



เชียงใหม่สัตวแพทยสาร

Chiang Mai Veterinary Journal

ISSN: 1685-9502 (print) 2465-4604 (online)

Website: www.vet.cmu.ac.th/cmjv



รายงานฉบับย่อ

การศึกษาชนิดแบคทีเรียที่แยกได้จากช่องปากของสุนัขและการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ ณ โรงพยาบาลสัตว์เล็ก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ดารณี ภูเก็ต¹ พิจิตรา ชาบวง² ณัฐวุฒิ สถิตเมธี³ วรพัฒน์ ประชาศิลป์ชัย^{4*}

¹คลินิกบ้านรักสัตว์ 49/57-58 ถ.ศรีสุริโยทัย อ. เมือง จ. พิษณุโลก 65000

²สถานสัตว์ทดลองเพื่อการวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร ต. ท่าโพธิ์ อ. เมือง จ. พิษณุโลก 65000

³หน่วยพาราศัลนิททางสัตวแพทย์ ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถ. เลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50100

⁴คลินิกสัตว์เล็ก ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถ. เลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50100

บทคัดย่อ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาชนิดเชื้อแบคทีเรียในช่องปากสุนัขและทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ โดยเก็บตัวอย่างจากช่องปากสุนัขปกติและสุนัขที่มีปัญหาเหงือกอักเสบที่เข้ามาใช้บริการในโรงพยาบาลสัตว์เล็กมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 20 ตัว มาเพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียและทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ จากการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบทั้งหมด 16 ชนิด แบคทีเรียแกรมบวกส่วนใหญ่ที่พบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus epidermidis* ร้อยละ 6.25, 6.25 และ 3.21 ตามลำดับ และแบคทีเรียแกรมลบส่วนใหญ่ที่พบ ได้แก่ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* และ *Pseudomonas* spp. ร้อยละ 17.19 และ 12.5 ตามลำดับ รวมถึงแบคทีเรียที่ไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อได้ประกอบด้วย แบคทีเรียแกรมลบรูปร่างแท่งร้อยละ 12.59 และแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างกลมร้อยละ 6.25 จากการศึกษาพบว่ากลุ่มสุนัขที่แสดงอาการเหงือกอักเสบมีความหลากหลายของชนิดเชื้อแบคทีเรียมากกว่ากลุ่มสุนัขที่มีช่องปากปกติ นอกจากนั้นผลการศึกษาความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพพบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกร้อยละ 100 มีความไวต่ออะม็อกซิซิลลิน คลาวูลานัต ไตรเมธอโรพริม ซัลฟา ร่วมกับเมรท็อกซาโซล เอนโรฟล็อกซาซิน เจนด้ามัยซิน และเซฟาโซลิน แต่มีความไวต่อเพนิซิลลินร้อยละ 50 ส่วนเชื้อแบคทีเรียแกรมลบร้อยละ 100 มีความไวต่อเอนโรฟล็อกซาซินและเจนด้ามัยซิน เชื้อแบคทีเรียแกรมลบร้อยละ 62.5 มีความไวต่อไตรเมธอโรพริมซัลฟา ร่วมกับเมรท็อกซาโซล อีกร้อยละ 37.5 มีความไวต่ออะม็อกซิซิลลิน คลาวูลานัต แต่เชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อเพนิซิลลินถึงร้อยละ 81.2

คำสำคัญ เชื้อแบคทีเรีย, ช่องปากของสุนัข, ความไวต่อสารต้านจุลชีพ

* ผู้รับผิดชอบบทความ วรพัฒน์ ประชาศิลป์ชัย คลินิกสัตว์เล็ก ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ถ.เลียบคลองชลประทาน ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ โทรศัพท์ 053-948055. อีเมล: worapat.p@cmu.ac.th หรือ liverpoolpat@yahoo.com

ข้อมูลบทความ วันที่ได้รับบทความ 5 ธันวาคม พ.ศ.2559 วันที่ได้รับการตีพิมพ์ 27 ธันวาคม พ.ศ.2559 วันที่ตีพิมพ์ออนไลน์ 29 ธันวาคม พ.ศ.2559



Short Communication

Study of bacterial species and antimicrobial sensitivity in canine oral cavity at Small Animal Teaching Hospital, Chiang Mai University

Daranee Phuket¹, Pichitar Charbang², Nattawooti Sthitmatee³, Worapat Prachasilchai^{4,*}

¹ Banraksat Clinic, 49/57-58 Srisuriyotai Rd., Muang, Phisanulok, 6500

² Center of Animal research, Naresuan University, Thapow, Muang, Phisanulok, 65000

³ Department of Veterinary Bioscience and Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Canal Rd., Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100

⁴ Small Animal Clinic, Department of Companion Animal and wildlife, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Canal Rd., Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100

Abstract The aims of this study were to determine bacteria species in oral cavity of canine and their antimicrobial susceptibility. Oral swabs were taken from 20 dogs at the Small Animal Teaching Hospital, Chiang Mai University. Bacterial identification and antimicrobial susceptibility test were revealed. The results presented 16 bacterial species in this study. The predominant gram-positive bacteria were *Staphylococcus aureus* (6.25%), *Corynebacterium* spp. (6.25%) and *Staphylococcus epidermidis* (3.21%), respectively. The predominant gram-negative bacteria were *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (17.19%) and *Pseudomonas* spp. (12.5%), respectively. Moreover, 12.59% of gram-negative rods and 6.25% of gram-negative cocci were species unidentified. This present study showed that gingivitis group was variously bacterial species than normal group. Furthermore, the antimicrobial sensitivity tests of gram-negative bacteria were susceptible to sulfamethoxazole and trimethoprim (62.5%), amoxicillin / clavulanic acid (37.5%), penicillin (50%). Moreover, the gram-negative bacteria were susceptible to cefazolin, enrofloxacin and gentamicin but 81.2% were resistant to penicillin.

Keywords; Bacterial species, Canine oral cavity, Antimicrobial sensitivity

* Corresponding author: Worapat Prachasilchai, Small Animal Clinic, Department of Companion Animal and wildlife, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Canal Rd., Mae Hia, Muang, Chiang Mai, 50100, Tel : 053-948055. E-mail; : worapatp@cmu.ac.th or liverpoolpat@yahoo.com

Article history; received manuscript: 5 December 2016, accepted manuscript: 27 December 2016, published online: 29 December 2016



บทนำ

โรคปริทันต์ (periodontitis disease) เป็นการอักเสบของเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่ยึดเหนี่ยวฟัน เนื้อเยื่อของเหงือก เอ็นที่ยึดเหงือกและฟัน โพรงรากฟัน และเนื้อเยื่อคล้ายกระดูกที่คลุมรากฟันเพื่อช่วยยึดเกาะรากฟัน เป็นโรคที่พบมากที่สุด ในสุนัขสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดคราบจุลินทรีย์ (plaque) เคลือบฟัน โดยโรคปริทันต์เป็นสาเหตุสำคัญในการสูญเสียฟันทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างพื้นฐานของฟันในสุนัข ส่วนใหญ่พบได้ในสุนัขทุกวัยที่มีอายุตั้งแต่ 3 ปีขึ้นไปและพบมากถึงร้อยละ 80 ถึง 90 ของสุนัข ทั้งนี้มีอาการ ได้แก่ เหงือกอักเสบ (gingivitis) เป็นอาการอักเสบของเหงือก และเป็นสาเหตุสำคัญเริ่มต้นของโรคปริทันต์ได้ซึ่งอาการของเหงือกอักเสบที่ไม่รุนแรงจากนั้นจะเพิ่มระดับความรุนแรงและความลึกของการอักเสบมากขึ้นหากไม่ได้รับการดูแลรักษาความสะอาดของช่องปากอย่างถูกวิธี อาการของโรคปริทันต์ในสุนัข ประกอบด้วย สุนัขป่วยมีกลิ่นปากเหม็น ตรวจพบเลือดออกบริเวณเหงือก ฟันผุ หลุด และฟันร่วง มีแผลในช่องปาก ฟันโยก เหงือก ร่น สุนัขป่วยแสดงอาการเบื่ออาหาร

สาเหตุเริ่มแรกของโรคปริทันต์มีสาเหตุจากการมีเศษอาหารสะสมตามซอกฟัน ทำให้มีการสะสมของเชื้อแบคทีเรีย (bacteria) เมื่อเชื้อแบคทีเรียมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นจะส่งผลให้เนื้อเยื่อปริทันต์อักเสบ เกิดการทำลายเยื่อหุ้มฟันและเนื้อเยื่อรอบฟัน มีการอักเสบของเหงือกและเนื้อเยื่อในช่องปาก เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเกิดการก่อตัวของหินน้ำลายกลายเป็นหินปูน (calculus formation) เกาะที่ตำแหน่งของฟัน ในสุนัขที่มีกรณีการอักเสบของเนื้อเยื่อปริทันต์ระดับรุนแรงมาก ส่งผลทำให้กระดูกกรามเปราะแตกหักง่าย นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียอาจเข้าสู่กระแสโลหิตทำให้ร่างกายของสุนัขเกิดการติดเชื้อในระบบอื่นของร่างกาย เช่น หัวใจ ตับ และไต ทำให้สัตว์เสียชีวิต ซึ่งความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนของเชื้อแบคทีเรียรวมถึงสารที่

เชื้อแบคทีเรียสร้าง ดังนั้นจึงเป็นที่มาที่ทำให้เกิดความสนใจในการทำการศึกษานิตของแบคทีเรียในช่องปาก สุนัขและทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ ณ โรงพยาบาลสัตว์เล็กมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สุนัขเป็นสมาชิกในครอบครัว โดยให้มีส่วนร่วมในกิจกรรมของครอบครัว สุนัขมักแสดงความรักต่อเจ้าของโดยการเลีย หยอด หรือมีการเล่นที่รุนแรง และบางช่วงเวลาเมื่อมีสิ่งกีดขวางทำให้เกิดความเจ็บปวดหรือความเครียด สุนัขจะสูญเสียความมั่นคงทางจิตใจและหวั่นไหวกับสภาพแวดล้อมโดยรอบ สุนัขบางตัวมีอาการซึมเศร้า ไม่กินอาหาร ตื่นเต้น หวั่นวิตก หวาดกลัว หรือหวาดระแวงเกินกว่าเหตุ และพยายามหาทางหนีไปจากสภาพแวดล้อมที่เป็นอยู่ในขณะนั้น จึงทำให้เกิดการต่อสู้ หรือกัดเจ้าของอย่างไม่มีเหตุผล รวมถึงสุนัขด้วยตัวเอง ซึ่งจะทำให้เกิดบาดแผล หากปล่อยให้ไม่ทำการรักษาจนกระทั่งบาดแผลมีการติดเชื้อที่มีความรุนแรงมากได้ โดยบาดแผลที่มาทำการรักษานั้นมีทั้งลักษณะของบาดแผลที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ ซึ่งสาเหตุการติดเชื้อได้ทั้งจากสิ่งแวดล้อมภายนอกหรือเป็นเชื้อที่มีอยู่ในช่องปากของสุนัข (Goldstein et al., 1978; Meyers et al., 2008)

ภายในช่องปากของสุนัขมักจะมีคราบหินปูน ติดอยู่บริเวณตัวฟันและเหงือก ซึ่งเป็นแหล่งของเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดและเป็นปัจจัยสำคัญทำให้เกิดโรคติดเชื้อระหว่างสัตว์สู่คนได้ทั้งจากการสัมผัสโดนน้ำลายหรือผ่านทางบาดแผล นอกจากนี้แบคทีเรียในช่องปากของสุนัขยังจัดเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคภายในช่องปาก ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญที่พบมากในทางคลินิก เมื่อมีการติดเชื้อแบคทีเรียบริเวณเนื้อเยื่อปริทันต์อันประกอบด้วย ฟัน เหงือก กระดูกรองรับฟัน เอ็นยึดปริทันต์ และเคลือบรากฟัน โดยเริ่มจากการทำลายคอลลาเจนเนื้อเยื่อเหงือกเกิดเหงือกอักเสบ การเคลื่อนของฟัน มีช่องว่างระหว่างฟัน และการสลายของกระดูกตามมา (Offenbacher et al., 1996)



ปัญหาของโรคปริทันต์ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในระยะแรกจะมีการอักเสบเล็กน้อย เหงือกรอบตัวโคนฟันมีสีแดงเล็กน้อย จนถึงระดับที่มีความรุนแรงที่สุดจะพบลักษณะเหงือกมีสีแดง เหงือกบวมอักเสบ ถ่ายรังสีพบการหลุดของเหงือกมากกว่าร้อยละ 50 มีเลือดไหลออกมาเอง ซึ่งเกิดร่วมกันของกลไกการทำงานของร่างกายในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย (Abuquerque et al., 2012)

สารต้านจุลชีพเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคติดเชื้อรวมถึงโรคปริทันต์ด้วย ซึ่งการใช้สารต้านจุลชีพอาจส่งผลทำให้เกิดการดื้อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรีย นับวันจะเป็นปัญหาที่ใหญ่และซับซ้อนมากขึ้นทุกขณะส่งผลต่อสุขภาพของสุนัข โดยการใช้สารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียเกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียมีการปรับตัวต่อสารต้านจุลชีพโดยวิธีการต่างๆ เพื่อที่จะขัดหรือลดประสิทธิภาพของสารต้านจุลชีพ โดยการใช้สารต้านจุลชีพอาจเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติของเชื้อ หรืออาจเกิดการใช้สารต้านจุลชีพที่ไม่เหมาะสม การดื้อสารต้านจุลชีพนั้นมีการแพร่กระจายไปทุกส่วนของโลก ปัจจุบันพบการดื้อสารต้านจุลชีพหลายชนิดมากขึ้น มีรายงานการดื้อสารต้านจุลชีพทุกชนิดในแบคทีเรียบางตัวทำให้เกิดโรคติดเชื้อที่รักษาด้วยสารต้านจุลชีพไม่ได้ผล ซึ่งจะเพิ่มทั้งอัตราการเจ็บป่วย อัตราการตาย สิ้นเปลืองทั้งค่ายา ค่าใช้จ่ายในการรักษาและบุคลากรทางการแพทย์ (Luvira, 2006; Soares et al., 2012)

จาก ข้อมูล ที่ ก ล่า ว มา และ ปัจจุบัน ทางโรงพยาบาลสัตว์เล็ก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ยังไม่มีรายงานข้อมูลด้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปากสุนัขและความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์ในสุนัขกับชนิดของเชื้อแบคทีเรียในช่องปากและผลทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพโดยแบคทีเรียในช่องปากนั้น อาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคได้ (Abrahamian and Goldstein, 2011) ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการศึกษาชนิดของเชื้อแบคทีเรียในช่องปากสุนัขทั้งที่ปกติและเหงือก

อักเสบและทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นในการรักษากรณีสัตว์ป่วยทางคลินิกต่อไป

วิธีการศึกษา

ประชากรเป้าหมาย

สุนัขในจังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2557 จนถึงเดือนมกราคม พ.ศ.2559

ขนาดตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

ทำการเก็บตัวอย่างจากช่องปากสุนัข โดยทำการเลือกตัวอย่างจากสุนัขที่เข้ามาใช้บริการทำวัคซีนและศัลยกรรมที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 20 ตัวอย่าง สุนัขที่ถูกคัดเลือกมาเป็นตัวอย่างของการศึกษาวิจัยต้องเข้ารับการตรวจร่างกายเบื้องต้น โดยประเมินคุณลักษณะสี่เยื่อเมือก อัตราการเต้นของหัวใจ เสียงของหัวใจ อัตราการหายใจ เสียงปอด อุณหภูมิร่างกาย สภาวะการแห้งน้ำ นอกจากนี้ยังมีเงื่อนไขอื่นเป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างอีกด้วย คือ

1. สุนัขต้องได้รับการฉีดวัคซีนโรคพิษสุนัขบ้าประจำปี
2. สุนัขต้องไม่อยู่ในช่วงที่ได้รับยาปฏิชีวนะ และยาที่เกี่ยวข้องกับการกดภูมิคุ้มกันในระยะเวลา 3 เดือน
3. เป็นสุนัขที่ได้รับความยินยอมจากเจ้าของในการเก็บตัวอย่าง
4. ไม่จำกัดเพศ อายุ น้ำหนัก และสายพันธุ์

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากช่องปากของสุนัข โดยใช้ sterile cotton swab จากชุดเก็บตัวอย่างของ Stuart's transport medium ฤ ในช่องปากและฟันของสุนัขทางด้าน buccal และ lingual ทั้งด้านบนและด้านล่าง



หลังจากนั้นนำชุดเก็บตัวอย่างเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจวิเคราะห์ระบุนาชนิดของเชื้อแบคทีเรียภายในห้องปฏิบัติการต่อไป

ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก

นำเชื้อจาก Stuart's transport medium ลงใน blood agar (Difco Laboratories, MD, USA) และ MacConkey agar (Difco Laboratories) โดยให้ปลายสำลีพันปลายไม้ที่ใช้เก็บตัวอย่างถูกลงไปบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นรูปวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-2.0 เซนติเมตร โดยดูให้ทั่วครบทุกด้านของปลายสำลีพันปลายไม้แล้วเขี่ยเชื้อเพื่อแยกเชื้อให้ขึ้นอย่างกระจายบนหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนำมาเลือกโคโลนีที่มีความแตกต่างกันอย่างน้อย 10 โคโลนี นำมาเขี่ยลงที่ blood agar และ MacConkey บ่มอีกครั้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อให้ได้เชื้อเป็น single colony พร้อมทั้งจดบันทึกลักษณะของโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการย้อมแกรม ดูรูปร่างของแบคทีเรีย (Holt et al., 1994) ณ ห้องปฏิบัติการกลาง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ (antimicrobial susceptibility test)

ทำการทดสอบและแปลผลความไวต่อสารต้านจุลชีพของแบคทีเรียชนิดใช้อากาศด้วยวิธี disk diffusion test ตามวิธีของ manual of antimicrobial susceptibility testing (Lalitha, 2004) โดยเตรียมเชื้อความเข้มข้น 0.5 McFarland แล้วนำมาป้ายลงใน Mueller Hinton agar (MHA: Difco Laboratories) ให้ทั่วทั้งจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 10-15 นาที จากนั้นทำการวาง กระดาษกรองซุบสารต้านจุลชีพ 6 ชนิด คือ Gentamicin, Amoxicillin/Clavulanic acid, Sulfamethoxazole/Trimethoprim, Penicillin,

Enrofloxacin และ Cefazolin นำไปบ่มเพาะเชื้อให้เจริญเติบโตที่สภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของส่วนใส (zone of inhibition) ที่เกิดขึ้นของยาด้านจุลชีพ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

รวบรวมผลและวิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา (descriptive) รายงานชนิดเชื้อของแบคทีเรียที่พบในช่องปากของสุนัขและผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียเป็นร้อยละ

ผลการศึกษา

จากการศึกษาเพาะเชื้อแบคทีเรียในช่องปากของสุนัขทั้งหมด 20 ตัว ซึ่งประกอบด้วยสุนัขกลุ่มที่ไม่พบการอักเสบของเหงือกจำนวน 4 ตัว และสุนัขกลุ่มที่มีการอักเสบของเหงือกจำนวน 16 ตัว ที่ย้อมสีแกรมตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี เช่น การทดสอบออกซิเดสและการทดสอบแคตาเลส เพื่อระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรีย พบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมด 6 ชนิด 13 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 20.31 และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบทั้งหมด 13 ชนิด คิดเป็นร้อยละ 79.68 ดังตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างแท่ง จากเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด 64 ไอโซเลต เมื่อทำการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ไอโซเลตได้ตามลักษณะสุขภาพช่องปาก ในกลุ่มที่ไม่มีอาการอักเสบของเหงือกต่อกลุ่มที่มีการอักเสบของเหงือกได้ ดังนี้ *Staphylococcus aureus* (0/4), *Staphylococcus epidermidis* (1/1), *Micrococcus spp.* (0/1), *Streptococcus pyogenes group A* (0/1), *Corynebacterium spp.* (0/4), *Lactobacillus spp.* (1/0), *Shigella sonnei* (2/0), *Proteus penneri* (1/0), *Serratia liquefaciens* (0/1), *Klebsiella pneumonia* (0/2), *Pseudomonas spp.* (1/7), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (2/9),



Achromobacter spp. (1/1), *Haemophilus* spp. (1/0), *Moraxella* spp. (3/3), *Neisseria* spp. (0/3), แกรมลบรูปร่างแท่ง (3/7), แกรมลบรูปร่างกลม (2/2) โดยในสุนัขกลุ่มที่ไม่มีการอักเสบของเหงือกพบเชื้อ

แบคทีเรียทั้งหมด 11 ชนิด ในขณะที่สุนัขกลุ่มที่มีเหงือกอักเสบสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ถึง 16 ชนิด ดังตารางที่ 1

Table 1 The results of bacterial culture from 20 canine oral samples

Number of sample	The type of bacteria	Magnitude (Isolate)	Oral health of dogs	
			Normal (n=4)	Gingivitis (n=16)
Gram positive cocci bacteria				
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (6.25%)	0	4 (6.25%)
2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2 (3.21%)	1 (1.56%)	1 (1.56%)
3	<i>Micrococcus</i> spp.	1 (1.56%)	0	1 (1.56%)
4	<i>Streptococcus pyogenes</i> group A	1 (1.56%)	0	1 (1.56%)
Total		8 (12.5%)	1 (1.56%)	7 (10.94%)
Gram positive rod bacteria				
5	<i>Corynebacterium</i> spp.	4 (6.25%)	0	4 (6.25%)
6	<i>Lactobacillus</i> spp.	1 (1.56%)	1 (1.56%)	0
Total		5 (7.81%)	1 (1.56%)	4 (6.25%)
Gram-negative rod bacteria				
7	<i>Shigella</i> sonnei	2 (3.21%)	0	2 (3.21%)
8	<i>Proteus</i> penneri	1 (1.56%)	1 (1.56%)	0
9	<i>Serratia</i> liquefaciens	1 (1.56%)	0	1 (1.56%)
10	<i>Klebsiella pneumonia</i>	2 (3.21%)	0	2 (3.21%)
11	<i>Pseudomonas</i> spp.	8 (12.5%)	1 (1.56%)	7 (10.94%)
12	<i>Actinobacillus</i> actinomycetemcomitans	11 (17.19%)	2 (3.21%)	9 (14.06%)
13	<i>Achromobacter</i> spp.	2 (3.21%)	1 (1.56%)	1 (1.56%)
14	<i>Haemophilus</i> spp.	1 (1.56%)	1 (1.56%)	0
15	TSI K/N-, oxidase+, non motile	6 (9.38%)	1 (1.56%)	5 (7.81%)
16	TSI A/A-, oxidase+, non motile	2 (3.21%)	1 (1.56%)	1 (1.56%)
Total		36 (56.25%)	8 (12.5%)	28 (43.75%)
Gram-negative cocci bacteria				
17	<i>Moraxella</i> spp.	6 (9.38%)	3 (4.69%)	3 (4.69%)
18	<i>Neisseria</i> spp.	3 (4.69%)	0	3 (4.69%)
19	TSI , A/A-, oxidase -	4 (6.25%)	2 (3.21%)	2 (3.21%)
20	Unidentification	2 (3.21%)	1 (1.56%)	1 (1.56%)
Total		15 (23.44%)	6 (9.38%)	9 (14.06%)



ผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากช่องปากสุนัขต่อยาต้านจุลชีพทั้ง 6 ชนิด โดยเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่นำมาทดสอบ 10 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 15.63 ของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่ทดสอบ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* group A, *Corynebacterium spp.* และ *Lactobacillus spp.* พบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกร้อยละ 100 มีความไวต่อยา Amoxicillin/Clavulanic acid, Enrofloxacin, Gentamicin, Cefazolin, Sulfamethoxazole/trimethoprim ส่วนร้อยละ 50 มีความไวต่อยา Penicillin แสดงดังในรูปที่ 1 สำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่นำมาทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ 16 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 25 ของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด ได้แก่ *Shigella sonnei*, *Proteus penneri*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella pneumonia*, *Achromobacter spp.*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* และ *Pseudomonas spp.* พบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจากตัวอย่างในช่องปากของสุนัขร้อยละ 100 มีความไวต่อยา Enrofloxacin และ Gentamicin ร้อยละ 62.5 มีความไวต่อยา Sulfamethoxazole/trimethoprim ร้อยละ 37.5 มีความไวต่อยา Amoxicillin/Clavulanic acid และร้อยละ 81.2 มีความต้านทานต่อยา Penicillin (รูปที่ 1)

สรุปผลและวิจารณ์

จากการเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาเชื้อแบคทีเรียภายในช่องปากของสุนัข 20 ตัวพบเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเพาะแยกได้เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มที่เจริญได้ในที่มีอากาศ (aerobic bacteria) และแบคทีเรียพวกเจริญได้ดีในสภาวะที่มีอากาศและในสภาวะที่ไม่มีอากาศก็สามารถที่จะเจริญได้แต่ไม่ดี (facultative anaerobic bacteria) และพบเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่

เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและรองลงมาเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ตามลำดับซึ่งผลการทดลองเป็นไปตามผลงานวิจัยที่ผ่านมาที่ได้ทำการศึกษาในมนุษย์สุนัขและแมว (Daniluk et al., 2005; Zambori et al., 2012) รวมถึงเชื้อแบคทีเรียที่พบได้บ้าง ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae คือ *Shigella sonnei*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus penneri* และ *Klebsiella pneumonia* ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ และพืช นอกจากนี้ยังพบในลำไส้ของคนและสัตว์ซึ่งเชื้อกลุ่มนี้เป็นได้ทั้ง true pathogen และ opportunistic pathogen การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งเนื่องจากพบเชื้อ *A. actinomycetemcomitans* ที่คัดแยกได้จากทั้งช่องปากของสุนัขที่มีสุขภาพช่องปากปกติไม่มีการอักเสบของเหงือกและกลุ่มที่มีอาการอักเสบของเหงือกและจากผลการศึกษายังพบอีกว่าร้อยละการพบเชื้อในสุนัขที่มีอาการของเหงือกอักเสบมากกว่าสุนัขที่มีช่องปากปกติ ซึ่ง *A. actinomycetemcomitans* เป็นสาเหตุสำคัญของโรคปริทันต์อักเสบทั้งแบบชนิดอักเสบชนิดรุนแรง (aggressive periodontitis) และแบบอักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic periodontitis) ได้ (Dogan et al., 2003; Imbronito et al., 2008) จากการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียที่พบในช่องปากและเป็นสาเหตุการก่อโรคในสุนัขโดยวิธี disc diffusion susceptibility test ผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ 6 ชนิดพบว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจากตัวอย่างในช่องปากของสุนัข ให้ผลเป็นไปในแนวทางเดียวกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่พบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกสามารถติดต่อสารต้านจุลชีพได้ (Baquero, 1997; Rice, 2006; Moellering, 1998) มีงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าเชื้อ *S. intermedius* และ *S. aureus* มีความไวต่อ Penicillin G ร้อยละ 72 และร้อยละ 7 ตามลำดับ ในขณะที่ร้อยละ 100 ของเชื้อทั้งสองชนิดไวต่อ Oxacillin (Talan et al., 1989)



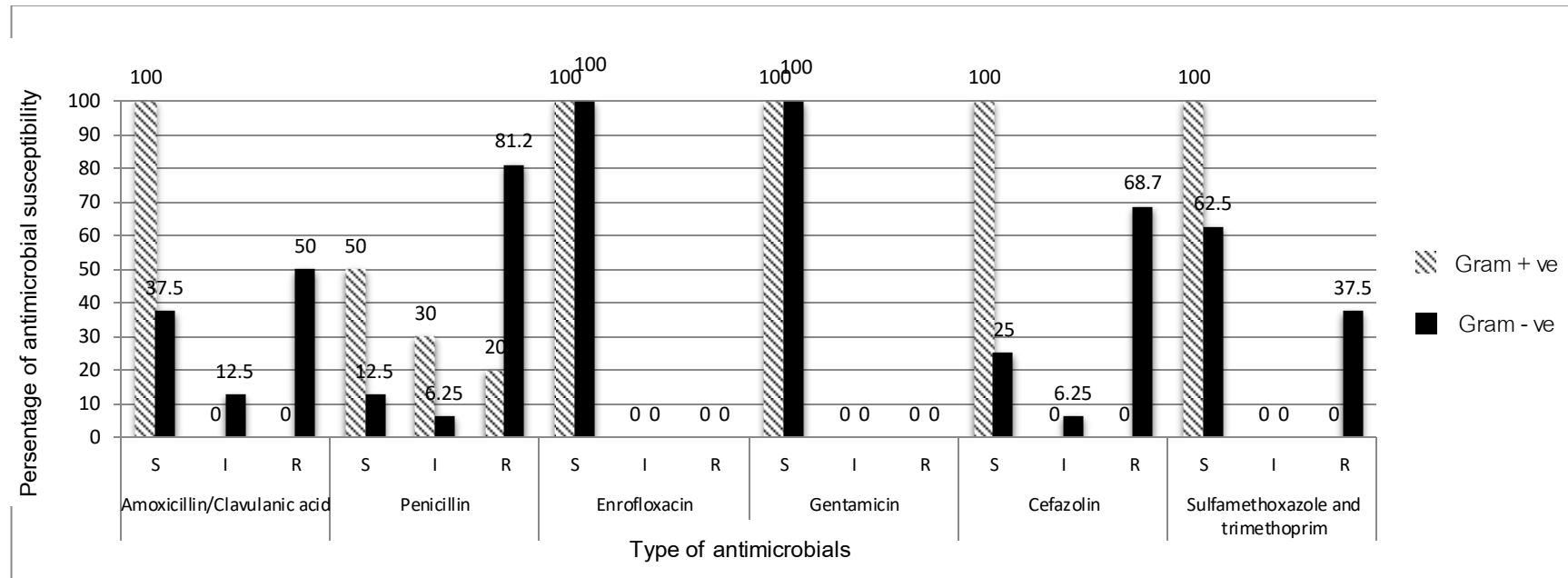


Figure 1 Comparison of antimicrobial susceptibility test from 6 antimicrobials (S = susceptible, I = intermediate, R = resistance)

Note; Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* group A, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*

Gram-negative bacteria such as *Shigella sonnei*, *Proteus penneri*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella pneumonia*, *Achromobacter spp.*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Pseudomonas spp.*



ผลการทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบพบว่าร้อยละ 100 (13/13) มีความไวต่อ Enrofloxacin และ Gentamicin ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่กล่าวไว้ว่ากลุ่ม Ciprofloxacin, Enrofloxacin และ Norfloxacin ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ (Prescott and Yielding, 1990) สำหรับ Sulfamethoxazole/trimethoprim นั้นเริ่มมีรายงานการติดต่อสารต้านจุลชีพกลุ่มนี้ต่อเชื้อแบคทีเรียบ้างแล้ว (Pedersen et al., 2007; Grayson et al., 1990) และยังพบอีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อ Penicillin ซึ่งเป็นไปตามผลการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา (Schroeder et al., 2002) ที่พบการติดต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น เชื้อ *E.coli* จากคนและเนื้อสัตว์ มีการติดต่อสารต้านจุลชีพชนิด Ampicillin ($p < 0.001$), Sulfonamide ($p < 0.01$) และ gentamicin ($p < 0.001$)

จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สามารถตรวจยืนยันเชื้อได้เพียงส่วนหนึ่งของประชากรแบคทีเรียก่อโรคชนิดใช้อากาศ แต่ไม่รวมถึงกลุ่มของแบคทีเรียชนิดที่ไม่ใช้อากาศ ซึ่งเป็นกลุ่มของแบคทีเรียก่อโรคในช่องปากของสุนัขได้เช่นกันจากผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพในห้องปฏิบัติการ บ่งชี้ถึงปัญหาการติดต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่มีการติดต่อ Penicillin ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการที่เชื้อแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงรหัสพันธุกรรมให้เกิดการติดต่อสารต้านจุลชีพเป็นสาเหตุที่สำคัญและน่าสนใจในการเรียนรู้เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับทำการศึกษาวิจัยในอนาคตเพื่อพัฒนาแนวทางการรักษาด้านคลินิกให้เหมาะสมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
บุคลากรและเจ้าของสัตว์ป่วย

เอกสารอ้างอิง

- Abrahamian, F.M., Goldstein, E.J., 2011. Microbiology of animal bite wound infections. Clin Microbiol Rev. 24: 231-246.
- Albuquerque, C., Morinha, F., Requicha, J., Martins, T., Dias, I., Guedes-Pinto, H., Bastos E., Vagas, C., 2012. Canine periodontitis: the dog as an important model for periodontal studies. Vet J. 191: 299-305.
- Baquero, F., 1997. Gram-positive resistance: challenge for the development of new antibiotics. J Antimicrob Chemother. 39: 1-6.
- Daniluk, T., Tokajuk, G., Cylwik-Rokicka, D., Rozkiewicz, D., Zaremba, M.L., Stokowska, W., 2005. Aerobic and anaerobic bacteria in subgingival and supragingival plaques of adult patients with periodontal disease. Adv Med Sci. 51: 81-85.
- Dogan, B., Antinheimo, J., Cetiner, D., Bodur, A., Emingil, G., Buduneli, E., Uygur, C., Firatli, E., Lakio, L., Asikainen, S., 2003. Subgingival microflora in Turkish patients with periodontitis. J Periodontol. 74: 803-814.
- Goldstein, E.J., Citron, D.M., Wield, B., Blachman, U., Sutter, V.L., Miller, T.A., Finegold, S.M., 1978. Bacteriology of human and animal bite wounds. J Clin Microbiol. 8: 667-672.
- Grayson, M.L., Thauvin-Eliopoulos, C., Eliopoulos, G.M., Yao, J.D., DeAngelis, D.V., Walton, L., Woolley, J.L., Moellering, Jr R.C., 1990. Failure of trimethoprim-sulfamethoxazole therapy in experimental enterococcal endocarditis. Antimicrob Agents Chemother. 34: 1792-1794.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T., 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th edn. Baltimore: Williams and Wilkins, 75- 121.



- Imbronito, A.V., Okuda, O.S., Maria de Freitas, N., Moreira Lotufo, R.F., Nunes, F.D., 2008. Detection of herpesviruses and periodontal pathogens in subgingival plaque of patients with chronic periodontitis, generalized aggressive periodontitis, or gingivitis. *J Periodontol.* 79: 2313-2321.
- Lalitha, M.K., 2004. Manual on antimicrobial susceptibility testing. Performance standards for antimicrobial testing: Twelfth Informational Supplement, 56238: 454-456.
- Luvira, V., 2006. Overview of antibiotic resistance. *Songklanagarind Medical Journal.* 24: 453-459.
- Meyers, B., Schoeman, J.P., Goddard, A., Picard, J., 2008. The bacteriology and antimicrobial susceptibility of infected and non-infected dog bite wounds: fifty cases. *Vet microbial.* 127: 360-368.
- Moellering, R.C. Jr, 1998. Problems with antimicrobial resistance in gram-positive cocci. *Clin Infect Dis.* 26: 1177-1178.
- Offenbacher, S., 1996. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol.* 1: 821-878.
- Pedersen, K., Pedersen, K., Jensen, H., Finster, K., Jensen, V.F., Heuer, O.E., 2007. Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs. *J Antimicrob Chemother.* 60: 775-781.
- Prescott, J.F., Yielding, K.M., 1990. In vitro susceptibility of selected veterinary bacterial pathogens to ciprofloxacin, enrofloxacin and norfloxacin. *Can J Vet Res.* 54: 195.
- Rice, L.B., 2006. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *Am J Infect Control.* 34: S11-S19.
- Schroeder, C.M., Meng, J., Zhao, S., DebRoy, C., Torcolini, J., Zhao, C. McDermott, P.F., Wagner, D.D., Walker, R.D., White, D.G., 2002. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, O128 and O145 from animals and humans. *Emerg Infect Dis.* 8: 1409-1414.
- Soares, G.M.S., Figueiredo, L.C., Favari, M., Cortelli, S.C., Duarte, P.M., Feres, M., 2012. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *J Appl Oral Sci.* 20: 295-304.
- Talan, D.A., Staats, D., Staats, A., Goldstein, E.J., Singer, K., Overturf, G.D., 1989. *Staphylococcus intermedius* in canine gingiva and canine-inflicted human wound infections: laboratory characterization of a newly recognized zoonotic pathogen. *J Clin Microbiol.* 27: 78-81.
- Zambori, C., Tirziu, E., Nichita, I., Cumpănasiu, C., Gros, R.V., Seres, M., Mladin, B., Mot, D., 2012. Biofilm implication in oral diseases of dogs and cats. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies.* 45: 208-212.

