ทุนอุดหนุนโครงการวิจัยเงินทุนคณะประจำปี พ.ศ. 2548

เรื่อง

ผลของสารเร่งการเจริญเติบโตต่อความไวรับของเชื้ออี.โคไลในอุจจาระสุกรอนุบาลต่อยาต้านจุลชีพ

(Effects of commercial feed additives to minimal inhibitory concentration (MIC) levels of *Escherichia coli* isolated from piglets against antimicrobial agents)

โดย

ณุวีร์ ประภัสระกูล

เผด็จ ธรรมรักษ์

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตุลาคม 2548

ชื่อโครงการ : ผลของสารเร่งการเจริญเติบโตต่อความไวรับของเชื้อ*อี. โคไล*ในอุจจาระสุกรอนุบาลต่อยาต้านจุลชีพ

ชื่อผู้วิจัย : ณุวีร์ ประภัสระกูล เผด็จ ธรรมรักษ์ และ ธงชัย เฉลิมชัยกิจ

บทคัดย่อ

จากการทดลองของคณะผู้วิจัยพบว่าการใช้โคลิสตินและสารสมุนไพรเบอร์เบอร์รีนผสมอาหารเพื่อเร่งการเจริญเติบโตมีประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อ*อี. โคไล* ดีกว่าการใช้ฮาควินอล อย่างไรก็ตามเชื้อที่สามารถอยู่รอดหลังจากการได้รับสารต้านจุลชีพในระดับต่ำกว่าการรักษาอาจส่งผลให้เกิดการดื้อยาได้ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของเชื้อ*อี. โคไล* จำนวน 78 เชื้อ ที่ได้จากการทดลองของคณะวิจัยเอง การทดลองพบว่า เชื้อ*อี. โคไล* ที่แยกได้ในสัปดาห์แรกก่อนให้สารต้านจุลชีพมีค่า MIC_{50} เท่ากับ 2 μg/ml และหลังจากให้ยาติดต่อกับ 6 สัปดาห์ (ที่อายุ 10 สัปดาห์) ค่า MIC_{50} และ MIC_{90} ต่อโคลิสตินเพิ่มเป็น 8 และ16 μg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่า MIC_{50}ต่อโคลิสตินใน*เชื้ออี. โคไล*ที่แยกได้จากสุกรในกลุ่มที่ได้รับฮาควินอลและเบอร์เบอร์รีน ในกลุ่มสุกรที่ได้รับฮาควินอล เชื้อ*อี. โคไล* มีค่า MIC_{50} ต่อยาฮาควินอล มีค่าเท่ากับ 8 μg/ml ในสัปดาห์ที่ 4 และเพิ่มเป็น 16 μg/ml ในสัปดาห์ที่ 6 และ 10 ในขณะที่เชื้อ*อี. โคไล* ที่แยกได้จากสุกรที่ได้เบอร์เบอร์รีน มีค่า MIC_{50}ต่อเบอร์เบอร์รีนมากกว่า 128 μg/ml ตลอดการทดลอง นอกจากนี้ได้ทำการหาค่า MIC ของเชื้อ *อี. โคไล* ที่แยกได้ทั้งหมดต่อยาต้านจุลชีพอีกจำนวน 13 ชนิด พบว่าการให้สารเร่งการเจริญเติบโตทั้ง 3 ชนิด ไม่มีผลต่อการเพิ่มของระดับ MIC ต่อยาทั้ง 13 ชนิด และพบว่ายาต้านจุลชีพที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ*อี. โคไล*ที่มีช่วงค่าMIC_{50}ที่มากกว่า 128 μg/ml ดังนี้คือ เพนิซิลลิน อะม็อกซี่ซิลลิน นาลิดิซิกแอซิด ลินโคมัยซิน ไทโลซิน ไทอะมูลิน เตตราไซคลิน คลอเตตราไซคลิน ยาที่มีช่วงค่า MIC_{50} อยู่ในระดับสูง (32-128 μg/ml) ได้แก่ สเตรปโตมัยซิน อีริโทรมัยซิน และด็อกซี่ไซคลิน ซัลฟาเมทอกซาซอลร่วมกับไตเมทโทพริมมีค่า MIC_{50} >8/152μg/ml และเอนโรฟอกซาซินมีค่าMIC_{50}เท่ากับ 16μg/ml จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้โคลิสตินและฮาควินอลผสมอาหารเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ มีแนวโน้มทำให้ค่า MIC ของเชื้อ *อี. โคไล* เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลของการใช้ยาปฏิชีวนะผสมอาหารในระดับต่ำกว่าระดับรักษาที่ส่งผลต่อภาวะการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในลำไส้ และอาจมีผลต่อแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของเชื้อที่ดื้อยาในตัวสัตว์และสิ่งแวดล้อมในระยะยาว

คำสำคัญ: เชื้อ*อี.โคไล* สารเร่งการเจริญเติบโต ค่า MIC โคลิสติน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Project Title: Effects of commercial feed additives to minimal inhibitory concentration (MIC) levels of *Escherichia coli* isolated from piglets against antimicrobial agents

Name of the investigators : Nuvee Prapasarakul Padet Tummaruk and Tongchai Chalermchaikit

ABSTRACT

Our previous study indicated that using of colistin and berberine in feed additive had effectiness for controlling overpopulation of *E.coli* in postweaning pig rather than that with halquinol. However the possibility of drug resistance impact in survival bacteria has been questioned. The current study was to assess the induction of tremendous changes of MIC level of 78 *E. coli* isolated from postweaning piglets, following received three commercial feed additive administrations from 4^{th} to 10^{th} week of the age. The *in vitro* activities of 16 antimicrobials were determined by agar dilution method. At 4^{th} week, the MIC_{50} values to colistin was 2 μg/ml, whereas the MIC_{50} and MIC_{90} of *E.coli* isolated from pig that received colistin at 10^{th} week increased to 8 μg/ml and 16 μg/ml, respectively. The MIC values to colistin in the other groups were not over 4 μg/ml. For *E.coli* isolated from pigs that received halquinol at 4^{th} week to 10^{th} week, the MIC_{50} to halquinol increased respectively from 8 μg/ml to16 μg/ml. On the other hand, the MIC value of berberine gave over 128 μg/ml throughout experiment. All isolates were resistant to penicillin, amoxycillin, lincomycin, nalidixic acid, tylosin, tiamulin, tetracycline and chlortetracycline. For enrofloxacin, doxycycline, streptomycin and erythromycin, the MIC_{50} were 16, 32, 64 and 128 μg/ml, respectively. The MIC value of sulfamethoxazole-trimetroprim were <0.06/1.18 μg/ml to >8/152 μg/ml. Our findings support the tendency of inducing *E.coli* resistant strain *in vivo*, following 6 weeks administration of the antimicrobial agents at sub-therapeutic dose.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Keyword*: Escherichia coli,* feed additive, minimal inhibitory concentration (MIC), colistin

บทนำ

โรคอุจจาระร่วงจากเชื้อ*อี.โคไล* (*Escherichia coli*) ในสุกรหลังหย่านม (Postweaning *Escherichia coli* diarrhea, Colibacillosis) เป็นสาเหตุสำคัญให้สุกรตายหรือมีการเจริญเติบโตลดลง (1) ในปัจจุบันฟาร์มสุกรจึงมีการใช้ยาปฏิชีวนะผสมในอาหาร (Feed additive) อย่างแพร่หลายเพื่อเป็นการป้องกันโรคอุจจาระร่วงและเป็นการเร่งการเจริญเติบโต(Growth promoter) (2) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดปัญหาเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะตามมา (3)

ในปัจจุบันได้มีการใช้ยาต้านจุลชีพกันอย่างกว้างขวางโดยใช้ผสมอาหาร (feed additive) ในขนาดที่ต่ำกว่าระดับรักษา (subtherapeutic dose) เพื่อป้องกันโรคและเร่งการเจริญเติบโตในปศุสัตว์ (1) แต่การใช้ยาต้านจุลชีพอย่างขาดความระมัดระวัง ส่งผลเพิ่มภาวะการคัดเลือกเชื้อดื้อยา (selective pressure) ทำให้แบคทีเรียหลายชนิดในสัตว์(2, 3)และเนื้อสัตว์(4) เกิดการดื้อต่อยาต้านจุลชีพ ซึ่งสาเหตุที่สำคัญในการถ่ายทอดสู่คนคือการปนเปื้อนของเชื้อดื้อยามาสู่ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จากสุขศาสตร์ที่ไม่ได้มาตรฐาน (5) โดยเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญคือเชื้อ*อี.โคไล* จากอุจจาระ (Fecal *E. coli*) (6) เพราะมีความสำคัญในการเป็นแหล่งในการถ่ายทอดพันธุกรรมดื้อยาไปยังเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (pathogenic bacteria) (7) และที่ไม่ก่อโรค ด้วย (8) ผลเสียของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาก่อให้เกิดปัญหาการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพทั้งในคน (9, 10)และสัตว์ (3)

โคลิสตินเป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่มโพลีเปปไทด์ หรือที่เรียกกันว่า polymixin E ออกฤทธิ์โดยไปทำลายผนังเซลล์ ตรงส่วนที่มีการจับกันของหมู่ฟอสเฟตกับประจุบวกจากภายนอก การแทนที่ของประจุของโคลิสตินจะทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของเซลล์แบคทีเรียผิดปกติไป (20) และทำให้ผนังเซลล์เสียหายและแบคทีเรียตายลง ในที่สุดแต่ยังไม่มีรายงานถึงกลไกที่ทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อ*อี.โคไล* ต่อโคลิสติน สารเบอร์เบอร์รีนเป็นสารสกัดในกลุ่มอัลคารอยด์ที่ได้จากพืชหลายชนิดเช่น *Berberis aristata*, *Hydratis Canadensis, Coptis chinensis* แม้ว่าสารนี้จะไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยตรง แต่จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยใช้หนูทดลองพบว่า มีฤทธิ์ต่อต้านการหลั่งของสารพิษชนิด enterotoxin ที่สร้างจากเชื้อ *อี. โคไล* และเชื้อ *วิบริโอ คลอเลล่า* ดังนั้นจึงเป็นพื้นฐานแนวคิดในการนำสารเบอร์เบอร์รีนมาใช้ในการลดอัตราการท้องเสียในลูกสุกรหลังหย่านมเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ (28) ฮาควินอลเป็นสารสังเคราะห์ (non antibiotic) ในกลุ่ม 5-chloro-8-hydroxyquinoline (CHQ) ที่ออกฤทธิ์ในวงกว้างในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย รา และโปรโตซัว โดยกลไกการออกฤทธิ์ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด (29)

Birdsall และ Kelly ได้รายงานถึงประสิทธิภาพในการลดอาการท้องเสียเมื่อให้ในลูกสุกรที่ระดับ 200 mg/kg วันละ 2-4 ครั้ง (30) จากการทดลองของ Tummaruk และคณะ (2004) และ Tantilerdcharoen และคณะ (2004)(11, 12) โดยศึกษาเปรียบเทียบผลของสารเร่งการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน3 ชนิด ได้แก่โคลิสติน ฮาควินอล และเบอร์เบอร์รีน ในสุกรอายุ 4 ถึง 10 สัปดาห์ ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณเชื้อ*อี.โคไล*ในระบบทางเดินอาหาร สรุปว่า มีความเป็นไปได้ที่จะใช้สมุนไพรเบอร์เบอร์รีน เพื่อรักษาและควบคุมโรคท้องเสียจากเชื้อ *อี.โคไล* ซึ่งให้ผลดีเท่าเท่ากับการใช้โคลิสติน แต่อย่างไรก็ตามการให้สารเร่งการเจริญเติบโตในระดับที่ต่ำกว่าระดับรักษาโดยเฉพาะโคลิสตินที่มีการใช้กันอย่างกว้างขวางอาจส่งผลต่อระดับการดื้อยาของเชื้อ *อี. โคไล* ที่ยังคงอยู่ภายหลังจาก 10 สัปดาห์ แต่ข้อสมมติฐานนี้ก็ยังไม่ได้รับการพิสูจน์

การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ผลของการใช้สารเร่งการเจริญเติบโต 3 ชนิดดังกล่าวข้างต้นต่อแนวโน้มของการดื้อยาของเชื้อ*อี.โคไล* โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า Mimimum Inhibitory Concentration (MIC) หรือการหาค่าระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ ที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าภายหลังการบ่มเชื้อ

วัสดุและวิธีการ

เชื้ออี.โคไล

เชื้อ*อี.โคไล*จำนวนทั้งหมด 78 เชื้อ ได้มาจากการทดลองของ Tantilerdcharoenและคณะ(2004) โดยทำการเก็บอุจจาระในระยะก่อนและหลังการได้รับสารต้านจุลชีพและสมุนไพรที่ผสมลงในอาหาร ที่อายุ 4 สัปดาห์ (ก่อนได้รับสารต้านจุลชีพ) 6 สัปดาห์ และ 10 สัปดาห์ และพิสูจน์แยกเชื้อ *อี.โคไล*ตามวิธีพื้นฐานทางจุลชีววิทยา ได้แก่ hemolysin assay, indole test, methyle red, eosin methylene blue agar, citrate utilization และ Voges-Proskauer(VP) test (13) และทดสอบหาจำนวน invasive *E. coli* โดยใช้ congo red binding assay (14) เก็บเชื้อใน Stock agar ณ ภาคจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดัง**ตารางที่ 1**

ตารางที่ 1 แสดงกลุ่มการทดลองและจำนวนตัวอย่างที่เพาะแยกได้จากอุจจาระสุกร

กลุ่มการทดลอง	จำนวนตัวอย่างที่เพาะแยกและเก็บเชื้อ (ตัวอย่าง)		
	อายุ 4 สัปดาห์*	อายุ 6 สัปดาห์	อายุ 10 สัปดาห์
กลุ่มที่ได้รับโคลิสติน	9	10	5
กลุ่มที่ได้รับฮาควินอล	10	10	8
กลุ่มที่ได้รับเบอร์เบอร์รีน	8	8	10

*สัปดาห์ที่ยังไม่มีการให้ยาผสมในอาหาร

ยาปฏิชีวนะ

วิธี Agar dilution method

ฮาควินอล (Halquinol) (Big Chemical, Thailand) สารสมุนไพรเบอร์เบอร์รีน (Sigma, U.S.A.) **กลุ่มเปปไทด์ (**Peptides) ได้แก่ โคลิสติน (Colistin) (Sigma, U.S.A.) (ค่า breakpiont ≥8 μg/ml) **กลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์** (Aminoglycosides)ได้แก่ สเตปโตรมัยซิน (Streptomycin) (Sigma, U.S.A.) (ค่า breakpiont ≥16 μg/ml) **กลุ่มเบตาเลคแตม** (beta-lactam) ได้แก่ เพนิซิลลิน (Penicillin) (Sigma, U.S.A.) (ค่า breakpiont ≥16 μg/ml) อะม็อกซี่ซิลลิน (Amoxycillin) (Sigma, U.S.A.) (ค่า breakpiont ≥16 μg/ml) **กลุ่มฟลูออโรควิโนโลน** (Fluoroquinolones) ได้แก่ เอนโรฟอกซาซิน (Enrofloxacin)(Sigma, U.S.A.) นาลิดิซิกแอซิด (Nalidixic acid) (Sigma, U.S.A.) (ค่า breakpiont ≥32μg/ml) **กลุ่มลินโคมัยซิน** (Lincomycin) ได้แก่ ลินโคมัยซิน (Lincomycin) (Sigma, U.S.A.) **กลุ่มแมคโครไลด์** (Macrolides) ได้แก่ อีริโทรมัยซิน (Erythromycin)(Sigma, U.S.A.) ไทโลซิน (Tylosin) (Sigma, U.S.A.) **กลุ่มพลูโรมูติลิน** (Pluromutilins) ได้แก่ ไทอะมูลิน (Tiamulin) (Sigma, U.S.A.) **กลุ่มเตตราไซคลิน** (Tetracyclines) ได้แก่ เตตราไซคลิน (Tetracycline)(Sigma, U.S.A.) (ค่า breakpiont ≥16μg/ml) ดอกซี่ไซคลิน (Doxycycline) (Sigma, U.S.A.) (ค่า breakpiont ≥16μg/ml) คลอเตตราไซคลิน (Chlortetracycline)(Sigma, U.S.A.) **กลุ่มซัลโฟนาไมด์** (Sulfonamides) ได้แก่ ซัลฟาเมทอกซาซอลร่วมกับไตเมทโทพริม(Trimetroprim) (Sigma, U.S.A.) (ค่า breakpiont ≥4/76μg/ml)

การละลายและเจือจางยาได้ปฏิบัติตามมาตรฐานของ The National Committee for Clinical Laboratory Standards (15) สารละลายยาถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 72 ชั่วโมง

วิธี Disc diffusion method

ใช้ disc โคลิสติน (10μg colistin) ซัลฟาไตรเมทโทรพริม(25μg sulfatrimetroprim) ด็อกซี่ไซคลิน(30μg doxycycline) อิริโทรมัยซิน(15μg erythromycin) เตตราไซคลิน (30μg tetracycline) และอะม็อกซี่ซิลลิน (10μg amoxicillin) (Oxiod, England)

การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial susceptibility testing)

วิธี Agar dilution method

การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพโดยวิธี Agar dilution method ปฏิบัติตามมาตรฐานของ The National Committee for Clinical laboratory Standards (15) ยาต้านจุลชีพที่นำมาทดสอบมีความเข้มข้นตั้งแต่ 1.25 ถึง 1280 μg/ml ผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (Difco, USA) ด้วยสัดส่วนยาต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1:9 ให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพตั้งแต่ 0.12 ถึง 128 μg/ml เชื้อที่ทำการทดสอบนำมาจากสต๊อค เตรียมให้มีปริมาณเชื้อเทียบเท่ากับ Mcfarland standard 0.5 (มีเชื้อเท่ากับ $1.5x10^{8}$ CFU/ml) จากนั้นนำมาเพาะลงอาหารเลี้ยงเชื้อผสมยาต้านจุลชีพที่เตรียมไว้ เพาะบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เป็นค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ใช้เชื้อมาตรฐาน *Escherichia coli* ATCC 25922 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Pseudomonas aeruginosa* 27853 เป็นเชื้อควบคุมการทดลอง

วิธี Disc diffusion method

การทดสอบความไวรับของยาต้านจุลชีพโดยวิธี Disk diffusion method ปฏิบัติตามมาตรฐานของ The National Committee for Clinical Laboratory Stardards (15) โดยนำเชื้อ*อี.โคไล*ที่ทดสอบนำมาเตรียมปริมาณเชื้อเทียบเท่ากับ Mcfarland standard 0.5 เพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar แล้วนำ disk ยาต้านจุลชีพวาง เพาะบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง การอ่านผลโดยอ่านค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดโซนในการยับยั้งการเจริญของเชื้อหน่วยเป็นมิลลิเมตร ค่าที่อ่านได้เป็นแปลผลเป็น susceptible, intermediate และ resistance (S, I และ R) ใช้เชื้อมาตรฐาน *Escherichia coli* ATCC 25922 เป็นเชื้อควบคุม ค่ามาตรฐานของยาที่ทดสอบต่อเชื้อ*อี.โคไล*แสดงได้ดัง**ตารางที่ 2**

ตารางที่ 2 แสดงการแปลผลเส้นผ่านศูนย์กลางโซนของยาต้านจุลชีพที่ทดสอบ

ยาต้านจุลชีพ	ปริมาณ (μg)	การแปลผลเส้นผ่านศูนย์กลาง (mm)		
		R	I	S
โคลิสติน	10	≤8	9 - 10	≥11
ซัลฟาไตรเมทโทพริม	25	≤10	11 - 15	≥ 15
ด็อกซี่ไซคลิน	30	≤12	13 - 15	≥16
อิริโทรมัยซิน	15	≤13	14 - 22	≥23
เตตราไซคลิน	30	≤14	15 - 18	≥19
อะม็อกซี่ซิลลิน	10	≤13	14-17	≥18

R= resistance, I= intermediate, S= susceptibility

ผลการทดลอง

เชื้อ *อี. โคไล* ทั้งหมดให้ผลบวกต่อ indole production, methyle red test และให้โคโลนีสี green metallic sheen บน EMB agar ให้ผลลบต่อ citrate utilization และ VP test 98.7% ของเชื้อ *อี. โคไล* (77/78) ให้ผลบวกต่อ congo red binding assay และ *อี. โคไล* จำนวน 2 เชื้อแสดงการแตกของเม็ดเลือดแดงแบบรุนแรงบนอาหาร TSA ที่ผสมเลือดแกะ 5% ผลของการทดสอบความไวต่อยาด้วยวิธี Agar dilution แสดงดัง**ตารางที่ 3** เชื้อ *อี. โคไล*ที่แยกได้จากสุกรกลุ่มที่ได้รับโคลิสตินจำนวน 24 เชื้อ พบว่ามีค่า MIC_{50} ต่อยาโคลิสติน ในสัปดาห์ที่ 4 เท่ากับ 4 μg/ml และเพิ่มขึ้นเท่ากับ8 μg/ml ในสัปดาห์ที่ 10 ส่วนค่า MIC_{90} ของยาโคลิสตินในสัปดาห์ที่ 4 เป็น 8 μg/ml และในสัปดาห์ที่ 6 และ 10 เพิ่มเป็น 16 μg/ml (**แผนภูมิที่ 1**) เชื้อ *อี.โคไล* ในสุกรที่ได้รับฮาควินอลจำนวน 28 เชื้อมีค่า MIC_{50} ต่อฮาควินอล มีค่าเท่ากับ 8 μg/ml ในสัปดาห์ที่ 4 และเพิ่มเป็น 16 μg/ml ในสัปดาห์ที่ 6 และสัปดาห์ที่ 10 ส่วนค่า MIC_{90} ของฮาควินอลทั้ง 3 สัปดาห์เป็น 16 μg/ml (**แผนภูมิที่ 2**) และค่า MIC_{50} ค่า MIC_{90} ต่อเบอร์เบอร์รีนของเชื้อ*อี.โคไล*ในสุกรที่ได้รับเบอร์รีนจำนวน 26 เชื้อ มีค่ามากกว่า 128 μg/ml ในทุกสัปดาห์ (**แผนภูมิที่ 3**)

ตารางที่ 3 แสดงค่า MIC_{50} และ MIC_{90}ของเชื้อ *อี.โคไล* กับยาต้านจุลชีพที่ใช้ผสมในอาหารทั้ง 3 ชนิด

อายุที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	กลุ่มโคลิสติน (n=24)				กลุ่มฮาควินอล (n=28)				กลุ่มเบอร์เบอร์รีน (n=28)			
	จำนวน (ตัวอย่าง)	MIC_{50} (ug/ml)	MIC_{90} (ug/ml)	range	จำนวน (ตัวอย่าง)	MIC_{50} (ug/ml)	MIC_{90} (ug/ml)	range	จำนวน (ตัวอย่าง)	MIC_{50} (ug/ml)	MIC_{90} (ug/ml)	range
4	9	4	8	1-8	10	8	16	8-16	8	>128	>128	>128
6	10	4	8	1-8	10	16	16	8-16	8	>128	>128	>128
10	5	8	16	8-16	8	16	16	8-16	10	>128	>128	>128

MIC50 , Mimimum Inhibitory Concentration 50%

MIC90 , Mimimum Inhibitory Concentration 90%

การกระจายของค่า MIC ของยาต้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบพบว่าโคลิสตินมีเปอร์เซ็นต์การดื้อยาของเชื้อ*อี. โคไล* ในสัปดาห์ที่ 4, 6 และ 10 เป็น 22.2%, 55.6% และ 100% แต่ค่า MIC ต่อฮาควินอลและเบอร์เบอร์รีนยังไม่สามารถสรุปเปอร์เซ็นต์การดื้อยาได้เนื่องจากยังไม่มีรายงานการประมาณค่า breakpoint แต่จากค่า MIC พบว่าเชื้อ*อีโคไล*ที่ได้รับฮาควินอลในช่วง 2 สัปดาห์แรกจนสิ้นสุดการทดลอง พบว่ามากกว่า 50% ของเชื้อ*อี.โคไล*มีค่า MIC สูงขึ้นเป็น 2 เท่า ในขณะที่เชื้อ *อี.โคไล*ที่แยกได้จากสุกรที่ได้รับเบอร์เบอร์รีน มีระดับค่า MIC ที่สูงตลอดการทดลอง

ในสุกรที่ได้รับฮาควินอลและเบอร์เบอร์รีนพบว่าค่า MIC_{90} ต่อโคลิสตินมีค่าเท่ากับ 4 μg/ml ในสัปดาห์ที่6 และเท่ากับ 2-4 μg/ml ในสัปดาห์ที่ 10 จากค่าMIC ต่อยาต้านจุลชีพต่างๆอีก 13 ชนิด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในสุกรแต่ละกลุ่ม สารต้านจุลชีพที่มีค่าMIC_{50}มากกว่า 128 μg/ml คือ เพนิซิลลิน อะม็อกซี่ซิลลิน นาลิดิซิกแอซิด ลินโคมัยซิน ไทโลซิน ไทอะมูลิน เตตราไซคลิน คลอเตตราไซคลิน ยาที่มีช่วงค่า MIC_{50} อยู่ในระดับสูง(32-128 μg/ml) ได้แก่ สเตรปโตมัยซิน อีริโทรมัยซิน และด๊อกซี่ไซคลิน ซัลฟาเมทอกซาซอลร่วมกับไตเมทโทพริม มีค่า MIC_{50} >8/152μg/ml และเอนโรฟอกซาซิน MIC_{50}เท่ากับ 16μg/ml

เชื้อ *อี. โคไล*ที่ได้จากกลุ่มสุกรที่ได้รับโคลิสตินถูกนำมาหาค่าประมาณการดื้อต่อยาซ้ำอีกครั้งด้วยวิธี Disc diffusion รายงานผลดังตารางที่ 4 ที่สัปดาห์4 เชื้อตอบสนองต่อโคลิสตินมีค่า susceptibility (S) เท่ากับ 77.8% และ intermediate (I) เท่ากับ 22.2% ที่สุกรอายุ 6 สัปดาห์โคลิสตินมีค่า S =70% และ I =30% และในสัปดาห์ที่ 10 โคลิสตินมีค่า s =50% และ i =50% ซึ่งเท่ากับว่าจากการแปรผลด้วยวิธี Disc diffusion ยังไม่พบเชื้อที่ดื้อต่อยาเลย (R = 0%, **ตารางที่ 4**)

ตารางที่ 4 แสดงความไวรับของเชื้ออี.โคไล กับยาต้านจุลชีพด้วยวิธี Disc diffusion

สัปดาห์ที่เก็บตัวอย่าง	ยาต้านจุลชีพ	จำนวนตัวอย่าง(n)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (mm)		
			เฉลี่ย ± SD	range	%resistance
4	โคลิสติน	9	12 ±1.1	10 - 13	0
	ซัลฟาไตรเมทโทรพริม	9	14 ±11.7	0 - 28	44.4
	ด็อกซี่ไซคลิน	1	9 ± 0	9	100
	เตตราไซคลิน	1	0	0	100
	อีริโทรมัยซิน	2	10 ±3.6	6.4-13.6	100
	อะม็อกซี่ซิลลิน	1	0	0	100
6	โคลิสติน	10	12 ± 1.6	9.5 - 13	0
	ซัลฟาไตรเมทโทรพริม	10	8.3 ± 10.0	0 - 29	90
	ด็อกซี่ไซคลิน	3	11.6 ± 2.1	10 - 14	66.7
	เตตราไซคลิน	3	5.0 ± 0.5	0 - 8	100
	อีริโทรมัยซิน	3	14.3 ± 2.1	12 -16	33.3
	อะม็อกซี่ซิลลิน	3	6.5 ± 1.8	0 - 6.5	100
10	โคลิสติน	6	10.3 ± 1.2	9 -11	0
	ซัลฟาไตรเมทโทรพริม	12	11.3 ±12.0	0 -29	58.35
	ด็อกซี่ไซคลิน	9	10 ± 5.5	0 -12	100
	เตตราไซคลิน	2	8.0 ± 1.0	7 - 9	100
	อีริโทรมัยซิน	9	5.9 ± 6.1	0 -13	100
	อะม็อกซี่ซิลลิน	2	0	0	100

0 ,ไม่เกิดโซนใส ; SD, Standard diviation

วิจารณ์

เชื้อ*อี.โคไล* ทุกตัวที่ใช้ในการทดลอง ให้ลักษณะโคโลนี จุลสัญฐานวิทยาและผลทางชีวเคมีที่สอดคล้องกับเชื้อ *อี. โคไล* มาตรฐาน และส่วนใหญ่มีปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคได้ (98.7%) (14) การตรวจตราระดับการดื้อยาของกลุ่มแบคทีเรียลำไส้ (enteric bacteria) นักจุลชีววิทยาส่วนใหญ่ใช้เชื้อ *อี.โคไล* ดั้งเดิม (native *E.coli*) เป็นตัวแทน จากรายงานของ Delson และคณะ (2003)(16) พบว่าการให้ยาคลอเตตราไซ คลินในระดับป้องกันและรักษามีผลให้

เชื้อแบคทีเรียลำไส้ที่ดื้อต่อยามีเพิ่มขึ้นประมาณ 40% Aubry-Damon (2004) (17) ได้รายงานผลการศึกษาที่ได้จากการเปรียบเทียบอัตราการดื้อยาในคนงานฟาร์มสุกรกับบุคคลที่ไม่ได้ทำงานเกี่ยวข้องกับปศุสัตว์พบว่าคนงานฟาร์มสุกรมีอัตราการดื้อยาสูงกว่า Wells และ James (1973)(18) ได้รายงานผลการศึกษาที่ได้จากการเปรียบเทียบอัตราการดื้อยาในคนงานที่สัมผัสใกล้ชิดกับสุกรที่ได้รับอาหารผสมยาต้านจุลชีพกับสุกรที่ไม่ได้รับอาหารผสมยาต้านจุลชีพ พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากคนงานกลุ่มแรกมีอัตราการดื้อยาสูงกว่ากลุ่มหลัง ทำให้ดูเหมือนว่าการใช้ยาปฏิชีวนะในสุกรส่งผลเพิ่มความเสี่ยงในการถ่ายทอดเชื้อที่ดื้อยาเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารของมนุษย์ และการทดลองของนิทัศน์ (2534)(19) พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทยมีการดื้อต่อยาหลายชนิดที่นิยมใช้ในมนุษย์และในสัตว์ โดยเฉพาะยาซัลฟาไดอะซีน ซัลฟาเมทอกซาโซล โคลไตรมาโซล จากการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองข้างต้นโดยได้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อ*อี.โคไล* ที่ดื้อต่อโคลิสตินภายหลังจากใช้ยาอย่างต่อเนื่องในระดับต่ำกว่าการรักษา จึงทำให้เห็นว่ามีโอกาสสูงที่สัตว์เป็นแหล่งกำเนิดและเก็บเชื้อที่ดื้อยาเอาไว้เพื่อแพร่สู่มนุษย์และสิ่งแวดล้อมต่อไป

ในสุกรที่ได้รับฮาควินอลและเบอร์เบอร์รีนพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงค่า MIC ของเชื้ออี.โคไลต่อโคลิสติน ซึ่งยืนยันให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของค่า MIC ต่อโคลิสตินเกิดจากการได้รับโคลิสตินในอาหารอย่างแท้จริง แต่จากผลการทดลองยังได้แต่เพียงแนวโน้มของการดื้อยาแต่ไม่เพียงพอที่จะสรุปบทบาทโดยตรงของโคลิสตินต่อการดื้อยา เนื่องจากมีปัจจัยลวงบางอย่างในตัวสัตว์ที่อาจมีผลต่อข้อมูล ดังนั้นการทดลองผลของยาในระดับต่ำต่อเชื้อ *อี. โคไล* ในห้องทดลองจะช่วยยืนยันข้อสรุปให้ได้แน่นอนขึ้น

โคลิสตินเป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่มโพลีเปปไทด์ ออกฤทธิ์โดยไปทำลายโครงสร้าง phospholipids ของเยื่อหุ้มเซลล์(20) ทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของเซลล์แบคทีเรียผิดปกติไป ส่งผลต่อสมดุลความดันภายในและภายนอกผนังเซลล์ แต่ยังไม่มีรายงานถึงกลไกที่ทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อ*อี.โคไล* ต่อโคลิสติน เคยมีรายงานถึงสมุนไพรเบอร์เบอร์รีนว่าสารสกัดเบอร์เบอร์รีนสามารถลดการเกิดท้องเสียที่มีสาเหตุมาจากสารพิษ *อี.โคไล* (*E.coli* toxin) (21) และยังมีผลในการต้านจุลชีพอีกด้วย (22) ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองของ Tummaruk และคณะ (2004)(11) แต่จากการทดลองหาค่า MIC ของเชื้อ*อี.โคไล* ในห้องปฏิบัติการพบค่า MIC มีค่ามากกว่า128 ug/ml ของทุกเชื้อที่ทำการทดสอบแสดงให้เห็นว่าสารเบอร์เบอร์รีนไม่สามารถลดจำนวนเชื้ออี. โคไลได้โดยตรงภายนอกตัวสัตว์ แต่กลไกที่อธิบายผลของสารเบอร์เบอร์รีนในทางเดินอาหารสุกรนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด ส่วนฮาควินอลซึ่งเป็นเคมีสังเคราะห์ให้ค่า MIC ที่สูงขึ้นหลังจากที่ให้ผสมในอาหารของสุกรอนุบาลเช่นเดียวกับยาโคลิสติน

ในการหาค่าMIC ต่อยาต้านจุลชีพอื่นๆอีก 13 ชนิด ซึ่งเป็นยาที่ใช้เป็นจำนวนมากในทางปศุสัตว์ พบว่า เชื้อ*อี.โคไล* มีการดื้อยาอยู่ในระดับสูงของทุกยา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานถึงความไวของยาต้านจุลชีพเชื้อ*อี.โคไล* ของ Choi และคณะ (2002)(23) ที่ทำการศึกษาความไวของยาต้านจุลชีพต่อเชื้อ*อี.โคไล* ในสุกรที่ท้องเสียหลังหย่านม การศึกษาของ Hoogkamp-Korstanje และคณะ (2003)(10) ที่พบอุบัติการณ์การดื้อยาต่อการรักษาในผู้ป่วยที่เป็นโรคระบบทางเดินปัสสาวะจากเชื้อ*อี.โคไล* ในโรงพยาบาลประเทศเนเธอร์แลนด์ โดยค่า MIC_{90} ของ อะม็อกซี่ซิลลิน ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1996 - 2000 มีค่ามากกว่า 64 μg/ml

วิธี Disc diffusion เป็นวิธีทั่วไปที่ใช้ทดสอบความไวโดยประมาณของสารต้านจุลชีพในห้องปฏิบัติการ ในการทดลองผู้วิจัยได้เปรียบเทียบผลที่ได้จาก Agar dilution test พบว่าผลการทดลองทั้ง 2 วิธีมีผลที่สอดคล้องกันโดยเฉพาะโคลิสติน พบว่าสัปดาห์ที่ 4, 6 และ 10 มีค่าโซนใสเฉลี่ย 12,12 และ 10.3 mm ตามลำดับ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับแนวโน้มในการดื้อต่อโคลิสตินที่เพิ่มขึ้น แต่ระยะใสที่ลดลงนั้นยังไม่ถึงระดับดื้อยาในขณะที่จากการทดสอบด้วย agar dilution test พบว่ามากกว่าครึ่งของเชื้อมีค่า MIC ในระดับที่ดื้อยา ดังนั้นจึงอาจเป็นข้อมูลที่ช่วยอธิบายในบางครั้งที่ผลการตรวจความไวของยาต่อเชื้อตัวอย่างไม่ได้สอดคล้องกับผลการใช้ยาในทางปฏิบัติ

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการให้ยาต้านจุลชีพเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ โดยเฉพาะโคลิสตินที่ใช้อย่างแพร่หลายในหลายประเทศ (24, 25, 26) ทำให้เป็นการเพิ่มอุบัติการณ์การดื้อยาต่อเชื้อ *อี.โคไล*เพิ่มขึ้นซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคที่มีโอกาสได้รับเชื้อดื้อยาที่ปนเปื้อนมากับอาหารซึ่งอาจส่งผลกระทบก่อให้เกิดการรักษาโรคติดเชื้อที่ไม่ได้ผลในคน ดังนั้นการศึกษาในอนาคตโดยเฉพาะยาโคลิสตินเป็นยาที่ถูกเลือกใช้ (Drug of choice) ในการรักษาและป้องกันโรคท้องเสียที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *อี.โคไล* ในสุกร (27) จึงควรที่จะต้องศึกษาเรื่องกลไกการดื้อต่อยาอย่างจริงจังเพื่อเป็นแนวทางป้องกันการดื้อต่อยาที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นการสำรวจระดับความไวของเชื้อต่อกลุ่มยาที่ใช้อยู่ในฟาร์มเป็นประจำและการเลือกใช้สารต้านจุลชีพผสมอาหารในระดับและระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดจะช่วยลดโอกาสการพัฒนาการดื้อยาของเชื้อในสัตว์สัตว์ อีกทั้งยังช่วยลดโอกาสการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาสู่สิ่งแวดล้อมและมนุษย์อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Maxwell, C. V. and Carter, S. D. 2001. Feeding in weaning pig In: Swine Nutrition. Lewis, J. A. and Southern, L. L. (eds). 2^{ed} London. CRC Press LIC: p. 702-704.
2. Van den Bogaard, A. E. J. M. et al. 2000. Antimicrobial resistance in pig faecal samples from The Netherlands (five abattiors) and Sweden. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (45) 663-671.
3. Sengelov,G., et al. 2003.Susceptibilities of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium* isolated from pigs and broiler chickens to tetracycline degradation products and distribution of tetracyclin resistance determinants in *E.coli* from food animals. *Veterinary Microbiology* (95):91-101.
4. Quednau, M., et al. 1998. Antibiotic resistance strains of *Enterococcus* isolated from Swedish and Danish retailed chicken and pork. *Journal of Applied Microbiology* (84): 1163-1170.
5. Schroeder.M.C., et al.2002 . Isolation of antimicrobial-resistance *Escherichia coli* from retail meats purchased in Greater Washington, DC, International Journal of Food Microbiology (85):197-202.
6. Dunlops, R. H., et al. 1998. Associations among antimicrobial drug treatments and antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli* on farms in Ontario, Canada. *Preventive Veterinary Medicine* (34): 283-305.
7. Martinez, M. L, et al. 1999. Relationship between haemolysis production and resistance to fluoroquinolones among clinical isolates of *Escherichia coli. Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (43) 277-279.
8. Mathew, A. G.,et al. 1998. Incidence of Antibiotic Resistance in Fecal *Escherichia coli* Isolation from Commercial Swine Farm. *Journal of American Society* (76): 429-434.
9. Blake, D. P., et al. 2003. Transfer of antibiotic resistance between commensal and pathogenic members of the Enterobacteriaceae under ileal conditions. *Journal of Applied Microbiology* (95): 428-436.

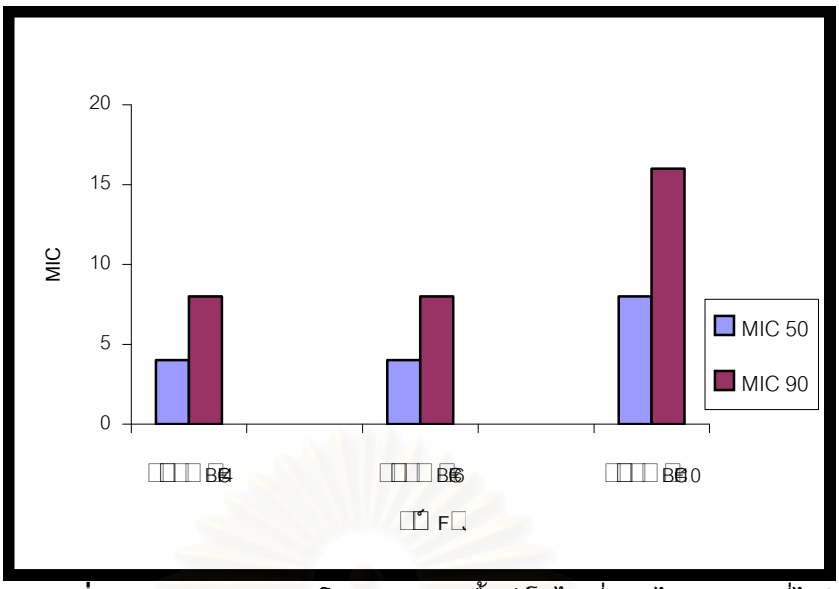
10. Hoogkamp-Korstanje, A.A.J. and Roelofs-Willemse, J. 2003. Antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria from Intensive Care Units and Urology Services A Nationwide study in The Netherlands 1995-2000 International. *Journal of Antimicrobial Agents* (21): 547-556.
11. Tummaruk, P., et al. 2004. Alternative antimicrobials in the nutrition of postweaning piglets: impacts on feed intake, growth rate, feed conversion and mortality. *Proceeding 18th of the International Pig Veterinary Society Congress.* June 27-July 1, 2004. Hamburg, Germany. P. 576.
12. Tantilerdcharoen, R.,et al. 2004. Alternative antimicrobials in the nutrition of postweaning piglets: II Impacts on histopathology and number of *Escherichia coli* and *Bacillus spp*. in feces and small intestine. *Proceeding 18th of the International Pig Veterinary Society Congress*. June 27-July 1, 2004 Hamburg, Germany. P. 598.
13. Qiunn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Carter, G.R. 1994. Enterobacteriaceae, Section 2: Bacteriology. In: Clinical Veterinary Microbiology. First edition., Wolfe Publishing., Spain. P. 209-236.
14. Berkhoff, H.A and Vinal, A.C. 1986. Congo red medium to distinguish between invasive and non-invasive *E. coli* for poultry. *Avian Diseases*. (30): 117-121.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standard. 2000. Performance standard of antimicrobial susceptibility testing. Minimal Inhibitory Concentration Interpretive Standard M100-S7. National Committee for Clinical Laboratory Standard, Villanova, Pa.
16. Delsol, A. A.,et al. 2003. The effect of chlortetracycline treatment and its subsequent withdrawal on muti-resistance *Salmonella enterica* serovar Thyphimurium DT104 and commensal *Escherichia coli* in the pig. *Journal of Applied Microbiology* (95): 1226-1234
17. Aubry-Damon, H. et al. 2004. Antimicrobial Resistance in Commensal Flora of Pig Farmers. *Emerging Infectious Disease* 10(5): 873-879.
18. Wells, B. M. and James, O. B.1973. Transmission of infectious drug resistance from animal to man. *The Journal Of Hygiene* (71): 209-215.
19. นิทัศน์ เพราแก้ว. 2534. รูปแบบการดื้อยาและความสามารถในการถ่ายทอดพลาสมิดที่ควบคุมการดื้อยาของเชื้ออี.โคไลที่แยกได้จากคน ไก่ สิ่งแวดล้อม. วิทยานิพนธ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
20. Hancock, W. E. R. and Chapple, S. D. 1999. Peptide antibiotics; Minireview. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy (*43): 1317-1323.
21. Amin, A. H., et al. 1969. Berberine sulfate: antimicrobial activity, bioassay and mode of action. *Canadian Journal of Microbiology* (15): 1067-1076.
22. Zhu, B. and Ahrens, F. A. 1982. Effect of Berberine on intestinal secretion mediated by *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin in jejunum of pigs. *American Journal of Veterinary Research* (43): 1594-1598.
23. Choi, C., et al. 2002. Antimicrobial Susceptibility of Pathogenic *Escherichia coli* Isolated from Pigs in Korea. *Journal Veterinary Medicine Science*. 64(1): 71-73.

24. Mateu, E. and Martin, M. 2000. Antimicrobial resistance in enteric porcine *Escherichia coli* strains in Spain. *The Veterinary Record* (146): 703-705.
25. Uemura,R., Sueyochi.M.,Nagayochi.M. and Nagatomo.H.2002.Antimicrobial Susceptibilities of Shiga Toxin- Producing *Escherichia coli* Isolates from Pigs with Edema disease in Japan. *Microbial.Immunol*. 47(1):57-61.
26. Tabatabaei, R. R. et al. 2003. Isolation, Identification and Antimicrobial Resistance Patterns of E.coli Isolated from Chicken Flocks. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics* 2(2): 39-41.
27. Prescott, F.J. 2000. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. Prescott, F.J., Baggot, D.J. and Walker,D.R. (ed.) 3rd edition. Iowa. Blackwell Scientific Publications. P.177.
28. Sack, R. B. and Froehlich, J. L. Berberine inhibits intestinal secretory response of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* enterotoxins. Infection and Immunity. 35(2): 471-475.
29. Cosgrove, R. F. and Baines, S. 1978. *In vitro* activity of chlorhydroxyquinoline against mycoplasma species. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 13(3): 540–541.
30. Birdsall, T.C. and Kelly, G.S. 1997. Berberine: therapeutic potential of an alkaloid found in several medicinal plants. Alternative Medical Review. 2: 94-103.

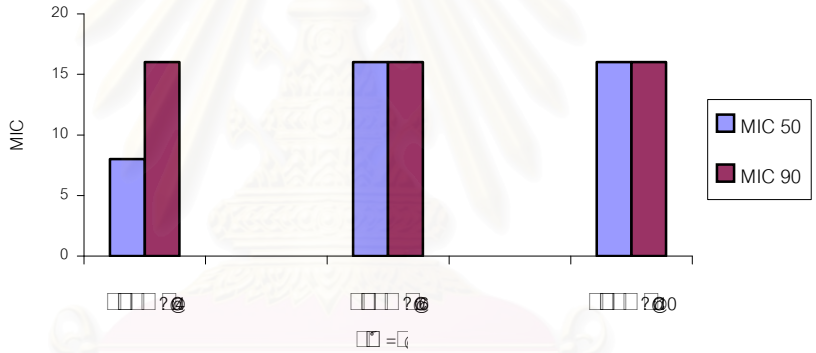
กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจากทุนอุดหนุนโครงการวิจัยเงินทุนคณะสัตวแพทยศาสตร์ประจำปี พ.ศ. 2548 ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งมา ณ โอกาสนี้ นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณ สพ.ญ.อังคณา สมนัสทวีชัย น.สพ.ณัฐพล อัศวนิเวศน์ และ น.สพ.ปดิพัทธ์ สันติภาดา ผู้ช่วยงานวิจัยในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนนิสิตคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง และตรวจวิเคราะห์ข้อมูล

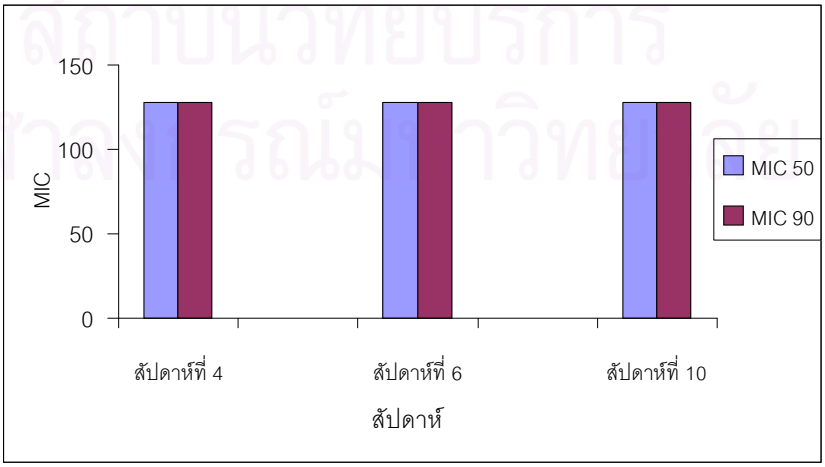
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



แผนภูมิที่ 1 แสดงค่า MIC ต่อโคลิสตินของเชื้อ*อี.โคไล* ที่แยกได้จากสุกรที่ได้รับโคลิสติน ในสัปดาห์ที่ 4, 6, และ 10



แผนภูมิที่ 2 แสดงค่า MIC ต่อฮาควินอลของเชื้อ*อี.โคไล* ที่แยกได้จากสุกรที่ได้รับฮาควินอล ในสัปดาห์ที่ 4, 6, และ 10



แผนภูมิที่ 3 แสดงค่า MIC ต่อเบอร์เบอร์รีนของเชื้อ*อี.โคไล* ที่แยกได้จากสุกรที่ได้รับเบอร์เบอร์รีนในสัปดาห์ที่ 4, 6, และ 10