รูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่เพาะแยกได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม

โดย
นางสาวอรทัย ทองจุ้ย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

รูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่เพาะแยกได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม

โดย
นางสาวอรทัย ทองจุ้ย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PATTERN OF *ESCHERICHIA COLI* AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATED FROM WORKING AREA IN THE VETERINARY TEACHING HOSPITAL, NAKHONPATHOM

By

MISS Orathai THONGJUY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (ENVIRONMENTAL SCIENCE)

Department of ENVIRONMENTAL SCIENCE

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2018

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	รูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่เพาะแยกได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม
โดย	อรทัย ทองจุ้ย
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดิเรกฤทธิ์ บัวเวช

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรประภา ภุมมะกาญจนะ โรแบร์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดิเรกฤทธิ์ บัวเวช)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัตวแพทย์หญิง สุขฤทัย บุญมาไสว)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(อาจารย์ ดร.สัตวแพทย์หญิง อาภรณ์ ลี้สมบุญ)

57311323 : วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : รูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพ Escherichia coli Staphylococcus aureus พื้นที่ปฏิบัติงานโรงพยาบาลสัตว์

นางสาว อรทัย ทองจุ้ย: รูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่เพาะแยกได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดิเรกฤทธิ์ บัวเวช

โรงพยาบาลสัตว์เป็นสถานที่มีสัตว์สุขภาพดีและสัตว์ป่วยเข้ามารับบริการทุกวัน จึงมีความเสี่ยงสูงต่อการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรคภายในโรงพยาบาลระหว่างสัตว์และสัตว์สู่มนุษย์ การศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน และศึกษารูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียดังกล่าว โดยเก็บตัวอย่างแบบสุ่ม (Simple randomization) จำนวนรวม 66 ตัวอย่าง จากพื้นที่รอรับการตรวจรักษา พื้นที่ตรวจรักษาและกรงพักสัตว์ป่วย และพื้นที่ปลอดเชื้อ แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เก็บตัวอย่างก่อนโรงพยาบาลเปิดทำการ จำนวน 33 ตัวอย่าง และกลุ่มที่ 2 เก็บตัวอย่างหลังโรงพยาบาลปิดทำการ จำนวน 33 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ในกลุ่มที่ 2 มากกว่ากลุ่มที่ 1 อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยพบเชื้อ *E. coli* กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 พื้นที่รอรับการตรวจรักษา ร้อยละ 11.1 และ 22.2 ($P=1.00$) เชื้อ *E. coli* กลุ่มที่ 1และกลุ่มที่ 2 พื้นที่ตรวจรักษาและกรงพักสัตว์ป่วยมีค่าเท่ากัน (ร้อยละ 13.3) ขณะที่พบเชื้อ *S. aureus* กลุ่มที่ 1และกลุ่มที่ 2 พื้นที่รอรับการตรวจรักษา พบร้อยละ 88.9 ละ 100 ($P=1.00$) และพื้นที่ตรวจรักษาและกรงพักสัตว์ป่วยของกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 พื้นที่ตรวจรักษาและกรงพักสัตว์ป่วย ร้อยละ 93.3 และ 100 ($P=1.00$) ส่วนพื้นที่ปลอดเชื้อไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย ผลการศึกษาความไวต่อยาต้านจุลชีพ พบว่า *E. coli* กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีแนวโน้มดื้อต่อยาต้านจุลชีพทุกชนิดยกเว้น Sulfamethoxazole ส่วน *S. aureus* กลุ่มที่ 1และกลุ่มที่ 2 มีแนวโน้มดื้อต่อยาต้านจุลชีพกลุ่ม β -lactam แต่ยังคงไวต่อยาต้านจุลชีพ Vancomycin จะเห็นได้ว่ามีการปนเปื้อนของแบคทีเรียในพื้นที่รอรับการตรวจรักษาภายในโรงพยาบาลสัตว์ในระดับสูงโดยเฉพาะบริเวณเครื่องชั่งน้ำหนัก จึงควรมีการจัดการป้องกันการปนเปื้อนโดย ควบคุมคุณภาพการทำความสะอาด แยกพื้นที่ใช้งานสำหรับสัตว์สุขภาพดีและสัตว์ป่วย และให้ความรู้ที่ถูกต้องแก่ เจ้าของสัตว์เลี้ยง และบุคลากรที่ปฏิบัติงานในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย

57311323 : Major (ENVIRONMENTAL SCIENCE)
Keyword : Antimicrobial susceptibility Escherichia coli Staphylococcus aureus Working area Animal hospital

Animal hospitals, where many healthy and sick animals come to receive the medical services every day, may pose a high risk of transmission of contaminated pathogens between animals and humans. Thus this study aims to isolate *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from working areas in the animal hospital and evaluate the antimicrobial susceptibility pattern of isolated bacteria. Total 66 samples were collected by simple randomization from waiting area, examination and ward area, and surgical unit. The sample of group 1 were collected before hospital opening (n=33) and the sample of group 2 were collected after hospital closing (n=33). The results found that the number of both isolated *E. coli* and *S. aureus* from group 2 were non-significant higher than group 1 ($P > 0.05$). *E.coli* isolated from waiting areas in group 1 and 2 were 11.1% and 22.2%, respectively ($P=1.00$). *E. coli* isolated from examination and ward area in group 1 and group 2 were equal (13.3%). *S. aureus* isolated from waiting areas in group 1 and group 2 were 100% and 88.9% ($P=1.00$), respectively. Whereas *S. aureus* isolated from examination and ward area were 100% (group 1) and 93.3% (group 2) ($P=1.00$). There were not any bacterial contamination in surgical unit. The study of bacterial antimicrobial susceptibility pattern found that *E. coli* in both groups trended to resist to all group of antimicrobial agents except Sulfamethoxazole. The most of isolated *S. aureus* from both groups resisted to β-lactam antimicrobials but all of them were susceptible to vancomycin. This study revealed that the contamination of bacteria had the highest level in the waiting are of animal hospital, especially the weighing scale. Therefore, the animal hospital management require some special considerations to prevent bacterial contamination by improving the cleaning quality, the separation of working areas between healthy and sick animals and training the adequate knowledge to everyone including pet owner and hospital practitioner.

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดิเรกฤทธิ์ บัวเวช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สัตวแพทย์หญิง สุขฤทัย บุญมาไสว อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่กรุณาช่วยเหลือในการทำวิจัย และการให้คำแนะนำในทุกขั้นตอนของกระบวนการทำวิจัย ตั้งแต่การคิดหัวข้อวิจัย การวางแผนการวิจัย การเก็บข้อมูล ไปจนถึงการวิเคราะห์ผล สรุปผลการวิจัย และการให้คำปรึกษาในการเขียนรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร. คุณาภรณ์ หอมยก นักวิจัย ประจำศูนย์ตรวจวินิจฉัยทางการสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเรียบเรียงข้อมูล และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพงษ์ผไท กิจรุ่งโรจนาพร นักวิทยาศาสตร์ ประจำสถาบันนวัตกรรมการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำเกียวกับระบบโปรแกรมการบริหารจัดการวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรประภา ภุมมะกาญจนะ โรแบร์ อาจารย์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร และอาจารย์ ดร. สัตวแพทย์หญิง อาภรณ์ ลี้สมบุญ อาจารย์ประจำภาควิชาปรีคลินิกและสัตวศาสตร์ประยุกต์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำแนะนำและช่วยชี้แนะ เพื่อให้สามารถปรับแก้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับสถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือในทำการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณเพื่อนพี่น้อง ชาวคณะสัตวแพทยศาสตร์ทุกท่าน และคุณพ่อคุณแม่ที่คอยเป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

ผู้วิจัยหวังว่าผลการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้องและผู้ที่สนใจศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย และรูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพ สุดท้ายนี้คุณความดีที่มีจากผลการวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอมอบให้แก่ผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

อรทัย ทองจุ้ย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ญ

บทที่ 1 1

บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา 2

1.3 สมมติฐานของการศึกษา 3

1.4. ขอบเขตการศึกษา 3

บทที่ 2 4

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์เลี้ยง (Pathogenic bacteria in companion animals) 4

2.1.1 เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* 5

2.1.2 เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* 6

2.2 การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาลสัตว์ (Bacterial contamination in animal hospitals) 8

บทที่ 3 10

วิธีดำเนินการวิจัย 10

3.1 วัสดุสารเคมี และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 10
3.1.1 วัสดุสารเคมี แสดงดังตารางที่ 1 10
3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 11
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย 11
3.2.3 การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย (Antimicrobial susceptibility test) ด้วยวิธี Kirby-Bauer disk diffusion method 29
3.2.3 วิเคราะห์ข้อมูล 32
บทที่ 4 33
ผลการวิจัยและการวิจารณ์ผลการทดลอง 33
4.1 การเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* ที่ได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน 33
4.2 การเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* 34
4.3 การเปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ก่อนและหลังการใช้พื้นที่ปฏิบัติงาน ภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน 35
4.4 ความไวของยาต้านจุลชีพต่อเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากพื้นที่ปฏิบัติงาน ภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน 37
บทที่ 5 46
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 46
5.1 สรุปผลการวิจัย 46
5.2 ข้อเสนอแนะ 47
รายการอ้างอิง 48
ประวัติผู้เขียน 54

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 วัสดุสารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ 10

ตารางที่ 2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย..... 11

ตารางที่ 3 พื้นที่และจำนวนในการเก็บตัวอย่าง 14

ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางชีวเคมีในการจำแนกเชื้อ *E.coli*..... 25

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบทางชีวเคมีในการจำแนกชนิดของเชื้อ *S. aureus* 27

ตารางที่ 6 ผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากพื้นที่รอ 39

ตารางที่ 7 ผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากพื้นที่. 40

ตารางที่ 8 ผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากพื้นที่รอ 41

ตารางที่ 9 ผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากตัวอย่าง 42

ตารางที่ 10 ความถี่ของการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* จากตัวอย่างกลุ่ม 42

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ 43

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ 44

ตารางที่ 13 ความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* (จำนวน 7 ตัวอย่าง) และ 45

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะของเชื้อ *E. coli* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า 7
ภาพที่ 2 ลักษณะของเชื้อ *S. aureus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า 8
ภาพที่ 3 น้ำยาทำความสะอาดพื้นผิวโรงพยาบาล 12
ภาพที่ 4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย 13
ภาพที่ 5 พื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์: เก้าอี้รอรับการตรวจรักษาสัตว์ 15
ภาพที่ 6 พื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์ 16
ภาพที่ 7 พื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์ 17
ภาพที่ 8 พื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์ 18
ภาพที่ 9 พื้นที่ตรวจรักษาสัตว์ 19
ภาพที่ 10 พื้นที่ปลอดเชื้อ 20
ภาพที่ 11 ลักษณะโคโลนีของ *E. coli* ที่เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด 22
ภาพที่ 12 ชุดสีย้อมแกรม (Gram stain) ประกอบด้วย 24
ภาพที่ 13 ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* ที่เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Blood agar 26
ภาพที่ 14 การจำแนกชนิดของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ด้วยวิธีชีวเคมี 28
ภาพที่ 15 เครื่องวัดความขุ่น (Turbidity meter) 30
ภาพที่ 16 แผ่นยาต้านจุลชีพ 30
ภาพที่ 17 ขั้นตอนการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ 31

บทที่ 1
บทนำ

โรงพยาบาลสัตว์ เป็นสถานพยาบาลให้บริการสำหรับสัตว์ จึงมีสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข แมว ตลอดจนสัตว์เลี้ยงชนิดอื่นๆ ที่มีสุขภาพดี และมีอาการเจ็บป่วย มาเข้ารับบริการเป็นจำนวนมาก ทั้งการตรวจสุขภาพ ฉีดวัคซีนป้องกันโรคและการทำหมัน มีรายงานข้อมูลเกี่ยวกับสัตว์เลี้ยง ที่เข้ารับบริการในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม ระหว่าง พ.ศ. 2555-2558 รวม 6,200 ตัว พบว่า สัตว์เลี้ยงที่เข้ารับบริการในโรงพยาบาลสัตว์มากที่สุดคือ สุนัข (ร้อยละ 77) รองลงมาคือ แมว (ร้อยละ 18.3) และสัตว์เลี้ยงชนิดอื่นๆ เช่น กระต่าย เฟอร์เร็ท นก ไก่ แฮมเตอร์ หนูตะเภา เต่า งู (ร้อยละ 4.7) (Leesombun & Boonmasawai, 2019)

อาการป่วยในสัตว์เลี้ยงที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลสัตว์นั้น เกิดจากโรคติดเชื้อ (Infectious disease) และโรคไม่ติดเชื้อ (Non-infectious disease) โดยโรคติดเชื้อในสัตว์เลี้ยง เป็นโรคที่พบได้บ่อย มีสาเหตุจากการติดเชื้อจุลชีพขนาดเล็ก เช่น แบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา เชื้อก่อโรคเหล่านี้ สามารถเข้าสู่ร่างกายของทั้งมนุษย์และสัตว์ตามช่องทางต่างๆ ได้หลายช่องทาง เช่น หู ตา จมูก ผิวหนัง ทวารหนัก เป็นต้น เป็นสาเหตุของอาการป่วยและเสียชีวิตได้ (ไกรพิบูลย์., 2558) การติดเชื้อสามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามระบบของร่างกาย เช่น การติดเชื้อในกระแสเลือด การติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ การติดเชื้อช่วงคอและบริเวณคอหอย การติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ การติดเชื้อที่ผิวหนัง การติดเชื้อทางน้ำนม และการติดเชื้อตั้งแต่กำเนิด เป็นต้น (มีน่วม, 2560)

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สัตว์ป่วยจำนวนหนึ่งที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลสัตว์ มีการติดเชื้อแบคทีเรียหลากหลายชนิด และมีความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน การตรวจวินิจฉัยและการรักษาโรค อาจต้องใช้อุปกรณ์เครื่องมือพิเศษเพื่อตรวจสอบความผิดปกติภายในร่างกายของสัตว์ เช่น การตรวจภายในกระเพาะอาหาร (Gastroendoscopy) ด้วยกล้องส่องตรวจทางการแพทย์ (Endoscope) การใช้สายยางให้อาหาร (Enteral feeding) การใช้สายสวนท่อปัสสาวะ (Urinary catheterization) การใช้เครื่องมือช่วยหายใจ (Medical ventilator) เป็นต้น ในกระบวนการวินิจฉัยและรักษาสัตว์ป่วยยังมีการฉีดยาและเจาะเลือดอีกด้วย ขั้นตอนดังกล่าวอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียจากร่างกาย

สัตว์ป่วย เข้าสู่สัตว์เลี้ยงตัวอื่นที่เข้ารับการบริการในโรงพยาบาลสัตว์ เจ้าของสัตว์เลี้ยง ตลอดจนบุคลากรที่ตรวจรักษาสัตว์และทำงานในโรงพยาบาลสัตว์ได้ การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียใน

โรงพยาบาลสามารถแพร่กระจายได้หลายลักษณะ อาจจะพบแบคทีเรียเป็นละอองแขวนลอยในอากาศ (Airborne droplet) หรือปนเปื้อนในวัสดุอุปกรณ์ เช่น โต๊ะรักษาสัตว์ กรงและคอกพักสัตว์ป่วย เตียงผ่าตัด เมื่อสัตว์ป่วยหายใจหรือสัมผัสพื้นที่ปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย ก็จะทำให้เกิดโรคติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน ส่งผลให้โรคเดิมของสัตว์ป่วยหายช้าลง การใช้ยาต้านจุลชีพรักษาไม่ได้ผล อาการป่วยรุนแรงขึ้น หรือพบอัตราการเสียชีวิตสูงขึ้น (Qekwana, Oguttu, Sithole, & Odoi, 2017) สัตว์ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลสัตว์จึงมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเข้าสู่ร่างกายขณะเข้ารับบริการในโรงพยาบาลสัตว์ เชื้อแบคทีเรียที่พบในสัตว์เลี้ยงส่วนใหญ่ เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถก่อโรคติดต่อระหว่างคนและสัตว์ (Zoonotic diseases) ถ้าเชื้อแบคทีเรียที่พบนั้นเป็นเชื้อที่มีลักษณะดื้อยาต้านจุลชีพ อาจจะทำให้เกิดปัญหาเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ซึ่งส่งผลกระทบต่อระบบสาธารณสุขโดยมวลรวม (ปรมา หันหาบุญ, ชัญญพัฒน์ บำรุงพันธ์, ศิริชัย วงษ์นาคเพ็ชร, & ปฐมาพร เอมะวิศิษฎ์, 2555) นายสัตวแพทย์และบุคลากรผู้เกี่ยวข้องจึงมีบทบาทหน้าที่ในการจัดการลดความเสี่ยงของการติดเชื้อในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อลดผลกระทบด้านสุขภาพดังกล่าว นอกจากนี้การติดเชื้อปนเปื้อนในโรงพยาบาลสัตว์นั้น อาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพการดำเนินงาน รายได้ ความเชื่อมั่นของลูกค้า ภาพลักษณ์ และขวัญกำลังใจของบุคลากรในโรงพยาบาลสัตว์ได้ (Morley, 2002) ในประเทศไทย ยังไม่มีข้อมูลการสำรวจลักษณะการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียภายในโรงพยาบาลสัตว์ ดังนั้น การสำรวจการปนเปื้อนและรูปแบบการความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียที่พบในบริเวณพื้นที่ปฏิบัติงาน ภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จึงเป็นรายงานแรกที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคติดต่อจากสัตว์สู่สัตว์ และสัตว์สู่คน ตลอดจนรูปแบบการดื้อยาต้านจุลชีพ เพื่อหาแนวทางในการลดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาลสัตว์ และกระตุ้นการใช้ยาอย่างสมเหตุผลในการรักษาสัตว์ป่วย ข้อมูลจากงานวิจัยที่ได้มีจุดประสงค์ที่สอดคล้องกับนโยบายการป้องกันแก้ไขปัญหาเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพตามยุทธศาสตร์แห่งชาติ ของกระทรวงสาธารณสุข ในการจัดการปัญหาเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพของประเทศไทย

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ที่เพาะแยก (Isolate) ได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม

1.2.2 เพื่อศึกษารูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial susceptibility test) ของเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่เพาะแยกได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม ด้วยวิธี Kirby-Bauer disk diffusion method

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

1.3.1 พบเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่เพาะแยกได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม

1.3.2 ทราบรูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพ ของเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่เพาะแยกได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม

1.4. ขอบเขตการศึกษา

ดำเนินการวิจัยโดยการเก็บตัวอย่างแบบสุ่มโดยใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (Sterile swab) ป้ายกับพื้นผิวบนพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม ได้แก่ บริเวณพื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์ พื้นที่ตรวจรักษาสัตว์ และพื้นที่ปลอดเชื้อ นำตัวอย่างที่ได้มาเพาะเลี้ยงเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียการย้อมสีแกรม (Gram staining) และการทดสอบทางชีวเคมี (Biochemistry test) จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดมาทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย (Antimicrobial susceptibility test) ด้วยวิธี Kirby-Bauer disk diffusion method และนำข้อมูลที่ได้มาแสดงผลด้วยวิธี Descriptive statistic และทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธี *Chi*'s square test

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์เลี้ยง (Pathogenic bacteria in companion animals)

แบคทีเรียก่อโรคในสัตว์เลี้ยงมีมากมายหลายชนิดทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ รายงานจากประเทศเยอรมัน ปี พ.ศ. 2560 จากตัวอย่างของสุนัข แมว และม้าพบว่าเชื้อฉวยโอกาส (Opportunistic bacteria) ที่พบบ่อย ได้แก่ Methicillin-resistant *staphylococci* (MRS) ได้แก่ *S. aureus* (MRSA) และ *S. pseudintermedius* (MRSP) (Walther, Tedin, & Lubke-Becker, 2017) ซึ่ง *S. aureus* พบมากในโรคติดเชื้อบนผิวหนังสัตว์เลี้ยง (Loeffler et al., 2010) ประเทศแอฟริกาใต้ มีรายงานการเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากสุนัข 1,497 ตัวอย่าง จากโรงพยาบาลสัตว์ ช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2550 ถึง พ.ศ. 2555 พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus* ชนิด *S. pseudintermedius และ S. aureus* เป็นสายพันธุ์ที่พบได้บ่อยที่สุด ตามด้วย *S. epidermidis* และ *S. felis* (Qekwana et al., 2017)

ส่วนแบคทีเรียแกรมลบที่พบมากได้แก่ Extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *E. coli* และ Multidrug-resistant (MDR) *Salmonella* serovars (Walther et al., 2017) และจากตัวอย่างของสัตว์เลี้ยงที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลสัตว์ ในประเทศญี่ปุ่น ช่วงปี พ.ศ. 2557-2559 พบว่า ชนิดของแบคทีเรียที่พบมากที่สุดคือ *E. coli* พบร้อยละ 25.1 และรองลงมาคือ *S. intermedius* group (SIG) ได้แก่ *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* และ *S. delphini* (Tsuyuki, Kurita, Murata, & Takahashi, 2018) ส่วนประเทศสิงคโปร์พบ MRSP ร้อยละ 63 และ MRSA ร้อยละ 50 ส่วนกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบพบ Fluoroquinolone-resistance *E. coli* ร้อยละ40 และ Carbapenem-resistance *Klebsiella pneumonilae* ร้อยละ 7 (Hartantyo et al., 2018) *E. coli* เป็นแบคทีเรียก่อโรคในสุนัขที่พบบ่อยในโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (Li, Liu, Zhou, & Miao, 2017) ในประเทศนิวซีแลนด์ มีรายงานข้อมูลจากห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยทางสัตวแพทย์ พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างปัสสาวะของสุนัข ระหว่าง พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2556 (5,786 ตัวอย่าง) มีเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* มากที่สุด คือร้อยละ 35.2 รองลงมาได้แก่ *Staphylococcus* spp. ร้อยละ 14.1 *Proteus mirabilis* ร้อยละ 11.4 และ *Enterococcus* spp. ร้อยละ 8.8 ตามลำดับ ผลความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ที่จำแนกชนิดได้ พบว่าเชื้อแบคทีเรียมีแนวโน้มความไวต่อยา Amoxicillin และ Cephalothin ต่ำลง และดื้อยา Enrofloxacin มากที่สุด (McMeekin, Hill, Gibson, Bridges, & Benschop, 2017)

ประเทศสหรัฐอเมริกา มีรายงานข้อมูลสุนัขจากศูนย์วินิจฉัยสุขภาพสัตว์ของมหาวิทยาลัยคอร์เนลล์ ระหว่างปี พ.ศ. 2548 ถึง พ.ศ. 2555 พบเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* มีความไวต่อยาต้านจุลชีพ Amikacin ร้อยละ 0.4 และ Ampicillin ร้อยละ 34.3 นอกจากนี้ เชื้อ *E. coli* ดังกล่าวยังมีความไวต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดต่ำ เช่น Cephalosporin Enrofloxacin และ Tetracycline แสดงให้เห็นว่ายาต้านจุลชีพที่ใช้กันมากในสัตว์เลี้ยงนั้นมีประสิทธิภาพน้อยลง (Cummings, Aprea, & Altier, 2015) ประเทศสวีเดน มีรายงานการพบ Enterobacteriaceae (*E. coli*) ได้บ่อยที่สุดในตัวอย่างปัสสาวะของสุนัขที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์ (ร้อยละ 68) รองลงมาคือ *Staphylococci* spp. ร้อยละ 11 นอกจากนั้นยังพบเชื้อ *S. pseudintermedius* และ *S. aureus* (Windahl, Holst, Nyman, Grönlund, & Bengtsson, 2014) *E. coli* ที่จำแนกชนิดได้จากโรงพยาบาลสัตว์ พบว่ามีการดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิดรวมถึง β-lactam antibiotics (Tuerena, Williams, Nuttall, & Pinchbeck, 2016) ในประเทศแคนาดา มีรายงานการเก็บตัวอย่าง *E. coli* จากสุนัขสุขภาพดีจำนวน 188 ตัว และแมวสุขภาพดีจำนวน 39 ตัว นำมาทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพพบว่ามีความไวต่ำต่อยา Streptomycin Ampicillin Cephalothin และ Tetracycline (C. Murphy et al., 2009)

ในประเทศไทย มีรายงานพบเชื้อแบคทีเรียจากสุนัข ที่เข้ามารับการตรวจรักษาในโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จำนวน 2,016 ตัวอย่าง แบคทีเรียที่พบบ่อย 3 กลุ่มแรกคือ *Enterobacteriaceae* Positive cocci และ *Pseudomonas* (ปรมา หันหาบุญ et al., 2555) ส่วนเชื้อแบคทีเรียจากแผลผ่าตัด แผลถูกกัด แผลฝี และแผลโรคมะเร็ง ของสุนัข และแมวที่เข้ามารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เอกชน ในจังหวัดเชียงใหม่ ตั้งแต่ พ.ศ. 2556 ถึง พ.ศ. 2559 ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย ชนิด *Pseudomonas* spp. มากที่สุด อันดับ 2 คือ *Staphylococcus* spp. นอกจากนี้ยังพบเชื้ออื่น ๆ ซึ่งได้แก่ *Klebsiella* spp. *Pseudomonas aeruginosa Proteus* spp. *Bacillus* spp. *E. coli* ส่วนเชื้ออื่นๆ ในแมวได้แก่ *Streptococcus* spp. และ *Enterobacter* spp. (พรรณธิชา เครือน้ำคำ et al., 2559)

2.1.1 เชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

E. coli อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียย้อมติดสี แกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (Rod shape) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแบคทีเรีย 0.5 -1.5 ไมครอน ไม่สามารถสร้างสปอร์ (ภาพที่ 1) สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) ในสภาวะที่มีออกซิเจนจะใช้กระบวนการหายใจ ส่วนสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะใช้การหมัก (Fermentation) *E. coli* สามารถก่อโรคในมนุษย์ และสัตว์ เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform) ประเภท Fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น (พรเฉลิมพงศ์ & รัตนาปานนท์, 2560)

E. coli ไม่สร้างเอนไซม์ Oxidase สามารถย่อยสลาย กลูโคส ให้กรด หรือกรดแก๊ส สามารถเปลี่ยน ไนเตรท (Nitrate) เป็น Nitrite (N_2) เคลื่อนไหวได้โดย Peritichous flagella หรือไม่เคลื่อนไหว ไม่ต้องการ Sodium chloride (NaCl) ในการเจริญเติบโต ปกติสามารถเจริญบนอาหารธรรมดาที่ใช้ในห้องปฏิบัติการที่ช่วงอุณหภูมิ 7-46 องศาเซลเซียส มี แคปซูล (Capsule) ลักษณะบางหุ้มอยู่รอบตัว ทำให้เชื้อทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี เช่น มีชีวิตอยู่บนพื้นผิวแห้งและในฝุ่นละอองได้นานหลายวัน อาศัยอยู่ในน้ำได้นานหลายสัปดาห์ ถูกทำลายเมื่อต้ม ด้วยอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (วรจิตร, 2545)

E. coli เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal flora) ที่พบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น โดยปกติจะไม่ทำอันตรายหรือก่อโรคร้ายแรง เมื่ออยู่ในลำไส้จะช่วยในกระบวนการย่อยอาหาร ถ้าเชื้อ *E. coli* เพิ่มจำนวนมากขึ้น หรือเข้าสู่ระบบอื่น ของร่างกาย สามารถก่อโรคติดเชื้อรุนแรงได้ เช่น โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ (Urinary tract infections) โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Meningitis) และการติดเชื้อในกระแสเลือด (Septicemia) เป็นต้น และมีเชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วง (Diarrheagenic *E. coli*) โดยการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารหรือน้ำดื่ม จะมีกลไกการก่อโรคและสามารถสร้างสารพิษได้แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557) เช่น เชื้อ Enterotoxigenic *E. coli* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ Enterotoxin ชิกก้า (Shigatoxin) สัตว์ป่วยจะแสดงอาการคล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อ *Shigella* จึงเรียก Shigatoxin ทำให้เกิดอาการท้องร่วงแบบเฉียบพลัน ถ่ายเหลวเป็นน้ำหรือเป็นเลือด หรือทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (Hemolytic anemia) (พรเฉลิมพงศ์ & รัตนาปานนท์, 2560)

2.1.2 เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*

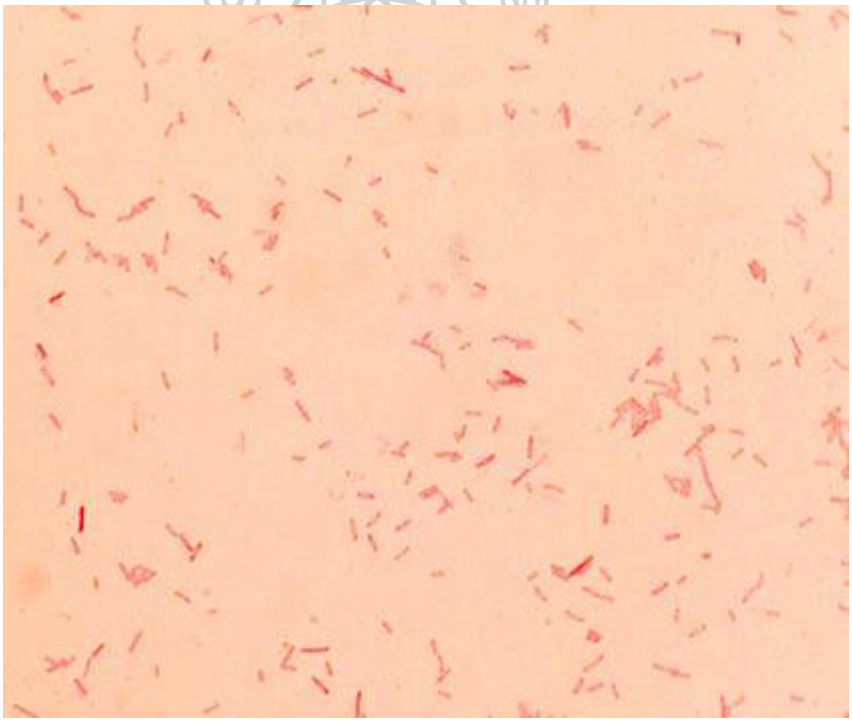
S. aureus เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งในสกุล (Genus) *Staphylococcus* อยู่ในวงศ์ (Family) *Micrococcaceae* แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างกลม (Cocci) (พรเฉลิมพงศ์ & รัตนาปานนท์, 2560) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแบคทีเรีย 0.5 -1.5 ไมครอน เซลล์แบคทีเรียเรียงตัวเป็นคู่ (Diplococcus) หรือสี่ (Tetrad) เซลล์อยู่เป็นกลุ่มเรียงตัวคล้ายพวงองุ่น (Grape like cluster) อาจเรียงตัวกันเป็นสายสั้นๆ ประมาณ 3-4 เซลล์ (Chain) (ภาพที่ 2) *S. aureus* ไม่สามารถเคลื่อนไหว ไม่สามารถสร้างสปอร์ บางสายพันธ์อาจสร้างแคปซูลได้ เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม ผนังเซลล์ของ *S. aureus* ประกอบด้วย โครงสร้างหลักคือแปบทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) และกรดไตโคอิก (Teichoic acid) (วรจิตร, 2545)

S. aureus สามารถเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป เช่น Nutrient agar (NA) และ Tryptic soy agar (TSA) เป็นต้น แบคทีเรียสามารถเจริญได้ทั้งในอาหารเหลว (Broth) และบนอาหารแข็ง (Agar) โดยลักษณะของโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง มีลักษณะเป็นโคโลนีสีเหลืองเข้มหรือสีเหลืองทอง กลม ขอบเรียบ มันวาว โค้งนูน และสีขุ่นทึบแสง ส่วนแบคทีเรียที่เจริญเติบโตใน

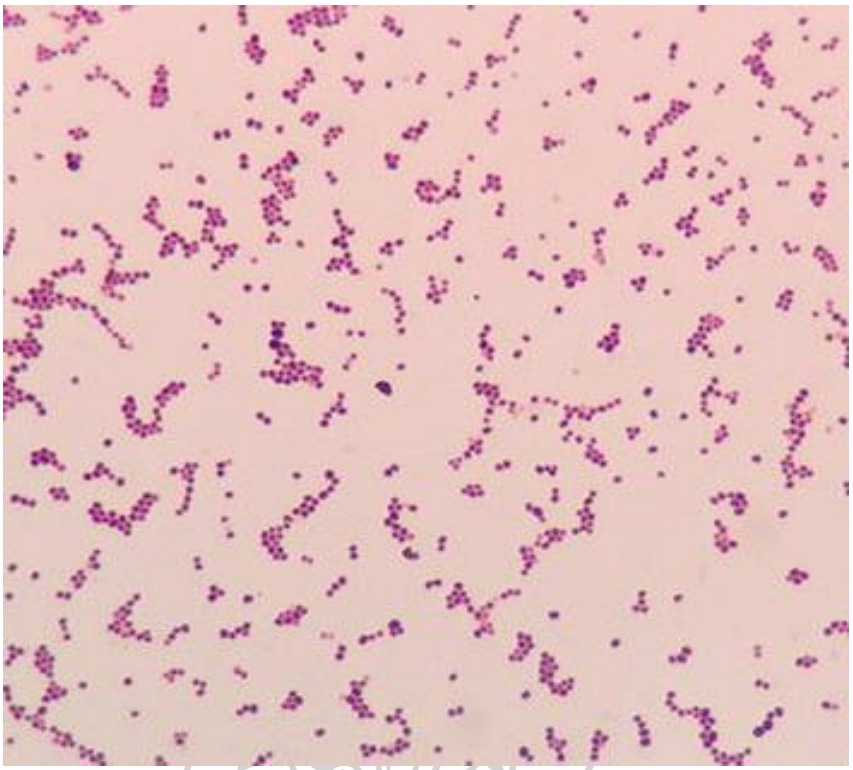
อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจะมีลักษณะเป็นสีขุ่น ค่อนข้างใส ตกตะกอน และเกิดวงสีเหลืองที่ด้านบนของอาหารเหลว

S. aureus เจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน (Oxygen) มีความสามารถในการทนต่อสารละลาย NaCl น้ำตาลและไนเตรทได้สูง สามารถเจริญเติบโตได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 6-46 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-37 องศาเซลเซียส แบคทีเรียไม่ทนต่อความร้อน ถูกทำลายเมื่อต้มที่อุณหภูมิมากกว่า 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (สมบูรณ์นะ & จิตบุญทวีสุข, 2558)

S. aureus เป็นเชื้อก่อโรคติดเชื้อบนผิวหนังที่สำคัญ โดยเฉพาะแผลมีหนอง และฝี (Abscess) นอกจากนี้ยังพบปนเปื้อนได้ทั่วไปตาม อุปกรณ์ทางการแพทย์ เช่น ถุงมือผ่าตัด (Walker & Nakamura, 2014)



ภาพที่ 1 ลักษณะของเชื้อ *E. coli* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า



ภาพที่ 2 ลักษณะของเชื้อ *S. aureus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

2.2 การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาลสัตว์ (Bacterial contamination in animal hospitals)

เชื้อที่พบภายในโรงพยาบาลมักก่อโรคในลักษณะเชื้อฉวยโอกาส (Opportunistic infection) ก่อโรคในสัตว์ป่วยที่มีร่างกายอ่อนแอ สามารถเข้าสู่ร่างกายสัตว์ทางบาดแผลถลอก หรือแผลจากการผ่าตัด โดยมักจะติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนในสัตว์ป่วยที่ติดเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อชนิดอื่นอยู่แล้ว ทำให้มีอาการรุนแรงขึ้น เช่น ทำให้เกิดโรคปอดบวม (Pneumonia) ที่มีอัตราการเสียชีวิตสูงถึงร้อยละ 50 (ศิริวงศ์ & ชูเกียรติโรจน์, 2552) ปัจจุบันสามารถพบการปนเปื้อนของ Extended-spectrum cephalosporins carbapenems และ Fluoroquinolones-resistant Enterobacteriaceae ในโรงพยาบาลรักษามนุษย์และโรงพยาบาลสัตว์ (Mathys, Mollenkopf, Van Balen, & Wittum, 2018) ตลอดจนสถานพักพิงสัตว์ ฟาร์มปศุสัตว์ และตลาดค้าสัตว์ (Adams et al., 2018) ความชุก (Prevalence) ของ Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) ในปศุสัตว์และสัตว์เลี้ยงในทวีปยุโรปพบน้อยกว่าร้อยละ 1 ทวีปแอฟริกาพบร้อยละ 2-26 และทวีปเอเชียพบร้อยละ 1-15 (Kock et al., 2018)

ปี 2014 มีรายงานการพบเชื้อ *S. aureus* ในสัตว์ที่มีการดื้อยาต้านจุลชีพเพิ่มมากขึ้น จึงเป็นปัญหาเร่งด่วนในทางการสัตวแพทย์ การติดเชื้อ *S. aureus* ในสัตว์เลี้ยงนั้น อาจมีแพร่กระจายของเชื้อโรคระหว่างสัตว์เลี้ยงสู่สัตว์เลี้ยง สัตว์เลี้ยงสู่เจ้าของ และบุคลากรด้านการสัตวแพทย์ (Bierowiec, Ploneczka-Janeczko, & Rypula, 2014) *S. aureus* มีการวิวัฒนาการสายพันธุ์ทำให้มีคุณสมบัติดื้อต่อยาต้านจุลชีพได้หลายชนิด โดยแบคทีเรียดื้อยาที่สำคัญได้แก่ MRSA (Leonard & Markey, 2008)

รายงานการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาลสัตว์รักษาสัตว์เลี้ยงยังมีจำนวนน้อย ประเทศแคนาดา มีการเก็บตัวอย่างจากโรงพยาบาลที่ทำการรักษาม้า พบว่าม้าที่เข้าทำการรักษามีการติดเชื้อ MRSA จึงเก็บตัวอย่างบริเวณคอกม้า พื้นที่ตรวจรักษา พื้นคอก อุปกรณ์บังคับม้า อุปกรณ์ทางการแพทย์ และห้องผ่าตัด บริเวณที่พบเชื้อแบคทีเรียชนิด MRSA มากที่สุด คือ บริเวณคอกม้า ร้อยละ 62 รองลงมาคือที่ครอบปาก (Muzzles) ร้อยละ 25 ไม้ Twitches ร้อยละ 10.5 พื้นคอก ร้อยละ 6.9 และ อุปกรณ์ทางการแพทย์ ร้อยละ 4.8 ตามลำดับ (Weese et al., 2004)

ร้อยละ 4 ของนายสัตวแพทย์ในประเทศออสเตรเลีย เคยได้รับการติดเชื้อโรคจากสัตว์สู่คน (Weese, Peregrine, & Armstrong, 2002) โดยร้อยละ 8 ของนายสัตวแพทย์พบ MRSA ในร่างกาย (Worthing et al., 2018) การจัดการสัตว์ที่ติดเชื้อ และกรงพักสัตว์ป่วย การฝึกอบรมบุคลากร โดยเฉพาะเรื่องสุขอนามัยส่วนบุคคล จะช่วยลดโอกาสการติดเชื้อการติดเชื้อจากสัตว์สู่คนในโรงพยาบาลสัตว์ได้ (Weese et al., 2002) ถ้าเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาต้านจุลชีพ จะทำให้ความรุนแรงของการเจ็บป่วยเพิ่มขึ้น มีค่าใช้จ่าย ระยะเวลาการรักษาสูงมากขึ้น และความเสี่ยงต่อโรคติดต่อจากสัตว์สู่คนเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากความยากในการตรวจรักษา (Suthar, Roy, Call, Besser, & Davis, 2014)

จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนได้บ่อยในโรงพยาบาลสัตว์ คือ เชื้อแบคทีเรียชนิด *E.coli* และ *S .aureus* ซึ่งยังไม่มีรายงานที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย และลักษณะความไวต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียในโรงพยาบาลสัตว์ในประเทศไทย การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงเป็นศึกษาลักษณะการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม ตลอดจนศึกษารูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว ผลการศึกษาดังกล่าวเป็นประโยชน์ต่อการหาแนวทางในการจัดการเพื่อป้องกันและกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในโรงพยาบาลสัตว์อย่างมีประสิทธิภาพ นำไปสู่การกระตุ้นให้บุคคลากรที่เกี่ยวข้องเกิดการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างสมเหตุผลในสัตว์ป่วย และเป็นการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับปัญหาเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพทางการสัตวแพทย์ตามแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560-2564

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุสารเคมี และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 วัสดุสารเคมี แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 วัสดุสารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลำดับที่	วัสดุสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ	แหล่งที่มา
1	NaCl	บริษัท Merck
2	Sterile swab	บริษัท Merck
3	Voges Proskauer A reagent (5 %alpha-naphthol)	บริษัท Merck
4	Voges Proskauer B regent (40% KOH)	บริษัท Merck
5	Antibiotic Disc	บริษัท Oxoid
6	Blood agar	บริษัท Oxoid
7	Citrate agar	บริษัท Oxoid
8	Gram staining colour	บริษัท Oxoid
9	Mac Conkey agar	บริษัท Oxoid
10	Methyl red broth	บริษัท Oxoid
11	Motility indole ornithine media (MIO media)	บริษัท Oxoid
12	Voges Proskauer broth	บริษัท Oxoid
13	Oxidase solution	บริษัท Oxoid
14	Mueller Hinton agar	บริษัท Oxoid
15	Triple sugar iron agar	บริษัท Oxoid
16	3% H_2O_3	บริษัท BDH
17	Glass slide	บริษัท Sail brand
18	Plastic media plate	บริษัท Hycon
19	Test tube	บริษัท Pyrex
20	Rabbit plasma	บริษัท Ramel

หมายเหตุ วัสดุสารเคมีที่ใช้มีคุณภาพระดับห้องปฏิบัติการ

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ลำดับที่	ชื่ออุปกรณ์	รุ่น/ยี่ห้อ	การใช้งาน
1	Light microscope	CX21FS1/Olympus	จำแนกรูปร่างและสีย้อมแกรมของแบคทีเรีย
2	Weighing balance	TB-2002/ Denver	ชั่งตวงวัสดุสารเคมี
3	Microwave oven	R-363P/Sharp	ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ
4	Hotplate stirrer	Rctb/ Ika/ Germany	ผสมวัสดุสารเคมี
5	Incubator	Model 100-800/ Memmert	เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย
6	Autoclave machine	Model Hve-50/ Hirayama	ฆ่าเชื้ออุปกรณ์และวัสดุสารเคมี
7	Turbidity meter	Den10/Biosan	วัดระดับความขุ่น

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัยสรุปดังภาพที่ 4

3.2.1 การเก็บตัวอย่างจากในพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จำนวนรวม 66 ตัวอย่าง

โดยแบ่งเป็น 3 พื้นที่ได้แก่

- พื้นที่รอรับการตรวจรักษา
- พื้นที่ตรวจรักษา
- พื้นที่ปลอดเชื้อ

ในการเก็บตัวอย่าง วางแผนการเก็บตัวอย่างแบบสุ่ม (Simple randomization) ได้จำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

(1) กลุ่มก่อนใช้พื้นที่ คือ ตัวอย่างที่ถูกเก็บก่อนการใช้พื้นที่ตรวจรักษาสัตว์ จำนวน 33 ตัวอย่าง

(2) กลุ่มหลังใช้พื้นที่ คือ ตัวอย่างที่ถูกเก็บหลังการใช้พื้นที่ตรวจรักษาสัตว์เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จำนวน 33 ตัวอย่าง

หมายเหตุ เก็บตัวอย่างก่อนใช้พื้นที่ เวลา 07.30 น. เป็นเวลาที่พนักงานทำความสะอาดก่อนโรงพยาบาลสัตว์เปิดทำการ และเก็บตัวอย่างหลังใช้พื้นที่ หลังโรงพยาบาลสัตว์ปิดทำการ เวลา 16.30 น. (ตารางที่ 3)

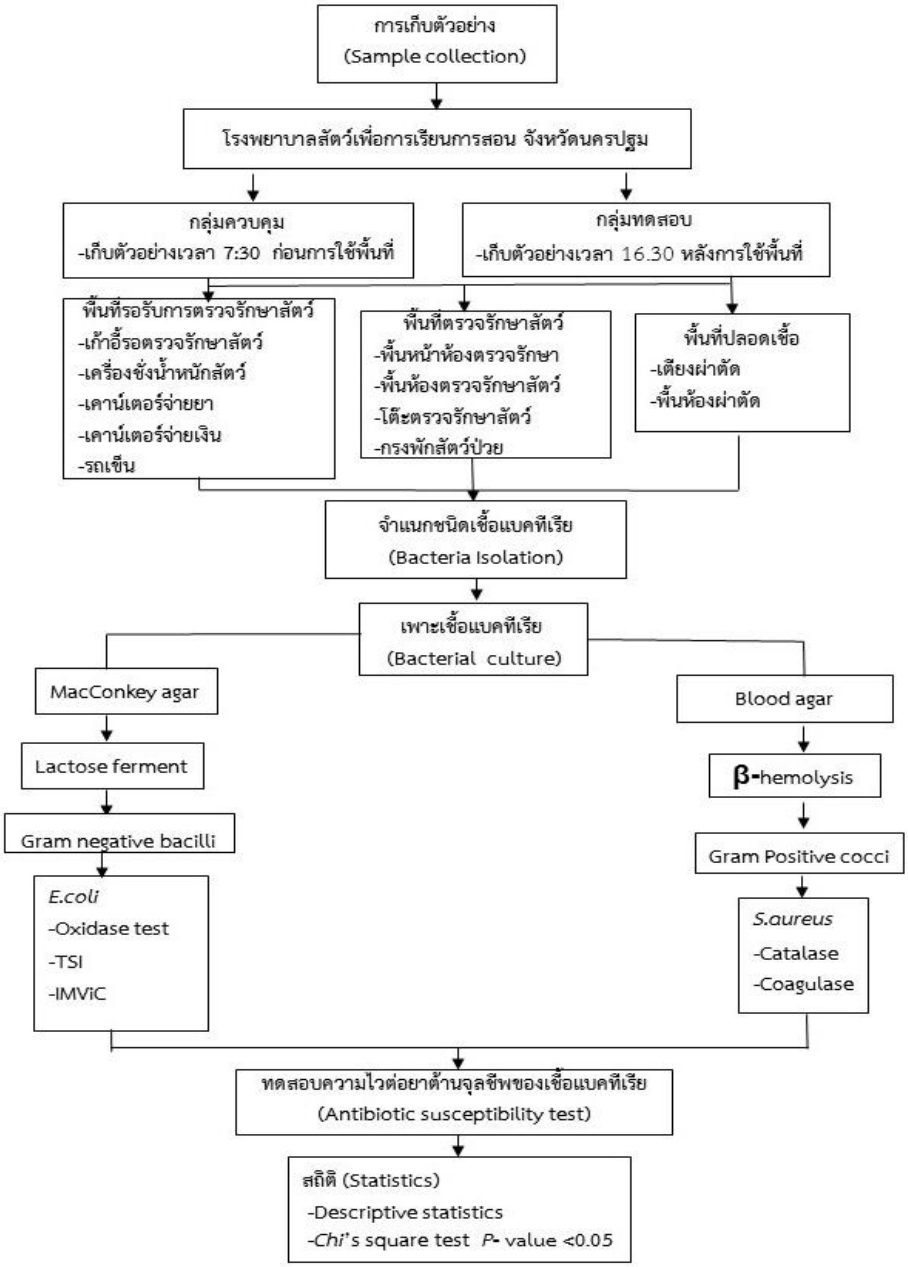
การทำความสะอาดพื้นที่ในโรงพยาบาล

การทำความสะอาดพื้นที่ในโรงพยาบาลใช้น้ำยา Disinfectant deodorizer (ภาพที่ 3)

อัตราส่วนที่ใช้ ผสมผลิตภัณฑ์ ในอัตราส่วนน้ำยา 1 ส่วน ต่อน้ำ 5 ส่วน ใช้เช็ดถูพื้นอาคาร ฝาผนังห้องน้ำ และเครื่องสุขภัณฑ์ สำหรับการฆ่าเชื้อโรค หลังจากทำความสะอาดพื้นผิวแล้ว

สารออกฤทธิ์ Benzalkonium chloride 1.4% w/w

ภาพที่ 3 น้ำยาทำความสะอาดพื้นผิวโรงพยาบาล



ภาพที่ 4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

ตารางที่ 3 พื้นที่และจำนวนในการเก็บตัวอย่าง

กลุ่มที่	กลุ่มพื้นที่	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	
			ก่อน	หลัง
1	พื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์	-เก้าอี้รอตรวจ (ภาพที่ 5)	3	3
		-เคาน์เตอร์จ่ายยา (ภาพที่ 6)	1	1
		-เคาน์เตอร์จ่ายเงิน (ภาพที่ 6)	1	1
		-เครื่องชั่งน้ำหนัก (ภาพที่ 7)	1	1
		-รถเข็นสัตว์ป่วย (ภาพที่ 7)	3	3
		รวม	9	9
2	พื้นที่ตรวจรักษาสัตว์	-พื้นหน้าห้องตรวจ (ภาพที่ 8)	3	3
		-พื้นห้องตรวจ (ภาพที่ 8)	3	3
		-พื้นข้างโต๊ะตรวจ (ภาพที่ 8)	3	3
		-โต๊ะตรวจรักษาสัตว์ (ภาพที่ 8)	3	3
		-พื้นกรงพักสัตว์ป่วย (ภาพที่ 8)	3	3
		รวม	15	15
3	พื้นที่ปลอดเชื้อ	-พื้นห้องผ่าตัด 3 ตัวอย่าง (ภาพที่ 9)	3	3
		-เตียงผ่าตัด 6 ตัวอย่าง (ภาพที่ 9)	6	6
		รวม	9	9

หมายเหตุ ก่อน = ก่อนการใช้พื้นที่ หลัง = หลังการใช้พื้นที่

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาพที่ 5 พื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์: เก้าอี้รอรับการตรวจรักษาสัตว์

หมายเหตุ ภาพที่ 5-10 ลูกศรสีแดง แสดงตำแหน่งการเก็บตัวอย่าง

ภาพที่ 6 พื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์

(a) เคาน์เตอร์จ่ายเงิน

(b) เคาเตอร์จ่ายยา

ภาพที่ **7** พื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์

(a) รถเข็น

(b) เครื่องชั่ง

ภาพที่ 8 พื้นที่รอรับการตรวจรักษาสัตว์

(a) พื้นที่หน้าห้องตรวจ

(b) พื้นที่ในห้อง

(c) พื้นที่ข้างโต๊ะตรวจรักษา

(d) พื้นที่โต๊ะตรวจรักษา

ภาพที่ 9 พื้นที่ตรวจรักษาสัตว์

(a) พื้นที่กรงพักสัตว์ป่วยขนาดเล็ก

(b) พื้นที่กรงพักสัตว์ป่วยขนาดใหญ่

ภาพที่ 10 พื้นที่ปลอดเชื้อ

(a) พื้นเตียงผ่าตัด

(b) พื้นห้องผ่าตัด

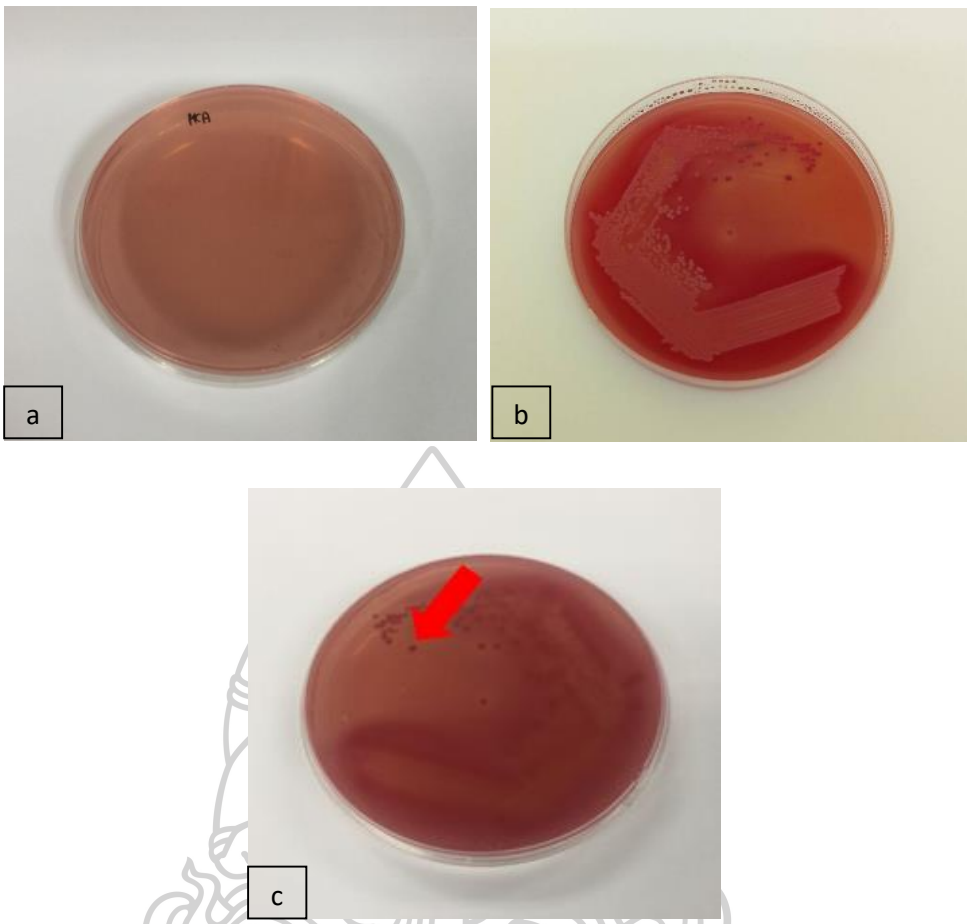
3.2.1.1 วิธีการเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างเพื่อเพาะเลี้ยงและจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธีป้ายบริเวณที่ต้องการเก็บตัวอย่างด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (Swab sterilization) (ภาพที่ 11) โดยนำไม้พันสำลีมาจุ่มในหลอดทดลองที่บรรจุน้ำเกลือ (0.85% NaCl) 2-3 มิลลิตร บิดไม้พันสำลีกับข้างหลอดแล้วนำมาป้ายกับพื้นผิวบริเวณพื้นที่รอรับการตรวจรักษา พื้นที่ตรวจรักษา และพื้นที่ปลอดเชื้อ (ตารางที่ 3)

3.2.1.2 การเพาะเลี้ยงและตรวจจำแนกเชื้อ *E. coli*

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *E. coli* นำตัวอย่างที่ได้ มาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mac Conkey agar แล้วจึงนำไปเพาะเลี้ยงในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 C^{o} นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นเลือกโคโลนี (Colony) ของแบคทีเรียที่มีลักษณะสีชมพูแดงที่เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mac Conkey agar ดังกล่าวมาย้อมสีแกรม ได้ผลเป็น Gram negative bacilli แล้วจึงนำโคโลนีที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีต่อไป (Peter, 2013) (ตารางที่ 4)

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 11 ลักษณะโคโลนีของ *E. coli* ที่เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Mac Conkey agar

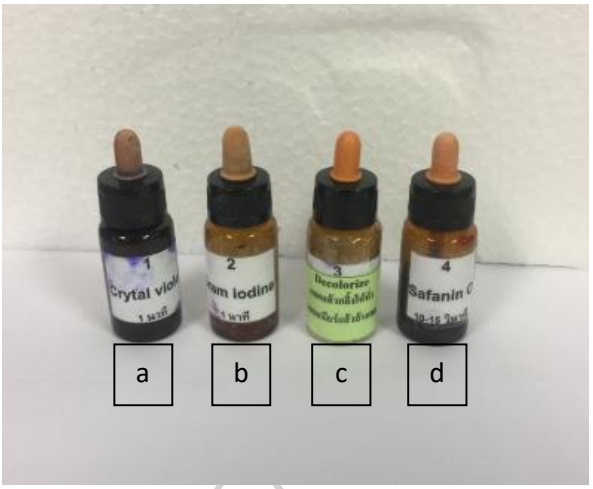
(a) ลักษณะอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนการเพาะเลี้ยง *E. coli*

(b) ลักษณะโคโลนีของ *E. coli* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

(c) ลักษณะ Lactose fermentation ของ *E. coli* (ลูกศรสีแดง)

นำแผ่นกระจกสไลด์ (Glass slide) ที่ผ่านการเช็ดทำความสะอาดด้วยสารละลาย 95% Ethanol แล้ว มาผ่านเปลวไฟจากตะเกียง 2-3 รอบ ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) แตะ 0.85% NaCl นำมาป้ายบนสไลด์ จากนั้นใช้ปลายเข็มเขี่ยเชื้อ (Needle) เขี่ยเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบนำมาป้ายบนสไลด์ เกลี่ยให้เป็นฟิล์มบางๆ ทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปผ่านเปลวไฟ (Fix smear) ก่อนนำมาย้อมสีแกรม (ภาพที่ 12) ขั้นตอนแรก หยดสารละลาย Crystal violet ให้ท่วมรอยฟิล์ม ทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำสะอาด จนไม่มีสีย้อมหลุดออกมา จากนั้นหยดสารละลาย Iodine ให้ท่วมรอยรอยฟิล์มทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำสะอาด ขั้นตอนที่สาม หยด Decolorize solution (95% Ethanol + 5% Acetone) โดยเอียงสไลด์ไปมาจน กระทั่งสีน้ำเงินเริ่มจางจึงรีบล้างออกด้วยน้ำสะอาด ขั้นตอนสุดท้าย หยดสารละลาย Safranin O ให้ท่วมรอยฟิล์มทิ้งไว้ 8-10 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งหรือซับด้วยกระดาษ นำกระจกสไลด์ที่ย้อมสีแกรมแล้วมาตรวจสอบลักษณะของแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

วิธีการจำแนกเชื้อ *S. aureus* โดยนำโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญเติบโตบน Blood agar ดังกล่าวมาย้อมสีแกรม ได้ผลเป็น Gram ผลบวก Cocci และตรวจสอบคุณสมบัติของเชื้อ *S. aureus* ในการสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) ชนิด β-hemolysis บน Blood agar ซึ่งเป็นการสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์ ทำให้เกิดโซนใส (Clear zone) ที่ชัดเจนบน Blood agar ส่วนการสร้างเอนไซม์คาตาเลส (Catalase) ใช้จำแนกเชื้อ *S. aureus* ออกจากเชื้อชนิดอื่นๆ ในกลุ่ม *Staphylococcus* spp. โดยใช้ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ Coagulase ทำให้พลาสมา (Plasma) แข็งตัว (Thanee Wongchai et al., 2017) ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 13 (Brown et al., 2005; นิตยา อินทราวัฒนา & วนาภรณ์, 2558)



ภาพที่ 12 ชุดสีย้อมแกรม (Gram stain) ประกอบด้วย

(a) Crytal violet

(b) Decolorize

(d) Gram iodidne

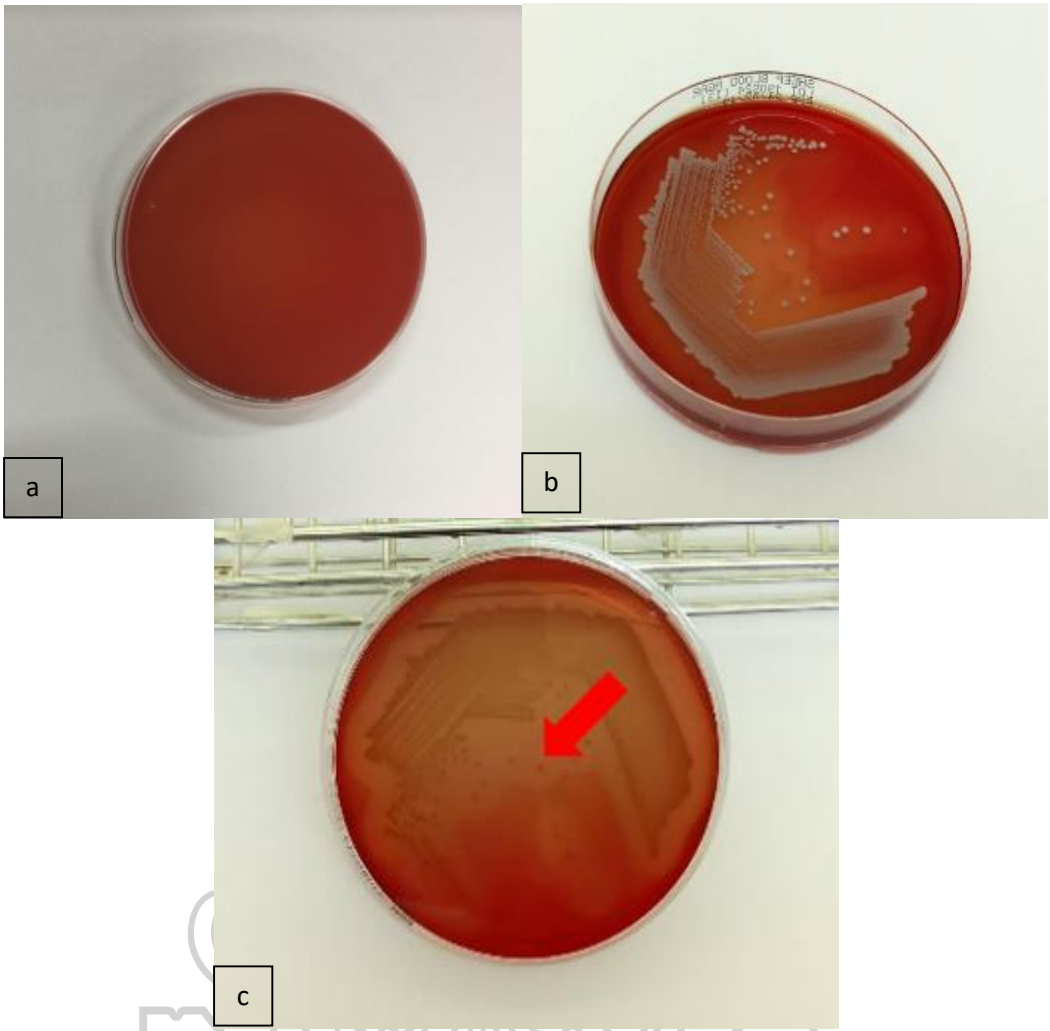
(d) Safranin O

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางชีวเคมีในการจำแนกเชื้อ *E.coli*

ลำดับที่	การทดสอบ	ผลการทดสอบ
1	Indole test	*E. coli* สามารถสร้าง Indole ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Tryptophan ให้ผลบวก โดยสังเกตเห็นวงแหวนสีม่วงแดงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ
2	Methyl red	*E. coli* สามารถ Ferment glucose ได้สภาวะกรด โดยเปลี่ยน Methyl red test โดยสังเกตเห็นสีแดงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ
3	Voges-proskaver test	*E. coli* ให้ผลลบ: Voges-proskaver test เป็นการทดสอบความสามารถของเชื้อในการผลิต Acetylemethylcarbinal จาก Glucose โดยสังเกตเห็นสีชมพูในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ
4	Citrate test	*E. coli* ให้ผลลบ: *E. coli* ไม่ใช่ Free – living จึงไม่สามารถใช้ Citrate เป็นแหล่งคาร์บอนในกระบวนการ Metabolism ทำให้สังเกตเห็นหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน เนื่องจาก *E. coli* ให้ผลลบ จึงไม่เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน
5	TSI (Triple sugar iron)	*E. coli* ใช้น้ำตาล Screening medium ในการแยก *E. coli* ออกจาก Enterobacteriaceae จาก Gram negative bacilli อื่นๆ โดยการใช้น้ำตาล ปฏิกิริยาของแบคทีเรียบน TSI จะเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละ Genus หรือ Spesies โดย *E. coli* จะแสดงลักษณะบน TSI สังเกตเห็น ส่วนก้นหลอดสีเหลือง/ปลายหลอดสีแดง (K/A) หรือ ส่วนก้นหลอดสีเหลือง/ปลายหลอดสีเหลือง (A/A)
6	Oxidase	การทดสอบหา Cytochrome c oxidase ของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งจะไป Oxidize สารเคมีทำให้สังเกตเห็นสารประกอบสีม่วงบนกระดาษทดสอบซึ่ง *E. coli* จะให้ผลลบไม่เกิดสารประกอบสีม่วงบนกระดาษทดสอบ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Peter (2013)



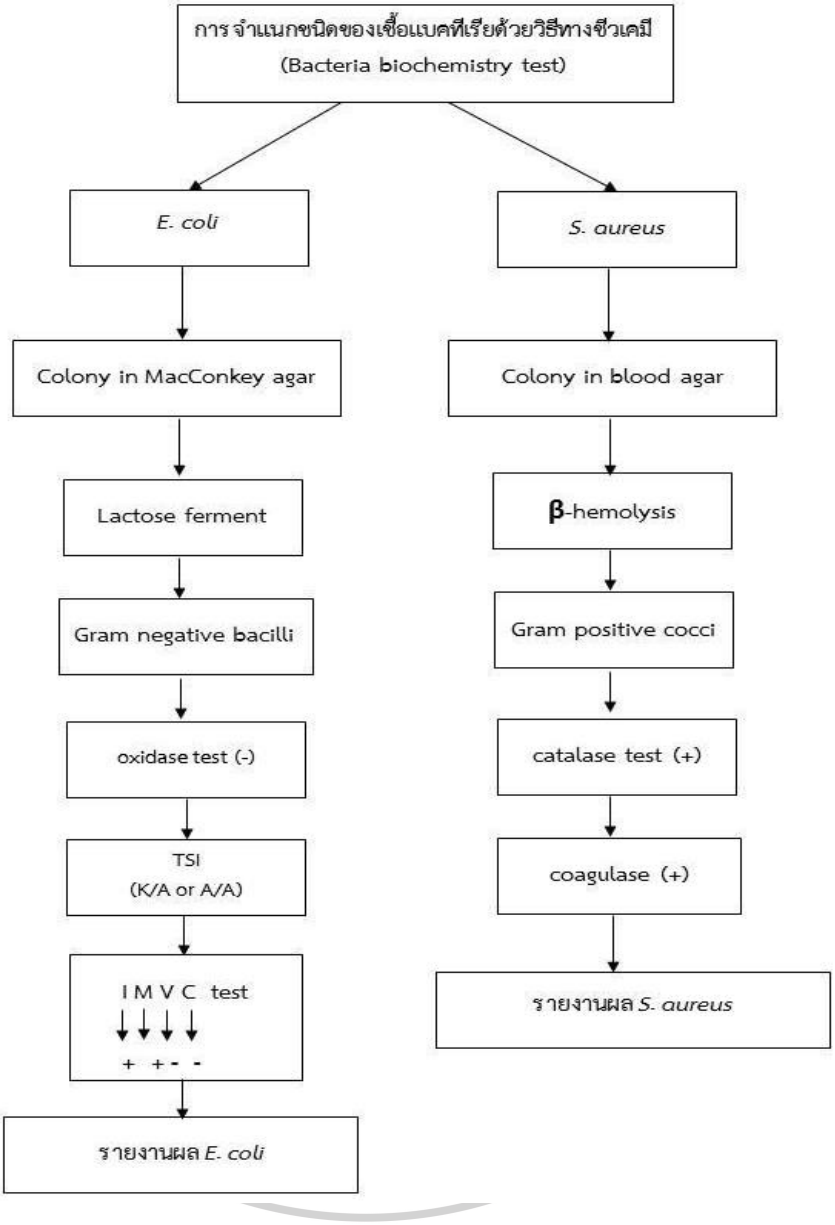
ภาพที่ 13 ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* ที่เจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Blood agar
(a) ลักษณะอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนการเพาะเลี้ยง *S. aureus*
(b) ลักษณะโคโลนีของ *S. aureus* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
(c) การสลายเม็ดเลือดแดงแบบ β-hemolysis ของ *S. aureus* (ลูกศรสีแดง)

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบทางชีวเคมีในการจำแนกชนิดของเชื้อ *S. aureus*

ลำดับที่	การทดสอบ	ผลการทดสอบ
1	β-hemolysis	สลายเม็ดเลือดแดง (Hemolysis)
2	Catalase	ให้ผลบวก คือ สามารถสร้างเอนไซม์ Catalase
3	Coagulase	ให้ผลบวก คือ Coagulase เป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติทำให้พลาสมาแข็งตัว

ที่มา: ดัดแปลงจาก Brown et al. (2005), Thanee Wongchai et al. (2017), นิตยา อินทราวัฒนา and วนาภรณ์ (2558)

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 14 การจำแนกชนิดของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ด้วยวิธีชีวเคมี

ที่มา: ดัดแปลงจาก Brown et al. (2005), Peter (2013), Thanee Wongchai et al. (2017), นิตยา อินทราวัฒนา and วนาภรณ์ (2558)

3.2.3 การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย (Antimicrobial susceptibility test) ด้วยวิธี Kirby-Bauer disk diffusion method

เป็นการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Kirby-Bauer disk diffusion method เมื่อแบคทีเรียเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการเลือกโคโลนีเดี่ยวของเชื้อที่จำแนกชนิดได้ว่าเป็น *S. aureus* และ *E. coli* จำนวน 2-3 โคโลนีที่มีลักษณะเหมือนกัน ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อแตะบนส่วนของโคโลนี นำมาใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลาย 0.85% NaCl 2-3 มิลลิลิตร นำไปวัดความขุ่นของสารละลายด้วยเครื่องวัดความขุ่น (Turbidity meter) (ภาพที่15) เพื่อให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 Mcfarland ถ้าความขุ่นมากหรือน้อยกว่า 0.5 Mcfarland ซึ่งเทียบได้กับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย 10^8 CFU/ml สามารถปรับความขุ่นด้วย 0.85% NaCl ควรปรับปริมาณเชื้อแบคทีเรียภายใน 15 นาที จากนั้นใช้ ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มในหลอดที่ปรับความขุ่นแล้ว บิดกับข้างหลอดแล้วนำมาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) โดยลาก Swab เป็นเส้นผ่านกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วป้ายเป็นเส้นตั้งฉากถี่ๆ ทั่วผิวหน้า หมุนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วป้ายเช่นเดียวกันเพื่อให้แบคทีเรียกระจายสม่ำเสมอทั่วทั้งจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ตั้งไว้ประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้ผิวหน้าแห้ง จึงวางแผ่นยาต้านจุลชีพ (Antibiotic disc) (ภาพที่16) โดยใช้ปากคีบ (Forcep) วางแผ่นยาต้านจุลชีพบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้แผ่นยาแนบสนิทกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 ซม. ไม่ควรวางแผ่นยาเกิน 5 แผ่น ควรวางห่างกัน ไม่ต่ำกว่า 2.4 เซนติเมตร จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่ม (Incubate) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 16-20 ชั่วโมง อ่านผลความไวต่อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone (มิลลิเมตร) ด้วย Vernier calipers แล้วแปลผลความไวต่อยาต้านจุลชีพโดยอ้างอิงจากตาราง Interpretation criteria of antimicrobial susceptibility test ของ Clinical and Laboratory Standards Institute (Wayne, 2018)

ภาพที่ 15 เครื่องวัดความขุ่น (Turbidity meter)

ภาพที่ 16 แผ่นยาต้านจุลชีพ

ภาพที่ 17 ขั้นตอนการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Wayne (2018)

3.2.3 วิเคราะห์ข้อมูล

แสดงข้อมูลจำนวนร้อยละของเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในกลุ่มก่อนใช้พื้นที่และกลุ่มหลังใช้พื้นที่ ด้วยโดยการใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics) โดยรายงานจำนวนตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่พบในบริเวณพื้นที่รักษาสัตว์ ของในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน จังหวัดนครปฐม และรูปแบบความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อที่จำแนกได้ดังกล่าว จากนั้นนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ และกลุ่มหลังใช้พื้นที่ โดยใช้ *Chi*'s square test โดยความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ *P*-value <0.05 ด้วยโปรแกรม SPSS version 20

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* ที่ได้จากพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน

การเก็บตัวอย่างกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ พบเชื้อ *E. coli* ในพื้นที่ เครื่องชั่งน้ำหนัก พื้นหน้าห้องตรวจพิเศษ และกรงพักสัตว์ป่วย (ตารางที่ 6) ส่วนการเก็บตัวอย่างกลุ่มหลังใช้พื้นที่ พบเชื้อ *E. coli* ในพื้นที่ เก้าอี้ เครื่องชั่งน้ำหนัก พื้นหน้าห้องตรวจพิเศษ และกรงพักสัตว์ป่วย (ตารางที่ 8)

พื้นที่ปลอดเชื้อ ได้แก่ พื้นห้องผ่าตัด พื้นโต๊ะผ่าตัด ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ทั้งกลุ่มก่อน (ตารางที่ 7) และหลังการใช้พื้นที่ (ตารางที่ 9)

งานวิจัยครั้งนี้พบเชื้อ *E. coli* ในพื้นที่รอรับการตรวจรักษาของกลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่ร้อยละ 11.1 และ 22.2 (ตารางที่ 10) การศึกษาการปนเปื้อนของ *E. coli* บนพื้นที่ปฏิบัติงานและอุปกรณ์ที่ใช้ภายในโรงพยาบาลสัตว์ประเทศแคนาดา พบเชื้อ *E. coli* สูงถึงร้อยละ 92 (Murphy et al 2010) ส่วนการศึกษาในประเทศอังกฤษพบ *E. coli* ร้อยละ 8.9 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาครั้งนี้ (Tuerena et al., 2016) เห็นได้ว่ามีอัตราการพบเชื้อ *E. coli* ในพื้นที่ใช้งานของโรงพยาบาลน้อยกว่าในตัวสัตว์ เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Boonmasawai ซึ่งพบเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขจรจัด สุนัขที่มีเจ้าของ และสุนัขจากสถานพักพิงสัตว์ ร้อยละ 60 58.2 และ 32 ตามลำดับ (Boonmasawai et al 2017) และน้อยกว่า การศึกษาของ Moyaert ที่จำแนกเชื้อแบคทีเรียจากทางเดินปัสสาวะ ในสุนัขและแมว พบ *E. coli* ร้อยละ 59.8 และ 46.7 ตามลำดับ (Moyaert et al., 2017) จากการศึกษาครั้งนี้พบเชื้อ *E. coli* จากพื้นปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์น้อยกว่า อาจมีสาเหตุจากเป็นการเก็บจากพื้นที่ปฏิบัติงานซึ่งมีลักษณะแห้ง ทำให้เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่รายงานของ Boonmasawai และ Moyaert เป็นการเก็บตัวอย่างจากตัวสัตว์ *E. coli* เป็นเชื้อที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่น มีความชื้น และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

4.2 การเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus*

การเก็บตัวอย่างกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ พบเชื้อ *S. aureus* ในพื้นรถเข็น เก้าอี้ เคาน์เตอร์จ่ายยา เคาน์เตอร์จ่ายเงิน เครื่องชั่งน้ำหนัก พื้นหน้าห้องตรวจ พื้นห้องตรวจ พื้นข้างโต๊ะห้องตรวจ พื้นโต๊ะห้องตรวจ และกรงพักสัตว์ป่วย (ตารางที่ 6) ขณะที่กลุ่มหลังใช้พื้นที่ พบเชื้อ *S. aureus* ในพื้นที่รถเข็น เก้าอี้ เคาน์เตอร์จ่ายยา เคาน์เตอร์จ่ายเงิน เครื่องชั่งน้ำหนัก พื้นหน้าห้องตรวจ พื้นห้องตรวจ พื้นข้างโต๊ะห้องตรวจ พื้นโต๊ะห้องตรวจ และกรงพักสัตว์ป่วย (ตารางที่ 8)

จากการศึกษา พบเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนในพื้นที่รอรับการตรวจรักษาของกลุ่มหลังใช้พื้นที่ ร้อยละ 100 และ 88.9 ตามลำดับ และกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ร้อยละ 100 และ 93.3 (ตารางที่ 10) มีสัดส่วนการพบเชื้อแบคทีเรียมากกว่ารายงานของ Getachew ซึ่งเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากพื้นผิวและอากาศในหอพักผู้ป่วย จำนวน 356 ตัวอย่าง พบเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* spp. ร้อยละ 81.6 (Getachew, Derbie, & Mekonnen, 2018) และพบเชื้อแบคทีเรียมากกว่าการศึกษาของ Boonmasawai ที่แยกเชื้อแบคทีเรียจากสุนัขจากสถานพักพิงสัตว์ สุนัขที่มีเจ้าของและสุนัขจรจัด (ร้อยละ 10.6 4 และ 3 ตามลำดับ) (Boonmasawai Sookruetai et al., 2017) ส่วนการศึกษาในโรงพยาบาลสัตว์ประเทศมาเลเซีย พบ *S. aureus* ต่ำกว่า คือร้อยละ 7.1 และมีแนวโน้มจะเป็น MRSA (Aklilu, Zakaria, Hassan, & Hui Cheng, 2012)ส่วนการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียจากอุปกรณ์เครื่องมือในโรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเทศไทย พบ MRSA ร้อยละ 43 (Patchanee et al., 2014)

จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นว่า พบเชื้อ *S. aureus* มีปริมาณมากกว่าเนื่องจาก *S. aureus* เป็นเชื้อก่อโรคบนผิวหนังของมนุษย์และสัตว์ที่สำคัญ และสามารถพบปนเปื้อนได้ทั่วไปตามพื้นผิว (สมบูรณ์นะ & จิตบุญทวีสุข, 2558) ซึ่ง *S. aureus* ที่อยู่บนพื้นผิวสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้นานหลายเดือน และแบคทีเรียชนิดนี้ยังเป็นเกณฑ์มาตรฐานทางจุลชีววิทยาสำหรับบ่งชี้ความสะอาดของพื้นผิวสัมผัสภายในโรงพยาบาล โดยจะต้องมีปริมาณน้อยกว่า 1 CFU/cm^2 (สุดสายชล หอมทอง, กิ่งแก้ว อินทนน, รุ่งทิวา เดชสง่า, & อริศา อ่อนสุวรรณ, 2560)

4.3 การเปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ก่อนและหลังการใช้พื้นที่ปฏิบัติงาน ภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน

(ตารางที่11) แสดงการเปรียบเทียบการพบแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ก่อนและหลังการใช้พื้นที่ปฏิบัติงานในกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ อาจเป็นเพราะน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้ทำความสะอาดมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอ มีสาเหตุจากการผสมน้ำยาฆ่าเชื้อไม่ได้ตามอัตราส่วนที่ถูกต้อง พื้นเครื่องชั่งน้ำหนักเป็นพื้นยางขรุขระ พื้นกรงพักสัตว์ป่วยไม่เรียบ มีการใช้งานมาเป็นเวลานาน มีการทำความสะอาดไม่ทั่วถึงทุกพื้นที่ เช่น ซอกมุมกรง เกิดการสะสมเชื้อแบคทีเรีย พื้นที่ต่างๆ สัตว์สุขภาพดี และสัตว์ป่วยมีการใช้งาน รถเข็น เครื่องชั่งน้ำหนัก และเก้าอี้ร่วมกันตลอดทั้งวัน พนักงานทำความสะอาดมีตารางการทำความสะอาดเป็นเวลา มีการทำความสะอาดระหว่างวันเฉพาะในกรณีที่พบมูลสัตว์ปนเปื้อนบนเครื่องชั่งน้ำหนัก หรือพื้นโรงพยาบาล จึงไม่สามารถกำจัดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียได้ทันที

การศึกษาครั้งนี้ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ปนเปื้อนในพื้นที่ปลอดเชื้อทั้งกลุ่มก่อนและหลังการใช้พื้นที่ (ตารางที่ 12) เนื่องจากมีวิธีปฏิบัติในการเข้าใช้พื้นที่ปลอดเชื้ออย่างเคร่งครัด มีการทำความสะอาดทุกครั้งก่อนและหลังการใช้งานด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีชื่อทางการค้าว่า Umonium[38] มีสารออกฤทธิ์หลัก คือ N-benzyl-N-dodecyl-N,N-dimethyl-ammonium chloride / N-benzyl-N,N-dimethyl-N-tetradecyl-ammonium chloride ซึ่งมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย รา และไวรัส

พื้นที่ปลอดเชื้อภายในโรงพยาบาลสัตว์ที่การศึกษามีการบริหารการจัดการทำความสะอาดพื้นที่ปลอดเชื้อที่ดี บุคลากรที่เข้าปฏิบัติงานในห้องปลอดเชื้อจะต้องสวมหมวกคลุมผม สวมหน้ากาก สวมเสื้อกาวน์ และเปลี่ยนรองเท้าก่อนเข้าห้องปลอดเชื้อ มีการอบฆ่าเชื้อห้องด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ทุกครั้งที่มีวันหยุดยาว ทำให้พบว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ในพื้นที่ปลอดเชื้อทั้งหมด

ส่วนการเปรียบเทียบการปนเปื้อนในกลุ่มก่อนและหลังการใช้พื้นที่รอรับการตรวจรักษา และพื้นที่ตรวจรักษา พบว่ามีการปนเปื้อนการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ในกลุ่มหลังใช้พื้นที่ มากกว่ากลุ่มก่อนใช้พื้นที่ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยพบเชื้อ *E. coli* กลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่รอรับตรวจรักษา ร้อยละ 11.1 และ 22.2 ($P=1.00$) กลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่ตรวจรักษามีการพบเชื้อแบคทีเรียในสัดส่วนที่เท่ากัน (ร้อยละ 13.3) ขณะที่พบเชื้อ *S.*

aureus กลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่รอตรวจรักษาร้อยละ 88.9 ละ 100 (P=1.00) และพื้นที่ตรวจรักษาของกลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่ตรวจรักษา ร้อยละ 93.3 และ 100 (P=1.00) จะเห็นว่าบริเวณที่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ทั้งในกลุ่มก่อนและกลุ่มหลังใช้พื้นที่มากที่สุดได้แก่ เครื่องชั่งน้ำหนัก (พบร้อยละ 100) รองลงมาคือ พื้นหน้าห้องตรวจ (ร้อยละ 33.3) และกรงพักสัตว์ป่วย (ร้อยละ 33.3) ส่วนพื้นที่ปลอดเชื้อทั้งกลุ่มก่อนและหลังการใช้พื้นที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียทั้ง *E. coli* และ *S. aureus*

สาเหตุที่เครื่องชั่งน้ำหนักมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนมากที่สุด เพราะเครื่องชั่งน้ำหนัก มีการใช้งานมากตลอดเวลาทำการ ทั้งสัตว์สุขภาพดีและสัตว์ป่วยต้องขึ้นชั่งน้ำหนักบนเครื่องเดียวกัน ไม่มีการทำความสะอาดระหว่างวัน ยกเว้นในกรณีมีสัตว์ขับถ่าย บนเครื่องชั่งน้ำหนักตั้งอยู่ระดับที่ใกล้เคียงกับพื้นของโรงพยาบาล (สูงจากพื้นประมาณ 20 เซนติเมตร) มีเจ้าของสัตว์เลี้ยง สัตว์เลี้ยง และบุคลากรของโรงพยาบาล เดินผ่านพื้นที่ใกล้เคียงตลอดเวลา จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย

ส่วนพื้นหน้าห้องตรวจรักษาและกรงพักสัตว์ป่วย พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียเนื่องจากมีสัตว์ป่วยเข้ามาใช้งานต่อเนื่อง มีพื้นที่กว้าง พนักงานทำความสะอาดได้ไม่ทั่วถึง โดยเฉพาะกรงพักสัตว์ป่วยพื้นผิวมีการสึกหรอ จึงมีลักษณะขรุขระ ทำให้เกิดการสะสมของเชื้อแบคทีเรียได้ง่าย

ข้อเสนอแนะในการปฏิบัติเพื่อควบคุมการปนเปื้อนของพื้นที่ปฏิบัติงานในโรงพยาบาลสัตว์ คือ ควรมีน้ำยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ผสมในอัตราส่วนพร้อมใช้ บรรจุในขวดสเปรย์วางประจำไว้ในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูง มีการแยกพื้นที่ปฏิบัติงาน และเครื่องชั่งน้ำหนักสัตว์สุขภาพดี (สัตว์ที่มารับบริการตรวจสุขภาพ ถ่ายพยาธิ ฉีดวัคซีน และทำหมัน) ออกจากสัตว์ป่วย ในกรณีที่สัตว์ต้องสัมผัสกับเก้าอี้นั่งรอ และเครื่องชั่งน้ำหนัก แนะนำให้มีกระดาษสะอาดที่ใช้แล้วทิ้ง ปูรองก่อนเพื่อไม่ให้สัตว์สัมผัสพื้นผิวโดยตรง แนะนำให้เจ้าของสัตว์ ไม่วางสัตว์ของตนบนพื้นเคาน์เตอร์จ่ายเงิน และพื้นเคาน์เตอร์จ่ายยา เจ้าของสัตว์เลี้ยงควรล้างมือบ่อยๆ เมื่อสัมผัสพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน มีน้ำยาฆ่าเชื้อสำหรับบุคลากรและเจ้าของสัตว์เลี้ยง เช่น แอลกอฮอล์เจลล้างมือ (70% Alcohol) วางไว้ประจำในทุกพื้นที่ที่ความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนสูง

ในการทำความสะอาดพื้นที่ปฏิบัติงานในโรงพยาบาลสัตว์นั้น แนะนำให้เปลี่ยนน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพครอบคลุมทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ รวมถึงตรวจสอบอัตราส่วนผสมให้ถูกต้อง เพิ่มความถี่ในการทำความะอาดจาก 2 ครั้งต่อวัน เป็น 4 ครั้งต่อวัน และควบคุมอุปกรณ์ที่ใช้

ในการทำความสะอาด เช่น ถังน้ำ ไม้ถูพื้น ให้สะอาดและปลอดเชื้อทุกครั้งก่อนนำไปใช้ทำความสะอาด

4.4 ความไวของยาต้านจุลชีพต่อเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากพื้นที่ปฏิบัติงาน ภายในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อการเรียนการสอน

ตารางที่ 13 แสดงความไวต่อยาต้านจุลชีพของ *E. coli* และ *S. aureus* กลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่ พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* ทุกตัวอย่างดื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิด Amoxicillin และ Tetracycline สอดคล้องกับการศึกษาของ McMeekin ที่พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* ที่แยกได้จากตัวอย่างปัสสาวะของสุนัข มีแนวโน้มความไวต่อยา Amoxicillin และ Cephalothin ต่ำลงอย่างต่อเนื่องระหว่างปี 2005 ถึงปี 2012 (McMeekin et al., 2017) และจากผลการศึกษาของ Boonmasawai ได้ทำการเก็บตัวอย่างจาก สุนัขที่มีเจ้าของ สุนัขจากสถานพักพิงสัตว์ และสุนัขจรจัด พบว่า เชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* มีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิด Amoxicillin ต่ำที่สุด (ร้อยละ 17 82 และ 86 ตามลำดับ) (Boonmasawai et al., 2018; Boonmasawai Sookruetai et al., 2017) ส่วนการศึกษาของ Thungrat ที่เก็บตัวอย่างจากสุนัข และแมว พบเชื้อ *E. coli* มีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิด Amoxicillin-clavulanic acid สูงถึงร้อยละ 60 (Thungrat, Price, Carpenter, & Boothe, 2015) และการศึกษาของ Murphy พบว่า เชื้อ *E. coli* ในสุนัขและแมวสุขภาพดี มีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิด Tetracycline สุนัขร้อยละ 89 แมวร้อยละ 98 (C. Murphy et al., 2009; C. P. Murphy et al., 2010) แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *E. coli* ที่พบในพื้นที่ปฏิบัติงานโรงพยาบาลสัตว์ประเทศไทย มีแนวโน้มการดื้อยาสูงกว่าประเทศอื่น ในขณะที่หลายประเทศยังพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ยังมีความไวต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดสูงกว่าร้อยละ 50 ส่วนแบคทีเรียชนิด *S. aureus* พบว่ามีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิด Ampicillin ต่ำ โดยคิดเป็นร้อยละ 22.7 ในกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ และร้อยละ 12.5 ในกลุ่มหลังใช้พื้นที่ และมีความไวต่อยาต่ายจุลชีพชนิด Oxacillin ต่ำ โดยคิดเป็นร้อยละ 31.8 ในกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ และร้อยละ 37.5 ในกลุ่มหลังใช้พื้นที่ ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Boonmasawai ที่พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* ที่แยกได้จากสุนัขจรจัด สุนัขที่มีเจ้าของ และสุนัขจากสถานพักพิงสัตว์ มีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิด Oxacillin และ Tetracycline ต่ำที่สุด (Boonmasawai Sookruetai et al., 2017) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Silva ที่พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* ที่แยกได้จากสุนัขที่เป็นโรคช่องหูอักเสบแบบติดเชื้อ (Infectious otitis) มีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิด Ampicillin ต่ำ (Silva, 2001) ขณะที่ *S. aureus* ทั้งหมดที่แยกได้จากอุปกรณ์เครื่องมือในโรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเทศไทย มีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิด Vancomycin แต่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิด Tetracycline (ร้อยละ 92)

Trimethoprim-sulfamethoxazoles (ร้อยละ 69) และ Ceftriaxone (ร้อยละ 62) (Patchanee et al., 2014)การศึกษาของ Courage จากโรงพยาบาลประเทศกานา พบว่า *S. aureus* มีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิด Ampicillin ร้อยละ 87 และ Oxacillin ร้อยละ 83 (Saba, Amenyona, & Kpordze, 2017) จะเห็นได้ว่าว่าเชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากโรงพยาบาลสัตว์ในประเทศไทยมีแนวโน้มของความไวต่อยาต้านจุลชีพต่ำกว่าในต่างประเทศ

ตารางที่ 6 ผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากพื้นที่รอรับการตรวจรักษา และพื้นที่ตรวจรักษาสัตว์ก่อนใช้พื้นที่

ลำดับที่	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	*E. coli*	*S. aureus*
1	รถเข็น 1	-	+
2	รถเข็น 2	-	+
3	รถเข็น 3	-	+
4	เก้าอี้ 1	-	+
5	เก้าอี้ 2	-	+
6	เก้าอี้ 3	-	-
7	เคาน์เตอร์จ่ายยา	-	+
8	เคาน์เตอร์จ่ายเงิน	-	+
9	เครื่องชั่งน้ำหนัก	+	+
10	พื้นหน้าห้องตรวจ 1	-	+
11	พื้นห้องตรวจ 1	-	+
12	พื้นข้างโต๊ะตรวจ 1	-	+
13	พื้นโต๊ะตรวจ 1	-	+
14	พื้นหน้าห้อง 2	-	+
15	พื้นห้องตรวจ 2	-	+
16	พื้นข้างโต๊ะตรวจ 2	-	+
17	พื้นโต๊ะตรวจ 2	-	+
18	พื้นหน้าห้องตรวจ 3	+	+
19	พื้นห้องตรวจ 3	-	+
20	พื้นข้างโต๊ะตรวจ 3	-	-
21	พื้นโต๊ะตรวจ 3	-	+
22	กรงพักสัตว์ป่วย 1	+	+
23	กรงพักสัตว์ป่วย 2	-	+
24	กรงพักสัตว์ป่วย 3	-	+

หมายเหตุ ตารางที่ 6 7 8 และ 9 – หมายถึง ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย + หมายถึง พบเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 7 ผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากพื้นที่ปลอดเชื้อก่อนใช้พื้นที่

ลำดับที่	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	*E. coli*	*S. aureus*
1	พื้นห้องผ่าตัด 1	-	-
2	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 1 จุดที่ 1	-	-
3	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 1 จุดที่ 2	-	-
4	พื้นห้องผ่าตัด 2	-	-
5	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 2 จุดที่ 1	-	-
6	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 2 จุดที่ 2	-	-
7	พื้นห้องผ่าตัด 3	-	-
8	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 3 จุดที่ 1	-	-
9	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 3 จุดที่ 2	-	-

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 8 ผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ S. aureus ที่ได้จากพื้นที่รอรับการตรวจรักษา หลังการใช้พื้นที่

ลำดับที่	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	*E. coli*	*S. aureus*
1	รถเข็น 1	-	+
2	รถเข็น 2	-	+
3	รถเข็น 3	-	+
4	เก้าอี้ 1	-	+
5	เก้าอี้ 2	+	+
6	เก้าอี้ 3	-	+
7	เคาน์เตอร์จ่ายยา	-	+
8	เคาน์เตอร์จ่ายเงิน	-	+
9	เครื่องชั่งน้ำหนัก	+	+
10	พื้นหน้าห้องตรวจ 1	-	+
11	พื้นห้องตรวจ 1	-	+
12	พื้นข้างโต๊ะตรวจ 1	-	+
13	พื้นโต๊ะตรวจ 1	-	+
14	พื้นหน้าห้องตรวจ 2	-	+
15	พื้นห้องตรวจ 2	-	+
16	พื้นข้างโต๊ะตรวจ 2	-	+
17	พื้นโต๊ะตรวจ 2	-	+
18	พื้นหน้าห้องตรวจ 3	+	+
19	พื้นห้องตรวจ 3	-	+
20	พื้นข้างโต๊ะตรวจ 3	-	+
21	พื้นโต๊ะตรวจ 3	-	+
22	กรงพักสัตว์ป่วย 1	+	+
23	กรงพักสัตว์ป่วย 2	-	+
24	กรงพักสัตว์ป่วย 3	-	+

ตารางที่ 9 ผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากตัวอย่างกลุ่มหลังใช้พื้นที่ ในพื้นที่ปลอดเชื้อ

ลำดับที่	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	*E. coli*	*S. aureus*
1	พื้นห้องผ่าตัด 1	-	-
2	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 1 จุดที่ 1	-	-
3	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 1 จุดที่ 2	-	-
4	พื้นห้องผ่าตัด 2	-	-
5	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 2 จุดที่ 1	-	-
6	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 2 จุดที่ 2	-	-
7	พื้นห้องผ่าตัด 3	-	-
8	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 3 จุดที่ 1	-	-
9	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 3 จุดที่ 2	-	-

ตารางที่ 10 ความถี่ของการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* จากตัวอย่างกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ และกลุ่มหลังใช้พื้นที่ ในพื้นที่รอรับการตรวจรักษา พื้นที่ตรวจรักษา และพื้นที่ปลอดเชื้อ

บริเวณพื้นที่เก็บตัวอย่าง	จำนวน	กลุ่มก่อนใช้พื้นที่ ร้อยละ (จำนวน)		กลุ่มหลังใช้พื้นที่ ร้อยละ (จำนวน)	
		E. coli	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*
พื้นที่รอรับการตรวจรักษา	18	11.1 (3)	88.9 (16)	22.2 (4)	100 (18)
พื้นที่ตรวจรักษา	30	13.3 (3)	93.3 (30)	13.3 (3)	100 (30)
พื้นที่ปลอดเชื้อ	18	-	-	-	-
พื้นที่ทั้งหมดในโรงพยาบาลสัตว์	66	9.1 (6)	54.5 (46)	4.62 (7)	57.6 (38)

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากตัวอย่างกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ และกลุ่มหลังใช้พื้นที่ ในบริเวณพื้นที่รักษาสัตว์

ลำดับที่	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	*E. coli*		*S. aureus*	
		กลุ่มก่อนใช้พื้นที่	กลุ่มหลังใช้พื้นที่	กลุ่มก่อนใช้พื้นที่	กลุ่มหลังใช้พื้นที่
1	รถเข็นคัน 1	-	+	-	+
2	รถเข็นคัน 2	-	+	-	+
3	รถเข็นคัน 3	-	+	-	+
4	เก้าอี้ 1	-	+	-	+
5	เก้าอี้ 2	-	+	+	+
6	เก้าอี้ 3	-	-	-	+
7	เคาน์เตอร์จ่ายยา	-	+	-	+
8	เคาน์เตอร์จ่ายเงิน	-	+	-	+
9	เครื่องชั่งน้ำหนัก	+	+	+	+
10	พื้นหน้าห้องตรวจ 1	-	+	-	+
11	พื้นห้องตรวจ 1	-	+	-	+
12	พื้นข้างโต๊ะตรวจ1	-	+	-	+
13	พื้นโต๊ะตรวจ 1	-	+	-	+
14	พื้นหน้าห้องตรวจ 2	-	+	-	+
15	พื้นห้องตรวจ 2	-	+	-	+
16	พื้นข้างโต๊ะตรวจ 2	-	+	-	+
17	พื้นโต๊ะตรวจ 2	-	+	-	+
18	พื้นหน้าห้องตรวจ 3	+	+	+	+
19	พื้นห้องตรวจ 3	-	+	-	+
20	พื้นข้างโต๊ะตรวจ 3	-	-	-	+
21	พื้นโต๊ะตรวจ 3	-	+	-	+
22	กรงพักสัตว์ป่วย 1	+	+	+	+
23	กรงพักสัตว์ป่วย 2	-	+	-	+
24	กรงพักสัตว์ป่วย 3	-	+	-	+

หมายเหตุ ห้องตรวจรักษาที่ 3 คือ ห้องตรวจรักษาสัตว์ชนิดพิเศษ

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงและจำแนกเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ที่ได้จากตัวอย่างกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ และกลุ่มหลังใช้พื้นที่ ในพื้นที่ปลอดเชื้อ

ลำดับที่	บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	*E. coli*		*S. aureus*	
		ก่อน	หลัง	ก่อน	หลัง
1	พื้นห้องผ่าตัด 1		-	-	-
2	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 1 จุดที่ 1	-	-	-	-
3	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 1 จุดที่ 2	-	-	-	-
4	พื้นห้องผ่าตัด 2	-	-	-	-
5	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 2 จุดที่ 1	-	-	-	-
6	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 2 จุดที่ 2	-	-	-	-
7	พื้นห้องผ่าตัด 3	-	-	-	-
8	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 3 จุดที่ 1	-	-	-	-
9	พื้นโต๊ะผ่าตัดห้องผ่าตัด 3 จุดที่ 2	-	-	-	-

ตารางที่ 13 ความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* (จำนวน 7 ตัวอย่าง) และ *S. aureus* (จำนวน 46 ตัวอย่าง)

ยาต้านจุลชีพ	**ชื่อย่อ**	**ความไวต่อยาต้านจุลชีพ (ร้อยละ)**			
		E. coli **(n=3)**	***E. coli*** **(n=4)**	***S. aureus*** **(n=22)**	***S. aureus*** ***(n=24)***
Ampicillin	AMP10	0	25	22.7	12.5
Amoxicillin	AMC30	0	0	68.2	79.2
Oxacillin	OX1	NA	NA	31.8	37.5
Cephalothin	KF30	NA	NA	81.8	75.0
Cefoxitin	FOX30	0	25	77.3	54.2
Ceftriaxone	CRO30	0	25	63.6	58.3
Norfloxacin	NOR10	0	25	72.7	54.2
Enrofloxacin	ENR5	0	25	68.2	41.7
Sulfamethoxazole	SXT25	66.7	100	86.4	54.2
Tetracycline	TE30	0	0	50	33.3
Amikacin	AK30	0	25	100	87.5
Gentamicin	CN10	0	25	72.2	66.7
Erythromycin	E15	NA	NA	81.8	41.7
Clindamycin	DA2	NA	NA	81.8	45.8
Vancomycin	VA30	NA	NA	100	100

หมายเหตุ NA หมายถึง ไม่ได้ทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพต่อเชื้อแบคทีเรีย

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *S. aureus* ในกลุ่มหลังใช้พื้นที่ มากกว่ากลุ่มก่อนใช้พื้นที่ โดยพบเชื้อ *E. coli* กลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่รอรับตรวจรักษา ร้อยละ 11.1 และ 22.2 ส่วนกลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่ตรวจรักษามีค่าเท่ากัน (ร้อยละ 13.3) ขณะที่พบเชื้อ *S. aureus* กลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่รอตรวจรักษา พบร้อยละ 88.9 ละ 100 และพื้นที่ตรวจรักษาของกลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่ตรวจรักษา ร้อยละ 93.3 และ 100 ส่วนพื้นที่ปลอดเชื้อทั้งกลุ่มก่อนและหลังการใช้พื้นที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียทั้ง *E. coli* และ *S. aureus* การศึกษาความไวต่อยาต้านจุลชีพ พบว่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* มีความไวต่อยาต้านจุลชีพชนิดเดียวคือ Sulfamethoxazole ทุกตัวอย่างทั้งกลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่ ขณะที่ *E. coli* กลุ่มก่อนใช้พื้นที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพทุกชนิดยกเว้น Sulfamethoxazole กลุ่มหลังใช้พื้นที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ Amoxicillin และ Tetracycline มากที่สุด ขณะที่แบคทีเรียชนิด *S. aureus* พบว่ามีความไวต่ำกว่าร้อยละ 50 ต่อยา Ampicillin (ร้อยละ 22.7 ในกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ และ ร้อยละ 12.5 ในกลุ่มหลังใช้พื้นที่) และ Oxacillin (ร้อยละ 31.8 ในกลุ่มก่อนใช้พื้นที่ และร้อยละ 37.5 ในกลุ่มหลังใช้พื้นที่) *S. aureus* กลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่ทุกตัวอย่างมีความไวต่อยาต้านจุลชีพ Vancomycin รองลงมาคือ Amikacin และ Cephalothin ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า *E. coli* กลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่มีแนวโน้มดื้อต่อยาต้านจุลชีพทุกชนิดยกเว้น Sulfamethoxazole และ *S. aureus* กลุ่มก่อนและหลังใช้พื้นที่มีแนวโน้มดื้อต่อยาต้านจุลชีพกลุ่ม β-lactam แต่ทุกตัวอย่างมีความไวต่อยา Vancomycin จะเห็นได้ว่ามีการปนเปื้อนของแบคทีเรียในพื้นที่ปฏิบัติงานภายในโรงพยาบาลสัตว์ในระดับสูง จึงควรมีการจัดการป้องกันการปนเปื้อนโดย ควบคุมคุณภาพการทำความสะอาด การแยกพื้นที่ใช้งานสำหรับสัตว์สุขภาพดีและสัตว์ป่วย ให้ความรู้ที่ถูกต้องแก่ เจ้าของสัตว์เลี้ยง และบุคลากรที่ปฏิบัติงานในโรงพยาบาลสัตว์เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

นำข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนสูง ของโรงพยาบาลสัตว์

นำเชื้อดื้อยาที่ได้จากการศึกษานี้ไปทำการศึกษาเชิงโมเลกุล เพื่อตรวจหายีนส์ดื้อยาต่อไป

5.2.2 ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

ทำการเก็บเชื้อเพิ่มเติมในพื้นที่ต่างๆ ของโรงพยาบาลสัตว์ เช่น ลูกบิดประตู หรือการเก็บตัวอย่างจากมือเจ้าของสัตว์เลี้ยง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อดื้อยาที่พบในเจ้าของสัตว์และสัตว์เลี้ยง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

รายการอ้างอิง

Adams, R. J., Kim, S. S., Mollenkopf, D. F., Mathys, D. A., Schuenemann, G. M., Daniels, J. B., & Wittum, T. E. (2018). Antimicrobial-resistant Enterobacteriaceae recovered from companion animal and livestock environments. *Zoonoses Public Health,* 65(5), 519-527. doi:10.1111/zph.12462

Aklilu, E., Zakaria, Z., Hassan, L., & Hui Cheng, C. (2012). Molecular Relatedness of Methicillin-Resistant S. aureus Isolates from Staff, Environment and Pets at University Veterinary Hospital in Malaysia. *PLOS ONE,* 7(8), e43329. doi:10.1371/journal.pone.0043329

Bierowiec, K., Ploneczka-Janeczko, K., & Rypula, K. (2014). [Cats and dogs as a reservoir for Staphylococcus aureus]. *Postepy Hig Med Dosw (Online),* 68, 992-997. doi:10.5604/17322693.1117546

Boonmasawai, S., Bangphoomi, N., Sungpradit, S., Pati, N., Tangkoskul, T., Thamthaweechok, N., & Thamlikitkul, V. (2018). Screening of antimicrobial resistant bacteria in dog shelters in Thailand. *Journal of Applied Animal Science,* 11(3), 25-36.

Boonmasawai Sookruetai, Bangphoomi Norasuthi, Sivapong Sungpradit, Pati Naratchaphan, Tangkoskul Teerawit, & Thamlikitkul Visanu. (2017). Prevalence of Antimicrobial Resistant Bacteria in Dogs Resided in Central Region of Thailand. *Health Systems Research Institute (HSRI)* 11(4), 572-580.

Brown, D. F., Edwards, D. I., Hawkey, P. M., Morrison, D., Ridgway, G. L., Towner, K. J., & Wren, M. W. (2005). Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *J Antimicrob Chemother,* 56(6), 1000-1018. doi:10.1093/jac/dki372

Cummings, K. J., Aprea, V. A., & Altier, C. (2015). Antimicrobial resistance trends among canine Escherichia coli isolates obtained from clinical samples in the northeastern USA, 2004-2011. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne,* 56(4), 393-398.

Getachew, H., Derbie, A., & Mekonnen, D. (2018). Surfaces and Air Bacteriology of

Selected Wards at a Referral Hospital, Northwest Ethiopia: A Cross-Sectional Study. *Int J Microbiol,* 2018, 6413179. doi:10.1155/2018/6413179

Hartantyo, S. H. P., Chau, M. L., Fillon, L., Ariff, A. Z. B. M., Kang, J. S. L., Aung, K. T., & Gutiérrez, R. A. (2018). Sick pets as potential reservoirs of antibiotic-resistant bacteria in Singapore. *Antimicrobial Resistance & Infection Control,* 7(1), 106. doi:10.1186/s13756-018-0399-9

Kock, R., Daniels-Haardt, I., Becker, K., Mellmann, A., Friedrich, A. W., Mevius, D., . . . Jurke, A. (2018). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. *Clin Microbiol Infect,* 24(12), 1241-1250. doi:10.1016/j.cmi.2018.04.004

Leesombun, A., & Boonmasawai, S. (2019). Categorization of antimicrobial agents prescribed in the Veterinary Teaching Hospital in Thailand. *Journal of Applied Animal Science,* 12(1), 25-38.

Leonard, F. C., & Markey, B. K. (2008). Meticillin-resistant Staphylococcus aureus in animals: a review. *Vet J,* 175(1), 27-36. doi:10.1016/j.tvjl.2006.11.008

Li, S., Liu, J., Zhou, Y., & Miao, Z. (2017). Characterization of ESBL-producing Escherichia coli recovered from companion dogs in Tai'an, China. *J Infect Dev Ctries,* 11(3), 282-286. doi:10.3855/jidc.8138

Loeffler, A., Pfeiffer, D. U., Lloyd, D. H., Smith, H., Soares-Magalhaes, R., & Lindsay, J. A. (2010). Meticillin-resistant Staphylococcus aureus carriage in UK veterinary staff and owners of infected pets: new risk groups. *J Hosp Infect,* 74(3), 282-288. doi:10.1016/j.jhin.2009.09.020

Mathys, D. A., Mollenkopf, D. F., Van Balen, J. C., & Wittum, T. E. (2018). beta-Lactam and Fluoroquinolone-Resistant Enterobacteriaceae Recovered from the Environment of Human and Veterinary Tertiary Care Hospitals. *Vector Borne Zoonotic Dis,* 18(11), 620-623. doi:10.1089/vbz.2018.2320

McMeekin, C. H., Hill, K. E., Gibson, I. R., Bridges, J. P., & Benschop, J. (2017). Antimicrobial resistance patterns of bacteria isolated from canine urinary samples submitted to a New Zealand veterinary diagnostic laboratory between 2005-2012. *N Z Vet J,* 65(2), 99-104. doi:10.1080/00480169.2016.1259594

Morley, P. S. (2002). Biosecurity of veterinary practices. *Veterinary Clinics: Food Animal*

Practice, 18(1), 133-155. doi:10.1016/S0749-0720(02)00009-9

Moyaert, H., Morrissey, I., Jong, A. D., Garch, F. E., Klein, U., Ludwig, C., . . . Youala, M. (2017). Antimicrobial Susceptibility Monitoring of Bacterial Pathogens Isolated from Urinary Tract Infections in Dogs and Cats Across Europe: ComPath Results. *Microb Drug Resist,* 23(3), 391-403.

Murphy, C., Reid-Smith, R. J., Prescott, J. F., Bonnett, B. N., Poppe, C., Boerlin, P., . . . McEwen, S. A. (2009). Occurrence of antimicrobial resistant bacteria in healthy dogs and cats presented to private veterinary hospitals in southern Ontario: A preliminary study. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne,* 50(10), 1047-1053.

Murphy, C. P., Reid-Smith, R. J., Boerlin, P., Weese, J. S., Prescott, J. F., Janecko, N., . . . McEwen, S. A. (2010). Escherichia coli and selected veterinary and zoonotic pathogens isolated from environmental sites in companion animal veterinary hospitals in southern Ontario. *Can Vet J,* 51(9), 963-972.

Patchanee, P., Tadee, P., Ingkaninan, P., Tankaew, P., Hoet, A. E., & Chupia, V. (2014). Distribution and characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) at the small animal hospital, faculty of veterinary medicine, Chiang Mai University, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health,* 45(2), 413-420.

Peter, F., Stephen, D. W., & Michael, A. G. . (2013). Bacteriological Analytical Manual. . Retrieved 06/09/2017 https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm

Qekwana, D. N., Oguttu, J. W., Sithole, F., & Odoi, A. (2017). Burden and predictors of Staphylococcus aureus and S. pseudintermedius infections among dogs presented at an academic veterinary hospital in South Africa (2007-2012). *PeerJ,* 5, e3198. doi:10.7717/peerj.3198

Saba, C. K. S., Amenyona, J. K., & Kpordze, S. W. (2017). Prevalence and pattern of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from door handles and other points of contact in public hospitals in Ghana. *Antimicrobial Resistance and Infection Control,* 6(44), 1-6.

Silva, N. (2001). Identification and antimicrobial susceptibility patterns of

Staphylococcus spp. isolated from canine chronic otitis externa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,* 53, 1-5.

Suthar, N., Roy, S., Call, D. R., Besser, T. E., & Davis, M. A. (2014). An Individual-Based Model of Transmission of Resistant Bacteria in a Veterinary Teaching Hospital. *PLOS ONE,* 9(6), e98589. doi:10.1371/journal.pone.0098589

Thanee Wongchai, Pornthip Saraisuwan, Sirilak Teeraputon, Duangnet Jaikrasun, Sarunya Toonkaew, & Preeya Tophon. (2017). Prevalence of Methicillin-resistant Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Clinical Specimens. *J Med Tech Assoc Thailand,* 45(2), 5994-6001.

Thungrat, K., Price, S. B., Carpenter, D. M., & Boothe, D. M. (2015). Antimicrobial susceptibility patterns of clinical Escherichia coli isolates from dogs and cats in the United States: January 2008 through January 2013. *Vet Microbiol*(3-4), 287-295.

Tsuyuki, Y., Kurita, G., Murata, Y., & Takahashi, T. (2018). Bacteria isolated from companion animals in Japan (2014-2016) by blood culture. *J Infect Chemother,* 24(7), 583-587. doi:10.1016/j.jiac.2018.01.014

Tuerena, I., Williams, N. J., Nuttall, T., & Pinchbeck, G. (2016). Antimicrobial-resistant Escherichia coli in hospitalised companion animals and their hospital environment. *J Small Anim Pract,* 57(7), 339-347. doi:10.1111/jsap.12525

Walker, J. R., & Nakamura, R. K. (2014). What is your diagnosis? Pulmonary abscess. *J Am Vet Med Assoc,* 245(3), 277-278. doi:10.2460/javma.245.3.277

Walther, B., Tedin, K., & Lubke-Becker, A. (2017). Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. *Vet Microbiol,* 200, 71-78. doi:10.1016/j.vetmic.2016.05.017

Wayne, P. A. (2018). M100S Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). USA.

Weese, J. S., DaCosta, T., Button, L., Goth, K., Ethier, M., & Boehnke, K. (2004). Isolation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from the environment in a veterinary teaching hospital. *J Vet Intern Med,* 18(4), 468-470.

Weese, J. S., Peregrine, A. S., & Armstrong, J. (2002). Occupational health and safety in small animal veterinary practice: Part I--nonparasitic zoonotic diseases. *The*

Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne, 43(8), 631-636.

Windahl, U., Holst, B. S., Nyman, A., Grönlund, U., & Bengtsson, B. (2014). Characterisation of bacterial growth and antimicrobial susceptibility patterns in canine urinary tract infections. *BMC veterinary research,* 10, 217-217. doi:10.1186/s12917-014-0217-4

Worthing, K. A., Brown, J., Gerber, L., Trott, D. J., Abraham, S., & Norris, J. M. (2018). Methicillin-resistant staphylococci amongst veterinary personnel, personnel-owned pets, patients and the hospital environment of two small animal veterinary hospitals. *Vet Microbiol,* 223, 79-85. doi:10.1016/j.vetmic.2018.07.021

ไกรพิบูลย์., พ. (2558). โรคติดเชื้อ (Infectious disease). Retrieved from http://haamor.com/th

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ฝ. ส. (2557). *E. coli*. Retrieved from http://nih.dmsc.moph.go.th/data/data/fact_sheet/12_57

นิตยา อินทราวัฒนา, & วนาภรณ์, ม. (2558). โรคติดเชื้อในโรงพยาบาลและสถานการณ์การดื้อยา. *Journal of Medicine and Health Sciences,* 22(1), 81-92.

ปรมา หันหาบุญ, ชัญญพัฒน์ บำรุงพันธ์, ศิริชัย วงษ์นาคเพ็ชร, & ปฐมาพร เอมะวิศิษฏ์. (2555). การพบแบคทีเรียและอัตราการดื้อยาของเชื้อ ที่แยกได้จากสุนัขที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2551. *The Journal of Thai Veterinary Practitioners* 24(3-4), 15-21.

พรเฉลิมพงศ์, พ., & รัตนาปานนท์, น. (2560). Staphylococcus aureus/สแตฟิโลค็อกคัสออเรียส. Retrieved from http://www.foodnetworksolution.com /wiki/ word/1197 /staphylococcus-aureu

พรรณธิชา เครือน้ำคำ, นิติกร ทืนหาร, พรพิมล สันประภา, พัสนันท์ มากมี, ทัตด์ดนัย ศรีประทักษ์, อิสราภรณ์ คำอ้วน, & บุริณทร์ บุญศรี. (2559). เชื้อแบคทีเรียที่พบจากบาดแผลและการดื้อต่อสารต้านจุลชีพในสุนัขและแมว จากโรงพยาบาลสัตว์หนึ่งแห่งในเชียงใหม่. *Kreunumkum et al., Chiang Mai Veterinary Journal,* 14(2), 73-84.

มีน่วม, ท. (2560). การติดเชื้อ Infection. Retrieved from http://www.med.nu.ac.th/pathology/405213/book/Infection

วรจิตร, ม. (2545). แบคทีเรียก่อโรค. กรุงเทพมหานคร: สยามศิลป์การพิมพ์.

ศิริวงศ์, น., & ชูเกียรติโรจน์, เ. (2552). การดื้อยาและปฏิชีวนะ *Staphylococcus aureus* และแนวทางควบคุม. สงขลานครินทร์เวชสาร, 27(4), 347-356.

สมบูรณ์นะ, น., & จิตบุญทวีสุข, ช. (2558). กลไกการอยู่รอดของ *Staphylococcus aureus* ภายใน

เซลล์มนุษย์. *BUDDHACHINARAJ MEDICAL JOURNAL,* 32(1), 65-73.

สุดสายชล หอมทอง, กิ่งแก้ว อินทนน, รุ่งทิวา เดชสง่า, & อริศา อ่อนสุวรรณ. (2560). การแพร่กระจายของแบคทีเรียทั้งหมด และ Staphylococcus aureus บนโทรศัพท์มือถือของบุคลากรทางการแพทย์ในโรงพยาบาล เขตอาเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 41-50.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	อรทัย ทองจุ้ย
วัน เดือน ปี เกิด	1 เมษายน 2526
สถานที่เกิด	นครปฐม
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต
ที่อยู่ปัจจุบัน	999 อาคารชุดพักอาศัย มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170
ผลงานตีพิมพ์	Bunviboolvat P, Taechaarpornkul N, Saratham J, Sungpradit S, Jirapattharasate C, Nakthong C, Piasai L, Thongjuy O, Boonmasawai S. Anthelmintic effects of ethanolic extracts from pomegranate peels, mangosteen peels and tamarind seeds on gastrointestinal nematode egg counts in lambs. J Appl Anim Sci. 2013; 6(2):39-50. Thongjuy, O., G. Sripongpun and K. Homyog. 2013. Effects of Turmeric powder added in fish feed on color appearance and growth of the blue neon guppies in experimental jars. Poster presentation with proceeding. Inthe 39th Congress on Science and Technology of Thailand. October 21-23, 2013. At Bangkok International Trade & Exhibition Centre (BITEC), Bangkok, Thailand. pp. 837-841. Boonmasawai S., Leesombun A., Nakthong C., Thongjuy O. Antimicrobial activities of gel preparations from pomegranate peels extracts on mastitis treatments. Poster session presented at the 39th International Conference on Veterinary Science (ICVS 2014). 2014, Bangkok, Thailand. Boonmasawai S, Leesombun A, Chaichoun K, Taowan N, Sariya L, Thongjui O. Anti-proliferative effects of ethanolic extract from Andrographis paniculata on HepG2 and HeLa Cell Lines. Poster session presented at the 41th International Conference on

Veterinary Science (ICVS 2016). 2016, Bangkok, Thailand.
Boonmasawai S, Leesombun A, Chaichoun K, Taowan J, Sariya L, Thongjuy O. Effects of the three flavonoids; kaempferol, quercetin, and myricetin on Baby hamster kidney (BHK-21) cells and Human hepatocellular carcinoma cell (HepG2) cells proliferations and total Erk1/2 protein expression. J Appl Anim Sci. 2017.