สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

การแพร่กระจายของเชื้อ Salmonella และ Shigella จากแมลงสาบ

Spread of Infectious Agent : Salmonella and Shigella by Cockroaches

โดย

นันทนา อรุณฤกษ์

บัญญัติ สุขศรีงาม

อรุณ บ่างตระกูล

AQ 000 2708

12 พ.ย. 2544

149365

อภินันทนาการ

จาก

รองศาสตราจารย์บัญญัติ-อาจารย์สุนีย์ สุขศรีงาม

มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี

กิติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยบูรพา 2533 ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณ คุณศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการตรวจสอบยืนยันเชื้อและทดสอบผลทางเซรุ่มวิทยา ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงอย่างเรียบร้อย

คณะผู้ทำการวิจัย

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีจุดมุ่งหมายในการวิเคราะห์ Salmonella และ Shigella ในแมลงสาบจากแหล่งต่าง ๆ 2 บริเวณ คือ ตลาดหนองมน บางแสน ชลบุรี และบริเวณตลาดทรัพย์สินฯ อำเภอเมือง ชลบุรี แหล่งละ 180 ตัวอย่าง รวม 360 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2533 - มกราคม 2534 ปรากฏว่าพบ Salmonella จากแมลงสาบในช่วงเดือนสิงหาคม - ตุลาคม 2533 จำนวน 23 ตัวอย่าง รวม 7 เซอโรวา ได้แก่ S. derby, S. amsterdam, S. weltevreden, S. virchow, S. saintpaul, S. I 1,3,19:- :- และ S. orion สำหรับการทดสอบความไวต่อยา 6 ชนิด พบว่า Salmonella ส่วนมากมีความไวต่อแอมพิซิลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน และเพนนิซิลิน ยกเว้น S. derby มีความไวต่อแอมพิซิลิน เพนนิซิลิน และกานามัยซิน แต่จะดื้อต่อคลอแรมฟินิคอล สเตรฟโตมัยซิน และเตตราซัยคลิน แต่สำหรับ Shigella ไม่พบเลย

Abstract

The purpose of this experiment was to analyse Salmonella and Shigella from two areas : Nongmon market in Bangsaen and Amphur Muang market (Talad Subsin) in Chonburi Province. 180 samples were taken from each source making 360 total samples in February 1990 to January 1991. Salmonella was found only in August - October 1990 for 23 samples. There were 7 serovars ; *Salmonella derby*, *S. amsterdam*, *S. weltevreden*, *S. virchow*, *S. saintpaul*, *S.* I 1,3,19:-:- and *S. orion*. Sensitivity test were performed with 6 drugs. It was found that Salmonella was susceptible to ampicillin, chloramphenicol, kanamycin and penicillin except *S. derby* which was susceptible to ampicillin, kanamycin and penicillin but resistance to chloramphenicol, streptomycin and tetracycline. Nevertheless we never found Shigella.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทนำ..	1
วัตถุประสงค์ของการศึกษา..........................	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..........................	3
ขอบเขตการวิจัย................................	3
การสำรวจเอกสาร...............................	3
วิธีการทดลอง..................................	10
ผลการทดลอง.................................	21
สรุปและวิจารณ์ผล..............................	25
บรรณานุกรม..................................	31
ภาคผนวก....................................	37

บทนำ

ในบรรดาสัตว์โลกทั้งหลาย แมลงจัดว่าเป็นกลุ่มที่มีจำนวนชนิดและปริมาณมากที่สุด เกี่ยวข้องกับมนุษย์อย่างมากทั้งทางด้านนำมาใช้ประโยชน์ ให้ความเพลิดเพลิน ทำเครื่องประดับ เป็นอาหาร เป็นต้น ในขณะเดียวกันแมลงหลายชนิดก็ก่อให้เกิดโทษ เช่น มีพิษเมื่อกัด ต่อย ทำลายกัดกินต้นไม้และที่สำคัญก็คือ เป็นพาหะนำโรคมาสู่มนุษย์ ในกลุ่มแมลงที่กล่าวถึงนี้ แมลงสาบจัดเป็นแมลงศัตรูของมนุษย์ ชอบอาศัยบริเวณที่ชื้นแฉะ มุมทึบของบ้าน กองขยะ ในตู้กับข้าว ตู้เสื้อผ้า เป็นต้น นอกจากนี้แมลงสาบยังมีนิสัยกินอาหารไม่เลือกชนิด และชอบอยู่บริเวณที่สกปรก ทำให้เป็นพาหะนำโรคต่าง ๆ มาสู่มนุษย์ได้ เพราะขณะที่แมลงสาบกินอาหารหรือเดินผ่านอาหารที่จะนำมาใช้บริโภค แมลงสาบจะสำรอกหรือถ่ายมูลลงบนอาหารนั้นด้วย (ธำรงค์ ผลชีวิน. 2528 : 30) เป็นผลให้อาหารมีการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกต่าง ๆ ที่อาจจะมีเชื้อที่ทำให้เกิดโรคปะปนอยู่ด้วย โรคเหล่านี้ที่สำคัญ ได้แก่ โรคอุจจาระร่วง (วันดี วราวิทย์. 2524 : 60) โรคอุจจาระร่วงจัดเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในประเทศไทย (พนิดา ชัยเนตร และมาลัย พรวิจิตร. 2524 : 215) มักพบระบาดในสถานที่ที่เกี่ยวข้องกับเด็ก เช่น โรงพยาบาล และโรงเรียน (จำรูญ ยาสมุทร และหัชชา ณ บางช้าง. 2528 : 265) รวมทั้งแหล่งชุมชนแออัดที่มีสุขาภิบาลและสิ่งแวดล้อมไม่ดี (พรพันธุ์ บุณยรัตพันธุ์. 2530 : 3) การที่โรคอุจจาระร่วงเป็นโรคที่มีการแพร่ระบาดได้ดี ทำให้มีอัตราของผู้ป่วยเป็นจำนวนมาก ดังรายงานจากกองระบาดวิทยา ใน พ.ศ. 2529 พบผู้ป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน จำนวนทั้งสิ้น 535,704 ราย และใน พ.ศ. 2530 พบผู้ป่วยโรคเดียวกัน 408,634 ราย (กองระบาดวิทยา. 2531 : 33) ข้อมูลเหล่านี้เป็นดัชนีให้ได้ว่า โรคอุจจาระร่วงเป็นโรคที่ทำให้เกิดความสูญเสีย บั่นทอน

สุขภาพอย่างมาก โรคนี้เกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น แบคทีเรีย ไวรัส หรือพยาธิที่ปะปนมากับอาหารและน้ำ แต่สาเหตุที่สำคัญเนื่องมาจากแบคทีเรีย โดยเฉพาะ Salmonella และ Shigella จากรายงานประจำปีของศูนย์ทดสอบเชื้อโรคลำไส้แห่งชาติ กองพยาธิวิทยาคลีนิค กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2530 ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงจากมนุษย์ สัตว์ อาหาร และน้ำ พบ Salmonella เป็นเชื้อที่มีการแพร่ระบาดได้ดี โดยพบในสัตว์ฟันแทะ เช่น หนู (Saxen and others. 1987 : 8420-J22) สัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยงและแมลง (Thai-Japan Cooperative Project. 1983 : 18) ตามปกติเชื้อนี้จะอยู่ตามลำไส้และมูลสัตว์ (ประเสริฐ ทองเจริญ. 2524 : 28) ดังนั้นสัตว์ต่าง ๆ ที่สามารถสัมผัสและเกี่ยวข้องกับมนุษย์จะเป็นพาหะของเชื้อมาสู่มนุษย์ได้ และด้วยเหตุที่แมลงสาบเป็นสัตว์ที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์ค่อนข้างมาก อีกทั้งยังมีการแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็วตามสถานที่ต่าง ๆ ที่มนุษย์อาศัยอยู่ โดยเฉพาะแหล่งชุมชนแออัด เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีการสุขาภิบาลไม่ดีพอและค่อนข้างสกปรก จึงเหมาะสมต่อการเจริญของแมลงสาบเป็นอย่างยิ่ง และแมลงสาบอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการแพร่ระบาดของ Salmonella และ Shigella สู่มนุษย์ในแหล่งชุมชนนั้น ๆ ได้ ดังนั้นจึงน่าที่จะได้มีการศึกษาระบาดวิทยาของ Salmonella และ Shigella ในแมลงสาบจากแหล่งชุมชนต่าง ๆ เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการควบคุมการแพร่ระบาดของโรคในแหล่งชุมชนและเพื่อให้เกิดความปลอดภัยจากการติดเชื้อนี้มากขึ้นด้วย

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

1. เพื่อศึกษาระบาดวิทยาของ Salmonella และ Shigella ในแมลงสาบ

2. เพื่อศึกษาความไวของ Salmonella และ Shigella ต่อยาบางชนิด

<u>ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ</u>

1. เพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาระบาดวิทยาของ Salmonella และ Shigella ในแมลงสาบที่อาจมีต่อมนุษย์ อาหาร และสัตว์เลี้ยงได้

2. เพื่อเป็นข้อมูลให้แก่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมและป้องกันโรคจาก Salmonella และ Shigella ที่มีการแพร่ระบาดโดยมีแมลงสาบเป็นพาหะ

<u>ขอบเขตการวิจัย</u>

ศึกษาแมลงสาบจากแหล่งต่าง ๆ 2 บริเวณ คือ ตลาดหนองมน บางแสน ชลบุรี และตลาดทรัพย์สินฯ อำเภอเมือง ชลบุรี แหล่งละ 180 ตัวอย่าง รวม 360 ตัวอย่าง

<u>การสำรวจเอกสาร</u>

จากการที่แมลงสาบมีลักษณะนิสัยชอบอยู่บริเวณที่สกปรก จึงเป็นพาหะของเชื้อชนิดต่าง ๆ ได้ดี ดังรายงานต่อไปนี้

Wedberg และคณะ (Wedberg and others. 1949 : 575) ได้ศึกษาจุลินทรีย์จากสิ่งขับถ่ายของแมลงสาบ <u>Blaberus cranifer</u> พบจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ <u>Aerobacter aerogenes</u>, <u>Alcaligenes faecalis</u>, <u>Bacillus cereus</u>, <u>B. subtilis</u>, <u>E. coli</u> var, <u>communior</u>, <u>Escherichia freundii</u>, intermediate coliforms, <u>Micrococcus pyogenes</u> var. <u>alubs</u>, <u>Micrococcus pyogenes</u> ver. <u>aureus</u>,

Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Rhizopus nigricans, Penicillium sp., Saccharomyces cerevisiae นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียรูปร่างกลมและท่อนรวมทั้ง รา ยีสต์และ actinomyces ที่ไม่สามารถจำแนกได้อีกหลายชนิด จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถผ่านระบบทางเดินอาหารออกมากับสิ่งขับถ่ายของแมลงสาบได้

Foglesong และคณะ (Foglesong and others. 1975 :336) ได้ศึกษาแบคทีเรียที่เกาะติดกับผนังของระบบทางเดินอาหารส่วนปลายของแมลงสาบ Bluberus posticus โดยใช้วิธี scanning electron microscopy และ tramsmission electron microscopy พบแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนยาวและสั้น อาศัยอยู่บริเวณผนังของทางเดินอาหารของแมลงสาบเป็นจำนวนมาก

Brugess และคณะ (Brugess and others. 1973 : 3-4) ได้ศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) ในระบบทางเดินอาหารของแมลงสาบ Blatta orientalis โดยใช้ตัวอย่างแมลงสาบ 40 ตัวอย่าง จาก 6 แหล่งต่าง ๆ กัน พบแบคทีเรียทั้งหมด จำนวน 219 เชื้อ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก 157 เชื้อ จำนวน 28 ชนิด และแบคทีเรีย แกรมลบ 62 เชื้อ จำนวน 11 ชนิด รวมทั้งแบคทีเรียชนิดใหม่ คือ Escherichia blattae เชื้อส่วนใหญ่ที่แยกได้จากการทดลองนี้ไม่สามารถทำให้แมลงสาบเกิดอันตรายได้ แต่บางชนิดทำให้เกิดโรคต่อมนุษย์ได้ เชื้อจะผ่านระบบทางเดินอาหารของแมลงสาบมาสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกด้วยการปะปนกับสิ่งขับถ่ายต่าง ๆ จากการศึกษาระบบทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วนของแมลงสาบ คือ ทางเดินอาหารส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลายพบว่าจำนวนชนิดของแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จากทางเดินอาหารส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย ตามลำดับ โดยพบแบคทีเรียในทางเดินอาหารส่วนต้น 2 ชนิด ในทางเดินอาหารส่วนกลาง 3 ชนิด และในทางเดินอาหารส่วนปลาย 5 ชนิด นอกจากนี้พบว่าค่า pH ภายในระบบทางเดิน

อาหารทั้ง 3 ส่วนนี้จะเพิ่มความเป็นกรดขึ้นเรื่อย ๆ เช่นกัน ค่าความเป็นกรดจะมีผลในการทำลายแบคทีเรียได้ ส่วนแบคทีเรียที่ตรวจพบจากทางเดินอาหารได้แก่ Salmonella sp., Klebsiella edwardsii, E. coli, Proteus vulgaris, Acinetobacter anitratus, Streptococcus cremoris, Pseudomonas aeruginosa และ Staphylococcus sp. นอกจากนี้มีเชื้อที่ไม่ได้จำแนกอีกเล็กน้อย

Joseph และคณะ (Joseph and others. 1978 : 1682-E10) ศึกษา Salmonella จากสัตว์ 15 ชนิด (สัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า) ไข่ หอย แมลงวัน และอาหารสัตว์จากบริเวณคาบสมุทรมาเลเซีย (Peninsular Malaysia) พบ Salmonella 860 ตัวอย่าง รวม 3 กลุ่ม จำนวน 31 เซอโรไทป์ เซอโรไทป์ที่พบมากที่สุดได้แก่ S. pullorum, S. choleraesuis และ S. infantis ส่วน S. typhimurium เป็นเชื้อที่มีการแพร่กระจายสูงมากในหมู่สัตว์ทั้งหลาย

Cruden และคณะ (Cruden and others. 1979 : 687) ได้วิเคราะห์ชนิดแบคทีเรียบริเวณแถบสีดำของทางเดินอาหารส่วนปลายของแมลงสาบ Eublaberus posticus โดยที่บริเวณนี้จะเป็นแหล่งสะสมของโลหะซัลไฟด์จำนวนมาก โดยพบว่าบริเวณแถบสีดำจะมีแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารทั่ว ๆ ไป และยังพบแบคทีเรียอีก 2 ชนิด ซึ่งปกติแล้วไม่ใช่เชื้อในระบบทางเดินอาหารของแมลงสาบ ได้แก่ แบคทีเรียรูปท่อน ขนาดใหญ่ และท่อนโค้งเกาะติดอยู่บริเวณแถบสีดำนั้นด้วย

ศิริพร พิทักษ์เกียรติ และอำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์ (ศิริพร พิทักษ์เกียรติ และอำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์. 2518 : 1506) ได้ศึกษา Salmonella ในแมลงสาบอเมริกัน และชนิดอื่น ๆ จากบ้านเรือนของประชาชนในเขตกรุงเทพมหานคร ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2517 ถึงมีนาคม 2518 จะไม่พบ Salmonella เลย พบแต่ Coliform bacteria, Proteus และ Bacillus

กองกีฏวิทยาทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (Medical Entomology Division. 1975 : 8) ได้วิเคราะห์หา Salmonella ในแมลงสาบจากแหล่งต่าง ๆ 3 แหล่ง ได้แก่ สุทธิสาร พรานนก และมักกะสัน ระหว่างเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม พ.ศ. 2518 พบ Salmonella 4 เซอโรไทป์ ได้แก่ S. lexington, S. S. IV 43 : $Z_4 Z_{23}$:-, S. weltevreden และ S. derby นอกจากนี้ยังพบ Vibrio parahaemolyticus และปรสิตอื่น ๆ อีก ได้แก่ Taenia sp. ova., Gunthostoma spinigerum ova. และ Enterobues vermicularis ova.

Bracke และคณะ (Bracke and others. 1979 : 945) ศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียในลำไส้ บริเวณทางเดินอาหารส่วนปลาย โดยเฉพาะที่ปลายลำไส้ใหญ่ของแมลงสาบอเมริกัน (Periplaneta americana) พบว่ามี Clostridium sp. และ Peptostreptococcus productus นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียรูปเกลียวที่บริเวณปลายลำไส้ใหญ่ด้วย

Panhotra และคณะ (Panhotra and others. 1981 : 6076-213) ได้ศึกษา Salmonella จากอาหารของโรงพยาบาลและสัตว์ที่กินพืชได้แก่ หนูและแมลงสาบแหล่งเดียวกัน โดยใช้ตัวอย่างอาหารทั้งหมด 300 ตัวอย่าง (เนื้อ นม ไก่ เนยแข็ง) และสัตว์พวกหนูและแมลงสาบ 122 ตัวอย่าง พบ Salmonella เหล่านี้มีทั้งหมด 8 เซอโรไทป์ ได้แก่ S. newport, S. boweilly, S. enteritidis, S. pullorum, S. weltevreden, S. cubana, S. senftenberg และ S. anatum สำหรับการทดสอบความไวของยาต่าง ๆ ส่วนมากดื้อต่อซัลฟาไดอะซีนและเตตราไซคลีน มีเพียงชนิดเดียวที่ดื้อต่อแอมพิซิลิน

Bitter ได้ศึกษาเกี่ยวกับ Salmonella ในแมลงสาบอเมริกัน (P. americana) โดยเก็บตัวอย่างแมลงสาบ 94 ตัวอย่าง จากรัฐเท็กซัส สหรัฐอเมริกา พบ Salmonella 3 เซอโรไทป์ คือ S. schottmuelleri,

S. orenienburg และ S. brediney (Wedberg and others. 1949 : 573-574)

Gazivoda และคณะ (Gazivoda and others. 1986 : 2400-217) ได้ทดลองใช้ scanning electron microscopy (SEM) เพื่อศึกษาแบคทีเรียบริเวณผิวด้านนอกของทาร์ไซ (tarsi) ของแมลงสาบเยอรมัน (Blattella germanica) โดยเก็บตัวอย่างแมลงสาบจากแหล่งต่าง ๆ พบว่ามีแบคทีเรียอยู่เป็นจำนวนมากที่ผิวของทาร์ไซ การทดลองนี้สนับสนุนสมมติฐานที่ว่าแมลงสาบเป็นพาหะที่สำคัญในการแพร่กระจายของแบคทีเรียสู่มนุษย์ได้

Olsen พบว่า แมลงสาบเป็นแหล่งสะสมของ Salmonella sp. ได้เป็นเวลาหลายวัน เมื่อแมลงสาบขับถ่ายของเสียออกมาปนเปื้อนในอาหาร Salmonella จะสามารถเพิ่มจำนวนในอาหารได้ โดยให้แมลงสาบกินเชื้อ S. typhimurium จำนวนเพียงเล็กน้อยเข้าไป พบว่าเชื้อมีชีวิตอยู่ได้ในระบบทางเดินอาหารและจะตรวจพบเชื้อจากสิ่งขับถ่ายหลังจากได้รับเชื้อไปแล้ว 12 วัน (Wedberg and others. 1949 : 576-577)

Hawley ได้รายงานผลการศึกษาการดำรงชีวิตของแบคทีเรียในแมลงสาบว่า เมื่อให้แมลงสาบรับเชื้อ Serratia marcescens เข้าไปจำนวนเพียงเล็กน้อยจะแบ่งตัวและดำรงชีวิตในระบบทางเดินอาหารของแมลงสาบได้ หลังจากแมลงสาบได้รับเชื้อเข้าไป 143 วัน แมลงสาบจะตาย และบริเวณลำตัวส่วนบนของแมลงสาบจะปรากฏสีแดงเข้มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด (Wedberg and others. 1949 : 576)

Krieg และคณะ (Krieg and others. 1959 : 120-123) ได้ศึกษาการเป็นพาหะของเชื้อ S. typhosa ในแมลงสาบ Blaberus craniifer และ B. discoidalis โดยทดลองให้แมลงสาบกินอาหารที่มีเชื้อผสมอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ S. typhosa และ S. enteritidis จะพบ S. enteritidis ปะปนออกมากับมูลของแมลงสาบเป็นเวลานานถึง 17 วัน ในขณะที่จะพบ

S. typhosa ปะปนมากับมูลเพียงครั้งเดียวคือวันแรกหลังจากที่ได้รับเชื้อเข้าไปแล้ว การที่พบ S. enteritidis ในมูลแมลงสาบเป็นเวลาหลายวันติดต่อกัน และคาดว่าเชื้อสามารถต้านทานกรดที่มี pH ประมาณ 4.5 จากถุงพักอาหาร (Crop) ของแมลงสาบได้ดี จึงเจริญอยู่ภายในระบบทางเดินอาหาร ส่วน S. typhosa นั้นพบว่าจะถูกทำลายได้ง่ายด้วยกรดนี้

Bruhl และคณะ (Bruhl and others. 1973 : 2C7186) ได้ศึกษาการเป็นพาหะของโรคในแมลงสาบ โดยเก็บตัวอย่างแมลงสาบเยอรมัน (B. germanica) จากบริเวณโรงอาหาร 8 แห่งของ Koblemz ในช่วงระหว่างเดือน กันยายน-ธันวาคม ค.ศ. 1972 พบว่าแมลงสาบเยอรมันเป็นพาหะที่เหมาะสมอย่างยิ่งในการทำให้เกิดโรคจากเชื้อราและสารพิษจากเชื้อรา ซึ่งมักทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารพิษของเชื้อราในอาหารต่าง ๆ ได้ดี

Lee และคณะ (Lee and others. 1984 : 422-423) ได้ศึกษาเกี่ยวกับความอ่อนแอของแมลงสาบเยอรมัน (B. germanica) และแมลงสาบอเมริกัน (P. americana) ต่อ Bacillus thuringiensis var. israelesis (Bti) พบว่าเมื่อแมลงสาบได้รับเชื้อนี้เข้าไปจะสามารถถ่ายเชื้อออกมากับสิ่งขับถ่ายได้และมูลของแมลงสาบจะมีสีเดียวกับสีของแบคทีเรียชนิดนี้ด้วย

Klowden และคณะ (Klowden and others. 1977 : 339) ศึกษาผลของยาปฏิชีวนะต่อการเจริญของ Salmonella typhimurium ในแมลงสาบอเมริกัน โดยให้แมลงสาบกินอาหารที่ผสมด้วยยาปฏิชีวนะเป็นเวลา 10 วันแล้วได้ให้กินอาหารที่ไม่ผสมยาปฏิชีวนะจะพบเชื้อปะปนออกมากับสิ่งขับถ่ายน้อยกว่าครั้งแรกเป็นเวลามากกว่า 20 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อนี้สามารถอยู่ในซากของแมลงสาบได้อย่างน้อย 60 หรือ 140 วันหลังจากเกิดการติดเชื้อในแมลงสาบตัวผู้

ทักษิณา และคณะ (ทักษิณา และคณะ. 2531 : 292) ศึกษาระบาดวิทยาของ Salmonella 4 บริเวณคือ บริเวณชุมชนแออัดตรอกจันทร์ เขตยานนาวา บริเวณชุมชนแออัดวัดลาดปลาเค้า เขตบางเขน บริเวณชุมชนแออัดดินแดง เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ และบริเวณหมู่บ้านแจ้งวัฒนะเวศน์ อำเภอบางคลาดนนทบุรี แหล่งละ 150 ตัวอย่าง รวม 600 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนมิถุนายน-พฤศจิกายน 2530 พบ Salmonella จากแมลงสาบเฉพาะเดือนกันยายนเท่านั้น จำนวน 25 ตัวอย่าง (ร้อยละ 4.17) รวม 5 เซอโรไทป์ ได้แก่ S. lexington, S. weltevreden, S. brudei, S. agona และ S. IV 43 : Z4, Z23 :- สำหรับการทดสอบความไวต่อยา 6 ชนิด พบว่า Salmonella ส่วนมากมีความไวต่อแอมพิซิลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน และโคไทรมอกซาโซล ยกเว้น S. agona มีความไวต่อแอมพิซิลลิน โคไทรมอกซาโซล สเตรฟโตมัยซิน และเตตระไซคลิน

นอกจากนี้แบคทีเรียอีกสกุลหนึ่งที่เป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ มากมาย ซึ่งมีแมลงสาบเป็นพาหะ คือแบคทีเรียสกุล Shigella โดยพบ S. alkalescens ซึ่งวิเคราะห์แยกเชื้อได้จากแมลงสาบในอเมริกา และพบว่าเป็นสาเหตุของการเกิดโรคบิด อีกทั้งยังพบ S. paradysenteriae ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงรุนแรงในเด็กที่ประเทศรัสเซีย โดยพบเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จากแมลงสาบที่อาศัยอยู่ในโรงพยาบาล (Zmeev. 1940 : 35) สำหรับในประเทศไทยนั้น จากการสำรวจเชื้อในแมลงสาบจากบางปะอิน พบทั้ง Shigella และ Salmonella typhi (Sakdisiwasdi. 1982 : 380-4)

จากรายงานที่กล่าวมาแล้วสรุปได้ว่าแมลงสาบเป็นแมลงที่มีเชื้อต่าง ๆ อยู่เป็นจำนวนมาก จึงอาจจะเป็นพาหะนำเชื้อเหล่านั้นมาสู่มนุษย์และสัตว์อื่น ๆ ได้

วิธีการทดลอง

1. ตัวอย่าง

แมลงสาบที่ใช้ทดลองนำมาจากแหล่งต่าง ๆ 2 บริเวณ คือ ตลาดหนองมน บางแสน ชลบุรี และตลาดทรัพย์สินฯ อำเภอเมือง ชลบุรี แหล่งละ 180 ตัวอย่าง รวม 360 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2533 - เดือนมกราคม 2534

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับตรวจหา Salmonella และ Shigella

2.1.1 Selenite broth ใช้เป็น enrichment media

2.1.2 Xylose lysin Deoxycholate (XLD) agar

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

2.2.1 Kligler's iron agar (KIA agar)

2.2.2 Semisolid indole motility test medium (SIM)

2.2.3 Lysine iron agar (LIA)

2.2.4 Simmon citrate agar

2.2.5 Nutrient agar (NA)

2.2.6 น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ Dextrose, Manitol, Dulcitol, Sucrose, Sarlicin และ Malonate

2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับทดสอบคุณสมบัตทางเซรุ่มวิทยา

2.3.1 Endo agar

2.3.2 Swarm agar

2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ

2.4.1 Tryptic soy broth

2.4.2 Mueller hinton agar

3. <u>สารเคมีและชีววัตถุ</u>

3.1 สารเคมี Kovac's reagent

3.2 ชีววัตถุ

3.2.1 Concentrated serum

3.2.2 O-antiserum ชนิดต่าง ๆ

3.2.3 H-antiserum ชนิดต่าง ๆ

4. <u>ยาปฏิชีวนะ</u>

ยาปฏิชีวนะสำหรับทดสอบเป็นแบบ sensitivity disc มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.35 มิลลิเมตร จำนวน 6 ชนิด ได้แก่

แอมพิซิลิน	เข้มข้น	10	ไมโครกรัม
เตตราไซคลิน	เข้มข้น	30	ไมโครกรัม
คลอแรมฟินิคอล	เข้มข้น	30	ไมโครกรัม
กานามัยซิน	เข้มข้น	30	ไมโครกรัม
สเตรพโตไมซิน	เข้มข้น	10	ไมโครกรัม
เพนนิซิลิน	เข้มข้น	10	ไมโครกรัม

<u>วิธีการศึกษา</u>

1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์

นำแมลงสาบที่จับมาได้ใส่ลงใน Selenite broth บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจาก Selenite

broth ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar โดยขีดให้ได้โคโลนีเดี่ยว ซึ่งถือว่าเป็นเชื้อบริสุทธิ์ เลือกโคโลนีที่มีลักษณะกลม ผิวเรียบ สีแดง จากอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar มาลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ KIA agar และ nutrient Agar บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง นำไปทดสอบสมบัติทางชีวเคมีต่อไป

2. การทดสอบสมบัติของ Salmonella และ Shigella

2.1 สมบัติทางชีวเคมี

ถ่ายเชื้อจาก KIA agar ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบสมบัติทางชีวเคมี บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่งโมง แล้วตรวจผลที่เกิดขึ้นดังนี้

2.1.1 การเจริญใน KIA agar นำเชื้อบริสุทธิ์มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ KIA agar โดยแทงเชื้อลงในส่วนก้นหลอด (butt) และขีดเชื้อบนส่วนลาดเอียง (Slant) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจการเกิดกรด เบส กาซ และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ส่วนที่เป็นกรดจะมีสีเหลือง และส่วนที่เป็นเบสจะมีสีแดง การเกิดกาซจะเห็นฟองอากาศแทรกอยู่ในเนื้อของอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์นั้นบริเวณก้นหลอดจะมีสีดำ เนื่องจาก KIA agar ประกอบด้วยน้ำตาล 2 ชนิด ได้แก่ เด็กซ์โตรสและแลคโตส และซูโครส มี phenol red เป็นอินดิเคเตอร์ ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีอยู่ 2 แบบ คือ แบบแรกถ้าเชื้อไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลเด็กซ์โตรสหรือแลคโตส ให้กรดออกมาได้ อาหารเลี้ยงเชื้อจึงไม่เปลี่ยนสี แบบที่สอง ถ้าเชื้อสามารถย่อยสลายน้ำตาลเด็กซ์โตรสออกมาได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสได้ อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งส่วนก้นหลอดและส่วนลาดเอียง แต่ต่อมาเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับกลายเป็นเบสของ alkaline amines ที่เกิดจากปฏิกิริยา

decarboxylation ของเปบไทด์ (จากโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อ) ที่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ส่วนลาดเอียงของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดง (Koneman and others. 1983 : 76-77)

2.1.2 การสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ ตรวจผลจากอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI agar ดังนี้ ถ้าเชื้อสามารถสร้างกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์จะทำให้ส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อบริเวณก้นหลอดจะมีสีดำให้ผลบวก ถ้าไม่เกิดสีดำให้ผลลบ เนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อมี sodium thiosulfate เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่งเป็นกาซที่ไม่มีสี นอกจากนี้ยังมีเกลือของเหล็กคือ ferrous sulfate ($FeSO_4$) และ ferric ammonium citrate อีกด้วย ซึ่งเกลือของเหล็กชนิดหนึ่งทำปฏิกิริยากับกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์แล้วจะได้ตะกอนสีดำไม่ละลายน้ำของ ferrous sulfide (FeS) ในส่วนก้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Koneman and others. 1983 : 78-79) สำหรับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ดังสมการต่อไปนี้ (Bradshaw. 1963 : 92)

$$\underset{\text{ferrous sulfate}}{FeSO_4} + \underset{\text{hydrogen sulfide}}{H_2S} \longrightarrow \underset{\text{ferrous sulfide}}{FeS\,(s)} + H_2SO_4$$

2.1.3 การใช้ citrate นำเชื้อบริสุทธิ์มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Simmon citrate agar โดยขีดเชื้อบนส่วนลาดเอียง (slant) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจผลจากการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเขียวคงเดิมให้ผลเป็นลบ ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงินเข้มผลเป็นบวก เนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อมี sodium citrate เป็นแหล่งคาร์บอน และมี ammonium phosphate เป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อที่ใช้ citrate ได้สามารถ

ใช้ไนโตรเจนจากเกลือแอมโมเนียได้ ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ของแอมโมเนีย (NH_4^+) ซึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดเบส (alkalinization) ด้วยการเปลี่ยนแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH) จะทำให้สีของ bromthymol bule ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์ เปลี่ยนจากสีเขียว (pH 6.9) เป็นสีน้ำเงินเข้ม (pH > 7.6) (Blazevic and Edirer. 1975 : 17 ; Koneman and others. 1983 : 82, 118)

2.1.4 การสร้างเอ็นไซน์ lysine decarboxylase

นำเชื้อบริสุทธิ์มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM medium โดยแทงเชื้อลงถึงก้นหลอด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจผลจากการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลืองให้ผลลบ ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อยังคงเป็นสีม่วงตามเดิมให้ผลบวก เนื่องจากเชื้อสามารถย่อยสลายน้ำตาลเด็กซ์โตรสที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้และให้กรดเกิดขึ้น กรดจะทำปฏิกิริยากับ bromcresol purple ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์จากสีม่วง (pH 6.8) เปลี่ยนเป็นสีเหลือง (pH 5.2) ในสภาพที่เป็นกรดนี้เหมาะสมกับการเกิดปฏิกิริยา decarboxylation เป็นอย่างมาก ดังนั้นเชื้อที่สร้างเอ็นไซน์ lysine decarboxylase ได้ จึงสร้างเอ็นไซน์นี้ขึ้นมาย่อยสลาย lysine ที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้ผลิตภัณฑ์เป็น cadaverine ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเบสมากกว่า lysine ซึ่งทำให้ bromcresol purple เปลี่ยนเป็นสีม่วงตามเดิม ส่วนเชื้อที่ไม่สามารถสร้างเอ็นไซน์ lysine decarboxylase ปฏิกิริยาจะหยุดอยู่เพียงการใช้น้ำตาลเด็กซ์โตรสและได้กรดเท่านั้น ทำให้สีของอินดิเคเตอร์ที่ปรากฏเป็นสีเหลือง (Difco Laboratories. 1984 : 540) สำหรับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังสมการต่อไปนี้ (Smith. 1981 : 88)

$$\text{Lysine} \xrightarrow{\text{lysine decarboxylase}} \text{Cadaverine} + CO_2$$

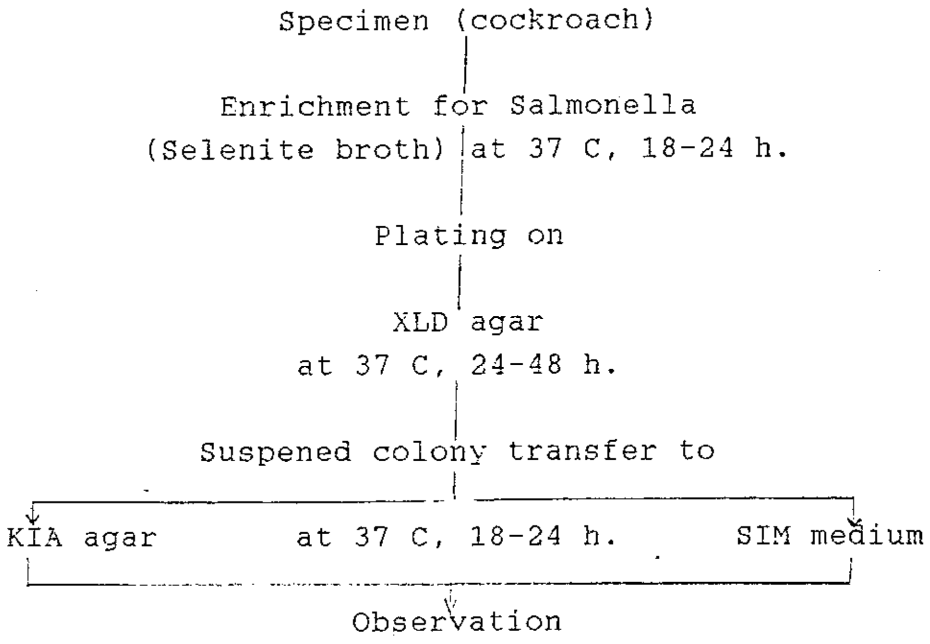
2.1.5 การสร้าง indole ตรวจผลได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ SIM medium โดยหยด Kovac's reagent ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3-4 หยด เขย่าหลอดและตั้งทิ้งไว้ 1-2 นาที ถ้าไม่มีการเปลี่ยนสีของ Kovac's reagent ให้ผลลบ ถ้าเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ Kovac's reagent ไปเป็นสีแดงให้ผลบวก เนื่องจากเชื้อสามารถย่อยสลายกรดอะมิโน tryptophan ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเอ็นไซน์ tryptophanase ได้ผลิตภัณฑ์เป็น indole, pyruvic acid และ ammomia (NH_3) ซึ่ง indole ที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับ p-dimethylaminobenzaldehyde ที่มีอยู่ใน Kovac's reagent ได้สีแดงของ rosindole dye เกิดขึ้น (Koneman and others. 1983 : 80)

2.1.6 การใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ และการสร้างกาซ นำเชื้อบริสุทธิ์มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เด็กซ์โตรส แมนนิทอล ดูลซิทอล แลคโตส ซาร์ลิซิน และมาโลเนท บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ถ้าเชื้อย่อยสลายน้ำตาลชนิดนั้น ๆ ได้อาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีเหลืองให้ผลบวก ถ้าสีของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เปลี่ยนแปลงให้ผลลบ เนื่องจาก Salmonella มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำตาลได้เพียงบางชนิดเท่านั้น และน้ำตาลแต่ละชนิดจะเป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อได้แตกต่างกัน เมื่อนำมาทดสอบจะใช้ bromthymol blue เป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายน้ำตาลจะมีสภาพเป็นเบสและมีสีน้ำเงิน เมื่อเชื้อสามารถย่อยสลายน้ำตาลชนิดนั้น ๆ ได้อาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสภาพเป็นกรด ทำให้สีของอินดิเคเตอร์เปลี่ยนเป็นสีเหลือง ส่วนที่ให้ผลลบนั้นเนื่องจาก เชื้อไม่สามารถใช้น้ำตาลชนิดนั้น ๆ ได้ อาหารเลี้ยงเชื้อจึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี เช่น Salmonella ส่วนมากไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสและมาโลเนทได้ อาหารเลี้ยงเชื้อจึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี แต่สามารถย่อยสลายน้ำตาลแมนนิทอลและซาร์ลิซินได้ ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลือง สำหรับน้ำตาลดูลซิทอลนั้น ความสามารถในการย่อยสลายน้ำตาลชนิดนี้จะแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อ ส่วนการใช้น้ำตาลเด็กซ์โตรส

และการสร้างกาซนั้น Salmonella ทุกสายพันธุ์ใช้น้ำตาลเด็กซ์โตรสและสร้างกาซได้ ยกเว้น <u>S. typhi</u> ซึ่งไม่สามารถสร้างกาซจากน้ำตาลเด็กซ์โตรส การเกิดกาซจะปรากฏให้เห็นใน durham tube (Kauffmann. 1966 : 67)

2.2 การทดสอบการเคลื่อนที่

นำเชื้อบริสุทธิ์ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ SIM โดยแทงเชื้อลงไปถึงก้นหลอด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ถ้าเชื้อมีการเคลื่อนที่จะเกิดการกระจายของเชื้อรอบ ๆ รอยแทงในอาหารเลี้ยงเชื้อในผลบวก ถ้าไม่เกิดการกระจายของเชื้อรอบ ๆ รอยแทงในอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงว่าเชื้อไม่เคลื่อนที่



รูปที่ 1 ลำดับการทดลองแยกเชื้อบริสุทธิ์จากแมลงสาบ

สำหรับการจำแนก Salmonella จากอาหารเลี้ยงเชื้อ KIA agar ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การจำแนก enteric pathogens และแบคทีเรียอื่น ๆ โดยการทดสอบทางชีวเคมี

Bacteria	Urea	Kigler's iron agar Slant	Butt	H_2S	Gas	Motility	Indole	Oxidase
E. coli	-	A	A	-	+	(+)	d	-
E. coli - Alk. dispar	-	K	A	-	-	-	+	-
Klebsiella	+	A	A	-	+	-	d	-
Enterobacter	-	A	A	-	+	+	-	-
Citrobacter	d^w	d	A	d	+	+	-	-
Salmonella	-	K	A	d	d	+	-	-
S. typhi	-	K	A	$+^w$	-	+	-	-
S. paratyphi A	-	K	A	-	+	+	-	-
S. arizonae	-	d	A	+	+	+	-	-
Shigella dysenteriae	-	K	A	-	-	-	d	-
S. flexneri	-	K	A	-	-**	-	d	-
S. boydii	-	K	A	-	-***	-	d	-
S. sonnei	-	K	A	-	-	-	-	-
Proteus vulgaris	+	K	A	+	d	+	+	-
P. mirabilis	+	K	A	+	+	+	-	-
P. morganii	+	K	A	-	d	d	-	-
P. rettgeri	+	K	A	-	d	+	+	-
Providencia alcalifaciens	-	K	A	-	d	+	+	-
P. stuartii	-	K	A	-	-	+	+	-
Yersinia enterocolitica	+	K	A	-	-	V	d	-
Aeromonas	-	K	A	-	+	+	+	+
Plesiomonas	-	K	A	-	-	+	+	+
Vibrio	-	K	A	-	-	+	+	+
Alkaligenes	-	K	N/K	-	-	+	-	+
Edwardsiellae	-	K	A	+	+	+	+	-
Hafnia	-	d	A	-	+	+	-	-

*Symbols : K = alkaline (red) reaction, A = acid (yellow) reaction, N = neutral reaction, + = positive reaction, - = negative reaction, w = weak or delayed reaction, d = different biochemical types, and V = variable reasction (*Y. enterocolitica* is motile at 25 C but non-motile at 37 C)

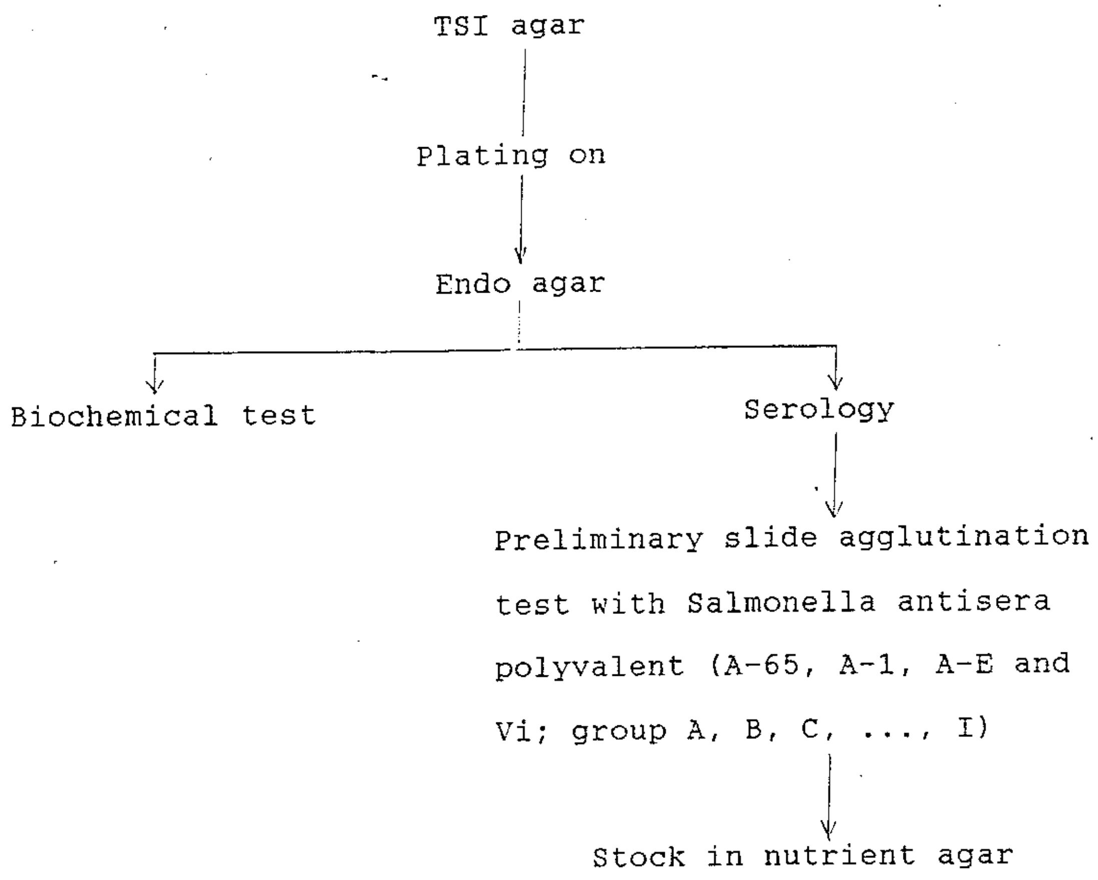
**Some *S. flexneri* serotype 6 gas (+)

***Serotypes 13 and 14 gas (+)

2.3 การทดสอบทางเซรุ่มวิทยา

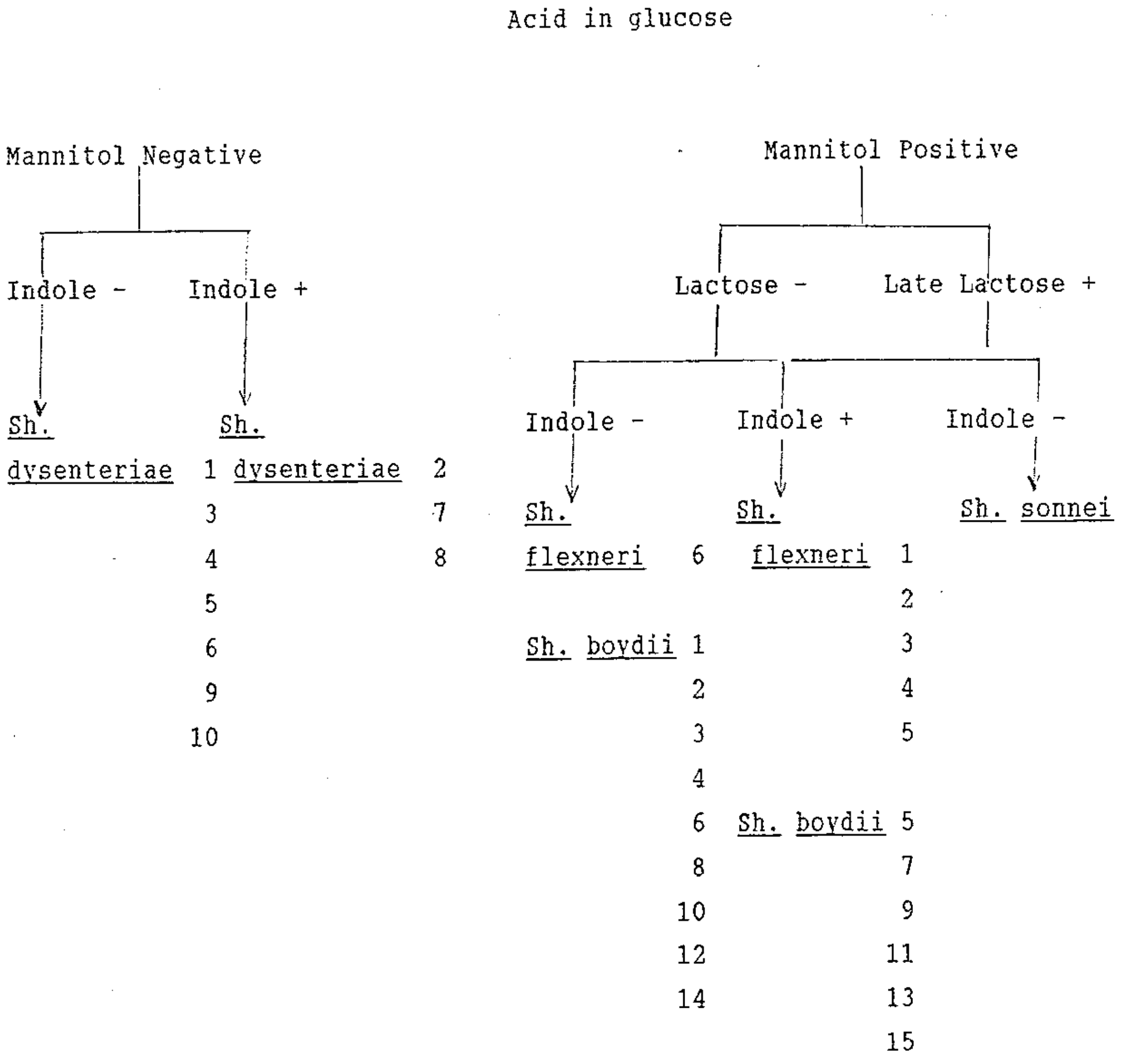
นำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ทดสอบสมบัติทางชีวเคมีแล้วไปทดสอบลักษณะทางแอนติเจน โดยใช้ O-antiserum และ H-antiserum ที่ผลิตโดย กองพยาธิวิทยาคลีนิค กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข (รายละเอียดในภาคผนวก ค)

สำหรับลำดับการวิเคราะห์เซอโรไทป์ของ Salmonella ดังแสดงในรูปที่ 3 และ Shigella ดังตารางที่ 2



รูปที่ 3 ลำดับวิธีการวิเคราะห์เซอโรไทป์ของ Salmonella
(ที่มา : ดัดแปลงจาก Zen-Joji and others. 1976 : 46)

ตารางที่ 2 สมบัติทางชีวเคมีและเซรุ่มวิทยาในการจำแนก Shigella



2.4 การทดสอบความไวต่อยาบางชนิด

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแมลงสาบมาทดสอบหาความไวต่อยาด้วยวิธี disc diffusion method ยาที่ใช้มี 6 ชนิด ได้แก่ แอมพิซิลิน เข้มข้น 10 ไมโครกรัม คลอแรมฟินิคอล เข้มข้น 30 ไมโครกรัม กานามัยซิน เข้มข้น 30 ไมโครกรัม โคไทรมอกซาโซล (ไทรเมทโทรพลาม-ซันฟาเมททอกซาโซล) เข้มข้น 30 ไมโครกรัม สเตรพโตมัยซิน เข้มข้น 10 ไมโครกรัม และเตตราไซคลิน เข้มข้น 30 ไมโครกรัม สำหรับวิธีทดลองมีดังนี้

2.4.1 เตรียม suspension ของเชื้อโดยนำเชื้อบริสุทธิ์มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง ให้มีความขุ่นเท่ากับความขุ่นมาตรฐานของ McFarland No.0.5

2.4.2 นำ suspension ของเชื้อมาเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller hinton agar แล้วนำ sensitivity disc ของยาต่าง ๆ ทั้ง 6 ชนิด วางลงในจานเพาะเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

การตรวจผลความไวต่อยาของเชื้อจาก clear zone หรือ inhibition zone ซึ่งเป็นบริเวณที่ยา แพร่กระจายไปยับยั้งการเจริญหรือทำลายเชื้อได้ จะเห็นส่วนที่เชื้อไม่สามารถเจริญได้เป็นบริเวณใส ๆ รอบ sensitivity disc วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone นำไปเทียบกับตารางมาตรฐานการเปรียบเทียบความไวต่อยา (ในภาคผนวก ง) แล้วแปรผลเป็นเชื้อไวต่อการทำลายสูง (sensitive) เชื้ออยู่กำกึ่งระหว่างการดื้อและไวต่อการถูกทำลาย (intermediate) และดื้อต่อยา (resistance)

ผลการทดลอง

1. Salmonella ในแมลงสาบ

จากการวิเคราะห์ Salmonella ในแมลงสาบจากแหล่งต่าง ๆ 2 บริเวณ คือบริเวณตลาดหนองมน บางแสน ชลบุรี และบริเวณตลาดทรัพย์สินฯ อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี แหล่งละ 180 ตัวอย่าง รวม 360 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2533 - เดือนมกราคม 2534 ปรากฏว่าพบ Salmonella ทั้งหมด 23 ตัวอย่าง (ร้อยละ 6.39) โดยพบในช่วงเดือนสิงหาคม-ตุลาคม 2533 โดยเฉพาะในเดือนตุลาคม 2533 พบมากถึง 13 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.61) โดยตรวจพบในแมลงสาบจากตลาดหนองมน 17 ตัวอย่าง (ร้อยละ 9.44) ในแมลงสาบจากตลาดทรัพย์สินฯ อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.33) ดังตารางที่ 3 และตารางที่ 4

ตารางที่ 3 จำนวน Salmonella และเซอโรไทป์ที่ตรวจพบในแมลงสาบจากแหล่งต่าง ๆ

แหล่งเก็บตัวอย่าง	ตัวอย่าง	แมลงสาบที่ตรวจพบเชื้อ		เซอโรไทป์ของ Salmonella
		จำนวน	ร้อยละ	
ตลาดหนองมน	180	17	9.44	3
ตลาดทรัพย์สินฯ	180	6	3.33	6
รวม	360	23	6.39	7

ตารางที่ 4 แสดงจำนวน Salmonella และ เซอโรไทป์ที่ตรวจพบในเดือนกุมภาพันธ์ 2533 - เดือนมกราคม 2534

เดือน	*S.* derby		*S.* amsterdam		*S.* weltevreden		*S.* virchow		*S.* saintpaul		*S.* I 1,3,19:-:-		*S.* orion		รวม
	หนองมน	อ. เมือง	หนองมน	อ. เมือง	หนองมน	อ. เมือง	หนองมน	อ. เมือง	หนองมน	อ. เมือง	หนองมน	อ. เมือง	หนองมน	อ. เมือง	
กุมภาพันธ์ 2533	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
มีนาคม 2533	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
เมษายน 2533	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
พฤษภาคม 2533	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
มิถุนายน 2533	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
กรกฎาคม 2533	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
สิงหาคม 2533	1	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	4
กันยายน 2533	-	1	-	-	-	-	1	-	-	1	-	1	-	1	5
ตุลาคม 2533	12	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13
พฤศจิกายน 2533	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
ธันวาคม 2533	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
มกราคม 2534	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
รวม	14	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	23

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

เมื่อนำเชื้อบริสุทธิ์มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและเซรุ่มวิทยาแล้ว พบว่าทั้งหมด 7 เซอโรไทป์ โดยเชื้อที่แยกได้จากชุมชนแออัดหนองมนมี 3 เซอโรไทป์ จากชุมชนแออัดอำเภอเมืองมี 6 เซอโรไทป์ โดยทั้ง 2 แหล่งจะมีเซอโรไทป์ซ้ำกัน 2 เซอโรไทป์ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 เซอโรไทป์ของ Salmonella ที่พบในแมลงสาบ

เซอโรไทป์	จำนวนเชื้อที่แยกได้จากแมลงสาบ หนองมน	อำเภอเมือง (ตลาดทรัพย์สินฯ)	รวม	ร้อยละ
<u>S. derby</u>	14	1	15	65.21
<u>S. amsterdam</u>	2	1	3	13.04
<u>S. weltevreden</u>	-	1	1	4.35
<u>S. virchow</u>	1	-	1	4.35
<u>S. saintpaul</u>	-	1	1	4.35
<u>S.</u> I1,3,19:-:-	-	1	1	4.35
<u>S. orion</u>	-	1	1	4.35
รวม	17	6	23	100

2. <u>การทดสอบความไวต่อยา</u>

นำ Salmonella จำนวน 23 ตัวอย่าง 7 เซอโรไทป์ มาทดสอบความไวต่อยา โดยวิธี disc sensitivity test โดยใช้ยา 6 ชนิด คือแอมพิซิลิน เข้มข้น 10 ไมโครกรัม คลอแรมฟินิคอล เข้มข้น30 ไมโครกรัม กานามัยซิน เข้มข้น

363.78
ช417ก
ฉ.2
149365

สรุปและวิจารณ์ผล

สรุปผล

จากการวิเคราะห์ Salmonella และ Shigella ในแมลงสาบจากแหล่งต่าง ๆ 2 บริเวณคือ ตลาดหนองมน บางแสน ชลบุรี และตลาดทรัพย์สินฯ อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี แหล่งละ 180 ตัวอย่าง รวม 360 ตัวอย่าง ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2533 - มกราคม 2534 ปรากฏว่าไม่พบ Shigella เลย แต่พบ Salmonella ทั้งหมด 23 ตัวอย่าง (ร้อยละ 6.39) โดยพบในช่วงเดือนสิงหาคม-ตุลาคม 2533 โดยเฉพาะเดือนตุลาคม 2533 พบมากถึง 13 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.61) โดยพบในแมลงสาบจากตลาดหนองมน 17 ตัวอย่าง (ร้อยละ 9.44) พบในแมลงสาบจากตลาดทรัพย์สินฯ อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.33) ส่วนเซอโรไทป์ของ Salmonella ที่ตรวจพบในแมลงสาบทั้ง 2 แหล่ง รวมทั้งสิ้น 7 เซอโรไทป์คือ *S. derby* (ร้อยละ 65.21), *S. amsterdam* (ร้อยละ 13.04) และ *S. weltevreden*, *S. virchow*, *S. saintpaul*, *S.* I 1,3,19: -:- , *S. orion* (ร้อยละ 4.35)

สำหรับการทดสอบความไวต่อยา พบว่า *S. amsterdam*, *S. weltevreden*, *S. virchow*, *S. saintpaul*, *S.* I 1,3,19: -:- และ *S. orion* มีความไวต่อแอมพิซิลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน เพนนิซิลิน ส่วน *S. derby* มีความไวต่อแอมพิซิลิน และกานามัยซิน แต่จะดื้อต่อคลอแรมฟินิคอล สเตรฟโตมัยซิน และเตตราไซคลินได้ดี

วิจารณ์ผล

จากการศึกษา Salmonella และ Shigella ในแมลงสาบจากแหล่งต่าง ๆ 2 บริเวณ คือ บริเวณตลาดหนองมน บางแสน ชลบุรี และบริเวณตลาดทรัพย์สินฯ อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี แหล่งละ 180 ตัวอย่าง รวม 360 ตัวอย่าง

ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2533 - มกราคม 2534 ปรากฏว่าไม่พบ Shigella แสดงว่า แมลงสาบที่นำตัวอย่างมาจากบริเวณดังกล่าวไม่มีการแพร่กระจายของ Shigella เลย แมลงสาบเหล่านี้จึงไม่เป็นพาหะของเชื้อ Shigella แต่สำหรับ Salmonella นั้น พบ Salmonella ทั้งหมด 23 ตัวอย่าง (ร้อยละ 6.39) โดยพบในช่วงเดือนสิงหาคม-ตุลาคม 2533 ซึ่งการตรวจพบ Salmonella ในแมลงสาบนี้สอดคล้องกับรายงานของกองกีฏวิทยาทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (Medical Entomology Division. 1975 : 8) Panhotra และคณะ (Panhotra and others. 1982 : 6076-Z13) และ Wedberg และคณะ (Wedberg and otehrs. 1949 : 573-574) โดยเฉพาะ ทักษิณา (ทักษิณา สอนสนิท. 2531 : 50) ที่พบ Salmonella ในแมลงสาบจากชุมชนแออัดวัดลาดปลาเค้า ถนนรามอินทรา เขตบางเขน กรุงเทพฯ บริเวณชุมชนแออัดดินแดง เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ และบริเวณหมู่บ้านแจ้งวัฒนะเวศน์ อำเภอบางคลาด นนทบุรี แหล่งละ 150 ตัวอย่าง พบ Salmonella ทั้งหมด 25 ตัวอย่าง (ร้อยละ 4.17) โดยพบเฉพาะเดือนกันยายนเท่านั้น ซึ่งเป็นเดือนที่อยู่ในช่วงฤดูฝน เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ในครั้งนี้ ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝนเช่นกัน (สิงหาคม-ตุลาคม 2534) สำหรับในเดือนอื่น ๆ หรือช่วงฤดูร้อนและฤดูหนาวจะไม่พบ Salmonella เลย ซึ่งอาจเนื่องมาจาก แมลงสาบเป็นสัตว์ที่มีลักษณะนิสัยชอบอยู่บริเวณที่สกปรกค่อนข้างชื้นแฉะ ซึ่งถ้าเป็นฤดูฝนสภาพแวดล้อมดังกล่าวย่อมเกิดขึ้นได้ตลอดเวลา ซึ่งเหมาะสมกับการเจริญเพิ่มจำนวนของแมลงสาบ นอกจากนี้ การแพร่กระจายและความอยู่รอดของเชื้อย่อมดีกว่าสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งกว่า ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวนี้สอดคล้องกับรายงานของ Klowden (Klowden and Greenberg. 1977 : 343) ที่ว่า การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมและฤดูกาลมีอิทธิพลต่อความอ่อนแอของแมลงสาบ และมีอิทธิพลต่อการติดเชื้อของจุลินทรีย์อีกด้วย

จากการทดลองครั้งนี้ ตรวจพบ Salmonella จากตลาดหนองมน จำนวน 17 ตัวอย่าง (ร้อยละ 9.44) และจากตลาดทรัพย์สินฯ อำเภอเมือง

จังหวัดชลบุรี 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.61) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกันแล้วพบในบริเวณตลาดหนองมนมากกว่า ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณตลาดหนองมนเป็นชุมชนที่มีความแออัด และมีการสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อมที่ไม่ถูกสุขลักษณะมากกว่าแหล่งชุมชนแออัดอำเภอเมือง ซึ่งความแออัดและการสุขาภิบาลที่ไม่ถูกสุขลักษณะ จะมีผลต่อการติดเชื้อ Salmonella ของแมลงสาบได้ง่าย ทั้งนี้ดังที่กล่าวมาแล้วว่าแมลงสาบเป็นสัตว์ที่มีลักษณะนิสัยชอบอยู่บริเวณที่สกปรก ค่อนข้างชื้นและ อีกทั้งแมลงสาบยังกินอาหารไม่เลือกชนิด ทั้งพืชและสัตว์อีกด้วย ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้แมลงสาบที่นำมาจากบริเวณหนองมนมีการแพร่กระจายของ Salmonella มากกว่าชุมชนอำเภอเมืองชลบุรี ซึ่งมีความแออัดน้อยกว่า และค่อนข้างมีการสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อมที่ดีพอใช้ ทำให้การแพร่กระจายของ Salmonella ที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมมีได้น้อย นอกจากนี้การที่ไม่พบเชื้อในแมลงสาบอาจเป็นช่วงระยะที่เชื้อไม่ได้อยู่ภายในร่างกายของแมลงสาบ เพราะความสามารถในการคงทนของ Salmonella ในร่างกายของแมลงสาบมีจำกัด ดังที่ Olsen ได้รายงานว่า เมื่อให้ S. typhimurium เข้าสู่ร่างกายของแมลงสาบ เชื้อจะสามารถเจริญอยู่ได้ในระบบทางเดินอาหารของแมลงสาบในช่วงเวลาหนึ่ง หลังจากนั้นจะถูกขับออกมากับสิ่งขับถ่ายของแมลงสาบ (Wedberg and others. 1949 : 576-577)

จากการวิเคราะห์ทางเซรุ่มวิทยาของ Salmonella ในการทดลองนี้พบทั้งหมด 7 เซอโรไทป์ ได้แก่ S. derby, S. amsterdam, S. weltevreden, S. virchow, S. saintpaul, S. I 1,3,19: -:- และ S. orion ซึ่งเซอโรไทป์เหล่านี้มีอยู่ 2 เซอโรไทป์ที่เหมือนกับที่ได้มีการตรวจพบโดยกองกีฏวิทยา พ.ศ. 2518 ที่ตรวจพบ S. lexington, S. weltevreden, S. derby และ S. IV 43 : Z_4 , Z_{23} :- (Medical Entomology Division. 1975 : 8) และมีเซอโรไทป์หนึ่งที่เคยมีการตรวจพบจาก ทักษิณา (ทักษิณา สอนสนิท. 2531 : 50) คือ S. weltevreden และ Salmonella

เชอโรไทป์ที่ตรวจพบจากแมลงสาบนี้ส่วนใหญ่จะเหมือนกับเชอโรไทป์ที่มีการระบาดอยู่ทั่วไปในประเทศไทย ดังรายงานประจำปี พ.ศ. 2530 ของศูนย์ทดสอบเชื้อโรคลำไส้แห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่า S. derby มีอัตราการแพร่ระบาดมากที่สุด (ร้อยละ 13.75) รองลงมาได้แก่ S. weltevreden (ร้อยละ 10) S. agona (ร้อยละ 9.35) S. typhimurium (ร้อยละ 8.6) ส่วน S. lexington และ S. brunei นั้นมีการระบาดเป็นร้อยละ 2.6 และ 0.3 ตามลำดับ (ศูนย์ทดสอบเชื้อโรคลำไส้แห่งชาติ. 2530 : 3) จากรายงานดังกล่าวนี้สอดคล้องกับการตรวจพบ Salmonella ในแมลงสาบครั้งนี้ โดยพบ S. derby มากที่สุด รองลงมาคือ S. weltevreden

ส่วนการทดสอบความไวต่อยาชนิดต่าง ๆ พบว่า Salmonella ส่วนใหญ่จะไวต่อแอมพิซิลิน เพนนิซิลิน กานามัยซิน และคลอแรมฟินิคอล ส่วน S. derby จะไวต่อแอมพิซิลิน และกานามัยซิน แต่จะดื้อต่อคลอแรมฟินิคอล สเตรพโตมัยซิน และเตตราไซคลินได้ดี ซึ่งจะสอดคล้องกับการวิเคราะห์ Salmonella จากแมลงสาบ และพบว่า Salmonella ส่วนมากมีความไวต่อแอมพิซิลิน คลอแรมฟินิคอล กานามัยซิน และโคไทรมอกซาโซล (ทักษิณา สอนสนิท. 2531 : 50) นอกจากนี้ยังพบว่า Salmonella จะดื้อต่อเตตราไซคลินด้วย (ดิเรก ธนานนท์นิวาส. 2530 : 49) และ ทักษิณา (ทักษิณา สอนสนิท. 2531 : 50) ยังพบ S. agona ที่ดื้อต่อคลอแรมฟินิคอล โคไทรมอกซาโซล สเตรพโตมัยซิน และเตตราซัยคลินเช่นกัน การที่ยาเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนั้นมีสาเหตุมาจากหลายทาง เช่น ไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ทำความเสียหายแก่เซลล์เมมเบรน ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน และยับยั้งเมตาบอลิซึมของกรดนิวคลีอิค เช่น เพนนิซิลิน และแอมพิซิลิน จะมีกลไกออกฤทธิ์ไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ โดยจะไปขัดขวาง N-acetyl muramic acid peptide กับตำแหน่งเฉพาะที่อยู่ในโครงสร้างของ mucopeptide ซึ่งจะเป็นส่วนประกอบที่ทำให้ผนังเซลล์แข็งแรง แบคทีเรีย

ที่มีความไวต่อยาจะมีรูปร่าง และขนาดผิดปกติไป มีผลทำให้เซลล์แตกในที่สุด (Pelezar and others. 1977 : 345) สำหรับการทนต่อยาแอมพิซิลินนั้นเกิดจากการที่เชื้อสร้างเอ็นไซม์ β -lactamase ขึ้นมาเพื่อทำลายวงของ -lactam ทำให้ยาไม่สามารถทำงานได้ (Joklik and others. 1980 : 242) คลอแรมฟินิคอลจะไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยไปจับกับหน่วยย่อย 50S ของไรโบโซม ส่วนเชื้อที่ทนต่อคลอแรมฟินิคอลได้โดยจะสร้างเอ็นไซม์คลอแรมฟินิคอล อเซทิลทรานสเฟอเรส (chloramphenicol acetyle transferase) ซึ่งจะไปทำลายฤทธิ์ของยาได้ การสร้างเอ็นไซม์จะอยู่ภายใต้การควบคุมของพลาสมิด (Katzung. 1984 : 518) กานามัยซิน และสเตรพโตมัยซินเป็นยาในกลุ่ม อมิโนไกลโคไซด์ ซึ่งมีฤทธิ์ไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจะไปจับกับหน่วยย่อย 30S ของไรโบโซม จึงทำให้ไม่มีการสังเคราะห์โปรตีน (Frobisher and others. 1974 : 328) การทนต่อสเตรพโตมัยซินเป็นผลเนื่องจากแบคทีเรียสร้างเอ็นไซม์สเตรพโตมัยซิน สเปคติโนมัยซิน อดีนิลทรานสเฟอเรส (streptomycin-spectinomycin ademyltransferase) ขึ้นมาทำลายยา ส่วนการทนต่อกานามัยซินเป็นผลเนื่องจากแบคทีเรียจะสร้างและทำให้ยาไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ (Joklik and others. 1980 : 273-274) เตตราไซคลินจะไปยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจะไปรวมกับหน่วยย่อย 30S ของ amino acyl t-RNA กับตำแหน่งของไรโบโซม การทนต่อเตตราไซคลินนั้นเกิดจากเชื้อจะมีความสามารถในการลดการซึมผ่านของยาเข้าสู่เซลล์ ซึ่งผลดังกล่าวนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเกิดจากอะไร แต่เชื่อกันว่าเกิดจากพลาสมิดหรือยีนส์ที่โครโมโซมนั่นเอง (Katzung. 1984 : 518)

จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าแมลงสาบที่นำมาศึกษานั้นจะมีการปนเปื้อนของ Salmonella แต่ไม่มีการปนเปื้อนของ Shigella เลย และเชื้อ Salmonella ที่ตรวจพบเป็นเซอโรไทป์ที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ นอกจากนี้

เชื้อที่พบยังดื้อต่อยาบางชนิดได้อีกด้วย ทำให้ยากแก่การควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อ ดังนั้นจึงควรมีการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อไว้ก่อน, ซึ่งมีด้วยกันหลายวิธี เช่น การป้องกันไม่ให้ติดเชื้อจากแมลงสาบโดยระวังไม่ให้แมลงสาบมาสัมผัสกับอาหารและน้ำดื่ม หรือกินอาหาร ถ่ายมูลลงในอาหารดังกล่าว นอกจากนี้ยังรวมไปถึงการรักษาความสะอาดโดยทั่ว ๆ ไปด้วย ส่วนการควบคุม และป้องกันโรคจาก Salmonella นั้นควรจะรับประทานอาหารที่ปรุงให้สุก เพราะเชื้อถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน เช่น ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรืออุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที (Hansen. 1963 : 93) รวมทั้งควรมีการใช้น้ำดื่มที่สะอาดอีกด้วย การกระทำดังกล่าวมาแล้วนี้เป็นแนวทางที่ประชาชนสามารถช่วยในการควบคุมหรือป้องกันการแพร่ระบาดของโรคที่เกิดจาก Salmonella ที่มีแมลงสาบเป็นพาหะได้โดยไม่ยากนัก ดังนั้นถ้าหากประชาชนให้ความร่วมมืออย่างดีแล้ว จะสามารถลดการแพร่ระบาดของ Salmonella ที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงซึ่งเป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศได้เป็นอย่างดี

<u>ข้อเสนอแนะ</u>

ควรเก็บตัวอย่างบุคคลจากบริเวณเดียวกับที่เก็บตัวอย่างแมลงสาบด้วย เพื่อหาความสัมพันธ์ของการแพร่กระจายของ Salmonella ในแมลงสาบและบุคคลในแหล่งเดียวกัน

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กองระบาดวิทยา สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข. "รายงานโรคที่ต้องเฝ้าระวัง," <u>รายงานการเฝ้าระวังโรคประจำสัปดาห์</u>. 19 : 23 ; มกราคม 2531.

จารูญ ยาสมุทร และหัชชา ณ บางช้าง. <u>การควบคุมโรคติดต่อและระบาดวิทยา</u>. โครงการตำรามหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2528. 317 หน้า.

ดิเรก ธนานนท์นิวาส. <u>การสำรวจ Salmonella ในจิ้งจกและการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะ</u>. ปัญหาทางชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน, 2530. 80 หน้า.

ทักษิณา สอนสนิท. <u>การศึกษา Salmonella ในแมลงสาบ</u>. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน, 2530, 54 หน้า.

ประเสริฐ ทองเจริญ. "โรคอุจจาระร่วงจากแบคทีเรีย," <u>รามาธิบดี</u>. 12 : 28 ; กรกฎาคม 2524.

พรพันธ์ บุณรัตนรัตพันธ์. "ปัจจัยเสี่ยงและแนวทางการแก้ปัญหา," <u>พฤติกรรมอนามัยกับโรคอุจจาระร่วง</u>. งานส่งเสริมการวิจัยและตำรา กองบริการการศึกษา สำนักงานอธิการบดีมหาวิทยาลัยมหิดล, 2530. 16 หน้า.

หนิตา ชัยเนตร และมาลี วรวิจิตร. "เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอุจจาระร่วงในโรงพยาบาลรามาธิบดี," <u>รามาธิบดีเวชสาร</u>. 3 : 215 ; กันยายน 2524.

วันดี วราวิทย์. "การแก้ปัญหาโรคอุจจาระร่วงโดยสาธารณสุขมูลฐาน," <u>รามาธิบดี</u>. 12 : 60 ; กรกฎาคม 2524.

ศิรพร พิทักษ์เกียรติ และอาไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์ "การค้นหาซัลโมเนลลาใน
แมลงสาบ," สารศิริราช. 27 : 1506 ; กันยายน 2518.

ศูนย์ทดลอบเชื้อโรคลำไส้แห่งชาติ. รายงานประจำปี 2529. โรงพิมพ์ศาสนา,
2530. 7 หน้า.

_______. รายงานประจำปี 2530. โรงพิมพ์ศาสนา, 2531. 16 หน้า.

Blazevic, Donna J. and Grace Mary Ederer. Principles of Biochemical Test in Diagnostic Microbiology. New York : John Wiley and Sons, 1975. 316 p.

Bracke, J.W. and others. "Intestinal Microbial Flora of the American cockroach, Periplaneta americanal," Applied and Environmental Microbiology. 38 : 945-955 ; November, 1979.

Bradshow, L. Jack. Laboratory Microbiology. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1963. 287 p.

Bruhl, W. and others. "Cockroaches as Vectors in Human-Pathogen and Toxin Producing Fungi," Microbiology Abstracts. 2 : 2C 7186, August, 1973.

Burgess, N.R.H. and others. "Aerobic Bacteria Occuring in the Hind-Gut of the Cockroach," Blatta rientalis Journal of Hygiene. 71 : 1-7 ; March, 1973.

Black-band. "Region in the Cockroach Hindgut," Journal of Bacteriology. 140 : 687-689.

Difco Laboratories. Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory. Michigan, Difco Laboratories Incorporated, 1984. 1,115 p.

Foglesong, M.A. and others. "Ultrastrectural Morphology of some Prokaryotic Microorganisms Associated with the Hindgut of Cockroaches," Journal of Bacteriology. 123 : 336-345 ; July, 1975.

Frobisher, Martin and others. Fundamentals of Microbiology. London : W.B. Saunder Co., 1974. 850 p.

Gazivoda, P. and others. "Scanning Electron Microscopic Demonstration of Bacteria on Tarsi of Blatta germanica," Entomology Abstracts. 17 : 2400-z17 ; July, 1986.

Hansen, P. "Regulation Governing the Control of Salmonella Infred Products in Denmark and Comment on the Use of Radiation," Technical Reports Series No.32. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1963. 732 p.

Joklik, Wolfgang K. and others. Zinsser Microbiology. London : Prentice-Hall, Inc., 1980. 1539 p.

Joseph, P.G. and others. "Animal Salmonellosis in Peninsular Malaysia. II, Annual and Zoological Distribution of Salmonella Serotyges over the 10- Year Period 1966-1975. Entomology Abstract. 10 : 1682-E10 ; Jan-May, 1979.

Katzung, Bertram G. Basic and Clinical Pharmacology. California : Long Medical Publication, 1984. 888 p.

Kauffmann, F. The Bacteriology of Enterobacteriaceae. Bultimore : The Willians Company, 1966. 460 p.

Klowden, Marc J. and others. "Effects of Antibiotics on the Servival of Salmonella in the American cockroach," Journal of Hygiene. 79 : 339-345 ; December, 1977.

Koneman, Borlmer W. and others. Color Atlas and Textus of Diagnostic Microbiology. London : J.B. Lippincolt, 1983. 689 p.

Krieg, Woel R. and others. "Tje Cockroaches Blaberus craniifer and Blaberus discoidalis as Vectors of Salmonella typhosa," American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 8 : 119-123 ; March, 1953.

Lee, H.L. and others. "Laboratory Studies on the Susceptibility of Blatlella geramoca and Periplaneta americana to Bacillus thuringiensis var. israelensis," The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. 15 : 422-423 ; September, 1984.

Medical Entomology Division. "Department of Medical Science, Ministry of Public Health Studies of Cockroaches," Progress Report. 8 : July-August, 1975.

Panhotra, B.R. and others. "Isolation of Salmonella from Hopital Food and Vermin," Entomology Abstracts. 13 : 6076-Z13 ; September, 1982.

Pelczar, Michael J. and others. Microhiology. New Delhi : Tata McGraw-Hill Book Company, 1977. 952 p.

Saxen, H. and others. "Alternative Complement Pathway Activation by Salmoneila 0-polysaccharide as a Virulence Determinant in the Mouse," Microbiology and Pathogenic. 2 : 8420-J22 ; January, 1987.

Smith, Alice Lorraine. Principles of Microbiology. Saint Louis : The C.V. Mosby Company, 1981. 723 p.

Thai-Japan Cooperation Project. *Food-Born Gastroenteritis and Its Bacteriological Diagnosis Illustrated*. Tokyo : Japan International Cooperation Agency, 1983. 62 p.

Wedberg, Stenley E. and others. "The Passage of Microorganisms Through the Digentive Tract of *Blaberus cranifer* Mounted under Controlled Conditions," *Journal of Bacteriology*. 58 : 573-577 ; November, 1949.

Zen-Joji, Hiroshi and others. *Manual for the Isolation and Indentification of Enteropathogenic Bacteria*. Tokyo : Heibunsha Printing Co., 1976. 144 p.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

1. Endo agar มีสูตรดังนี้

peptone	10.0	กรัม
lactose	10.0	กรัม
dipotassium phosphate	3.5	กรัม
agar	15.0	กรัม
basic fuchsin	0.5	กรัม
sodium sulfite	2.5	กรัม
pH	7.5	

นำส่วนผสม 41.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. Bismuth sulfite agar (BS agar) มีสูตรดังนี้

beef extract	5.0	กรัม
peptone	10.0	กรัม
dextrose	5.0	กรัม
disodium phosphate	4.0	กรัม
ferrous sulfate	0.3	กรัม
bismuth sulfite indicator	8.0	กรัม
agar	20.0	กรัม
brilliant green	0.025	กรัม
pH	7.5	

นำส่วนผสม 52 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดไม่นานกว่า 1-2 นาที ไม่ต้องนำไปฆ่าเชื้อ

3. Lysin indole motility medium (LIM) มีสูตรดังนี้

polypeptone	10.0	กรัม
yeast extract	3.0	กรัม
dextrose	1.0	กรัม
L-lysine dihydrochloride	10.0	กรัม
L-tryptophan	0.5	กรัม
bromeresol purple	0.02	กรัม
agar	3.0	กรัม
pH	6.6	

นำส่วนผสม 27.52 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

4. Lysine iron agar (LIA) มีสูตรดังนี้

peptone	5.0	กรัม
yeast extract	5.0	กรัม
dextrose	1.0	กรัม
L-lysine hydrochloride	10.0	กรัม
ferric ammonium citrate	0.5	กรัม
sodium thiosulfate	0.04	กรัม
bromcresol purple	0.02	กรัม
agar	15.0	กรัม
pH	6.7	

นำส่วนผสม 34.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

5. Fermentative broth มีสูตรดังนี้

sugar disined	5.0	กรัม
hottinger bouillon	500.0	กรัม
alcoholic bromthymol blue solution 1.5%	2.5	มิลลิลิตร

นำ Hottinger bouillon ผสมกับ alcoholic bromthymol blue solution 1.5% เพื่อใช้เป็น basal medium ไว้ผสมกับน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ที่ต้องการทดสอบ

ถ้าต้องการทดสอบด้วยน้ำตาล dextrose, lactose, sucrose, ducitol หรือ mannitol ให้ผสมน้ำตาลกับ basal medium ก่อน แล้วนำไปใส่หลอดละ 6-7 มิลลิลิตร สำหรับน้ำตาล dextrose จะใส่ในหลอดที่มี derham tube อยู่ภายใน ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ส่วนน้ำตาล moltose, sorbitol, raffinose, sarlicin, adonitol หรือ rhamnose ต้องฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และนำ basal medium ไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วจึงผสมน้ำตาลดังกล่าวกับ basal medium และไม่ต้องนำไปฆ่าเชื้ออีก

6. Hottinger bouillon มีสูตรดังนี้

peptone	9.0	กรัม
saturated sodium chloride solution	20.0	กรัม
potassium hydrogen phosphate	1.0	กรัม
pH	7.5	

นำส่วนผสม 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วย sodium hydroxide (NaOH) 4% ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เก็บไว้เพื่อเตรียม Fermentative broth

7. Malonate broth มีสูตรดังนี้

ammonium sulfate	2.0	กรัม
dipotassium phoshpate	0.6	กรัม
sodium chloride	2.0	กรัม
sodium malonate	3.0	กรัม
bromthymol blue	0.025	กรัม
pH	6.7	

นำส่วนผสม 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

8. Selenite broth มีสูตรดังนี้

tryptone	5.0	กรัม
lactose	4.0	กรัม
sodium selenite	4.0	กรัม
sodium phosphate	10.0	กรัม
pH	7.0	

นำส่วนผสม 23 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มแบบพาสเจอร์ไรซ์ (อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) ระวังไม่ให้ความร้อนสูงเกินไป และไม่ต้องนำไปฆ่าเชื้อ

9. Semisolid indole motility test medium (SIM) มีสูตรดังนี้

peptone	30.0	กรัม
beef extract	3.0	กรัม
peptonize iron	0.2	กรัม

sodium thiosulfate	0.025	กรัม
agar	3.0	กรัม
pH	7.3	

นำส่วนผสม 36 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

10. Salmonella-Shigella agar (SS agar) มีสูตรดังนี้

beef extract	5.0	กรัม
proteose peptone	5.0	กรัม
lactose	10.0	กรัม
bile salt	8.5	กรัม
sodium citrate	8.5	กรัม
sodium thiosulfate	8.5	กรัม
ferric citrate	1.0	กรัม
agar	13.5	กรัม
brilliant green	0.33	กรัม
neutral red	0.025	กรัม
pH	7.0	

นำส่วนผสม 60 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดนาน 2-3 นาที ไม่ต้องนำไปฆ่าเชื้อ

11. Simmon citrate agar มีสูตรดังนี้

magnesium sulfate	0.2	กรัม
ammonium dihydrogen phosphate	1.0	กรัม

dipotassium phosphate	1.0	กรัม
sodium citrate	2.0	กรัม
sodium chloride	5.0	กรัม
agar	15.0	กรัม
bromthymol blue	0.08	กรัม
pH	6.8	

นำส่วนผสม 24.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

12. Kligler's iron agar (KIA) มีสูตรดังนี้

beef extract	3.0	กรัม
yeast extract	3.0	กรัม
peptone	15.0	กรัม
proteose peptone	5.0	กรัม
dextrose	1.0	กรัม
lactose	10.0	กรัม
ferrous sulfate	0.2	กรัม
sodium chloride	5.0	กรัม
sodium thiosulfate	0.3	กรัม
agar	12.0	กรัม
phenol red	0.024	กรัม
pH	7.4	

นำส่วนผสม 65 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

13. Tryptic soy broth มีสูตรดังนี้

tryptone	17.0	กรัม
soytone	3.0	กรัม
dextrose	2.5	กรัม
sodium chloride	5.0	กรัม
dipotassium phosphate	2.5	กรัม
pH	7.3	

นำส่วนผสม 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

14. Swarm agar มีสูตรดังนี้

proteose	10.0	กรัม
sodium chloride	3.0	กรัม
potassium dihydrogen phosphate	2.0	กรัม
beef water	1,000	มิลลิลิตร
pH	7.2-7.4	

นำส่วนผสม 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดแล้วเติม beef water ลงไป 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH ขณะร้อนด้วย sodium hydroxide 10% แล้วกรองขณะร้อนผสมด้วย agar 0.8 กรัม ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งที่ความดันปกติ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที เป็นเวลา 3 วัน

beef water เตรียมจากเนื้อ 1 กิโลกรัม กับน้ำ 1,000 มิลลิลิตร ต้ม 90 นาที แล้วจึงบีบเอาน้ำเนื้อออกแล้วกรองขณะร้อน

H-antigen เพียง phase เดียว)

3.4 ใช้ H-antisera ทดสอบหา H-antigen phase ที่เหลือจากในข้อ 3.3 เมื่อพบแล้วจึงถ่ายเชื้อจาก swarm agar จานที่ 2 ลงบน swarm agar จานที่ 3 (ใน swarm agar จะผสม H-antiserum ชนิดเดียวกับที่พบทั้ง 2 phase ในจานที่ 1 และ 2) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง

3.5 สังเกตเชื้อใน swarm agar จานที่ 3 ถ้าเชื้อที่ทดสอบมี 2 phase เชื้อจะหยุดอยู่ตรงกลาง คือ antigen จะถูกจับไว้โดย antiserum ทั้ง 2 phase

ในกรณีที่เชื้อใน swarm phase ที่ 3 ไม่หยุดการ swarm ตรงกลางจานเพาะเชื้อ อาจเป็นเพราะ

1. เชื้อนั้มี antigen phase ที่ 3 ในกรณีนี้ต้องหา antigen phase ที่ 3 ต่อไปโดยใช้ H-antisera จนพบ

2. เชื้ออาจไม่บริสุทธิ์ อาจมีเชื้ออื่นปนมาหรือบางครั้งอาจมีเชื้อ serotype อื่น ๆ ปนมาในตัวอย่างเดียวกัน

สรุปผลการทดสอบยืนยัน ดังนี้

1. การทดสอบทางชีวเคมี เชื้อ Salmonella ในปัจจุบันนี้ จำแนกตามคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้เป็น 5 sub-genus ซึ่งเชื้อที่อยู่ใน sub-genus ต่างกันจะมีชื่อต่างกัน Salmonella ที่พบในมนุษย์ส่วนมาก จัดอยู่ใน sub-genus ที่ 1

2. การทดสอบทางเซรุ่มวิทยา (serotyping) จะออกผลตาม antigenic-structure ของ O-antigen และ H-antigen ตามแบบของ Kauffmann-White Schema

(ที่มา : WHO-National Salmonella and Shigella Center, Division of Climical Pathology, Department of Medical Science, National institute of Health)

ภาคผนวก ค

การทดสอบความไวต่อยา

ตารางที่ 7 ความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

ยาและสารต้านจุลชีพ	ขนาดบรรจุในแผ่นยา (ไมโครกรัม)	เส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone (ม.ม.) ดื้อต่อยา	ปานกลาง	ไวต่อยา
แอมพิซิลิน	10	11 หรือน้อยกว่า	12-13	14 หรือมากกว่า
คลอแรมพินิคอล	30	12 หรือน้อยกว่า	13-17	18 หรือมากว่า
กานามัยซิน	30	13 หรือน้อยกว่า	14-17	18 หรือมากกว่า
เตตราไซคลิน	30	14 หรือน้อยกว่า	15-18	19 หรือมากกว่า
สเตรพโตมัยซิน	10	11 หรือน้อยกว่า	12-14	15 หรือมากกว่า
เพนนิซิลิน	10	10 หรือน้อยกว่า	11-15	16 หรือมากกว่า

(ที่มา : BBL Microbiology Systems. 1984)