ความชุกของเชื้อ Enterobacterales ที่สร้างเอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) ปนเปื้อนในเนื้อไก่จากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต ในอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ

Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Enterobacterales contaminated in chicken meat from fresh markets and supermarkets in Bang Phli district, Samut Prakan province

ปัญจพร นิ่มมณี*, พรทิพย์ พึ่งม่วง, จุฬาภรณ์ ภูเขาทอง, อภิชญา จงกลลาบาน,
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
*Email : pnimmanee@gmail.com

บทคัดย่อ

การใช้ยาเกินความจำเป็นในฟาร์มปศุสัตว์เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดเชื้อดื้อยา การพบเชื้อดื้อยาปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ที่นำมาจำหน่ายอาจเกิดการถ่ายทอดยีนดื้อยาของแบคทีเรียจากสัตว์มาสู่คนได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาการปนเปื้อนของเชื้อ กลุ่ม Enterobacterales ที่สร้างเอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) ในเนื้อไก่ที่จำหน่ายในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต ในอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ นำตัวอย่างเนื้อไก่มาเพาะแยกเชื้อในอาหารที่ใส่ยา ceftriaxone ทดสอบยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL ด้วยวิธี combination disk และทำการตรวจหาชนิดของเชื้อที่แยกได้ด้วยการทดสอบทางชีวเคมี จากการเก็บตัวอย่างเนื้อไก่ทั้งหมด 50 ตัวอย่าง โดยเก็บจากตลาดสด 25 ตัวอย่าง พบเชื้อ ESBL ร้อยละ 96 (24/25) และซูเปอร์มาร์เก็ต 25 ตัวอย่าง พบเชื้อ ESBL ร้อยละ 44 (11/25) จำนวนเชื้อ ESBL ที่แยกได้มีทั้งหมด 52 ไอโซเลต จากตลาดสดร้อยละ 73.08 (38/52) และจากซูเปอร์มาร์เก็ตร้อยละ 26.92 (14/52) เชื้อที่พบมากที่สุด คือ *Escherichia coli* พบร้อยละ 63.46 (33/52) และพบเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร คือ *Salmonella* spp. ร้อยละ 1.92 (1/52) ผลที่ได้จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อดื้อยาในเนื้อสัตว์ จึงควรมีการตระหนักถึงการควบคุมใช้ยาต้านจุลชีพในฟาร์มปศุสัตว์

คำสำคัญ : เนื้อไก่ ฟาร์มปศุสัตว์ เชื้อดื้อยา Extended-spectrum beta-lactamase Enterobacterales

Abstract

The overuse of antibiotics in livestock is one of the sources for antimicrobial resistance (AMR). The contamination of AMR in food-producing animals might cause the transfer of antibiotic resistant genes of bacteria from animasl to human. The objective of this study is to detect the contamination of Enterobacterales that produce extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) enzyme in chicken meat sold in fresh markets and supermarket in Bang Phi district, Samut Prakan province. The organisms were isolated from chicken meat using culture media containing ceftriaxone. Detection of ESBL was performed by combination disk method and types of organisms were identified with biochemical tests. From total of chicken meat 50 samples, 96% (24/25) ESBL

were detected in 25 samples from fresh markets and 44% (11/25) ESBL were found in 25 samples from supermarket. From fifty-two isolates of ESBL, 73.08% (38/52) were from fresh markets and 26.92% (14/52) were from supermarket. Most of the isolates were *Escherichia coli* which were 63.46% (33/52). *Salmonella* spp., gastrointestinal tract pathogen, was detected for 1.92% (1/52). The results from this study indicated that there were AMR contaminated in meat, therefore the control of antibiotics used in livestock should be concerned.

Keywords : Chicken meat, livestock, antimicrobial resistance, Extended-spectrum beta-lactamase, Enterobacterales

บทนำ

ปัจจุบันมีการใช้ยาปฏิชีวนะกันอย่างแพร่หลายในฟาร์มปศุสัตว์ทั้งเพื่อรักษาโรคติดเชื้อ ป้องกันโรค และเร่งการเจริญเติบโต (Pokharel และคณะ, 2020) ในบางประเทศพบว่าประมาณร้อยละ 70 ของยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาโรคในคนถูกนำไปใช้ในสัตว์ที่นำมาเป็นอาหาร สำหรับประเทศไทย การเลี้ยงสัตว์เพื่อบริโภคได้ขยายตัวเพิ่มขึ้น มีอัตราการเพิ่มผลผลิตของอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ หมู และโคนม เพื่อให้ได้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการภายในประเทศและการส่งออก ทำให้มีการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างกว้างขวางมาเป็นเวลานาน (นิธิมา สุ่มประดิษฐ์ และคณะ, 2558) การใช้ยาในความเข้มข้นต่ำๆ เป็นเวลานานและการใช้ยาเกินความจำเป็นทำให้เกิดแบคทีเรียดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่นำมาใช้ พบว่าแบคทีเรียดื้อยาเป็นปัญหาสำคัญในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์เพื่อการบริโภค โดยเชื้อดื้อยาที่ปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ที่นำมาเป็นอาหารนั้นอาจถูกส่งต่อให้กับผู้บริโภคได้ กลไกหลักในการดื้อต่อยาในกลุ่ม beta-lactam คือการสร้างเอนไซม์ beta-lactamase มาย่อยสลายยาก่อนที่ยาจะเข้าจับกับเป้าหมายที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) จะย่อยสลายยาในกลุ่ม extended-spectrum cephalosporin และถูกยับยั้งด้วย clavulanic acid เอนไซม์ชนิดนี้พบได้ในแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacterales โดยเฉพาะเชื้อ *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในเชื้อกลุ่ม non-fermentative Gram-negative bacteria เช่น *Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter baumannii* (Falagas & Karageorgopoulos, 2009) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบการปนเปื้อนของเชื้อดื้อยาหลายชนิดในเนื้อสัตว์ โดยการศึกษาส่วนใหญ่จะเน้นเกี่ยวกับเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารเช่น *Salmonella* spp. และ *Campylobacter* spp. ซึ่งพบว่ามีการดื้อยาหลายชนิด นอกจากนี้ยังพบเชื้อดื้อยาในเนื้อสัตว์ที่ขายตามท้องตลาดมากกว่าสัตว์ที่พบในฟาร์ม โดยเฉพาะสัตว์ปีกพบเชื้อดื้อยากลุ่ม ESBL-producing *E. coli* สูงกว่าสัตว์ชนิดอื่น และมีอัตราการปล่อยเชื้อสู่สิ่งแวดล้อมที่สูง (อรรถพล ตันไสว และพรรณนิกา ฤตวิรุฬห์, 2557)

การศึกษาหาเชื้อดื้อยาปนเปื้อนในสัตว์ของประเทศไทยมักทำในฟาร์มปศุสัตว์ แต่การหาเชื้อดื้อยาในเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ซึ่งมีผลต่อผู้บริโภคโดยตรง ยังมีอยู่ไม่มากนัก ทางกลุ่มผู้วิจัยได้เห็นถึงความสำคัญของสถานการณ์การแพร่กระจายของเชื้อกลุ่ม Enterobacterales ที่มีการสร้างเอนไซม์ ESBL เพราะแบคทีเรียเหล่านี้สามารถพบในเนื้อสัตว์และก่อโรคในคนได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในตัวอย่างเนื้อไก่จากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต ในจังหวัดสมุทรปราการ ผลที่ได้จาก

การศึกษาครั้งนี้อาจใช้เป็นข้อมูลในการหาวิธีการป้องกันและควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อตรวจหาเชื้อ Enterobacterales ที่สร้างเอนไซม์ ESBL จากเนื้อไก่ที่จำหน่ายในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตในอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ

ทบทวนวรรณกรรม

การดื้อยาต้านจุลชีพ (antimicrobial resistance) คือการที่เชื้อแบคทีเรียที่เคยไวต่อยาปฏิชีวนะมาก่อนเกิดการกลายพันธุ์เป็นเชื้อดื้อยา โดยเมื่อเชื้อดังกล่าวสัมผัสกับยาปฏิชีวนะแล้ว ยาไม่สามารถยับยั้งหรือทำลายเชื้อแบคทีเรียนั้นได้เหมือนเดิม ทำให้การรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะทำได้ยาก ต้องใช้ยาร่วมกันหลายชนิด อาจเกิดการเป็นพิษหรือผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย (สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข, 2560) ใช้เวลารักษานานขึ้น ค่าใช้จ่ายในการรักษาเพิ่มขึ้น หรือผู้ป่วยอาจเสี่ยงต่อการเสียชีวิตมากขึ้น เมื่อเชื้อดื้อต่อยามากกว่าหนึ่งชนิด จะเรียกว่า การดื้อยาหลายชนิด (multidrug-resistance) ซึ่งถือเป็นปัญหาที่สำคัญในทางการแพทย์และสาธารณสุข ปัจจุบันเชื้อดื้อยาไม่ได้พบเฉพาะในโรงพยาบาลและชุมชนเท่านั้น แต่พบมากในสัตว์เช่นกัน และเชื้อดื้อยานี้สามารถติดต่อจากสัตว์สู่สัตว์ หรือสัตว์สู่คนได้ เนื่องจากเชื้อดื้อยาหลายชนิดมีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงจัดว่าเชื้อดื้อยาในสัตว์มีผลกระทบต่อสุขภาพของคนเป็นอย่างมาก โดยแบคทีเรียดื้อยาส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacterales (วิษณุ ธรรมลิขิตกุล, 2554)

แบคทีเรียกลุ่ม ESBL การใช้ยากลุ่ม beta-lactam เกินความจำเป็นในผู้ป่วย เป็นการสนับสนุนให้เกิดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา โดยเชื้อจะสร้างเอนไซม์ beta-lactamase มาเพื่อทำลายยา ทำให้มีการพัฒนาอนุพันธ์ของยากลุ่มนี้ขึ้นมา ได้แก่ expanded-spectrum beta-lactam antibiotics เพื่อเอาชนะเชื้อดื้อยา เมื่อมีการนำยากลุ่มนี้ ได้แก่ ceftazidime และ cefotaxime ออกมาใช้ เชื้อได้พัฒนาเอนไซม์ชนิดใหม่ขึ้นมาเพื่อทำลายยา นั่นคือ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) เอนไซม์ชนิดนี้อยู่ในกลุ่ม serine beta-lactamase มีฤทธิ์ทำลายยากลุ่ม expanded-spectrum beta-lactam และถูกยับยั้งการทำงานด้วย beta-lactamase inhibitor ได้แก่ clavulanate, sulbactam, tazobactam, avibactam, relebactam และ vaborbactam (Castanheira และคณะ, 2021) เชื้อที่พบว่าสร้าง ESBL ได้แก่ เชื้อแกรมลบรูปแท่ง (Gram-negative bacilli) โดยเฉพาะเชื้อในกลุ่ม Enterobactrales เชื้อกลุ่มนี้จะดื้อต่อยาในกลุ่ม expanded-spectrum cephalosporins และ monobactams แต่ไวต่อยา carbapenems และ cephamycins เอนไซม์ ESBL จำแนกได้เป็น 4 class ได้แก่ TEM, SHV, CTX-M และ OXA-type beta-lactamase (Castanheira และคณะ, 2021)

การตรวจหาการสร้างเอนไซม์ ESBL การตรวจหาเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิยาคลินิกโดยทั่วไปจะให้วิธีทางกายภาพ (phenotypic method) ด้วยวิธีมาตรฐานของ Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) หรือ European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST) โดยใช้หลักการที่ว่าเอนไซม์ชนิดนี้จะถูกยับยั้งด้วย beta-lactamase inhibitor ได้แก่ clavulanate การตรวจหาเชื้อที่สร้างเอนไซม์ ESBL นั้นมีทั้งวิธีทดสอบหาเบื้องต้น และทดสอบยืนยัน โดยการทดสอบเบื้องต้นจะทดสอบความไวของเชื้อต่อยากลุ่ม cephalosporin โดยเชื้อ *E. coli, K. pneumoniae* และ *K.*

oxytoca จะทดสอบกับยา cefpodoxime, cpftazidime, aztreonam, cefotaxime และ ceftriazone ส่วนเชื้อ *Proteus mirabilis* จะทดสอบกับยา cefpodoxime, ceftazidime และ cefotaxime หากพบว่าเชื้อมีการดื้อต่อยาอย่างน้อย 1 ชนิดให้นำมาทดสอบยืนยันการสร้าง ESBL ด้วยวิธี combination disk โดยใช้การเปรียบเทียบขนาดของ inhibition zone ของ cephalosporin disk (ceftazidime หรือ cefotaxime) และ cephalosporin ที่ผสม clavulanate ถ้า inhibition zone ใน disk ที่ผสม clavulanate กว้างขึ้นมากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร ถือว่าเชื้อนั้นมีการสร้างเอนไซม์ ESBL (CLSI, 2021) สำหรับเชื้อมาตรฐานที่ใช้สำหรับทดสอบหาเชื้อ ESBL ประกอบด้วยเชื้อ positive control ได้แก่ *K. pneumoniae* ATCC 700603, *E. coli* NCTC 13353 ที่สร้าง CTX-M-15, *E. coli* NCTC 13351 ที่สร้าง TEM-3 และ *E. coli* NCTC 13352 ที่สร้าง TEM-10 เชื้อ negative control ได้แก่ *E. coli* ATCC 25922 และ *E. coli* NCTC 10418 (Noobnim, 2012)

ปัญหาสาธารณสุขของการเลี้ยงสัตว์ในฟาร์ม การใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์มปศุสัตว์เพื่อรักษาโรค ป้องกันการติดเชื้อ และเร่งการเจริญเติบโต เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดเชื้อดื้อยา โดยสาเหตุหนึ่งเกิดจากการขาดความรู้ ความเข้าใจในการใช้ยาปฏิชีวนะที่ถูกต้องให้กับสัตว์ของเกษตรกร ทำให้ยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อสัตว์ และสิ่งแวดล้อม เกิดเชื้อดื้อยาในสัตว์ และสามารถติดต่อจากสัตว์สู่คนได้ (สุภาวดี เปล่งชัย และอิสรพงษ์ นาสมรูป, 2021; Pokharel และคณะ, 2020)

ความต้องการบริโภคเนื้อ นม และไข่ ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้การเลี้ยงสัตว์เปลี่ยนแปลงไป โดยเกษตรกรจะหันไปใช้วิธีการเลี้ยงสัตว์แบบเร่งให้สัตว์โตเร็ว เร่งเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้น และมีการใช้ยาปฏิชีวนะในกระบวนการเลี้ยงสัตว์ รวมถึงเมื่อสัตว์ต้องอาศัยอย่างแออัดในฟาร์ม โอกาสเกิดโรคติดต่อมีมากขึ้น เกษตรกรจึงหันไปใช้ยาปฏิชีวนะในปศุสัตว์มากขึ้นเพื่อแก้ปัญหานี้ ยาปฏิชีวนะช่วยให้สัตว์ในฟาร์มแข็งแรงและโตเร็ว แต่เชื้อแบคทีเรียสามารถปรับตัวและต่อต้านต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้และแพร่ระบาดได้ ซึ่งพบว่าเป็นไปได้ทั้งการถ่ายทอดเชื้อจากคนสู่สัตว์และสัตว์สู่คน (Baragona, 2015)

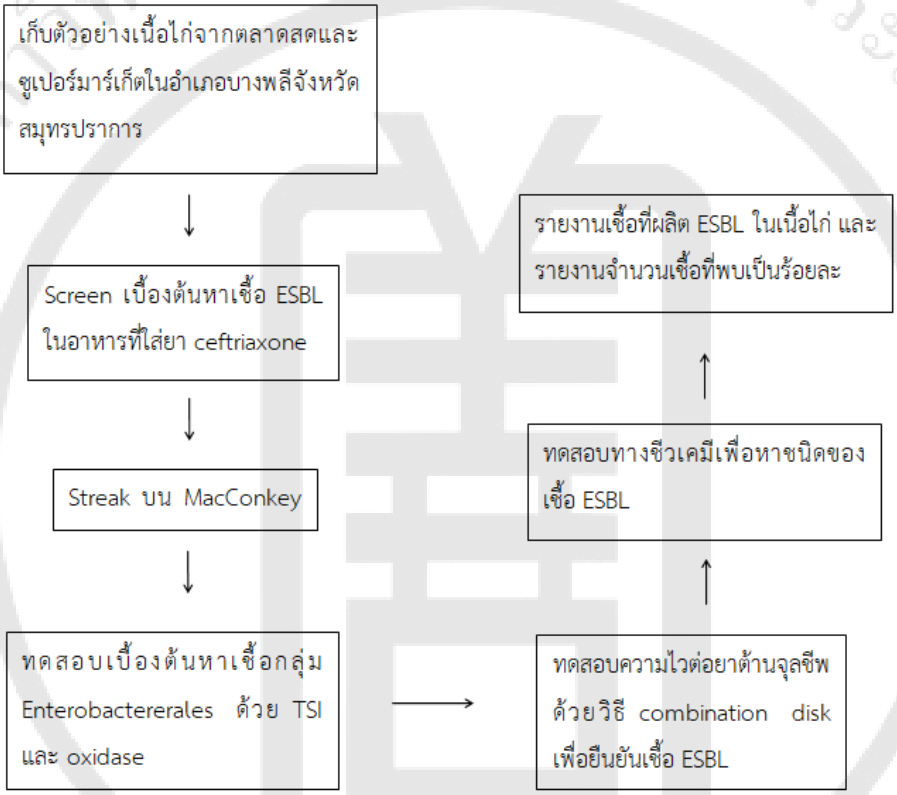
จากบทความของมติชนออนไลน์ (2559) เกี่ยวกับการใช้เนื้อสัตว์ปนเปื้อนยาปฏิชีวนะในอาหารฟาสฟู้ด พบว่าการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อการป้องกันโรค และเพื่อเร่งการเจริญเติบโต ย่นระยะเวลาในการเลี้ยงดูให้สั้นลง ถือเป็นการใช้ยาที่ไม่สมเหตุผล ทำให้ยานั้นตกค้างในอวัยวะของสัตว์ เครื่องใน เนื้อบางส่วน แล้วแต่กลุ่มของยาปฏิชีวนะ ในขณะที่ผู้บริโภคมักเข้าใจว่ายานั้นจะหายไปได้จากการชำแหละ และกระบวนการปรุงอาหาร แต่ปัญหาคือประเทศไทยมีการกินอาหารแบบสุกๆ ดิบๆ จึงมีโอกาสที่เชื้อดื้อยาจะยังคงตกค้างอยู่ในอาหารได้ ทั้งนี้เมื่อรับเชื้อเข้าไปแล้วเชื้อดื้อยาอาจมียีนที่สามารถถ่ายทอดการดื้อต่อยาข้ามกลุ่มได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบเชื้อดื้อยาได้ทั้งในสัตว์เศรษฐกิจและสัตว์เลี้ยง โดยเชื้อที่พบมากอยู่ในกลุ่ม Enterobacterales ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้คนและสัตว์ และสามารถก่อโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าพบเชื้อสายพันธุ์ที่แยกได้จากเนื้อไก่และในผู้ป่วยมีสารพันธุกรรมเหมือนกัน แสดงให้เห็นถึงการแพร่กระจายของเชื้อระหว่างคนและสัตว์ (อรรถพล ตันไสว และพรรณนิกา ฤตวิรุฬห์, 2557) ดังนั้นหากไม่มีการควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะให้เหมาะสมในฟาร์มปศุสัตว์ รวมทั้งให้ความรู้เกี่ยวกับการใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์ให้กับเกษตรกร อาจทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาจากสัตว์สู่ผู้บริโภคได้

สมมติฐาน

พบเชื้อที่สร้างเอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) ในตัวอย่างเนื้อไก่ที่ได้จากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตในอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ

กรอบแนวคิดการวิจัย

แยกเชื้อที่สร้างเอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) ในตัวอย่างเนื้อไก่ที่ได้จากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต ในอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึง สิงหาคม 2561 จำนวนทั้งสิ้น 50 ตัวอย่าง แล้วนำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบหาชนิดของเชื้อด้วยการทดสอบทางชีวเคมี (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

วิธีการวิจัย

1. **การเก็บตัวอย่าง** เก็บตัวอย่างเนื้อไก่จากตลาดสดและจากซูเปอร์มาร์เก็ต ในอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ โดยนำเนื้อไก่ จำนวน 50 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 100 กรัม โดยแบ่งเป็นเนื้อไก่จากตลาดสด 25 ตัวอย่าง และ ซูเปอร์มาร์เก็ต 25 ตัวอย่าง

2. **การเพาะแยกเชื้อจากตัวอย่าง (ดัดแปลงมาจากวิธีของ Franziska Schil และคณะ)** เพาะแยกเชื้อแบคทีเรียโดยนำเนื้อไก่ 25 กรัม ใส่ลงใน peptone water ที่มี ceftriaxone 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 225 มิลลิลิตร (เจือจางเป็น 1:10) แล้วนำไปเพาะเลี้ยงที่ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง นำ loop จุ่มส่วนผสมไป streak ลงบนอาหาร MacConkey agar ที่มียา ceftriaxone 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส นาน 16-18 ชั่วโมง

3. พิสูจน์หาเชื้อกลุ่ม Enterobacterales ตรวจพิสูจน์ชนิดของเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar ที่มียา ceftriaxone 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยนำมาทดสอบทางชีวเคมี ได้แก่ TSI และ oxidase เพื่อคัดกรองเชื้อกลุ่ม Enterobacterales

4. การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย นำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบยืนยันการสร้าง ESBL โดยวิธี combination disk test ที่ดัดแปลงมาจากงานวิจัยของ Franziska Schill และคณะ โดยนำเชื้อมาปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland standard จากนั้นนำไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ (sterile cotton swab) จุ่มลงไปแล้วบิดข้างหลอดพอหมาด นำไปป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar ตามวิธี Phenotypic Confirmatory Test (combination disk method) ของ Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) ตั้งอาหารที่มีเชื้อทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที ใช้ forceps คีบแผ่นยาวาง cefotaxime 30 ไมโครกรัม, cefotaxime 30 ไมโครกรัม/ clavulanic acid 10 ไมโครกรัม, ceftazidime 30 ไมโครกรัม, ceftazidime 30 ไมโครกรัม / clavulanic acid 10 ไมโครกรัม ลงไปและนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง อ่านผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางที่เป็นวงใสของยา ถ้าต่างกันมากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตรอย่างน้อย 1 คู่ แสดงว่าเชื้อที่ทดสอบมีการสร้างเอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) แต่ถ้ามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสน้อยกว่า 5 มิลลิเมตรแสดงว่าเชื้อที่ทดสอบไม่มีการสร้างสร้างเอนไซม์ ESBL ในการทดสอบใช้เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 เป็นเชื้อควบคุมผลบวก (positive control) และเชื้อควบคุมผลลบ (negative control) ตามลำดับ

5. การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อพิสูจน์ชนิดของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales พิสูจน์ชนิดของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales โดยใช้ชุดทดสอบทางชีวเคมี (biochemical test) ได้แก่ oxidase, TSI, MIL, citrate, urea MR, VP, AD, OD, malonate-PD, PR-glucose และ PR-arabinose

การทดสอบสมมติฐาน

การตรวจหาเชื้อที่สร้างเอนไซม์ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) ในตัวอย่างเนื้อไก่

1. รายงานร้อยละของตัวอย่างเนื้อไก่ที่พบเชื้อ ESBL ทั้งจากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต โดยคำนวณจากตัวอย่างเนื้อไก่ทั้งหมดในแต่ละแหล่ง
2. รายงานร้อยละของจำนวนเชื้อ (ไอโซเลต) ESBL ที่พบในแต่ละแหล่งโดยคำนวณจากจำนวนเชื้อทั้งหมด
3. รายงานร้อยละของเชื้อกลุ่ม ESBL-producing Enterobacterales แต่ละชนิดโดยคำนวณจากจำนวนเชื้อที่พบทั้งหมด

ผลการวิจัย

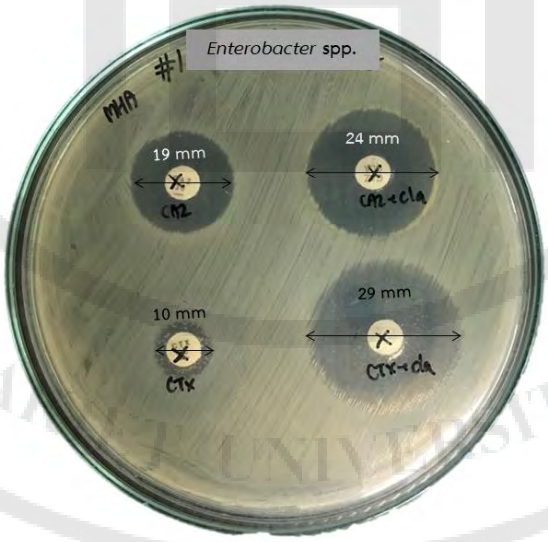
1. การเก็บตัวอย่าง การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อไก่ทั้งสิ้น 50 ตัวอย่าง ในอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2561 โดยเก็บตัวอย่างเนื้อไก่ที่จำหน่ายในตลาดสด 25 แห่ง จำนวน 25 ตัวอย่าง และในซูเปอร์มาร์เก็ต 25 แห่ง จำนวน 25 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างกระจายครอบคลุม 5 ตำบล ในอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ ประกอบไปด้วย ได้แก่ ตำบลราชาเทวะ บางแก้ว บางพลีใหญ่ บางโฉลง และบางปลา

2. การเพาะแยกเชื้อจากตัวอย่าง เมื่อนำตัวอย่างเนื้อไก่สดมาตรวจเบื้องต้น (screening) เพื่อหาเชื้อกลุ่ม Enterobacterales ที่สร้างเอนไซม์ ESBL โดยการนำตัวอย่างเนื้อไก่สดใส่ในอาหารที่มียา ceftriaxone ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วนำไป streak ลงบนอาหาร MacConkey agar ที่มียา ceftriaxone ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำเชื้อที่เจริญบน MacConkey agar มาทดสอบทางชีวเคมี (TSI และ oxidase) เพื่อหาเชื้อกลุ่ม Enterobacterales โดยเลือกเชื้อที่ให้ผลลบต่อการทดสอบ oxidase และ TSI เป็น A/A, A/AG, A/A,H_2S, K/A, K/AG หรือ K/A,H_2S จากนั้นนำเชื้อ Enterobacterales ที่แยกได้ไปทดสอบยืนยันการสร้างเอนไซม์ ESBL

3. การทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อด้วย วิธี combination disk ผลการศึกษาพบเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ปนเปื้อนในเนื้อไก่จำนวน 35 ตัวอย่าง จาก 50 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 70 ของตัวอย่างทั้งหมด (35/50) (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2) โดยตัวอย่างเนื้อไก่จากตลาดสดจำนวน 25 ตัวอย่าง พบเชื้อ 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 96 (24/25) ในขณะที่ตัวอย่างจากซูเปอร์มาร์เก็ตจำนวน 25 ตัวอย่าง พบเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales จำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 44 (11/25) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างเนื้อไก่จากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตที่พบการปนเปื้อนของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales

แหล่งจำหน่าย	**จำนวนตัวอย่าง**	**จำนวนตัวอย่างที่พบ ESBL-producing Enterobaterales (ร้อยละ)**
ตลาดสด	25	24 (96)
ซูเปอร์มาร์เก็ต	25	11 (44)
รวม	**50**	**35 (70)**



ภาพที่ 2 ผลบวกของการทดสอบเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่บนอาหาร Mueller Hilton Agar ที่วางแผ่นยา ceftazidime (CAZ), ceftazidime / clavulanic acid (CAZ + cla), cefotaxime (CTX) และ cefotaxime / clavulanic acid (CTX + cla) นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง

4. การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อพิสูจน์ชนิดของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales

เมื่อนำเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ที่ให้ผลบวกกับการทดสอบ combination disk จำนวน 52 ไอโซเลต ที่ได้ในตัวอย่างจากตลาดสด 38 ไอโซเลต และจากซูเปอร์มาร์เก็ต 14 ไอโซเลต (ตารางที่ 2) มาทดสอบชนิดของเชื้อ (genus, species) ด้วยการทดสอบชีวเคมี ได้แก่ MIL, citrate, urea MR, VP, AD, OD, malonate-PD, PR-glucose และ PR-arabinose เชื้อที่พบมากที่สุดคือ *Escherichia coli* พบ 33 ไอโซเลตจาก 52 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 63.46 (33/52) รองลงมาคือ *Enterobacter gergoviae* และ *Enterobacter* spp. พบร้อยละ 11.50 (6/52) และ 7.69 (4/52) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบเชื้อ *Salmonella* spp. subgroup C ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารจากตัวอย่างเนื้อไก่ที่ได้จากตลาดสดจำนวน 1 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 1.93 (1/52) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ชนิดและจำนวนของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อไก่ที่จำหน่ายในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ

Organisms	**จำนวนที่แยกได้จากตัวอย่างในตลาดสด**	**จำนวนที่แยกได้จากตัวอย่างในซูเปอร์มาร์เก็ต**	**รวม (ร้อยละ)**
Citrobacter freundii	0	1	1 (1.93)
Citrobacter spp.	1	0	1 (1.93)
Edwardsiella tarda	1	0	1 (1.93)
Enterobacter cloagae	1	1	2 (3.85)
Enterobacter gergoviae	5	1	6 (11.50)
Enterobacter spp.	4	0	4 (7.69)
Escherichia coli	23	10	33 (63.46)
Hafnia alvei	1	1	2 (3.85)
Klebsiella pneumoniae subsp. *Ozaenae*	1	0	1 (1.93)
Salmonella spp. subgroup C	1	0	1 (1.93)
รวม	**38**	**14**	**52 (100.00)**

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

ESBL เป็นเอนไซม์ที่พบได้ในแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง กลุ่ม Enterobacterales เอนไซม์ชนิดนี้มีความสำคัญ ทำให้เชื้อดื้อต่อยากลุ่ม beta-lactam ทั้งหมด ยกเว้นกลุ่ม carbapenems และ cephamycins (Castanheira และคณะ, 2021; พจมาน ผู้มีสัตย์ และคณะ, 2558) ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเอนไซม์ ESBL ประกอบไปด้วยยีน TEM, SHV และ CTX-M การดื้อยาปฏิชีวนะในคนก่อให้เกิดปัญหาสำคัญทางสาธารณสุข โดยเฉพาะการรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะในภาคการเกษตร ทั้งด้านเกษตรกรรม ฟาร์มปศุสัตว์ และการประมง เพื่อสนับสนุนการเจริญเติบโต และป้องกันโรค ก็เป็นปัญหาสำคัญในการทำให้เกิดเชื้อดื้อยาเช่นเดียวกัน และหากไม่มีการควบคุมการใช้ยาปฏิชีวนะในภาคเกษตรกรรมที่มีคุณภาพ เนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ ทั้งสุกร ไก่ หรืออาหารทะเล อาจเป็นพาหะที่สำคัญที่จะส่งต่อยีนดื้อยาจากเชื้อแบคทีเรียดื้อยา โดยเฉพาะกลุ่ม ESBL-producing Enterobacterales มายังแบคทีเรียประจำถิ่นในร่างกายของคนได้ (Tekiner & Özpinar 2016)

การศึกษาครั้งนี้เป็นการหาความชุกของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ในเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต อำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรปราการ ผลการศึกษาพบเชื้อในตัวอย่างเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ตในสัดส่วนที่สูง กล่าวคือพบในตลาดสดสูงถึงร้อยละ 96 และพบในซูเปอร์มาร์เก็ต ร้อยละ 44 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ นราธิป วรวัฒนธรรม และคณะ ที่ทำการเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacterales จากเนื้อหมูและเนื้อไก่ดิบ และเนื้อหมูและเนื้อไก่ที่ผ่านการต้มแล้ว ซึ่งใช้เป็นอาหารของเสือปลาในไนท์ซาฟารี จังหวัดเชียงใหม่ จำนวนทั้งหมด 48 ตัวอย่าง โดยทำการนับจำนวนรวมของแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacterales พบว่ามีการปนเปื้อนในเนื้อดิบเท่ากับ 2.88 X 10^{11} CFU/g และปนเปื้อนในเนื้อต้มเท่ากับ 2.42 X 10^{10} CFU/g นอกจากนี้ได้ทำการเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียจากเนื้อดิบ พบเชื้อ *Salmonella* serotype Choleraesuis, *E. coli*, *Enterobacter cloacae* และ *Providencia rettgeri* แต่ละชนิดคิดเป็นร้อยละ 5.26 และพบเชื้อ *Serratia marcescens, Proteus mirabilis, Hafnia alvei, Erwinia* spp. และ *Citrobacter braakii* แต่ละชนิดคิดเป็นร้อยละ 10.52 และพบการการปนเปื้อนของแบคทีเรียในเนื้อต้ม โดยพบเชื้อ *Salmonella* serotype Choleraesuis, *E. cloacae* และ *C. braakii* แต่ละชนิดคิดเป็นร้อยละ 18.18 และพบ *P. mirabilis* คิดเป็นร้อยละ 27.27 ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ Enterobacterales ในเนื้อสัตว์ (นราธิป วรวัฒนธรรม และคณะ 2558)

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า จำนวนไอโซเลตของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ที่แยกได้จากเนื้อไก่ที่จำหน่ายในตลาดสดมีมากกว่าที่พบในซูเปอร์มาร์เก็ต ในงานวิจัยของ Eibach และคณะในปี ค.ศ. 2018 ได้ศึกษาเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์ ESBL ในตัวอย่างเนื้อสัตว์ปีกแช่แข็งที่วางจำหน่ายในตลาดสดและที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ในประเทศกานา ช่วงเดือนพฤษภาคม ถึงธันวาคม ปี ค.ศ. 2015 พบเชื้อปนเปื้อนในตัวอย่างที่วางจำหน่ายในตลาดสดร้อยละ 44 และตัวอย่างที่นำเข้ามาจากต่างประเทศร้อยละ 31 (Eibach และคณะ, 2018) นอกจากนี้ งานวิจัยของ Srichumporn และคณะในปี ค.ศ.2022 ที่ศึกษาความชุกของเชื้อ ESBL-producing *E. coli* ในเนื้อหมูที่วางจำหน่ายในตลาดสด ร้านขายเนื้อหมู และซูเปอร์มาร์เก็ต ในอำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 100 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบเชื้อ ESBL-producing *E. coli* ร้อยละ 69 จากตัวอย่างทั้งหมด (69/100) โดยพบในตัวอย่างจากตลาดสดร้อยละ 97.22 (35/36) ในขณะที่ตัวอย่างจากซูเปอร์มาร์เก็ตพบร้อยละ 39.53 (17/43) (Srichumporn และคณะ, 2022) ทั้งนี้การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในตัวอย่างจากตลาดสดมีมากกว่าตัวอย่างจากซูเปอร์มาร์เก็ต อาจเป็นเพราะการวางจำหน่ายเนื้อสัตว์ในตลาดสดบางแห่งไม่จำเป็นต้องมีใบรับรองการประเมินคุณภาพของเนื้อสัตว์ รูปแบบการขายเกิดจากการรับเนื้อสัตว์มาจากพ่อค้าคนกลางที่รับซื้อเนื้อสัตว์จากฟาร์มโดยตรง ไม่มีการกำหนดมาตรฐานของเนื้อสัตว์ ทำให้มีราคาไม่แพง และเข้าถึงได้ง่าย ดังนั้นหากฟาร์มที่จำหน่ายมีกระบวนการฆ่าที่ไม่สะอาด ขาดความระมัดระวังในการนำเครื่องในออกจากสัตว์ ทำให้มีมูลสัตว์มาสัมผัสกับเนื้อสัตว์ การใช้เครื่องมือ มีด เขียงที่สกปรก ขาดความเอาใจใส่ทำความสะอาด ก็อาจส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อกับเนื้อสัตว์ที่จำหน่ายให้ผู้บริโภคได้ง่าย ในขณะที่การนำเนื้อสัตว์มาจำหน่ายในซูเปอร์มาร์เก็ตนั้น ผู้จัดหาเนื้อสัตว์จะต้องมีใบรับประกันคุณภาพ มีการประเมินสภาพของฟาร์มที่ใช้เลี้ยงสัตว์ การควบคุมโรงฆ่าสัตว์ คุณภาพของเนื้อสัตว์ และการจัดการในการวางจำหน่าย (Srichumporn และคณะ, 2022) ทำให้เชื้อจุลชีพหรือแบคทีเรียดื้อยามีโอกาสปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ได้น้อยกว่า

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ที่พบมากที่สุดจากทั้ง 2 แหล่ง คือ เชื้อ *E.coli* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tekiner และคณะ ในปี 2016 ได้ตรวจหาเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales จากอาหารชนิดต่างๆ จำนวน 250 ตัวอย่าง ได้แก่ เนื้อไก่ นมวัวดิบ และชีสที่ทำจากนมวัวดิบ ที่วางจำหน่ายในประเทศตุรกี พบเชื้อในตัวอย่างจำนวน 55 ไอโซเลต โดยพบเป็นเชื้อ *E. coli* ถึงร้อยละ 80 รองลงมาคือ *E. cloacae*, *C. braakii*, *K. pneumoniae* และ *Citrobacter werkmanii* ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่า *E. coli* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้คนและสัตว์ อาจมีการปนเปื้อนออกมาทางอุจจาระของสัตว์สู่สิ่งแวดล้อม ซึ่งโดยส่วนใหญ่พบว่ามักมีการปนเปื้อนของเชื้อชนิดนี้ลงในอาหารและน้ำดื่มที่ไม่ถูกสุขลักษณะ ตั้งแต่ต้นปี ค.ศ. 2000 พบว่าสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารส่วนใหญ่มีการติดเชื้อและเป็นแหล่งที่อยู่ของเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์ ESBL มีความเกี่ยวข้องกับอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยสูงกว่าเชื้อสายพันธุ์ที่ไม่มีเอนไซม์ชนิดนี้ (Tekiner & Özpinar, 2016) จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *E. coli* อาจเป็นพาหะที่สำคัญในการแพร่กระจาย ESBL ในอาหาร

ข้อเสนอแนะ

ผลที่ได้จาการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบถึงความชุกของเชื้อ ESBL-producing Enterobacterales ในตัวอย่างเนื้อไก่ จากตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต และสามารถใช้เป็นข้อมูลในการหาวิธีป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาจากสัตว์สู่คนได้ อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งต่อไปควรมีการหาชนิดของยีนดื้อยาจากเชื้อที่แยกได้ โดยวิธีทางอณูชีววิทยา และควรทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อดื้อยาหลายขนาน (MDR) ของเชื้อเหล่านี้ และหาความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ของเชื้อที่พบในตัวอย่างเนื้อไก่ และเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยเพื่อดูการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาจากคนสู่สัตว์และจากสัตว์สู่คน โดยวิธีทาง phenotype และ genotype

เอกสารอ้างอิง

นราธิป วรวัฒนธรรม ดวงจิต คะนึงเพียร และณฐวุฒิ คณาติยานนท์. (2558).การเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae จากอาหารเสือปลาจากสวนสัตว์เชียงใหม่ไนซ์ซาฟารี. *สัตวแพทย์มหานครสาร, 10(1)*, 23-29.

นิธิมา สุ่มประดิษฐ์ ศิริตรี สุทธจิตต์ สิตานันท์ พูลผลทรัพย์ รุ่งทิพย์ ชวนชื่น และภูษิต ประคองสาย. (2558). สถานการณ์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในปศุสัตว์. *ภูมิทัศน์ของสถานการณ์และการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศไทย*, *1*, 1-145.

พจมาน ผู้มีสัตย์ ปิยะรัตน์ จิตรภิรมย์ และเกรียงศักดิ์ มีพันธ์. (2558). การตรวจหาเอนไซม์บีตา-แลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยายและแอมพ์ซี บีตา-แลคตาเมสในเชื้อกลุ่มเอนเทอโรแบคเทอรีซีอี. *เวชสารแพทย์ทหารบก*, 68(4), 165-171.

มติชนออนไลน์. (2559). มูลนิธิเพื่อผู้บริโภคพบแซนวิสไก่อบเปื้อนยาปฏิชีวนะ. https://www.matichon.co.th/local/news_362074 (เข้าถึงเมื่อ 20 พฤษภาคม 2561).

วิษณุ ธรรมลิขิตกุล. (2554). การดื้อยาต้านจุลชีพx:kความสำคัญของระบบสุขภาพ. เวชบันทึกศิริราช, 4(3), 93-97.

อรรถพล ตันไสว และพรรณนิกา ฤตวิรุฬห์. (2557). อุบัติการณ์และคุณสมบัติของเชื้อเอสเชอริเชียโคไลดื้อยาหลายขนานในเนื้อสัตว์ปีก. Naresuan University Journal: Science and Technology (NUJST), 22(2), 40-47.

สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข (สวรส.). (2560). จับตายุค “เชื้อดื้อยา” หมดทางรักษา – คุกคามถึง คน สัตว์ สิ่งแวดล้อม 25 หน่วยงาน เดินหน้าแผนชาติ 60-64 สวรส. ร่วมหนุนวิจัย ลดใช้ยา ลดป่วย-ตาย พร้อมพัฒนาระบบ. https://www.hsri.or.th/researcher/media/news/detail/9077. (เข้าถึงเมื่อ 22 สิงหาคม 2561).

สุภาวดี เปล่งชัย และอิสรพงษ์ นาสมรูป. (2564). สถานการณ์การใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์มปศุสัตว์ และแหล่งกระจายยาสัตว์ในพื้นที่อำเภอทุ่งเขาหลวง จังหวัดร้อยเอ็ด. *วารสารคุ้มครองผู้บริโภคด้านสุขภาพ (Online)*, 1(2), 55-68.

Baragona S. (2015). การใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์มากขึ้นและจะส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียดื้อยารุนแรงขึ้น. https://www.voathai.com/a/science-global-antibiotics-livestock-tk/2699380.html.

(เข้าถึงเมื่อ 20 พฤษภาคม 2561).

Castanheira, M, Simner, P. J, & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β–lactamase: an update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimirobial Resistance*, doi:10.1093/jacamr/dlab092.

Clinical and laboratory standards institute (CLSI). (2021). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (31st ed); CLSI supplement M100. Wayne, PA:

Falagas, M. E, & Karageorgopoulos, D. E. (2009). Extended-spectrum β–lactamase-producing organism. *Journal of Hospital Infection*, *73*, 345-354.

Eibach, D, Dekker, D, Boahen, K. G, Akenten, C. W, Sarpong, N, Campos, C. B, *et al*. (2018). Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in local and imported poultry meat in Ghana. *Veterinary Microbiology, 217*, 7-12.

Noobnim. (2012). มาตรฐานในการตรวจและรายงานผลแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ ESBLs. http://noobnim.in.th/standard-for-detection-reporting-esbls. (เข้าถึงเมื่อ 20 พฤษภาคม 2561).

Pokharel, S, Shrestha, P, & Adhikan, B. (2020). Antimicrobial use in food animal and human health: time to implement ‘One Health’ approach. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, *9*, 181.

Srichumporn, W, Chaisowwong, W, Intanon M, & Na-Lampang K. (2022). Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from pork in Muang district, Chiang Mai Province, Thailand. *Veterinary World, EISSN: 2231-0916, 15*, 2903-2909.

Tekiner, İ. H, & Özpinar, H. (2016). Occurrence and characteristics of extended spectrum beta-lactamases-producing Enterobacteraciae from foods of animal origin. *Brazilian Journal of Microbiology, 47*, 444-451.