

Dissertation Title	Molecular Epidemiologic Approaches and Genome Wide Association Study (GWAS) of Multidrug Resistant (MDR) <i>Salmonella</i> from Swine Industries in Thailand	
Author	Miss Phacharaporn Boonkhot	
Degree	Doctor of Philosophy (Veterinary Science)	
Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Prapas Patchanee	Advisor
	Assoc. Prof. Dr. Suvichai Rojanasthien	Co-advisor
	Asst. Prof. Dr. Surachai Pikulkaew	Co-advisor

ABSTRACT

Salmonellosis and antimicrobial resistant (AMR) *Salmonella* are a serious public health, economic and are widespread in developed and developing countries through the food production chain. Furthermore, the persistence of this pathogen can be found along food production chain and it's hard to eradicate. Molecular technique is the essential for bacterial typing. It can be provided the information to determine about infectious-disease transmission pattern, tracking, surveillance as well as distinguish between strains. Bacterial GWAS was provided to investigate gene association with the interested phenotype such as the survival abilities. Objective of this study was to find out genetic diversity of *Salmonella* spp. and detect antimicrobial resistance genes of *Salmonella*, to compare the discriminatory power of *Salmonella* between the techniques and to investigate the survival abilities of *Salmonella* spp. in swine industries in Chiang Mai and Lamphun provinces, Thailand.

Salmonella strains which were used in this study including 332 *Salmonella* strains from farm to market were collected during 2011-2014. 143 strains analyzed by MLST from 7 AEC countries obtained during 1940 to 2012 (<http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Senterica>) were included. Finally, 684 global strains downloaded from National Center

for Biotechnology Information (NCBI) were used to analyze for population structure and phylogenies among Thai strain and global strain.

Phenotype and genotype finding of the organism were explored by numerous techniques. 300 *Salmonella* strains were randomly selected from strains recovered in 2011-2013. *S. Rissen* was the most frequency serotype observed. While, “AMP, S, TE” was the majority antimicrobial resistance pattern detected in *Salmonella* strain. There were no statistical differences in numbers of resistance *Salmonella* found in different sources in most antimicrobial agents.

175 *Salmonella* strains from 300 strains were randomly selected from strains recovered in 2011-2013 to investigate class 1 integrons were discovered from *Salmonella* strains from various isolate types. 30 *Salmonella* strains from 175 strains were used to identify genetic diversity of the strain recovered from pig farms and slaughterhouses by Multi locus sequence typing (MLST). 30 strains were grouped into six sequence types (ST) generated from MLST technique. ST 469 was the predominant grouped in this study. The groups of strains with same ST were detected in strain origination which might be contamination of *Salmonella* take place from pig farms to slaughtering processes. 20 *Salmonella* strains from 30 MLST technique analyzed strains were used to compare the discriminatory power of *Salmonella* with previous PFGE results. The discriminatory power of *Salmonella* between MLST and PFGE were 0.753 and 0.932.

Furthermore, MLST was also used to expand an epidemiological of the strains to other areas. 173 *Salmonella* strains (30 strains existing MLST results and 143 strains analyzed by MLST from 7 AEC), 68 ST were identified by MLST. 21 strains belonged to four ST new to AEC countries. In this study found the relation in strains in AEC countries. Discriminatory power of *Salmonella* between MLST and serotyping were 0.959 and 0.904, respectively.

124 *Salmonella* strains (92 isolate were from pig farm and slaughterhouse and 32 strains were from market) recovered in 2011-2014 and 684 global were include. Thai *Salmonella* strains were not quite much differed from global collection. There are the relations between many strains from farm to market. High levels of tetracycline,

aminoglycoside resistance genes and extended spectrum beta lactamase in Thailand strains were observed. There were 37 genes associated with survival of *Salmonella* spp. in swine industries detected by GWAS.

Finally, antimicrobial usage should be controlled by veterinarian, doctor and pharmacist. Cleaning program in swine industry should be improved. Having raw meat or non-undercook meat should be avoided.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หัวข้อคุณูปการ

อนุธรรมาภิศษาและการศึกษาความสัมพันธ์แนวกว้างตลอดจີโนม
ของเชื้อซัลโมเนลลาที่คืดต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด
จากอุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทย

ผู้เขียน

นางสาวพรพร บุญโคตร

ปริญญา

ปริญญาคุณูปการบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การสัตวแพทย)

คณะกรรมการที่ปรึกษา

รศ. น.สพ. ดร. ประภาส พังนึ

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รศ. น.สพ. ดร. สุวิชัย โรจนเสถียร

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผศ. น.สพ. ดร. สุรัชชัย พิกุลแก้ว

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

โรคซัลโมเนลโลซิสและเชื้อซัลโมเนลลาที่คืดต่อยาปฏิชีวนะเป็นปัญหาร้ายแรงทางสาธารณสุข เศรษฐกิจ และระดับเป็นวงกว้างในประเทศที่พัฒนาและกำลังพัฒนาในกระบวนการผลิตอาหาร นอกจากนี้ได้พบเชื้อก่อโรคนี้อยู่ในกระบวนการผลิตอาหารและยากต่อการกำจัดให้หมดสิ้น อนุธรรมาภิศษาที่มีความสำคัญต่อการแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งจัดเตรียมข้อมูลเพื่อระบุรูปแบบ การติดต่อของเชื้อก่อโรค การติดตาม การเฝ้าระวังและการจำแนกเชื้อออกจากกัน การศึกษา ความสัมพันธ์แนวกว้างตลอดจີโนมของแบคทีเรียช่วยในการสืบหาชนิดที่มีความสัมพันธ์ต่อการ แสดงออกทางฟีโนไทป์ที่เราสนใจ เช่น ความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อในสิ่งแวดล้อม วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อหาความลักษณะความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อซัลโมเนลลา สืบหาชนิดของเชื้อซัลโมเนลลา เปรียบเทียบความสามารถในการจำแนกเชื้อซัลโมเนลลา และสืบ การความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อซัลโมเนลลาในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรในจังหวัดเชียงใหม่ และลำพูน ประเทศไทย

เชื้อซัลโมเนลลาที่นำมาใช้ในการศึกษาได้แก่ 332 ตัวอย่างจากฟาร์มถึงตลาดเก็บในช่วงปี 2554-2557 ประกอบกับเชื้อ 143 ตัวอย่างที่ผ่านวิเคราะห์ MLST จาก 7 ประเทศประชาคมเศรษฐกิจอาเซียนในช่วง ปี 2483-2555 (<http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Senterica>) และสุดท้ายเชื้อ 684 ตัวที่ดาวโหลดมา

จาก National Center for Biotechnology Information (NCBI) นำมาใช้เพื่อเปรียบเทียบวิเคราะห์โครงสร้างประชากรและวงศาวิวัฒนาการเปรียบเทียบเชื้อไทยและเชื้อทั่วโลกการหาพีโนไทป์และจีโนไทป์ของเชื้อถูกสำรวจโดยหลายเทคนิค เชื้อซัลโมเนลลา 300 ถูกเลือกโดยการสุ่มจากเชื้อที่ครอบคลุมในปี 2554-2556

อย่างมากต่อการติดตามและเฝ้าระวังการกระจายของเชื้อ วัตถุประสงค์ของการศึกษารั้งนี้เพื่อจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาและเชื้อซัลโมเนลลาที่คือต่อยาปฏิชีวนะที่เพาะแยกจากอุตสาหกรรมการผลิตสุกรในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ประเทศไทย พบ *S. Rissen* ซีโรไทป์ในความถี่มากที่สุด ในขณะที่รูปแบบการต่อยาที่แสดงออก “AMP, S, TE” พบเป็นหลักในเชื้อซัลโมเนลลา ไม่มีความแตกต่างทางสัณติระหว่างจำนวนเชื้อซัลโมเนลลาที่คือยาปฏิชีวนะกับแหล่งที่มาที่ต่างกันในการยาปฏิชีวนะ โดยส่วนมาก

เชื้อซัลโมเนลลา 175 ตัวอย่างจากเชื้อ 300 ตัวอย่างถูกเลือกโดยการสุ่มจากตัวอย่างในปี 2554-2556 เพื่อทำการสืบหาอินทรียกรอนชนิดที่ 1 ซึ่งได้ค้นพบในเชื้อซัลโมเนลลาในรูปแบบตัวอย่างหลายชนิด เชื้อซัลโมเนลลา 30 ตัวอย่างจาก 175 ตัวอย่าง ใช้เพื่อระบุความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างเชื้อตัวอย่าง โดย Multi locus sequence typing (MLST) เชื้อซัลโมเนลลาจำนวน 30 ตัวอย่างแบ่งได้เป็น 6 Sequence types (ST) ซึ่งได้มาจากเทคนิค MLST ST 469 พบเด่นที่สุดในการศึกษารั้งนี้ พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มี ST เดียวกันมาจากต้นกำเนิดเดียวกัน อาจบอกได้ว่ามีป็นเพื่อนของเชื้อจากฟาร์มสุกรตลอดจนกระบวนการฆ่าและชำแหละสุกร เชื้อซัลโมเนลลาจำนวน 20 ตัวอย่างจาก 30 ตัวอย่างที่ได้ทำการวิเคราะห์โดยเทคนิค MLST ถูกนำมาใช้เพื่อเปรียบเทียบอำนาจในการแยกแยะเชื้อซัลโมเนลลาระหว่าง MLST และ PFGE มีค่าเท่ากับ 0.753 และ 0.932

นอกจากนี้ ได้นำ MLST มาใช้ขยายการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อในพื้นที่อื่นๆ เชื้อซัลโมเนลลา 173 ตัวอย่าง (30 ตัวอย่างได้จากผล MLST ที่มีอยู่ก่อนหน้า และ 143 ตัวอย่างที่ได้ทำการวิเคราะห์โดย MLST จาก 7 ประเทศประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน 68 ST ถูกระบุโดย MLST 4 ST ซึ่งอยู่ในเชื้อ 21 ตัวอย่างเป็น ST ใหม่ในประเทศประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน ศึกษาครั้งนี้พบว่ามีความสัมพันธ์ของเชื้อระหว่างประเทศประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน อำนาจในการจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาระหว่าง MLST และ Serotyping คือ 0.959 และ 0.904 ตามลำดับ

เชื้อซัลโมเนลลา 124 ตัวอย่าง (92 ตัวอย่างจากฟาร์มสุกรและโรงฆ่าและชำแหละสุกร และ 32 ตัวอย่างจากตลาด) ครอบคลุมในปี 2554-2557 และ เชื้อ 684 ตัวอย่างจากทั่วโลก เชื้อซัลโมเนลลาประเทศไทยไม่ค่อยมีความแตกต่างมากนักจากตัวอย่างทั่วโลก มีความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อจากฟาร์มถึงตลาด พบ

ตัวอย่างที่มียีนคือตัวยา tetracycline aminoglycoside และเอนไซม์ ESBL ในประเทศไทย มี 37 ยีนที่ตรวจพบเกี่ยวข้องกับกาอยู่รอดของเชื้อซัลโมเนลลาในระบบอุตสาหกรรมการผลิตสุกรโดยการศึกษความสัมพันธ์แนวกว้างตลอดจีโนม

การใช้ยาปฏิชีวนะควรได้รับการควบคุมโดยสัตวแพทย์ แพทย์ และเภสัชกร ควรมีการปรับปรุงระบบทำความสะอาดในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรมากขึ้น และหลีกเลี่ยงการบริโภคเนื้อดิบหรือเนื้อที่ยังไม่สุกดีพอ



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved