


ความสัมพันธ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงและอาการปัสสาวะเป็นเลือดของ  
สุนัขที่มีการติดเชื้อ เอสเซอริเชีย โคลิ ในระบบทางเดินปัสสาวะ



นาย ยงยุทธ พงษ์ประภาสิน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาอายุรศาสตร์สัตวแพทย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์  
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**THE CORRELATION BETWEEN UROVIRULENCE ASSOCIATED GENES AND  
HEMATURIA IN *Escherichia coli* INFECTED URINARY TRACT OF DOGS**



**Mr. Yongyut Pongprapachuen**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Veterinary Medicine**

**Department of Veterinary Medicine**

**Faculty of Veterinary Science**

**Chulalongkorn University**

**Academic Year 2007**

**Copyright of Chulalongkorn University**

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ความสัมพันธ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงและอาการปัสสาวะ  
เป็นเลือดของสุนัขที่มีการติดเชื้อ เฮลเชอริเชีย โคลิ ในระบบทางเดิน  
ปัสสาวะ

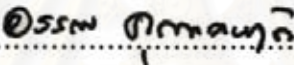
โดย นาย ยงยุทธ พงษ์ประภาสิน

สาขาวิชา อายุรศาสตร์สัตวแพทย์


อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. รสมา ภูสุนทรธรรม

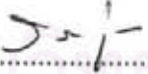
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ชาญณรงค์ รอดคำ

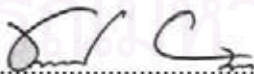
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

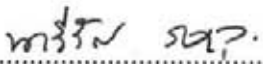
  
.....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อรรถนพ คุณาวงษ์กุด)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
.....ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง รัตนาภรณ์ พรหมาสา)

  
.....อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. รสมา ภูสุนทรธรรม)

  
.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ชาญณรงค์ รอดคำ)

  
.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. นาเรรัตน์ วิเศษกุล)

ยงยุทธ พงษ์ประภาสิน : ความสัมพันธ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงและอาการปัสสาวะเป็นเลือดของสุนัขที่มีการติดเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไล ในระบบทางเดินปัสสาวะ. (THE CORRELATION BETWEEN UROVIRULENCE ASSOCIATED GENES AND HEMATURIA IN *Escherichia coli* INFECTED URINARY TRACT OF DOGS) อ. ที่ปรึกษา: รศ.สพ.ญ.ดร. รสมา ภูสุนทรธรรม, อ. ที่ปรึกษาร่วม : อ.น.สพ.ดร. ชาญณรงค์ รอดคำ, 81 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์คือ ศึกษาหาชนิดของยีนที่อาจเกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ uropathogenic *Escherichia coli* (uropathogenic *E. coli*, UPEC) และความสัมพันธ์ของยีนดังกล่าวกับอาการปัสสาวะเป็นเลือด หาความชุกของการติดเชื้อ UPEC และหาความไวรับต่อยาต้านจุลชีพของ UPEC ในสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ทำการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากสุนัขที่เข้ารับการรักษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวนทั้งสิ้น 105 ตัว ทำการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ เพาะเชื้อปัสสาวะ ทำการหาชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส แบบมัลติเพล็กซ์ และทำการทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพโดยวิธี agar dilution ผลการศึกษาพบว่าสุนัขเพศเมียที่ได้รับการทำหมันมีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมากที่สุด สุนัขป่วยจะแสดงอาการผิดปกติคือปัสสาวะเป็นเลือด สุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมีค่าเฉลี่ยของความถี่จำเพาะ กลูโคส เลือด และระดับเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะสูงกว่าสุนัขที่ไม่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อทำการเพาะเชื้อปัสสาวะพบ UPEC 21 ไอโซเลท ทุกไอโซเลทมียีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะอย่างน้อย 1 ชนิด และพบว่ายีน *aer* มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อทำการทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพ โดยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ พบว่า UPEC มีความไวต่อ amikacin (ร้อยละ 100) และ ceftriazone (ร้อยละ 42.9) ตามลำดับ และดื้อต่อ amoxicillin และ ampicillin มากที่สุดคือ ร้อยละ 100 อันดับถัดมาได้แก่ trimethoprim/sulphamethoxazole (ร้อยละ 81), doxycycline (ร้อยละ 76.2), enrofloxacin (ร้อยละ 71.4), cephalosporin (ร้อยละ 66.7), norfloxacin (ร้อยละ 61.9) และ gentamicin (ร้อยละ 52.4) ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า UPEC เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ โดยยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ เช่น ยีน *aer*, *cnf*, *pap* และ *sfa* บ่งบอกการแสดงออกของ pathogenicity islands (PAIs) และอาจมีส่วนเพิ่มความรุนแรงของการติดเชื้อ UPEC

ภาควิชาอายุรศาสตร์

สาขาวิชาอายุรศาสตร์สัตวแพทย์

ปีการศึกษา 2550

ลายมือชื่อนิสิต..... *อนุช งามประภังค์* .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *รสมา ภูสุนทรธรรม* .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *ชาญณรงค์ รอดคำ* .....



## 4875579331 : MAJOR VETERINARY MEDICINE

KEYWORD : CANINE/ *Escherichia coli*/ HEMATURIA/ URINARY TRACT INFECTION/  
UROVIRULENCE GENES

YONGYUT PONGPRAPACHUEN : THE CORRELATION BETWEEN  
UROVIRULENCE ASSOCIATED GENES AND HEMATURIA IN *Escherichia coli*  
INFECTED URINARY TRACT OF DOGS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF.  
ROSAMA PUSOONTHORNTHUM, Ph.D., THESIS COADVISOR : CHANNARONG  
RODKHUM, Ph.D., 81 pp.

The objectives of this study were to determine the existence of urovirulence associated genes of uropathogenic *Escherichia coli* (uropathogenic *E. coli*, UPEC) and determine its association with hematuria, to study the prevalence of UPEC infection and to identify the antimicrobial susceptibility in canine urinary tract infections. Urine samples were collected via cystocentesis or urethral catheterization from 105 dogs with urinary tract infections presented to Small Animal Hospital, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University. The samples were subjected to urinalysis, urine culture, determination of the urovirulence associated gene by the multiplex polymerase chain reaction (multiplex PCR) and antimicrobial susceptibility testing (agar dilution technique). The results revealed that spay females dogs with hematuria had highest prevalence to have *E. coli* urinary tract infection. Dogs who suffered from *E. coli* infection had significantly higher levels of means urine specific gravity, glucose, blood's levels and white blood cell in urine than uninfected groups ( $p < 0.05$ ). Twenty-one isolates of UPEC were obtained and at least one urovirulence associated gene was found in each isolate. The *aer* gene found in UPEC isolates had the significant correlation with *E. coli* urinary tract infection in dogs ( $p < 0.05$ ). The antimicrobial susceptibility reveals that UPEC was susceptible to amikacin (100%) and ceftriazone (42.9%) and resisted to amoxicillin and ampicillin (100%), trimethoprim/sulphamethoxazole (81%), doxycycline (76.2%), enrofloxacin (71.4%), cephalosporin (66.7%), norfloxacin (61.9%) and gentamicin (52.4%). These results indicated that UPEC was the most common in canine urinary tract infection. The particular urovirulence associated genes (*aer*, *cnf*, *pap* and *sfa*) appear frequently in combination with canine UTI *E. coli* strains. The simultaneous presence of these genes points to the presence of pathogenicity islands (PAIs) that may play an important role in enhancement of the virulence of UPEC.

Department: Veterinary Medicine

Field of study: Veterinary Medicine

Academic year: 2007

Student's signature..... *Yongyut Pongprapachuen*.....

Advisor's signature..... *Rosam Pusoonthornthum*.....

Co-advisor's signature..... *Channarong Rodkhum*.....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้คงจะสำเร็จลุล่วงไม่ได้ หากไม่ได้รับความเมตตา ช่วยเหลือ และสละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา ถ่ายทอดความรู้ในด้านต่างๆ ของงานวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ จาก รศ.สพ.ญ.ดร. รสมา ภูสุนทรธรรม อาจารย์ที่ปรึกษา และอ.น.สพ.ดร. ชาญณรงค์ รอดคำ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม กราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

กราบขอบพระคุณประธานกรรมการ รศ.สพ.ญ. รัตนาภรณ์ พรหมาสา กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ รศ.สพ.ญ. อินทิรา กระหม่อมทอง และผศ.สพ.ญ.ดร. นารีรัตน์ วิเศษกุล ที่กรุณาให้คำปรึกษาและสละเวลาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผศ.น.สพ.ดร. ณัฐวีร์ ประภัสสะกุล ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ถ่ายทอดความรู้ อนุเคราะห์อุปกรณ์และสารเคมี รวมถึงสถานที่ในการทำวิจัยทางอณูชีววิทยา

ขอขอบคุณ งานบริการการศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และหน่วยส่งเสริมและพัฒนาทางวิชาการ งานบริการการศึกษบัณฑิตศึกษา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต

ขอขอบคุณสัตวแพทย์และบุคลากรโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน โดยเฉพาะหน่วยอายุกรรม คลินิกพิเศษเฉพาะทาง และหน่วยศัลยกรรม ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และบุคลากรภาควิชาอายุรศาสตร์ และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกตลอดงานวิจัย

สุดท้ายนี้ กราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และขอขอบคุณสมาชิกในครอบครัวและเพื่อนๆ ทุกคนที่เป็นกำลังใจที่สำคัญให้การสนับสนุน และช่วยเหลือทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สารบัญ

|   | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย.....  | ง    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....   | จ    |
| กิตติกรรมประกาศ.....  | ฉ    |
| สารบัญ.....   | ช    |
| สารบัญตาราง.....  | ฌ    |
| สารบัญรูป.....  | ฎ    |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....  | ฏ    |
| บทที่   |      |
| 1 บทนำ.....   | 1    |
| 1.1 แนวเหตุผล หรือทฤษฎีที่สำคัญ.....  | 1    |
| 1.2 สมมติฐานของการวิจัย.....  | 3    |
| 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....  | 3    |
| 1.4 คำสำคัญ.....  | 3    |
| 1.5 คำถามสำหรับการวิจัย.....  | 3    |
| 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....  | 3    |
| 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....   | 4    |
| 2.1 การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ.....  | 4    |
| 2.1.1 พยาธิกำเนิด.....  | 5    |
| 2.1.2 ระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติของร่างกาย.....   | 6    |
| 2.1.3 ปัจจัยจากจุลชีพ.....  | 8    |
| 2.1.4 อาการทางคลินิก.....   | 13   |
| 2.1.5 การตรวจวินิจฉัย.....  | 17   |
| 2.1.6 การรักษา.....   | 20   |
| 2.2 การตรวจหาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ<br>uropathogenic <i>E. coli</i> (UPEC)..... | 21   |
| 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....   | 24   |
| 3.1 นิยามสัตว์ป่วย.....   | 24   |
| 3.2 การคัดเลือกตัวควบคุม.....   | 24   |

| บทที่   | หน้า |
|---|------|
| 3.3 การเก็บตัวอย่าง.....  | 24   |
| 3.4 การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ.....  | 25   |
| 3.5 จรรยาบรรณการใช้ส้วมทดลอง.....   | 25   |
| 3.6 การนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด.....  | 25   |
| 3.7 การหาพื้นที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะโดยปฏิกิริยาลูกโซ่<br>โพลีเมอร์เรส แบบมัลติเพล็กซ์..... | 26   |
| 3.8 การทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพ.....   | 29   |
| 3.9 การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์สถิติ.....  | 33   |
| 4 ผลการทดลอง.....   | 34   |
| 4.1 การติดเชื้อ <i>E. coli</i> ในทางเดินปัสสาวะ.....  | 34   |
| 4.2 ชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ<br><i>uropathogenic E. coli</i> (UPEC).....        | 38   |
| 4.3 การทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพ.....   | 42   |
| 5 สรุปผลการวิจัย อภิปราย และข้อเสนอแนะ.....   | 46   |
| รายการอ้างอิง.....  | 53   |
| ภาคผนวก.....  | 60   |
| ภาคผนวก ก ข้อมูลสัตว์ป่วย.....  | 61   |
| ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....   | 73   |
| ภาคผนวก ค ตารางการแปรผลค่าความไวรับของเชื้อมาตรฐาน.....   | 74   |
| ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....   | 81   |



## สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า  |    |
|----------|---|----|
| 1        | ชนิดของเชื้อประจำถิ่นที่พบบริเวณทางเดินปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์ (urogenital tract) ในสุนัขเพศผู้และเพศเมีย.....  | 4  |
| 2        | ความผิดปกติที่ช่วยในการระบุตำแหน่งของการติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ.....   | 14 |
| 3        | สาเหตุของการปัสสาวะเป็นเลือดตามตำแหน่ง.....   | 16 |
| 4        | การแปลผลการเพาะเชื้อปัสสาวะเชิงปริมาณในสุนัข จำแนกตามวิธีการเก็บปัสสาวะ.....  | 19 |
| 5        | ชนิดของยาต้านจุลชีพ และชนิดของแบคทีเรียที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ.....   | 21 |
| 6        | ชนิด ลำดับเบส และขนาดของ amplicons ซึ่งจำเพาะต่อปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ UPEC.....  | 28 |
| 7        | ขั้นตอนการเจือจางยาต้านจุลชีพที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ.....   | 31 |
| 8        | ขั้นตอนการเจือจางยา trimethoprim/sulfamethoxazole (1:19).....   | 32 |
| 9        | ค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) ชนิดและจำนวนไอโซเลทของจุลชีพแยกตามเพศ.....  | 35 |
| 10       | ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะของสุนัข.....  | 36 |
| 11       | ค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) และอาการทางคลินิก แยกตามการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ.....  | 37 |
| 12       | ค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) , ชนิดและความถี่ของยีนชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ <i>E. coli</i> ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะและจากอุจจาระของสุนัขปกติ..... | 40 |
| 13       | ค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) และจำนวนยีนที่ตรวจพบต่อไอโซเลทของ <i>E. coli</i> ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะและจากอุจจาระของสุนัขปกติ.....  | 40 |
| 14       | ค่าเฉลี่ยของระดับเลือด ระดับเม็ดเลือดแดงในปัสสาวะและลักษณะจีโนไทป์ที่ตรวจพบในสุนัขที่มีการติดเชื้อ <i>E. coli</i> ในทางเดินปัสสาวะ.....   | 41 |
| 15       | จำนวนลักษณะจีโนไทป์ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ แยกตามอาการทางคลินิก.....  | 41 |

| ตารางที่  | หน้า |
|---|------|
| 16 ผลการทดสอบความไวรับของ UPEC ต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิด.....   | 42   |
| 17 ค่าความไวรับของ UPEC ต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิด.....  | 45   |
| 18 อายุ เพศ พันธุ์และชนิดของจุลชีพที่แยกจากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ.....  | 62   |
| 19 อาการทางคลินิกของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ.....  | 65   |
| 20 ค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) และจำนวนสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ แยกตามคุณลักษณะและเพศ.....                      | 66   |
| 21 ค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) และชนิดของนิวที่แยกได้จากสุนัขที่มีนิวในทางเดินปัสสาวะ แยกตามการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ..... | 70   |
| 22 ความแตกต่างของอายุเฉลี่ยของสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ แยกตามเพศ.....   | 70   |
| 23 การกระจายของสายพันธุ์แบคทีเรียที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ แยกตามอายุ.....  | 71   |
| 24 จำนวนยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของ UPEC และผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ.....   | 72   |
| 25 ค่า MIC ของเชื้อมาตรฐานต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิดที่ทำการศึกษา.....   | 75   |

## สารบัญรูป

| รูปที่  | หน้า |
|---|------|
| 1 ภาพปกติของเยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ.....  | 7    |
| 2 พยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ UPEC จำแนกตามส่วนต่างๆ ของทางเดินปัสสาวะ.....   | 10   |
| 3 พยาธิสรีรวิทยาของการติดเชื้อ UPEC ภายในเยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ.....   | 12   |
| 4 ขั้นตอนการหาชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ <i>E. coli</i> .....   | 27   |
| 5 จำนวนสุนัข (ร้อยละ) ที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ แยกตามเพศ.....  | 34   |
| 6 ชนิดและจำนวนไอโซเลท (ร้อยละ) ของจุลชีพที่ทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ.....   | 35   |
| 7 การวิเคราะห์ผลผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาลูกโซ่จากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสแบบมัลติเพลกซ์ด้วย gel electrophoresis.....   | 39   |
| 8 เปรียบเทียบค่า MIC <sub>50</sub> และ MIC <sub>90</sub> ของเชื้อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลทต่อยาด้านจุลชีพ 10 ชนิด..... | 43   |
| 9 การกระจายตัวของค่า MIC ของ UPEC ต่อยาด้านจุลชีพ 9 ชนิด.....   | 44   |
| 10 สาเหตุใ้มนำในสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ.....   | 69   |
| 11 ค่า MIC ของยาด้านจุลชีพ amikacin และ gentamicin ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลท.....                                   | 76   |
| 12 ค่า MIC ของยาด้านจุลชีพ amoxicillin และ ampicillin ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลท.....                                | 77   |
| 13 ค่า MIC ของยาด้านจุลชีพ cefazolin และ ceftriazone ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลท.....                                 | 78   |
| 14 ค่า MIC ของยาด้านจุลชีพ doxycycline และ trimethoprim/sulfamethoxazole ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลท.....             | 79   |
| 15 ค่า MIC ของยาด้านจุลชีพ enrofloxacin และ norfloxacin ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลท.....                              | 80   |

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| มคก.                                | ไมโครกรัม  |
| มคล.                                | ไมโครลิตร  |
| มล.                                 | มิลลิลิตร  |
| ATCC                                | American type culture collection                   |
| GAGs                                | Glycosaminoglycans                                 |
| hpf                                 | High power field                                   |
| Ig                                  | Immunoglobulin                                     |
| IL                                  | Interleukin  |
| PAF                                 | Prostatic antibacterial fraction                   |
| PAIs                                | Pathogenicity islands                              |
| PMNS                                | Polymorphonuclear cells                            |
| THP                                 | Tamm-Horsfall protein                              |
| VUR                                 | Vesicourethral reflux                              |
| <i>aer</i>                          | Aerobactin   |
| <i>afa</i>                          | Afimbrial adhesin I                                |
| <i>cnfI</i>                         | Cytotoxic necrotizing factor I                     |
| <i>hly</i>                          | Hemolysin  |
| <i>pap</i>                          | Pilus associated with pyelonephritis               |
| <i>pil</i>                          | pili   |
| <i>sfa</i>                          | S fimbriae   |
| <i>E. cloaca</i>                    | <i>Enterobacter cloaca</i>                         |
| <i>E. coli</i>                      | <i>Escherichia coli</i>                            |
| <i>E. faecium</i>                   | <i>Enterococcus faecium</i>                        |
| ExPEC                               | Extraintestinal pathogenic <i>Escherichia coli</i> |
| <i>K. pneumoniae</i>                | <i>Klebsiella pneumoniae</i>                       |
| <i>P. mirabilis</i>                 | <i>Proteus mirabilis</i>                           |
| <i>Ps. aeruginosa</i>               | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                      |
| <i>S. aureus</i>                    | <i>Staphylococcus aureus</i>                       |
| <i>S. canis</i>                     | <i>Streptococcus canis</i>                         |
| Uropathogenic <i>E. coli</i> (UPEC) | Uropathogenic <i>Escherichia coli</i>              |



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 แนวเหตุผล หรือทฤษฎีที่สำคัญ

การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะเป็นปัญหาโรคติดเชื้อที่พบได้บ่อยในสุนัขและแมว สุนัขปกติร้อยละ 14 มีโอกาสติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ (Ling, 1984) และประมาณร้อยละ 5-10 ของสุนัขป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลสัตว์ อาจมีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะร่วมด้วย แตกต่างจากแมวที่มีความผิดปกติของทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง ซึ่งมีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรียเพียงร้อยละ 1-3 ของแมวป่วยทั้งหมด (Bartges, 2005)

การติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะเป็นสาเหตุให้เกิดปัญหาข้างเคียงอื่นๆ เช่น ต่อมลูกหมากอักเสบ ความไม่สมบูรณ์พันธุ์ การเกิดนิ่วชนิดแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต การทำงานของทางเดินปัสสาวะส่วนล่างเสื่อม เช่น ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะกระปริดกระปรอย การเสียหายของท่อปัสสาวะ การทำงานของไตเสื่อมลง กรวยไตอักเสบ ภาวะไตวาย และการติดเชื้อในกระแสเลือด โดยเฉพาะสัตว์ป่วยที่มีปัญหาการอุดตันของทางเดินปัสสาวะร่วมด้วย (Osborne, 1995)

ในสุนัขและแมวพบว่า *Escherichia coli* (*E. coli*) เป็นแบคทีเรียสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมากที่สุดเช่นเดียวกับในมนุษย์ นอกจากนี้อาจพบการติดเชื้ออื่นๆ เช่น *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp. และ *Enterobacter* spp. ในปัสสาวะของสุนัขที่ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (Ihrke et al., 1985; Ling et al., 2001; Seguin et al., 2003) และยังพบว่าประมาณร้อยละ 18-25 ของสุนัขที่ติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ มักเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียมากกว่าหนึ่งชนิด (Ling, 1984; Norris et al., 2000)

สำหรับการศึกษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในประเทศไทยนั้น นิยดาและคณะ (2539) รายงานการพบแบคทีเรียในปัสสาวะของสุนัขและแมวที่มีความผิดปกติของทางเดินปัสสาวะโดยตรวจพบ *E. coli* มากที่สุดรองลงมาได้แก่ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Proteus* spp., *Streptococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp. และ *Enterobacter* spp. เป็นต้น จากการศึกษาย้อนหลังจากผลการเพาะเชื้อของหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี พ.ศ. 2547 พบว่าแบคทีเรีย 4 ชนิดที่พบได้บ่อยในสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ โดยเรียงตามลำดับความสำคัญ คือ *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp. และ *Proteus* spp. ตามลำดับ (หน่วยชันสูตรโรคสัตว์, ข้อมูลติดต่อส่วนตัว) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า (นิยดาและคณะ, 2539; Ihrke et al., 1985; Ling et al., 2001; Seguin et al., 2003)

เชื้อ *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ และสิ่งแวดล้อม พยาธิกำเนิดของการเกิดโรคส่วนใหญ่เป็นผลจากการลดลงของภูมิคุ้มกันของโฮสต์หรือปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของแบคทีเรีย ความรุนแรงของการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความไวรับของโฮสต์ หรือความรุนแรงของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุ (Bartges, 2005) บทบาทของปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ (urovirulence factors) ของ *E. coli* ที่ก่อโรคทางเดินปัสสาวะ (uropathogenic *E. coli*, UPEC) จึงเป็นที่สนใจของนักวิจัยทางการแพทย์ ด้านความผิดปกติของระบบทางเดินปัสสาวะในปัจจุบัน

เนื่องจากสุนัขและแมวเป็นสัตว์ที่เลี้ยงไว้เป็นเพื่อน อาจมีการถ่ายทอดเชื้อแบคทีเรียสู่มนุษย์ ทำให้มีผู้สนใจทำการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะในปัสสาวะและอุจจาระของสุนัขเปรียบเทียบกับปัสสาวะของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะพบว่า ลำดับของ *papG* จากอุจจาระของสุนัขและปัสสาวะของมนุษย์มีความคล้ายคลึงกันสูง ทำให้เชื่อว่าอุจจาระของสุนัขเป็นแหล่งรังโรคของ extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) (Johnson et al., 2000a) Johnson และคณะ (2001) พบความคล้ายคลึงของ phylogenetic และ pathotype ของ *E. coli* ที่แยกจากปัสสาวะของสุนัขและการติดเชื้อ *E. coli* นอกลำไส้ของมนุษย์ เช่น เยื่อหุ้มสมองอักเสบ กรวยไตอักเสบ กระเพาะปัสสาวะอักเสบ ซึ่งเมื่อทำการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะในปัสสาวะและอุจจาระของสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะและพบการแสดงออกของยีน *pap* (P fimbriae), *papG* allele III, *sfaS* (S fimbriae), *hly* (hemolysin), *fyuA* (yersiniabactin), *iroN* (siderophore) และ *ompT* (outer membrane protease T) คล้ายกับในมนุษย์ ทำให้เชื่อว่าพยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะของสุนัขและมนุษย์คล้ายกัน (Johnson et al., 2003) ดังนั้นอาจใช้สุนัขเป็นตัวแทนศึกษาพยาธิกำเนิด วิธีป้องกัน และหลีกเลี่ยงการดื้อยาต้านจุลชีพของ *E. coli* ที่เป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในมนุษย์ได้ (Johnson et al., 2001; Johnson et al., 2003)

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่า รายงานการศึกษาค้นคว้าที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะของสุนัขในประเทศไทยมีข้อมูลจำกัดในหลายด้าน มิได้ศึกษาถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ ชนิด ความไวรับ และระดับความเข้มข้นของยาด้านจุลชีพที่สามารถทำลายหรือยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ ซึ่งหากมีการใช้ยาด้านจุลชีพอย่างไม่เหมาะสมอาจก่อให้เกิดการดื้อยาของจุลชีพได้ จึงเป็นมูลเหตุจูงใจให้ผู้วิจัยสนใจศึกษาตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* โดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาและความชุกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของ *E. coli* ที่สัมพันธ์กับอาการทางคลินิก คือ อาการปัสสาวะเป็นเลือดและความไวรับของแบคทีเรียต่อยาด้านจุลชีพโดยศึกษาระดับของยาด้านจุลชีพที่เหมาะสมในการรักษาการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะของสุนัข

## 1.2 สมมติฐานของการวิจัย

ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมีความสัมพันธ์ (โดยตรงหรือโดยอ้อม) กับอาการปัสสาวะเป็นเลือด

## 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาหาชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสแบบมัลติเพลกซ์
2. ศึกษาหาความสัมพันธ์ของชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* ที่ก่อโรคทางเดินปัสสาวะกับอาการปัสสาวะเป็นเลือด
3. ศึกษาหาความไวรับต่อยาต้านจุลชีพของ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ

## 1.4 คำสำคัญ

(ไทย) สุนัข, เอสเชอริเชีย โคลิ, ปัสสาวะเป็นเลือด, การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ, ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ

(อังกฤษ) Canine, *Escherichia coli*, hematuria, urinary tract infection, urovirulence genes

## 1.5 คำถามสำหรับการวิจัย

1. เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมียีนชนิดใดบ้างที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะและแตกต่างจาก *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขปกติหรือไม่
2. เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมียีนชนิดใดบ้างที่มีความสัมพันธ์กับอาการปัสสาวะเป็นเลือด
3. ความไวรับต่อยาต้านจุลชีพของ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะเป็นแบบใด

## 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ
2. ทราบความสัมพันธ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ กับอาการปัสสาวะเป็นเลือด
3. ทราบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพของ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ

การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ หมายถึง การที่จุลชีพผ่านเข้าระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติของร่างกาย มีการยืดเกาะ เพิ่มจำนวน และคงอยู่ในส่วนของทางเดินปัสสาวะ (Bartges, 2005) จุลชีพเหล่านี้มักเป็นแบคทีเรีย และรอกลงมาได้แก่ เชื้อราและไวรัส เช่น *Aspergillus* spp., *Candida* spp. (Ling et al., 2001; Pressler et al., 2003)

ในสภาวะปกติระบบทางเดินปัสสาวะ เช่น ไต ท่อไต กระเพาะปัสสาวะ และต่อมลูกหมาก รวมถึงท่อปัสสาวะส่วนต้นเป็นบริเวณปลอดเชื้อ แม้ว่าท่อปัสสาวะส่วนปลาย ปากช่องคลอดหรือหิ้งหุ้มลึงค์จะเป็นบริเวณที่มีเชื้อประจำถิ่น (ตารางที่ 1)

**ตารางที่ 1** ชนิดของเชื้อประจำถิ่นที่พบบริเวณทางเดินปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์ (urogenital tract) ในสุนัขเพศผู้และเพศเมีย

| สกุล                        | เพศผู้             |               | เพศเมีย     |
|-----------------------------|--------------------|---------------|-------------|
|                             | ท่อปัสสาวะส่วนปลาย | หิ้งหุ้มลึงค์ | ปากช่องคลอด |
| <i>Acinetobacter</i> spp.   |                    | +             | +           |
| <i>Bacillus</i> spp.        |                    | +             | +           |
| <i>Bacteroides</i> spp.     |                    | +             | +           |
| <i>Citrobacter</i> spp.     |                    |               | +           |
| <i>Corynebacterium</i> spp. | +                  | +             | +           |
| <i>Enterobacter</i> spp.    |                    |               | +           |
| <i>Enterococcus</i> spp.    |                    |               | +           |
| <i>Escherichia</i> spp.     | +                  | +             | +           |
| <i>Flavobacterium</i> spp.  | +                  | +             | +           |
| <i>Haemophilus</i> spp.     | +                  | +             | +           |
| <i>Klebsiella</i> spp.      | +                  | +             | +           |
| <i>Lactobacillus</i> spp.   |                    |               | +           |
| <i>Micrococcus</i> spp.     |                    |               | +           |
| <i>Moraxella</i> spp.       |                    | +             | +           |



ตารางที่ 1 (ต่อ)

| สกุล                       | เพศผู้             |              | เพศเมีย     |
|----------------------------|--------------------|--------------|-------------|
|                            | ท่อปัสสาวะส่วนปลาย | หนังหุ้มลิ้น | ปากช่องคลอด |
| <i>Mycoplasma</i> spp.     | +                  | +            | +           |
| <i>Neisseria</i> spp.      |                    |              | +           |
| <i>Pasteurella</i> spp.    |                    | +            | +           |
| <i>Proteus</i> spp.        |                    | +            | +           |
| <i>Pseudomonas</i> spp.    |                    | +            | +           |
| <i>Staphylococcus</i> spp. | +                  | +            | +           |
| <i>Streptococcus</i> spp.  | +                  | +            | +           |
| <i>Ureaplasma</i> spp.     | +                  | +            | +           |

ที่มา: Dunning and Stonehewer (2002)

การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะอาจอยู่บริเวณใดบริเวณหนึ่งของระบบทางเดินปัสสาวะ เช่น ไต ท่อไต กระเพาะปัสสาวะ ท่อปัสสาวะ ต่อมลูกหมากและปากช่องคลอด หรืออาจมีการติดเชื้อมากกว่าหนึ่งบริเวณ เนื่องจากการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมักมีการติดเชื้อมากกว่าหนึ่งบริเวณ จึงอาจแบ่งการติดเชื้อตามลักษณะทางกายวิภาคเป็น การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะส่วนต้น (ไตและท่อไต) และการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง (กระเพาะปัสสาวะ ท่อปัสสาวะ ต่อมลูกหมากหรือปากช่องคลอด) (Dunning and Stonehewer, 2002; Bartges, 2005)

### 2.1.1 พยาธิกำเนิด

พยาธิกำเนิดของการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมักจะเป็นผลจากการลดลงของภูมิคุ้มกันของโฮสต์หรือปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของแบคทีเรีย แม้ว่า การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะสามารถทำการรักษาโดยใช้ยาต้านจุลชีพ อย่างไรก็ตามสถานะของระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติของร่างกายมีความสำคัญในการพัฒนา การรักษา และการป้องกันการติดเชื้อของจุลชีพ ในทางตรงกันข้ามความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติอาจเป็นปัจจัยโน้มนำที่สำคัญของการเกิดการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (Bartges, 2005)

### 2.1.2 ระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติของร่างกาย

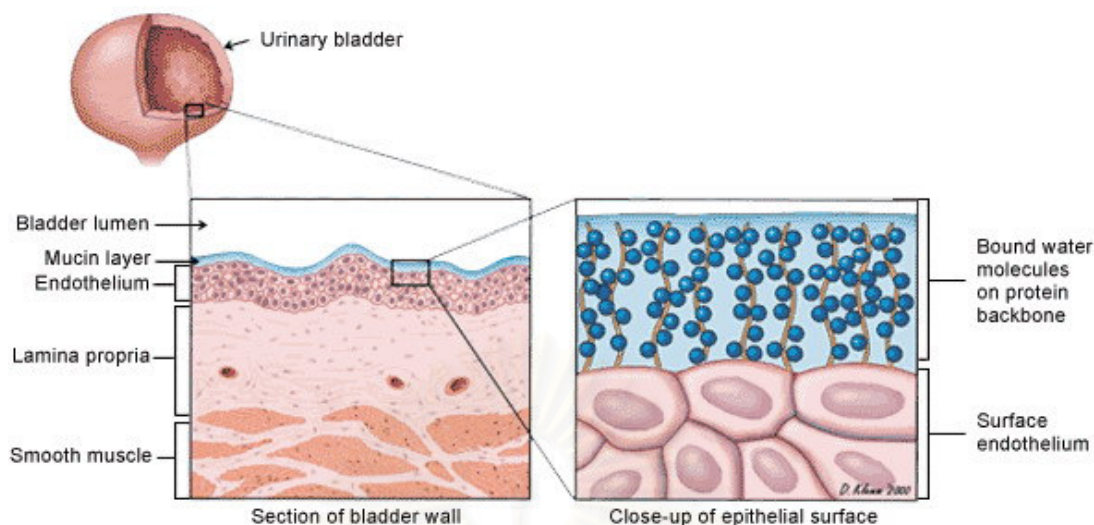
การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะโดยมากเป็นผลจากการติดเชื้อขึ้นด้านบน (ascending infection) ของจุลชีพก่อโรคจากทางเดินปัสสาวะส่วนล่างเข้าสู่บริเวณที่ปลอดภัย เชื้อประจำถิ่นที่พบบริเวณทางเดินปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์ส่วนปลายจะช่วยลดการติดเชื้อของจุลชีพก่อโรค ขณะเดียวกันอาจทำตัวเป็นจุลชีพก่อโรคเมื่อระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ลดลง ระบบภูมิคุ้มกันดังกล่าวประกอบด้วยหลายส่วนดังนี้

**2.1.2.1 ระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติของทางเดินปัสสาวะ** (โครงสร้างทางกายวิภาคของทางเดินปัสสาวะ) เช่น ความยาวของท่อปัสสาวะ บริเวณที่มีความดันสูงภายในท่อปัสสาวะ การบีบตัวของท่อปัสสาวะ ท่อไต และ vesicoureteral flap valves ป้องกันการไหลย้อนของปัสสาวะจากกระเพาะปัสสาวะเข้าท่อไต (vesicoureteral reflux, VUR) และป้องกันการติดเชื้อขึ้นด้านบนของจุลชีพ การไหลย้อนของปัสสาวะจากกระเพาะปัสสาวะเข้าท่อไต มักพบร่วมกับการเกิดกรวยไตอักเสบในรายติดเชื้อทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง โดยเฉพาะในสุนัขอายุน้อยซึ่งมีชั้นใต้เยื่อเมือกและเส้นผ่าศูนย์กลางของท่อไตแคบ อัตราส่วนของความยาวท่อไตต่อเส้นผ่าศูนย์กลางจะมากขึ้นตามอายุที่มากขึ้น เป็นการป้องกันการเกิดการไหลย้อนของปัสสาวะจากกระเพาะปัสสาวะเข้าท่อไต (Dunning and Stonehewer, 2002) สารคัดหลั่งจากต่อมลูกหมาก ที่เรียกว่า prostatic antibacterial fraction (PAF) ซึ่งมีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ

#### 2.1.2.2 การป้องกันการติดเชื้อของเยื่อบุทางเดินปัสสาวะ

ชั้น glycosaminoglycans (GAGs) (รูปที่ 1) เป็นชั้นที่พบบริเวณเยื่อบุทางเดินปัสสาวะจะสร้างพันธะเคมีกับโมเลกุลของน้ำ โดยหันกลุ่มซัลเฟตเกาะกับโมเลกุลที่มีขั้วของน้ำ เป็นการป้องกันการยึดเกาะของแบคทีเรียบริเวณเยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ ในแมวที่มีปัญหาการอักเสบของเนื้อเยื่อระหว่างเซลล์ของกระเพาะปัสสาวะ (interstitial cystitis) มักพบว่ามีการลดลงของระดับ GAGs ในปัสสาวะเมื่อเทียบกับแมวปกติ (Buffington et al., 1996) การสร้างโปรจุแอมโมเนียม หรือสารแอมโมเนียโดยแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ยูรีเอส (urease-producing bacteria) จะช่วยในการยึดเกาะของจุลชีพ โดยการทำลายชั้น GAGs บริเวณเยื่อบุทางเดินปัสสาวะ โปรจุแอมโมเนียมอาจมีการสะสมบริเวณทางเดินปัสสาวะส่วนต้น จากการเกิดอัมพาตของกล้ามเนื้อเรียบบริเวณท่อไตมีผลต่อการบีบตัวของท่อไต

การสร้างภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ เช่น immunoglobulin (Ig) การสร้าง Ig A แบบเฉพาะที่โดยเซลล์เยื่อบุกระเพาะปัสสาวะถือเป็นการป้องกันด่านแรกและคุณสมบัติต้านจุลชีพของเยื่อ จะช่วยป้องกันการเคลื่อนที่และการยึดเกาะของจุลชีพ (Dunning and Stonehewer, 2002; Bartges, 2005)



**รูปที่ 1** แสดงภาวะปกติของเยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ โดยมีชั้น GAGs ปกคลุมเซลล์เยื่อบุทวารนชิชั้นและจุดวงกลมสีฟ้าแทนโมเลกุลของน้ำ ส่วนเส้นสีน้ำตาลแทนสายโปรตีน

ที่มา: Metts (2001)

### 2.1.2.3 องค์ประกอบของปัสสาวะ

ปัสสาวะที่มีความเข้มข้นของยูเรีย และมีความอวบน้ำสูง กรดอินทรีย์ สารคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (oligosaccharides) ความเป็นกรดของปัสสาวะ และ Tamm-Horsfall protein (THP, uromucoid หรือ urinary slime) เป็นส่วนช่วยป้องกันการเพิ่มจำนวนและยับยั้งการยึดเกาะของจุลชีพ THP สร้างจากเซลล์บริเวณ ascending limbs ของ loops of Henle จะจับกับพิมเบรียที่ผิวของแบคทีเรีย ก่อนที่พิมเบรียจะจับกับตัวรับที่เยื่อบุทางเดินปัสสาวะ อีกทั้ง THP อาจสร้างโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นแหวน ซึ่งช่วยจับและกำจัดจุลชีพออกจากทางเดินปัสสาวะขณะที่มีการบีบตัวของกระเพาะปัสสาวะ นอกจากนี้การที่ปัสสาวะเป็นด่างมักสัมพันธ์กับการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจากแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ยูรีเอส เช่น *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp. และ *Ureaplasmas* spp.

### 2.1.2.4 กระบวนการหลังปัสสาวะ

การหลังปัสสาวะเป็นกระบวนการที่มีการไหลของปัสสาวะในทิศทางเดียว การปัสสาวะหมดถือเป็นการชะล้างจุลชีพในท่อปัสสาวะทางหนึ่ง เป็นการลดปริมาณสารพิษที่แบคทีเรียสร้างเพื่อทำลายเยื่อบุทางเดินปัสสาวะ และลดโอกาสการเพิ่มจำนวนของจุลชีพในทางเดินปัสสาวะ

### 2.1.3 ปัจจัยจากจุลชีพ

การติดเชื้อ *E. coli* พบมากประมาณหนึ่งในสามถึงครึ่งหนึ่งของจุลชีพที่มักแยกได้จากปัสสาวะ รองลงมาเป็นแบคทีเรียแกรมบวกเช่น *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* และ *Enterococcus spp.* พบประมาณหนึ่งในสี่ถึงหนึ่งในสามของจุลชีพที่แยกได้จากปัสสาวะ แบคทีเรียอีกส่วนหนึ่งที่แยกได้จากปัสสาวะของสัตว์ที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ เช่น *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pasteurella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Corynebacterium urealyticum* และ *Mycoplasma canis* แต่เชื่อในกลุ่มนี้พบได้ไม่บ่อยนัก (Norris et al., 2000; L'Abec-Lund et al., 2003; Bailiff et al., 2005; Ulgen et al., 2006) เนื่องจาก *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่มักแยกได้จากปัสสาวะของมนุษย์ สุนัขและแมวที่มีปัญหาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ UPEC จึงเป็นที่สนใจของนักวิจัยทางด้านทางเดินปัสสาวะมากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น

### ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ uropathogenic *E. coli* (UPEC)

#### 2.1.3.1 การยึดเกาะ

การยึดเกาะเป็นปฏิสัมพันธ์จำเพาะของสายโปรตีนที่ยื่นจากผิวของแบคทีเรีย (แอดฮีซิน, adhesin) กับโครงสร้างจำพวกคาร์โบไฮเดรต (ไกลโคโปรตีนหรือไกลโคไลปิด) บนผิวเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม การยึดเกาะของแบคทีเรียกับเซลล์เยื่อของโฮสต์เป็นขั้นตอนแรกในกระบวนการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย ช่วยป้องกันการชะล้างจากของเหลวของร่างกาย ขนส่งสารแอกโซทอกซิน (exotoxin) ไปสู่เซลล์เป้าหมาย ช่วยในการรับสารอาหารจากสารตั้งต้น และช่วยป้องกันระบบภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติของร่างกาย (Rama et al., 2005) จุลชีพสามารถเคลื่อนที่ด้านทิศทางการไหลของปัสสาวะ ยึดเกาะและเพิ่มจำนวนบริเวณผนังท่อปัสสาวะ การยึดเกาะของแบคทีเรียบริเวณเยื่ออุทงเดินปัสสาวะอาศัยโครงสร้างเฉพาะระหว่างพิมเบรียกับตัวรับจำเพาะของเยื่ออุทงเดินปัสสาวะ อวัยวะและโปรตีนยึดเกาะต่างๆ ได้แก่

#### - ไทป์วัน พิมเบรีย (*fim,pil*; type 1 pili)

ไทป์วัน พิมเบรียมีส่วนในการยึดเกาะ การแทรกเข้าเซลล์ และการสร้างไบโอฟิล์ม พิมเบรียชนิดนี้จำเพาะกับ manno-oligosaccharides ที่อยู่บนสารไกลโคโปรตีนบนผิวเซลล์ของโฮสต์ การยึดเกาะบนเซลล์ของทางเดินปัสสาวะเหนียวนำไปให้มีการพัฒนาการเกิดกระเพาะปัสสาวะอักเสบ และมีการเคลื่อนที่เข้ามาของ polymorphonuclear cells (PMNs) เพื่อเก็บกินแบคทีเรียแต่อาจทำให้เกิด renal scarring (รูปที่ 2) (Kaper et al., 2004) Yuri และคณะ (1998) พบการกระจายของยีน *pil* ในอุจจาระของสุนัขและแมวปกติใกล้เคียงกับปัสสาวะของสุนัขและแมวที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดิน



ปัสสาวะ จึงอาจกล่าวได้ว่า ไทปัวน พิลไลมีความสัมพันธ์กับพยาธิกำเนิดของการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในระดับต่ำ

#### - ฟิมเบรีย พี (*pap*; pilus associated with pyelonephritis)

ฟิมเบรีย พี มีความจำเพาะกับกลุ่ม *digalactoside* ของกลุ่มเลือด พี ซึ่งอยู่บนผิวของเซลล์เยื่อทางเดินปัสสาวะ เมื่อมีการจับกันของผิวเซลล์เยื่อกับจุลชีพ เป็นการส่งสัญญาณการสร้างอินเตอร์ลิวคิน (IL-6, IL-8) จากเซลล์เยื่อกะเพาะปัสสาวะและเยื่อบุไต ทำให้เกิดการอักเสบเฉพาะที่ตามมา (Mulvey et al., 2000) ยีนกลุ่มนี้ประกอบด้วยหลายส่วน เช่น *papA* ซึ่งสร้างโปรตีนโครงสร้าง, *papC* ซึ่งสร้างโปรตีนทำงาน, *papEF* สร้างฟิลินและ *papG* สร้างโปรตีนที่ใช้ในการยึดเกาะ ซึ่งประกอบด้วย 3 อัลลีล คือ *papG* allele I, *papG* allele II พบมากในผู้ป่วยกรวยไตอักเสบเฉียบพลัน และ *papG* allele III ในรายกระเพาะปัสสาวะอักเสบเฉียบพลัน (Johnson et al., 2001)

#### - ฟิมเบรีย เอส และฟิมเบรีย เอฟวันซี (*sfa/foc*)

ฟิมเบรีย เอสและฟิมเบรีย เอฟวันซี มีส่วนในการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ โดยการจับกับเซลล์เยื่อบุและเซลล์ผนังหลอดเลือดบริเวณทางเดินปัสสาวะส่วนล่างและไต (Johnson, 1991)

### 2.1.3.2 สารพิษและเอนไซม์ต่าง ๆ (Extracellular toxins and enzymes)

#### - อัลฟา ฮีโมไลซิน (*hly*)

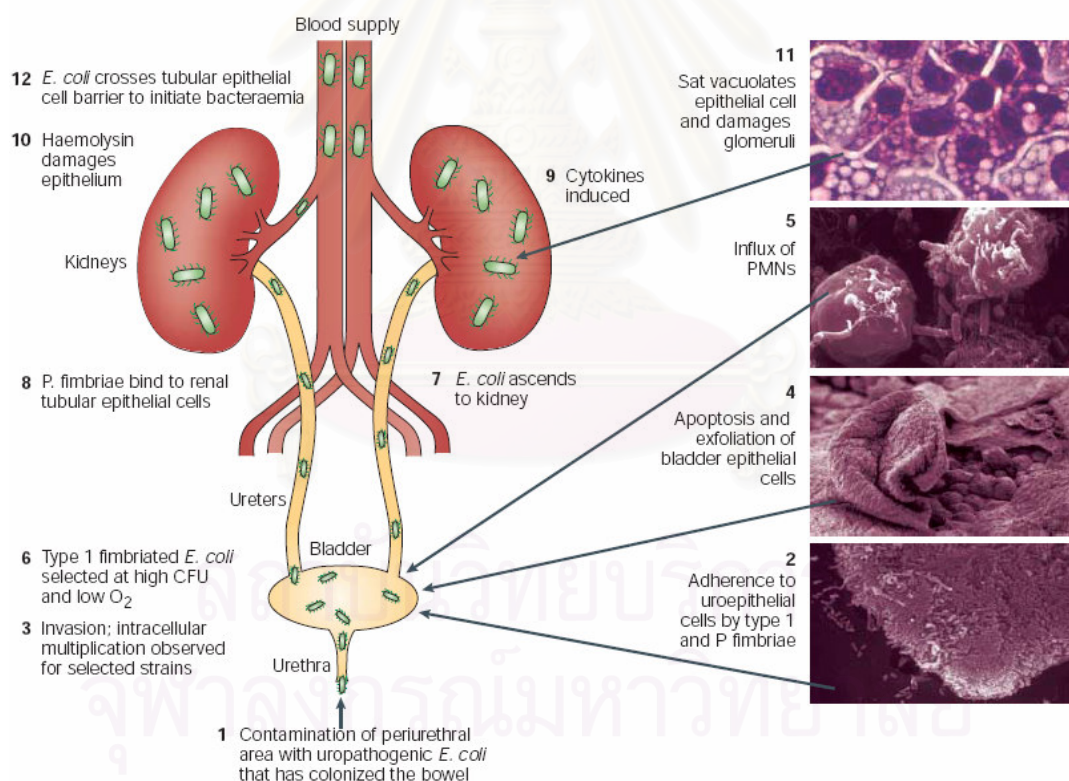
ฮีโมไลซินเป็นโปรตีนซึ่งเป็นพิษทำลายเซลล์ จัดอยู่ในกลุ่ม 'repeat toxin' (RTX) family เนื่องจากมีส่วนของ nonapeptide repeat ที่ส่วน C-terminal ภายในโมเลกุล (Emody et al., 2003) เซลล์เป้าหมายมีหลายชนิด เช่น เม็ดเลือดแดงของสัตว์เลือดอุ่นและปลา เซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนู และตัวอ่อนไก่ เม็ดเลือดขาว เซลล์ผนังหลอดเลือด เซลล์เยื่อบุของไต การสลายเม็ดเลือดแดงของโฮสต์นั้น จำเป็นต้องอาศัยแคลเซียมเพื่อให้เกิดการสะสมของฮีโมไลซิน เพื่อแทรกเข้าระหว่างชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์โฮสต์ เกิดการสร้างแซนแนลชั่วคราวเป็นการเพิ่ม permeability ของเม็ดเลือดแดงต่อแคลเซียม โฟสเฟตและซุโครส (Johnson, 1991) ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก เพิ่มปริมาณธาตุเหล็กอิสระซึ่งใช้ในการเจริญของแบคทีเรีย เกิดการสลายแกรนูลของโมโนไซต์และนิวโทรฟิลล์ มีการหลั่งลิโคไทรอินและ ATP ระบายขบวนการเก็บกินของเซลล์ ทำให้เกิดความเสียหายแก่เนื้อเยื่อ (Emody et al., 2003)

### - Cytotoxic necrotizing factor I (*cnfI*)

Cytotoxic necrotizing factor เป็นสารพิษที่ทำให้เกิดการปรับโครงสร้างของ actin microfilament ในของเซลล์ยูคาริโอต ทำให้เกิดขบวนการทำลายตนเองของเยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ และกระตุ้นการสร้าง multinuclear giant cells ในเซลล์เพาะเลี้ยง (Boquet, 2001)

### - Secreted autotransporter toxin (*sat*)

Serine protease autotransporter พบในปัสสาวะของผู้ป่วยกรวยไตอักเสบที่มีการติดเชื้อ UPEC ทำให้เกิด vacuolation ในเซลล์เยื่อบุไตและกระเพาะปัสสาวะ (รูปที่ 2) (Guyer et al., 2002) นอกจากนี้ยังมี *cdtB* หรือ cytolethal distending toxin ซึ่งเป็นสารพิษที่มีผลต่อขบวนการแบ่งตัวของเซลล์และเหนี่ยวนำให้เกิดการทำลายตนเองของเซลล์โฮสต์ (Emody et al., 2003)



รูปที่ 2 แสดงพยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ UPEC จำแนกตามส่วนต่างๆ ของทางเดินปัสสาวะ

ที่มา: Kaper et al. (2004)

### 2.1.3.3 ระบบการจับธาตุเหล็ก (Iron uptake system)

- แอโรแบคติน (*iuc, ictA; aerobactin (siderophore) synthesis และ receptors*)

แอโรแบคตินเป็นโปรตีนขนาดเล็ก ประกอบด้วยโมเลกุลของไลซีนและซีเตรต มีหน้าที่จับธาตุเหล็กซึ่งช่วยในการขนส่งและเก็บออกซิเจน การสังเคราะห์สารพันธุกรรม การขนส่งอิเล็กตรอน ขบวนการเมแทบอลิซึมของเปอร็อกไซด์และการเจริญของเซลล์ (Johnson, 1991) การตอบสนองของร่างกายต่อการติดเชื้อทำให้ลำไส้มีการดูดซึมธาตุเหล็กลดลง สร้างโปรตีนจับธาตุเหล็กและมีการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กจากพลาสมาเข้าไปเก็บในเซลล์เพิ่มขึ้นทำให้จุลชีพได้รับธาตุเหล็กลดลง UPEC สร้าง hydroxamate siderophore aerobactin ซึ่งจะสร้างโมเลกุลที่มีส่วนประกอบของธาตุเหล็ก ( $Fe^{3+}$ ) และขนส่งข้ามเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย (Rama et al., 2005) นอกจากนี้ยังมี catecholate siderophore receptor หรือ *iroN*<sub>E. coli</sub> ที่ตรวจพบในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ UPEC ในทางเดินปัสสาวะประมาณ 2-3.6 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ *E. coli* จากอุจจาระคนปกติ โดยเฉพาะในผู้ป่วยกรวยไตอักเสบ (Bauer et al., 2002)

### 2.1.3.4 แอนติเจนและโปรตีนที่ผิวเซลล์ (Antigens and outer membrane protein)

- แคปซูล เค แอนติเจน (*kpsMT*)

แอนติเจน เค เป็นแคปซูลล้อมรอบแบคทีเรีย ยับยั้งขบวนการเก็บกินของเซลล์ และการทำลายเชื้อแบคทีเรียของคอมพลีเมนต์ ด้านทานขบวนการอักเสบทำให้มีการคงอยู่ของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ยังมีแอนติเจน โอ (*rfc*) เป็นส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของผนังเซลล์ของแบคทีเรียส่วนของไลโปโพลีแซคคาไรด์กระตุ้นการสังเคราะห์ไซโตไคน์ คีโมไคน์และสารสื่ออักเสบต่างๆ เช่น IL-1 และ tumor necrotic factor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) มีการเข้ามาของ PMNs เป็นการตอบสนองขบวนการอักเสบเช่น กรวยไตอักเสบเฉียบพลัน สารสื่ออักเสบที่เข้าสู่ระบบไหลเวียนของร่างกายกระตุ้นให้เกิดอาการอื่นๆ ตามมา เช่น มีไข้ สั่น อ่อนเพลีย ส่วนโปรตีนที่ผิวเซลล์ (*ompT, ompA*) ช่วยในการขนส่งสารออกนอกเซลล์ เช่น ฮีโมไลซิน (Johnson, 1991)

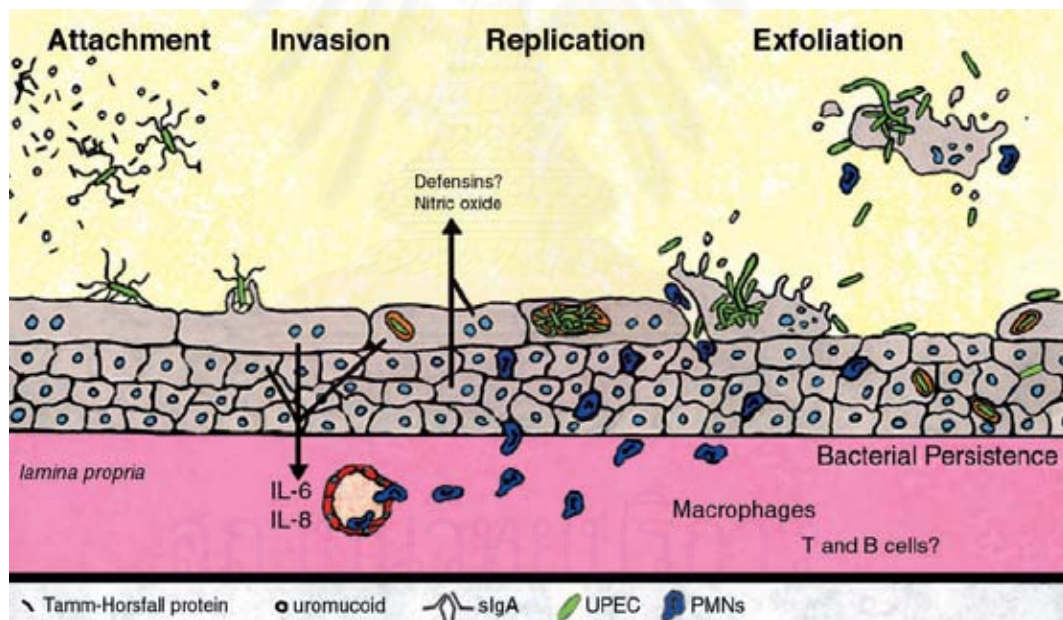
### 2.1.3.5 ยีนอื่นๆ

- Uropathogenic specific protein (*usp*)

Uropathogenic specific protein เป็นกลุ่มของยีนบนโครโมโซมที่พบใน UPEC ขนาดประมาณ 4,167 คู่เบสซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 346 ชนิดและ 3 โอเพนรีดดิ้งเฟรม (open reading frames) (ORFs; *orfU1-3* มีกรดอะมิโน 98, 97 และ 96 ชนิด) โดยที่กลุ่มยีนดังกล่าวพบใน UPEC ที่แยก

จากบัสสาวะของผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (กระเพาะปัสสาวะอักเสบ ต่อมลูกหมากอักเสบ และกรวยไตอักเสบ) (Kurazono et al., 2000) ซึ่งมีส่วนในการก่อโรคการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะแต่ยังไม่ทราบกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่นอน (Yamamoto et al., 2001)

การจับกันระหว่างพิมเบรีย พีและไทป์วัน พิลไลของ UPEC กับตัวรับจำเพาะซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนที่อยู่บนผิวของเยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ (ยูโรพลาติน) เป็นกลไกที่อาศัยสัญญาณภายในเซลล์ กระตุ้นการสร้างไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (IL-6, IL-8) เหนี่ยวนำให้มีการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวชนิด PMNs เข้ามาที่เยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ เกิดขบวนการทำลายตนเองภายในเซลล์ทำให้เกิดการลอกหลุดและเป็นการกำจัดเซลล์โฮสต์ที่มีการติดเชื้อ (รูปที่ 2) UPEC จะออกจากเซลล์เยื่อบุที่ตายและเข้าสู่เซลล์เยื่อบุข้างเคียงหรือชั้นถัดไปเพื่อหลีกเลี่ยงการกำจัดของร่างกายจากการลอกหลุดของเซลล์ ทำให้ UPEC หลุดรอดจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและคงอยู่ในกระเพาะปัสสาวะแบบไม่แสดงอาการในรายที่เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แสดงพยาธิสรีรวิทยาของการติดเชื้อ UPEC ภายในเยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ  
ที่มา: Mulvey et al. (2000)



#### 2.1.4 อาการทางคลินิก

สุนัขและแมวที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะอาจแสดงหรือไม่แสดงอาการทางคลินิก ซึ่งอาการทางคลินิกที่แสดงออกจะขึ้นอยู่กับปริมาณและความรุนแรงของจุลชีพ ปัจจัยโน้มนำ ระยะเวลาที่มีการติดเชื้อ รวมถึงตำแหน่งที่มีการติดเชื้อ (ตารางที่ 2) อาการปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะลำบากมักพบในสัตว์ที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย (ตารางที่ 3) ส่วนสัตว์ที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะส่วนต้นมักแสดงอาการเจ็บบริเวณไต การติดเชื้อในกระเพาะเลือด ไตมีขนาดใหญ่ขึ้น หรือเกิดภาวะไตวาย นอกจากนี้หากเกิดการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะร่วมกับปัจจัยโน้มนำ เช่น เบาหวาน hyperadrenocorticism อาการทางคลินิกมักสัมพันธ์กับอาการของปัจจัยโน้มนำ (Bartges, 2005) Dunning และ Stonehewer (2002) กล่าวว่าอาการทางคลินิกที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ได้แก่ ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะลำบาก ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะเวลากลางคืน ปัสสาวะมาก (อาจร่วมกับการดื่มน้ำมาก) กลิ่นของปัสสาวะผิดปกติ ปัสสาวะขุ่นมากกว่าปกติ มีไข้ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร อาเจียน ปวดบริเวณต่อมลูกหมาก หรือต่อมลูกหมากใหญ่ขึ้น การติดเชื้อของต่อมลูกหมากพบได้บ่อยในสุนัขเพศผู้ที่ยังไม่ได้ทำหมัน อาการผิดปกติมักไม่เฉพาะเจาะจงแต่มักจะปวดช่องท้องด้านท้าย ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะลำบาก มีไข้ เบื่ออาหาร และมักเกิดการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะแบบการติดเชื้อกลับ (relapsing UTIs)ร่วมด้วย

ตารางที่ 2 แสดงความผิดปกติที่ช่วยในการระบุตำแหน่งของการติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ

| ตำแหน่งที่ติดเชื้อ     | ประวัติ  | การตรวจร่างกาย  | ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ   | รังสีวิทยา   |
|------------------------|--|---|--|--|
| ทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง | ปัสสาวะลำบาก<br>ปัสสาวะกระปริดกระปรอย<br>ปัสสาวะเป็นเลือด<br>ปัสสาวะขุ่น กลิ่นเหม็นผิดปกติ<br>ไม่มีอาการตามระบบ<br>เคยทำการสวนท่อปัสสาวะ หรือ urethrostomy | กระเพาะปัสสาวะหนาตัว ปวด<br>±คลำพบก้อนนิ่ว<br>±คลำพบก้อนเนื้อในกระเพาะ<br>ปัสสาวะหรือท่อปัสสาวะ | ค่าโลหิตวิทยา: ปกติ<br>การวิเคราะห์ปัสสาวะ:<br>ปัสสาวะเป็นเลือด โปรตีนในปัสสาวะ พบเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ<br>การเพาะเชื้อปัสสาวะ: ผลบวก  | ไตปกติ<br>ความผิดปกติของทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง<br>±นิ่วในกระเพาะปัสสาวะ หรือท่อปัสสาวะ<br>±ผนังกระเพาะปัสสาวะหนาตัว ผิวยื่นไม่เรียบ          |
| ทางเดินปัสสาวะส่วนต้น  | ปัสสาวะมาก ดื่มน้ำมาก<br>±อาการการติดเชื้อตามระบบ<br>±ไตวาย  | ±มีไข้ อาการติดเชื้อตามระบบ<br>±ปวดท้อง โดยเฉพาะบริเวณไต ไตมีขนาดปกติหรือใหญ่ขึ้น               | ค่าโลหิตวิทยา: ±เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น<br>การวิเคราะห์ปัสสาวะ:<br>ปัสสาวะเป็นเลือด โปรตีนในปัสสาวะ แบคทีเรียในปัสสาวะ เม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ<br>white blood cell หรือ granular casts<br>± azotemia หรือไตวาย | ไตขนาดใหญ่ขึ้น<br>±รูปร่างของไตผิดปกติ<br>±นิ่วในไต หรือท่อไต<br>±มีการขยายของ renal pelvis, pelvic diverticula<br>±มีการอุดตันการไหลปัสสาวะ |

## ตารางที่ 2 (ต่อ)

| ตำแหน่งที่ติดเชื้อ                             | ประวัติ   | การตรวจร่างกาย   | ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ  | รังสีวิทยา  |
|--|---|--|---|---|
| ต่อมลูกหมากอักเสบเฉียบพลันหรือฝีที่ต่อมลูกหมาก | ของเหลวไหลจากท่อปัสสาวะ แสดงอาการการติดเชื้อตามระบบ                       | ±ไข้และอาการการติดเชื้อตามระบบ<br>±ปวดบริเวณต่อมลูกหมาก และ/หรือ ปวดบริเวณช่องท้อง | ค่าโลหิตวิทยา: ±เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น<br>การวิเคราะห์ปัสสาวะ: ปัสสาวะเป็นเลือด โปรตีนในปัสสาวะ แคมทีเรียในปัสสาวะ พบเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ | ±ต่อมลูกหมากโต<br>±ถุงน้ำที่ต่อมลูกหมาก<br>±การไหลย้อนของสารเรืองแสงบริเวณต่อมลูกหมาก |
| ต่อมลูกหมากอักเสบเรื้อรัง                      | การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ วกกลับ<br>ของเหลวไหลจากท่อปัสสาวะ ±ปัสสาวะลำบาก | มักไม่แสดงความผิดปกติเด่นชัด<br>±ต่อมลูกหมากโต หรือ ขนาดไม่สมมาตรกัน               | ค่าโลหิตวิทยา: ปกติ<br>การวิเคราะห์ปัสสาวะ: เม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ ปัสสาวะเป็นเลือด แคมทีเรียในปัสสาวะ โปรตีนในปัสสาวะ                     | ±ต่อมลูกหมากโต<br>±ถุงน้ำที่ต่อมลูกหมาก<br>±แร่ธาตุสะสมที่ต่อมลูกหมาก                 |

ที่มา: Bartges (2005)

ตารางที่ 3 แสดงสาเหตุของการปัสสาวะเป็นเลือดตามตำแหน่ง

| ไต/ท่อไต               | กระเพาะปัสสาวะ      | ท่อปัสสาวะ               | ระบบทางเดินสืบพันธุ์ | นอกระบบทางเดินปัสสาวะ     |
|------------------------|---------------------|--------------------------|----------------------|---------------------------|
| กรวยไตอักเสบ           | การติดเชื้อ         | นิ่ว                     | โรคของต่อมลูกหมาก    | การแข็งตัวของเลือดผิดปกติ |
| นิ่วในไต               | นิ่ว                | การติดเชื้อ              | โรคของช่องคลอด       | Trauma                    |
| นิ่วในท่อไต            | เนื้องอก            | การอักเสบ                | โรคของปากช่องคลอด    | การออกกำลังกาย            |
| เนื้องอก               | ยา                  | เนื้องอก                 | โรคของมดลูก          |                           |
| Benign renal hematuria | Idiopathic cystitis | Granulomatous urethritis | โรคของผนังหุ้มรังไข่ |                           |
| ขาดเลือด               | ปรสิต               |                          | ระยะเป็นสัด (estrus) |                           |

ที่มา: Reine and Langston (2005)

### 2.1.5 การตรวจวินิจฉัย

การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะสามารถยืนยันด้วยการเพาะเชื้อปัสสาวะ (ตารางที่ 4) เพราะการตรวจวินิจฉัยโดยอาศัยแค่การพิจารณาเซลล์อักเสบจากการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะแต่เพียงอย่างเดียว อาจเป็นการวินิจฉัยการติดเชื้อที่เกินความเป็นจริง ส่วนการที่ไม่พบปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะลำบาก หรือโปรตีนในปัสสาวะ มิได้หมายถึงไม่มีการติดเชื้อแต่อาจเป็นผลจากยังไม่มีการตอบสนองต่อการอักเสบของร่างกาย การเพาะเชื้อปัสสาวะที่ให้ผลบวกบ่งบอกว่าแบคทีเรียที่พบนั้นเป็นสาเหตุของการเกิดโรคหรืออาจเป็นการติดเชื้อแทรกซ้อนจากภาวะอื่นๆ เช่น นิ่วในไต การเกิดนิ่ว หรือ อาจเป็นผลภายหลังการผ่าตัด (Bartges, 2005) ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยประกอบด้วย

#### การซักประวัติและการตรวจร่างกาย

ทำการซักประวัติ อายุ เพศ พันธุ์ สถานะทางระบบสืบพันธุ์และทำการตรวจร่างกายให้ครบถ้วน เนื่องจากสัตว์ป่วยที่การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะอาจไม่แสดงอาการทางคลินิก (ตารางที่ 2)

#### การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมักมีค่าโลหิตวิทยาอยู่ในค่าปกติ แต่หากมีการติดเชื้อเข้ากระแสเลือดร่วมด้วยจะพบเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะส่วนต้น ค่าชีวเคมีในเลือดอาจปกติหรือบ่งบอกภาวะไตวาย หากมีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะร่วมกับความผิดปกติอื่นๆ มักพบความผิดปกติของผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่สัมพันธ์กับความผิดปกติดังกล่าว

#### รังสีวิทยาและการส่องกล้องตรวจ

การถ่ายภาพรังสีวิทยาช่องท้อง อาจพบนิ่ว ไตมีขนาดใหญ่ขึ้นหรือเล็กลง หรือความผิดปกติอื่นๆ ที่เป็นปัจจัยโน้มนำให้เกิดการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ เช่น กระเพาะปัสสาวะอยู่บริเวณเชิงกราน (pelvic bladder) นอกจากนี้อาจใช้เทคนิคอื่น เช่น การใช้สารทึบแสง (contrast radiography) การบันทึกด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonography) หรือการใช้ nuclear scintigraphy (Bartges, 2005) นอกจากนี้ยังมีการใช้การส่องกล้องตรวจ (endoscopy) ของทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย มีประโยชน์ในการมองรอยโรคบริเวณ mucosa หรือ intraluminal ของผนังกระเพาะปัสสาวะ



### การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ

การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะที่ครบถ้วนควรประกอบด้วย การตรวจคุณสมบัติทางกายภาพ (สีปัสสาวะ) ค่าชีวเคมีในปัสสาวะ (ความเป็นกรด-ด่างของปัสสาวะ กลูโคส โปรตีน เลือด บิลิรูบิน ยูโรบิลิโนเจน) และการตรวจวิเคราะห์ตะกอนปัสสาวะ (Reine and Langston, 2005)

ปัสสาวะปกติควรมีสีเหลืองอำพัน ใสไม่ขุ่น ปัสสาวะที่มีความเข้มข้นมากจะมีสีเหลืองเข้ม ขณะที่ปัสสาวะเจือจางมีสีเหลืองใส สิ่งที่เพิ่มความขุ่นของปัสสาวะ เช่น เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง คริสตัล แบคทีเรีย เยื่อเมือก ไขมันและการปนเปื้อน การวัดความถ่วงจำเพาะของปัสสาวะ บอกถึงปริมาณของสารทั้งหมดที่ละลายอยู่ในปัสสาวะ วัดโดยเครื่อง refractometer พบว่าปัสสาวะปกติจะมีความถ่วงจำเพาะ อยู่ในช่วง 1.001-1.065 แต่ในสุนัขที่ไต่ยังทำหน้าที่ได้เป็นปกติ ค่าความถ่วงจำเพาะของปัสสาวะ จะมากกว่า 1.030 อย่างไรก็ตามการแปลผลค่าความถ่วงจำเพาะของปัสสาวะจำเป็นที่ต้องวิเคราะห์ร่วมกับสภาพน้ำในร่างกาย ตลอดจนสารที่ละลายอยู่ในปัสสาวะด้วย เช่น กลูโคส โปรตีน (Reine and Langston, 2005)

ค่าชีวเคมีในปัสสาวะ นิยมใช้ urine dipstick ในการตรวจวิเคราะห์ แต่ปัสสาวะที่มีเลือดปนหรือขุ่นอาจทำการปั่นเหวี่ยงแล้วนำส่วนใสด้านบน (supernatant) มาใช้ในการวิเคราะห์แทน การใช้ dipstick อาศัยการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ และ indicator ที่อยู่บน dipstick เช่น ฮีม (heme) ของฮีโมโกลบินหรือไมโอโกลบิน ทำหน้าที่คล้าย peroxidase ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีบนแผ่น strip เริ่มที่ความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง 5-20 ต่อมิลลิลิตร หรือ 0.015-0.062 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรของฮีโมโกลบินอิสระ ขณะที่เลือด 0.5 มิลลิลิตรต่อปัสสาวะ 1 ลิตร (2500 เม็ดเลือดแดงต่อมิลลิลิตร) ถึงจะเห็นปัสสาวะเป็นเลือดด้วยตาเปล่า ปัสสาวะเป็นเลือด บ่งบอกความผิดปกติของทางเดินปัสสาวะส่วนล่างหรือระบบสืบพันธุ์ (ท่อปัสสาวะ ต่อมลูกหมาก กระเพาะปัสสาวะ) เช่น การติดเชื้อ เนื้องอก การอักเสบ และทางเดินปัสสาวะส่วนต้น (ไต ท่อไต) เช่น กรวยไตอักเสบ เนื้องอก หรือ protein-losing nephropathy (Reine and Langston, 2005) การตรวจพบฮีโมโกลบินในปัสสาวะ (hemoglobinuria) สามารถตรวจพบได้เนื่องจาก การแตกของเม็ดเลือดแดงในปัสสาวะ หรือระดับฮีโมโกลบินในเลือดสูงจากภาวะเม็ดเลือดแดงแตก (hemolysis) เช่น immune-mediated hemolytic anemia สารพิษและการติดเชื้อ การแยกปัสสาวะเป็นเลือดออกจากฮีโมโกลบินในปัสสาวะ สามารถแยกได้โดยดูจากส่วนใสด้านบนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง ถ้ามีลักษณะใส และมีเม็ดเลือดจมอยู่ก้นหลอดหมายถึงปัสสาวะเป็นเลือด

การตรวจวิเคราะห์ตะกอนปัสสาวะ ได้แก่ เซลล์ต่างๆ เช่น เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เซลล์เยื่อหู ซึ่งตอบสนองต่อการอักเสบหรือการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง คาสต์ คือ กลุ่มของโปรตีนที่จับรวมกันเป็นทรงกระบอกยาวตามรูปร่างของท่อไต ซึ่งขนาด รูปร่างและชนิดของคาสต์สามารถบ่งบอกตำแหน่งของความผิดปกติของท่อไตได้ เช่น white blood cell cast พบได้ในกรวยไตอักเสบเฉียบพลัน (acute pyelonephritis) หรือการตายของท่อไตเฉียบพลัน (acute tubular necrosis)

### การเพาะเชื้อปัสสาวะ

การเพาะเชื้อปัสสาวะเป็นวิธีมาตรฐานในการวินิจฉัยการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ โดยปัสสาวะที่เก็บควรมาจากวิธีการเก็บปัสสาวะที่สะอาด ไม่มีการปนเปื้อน วิธีการเก็บปัสสาวะที่เหมาะสมคือ การเจาะผ่านผนังหน้าท้อง (cystocentesis) ก่อนเก็บปัสสาวะควรมีการหยุดยาต้านจุลชีพที่ได้รับอยู่ก่อนประมาณ 3-5 วันก่อนการเก็บปัสสาวะเพื่อลดการยับยั้งการเจริญของจุลชีพ

การเพาะเชื้อปัสสาวะมักใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ ส่วนการเพาะเชื้อยีสต์หรือเชื้อราจะทำเมื่อสงสัยจากการตรวจวิเคราะห์ตะกอนปัสสาวะ ปัสสาวะที่เก็บได้ควรทำการเพาะเชื้อโดยเร็วที่สุด หรืออาจเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส (หากไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันที) เนื่องจากแบคทีเรียสามารถแบ่งตัวได้ทุก 20-45 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการเพาะ พืชุน์เชื้อแบคทีเรีย และทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพต่อไป (Bartges, 2005)

การเพาะเชื้อปัสสาวะเชิงคุณภาพ (Qualitative urine culture) เป็นการเพาะและแยก พืชุน์เชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะ มิได้ทำการนับปริมาณแบคทีเรียในปัสสาวะ ถึงแม้ว่าปัสสาวะในกระเพาะปัสสาวะจะปลอดเชื้อ แต่ปัสสาวะที่ผ่านทางเดินปัสสาวะส่วนปลายและทางเดินสืบพันธุ์มีโอกาสปนเปื้อนกับเชื้อประจำถิ่น ทำให้พบแบคทีเรียในปัสสาวะที่เก็บด้วยวิธีการสวนท่อปัสสาวะหรือการรองเก็บช่วงกลางของการปัสสาวะ ด้วยเหตุผลดังกล่าวการวินิจฉัยการเพาะเชื้อปัสสาวะควรทำการเพาะเชื้อปัสสาวะเชิงปริมาณ เพื่อดูปริมาณแบคทีเรียในปัสสาวะตามวิธีการเก็บปัสสาวะ (Polzin, 1994)

การเพาะเชื้อปัสสาวะเชิงปริมาณ (Quantitative urine culture) เป็นการเพาะ แยก พืชุน์เชื้อและทำการนับแบคทีเรียในปัสสาวะ หน่วยเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิตรของปัสสาวะ (colony-forming units per milliliter of urine) โดยจำแนกตามวิธีการเก็บปัสสาวะ (Lulich and Osborne, 2004)

**ตารางที่ 4** แสดงการแปลผลการเพาะเชื้อปัสสาวะเชิงปริมาณในสุนัข จำแนกตามวิธีการเก็บปัสสาวะ หน่วยเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิตรของปัสสาวะ

| วิธีการเก็บปัสสาวะ                    | ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ | สงสัยว่ามีการติดเชื้อ | การปนเปื้อน |
|---------------------------------------|------------------------|-----------------------|-------------|
| การเจาะกระเพาะปัสสาวะผ่านผนังหน้าท้อง | $\geq 10^3$            | $10^2-10^3$           | $\leq 10^2$ |
| การสวนท่อปัสสาวะ                      | $\geq 10^4$            | $10^3-10^4$           | $\leq 10^3$ |
| การรองเก็บช่วงกลางของปัสสาวะ          | $\geq 10^5$            | $10^4-9 \times 10^4$  | $\leq 10^4$ |
| การบีบกระเพาะปัสสาวะ                  | $\geq 10^5$            | $10^4-9 \times 10^4$  | $\leq 10^4$ |

ที่มา: Bartges, 2005

### 2.1.6 การรักษา

ส่วนมากการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะมักเป็นแบบไม่ร้ายแรงและมักตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ แต่สัตว์ป่วยบางรายอาจไม่ตอบสนองต่อการรักษาและอาจพัฒนาเป็นการติดเชื้อวกลับ (recurrent infection) เช่น กลับมาที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะภายหลังหยุดการรักษา การติดเชื้อวกลับ อาจแบ่งได้เป็น การติดเชื้อกลับ (relapse, persistent infection) หมายถึง การติดเชื้อวกลับโดยมีสาเหตุมาจากจุลชีพสายพันธุ์และ serology เดิมมักเกิดหลังหยุดยาต้านจุลชีพในทางตรงกันข้าม การติดเชื้อซ้ำ (reinfection) หมายถึง การติดเชื้อวกลับที่มีสาเหตุมาจากจุลชีพต่างชนิดจากการติดเชื้อก่อนหน้านี้ ซึ่งมักเกิดขึ้นภายหลังจากหยุดการได้รับยาต้านจุลชีพมาเป็นเวลานาน ส่วนการติดเชื้อซ้ำทับ (superinfection) คือ การติดเชื้อจุลชีพชนิดใหม่ซึ่งเกิดขณะทำการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพซึ่งจำเพาะกับจุลชีพชนิดเดิมอยู่ การติดเชื้อชนิดนี้มักเกิดขึ้นภายหลังจากการคา่ท่อปัสสาวะเป็นเวลานาน หรือตามมาจากผ่าตัดแก้ไขที่ทางเดินปัสสาวะ เมื่อส่วนต้นของท่อปัสสาวะ กระเพาะปัสสาวะหรือไต สัมผัสโดยตรงกับภายนอก เช่น การผ่าตัด antepubic urethrostomy, tube cystostomy หรือ percutaneous nephropylostomy มักเกิดการติดเชื้อซ้ำได้ง่ายขึ้น (Osborne, 1995) การแบ่งชนิดของการติดเชื้อวกลับ เช่น การติดเชื้อกลับ หรือการติดเชื้อซ้ำมีประโยชน์ในแง่ของการบอกสาเหตุของการติดเชื้อวกลับ อาจกล่าวได้ว่าการติดเชื้อวกลับ หมายถึง การที่จุลชีพมีการเพิ่มจำนวนในส่วนของทางเดินปัสสาวะ (ยกเว้นท่อทางเดินปัสสาวะ) ซึ่งเคยถูกกำจัดไปแล้วแต่กลับมาเพิ่มจำนวนใหม่ภายหลังจากหยุดได้รับยาต้านจุลชีพ (ระยะเวลาอาจนานเป็นสัปดาห์) (Bartges, 2005) สัตว์ป่วยที่มีปัญหาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะวกลับมักได้รับการรักษาโดยการให้ยาต้านจุลชีพ (อาจเป็นชนิดเดิมหรือชนิดใหม่) ซึ่งพบว่ามักไม่ใคร่ตอบสนองต่อการรักษาเนื่องจากไม่สามารถระบุเชื้อหรือตำแหน่งที่เกิดปัญหา ซึ่งในกรณีที่เกิดการติดเชื้อวกลับ การวินิจฉัยโดยเพียงอาศัยการตรวจร่างกาย และผลจากการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะอาจไม่เพียงพอโดยเฉพาะเมื่อเกิดปัญหาการใช้ยาต้านจุลชีพไม่ได้ผล (Polzin, 1994) ดังนั้นจึงควรมีการทดสอบหาความไวรับของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพควบคู่กันไป เพื่อที่จะได้ทราบชนิดของยาต้านจุลชีพที่เหมาะสมกับชนิดของเชื้อแบคทีเรีย หรือเหมาะสมกับการรักษา พร้อมทั้งกำจัดหรือให้การรักษาสาเหตุโน้มนำอื่นๆ ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ เช่น การเกิดนิ่วหรือเบาหวาน ควบคู่กันไป นอกจากนี้การเพาะเชื้อปัสสาวะเป็นสิ่งสำคัญที่ใช้ในการติดตามผลการรักษา และใช้จำแนกชนิดของการติดเชื้อในกรณีเกิดการติดเชื้อซ้ำ (Lulich and Osborne, 2004) ชนิดของยาต้านจุลชีพที่มักพบว่าเหมาะสมกับชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขที่ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (ตารางที่ 5)

**ตารางที่ 5** แสดงชนิดของยาต้านจุลชีพ และชนิดของแบคทีเรียที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ

| ชนิดของยาต้านจุลชีพ            | ชนิดของแบคทีเรียที่ไวรับต่อยาต้านจุลชีพ  |
|--------------------------------|--|
| Amoxicillin, ampicillin        | <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Proteus</i> spp.   |
| Amoxicillin/clavulanic acid    | <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Proteus</i> spp.,<br><i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp. |
| Cephalexin                     | <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp.                              |
| Ceftiofur                      | <i>Proteus</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp.   |
| Enrofloxacin                   | <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.,<br><i>Enterobacter</i> spp.   |
| Gentamicin                     | <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.                                |
| Tetracycline                   | <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Mycoplasma</i> spp.   |
| Trimethoprim/sulphamethoxazole | <i>Streptococcus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp.                              |

ที่มา: Rohrich et al., 1983; Ling, 1984; Dowling, 1996; Bartges, 2005

## 2.2 การตรวจหาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ uropathogenic

### *E. coli* (UPEC)

การตรวจหาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ UPEC เริ่มจากการศึกษาหาหมู่ซีรัม (serogroup) การหาเอ็นทีที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพิมเบรีย การสร้างสารฮีโมไลซิน ด้วยวิธีการตกตะกอนเม็ดเลือดแดง (hemagglutination) การหาตัวรับจำเพาะ (specific receptors) และ DNA hybridization (Westerlund et al., 1987; Wilson et al., 1988; Low et al., 1988; Senior et al., 1992) โดย Westerlund และคณะ (1987) รายงานการศึกษา UPEC ในสุนัข โดยได้ศึกษา *E. coli* จำนวน 33 สายพันธุ์ที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขที่มีปัญหาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ พบว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรง เช่น พิมเบรีย พีและอัลฟา ฮีโมไลซินมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเช่นเดียวกับในมนุษย์ Low และคณะ (1988) ทำการวิเคราะห์ *E. coli* สายพันธุ์ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะและเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ที่แยกได้ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะพบว่า ลำดับเบสของสารพันธุกรรมของยีน pilus associated with pyelonephritis (*pap*), hemolysis (*hly*) และ insertion sequence 5 (IS5) มีความคล้ายคลึงกันเมื่อศึกษาด้วยวิธี southern blot จากผลการศึกษาสันนิษฐานได้ว่า UPEC สามารถก่อโรคได้ทั้งในมนุษย์และสุนัข ต่อมา มีการประยุกต์ใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสมารตรวจหาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ พบว่ามีความไว ความจำเพาะ ราคาถูกและสะดวกกว่าวิธี hybridization (Le Bouguenec et al., 1992) Yamatomo และคณะ (1995) กล่าวว่าสามารถใช้ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ เช่น ยีน *pap*, *sfa*,



*afaI*, *hly*, *aer* และ *cnfI* เป็นตัวบ่งชี้การตรวจหา UPEC และการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในมนุษย์ ซึ่ง Yuri และคณะ (1998) นำผลการศึกษาดังกล่าวมาศึกษาในสุนัขและแมวที่มีปัญหาการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะ พบว่ามีการกระจายของปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะดังกล่าวสูงกว่าเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากอุจจาระอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มสุนัขและแมวที่มีปัญหาการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะ บ่งชี้ว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของ UPEC มีส่วนเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในสุนัขและแมวคล้ายกับในมนุษย์

เมื่อจำแนกตาม O-serotypes มักพบเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ O4 และ O6 ควบคู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ เช่น *pap*, *sfa*, *hly* และ *cnfI* (Yuri et al., 1999) จากการศึกษาของ Feria และคณะ (2001) พบว่าแมวที่มีปัญหาการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะ ตรวจพบ *pap*, *sfa*, *hly* และ *cnfI* เช่นเดียวกับในสุนัขที่มีปัญหาเดียวกัน นอกจากนี้ปัญหาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะแล้ว UPEC ยังเป็นสาเหตุให้เกิดภาวะมดลูกอักเสบและเป็นหนองในสุนัขได้เช่นกัน (Hagman and Kuhn, 2002) ซึ่งเมื่อมีการศึกษาทางอนุชีววิทยาเชื่อว่า P fimbriae,  $\alpha$ -hemolysin และ cytotoxic necrotizing factor I มีส่วนเกี่ยวข้องกับความรุนแรงและพยาธิกำเนิดในระบบสืบพันธุ์ของสุนัข (Chen et al., 2003)

ชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของแบคทีเรียก่อโรค อาจอยู่บนส่วนของสารพันธุกรรมนอกโครโมโซม เช่น ทรานส์โพซอน (transposon), พลาสมิด (plasmid), แบคทีริโอเฟจ (bacteriophage) หรืออยู่บนบริเวณเฉพาะของโครโมโซมที่เรียกว่า virulence blocks, virulence cassettes หรือ pathogenicity islands (PAIs) ตามขนาดของบริเวณนั้นๆ อาจกล่าวได้ว่า PAIs หมายถึงบริเวณบนโครโมโซมที่มียีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงหลายๆ ยีนอยู่ด้วยกัน มีขนาดประมาณ 10 ถึง 200 กิโลเบส อยู่ใกล้กับลำดับเบสของสารพันธุกรรมที่มีลักษณะจำเพาะ เช่น บริเวณที่มีเบสซ้ำๆ กัน, tRNA หรือ insertion sequence (IS) elements มักมีขนาดไม่คงที่ และมีส่วนประกอบของ G+C แตกต่างจากสารพันธุกรรมของแบคทีเรียเอง

สามารถพบ PAIs ได้ทั้งแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวก และมักพบเฉพาะแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ก่อโรค (Hacker et al., 1997) เมื่อศึกษา UPEC สายพันธุ์ต้นแบบ เช่น สายพันธุ์ 536 พบว่ามี PAIs หลายบริเวณเช่น PAI I ( $\alpha$ -hemolysin), PAI II ( $\alpha$ -hemolysin, P-fimbriae *papG* III), PAI III (S fimbriae, *iro* siderophore system, Tsh-like hemoglobin protease) และ PAI IV หรือ high-PAI (HPI) (yersiniabactin siderophore system) (Oelschlaeger et al., 2002) Kurazono และคณะ (2000) รายงานการพบ putative virulence island ขนาดประมาณ 4,167 คู่เบสซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโน 346 ชนิดและ 3 โอเพนรีดดิ้งเฟรม (ORFs; *orfU1-3* มีกรดอะมิโน 98, 97 และ 96 ชนิด) โดยที่กลุ่มยีนดังกล่าวพบใน UPEC ที่แยกจากปัสสาวะของผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (กระเพาะปัสสาวะ



อักเสบ ต่อมลูกหมากอักเสบ และกรวยไตอักเสบ) อีกทั้งเมื่อฉีดเข้าหนูทดลองสามารถเหนี่ยวนำให้หนูทดลองเกิดการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ โดยพบการเข้ามาของ PMNs บริเวณ tubular และ interstitium ของส่วน renal pelvis, cortex ส่วนของ medulla นอกจากนี้จะพบการเข้ามาของเซลล์อักเสบแล้ว ยังพบ papillary necrosis และ tubular dilatation ร่วมด้วยเมื่อศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาเช่นเดียวกับในผู้ป่วยกรวยไตอักเสบ (Yamamoto et al, 2001) Kurazono และคณะ (2003) รายงานการพบการกระจายของ *usp gene* ดังกล่าวสูงใน *E. coli* ที่แยกจากสุนัขและแมวที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ เมื่อเทียบกับ *E. coli* ที่แยกจากอุจจาระของสุนัขและแมวปกติ โดยที่ *usp* จากปฏิริยาถูกไฮโฟลิเมอร์เรสมีขนาด 1 และ 2.5 กิโลเบส ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าที่กล่าวว่า สามารถพบ *usp* ที่มีขนาด 1, 2.5 และ 3 กิโลเบสในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะ (Nakano et al., 2001)



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 นิยามสัตว์ป่วย

ทำการเก็บตัวอย่างและข้อมูลจากสุนัขป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 105 ตัว ระหว่างเดือน เมษายน พ.ศ. 2550 ถึงเดือน มกราคม พ.ศ. 2551 บันทึกข้อมูลเพศ อายุ พันธุ์ ประวัติการป่วย การตรวจร่างกาย อาการทางคลินิก ผลการตรวจพยาธิวิทยาคลินิก และสถานะทางระบบสืบพันธุ์ เมื่อเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็กเป็นครั้งแรก สุนัขที่ศึกษาเป็นสุนัขที่แสดงอาการผิดปกติของระบบทางเดินปัสสาวะ คือ ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะลำบาก ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะไม่เป็นที่ และ/หรือ ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ ทำการวินิจฉัยการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ โดยการซักประวัติ การตรวจร่างกาย การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ ภาพถ่ายทางรังสีวิทยา และ/หรือ การถ่ายภาพด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ทำการเพาะเชื้อจากปัสสาวะ นับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตจากปัสสาวะของสุนัขที่สงสัยมีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ

#### 3.2 การคัดเลือกตัวควบคุม

ตัวควบคุมเป็นสุนัขปกติสุขภาพแข็งแรง ไม่มีประวัติแสดงอาการปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะลำบาก ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะไม่เป็นที่ และ/หรือ ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ ที่มารับการฉีดวัคซีนที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในช่วงเวลาเดียวกับสัตว์ป่วย และได้รับการประเมินสภาพร่างกายเบื้องต้นจากสัตวแพทย์ประจำโรงพยาบาล จากการซักประวัติและการตรวจร่างกายว่ามีสุขภาพปกติ

#### 3.3 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างปัสสาวะของสุนัข โดยวิธีเจาะผ่านผนังหน้าท้องหรือการสวนท่อปัสสาวะ เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ การเพาะเชื้อปัสสาวะ และการตรวจหาหินที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ นอกจากนี้ทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระโดยเริ่มจากทำความสะอาดบริเวณทวารหนัก แล้วสอดก้านพันสำลีปราศจากเชื้อเข้าทางทวารหนัก ทำการ swab เก็บตัวอย่างอุจจาระลงในภาชนะเก็บตัวอย่างที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับขนส่ง (transport media) ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างทันที หรืออาจเก็บเข้าตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการตรวจวิเคราะห์ภายในเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมงหลังการเก็บ ตัวอย่างอุจจาระเพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงระหว่างเชื้อ *E. coli*

ที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขป่วยเปรียบเทียบกับเชื้อ *E. coli* ที่แยกจากอุจจาระของสุนัขปกติต่อไป (Yuri et al., 1998; Chen et al., 2003)

### 3.4 การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ

ทำการบันทึกผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ เช่น ความถี่ของปัสสาวะ ระดับของการเกิดปัสสาวะเป็นเลือด (hematuria) โดยมีการแบ่งระดับของ อาการปัสสาวะเป็นเลือดเป็น 3 กลุ่ม คือ จำนวนเม็ดเลือดแดงในปัสสาวะระหว่าง 0-5, 5-50 และมากกว่า 50 เซลล์ต่อ high power field (hpf) (Seguin et al., 2003)

### 3.5 จรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง

ปฏิบัติตามข้อบังคับสัตว์แพทย์สภาว่าด้วยจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองที่ผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการควบคุมดูแลการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ใบอนุญาตให้ใช้สัตว์ฯ เลขที่ 0731016

### 3.6 การนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

#### 3.6.1 การนับแบคทีเรียที่มีชีวิต

ทำการเจือจางตัวอย่างปัสสาวะที่คาดว่าจะมีแบคทีเรียแบบ ten-fold dilutions เพื่อนับจำนวนแบคทีเรีย ด้วยเทคนิคพลอดเชื้อโดยวิธี spread plate method ดังนี้ ป้ายเชื้อจำนวน 0.1 มิลลิลิตร จากแต่ละความเข้มข้นบนผิวของจานอาหารเพาะเชื้อ ประมาณ 2 จานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อ 1 ความเข้มข้น นำเข้าบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังจากบ่มทำการนับโคโลนีจากความเข้มข้นที่สามารถนับโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี นำมาหาค่าเฉลี่ย การแปรผลการเพาะเชื้อจากปัสสาวะเชิงปริมาณ (ตารางที่ 4)

#### 3.6.2 เทคนิคการเพาะเชื้อจากปัสสาวะและอุจจาระ

ทำการเพาะเชื้อจากปัสสาวะโดยปั่นตัวอย่างปัสสาวะ 4000 x g เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำตะกอนป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Mac Conkey agar และ tryptic soy agar ที่ผสมเลือดแกะ 5%) สำหรับเพาะเชื้อต่อไป ส่วนการเพาะเชื้อจากอุจจาระ นำก้านพันสำลีปราศจากเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับขนส่ง ป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว ทำการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นสังเกตลักษณะและนับจำนวนของโคโลนี การวินิจฉัยชนิดของจุลชีพใช้วิธีมาตรฐานตามเทคนิคทางจุลชีววิทยา (Barrow and Feltham, 1993; Holt et al., 1994)

### 3.7 การหาชนิดที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสแบบมัลติเพล็กซ์ (Multiplex polymerase chain reaction)

#### 3.7.1 สายพันธุ์ของแบคทีเรียและการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

รวบรวมเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (แบคทีเรียกลุ่มทดลอง) และอุจจาระของสุนัขที่มีสุขภาพดีปกติ (แบคทีเรียกลุ่มควบคุม) ที่เข้ารับการรักษาหรือรักษา ณ โรงพยาบาลสัตว์เล็ก จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษาที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ นำแบคทีเรียเหล่านี้มาเลี้ยงใน Luria-Bertani broth บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (Le Bouguenec et al., 1992)

#### 3.7.2 การเตรียม DNA ของแบคทีเรียจากโคลนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

สกัด DNA ของแบคทีเรียทั้งหมด ออกจากส่วนของแบคทีเรียโดยการต้มอย่างรวดเร็ว (rapid boiling) โดยสุ่มเลือกเก็บแบคทีเรียที่สงสัยเป็นเชื้อ *E. coli* จากโคลนเดี่ยวจำนวน 3 โคลน (รูปที่ 4) จากนั้นทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียจากแต่ละโคลนลงใน Luria-Bertani broth และเก็บแบคทีเรียจาก 1 มิลลิตร ของ cultured broth ที่ข้ามคืนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที 5 นาที เทส่วนใสทิ้งเติม phosphate buffer saline (PBS) 1 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 10 วินาที ปั่นเหวี่ยงและเทส่วนใสทิ้งอีกครั้ง จากนั้นเติม 200 ไมโครลิตรของน้ำกลั่น (ultra pure water) นำไปต้มที่น้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทำการปั่นเหวี่ยง (5,500 รอบต่อนาที 10 นาที) เพื่อให้เศษเซลล์ตกตะกอน เก็บส่วนใสด้านบนของสารละลายที่มี DNA เก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส

#### 3.7.3 ไพร์เมอร์สำหรับปฏิกิริยาลูกโซ่

การเลือกไพร์เมอร์ที่ใช้จะเลือกจากลำดับเบสของยีนที่มีความจำเพาะและเป็นเอกลักษณ์สำหรับเชื้อ *E. coli* ที่ต้องการตรวจสอบ การศึกษานี้ยังเน้นที่การศึกษาหาชนิดที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ดังนั้นยีนที่สนใจจึงเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการเกิดโรคเป็นส่วนใหญ่ ไพร์เมอร์ที่จะใช้ในการศึกษาเลือกใช้ไพร์เมอร์ที่มีลำดับเบสประมาณ 20-25 เบส และมีส่วนประกอบของ G+C ประมาณร้อยละ 50 เพื่อให้เหมาะสมกับปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสที่มีความจำเพาะ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ไพร์เมอร์ที่เคยมีรายงานก่อนหน้า (Yamamoto et al., 1995) (ตารางที่ 6)



รูปที่ 4 แผนภูมิแสดงขั้นตอนการหาชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ

*E. coli*

หมายเหตุ: **I**; การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ การเพาะและพิสูจน์เชื้อและตรวจนับจำนวนแบคทีเรียในปัสสาวะ **II**; เปรียบเทียบชนิดยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* ที่แยกจากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะกับอุจจาระของสุนัขปกติ **III**; ทดสอบความไวรับของ UPEC ต่อยาต้านจุลชีพและ **IV**; หาความสัมพันธ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ UPEC และอาการปัสสาวะเป็นเลือด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 6: แสดงชนิด ลำดับเบส และขนาดของ amplicons ซึ่งจำเพาะต่อปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ UPEC

| ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรง     | ไพรเมอร์ | ลำดับของ oligonucleotide         | ขนาดของ amplicons |
|--------------------------------------|----------|----------------------------------|-------------------|
| Pilus associated with pyelonephritis | pap3     | 5'-GCAACAGCAACGCTGGTTGCATCAT-3'  | 336 bp            |
|                                      | pap4     | 5'-AGAGAGAGCCACTCTTATACGGACA-3'  |                   |
| S fimbriae                           | sfa1     | 5'-CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC-3'  | 410 bp            |
|                                      | sfa2     | 5'-CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA-3'  |                   |
| Afrimbrial adhesin I                 | afa1     | 5'-GCTGGGCAGCAAACCTGATAACTCTC-3' | 750 bp            |
|                                      | afa2     | 5'-CATCAAGCTGTTTGTTCGTCCGCCG-3'  |                   |
| Hemolysin                            | hly1     | 5'-AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT-3'  | 1177 bp           |
|                                      | hly2     | 5'-ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA-3'  |                   |
| Aerobactin                           | aer1     | 5'-TACCGGATTGTCATATGCAGACCGT-3'  | 602 bp            |
|                                      | aer2     | 5'-AATATCTTCCTCCAGTCCGGAGAAG-3'  |                   |
| Cytotoxic necrotizing factor I       | cnf1     | 5'-AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG-3'   | 498 bp            |
|                                      | cnf2     | 5'-CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT-3'  |                   |

ที่มา: Yamamoto และคณะ (1995)

### 3.7.4 การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

เตรียมสารให้มีปริมาตรทั้งหมด 50 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย DNA 5 ไมโครลิตร ซึ่งถูกแช่ไว้ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที เติมไพรเมอร์ pap3 และ 4 , sfa1 และ 2, afa1 และ 2, aer1 และ 2 และ cnf1 และ 2 ไพรเมอร์ละ 1 ไมโครลิตร (20 pmol); ไพรเมอร์ hly1 และ 2 ไพรเมอร์ละ 1.5 ไมโครลิตร (30 pmol); deoxynucleoside triphosphate (dNTPs) mixture 1.25 ไมโครลิตร (ประกอบด้วย 10 mM dATP, 10 mM dCTP, 10mM dTTP และ 10 mM dGTP) ตามด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 5 ไมโครลิตร (100mM Tris HCl, pH 8.8, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 1% Triton X-100), 50 mM MgCl<sub>2</sub> จำนวน 0.5 ไมโครลิตร, Taq DNA polymerase (Bioneer corporation) 0.5 ไมโครลิตร (1.5 unit) ทำการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยาถูกใช้โพลีเมอร์เรส ตามลำดับขั้นตอน ดังนี้ บ่มที่ 94 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาทีตามด้วย และขั้นตอน denaturation ที่ 94 องศาเซลเซียส 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่ 63 องศาเซลเซียส 30 วินาที และขั้นตอน extension ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ทั้งสิ้น 30 รอบและขั้นตอน extension รอบสุดท้ายอีก 7 นาทีที่ 72 องศาเซลเซียส นำผลิตภัณฑ์ที่ถูกใช้ที่ได้จำนวน 10 ไมโครลิตร มาวิเคราะห์ด้วย 2% (w/v) agarose gels electrophoresis ใน Tris borate buffer

(0.04 M Tris borate, pH 8.0, 1 mM EDTA) มีการใช้ DNA ตัวควบคุมบวกและตัวควบคุมลบจากสายพันธุ์ที่รู้รหัสนำหนักโมเลกุล จากนั้นนำไปย้อมด้วยสารละลาย ethidium bromide และส่องดูภายใต้ ultraviolet transilluminator (Yamamoto et al., 1995)

### 3.8 การทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพ

#### 3.8.1 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC)

ยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการทดสอบเป็นยาที่นิยมใช้ในการรักษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในสุนัข ได้แก่ amikacin (Sigma, USA) (breakpoint  $\geq 64$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), amoxicillin (Sigma, USA) (breakpoint  $\geq 32$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), ampicillin (Sigma, USA) (breakpoint  $\geq 32$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), cephazolin (Sigma, USA) (breakpoint  $\geq 32$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), ceftriaxone (Sigma, USA) (breakpoint  $\geq 64$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), doxycycline (Sigma, USA) (breakpoint  $\geq 16$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), enrofloxacin (Fluka, USA) (breakpoint  $\geq 2$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), gentamicin (Sigma, USA) (breakpoint  $\geq 16$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร), norfloxacin (Sigma, USA) (breakpoint  $\geq 16$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ trimethoprim/sulphamethoxazole (Sigma, USA) (breakpoint  $\geq 4/76$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ละลายยาที่ใช้ทำเป็น two-fold dilution การหาค่า MIC ทำโดยใช้วิธี agar dilution technique (NCCLS, 2007) ส่วนใหญ่จะใช้ความเข้มข้น 0.125-512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 7) ยกเว้น trimethoprim/sulphamethoxazole ใช้ความเข้มข้น 0.06/1.184-16/0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 8) เลือกโคโลนีของแบคทีเรียที่มียื่นที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะและเชื้อควบคุมมาตรฐานจาก stock agar มาเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy agar 1-2 ครั้งเพื่อทำให้บริสุทธิ์แล้วจึงเลือกโคโลนีของแต่ละเชื้อที่มีลักษณะขอบเรียบ 2-3 โคโลนี มาเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85% ปรับความขุ่นของสารแขวนลอยให้เท่ากับความขุ่น 0.5 McFarland ซึ่งมีเชื้อประมาณ  $1 \times 10^8$  cfu/ml เจือจางในน้ำเกลือลงอีก 10 เท่าให้ได้ปริมาณเชื้อ  $1 \times 10^7$  cfu/ml

เตรียม stock สารละลายของยาที่จะทดสอบโดยใช้ตัวทำละลายต่างๆ ที่เหมาะสมต่อชนิดของยาและความเข้มข้นของยาทำเป็น two-fold serial dilution (NCCLS, 2007) เก็บสารละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสไม่เกิน 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton agar ในหลอดแก้วฝาเกลียวหลอดละ 18 มิลลิลิตร ทำให้ไร้เชื้อโดย autoclave (121 องศาเซลเซียส 15 นาทีความดัน psi) และทำให้เย็นลงโดยแช่ในหม้อต้มอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส คูด stock สารละลายของยาที่จะทดสอบแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละหลอด หลอดละ 2 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาแต่ละชนิดตามที่กำหนด ผสมให้เข้ากันดีแล้วจึงเทลงในจานเพาะเชื้อตั้งบนพื้น

เรียบจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง อาหารเลี้ยงเชื้อที่มียาความเข้มข้นต่างๆนี้ เตรียมไว้หนึ่งวันก่อนการทดสอบ

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ รวมทั้งเชื้อควบคุมมาตรฐานซึ่งวัดความขุ่นแล้วจากหลอดที่เตรียมไว้ข้างต้น ลงในหลอดแก้วสี่สำหรับนำไปใส่ในหลุมของเครื่อง multipoint inoculator ซึ่งสามารถถ่ายเชื้อได้ครั้งละ 25 เชื้อ จากนั้นใช้ replicating device ที่มีลักษณะเป็นโลหะกลวงแบ่งสี่ติดอยู่กับแท่นกลม จำนวน 25 แท่งเท่ากับหลอดแก้วสี่ที่เตรียมไว้จุ่มลงในหลอดแก้วสี่ที่ใส่เชื้อแล้วทั้งหมด ยกขึ้นเบาๆ นำไปแตะบนผิวของ Muller Hinton agar ซึ่งผสมยาความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้ จึงนำจานเพาะทั้งหมดบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 18-24 ชั่วโมง อ่านผลโดยเริ่มจากจานเพาะเชื้อที่มียาความเข้มข้นต่ำสุดก่อน โดยดูว่าเชื้อเจริญเติบโตหรือไม่ ความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ คือ ค่า minimal inhibitory concentration (MIC) ของยาที่มีผลต่อเชื้อนั้น อ่านค่า MIC ของแต่ละเชื้อแล้วแปลค่า MIC เป็นการต้านยาโดยใช้ตารางแปลผลมาตรฐาน (NCCLS, 2007) แสดงการกระจายของข้อมูลโดยโปรแกรม WHONET 5.4 (O' Brien and Stelling, 2007) วิเคราะห์ผลโดยอ่านค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> (ความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ร้อยละ 50 และ 90 ตามลำดับ) เชื้อที่ต้านยามากกว่า 3 ชนิดขึ้นไปจัดเป็นเชื้อต้านยาหลายชนิด

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7: แสดงขั้นตอนการเจือจางยาด้านจุลชีพที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

| ขั้นตอน | สารละลายยาด้านจุลชีพ        |        | ปริมาตร<br>ที่ใช้<br>(มล.) | ตัวทำ<br>ละลาย<br>(มล.) | ความเข้มข้น<br>กลาง<br>(มคก.ต่อมล.) | ความเข้มข้น   |                  |
|---------|-----------------------------|--------|----------------------------|-------------------------|-------------------------------------|---|------------------|
|         | ความเข้มข้น<br>(มคก.ต่อมล.) | ที่มา  |                            |                         |                                     | สุดท้ายเจือจาง<br>1:10 ในอาหาร<br>เลี้ยงเชื้อ<br>(มคก.ต่อมล.) | Log <sub>2</sub> |
|         | 5120                        | Stock  | -                          | -                       | 5120                                | 512   | 9                |
| 1       | 5120                        | Stock  | 2                          | 2                       | 2560                                | 256   | 8                |
| 2       | 5120                        | Stock  | 1                          | 3                       | 1280                                | 128   | 7                |
| 3       | 5120                        | Stock  | 1                          | 7                       | 640                                 | 64  | 6                |
| 4       | 640                         | Step 3 | 2                          | 2                       | 320                                 | 32  | 5                |
| 5       | 640                         | Step 3 | 1                          | 3                       | 160                                 | 16  | 4                |
| 6       | 640                         | Step 3 | 1                          | 7                       | 80                                  | 8   | 3                |
| 7       | 80                          | Step 6 | 2                          | 2                       | 40                                  | 4   | 2                |
| 8       | 80                          | Step 6 | 1                          | 3                       | 20                                  | 2   | 1                |
| 9       | 80                          | Step 6 | 1                          | 7                       | 10                                  | 1   | 0                |
| 10      | 10                          | Step 9 | 2                          | 2                       | 5                                   | 0.5   | -1               |
| 11      | 10                          | Step 9 | 1                          | 3                       | 2.5                                 | 0.25  | -2               |
| 12      | 10                          | Step 9 | 1                          | 7                       | 1.25                                | 0.125   | -3               |

ที่มา: NCCLS, 2007

### 3.8.2 เชื้อควบคุมมาตรฐานสำหรับการทดสอบความไวรับต่อยาด้านจุลชีพ

ใช้แบคทีเรียควบคุมจาก American type culture collection (ATCC) แบคทีเรียสายพันธุ์อ้างอิงนี้จะมีขอบเขตการยับยั้งที่ได้ระบุไว้เป็นมาตรฐานแล้ว แบคทีเรียควบคุมที่ใช้ เช่น *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

โดยเก็บใน stock agar เป็นเชื้อมาตรฐานที่จะตรวจสอบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมยาแต่ละชนิดมีความเข้มข้นถูกต้องหรือไม่ โดยเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียควบคุมกับค่าในตารางมาตรฐาน

ตารางที่ 8 แสดงขั้นตอนการเจือจางยา trimethoprim/sulfamethoxazole (1:19)

| ขั้นตอน | สารละลายยาต้านจุลชีพ |                  |       | ปริมาตรที่ใช้<br>(มล.) | ตัวทำละลาย<br>(มล.) | ความเข้มข้นกลาง<br>(มคก.ต่อมล.) |                  | ความเข้มข้นสุดท้ายเจือจาง 1:10 ใน<br>อาหารเลี้ยงเชื้อ (มคก.ต่อมล.) |                  |              |                  |
|---------|----------------------|------------------|-------|------------------------|---------------------|---------------------------------|------------------|--|------------------|--------------|------------------|
|         | ความเข้มข้น          |                  | ที่มา |                        |                     | Trimethoprim                    | Sulfamethoxazole | Trimethoprim   | Sulfamethoxazole | Trimethoprim | Sulfamethoxazole |
|         | Trimethoprim         | Sulfamethoxazole |       |                        |                     |                                 |                  |  |                  |              |                  |
| 1       | 1600                 | -                | Stock | 1                      | 9                   | 160                             | -                | 16   | -                |              |                  |
| 2       | -                    | 6080             | Stock | 1                      | 1                   | -                               | 3040             | -  | 304              |              |                  |
| 3       | 160                  | 3040             | 1+2   | 1+1                    | -                   | 80                              | 1520             | 8  | 152              |              |                  |
| 4       | 160                  | 3040             | 3     | 1                      | 1                   | 40                              | 760              | 4  | 76               |              |                  |
| 5       | 160                  | 3040             | 3     | 1                      | 3                   | 20                              | 380              | 2  | 38               |              |                  |
| 6       | 160                  | 3040             | 3     | 1                      | 7                   | 10                              | 190              | 1  | 19               |              |                  |
| 7       | 20                   | 380              | 6     | 1                      | 1                   | 5                               | 95               | 0.5  | 9.5              |              |                  |
| 8       | 20                   | 380              | 6     | 1                      | 3                   | 2.5                             | 47.5             | 0.25   | 4.75             |              |                  |
| 9       | 20                   | 380              | 6     | 1                      | 7                   | 1.25                            | 23.75            | 0.125  | 2.375            |              |                  |
| 10      | 2.5                  | 47.5             | 9     | 1                      | 1                   | 0.6                             | 11.87            | 0.06   | 1.187            |              |                  |

ที่มา: NCCLS, 2007



### 3.9 การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการรวบรวมข้อมูลต่างๆ ได้แก่ อายุ เพศ พันธุ์ อาการทางคลินิกของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ชนิดของแบคทีเรียที่ตรวจพบ ความไวรับของ *E. coli* ต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ และ ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของ *E. coli* ต่อทางเดินปัสสาวะจากนั้นนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์สถิติเชิงพรรณนา เช่นความถี่ของการกระจายตัว ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมาใช้ในการคำนวณตัวแปร ความชุกของการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะแสดงเปรียบเทียบระหว่าง อายุ เพศ พันธุ์ของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ คำนวณค่า chi-square เพื่อนำมาหาชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อ *E. coli* ต่อทางเดินปัสสาวะและอาการปัสสาวะเป็นเลือด และใช้ Fisher's exact test หากมีข้อมูลมีจำนวนน้อย ทำการเปรียบเทียบอายุเฉลี่ย ผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะของสุนัขที่ทำการศึกษาด้วย unpaired t-test โดยมีระดับความเชื่อมั่นที่  $p < 0.05$

(Epi Info version 3.4.3)



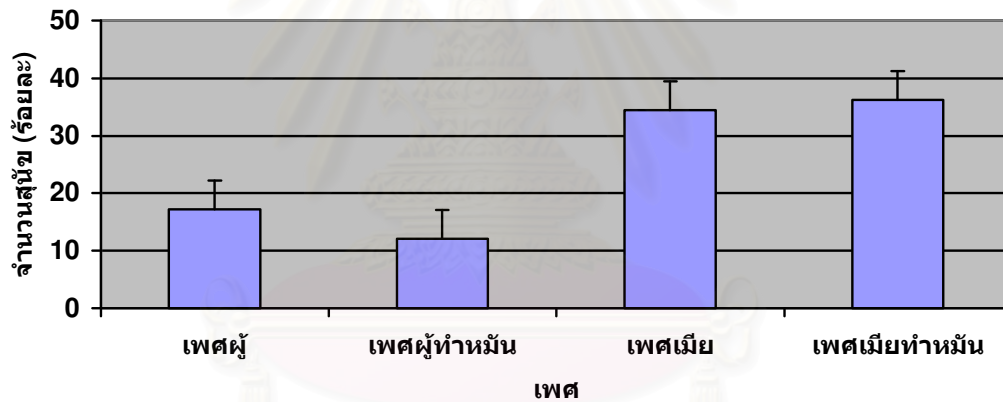
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 การติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะ

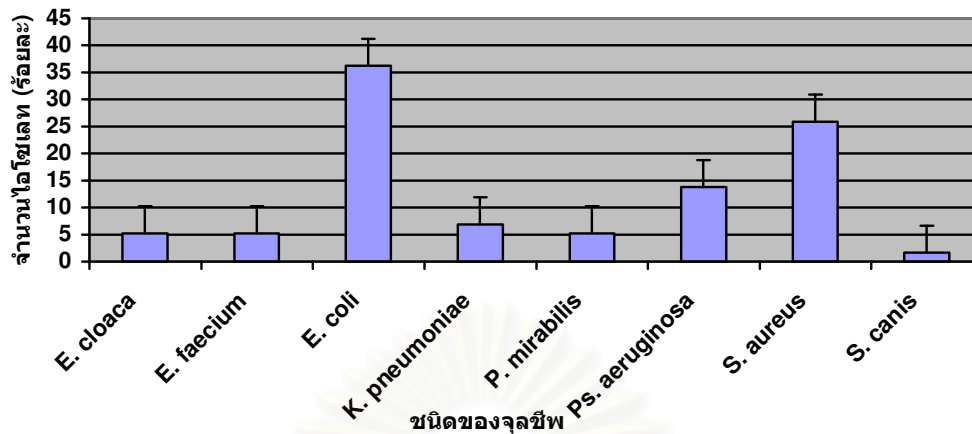
การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะ ตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ เพาะและพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียร่วมกับการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียในปัสสาวะของสุนัขที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่แสดงอาการผิดปกติของทางเดินปัสสาวะ และได้รับการตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นว่ามีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2550 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 จำนวน 105 ตัว พบสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะทั้งสิ้น 58 ตัว (ร้อยละ 55.2) แบ่งเป็นสุนัขเพศผู้ 17 ตัว (ร้อยละ 29.3) และเพศเมีย 41 ตัว (ร้อยละ 70.7) ตามลำดับ โดยพบแบคทีเรียตัวอย่างละ 1 ชนิด และไม่พบการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะของสุนัขกลุ่มควบคุม (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 แสดงจำนวนสุนัข (ร้อยละ) ที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ แยกตามเพศ

#### 4.1.1 การเพาะเชื้อปัสสาวะ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้แยกเชื้อ *E. coli* จากปัสสาวะได้มากที่สุด (21/58, ร้อยละ 36.2) (รูปที่ 6) แบคทีเรียสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดในทางเดินปัสสาวะของสุนัขเพศผู้ คือ *E. coli* รองลงมาได้แก่ *Ps. aeruginosa* และ *E. cloaca* ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่พบมากที่สุดในทางเดินปัสสาวะของสุนัขเพศเมีย คือ *E. coli* รองลงมาได้แก่ *S. aureus* ขณะที่ *Ps. aeruginosa*, *K. pneumoniae* และ *P. mirabilis* พบในจำนวนที่เท่ากัน เมื่อพิจารณาในกลุ่มที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะพบว่าสุนัขเพศเมียมีการติดเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* มากกว่าสุนัขเพศผู้ (ตารางที่ 9)



รูปที่ 6 แสดงชนิดและจำนวนไอโซเลท (ร้อยละ) ของจุลชีพที่ทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ

หมายเหตุ: *E. cloaca*; *Enterobacter cloaca*, *E. faecium*; *Enterococcus faecium*, *E. coli*; *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*; *Klebsiella pneumoniae*, *P. mirabilis*; *Proteus mirabilis*, *Ps. aeruginosa*; *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*; *Staphylococcus aureus* และ *S. canis*; *Streptococcus canis*

ตารางที่ 9 แสดงค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) ชนิดและจำนวนไอโซเลทของจุลชีพแยกตามเพศ

| สายพันธุ์แบคทีเรีย            | การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ |                | OR        | 95% CI      |
|-------------------------------|---------------------------|----------------|-----------|-------------|
|                               | เพศเมีย                   | เพศผู้         |           |             |
|                               | (n/N) (ร้อยละ)            | (n/N) (ร้อยละ) |           |             |
| <i>Escherichia coli</i>       | 15/41 (36.6)              | 6/17 (35.3)    | 1.06      | 0.28-4.05   |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 14/41 (34.1)              | 1/17 (5.9)     | 8.30      | 0.96-184.92 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 3/41 (7.3)                | 5/17 (29.4)    | 0.19      | 0.03-1.11   |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>  | 3/41 (7.3)                | 1/17 (5.9)     | 1.26      | 0.10-34.08  |
| <i>Proteus mirabilis</i>      | 3/41 (7.3)                | 0              | Undefined | Undefined   |
| <i>Enterobacter cloaca</i>    | 1/41 (2.4)                | 2/17 (11.8)    | 0.19      | 0.01-2.96   |
| <i>Enterococcus faecium</i>   | 2/41 (4.9)                | 1/17 (5.9)     | 0.82      | 0.05-24.68  |
| <i>Streptococcus canis</i>    | 0                         | 1/17 (5.9)     | 0.00      | 0.00-7.29   |

หมายเหตุ: Undefined; คำนวณไม่ได้, n; จำนวนสุนัขจำแนกตามกลุ่ม และ N; จำนวนสุนัขทั้งหมดในแต่ละกลุ่ม

#### 4.1.2 การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ

ทำการการตรวจวิเคราะห์ค่าชีวเคมีในปัสสาวะ ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความถ่วงจำเพาะ โปรตีน เลือด และฮีโมโกลบินในปัสสาวะของสุนัขที่ทำการศึกษพบว่า ค่าเฉลี่ยของความถ่วงจำเพาะ กลูโคส เลือดและฮีโมโกลบินในปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมีความแตกต่างกับสุนัขที่ไม่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.05$ ) (ตารางที่ 10)

เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ตะกอนปัสสาวะเพื่อตรวจหาระดับเม็ดเลือดขาว และระดับเม็ดเลือดแดงในปัสสาวะของสุนัขพบว่า ระดับเม็ดเลือดขาวเฉลี่ยในปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะสูงกว่าสุนัขที่ไม่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญ ( $p<0.01$ ) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะของสุนัข

| การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ                  | การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ |                            | t-test | P value |
|--|---------------------------|----------------------------|--------|---------|
|  | ติดเชื้อ <i>E. coli</i>   | ไม่ติดเชื้อ <i>E. coli</i> |        |         |
| <b>การตรวจทางชีวเคมี</b>                 |                           |                            |        |         |
| ค่าความเป็นกรด-ด่าง                      | 6.62±0.59                 | 6.88±0.77                  | 1.45   | 0.14    |
| ความถ่วงจำเพาะ                           | 1.032±0.006               | 1.029±0.005                | 2.09*  | 0.03    |
| โปรตีน (มคก.ต่อมล.)                      | 0.90±0.62                 | 1.08±0.50                  | 1.39   | 0.16    |
| กลูโคส (มคก.ต่อมล.)                      | 0.38±1.20                 | 0.01±0.11                  | 2.80** | 0.00    |
| ระดับเลือด<br>(เม็ดเลือดแดงต่อมคค.)      | 2.28±1.55                 | 1.06±1.61                  | 3.14** | 0.00    |
| ระดับฮีโมโกลบิน<br>(เม็ดเลือดแดงต่อมคค.) | 0.57±1.08                 | 1.58±1.43                  | 3.02** | 0.00    |
| <b>การตรวจตะกอนปัสสาวะ</b>               |                           |                            |        |         |
| ระดับเม็ดเลือดขาว                        | 2.00±0.00                 | 1.53±0.55                  | 3.87** | 0.00    |
| ระดับเม็ดเลือดแดง                        | 1.81±0.87                 | 2.00±0.64                  | 1.21   | 0.26    |

หมายเหตุ: \*; มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p<0.05$  และ \*\* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p<0.01$

#### 4.1.3 อาการทางคลินิก

สุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ แสดงอาการผิดปกติของระบบทางเดินปัสสาวะ เช่น ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะลำบาก ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะไม่เป็นที่ ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ และตรวจพบอีโมโกลบินในปัสสาวะ โดยสุนัขที่ติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะมักแสดงอาการผิดปกติร่วมกัน 3 อาการมากที่สุดจำนวน 22 ตัว (ร้อยละ 37.9) รองลงมาคือ แสดงอาการผิดปกติร่วมกัน 2 อาการ (ร้อยละ 36.2) และแสดงอาการผิดปกติร่วมกัน 4 อาการ (ร้อยละ 15.5) ตามลำดับ การศึกษารั้งนี้พบว่าอาการผิดปกติทางคลินิกมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ โดยสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะแสดงอาการปัสสาวะเป็นเลือดอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.01$ ) (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 แสดงค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) และอาการทางคลินิก แยกตามการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ

| อาการผิดปกติของระบบทางเดินปัสสาวะ | การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ |                            | OR      | 95% CI     |
|-----------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------|------------|
|                                   | ติดเชื้อ <i>E. coli</i>   | ไม่ติดเชื้อ <i>E. coli</i> |         |            |
|                                   | (n/N) (ร้อยละ)            | (n/N) (ร้อยละ)             |         |            |
| ปัสสาวะเป็นเลือด                  | 19/21 (90.5)              | 37/84 (44.0)               | 12.07** | 2.46-80.28 |
| ปัสสาวะลำบาก                      | 9/21 (42.9)               | 63/84 (75.0)               | 0.25    | 0.08-0.75  |
| ปัสสาวะกระปริดกระปรอย             | 6/21 (28.6)               | 54/84 (64.3)               | 0.22    | 0.07-0.70  |
| ปวดเบ่งปัสสาวะ                    | 6/21 (28.6)               | 51/84 (60.7)               | 0.26    | 0.08-0.81  |
| ปัสสาวะไม่เป็นที่                 | 4/21 (19)                 | 25/84 (29.8)               | 0.56    | 0.14-2.01  |
| ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ        | 1/21 (4.8)                | 6/84 (7.1)                 | 0.65    | 0.03-6.06  |
| อีโมโกลบินในปัสสาวะ               | 0                         | 6/84 (7.1)                 | 0.00    | 0.00-3.83  |

หมายเหตุ: \*\*, มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.01$ , n; จำนวนสุนัขแยกตามกลุ่ม และ N; จำนวนสุนัขทั้งหมดในแต่ละกลุ่ม

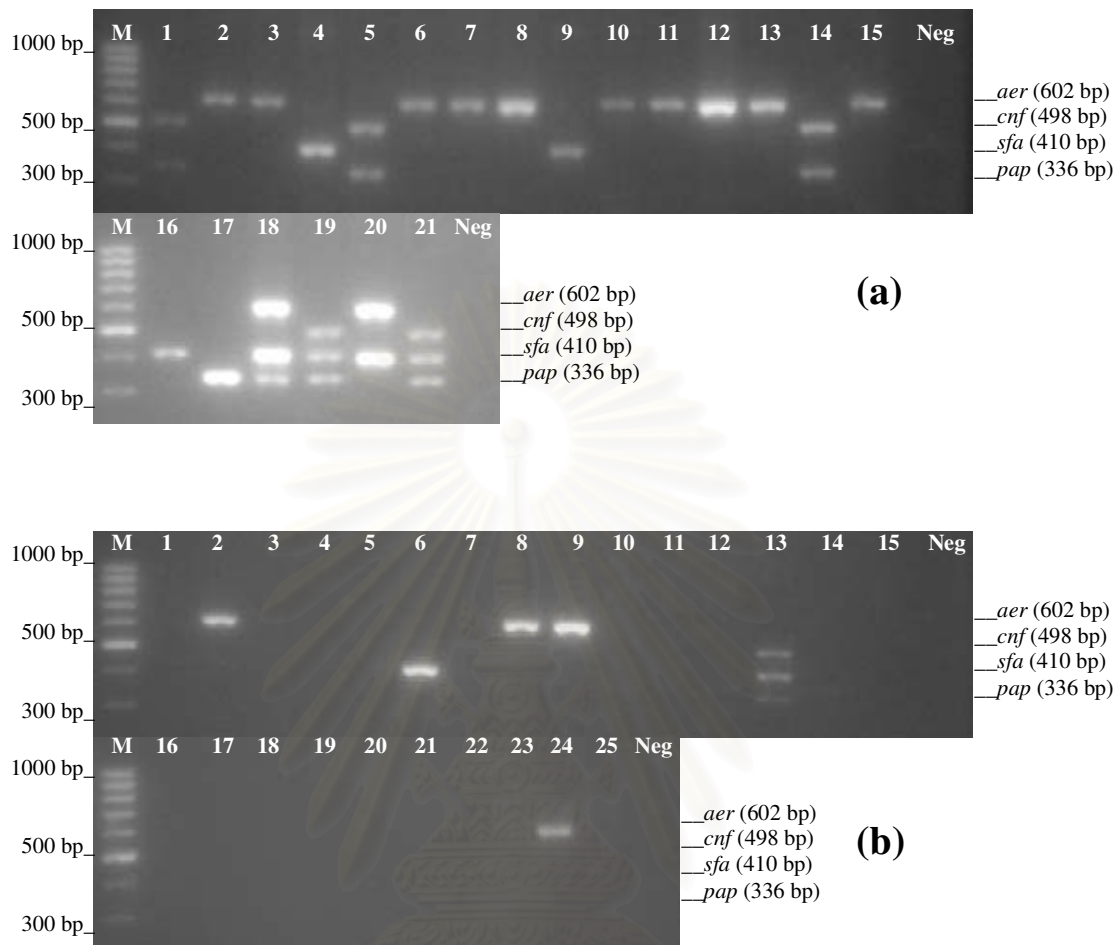
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



#### 4.2 ชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ uropathogenic *E. coli* (UPEC)

ผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สามารถเพาะและพิสูจน์เชื้อ UPEC จำนวน 21 ไอโซเลท (ร้อยละ 36.2) จากตัวอย่างปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ 58 ตัวอย่าง (รูปที่ 6) ทำการศึกษาหาชนิดที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* ที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขป่วยเปรียบเทียบกับ *E. coli* ที่แยกได้จากอุจจาระของสุนัขปกติ (25 ไอโซเลท) ด้วยปฏิกิริยาถูกใช้โพลีเมอร์เรสแบบมัลติเพล็กซ์ (รูปที่ 7) พบว่า เชื้อ UPEC ทุกไอโซเลทที่แยกจากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ มียีนชนิดที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะอย่างน้อย 1 ชนิด โดยพบยีน *aer* มากที่สุด (ร้อยละ 57.1) รองลงมาได้แก่ ยีน *pap* (ร้อยละ 33.3), *sfa* (ร้อยละ 33.3) และ *cnf* (ร้อยละ 23.8) ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *E. coli* ที่แยกจากอุจจาระของสุนัขปกติ มีเพียง 6 ไอโซเลท ที่มียีนชนิดที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ โดยพบยีน *aer* มากที่สุด (ร้อยละ 16) รองลงมาได้แก่ ยีน *sfa* (ร้อยละ 8), *pap* (ร้อยละ 4) และ *cnf* (ร้อยละ 4) ตามลำดับ โดย *E. coli* ทั้ง 46 ไอโซเลทไม่มียีน *hly* และ *afa*

ชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของ UPEC ที่พบมากที่สุดคือ ยีน *aer* (10 อัลลิล, ร้อยละ 47.6) อันดับถัดมาได้แก่ *sfa* (3 อัลลิล) และ *cnf/pap* (3 จีโนไทป์, ร้อยละ 14.3), *cnf/pap/sfa* (2 จีโนไทป์, ร้อยละ 9.5) ส่วน *pap*, *aer/sfa* และ *aer/pap/sfa* พบเพียงร้อยละ 4.8 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ทางสถิติของชนิดต่างๆ ยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* กับการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะพบว่า ยีน *aer* มีจำนวนความถี่ของอัลลิลสูงและมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 12) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า เชื้อ *E. coli* จำนวนหลายไอโซเลทมียีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงมากกว่า 1 ชนิด และมีบางยีนสามารถตรวจพบทั้งจาก UPEC และ *E. coli* ที่แยกจากอุจจาระของสุนัขปกติ เชื้อ *E. coli* ทั้งหมดที่ทำการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีความถี่ของจำนวนอัลลิลที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะเพียง 1 ชนิดต่อไอโซเลทมากที่สุด (ตารางที่ 13)



**รูปที่ 7** แสดงการวิเคราะห์ผลผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาลูกโซ่จากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสแบบมัลติเพลกซ์ด้วย gel electrophoresis (a) แถว M คือ molecular weight marker (100 bp) แถวที่ 1 ถึง 21 คือ ตัวอย่าง DNA จากเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (ตัวอย่างที่ 1-21) แถว Neg คือ กลุ่มควบคุมลบ และ (b) แถว M คือ molecular weight marker (100 bp) แถวที่ 1 ถึง 25 คือ ตัวอย่าง DNA จากเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากอุจจาระของสุนัขปกติ (ตัวอย่างที่ 1-25) แถว Neg คือ กลุ่มควบคุมลบ

ตารางที่ 12 แสดงค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI), ชนิดและความถี่ของยีนชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะและจากอุจจาระของสุนัขปกติ

| ลักษณะจีโนไทป์ที่เกี่ยวข้อง<br>กับความรุนแรงต่อทางเดิน<br>ปัสสาวะ | ความถี่ของยีนที่ตรวจพบ    |                           | OR        | 95% CI      |
|---|---------------------------|---------------------------|-----------|-------------|
|   | ปัสสาวะ<br>(n/N) (ร้อยละ) | อุจจาระ<br>(n/N) (ร้อยละ) |           |             |
| <i>aer</i>  | 10/21 (47.6)              | 4/25 (16.0)               | 4.77*     | 1.03-23.86  |
| <i>pap</i>  | 1/21 (4.8)                | 0                         | Undefined | Undefined   |
| <i>sfa</i>  | 3/21 (14.3)               | 1/25 (4.0)                | 4.00      | 0.32-108.94 |
| <i>aer/ sfa</i>   | 1/21 (4.8)                | 0                         | Undefined | Undefined   |
| <i>cnf/ pap</i>   | 3/21 (14.3)               | 0                         | Undefined | Undefined   |
| <i>aer/ pap/ sfa</i>  | 2/21 (9.5)                | 0                         | Undefined | Undefined   |
| <i>cnf/ pap/ sfa</i>  | 1/21 (4.8)                | 1/25 (4.0)                | 1.20      | 0.00-47.56  |

หมายเหตุ: \*; มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$ , Undefined; คำนวณไม่ได้, n; จำนวนสุนัขจำแนกตามกลุ่ม และ N; จำนวนสุนัขทั้งหมดในแต่ละกลุ่ม

ตารางที่ 13 แสดงค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) และจำนวนยีนที่ตรวจพบต่อไอโซเลทของ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะและจากอุจจาระของสุนัขปกติ

| จำนวนยีนที่เกี่ยวข้องกับ<br>ความรุนแรงต่อไอโซเลท | จำนวนไอโซเลท              |                           | OR        | 95% CI      |
|--|---------------------------|---------------------------|-----------|-------------|
|  | ปัสสาวะ<br>(n/N) (ร้อยละ) | อุจจาระ<br>(n/N) (ร้อยละ) |           |             |
| จีโนไทป์ ชนิด 3 ยีน                              | 3/21 (14.3)               | 1/25 (4.0)                | 4         | 0.32-108.94 |
| จีโนไทป์ ชนิด 2 ยีน                              | 4/21 (19.0)               | 0                         | Undefined | Undefined   |
| จีโนไทป์ ชนิด 1 ยีน                              | 14/21 (66.7)              | 5/25 (20.0)               | 8**       | 1.78-39.03  |
| 0  | 0                         | 19/25 (76.0)              | 0         | 0-0.10      |

หมายเหตุ: \*\*; มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.01$ , Undefined; คำนวณไม่ได้, n; จำนวนสุนัขจำแนกตามกลุ่ม และ N; จำนวนสุนัขทั้งหมดในแต่ละกลุ่ม

เมื่อทำการศึกษาหาความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ อาการทางคลินิกและยีนชนิดต่างๆที่ตรวจพบ พบว่าไม่มีความแตกต่างของระดับเลือดและระดับเม็ดเลือดแดงเฉลี่ยในปัสสาวะกับยีนชนิดต่างๆที่ตรวจพบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 14) และพบว่ายีน *aer* ความสัมพันธ์กับอาการปัสสาวะเป็นเลือด (ตารางที่ 15)

**ตารางที่ 14** แสดงค่าเฉลี่ยของระดับเลือด ระดับเม็ดเลือดแดงในปัสสาวะและลักษณะจีโนไทป์ที่ตรวจพบในสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะ

| คุณลักษณะ         | ลักษณะจีโนไทป์ที่ตรวจพบ |            |            |                 |                 |                      |                      |
|-------------------|-------------------------|------------|------------|-----------------|-----------------|----------------------|----------------------|
|                   | <i>aer</i>              | <i>pap</i> | <i>sfa</i> | <i>aer/ sfa</i> | <i>cnf/ pap</i> | <i>aer/ pap/ sfa</i> | <i>cnf/ pap/ sfa</i> |
| ระดับเลือด        | 1.90±1.45               | 4.00±0.00  | 2.00±2.00  | 1.00±0.00       | 2.33±2.08       | 3.00±0.00            | 4.00±0.00            |
| ระดับเม็ดเลือดแดง | 1.20±0.42               | 3.00±0.00  | 1.67±0.58  | 1.00±0.00       | 3.00±0.00       | 3.00±0.00            | 2.00±0.00            |

**ตารางที่ 15** แสดงจำนวนลักษณะจีโนไทป์ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ แยกตามอาการทางคลินิก

| ลักษณะจีโนไทป์ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ | อาการทางคลินิก                     |                                       |
|---|------------------------------------|---------------------------------------|
|   | ปัสสาวะเป็นเลือด (n/N)<br>(ร้อยละ) | ไม่พบเลือดในปัสสาวะ (n/N)<br>(ร้อยละ) |
| <i>aer</i>  | 10/19 (52.6)                       | 0                                     |
| <i>pap</i>  | 1/19 (5.3)                         | 0                                     |
| <i>sfa</i>  | 2/19 (10.5)                        | ½ (50.0)                              |
| <i>aer/ sfa</i>   | 0                                  | ½ (50.0)                              |
| <i>cnf/ pap</i>   | 3/19 (15.8)                        | 0                                     |
| <i>aer/ pap/ sfa</i>                                      | 1/19 (5.3)                         | 0                                     |
| <i>cnf/ pap/ sfa</i>                                      | 2/19 (10.5)                        | 0                                     |

หมายเหตุ: n; จำนวนสุนัขจำแนกตามกลุ่ม และ N; จำนวนสุนัขทั้งหมดในแต่ละกลุ่ม

#### 4.3 การทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพ

ทดสอบความไวรับของ UPEC ในสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ จำนวน 21 ไอโซเลท และเชื้อมาตรฐานทั้ง 3 ชนิดต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิดที่นิยมใช้ในการรักษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ในโรงพยาบาลและคลินิกรักษาสัตว์ ได้แก่ amikacin, amoxicillin, ampicillin, cefazolin, ceftriaxone, doxycycline, enrofloxacin, gentamicin, norfloxacin และ trimethoprim/sulphamethoxazole ด้วยวิธี agar dilution technique พบว่า ค่าความไวรับต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อมาตรฐานทั้ง 3 ชนิดไม่เกินค่า MIC มาตรฐานแสดงให้เห็นว่าค่า MIC ของการศึกษาครั้งนี้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน การทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพของ UPEC แสดงผลค่า MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> และช่วงความเข้มข้นของยาในการยับยั้งเชื้อ (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 แสดงผลการทดสอบความไวรับของ UPEC ต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิด

| ยาต้านจุลชีพ                   | MIC (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) |                   |                  |
|--------------------------------|-----------------------------|-------------------|------------------|
|                                | MIC <sub>50</sub>           | MIC <sub>90</sub> | MIC range        |
| Amikacin                       | 4                           | 4                 | 2-4              |
| Amoxicillin                    | >512                        | >512              | >512             |
| Ampicillin                     | >512                        | >512              | >512             |
| Cefazolin                      | >512                        | >512              | 4->512           |
| Ceftriaxone                    | 32                          | 256               | ≤0.125-512       |
| Doxycycline                    | 32                          | 64                | 0.5-64           |
| Enrofloxacin                   | 32                          | 128               | ≤0.125-128       |
| Gentamicin                     | 128                         | 256               | 1-256            |
| Norfloxacin                    | >512                        | >512              | ≤0.125->512      |
| Trimethoprim/sulphamethoxazole | >16/0                       | >16/0             | 0.06/1.184->16/0 |

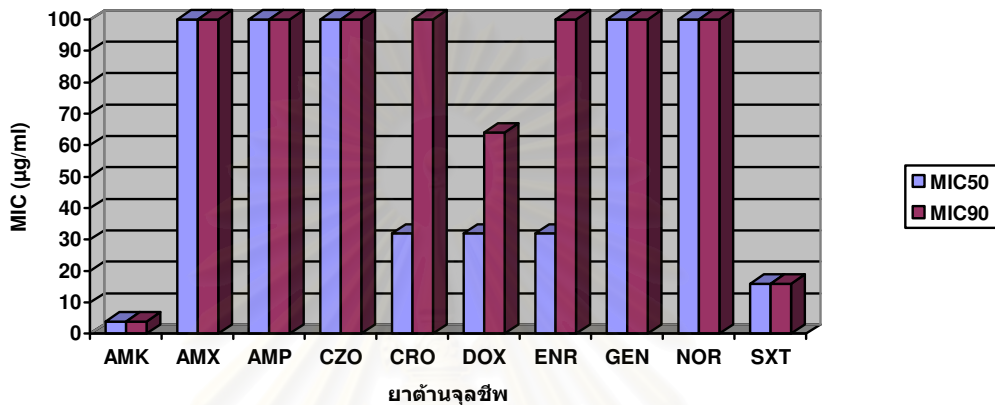
หมายเหตุ: MIC<sub>50</sub>: ความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจำนวน 50%

MIC<sub>90</sub>: ความเข้มข้นของยาต้านจุลชีพที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจำนวน 90%

Amikacin มีค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> เท่ากับ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน ceftriaxone มีค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> เท่ากับ 32 และ 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเชื้อ UPEC ที่ใช้ในการศึกษาทุกตัวอย่างเป็นยาด้านจุลชีพที่เหลืออีก 8 ชนิด ค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> ของ amoxicillin, ampicillin, cefazolin และ norfloxacin มีค่าเท่ากันคือ >512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับ trimethoprim/sulphamethoxazole ที่มีค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> เท่ากับ >16/0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า



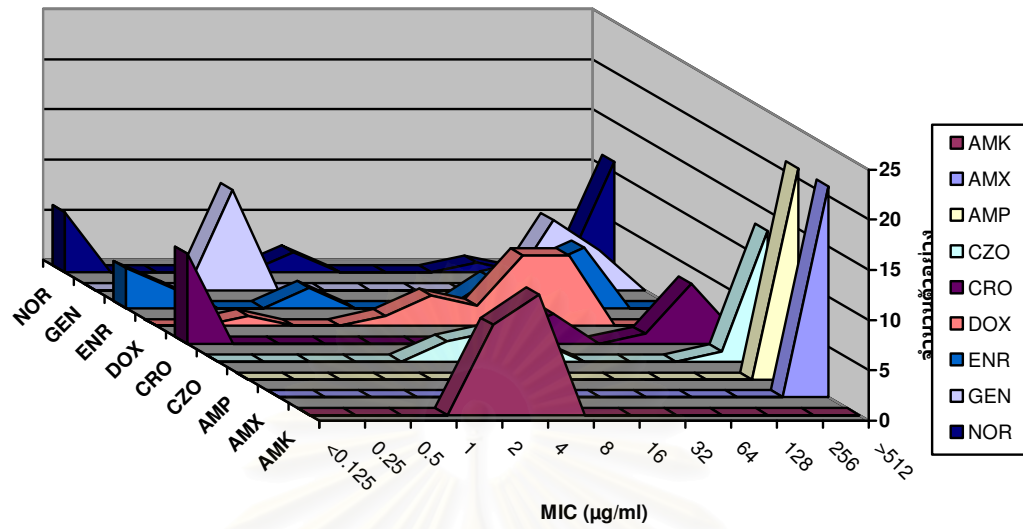
MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> ของ doxycycline และ gentamicin มีค่าแตกต่างกันเพียง 2 เท่า โดย doxycycline มีค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> เท่ากับ 32 และ 64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ gentamicin มีค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> เท่ากับ 128 และ 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ enrofloxacin มีค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> เท่ากับ 32 และ 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งมีค่าต่างกัน 4 เท่า ส่วน ceftriaxone มีค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> ต่างกัน 8 เท่า (32 และ 256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ (รูปที่ 8)



**รูปที่ 8** แสดงเปรียบเทียบค่า MIC<sub>50</sub> และ MIC<sub>90</sub> ของเชื้อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลทต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิด

หมายเหตุ: AMK; amikacin, AMX; amoxicillin, AMP; ampicillin, CZO; cefazolin, CRO; ceftriaxone, DOX; doxycycline, ENR; enrofloxacin, GEN; gentamicin และ NOR; norfloxacin และ SXT; trimethoprim/sulfamethoxazole

เมื่อพิจารณาการกระจายตัวค่า MIC ของ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะต่อยาต้านจุลชีพ 9 ชนิด (ค่า MIC ของ trimethoprim/sulphamethoxazole มิได้แสดง) (รูปที่ 9) พบว่า UPEC ส่วนใหญ่มีค่า MIC มากกว่า 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อ amoxicillin, ampicillin, cephazolin และ norfloxacin เมื่อศึกษาการกระจายตัวของค่า MIC ของยาต้านจุลชีพ 10 ชนิดต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลท (ตารางที่ 17) พบว่ายาต้านจุลชีพที่มีค่า MIC ต่อ UPEC ส่วนใหญ่อยู่ในระดับ susceptible มากกว่าร้อยละ 90 คือ amikacin (ร้อยละ 100) ส่วน ceftriaxone มีค่า MIC ในระดับ susceptible เพียงร้อยละ 42.9 ระดับ intermediate ร้อยละ 19 ส่วนค่า MIC ของยาอีก 8 ชนิดส่วนมากอยู่ในระดับ resistance ได้แก่ amoxicillin และ ampicillin (ร้อยละ 100), trimethoprim/sulfamethoxazole (ร้อยละ 81), doxycycline (ร้อยละ 76.2), enrofloxacin (ร้อยละ 71.4), cefazolin (ร้อยละ 66.7), norfloxacin (ร้อยละ 61.9) และ gentamicin (ร้อยละ 52.4) ตามลำดับ



รูปที่ 9 แสดงการกระจายตัวของค่า MIC ของ UPEC ต่อยาต้านจุลชีพ 9 ชนิด

หมายเหตุ: AMK; amikacin, AMX; amoxicillin, AMP; ampicillin, CZO; cefazolin, CRO; ceftriaxone, DOX; doxycycline, ENR; enrofloxacin, GEN; gentamicin และ NOR; norfloxacin

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 แสดงค่าความไวรับของ UPEC ต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิด

| ชนิดของยาต้านจุลชีพ   | Uropathogenic <i>E. coli</i> |                          |                         |
|---|------------------------------|--------------------------|-------------------------|
|   | Resistance<br>(ร้อยละ)       | Intermediate<br>(ร้อยละ) | Susceptible<br>(ร้อยละ) |
| Amikacin<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 16 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 64 $\mu\text{g/ml}$ )                          | 0                            | 0                        | 100                     |
| Amoxicillin<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 8 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 32 $\mu\text{g/ml}$ )                        | 100                          | 0                        | 0                       |
| Ampicillin<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 8 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 32 $\mu\text{g/ml}$ )                         | 100                          | 0                        | 0                       |
| Cefazolin<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 8 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 32 $\mu\text{g/ml}$ )                          | 66.7                         | 9.5                      | 23.8                    |
| Ceftriaxone<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 8 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 64 $\mu\text{g/ml}$ )                        | 38.1                         | 19                       | 42.9                    |
| Doxycycline<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 4 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 16 $\mu\text{g/ml}$ )                        | 76.2                         | 14.3                     | 9.5                     |
| Enrofloxacin<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 0.25 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 2 $\mu\text{g/ml}$ )                     | 71.4                         | 0                        | 28.6                    |
| Gentamicin<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 4 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 16 $\mu\text{g/ml}$ )                         | 52.4                         | 0                        | 47.6                    |
| Norfloxacin<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 4 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 16 $\mu\text{g/ml}$ )                        | 61.9                         | 0                        | 38.1                    |
| Trimethoprim/sulfamethoxazole<br>(susceptible breakpoint $\leq$ 2/38 $\mu\text{g/ml}$<br>resistance breakpoint $\geq$ 4/76 $\mu\text{g/ml}$ ) | 81                           | 0                        | 19                      |

ที่มา: NCCLS (2007) และ O'Brien and Stelling (2007)

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

การศึกษาค้นคว้าพบการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมากที่สุด (ร้อยละ 36.20) สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้า (Norris et al., 2000; Ling et al., 2001; Seguin et al., 2003) รองลงมาได้แก่ *S. aureus* (ร้อยละ 25.86), *Ps. aeruginosa* (ร้อยละ 13.79), *K. pneumoniae* (ร้อยละ 6.90), *P. mirabilis*, *E. cloaca*, *E. faecium* (ร้อยละ 5.17) และ *S. canis* (ร้อยละ 1.72) ตามลำดับ ในสุนัขเพศเมียพบว่าการติดเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ในทางเดินปัสสาวะ ขณะที่เพศผู้พบการติดเชื้อ *E. coli* และ *Ps. aeruginosa* ในทางเดินปัสสาวะตามลำดับ จากการศึกษาของ Ogeer-Gyles และคณะ (2006) พบการติดเชื้อ *Ps. aeruginosa* ในทางเดินปัสสาวะของสุนัขป่วยวิกฤตที่สอดท่อสวนปัสสาวะเป็นเวลานานถึงร้อยละ 33 เนื่องจาก *Ps. aeruginosa* เป็นแบคทีเรียฉวยโอกาส การติดเชื้อ *Ps. aeruginosa* ในทางเดินปัสสาวะอาจเกิดจากการติดเชื้อจากโรงพยาบาล (nosocomial infection) ผ่านทางท่อสวนปัสสาวะ โดยเฉพาะสัตว์ป่วยที่มีการคาท่อสวนปัสสาวะเป็นเวลานาน ระยะเวลาที่สัตวแพทย์คาท่อสวนปัสสาวะเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญในการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ การคาท่อสวนปัสสาวะที่เหมาะสมในสัตว์ป่วยไม่ควรสอดท่อเกิน 3 วัน (Smarick et al., 2004)

เมื่อพิจารณาการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะพบว่า สุนัขเพศเมียมีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมากกว่าสุนัขเพศผู้ สุนัขเพศเมียที่ได้รับการทำหมันเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงในการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะสูงกว่าสุนัขกลุ่มอื่นถึง 3.58 เท่า (ร้อยละ 47.6, OR เท่ากับ 3.58, 95% CI เท่ากับ 1.17-11.06) สอดคล้องกับการศึกษาของ Bartges (2005) ที่กล่าวว่า การติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะมักพบในสุนัขเพศเมีย การศึกษาของ Seguin และคณะ (2003) พบว่า สุนัขเพศเมียมีโอกาสติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะมากกว่าเพศผู้ เนื่องจากลักษณะทางกายวิภาคของทางเดินปัสสาวะในเพศเมียที่มีท่อปัสสาวะสั้น รวมทั้งผลของอิทธิพลของฮอร์โมนเพศต่อองค์ประกอบของปัสสาวะและคุณสมบัติด้านจุลชีพของต่อมลูกหมากร่วมด้วย ฮอร์โมนเอสโตรเจนกระตุ้นการสร้าง GAGs ส่วนฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของเพศเมียมีผลต่อการหลั่งสาร GAGs ที่เยื่อบุทางเดินปัสสาวะ

การศึกษาค้นคว้าพบว่าสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมีค่าความถ่วงจำเพาะของปัสสาวะ ( $1.032 \pm 0.006$ ) สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะ ( $1.029 \pm 0.005$ ) อาจเนื่องจากการมีเซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดแดงและกลูโคสในปัสสาวะในปริมาณมากกว่าปกติ (Reine and Langston, 2005) ซึ่งค่าความถ่วงจำเพาะในการศึกษาค้นคว้านี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Seguin และคณะ (2003) ที่พบว่าความถ่วงจำเพาะของปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมักมีค่าอยู่ระหว่าง 1.005-1.053 แต่มากกว่าร้อยละ 75 ของสุนัขป่วยมีค่าความถ่วงจำเพาะ

<1.030 การพบระดับเม็ดเลือดขาวสูงขึ้นมากกว่าปกติ (ระดับปกติ 0-5 เซลล์ต่อ hpf; ระดับ 1) จากการตรวจตะกอนปัสสาวะบ่งชี้ถึงภาวะการอักเสบของทางเดินปัสสาวะ แต่หากพบเม็ดเลือดขาวสูงมากควรทำการเพาะเชื้อจากปัสสาวะเพื่อทำการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ โดยเฉพาะสุนัขที่แสดงอาการปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะกระปริดกระปรอย และปัสสาวะเป็นเลือดร่วมด้วย (Reine and Langston, 2005) อย่างไรก็ตามการตรวจไม่พบเม็ดเลือดขาวจากการตรวจตะกอนปัสสาวะยังไม่สามารถวินิจฉัยแยกการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะออกจากสุนัขป่วยได้ เนื่องจากอาจตรวจพบแบคทีเรียในปัสสาวะแต่ไม่พบเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ (asymptomatic bacteriuria) ในสัตว์ที่ได้รับการรักษาด้วยสารกลุ่ม glucocorticoid หรือสัตว์ป่วยด้วยภาวะภูมิคุ้มกันถูกกดและสัตว์ที่อยู่ในภาวะ hyperadrenocorticism (Dunning and Stonehewer, 2002)

สุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะอาจแสดงหรือไม่แสดงอาการผิดปกติทางคลินิก อาการทางคลินิกที่สัตว์ป่วยแสดงออกจะขึ้นอยู่กับปริมาณและความรุนแรงของจุลชีพ ปัจจัยในนำระยะเวลาที่ติดเชื้อ รวมถึงตำแหน่งที่เกิดการติดเชื้อ อาการทางคลินิกของสัตว์ป่วยที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะที่แสดงออกจากการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ ปัสสาวะเป็นเลือด ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะลำบาก ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะไม่เป็นที่ และ/หรือ ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ Seguin และคณะ (2003) พบว่าสุนัขป่วยมากกว่าร้อยละ 50 ที่มีการติดเชื้อกลับและการติดเชื้อซ้ำไม่แสดงอาการทางคลินิกของการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ดังนั้นการซักประวัติจึงเป็นสิ่งสำคัญในการตรวจวินิจฉัยโรคนี้ ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมักแสดงอาการปัสสาวะเป็นเลือดสอดคล้องกับผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะที่พบว่าปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมีระดับเลือดในปัสสาวะสูงกว่าสุนัขที่ไม่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะแล้วอาการปัสสาวะเป็นเลือดอาจเกิดได้จากสาเหตุอื่น เช่น สุนัขที่มีปัญหาการบีบตัวของกระเพาะปัสสาวะ การศึกษาของ Stiffler และคณะ (2006) พบว่า สุนัขที่มีปัญหา intervertebral disc extrusion ร่วมกับการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ มักแสดงอาการปัสสาวะเป็นเลือด และไม่สามารถปัสสาวะเองได้

จากการศึกษาครั้งนี้เชื้อ UPEC ทั้ง 21 ไอโซเลทมียื่นที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะอย่างน้อย 1 ชนิด ความถี่ในการพบยื่นต่อไอโซเลทพบยื่นเพียง 1 ยื่นมากที่สุด (ร้อยละ 66.7) รองลงมาคือ จีโนไทป์ที่มี 2 และ 3 ยื่นร่วมกันต่อหนึ่งไอโซเลท (ร้อยละ 19.0 และร้อยละ 14.3) ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้พบความถี่จากอัลลีลของ *aer* (ร้อยละ 47.6) สูงกว่าการศึกษาของ Feria และคณะ (2001) ที่ทำการศึกษายืนยันที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ UPEC และ hemolytic *E. coli* ที่แยกจากปัสสาวะของสุนัขและแมวที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะพบว่า UPEC ที่แยกจากกลุ่มสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะพบยื่น *sfa* ร้อยละ 57, *pap* ร้อยละ 43 และ *aer* ร้อย



ละ 34 ตามลำดับ ส่วนในกลุ่ม hemolytic *E. coli* จำนวน 55 ตัวอย่าง พบจีโนไทป์ *pap/sfa* และ *hly/cnf* ร้อยละ 62.5 และพบยีน *aer* เพียงร้อยละ 18.75 จำนวนชนิดของยีนที่พบต่อไอโซเลทเป็นแบบชนิด 1 ยีนต่อไอโซเลทร้อยละ 36.76 และจีโนไทป์ที่ประกอบด้วย 4 ยีนต่อไอโซเลทร้อยละ 25 และพบ F 10 *papA* มากที่สุด (ร้อยละ 39) อันดับถัดมาได้แก่ F15 (ร้อยละ 37) และ F12 (ร้อยละ 35) ตามลำดับ ขณะที่ Johnson และคณะ (2003) พบยีน *aer* ร้อยละ 27 ส่วน *papA* พบชนิด F12 ร้อยละ 17 และ F10 ร้อยละ 15 ตามลำดับจาก UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ซึ่งการพบ F antigen-specific *papA* อัลลีลหลายชนิดร่วมกัน เนื่องจากความแตกต่างของอัลลีล *papA* ในแต่ละสายพันธุ์ (Feria et al., 2001) Johnson และคณะ (2000b) กล่าวว่า antigenic diversity ของพิมเบรีย พี จำแนกตามลักษณะของลำดับเปปไทด์ของ *papA* ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของพิมเบรีย พี ปัจจุบันจำแนกได้ 11 ชนิด ประกอบด้วย F7-1, F7-2 และ F8-F16 Drazenovich และคณะ (2004) รายงานการพบความชุกของยีน *aer* (ร้อยละ 30) และ *pap* (ร้อยละ 28) ในปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* โดยพบยีน *aer* เพียงชนิดเดียวต่อไอโซเลท ขณะที่ยีน *pap* มักพบร่วมกับจีโนไทป์ *cnf, hly* และ *sfa*

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้พบความสัมพันธ์ของการตรวจพบยีน *aer* กับการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะ การพบความถี่ของยีน *aer* สูง ในการศึกษาครั้งนี้บ่งบอกความสำคัญของยีน *aer* ในการอยู่รอดของ *E. coli* ในเซลล์โฮสต์ โดยส่วนของแอโรแบคทีเรียอาศัยอยู่ในพลาสมาหรือโครโมโซมของแบคทีเรีย ยีน *aer* เป็นส่วนที่เกี่ยวข้องกับการจับธาตุเหล็ก ช่วยในการขนส่งและเก็บออกซิเจน การสังเคราะห์สารพันธุกรรมและการเจริญของแบคทีเรีย โดยแอโรแบคทีเรียจะสกัด  $Fe^{3+}$  จากโปรตีนที่จับธาตุเหล็กจากเซลล์โฮสต์และนำเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียผ่านทางโปรตีนตัวรับที่ผิวเยื่อหุ้มเซลล์ การสังเคราะห์แอโรแบคทีเรียถูกควบคุมโดยระดับความเข้มข้นของธาตุเหล็กภายในเซลล์ผ่านทาง *fur* (ferric uptake regulation) เมื่อระดับธาตุเหล็กมีระดับสูงเพียงพอ *fur* repressor จะจับกับ iron box บริเวณโปรโมเตอร์ ของแอโรแบคทีเรีย โอปอร์รอนยับยั้งขบวนการ transcription แต่เมื่อระดับธาตุเหล็กภายในเซลล์ไม่เพียงพอ *fur* repressor จะหลุดจากบริเวณโปรโมเตอร์ทำให้เกิดขบวนการ transcription (Johnson, 1991) ยีน *sfa* และจีโนไทป์ *cnf/pap* พบมากเป็นอันดับ 2 (ร้อยละ 14.3) ซึ่งยีน *pap* และ *sfa* มีหน้าที่ในการยึดเกาะกับเซลล์โฮสต์ เป็นขั้นตอนแรกในกระบวนการก่อโรค ป้องกันการชะล้างจากของเหลวของร่างกาย โดยยีน *pap* (พิมเบรีย พี) เป็นส่วนสำคัญในการยึดเกาะกับเซลล์โฮสต์ เหนียวนำไปเกิด lipopolysaccharide independent transmembrane signaling ทำให้มีการสร้าง IL-6 และ IL-8 เกิดกระบวนการอักเสบเฉพาะที่ตามมา ส่วนพิมเบรีย เอส (*sfa*) มีความสามารถจับกับเยื่อทางเดินปัสสาวะและเซลล์เยื่อหุ้มหลอดเลือดในส่วนทางเดินปัสสาวะส่วนล่างและไตเป็นอย่างดี (Emody et al., 2003) ตัวรับที่จำเพาะกับ *papG* allele III คือ Forssman antigen ซึ่งพบมากบนเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงของมนุษย์ สุนัข แกะ และสุนัขรวมทั้งเยื่อทางเดินปัสสาวะและชั้นกล้ามเนื้อของกระเพาะ

ปัสสาวะของสุนัข เนื่องจากฟิมเบรีย พี มีความสำคัญในการติดเชื้อ กระตุ้นกระบวนการอักเสบ เฉพาะที่และทำให้เกิดการติดเชื้อที่ไต จึงมีแนวคิดในการผลิต receptor analogs หรือการกระตุ้นการสร้าง antifimbrial immunity โดยวัคซีนชนิด homologous fimbriae ซึ่งอาจมีส่วนป้องกันการติดเชื้อ ด้านบนจากแบคทีเรียที่อาศัยส่วนของฟิมเบรีย พี ในการก่อโรค (Johnson, 1991) Johnson และคณะ (2000a) กล่าวว่า *papG* allele III มีความจำเพาะกับการเกิดกระเพาะปัสสาวะอักเสบในผู้ป่วยและสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ และลำดับของ *papG* ของ *E. coli* ที่แยกจากผู้ป่วยและสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมีความคล้ายกันสูงทำให้เชื่อว่า *papG* allele III ของ *E. coli* สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในสุนัขและผู้ป่วยได้ ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ UPEC ในทางเดินปัสสาวะและ urosepsis มักพบการแสดงออกร่วมกันของแอโรแบคทีนและฟิมเบรีย พี โดยเฉพาะ *papG* allele II และ chromosomal aerobactin (Johnson, 1998) สอดคล้องกับ Moreno และคณะ (2005) ที่ตรวจพบ *papG* allele II สูงอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยด้วยภาวะ pyelonephritis และ urinary bacteremia ส่วนยีน *cnf* เป็นสารพิษทำลายเซลล์ที่พบได้ใน uropathogenic และ enteropathogenic *E. coli* จากการศึกษาของ Landraud และคณะ (2000) พบว่า เชื้อ UPEC ที่แยกจากผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจากโรงพยาบาล ร้อยละ 30 จะมีการแสดงออกของยีน *cnf* และ *hly* ร่วมกันซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการก่อโรคของ UPEC ในผู้ป่วย การศึกษาค้นคว้าพบ UPEC ที่มีจำนวนยีนต่อไอโซเลทมากที่สุดคือ 3 ยีนสอดคล้องกับการศึกษาของ Chen และคณะ (2003) ที่กล่าวว่าพบจำนวนยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* มีจีโนมที่ประกอบด้วย 3 ยีนต่อไอโซเลทอย่างมีนัยสำคัญ อาจกล่าวได้ว่า UPEC จำเป็นต้องอาศัยยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะอย่างน้อย 3 ยีนในการเพิ่มความรุนแรงในการก่อโรคในทางเดินปัสสาวะของสุนัข

จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้พบว่ายีน *cnf* มักพบร่วมกับ *pap/ sfa* โดยที่ไม่พบ *cnf* เพียงยีนเดียว เนื่องจากการพบยีน *cnf* น่าจะมีได้ทำให้การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะรุนแรงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ การพบฮีโมไลซินหรือฟิมเบรีย พี แต่คาดว่ากระบวนการกระตุ้น Rho GTP-binding protein และการเหนี่ยวนำ phagocytic-like response ในเซลล์เยื่อทางเดินปัสสาวะของ *cnf* จะช่วยการในแบ่งตัวของแบคทีเรียใน เซลล์เยื่อทางเดินปัสสาวะและป้องกันการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเป็นการเพิ่มการอยู่รอดของ แบคทีเรียในเซลล์โฮสต์ (Landraud et al., 2000) เชื้อ UPEC ที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีทั้งยีน *cnf* (สารพิษ) และ *pap* และ *sfa* (การยึดเกาะ) คล้ายกับ UPEC สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อทางเดิน ปัสสาวะในผู้ป่วย ทำให้เชื่อว่ายีนดังกล่าวน่าจะมีผลต่อพยาธิกำเนิดของการเกิดการติดเชื้อทางเดิน ปัสสาวะ (Yuri et al., 1998)

การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของระดับเลือดและระดับเม็ดเลือดแดงเฉลี่ยในปัสสาวะ กับชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะ การพบเลือดในปัสสาวะนอกจากจะเกิดจากการติดเชื้อ อาจเกิดเนื่องจากสาเหตุอื่นๆ เช่น การมีนิ่วในทางเดินปัสสาวะ การออกกำลังกาย การรักษาก่อนหน้าเช่น การได้รับยา non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), trimethoprim-sulfamethoxazole หรือ cyclophosphamide อาการปัสสาวะเป็นเลือดอาจแบ่งตามตำแหน่งรอยโรค ได้แก่ glomerular เช่น membranoproliferative glomerulonephritis, IgA nephropathy และ nonglomerular เช่น renal cell carcinoma, benign prostatic hyperplasia (Osborne and Lees, 1995) เนื่องจากบริเวณระบบทางเดินปัสสาวะและท่อปัสสาวะส่วนต้นเป็นบริเวณปลอดเชื้อ นักวิจัยจึงหาคำอธิบายถึงแหล่งที่มาของ UPEC โดย Johnson และคณะ (2003) กล่าวว่าแหล่งที่มาของ UPEC ที่แยกได้จากปัสสาวะอาจมาจากทางเดินอาหาร และมีการเพิ่มความรุนแรงภายในตัวแบคทีเรีย (special pathogenicity hypothesis) เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* จากปัสสาวะและอุจจาระของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะพบว่า *E. coli* ที่แยกจากปัสสาวะมียีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะมากกว่า *E. coli* ที่แยกจากอุจจาระจากสุนัขตัวเดียวกัน ขณะที่ *E. coli* ที่แยกจากอุจจาระของสุนัขปกติ มียีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะน้อยกว่า

จากการวิเคราะห์ค่าความไวรับของ *E. coli* ต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิดที่ทำการศึกษพบว่า UPEC มีความไวต่อ amikacin มากที่สุด (ร้อยละ 100) และดื้อต่อ amoxicillin และ ampicillin มากที่สุด (ร้อยละ 100) เช่นเดียวกัน UPEC มีการดื้อต่อ enrofloxacin และ norfloxacin (ร้อยละ 71.4 และ 61.9 ตามลำดับ) ขณะที่การศึกษาของ Oluoch และคณะ (2001) ที่ทำการศึกษาเชื้อ *E. coli* ที่ไม่ได้แยกจากทางเดินอาหาร (nonenteric) ของสุนัขพบว่า เชื้อ *E. coli* มีความไวต่อ amikacin, enrofloxacin, gentamicin และ norfloxacin มากที่สุด (ความไวมากกว่าร้อยละ 85) และมีความไวรับต่อ amoxicillin, ampicillin และ cephalothin ต่ำที่สุด (ความไวน้อยกว่าร้อยละ 64) Ogeer-Gyles และคณะ (2006) พบว่า UPEC ของสุนัขที่คาบสวนปัสสาวะ ดื้อต่อยากลุ่ม quinolone ร้อยละ 25 ขณะที่ดื้อต่อ cephalothin และ ampicillin มากที่สุด (ร้อยละ 83 และ 50 ตามลำดับ) จะเห็นได้ว่า UPEC ของการศึกษานี้มีการดื้อต่อ enrofloxacin และ norfloxacin มากกว่าการศึกษาก่อนหน้า โดย enrofloxacin และ norfloxacin เป็นยาต้านจุลชีพกลุ่ม fluoroquinolone ออกฤทธิ์กว้าง ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ในปัจจุบันได้รับความนิยมในการรักษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ โดยออกฤทธิ์ป้องกันการเกิด DNA replication ผ่านการยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase (Topoisomerase II) ซึ่งมีหน้าที่คลายเกลียวของสายคู่ของโครโมโซม เป็นกระบวนการที่สำคัญในขบวนการ DNA replication และ transcription

กลไกการดื้อยาของ *E. coli* ต่อยาในกลุ่ม fluoroquinolone เนื่องจากการกลายพันธุ์ของ *gyrA* ซึ่งเป็น encoding gene บริเวณ A subunit ของเอนไซม์ DNA gyrase และการกลายพันธุ์บริเวณ Topoisomerase IV (encode โดย *parC* และ *parE* genes) และอีกกระบวนการหนึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ permeability ต่อ quinolone โดยลดการนำยาเข้าเซลล์หรือเพิ่มการขับออกของยาทำให้เกิดการดื้อยาตามมา (Vila et al., 1996) Cooke และคณะ (2002) รายงานการติดต่อ enrofloxacin ของ UPEC ของสุนัขที่มหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนียร์ เดวิส เพิ่มขึ้นในช่วงปี ค.ศ. 1996-1997 และค่านิยมในการใช้ยาทำให้ปริมาณการใช้ยา enrofloxacin ของโรงพยาบาลสัตว์ของมหาวิทยาลัยในสหรัฐอเมริกาเพิ่มขึ้นจาก 1,300 กรัมในปี ค.ศ. 1995 เป็น 2,360 กรัมในปีถัดมา ทำให้เชื่อว่าปัญหาการดื้อยาของเชื้ออาจมีสาเหตุจากปริมาณการใช้ยาอย่างไม่ระมัดระวัง ซึ่งการดื้อยาในกลุ่ม fluoroquinolone ของจุลชีพที่ก่อโรคทางเดินปัสสาวะในสุนัขนี้กำลังเป็นปัญหาในปัจจุบันและมีแนวโน้มของการดื้อยาเพิ่มสูงขึ้นทุกปี (Cohn et al., 2003) นอกจากนี้จะดื้อต่อยากลุ่ม fluoroquinolone แล้ว เชื้อ UPEC จากการศึกษาในครั้งนี้ ยังดื้อต่อ ampicillin, amoxicillin และ cephazolin ซึ่งเป็นยาต้านจุลชีพกลุ่ม beta lactam โดย ampicillin และ amoxicillin จัดอยู่ในกลุ่ม aminopenicillin ส่วน cephazolin อยู่ในกลุ่ม first generation cephalosporin ยาด้านจุลชีพกลุ่ม beta lactam จะออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างสังเคราะห์ peptidoglycan ของผนังเซลล์แบคทีเรียโดยการยับยั้งการทำหน้าที่ของ penicillin-binding proteins (PBPs) ที่มีส่วนในการ cross-linkage ของ glycopeptide polymers ในการสร้างผนังเซลล์ การดื้อยากลุ่ม beta lactam ของแบคทีเรียแกรมลบอาศัยเอนไซม์ beta-lactamase ที่อยู่บริเวณ periplasmic space ซึ่งมีหลายชนิดเช่น TEM-1, TEM-2 และ SHV-1 ทำให้เกิด hydrolysis ของ beta lactam ring (Prescott and Baggot, 1993) แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ beta-lactamase ทำให้เกิดการดื้อต่อยากลุ่ม beta lactam อาจเรียกว่า extended-spectrum beta lactamase (ESBLs) Sanchez และคณะ (2002) รายงานการดื้อยาหลายชนิดของเชื้อ *E. coli* ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อจากโรงพยาบาล พบว่า เชื้อ *E. coli* มักดื้อต่อยากลุ่ม cephalosporins, beta-lactams และ beta-lactamase inhibitor clavulacin acid และพบว่า *E. coli* ที่ดื้อต่อยากลุ่ม cephalosporin (extended-spectrum cephalosporin resistance) มีการพบ cephamycinase-encoding gene, *bla*<sub>CMY2</sub> ถึงร้อยละ 94.12 และมีลำดับเบสคล้ายกับ *bla*<sub>CMY2</sub> จากแหล่งอ้างอิง (GenBank accession no. AF475279) ร้อยละ 99.9 ซึ่งในปัจจุบันการดื้อยาในกลุ่ม ESBLs ของ *E. coli* ในมนุษย์และสัตว์กำลังได้รับความสนใจจากนักวิจัยอย่างกว้างขวาง

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า *E. coli* ที่แยกจากอุจจาระของสุนัขกลุ่มควบคุมบางไอโซเลทไม่มีผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาถูกใช้ อาจเนื่องจากไม่มียีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะหรือไม่มีสารพันธุกรรมของเชื้อ ดังนั้นหากมีการศึกษาในครั้งต่อไปจึงควรมีการใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ 16S rRNA ของ *E. coli* เพื่อเป็นการยืนยันว่ามี DNA ของ *E. coli* ในทุกตัวอย่างที่ทำการทดสอบเพื่อทำ



หน้าที่เป็นตัวควบคุมบวกต่อการติดเชื้อ *E. coli* อีกทั้งการศึกษาในครั้งนี้ไม่มีตัวควบคุมบวกที่ยืนยันที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงทุกยีนที่ทำการศึกษา เนื่องจากไม่สามารถหา UPEC สายพันธุ์ที่มียีนทุกยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะได้ ซึ่งอาจแก้ไขโดยการทำ single PCR เพื่อตรวจสอบยีนต่างๆ ทุกยีนที่มีการศึกษาควบคุมไปด้วยทุกครั้ง แม้การทดลองครั้งนี้จะขาดตัวควบคุมบวกแต่อาจสรุปได้ว่า ไพรเมอร์ที่ใช้สามารถตรวจหายีนที่กล่าวถึงได้ โดยการสังเกตจากน้ำหนักโมเลกุลของผลิตภัณฑ์ลูกโซ่โพลีเมอร์เรสซึ่งตรงตามการศึกษาก่อนหน้า (Yamamoto et al., 1995; Chen et al., 2003; Drazenovich et al., 2004)

ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า เชื้อ *E. coli* เป็นสาเหตุหลักให้เกิดการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะในสุนัข ปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมีค่าเฉลี่ยของความถี่จำเพาะกลูโคส ระดับเลือดและระดับเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะสูงกว่าสุนัขที่ไม่มีการติดเชื้อ อาการทางคลินิกของสุนัขที่ติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะที่พบเด่นชัดที่สุดคือ อาการปัสสาวะเป็นเลือด แต่เมื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ทางสถิติของระดับเลือดและระดับเม็ดเลือดแดงเฉลี่ยในปัสสาวะกับยีนชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะกลับไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าว แต่พบว่ายีน *aer* มีแนวโน้มสัมพันธ์กับอาการปัสสาวะเป็นเลือด อาจเนื่องจากการพบเลือดในปัสสาวะเกิดได้จากหลายปัจจัยทั้งปัจจัยในมึนนำต่างๆ จากตัวสุนัข มิได้จำเพาะกับยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของแบคทีเรียแต่เพียงอย่างเดียว ส่วนการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางสถิติของยีนชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* กับการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะพบว่ายีน *aer* เพียงชนิดเดียวที่มีความสัมพันธ์ทางสถิติกับการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตามควรมีการเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาเพิ่มเติมต่อไปเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง แม่นยำ และชัดเจนยิ่งขึ้น จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า UPEC มีความไวสูงสุดต่อ amikacin อย่างไรก็ตามการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะควรคำนึงถึงขนาดและระยะเวลาที่ใช้รวมถึงสภาพของสุนัข อีกทั้งควรมีการตรวจนับจำนวนของแบคทีเรียเพื่อประเมินการติดเชื้อ ทำการเพาะและพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุ พร้อมทั้งทดสอบความไวรับต่อยาต้านจุลชีพเพื่อเลือกชนิดของยาที่เหมาะสม กับการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะร่วมด้วยทุกครั้ง เพื่อการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะที่มีประสิทธิภาพต่อไป



## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

นัยดา สุวรรณคัง ชัยณรงค์ คงชาญแพทย์ ชลลดา บุรณกาล รสมา ภูสุนทรธรรม และ สัมพันธ์ พฤกษากร. 2539. ศึกษาค่าโลหิตวิทยา เคมีคลินิก การวิเคราะห์ปัสสาวะและการเพาะเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะของสุนัขและแมวที่มีความผิดปกติของระบบขับถ่ายปัสสาวะ. ใน โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2539 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 439-466.

### ภาษาอังกฤษ

- Bailiff, N.L., Westropp, J.L., Jang, S.S. and Ling, G.V. 2005. *Corynebacterium urealyticum* urinary tract infection in dogs and cats: 7 cases (1996-2003). J. Am. Vet. Med. Assoc. 226 (10): 1676-1680.
- Barrow, G.I. and Feltham, R.K.A. 1993. Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Bartges, J.W. 2005. Urinary tract infections. In: S.J. Ettinger and E.C. Feldman (eds), Textbook of veterinary internal medicine: Diseases of the dog and cat. 6<sup>th</sup> ed, pp. 1800-1808. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Bauer, R.J., Zhang, L., Foxman, B., Siitonen, A., Jantunen, M.E., Saxen, H. and Marrs, C.F. 2002. Molecular epidemiology of 3 putative virulence genes for *Escherichia coli* urinary tract infection-*usp*, *iha*, and *iroN*<sub>*E. coli*</sub>. J. Infect. Dis. 185 (10): 1521-1524.
- Boquet, P. 2001. The cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1) from *Escherichia coli*. Toxicon. 39 (11): 673-1680.
- Buffington, C.A.T., Blaisdell, J.L., Binns, S.P. Jr. and Woodworth, B.E. 1996. Decreased urine glycosaminoglycan excretion in cats with interstitial cystitis. J. Urol. 155 (5): 1801-1804
- Chen, Y.M.M., Wright, P.J., Lee, C.S. and Browning, G.F. 2003. Uropathogenic virulence factors in isolates of *Escherichia coli* from clinical cases of canine pyometra and feces of healthy bitches. Vet. Microbiol. 94 (1): 57-69.

- Cohn, L.A., Gary, A.T., Fales, W.H. and Madsen, R.W. 2003. Trends in fluoroquinolone resistance of bacteria isolated from canine urinary tracts. *J. Vet. Diagn. Invest.* 15 (4): 338-343.
- Cooke, C.L., Singer, R.S., Jang, S.S. and Hirsh, D.C. 2002. Enrofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from dogs with urinary tract infections. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220 (2): 190-192.
- Dowling, P.M. 1996. Antimicrobial therapy of urinary tract infections. *Can. Vet. J.* 37 (7): 438-441.
- Drazenovich, N., Ling, G.V. and Foley, J. 2004. Molecular investigation of *Escherichia coli* strains associated with apparently persistent urinary tract infection in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 18 (3): 301-306.
- Dunning, M. and Stonehewer, J. 2002. Urinary tract infections in small animals: pathophysiology and diagnosis. *In. Practice.* 24 (8): 418-432.
- Emody, L., Kerenyi, M. and Nagy, G. 2003. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 22 (2): S29-S33.
- Feria, C., Machado, J., Correia, J.D., Goncalves, J. and Gaastra, W. 2001. Virulence genes and P fimbriae *papA* subunit diversity in canine and feline uropathogenic *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol.* 82 (1): 81-89.
- Guyer, D.G., Radulovic, S., Jones, F.E. and Mobley, H.L.T. 2002. Sat, the secreted autotransporter toxin of uropathogenic *Escherichia coli*, is a vacuolating cytotoxin for bladder and kidney epithelial cells. *Infect. Immun.* 70 (8): 4539-4546.
- Hacker, J., Blum-Oehler, G., Muhlrofer, I. And Tschape, H. 1997. Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. *Mol. Microbiol.* 23 (6): 1089-1079.
- Hagman, R. and Kuhn, I. 2002. *Escherichia coli* strains isolated from the uterus and urinary bladder of bitches suffering from pyometra: comparison by restriction enzyme digestion and pulsed-field gel electrophoresis. *Vet. Microbiol.* 84 (1-2): 143-153.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T. 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology.* 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins.
- Ihrke, P.J., Norton, A.L., Ling, G.V. and Stannard, A.A. 1985. Urinary tract infection associated with long-term corticosteroid administration in dogs with chronic skin diseases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186 (1): 43-46.

- Johnson, J.R. 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. Clin. Microbiol. Rev. 4 (1): 80-128.
- Johnson, J.R. 1998. *papG* alleles among *Escherichia coli* strains causing urosepsis: associations with other bacterial characteristics and host compromise. Infect. Immun. 66 (9): 4568-4571.
- Johnson, J.R., O'Bryan, T.T., Low, D.A., Ling, G., Delavari, P., Fasching, C., Russo, T.A., Carlino, U. and Stell, A.L. 2000a. Evidence of commonality between canine and human extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains that express *papG* allele III. Infect. Immune. 68 (6): 3327-3336.
- Johnson, J.R., Stell, A.L., Scheutz, F., O'Bryan, T.T., Russo, T.A., Carlino, U.B., Fasching, C., Kavle, J., Van Dijk, L. and Gaastra, W. 2000b. Analysis of the F antigen-specific *papA* alleles of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* using a novel multiplex PCR-based assay. Infect. Immune. 68 (3): 1587-1599.
- Johnson, J.R., Stell, A.L., Delavari, P., Murray, A.C., Kuskowski, M. and Gaastra, W. 2001. Phylogenetic and pathotypic similarities between *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in dogs and extraintestinal infections in humans. J. Infect. Dis. 183 (6): 897-906.
- Johnson, J.R., Kaster, N., Kuskowski, M.A. and Ling, G.V. 2003. Identification of urovirulence traits in *Escherichia coli* by comparison of urinary and rectal *E. coli* isolates from dogs with urinary tract infection. J. Clin. Microbiol. 41 (1): 337-345.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P. and Mobley, H.L.T. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. Nature. Rev. Microbiol. 2 (2): 123-140.
- Kurazono, H., Yamamoto, S., Nakano, M., Nair, G.B., Terai, A., Chaicumpa, W. and Hayashi, H. 2000. Characterization of a putative virulence island in the chromosome of uropathogenic *Escherichia coli* possessing a gene encoding a uropathogenic-specific protein. Microb. Pathog. 28 (3): 183-189.
- Kurazono, H., Nakano, M., Yamamoto, S., Ogawa, O., Yuri, K., Nakata, K., Kimura, M., Makino, S. and Nair, G.B. 2003. Distribution of the *usp* gene in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from companion animals and correlations with serotypes and size-variations of the pathogenicity island. Microbiol. Immunol. 47 (10): 797-802.
- L'Abée-Lund, T.M., Heiene, R., Friis, N.F., Ahrens, P. and Sorum, H. 2003. *Mycoplasma canis* and urogenital disease in dogs in Norway. Vet. Rec. 153 (8): 231-235.

- Landraud, L., Gauthier, M., Fosse, T. and Boquet, P. 2000. Frequency of *Escherichia coli* strains producing the cytotoxic necrotizing factor (CNF1) in nosocomial urinary tract infections. *Lett. Appl. Microbiol.* 30 (3): 213-216
- Le Bouguenec, C., Archambaud M. And Labigne. 1992. Rapid and specific detection of the *pap*, *afa*, and *sfa* adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. *J Clin. Microbiol.* 30 (5): 1189-1193.
- Ling, G.V. 1984. Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the canine urinary tract. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185 (10): 1162-1164.
- Ling, G.V., Norris, C.R., Franti, C.E., Eisele, P.H., Johnson, D.L., Ruby, A.L. and Jang, S.S. 2001. Interrelations of organism prevalence, specimen collection method, and host age, sex, and breed among 8,354 canine urinary tract infection (1969-1995). *J. Vet. Intern. Med.* 15 (4): 341-347.
- Low, D.A., Braaten, B.A., Ling, G.V., Johnson, D.L. and Ruby, A.L. 1988. Isolation and comparison of *Escherichia coli* strains from canine and human patients with urinary tract infections. *Infect. Immun.* 56 (10): 2601-2609.
- Lulich, J.P. and Osborne, C.A. 2004. Urine culture as a test for cure: why, when, and how? *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim.* 34 (4):1027-1041.
- Metts, J. 2001. Interstitial cystitis: urgency and frequency syndrome. *Am. Fam. Physician.* 64 (7): 1199-1206.
- Moreno, E., Planells, I., Prats, G., Planes, A.M., Moreno, G. and Andreu, A. 2005. Comparative study of *Escherichia coli* virulence determinants in strains causing urinary tract bacteremia versus strains causing pyelonephritis and other sources of bacteremia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 53 (2): 93-99.
- Mulvey, M.A., Schilling, J.D., Martinez, J.J. and Hultgren, S.J. 2000. Bad bugs and beleaguered bladders: interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97 (16): 8829-8835.
- Nakano, M., Yamamoto, S., Terai, A., Ogawa, O., Makino, S., Hayashi, H., Nair, G.B. and Kurazono, H. 2001. Structural and sequence diversity of the pathogenicity island of uropathogenic *Escherichia coli* which encodes the USP protein. *FEMS. Microb. Lett.* 205 (1): 71-76.

- National committee for clinical laboratory standard (NCCLS). 2007. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 17<sup>th</sup> informational supplement. M100-S17. Pennsylvania: Clinical Diagnostic.
- Norris, C.R., Williams, B.J., Ling, G.V., Franti, C.E., Johnson, D.L. and Ruby, A.L. 2000. Recurrent and persistent urinary tract infections in dogs: 383 cases (1969-1995). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 36 (6): 484-492.
- O' Brien, T. and Stelling, J. 2007. WHONET 5.4. WHO collaborating centre for the surveillance of antibiotic resistance. Department of Essential drugs and medicine policy. World Health Organization. 1211 Geneva 27 Switzerland.
- Oelschlaeger, T.A., Dobrindt, U. and Hacker, J. 2002. Pathogenicity islands of uropathogenic *E. coli* and the evolution of virulence. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 19 (6): 517-521.
- Ogeer-Gyles, J., Mathews, K., Weese, J.S., Prescott, J.F. and Boerlin, P. 2006. Evaluation of catheter-associated urinary tract infections and multi-drug-resistant *Escherichia coli* isolates from the urine of dogs with indwelling urinary catheters. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 229 (10): 1584-1590.
- Oluoch, A.O., Kim, C.H., Weisiger, R.M., Koo, H.Y., Siegel, A.M., Campbell, K.L., Burke, T.J., McKiernan, B.C. and Kakoma, I. 2001. Nonenteric *Escherichia coli* isolates from dogs: 674 cases (1990-1998). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218 (3):381-384.
- Osborne, C.A. 1995. Three steps to effective management of bacterial urinary tract infections: diagnosis, diagnosis, and diagnosis. *Compend. Cont. Educ. Small. Anim. Pract.* 17 (10): 1233-1248.
- Polzin, D.J. 1994. Management of recurrent bacterial urinary tract infections. *Compend. Cont. Educ. Small. Anim. Pract.* 16 (12): 1565-1570.
- Prescott, J.F. and Baggot, J.D. 1993. Beta-lactam antibiotics. In: J.F. Prescott and J.D. Baggot (eds), *Antimicrobial therapy in veterinary medicine.* 2<sup>nd</sup> ed, pp. 74-132. Ames: Iowa State University Press.
- Pressler, B.M., Vaden, S.L., Lane, I.F., Cowgill, L.D. and Dye, J.A. 2003. *Candida* spp. urinary tract infections in dogs and seven cats: predisposing factors, treatment, and outcome. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 39 (3): 263-270.
- Rama, G., Chhina, D.K., Chhina, R.S. and Sharma, S. 2005. Urinary tract infections-microbial virulence determinants and reactive oxygen species. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 28 (5-6): 339-349.



- Reine, N.J. and Langston, C.E. 2005. Urinalysis interpretation: how to squeeze out the maximum information from a small sample. *Clin. Tech. Small. Anim. Pract.* 20 (1): 2-10.
- Rohrich, P.J., Ling, G.V., Ruby, A.L. Jang, S.S. and Johnson, D.L. 1983. In vitro susceptibilities of canine urinary bacteria to selected antimicrobial agents. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183 (8): 863-867.
- Seguin, M.A., Vaden, S.L., Altier, C., Stone, E. and Levine J.F. 2003. Persistent urinary tract infections and reinfections in 100 dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 17 (5): 622-631.
- Senior, D.F., deMan, P. and Svanborg, C. 1992. Serotype, hemolysin production, and adherence characteristics of strains of *Escherichia coli* causing urinary tract infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 53 (4): 49-498.
- Smarick, S.D., Haskins, S.C., Aldrich, J., Foley, J.E., Kass, P.H., Fudge, M. and Ling, G.V. 2004. Incidence of catheter-associated urinary tract infection among dogs in a small animal intensive care unit. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 224 (12): 1936-1940
- Stiffler, K.S., McCrackin Stevenson, M.A., Sanchez, S., Barsanti, J.A., Hofmeister, E. and Sudsberg, S.C. 2006. Prevalence and characterization of urinary tract infections in dogs with surgically treated type I thoracolumbar intervertebral disc extrusion. *Vet. Surg.* 35 (4): 330-336.
- Ulgen, M., Cetin, C., Senturk, S., Ozel, A.E. and Ozdemir, U. 2006. Urinary tract infections due to *Mycoplasma canis* in dogs. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.* 53 (7): 379-382.
- Vila, J., Ruiz, J., Goni, P. and Jimenez de Anta, M.T. 1996. Detection of mutations in *parC* in quinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 40 (2): 491-493.
- Westerlund, B., Pere, A., Korhonen, T.K., Jarvinen, A.K., Siitonen, A. and Williams, P.H. 1987. Characterization of *Escherichia coli* strains associated with canine urinary tract infections. *Res. Vet. Sci.* 42: 404-406.
- Wilson, R., Keefe, T.J., Davis, M.A., Browning, M.T. and Ondrusek, K. 1988. Strains of *Escherichia coli* associated with urogenital disease in dogs and cats. *Am. J. Vet. Res.* 49 (6): 743-746.
- Yamamoto, S., Terai, A., Yuri, K., Kurazono, H., Takeda, Y. and Yoshida, O. 1995. Detection of urovirulence factors in *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *FEMS. Immunol. Med. Microbiol.* 12 (2): 85-90.

- Yamamoto, S., Nakano, M., Terai, A. Yuri, K., Nakata, K., Nair, G.B., Kurazono, H. and Ogawa, O. 2001. The presence of the virulence island containing the *usp* gene in uropathogenic *Escherichia coli* is associated with urinary tract infection in an experimental mouse model. J. Urol. 165 (4): 1347-1351.
- Yuri, K., Nakata, K., Katae, H., Yamamoto, S. and Hasegawa, A. 1998. Distribution of uropathogenic virulence factors among *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats. J. Vet. Med. Sci. 60 (3): 287-290.
- Yuri, K., Nakata, K., Katae, H., Tsukamoto, T. and Hasegawa, A. 1999. Serotypes and virulence factors of *Escherichia coli* stains isolated from dogs and cats. J. Vet. Med. Sci. 61 (1): 37-40.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

### ข้อมูลสัตว์ป่วย

การวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาในสุนัขที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่แสดงอาการผิดปกติของทางเดินปัสสาวะ ในระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2550 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 ทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะ วิเคราะห์ปัสสาวะ เพาะและพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียร่วมกับการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียในปัสสาวะ สามารถทำการเพาะและพิสูจน์เชื้อแบคทีเรียจากปัสสาวะจำนวน 58 ตัวอย่าง (ร้อยละ 55.2) ตัวอย่างละ 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 18)

สุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ จำนวน 58 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 10 ตัว (ร้อยละ 17.24) เพศผู้ทำหมัน 7 ตัว (ร้อยละ 12.07) เพศเมีย 20 ตัว (ร้อยละ 34.48) และเพศเมียทำหมัน 21 ตัว (ร้อยละ 36.21) อายุเฉลี่ยของสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ คือ  $6.41 \pm 3.04$  ปี อายุเฉลี่ยของสุนัขเพศผู้ที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ คือ  $7.19 \pm 3.20$  ปี และอายุเฉลี่ยของสุนัขเพศเมียที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ คือ  $6.09 \pm 2.96$  ปี ตามลำดับ พบการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะของสุนัขทั้งหมด 14 สายพันธุ์ โดยพบในสุนัขพันธุ์ผสมมากที่สุด (ร้อยละ 31.03) รองลงมาได้แก่ พันธุ์ Shih tzu และ พันธุ์ Golden retriever ตามลำดับ สุนัขทั้ง 3 สายพันธุ์นี้รวมกันมีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะคิดเป็นร้อยละ 62 ของจำนวนสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะทั้งหมด เมื่อพิจารณาการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะแยกตามเพศของสุนัขพบว่า ในสุนัขเพศเมียพันธุ์สุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะมากที่สุด คือ พันธุ์ผสม พันธุ์ Shih tzu และพันธุ์ Golden retriever ตามลำดับ โดยไม่พบในสุนัขพันธุ์ German shepherd และพันธุ์ Siberian husky ขณะที่ในสุนัขเพศผู้พบการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะมากในพันธุ์ผสม และพันธุ์ Golden retriever ตามลำดับ แต่ไม่พบในสุนัขพันธุ์ Basset hound, พันธุ์ Doberman pinscher, พันธุ์ Pomeranian, พันธุ์ Scottish terrier และพันธุ์ Shih tzu จากการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ของสายพันธุ์สุนัขกับการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ

ตารางที่ 18 แสดงอายุ เพศ พันธุ์และชนิดของจุลชีพที่แยกจากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ

| ลำดับ | รหัส | อายุ (ปี) | เพศ            | พันธุ์               | ชนิดของจุลชีพ                 |
|-------|------|-----------|----------------|----------------------|-------------------------------|
| 1     | A1   | 4.4       | เพศเมีย        | ผสม                  | <i>Escherichia coli</i>       |
| 2     | A2   | 4.8       | เพศเมีย ทำหมัน | Golden retriever     | <i>Escherichia coli</i>       |
| 3     | A3   | 7.4       | เพศเมีย        | Shih tzu             | <i>Enterococcus faecium</i>   |
| 4     | A5   | 3.7       | เพศเมีย        | Golden retriever     | <i>Escherichia coli</i>       |
| 5     | A7   | 10        | เพศเมีย        | Shih tzu             | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 6     | A9   | 6.3       | เพศเมีย ทำหมัน | ผสม                  | <i>Escherichia coli</i>       |
| 7     | A10  | 3.4       | เพศเมีย        | Cocker spaniel       | <i>Proteus mirabilis</i>      |
| 8     | A12  | 5.2       | เพศเมีย ทำหมัน | Shih tzu             | <i>Escherichia coli</i>       |
| 9     | A14  | 4.5       | เพศเมีย ทำหมัน | Pomeranian           | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 10    | A15  | 9.9       | เพศเมีย ทำหมัน | Doberman pinscher    | <i>Escherichia coli</i>       |
| 11    | A17  | 2.5       | เพศเมีย        | Yorkshire terrier    | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 12    | A19  | 10        | เพศเมีย ทำหมัน | ผสม                  | <i>Escherichia coli</i>       |
| 13    | A20  | 9         | เพศผู้         | German shepherd      | <i>Enterobacter cloaca</i>    |
| 14    | A21  | 6.2       | เพศเมีย        | ผสม                  | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 15    | A23  | 3.9       | เพศเมีย        | Dachshund            | <i>Escherichia coli</i>       |
| 16    | A24  | 5.2       | เพศเมีย ทำหมัน | ผสม                  | <i>Escherichia coli</i>       |
| 17    | A26  | 9.7       | เพศเมีย ทำหมัน | ผสม                  | <i>Proteus mirabilis</i>      |
| 18    | A27  | 6         | เพศเมีย ทำหมัน | Miniature/toy poodle | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 19    | A28  | 2.3       | เพศผู้         | Cocker spaniel       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 20    | A29  | 4         | เพศผู้         | ผสม                  | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 21    | A33  | 4         | เพศผู้         | ผสม                  | <i>Escherichia coli</i>       |
| 22    | A34  | 11        | เพศผู้ ทำหมัน  | Golden retriever     | <i>Klebsiella pneumoniae</i>  |
| 23    | A37  | 10        | เพศเมีย ทำหมัน | ผสม                  | <i>Enterobacter cloaca</i>    |
| 24    | A39  | 14        | เพศเมีย        | Miniature/toy poodle | <i>Escherichia coli</i>       |
| 25    | A40  | 5         | เพศเมีย        | Shih tzu             | <i>Klebsiella pneumoniae</i>  |



## ตารางที่ 18 (ต่อ)

| ลำดับ | รหัส | อายุ (ปี) | เพศ            | พันธุ์               | ชนิดของจุลชีพ                 |
|-------|------|-----------|----------------|----------------------|-------------------------------|
| 26    | A42  | 2         | เพศเมีย        | Shih tzu             | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 27    | A45  | 5         | เพศเมีย ทำหมัน | Golden retriever     | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 28    | A46  | 5         | เพศเมีย        | Shih tzu             | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 29    | A48  | 7.2       | เพศเมีย ทำหมัน | ผสม                  | <i>Proteus mirabilis</i>      |
| 30    | A49  | 5         | เพศเมีย ทำหมัน | ผสม                  | <i>Escherichia coli</i>       |
| 31    | A50  | 7         | เพศผู้         | ผสม                  | <i>Enterobacter cloca</i>     |
| 32    | A51  | 6         | เพศผู้ ทำหมัน  | Siberian husky       | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 33    | A52  | 3.4       | เพศเมีย        | Shih tzu             | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 34    | A53  | 4.7       | เพศเมีย ทำหมัน | Pomeranian           | <i>Escherichia coli</i>       |
| 35    | A55  | 5         | เพศเมีย        | Miniature/toy poodle | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 36    | A56  | 1         | เพศเมีย        | Scottish terrier     | <i>Klebsiella pneumoniae</i>  |
| 37    | A57  | 9         | เพศผู้         | ผสม                  | <i>Enterococcus faecium</i>   |
| 38    | A58  | 8.3       | เพศผู้ ทำหมัน  | German shepherd      | <i>Escherichia coli</i>       |
| 39    | A60  | 7.9       | เพศเมีย ทำหมัน | Golden retriever     | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 40    | A63  | 8         | เพศผู้         | Golden retriever     | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 41    | A64  | 4         | เพศเมีย        | Golden retriever     | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 42    | A65  | 14        | เพศผู้ ทำหมัน  | Yorkshire terrier    | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 43    | A67  | 4         | เพศเมีย ทำหมัน | ผสม                  | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 44    | A69  | 8         | เพศเมีย ทำหมัน | ผสม                  | <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 45    | A70  | 9         | เพศเมีย ทำหมัน | Basset hound         | <i>Escherichia coli</i>       |
| 46    | A74  | 4.5       | เพศผู้         | Labrador retriever   | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 47    | A78  | 7         | เพศเมีย ทำหมัน | Labrador retriever   | <i>Escherichia coli</i>       |
| 48    | A79  | 1         | เพศเมีย ทำหมัน | Shih tzu             | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 49    | A81  | 7.8       | เพศเมีย ทำหมัน | Shih tzu             | <i>Enterococcus faecium</i>   |
| 50    | A82  | 6.3       | เพศเมีย        | ผสม                  | <i>Klebsiella pneumoniae</i>  |

ตารางที่ 18 (ต่อ)

| ลำดับ | รหัส | อายุ (ปี) | เพศ           | พันธุ์               | ชนิดของจุลชีพ                |
|-------|------|-----------|---------------|----------------------|------------------------------|
| 51    | A83  | 10        | เพศผู้ ทำหมัน | ผสม                  | <i>Escherichia coli</i>      |
| 52    | A85  | 11        | เพศผู้ ทำหมัน | Miniature/toy poodle | <i>Escherichia coli</i>      |
| 53    | A87  | 4         | เพศเมีย       | Shih tzu             | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 54    | A91  | 5         | เพศผู้        | Golden retriever     | <i>Escherichia coli</i>      |
| 55    | A94  | 5.2       | เพศผู้ ทำหมัน | Dachshund            | <i>Escherichia coli</i>      |
| 56    | A96  | 4         | เพศผู้        | Labrador retriever   | <i>Streptococcus canis</i>   |
| 57    | A98  | 13        | เพศเมีย       | ผสม                  | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 58    | A100 | 8         | เพศเมีย       | Miniature/toy poodle | <i>Escherichia coli</i>      |

สุนัขที่ทำการศึกษาอาจแสดงอาการทางคลินิกแตกต่างกันขึ้นกับปริมาณและความรุนแรงของจุลชีพ ปัจจัยโน้มนำ ระยะเวลาที่ติดเชื้อรวมถึงตำแหน่งที่มีการติดเชื้อ อาการทางคลินิกของสุนัขที่ทำการศึกษาแสดงดังตารางที่ 19 เมื่อศึกษาในกลุ่มสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะพบว่า สุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะมักแสดงอาการปัสสาวะเป็นเลือด อีกทั้งพบความสัมพันธ์ของอาการผิดปกติที่สุนัขแสดงออกกับเพศของสุนัข โดยสุนัขเพศเมียแสดงอาการปัสสาวะเป็นเลือดและปวดเบ่งปัสสาวะมากกว่าสุนัขเพศผู้ ขณะที่สุนัขเพศผู้มีความสัมพันธ์กับอาการปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติมากกว่าสุนัขเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 20)

การศึกษานี้เก็บตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธีเจาะผ่านผนังหน้าท้อง 56 ตัวอย่าง และวิธีการสอดท่อสวนปัสสาวะ 49 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะซึ่งเก็บด้วยวิธีเจาะผ่านผนังหน้าท้อง 34 ตัวอย่าง และจากการสอดท่อสวนปัสสาวะ 24 ตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ในกลุ่มสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะพบความสัมพันธ์ระหว่างเพศของสุนัขกับวิธีการเก็บตัวอย่างปัสสาวะ โดยสุนัขเพศเมียใช้วิธีการเจาะผ่านผนังหน้าท้องในการเก็บตัวอย่างปัสสาวะ ร้อยละ 73.2 ซึ่งมากกว่าสุนัขเพศผู้ (ร้อยละ 23.5) ขณะที่วิธีการสอดท่อสวนปัสสาวะ ใช้เก็บตัวอย่างปัสสาวะจากสุนัขเพศผู้ (ร้อยละ 76.5) มากกว่าสุนัขเพศเมีย (ร้อยละ 26.8) ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 20)

**ตารางที่ 19** แสดงอาการทางคลินิกของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ

| จำนวนอาการ   | อาการทางคลินิก   | จำนวน (ตัว)                                  |
|--|--|--|
| 1  | ปัสสาวะเป็นเลือด   | 3  |
|  | ปัสสาวะกระปริดกระปรอย  | 1  |
|  | ปัสสาวะลำบาก   | 1  |
| 2  | ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะลำบาก                                  | 5  |
|  | ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะไม่เป็นที่                             | 5  |
|  | ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะเป็นเลือด                                | 3  |
|  | ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะไม่เป็นที่                        | 3  |
|  | ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะลำบาก                                    | 1  |
|  | ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ               | 1  |
|  | ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะลำบาก                             | 1  |
|  | ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ ฮีโมโกลบินในปัสสาวะ                 | 1  |
|  | ปัสสาวะไม่เป็นที่ ปัสสาวะลำบาก                                 | 1  |
|  | 3  | ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะลำบาก |
| ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ ปัสสาวะไม่เป็นที่ |  | 3  |
| ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะลำบาก                  |  | 2  |
| ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะไม่เป็นที่           |  | 2  |
| ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะลำบาก                |  | 1  |
| ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ ปัสสาวะลำบาก      |  | 1  |
| ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะไม่เป็นที่ ปัสสาวะลำบาก               |  | 1  |
| ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะไม่เป็นที่ ปัสสาวะลำบาก                    |  | 1  |
| ปัสสาวะไม่เป็นที่ ปัสสาวะลำบาก ฮีโมโกลบินในปัสสาวะ                 |  | 1  |
| 4  | ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะเป็นเลือด          |  |
|  | ปัสสาวะลำบาก   | 4  |
|  | ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะไม่เป็นที่         |  |
|  | ปัสสาวะลำบาก   | 2  |
|  | ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะไม่เป็นที่ ปัสสาวะลำบาก | 2  |
| 5  | ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะไม่เป็นที่ ปัสสาวะลำบาก                  |  |
|  | ฮีโมโกลบินในปัสสาวะ  | 1  |
|  | ปัสสาวะเป็นเลือด   |  |
| 5  | ปวดเบ่งปัสสาวะ ปัสสาวะกระปริดกระปรอย ปัสสาวะเป็นเลือด          |  |
|  | ปัสสาวะไม่เป็นที่ ปัสสาวะลำบาก                                 | 1  |

ตารางที่ 20 แสดงค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) และจำนวนสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ แยกตามคุณลักษณะและเพศ

| คุณลักษณะ                 | การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ |                          | OR        | 95% CI     |
|---------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------|------------|
|                           | เพศเมีย<br>(n/N) (ร้อยละ) | เพศผู้<br>(n/N) (ร้อยละ) |           |            |
| <b>อายุ</b>               |                           |                          |           |            |
| น้อยกว่า 4 ปี             | 8/41 (19.5)               | 1/17 (5.9)               | 3.88      | 0.42-89.83 |
| 4-6 ปี                    | 18/41 (43.9)              | 7/17 (41.2)              | 1.12      | 0.31-4.09  |
| 7-10 ปี                   | 13/41 (31.7)              | 6/17 (35.3)              | 0.85      | 0.22-3.30  |
| มากกว่า 11 ปี             | 2/41 (4.9)                | 3/17 (17.6)              | 0.24      | 0.02-2.04  |
| <b>พันธุ์</b>             |                           |                          |           |            |
| ผสม                       | 13/41 (31.7)              | 5/17 (29.4)              | 1.11      | 0.28-4.57  |
| Shih tzu                  | 10/41 (24.4)              | 0                        | Undefined | Undefined  |
| Golden retriever          | 5/41 (12.2)               | 3/17 (17.6)              | 0.65      | 0.11-4.02  |
| Miniature/toy poodle      | 4/41 (9.8)                | 1/17 (5.9)               | 1.73      | 0.16-43.99 |
| Labrador retriever        | 1/41 (2.4)                | 2/17 (11.8)              | 0.19      | 0.01-2.96  |
| Pomeranian                | 2/41 (4.9)                | 0                        | Undefined | Undefined  |
| Yorkshire terrier         | 1/41 (2.4)                | 1/17 (5.9)               | 0.40      | 0.01-15.77 |
| Cocker spaniel            | 1/41 (2.4)                | 1/17 (5.9)               | 0.40      | 0.01-15.77 |
| Dachshund                 | 1/41 (2.4)                | 1/17 (5.9)               | 0.40      | 0.01-15.77 |
| German shepherd           | 0                         | 2/17 (11.8)              | 0.00      | 0.00-1.67  |
| Basset hound              | 1/41 (2.4)                | 0                        | Undefined | Undefined  |
| Doberman pinscher         | 1/41 (2.4)                | 0                        | Undefined | Undefined  |
| Scottish terrier          | 1/41 (2.4)                | 0                        | Undefined | Undefined  |
| Siberian husky            | 0                         | 1/17 (5.9)               | 0.00      | 0.00-7.29  |
| <b>วิธีการเก็บปัสสาวะ</b> |                           |                          |           |            |
| การเจาะผ่านผนังหน้าท้อง   | 30/41 (73.2)              | 4/17 (23.5)              | 8.86**    | 2.05-41.60 |
| การสวนท่อนปัสสาวะ         | 11/41 (26.8)              | 13/17 (76.5)             | 0.11      | 0.02-0.49  |

ตารางที่ 20 (ต่อ)

| คุณลักษณะ                               | การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ |                          | OR        | 95% CI      |
|---|---------------------------|--------------------------|-----------|-------------|
|   | เพศเมีย<br>(n/N) (ร้อยละ) | เพศผู้<br>(n/N) (ร้อยละ) |           |             |
| <b>อาการผิดปกติในระบบทางเดินปัสสาวะ</b> |                           |                          |           |             |
| ปัสสาวะเป็นเลือด                        | 30/41 (73.2)              | 7/17 (41.2)              | 3.90*     | 1.03-15.27  |
| ปัสสาวะลำบาก                            | 26/41 (63.4)              | 10/17 (58.8)             | 1.21      | 0.33-4.47   |
| ปัสสาวะกระปริดกระปรอย                   | 18/41 (43.9)              | 11/17 (64.7)             | 0.43      | 0.11-1.58   |
| ปวดเบ่งปัสสาวะ                          | 24/41 (58.5)              | 2/17 (11.8)              | 10.59**   | 1.90-77.38  |
| ปัสสาวะไม่เป็นที่                       | 10/41 (24.4)              | 7/17 (41.2)              | 0.46      | 0.12-1.79   |
| ปัสสาวะมีกลิ่นเหม็นผิดปกติ              | 1/41 (2.4)                | 5/17 (29.4)              | 0.06      | 0.00-0.63   |
| ฮีโมโกลบินในปัสสาวะ                     | 1/41 (2.4)                | 2/17 (11.8)              | 0.19      | 0.01-2.96   |
| <b>ปัจจัยนำเข้า</b>                     |                           |                          |           |             |
| นิ่วในทางเดินปัสสาวะ                    | 20/41 (48.8)              | 1/17 (5.9)               | 15.24*    | 1.80-336.80 |
| ต่อมลูกหมากโต                           | 0                         | 8/17 (47.1)              | 0.00      | 0.00-0.18   |
| การหักหรือเคลื่อนของกระดูกสันหลัง       | 3/41 (7.3)                | 0                        | Undefined | Undefined   |
| ภาวะ uremia                             | 2/41 (4.9)                | 1/17 (5.9)               | 0.82      | 0.05-24.68  |
| ภูมิคุ้มกันลดลง                         | 2/41 (4.9)                | 0                        | Undefined | Undefined   |
| โรคเบาหวาน                              | 1/41 (2.4)                | 1/17 (5.9)               | 0.40      | 0.0-15.77   |
| ถุงน้ำหรือฝีที่ต่อมลูกหมาก              | 0                         | 1/17 (5.9)               | 0.00      | 0.00-7.29   |
| การคาท่อสวนปัสสาวะเป็นเวลานาน           | 1/41 (2.4)                | 0                        | Undefined | Undefined   |
| Vesicourachal diverticulum              | 0                         | 1/17 (5.9)               | 0.00      | 0.00-7.29   |
| การผ่าตัด urethrostomy                  | 0                         | 1/17 (5.9)               | 0.00      | 0.00-7.29   |

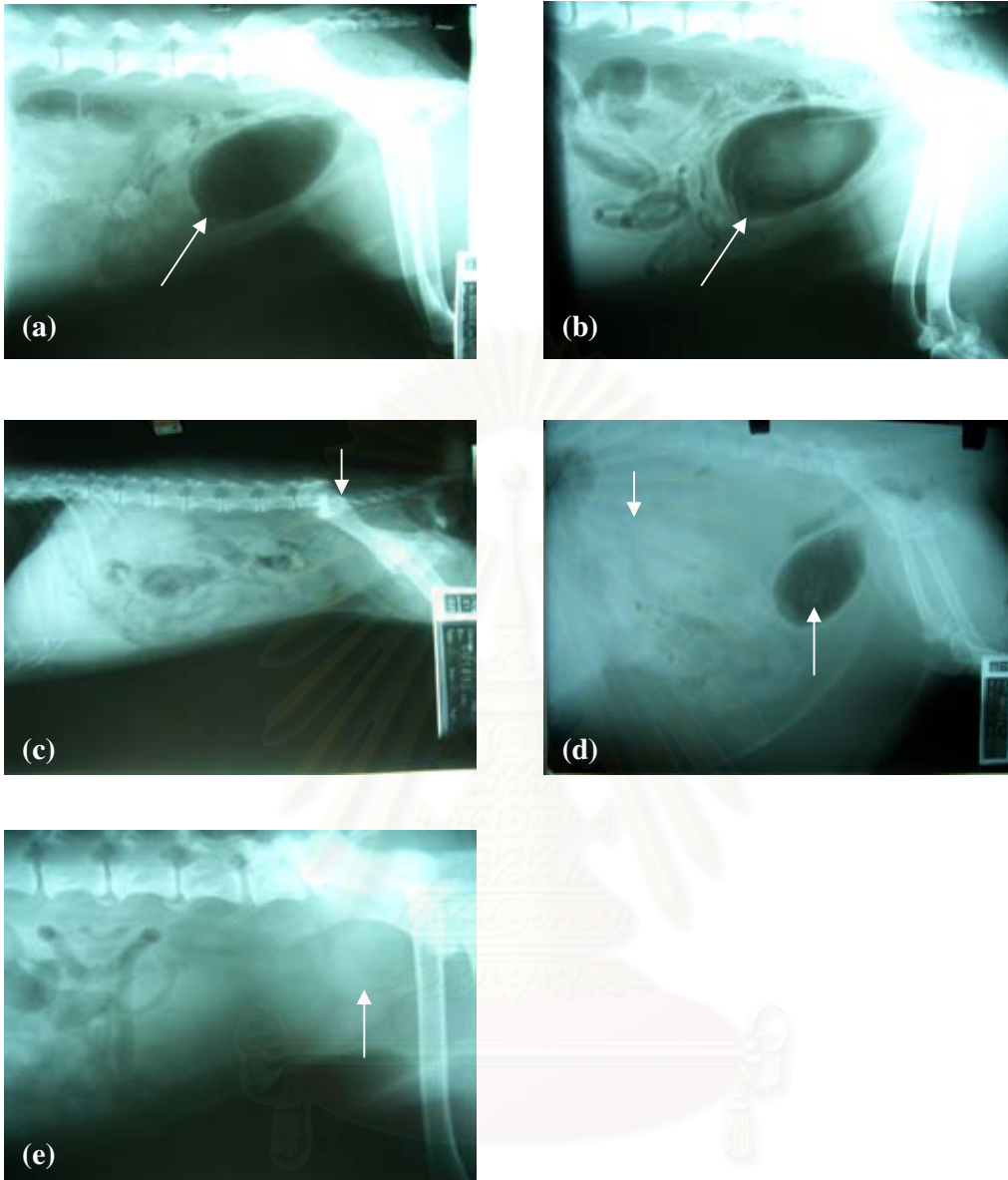
หมายเหตุ: \*, มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$ , \*\*, มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.01$ , Undefined; คำนวณไม่ได้, n; จำนวนสุนัขจำแนกตามกลุ่ม และ N; จำนวนสุนัขทั้งหมดในแต่ละกลุ่ม



การศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยโน้มนำที่อาจก่อให้เกิดการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ พบปัจจัยโน้มนำที่เป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะของสุนัขจำนวน 10 ชนิด ปัจจัยโน้มนำที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะโดยเรียงลำดับความสำคัญที่พบ คือ การป้อนน้ำในทางเดินปัสสาวะและการมีต่อมลูกหมากโต และการหักหรือเคลื่อนของกระดูกสันหลังตามลำดับ (รูปที่ 10) ปัจจัยโน้มนำทั้ง 3 ชนิดนี้รวมกันมีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะคิดเป็นร้อยละ 55.20 ของจำนวนสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะทั้งหมด เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยโน้มนำเหล่านี้กับโอกาสที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะพบว่า การมีนิ่วในทางเดินปัสสาวะและการที่สุนัขป่วยมีต่อมลูกหมากโตมีแนวโน้มที่เป็นปัจจัยโน้มนำที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะได้ (ตารางที่ 20)

ผลจากการศึกษาครั้งนี้พบนิ่วในส่วนต่างๆ ของทางเดินปัสสาวะร่วมกับการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ เช่น นิ่วที่ไต กระเพาะปัสสาวะและท่อปัสสาวะของสุนัข ตรวจพบนิ่วในกระเพาะปัสสาวะเพียงตำแหน่งเดียวมากที่สุด (ร้อยละ 90.48) รองลงมาคือพบนิ่วในกระเพาะปัสสาวะร่วมกับนิ่วที่ไต และนิ่วในท่อปัสสาวะ (ร้อยละ 4.76) ตามลำดับ เมื่อทำการทดสอบทางสถิติพบว่า ชนิดของนิ่วมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะคือ มักพบการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะในสุนัขที่มีนิ่วชนิดแอมโมเนียมแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 21)

ชนิดของแบคทีเรียที่แยกจากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ แยกตามเพศ แสดงดังตารางที่ 9 พบว่า *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียหลักที่ก่อโรคทางเดินปัสสาวะทั้งสุนัขเพศผู้และเพศเมียและสุนัขเพศเมียมีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะมากกว่าสุนัขเพศผู้ อายุเฉลี่ยของสุนัขเพศผู้ที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะมากกว่าสุนัขเพศเมียที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 22) โดยที่อายุเฉลี่ยของสุนัขเพศเมียที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะคือ  $6.69 \pm 2.97$  ปี โดยกลุ่มอายุที่มีการติดเชื้อมากที่สุดคือ ช่วงอายุ 4-6 ปี (ร้อยละ 46.7) รองลงมาได้แก่ ช่วงอายุ 7-10 ปี (ร้อยละ 33.3) และน้อยกว่า 4 ปี (ร้อยละ 13.3) ตามลำดับ ส่วนอายุเฉลี่ยของสุนัขเพศผู้ที่มีการติดเชื้อ *E. coli* ในทางเดินปัสสาวะคือ  $7.25 \pm 2.92$  ปี โดยกลุ่มอายุที่มีการติดเชื้อมากที่สุดคือ ช่วงอายุ 4-6 ปี (ร้อยละ 50) (ตารางที่ 23) ผลการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ของผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะและชนิดของยีนที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ *E. coli* (ตารางที่ 24)



**รูปที่ 10** แสดงสาเหตุไข้มน้ำในสุนัขที่มีการติดเชื้แบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ

- (a) สุนัขที่มี vesicourachal diverticulum (ศรชี้) วินิจฉัยจากภาพถ่ายรังสีวิทยาโดยการทำ negative contrast cystography
- (b) สุนัขที่มี vesicourachal diverticulum (ศรชี้) รายเดียวกับรูป (a) วินิจฉัยจากการทำ double contrast cystography
- (c) สุนัขที่มีการเคลื่อนของกระดูกสันหลังช่วงเชิงกราน (100% dorsal luxation of sacroiliac joint) (ศรชี้)
- (d) สุนัขที่พบนิ่วในไต และกระดูกหักปัสสาวะ (ศรชี้)
- (e) สุนัขที่มีต่อมลูกหมากโต (ศรชี้)

ตารางที่ 21 แสดงค่า Odds ratio (OR), 95% confidence interval (CI) และชนิดของนิวที่แยกได้จาก สุนัขที่มีนิวในทางเดินปัสสาวะ แยกตามการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ

| ชนิดของนิว                     | การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ |                      | OR     | 95% CI     |
|--------------------------------|---------------------------|----------------------|--------|------------|
|                                | ติดเชื้อแบคทีเรีย         | ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย |        |            |
|                                | (n/N) (ร้อยละ)            | (n/N) (ร้อยละ)       |        |            |
| แมกนีเซียมแอมโมเนียม<br>ฟอสเฟต | 19/58 (32.8)              | 5/47 (10.6)          | 4.09** | 1.27-13.96 |
| แคลเซียมฟอสเฟต คาร์บอเนต       | 12/58 (20.7)              | 3/47 (6.4)           | 3.83   | 0.91-18.43 |
| แคลเซียมออกซาลेट<br>โมโนไฮเดรต | 3/58 (5.2)                | 6/47 (12.8)          | 0.37   | 0.07-1.82  |
| แอมโมเนียม แอซิด ยูเรต         | 3/58 (5.2)                | 2/47 (4.3)           | 1.23   | 0.16-11.06 |

หมายเหตุ: \*\*: มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.01$ , n; จำนวนสุนัขจำแนกตามกลุ่ม และ N; จำนวนสุนัขทั้งหมดในแต่ละกลุ่ม

ตารางที่ 22 แสดงความแตกต่างของอายุเฉลี่ยของสุนัขที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียในทางเดินปัสสาวะ แยกตามเพศ

| สายพันธุ์แบคทีเรีย            | การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ |           | t-test    | P value   | อายุเฉลี่ย (ปี) |
|-------------------------------|---------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------------|
|                               | เพศผู้                    | เพศเมีย   |           |           |                 |
| <i>Escherichia coli</i>       | 7.25±2.92                 | 6.69±2.97 | 0.39      | 0.69      | 6.85±2.90       |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 6.00                      | 5.89±3.00 | Undefined | Undefined | 5.90±2.89       |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 6.56±4.65                 | 3.00±1.73 | 1.24      | 0.26      | 5.22±4.07       |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>  | 11.00                     | 4.1±2.76  | Undefined | Undefined | 5.82±4.12       |
| <i>Proteus mirabilis</i>      | 0                         | 6.77±3.17 | Undefined | Undefined | 6.77±3.17       |
| <i>Enterobacter cloaca</i>    | 8±1.41                    | 10.00     | Undefined | Undefined | 8.67±1.53       |
| <i>Enterococcus faecium</i>   | 7.6±0.28                  | 9.00      | Undefined | Undefined | 8.07±0.83       |
| <i>Streptococcus canis</i>    | 4.00                      | 0         | Undefined | Undefined | 4.00            |

หมายเหตุ: Undefined; คำนวณไม่ได้

ตารางที่ 23 แสดงการกระจายของสายพันธุ์แบคทีเรียที่แยกได้จากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ แยกตามอายุ

| สายพันธุ์แบคทีเรีย            | กลุ่มอายุ (จำนวน; ร้อยละ) |          |          |               | อายุเฉลี่ย (ปี) | รวม |
|-------------------------------|---------------------------|----------|----------|---------------|-----------------|-----|
|                               | น้อยกว่า 4 ปี             | 4-6 ปี   | 7-10 ปี  | ตั้งแต่ 11 ปี |                 |     |
| <b>เพศเมีย</b>                |                           |          |          |               |                 |     |
| <i>Escherichia coli</i>       | 2 (13.3)                  | 7 (46.7) | 5 (33.3) | 1 (6.7)       | 6.69±2.97       | 15  |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 3 (21.4)                  | 7 (50)   | 3 (21.4) | 1 (7.1)       | 5.89±3.00       | 14  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 (33.3)                  | 2 (66.7) | 0        | 0             | 3.00±1.73       | 3   |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>  | 1 (33.3)                  | 2 (66.7) | 0        | 0             | 4.1±2.76        | 3   |
| <i>Proteus mirabilis</i>      | 1 (33.3)                  | 0        | 2 (66.7) | 0             | 6.77±3.17       | 3   |
| <i>Enterobacter cloaca</i>    | 0                         | 0        | 1 (100)  | 0             | 10              | 1   |
| <i>Enterococcus faecium</i>   | 0                         | 0        | 2 (100)  | 0             | 9               | 2   |
| <i>Streptococcus canis</i>    | 0                         | 0        | 0        | 0             | 0               | 0   |
| <b>เพศผู้</b>                 |                           |          |          |               |                 |     |
| <i>Escherichia coli</i>       | 0                         | 3 (50)   | 2 (33.3) | 1 (16.7)      | 7.25±2.92       | 6   |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 0                         | 1 (100)  | 0        | 0             | 6               | 1   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 (20)                    | 2 (40)   | 1 (20)   | 1 (20)        | 6.56±4.65       | 5   |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>  | 0                         | 0        | 0        | 1 (100)       | 11.00           | 1   |
| <i>Proteus mirabilis</i>      | 0                         | 0        | 0        | 0             | 0               | 0   |
| <i>Enterobacter cloaca</i>    | 0                         | 0        | 2 (100)  | 0             | 8±1.41          | 2   |
| <i>Enterococcus faecium</i>   | 0                         | 0        | 1 (100)  | 0             | 7.6±0.28        | 1   |
| <i>Streptococcus canis</i>    | 0                         | 1 (100)  | 0        | 0             | 4               | 1   |

ตารางที่ 24 แสดงจำนวนยื่นที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของ UPEC และผลการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ

| ลำดับ | รหัส | จำนวนยื่น | เลือด | ฮีโมโกลบิน | ระดับเม็ดเลือดขาว | ระดับเม็ดเลือดแดง |
|-------|------|-----------|-------|------------|-------------------|-------------------|
| 1     | A1   | 2         | 0     | 2          | 2                 | 3                 |
| 2     | A2   | 1         | 2     | 0          | 2                 | 1                 |
| 3     | A5   | 1         | 0     | 2          | 2                 | 1                 |
| 4     | A9   | 1         | 0     | 3          | 2                 | 2                 |
| 5     | A12  | 2         | 3     | 0          | 2                 | 3                 |
| 6     | A15  | 1         | 3     | 0          | 2                 | 1                 |
| 7     | A19  | 1         | 3     | 0          | 2                 | 1                 |
| 8     | A23  | 1         | 4     | 0          | 2                 | 2                 |
| 9     | A24  | 1         | 4     | 0          | 2                 | 2                 |
| 10    | A33  | 1         | 3     | 0          | 2                 | 2                 |
| 11    | A39  | 1         | 0     | 2          | 2                 | 1                 |
| 12    | A49  | 1         | 2     | 0          | 2                 | 1                 |
| 13    | A53  | 1         | 0     | 3          | 2                 | 1                 |
| 14    | A58  | 2         | 4     | 0          | 2                 | 3                 |
| 15    | A70  | 1         | 2     | 0          | 2                 | 1                 |
| 16    | A78  | 1         | 2     | 0          | 2                 | 1                 |
| 17    | A83  | 1         | 4     | 0          | 2                 | 3                 |
| 18    | A85  | 3         | 3     | 0          | 2                 | 2                 |
| 19    | A91  | 3         | 4     | 0          | 2                 | 3                 |
| 20    | A94  | 2         | 1     | 0          | 2                 | 1                 |
| 21    | A100 | 3         | 4     | 0          | 2                 | 3                 |

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ภาคผนวก ข

## อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

## อาหารเลี้ยงเชื้อ (culture media)

## 1. Luria-Bertani broth

|                       |    |      |
|-----------------------|----|------|
| Tryptone              | 10 | กรัม |
| Yeast extract         | 5  | กรัม |
| NaCl                  | 5  | กรัม |
| Distilled water       | 1  | ลิตร |
| ปรับ pH $7.0 \pm 0.1$ |    |      |

## สารเคมี

## 2. Tris-borate (TBE)

## Stock solution (5X)

|                     |      |           |
|---------------------|------|-----------|
| Tris base           | 54   | กรัม      |
| Boric acid          | 27.5 | กรัม      |
| 0.5 M EDTA (pH 8.0) | 20   | มิลลิลิตร |

## Working solution (0.5X)

45 mM Tris-borate

1 mM EDTA

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ค

ตารางการแปรผลค่าความไวรับของเชื้อมาตรฐาน



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

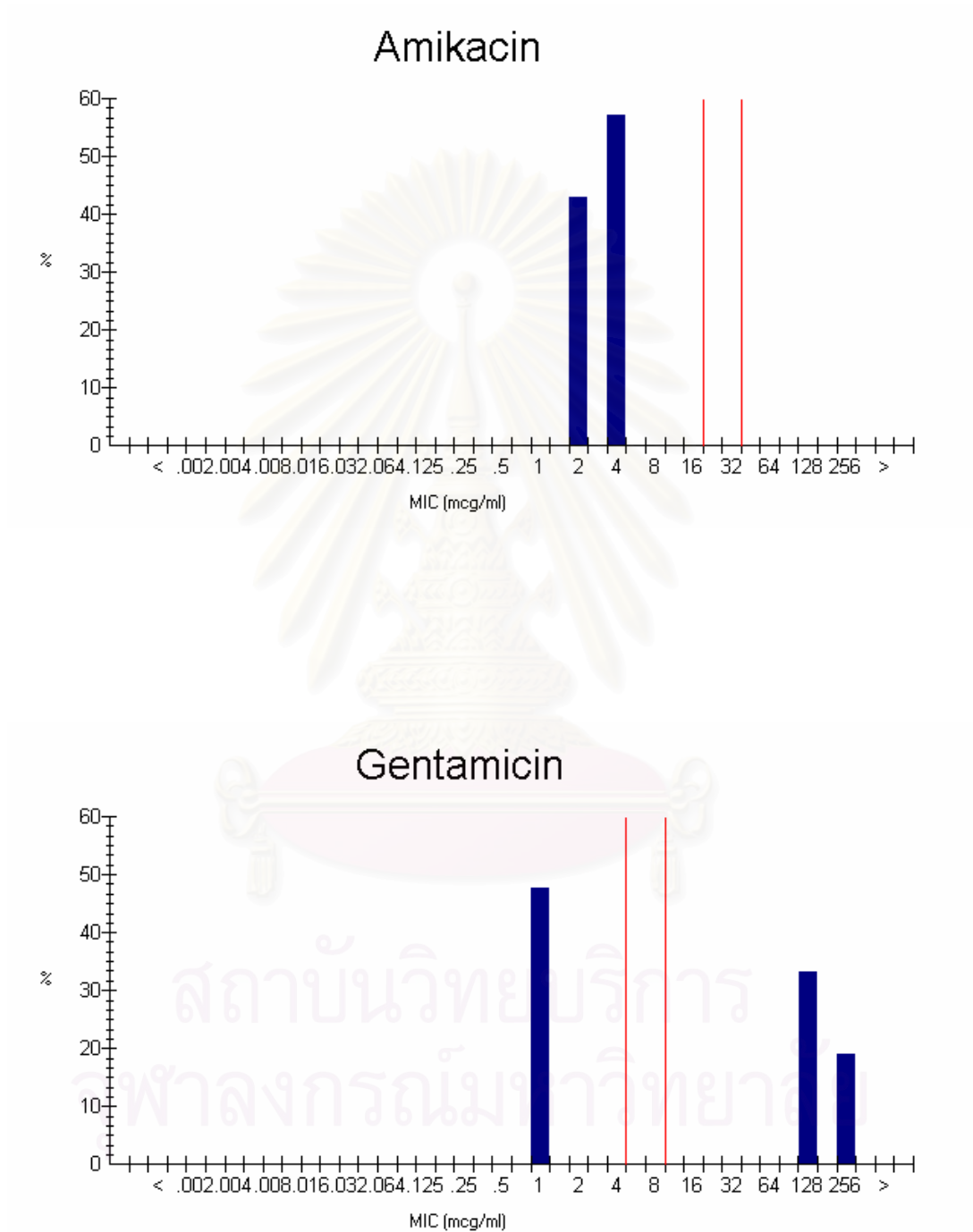
ตารางที่ 25 แสดงค่า MIC ของเชื้อมาตรฐานต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิดที่ทำการศึกษา

| เชื้อมาตรฐาน                     | ค่า MIC (ไมโครกรัมต่อมิลลิตร) |                    |                 |               |                       |                      |               |                 |                       |                           |
|----------------------------------|-------------------------------|--------------------|-----------------|---------------|-----------------------|----------------------|---------------|-----------------|-----------------------|---------------------------|
|                                  | AMK                           | AMX                | AMP             | CZO           | CRO                   | DOX                  | ENR           | GEN             | NOR                   | SXT                       |
| <i>S. aureus</i> ATCC 29213      | 1<br>(1-4)                    | 0.25<br>(0.12-0.5) | 0.25<br>(0.5-2) | 1<br>(0.25-1) | 4<br>(1-8)            | ≤0.125<br>(0.12-0.5) | ≤0.125<br>(-) | 0.5<br>(0.12-1) | 1<br>(0.5-2)          | 0.06/1.184<br>(≤0.5/9.5)  |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922        | 2<br>(0.5-4)                  | 4<br>(2-8)         | 8<br>(2-8)      | 4<br>(1-4)    | ≤0.125<br>(0.03-0.12) | ≤0.125<br>(0.5-2)    | ≤0.125<br>(-) | 1<br>(0.25-1)   | ≤0.125<br>(0.03-0.12) | 0.125/2.375<br>(≤0.5/9.5) |
| <i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853 | 4<br>(1-4)                    | >512<br>(-)        | >512<br>(-)     | >512<br>(-)   | 8<br>(8-64)           | 32<br>(-)            | 2<br>(-)      | 2<br>(0.5-2)    | 2<br>(1-4)            | >16/0<br>(8/152-32/608)   |

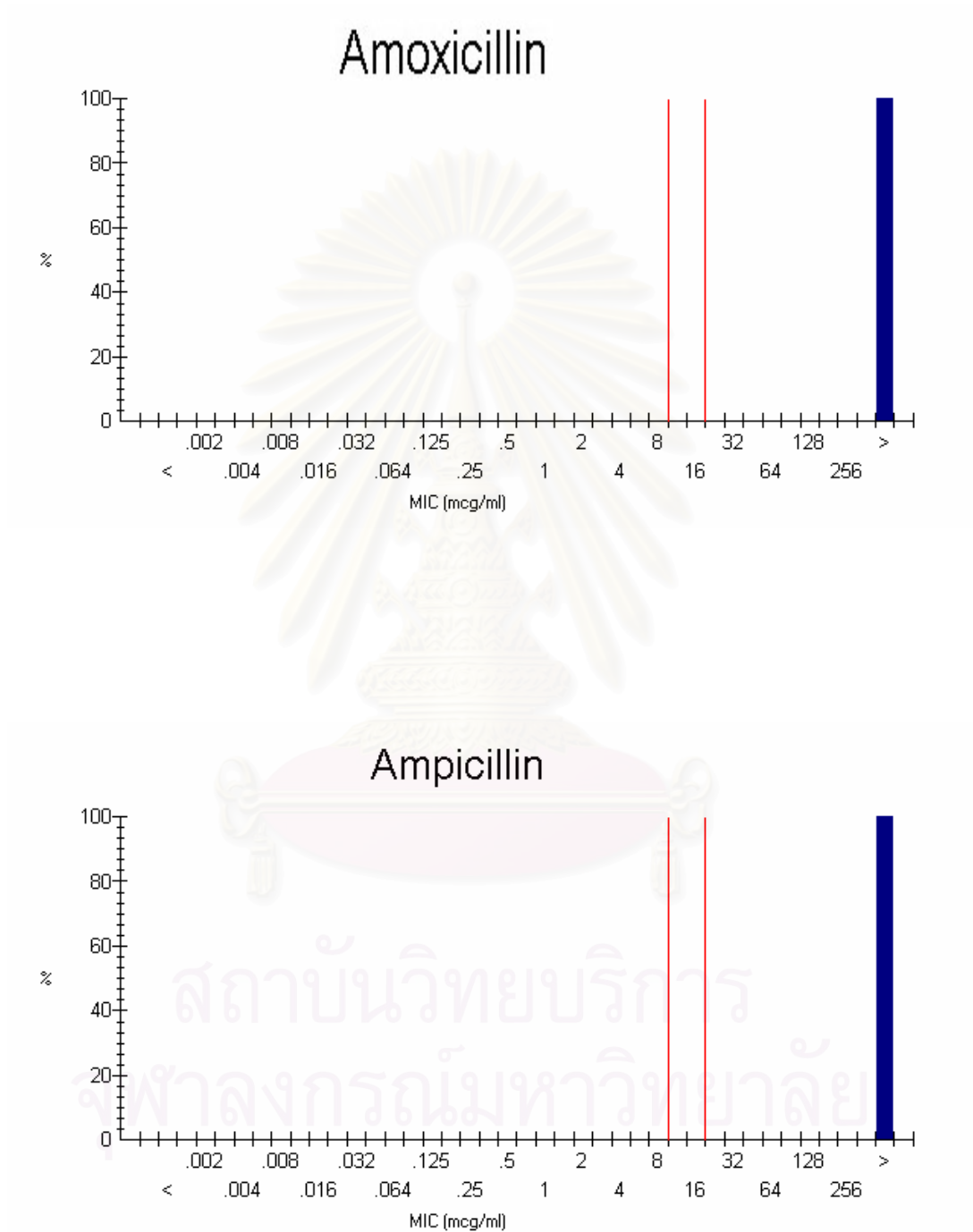
ที่มา: NCCLS (2007)

หมายเหตุ: AMK; amikacin, AMX; amoxicillin, AMP; ampicillin, CZO; ceftazidime, CRO; ceftriaxone, DOX; doxycycline, ENR; enrofloxacin, GEN; gentamicin, NOR; norfloxacin, SXT; trimethoprim/sulphamethoxazole ตัวเลขใน () แสดงค่า MIC ของเชื้อมาตรฐานตาม และ (-) หมายถึง มิได้ระบุค่า

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

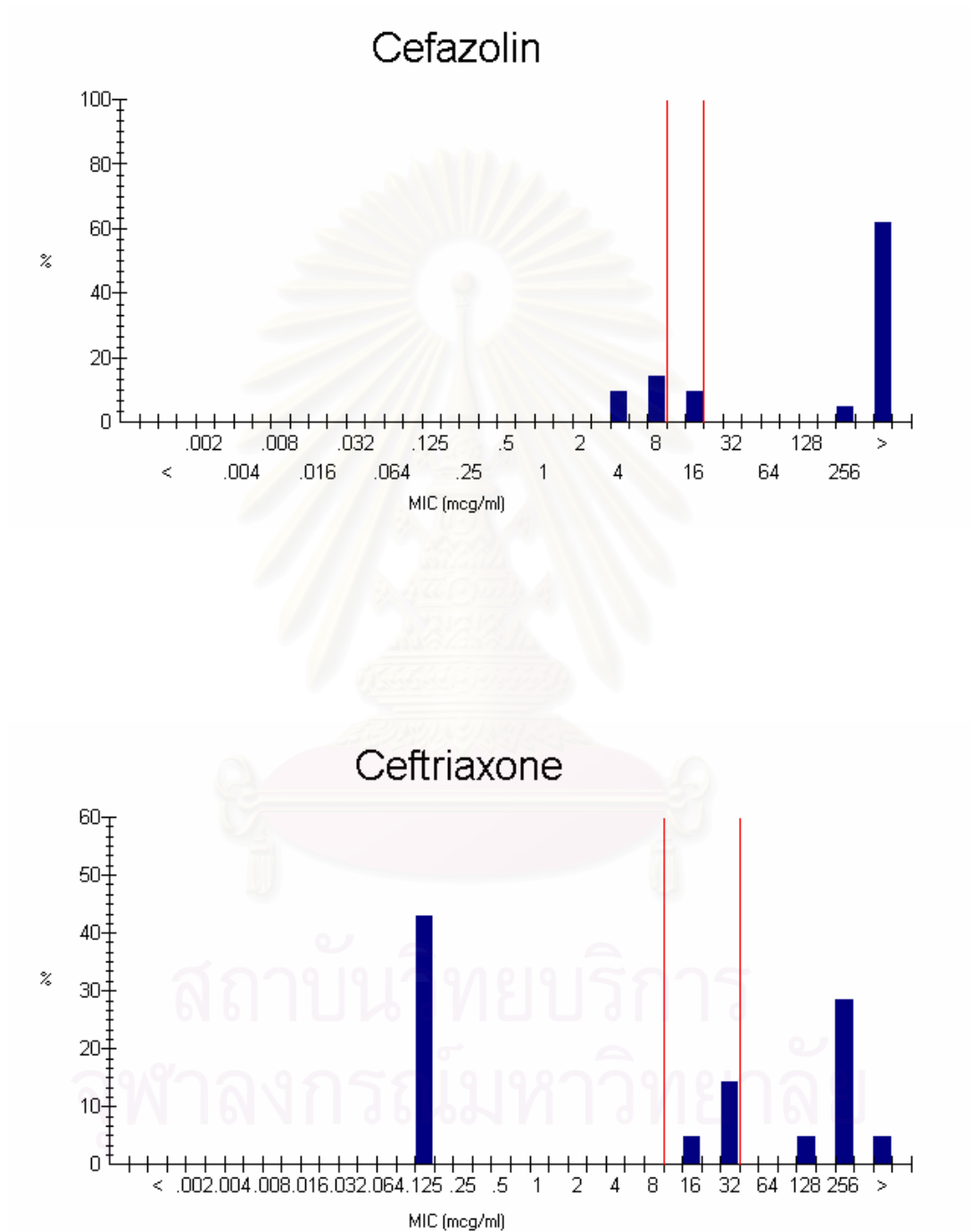


**รูปที่ 11** แสดงค่า MIC ของยาต้านจุลชีพ amikacin และ gentamicin ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลต

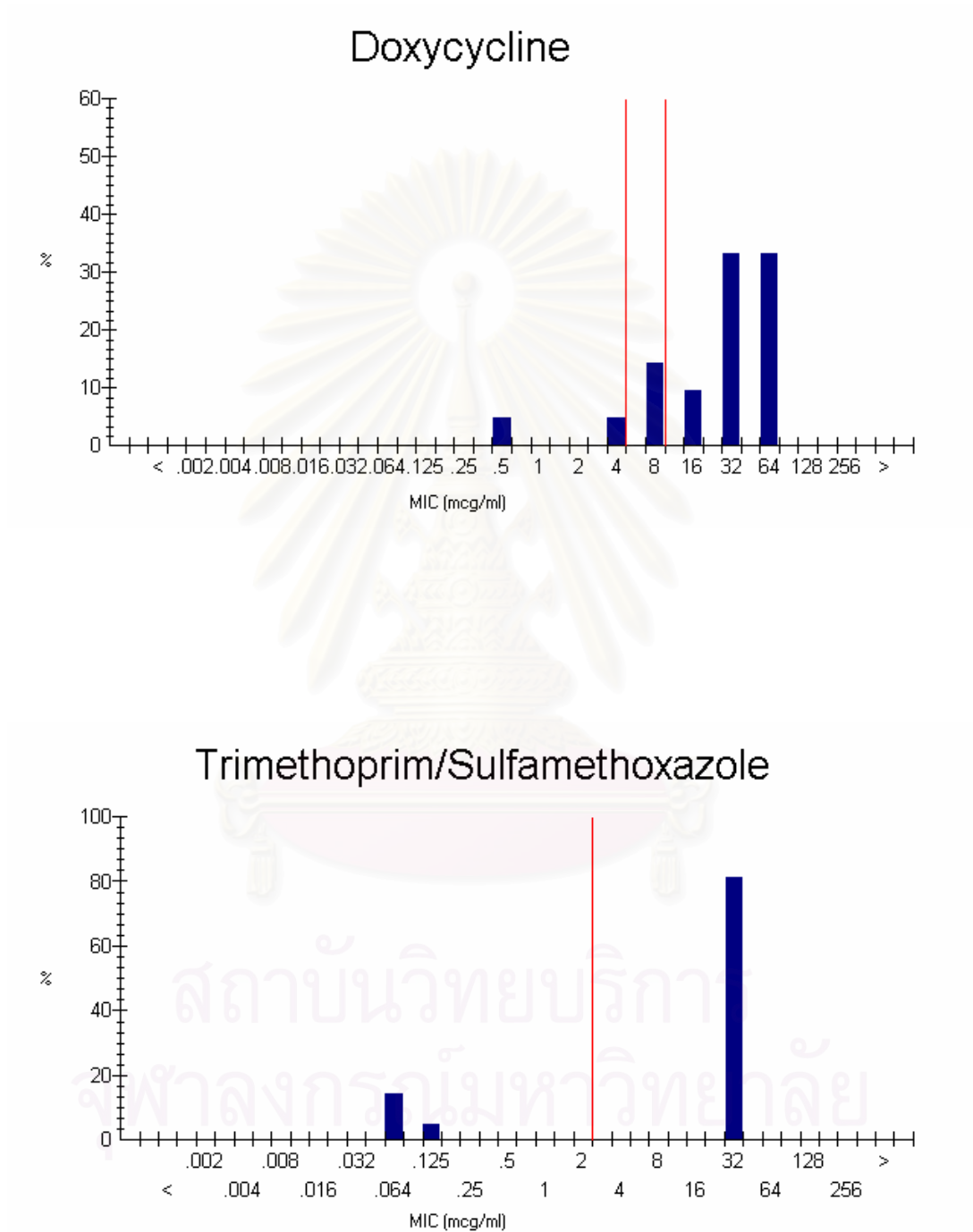


**รูปที่ 12** แสดงค่า MIC ของยาต้านจุลชีพ amoxicillin และ ampicillin ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลต

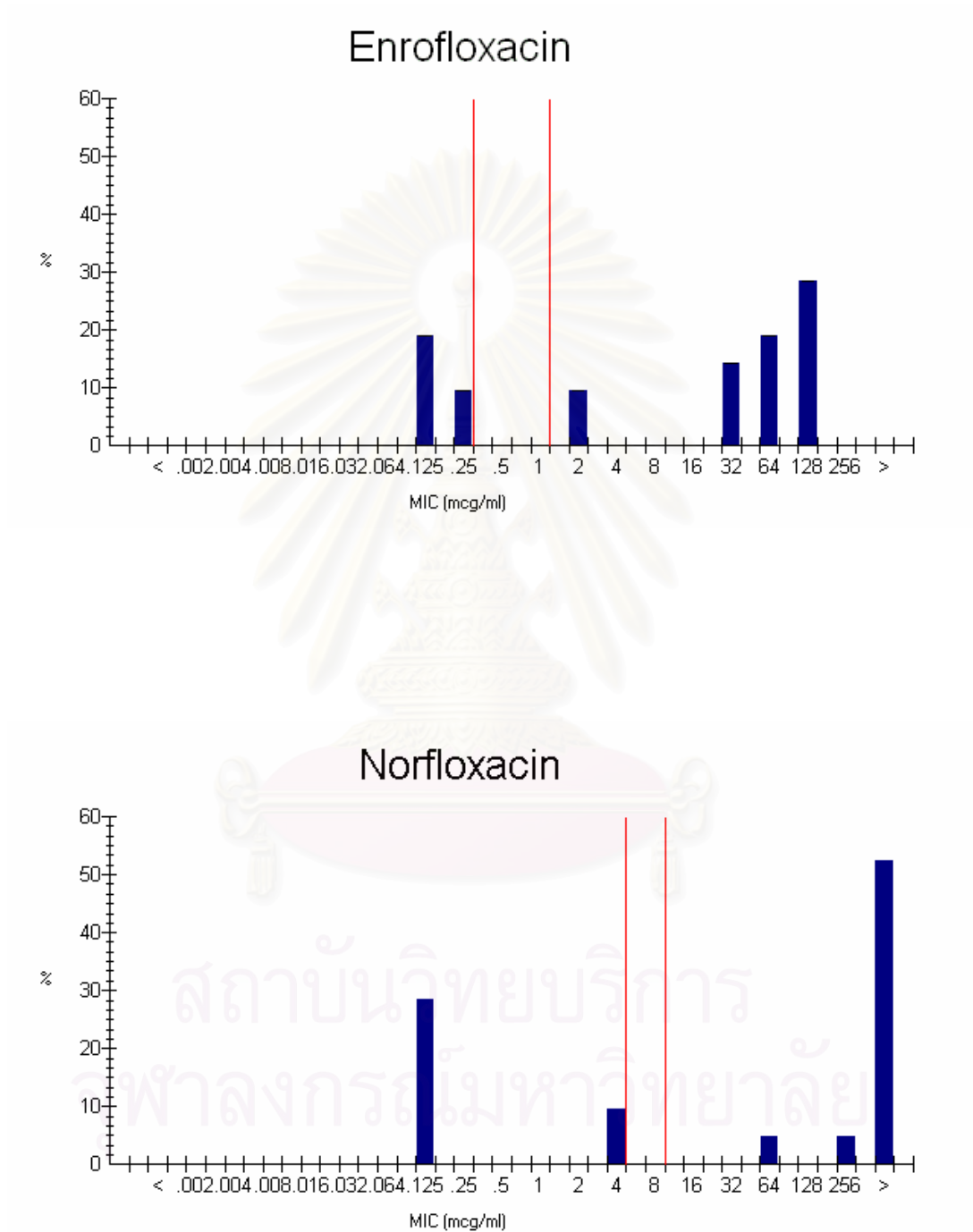




**รูปที่ 13** แสดงค่า MIC ของยาต้านจุลชีพ cefazolin และ ceftriazone ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลต



**รูปที่ 14** แสดงค่า MIC ของยาต้านจุลชีพ doxycycline และ trimethoprim/sulfamethoxazole ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลท



**รูปที่ 15** แสดงค่า MIC ของยาต้านจุลชีพ enrofloxacin และ norfloxacin ต่อ UPEC ที่แยกจากสุนัขที่มีการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะจำนวน 21 ไอโซเลต

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายยงยุทธ พงษ์ประภาชื่น เกิดเมื่อวันที่ 26 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2524 จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2547 เข้าศึกษาต่อระดับบัณฑิตศึกษา หลักสูตร วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขา อายูรศาสตร์สัตวแพทย์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2548



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย