รายงานการแยกเชื้อ Salmonella จาก Mesenteric Lymph Node ของสุกรโรงฆ่าสัตว์[๑]

โดย

เปรม พรหมคุปต์ สพ.บ.

ฝ่ายแบคทีเรียวิทยา กองวิชาการ กรมปศุสัตว์

มีรายงานการแยกเชื้อ Salmonella serotype ต่าง ๆ ในประเทศไทยอยู่เสมอ ๆ ทั้งที่แยกได้จากมนุษย์ (๑) (๖) (๙–๑๑) และจากสัตว์ (๒) (๘) เชื้อ Salmonella serotype ที่พบบ่อยครั้งในสุกรคือ S. cholerae–suis ซึ่งมักแยกได้จากสุกรป่วยเป็นโรคอหิวาต์สุกร (Hog Cholera) และจากลูกสุกรที่ป่วยเป็นโรคอุจจาระร่วงในประเทศไทย (๓) รายงานที่เกี่ยวกับพาหะเชื้อนี้มีน้อยมากในปี พ.ศ. ๒๕๑๐ ดุมและปานจิต (๑) แยก S. derby ได้จากกุนเชียงจากราชบุรี ๑ ใน ๔ ตัวอย่าง ต่อมา Lek Tanasugarn (๘) ในปี พ.ศ. ๒๕๐๙ ได้กล่าวถึงเชื้อ Salmonella serotype ต่าง ๆ ที่แยกได้จากเนื้อและตับโคและสุกรที่วางขายในท้องตลาดในพระนคร โดยเฉพาะในสุกรแยกได้ S. derby (๖), S. anatum (๒), S meleagridis (๒), S. virchow (๑) และ S. weltevreden (๑) จากเนื้อสุกรชำแหละ ๑,๗๐๕ ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังแยกได้ S. anatum (๔) และ S. derby (๑) จากตับของสุกร ๒๐๐ ตัวอย่างด้วย

ถ้ามองทางด้านสาธารณสุข จะเห็นได้ว่ายังมีความจำเป็นอยู่ตลอดเวลาที่จะต้องศึกษาค้นคว้าหาพาหะแพร่เชื้อนี้ โดยตระหนักถึงความจริงข้อนี้ ผู้รายงานได้ทำการตรวจ Mesenteric lymph node ของสุกรปรกติจำนวน ๘๒๐ ตัว เพื่อหาเชื้อ Salmonella สุกรจำนวนดังกล่าวได้ถูกฆ่า ณ โรงงานฆ่าสัตว์ของบริษัทสหสามัคคีค้าสัตว์จำกัด พระนคร เพื่อนำไปเป็นอาหารของมนุษย์ ในระหว่างเดือนพฤศจิกายน ๒๕๐๘ ถึงเดือนมกราคม ๒๕๐๙

---

(๑) เสนอในที่ประชุมทางวิชาการ วิทยาศาสตร์การเกษตรแห่งชาติ ครั้งที่ ๖ (พ.ศ. ๒๕๑๐) สาขาสัตว์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน พระนคร

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

การเก็บตัวอย่างต่อม (Collection of Specimens) การเก็บรวบรวมต่อมกระทำในตอนกลางคืนในขณะที่การฆ่าสุกรกำลังดำเนินอยู่ โดยกลุ่มของ Mesenteric lymph node และ Tissue ที่อยู่โดยรอบจะถูกตัดออกจากซากสุกรทันที โดยวิธี Sterile technique, ภายหลังที่ช่องท้องถูกเปิดแล้ว ผิวโดยรอบของชิ้นส่วนที่ตัดออกมาจะได้รับการฆ่าเชื้อที่อาจติดสกปรกมาด้วย โดยจุ่มลงไปใน Methyl alcohol ให้ทั่วแล้วจุดไฟให้ลุก ปล่อยให้เปลวไฟดับแล้วจึงปฏิบัติเช่นเดิมเพื่อฆ่าเชื้อซ้ำอีกครั้งหนึ่ง เสร็จแล้วจึงบรรจุแยกแต่ละตัวอย่างลงในถุงปลาสติกปิดปากถุงให้แน่นแล้วเก็บไว้ในกระติกน้ำแข็งทันที ต่อจากนั้นจึงรีบนำกลับห้องปฏิบัติการของฝ่าย โดยทั้งระยะเวลาห่างตั้งแต่เริ่มเก็บตัวอย่างแรกจนกลับถึงห้องปฏิบัติการไม่เกิน ๒ $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง

ถุงปลาสติกบรรจุต่อมทั้งหมดจะถูกนำเข้าเก็บในช่องน้ำแข็ง (Freezer) ทันทีที่มาถึง โดนทิ้งไว้ในช่องนี้ประมาณ ๑ ชั่วโมง เพื่อลดอุณภูมิให้ต่ำลงใกล้ศูนย์ ต่อจากนั้นจึงเปลี่ยนไปเป็นเก็บในช่องเย็น (Refrigerator) ที่อุณหภูมิประมาณ ๒°–๔° ซ. จนกระทั่งถึงเวลาเพาะเชื้อในวันรุ่งขึ้น ซึ่งเป็นเวลาหลังจากนี้ประมาณ ๑๐–๑๒ ชั่วโมง

การแยกเชื้อ (Cultural Examination) การเพาะเชื้อจากต่อมกระทำโดยเลาะเอา Adipose tissue ที่อยู่โดยรอบออกให้หมด ต่อจากนั้นก็ฆ่าเชื้อที่ผิวหนังของต่อมโดยรอบตามวิธีที่กล่าวมาแล้ว โดยจุ่มต่อมลงใน Methyl alcohol ให้ทั่ว ยกขึ้นจุดไฟให้ลุกแล้วปล่อยให้ดับ ปฏิบัติเช่นนี้รวม ๒ ครั้ง แล้วจึงบดต่อมให้ละเอียดในโกร่งซึ่งมีทรายปนอยู่เล็กน้อยโดยมี Normal saline ผสมลงไปในปริมาณพอสมควรเพื่อทำ ๑๐ % Tissue suspension, จาก Suspension นี้ถ่าย ๐.๕ ml. และ ๑ loopful เพาะลงใน Selenite Broth (Difco)* และ MacConkey agar (Difco)* plate ตามลำดับ, Incubate ทั้ง Tube และ Plate ที่ ๓๗° ซ. เป็นเวลา ๒ วัน, Selenite broth จะได้รับการถ่ายเชื้อหลังเพาะในวัน ๑, ครั้งและวันที่ ๒ อีกครั้งลงบน MacConkey agar plate, Incubate Plate ที่ ๓๗° ซ.

ตรวจ Mac Conkey agar plate ทั้งหมด ทั้งจาก Direct culture และ

---

* ผลิตภัณฑ์ของบริษัท Difco Laboratories Inc., Detroit, Michigan, U.S.A. 48201.

Subculture (จาก Selenite broth ครั้งที่ ๑ และครั้งที่ ๒) หลังจากเพาะมาแล้ว ๑ และ ๒ วัน เพื่อหา Non–lactose fermenting colonies ซึ่งถ้าปรากฏจะถ่ายแยกลง Triple sugar iron agar (Difco)* จากแต่ละ Plate, Plate ละ ๒–๓ Colonies, ตรวจ Triple sugar iron agar tube หลังจากที่ Incubate ข้ามคืนแล้วที่ ๓๗° ซ., tube ที่แสดงว่า lactose และ sucrose ถูก Ferment จะถูกคัดออก เชื้อจาก tube ที่เหลืออยู่จะได้รับการทดสอบ Urease Production โดยใช้ Urea broth (Difco)* ซึ่งถ้า Negative ก็จะรับการทดสอบทางชีวเคมีเพิ่มเติมต่อไป

การทดสอบทางชีวเคมี (Biochemical Test) เชื้อที่ให้ Urease test negative จะได้รับการทดสอบต่อทางชีวเคมีโดยอาศัยผลที่อ่านได้จาก Triple sugar iron agar โดยเชื้อที่ให้ H_2S (Positive) จะถูกถ่ายลงใน Carbohydrate fermentation media ชนิดต่าง ๆ โดยถ่ายลงเพื่อทดสอบซ้ำมี lactose, sucrose และทดสอบเพิ่มเติมมี salicin และ dulcite นอกจากนี้ยังถ่ายลง Semi-solid media และ Moeller KCN broth (BBL)** ด้วย ส่วนเชื้อที่ไม่ให้ H_2S (Negative) ก็จะได้รับการถ่ายลงใน lactose fermentation broth ในขณะเดียวกันก็ถ่ายลง SIM media (Difco)* เพื่อตรวจ Motility และ H_2S, และลงใน Peptone water เพื่อทำ Indol test ด้วย

จากการทดสอบข้างบนนี้ เชื้อที่ให้ผลแสดงลักษณะของ Salmonella ถูกจะนำไปทำ Antigenic analysis อีกครั้ง บ่อยครั้งเชื้อที่ยังสงสัยอยู่ได้รับการตรวจ Lysine Decarboxylase test เพิ่มเติมเพื่อให้แน่ใจว่าเป็น Salmonella เสียก่อน ในบางกรณีถ้าเชื้อที่แยกได้จำเป็นต้องทดสอบทางชีวเคมีเพื่อหา type ที่แน่นอนก็ทำการทดสอบหาความแตกต่างทางชีวเคมีโดยอาศัยวิธีส่วนใหญ่ที่บรรยายไว้โดย Kauffmann [๗], และ Edwards และ Ewing. [๕]

การจำแนกชนิดของเชื้อ (Serological Identification)*** เชื้อที่ให้ผลของ

---

* ผลิตภัณฑ์ของบริษัท Difco Laboratories Inc., Detroit, Michigan, U.S.A. 48201

** ผลิตภัณฑ์ของบริษัท Baltimore, Biological Laboratory Inc., Baltimore, Maryland 21218, U.S.A.

*** Salmonella diagnostic sera ที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Borroughs Wellcome แห่งประเทศอังกฤษ รองลงไปเป็นของ Lederle (American Cyanamid Co.) และของ Baltimore Biological Laboratory แห่งสหรัฐอเมริกา

การทดสอบทางชีวเคมีแสดงลักษณะของ Salmonella จะได้รับการตรวจแยกหา Antigenic structure ตามวิธีที่บรรยายไว้โดย Edwards และ Ewing (๔) ในห้องปฏิบัติการของฝ่ายทั้งหมด ยกเว้นเชื้อที่แยกได้บาง type ซึ่งไม่พบบ่อยนักจะได้รับการตรวจอย่างละเอียดเพื่อจัดหาพวกก่อนแล้วจึงส่งตัวอย่างของแต่ละพวกไปยัง Communicable Disease Centre, Atlanta, Georgia, U.S.A. เพื่อจำแนกชนิด (Serotype) ที่แน่นอนต่อไป (S. weston & mgulani, และ S. wandsworth).

ผล

ผลปรากฏว่าแยกเชื้อ Salmonella ได้จากMesenteric lymph node ของสุกร ๑๒๐ ตัว จากยอดสำรวจ ๘๒๐ ตัว คิดอัตราการพบเชื้อ ๑๔.๗๖ ٪ เชื้อ Salmonella ที่แยกได้รวมทั้งสิ้น ๑๓๗ Strain มี ๒๒ Serotype ดังต่อไปนี้ S. derby (จาก ๒๑ ตัว หรือ ๑๕.๓๓ ٪ ของเชื้อที่แยกได้ทั้งหมด), S. cholerae–suis (จาก ๙ ตัว) และ S. cholerae–suis var. kunzendorf (จาก ๑๐ ตัว, รวม ๑๙ ตัวหรือ ๑๓.๘๕ ٪), S. java (จาก ๑๗ ตัว หรือ ๑๒.๓๓ ٪), S. newport (จาก ๑๕ ตัว หรือ ๑๐.๙๕ ٪), S. stanley (จาก ๑๑ ตัว หรือ ๘.๐๓ ٪), S. anatum (จาก ๗ ตัว หรือ ๕.๑๑ ٪), S. san–diego (จาก ๗ ตัว หรือ ๕.๑๑ ٪), S. wandsworth (จาก ๖ ตัว หรือ ๔.๓๘ ٪), S. abony (จาก ๕ ตัว หรือ ๓.๖๕ ٪), S. berta (จาก ๕ ตัว หรือ ๓.๖๕ ٪), S. saint–paul (จาก ๔ ตัว หรือ ๒.๙๒ ٪), S. typhimurium (จาก ๔ ตัว หรือ ๒.๙๒ ٪), S. mgulani (จาก ๓ ตัว หรือ ๒.๑๙ ٪), S. abortus bovis (จาก ๒ ตัว หรือ ๑.๔๖ ٪), S. bareilly (จาก ๒ ตัว หรือ ๑.๔๖ ٪), S. bredeney (จาก ๒ ตัว หรือ ๑.๔๖ ٪), S.panama (จาก ๒ ตัว หรือ ๑.๔๖ ٪), S. jos (จาก ๑ ตัว หรือ ๐.๗๒ ٪), S. london (จาก ๑ ตัว หรือ ๐.๗๒ ٪) S. weston (จาก ๑ ตัว หรือ ๐.๗๒ ٪) S. muenchen (จาก ๑ ตัว หรือ ๐.๗๒ ٪), และ S. virchow (จาก ๑ ตัว หรือ ๐.๗๒ ٪), สำหรับรายละเอียดแสดงไว้แล้วในตารางที่ ๑

จากต่อมน้ำเหลืองของสุกรที่ตรวจพบเชื้อ ๑๒๑ ตัว แต่ละตัวอย่าง, ๑๐๗ ตัวอย่างพบเชื้อ Salmonella ๑ serotype, ๑๒ ตัวอย่างพบ ๒ serotype, และที่เหลือ

ตารางที่ ๑

แสดง serotype ต่าง ๆ ของเชื้อ salmonella ที่แยกได้จาก mesenteric lymph node ของสุกรปกติโรงฆ่าสัตว์

Salmonella serotype	Frequencyof Detection		หมายเหตุ
	No.	%	
S. derby	21	15.33	จากยอดสัตว์สำรวจ ๘๒๐ ตัว พบเชื้อ Salmonella ๑๒๑ตัว หรือเท่ากับ ๑๔.๗๖ % ต่อม ๑๐๗ ตัวอย่าง แยกเชื้อได้ตัวอย่างละ ๑ serotype, ต่อม ๑๒ ตัวอย่าง แยกเชื้อได้ตัวอย่างละ ๒ serotype, ต่อมที่เหลือ ๒ ตัวอย่าง แยกเชื้อได้ตัวอย่างละ ๓ serotype, โปรดดูรายละเอียดแสดง serotype ร่วมได้ในตารางที่ ๒
S. cholerae-suis	9	13.85	
S. cholerae-suis var. kunzendorf	10		
	19		
S. java	17	12.33	
S. newport	15	10.95	
S. stanley	11	8.03	
S. anatum	7	5.11	
S. san-diego	7	5.11	
S. wandsworth	6	4.38	
S. abony	5	3.65	
S. berta	5	3.65	
S. saint-paul	4	2.92	
S. typhimurium	4	2.92	
S. mgulani	3	2.19	
S. abortus bovis	2	1.46	
S. bareilly	2	1.46	
S. bredeney	2	1.46	
S. panama	2	1.46	
S. jos	1	0.72	
S. london	1	0.72	
S. weston	1	0.72	
S. muenchen	1	0.72	
S. virchow	1	0.72	
22 serotype	137 strains (โดยประมาณ)	100.00	

๒ ตัวอย่างพบ ๓ serotype รายละเอียดแสดง serotype ต่าง ๆ ที่แยกได้ร่วมกันแสดงไว้แล้วในตารางที่ ๒

จากจำนวนตัวอย่างต่อม ๑๔ ตัวอย่างที่แยกเชื้อ Salmonella ได้ร่วมกันมากกว่า ๑ serotype จากแต่ละต่อมนั้น เชื้อ S. cholerae—suis พบว่าแยกได้ควบคู่ไปกับ serotype อื่นบ่อยครั้งกว่าชนิดอื่น (๔/๑๔) ถัดลงไปมี S. san—diego (๓/๑๔), S. stanley (๓/๑๔), S. mgulani (๓/๑๔), S. abony (๒/๑๔) ฯลฯ ตามลำดับ, S. wandsworth มีน serotype เดียวที่พบแยกได้ควบคู่ไปกับ serotype อื่นอีก ๒ serotype จากต่อมน้ำเหลืองแต่ละตัวอย่างทั้งหมด ๒ ตัวอย่าง (สัตว์หมายเลข ๔๘๓ และ ๕๔๒)

S. mgulani เป็น serotype ที่พบว่าแยกได้ร่วมกับ serotype อื่นทุกครั้งจาก ๓ ตัวอย่าง (๑๐๕ ٪) ในจำนวนนี้ S. anatum เป็นตัวร่วมซึ่งพบแยกได้พร้อมกับ S. mgulani นี้ถึง ๒ ครั้งจาก ๒ ตัวอย่าง (สัตว์หมายเลข ๖๖๕ และ ๖๖๖)

รายละเอียดแสดง serotype อื่น ๆ ที่แยกได้ร่วมกัน มีแสดงไว้แล้วในตารางที่ ๒

ผลจากการเพิ่มจำนวน strain ของ Salmonella ที่แยกได้โดยใช้วิธีการเพาะหลายอย่างควบกันมีดังนี้ :—

ประมาณครึ่งหนึ่งของจำนวนเชื้อ Salmonella ที่แยกได้ทั้งหมดแยกได้จาก 1st Subculture (จาก enrichment broth ลง agar plate, หลังเพาะใน broth มาแล้ว ๒๔ ช.ม.) คือพบ ๗๒/๑๓๗ strain (๕๒.๕๖ ٪),

รองลงไปแยกได้จาก 2 nd subculture (ถ่ายจาก enrichment, ครั้งที่ ๒, หลังเพาะ ๔๘ ช.ม.) แต่อย่างเดียว แยกได้ ๒๘/๑๓๗ strain (๒๐.๔๔ ٪),

นอกจากนี้ยังพบว่าแยกได้จาก Direct plating culture แต่อย่างเดียว ๒๗/๑๓๗ (๑๙.๗ ٪)

ผลจากการเพิ่มจำนวน strain ของ Salmonella ที่แยกได้โดยใช้วิธีการเพาะหลายอย่างควบกันมีดังนี้ :—

ประมาณครึ่งหนึ่งของจำนวนเชื้อ Salmonella ที่แยกได้ทั้งหมดแยกได้จาก 1st Subculture (จาก enrichment broth ลง agar plate, หลังเพาะใน broth มาแล้ว ๒๔ ช.ม.) คือพบ ๗๒/๑๓๗ strain (๕๒.๕๖ ٪),

ตารางที่ ๒

แสดง serotype ต่าง ๆ ของ Samonella ที่แยกได้ร่วมกัน (mixed infection) จาก Mesenteric lymph node ของสุกรตัวเดียวกัน

สัตว์หมายเลข	serotype ที่แยกได้ร่วมกัน															
	S. cholerae-suis	S. san-diego	S. stanley	S. mgulani	S. abony	S. anatum	S. derby	S. java	S. wandsworth	S. abortus bovis	S. berta	S. bredeney	S. muenchen	S. weston	S. newport	S. typhimurium
37							+				+					
369	+											+				
410					+					+						
438	+						+		+							
505	+												+			
511		+	+													
534			+					+								
542			+						+						+	
665				+		+										
666				+		+										
668				+										+		
679	+							+								
719		+			+											
764		+														+
รวม 14 ตัว	4	3	3	3	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
ยอด strain ที่แยกได้	19	7	11	3	5	7	21	17	6	2	5	2	1	1	15	4
% ของตัวอย่างที่พบ serotype ร่วม	21.1	42.9	27.3	100	40	28.6	9.5	11.8	33.3	50	20	50	100	100	6.7	25

หมายเหตุ นอกจากหมายเลข 438 และ 542 ที่พบ ๓ serotype จากแต่ละตัวอย่างแล้ว ที่เหลือพบ ๓ serotype จากแต่ละตัวอย่างทั้งสิ้น

รองลงไปแยกได้จาก 2 nd. Subculture (ถ่ายจาก enrichment ครั้งที่ ๒. หลังเพาะ ๔๘ ช.ม.) แต่อย่างเดียวแยกได้ ๒๘/๑๓๗ strain (๒๐.๔๔ ٪),

นอกจากนี้ยังพบว่าแยกได้จาก Direct plating culture แต่อย่างเดียว ๒๗/๑๓๗ (๑๙.๗ ٪) จาก Direct plating culture ควบกับ lst. Subculture ๗/๑๓๗ (๕.๑๑٪) และจาก Direct plating cultnre ควบกับ 2 nd. Subculture ๓/๑๓๗ (๒.๑๙ ٪),

เชื้อที่ต้องผ่านการเพาะใน enrichment media ๒๔ ชั่วโมงถึงแยกได้ (lst. Subculture) มีแยกได้ทั้งหมด ๑๐๐ ٪; S. abortus bovis (๒), S. bredeney (๒), S. jos (๑), S. muenchen (๑), S. panama (๒), และ S. london (๑), และส่วนใหญ่ที่แยกได้, S. san-diego (๖/๗ หรือ ๘๕.๗ ٪), S. typhimurium (๓/๔ หรือ ๗๕ ٪), S.wandsworth (๔/๖ หรือ ๖๖.๗ ٪) เป็นต้น

เชื้อที่ต้องอาศัยการเพาะใน enri chment นานถึง ๔๘ ชั่วโมง จึงจะแยกได้ (2 nd. Subculture) แยกได้ทั้งหมด ๑๐๐ ٪ S. mgulani (๓, ๒ จาก Direct และ ๑ จาก Direct & 2 nd. Subculture, S. bareilly (๒), และ S. mgulani (๑).

เชื้อที่เพาะเลี้ยงไม่ค่อยขึ้นใน enrichment media ที่ใช้ (Selenite broth) แต่เพาะขึ้นโดย Direct plating culture ทั้งหมด ๑๐๐ ٪ คือ S. cholerae-suis (๑๙ strain, ๑๘ จาก Direct, และ ๑ จาก Direct & lst. Subculture มีเพียง strain เดียวของ var. kunzendorf ที่เลี้ยงขึ้นใน enrichment media)

นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าถือ lst. Subculture เป็นหลักในการจะแยกเชื้อแล้ว การใช้ Direct plating cultcre และการถ่ายเชื้อจาก enrichment ช้าไปอีก ๒๔ ช.ม. (เป็น ๒ วัน หรือ ๔๘ ช.ม. ๒ nd. Subculture) จะทำให้แยกเชื้อเพิ่มขึ้นจาก ๗๒ (lst. Subculture) เป็น ๑๓๐ strain คือเพิ่มอีก ๕๘ strain (ได้จาก Direct, 2 nd. Subculture อย่างเดียว, และจาก Direct & 2 nd. Subculture) หรือ ๗๔.๓๕ ٪, ในจำนวนนี้ 2 nd. Subdulture ช่วยให้แยกเชื้อเพิ่มขึ้นอีก ๓๑ หรือ ๓๙.๗๓ ٪

เชื้อ Salmonella ที่แยกได้ทั้งหมดจัดแบ่งอยู่ใน ๘ Group, serotype ที่แยกได้ส่วนใหญ่อยู่ใน Group B (๑๐/๒๒) และจำนวน strain ที่แยกได้ส่วนใหญ่ก็อยู่ใน Group นี้ (๗๔/๑๓๗) รองลงไปเป็น Group C_1 (๒๒/๑๓๗) (โปรดดูรายละเอียดอื่น ๆ เพิ่มเติมจากที่แสดงไว้ในตารางที่ ๓)

ตารางที่ ๓

แสดงการเพิ่มจำนวน strain ของเชื้อ Samonella มากขึ้น โดยอาศัยวิธีเพาะหลายวิธีควบกัน

No.	serotype	**** group	จำนวน strain ของ Salmonella ที่แยกได้จาก					รวมยอด (strain)	
			ทั้งหมดทั้ง Direct, 1st. & 2nd. Subcult no. (%)	เฉพาะ Direct & 2nd. Subculture no. (%)	เฉพาะ Direct cult. แต่อย่างเดียว no. (%)	เฉพาะ 1st. & 2nd. Subculture no. (%)	เฉพาะ 2nd. Subcult. แต่อย่างเดียว no. (%)		
1	S. java	B			3 (17.65)	11 (64.7)	3 (17.65)	17	
2	S. abony	B	1 (20.00)			3 (60.00)	1 (20.00)	5	
3	S. abortus bovis	B				2 (100.00)		2	
4	S. stanley	B		1 (9.1)		6 (54.54)	4 (36.36)	11	
5	S. saint-paul	B	3 (75.00)		1 (25.00)			4	
6	S. san-diego	B				6 (85.7)	1 (14.5)	7	
7	S. derby	B	2 (9.5)		2 (9.5)	14 (66.6)	3 (14.3)	21	
8	S. typhimurium	B			1 (25.00)	3 (75.00)		4	
9	S. bredeney	B				2 (100.00)		2	
10	S. jos	B				1 (100.00)		1	74

11	S. cholerae-suis -var. kunzendorf	C_1	1 (5.3)		8 10 } 18 (94.7) (100.00)			9 10 } 19	
12	S. virchow	C_1			1 (100.00)			1	
13	S. bareilly	C_1					2 (100.00)	2	22
14	S. muenchen	C_2				1 (100.00)		1	
15	S. newport	C_2				8 (53.3)	7 (46.7)	15	16
16	S. berta	D			1 (20.00)	4 (80.00)		5	
17	S. panama	D				2 (100.00)		2	7
18	S. anatum	E_1		1 (14.36)		4 (57.1)	2 (28.7)	7	
19	S. london	E_1				1 (100.00)		1	8
20	S. weston	I					1 (100.00)	1	1
21	S. mgulani	P		1 (33.3)			2 (66.7)	3	3
22	S. wandsworth	Q				4 (66.7)	2 (33.3)	6	6
	22 serotypes	8 gr.	7 (5.11)	3 (2.19)	27 (19.7)	72 (52.56)	28 (20.44)		137

หมายเหตุ Direct culture เพาะลง MacConkey agar plate จาก tissue suspension, Subculture ถ่ายจาก Selenite broth ลงบน MacConkey agar plate หลังเพาะมาแล้วในวันที่ ๑ (1st Subculture, ๒๔ ช.ม.) และในวันที่ ๒ (2 nd Subculture. ๔๔ ช.ม.)

**** จัดตาม Kauffmann–White Schema, May 1964, ใน Difco Supplementary Litteraturc, Difco Laboratories, Detroit, Mich., U.S.A., (1964) : 234–236.

ตามตารางที่ ๔ จะเห็นการระบาดของเชื้อ Salmonella serotype ต่าง ๆ ในกลุ่มของสุกรโรงฆ่าซึ่งเลือกสำรวจ ต่อมจะถูกเลือกเก็บจากกลุ่มของสุกร ซึ่งเจ้าของนำมาฆ่ารายเดียวกันหรือของบริษัทกลุ่มของสุกรดังกล่าวอาจจะมาจากแหล่งเดียวกันหรืออย่างน้อยก็เลี้ยงรวมกันชั่วระยะหนึ่งในระหว่างนั้นเชื้อ Salmonella จะระบาดในฝูง ซึ่งจะเห็นได้ว่า S. derby ระบาดอยู่ในกลุ่มสุกรเก็บต่อมครั้งที่ ๑ และ ๖ (๖/๑๕ หรือ ๔๐ ٪ และ ๘/๔๐ หรือ ๒๐ ٪ ตามลำดับ) และเชื้อ S. java ระบาดอยู่ในกลุ่มของสุกรหมายเลข ๓ (๖/๑๑ หรือ ๕๔.๕ ٪)

นอกจากนี้ S. derby พบว่าแยกได้กระจัดกระจายจากกลุ่มของสุกรแทบทุกกลุ่ม คือแยกได้จาก ๖ กลุ่มใน ๘ กลุ่ม ซึ่งเช่นเดียวกับ S. san-diego คือแยกได้จาก ๖ กลุ่มใน ๘ กลุ่มเช่นกัน S. java พบว่าเป็น serotype ถัดรองลงไปที่แยกได้จากหลายกลุ่ม (๕/๘ กลุ่ม)

เป็นที่น่าสังเกตุว่า S. cholerae-suis var. kunzendorf แยกได้จาก ๒ กลุ่มเท่านั้น คือกลุ่มสุกรที่เก็บต่อมหมายเลข ๖ และ ๗ สำหรับ S. cholerae-suis ธรรมดานั้นพบกระจัดกระจายอยู่ถึง ๕/๘ กลุ่ม

นอกจากนี้ในกลุ่มที่ ๗ ยังพบ unusual type ของ Salmonella คือ S. mgulani (๓) และ S. weston (๑) ซึ่งทั้งหมดทุก strain แยกได้จากสุกรกลุ่มนี้ เช่นเดียวกับ S. bareilly ทั้งหมด ๒ strain ก็แยกได้จากกลุ่มนี้เช่นกัน นอกจากนี้ S. bredeney ทั้งหมด ๒ strain แยกได้จากสุกรกลุ่มที่ ๕, S. saint-paul แยกได้ ๓ จากทั้งหมด ๔ strain จากสุกรในกลุ่มที่ ๒ ที่เหลือพบในกลุ่มที่ ๓

อัตราการเป็นพาหะนำเชื้อ Salmonella พบสูงในกลุ่มของสุกรกลุ่มที่ ๖ คือถึงประมาณ ๒๓ ٪ และพบต่ำที่สุดในสุกรกลุ่มที่ ๕ คือพบเพียง ๘.๓๖ ٪ แต่อย่างไรก็ตามอัตราเฉลี่ยการเป็นพาหะนำโรคอยู่ประมาณ ๑๕ ٪

วิจารณ์ผล

เหตุที่เลือก mesenteric lymph, node เป็นแหล่งสำรวจหาเชื้อ Salmonella ในสุกรก็เพราะพบเชื้อใน tissue นี้มากกว่าที่อื่น(๔)

ตารางที่ ๔

แสดงการระบาดของเชื้อ Salmonella serotype ต่าง ๆ ในกลุ่มของสุกร ที่นำเข้าฆ่าแต่ละกลุ่ม

หมายเลขที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนยอดสัตว์ที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนสัตว์ที่พบเชื้อ	% สัตว์ที่พบเชื้อ	จำนวน strain ที่แยกได้	serotype ต่าง ๆ และจำนวน strain ที่แยกได้																					
					S. derby	S. cholerae-suis	-var. kunzendorf	S. java	S. newport	S. stanley	S. anatum	S. san-diego	S. wandsworth	S. abony	S. berta	S. saint-paul	S. typhimurium	S. mgulani	S. abortus bovis	S. bareilly	S. bredeney	S. panama	S. jos	S. london	S. weston	S. muenchen	S. virchow	รวม serotype
1	100	14	14.0	15	6			4	2						2		1										5
2	50	8	16.0	8	2					1		1				3	1										5
3	70	11	15.7	11				6				1		1	1	1			1								6
4	120	15	12.5	15	1	2		1	2	3	1	1		1									1	1		1	11
5	92	8	8.4	10	1	1			1			1		2					1		2	1					8
6	142	33	23.2	40	8	3	4	5	4	6	1	1	5		1		1								1		12
7	135	22	16.3	26		2	6	1	6		4				1			3		2				1			9
8	111	10	9.0	12	3	1				1	1	2	1	1			1					1					9
รวม	820	121	14.8	137	21	9	10	17	15	11	7	7	6	5	5	4	4	3	2	2	2	2	1	1	1	1	1	22

จากผลของการสำรวจชี้ให้เห็นว่า อัตราการนำโรค Salmonellosis ในสุกรค่อนข้างสูงถึง ๑๕ ٪ และนำเชื้อถึง ๒๒ serotype ทั้งนี้เพราะสุกรเป็น reservoir (พาหะแพร่โรค) เชื้อที่สำคัญตัวหนึ่งใน Animal Kingdom เชื้อ S. derby ซึ่งแยกได้มากกว่าเพื่อนถึง ๑๕.๓๓ ٪ มีความสำคัญทางด้านสาธารณะสุขค่อนข้างมาก ทั้งนี้มีรายงานการแยกเชื้อชนิดนี้ได้จากผู้ป่วยเป็นโรคอุจจาระร่วง ในประเทศไทยในระยะ ๒–๓ ปีที่ผ่านมานี้ โดยเฉพาะจากเด็กค่อนข้างสูง (๙–๑๑)

เชื้อ S. java, S. wandsworth, S. abony, S. berta, S. mgulani, S. abortus bovis, S. bareilly, S. bredeney, S. jos, S. london, S. weston และ S. muenchen เป็น serotype ใหม่ที่แยกได้ในประเทศไทย ทั้งนี้เพราะไม่มีรายงานมาก่อน นอกจาก serotype ที่พบใหม่ดังกล่าวแล้ว serotype อื่นพบเคยแยกได้จากมนุษย์ทั้งสิ้น ซึ่งนับว่าเป็นความสำคัญทางด้านสาธารณะสุขเป็นอย่างมาก แม้ว่าต่อมน้ำเหลืองของสุกรจะไม่นิยมนำไปใช้เป็นอาหารก็ตาม การพบเชื้อที่ mesenteric lymph node ก็ไม่แสดงว่า tissue อื่นจะปลอดจากเชื้อนี้อย่างน้อยการผ่าต่อมและการจับต้องซากก็จะทำให้เชื้อกระจายจากแหล่งที่พบไปยังส่วนต่าง ๆ ของซาก อันตรายจากการติดโรค Salmonellosis จากที่เชื้อไป contaminate ซากสุกรย่อมสูงขึ้นและจากที่มีรายงานมาแล้ว (๘) จะเห็นได้ว่า Salmonella บาง serotype โดยเฉพาะที่รายงานไว้ในเรื่องนี้คือ S. derby, S. anatum S. virchow อาจจะติดไปกับเนื้อสุกรที่จำหน่ายในท้องตลาดได้

จากการพบเชื้อ S. cholerae–suis ในอัตราสูง (๑๓.๑๓ ٪) ในสุกรที่สำรวจมีความสำคัญมาก ทั้งนี้เพราะเชื้อนี้ทำให้เกิดโรค Salmonellosis โดยตรงในสุกร (๔) ที่พบกันอยู่เสมอก็คือ ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนกับโรคอหิวาต์สุกร นอกจากนี้ยังทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงและ septicemia ในลูกสุกรโดยเฉพาะเพิ่งอย่านมด้วย (๓) จากการสำรวจจะเห็นว่าเชื้อนี้ระบาดหลายแหล่งทั่วไป

เป็นที่น่าเสียดายว่าไม่สามารถจะหาแหล่งที่แน่นอนที่สุกรแต่ละตัวมาได้ แต่อย่างไรก็ตามผลจากการสำรวจพบว่าเชื้อ Salmonella บาง serotype พบแทบทุกกลุ่มของสุกรที่นำเข้ามาฆ่าตัวอย่างเช่น S. derby, S cholerae–suis, S. java, S. newport,

S. san–diego ฯลฯ เป็นต้น แสดงว่าเชื้อนี้ระบาดอยู่ทั่วไป นอกจากนี้ยังพบว่าสุกรบางกลุ่มพบการระบาดของ Salmonella บาง serotype ด้วย ตัวอย่างในเรื่องเช่น S. derby และ S. java พบระบาดอยู่ในสุกรกลุ่มที่ ๑ และที่ ๓ ตามลำดับ สุกรกลุ่มต่าง ๆ ที่เลือกเก็บตัวอย่างเหล่านี้ จะได้มาจากแหล่งต่าง ๆ เหล่านี้ คือ จากแหล่งเพาะเลี้ยงเดียวกันพ่อค้าส่งสัตว์เข้าฆ่ารายเดียวกัน หรือจากบริษัทเอง ซึ่งในทุกกรณีย์สุกรแต่ละกลุ่มก็ได้รับการขังรวมกันชั่วระยะหนึ่งก่อนส่งฆ่าอยู่แล้ว โอกาศที่เชื้อจะแพร่ระบาดในกลุ่มสุกรก็มีอยู่เสมอ

Serotype ของ Salmonella ที่แยกได้ส่วนใหญ่อยู่ใน Group B ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการสำรวจหา carrier ในสุกร โดยใช้ antigen group นี้ อย่างไรก็ตามเชื้อที่แยกได้ส่วนใหญ่ก็จัดอยู่ในระหว่าง GroupB–E จะทำให้ไม่เกิดความลำบากอะไรในการจะจำแนกชนิดของเชื้อนี้ในห้องปฏิบัติการทางแบคทีเรียวิทยาธรรมดา

การที่เลือก Mac Conkey agar เป็น Direct plating media และเลือก Selenite broth เป็น enrichment media โดยไม่ใช้ media อื่น ๆ ก็เพราะ media ดังกล่าวทั้งสองอย่างจะหาได้ง่ายในห้องปฏิบัติการธรรมดาและราคาไม่แพงนัก จากการสำรวจโดยใช้ media ทั้งสองอย่าง พบว่าถ้าเพิ่ม Direct culture และยืดเวลาถ่ายเชื้อ Subculture จาก ๒๔ ชั่วโมง เป็น ๔๘ ชั่วโมง และถ่ายซ้ำเพิ่มขึ้นจากการถ่ายครั้งเดียว (1st. Subculture) หลัง ๒๔ ชั่วโมง แล้วจะทำให้เพิ่มจำนวน isolation มากขึ้นอีกถึง ๗๔.๓๕ ٪ แต่ถ้าไม่ทำ Direct culture ด้วยจะเพิ่มขึ้นโดย 2nd. Subculture เพิ่ม ๓๙.๗๓ ٪ แต่อย่างไรก็ตาม Direct culture ก็มีความสำคัญเพราะทำให้เพิ่ม isolation อีก ๒๓.๖๓ ٪ โดยเฉพาะ S. cholerae–suis แยกได้จาก Direct culture ทั้งสิ้นและมี strain เดียวของ var. kunzendorf ที่ขึ้นได้โดยผ่าน enrichment media นี่แสดงว่าเชื้อ S. cholerae–suis เลี้ยงให้ขึ้นใน Selenite broth ได้ยาก ซึ่งตรงกับที่เคยมีรายงานไว้ (๕)

บาง serotype พบว่าต้องอาศัยการเพาะใน enrichment นานถึง ๔๘ ชั่วโมง จึงจะแยกได้เช่น S. bareilly, S. mgulani นี่อาจเป็นเหตุผลว่าทำไมเชื้อ Salmonella ทั้งสองชนิดจึงไม่ค่อยพบบ่อยนัก อย่างไรก็ตามเนื่องจากเชื้อทั้งสอง serotype แยกได้เป็นจำนวนน้อยคือ ๒–๓ strain เท่านั้น จะนำมาอธิบายเหตุผลข้อนี้ย่อมทำได้ยาก

สรุป

จากยอดสุกรที่ได้รับการตรวจหาเชื้อ Salmonella จาก Mesenteric lymph node ๘๒๐ ตัว พบเชื้อ Salmonella ๑๒๑ ตัว หรือเท่ากับ ๑๔.๗๖ ٪ ตัวอย่างต่อม ๑๐๗ ตัวอย่างแยกเชื้อได้ ๑ serotype จากแต่ละต่อม ที่เหลือ ๑๔ ตัวอย่าง ๑๒ ตัวอย่างแยกได้ ๒ serotype และ ๒ ตัวอย่างแยกได้ ๓ serotype จากแต่ละต่อม

เชื้อที่แยกได้ทั้งหมดมี ๒๒ serotype รวม ๑๓๗ strain ในจำนวนนี้ ๑๐ serotype มีรายงานแยกได้ในประเทศไทยแล้ว ที่เหลืออีก ๑๒ serotype เป็น serotype ใหม่ไม่เคยรายงานในประเทศไทยมาก่อน

ในจำนวน ๑๐ serotype ที่แยกได้และเคยมีรายงานแยกได้ในมนุษย์นั้น S. derby นับว่ามีความสำคัญทางด้านสาธารณะสุขอยู่มาก เพราะแยกได้จากสุกรที่สำรวจบ่อยครั้งที่สุด และในขณะเดียวกันในระยะ ๒–๓ ปีที่ผ่านมานี้ รายงานโรคในมนุษย์ซึ่งเกิดจากเชื้อนี้มีเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะในเด็ก

ถึงแม้ว่า Mesenteric lymph node จะไม่นิยมนำไปเป็นอาหารก็ตาม การที่พบเชื้อ Salmonella ใน tissue นี้อาจจะแสดงได้ว่าอาจมีเชื้อ หรือเชื้อปนไปในส่วนของซากชิ้นอื่น ๆ ของตัวเดียวกันได้ซึ่งเชื้อดังกล่าวอาจจะเพิ่มจำนวนตัวเองมากขึ้น ทำให้ผู้บริโภคเนื้อที่ไม่สุกดิบ เกิดโรค Salmonella poisoning ได้

การเพาะเชื้อจาก tissue โดยตรงลง agar plate และการเพิ่มการถ่ายซ้ำจาก Selenite broth หลังเพาะ ๔๘ ชั่วโมง จากที่ถ่ายปกติหลังเพาะ ๒๔ ชั่วโมง ทำให้เพิ่มจำนวน isolation มากขึ้นอีก ๗๔.๓๕ ٪ การเพาะเชื้อโดยตรงจาก tissue ลง agar plate ช่วยให้แยก S. cholerae–suis ได้เกือบ ๑๐๐ ٪

ผู้รายงานหวังว่าข้อมูลที่ได้รับจากการสำรวจจะก่อประโยชน์ในการป้องกันและควบคุมโรค Salmonellosis ทั้งในมนุษย์และในสัตว์

คำขอบคุณ

ผู้รายงานขอขอบคุณ

คุณเชื้อ ว่องส่งสาร หัวหน้ากอง และคุณพจน์ พุฒรังษี หัวหน้าฝ่ายแบคทีเรียวิทยา กองวิชาการ กรมปศุสัตว์ ที่ได้สนับสนุนให้กำลังใจและให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ช่วยให้งานค้นคว้าเรื่องนี้สำเร็จขึ้นมาได้

บริษัทสหสามัคคีค้าสัตว์ จำกัด และเจ้าหน้าที่สัตวแพทย์โรงฆ่าสัตว์ ซอยกล้วยน้ำไท พระนคร ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้ออำนวยความสะดวกต่าง ๆ ในการเก็บต่อมน้ำเหลืองเพื่อนำมาศึกษาครั้งนี้

หน่วยโครงการวิจัยการแพทย์ ส.ป.อ. ฝ่ายอเมริกัน ที่ช่วยเป็นธุระจัดส่งเชื้อที่แยกได้บางตัวอย่าง ไปตรวจแยกชนิดให้

คุณทิพา ฉัตรมาศ ฝ่ายแบคทีเรียวิทยา กองวิชาการ ที่ช่วยจัดเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดสำหรับใช้ในงานค้นคว้าเรื่องนี้

References

๑. ดุม บุญนาค และ ปานจิต เอกะจัมปกะ : ซัลโมเนลล่าชนิดต่าง ๆ ที่แยกในประเทศไทยระหว่างปี ๒๔๙๖–๒๕๐๐, จ.พ.ส.ท. ๔๑ (ก.ย. ๒๕๐๑) : ๓๒๑–๓๓๕.

๒. เปรม พรหมคุปต์ : รายงานการแยกเชื้อ S. weltevreden จากนกโนรี ๑ ตัว, รายงานการประชุมทางวิทยาการเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ ๔, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พระนคร, (ม.ค. ๒๕๐๘) ๔๗๑–๔๗๗

๓. เปรม พรหมคุปต์ : รายงานการสำรวจหาเชื้อซาลโมเนลล่าจากสัตว์ระหว่างปี ๒๕๐๗ ถึง ๒๕๐๙ รายงานกองวิชาการ (๒๕๑๐) ไม่ได้ตีพิมพ์

๔. Buxton, A. : Salmonellosis in Animals, Commonwealth Agricultural Bureaux, Central Sales, Farnham Royal Bucks, England, 1957.

๕. Edwards, P.R., and Ewing, W.H. : Identification of Enterobacteriaceae, Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minn., 1962.

๖. Gaines, Sidney : Salmonella nontevideo in children with diarrhea in Bangkok, Thailand, during 1962–1963, J. microbiol. Soc. Thai., 6–7 (1962–63) : 11–20.

๗. Kauffmann, F. : Enterobacteriaceae, Ejnar Munksgarard Publisher, Copenhagen, 1954.

๘. Tanasugarn, Lek : Public heatth aspects of food irradiation, J. microbiol. Soc. Thai., 8–10 (1964–66) : 32–39.

๙. Seato Medical Research Lab., Bangkok, : Annual Progress Report- (1964) : 362.

๑๐. Ibid. (1966) : D_1—D_5.

๑๑. Ibid (1966) : 85.

Summary in English

Occurrence of Salmonellae in Mesenteric Lymph Nodes of Normal Slaughter Pigs

by

Prem Brahmacupta D.V.M.

Veterinary Research & Education Division, Dept. of Livestock Development

The mesenteric lymph nodes of apparently normal slaughter pigs in Bangkok were examined for salmonella from November 1965 through January 1966. 121 out of 820 samples were infected representing an incidence of approximately 15 percent, and the following serotypes were isolated : S. derby (21), S. cholerae—suis (9), S. cholerae—suis var. kunzendorf (10), S. java (17), newport (15), S. stanley (11), S. anatum (7), san-diego (7), S. wandsworth (6), S. abony (5), S. berta (5), S. saint—paul (4), S. typhimurium (4), S. mgulani (3), S. abortus bovis (2), S. bareilly (2) S. bredeney (2), S. panama (2), S. jos (1), S. london (1), S. weston (1) S. muenchen (1), and S. virchow (1).

One-hundred and seven samples yielded one serotype each, 2 serotypes were isolated from each of twelve samples, and three serotypes were found in each of two samples.