

ความไวรับยาต้านจุลชีพของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ที่แยกได้จากอุจจาระไก่พื้นเมือง

Antimicrobial Susceptibility of Lactic Acid Bacteria Isolated From Native Chicken Feces

ไพรัตน์ ศรีแสง (Pairat Sonplang)* ดร. สุทธิพงษ์ อริยะพงศ์สรณ์ (Dr. Suthipong Uriyapongson)**
เกรียงศักดิ์ พูนสุข (Kriengsak Poonsuk)*** ดร. พลสันต์มหาขันธุ์ (Dr. Polson Mahakhan)****
ดร. สรรพชญ์ อังกิติตระกุล (Dr. Sunpetch Angkititrakul)*****

บทคัดย่อ

แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากอุจจาระไก่พื้นเมืองทั้งหมด 74 ไอโซเลทถูกนำมาตรวจแยกในระดับสกุลพบสกุล *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. และ *Pediococcus* spp. ร้อยละ 87.84, 8.11 และ 4.05 ตามลำดับ ทุกไอโซเลทถูกทดสอบความไวรับยาต้านจุลชีพทั้งหมด 11 ชนิด ตามกลุ่มการออกฤทธิ์ด้วยวิธี disc diffusion ผลการทดสอบความไวรับยาพบว่าไอโซเลทส่วนใหญ่ของ *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. และ *Pediococcus* spp. มีความไวรับยาระดับปานกลางถึงไวรับยาต่อยา penicillin G, erythromycin, bacitracin, chloramphenicol, tetracycline และ nitrofurantoin และ *Enterococcus* spp. ทุกไอโซเลทไวรับยาต้านจุลชีพระดับปานกลางต่อยา vancomycin ในขณะที่ *Lactobacillus* spp. และ *Pediococcus* spp. ทุกไอโซเลทต้านต่อยา vancomycin, nalidixic acid, gentamicin, neomycin และ streptomycin ส่วน *Enterococcus* spp. ทุกไอโซเลทต้านต่อยา nalidixic acid, gentamicin, neomycin และ streptomycin สกุล *Lactobacillus* spp. ต้านต่อยา bacitracin และ tetracycline จำนวน 1 และ 6 ไอโซเลทตามลำดับ สกุล *Enterococcus* spp. จำนวน 1 ไอโซเลท ต้านต่อยา 2 ชนิดทั้ง bacitracin และ nitrofurantoin และ *Pediococcus* spp. จำนวน 1 ไอโซเลท ต้านต่อยา 2 ชนิดทั้ง bacitracin และ tetracycline การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรียบางไอโซเลทอาจได้รับพันธุกรรมต้านยาแบบได้รับภายหลังซึ่งต้านต่อยา bacitracin, tetracycline และ nitrofurantoin

* นักศึกษาหลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**** อาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

***** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ABSTRACT

Seventy four isolates of lactic acid bacteria (LAB) from native chicken feces were isolated and identified into genus level. Percentage of the genus *Lactobacillus* spp. , *Enterococcus* spp. and *Pediococcus* spp. founding were 87.84, 8.11 and 4.05, respectively. All 74 isolates were tested for susceptibility to 11 antibiotics using disc diffusion method. The majority of *Lactobacillus*, *Enterococcus* and *Pediococcus* isolates were intermediate susceptible to susceptible to penicillin G, erythromycin, bacitracin, chloramphenicol, tetracycline and nitrofurantoin. All isolates of *Enterococcus* spp. were intermediate susceptible to vancomycin. By contrast, all isolates of *Lactobacillus* spp. and *Pediococcus* spp. were resistant to vancomycin, nalidixic acid, neomycin, gentamicin and streptomycin. One and six isolates of *Lactobacillus* spp. Resisted to bacitracin and tetracycline, respectively. One isolate of *Enterococcus* spp. resisted to both bacitracin and nitrofurantoin. One isolate of *Pediococcus* spp. resisted to both bacitracin and tetracycline. This study concluded that some isolates of LAB may occurred by acquire resistant which resist to bacitracin, tetracycline and nitrofurantoin.

คำสำคัญ: ความไวรับยาต้านจุลชีพ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ไก่พื้นเมือง

Key Words: Antibiotic susceptibility, Lactic acid bacteria, Native chicken

บทนำ

แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria, LAB) เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นทางเดินอาหาร (gastrointestinal microflora) ที่พบเป็นส่วนใหญ่ ในคนและสัตว์ แบคทีเรียกลุ่มนี้ถูกคัดเลือก และนำมาใช้เป็นโพรไบโอติก (probiotic) เพื่อเสริมในการเลี้ยงสัตว์ (Nousiainen and Setälä, 1998) คุณสมบัติที่สำคัญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกนอกจากสามารถสร้างสารต่อต้านจุลชีพต่อแบคทีเรียที่เป็นโทษในทางเดินอาหารของสัตว์แล้วยังต้องมีความปลอดภัยต่อสัตว์รวมทั้งเป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรค และไม่ถ่ายทอดพันธุกรรม (gene) การต้านยาปฏิชีวนะไปยังแบคทีเรียตัวอื่น (Bernardeau et al., 2006) ในประเทศไทยมีการศึกษาถึงปัญหาเชื้อก่อโรคที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพในไก่พื้นเมืองและไก่ฟาร์ม เช่น เชื้อซัลโมเนลลา (ธงชัย มณฑล และ จิโรจ, 2548) ซึ่งทำให้การรักษาโรคสัตว์ยากขึ้น แต่ยังมีศึกษาน้อยถึงการดื้อยาของแบคทีเรียประจำถิ่นทางเดินอาหารกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ลักษณะการต้านยาต้านจุลชีพของแลคติกแอซิดแบคทีเรียพวจำแนก

ออกได้ 2 ลักษณะคือการต้านยาต้านจุลชีพที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติตามชนิดหรือสกุลของแบคทีเรีย (intrinsic resistance) ซึ่งไม่ถ่ายทอดพันธุกรรมต้านยาไปยังแบคทีเรียตัวอื่น และการต้านยาต้านจุลชีพที่ได้รับมาภายหลัง (acquired resistance) เป็นผลมาจากการกลายพันธุ์หรืออาจมีสื่อกลางจากพลาสมิด (plasmid) ของแบคทีเรียซึ่งสามารถถ่ายทอดพันธุกรรมต้านยาไปยังแบคทีเรียตัวอื่นได้ (Courvalin, 2006) แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่จะใช้เติมในอาหารสัตว์ได้นั้นต้องไม่มีพันธุกรรมต้านยาแบบได้รับมาภายหลัง (European Commission, 2002) แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากทางเดินอาหารสัตว์อาจมีบทบาทเป็นแหล่งกักเก็บพันธุกรรมการต้านยาโดยอาจได้รับผลกระทบจากการใช้สารเร่งการเจริญเติบโต (growth promoter) ในสัตว์ การใช้ยารักษาโรครวมถึงระบบการเลี้ยงสัตว์ที่ใกล้ชิดกับคนหรือสัตว์เลี้ยงอื่นที่อาจปนเปื้อนเชื้อดื้อยาจากคนหรือสัตว์เลี้ยงหรือได้รับพันธุกรรมการต้านยานี้จากแบคทีเรียก่อโรคและถ่ายทอดไปยัง

แบคทีเรียประจำถิ่นทางเดินอาหารหรือแบคทีเรียก่อโรคอื่น (Mathur and Sing, 2005) ดังนั้นการศึกษครั้งนี้จึงได้มุ่งศึกษาถึงรูปแบบความไวรับยาต้านจุลชีพของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากทางเดินอาหารของไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงปล่อยตามชนบท ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งของการคัดเลือกจุลินทรีย์กลุ่มนี้มาเป็นโพรไบโอติกในการเลี้ยงไก่ต่อไป

วิธีการทดลอง

1. เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ได้จากการคัดแยก แลคติกแอซิดแบคทีเรียจากอุจจาระไก่พื้นเมืองของเกษตรกรในเขตอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ได้จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้งหมด 74 ไอโซเลท (isolate) แบ่งตามลักษณะรูปร่าง ได้เป็น รูปร่างแท่ง (rod) 65 ไอโซเลท และรูปร่างกลม (cocci) 9 ไอโซเลท (ไพร์ตน์ และคณะ 2550 (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)) เก็บไว้ในอาหาร Trypticase Soy Broth (Criterion™) ที่เติม 0.6% yeast extract และ 20% glycerol และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C ที่ภาควิชาสัตวแพทยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น นำไอโซเลททั้งหมดมาตรวจแยกในระดับสกุล (genus level identification) โดยพิจารณาถึงลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียแลคติก ร่วมกับการทดสอบลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมีตามวิธีการในคู่มือ Bergey's manual of systematic bacteriology และ Salminen et al (2004)

2. การทดสอบความไวรับยาด้านจุลชีพ

นำแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่เก็บไว้และตรวจแยกในระดับสกุลแล้วทั้ง 74 ไอโซเลท มาทดสอบความไวรับยา ด้วยวิธี disc diffusion (Bauer et al., 1966) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar แทนอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Hinton agar เนื่องจากกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรียเจริญได้ดีในอาหารนี้ (De Man et al., 1960) ทดสอบความไวรับยา

กับ disc ยา 11 ชนิดตามกลุ่มการออกฤทธิ์ยา ดังนี้ กลุ่ม β -Lactam ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ได้แก่ penicillin G ขนาด 10 unit กลุ่ม non β -Lactam ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ erythromycin ขนาด 15 μg , vancomycin ขนาด 30 μg และ bacitracin ขนาด 10 μg กลุ่มออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ nalidixic acid ขนาด 30 μg กลุ่มออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (broad spectrum) ได้แก่ chloramphenicol ขนาด 30 μg และ tetracycline ขนาด 30 μg กลุ่ม aminoglycosides ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย ได้แก่ gentamicin ขนาด 10 μg neomycin ขนาด 30 μg และ streptomycin ขนาด 10 μg และกลุ่มอื่นๆ ที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ nitrofurantoin ขนาด 300 μg disc ยาที่ใช้เป็นของบริษัท Oxoid (Oxoid, Hampshire, England) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

นำแต่ละไอโซเลท (1% inoculum) ถ้ายลงในอาหาร MRS broth บ่มในภาวะ anaerobic ที่ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ใช้ cotton swab ที่ปราศจากเชื้อจุ่มเชื้อแล้วป้ายลงบน plate ที่มีอาหาร MRS agar ใน 3 ทิศทาง (three directions) นำ disc ยา ทั้ง 11 ชนิดวางบนผิวอาหาร นำเข้าบ่มใน anaerobic jar ที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ของเชื้อต่อ disc ยา เป็นมิลลิเมตร ด้วยไม้บรรทัด แต่ละไอโซเลททดสอบต่อ disc ยาทุกชนิด 2 ครั้ง

3. การวิเคราะห์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง

วิเคราะห์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้งของแบคทีเรียแลคติกต่อยาด้านจุลชีพดังนี้ขนาด ≤ 15 มิลลิเมตร หมายถึง เชื้อต้านยา ขนาด 16–20 มิลลิเมตร หมายถึง เชื้อไวรับยาระดับปานกลาง และขนาด ≥ 21 มิลลิเมตร หมายถึง เชื้อมีความไวรับต่อยา (Vlkova et al., 2006)

ผลการทดลอง

การตรวจแยกเชื้อในระดับสกุลของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากอุจจาระของไก่พื้นเมืองทั้งหมด 74 ไอโซเลท พบเชื้อจำนวน 3 สกุล คือ *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. และ *Pediococcus* spp. คิดเป็นร้อยละ 87.84 (65/74) 8.11 (6/74) และ 4.05 (3/74) ตามลำดับ

ผลการทดสอบความไวรับยาต้านจุลชีพของแลคติกแอซิดแบคทีเรียเมื่อวิเคราะห์ตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้งของเชื้อพบว่า กลุ่ม *Lactobacillus* spp. ทุกไอโซเลทมีความไวรับยาต้านจุลชีพต่อ penicillin G และ chloramphenicol และมีความไวรับยาต้านจุลชีพระดับปานกลางถึงความไวรับยาต่อ erythromycin และ nitrofurantoin เชื้อกลุ่ม *Lactobacillus* spp. จำนวน 64 ไอโซเลทมีความไวต่อยาต้านจุลชีพระดับปานกลางถึงความไวรับยาต่อ bacitracin และ จำนวน 59 ไอโซเลทมีความไวรับยาต้านจุลชีพต่อ tetracycline กลุ่ม *Enterococcus* spp. ทุกไอโซเลทมีความไวรับยาต้านจุลชีพต่อ chloramphenicol และ tetracycline และ มีความไวรับยาต้านจุลชีพระดับปานกลางถึงความไวรับยาต่อ penicillin G, erythromycin และ vancomycin เชื้อกลุ่ม *Enterococcus* spp. จำนวน 5 ไอโซเลทมีความไวรับยาต้านจุลชีพต่อ bacitracin และจำนวน 5 ไอโซเลทมีความไวรับยาต้านจุลชีพระดับปานกลางถึงความไวรับยาต่อ nitrofurantoin

และกลุ่ม *Pediococcus* spp. ทุกไอโซเลทมีความไวรับยาต้านจุลชีพต่อ penicillin G, erythromycin และ chloramphenicol และมีความไวรับยาต้านจุลชีพระดับปานกลางถึงความไวรับยาต่อ nitrofurantoin เชื้อกลุ่ม *Pediococcus* spp. จำนวน 2 ไอโซเลทมีความไวรับยาต้านจุลชีพต่อ tetracycline และ จำนวน 2 ไอโซเลทมีความไวรับยาต้านจุลชีพระดับปานกลางต่อ bacitracin (ดังแสดงในตารางที่ 1)

การต้านยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacillus* spp. พบว่าทุกไอโซเลทต้านต่อยาต้านจุลชีพ vancomycin, nalidixic acid, gentamicin, neomycin และ streptomycin เชื้อกลุ่ม *Lactobacillus* spp. จำนวน 6 ไอโซเลทต้านต่อยาต้านจุลชีพ tetracycline และมีเพียง 1 ไอโซเลทเท่านั้นที่ต้านต่อยาต้านจุลชีพ bacitracin กลุ่ม *Enterococcus* spp. พบว่า ทุกไอโซเลทต้านต่อยาต้านจุลชีพ nalidixic acid, gentamicin, neomycin และ streptomycin และเชื้อกลุ่ม *Enterococcus* spp. จำนวน 1 ไอโซเลทต้านต่อยาต้านจุลชีพ 2 ชนิดทั้ง bacitracin และ nitrofurantoin ส่วนกลุ่ม *Pediococcus* spp. พบว่าทุกไอโซเลทต้านต่อยาต้านจุลชีพ vancomycin, nalidixic acid, gentamicin, neomycin และ streptomycin และพบว่ามีเชื้อกลุ่ม *Pediococcus* spp. จำนวน 1 ไอโซเลทต้านต่อยาต้านจุลชีพ 2 ชนิดทั้ง bacitracin และ tetracycline (ดังแสดงในตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ความไวรับยาต้านจุลชีพของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากอุจจาระไก่พื้นเมือง ทดสอบโดยวิธี disc diffusion

Antimicrobial agents	Number of Isolates								
	<i>Lactobacillus</i>			<i>Enterococcus</i>			<i>Pediococcus</i>		
	S ¹	IS ²	R ³	S	IS	R	S	IS	R
PG	65	0	0	3	3	0	2	1	0
E	47	18	0	3	3	0	1	2	0
VA	0	0	65	0	6	0	0	0	3
B	36	28	1	0	5	1	0	2	1
NA	0	0	65	0	0	6	0	0	3
C	65	0	0	3	3	0	2	1	0
T	59	0	6	6	0	0	1	1	1
G	0	0	65	0	0	6	0	0	3
N	0	0	65	0	0	6	0	0	3
S	0	0	65	0	0	6	0	0	3
F	42	23	0	1	4	1	2	1	0

สารปฏิชีวนะ: PG หมายถึง penicillin G 10 ยูนิต; E หมายถึง erythromycin 15 ไมโครกรัม; VA หมายถึง vancomycin 30 ไมโครกรัม; B หมายถึง bacitracin 10ไมโครกรัม; NA หมายถึง nalidixic acid 30 ไมโครกรัม; C หมายถึง chloramphenicol 30 ไมโครกรัม; T หมายถึง tetracycline 30 ไมโครกรัม; G หมายถึง gentamycin 10 ไมโครกรัม; N หมายถึง neomycin 30 ไมโครกรัม; S หมายถึง streptomycin 10 ไมโครกรัม; F หมายถึง nitrofurantoin 300 ไมโครกรัม

¹ มีความไวรับยาต้านจุลชีพ (susceptible)

² มีความไวรับยาต้านจุลชีพระดับปานกลาง (intermediate susceptible)

³ มีความต้านทานยาต้านจุลชีพ (resistance)

ตารางที่ 2 ร้อยละของการต้านยาต้านจุลชีพของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากอุจจาระไก่พื้นเมือง

Antimicrobial testing	% Resistance of lactic acid bacteria isolates based on genus		
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Pediococcus</i>
Vancomycin	100 (65/65)	0 (0/6)	100 (3/3)
Bacitracin	1.54 (1/65)	16.66 (1/6)	33.33 (1/3)
Nalidixic acid	100 (65/65)	100 (6/6)	100 (3/3)
Tetracycline	9.23 (6/65)	0 (0/6)	33.33 (1/3)
Gentamicin	100 (65/65)	100 (6/6)	100 (3/3)
Neomycin	100 (65/65)	100 (6/6)	100 (3/3)
Streptomycin	100 (65/65)	100 (6/6)	100 (3/3)
Nitrofurantoin	0 (0/65)	16.66 (1/6)	0 (0/3)

สรุปและวิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้พบการต้านยาของแลคติกแอซิดแบคทีเรียทุกไอโซเลทต่อยา nalidixic acid และ ยากลุ่ม aminoglycosides ได้แก่ gentamicin, neomycin และ streptomycin สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhou et al (2005) และ Termerman et al (2003) ที่รายงานว่า *Lactobacillus*, *Enterococcus* และ *Pediococcus* ไอโซเลท ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกส่วนใหญ่ต้านต่อยาต้านจุลชีพที่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมลบและยากลุ่ม aminoglycosides การต้านต่อยาเหล่านี้มักมีคุณสมบัติเป็น intrinsic resistance และไม่ถ่ายทอดพันธุกรรมต้านยานี้ไปยังแบคทีเรียตัวอื่น (Ammor et al., 2006) พบการต้านยา vancomycin ของแบคทีเรีย *Lactobacillus* และ *Pediococcus* ทุกไอโซเลท แต่ไม่พบในแบคทีเรีย *Enterococcus* ซึ่ง Salminen et al (1998) รายงานว่าการต้านยา vancomycin ของ *Lactobacillus* และ *Pediococcus* เกิดจาก intrinsic resistance และไม่ถ่ายทอดพันธุกรรมต้านยานี้ไปยังแบคทีเรียตัวอื่นต่างจากการต้านยา vancomycin ของแบคทีเรีย *Enterococcus* ที่มักชักนำให้แบคทีเรียอื่นเกิดการต้านยาต้านจุลชีพชนิดอื่นเพิ่มขึ้นด้วย การศึกษาครั้งนี้พบการต้านยาของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้ต่อยา bacitracin, tetracycline และ

nitrofurantoin คิดเป็นร้อยละ 4.05, 9.46 และ 1.35 ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงการเกิดการต้านยาแบบ acquired resistance ซึ่งอาจเนื่องจากการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่ต้านต่อยาที่ใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในเนื้อสัตว์ (Phillips, 2007) ที่คนนำมาบริโภคหรือให้เนื้อสัตว์แก่สัตว์เลี้ยงที่ปนเปื้อน ยาเหล่านี้หรือการซื้อยารักษาไก่ป่วยเองของเกษตรกร (เชิดชัยและคณะ, 2541) เป็นต้นจากการศึกษาครั้งนี้ยังตรวจพบลักษณะโคโลนีเล็ก ๆ (pinpoint colonies) ภายในบริเวณยับยั้งของสกุล *Lactobacillus* ต่อยา bacitracin และ tetracycline ชนิดละ 1 ไอโซเลท แสดงให้เห็นถึงการกลายพันธุ์ของไอโซเลทเหล่านี้ ที่ทำให้เกิดการดื้อต่อยาต้านจุลชีพได้ (Danielsen and Wind, 2003) จากการศึกษานี้สรุปได้ว่า แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากอุจจาระไก่พื้นเมืองทุกไอโซเลทไวรับยาต้านจุลชีพต่อยา penicillin G, erythromycin และ chloramphenicol และส่วนใหญ่ไวรับยาต้านจุลชีพต่อยา bacitracin, tetracycline และ nitrofurantoin และต้านยาต้านจุลชีพตามธรรมชาติต่อยา vancomycin ยกเว้นสกุล *Enterococcus* ยา nalidixic acid และ ยากลุ่ม aminoglycosides ซึ่งสามารถนำมาคัดเลือกเป็นโพรไบโอติกได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ผู้สนับสนุนทุนสำหรับการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล บัญญัติ เหล่าไพบุลย์ พิษณุรัตน์ แสนไชยสุริยา สุวัฒน์ จิตต์ปรามชัย กัลยา เจือจันทร์ ศิลธรรม วราอศวปิติ กิตติกรณ์ เจนไพบุลย์ กิตติ กุบแก้ว และสำราญ วิจิตรพันธ์. 2541. การเลี้ยงไก่พื้นเมืองของเกษตรกร. รายงานวิจัยเรื่องการเผยแพร่เทคโนโลยีการผลิตไก่พื้นเมืองและลูกผสม. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. หน้า 53-54.

ธงชัย เฉลิมชัยกิจ มณฑล เลิศวรปรีชา และจิโรจ ศศิปรียจันทร์. 2548. รูปแบบการต่ออายุด้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลล่าในไก่บ้านและไก่ฟาร์ม. สัตวแพทยสาร. 56(1): 33- 44.

ไพรัตน์ ศรีแผลง สุทธิพงศ์ อริยะพงษ์ศรีสรรค์ เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ พลสันห่มหาชนธ์. 2550. แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากมูลไก่พื้นเมือง. วารสารสัตวแพทย์ มข. (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์).

Ammor, M. S., Belen Florez, A. and Mayo, B. 2006. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food. Microbiol. (in press).

Bauer, A., W. M. Kirby, J. C. Sherris and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45(4): 493-496.

Bernardeau, M., Guguen, M. and Vernoux. J. P. 2006. Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. FEMS. Microbiol. Rev. (in press).

Courvalin, P. 2006. Antibiotic resistance: the pros and cons of probiotics. Dig. Liver. Dis. 38 (suppl. 2): 261-265.

Danielsen, M., and Wind, A. 2003. Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. Int. J. Food Microbiol. 82: 1-11.

De Man, JC., Rogosa, M. and Sharpe, EM. 1960. A medium for the cultivation of Lactobacilli. J. Appl. Bacteriol. 23: 30-35.

European Commission, 2002. Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the Criteria for Assessing the Safety of Microorganisms Resistant to Antibiotics of Human Clinical and Veterinary Importance. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scan/out64_en.pdf.

Mathur, S., and Singh, R. 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria- a review. Int. J. Food. Microbiol. 105: 281-295.

Nousiainen, J., and Setälä, J. 1998. Lactic acid bacteria as animal probiotics, pp. 431-473. In Salminen, S and von Wright, A (eds). Lactic Acid Bacteria. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York.

Phillips, I. 2007. Withdrawal of growth-promoting antibiotics in Europe and its effects in relation to human health. Int. J. Antimicrob. Agents. (in press).

- Salminen, S., von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., de Vos, W. M., Fonden, R., Saxelin, M., Collins, K., Mogensen, G., Birkeland, SE. and Mattila-Sandholm, T. 1998. Demonstration of safety of probiotics --a review. *Int. J. Food. Microbiol.* 44: 93-106.
- Salminen, S., von Wright, A., and Ouwehand, A. 2004. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Marcel Dekker, Inc., New York. 633 p.
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., and Swings, J. 2003. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *Int. J. Food. Microbiol.* 81: 1-10.
- Vlkova, E., Rada, V., Popelarova, P., Trojanova, I., and Killer, J. 2006. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria isolated from gastrointestinal tract of calves. *Livestock. Sci.* 105: 253-259.
- Zhou, JS., Pillidge, CJ., Gopal, PK., and Gill, HS. 2005. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 98: 211-217.