

ความชุกและการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่มียีนดื้อยาต้านจุลชีพที่แยกได้จาก เนื้อสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย

สุปราณี สีหาราช* ชุตติกาญจน์ ลิมาภิรักษ์วร่า กลอนรี คำสี และเด่นพงษ์ สาซ้อง

บทคัดย่อ

ที่มาของการศึกษา: ซัลโมเนลลาเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญ เนื้อสัตว์ที่ปนเปื้อนซัลโมเนลลาต้านจุลชีพก่อให้เกิดความเสี่ยงอย่างร้ายแรงต่อผู้บริโภคส่งผลให้การรักษาล้มเหลวและเสียชีวิตได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของซัลโมเนลลาปนเปื้อนเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่ายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย รวมถึงรูปแบบการดื้อยา และชนิดของยีนดื้อยา

วิธีการ: เก็บตัวอย่างเนื้อสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย 255 ตัวอย่าง จากโรงฆ่าสัตว์ 86 ตัวอย่าง และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ 169 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนธันวาคม 2560 - กันยายน 2561 นำมาเพาะแยกและจำแนกชนิดซัลโมเนลลาตามวิธีมาตรฐาน ISO 6579-1: 2017 (E) ทดสอบหาความไวต่อยาต้านจุลชีพ 14 กลุ่มประกอบด้วยกลุ่ม aminoglycoside, penicillin, beta-lactam combination, cephalosporin, lipopeptide, carbapenem, monobactam, fluoroquinolone, fosfomycin, nitrofurantoin, tetracycline, glycytycline, folate pathway antagonist และ phenicol ด้วยเทคนิค broth microdilution ตามมาตรฐาน CLSI (2019) จากนั้นตรวจหายีนดื้อยา ประกอบด้วยยีน *bla*, *NDM*, *aad*, *aac*, *aph*, *str*, *tet*, *sul*, *dfr*, *qnr*, *qep* และ *intl* โดยวิธี PCR แล้ววิเคราะห์ข้อมูลการพบซัลโมเนลลา รูปแบบการดื้อยา และชนิดของยีนดื้อยา ด้วยโปรแกรม Microsoft excel หาความสอดคล้องระหว่างการดื้อยาและการแสดงออกของยีนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยสถิติ chi-square โดยใช้โปรแกรม SAS

ผล: พบซัลโมเนลลาในตัวอย่างเนื้อสุกร 24.31% (62/255) จากโรงฆ่าสัตว์ 5.49% (14/255) และจากสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ 18.82% (48/255) เพาะแยกซัลโมเนลลาได้ 67 isolate 21 serovar พบ *S. Derby* (16.42%) *S. Rissen* และ *S. Stanley* (11.94%) และ *S. Typhimurium* (10.45%) พบซัลโมเนลลาต้านต่อยา ampicillin (71.64%) tetracycline (65.67%) กลุ่ม aminoglycosides และ cephalosporins (53.73%) และ fluoroquinolones (46.27%) แต่ไม่พบการดื้อยาในกลุ่มยาปฏิชีวนะที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยพบรูปแบบการดื้อยาทั้งหมด 27 แบบ ส่วนใหญ่เป็นการดื้อยาหลายขนาน (MDR) (73.13%) โดยพบชนิดยาในรูปแบบการดื้อยาสูงสุดถึง 14 ชนิด คือ AMK-AMP-AZT-CAZ-CEP-CFZ-CRO-FEP-FOX-GEN-SXT-TCC-TOB-TRI ส่วนยีนดื้อยาที่พบมากที่สุด 3 อันดับแรก คือ *bla*_{TEM-1} (55.22%) *aadB* (47.76%) และ *tetA* (43.28%) พบความสอดคล้องระหว่างการพบซัลโมเนลลาในโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่าย รวมถึงความสอดคล้องของการดื้อยาและการมียีนดื้อยา ($p \leq 0.05$)

สรุป: ความชุกของซัลโมเนลลาปนเปื้อนในเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์ และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทยมีอัตราต่ำ ส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่ดื้อยาต้านจุลชีพหลาย

ชนิดพร้อมกันและสอดคล้องกับยีนดื้อยาที่พบ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการวางแผนควบคุมป้องกันและแก้ไขปัญหาเชื้อดื้อยาของประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ: ซัลโมเนลลา เนื้อสุกร การดื้อยาด้านจุลชีพ ยีนดื้อยา ความชุก

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40260

*ผู้เขียน/ผู้รับผิดชอบ: โทรศัพท์ 043-261165 โทรสาร 043-261124 E-mail: s_dermpun2@hotmail.com

Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. containing antimicrobial-resistance genes isolated from pork in the upper northeastern Thailand

Supranee Seeharach* Chutikan Limapirakwara Kulnaree Kamsie and Denpong Sakhong

Abstract

Background: *Salmonella* is a significant foodborne pathogenic bacterium. Contamination of antimicrobial-resistant *Salmonella* in animal meat poses a serious risk to consumers, leading to treatment failure and potential fatalities. This study aims to investigate the prevalence of *Salmonella* contamination in pork samples obtained from slaughterhouses and butcher shops in the upper northeastern region of Thailand. The study also explores patterns of antibiotic resistance and types of antimicrobial-resistance genes present in these *Salmonella*.

Methods: The study was conducted in the upper northeastern region of Thailand between December 2017 and September 2018. A total of 255 pork samples, including 86 and 169 samples from slaughterhouses and butcher shops, respectively, were collected. All samples were isolated and identified for *Salmonella* serovars according to the ISO 6579-1:2017 (E) standard. Susceptibility to 14 antibiotic groups including aminoglycoside, penicillin, beta-lactam combination, cephalosporin, lipopeptide, carbapenem, monobactam, fluoroquinolone, fosfomycin, nitrofurantoin, tetracycline, glycylcycline, folate pathway antagonist, and phenicol were evaluated by the broth microdilution technique following the CLSI standards (2019). The presence of resistance genes, *bla*, NDM, *aad*, *aac*, *aph*, *str*, *tet*, *sul*, *dfr*, *qnr*, *qep*, and *intI*, were detected by using PCR. All data regarding the identification of *Salmonella*, patterns of antibiotic resistance, and types of resistance genes, were performed using Microsoft Excel. The statistical chi-square test by SAS software was employed to analyse the correlation between antibiotic resistance and gene expression at a 95% confidence level.

Salmonella was identified in pork samples at a prevalence of 24.31% (62/255), with 5.49% (14/255) from slaughterhouses and 18.82% (48/255) from butcher shops. A total of 67 isolates representing 21 serovars were obtained through isolation. The most commonly isolated serovars were *S. Derby* (16.42%), *S. Rissen* and *S. Stanley* (11.94%), along with *S. Typhimurium* (10.45%). The majority of the *Salmonella* isolates were resistant to ampicillin (71.64%), tetracycline (65.67%), aminoglycosides and cephalosporins (53.73%), and fluoroquinolones (46.27%). However, no resistance for critically important antibiotics (CIA) was

observed. A total of 27 antimicrobial-resistance patterns were found, most of which were multidrug resistance (MDR) (73.13%). The resistance pattern of 14 antibiotics, AMK-AMP-AZT-CAZ-CEP-CFZ-CRO-FEP-FOX-GEN-SXT-TCC-TOB-TRI, was the highest number of antibiotics. The first three most commonly detected antibiotic-resistance genes included *bla*_{TEM-1} (55.22%), *aadB* (47.76%), and *tetA* (43.28%). A significant correlation was found between the presence of *Salmonella* in slaughterhouses and butcher shops, as well as between antibiotic resistance and the presence of resistance genes ($p \leq 0.05$).

Conclusions: The prevalence of *Salmonella* contamination in pork samples from slaughterhouses and butcher shops in the upper northeastern region of Thailand is low. The majority of detected isolates exhibit resistance to multiple antibiotics concurrently, aligning with the identified antimicrobial-resistance genes. The information obtained from this study can be utilized for planning in the control, prevention, and solving of the problem in antimicrobial-resistant strains in Thailand.

Keywords: Antimicrobial resistance, Antimicrobial-resistance genes, Pork, Prevalence, *Salmonella* spp.

Veterinary Research and Development Center (upper northeastern region) Thaphra, Mueang, Khon Kaen

*Corresponding author: Tel. 043-261165 Fax. 043-261124 E-mail: s_dermpun2@hotmail.com

บทนำ

ซัลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในสกุล *Enterobacteriaceae* แบ่งเป็น 6 serotype มากกว่า 2,600 serovar เป็นสาเหตุสำคัญของโรคอาหารเป็นพิษ โดยในเด็กและผู้สูงอายุอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ (Ian *et al.*, 2023) ทั้งนี้เนื้อสุกรเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญของการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในห่วงโซ่อาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ตลาด (Patchanee *et al.*, 2016) โดยประเทศไทยพบรายงานซัลโมเนลลาในโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ภาคเหนือตอนบน 48.31% (ณัฐนิชาและณัฐวิทย์, 2564) นอกจากซัลโมเนลลาก็เป็นเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญแล้ว ยังเป็นเชื้อสำคัญที่ใช้ในการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาของโลก ปัจจุบันพบการดื้อยาหลายชนิดในซัลโมเนลลาที่มาจากสัตว์เพื่อการบริโภคมากขึ้น (Nair *et al.*, 2018) และอาจแพร่เชื้อดื้อยาไปสู่ผู้บริโภคได้ (Bole, 2022) โดยในช่วง 30 ปีที่ผ่านมาพบว่า *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* และ *S. Newport* มีแนวโน้มดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด (Multidrug resistance: MDR) และสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาในกลุ่ม quinolones, fluoroquinolones และ extended-spectrum cephalosporins ซึ่งเป็นยาที่ใช้สำหรับรักษาการติดเชื้อซัลโมเนลลาในคน (Chen *et al.*, 2004 และ Hur *et al.*, 2012) ทั้งนี้ยีนควบคุมการดื้อยามีบทบาทสำคัญ ทำให้ซัลโมเนลลาดื้อยา (Chuanchuen and Padungtod, 2009) ยีนดื้อยาแต่ละชนิดมีความจำเพาะต่อชนิดของยาหรือกลไกการดื้อยา เช่น ยีน ESBL ต่อยากลุ่ม beta-lactams ยีน *aadB*, *aadA1* และ *addA2* ต่อยากลุ่ม aminoglycoside และกลไก efflux pump ยีน *tetA* และ *tetB* ควบคุมการดื้อยากลุ่ม tetracyclin ยีน *sul1* *sul2* และ *sul3* ควบคุมการดื้อยากลุ่ม sulfonamide เป็นต้น นอกจากนี้ยังมียีน *drfA1* และ *drfA12* ควบคุมการดื้อยากลุ่ม trimethoprim ยีน *qnrS* และ *qnrB* ควบคุมการดื้อยากลุ่ม quinolone (Samuel *et al.*, 2007) ส่วน Integron เป็นยีนที่เคลื่อนย้ายตำแหน่งภายในจีโนมได้ซึ่งเป็นกลไกที่ทำให้แบคทีเรียปรับตัวและวิวัฒนาการตัวเองดื้อยาต้านจุลชีพ โดยแบ่งเป็น class 1, 2 และ 3 Integron ตามชนิดของเอนไซม์ integrase ที่ถูกสร้างขึ้นโดยยีน *int1*, *int2* และ *int3* (Deng *et al.*, 2015)

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย รวมถึงรูปแบบการดื้อยา และชนิดของยีนดื้อยา เพื่อเป็นข้อมูลสำคัญในแผนการเฝ้าระวังควบคุมและป้องกันซัลโมเนลลาและเชื้อดื้อยาของประเทศไทยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างเนื้อสุกร

เนื้อสุกร จากโรงฆ่าสัตว์ 86 ตัวอย่าง และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ 169 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 255 ตัวอย่าง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 12 จังหวัด ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น นครพนม บึงกาฬ มหาสารคาม มุกดาหาร ร้อยเอ็ด เลย สกลนคร หนองคาย หนองบัวลำภู และอุดรธานี ระหว่างเดือนธันวาคม

2560 - กันยายน 2561 ทำการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน จังหวัดขอนแก่น

การเพาะแยกเชื้อและทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

เพาะแยกซัลโมเนลลาจากเนื้อสุกรโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อตามวิธีมาตรฐาน ISO 6579-1: 2017 (E) ดังนี้ เตรียมตัวอย่างเนื้อสุกรปริมาณ 25 กรัม ตัดให้ละเอียดแล้วผสมลงในสารละลาย buffered peptone water (BPW) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มจำนวน จากนั้นคัดแยกเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ Rappaport vassaliadia (RVS) บ่มที่อุณหภูมิ 41.5 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง และ Muller-kauffmann tetrathionate novobiocin broth (MKTTn) บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อจาก RVS และ MKTTn ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose lysine desoxycholate agar (XLD) และ Brilliant green agar modified (BGM) บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะจำเพาะของซัลโมเนลลา จาก XLD และ BGM มาเพาะลงบน Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ± 3 ชั่วโมง พิสูจน์ยืนยันเชื้อด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย Triple sugar iron agar (TSI), L-lysine decarboxylation medium (LIM), Urea agar บ่มที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส 24 ± 3 ชั่วโมง และ ONPG disc บ่มที่ 35 ± 1 องศาเซลเซียส สังเกตทุก 1 ชั่วโมง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เก็บเชื้อที่ให้ผลบวก ลงใน Nutrient agar บ่มที่ $35-37$ องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้วิเคราะห์แยกชนิด

การจำแนกชนิดเชื้อ (Serovar)

นำซัลโมเนลลาที่แยกได้ไปจำแนกชนิด โดยการทดสอบคุณสมบัติทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี Slide agglutination test แบ่งออกเป็น 6 serogroup A, B, C1, C2, D และ E ที่จำเพาะกับ O-antigen จากนั้นจำแนก serovar โดยเพาะเชื้อบน Swarm agar ทำปฏิกิริยากับ Flagella-antiserum ที่จำเพาะกับ H-antigen ของเชื้อ ตามวิธีของ Kauffmann-White Scheme (Grimont and Weill, 2007) จากนั้น นำเชื้อไปเก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส

การทดสอบหาค่าความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ

นำซัลโมเนลลาที่เก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส มา subculture ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone soy agar (TSA) (Oxoid, England) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นนำไปทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (MIC) ประกอบด้วยยา 32 ชนิด 15 กลุ่ม (ตารางที่ 1) ด้วยเครื่อง BD Phoenix™ M50 automated system (BD Diagnostics, USA) วิธีการตามคู่มือที่เครื่องกำหนด โดยกำหนดค่าความไวและดื้อต่อยาตาม CLSI (CLSI, 2019)

ตารางที่ 1 กลุ่มยาและชนิดยาที่ใช้ทดสอบหาค่า MIC

Drug class	Antibiotic
1. Aminoglycoside	amikacin, gentamicin, tobramycin
2. Penicillin	ampicillin, piperacillin
3. Beta-lactam synergist	amoxicillin-clavulanate, ampicillin-sulbactam, piperacillin-tazobactam, ticarcillin-clavulanate
4. Cephalosporin	cefazolin, cephalexin, cefoxitin, cefotaxime, ceftazidime, cefuroxime, ceftriaxone, cefepime
5. Polymyxin (Lipopeptide)	colistin
6. Carbapenem	ertapenem, imipenem, meropenem
7. Monobactam	aztreonam
8. Fluoroquinolone	levofloxacin, ciprofloxacin, moxifloxacin
9. Fosfomycin	fosfomycin
10. Nitrofurantoin	nitrofurantoin
11. Tetracycline	tetracycline
12. Glycylcycline	tigecycline
13. Folate pathway antagonist	trimethoprim, trimethoprim-sulfamethoxazole
14. Phenicol	chloramphenicol

การเตรียมตัวอย่างและการสกัดสารพันธุกรรม

นำเซลล์โมเนลลาที่เก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็ง นำมา subculture ในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptone soy agar (TSA) (Oxoid, England) เพื่อนำไปสกัด DNA โดยนำเชื้อประมาณ 3-5 โคโลนี ละลายใน 0.85% normal saline solution (NSS) นำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 rpm นาน 5 นาที ดูดส่วนใสทิ้งและละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 100 μ L ต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วแช่ลงในน้ำเย็นทันที นำไปปั่นที่ความเร็ว 12,000 rpm นาน 5 นาที เก็บส่วนใสไว้เป็น DNA template ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาตรวจวิเคราะห์

การตรวจหาชิ้นดีเอ็นเอด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction

ตรวจหาชิ้นควบคุมการดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR จำนวน 8 กลุ่ม ด้วยวิธี PCR ตามตารางที่ 2 ซึ่งใน 25 μ L ประกอบด้วยไพรเมอร์ชนิดละ 0.2 μ M 1 μ L, Taq 2X master mix (New England BioLabs, USA) 12.5 μ L, DNA template 2.5 μ L และน้ำกลั่น 8 μ L สำหรับสภาวะในการทำ PCR ดังนี้คือ preheating ที่ 95 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที annealing ตามเอกสารอ้างอิง นาน 1 นาที extension ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ทั้งหมดจำนวน 35 รอบ และ final extension 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที วิเคราะห์ PCR product ด้วยเครื่องตรวจชิ้นส่วน DNA/RNA ยี่ห้อ QIAGEN รุ่น QIAxcel Advanced (Qiagen, Germany) อ่านค่าเปรียบเทียบกับ QX size marker ขนาด 100 bp-2.5 kbp (Qiagen, Germany)

ตารางที่ 2 ยีนที่ใช้ตรวจหายีนควบคุมการดื้อยาต้านจุลชีพ

Gene-specific drug/intergron	Gene	Reference
Beta-lactam	<i>bla_{PSE-1}</i> , <i>bla_{TEM}</i> ,	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2008b
	<i>bla_{SHV}</i>	Bradford, 1999
	<i>bla_{CTX-M}</i>	Paauw, 2006
Colistin	<i>NDM</i>	Fomda <i>et al.</i> , 2014
Aminoglycoside	<i>aadA1</i> , <i>aadA2</i> , <i>aadB</i>	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2009
	<i>aac(3)11a</i> , <i>aph(3)11a</i> , <i>aac6</i> , <i>aac(6_)-Ib</i>	Ma <i>et al.</i> , 2007
	<i>strA</i> , <i>strB</i>	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2009
Tetracycline	<i>tetA</i> , <i>tetB</i> ,	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2008b
	<i>tetC</i> , <i>tetD</i> , <i>tetE</i> , <i>tetG</i>	Ma <i>et al.</i> , 2007
Sulfonamide	<i>sul1</i>	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2007
	<i>sul2</i>	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2009
	<i>sul3</i>	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2008a
Trimethoprim	<i>dfrA1</i>	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2008b
	<i>dfrA10</i>	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2009
	<i>dfrA12</i>	Chuanchuen <i>et al.</i> , 2008b
Quinolones	<i>qnrA</i> , <i>qnrB</i> , <i>qnrC</i> <i>qnrS</i> <i>qepA</i>	Kim <i>et al.</i> , 2009
Integron	<i>int1</i>	Leverstein-van <i>et al.</i> , 2002
	<i>int2</i> , <i>int3</i>	Thaotumpitak <i>et al.</i> , 2023

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

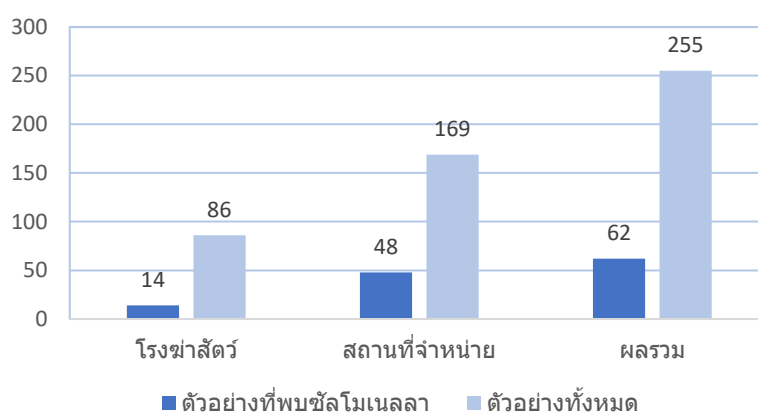
วิเคราะห์ค่า MIC โดยหาร้อยละของการตรวจพบซัลโมเนลลาด้วยโปรแกรม Microsoft excel แล้วหาความสอดคล้องระหว่างการดื้อยาและการแสดงออกของยีนที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยสถิติ chi-square โดยใช้โปรแกรม SAS version 9.1 (SAS, 2004)

ผลและวิจารณ์

ความชุกของการปนเปื้อนซัลโมเนลลาในเนื้อสุกร

พบความชุกของซัลโมเนลลาในตัวอย่างเนื้อสุกรทั้งหมด 24.31% (62/255) โดยมาจากโรงฆ่าสัตว์ 5.49% (14/255) และสถานที่จำหน่าย 18.82% (48/255) การปนเปื้อนซัลโมเนลลาที่พบในโรงฆ่าสัตว์คิดเป็น 16.27% (14/86) และในสถานที่จำหน่าย 28.40% (48/169) ดังรูปที่ 1

จำนวนตัวอย่างเนื้อสุกร



รูปที่ 1 จำนวนตัวอย่างเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนเนื้อสุกรเปรียบเทียบกับจำนวนเนื้อสุกรทั้งหมดในโรงฆ่าสัตว์ สถานที่จำหน่าย และผลรวมทั้งหมด

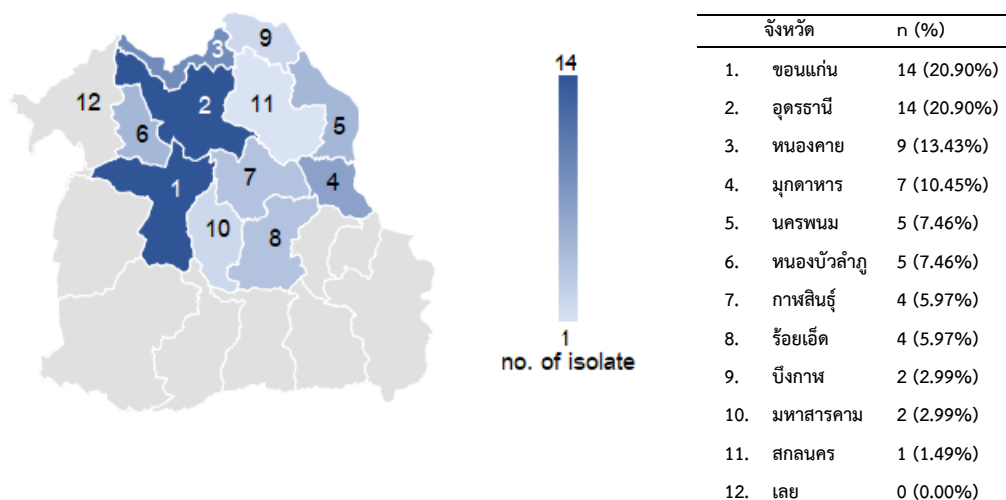
การศึกษาครั้งนี้มีความชุก 24.31% ซึ่งค่อนข้างต่ำกว่าการศึกษาอื่นๆ ในประเทศไทยที่รายงานพบการปนเปื้อนซัลโมเนลลาในเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่าย ซึ่งมีความชุก ในช่วง 36-48% (เดชา และ สรรเพชญ, 2554; ญัฐนิชา และญัฐวิทย์, 2564; Sinwat *et al.*, 2016) ยกเว้นรายงานของ Pulsrikarn *et al.* (2012) ที่พบซัลโมเนลลาปนเปื้อนเนื้อสุกรในจังหวัดสระแก้วสูงถึง 96% แต่สิ่งที่เหมือนกันทุกการศึกษาคือเชื้อที่พบในโรงฆ่าสัตว์มีอัตราต่ำกว่าเชื้อที่พบในสถานที่จำหน่ายอาจเป็นไปได้ว่าเกิดการปนเปื้อนเชื้อขึ้น ระหว่างกระบวนการการขนส่ง การเก็บรักษา และการจำหน่าย นอกจากนี้เมื่อพิจารณาอัตราการปนเปื้อนภาพรวมจากรายงานการศึกษาในหลายปีที่ผ่านมาพบว่ามีแนวโน้มลดลง (เดชา และ สรรเพชญ, 2554; ญัฐนิชา และญัฐวิทย์, 2564; Pulsrikarn *et al.*, 2012; Sinwat *et al.*, 2016) คาดว่ามีการดำเนินการตามพระราชบัญญัติควบคุมการฆ่าสัตว์เพื่อการจำหน่ายเนื้อสัตว์ พ.ศ. 2559 (สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี, 2559) ของอย่างเข้มงวด ทำให้มีการปรับปรุงสุขลักษณะที่ดีขึ้นทั้งในโรงฆ่าสัตว์ และอาจมีการพัฒนาสุขลักษณะที่ดีของสถานที่จำหน่ายเนื่องจากพฤติกรรมผู้บริโภคที่เลือกซื้อเนื้อสัตว์จากแหล่งจำหน่ายที่สะอาดและทันสมัยมากขึ้น

เมื่อคำนวณค่าทางสถิติพบว่า การตรวจพบซัลโมเนลลาจากตัวอย่างเนื้อสุกรที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์ และสถานที่จำหน่ายในระดับรายจังหวัด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบในระดับเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ตารางที่ 3) บ่งชี้ว่ามีปัจจัยการปนเปื้อนเกิดขึ้นในสถานที่จำหน่าย ทำให้ซัลโมเนลลาในสถานที่จำหน่ายสูง สอดคล้องกับรายงานของ Lay *et al.* (2021) ที่พบว่าซัลโมเนลลาในเนื้อสุกรที่ตลาดสูงกว่าที่โรงฆ่าสัตว์

ตารางที่ 3 แสดงการตรวจพบซัลโมเนลลาจำนวน 62 ตัวอย่าง และความสัมพันธ์ระหว่างการพบซัลโมเนลลาที่โรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่ายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน

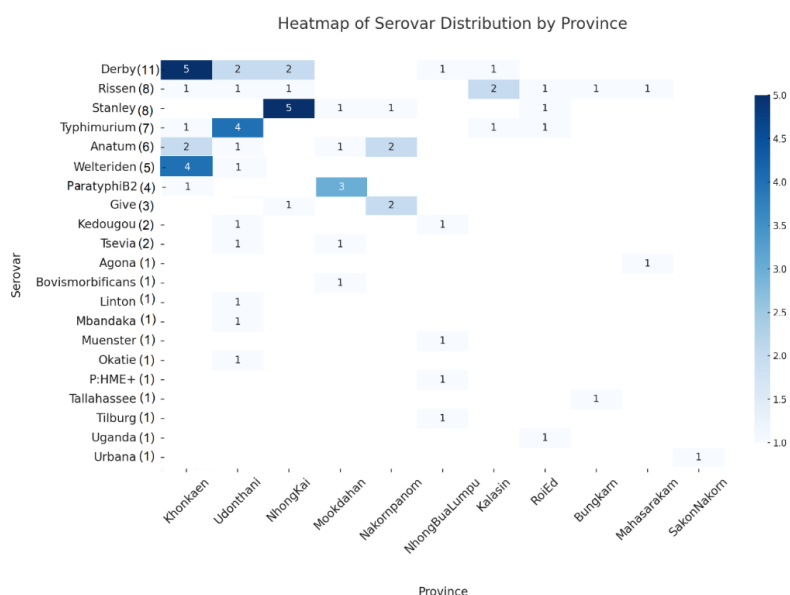
จังหวัด	ตัวอย่างที่ให้ผลบวก/ตัวอย่างทั้งหมด (%)	ตัวอย่างที่ให้ผลบวก/ตัวอย่างทั้งหมด (%)		p-value
		โรงฆ่าสัตว์	สถานที่จำหน่าย	
กาฬสินธุ์	4/36 (11.11)	1/22 (4.55)	3/14 (21.43)	0.1161
ขอนแก่น	14/40 (35.00)	3/12 (25.00)	11/28 (39.29)	0.3854
นครพนม	4/24 (16.70)	2/14 (14.29)	2/10 (20.00)	0.3500
บึงกาฬ	2/11 (18.18)	0/2 (0.00)	2/9 (22.22)	0.4311
มหาสารคาม	2/17 (11.76)	1/3 (33.33)	1/14 (7.14)	0.2014
มุกดาหาร	7/8 (87.50)	1/2 (50.00)	6/6 (100)	0.0641
ร้อยเอ็ด	4/24 (16.67)	0/1 (0.00)	4/23 (17.39)	0.6478
เลย	0/12 (0.00)	0/5 (0.00)	0/7 (0.00)	-
สกลนคร	1/24 (4.17)	0/6 (0.00)	1/18 (5.56)	0.5553
หนองคาย	9/20 (45.00)	5/12 (41.67)	4/8 (50.00)	0.7136
หนองบัวลำภู	4/10 (40.00)	0/2 (0.00)	4/8 (50.00)	0.1967
อุดรธานี	11/29 (37.93)	1/5 (20.00)	10/24 (41.67)	0.3637
รวม	62/255 (24.30)	14/86 (16.28)	48/169 (28.40)	0.0260
χ^2	43.4150	14.0786	34.4429	
p-value	<0.0001	0.2287	0.0003	

จากตัวอย่างเนื้อสุกร 62 ตัวอย่าง สามารถจำแนกซัลโมเนลลาได้ 67 isolate เมื่อพิจารณาความชุกของเชื้อในพื้นที่จังหวัดต่างๆ พบสูงในจังหวัดขอนแก่น อุดรธานี หนองคาย และมุกดาหาร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งทั้ง 4 จังหวัดมีการเลี้ยงสุกรหนาแน่น (กรมปศุสัตว์, 2566) โดยจังหวัดขอนแก่นและอุดรธานีที่พบซัลโมเนลลาสูงสุดมีเขตแดนติดต่อกันและเป็นจังหวัดใหญ่ที่มีประชากรอาศัยหนาแน่น ส่วนจังหวัดที่พบรองลงมาเป็นจังหวัดชายแดนมีเขตติดต่อกับประเทศเพื่อนบ้าน (Trongjit *et al.*, 2017) และสิ่งสำคัญที่ทำให้พบเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนสูงอาจเนื่องมาจากการขาดความเข้มงวดและติดตามเฝ้าระวังในโรงฆ่าสัตว์ การขนส่ง และการจัดเก็บเนื้อสุกรภายในโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ยังไม่ถูกสุขลักษณะตามมาตรฐาน อาจเป็นปัจจัยที่ควรพิจารณาในการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางระบาดวิทยา



รูปที่ 2 แสดงความชุกของซัลโมเนลลาที่พบในพื้นที่ 12 จังหวัดเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย ตัวเลขในแผนที่แสดงรายชื่อจังหวัดตามตารางด้านขวามือ ความเข้มของสีแสดงความชุกของซัลโมเนลลาหรือจำนวน isolate ที่พบ

จากการจำแนกชนิดซัลโมเนลลาพบ 21 serovar สูงสุด คือ *S. Derby* 11 isolate (16.42%) รองลงมาคือ *S. Rissen* และ *S. Stanley* 8 isolate (11.94%) และ *S. Typhimurium* 7 (11.45%) ซึ่งกระจายในจังหวัดต่างๆ ที่ศึกษา 11 จังหวัด รายละเอียดดังรูปที่ 3 serovar ที่พบในการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาอื่นๆ ในประเทศไทยที่ส่วนใหญ่เป็น *S. Derby*, *S. Rissen* และ *S. Typhimurium* ในเนื้อสุกรที่พบในโรงฆ่าสัตว์และตลาด (ฤชดา และสุเจตน์, 2559; สรรเพชญ, 2554; Trongjit *et al.*, 2017) และสอดคล้องกับ serovar ที่พบในทวีปเอเชีย (Yang *et al.*, 2019) และในสหรัฐอเมริกา (Sanchez-Maldonado *et al.*, 2017) แต่ต่างจากทวีปอื่นๆ ในโลก (Ferrari *et al.*, 2019)

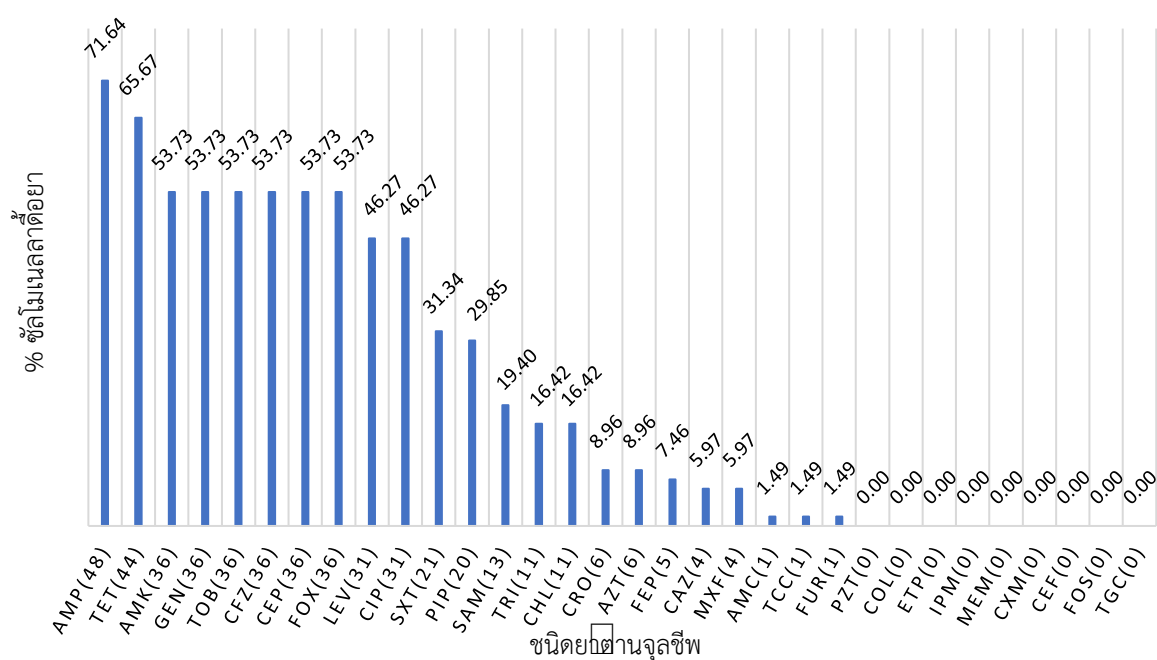


รูปที่ 3 Heat map แสดงความชุกของ serovar ต่างๆ ในพื้นที่ศึกษา 11 จังหวัด ตัวเลขในตารางแสดงจำนวนซัลโมเนลลา (isolate) เรียงลำดับจากน้อยไปมาก จำนวนแปรผันตามความเข้มของสี

การดื้อยาต้านจุลชีพ

เมื่อวิเคราะห์จากผลการตรวจหาค่า MIC จากยาทั้งหมด 32 ชนิด พบการดื้อยาต้านจุลชีพจำนวน 23 ชนิด ยาที่พบสูงสุดคือ ampicillin 71.64% รองลงมาคือ tetracycline 65.67% ใกล้เคียงกับรายงานของกรมปศุสัตว์ที่พบการดื้อยาในเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ต่อยา ampicillin เป็น 70.90% และ 72.10% ตามลำดับ ส่วนยา tetracycline เป็น 64.00% และ 63.00% ตามลำดับ (กรมปศุสัตว์, 2563) และสอดคล้องกับรายงานการศึกษาซัลโมเนลลาที่แยกได้จากเนื้อไก่ เนื้อสุกร และเนื้อวัวในประเทศไทย พบว่ามีอัตราการดื้อยาสูงเช่นกัน (Angkititrakul *et al.*, 2005; สรรเพชญ และคณะ, 2554) ซึ่งอาจเกิดจากการปนเปื้อนข้ามของซัลโมเนลลาระหว่างเนื้อสัตว์และอุปกรณ์ในการตัดแต่งซาก และเชื้อดื้อยาอื่นๆ สามารถถ่ายทอดยีนดื้อยาให้กับซัลโมเนลลาได้ด้วย หากสุขอนามัยในการฆ่า ตัดแต่งซาก หรือขนส่งไม่ดีพอ ส่วนเชื้อที่

แยกได้จากไก่ สุกร และสิ่งแวดล้อมในฟาร์ม รวมทั้งเชื้อที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่และเนื้อสุกรพบ MDR 56.1% (Chuanchuen *et al.*, 2008b; Sinwat *et al.*, 2015) ซึ่งปริมาณการใช้ยาในสัตว์สูงที่สุดในประเทศไทย คือ กลุ่ม penicillins และ tetracyclines (Thai SAC, 2020) อาจจะเป็นสาเหตุให้เชื้อดื้อยาในกลุ่มนี้ได้ ส่วนยาที่เหลือ 9 จาก 32 ชนิดที่ทำการทดสอบในครั้งนี้นี้ไม่พบการดื้อยา ได้แก่ piperacillin-tazobactam, colistin, ertapenem, imipenem, meropenem, cefuroxime, cefotaxime, fosfomycin, tigecycline รายละเอียดดังรูปที่ 4 บ่งชี้ว่าในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบการดื้อยาในกลุ่มที่สงวนไว้ให้ใช้กับคนเท่านั้นซึ่งเป็นยาในกลุ่มที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง (critically important antibiotics; CIA) ได้แก่ carbapenems (imipenem, meropenem) และ polymyxins (colistin) สอดคล้องกับรายงานของ Pungpian *et al.* (2021) ที่ไม่พบการดื้อยา colistin และ meropenem ของซัลโมเนลลาที่แยกได้จากเนื้อสุกรในของประเทศไทย ส่วนยาสำคัญที่ใช้ในการรักษาซัลโมเนลลาได้แก่กลุ่ม cephalosporin และ fluoroquinolone นั้น พบว่าการดื้อยาอยู่ที่ 53.73% และ 46.27% ตามลำดับ โดยยา cephalosporin ที่ดื้อ 53.73% นั้นเป็นยาในกลุ่ม Cephalosporin รุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 (cefazolin, cephalexin, cefoxitin) ส่วน cephalosporin รุ่นที่ 3 และ รุ่นที่ 4 พบการดื้อยาดังกล่าว 10% (ceftriaxone, cefepime, ceftazidime) ถึงไม่พบการดื้อยา (cefuroxime, cefotaxime)



รูปที่ 4 แสดงการดื้อยาของซัลโมเนลลาที่แยกได้จากเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่าย แกน x แสดงชนิดยา และจำนวน isolate ที่ดื้อยา แกน y แสดง เปอร์เซ็นต์การดื้อยาจากจำนวน isolate ทั้งหมด (AMP, ampicillin; TET, tetracyclin; AMK, amikacin; GEN, gentamicin; TOB, tobramycin; CFZ, cefazolin; CEP, cephalexin; FOX, cefoxitin; LEV, levofloxacin; CIP, ciprofloxacin; SXT, trimethoprim-sulfamethoxazole; PIP, piperacillin; SAM, ampicillin-sulbactam; TRI, trimethoprim; CHL, chloramphenicol; CRO, ceftriaxone; AZT, aztreonam; FEP, cefepime; CAZ, ceftazidime; MXF, moxifloxacin; AMC, amoxicillin-clavulanate; TCC, ticarcillin-clavulanate; FUR, nitrofurantoin; PZT, piperazine-tartrate)

piperacillin-tazobactam; COL, colistin; ETP, ertapenem; IPM, imipenem; MEM, meropenem; CXM, cefuroxime; CEF, cefotaxime; FOS, fosfomycin; TGC, tigecycline)

เมื่อพิจารณาตามกลุ่มยา 14 กลุ่มพบว่าซัลโมเนลลาส่วนใหญ่เป็น MDR 73.13% (49/67 isolate) โดยมีรูปแบบการดื้อยา 27 แบบ พบการดื้อยาสูงสุด 14 ชนิดคือ AMK-AMP-AZT-CAZ-CEP-CFZ-CRO-FEP-FOX-GEN-SXT-TCC-TOB-TRI จำนวน 1 isolate รองลงมา ดื้อยา 12 ชนิดคือ AMK-AMP-AZT-CAZ-CEP-CFZ-CRO-FEP-FOX-GEN-TET-TOB จำนวน 3 isolate ดังตารางที่ 4 เนื่องจากครั้งนี้มีการศึกษาต้านจุลชีพมาถึง 14 กลุ่ม และแต่ละกลุ่มก็มียาหลายชนิด เช่น Cephalosporin รุ่นที่ 1, 2, 3 และ 4 และเพิ่มยา กลุ่ม Monobactam (aztreonam) จึงแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาที่ Chuanchuen *et al.* (2008b) และ Sinwat *et al.* (2016) ที่รายงานพบดื้อยาสูงสุด 5 ชนิดคือ AMP-CHL-GEN-TET-TRI และ พบ AMP-SPC-SUL-TET-TRI ตามลำดับ

ตารางที่ 4 แสดงรูปแบบการดื้อยา และจำนวนกลุ่มยาที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพของซัลโมเนลลา (n=67)

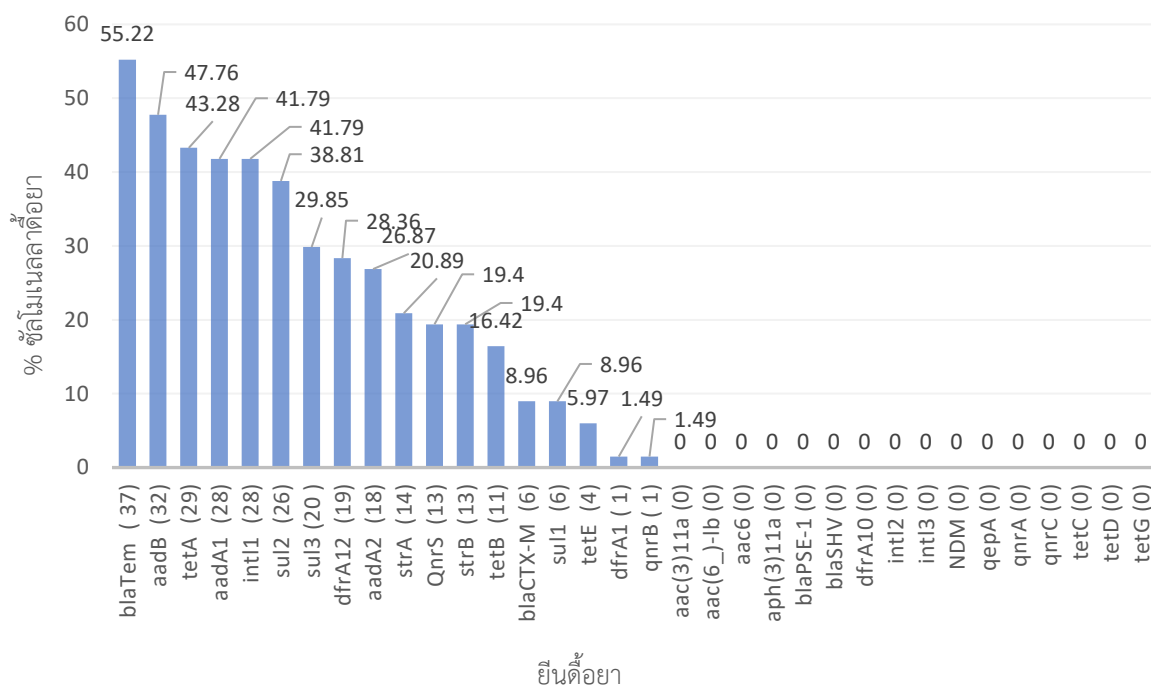
No.	Resistance patterns (no. of ABO)	No. of drug class*	No. of isolate (%)
1	CIP-LEV (2)	1	5 (7.5)
2	AMP-CIP-LEV (3)	2	1 (1.5)
3	CIP-LEV-MXF (3)	1	1 (1.5)
4	CIP-LEV-PIP (3)	2	2 (3.0)
5	CIP-LEV-TET (3)	2	1 (1.5)
6	AMP-CIP-LEV-PIP-TET (5)	3	3 (4.5)
7	AMP-CIP-LEV-SAM-TET (5)	4	2 (3.0)
8	AMK-CEP-CFZ-FOX-GEN-TOB (6)	2	8 (11.9)
9	AMP-CIP-FUR-LEV-SAM-TET (6)	5	1 (1.5)
10	AMP-CIP-LEV-MXF-PIP-TET (6)	3	1 (1.5)
11	AMP-CIP-LEV-PIP-SAM-TET (6)	4	4 (6.0)
12	AMP-CIP-LEV-PIP-SXT-TET (6)	4	4 (6.0)
13	AMK-AMP-CEP-CFZ-FOX-GEN-TOB (7)	3	2 (3.0)
14	AMK-CEP-CFZ-FOX-GEN-TET-TOB (7)	3	2 (3.0)
15	AMP-CIP-LEV-MXF-PIP-SAM-SXT (7)	4	1 (1.5)
16	AMP-CIP-LEV-PIP-SAM-SXT-TET (7)	5	4 (6.0)
17	AMC-AMK-AMP-CEP-CFZ-FOX-GEN-TOB (8)	4	1 (1.5)
18	AMK-AMP-CEP-CFZ-FOX-GEN-TET-TOB (8)	4	2 (3.0)
19	AMP-CIP-LEV-MXF-PIP-SAM-SXT-TET (8)	5	1 (1.5)
20	AMK-AMP-CEP-CFZ-CHL-FOX-GEN-TET-TOB (9)	5	5 (7.5)
21	AMK-AMP-CEP-CFZ-CHL-FOX-GEN-SXT-TOB-TRI (10)	5	1 (1.5)
22	AMK-AMP-CEP-CFZ-FOX-GEN-SXT-TET-TOB-TRI (10)	5	5 (7.5)

23	AMK-AMP-AZT-CEP-CFZ-CHL-CRO-FOX-GEN-TET-TOB (11)	6	1 (1.5)
24	AMK-AMP-AZT-CEP-CFZ-CRO-FEP-FOX-GEN-TET-TOB (11)	5	1 (1.5)
25	AMK-AMP-CEP-CFZ-CHL-FOX-GEN-SXT-TET-TOB-TRI (11)	6	4 (6.0)
26	AMK-AMP-AZT-CAZ-CEP-CFZ-CRO-FEP-FOX-GEN-TET-TOB (12)	5	3 (4.5)
27	AMK-AMP-AZT-CAZ-CEP-CFZ-CRO-FEP-FOX-GEN-SXT-TCC-TOB-TRI (14)	6	1 (1.5)
Total		67	(100)

* MDR หมายถึง การดื้อยาอย่างน้อย 1 ชนิดต่อกลุ่ม ตั้งแต่ 3 กลุ่มยาขึ้นไป

ชนิดของยีนดื้อยาต้านจุลชีพ

การตรวจหายีนที่ควบคุมการดื้อยาชนิดต่างๆ 8 กลุ่มยีน โดยกลุ่มที่พบมากที่สุดคือ *bla_{TEM}* 55.22% รองลงมาคือ *aadB* 47.76% และ *tetA* 43.28% และตรวจไม่พบยีนดื้อยาจำนวน 16 ยีน รายละเอียดตามรูปที่ 5 พบยีน *intI1* 41.79% ซึ่งพบว่าซัลโมเนลลาที่ตรวจพบมีโอกาสเป็น MDR สูง (Chuanchuen *et al.*, 2009) สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ MDR ข้างต้นที่สูงถึง 73.13% สำหรับการพบยีน Integrase มีความสำคัญเพราะหากพบยีนนี้จะบ่งชี้ว่าเชื้อดื้อยามีความสามารถในการดื้อยาได้หลายชนิดและยังแพร่กระจายไปในเชื้อชนิดต่างๆ แบบข้ามสายพันธุ์ได้ซึ่งจะพบอยู่ใน class 1 integron element เป็นส่วนหนึ่งของ mobile genetic element (รุ่งทิพย์ และพรเพ็ญ, 2551) โดย class 1 และ class 2 integron มักพบในแบคทีเรียแกรมลบในดินและน้ำจืด ส่วน class 2 integron จะพบยีน *dfir1a*, *sat1* และ *aadA1* สำหรับ class 3 integron พบในแบคทีเรียที่อยู่ในทะเลมักพบยีน *bla_{GES-1}* และ *bla_{IBC}*, *intI3*, *attI3* ซึ่งเป็นยีนดื้อยาในกลุ่ม beta-lactams ซึ่งจากการศึกษาของชาญวิทย์ (2554) พบว่า class 1 integron element ในประเทศไทยพบยีนดื้อยาถึง 7 ยีน ได้แก่ *intI1*, *bla_{VEB-1}*, *aadB*, *arr-2*, *cmlA*, *bla_{OXA-10}*, *aadA1* และ *qacE1* โดย *intI1* เป็นชนิดหลักที่พบได้ทั่วไป และนอกจากนี้มีการรายงานการศึกษาในอิหร่าน พบ class 1, 2 และ 3 integron (Asgharpour *et al.*, 2018) และที่เนเธอร์แลนด์พบ class 1 และ 2 integron (van Essen-Zandbergen *et al.*, 2007)



รูปที่ 5 แสดงยีนดื้อยาที่พบในชีลโมเนลลาที่แยกได้จากเนื้อสุกรจากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่าย (n=67)

เมื่อวิเคราะห์การดื้อยาแต่ละกลุ่มพบว่ายาในกลุ่ม aminoglycoside มียีนดื้อยาที่เกี่ยวข้อง 21.43% กลุ่ม tetracycline และ sulfonamide 14.29% กลุ่ม beta-lactam synergist, penicillin และ cephalosporin 10.71% โดยการปรากฏของยีนดื้อยาส่วนใหญ่สัมพันธ์กับการดื้อยาของเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบความชุกของเชื้อดื้อยาในชีลโมเนลลาสูงสุดต่อยา tetracycline และ sulfonamides มีความสัมพันธ์สูงกับการแสดงออกของการดื้อยาด้านจุลชีพอื่น ๆ เนื่องจากสามารถส่งผ่านยีนดื้อยาที่หลากหลายผ่านทาง plasmids, transposons, integrons หรือ gene cassettes ทั้งนี้กลไกของการดื้อยาในระดับโมเลกุลค่อนข้างซับซ้อน การตรวจพบยีนดื้อยาอาจไม่สอดคล้องกันกับการแสดงออกของการดื้อยาเสมอไป (Fluit *et al.*, 2001) ส่วนการดื้อยา trimethoprim และ quinolone กับยีนที่ตรวจพบไม่มีความสัมพันธ์กัน ($p > 0.05$) อาจเนื่องมาจากการดื้อยาตามธรรมชาติหรือการกลายพันธุ์บนโครโมโซม เป็นต้น (พรณนิกา, 2563) จากการศึกษาครั้งนี้พบเชื้อดื้อยา chloramphenicol ทั้งที่เป็นยาห้ามใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2559 (สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี, 2559ก) สันนิษฐานว่าน่าจะเกิดจากการพบยีน *int11*, *aadA1* และ *aadA2* อยู่บน cluster เดียวกันกับยีน *cm1A* ใน class 1 integrons ดังนั้นการใช้ยาในกลุ่ม aminoglycoside จึงส่งผลให้เชื้อดื้อยา chloramphenicol ด้วย (รุ่งทิพย์ และพรเพ็ญ, 2551) และเป็นที่สังเกตว่าการพบยีน *Int11* ในชีลโมเนลลาเชื้อจะแสดงการดื้อยาหลายชนิดร่วมกันค่อนข้างสูง ซึ่ง Integron สามารถถ่ายทอดการดื้อยาไปยังเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิดอื่นและแสดงการดื้อยาด้านจุลชีพหลายชนิดตั้งแต่ aminoglycosides, trimethoprim, chloramphenicol, penicillins และ cephalosporins (Hall, 2007) ที่น่าสนใจคือ การดื้อยาทั้ง ampicillin และ sulfamethoxazole-

trimethoprim ร่วมกันเป็นจุดเริ่มต้นของการพัฒนาการดื้อยาต้านจุลชีพชนิดอื่นๆ และการพบ Integron มักพบ MDR ร่วมด้วย (Leverstein-van *et al.*, 2003) โดยสิ่งที่ควรตระหนักคือเนื้อสัตว์ที่ขายปลีกอาจเป็นแหล่งที่มาของการสัมผัสเชื้อซัลโมเนลลาที่ดื้อยาหลายชนิดของมนุษย์ (Nghiem *et al.*, 2017)

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงการดื้อยาต้านจุลชีพและยีนควบคุมการดื้อยาต้านจุลชีพ

Antibiotics group	Genotype		χ^2	correlation coefficient	p-value
	gene	%			
aminoglycoside	<i>aadA1, aadA2, aadB, strA, strB</i>	21.43	13.5014	0.1833	0.0191
Beta-lactam synergist	<i>bla_{TEM}, bla_{CTX-M}</i>	10.71	10.5789	0.2294	0.005
penicillin	<i>bla_{TEM}, bla_{CTX-M}</i>	10.71	30.9403	0.3923	0.0001
tetracycline	<i>tetA, tetB,</i>	14.29	29.1137	0.3296	0.0001
sulfonamide	<i>sul1, sul2, sul3</i>	14.29	9.9081	0.1923	0.0194
trimethoprim	<i>dfrA12, dfrA10, dfrA1</i>	7.14	0.0565	0.0205	0.8122
cephalosporin	<i>bla_{TEM}, bla_{CTX-M}</i>	10.71	8.1503	0.2014	0.0171
quinolone	<i>qnrS</i>	7.14	1.0268	0.0875	0.3109

สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้พบความชุกของซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในตัวอย่างเนื้อสุกรค่อนข้างต่ำ โดยพบ *S. Derby* มากที่สุด และพบว่าดื้อต่อยา ampicillin สูงสุด นอกจากนี้พบ MDR ค่อนข้างสูง และมีรูปแบบการดื้อยาหลากหลาย พบยีนดื้อยาสอดคล้องกับการแสดงออกของการดื้อยา โดยความชุกของซัลโมเนลลาจากสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์สูงกว่าโรงฆ่าสัตว์ สะท้อนให้เห็นถึงระบบการจัดการด้านสุขาภิบาลยังไม่ถูกสุขลักษณะตามเกณฑ์มาตรฐาน ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนเชื้อดื้อยาส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค จึงควรสร้างความตระหนักถึงความสำคัญของเชื้อดื้อยาให้แก่ผู้ประกอบการค้าปลีกเนื้อสัตว์ และเน้นย้ำให้ใช้หลักปฏิบัติที่ดีด้านสุขอนามัยทั้งนี้ในการศึกษาต่อไปควรศึกษาปัจจัยเสี่ยงร่วมด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนสำหรับการป้องกันและควบคุมเชื้อดื้อยาอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทดสอบหาค่าความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของสำนักงานปศุสัตว์จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนที่ช่วยเก็บรวบรวมตัวอย่างเนื้อสัตว์ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ที่ช่วยเพาะแยกเชื้อและทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและจำแนกชนิดเชื้อ และผู้ที่สนับสนุนทั้งกำลังใจและกำลังกายทุกท่านที่ทำให้การศึกษานี้ประสบความสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2563. ผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ปี พ.ศ. 2560-2562. กรมปศุสัตว์กับการดำเนินงานภายใต้แผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560-2564. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด สาขา 4. กรุงเทพฯ. หน้า 18-29.
- กรมปศุสัตว์. 2566. ข้อมูลเกษตรกร/ปศุสัตว์. บริการออนไลน์. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. [Online]. Available: <https://ict.dld.go.th/webnew/index.php/th/service-ict/report>. Accessed January 14, 2024.
- ชาวนิชย์ ตรีพุทธรัตน. 2554. การวินิจฉัยทางจุลชีววิทยาต้านแบคทีเรีย: โรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย การดื้อยาต้านจุลชีพ และการระบาดของเชื้อแบคทีเรีย (ตอนที่ 1). PIDST Gazette; 17(4): 9.
- ณัฐนิชา ตียะสุขเศรษฐ์ และ ณัฐวิทย์ อิ่มมาก. 2564. การปนเปื้อนซัลโมเนลลาในเนื้อสัตว์จากโรงฆ่าสัตว์และสถานที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน ระหว่างปี 2560-2562. ผลงานวิชาการ ชำวประชาสัมพันธ์ สำนักงานปศุสัตว์เขต 5 กรมปศุสัตว์. [Online]. Available: <https://region5.dld.go.th/webnew/images/stories/2564/paper/na64201165010.pdf>. Accessed November 14, 2023.
- เดชา สิทธิกุล และ สรรเพชญ์ อังกิตติตระกูล. 2554. ความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากสุกร ชากสุกร น้ำใช้และพนักงานฆ่าสัตว์ ในโรงฆ่าสัตว์ในเขตจังหวัดขอนแก่น. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 21(1): 33-40.
- พรรณนิภา ฤทธิวิรุฬห์. 2563. กลไกการดื้อยาต้านจุลชีพในเชื้อแบคทีเรีย: แบคทีเรียดื้อยา. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยนเรศวร. หน้า 39-70.
- รุ่งทิพย์ ขวนชื่น และ พรเพ็ญ พัฒนโสภณ. 2551. การตรวจหาและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของยีนดื้อยาในเชื้อซัลโมเนลลา ที่แยกได้จากไก่และสุกรในประเทศไทย. สำนักพิมพ์ กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ฤชดา กาญจนเพ็ญ และ สุเจตน์ ชื่นชม. 2559. การปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในซากสุกรจากโรงฆ่าสุกรในพื้นที่เขต 1, 2 และ 7 ของประเทศไทย. การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 13 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน วันที่ 8-9 ธันวาคม 2559. หน้า 1943-1951.

- สรรพเพชญ์ อังกิติตระกุล ประสาน ตั้งควัฒนา อรุณี พลภักดี และ เตชา สิริพิภล. 2554. ความชุกและการดื้อต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากเนื้อวัวในเขตเทศบาลนครขอนแก่น. วารสารวิจัย มข. 16(2): 105-111.
- สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี. 2559ก. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็น ส่วนผสมในอาหารสัตว์ พ.ศ. 2559. ในพระราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 133 ตอนพิเศษ 18 ง ลงวันที่ 11 มกราคม 2559, สำนักพิมพ์คณะรัฐมนตรีและพระราชกิจจานุเบกษา, กรุงเทพฯ. หน้า 27.
- สำนักเลขาธิการคณะรัฐมนตรี. 2559ข. พระราชบัญญัติการควบคุมการฆ่าสัตว์เพื่อการจำหน่ายเนื้อสัตว์ พ.ศ. 2559. ในพระราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 133 ตอนที่ 58 ก ลงวันที่ 26 กันยายน 2559, สำนักพิมพ์ คณะรัฐมนตรีและพระราชกิจจานุเบกษา, กรุงเทพฯ. หน้า 9-25.
- Angkititrakul, S., Chomvarin, C., Chaita T., Kanistanon, K. and Waethewutajarn, S. 2005. Epidemiology of antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from pork, chicken meat and humans in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. Nov; 36(6): 1510-1515.
- Asgharpour, F., Mahmoud, S., Marashi, A. and Moulana, Z. 2018. Molecular detection of class 1, 2 and 3 integrons and some antimicrobial resistance genes in *Salmonella* spp. Infantis isolates. Iran J Microbiol. 10(2): 104-110.
- Bole, D. K. 2022. AMR Threats from Meat and Meat Products. Food safety Magazine. November 7, 2022. [Online]. Available: <https://www.food-safety.com/articles/8121-amr-threats-from-meat-and-meat-products>. Accessed November 14, 2023.
- Bradford, P.A. 1999. Automated thermal cycling is superior to traditional methods for nucleotide sequencing of blaSHV genes. Antimicrob. Agents Chemother. 43: 2960-2963.
- Chen, S., Zhao, S., White, D.G., Schroeder, C.M., Lu, R., Yang, H., McDermott, P.F., Ayers, S. and Meng J. 2004. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *salmonella* serovars isolated from retail meats. Appl Environ Microbiol. 70(1): 1-7.
- Chuanchuen, R., Khemtong, S. and Padungtod, P. 2007. Occurrence of qacE/qacED1 genes and their correlation with class 1 integrons in *Salmonella* enterica isolates from poultry and swine. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 38: 855-862.
- Chuanchuen, R., Koowatananukul, C. and Khemtong, S. 2008a. Characterization of class 1 integrons with unusual 3' conserved region from *Salmonella* enterica isolates. Southeast Asian J. Trop Med Public Health. 39: 419-424.
- Chuanchuen, R. and Padungtod, P. 2009. Antimicrobial resistance genes in *Salmonella* enterica isolates from poultry and swine in Thailand. J Vet Med Sci. 71(10): 1349-1355.

- Chuanchuen, R., Pathanasophon, P., Khemtong, S., Wannaprasat, W. and Padungtod, P. 2008b. Susceptibilities to antimicrobials and disinfectants in *Salmonella* enterica isolates obtained from poultry and swine in Thailand. J Vet Med Sci. 70: 595-501.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2019. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 29nd Edition. Pennsylvania, USA. p.1-25.
- Deng, Y., Bao, X., Ji, L., Chen, L., Liu, J., MIAO, J., Chen, D., Bian, H., Li, Y. and Yu, G. 2015. Resistance integrons: class 1, 2 and 3 integrons. Ann Clin Microbiol Antimicrob 14(45).
- Fomda, B.A., Khan, A. and Zahoor, D. 2014. NDM-1 (New Delhi metallo beta lactamase-1) producing gram-negative bacilli: Emergence & clinical implications. Indian J Med Res. 140: 672-678.
- Ferrari, R.G., Rosario, D.K.A., Cunha-Neto, A., Mano, S.B., Figueiredo, E.E.S. and Conte-Junior, C.A. 2019. Worldwide Epidemiology of Salmonella Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. Appl Environ Microbiol. 85(14): e00591-19.
- Fluit, A.C., Visser, M.R. and Schmitz, F.J. 2001. Molecular detection of antimicrobial resistance. Clin. Microbiol. Rev. 14, 836–871.
- Grimont, P.A.D. and Weill, F.X. 2007. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9th Edition, World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella, Institute Pasteur, Paris. 166 p.
- Hall, R. M. 2007. Mobile gene cassettes and integrons: moving antibiotic resistance genes in gram-negative bacteria. In: Ciba Foundation Symposium 207-Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread: Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread: Ciba Foundation Symposium 207. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd., p. 192-205.
- Hur, J., Jawale, C. and Lee, J. H. 2012. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review, Food Research International. 45(2): 819-830.
- Ian, P., Patricia, F. and Beau, B. 2023. *Salmonellosis*, Nontyphoidal. CDC Yellow Book 2024. Travel-Associated Infections & Diseases. Centers for Disease Control and Prevention Travel-Associated Infections & Diseases. Page last reviewed: May 01, 2023. [Online]. Available: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/infections-diseases/salmonellosis-nontyphoidal>. Accessed September 17, 2023.
- International Standard 6579-1: 2017 (E) First edition 2017-02. 2017. Microbiology of the food chain Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*.

- Kim, H.B., Park, C.H., Kim, C.J., Kim, E.C., Jacoby, G.A. and Hooper, D.C. 2009. Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants over a 9-Year Period. *Antimicrob Agents Chemother.* 53(2): 639-645.
- Lay, K.K., Jeamsripong, S., Sunn, K.P., Angkititrakul, S., Prathan, R., Srisanga, S. and Chuanchuen, R. 2021. Colistin Resistance and ESBL Production in *Salmonella* and *Escherichia coli* from Pigs and Pork in the Thailand, Cambodia, Lao PDR, and Myanmar Border Area. *Antibiotics.* 10: 657.
- Leverstein-van, H. M.A., Box, A.T., Blok, H.E., Paauw, A., Fluit, A.C. and Verhoef, J. 2002. Evidence of extensive interspecies transfer of integron-mediated antimicrobial resistance genes among multidrug-resistant Enterobacteriaceae in a clinical setting. *J Infect Dis.* 186(1): 49-56.
- Leverstein-van, H.M.A., Blok, H.E., T. Donders A.R., Paauw, A., Fluit, A.C. and Verhoef, J. 2003. Multidrug resistance among *Enterobacteriaceae* is strongly associated with the presence of integrons and is independent of species or isolate origin. *J Infect Dis.* 15; 187(2): 251-9.
- Ma, M., Wang, H., Yu, Y., Zhang, D. and Liu, S. 2007. Detection of antimicrobial resistance genes of pathogenic *Salmonella* from swine with DNA microarray. *J. Vet. Diagn. Invest.* 19: 161-167.
- Nair, V.T.D., Venkitanarayanan, K. and Kollanoor, J.A. 2018. Antibiotic-Resistant *Salmonella* spp. in the Food Supply and the Potential Role of Antibiotic Alternatives for Control. *Foods.* 7(10): 167.
- Nghiem, M.N., Nguyen, V.T., Nguyen, T.T.H., Nguyen, T.D. and Vo, T.T.B. 2017. Antimicrobial resistance gene expression associated from retail meat in Hanoi, Vietnam. *International Microbiology* 20(2): 85-93.
- Paauw, A., Fluit, A.C., Verhoef, J. and Leverstein-van, H.M.A. 2006. *Enterobacter cloacae* Outbreak and Emergence of Quinolone Resistance Gene in Dutch Hospital. *Emerg Infect Dis.* 12(5): 807-812.
- Patchanee, P., Tansiricharoenkul, K., Buawiratlert, T., Wiratsudakul, A., Angchokchatchawal, K., Yamsakul, P., Yano, T., Boonkhot, P., Rojanasthien, S., Tadee, P. 2016. *Salmonella* in pork retail outlets and dissemination of its pulsotypes through pig production chain in Chiang Mai and surrounding areas, Thailand. *Pre Vet Med.* 130.

- Pulsrikarn, C., Chaichana, P., Pornruangwong, S., Morita, Y., Yamamoto, S. and Boonmar, S. 2012. Serotype, Antimicrobial Susceptibility, and Genotype of *Salmonella* Isolates from Swine and Pork in Sa Kaew Province, Thailand. *Thai J Vet Med.* 42: 21-27.
- Pungpian, C., Lee, S., Trongjit, S., Sinwat, N., Angkittitrakul, S., Prathan, R., Srisanga, S. and Chuanchuen, R. 2021. Colistin resistance and plasmid-mediated mcr genes in *Escherichia coli* and *Salmonella* isolated from pigs, pig carcass and pork in Thailand, Lao PDR and Cambodia border provinces. *J Vet Sci.* 22(5): e68.
- Samuel, D., Alcaine, L., Warnick, D. and Wiedmann, M. 2007. Antimicrobial Resistance in Non-typhoidal *Salmonella*. *J Food Prot.* 70(3): 780-790.
- Sanchez-Maldonado, A.F., Aslam, M., Service, C., Narváez-Bravo, C., Avery, B.P., Johnson, R. and Jones, T.H. 2017. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from two pork processing plants in Alberta, Canada. *Int J Food Microbiol.* 241: 49-59.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide (Vol. 1-7). Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Sinwat, N., Angkittitrakul, S. and Chuanchuen, R. 2015. Characterization of Antimicrobial Resistance in *Salmonella enterica* Isolated from Pork, Chicken Meat, and Humans in Northeastern Thailand. *Foodborne Pathog Dis.* 12(9): 759-765.
- Sinwat, N., Angkittitrakul, S., Coulson, K.F., Pilapil, F.M.I.R., Meunsene, D. and Chuanchuen, R. 2016. High prevalence and molecular characteristics of multidrug-resistant *Salmonella* in pigs, pork and humans in Thailand and Laos provinces. *J Med Microbiol.* 65(10): 1182-1193.
- Thailand Surveillance of Antimicrobials Consumption (Thai SAC). 2020. Report in Human and Food-producing Animals Use and 2017-2020 Trend. [Online]. Available: <https://drug.fda.moph.go.th/media.php?id=509756746546421760&name=thai-sac-2020.pdf>. Accessed September 17, 2023.
- Thaotumpitak, V., Sripradite, J., Atwill, E.R. and Jeamsripong, S. 2023. Emergence of colistin resistance and characterization of antimicrobial resistance and virulence factors of *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella* spp. and *Vibrio cholerae* isolated from hybridred tilapia cage culture. *PeerJ.* 11(9): 1-26.
- Trongjit, S., Angkittitrakul, S., Tuttle, R.E., Pongserree, J., Padungtod, P. and Chuanchuen, R. 2017. Prevalence and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* isolated from broiler chickens, pigs and meat products in Thailand–Cambodia border provinces. *Microbiol Immunol*, 61: 23-33.
- van Essen-Zandbergen, A., Smith, H., Veldman, K. and Mevius, D. 2007. Occurrence and chara

cteristics of class 1, 2 and 3 integrons in *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in the Netherlands. J Antimicrob Chemother. 59(4): 746-50.

Yang, X., Wu, Q., Zhang, J., Huang, J., Chen, L., Wu, S., Zeng, H., Wang, J., Chen, M., Wu, H., Gu, Q. and Wei, X. 2019. Prevalence, Bacterial Load, and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Serovars Isolated from Retail Meat and Meat Products in China. Front Microbiol. 10: 2121.