รายงาน
การเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา
WESR ประจำสัปดาห์
Weekly Epidemiological Surveillance Report
สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข / Bureau of Epidemiology, Department of Disease Control, Ministry of Public Health.
ISSN 0859-547X http://epid.moph.go.th/weekly/w_2550/menu_wesr50.html
ปีที่ ๓๘ ฉบับที่ ๔๖ : ๒๓ พฤศจิกายน ๒๕๕๐ Volume 38 Number 46 : November 23, 2007

สัปดาห์ที่	๑	๒	๓	๔	๕	๖	๗	๘	๙	๑๐	๑๑	๑๒	๑๓	๑๔	๑๕	๑๖	๑๗	๑๘	๑๙	๒๐	๒๑	๒๒	๒๓	๒๔	๒๕	๒๖
จำนวนจังหวัดที่ส่ง	๕๖	๖๒	๖๗	๖๔	๖๑	๖๘	๖๘	๖๗	๖๘	๖๙	๖๘	๖๘	๗๐	๗๑	๖๕	๗๑	๗๐	๗๒	๖๙	๗๐	๗๐	๖๑	๖๕	๖๘	๖๕	๖๒

สัปดาห์ที่	๒๗	๒๘	๒๙	๓๐	๓๑	๓๒	๓๓	๓๔	๓๕	๓๖	๓๗	๓๘	๓๙	๔๐	๔๑	๔๒	๔๓	๔๔	๔๕	๔๖	๔๗	๔๘	๔๙	๕๐	๕๑	๕๒
จำนวนจังหวัดที่ส่ง	๖๙	๖๑	๖๕	๖๖	๖๙	๖๗	๖๘	๗๐	๗๐	๖๘	๖๔	๖๓	๖๘	๖๘	๖๖	๖๖	๖๙	๖๘	๗๐	๖๗						

สัปดาห์ที่ ๔๖ ระหว่างวันที่ ๑๑ - ๑๗ พฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๕๐

จำนวนจังหวัดส่งข้อมูลรายงานโรคเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาเร่งด่วนทันตามกำหนดเวลา

ส่งทันเวลา ๖๗ จังหวัด ร้อยละ ๘๘.๑๕

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆

บทความพิเศษ

เชื้ออหิวาต์ที่มีชีวิตอยู่แต่ไม่เติบโต กับการควบคุมโรค

Viable but non--culturable *V.cholerae* (VBNC) and disease control

วราลักษณ์ ตังคณะกุล* Waraluk Tangkanakul* เจริญ หาญปัญจกิจ Charoen Hanpanjakit ****

*สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค *Bureau of General Communicable Diseases, Department of Disease control*

** สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย **Bureau of environmental health, Department of Disease control*

✉ **waraluk@health.moph.go.th**

การระบาดของอหิวาตกโรคทั่วโลกถึงปัจจุบัน มีทั้งสิ้น 7 ครั้ง ซึ่ง 6 ครั้งแรก เริ่มต้นที่ประเทศอินเดีย ครั้งที่ 1 ถึง 4 (ปี พ.ศ. 2360 - 2422) ไม่ทราบว่าเกิดจากเชื้ออหิวาต์ชนิดใด[1] ปี พ.ศ. 2427 Robert Koch[2] ได้สอบสวนการระบาดในประเทศอียิปต์ และอธิบายลักษณะของเชื้ออหิวาต์ที่เป็นสาเหตุ เรียกว่า Classical biotype ของ *V.cholerae* O1 ซึ่งเป็นสาเหตุของการระบาดครั้งที่ 5 และ 6 ปี พ.ศ. 2504 จนถึงปัจจุบัน[1] เป็นการระบาดครั้งที่ 7 เริ่มต้นที่ประเทศอินโดนีเซีย สาเหตุจากเชื้อ *V.cholerae* O1 El Tor biotype ปี พ.ศ. 2535 มีการระบาดของเชื้อ *V.cholerae* O139 (ซึ่งเดิมจัดอยู่ในกลุ่ม non - O11 ทำให้ความเชื่อที่ว่า *V.cholerae* O1 เท่านั้นที่ทำให้เกิดการระบาดผิดไป) จากประเทศอินเดีย และต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน อาจถือว่าเป็นการระบาดครั้งที่ 8[1] นอกจากนี้เชื้อ *V.cholerae* O139 ที่แยกได้เมื่อเกิดการระบาดดื้อต่อยาปฏิชีวนะสูง ได้แก่ Bactrim (trimetroprim-sulfamethoxazole), streptomycin, furazolidone และ vibriostatic agent O/129 [3]

สารบัญ

◆ เชื้ออหิวาต์ที่มีชีวิตอยู่แต่ไม่เติบโต กับการควบคุมโรค 813
◆ สรุปการตรวจสอบข่าวการระบาดของโรคในรอบสัปดาห์ สัปดาห์ที่ 46 ระหว่างวันที่ 11 - 17 พฤศจิกายน 2550 819
◆ สรุปสถานการณ์เฝ้าระวังไข้หวัดนกประจำสัปดาห์ สัปดาห์ที่ 46 ระหว่างวันที่ 11 – 17 พฤศจิกายน 2550 820
◆ ข้อมูลรายงานโรคเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาเร่งด่วนประจำสัปดาห์ สัปดาห์ที่ 46 ระหว่างวันที่ 11 - 17 พฤศจิกายน 2550 821

อหิวาตกโรคเป็นโรคที่มีผลกระทบต่อประเทศในหลาย ๆ ทาง หมายถึง โรคอุจจาระร่วง[1] จากเชื้อ *Vibrio cholerae* O1 หรือ O 139 ชนิดที่สร้างสารพิษ (toxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 หรือ O 139 ซึ่งอาจเรียกรวมว่า epidemic strains) ไม่บุกรุกเซลล์ (noninvasive) ก่อพยาธิสภาพได้จากสารพิษ (enterotoxin or cholera toxin) ทำให้เซลล์สร้างน้ำย่อย (crypt cell) ของลำไส้เล็ก มีระดับของ cyclic AMP (cAMP) เพิ่มมากขึ้น ทำให้มีการหลั่งคลอไรด์อิออน (Cl^-) ออกสู่ลำไส้ และขณะเดียวกันสารพิษยับยั้งการทำงานของเซลล์ที่ทำหน้าที่ดูดซึม (villus cell)[1] ทำให้มีการถ่ายอุจจาระเป็นน้ำ และจำนวนมาก ส่วนเชื้อ *Vibrio cholerae* ชนิด non O1, non O139 *Vibrio cholerae* ถือเป็น non - epidemic *Vibrio cholerae*[1] และอหิวาตกโรคไม่ได้รวมถึงการติดเชื้ออหิวาต์เทียม (*Vibrio parahaemolyticus*) ที่บุกรุกเซลล์ (invasive) ซึ่งพบลักษณะอุจจาระแบบเป็นมูกเลือดได้[4]

ในช่วงมากกว่าทศวรรษที่ผ่านมาเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่า เชื้ออหิวาต์เป็นเชื้อที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีน้ำ (indigenous microflora of the aquatic environment) และสามารถปนเปื้อนเข้าสู่ห่วงโซ่อาหาร ทำให้เกิดโรคได้แม้ในพื้นที่ที่มีระบบสุขาภิบาลที่ดี การศึกษาธรรมชาติวิทยาของเชื้ออหิวาต์ในสิ่งแวดล้อม ซึ่งเชื้ออยู่ในสภาพที่มีชีวิตอยู่แต่ไม่เติบโต กับการควบคุมโรค จึงมีความสำคัญมากในการลดผลกระทบจากอหิวาตกโรค

เชื้ออหิวาต์ *(Vibrio cholerae* O1 กับ O 139)

เชื้ออหิวาต์เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram - negative) อยู่ในสกุล (genus) *Vibrio* ลักษณะเป็นท่อนตรง หรือท่อนโค้ง (curved rods) เคลื่อนที่โดยใช้หาง (single polar flagellum) มีชีวิตอยู่ได้โดยใช้อากาศ (respiration) หรือแบบการหมัก (fermentative) มีลักษณะทางปฏิกิริยาเคมีบางอย่างคล้ายคลึงกับแบคทีเรียลำไส้ (Enteric bacteria) แต่ *Vibrio* จะให้ผลบวกในปฏิกิริยา oxidase โดยหมักน้ำตาลกลูโคส แต่ไม่หมักน้ำตาลแลคโตส และเคลื่อนที่ได้[5] สามารถเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบคาร์บอนของน้ำตาลกลูโคส และความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) ร้อยละ 2 - 3 เชื้อตายในภาวะที่แห้ง ถูกแสงแดด และภาวะที่เป็นกรดอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเมื่อความเป็นกรดด่าง (pH) น้อยกว่าหรือเท่ากับ 4[1]

การจัดเชื้ออหิวาต์เป็นกลุ่ม (serogroup) อาศัยความแตกต่างของชนิดของกลุ่มน้ำตาลที่ปลายแอนติเจน ชนิด lipopolysaccharide O ปัจจุบันแยกได้ 140 กลุ่ม ส่วนแอนติเจนชนิดที่เป็นส่วนประกอบของหาง (H antigens) ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มจึงไม่มีผลในการจัดกลุ่ม[1] การแยกว่าเป็นชนิด O1 หรือ 139 ใช้การทำปฏิกิริยาตกตะกอนกับ O1 หรือ O139 antiserum เชื้อที่ไม่ทำปฏิกริยากับ O1 หรือ O139 antiserum ถือเป็น non - O1 (NAGS หรือ non - cholera vibrios (NCVS) หรือ non - O139 หรือเป็นกลุ่ม *Vibrios* ชนิดอื่น ๆ ที่คล้ายคลึงกับ *Vibrio cholerae* เช่น *Vibrio minimus* [6] เชื้อชนิด O1 หรือ O139 จะถูกจำแนกอีกว่าสามารถสร้างสารพิษได้หรือไม่ ชนิดที่ไม่สร้างสารพิษจัดเป็น atypical *V.cholerae* ซึ่งเชื่อว่าไม่ทำให้เกิดโรค[6] สามารถจำแนกชนิดย่อย (subtypes) ลงไปอีกด้วยโดยจำแนกทางโมเลกุล (molecular) ได้หลายวิธี เช่น วิธี Multienzyme electrophoresis ซึ่งสามารถจำแนกชนิดของเอนไซม์ (enzyme types, ET) ได้ 4 ชนิด วิธี Ribotyping (RT) สามารถแยกได้ 9 ชนิด จาก 176 สายพันธุ์ของเชื้อชนิด El Tor ที่ทำการทดสอบ เป็นต้น[1]

อาการทางคลินิกของอหิวาตกโรคจากเชื้อ O139 พบว่า เชื้อกระจายไปทั่วร่างกาย (bacteremia) ได้มากกว่า O1 และพบพยาธิสภาพที่ข้อต่าง ๆ ได้มากกว่า เชื่อว่าเพราะเชื้อ O139 มีปลอกหุ้มซึ่ง O1 ไม่มี อย่างไรก็ตาม จำนวนของเชื้อ O139 ที่ทำให้มีอาการอุจจาระร่วงมีจำนวนที่ใกล้เคียงกับ O1 (10^9ตัว)[1] ความเข้าใจการตอบสนองของร่างกายต่อการติดเชื้อ O139 ยังไม่ถ่องแท้นัก แต่พบว่าไม่แตกต่างจาก O1[1] สาเหตุของการเกิดเชื้อ *V.cholerae* O139 ยังไม่มีหลักฐานที่แน่นอน เชื่อว่าเกิดจากการที่บางส่วนของ genome ที่สร้างสารพิษ (CTX element) ถูกปล่อยออกจากกลุ่ม O1 typical El Tor strains (กลุ่มนี้สร้างสารพิษได้ และเชื่อว่าในภาวะที่เหมาะสม เชื้อสามารถสร้าง genome ที่สร้างสารพิษ (CTX element) อิสระได้) และ genome ที่สร้างสารพิษได้ถ่ายทอด เข้าในกลุ่ม non O1 และแสดงออกในรูปของ polysaccharide capsule เชื่อว่าการถ่ายทอด เกิดจาก Bacteriophage ชนิดที่เรียกว่า cholera toxin phage (CTX ϕ) ดังนั้น ถ้ามีการถ่ายทอดเช่นนี้อีก ก็อาจมีการเปลี่ยนของกลุ่ม non – O1 และมีระบาดเกิดขึ้นได้ [1,7]

เชื้ออหิวาตกโรคที่มีชีวิตอยู่แต่ไม่เติบโต ในสิ่งแวดล้อม (dormant (VBNC) stage in environment)

เชื้อ *Vibrio cholerae* เป็นแบคทีเรียซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตอิสระ (free living) ในเขตแม่น้ำ และ พื้นที่น้ำกร่อย (estaurine areas)[7] โดยเชื้อสามารถอยู่รอดในน้ำได้เป็นปี ในสภาพที่สิ่งแวดล้อมเหมาะสม (ความเป็นกรดด่าง (pH) 8.0, อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเค็ม (salinity) 25 - 30 ส่วนในพัน (ppt)) ตารางที่ 1[8]

ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม เชื้อจะอยู่ในสภาพที่ยังคงมีชีวิตอยู่ คือ ตรวจพบว่ามีเมตาบอลิก (metabolic activity) และมีการใช้อากาศ (respiration) แต่ไม่สามารถจะเพาะเลี้ยงเชื้อขึ้นในลักษณะที่เป็นโคโลนีตามวิธีมาตรฐาน (colony forming units) ได้ ซึ่งถ้าตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบแบคทีเรียอยู่ มากกว่าถึง 200 ถึง 5,000 ครั้ง [9] เรียกภาวะนี้ว่า viable but nonculturable stage (VBNC หรือระยะ dormant stage) ซึ่งเป็นเพียง spore - like stage ไม่ใช่สภาพ spore ที่แท้จริง เพราะไม่มีเยื่อหุ้มสปอร์ที่แท้จริง (true spore coat) ในสภาพนี้เชื้อสามารถอยู่รอดได้ในภาวะที่อุณหภูมิ ความเค็ม และความเป็นกรดด่างที่เปลี่ยนแปลง อีกทั้งยังสามารถสร้างสารพิษ จึงสามารถทำให้เกิดอุจจาระร่วงได้ การตรวจพบเชื้อในสภาพนี้มักตรวจพบได้มากเมื่ออุณหภูมิของน้ำสูงกว่า 17 องศาเซลเซียส[7,10] เชื่อว่าเมื่อมีภาวะที่เหมาะสม เชื้อจะสามารถเปลี่ยนจากสภาพ VBNC กลับเป็นเชื้อในสภาพที่สามารถเพาะเชื้อ และเพิ่มจำนวนได้ (viable) การเปลี่ยนแปลงของเชื้อกลับมาสู่ภาวะที่เพิ่มจำนวนได้ จึงน่าจะเกี่ยวข้องกับฤดูกาล รูปที่ 1[7]

เชื้อในสภาวะ VBNC จับกับแพลงก์ตอนที่อาศัยในบริเวณน้ำกร่อย[10] การเพิ่มจำนวนของแพลงตอนจึงมีผลต่อการเกิดการระบาดของอหิวาตกโรค พบว่า การเกาะของ VBNC มีความจำเพาะต่อชนิดของแพลงก์ตอน การเกาะของเชื้ออหิวาตกโรคจะเกาะในส่วนที่มีไคติน (chitin) เนื่องจากเชื้อ *Vibrio cholerae* O1 สามารถผลิตเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสลายไคติน (chitinase) เพื่อใช้เป็นอาหาร และช่วยให้เชื้ออยู่รอดได้ในภาวะที่เป็นกรด พบว่า ความเค็ม 15 ส่วนในพัน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดด่าง 8.5 จะเพิ่มการเกาะและเพิ่มจำนวนของเชื้อบนโคพีพอด (copepod/ ครัสเตเซียนจำพวกเดียวกับ กุ้ง ปู ขนาดเล็ก เป็นผู้บริโภคลำดับแรกกินสาหร่ายเป็นอาหาร รูปที่ 2) ส่วนการสร้างสารพิษ เพิ่มขึ้นเมื่อความเค็ม 2.0 - 2.5 ส่วนในพัน และเชื้ออาศัยอยู่บนสาหร่ายสีเขียว (*Rhizoclonium fontanum*) การใช้ Fluorescent antibody method ในการตรวจหาเชื้อ VBNC ในแพลงตอน พบว่า สามารถตรวจพบเชื้อได้ร้อยละ 63 ของตัวอย่างทั้งหมด[9] แพลงก์ตอนที่ตรวจพบ VBNC มักเป็นอาหารของปลาหมึก ปู และหอยนางรม (oyster) เชื้อยังสามารถอยู่รอดได้ในปลาบางชนิด และปลาหมึก นอกจากนี้ สามารถตรวจพบเชื้ออหิวาต์ได้ใน hindgut ของ blue crab ซึ่งมี chitin เป็นองค์ประกอบดังนั้นการรับประทานอาหารทะเลดิบ ๆ จึงพบเป็นสาเหตุของการระบาด[8, 11]

การศึกษาทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยใส่เชื้อ *V.cholerae* O1 และ O139 เพาะเลี้ยงใน LB (Luria - Bertani) agar และ TCBS agar และตรวจเชื้อในสภาพของ VBNC โดยใช้ direct fluorescent - monoclonal antibody assay และ direct viable count (DFA - DVC, 0.8 - micrometer - pore - size nucleopore polycarbonate filtures) ภายใน 8 สัปดาห์ จำนวนของ viable เซลล์ลดลงมาก เหลือน้อยกว่า 10 เซลล์ ซึ่งสามารถตรวจพบได้โดยวิธีการเพาะเชื้ออยู่นาน 6 เดือน หลังจาก 6 เดือน ไม่พบเซลล์ที่สามารถตรวจพบได้จากการเพาะเชื้อ อย่างไรก็ตาม เซลล์ยังอยู่ในสภาพ VBNC ลักษณะของในสภาพนี้ จะพบว่าไม่มี granules และ inclusion bodies เยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกไม่สมบูรณ์ (the distinct three - layered integrity of the outer membrane and cell membrane was lost) แต่ยังคงเหลือโครงสร้างของเยื่อหุ้มอยู่ บริเวณนิวเคลียร์เซลล์ (electron clear area) ถูกบีบให้อยู่ตรงกลางของเซลล์ ล้อมรอบด้วยไซโตพลาสซึมที่ข้น (denser cytoplasm) ผลลัพธ์ทำให้เกิดช่องว่างใหญ่ระหว่าง cytoplastic membrane และผนังเซลล์ (cell wall) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในเชื้อแต่ละชนิด (strain) ระหว่างเข้าสู่สภาวะ VBNC ในอุณหภูมิต่างกัน

พื้นที่ที่มีอหิวาตกโรคเป็นโรคประจำถิ่น ได้แก่ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะบังคลาเทศบางส่วนของทวีปแอฟริกา และละตินอเมริกา ลักษณะการระบาดมักจะเป็นฤดู หรือพบการระบาดมากในปีที่ระดับน้ำทะเลสูง พื้นที่ที่เกิดโรคมักจะอยู่รอบ ๆ แม่น้ำมีประชากรหนาแน่น อยู่ในพื้นที่ที่น้ำท่วมถึง และมีความชื้นสูง[7, 10] ในบังคลาเทศจะพบการระบาดของอหิวาตกโรค 2 ครั้ง ในแต่ละปี การระบาดแต่ละครั้งมักเกี่ยวข้องกับภาวะน้ำกร่อย มีลักษณะเป็นตามฤดูกาล โดยพบมีผู้ป่วยมากที่สุดในเดือน กันยายน – ธันวาคม และมีการระบาดที่มีผู้ป่วยไม่มากนัก ระหว่างเดือน มีนาคม - พฤษภาคม[1, 11] แต่การตรวจพบเชื้อในสิ่งแวดล้อมมักพบเชื้อชนิด non - O1 หรือ non - O139 ยิ่งไปกว่านั้นในพื้นที่ที่ไกลจากพื้นที่ที่มีการระบาด เชื้อที่ตรวจพบแม้เป็นชนิด O1 แต่เป็นชนิดที่ไม่สร้างสารพิษ จึงดูเหมือนว่าเชื้ออหิวาต์ ในสิ่งแวดล้อมจะเปลี่ยนแปลงตัวเองเมื่อเข้าไปอยู่ในลำไส้ของมนุษย์ ซึ่งมีสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการแสดงออกของยีนที่สร้างสารพิษ การถ่ายทอดน่าจะเป็นแบบ horizontal หรืออาจกล่าวได้ว่าแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติของ toxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 หรือ O 139 อยู่ในลำไส้ของมนุษย์[7]

วิธีการค้นหาและตรวจเชื้ออหิวาตกโรค ในสิ่งแวดล้อม

V.cholerae เป็นตัวอย่างที่วิเศษในการศึกษาความสำคัญของสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเกิดโรคในมนุษย์ [12] เนื่องจากเชื้อ *V.cholerae* ไม่มีสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังอื่น ๆ เป็นพาหะ และสิ่งแวดล้อมเป็นแหล่งเก็บกักเชื้อ การศึกษาและเฝ้าระวังเชื้อในสิ่งแวดล้อมจะช่วยในการค้นพบการเปลี่ยนแปลงของตัวเชื้อ ซึ่งอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดการระบาดได้ เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของเชื้อที่ทำให้เกิดเชื้อ *V.cholerae* O139

วิธีการเก็บตัวอย่างเชื้อในสิ่งแวดล้อมทำได้โดยการใช้ Moore swab (รูปที่ 3) ซึ่งเป็นวิธีเก็บน้ำในบริเวณที่มีขยะ Moore swab ยังประโยชน์มากในการเก็บน้ำในแม่น้ำ หรือในการเก็บน้ำที่ไหล การเก็บต้องทิ้ง Moore swab ไว้ที่บริเวณต้องการเก็บ 24 - 48 ชั่วโมง หรือใช้ Spira swab ซึ่งเป็นวิธีการเก็บน้ำตรวจหาเชื้อ *V.cholerae* โดยกรองน้ำที่ต้องการตรวจอย่างน้อย 10 ลิตร ผ่านผ้า gauze ผ้า gauze จะถูกม้วนเป็นชั้น ๆ เก็บไว้ในขวดพลาสติกซึ่งเจาะรูที่ก้นขวดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ขวดจะถูกนำไปวางบริเวณที่ต้องการเก็บน้ำ ถ้าเจาะรูที่ก้นขวดขนาดใหญ่กว่า 2 เซนติเมตร น้ำจะดึงเอาผ้า gauze ออกจากขวดได้ แต่ถ้าเจาะรูที่ก้นขวดเล็กเกินไป น้ำจะผ่านได้ช้า ขนาดของผ้า gauze ที่ใช้ขนาดกว้าง 30 เซนติเมตร พับเป็นชั้นเพื่อให้น้ำซึมผ่านรูที่ก้นขวดซึมไปถึงข้างบน ความยาวของผ้า gauze ประมาณ 4 - 6 ฟุต (1.20 - 1.80 เมตร) เพื่อที่ผ้า gauze จะได้มีจำนวนชั้นที่มากพอ ควรใส่ ผ้า gauze ประมาณ 2 ใน 3 ของขวด การฆ่าเชื้อ (sterilization) ทำได้โดยห่อขวดโดยกระดาษ foil หรือกระดาษสีน้ำตาล และ autoclave หลังจากเก็บน้ำแล้วเก็บผ้า gauze ใส่ไว้ในขวดแก้ว ซึ่งบรรจุ 10 % Alkaline peptone 100 มิลลิลิตร เติมน้ำจากบริเวณดังกล่าวให้ครบ 1 ลิตร แล้ว incubate ที่อุณหภูมิ 35 ^{0}C - 37 ^{0}C เป็นเวลา 6 - 8 ชั่วโมง ก่อนเพาะเชื้อใน Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS)[12]

วิจารณ์

เชื้ออหิวาต์ ในสิ่งแวดล้อม มีผลต่อการแพร่ระบาดของอหิวาตกโรคทั้งแบบปฐมภูมิ (primary transmission) จากการกินอาหารที่มีเชื้อ การติดต่อแบบปฐมภูมิจะมากน้อยเพียงใดขึ้นกับปริมาณของเชื้อในน้ำและแพลงก์ตอนในบริเวณที่สัตว์เหล่านั้นอาศัยอยู่ ปริมาณของเชื้อในบริเวณที่สัตว์อาศัยอยู่ ขึ้นกับ อุณหภูมิ ความเค็ม (salinity) และปริมาณสารอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอน ส่วนการติดเชื้อจากคนสู่คน หรือจากอาหารที่ปนเปื้อนอุจจาระที่มีเชื้อถือเป็นการติดเชื้อแบบทุติยภูมิ (secondary transmission)[13] จากการสอบสวนและควบคุมการระบาดส่วนใหญ่ มักพบว่าการแพร่กระจายของเชื้อแบบนี้เป็นไปได้อย่างรวดเร็ว และพบว่าการค้นหาผู้ป่วยใหม่ในชุมชน และการค้นหาพาหะ โดยการตรวจอุจจาระหาเชื้อได้ผลดีในช่วงแรก ๆ เท่านั้น แต่ในกรณีที่การระบาดกระจายมากกว่า generation ที่ 2 และการระบาดของเชื้อแพร่กระจายไปทั่วในสิ่งแวดล้อม การพยายามค้นหาและทำลายเชื้อในมนุษย์มีผลน้อยต่อการควบคุมการระบาด เมื่อเทียบกับการปรับปรุงสุขาภิบาล[14]

อหิวาตกโรคเป็นโรคที่สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดการพัฒนาประเทศ การควบคุมโรคในศตวรรษนี้ บทบาทสำคัญอยู่ที่การปรับปรุงสุขาภิบาลให้ได้มาตรฐาน โดยเฉพาะการบำบัดน้ำเสีย ซึ่งคงต้องใช้ทรัพยากรจำนวนมากในการแก้ปัญหา การศึกษาเชื้ออหิวาต์ในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในสภาพ VBNC เป็นเพียงส่วนหนึ่งที่ช่วยในการศึกษาระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลของเชื้อ แต่การศึกษาการปนเปื้อนเชื้อในสภาพนี้ในห่วงโซ่อาหาร เป็นการประเมินความเสี่ยง (risk assessment) ของการเกิดโรค เพื่อช่วยในการตัดสินใจรวมทั้งวางแผนป้องกันการเกิดการระบาดของอหิวาตกโรคตามห่วงโซ่อาหาร ส่วนการทำนายการระบาดของโรค จำเป็นต้องใช้ ภาพถ่ายดาวเทียม ช่วยในการวิเคราะห์และสังเคราะห์ข้อมูลทางระบาดวิทยา ความสัมพันธ์ของเชื้อกับสิ่งแวดล้อม รวมทั้งข้อมูลอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง จึงจะสามารถทำนายการระบาดของโรค พื้นที่ที่จะมีการระบาด และเวลาที่จะมีการระบาดได้

รัฐบาลได้มีนโยบายให้ประเทศไทย เป็นครัวอาหารของโลก ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2547 รวมทั้งพยายามรณรงค์ให้อาหารที่รับประทานทั้งในประเทศ และส่งออก มีความปลอดภัย ซึ่งการที่อาหารจะมีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่ก่อโรคติดต่อทางอาหารและน้ำได้นั้น ต้องมีความพยายามลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวตลอดห่วงโซ่อาหาร การที่จะลดได้นั้นต้องมีการประเมินความเสี่ยงในการปนเปื้อนอย่างเป็นระบบ เรียกว่า MRA (microbiological risk assessment) ซึ่งเป็นกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ (science - based process) ในการดำเนินงานในประเทศกำลังพัฒนาส่วนใหญ่นั้น ถูกผลักดันโดยหน่วยงานของรัฐหลายหน่วยงาน เพื่อที่จะประเมินความรุนแรงของโรค (severity of illness) และโอกาสเกิดโรค (probability of its occurrence) ที่เป็นผลสืบเนื่อง (a consequence) จากการที่สัมผัสกับอาหารหรือ

เชื้อก่อโรคเฉพาะตัวใดตัวหนึ่ง แต่วิธีการนี้ไม่ได้บอกว่าอาหารควรถูกยอมรับหรือไม่ อย่างไร จึงมีลักษณะคล้ายคลึงกับระบาดวิทยา ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นปัญหา และให้ข้อมูลหน่วยงานที่รับผิดชอบ หรือผู้มีอำนาจใช้ในการดำเนินการแก้ไขปัญหาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายแพทย์ธวัช จายนียโยธิน นายแพทย์สุภชัย ฤกษ์งาม นายแพทย์สุภมิตร ชุณห์สุทธิวัฒน์ และคุณกรองแก้ว สุภวัฒน์ ผู้ให้คำแนะนำในการเขียนบทความชิ้นนี้ นายแพทย์ศิริศักดิ์ วรินทราวาท และคุณจุฑารัตน์ ถาวรนันท์ ผู้เอื้อเฟื้อข้อมูลและสนับสนุนการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

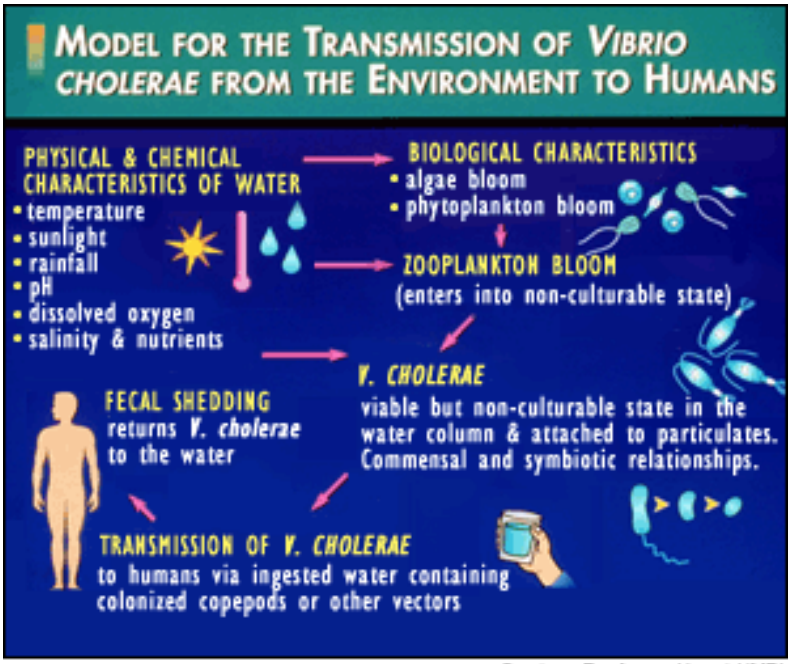
1. Tauxe R V. Cholera In : Collier L, Balows A, Sussman M, editors. Microbiology and Microbial Infections. 9th ed. New York: Oxford University press; 1998. P. 495 - 512.
2. Koch R. An address on cholera and its bacillus, Br Med J 1884; 2 : 403 - 7.
3. Authors'note Toxigenic *V.cholerae* O139 A newly recognized cause of cholera In : Laboratory Methods for the Diagnosis of *Vibrio cholerae* CDC/NCID
4. Benenson AS. Control of Communicable Diseases Manual. 16th ed. American Public Health Association. 1995 : 183 - 91.
5. http://www.bact.wisc.edu/Bact330/lecturecholera (search 11 พฤศจิกายน 2550)
6. Feachem R G., Bradley D J, Garelick H, Mara D D. Sanitation and Disease Health Aspects of Excreta and Wastewater Management.
7. Faruque S M, Albert M J, Mekalanos J J. Epidemiology, Genetics and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholerae* . Microbiol Mol Biol Rev 1998 ; 62(4): 1301 - 14.
8. Islam M S, Drasar B S, Sack R B. The Aquatic Environment as a Reservoir of *Vibrio cholerae* (a review) J Diarrhoeal Dis Res 1993 ; 11(4) : 197-206.
9. Sardessai YN. Viable but non-culturable bacteria: their impact on public health. Current science 2005 ; 89 (10) : 1650.
10. Colwell R R, Huq A. Vibrios in the environment: Viable but nonculturable *Vibrio cholerae* In : Wachsmuth K, Blake P A, Olsvik O, editors. *Vibrio cholerae* and Cholera : Molecular to global perspectives. Washington DC : American Society for Microbiology ;1994. P 117 - 33.
11. Tamplin M L, Gauzens A L, Huq A, Sack D A, Colwell R R. Attachment of *Vibrio cholerae* serogroup O1 to zooplankton and phyloplankton to Bangladesh waters. Appl Environ Microbiol 1990: 56(6) : 1977 - 80.
12. World Health Organization. Guideline for cholera control (revised 1992).
13. Colwell R R. Global Climate and Infectious Disease : The Cholera Paradigm. Science 1996 (274); 2025-31.
14. Glass R I, Claeson M, Blake P A, Waldman R J, Pierce N F. Cholera in Africa: lessons on transmission and control for Latin America. Lancet 1991 ; 338(28) : 791 - 5.

ตารางที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้ออหิวาต์ในอาหารและสิ่งแวดล้อม

Factor	**Comment**
Temperature	Refrigeration extends survival, growth occurs >10^0C
pH	Optimum, 7.0 - 8.5 : range 6 - 10
Water acidity (a_w)	> 0.93
Salt content	Best survival, 0.25 - 3 % : optimum 2 % : requires Na +
Degree of contamination	Longer survival with higher dose
Exposure to sunlight	Reduces survival
Presence of organic matter	Extends survival
Osmotic pressure	Unfavorable at high pressure
Carbohydrate content	Reduced in high sugar content
Other microflora	Suppressed by competing flora
Humidity, moisture	Survives longer in high humidity

source:*Vibrio cholerae* and Cholera molecular to global perspectives (ref. 10)

รูปที่ 1 แบบจำลองเชื้ออหิวาต์ในคน และสิ่งแวดล้อม



Courtesy Dr. Anwar Huq / UMBI

รูปที่ 2 Copepod

รูปที่ 3 Moore swab

Source : http://images.google.co.th/images?q=Moore+swab&gbv=2&ndsp=18&svnum=10&hl=th&start=72&sa=N