

บทที่ 2

ทฤษฎีและบทตรวจเอกสาร

โรคติดเชื้อที่มีอาหารเป็นสื่อ (food-borne diseases) จำแนกได้ 2 ประเภท คือ

1. โรคติดเชื้อที่เกิดจากสารพิษของเชื้อจุลินทรีย์ (food-borne intoxication) เกิดจากมีจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารพิษปนเปื้อนในอาหาร เชื้อมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้นโดยขณะเจริญมีการขับสารพิษออกมาสะสมในอาหาร สารพิษเหล่านี้จะมีฤทธิ์ต่างๆเช่น ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน อูจจาระร่วง มีไข้ ในบางครั้งอาจทำอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ เชื้อที่ปนเปื้อนในอาหารและสามารถสร้างสารพิษ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* , *Clostridium botulinum* , *Clostridium perfringens* , *Bacillus cereus*

2. โรคติดเชื้อที่เกิดจากตัวเชื้อจุลินทรีย์ (food-borne infection) เกิดจากมีจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนในอาหาร เมื่อรับประทานเข้าไปเชื้อจะเข้าทำลายเซลล์หรือเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทำให้เกิดโรคได้ เช่น โรคอหิวาต์ โรคบิด ไข้ไทฟอยด์ โรคอาหารเป็นพิษ เชื้อที่ก่อโรคได้แก่ *Escherichia coli* , *Salmonella* spp. , *Shigella* spp. , *Vibrio cholerae* , *Vibrio parahaemolyticus* ยีสต์และราบางชนิด

ยีสต์และรา⁽¹⁾

ยีสต์ (Yeast) จัดเป็นเชื้อราที่มีเซลล์เดียว (unicellular) โกลโบนีมีลักษณะเบียดกัน คล้ายเนย ไม่สร้างสาขารากอากาศ (aerial hypha) เซลล์ของยีสต์มีรูปร่างกลม รี หรือรูปอื่น ๆ สืบพันธุ์แบบไม่ผสมเพศโดยการแตกหน่อ (blastoconidia) หรือโดยการแบ่งสอง (binary fission) หน่อที่เกิดใหม่สามารถติดกับเซลล์พ่อแม่ และแตกหน่อต่อเนื่องไปเป็นสาย การสืบพันธุ์ชนิดผสมเพศของยีสต์สร้างสปอร์ผสมเพศ 2 ชนิดคือ แอสโคสปอร์ (ascospore) และ เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore) สีของยีสต์มีได้ต่าง ๆ กัน เช่น ครีမ် ส้ม ดำ ยีสต์พบได้ตามธรรมชาติทั่วไป เช่น ผัก ผลไม้ ยีสต์บางสายพันธุ์อาศัยอยู่ตามผิวหนัง และทางเดินอาหารของคนและสัตว์เลือดอุ่น ยีสต์ที่ได้รับการจำแนกแล้วมีประมาณ 400 สายพันธุ์ แต่มีการรายงานการก่อโรคในคนประมาณ 20 สายพันธุ์ มีปัจจัยหลายประการที่ทำให้ยีสต์ก่อโรคในคนได้คือ ภาวะเปียก อับชื้น การได้รับยาปฏิชีวนะ การตั้งครรภ์ การผ่าตัด โรคที่ทำให้ภูมิคุ้มกันบกพร่อง

ยีสต์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์จัดอยู่ในพวกที่สืบพันธุ์แบบไม่ผสมเพศ (imperfect yeasts) วงศ์ Cryptococcaceae มีหลายสกุล (genus) เช่น

- | | |
|--------------------------|-----------------------------------------|
| สกุล <i>Candida</i> | ก่อโรคที่ผิวหนังและอวัยวะภายใน |
| สกุล <i>Cryptococcus</i> | ก่อโรคที่ปอด ระบบประสาท และอวัยวะอื่น ๆ |
| สกุล <i>Malassezia</i> | ก่อโรคเกลื้อน |

ส่วนเชื้อยีสต์ที่อยู่ในสกุล *Saccharomyces* และสกุล *Hansenula* มีอุบัติการณ์ของโรคในคนไม่มาก จัดอยู่ในพวกที่สืบพันธุ์แบบผสมเพศ

สำหรับราหรือ mold จัดเป็น eukaryotic cell มีโคโลนีสีต่าง ๆ กัน เช่น ขาว เขียว เหลือง ดำ ผิวหน้าโคโลนีมีหลายแบบ เช่น ฟูกคล้ายสำลีหรือขนสัตว์ นุ่มคล้ายกำมะหยี่ เป็นผง หรือ เนียนคล้ายหนัง เชื้อราสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบผสมเพศและไม่ผสมเพศ

เชื้อราพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ เช่น ในอากาศ ดิน น้ำ เชื้อราที่ก่อโรคในคน สามารถแบ่งออกได้ 3 ประเภท คือ

1. เชื้อราสร้างสารพิษ (toxigenic fungi) หมายถึง เชื้อราที่มีสารพิษอยู่ภายในหรือสามารถสร้างและปล่อยสารพิษออกสู่ภายนอกได้ เช่น สารพิษจากเห็ดเมาและสารพิษจากเชื้อรา

2. เชื้อรากล่อโรคภูมิแพ้ (allergenic fungi) หมายถึง เชื้อราหรือส่วนของเชื้อรา เช่น โคนิเดียมทำหน้าที่เป็นแอนติเจนกระตุ้นร่างกายให้สร้างแอนติบอดี ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากันก่อให้เกิดผลเสียแบบที่เรียกว่าปฏิกิริยาภูมิไวเกิน เช่น โรคปอดชาวนา (Farmer's lung) , แบแกสโซซิส (Bagassosis)

3. เชื้อราบุกรุก (invasive fungi) หมายถึง เชื้อราที่สามารถบุกรุกเข้าไปเจริญอยู่ในร่างกายมนุษย์ อาจจะเจริญได้แค่ผิวหนังหรือลุกลามเข้าสู่อวัยวะภายใน เช่น โรคกลาก เกื้อื้อน การวินิจฉัยยีสต์และราทางห้องปฏิบัติการ

โดยทั่วไปสามารถทำการวินิจฉัยแยกเชื้อรา โดยวิธีเพาะเชื้อ (pour plate) แล้วดูลักษณะต่าง ๆ ของโคโลนีที่เกิดขึ้น เช่น สี โคลอนีที่บวมหรือขุ่น ผิวหน้าฟู มีสายราหรือไม่มี เป็นต้น ถ้าเป็นโคโลนีของยีสต์ จะคล้ายแบคทีเรีย ต้องทำการย้อมสีแกรมเพื่อดูว่าเป็นยีสต์หรือแบคทีเรีย เซลล์ยีสต์ติดแกรมบวกและมีลักษณะค่อนข้างกลมหรือมี budding มีขนาดเซลล์ใหญ่กว่าเซลล์แบคทีเรีย สำหรับราหรือ mold จะต้องทำ slide culture เพื่อดูลักษณะและรูปร่างของสายรา spore หรือ conidia เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา

ในการตรวจหาเชื้อราจากอาหารไม่จำเป็นต้องจำแนกชนิดของเชื้อราแต่ต้องทำการแยกเชื้อราและยีสต์ออกจากแบคทีเรียและทำการนับจำนวนโคโลนีเพื่อดูว่าเกินมาตรฐานหรือไม่ โดยนำตัวอย่างอาหารมาบดให้ละเอียดผสมกับ buffer ในอัตราส่วนต่าง ๆ แล้วทำ pour plate โดยใช้ Potato Dextrose Agar (PDA) นับจำนวนโคโลนี ยีสต์และราที่เกิดขึ้น ซึ่งโคโลนีของราจะแยกได้ง่ายเพราะเห็นลักษณะโคโลนีชัดเจน ส่วนโคโลนีของยีสต์คล้ายแบคทีเรีย ต้องนับแยกจากกันโดยทดสอบยืนยันโคโลนียีสต์ด้วยการย้อมสีแกรม (เพราะว่าบน PDA เชื้อแบคทีเรียก็สามารถเจริญได้เช่นกัน) มิฉะนั้นอาจทำให้การนับจำนวนยีสต์ผิดพลาดได้

โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform Bacteria) ^(10,11,12)

โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขอนามัยอาหารและน้ำ เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ติดสีแกรมลบ รูปแท่งไม่มีสปอร์ เชื้อสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน (aerobe) หรือ สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) มีคุณสมบัติในการหมักน้ำตาลแลคโตส ให้เปลี่ยนเป็นกรดและก๊าซที่อุณหภูมิ 37° ซ. ได้ภายใน 24-48 ชั่วโมง

โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ประกอบด้วย แบคทีเรีย 4 สกุล คือ *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* และ *Escherichia* สามารถแบ่งโคลิฟอร์มแบคทีเรียตามแหล่งที่อยู่อาศัย ได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่อาศัยในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่นและแพร่กระจายไปสู่สิ่งแวดล้อมโดยทางอุจจาระเรียก Fecal coliform ได้แก่ *E. coli* ส่วนอีกกลุ่มคือกลุ่ม Non-fecal coliform เป็นแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ เช่น เชื้อในกลุ่ม *Klebsiella*, *Citrobacter* และ *Enterobacter* ซึ่งส่วนใหญ่พบในผัก ผลไม้ และดิน

การวินิจฉัยโคลิฟอร์มแบคทีเรียทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจหาโคลิฟอร์มแบคทีเรียในปัจจุบันส่วนใหญ่ใช้วิธีประเมินค่าทางสถิติที่เรียกว่า Most Probable Number (MPN)

Escherichia coli ^(10,11,12)

E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae พบอยู่ทั่วไปในธรรมชาติและในระบบทางเดินอาหารของคน เชื้อนี้มีหลาย serotype และหลาย biotype ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ บางสายพันธุ์มีแคปซูล ทำให้เชื้อสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี

เชื้อสามารถเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาและบน MacConkey agar โคโลนิมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร มีสีชมพู เนื่องจากหมักข่อยน้ำตาลแลคโตสได้ ในบางสายพันธุ์ไม่สามารถหมักข่อยน้ำตาลแลคโตส หรือหมักข่อยได้อย่างช้า ๆ การทดสอบ IMViC ให้ผล ++- (คือ Indole และ Methyl Red ให้ผลบวก ส่วน Voges Proskauer และ Citrate ให้ผลลบ) ให้ผล TSI เป็น A/G, urease ให้ผลลบ และ Lysine decarboxylase ให้ผลบวก

E. coli มี O, H และ K(capsular) แอนติเจน ซึ่งแอนติเจนแต่ละตัวมีคุณสมบัติ ดังต่อไปนี้

1. แอนติเจน O มี 162 ชนิด อยู่ในชั้นผนังเซลล์ ทนต่อความร้อนที่ 121° ซ. ได้ดี
2. แอนติเจน H มี 52 ชนิด เป็นส่วนของ flagella ของแบคทีเรีย ถูกทำลายเมื่อนำไปต้มที่ 100° ซ.

3. แอนติเจน K มี 100 ชนิด ซึ่งอาจเป็น L, A หรือ B แอนติเจนนี้เป็นส่วนของแคปซูลที่หุ้มตัวแบคทีเรียและกลุ่มแอนติเจน O ทำให้เชื้อไม่สามารถเกาะกลุ่มกันในแอนติซีรัม O ยกเว้นเมื่อทำลายแอนติเจน K เสียก่อน โดยการต้มที่ 100° ซ. นาน 2.5 ชั่วโมง หรือ autoclave ที่ 121° ซ. นาน 2 ชั่วโมง

แอนติเจน O , H และ K มีคุณสมบัติทางกายภาพและภูมิคุ้มกันวิทยาต่างกัน การรวมกันของแอนติเจนแต่ละชนิดทำให้เชื้อมีหลายซีโรไทป์ ซึ่งบางชนิดที่มีแอนติเจน K จะมีความรุนแรงในการก่อโรคสูงกว่าชนิดที่ไม่มีแอนติเจน K เนื่องจากมีสารพิษและมีความต้านทานต่อกระบวนการ phagocytosis

ถึงแม้ว่า *E. coli* ส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น ในลำไส้ของคน และสัตว์ อย่างไรก็ตามพบว่ามีบางสายพันธุ์ของ *E. coli* เป็นสาเหตุของอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง สายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุนี้ แบ่งเป็น 5 กลุ่มได้แก่ ดังแสดงในตารางที่ 1

1. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)
2. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)
3. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)
4. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)
5. Enteroaggregative *E. coli* (EAggEC)

1. EPEC

EPEC เป็นสาเหตุของโรค enteric disease มีอาการไข้ อาเจียน และถ่ายเป็นน้ำ (watery diarrhea) อุจจาระมีลักษณะเป็นมูกไม่มีเลือดปน EPEC เป็นสาเหตุสำคัญของโรคท้องร่วงในเด็กอายุต่ำกว่า 2 ขวบ

การวินิจฉัย EPEC ทางห้องปฏิบัติการ

EPEC สามารถเพาะเลี้ยงได้บน enteric media ทั่วไปที่ใช้ในงานประจำ เพื่อสามารถหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ นำมาทดสอบซีโรไทป์โดยการทำให้ slide agglutination กับ pool serum ถ้าให้ผลบวกให้ทดสอบกับ monovalent sera ต่อไป (ตะกอนเกิดขึ้นภายใน 20-30 วินาที) แต่ถ้าให้ผลลบ ให้ทำการเพาะเชื้อลงบน Nutrient agar slant จากนั้นทำการทำลายแคปซูลของเชื้อโดยต้มในน้ำเกลือ 0.85% 100°ซ. 1 ชั่วโมง ใส่ฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 0.5% แล้วทำการตรวจสอบซีโรไทป์กับแอนติเจน O อีกครั้ง และถ้าจะให้การทดสอบสมบูรณ์ยิ่งขึ้นต้องตรวจซีโรไทป์ต่อแอนติเจน H ด้วย ถ้าเป็น EPEC จะสามารถตรวจพบทั้งแอนติเจน O และแอนติเจน H นอกจากนี้ยังสามารถใช้วิธี ELISA และ cell culture ในการตรวจหา EPEC ได้อีกด้วย

2. ETEC

สายพันธุ์นี้เป็นสาเหตุของอาการท้องร่วงในเด็กทารก (cholera infantum) และผู้เดินทางไปต่างถิ่นหรือนักท่องเที่ยว (traveler's diarrhea) ผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ เป็นตะคริวที่ท้อง มีไข้ต่ำถ่ายเป็นน้ำ (watery diarrhea) traveler's diarrhea จะมีอาการท้องร่วงรุนแรง แต่พบน้อยที่มีอาการรุนแรงจนเสียชีวิต ETEC สามารถสร้างสารพิษได้ 2 ชนิด คือ heat-stable enterotoxin (ST) และ heat-labile enterotoxin (LT)

การวินิจฉัย ETEC ทางห้องปฏิบัติการ

ETEC enterotoxin LT และ ST มีความสัมพันธ์กันทำให้จำแนกได้ยาก ต้องใช้ biological system หรือ cell culture และทำในงานค้นคว้าวิจัยหรือ reference laboratories เท่านั้น

3. EIEC

เป็นสายพันธุ์ของ *E. coli* ที่มีความเหมือนกับเชื้อ *Shigella* มากกว่าเหมือนเชื้อ *E. coli* ทั่วไป เชื้อสามารถบุกรุก mucosal epithelial cell และแทรกเข้าสู่ epithelial cell ทำให้เกิด enteritis มีอาการไข้ เป็นตะคริวที่ท้อง ถ่ายเป็นน้ำ (watery diarrhea) หรือ เป็นมูก (bacillary dysentery) มีเม็ดเลือดขาวและ เลือดปน

การวินิจฉัย EIEC ทางห้องปฏิบัติการ

EIEC ส่วนใหญ่ไม่เคลื่อนที่และไม่หมักย่อยน้ำตาลแลคโตสหรือหมักย่อยได้อย่างช้า ๆ สามารถเพาะได้บน enteric media ที่ใช้ในงานประจำทั่วไปได้ และสามารถจำแนกได้โดยการทดสอบ Sereny test (หยดเชื้อลงบนดาดว์ทดลองแล้วดูอาการอักเสบของดาดว์ทดลอง) วิธี O:H serogrouping, ELISA หรือดูการบุกรุกเข้าสู่ HEp-2 หรือ Hela cells เชื้อ EIEC ทุกสายพันธุ์ให้ผลลบต่อการทดสอบ lysine decarboxylase นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติของแอนติเจนร่วมกันระหว่าง EIEC กับ *Shigella* สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มเมื่อทดสอบกับแอนติซีรัมต่อ *Shigella*

4. EHEC

EHEC หรือ *E. coli* O157:H7 เป็นเชื้อที่มากับอาหารและน้ำ โดยเฉพาะอาหารที่ปรุงไม่สุก เช่น เนื้อสัตว์ ที่ได้มาจากการฆ่าและชำแหละตามบ้าน ทำให้มีโอกาสสัมผัสกับมูลสัตว์ (วัวควาย) เชื้อมีการติดต่อจากคนไปสู่อีกคนโดย oral-fecal route EHEC ก่อให้เกิดโรคเลือดออกในลำไส้ใหญ่ (hemorrhagic colitis) และ hemolytic uremic syndrome (HUS) เชื้อจะสร้าง toxin 2 ชนิดคือ Shiga-like toxin 1 (verotoxin 1) และ Shiga-like toxin 2 (verotoxin 2) ซึ่งในปัจจุบันเรียก Shiga toxin (ST) 1 และ 2 ตามลำดับ

EHEC มีระยะฟักตัว 3-5 วัน อาจจะไม่แสดงอาการ หรือมีอาการท้องร่วงอย่างอ่อน ๆ อุจจาระไม่มีเลือดปน หรือมีเลือดปน เป็นตะคริวที่ท้อง พบเม็ดเลือดขาวเล็กน้อยในอุจจาระ ในผู้ใหญ่ จะแสดงอาการหลังจากติดเชื้อ 5-8 วัน ผู้ป่วยประมาณร้อยละ 2-7 ที่ติดเชื้อ EHEC จะมีอาการแทรกซ้อนที่สำคัญคือ HUS ซึ่งมีอาการ hemolytic anemia, thrombocytopenia และไตวายอย่างเฉียบพลัน ในเด็กอายุต่ำกว่า 4 ปี ซึ่งมีอาการของ HUS จะมีอัตราการตายร้อยละ 3-10

การวินิจฉัย EHEC ทางห้องปฏิบัติการ

E. coli ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ประมาณร้อยละ 80 จะสามารถหมักข่อยน้ำตาล D-sorbitol ได้ภายในเวลา 24 ชั่วโมง แต่ EHEC ไม่สามารถหมักข่อยหรือหมักข่อยน้ำตาล D-sorbitol ได้อย่างช้า ๆ ซึ่งเป็นลักษณะที่ใช้ในการแยกเชื้อ EHEC ออกจากเชื้อ *E. coli* อื่นๆ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้คือ MacConkey-sorbitol agar (SMAC) โคโลนี ของ *E. coli* ที่ไม่หมักข่อยน้ำตาล sorbitol จะไม่มีสี หลังจากอบที่ 35-37° ซ. นาน 24-48 ชั่วโมง ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ตรวจกรอง EHEC ได้โดยตรง หลังจากนั้นทำ latex agglutination กับ *E. coli* O157 antiserum

นอกจากนี้ เชื้อ EHEC จะไม่มี enzyme β -D-glucuronidase ซึ่งทำให้ไม่สามารถย่อย 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG) ไปเป็นผลผลิตสุดท้ายซึ่งมองเห็นได้เมื่ออยู่ภายใต้แสงยูวี (λ 366 nm) คือให้ผลลบต่อ MUG ซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการจำแนกเชื้อ EHEC

ส่วนการแยก EHEC ในอาหารนอกจากจะใช้วิธีดังที่กล่าวมาแล้ว ยังสามารถใช้วิธีการทางอณูชีววิทยาเพื่อตรวจหาชิ้นส์ ที่สร้าง toxin หรือใช้วิธีการทางอิมมูโนเพื่อตรวจหา verotoxins

5. EAggEC

EAggEC คือ *E. coli* ที่มีความสามารถในการยึดเกาะกับช่องทางเดินอาหาร ไม่ผลิต LT หรือ ST ไม่บุกรุกเนื้อเยื่อ ไม่สามารถจัดเข้ากับ O:H ซีโรไทป์ กับกลุ่ม ETEC, EPEC, EIEC หรือ EHEC และสามารถเกาะกับ Hep-2 และ HeLa เซลล์ในลักษณะเป็นรูปแบบ

EAggEC มีความเกี่ยวข้องกับอาการท้องร่วงเรื้อรังพบได้ทั่วโลก ในเด็ก EAggEC สามารถทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับลำไส้ มีลักษณะอาการท้องร่วงถ่ายเป็นน้ำ อาเจียนมีการเสียน้ำจากร่างกาย และในบางครั้งมีการเจ็บปวดบริเวณท้อง มีไข้และอุจจาระมีเลือดปน

การวินิจฉัย EAggEC ทางห้องปฏิบัติการ

อาการท้องร่วงที่มีความเกี่ยวข้องกับ EAggEC สามารถตรวจสอบโดยใช้วิธี liquid-culture clump aggregation test หรือการทดสอบการเกาะติดกับเซลล์ หรือการใช้ DNA probe ในการทดสอบ

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อโรคในระบวมทางเดินอาหาร

สายพันธุ์	กลไกที่ทำให้เกิดโรค	Enteric infection	อาการทางคลินิก	อายุ	ปัจจัยเสี่ยง
ETEC	heat-stable enterotoxins and heat-labile enterotoxins	diarrhea ; traveler 's diarrhea	profuse watery diarrhea, cramps, nausea, dehydration	adult, children	foreign travel
EPEC	adherence factor ; attachment to and effacement of intestinal epithelium	acute diarrhea	watery diarrhea, fever, vomiting, mucus in stool	children < 2 yr. old, adults.	age < 2 yr.
EIEC	Invasion and destruction of intestinal mucosal epithelium.	dysentery similar to <i>Shigella dysentery</i>	dysentery , scant stool (blood, mucus and leukocytes in stool) fever, cramps	adults	foreign travel
EHEC	Shiga-like toxins	diarrhea ; hemorrhagic colitis	diarrhea (no leukocytes) , abdominal cramps, blood in stool , fever, hemolytic uremic syndrome (HUS), thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) may or may not be present	children , elderly	consumption of under cooked ground beef
EAggEC	Unknown	chronic and acute diarrhea	watery diarrhea, vomiting	all ages	unknown.

Staphylococcus aureus ^(11,12)

S. aureus อยู่ในวงศ์ Micrococcaceae ติดสีแกรมบวก มักอยู่เป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น โดยปกติมักพบเชื้อมีบริเวณผิวหนัง และเชื้อมีเยื่อเมือกบริเวณลำคอใน ส่วน oropharynx และ nasopharynx เชื้อนี้เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา ที่อุณหภูมิ 37°C. pH 7.4 ทั้งในภาวะที่มีออกซิเจนและมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย โดยทั่วไปเชื้อ Staphylococci ทนทานต่อสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้ดี เช่น สามารถทนต่อความร้อนสูงถึง 60°C. ได้นาน 30 นาที และมีชีวิตอยู่ในที่เย็น(4°C.) ได้นานหลายเดือนเชื้อสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำเกลือ 7.5% ได้

การทำให้เกิดโรค

S. aureus ทำให้เกิดโรคโดยการบุกรุกแพร่กระจายเข้าไปในเนื้อเยื่อของร่างกาย และมีความสามารถสร้างสารพิษและเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เป็นอันตรายแก่ร่างกาย ดังแสดงในตารางที่ 2 เชื้อนี้ทำให้เกิดโรคในอวัยวะและเนื้อเยื่อเกือบทุกส่วนของร่างกายที่พบบ่อยที่สุดคือ การติดเชื้อที่ผิวหนัง เริ่มต้นจะมีการอักเสบเฉพาะที่ต่อมามีการคั่งของเม็ดเลือดขาว เกิดการเน่าตายของเนื้อเยื่อ กลายเป็นการอักเสบแบบมีหนอง บางครั้งเชื้อสามารถแพร่กระจายไปทางท่อน้ำเหลืองหรือทางกระแสเลือดทำให้เกิดการติดเชื้อที่อวัยวะส่วนต่าง ๆ ของร่างกายโรคที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* ได้แก่

1. การติดเชื้อที่ผิวหนัง ที่พบได้ทั่วไปได้แก่ ฝี (boil หรือ furuncles) กุ้งยิง (stye) หนองฝี และผิวหนังหลุดลอก (scald skin syndrome)
2. อาหารเป็นพิษ (Staphylococcal food poisoning) เกิดเนื่องจาก *S. aureus* สร้าง enterotoxin หากรับประทานอาหารที่มีสารพิษนี้ปนเปื้อนเข้าไป จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ภายหลังจากบริโภค 1-6 ชั่วโมง โดยมีอาการท้องร่วงรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง แต่ไม่มีไข้ อาการจะหายในประมาณ 1 วัน
3. ลำไส้อักเสบ (Staphylococcal enteritis) ตามปกติพบ *S. aureus* ในลำไส้ไม่มากนัก แต่เชื้อสามารถเพิ่มจำนวนขึ้น หากสมดุลของเชื้อเสียไป เนื่องจากการกินยาปฏิชีวนะ

การวินิจฉัยเชื้อ *S. aureus* ทางห้องปฏิบัติการ

เชื้อสามารถให้ β -hemolysis บน blood agar และเจริญบน Mannitol Salt Agar (MSA) ได้ให้โคโลนีขนาดเล็กสีเหลือง หลังจากอบที่ 37°C. นาน 24-48 ชั่วโมง ติดสี แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ให้ผลบวกต่อการทดสอบ catalase , mannitol fermentation และ coagulase

การแยกเชื้อ *S. aureus* จากอาหาร ต้องนำอาหารมาดให้ละเอียดผสมกับ buffer แล้วนำมาทำ spread plate อบที่ 37°C. นาน 48 ชั่วโมง นับโคโลนีที่เกิดขึ้น แล้วนำโคโลนีมา ย้อมสีแกรม ทดสอบ catalase ,mannitol fermentation และ coagulase

ตารางที่ 2 สารพิษที่สร้างจากเชื้อ *S. aureus*

สารพิษ	ฤทธิ์
Staphylolysin	
Alpha hemolysin	ทำลายเม็ดเลือดแดง, เพิ่ม permeability ของเยื่อหุ้มเซลล์
Beta hemolysin	มีฤทธิ์สูงกว่า alpha hemolysin พบในสัตว์
Gamma hemolysin	ทำลายเม็ดเลือดแดง เป็นพิษต่อเม็ดเลือดขาว
Delta hemolysin	มีพิษต่อเซลล์ผิวหนังและเม็ดเลือดขาว
Epsilon hemolysin	พบในเชื้อ <i>S. epidermidis</i>
Leukocidin	ทำลายเม็ดเลือดขาว
Enterotoxins	มีฤทธิ์ต่อผนังลำไส้ ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน
Exfoliative toxins	ทำลาย desmosome ที่ชั้นของผิวหนัง ทำให้ผิวหนังหลุดลอก
Coagulase	ทำให้พลาสมาแข็งตัว
Hyaluronidase	ทำให้ ground substance ของเนื้อเยื่อไม่เกาะติดกัน
Staphylokinase	ละลายการแข็งตัวของ Fibrin
Bacteriocin	ทำลายเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ
(Staphylococcin)	

Salmonella^(11,12,13)

Salmonella เป็นเชื้อแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ติดสีแกรมลบ รูปแท่ง เคลื่อนที่ได้โดยใช้ peritrichous flagella ให้ผลลบต่อการทดสอบ oxidase ส่วน catalase ให้ผลบวก สามารถ reduce nitrate ให้เป็น nitrite ได้ หมักย่อยน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลชนิดอื่น ๆ ได้แตกต่างกัน ให้ผล TSI เป็น K/AG (H₂S) หรือ K/AG ให้ผลลบต่อการทดสอบ indole, urease, lysine decarboxylase ให้ผลบวกต่อการทดสอบ malonate สามารถเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ เช่น MacConkey, eosine methylene blue agar(EMB), Salmonella-Shigella agar (SS), xylose lysine deoxycholate agar (XLD), Hektoen enteric agar (HE) โคลีนีมีขนาด 1-2 มิลลิเมตร ลักษณะกลม ขอบเรียบ ไม่มีสี (ไม่หมักย่อยน้ำตาลแลคโตส) ไม่ทึบ แต่ไม่โปร่งแสง บางสายพันธุ์โคลีนีมีลักษณะเป็นเมือกเนื่องจากเชื้อสร้างแคปซูล สามารถจำแนกเชื้อได้มากกว่า 2,000 ชนิด โดยการทดสอบ serotyping และ bacteriophage typing ในปี ค.ศ. 1997 WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella Institute Pasteur ได้มีรายงานเรื่อง Antigenic formula of the Salmonella serovar 1992 และสรุปว่า *Salmonella* มี 2 species คือ *S. enterica* มี 6 subspecies และ *S. bongori* มี 1 species อย่างไรก็ตามการจำแนกเชื้อตามการทดสอบทางชีวเคมีเป็น *S. typhi*, *S. paratyphi* A, *S. choleraesuis* และ *Salmonella* serotype อื่นๆ ยังเป็นที่นิยมทางการแพทย์

คุณสมบัติของแอนติเจน

แอนติเจนของ *Salmonella* มี 3 ชนิดใหญ่ คือ

1. แอนติเจน O เป็นสารประกอบ lipopolysaccharide (LPS) อยู่ในผนังเซลล์มีคุณสมบัติทนต่อความร้อน 100°ซ. นาน 2.5 ชั่วโมง ทนแอลกอฮอล์และกรดอ่อน ๆ ได้ดี
2. แอนติเจน H เป็นสารประกอบโปรตีนที่อยู่ใน flagella ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน 100°ซ. นาน 30 นาที
3. แอนติเจน Vi (Virulence หรือ Capsular antigen) เป็นส่วนของแคปซูลซึ่งเป็นสารประกอบ polysaccharide ถูกทำลายได้โดยความร้อน 60°ซ. นาน 1 ชั่วโมง แอนติเจน Vi อาจขัดแย้งแอนติเจน O ทำให้เชื้อไม่เกาะกลุ่มกันในแอนติซีรัม สายพันธุ์ส่วนใหญ่ของ *S. typhi* และ *S. paratyphi* C จะมีแอนติเจน Vi เชื้อที่มีแอนติเจน Vi มักทำให้เกิดอาการของโรครุนแรงกว่าเชื้อที่ไม่มี โดยแคปซูลของเซลล์จะป้องกัน phagocytosis จากเม็ดเลือดขาวและทนต่อการทำลายของสารต้านแบคทีเรียในซีรัม

Salmonella สามารถสร้างสารพิษ 2 ชนิดคือ

1. Endotoxin ทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย เช่น กระตุ้นการบีบตัวของกระเพาะอาหารและลำไส้ ทำให้เกิดการคั่งคองของเลือด การตายของเนื้อเยื่อหรือเป็นไส้ เป็นตัน
2. Enterotoxin เป็นสารพิษชนิด cytotoxic enterotoxin ทำให้เกิดอุจจาระร่วง และการตายของเนื้อเยื่อต่าง ๆ

เมื่อได้รับ *Salmonella* เข้าสู่ร่างกายจะทำให้เกิดโรคที่เรียกว่า “Salmonellosis” สามารถจำแนกโรคที่เกิดจากเชื้อนี้ได้ 3 แบบ คือ

1. Enteric fever ได้แก่ ไข้ไทฟอยด์ มีสาเหตุมาจาก *S. typhi* และโรคพาราไทฟอยด์ มีสาเหตุจาก *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B* และ *S. paratyphi C* ร่างกายอาจได้รับเชื้อโดยตรงจากผู้ป่วยหรือผู้เป็นพาหะหรือ จากอาหารและน้ำ ระยะฟักตัวของ *S. typhi* 7-14 วัน ผู้ป่วยมีอาการไข้ หนาวสั่น อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ ปวดหลัง อุจจาระร่วงและมีกลิ่นเหม็นมาก มีไข้สูงประมาณ 39-40 °ซ สำหรับรายที่เจ็บป่วยแต่ไม่ได้รับการรักษาจนถึงระยะสัปดาห์ที่ 2-3 นั้น จะเกิดจุดสีแดงตามผิวหนัง เนื่องจากมีเชื้อจำนวนมากในเส้นเลือดฝอย ผู้ป่วยอาจมีอาการสมองเลอะเลือนและไม่รู้สึกตัว คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง เจ็บคออย่างรุนแรง ร่างกายอ่อนเพลียมากชีพจรเต้นเร็ว มีเลือดออกจากลำไส้หรือลำไส้ทะลุ อุจจาระมีมูก ในกรณีของโรคพาราไทฟอยด์จะมีอาการรุนแรงน้อยกว่า

2. Septicemia เกิดจาก *Salmonella* ได้หลาย serotype โดยเฉพาะ *S. choleraesuis* จะพบเชื้อจำนวนมากในกระแสโลหิตและแพร่ไปสู่อวัยวะต่าง ๆ เช่น ไต ตับ ม้าม หัวใจ สมอง และปอด จะทำให้เกิดฝีหนองที่อวัยวะเหล่านี้ รวมทั้งทำให้เกิดการอักเสบของเยื่อหุ้มสมอง หัวใจ และปอด เป็นต้น สำหรับอาการที่เกิดขึ้น ได้แก่ ครั่นเนื้อครั่นตัวหรือหนาวสั่น เบื่ออาหาร และน้ำหนักตัวลดลง

3. Gastroenteritis หมายถึง โรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบหรือภาวะอาหารเป็นพิษ ส่วนมากเกิดจาก *S. newport*, *S. anatum* และ *S. worthington* สำหรับในสหรัฐอเมริกาเกิดจาก *S. typhimurium* เชื้อมีระยะฟักตัว 8-48 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะอาการ ไข้ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง อุจจาระร่วง และเป็นตะคริว

การติดต่อ

Salmonellosis พบในเด็ก และผู้สูงอายุเป็นส่วนมาก มักพบในแหล่งที่มีการสุขาภิบาลไม่ดี พบได้ในกลุ่มคนที่มีภาวะเศรษฐกิจและสังคมต่ำ การติดต่อของโรคอาจเกิดขึ้นได้ 2 กรณี คือ

1. การติดต่อโดยตรง (direct contact) เป็นการติดต่อโดยการสัมผัสโดยตรง อาจแยกเป็นการติดต่อจากสัตว์ไปสู่คน ในสัตว์มีเลี้ยงต่าง ๆ เช่น สุนัข แมว กระจง โค กระบือ แพะ แกะ และสัตว์ปีกทั้งหลาย ที่เป็นพาหะของเชื้อ เชื้อที่พบส่วนมากเป็น *S. typhimurium* และ *S. enteritidis* และติดต่อจากคน ไปสู่คน เช่น ผู้ปรุงอาหารที่เป็นพาหะอาจทำให้เชื้อติดต่อไปสู่ผู้บริโภคได้

2. การติดต่อโดยทางอ้อม (indirect transmission) การติดต่อชนิดนี้ได้แก่ การมีเชื้อปนเปื้อนในอาหาร กรณีนี้อาหารไม่เพียงทำหน้าที่เป็นเพียงพาหะนำเชื้อ ไปสู่คนเท่านั้นยังเป็นแหล่งที่ทำให้เชื้อเพาะพันธุ์และแบ่งตัวเพิ่มขึ้นอีกด้วย ซึ่งการปนเปื้อนนี้มาจากวัตถุดิบที่ใช้ในการปรุงอาหารเช่น เนื้อสัตว์ ไข่ และผลิตภัณฑ์ของไข่ มีรายงานการระบาดของโรค Salmonellosis จากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเสมอ นอกจากอาหารที่กล่าวมาแล้ว นม ผลิตภัณฑ์นม ตลอดจนพืช ผัก และน้ำ พบว่าเป็นพาหะของเชื้อนี้ได้ทั้งสิ้น

การวินิจฉัยเชื้อ *Salmonella* ทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจจากอุจจาระมักใช้ Selenite F broth ช่วยแยกเชื้อ โดยใช้ไม้พันสำลีที่มีอุจจาระจุ่มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวอบที่ 37°ซ. นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วจึงทำการ subculture ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็น selective media เช่น XLD agar หรือ SS อบที่ 37°ซ. นาน 18-24 ชั่วโมง หรือใช้ Modified semi-solid Rappaport Vassiliadis (MSRV) อบที่ 42°ซ. แล้วจึงนำโคโลนีมาทดสอบชีวเคมี และนำเชื้อมาทดสอบกับ *Salmonella* polyvalent A-I และ Vi antiserum และทำการแยก serotype ต่อไป

ในการแยกเชื้อจากอาหารให้นำอาหารมาซังแล้วบดให้ละเอียดใส่ลงใน nutrient broth อบที่ 37°ซ. 18-24 ชั่วโมง ก่อนที่จะถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็น selective media ต่อไป

Vibrio parahaemolyticus ^(11,12)

V. parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียรูปแท่งสั้นหรือท่อนโค้ง (curve rod) มีความยาว 1-3 ไมโครเมตร กว้าง 0.4-0.6 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยใช้ polar flagella เจริญได้ดีในที่ที่มี 3 % NaCl อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37.5°ซ. pH 7.5-8.5 เจริญได้ทั้งในที่ที่มีและไม่มีออกซิเจน พบแพร่ระบาดทั่วไปตามชายฝั่งทะเล โดยมีอาหารทะเลและผลิตภัณฑ์จากทะเลเป็นพาหะสำคัญ เนื่องจากเชื้อนี้แพร่ระบาดไปกับอาหารจึงก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ และเป็นสาเหตุสำคัญของโรคในระบบทางเดินอาหารที่พบจากอุจจาระผู้ป่วยมากถึงร้อยละ 37 จึงนับได้ว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ก่อให้เกิดปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุข

V. parahaemolyticus สร้างสารพิษที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย 3 ชนิดคือ

1. Hemolysin ที่พบมี 4 ชนิด สองชนิดแรกยึดเกาะกับเซลล์และมีเอนไซม์ phospholipase A และ lysophospholipase ชนิดที่สามไม่ทนความร้อน ส่วนชนิดที่สี่ทนความร้อนได้ดีเรียกว่า Kanagawa hemolysin ทำลายเม็ดเลือดแดงของมนุษย์และกระต่าย สารพิษนี้จะทำอันตรายต่อกล้ามเนื้อหัวใจและเนื้อเยื่อในระบบทางเดินอาหาร

2. Enterotoxin สารพิษนี้จะทำให้เกิดการระคายเคืองของช่องท้องที่ ileal loop ของลำไส้ และรอบ ๆ เซลล์รังไข่

3. Endotoxin สารพิษนี้ยังไม่ทราบบทบาทที่แน่ชัดว่าเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหรือไม่ การทำให้เกิดโรค

V. parahaemolyticus เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ เมื่อรับประทานอาหารที่มีเชื้อเข้าสู่ร่างกาย เชื้อจะใช้เวลาฟักตัวนาน 15-24 ชั่วโมง ก่อนที่จะเริ่มปรากฏอาการ โดยทั่วไปผู้ป่วยจะมีอาการท้องร่วง ถ่ายอุจจาระบ่อยครั้ง แต่ไม่มีมูกหรือเลือดปนเปื้อนออกมา คลื่นไส้ ปวดหัวเป็นไข้ มีการอักเสบของกระเพาะอาหารและลำไส้ อาการจะปรากฏอยู่ประมาณ 72 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 10 วัน มักจะหายได้เอง

นอกจากอาการ gastroenteritis แล้ว *V. parahaemolyticus* ยังทำให้เกิดการอักเสบที่อื่น ๆ ได้ โดยเฉพาะที่ผิวหนังในคนที่เกี่ยวข้องกับทะเลและอาหารทะเล โดยการติดเชื้อที่บาดแผลหรืออุกของมีคม แล้วเชื้อลามเข้าไปในร่างกาย ถ้ารุนแรงเป็น septicemia ได้เช่นกัน

การวินิจฉัยเชื้อ *V. parahaemolyticus* ทางห้องปฏิบัติการ

เนื่องจาก *V. parahaemolyticus* เป็น halophilic bacteria ดังนั้นอาหารที่ใช้ทดสอบ คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อจึงต้องเติม 1% NaCl ลงไปด้วยเสมอ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร Thiosulfate citrate bile salt sucrose (TCBS) โคโลนิของเชื้อจะกลมแบนราบ มีสีเขียว เนื่องจากไม่หมักซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ฟูโรส ปฏิกิริยาบน Triple sugar iron agar (TSI) เป็น alkaline/acid (K/A) ไม่สร้างแก๊ส ให้ผลบวกต่อการทดสอบ oxidase เชื้อเจริญที่ 3, 6 และ 8% NaCl แต่ไม่เจริญที่ 0 และ 10% NaCl

