การศึกษา *Salmonella* ในกบและการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะบางชนิด

Study on *Salmonella* in frog and antibiotic susceptibility tests

อังคณา หอมเสียง และบัญญัติ สุขศรีงาม*

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Angkana homseng and Bunyut Suksringam

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

บทคัดย่อ

จากการศึกษา *Salmonella* ในกบที่จำหน่ายบริเวณตลาดนัดด้านหลังมหาวิทยาลัยบูรพา จำนวน 200 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงพฤศจิกายน พ.ศ.2546 พบ *Salmonella* ปนเปื้อนที่ผิวหนังกบจำนวน 51 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25.50) และลำไส้กบจำนวน 20 ตัวอย่าง (ร้อยละ 10.00) *Salmonella* ที่พบจากตัวอย่างผิวหนังกบ มีจำนวน 5 ซีโรวาร์ และซีโรวาร์ S. Stanley พบมากที่สุด (ร้อยละ 50.98) รองลงมาคือ *S.* Albany (ร้อยละ 19.61) *S.* Bareilly (ร้อยละ 11.76) *S.* Give (ร้อยละ 11.76) และ *S.* Virchow (ร้อยละ 5.88) ส่วน *Salmonella* ที่พบจากตัวอย่างลำไส้กบ มีจำนวน 5 ซีโรวาร์และซีโรวาร์ *S.* Stanley พบมากที่สุด (ร้อยละ 60.87) รองลงมา คือ *S.* Albany (ร้อยละ 17.39) *S.* Bareilly (ร้อยละ 13.04) *S.* Give (ร้อยละ 4.35) และ *S.* Virchow (ร้อยละ 4.35) เมื่อนำมาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ แอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน เตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน พบว่าซีโรวาร์จากตัวอย่างผิวหนังกบส่วนใหญ่ถูกทำลายด้วยแอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน เตตราไซคลิน แต่ดื้อต่อสเตรพโตมัยซิน ส่วนซีโรวาร์จากตัวอย่างลำไส้กบส่วนใหญ่ถูกทำลายได้ง่ายจากยาปฏิชีวนะทั้ง 5 ชนิด แต่ *S.* Virchow ทุกตัวอย่าง (ร้อยละ 100.00) ดื้อต่อสเตรพโตมัยซิน

Abstract

The study was aimed to investigate to incidence of *Salmonella* in frogs. 200 samples of frogs were collected, during July to November, 2003, from the local market near Burapha University, Amphur Muang, Chonburi Province. Bacterial isolation was performed on frog skins and intestines. The positive detection of *Salmonella* was showed in 51 skin samples (25.50%). They were subsequently categorized into 5 serovars, including *S.* Stanley (50.98%), *S.* Albany (19.61%), *S.* Bareilly (11.76%), *S.* Give (11.76%), and *S.* Virchow (5.88%). *Salmonella* was also isolated from 20 samples of frog intestines (10.00%). They were belonging to the members of 5 serovars, including *S.* Stanley (60.87), *S.* Albany (17.39%), *S.* Bareilly (13.04%), *S.* Give (4.35%), and *S.* Virchow (4.35%). Furthermore, bacterial sensitivity were tested with 5 antibiotics. It was found that most *Salmonella* isolated from frog skins were susceptible to amphicillin, choramphenicol, kanamycin, and tetracycline, but resistant to streptomycin. On the other hand, *Salmonella* isolated from the intestinal parts of frogs demonstrated the susceptibility to 5 antibiotics tested, except *S.* Virchow (100.00%), which displayed resistence to streptomycin.

*** Corresponding author.**

บทนำ

Salmonella ทุกสายพันธุ์ล้วนเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค Salmonellosis ได้ทั้งสิ้น ยกเว้น S. Typhi, S. Paratyphi A, B และ C ทำให้เกิดโรคไข้ไทฟอยด์ (อรุณ, 2546) ซึ่งจะทำให้เกิดโรคได้เมื่อได้รับเชื้อในปริมาณมาก ปริมาณของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ คือ 10^5 - 10^8 เซลล์ (Brook et al., 2001) อาหารที่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* ค่อนข้างมาก คือ เนื้อสุกร เนื้อสัตว์ปีก ไข่ นม และผลิตภัณฑ์จากนม (Forsythe and Hayes, 2000) การปนเปื้อนของ *Salmonella* พบได้ทุกส่วนของกระบวนการผลิตอาหาร จึงต้องมีการควบคุมกระบวนการผลิตอาหารให้ปลอดจาก *Salmonella* และจุลินทรีย์ที่เป็นโรค

ในสหรัฐอเมริกาแต่ละปีจะมีผู้ป่วยจากการได้รับเชื้อในกลุ่ม Non-Typhoidal ประมาณ 1-4 ล้านคน และพบว่าเสียชีวิตด้วยกลุ่มนี้ประมาณ 1,000 คน (อรุณ, 2546) สำหรับในประเทศไทยได้มีการคาดคะเนว่ามีผู้ป่วยติดเชื้อในกลุ่มนี้ 76-1,057 คนต่อประชากรแสนคน ส่วนโรคไข้ไทฟอยด์เป็นโรคที่รุนแรงในกระแสโลหิต พบในประเทศกำลังพัฒนา ในสหรัฐอเมริกาไม่ค่อยพบมากนัก มีรายงานผู้ป่วยปีละ 400 คน ซึ่งร้อยละ 70 มาจากกลุ่มนักท่องเที่ยว อาการไข้ที่คล้ายกัน คือ โรคไข้พาราไทฟอยด์เกิดจาก *S.* Paratyphi A ส่วน *S.* Paratyphi B และ C ไม่ค่อยพบในประเทศไทย แต่ในกลุ่มประเทศกำลังพัฒนายังคงมีโรคไข้ไทฟอยด์แพร่ระบาดอยู่ (อรุณ,2546)

จากข้อมูลสถิติของกองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในระยะเวลา 3 ปี (ระหว่างปี พ.ศ.2536-2538) พบว่า *Salmonella* เป็นเชื้อที่หน่วยงานต่าง ๆ ส่งมาทดสอบมากที่สุด สามารถจำแนกได้ดังนี้ ในมนุษย์ร้อยละ 35.51 ไก่แช่แข็ง ร้อยละ 14.22 สัตว์ ร้อยละ 1.29 อาหารพร้อมรับประทาน ร้อยละ 1.26 อาหารแช่แข็งส่งออก ร้อยละ 0.88 อาหารสัตว์ ร้อยละ 0.76 น้ำ ร้อยละ 0.46 และอื่น ๆ ร้อยละ 0.52 เมื่อนำมาจัดอันดับซีโรวาร์ที่พบมากที่สุดใน 5 อันดับแรก ได้แก่ *S.* Enteritidis, *S.* Weltevreden, *S.* Derby, *S.* Typhimurium และ *S.* Anatum ตามลำดับ สำหรับ *S.* Enteritidis พบมากเป็นอันดับหนึ่งทั้งในมนุษย์ ไก่แช่แข็ง และสัตว์ (อรุณ และคณะ, 2546) และจากการเฝ้าระวังและติดตามการระบาดของ *Salmonella* ซีโรวาร์ต่าง ๆ ในมนุษย์ สัตว์และอาหารในประเทศไทย (ระหว่างปี พ.ศ.2536-2545) ซีโรวาร์ที่พบบ่อยในมนุษย์ คือ *S.* Weltevreden ปี พ.ศ.2536 พบร้อยละ 13.5 และลดเหลือร้อยละ 9.3 ปี พ.ศ.2542 เพิ่มเป็นร้อยละ 18 และลดเหลือร้อยละ 7.9 ในปี พ.ศ.2545 แต่สำหรับ *S.* Enteritidis เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 12.7 จากเดิมพบเพียงร้อยละ 9 ซีโรวาร์อื่น ๆ ที่พบเพิ่มขึ้น ได้แก่ *S.* Rissen จากร้อยละ 2 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 8 *S.* Stanley เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2 เป็นร้อยละ 6 และ *S.* Schwarzengrund เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 1 ขณะเดียวกันพบการลดลงของ *S.* Krefeld จากร้อยละ 5 เหลือเพียงร้อยละ 1 เมื่อวิเคราะห์จากแหล่งที่พบ อาจสรุปได้ว่ามีการแพร่ระบาดผ่านทางอาหารและน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ เช่น *S.* Weltevreden พบมากในอาหารทะเล และ *S.* Enteritidis พบในเนื้อไก่ โดยการลดลงของ *S.* Enteritidis และ *S.* Derby จากมนุษย์และเนื้อไก่ในระยะเวลาเดียวกัน ในปี พ.ศ.2536 ข้อมูลจากเนื้อไก่บ่งชี้ว่า *S.* Schwarzengrund ได้เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.3 เป็นร้อยละ 7.01 ในปี พ.ศ.2545 จะเห็นได้ว่าในช่วงระยะเวลาที่เฝ้าระวังและติดตามการระบาดของ *Salmonella* ซีโรวาร์ที่พบได้มากที่สุด คือ *S.* Weltevreden รองลงมา ได้แก่ *S.* Rissen, *S.* Stanley และ *S.* Schwarzengrund ซึ่งอาจสรุปได้ว่าเชื้อได้แพร่ระบาดผ่านทางอาหารและน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ (อรุณ และคณะ,2546)

Salmonella เป็นแบคทีเรียที่มีถิ่นอาศัยในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ของมนุษย์และสัตว์ และปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น ดิน น้ำ แมลง มูลสัตว์และพื้นโรงงานอุตสาหกรรม (ศิริโฉม, 2543) โดยจะพบในสัตว์พาหะต่างๆ อยู่เสมอ โดยเฉพาะในสัตว์ปีก สัตว์ฟันแทะ สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยง (เช่น สุนัข แมว) และแมลง (ดิเรก,2530) แต่สัตว์เลี้ยงประเภทสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำและสัตว์เลื้อยคลานเป็นพาหะในการแพร่ *Salmonella* มาสู่มนุษย์มากที่สุด เช่น เต่า งู และอีกัวน่า (Pfleger et al., 2003) การแพร่ระบาดของโรคจาก *Salmonella* ไปสู่มนุษย์มีความเป็นไปได้ว่าเกิดจากกบเป็นพาหะเนื่องจากมีรายงานว่าพบ *Salmonella* ในกบ โดยสามารถตรวจพบแบคทีเรียนี้ในส่วนต่าง ๆ ของกบ ได้แก่ ระบบทางเดินอาหารและถุงน้ำดี (Monzon Moreno et al., 1995) และมีรายงานการตรวจพบ *Salmonella* จากขากบแช่แข็งที่มีการนำเข้ามาจำหน่ายในสหรัฐอเมริกา (Andrews et al., 1977)

เนื่องจากกบเป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่ตามแหล่งน้ำและพื้นที่ที่มีความชื้นค่อนข้างสูง ถ้าสัตว์เหล่านี้มี *Salmonella* อยู่ด้วยก็จะขับถ่าย *Salmonella* ออกมาพร้อมกับอุจจาระ ทำให้เชื้อนี้มีโอกาสปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม (Berger and Speare, 2004) จึงอาจเป็นสาเหตุในการแพร่ *Salmonella* ไปสู่มนุษย์ ดังนั้นในการศึกษานี้จะทำให้ทราบว่ากบในประเทศไทยมี

Salmonella ปนเปื้อนอยู่หรือไม่ เพื่อจะได้นำไปใช้เป็นแนวทางในการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของ *Salmonella* ที่อาจเกิดจากกบเป็นพาหะ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

1. ตัวอย่าง

กบที่จำหน่ายบริเวณตลาดนัดด้านหลังมหาวิทยาลัยบูรพา จำนวน 200 ตัวอย่าง

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับตรวจ *Salmonella*

2.1.1 Rappaport-Vassiliadis broth (RV broth) ใช้เป็น enrichment media

2.1.2 *Salmonella* - Shigella agar (SS agar), Bismuth Sulfite agar (BS agar), Brilliant green agar (BG agar) และ Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis medium (MSRV) ใช้เป็น selective media

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบสมบัติทางชีวเคมี

2.2.1 Triple sugar iron agar (TSI)

2.2.2 Lysine iron agar (LIA)

2.2.3 Semisolid Indole, Motility Test Medium (SIM)

2.2.4 Simmon citrate agar

2.2.5 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ทดสอบการสร้างเอนไซม์ยูรีเอส

2.2.6 น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กลูโคส ซูโครส แมนนิทอล ซาลิซิน แลคโตส ดูลซิทอล อิโนซิทอลและมอลโตส

2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบสมบัติทางเซรุ่มวิทยา

2.3.1 Endo agar

2.3.2 Swarm agar (Weak agar)

2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ

2.4.1 Trypticase soy broth (TSB)

2.4.2 Mueller Hinton agar (MHA)

3. สารเคมีและชีววัตถุ

3.1 สารเคมี

3.1.1 Kovac's reagent

3.1.2 Ether

3.2 ชีววัตถุ

3.2.1 โอ-แอนติซีรั่มชนิดต่าง ๆ ของ *Salmonella* จากกองพยาธิวิทยาคลินิก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3.2.2 เอช-แอนติซีรั่มชนิดต่างๆ ของ *Salmonella* จากกองพยาธิวิทยาคลินิก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

4. ยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบเป็นแบบ sensitivity disc มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.35 มิลลิเมตร จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ แอมพิซิลลิน (เข้มข้น 10 ไมโครกรัม) คลอแรมฟินิคอล (เข้มข้น 30 ไมโครกรัม) กานามัยซิน (เข้มข้น 30 ไมโครกรัม) เตตราไซคลิน (เข้มข้น 30 ไมโครกรัม) สเตรพโตมัยซิน (เข้มข้น 10 ไมโครกรัม)

วิธีการทดลอง

1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์

1.1 Swab บริเวณรอบๆ ตัวกบใส่ใน RV broth ปริมาตร 10 มิลลิเมตร และผ่าตัดเปิดบริเวณช่องท้องด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำลำไส้ของกบตัดให้เป็นชิ้นละเอียดใส่ใน RV broth ปริมาตร 10 มิลลิเมตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 18 - 24 ชั่วโมง

1.2 นำตัวอย่างทั้งหมดเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BG agar และ BS agar โดยขีดให้ได้โคโลนีเดี่ยว ซึ่งถือว่าเป็นโคโลนีบริสุทธิ์ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

1.3 เลือกโคโลนีสีชมพู รอบ ๆ โคโลนีมีสีแดงจากอาหารเลี้ยงเชื้อ BG agar และโคโลนีสีดำจากอาหารเลี้ยงเชื้อ BS agar นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SS agar โดยขีดให้ได้โคโลนีเดี่ยวซึ่งถือว่าเป็นโคโลนีบริสุทธิ์บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

1.4 เลือกโคโลนีที่มีลักษณะกลม ใส ตรงกลางสีดำจากอาหารเลี้ยงเชื้อ SS agar ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI agar และ LIA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปทดสอบสมบัติทางชีวเคมี และตรวจสอบลักษณะการเคลื่อนที่ของเชื้อโดยเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSRV

2. การทดสอบสมบัติของ *Salmonella*

2.1 สมบัติทางชีวเคมี

ถ่ายเชื้อจาก TSI agar ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบสมบัติทางชีวเคมี บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 - 48 ชั่วโมง แล้วตรวจผล

2.2 การเคลื่อนที่

นำเชื้อบริสุทธิ์ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SIM โดยแทงเชื้อลงไป 3 ส่วน 4 ของหลอด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง แล้วตรวจผล

2.3 สมบัติทางเซรุ่มวิทยา

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่ทดสอบสมบัติทางชีวเคมีแล้วมีสมบัติเหมือน *Salmonella* ไปทดสอบลักษณะของแอนติเจนโดยใช้โอ-แอนติซีรั่มและเอช-แอนติซีรั่มที่ผลิตโดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข แล้วส่งยืนยันผลการวิเคราะห์ที่ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

2.4 ทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ นำเชื้อบริสุทธิ์ที่ทดสอบสมบัติทางเซรุ่มวิทยาแล้ว มาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะด้วยวิธี disc diffusion method ยาปฏิชีวนะที่ใช้มี 5 ชนิด ได้แก่ แอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน เตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน มีวิธีการทดลอง ดังนี้

1. ถ่ายเชื้อบริสุทธิ์ที่ทดสอบสมบัติทางเซรุ่มวิทยาลงในอาหาร TSB บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศา-เซลเซียส นาน 3 - 5 ชั่วโมง โดยให้มีความขุ่นเท่ากับความขุ่นมาตรฐานของ MacFarland No.0.5 โดยการวัด OD ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร จะได้ค่า OD ระหว่าง 0.08 - 0.10 ซึ่งมีจำนวนเชื้อประมาณ 1-2 x 10^8 CFU/ มิลลิลิตร

2. นำ suspension ของเชื้อมาเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA แล้วนำ sensitivity disc ของยาปฏิชีวนะทั้ง 5 ชนิดดังกล่าวมาวาง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วตรวจผลการทดลอง

การตรวจผล

การตรวจผลความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อจะใช้การวัดขนาดของ inhibition zone หรือ clear zone เป็นบริเวณที่ยาปฏิชีวนะแพร่กระจายไปยับยั้งหรือทำลายเชื้อเกิดเป็นวงใสรอบ sensitivity disc โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone แล้วนำไปเปรียบเทียบกับตารางมาตรฐานการเปรียบเทียบความไวต่อยาปฏิชีวนะ แล้วแปรผลเป็นเชื้อที่มีความไวต่อการถูกทำลาย (sensitivity) อยู่กึ่งกลางระหว่างการดื้อและความไวต่อการถูกทำลาย (intermediate) หรือดื้อต่อยาได้ดี (resistance)

ผลและอภิปรายผลการทดลอง

1. *Salmonella* ในกบ

จากการศึกษา *Salmonella* ในกบที่จำหน่ายบริเวณตลาดนัดด้านหลังมหาวิทยาลัยบูรพา จำนวน 200 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงพฤศจิกายน พ.ศ.2546 ตัวอย่างผิวหนังกบที่พบ *Salmonella* มากที่สุด คือ เดือนกันยายน (ร้อยละ 48.33) รองลงมา ได้แก่ สิงหาคม (ร้อยละ 36.00) พฤศจิกายน (ร้อยละ 13.33) และตุลาคม (ร้อยละ 3.33) ส่วนเดือนกรกฎาคมไม่พบ *Salmonella* สำหรับตัวอย่างลำไส้กบที่พบ *Salmonella* มากที่สุด คือ เดือนกันยายน (ร้อยละ 25.00) รองลงมา ได้แก่ กรกฎาคม (ร้อยละ 20.00) สิงหาคม (ร้อยละ 4.00) และตุลาคม (ร้อยละ 3.33) ส่วนเดือนพฤศจิกายนไม่พบ *Salmonella* ดังแสดงในตารางที่ 1 จากการทดลองจะเห็นได้ว่าเดือนกันยายนเป็นเดือนที่ตรวจพบ *Salmonella* มากที่สุดทั้งจากตัวอย่างผิวหนังและลำไส้กบ เนื่องมาจากช่วงที่ศึกษาเป็นช่วงฤดูฝนเป็นฤดูเจริญของกบ และกบที่ศึกษาเป็นกบเลี้ยง การปนเปื้อนของ Salmonella ในกบ อาจปนเปื้อนมาจากมนุษย์ อาหารและน้ำ ใกล้เคียงกับรายงานของอรุณ และคณะ (2546) ที่เฝ้าระวังและติดตามการระบาดของ *Salmonella* ซีโรวาร์ต่างๆ ในมนุษย์ สัตว์ และอาหารในประเทศไทย (ระหว่างปี พ.ศ.2536-2545) สรุปได้ว่าเชื้อได้แพร่ระบาดไปสู่มนุษย์และสัตว์ผ่านทางอาหารและน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่

จากการทดลองพบ *Salmonella* ปนเปื้อนที่ผิวหนังกบจำนวน 51 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25.50) และลำไส้กบจำนวน 20 ตัวอย่าง (ร้อยละ 10.00) ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวนี้ใกล้เคียงกับรายงานของ Andrews et al. (1977) ที่ศึกษา *Salmonella* จากขากบแช่แข็งที่นำเข้าไปจำหน่ายในสหรัฐอเมริกา โดยนำมาจากญี่ปุ่น อินเดีย บังคลาเทศ อินโดนีเซียและเม็กซิโกและรายงานของ Monzon Moreno et al. (1995) ที่ศึกษา *Salmonella* จากตัวอย่างลำไส้กบ *Rana perezi* ซึ่งเป็นสัตว์ประจำถิ่นของ Gran Canaria หมู่เกาะคานารี ประเทศสเปน เนื่องจากกบเป็นสัตว์ที่ต้องมีความชื้นหล่อเลี้ยงร่างกายตลอดเวลา เมื่ออยู่บนบกนาน ๆ จนตัวแห้งก็จะลงน้ำ หลังจากนั้นก็ขึ้นมาอยู่บนบกต่อไป (คำเกิด, 2542) ถ้าแหล่งน้ำที่กบอาศัยอยู่มีการปนเปื้อนของ Salmonella เมื่อกบลงไปอาศัยในแหล่งน้ำดังกล่าวจะทำให้ผิวหนังกบมีโอกาสปนเปื้อน *Salmonella* ได้ และเมื่อกบกินน้ำและอาหารที่มีการปนเปื้อนของ *Salmonella* เข้าไปจะทำให้กบเป็นพาหะในการแพร่เชื้อนี้โดยกบจะมีการขับถ่าย

ตารางที่ 1 จำนวนตัวอย่างกบที่พบ *Salmonella*

เดือน	ตัวอย่าง (ตัว)	กบที่พบ *Salmonella*			
		ผิวหนัง (ตัว)	ร้อยละ	ลำไส้ (ตัว)	ร้อยละ
กรกฎาคม	10	0	0.00	2	20.00
สิงหาคม	25	9	36.00	1	4.00
กันยายน	60	29	48.33	15	25.00
ตุลาคม	60	7	11.67	2	3.33
พฤศจิกายน	45	6	13.33	0	0.00
รวม	200	51	25.50	20	10.00

Salmonella ออกมาพร้อมกับอุจจาระ (Berger and Speare, 2004) ทำให้เชื้อนี้มีโอกาสปนเปื้อนในแหล่งน้ำที่เป็นที่อยู่อาศัยของกบอีกด้วย (Devenish et al., 1986)

จากการศึกษาวิเคราะห์ลักษณะทางเซรุ่มวิทยาของ *Salmonella* ในกบและได้รับการตรวจยืนยันจาก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซีโรวาร์ที่พบจากตัวอย่างผิวหนังกบมีจำนวน 5 ซีโรวาร์และซีโรวาร์ *S.* Stanley พบมากที่สุด (ร้อยละ 50.98) รองลงมาคือ *S.* Albany (ร้อยละ 19.61), *S.* Bareilly (ร้อยละ 11.76) *S.* Give (ร้อยละ 11.76) และ *S.* Virchow (ร้อยละ 5.88) ซีโรวาร์ที่พบจากตัวอย่างลำไส้กบ มีจำนวน 5 ซีโรวาร์และซีโรวาร์ *S.* Stanley พบมากที่สุด (ร้อยละ 60.87) รองลงมา คือ *S.* Albany (ร้อยละ 17.39) *S.* Bareilly (ร้อยละ 13.04) *S.* Give (ร้อยละ 4.35) และ *S.* Virchow (ร้อยละ 4.35) ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Andrews et al. (1977) ที่ตรวจพบ *S.* Bareilly และ *S.* Virchow จากขากบแช่แข็งที่นำเข้าที่ผลิตจากญี่ปุ่น อินเดีย บังคลาเทศ อินโดนีเซียและเม็กซิโกและส่งไปจำหน่ายยังสหรัฐอเมริกา

ตารางที่ 2 ซีโรวาร์ของ *Salmonella* ที่ได้จากผิวหนังและลำไส้กบ

ซีโรวาร์	ผิวหนังกบ		ลำไส้กบ	
	ตัวอย่าง (ตัว)	ร้อยละ	ตัวอย่าง (ตัว)	ร้อยละ
S. Albany	10	19.61	4	17.39
S. Bareilly	6	11.76	3	13.04
S. Give	6	11.76	1	4.35
S. Stanley	26	50.98	14	60.87
S. Virchow	3	5.88	1	4.35
รวม	51	100.00	23	100.00

2. การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ

เมื่อนำ *Salmonella* มาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ แอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน เตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน พบว่าซีโรวาร์จากตัวอย่างผิวหนังกบส่วนใหญ่ถูกทำลายด้วยแอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน เตตราไซคลิน แต่ดื้อต่อสเตรพโตมัยซิน โดยซีโรวาร์ *S.* Albany ร้อยละ 10 ดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้ง 5 ชนิด *S.* Give ร้อยละ 16.67 ดื้อต่อเตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซินและ *S.* Stanley ร้อยละ 3.85 ดื้อต่อเตตราไซคลินและร้อยละ 3.85 ดื้อต่อแอมพิซิลลิน กานามัยซินและเตตราไซคลิน ดังแสดงในตารางที่ 3 ส่วนซีโรวาร์จากตัวอย่างลำไส้กบส่วนใหญ่ถูกทำลายได้ง่ายจากยาปฏิชีวนะทั้ง 5 ชนิด แต่หลายซีโรวาร์ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ *S.* Albany ร้อยละ 25.00 ดื้อต่อแอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล เตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน *S.* Bareilly ร้อยละ 33.33 ดื้อต่อเตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน ร้อยละ 7.14 ดื้อต่อแอมพิซิลลินและสเตรพโตมัยซิน และร้อยละ 7.14 ดื้อต่อแอมพิซิลลิน กานามัยซิน เตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน แต่ *S.* Virchow ทุกตัวอย่าง (ร้อยละ 100.00) ดื้อต่อสเตรพโตมัยซิน ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Salmonella* จากตัวอย่างผิวหนังกบ

ซีโรวาร์	ตัวอย่าง (ตัว)	ร้อยละ[1]	ยาปฏิชีวนะ				
			แอมพิซิลลิน	คลอแรมฟินิคอล	กานามัยซิน	เตตราไซคลิน	สเตรพโตมัยซิน
S. Albany	5	50.00	S	S	S	S	I
	3	30.00	S	S	S	S	R
	1	10.00	S	S	S	S	S
	1	10.00	R	R	R	R	R
S. Bareilly	6	100.00	S	S	S	S	R
S. Give	5	83.33	S	S	S	S	I
	1	16.67	S	S	S	R	R
S. Stanley	9	34.62	S	S	S	S	S
	9	34.62	S	S	S	S	R
	4	15.38	S	S	S	S	I
	2	7.69	S	S	S	I	R
	1	3.85	S	S	S	R	S
	1	3.85	R	S	R	R	I
S. Virchow	3	100.00	S	S	S	S	R

[1] ร้อยละของจำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ

S = ความไวต่อการถูกทำลาย

I = อยู่กึ่งกลางระหว่างการดื้อและความไวต่อการถูกทำลาย

R = ดื้อต่อยาได้ดี

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของ *Salmonella* จากตัวอย่างลำไส้กบ

ซีโรวาร์	ตัวอย่าง (ตัว)	ร้อยละ[1]	ยาปฏิชีวนะ				
			แอมพิซิลลิน	คลอแรมฟินิคอล	กานามัยซิน	เตตราไซคลิน	สเตรพโตมัยซิน
S. Albany	2	50.00	S	S	S	S	I
	1	25.00	S	S	S	S	S
	1	25.00	R	R	S	R	R
S. Bareilly	1	33.33	S	S	S	S	S
	1	33.33	S	S	S	S	I
	1	33.33	S	S	S	R	R
S. Give	1	100.00	S	S	S	S	I
S. Stanley	9	64.29	S	S	S	S	I
	2	14.29	S	S	S	S	R
	1	7.14	S	S	S	S	S
	1	7.14	R	S	S	S	R
	1	7.14	R	S	R	R	R
S. Virchow	1	100.00	S	S	S	S	R

[1] ร้อยละของจำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ

S = ความไวต่อการถูกทำลาย

I = อยู่กึ่งกลางระหว่างการดื้อและความไวต่อการถูกทำลาย

R = ดื้อต่อยาได้ดี

การที่ยาปฏิชีวนะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดี เนื่องจากมีกลไกในต่างๆ ที่มีผลต่อแบคทีเรีย เช่น แอมพิซิลลินเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเพนนิซิลลินมีกลไกในการออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ (บัญญัติ และอรุณ, 2532) โดยจะเข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทรานส์เปปทิเดส (transpeptidase) (Mahon and Manuselis, 2000) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการเชื่อมต่อ peptide bridge ของ N-acetyl muramic acid - peptide ดังนั้นจึงขัดขวางการเชื่อมต่อของสาย mucopeptide ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่ทำให้ผนังเซลล์มีความแข็งแรง (บัญญัติ,2534) แบคทีเรียที่มีความไวต่อยาชนิดนี้จะมีรูปร่างและขนาดผิดปกติ ส่งผลให้เซลล์แตกในที่สุด (Joklik et al., 1992) คลอแรมฟินิคอลมีกลไกในการออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจะไปจับกับหน่วยย่อย 50Sไรโบโซม ทำให้การสังเคราะห์โปรตีนผิดปกติไป (Joklik et al., 1992) กานามัยซิน สเตรพโตมัยซิน และเตตราไซคลินเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม อะมิโนไกลโคไซด์

มีกลไกในการออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน โดยจะเข้าไปรวมกับหน่วยย่อย 30S ไรโบโซม ทำให้ไม่มีการสังเคราะห์โปรตีน (Brook et al., 2001) นอกจากนี้เตตราไซคลินสามารถยับยั้งการเข้าจับของ aminoacyl -tRNA บน mRNA ได้อีกด้วย (Prescott et al., 2002)

จากการทดลองพบว่า *Salmonella* บางซีโรวาร์ดื้อต่อแอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน เตตรา-ไซคลิน และสเตรพโตมัยซิน การดื้อต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าว เช่น การดื้อต่อแอมพิซิลลินซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเพนนิซิลลิน เกิดขึ้นจากมีพลาสมิดสร้างเอนไซม์เบต้าแลคแตมเมส (β-lactamase) มาทำลายวงของเบต้า-แลคแตม (β-lactam ring) ในโครงสร้างของยา (Mahon and Manuselis, 2000) การดื้อต่อคลอแรมฟินิคอล พบมากในแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนที่มี R-factor (บัญญัติ,2534) ซึ่ง R-factor จะควบคุมการสร้างเอนไซม์คลอแรมฟินิคอล อเซติลทรานเฟอเรส (chloramphenicol acetyl transferase) ออกมาทำลายยานี้ (Brook et al., 2001) การดื้อต่อกานามัยซิน พบมากในแบคทีเรียที่มีพลาสมิดหรือ R-factor จะควบคุมการสร้างเอนไซม์กานามัยซิน อเซติลทรานส์เฟอเรส (kanamycin acetyltransferase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยเพิ่มหมู่อเซติล (acetyl) ให้กับหมู่อะมิโนของยา เอนไซม์นี้มีผลต่อกานามัยซินและยาในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์อีกด้วย การดื้อต่อสเตรพโตมัยซินเนื่องจากมี R-factor ควบคุมการสร้างเอนไซม์สองชนิดขึ้นมาทำลายยา เอนไซม์ชนิดแรก ได้แก่ สเตรพโตมัยซิน-สเปกติโนมัยซิน อดินิลทรานส์เฟอเรส (streptomycin - spectinomycin adenyltransferase) จะเคลื่อนย้ายหมู่ adenyl ของ ATP ให้เป็น 3' hydroxyl ของ N-methyl-L-glucosamine (บัญญัติ, 2534) สเตรพโตมัยซินเป็นยาในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ ถูกทำลายได้ง่ายด้วยเอนไซม์นี้ (Brook et al., 2001) ส่วนเอนไซม์อีกชนิดหนึ่ง คือ สเตรพโตมัยซิน ฟอสโฟทรานส์เฟอเรส (streptomycin phosphotransferase) จะทำปฏิกิริยาได้ดีตรงตำแหน่งของ 3' hydroxyl ของ N-methyl-L-glucosamine เช่นเดียวกัน (บัญญัติ, 2534) ส่วนการดื้อต่อเตตราไซคลินพบมากในแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนที่มี R-factor เป็นตัวควบคุม (บัญญัติ, 2534) พบว่า การดื้อยาเกิดจากการป้องกันการซึมผ่านของยาเข้าสู่เซลล์ แบคทีเรียที่ถูกทำลายได้ง่ายด้วยยาจะมีการซึมผ่านของยาเข้าสู่เซลล์ได้ง่ายเช่นกัน ส่วนแบคทีเรียที่ดื้อยาจะมีกลไกการป้องกันให้ยาซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ลดลง กลไกดังกล่าวยังไม่ทราบแน่ชัดแต่เชื่อว่าเกิดจากพลาสมิด นั่นเอง (Brook et al., 2001) การที่ *Salmonella* บางซีโรวาร์ดื้อต่อยาปฏิชีวนะเนื่องจากการกลายพันธุ์โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงที่โครโมโซมที่ลำดับเบสของดีเอนเอส่งผลให้ลำดับเบสมีการเปลี่ยนแปลงในธรรมชาติการดื้อยาจะเกิดอย่างช้า ๆ และเกิดขึ้นเอง (spontaneous) (Batzing, 2002) สามารถถ่ายทอดลักษณะการดื้อยาไปสู่รุ่นต่อ ๆ ไปได้ (บัญญัติและอรุณ, 2532) หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสารพันธุกรรม ที่อยู่นอกโครโมโซมที่เรียกว่าพลาสมิด (plasmid) โดยเฉพาะพลาสมิดที่เรียกว่า R-factor (resistant factor) จะควบคุมให้มีการสร้างเอนไซม์ออกมาทำลายฤทธิ์ของยาหรือสารต้านจุลชีพ (Brook et al., 2001) R-factor สามารถถ่ายทอดลักษณะการดื้อยาไปสู่แบคทีเรียอื่น ๆ โดยถ่ายโอนดีเอ็นเอจากแบคเทอริโอฟาจด้วยวิธีทรานส์ดักชัน (transduction) และการจับคู่ (conjugation) ได้ทั้งแบคทีเรียสายพันธุ์เดียวกันหรือต่างสายพันธุ์และต่างชนิดกัน (Black, 1999) กลไกในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะจะขึ้นอยู่กับชนิดของยาหรือสารต้านจุลชีพและชนิดของแบคทีเรีย (ดิเรก, 2531) *Salmonella* บางซีโรวาร์ดื้อยาปฏิชีวนะที่ทดลองอาจเนื่องมาจากมีการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษากบที่ติดเชื้อ เช่น อ๊อกซีเตตราไซคลิน คลอเตตราไซคลิน เตตราไซคลิน คลอแรมฟินิคอล เพนนิซิลลิน อีริโธรมัยซินและแอมพิซิลลิน (คำเกิด, 2539) จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้ *Salmonella* บางซีโรวาร์ดื้อต่อยาปฏิชีวนะดังกล่าว

จากการทดลองตัวอย่างกบที่นำมาศึกษามีการปนเปื้อนของ *Salmonella* และพบการปนเปื้อนจำนวน 5 ซีโรวาร์ ซึ่งซีโรวาร์เหล่านี้ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้และบางซีโรวาร์ดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้ดี เช่น สเตรพโตมัยซิน นับได้ว่าก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสาธารณสุขอย่างมาก อีกทั้งประเทศไทยยังมีการส่งออกกบไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ตลาดส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย คือ ฮ่องกงซึ่งนำเข้ากบประมาณร้อยละ 99.6 ของมูลค่าส่งออกของกบไทย ส่วนประเทศที่นำเข้าเนื้อกบที่สำคัญของโลกในปัจจุบัน ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ เบลเยี่ยม สหรัฐอาหรับเอมิเรตและเยอรมัน ประเทศฝรั่งเศสได้กำหนดมาตรฐานของอาหารไม่ให้มีการตรวจพบ *Salmonella* ในตัวอย่างขากบจำนวน 25 กรัม (Forsythe and Hayes, 2000) ดังนั้นในการเลี้ยงกบจึงควรมีการเลี้ยงแบบถูกหลักสุขาภิบาล เช่น มีการรักษาความสะอาดบริเวณสถานที่เลี้ยงและมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเลี้ยงกบ เป็นต้น เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของ *Salmonella* ที่อาจเกิดจากกบเป็นพาหะและป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อในแหล่งน้ำที่เป็นที่อยู่อาศัยของกบ นอกจากนี้การควบคุมและป้องกัน

การเกิดโรคจาก *Salmonella* นั้นทำได้โดยดูแลด้านสุขอนามัยให้ดียิ่งขึ้น เช่น ดื่มน้ำสะอาด ล้างมือทุกครั้งก่อนรับประทานอาหาร รับประทานอาหารที่ปรุงสุก เช่น เนื้อกบที่ปรุงสุก เนื่องจาก *Salmonella* ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน เช่น ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 - 30 นาที หรือที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที (บัญญัติและอรุณ, 2532) การเก็บรักษาอาหารควรใช้อุณหภูมิที่ต่อกว่า 5 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* ได้ (WHO Salmonella and Shigella Center, กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2535) การปฏิบัติดังกล่าวจะช่วยป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคจาก *Salmonella* ที่มีกบเป็นพาหะทำให้สามารถลดปัญหาทางด้านสาธารณสุข ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญระดับประเทศได้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษา *Salmonella* ในกบที่จำหน่ายบริเวณตลาดนัดด้านหลังมหาวิทยาลัยบูรพา จำนวน 200 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงพฤศจิกายน พ.ศ.2546 พบ *Salmonella* ปนเปื้อนที่ผิวหนังกบจำนวน 51 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25.50) และลำไส้กบจำนวน 20 ตัวอย่าง (ร้อยละ 10.00) *Salmonella* ที่พบจากตัวอย่างผิวหนังกบ มีจำนวน 5 ซีโรวาร์และซีโรวาร์ *S.* Stanley พบมากที่สุด (ร้อยละ 50.98) รองลงมา คือ *S.* Albany (ร้อยละ 19.61) *S.* Bareilly (ร้อยละ 11.76) *S.* Give (ร้อยละ 11.76) และ *S.* Virchow (ร้อยละ 5.88) *Salmonella* ที่พบจากตัวอย่างลำไส้กบ มีจำนวน 5 ซีโรวาร์และซีโรวาร์ *S.* Stanley พบมากที่สุด (ร้อยละ 60.87) รองลงมา คือ *S.* Albany (ร้อยละ 17.39) *S.* Bareilly (ร้อยละ 13.04) และ *S.* Give (ร้อยละ 4.35) กับ *S.* Virchow (ร้อยละ 4.35)

เมื่อนำมาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ แอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน เตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน พบว่าซีโรวาร์จากตัวอย่างผิวหนังกบส่วนมากถูกทำลายด้วยแอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซินและเตตราไซคลิน แต่ดื้อต่อสเตรพโตมัยซิน โดยซีโรวาร์ *S.* Albany ร้อยละ 10 ดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้ง 5 ชนิด *S.* Give ร้อยละ 16.67 ดื้อต่อเตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน และ *S.* Stanley ร้อยละ 3.85 ดื้อต่อเตตราไซคลิน และร้อยละ 3.85 ดื้อต่อแอมพิซิลลิน กานามัยซินและเตตราไซคลิน ส่วนซีโรวาร์จากตัวอย่างลำไส้กบส่วนใหญ่ถูกทำลายได้ง่ายจากยาปฏิชีวนะทั้ง 5 ชนิด โดยซีโรวาร์ *S.* Albany ร้อยละ 25 ดื้อต่อแอมพิซิลลิน คลอแรมฟินิคอล เตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน *S.* Bareilly ร้อยละ 33.33 ดื้อต่อเตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน *S.* Stanley ร้อยละ 14.29 ดื้อต่อแอมพิซิลลิน กานามัยซิน เตตราไซคลินและสเตรพโตมัยซิน แต่ *S.* Virchow ทุกตัวอย่าง (ร้อยละ 100.00) ดื้อต่อสเตรพโตมัยซิน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กองพยาธิวิทยาคลินิก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์ยืนยันซีโรวาร์ของ *Salmonella*

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2535 คู่มือประกอบการวินิจฉัยแบคทีเรียก่อโรคลำไส้ การทดสอบยืนยันซัลโมเนลลาและชิกเกลลา WHO *Salmonella* and *Shigella* Center กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี.

คำเกิด สีอินปัน.2539. กบกระชังในร่องสวน วารสารเกษตรใหม่ สีสันชีวิตไทย 1(9) : 13-22.

ดิเรก ธนานนท์นิวาส. 2530. การสำรวจ *Salmonella* ในจิ้งจกและการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ. ชลบุรี : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. จุลชีววิทยาเบื้องต้น. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.

บัญญัติ สุขศรีงาม และอรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2532. ระบาดวิทยาของ *Salmonella* ในจิ้งจก. ชลบุรี : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

ศิริโฉม ทุ่งเก้า. 2543. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร. ชลบุรี : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2546. การระบาดของ *Salmonella* serovars ในคน สัตว์และอาหารในประเทศไทย (ระหว่างปี พ.ศ.2536 - 2545) กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2539. เชื้อโรคอาหารเป็นพิษ : สถิติของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2536 - 2538 กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2545. อุจจาระร่วงที่เรียกว่า Salmonellosis (Non - Typhoidal Salmonellosis : NTS). สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

อิทธิพร จันทร์เพ็ญ, 2531 การเลี้ยงกบ บริษัทประชาชน จำกัด กรุงเทพมหานคร.

Andrews, W.H.; Wilson, C.R.; Poelma, P.L.; and Romero, A. 1977. Comparison of method for the Isolation of *Salmonella* from Imported frog legs. Applied and Environmental Microbiology 33(1) : 65-68.

Batzing, B.L. 2002. Microbiology : An Introduction. New York : Thomson Learning, Inc.

Black, J.G. 1999. Microbiology. New Jersey : Prentice-Hall International, Inc.

Brook, G.F.; Butel, J.S.; and Morse, S.A. 2001. Jawet, Melnick, & Adelberg's Medical Micrology. New York : McGraw-Hill Companies, Inc.

Devenish, J.A.; Ciebin, B.W.; and Brodsky, M.H. 1986. Novobicin-brilliant green-glucose agar : new medium for isolation of salmonellae. Applied and Environmental Microbiology 52(3) : 539-545.

Forsythe, S.S.; and Hayes, P.R. 2000. Food Hygiene Microbiology and HACCP. Gaitheriburg : Aspen Publisher, Inc.

Joklik, W.K.; Willet, H.P.; Amos, D.B.; and Wilfert, C.M. 1992. Zinsser Microbiology. London : Appleton&Langes.

Mahon, C.R.; and Manuselis, G. 2000. Diagnostic Microbiology. Philadelphia : W.B. Saunders Company.

Monzon Moreno, C.; Ojeda Vargus, M.M.; Echeita, A.; and Usera, M.A. 1995. Occurrence of *Salmonella* in coldblooded animals in Gran Canaria, Canary Islands, Spain. Antonie Van Leeuwenhoek 68(3) : 191-194.

Parish, M.E.1998. Coliforms, *Escherichia coli* and *Salmonella serovars* associated with citrus-processing facility implicated in a salmonellosis outbreak.Journal of Food Protection 61(3) : 280-284

Pfleger, Silvia.; Benyr, Gerald.; Sommer, Regina; and Hassl, Andreas 2003. Pattern of Salmonella excretion in amphibians and reptiles in a vivarium International Journal of Hygiene and Environmental Health 206 (3) : 53 - 59

Prescott, L.M.; Harley, J.P.; and Klein, D. 2002. Microbiology. Boston : McGraw-Hill Companies, Inc.