การศึกษา *Salmonella* ในไข่ไก่ และการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

Study on *Salmonella* in hen's eggs and antibiotic susceptibility

ชลฎา ปะลา และ สุดสายชล หอมทอง*

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

Chonlada Pala and Sudsaichon Homthong*

Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131

บทคัดย่อ

การสำรวจ *Salmonella* ในไข่ไก่ จำนวน 120 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในตลาดหนองมนและตลาดนัดหลังมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนกันยายน ถึงพฤศจิกายน 2548 โดยตัวอย่างที่นำมาทดสอบจำแนกเป็นเปลือกไข่และเนื้อไข่ ผลการศึกษาพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* จากตัวอย่างเปลือกไข่ คิดเป็น 9.17 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* จาก ตัวอย่างเนื้อไข่ และพบว่ามีการแพร่กระจายของ *Salmonella* รวม 4 ซีโรวาร์ จากที่แยกได้ 11 ไอโซเลท ได้แก่ *S.* Montevideo (4), *S.* Ohio (3), *S.* Braenderup (2) และ *S.* Mbandaka (2) จากนั้นนำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ 10 ชนิด ได้แก่ แอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล ซิโปรฟอกซาซิน เจนตามัยซิน กานามัยซิน กรดนาลิดิซิค นีโอมัยซิน โพลีมิกซิน-บี ซัลฟาเมททอกซาโซล และเตตราไซคลิน พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้ทั้งหมดมีความไวต่อ แอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล ซิโปรฟอกซาซิน เจนตามัยซิน กานามัยซิน กรดนาลิดิซิค และนีโอมัยซิน, มีความไวต่อเตตราไซคลิน 72.73 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ *Salmonella* ที่แยกได้ทั้งหมด อยู่กึ่งกึ่งระหว่างการดื้อยาและความไวต่อการถูกทำลาย ด้วยโพลิมิกซิน-บี รวมทั้งทุกไอโซเลทยังดื้อต่อซัลฟาเมททอกซาโซล

คำสำคัญ : *Salmonella*, ไข่ไก่, ความไวต่อสารต้านจุลชีพ

Abstract

The survey of *Salmonella* in hen's eggs (shell and content, white and yolk) at the Nongmon market and the local market near Burapha University, Chonburi Province, was conducted from September to November, 2005. Studies revealed that among 120 analysed samples of egg shell, 9.17% were contaminated with *Salmonella* of 11 isolates composed of 4 serovars; *S.* Montevideo (4), *S.* Ohio (3), *S.* Braenderup (2) whereas none was observed in egg content. All isolates were tested againsts following antimicrobial disk, namely, ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, kanamycin, nalidixic acid, neomycin, tetracycline, polymixin B, sulphamethoxazole. Results demonstrated that all *Salmonella* were susceptible to ampicillin (100%), chloramphenicol (100%), ciprofloxacin (100%), gentamicin (100%), kanamycin (100%), nalidixic acid (100%), neomycin (100%) and tetracycline (72.73%), intermediate susceptible to polymixin B (100%) and resistance to sulphamethoxazole (100%).

Keywords : *Salmonella*, hen's eggs, antibiotic susceptibility

*** Corresponding author.**

บทนำ

ในปัจจุบันมีผู้ป่วยที่ติดเชื้อจากการรับประทานอาหารเป็นจำนวนมาก ซึ่งสาเหตุของการเกิดโรคเหล่านี้ มาจากอาหารที่รับประทานเข้าไปมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียหลายชนิด ที่สำคัญได้แก่ *Salmonella* เนื่องจาก *Salmonella* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีความรุนแรง นอกจากเป็นสาเหตุให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษระบาดสูงเป็นอันดับหนึ่งในประเทศสหรัฐอเมริกา อังกฤษ และในอีกหลายๆ ประเทศแล้ว ยังทำให้ประชากรเสียชีวิตสูงสุด โดยปกติจะพบว่าแหล่งที่อยู่อาศัยลำดับแรกของ *Salmonella* คือ ลำไส้ของสัตว์ เช่น สัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยง มนุษย์ รวมทั้งแมลง (Jay, 2000) แต่ก็พบว่ามีการปนเปื้อนในอาหาร ไข่ไก่เป็นอาหารชนิดหนึ่งพบว่ามีการปนเปื้อนของ *Salmonella* (Doyle และคณะ, 1997) ซึ่งการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในไข่ไก่อาจเนื่องมาจากไข่ไก่ไม่ได้ผ่านกระบวนการทำความสะอาดจึงเกิดการปนเปื้อนของเชื้อได้ เช่น การได้รับการปนเปื้อนโดยตรงจากอุจจาระของแม่ไก่ (Frazier และ Westhoff, 1988 ; Guthrie, 1992) โดยทั่วไปแล้วไข่ไก่จะมีสารเคลือบเปลือกไข่ที่สามารถป้องกันการแทรกผ่านของแบคทีเรียเข้าสู่ภายในไข่ได้นานประมาณ 100 ชั่วโมง หลังจากที่ไข่ออกจากแม่ไก่ แต่เมื่อเก็บไข่ไว้นาน สารเคลือบเปลือกไข่จะเริ่มแห้งร้าวและหลุดออกไป และเมื่อนำมาขาย จะมีการล้างและขัดถูเปลือกไข่ให้สะอาด ทำให้สารเคลือบเปลือกไข่หลุดไป จึงทำให้ไข่เกิดการเน่าเสีย (บัญญัติ, 2534) และอาจทำให้ผู้บริโภคเกิดโรคอุจจาระร่วง หรือโรค salmonellosis (Stadelman และ Cotterill, 1995) ซึ่งทำให้เกิดอาการคลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง และอุจจาระร่วง (Nester,และคณะ, 2004) นอกจากนี้ *Salmonella* ยังเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออกของไข่ไก่ไปยังตลาดต่างประเทศ ซึ่งการส่งออกผลิตภัณฑ์อาหารนั้นจำเป็นต้องผ่านการตรวจหา *Salmonella* ก่อนที่จะผ่านการส่งออกไปยังต่างประเทศได้ ดังนั้นเพื่อให้ทราบเป็นข้อมูลพื้นฐาน สถานการณ์การปนเปื้อน *Salmonella* ในไข่ไก่ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะตรวจหา *Salmonella* ในไข่ไก่จากการขายปลีกในตลาดสดและตลาดนัด เพราะเป็นแหล่งที่เกี่ยวข้องกับผู้บริโภคมากที่สุดและจะทำให้ทราบถึงปริมาณของ *Salmonella* ในไข่ไก่ ซึ่งสามารถนำไปใช้เสนอแนะการแก้ไขปรับปรุงกระบวนการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเก็บและรักษาไข่ไก่ได้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่นำมาศึกษาเป็นไข่ไก่ เบอร์ 2 ซึ่งแต่ละร้านรับมาจากฟาร์มประมาณ 2-3 วัน ที่จำหน่ายในตลาดหนองมนและตลาดนัดหลังมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนกันยายน ถึงพฤศจิกายน 2548 โดยเก็บจากตลาดหนองมน 2 ร้านๆ ละ 40 ตัวอย่าง และเก็บจากตลาดนัด 1 ร้าน จำนวน 40 ตัวอย่าง ซึ่งทั้ง 3 ร้านจะเก็บครั้งละ 10 ตัวอย่าง สลับกันไป รวมจำนวน 120 ตัวอย่าง

2. การตรวจหาเชื้อจากตัวอย่าง (ดัดแปลงมาจากรายงานของ Hara-Kudo และคณะ, 2001)

2.1 ตัวอย่าง (เปลือกไข่) ใช้วิธี swab test ด้วยไม้พันสำลีฆ่าเชื้อ ใส่ลงใน buffered peptone water ที่เติม cysteine (0.2 mg/L) (BPW + C) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

2.2 ตัวอย่าง (ไข่ขาว + ไข่แดง) 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ เติม buffered peptone water ที่เติม cysteine 225 มิลลิลิตร ลงไป นำไปตีผสมด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 60 วินาที บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

2.3 นำตัวอย่างจากข้อ 2.1 และ ข้อ 2.2 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Rappaport - Vassiliadis broth (RVS) และ tetrathionate broth (TT) อย่างละ 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อ หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาขีดแยกเชื้อให้ได้โคโลนีเดี่ยว บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant - green Phenol - red Lactose Sucrose agar (BPLS) และ Xylose lysine deoxycholate agar (XLD) บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (โคโลนีที่คาดว่าเป็น *Salmonella* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ BPLS จะมีโคโลนีสีชมพู จานอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD จะมีโคโลนีสีแดงตรงกลางมีสีดำ) เลือกโคโลนีที่คาดว่าเป็น *Salmonella* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองมาขีดแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BPLS และ XLD อีกครั้ง (restreak) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เลือกโคโลนีจากอาหารเลี้ยงดังกล่าวมาเพาะเชื้อลงบน Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปทดสอบสมบัติทางชีวเคมีต่อไป

3. การทดสอบสมบัติทางชีวเคมีของ *Salmonella*

นำเชื้อที่ได้แยกบริสุทธิ์มาทดสอบด้วยการย้อมสีแกรม และทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีเพื่อยืนยันว่าเป็น *Salmonella* ตามวิธีของ Koneman และคณะ (1994) และ Forbes และคณะ (2002) โดยทดสอบ Triple sugar iron agar (TSI), Lysine iron agar (LIA) , Indole, Urea agar, Simmons citrate agar และทดสอบการเคลื่อนที่ในอาหาร Motile test medium โดยมีเชื้อ *Salmonella* Enteridis DMST 15676 เป็นเชื้อมาตรฐานใช้เป็นชุดควบคุมในการทดสอบสมบัติทางชีวเคมีด้วย

4. การจัดจำแนกเป็นซีโรวาร์

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้และทดสอบแล้วจากข้อ 3 ว่าเป็น *Salmonella* ส่งให้สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (ฝ่าย WHO National *Salmonella* and *Shigella* Center) ทดสอบยืนยันและจัดจำแนกเป็นซีโรวาร์ต่อไปซึ่งการทดสอบจะใช้ O-antiserum และ H-antiserum ของ *Salmonella* ที่ผลิตโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

5. การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

นำเชื้อบริสุทธิ์มาทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพด้วยวิธี disc diffusion method สารต้านจุลชีพที่ใช้มี 10 ชนิด เป็นของบริษัท Oxoid ได้แก่ แอมพิซิลลิน เข้มข้น 10 ไมโครกรัม คลอแรมฟินิคอล เข้มข้น 30 ไมโครกรัม ซิโปรฟอกซาซิน เข้มข้น 5 ไมโครกรัม เจนตามัยซิน เข้มข้น 10 ไมโครกรัม กานามัยซิน เข้มข้น 30 ไมโครกรัม กรดนาลิดิซิค เข้มข้น 10 ไมโครกรัม นีโอมัยซิน เข้มข้น 30 ไมโครกรัม โพลีมิกซิน-บี เข้มข้น 300 หน่วย ซัลฟาเมททอกซาโซล เข้มข้น 25 ไมโครกรัม และ เตตราไซคลิน เข้มข้น 30 ไมโครกรัม สารต้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบเป็นแบบ sensitivity disc มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.35 มิลลิเมตร มีวิธีการทดลองดังนี้ คือ

5.1 ถ่ายเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหาร Trypticase soy broth (TSB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 ชั่วโมง ให้มีความขุ่นเท่ากับความขุ่นมาตรฐานของ Mcfarland No. 0.5 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร จะได้ค่าการดูดกลืนแสงระหว่าง 0.08 - 0.1 ซึ่งมีจำนวนเชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/มิลลิลิตร (นันทนา, 2537)

5.2 นำ suspension ของเชื้อมาเกลี่ยแบบ spread plate technique ด้วยไม้พันสำลีฆ่าเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar แล้ววาง sensitivity disc ของสารต้านจุลชีพทั้ง 10 ชนิดลงไป โดยแบ่งเป็น 2 จานๆ ละ 5 ชนิด ทำ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง แล้วตรวจผลการทดลอง โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone หรือ inhibition zone แล้วนำไปเปรียบเทียบกับตารางมาตรฐานการเปรียบเทียบความไวต่อสารต้านจุลชีพและแปลผลเป็นเชื้อที่มีความไวต่อการถูกทำลาย (susceptible) อยู่กึ่งกลางระหว่างการดื้อยาและความไวต่อการถูกทำลาย (intermediate susceptible) หรือดื้อต่อยา (resistant) แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตารางมาตรฐานที่ใช้แปลผลว่าเชื้อมีความไวต่อสารต้านจุลชีพหรือไม่ซึ่งวัดได้จากความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone

สารต้านจุลชีพ	ขนาดบรรจุในยาแต่ละ disc (ไมโครกรัม)	เส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone (มิลลิเมตร)		
		ดื้อต่อยา	ปานกลาง	ไวต่อยา
แอมพิซิลลิน	10	13 หรือน้อยกว่า	14-16	17 หรือมากกว่า
คลอแรมฟินิคอล	30	12 หรือน้อยกว่า	13-17	18 หรือมากกว่า
ซิโปรฟอกซาซิน	5	15 หรือน้อยกว่า	16-20	21 หรือมากกว่า
เจนตามัยซิน	10	12 หรือน้อยกว่า	13-14	15 หรือมากกว่า
กานามัยซิน	30	13 หรือน้อยกว่า	14-17	18 หรือมากกว่า
กรดนาลิดิซิค	10	13 หรือน้อยกว่า	14-18	19 หรือมากกว่า
นีโอมัยซิน	30	12 หรือน้อยกว่า	13-16	17 หรือมากกว่า
โพลีมิกซิน - บี	300 (หน่วย)	13 หรือน้อยกว่า	14-18	19 หรือมากกว่า
ซัลฟาเมททอกซาโซล	25	10 หรือน้อยกว่า	11-15	16 หรือมากกว่า
เตตราไซคลิน	30	14 หรือน้อยกว่า	15-18	19 หรือมากกว่า

(ที่มา : Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005)

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. *Salmonella* ในไข่ไก่

จากการสำรวจการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในไข่ไก่ เบอร์ 2 ที่จำหน่ายปลีกจากตลาดหนองมนและตลาดนัดหลังมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนกันยายน ถึง พฤศจิกายน 2548 รวมจำนวน 120 ตัวอย่าง จากการแยกเชื้อจากตัวอย่างเปลือกไข่และเนื้อไข่พบโคโลนีที่คาดว่าเป็น *Salmonella* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD และ BPLS จากตัวอย่างเปลือกไข่เท่านั้น กล่าวคือลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD มีโคโลนีกลม ขอบเรียบ สีแดง ตรงกลางมีสีดำ แสดงว่าเชื้อนี้สามารถสร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ และลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BPLS มีโคโลนีกลม ขอบเรียบ สีชมพู แสดงว่าเชื้อนี้ไม่สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแล็กโตส และซูโครสได้ เมื่อนำเชื้อที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD และ BPLS ไปทดสอบด้วยวิธีทางชีวเคมี เพื่อยืนยันว่าเป็น *Salmonella* พบว่าตัวอย่างเปลือกไข่ 120 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* 11 ไอโซเลท จาก 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 9.17 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการปนเปื้อนในตัวอย่างเนื้อไข่ ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ ชูศักดิ์ และ ศศิ (2534) ที่ศึกษาการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในไข่ไก่ จากตลาดต่างๆ ในกรุงเทพมหานคร พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* จากตัวอย่างเปลือกไข่ 31 ตัวอย่าง คิดเป็น 15.5 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบ *Salmonella* ในตัวอย่างเนื้อไข่ และสอดคล้องกับรายงานของ ยศนันท์ (2540) ที่ศึกษาการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในไข่ไก่ จากตลาดและห้างสรรพสินค้าในบริเวณกรุงเทพมหานคร พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* จากตัวอย่างเปลือกไข่ คิดเป็น 4.76 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบในตัวอย่างเนื้อไข่เช่นกัน นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในประเทศอัลบาเนียของ Telo และคณะ (1999) ที่ศึกษาการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในไข่ไก่นำเข้า พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* จากเปลือกไข่ คิดเป็น 1.26 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบในตัวอย่างเนื้อไข่ แต่ผลการทดลองนี้ต่างจากรายงานการศึกษาในประเทศอินเดียของ Suresh และคณะ (2006) ที่ศึกษาการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในไข่ไก่จากร้านค้าขายปลีกบริเวณชุมชนของเมืองโคอิมบะโทริ ซึ่งพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* จากตัวอย่างเปลือกไข่ คิดเป็น 5.9 เปอร์เซ็นต์ และพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในตัวอย่างเนื้อไข่ด้วย คิดเป็น 1.8 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองที่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในตัวอย่างเปลือกไข่อาจเนื่องมาจากอุจจาระของแม่ไก่ที่ติดมากับเปลือกไข่มือมนุษย์ที่เก็บไข่ และถาดใส่ไข่ (Frazier และ Westhoff, 1988 ; Guthrie, 1992 ; Kuha, 2001 ; Suresh และคณะ, 2006) สำหรับผลการทดลองที่ไม่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในตัวอย่างเนื้อไข่อาจเนื่องมาจากตัวอย่างไข่ไก่ที่นำมาศึกษาเป็นไข่ไก่ใหม่ทำให้ส่วนของไข่ขาวมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย และในไข่ขาวยังมีเอนไซม์ lysozyme จำนวนมากที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ นอกจากนี้ยังพบว่าในส่วนของไข่แดงก็มีเอนไซม์ lysozyme และ avidin เป็นจำนวนมากเช่นกัน จึงสามารถป้องกันการเจริญของแบคทีเรียได้ (บัญญัติ, 2534) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ไม่พบ *Salmonella* ในตัวอย่างเนื้อไข่ มีรายงานการศึกษาในประเทศทรินิแดดของ Adesiyun และคณะ (2007) และรายงานการศึกษาในประเทศอินเดียของ Suresh และคณะ (2006) กล่าวว่าการที่จะพบ *Salmonella* ในเนื้อไข่มีสาเหตุมาจากการแตกร้าวของเปลือกไข่ ทำให้ *Salmonella* ที่ติดมากับเปลือกไข่เข้าไปในเนื้อไข่ได้ จากที่กล่าวมาข้างต้นจะพบว่าสาเหตุของการปนเปื้อนของ *Salmonella* ที่พบในตัวอย่างเปลือกไข่มีหลายสาเหตุ ไม่ว่าจะเป็นการปนเปื้อนมาจากอุจจาระของแม่ไก่ มือมนุษย์ที่เก็บไข่ ถาดใส่ไข่ ตลอดจนการทำความสะอาดเปลือกไข่ก่อนนำมาจำหน่าย หรืออาจมาจากรังไข่ของแม่ไก่ที่ติดเชื้อ (Adesiyun และคณะ, 2007)

2. การทดสอบทางเซรุ่มวิทยา

จากการส่ง *Salmonella* จำนวน 11 ไอโซเลท ที่แยกได้จากตัวอย่างเปลือกไข่ให้สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (ฝ่าย WHO National *Salmonella* and *Shigella* Center) เพื่อทดสอบยืนยันและจัดจำแนกเป็นซีโรวาร์ พบว่าจัดจำแนกได้เป็น *S.* Montevideo จำนวน 4 ไอโซเลท (3.33 เปอร์เซ็นต์), *S.* Ohio จำนวน 3 ไอโซเลท (2.5 เปอร์เซ็นต์), *S.* Braenderup จำนวน 2 ไอโซเลท (1.67 เปอร์เซ็นต์), และ *S.* Mbandaka จำนวน 2 ไอโซเลท (1.67 เปอร์เซ็นต์) ซึ่ง *Salmonella* ทั้ง 4 ซีโรวาร์ ที่พบจากการทดลองนี้ก็เป็นซีโรวาร์ที่สามารถตรวจพบว่าปนเปื้อนได้ทั้งในเปลือกไข่ มือคนงานที่เก็บไข่ ถาดใส่ไข่ น้ำล้างไข่ในฟาร์มไก่ และในคนงาน ดังรายงานของ ชูศักดิ์ และ ศศิ (2534) ที่พบการปนเปื้อนของ *S.* Montevideo, *S.* Mbandaka และ *S.* Ohio จากตัวอย่างเปลือกไข่ในกรุงเทพมหานคร รายงานของ Kuha (2001), Suresh และ

คณะ (2006) และ Erdem และคณะ (2005) ที่พบการปนเปื้อนของ *S.* Braenderup ในถาดใส่ไข่ และมือคนงานที่เก็บไข่ รายงานของ Jay (2000) ที่พบการปนเปื้อนของ *S.* Mbandaka และ *S.* Montevideo ในตัวอย่างเปลือกไข่ รายงานการศึกษาในประเทศทรินิแดดของ Adesiyun และคณะ (2007) ที่พบการปนเปื้อนของ *S.* Ohio จากตัวอย่างเปลือกไข่ในฟาร์มไก่ ห้างสรรพสินค้า และแหล่งขายปลีกอื่นๆ รายงานการศึกษาในประเทศญี่ปุ่นของ Murase และคณะ (2001) ที่พบการปนเปื้อนของ *S.* Montevideo และ *S.* Mbandaka จากน้ำล้างไข่ในฟาร์มไก่ ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า *Salmonella* ที่พบทั้งในเปลือกไข่ ถาดใส่ไข่ คน อาหารสัตว์ และสิ่งแวดล้อมต่างๆ เป็นซีโรวาร์ชนิดเดียวกัน ดังนั้นโอกาสการปนเปื้อนของ *Salmonella* สามารถเกิดขึ้นได้ไม่ว่าจากอาหารสัตว์ก่อนแพร่กระจายไปสู่สัตว์ คน หรือในขณะเดียวกันอาจมีการแพร่จากคนไปสู่สิ่งแวดล้อมได้เช่นกัน

3. การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

จากการศึกษาความไวต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* ที่ได้จากเปลือกไข่ ด้วยวิธี disc diffusion method โดยสารต้านจุลชีพที่ใช้มี 10 ชนิด ได้แก่ แอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล ซิโปรฟอกซาซิน เจนตามัยซิน กานามัยซิน กรดนาลิดิซิค นีโอมัยซิน โพลีมิกซิน-บี ซัลฟาเมททอกซาโซล และเตตราไซคลิน ได้ผลดังตารางที่ 2 ซึ่งพบว่า *Salmonella* ที่แยกได้ทั้งหมดไวต่อสารต้านจุลชีพแอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล ซิโปรฟอกซาซิน เจนตามัยซิน กานามัยซิน กรดนาลิดิซิค และนีโอมัยซิน สำหรับเตตราไซคลินพบว่าสามารถยับยั้ง *Salmonella* ได้ 72.73 เปอร์เซ็นต์ สำหรับซัลฟาเมททอกซาโซลนั้นพบว่า *Salmonella* ทุกไอโซเลท ดื้อต่อยา ส่วนโพลิมิกซิน- บี ให้ผลทดสอบต่อ *Salmonella* ทุกไอโซเลทอยู่กึ่งกลางระหว่างการดื้อยาและความไวต่อการถูกทำลาย

จากผลการศึกษานี้เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาจากรายงานอื่นๆ พบว่ามีทั้งให้ผลสอดคล้องใกล้เคียงและให้ผลแตกต่างกัน โดยรายงานที่ให้ผลสอดคล้องใกล้เคียงคือ รายงานของ Antunes และคณะ (2003) ที่พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์สัตว์ปีกมีความไวต่อคลอแรมฟินิคอล 97 เปอร์เซ็นต์ ไวต่อกานามัยซิน 97 เปอร์เซ็นต์ ไวต่อเตตราไซคลิน 64 เปอร์เซ็นต์ รายงานของ Suresh และคณะ (2006) ที่พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้จากไข่และถาดใส่ไข่ ไวต่อคลอแรมฟินิคอล เจนตามัยซิน นีโอมัยซิน ซิโปรฟอกซาซิน ทั้งหมด รายงานของ Adesiyun และคณะ (2007) ที่พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้จากไข่ในฟาร์มไก่ ห้างสรรพสินค้า และแหล่งขายปลีกอื่นๆ มีความไวต่อเจนตามัยซิน 98.6 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* ที่ได้จากเปลือกไข่

ซีโรวาร์	จำนวนไอโซเลท	สารต้านจุลชีพ									
		AMP	C	CIP	CN	K	NA	N	PB	RL	TE
S. Montevideo	2	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S
	2	S	S	S	S	S	S	S	I	R	R
S. Ohio	3	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S
S. Braenderup	2	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S
S. Mbandaka	1	S	S	S	S	S	S	S	I	R	R
	1	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S

หมายเหตุ :

S	= Susceptible	I	=	Intermediate susceptible	R	=	Resistance
AMP	= แอมพิซิลลิน (ampicillin)	NA	=	กรดนาลิดิซิค (nalidixic acid)			
C	= คลอแรมฟินิคอล (chloramphenicol)	N	=	นีโอมัยซิน (neomycin)			
CIP	= ซิโปรฟอกซาซิน (ciprofloxacin)	PB	=	โพลีมิกซิน - บี (polymixin B)			
CN	= เจนตามัยซิน (gentamicin)	RL	=	ซัลฟาเมททอกซาโซล (sulphamethoxazole)			
K	= กานามัยซิน (kanamycin)	TE	=	เตตราไซคลิน (tetracycline)			

ไวต่อกานามัยซิน 97.3 เปอร์เซ็นต์ ไวต่อนาลิดิซิค 92.2 เปอร์เซ็นต์ และดื้อต่อซัลฟาเมททอกซาโซลทั้งหมด สำหรับรายงานที่ให้ผลแตกต่างจากผลการศึกษานี้มีจากรายงานของ Threlfall และคณะ (2003) ที่พบว่าในปี 1999 *Salmonella* ที่แยกได้จากมนุษย์ใช้มีความไวต่อ ซิโปรฟอกซาซิน 20 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2000 มีความไว 22 เปอร์เซ็นต์ และในปี 2001 มีความไว 26 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานของ Erdem และคณะ (2005) ที่พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้จากมนุษย์มีความไวต่อแอมพิซิลลิน 74 เปอร์เซ็นต์ ไวต่อคลอแรมฟินิคอล 84 เปอร์เซ็นต์ ไวต่อเตตราไซคลิน 97 เปอร์เซ็นต์ จากรายงานของ Suresh และคณะ (2006) ที่พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้จากไข่และถาดใส่ไข่ ดื้อต่อแอมพิซิลลิน โพลิมิกซิน-บี และเตตราไซคลิน ทั้งหมด ดื้อต่อซัลฟาเมททอกซาโซล 18.2 เปอร์เซ็นต์ ไวต่อกานามัยซิน 68.9 เปอร์เซ็นต์ และไวต่อกรดนาลิดิซิค 60 เปอร์เซ็นต์

การที่สารต้านจุลชีพต่างๆ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* ได้ดีนั้นเนื่องมาจากมีกลไกต่างๆ ที่มีผลต่อแบคทีเรีย ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ตามชนิดของสารต้านจุลชีพ คือกลไกการยับยั้งของแอมพิซิลลินนั้นเนื่องมาจากการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยจะขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ tranpeptidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการเชื่อมต่อ peptide bridge ของ N-acetyl muramic acid - peptides ดังนั้นจึงขัดขวางการเกิด cross - linkage ของ mucopeptide chain (Forbes และคณะ, 2002) สำหรับคลอแรมฟินิคอล เป็นยากลุ่มฟินิคอลที่สามารถทำลายทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ โดยสารต้านจุลชีพกลุ่มฟินิคอลสามารถขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งกลไกในการยับยั้ง คือจะไปจับกับหน่วยย่อย 50S ของไรโบโซม ไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ peptidyl tranferase ทำให้ peptide bond ไม่เกิดขึ้น เป็นเหตุให้การสร้างโปรตีนไม่เกิดขึ้นตามปกติ (Mims, และคณะ, 1993 ; Tortora และคณะ, 2005) ส่วนเจนตามัยซิน กานามัยซิน และนีโอมัยซิน เป็นยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ ซึ่งเป็นสารต้านจุลชีพที่สามารถขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน โดยจะจับกับหน่วยย่อย 30S อย่างถาวร และขัดขวางการเกาะของ aminoacyl - tRNA ที่หน่วยย่อย 30S ทำให้ไม่สามารถสร้างสายของ peptide ขึ้นมาได้ (Creager, และคณะ, 1990)

เตตราไซคลิน เป็นยากลุ่มเตตราไซคลินที่สามารถขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน โดยจะจับกับหน่วยย่อย 30S ของไรโบโซม และการจับกับหน่วยย่อย 30S จะไปขัดขวางการจับของ aminoacyl-tRNA บน mRNA ทำให้ไม่สามารถสร้างสายของ peptide ขึ้นมาได้ นอกจากนี้การที่ *Salmonella* ดื้อต่อเตตราไซคลินได้บางส่วนนั้นเนื่องมาจากกลไกการดื้อยากล่าวคือจะเกิดการควบคุมของ R - factor ในแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน และเกิดการซึมผ่านของยาเข้าสู่เซลล์ กล่าวคือในแบคทีเรียที่ถูกทำลายได้ง่ายจะมีการซึมผ่านของยาเข้าสู่เซลล์ได้อย่างรวดเร็ว (Sherris, 1991)

ซิโปรฟอกซาซิน และกรดนาลิดิซิค เป็นยากลุ่ม 4 - ควิโนโลน ที่สามารถยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค ซึ่งกลไกในการยับยั้งคือสามารถยับยั้งการทำงานของ DNA gyrase จะมีผลทำให้การสร้าง DNA หยุดชะงักได้ (Forbes และคณะ, 2002 ; Madigan และคณะ, 2003 ; Mims และคณะ, 1993) ส่วนโพลีมิกซิน-บี เป็นยากลุ่มโพลีมิกซินที่มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งมีกลไกในการยับยั้งคือสามารถจับกับ ionized phosphate group ใน phospholipids ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ lipoprotein ถูกทำลาย นอกจากนี้สารต้านจุลชีพกลุ่มโพลีมิกซินจะไปแทนที่ลิปิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ จึงเกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้าน permeability ของเยื่อหุ้มเซลล์ (Creager และคณะ, 1990 ; Mims และคณะ, 1993)

ซัลฟาเมททอกซาโซล เป็นยากลุ่มซัลโฟนาไมด์ ซึ่งกลไกการดื้อยามีสาเหตุมาจากการเพิ่มปริมาณการผลิตสารและเอนไซม์เพื่อแข่งกับปริมาณยาของแบคทีเรีย กล่าวคือยากลุ่มซัลโฟนาไมด์มีสูตรโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึม ทำให้เกิดการแย่งจับเอนไซม์ที่จะใช้ในกระบวนการ ถ้าเชื้อสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตสารดังกล่าวเพื่อแข่งกับปริมาณยา จะทำให้สามารถแย่งจับกับเอนไซม์กลับคืนมาเพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิสมตามปกติต่อไปได้ เช่น การเพิ่มระดับของ p-aminobenzoic acid จึงทำให้แบคทีเรียสามารถดื้อยากลุ่มซัลโฟนาไมด์ได้ หรือถ้ามีการเพิ่มเอนไซม์ dihydropteroate synthetase ก็จะทำให้เชื้อดื้อยากลุ่มนี้ได้เช่นกัน (Mims และคณะ, 1993)

จากรายงานต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่าความไวของ *Salmonella* ต่อสารต้านจุลชีพชนิดเดียวกันมีทั้งดื้อต่อยาและไวต่อยาที่ทดสอบ อาจเนื่องมาจากแหล่งที่มาของ *Salmonella* ที่ต่างกัน หรืออาจเนื่องมาจากในแต่ละประเทศมีการใช้สารต้านจุลชีพในปริมาณที่ต่างกันจึงทำให้การดื้อต่อยาของเชื้อต่างกันด้วย ดังรายงานของ Zhao และคณะ (2003) ที่ทดสอบการดื้อยาของ *Salmonella* ที่แยกได้จากอาหารนำเข้าจากประเทศต่างๆ พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้จากแต่ละประเทศมีการดื้อยาที่แตกต่างกัน ยกตัวอย่างเช่น รายงาน

การศึกษาในประเทศตุรกีของ Erdem และคณะ (2005) ที่พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้จากมนุษย์มีความไวต่อแอมพิซิลลิน 74 เปอร์เซ็นต์ และรายงานการศึกษาในประเทศอินเดียของ Suresh และคณะ (2006) ที่พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้จากไข่และถาดใส่ไข่ดื้อต่อแอมพิซิลลิน 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลการทดลองที่แตกต่างจากผลการทดลองนี้ ซึ่งจะเห็นว่า *Salmonella* มีแหล่งที่มาที่ต่างกัน จึงทำให้เชื้อดื้อต่อยาได้ต่างกันด้วย

จากการสำรวจ *Salmonella* ในไข่ไก่พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้มาจากเปลือกไข่เพียงอย่างเดียว นั่นแสดงว่าการสัมผัสกับไข่ไก่อาจเกิดอันตรายจากการติดเชื้อก็เป็นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับแม่ค้าขายไข่ไก่ เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่พันธุ์ไข่ หรือแม้แต่ผู้บริโภคต้องมีความระมัดระวังการติดเชื้อจากการสัมผัสกับไข่ไก่ อาจมีการป้องกันโดยการสวมถุงมือทุกครั้งก่อนที่จะจับไข่ไก่ แต่การกระทำดังกล่าวก็เป็นเพียงการป้องกันที่ปลายเหตุ ควรมีการป้องกันตั้งแต่สาเหตุของการแพร่เชื้อมาสู่ไข่ไก่ เริ่มจากอาหารไก่ สภาพแวดล้อมของฟาร์มไก่ การขนส่ง ถาดใส่ไข่ หรือแม้แต่การเก็บรักษาไข่ และการทำความสะอาดไข่ก่อนการนำไปบริโภคต่อไป สิ่งต่างๆ เหล่านี้ล้วนมีความสำคัญต่อการป้องกันการปนเปื้อนของ *Salmonella* ได้ทั้งนั้น และจากการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* ที่แยกได้จากเปลือกไข่พบว่า มี *Salmonella* บางสายพันธุ์ที่ดื้อต่อสารต้านจุลชีพที่นำมาทดสอบจึงนับว่าเป็นปัญหาสำคัญต่อด้านสาธารณสุข แต่ก็มีสารต้านจุลชีพหลายชนิดที่สามารถยับยั้ง *Salmonella* ได้ ซึ่งจากการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* นี้ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลสำคัญ ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อนี้ต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การสำรวจการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในไข่ไก่เบอร์ 2 ที่จำหน่ายปลีกจากตลาดหนองมน และตลาดนัดหลังมหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนกันยายน ถึงพฤศจิกายน 2548 รวมจำนวน 120 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างที่นำมาทดสอบจำแนกเป็นเปลือกไข่และเนื้อไข่ ผลการทดลองพบการปนเปื้อนของ *Salmonella* ที่แยกได้จากตัวอย่างเปลือกไข่จำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็น 9.17 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* จากตัวอย่างเนื้อไข่ และเมื่อนำ *Salmonella* จำนวน 11 ตัวอย่าง ที่แยกได้จากเปลือกไข่ไปทดสอบยืนยันและจัดจำแนกเป็นซีโรวาร์ โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (ฝ่าย WHO National *Salmonella* and *Shigella* Center) พบว่าจัดจำแนกได้เป็น *S.* Montevideo จำนวน 4 ไอโซเลท (3.33 เปอร์เซ็นต์), *S.* Ohio จำนวน 3 ไอโซเลท (2.5 เปอร์เซ็นต์), *S.* Braenderup จำนวน 2 ไอโซเลท (1.67 เปอร์เซ็นต์), และ *S.* Mbandaka จำนวน 2 ไอโซเลท (1.67 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

การศึกษาความไวต่อสารต้านจุลชีพของ *Salmonella* ที่แยกได้จากตัวอย่างเปลือกไข่ โดยนำ *Salmonella* มาทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ 10 ชนิด ได้แก่ แอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล ซิโปรฟอกซาซิน เจนตามัยซิน กานามัยซิน กรดนาลิดิซิค นีโอมัยซิน โพลีมิกซิน-บี ซัลฟาเมททอกซาโซล และเตตราไซคลิน ด้วยวิธี disc diffusion method พบว่า *Salmonella* ที่แยกได้ทั้งหมดไวต่อ แอมพิซิลิน คลอแรมฟินิคอล ซิโปรฟอกซาซิน เจนตามัยซิน กานามัยซิน กรดนาลิดิซิค และนีโอมัยซิน ไวต่อเตตราไซคลิน 72.73 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ *Salmonella* ที่แยกได้ทั้งหมดอยู่ก้ำกึ่งระหว่างการดื้อยาและความไวต่อการถูกทำลายด้วยโพลีมิกซิน-บี รวมทั้งทุกไอโซเลทยังดื้อต่อซัลฟาเมททอกซาโซล

เอกสารอ้างอิง

ชูศักดิ์ อาจสูงเนิน และศศิ เจริญพจน์. 2534. อุบัติการณ์ของ *Salmonella* ในไข่ไก่. คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์ (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ยศนันท์ โสภิตภักดีพงษ์. 2540. การศึกษาปริมาณ *Salmonella* ในไข่ไก่. โครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล , นครปฐม.

Adesiyun, A., Offiah, N., Seepersadsingh, N., Rodrigo, S., Lashley, V., and Musai, L. 2007. Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* isolated from table eggs. Food Control 18:306-311.

Antunes, P., Reu, C., Sousa, J. C., Peixe, L., and Pestana, N. 2003. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. International Journal of Food Microbiology 82:97-103.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ; Fifteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S15 (ISBN 1-56238-556-9). Washington : CLSI.

Creager, J. G., Black, J. G., and Davison, V. E. 1990. Microbiology. New Jersey : Prentic Hall.

Doyle, M. P., Beuchat, L. R. and Montville, T. 1997. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. Washington : ASM Press.

Erdem, B., Ercis, S., Hascelik, G., Gur, D., and Aysev, A. D. 2005. Antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* group *C* strains isolated from humans in Turkey, 2000-2002. International Journal of Antimicrobial Agents 26:33-37.

Forbes, B. A., Sahm, D. F., Weissfeld, A. S., and Trevivo, E. A. 2002. Diagnostic Microbiology. St. Louis : Mosby.

Frazier, W. C. and Westhoff, D. C. 1998. Food Microbiology (4th ed). Singapore : McGraw Hill.

Graber, G. 1991. Control of *Salmonella* in Animal Feeds. Division of Animal Feeds, Center of Veterinary medicine, Food and Drug Administration. Report to the National Advisory Commission on Microbiological Criteria for Foods.

Guthrie, R. K. 1992. *Salmonella*. London : CRC Press.

Hara-Kudo, Y., Kumagai, S., Masuda, T., Goto, K., Ohtsuka, K., Masaki, H., Tanaka, H., Tanno, K., Miyahara, M., and Kanuma, H. 2001. Detection of *Salmonella* Enteritidis in shell and liquid eggs using enrichment and plating. International Journal of Food Microbiology 64 : 395-399.

Hara-Kudo, Y., Sakakibara, Y., Konuma, H., Sawada, T., and Kumagai, S. 2001. Laying season and egg shell cracks on the growth of *Salmonella* Enteritidis in the egg albumen during storage. Journal of Food Protection 46(3):629-635.

Jay, J. M. 2000. Modern Food Microbiology (6th ed). Washington : Aspen Publishers.

Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., and Winn, W. C. 1994. Introduction to Diagnostic Microbiology. Philadelphia : J.B. Lippincott Company.

Kuha, O. 2001. *Salmonella* Contamination in Eggs and Environmentals in Chicken Farms (M.Sc. Public Health), Mahidol University, Nakornprathom, Thailand.

Mims, C. A., Playfair, J. H., Roitt, I. M., Wakelin, D., and Williams, R. 1993. Medical Microbiology. London: Mosby - Year Book Europe Limited.

Nester, E. W., Anderson, D. G., Roberts, C. E., Pearsall, N. N. and Nester, M. T. 2004. Microbiology : A Human Perspective (4th ed). Boston : McGraw-Hill.

Sherris, J. C. 1991. Medical Microbiology : An Introduction to Infectious Diseases (2nd ed). New York : Elsevier Science Publishing.

Stadelman, W. J. and Cotterill, O. J. 1995. Egg Science and Technology (4th ed). New York : Food Products Press.

Suresh, T., Hatha, A. A. M., Sreenivasan, D., Sangeetha, N., and Lashmanaperumalsawy, P. 2006. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* Enteritidis and other *Salmonella* in the eggs and egg - storing tray from retails market of Coimbatore, South India. Food Microbiology 23:294-299.

Telo, A., Bijo, B., Sulaj, K., and Beli, E. 1999. Occurrence of *Salmonella* spp. in imported eggs into Albania. International Journal of Food Microbiology, 49:169-171.

Threlfall, E. J., Fisher, I. S. T., Berggold, C., Gerner-Smidt, P., Tschape, H., Cormican, M., Luzzi, I., Schnieder, F., Wannet, W., Machado, J., and Edwards, G. 2003. Trends in antimicrobial drug resistance in *Salmonella enterica* serotypes Typhi and Paratyphi A isolated in Europe, 1999-2001. International Journal of Antimicrobial Agents 22:487-491.

Tortora, G. J., Funke, B. R., and Case, C. L. 2005. Microbiology : *An Introduction*. San Francisco : Pearson Education.

Zhao, S., Datta, A. R., Ayers, S., Friedman, S., Walker, R. D., and White, D. G. 2003. Antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from imported foods. International Journal of Food Microbiology 84:87-92.