

อุบัติการณ์ของยาต้านจุลชีพตกค้างในน้ำนมดิบจากฟาร์ม วิทยาเขตปทุมธานี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

Incidence of Antimicrobial Residues in Raw Milk from Pathumthani Campus Farm, Rajamangala University of Technology Thanyaburi

ชนินทร์ รัตนสิน^{1/} และ กนกดล สิริวัฒนชัย^{2/}
Chanin Ratanasin^{1/} and Kanokdon Siriwatanachai^{2/}

Abstract: Raw milk was collected from 13 lactating cows (mix ages and duration of lactating) from Pathumthani Campus farm, Rajamangala University of Technology Thanyaburi. The raw milk samples were collected every 2 weeks between January to August 2006 (15 times). The total 92 samples were tested for incidence of antimicrobial residues by 2 different tests: European Four Plate Test (EFPT) and Antimicrobial Residue Screening Test Kit. The results from EFPT found antimicrobial residues 0.09 per 100 samples, sensitivity and specificity were 66.67% and 100%, respectively. The Test Kit found antimicrobial residues 0.11 per 100 samples, sensitivity and specificity were 83.33% and 100%, respectively. The results of both tests appeared in the same direction.

Keywords: Antimicrobial residues, test kit, raw milk, European four plate test

^{1/} คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ต. ประชานิพัฒน์ อ. ธัญบุรี จ. ปทุมธานี 12130

^{1/} Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Prachatipat, Thanyaburi, Pathum Thani, 12130, Thailand

^{2/} ศูนย์ติดตามการดื้อยาของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

^{2/} Center for Antimicrobial Resistance Monitoring in Food-borne Pathogens, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Wangmai, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand

บทคัดย่อ: จากการเก็บตัวอย่างนํ้านมดิบจากแม่โคที่กำลังให้นมจำนวน 13 ตัว โดยคละอายุ และคละระยะเวลาการให้นม จากฟาร์มวิทยาเขตปทุมธานี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี โดยทำการเก็บตัวอย่างนํ้านมจำนวน 15 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 2 สัปดาห์ ในระหว่างเดือนมกราคม ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2549 รวมจำนวนตัวอย่างนํ้านมทั้งสิ้น 92 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาอุบัติการณ์ของยาต้านจุลชีพตกค้างในนํ้านมดิบ โดยใช้วิธี European Four Plate Test (EFPT) เปรียบเทียบกับการใช้ชุดตรวจสอบยาต้านจุลชีพตกค้าง (Antimicrobial Residue Screening Test Kit) พบว่าจากการตรวจโดยวิธี EFPT พบอัตราอุบัติการณ์ของยาต้านจุลชีพตกค้าง 0.09 ต่อ 100 ตัวอย่าง โดยมีความไว 66.67 % และความจำเพาะ 100 % ส่วนการตรวจโดยใช้ชุดตรวจสอบยาต้านจุลชีพตกค้าง พบอัตราอุบัติการณ์ของยาต้านจุลชีพตกค้าง 0.11 ต่อ 100 ตัวอย่าง มีความไว 83.33 % และความจำเพาะ 100 % โดยผลจากการตรวจทั้ง 2 วิธีเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

คำสำคัญ: ยาต้านจุลชีพตกค้าง ชุดตรวจสอบ นํ้านมดิบ European four plate test

บทนำ

ปัจจุบันยาต้านจุลชีพมีบทบาทสำคัญในการรักษาโรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในโคนมอย่างกว้างขวาง ตั้งแต่โรคที่ไม่รุนแรง เช่น แผลติดเชื้อมีหนอง มดลูกอักเสบไปจนถึงโรคร้ายแรงที่สำคัญ เช่น โรคแอนแทรกซ์ หรือการเกิดโรคโคนาฟลาสมิซิส เป็นต้น การที่มีการใช้ยาต้านจุลชีพมากขึ้น จะทำให้โอกาสเกิดการตกค้างของยาต้านจุลชีพในนํ้านมมีได้มากยิ่งขึ้นตามไปด้วย ในการเกิดการตกค้างของยาต้านจุลชีพนี้ก็จะส่งผลข้างเคียงอย่างมากต่อผู้บริโภคนํ้านม ซึ่งกลุ่มคนที่บริโภคนํ้านมส่วนใหญ่คือ ทารก เด็กกำลังเจริญเติบโต สตรีมีครรภ์ และผู้ป่วยที่พักรักษา โดยผลข้างเคียงที่สำคัญก็คือ การแพ้ยา ซึ่งกรณีที่เป็นการแพ้น้อย ๆ อาจพบผลข้างเคียงเพียงการเกิดผื่นแดง หรือเกิดการบวม น้ำปวดศีรษะ แต่กรณีที่แพ้อย่างรุนแรงอาจทำให้เสียชีวิตได้ ผลข้างเคียงที่สำคัญอีกประการหนึ่งก็คือ อาจทำให้เกิดการดื้อยาของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นผลจากการได้รับยาต้านจุลชีพในระดับต่ำ ทำให้จุลินทรีย์มีการสร้างพันธุกรรมที่ดื้อยาชนิดนั้น ๆ และถ่ายทอดไปยังจุลินทรีย์ลูกหลานต่อไป นอกเหนือจากที่มีผลต่อผู้บริโภคโดยตรงแล้ว ยังมีผลกระทบต่ออุตสาหกรรมแปรรูปนํ้านม เช่น การทำเนยแข็ง โดยจะทำให้เกิดปัญหาในกระบวนการ

หมักจุลินทรีย์ ทำให้เกิดความเสียหายในกระบวนการผลิต

การศึกษาครั้งนี้ เป็นการตรวจหาอุบัติการณ์ของยาต้านจุลชีพในนํ้านมดิบจากแม่โคแต่ละตัว โดยวิธี European Four Plate Test (EFPT) ซึ่งเป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการที่กรมปศุสัตว์รับรอง และห้องปฏิบัติการหลายแห่งในประเทศไทยใช้อยู่ และเป็นวิธีที่ประเทศส่วนใหญ่ในสหภาพยุโรปให้การยอมรับ เปรียบเทียบกับการใช้ชุดตรวจ Antimicrobial Residue Screening Test (AM-Test™) ที่ทางศูนย์ติดตามการดื้อยาของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้พัฒนาขึ้นภายหลังจากที่ผลิตชุดตรวจสอบ เคเอส-9 ที่มีประสิทธิภาพในการตรวจหายาปฏิชีวนะตกค้างได้ดีมาก โดยมีค่าความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำสูงเกือบเท่ากับ 100% (เกรียงศักดิ์ และธงชัย, 2541ข) สำหรับชุดตรวจสอบชุดใหม่ที่น่าสนใจนี้ได้มีการพัฒนาขึ้นเพื่อให้ใช้งานสะดวก และแปลผลง่าย และชุดตรวจสอบทั้ง 2 ชุดนี้อาศัยหลักการเช่นเดียวกันคือ Microbial Inhibition Assay เหมือนกัน

ผลการศึกษาที่ได้ จะนำไปใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงการสุขาภิบาลโคนม ด้านการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ สุขศาสตร์นํ้านม และการปรับปรุงด้านการจัดการฟาร์มต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างนํ้านมดิบ

ทำการเก็บตัวอย่างนํ้านมดิบมาจากแม่โคในฟาร์มวิทยาเขตปทุมธานี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จำนวน 13 ตัว ซึ่งคละอายุ คละระยะเวลาการให้นม และมีประวัติการให้ยาปฏิชีวนะก่อนหน้านี้ดังนี้

12 กุมภาพันธ์ 2549 013 เต้านมอักเสบ ฉีด oxytetracycline เข้ากล้ามเนื้อ นาน 6 วัน

26 กุมภาพันธ์ 2549 038 เต้านมอักเสบ สอดยา cloxacillin เข้าเต้านม นาน 3 วัน

9 มีนาคม 2549 038 เต้านมอักเสบ สอดยา cephalosporin เข้าเต้านมและฉีด cephalosporin เข้ากล้ามเนื้อ นาน 5 วัน

24 มีนาคม 2549 019 เต้านมอักเสบ สอดยา cephalosporin เข้าเต้านมและฉีด cephalosporin เข้ากล้ามเนื้อ นาน 3 วัน

18 เมษายน 2549 006 ซีม มีหนองไหลจาก vulva ฉีด oxytetracycline เข้ากล้ามเนื้อ นาน 7 วัน

30 เมษายน 2549 023 เต้านมอักเสบ สอดยา cephalosporin เข้าเต้านมและฉีด cephalosporin เข้ากล้ามเนื้อ นาน 3 วัน

5 พฤษภาคม 2549 023 เป็นแผลที่เต้านม ฉีด cephalosporin เข้ากล้ามเนื้อ นาน 3 วัน

038 ขาเจ็บ บวมที่ต้นขา ฉีด cephalosporin เข้ากล้ามเนื้อ นาน 5 วัน

28 พฤษภาคม 2549 019 เต้านมอักเสบ สอดยา cephalosporin เข้าเต้านมและฉีด cephalosporin เข้ากล้ามเนื้อ นาน 3 วัน

22 มิถุนายน 2549 038 เต้านมอักเสบ สอดยา cephalosporin เข้าเต้านมและฉีด cephalosporin เข้ากล้ามเนื้อ นาน 5 วัน

7 สิงหาคม 2549 016 เต้านมอักเสบ สอดยา cephalosporin เข้าเต้านมและฉีด cephalosporin เข้ากล้ามเนื้อ นาน 3 วัน

21 สิงหาคม 2549 024 ขาเจ็บ เดินกระเผลก ฉีด enrofloxacin เข้าใต้ผิวหนัง นาน 3 วัน

*หมายเหตุ ในการให้ยาต้านจุลชีพทุกครั้ง ได้มีคำสั่งให้งดให้นมเพื่อการบริโภคเป็นเวลา 3-5 วัน โดย cephalosporin และ cloxacillin งดให้นม 3 วัน oxytetracycline และ enrofloxacin งดให้นม 5 วัน

ทำการเก็บตัวอย่างนํ้านมดิบทั้งหมด 15 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 2 สัปดาห์ ตั้งแต่ เดือนมกราคม ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2549 ได้จำนวนตัวอย่างรวม 92 ตัวอย่าง

วิธีการเก็บตัวอย่าง ทำโดยการรีดนมจากแม่โคได้ในขวดฝาเกลียวที่ฆ่าเชื้อแล้วขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นบรรจุในกล่องที่มีน้ำแข็งเพื่อรักษาอุณหภูมิให้เย็นสม่ำเสมอที่ 4-6 องศาเซลเซียส แล้วนำส่งห้องปฏิบัติการทันที

การคำนวณ

อัตราปฏิบัติการของยาต้านจุลชีพตกค้าง

$$= \frac{\text{จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบยาต้านจุลชีพตกค้าง} \times \text{ค่าคงที่}}{\text{จำนวนตัวอย่างทั้งหมด}}$$

ค่าคงที่นี้ = 100

การคำนวณหาค่าความไว (Sensitivity)

$$= \frac{\text{ผลบวกจริง}}{\text{ผลบวกจริง} + \text{ผลลบเท็จ}} \times 100\%$$

การคำนวณหาค่าความจำเพาะ (Specificity)

$$= \frac{\text{ผลลบจริง}}{\text{ผลลบจริง} + \text{ผลบวกเท็จ}} \times 100\%$$

วิธีการทดสอบหายาต้านจุลชีพตกค้าง

ในการศึกษาปฏิบัติการของยาต้านจุลชีพตกค้างในนํ้านมดิบครั้งนี้ ได้ดำเนินการตรวจโดยใช้วิธี European Four Plate Test (EFPT) และวิธีการตรวจโดยชุดตรวจสอบยาต้านจุลชีพตกค้าง (Antimicrobial Residue Screening Test Kit)

การตรวจโดย European Four Plate Test

1. หลักการ

European Four Plate Test (EFPT) เป็นวิธีการตรวจสอบหายาปฏิชีวนะ โดยใช้หลักการ

Microbial inhibition plate assay เป็นการตรวจสอบในเชิงคุณภาพ ดังนั้นจึงไม่มีรายงานการทำค่า Limit of Detection (LOD)

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้คือ *Micrococcus luteus* ATCC 9341 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633

2. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

2.1 *Micrococcus luteus*

ทำการเพาะเชื้อ *M. luteus* จาก stock ไปเลี้ยงใน nutrient agar (NA) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง แล้วปรับเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No. 2 (6×10^8 CFU/ml) ในสารละลาย 0.85% NaCl

2.2 *Bacillus subtilis*

ทำการเพาะเชื้อ *B. subtilis* จาก stock ไปเลี้ยงใน nutrient agar spore (NA spore) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แล้วปรับเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No. 2 (6×10^8 CFU/ml) ในสารละลาย 0.85% NaCl

3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในการตรวจสอบ

3.1 *Micrococcus luteus*

นำสารละลายเชื้อ *M. luteus* ที่เตรียมได้ มาผสมกับ inhibitory substances test media (assay agar pH 8.0) ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วใช้ 8 มิลลิลิตร เทใน petridish

3.2 *Bacillus subtilis*

นำสารละลายสปอร์ของเชื้อ *B. subtilis* ที่เตรียมได้ มาผสมกับ inhibitory substances test media (assay agar pH 6.0) ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วใช้ 8 มิลลิลิตร เทใน petridish

นำสารละลายสปอร์ของเชื้อ *B. subtilis* ที่เตรียมได้ มาผสมกับ inhibitory substances test media (assay agar pH 7.2) ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นใส่ trimethoprim ให้มีความเข้มข้นสุทธิที่ 0.05 ppm ผสมให้เข้ากัน แล้วใช้ 8 มิลลิลิตร เทใน petridish

นำสารละลายสปอร์ของเชื้อ *B. subtilis* ที่เตรียมได้ มาผสมกับ inhibitory substances test media

(assay agar at pH 8.0) ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วใช้ 8 มิลลิลิตร เทใน petridish

4. การตรวจสอบหายาปฏิชีวนะในตัวอย่าง

ใช้ disk ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จุ่มในตัวอย่างน้ำมันดิบ แล้วนำไปวางบนผิวอาหารวุ้นที่เตรียมไว้ (*B. subtilis* ใน assay agar ที่ pH 6, 7.2 และ 8 และ *M. luteus* ใน assay agar ที่ pH 8) โดยมีการเปรียบเทียบกับ disk ที่จุ่ม buffer solution เป็น negative control และ disk ที่จุ่มยาปฏิชีวนะเป็น positive control ด้วย บ่มเลี้ยงเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง

5. เกณฑ์การตัดสิน

ถ้าเกิด inhibition zone ขนาดเกิน 2 มิลลิเมตร จาก disk ที่จุ่มตัวอย่างน้ำมันดิบ แสดงว่ามียาปฏิชีวนะอยู่ในตัวอย่างที่ตรวจ

การตรวจโดยชุดตรวจสอบยาด้านจุลชีพตกค้าง

1. หลักการ

ชุดตรวจสอบที่ใช้เป็นชุดตรวจสอบสารต้านจุลชีพตกค้างในน้ำมัน โดยวิธี test diffusion method เช่นเดียวกับชุดตรวจสอบเคเอส-9 โดยชุดตรวจสอบทั้งสองนี้คิดค้นและพัฒนาโดย คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งชุดตรวจสอบนี้ประกอบด้วยสปอร์ของ *Bacillus stearothermophilus* var. *carlidolactis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เอื้ออำนวยต่อการซึมผ่านของสารต้านจุลชีพและการเจริญเติบโตของสปอร์เมื่ออุณหภูมิ 65 ± 1 องศาเซลเซียส และสามารถอ่านผลได้ภายใน 2 ชั่วโมง 30 นาที ถึง 3 ชั่วโมง

2. วิธีการใช้ชุดตรวจสอบยาด้านจุลชีพตกค้าง

2.1 หยอดน้ำมันดิบ 0.1 มิลลิลิตร ลงในชุดตรวจสอบ

2.2 ปิดฝาหลอดทดสอบด้วยเทปกาวแล้วอบเพาะที่ 65 ± 1 องศาเซลเซียส 3-4 ชั่วโมง แล้วอ่านผลเมื่อหลอดควบคุม (negative control) เปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งหมด

3. เกณฑ์การตัดสินใจ

ถ้าสีของชุดตรวจสอบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แสดงว่าตัวอย่างไม่มีสารต้านจุลชีพตกค้างอยู่ ถ้าสีของชุดตรวจสอบยังคงเป็นสีม่วงแสดงว่ามียาตกค้างในตัวอย่าง แต่ถ้าสีของชุดตรวจสอบเป็นสีม่วงด้านบนและมีสีเหลืองด้านล่างหรือม่วงจางลง แต่ไม่เป็นสีเหลืองแสดงว่าในตัวอย่างมียาตกค้างในปริมาณต่ำกว่าความเข้มข้นที่ชุดตรวจสอบสามารถตรวจพบ 100% (Detection Limits) จากการศึกษาความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบยาต้านจุลชีพตกค้างนี้พบว่ามีความไว 96% และค่าความจำเพาะสูง 100% และความแม่นยำ 99% (เกรียงศักดิ์ และธงชัย, 2541ข)

ผลการศึกษา

ผลการตรวจหาสารต้านจุลชีพตกค้างในนํ้านมจำนวน 92 ตัวอย่าง มีผลบวกหรือมีสารต้านจุลชีพตกค้างจำนวน 12 ตัวอย่าง ตามตารางที่ 1 หรือร้อยละ 13 จากการตรวจด้วยวิธี European Four Plate Test ให้ผลบวกทั้งหมด 8 ตัวอย่าง และ 6 ใน 8 ตัวอย่างนี้ให้ผลเป็นบวกด้วยเช่นกันกับการใช้ชุดตรวจสอบยาต้านจุลชีพตกค้าง แต่มี 2 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากวิธี EFPT ขณะที่ชุดตรวจสอบยาต้านจุลชีพตกค้าง ให้ผลเป็นลบ ผลจากการใช้ชุดตรวจตรวจสอบยาต้านจุลชีพตกค้างให้ผลบวกทั้งหมด 10 ตัวอย่าง แต่มี 4 ใน 10 ตัวอย่างนี้ที่ให้ผลลบจากการตรวจด้วยวิธี EFPT และผลการตรวจจากทั้งสองวิธีที่ให้ผลลบมีจำนวน 80 ตัวอย่าง ดังที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2

จากตารางที่ 2 และประวัติการรักษา แสดงให้เห็นว่า การที่ผลการตรวจหาสารต้านจุลชีพตกค้างโดยวิธี EFPT ได้ผลเป็นลบ แต่โดยวิธีการใช้ชุดตรวจสอบได้ผลเป็นบวกจำนวน 4 ตัวอย่าง และผลการตรวจโดยวิธีการใช้ชุดตรวจสอบได้ผลเป็นลบ แต่โดยวิธี EFPT ได้ผลเป็นบวกจำนวน 2 ตัวอย่าง ผลที่เป็นลบที่ได้ในทั้งสองกรณีจัดเป็นผลลบเท็จ เนื่องจากในประวัติการรักษา มีการใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาโรคก่อนและขณะการเก็บตัวอย่างนํ้านม

อัตราอุบัติการณ์ของยาต้านจุลชีพตกค้างที่ตรวจโดยวิธี EFPT เท่ากับ 0.09 ต่อ 100 ตัวอย่าง ส่วนอัตราอุบัติการณ์ของยาต้านจุลชีพตกค้างที่ตรวจโดยใช้ชุดตรวจสอบ เท่ากับ 0.11 ต่อ 100 ตัวอย่าง ค่าความไวของการตรวจโดยใช้ EFPT เท่ากับ 66.67% ส่วนค่าความไวในการตรวจโดยใช้ชุดตรวจสอบ เท่ากับ 83.33% และค่าความจำเพาะของการตรวจโดยใช้ EFPT และการตรวจโดยใช้ชุดตรวจสอบ เท่ากับ 100%

วิจารณ์

จากการศึกษาการตรวจหาสารต้านจุลชีพตกค้างในนํ้านม พบว่า การตรวจโดยวิธี European Four Plate Test (EFPT) มีอัตราอุบัติการณ์ของยาต้านจุลชีพตกค้าง 0.09 ต่อ 100 ตัวอย่าง โดยมีความไว 66.67 % และค่าความจำเพาะ 100% ส่วนชุดตรวจสอบยาต้านจุลชีพตกค้าง พบอัตราอุบัติการณ์ของยาต้านจุลชีพตกค้าง 0.11 ต่อ 100 ตัวอย่าง มีความไว 83.33% และค่าความจำเพาะ 100% ซึ่งสอดคล้องกับที่ เกรียงศักดิ์ และธงชัย (2541ก) รายงานว่า วิธีการตรวจหาสารต้านจุลชีพตกค้างโดยใช้ชุดตรวจนี้มีประสิทธิภาพดีกว่าชุดตรวจสอบยาต้านจุลชีพตกค้างที่ผลิตในต่างประเทศ และวิธี disk assay ที่ใช้ *B. subtilis* โดยสามารถตรวจพบยาต้านจุลชีพตกค้างในปริมาณที่ต่ำกว่า และตรวจพบยาต้านจุลชีพตกค้างได้ดีกว่าด้วย

การตรวจโดยวิธี EFPT ให้ผลลบเท็จ อาจเป็นลักษณะเดียวกันกับที่ นริศร และคณะ (2547) ได้รายงานไว้ว่า การตรวจตัวอย่างจากไก่ที่ได้รับยาปฏิชีวนะไปแล้ว 4 วัน โดยวิธี EFPT ให้ผลลบถึง 87.03% ในขณะที่ชุดตรวจสอบ (ชุดตรวจเคเอส 9/ เคเอส 9 เอส) ให้ผลลบเพียง 45.37% และธงชัย และคณะ (2545) ได้กล่าวไว้ว่า EFPT มีความจำเพาะค่อนข้างต่ำ จึงมักเกิดผลลบเท็จ

การตรวจโดยวิธีใช้ชุดตรวจสอบที่ให้ผลลบเท็จ นั้น ธงชัย และคณะ (2539) ได้รายงานว่าการอุ่นนํ้านม อาจทำให้เกิดผลลบเท็จได้ ซึ่งสอดคล้องกับที่ สมภาพ และคณะ (2539) รายงานว่า การอุ่นนํ้านมก่อนทำการ

Table 1 Numbers and date of sample collections and results of antimicrobial residues tests by European Four Plate Test and Antimicrobial Residue Screening Test Kit.

Cow No. Collection No./Date	004	006	007	013	016	019	021	023	024	037	038	041	043
1 30/1/06													
2 14/2/06				^{1,2} , - ^{3,4,5}									
3 27/2/06											^{1,2} , - ^{3,4,5}		
4 15/3/06											^{1,2} , + ^{3,4,5}		
5 29/3/06						^{1,2} , - ^{3,4,5}							
6 20/4/06		^{1,2} , + ^{3,4,5}											
7 3/5/06		^{1,2} , + ^{3,4,5}						^{1,2} , - ^{3,4,5}					
8 19/5/06		^{1,2} , - ^{3,4,5}											
9 31/5/06						^{1,2} , + ^{3,4,5}							
10 14/6/06													
11 28/6/06											^{1,2} , - ^{3,4,5}		
12 13/7/06													
13 26/7/06													
14 8/8/06					^{1,2} , + ^{3,4,5}								
15 23/8/06									^{1,2} , + ^{3,4,5}				

*หมายเหตุ เครื่องหมาย | แสดงครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่างนมดิบเพื่อตรวจหายาด้านจุลชีพตกค้าง
 เครื่องหมาย + หมายถึง ผลบวก เครื่องหมาย - หมายถึง ผลลบ, ตัวอย่าง $+^1, +^2, +^3, +^4, +^5$
 $+^1, +^2, +^3$ = ให้ผลบวกกับวิธี EFPT ต่อการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ที่ pH 6.0, 7.2 และ 8.0
 $+^4$ = ให้ผลบวกกับวิธี EFPT ต่อการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ที่ pH 8.0
 $+^5$ = ให้ผลบวกต่อชุดตรวจสอบยาด้านจุลชีพตกค้าง

Table 2 Positive results found in EFPT and Test Kit from 92 samples.

Tests & Results Numbers of samples	EFPT - Positive Test Kit - Positive	EFPT - Positive Test Kit - Negative	EFPT - Negative Test Kit - Positive	EFPT - Negative Test Kit - Negative
92	6	2	4	80

ตรวจหายากานามัยซินตกค้างด้วยวิธี Microbial Inhibition Disk Assay มีผลทำให้ความเข้มข้นของยา กานามัยซินที่ตกค้างในตัวอย่งน้ำนมลดลง

ส่วนใหญ่ น้ำนมแม่โคที่ตรวจพบยาต้านจุลชีพ ตกค้าง จะพบการตกค้างเพียง 1 รอบของการเก็บ ตัวอย่ง แสดงว่ายาต้านจุลชีพตกค้างจะหมดไปภายใน ระยะเวลาไม่เกิน 2 สัปดาห์ แต่กรณีแม่โคหมายเลข 006 มียาต้านจุลชีพตกค้างในน้ำนม นานเกิน 2 สัปดาห์ อาจเป็นเพราะแม่โคมีอายุมาก โดยขณะที่ทำการทดลอง มีอายุถึง 9 ปี ซึ่งอาจมีผลต่อการตกค้างของยาต้าน จุลชีพได้ และกรณีของแม่โคหมายเลข 038 นั้นเป็น เพราะมีการรักษาโรคเต้านมอักเสบซ้ำหลายครั้ง

สรุป

วิธีการตรวจโดยใช้ชุดตรวจสอบยาต้านจุลชีพ ตกค้าง เป็นวิธีที่ประหยัด สะดวก และมีประสิทธิภาพ สูง และให้ผลที่เป็นทิศทางเดียวกันกับการตรวจโดยวิธี EFPT และจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า มีอุบัติการณ์ ของการตกค้างของยาต้านจุลชีพในน้ำนมมาก ซึ่งจาก ประวัติการรักษาทำให้ทราบว่า ส่วนใหญ่เป็นผลจากการ ใช้ยาต้านจุลชีพในการรักษาโรคเต้านมอักเสบ ซึ่งข้อมูล นี้จะเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงการสุขาภิบาล การ คัดเลือกแม่พันธุ์ คุณภาพน้ำนมดิบ และด้านการจัดการ ฟาร์มต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.น.สพ.เกรียงศักดิ์ พูนสุข รศ.น.สพ.ดร.ธงชัย เฉลิมชัยกิจ ซึ่งเป็นผู้ให้การ

สนับสนุนในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ และอาจารย์เปล่งศรี อิงคินันท์ ผู้ให้ความอนุเคราะห์ในการค้นคว้าหาข้อมูล ต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

- เกรียงศักดิ์ สายธนู และธงชัย เฉลิมชัยกิจ. 2541ก. การ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ ยาปฏิชีวนะตกค้างในน้ำนมโค. หน้า 77-87. ใน: เปล่งศรี อิงคินันท์ (บก.). เอกสาร ประกอบการประชุมวิชาการโคนมและ ผลิตภัณฑ์ ครั้งที่ 2. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- เกรียงศักดิ์ สายธนู และธงชัย เฉลิมชัยกิจ. 2541ข. เคเอส-9 ชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะตกค้างใน น้ำนมโคชนิดใหม่. หน้า 53-63. ใน: เปล่งศรี อิงคินันท์ (บก.). เอกสารประกอบการประชุม วิชาการโคนมและผลิตภัณฑ์ ครั้งที่ 2. คณะ สัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ธงชัย เฉลิมชัยกิจ ศุภชัย เนื่อนวลสกุล และเกรียงศักดิ์ สายธนู. 2539. ประสิทธิภาพของ Delvotest-P[®] และ Microbial Inhibition Disk Method ในการตรวจหายาปฏิชีวนะตกค้างในน้ำนมใน ประเทศไทย. หน้า 62-63. ใน: เปล่งศรี อิงคินันท์ (บก.). เอกสารประกอบการประชุม วิชาการโคนมและผลิตภัณฑ์ เพื่อเฉลิมพระ เกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฉลองศิริ ราชสมบัติครบ 50 ปี. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ธงชัย เณลิมชัยกิจ เกรียงศักดิ์ พูนสุข เกรียงศักดิ์ แดงพรหม
มณฑล เลิศวรปรีชา และกิตติกร โชติสกุล
รัตน์. 2545. ประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบยา
ต้านจุลชีพตกค้างในเนื้อสัตว์ CM-Test.
วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 33(6 (Suppl.):
376-379.

นริศร นางาม สรรพพญ อังกิตติตระกูล พิทักษ์ น้อยเมธ
และวสันต์ จันทรสนิท. 2547. การศึกษา
เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรอง
หายาปฏิชีวนะตกค้างในไก่เนื้อและไข่ไก่โดยใช้
วิธีทริปเปิลมีเดียด้วยไตโรเมทโทพริม วิธี
ยูโร-เปียนโฟรเพลท เทส และวิธีเทคนิค
ทีวดีพีวชั่น. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.
14(1):8-18.

สมภพ คุ่มทอง คมกฤษ เทียนคำ ประจักษ์ เตียวยวด
เกรียงศักดิ์ สายธนู ศุภชัย เนื่อนวลสกุล และ
รุ่งทิพย์ ชวนชื่น. 2539. การศึกษาการตกค้าง
ของยาแก้นาไมซิน (โนน้ามโค) ที่ใช้ในการ
รักษาโรคเต้านมอักเสบโดยการฉีดเข้าเต้านม.
หน้า 1-15. เอกสารโครงการการเรียนการสอน
เพื่อประสบการณ์ 2538. คณะสัตว
แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
กรุงเทพฯ.