วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.
KKU Veterinary Journal
ISSN 0858-2297

RESEARCH ARTICLE

Detection of colistin resistance and *mcr-1* gene in *Salmonella* isolated from feces of poultry in western Thailand during 2013-2016

Petcharat Sakdinun[1*], Niramol Sriwongsa[2], Sirijan Wongmuk[1]

[1]*Veterinary Research and Development Center (western region) Ratchaburi province, Department of livestock Development, Thailand.*
[2]*Veterinary Research and Development Center (lower northeastern region), Surin province, Department of livestock Development, Thailand.*
[*]*Corresponding author E-mail: ped_charat@hotmail.com*

Received 7 February 2018, **Accepted** 22 March 2018, **Published** 30 April 2018

Abstract

Objective: This study was conducted to detect colistin resistance and *mcr-1* gene in *Salmonella* isolated from feces of poultry in western Thailand during 2013-2016, to report the situation and trend of colistin resistance in livestock.

Materials and Methods: A total of 667 *Salmonella* isolates in 2013 (n=166), 2014 (n=242), 2015 (n=132) and 2016 (n=127) were isolated from feces of 86 breeders, 523 broilers, 48 laying hens and 10 ducks. Colistin susceptibility testing was performed by broth microdilution and the detection of *mcr-1* gene was determined using polymerase chain reaction.

Results: Overall, 5.1% (34/667) of *Salmonella* isolates were resistant to colistin with MIC$\geq$4 µg/ml and the minimal inhibitory concentration (MIC) range was 0.25->256 µg/ml, while the MIC_{50} and MIC_{90} were 0.5 and 1 µg/ml. The isolates which detected in 2013 and 2014 were resistant to colistin at the low level 2.4% (4/166) and 0.4% (1/242), while those in 2015 were still at the low level but the proportion rising to 9.8% (13/132) and those in 2016 increased to moderate level at 12.6% (16/127). Rates of colistin resistance at 5.0% (26/523)and 16.7% (8/48) were detected exclusively in *Salmonella* isolated from feces of broilers and laying hens, with the MIC range 0.25->256 µg/ml. The MIC_{50} and MIC_{90} of the isolates from broilers were 0.5 and 1 µg/ml, while the isolates from laying hens were 1 and 8 µg/ml. All isolates from breeders and ducks were not resistant to colistin, with the MIC range 0.25-1 µg/ml. MIC values of the isolates from breeders were detected at the same level 1 µg/ml, while the isolates from ducks were 0.5 and 1µg/ml. Detection for the presence of the *mcr-1* gene was found at 0.15% (1/667) in *Salmonella* Give that isolated from feces of broilers in 2013, which the phenotypic resistance has the MIC level of 8 µg/ml.

Conclusion: The low to moderate levels of colistin resistance in *Salmonella* isolated from feces of poultry in the western region during 2013-2016 have been observed, while detection of colistin resistance *mcr-1* gene was found in only one isolate. Nevertheless, continuously prospective screening is needed to reveal the current spread of colistin resistance and *mcr-1* gene in bacterial populations in animal sources and monitoring distribution from animals to humans.

Keywords: *Salmonella*, colistin, *mcr-1* gene, feces of poultry, western Thailand

บทความวิจัย

การตรวจสอบการดื้อยาโคลิสตินและยีน *mcr-1* ในเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากมูลสัตว์ปีกในภาคตะวันตกของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2556-2559

เพชรรัตน์ ศักดินันท์[1*], นิรมล ศรีวงษา[2], ศิริจันทร์ วงษ์มุข[1]

[1]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก จังหวัดราชบุรี กรมปศุสัตว์ ประเทศไทย

[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง จังหวัดสุรินทร์ กรมปศุสัตว์ ประเทศไทย

*[*]**ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ** อีเมล์:ped_charat@hotmail.com*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการดื้อยาโคลิสตินและยีน *mcr-1* ในเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากมูลสัตว์ปีกในภาคตะวันตกของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2556-2559 เป็นข้อมูลให้ทราบสถานการณ์และแนวโน้มเชื้อดื้อยาโคลิสตินในทางปศุสัตว์

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ เชื้อซัลโมเนลลาจำนวน 667 ไอโซเลท เพาะแยกได้จากมูลสัตว์ปีกในปี พ.ศ. 2556 (n=166), พ.ศ. 2557 (n=242), พ.ศ. 2558 (n=132) และปีพ.ศ.2559 (n=127) จำแนกเป็นเชื้อจากมูลไก่พันธุ์ ไก่เนื้อ ไก่ไข่ และเป็ด จำนวน 86, 523, 48 และ 10 ไอโซเลท ตามลำดับ ทำการทดสอบความไวเชื้อต่อยาโคลิสตินโดยวิธี broth microdilution และตรวจหายีน *mcr-1* ด้วยวิธี polymerase chain reaction

ผลการศึกษา โดยรวมพบเชื้อซัลโมเนลลา 5.1% (34/667) มีอัตราการดื้อยาโคลิสตินที่ระดับความเข้มข้น ≥4µg/ml โดยมีค่า minimal inhibitory concentration (MIC) อยู่ในช่วง 0.25->256 µg/ml ค่า MIC_{50} 0.5 µg/ml และ MIC_{90} 1 µg/ml เชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2556 และปี พ.ศ. 2557 มีอัตราการดื้อยาในระดับต่ำที่ 2.4% (4/166) และ 0.4% (1/242) ในขณะที่ปี พ.ศ. 2558 ยังคงพบเชื้อดื้อยาในระดับต่ำแต่มีอัตราการดื้อยาสูงขึ้นเป็น 9.8% (13/132) และในปี พ.ศ.2559 เชื้อมีอัตราการดื้อยาสูงขึ้นสู่ระดับปานกลาง 12.6% (16/127) สายพันธุ์ดื้อยาโคลิสตินพบเฉพาะในเชื้อจากมูลไก่เนื้อและไก่ไข่ โดยมีอัตราการดื้อยา 5.0% (26/523) และ 16.7% (8/48) ค่า MIC range 0.25->256 µg/ml ในขณะที่ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} ของเชื้อจากมูลไก่เนื้อเท่ากับ 0.5 และ 1µg/ml ส่วนเชื้อจากมูลไก่ไข่เท่ากับ 1 และ 8 µg/ml เชื้อซัลโมเนลลาจากมูลไก่พันธุ์และเป็ดซึ่งไม่พบการดื้อยาโคลิสตินมีค่า MIC range 0.25-1 µg/ml โดยค่า MIC_{50} และ MIC_{90} ของเชื้อจากมูลไก่พันธุ์เท่ากับ 1 µg/ml ส่วนเชื้อจากมูลเป็ดมีค่า MIC_{50} 0.5 µg/ml และ MIC_{90} 1 µg/ml ผลการตรวจหายีน *mcr-1* พบเพียง 0.15% (1/667) ในเชื้อซัลโมเนลลาซีโรไทป์ Give ซึ่งแยกได้จากมูลไก่เนื้อในปี พ.ศ. 2556 โดยเป็นสายพันธุ์ที่มีลักษณะการแสดงออกต่อการดื้อยาโคลิสตินที่ระดับ MIC 8 µg/ml

ข้อสรุป เชื้อซัลโมเนลลาจากมูลสัตว์ปีกในพื้นที่ภาคตะวันตก ระหว่างปี พ.ศ. 2556-2559 มีอัตราการดื้อยาโคลิสติน ในระดับต่ำถึงปานกลางโดยเชื้อดื้อยาที่มียีน *mcr-1* ตรวจพบเพียง 1 ไอโซเลท อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องมีการตรวจสอบอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ทราบถึงสถานการณ์การแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาโคลิสตินและยีน *mcr-1* ในเชื้อแบคทีเรียจากสัตว์ และเป็นข้อมูลเพื่อการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดเชื้อดื้อยาระหว่างสัตว์และคน

คำสำคัญ: ซัลโมเนลลา, โคลิสติน, ยีน *mcr-1*, มูลสัตว์ปีก, ภาคตะวันตกประเทศไทย

บทนำ

โคลิสตินเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม polymyxins ที่ทางการแพทย์นำมาใช้สำหรับการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาหลายขนานในโรงพยาบาลในกรณีที่ยาอื่นๆ รักษาไม่ได้ผลซึ่งการนำยานี้มาใช้ในการรักษาผู้ป่วยมากขึ้นทำให้พบว่ามีเชื้อดื้อยาเพิ่มขึ้น (Thamlikitkul, 2008) ในทางการแพทย์การใช้ยาโคลิสตินถือเป็นทางเลือกสุดท้ายและถูกจำกัดใช้เฉพาะเพื่อการรักษาโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลเนื่องจากเป็นยาที่มีความเป็นพิษต่อไตและระบบประสาท แต่ในปศุสัตว์ใช้ยานี้เพื่อการรักษาโรคติดเชื้อ *E. coli* ในสัตว์ปีก (Saberfar et al.,2008) ยาโคลิสตินมีกลไกการออกฤทธิ์ในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก (lipid A) ของเชื้อแบคทีเรียให้เสียสภาพโดยการใช้หลัก electrostatic interactions ระหว่างตัวยาที่มีประจุบวกกับ lipopolysaccharide (LPS) ของ lipid A ที่มีประจุลบทำให้เกิดการรั่วไหลของสารในเซลล์และทำให้เซลล์ตาย กลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ LPS ผ่านการเติม phosphoethanolamine หรือ 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (Ara4N)เข้าไปที่โมเลกุลของ lipid A ทำให้ยาเข้าจับกับเป้าหมายได้น้อยลงส่งผลให้ความไวของเชื้อต่อยาลดลง (Borowiak et al.,2017) การดื้อยาซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ lipid A ที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ส่วนใหญ่เกิดจากการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งโครโมโซมของเชื้อภายในกลุ่มยีน *pmrCAB* ที่กำหนดรหัสการสร้างเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ในการเติมหมู่ phosphoethanolamine เช่น *PmrA* และ *PmrB* (Poirel et al., 2017) อย่างไรก็ตามกลไกการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียต่อยาโคลิสตินถูกควบคุมโดยทั้งยีนที่อยู่บนโครโมโซมและพลาสมิด ซึ่งการพบยีนดื้อยาโคลิสติน บนพลาสมิดถูกรายงานครั้งแรกในเชื้อ *E. coli* จากคนและสัตว์ในประเทศจีน (Liu et al., 2016) โดยยีนดื้อยาดังกล่าวคือยีน *mcr-1* ที่มีขนาด 1,626 bp อยู่บนพลาสมิดที่ชื่อว่า pHNSHP45 เชื้อดื้อยาโคลิสตินที่มียีน *mcr-1* บนพลาสมิดสามารถถ่ายทอดพันธุกรรมดื้อยานี้สู่เชื้อเซลล์อื่นหรือเชื้อต่างสายพันธุ์ได้ด้วยกระบวนการ conjugation โดยวิธี horizontal gene transfer ซึ่งหลังจากมีการเผยแพร่การพบเชื้อดื้อยาโคลิสตินที่มียีน *mcr-1* บนพลาสมิด หลายประเทศทำการศึกษาย้อนหลังและรายงานการพบเชื้อ *E. coli* และซัลโมเนลลาสายพันธุ์ที่มียีน *mcr-1* ทั้งจากคน สัตว์ อาหาร และสิ่งแวดล้อม (Skov and Monnet, 2016) ข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ว่าเชื้อดื้อยาโคลิสตินที่มียีน *mcr-1* แพร่กระจายอย่างกว้างขวางในหลายภูมิภาคทั่วโลก

ซัลโมเนลลาเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่พบได้ทั่วไปในลำไส้และมูลสัตว์ การแพร่กระจายเชื้อจากสัตว์พบได้บ่อยทั้งการปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ รวมถึงจากการถูกขับออกมาพร้อมมูลสัตว์ ระหว่างกระบวนการเลี้ยงที่ฟาร์ม เชื้อที่ปนเปื้อนสู่ห่วงโซ่อาหารพบว่าบ่อยครั้งเป็นสาเหตุสำคัญ ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษผ่านทางการบริโภคอาหารที่ไม่ปรุงสุก ข้อมูลจากรายงานประจำปี ค.ศ. 2014 เกี่ยวกับการเฝ้าระวังโรคระบาดจากอาหารเป็นพิษในประเทศสหรัฐอเมริกาโดย CDC (2016) พบว่าผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล 58% มีสาเหตุจากการติดเชื้อซัลโมเนลลา ในขณะที่ WHO (2016) จัดให้เชื้อซัลโมเนลลาอยู่ใน 10 อันดับสูงสุดของเชื้อที่เป็นสาเหตุของการเจ็บป่วยจากโรคอาหารเป็นพิษในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ การเจ็บป่วยด้วยโรคติดเชื้อซัลโมเนลลาโดยเฉพาะสายพันธุ์ดื้อยาถือเป็นภัยคุกคามที่ก่อให้เกิดการเจ็บป่วยอย่างรุนแรงและเสียชีวิตหลายร้อยคนต่อปี ข้อมูลเชื้อซัลโมเนลลาดื้อยาหลายขนานรวมถึงการดื้อยาโคลิสตินถูกรายงานจากหลายประเทศในกลุ่มสมาชิกสหภาพยุโรป โดยเป็นเชื้อที่พบทั้งจากคน สัตว์ และอาหาร (EFSA and ECDC, 2016) ในขณะที่ข้อมูลจาก ECDC (2016) แสดงให้เห็นถึงการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ของเชื้อที่มียีน *mcr-1* ทั้งจากคน สัตว์ อาหาร และสิ่งแวดล้อม ข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ว่าอุบัติการณ์เชื้อดื้อยาโคลิสตินสายพันธุ์ที่มียีน *mcr-1* มีการแพร่กระจายในหลายภูมิภาคทั่วโลก ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อตรวจสอบการดื้อยาโคลิสตินและยีน *mcr-1* ในเชื้อซัลโมเนลลาซึ่งแยกได้จากมูลสัตว์ปีก ระหว่างปี พ.ศ. 2556-2559 เพื่อให้ทราบถึงสถานการณ์การแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาโคลิสตินในสัตว์ปีกในภาคตะวันตก และเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่ระบาดเชื้อดื้อยาระหว่างสัตว์และคน

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างมูลสัตว์ปีก

เก็บตัวอย่างมูลสัตว์ปีกด้วยวิธี boot swab โดยตัวอย่างจากสัตว์ปีกพันธุ์เก็บในช่วงอายุ 4 สัปดาห์ ส่วนสัตว์ปีกเนื้อเก็บตัวอย่างภายใน 3 สัปดาห์ ก่อนส่งโรงฆ่า และสัตว์ปีกไข่เก็บในช่วงอายุประมาณ 24 สัปดาห์ การเก็บตัวอย่างดำเนินการโดยเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ในพื้นที่ภาคตะวันตก 8 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร และสุพรรณบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2556 ถึง 2559 รวมจำนวนทั้งสิ้น 607 ฟาร์ม 1,473 ตัวอย่าง จำแนกเป็นตัวอย่างจากฟาร์มไก่พันธุ์ ไก่เนื้อ ไก่ไข่ และเป็ด 59, 349, 165 และ 34 ฟาร์ม จำนวน 315, 793, 218 และ 147 ตัวอย่างตามลำดับ

การเพาะแยกเชื้อและทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

เพาะแยกเชื้อซัลโมเนลลาตามวิธีมาตรฐาน ISO 6579-

1:2017(E) (ISO, 2017) โดยใช้ตัวอย่างมูลสัตว์ 25 กรัม ผสมใน Buffered Peptone Water (BPW) ปริมาณ 225 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส นาน 18±2 ชั่วโมง จากนั้น ดูดส่วนใสบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ BPW ถ่ายลงในหลอด Rappaport-Vassiliadis Soya broth (RVS) 0.1 มิลลิลิตร Mueller-Kaufmann Tetrathionate Novobiocin broth (MKTTn) 1 มิลลิลิตร และหยดลงบน Modified Semi-Solid Rappaport Vassilisdis medium (MSRV) 0.1 มิลลิลิตร โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ RVS และ MSRV บ่มที่อุณหภูมิ 41.5±1 องศาเซลเซียส นาน 24±3 ชั่วโมง ส่วน MKTTn บ่มที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส นาน 24±3 ชั่วโมง ใช้ loop ถ่ายเชื้อจาก RVS, MKTTn และ MSRV โดยการ streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green agar (BG) และ Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD) บ่มที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส นาน 18±2 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของเชื้อซัลโมเนลลา บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD จะมีรูปร่างกลม ขนาดปานกลาง สีแดง และมีสีดำกลางโคโลนี จากการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ส่วนโคโลนีที่เจริญเติบโตบนอาหาร BG มีรูปร่างกลม ขนาดปานกลาง สีชมพูขาวทึบแสง นำมาตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีโดยเชื้อซัลโมเนลลาจะให้ผลการทดสอบดังนี้ Triple Sugar Iron (K/A, H_2S, gas), Lysine decarboxylase (+), Urea (-), VP (-), Indole (-) และ ONPG (-)

การจำแนกซีโรกรุ๊ปและซีโรไทป์

จำแนกซีโรกรุ๊ปและซีโรไทป์โดยใช้แอนติซีรัมที่จำเพาะต่อ O และ H แอนติเจนของเชื้อซัลโมเนลลา(S&A Laboratory Ltd., Thailand) ด้วยวิธี slide agglutination ตามวิธีการของ Kauffmann-White scheme โดยเปรียบเทียบคุณสมบัติทางแอนติเจนตามเอกสาร antigenic formulae of the *Salmonella* serovars (Grimont and Weill, 2007)

การทดสอบความไวเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

ทดสอบหาค่า minimal inhibitory concentration (MIC) ด้วยวิธี broth microdilution ตามมาตรฐาน Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013) ที่ระดับความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 และ 256 µg/ml ควบคุมคุณภาพผลการทดสอบด้วยเชื้ออ้างอิงมาตรฐาน *E. coli* ATCC 25922 แปลผลการดื้อยาโดยใช้ค่า MIC breakpoint ≥4 µg/ml ตามที่กำหนดโดย European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2016)

การตรวจหายีน *mcr-1* โดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR)

ตรวจหายีน *mcr-1* โดยใช้ primer ที่มีลำดับเบส CLR5-F$^{5'}$CGGTCAGTCCGTTTGTTC$^{3'}$ และ CLR5-R$^{5'}$CTTGGTCGGTCTGTAGGG$^{3'}$ ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Liu et al. (2016) ใช้ master mix ที่มีส่วนประกอบตามชุดทดสอบ Qiagen (Germany) และใช้เครื่อง Thermal cycler (Techne TC-512, England) ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ทำการตรวจสอบ PCR product โดยแยกแถบ DNA ใน 1.5% agarose gel ที่ผสมสีย้อม Nancy-520 (Sigma-Aldrich, Germany) ด้วยเครื่อง electrophoresis (i-MyRun, USA) ที่มีกระแสไฟฟ้า 100V/cm นาน 30 นาที ก่อนนำไปตรวจสอบภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง transilluminator gel documentation (Syngene G: BOX, USA) แปลผลโดยเทียบขนาด PCR product ที่ 309 bp กับเชื้อ *E. coli* ที่มียีน *mcr-1*

ผลการศึกษา

เชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากมูลสัตว์ปีกระหว่างปี พ.ศ. 2556-2559 โดยรวมพบลักษณะการแสดงออกต่อการดื้อยาโคลิสติน 5.1% (34/667) ช่วงความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (MIC range) อยู่ระหว่าง 0.25->256 µg/ml ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 0.5 และ 1 µg/ml อัตราการดื้อยาของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากมูลสัตว์ปีกในปี พ.ศ. 2556 พบ 2.4% (4/166) ค่า MIC range 0.5->256 µg/ml และ ในปี พ.ศ. 2557 พบเชื้อดื้อยา 0.4% (1/242) MIC range 0.25->256 µg/ml โดยค่า MIC_{50} และ MIC_{90} ของเชื้อที่แยกได้ในทั้งสองปีดังกล่าวเท่ากับ 0.5 และ 1 µg/ml ส่วนเชื้อที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2558 พบอัตราการดื้อยา 9.8% (13/132) ค่า MIC range 0.5->256 µg/ml ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 1 และ 2 µg/ml ในขณะที่ปี พ.ศ. 2559 พบเชื้อมีอัตราการดื้อยา 12.6% (16/127) ค่า MIC range 0.25->256 µg/ml ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 1 และ 4 µg/ml เชื้อดื้อยาโคลิสตินพบเฉพาะในเชื้อที่แยกได้จากมูลไก่เนื้อและไก่ไข่ โดยเชื้อจากมูลไก่เนื้อซึ่งแยกได้ในปี พ.ศ. 2556 ถึง 2559 พบอัตราการดื้อยา 5.0% (26/523) ค่า MIC range 0.25->256 µg/ml ค่าMIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 0.5 และ 1 µg/ml ในขณะที่เชื้อจากมูลไก่ไข่ซึ่งแยกได้ในปี พ.ศ. 2558 ถึง 2559 มีอัตราการดื้อยา 16.7% (8/48) ค่า MIC range 0.25->256 µg/ml ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 1 และ 8 µg/ml เชื้อซัลโมเนลลาซึ่งแยกได้จากมูลไก่พันธุ์ในปี พ.ศ. 2556 ถึง 2559 จำนวน 86 ไอโซเลท และเชื้อจากมูลเป็ดที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2558 ถึง 2559 จำนวน 10 ไอโซเลท ไม่พบลักษณะการแสดงออกต่อการดื้อยาโคลิสตินโดยค่า MIC range ของเชื้อทั้งจากมูลไก่พันธุ์และเป็ดอยู่ระหว่าง 0.25-1 µg/ml ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} ของเชื้อจากมูลไก่พันธุ์เท่ากับ 1 µg/ml

ส่วนเชื้อจากมูลเป็ดมีค่า MIC_{50} และ MIC_{90} เท่ากับ 0.5 และ 1 µg/ml (Table 1)

ยาโคลิสตินที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1 µg/ml สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 58.6% (391/667) และ 32.2% (215/667) โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.5 µg/ml มีประสิทธิผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจากมูลไก่พันธุ์ 45.3% (39/86) ไก่เนื้อ 63.9% (334/523) ไก่ไข่ 29.2% (14/48) และเป็ด 40.0% (4/10) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1 µg/ml สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจากมูลไก่พันธุ์ 53.5% (46/86) ไก่เนื้อ 28.1% (147/523) ไก่ไข่ 35.4% (17/48) และเป็ด 50.0% (5/10) อัตราการดื้อยาในเชื้อที่แยกได้จากมูลไก่เนื้อพบสูงที่สุด 2.7% (14/523) ที่ระดับความเข้มข้น 4 µg/ml รองลงมาคือ 1.0% (5/523) ที่ระดับความเข้มข้น >256 µg/ml และ 0.4% (2/523) ที่ระดับความเข้มข้น 8 µg/ml ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 16, 32, 64, 128 และ 256 µg/ml พบอัตราการดื้อยาเท่ากันที่ 0.2% (1/523) ในขณะที่เชื้อจากมูลไก่ไข่พบดื้อยามากที่สุด 10.4% (5/48) ที่ระดับความเข้มข้น >256 µg/ml รองลงมาคือ 4.2% (2/48) และ 2.1% (1/48) ที่ระดับความเข้มข้น 4 และ 8 µg/ml ตามลำดับ (Table 2)

Table 1. Phenotypic characterization of colistin susceptibility testing in *Salmonella* isolated from feces of poultry in western of Thailand during 2013-2016

Sources	Year	Farms/samples collected	Isolates detected/%	Phenotypic detected		MIC (µg/ml)		
				n/%S	n/%R	Range	MIC_{50}	MIC_{90}
Breeders	2013	11/152	32/21.1	32/100	0	0.5-1	1	1
	2014	19/84	28/33.3	28/100	0	0.5-1	1	1
	2015	12/54	8/14.8	8/100	0	0.5-1	0.5	1
	2016	17/25	18/72.0	18/100	0	0.25-1	0.5	1
Total 2013-2016		**59/315**	**86/27.3**	**86/100**	**0**	**0.25-1**	**1**	**1**
Broilers	2013	51/142	134/94.4	130/97.0	4/3.0	0.5->256	0.5	1
	2014	94/248	214/86.3	213/99.5	1/0.5	0.25->256	0.5	1
	2015	97/283	110/38.9	97/88.2	13/11.8	0.5->256	1	4
	2016	107/120	65/54.2	57/87.7	8/12.3	0.5->256	0.5	4
Total 2013-2016		**349/793**	**523/66.0**	**497/95.0**	**26/5.0**	**0.25->256**	**0.5**	**1**
Laying hens	2015	13/52	6/11.5	6/100	0	0.5-2	0.5	2
	2016	152/166	42/25.3	34/81.0	8/19.0	0.25->256	1	8
Total 2015-2016		**165/218**	**48/22.0**	**40/83.3**	**8/16.7**	**0.25->256**	**1**	**8**
Ducks	2013	14/67	ND	NA	NA	NA	NA	NA
	2014	12/49	ND	NA	NA	NA	NA	NA
	2015	5/26	8/30.8	8/100	0	0.5-1	0.5	1
	2016	3/5	2/40.0	2/100	0	0.25-1	0.25	1
Total 2013-2016		**34/147**	**10/6.8**	**10/100**	**0**	**0.25-1**	**0.5**	**1**
Poultry	2013	76/361	166/46.0	162/97.6	4/2.4	0.5->256	0.5	1
	2014	125/381	242/63.5	241/99.6	1/0.4	0.25->256	0.5	1
	2015	127/415	132/31.8	119/90.2	13/9.8	0. 5->256	1	2
	2016	279/316	127/40.2	111/87.4	16/12.6	0.25->256	1	4
Total 2013-2016		**607/1,473**	**667/45.3**	**633/94.9**	**34/5.1**	**0.25->256**	**0.5**	**1**

n/%S: number of isolates detected/percentage of susceptible isolates; n/%R: number of isolates detected/percentage of resistant isolates; MIC: minimal inhibitory concentration; MIC_{50}: MIC which inhibits 50% of isolates detected; MIC_{90}: MIC which inhibits 90% of isolates detected; ND: not detected; NA: not available

เชื้อซัลโมเนลลาซีโรไทป์ที่พบการดื้อยาโคลิสตินจำแนกเป็นเชื้อที่แยกได้จากมูลไก่เนื้อ 13 ซีโรไทป์ โดยซีโรไทป์ที่มีสัดส่วนการดื้อยาสูง ได้แก่ Reading 50.0% (1/2) รองลงมาคือ Orion 28.6% (2/7), Florian 25.0% (1/4), Djugu 18.2% (2/11), Anatum 14.3%(1/7), Enteritidis 14.3% (1/7), Weltevreden 12.5% (1/8), Give 8.9% (5/56), Schwarzengrund 7.7% (3/39), Albany 6.9% (5/72), Stanley 5.9% (1/17), Amsterdam 4.3% (1/23) และ Kentucky 2.5% (2/81) ส่วนสายพันธุ์ที่แยกได้จากมูลไก่ไข่พบเชื้อดื้อยา 5 ซีโรไทป์ ได้แก่ Heidelberg 100% (1/1), Lexington 100% (1/1), Livingstone 75.0% (3/4), Give 33.3% (1/3) และ Kentucky 25.0% (2/8) (Table3)

อัตราการดื้อยาโคลิสตินของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากมูลไก่เนื้อและไก่ไข่ พบสูงสุด 2.4% ที่ระดับความเข้มข้น 4 μg/ml โดยพบในซีโรไทป์ Reading 50.0%, Lexington 33.3%, Orion 22.2%, Anatum 12.5%, Enteritidis 12.5%, Djugu 7.1%, Albany 5.7%, Give 3.1%, Schwarzengrund 2.0% และ Kentucky 1.0% รองลงมาพบอัตราการดื้อยา 1.5% ที่ระดับความเข้มข้น >256 μg/ml ในซีโรไทป์ Heidelberg 33.3%, Livingstone 33.3%, Weltevreden 8.3%, Djugu 7.1%, Stanley 4.8%, Amsterdam 4.2%, Kentucky 2.0% และ Give 1.6% ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 8 μg/ml พบอัตราการดื้อยา 0.4% โดยเป็นซีโรไทป์ Livingstone 16.7% และ Give 3.1% ในขณะที่อัตราการดื้อยา 0.1% พบที่ระดับความเข้มข้น 16, 32, 64, 128 และ 256 μg/ml โดยที่ระดับความเข้มข้น 16, 32 และ 64 μg/ml พบการดื้อยาของเชื้อซีโรไทป์ Florian 20.0%, Kentucky 1.0% และ Give 1.6% ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 128 และ 256 μg/ml พบในซีโรไทป์ Schwarzengrund 2.0% (Table 4)

ผลจากการตรวจสอบยีน *mcr-1* ในเชื้อ*Salmonella* ทั้งหมดที่แยกได้จากมูลสัตว์ปีกพบ 0.15% (1/667) ในเชื้อซัลโมเนลลาซีโรไทป์ Give ซึ่งแยกได้จากมูลไก่เนื้อในปี พ.ศ. 2556 โดยเป็นเชื้อที่มีลักษณะการแสดงออกต่อการดื้อยาโคลิสตินที่ระดับ MIC 8 μg/ml

วิจารณ์

ผลจากการศึกษาครั้งนี้พบว่ายาโคลิสตินยังคงมีประสิทธิภาพสูงต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากมูลสัตว์ปีกในภาคตะวันตกระหว่างปี พ.ศ. 2556 ถึง 2559 เมื่อเปรียบเทียบอัตราการดื้อยาซึ่งถูกแบ่งตามระดับการดื้อยา ≤10%=ต่ำ, >10% ถึง 20%=ปานกลาง, >20% ถึง 50%=สูง, >50% ถึง 70%=สูงมาก และ >70%=สูงที่สุด โดย EFSA and ECDC (2013) การศึกษา

Table 2. Distribution of minimal inhibitory concentration of colistin susceptibility detection in *Salmonella* isolated from feces of poultry in western of Thailand during 2013-2016

MIC (μg/ml)	Breeders n/% (N=86)	Broilers n/% (N=523)	Laying hens n/% (N=48)	Ducks n/% (N=10)	Total n/% (N=667)
0.125	0	0	0	0	0
0.25	1/1.2	1/0.2	3/6.3	1/10.0	6/0.9
0.5	39/45.3	334/63.9	14/29.2	4/40.0	391/58.6
1	46/53.5	147/28.1	17/35.4	5/50.0	215/32.2
2	0	15/2.9	6/12.5	0	21/3.1
4	0	14/2.7	2/4.2	0	16/2.4
8	0	2/0.4	1/2.1	0	3/0.4
16	0	1/0.2	0	0	1/0.1
32	0	1/0.2	0	0	1/0.1
64	0	1/0.2	0	0	1/0.1
128	0	1/0.2	0	0	1/0.1
256	0	1/0.2	0	0	1/0.1
>256	0	5/1.0	5/10.4	0	10/1.5
MIC ranges	0.25-1	0.25->256	0.25->256	0.25-1	0.25->256

N: number of isolates tested; n/%: number of isolates detected/percentage of isolates detected; numbers in the pink-shaded area indicate the resistant isolates according to EUCAST breakpoint ≥4μg/ml

Table 3. Colistin susceptibility testing in *Salmonella* serotypes isolated from feces of poultry in western of Thailand during 2013-2016

Serotypes (N)	Breeders[a]		Broilers			Laying hens			Ducks [a]	
	N	n/%S	N	n/%S	n /%R	N	n/%S	n/%R	N	n/%S
Agona (65)	13	13/100	49	49/100	0	1	1/100	0	2	2/100
Albany (87)	12	12/100	72	67/93.1	5/6.9	2	2/200	0	1	1/100
Amsterdam (24)			23	22/95.7	1/4.3				1	1/100
Anatum (8)			7	6/85.7	1/14.3				1	1/100
Chester (12)			12	12/100	0					
Djugu (14)			11	9/81.8	2/18.2	3	3/100	0		
Enteritidis (8)			7	6/85.7	1/14.3	1	1/100	0		
Florian (5)			4	3/75.0	1/25.0	1	1/100	0		
Give (64)	4	4/100	56	51/91.1	5/8.9	3	2/66.7	1/33.3	1	1/100
Hadar (5)			5	5/100	0					
Heidelberg (3)			2	2/100	0	1	0	1/100		
Idikan (10)			10	10/100	0					
Kentucky (105)	16	16/100	81	79/97.5	2/2.5	8	6/75.0	2/25.0		
Lexington (3)	1	1/100	1	1/100	0	1	0	1/100		
Livingstone (6)			2	2/100	0	4	1/25.0	3/75.0		
Orion (9)			7	5/71.4	2/28.6				2	2/100
Reading (2)			2	1/50.0	1/50.0					
Saintpaul (13)			13	13/100	0					
Schwarzengrund (51)	11	11/100	39	36/92.3	3/7.7	1	1/100	0		
Stanley (21)	3	3/100	17	16/94.1	1/5.9	1	1/100	0		
Typhimurium (5)	3	3/100	1	1/100	0	1	1/100	0		
Virchow (2)	1	1/100				1	1/100	0		
Weltevreden(12)	3	3/100	8	7/87.5	1/12.5	1	1/100	0		
Others (133)	19	19/100	94	94/100	0	18	18/100	0	2	2/100
Total (667)	86	86/100	523	497/95.0	26/5.0	48	40/83.3	8/16.7	10	10/100

N: number of isolates tested; n/%S: number of isolates detected/percentage of susceptible isolates; n/%R: number of isolates detected/ percentage of resistant isolates; [a]: not detected the resistant isolates

ครั้งนี้พบว่าเชื้อที่ทดสอบมีอัตราการดื้อยาต่ำถึงปานกลาง โดยอัตราการดื้อยาต่ำพบเพียง 2.4% และ 0.4%ในปี พ.ศ. 2556 และปี พ.ศ. 2557 ส่วนปี พ.ศ. 2558 อัตราการดื้อยายังคงอยู่ในระดับต่ำแต่พบการดื้อยาสูงขึ้นเป็น 9.8% และเชื้อมีอัตราการดื้อยาสูงขึ้นสู่ระดับปานกลาง 12.6% ในปี พ.ศ. 2559 ผลการศึกษาโดยรวมพบอัตราการดื้อยาเพียง 5.1% (MIC 4->256 µg/ml) สอดคล้องกับข้อมูลจากการสรุปรายงานการดื้อยาต้านจุลชีพในเชื้อแบคทีเรีย โดย EFSA and ECDC (2016) ซึ่งมีข้อสรุปเกี่ยวกับอัตราการดื้อยาโคลิสตินว่า พบค่อนข้างต่ำในเชื้อซัลโมเนลลาจากสัตว์ปีกและเนื้อสัตว์ปีก และผลการศึกษาการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากสัตว์และอาหารสัตว์ในประเทศโปแลนด์โดย Wasyl and Hoszowski (2004) รายงานไม่พบการดื้อยาโคลิสตินในเชื้อจากสัตว์ปีก การศึกษาครั้งนี้ พบเชื้อซัลโมเนลลาจากสัตว์ปีกต่างสายพันธุ์มีอัตราการดื้อยาต่างกัน โดยผลการศึกษา พบการดื้อยาเฉพาะในเชื้อที่แยกได้จากมูลไก่เนื้อและไก่ไข่ แต่ไม่พบการดื้อยาในเชื้อจากมูลไก่พันธุ์และเป็ด อัตราการดื้อยาของเชื้อที่แยกได้จากมูลไก่เนื้อพบ 5.0% (MIC 4->256 µg/ml) ค่า MIC range โดยรวมอยู่ระหว่าง 0.25->256 µg/ml

Table 4. MIC distribution of colistin susceptibility testing in *Salmonella* serotypes isolated from feces of broilers and laying hens in western of Thailand during 2013-2016

Serotypes	Percentage of serotype isolates which inhibits to colistin at each MIC (µg/ml)											
	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	>256
Agona(65)		52.3	44.6	3.1								
Albany (87)		57.5	36.8		5.7							
Amsterdam (24)		70.8	25.0									4.2
Anatum (8)		50.0	25.0	12.5	12.5							
Chester (12)		75.0	25.0									
Djugu (14)	7.1	35.7	43.0		7.1							7.1
Enteritidis (8)		50.0	25.0	12.5	12.5							
Florian (5)		60.0	20.0				20.0					
Give (64)	1.6	45.3	39.0	4.7	3.1	3.1			1.6			1.6
Hadar (5)			100									
Heidelberg (3)		66.7										33.3
Idikan (10)		100										
Kentucky (105)		67.6	24.7	3.8	1.0			1.0				2.0
Lexington (3)		33.3	33.3		33.3							
Livingstone (6)	16.7	16.7	16.7			16.7						33.3
Orion (9)		22.2	55.6		22.2							
Reading (2)		50.0			50.0							
Saintpaul (13)	7.7	84.6	7.7									
Schwarzengrund (51)	2.0	54.9	33.3	4.0	2.0					2.0	2.0	
Stanley (21)		57.1	38.1									4.8
Typhimurium (5)		40.0	60.0									
Virchow (2)			100									
Weltevreden (12)		83.4	8.3									8.3
Others (133)	0.8	63.9	29.3	6.0								
Total (667)	0.9	58.6	32.2	3.1	2.4	0.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	1.5

Numbers in the pink-shaded area indicate the resistant isolates according to EUCAST breakpoint ≥4 mg/L

โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.5 µg/ml มีประสิทธิผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสูงที่สุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1 µg/ml แตกต่างจากข้อมูลซึ่งรายงานโดย 10 ประเทศสมาชิกสหภาพยุโรป (EFSA and ECDC, 2016) พบอัตราการดื้อยาในเชื้อจากไก่เนื้อ 8.3% (MIC 4-8 µg/ml) ค่า MIC range ≤1-8 µg/ml โดยยาที่ระดับความเข้มข้น ≤1 µg/ml มีประสิทธิผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสูงที่สุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 2 µg/ml อย่างไรก็ตาม เชื้อซัลโมเนลลาซึ่งปัจจุบันมีมากกว่า 2,500 ซีโรไทป์ การศึกษาครั้งนี้พบว่าอัตราการดื้อยาในเชื้อที่แยกได้จากมูลไก่เนื้อ ไม่มีความจำเพาะต่อซีโรไทป์ที่พบบ่อย ในขณะที่เชื้อซีโรไทป์ Enteritidis ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษที่พบการระบาดได้บ่อย (Patrick et al., 2004) มีอัตราการดื้อยาปานกลาง (14.3%) แตกต่างจากการศึกษาของ Vinueza-Burgos et al. (2016) ซึ่งรายงานพบอัตราการดื้อยา 100% ในเชื้อซีโรไทป์ Enteritidis ที่แยกได้จากไก่เนื้อในเอกวาดอร์ ส่วนการดื้อยาของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากมูลไก่ไข่จากการศึกษาครั้งนี้ โดยรวมพบอัตราการดื้อยาในระดับปานกลาง 16.7% (MIC 4->256 µg/ml) โดยอัตราการดื้อยาไม่มีความจำเพาะกับ

เชื้อซีโรไทป์ที่พบบ่อยเช่นเดียวกับเชื้อจากมูลไก่เนื้อ ส่วนซีโรไทป์ Enteritidis ที่แยกได้จากมูลไก่ไข่เพียง 1 ไอโซเลท พบว่ายังคงมีความไวต่อยาโคลิสติน 100% แตกต่างจากข้อมูลซึ่งรายงานจากกลุ่มประเทศสมาชิกสหภาพยุโรปพบอัตราการดื้อยาในเชื้อซีโรไทป์ Enteritidis จากไก่ไข่มีระดับการดื้อยา หลากหลายตั้งแต่ต่ำ ปานกลาง สูง สูงมาก และสูงที่สุด (EFSA and ECDC, 2016)

การศึกษาครั้งนี้พบเชื้อที่มียีน *mcr-1* เพียง 1 ไอโซเลท มีความเป็นไปได้ว่าการดื้อยาของเชื้อที่พบจากการทดสอบเกิดจากกลไกอื่นๆ ที่ก่อให้เกิดการดื้อยานอกเหนือจากการที่เชื้อมียีน *mcr-1* ซึ่งกลไกการดื้อยาอาจเกิดจากการเลือกร่วม (co-selective) ยีนดื้อยาชนิดอื่นที่อยู่บนพลาสมิด (Partridge, 2015) หรืออาจเกิดจากเชื้อมีการเปลี่ยนแปลงเยื่อหุ้มเซลล์ส่วน lipopolysacharide: LPS (Kocsis and Szabo, 2013) เชื้อซัลโมเนลลาที่พบยีน *mcr-1* จากการศึกษาครั้งนี้พบในซีโรไทป์ Give ซึ่งแตกต่างจากข้อมูลซึ่งรายงานโดย Skov and Monnet (2016) พบการปรากฏของยีน *mcr-1* ในซีโรไทป์ Typhimurium 1 ไอโซเลท จากสุกรที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดที่ประเทศญี่ปุ่น และข้อมูลจากรายงานเดียวกันนี้ในการศึกษาที่ประเทศฝรั่งเศส พบยีน *mcr-1* ในซีโรไทป์ 1,4[5],12:i:- จากไก่ซึ่งเก็บจากฟาร์ม 1 ไอโซเลท ซีโรไทป์ Paratyphi B จากเนื้อไก่ 1 ไอโซเลท และจากพายไก่ (guinea fowlpie) 1 ไอโซเลท และซีโรไทป์ Derby จากไส้กรอกหมู 1 ไอโซเลท ส่วนการศึกษาการดื้อยาของเชื้อซัลโมเนลลา ในประเทศอังกฤษและเวลส์ โดย Doumith et al. (2016) พบเชื้อที่มียีน *mcr-1* ในซีโรไทป์ Typhimurium 8 ไอโซเลท Paratyphi Bvar Java 1 ไอโซเลท และ Virchow 1 ไอโซเลท จากการตรวจเชื้อซึ่งแยกได้จากคนทั้งหมด 17,195 ไอโซเลท และในการศึกษาเดียวกันนี้พบยีน *mcr-1* ในซีโรไทป์ Paratyphi B var Java 2 ไอโซเลท จากการตรวจเชื้อที่แยกได้จากอาหารทั้งหมด 489 ไอโซเลท ข้อมูลจากการศึกษาที่ผ่านมาจะเห็นว่าอัตราการพบยีน *mcr-1* ในเชื้อซัลโมเนลลาค่อนข้างต่ำสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ อย่างไรก็ตามรายงานการดื้อยาโคลิสตินในเชื้อซัลโมเนลลามีข้อมูลค่อนข้างจำกัด อาจเป็นไปได้ว่ามีกลไกอื่นหรือมียีนชนิดอื่นนอกเหนือจากยีน *mcr-1* เช่น *mcr-2, mcr-3, mcr-4* หรือ *mcr-5* ที่ทำให้เชื้อซัลโมเนลลาดื้อยาโคลิสติน (Borowiak et al., 2017; Carattoli et al., 2017; Litrup et al., 2017, Garcia-Graells et al.,2018)

สถานการณ์การดื้อยาโคลิสตินของเชื้อซัลโมเนลลาจากมูลสัตว์ปีกในพื้นที่ภาคตะวันตก ระหว่างปี พ.ศ. 2556-2559 แม้ว่าจะพบอัตราการดื้อยาในระดับต่ำถึงปานกลางโดยสาเหตุการดื้อยาที่พบส่วนใหญ่ไม่ได้เกิดจากกลไกที่เชื้อมียีนดื้อยา *mcr-1* อย่างไรก็ตาม ล่าสุดกรมปศุสัตว์ได้มีมาตรการเพื่อป้องกันการเกิดเชื้อดื้อยาโคลิสติน โดยทางกองควบคุมอาหารและยาสัตว์ได้มีหนังสือที่ กษ 0623/2560 ลงวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2560 เรื่องการควบคุมการใช้ยาโคลิสตินในฟาร์ม ห้ามสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มสั่งหรือใช้ยาโคลิสตินผสมอาหารหรือละลายน้ำให้สัตว์กินในการป้องกันโรค และในการรักษาสัตว์ป่วย ไม่ให้ใช้ยาโคลิสติน เป็นลำดับแรก จะให้ได้ก็ต่อเมื่อไม่มียาปฏิชีวนะชนิดใดใช้แล้วได้ผล หากมีการใช้ต้องรายงานการใช้ยาอีกทั้งให้ทำการคัดกรองและตรวจสอบอาหารสัตว์สำเร็จรูปไม่ให้มียาโคลิสตินผสมอยู่ และจัดเจ้าหน้าที่เข้าสุ่มตรวจฟาร์มเลี้ยงสัตว์เพื่อตรวจสอบการใช้ยาดังกล่าว ทั้งนี้ ด้วยมาตรการทั้งหมด และการถือปฏิบัติอย่างเคร่งครัดจากทุกฝ่าย มีความเป็นไปได้ที่ประเทศไทยจะควบคุมเชื้อดื้อยาโคลิสตินในปศุสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิผล

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสัตวแพทย์หญิงช้องมาศ อันตรเสน นายสัตวแพทย์เชี่ยวชาญ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันตก ที่ให้การสนับสนุนการจัดทำและนำเสนอผลงาน ขอบคุณสัตวแพทย์หญิงรัตติยา นาคสุวรรณ นายสัตวแพทย์ชำนาญการ กลุ่มงานพยาธิวิทยา ที่ช่วยในการทบทวนเอกสาร ขอบคุณ นางรติรัตน์ ครุฑดำ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ กลุ่มงานแบคทีเรียและเชื้อราวิทยา ที่ร่วมปฏิบัติงานจนได้รับผลสำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Borowiak, M., Fischer, J., Hammerl, J.A., Hendriksen, R.S., Szabo, I., Malorny, B., 2017. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolaminetransferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartratefermenting *Salmonellaenterica* subsp. *enterica*serovar Paratyphi B. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 72, 3317-3324.

Carattoli, A., Villa, L., Feudi, C., Curcio, L., Orsini, S., Luppi, A., Pezzotti, G., Magistrali, C.F., 2017. Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. Euro Surveill 22 (31), pii=30589.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2016.Surveillance forfoodbornedisease outbreaks, United States, 2014: annual report. Atlanta, Georgia.[cited 2016 Oct 8].Availablefrom:http://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/foodborne-outbreaks-annual-report-2014508.pdf.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2013.Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved Standard- Fourth Edition.CLSI document VET01-A4. CLSI, Wayne, Pennsylvania.

Doumith, M., Godbole, G., Ashton, P., Larkin, L., Dallman, T., Day,

M., Day, M., Muller-Pebody, B., Ellington, M.J., De Pinna, E., Johnson, A.P., Hopkins, K.L., Woodford, N., 2016. Detection of the plasmid-mediated *mcr-1* gene conferring colistin resistancein human and food isolates of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in England and Wales. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 71 (8), 2300-2305.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2016. Breakpoint tables forinterpretation of MICs and zone diameters version 6.0, valid from 2016-01-01. [cited 2016 Oct 8]. Available from:http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). 2016. Rapid risk assessment. Plasmid-mediated colistin resistance in *Enterobacteriaceae*. [cited2016 Oct 8]. Available from: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/enterobacteriaceae-risk-assessment-diseases-caused-by-antimicrobial-resistant-microorganisms-europe-june-2016.pdf.

European Food Safety Authorityand European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA andECDC). 2013. European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011. European Food Safety Authority Journal 11 (5),3196.

European Food Safety Authorityand European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). 2016. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. [cited 2016 Mar 20]. Availablefrom: http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/4380.pdf.

Garcia-Graells, C., De Keersmaecker, S.C.J., Vanneste, K., Pochet, B., Vermeersch, K., Roosens, N., Dierick, K., Botteldoorn, N., 2018. Detection of plasmid-mediated colistin resistance, *mcr-1* and *mcr-2* genes, in *Salmonella* spp. isolated from food at retail in Belgium from 2012 to 2015. Foodborne Pathogens and Disease 15 (2), 114-117.

Grimont, P.A.D., Weill, F.X., 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella*serovars. 9th edition, WHO collaborating center for reference and researchon *Salmonella*.Institute Pasteur,Paris, France.

International Standard (ISO), 2017. Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*-Part 1: Detection of *Salmonella* spp. first edition, 2017-02. ISO 6579-1:2017(E). Geneva, Switzerland.

Kocsis, B., Szabo, D., 2013. Antibiotic resistance mechanisms in *Enterobacteriaceae.* [cited 2016 Mar 20].Available from: http://www.formatex.info/microbiology4/vol1/251-257.pdf.

Litrup, E., Kiil, K., Hammerum, A.M., Roer, L., Nielsen, E.M., Torpdahl, M., 2017. Plasmid-borne colistin resistance gene *mcr-3* in *Salmonella* isolates from human infections, Denmark, 2009-17. Euro Surveill 22 (31), pii=30587.

Liu, Y.Y., Wang, Y., Walsh, T.R., Yi, L.X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L.F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J.H., Shen, J.,2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *mcr-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. The Lancet Infectious Diseases 16(2), 161-168.

Partridge, S.R., 2015. Resistance mechanisms in *Enterobacteriaceae.* [cited 2016 Mar 20]. Available from: http://www.pathologyjournal.rcpa.edu.au/article/S0031-3025(16)30135-0/abstract.

Patrick, M.E., Adcock, P.M., Gomez, T.M. Altekruse, S.F. Holland, B.H., Tauxe, R.V., Swerdlow, D.L., 2004.*Salmonella* Enteritidis infections, United States, 1985-1999. [cited 2016 Mar 20]. Available from: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/10/1/pdfs/02-0572.pdf.

Poirel, L., Jayol, A., Nordmann, P., 2017. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encode by plasmids or chromosomes. Clinical Microbiology Reviews 30 (2), 557-596.

Saberfar, E., Pourakbari, B., Chabokdavan, K., Dolatshahi, F.T., 2008. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Iranian broiler chicken flocks, 2005-2006. The Journal of Applied Poultry Research 17 (2), 302-304.

Skov, R.L., Monnet, D.L., 2016. Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. Euro Surveill 21(9):pii=30155.DOI:http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.9.30155.

Thamlikitkul, V. 2008. Colistin: Antimicrobial drug for treatment multidrug-resistant gram-negative bacterial infection. Siriraj Journal 1(3),152-158.

Vinueza-Burgos, C., Cevallos, M., Ron-Garrido, L., Bertrand, S.,De Zutter, L., 2016. Prevalence and diversity of *Salmonella* serotypes in Ecuadorian broilers at slaughterage. PLoS ONE 11 (7), e0159567. doi:10.1371/journal.pone.0159567.

Wasyl, D.,Hoszowski, A., 2004. Antimicrobialresistance of *Salmonella* isolated from animals and feed in Poland. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 48, 233-240.

World Health Organization (WHO). 2016. Burden of foodborne diseases in the South-East Asia Region. [cited 2016 Oct 8]. Available from: http://www.searo.who.int/about/administration_structure/cds/burden-of-foodborne-sear.pdf.