วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

# ภาวะการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Escherichia coli* ในเนื้อไก่ในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม

# Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in chicken meat, Muang, Mahasarakham province

**นัทธมน ตั้งจิตวัฒนาชัย[1]* และเด่นพงษ์ สาฆ้อง[2]**

Natthamon Tangjitwattanachai[1]* and Denpong Sakhong[2]

*[1]สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม ประเทศไทย 44150*
*[1]Division of Animal Science, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham, Thailand 44150*
*[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน กรมปศุสัตว์ จังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย 40260*
*[2]Veterinary Research and Development Centre (Upper Northeastern Region), Department of Livestock Development, Khon Kaen, Thailand 40260*

**บทคัดย่อ:** *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลือดอุ่นที่พบพฤติกรรมดื้อยาต้านจุลชีพที่เป็นปัญหาทั่วโลก งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ จำนวน 4 ชนิด คือ enrofloxacin, amoxicillin, doxycycline และ colistin ของเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่สดจาก 25 แหล่งจำหน่าย ได้แก่ ตลาดสด 20 แห่ง ห้างสรรพสินค้า 3 แห่ง และร้านค้าปลีก 2 แห่ง ในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ระหว่างเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2563 ผลการศึกษาตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* จากแหล่งจำหน่ายที่เป็นตลาดสดจำนวน 12 แห่ง แต่ไม่พบการปนเปื้อนจากแหล่งจำหน่ายที่เป็นห้างสรรพสินค้าและร้านค้าปลีก และไม่พบการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อไก่จากทุกแหล่งจำหน่าย เมื่อทดสอบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli* ตามอัตราการเกิด clear zone พบว่า เชื้อ *E. coli* ที่ตรวจพบในเนื้อไก่สดจากแหล่งจำหน่ายที่เป็นตลาดสดดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด amoxicillin สูงที่สุด รองลงมา คือ enrofloxacin, doxycycline และ colistin โดยความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli* ที่ตรวจพบ คิดเป็น 83.33, 33.33, 25.00 และ 16.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลการศึกษาครั้งนี้พบความชุกของเชื้อ *E. coli* ดื้อยาปฏิชีวนะชนิด amoxicillin ที่ค่อนข้างสูง แต่ไม่พบว่ามีการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อไก่สดที่วางจำหน่ายในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม

**คำสำคัญ:** เชื้อ *Escherichia coli*; เนื้อไก่; เชื้อดื้อยา; ยาปฏิชีวนะ

**ABSTRACT:** *Escherichia coli* are normal flora in the gastrointestinal tracts of warm-blooded animals that have been frequently found resistant to antibiotics and a serious concern worldwide. This research aimed to study the prevalence of *E. coli* and their resistance to four antibiotics as enrofloxacin, amoxicillin, doxycycline and colistin in 25 chicken meat samples obtained from 20 local markets, three supermarkets and two brand shops in Muang, Mahasarakham province between November and December 2020 were evaluated. The results showed that *E. coli* contamination was detected in chicken meat from 12 local markets but not found at supermarkets and brand shops; furthermore, the antibiotics residue was not found in this study. According to the clear zone area, antibiotic resistance of *E. coli* indicated that most of the *E. coli* strains were the highest resistant to amoxicillin, enrofloxacin, doxycycline and colistin (83.33%, 33.33%, 25.00% and 16.67 %, respectively). In conclusion, this study suggested that raw chicken meats are highly with *E. coli* resistant to amoxicillin. However, it could not found antibiotic residue in chicken meat.

**Keywords:** *Escherichia coli*; chicken meat; antimicrobial resistance; antibiotic

* Corresponding author: nn2520@yahoo.com

Received: date; May 11, 2021 Accepted: date; August 13, 2021 Published: date; January 15, 2022

**บทนำ**

ในรอบทศวรรษที่ผ่านมา เชื้อดื้อยาจัดเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขระดับประเทศที่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างต่อเนื่อง ในแต่ละปีจะมีผู้ติดเชื้อดื้อยาไม่น้อยกว่า 100,000 คน และในจำนวนนี้มีผู้เสียชีวิตไม่ต่ำกว่า 38,000 ราย (ณัฐธิดา และคณะ, 2559) ซึ่งผู้ติดเชื้อดื้อยาส่วนใหญ่เมื่อต้องเข้ารับการรักษาตัวที่โรงพยาบาลจะใช้เวลาในการรักษาโรคนานขึ้น โดยเมื่อมนุษย์เกิดอาการเจ็บป่วยหรือเกิดอาการติดเชื้อขึ้น ยาปฏิชีวนะบางชนิดอาจใช้รักษาโรคไม่ได้ผล จึงต้องเปลี่ยนไปใช้ยาที่มีความไวต่อเชื้อมากขึ้น ซึ่งประชาชนในประเทศที่กำลังพัฒนามักจะเข้าไม่ถึงยากลุ่มดังกล่าวเพราะเป็นยามีราคาที่แพง (CDC, 2013) ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษกิจตามมาอย่างมากมาย เนื่องจากมูลค่ายาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อดื้อยาไม่ต่ำกว่า 6,000 ล้านบาทต่อปี (กฤติกา, 2558; วิษณุ, 2557) อีกทั้งปัจจุบันมีการตรวจพบการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป (ศุภชัย, 2549) ซึ่งหากมนุษย์บริโภคอาหารเหล่านี้เข้าไปอย่างต่อเนื่องจะก่อให้เกิดการสะสมยาปฏิชีวนะภายในร่างกาย ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นภายในร่างกายสัมผัสกับยาปฏิชีวนะ โดยเชื้อที่ไวต่อยาก็จะถูกทำลายและเชื้อที่ดื้อต่อยานั้นก็จะพัฒนาตัวเป็นเชื้อดื้อยาและดำรงชีวิตต่อไป (Johnson et al. 2006; Berendsen et al., 2018) ปัญหาเชื้อดื้อยาในปัจจุบันส่วนหนึ่งมีสาเหตุมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์มปศุสัตว์ โดยเฉพาะในกลุ่มผู้เลี้ยงไก่เนื้อและสุกรที่มักมีความเข้าใจผิดว่าการใช้ยาปฏิชีวนะสามารถใช้ป้องกันโรคและเร่งการเจริญเติบโตเพิ่มน้ำหนักสัตว์ กระตุ้นให้มีมวลกล้ามเนื้อมาก ซากมีไขมันต่ำ ซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะมิได้ให้ผลดังกล่าวแต่ควรใช้เพื่อการรักษาโรคเท่านั้น (พนาวรรณ 2554; สุรางค์ และอรทัย, 2555) จากรายงานของ Lee et al. (2009) พบว่า การดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. สามารถตรวจพบได้บ่อย โดยเชื้อทั้งสองชนิดนี้ดื้อจะต่อยาปฏิชีวนะชนิด amoxicillin, ampicillin และ doxycycline มากกว่ายาปฏิชีวนะชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบได้ทั่วไปในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ หากมีการดื้อยาปฏิชีวนะจะส่งผลให้มีการแพร่ระบาดติดต่อถึงกันได้ โดยสหภาพยุโรป (European Union: EU) ซึ่งเป็นกลุ่มประเทศผู้นำเข้าสินค้าปศุสัตว์ไทยรายสำคัญได้กำหนดปริมาณสารตกในกล้ามเนื้อสัตว์เพื่อการบริโภคทุกชนิดไว้ นอกจากนี้ยังแนะนำให้มีการตรวจติดตามการดื้อยาจากเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นอย่างเชื้อ *E. coli* อย่างเข้มงวด เพราะรูปแบบการดื้อยาที่ได้จะมีความใกล้เคียงกับชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใช้ในฟาร์มปศุสัตว์นั้นๆ (EFSA, 2012) ปัจจุบันสามารถพบเชื้อ *E. coli* ดื้อยาแพร่กระจายอยู่ในสิ่งแวดล้อม ชุมชน โรงพยาบาล ฟาร์มปศุสัตว์ รวมถึงสัตว์ที่ผลิตเพื่อการบริโภคของมนุษย์ด้วย สอดคล้องกับรายงานของ Overdevest et al. (2011) ที่พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่ที่นำมาศึกษามีลักษณะทางพันธุกรรมสอดคล้องกันกับเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาล อีกทั้ง ยังพบรายงานว่าเชื้อ *E. coli* ดื้อยาสามารถส่งต่อยีนดื้อยาข้ามสายพันธุ์ (horizontal transferable resistance) ไปยังเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นได้ (Liu et al., 2015) นอกจากนี้ อรรถพล และพรรณนิกา (2557) ได้ทำการศึกษาถึงการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ที่ตรวจพบในเนื้อสัตว์ปีกที่วางจำหน่ายในห้างสรรพสินค้า พบเชื้อ *E. coli* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดทั้งในกลุ่ม beta-lactams และยา cephalosporin รุ่น 3 (cefotaxime หรือ ceftazidime), aminoglycosides, tetracyclines และ quinolones ซึ่งยาปฏิชีวนะเหล่านี้จัดอยู่ในกลุ่มยารักษาโรคติดเชื้อ *E. coli* ในสัตว์ปีก นอกจากนี้ยังตรวจพบอีกว่าเชื้อ *E. coli* หลาย isolate ที่เพาะแยกได้มีความสามารถในการไปลดประสิทธิภาพของยา imipenem ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ (Food and Drug Administration, 2019) จากข้อมูลข้างต้นสอดคล้องกับรายงานของ Seiffert et al. (2013) ที่ทำการศึกษาภาวะการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม beta-lactams และ cephalosporin รุ่น 3 แล้วพบว่าเชื้อ *E. coli* ที่พบในฟาร์มปศุสัตว์ส่วนใหญ่สามารถสร้างเอนไซม์ Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBLs) ออกมาทำลายกลไกการออกฤทธิ์ของยาได้ จึงทำให้ยาไม่มีประสิทธิภาพในการรักษา นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่มักดื้อต่อยาอย่างน้อย 3 ชนิด หรือที่เรียกว่าเป็น multidrug resistant (MDR) ซึ่งจากรายงานดังกล่าวเป็นไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาของ Chaisatit et al. (2012) ที่พบว่า อัตราการตรวจพบ MDR- *E. coli* ในเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายตามห้างสรรพสินค้าในเขตพื้นที่จังหวัดกรุงเทพมหานครมีสูงมาก โดยกลุ่มที่ตรวจพบมักดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด ampicillin, gentamycin, tetracycline และยาในกลุ่ม cephalosporin จากข้อมูลทั้งหมดในข้างต้นบ่งชี้ให้เห็นได้ว่าเชื้อ *E. coli* ดื้อยาที่ตรวจพบจากการทำฟาร์มปศุสัตว์มีการแพร่กระจายเข้าสู่ห่วงโซ่การผลิตอาหารและส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ ซึ่งถ้าหากขาดการตรวจติดตามและเฝ้าระวังอย่างจริงจัง อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อระบบสาธารณสุข เศรษฐกิจ ตลอดจนความมั่นคงทางอาหารในอนาคต ดังนั้น เพื่อเป็นการติดตามสถานการณ์

และเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา *E. coli* ในเขตพื้นที่เมืองจังหวัดมหาสารคาม งานวิจัยนี้จึงศึกษาถึงการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่นิยมใช้ในการทำฟาร์มไก่เนื้อ 4 ชนิด ได้แก่ enrofloxacin, amoxicillin, doxycycline และ colistin

**วิธีการศึกษา**

**การเก็บตัวอย่าง**

เก็บตัวอย่างเนื้อไก่บริเวณส่วนอกประมาณ 500 กรัม จากตลาดสดที่มีชิ้นส่วนตัวอย่างวางในถาดสแตนเลสที่ไม่มีภาชนะปิดที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม, ร้านค้าปลีก (ลักษณะเป็น brand shop) ชิ้นส่วนตัวอย่างมีบรรจุภัณฑ์ห่อหุ้มแยกแต่ละตัวอย่างและเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส และห้างสรรพสินค้าที่มีชิ้นส่วนตัวอย่างวางทับบนน้ำแข็งในถาดสแตนเลสไม่มีภาชนะปิดในห้องปรับอากาศ ทั้งหมดจำนวน 25 แหล่งจำหน่าย **(Figure 1)**

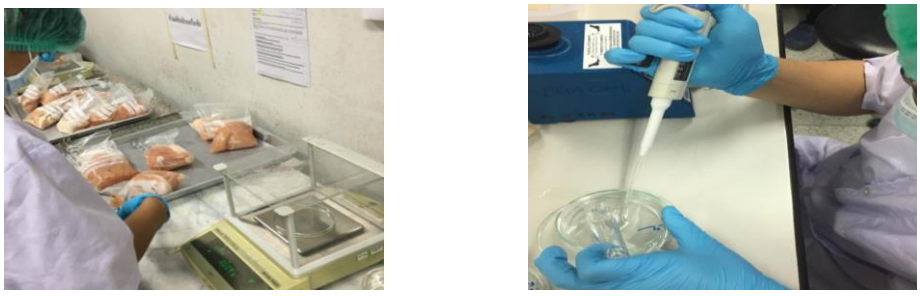
(a) (b)

**Figure 1** Meat sampling from supermarket (a) meat preservation (b)

**การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างทางห้องปฏิบัติการ**

**การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนทั้งหมด**

นำตัวอย่างเนื้อไก่ที่เก็บไว้มาละลายที่อุณหภูมิห้องทดสอบ (20 องศาเซลเซียส) นานประมาณ 2-3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาตัดให้เป็นชิ้นแล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้ประมาณ 50 กรัม บรรจุลงในถุงซิปล็อก นำตัวอย่างเนื้อที่เตรียมไว้ถ่ายลงใน Butterfield's phosphate buffer (BPB) ปริมาตร 450 มิลลิลิตร ตีด้วยเครื่องตีผสมตัวอย่าง (Stomacher) 2 นาที และทำการเจือจางตัวอย่างให้ได้ที่ Dilution $10^{-3}$ และ $10^{-4}$ ก่อนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนทั้งหมดด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Standard plate count agar (**Figure 2**)



(a) (b)

**Figure 2** Meat preparation for total bacteria count (a) meat dilution (b)

**การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *E. coli* ปนเปื้อนในเนื้อไก่และการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ 4 ชนิด**

นำตัวอย่างเนื้อไก่มาตัดเป็นชิ้นเล็กแล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้ประมาณ 50 กรัม นำตัวอย่างเนื้อไก่ที่เตรียมไว้ใส่ลงในสารละลาย BPB ปริมาตร 450 มิลลิลิตร หลังจากนั้นผสมตัวอย่างเนื้อให้เข้ากับสารละลาย ตีด้วยเครื่องตีผสมตัวอย่าง (Stomacher) 2 นาที และทำการเจือจางตัวอย่างให้ได้ที่ Dilution $10^{-1}$ และ $10^{-2}$ หลังจากนั้นนำสารละลาย BPB ในที่ Dilution $10^{-1}$ และ $10^{-2}$ มาประมาณ 1 มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่น petri film บ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส นาน 24±2 ชั่วโมง ควบคุมคุณภาพผลการทดสอบโดยใช้เชื้อ *E. coli* strain ATCC 25922 เป็นเชื้อควบคุมบวก และ *Enterococcus faecalis* strain ATCC 29212 เป็นเชื้อควบคุมลบ หลังจากนั้นทำการยืนยันว่าเป็นโคโลนีของเชื้อ *E. coli* (BAM, 2002) โดยคัดเลือกโคโลนีโคโลนีสีน้ำเงินที่มีฟองแก๊สในแผ่น petri film มา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส นาน 24±2 ชั่วโมง แล้วคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวมาเพาะลงใน Selective media ชนิด Eosin methylene blue agar (EMB) บ่มที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส และ streak ลงบนอาหาร Mac Conkey agar (MC) และ NA (**Figure 3**) บ่มที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง

(a) (b) (c)

**Figure 3** *E. coli* colony on petri film (a) colony selection (b) isolate pure strain by streaking (c)

โคโลนีของเชื้อ *E. coli* ที่ขึ้นบนอาหาร EMB จะมีลักษณะกลมสีเขียว มันเงา ที่เรียกว่า metallic sheen แต่ถ้าเป็นโคโลนีที่ขึ้นบนอาหาร MC จะมีลักษณะกลม ขอบเรียบ สีชมพู และหากเป็นโคโลนีที่ขึ้นบนอาหาร NA จะมีลักษณะกลม ขอบเรียบ โปร่งแสง (**Figure 4**)

(a) (b) (c)

**Figure 4** *E. coli* colony on EMB (a) MC (b) NA (c)

หลังจากนั้นทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้ออีกครั้งด้วยวิธีการ Biochemical test IMVIC Test (Indole Test, Methyl Red Test, Voges–Proskauer Test และ Citrate Test) โดย

I = Indole Test ให้ใช้ Loop แตะที่โคโลนีของเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยวในจานเพาะเชื้อที่เก็บเชื้อไว้แล้วนำมาจุ่มลงใน Indole หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วหยด Kovac's Reagent 5 หยด เขย่าเบาๆ สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ หากเป็นผลบวกจะมีสีแดงที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Red Ring) ผลลบจะไม่มีการเปลี่ยนสี

M = Methyl Red Test ให้ใช้ Loop แตะโคโลนีของเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยวในจานเพาะเชื้อที่เก็บเชื้อไว้แล้วนำมาลงใน MR/VP Broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หยด Methyl Red Test Reagent 5 หยด สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ หากผลบวกจะเปลี่ยนเป็นสีแดงที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Red Ring) แต่ถ้าผลลบจะไม่มีการเปลี่ยนสี

V = Voges–Proskauer Test ให้ใช้ Loop แตะโคโลนีของเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยวในจานเพาะเชื้อที่เก็บเชื้อไว้แล้วนำมาลงใน MR/VP Broth หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วหยด 5% **α**-naphthol ลงไป 6 หยด เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นหยด 40% KOH ลงไป 2 หยด เขย่าเบาๆ อีกครั้งให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ 10-15 นาที หลังจากนั้นสังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ หากผลบวกจะเปลี่ยนเป็นสีแดงที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Red Ring) แต่ถ้าผลลบจะไม่มีการเปลี่ยนสี

C = Citrate Test ให้ใช้ Loop แตะโคโลนีของเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยวในจานเพาะเชื้อที่เก็บเชื้อไว้ มา streak บนผิวอาหาร Simmon's citrate agar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วสังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับการเจริญเติบโตของเชื้อ หากผลบวกจะมีเชื้อปรากฏขึ้นและอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีฟ้า แต่ถ้าผลเป็นลบจะไม่มีแบคทีเรียปรากฏขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และไม่มีการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ

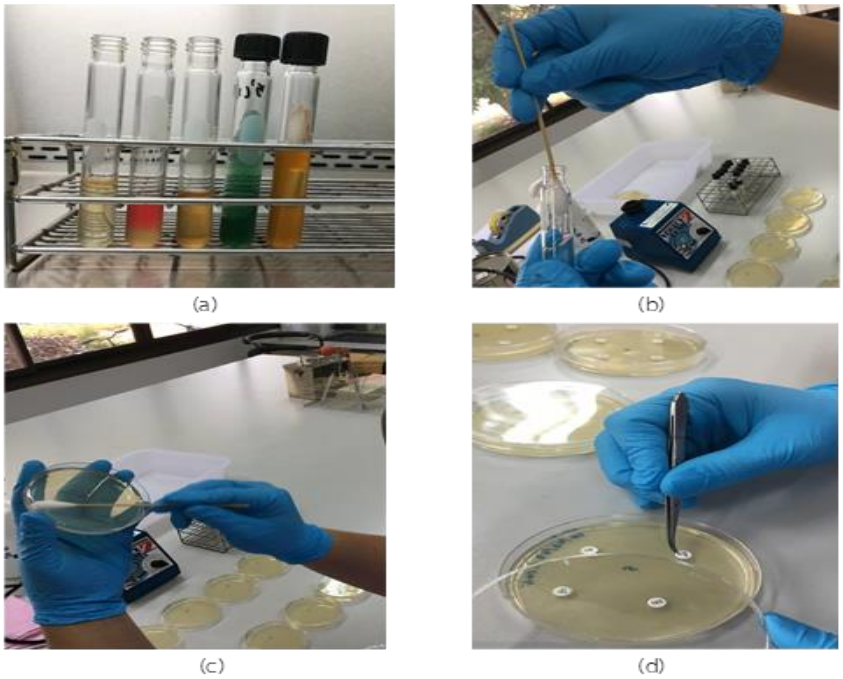


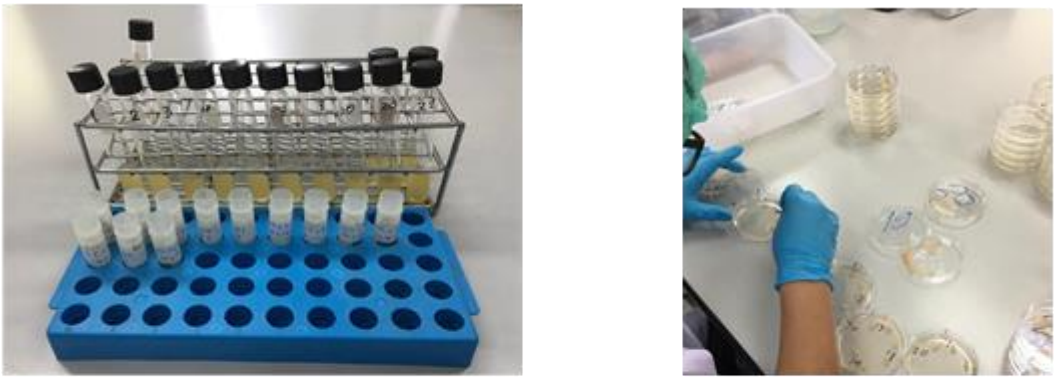

**Figure 5** biochemical test (a) BHI agar (b) Mueller Hinton agar (c) antibiotic paper disk (d)

นำตัวอย่างที่ผ่านการยืนยันว่าเป็นเชื้อ *E. coli* มาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ โดยเลือกโคโลนีเดี่ยวแล้วทำการ Subculture บนอาหาร NA หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส นาน 24±2 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาบ่ม นำตัวอย่างมาปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ประมาณ $1.5X10^8$ cfu/มิลลิลิตร โดยการถ่ายเชื้อมาละลายลงใน 0.85 % NaCl เทียบระดับความขุ่นกับ McFarland standard No. 0.5 หลังจากนั้นนำไม้พันสำลีปราศจากเชื้อจุ่มลงในหลอดอาหารเหลว Brain Heart Infusion Agar

(BHI) แล้วนำมา swab ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar ให้ทั่วจานเพาะเชื้อ วางแผ่น paper disk ยาปฏิชีวนะชนิด enrofloxacin, amoxicillin, doxycycline และ colistin แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส นาน 24±2 ชั่วโมง (**Figure 5**) เมื่อครบระยะเวลาการบ่ม ทำการวัดขนาด clear zone ตามเกณฑ์มาตรฐานของ Clinical and Laboratory Standards Institute (2008)

**การตรวจวิเคราะห์หายาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อไก่**

การตรวจวิเคราะห์หายาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อสัตว์ตามวิธีการ Commission Decision 2002/657/EC (European communities, 2002) โดยนำตัวอย่างเนื้อไก่ที่แช่แข็งไว้มาเจาะตัวอย่างเนื้อให้เป็นวงกลม ตัดด้วยกรรไกรให้ได้ความหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร จำนวน 12 ชิ้น นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ได้ไปทดสอบในเชื้อ *Bacillus subtilis* BGA strain ที่ความเข้มข้น $5X10^4$ cfu/มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Test agar pH 6.0, 7.2 และ 8.0 โดยวางชิ้นเนื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ชิ้น และวางลงบนแผ่นเซลลูโลสอีก 1 ชิ้น เพื่อทดสอบหายาปฏิชีวนะตกค้างชนิด Penicillin, Streptomycin และ Sulphadimidine นอกจากนั้นทำการทดสอบในเชื้อ *Micrococcus luteus* strain ATCC9341 เชื้อ *Bacillus cereus* strain ATCC 11778 และเชื้อ *E. coli* strain ATCC 11303 เพื่อทดสอบหายาปฏิชีวนะตกค้างชนิด Erythromycin Chlortetracycline และ Ciprofloxacin ตามลำดับ (**Figure 6**) ทำการอ่านผลการเกิด clear zone หลังจากนั้นทำการบันทึกข้อมูล



(a) (b)

**Figure 6** Detection of antibiotic residues in meat (a and b)

**การวิเคราะห์ผลทางสถิติ**

ทำการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของข้อมูล, ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ค่าสูงสุด และค่าต่ำสุด (Proc means) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2002) และรายงานผลการศึกษาวิจัยในรูปแบบสถิติเชิงพรรณนา

**ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลศึกษา**

**การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดและเชื้อ *E. coli* ที่พบในเนื้อไก่จากแหล่งจำหน่ายในเขตพื้นที่เมือง จังหวัดมหาสารคาม**

เมื่อทำการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม รวมทั้งสิ้น 25 แหล่งจำหน่าย โดยแบ่งเป็นเนื้อไก่จากตลาดสด 20 แหล่งจำหน่าย ห้างสรรพสินค้า 3 แหล่งจำหน่าย และร้านค้าปลีก 2 แหล่งจำหน่าย พบว่า เนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในตลาดสดมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดปนเปื้อนสูงที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ $0.34x10^5$ โคโลนีต่อกรัมของเนื้อสด ขณะที่เนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในร้านค้าปลีกมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดปนเปื้อนต่ำที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ $0.02x10^5$ โคโลนีต่อกรัมของเนื้อสด ส่วนเนื้อไก่จากห้างสรรพสินค้าพบการปนเปื้อนเฉลี่ยอยู่ที่ $0.32x10^5$ โคโลนีต่อกรัมของเนื้อสด จากข้อมูล

ดังกล่าวแสดงให้เห็นได้ว่าเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายตามตลาดสดมีสุขลักษณะไม่ดีทั้งในด้านสถานที่จำหน่าย ความสะอาด และสุขอนามัยของผู้จำหน่าย ที่อาจส่งผลให้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนทั้งหมดในเนื้อไก่มีค่าสูงกว่าแหล่งจำหน่ายอื่น (**Table 1**) แต่อย่างไรก็ตาม การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ยังคงมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2547) ที่ระบุว่าเนื้อสัตว์ที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์และมีความสะอาดปลอดภัยต่อผู้บริโภคต้องพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียทั้งหมดในระดับที่ไม่เกิน $5x10^5$ โคโลนีต่อกรัมของเนื้อสด

**Table 1** Mean, standard deviation, maximum and minimum of total bacteria counts (cfu/g) of chicken meat in Muang, Mahasarakham province

| | N | Mean | SD | Min | Max |
|---|---|---|---|---|---|
| Local market | 20 | $0.34x10^5$ | $0.76x10^5$ | 0 | $3.40x10^5$ |
| Supermarket | 3 | $0.32x10^5$ | $0.39x10^5$ | 0 | $0.75x10^5$ |
| Brand shop | 2 | $0.02x10^5$ | $0.03x10^5$ | 0 | $0.02x10^5$ |
| Total | 25 | $0.68x10^5$ | $1.18x10^5$ | 0 | $4.20x10^5$ |

Remarks: N = Number of samples; SD = Standard deviation; Min = Minimum; Max = Maximum

และเมื่อพิจารณาถึงการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*ในเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม พบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด คือ พบการปนเปื้อนจากแหล่งจำหน่ายที่เป็นตลาดสดสูงที่สุด โดยพบค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนอยู่ที่ 60 เปอร์เซ็นต์ จากแหล่งจำหน่ายทั้งหมดที่เป็นตลาดสด (ตรวจพบการปนเปื้อน 12 แหล่งจากจำนวน 20 แหล่งจำหน่าย) ส่วนเนื้อไก่จากแหล่งจำหน่ายที่เป็นห้างสรรพสินค้าและร้านค้าปลีกไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* (**Table 2**)

**Table 2** Ratio of *Escherichia coli* detected in chicken meat in Muang, Mahasarakham province

| | N | Ratio of detection (%) | |
|---|---|---|---|
| | | Detection | Not detection |
| Local market | 20 | 12 (60%) | 8 (40%) |
| Supermarket | 3 | - | 3 (100%) |
| Brand shop | 2 | - | 2 (100%) |
| Total | 25 | 12 (48%) | 13 (52%) |

**การตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อไก่**

เมื่อทำการทดสอบเพื่อหาปริมาณการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อไก่ที่วางจำหน่ายจากทั้ง 3 แหล่งจำหน่าย ในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม พบว่า เนื้อไก่ที่มาจากแหล่งจำหน่ายทั้ง 3 แหล่ง ได้แก่ ตลาดสด, ห้างสรรพสินค้า และร้านค้าปลีก ไม่พบการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อไก่ โดยคิดเป็น 0 เปอร์เซ็นต์ (**Table 3**) ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนดของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2547) ที่กำหนดไว้ว่าผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ปีกต้องไม่มีการตรวจพบยาปฏิชีวนะตกค้างหรือถ้ามีการตกค้างต้องพบในปริมาณที่ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้ในยาแต่ละกลุ่ม ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ขัดแย้งกับรายงานการศึกษาของวรางคณา และคณะ (2561) ที่ได้ทำการศึกษาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อไก่และตับไก่ที่จำหน่ายตามตลาดสด แล้วพบว่า เนื้อไก่ที่วางจำหน่ายในตลาดสดพบการตกค้างของยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด ได้แก่ enrofloxacin, doxycycline และ amoxycillin โดยคิดเป็น 8.06, 33.87 และ 6.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

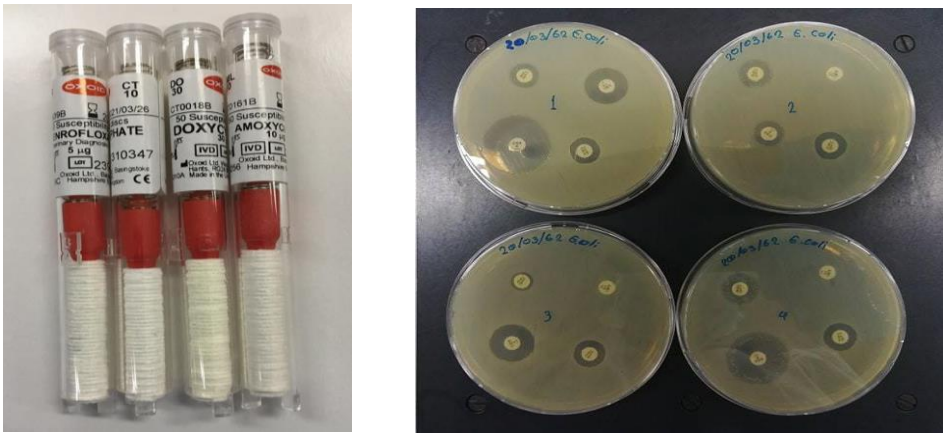
**Table 3** Ratio of antibiotic residues in chicken meat in Muang, Mahasarakham province

| Antibiotic residues | N | Ratio of detection (%) | |
|---|---|---|---|
| | | Detection | Not detection |
| Local market | 20 | 0 (0%) | 20 (100%) |
| Supermarket | 3 | 0 (0%) | 3 (100%) |
| Brand shop | 2 | 0 (0%) | 2 (100%) |
| Total | 25 | 0 | 25 (100%) |

**ภาวะการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ที่ตรวจพบในเนื้อไก่จากแหล่งจำหน่ายในเขตพื้นที่เมือง จังหวัดมหาสารคาม**

เมื่อทำการตรวจหาภาวะการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ที่ทำการคัดแยกจากเนื้อไก่ที่ได้จากแหล่งจำหน่ายที่เป็นตลาดสดทั้ง 12 แหล่ง ในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม โดยพิจารณาตามเกณฑ์การเกิด clear zone วิธีการของ CLSI (2011) พบว่า เชื้อ *E. coli* ที่คัดแยกได้มีความไวต่อยาปฏิชีวนะจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ enrofloxacin, amoxicillin, doxycycline และ colistin ในระดับที่แตกต่างกัน (**Figure 7** และ **Table 4**) โดยเชื้อ *E. coli* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด amoxicillin สูงที่สุด คิดเป็น 83.33 เปอร์เซ็นต์ จากจำนวนตัวอย่างที่คัดแยกได้ทั้งหมด ซึ่งประเมินจากการเกิดพื้นที่ clear zone ในระดับ Resistant มากที่สุด ขณะที่ยาปฏิชีวนะชนิด enrofloxacin และ doxycycline จะเกิดพื้นที่ clear zone ในระดับ Resistant ลดหลั่นรองลงมา คิดเป็น 33.33 และ 25.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของเนตรชนก และคณะ (2551) ที่ทำการศึกษาถึงผลของการยับยังเชื้อ *E. coli* ด้วยยาปฏิชีวนะ และพบว่า doxycycline และ colistin ยังคงเป็นยาที่มีประสิทธิภาพสูงในการใช้ยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้เป็นอย่างดี โดยมีความไวต่อเชื้อในระดับสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะชนิดอื่น นอกจากนี้ยังเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับรายงานของกมลสิริ และคณะ (2560) ที่ทำการศึกษาถึงความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในเนื้อไก่ และพบว่า เชื้อ *E. coli* ที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด amoxicillin สูงที่สุดและดื้อต่อยา enrofloxacin ในระดับรองลงมา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากยาปฏิชีวนะชนิด amoxicillin และ enrofloxacin เป็นยากลุ่มพื้นฐานที่นิยมใช้ในฟาร์มปศุสัตว์ ส่งผลให้เชื้อเกิดโอกาสในการสัมผัสยามากขึ้น เมื่อเชื้อสัมผัสยาจะส่งผลให้มีการพัฒนาตัวเองให้อยู่รอดและกลายสภาพเป็นเชื้อดื้อยาในที่สุด

สำหรับการตอบสนองของเชื้อ *E. coli* ที่มีต่อยาปฏิชีวนะชนิด colistin นั้น พบว่า colistin ยังสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากเกิดพื้นที่ clear zone ในระดับ Susceptible สูงที่สุด กล่าวคือ ยามีความไวต่อการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากมีการควบคุมการใช้ยาอย่างเข้มงวด ซึ่ง colistin หรือ polymyxin E เป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ในยับยั้งการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และได้รับการจัดอันดับเป็นยาขนานสุดท้ายสำหรับการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียดื้อยาในคน (วิษณุ, 2551; นิธิมา และคณะ, 2558) ในทางปศุสัตว์ใช้สำหรับใช้เพื่อเป็นยารักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิด *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. และ *Enterobacter* spp. (Falagas and Kasiakou, 2005) ในลำไส้ของสุกร เป็ด และไก่ ภายใต้การควบคุมของสัตวแพทย์ นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อการส่งออกสินค้าไปยังญี่ปุ่นและสหภาพยุโรปซึ่งเป็นกลุ่มประเทศผู้นำเข้าสินค้าปศุสัตว์ไทยรายสำคัญ ซึ่งได้กำหนดปริมาณสารตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit หรือ MRL) ที่กำหนดให้พบได้ในสินค้าปศุสัตว์ สำหรับ colistin ในกล้ามเนื้อสัตว์เพื่อการบริโภคทุกชนิดไม่เกิน 150 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (European Commission, 2009) Codex Alimentarius Commission (2018) และJapan Food Chemical Research Foundation (2011) ดังนั้นหน่วยงานที่เกี่ยวข้องจึงได้มีการออกหมายและมาตรการเพื่อควบคุมการใช้ยาขนาดดังกล่าวนี้ในฟาร์มปศุสัตว์อย่างเข้มงวด ส่งผลให้ยาดังกล่าวยังคงมีความไวต่อการยับยั้งเชื้อได้ดี



(a) (b)

**Figure 7** Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli*; drugs disk (a) clear zone (b)

**Table 4** Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from chicken meat by disk diffusion methods.

| Antibiotics | Antimicrobial susceptibility | | |
|---|---|---|---|
| | S | I | R |
| ENR | 7/12 (58.33%) | 1/12 (8.33%) | 4/12 (33.33%) |
| AML | 1/12 (8.33%) | 1/12 (8.33%) | 10/12 (83.33%) |
| DO | 4/12 (33.33%) | 5/12 (14.66%) | 3/12 (25.00%) |
| CT | 10/12 (83.33%) | 0/12 (0.00%) | 2/12 (16.67%) |

**Remarks:** Susceptible (S), Intermediate (I), Resistant (R)

ENR = enrofloxacin, AML = amoxicillin, DO = doxycycline, CT = colistin

## สรุป

เนื้อไก่ที่จำหน่ายห้างสรรพสินค้าและร้านค้าปลีกในเขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม ตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* แต่พบการปนเปื้อนในเนื้อไก่ที่จำหน่ายในในตลาดสด และเชื้อดังกล่าวนี้ยังดื้อต่อยาปฏิชีวนะชนิด amoxicillin แต่มีความไวต่อยาปฏิชีวนะชนิด colistin ดังนั้นการใช้ยาปฏิชีวนะเกินความจำเป็นจึงเป็นสาเหตุโน้มนำให้เกิดภาวะเชื้อดื้อยาที่อาจก่อให้เกิดปัญหาด้านสาธารณสุขตามมาในอนาคต โดยคาดหวังว่าผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* ดื้อยาในไก่เนื้อ และเป็นแนวทางในการลดปัญหาด้านสุขภาพสำหรับผู้บริโภคต่อไปในอนาคต

## เอกสารอ้างอิง

กมลสิริ ภูมิภมร ประภัสสร เชาวนสกุล ประสบพร ทองนุ่น และอัญญรัตน์ ทิพย์ธารา. 2560. ความไวรับต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Enterococcus* spp. และยีนดื้อยาที่พบในมูลสุกร ระหว่างฟาร์มที่มีระบบ การเลี้ยงปกติ และฟาร์มกึ่งอินทรีย์. วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 12: 103-137.

กฤติกา ดำมุณี. 2558. ลักษณะการดื้อยาปฏิชีวนะ *Escherichia coli* ที่แยกได้จากเด็กที่เป็นมะเร็งในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

ณัฐธิดา สุข, ณัฐพร รัฐบำรุง, พักตร์วิภา สุวรรณพรหม และหทัยการญจน์ เชาพูนผล. 2559. การใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์มปศุสัตว์กรณีศึกษาจังหวัดเชียงใหม่. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

นิธิมา สุ่มประดิษฐ์, ศิริตรี สุทธจิตต์, สิตานันท์ ภูผลทรัพย์, รุ่งทิพย์ ชวนชื่น และภูษิต ประคองสาย. 2558. สถานการณ์เชื้อดื้อยาต้านจุลชีพในปศุสัตว์ ใน: เอกสารการประชุม เรื่อง สถานการณ์และการจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพในประเทศไทย. กระทรวงสาธารณสุข. สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิกและดีไซน์. กรุงเทพมหานคร.

เนตรชนก จิวากานนท์ สุจิตราภรณ์ ลิมาภิรักษ์ และชุลีรัตน์ สร้อยสุวรรณ์. 2551. การสำรวจการดื้อ ยาต้านจุลชีพของเชื้อ *Escherichia coli* จากอุจจาระไก่และสุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน. วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2: 118-129.

พนาวรรณ คุณติสุข. 2554. การใช้ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic drugs) อย่างถูกต้องและเหมาะสม. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 21: 193-195

วรางคณา ไชยซาววงษ์, ชุลีพร ศักดิ์สง่าวงษ์, รวิศา วรินทร์, รัชฎาพร บริพันธุ์, จำรัส เลิศศรี และมนทิรา อินต๊ะนอน. 2561. ประสิทธิภาพของชุดทดสอบยาต้านจุลชีพตกค้างในเนื้อสัตว์โดยใช้หลักการยับยั้งเชื้อจุลชีพ. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร. 16: 27-36.

วิษณุ ธรรมลิขิตกุล. 2551. โคลิสติน: ยาต้านจุลชีพสำหรับรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียกรัมลบดื้อยา. เวชบันทึกศิริราช. 1: 152-158.

วิษณุ ธรรมลิขิตกุล. 2557. เชื้อโรคดื้อยาปฏิชีวนะ (ยาต้านจุลชีพ) และการควบคุมและป้องกันโรคติดเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ. เวชบันทึกศิริราช. 7: 26-29.

ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ. 2549. ความปลอดภัยของอาหาร (Food Safety) พิมพ์ครั้งที่ 1. Sister Print and Media Group. กรุงเทพมหานคร.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2547. ปัญหายาตกค้างในเนื้อสัตว์และแนวทางแก้ไข. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. กรุงเทพมหานคร.

สุรางค์ เดชศิริเลิศ และ อรทัย ทองมะลิ. 2555. ภาพรวมสถานการณ์เชื้อดื้อยาในประเทศไทย. สถานการณ์เชื้อดื้อยาและปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะ. พิมพ์ครั้งที่ 1. แผนงานสร้างกลไกเฝ้าระวังและพัฒนาระบบยา. กรุงเทพมหานคร.

อรรถพล ตันไสว และพรรณนิกา ฤตวิรุฬห์. 2557. อุบัติการณ์และคุณสมบัติของเชื้อเอสเชอริเชียโคไลดื้อยาหลายขนานในเนื้อสัตว์ปีก. วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 22: 40-47.

Bacteriogical Analytical Manual (BAM). 2001.Enumeration of Total Bacteria. Available: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam. Accessed Nov. 20, 2020.

Bacteriogical Analytical Manual (BAM). 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Available: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria. Accessed Nov. 20, 2020.

Berendsen, B. J. A, J. Lahr, C. Nibbeling, L. J. M.Jansen, I. E. A. Bongers, E. L. Wipfler, and M. G. M. Schans. 2018. The persistence of a broad range of antibiotics during calve, pig and broiler manure storage. Chemosphere. 204: 267-276.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2013. Antibiotics and food-producing animals. Available: www.cdc.gov/narms/faq.html. Accessed November 20, 2020.

Chaisatit, C., C. Tribuddharat, C. Pulsrikarn, and S. Dejsirilert. 2012. Molecular characterization of antibiotic-resistant bacteria in contaminated chicken meat sold at supermarkets in Bangkok, Thailand. Japanese Journal of Infectious Diseases 65: 527-534.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Performance standards for antimicrobial susceptibility disk and dilution susceptibility tests bacteria isolated from animals; Approved Standard 3rd ed. Vol. 28 No. 8. Pennsylvania, USA. p. 1-75.

Codex Alimentarius Commission. 2018. Maximum Residue Limits (MRLs) and Risk Management Recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. Available: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/en/.Accessed November 20, 2020.

Consumers Union. 2015. The overuse of antibiotics in food animals threatens public health. Available: https://advocacy.consumerreports.org/. Accessed November 20, 2020.

European Food Safety Authority (EFSA). 2012. Technical specifications on the harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in Salmonella, Campylobacter and indicator *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. bacteria transmitted through food. European Food Safety Authority Journal. 10(6): 2742-2806.

European communities. 2002. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Official Journal of the European Communities. L221: 8-36.

European Commission. 2009. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on Pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Union L. 15: 1-72.

Falagas, M. E., and S. K. Kasiakou. 2005. Colistin: the revival of Polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Reviews of Anti-infective Agents. 40: 1333-1340.

Food and Drug Administration. 2019. FDA approves new treatment for complicated urinary tract and complicated intra-abdominal infections. Available: https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-treatment-complicated-urinary-tract-and-complicated-intra-abdominal-infections. Accessed November 20, 2020.

Japan Food Chemical Research Foundation. 2011. Table of MRLs for agricultural chemicals, colistin. Maximum Residue Limits (MRLs) List of Agricultural Chemicals in Foods. Available: https://db.ffcr.or.jp /front/pesticidedetail?id=23900. Accessed November 20, 2020.

Johnson, J. R., M. A. Kuskowski, M. Menard, A. Gajewski, M. Xercavins, and J. Garau. 2006. Similarity between human and chicken *Escherichia coli* isolates in relation to ciprofloxacin resistancestatus. Journal of Infectious Diseases. 1: 71-78.

Lee, G. Y., H. I. Jang, I. G. Hwang, and M. S. Rhee. 2009. Prevalence and classification of pathogenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef poultry, and pork in Korea. International Journal of Food Microbiology 134: 196-200.

Liu, Y. Y., Y. Wang, T. R. Walsh, L. X. Yi, R. Zhang, J. Spencer, Y. Doi, G. Tian, B. Dong, and X. Huang. 2015. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *MCR-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. The Lancet infectious diseases. 16: 161-168.

Overdevest, I., I. Willemsen, M. Rijnsburger, A. Eustace, I. Xu, P. Hawkey, M. Heck, P. Savelkoul, C. Vandenbroucke-Grauls, K. van der Zwaluw, X. Huijsdens, and J. Kluytmans. 2011. Extended spectrum beta-lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, the Netherlands. Emergence Infectious Diseases. 17: 1216-1222.

Statistical Analysis System. 2002. User's Guide: Statistic. Version 9$^{ed}$. SAS. Inst. Cary, NC, U.S.A.

Seiffert, S. N., M. Hilty, V. Perreten, and E. Ndimiani. 2013. Extended-spectrum cephalosporin-resistant gram-negative organisms in livestock: An emerging problem for human health. Drug Resistance. Updates. 16: 22-45.