

**GENOTYPIC PATTERNS OF *SALMONELLA* ISOLATED FROM
VARIOUS SOURCES IN THE CHICKEN FARMS AND MARKET
BY USING PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS**

SRIRAT PORNRUANGWONG

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PUBLIC HEALTH)
MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES AND EPIDEMIOLOGY
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2006

ISBN 974-04-7474-8

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

รูปแบบพันธุกรรมของเชื้อซัลโมเนลล่าที่แยกได้จากแหล่งต่างๆในฟาร์มเลี้ยงไก่และตลาดด้วยวิธี Pulsed-Field Gel Electrophoresis (GENOTYPIC PATTERNS OF *SALMONELLA* ISOLATED FROM VARIOUS SOURCES IN THE CHICKEN FARMS AND MARKET BY USING PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS)

ศิริรัตน์ พรเรืองวงศ์ 4536340 PHPH/M

วท.ม.(สาธารณสุขศาสตร์) สาขาเอกโรคติดเชื้อ และวิทยาการระบาด

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: อรษา สุตธีรกุล, Ph.D. (Medical Science), กนกรัตน์ ศิริพานิชกร, MD. MPH., อรุณ บ้างตระกูลนนท์, B.Sc.(Science), อรอนงค์ รัชตราเซนชัย, Ph.D. (Medical Science)

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เพื่อศึกษารูปแบบการดื้อยาและแบบแผนทางพันธุกรรมของเชื้อซัลโมเนลล่าจำนวน 112 สายพันธุ์ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆในฟาร์มเลี้ยงไก่จำนวน 3 ฟาร์มในจังหวัดพระนครศรีอยุธยาและตลาดคลองเตยจากการศึกษาวิจัยที่ได้ดำเนินการในปี ค.ศ. 2000 โดยสายพันธุ์ที่ศึกษามาจาก *S. Braenderup* 51 สายพันธุ์, *S. Emek* 24 สายพันธุ์, *S. Weltevreden* 14 สายพันธุ์, *S. Derby* 12 สายพันธุ์ และ *S. Stanley* 11 สายพันธุ์ โดยทดสอบการดื้อยาด้านจุลชีพ 6 ชนิด และศึกษารูปแบบทางพันธุกรรมของเชื้อด้วยวิธี Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) โดยตัดด้วยเอ็นไซม์ พบว่า 53 สายพันธุ์ (47.3%, 53/112) ดื้อต่อยาด้านจุลชีพ 4 ชนิด ได้แก่ nalidixic acid (NA) ร้อยละ 37.5 รองลงมาคือ sulfamethoxazole-trimethoprim (SXT) ร้อยละ 33.9 tetracycline (TE) ร้อยละ 25.9 และ ampicillin (AMP) ร้อยละ 2.7 ไม่พบสายพันธุ์ที่ดื้อยา cefotaxime (CTX), choramphenicol (C) รูปแบบของการดื้อยาด้านจุลชีพหลายชนิดพบร้อยละ 70 (37/53) ซึ่งสูงกว่าสายพันธุ์ที่มีการดื้อยาด้านจุลชีพชนิดเดียวร้อยละ 30 (16/53) อย่างมีนัยสำคัญสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าร้อยละ 52.3 ของเชื้อที่แยกได้จากตลาดพลาสติกบรรจุไข่ดื้อต่อยาด้านจุลชีพ การจำแนกรูปแบบทางพันธุกรรมด้วยวิธี *Xba*I PFGE สามารถจำแนกรูปแบบทางพันธุกรรมของ *S. Braenderup* ได้ 7 แบบ (A1-A7), *S. Emek* 4 แบบ (B1-B4), *S. Weltevreden* 4 แบบ (C1-C4), *S. Derby* 1 แบบ (D), and *S. Stanley* 4 แบบ (E1-E4) ด้านความสัมพันธ์ของรูปแบบทางพันธุกรรมกับการดื้อยาด้านจุลชีพพบว่า clone ที่เด่นของ *S. Braenderup* พบเป็น Type A2 ร้อยละ 70.6 (36/51) ซึ่งมีรูปแบบการดื้อยาด้านจุลชีพได้ 4 แบบ โดยรูปแบบกรรมคาที่พบมากร้อยละ 63.9 (23/36) เป็น Type A2 ที่ไม่ดื้อต่อยาด้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบและเป็นเชื้อที่แยกได้จากตลาดพลาสติกบรรจุไข่จากทุกฟาร์มและตลาด ในขณะที่เชื้อ *S. Emek* ที่ดื้อต่อยา SXT-NA-TE มีรูปแบบทางพันธุกรรม 3 ชนิดคือ B1-B3 และเป็นเชื้อที่แยกได้จากฟาร์ม C เท่านั้น *S. Derby* ทั้ง 11 สายพันธุ์ที่แยกได้จากฟาร์ม A นั้นมีรูปแบบทางพันธุกรรมแบบเดียวกันแต่มีการดื้อต่อยาด้านจุลชีพ 3 รูปแบบโดยที่ร้อยละ 83.3 (10/12) ดื้อต่อ SXT-TE ส่วนเชื้อ *S. Stanley* เป็น Type E1 ร้อยละ 63.6 (7/11) ซึ่งเป็น clone เด่นที่ไม่ดื้อยาด้านจุลชีพ การจำแนกรูปแบบทางพันธุกรรมด้วยวิธี PFGE เป็นวิธีที่เหมาะสมในการจำแนกและค้นหาสายพันธุ์ของเชื้อซัลโมเนลล่าที่อาจเป็นสาเหตุของภาวะระบาด การศึกษานี้แสดงให้เห็นสายพันธุ์ของเชื้อซัลโมเนลล่าที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสามารถพบได้จากฟาร์มเลี้ยงไก่และตลาด รูปแบบการดื้อยาที่เหมือนกันสามารถพบใน clone ที่แตกต่างและเหมือนกัน การใช้พันธุกรรมในการติดตามเชื้อซัลโมเนลล่าในห่วงโซ่อาหารสามารถช่วยให้ความเข้าใจในการแพร่กระจายของเชื้อซัลโมเนลล่าที่ดื้อต่อยาด้านจุลชีพหลายชนิดได้

GENOTYPIC PATTERNS OF *SALMONELLA* ISOLATED FROM VARIOUS SOURCES IN THE CHICKEN FARMS AND MARKET BY USING PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS

SRIRAT PORNRUANGWONG 4536340 PPH/M

M.Sc. (PUBLIC HEALTH) MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES AND EPIDEMIOLOGY

THESIS ADVISORS:ORASA SUTHIENKUL, Ph.D. (MEDICAL SCIENCE), KANOKRAT SIRIPANICHGON, M.D, M.P.H., AROON BANGTRAKULNONTH, B.Sc.(SCIENCE), ORN-ANONG RATCHTRACHENCHAI, Ph.D. (MEDICAL SCIENCE)

ABSTRACT

This study was conducted to determine the antimicrobial resistance and genotypic patterns of a total of 112 strains of salmonellae isolated from three chicken farms in Phra Nakorn Si Ayuttaya province and Klong Toey market; which were used in a prior study in 2000. Fifty-one *S. Braenderup*, 24 *S. Emek*, 14 *S. Weltevreden*, 12 *S. Derby*, and 11 *S. Stanley* strains were examined using the antimicrobial susceptibility test and characterized by *Xba*I PFGE typing. Fifty three salmonellae strains (47.3%, 53/112) were resistant to 4 antimicrobial agents; namely nalidixic acid (NA) 37.5%, sulfamethoxazole-trimethoprim (SXT) 33.9%, tetracycline (TE) 25.9%, and ampicillin (AMP) 2.7%. All isolates were sensitive to cefotaxime (CTX) and chloramphenicol (C). The prevalence of multidrug-resistant salmonellae (70%, 37/53) was significantly higher than those of single drug-resistant pattern strains (30%, 16/53, at $p < 0.05$). Moreover, 52.3% of salmonellae isolated from egg package (45/86) were antimicrobial resistant strains. *Xba*I PFGE typing was able to generate 7 patterns of *S. Braenderup* (A1-A7), 4 patterns of *S. Emek* (B1-B4), 4 patterns of *S. Weltevreden* (C1-C4), one genotype of *S. Derby* and 4 patterns of *S. Stanley* (E1-E4). The predominant clone of *S. Braenderup* was Type A2 (70.6%, 36/51) with 4 antibiotic sensitivity patterns. The most common patterns of Type A2 were sensitive to all tested antibiotics (63.9%, 23/36) and isolated from the egg packages at all three farms and the market. The SXT-NA-TE resistant strains of *S. Emek*, containing 3 PFGE types (B1-B3), were all from farm C (Phra Nakorn Si Ayuttaya province). All 12 strains of *S. Derby* isolated from farm A showed the same PFGE pattern with 3 antibiotic sensitivity patterns, and the most common pattern (83.3%, 10/12) was resistant to SXT-TE. PFGE Type E1 of *S. Stanley* was the most common clone (63.3%,7/11) and sensitive to tested antibiotics. PFGE typing was a significant method to differentiate and track down *Salmonella* strains that may cause an outbreak. The results of this study showed that the genetic related strain of *Salmonella* could be obtained from the chicken farms and the market. The same antimicrobial sensitivity pattern could be found in the different and distinct clones. Genotypic monitoring of salmonellae in the food chain could help to understand the wide spread of multidrug-resistant *Salmonella*.

KEY WORDS: *SALMONELLA*/ CHICKEN FARM/MARKET/ANTIMICROBIAL/PFGE/

105 P. ISBN 974-04-7474-8