



วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.

KKU Veterinary Journal

ISSN 0858-2297



RESEARCH ARTICLE

Prevalence and antimicrobial susceptibility on bacterial pathogens of clinical and subclinical mastitis in lactating cows in Udon Thani Province

Pranpreya Todtong^{1*}, Theerakul Nilnont¹, Rittichai Pilachai¹

¹Department of Veterinary Technology, Faculty of Technology, Udon Thani Rajabhat University, Thailand 41000

*Corresponding author E-mail: kyosuke_vet@hotmail.com

Received 11 May 2021, **Revised** 29 June 2021 **Accepted** 6 July 2021, **Published** 15 July 2021

Abstract

Introduction: Mastitis is a major problem persisted with dairy farmers for a long time. This results in economic impact of dairy farming around the world including Thailand. The incidence of subclinical mastitis was high and antimicrobials were low effective to mastitis.

Objectives: To study the prevalence and antimicrobial susceptibility on bacterial pathogens of clinical and subclinical mastitis in lactating cows in Udon Thani province.

Materials and Methods: Milk samples were collected from lactating cows from 50 farms with mastitis during March-July 2016. A total of 318 samples were divided into 2 groups: (1) 57 clinical mastitis and (2) 261 subclinical mastitis. The samples were cultured and tested for antimicrobial susceptibility by the agar disk diffusion method.

Results: The prevalence of clinical mastitis was 17.92% and subclinical mastitis was 82.08%. *Staphylococcus* spp. were the most common pathogens causing both clinical (63.16%) and subclinical mastitis (59.39%) with *Streptococcus* spp. (17.54% and 14.94%), and *Bacillus* spp. (15.79% and 16.09%), respectively. Enterobacteriaceae found only in the group with subclinical mastitis (3.45%). The mean of antimicrobial susceptibility to bacterial pathogens of clinical and subclinical mastitis was 87.50% for ceftiofur, 87.18% for kanamycin, and 86.60% for gentamycin.

Conclusion: The prevalence of subclinical mastitis was higher than that of clinical mastitis in the lactating cows at Si That district, Udon Thani province. The main pathogenic bacteria were *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. and *Bacillus* spp. Ceftiofur is the best sensitive antimicrobial agent for bacteria causing clinical and subclinical mastitis. Therefore, it was a good treatment option in this area.

Keywords: Prevalence, antimicrobial susceptibility, mastitis, lactating cows

ความชุกและความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการในโครีดนมจังหวัดอุดรธานี

ปราณปรียา ทอดทอง¹, อีระกุล นิลนนท์¹, ฤทธิชัย พิลาไชย¹

¹สาขาวิชาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี 41000

*ผู้ประพันธ์บทความวิจัย อีเมล: kyosuke_vet@hotmail.com

บทคัดย่อ

บทนำ โรคเต้านมอักเสบเป็นปัญหาสำคัญที่คงอยู่กับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมมาเป็นระยะเวลาอันยาวนาน ส่งผลกระทบต่อการผลิตโคนมทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย พบอุบัติการณ์การเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการสูง และการใช้ยาต้านจุลชีพในพื้นที่ยังมีประสิทธิภาพต่ำในการรักษาโรคเต้านมอักเสบ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความชุกและความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการในโครีดนมในจังหวัดอุดรธานี

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ เก็บตัวอย่างน้ำนมรายเต้าจากโครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ 50 ฟาร์ม ระหว่างเดือนมีนาคม - กรกฎาคม พ.ศ. 2559 จำนวน 318 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) โรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ 57 ตัวอย่าง และ 2) โรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ 261 ตัวอย่าง จากนั้นเพาะแยกเชื้อและทดสอบความไวของเชื้อก่อโรคต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธี agar disk diffusion method

ผลการศึกษา พบค่าความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (17.92%) และเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (82.08%) โดยพบเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* spp. มีความชุกสูงสุดและก่อให้เกิดเต้านมอักเสบทั้งแบบแสดงอาการ (63.16%) และแบบไม่แสดงอาการ (59.39%) ของแม่โครีดนมในพื้นที่นี้ *Streptococcus* spp. (17.54% และ 14.94%) และ *Bacillus* spp. (15.79% และ 16.09%) ตามลำดับ และ Enterobacteriaceae พบเฉพาะในกลุ่มที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (3.45%) สำหรับยาต้านจุลชีพที่มีค่าความไวเฉลี่ยต่อเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ คือ ceftiofur (87.50%), kanamycin (87.18%), และ gentamycin (86.60%)

สรุป ค่าความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการสูงกว่าแบบแสดงอาการ ในโครีดนมในเขตอำเภอศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี และเชื้อแบคทีเรียที่กลุ่มหลักในการก่อโรค คือ *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. และ *Bacillus* spp. ทั้งนี้ ceftiofur เป็นยาต้านจุลชีพที่ทดสอบมีค่าความไวสูงสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบทั้งแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ จึงเป็นทางเลือกสำหรับการรักษาที่ดีในพื้นที่นี้

คำสำคัญ: ความชุก, ความไวต่อยาต้านจุลชีพ, เต้านมอักเสบ, โครีดนม

บทนำ

โรคเต้านมอักเสบเป็นปัญหาสำคัญที่คงอยู่กับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมมาเป็นระยะเวลาอันยาวนาน ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจด้านการเลี้ยงโคนมทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย เนื่องจากมีผลทำให้ปริมาณน้ำนมลดลง ปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนมเพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้คุณภาพน้ำนมลดลง นอกจากนี้ยังส่งผลให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้น เนื่องจากค่ายาและเวชภัณฑ์ในการรักษาโรค และเสียชีวิตได้เนื่องจากไม่สามารถขายน้ำนมจากแม่โคที่เป็นปัญหาหรือที่ขายยากได้ (Seegers et al., 2003; Rittichai et al., 2014) จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาโรคเต้านมอักเสบมี 2 รูปแบบหลักคือ เต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (clinical mastitis) และเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (subclinical mastitis) ซึ่งเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการพบมากกว่าแบบแสดงอาการในหลายพื้นที่ที่มีความชุกมากถึง 19-78% (Busato et al., 2000) และอัตราการเกิดโรคสูงถึง 60-70% ของแม่โครีดนมทั้งฝูง (Schukken et al., 1995) โดยจะพบมากในช่วงระยะการรีดนม 2 เดือนหลังคลอดประมาณ 44% เต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ โดยพบว่าการเกิดเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการในระยะ 3 เดือนหลังคลอดเกิดจากการติดเชื้อเข้าสู่เต้านมสูงถึง 21.2% (Busato et al., 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากการติดเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่เต้านม โดยส่วนใหญ่มักพบการติดเชื้อกลุ่ม Staphylococci และ Streptococci (Dodd, 1983; Natzke, 1981) รายงานส่วนใหญ่ มักพบ ความชุก ของเชื้อในกลุ่ม Staphylococci มากที่สุด (Natzke, 1981; Bartlett et al., 1992; Kirk et al., 1996; Krukowski et al., 2001) ซึ่งปัญหาเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการในระยะต้นของการให้นมมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมของแม่โคอย่างมาก โดยจะทำให้ความสามารถของการให้นมสูงสุดในระยะรีดนม (peak) ไม่เป็นไปตามที่โคสามารถให้ได้ ผลผลิตน้ำนมลดลง คุณภาพน้ำนมลดลง (Lescourret et al., 1995) โอกาสพัฒนาเป็นเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพระบบสืบพันธุ์ (Schrack et al., 2001) และทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจในที่สุด (Busato et al., 2000; Lescourret et al., 1995; Schrack et al., 2001; Schukken et al., 1995)

จากรายงานการศึกษาในจังหวัดอุดรธานีเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงโคนมจำนวนมากจังหวัดหนึ่งในประเทศไทย ในปัจจุบันมีเกษตรกรเลี้ยงโคนมจำนวน 180 ฟาร์ม มีแม่โครีดนมประมาณ 2,400 ตัว โดยประชากรโคนมส่วนใหญ่อยู่ในเขตอำเภอศรีธาตุและอำเภอทุ่งฝน (Rittichai et al., 2014) จากรายงานการศึกษา (Ard-ong and Parinya, 2011; Natthamon, 2013) พบว่าค่าเซลล์โซมาติกในน้ำนมดิบของภาคตะวันออกเฉียงเหนือรวมทั้งจังหวัด

อุดรธานีมีค่าสูงกว่า 500,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เป็นที่ทราบโดยทั่วไปว่าปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนมมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (Philpot and Nickerson, 1991; Bradley and Green, 2005) จากข้อมูลชี้ให้เห็นว่าโคนมในจังหวัดอุดรธานีอาจมีอุบัติการณ์การเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการได้สูง อีกทั้งการรักษาโดยการใช้อยาปฏิชีวนะในพื้นที่ยังไม่สามารถแก้ไขปัญหการเกิดโรคเต้านมอักเสบได้ เนื่องจากเกษตรกรใช้อยาปฏิชีวนะในการรักษาไม่ตรงกับชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค

ดังนั้นการศึกษารังนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกและความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการในโครีดนมในจังหวัดอุดรธานี โดยได้ประยุกต์ใช้ห้องปฏิบัติการในพื้นที่ ณ ศูนย์ส่งเสริมกิจการโคนมภาคตะวันออกเฉียงเหนือเขตศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี เป็นศูนย์รับตัวอย่างน้ำนมในการตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ และทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะ เพื่อลดปัญหาการเกิดโรคและเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรคเต้านมอักเสบ โดยเกษตรกรสามารถนำผลการตรวจจากห้องปฏิบัติการไปใช้เป็นแนวทางการรักษาโรคเต้านมอักเสบได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

การศึกษารังนี้ทำการวางแผนการทดลองแบบ cross sectional study โดยประยุกต์ใช้ศูนย์ส่งเสริมกิจการโคนมภาคตะวันออกเฉียงเหนือเขตศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี เป็นห้องปฏิบัติการในการรับตัวอย่างน้ำนมจากฟาร์มโคนมของเกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการทั้งหมด 50 ฟาร์ม ระหว่างเดือนมีนาคม-กรกฎาคม พ.ศ. 2559 ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเต้านมอักเสบ และทดสอบความไวของยาต้านจุลชีพ

กลุ่มตัวอย่างและการเก็บตัวอย่างน้ำนม

ตัวอย่างน้ำนมรายเต้าของโครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ ระหว่างเดือนมีนาคม-กรกฎาคม พ.ศ. 2559 จำนวน 318 ตัวอย่าง โดยแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) โครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเต้านมและน้ำนม โดยเต้านมมีลักษณะ บวม แข็ง และอักเสบ จำนวน 57 ตัวอย่าง และ 2) โครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ ที่มีผลการตรวจด้วยน้ำยา California mastitis test (CMT) ตามวิธีของ (Bradley and Green,

2005) โดยโคโรนัมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการต้องมีผลบวกต่อการตรวจด้วยน้ำยา CMT (เกรด 2 และ 3) จำนวน 261 ตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างน้ำนมรายเต้าด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานข้อกำหนด National Mastitis Council (NMC, 1999) โดยการทำความสะอาดมือผู้รีดทำความสะอาดหัวนมและรูเปิดหัวนมด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 70% รอจนแห้ง แล้วทำการรีดนมส่วนต้นทิ้ง เก็บตัวอย่างน้ำนมประมาณ 20-30 มิลลิลิตร บรรจุในหลอดพลาสติกเก็บน้ำนมที่ปลอดเชื้อ 1 หลอดต่อหนึ่งเต้า เก็บรักษาในกระติกมีน้ำแข็งอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำไปตรวจทางห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง

การเพาะและการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย

การเพาะเชื้อแบคทีเรียแบบทั่วไป (conventional identification technique) ตามมาตรฐานข้อกำหนด National Mastitis Council (NMC, 1999) นำตัวอย่างน้ำนมวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ผสมให้เข้ากัน จากนั้นใช้ Standard loop (0.01 ml) และตัวอย่างน้ำนมจากหลอด Streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Blood agar (BA ; Himedia®, India) (+ 5% bovine blood) และ MacConkey agar (MacA ; Himedia®, India) ซึ่งเป็น selective media นำไปบ่มเพาะเชื้อด้วยเครื่อง incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการแยกเชื้อขั้นต้นโดยดูจากลักษณะโคโลนีที่ขึ้นบน BA หรือ MacA และการเกิด hemolysis

การเพาะแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะกลม ขอบเรียบ สีขาวหรือสีเหลือง หรือเชื้อที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BA หรือ MacA มาเพาะแยกเชื้อ โดย Streak เชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Nutrient Agar (NA : Himedia®, India) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีด้วยวิธี oxidase reaction , catalase reaction และการย้อมสี Gram stain และนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อดูการย้อมติดสี gram positive bacteria หรือ gram negative bacteria จากแยกกลุ่มเชื้อจากลักษณะโครงสร้างของเซลล์ที่เป็นรูปร่างกลม (cocci) หรือรูปร่างแท่งยาว (bacilli) หรือรูปร่างแท่งสั้น (rod) และบันทึกผล

การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ

จุลชีพ

ทำการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ ด้วยวิธี agar disk diffusion method โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกเชื้อบริสุทธิ์

แล้วจาก NA มา 3-4 โคโลนี ลงใน 0.85% saline ปริมาตร 3 มิลลิตร ปรับความขุ่นให้ได้ตามมาตรฐาน 0.5 McFarland Standard นำเชื้อที่เตรียมได้มาเจือจางด้วยน้ำเกลือในอัตราส่วน 1:100 จะได้สารละลายแบคทีเรียที่มีความเข้มข้น ประมาณ 1×10^6 CFU/ml แล้วทำการป้ายเชื้อลงอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA ; Himedia®, India) ด้วยก้านสำลีปราศจากเชื้อ ทิ้งไว้ประมาณ 10-15 นาที จากนั้นวางแผ่นยาปฏิชีวนะ 8 ชนิด (Oxoid®) คือ ampicillin (10 µg), ceftiofur (30 µg), cloxacillin (5 µg), gentamycin (10 µg), kanamycin (5 µg), neomycin (10 µg), penicillin (10 µg), streptomycin (10 µg) วางแผ่นยาลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ห่างกัน 10-15 มิลลิเมตร คำนวณอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ถูกยับยั้ง (inhibition zone) เทียบกับค่ามาตรฐานของ National Committee for Clinical Laboratory Standards; NCCLS (1997)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติแบบพรรณนา (Descriptive analysis) จากผลความชุกของเชื้อแบคทีเรียแบบรวมทุกชนิด และทำการแจกแจงเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp. และ *Enterobacteriaceae* จากโคโรนัมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ นำมาคำนวณและรายงานเป็นปริมาณร้อยละ (%) หาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะจากค่าเส้นผ่านของบริเวณที่ถูกยับยั้ง (inhibition zone) โดยแปลผลและรายงานค่าร้อยละ (%) ของความไวต่อยา (susceptible: S) และดื้อยา (resistant: R)

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างน้ำนมรายเต้าของโคโรนัมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบทั้งหมด 318 ตัวอย่าง พบค่าร้อยละความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการจำนวน 57 ตัวอย่าง 17.92% และเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ จำนวน 261 ตัวอย่าง 82.08%

ความชุกของเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำนมรายเต้าของโคโรนัมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ

ความชุกของเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำนมรายเต้าของโคโรนัมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ และไม่แสดงอาการถูกแสดงไว้ในตารางที่ 1 พบเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิด

Table 1. Prevalence of bacteria isolated from quarter milk sample of lactating cows with clinical and subclinical mastitis

Bacterial pathogen	Clinical mastitis		Subclinical mastitis	
	n	%	n	%
<i>Staphylococcus</i> spp.	36	63.16	155	59.39
<i>Streptococcus</i> spp.	10	17.54	39	14.94
<i>Bacillus</i> spp.	9	15.79	42	16.09
Enterobacteriaceae	0	0.00	9	3.45
No growth	2	3.51	16	6.13
Total	57	100	261	100

ปัญหาเต้านมอักเสบในพื้นที่นี้มากที่สุด คือ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus* spp. ทั้งแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ 63.16% และ 59.39% ตามลำดับ ความชุกของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* spp. พบมากเป็นลำดับสองทั้งแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ 17.54% และ 14.94% ตามลำดับ และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. จากเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ 15.79% และ 16.09% ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* พบเฉพาะในน้ำนมรายเต้าของโครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ 3.45%

ความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ

ผลการแยกกลุ่มเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำนมของโครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ และทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด ได้แก่ ampicillin, ceftiofur, cloxacillin, gentamycin, kanamycin, neomycin, penicillin และ streptomycin พบว่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus* spp. มีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ดีที่สุด คือ ceftiofur และ gentamycin 94.44% รองลงมา คือ kanamycin 83.33% และ cloxacillin 75.00% สำหรับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* spp. พบมีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ดีที่สุด คือ ceftiofur, gentamycin และ neomycin 100% รองลงมา คือ kanamycin 88.89% และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. พบมีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ดีที่สุด คือ kanamycin 100% รองลงมา คือ ceftiofur 80% และ ampicillin 71.43% ดังแสดงในตารางที่ 2

ผลการแยกกลุ่มเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำนมของโครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ และทำการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ 8 ชนิด ได้แก่

ampicillin, ceftiofur, cloxacillin, gentamycin, kanamycin, neomycin, penicillin และ streptomycin พบว่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus* spp. มีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ดีที่สุด คือ gentamycin 91.28% รองลงมา คือ ceftiofur 89.26% kanamycin 89.12% cloxacillin 82.58% และ neomycin 80% สำหรับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* spp. พบมีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ดีที่สุด คือ gentamycin 86.84% รองลงมา คือ ceftiofur 78.95% และ kanamycin 77.14% เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. พบมีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ดีที่สุด คือ gentamycin 97.06% รองลงมา คือ kanamycin 84.62% และ ceftiofur 82.35% และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* พบมีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ดีที่สุด คือ gentamycin 100% ดังแสดงในตารางที่ 3

วิจารณ์

จากผลการศึกษาความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโครีดนมอำเภอศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี พบค่าความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (82.08%) สูงกว่าการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (17.92%) แสดงถึงโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการมีอุบัติการณ์การเกิดโรคมากกว่าแบบแสดงอาการ แต่อย่างไรก็ตามความชุกของการเกิดโรคมีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่โดยพบรายงานความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบอยู่ระหว่าง 19-78% ของแม่โครีดนมทั้งฝูง และการศึกษาของ (Rittichai et al., 2014) พบความชุกของโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการในโคนมจังหวัดอุดรธานีมีค่าเท่ากับ 26.2% แต่เมื่อคำนวณเป็นรายฟาร์ม พบว่าฟาร์มโคนมในจังหวัดอุดรธานีมีร้อยละความชุกเฉลี่ยเท่ากับ 30.3% โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0-100% จากข้อมูลชี้ให้เห็นว่าฟาร์มโคนมในจังหวัด

Table 2. Proportion of antibiotic susceptibility test against with bacteria isolated from clinical mastitis

Antimicrobial agent	Bacterial pathogen								
	Staphylococcus spp. (n=36)			Streptococcus spp. (n=10)			Bacillus spp. (n=9)		
	n	S (%)	R (%)	n	S (%)	R (%)	n	S (%)	R (%)
ampicillin	36	30.56	69.44	10	40.00	60.00	7	71.43	28.57
ceftiofur	18	94.44	5.56	6	100	0.00	5	80.00	20.00
cloxacillin	36	75.00	25.00	10	60.00	40.00	7	57.14	42.86
gentamycin	18	94.44	5.56	6	100	0.00	8	50.00	50.00
kanamycin	30	83.33	16.67	9	88.89	11.11	4	100	0.00
neomycin	36	36.11	63.89	3	100	0.00	0	N/A	N/A
penicillin	18	16.67	83.33	4	25.00	75.00	0	N/A	N/A
streptomycin	23	56.52	43.48	7	57.14	42.86	6	66.67	33.33

Abbreviations: n= number, S=susceptibility, R=resistant, N/A=not applicable

Table 3. Proportion of antibiotic susceptibility test against with bacteria isolated from clinical sub-clinical mastitis

Antimicrobial agent	Bacterial pathogens											
	Staphylococcus spp. (n=155)			Streptococcus spp. (n=39)			Bacillus spp. (n=42)			Enterobacteriaceae (n=9)		
	n	S (%)	R (%)	n	S (%)	R (%)	n	S (%)	R (%)	n	S (%)	R (%)
ampicillin	155	36.77	63.23	39	69.23	30.77	34	44.12	55.88	5	20.00	80.00
ceftiofur	149	89.26	10.74	38	78.95	21.05	34	82.35	17.65	5	40.00	60.00
cloxacillin	155	82.58	17.42	39	69.23	30.77	34	55.88	44.12	5	0.00	100
gentamycin	149	91.28	8.72	38	86.84	13.16	34	97.06	2.94	5	100	0.00
kanamycin	147	89.12	10.88	35	77.14	22.86	26	84.62	15.38	5	60.00	40.00
neomycin	5	80.00	20.00	0	N/A	N/A	0	N/A	N/A	0	N/A	N/A
penicillin	6	33.33	66.67	0	N/A	N/A	0	N/A	N/A	0	N/A	N/A
streptomycin	150	66.00	34.00	39	58.97	41.03	34	70.59	29.41	5	60.00	40.00

Abbreviations: n= number, S=susceptibility, R=resistant, N/A=not applicable

อุดรธานี พบปัญหาการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ เช่นเดียวกับพื้นที่การเลี้ยงโคนมอื่นๆ ในประเทศไทย ซึ่งปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดโรคเต้านมอักเสบในระดับที่สูงขึ้นเกี่ยวข้องกับสุขศาสตร์การรีดนมเป็นหลัก เช่น รีดนมด้วยเครื่องรีดนมอย่างเดียวโดยไม่มีการรีดด้วยมือตาม ไม่มีการล้างหัวรีดนมระหว่างรีดนมโคแต่ละตัว มีการใช้ผ้าเช็ดเต้านมหนึ่งผืนกับโคนมหลายตัว ไม่มีการใช้น้ำยาจุ่มเต้านมหลังรีดนมเป็นประจำ และ

ฟาร์มที่มีประวัติโคป่วยด้วยโรคเต้านมอักเสบภายในฟาร์มเป็นต้น (Rittichai et al., 2014)

การศึกษารุ่นนี้เมื่อแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นกลุ่มหลักที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในโครีดนม แยกตามสาเหตุของการเกิดโรค พบว่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* spp. มีค่าความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบสูงที่สุดทั้งแบบแสดง

อาการ 63.16% และไม่แสดงอาการ 59.39% รองลงมา คือ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* spp. พบมากเป็นลำดับสอง ทั้งแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ (17.54% และ 14.94%) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้เป็นเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถติดต่อจากแม่โคตัวหนึ่งสู่มแม่โคอีกตัวหนึ่งได้ (contagious pathogen) การพบเชื้อแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวในแม่โครีดนม บ่งชี้ถึงปัญหาการละเลยการควบคุมการติดต่อของเชื้อแบคทีเรียในระหว่างขั้นตอนการรีดนม สอดคล้องกับรายงานของ (Sukolrat et al., 2007) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียที่สัมพันธ์กับเต้านมอักเสบในแม่โครีดนมในเขตจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งพบความชุกของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus* spp. เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ 19.4% และไม่แสดงอาการ 41.1% เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ (Aiumlamai et al., 2000) ที่ศึกษาชนิดเชื้อแบคทีเรียที่พบจากเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการในโคนม เขตอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น พบความชุกของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococcus* spp. มากที่สุดเช่นกัน

สำหรับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* spp. เป็นสาเหตุของการเกิดโรคเต้านมอักเสบรองลงมาทั้งแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการนั้น แบคทีเรียในกลุ่มนี้เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ติดต่อกับสิ่งแวดล้อม (environmental pathogen) ซึ่งพบมีสัดส่วนค่อนข้างสูงในการติดเชื้อเข้าสู่เต้านม และก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบทั้งแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการทั้งในแม่โครีดนมและแม่โคแห้งนม (Oliver, 1998; Jayarao et al., 1999; Phuektes et al., 2001) การพบการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดดังกล่าวสูง เป็นดัชนีบ่งถึงปัญหาสิ่งแวดล้อมในคอกแม่โครีดนมหรือมีการติดเชื้อในระหว่างขั้นตอนการรีดนม นอกจากนี้ยังพบเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. ที่เป็นปัญหาในการก่อโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ 15.79% และไม่แสดงอาการ 16.09% ซึ่งเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถปนเปื้อนจากดิน ฝุ่นละออง มูลสัตว์ รวมถึงอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ สามารถสร้างสปอร์ได้ และทนต่อความร้อน หากปนเปื้อนไปกับน้ำนม จะทำให้นมพาสเจอร์ไรซ์เกิดการเน่าเสีย (sweet curdling) เกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ เกิดการรวมกลุ่มของเม็ดไขมัน (clump of fat globules) และไม่ทนต่ออุณหภูมิสูง สามารถเจริญได้แม้ว่าอุณหภูมิจะลดลงถึง 7 องศาเซลเซียส (Jay, 1996; Vasavada and Cousin, 1993)

นอกจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มหลักที่ก่อโรคเต้านมอักเสบแล้ว นอกจากนี้ยังพบเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่พบได้ไม่บ่อย (rare cause bacteria) ซึ่งได้แก่ *Salmonella* spp., *E.coli*, *Klebsiella* spp.,

Enterobacter spp., และ *Proteus* spp. (Al-Mutairi, 2011) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้คนและสัตว์ สามารถพบการปนเปื้อนได้ในน้ำ ดิน น้ำนมดิบ ขบวนการผลิต หญ้าหมัก โคที่ติดเชื้อ ฟันคอก และการสอดยารักษาโรคเต้านมอักเสบที่ไม่สะอาด (Eberhart and Luoma, 1996) ซึ่งการศึกษาค้นคว้าที่พบเฉพาะในน้ำนมรายเต้าของโครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ 3.45%

จากผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในโครีดนมอำเภอศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี เมื่อคำนึงถึงเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* spp. และ *Streptococcus* spp. ซึ่งเป็นเชื้อหลักที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ มีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ดีที่สุด คือ ceftiofur, gentamycin, kanamycin และ cloxacillin สำหรับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. พบมีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ดีที่สุด คือ kanamycin รองลงมา คือ ceftiofur และ ampicillin ในโครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ ส่วน *Bacillus* spp. ที่ก่อโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการนั้น จะไวต่อยาต้านจุลชีพ gentamycin มากที่สุด และผลการทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* ที่ก่อโรคเฉพาะในโครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ พบมีค่าความไวต่อยาต้านจุลชีพ คือ gentamycin เท่านั้น

จากผลการศึกษาการพบว่ายาต้านจุลชีพมีค่าความไวเฉลี่ยต่อเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ คือ ceftiofur (87.50%), kanamycin (87.18%), และ gentamycin (86.60%) ซึ่งยาต้านจุลชีพ ceftiofur พบมีค่าความไวต่อเชื้อสูงสุด เนื่องมาจากยังมีการใช้ยาดังกล่าวในปริมาณน้อยและยาต้านจุลชีพนี้มีราคาสูงกว่า สอดคล้องกับการศึกษาของ (Sukolrat et al., 2007) นอกจากนี้ยังพบเชื้อดื้อยาในกลุ่ม penicillin และ ampicillin สูงที่สุด ซึ่งการดื้อยาต้านจุลชีพทั้งสองชนิดนี้อาจเกิดจากการนิยมใช้ยาดังกล่าวในฟาร์มโคนมในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และมีการใช้ยาต้านจุลชีพเกินความจำเป็น ดังนั้นควรเลือกใช้ยาให้เหมาะกับเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค (MacKellar, 1991)

การศึกษาค้นคว้านี้ชี้ให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในโครีดนม พบทั้งเชื้อที่ติดต่อกับโคสูโค และเชื้อที่ปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเกษตรกรจึงควรให้ความเอาใจใส่ทั้งต่อสุขศาสตร์การรีดนม และความสะอาดของบริเวณโรงเรือนพักโครีดนม จากการพบอัตราการดื้อยาต้านจุลชีพในระดับสูงนั้น จึงควรพิจารณาจากผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการก่อน

ทำการรักษา นอกจากนี้ผู้ทำการรักษาควรคำนึงถึงขนาดยาที่เหมาะสมรวมถึงความถี่ในการรักษา (Sukolrat et al., 2007) เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษาโรคเต้านมอักเสบในโครีดนมและชะลอการเกิดการติดเชื้อของเชื้อแบคทีเรีย

สรุป

จากผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าโครีดนมในเขตอำเภอศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี ที่เป็นโรคเต้านมอักเสบพบค่าความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการสูงกว่าแบบแสดงอาการ และเชื้อแบคทีเรียกลุ่มหลักที่ทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในโครีดนมเมื่อแยกตามสาเหตุของการเกิดโรค พบว่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococcus* spp. มีค่าความชุกของการเกิดโรคเต้านมอักเสบสูงที่สุดทั้งแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ รองลงมา คือ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* spp. นอกจากนี้ยังพบเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. ที่เป็นปัญหาในการก่อโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการได้ จากการปนเปื้อนจากดิน ฝุ่นละออง มูลสัตว์ รวมถึงอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ สำหรับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* พบเฉพาะในโครีดนมที่เป็นโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการเท่านั้น

สำหรับยาต้านจุลชีพที่มีค่าความไวเฉลี่ยต่อเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการ คือ ceftiofur (87.50%), kanamycin (87.18%), และ gentamycin (86.60%) ซึ่ง ceftiofur เป็นยาต้านจุลชีพที่มีค่าความไวในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสูงที่สุด สามารถยับยั้งเชื้อได้ครอบคลุมเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus* spp. *Streptococcus* spp. และ *Bacillus* spp. จึงเป็นทางเลือกสำหรับการรักษาที่ดีในพื้นที่นี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายสมชาย กรังกระโทก หัวหน้าศูนย์ส่งเสริมกิจการโคนมภาคตะวันออกเฉียงเหนือเขตศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่เพื่อเป็นห้องปฏิบัติการในการตรวจวินิจฉัย การทำงานวิจัย สถานที่พัก และให้คำแนะนำปรึกษาทางด้านวิชาการ

ขอขอบคุณ น.สพ.นิติรัฐ ถียั้ง และ น.สพ.อุเทน หมั่นจิตร นายสัตวแพทย์ปฏิบัติการ สังกัดหน่วย DHHU สังกัดสำนักงานปศุสัตว์เขต 4 อำเภอศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มผู้เลี้ยงโคนมในเขตอำเภอศรีธาตุ

ขอขอบคุณเจ้าของฟาร์มผู้เลี้ยงโคนม ทั้งหมด 50 ฟาร์ม ในเขตอำเภอศรีธาตุ จังหวัดอุดรธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมและเข้าร่วมโครงการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Aiumlamai S., Chanlun A., Sakolapong V., van Oostveen F., Jara-saeng C., Krajangpo C., Pattanawong J, 2000. Prevalence of organisms causing subclinical mastitis in Amphur Muang, Khon Kaen. Proceedings of the 26th Annual conference the Thai Veterinary Medical Association Under the Royal Patronage, Bangkok, Thailand, 15-17 November. p. 53-63.
- Al-Mutairi M.F, 2011. The incidence of *Enterobacteriaceae* causing food poisoning in some meat product. J Food Sci Technol 3(2), 116-121.
- Ard-ong O, Parinya P, 2011. An evaluation of bulk milk somatic cell count (BMSCC) and its impact on milk production in dairy farm of the upper Northeastern part of Thailand in the fiscal year 2009. Thai-NIAH e-Journal 5 (3), 87-97.
- Bartlett PC, Miller GY, Lance SE, Heider LE, 1992. Clinical mastitis and intramammary infections on Ohio dairy farms. Prev Vet Med 12, 59-71.
- Bradley AJ, GreenMJ, 2005. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. In Pract 27, 310-315.
- Busato A, Trachsel P, Schallibaum M, Blum JW, 2000. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. Prev Vet Med 44, 205-220.
- Dodd FH, 1983. Mastitis-Progress on control. J Dairy Sci 66, 1773-1781.
- Eberhart JL, Luoma DL, 1996. *Truncocolumella citrina* + *Pseudotsuga menziesii*. In: Goodman, D.M., Durall, D.M., Trofymow, J.A., and Berch, S.M. (eds.). A manual of concise descriptions of North American ectomycorrhizae. Mycologue Publications, copublished by B.C. Ministry of Forests, Canadian Forest Service, Victoria B.C. Pp. CDE9, 1-4.
- Jay, J.M. (Ed.), 1996. Modern Food Microbiology. 5th ed. New York: Chapman & Hall.
- Jayrao BM, Gillespie BE, Lewis MJ, Dowlen HH, Oliver SP, 1999. Epidemiology of *Streptococcus uberis* intramammary infections in a dairy herd. J Vet Med 46, 433-442.
- Kirk JH, Wright JC, Berry WL, Reynolds JP, Maas JP, Ahmadi A, 1996. Relationships of milk culture status at calving with somatic cell counts and milk production of dairy heifers during early lactation on a Californian dairy. Prev Vet Med

28, 187-198.

- Krukowski H, Tietze M, Majewski T, Rozanski P, 2001. Survey of yeast mastitis in dairy herds of small type farms in the Lublin region, Poland. *Mycopathologia* 150, 5-7.
- Lescourret F, Coulon JB, Faye B, 1995. Predictive model of mastitis occurrence in the dairy cow. *J Dairy Sci* 78, 2167-77.
- MacKellar, Q.A, 1991. Intramammary treatment of mastitis in cows. *In Pract* 13, 244-249.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; Approved Standard- Fifth Edition. NCCLS document M7- A5 (ISBN 1-56238-394-9). NCCLS,940 West Vally Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087- 1898, USA.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards,1997. Methods for dilution antimicro-bial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, Approved standard M7-A4. National Committee for Clinical Labora-tory Standards, Wayne, Pa.
- National Mastitis Council (NMC),1999. Laboratory handbook on bovine mastitis. ^{2nd}ed. Verona: National Mastitis Council, Inc.
- Natthamon T, 2013. Bulk tank somatic cell count and bacteria standard plate count from bovine milk in northeastern region of Thailand. *Agricultural Sci J* 44(1), 391-394.
- Natzke RP. Elements of mastitis control. *J Dairy Sci* 64, 1431.
- Oliver SP, 1988. Frequency of isolation of environmental mastitis-causing pathogens and incidence of new intramammary infection during the nonlactating period. *Am J Vet Res* 49, 1789-1793.
- Philpot WN, Nickerson SC, 1991. Mastitis: Counter Attach. Babson Bross.Co. Illinois.USA; p 150.
- Phuektes P, Mansel PD, Rodney SD, Hooper ND, Dick JS, Browning GF, 2001. Molecular epidemiology of *Streptococcus uberis* isolates from dairy cows with mastitis. *J Clin Microbiol* 39, 1460-1466.
- Rittichai P, Sudawan C, Pranpreya K, 2014. Prevalence of subclinical mastitis and potential risk factors in lactating cows In Udon Thani Province. *KKU Vet J* 24(1), 43-56
- Schrack FN, Hockett ME, Saxton AM, Lewis MJ, Dowlen HH, Oliver SP, 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J Dairy Sci* 84, 1407-1412.
- Schukken YH, Lam TJ, Nielsen M, Hegeveen H, Barkema HW, Grommers FJ, 1995. Subclinical mastitis on dairy farms in the Netherlands: epidemiological developments. *Tijdschrift v Diergen* 120, 208-213.
- Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F, 2003. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 34, 475-491.
- Sukolrat B, Julanee T, Khwanchai K, Witaya S, 2007. Anitimicrobial Resistance of Mastitis-Associated Bacteria in Lactating Dairy Cows in Chiang Mai Province. *Chiang mai Vet J* 5(2), 135-145.
- Vasavada, P.C., Cousin, M.A, 1993. Dairy microbiology and safety. In Hui, Y.H. (Ed.) Dairy Science and Technology Handbook, Vol. 2: Product Manufacturing. (pp. 301-426). New York: VCH Publishers.