RESEARCH ARTICLE

Prevalence of *Salmonella* spp. and Their Resistance to Antimicrobial Drugs in Poultry Hatchery

Ladda Mulika,[1*] Somai Yuwapanichsampan[1]

Abstract

Objective — To determine prevalence and resistance of *Salmonella* spp. to antimicrobial drugs in poultry hatchery.

Materials and Methods — *Salmonella* spp. were investigated in poultry hatchery in Chonburi, Nakhonratchasima, Saraburi, and Lopburi provinces during 2002 - 2007. A total of 8,465 samples was obtained from the meconium of newly hatched chicks and the visceral organs of dead chicken embryos. Study on antimicrobial resistance was performed by disk diffusion test using 13 antimicrobial drugs.

Results — The prevalence of *Salmonella* spp. was 16.6% (1,405/8,465 samples) with 59 serovars. *S.* Enteritidis was the most predominant serovar 9.7% (825/8,456 samples) or 56.6% of the detected isolates (825/1,457 isolates), followed by *S.* Mbandaka 1.4% (117/8,465 samples), *S.* Altona 0.7% (63/8,465 samples), *S.* Kentucky 0.5% (39/8,465 samples) and *S.* Stanley 0.4% (36/8,465 samples). *Salmonella* isolates were highly resistant to nalidixic acid (62.9%), followed by ampicillin (27.7%), streptomycin (27.7%), tetracycline (24.3%), doxycycline (22.6%), but low resistant to colistin (2.5%), norfloxacin (4.5%) and gentamicin (8.7%). Trend of S. Enteritidis resistance to 3 antimicrobial drugs increased. That was, nalidixic acid from 60.9% in 2002 to 80% in 2006, amoxicillin from 0% in 2002 to 31.6% in 2007 and ampicillin from 3.7% in 2002 to 31.6% in 2007.

Conclusion — This study indicated that *S.* Enteritidis was a major problem in poultry hatchery.

KKU Vet J. 2008;18(1):12-28 *http://vet.kku.ac.th/journal/*

Keywords: *Salmonella* spp.; Prevalence; Antimicrobial resistance; Poultry hatchery

[1] National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, Kasetklang, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand.

* **Corresponding author**: Tel. 0-2579-8910

การสำรวจความชุกของเชื้อซัลโมเนลล่าในโรงฟักไข่และการดื้อยาต้านจุลชีพ

ลัดดา มูลิกา[1*] สมหมาย ยุวพาณิชสัมพันธ์[1]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อหาความชุกของเชื้อซัลโมเนลล่า และศึกษาการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อที่แยกได้จากโรงฟักไข่

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ ทำการสำรวจความชุกของเชื้อซัลโมเนลล่าในโรงฟักไข่ จังหวัด ชลบุรี นครราชสีมา สระบุรี และลพบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2545 - 2550 จากตัวอย่างมูลลูกไก่แรกเกิด และจากอวัยวะภายในของลูกไก่ในไข่ตายโคม จำนวน 8,465 ตัวอย่าง และศึกษาการดื้อยาของเชื้อซัลโมเนลล่าที่แยกได้ ต่อยาต้านจุลชีพจำนวน 13 ชนิด โดยวิธี disk diffusion

ผลการศึกษา พบเชื้อซัลโมเนลล่า 16.6% (1,405/8,465 ตัวอย่าง) จำนวน 59 ซีโรวาร์ ซีโรวาร์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ *S.* Enteritidis 9.7% ของตัวอย่างส่งตรวจ (825/8,465) หรือคิดเป็น 56.6% ของสายพันธุ์ทั้งหมด (825/1,457) ซีโรวาร์ที่พบรองลงมาได้แก่ *S.* Mbandaka 1.4% (117/8,465), *S.* Altona 0.7% (63/8,465), *S.* Kentucky 0.5% (39/8,465) และ *S.* Stanley 0.4% (36/8,465) ผลการศึกษาการดื้อยาต้านจุลชีพ พบว่าอัตราการดื้อต่อยา nalidixic acid สูงสุด (62.9%) รองลงมาได้แก่ ampicillin (27.7%), streptomycin (27.7%), tetracycline (24.3%), doxycycline (22.6%) และมีอัตราการดื้อยาต่ำต่อ colistin (2.5%), norfloxacin (4.5%) และ gentamicin (8.7%) สำหรับเชื้อ *S.* Enteritidis มีแนวโน้มดื้อต่อยา 3 ชนิดเพิ่มขึ้นทุกปี ได้แก่ nalidixic acid จาก 60.9% ในปี พ.ศ. 2545 เป็น 80% ในปี พ.ศ.2549, amoxicillin จาก 0% ในปี พ.ศ. 2545 เป็น 31.6% ในปี พ.ศ. 2550 และ ampicillin จาก 3.7% ในปี พ.ศ. 2545 เป็น 31.6% ในปี พ.ศ. 2550

ข้อสรุป การศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่า *S.* Enteritidis เป็นปัญหาสำคัญในโรงฟักไข่

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2551;18(1):12-28 *http://vet.kku.ac.th/journal/*

คำสำคัญ: ซัลโมเนลล่า ความชุก การดื้อยาต้านจุลชีพ โรงฟักไข่

[1] สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

* **ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ:** โทรศัพท์ 0-2579-8909-14

บทนำ

ซัลโมเนลล่าเป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบปนเปื้อนในอาหาร เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการท้องร่วงในมนุษย์ พบได้ทั่วโลก เฉพาะประเทศในสหภาพยุโรปพบผู้ป่วยติดเชื้อซัลโมเนลล่า จำนวน 192,703 ราย ในปี ค.ศ.2004 [1] ในประเทศสหรัฐอเมริกาพบผู้ป่วยประมาณ 1.4 ล้านคนต่อปี เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล 16,800 ราย (1.2%) และเสียชีวิต 600 ราย [2] สำหรับประเทศไทยมีการศึกษาเชื้อซัลโมเนลล่าในผู้ป่วยระหว่างปี ค.ศ. 2003 - 2005 สามารถแยกเชื้อจากผู้ป่วยได้จำนวน 10,650 ราย ซีโรวาร์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ *S.* Enteritidis (41.8%) รองลงมา ได้แก่ *S.* Choleraesuis (25.5%), monophasic *salmonella* (11.7%), *S.* Typhimurium (5.0%) และ *S.* Stanley (2.1%) [3] การติดเชื้อในมนุษย์ส่วนใหญ่เกิดจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อ โดยแหล่งใหญ่ของเชื้อ ได้แก่ สัตว์ที่เป็นอาหารของมนุษย์ เช่น สุกร ไก่เนื้อ และไก่ไข่ ซึ่งพบมากในไก่และผลิตภัณฑ์จากไก่ [4] ในหลายประเทศพบว่า อาจเกิดจากการบริโภคไข่ไก่ดิบหรือปรุงไม่สุก [5-7] และอาจเกิดจากการบริโภคไข่เป็ดที่ปนเปื้อนเชื้อ [8,9] นอกจากปัญหาทางด้านสาธารณสุขแล้ว เชื้อซัลโมเนลล่ายังส่งผลกระทบต่อการส่งออกอีกด้วย

ปัจจุบันประเทศไทยมีการเลี้ยงสัตว์ปีกเป็นระบบอุตสาหกรรม มีการส่งออกไก่และผลิตภัณฑ์ไปจำหน่ายต่างประเทศ ปีละกว่า 35,000 ล้านบาท ซึ่งส่วนใหญ่เป็นรายได้จากการส่งผลิตภัณฑ์สัตว์ปีกปรุงสุก ผลกระทบจากการระบาดของโรคไข้หวัดนกเมื่อปี พ.ศ. 2547 ทำให้ประเทศขาดรายได้จากการส่งออกสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์ปีละประมาณ 30,000 ล้านบาท ทั้งนี้ประเทศในสหภาพยุโรป ซึ่งเป็นคู่ค้ารายใหญ่ที่ประเทศไทยส่งออกสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์ไปจำหน่ายมากที่สุด ได้ออกมาตรการด้านสุขอนามัยสัตว์ โดยเฉพาะมาตรการด้านความปลอดภัยของอาหาร มีการห้ามนำเข้าสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลล่า โดยเฉพาะ *S.* Enteritidis และ *S.* Typhimurium ซึ่งพบในมนุษย์ในสหภาพยุโรปถึง 76% และ 14% ตามลำดับ [1] ทำให้สหภาพ ยุโรปต้องวางมาตรการควบคุมโรคซัลโมเนลล่าในฟาร์มสัตว์ปีก [10]

การติดเชื้อของไก่ในฟาร์มพบได้ 2 แบบ คือ แบบ vertical transmission เป็นการติดเชื้อโดยตรงจากพ่อแม่ไก่สู่ไข่ซึ่งเกิดจากการที่เชื้อไปรวมกันในทางเดินระบบสืบพันธุ์ โดยเฉพาะที่รังไข่และท่อนำไข่ [11-15] เป็นผลทำให้มีการติดเชื้อสู่ลูกไก่ และแบบ horizontal transmission เป็นการติดเชื้อจากไก่หรือสัตว์ปีกที่มีเชื้อ และจากสิ่งแวดล้อม เช่น อาหาร นก หนู แมลง [16,17] การแพร่กระจายของเชื้อเกิดได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม ทางตรงโดยการสัมผัสกับไก่หรือสัตว์อื่นที่ป่วยหรือเป็นพาหะ ส่วนทางอ้อมโดยติดเชื้อจากเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ เช่น ถาดใส่ไข่ ยานพาหนะ อาหาร และมนุษย์ เป็นต้น โรงฟักไข่ นับเป็นแหล่งแพร่เชื้อที่สำคัญ อาจติดเชื้อจากไข่ ที่นำมาฟักมีเชื้อปนเปื้อน ทำให้แพร่เชื้อสู่ลูกไก่ตัวอื่นในโรงฟักเดียวกัน ส่งผลให้เชื้อแพร่กระจายไปยังฟาร์มที่นำไปเลี้ยงต่อไป

ปัจจุบันปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพยังคงเป็นปัญหาในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีก และทางด้านสาธารณสุข เกือบทุกประเทศทั่วโลก รายงานของ Piddock และคณะ [18] Wray และคณะ [19]

พบว่า *S.* Enteritidis phage type 4 ดื้อต่อยา furazolidone และจากการใช้ยา quinolones และ fluoroquinolones ที่เพิ่มขึ้นมากตั้งแต่กลางปี ค.ศ. 1980 ทำให้พบเชื้อดื้อยา nalidixic acid มากขึ้นด้วย สำหรับในประเทศไทย จากรายงานประจำปีของ WHO National *Salmonella* and *Shigella* Center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าเชื้อซัลโมเนลล่าที่แยกได้จากคนมีการดื้อยาหลายชนิดสูงขึ้น [20-24] และจากรายงานการดื้อยาของเชื้อที่แยกได้จากฟาร์มไก่ พบว่าเชื้อดื้อต่อยาหลายชนิดน้อยกว่า 50% ยกเว้นยา nalidixic acid ที่เชื้อดื้อยามากกว่า 50% [25-27] การดื้อยาของเชื้อส่งผลทำให้การรักษายากขึ้น ต้องมีการคิดค้นยาต้านจุลชีพชนิดใหม่ขึ้นมาเรื่อยๆเพื่อควบคุมโรค จำเป็นต้องศึกษาการดื้อยาอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพที่เหมาะสม เพื่อการรักษาโรคทั้งในมนุษย์และสัตว์

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ เพื่อทราบความชุกของการติดเชื้อซัลโมเนลล่าในโรงฟักไข่ซึ่งเป็นแหล่งเริ่มต้นของไก่ที่จะนำไปเลี้ยงเป็นไก่เนื้อพ่อแม่พันธุ์ หรือไก่เนื้อเพื่อบริโภค รวมทั้งศึกษาการดื้อยาของเชื้อ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางมาตรการควบคุมเชื้อซัลโมเนลล่า โดยคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคและเพิ่มศักยภาพในการส่งออก

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างมูลลูกไก่แรกเกิด (meconium) และหรือไข่ตายโคม (ลูกไก่ที่ตายในไข่) ที่โรงฟักไข่ของฟาร์มพ่อแม่พันธุ์ ในจังหวัดชลบุรี นครราชสีมา สระบุรี และลพบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2545 - 2550 จำนวน 4 ครั้งต่อโรงฟักไข่ต่อปี เก็บมูลลูกไก่แรกเกิด โดยยกลูกไก่ขึ้น แล้วใช้มืออีกข้างบีบบริเวณท้องเบาๆ ให้มูลไหลลงในถุงพลาสติกใหม่ที่สะอาด ลูกไก่ที่ฟักจากไข่ที่มาจากโรงเรือนเดียวกันเก็บมูล 250 ตัว ใส่ในถุงเดียวกันรวมเป็น 1 ตัวอย่าง ส่วนไข่ตายโคมที่มาจากไข่ฟักในโรงเรือนเดียวกันเก็บ 50 ฟอง ใส่ในถุงพลาสติกเดียวกันรวมเป็น 1 ตัวอย่าง [28] รวมตัวอย่างทั้งหมด 8, 465 ตัวอย่าง **(Table 1.)** ตัวอย่างทั้งหมดส่งตรวจห้องปฏิบัติการแบคทีเรียวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ ภายใน 12 ชั่วโมงหลังเก็บ ในกรณีที่ส่งไม่ทันเวลาที่กำหนด ต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 - 8˚C ก่อนนำส่งห้องปฏิบัติการ

การเพาะแยกเชื้อซัลโมเนลล่า

ใช้วิธีการที่ปรับปรุงจากวิธี ISO 6579 [29] ในกรณีที่เป็นตัวอย่างมูลลูกไก่ ชั่งตัวอย่างมูลลูกไก่ 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกใบใหม่ ส่วนกรณีที่เป็นตัวอย่างไข่ตายโคม นำลูกไก่ที่ตายอยู่ข้างในออกมาผ่าซาก ดึงถุงไข่แดงออกทิ้ง แล้วเก็บอวัยวะภายในทั้งหมดจำนวน 50 ตัว รวมใส่ในถุงพลาสติกเดียวกัน แล้วบดขยี้ด้วยมือให้ละเอียด ชั่งให้ได้น้ำหนัก 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกใบใหม่ จากนั้นใส่ buffer peptone water (BPW) (Oxoid, England) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร บ่มในตู้อบที่อุณหภูมิ 37˚C นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วตรวจหาเชื้อซัลโมเนลล่า โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะ

3 ชนิด ได้แก่ Rappaport - Vassiliadis soya (RVS) peptone broth (Oxoid, England), Tetrathionate broth (TTB) (Oxoid, England) +2% iodine solution และ Modified Semisolid Rappaport - Vassiliadis medium (MSRV) (Oxoid, England) โดยนำตัวอย่างที่เพาะใน BPW 0.1 มิลลิลิตร ใส่ใน RVS 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 41 - 42 °C และอีก 1 มิลลิลิตร ใส่ใน TTB + 2% iodine solution 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ loop แตะเชื้อจาก RVS และ TTB เพาะบน Brilliant green agar (BGA) (Difco, USA) และ Xylose lysine desoxycholate agar (XLD) (Oxoid, England) อย่างละ 1 ชุด บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 18 - 24 ชั่วโมง ใช้ loop แตะเชื้อใน BPW นำไปเพาะลงบน MSRV และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะบน BGA บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วคัดเลือกโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อซัลโมเนลล่าจาก BGA ที่มีลักษณะกลม ขนาดปานกลาง (2 - 4 มิลลิเมตร) สีชมพูขุ่นขาว อาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆ โคโลนีเป็นสีชมพู หรือสีแดงใส และจาก XLD agar เลือกโคโลนีที่มีลักษณะกลม สีแดง และมีสีดำตรงกลาง เพื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติของเชื้อต่อไป

การตรวจยืนยันและการจำแนกเชื้อซัลโมเนลล่า

นำโคโลนีที่สงสัยมาตรวจยืนยันคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยเพาะเชื้อใน Triple sugar iron agar (TSI) (Difco, USA), MIL medium (Difco, USA) และ Urea agar (Oxoid, England) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18-24 ชั่วโมง นำเชื้อที่ผ่านการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีแล้วว่าเป็นซัลโมเนลล่าไปทดสอบคุณสมบัติทางซีรั่มวิทยา เพื่อจำแนกหาชนิด ซีโรกรุ๊ป ด้วยวิธี slide agglutination โดยใช้แอนติซีรั่มที่จำเพาะกับ O-antigen ของเชื้อ (S&A Reagent LAB Ltd.) และจำแนกซีโรวาร์โดยเพาะเชื้อบน swarm agar จากนั้นนำเชื้อมาทดสอบกับแอนติซีรั่มที่จำเพาะกับ H-antigen นำ O-antigen และ H-antigen ที่ได้ไปหาซีโรวาร์โดยเปรียบเทียบ antigenic formula ตาม Kauffmann-White Scheme [30]

การทดสอบความไวของเชื้อซัลโมเนลล่าต่อยาต้านจุลชีพ

ใช้ยาต้านจุลชีพจำนวน 13 ชนิด (Oxoid, England) ได้แก่ amoxicillin, ampicillin, cephalothin, colistin, doxycycline, enrofloxacin, gentamicin, kanamycin, norfloxacin, streptomycin, trimethoprim/sulfamethoxazole, tetracycline และ nalidixic acid เพื่อทดสอบความไวของเชื้อซัลโมเนลล่าด้วยวิธี disk diffusion [31] และวิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ WHONET version 5.4 [32]

ผลการศึกษา

ผลการตรวจเชื้อซัลโมเนลล่าในระหว่างปี พ.ศ. 2545 - 2550 พบเชื้อซัลโมเนลล่า 16.6% ของตัวอย่างส่งตรวจ (1,405/8,465) ตาม **Table 1.** และซีโรวาร์ที่แยกได้ในแต่ละปีรวมทั้งหมด 59 ซีโรวาร์ พบ *S.* Enteritidis มากที่สุด คิดเป็น 9.7% ของตัวอย่างส่งตรวจ (825/8,465) หรือ

56.6% ของสายพันธุ์ที่แยกได้ (isolates) (825/1,457) โดยพบในจังหวัดสระบุรี 14.3% ลพบุรี 10.6% นครราชสีมา 8.0% และชลบุรี 7.9% ซีโรวาร์ที่พบรองลงมาได้แก่ *S.* Mbandaka (1.4%) *S.* Altona (0.7%) *S.* Kentucky (0.5%) และ *S.* Stanley (0.4%) (**Table 2.** และ **Table 3.**)

ผลการดื้อยาต้านจุลชีพ ในภาพรวมพบเชื้อซัลโมเนลล่าดื้อต่อยา nalidixic acid สูงที่สุด (62.9%) ส่วนยาต้านจุลชีพชนิดอื่นมีอัตราการดื้อยาน้อยกว่า (2.5 - 27.7%) ในกลุ่มนี้มียาอยู่ 3 ชนิดที่เชื้อมีอัตราการดื้อต่อยาต่ำ คือ colistin (2.5%), norfloxacin (4.5%) และ gentamicin (8.7%) (**Table 4.**) และพบว่าอัตราการดื้อยา tetracycline มีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน จาก 38.7% ในปี พ.ศ. 2545 ลดเหลือ 10.9% ในปี พ.ศ. 2550 และ trimethoprim/sulfamethoxazole จาก 37% ในปี พ.ศ. 2545 ลดเหลือ 10.9% ในปี พ.ศ. 2550 (**Figure 1.**) ส่วน *S.* Enteritidis มีแนวโน้มดื้อยา nalidixic acid เพิ่มขึ้น จาก 60.9% ในปี พ.ศ. 2545 เป็น 80% ในปี พ.ศ. 2549, amoxicillin จาก 0% ในปี พ.ศ. 2545 เป็น 31.6% ในปี พ.ศ. 2550 และ ampicillin จาก 3.7% ในปี พ.ศ. 2545 เป็น 31.6% ในปี พ.ศ. 2550 อัตราการดื้อยา tetracycline มี แนวโน้มลดลงจาก 48.1% ในปี พ.ศ. 2545 เหลือ 10.5% ในปี พ.ศ. 2550 trimethoprim/ sulfamethoxazole จาก 37% ในปี พ.ศ. 2545 ลดเหลือ 10.5% ในปี พ.ศ.2550 และ doxycycline จาก 38.9% ในปี พ.ศ. 2545 ลดเหลือ 26.3% ในปี พ.ศ. 2550 (**Figure 2.**)

วิจารณ์ และสรุป

การสำรวจเชื้อซัลโมเนลล่าในโรงฟักไข่ เป็นวิธีการหนึ่งในการเฝ้าระวังและควบคุมเชื้อซัลโมเนลล่าในฟาร์มสัตว์ปีก โดยเฉพาะฟาร์มพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งเป็นจุดเริ่มแรกของกระบวนการผลิตไก่ ถือเป็นการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อในฟาร์ม เป็นการตัดวงจรการแพร่เชื้อจากสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์สัตว์ปีกที่ใช้ประกอบเป็นอาหาร ไปสู่ห่วงโซ่อาหารในมนุษย์ ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการส่งออกสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์เป็นอันดับต้นๆ ของโลก คู่ค้ารายใหญ่ ได้แก่ ประเทศในสหภาพยุโรป รองลงมา ได้แก่ ญี่ปุ่น ซึ่งต้องเผชิญกับข้อกีดกันทางการค้ามากมาย รวมทั้งมาตรการด้านความปลอดภัยทางอาหาร โดยเฉพาะโรคระบาดสัตว์ปีกที่สามารถติดต่อสู่คนได้ เช่นโรคไข้หวัดนก โรคติดเชื้อซัลโมเนลล่า ซึ่งห้ามมีการปนเปื้อนในสัตว์ปีก และผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะเชื้อ *S.* Enteritidis และ *S.* Typhimurium ในอนาคตอาจผนวก *S.* Hadar, *S.* Virchow และ *S.* Infantis เข้าในซีโรวาร์ที่ห้ามมีการปนเปื้อนด้วย เนื่องจากเป็นซีโรวาร์ที่พบในคนป่วยในประเทศสหภาพยุโรป [1] สำหรับประเทศไทย นอกจากเฝ้าระวังในโรงฟักไข่แล้ว ยังได้มีการสำรวจเชื้อซัลโมเนลล่าและการดื้อยาของเชื้อในฟาร์มไก่อีกด้วย [25-27] ทั้งนี้เพื่อส่งเสริมการส่งออกและความปลอดภัยของผู้บริโภคภายในประเทศ

ผลการสำรวจเชื้อซัลโมเนลล่าจากตัวอย่างในโรงฟักไข่ใน 4 จังหวัด ระหว่างปี พ.ศ. 2545 - 2550 พบเชื้อซัลโมเนลล่า 16.6% ของตัวอย่างส่งตรวจ การติดเชื้ออาจเนื่องมาจากไข่ได้รับเชื้อผ่านทางแม่ไก่ หรือระหว่างการขนส่ง หรือภายในโรงฟักเอง ผลการสำรวจครั้งนี้ใกล้เคียงกับการรายงาน

ของพรเพ็ญ และคณะ [25] ที่แยกเชื้อจากตัวอย่างอุจจาระไก่บนสิ่งรองนอน (21.7%) อาจเป็นเพราะลูกไก่บางส่วนที่นำมาเลี้ยงมีการติดเชื้อมาก่อนทำให้เชื้อแพร่กระจายไปสู่สิ่งแวดล้อมและไก่ตัวอื่นหรือเกิดจากปัจจัยอื่น เช่น อาหาร น้ำ พาหะนำโรคได้แก่ นก หนู แมลง สัตว์อื่นๆ รวมทั้งคนและอุปกรณ์ต่างๆ ในฟาร์ม แต่ต่างจากรายงานของธงชัย และคณะ [26] และอนิรุธ และพรศิริ [27] โดยรายงานของธงชัย และคณะ [26] ทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระ (cloacal swab) และพบการติดเชื้อเพียง 5.2% ซึ่งเป็นการติดเชื้อในสัตว์โดยตรง จึงเป็นไปได้ว่าอัตราการพบเชื้อจะต่ำกว่าโรงฟักและสิ่งรองนอน ซึ่งเชื้อจะแพร่กระจายต่อไปได้มากกว่า ส่วนรายงานของ อนิรุธ และพรศิริ [27] ทำการสำรวจในพื้นที่ภาคเหนือตอนบนพบการติดเชื้อจากสิ่งรองนอนเพียง 5.5% และพบว่าเชื้อมีอัตราการดื้อยาต่ำ น่าจะเป็นเพราะมีการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพในการควบคุมโรคได้อย่างเหมาะสม สะท้อนให้เห็นว่าอัตราการพบเชื้อ อาจจะแตกต่างกันตามสถานที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของตัวอย่าง สภาพการเลี้ยงและการจัดการฟาร์ม จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า อัตราการพบเชื้อซัลโมเนลล่ามีการผันแปรระหว่างปี กล่าวคือในปี พ.ศ. 2545 ซึ่งเป็นปีแรกของการสำรวจ มีอัตราพบเชื้อซัลโมเนลล่าสูงทุกจังหวัด ตั้งแต่ 19.2% ถึง 34.6% โดยมีค่าเฉลี่ย 23.0% และอัตราการพบเชื้อระหว่างปี พ.ศ. 2546 - 2550 มีอัตราการพบลดลง แต่ใกล้เคียงกันในแต่ละปี เฉลี่ย 13.0%, 17.4%, 18.9%, 8.8% และ 14.9% ตามลำดับ บ่งชี้ว่ามีการควบคุมป้องกันโรคในฟาร์มพ่อแม่พันธุ์และโรงฟัก รวมทั้งสิ่งแวดล้อมได้ดี ยกเว้นปี พ.ศ. 2549 ที่พบลดลง (8.8%) ในจำนวนเชื้อซัลโมเนลล่าที่แยกได้ทั้งหมด พบ *S.* Enteritidis สูงสุด เฉลี่ยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 - 2550 เท่ากับ 9.7% ของตัวอย่างส่งตรวจ หรือคิดเป็น 56.6% ของสายพันธุ์ที่แยกได้ (825/1,457) และพบว่าสูงกว่าการรายงานของ ธงชัย และคณะ [26] ที่พบเชื้อ *S.* Enteritidis จากอุจจาระ เฉลี่ย 2 ปี (2543และ2545) 11.8% (13/110 สายพันธุ์) สูงกว่า พรเพ็ญ และคณะ [25] ที่พบเชื้อ *S.* Enteritidis จากตัวอย่างอุจจาระบนสิ่งรองนอน เฉลี่ยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2546 - 2548 เท่ากับ 12.9% (22/171 สายพันธุ์) และสูงกว่า อนิรุธและพรศิริ [27] ที่พบ *S.* Enteritidis จากตัวอย่างสิ่งรองนอน ช่วงปี พ.ศ. 2546 - 2548 เฉลี่ยเท่ากับ 28% (7/25 สายพันธุ์) การที่พบเชื้อ *S.* Enteritidis จากตัวอย่างในโรงฟักสูงกว่า อาจเนื่องจากมีรายงานว่า *S.* Enteritidis สามารถติดต่อจากแม่สู่ลูกผ่านทางรังไข่ได้ ดังนั้นลูกไก่จึงรับเชื้อจากแม่โดยตรง [11-15] การสำรวจครั้งนี้เป็นที่สังเกตว่าเชื้อ *S.* Corvallis ซึ่งไม่เคยพบในสัตว์มาก่อน เริ่มมีการตรวจพบในปี พ.ศ. 2547 ถึง 2550 โดยพบในจังหวัด ลพบุรี นครราชสีมา และชลบุรี ซึ่งตรงกับพรเพ็ญ และคณะ [25] ที่เริ่มตรวจพบเชื้อนี้ในปี พ.ศ. 2547 และ 2548 สอดคล้องกับการตรวจพบในคน ตามรายงานประจำปีของ WHO National Salmonella and Shigella Center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ตรวจพบ *S.* Corvallis จากคนในปี พ.ศ. 2546 - 2549 [21-24] บ่งชี้ว่าการติดเชื้อซัลโมเนลล่าในคนและสัตว์มีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ามีการติดเชื้อจากนักท่องเที่ยวต่างชาติ หรือจากการนำเข้าสัตว์ปีก หรือสัตว์ชนิดอื่น สำหรับเชื้อ *S.* Typhimurium, *S.* Virchow และ *S.* Hadar ซึ่งเป็นปัญหาในการส่งออกไปประเทศสหภาพยุโรป พบในอัตราที่ต่ำโดยเฉลี่ยช่วงปี พ.ศ. 2545 - 2550 พบ 0.1%, 0.3% และ 0.4% ของตัวอย่างส่งตรวจตามลำดับ ส่วน *S.* Infantis ตรวจไม่พบ ซึ่งใกล้เคียงกับการรายงานของ พรเพ็ญ และคณะ [25]

ที่พบ *S.* Typhimurium, *S.* Virchow, *S.* Hadar และ *S.* Infantis 0.7%, 0.8%, 0% และ 0.1% ของตัวอย่าง ส่งตรวจตามลำดับ และธงชัย และคณะ [26] พบ 0%, 1.5%, 0.1% และ 0% ของตัวอย่างส่งตรวจบ่งชี้ว่าในโรงฟักและฟาร์มมีซื้อปนเปื้อนน้อย ประกอบกับการแพร่ระบาดของเชื้ออาจไม่รุนแรง จึงทำให้อัตราการแพร่กระจายของเชื้อต่ำ จากการสำรวจครั้งนี้พบซีโรวาร์หลากหลาย รวมทั้งหมด 59 ชนิด โดยแต่ละปีจะพบซีโรวาร์ใหม่เพิ่มขึ้น สะท้อนถึงระบาดวิทยาของเชื้อว่าน่าจะมีแหล่งอมโรคหรือพาหะต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเลี้ยง เช่น อาหาร สัตว์ชนิดต่างๆ แมลง รวมทั้ง คน [33-38]

ผลการทดสอบการดื้อยาของเชื้อซัลโมเนลล่าที่แยกได้ในภาพรวมพบว่าดื้อต่อยา nalidixic acid สูงสุด (62.9%) ซึ่ง *S.* Enteritidis ก็ดื้อยาชนิดนี้ด้วยเช่นกัน (75%) และมีแนวโน้มดื้อยาสูงขึ้นจาก 60.9% ในปี พ.ศ. 2545 เป็น 80% ในปี พ.ศ. 2549 สอดคล้องกับ ธงชัย และคณะ [26] พบว่าในภาพรวมของเชื้อซัลโมเนลล่าที่แยกได้จากอุจจาระไก่ในปี พ.ศ. 2543 และ 2545 ดื้อยา nalidixic acid 63.6% รวมทั้ง *S.* Enteritidis ที่ดื้อยานี้ถึง 100% และสอดคล้องกับการศึกษาการดื้อยาต้านจุลชีพในคนที่พบว่า *S.* Enteritidis ที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2547 - 2549 ดื้อยา nalidixic acid 75%, 66.8%, และ 77% ตามลำดับ [22-25] จากข้อมูลดังกล่าว บ่งชี้ว่าเชื้อซัลโมเนลล่าดื้อต่อยา nalidixic acid ซึ่งเป็นยารุ่นแรกในกลุ่ม quinolones การใช้ยาในกลุ่มนี้จึงควรระมัดระวัง โดยใช้ให้ถูกต้องและเหมาะสม ในขนาดและระยะเวลาที่กำหนด เพื่อป้องกันการดื้อยาทั้งในคนและสัตว์ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อซัลโมเนลล่ามีอัตราการดื้อต่อยา tetracycline ลดลง จาก 38.7% ในปี พ.ศ. 2545 เหลือ 10.9% ในปี พ.ศ. 2550 และ trimethoprim/sulfamethoxazole จาก 37% ในปี พ.ศ. 2545 เหลือ 10.9% ในปี พ.ศ. 2550 สอดคล้องกับการรายงานของธงชัยและคณะ [26] ที่พบการดื้อยา tetracycline ลดลงจาก 29.4% เหลือ 17.4% และ trimethoprim/sulfamethoxazole จาก 12.8% เหลือ 0% โดยสรุปแล้วพบว่า เชื้อซัลโมเนลล่าที่แยกได้ในปี พ.ศ. 2545 - 2550 มีอัตราการดื้อยาไม่สูง (2.5 - 27.7%) ยกเว้น nalidixic acid ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ พรเพ็ญและคณะ [25] และธงชัยและคณะ [26] ที่พบว่าเชื้อซัลโมเนลล่าที่แยกได้จากอุจจาระไก่ มีอัตราการดื้อยา 2 - 32% และ 1.8 - 27.3% ตามลำดับ บ่งชี้ว่าในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่มีการควบคุมการใช้ยาได้อย่างเหมาะสม

ผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเชื้อ *S.* Enteritidis เป็นปัญหาสำคัญในโรงฟักไข่ ซึ่งจะแพร่เชื้อต่อไป เมื่อนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ หรือไก่เนื้อ และแพร่เชื้อสู่สิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดปัญหาการติดเชื้อไม่มีที่สิ้นสุด ส่งผลกระทบต่อสุขอนามัยของผู้บริโภค และอุตสาหกรรมการส่งออกสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะการส่งออกไปยังประเทศในสหภาพยุโรป ปัจจุบันคณะกรรมาธิการยุโรปได้ออกมาตรการควบคุมเชื้อซัลโมเนลล่า โดยมีเป้าหมายที่จะทำให้ประเทศที่เป็นสมาชิกของ EU ลดอุบัติการณ์ของเชื้อ *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium, *S.* Virchow, *S.* Hadar และ *S.* Infantis ลงใน adult breeding flock [39] และไก่เนื้อ [40] ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคและส่งเสริมการส่งออก กรมปศุสัตว์จึงได้ดำเนินการร่างระเบียบกรมปศุสัตว์ ว่าด้วย การควบคุมโรคซัลโมเนลล่าสำหรับสัตว์ปีก โดยกรมปศุสัตว์และผู้ประกอบการจะร่วมมือกันดำเนินการควบคุมโรค เพื่อเฝ้าระวังและควบคุมการติดเชื้อ รวมทั้งเฝ้าระวังการดื้อยาของเชื้ออย่างจริงจังและต่อเนื่อง เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคภายในประเทศและเพิ่มศักยภาพในการส่งออก

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ นางสาววิมล คำอินทร์ และนางสาวทิพย์อาภา ช่วยปล้อง ที่ช่วยปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

1. European Food Safety Authority (EFSA). Trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance in the European Union in 2004. *EFSA J.* 2006;310:23-95.
2. Mead PS, Stutsker L, Dietz V, McCaig L F, Bresee JS, Shapiro C, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(6):607-625.
3. Pulsrikarn C, Bangtrakulnonth A, Pounreongwong S, Sriyapai T, Sawanpanyalert, P. Prevalence of non-typhoidal *Salmonella* isolated from human blood and antimicrobial resistance in Thailand, 2003 - 2005. [Internet]. [cited 2008 Feb 20]. Available from: http://dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_5_001c.asp?info_id=1106
4. Vugia DJ, Mishu B, Smith M, Tavris DR, Hickman-Brenner FW, Tauxe RV. *Salmonella* Enteritidis outbreak in restaurant chain: The continuing challenges of prevention. *Epidemiol Infect.* 1993;110(1):49-61.
5. Kimura AC, Reddy V, Marcus R, Cieslak PR, Mohle-Boetani JC, Kassenborg HD, et al. Chicken comsumption is a newly identified risk factor for sporadic *Salmonella* enteritica serotype Enteritidis infections in the United States: A case - control study in FoodNet sites. *Clin Infect Dis.* 2004.;38(suppl 3):244-252.
6. Molbak K, Neimann J. Risk factors for sporadic infection with *Salmonella* Enteritidis, Denmark. *Am J Epidemiol.* 2002;156(7):654-661.
7. O'Brian S, Gillespie I, Charlett A, Adak B, Threllfall J, Ward L. National case- control study of *Salmonella* Enteritidis phage type 14b infection in England and Wales implicates eggs used in catering trade. *Eurosurveillance Weekly.* 2004;8(8):1 p.
8. Nastasi A, Mammina C, Piersante GP, Robertazzo M, Caruso P. A foodborne outbreak of *Salmonella* Enteritidis vehicled by duck and hen eggs in Southern Italy. *New Microbiol.* 1998;21(1):93-96.
9. Saitanu K, Jerngklinchan J, Koowatananukul C. Incidence of salmonellae in duck eggs in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1994;25(2):328-331.
10. European Union. Regulation (EC) No. 2160/2003. *Official Journal of the European Union.* 2003;L 325. p.1-15.
11. Humphrey TJ, Baskervill A, Chart H, Rowe B. Infection of egg-laying hens with *Salmonella* Enteritidis PT4 by oral inoculation. *Vet Rec.* 1989;125(21):531-532.

12. Gast RK, Guard-Pette J, Holt PS. Characteristics of *Salmonella* Enteritidis contamination in eggs after oral, aerosol, and intravenous inoculation of laying hens. *Avian Dis.* 2002;46(3):629-635.
13. Keller LH, Benson CE, Krotec K, Eckroade RJ. *Salmonella* Enteritidis colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs of chickens. *Infect Immun.* 1995;63(7): 2443-2449.
14. Snoeyenbos GH, Smyser CF, Roekel H. *Salmonella* Infections of the ovary and peritoneum of chickens. *Avian Dis.* 1969;13:668-670.
15. Timoney JF, Shivaprasad HL, Baker RC, Rowe B. Egg transmission after infection of hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. *Vet Rec.* 1989;125(24):600-601.
16. Lahellec C, Colin P. Relationship between serotypes of salmonellae from hatcheries and rearing farms and those from processed poultry carcasses. *Br Poult Sci.* 1985;26: 179-186.
17. Snoeyenbos GH, Carlson VL, Smyser CF, Olesiuk OM. Dynamics of *Salmonella* infection in chicks reared on litter. *Avian Dis.* 1969;13:72-83.
18. Piddock LVJ, Wray C, McLaren I, Wise R. Quinolone resistance in *Salmonella* species: veterinary pointers. *Lancet.* 1990;336:125.
19. Wray C, McLaren I, Wise R, Piddock LVJ. Nalidixic acid resistant Salmonellae. *Vet Rec.* 1990;126(19):489.
20. Bangtrakulnonth A, Pornruangwong S, Pulsrikarn C. Annual Report of Confirmed *Salmonella* and *Shigella* in Thailand 2002. The National *Salmonella* and *Shigella* Center, National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry Of Public Health, Thailand. 2002.
21. Bangtrakulnonth A, Tishyadhigama P, Bunyaraksyotin G, Nantanawoot P. Annual Report of Confirmed *Salmonella* and *Shigella* in Thailand 2003. The National *Salmonella* and *Shigella* Center, National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand. 2003.
22. Bangtrakulnonth A, Bunyaraksyotin G, Nantanawoot P. Annual Report of Confirmed *Salmonella* and *Shigella* in Thailand 2004. The National *Salmonella* and *Shigella* Center, National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand. 2004.
23. Bangtrakulnonth A, Pornruangwong S, Pulsrikarn C. Annual Report of Confirmed *Salmonella* and *Shigella* in Thailand 2005. The National *Salmonella* and *Shigella* Center, National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand. 2005.

24. Bangtrakulnonth A, Tishyadhigama P. Annual Report of Confirmed *Salmonella* and *Shigella* in Thailand 2006. The National *Salmonella* and *Shigella* Center, National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand. 2006.

25. พรเพ็ญ พัฒนโสภณ, วัชรชัย ณรงค์ศักดิ์, ศศิ เจริญพจน์. ความชุก ซีโรวาร์ และความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Salmonella* spp. ที่แยกได้จากฟาร์มไก่และสุกรในเขตภาคกลาง. *สัตวแพทยสาร.* 2550;58(2):49-63.

26. ธงชัย เฉลิมชัยกิจ, มณฑล เลิศวรปรีชา, จิโรจน์ ศศิปรียจันทร์. รูปแบบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลล่าในไก่บ้านและไก่ฟาร์ม. *สัตวแพทยสาร.* 2548;56(1):33-44.

27. อนิรุธ เนื่องเม็ก, พรศิริ พรหมกิ่งแก้ว. การดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลล่าจากฟาร์มไก่เนื้อและสุกรในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน. *ข่าวสุขภาพสัตว์ภาคเหนือ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือ (ตอนบน).* 2550;15:35-44.

28. European Union. Council Directive 92/117/EEC. *Official Journal of the European Union.* 1992;L 062. p. 38-48.

29. International Organization for Standardization (ISO). ISO 6579: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization, 1, 1, rue de Varembe, Case postale 56 CH-1211 Geneva 20, Swizerland. 2002.

30. Popoff MY. Antigenic Formulars of the *Salmonella* Serovars. 8th edition. World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella. Institute Pasteur, Paris, France. 2001.

31. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disc and dilution susceptibility test for bacteria isolation from animal ; Approved standard - Second Edition. *NCCLS document.* M31-A2, Vol. 22 No.6, Wayne, PA, USA. 2002.

32. O'Brien T, Stelling J. Whonet version 5.4. 2007. www.Who.int/drugresistance/whonet sofeware

33. ทักษิณา สอนสนิท, บัญญัติ สุขศรีงาม, อรุณ บ่างตระกูลนนท์. ระบาดวิทยาของ *Salmonella* ในแมลงสาบ. *วารสารศรีนครินทรวิโรฒวิจัยและพัฒนา.* 2531;1(3):46-53.

34. อรุณ บ่างตระกูลนนท์, สุวัฒน์ บ่างตระกูลนนท์, ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์, อัญชลี แก้วกังวาล, บัญญัติ สุขศรีงาม. การวิเคราะห์ซีโรวาร์ของซัลโมเนลล่าในจิ้งจก. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.* 2532;31(1):47-56.

35. Henzler DJ, Opitz HM. The role of mice in the epizootiology of *Salmonella* Enteritidis infection on chicken layer farms. *Avian Dis.* 1992;36(3):625-631.

36. Olsen AR, Hammack TS. Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica* and the dump fly at caged-layer houses. *J Food Protec.* 2000;63:958-960.
37. Sasipreeyajan J, Jerngklinchan J, Koowatananukul C, Saitanu K. Prevalence of salmonellae in broiler, layer and breeder flocks in Thailand. *Trop Anim Hlth Prod.* 1996;28(2): 174-180.
38. Williams JE. Salmonellas in poultry feeds - a world wide review. Part I. *World Poult Sci J.* 1981; 37:6-19.
39. European Union. Commission Regulation (EC) No. 1003/2005. *Official Journal of the European Union.* 2005;L 170. p.12-17.
40. European Union. Commission Regulation (EC) No. 646/2007. *Official Journal of the European Union.* 2007;L 151. p.19-20.

Table 1. Prevalence of *Salmonella* spp. isolated from meconium of newly hatched chicks and visceral organs of dead chicken embryos from poultry hatcheries in 4 provinces during 2002-2007.

Years	Provinces	Number of poultry hatcheries	Number of samples	Number of positive samples (%)
2002	Chonburi	5	353	71 (20.1)
	Nakhonratchasima	5	563	108 (19.2)
	Saraburi	3	228	79 (34.6)
	Lopburi	3	649	155 (23.9)
	Total	**16**	**1,793**	**413 (23.0)**
2003	Chonburi	5	382	36 (9.4)
	Nakhonratchasima	5	523	60 (11.5)
	Saraburi	4	217	42 (19.4)
	Lopburi	3	603	86 (14.3)
	Total	**17**	**1,725**	**224 (13.0)**
2004	Chonburi	5	246	30 (12.2)
	Nakhonratchasima	4	334	39 (11.7)
	Saraburi	3	155	44 (28.4)
	Lopburi	4	581	116 (20.0)
	Total	**16**	**1,316**	**229 (17.4)**
2005	Chonburi	5	227	44 (19.4)
	Nakhonratchasima	4	429	103 (24.0)
	Saraburi	4	177	33 (18.6)
	Lopburi	4	620	95 (15.3)
	Total	**17**	**1,453**	**275 (18.9)**
2006	Chonburi	5	197	17 (8.6)
	Nakhonratchasima	4	286	10 (3.5)
	Saraburi	3	110	14 (12.7)
	Lopburi	4	394	46 (11.7)
	Total	**16**	**987**	**87 (8.8)**
2007	Chonburi	4	173	9 (5.2)
	Nakhonratchasima	4	401	92 (22.9)
	Saraburi	3	141	33 (23.4)
	Lopburi	4	476	43 (9.0)
	Total	**15**	**1,191**	**177 (14.9)**
Total		**17**	**8,465**	**1,405 (16.6)**

Table 2. *Salmonella* serovars isolated from meconium of newly hatched chicks and visceral organs of dead chicken embryos from poultry hatcheries in 4 provinces during 2002-2007.

No.	2002			2003			2004			2005			2006			2007		
		n* = 1,793			n* =1,725			n* = 1,316			n* = 1,453			n* = 987			n* = 1,191	
	Serovars	Isolates	%**	Serovars	Isolates	%**	Serovars	Isolates	%**	Serovars	Isolates	%**	Serovars	Isolates	%**	Serovars	Isolates	%**
1	*S.* Enteritidis	210	11.7	*S.* Enteritidis	133	7.7	*S.* Enteritidis	156	11.9	*S.* Enteritidis	171	11.8	*S.* Enteritidis	60	6.1	*S.* Enteritidis	95	8.0
2	*S.* Mbandaka	81	4.5	*S.* Braenderup	17	1.0	*S.* Corvallis	15	1.1	*S.* Albany	13	0.9	*S.* Djugu	6	0.6	*S.* Altona	43	3.6
3	*S.* Hadar	31	1.7	*S.* Mbandaka	12	0.7	*S.* Stanley	15	1.1	*S.* Altona	13	0.9	*S.* Amsterdam	5	0.5	*S.* I.4,5,12:i:-	10	0.8
4	*S.* Virchow	18	1.0	*S.* Kentucky	8	0.5	*S.* Mbandaka	12	0.9	*S.* Mbandaka	12	0.8	*S.* Derby	4	0.4	*S.* Give	6	0.5
5	*S.* Kentucky	12	0.7	*S.* Newport	7	0.4	*S.* Hindmarsh	11	0.8	*S.* Kentucky	8	0.6	*S.* Stanley	4	0.4	*S.* Corvallis	4	0.3
6	*S.* Give	11	0.6	*S.* Ohio	7	0.4	*S.* Altona	6	0.5	*S.* Oslo	8	0.6	*S.* Corvallis	3	0.3	*S.* Kentucky	4	0.3
7	*S.* Stanley	8	0.4	*S.* Typhimurium	7	0.4	*S.* Kentucky	6	0.5	*S.* Give	7	0.5	*S.* Albany	2	0.2	*S.* Albany	3	0.3
8	*S.* Emek	7	0.4	*S.* Albany	6	0.3	*S.* Agona	4	0.3	*S.* Haardt	5	0.3	*S.*I.4,5,12:-:-	2	0.2	*S.* Istanbul	3	0.3
9	*S.* Braenderup	7	0.4	*S.* Agona	5	0.3	*S.* Cerro	4	0.3	*S.* Schwarzengrund	5	0.3	*S.* Eastbourne	1	0.1	*S.* Derby	2	0.2
10	*S.* Orion	6	0.3	*S.* Virchow	5	0.3	*S.* Yoruba	3	0.2	*S.* Stanley	5	0.3	*S.* Kentucky	1	0.1	*S.*I.6,7:-:enz$_{15}$	2	0.2
11	*S.* Amsterdam	6	0.3	*S.* Stanley	4	0.2	*S.* Amsterdam	3	0.2	*S.* Bovismorbificans	4	0.3	*S.* Virchow	1	0.1	*S.* Typhimurium	2	0.2
12	*S.* Istanbul	4	0.2	*S.* Havana	4	0.2	*S.* Istanbul	2	0.2	*S.* Ohio	4	0.3				*S.*I.6,7:-:z$_6$	1	0.1
13	*S.* Agona	4	0.2	*S.* Bovismorbificans	3	0.2	*S.* Senftenberg	2	0.2	*S.* Singapore	4	0.3				*S.* Montevideo	1	0.1
14	*S.*I.8,20:i:-	3	0.2	*S.* Anatum	2	0.1	*S.*I.6,7:z$_{10}$:-	2	0.2	*S.* Bardo	3	0.2				*S.*I.8:-:1.5	1	0.1
15	*S.* Schwarzengrund	3	0.2	*S.* Kottbus	2	0.1	*S.* Ohio	1	0.1	*S.* Istanbul	3	0.2				*S.*I.9,12:-:-	1	0.1
16	*S.* Muenchen	3	0.2	*S.*I.6,8:e,h:-	2	0.1	*S.* Typhimurium	1	0.1	*S.* Virchow	3	0.2						
17	*S.* Chester	3	0.2	*S.* Djugu	1	0.1				*S.* Alachua	2	0.1						
18	*S.* Bovismorbificans	3	0.2	*S.* Krefeld	1	0.1				*S.* Blockley	2	0.1						
19	*S.* Newport	2	0.1							*S.* Yolo	2	0.1						
20	*S.* Montevideo	1	0.1							*S.* Yoruba	2	0.1						
21	*S.* Heidelberg	1	0.1							*S.*I.4,5,12:i:-	2	0.1						
22	*S.* Cerro	1	0.1							*S.* Agona	1	0.1						
23	*S.* Altona	1	0.1							*S.* Amsterdam	1	0.1						
24	*S.* Albany	1	0.1							*S.* Anatum	1	0.1						
25	*S.*I.8:-:1,5	1	0.1							*S.* Braenderup	1	0.1						
26	*S.*I.6,7:r:-	1	0.1							*S.* Corvallis	1	0.1						
27	*S.*I.4:-:1,2	1	0.1							*S.* Emek	1	0.1						
28	*S.*I.3,10:-:-	1	0.1							*S.* Manhattan	1	0.1						
29										*S.* Rhydyfelin	1	0.1						
30										*S.* Typhimurium	1	0.1						
31										*S.* Yovokome	1	0.1						
32										*S.*I.9,12:-:-	1	0.1						
33										*S.*I.16:e,h:-	1	0.1						
	Total	**431**		**Total**	**226**		**Total**	**243**		**Total**	**290**		**Total**	**89**		**Total**	**178**	

* No. of samples ** Isolates/No. of samples

Table 3. Distribution of *Salmonella* serovars isolated from meconium of newly hatched chicks and visceral organs of dead chicken embryos from poultry hatcheries in 4 provinces during 2002-2007.

Number	Province	Saraburi		Lopburi		Nakhonratchasima		Chonburi		Total	
	No. of samples	1,028		3,323		2,536		1,578		8,465	
	Serovars	Isolates	% *	Isolates	% *	Isolates	% *	Isolates	% *	Isolates	% *
1	*S.* Enteritidis	147	14.3	351	10.6	202	8.0	125	7.9	825	9.7
2	*S.* Mbandaka	-	-	79	2.4	38	1.5	-	-	117	1.4
3	*S.* Altona	1	0.1	8	0.2	54	2.1	-	-	63	0.7
4	*S.* Kentucky	14	1.4	11	0.3	3	0.1	11	0.7	39	0.5
5	*S.* Stanley	-	-	9	0.3	23	0.9	4	0.3	36	0.4
6	*S.* Hadar	24	2.3	1	0.0	4	0.2	2	0.1	31	0.4
7	*S.* Virchow	-	-	19	0.6	3	0.1	5	0.3	27	0.3
8	*S.* Albany	5	0.5	1	0.0	13	0.5	6	0.4	25	0.3
9	*S.* Braenderup	5	0.5	4	0.1	8	0.3	8	0.5	25	0.3
10	*S.* Give	8	0.8	15	0.5	-	-	1	0.1	24	0.3
11	*S.* Corvallis	-	-	2	0.1	1	-	20	1.3	23	0.3
12	*S.* Amsterdam	2	0.2	2	0.1	10	0.4	1	0.1	15	0.2
13	*S.* Agona	-	-	12	0.4	2	0.1	-	-	14	0.2
14	*S.* I.4,5,12:i:-	-	-	-	-	12	0.5	-	-	12	0.1
15	*S.* Istanbul	10	1.0	-	-	2	0.1	-	-	12	0.1
16	*S.* Ohio	-	-	5	0.2	7	0.3	-	-	12	0.1
17	*S.* Hindmarsh	-	-	3	0.1	8	0.3	-	-	11	0.1
18	*S.* Typhimurium	1	0.1	8	0.2	1	-	1	0.1	11	0.1
19	*S.* Bovismorbificans	4	0.4	2	0.1	-	-	4	0.3	10	0.1
20	*S.* Newport	1	0.1	-	-	-	-	8	0.5	9	0.1
21	*S.* Emek	-	-	7	0.2	-	-	1	0.1	8	0.1
22	*S.* Oslo	-	-	-	-	8	0.3	-	-	8	0.1
23	*S.* Schwarzengrund	1	0.1	-	-	-	-	7	0.4	8	0.1
24	*S.* Djugu	-	-	6	0.2	1	-	-	-	7	0.1
25	*S.* Derby	5	0.5	1	0.0	-	-	-	-	6	0.1
26	*S.* Orion	6	0.6	-	-	-	-	-	-	6	0.1
27	*S.* Cerro	-	-	-	-	4	0.2	1	0.1	5	0.1
28	*S.* Haardt	-	-	-	-	5	0.2	-	-	5	0.1
29	*S.* Yoruba	-	-	-	-	5	0.2	-	-	5	0.1
30	*S.* Havana	-	-	4	0.1	-	-	-	-	4	
31	*S.* Singapore	-	-	4	0.1	-	-	-	-	4	
32	*S.* Anatum	-	-	-	-	1	-	2	0.1	3	
33	*S.* Bardo	-	-	-	-	-	-	3	0.2	3	
34	*S.* Chester	3	0.3	-	-	-	-	-	-	3	
35	*S.* Muenchen	2	0.2	-	-	-	-	1	0.1	3	
36	*S.*I.8,20:i:-	3	0.3	-	-	-	-	-	-	3	
37	*S.* Alachua	-	-	-	-	2	0.1	-	-	2	
38	*S.* Blockley	-	-	1	0.0	1	-	-	-	2	
39	*S.* Kottbus	-	-	2	0.1	-	-	-	-	2	
40	*S.* Montevideo	1	0.1	-	-	1	-	-	-	2	
41	*S.* Senftenberg	-	-	-	-	2	0.1	-	-	2	
42	*S.* Yolo	-	-	-	-	2	0.1	-	-	2	
43	*S.*I.4,5,12:-:-	-	-	-	-	-	-	2	0.1	2	
44	*S.*I.6,7:z_{10}:-	-	-	2	0.1	-	-	-	-	2	
45	*S.*I.6,7:-:enz$_{15}$	1	0.1	-	-	1	-	-	-	2	
46	*S.*I.6,8:e,h:-	-	-	-	-	2	0.1	-	-	2	
47	*S.*I.8:-:1,5	1	0.1	-	-	1	-	-	-	2	
48	*S.*I.9,12:-:-	-	-	1	0.0	1	-	-	-	2	
49	*S.* Eastbourne	-	-	-	-	1	-	-	-	1	
50	*S.* Heidelberg	-	-	-	-	-	-	1	0.1	1	
51	*S.* Krefeld	-	-	-	-	-	-	1	0.1	1	
52	*S.* Manhattan	-	-	1	0.0	-	-	-		1	
53	*S.* Rhydyfelin	-	-	-	-	-	-	1	0.1	1	
54	*S.* Yovokome	-	-	1	0.0	-	-	-	-	1	
55	*S.*I.3,10:-:-	1	0.1	-	-	-	-	-	-	1	
56	*S.*I.4:-:1,2	1	0.1	-	-	-	-	-	-	1	
57	*S.*I.6,7:r:-	1	0.1	-	-	-	-	-	-	1	
58	*S.*I.6,7:-:z_6	-	-	1	0.0	-	-	-	-	1	
59	*S.*I.16:e,h:-	-	-	-	-	-	-	1	0.1	1	
	Total	248		563		429		217		1,457	

* Isolates/No. of samples

Table 4. Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated from meconium of newly hatched chicks and visceral organs of dead chicken embryos from poultry hatcheries in 4 provinces during 2002-2007.

Years	Serovars	No. of isolates tested	% Resistance of *Salmonella* isolates												
			AMX*	AMP	CEP	COL	DOX	ENR	GEN	KAN	NOR	STR	SXT	TCY	NAL
2002	*S.* Enteritidis	27	0	3.7	11.1	0	38.9	11.1	0	0	3.8	11.1	37.0	48.1	60.9
	Other serovars	66	11.1	29.0	16.7	3.0	15.9	39.4	9.1	9.1	12.1	41.5	36.9	34.8	70.1
	Total	93	9.8	21.9	15.1	2. 2	21.1	31.2	6.5	6.5	9.8	32.6	37.0	38.7	68.0
2003	*S.* Enteritidis	25	8.3	6.2	4.0	4.0	18.2	4.0	0	0	4.0	4.0	16.0	20.0	63.6
	Other serovars	61	44.3	45.1	24.6	0	26.9	13.1	11.5	13.3	1.6	36.1	31.1	26.2	62.5
	Total	86	34.1	35.8	18.6	1.2	25.4	10.5	8.1	9.4	2.3	26.7	26.7	24.4	62.7
2004	*S.* Enteritidis	17	23.5	23.5	17.6	5.9	29.4	5.9	11.8	23.5	5.9	23.5	17.6	23.5	85.7
	Other serovars	24	29.2	33.3	12.5	0	25.0	8.3	25.0	20.8	0	37.5	8.3	16.7	46.2
	Total	41	26.8	29.3	14.6	2.4	26.8	7.3	19.5	22.0	2.4	31.7	12.2	19.5	52.2
2005	*S.* Enteritidis	22	13.6	13.6	4.5	9.1	22.7	9.1	4.5	4.5	0	9.1	9.1	18.2	78.7
	Other serovars	40	35.0	35.0	27.5	0	10.0	7.5	20.0	17.5	5.0	47.5	10.0	12.5	44.9
	Total	62	27.4	27.4	19.4	3.2	14.5	8.1	14.5	12.9	3.2	33.9	9.7	14.5	58.7
2006	*S.* Enteritidis	13	38.5	46.2	15.4	0	23.1	30.8	0	0	7.7	15.4	7.7	30.8	80.0
	Other serovars	17	33.3	33.3	11.8	0	35.3	29.4	0	5.9	0	29.4	17.6	23.5	68.4
	Total	30	35.5	38.7	13.3	0	30	30	0	3.3	3.3	23.3	13.3	26.7	75.5
2007	S. Enteritidis	19	31.6	31.6	5.3	0	26.3	5.3	0	10.5	0	0	10.5	10.5	NT**
	Other serovars	27	11.1	11.1	3.7	11.1	22.2	7.4	3.7	7.4	3.7	18.5	11.1	11.1	NT**
	Total	46	19.6	19.6	4.3	6.7	23.9	6.5	2.2	8.7	2.2	10.9	10.9	10.9	-
Total	*S.* Enteritidis	123	6.1	18.4	8.9	3.3	27	9.8	2.4	5.7	3.3	9.8	17.9	2.6	75.0
	Other serovars	235	26.1	32.3	18.3	2.1	20.6	19.6	11.9	12.4	5.1	37.2	23.5	23.4	56.8
Total		**358**	**22.2**	**27.7**	**15.1**	**2.5**	**22.6**	**16.2**	**8.7**	**10.3**	**4.5**	**27.7**	**21.6**	**24.3**	**62.9**

* AMX - Amoxicillin 10 µg AMP - Ampicillin 10 µg CEP - Cephalothin 10 µg COL - Colistin 10 µg DOX - Doxycycline 30 µg ENR - Enrofloxacin 5 µg GEN - Gentamicin 10 µg KAN - Kanamycin 30 µg NOR - Norfloxacin 10 µg STR - Streptomycin 10 µg SXT - Trimethoprim/Sulfamethoxazole 25 µg TCY - Tetracycline 30 µg NAL - Nalidixic acid 30 µg

** Not tested

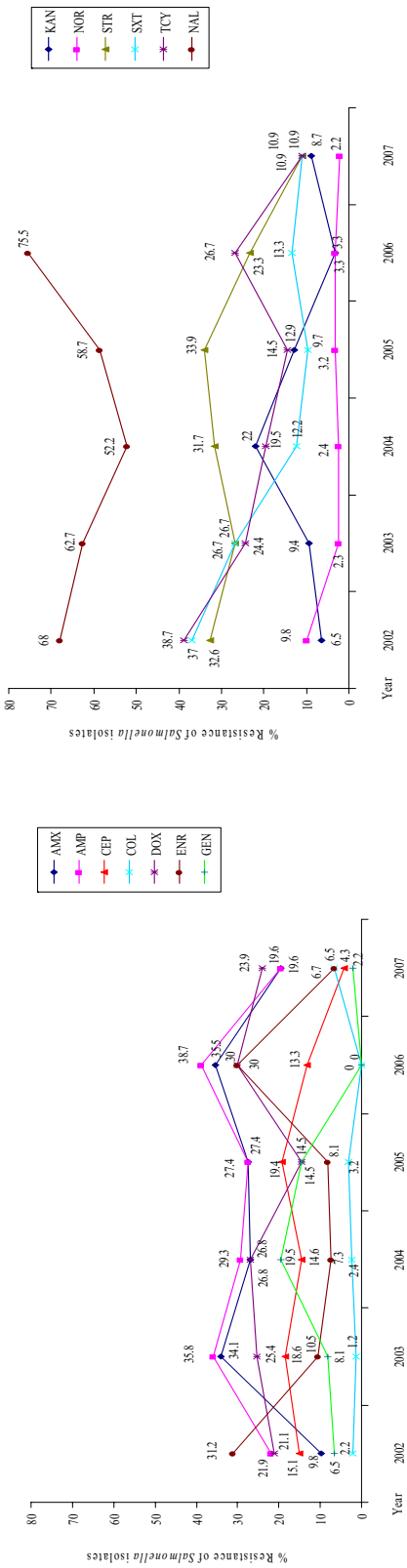

Figure 1. Percentage of antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated from meconium of newly hatched chicks and visceral organs of dead chicken embryos from poultry hatcheries in 4 provinces during 2002 - 2007.

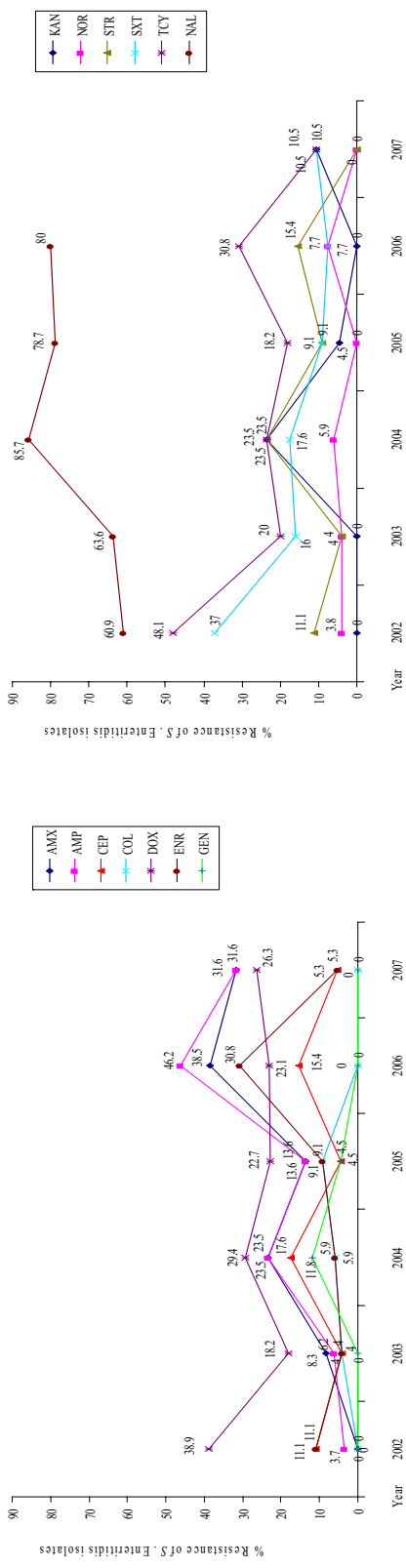

Figure 2. Percentage of antimicrobial resistance of S. *Enteritidis* isolated from meconium of newly hatched chicks and visceral organs of dead chicken embryos from poultry hatcheries in 4 provinces during 2002 - 2007.