บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Vibrio parahaemolyticus เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนตรงหรือโค้งงอ พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ เช่น ชายฝั่งทะเล ตะกอนโคลนตมในทะเล สามารถแยกเชื้อได้จากอาหารทะเลหลายชนิด เช่น กุ้ง หอยนางรม หอยแครง ปู เป็นต้น *V. parahaemolyticus* เป็นสาเหตุสำคัญของโรคลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) ในหลายประเทศ ทั้งในเอเชีย อเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ ยุโรป (Bag et al. 1999 : 2354-2357 ; DePaola, Kaysner, Bowers and Cook. 2000 : 4649-4654 ; Fuenzalida et al. 2007 : 270-275 ; Okuda et al. 1997 : 3150-3155) สาเหตุของการติดเชื้อเกิดจากการรับประทานอาหารทะเลที่ปรุงไม่สุก หรืออาหารที่ปนเปื้อนเชื้อภายหลังจากการปรุง ระยะฟักตัวของเชื้ออยู่ระหว่าง 4-96 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการท้องเสีย อาเจียน ปวดศีรษะ มีไข้ อาการป่วยมีตั้งแต่เล็กน้อยไปจนถึงต้องเข้ารับการรักษาตัวที่โรงพยาบาล สำหรับประเทศไทยพบว่าเชื้อนี้เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษถึงร้อยละ 60 ในช่วงปี พ.ศ. 2535-2543 (อรยา สุตเธียรกุล. 2543) และมีแนวโน้มที่จะสูงขึ้น โดยในปี พ.ศ. 2548 และ 2549 พบสูงถึงร้อยละ 64.5 และ 73.3 ตามลำดับ (สุชาดา จันทสิริยากร. 2550 : 271-274) นอกจากนี้ยังมีรายงานการระบาดของเชื้อสายพันธุ์หรือซีโรวาร์ (serovar) เกิดขึ้นในส่วนต่างๆ ของโลก เช่น การระบาดใหญ่ (pandemics) ของสายพันธุ์ใหม่ O3:K6 ในประเทศอินเดีย และเกิดการระบาดอย่างต่อเนื่องในหลายประเทศแถบภูมิภาคเอเชีย รวมทั้งในอเมริกา (Matsumoto et al. 2000 : 578-585) ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้อาจกลายเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญสำหรับหลายประเทศในอนาคตก็เป็นได้ และการระบาดที่ประเทศแคนาดาเมื่อปี ค.ศ. 1997 และอเมริกาเมื่อปี ค.ศ. 1997-1998 ทำให้มีการพัฒนาใช้วิธีในระดับโมเลกุล (molecular technique) เข้ามาช่วยในการจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* เพื่อเป็นข้อมูลด้านความสัมพันธ์ของพันธุกรรมและระบาดวิทยาระหว่างสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ซึ่งจะเป็นแนวทางหนึ่งในการควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อได้

ในการศึกษาความหลากหลายหรือการจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* เพื่อประโยชน์ในด้านระบาดวิทยา การสืบสวนแหล่งที่มาของเชื้อก่อโรค สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การศึกษาคุณสมบัติทางฟีโนทัยป์ (phenotypic characteristics) โดยศึกษาแบบแผนการดื้อยา

(antibiotyping) การทดสอบทางซีโรทัยป์ (serotyping) และการศึกษาคุณสมบัติทางจีโนทัยป์ (genotypic characteristic) โดยวิธี pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), restriction fragment length polymorphism (RFLP), arbitrarily-primed polymerase chain reaction (AP-PCR), enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence-polymerase chain reaction (ERIC-PCR) เป็นต้น ซึ่งแต่ละวิธีก็มีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป (Orasa et al. 1996 : 1293-1295 ; Wong. 2003 : 100-107) โดยที่การศึกษาทางฟีโนทัยป์นั้นเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก สามารถทำได้ในงานประจำ (routine) แต่ความสามารถในการจำแนกต่ำ เมื่อเทียบกับการศึกษาทางจีโนทัยป์ เพราะปัจจัยหลายอย่างเช่น สภาวะแวดล้อมที่ใช้เลี้ยงเชื้อ ส่งผลต่อการแสดงออกของยีน เป็นต้น อย่างไรก็ตามการศึกษาทางจีโนทัยป์บางวิธีก็ยุ่งยาก เช่น PFGE ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการตรวจสอบผล สำหรับวิธี RFLP ของยีน rRNA เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อได้ดี แต่ก็เป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง เนื่องจากต้องใช้ restriction enzyme และใช้เทคนิคทาง hybridization ร่วมด้วย ดังนั้นการจำแนกเชื้อโดยใช้ DNA marker ชนิดต่างๆ ซึ่งอาศัยพื้นฐานเทคนิค PCR เช่น AP-PCR, ERIC-PCR น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อได้ (Maluping, Ravelo, Lavilla-Pitogo, Krovacek and Romalde. 2005 : 383-391 ; Okura et al. 2003 : 4676-4682 ; Okura et al. 2004 : 787-790 ; Rodriguez et al. 2006 : 175-183)

ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาความสามารถในการจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากผู้ป่วย โดยเปรียบเทียบ 3 วิธี คือ ศึกษาแบบแผนการดื้อยา (antibiotyping), AP-PCR และ ERIC-PCR เพื่อเป็นแนวทางในการนำวิธีการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อเหล่านี้มาใช้ในการศึกษาด้านระบาดวิทยาของเชื้อต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* โดยวิธี

1. ทางฟีโนทัยป์ โดยการศึกษาแบบแผนการดื้อยา (antibiotyping)
2. ทางจีโนทัยป์ ศึกษาโดยใช้เทคนิค AP-PCR และ ERIC-PCR

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการจำแนกสายพันธุ์ของ *V. parahaemolyticus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลนครปฐม จำนวนทั้งสิ้น 70 ไอโซเลท (isolates) โดยศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์ตามคุณสมบัติทางฟีโนทัยป์และจีโนทัยป์ ซึ่งได้เก็บตัวอย่างเชื้อในช่วงเดือนมิถุนายน 2551 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2552

ประโยชน์ที่คิดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อทางฟีโนทัยป์ (antibiotyping) และ ทางจีโนทัยป์ (AP-PCR, ERIC-PCR) ที่เหมาะสมสำหรับห้องปฏิบัติการ
2. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับอุบัติการณ์ของสายพันธุ์ที่มีการระบาด ณ ช่วงเวลานั้นๆ เพื่อเป็นแนวทางในการเฝ้าระวังและป้องกันการแพร่ระบาดต่อไป

HUACHIEW CHALERMPRAKIET UNIVERSITY