จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัย

กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานผลการวิจัย

ผลของยาต้านจุลชีพ อะวิล่ามัยซิน ฟลาโวมัยซิน และ อีรีโทรมัยซิน ที่ใช้เร่งการเจริญเติบโตต่อเชื้อเอ็นเทอโรค๊อคคัย ที่ดื้อยาแวนโคมัยซินในไก่เนื้อ

(Effect of Antimicrobial Growth Promoters Avilamycin, Flavomycin, and Erythromycin on the Vancomycin-resistant *Enterococci* on Broiler)

โดย

ผศ.น.สพ.ดร. ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ

รศ.น.สพ.ดร. ธงชัย เฉลิมชัยกิจ

นายมณฑล เลิศวรปรีชา

636.089
ศ683พ

มีนาคม 2548

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัย

กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานผลการวิจัย

ผลของยาต้านจุลชีพ อะวิล่ามัยซิน ฟลาโวมัยซิน และ อีรีโทรมัยซิน ที่ใช้เร่งการเจริญเติบโตต่อเชื้อเอ็นเทอโรค๊อคคัย ที่ดื้อยาแวนโคมัยซินในไก่เนื้อ

(Effect of Antimicrobial Growth Promoters Avilamycin, Flavomycin, and Erythromycin on the Vancomycin-resistant *Enterococci* on Broiler)

โดย

ผศ.น.สพ.ดร. ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ

รศ.น.สพ.ดร. ธงชัย เฉลิมชัยกิจ

นายมณฑล เลิศวรปรีชา

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มีนาคม 2548

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ปีงบประมาณ 2547 (ครั้งที่ 1) ที่กรุณาสนับสนุนงบประมาณในการวิจัยนี้ น.สพ.สมพงษ์ ชำนาญท่องไพวัลห์ ที่เอื้อเฟื้อยาต้านจุลชีพฟลาโวมัยซิน น.สพ.วิชัย เติมผลบุญ ที่เอื้อเฟื้อยาต้านจุลชีพอะวิล่ามัยซิน น.สพ.อนุโรจน์ ปัญญาวรรณ ที่เอื้อเฟื้ออาหารปลอดยาต้านจุลชีพสำหรับไก่เนื้อ รวมทั้งคุณนภาพร เลิศวรปรีชา คุณส่งศักดิ์ ศรีสง่า คุณสุภาพ กำลังแพทย์ น.สพ.ศุภฤกษ์ นันทวัน ณ อยุธยา น.สพ.ชวลิต บัวใหญ่ และน.สพ.อดิเรก วชิรขจรชัย ตลอดจนอีกหลายๆ ท่านที่อาจมิได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้ ที่ให้การช่วยเหลือโครงการวิจัยนี้จนกระทั่งสำเร็จบริบูรณ์

คณะผู้วิจัย
มีนาคม 2548

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการวิจัย ผลของยาต้านจุลชีพอะวิล่ามัยซิน ฟลาโวมัยซิน และอีรีโทรมัยซินที่ใช้เร่งการเจริญเติบโตต่อเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซินในไก่เนื้อ

ชื่อผู้วิจัย ผศ.น.สพ.ดร. ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ
รศ.น.สพ.ดร. ธงชัย เฉลิมชัยกิจ
นายมณฑล เลิศวรปรีชา

เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ มีนาคม 2548

บทคัดย่อ

ยาต้านจุลชีพอะวิล่ามัยซิน ฟลาโวมัยซิน และอีรีโทรมัยซินที่ใช้เร่งการเจริญเติบโตมีผลต่อการกำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซิน(VRE)ในไก่ การทดลองแบ่งเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงก่อนให้ยา ช่วงให้ยาและช่วงหยุดยา ป้อนเชื้อ VRE ให้คงอยู่ในทางเดินอาหารของไก่ตั้งแต่ช่วงก่อนให้ยา หาจำนวน VRE ในอุจจาระไก่ตลอดการศึกษา ข้อสังเกตที่น่าสนใจ คือ จำนวน VRE ในอุจจาระไก่ไม่เพิ่มจำนวนมากขึ้นแต่กลับมีจำนวนลดลง ดังนั้น จึงรายงานค่าในรูปของอัตราการกำจัด VRE ซึ่งวิเคราะห์โดยการใช้สมการถดถอยเชิงเส้น ผลการศึกษาพบว่า อัตราการกำจัด VRE ของยาต้านจุลชีพอะวิล่ามัยซิน ฟลาโวมัยซิน และอีรีโทรมัยซินเป็น 1.46 (r^2 = 0.35), 1.58 (r^2 = 0.41), และ 2.03 (r^2 = 0.61) โคโลนีกรัม$^{-1}$วัน$^{-1}$ ($p< 0.05$) ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการกำจัด VRE ในอุจจาระของไก่กลุ่มควบคุมและไก่กลุ่มทดสอบด้วยยา 3 ชนิด พบว่า กลุ่มที่ได้รับอะวิล่ามัยซินจะมีอัตราการกำจัด VRE ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p > 0.05$) ส่วนกลุ่มที่ได้รับฟลาโวมัยซินและอีรีโทรมัยซินจะมีอัตราการกำจัด VRE สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) อัตราการกำจัด VRE ในไก่ทั้ง 3 กลุ่มทดสอบที่ได้รับยาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การใช้ยาต้านจุลชีพอะวิล่ามัยซิน ฟลาโวมัยซิน และอีรีโทรมัยซินที่ใช้เร่งการเจริญเติบโตของไก่เนื้อไม่ก่อให้เกิดการดื้อยาของ VRE

คำสำคัญ : เชื้อเอ็นเทอโรคอคคัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซิน อะวิล่ามัยซิน ฟลาโวมัยซิน อีรีโทรมัยซิน อัตราการกำจัดเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัยที่ดื้อยาแวนโคมัยซิน

Project Title Effect of antimicrobial growth promoter avilamycin, flavomycin, and erythromycin on the vancomycin-resistant *Enterococci* in broiler

Name of Investigators Assistant Professor Dr. Suphachai Nuanualsuwan
Associate Professor Dr. Thongchai Chalermchaikit
Mr. Monthon Lertworapreecha

Year March 2005

Abstract

The vancomycin-resistant *Enterococci* (VRE) elimination in broiler was determined across 3 antimicrobial growth promoters, avilamycin, flavomycin, and erythromycin. The experiment was carried out in 3 phases so-called before dosing, dosing, and after dosing. VRE was inoculated and established in broiler digestive tract in before-dosing phase. The broiler manure was collected daily to enumerate for VRE. Interestingly, all tested antimicrobial growth promoters decreased the stability of VRE in poultry digestive tract therefore the results were reported as VRE elimination rate in stead of VRE stability in broiler. VRE elimination rates in broiler manure, using a linear regression, as dosing by avilamycin, flavomycin, and erythromycin were 1.46 ($r^2 = 0.35$), 1.58 ($r^2 = 0.41$), and 2.03 ($r^2 = 0.61$) colony-forming-unit $g^{-1}day^{-1}$ ($p< 0.05$). VRE elimination rate as the effect of avilamycin was not significantly different from that without antimicrobial effect ($p> 0.05$). However VRE elimination rates as the effect of flavomycin and erythromycin was significantly higher than that without antimicrobial effect ($p<0.05$). There was no significant difference of VRE elimination rate across antimicrobial growth promoters ($p>0.05$). These results showed that the use of avilamycin, flavomycin, and erythromycin as a growth promoter does not render antimicrobial resistance of VRE.

Key words : VRE; Avilamycin; Flavomycin; Erythromycin; VRE elimination rate

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อภาษาไทย	iii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ (abstracts)	iv
สารบัญ	v
รายการตารางประกอบ	vi
รายการภาพประกอบ	vi
บทนำ	1
การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
วิธีการวิจัย	7
ผลการวิจัย	9
การอภิปรายผล	15
ข้อสรุป	18
เอกสารอ้างอิง	19

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

(List of Tables)

ตารางที่ 1 การแบ่งกลุ่มไก่ทดลองและความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพที่ผสมในอาหารไก่

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับป้อนยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด

ตารางที่ 3 อัตราการกำจัด VRE จากทางเดินอาหารไก่ที่ได้รับการป้อนยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด

ตารางที่ 4 อัตราการกำจัด VRE จากทางเดินอาหารไก่ที่ได้รับการป้อนยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด คำนวณจากค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่

รายการภาพประกอบ

(List of Figures)

ภาพที่ 1 อัตราการกำจัด VRE ในอุจจาระไก่ที่กินอาหารผสมยา avilamycin ขนาด 10 ppm

ภาพที่ 2 อัตราการกำจัด VRE ในอุจจาระไก่ที่กินอาหารผสมยา flavomycin ขนาด 20 ppm

ภาพที่ 3 อัตราการกำจัด VRE ในอุจจาระไก่ที่ที่กินอาหารผสมยา erythromycin ขนาด 180 ppm

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการส่งออกเนื้อไก่สู่ตลาดโลกเป็นอันดับต้นๆ ของโลก สถิติจากกรมปศุสัตว์รายงานว่าประเทศไทยส่งออกเนื้อไก่ทั้งในรูปเนื้อไก่สดแช่แข็งและเนื้อไก่แปรรูปเมื่อปี 2546 มีมูลค่าประมาณ 4 หมื่นล้านบาท (Thailand Broiler Processing Exporters Association 2003) ซึ่งเป็นข้อมูลที่สะท้อนถึงระบบการเลี้ยงและการผลิตไก่ในระดับฟาร์มในปริมาณมาก ระบบการเลี้ยงไก่ที่มีประสิทธิภาพสูงอาจจะต้องพึ่งพาสารต้านจุลชีพ (antimicrobial) ซึ่งการที่ประเทศไทยจะสามารถส่งออกเนื้อไก่ปริมาณมากอย่างยั่งยืน จำเป็นต้องมีระบบการเลี้ยงและการผลิตไก่จำนวนมากอย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสมแม้จะต้องอาศัยยาต้านจุลชีพ ซึ่งการใช้ยาต้านจุลชีพในระบบการเลี้ยงไก่นี้ไม่ควรสร้างปัญหาต่อเนื่องไปสู่สุขภาพของประชาชนโดยรวม

โครงการวิจัยนี้มีแนวความคิดที่จะศึกษาผลที่ได้จากการใช้สารเร่งการเจริญเติบโตผสมในอาหารชนิด avilamycin, flavomycin และ erythromycin ในการคัดเลือก (select) หรือทำให้มีการสะสมของ vancomycin-resistant *Enterococci* (VRE) ในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อ โดยวัตถุประสงค์ของโครงการ คือ การประเมินการคงตัวของ VRE ในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อที่ได้รับสารเร่งการเจริญเติบโตผสมในอาหารชนิด avilamycin flavomycin หรือ erythromycin และนำเสนอผลงานวิจัยต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและผู้ประกอบการฟาร์มไก่เนื้อในประเด็นการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมและรอบคอบ (Prudent use of antimicrobial drugs) เพื่อป้องกันปัญหา VRE

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เชื้อแบคทีเรียหลักที่ก่อให้เกิดปัญหาการติดเชื้อจากโรงพยาบาล (nosocomial infection) มานานแล้วและในปัจจุบันนี้ยิ่งทวีปัญหามากขึ้นทั่วโลก คือ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Perl and Golub 1998; Graffunder and Venezia 2002; Hori 2002) เนื่องมาจากการดื้อยาต้านจุลชีพ (antimicrobial) vancomycin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม Glycopeptide (Srinivasan, Dick et al. 2002) จากสถิติพบว่า *S. aureus* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อจากโรงพยาบาลสูงถึงกว่าร้อยละ 35 และร้อยละ 45 ของผู้ป่วยเหล่านี้ได้รับเชื้อ *S.aureus* ชนิดที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ Methicillin (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* หรือ MRSA) (Hori, Sunley et al. 2002) จะเห็นได้ว่า อุบัติการของการติดเชื้อ MRSA นั้นสูงมาก ซึ่งปัญหาที่แท้จริงของ MRSA ไม่ได้อยู่ที่อุบัติการที่สูงเท่านั้น แต่ยังรวมถึงการดื้อยาต้านจุลชีพ vancomycin ด้วย ซึ่งที่ผ่านมา vancomycin เสมือนเป็นยาต้านจุลชีพชนิดสุดท้ายที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อ MRSA ในระบบต่างๆ ของร่างกาย จนกระทั่งปี 1986 มีรายงานจากประเทศฝรั่งเศสและอังกฤษพบผู้ป่วยรายแรกของโลกติดเชื้อ MRSA ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ vancomycin (vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* หรือ VRSA) ในปีต่อมาก็ได้มีรายงานอุบัติการการติดเชื้อ VRSA ในโรงพยาบาลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เช่น สหรัฐอเมริกามีรายงานของ MRSA เพิ่มจากร้อยละ 0.3 ในปี 1989 สูงขึ้นถึงร้อยละ 25 ในปี 1997 (Brown and Grilli 1998) สำหรับประเทศไทย จากรายงานของโรงพยาบาล 24 แห่งในโครงการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ กระทรวงสาธารณสุข ในปี พ.ศ. 2541 พบว่ามีผู้ป่วยติดเชื้อ VRSA ในโรงพยาบาลมหาสารคามร้อยละ 12, โรงพยาบาลชลบุรีร้อยละ 2.4, โรงพยาบาลกรุงเทพ, โรงพยาบาลบุรีรัมย์, โรงพยาบาลนครศรีธรรมราช และร.พ.สุราษฎร์ธานีร้อยละ 0.1-0.9 (คณะกรรมการโครงการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ 2541) ซึ่งอุบัติการที่เพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับของ VRSA ทั่วโลก เชื่อว่ามีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับการได้รับยาต้านจุลชีพกลุ่ม Glycopeptides เช่น vancomycin และ Avoparcin ในคนและสัตว์ ตามลำดับ

การใช้ vancomycin อย่างไม่จำเป็นในทางการแพทย์(Irrational use) ก็ดี การใช้ Avoparcin เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต (growth promoter) ผสมอาหารในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีกก็ดี ล้วนแต่เป็นส่วนหนึ่งของการคัดเลือก(selection) แบคทีเรีย *Enterococcus* spp. ที่ดื้อข้ามกลุ่ม (cross resistant) ต่อยาต้านจุลชีพชนิดอื่นๆ ในกลุ่มของยาต้านจุลชีพที่ใช้ *Enterococci spp.* เป็นแบคทีเรียที่พบอยู่เป็นปกติในทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือดอุ่นเกือบทุกชนิดรวมถึงสัตว์ปีกด้วย แบคทีเรียนี้มีลักษณะหลายอย่างที่คล้ายกับ *S. aureus* คือ เป็นสาเหตุของการติดเชื้อจากโรงพยาบาลซึ่งมีสูงถึงร้อยละ 15 ในปี 1997 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มผู้ป่วยระยะวิกฤต (intensive- care-unit patients) และมักจะดื้อต่อยาต้านจุลชีพเกือบทุกชนิดยกเว้น vancomycin ซึ่งใน

ระยะหลายปีที่ผ่านมาพบว่าสามารถแยก *Enterococci spp.* ที่ดื้อต่อ vancomycin (vancomycin-resistant enterococci หรือ VRE) ได้ (Wegener, Aarestrup et al. 1999) รายงานการศึกษาปัญหา VRE เป็นรายงานการศึกษาในผู้ป่วยและในสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร ทั้งนี้ปัญหา VRE ในประเทศสหรัฐอเมริกาส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยติดเชื้อในโรงพยาบาล แต่ในยุโรปมีปัญหา VRE มากกว่า เพราะสามารถตรวจพบ VRE ทั้งในโรงพยาบาล มูลสัตว์ ท่อระบายน้ำ เนื้อและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ รวมทั้งในอุจจาระของคนปกติ ซึ่งคงจะอธิบายได้ว่าในประเทศสหรัฐอเมริกานั้นมีการใช้ยา vancomycin ในผู้ป่วยอย่างกว้างขวาง แต่ไม่มีการใช้ยา Avoparcin ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ ในขณะที่ประเทศในยุโรป เชื่อว่าสาเหตุของการเพิ่มเชื้อ VRE เนื่องจาก การใช้ยา Avoparcin ในรูปแบบของสารเร่งการเจริญเติบโตมาจนถึงปี พ.ศ. 2539 จึงห้ามใช้ ตั้งแต่นั้นมาอุบัติการของ VRE ในทั้งในมนุษย์และในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ลดลงอย่างรวดเร็ว (Pantosti, Del Grosso et al. 1999) แต่ปัญหา VRE ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรกลับไม่ลดลง ซึ่งต่อมาพบว่าเนื่องจากผลของการยังคงมีการใช้ยา Tylosin ซึ่งสายพันธุกรรมใน Plasmid ที่ดื้อต่อยา vancomycin และ Tylosin อยู่ติดกัน (DANMAP 1999) นอกจากนี้ ยังมีรายงานการศึกษาในฟาร์มสุกรและฟาร์มไก่พบว่า ความเสี่ยงหรือโอกาสของการพบ (risk ratio) VRE ในฟาร์มที่ใช้ Avoparcin เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตต่อฟาร์มที่ไม่ได้ใช้ Avoparcin เป็น 3.3 (ระดับความมั่นใจร้อยละ 95 อยู่ระหว่าง 1.1-10) และ 5.5 (ระดับความมั่นใจร้อยละ 95 อยู่ระหว่าง 2.2-13.9) ตามลำดับ (Aarestrup 1995; Bager, Madsen et al. 1997) จะเห็นได้ว่า การใช้ Avoparcin เท่ากับเป็นการสร้างแหล่งเก็บสะสมเชื้อ (reservoir) VRE ในสัตว์ที่ใช้เป็นอาหาร และ VRE ที่ปนเปื้อนบนเนื้อสัตว์หรือสิ่งแวดล้อมสามารถถ่ายทอดสายพันธุกรรม (conjugative transfer) ที่ดื้อยา vancomycin นี้ให้กับ *S. aureus* ได้ (Noble, Virani et al. 1992; Aarestrup, Agers et al. 2000)

โดยสรุป ก็คือ การใช้ยาต้านจุลชีพ vancomycin ในการรักษาทางการแพทย์หรือ Avoparcin เพื่อการเลี้ยงสัตว์อย่างไม่เหมาะสมหรือไม่ระมัดระวังรอบคอบ ทำให้มีการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Enterococci spp.* ที่ดื้อและดื้อข้ามต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม Glycopeptides แล้วมีการผ่านสารพันธุกรรมที่ดื้อยาไปสู่เชื้อ MRSA ทำให้มีผลกระทบอย่างกว้างขวาง ผลที่ตามมาก็คือ เกือบทุกประเทศได้ยกเลิกการใช้ Avoparcin ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ รวมทั้งประเทศไทยตามประกาศของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ในปี พ.ศ. 2542 อย่างไรก็ดี จากการเฝ้าระวังปัญหาเชื้อดื้อยาของศูนย์ติดตามการดื้อยาของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ (โดยความร่วมมือขององค์การอนามัยโลก) คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปี พ.ศ. 2544–2545 ยังตรวจพบ VRE จากอุจจาระของไก่เนื้อในฟาร์มเพื่อการส่งออกสูงถึงร้อยละ 5.5 (30 ตัวอย่างจาก 545 ตัวอย่าง) และ พบ VRE ในเนื้อไก่ส่งออกและบริโภคในประเทศประมาณร้อยละ 17 และ 29 ตามลำดับ(คณะรัตน์ 2544) เหตุผลที่

VRE ในไก่เนื้อยังคงเป็นปัญหาของประเทศไทยแม้ว่าจะไม่มีการใช้ยา Avoparcin แล้วก็ตามอาจเนื่องมาจากการใช้ยาต้านจุลชีพชนิดอื่นๆในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่เนื้อ

สถิติจำนวนเนื้อไก่สดส่งไปจำหน่ายต่างประเทศจากกรมปศุสัตว์ แจ้งว่าในปี 2546 มีสูงถึงสี่แสนตัน คิดเป็นมูลค่าเงินตราที่นำเข้าประเทศกว่าสองหมื่นล้านบาท และจากข่าวการกีดกันทางการค้าของประเทศคู่ค้าต่อผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์ของไทยในช่วงที่ผ่านๆมา ทำให้เราควรจะต้องตระหนักถึงความเป็นไปได้อื่นๆที่ประเทศคู่ค้าอาจจะนำมาใช้เพื่อเป็นข้ออ้างกีดกันทางการค้าได้ ประเด็นในเรื่องของการดื้อยานั้นก็อาจจะถูกหยิบยกขึ้นมาใช้ได้เช่นกัน ดังนั้นจึงควรหาทางป้องกันโดยการศึกษาถึงผลกระทบจากการใช้สารเร่งการเจริญเติบโตผสมในอาหารสัตว์

สารเร่งการเจริญเติบโต avilamycin มีลักษณะโครงสร้างเป็นสารประเภท Oligosaccharide ในขณะที่ flavomycin(Flovophospholipol) มีลักษณะโครงสร้างเป็นสารประเภท Glycolipid (Sweden. Jordbruksdepartementet. 1997) ซึ่งโดยลักษณะทางโครงสร้างของสารทั้งสองชนิดนี้แล้วมีความแตกต่างกับยา vancomycin ซึ่งเป็นสารประเภท Glycopeptide (Srinivasan, Dick et al. 2002) อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการดื้อยาหลายๆ ชนิดของเชื้อหนึ่งๆ ไม่จำเป็นต้องเป็นยาในกลุ่มเดียวกันเสมอไป ทั้งนี้ทั้งนั้น เนื่องจาก คุณสมบัติของการดื้อยาสามารถที่จะอยู่ในสายพันธุกรรมที่เรียกว่า plasmid ซึ่งสามารถถ่ายทอดระหว่างแบคทีเรียได้ ที่ผ่านมามีรายงานจำนวนไม่มากนักที่ระบุถึงความสัมพันธ์โดยตรงระหว่างยา vancomycin กับ avilamycin และ flavomycin ในเชิงการดื้อข้ามกลุ่ม อย่างไรก็ตาม ในประเทศนิวซีแลนด์ พบว่า VRE ที่แยกได้จากเนื้อไก่ชำแหละที่ดื้อต่อ avilamycin สูงถึงร้อยละ 63 โดยมีค่า Minimum Inhibitory Concentration(MIC) สูงกว่า 256 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร(Manson, Keis et al. 2003) นอกจากนี้ ยังมีการใช้ Everninomicin ซึ่งเป็นยาในกลุ่มเดียวกับ avilamycin แทนการใช้ vancomycin ด้วย ดังนั้น ถ้าหากพบความสัมพันธ์ของการดื้อยาร่วมระหว่าง avilamycin และ everninomicin ก็ย่อมจะเป็นประโยชน์ในการระแวดระวังการใช้ Everninomicin ด้วย นอกจากนี้ ยังมีข้อเสนอแนะจากประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรปถึงความเป็นไปได้ที่จะมีการถ่ายทอดสารพันธุกรรมที่ดื้อต่อยา avilamycin (gene conferring resistance) จากสัตว์ไปสู่คนโดยผ่านทางห่วงโซ่อาหาร(food chain)ได้ด้วย (Health and consumer protection directorate general 2000) สำหรับ flavomycin พบว่า อุบัติการของ VRE ที่ดื้อต่อ flavomycin นั้นมีอยู่ไม่เกินร้อยละ 10 และเป็นข้อมูลการศึกษาในสุกร โดยที่ยังไม่พบรายงานในลักษณะเดียวกันในไก่หรือสัตว์ปีกชนิดอื่น ในปัจจุบันนี้ avilamycin และ flavomycin จัดเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตผสมในอาหารสัตว์เพียง 2 ชนิดนี้เท่านั้นที่ได้รับอนุญาตตามระเบียบของประเทศผู้นำเข้าเนื้อไก่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป ดังรายงานใน EU Directives 70/524 หรือ Feed Additive Directive ปี 1970 และ 96/51/ECC ปี 1996 แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงผลของ avilamycin และ flavomycin ต่อการคัดเลือก(select) VRE ในไก่เนื้อ

มีหลักฐานการดื้อยาต้านจุลชีพ erythromycin ของ VRE ที่ได้จากทั้งคน เนื้อสุกร และเนื้อสัตว์ โดยมีสัดส่วนการดื้อยาที่สูงมาก คือ ร้อยละ 70 ขึ้นไป ดังนั้น เป็นหลักฐานสำคัญหนึ่งที่ชี้ให้เห็นถึงระดับความสัมพันธ์ของการดื้อยาต้านจุลชีพทั้ง erythromycin และ vancomycin (Pavia, Nobile et al. 2000; Busani, Del Grosso et al. 2004)

ในการวิจัยครั้งนี้มีสมมุติฐานของการวิจัย คือ สารเร่งการเจริญเติบโตผสมในอาหารชนิด avilamycin flavomycin และ erythromycin คัดเลือก (select) หรือทำให้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ vancomycin-resistant *Enterococci* (VRE) ในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อ โดยมีวัตถุประสงค์ของโครงการ คือ การประเมินการเปลี่ยนแปลง VRE ในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อที่ได้รับสารเร่งการเจริญเติบโตผสมในอาหารชนิด avilamycin flavomycin และ erythromycin โดยเปรียบเทียบกับการคงตัวของ VRE ในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อกลุ่มควบคุม (control) ที่ไม่ได้รับสารเร่งการเจริญเติบโตผสมในอาหาร และเพื่อเสนอผลงานวิจัยต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและผู้ประกอบการฟาร์มไก่เนื้อในประเด็นการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมและรอบคอบ (Prudent use of antimicrobial drugs) เพื่อป้องกันปัญหา VRE

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการวิจัย

1. ไก่เนื้อที่ใช้ในการศึกษา

ลูกไก่เนื้อพันธุ์ที่เลี้ยงในระบบอุตสาหกรรมเลี้ยงไก่แบบครบวงจรจากบริษัทเอกชนรายใหญ่แห่งหนึ่ง อายุประมาณ 1-3 วัน จำนวน 600 ตัว และแบ่งออกเป็น 12 กลุ่มๆ ละประมาณ 50 ตัว เป็นกลุ่มควบคุม 3 กลุ่ม และกลุ่มทดลอง 9 กลุ่ม (เนื่องจากทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) โดยเลี้ยงด้วยอาหารและน้ำที่ปลอดยาต้านจุลชีพทุกชนิดเป็นระยะเวลานาน 5 วัน ก่อนเริ่มการทดลองป้อนยาต้านจุลชีพ

2 สถานที่ทำการทดลอง

ศูนย์ฝึกนิสิตคณะสัตวแพทยศาสตร์ ต.บ่อพลับ อ.เมือง จังหวัดนครปฐม โดยแยกเลี้ยงไก่ทั้ง 12 กลุ่มในกรงยกพื้นสูงเพื่อเก็บตัวอย่างอุจจาระได้สะดวกและลดโอกาสการรับ VRE ซ้ำจากอุจจาระด้วย

3. เชื้อ vancomycin-resistant *enterococci* (VRE)

ป้อนเชื้อ vancomycin-resistant *enterococci* (ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้จากอุจจาระไก่ของศูนย์ติดตามการดื้อยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) ให้แก่ไก่ทั้ง 3 กลุ่ม เพื่อให้ไก่แต่ละตัวปล่อยเชื้อ(shed) มากับอุจจาระประมาณ 10^5 Colony-Forming Units (CFU)/กรัมอุจจาระ

4. ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการศึกษา

ผสมสารเร่งการเจริญเติบโตผสมในอาหารชนิด avilamycin, flavomycin หรือ erythromycin ในอาหารไก่ระยะที่ 2 ในขนาดเร่งการเจริญเติบโต (growth promotion) (Sweden. Jordbruksdepartementet. 1997) ดังที่แสดงในตารางที่ 1 โดยผสมให้รวมกันโดยให้กินในวันที่ 6 หลังจากป้อนเชื้อและให้กินติดต่อกันเป็นเวลา 7 วันโดยทั้งไก่ทั้ง 4 กลุ่มจะได้รับอาหารและน้ำอย่างไม่จำกัด (*ad lib*)

ตารางที่ 1 การแบ่งกลุ่มไก่ทดลองและความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพที่ผสมในอาหารไก่

กลุ่มที่	การทดลอง	ยาต้านจุลชีพ	ความเข้มข้น (ppm)
1	ควบคุม	ปลอดยา	0
2	ทดลอง	avilamycin	10
3	ทดลอง	flavomycin	20
4	ทดลอง	erythromycin	180

5. การเก็บตัวอย่างอุจจาระเพื่อตรวจหาเชื้อ VRE

เก็บตัวอย่างอุจจาระไก่ (Pooled-feces sample) ทุกวันเพื่อหาเชื้อ VRE จากพื้นกรงของแต่ละกลุ่มเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงก่อนป้อนยา (before dosing) จำนวน 5 วัน ช่วงระหว่างป้อนยา (dosing) จำนวน 11 วัน และช่วงหลังการให้ยา (after dosing) จำนวน 5 วัน รวมทำการทดลอง 3 สัปดาห์ โดยทำการเก็บอุจจาระไก่ประมาณ 5-10 กรัมต่อตัวอย่างใน transport media ด้วยวิธีปลอดเชื้อ (Aseptic technique) รวบรวมตัวอย่างไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิไม่เกิน 7^{O}ซ เพื่อรอการตรวจวิเคราะห์หาจำนวนเชื้อ และทำการทดลองซ้ำ(replicate) รวม 3 ครั้ง

6. การวิเคราะห์เชื้อ vancomycin-resistant *Enterococci* (VRE)

เพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ KF Streptococcus agar ที่มี 1% TTC (2,3,5-triphenyltetrazolium) และยาต้านจุลชีพ vancomycin อยู่ 10 μg/ mL. (Stobberingh, van den Bogaard et al. 1999) โดยวิธี plating dilution และ/หรือวิธี most probable number (MPN) เมื่อจำนวนเชื้อ VRE ต่ำกว่า 100 CFU/กรัมอุจจาระ(Himathongkham, Nuanualsuwan et al. 1999; Himathongkham, Riemann et al. 2000; Himathongkham, Nuanualsuwan et al. 2001) อย่างไรก็ตาม จากประสบการณ์พบว่า มีแบคทีเรียจำนวนหนึ่งซึ่งสามารถเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี vancomycin อยู่ 10 μg/ mL ด้วย จึงต้องมีการเพิ่มยาต้านจุลชีพ Ciprofloxacin เพื่อลดจำนวนเชื้อกลุ่มพื้นฐาน (background) เหล่านี้ลง

7. การตรวจสอบยืนยันและวิเคราะห์หาสปีชี่ (species) ของเชื้อ *Enterococcus*

ทำการตรวจสอบยืนยันและวิเคราะห์หาสปีชี่ (species) ของเชื้อ *Enterococcus* ที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ vancomycin ด้วยชุดตรวจสอบ API20 Strep (bioMerieux Industry, ประเทศฝรั่งเศส)

8. การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analyses)

8.1 การวิเคราะห์ระดับความแตกต่างของความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way Analysis of Variance: ANOVA) โดยพิจารณา 2 ปัจจัย คือ

8.1.1 ปัจจัยกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ (Control vs Treatmnet) โดยวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่

8.1.2 ปัจจัยระยะการให้ยาต้านจุลชีพ (Dosing) โดยวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่ก่อนให้ยา (before dosing) ระหว่างการใช้ยา (dosing) และหลังการให้ยา (after dosing)

8.2 อัตราการกำจัดเชื้อ VRE ในอุจจาระจากการป้อนยาทั้ง 3 ชนิด

อัตราการกำจัดเชื้อ VRE ในอุจจาระวิเคราะห์ได้จากการใช้สมการถดถอยแบบเส้นตรง (Kleinbaum, Kupper et al. 1988; Himathongkham, Nuanualsuwan et al. 2001) โดยตัวแปรอิสระ

คือ ระยะเวลาที่ใช้การการศึกษา ตัวแปรตาม คือ ระดับความเข้มข้นของ VRE ใน อุจจาระ(logarithmic scale) ดังนั้น ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรตามในสมการถดถอยแบบเส้นตรง จะเป็นอัตราการกำจัดเชื้อ VRE

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการวิจัย

ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของเชื้อ VRE ในอุจจาระไก่กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ตลอด 3 ระยะการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 1-3 ตามลำดับ ซึ่งการวิเคราะห์ข้อมูลสามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. การวิเคราะห์ระดับความแตกต่างของความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่ แบ่งเป็น 2 ปัจจัย (ตารางที่ 2) วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way Analysis of Variance: ANOVA)

1.1 ปัจจัยกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ (Control vs Treatmnet) โดยวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่ ผลการวิเคราะห์พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ป้อนยาต้านจุลชีพทั้ง 3 ชนิดที่ระดับร้อยละ 5 ($p = 0.0023$)

1.2 ปัจจัยระยะการให้ยาต้านจุลชีพ (Dosing) โดยวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่ก่อนให้ยา (before dosing) ระหว่างการใช้ยา (dosing) และหลังการให้ยา (after dosing) ผลการวิเคราะห์พบความแตกต่างอย่างมากระหว่างระยะการให้ยาต้านจุลชีพทั้ง 3 ช่วงที่ระดับร้อยละ 5 ($p = 0.0008$)

2. อัตราการกำจัดเชื้อ VRE ในอุจจาระจากการป้อนยาทั้ง 3 ชนิด

อัตราการกำจัดเชื้อ VRE ในอุจจาระวิเคราะห์ได้จากการใช้สมการถดถอยแบบเส้นตรง (Kleinbaum, Kupper et al. 1988; Himathongkham, Nuanualsuwan et al. 2001) โดยตัวแปรอิสระ คือ ระยะเวลาที่ใช้การการศึกษา ตัวแปรตาม คือ ระดับความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระ(logarithmic scale) ดังนั้น ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรตามในสมการถดถอยแบบเส้นตรงจะเป็นอัตราการกำจัดเชื้อ VRE ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 3-4

อัตราการกำจัดเชื้อ VRE ในกลุ่มควบคุม เป็น 1.11 เซล/กรัมอุจจาระ-วัน หมายความว่าเชื้อ VRE จะถูกขับออกทางอุจจาระไก่ที่ระดับความเข้มข้น 1.11 เซลต่ออุจจาระหนัก 1 กรัมต่อวัน (หรือ 111 เซลต่ออุจจาระ 100 กรัม) ในขณะที่อัตราการกำจัด VRE เนื่องจาก ผลของยาต้านจุลชีพที่ผสมให้ทางอาหาร คือ avilamycin, flavomycin และ erythromycin เท่ากับ 1.46, 1.58 และ 2.03 เซล/กรัมอุจจาระ-วัน ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการกำจัด VRE ในอุจจาระของไก่กลุ่มควบคุมและไก่กลุ่มทดสอบด้วยยา 3 ชนิด พบว่า กลุ่มที่ได้รับ avilamycin จะมีอัตราการกำจัด VRE ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p > 0.05$) ส่วนกลุ่มที่ได้รับ flavomycin และ erythromycin จะมีอัตราการกำจัด VRE สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($p < 0.05$ และ $p < 0.025$) ที่ระดับร้อยละ 5

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการกำจัด VRE ในอุจจาระของไก่กลุ่มทดสอบด้วยยา 3 ชนิด พบว่า อัตราการกำจัด VRE ในไก่ทั้ง 3 กลุ่มทดสอบที่ได้รับยา avilamycin flavomycin และ erythrotmycin ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ที่ระดับร้อยละ 5

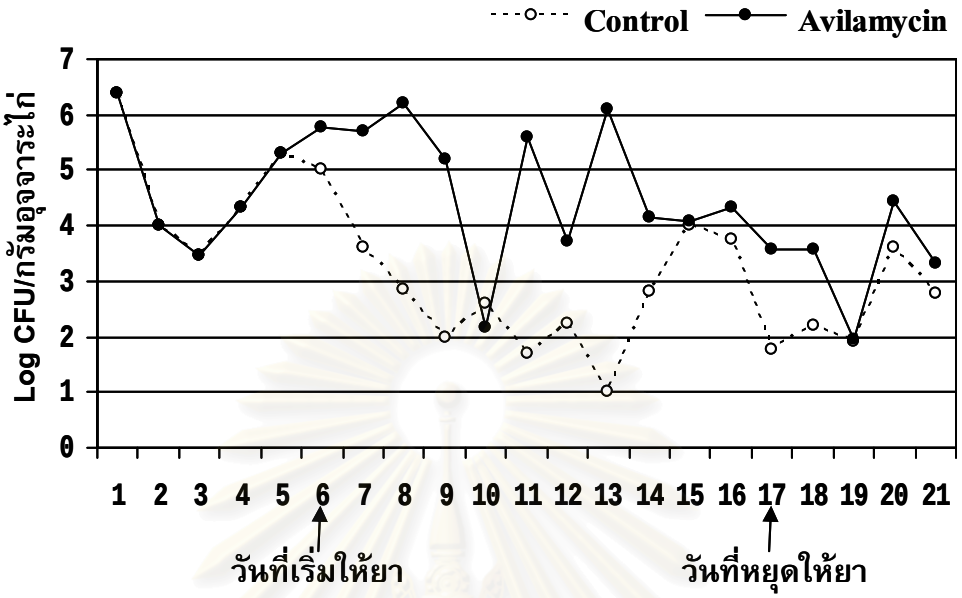
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับป้อนยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด

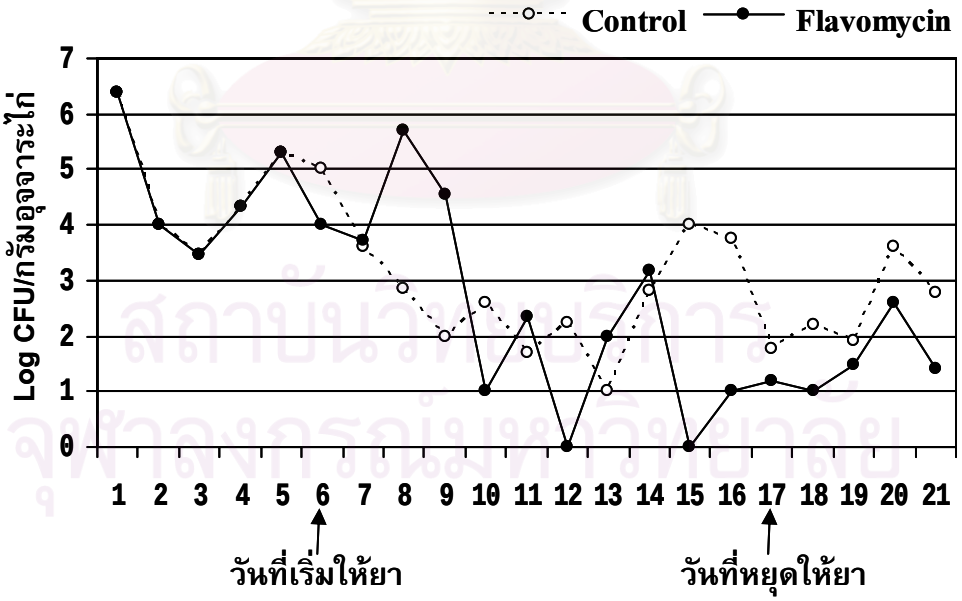
วันที่หรือช่วงเลี้ยง	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ VRE* (log CFU/ กรัมอุจจาระ)			
	กลุ่มควบคุม	avilamycin	flavomycin	erythromycin
ช่วงก่อนป้อนยา				
1	6.40	6.40	6.40	6.40
2	4.00	4.00	4.00	4.00
3	3.48	3.48	3.48	3.48
4	4.32	4.32	4.32	4.32
5	5.30	5.30	5.30	5.30
ช่วงป้อนยา				
*6	5.00	5.77	4.00	6.04
7	3.60	5.70	3.70	5.67
8	2.85	6.20	5.70	6.30
9	2.00	5.18	4.56	6.38
10	2.60	2.15	1.00	2.00
11	1.70	5.60	2.34	2.00
12	2.23	3.73	0.00	2.30
13	1.00	6.08	2.00	4.11
14	2.83	4.15	3.18	3.04
15	4.00	4.08	0.00	2.34
16	3.76	4.34	1.00	1.63
ช่วงหลังการให้ยา				
*17	1.78	3.56	1.18	1.88
18	2.20	3.57	1.00	2.18
19	1.90	1.95	1.48	1.00
20	3.62	4.43	2.60	2.54
21	2.78	3.32	1.40	1.48

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

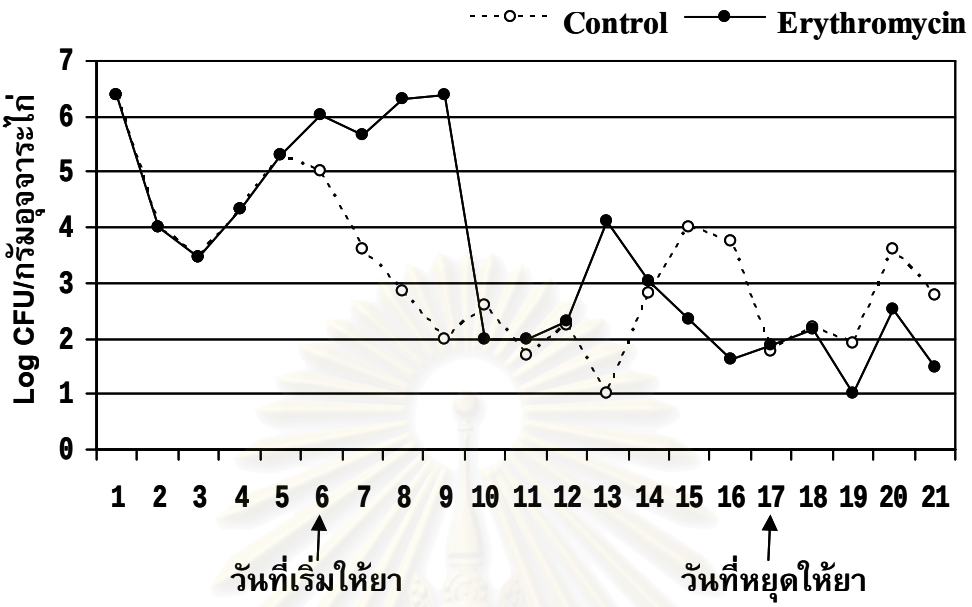
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 1 อัตราการกำจัด VRE ในอุจจาระไก่ที่กินอาหารผสมยา avilamycin ขนาด 10 ppm



ภาพที่ 2 อัตราการกำจัด VRE ในอุจจาระไก่ที่กินอาหารผสมยา flavomycin ขนาด 20 ppm



ภาพที่ 3 อัตราการกำจัด VRE ในอุจจาระไก่ที่ที่กินอาหารผสมยา erythromycin ขนาด 180 ppm

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 อัตราการกำจัด VRE จากทางเดินอาหารไก่ที่ได้รับการป้อนยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด

ยาต้านจุลชีพ	อัตราการกำจัด VRE[ก]	สัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r^2)	RMSE[ข]	p value[ค]
กลุ่มควบคุม	1.00[ง]	0.0000006	1.29	0.99
avilamycin	1.32	0.14	1.31	0.01
flavomycin	1.48	0.20	1.53	0.002
erythromycin	1.82	0.47	1.34	0.003

[ก] หน่วยเป็นเซล/กรัม-วัน

[ข] Root mean square error

[ค] H_0 : อัตราการกำจัด VRE $\beta_1 = 0$

[ง] อัตราการเพิ่ม VRE

ตารางที่ 4 อัตราการกำจัด VRE จากทางเดินอาหารไก่ที่ได้รับการป้อนยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด คำนวณจากค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่

ยาต้านจุลชีพ	อัตราการกำจัด VRE[ก]	สัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r^2)	RMSE[ข]	p value[ค]
กลุ่มควบคุม	1.11^{a}	0.04	1.05	0.45
avilamycin	$1.46^{a,b}$	0.35	1.09	0.01
flavomycin	1.58^{b}	0.46	1.08	0.004
erythromycin	2.03^{b}	0.61	1.21	0.0003

[ก] หน่วยเป็นเซล/กรัม-วัน และตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับร้อยละ 5

[ข] Root mean square error

[ค] H_0 : อัตราการกำจัด VRE $\beta_1 = 0$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การอภิปรายผล

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้น (linear relationship) ของระยะเวลาในการให้ยาต้านจุลชีพกับการเปลี่ยนแปลงระดับของ VRE ในอุจจาระไก่ หรือ เรียกว่า อัตราการกำจัด VRE ดังตารางที่ 3-4 โดยเปรียบเทียบระหว่างการใช้ข้อมูลดิบที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำและการใช้ข้อมูลที่ได้จากค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ แสดงให้เห็นว่า การหาอัตราการกำจัด VRE จากทางเดินอาหารไก่นั้น ควรวิเคราะห์จากค่าเฉลี่ยจากการทดลองจำนวน 3 ซ้ำเนื่องจาก ความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ได้จากการใช้ระดับความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่ซึ่งเป็นข้อมูลดิบ 45 ค่า จากการทดลอง 15 วัน เมื่อทำการทาบ (fit) กับข้อมูลดิบต้นฉบับแล้วได้ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (correlation coefficient : r^2) ต่ำกว่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ที่ได้จากความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ได้จากการใช้ระดับความเข้มข้นเฉลี่ยของ VRE ในอุจจาระไก่ 3 ซ้ำการทดลอง นอกจากนี้แล้ว root mean square error ที่ได้จากการหาความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ได้จากการใช้ระดับความเข้มข้นของ VRE ในอุจจาระไก่ซึ่งเป็นข้อมูลดิบมีค่าต่ำกว่า root mean square error ที่ได้จากความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ได้จากการใช้ระดับความเข้มข้นเฉลี่ยของ VRE ในอุจจาระไก่ 3 ซ้ำการทดลอง

ส่วนกลุ่มควบคุมเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลโดยอาศัยข้อมูลดิบแยก 3 ซ้ำการทดลองยังมีอัตราการเปลี่ยนแปลงของ VRE ในเชิงเพิ่มขึ้นด้วย ความชันของสมการถดถอยเชิงเส้นเป็นบวก หมายความว่า มีการขับ VRE ออกทางอุจจาระต่อวันมากขึ้น อย่างไรก็ตาม อัตราที่เพิ่มนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอัตรา VRE คงที่ในอุจจาระ หรือ $H_0 : \beta_1 = 0$ ($p = 0.99$) อย่างไรก็ตาม แม้จะวิเคราะห์อัตราการเปลี่ยนแปลง VRE โดยใช้ข้อมูลเฉลี่ยก็ยังได้ อัตราการเปลี่ยนแปลง VRE ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอัตราการเปลี่ยนแปลง VRE คงที่ หรือ $H_0 : \beta_1 = 0$ ($p = 0.45$) ซึ่งมีระดับความแตกต่างมีมากขึ้น เนื่องจาก ค่า p ลดลง ข้อสังเกตที่พึงพิจารณาเพิ่มเติม คือ อัตราการเปลี่ยนแปลงของ VRE เป็นลักษณะลดลง (ความชันของสมการถดถอยเชิงเส้นเป็นลบ) หมายความว่า มีการขับ VRE ออกทางอุจจาระต่อวันลดลง ซึ่งเป็นอัตราการเปลี่ยแปลงของ VRE ในกลุ่มควบคุมนี้มีลักษณะที่คล้ายคลึงกับอัตราการเปลี่ยนแปลงของ VRE ของไก่ในกลุ่มทดลองที่ได้รับยา ซึ่งผลที่ได้นี้เป็นผลที่ตรงข้ามกับที่คาดหวังไว้ เนื่องจาก ความเป็นไปได้ที่จะมีการดื้อข้ามกลุ่มจนทำให้มีการคัดเลือก VRE ที่ดื้อต่อยาชนิดใดชนิดหนึ่งที่ทำการศึกษา(Aarestrup 1999; Pavia, Nobile et al. 2000; Busani, Del Grosso et al. 2004) ทำให้ไก่กลุ่มทดลองมีการสะสม VRE ในระดับที่สูงกว่าและตามมาด้วยการกำจัด VRE ออกทางอุจจาระสูงกว่าไก่กลุ่มควบคุม

ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์นอกจากบอกระดับความเป็นตัวแทนของสมการเส้นตรงจากข้อมูลดิบที่ทำการวิเคราะห์แล้ว ยังบอกระดับความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระและตัวแปรตามในระดับหนึ่งด้วย เช่น ยิ่งค่าสัมประสิทธ์ความสัมพันธ์ใกล้ 1 หรือ -1 มากเท่าใด ก็จะมีความสัมพันธ์

กันมากขึ้น (แปรผันตรงหรือแปรผกผัน) เท่านั้น นอกจากค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์แล้ว การพิจารณาถึงความเหมาะสมที่จะใช้สมการเส้นตรง (linear model) เพื่อทำนายอัตราการกำจัด VRE ออกจากทางเดินอาหารนั้น สามารถพิจารณาได้จากค่า root mean square error ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความถูกต้องของค่าทำนายกับค่าที่ได้จากการศึกษาทดลองจริง จากตารางที่ 3-4 พบว่า ค่าสัมประสิทธ์ความสัมพันธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลเฉลี่ยมีระดับที่สูงกว่าค่าสัมประสิทธ์ความสัมพันธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลดิบ และค่า root mean square error ที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลเฉลี่ยมีระดับต่ำกว่าค่า root mean square error ที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลดิบ ดังนั้น จึงสามารถใช้สมการเส้นตรงที่ได้จากการวิเคราะห์ข้อมูลจากค่าเฉลี่ยความเข้มข้น VRE ในอุจจาระ 3 ซ้ำการทดลองในการทำนายอัตราการกำจัด VRE ได้เหมาะสม (Juneja and Eblen 2000)

จะสังเกตได้ว่า กลุ่มควบคุมมีอัตราการกำจัด VRE และ ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ต่ำที่สุด ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับ erythromycin มีอัตราการกำจัด VRE และ ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สูงที่สุด (ตารางที่ 2) ดังนั้น ปริมาณ VRE ที่มีอยู่ในทางเดินอาหารของกลุ่มควบคุมมีการเปลี่ยนแปลงต่ำมากโดยไม่ขึ้นกับปัจจัยด้านเวลาในการเลี้ยงหรือปัจจัยอื่น เช่น การป้อนยาต้านจุลชีพ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับยาต้านจุลชีพจะมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ในระดับต่างๆ แสดงว่า ยาที่ได้เข้าไปในทางเดินอาหารเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอัตราการกำจัด VRE ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ยาที่มีผลต่ออัตราการกำจัด VRE สูงสุด คือ erythromycin

แม้ว่าอัตราการกำจัด VRE ของกลุ่มที่ได้รับ avilamycin จะสูงกว่าอัตราการกำจัด VRE ของกลุ่มควบคุม แต่ว่าเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้ว กลับไม่พบความแตกต่าง ดังนั้น อาจจะถือได้ว่า avilamycin ไม่มีผลต่อการคงอยู่ของ VRE ในทางเดินอาหารไก่ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับ flavomycin และ erythromycin มีอัตราการกำจัด VRE สูงกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4) ดังนั้น อาจจะถือได้ว่า flavomycin และ erythromycin ทำให้ระดับ VRE ในทางเดินอาหารลดลง ดังนั้น จากการที่ทางกลุ่มประเทศยุโรปยังอนุญาตให้ใช้ได้ทั้ง avilamycin และ flavomycin ตามรายงาน EU Directives 70/524 หรือ Feed Additive Directive ปี 1970 และ 96/51/ECC ปี 1996 จึงไม่น่าจะเป็นปัญหาในเรื่องการเพิ่มจำนวนหรือการดื้อยาของ VRE

เมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการกำจัด VRE ในทางเดินอาหารของไก่ที่ได้รับยาทั้ง 3 ชนิด พบว่า อัตราการกำจัด VRE ในทางเดินอาหารของไก่ที่ได้รับยาทั้ง 3 ชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับร้อยละ 5 ($p > 0.05$) เป็นการชี้ให้เห็นว่า ในการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพ 3 ชนิดนี้ อาจจะไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงอัตราการกำจัด VRE เนื่องจาก มีอัตราการกำจัด VRE ที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้น สามารถพิจารณาปัจจัยหรือคุณสมบัติของยาในด้านต่างๆ ได้อย่างอิสระจากอัตราการกำจัด VRE

ความชุกของเชื้อ VRE ที่ตรวจพบในอุจจาระไก่เนื้อพบว่าสูงถึง 10.8 % ในปี พ.ศ. 2544 แต่ลดลงเหลือ 4.4 % และ 2.6 % ในปี พ.ศ. 2545 และ 2546 ตามลำดับ (สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์, ข้อมูลส่วนตัว) ซึ่งน่าจะมีสาเหตุจากการยกเลิกการใช้ Avoparcin ในอาหารสัตว์ตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2542 ทั้งนี้ การที่ยังตรวจพบเชื้อ VRE ในอุจจาระของสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารในปัจจุบันจึงอาจเนื่องมาจากการที่สัตว์ได้รับเชื้อที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมซึ่งอาจจะมีแหล่งของเชื้อจากชุมชนหรือโรงพยาบาล ดังนั้นข้อสังเกตุนี้น่าจะมีการศึกษาต่อไปในอนาคต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อสรุป

ยา avilamycin ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับ VRE ในทางเดินอาหาร ในขณะที่ flavomycin และ erythromycin ทำให้ VRE ในทางเดินอาหารไก่ลดจำนวนลง และไม่พบความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงของ VRE อันเนื่องมาจากยาทั้ง 3 ชนิดนี้ แม้ว่าผลการวิเคราะห์โดยรวมจะพบว่ายาต้านจุลชีพทั้ง 3 ชนิดทำให้ปริมาณ VRE ในทางเดินอาหารลดลงซึ่งตรงกันข้ามกับสมมุติฐานเดิมที่ตั้งไว้ แต่ผลการวิเคราะห์นี้กลับชี้นำว่าการใช้ยาต้านจุลชีพทั้ง 3 ชนิดนี้ ไม่ควรก่อให้เกิดปัญหาเรื่องการเพิ่มจำนวนและการดื้อยาของ VRE

ผลการวิจัยนี้เป็นการศึกษาแรกและทำให้มีข้อมูลซึ่งสามารถใช้ประกอบการพิจารณาเรื่องการใช้ยาต้านจุลชีพทั้ง 3 ชนิดว่าไม่ก่อปัญหาเรื่องการดื้อยาของ VRE เพิ่มมากขึ้นหรือทำให้เกิดสภาวะการขับเชื้อ VRE ออกมากับอุจจาระนานขึ้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

คณะกรรมการโครงการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ (2541). รายงานผลการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพ ประจำปี, ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ กระทรวงสาธารณสุข: 77.

Aarestrup, F. M. (1995). "Occurrence of glycopeptide resistance among Enterococcus faecium isolates from conventional and ecological poultry farms." Microb Drug Resist 1(3): 255-7.

Aarestrup, F. M. (1999). "Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals." Int J Antimicrob Agents 12(4): 279-85.

Aarestrup, F. M., L. Y. Agers, et al. (2000). "Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in staphylococci from poultry." Vet Microbiol 74(4): 353-64.

คณะรัตน์, ศ. ร. (2544). ปัญหาเชื้อดื้อยาในทางปศุสัตว์. กรุงเทพฯ, กองโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข: 367.

Bager, F., M. Madsen, et al. (1997). "Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant Enterococcus faecium on Danish poultry and pig farms." Prev Vet Med 31(1-2): 95-112.

Brown, J. W. and A. Grilli (1998). "An emerging superbug. Staphylococcus aureus becomes less susceptible to vancomycin." MLO Med Lab Obs 30(1): 26-32; quiz 34-5.

Busani, L., M. Del Grosso, et al. (2004). "Antimicrobial susceptibility of vancomycin-susceptible and -resistant enterococci isolated in Italy from raw meat products, farm animals, and human infections." Int J Food Microbiol 97(1): 17-22.

DANMAP (1999). "DANMAP 99 - Consumption of antimicrobial agents and occurance of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark." 52.

Graffunder, E. M. and R. A. Venezia (2002). "Risk factors associated with nosocomial methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infection including previous use of antimicrobials." J Antimicrob Chemother 49(6): 999-1005.

Health and consumer protection directorate general (2000). Opinion of the scientific committee on animal nutrition on avilamycin, European Commission: 9.

Himathongkham, S., S. Nuanualsuwan, et al. (1999). "Survival of Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium in chicken manure at different levels of water activity." FEMS Microbiol Lett 172(2): 159-63.

Himathongkham, S., S. Nuanualsuwan, et al. (2001). "Reduction of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella typhimurium in artificially contaminated alfalfa seeds and mung beans by fumigation with ammonia." J Food Prot 64(11): 1817-9.

Himathongkham, S., H. Riemann, et al. (2000). "Survival of Salmonella typhimurium and Escherichia coli O157:H7 in poultry manure and manure slurry at sublethal temperatures." Avian Dis 44(4): 853-60.

Hori, S. (2002). "[Hospital infection control measures for methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococci]." Nippon Rinsho 60(11): 2144-9.

Hori, S., R. Sunley, et al. (2002). "The Nottingham Staphylococcus aureus population study: prevalence of MRSA among the elderly in a university hospital." J Hosp Infect 50(1): 25-9.

Juneja, V. K. and B. S. Eblen (2000). "Heat inactivation of Salmonella typhimurium DT104 in beef as affected by fat content." Lett Appl Microbiol 30(6): 461-7.

Kleinbaum, D. G., L. L. Kupper, et al. (1988). Applied regression analysis and other multivariable methods. Boston, Ms., PWS-Kent Pub. Co.

Manson, J. M., S. Keis, et al. (2003). "A clonal lineage of VanA-type Enterococcus faecalis predominates in vancomycin-resistant Enterococci isolated in New Zealand." Antimicrob Agents Chemother 47(1): 204-10.

Noble, W. C., Z. Virani, et al. (1992). "Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from Enterococcus faecalis NCTC 12201 to Staphylococcus aureus." FEMS Microbiol Lett 72(2): 195-8.

Pantosti, A., M. Del Grosso, et al. (1999). "Decrease of vancomycin-resistant enterococci in poultry meat after avoparcin ban." Lancet 354(9180): 741-2.

Pavia, M., C. G. Nobile, et al. (2000). "Vancomycin resistance and antibiotic susceptibility of enterococci in raw meat." J Food Prot 63(7): 912-5.

Perl, T. M. and J. E. Golub (1998). "New approaches to reduce Staphylococcus aureus nosocomial infection rates: treating S. aureus nasal carriage." Ann Pharmacother 32(1): S7-16.

Srinivasan, A., J. D. Dick, et al. (2002). "Vancomycin resistance in staphylococci." Clin Microbiol Rev 15(3): 430-8.

Stobberingh, E., A. van den Bogaard, et al. (1999). "Enterococci with glycopeptide resistance in turkeys, turkey farmers, turkey slaughterers, and (sub)urban residents in the south of The Netherlands: evidence for transmission of vancomycin resistance from animals to humans?" Antimicrob Agents Chemother 43(9): 2215-21.

Sweden. Jordbruksdepartementet. (1997). Antimicrobial feed additives : report. Stockholm, Fritzes.

Thailand Broiler Processing Exporters Association (2003). Annual Report 2003. Bangkok.

Wegener, H. C., F. M. Aarestrup, et al. (1999). "Use of antimicrobial growth promoters in food animals and Enterococcus faecium resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe." Emerg Infect Dis 5(3): 329-35.

==========

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย