ครั้งที่ 16 ประจำปีการศึกษา 2563 วันที่ 6 มิถุนายน พ.ศ. 2563

การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 16

เรื่อง "งานวิจัย เพื่อการพัฒนาท้องถิ่น นวัตกรรมสู่การขับเคลื่อนเศรษฐกิจไทย"

สังคมศาสตร์และ
วิทยาศาสตร์สุขภาพ

วันเสาร์ที่6 และวันอาทิตย์ที่ 7 มิถุนายน พ.ศ. 2563
ณ อาคารคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น
อำเภอสำลูกกา จังหวัดปทุมธานี

สารบัญ

ชื่อเรื่อง/ชื่อผู้วิจัย	หน้า
การตรวจหาปรสิตในเลือดของสัตว์เคี้ยวเอื้อง สพ.ญ. ปาณิศา หนูอุไร	349
โรคเฮอร์ปี่ส์ไวรัสในช้าง ภรภัค อรรถปัณยวนิช	355
การเลือกใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคผิวหนังติดเชื้อแบคทีเรียในสุนัข มุกดาศจี มหากนก	363
แนวทางการรักษาโรคเต้านมอักเสบในแพะ วรัญญา ภู่ทัยกุล น.สพ.สกนธ์ จันทรอัมพร	375
ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการกินนม Waste milk กับการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) ที่เก็บจากอุจจาระของลูกโครยะกินนม สาโรจน์ แร่เพชร น.สพ.กัณวีร์ สว่างเนตร	382
ความชุกของการติดเชื้อ *Brucella* spp. ในแพะ อ.ห้วยกระเจา จ.กาญจนบุรี สุดา จายหลวง สุภาพ มีโชค	398
ความชุกของเชื้อซัลโมเนลลาที่แยกได้จากเนื้อสุกรดิบจากตลาดสดและตลาดนัด สุภาพ มีโชค ดวงสุดา ทองจันทร์	407

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการกินนม Waste milk กับการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) ที่เก็บจากอุจจาระของลูกโครยะกินนม

Study of relationship between the amount of waste milk consumed and the antibiotic resistance of *Escherichia coli* (*E. coli*) collected from feces of calves.

ผู้วิจัย สาโรจน์ แร่เพชร
น.สพ.กัณวีร์ สว่างเนตร
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น

บทคัดย่อ

จากการลงพื้นที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี พบการใช้ยาปฏิชีวนะของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมเบื้องต้น (Pilot study) โดยใช้แบบสอบถามจำนวน 45 ฟาร์มพบว่าทุกฟาร์มใช้ยาปฏิชีวนะ โดยพบว่ายาปฏิชีวนะชนิดที่ใช้มากที่สุดได้แก่ ยา Gentamicin ร้อยละ 86 (39/45) รองลงมาเป็นยา Amoxycillin และSulfamethoxazole-Trimethoprim ร้อยละ 66.6 (30/45) พบยาปฏิชีวนะชนิดที่ใช้น้อยสุดได้แก่ Amoxycillin/Clavulanic ร้อยละ 11.1 (5/45) จากผลการศึกษาพบว่า การดื้อยาปฏิชีวนะชนิด Sulfamethoxazole-Trimethoprim มีความสัมพันธ์กับการกินนม waste milk มากดังนั้นในการจัดการให้นม Waste milk แก่ลูกโคนั้นพบข้อเสียหลายอย่าง และที่สำคัญมีผลทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะ ทำให้ลูกโคมีอาการท้องเสีย ซึ่งส่งผลต่อการรักษาโรคติดเชื้อทำให้รักษาโรคได้ยากขึ้นทั้งในปัจจุบันและอนาคต อีกทั้งยังส่งผลต่อสุขภาพของลูกโค ทำให้การเจริญเติบโตที่ไม่เหมาะสม ดังนั้นเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมควรตระหนัก และให้ความสำคัญในการให้น้ำนมชนิดต่าง ๆ แก่ลูกโค เพื่อสุขภาพที่ดี และแข็งแรงของลูกโค

ABSTRACT

The area of Tha Maka District, Kanchanaburi Province Antibiotic use was found among dairy farmers (Pilot study) using a questionnaire consisting of 45 farms. All farms were using antibiotics. The most commonly used antibiotics are Gentamicin, 86% (39/45), followed by Amoxycillin and Sulfamethoxazole-Trimethoprim, 66.6% (30/45). The least commonly used antibiotics are: Amoxycillin / Clavulanic 11 percent. 1 (5/45) From the results of the study, it was found that Antibiotic resistance Sulfamethoxazole-Trimethoprim There is a great relationship with the consumption of waste milk. Therefore, waste management for calves has many disadvantages. And most importantly, the effect of causing antibiotic resistance Causing calves to have diarrhea Which affects the treatment of infectious diseases, making treatment more difficult now and in the future It also affects the health of calves. Causing improper growth Therefore, dairy farmers should be aware And attach importance to breast milk production for calves for good health And the strength of calves.

บทนำ

อาชีพการเลี้ยงโคนมเป็นอาชีพพระราชทานแก่เกษตรกรไทยซึ่งปัจจุบันเกษตรกรไทยได้ประกอบอาชีพการเลี้ยงโคนมเป็นจำนวนมาก ในปี 2560 มีเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมทั้งหมดจำนวน 17,348 ราย โดยจังหวัดนครราชสีมามีเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมมากที่สุดเป็นจำนวน 3,627 ราย รองลงมาคือ จังหวัดสระบุรี ลพบุรี ราชบุรี และเชียงใหม่ และส่วนปริมาณการเลี้ยงโคนมนั้นพบว่าในจังหวัดนครราชสีมามีการเลี้ยงโคนมเป็นจำนวนมากที่สุด จำนวน 112,342 ตัว รองลงมาคือ จังหวัดสระบุรี ลพบุรี เชียงใหม่ และประจวบคีรีขันธ์ (ข้อมูลจำนวนปศุสัตว์, 2560) ซึ่งการเลี้ยงลูกโคในปัจจุบันเกษตรกรให้ความนิยมในการใช้นม Waste milk คือ นมที่ได้จากแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบซึ่งไม่สามารถนำส่งขายได้เนื่องจากมีปริมาณแบคทีเรียในน้ำนมมากเกินมาตรฐาน หรือเป็นนมที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะเข้าไปในน้ำนม (Wray, *et al*., 1990) ข้อดีของ Waste milk คือ เกษตรกรสามารถใช้น้ำนมที่เหลือจากการรีดน้ำนมมาให้ลูกโคกินส่งผลทำให้ประหยัดในส่วนของค่าใช้จ่ายที่จะต้องซื้อนมผงที่อื่นมาเลี้ยงลูกโค และสะดวกต่อการจัดการในส่วนของน้ำนมของลูกโคในฟาร์มได้ แต่ในขณะเดียวกันผลกระทบหรือผลเสียอื่น ๆ ที่ตามมาก็มีได้มากมาย เช่น ทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะ ทำให้ลูกโคมีอาการท้องเสีย ซึ่งส่งผลต่อการรักษาโรคติดเชื้อทำให้รักษาโรคได้ยากขึ้นทั้งในปัจจุบัน และอนาคต อีกทั้งยังส่งผลต่อสุขภาพของลูกโค ทำให้มีการเจริญเติบโตที่ไม่เหมาะสม หรือ อาจส่งผลทำให้ลูกโคเพศเมียที่เจริญเติบโตต่อไปสามารถเกิดโรคเต้านมอักเสบเกิดขึ้นได้ (Kesler, 1981) และอีกทั้งยังทำให้เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ลำไส้ของลูกโคดื้อต่อการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ (Werckenthin, *et al*., 2002) การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของ Waste milk ต่อสุขภาพลูกโคเบื้องต้น และโอกาสของการดื้อยาปฏิชีวนะในลูกโคระยะกินนมจากฟาร์มโคนมในพื้นที่อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี

วัตถุประสงค์

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการกินนม Waste milk กับการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) ที่เก็บจากอุจจาระของลูกโคระยะกินนม

ทบทวนวรรณกรรม

สถานการณ์การเลี้ยงโคนมในประเทศไทย

จากข้อมูลในปี พ.ศ. 2557 ของกรมปศุสัตว์พบว่าในประเทศไทยมีเกษตรกรที่เลี้ยงโคนมทั้งหมด 16,634 ราย ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่ เขต 7 จำนวน 5,075 ราย รองลงมา คือ เขต 1 จำนวน 4,160 ราย และเขต 3 จำนวน 2,967 ราย ตามลำดับ โดยมีการเลี้ยงโคนมทั้งหมดจำนวน 508,548 ตัว และในปี พ.ศ. 2558 ของกรมปศุสัตว์ 16,248 ราย ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่เขต 7 จำนวน 5,124 ราย รองลงมาคือเขต 1 จำนวน 4,190 ราย และเขต 3 จำนวน 2,846 ราย ตามลำดับ โดยมีการเลี้ยงโคนมทั้งหมดจำนวน 509,524 ตัว และในปีล่าสุดจากข้อมูลในปี พ.ศ. 2560 ของกรมปศุสัตว์พบว่าในประเทศไทยมีเกษตรกรที่เลี้ยงโคนมทั้งหมดจำนวน 17,348 ราย ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่เขต 1 จำนวน 4,340 รายรองลงมาคือเขต 7 จำนวน 4,334 ราย และเขต 3 จำนวน 4,120 ราย ตามลำดับ โดยมีการเลี้ยงโคนมทั้งหมดจำนวน 584,327 ตัว ซึ่งในพื้นที่ เขต 1 เลี้ยงโคนมมากที่สุด จำนวน 160,963 ตัว รองลงมาคือเขต 7 จำนวน 127,823 ตัว และเขต 3 จำนวน 124,996 ตัว ตามลำดับ โดยจังหวัดนครราชสีมามีเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมมากที่สุดเป็นจำนวน 3,627 ราย รองลงมาคือ จังหวัดสระบุรี ลพบุรี ราชบุรี และเชียงใหม่ จำนวนการเลี้ยงโคนมจังหวัดนครราชสีมามีการเลี้ยงโคนมเป็นจำนวนมากที่สุด จำนวน 112,342 ตัว รองลงมาคือ จังหวัดสระบุรี ลพบุรี เชียงใหม่ และประจวบคีรีขันธ์

จากข้อมูลในแต่ละปีทำให้ทราบว่าเกษตรกรให้ความสนใจในการประกอบอาชีพการเลี้ยงโคนมเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งจำนวนโคนมในประเทศไทยก็เพิ่มขึ้นตามไปด้วย

การจัดการลูกโคระยะกินนม

ลูกโคระยะกินนมควรเลี้ยงแบบให้นมจำกัดและเสริมอาหารข้นสำหรับลูกโค ทำการหย่านมลูกโคที่อายุ 3 เดือน หรืออาจทำการหย่านมลูกโคที่อายุ 2 เดือนเพื่อลดต้นทุนการผลิต รวมทั้งเก็บข้อมูลน้ำหนักลูกโคที่อายุ 2 เดือน และ3 เดือน การเลี้ยงลูกโคแบบให้นมจำกัดเสริมอาหารข้น เพื่อลดต้นทุนการผลิตและต้องการให้กระเพาะหมัก (rumen) ของลูกโคมีการพัฒนาสามารถหมักอาหารหยาบและอาหารข้นได้อย่างมีประสิทธิภาพหลังจากหย่านม รวมทั้งมีการทำเครื่องหมายในโคทำโดยการจี้เขา ตัดหัวนมเกิน และถ่ายพยาธิ เป็นต้น

ลูกโคก่อนหย่านมที่มีการเจริญเติบโตเหมาะสมสุขภาพสมบูรณ์ร่างกายแข็งแรงสามารถหย่านมได้เมื่ออายุประมาณ 2-3 เดือน ซึ่งลูกโคในช่วงอายุแรกเกิดถึง 3 เดือน จะมีการเจริญเติบโตของร่างกายและการพัฒนาระบบเต้านมของลูกโคใกล้เคียงกัน

1. การจัดการลูกโคหลังคลอด

ลูกโคควรคลอดอยู่ในคอกคลอดที่มีความสะอาด มีฟางหรือหญ้าแห้งเป็นวัสดุในการรองพื้นคอกเพื่อป้องกันการติดเชื้อที่สายสะดือสำหรับลูกโคคลอดใหม่ควรดำเนินการ ดังนี้

ล้างมือให้สะอาด

ทำการล้วงเมือกที่บริเวณปาก และจมูกออกให้หมด ในกรณีที่พบว่ามีเมือกไหลมากอาจต้องยกขาหลังลูกโคและพาดไว้กับราวเหล็กให้ลูกโคหัวห้อยลงมาประมาณ 1-2 นาที เพื่อให้เมือกไหลออกมา ลูกโคจะได้หายใจสะดวก

เช็ดตัวลูกโคให้แห้ง

ใช้ทิงเจอร์ไอโอดีนพ่นที่บริเวณสะดือ และปลายสะดือทั้งภายนอกและภายใน ไม่ควรใช้มือจับปลายสะดือเพราะอาจติดเชื้อได้ ทำการแยกลูกโคออกจากแม่ทันทีหรือปล่อยให้แม่โคเลียเมือกที่ติดลูกโคประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นย้ายลูกโคมาไว้ในกรงขังเดี่ยวที่มีวัสดุปูรองด้วยหญ้าแห้ง

2. การให้น้ำนมเหลืองแก่ลูกโคแรกคลอด

ควรรีดน้ำนมเหลืองให้ลูกโคกินโดยเร็วในมื้อแรกให้ลูกโคกินนมน้ำเหลืองไม่เกิน 6 ชั่วโมงหลังคลอด เนื่องจากจะมีภูมิคุ้มกันสูงกว่านมที่รีดได้ในมื้อต่อมา ให้สังเกตดูจะมีลักษณะเป็นสีเหลืองและหนืด ถ้าลูกโคกินไม่หมดสามารถเก็บในตู้เย็น และนำมาอุ่นให้กินอีก 2-3 มื้อ ภายใน 24 ชั่วโมง ลูกโคควรได้กินน้ำนมเหลืองไม่น้อยกว่า 4 กิโลกรัม จึงจะได้รับภูมิคุ้มกันเพียงพอ เนื่องจากลูกโคในระยะแรกคลอดถึงอายุ 3 สัปดาห์ยังไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันเองได้ ดังนั้นวิธีการให้ภูมิคุ้มกันแก่ลูกโคผ่านทางน้ำนมเหลืองจึงเป็นวิธีที่ดีที่สุด ซึ่งมีรายงานว่าน้ำนมเหลืองสามารถแช่แข็งเก็บได้นาน 1 ปีโดยภูมิคุ้มกันไม่สูญเสียเพื่อนำมาเลี้ยงลูกโคตัวที่แม่โคมีน้ำนมเหลืองปริมาณน้อย ก่อนนำมาเลี้ยงควรนำมาแช่ในน้ำอุ่นอุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส ให้ละลายก่อน (thaw) ห้ามต้มเด็ดขาดเพราะจะทำให้ภูมิคุ้มกันซึ่งเป็นโปรตีนเมื่อถูกความร้อนสูงจะจับเป็นก้อนและสูญเสียคุณสมบัติในการเป็นภูมิคุ้มกัน

- ในกรณีที่มีแม่โคหลายตัวคลอดใกล้เคียงกัน และแม่โคบางตัวรีดน้ำนมเหลืองได้ปริมาณน้อย สามารถแบ่งน้ำนมเหลืองจากแม่โคตัวอื่นมาเลี้ยงลูกโคแทนได้

- ในกรณีที่แม่โคคลอดลูกแล้วแต่ไม่มีน้ำนม และไม่มีน้ำนมเหลืองที่แช่แข็งไว้ให้ใช้ซีรัมของแม่โคที่มีสุขภาพแข็งแรง 200 มิลลิลิตร ผสมน้ำนมธรรมดาประมาณ 1-2 กิโลกรัม ให้ลูกโคกิน 1-2 มื้อ ภายใน 24 ชั่วโมง

3. การให้น้ำนมและอาหารลูกโค

ลูกโคแรกเกิดถึง 5 วันแรกงดให้น้ำเพื่อให้ลูกกินนมได้มากขึ้นหลังจากหมดน้ำนมเหลืองให้เลี้ยงลูกโคด้วยน้ำนมวันละ 4 กิโลกรัม (15% ของน้ำหนักตัว เช่น ลูกโคเกิดมีน้ำหนัก 30 กิโลกรัม ให้ลูกโคกินนมวันละ 4-5 กิโลกรัม) แบ่งออกเป็น 2 มื้อ มื้อละ 2 กิโลกรัมจนถึงอายุ 3 เดือน

เมื่อลูกโคอายุ 1 สัปดาห์ เริ่มให้อาหารผสมลูกโค (Calf starter) ที่มีโปรตีน 18-20% พลังงานในรูปของโภชนะย่อยได้ 70-75% หรืออาจใช้อาหารหมูเล็กแทน โดยให้วันละ 2 กำมือในระยะแรกและควรเปลี่ยนอาหารลูกโคทุกวัน เมื่อลูกโคอายุประมาณ 1 เดือน จึงค่อย ๆ เพิ่มปริมาณการให้อาหารข้นเป็นวันละ 1-2 กิโลกรัม จนถึงอายุหย่านมลูกโคที่ 3 เดือน (ลูกโคควรกินอาหารข้นได้อย่างน้อยกว่า 700 กรัมต่อวัน)

มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาและเปลี่ยนทุกวัน มีหญ้าแห้งคุณภาพดีไว้ให้ลูกโคหัดกินตลอดเวลา

อาหารข้นสำหรับลูกโคระยะก่อนหย่านม

การเลี้ยงลูกโคแบบให้นมคงที่พร้อมกับเสริมอาหารข้น และหญ้าแห้งเป็นการลดต้นทุนการผลิตทำให้กระเพาะหมักของลูกโคมีการพัฒนาเร็วขึ้น ซึ่งอาหารข้นลูกโคในระยะนี้ควรมีลักษณะ ดังนี้

- มีโปรตีน 18-20 % พลังงานในรูปของยอดโภชนะย่อยได้ (TDN) 70-72%
- วัตถุดิบผสมอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีน มีกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่ครบ
- มีแร่ธาตุ และวิตามินที่ครบถ้วน โดยการใช้แร่ธาตุผง และพรีมิกซ์เพื่อเป็นแหล่งวิตามินโดยเฉพาะวิตามินกลุ่มละลายในไขมันได้แก่ เอ ดี อี และเค
- อาจมีหางนมผงผสมลงในสูตรอาหารเพื่อกระตุ้นให้ลูกโคกินอาหารได้เร็ว
- หากซื้ออาหารข้นลูกโคในระยะก่อนหย่านมไม่ได้อาจใช้อาหารหมูเล็กแทนได้ ลูกโคในระยะนี้ห้ามให้อาหารข้นที่มียูเรียเป็นส่วนผสมโดยเฉพาะอาหารแม่โคที่มีโปรตีน 18% ซึ่งมักจะมียูเรียเป็นส่วนผสม (กรมปศุสัตว์, 2558)

4. คำจำกัดความของนม Waste milk

Waste milk คือ เป็นนมที่ได้จากแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ ซึ่งไม่สามารถนำส่งขายได้เนื่องจากมีปริมาณแบคทีเรียในน้ำนมมากเกินกว่าระดับมาตรฐาน หรือนมที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะในน้ำนม (Wray, *et al*., 1990) จากรายงานของ (Selim และCullor, 1997) ได้ทำการศึกษาจำนวนของเชื้อแบคทีเรียในนม Waste milk พบว่ามีเชื้อ *Streptococcus* sp. และ กลุ่มของ Enterobacteriaceae ประกอบด้วยเชื้อ *Staphylococcus* และ *E. coli* ซึ่งแบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่ในนม Waste milk เป็นกลุ่มแกรมลบ การที่มีปริมาณของจำนวนแบคทีเรียในนม Waste milk มีปัจจัยมาจากหลาย ๆ อย่างได้แก่ ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในนมที่ผลิตจากแม่โค ความสะอาดของอุปกรณ์ที่ใช้ในรีดน้ำนมโค ความสะอาดของอุปกรณ์ที่ใช้เก็บน้ำนม อุณหภูมิของนมระหว่างการเก็บรักษา การสัมผัสกับแหล่งจุลินทรีย์ (อุจจาระ, แมลงวัน) จากสิ่งแวดล้อม การพาส-เจอไรส์ หรือการแปรรูปอื่น ๆ เพื่อลดปริมาณของจุลินทรีย์ (Quigley, 2001) มีการรายงานพบว่าในนม Waste milk มีการตกค้างของยาปฏิชีวนะ Penicillin และ Novobiocin ในการรีดนมครั้งแรกหลังจากที่รักษาแม่โคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ (Keys, *et al*., 1979) เมื่อทำการทดสอบด้วยชุดทดสอบยาปฏิชีวนะสำเร็จรูปพบว่ามีการตกค้างของยาปฏิชีวนะซึ่งเป็นยากลุ่ม Beta-lactams, Tetracycline คิดเป็น 63% (Selim และCullor, 1997) และยังพบกลุ่ม Aminoglycosides (Heinrich, *et al*., 2012) ในนม Waste milk ที่ให้ลูกโคกินอีกด้วย

5. ข้อดีของนม Waste milk

การให้นม Waste milk นั้นมีข้อดีคือ สามารถลดในส่วนของค่าใช้จ่ายในการจัดการด้านน้ำนมภายในฟาร์มได้ สามารถนำ Waste milk ให้กับลูกกินได้แต่ต้องปฏิบัติตามข้อควรระวังดังนี้ ก่อนให้ลูกโคกินควรนำ Waste milk ไปทำการพาสเจอร์ไรส์ก่อนเพื่อลดปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในน้ำนมจึงจะสามารถนำนมไปให้ลูกโคกินได้ ควรระมัดระวังในการให้นม Waste milk กับลูกโคที่เลี้ยงไว้สำหรับการผลิตเนื้อสัตว์ ควรเก็บน้ำนมไว้ประมาณ 4-5 วันก่อนนำไปให้ลูกโคกินเพื่อช่วยในการย่อยสลายยาปฏิชีวนะบางส่วน ก่อนที่จะให้ Waste milk ควรที่จะทราบถึงสถานะทางสุขภาพของลูกโคก่อนให้กิน ในกรณีที่นมผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ห้ามให้นมกับลูกโคที่ได้รับการฉีดวัคซีน Bovine Viral Diarrhoea (BVD) หรือจากลูกโคที่ติดเชื้อ *E. coli*, Pasteurella ห้ามทิ้งนม Waste milk ไว้เป็นเวลานาน และทำการทิ้งนม Waste milk ที่มีเลือดปนมากเกินไปหรือมีน้ำปนเข้าไปในนม Waste milk (Waldner, *et al*., 2001)

6. ข้อเสียของนม Waste milk

การให้นม Waste milk มีข้อเสียที่หลายอย่างที่สำคัญคือ ไม่ควรให้ในลูกโคแรกเกิด เพราะจะไปรบกวนการทำงานของแบคทีเรียในลำไส้หากนำนม Waste milk ไปทำการเจือจางกับน้ำนมปกติอาจเป็นผลดีสำหรับลูกโคที่มีอายุมาก การให้นม Waste milk สามารถตกค้างในอวัยวะต่าง ๆ ได้ซึ่งพบในตับ ไต กล้ามเนื้อ และเลือด หากลูกโคได้รับนม Waste milk ที่มียาปฏิชีวนะในปริมาณมากส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตช้าลง หากแบคทีเรียมีปริมาณมากในนม Waste milk อาจมีความเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ เพิ่มขึ้น การที่ได้รับ Waste milk ในปริมาณที่มากจะส่งผลต่อการดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Beta-lactams, Tetracycline (Selim และCullor, 1997) และยังพบกลุ่ม Aminoglycosides (Heinrich, *et al*., 2012) อีกทั้งยังส่งผลต่อประสิทธิภาพในการดูดนมทำให้นมนั้นไม่มีความอร่อยและไม่มีความน่ากิน Waste milk มีผลกระทบต่อการทำงานของกระเพาะมีปัญหารวมถึงทำให้ลำไส้ทำงานผิดปกติส่งผลให้เกิดการท้องเสีย สูญเสียสารน้ำและแร่ธาตุต่าง ๆ ออกจากร่างกายส่งผลให้เกิดเกิดภาวะขาดน้ำและนำไปสู่การเสียชีวิตในลูกโคได้ และพบว่าใน Waste milk มีเชื้อแบคทีเรียอยู่หลายชนิดจากการศึกษาของ (Selim และCullor, 1997) พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Streptococcus* sp. (84/165) และEnterobacteriaceae (83/165) เมื่อทำการระบุชนิดพบว่าเป็นเชื้อ *Staphylococcus* sp. (68/165) และพบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* 32% ของการเพาะแยกเชื้อทั้งหมดและพบว่าส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เมื่อลูกโคได้กินเข้าไปเชื้อแบคทีเรียจะไปสะสมอยู่ที่ลำไส้เมื่ออุจจาระออกมาเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในอุจจาระนั้นสามารถแพร่กระจายเชื้อออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกได้ และทำให้ลูกโคที่อยู่ภายในฟาร์มติดเชื้อเข้าไป (Kesler, 1981)

7. ข้อควรระวังในการให้นม Waste milk

การให้นม Waste milk นั้นมีข้อควรระวังดังต่อไปนี้ ไม่ควรให้นม Waste milk ในลูกโคอายุน้อยกว่า 4 วัน เนื่องจากตัวเชื้อแบคทีเรียนั้นสามารถทำลายผนังลำไส้ และทำให้เกิดอาการป่วยได้ ลูกโคในฟาร์มที่กินนม Waste milk ควรที่จะให้กินเป็นรายตัวไปเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอื่นมากินนมซึ่งจะช่วยลดการแพร่เชื้อแบคทีเรียที่ติดเชื้อได้ และเป็นสาเหตุนำไปสู่โรคเต้านมอักเสบ ห้ามนำนม Waste milk ที่มีการตกค้างของยาปฏิชีวนะไปเลี้ยงลูกโคเพื่อการผลิตเนื้อสัตว์ เนื่องจากการให้นม Waste milk นั้นตัวยาปฏิชีวนะที่ตกค้างจากนมอาจเคลื่อนที่ไปอยู่ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของลูกโคได้ (Looper, *et al*., 2001) การให้นมควรที่จะทำการพาสเจอร์ไรส์ก่อนเพื่อลดปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในน้ำนมจึงจะสามารถนำนมไปให้ลูกโคกินได้

8. เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal flora) มีหลาย Species เป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญในสัตว์ และเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นของระบบทางเดินอาหารซึ่งอาจเป็นสาเหตุของ Septicemic disease ในลูกม้า ลูกโค ลูกสุกร ลูกแมว และลูกแกะ เป็นสาเหตุของการเกิด Enterotoxigenic diarrhea ในลูกสัตว์ที่เกิดใหม่ นอกจากนี้ยังฉวยโอกาสทำให้สัตว์หลายชนิดเป็นโรคได้ เมื่อสัตว์เหล่านั้นสุขภาพไม่ดีหรือระบบภูมิคุ้มกันทำงานไม่เต็มที่ มนุษย์สามารถรับเชื้อ *E. coli* ได้จากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนโดยเฉพาะเนื้อบดดิบหรือปรุงไม่สุก ผลิตภัณฑ์นมที่ไม่ได้ผ่านการพาสเจอร์ไรส์หรือผลิตภัณฑ์เนื้อบางชนิด หรือจากการสัมผัสอุจจาระของสัตว์ที่เป็นพาหะ (วราภรณ์, 2560) และเชื้อยังสามารถติดต่อจากผู้ป่วยสู่ผู้อื่นได้โดยตรง และสัตว์สามารถรับเชื้อโดยการกินเชื้อในอุจจาระของสัตว์ที่ติดเชื้อ หรือจากการได้รับเชื้อที่ปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ หรือสิ่งของต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนอุจจาระที่มีเชื้อ ด้วยเหตุนี้ทำให้เชื้อ *E. coli* มีความสำคัญในการควบคุมคุณภาพของอาหาร และผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ โดยใช้เป็นตัวบ่งชี้ (Indicator) ของผลิตภัณฑ์นั้นถึงการปนเปื้อนของสิ่งปฏิกูล (สุทธิพร และคณะ, 2559)

8.1 ลักษณะรูปร่าง และสรีรวิทยา

E. coli เป็นรูปแท่งขนาดตั้งแต่ 1.1-1.5 x 2.0-6.0 ไมโครเมตร ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่โดยอาศัย flagella ที่มีรอบตัวในการเคลื่อนที่ไม่สร้างสปอร์ (Non-spore forming) สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobe) และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) ปกติสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาที่ใช้ในห้องปฏิบัติการอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 7-46 องศาเซลเซียส ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ที่ 4.4-10 มี capsule บาง ๆ หุ้มอยู่รอบตัวทำให้เชื้อทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดีอยู่ในน้ำได้นานหลายสัปดาห์ แต่ถูกทำลายเมื่อต้มที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที

8.2 อนุกรมวิธานของเชื้อ (Classification)

Escherichia coli เป็นสกุลที่ตั้งชื่อตามผู้เชี่ยวชาญทางโรคเด็กชาวเยอรมันคือ Theodor Escherichia จัดอยู่ใน Domain Bacteria, Kingdom Eubacteria, Phylum Proteobacteria, Class Gammaproteobacteria, Family Enterobacteriaceae, Genus Escherichia, Species *Escherichia coli* เชื้อในสกุลนี้มีหลาย serotype และหลาย biotype ดังนั้นในการจำแนกจึงต้องอาศัยลักษณะตาม คุณสมบัติของแอนติเจน

8.3 คุณสมบัติของแอนติเจน (อรอนงค์, 2541) แอนติเจนของ *E. coli* มีอยู่หลายชนิดซึ่งประกอบด้วย

- Somatic antigen (O-antigen) เป็นสารประกอบ lipopolysaccharide พบอยู่ในชั้นของผนังเซลล์มีคุณสมบัติทนความร้อนถึง 121 องศาเซลเซียส ทนกรดอ่อน และแอลกอฮอล์ ปัจจุบันมีอยู่ประมาณ 171 ชนิด
- Capsule antigen (K-antigen) เป็นสารประกอบ polysaccharide มักพบห่อหุ้มเซลล์เช่น capsule, envelope หรือ fimbriae ที่หุ้มตัวแบคทีเรียและคลุม O-antigen ทำให้เชื้อไม่สามารถเกาะกลุ่มกันในแอนติซีรัม O ยกเว้นแต่ทำลาย K-antigen เสียก่อนโดยการต้มที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 2.5 ชั่วโมง หรือที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ปัจจุบันพบอยู่ประมาณ 100 ชนิด
- Flagella antigen (H-antigen) เป็นส่วนของ flagella ประกอบด้วย protein ที่เรียกว่า flagellin ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ที่ไม่เคลื่อนไหวจะไม่พบ H-antigen ปัจจุบันพบแล้ว 56 ชนิด

Antigen O, K และ H มีคุณสมบัติทางกายภาพและภูมิคุ้มกันวิทยาที่แตกต่างกัน ดังนั้นในการจำแนกและการแยก serotype ของเชื้อก็จะขึ้นอยู่กับชนิดของแอนติเจนเหล่านี้ เช่น *E. coli* O157:H7, O6:K15:H16, O142:H6, O29:H7/30/32, O119:H5/H6 และ O128:H7/12/21 เป็นต้น

Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) virulence factor ได้แก่ Adhesion : Fimbriae และ Enterotoxin : LT, Sta และ STb ฤทธิ์ของ Toxin ทำให้สัตว์ท้องเสียโดยการเพิ่มการหลั่ง Cl^- และ HCO_3^- และยับยั้งการดูดซึมของ Na^+ (วราภรณ์, 2560) ทำให้สัตว์ติดเชื้อ และท้องเสีย

Attach and effacing *E. coli* (AEEC) แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย

- Atypical EPEC สร้าง virulence factor คือ intimin ซึ่งเป็น adhesin ทำให้เชื้อเกาะติดกับ enterocyte ทำลายเซลล์ และทำลาย microvilli เกิดรอยโรคที่เรียกว่า attaching and effacing ในทางเดินลำไส้ ส่วน enterotoxin ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็นชนิดใด อาการทางคลินิกมีตั้งแต่น้อยถึงรุนแรง เช่น ถ่ายเป็นเลือดในลูกโค สุกร และสุนัข ในบางโอกาสเชื้อนี้ยังมีผลกระทบต่อลูกแพะ ลูกแกะ

- Typical EPEC สร้าง virulence factor คือ intimin และ adherence factor ทำให้เชื้อเกาะติดกับ enterocyte ทำลายเซลล์ และทำลาย microvilli เกิดรอยโรคที่เรียกว่า attaching and effacing ในทางเดินของลำไส้ ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเป็นชนิดใด นอกจากนี้พบว่าเชื้อก่อโรคที่พบยากในทางเดินลำไส้ของสัตว์ แต่เกี่ยวข้องกับการท้องเสีย

2. Shiga toxin production *E. coli* (STEC) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ดังนี้

- Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) สร้าง virulence factor คือ intimin และ STx toxin ทำให้ microvilli เกิดรอยโรคที่เรียกว่า attaching and effacing ทอกซินทำลาย endothelial cells ดังนั้นจึงทำให้เกิด Haemorrhagic diarrhea พบในลูกโคมากกว่าในโคที่เจริญเต็มที่ เนื่องจาก Endothelial cell ของโคที่เจริญเติบโตเต็มที่ไม่มี Gd3 receptor บนผิวเซลล์ และเชื้อทนต่อความเป็นกรดในกระเพาะอาหารของโค เมื่อเข้าสู่ร่างกายโคจึงสามารถอาศัย และเพิ่มจำนวนในบริเวณ Recto-anal junction ได้ โดยที่โคไม่แสดงอาการทางคลินิก และเป็นแหล่งรังโรคปล่อยเชื้อออกสู่สิ่งแวดล้อมในแหล่งน้ำ แหล่งอาหาร และอุจจาระ

- *E. coli* producing edema disease สร้าง virulence factor ที่สำคัญ คือ F18, alpha hemolysin และ STx2e toxin ทอกซินนี้ทำลาย Endothelium ในเนื้อเยื่อเป้าหมาย ผลลัพธ์ที่เกิดตามมา คือ บวมน้ำเฉพาะที่

Enteroaggregative *E. coli* (EAggEC) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ดังนี้

- Atypical EAggEC ทั้ง adhesin และ enterotoxin ยังไม่สามารถแยกได้ว่าเป็นชนิดไหน จากการเก็บตัวอย่างลำไส้ที่มีรอยโรคไปศึกษา โดยการตัดให้บาง และย้อมสี H&E พบว่า epithelial cells มีการเรียงตัวซ้อนกันคล้ายกับกองอิฐ (Stacked brick formation of epithelial cells) ในบ่อยครั้งพบว่าตัวสัตว์ที่ติดเชื้อนั้นไม่แสดงอาการทางคลินิกในบางโอกาสสัมพันธ์กับการท้องเสียในคน

- Typical EAggEC สาเหตุการท้องเสียในคนเชื้อ สายพันธุ์นี้สร้าง virulence factor คือ Aggregative adherence (AA) fimbriae และรอยโรคที่เกิดขึ้น คือ Stacked brick formation of epithelial cells

ความสำคัญของการดื้อยาปฏิชีวนะ

การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียเกิดจากการที่เชื้อ แบคทีเรียมีการปรับตัวต่อยาโดยวิธีการต่าง ๆ เพื่อที่จะขจัด หรือลดประสิทธิภาพของตัวยาปฏิชีวนะ โดยการดื้อยาอาจเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติของเชื้อนั้น ๆ หรืออาจเกิดภายใต้ความกดดันของยาปฏิชีวนะ

- เชื้อแบคทีเรียได้รับ Resistant gene มาจาก Antibiotic producing organisms เช่น *Streptomyces* spp. ที่ใช้ผลิตยา Penicillin

- Resistant gene เกิดจาก mutation ของ Housekeeping gene ของ Clinical bacteria เองโดย Resistant gene จะสามารถกระจายต่อไปได้อย่างรวดเร็วด้วยกลไก นับตั้งแต่การค้นพบยาปฏิชีวนะขนานแรกคือ Penicillin อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยจากการติดเชื้อมากขึ้น แต่การดื้อยาปฏิชีวนะก็เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เร็วยิ่งกว่าอัตราที่สามารถพัฒนายาใหม่ ๆ ขึ้นมาได้ทัน และแพร่กระจายไปทุกส่วนของโลก ความสำคัญของการดื้อยาปฏิชีวนะในเวชปฏิบัตินั้นมากพอกับความสำคัญของประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะ ปัจจุบันพบ Multidrug resistance มากมาย รวมถึง Pan resistant ในแบคทีเรียบางตัวทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่รักษาไม่ได้ ซึ่งจะเพิ่มทั้งอัตราการเจ็บป่วย อัตราการตาย สิ้นเปลืองทั้งยา และบุคลากรทางการแพทย์ หากไม่สามารถที่จะคุม หรือชะลอการดื้อยาได้

กลไกการดื้อยา (วีรวรรณ, 2549)

1. Intrinsic resistance ยาปฏิชีวนะบางชนิดไม่สามารถใช้ได้ในเชื้อบางกลุ่มตามธรรมชาติของการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ เช่น Vancomycin ใน Gram Negative bacilli หรือ Aminoglycoside ใน Anaerobic bacteria

2. Acquired resistance เป็นกลไกที่ตัวแบคทีเรียนั้นพัฒนาตัวเองขึ้นมาเพื่อที่จะขจัด หรือลดประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะโดยทั่วไป แบ่งได้เป็น 4 กลไกใหญ่ซึ่งในเชื้อแต่ละชนิดอาจจะใช้หลายๆ กลไกร่วมกันในการดื้อยา antibiotic แต่ละแบบ

- Drug inactivation / modification เป็นกลไก ที่พบมากที่สุด เกิดจากแบคทีเรียสร้าง Enzyme มาทำลาย หรือเปลี่ยนแปลงยาปฏิชีวนะ ตัวอย่างที่เราพบได้บ่อยได้แก่ Penicillinases, Beta-lactamases, Cephalosporinases

- Alteration of target site โดยวิธีการนี้ยาจะสามารถเข้าไปในผนังเซลล์ไปถึง target site ได้แต่ไม่สามารถจับกับ target site ได้เพราะมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง molecule จึงทำให้ยาออกฤทธิ์ต่อไม่ได้ เช่นใน *S. pneumoniae* PBP (Penicillin binding protein) จะเปลี่ยนโครงสร้างเป็น PBPX ทำให้เกิดการดื้อยาตามมา

- Bypass pathways เชื้อที่ดื้อยาสร้าง alternative target ขึ้นมาใหม่แล้วยาปฏิชีวนะจะมาจับกับ target ใหม่แทน

- Decreased uptake แบคทีเรียมีกลไกป้องกันไม่ให้ยาเข้าไปในเซลล์ หรือมีการใช้ Energy requiring membrane efflux pump นำยาออกไปตัวอย่าง เช่น ยา Imipenem จำเป็นจะต้องอาศัย porin เฉพาะในการที่ยาจะเข้าเซลล์ได้ เมื่อ *P. aeruginosa* พัฒนาให้ไม่มี porin ชนิดนี้ก็จะสามารถดื้อต่อ Imipenem ได้หรือใน *Salmonella typhi* มีการเพิ่ม expression ของยีนที่สร้าง Multidrug efflux pump จึงทำให้เกิดการดื้อยา หลายชนิดตามมา

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

รายงานการวิจัยของ Abb-Schwedler, *et al*., (2014) ได้ทำการศึกษาผลของการให้นมเต้านมอักเสบกับลูกโคในฟาร์มโคนมอินทรีย์ ว่ามีผลกระทบต่อสุขภาพอย่างไร โดยใช้กลุ่มตัวอย่างลูกโคจำนวน 34 ตัว ได้รับนมที่แม่โคเป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ โดยจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มแรกได้รับนมที่ไม่ได้รับการรักษา โดยในกลุ่มที่สองได้รับนมที่ได้รับการรักษาที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่าในลูกโคช่วงระยะดูดนมในกลุ่มได้รับน้ำนมที่ไม่ได้รับการรักษามีอัตราการเกิดท้องเสียอย่างมีนัยสำคัญที่สูงเท่ากับ 1.09% เป็นเวลาทั้งหมด 100 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มได้รับนมที่ได้รับการรักษาที่ผ่านความร้อนเท่ากับ 0.26% ในน้ำนมที่ไม่ได้ผ่านการรักษามีจำนวนแบคทีเรียจำนวนมาก และมีความสัมพันธ์ต่อการเพิ่มอัตราการท้องเสียมากยิ่งขึ้น

Maynou, *et al*., (2017) ศึกษาการให้นม Waste milk ในลูกโคพันธุ์โฮลส์ไตน์ฟรีเชี่ยน มีผลกระทบต่อการดื้อยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ *E. coli* และ *Pasteurella multocida* ที่เพาะแยกเชื้อจากการเก็บตัวอย่างจากอุจจาระ และตัวอย่างที่จมูกจำนวน 20±5 ตัวอย่าง เป็นเวลา 42±3.2 วัน ทำการเพาะแยกเชื้อ และทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะพบตัวยาที่ดื้อคือ Enrofloxacin, Florfenicol, และStreptomycin ลักษณะของ Phenotype เชื้อ *E. coli* เมื่อเพาะเชื้อจากอุจจาระพบว่ามีการดื้อในลูกโคที่กิน Waste milk มากกว่านมที่ไม่ได้ส่งขาย อย่างไรก็ตามพบว่าความชุกของการดื้อยาปฏิชีวนะในอุจจาระ ในช่วงแรกเกิดถึงอายุ 6 สัปดาห์ดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด Enrofloxacin และ Doxycycline และการดื้อยาปฏิชีวนะจะลดลงในช่วงอายุ 6 สัปดาห์หลังถึง 1 ปี ตัวอย่างจากจมูกเชื้อ *Pasteurella multocida* พบมากขึ้นในลูกโคที่กิน Waste milk มากกว่านมที่ไม่ได้ส่งขาย และการศึกษานี้ยังพบว่าลูกโคที่กิน Waste milk มีการดื้อต่อแบคทีเรียในลำไส้เล็กส่วนล่าง และระบบทางเดินหายใจอีกด้วย

Heinrich, *et al*., (2012) ได้ทำการสำรวจยาปฏิชีวนะใน Waste milk ที่ให้ลูกโคกิน ถึงแม้ว่าจะมียาปฏิชีวนะจำนวนมากที่ได้รับอนุญาตในการรักษาโคนมแล้วจากการสอบถามข้อมูลในฟาร์ม 1.การใช้ปฏิชีวนะตัวไหนมากที่สุด 2. การปฏิบัติเกี่ยวกับการให้ Waste milk ที่มียาปฏิชีวนะแก่ลูกโค 3.ปริมาณยาปฏิชีวนะใน Waste milk ที่ให้ลูกโค ข้อมูลทั้งหมดจากฟาร์มทั้งหมด 557 ฟาร์มในประเทศอังกฤษ และยาปฏิชีวนะที่ตกค้างใน Waste milk ทั้งหมด 103 ตัวอย่างเป็นยากลุ่ม Beta-lactams, Aminoglycosides งานวิจัยของ Brunton, *et al*., (2016) สำรวจการใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์ม ที่ให้นม Waste milk ในลูกโค ในประเทศอังกฤษ และประเทศเวลส์ สำรวจทั้งหมด 557 ฟาร์ม จำนวนโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบต่อฝูงเฉลี่ยในปีที่ผ่านมามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 47% และ 93% จากแบบสอบถามมีการรักษาโดยใช้ตัวยาปฏิชีวนะแบบสอดเต้านม ในช่วงระยะให้นมใช้ยา Dihydrostreptomycin, Neomycin, Novobiocin และProcaine penicillin 37% และ Cefquinome 29% ในช่วงระยะพักนมมีการใช้ยาปฏิชีวนะประมาณ 97% เป็นยาปฏิชีวนะชนิด Cefalonium 43% การฉีดยาปฏิชีวนะที่ใช้บ่อยเป็นประจำประกอบด้วย Tylosin 27%, Dihydrostreptomycin และProcaine penicillin 20% และ Ceftiofur 13% จากการสอบถามเกษตรกรจำนวน 413 ฟาร์มคิดเป็น 84% ให้นม Waste milk แก่ลูกโค เป็นนมจากแม่ที่เป็นโรคเต้านมอักเสบคิดเป็น 87% และในช่วง 1 ใน 3 เป็นนมที่อยู่ในช่วงรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ จากการสำรวจทั้งหมดทุกฟาร์มมีการให้นม Waste milk มากกว่า 90% กับลูกโค

Verdier, *et al*., (2012) ได้ทำการศึกษาการดื้อยาปฏิชีวนะ และปัจจัยความรุนแรงในเชื้อ *E. coli* จากลูกโคนมในประเทศสวีเดน ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *E. coli* จำนวน 95 ตัวอย่างที่ทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ 61% มีการดื้อยาอย่างน้อย 1 ตัว และ28% ดื้อยาปฏิชีวนะหลายตัว ไม่พบยีนที่มีความรุนแรงในการแยกเชื้อโดยรวมแล้ว 21 ใน 40 ยีนที่มีการตรวจสอบความรุนแรงไม่ได้รับการตรวจพบ หรือพบได้น้อยยีนที่มีความรุนแรงฤทธิ์ ได้แก่ espP, irp และ fyuA มีการดื้อต่อเชื้อ *E. coli* มากกว่าในสายพันธุ์ที่มีความไวต่อการทดสอบ ความรุนแรงของยีน terZ สัมพันธ์กับท้องเสียลูกวัว โคที่เข้าร่วมโครงการจำนวน 85 ตัวมีขนาดฝูงเฉลี่ย 80 ตัวที่อยู่ในช่วงให้น้ำนม ลูกโคที่มีปัญหาท้องเสียมีจำนวนมาก (> 55 ตัว ; $P < 0.001$) และมีอัตราการตายสูง ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างการท้องเสียลูกโค และความหลากหลายของเชื้อ *E. coli* ในลำไส้

Randall, *et al*., (2014) ได้ตรวจหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะ และหาความสัมพันธ์ของ Cefquinome ด้วย Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) โดยใช้แบคทีเรียใน Waste milk จากฟาร์มทั้งหมด 103 ฟาร์มในประเทศอังกฤษ และประเทศเวลส์ในปี 2011 ประมาณ 10 เดือนหลังจากการสุ่มตัวอย่างครั้งแรก โดยในตัวอย่างจากอุจจาระเชื้อจากฟาร์มพบว่าเป็นผลบวกต่อเชื้อ CTX-M *E. coli* ทำการวินิจฉัยแยกเชื้อ ด้วยวิธี ESBL เพื่อดูลักษณะของ Phenotype ทดสอบด้วย PCR เพื่อแสดงยีน bla_{CTX-M}, bla_{OXA}, bla_{SHV} และbla_{TEM} และแยกเชื้อออกมาผลเป็นบวก

สำหรับ bla_{CTX-M} ตามลำดับเพื่อหาชนิด CTX-M และได้รับการตรวจเพิ่ม สิ่งที่น่าสนใจพบว่า 21.4% ในตัวอย่างนม Waste milk ที่มีการตกค้างของยา Cephalosporin, Cefquinome ซึ่งมีความสัมพันธ์กับแบคทีเรีย CTX-M แบคทีเรียดังกล่าวเกิดขึ้น 5.8% ของตัวอย่างนม Waste milk (ประกอบด้วย 3.9% CTX-M *E. coli*) พบว่ายีนชนิด CTX-M คือ 1, 14, 14b และ 15 แต่ไม่มี *E. coli* ใน serotype O25 ซึ่งเป็น serotype ของสายพันธุ์มนุษย์

Wray, *et al*., (1990) ได้ศึกษายาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนใน Waste milk ให้ลูกโคกินมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของลูกโค และทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะของ Gut flora ได้ทำการทดลองแบบออกเป็น 2 กลุ่มการทดลองในกลุ่มที่ 1 ให้ Waste milk ที่ทำการหมัก และWaste milk ไม่หมัก ในกลุ่มที่ 2 ให้ Waste milk ที่ไม่ได้หมัก นมที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะไม่มีความน่ากิน และถูกการปฏิเสธมีสูง อัตราการเจริญเติบโตของลูกโคอยู่ในเกณฑ์ไม่ดี และในการทดลองกลุ่มที่ 2 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับลูกโคที่ได้รับนมทดแทน เชื้อ *E. coli* จากอุจจาระนำมาทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะ ในกลุ่มที่ 1 ค่าเฉลี่ยในการดื้อสูงอย่างมีนัยสำคัญในตัวยา Streptomycin ในกลุ่มที่ได้รับนมที่มีการปนเปื้อนยาปฏิชีวนะแต่ไม่มีความแตกต่างในตัวยา Ampicillin ในกลุ่มทดลองที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของการดื้อของเชื้อ *E. coli* และ *Enterococci* ไม่พบความแตกต่างระหว่างการแยกจากนมที่ปนเปื้อนยาปฏิชีวนะ และกลุ่มควบคุม

Khachatryan, *et al*., (2004) ได้ทำการศึกษาบทบาทในการเปลี่ยนแปลงเชื้อ *E. coli* ในการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะในลูกโค จากการศึกษาพบว่าการดื้อยาปฏิชีวนะ Tetracycline 4 mg/kg พบมากในลูกโคอายุ <3 เดือน 79% เมื่อเทียบกับโคที่อยู่ในช่วงระยะให้นม ในการทดลองกลุ่มลูกโคที่สมบูรณ์กับกลุ่มที่ได้รับยา Oxytetracycline มีความชุกที่จะดื้อยา Tetracycline ต่อเชื้อ *E. coli* สูงกว่ากลุ่มหลัง (P=0.039) เป็นข้อบ่งชี้ว่าไม่เหมาะสมที่จะใช้ยาตัวนี้ในการรักษา ตัวเชื้อ *E. coli* มีการดื้อมากที่สุดประกอบด้วย Streptomycin (>12 µg/ml), Sulfadiazine (>512 µg/ml) และTetracycline (>4 µg/ml) การดื้อยาจะพบมากสุดในช่วงระยะกินนม

อุปกรณ์และวิธีการ

การออกแบบสำรวจสอบถาม

- ออกแบบสอบถามเพื่อเก็บข้อมูลในฟาร์ม ประกอบด้วยรายละเอียดดังนี้
- แบบสอบถามการใช้ยาปฏิชีวนะภายในฟาร์ม
- จำนวนโคภายในฟาร์ม
- ความถี่ในการฉีดยาในฟาร์มเฉลี่ย (ครั้ง/เดือน)
- ชนิดของยาที่ใช้ในฟาร์ม
- ชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในฟาร์มมากที่สุด
- ชนิดยาที่รักษาโรคเต้านมอักเสบในแม่โคที่ใช้ภายในฟาร์ม
- แหล่งที่มาของยาชนิดต่าง ๆ
- บุคคลที่ให้คำแนะนำในการใช้ยาปฏิชีวนะ
- เกษตรกรทราบถึงความรู้ในการใช้ยาปฏิชีวนะ
- เกษตรกรทราบถึงผลข้างเคียงในการใช้ยาปฏิชีวนะ
- เกษตรกรทราบถึงตำแหน่งการฉีดยาในแต่ละชนิด
- บุคคลใดเป็นคนสอนถึงวิธีการฉีดยา
- ถ้าเกิดโรคเต้านมอักเสบ (Mastitis) เกษตรจะเลือกใช้ยาชนิดใด

- เกษตรกรทราบถึงข้อดี และข้อเสียของการให้น้ำนม Waste milk ในลูกโครุ่นกินนมหรือไม่
- เกษตรกรจะเลือกให้ลูกโคกินนมอะไรระหว่างน้ำนมแม่กับนมผง เพราะเหตุใดจึงเลือก
- เกษตรเคยนำน้ำนมไปตรวจเพราะแยกเชื้อหรือไม่
- แบบสอบถามลูกโคที่กินนม Waste milk
- ชื่อลูกโค, วันที่คลอด, เพศ, สายพันธุ์
- วันที่เริ่มกิน Waste milk, วันสุดท้ายที่หยุดกิน Waste milk
- ปริมาณ และสัดส่วนการกินนม Waste milk ในแต่ละมื้อต่อวันใน 1สัปดาห์
- การเกิดการท้องเสียและสถานะทางสุขภาพอื่น ๆ ในแต่ละวัน

การเก็บตัวอย่างอุจจาระ

การเก็บตัวอย่างอุจจาระจากลำไส้ลูกโคเพื่อนำมาทดสอบเชื้อแบคทีเรียนั้นควรเก็บตัวอย่างด้วยความสะอาด ป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียภายนอกให้มากที่สุด หลังจากล้างมือสะอาดแล้วทำการสวมถุงมือปราศจากเชื้อ (Sterile gloves) ทำการ swab ด้วยสำลีพันปลายไม้ที่ผ่านการฆ่าเชื้อไปที่ตำแหน่งทวารหนัก และนำไปจุ่มใส่ใน Transport medium จากนั้นทำการหักบริเวณปลายสำลีพันปลายไม้ปิดฝาให้เรียบร้อย และเก็บใส่ถุงที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ (Plastic zip bag) ป้องกันการรั่วซึม จากนั้นบรรจุลงในกล่องโฟม (Foam box) ที่บรรจุน้ำแข็งเพื่อให้มีอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส และส่งตัวอย่างไปทำการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานครโดย และนำตัวอย่างมาทดสอบความไวต่อปฏิชีวนะที่ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น และส่งตัวอย่างไปยัง ศูนย์ห้องปฏิบัติการทางสัตวแพทย์ บริษัท เวท เซ็นทรัลแลบ เพื่อยืนยันผลการทดสอบโดยส่งตัวอย่างภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวอย่างมีคุณภาพที่ดี

การเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียจากอุจจาระ

นำตัวอย่างจาก Transport medium มาเขี่ย (Steak) ลงบนจานเพาะเชื้อ (Petri dish) ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MacConkey agar จากนั้นนำไปเข้าในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นลักษณะโคโลนีที่อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีลักษณะโคโลนีกลม ขอบเรียบสีชมพู จากนั้นเลือก pure colony ของเชื้อ *E. coli* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MCA 1-2 โคโลนี เพื่อนำมาทำ sub culture เป็นการยืนยันลักษณะของเชื้อ หลังจากนั้นนำไปทดสอบทางชีวเคมี

การทดสอบทางชีวเคมี

ทำการย้อม Gram's stain เพื่อดูลักษณะ Morphology ของเชื้อ *E. coli* พบว่ามีรูปร่างเป็นท่อน ย้อมติดสีแดง จากนั้นทำการทดสอบ Catalase test โดยทำการใช้ loop แตะโคโลนีที่ต้องการลงบนกระจกสไลด์ ทำการหยดสารละลาย H_2O_2 ลงบนกระจกสไลด์สังเกตการเกิดฟองขนาดเล็ก การอ่านผล เมื่อเกิดฟองก๊าซให้เป็นผลบวก ไม่เกิดก๊าซให้เป็นผลลบ ทำการสอบ Oxidase test โดยทำการป้ายเชื้อลงบนกระดาษที่ชุบน้ำยาที่มี Dimethyl-4-phenylenediamine สังเกตการเปลี่ยนสี ผลบวก มีสีน้ำเงิน ผลลบ ไม่เกิดสี การทดสอบ Indole โดยทำการแตะโคโลนีแล้วนำมา stab ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MI medium จากนั้นนำไปเข้าในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยดน้ำยา Kovac ลงไปแล้วอ่านผล การแปลผล ผลบวก เกิดสีแดงในชั้นของน้ำยา Kovac ที่หยดลงไป ผลลบ ไม่เกิดสีแดงในชั้นของน้ำยา Kovac ที่หยดลงไป การทดสอบ Methyle red test โดยทำการแตะโคโลนีแล้วนำมา stab ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อนำไปเข้าในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นหยด Methyle red ลงไปแล้วอ่านผล ผลบวก มีสีแดงบนอาหารเลี้ยง

เชื้อ ผลลบ มีสีเหลืองของน้ำยาที่หยดลงไป การทดสอบ Voges Proskauer test โดยทำการแตะโคโลนีแล้วนำมา stab ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อนำไปเข้าในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นหยด VP-A และ VP-B ในอัตราส่วน 3:1 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เขย่าหลอด 1 นาที ทิ้งไว้ 20 นาทีแล้วอ่านผล ผลบวก มีสีแดงเกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลลบ มีสีเหลืองซึ่งเป็นสีของน้ำยาที่ใช้ในการทดสอบ การทดสอบ Glucose Oxidation-Fermentation test ทำการแตะเชื้อแทงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ OF-glucose media จำนวน 2 หลอด ปิดผิวหน้าอาหารของหลอดหนึ่งด้วย liquid paraffin หลอดนั้นจะอยู่ในสภาพ anaerobic แบคทีเรียต้องใช้น้ำตาลด้วยขบวนการหมักเท่านั้น ส่วนอีกหลอดหนึ่งที่มี liquid paraffin ปิดจะอยู่ในสภาพ aerobic เก็บบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง การแปลผล Fermentation มีสีเหลืองทั้งสองหลอด Oxidation มีสีเหลืองเฉพาะหลอดที่ไม่มี liquid paraffin Non-oxidizer หรือ Nonsaccharolytic หรือ Non-reaction ทั้งสองหลอดยังคงสีเหมือนเดิม หรือสีน้ำเงิน เมื่อทำการทดสอบทางชีวเคมีทั้งหมดแล้ว หลังจากนั้นนำโคโลนีของเชื้อ *E. coli* ไปทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะในขั้นตอนถัดไป

การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ

เลือกโคโลนีที่แน่ชัดว่าเป็นลักษณะของเชื้อ *E. coli* ซึ่งเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MacConkey agar จำนวน 3-5 โคโลนี โดยใช้สำลีพันปลายไม้ (Cotton swab) แตะเฉพาะส่วนบนของโคโลนี และนำมาใส่ในหลอดทดลอง (Test tube) ที่มีน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ (Sterile Normal saline) ปริมาณ 4-5 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปรับเทียบความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นมาตรฐาน 0.5 McFarland standard (1.5×10^{8}) ถ้าความขุ่นน้อยกว่าความขุ่นระดับมาตรฐาน ให้แตะเชื้อใส่หลอดเพิ่ม ให้ได้ความขุ่นเท่ากับความขุ่นมาตรฐาน ถ้าความขุ่นมากกว่าค่ามาตรฐานให้เจือจางด้วยน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ และถ้าความขุ่นของเชื้อน้อยกว่าความขุ่นระดับมาตรฐานจะทำให้เกิดบริเวณที่ยับยั้งเชื้อที่เกิดขึ้น (Zone of inhibition) กว้างกว่าความเป็นจริง และถ้าหากความขุ่นของเชื้อมากกว่าความขุ่นระดับมาตรฐานจะทำให้เกิดบริเวณที่ยับยั้งเชื้อที่เกิดขึ้น แคบกว่าความเป็นจริง จากนั้นใช้สำลีพันปลายไม้ที่ปราศจากเชื้อจุ่มเชื้อในหลอดทดลองที่มีเชื้อ และผ่านการเทียบความขุ่นแล้วทำการกดปลายสำลีกับด้านในหลอดให้พอหมาด ๆ จากนั้นนำเชื้อมาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) ที่มีความหนา 4 มิลลิเมตร (เท agar 25 มิลลิลิตร) ลากผ่านเส้นผ่าศูนย์กลางในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) แล้วป้ายตั้งฉากให้ทั่ว จากนั้นหมุนจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 60 องศาแล้วป้ายเช่นเดียวกัน ทำแบบนี้ประมาณ 3 ครั้งเพื่อให้เชื้อแบคทีเรียกระจายทั่วผิวหน้า agar ตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที ให้ผิวหน้าแห้ง และวางแผ่นยาปฏิชีวนะ (Antimicrobial Disks) โดยใช้ปากคีบ (Forceps) ที่ปราศจากเชื้อ คีบแผ่นยาปฏิชีวนะวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วกดเบา ๆ เพื่อแนบสนิทกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอนการวางแผ่นยาปฏิชีวนะแต่ละแผ่นควรที่จะวางห่างจากขอบจานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 15 มิลลิเมตร และแต่ละแผ่นวางให้ห่างกัน 15-20 มิลลิเมตร จากนั้นคว่ำจานเพาะเลี้ยงเชื้อ และนำไปเข้าเครื่องบ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นอ่านผลหลังจากที่บ่มไว้ 18-24 ชั่วโมง โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อที่เกิดขึ้น Zone of inhibition เป็นมิลลิเมตร

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

บันทึกข้อมูลงานวิจัยลงในโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (Microsoft excel 2016) ทำการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล เรียบเรียงข้อมูลให้ง่ายต่อการวิเคราะห์ข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา และการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของตัวแปรโดยใช้วิธี Chi square test

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการศึกษาเชิงพรรณนา

จากศึกษาผลของ Waste milk ต่อการดื้อยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ *E. coli* ในลูกโครระยะกินนมในอำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี โดยกลุ่มตัวอย่างเป็นลูกโครระยะกินนมจำนวน 33 ตัวจากฟาร์มโคนมจำนวน 45 ฟาร์มแบ่งเป็นเพศผู้จำนวนร้อยละ 12.12 (4/33) เพศเมียร้อยละ 87.87 (29/33) ระยะเวลาตั้งแต่ลูกโคเริ่มกินนมจนถึงระยะหย่านมเฉลี่ยร้อยละ 82.85 วัน (±20.99 วัน) ระยะเวลาในการกินนมของลูกโคสูงสุด 130 วัน และต่ำสุด 47 วัน ปริมาณการกินนมของลูกโคเฉลี่ย 373.70 กิโลกรัม (±113.75 กิโลกรัม) ปริมาณการกินนมของลูกโคสูงสุด 620 กิโลกรัม และต่ำสุด 207 กิโลกรัม ผลของปริมาณการกินนม Waste milk ของลูกโคเฉลี่ย 228.15 กิโลกรัม (±79.51 กิโลกรัม) ปริมาณการกินนม Waste milk ของลูกโคสูงสุด 339 กิโลกรัม และต่ำสุด 100 กิโลกรัม ผลการทดสอบหาเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างอุจจาระลูกโคพบว่าทุกตัวอย่างตรวจพบเชื้อ *E. coli* เมื่อแบ่งลูกโคออกเป็น 2 กลุ่มตามสัดส่วนของการกินนม Waste milk พบว่าจะมีกลุ่มของลูกโคที่กินนมปริมาณมากตามนิยามจำนวนร้อยละ 57.57 (19/33) สัดส่วนการกินนม Waste milk มากเฉลี่ยร้อยละ 260.78 (19/33) และพบว่าจะมีกลุ่มของลูกโคกินนมปริมาณน้อยตามนิยามร้อยละ 42.42 (14/33) สัดส่วนการกินนม Waste milk น้อยเฉลี่ยร้อยละ 181.71 (14/33) ตามลำดับ

ผลการเพาะแยกเชื้อและทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ จากตัวอย่างอุจจาระลูกโคจำนวน 33 ตัว พบว่ามีสัดส่วนลูกโคดื้อต่อยา Amoxycillin มากที่สุดร้อยละ 93.9 (31/33) ยา Oxytetracycline ร้อยละ 81.8 (27/33), ยา Tetracycline ร้อยละ 66.6 (22/33), ยา Sulfamethoxazole-trimethoprim ร้อยละ 45.5 (15/33), ยา Gentamicin ร้อยละ 45.5 (15/33), ยา Amoxycillin/Clavulanic ร้อยละ 34.7 (8/23), ยา Enrofloxacin ร้อยละ 12.1 (4/33), ยา Chloramphenicol ร้อยละ 13 (3/23) และสัดส่วนของลูกโคที่ดื้อต่อยา Norfloxacin มีค่าน้อยที่สุดคือ ร้อยละ 9.1 (3/33) และผลการทดสอบเชื้อ *E. coli* ที่ไม่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะจะให้ผลดังนี้คือสัดส่วนของลูกโคที่ไม่ดื้อต่อยา Amoxycillin ร้อยละ 6 (2/33), ยา Tetracycline ร้อยละ 33.3 (11/33), ยา Norfloxacin ร้อยละ 90.9 (30/33), ยา Oxytetracycline ร้อยละ 18.2 (6/33), ยา Enrofloxacin ร้อยละ 87.8 (29/33), ยา Sulfamethoxazole-trimethoprim ร้อยละ 54.5 (18/33), ยา Gentamicin ร้อยละ 54.5 (18/33), ยา Amoxycillin/Clavulanic ร้อยละ 65.2 (15/23) และสัดส่วนของลูกโคที่ไม่ดื้อต่อยา Chloramphenicol มีค่ามากที่สุดคือร้อยละ 86.9 (20/23) ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 5.1 จากผลการทดลองผลของจำนวนลูกโคที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะมากกว่าเท่ากับ 1 ชนิดร้อยละ 36.4 (12/33) ดื้อยาปฏิชีวนะมากกว่า 2 ชนิดร้อยละ 6.1 (2/33) ดื้อยาปฏิชีวนะมากกว่า 3 ชนิดร้อยละ 24.2 (8/33) ดื้อยาปฏิชีวนะมากกว่า 4 ชนิดร้อยละ 9.1 (3/33) ดื้อยาปฏิชีวนะมากกว่า 4 ชนิดร้อยละ 24.2 ตามลำดับ

ผลการศึกษาระบาดวิทยาเชิงวิเคราะห์

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการกินนม Waste milk ต่อการดื้อยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ *E. coli* ในลูกโคพบว่า การกินนม Waste milk มากมีความสัมพันธ์ต่อการดื้อยาชนิด Sulfamethoxazole-Trimethoprim อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P= 0.004) โดยลูกโคที่ดื้อยาปฏิชีวนะ Sulfamethoxazole-Trimethoprim มีโอกาสที่จะกินนม Waste milk มากเป็น 13 เท่าของลูกโคที่กินนม Waste milk น้อย (OR=13,95% CI=2.18-77.266) ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างการดื้อยาปฏิชีวนะชนิดอื่นกับปริมาณการกินนม Waste milk พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป

จากการลงพื้นที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี เพื่อสอบถามข้อมูลการใช้ยาปฏิชีวนะของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมเบื้องต้น (Pilot study) โดยใช้แบบสอบถามจำนวน 45 ฟาร์มพบว่าทุกฟาร์มใช้ยาปฏิชีวนะ โดยพบว่ายาปฏิชีวนะชนิดที่ใช้มากที่สุดได้แก่ ยา Gentamicin ร้อยละ 86 (39/45) รองลงมาเป็นยา Amoxycillin และ Sulfamethoxazole-Trimethoprim ร้อยละ 66.6 (30/45) พบยาปฏิชีวนะชนิดที่ใช้น้อยสุดได้แก่ Amoxycillin/ Clavulanic ร้อยละ 11.1 (5/45) จากการศึกษาของ Heinrich, *et al*., (2012) ได้ทำการสำรวจการใช้ยาปฏิชีวนะภายในฟาร์มโคนมที่เลี้ยงลูกโคนมด้วย Waste milk ในประเทศอังกฤษและเวลส์ พบว่ามีการใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactams ประกอบด้วย Amoxicillin, Cloxacillin, Penicillin G, Cefalexin และกลุ่ม Aminoglycosides ประกอบด้วย Dihydrostreptomycin, Streptomycin, Neomycin และจากการศึกษาของ Brunton, *et al*., (2016) ได้ทำการสำรวจการใช้ยาปฏิชีวนะภายในฟาร์มโคนมในประเทศอังกฤษและเวลส์ พบว่ามีการใช้ยาปฏิชีวนะชนิด Dihydrostreptomycin, Neomycin, Novobiocin และ Penicillin ร้อยละ 37 และ Cefquinome ร้อยละ 29 ในช่วงแม่โครระยะให้นม และในช่วงระยะพักรีดนมมีการใช้ยาปฏิชีวนะชนิด Cefalonium dihydrate ร้อยละ 43 Dihydrostreptomycin และ Penicillin ร้อยละ 20 นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้ปฏิชีวนะชนิด Ceftiofur ร้อยละ 13

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการใช้ยาปฏิชีวนะภายในฟาร์มต่อการดื้อยาปฏิชีวนะพบว่าฟาร์มโคนมที่ตำบลดอนชะเอม และตำบลท่ามะกา ที่ทำการเก็บตัวอย่างนั้นในฟาร์มที่ 1, 2, 3, 4, 5 มีการใช้ยาปฏิชีวนะชนิด Amoxicillin, Sulfamethoxazole-Trimethoprim ซึ่งสอดคล้องกับผลการดื้อยาปฏิชีวนะพบว่ามีการดื้อต่อยาทั้ง 2 ชนิด จากฟาร์มที่ 5, 9, 10 ใช้ยาปฏิชีวนะชนิด Amoxicillin, Oxytetracycline ซึ่งสอดคล้องกับผลการดื้อยาปฏิชีวนะพบว่ามีการดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิด จากฟาร์มที่ 11, 15, 19, 20, 21 ใช้ยาปฏิชีวนะชนิด Amoxicillin, Sulfamethoxazole-Trimethoprim, Oxytetracycline, Tetracycline, Chloramphenicol ซึ่งสอดคล้องกับผลการดื้อยาปฏิชีวนะพบว่ามีการดื้อต่อยาทั้ง 5 ชนิด จากฟาร์มที่ 23, 27, 30, 32 ใช้ยาปฏิชีวนะชนิด Enrofloxacin, Amoxicillin, Tetracycline, Gentamicin, Chloramphenicol, Oxytetracycline, Norfloxacin ซึ่งสอดคล้องกับผลการดื้อยาปฏิชีวนะพบว่ามีการดื้อต่อยาทั้ง 7 ชนิด จากฟาร์มที่ 3, 36, 40, 41, 42, 45 ใช้ยาปฏิชีวนะชนิด Sulfamethoxazole-Trimethoprim, Amoxicillin, Tetracycline, Oxytetracycline, Gentamicin, Amoxycillin/ Clavulanic และยังสอดคล้องกับผลการดื้อยาปฏิชีวนะพบว่ามีการดื้อต่อยาทั้ง 6 ชนิด

จากผลการศึกษาพบว่า การดื้อยาปฏิชีวนะชนิด Sulfamethoxazole-Trimethoprim มีความสัมพันธ์กับการกินนม waste milk มาก สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Aust, *et al*., (2012) ทำการศึกษาการให้นม 3 ชนิดคือ นมที่ไม่การปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ นม Waste milk ที่พาสเจอร์ไรส์ และนมที่ไม่ได้ส่งขาย ให้กับลูกโคมีผลกระทบต่อการดื้อยาปฏิชีวนะชนิด Sulfamethoxazole-Trimethoprim ร้อยละ 20 Nalidixic acid ร้อยละ 18 Cefotaxime ร้อยละ 12 ตามลำดับ และสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Maynou, *et al*., (2017) พบว่ามีการดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่ม Sulfonamide, Tetracycline และ Aminoglycoside ของเชื้อ *E. coli* ในลูกโค จากการศึกษาของ Wray, *et al*., (1990) พบว่าลูกโคที่กินนม Waste milk มีการดื้อยาปฏิชีวนะสูงอย่างมีนัยสำคัญในยาปฏิชีวนะชนิด Streptomycin และAmpicillin จากการศึกษาของ Maynou, *et al*., (2017) ได้ทำการศึกษาผลของนม Waste milk ในลูกโคพันธุ์โฮลส์ไตน์ฟรีเชี่ยน มีผลกระทบต่อการดื้อยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ *E. coli* และ*Pasteurella multocida* ผลการทดลองพบว่าเชื้อ *E. coli* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด Enrofloxacin, Florfenicol, และStreptomycin

ดังนั้นในการจัดการให้นม Waste milk แก่ลูกโคนั้นพบข้อเสียหลายอย่าง และที่สำคัญมีผลทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะ ทำให้ลูกโคมีอาการท้องเสีย ซึ่งส่งผลต่อการรักษาโรคติดเชื้อทำให้รักษาโรคได้ยากขึ้นทั้งในปัจจุบันและอนาคต อีกทั้งยังส่งผลต่อสุขภาพของลูกโค ทำให้การเจริญเติบโตที่ไม่เหมาะสม ดังนั้นเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมควรตระหนัก และให้ความสำคัญในการให้น้ำนมชนิดต่าง ๆ แก่ลูกโค เพื่อสุขภาพที่ดี และแข็งแรงของลูกโค

บรรณานุกรม

กรมปศุสัตว์. (2558). **คู่มือการเลี้ยงโคนม**. สืบค้นเมื่อวันที่ 3 มิถุนายน 2561. จาก http:// breeding.dld.go.th/ images/document/dairy/A1.pdf.

วราภรณ์ ศุกลพงศ์. (2560). **Veterinary Bacteriology: Family Enterobacteriaceae**. เอกสารประกอบการเรียนการสอน. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วีรวรรณ ลุวีระ. (2549). การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย. **สงขลานครินทร์เวชสาร.** 24,5: 453-459.

สุทธิพร พิริยายน, วันทนา จันทรมงคล, สุพรรณี จันทวี และสุกัญญา วาวงค์. (2559). การทดสอบหาเชื้อ *Escherichia coli* ในอาหารสัตว์. **BQCLP E-Journal**. 7:1.

อรอนงค์ รัชตราเชนชัย. (2541). **คุณสมบัติของแอนติเจนของ *E. coli***. สืบค้นเมื่อวันที่ 10 มิถุนายน 2561, จาก http://kb.psu.ac.th/ psukb/bitstream/2553/3053/8/277537_ ch1. pdf.

Abb-Schwedler Katharina, Ariane Maeschli, Renate Boss, Hans U Graber, Adrian Steiner and Peter Klocke. (2014) Feeding mastitis milk to organic dairy calves: effect on health and performance during suckling and on udder health at first calving. **BMC Veterinary Research**. 10:1746-6148.

Heinrich Katharina, Victoria Bailey-Horne, Lucy Brunton, Jeffrey Jones and Matthew Sharman. (2012). A survey of antibiotics in waste milk fed to dairy calves. **The food environment Research Agency**. 15.

Kesler, E. M. (1981). Feeding mastitis milk to calves: review. **Journal of Dairy Science** 64:719-723.

Khachatryan R. Artashes, Dale D. Hancock, Thomas E. Besser and Douglas R. Call. (2004). Role of Calf-Adapted *Escherichia coli* in Maintenance of Antimicrobial Drug Resistance in Dairy Calves. **Applied And Environmental Microbology**. 70:752-757

Quigley Jim. (2001). Risks of using waste milk. **Calf Note**. 35.

Randall Luke, Katharina Heinrich, Robert Horton, Lucy Brunton, Matthew Sharman,Victoria Bailey-Horne, Meenaxi Sharma, Ian McLaren, Nick Coldham, Chris Teale and Jeff Jones. (2014). Detection of antibiotic residues and association of cefquinome residues with the occurrence of Extended-Spectrum -Lactamase (ESBL)-producing bacteria in waste milk samples from dairy farms in England and Wales in 2011. **Research in Veterinary Science**. 96:15-24.

Selim, S. A. and J. S. Cullor. (1997). Number of viable bacteria and presumptive antibiotic residues in milk fed to calves on commercial dairies. **JAVMA**. 211:1029-1034.

Verdier Kerstin de, Ann Nyman, Christina Greko and Björn Bengtsson. (2012). Antimicrobial resistance and virulence factors in Escherichia coli from Swedish dairy calves. **Acta Veterinaria Scandinavica**. 54.

Wray, C. Furniss and S. Benham and C. L. (1990). Feeding antibiotic-contaminated WM to calves - effects on physical performance and antibiotic sensitivity of gut flora. **British Veterinary Journal** 146:80-87.

Zou Yang, Yajing Wang, Youfei Deng, Zhijun Cao, Shengli and Jiufeng Wang. (2017). Effects of feeding untreated, pasteurized and acidified waste milk and bunk tank milk on the performance, serum metabolic profiles, immunity, and intestinal development in Holstein calves. **Journal of Animal Science and Biotechnology.** 8:53.