Veterinary Integrative Sciences 2018; 16(3): 233-245

Vet Integr Sci

Veterinary Integrative Sciences

ISSN; 2629-9968 (online)

Website; www.vet.cmu.ac.th/cmvj



Research article

Prevalence and antibiotic resistance of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* in healthy dogs in Chiang Mai

Jirapa Thepmanee[1], Jutamart Rodroo[1], Nattakarn Awaiwanont[2], Montira Intanon[3], Kannika Na Lampang[3], Niyada Thitaram[4] and Kriangkrai Thongkorn[4,*]

[1]Graduate School, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand
[2] Department of Food Animal Clinics, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100, Thailand
[3] Department of Veterinary Bioscience and Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50100, Thailand
[4] Department of Companion Animal and Wildlife Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai5 0100, Thailand

Abstract

The aim of the present study was to investigate the prevalence and the antibiotic resistance of ESBL-producing *Escherichia coli* in healthy dogs in Chiang Mai. Fecal and oral biofilm samples were collected from eighty nine healthy dogs presented at Veterinary Teaching Hospital Chiang Mai University for received vaccination or health checking. All samples were inoculated on MacConkey agar plates containing 1ug/ml of cefotaxime and *E. coli* confirmation was performed by using MALDI TOF MS. ESBL producing *E. coli* confirmation was performed by combination disc test and the positive isolates were subjected to antibiotic susceptibility testing using 12 antibiotic discs by disc diffusion methods. The prevalence of ESBL producing *E. coli* of fecal samples was 25.84 %. On the other hand ESBL producing *E. coli* from oral biofilm samples was not detected. All ESBL producing *E. coli* isolates were highly antibiotic drug resistant, especially ampicillin, cefazolin, cephalexin and clindamycin (100% resistant). Furthermore, they had multi-drug resistance pattern. It is concluded that fecal ESBL producing *E. coli* can be found in healthy dogs and leads to the high antibiotic resistant rates. This information may increase awareness of animal-to-human or animal-to-animal transmission.

Keywords: Antibiotic resistance, *Escherichia coli*, Extended spectrum beta lactamase enzyme, Fecal sample, Healthy dogs, Oral biofilm,

***Corresponding author:** Kriangkrai Thongkorn, Department of Companion Animal and Wildlife Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50100, Thailand. E-mail: kriangkrai.th@cmu.ac.th Tel.: +66830253723

Article history; *received manuscript: 5 July 2018, revised manuscript: 1 August 2018, accepted manuscript: 5 September 2018, published online: 26 September 2018*
Academic editor: *Korakot Nganvongpanit*

Open Access Copyright: ©2018 Author (s). This is an open access article distributed under the term of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution, and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author (s) and the source.

บทนำ

เชื้อเอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ของคน และสัตว์เลือดอุ่น (Macfarlane et al., 1997) สามารถพบได้ในอุจจาระ เชื้อเอสเชอริเชีย โคไล สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อ ของร่างกายได้ในหลายระบบ เช่น ทางเดินอาหาร (Puño-Sarmiento et al., 2013; Sancak et al., 2004) สืบพันธุ์ และทางเดินปัสสาวะ (Hagman et al., 2002; Wadås, et al., 1996) รวมไปถึงการติดเชื้อในสุนัขแรกคลอด (Münnich et al., 2004) กลไกการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่มีความสำคัญและมีการศึกษากันมากในปัจจุบันคือ การสร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย (extended-spectrum beta-lactamase) (Carattoli et al., 2005; Falagas et al., 2009; Pitout et al., 2008) เนื่องจากก่อให้เกิดการดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่มบีตาแลคแทม (beta-lactam) ได้หลายชนิด รวมไปถึงยาปฏิชีวนะในกลุ่มเซฟาโลสปอริน (cephalosporin) รุ่นที่ 1 ถึงรุ่นที่ 3 (Bradford, 2001)

ปัจจุบันพบรายงานอุบัติการณ์การพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายทั่วโลก ทั้งในมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม (Boonyasiri et al., 2014; Leite-Martins et al., 2015; Singh et al., 2017) การศึกษาในสุนัขที่มีสุขภาพดี จากประเทศบราซิล โปรตุเกส เม็กซิโก ตูนิเซีย และสหราชอาณาจักร พบอัตราความชุกของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ในตัวอย่างอุจจาระถึงร้อยละ 2 ถึง 16 (Belas et al., 2014; Costa et al., 2004; Oliveira et al., 2016; Rocha-Gracia et al., 2015; Sallem et al., 2013; Schmidt et al., 2015) และการศึกษาในสุนัขป่วยที่มีการติดเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ในประเทศ เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา สวิตเซอร์แลนด์ เยอรมนี อิตาลี และไทย พบอัตราความชุกร้อยละ 2 ถึง 10 (Carattoli et al., 2005; Ewers et al., 2010; Hanhaboon et al., 2015; Huber et al., 2013; Shaheen et al., 2011; Tamang et al., 2012) ในปี พ.ศ. 2556 ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคในสหรัฐอเมริกาได้ประกาศภัยคุกคามของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ซึ่งจัดอยู่ในระดับที่สำคัญจำเป็นต้องมีมาตรการจัดการในทันทีเพื่อที่จะลดอุบัติการณ์ของการดื้อยา (“CDC | Antibiotic Resistance Threats in the United States,” 2013) เนื่องจากคน และสัตว์ที่มีการติดเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย จะส่งผลให้ยาปฏิชีวนะเดิมที่เป็นยาที่เหมาะสม (drug of choice) เช่น ยาอะมอกซีซิลลิน (amoxicillin) หรือยาเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 1 ถึงรุ่นที่ 2 ไม่มีประสิทธิภาพในการรักษาอีกต่อไปและจำเป็นต้องเลือกใช้ยาปฏิชีวนะในระดับที่สูงขึ้นต่อไป (Rodríguez-Baño et al., 2012)

ปัจจุบันเจ้าของสัตว์ได้ให้ความสำคัญและดูแลเอาใจใส่ สัตว์เลี้ยงมากขึ้น รวมถึงการเลี้ยงดูที่มีความใกล้ชิดกันระหว่างเจ้าของและสัตว์เลี้ยง สัตว์เลี้ยงเปรียบเหมือนสมาชิกในครอบครัว พฤติกรรมปกติของสุนัขมักมีการเลีย ดม เจ้าของ ทำให้เจ้าของอาจได้รับเชื้อโรค หรือเชื้อดื้อยาผ่านทางการเลีย หรือการสัมผัสได้ และมีรายงานการศึกษาพบว่ามีโอกาสที่จะเกิดการถ่ายทอดเชื้อดื้อยาจากคนสู่สัตว์ หรือ สัตว์สู่คนได้ จากการสัมผัสโดยตรง หรือ ทางอ้อม (Carvalho et al., 2016; Chung et al., 2017; Damborg et al., 2015; Guardabassi et al., 2012; Leite-Martins et al., 2015; Ljungquist et al., 2016; Okubo et al., 2014) ดังนั้นการศึกษาเรื่องเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะในสัตว์เลี้ยงจึงมีความสำคัญ เนื่องจากสัตว์เลี้ยงอาจเป็นพาหะของเชื้อดื้อยาที่สามารถแพร่สู่เจ้าของได้ จึงเป็นที่มาของการศึกษาหาความชุกและการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ในสุนัขสุขภาพดี จากตัวอย่างอุจจาระและคราบจุลินทรีย์ในช่องปาก ในครั้งนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

จำนวนตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากสุนัขที่เข้ารับบริการฉีดวัคซีน หรือตรวจสุขภาพเพื่อผ่าตัดทำหมัน ที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งไม่จำกัดเพศและพันธุ์ ช่วงอายุ 1 ถึง 13 ปี และไม่มีประวัติการได้รับยาปฏิชีวนะในระยะเวลา 3 เดือนก่อนเข้าร่วมการศึกษา การเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2558 ถึง พฤศจิกายน พ.ศ.2559 คำนวณขนาดตัวอย่างด้วยโปรแกรมทางสถิติ Win Episcope (2.0) โดยประมาณค่าความชุกของการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายร้อยละ 17 (Rocha-Gracia et al., 2015) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ความผิดพลาดที่ยอมรับได้ร้อยละ 5 ได้จำนวนตัวอย่าง 89 ตัว สุนัขทุกตัวที่ได้เก็บตัวอย่างต้องได้รับการยินยอมจากเจ้าของสัตว์ โดยลงนามในใบยินยอมอนุญาตให้สุนัขเข้าร่วมโครงการวิจัย งานวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (เลขที่ R6/2558) โดยสุนัขแต่ละตัวถูกเก็บอุจจาระและคราบจุลินทรีย์ในช่องปาก (oral biofilm) โดยการใช้ก้านสำลีปราศจากเชื้อป้าย (swab) ทางรูทวาร และบริเวณผิวฟันทุกซี่ทั้งด้านใน (lingual and palatal side) และด้านนอก (buccal side) ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Luria-Bertani (LB) broth (Søraas et al., 2014) แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปตรวจทางจุลชีววิทยา ณ ห้องปฏิบัติการกลาง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

การเก็บข้อมูลเพื่อหาปัจจัยเสี่ยงในการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย เก็บข้อมูลเกี่ยวกับการเลี้ยงดู เช่น ประวัติการทำวัคซีน การถ่ายพยาธิ การทำหมัน ลักษณะอาหารที่ให้สุนัข ประวัติความเจ็บป่วยและการใช้ยาปฏิชีวนะโดยใช้แบบสอบถาม และนำข้อมูลจากแบบสอบถามมาวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย

การคัดแยกเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย

เพิ่มปริมาณเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นคัดแยกเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย โดยเขี่ย (streak) เชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแมคคองกีที่ผสมยาเซฟโฟแทกซิมความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Rocha-Gracia et al., 2015) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วสุ่มเลือก 2 โคโลนี (2 ไอโซเลต) ที่ทนต่อยาเซฟโฟแทกซิม และมีลักษณะกลม ผิวเรียบ สีชมพู ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล และตรวจยืนยันเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลด้วยเครื่องจำแนกแบคทีเรียอัตโนมัติในระบบแมสสเปกโทรเมตรีชนิด Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) (MALDI Biotyper® Germany) (Espinosa-Gongora et al., 2015)

การยืนยันการสร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล

ใช้วิธี Combination disc test ตามมาตรฐานของ Clinical and laboratory standards institute: CLSI M100-S24 (CLSI, 2014) เปรียบเทียบขนาดโซนใส (inhibition zone) ของแผ่นยาเซฟโฟแทกซิม (Cefotaxime: CTX 30 ไมโครกรัม) เทียบกับแผ่นยาเซฟโฟแทกซิมผสมกรดคลาวูลานิค (CTX 30 ไมโครกรัม + CAL 10 ไมโครกรัม) และแผ่นยาเซฟตาซิดิม (Ceftazidime: CAZ 30 ไมโครกรัม) เทียบกับแผ่นยาเซฟตาซิดิมผสม กรดคลาวูลานิค (CAZ 30 ไมโครกรัม + CAL 10 ไมโครกรัม) ถ้าแผ่นยาที่ผสมกรดคลาวูลานิกวัดขนาด โซนใสได้มากกว่า 5 มิลลิเมตรขึ้นไป ถือว่าเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล นั้นมีการสร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย โดยมีการใช้เชื้อเอสเชอริเชีย โคไลสายพันธุ์ ATCC 25922 เป็นเชื้อควบคุมอาทิตย์ละหนึ่งครั้ง

การทดสอบการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมสชนิดขยาย

ทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้งหมด 12 ชนิด คือยาแอมพิซิลลิน 10 ไมโครกรัม, ยาอะมอกซีซิลลิน คลาวูลานิคแอซิด 30 ไมโครกรัม, ยาเซฟาโซลิน 30 ไมโครกรัม, ยาเซฟาเลกซิน 30 ไมโครกรัม, ยาแอซทรีโอนัม 30 ไมโครกรัม, ยาไอมิเพเนม 10 ไมโครกรัม, ยาเจนตามัยซิน 10 ไมโครกรัม, ยาดอกซีไซคลีน 30 ไมโครกรัม, ยานอร์ฟลอกซาซิน 10 ไมโครกรัม, ยาซิโปรฟลอกซาซิน 5 ไมโครกรัม, ยาโคไตรม็อกซาโซล 25 ไมโครกรัม และยาคลินดามัยซิน 2 ไมโครกรัม ด้วยวิธี disc diffusion method และแปรผลของโซนใส (inhibition zone) ตามมาตรฐานของ CLSI M100-S24, (CLSI, 2014) ซึ่งใช้เชื้อเอสเชอริเชีย โคไลสายพันธุ์ ATCC 25922 เป็นเชื้อควบคุมอาทิตย์ละหนึ่งครั้ง

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์หาความชุกโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา แสดงค่าในรูปแบบร้อยละของจำนวนสุนัขที่ตรวจพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย และใช้การวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (Cluster analysis) สำหรับหารูปแบบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะจากไอโซเลต ส่วนปัจจัยที่ส่งผลต่อการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมสชนิดขยาย ใช้การวิเคราะห์ข้อมูลแบบตัวแปรเดียว ด้วยการทดสอบของฟิชเชอร์ (Fisher's exact test) และ การวิเคราะห์หลายปัจจัยร่วมกันด้วยการวิเคราะห์การถดถอย (logistic regression) โดยกำหนดระดับนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$

ผลการศึกษา

สุนัขที่มีสุขภาพดีทั้งหมด 89 ตัว ตรวจพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยายในอุจจาระทั้งหมด 23 ตัว คิดเป็นร้อยละ 25.84 แต่ไม่พบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายในตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ในช่องปาก (oral biofilm)

พบอัตราการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายในอุจจาระ ต่อยาแอมพิซิลลิน ยาเซฟาโซลิน ยาเซฟาเลกซิน และยาคลินดามัยซินร้อยละ 100 ยาแอซทรีโอนัมร้อยละ 67.39 ยาโคไตรม็อกซาโซลร้อยละ 60.87 ยาเจนตามัยซินร้อยละ 54.35 ยาดอกซีไซคลีนร้อยละ 47.83 ยาซิโปรฟลอกซาซินร้อยละ 26.09 ยานอร์ฟลอกซาซินร้อยละ 21.74 และยาอะมอกซีซิลลินคลาวูลานิคแอซิดร้อยละ 2.17 แต่ไม่พบการดื้อต่อยาไอมิเพเนม (Figure 1)

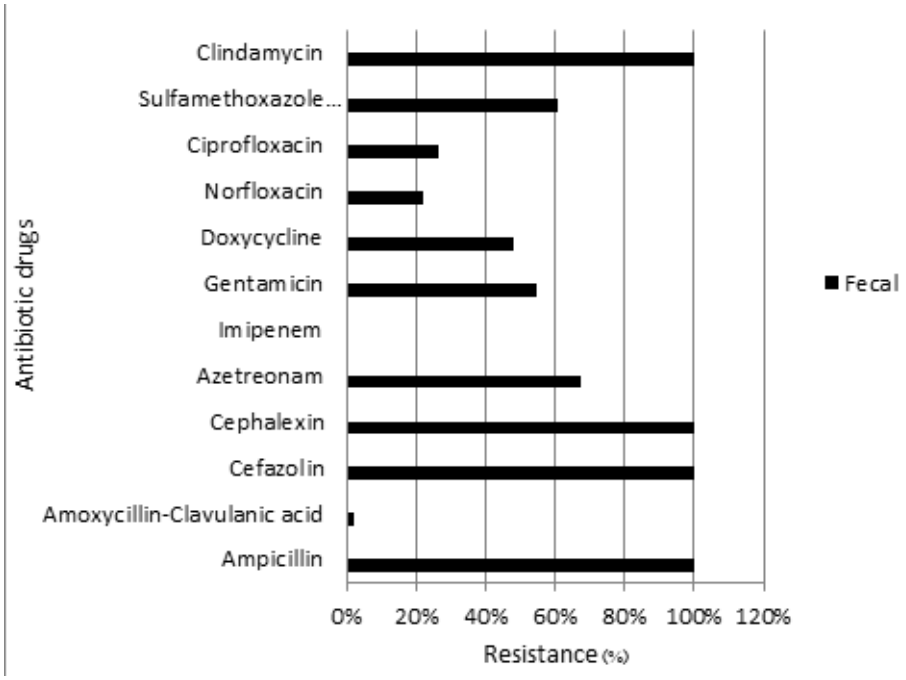


Figure 1 Antimicrobial resistance of ESBL producing *E. coli* isolates from fecal samples.

พบรูปแบบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้งหมด 17 รูปแบบ จากสุนัข 23 ตัว (46 ไอโซเลต) โดยรูปแบบที่พบมากที่สุดร้อยละ 15.22 (7/46 ไอโซเลต) ดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้งหมด 4 กลุ่ม คือเพนิซิลลิน เซฟาโลสปอริน โมโนแบคแทม และลินโคมัยซิน นอกจากนี้ยังพบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะสูงสุดถึง 9 กลุ่ม คือดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้งหมดที่ใช้ทดสอบ ยกเว้นกลุ่มคาร์บาเพเนมกลุ่มเดียวที่ยังคงยับยั้งเชื้อได้ (Table 1)

Table 1 Antimicrobial resistance patterns of ESBL producing *E. coli* isolates using agar disc diffusion method.

Source	No. AMR group	No. isolates (%)	Antibiotic resistance pattern
ESBL *E. coli* from fecal samples	4	7 (7.78%)	AMP-KZ-CL-ATM-DA
	4	2 (2.22%)	AMP-KZ-CL-SXT-DA
	5	1 (1.11%)	AMP-KZ-CL-ATM-CN-DA
	5	4 (4.44%)	AMP-KZ-CL-ATM-SXT-DA
	5	4 (4.44%)	AMP-KZ-CL-DO-SXT-DA
	5	2 (2.22%)	AMP-KZ-CL-ATM-NOR-CIP-DA
	6	4 (4.44%)	AMP-KZ-CL-ATM-CN-DO-DA
	6	1 (1.11%)	AMP-KZ-CL-ATM-DO-SXT-DA
	7	1 (1.11%)	AMP-AMC-KZ-CL-ATM-DO-SXT-DA
	7	2 (2.22%)	AMP-AMC-KZ-CL-ATM-CN-SXT-DA
	7	2 (2.22%)	AMP-AMC-KZ-CL-CN-DO-SXT-DA
	7	2 (2.22%)	AMP-KZ-CL-ATM-CN-DO-SXT-DA
	7	2 (2.22%)	AMP-KZ-CL-CN-DO-NOR-CIP-SXT-DA
	7	2 (2.22%)	AMP-KZ-CL-ATM-CN-DO-NOR-CIP-DA
	8	4 (4.44%)	AMP-AMC-KZ-CL-ATM-CN-DO-SXT-DA
	8	4 (4.44%)	AMP-KZ-CL-ATM-CN-DO-NOR-CIP-SXT-DA
	9	2 (2.22%)	AMP-AMC-KZ-CL-ATM-CN-DO-NOR-CIP-SXT-DA

AMR = Anitmicrobial resistance, DA = Clindamycin, AMP = Ampicillin, AMC = Amoxycillin-clavulanic acid , KZ = Cefazolin, CL = Cephalexin, ATM = Aztreonam, CN = Gentamicin, DO = Doxycycline, NOR = Norfloxacin, CIP = Ciprofloxacin และ SXT = Trimethoprim-sulfamethoxazole

เมื่อวิเคราะห์ถึงปัจจัยเสี่ยงจากแบบสอบถามด้านการสุขภาพการเลี้ยงดู ลักษณะของอาหารที่สุนัขกิน ประวัติความเจ็บป่วยและประวัติการใช้ยาปฏิชีวนะ ด้วยการวิเคราะห์ข้อมูลแบบตัวแปรเดียว โดยใช้การทดสอบของฟิชเชอร์ (Fisher's exact test) ไม่พบตัวแปรใดที่เป็นปัจจัยต่อการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ($P > 0.05$) และเมื่อวิเคราะห์หลายปัจจัยร่วมกัน โดยการวิเคราะห์การถดถอย (logistic regression) ก็ไม่พบปัจจัยใด ที่มีผลต่อการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายเช่นกัน (Table 2)

Table 2 Relationship of risk factors to the detection of ESBL producing *E. coli* in healthy dogs by Fisher's exact test.

Variables	Risk factors (P value)	
	Oral samples	Fecal samples
Vaccination	-	0.55
Deworming	-	1
Sterilization	-	0.13
Diet	-	1
Fecal appearance	-	0.19
Home care	-	0.12
Previous illness history	-	0.10
Previous ABO used	-	1
Age	-	1
Sex	-	1
Breed	-	0.29

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้เป็นรายงานการศึกษาแรกที่ตรวจพบความชุกของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ในอุจจาระของสุนัขที่มีสุขภาพดี ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ที่พบความชุกร้อยละ 25.84 ซึ่งเป็นระดับที่สูงมาก เมื่อเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ในประเทศตูนิเซีย ที่พบความชุกร้อยละ 15 (Sallem et al., 2013) ประเทศเม็กซิโก พบความชุกร้อยละ 6 (Rocha-Gracia et al., 2015) ประเทศโปรตุเกส พบความชุกร้อยละ 5.3 (Costa et al., 2004) และ สหราชอาณาจักร พบความชุกร้อยละ 1.37 (Schmidt et al., 2015) นอกจากนี้ จากการศึกษาก่อนหน้า ยังพบรายงานความชุกของเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย จากสุนัขป่วยที่ติดเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล เช่น กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย พบความชุกร้อยละ 9.89 จากการตรวจสิ่งคัดหลั่งของอวัยวะที่มีการติดเชื้อ (Hanhaboon et al., 2015) ประเทศเยอรมนี พบความชุกร้อยละ 5.6 จากปัสสาวะของสุนัขที่มีการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (Ewers et al., 2010) และประเทศเกาหลีใต้ พบความชุกร้อยละ 1.9 จากอุจจาระของสุนัขที่นอนรักษาตัวในโรงพยาบาล (Tamang et al., 2012) และผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่ามีอุบัติการณ์ความชุกที่สูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบความชุกในการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ในสุนัขป่วยที่มีการติดเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลจากหลายประเทศ การพบความชุกของเชื้อที่สูง อาจเกิดจากหลายปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยด้านภูมิประเทศ ปัจจัยด้านการจัดการสาธารณสุข ในปัจจุบันมีรายงานการพบอุบัติการณ์ความชุกของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายเพิ่มมากขึ้น ไม่เพียงแต่สุนัขที่มีสุขภาพดี หรือสุนัขป่วยเท่านั้น ยังมีรายงานการพบเชื้อในสิ่งแวดล้อมที่สุนัขอยู่อาศัย ทั้งภายในบ้าน (Leite-Martins et al., 2015) หรือสนามหญ้าที่สุนัขขับถ่ายก็ตรวจพบเชื้อดื้อยาชนิดนี้ได้เช่นกัน (Damborg et al., 2015; Schaufler et al., 2015) จึงเป็นไปได้ว่ามีโอกาสสูงที่จะเกิดการถ่ายทอดเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายจากสัตว์สู่คน จากการรับเชื้อที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม (Carvalho et al., 2016)

ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายจากตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ในช่องปาก (oral biofilm) ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยก่อนหน้าในประเทศบราซิล ที่พบความชุกของเชื้อร้อยละ 3.2 (Oliveira et al., 2016) จากคราบจุลินทรีย์ในช่องปากของสุนัขในฟาร์มเลี้ยงแกะ แต่ในงานวิจัยดังกล่าวไม่พบการตรวจอุจจาระของสุนัขเหล่านั้นด้วย จึงอาจสันนิษฐานว่าการตรวจพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายในช่องปากนั้น ได้รับจากการเลีย หรือกินเชื้อที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลไม่ใช่เชื้อหลักที่พบได้ในช่องปากของสุนัข (David et al., 1995)

จากผลการศึกษาการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย พบว่ายาปฏิชีวนะในกลุ่มเพนิซิลลิน ลินโคมัยซิน และ เซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 1 มีอัตราการดื้อยาร้อยละ 100 ยาปฏิชีวนะในกลุ่มโมโนแบคแทม (monobactam) และกลุ่มที่ยับยั้งกรดโฟลิก (folate path way inhibitors) มีอัตราการดื้อยาอยู่ระหว่างร้อยละ 60 ถึง 70 ยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตราไซคลีน (tetracycline) และกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycoside) มีอัตราการดื้อยาอยู่ระหว่างร้อยละ 40 ถึง 50 ยาปฏิชีวนะในกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (fluoroquinolone) มีอัตราการดื้อยาร้อยละ 20 ยาปฏิชีวนะในกลุ่มบีตาแลคแทมที่ผสมกรดคลาวูลานิคมีอัตราการดื้อยาร้อยละ 2 และไม่พบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่มคาร์บาเพเนม (carbapenem) เลย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้านี้ (Costa et al., 2008; Hanhaboon et al., 2015; Huber et al., 2013; Sun et al., 2010) และเป็นตามคำนิยามของเอนไซม์บีตา- แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย คือเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายยาปฏิชีวนะในกลุ่มบีตาแลคแทมรวมไปถึง ยาปฏิชีวนะในกลุ่มเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 1 ถึง รุ่นที่ 3 และอาจมีผลในการทำลายยาปฏิชีวนะในกลุ่มอื่น (Bradford, 2001) แต่สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยกรดคลาวูลานิค และไม่สามารถทำลายยาไอมิเพเนมได้ (Lee et al., 2012) นอกจากนี้ รูปแบบของการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของการศึกษาในครั้งนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่พบว่าทุกไอโซเลตของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายมีรูปแบบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่มากกว่าสามกลุ่มขึ้นไป (multri durg resistance; MDR) (Ben Sallem et al., 2015; Carattoli et al., 2005; Moreno et al., 2008; Rocha-Gracia et al., 2015; Sun et al., 2010) ในทางตรงกันข้าม หากเป็นเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่ยังไม่มีการสร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย นั้นยังพบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะเพียงหนึ่ง หรือสองชนิดได้ (Costa et al., 2008) กล่าวได้ว่าในขั้นตอนการตรวจรักษาสัตว์ป่วยติดเชื้อ หากไม่มีการเพาะเชื้อและทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ และรักษาโดยการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะแบบคลอบคลุมและออกฤทธิ์กว้าง (empirical treatment) ของสัตวแพทย์ หากเชื้อนั้นมีการสร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายขึ้น จะทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาลดลง ระยะเวลาในการรักษานานขึ้น และอาจส่งผลต่อชีวิตสัตว์ได้

ปัจจัยเสี่ยงต่อการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย จากงานวิจัยก่อนหน้านี้คือ สุนัขที่มีประวัติได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อน (Belas et al., 2014; Saonuam et al., 2010) ซึ่งอาจเกิดการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่เหมาะสม หรือ ปริมาณยา และระยะเวลาในการใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่เพียงพอ ทำให้เชื้อพัฒนากลไกในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะขึ้น (Rota et al., 2013) นอกจากนี้สุนัขที่มีประวัติการนอนรักษาตัวที่โรงพยาบาลเป็นระยะเวลานาน (Ogeer-Gyles et al., 2006) การเลี้ยงดูที่มีการจัดการด้านสุขอนามัยไม่เหมาะสม (Belas et al., 2014) และสุนัขที่ได้บริโภคเนื้อดิบ (Schmidt et al., 2015) ล้วนเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการพบเชื้อดื้อยาด้วยเช่นกัน จากรายงานการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายปนเปื้อน ในเนื้อสด และผักสด (Boonyasiri et al., 2014)แต่จากการศึกษาในครั้งนี้ข้อมูลจากแบบสอบถามจากเจ้าของสุนัขเกี่ยวกับประวัติการได้รับยาปฏิชีวนะ รูปแบบการเลี้ยงดู และลักษณะอาหารของสุนัข ไม่พบปัจจัยเสี่ยงที่มีความสัมพันธ์ต่อการพบเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ทั้งนี้ข้อกำหนดเลือกสุนัขสำหรับงานวิจัยคือสุนัขที่มีสุขภาพดี ไม่มีความเจ็บป่วย จึงไม่มีสุนัขที่ได้รับยาปฏิชีวนะมาก่อนหน้านี้ และสุนัขที่

เข้ารับบริการฉีดวัคซีน หรือตรวจสุขภาพเพื่อทำหมัน ส่วนใหญ่แล้วจะได้รับความดูแลเอาใจใส่จากเจ้าของ สุนัขจึงมีสุขอนามัยที่ดีในระดับหนึ่ง และในปัจจุบันแนวโน้มของการให้อาหารสด หรือเนื้อดิบยังไม่แพร่หลายเท่าที่ควรในจังหวัดเชียงใหม่ เจ้าของส่วนใหญ่ยังให้อาหารเม็ด หรืออาหารปรุงสุกกับสุนัข แต่เนื่องจากการศึกษาก่อนหน้านี้ข้างต้น ที่พบปัจจัยเสี่ยงดังกล่าว การให้ความรู้ความเข้าใจด้านการใช้ยาปฏิชีวนะ การเลี้ยงดู การดูแลสุขลักษณะแก่เจ้าของ และสุนัข จึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันการเกิดเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ได้ในอนาคต

สรุป

พบความชุกของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ในอุจจาระ ของสุนัข ในจังหวัดเชียงใหม่สูงถึงร้อยละ 25.84 ซึ่งเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยายนั้น ทำให้เกิดอัตราการดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่สูง และมีรูปแบบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะตั้งแต่สามกลุ่มขึ้นไป ซึ่งสุนัขเหล่านี้เป็นสุนัขที่ปกติ ไม่มีความเจ็บป่วย จึงอาจถูกมองข้ามในเรื่องการควบคุมและป้องกันการแพร่เชื้อดื้อยาจากสัตว์สู่คนได้ ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นข้อมูลที่ก่อให้เกิดการตระหนักถึงป้องกันการแพร่เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะที่ไม่เพียงพบเฉพาะในสัตว์ป่วย หรือสิ่งแวดล้อมเท่านั้น แต่ยังพบได้ในสัตว์ที่มีสุขภาพแข็งแรงได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามควรมีการตรวจในระดับโมเลกุลเพิ่มเติม เพื่อที่จะสามารถเปรียบเทียบชนิดของเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ในเชื้อเอสเชอริเชีย โคไลที่มีรายงานก่อนหน้านี้ใน คน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ได้มากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบุคลากรโรงพยาบาลสัตว์เล็ก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับความร่วมมือและการช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการช่วยเหลือด้านการตรวจ และทดสอบทางห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการสำนักเทคนิคและวิชาการสัตว์บกสำนักเทคนิคและวิชาการสัตว์บก บริษัท ซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจยืนยัน เชื้อเอสเชอริเชีย โคไลด้วยเครื่อง MALDI-TOF MS และขอขอบคุณทุนพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนทุนการวิจัยในครั้งนี้ ความชุกและการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อเอสเชอริเชีย โคไล ที่สร้างเอนไซม์บีตา-แลคทาเมส ชนิดฤทธิ์ขยาย ในสุนัขสุขภาพดีในจังหวัดเชียงใหม่

REFERENCES

Belas, A., Salazar, A.S., Gama, L.T. da, Couto, N., Pomba, C., 2014. Risk factors for faecal colonisation with *Escherichia coli* producing extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β-lactamases in dogs. Vet Rec. 175, 202. doi:10.1136/vr.101978

Ben Sallem, R., Ben Slama, K., Estepa, V., Cheikhna, E.O., Mohamed, A.M., Chairat, S., Ruiz-Larrea, F., Boudabous, A., Torres, C., 2015. Detection of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* isolates of lineages ST410-A, ST617-A and ST354-D in faecal samples of hospitalized patients in a Mauritanian hospital. J Chemother 27, 114–116. doi:10.1179/1973947814Y.0000000172

Boonyasiri, A., Tangkoskul, T., Seenama, C., Saiyarin, J., Tiengrim, S., Thamlikitkul, V., 2014. Prevalence of antibiotic resistant bacteria in healthy adults, foods, food animals, and the environment in selected areas in Thailand. Pathog Glob Health 108, 235–245. doi:10.1179/2047773214Y.0000000148

Bradford, P.A., 2001. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin. Microbiol Rev 14, 933–951, doi:10.1128/CMR.14.4.933-951.2001

Carattoli, A., Lovari, S., Franco, A., Cordaro, G., Di Matteo, P., Battisti, A., 2005. Extended-spectrum β-lactamases in *Escherichia coli* Isolated from dogs and cats in Rome, Italy, from 2001 to 2003. Antimicrob Agents Chemother 49, 833–835. doi:10.1128/AAC.49.2.833-835.2005

Carvalho, A.C., Barbosa, A.V., Arais, L.R., Ribeiro, P.F., Carneiro, V.C., Cerqueira, A.M.F., 2016. Resistance patterns, ESBL genes, and genetic relatedness of *Escherichia coli* from dogs and owners. Braz J Microbiol. 47, 150–158. doi:10.1016/j.bjm.2015.11.005

CDC | Antibiotic Resistance Threats in the United States. [Online], 2013. URL https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/index.html

CHUNG, Y.S., PARK, Y.K., PARK, Y.H., PARK, K.T., 2017. Probable secondary transmission of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* between people living with and without pets. J Vet Med Sci 79, 486–491. doi:10.1292/jvms.16-0585

Costa, D., Poeta, P., Briñas, L., Sáenz, Y., Rodrigues, J., Torres, C., 2004. Detection of CTX-M-1 and TEM-52 beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy pets in Portugal. J Antimicrob Chemother. 54, 960–961. doi:10.1093/jac/dkh444

Costa, D., Poeta, P., Sáenz, Y., Coelho, A.C., Matos, M., Vinué, L., Rodrigues, J., Torres, C., 2008. Prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates recovered from healthy pets. Vet Microbiol. 127, 97–105. doi:10.1016/j.vetmic.2007.08.004

Crossley, D.A., Penman, S., British Small Animal Veterinary Association (Eds.), 1995. BSAVA manual of small animal dentistry, 2nd ed. ed. British Small Animal Veterinary Association, Gloucestershire.

Damborg, P., Morsing, M.K., Petersen, T., Bortolaia, V., Guardabassi, L., 2015. CTX-M-1 and CTX-M-15-producing *Escherichia coli* in dog faeces from public gardens. Acta Vet Scand 57. doi:10.1186/s13028-015-0174-3

Espinosa-Gongora, C., Shah, S.Q.A., Jessen, L.R., Bortolaia, V., Langebæk, R., Bjørnvad, C.R., Guardabassi, L., 2015. Quantitative assessment of faecal shedding of β-lactam-resistant *Escherichia coli* and enterococci in dogs. Vet Microbiol. 181, 298–302. doi:10.1016/j.vetmic.2015.10.004

Ewers, C., Grobbel, M., Stamm, I., Kopp, P.A., Diehl, I., Semmler, T., Fruth, A., Beutlich, J., Guerra, B., Wieler, L.H., Guenther, S., 2010. Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. J Antimicrob Chemother. 65, 651–660. doi:10.1093/jac/dkq004

Falagas, M.E., Karageorgopoulos, D.E., 2009. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. J Hosp Infect. 73, 345–354. doi:10.1016/j.jhin.2009.02.021

Guardabassi, L., Schwarz, S., Lloyd, D.H., 2004. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. J Antimicrob Chemother. 54, 321–332. doi:10.1093/jac/dkh332

Hagman, R., Kühn, I., 2002. *Escherichia coli* strains isolated from the uterus and urinary bladder of bitches suffering from pyometra: comparison by restriction enzyme digestion and pulsed-field gel electrophoresis. Vet Microbiol. 84, 143–153.

Hanhaboon, P., Kimprasit, T., Wajjwalku, W., & Amavisit, P. 2015. Extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* isolated from infected canines. Thai J Vet Med. 45, 263–267.

Harada, K., Nakai, Y., Kataoka, Y., 2012. Mechanisms of resistance to cephalosporin and emergence of O25b-ST131 clone harboring CTX-M-27 β-lactamase in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* from dogs and cats in Japan. Microbiol Immunol. 56, 480–485. doi:10.1111/j.1348-0421.2012.00463.x

Huber, H., Zweifel, C., Wittenbrink, M.M., Stephan, R., 2013. ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Switzerland. Vet Microbiol. 162, 992–996. doi:10.1016/j.vetmic.2012.10.029

Lee, J.H., Bae, I.K., Lee, S.H., 2012. New definitions of extended-spectrum β-lactamase conferring worldwide emerging antibiotic resistance. Med Res Rev 32, 216–232. doi:10.1002/med.20210

Leite-Martins, L., Meireles, D., Beça, N., Bessa, L.J., de Matos, A.J.F., Martins da Costa, P., 2015. Spread of multidrug-resistant *Escherichia coli* within domestic aggregates (humans, pets, and household environment). J Vet Behav 10, 549–555. doi:10.1016/j.jveb.2015.07.040

Ljungquist, O., Ljungquist, D., Myrenås, M., Rydén, C., Finn, M., Bengtsson, B., 2016. Evidence of household transfer of ESBL-/pAmpC-producing Enterobacteriaceae between humans and dogs – a pilot study. Infect Ecol Epidemiol 6. doi:10.3402/iee.v6.31514

Macfarlane, G.T., Macfarlane, S., 1997. Human colonic microbiota: ecology, physiology and metabolic potential of intestinal bacteria. Scand J Gastroenterol. Suppl. 222, 3–9. doi:10.1080/00365521.1997.11720708

Moreno, A., Bello, H., Guggiana, D., Domínguez, M., González, G., 2008. Extended-spectrum beta-lactamases belonging to CTX-M group produced by *Escherichia coli* strains isolated from companion animals treated with enrofloxacin. Vet Microbiol. 129, 203–208. doi:10.1016/j.vetmic.2007.11.011

Münnich, A., Lübke-Becker, A., 2004. *Escherichia coli* infections in newborn puppies--clinical and epidemiological investigations. Theriogenology 62, 562–575. doi:10.1016/j.theriogenology.2003.11.012

Ogeer-Gyles, J., Mathews, K.A., Sears, W., Prescott, J.F., Weese, J.S., Boerlin, P., 2006. Development of antimicrobial drug resistance in rectal *Escherichia coli* isolates from dogs hospitalized in an intensive care unit. J Am Vet Med Assoc. 229, 694–699. doi:10.2460/javma.229.5.694

Okubo, T., Sato, T., Yokota, S., Usui, M., Tamura, Y., 2014. Comparison of broad-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolated from dogs and humans in Hokkaido, Japan. J Infect Chemother. 20, 243–249. doi:10.1016/j.jiac.2013.12.003

Oliveira, P.A. de, Moura, R.A., Rodrigues, G.V., Lopes, K.F.C., Zaniolo, M.M., Rubio, K.A.J., Dias, E.H., Oliveira, L.A. de, Chideroli, R.T., Gonçalves, D.D., 2016. Detection of extended spectrum beta-lactamases and resistance in members of the Enterobacteriaceae family isolated from healthy sheep and dogs in Umuarama, Paraná, Brazil. Semina: Ciências Agrárias 37, 829–840. doi:10.5433/1679-0359.2016v37n2p829

Patel, J.B., Cockerill III, F.R., Alder, J., Bradford, P.A., Eliopoulos, G.M., Hardy, D.J., Hindler, J.A., Jenkins, S.G., Lewis II, J.S., Miller, L.A., Powell, M., Swenson, J.M., Traczewski, M.M., Turnidge, J.D., Weinstein, M.P., Zimmer, B.L., 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fourth informational supplement volume 34 number 1. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.

Pitout, J.D.D., Laupland, K.B., 2008. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. Lancet Infect Dis 8, 159–166. doi:10.1016/S1473-3099(08)70041-0

Puño-Sarmiento, J., Medeiros, L., Chiconi, C., Martins, F., Pelayo, J., Rocha, S., Blanco, J., Blanco, M., Zanutto, M., Kobayashi, R., Nakazato, G., 2013. Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from dogs and cats in Brazil. Vet Microbiol. 166, 676–680. doi:10.1016/j.vetmic.2013.07.007

Rocha-Gracia, R.C., Cortés-Cortés, G., Lozano-Zarain, P., Bello, F., Martínez-Laguna, Y., Torres, C., 2015. Faecal *Escherichia coli* isolates from healthy dogs harbour CTX-M-15 and CMY-2 β-lactamases. Vet J. 203, 315–319. doi:10.1016/j.tvjl.2014.12.026

Rodríguez-Baño, J., Navarro, M.D., Retamar, P., Picón, E., Pascual, Á., Extended-Spectrum Beta-Lactamases–Red Española de Investigación en Patología Infecciosa/Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria Group, 2012. β-Lactam/β-lactam inhibitor combinations for the treatment of bacteremia due to extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli*: a post hoc analysis of prospective cohorts. Clin Infect Dis. 54, 167–174. doi:10.1093/cid/cir790

Rota, A., Milani, C., Corrò, M., Drigo, I., Börjesson, S., 2013. Misuse of antimicrobials and selection of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains in breeding kennels: genetic characterization of bacteria after a two-year interval. Reprod Domest Anim. 48, 1–6. doi:10.1111/j.1439-0531.2012.02012.x

Sallem, R.B., Gharsa, H., Slama, K.B., Rojo-Bezares, B., Estepa, V., Porres-Osante, N., Jouini, A., Klibi, N., Sáenz, Y., Boudabous, A., Torres, C., 2013. First detection of CTX-M-1, CMY-2, and QnrB19 resistance mechanisms in fecal *Escherichia coli* isolates from healthy pets in Tunisia. Vector Borne Zoonotic Dis. 13, 98–102. doi:10.1089/vbz.2012.1047

Sancak, A.A., Rutgers, H.C., Hart, C.A., Batt, R.M., 2004. Prevalence of enteropathic *Escherichia coli* in dogs with acute and chronic diarrhoea. Vet Rec. 154, 101–106.

Saonuam, P., Hiransuthikul, N., Suankratay, C., Malathum, K., & Danchaivijitr, S. 2010. Risk factors for nosocomial infections caused by extended-spectrum β-lactamase producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae* in Thailand. Asian Biomedicine (Research Reviews and News), 2, 485–491. https://doi.org/10.5372/929

Schaufler, K., Bethe, A., Lübke-Becker, A., Ewers, C., Kohn, B., Wieler, L.H., Guenther, S., 2015. Putative connection between zoonotic multiresistant extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in dog feces from a veterinary campus and clinical isolates from dogs. Infect Ecol Epidemiol 5, 25334.

Schmidt, V.M., Pinchbeck, G.L., Nuttall, T., McEwan, N., Dawson, S., Williams, N.J., 2015. Antimicrobial resistance risk factors and characterisation of faecal *E. coli* isolated from healthy Labrador retrievers in the United Kingdom. Prev Vet Med. 119, 31–40. doi:10.1016/j.prevetmed.2015.01.013

Shaheen, B.W., Nayak, R., Foley, S.L., Kweon, O., Deck, J., Park, M., Rafii, F., Boothe, D.M., 2011. Molecular characterization of resistance to extended-spectrum cephalosporins in clinical *Escherichia coli* isolates from companion animals in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 55, 5666–5675. doi:10.1128/AAC.00656-11

Singh, F., Hirpurkar, S. D., Shakya, S., Rawat, N., Devangan, P., Khan, F. F., & Bhandekar, S. K. 2017. Presence of enterobacteria producing extended-spectrum β-lactamases and/or carbapenemases in animals, humans and environment in India. Thai J Vet Med., 47, 35–43.

Søraas, A., Olsen, I., Sundsfjord, A., Handal, T., Bjørang, O., Jenum, P.A., 2014. Extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria are not detected in supragingival plaque samples from human fecal carriers of ESBL-producing Enterobacteriaceae. J Oral Microbiol. 6. doi:10.3402/jom.v6.24026

Sun, Y., Zeng, Z., Chen, S., Ma, J., He, L., Liu, Y., Deng, Y., Lei, T., Zhao, J., Liu, J.-H., 2010. High prevalence of bla(CTX-M) extended-spectrum β-lactamase genes in *Escherichia coli* isolates from pets and emergence of CTX-M-64 in China. Clin Microbiol Infect. 16, 1475–1481.

Tamang, M.D., Nam, H.-M., Jang, G.-C., Kim, S.-R., Chae, M.H., Jung, S.-C., Byun, J.-W., Park, Y.H., Lim, S.-K., 2012. Molecular characterization of extended-spectrum-β-Lactamase-producing and plasmid-mediated AmpC β-Lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from stray dogs in south Korea. Antimicrob Agents Chemother 56, 2705–2712. doi:10.1128/AAC.05598-11

Wadås, B., Kühn, I., Lagerstedt, A.S., Jonsson, P., 1996. Biochemical phenotypes of *Escherichia coli* in dogs: comparison of isolates isolated from bitches suffering from pyometra and urinary tract infection with isolates from faeces of healthy dogs. Vet Microbiol. 52, 293–300.

How to cite this article;

Jirapa Thepmanee, Jutamart Rodroo, Nattakarn Awaiwanont, Montira Intanon, Kannika Na Lampang, Niyada Thitaram and Kriangkrai Thongkorn. Prevalence and antibiotic resistance of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* in healthy dogs in Chiang Mai. Veterinary Integrative Sciences. 2018; 16(3): 233-245