นิพนธ์ต้นฉบับ

การต้านยาของเชื้อซาลโมเนลลาที่แยกได้จากสัตว์

อินทิรา กระหม่อมทอง ชาญณรงค์ รอดคำ วารี นิยมธรรม

Abstract

Indhira Kramomtong Channarong Rodkhum Waree Niyomthum

THE ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF SALMONELLAE ISOLATED FROM ANIMALS

A total of 39 salmonella isolates were obtained from organ samples taken from duck, chicken and pig carcasses on 34 farms. They were tested for resistance to 11 antimicrobial drugs. 69.2% of isolates were resistant to at least one drug. Most resistances was shown to tetracycline and sulfamethoxazole while most isolates were susceptible to norfloxacin, enrofloxacin, flumiquine and furazolidone. Ampicillin and cephapirin were effective on the salmonella isolates from ducks and chicken, whereas kanamycin was effective on the isolates from chicken and pigs. Trimethoprim was the drug of choice on the isolates from ducks. Forty eight percent of the isolates were resistant to three drugs or more and these were mainly were the isolates from pigs some of which were resistant to as many as five drugs. Among the isolates, 41% were S. Typhimurium, predominantly from pigs (10/39). The antimicrobial resistance of S. Typhimurium were similar to that of other serovars. It showed, however, more resistance to sulfamethoxazole (81.2% of isolates) and tetracycline (68.7% of isolates).

Keywords : Salmonella, antimicrobial drugs, resistance

Department of Veterinary Microbiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Henri Dunant Rd., Pathumwan Bangkok 10330.

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

บทคัดย่อ

อินทิรา กระหม่อมทอง ชาญณรงค์ รอดคำ วารี นิยมธรรม

การต้านยาของเชื้อซาลโมเนลลาที่แยกได้จากสัตว์

เชื้อซาลโมเนลลาจำนวน 39 เชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างอวัยวะของซากเป็ด ไก่ และสุกร จากฟาร์มเลี้ยงสัตว์ 34 แห่ง ได้ถูกนำมาทดสอบการต้านยาต่อยาต้านจุลชีพ 11 ชนิด พบว่าเชื้อต้านยา 69.2% และต้านยาอย่างน้อยหนึ่งชนิดขึ้นไป ยาที่เชื้อต้านมากที่สุด 2 ชนิด คือ tetracycline และ sulfamethoxazole เชื้อส่วนใหญ่ไม่มีการต้านต่อยา norfloxacin, enrofloxacin, flumiquine และ furazolidone ส่วนยา ampicillin และ cephapirin จะยับยั้งเชื้อได้ดีเฉพาะเชื้อที่แยกได้จากเป็ดและไก่ ในขณะที่ kanamycin ใช้ได้ผลดีกับเชื้อที่แยกจากไก่และสุกร และ trimethoprim ยับยั้งเชื้อได้เฉพาะที่แยกจากเป็ดเท่านั้น เชื้อที่ต้านยา 3 ชนิดขึ้นไปมี 48.7% ของเชื้อทั้งหมด เป็นเชื้อที่แยกได้จากสุกรเป็นส่วนใหญ่และต้านยามากที่สุด 5 ชนิด S. Typhimurium เป็นเชื้อที่แยกได้มากที่สุดคือ 41 % และส่วนใหญ่แยกได้จากสุกร (10/39) มีอัตราการต้านยาใกล้เคียงกับเชื้อซีโรวาร์อื่นๆ โดยเฉพาะ sulfamethoxazole และ tetracycline ที่ S. Typhimurium มีการต้านยาสูงกว่าซีโรวาร์อื่นๆ มาก คือ 81.2% และ 68.7% ตามลำดับ

คำสำคัญ : ซาลโมเนลลา ยาต้านจุลชีพ การต้านยา

บทนำ

โรคซาลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) เป็นโรคที่สำคัญที่สุดโรคหนึ่งในกลุ่มโรคที่มีอาหารเป็นสื่อ(food-borne disease) สาเหตุของโรคมาจากเชื้อซาลโมเนลลาซีโรวาร์ต่างๆ เชื้อนี้สามารถก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ (Carter, 1984; Lax et al., 1995) ซึ่งโรคติดเชื้อซาลโมเนลโลซิสในคนมักเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อซาลโมเนลลาในสัตว์ มีหลายรายงานกล่าวว่า ไก่และผลิตภัณฑ์จากไก่เป็นแหล่งระบาดของโรคมาสู่คนมากที่สุด (Rigby et al., 1982; Humphrey et al., 1988; Vugia et al., 1993) ทำให้เป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก ดังจะเห็นได้จากรายงานของ WHO ในปี 1984 พบว่าอุบัติการของผู้ป่วยที่เป็นโรคติดเชื้อซาลโมเนลโลซิสในอังกฤษและเวลล์ เพิ่มจาก 10,000 คน ในปี 1981 เป็นกว่า 25,000 คนในปี 1991 (Barrow, 1992) และในฟินแลนด์เพิ่มจาก 2,000 คนในปี 1980 เป็น 7,500 คนในปี 1988 (Nurmi, 1998) เป็นต้น

ในประเทศไทยศูนย์ทดสอบเชื้อซาลโมเนลลาและชิเกลลาแห่งชาติ (National Salmonella and Shigella Center-NSSC) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อซาลโมเนลลาในผู้ป่วยด้วยโรคอาหารเป็นพิษจาก 23 โรงพยาบาลในปี 2541 พบว่าสามารถแยกเชื้อซาลโมเนลลาจากเลือดและอุจจาระของผู้ป่วยได้ 4.26% และ 31% (กรองแก้ว, 2542) นับว่าเป็นโรคที่มีความสำคัญทางด้านสาธารณสุขและมีผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศโดยเฉพาะอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์และการแปรรูปอาหารที่ได้จากสัตว์ เพราะเป็นประเทศที่ส่งออกอาหารเหล่านี้ไปยังประเทศต่างๆ ทั่วโลก

ในอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ได้มีการใช้ยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ กันมาก โดยผสมในอาหารสัตว์เพื่อเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต และใช้ป้องกันและรักษาโรคด้วย ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียต่างๆ ต้านยา (Mercer et al., 1971; Levy, 1978) รวมทั้งเชื้อซาลโมเนลลาด้วย และเชื้อกลุ่มที่ต้านยามักถ่ายทอดการต้านยาได้ ซึ่งอาจถ่ายทอดไปยังเชื้อสกุลเดียวกันหรือต่างสกุลกันได้ (Pocurull et al., 1971; Jayanetra et al., 1990) และคุณสมบัติการต้านยานี้อาจอยู่ที่ดีเอนเอในโครโมโซม หรืออยู่ที่หน่วยพันธุกรรมการต้านยาที่เรียกว่า อาร์-พลาสมิด (R-plasmid) ดังรายงานการต้านยาของ *Salmonella* Typhimurium ในประเทศญี่ปุ่น (Nakamura et al., 1986) และการต้านยาของ *S. Krefeld* ในประเทศไทย (Jayanetra et al., 1990) ที่มีอัตราสูงถึง 38% และ 82% ซึ่งเชื้อดังกล่าวอาจเป็นแหล่งแพร่กระจายการต้านยาไปยังเชื้อโรคอื่นๆได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานการต้านยาและการถ่ายทอดการต้านยาของซาลโมเนลลาที่แยกได้จากคน ไก่ เป็ด และสิ่งแวดล้อมของเกรียงศักดิ์ (2536) กล่าวว่า เชื้อแต่ละซีโรวาร์ที่ต้านยาจะถ่ายทอดการต้านยาที่แตกต่างกัน และพบว่ายา tetracycline, oxytetracycline, sulfamethazine และ sulfamethoxazole มีการต้านยามากที่สุด อย่างไรก็ตามคนอาจได้รับเชื้อซาลโมเนลลาจากสัตว์ที่ต้านยาและมีอาร์-พลาสมิดมาแล้วได้ (Lyon et al., 1980; Holmberg et al., 1984)

ข้อมูลอัตราการต้านยาของเชื้อซาลโมเนลลาในประเทศไทยยังมีไม่มากนัก ส่วนใหญ่เป็นรายงานการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาด้วยวิธี disk diffusion ซึ่งไม่ได้ให้รายละเอียดมากนักสำหรับการต้านยา ดังนั้นรายงานฉบับนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะเปรียบเทียบอัตราการต้านยาของเชื้อซาลโมเนลลาที่แยกได้จากสัตว์ ได้แก่ เป็ด ไก่ และสุกร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมมิให้เชื้อต้านยามากขึ้น ซึ่งอาจถ่ายทอดลักษณะต้านยาไปสู่คน และสัตว์อื่น ๆ

วัสดุและวิธีการ

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ คือ เชื้อซาลโมเนลลาซีโรวาร์ต่างๆ จำนวน 39 เชื้อ ซึ่งแยกได้จากอวัยวะของสัตว์ตายและได้รับการผ่าซากพร้อมทั้งเก็บตัวอย่างอวัยวะต่างๆ ได้แก่ ตับ ไต หัวใจ ม้าม ปอด หรือ ลำไส้ จากเจ้าหน้าที่สัตวแพทย์ภายใน 24 ชั่วโมง ในปี 2541 ตัวอย่างอวัยวะถูกแยกเก็บใส่ถุงแช่แข็งที่ -20°C ก่อนนำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เชื้อบางซีโรวาร์อาจแยกได้จากทุกอวัยวะ หรือจากบางอวัยวะของสัตว์หนึ่งตัว และอาจแยกเชื้อได้มากกว่าหนึ่งซีโรวาร์จากสัตว์บางตัว จำแนกได้ดังนี้คือ ซาลโมเนลลา 6 เชื้อ จากฟาร์มเป็ด 5 แห่ง 15 เชื้อจากฟาร์มไก่ 12 แห่ง และ 18 เชื้อจากฟาร์มสุกร 17 แห่ง เชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้งหมดเก็บในstock agar ปิดจุกยางแน่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และส่งไปตรวจที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข สำหรับแยกซีโรวาร์ตามวิธีของ Kauffmann (1972)

เชื้อควบคุมที่ใช้ในการทดลอง คือ *E. coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus* aureus ATCC 25923 เก็บอยู่ใน stock agar เป็นเชื้อมาตรฐานที่จะตรวจสอบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมยาแต่ละชนิดมีความเข้มข้นถูกต้องหรือไม่ โดยเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสองกับค่าในตารางมาตรฐาน (Anhalt and Washington, 1985)

ยาที่ใช้ในการทดลอง

ยาที่ใช้ทดสอบเป็นยาที่ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ส่วนใหญ่ใช้ จำนวน 11 ชนิด (Sigma, USA) ได้แก่ ampicillin (Amp), enrofloxacin (Enr), flumiquine (Flu), gentamicin (Gen), kanamycin (Kan), cephapirin (Kef), norfloxacin (Nor), sulfamethoxazole (Sul), tetracycline

(Tet), trimethoprim (Tmp) และ furazolidone (Fur) ละลายยาที่ใช้ทำเป็น two-fold serial dilution ส่วนใหญ่ใช้ความเข้มข้น 0.125-128 g/ml ยกเว้น norfloxacin และ enrofloxacin ความเข้มข้น 0.062-32 g/ml, flumiquine (0.25-16 g/ml, sulfamethoxazole และ furazolidone 4-4096 g/ml

วิธีทดลอง

การทดสอบใช้วิธี agar dilution method (Anhault and Washington,1985; Washington, 1985; NCCLS, 1998) มีวิธีการดังนี้ คือ นำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 39 เชื้อ และเชื้อมาตรฐานจาก stock agar มาเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar 1-2 ครั้ง เพื่อทำให้บริสุทธิ์ แล้วจึงเลือกโคโลนีของแต่ละเชื้อที่มีลักษณะกลมขอบเรียบ 2-3 โคโลนี เพาะลงใน Tryptic Soy Broth 5 มิลลิลิตร(มล.) บ่มที่ 37°ซ เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง จึงนำ broth ที่มีเชื้อขึ้นแล้วมาเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85% ปรับความขุ่นของสารแขวนลอยให้เท่ากับความขุ่นของ Mc Farland เบอร์ 0.5 ซึ่งประมาณความเข้มข้นของเชื้อ 10^7 CFU/ml. เพื่อทดสอบต่อไป

เตรียม stock สารละลายของยาที่จะทดสอบโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่เหมาะสมต่อชนิดของยา และความเข้มข้นของยาทำเป็น two-fold serial dilution หลังจากนั้นเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton agar (MHA) ในหลอดแก้วฝาเกลียวหลอดละ 22.5 มล. ทำให้ไร้เชื้อโดยหม้อนึ่งไอน้ำ (121°ซ นาน 15 นาที) และทำให้เย็นลงโดยแช่ในหม้อต้มอุณหภูมิ 50°ซ ดูด stock สารละลายของยาที่จะทดสอบแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละหลอดๆ ละ 2.5 มล. ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาแต่ละชนิดตามที่กำหนด ผสมให้เข้ากันดีแล้วจึงเทลงในจานเพาะเชื้อตั้งบนพื้นเรียบจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง อาหารเลี้ยงเชื้อที่มียาความเข้มข้นต่างๆ นี้ เตรียมไว้หนึ่งวันก่อนการทดสอบ

ถ่ายเชื้อซาลโมเนลลาทุกเชื้อ รวมทั้งเชื้อควบคุม ซึ่งวัดความขุ่นแล้วจากหลอดที่เตรียมไว้ข้างต้น ลงในหลอดแก้วสั้นสำหรับนำไปใส่ในหลุมของเครื่อง multi-point inoculator ซึ่งสามารถถ่ายเชื้อได้ครั้งละ 30 เชื้อ ในการทดสอบแต่ละครั้งจะเตรียมเชื้อซาลโมเนลลาได้ 28 เชื้อ และเชื้อควบคุมอีก 2 เชื้อ จากนั้นใช้ replicating device ที่มีลักษณะเป็นโลหะกลวงแท่งสั้นติดอยู่กับแท่นกลม จำนวน 30 แท่งเท่ากับหลอดแก้วสั้นที่เตรียมไว้ จุ่มลงในหลอดแก้วสั้นที่ใส่เชื้อแล้วทั้งหมด ยกขึ้นเบาๆ นำไปแตะบนผิวของ MHA ซึ่งผสมยาความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้ จึงนำจานเพาะทั้งหมดบ่มที่ 37°ซ ประมาณ 18-20 ชั่วโมง อ่านผลโดยเริ่มจากจานเพาะเชื้อที่มียาความเข้มข้นต่ำสุดก่อน โดยดูว่าเชื้อเจริญเติบโตหรือไม่ ความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ คือ ค่า MIC (Minimal Inhibitory Concentration) ของยาที่มีผลต่อเชื้อนั้น

การวิเคราะห์ผล

อ่านค่า MIC ของแต่ละเชื้อ แล้วแปรค่า MIC เป็นการต้านยาโดยใช้ตารางแปลผลของ National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS, 1998) จากนั้นจึงคำนวณหา ความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 50% และ 90% ตามลำดับ (MIC_{50} และ MIC_{90}) เชื้อที่ต้านยามากกว่า 3 ชนิดขึ้นไป จัดเป็นเชื้อต้านยาหลายชนิด (multiresistance)

ผล

ตารางที่ 1 และ 2 แสดงอัตราการต้านยา ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} ของเชื้อซาลโมเนลลา ที่แยกได้จากเป็ด ไก่ และสุกร พบว่า เชื้อจะต้านต่อยา tetracycline และ sulfamethoxazole มากที่สุด โดยอัตราการต้านยา tetracycline ในเป็ดต่ำที่สุด (67%)ในขณะที่เชื้อจากไก่ต้านยานี้สูงสุด อัตราการต้านยา sulfamethoxazole ใน

Table 1. Antimicrobial resistance among salmonella isolates.

Animal source	% resistance										
	Amp	**Enr**	**Flm**	**Fur**	**Gen**	**Kan**	**Kef**	**Nor**	**Sul**	**Tet**	**Tmp**
Ducks (n = 6)	0	0	0	0	17	33	0	0	50	67	0
Chickens (n = 15)	0	0	0	0	13	0	0	0	47	100	13
Pigs (n = 18)	41	0	6	0	29	0	18	0	82	76	59

Amp=ampicillin, Enr=enrofloxacin, Flm=flumiquine, Fur=furazolidone, Gen=gentamicin, Ken=kanamycin, Kef=cephapirin, Nor=norfloxacin, Sul=sulfamethoxazole, Tet=tetracycline, Tmp=trimethoprim

Table 2. Minimal inhibitory concentration (MIC) of drugs (g/ml) affect 50% and 90% of salmonella isolates.

Drugs Resistance	Break point*	Origin of isolates					
		Duck		**Chicken**		**Pig**	
		MIC_{50}	**MIC_{90}**	**MIC_{50}**	**MIC_{90}**	**MIC_{50}**	**MIC_{90}**
Ampicillin (Amp)	≥ 32	2	4	2	4	8	256
Enrofloxacin (Enr)	≥ 16	2	2	0.032	0.125	0.032	0.5
Flumiquine (Flm)	≥ 16	1	2	0.125	1	2	8
Furazolidone (Fur)	≥ 128	8	16	4	8	4	8
Gentamicin (Gen)	≥ 16	1	32	0.5	64	1	64
Kanamycin (Kan)	≥ 64	4	256	2	8	2	16
Cephapirin (Kef)	≥ 32	4	8	4	8	8	32
Norfloxacin (Nor)	≥ 16	1	2	0.25	2	0.125	2
Sulfamethoxazole (Sul)	≥ 512	128	>512	256	>512	18	>512
Tetracycline (Tet)	≥ 16	256	256	32	256	256	256
Trimethoprim (Tmp)	≥ 16	0.25	0.25	0.5	256	256	256

* NCCLS (1998)

Table 3. Antimicrobial multiresistance among salmonella isolates.

Resistant to (no. of drugs)	All sources Number	Duck sources Number	Chicken sources Number	Pig sources Number
No drug resistance	12	1	8	3
1	6	2	3	1
2	2	1	-	1
3	13	2	4	7
4	2	-	-	2
5	4	-	-	4
	39	6	15	18

Table 4. Serovars and antimicrobial resistance patterns of multiresistant isolates.

Serovars		No. of isolates	Resistance patterns
S. Saintpaul	(duck)	1	Kan , Sul , Tet
S. Mbandaka	(duck)	1	Gen , Sul , Tet
S. Typhimurium	(chicken)	2	Gen , Sul , Tet
S. Typhimurium	(chicken)	2	Sul , Tet , Tmp
S. Typhimurium	(pig)	1	Gen , Sul , Tmp
S. Typhimurium	(pig)	2	Sul , Tet , Tmp
S. Typhimurium	(pig)	2	Amp , Sul , Tet
S. Agona	(pig)	1	Sul , Tet , Tmp
S. Agona	(pig)	1	Amp , Sul , Tmp
S. Agona	(pig)	1	Amp , Sul , Tet , Tmp
S. Enteritidis	(pig)	1	Kef , Sul , Tet , Tmp
S. Derby	(pig)	1	Amp , Gen , Sul , Tet , Tmp
S. Senftenberg	(pig)	1	Amp , Gen , Sul , Tet , Tmp
S. Typhimurium	(pig)	1	Amp , Gen , Sul , Tet , Tmp
S. Cholerasuis	(pig)	1	Amp , Gen , Sul , Tet , Tmp
	Total	**19**	

ไก่ต่ำที่สุดและสูงสุดในสุกร เชื้อทั้งหมดต้านยา gentamicin ในช่วง 13-29% ทุกเชื้อไม่ต้านต่อยา norfloxacin, enrofloxacin และ furazolidone สำหรับ flumiquine มีเพียงเชื้อที่แยกจากสุกรเท่านั้นที่ต้านยาเพียงเล็กน้อย (6%) ส่วนยา ampicillin และ cephapirin จะยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุดเฉพาะที่แยกจากเป็ดและไก่ ในขณะที่ kanamycin ยับยั้งเชื้อได้ดีเฉพาะที่แยกจากไก่และสุกร และ trimethoprim ยับยั้งได้เฉพาะเชื้อที่แยกจากเป็ดเท่านั้น

ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} ของยาในกลุ่ม quinolone (enrofloxacin, norfloxacin และ flumiquine) ต่อเชื้อทุกซีโรวาร์มีค่าต่ำที่สุดโดย MIC_{90} ต่อ enrofloxacin และ flumiquine ของเชื้อที่แยกจากไก่มีค่าต่ำที่สุด (ตารางที่ 2) พบเชื้อที่ต้านยา 69.2% (27/39) ของเชื้อทั้งหมดและมีการต้านยาอย่างน้อยหนึ่งชนิดขึ้นไป ความถี่ของจำนวนยาที่ต้าน 11 ชนิดแสดงในตารางที่ 3 เชื้อที่แยกได้จากเป็ดและไก่ จะต้านยาอย่างต่ำหนึ่งชนิดขึ้นไปถึงต้านยา 3 ชนิด ส่วนเชื้อจากสุกรต้านยาอย่างน้อยหนึ่งชนิดจนถึง 5 ชนิด เชื้อที่ต้านยา 3 ชนิดมีมากที่สุด 33.3% ของเชื้อทั้งหมด เชื้อที่ต้านยาหลายชนิด (3 ชนิดขึ้นไป) มี 48.7% (19/39) พบเชื้อต้านยาหลายชนิดในสุกรมากที่สุด 72.7% (13/18) ของเชื้อที่แยกจากสุกร ในขณะที่พบจากเป็ด 33.3% (2/6) และไก่ 26.7% (4/15)

S. Typhimurium เป็นเชื้อต้านยาที่แยกได้จากสุกรมากที่สุด ยาที่เชื้อนี้ต้านอยู่ในรูปแบบต่างๆ กัน ได้แก่ยา ampicillin, gentamicin, sulfamethoxazole, tetracycline และ trimethoprim และต้านยามากที่สุดถึง 5 ชนิด ส่วนเชื้อซีโรวาร์อื่นๆ ที่ต้านยาหลายชนิดจะอยู่ในรูปแบบยาที่คล้ายคลึงกัน คือ ต้านต่อ ampicillin, gentamicin, cephapirin, sulfamethoxazole, tetracycline และ trimethoprim (ตารางที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบการต้านยาของเชื้อ S. Typhimurium ที่แยกได้จากเป็ด ไก่ และสุกรกับเชื้อซีโรวาร์อื่นๆ จะพบว่าเปอร์เซ็นต์การต้านยาของเชื้อทั้งสองกลุ่มใกล้เคียงกันยกเว้นยา sulfamethoxazole และ tetracycline เชื้อ S. Typhimurium มีอัตราการต้านยาในระดับสูงกว่าซีโรวาร์อื่นๆ มากถึง 81.2% และ 68.7% ตามลำดับ ยาที่สามารถยับยั้งเชื้อ S. Typhimurium ได้ คือ กลุ่ม quinolone, furazolidone, kanamycin และ cephapirin (ตารางที่ 5)

วิจารณ์

เชื้อต้านยามีเกือบ 70% ของเชื้อที่ศึกษา แสดงถึงสภาวะการใช้ยาในด้านปศุสัตว์ที่ไม่มีการควบคุม ไม่ว่าจะเป็นยาที่ผสมลงในอาหารและน้ำ เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต โดยเฉพาะยากลุ่ม tetracycline หรือยากลุ่ม sulfa ที่ใช้ป้องกันและรักษาโรค เช่น sulfamethoxazole ที่เชื้อมีอัตราการต้านยาอยู่ในระดับสูงทั้งสิ้น การต้านต่อยากลุ่ม tetracycline และ sulfamethoxazole ของเชื้อซาลโมเนลลานี้ สอดคล้องกับหลายรายงานก่อนหน้านี้ ได้แก่ รายงานการต้านยาของเชื้อที่แยกจากคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อมของ Heffernan (1991) ในประเทศนิวซีแลนด์ และรายงานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2533, 2534) ที่พบว่าซาลโมเนลลาที่แยกได้จากคนส่วนใหญ่ต้านยา tetracycline และ sulfamethoxazole เช่นเดียวกัน และยังสอดคล้องกับรายงานการต้านยาของเชื้อที่แยกจากคน ไก่ เป็ด และสิ่งแวดล้อม ในระยะเวลาใกล้เคียงกันด้วย (เกรียงศักดิ์, 2536) แต่รายงานเหล่านี้ของประเทศไทยมิได้มีการศึกษาถึงระบาดวิทยาของเชื้อจึงยังไม่อาจมีข้อสรุปที่ชัดเจนได้ว่า เชื้อซาลโมเนลลาที่แยกจากคนและสัตว์ที่มีลักษณะการต้านยาสองชนิดเหมือนกันนั้น มีความสัมพันธ์กัน นอกจากนี้การต้านยา tetracycline ของเชื้อที่ศึกษายังใกล้เคียงกับข้อมูลปัจจุบันของ WHO, CARMFP, (1999) ที่รายงานว่าเชื้อซาลโมเนลลาซึ่งแยกได้จากแหล่งต่างๆ ในภาคใต้กลาง และเหนือ ของประเทศไทยมีอัตราการต้านยากลุ่มดังกล่าวสูงมากในช่วง 78.7-84% หรือแม้แต่ข้อมูลของประเทศมาเลเซีย และเกาหลีใต้ อัตราการต้านยาของเชื้อนี้ต่อ tetracycline ยังสูงกว่ายาตัวอื่นๆ แต่เปอร์เซ็น

ต่ำกว่าประเทศไทยมาก คือ 18.7% และ 27.6% (WHO, CARMFP,1999) ทั้งนี้อาจอธิบายได้ว่า ยากลุ่ม tetracycline เป็นที่นิยมใช้ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ในประเทศมานานและปัจจุบันก็ยังใช้กันอยู่ เพราะหาได้ง่ายและมีราคาไม่สูงนัก จึงอาจทำให้เชื้อสัมผัสยาติดต่อกันมาเป็นระยะเวลานานจนต้านยาสูงสุด

เชื้อที่ต้านยาหลายชนิดและมีรูปแบบการต้านยาต่างชนิดมากที่สุด คือ เชื้อที่แยกจากสุกร อาจเนื่องมาจากการที่สุกรเป็นสัตว์ที่ต้องใช้ระยะเวลาเลี้ยงดูนานกว่าเป็ดและไก่ ซึ่งมีช่วงเวลาสั้นกว่า ในขณะเดียวกันก็มีการให้ยาหลายชนิดในช่วงระยะเวลาที่ต่างกัน เพื่อเร่งการเจริญเติบโตและป้องกันโรค ทำให้เชื้อซาลโมเนลลาที่มีอยู่ในสุกรพาหะหรือสิ่งแวดล้อมได้เคยชินกับยาบางชนิดเป็นเวลานาน จึงเกิดการต้านยาขึ้นและมีหลายรูปแบบตามชนิดของยาที่แต่ละฟาร์มใช้ เชื้อที่ศึกษาส่วนใหญ่ไม่ต้านยาต่อกลุ่ม quinolone และ furazolidone เนื่องมาจากยากลุ่ม quinolone นี้เป็นยาใหม่ที่เพิ่งเริ่มนำเข้ามาใช้ จึงยังผลให้ยับยั้งเชื้อได้ดี ส่วนยา furazolidone ได้ถูกห้ามนำมาผสมอาหารสัตว์ เพื่อการจำหน่ายตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ ปี พ.ศ. 2525 แต่เกษตรกรยังสามารถที่จะดำเนินการเองได้ ซึ่งคงจะมีน้อยรายจึงทำให้ไม่มีการต้านยานี้เป็นที่น่าสังเกตว่ายาในกลุ่ม aminoglycoside นั้น gentamicin ซึ่งเป็นยาที่มีฤทธิ์กว้างและได้ผลดีที่สุดในกลุ่มนี้ (Prescott and Baggot, 1994) แต่เชื้อกลับมีการต้านยานี้มากกว่า kanamycin โดยเฉพาะเชื้อจากไก่และสุกร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่ gentamicin จัดเป็นยาที่มีความไวต่อเชื้อซาลโมเนลลามากที่สุดชนิดหนึ่งจากผลของการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ (disk susceptibility testing) ของห้องปฏิบัติการที่ให้บริการชันสูตรโรคสัตว์ในระยะเวลา 4-5 ปี ที่ผ่านมา (ข้อมูลไม่ได้ตีพิมพ์) ทำให้ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ได้หันมานิยมใช้ gentamicin มากขึ้น หลังจากเคยใช้ kanamycin มาก่อนหน้านั้น จึงอาจเป็นสาเหตุให้อัตราการต้านยา gentamicin สูงขึ้น

S. Typhimurium เป็นซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดถึง 41% ของเชื้อทั้งหมดและส่วนใหญ่แยกได้จากสุกร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อซีโรวาร์อื่นๆ จากการทดลองครั้งนี้ S. Typhimurium มีการต้านยา sulfamethoxazole และ tetracycline ในระดับสูงที่สุดและมากกว่าซีโรวาร์อื่นๆ เกือบสองเท่า อาจเป็นเพราะ S. Typhimurium ที่ศึกษาเป็นเชื้อที่มีอุบัติการสูงสุด (16/39) และเชื้อซาลโมเนลลาทั้งหมดมีอัตราการต้านยาสองชนิดนี้มากที่สุดด้วย จึงทำให้อัตราการต้านยาสองกลุ่มของเชื้อซีโรวาร์นี้มีมากกว่าซีโรวาร์อื่นๆ อย่างไรก็ดี จากรายงานของเกรียงศักดิ์ (2536) ที่ได้ศึกษาการต้านยาของ S. Typhimurium 72 สายพันธุ์ที่แยกจากไก่และเป็ดก็พบอัตราการต้านต่อยา sulfamethoxazole และ tetracycline ในระดับสูงกว่ายาอื่นๆ เช่นกัน คือ 38% และ 97% ตามลำดับ

ผลของการศึกษาแสดงให้เห็นถึงอัตราและชนิดของการต้านยาของเชื้อซาลโมเนลลาในปศุสัตว์จากการใช้ยาโดยไร้การควบคุม ซึ่งจะก่อให้เกิดผลกระทบโดยตรง เมื่อมีการติดเชื้อนี้จากสัตว์สู่คนและพบว่ายาต้านจุลชีพหลายชนิดไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เป็นปัญหาสาธารณสุขที่จะต้องมีการร่วมมือกันแก้ไขของบุคลากรหลายฝ่ายในการวางแผนการควบคุมการใช้ยาในปศุสัตว์เพื่อป้องกันมิให้เชื้อต้านยาหรือถ่ายทอดพันธุกรรมต้านยาสู่คน สัตว์อื่นๆ และสิ่งแวดล้อม

Table 5. Comparison of antimicrobial resistance between S. Typhimurium and other salmonella serovars.

Isolates (n = 39)	% Antimicrobial resistance										
	Amp	Enr	Flm	Fur	Gen	Kan	Kef	Nor	Sul	Tet	Tmp
S. Typhimurium (n = 16)	18.7	0	0	0	25	0	0	0	81.2	68.7	37.5
Other serovars (n = 23)	21.7	0	0	0	17.4	8.7	4.3	0	52.2	39.1	30.4

Amp=ampicillin, Enr=enrofloxacin, Flm=flumiquine, Fur=furazolidone, Gen=gentamicin, Ken=kanamycin, Kef=cephapirin, Nor=norfloxacin, Sul=sulfamethoxazole, Tet=tetracycline, Tmp=trimethoprim

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจซีโรวาร์ของเชื้อซาลโมเนลลา ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. เกรียงศักดิ์ สายธนู ผู้ล่วงลับที่ให้ความอนุเคราะห์เอกสารประกอบงานวิจัย และบุคลากรของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ ที่ช่วยให้งานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 1990 (2533). Annual report of the confirmed enteropathogenic bacteria. 1989. WHO National Salmonella and Shigella Center. กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 1991 (2534). Annual report of the confirmed enteropathogenic bacteria. 1990. WHO National Salmonella and Shigella Center. กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

เกรียงศักดิ์ สายธนู 1993 (2536). การต้านยาและการถ่ายทอดการต้านยาของซาลโมเนลลา รายงานผลการวิจัยทุนรัชดาภิเษกสมโภช หน้า 1-36.

กรองแก้ว ศุภวัฒน์ 1999 (2542). ปัญหาการติดเชื้อซัลโมเนลลาในผู้ป่วยและการปนเปื้อนในอาหารและผลิตภัณฑ์ ในการสัมมนา เรื่อง “แนวทางการดำเนินงานควบคุมโรคซัลโมเนลโลซีส” 26-27 สิงหาคม กรุงเทพฯ จัดทำโดยคณะกรรมการประสานงานเพื่อการควบคุมโรคติดเชื้อซัลโมเนลลา เอกสารหมายเลข 4: หน้า 1-25

Anhalt, J.P. and Washington, J.A. II.1985. Preparation and storage of antimicrobic solutions. In: Mannual of Clinical Microbiology. 4th ed. E.H. Lennette (ed.) American Society for Microbiology: Washington, D.C. appendix 1. p. 1019.

Barrow, P.A. 1992. Salmonellosis in poultry. CNEVA.INRA Symposium on Salmonellosis, Ploufragan, France. The national seminar on non-typhoidal salmonellosis resolution in Thailand, January 15-16. 1998. p. 42.

Carter, G.R. 1984. Enterobacteria. In: Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. 4th ed. C.C. Thomas (ed.) Publisher: Springfield, Illinois. p. 92-110.

Hefferman, H.M. 1991. Antibiotic resistance among salmonella from human and other sources in New Zealand. Epidemiol. Inf. 106: 17-23.

Holmberg, S.D., Wells, J.D. and Cohen, M.L. 1984. Animal-to-human transmission of antimicrobial resistant salmonella: Investigations of U.S. outbreak 1971-1983. Science. 255: 833-835.

Humphrey, T.J. Rowe, B. and Mead, G.C. 1988. Poultry meat as a source of human salmonellosis in England and Wales. Epidemiol. Inf. 100: 174-184.

Jayanetra, P., Vorachit, M., Pilantanapak, A., Panbangred, W., Bangtrakulnonth, A. and Chiewsilp, D.1990. *Salmonella* Kerfeld in Thailand: II Molecular biology of drug resistance, Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth. 21: 361-366.

Kauffmann, F. 1972. Die Bakteriologie der salmonella-species. Kauffmann-White scheme. 1st ed. Copenhagen: Munksgaard.

Lax, A.J., Barrow, P.A., Jones, P.W. and Wallis, T.S. 1995. Current perspectives in salmonellosis. Br. Vet. J. 151: 351-377.

Levy, S.B. 1978. Emergence of antibiotic-resistant bacteria in the intestinal flora of farm inhabitants. J. Inf. Dis. 137: 688-689.

Lyon, R.W., Samples, C.L., de Silva, N.H., Ross, K.H., Julian, E.M. and Checko, P.J. 1980. An epidemic of resistant salmonella in a nursery: Animal-to-human spread. J. Am. Med. Assoc. 234: 546-547.

Mercer, H.D., Pocurull, D., Gaines, S., Wilson, S. and Bennett, J.V. 1971. Characteristics of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from animals: Relationship to veterinary and management uses of antimicrobial agents. Appl. Microbiol. 22: 700-705.

Nakamura, M., Sato, S., Ohya, T., Suzuki, S. and Ikeda, S. 1986. Plasmid profile analysis in epidemiological studies of animal *Salmonella typhimurium* infection in Japan. J. Clin. Microbiol. 23: 360-365.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) 1998. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Eight informational supplement. M100-s8 Vol. 18 No.1 NCCLS. Pensylvania, USA

Nurmi, E. 1998. Statistics on human and animal salmonella infection in Finland (WHO/VPH/RES/WP/89.14). The national seminar on non-typhoidal salmonellosis resolutions in Thailand, January 15-16. p. 53.

Pocurull, D.W., Gaine, S.A. and Mercer, H.D. 1971. Survey of infectious multiple drug resistance among salmonella isolated from animals in the United States. Appl. Microbiol. 21: 358-362.

Prescott, J.F., and Baggot, J.D. 1994. Aminoglycosides and aminocyclitols. In: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 2nd ed. Iowa State University Press: Ames, Iowa. p. 144-178.

Rigby, C.E., Pettit, J.R., Bently, A.H., Spencei, J.L., Solomons, M.D. and Lior, H. 1982. The relation of salmonella from infected flocks, transport crates or processing plants to contamination of eviscerated carcasses. Can. J. Comp. Med. 49: 272-278.

Vugia, D.J., Mishu, B., Smith, M., Tavris, D.R., Hickman-Brenner, F.W. and Tauxe, R.V. 1993. *Salmonella* Enteritidis outbreak in a restaurant chain: The continuing challenges of prevention. Epidemiol. Inf. 110: 49-61.

Washington, J.A. II. 1985. Susceptible tests. In: Mannual of Clinical Microbiology. 4th ed. E.H. Lennette (ed.) American Society for Washington: Micro-biology, D.C. Chapter 100, p. 967-971.

WHO and Center for Antimicrobial Resistance Monitoring in Food-Borne Pathogens, Thailand. 1999. Country report, J. Wong-tavatchai (ed.), 1st International course surveillance of salmonella and antimicrobial resistance in food-borne pathogens, November 22-27, Thailand.