

Research article

อุบัติการณ์ *Escherichia coli* สร้างเบต้าแลคทาเมสแบบขยายผลที่แยกได้จาก
ฟาร์มปศุสัตว์ในจังหวัดสกลนคร

Incidence of extended spectrum beta-lactamase producing
Escherichia coli isolated from a livestock farm in Sakon Nakhon Province

ธัชเวช ภูมิประสิทธิ์*, ชเวง สารคล่อง, ชำนาญวิทย์ พรหมโคตร,
อภिरดา แสนหุม, นฤมล กุลชาติ

Thachawech Kimprasit*, Chaweng Sarnklong, Chamnanwit Promkot,
Aphirada Sanhoom, Narumol Kulchat

สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร
Department of Animal Science, Faculty of Natural Resources,
Rajamangala University of Technology Isan, Sakon Nakhon Campus

*Corresponding author, e-mail : thachawech.ki@rmuti.ac.th

Received: 1 December 2022; Revised: 27 April 2023; Accepted: 9 May 2023

บทคัดย่อ

บทนำ: เนื่องจากหลาย ๆ ประเทศรวมถึงประเทศไทย ได้รายงานอุบัติการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้า-แลคแทม (Beta-lactam) และ/หรือ การพบยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์เบต้าแลคทาเมสแบบขยายผล (extended spectrum beta-lactamase; ESBL) ของเชื้อ *Escherichia coli* จากสัตว์เลี้ยงสัตว์ป่วยด้วยโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารและระบบทางเดินปัสสาวะ รวมไปถึงสัตว์ที่มนุษย์บริโภคเป็นอาหาร และเนื่องจากเชื้อชนิดนี้สามารถส่งต่อยีนดื้อยากลุ่มนี้ผ่านทางห่วงโซ่อาหาร จึงเป็นที่น่ากังวลว่าฟาร์มปศุสัตว์จะเป็นแหล่งสะสมและแพร่เชื้อ *E. coli* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL (ESBL-producing *E. coli*) กลุ่มนี้ซึ่งอาจนำไปสู่ปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญคือการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อการรักษาในมนุษย์ไม่ได้ผลเนื่องจากเชื้อดื้อยา **วัตถุประสงค์:** เพื่อทำการคัดแยกเชื้อ *E. coli* จากฟาร์มปศุสัตว์แห่งหนึ่งในจังหวัดสกลนคร และทำการประเมินความไวต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่มเบต้า-แลคแทม และการสร้างเอนไซม์ ESBL แบบขยายผลของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเฝ้าระวังสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพที่อาจส่งผลกระทบต่อมนุษย์ผ่านทางห่วงโซ่อาหารต่อไปในอนาคต **วิธีการศึกษา:** ทำการคัดแยกเชื้อ *E. coli* จากตัวอย่างในฟาร์มปศุสัตว์แห่งหนึ่งในจังหวัดสกลนครจำนวน 50 ตัวอย่าง แล้วนำมาทดสอบการดื้อต่อยาต้านจุลชีพกลุ่มเบต้า-แลคแทมด้วยวิธี disc diffusion method และทดสอบยืนยันการสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคทาเมสแบบขยายผลด้วยวิธี combination disc test **ผลการศึกษา:** พบเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* จำนวน 26 ไอโซเลท จากตัวอย่างจำนวน 50 ตัวอย่าง และการทดสอบด้วยวิธี disc diffusion method พบว่าเชื้อ *E. coli* จำนวน 10 ไอโซเลท คือต่อสารต้านจุลชีพที่นำมาทดสอบ ประกอบด้วย cefotaxime, aztreonam, ceftazidime และ cefpodoxime คิดเป็นร้อยละ 38.46 ร้อยละ 3.85 ร้อยละ 38.46 และร้อยละ 11.54 ตามลำดับ จากนั้นนำ *E. coli* ทั้ง 10 ไอโซเลทมาทดสอบยืนยันการสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคทาเมสแบบขยายผล ด้วยวิธี combination disc test ประกอบด้วยชุดของยา cefotaxime และ cefotaxime-clavulanic acid และชุดของยา ceftazidime และ ceftazidime-clavulanic acid พบว่า *E. coli* ทั้ง 10 ไอโซเลทสามารถสร้างเอนไซม์ดังกล่าวได้ **บทสรุป:** ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าฟาร์มเลี้ยงสัตว์เป็นแหล่ง

สะสมและสามารถเป็นแหล่งแพร่กระจายเชื้อ *E. coli* ที่สามารถสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคทาไมสแบบขยายผล และสามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการเฝ้าระวังสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพที่อาจส่งผลกระทบต่อมนุษย์ผ่านทางห่วงโซ่อาหารต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: แบคทีเรีย การดื้อยา ฟาร์มปศุสัตว์

Abstract

Background: Several countries, including Thailand, have reported the prevalence of beta-lactam resistance and/or the discovery of extended spectrum beta-lactamase genes of *Escherichia coli* in pets, domestic animals' gastrointestinal tract and urinary tract, and animals consumed by humans. It is also concerning that the *E. coli* can transmit drug-resistant genes to humans through the food chain, which could result in a serious public health issue if antimicrobial therapies used in humans do not work.

Objectives: The aims of this study were to isolate *E. coli* from a livestock farm in Sakon Nakhon Province, and beta-lactam antimicrobial susceptibilities and ESBL producing of the *E. coli* isolates were evaluated to provide basic information for the surveillance of antimicrobial resistance spread to humans through food chains. **Methods:** *Escherichia coli* isolates from 50 livestock farm samples located in Sakon Nakhon were isolated and phenotypically studied for their antimicrobial sensitivity profiles, extended spectrum beta-lactamase enzymes (ESBL) using a disc diffusion assay, and a combination disc method for confirmation. **Results:** Twenty-six *E. coli* isolates of fifty samples were isolated. Ten isolates were resistant to the antimicrobial agents tested, including cefotaxime, aztreonam, ceftazidime, and ceftazidime at 38.46%, 3.85%, 38.46%, and 11.54%, respectively. A combination disc test consisting of cefotaxime and cefotaxime-clavulanic acid, as well as ceftazidime and ceftazidime-clavulanic

acid, was used to test all ten *E. coli* isolates for ESBL enzyme production. Finally, all ten isolates were capable of producing the ESBL enzyme. **Conclusions:** The findings of this study indicate that animal farms are reservoirs and potential reservoirs of *E. coli* capable of producing extended spectrum beta-lactamase enzyme, which means this information can be used to monitor the situation of antimicrobial resistance that may affect humans in the future through the food chain.

Keywords: Antimicrobial resistance, Bacteria, extended spectrum beta-lactamase, Livestock farm

บทนำ (Introduction)

เชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal flora) ที่ยึดเกาะบริเวณภายในลำไส้เล็กและใหญ่ของคนและสัตว์ เมื่อถูกขับออกจะเจริญในมูลสดได้ประมาณ 3 วันหลังจากนั้นจำนวนจะลดน้อยลง เชื้อ *E. coli* ส่วนหนึ่งสามารถปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมต่างๆ (Persistent *E. coli*) และมีชีวิตอยู่ได้นานหลายวัน อีกทั้งยังมีความสำคัญในการเป็นตัวชี้วัดเพื่อควบคุมคุณภาพของอาหารและผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยใช้เป็นตัวบ่งชี้ที่บ่งบอกว่าผลิตภัณฑ์มีการปนเปื้อนของสิ่งปนเปื้อนหรือไม่ ในภาวะร่างกายปกติเชื้อ *E. coli* ไม่ทำให้เกิดโรค แต่เมื่อใดก็ตามที่สัตว์ได้รับปัจจัยที่ส่งผลต่อแบคทีเรียในลำไส้ก็อาจจะส่งผลกระทบต่อสัตว์ได้ เรียกว่าเชื้อฉวยโอกาส (Opportunistic pathogen) ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดสารพิษ (Toxin) ที่เชื้อผลิตออกมาเช่น ชิกา (Shiga toxin) ที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงที่ระบาดในทวีปยุโรป อเมริกา และประเทศอื่น ๆ ส่งผลให้มีคนป่วยและเสียชีวิต¹ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตและเกิดการปนเปื้อนได้ทุกที่โดยเฉพาะบริเวณที่มีการเลี้ยงสัตว์ ความชื้นและ หรืออาจมีการปนเปื้อนจากสิ่งขับถ่ายของสัตว์ไปยังอาหารและเครื่องดื่ม (fecal-oral route)^{2,3}

ในทางการแพทย์และสัตวแพทย์ได้ทำการรักษาโดยการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพในกลุ่มเบต้า-แลคแทม (Beta-lactam) ในการรักษาผู้ป่วยและสัตว์ป่วย เนื่องจากยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ

แบคทีเรีย (bactericidal) และมีความปลอดภัยต่อผู้สูงอายุ โดยยามีกลไกการออกฤทธิ์ที่ขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดยตรง⁴ แต่อย่างไรก็ตามผลข้างเคียงจากการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพชนิดนี้ ทำให้มีการพัฒนาของเชื้อดื้อยาเกิดขึ้นในระบบทางเดินอาหารของผู้ป่วยหรือสัตว์ป่วยที่ได้รับยาต้านจุลชีพ ซึ่งนำไปสู่ปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญคือการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อการรักษาในมนุษย์และสัตว์ไม่ได้ผลเนื่องจากเชื้อดื้อยา

การดื้อของเชื้อ *E. coli* ต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม Beta-lactam มักเกิดขึ้นได้ง่ายหลังจากที่มีการนำยาต้านจุลชีพมาใช้ในการรักษาได้ไม่นาน กลไกหลักที่สำคัญซึ่งทำให้แบคทีเรียแกรมลบดื้อยาในกลุ่มนี้ได้คือการสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคทาเมส (Beta-lactamase) เพื่อทำลายฤทธิ์ของยา ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องหาทางเลือกโดยการใช้ยาต้านจุลชีพชนิดใหม่ ที่อยู่ในกลุ่ม Beta-lactam เช่น ยาต้านจุลชีพชนิด cephalosporins รุ่นใหม่ๆ เพื่อนำมาใช้ทดแทนยาต้านจุลชีพชนิดเดิม แต่อย่างไรก็ตามมีการค้นพบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์ชนิดใหม่ๆ เพื่อทำลายยาในกลุ่ม Beta-lactam เพิ่มมากขึ้นโดยเรียกกลุ่มของเอนไซม์นี้ว่าเอนไซม์เบต้า-แลคทาเมสแบบขยายผล (Extended Spectrum Beta-Lactamase, ESBL)⁵ กลไกการดื้อยาต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียโดยการสร้างเอนไซม์ ESBL เป็นอุบัติการณ์ที่พบได้ทั่วโลกทั้งในมนุษย์และสัตว์และมีความเกี่ยวข้องกับความปลอดภัยในห่วงโซ่ของการผลิตสัตว์เพื่อเป็นอาหารของมนุษย์ เนื่องจากมีการใช้ยาในกลุ่ม cephalosporins รุ่นที่ 3 และ 4 (third-generation และ fourth-generation cephalosporins) ในการรักษาโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารทั้งในคนและในสัตว์

งานวิจัยทั้งในประเทศและต่างประเทศ ได้รายงานอุบัติการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่ม Beta-lactam และ/หรือ การพบยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ ESBL ของเชื้อ *E. coli* จากสัตว์เลี้ยง สัตว์ป่วยด้วยโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารและระบบทางเดินปัสสาวะ^{6,7} รวมไปถึงสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ด้วย เช่น สุกร^{8,9} ไก่และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ปีก^{10,11,12} และโคนม¹³ แต่สำหรับประเทศไทยแล้ว การศึกษาการสร้างเอนไซม์ ESBL ของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ซึ่งเป็นแหล่งสะสมเชื้อที่สำคัญในการปนเปื้อนจากสัตว์ไปสู่มนุษย์และสิ่งแวดล้อมภายนอกยังมีอย่างจำกัด

ดังนั้น เพื่อเป็นการเฝ้าระวังอุบัติการณ์ของการดื้อยาต้านจุลชีพดังกล่าว การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งหวังที่จะทำการคัดแยกเชื้อ *E. coli* จากสิ่งแวดล้อมในฟาร์มปศุสัตว์แห่งหนึ่งในจังหวัดสกลนคร ประกอบด้วย มูลสัตว์ น้ำนํคา น้ำประปาสำหรับให้สัตว์ดื่ม น้ำดื่จากสระเก็บน้ำสำหรับใช้อุปโภคภายในฟาร์ม อาหารข้นผสมเองสำหรับเลี้ยงสัตว์ และวัตถุดิบอาหารสัตว์ต่างๆ เนื่องจากได้มีรายงานการพบเชื้อ *E. coli* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ ESBL จากแมลงวันในบริเวณใกล้กับฟาร์มเลี้ยงสัตว์แห่งนี้¹⁴ ซึ่งมีรัศมีระยะทางระหว่างแหล่งที่พบกับฟาร์มเลี้ยงสัตว์แห่งนี้น้อยกว่า 2 กิโลเมตร คณะผู้วิจัยจึงตั้งสมมติฐานว่าแมลงวันน่าจะเป็นหนึ่งในพาหะสำคัญในการหมุนเวียนหรือแพร่กระจายเชื้อ *E. coli* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ ESBL สู่อุปโภคเลี้ยงสัตว์ อีกทั้งยังทำการประเมินความไวต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม Beta-lactam และความสามารถในการผลิตเอนไซม์ ESBL ของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเฝ้าระวังสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพที่อาจส่งผลกระทบต่อมนุษย์ผ่านทางห่วงโซ่อาหารต่อไปในอนาคต

วิธีการศึกษา (Method)

1. ประวัติการใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์ม

ทำการรวบรวมเอกสารข้อมูลการใช้ยาปฏิชีวนะภายในระยะเวลา 1 ปี ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ที่จะทำการเก็บตัวอย่าง

2. การเก็บตัวอย่างและการเพาะแยกเชื้อ *E. coli*

ทำการเก็บตัวอย่างมูลสดจากไก่เนื้อ จำนวน 13 ตัว มูลสดโคเนื้อ จำนวน 11 ตัว มูลสดโครีดนม จำนวน 6 ตัว น้ำนํคา 6 ตัวอย่างจากโครีดนมจำนวน 6 ตัว โดยทำการเก็บทันทีหลังจากรีดนมเสร็จ น้ำประปาสำหรับให้สัตว์ดื่ม 1 ตัวอย่าง น้ำประปาดิบ 3 ตัวอย่าง กากถั่วเหลืองโปรตีน 42% จำนวน 1 ตัวอย่าง อาหารข้นผสมเองสำหรับโคเนื้อ จำนวน 1 ตัวอย่าง และวัตถุดิบอื่น ๆ ในรูปแบบวัตถุดิบที่ในการผสมอาหารสัตว์ จำนวน 8 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ใบกระถินป่น ปลาขี้ขาว ฟางข้าว รำละเอียด รำหยาบ เมล็ดข้าวโพด กากเมล็ดฝ้าย และกากเมา อย่างละ 1 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้นจำนวน 50 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 1

3. การเพาะแยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์เชื้อ *E. coli*

ทำการเพาะแยกเชื้อและพิสูจน์เอกลักษณ์ของเชื้อโดยดัดแปลงขั้นตอนและวิธีการศึกษาของ Kimprasit และคณะ¹⁴ ดังนี้

3.1 นำตัวอย่างมูลสัตว์ที่ทำการเก็บด้วยวิธีการ swab จากรูทวารของสัตว์ ใส่ลงในอาหารเหลวชนิด EC (EC broth)

3.2 ปิเปิดตัวอย่างน้ำมันดิบที่เพิ่งรูดจากแม่โคนน้ำประปา และน้ำดิบจากสระเก็บน้ำ จำนวนตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ลงใน EC broth

3.3 ทำการตักกากถั่วเหลืองโปรตีน 42% อาหารชั้นสำหรับเลี้ยงโคเนื้อ และวัตถุดิบอาหารสัตว์ โดยใช้ช้อนที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาณตัวอย่างละ 25 กรัม ใส่ลงใน EC broth

หลังจากนั้นนำหลอด EC broth ที่บรรจุตัวอย่างไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำของเหลวในหลอดทดลองที่มีสภาพขุ่นไปเพาะเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* บนอาหารแข็ง Eosin Methylene Blue agar ด้วยวิธี streak plate แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เมื่อเวลาผ่านไป 18-24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะเป็นสี metallic sheen นำไปย้อมสีแกรมและทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (Indole test, Methyl red test, Voges – Proskauer Test, Citrate Test; IMViC Test) จากนั้นเลือกโคโลนีที่ย้อมติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ให้ผลบวกต่อ Indole test และ Methyl red test และให้ผลลบต่อ VP test และ Citrate test เก็บใส่ในอาหารเหลวชนิด Luria-Bertani (LB broth) เก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ -80 °C เพื่อนำมาทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4. การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ

4.1 การทดสอบ Initial Screen Test

นำเชื้อแบคทีเรียชนิด *E. coli* ที่แยกได้จากข้อ 2 มาทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพขั้น Initial Screen Test โดยประกอบด้วยสารต้านจุลชีพจำนวน 4 ชนิดคือ cefpodoxime (10 ไมโครกรัม) ceftazidime (30 ไมโครกรัม) astreonam (30 ไมโครกรัม) และ cefotaxime (30 ไมโครกรัม) ด้วยวิธี disc diffusion assay ตามวิธีการมาตรฐานของ Clinical Laboratory Standard Institute¹⁵ โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากข้อ 2 และเชื้อแบคทีเรียควบคุม (*Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) มาเพาะบน MacConkey agar จากนั้นเลือกโคโลนีเดี่ยวมาปรับความขุ่นในอาหารเหลวชนิด Mueller-Hinton (Mueller-Hinton broth; MHB) ให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน MacFarland No.0.5 เพื่อปรับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย แล้วนำ

cotton swab ที่ปราศจากเชื้อมาชุบสารละลายที่ปรับปริมาณเชื้อแล้วนำไปป้ายบน Mueller-Hinton agar (MHA) เป็น 3 ระบาย เพื่อให้เชื้อกระจายทั่วผิวของอาหารเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ 3-5 นาทีเพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเพาะเชื้อแห้ง จากนั้นนำ forceps คีบแผ่นยาด้านจุลชีพมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ กดเบา ๆ เพื่อให้แผ่นยาด้านจุลชีพติดกับอาหารเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 16-18 ชั่วโมง โดยทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ทำการอ่านผลโดยวัดความกว้างของ inhibition zone และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) แล้วนำมาแปลผลตามตารางของ CLSI โดยค่าที่ทำการแปลผลแล้วสามารถแปลผลได้ดังนี้ S (susceptible) I (intermediate) และ R (resistant)

4.2 การทดสอบ Phenotypic Confirmatory Test

นำเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลการทดสอบความไวยาเป็น resistant (R) จากการทดสอบขั้น Initial screen test และเชื้อแบคทีเรียควบคุม (*E. coli* ATCC 25922 และ *K. pneumoniae* ATCC 700603) มาเพาะบน MacConkey agar เพื่อทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพขั้น Phenotypic Confirmatory Test ด้วยวิธี combination disc diffusion assay ตามวิธีการมาตรฐานของ Clinical Laboratory Standard Institute¹⁵ ประกอบด้วยสารต้านจุลชีพจำนวน 4 ชนิด คือ ceftazidime (30 ไมโครกรัม) ceftazidime-clavulanate (30/10 ไมโครกรัม) cefotaxime (30 ไมโครกรัม) และ cefotaxime-clavulanate (30/10 ไมโครกรัม) จากนั้นเลือกโคโลนีเดี่ยวมาปรับความขุ่นในอาหาร MHB ให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน MacFarland No.0.5 เพื่อปรับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย แล้วนำ cotton swab ที่ปราศจากเชื้อมาชุบสารละลายที่ปรับปริมาณเชื้อแล้วนำไปป้ายบน MHA เป็น 3 ระบาย เพื่อให้เชื้อกระจายทั่วผิวของอาหารเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ 3-5 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเพาะเชื้อแห้ง จากนั้นนำ forceps คีบแผ่นยาด้านจุลชีพมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ กดเบา ๆ เพื่อให้แผ่นยาด้านจุลชีพติดกับอาหารเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 16-18 ชั่วโมง โดยทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ทำการอ่านผลโดยวัดความกว้างของ inhibition zone และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ถ้า inhibition zone ของเชื้อที่ทดสอบกับสารต้านจุลชีพชนิด 2 ตัวมีความกว้างกว่า inhibition zone ของเชื้อที่ทดสอบกับสารต้านจุลชีพ

ชนิด 1 ตัวยาได้ค่าตั้งแต่ 5 มิลลิเมตรขึ้นไปให้อ่านผลเป็น resistant แต่ถ้า inhibition zone ของเชื้อที่ทดสอบกับสารต้านจุลชีพชนิด 2 ตัวยามีความกว้างกว่า inhibition zone ของเชื้อที่ทดสอบกับสารต้านจุลชีพชนิด 1 ตัวยาน้อยกว่า 5 มิลลิเมตรให้อ่านผลเป็น susceptible

ผลการศึกษา (Results)

1. ประวัติการใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์ม

จากการสอบถามและรวบรวมข้อมูลประวัติการใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์มภายในระยะเวลา 1 ปี พบว่า ฟาร์มแห่งนี้ได้ใช้ยาปฏิชีวนะชนิด tetracycline (50mg/ml) แบบฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular injection) เพียงชนิดเดียว โดยใช้เพื่อทำการรักษาอาการเดานมอักเสบในโคนม และไม่มีประวัติการใช้ยา tetracycline ในสัตว์ทุกชนิดภายใน 30 วัน ก่อนถึงเวลาเก็บตัวอย่าง

2. การเก็บตัวอย่างและการเพาะแยกเชื้อ *E. coli*

จากตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 50 ตัวอย่าง พบมีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* จำนวน 26 ตัวอย่าง ได้แก่ มูลไก่เนื้อ 5 ตัวอย่าง มูลโครีดนม 6 ตัวอย่าง มูลโคเนื้อ 11 ตัวอย่าง น้ำนมดิบ น้ำดิบจากสระเก็บน้ำ อาหารข้นผสมเองสำหรับเลี้ยงโคเนื้อ กากถั่วเหลืองโปรตีน 42% อย่างละ 1 ตัวอย่าง ส่วนตัวอย่างที่ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* คือ น้ำประปา และวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผสมอาหารสัตว์ทั้ง 8 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ประเภทตัวอย่าง จำนวนตัวอย่าง และร้อยละของเชื้อ *Escherichia coli* ที่พบในตัวอย่าง

ประเภทตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่เก็บ	จำนวนไอโซเลทของ <i>E. coli</i> ที่พบ (ร้อยละ)
มูลไก่เนื้อ	13	5/13 (38.46)
มูลโครีดนม	6	6/6 (100.00)
มูลโคเนื้อ	11	11/11 (100.00)
น้ำนมดิบ	6	1/6 (16.67)
น้ำประปา	1	0/1 (0.00)
น้ำดิบจากสระเก็บน้ำ	3	1/3 (33.33)
อาหารข้นสำหรับโคเนื้อ	1	1/1 (100.00)
วัตถุดิบอาหารสัตว์	8	0/8 (0.00)
กากถั่วเหลืองโปรตีน 42%	1	1/1 (100.00)
รวม	50	26/50 (52.00)

โดยพบการปนเปื้อน *E. coli* ในมูลสัตว์ คิดเป็นร้อยละ 84.62 (22/26) ของตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli*

3. การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

นำ *E. coli* ทั้ง 26 ไอโซเลท ไปทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพด้วยวิธี disc diffusion method ผลการทดสอบปรากฏว่าเชื้อ *E. coli* จำนวน 10 ไอโซเลท แบ่งเป็นเชื้อที่แยกจากโคเนื้อ 5 ไอโซเลท ไก่เนื้อ 3 ไอโซเลท น้ำดิบจากสระเก็บน้ำ และอาหารข้นสำหรับโคเนื้อ จำนวนอย่างละ 1 ไอโซเลท มีการดื้อต่อสารต้านจุลชีพที่นำมาทดสอบ คิดเป็นร้อยละ 38.46 ของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้ทั้งหมด โดยพบว่ามีเพียง 1 ไอโซเลท (1/26) ที่แยกได้จากอาหารข้นสำหรับโคเนื้อ มีการดื้อต่อสารต้านจุลชีพทุกชนิดที่นำมาทดสอบ คิดเป็นร้อยละ 3.85 ของ *E. coli* ที่แยกได้ทั้งหมด เชื้อจำนวน 10 ไอโซเลทมีการดื้อต่อสารต้านจุลชีพชนิด cefotaxime (CTX) 10 ไมโครกรัม และ ceftazidime (CAZ) 30 ไมโครกรัม คิดเป็นร้อยละ 38.46 ของ *E. coli* ที่แยกได้ทั้งหมด ส่วนไอโซเลทที่มีการดื้อต่อสารต้านจุลชีพชนิด aztreonam (AT) 30 ไมโครกรัม พบเพียง 1 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 3.85 ของ *E. coli* ที่แยกได้ทั้งหมด และจำนวน 3 ไอโซเลท ดื้อต่อสารต้านจุลชีพชนิด cefpodoxime

ตารางที่ 2 จำนวนไอโซเลทและร้อยละ (%) ของเชื้อ *Escherichia coli* ที่มีการดื้อต่อสารต้านจุลชีพที่นำมาทดสอบในขั้น Initial Screen Test

ชนิดตัวอย่าง (จำนวนไอโซเลท ที่ดื้อยา)	ชนิดของสารต้านจุลชีพ			
	Cefotaxi- me(CTX) 10 ไมโครกรัม	Astreonam(AT) 30 ไมโครกรัม	Ceftazidi- me(CAZ) 30 ไมโครกรัม	Cefpodoxim- e(CPD) 30 ไมโครกรัม
มูลโคเนื้อ (5/11)	5/26 (19.23%)	-	5/26 (19.23%)	1/26 (3.85%)
มูลไก่เนื้อ (3/13)	3/26 (11.54%)	-	3/26 (11.54%)	1/26 (3.85%)
อาหารชั้นสำหรับโคเนื้อ (1/1)	1/26 (3.85%)	1/26 (3.85%)	1/26 (3.85%)	1/26 (3.85%)
กากถั่วเหลืองโปรตีน 42% (1/1)	1/26 (3.85%)	-	1/26 (3.85%)	-
รวม	10/26 (38.46%)	1/26 (3.85%)	10/26 (38.46%)	3/26 (11.54%)

(CPD) 30 ไมโครกรัม คิดเป็นร้อยละ 11.54 ดังแสดงในตารางที่ 2

จากนั้นนำเชื้อทั้ง 10 ไอโซเลท ที่มีการดื้อต่อสารต้านจุลชีพจากผลการทดสอบขั้น Initial Screen Test มาทดสอบยืนยันในขั้น Phenotypic Confirmatory Test พบว่า เชื้อ *E. coli* ทั้ง 10 ไอโซเลท (คิดเป็นร้อยละ 38.46 ของจำนวน *E. coli* ที่แยกได้ทั้งหมด) ดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่นำมาทดสอบ (ตารางที่ 3) แสดงว่าเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้สามารถสร้างเอนไซม์ ESBL ได้ และมีโอกาสที่จะส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียดื้อต่อสารต้านจุลชีพประสิทธิภาพสูงที่นำมารักษาสัตว์ป่วย

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพในขั้น Phenotypic Confirmatory Test ของเชื้อ *Escherichia coli* ด้วยวิธี combination disc diffusion assay

ชนิดตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ชนิดของสารต้านจุลชีพ/ความกว้างของ inhibition zone (มิลลิเมตร)					
		Ceftazidime 30 ไมโครกรัม	Ceftazidime- Clavulanate 30/10ไมโครกรัม	การ แปล ผล	Cefotaxime 30 ไมโครกรัม	Cefotaxime- Clavulanate 30/10 ไมโครกรัม	การ แปล ผล
มูลโคเนื้อ	BeF-02	20±0.47	25±0.58	R	25± 0.29	31±0.00	R
	BeF-03	21±0.58	27±0.58	R	25±0.00	30±0.00	R
	BeF-06	20±0.00	26±0.00	R	27±0.00	33±0.00	R
	BeF-09	19±0.47	25±0.29	R	26±0.47	32±0.00	R
	BeF-10	20±0.29	25±0.00	R	26±0.58	32±0.00	R
มูลไก่เนื้อ	ChF-08	20±0.00	26±0.00	R	27±0.00	33±0.00	R
	ChF-10	22±0.29	28±0.00	R	25±0.00	31±0.00	R
	ChF-11	20±0.47	26±0.29	R	25±0.00	30±0.00	R

ชนิดตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	ชนิดของสารต้านจุลชีพ/ความกว้างของ inhibition zone (มิลลิเมตร)					
		Ceftazidime 30 ไมโครกรัม	Ceftazidime- Clavulanate 30/10ไมโครกรัม	การ แปล ผล	Cefotaxime 30 ไมโครกรัม	Cefotaxime- Clavulanate 30/10 ไมโครกรัม	การ แปล ผล
กากถั่วเหลือง โปรตีน 42%อาหาร ชั้นสำหรับโค เนื้อ	Soy-01	20±0.00	25±0.00	R	26±0.00	32±0.00	R
	Tmr-01	21±0.00	27±0.00	R	25±0.00	31±0.00	R

ผลการศึกษาแสดงเป็น Mean±SD (standard deviation) จากการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ
R; Resistant (เชื้อแบคทีเรียมีการต่อต้านสารต้านจุลชีพที่นำมาทดสอบ)

อภิปรายผล (Discussion)

เนื่องจากองค์การอนามัยโลก (WHO)¹⁶ ได้ประกาศให้ *E. coli* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ ESBL เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญสำหรับการเฝ้าระวังการดื้อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial Resistance; AMR) ทั่วโลก ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการคัดแยกเชื้อ *E. coli* จากมูลสัตว์ น้ำดื่มสำหรับสัตว์ วัตถุดิบอาหารสัตว์ ผลิตภัณฑ์น้ำนมโค และน้ำดิบจากสระเก็บน้ำในฟาร์มปศุสัตว์แห่งหนึ่งในจังหวัดสกลนคร และทำการประเมินความไวต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม Beta-lactam ของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้ เนื่องจากฟาร์มแห่งนี้อยู่ใกล้กับบริเวณพื้นที่ที่มีการพบการดื้อยาต้านจุลชีพดังกล่าวในตัวอย่างแมลงวัน 14 โดยผลการศึกษานี้พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้มีการดื้อยาต้านจุลชีพกลุ่ม Beta-lactam เช่นเดียวกัน โดยพบการดื้อยาดังกล่าวคิดเป็นร้อยละ 38.46 ของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้ทั้งหมด และจากการสอบถามและรวบรวมข้อมูลประวัติการใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์มพบว่าฟาร์มแห่งนี้มีการใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่ม tetracycline ชนิดฉีดเข้ากล้ามเนื้อเพียงชนิดเดียว ในช่วงระยะเวลา 1 ปีที่ผ่านมา และไม่ได้มีการใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Beta-lactam ดังนั้นอาจจะเป็นไปได้ว่ามีสาเหตุอย่างอื่นในการกระจายของเชื้อ *E. coli* ดื้อยา กลุ่ม Beta-lactamสู่ฟาร์มปศุสัตว์ หนึ่งในสาเหตุของการแพร่กระจายของแบคทีเรียดื้อยาผ่านมนุษย์ คือการใช้มูลสัตว์เป็นปุ๋ยคอกในการเกษตร¹⁷ จากการศึกษาในครั้งนี้พบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ในมูลสัตว์มากถึงร้อยละ 84.62 ของตัวอย่างที่พบการปนเปื้อน *E. coli* และพบการผลิตเอนไซม์ ESBL ในเชื้อดังกล่าว ทั้งนี้จากการศึกษาของ Blaak และคณะ² ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *E. coli* ที่สร้างเอนไซม์

ESBL ที่พบในมูลสัตว์ที่นำมาเป็นปุ๋ยคอกสามารถส่งต่อไปยังมนุษย์ผ่านทางห่วงโซ่อาหารโดยการรับประทานผักที่ปลูกจากดินที่มีการปนเปื้อนเชื้อดื้อยาดังกล่าว นอกจากนี้การพบเชื้อ *E. coli* ในตัวอย่างน้ำดิบจากสระเก็บน้ำจากการศึกษาครั้งนี้ อาจเกิดจากการที่คนงานชำระล้างมูลสัตว์ตามพื้นคอก ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำดิบที่นำมาใช้อุปโภคภายในฟาร์ม เนื่องจากบ่อเก็บน้ำอยู่ไม่ห่างจากบริเวณที่เลี้ยงสัตว์ ซึ่งสอดคล้องกับการค้นพบเชื้อ *E. coli* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จากน้ำล้างมือของคนงานในฟาร์มที่แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงของการปนเปื้อนระหว่างโคและมนุษย์ และอาจแพร่เชื้อดื้อยาดังกล่าวสู่คนในครอบครัว¹⁸ นอกจากนี้การพบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ในน้ำนมโคอาจจะมีสาเหตุมาจากการรีดนมด้วยมือของคนงานในฟาร์มที่มีสุขอนามัยไม่ดีพอในกระบวนการรีดนม โดยข้อสันนิษฐานนี้มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Grami และคณะ¹⁹ ที่รายงานการพบการปนเปื้อน *E. coli* ระหว่างน้ำนมโคและเกษตรกร และพบว่านมมีความเสี่ยงในการแพร่กระจายเชื้อที่สร้างเอนไซม์ ESBL ไปยังผู้บริโภคที่มีการปนเปื้อนเชื้อดังกล่าว ส่วนการพบ *E. coli* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในกากถั่วเหลืองโปรตีน 42% และการไม่พบเชื้อดื้อยาดังกล่าวในวัตถุดิบอาหารสัตว์อื่นยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัด ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นรูปของวัตถุดิบแห้งและถูกเก็บรักษาไว้ในกระสอบอย่างมิดชิด อาจจะเป็นไปได้ว่ากระสอบกากถั่วเหลืองโปรตีน 42% มีการปนเปื้อนจากแมลงพาหะ และ/หรือ หนู เนื่องจากมีการรายงานว่าหนู (*Rattus spp.*) และแมลงวันเป็นสัตว์รังโรคและพาหะของเชื้อ *E. coli* ที่สร้าง ESBL^{14,20} หรือ

อาจจะเกิดการปนเปื้อนจากมือของคนงานในฟาร์มที่ใช้มือเปล่าตัดผักแล้วเหลือทิ้งโปรตีน 42% ในการผสมอาหารให้กับสัตว์เลี้ยงในฟาร์ม

ถึงแม้ว่าการศึกษาในครั้งนี้มีอัตราการพบ ESBP-producing *E. coli* ถึงร้อยละ 38.46 แต่อย่างไรก็ตามจำนวนตัวอย่างจากการศึกษาครั้งนี้ อาจจะไม่สามารถเป็นตัวแทนของประชากรได้ทั้งหมด นอกจากนี้ผลการศึกษาอาจไม่สะท้อนถึงความชุกของ *E. coli* คือยาในกลุ่ม Beta-lactam ที่แท้จริงในฟาร์มที่สุ่มตัวอย่างเนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่จำกัด การเก็บตัวอย่างให้มากขึ้นจะทำให้ความน่าเชื่อถือของผลการศึกษาเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามตัวอย่างมูลสัตว์ ผักกาดหัวเหลือทิ้งโปรตีน 42% และอาหารขี้สำหรับโคเนื้อที่สุ่มเก็บในการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าฟาร์มปศุสัตว์เป็นแหล่งสะสมของเชื้อ *E. coli* ที่สามารถสร้าง ESBP และอาจจะสามารถแพร่กระจายสู่มนุษย์และสิ่งแวดล้อมได้

บทสรุป (Conclusion)

ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าฟาร์มเลี้ยงสัตว์เป็นแหล่งสะสมและสามารถเป็นแหล่งแพร่กระจายเชื้อ *E. coli* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ ESBP ซึ่งสะท้อนถึงความเป็นไปได้ของสถานการณ์นี้ในแง่ของเส้นทางที่สามารถแพร่กระจายเชื้อต่อจากสัตว์สู่มนุษย์ ดังนั้นผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการรักษาสัตว์ป่วย และการเฝ้าระวังสถานการณ์การดื้อยาต้านจุลชีพที่อาจส่งผลกระทบต่อมนุษย์ผ่านทางห่วงโซ่อาหารต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร และได้รับความอนุเคราะห์แบบที่เรียนนัดควบคุมจาก รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ปฐมาพร เอมะวิศิษฐ์ ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาภูมิคุ้มกัน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

1. Terajima J, Izumiya H, Hara-Kudo Y, Ohnishi M. Shiga Toxin (Verotoxin)-producing *Escherichia coli* and Foodborne Disease: A Review. *Food Saf (Tokyo)*. 2017;5(2):35-53. Published 2017 Jun 3. doi:10.14252/foodsafetyfscj. 2016029

2. Blaak H, van Hoek AH, Veenman C, et al. Extended spectrum β -lactamase- and constitutively AmpC-producing Enterobacteriaceae on fresh produce and in the agricultural environment. *Int J Food Microbiol*. 2014;168-169:8-16. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.006
3. Aijuka M, Buys EM. Persistence of foodborne diarrheagenic *Escherichia coli* in the agricultural and food production environment: Implications for food safety and public health. *Food Microbiol*. 2019;82:363-370. doi:10.1016/j.fm.2019.03.018
4. ปิยะรัตน์ จิตรภิรมย์ และ กิจจา จิตรภิรมย์. ESBP เอนไซม์บีตา-แลคทาเมสที่มีฤทธิ์ขยายอำนาจการดื้อยา. *ก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์*. 2553;10(1): 20-28.
5. Turner PJ. Extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis*. 2005;41 Suppl 4:S273-S275. doi:10.1086/430789
6. Hanhaboon P, Kimprasit T, Wajjwalku W, Amavisit P. Extended Spectrum Beta-lactamase Producing *Escherichia coli* Isolated from Infected Canines. *Thai J Vet Med*. 2015; 45(2): 263-267.
7. Li S, Liu J, Zhou Y, Miao Z. Characterization of ESBP-producing *Escherichia coli* recovered from companion dogs in Tai'an, China. *J Infect Dev Ctries*. 2017;11(3):282-286. Published 2017 Mar 31. doi:10.3855/jidc.8138
8. Dierikx CM, van der Goot JA, Smith HE, Kant A, Mevius DJ. Presence of ESBP/AmpC-producing *Escherichia coli* in the broiler production pyramid: a descriptive study. *PLoS One*. 2013;8(11):e79005. Published 2013 Nov 7. doi:10.1371/journal.pone.0079005
9. Trongjit S, Chuanchuen R. Whole genome sequencing and characteristics of *Escherichia coli* with co-existence of ESBP and mcr genes from pigs. *PLoS One*. 2021;16(11): e0260011. Published 2021 Nov 16. doi:10.1371/journal.pone. 0260011

10. Overdevest I, Willemsen I, Rijnsburger M, et al. Extended-spectrum β -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, The Netherlands. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(7):1216-1222. doi:10.3201/eid1707.110209
11. Päiväranta M, Latvio S, Fredriksson-Ahomaa M, Heikinheimo A. Whole genome sequence analysis of antimicrobial resistance genes, multilocus sequence types and plasmid sequences in ESBL/AmpC *Escherichia coli* isolated from broiler caecum and meat. *Int J Food Microbiol*. 2020;315:108361.doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108361
12. Apostolakos I, Feudi C, Eichhorn I, et al. High-resolution characterisation of ESBL/pAmpC-producing *Escherichia coli* isolated from the broiler production pyramid. *Sci Rep*. 2020;10(1):11123. Published 2020 Jul 7. doi:10.1038/s41598-020-68036-9
13. Zheng B, Feng C, Xu H, et al. Detection and characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* expressing mcr-1 from dairy cows in China. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(2):321-325. doi:10.1093/jac/dky446
14. Kimprasit T, Kumla S, Sirilaophaisan S, Sukontasing S, Hondo E, Iida A, et al. Prevalence and characteristics of extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* isolated from flies in rural Sakon Nakhon, Thailand. *Agr. Nat. Res*. 2022; 56(6): 1077–1082. Available from: doi:10.34044/j.anres.2022.56.6.02.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. *CLSI Document M100-S24*, Wayne, 2014;34(1).
16. WHO. WHO integrated global surveillance on ESBL-producing *E. coli* using a “One Health” approach: implementation and opportunities. 2021. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/who-integrated-global-surveillance-on-esbl-producing-e.-coli-using-a-one-health-approach>.
17. Ben Said L, Jouini A, Klibi N, et al. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in vegetables, soil and water of the farm environment in Tunisia. *Int J Food Microbiol*. 2015;203:86-92. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.023
18. Dahms C, Hübner NO, Kossov A, Mellmann A, Dittmann K, Kramer A. Occurrence of ESBL-Producing *Escherichia coli* in Livestock and Farm Workers in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. *PLoS One*. 2015;10(11): e0143326. Published 2015 Nov 25. doi:10.1371/journal.pone.0143326
19. Grami R, Dahmen S, Mansour W, et al. blaCTX-M-15-carrying F2:A:B- plasmid in *Escherichia coli* from cattle milk in Tunisia. *Microb Drug Resist*. 2014;20(4):344-349. doi:10.1089/mdr.2013.0160
20. Onanga R, Mbehang Nguema PP, Ndong Atome GR, et al. Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamases in *E. coli* of Rats in the Region North East of Gabon. *Vet Med Int*. 2020;2020:5163493. Published 2020 Jul 18. doi:10.1155/2020/5163493

การอ้างอิง

รัชเวชช กิมประสิทธิ์, ชเวง สารคล่อง, ชำนาญวิทย์ พรหมโคตร, อภิรดา แสนหอม และนฤมล กุลชาติ. อุบัติการณ์ *Escherichia coli* สร้างเบต้าแลคทาเมสแบบขยายผลที่แยกได้จากฟาร์มปศุสัตว์ใน จังหวัดสกลนคร. *วารสารวิชาการราชวิทยาลัยจุฬาภรณ์*. 2566; 5(3): 96-105. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/260230>

Kimprasit T., Sarnklong C., Promkot C., Sanhoom A., Kulchat N. Incidence of extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* isolated from a livestock farm in Sakon Nakhon Province. *J Chulabhorn Royal Acad*. 2023; 5(3): 96-105. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/260230>

Online Access

<https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/260230>

