันธุ์ก่อโรคซึ่งปนเปื้อนอยู่ในเนื้อสัตว์มีรูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดร่วมกัน นับว่าเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุข ควรมีโปรแกรมการควบคุมและเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง เพื่อป้องกันการแพร่กระจายเชื้อดื้อยาระหว่างสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารสู่ผู้บริโภคโดยการบังคับใช้นโยบายเกี่ยวกับการใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์อย่างเข้มงวดมากขึ้น

คำสำคัญ : *Salmonella* ser. Typhimurium, *Salmonella* ser. Enteritidis, เนื้อสัตว์, การดื้อยาต้านจุลชีพ

บทนำ

Salmonella spp. เป็นเชื้อแบคทีเรียสำคัญชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (foodborne disease) ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคและเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขในประเทศต่างๆ ทั่วโลก (Herikstad *et al.*, 2002; Galanis *et al.*, 2006) ปัจจุบันพบเชื้อ *Salmonella* spp. มากกว่า 2,500 ซีโรวาร์ โดยสายพันธุ์ที่ก่อโรคและมีรายงานการแยกเชื้อได้จากผู้ป่วย ได้แก่ *Salmonella* ser. Weltevreden, *Salmonella* ser. Stanley, *Salmonella* ser. Anatum, *Salmonella* ser. Rissen, *Salmonella* ser. Choleraesuis, *Salmonella* ser. Enteritidis (*S. Enteritidis*) และ *Salmonella* ser. Typhimurium (*S. Typhimurium*) เป็นต้น (Angulo *et al.*, 2004; Sirichote *et al.*, 2010) วงจรของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษเกิดจากเชื้อปนเปื้อนเข้ามาในห่วงโซ่อาหาร เช่น เนื้อไก่ เนื้อโค เนื้อสุกร ไข่ นม และอาหารทะเล (Gomez *et al.*, 1997; Dalton *et al.*, 2004) การบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อชนิดก่อโรครุนแรงหรือปนเปื้อนในปริมาณสูงจะส่งผลให้เกิดการเจ็บป่วยขึ้นได้ ซึ่งในแต่ละปีมีรายงานผู้ป่วยและเสียชีวิตจากโรคอาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Salmonella* spp. เป็นจำนวนมากในหลายประเทศทั่วโลก โดยสายพันธุ์ที่ก่อโรคและเพาะแยกได้จากผู้ป่วยส่วนใหญ่เกิดจาก *S. Typhimurium* และ *S. Enteritidis* (Soumet *et al.*, 1999; Herikstad *et al.*, 2002) เชื้อสายพันธุ์ดังกล่าวนอกจากจะทำให้เกิดการเจ็บป่วยแล้วยังมีรายงานจากหลายประเทศทั่วโลกแสดงให้เห็นว่าเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดซึ่งแตกต่างกัน ได้แก่ ampicillin, chloramphenicol, sulfisoxazole, tetracycline, nalidixic acid, gentamicin, streptomycin, erythromycin, novobiocin และ cefotaxime เป็นต้น (Yang *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2006; Akhtar *et al.*, 2010; Sirichote *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพหลายๆ ชนิดพร้อมกันและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น (Yang *et al.*, 2002; Busani *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2006) ปรากฏการณ์ดังกล่าวนอกจากจะก่อให้เกิดความล้มเหลวในการรักษาผู้ป่วยแล้ว ยังทำให้เกิดการเจ็บป่วยที่รุนแรงเพิ่มขึ้น (Angulo *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2006)

การดื้อยาต้านจุลชีพเป็นปัญหาใหญ่ด้านสาธารณสุขที่ส่งผลกระทบไปทั่วโลก ปัจจัยที่ก่อให้เกิดเชื้อดื้อยาส่วนหนึ่งเกิดจากการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างไม่มีแบบแผน โดยเฉพาะการผลิตปศุสัตว์ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของมนุษย์ มักพบการใช้ยาต้านจุลชีพกันอย่างหลากหลายทั้งในรูปแบบสารเร่งการเจริญเติบโตและเพื่อการรักษาโรค (ธงชัย และคณะ, 2548; อินทรี และคณะ, 2543) ซึ่งการใช้ยาต้านจุลชีพที่ขาดความรอบคอบและไม่เหมาะสมเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดเชื้อดื้อยาในสัตว์และอาจนำมาซึ่งการแพร่กระจายยีนดื้อยาไปยังเชื้อชนิดเดียวกันหรือเชื้ออื่นๆ ส่งผลให้เกิดเชื้อดื้อยาเพิ่มขึ้น (อินทรี และคณะ, 2543) และที่สำคัญเชื้อดื้อยาซึ่งอยู่ในสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารสามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้โดยการบริโภค ซึ่งหากเกิดการติดเชื้อชนิดที่ไม่มียาต้านจุลชีพยับยั้งอาจก่อให้เกิดความเสียหายหรือเกิดอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ ซึ่งที่ผ่านมาได้มีการควบคุมปัญหาเชื้อดื้อยาโดยการรณรงค์ให้ผู้เลี้ยงปศุสัตว์ใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสม การออกข้อกำหนดการควบคุมการใช้ยาในสัตว์ รวมทั้งการออกประกาศควบคุมการนำเข้ายาและเภสัชเคมีภัณฑ์ ซึ่งเชื่อว่าจะสามารถลดปัญหาเชื้อดื้อยาลงได้ สำหรับการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบถึงสถานะและรูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *S. Typhimurium* และ *S. Enteritidis* ซึ่งเป็นเชื้อชนิดก่อโรคที่สำคัญซึ่งพบปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ที่เก็บจากโรงฆ่าและสถานที่จำหน่าย ภายในพื้นที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 7 เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพอย่างมีแบบแผนในการรักษาสัตว์ป่วยหรือผู้ป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อ และเป็นข้อมูลให้ผู้เลี้ยงปศุสัตว์ตระหนักถึงเรื่องการใช้ยาในสัตว์อย่างรอบคอบและเหมาะสม เพื่อป้องกันหรือควบคุมการเกิดเชื้อดื้อยาอย่างต่อเนื่อง

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อ *S. Typhimurium* 60 สายพันธุ์ และ *S. Enteritidis* 7 สายพันธุ์ ซึ่งแยกได้จากเนื้อสัตว์ที่เก็บจากโรงฆ่าและสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ในพื้นที่ 7 จังหวัดของสำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 7 ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี สมุทรสงคราม และสมุทรสาคร ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงกันยายน 2554 และเชื้ออ้างอิงมาตรฐาน *Escherichia coli* ATCC 25922 นำเชื้อทั้งหมดมาเพาะให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy agar (TSA) (Oxoid, England) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C 18-24 ชั่วโมง

การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

ใช้วิธี agar disk diffusion ตามมาตรฐาน Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009) ควบคุมคุณภาพผลการทดสอบด้วยเชื้ออ้างอิงมาตรฐาน *E. coli* ATCC 25922 การทดสอบใช้ยาต้านจุลชีพ 11 ชนิด (Oxoid, England) ได้แก่ ampicillin (Amp) 10 µg, cefotaxime (Ctx) 30 µg, chloramphenicol (C) 30 µg, ciprofloxacin (Cip) 1 µg, gentamicin (Cn) 10 µg, kanamycin (K) 30 µg, nalidixic acid (Na) 30 µg, penicillin (P) 10 µg, streptomycin (S) 10 µg, tetracycline (Te) 30 µg และ sulfamethoxazole/trimethoprim (Sxt) 25 µg ทดสอบโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์จากอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จำนวน 3-5 โคโลนี ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth (TSB) (Oxoid, England) บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C 2-6 ชั่วโมง ปรับปริมาณเชื้อด้วย 0.85% normal saline solution (NSS) ให้มีความขุ่นเท่ากับ Mcfarland No. 0.5 หรือประมาณ 1.5×10^8 CFU/mL ใช้ไม้พันสำลี (cotton swab) ชุบเชื้อที่ปรับปริมาณแล้ว ป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ mueller-hinton agar (Oxoid, England) ให้เชื้อกระจายทั่วผิวน้ำอาหารทิ้งไว้ 3-5 นาที เพื่อให้ผิวน้ำของอาหารเพาะเชื้อแห้ง ใช้ปากคีบ (forceps) คีบแผ่นยาต้านจุลชีพวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อและกดเบาๆ ให้แผ่นยาต้านจุลชีพติดกับอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C 18-24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone ของเชื้อที่ทดสอบเป็นมิลลิเมตร เทียบกับค่าการยอมรับได้ (breakpoints) ตามตาราง Zone Diameter Interpretive Standards and Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for Veterinary Pathogens, 2008 แปลผลเป็น sensitive (S), intermediate (I) และ resistant (R)

ผล

ผลการทดสอบความไวของเชื้อ *S. Typhimurium* ที่แยกได้จากเนื้อโค เนื้อสุกร และเนื้อไก่ (ตาม Table 1) ส่วนใหญ่มีความไวสูงต่อยา nalidixic acid (95.0%), sulfamethoxazole/trimethoprim (85.0%), ciprofloxacin (73.3%), chloramphenicol (71.7%) และ cefotaxime (70.0%) มีอัตราการดื้อยา gentamicin และ penicillin (70.0%) และ streptomycin (66.7%) เชื้อที่แยกได้จากเนื้อโคส่วนใหญ่มีความไวสูงต่อยา ampicillin, chloramphenicol, cefotaxime, sulfamethoxazole/trimethoprim, ciprofloxacin, nalidixic acid และ tetracycline ยกเว้น gentamicin และ kanamycin มีอัตราการดื้อยา 66.6% ส่วนเชื้อที่แยกได้จากเนื้อสุกร มี

ความไวสูงต่อยา nalidixic acid (94.3%), sulfamethoxazole/trimethoprim (83.0%), ciprofloxacin (73.6%), chloramphenicol (67.9%) และ cefotaxime (66.0%) พบเชื้อดื้อยา gentamicin, penicillin, streptomycin (73.6%) และดื้อต่อยา tetracycline และ ampicillin (60.4%) ในขณะที่เชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่มีความไวสูงต่อยา sulfamethoxazole/trimethoprim, cefotaxime, chloramphenicol และ nalidixic acid และมีอัตราการดื้อต่อยา ampicillin, ciprofloxacin, penicillin และ tetracycline

ผลการทดสอบความไวของเชื้อ *S. Enteritidis* ซึ่งแยกได้จากเนื้อสุกรและเนื้อไก่ (ตาม Table 2) ส่วนใหญ่มีความไวสูงต่อยา chloramphenicol, cefotaxime, sulfamethoxazole/trimethoprim (100%) และ tetracycline (83.2%) มีอัตราการดื้อยาสูงต่อ nalidixic acid (85.7%) และดื้อต่อยา ampicillin, ciprofloxacin และ penicillin (71.4%) โดยเชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่ดื้อต่อยา nalidixic acid (100%)

เชื้อที่ทดสอบทั้งสองชนิดมีรูปแบบการดื้อยาด้านจุลชีพเป็นแบบหลายชนิดร่วมกัน (multi-drug resistance) โดยเชื้อ *S. Typhimurium* มีอัตราการดื้อยาด้านจุลชีพ 1-10 ชนิด พบรูปแบบการดื้อยาด้านจุลชีพ 29 รูปแบบ โดยพบเชื้อดื้อยาร่วมกัน 2 ชนิดขึ้นไป 70.0% อัตราการดื้อยาร่วมกัน 8 ชนิด มีความถี่สูงสุด (15.0%) ในขณะที่เชื้อ *S. Enteritidis* มีอัตราการดื้อยาด้านจุลชีพ 1-4 ชนิด มีรูปแบบการดื้อยาด้านจุลชีพ 5 รูปแบบ พบเชื้อดื้อยาร่วมกัน 3 ชนิดขึ้นไป 57.1% โดยพบอัตราการดื้อยาร่วมกัน 4 ชนิดมากที่สุด 42.9% ตาม Table 3

Table 1 Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* ser. Typhimurium isolated from beef pork and chicken

Sources		Percentage and number of isolate tested										
		Amp (10 µg)	C (30 µg)	Ctx (30 µg)	Cip (1 µg)	Cn (10 µg)	Na (30 µg)	K (30 µg)	P (10 µg)	S (10 µg)	Sxt (25 µg)	Te (30 µg)
Beef (n=3)	S *	100(3)	100(3)	100(3)	100(3)	0	100(3)	0	0	0	100(3)	100(3)
	I	0	0	0	0	33.3(1)	0	33.3(1)	66.6(2)	100(3)	0	0
	R	0	0	0	0	66.6(2)	0	66.6(2)	33.3(1)	0	0	0
Pork (n=53)	S	39.6(21)	67.9(36)	66.0(35)	73.6(39)	0	94.3(50)	3.8(2)	0	0	83.0(44)	39.6(21)
	I	0	0	0	13.2(7)	26.4(14)	1.9(1)	79.2(42)	26.4(14)	28.3(14)	1.9(1)	0
	R	60.4(32)	32.1(17)	34.0(18)	13.2(7)	73.6(39)	3.8(2)	17.3(9)	73.6(39)	73.6(39)	15.1(8)	60.4(32)
Chicken (n=4)	S	50(2)	100(4)	100(4)	50(2)	0	100(4)	0	0	0	100(4)	50(2)
	I	0	0	0	0	75.0(3)	0	75.0(3)	50(2)	75.0(3)	0	0
	R	50(2)	0	0	50(2)	25.0(1)	0	25.0(1)	50(2)	25.0(1)	0	50(2)
Total (n=60)	S	43.3(26)	71.7(43)	70.0(42)	73.3(44)	0	95.0(57)	3.3(2)	0	1.7(1)	85.0(51)	43.3(26)
	I	0	0	0	11.7(7)	30.0(18)	1.7(1)	76.7(46)	30.6(18)	31.7(19)	1.7(1)	0
	R	56.7(34)	28.3(17)	30.0(18)	15.0(9)	70.0(42)	3.3(2)	20.0(12)	70.0(42)	66.7(40)	13.3(8)	56.7(34)

* S = sensitive, I = intermediate, R = resistant

Table 2 Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* ser. Enteritidis isolated from pork and chicken

Sources		Percentage and number of isolate tested										
		Amp	C	Ctx	Cip	Cn	Na	K	P	S	Sxt	Te
		(10 µg)	(30 µg)	(30 µg)	(1 µg)	(10 µg)	(30 µg)	(30 µg)	(10 µg)	(10 µg)	(25 µg)	(30 µg)
Pork (n=1)	S *	100(1)	100(1)	100(1)	100(1)	0	100(1)	100(1)	0	100(1)	100(1)	100(1)
	I	0	0	0	0	100(1)	0	0	100(1)	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Chicken (n=6)	S	16.7(1)	100(6)	100(6)	16.7(1)	16.7(1)	0	16.7(1)	0	16.7(1)	100(6)	83.3(5)
	I	0	0	0	0	66.7(4)	0	66.7(4)	16.7(1)	83.3(5)	0	0
	R	83.3(5)	0	0	83.3(5)	16.7(1)	100(6)	16.7(1)	83.3(5)	0	0	16.7(1)
Total (n=7)	S	28.6(2)	100(7)	100(7)	28.6(2)	14.3(1)	14.3(1)	28.6(2)	0	28.6(2)	100(7)	85.7(6)
	I	0	0	0	0	71.4(5)	0	57.1(4)	28.6(2)	71.4(5)	0	0
	R	71.4(5)	0	0	71.4(5)	14.3(1)	85.7(6)	14.3(1)	71.4(5)	0	0	14.3(1)

* S = sensitive, I = intermediate, R = resistant

Table 3 Frequency and multi-drug resistance profiles of *Salmonella* ser. Typhimurium and *Salmonella* ser. Enteritidis isolated from meat

Number of disk resistance (n=11)	S. Typhimurium (n=60)	S. Enteritidis (n=7)	
	Resistance profiles(number of isolates)	% Resistance (number of isolates)	% Resistance (number of isolates)
1	Cip(2) Cn(2) K(1) P(1)	10.0 (6)	Na(1) 14.3(1)
2	Amp, P(1) Cip, Cn(1) Cn, P(1) Cn, S(2)	8.3(5)	-
3	Amp, P, S(1) Cn, P, S(2) Cn, P, Te(1) Na, P, S(1)	8.3(5)	Amp, Na, P(1) 14.3(1)
4	Amp, Cn, K, P(1) Amp, Cn, P, S(1) Amp, Cn, P, Te(1) Amp, P, S, Te(3)	10.0(6)	Amp, Cn, Na, K(1) Amp, Cn, Na, P(1) Amp, Na, P, Te(1) 42.9(3)
5	Amp, Ctx, Cn, P, Te(1) Amp, Cn, P, S, Te(4)	8.3(5)	-
6	Amp, Cn, K, P, S, Te(2) C, K, P, S, Sxt, Te(1)	5.0(3)	-
7	Amp, C, Ctx, Cip, P, S, Te(1) Amp, C, Ctx, Cn, P, S, Te(5)	10.0(6)	-
8	Amp, C, Ctx, Cip, Cn, P, S, Te(3) Amp, C, Ctx, Cn, K, P, S, Te(4) Amp, Ctx, Cip, Cn, P, S, Sxt, Te(1) Amp, Cn, Na, K, P, S, Sxt, Te(1)	15.0(9)	-
9	Amp, C, Ctx, Cip, Cn, P, S, Sxt, Te(1) Amp, C, Ctx, Cn, K, P, S, Sxt, Te(1)	3.3(2)	-
10	Amp, C, Ctx, Cn, Na, K, P, S, Sxt, Te(1)	1.7(1)	-
11	-	-	-
% Resistance $\geq$ 2 disk(number of isolates)		70.0(42)	% Resistance $\geq$ 3 disk(number of isolates) 57.1(4)

Note : Amp : ampicillin, C : chloramphenicol, Ctx : cefotaxime, Cip : ciprofloxacin, Cn : gentamicin, Na : nalidixic acid,
K : kanamycin, P : penicillin, S : streptomycin, Sxt : sulfamethoxazole/trimethoprim, Te : tetracycline

สรุปและวิจารณ์

จากการศึกษาการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *S. Typhimurium* และ *S. Enteritidis* ซึ่งเป็นเชื้อที่พบได้บ่อยในสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร (Herikstad *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2005) พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดมีรูปแบบและอัตราการดื้อต่อยาต้านจุลชีพต่างกัน โดยเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งส่วนใหญ่แยกได้จากเนื้อสุกร (53 ตัวอย่าง) ดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบทุกชนิด โดยมีอัตราการดื้อยาสูงต่อ ampicillin, gentamicin, penicillin, streptomycin, และ tetracycline ใกล้เคียงกับการศึกษาของอินทรีและคณะ (2543) ซึ่งรายงานถึงการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งแยกได้จากเนื้อสุกร ดื้อต่อยา ampicillin, gentamicin และ tetracycline เช่นกัน ส่วนเชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่ (4 ตัวอย่าง) และเนื้อโค (3 ตัวอย่าง) จากการศึกษารังนี้ มีรูปแบบและอัตราการดื้อยาที่แตกต่างและต่ำกว่าเชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อสุกร บ่งชี้ให้เห็นถึงสภาวะการใช้ยาที่ต่างกันในการเลี้ยงปศุสัตว์แต่ละประเภท เชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่ดื้อต่อยา ampicillin, ciprofloxacin, gentamicin, kanamycin, penicillin, streptomycin และ tetracycline ทั้งนี้พบการดื้อยาชนิดเดียวกันจากการศึกษาของอินทรีและคณะ (2543) ซึ่งรายงานถึงเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่ดื้อต่อยา gentamicin และ tetracycline ในขณะที่เกรียงศักดิ์ (2536) รายงานผลการศึกษาด้านยาของเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งแยกได้จากไก่และเป็ด พบอัตราการดื้อยา tetracycline สูงกว่ายาชนิดอื่นๆ เช่นกัน ส่วนเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งแยกได้จากเนื้อโคในการศึกษานี้พบเชื้อดื้อยาเพียง 3 ชนิด ได้แก่ gentamicin, kanamycin และ penicillin ซึ่งอาจเนื่องจากโคมีการเลี้ยงแบบปล่อย ในขณะที่สุกรและไก่เลี้ยงแบบแออัด ทำให้มีการเกิดโรคได้ง่ายจึงต้องใช้อย่างมากหรือบ่อยกว่า จากการศึกษานี้เป็นที่น่าสังเกตว่าพบเชื้อดื้อยา ciprofloxacin ซึ่งถือเป็นยาทางเลือกสำหรับใช้รักษาโรคติดเชื้อ Salmonellosis ในผู้ป่วย (Corre *et al.*, 1999) แม้จะพบอัตราการดื้อยาไม่สูงแต่เป็นเรื่องที่ควรเฝ้าระวัง เนื่องจาก ciprofloxacin มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลายในสัตว์และมีรายงานพบการดื้อยาในผู้ป่วยหลายประเทศ (Dimitrov *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้พบเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งแยกได้จากเนื้อสุกรไม่ดื้อต่อยา gentamicin, penicillin และ streptomycin ในขณะที่เชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่และเนื้อโคดื้อต่อยา gentamicin, kanamycin, penicillin และ streptomycin นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อที่ทดสอบมีค่าความไวต่อยา ช่วง intermediate อยู่ในอัตราสูง บ่งชี้ให้เห็นถึงแนวโน้มการดื้อยาในอนาคตอันใกล้หากยังคงใช้ยาดังกล่าวอย่างขาดการควบคุม ส่วนการศึกษาดื้อยาหลายชนิดพร้อมกัน (multi-drug resistant) ซึ่งพบเชื้อ *S. Typhimurium* ดื้อต่อยาต้านจุลชีพตั้งแต่ 1-10 ชนิด มากถึง 29 รูปแบบ โดยพบการดื้อยาร่วมกันตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป (70.0%) มากถึง 25 รูปแบบ พบเชื้อดื้อยาร่วมกัน 8 ชนิด มากที่สุด (15.0%) ทั้งนี้พบรูปแบบการดื้อยาซึ่งประกอบด้วย ampicillin, penicillin และ tetracycline ร่วมกันเสมอ โดยรูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพที่มี penicillin ร่วมด้วยมีมากที่สุดถึง 23 รูปแบบ ส่วนรูปแบบที่มี ampicillin และ tetracycline ดื้อต่อยาต้านจุลชีพร่วมกับยาชนิดอื่นๆ พบ 18 และ 16 รูปแบบตามลำดับ ทั้งนี้เป็นสิ่งที่น่าวิตกว่าเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งแยกได้จากเนื้อสัตว์ซึ่งเป็นอาหารของมนุษย์ พบการดื้อยาต้านจุลชีพชนิดเดียวกันกับเชื้อซึ่งแยกได้จากผู้ป่วย โดยเฉพาะยาในกลุ่ม ampicillin และ tetracycline ซึ่งใช้ป้องกันและรักษาโรค ดังจะเห็นได้จากหลายรายงานซึ่งมีการศึกษาก่อนหน้านี้พบเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยด้วยโรค salmonellosis ดื้อต่อยาดังกล่าว ได้แก่ รายงานของรุ่งนภาและคณะ (2549) พบเชื้อซึ่งแยกได้จากอุจจาระผู้ป่วยในพื้นที่สำนักควบคุมโรคที่ 2 สระบุรี ดื้อต่อยา ampicillin และรายงานของบุญรัตน์และคณะ (2551) พบเชื้อซึ่งแยกได้จากเลือด

ผู้ป่วยในภาคเหนือ ระหว่างปี พ.ศ. 2546-2549 ติดต่อยา ampicillin และ tetracycline ในขณะที่ Pomruangwong *et al.* (2008) และ Sirichote *et al.* (2010) พบเชื้อซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยติดต่อยา ampicillin และ tetracycline เช่นกัน

สำหรับเชื้อ *S. Enteritidis* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สำคัญและพบมากที่สุดในเนื้อไก่ (สุมาลีและคณะ, 2542; Billmad *et al.*, 2007) จากการศึกษารั้วนี้พบเชื้อ *S. Enteritidis* ที่แยกได้จากเนื้อสุกรยังคงมีความไวและไม่ติดต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบทุกชนิด ซึ่งผลการทดสอบนี้ไม่ได้เป็นสิ่งบ่งชี้ว่าเชื้อ *S. Enteritidis* ซึ่งแยกได้จากเนื้อสุกรเป็นชนิดไม่ติดต่อยาต้านจุลชีพเนื่องจากพบเชื้อเพียง 1 ตัวอย่างเท่านั้น ส่วนเชื้อซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่ 6 ตัวอย่าง ติดต่อยา ampicillin, ciprofloxacin, gentamicin, nalidixic acid, kanamycin, penicillin และ tetracycline ทั้งนี้พบว่าเชื้อที่ทดสอบมีความไวต่อยา ช่วง intermediate สูงต่อยา 3 ชนิด ได้แก่ gentamicin, kanamycin และ streptomycin ประเมินได้ว่าอาจพบเชื้อ *S. Enteritidis* ติดต่อยาเพิ่มมากขึ้นหากยังคงใช้ยาดังกล่าวอย่างไม่เหมาะสมต่อไป จากการศึกษาพบว่าเชื้อมีอัตราการติดต่อยาสูงต่อ ampicillin, ciprofloxacin, nalidixic acid และ penicillin โดยพบเชื้อติดต่อยาสูงถึง 100% ต่อ nalidixic acid สอดคล้องกับรายงานของธงชัยและคณะ (2548) ซึ่งพบเชื้อ *S. Enteritidis* ที่แยกได้จากไก่บ้านติดต่อยา nalidixic acid 100% และจากรายงานของบุญรัตน์และคณะ (2551) พบเชื้อซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยติดต่อยา nalidixic acid มากที่สุดเช่นกัน เป็นที่น่าสังเกตว่าเชื้อ *S. Enteritidis* และ *S. Typhimurium* ซึ่งแยกได้จากเนื้อไก่ติดต่อยาต้านจุลชีพชนิดเดียวกัน ได้แก่ ampicillin, ciprofloxacin และ penicillin แต่เชื้อ *S. Enteritidis* มีอัตราการติดต่อยาดังกล่าวสูงกว่าเชื้อ *S. Typhimurium* และมีอัตราการติดต่อยา nalidixic acid 100% ตรงกันข้ามกับเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งมีความไวต่อยา nalidixic acid 100% ทั้งนี้อาจบ่งชี้ว่ามียาในกลุ่ม quinolone สูงในไก่ ในขณะที่มีการใช้ยาในกลุ่มนี้ในสุกรไม่มาก ภาพรวมจากการศึกษารั้วนี้พบการติดต่อยาของเชื้อ *S. Enteritidis* ตั้งแต่ 1-4 ชนิด มีรูปแบบการติดต่อยาร่วมกัน 3-4 ชนิด (57.1%) เพียง 4 รูปแบบ จะเห็นว่รูปแบบและอัตราการติดต่อยาของเชื้อ *S. Enteritidis* แตกต่างจากเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งอาจเนื่องจากจำนวนเชื้อที่ทดสอบมีจำนวนไม่มากก็เป็นได้

การศึกษารั้วนี้พบว่าเชื้อ *S. Enteritidis* และ *S. Typhimurium* มีรูปแบบการติดต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดร่วมกัน (multi-drug resistance) อัตราการติดต่อยาแตกต่างกันและต่อยาบางชนิดต่างกัน บ่งชี้ให้เห็นถึงสภาวะการใช้ยาที่หลากหลายในอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ยังขาดการควบคุมอย่างเคร่งครัด ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลกระทบและเป็นปัญหาด้านสาธารณสุข หากเกิดการติดเชื้อและพบว่ายาต้านจุลชีพหลายชนิดไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ดังนั้นควรมีการศึกษารูปแบบและแนวโน้มการติดต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อเพื่อเป็นข้อมูลการรักษาและการเลือกใช้ยาที่เหมาะสม รวมถึงการติดตามสถานการณ์การติดต่อยาและการเฝ้าระวังการระบาดของเชื้อให้เป็นอย่างต่อเนื่อง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสัตวแพทย์หญิงช้องมาศ อันตรเสน ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก และนายสัตวแพทย์ตระการศักดิ์ แพไธสง นายสัตวแพทย์ชำนาญการพิเศษ ที่ให้การสนับสนุนและตรวจทานแก้ไขผลงาน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกคนในกลุ่มงานแบคทีเรียและเชื้อราวิทยา และกลุ่มงานตรวจวิเคราะห์เนื้อสัตว์ที่ร่วมปฏิบัติงานจนได้รับผลสำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- เกรียงศักดิ์ สายธนู. 2536. การต้านยาและการถ่ายทอดการต้านยาของซาลโมเนลลา. รายงานผลการวิจัยทุนวิจัย
ภิเษกสมโภช. หน้า 1-36.
- ธงชัย เฉลิมชัยกิจ มณฑล เลิศวรปรีชา และจิโรจ ศศิประยจันทร์. 2548. รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลา
ในไก่บ้านและไก่ฟาร์ม. สัตวแพทยสาร. 56(1): 33-44.
- บุญรัตน์ วงศ์ชมภู สวลี เล้าสะท้อน สลักจิต ชูติพงษ์วิเวท วันเพ็ญ ทาทอง ชวนพิศ ยั่งยืน และเดชพิภัทร์ อมรทิพย์วงศ์.
2551. ซีโรทัยป์ และการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากเลือดผู้ป่วยโรคซัลโมเนลโลซิส ใน
ภาคเหนือของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2546 – 2549. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่. 41(3): 196-203.
- รุ่งนภา ศรีมะณี ปารกกรม ประยูรรัตน์ และ อรุณ บำรุงตระกูลนนท์. 2549. การศึกษาหา *Salmonella* Serovars และรูปแบบ
การดื้อยาของเชื้อที่ตรวจพบจากผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงในพื้นที่สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 2 สระบุรี. วารสาร
วิทยาศาสตร์ มศว. 22(2): 62-75.
- สุมาลี บุญมา ชุมพจน์ อมาตยกุล และอรุณ บำรุงตระกูลนนท์. 2542. การศึกษาสายพันธุ์ที่สำคัญของเชื้อซัลโมเนลลาจาก
เนื้อไก่ที่สำคัญในประเทศไทย. วารสารเกษตรศาสตร์. 33: 75-79.
- อินทรา กระหม่อมทอง ชาญณวงศ์ รอดคำ และวารี นิยมธรรม. 2543. การต้านยาของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากสัตว์.
เวชศาสตร์สัตวแพทย์. 30(3): 51-61.
- Akhtar, F., Hussain, I., Khan, A. and Rahman, S. U. 2010. Prevalence and antibiogram studies of *Salmonella*
Enteritidis isolated from human and poultry sources. Pak Vet J 30(1): 25-28.
- Angulo, F.J., Nargund, V.N., Chiller, T.C. 2004. Evidence of an association between use of anti-microbial agents
in food animals and anti-microbial resistance among bacteria isolated from humans and the human health
consequences of such resistance. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health, 51: 374-379.
- Bilhamad, U., Yoidam, S., Bhumibhamon, T., Thongnoon P. and Anan, P. 2007. Serovars and antimicrobial drug resistance of
Salmonella Isolated from pork and chicken meat in southern Thailand. Thai-NIAH e Journal, 2(1): 27-37.
- Busani, L., Graziani, C., Battisti, A., Franco, A., Ricci, A., Vio, D., Digianatale, E., Paterlini, F., D'Incau, M.,
Owczarek, S., Caprioli, A. and Luzzi, I. 2004. Antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serotypes
Typhimurium, Enteritidis and Infantis from human infections, foodstuffs and farm animals in Italy. Epidemiol
Infect 132: 245-251.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2009. Performance standards for antimicrobial susceptibility
testing. 19th Informational Supplement. M100-S19 Vol. 29 No. 3 January 2009, Wayne, PN:CLSI.
- Clinical and Laboratory Standard Institute. 2009. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility
Tests: Approved standard. 10th edition. M02-A10 Vol. 29 No. 1 January 2009, Wayne, PA, U.S.A.
- Corre, C. H., Donnio, P. Y., Perrin, M., Travert, M. F. and Avril, J. L. 1999. Increasing incidence and comparison
of nalidixic acid-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Typhimurium isolates from humans
and animals. J Clin Microbiol., 37(1): 266 - 269.

- Dalton, C.B., Gregory, J. and Kirk, M.D. 2004. Foodborne disease outbreak in Australia, 1995 to 2000. *Commun Dis Intell.*, 28(2): 211-224.
- Dimitrov, T., Udo, E.E., Albaksami, O., Kilani, A.A. and Shehab, El-Din, M. R. 2007. Ciprofloxacin treatment failure in a case of typhoid fever caused by *Salmonella enterica* serotype Paratyphi A with reduced susceptibility to ciprofloxacin. *J Med Microbiol.*, 56: 277-279.
- Galanis, E.D., Lo Fo Wong, D.M., Patrick, M.E., Binsztein, N., Cieslik, A., Chalermchikit T., Aidara-Kane, A., Ellis, A., Angulo, F.J. and Wegener, H.C. 2006. Web-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000-2002. *Emerg Infect Dis.*, 12: 381-388.
- Gomez, T.M., Motarjemi, Y., Miyagawa, S., Kaferstein, F.K. and Stohr, K. 1997. Foodborne Salmonellosis. *World health Stat.*, 50: 81-89.
- Herikstad, H., Motarjemi, Y. and Tauxe, R.V. 2002. *Salmonella* surveillance: a global survey of public health serotyping. *Epidemiol Infect.*, 129: 1-8.
- Oliveira, F.A.D, Brandelli, A., Tondo, E.DC. 2006. Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis from foods involved in human salmonellosis outbreaks in southern Brazil. *The New Microbiol.*, 29: 49-54.
- Pornruangwong, S., Sriyapai, T., Pulsrikam, C., Sawanpanyalert, P., Boonmar, S. and Bangtrakulnonth, A. 2008. The epidemiological relationship between *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:l:- isolates from humans and swine in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 39(2): 288-296.
- Sirichote, P., Bangtrakulnonth, A., Tianmanee, K., Unahalekhaka, A., Oulai, A., Chittaphithakchai, P., Kheowrod, W. and Hendriksen, R.S. 2010. Serotypes and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* spp in central Thailand, 2001-2006. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 41(6): 1405-1415.
- Soumet, C., Ermel, G., Rose, V., Rose, N., Drouin, P., Salvat, G. and Colin, P. 1999. Identification by a multiplex PCR-based assay of *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis strains from environmental swab of poultry houses. *Appl Microbiol.*, 29: 1-6.
- Yang, S.J., Park, K.Y., Kim, S.H., No, K.M., Besser, T.E., Yoo, H.S., Kim, S.H., Lee, B.K., and Park, Y.H. 2002. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Typhimurium isolate from animals in Korea: comparison of phenotypic and genotypic resistance characterization. *Vet Microbiol.*, 86: 295-301.
- Zhao, S., Fedorka-Cray, P.J., Friedman, S. 2005. Characterization of *Salmonella* Typhimurium of animal origin obtained from the National Antimicrobial Resistance Monitoring System. *Foodborne Pathog Dis.*, 2:169-181.

Antimicrobial Resistance of *Salmonella* ser. Typhimurium and *Salmonella* ser. Enteritidis isolated from meat in the Western Thailand

Petcharat Sakdinun *

Supaporn Meeboon

Western Veterinary Research and Development Center, Department of Livestock Development

PO. Box 18 Chombung Ratchaburi 70150, Thailand

* Corresponding author Tel. 0-3222-8419 Fax. 0-3222-8379 e-mail: ptcharats@dld.go.th

Abstract

Antimicrobial resistance profiles were studied for *Salmonella* ser. Typhimurium (*S. Typhimurium*) and *Salmonella* ser. Enteritidis (*S. Enteritidis*). Sixty-seven isolates from meat were randomly collected from slaughterhouses and retail markets in the region of the 7th Bureau of Animal Hygiene and Sanitary (BAHS7) during October 2008-September 2011. Antimicrobial susceptibility testing was performed with 11 antimicrobials using disk diffusion method. The results revealed the different rates and profiles of 2 serovars. Resistance profiles were observed for 1-10 antimicrobial drugs, of which 70.0% showed multiple drug resistance for 2 or more. *S. Typhimurium* was highly susceptible to nalidixic acid (95.0%), sulfamethoxazole/trimethoprim (85.0%), ciprofloxacin (73.3%), chloramphenicol (71.7%) and cefotaxime (70.0%). The high resistance rate was present at 70.0% to gentamicin and penicillin, while 66.7% to streptomycin. The isolates from beef showed 66.6% resistance to gentamicin and kanamycin, whereas the isolates from pork were 73.6% resistant to gentamicin, penicillin, streptomycin and 60.4% resistant to tetracycline and ampicillin, while isolates from chicken showed lower resistance to ampicillin, ciprofloxacin, penicillin and tetracycline (50.0%). *S. Enteritidis* from pork and chicken was resistant to 1-4 antimicrobial drugs; 57.1% of them showed multiple drugs resistant for more than 3 drugs, but all isolates were susceptible at 100% to cefotaxime, chloramphenicol, sulfamethoxazole/trimethoprim and 85.7% to tetracycline. One isolate from pork was susceptible to all antimicrobial drugs, while isolates from chicken were at 100% resistance to nalidixic acid, 83.3% were resistant to ampicillin, ciprofloxacin and penicillin.

This study indicated that pathogenic serotypes contaminated in meat have multiple drug resistance profiles, potentially causing major public health problem. A control and surveillance program should be continued to prevent the spread of antimicrobial resistant bacteria from animals to the consumers by enforcing a more restricted policy on the use of antimicrobials in food animals.

Key words: *Salmonella* ser. Typhimurium, *Salmonella* ser. Enteritidis, meat, antimicrobial resistance