

Thesis Title Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing *Escherichia coli* (ESBLs-producing *E. coli*) in Dairy Farms in Beijing, China

Author Mr. Farong Xu

Degree Master of Veterinary Public Health

Thesis Advisory Committee

Prof. Dr. Uwe Rösler Advisor (FU-Berlin)

Asst. Prof. Dr. Khwanchai Kreausukon Advisor (CMU)

Abstract

For the purpose of investigating the herd prevalence of ESBL-producing *E. coli* in dairy farms in Beijing area, China, a cross sectional study was conducted to detect the frequency of ESBL-producing *E. coli* in fecal samples of the dairy farms as well as to assess the veterinary drug use on these farms. Fecal samples were collected and questionnaires were administered on 99 farms.

The questionnaire survey for investigating the herd health status and antimicrobial usage situation on the recruited 99 dairy farms in Beijing area showed that mastitis, metritis, lameness and dystocia were demonstrated the predominant disorders in adult dairy cows. Penicillin and cephalosporin were reported to be the most frequently used antimicrobials in the treatment of these diseases. Calf diarrhea was mentioned to be the most important symptom in the calve herds and gentamicin was the most frequently used antimicrobial agents to treat this. The questionnaire survey indicated that the most import indication for using antimicrobials were mastitis,

metritis and surgery. The most common duration of using antimicrobials treating cattle was 3 to 4 days. Most of the recruited farms take a paper record when they use antimicrobials to treat cattle. More than 63% of the farms separated the cattle treated with antimicrobials from the untreated animals.

The feces was enriched in Maximum Recovery Diluent (MRD) and streaked directly on MacConkey agar containing 2 mg/L cefotaxime (MAC-CTX). The MAC-CTX as well as the MDR were incubated aerobically at 37°C overnight. For negative results after direct plating the enrichment broth was streaked out on MAC-CTX. ESBL-producing *E. coli* isolates were confirmed by using API 20 E biochemical kits and disk diffusion tests to screen and confirm for ESBLs. Data analysis was performed by using R statistic software. The results showed that in 16 out of 99 farms (16.2%) ESBL-producing *E. coli* were found. Antimicrobial susceptibility tests were performed and among the 16 isolates, 100% were resistant to cefotaxime and ampicillin, 81.3% to kanamycin, 75% to streptomycin and, 87.5% were multidrug resistant.

The present study showed that feeding of milk contaminated with antimicrobials to calves rather than discarding it, frequently using of cephalosporin and treating four teats instead of treating only the diseased one represent risk factors. These results showed that the identified risk factors related to the use of antimicrobials in farms induces the detection of ESBL-producing *E. coli*. This study aims to promote awareness among concerned stakeholders on the wide distribution of ESBL-producing *E. coli* in dairy farms in the Beijing area and to recommend a strict regulation on the use of antimicrobials especially for the 3rd and 4th generation cephalosporin in dairy farms.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การสำรวจเชื้อ *Escherichia coli* ที่สร้างเอนไซม์บีตาแลคแทมเอส (ESBLs-producing *E. coli*) ชนิดฤทธิ์ขยายในฟาร์มโคนม กรุงเทพมหานคร ประเทศจีน

ผู้เขียน นายฟางหง ชู

ปริญญา ศัตวแพทย์สาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ศ.ดร.อุเว รอสเลอ

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก (FU-Berlin)

ผศ.น.สพ.ดร.ขวัญชาย เครือสุคนธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก (CMU)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการศึกษาในครั้งนี้เพื่อหาความชุกระดับฝูงของเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไล ที่สร้างเอนไซม์เบต้าแลคแทมเอสชนิดฤทธิ์ขยายในฟาร์มโคนมกรุงเทพมหานคร ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน โดยใช้การศึกษาตัดขวางในการหาความชุกของเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไล ที่สร้างเอนไซม์เบต้าแลคแทมเอสชนิดฤทธิ์ขยาย จากตัวอย่างอุจจาระโคนมในฟาร์มโคนม 99 ฟาร์ม รวมทั้งการประเมินการใช้ยารักษาสัตว์โดยใช้แบบสอบถามในฟาร์มเหล่านั้น

จากแบบสอบถามที่ใช้สำรวจสถานะสุขภาพฝูงและการใช้ยาต้านจุลชีพในฟาร์มโคนมทั้ง 99 ฟาร์ม พบว่า เติ้านมอักเสบ มดลูกอักเสบ ขาเจ็บ และ การคลอดยาก เป็นปัญหาที่สำคัญที่พบในแม่โค ยาต้านจุลชีพชนิด เพ็นนิซิลิน และ เซฟฟาโลสปอริน เป็นยาที่ใช้บ่อยในการรักษาปัญหาดังกล่าว ภาวะลูกโคตายเหลว หรือท้องเสียในลูกโคเป็นปัญหาที่สำคัญที่พบในฝูงลูกโคและยาต้านจุลชีพชนิด เจ็นด้ามัยซิน เป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคนี้อย่างกว้างขวาง จากแบบสอบถามยังชี้ให้เห็นว่าปัจจัยที่บ่งบอกถึงการใช้ยาต้านจุลชีพในฟาร์มโคนมคือ การเกิดเต้านมอักเสบ มดลูกอักเสบ และการผ่าตัดรักษาสัตว์ในฟาร์ม ระยะเวลาที่ใช้ในการรักษาโดยใช้ยาต้านจุลชีพที่พบมากที่สุดคือ 3 ถึง 4 วัน และการบันทึกการรักษาส่วนใหญ่ทำโดยการจดบันทึกลงในสมุดสำหรับโคที่ทำการรักษาโดยใช้ยาต้านจุลชีพร้อยละ 63 ของฟาร์มที่ดำเนินการศึกษาได้แยกโคดังกล่าวออกจากฝูง

ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อในตัวอย่างอุจจาระด้วย Maximum Recovery Diluent (MRD) และเขียนบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MacConkey agar ที่เติม ยาต้านจุลชีพชนิด เชื้อฟิโอฟเทกซิม ให้มีความเข้มข้นของยา 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (MAC-CTX) หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ข้ามคืน แล้วทำการอ่านผล โดยเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไล ที่สร้างเอนซัยม์เบต้าแลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยายสามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MAC-CTX และถ้าตัวอย่างที่เขียนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MAC-CTX ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต จะดำเนินการนำเอาตัวอย่างที่บ่มเพาะใน MRD เขียนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MAC-CTX อีกครั้ง ใช้ชุดทดสอบ API 20E ในการยืนยันเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไล และใช้วิธีการทดสอบ disk diffusion test เพื่อยืนยันเชื้อที่สร้างเอนซัยม์เบต้าแลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย ใช้ R Statistic software สำหรับการวิเคราะห์ทางสถิติ ผลการศึกษาพบว่า ฟาร์มโคนม 16 ฟาร์มจาก 99 ฟาร์ม (ร้อยละ 16.2) พบเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไล ที่สร้างเอนซัยม์เบต้าแลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยาย และจากผลการทดสอบความไวของเชืวดังกล่าวพบว่า เชื้อทั้งหมดคือตัวยาด้านจุลชีพชนิด เชื้อฟิโอฟเทกซิม และ แอมพิซิลินร้อยละ 81.3 คือตัวยาชนิด กานามัยซิน ร้อยละ 75 คือตัวยา สเตรปโตมัยซิน และร้อยละ 87.5 คือตัวยาอย่างน้อย 3 ชนิด

ในการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การป้อนน้ำนมที่มียาต้านจุลชีพตกค้างให้กับลูกโค การใช้ยาด้านจุลชีพชนิด เชื้อฟิโอฟเทกซิม และการรักษาเต้านมอักเสบโดยการสอดยาเข้าเต้านมทั้งสี่เต้า แทนการสอดเข้าเต้าที่เกิดการอักเสบเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดการตรวจพบเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไล ที่สร้างเอนซัยม์เบต้าแลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยายในฟาร์มโคนม และการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อส่งเสริมให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องตระหนักถึงปัญหาของเชื้อ เอสเชอริเชีย โคไล ที่สร้างเอนซัยม์เบต้าแลคทาเมสชนิดฤทธิ์ขยายที่ตรวจพบและกระจายในฟาร์มโคนมในกรุงเทพฯ และแนะนำให้มีการเข้มงวดในการใช้ยาด้านจุลชีพโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยาด้านจุลชีพชนิดเชื้อฟิโอฟเทกซิมรุ่นที่ 3 และ 4 ในฟาร์มโคนม