

RESEARCH ARTICLE

Antimicrobial Activity of Neomycin against Bacteria Isolated from Otitis Externa in Dogs

Arinee Chatchawanchonteera^{1*}, Kamolchai Trongwanichnam², Jirapat Arunorat³,
Chotika Siriwalailak³, Thantip Rungsang³

Abstract

Objective—To evaluate antimicrobial activity of neomycin against bacteria isolated from otitis externa in dogs.

Materials and Methods—Neomycin was diluted by 2 fold dilution and tested against 66 bacterial isolates from dogs with otitis externa by microdilution broth method. *E.coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and gentamicin were also tested as standard controls. Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) from each test were determined.

Results—Neomycin can inhibit both gram-negative bacteria: *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. and *Proteus mirabilis* with MIC values of 2.62, 3.52, 4.65, 4.86, 9.06 and 60.70 µg/ml and MBC values of 3.75, 14.77, 38.46, 50.04, 11.99 and 215.16 µg/ml, respectively and gram-positive bacteria: β -hemolytic *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus* spp. with MIC values of 2.56, 28.38, 15.41 and MBC values of 14.12, 76.44, 37.77 µg/ml, respectively.

Conclusion—MIC values of neomycin against Gram-positive and Gram-negative bacteria showed no significant difference ($P>0.05$), but significant difference of MBC ($P<0.01$).

KKU Vet J. 2011;21(1):69-77.

<http://vmj.kku.ac.th/>

Keywords: Neomycin; Otitis externa; Antimicrobial activity; Dog

¹Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

²Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, 10900

³ Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

*Corresponding author E-mail: arinee@kku.ac.th

ผลการต้านจุลชีพของยานีโอมัยซิน ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจาก ช่องหูส่วนนอกอักเสบที่เพาะแยกได้จากสุนัข

อารินี ชัชวาลชลธีระ^{1*}, กมลชัย ตรงวานิชนาม², จิรภัทร อรุโณรัตน์³,
โชติกา สิริวัลย์ลักษณ์³, ธารทิพย์ รุ่งแสง³

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ การศึกษานี้เป็นการศึกษาคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียซึ่งก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัขของยานีโอมัยซิน

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ โดยการเตรียมนานีโอมัยซินความเข้มข้นลดลง 2 เท่าตามลำดับ และทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบ ที่เพาะแยกได้จากช่องหูสุนัขป่วยจำนวน 66 ตัวอย่าง โดยวิธี microdilution broth method โดยมี *E.coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และเจนนามัยซิน เป็นตัวควบคุมมาตรฐาน ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของยานีโอมัยซิน โดยบันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาในการยับยั้งจุลชีพ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อจุลชีพ (MBC)

ผลการศึกษา ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. และ *Proteus mirabilis* มีค่า MIC เป็น 2.62, 3.52, 4.65, 4.86, 9.06 และ 60.70 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และค่า MBC เป็น 3.75, 14.77, 38.46, 50.04, 11.99 และ 215.16 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และสำหรับแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ β -hemolytic *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus* spp. ค่า MIC มีค่าเป็น 2.56, 28.38 และ 15.41 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และค่า MBC เป็น 14.12, 76.44 และ 37.77 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ข้อสรุป ยานีโอมัยซิน สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัขได้โดยมีค่า MIC ของยานีโอมัยซินต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ค่า MBC มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2554;21(1):69-77.

<http://vmj.kku.ac.th/>

คำสำคัญ: นีโอมัยซิน ช่องหูส่วนนอกอักเสบ ฤทธิ์การต้านจุลชีพ สุนัข

¹ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

²ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

³คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

*ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ E-mail: arinee@kku.ac.th

บทนำ

ภาวะหูอักเสบในสุนัข เป็นกลุ่มความผิดปกติที่พบได้ค่อนข้างบ่อยในการรักษาทางสัตวแพทย์ [1] ซึ่งพบว่าร้อยละ 5-20 ของความผิดปกติที่เกิดกับสุนัขที่มารักษา และส่วนของช่องหูที่พบได้มากที่สุดนั่นคือการอักเสบของหูส่วนนอก (Otitis Externa) ซึ่งลักษณะอาการที่พบนั้นจะพบได้ทั้งแบบเฉียบพลันหรือแบบเรื้อรัง [2] โดยทั่วไปสุนัขจะมีอาการคันและเกาหู กลิ่นเหม็น มีสิ่งคัดหลั่งออกมาจากช่องหู ช่องหูมีการบวมอักเสบ มีการคันหรือเอียงหัวไปด้านใดด้านหนึ่ง มีอาการเจ็บรอบใบหู และมักทำให้สุนัขมีพฤติกรรมที่เปลี่ยนไป เช่น ซึม หงุดหงิดง่าย เบื่ออาหาร หรือเมื่อสัมผัสบริเวณหูจะแสดงอาการก้าวร้าวออกมา เป็นต้น [3]

สาเหตุของการเกิดการอักเสบของหูส่วนนอกนั้น มีได้หลายสาเหตุ ซึ่งสาเหตุใ้มนำของการเกิดโรคได้แก่ ลักษณะกายวิภาคของใบหูสุนัข สุนัขที่มีหูปรกและทำความสะอาด การจัดการดูแลที่ไม่เหมาะสม ช่องหูเปียกชื้น [4] ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เกิดนั้นแบ่งได้เป็น 2 แบบคือ สาเหตุปฐมภูมิ ได้แก่ ปริติภายนอกต่างๆ ได้แก่ โรइनหู แบททีเรีย เชื้อรา สิ่งแปลกปลอมต่างๆ ฝุ่นหรือเกสรดอกไม้ที่ก่อให้เกิดการแพ้ ความผิดปกติของต่อมไร้ท่อในร่างกาย การได้รับบาดเจ็บ เป็นต้น ส่วนสาเหตุทุติยภูมินั้นมักจะเกิดต่อเนื่องจากสาเหตุใ้มนำ ร่วมกับการเกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนได้ เช่น ยีสต์ แบททีเรีย และการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา [5] ในส่วนของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการอักเสบของช่องหูที่พบได้มีหลายชนิด ได้แก่ แบททีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ กลุ่ม Enterobacteriaceae เช่น *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Enterobacter* spp. และกลุ่มอื่นๆเช่น *Pseudomonas aeruginosa* เป็นต้น [1,6]

ในส่วนของการรักษาส่วนมากเป็นการรักษาแบบเฉพาะที่ การเลือกการรักษาจะขึ้นอยู่กับสาเหตุของปัญหาและภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้น การให้ยาปฏิชีวนะจะใช้สำหรับการติดเชื้อแบคทีเรีย [7] ส่วนยาต้านเชื้อราจะใช้สำหรับการติดเชื้อยีสต์ การให้ยาไกลโคคอร์ติคอยด์ เช่น เด็กซา-เมธาโซนมักจะใช้ในรูปแบบของยาหยอดเพื่อลดการอักเสบในช่องหู [8] กรณีปัญหาช่องหูที่เกิดมาจากโรคอื่นๆในร่างกาย เช่น ความผิดปกติทางฮอร์โมน หรือการแพ้ จะต้องให้การรักษาสัตว์ทั้งตัว ไม่เฉพาะแต่ช่องหู เช่น การเสริมฮอร์โมน หรือตรวจทดสอบการแพ้ เป็นต้น การรักษาโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในปัจจุบันนิยมใช้ยาต้านจุลชีพ ยาต้านเชื้อรา และยาในกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ร่วมกัน [8] ซึ่งให้ผลการรักษาที่ค่อนข้างดี แต่มีข้อจำกัดในด้านผลข้างเคียงของยาต่อตัวสัตว์ โดยเฉพาะสัตว์ที่มีเงื่อนไขทางร่างกายที่ไม่เหมาะสม เช่น โรคตับและโรคไต และในบางรายก็ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยวิธีการดังกล่าว จึงมีการพัฒนาและคิดค้นยาชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพการรักษาในระดับเดียวกันหรือใกล้เคียง แต่มีความปลอดภัยต่อร่างกายมากขึ้น [9]

นีโอมัยซิน (neomycin) เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ ที่ออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย โดยจับกับ 30s ribosomal subunit ของแบคทีเรีย ซึ่งโดยทั่วไปนีโอมัยซินชนิดกินมักใช้ในการรักษาการติดเชื้อของทางเดินอาหาร และใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ก่อนที่จะทำการผ่าตัดลำไส้ใหญ่ส่วนโคลอน และใช้ในการลดแบคทีเรียที่สามารถผลิตแอมโมเนีย ในการรักษาโรคตับ หรือภาวะการทำงานของตับเสื่อมแล้วทำให้เกิดการทำงานของระบบ

ประสาทเสื่อม [10] นอกจากนี้ยังนิยมใช้ในการรักษาตาหู และผิวหนัง ซึ่งอาจนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบได้ [10, 11]

โรคหูชั้นนอกอักเสบนั้น ได้มีรายงานการวิจัย หรือการทดลองหาค่าการยับยั้งเชื้อจุลชีพ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของยาต้านจุลชีพต่อเชื้อที่เพาะแยกได้จากสุนัขที่มีอาการช่องหูชั้นนอกอักเสบหลายรายงาน เช่น เอนโรฟล็อกซาซิน(enrofloxacin) [12], มาร์โบฟล็อกซาซิน(marbofloxacin) [13], ซีโปรฟล็อกซาซิน(ciprofloxacin) [14, 15] เป็นต้น แต่กลุ่มยาอะมิโนไกลโคไซด์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นิโอมัยซิน นั้นยังไม่ค่อยมีการทดลองเกี่ยวกับการหาค่าความเข้มข้นขั้นต่ำที่ยับยั้งเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) อีกทั้งนิโอมัยซินยังเป็นยาต้านจุลชีพที่นิยมประยุกต์ใช้ในการรักษาช่องหูอักเสบค่อนข้างมากในปัจจุบัน [16] ดังนั้นการทราบค่าความเข้มข้นขั้นต่ำสุดท้ายที่ยับยั้งเชื้อของยานิโอมัยซินย่อมเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการรักษาช่องหูชั้นนอกอักเสบในปัจจุบัน รวมทั้งทราบถึงภาวะการดื้อยาในปัจจุบันและเป็นข้อมูลในการศึกษาพัฒนาการด้านการดื้อยาต่อไปในอนาคต ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย รวมถึงค่าMIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรียในโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัขของยานิโอมัยซิน

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เก็บตัวอย่างโดยการป้ายหรือ swab จากช่องหูสุนัขที่เกิดการอักเสบ จากนั้นนำไปเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดช่องหูอักเสบโดยเพาะแยกลงบน blood agar และ McConkey agar แยกชนิดและทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี เมื่อแยกเชื้อได้แล้ว เก็บเชื้อไว้ที่ -20°C เพื่อรอการทดสอบ ซึ่งเชื้อที่ใช้ในการทดสอบมีทั้งหมด 10 ชนิด 66 ไอโซเลต ได้แก่ *Staphylococcus aureus* จำนวน 18 ไอโซเลต *Staphylococcus* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต β -hemolytic Streptococcus จำนวน 6 ไอโซเลต *Pseudomonas aeruginosa* จำนวน 16 ไอโซเลต *Pseudomonas* spp. จำนวน 6 ไอโซเลต *Escherichia coli* จำนวน 4 ไอโซเลต *Klebsiella* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต *Proteus mirabilis* จำนวน 6 ไอโซเลต และ *Enterobacter* spp. จำนวน 2 ไอโซเลต

การเตรียมเชื้อที่จะทำการทดสอบ โดยเขี่ยโคโลนีของเชื้อที่ทำการทดสอบจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลว Mueller-Hinton Broth แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 37°C 2 - 4 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมเชื้อให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน 0.5 McFarland จากนั้นนำเชื้อที่ได้มาเจือจางด้วยน้ำเกลือในอัตราส่วน 1: 100 จะได้สารละลายแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นประมาณ 1×10^6 CFU/ml ควบคุมมาตรฐานการทดลองโดยใช้เชื้อมาตรฐาน *Staphylococcus* ATCC 25923 และ *E. coli* ATCC 25922

การเตรียมยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพที่ใช้ทดสอบ คือ นิโอมัยซิน โดยมีเงินตามัยซินเป็นยาควบคุมมาตรฐาน การเตรียมสารละลายยาที่จะทำการทดสอบโดยการชั่งและละลายยาให้ได้ความเข้มข้นของนิโอมัยซินตั้งแต่ $0.006 \mu\text{g/ml}$ - $2000 \mu\text{g/ml}$ และเงินตามัยซินตั้งแต่ $0.006 \mu\text{g/ml}$ - $50 \mu\text{g/ml}$ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของยาโดยใช้วิธี microdilution broth method เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC, minimal inhibitory concentration) และความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC, minimal bactericidal concentration) ตามมาตรฐานของ NCLLS (NCLLS, 2000)

วิธีการทดสอบ เริ่มจากเติม Mueller-Hinton Broth ปริมาตร 50 μ l ลงในไมโครเพลทตั้งแต่หลุมที่ 1- 15 และปริมาตร 100 μ l ที่หลุมที่ 16 กระจายด้วยจุลชีพปริมาตร 50 μ l ลงในไมโครเพลทหลุมที่ 1 ผสมสารละลายให้เข้ากัน จากนั้นดูดสารละลายจากหลุมที่ 1 ไปใส่หลุมที่ 2 ปริมาตร 50 μ l ทำเช่นนี้ไปเรื่อยๆ (two fold dilution) จนถึงหลุมที่ 14 ชุดทั้ง 50 μ l จากนั้นดูดสารละลายเชื้อที่ต้องการทดสอบปริมาตร 50 μ l ใส่ลงในหลุมที่ 1-15 โดยหลุมที่ 15 จะเป็น positive control และหลุมที่ 16 เป็น negative control จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 18 - 24 ชั่วโมง

การอ่านผล

อ่านผลหลุมที่เชื้อไม่เจริญโดยหลุมที่ใสจะไม่มีการเจริญของเชื้อ ส่วนหลุมที่ขุ่นแสดงว่ามีการเจริญของเชื้อ บันทึกค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ เป็นค่า MIC จากนั้นเพาะเชื้อบน standard plate count agar โดยใช้ปริมาตร 0.01 ml เริ่มต้นจากหลุมที่เชื้อไม่เจริญซึ่งเป็นหลุมที่บันทึกค่า MIC จากนั้นนำไปอบที่ 37 °C นาน 18-24 ชั่วโมง บันทึกผลความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจะให้เป็นค่า MBC โดยการทดลองนี้จะทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการทดลองที่ได้มาหาความแตกต่างของค่า MIC และ MBC ของยานีโอไมซิน โดยใช้โปรแกรม SAS และ general-linear models เพื่อวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติของค่า MIC และ MBC ระหว่างเชื้อแต่ละกลุ่ม

ผลการศึกษา

จากการทดลองเพื่อหาค่า MIC และ MBC ของยานีโอไมซินต่อตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจำนวน 66 ตัวอย่าง พบว่าความเข้มข้นของยานีโอไมซินที่ระดับต่างๆ สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน (Table 1 และ Table 2)

ในส่วนของเชื้อในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก พบว่าค่า MIC และ MBC ทั้งของเชื้อ *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus* และ β -hemolytic *Streptococcus* ต่างก็ไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตาราง (Table 1)

ในส่วน of ข้อมูลของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ พบว่าค่า MIC แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กลุ่ม 1 ที่มีค่า MIC น้อย ได้แก่ *Klebsiella* spp., *Esherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas aeruginosa* และ *Enterobacter* spp. กลุ่ม 2 ที่มีค่า MIC มาก ได้แก่ *Proteus mirabilis* ส่วนค่า MBC แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กลุ่ม 1 ที่มีค่า MBC น้อยที่สุด ได้แก่ *Klebsiella* spp. และ *Enterobacter* spp. กลุ่ม 2 ที่มีค่า MBC ปานกลาง

ได้แก่ *Esherichia coli* และ *Enterobacter* spp. กลุ่ม 3 ที่มีค่า MBC มากที่สุด ได้แก่ *Proteus mirabilis* , *Pseudomonas* spp. และ *Pseudomonas aeruginosa* พบว่า *Enterobacter* spp. สามารถอยู่ได้ทั้งกลุ่ม 1 และ 2 ดังแสดงใน **Table 2** ค่าดังกล่าวในเชื้อควบคุมมาตรฐานแสดงใน **Table 3**

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ พบว่า ค่า MIC ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ค่าเฉลี่ย MIC ของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบสูงกว่าแกรมบวกเล็กน้อย ส่วนค่า MBC นั้นพบว่า เชื้อแบคทีเรียแกรมลบมีค่าเฉลี่ย MBC สูงกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Table 1. MIC and MBC of Neomycin against Gram-Positive Bacteria Isolated from Dogs with Otitis Externa

Type of Bacteria	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	MBC ($\mu\text{g/ml}$)
β -hemolytic Streptococcus	2.56 ± 2.54^a	14.12 ± 11.09^a
<i>Staphylococcus</i> spp.	15.41 ± 16.64^a	37.77 ± 41.19^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	28.38 ± 45.02^a	76.44 ± 114.38^a

^{a, b, c} show significantly difference of neomycin.

Table 2. MIC and MBC of Neomycin against Gram-Negative Bacteria Isolated from Dogs with Otitis Externa

Type of Bacteria	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	MBC ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Klebsiella</i> spp.	2.62 ± 1.55^b	3.75 ± 2.04^c
<i>Escherichia coli</i>	3.52 ± 2.48^b	14.77 ± 13.97^b
<i>Pseudomonas</i> spp.	4.65 ± 2.56^b	38.46 ± 25.19^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.86 ± 3.45^b	50.04 ± 54.91^a
<i>Enterobacter</i> spp.	9.06 ± 10.00^b	11.99 ± 11.71^{bc}
<i>Proteus mirabilis</i>	60.70 ± 117.95^a	215.16 ± 507.89^a

^{a, b, c} show significantly difference of neomycin.

วิจารณ์

จากการศึกษาการวัดประสิทธิภาพของยาโนโอมัยซินเมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคช่องหูส่วนนอกอีกเสบในสุนัข เมื่อพิจารณาจากค่า MIC และ MBC พบว่า การตอบสนองของยาไม่มีความแตกต่างกันในการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 3 ชนิด ($P>0.05$) ส่วนในแบคทีเรียแกรมลบ พบ

ว่าจากค่า MIC ของเชื้อ *Proteus mirabilis* มีความแตกต่างจากเชื้ออื่นในกลุ่มเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แสดงว่าเชื้อ *Proteus mirabilis* มีความไวต่อยานีโอมิยซินน้อยกว่าเชื้อตัวอื่น แต่เมื่อพิจารณาจากค่า MBC พบว่าเชื้อ *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* spp. และ *Pseudomonas aeruginosa* มีความไวต่อยานีโอมิยซินน้อยกว่าเชื้อตัวอื่นในกลุ่มเดียวกัน ($P < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบพบว่า ค่า MBC ของแบคทีเรียแกรมลบสูงกว่าค่า MBC ของแบคทีเรียแกรมบวกอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อยานีโอมิยซินมากกว่าแกรมลบ

Table 3. MIC and MBC of Neomycin and Gentamycin against *Staphylococcus* ATCC 25923 and *E. coli* ATCC 25922

Antibiotic	Type of Bacteria	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	MBC ($\mu\text{g/ml}$)
Gentamycin	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1.87 \pm 1.70	4.06 \pm 1.98
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.64 \pm 1.07	7.42 \pm 7.43
Neomycin	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2.82 \pm 0.66	7.50 \pm 6.78
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2.34 \pm 2.18	7.97 \pm 7.08

จากการศึกษาพบว่า เชื้อแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus* spp. มีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ค่อนข้างสูง ซึ่งมีสาเหตุมาจากการพัฒนาการของเชื้อให้มีความทนทานต่อยาปฏิชีวนะมากขึ้น หรืออาจเกิดจากการเก็บตัวอย่างจากสุนัขที่ได้รับการรักษามาแล้ว และบางตัวยังไม่ได้รับการรักษา ทำให้การคือยาของเชื้อแบคทีเรียแตกต่างกัน

จากการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบการใช้ยานีโอมิยซิน และ เจนตามัยซิน ซึ่งเป็นยาที่จัดอยู่ในกลุ่ม aminoglycoside เช่นเดียวกัน ในการทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus* ATCC 25923 and *E. coli* ATCC 25922 พบว่า เจนตามัยซิน ให้ผลที่ดีกว่านีโอมิยซิน โดยดูจากค่า MIC และ MBC และจากการศึกษาของ Cole และคณะ (2003) [17] ซึ่งทำการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะต่อเชื้อ *Staphylococcus intermedius* และ *Pseudomonas aeruginosa* ที่เพาะแยกจากช่องหูส่วนนอกอักเสบในสุนัข พบว่ายาเจนตามัยซินให้ผลด้านทั้ง 2 เชื้อดีกว่านีโอมิยซิน และการศึกษาของจากการศึกษาของ Ninkovic และคณะ (2007) [18] ซึ่งได้ทำการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะในคนที่ เป็นโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบ พบว่าเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* จะมีความไวต่อเจนตามัยซิน 98.5% แต่จะมีความต้านทานต่อนีโอมิยซิน 100% และสำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* จะมีความไวต่อยาเจนตามัยซินมากกว่านีโอมิยซิน คือที่ 100% และ 92.3% ตามลำดับ จากการทดลองจึงสามารถสรุปได้ว่า เจนตามัยซิน ให้ผลในการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่านีโอมิยซิน

จากการศึกษาของ Dohar และคณะ (2009) [19] ได้ทำการทดสอบผลการยับยั้งจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรคช่องหูส่วนนอกอักเสบ 2 ชนิด โดยมี *Pseudomonas aeruginosa* เป็นตัวแทนของกลุ่มแบคทีเรียแกรม

ลบ และ *Staphylococcus aureus* เป็นตัวแทนของกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก ต่อยาปฏิชีวนะ ได้แก่ ciprofloxacin, polymyxin B, neomycin และการใช้ polymyxin B ร่วมกับ neomycin ได้ผลปรากฏว่า ciprofloxacin ให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ได้ดีเมื่อเทียบกับยาคี 2 ชนิด polymyxin B มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ดีกว่า *Staphylococcus aureus* และ neomycin ให้ผลดีต่อ *Staphylococcus aureus* มากกว่า *Pseudomonas aeruginosa* แต่เมื่อมีการใช้ polymyxin B ร่วมกับ neomycin นั้นจะให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ตัวดีขึ้น ดังนั้นการใช้ polymyxin B ร่วมกับ neomycin จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการใช้ neomycin ในการรักษาของหูส่วนนอกอักเสบในปัจจุบัน นอกจากนี้การใช้นีโอมัยซินในการรักษาโรคช่องหูอักเสบในสุนัข อาจต้องคำนึงถึงข้อมูลของค่า MIC และ MBC จากการทดลองนี้ก่อนการรักษา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีต้องขอขอบคุณ นายมงคล เทพรัตน์ และ ผศ.ดร. มนต์ชัย ดวงจินดา ที่ให้คำปรึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ นาง อรุณี พลภักดี และนายประพันธ์ แก่นจำปา ที่อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ ผศ.สุรสิทธิ์ อ้วนพรหมมา หัวหน้าภาควิชาพยาธิชีววิทยา ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการศึกษา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นและทุนอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนในการทำงานวิจัยครั้งนี้ จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Oliveira LC, Leite CA. Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. *Can Vet J.* 2008;49(8):785-788.
- Cole LK, Kwochka KW. Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. *J Am Vet Med Assoc.* 1998;212(4):534-538.
- Jacobson LS. Diagnosis and medical treatment of otitis externa in the dog and cat. *J S Afr Vet Assoc.* 2002;73(4):162-170.
- Logas DB. Diseases of the ear canal. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1994;24(5):905-919.
- Rosser EJ. Causes of otitis externa. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2004;34(2):459-468.
- Graham-Mize CA, Rosser EJ. Comparison of microbial isolates and susceptibility patterns from the external ear canal of dogs with otitis externa. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2004;40(2):102-108.
- McKeever PJ, Torres SM. Ear disease and its management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997;27(6):1523-1536.
- Bensignor E, Grandemange E. Comparison of an antifungal agent with a mixture of antifungal, antibiotic and corticosteroid agents for the treatment of *Malassezia* species otitis in dogs. *Vet Rec.* 2006;158(6):193-195.
- Kiss G, Radvanyi S. New combination for the therapy of canine otitis externa. I. Microbiology of otitis externa. *J Small Anim Pract.* 1997;38(2):51-56.
- Morton RA. Neomycin undecylenate and triamcinolone acetonide in the topical treatment of otitis externa.

Southwest Med. 1970;51(4):84-86.

11. Sparks TA, Kemp DT. Antimicrobial effect of combinations of EDTA-Tris and amikacin or neomycin on the microorganisms associated with otitis externa in dogs. *Vet Res Commun.* 1994;18(4):241-249.
12. Trott DJ, Moss SM, See AM, Rees R. Evaluation of disc diffusion and MIC testing for determining susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to topical enrofloxacin/silver sulfadiazine. *Aust Vet J.* 2007;85(11):464-466.
13. Nakano M, Nakano T, Deguchi T, Kawamura M, Yasuda M, Kimura Y, et al. Mutations in the *gyrA* and *parC* genes in fluoroquinolone-resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;41:2289-2291.
14. Riddle C, Riddle CL, Lemons MG, Papich MG, Altier C. Evaluation of ciprofloxacin as a representative of veterinary fluoroquinolones in susceptibility testing. *J Clin Microbiol.* 2000;38:1636-1637.
15. Morris DO. Medical therapy of otitis externa and otitis media. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2004;34(2):541-55, vii-viii.
16. Oldenkamp EP. and Elzinga BK. The therapy of otitis externa. *Tijdschr Diergeneeskd.* 1979;104(8):suppl 115-117.
17. Cole LK. and Papich MG. Plasma and ear tissue concentrations of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in dogs with chronic end-stage otitis externa after intravenous administration of enrofloxacin. *Vet Dermatol.* 2009;20(1):51-59.
18. Ninkovic G. and Dullo V. Microbiology of otitis externa in the secondary care in United Kingdom and antimicrobial sensitivity. *Auris Nasus Larynx.* 2007;35(4):480-484.
19. Dohar JE. and Roland P. Differences in bacteriologic treatment failures in acute otitis externa between ciprofloxacin/dexamethasone and neomycin/polymyxin B/hydrocortisone: results of a combined analysis. *Curr Med Res Opin.* 2009;25(2):287-291