

T 157562

ทำการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบยาปฏิชีวนะและยาฆ่าฟาดก้างที่ได้ รับการพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ตรวจหายาปฏิชีวนะและยาฆ่าฟาดก้างในเนื้อไก่และสุกร ชุดตรวจสอบใช้ หลักการการซึมผ่านของยาในหลอด (Tube diffusion method) ซึ่งประกอบด้วย สปอร์ของเชื้อแบคทีเรีย สแตปโตค็อกคัส โมฟิลัส วาร์ แคลิโดแลคคัส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 คู่ (โดยให้ชื่อว่า ชุดตรวจสอบ เคเอส-4, เคเอส-9, เคเอส-23 และ เคเอส-25) และสาร โบรมิครีซัล เพอหัล บรรจุลงในหลอดพลาสติก (โพลีโพร- ไพลีน) ขนาด 100 x 390 มิลลิเมตร และปิดปากหลอดให้สนิทด้วยกัมนิ้มฟอยล์ สามารถใช้ตรวจหา ยาปฏิชีวนะและยาฆ่าฟาดก้างในเนื้อไก่และสุกร หรือในเนื้อเยื่อตับและไต หรือในเชรุ่ม โดยการหยอด สารสกัดจากตัวอย่างเนื้อหรือเนื้อเยื่อ หรือเชรุ่ม หรือปัสสาวะลงไปในชุดตรวจสอบประมาณ 0.1 มิลลิลิตร แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 65 ± 1 °เซลเซียส นานประมาณ $2 \frac{1}{2}$ ถึง $3 \frac{1}{2}$ ชั่วโมง ทำการ อ่านผลว่าตัวอย่างที่ตรวจมียาปฏิชีวนะและยาฆ่าฟาดก้างหรือไม่โดยสังเกตสีของชุดตรวจสอบ ถ้าสี ของชุดตรวจสอบยังคงมีสีม่วงแสดงว่าตัวอย่างที่ตรวจมียาปฏิชีวนะหรือยาฆ่าฟาดก้าง แต่ถ้าสีของชุด ตรวจสอบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแสดงว่าตัวอย่างที่ตรวจไม่มียาฆ่าฟาดก้าง หรือมีปริมาณยาในระดับที่ต่ำกว่า ความสามารถของชุดตรวจสอบที่จะตรวจพบได้

ในการทดสอบหา ยาปฏิชีวนะและยาฆ่าฟาดก้าง 17 ชนิด พบว่า ชุดตรวจสอบ เคเอส-9 สามารถตรวจ พบยาปฏิชีวนะและยาฆ่าฟาดก้างได้ดีที่สุด รองลงไปคือ ชุดตรวจสอบ เคเอส-4, เคเอส-23 และ เคเอส-25 และสารละลายฟอสเฟต-บัฟเฟอร์ พีเอช 8 (KH_2PO_4 0.004 โมลาร์ และ K_2HPO_4 0.1 โมลาร์) เป็นสาร ละลายที่ดีที่สุด ในสกัดยาปฏิชีวนะและยาฆ่าฟาดก้างจากเนื้อเยื่อของไก่และสุกร

เมื่อทำการเติมยาทริยเมทโทพริมลงในชุดตรวจสอบ เคเอส-9 และ เคเอส-23 โดยให้มีปริมาณ ยาทริยเมทโทพริม 0.0125-0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรในชุดตรวจสอบซึ่งเรียกชุดตรวจสอบนี้ว่า เคเอส-9 เอส และ เคเอส-23เอส ตามลำดับ แล้วนำไปตรวจหา ยาฆ่าฟาดก้างที่สกัดจากเนื้อไก่และเนื้อสุกร พบว่าชุด ตรวจสอบ เคเอส-9เอส สามารถตรวจหา ยาฆ่าฟาดก้างได้ดีกว่า ชุดตรวจสอบ เคเอส-9 และ เคเอส-23เอส มาก โดย เคเอส-9เอส จะสามารถตรวจพบ ยาฆ่าฟาดก้างในเนื้อสุกรส่วนใหญ่ได้ 100 % ที่ 0.4 ไมโครกรัม/กรัม และในเนื้อไก่ที่ 0.2 ไมโครกรัม/กรัม อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ เคเอส-9 และ

เคเอส-9เอส ในการตรวจหาบาปฏิจีวันะที่ผสมในเนื้อไก่และเนื้อสุกร ในเซรุ่มไก่และสุกร รวมทั้งใน
ปัสสาวะสุกร ส่วนใหญ่จะไม่แตกต่างกันนัก

เมื่อทำการทดสอบชุดตรวจสอบ เคเอส-9เอส ในตัวอย่างเนื้อไก่และเนื้อสุกรที่สุ่มจากตลาดสด
และซูเปอร์มาร์เก็ต และจากโรงงานฆ่าสัตว์เพื่อการส่งออก รวมทั้งการทดสอบในไก่และสุกรที่ได้รับ
บาปฏิจีวันะและยาฆ่าฟอสเฟต พบว่า ชุดตรวจสอบ เคเอส-9เอส มีประสิทธิภาพในการตรวจหาบาปฏิจีวันะ
และยาฆ่าฟอสเฟตในเนื้อไก่และสุกรได้ดีกว่า เคเอส-9 และวิธีมาตรฐานของสหภาพยุโรป (European Four
Plate Test) โดยตัวอย่างส่วนใหญ่พบว่ามียาฆ่าฟอสเฟตปนเปื้อนเมื่อทำการตรวจสอบยืนยันด้วยวิธีการ ชาร์ม
ทู เทส

จากการศึกษาความน่าเชื่อถือของชุดตรวจสอบในตัวอย่างเนื้อและเซรุ่มไก่ พบว่าชุดตรวจสอบ
เคเอส-9เอส มีค่าความไว (Sensitivity) 95 % และความจำเพาะ (Specificity) 95 % ในการตรวจสอบหา
บาปฏิจีวันะและยาฆ่าฟอสเฟตค้างในตัวอย่างเนื้อไก่ และมีค่าความไวและความจำเพาะเท่ากับ 91 และ 86
% ตามลำดับในการตรวจสอบหาบาปฏิจีวันะและยาฆ่าฟอสเฟตในเซรุ่มไก่

สำหรับผลการทดสอบอายุการเก็บรักษาของชุดตรวจสอบ เคเอส-9เอส เป็นระยะเวลาานาน 6
เดือน ที่อุณหภูมิ 4-7 °เซลเซียส พบว่า ชุดตรวจสอบ เคเอส-9เอส ที่เติมยาทริยเมโทโทปริม 0.05-0.10
ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จะมีอายุการเก็บรักษาต่ำกว่า 1 เดือน ส่วนชุดตรวจสอบที่เติมยาทริยเมโทโทปริม
0.0125-0.025 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จะมีอายุการเก็บรักษาได้ถึง 6 เดือน แต่จะมีประสิทธิภาพในการ
ตรวจหาบาปฏิจีวันะและยาฆ่าฟอสเฟตค้างในเนื้อไก่และเนื้อสุกรต่ำลงไปบ้าง และจำเป็นต้องทำการอบ
เพาะชุดตรวจสอบนานขึ้นแต่ไม่เกิน 4 ชั่วโมง

ดังนั้น ชุดตรวจสอบ เคเอส-9เอส จึงเป็นชุดตรวจสอบเบื้องต้น (Screening test) ในการตรวจหา
บาปฏิจีวันะและยาฆ่าฟอสเฟตค้างที่เหมาะสม และอาจใช้แทนวิธีการซึ่งใช้อยู่ในปัจจุบัน นั่นคือ วิธี
Microbial Inhibition Assay หรือวิธี EFPT เนื่องจากมีความสามารถในการตรวจหาบาปฏิจีวันะในกลุ่ม
เบต้า-แลคแตม ในระดับที่ยอมรับให้มีตกค้างได้ (Maximum residue limits) และตรวจพบบาปฏิจีวันะ
อื่นๆ รวมทั้งยาฆ่าฟอสเฟตส่วนใหญ่ได้ในระดับที่ใกล้เคียงกับค่าที่ยอมรับ ทั้งนี้ตัวอย่างที่ใช้เพื่อการตรวจหา
บาปฏิจีวันะและยาฆ่าฟอสเฟตค้างในซากสัตว์ควรใช้ตัวอย่างกล้ามเนื้อไก่และสุกร เพราะมีความสะดวก
และเป็นตัวอย่างที่ใช้ในทางปฏิบัติของห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพเนื้อ สำหรับการตรวจหา
บาปฏิจีวันะและยาฆ่าฟอสเฟตในเซรุ่มไก่และสุกรน่าจะเป็นวิธีการที่ใช้ในสุ่มตัวอย่างเพื่อการตรวจสอบก่อนส่ง
สัตว์เข้าโรงงานฆ่าสัตว์ ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งในการเฝ้าระวังและป้องกันการตกค้างบาปฏิจีวันะและยา
ฆ่าฟอสเฟตในเนื้อและผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากสัตว์

TE157562

Antimicrobial screening test kits **KS-4**, **KS-9**, **KS-23**, and **KS-25** had been developed by using principle of tube diffusion method which consisted of spores of *Bacillus stearothermophilus* var. *Calidolactis* in 4 different media and bromocresol purple in polypropylene tube 100 x 390 mm. and sealed with aluminum foil. The test result could be read after 2 ½ - 3 ½ hours after added 0.1 mL of tissue extract or serum or urine into the test kit and incubated at 65 ± 1 °C. The test was read negative if colour of the media was changed to yellow and was read positive if the colour of media was still purple.

These test kits were compared their efficiency by testing of 17 antibiotics and sulfa drugs in fortified meat, liver, and kidney tissues of chicken and swine and serum of chicken. The result showed that **KS-9** was the best test kit and the appropriate solution for extracting drug residues from tissue samples was phosphate buffer pH 8 (KH_2PO_4 0.004 Molar and K_2HPO_4 0.1 Molar).

After adding trimethoprim 0.0125-0.10 µg/mL into **KS-9** and **KS-23** test kits which were named **KS-9S** and **KS-23S**, respectively, and tested with extracts from fortified chicken meat and pork samples. The results found that **KS-9S** was able to detect sulfa drugs better than **KS-9** and **KS-23S** which had detection limits of 0.04 µg/g in pork and 0.2 µg/g in chicken meat. However, there were not found any different of detecting efficiency on other antibiotic residues between **KS-9S** and **KS-9**.

The test results from using **KS-9S** for detecting antibiotic and sulfa residues in sampling chicken meat and pork from supermarkets and slaughter houses for exportation were found that **KS-9S** was able to detect antibiotic and sulfa residues better than **KS-9** and European Four Plate Test (EFPT). The positive samples were confirmed by using Charm II Test method which found most of the samples were contained sulfa drug group.

TE 157562

The validity test study of **KS-9S** was revealed that this test kit had high sensitivity and specificity which were 96 and 95 % in chicken meat and 91 % and 86 % in chicken and serum, respectively.

The shelf-life study of **KS-9S** was shown that its shelf-life was less than 1 month if **KS-9S** contained trimethoprim 0.50-0.10 µg/mL. The **KS-9S**'s shelf-life could be upto 6 months if it contained trimethoprim at lower concentrations (0.0125-0.025 µg/mL). However, its efficiency would be lower as the time passed by and required longer incubation time (but still less than 4 hours) even test kits had been kept at 4-7 °C.

Therefore, **KS-9S** should be the appropriate screening test kit for detecting antibiotic and sulfa drug residues in chicken meat and pork instead of using Microbial Inhibition Assay Method because **KS-9** had better efficiency and was less cost and time consuming method. Besides, this study would recommend that chicken meat and pork samples were ideal samples for the screening test of antibiotic and sulfa drug residues in carcasses since they were practical and given satisfied valid test results. However, the serum samples would be suitable for monitoring of antibiotic and sulfa drug residues in animals before slaughtering.