การต้านทานยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* spp. จากปลานิล (*Oreochromis* sp.) ในกระชัง

Antimicrobial resistance of *Streptococcus* spp. isolated from cage Tilapia (*Oreochromis* sp.)

รัชต์ ขัตติยะ[1*] และ ดวงพร พิชผล[2]

[1] สาขาวิชาคลินิกสัตว์บริโภค คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50100

[2] สาขาวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50100

บทคัดย่อ

ทำการตรวจหาลักษณะการต้านทานยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัสจำนวน 70 ตัวอย่าง จากปลานิลในกระชังซึ่งแสดงอาการติดเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ตามวิธีของ National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการศึกษาคือแอมพิซิลลิน (AMP) คลอแรมเฟนิคอล(CHLO) นอร์ฟล๊อกซาซิน (NOR) และ เตตราไซคลิน (TET) พบว่าแอมพิซิลลินและเตตราไซคลินไวต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส (susceptible) ที่ 94.3 และ 70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่นอร์ฟล๊อกซาซินมีสัดส่วนของเชื้อที่ต้านทานยามากที่สุด (resistant) (32.9%) และคลอแรมเฟนิคอลมีสัดส่วนที่สูงของการไวบางส่วนต่อการยับยั้งเชื้อ (intermediate susceptible) (54.3%)

Abstract

The resistance pattern of *Streptococcus* spp. to the microbial agents was performed. Seventy isolates of *Streptococcus* spp. from cage Tilapia with bacterial infection signs were assessed using Minimum Inhibitory Concentration (MIC) follows the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). The antimicrobial agents in this study were ampicillin (AMP), chloramphenicol (CHLO), norfloxacin (NOR) and tetracycline (TET). The results indicated that *Streptococcus* spp. isolates were susceptible to AMP and TET at 94.3 and 70 percent, respectively, whereas they showed the most proportion of resistance to NOR (32.9%). Apparently, *Streptococcus* spp. isolates showed high proportion of intermediate susceptibleness to CHLO (54.3%).

คำนำ

ปลานิล (Tilapia; *Oreochromis* sp.) เป็นปลาน้ำจืดที่นิยมเลี้ยงมาก เนื่องจากเพาะเลี้ยงได้ง่าย รสชาดอร่อย เกษตรกรจะเลือกลักษณะการเลี้ยงปลาขึ้นกับความเหมาะสมของสถานที่ในการเลี้ยง ชนิดปลา รวมทั้งปัจจัยทางการเงิน การเลี้ยงปลาในกระชังเป็นการเลี้ยงปลาในภาชนะกักขัง ซึ่งมีช่องตาที่น้ำสามารถไหลผ่านได้ สามารถเลี้ยงปลาได้จำนวนหนาแน่น และตัวกระชังมักผูกแขวนไว้กับ แม่น้ำ ลำคลอง (เกรียงศักดิ์, 2543) ในเขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน มีการเลี้ยงปลานิลในกระชังริมแม่น้ำปิง โดยรับลูกปลานิลและเลี้ยงจนได้น้ำหนักจับขายประมาณ 600-700 กรัมต่อตัว (รัชต์ และคณะ, 2548) อย่างไรก็ตามปัญหาในการเลี้ยงปลาในกระชังจากการเลี้ยงที่หนาแน่นและปัญหาคุณภาพน้ำไม่เหมาะสม คือปัญหาการติดเชื้อจากโรคติดเชื้อทั่วไปและพยาธิภายนอก ซึ่งเกษตรกรมักใช้ยาปฏิชีวนะผสมอาหารในการรักษาส่งผลให้เกิดการต้านทานยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย (Woo *et al*., 2002)

การติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.) ทำให้เกิดภาวะติดเชื้อทั่วร่างกาย (Septicemia) สมองและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningoencephalitis) ในปลาน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม (Perera *et al*., 1994; Stoffregen *et al*., 1996) เชื้อสเตรปโตคอคคัสเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ชนิด encapsulated, alpha and beta-hemolytic, catalase negative มีรูปร่าง cocci ต่อยาวเป็นสายโซ่เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสง สามารถจำแนกชนิดของเชื้อจากคุณสมบัติแอนติเจนจากคาร์โบไฮเดรตที่ผนังเซลล์และการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (hemolytic activity) อย่างไรก็ตามพบว่าการแยกแยะชนิดเชื้อสเตรปโตคอคคัสด้วยวิธีทางอณูชีววิทยามีความจำเป็น (รัชต์, 2549, Baeck *et al*., 2006) เนื่องจากการจำแนกโดยใช้คุณสมบัติชีวเคมีไม่สามารถแยกแยะได้อย่างชัดเจน เชื้อสเตรปโตคอคคัสที่พบในสัตว์น้ำ ได้แก่เชื้อ *S. iniae, S. agalactiae, S. parauberis* (Evans *et al*, 2002, Shoemaker *et al*., 2001, Baeck *et al*., 2006) นอกจากนั้นเชื้อ *S. iniae* ยังเป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถติดสู่คน (zoonotic agent) ได้ด้วย (Lau *et al*., 2003) ดังนั้นการศึกษาการต้านทานยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย จากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำถือว่ามีความสำคัญมาก เนื่องจากเกิดภาพรวมการต้านทานยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียต่อการสาธารณสุขของมนุษย์ได้ (Akinbowale *et al*., 2006)

การศึกษาด้านความสามารถในการต้านทานยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในย่านเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาจากเชื้อแบคทีเรียที่พบได้บ่อย ดังเช่น การศึกษาเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* spp. และ *Vibrio* spp. (Radu *et al*., 2003, Maluping *et al*., 2005) ยังไม่มีการศึกษาการต้านทานยาปฏิชีวนะในเชื้อสเตรปโตคอคคัส ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจและทำการศึกษาการต้านทานยาปฏิชีวนะในเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว โดยเฉพาะเมื่อพิจารณาจากความเป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถติดสู่คน

อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 เชื้อแบคทีเรีย

ทำการแยกแยะเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.) จำนวน 70 ตัวอย่างสายพันธุ์จากปลานิลในกระชังซึ่งแสดงอาการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (ตาโปน เหงือกซ้ำ เส้นเลือดบริเวณฝาปิดเหงือกขยายใหญ่และแตก ท้องบวม ว่ายน้ำผิดปกติหรือลอยตัวบริเวณผิวน้ำ) ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2549 จากแม่น้ำปิง เขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ผ่าซากปลาป่วยและเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากม้าม ไตส่วนหน้า และสมอง ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ทำการแยกแยะเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัสจากแบคทีเรียชนิดอื่นโดยดูจากลักษณะโคโลนี รูปร่างของแบคทีเรียและคุณสมบัติทางชีวเคมี ตามวิธีการดัดแปลงจาก Buller (2004) กล่าวคือแยกแยะเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัสด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood agar base (HiMedia, Mumbai, India) with 5 % v/v bovine blood 37˚C 24 ชั่วโมง ทำการแยกโคโลนีเดี่ยวและบ่มอีกครั้งด้วยวิธีการข้างต้น ดูลักษณะโคโลนี ย้อมสีแกรม และรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์แสง ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีด้วย catalase test (Merck, Darmstadt, Germany) ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus pneumoniae* เป็นเชื้อแบคทีเรียอ้างอิง ตามวิธีการของ National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) M100-S9 (NCCLS, 1999) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

2.2 ยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะในการศึกษาครั้งนี้เลือกจากที่มีการใช้ในพื้นที่และที่มีผลต่อการต้านทานยาของเชื้อแบคทีเรียในมนุษย์ ได้แก่ แอมพิซิลลิน (ampicillin; AMP, Sigma) คลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol; CHLO, Sigma) นอร์ฟล๊อกซาซิน (Norfloxacin; NOR, Sigma) และ เตตราไซคลิน (tetracycline; TET, Sigma) เตรียมสารละลายสต็อค (stock solution) ตามวิธีการของ NCCLS (1999) ตัวทำละลายของสารละลายสต็อคยาปฏิชีวนะข้างต้นทำตามข้อแนะนำของบริษัทผู้ผลิต 0.1 M, pH 8.0 phosphate buffer (AMP), ethanol (CHLO), น้ำกลั่น (NOR) และ 1 M HCl (TET) เก็บสารละลายสต็อคที่อุณหภูมิ -20˚C ก่อนที่จะเจือจางเพื่อทำการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อต่อไป

2.3 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ

หาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (minimum inhibitory concentration; MIC) ด้วยวิธี broth microdilution method ตามวิธีการของ NCCLs (NCCLs, 1999) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้คือ cation-adjusted Mueller Hinton broth (Difco laboratories, Detroit, USA) และใส่ 5% v/v lysed horse blood (LHB-CAMHB) เตรียมเพลทพลาสติคปราศจากเชื้อชนิด U-shape และใส่ 100 µl LHB-CAMHB ในทุกหลุมของเพลท เจือจางสารละลายสต็อคยาปฏิชีวนะที่เตรียมไว้ 1 ml ด้วย LHB-CAMHB 10 ml ก่อนที่เติมในหลุมตามแถวแนวตั้งที่ 1

ปริมาณ 100 µl ทำการเจือจางแบบ 2-fold dilution จากหลุมตามแถวแนวตั้งที่ 1 เรื่อยไปจนถึงแถวแนวตั้งที่ 10 และทิ้งอาหารเลี้ยงเชื้อที่เจือจางออกไป 100 µl

นำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัสที่แยกแยะได้ตามวิธีข้างต้นมาบ่มอีกครั้งบน 5 % v/v sheep blood agar ที่ 37˚C, 16-18 ชั่วโมง เตรียมเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างโดยกระจายเชื้อโดยตรงด้วยวิธี direct colony suspension โดยใช้ sterile cotton swab เขี่ยเชื้อและกระจายในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ได้ความขุ่นของสารละลายที่ 0.5 McFarland standard (ประมาณ 10^8 CFU/ml) เจือจางอีกครั้งด้วยอัตราส่วน 1:100 ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อซึ่งจะได้ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^6 CFU/ml ทำการเติมสารละลายเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างที่เจือจางแล้ว (10^6 CFU/ml) ปริมาณ 100 µl ในทุกหลุมตามแถวแนวตั้งที่ 1 ถึง 11 โดยแถวแนวตั้งที่ 11 (ไม่มียาปฏิชีวนะ) ใช้เป็น negative control และแถวแนวตั้งที่ 12 เติมเชื้อแบคทีเรียอ้างอิง (*S. pneumoniae*) 100 µl ตามวิธีการข้างต้น เพื่อใช้เป็น positive control ทำการบ่มที่ 35 ˚C, 20-24 ชั่วโมงตามวิธีการของ NCCLs (1999) ทำการอ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (MIC) จากความเข้มข้นที่ยาปฏิชีวนะสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างสมบูรณ์ และนำค่าที่ได้เทียบเคียงกับตารางแปลผลของ NCCLs (1999) เพื่อจัดเป็นกลุ่มไวต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (susceptible) กลุ่มไวต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางส่วน (intermediate susceptible) และกลุ่มไม่ไวต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (resistant)

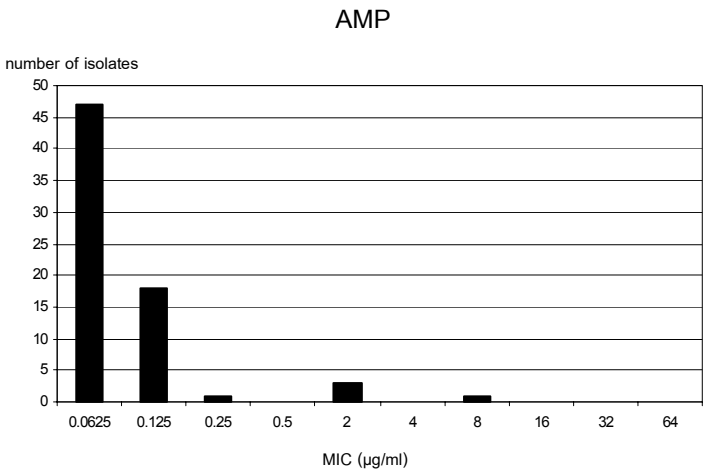
ผลการวิจัย

ทำการตรวจหาลักษณะการต้านทานยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัสจำนวน 70 ตัวอย่าง จากปลานิลในกระชังซึ่งแสดงอาการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยยึดจากความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งยับยั้งเชื้อ (MIC) ตามเกณฑ์มาตรฐานของ National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1999) ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการศึกษาคือแอมพิซิลลิน (AMP) คลอแรมเฟนิคอล(CHLO) นอร์ฟล๊อกซาซิน (NOR) และ เตตราไซคลิน (TET) พบว่า ณ จุด MIC แอมพิซิลลินสามารถยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคคัสได้ดีที่สุด (susceptible) (94.3%) ในขณะที่นอร์ฟล๊อกซาซินมีสัดส่วนของเชื้อที่ต้านทานยามากที่สุด (resistant) (32.9%) ดังตารางที่ 1

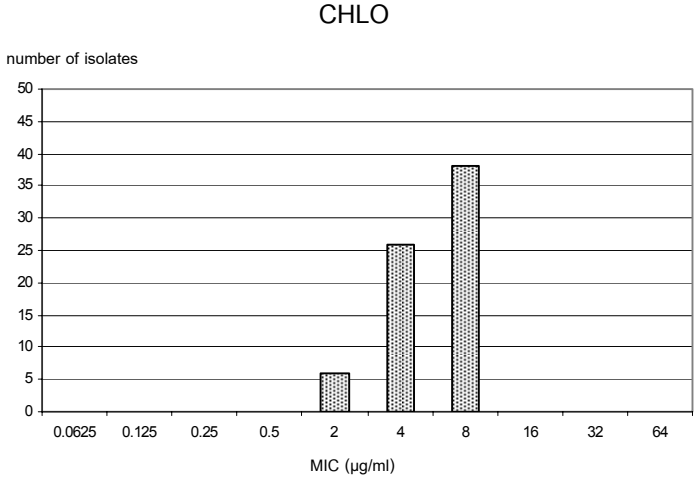
ตารางที่ 1 แสดงจำนวนเชื้อสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.)ในการต้านทานยาปฏิชีวนะ (n=70)

Tetracycline	49 (70%)	14 (20%)	7 (10%)
	Number of isolates		
	Susceptible (S)	Intermediate susceptible (I)	Resistant (R)
Ampicillin	66 (94.3%)	3 (4.3%)	1 (1.4%)
Chloramphenicol	32 (45.7%)	38 (54.3%)	0 (0%)
Norfloxacin	37 (52.9%)	10 (14.3%)	23 (32.9%)

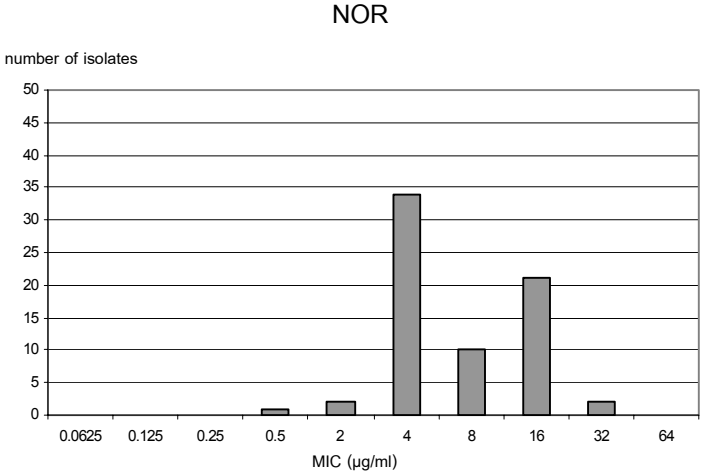
การกระจายตัวของเชื้อสเตรปโตคอคคัสต่อค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ในช่วงตั้งแต่ 0.0625 – 64 µg/ml ของยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิด พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ของแอมพิซิลลิน อยู่ในช่วง 0.0625 – 0.125 µg/ml (รูปที่ 1) คลอแรมเฟนิคอล อยู่ในช่วง 2-8 µg/ml (รูปที่ 2) นอร์ฟล๊อกซาซินมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อกระจายตั้งแต่ 0.5-32 µg/ml (รูปที่ 3) และเตตราไซคลินมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อที่เหมาะสมระหว่าง 2-4 µg/ml (รูปที่ 4)



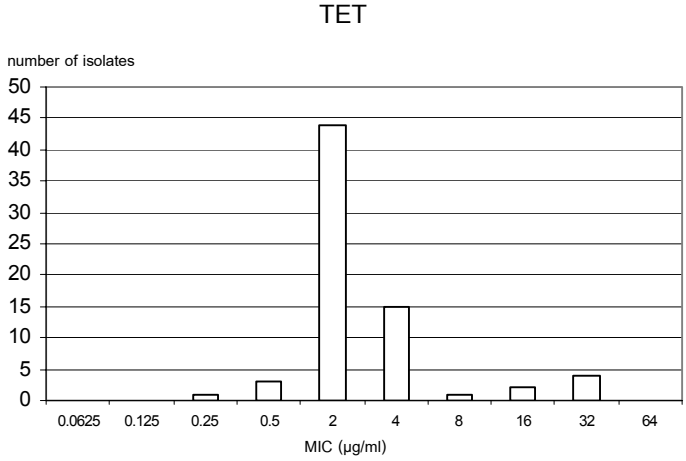
รูปที่ 1 แสดงการกระจายตัวของจำนวนเชื้อสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.) ต่อความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ(MIC) ของแอมพิซิลลิน (AMP) (n=70)



รูปที่ 2 แสดงการกระจายตัวของจำนวนเชื้อสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.) ต่อความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ(MIC) ของ คลอแรมเฟนิคอล(CHLO) (n=70)



รูปที่ 3 แสดงการกระจายตัวของจำนวนเชื้อสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.) ต่อความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ(MIC) ของ นอร์ฟล๊อกซาซิน (NOR) (n=70)



รูปที่ 4 แสดงการกระจายตัวของจำนวนเชื้อสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* spp.) ต่อความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ(MIC) ของ เตตราไซคลิน (TET) (n=70)

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การศึกษาลักษณะการต้านทานยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งแบคทีเรียในสัตว์น้ำ มี 4 แบบ คือ disk diffusion, agar dilution, broth dilution และ broth microdilution method

(Christofilogiannis, 2001)โดยทั่วไปการศึกษาดังกล่าวทางการแพทย์และการสัตวแพทย์จำเป็นต้องอิงตามวิธีการมาตรฐานซึ่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป ดังเช่น the American National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ซึ่งจะบ่งบอกถึงอุณหภูมิ อาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อแบคทีเรียอ้างอิง การเตรียมยาปฏิชีวนะทดสอบ การแปลผล เป็นต้น อย่างไรก็ตามการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งแบคทีเรียในสัตว์น้ำมีข้อยุ่งยาก เนื่องจากปัจจัยต่างๆข้างต้นอาจไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในสัตว์น้ำ เช่น อุณหภูมิ อาหารเลี้ยงเชื้อ กลไกเภสัชจลนศาสตร์ และกลไกเภสัชพลศาสตร์ ดังนั้นควรพัฒนาเพื่อตั้งเกณฑ์มาตรฐานในการตรวจหาค่าความเข้มข้นยาปฏิชีวนะต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในสัตว์น้ำต่อไป (Alderman และ Smith, 2001, Christofilogiannis, 2001, Schnick, 2001) ดังนั้นเพื่อให้เกิดมาตรฐานในการเปรียบเทียบกับเชื้อสเตรปโตคอคัสอื่น ผู้วิจัยจึงเลือกใช้วิธีของ NCCLS (1999) ถึงแม้ว่าอุณหภูมิอาจมีผลต่อการเจริญเติบโตหรือการแปลผลได้

พบว่ายาปฏิชีวนะที่ใช้ในการศึกษาคือแอมพิซิลลิน คลอแรมเฟนิคอล นอร์ฟล๊อกซาซิน และ เตตราไซคลิน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อสเตรปโตคอคคัสได้ทั้งสิ้น โดยแอมพิซิลลินสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด เนื่องจากเป็นยาปฏิชีวนะที่จำเพาะในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกอันเป็นผลจากกลไกการทำลายผนังเซลล์ ในขณะที่คลอแรมเฟนิคอลและเตตราไซคลิน ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียในวงกว้างทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและลบ จึงอาจส่งผลให้สัดส่วนในการยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคคัสน้อยกว่าแอมพิซิลลิน (Prescott และ Baggot, 1994) นอกจากนั้นพบว่าการต้านทานเตตราไซคลินของสเตรปโตคอคคัสมีสัดส่วนที่มีแนวโน้มที่สูงขึ้น (10%) ซึ่งเกษตรกรควรพิจารณาเนื่องจากเป็นยาที่อนุญาตให้ใช้ในการรักษาโรคสัตว์น้ำ ส่วนนอร์ฟล๊อกซาซินเป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้มากในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila* จึงมีภาวะการดื้อยาแบบ intrinsic resistant ไม่สามารถยับยั้งกลไกการแบ่งตัวของแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งมียีน *NorA* ควบคุมการดื้อยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (Nakamura, 1997) ดังแสดงในสัดส่วนของการต้านทานนอร์ฟล๊อกซาซินที่สูงกว่ายาปฏิชีวนะอื่น (32.9%)

ผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดของเตตราไซคลินที่สามารถยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคคัส (2-4 µg/ml)สอดคล้องกับการศึกษาของ Facklam และคณะ (2005) ซึ่ง มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของเตตราไซคลินยับยั้ง *S. iniae* ที่ 2-4 µg/ml ในขณะที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของแอมพิซิลลินในการศึกษาครั้งนี้ (0.0625 – 0.125 µg/ml) ต่ำกว่าการศึกษาของ Facklam และคณะ (2005) (0.008-1.0 µg/ml) ซึ่งผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าแอมพิซิลลินเป็นยาทางเลือกที่เหมาะสม (drug of choice) กับการรักษาหรือควบคุมโรคสเตรปโตคอคโคซิส สอดคล้องกับการใช้แอมพิซิลลินในการรักษาโรคโรคสเตรปโตคอคโคซิสจาก *S. iniae* ในคน (Lau *et al*., 2003) อย่างไรก็ตามควรระมัดระวังการใช้แอมพิซิลลินในการรักษาหรือควบคุมโรคสเตรปโตคอคโคซิส เนื่องจากมีรายงานในเกาหลีใต้ถึงการต้านทานแอมพิซิลลินของเชื้อสเตรปโตคอคคัสในปลา Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Baeck *et al*., 2006) แม้ว่า Baeck และคณะ (2006) พบว่าไซโปรฟล๊อกซาซินซึ่งเป็นยาที่พัฒนาใหม่ล่าสุดในกลุ่มฟลูออโรควิโนโลนสามารถยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคคัสในปลาได้ แต่พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของนอร์ฟล๊อกซาซินที่

สามารถยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคคัสในการศึกษานี้ค่อนข้างกระจายกว้าง ตั้งแต่ 0.5-32 µg/ml หรือเท่ากับการทำ 2-fold dilution 5 ครั้ง ชี้ให้เห็นถึงความไม่สามารถในการยับยั้งของนอร์ฟล๊อกซาซินอันเนื่องจากการดื้อยาแบบ intrinsic resistant หรือโอกาสของการต้านทานยาในอนาคต ดังเช่นการต้านทานยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลนในแบคทีเรียแกรมบวกจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Akinbowale *et al*., 2006) คลอแรมเฟนิคอลแม้ว่าจะสามารถในการยับยั้งเชื้อสเตรปโตคอคคัส แต่ไม่ควรเลือกในการรักษาหรือควบคุม เนื่องจากเป็นยาปฏิชีวนะที่ห้ามใช้ในการเลี้ยงสัตว์ในสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารในประเทศไทย (Tangtrongpiros, 2005)

ปัจจุบันสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอนุญาตให้ใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์น้ำมีเพียง อ๊อกซี่เตตราไซคลิน (oxytetracycline), ซัลฟาไดเมทอกซีน/เมทโทรพริม (Sulfadimethoxine /or metroprim), เอ็นโรฟล๊อคซาซิน (Enrofloxacine), ซัลฟาเมททอกซาโซล/ไตรเมทโทรพริม (Sulfamethoxazole/ trimetroprime) และนีโอมัยซิน (Neomycin) เท่านั้น (Tangtrongpiros, 2005) ซึ่งเห็นได้ว่ายาปฏิชีวนะในการวิจัยครั้งนี้ คลอแรมเฟนิคอล เป็นยาปฏิชีวนะที่ห้ามใช้อย่างเด็ดขาดในการเลี้ยงสัตว์น้ำและสัตวแพทย์ เนื่องจากมีการตกค้างตัวยาหรืออนุพันธ์ของยาในเนื้อสัตว์ ส่งผลสุขภาพของมนุษย์ในการดื้อยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาโรคในมนุษย์รวมถึงต่อการห้ามจำหน่ายสินค้าส่งออกระหว่างประเทศ (Bartie *et al*., 2005) อย่างไรก็ตามการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยสนใจศึกษายาปฏิชีวนะที่ใช้บ่อยทางการแพทย์และสัตวแพทย์ ซึ่งอาจปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและส่งผลต่อเนื่องกับการเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังเช่นการรายงานของเต็มดวงและสุปราณี (2546) ถึงการดื้อคลอแรมเฟนิคอลในฟาร์มปลากระพงขาวและฟาร์มเลี้ยงกุ้งกุลาดำ แม้ว่าเกษตรกรไม่เคยใช้ยาปฏิชีวนะดังกล่าวในการเลี้ยง ดังนั้นการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อการรักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรีย เกษตรควรปรึกษานักวิชาการประมงหรือสัตวแพทย์ทุกครั้ง และพิจารณาอย่างถี่ถ้วนทุกครั้งถึงความจำเป็นในการใช้ยาปฏิชีวนะแม้ว่าเป็นยาปฏิชีวนะที่อนุญาตให้ใช้ได้ก็ตาม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ในการสนับสนุนทุนในการวิจัย เกษตรกรทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่าง และบุคลากรคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการช่วยเหลือการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. (2543) หลักการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่1. เชียงใหม่. 152 หน้า.

เต็มดวง สมศิริ และสุปราณี ชินบุตร (2546) การดื้อยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอลของเชื้อแบคทีเรียในฟาร์มปลาและกุ้ง. วารสารข่าวโรคสัตว์น้ำ. 13(2): 8-10.

รัชต์ ขัตติยะ, สุวดี ตรีรัตนวารีสิน, ธนารักษ์ ศรีไชยวงศ์, เยาประภา มาธุระ, สุรชัย พิกุลแก้ว และ ฏิลก วงศ์เสถียร. (2548) ความชุกและปัจจัยเสี่ยงของการติดพยาธิภายนอกของปลานิลแดง (*Oreochromis* sp.) ในกระชังริมแม่น้ำปิง เขตจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. การประชุมวิชาการสาขาสัตวบาล/สัตวศาสตร์/สัตวแพทย์ ครั้งที่ 5 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 14 - 15 พฤศจิกายน 2548.

รัชต์ ขัตติยะ. (2549) การตรวจเชื้อ *Streptococcus iniae* จากปลานิลลูกผสม (*Oreochromis* sp.) ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส. สัตวแพทยศาสตร์ มข. . 16 (1):78-86.

Alderman DJ and Smith P. (2001) Development of draft protocols of standard reference methods for antimicrobial agent susceptibility testing of bacteria associated with fish diseases. Aquaculture 196(3-4):211-243.

Akinbowale OL, Peng H and Barton MD. (2006) Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. J Appl Microbiol. 100(5):1103-13.

Baeck GW, Kim JH, Gomez DK and Park SC. (2006) Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju Island. J Vet Sci. 7(1):53-8.

Bartie KL, Huys G, Swings J, Oanh DTH, Phuong NT, Shariff M, Yusoff FM, Somsiri T, Chinabut S, Bertone S, Giacomini M and Teale AJ. (2005) Hazard analysis of antimicrobial resistance associated with Asian aquacultural environments. Proceeding of the international workshop: antibiotic resistance in Asian aquaculture environments (in CD-ROM). Chiang Mai, Thailand. 24-25 February 2005. Track 1_1.

Buller, NB. (2004) Bacteria from fish and other aquatic animals; a practical identification manual. CABI publishing. Oxfordshire, UK. 631 pages.

Christofilogiannis P. (2001) Current inoculation methods in MIC determination. Aquaculture. 196(3-4):297-302.

Evans JJ, Klesius PH, Gilbert PM, Shoemaker CA, Sarawi M A AI, Landsberg J, Duremdez R, Marzouk A AI and Zenki S AI. (2002) Characterization of beta-haemolytic group B *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri* (Day), in Kuwait. J Fish Dis 25:505-513

Facklam R, Elliott J, Shewmaker L and Reingold A. (2005) Identification and characterization of sporadic isolates of *Streptococcus iniae* isolated from humans. J Clin Microbiol. 43(2):933-7.

Lau SKP, Woo PCY, Tse H, Leung KW, Wong SSY and Yuen KY (2003) Invasive *Streptococcus iniae* infections outside North America. J Clin Microbiol 41:1004-1009

Maluping RP, Lavilla-Pitogo CR, DePaola A, Janda JM, Krovacek K and Greko C. (2005) Antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp. and *Plesiomonas shigelloides* isolated in the Philippines and Thailand. Int J Antimicrob Agents. 25(4):348-50.

Nakamura S. (1997) Mechanisms of Quinolone resistance. J Infect Chemother 3:128-38.

NCCLs (1999) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; ninth information supplement. NCCLs document M100-S9. 104 pages.

Radu S, Ahmad N, Ling FH and Reezal A. (2003) Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. Int J Food Microbiol. 81(3):261-6.

Perera RP, Johnson SK, Collins MD and Lewia DH (1994) *Streptococcus iniae* associated with mortality in *Tilapia nilotica* X *T. aurea* hybrids. J Aquat Anim Health 6:335-340

Prescott JF and Baggot JD. (1994) Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 2nd ed. Iowa State University Press. 612 pages.

Schnick RA. (2001) International harmonization of antimicrobial sensitivity determination for aquaculture drugs. Aquaculture. 196(3-4):277-88.

Shoemaker CA, Klesius PH and Evans JJ (2001) Prevalence of *Streptococcus iniae* in Tilapia, hybrid striped bass, and channel catfish on commercial farms in the United States. Am J Vet Res 62:174-7

Stoffregen DA, Backman SC, Perham RE, Bowser PR and Babish JG (1996) Initial disease report of *Streptococcus iniae* infection in hybrid striped bass (sunshine) bass and successful therapeutic intervention with the fluoroquinolone antibacterial enrofloxacin. J World Aquacult Soc 27:420-34

Tangtrongpirosn J. (2005) Antibiotic resistance problem in Thailand. Proceeding of the international workshop: antibiotic resistance in Asian aquaculture environments (in CD-ROM). Chiang Mai, Thailand. 24-25 February 2005. Track 1_2.

Woo PTK, Bruno DW and Lim LHS. (2002) Diseases and disorders of finfish in cage culture. 1st ed. New York: CABI publishing.