บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประวัติ

1. โรคเลปโตสไปโรซิส (Leptospirosis)

1.1 เชื้อก่อโรค

โรคเลปโตสไปโรซิสเป็นกลุ่มอาการของโรค เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่ติดต่อมาจากสัตว์หลายชนิดขึ้นกับชนิดของเชื้อ (serovars) และปริมาณเชื้อที่ได้รับ การติดเชื้อมีได้ตั้งแต่ไม่ปรากฏอาการ มีอาการอย่างอ่อน อาการรุนแรงหรือถึงขั้นเสียชีวิต คนที่ติดเชื้อในพื้นที่ที่โรคนี้เป็นโรคประจำถิ่น ส่วนใหญ่มักไม่แสดงอาการหรือแสดงอาการอย่างอ่อน เชื้อที่ก่อให้เกิดโรคนี้คือ *Leptospira* เป็นแบคทีเรียชนิดสไปโรขีต (spirochete) มีลักษณะเป็นเกลียวบาง ขนาดกว้างประมาณ 0.1 μm ยาว 6-20 μm เคลื่อนไหวได้อย่างรวดเร็วโดยการหมุน (spinning) หรือการโค้งงอ (bending) โดยมากปลายทั้งสองข้างหรือข้างใดข้างหนึ่งจะโค้งหรืองอเป็นขอ แต่อาจพบเชื้อที่เป็นเส้นตรง ซึ่งมักจะหมุนและเคลื่อนที่ได้ช้ากว่า เชื้อ *Leptospira* มีเยื่อหุ้ม (membrane) 3-5 ชั้น เป็นเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) ภายในเซลล์เป็น protoplasmic cylinder ซึ่งประกอบด้วย ชั้น peptidiglycan และ cytoplasmic membrane ซึ่งห่อหุ้ม cytoplasm ของเซลล์ ปลายเซลล์ทั้งสองข้างจะมี flagella ข้างละ 1 เส้น cytoplasm ประกอบด้วยนิวเคลียส ไรโบโซม (ribosome) มีโซโซม (mesosome) และอินคลูชันบอดีส์ (inclusion bodies) ไม่พบว่าเชื้อ *Leptospira* มี endotoxin เชื้อ *Leptospira* ที่อยู่อย่างอิสระ (*L. biflexa*) และเชื้อ *Leptospira* ที่ก่อโรค (*L. interrogans*) มีรูปร่างลักษณะที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างออกจากกันได้ เชื้อนี้หากนำมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดพื้นมืด (dark field microscope) จะเห็นเป็นเส้นเล็กๆ เคลื่อนไหวรวดเร็วแต่อาจสับสนกับสิ่งปลอมปนอื่นๆ (artifact) ได้ การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (electron microscope) จะเห็นเชื้อเป็นเส้นเกลียวชัดเจน เชื้อ *Leptospira* สามารถอาศัยในสิ่งแวดล้อม ดิน โคลน แอ่งน้ำ ร่องน้ำ น้ำตก แม่น้ำลำคลองได้นานเป็นเดือน ถ้าปัจจัยแวดล้อมเหมาะสม กล่าวคือ มีความชื้นพอ เป็นบริเวณที่มีร่มเงา แสงแดดส่องไม่ถึง ความเป็นกรด-ด่างปานกลางหรือค่อนข้างเป็นด่าง (pH 7.2-8.0) อุณหภูมิประมาณ 28-32 องศาเซลเซียส จะเหมาะการอยู่รอดของเชื้อ แต่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสขึ้นไปสามารถฆ่าเชื้อได้ และที่อุณหภูมิ 57 องศาเซลเซียส เชื้อจะตายภายใน 2-3 นาที

แสงแดด (UV) และความแห้งแล้ง จะทำลายเชื้อได้รวดเร็ว ในพื้นดินที่แห้งเชื้อจะตายในเวลาไม่กี่ชั่วโมง

1.2 การจัดแบ่งกลุ่มเชื้อ

เชื้อ *Leptospira* อยู่ใน class : Schizomycetes, order Spirochaetales, Family : Spirochaetaceae, Genus : *Leptospira* แบ่งออกเป็น 2 species ได้แก่ เชื้อที่อิสระในสภาพแวดล้อม (free living saprophyte) คือ *L. biflexa* ที่พบได้ในน้ำจืดหรืออาจพบได้ในน้ำทะเล เป็นเชื้อที่ไม่ก่อให้เกิดโรคในคนและในสัตว์อื่นๆส่วนเชื้อที่ก่อโรค (Pathogenic) คือ *L. interrogans* ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อจะแบ่งกลุ่มเชื้อโดยอาศัยความสัมพันธ์ของ DNA สำหรับการแยกโดยวิธีซีโรโลยีแบ่งเชื้อได้เป็น 23 กลุ่ม (Serogroup) และแบ่งย่อยออกได้มากกว่า 200 ซีโรวาร์ (Serovar) ในประเทศไทย ผลการสำรวจทางซีโรโลยี ในคน หมู โค กระบือ สุกรและแมว และรายงานในผู้ป่วย ตั้งแต่ต้นจนถึงปี 2540 มีรายงานการพบเชื้อรวม 12 Serogroup (20 Serovar) คือ *Australis* (*L. australis, L.bangkok, L. ballico, L. lora*) *Autumnalis (L. autumanlis, L. rachmati, L. forbrage) Batislava , Canicola, Grippotyphosa, Hebdomadis, Tarassori, lcterohaemorrhagiae, Javanica, Pomona, Pyrogenase (L. pyrogenase, L. saxkoebing) และ Hebdomadis (L. wolffi)* ในช่วงหลังๆจนถึงปี 2540 มีการเฝ้าระวังเฉพาะเชื้อที่พบบ่อย คือ *L. akiyami A, L. L.ballico, L. batislava, L. canicola, L. grippotyphosa, L. hebdomadis, L. hyos, L. javanica*, *L. icterohaemorrhagiae, L. pomona, L. pyrogenese และ L. wolffi*

1.3 ระบาดวิทยา

การเกิดโรคพบได้ทั่วโลก (ยกเว้นขั้วโลก) ทั้งในเขตเมืองและชนบท ทั้งในประเทศที่พัฒนาแล้วและประเทศที่กำลังพัฒนา เนื่องจากโรคนี้เป็นโรคที่มีสัตว์หลายชนิดทั้งสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่าเป็นแหล่งรังโรคที่ปล่อยเชื้อออกมากับปัสสาวะ และคนอาจติดโรคโดยสัมผัสโดยตรงกับปัสสาวะสัตว์ หรือโดยทางอ้อมจากการสัมผัสน้ำหรือดินทรายที่ปนเปื้อนเชื้อ

1.4 กลุ่มเสี่ยง

ผู้ที่เสี่ยงต่อการเป็นโรคเลปโตสไปโรซิสได้แก่ กลุ่มอาชีพเกษตรกร เช่น ชาวไร่ ชาวนา คนงานในฟาร์มสัตว์ คนจับหนูขาย ในกลุ่มนี้มีรายงานการติดโรคในชาวนามากที่สุด ซึ่งสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการสัมผัสเชื้อ จากการต้องแช่น้ำ ย่ำโคลนอยู่เป็นเวลานาน ปัจจัยสิ่งแวดล้อมและพฤติกรรมที่สัมพันธ์กับการเกิดโรค ปัจจัยหลัก ได้แก่ ปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิ โดยในเขตร้อนชื้นโรคนี้มักพบมากช่วงปลายฤดูฝนต่อฤดูหนาว ในเขตหนาวมักจะพบโรคมากในฤดูที่มีอากาศอบอุ่น ในเขตร้อนชื้นการเกิดโรคมักจะเกิดขึ้นได้ตลอดปี และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีฝนตก ซึ่งเชื้อ

จะออกมาปนเปื้อนสิ่งแวดล้อมมากขึ้น นอกจากนี้พฤติกรรมและปัจจัยเสี่ยงจะมีมากกว่าเขตหนาว เช่น การเดินเท้าเปล่า การใส่รองเท้าแตะซึ่งไม่ช่วยป้องกันการสัมผัสน้ำได้ทั้งหมด การมีกิจกรรมนอกบ้านได้ตลอดปี โดยเฉพาะการว่ายน้ำในคูคลอง การที่มีจำนวนหนูและสุนัขจรจัดจำนวนมาก และการที่ใช้กระบือในการไถนา เป็นต้น

1.5 แหล่งรังโรค

มีทั้งสัตว์ป่าและสัตว์เลี้ยงหลายชนิดเป็นรังโรค ซึ่งเชื้อแต่ละชนิด (Serovar) มักมีสัตว์ที่เป็นรังโรคหลักเช่น หนู (*L. lcterohaemorrhagiae* และ *L. copenhageni*) สุกร *(L. pomona)* โค กระบือ *(L. hardjo)* สุนัข *(L. canicola)* สุกรมักเป็นแหล่งรังโรคของ *L. batislava* ในอเมริกา ส่วนในยุโรปสุกรเป็นรังโรคของ *L. badgers* สัตว์ที่เป็นแหล่งรังโรค (reservoir) อาจไม่แสดงอาการ แต่มีการติดเชื้อที่ไต (renal tube) และสามารถปล่อยเชื้อออกมากับปัสสาวะ *(leptospiruria)* ได้เป็นเวลานานหลายสัปดาห์ หลายเดือนหรืออาจนานตลอดชีวิตของมัน ทำให้การแพร่ติดต่อของเชื้อในฝูงสัตว์ จากการเลียกินปัสสาวะ การผสมพันธุ์ การสัมผัสปัสสาวะในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การถ่ายทอดเชื้อจากแม่ไปยังลูกสัตว์ผ่านทางรกหรือขณะคลอดก็อาจเกิดขึ้นได้ด้วย การศึกษาโดยนายแพทย์บุญธรรม สุนทรเกียรติ และคณะ ปี 2508 ในกรุงเทพฯ ธนบุรี เชียงใหม่ และพิษณุโลก แสดงว่าหนู (หนูท่อ หนูนาและหนูบ้าน) เป็นแหล่งรังโรคสำคัญ รองมาคือ สุนัข พบอัตราความชุกในฤดูฝนมากกว่าฤดูอื่นๆ

1.6 การติดต่อของโรคมาสู่คน

เชื้อจะถูกปล่อยออกมากับปัสสาวะของสัตว์ที่ติดเชื้อและปนเปื้อนอยู่ในน้ำ ดินทรายเปียกชื้น หรือพืช ผัก เชื้อสามารถไชเข้าสู่ร่างกายทางผิวหนังตามรอยแผลและรอยขีดข่วน เยื่อบุช่องปาก ตา จมูก นอกจากนี้ยังสามารถไชเข้าทางผิวหนังปกติที่เปียกชุ่มเนื่องจากแช่น้ำอยู่นาน คนมักติดเชื้อโดยอ้อมขณะย่ำดินโคลน แช่น้ำท่วมหรือว่ายน้ำ หรืออาจติดโรคโดยตรงจากการสัมผัสเชื้อในปัสสาวะสัตว์หรือเนื้อสัตว์ที่ปนเปื้อนเชื้อ เชื้ออาจเข้าร่างกายโดยการกินอาหารหรือน้ำ หรือการหายใจเอาละอองนิวเคลียสจากของเหลวที่ปนเปื้อนเชื้อเข้าไปแต่พบได้น้อย ส่วนการติดจากคนถึงคน มีรายงานการติดต่อจากปัสสาวะผู้ป่วยเพียงอย่างเดียว แม้ว่าจะพบเชื้อในปัสสาวะของผู้ป่วยได้นาน 1-11 เดือนก็ตาม แต่การติดต่อจากแม่ไปทางรกทำให้ทารกตายในครรภ์นั้นมีรายงาน 2 ราย โดย Lindary S. (1949) และ Faine S. (1984) (Faine, S. 1984) นอกจากนั้นยังมีรายงานเด็กที่คลอดออกมา มีอาการเหมือนในผู้ใหญ่และการรักษาได้ผลดี เมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกายแล้ว จะเข้าสู่กระแสเลือดภายใน 24 ชั่วโมง แล้วจะเพิ่มจำนวนได้สูงสุดภายใน 2-4 วัน (เป็นช่วงที่มีไข้สูง) แล้วกระจายไปตามอวัยวะต่างๆ เช่น ลำไส้ เยื่อหุ้มสมอง ปอด หัวใจ โดยมักไปที่ ตับ ไต ทำให้เกิดการอักเสบและเนื้อตายตามอวัยวะเหล่านั้น ในอาการรุนแรงอาจพบภาวะเลือดออกที่ลำไส้ ปอด ตับวาย ไตวาย

ถึงขั้นเสียชีวิตได้ ในระยะ 1-2 สัปดาห์หลังป่วย ร่างกายจะเริ่มสร้างภูมิต้านทานโรค ทำให้เชื้อถูกกำจัดออกไป แต่เชื้อส่วนหนึ่งจะหลบเข้าไปอยู่ในไตและเพิ่มจำนวนมากขึ้น แล้วถูกขับออกมากับปัสสาวะเป็นครั้งคราวหรือต่อเนื่องกัน ซึ่งจำนวนและระยะเวลาที่เชื้อถูกขับออกมากน้อยเท่าใด จะสัมพันธ์กับชนิดสัตว์และชนิดของเชื้อ (serovars) ปริมาณเชื้อที่ถูกขับออกมาอาจมากถึง 100 ล้านตัวต่อปัสสาวะ 1 มิลลิลิตร

1.7 อาการและอาการแสดง

อาการในคนอาจแตกต่างกันออกไปขึ้นกับชนิดและปริมาณของเชื้อ อาการที่พบบ่อยได้แก่ ไข้เฉียบพลัน ปวดศีรษะรุนแรง หนาวสั่น ปวดกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง (มักปวดที่น่อง โคนขา กล้ามเนื้อหลังและท้อง) ตาแดง อาจมีไข้ติดต่อกันหลายวันสลับกับระยะไข้ลด (biphasic) และมีเยื่อหุ้มสมองอักเสบ มีผื่นขึ้นที่เพดานปาก โลหิตจาง มีจุดเลือดออกตามผิวหนังและเยื่อบุ ตับและไตวาย ดีซ่าน อาจมีเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ทำให้ความรู้สึกสับสน เพ้อ ซึม กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ อาจมีอาการทางระบบทางเดินหายใจ ไอมีเสมหะ อาจมีเลือดปน (hemoptysis) และเจ็บหน้าอก แม้อาการของโรคจะค่อนข้างหลากหลาย โดยอาจมีอาการเด่นของอวัยวะใดอวัยวะหนึ่งที่ถูกทำลายไป ไม่ว่าจะเป็นไต ตับ ระบบหายใจหรือระบบไหลเวียนโลหิต แต่จากการรายงานที่มีอยู่ในประเทศไทย อาการที่พบได้บ่อยมากที่สุดคือ ไข้สูง (ร้อยละ 88.8-100) ปวดศีรษะ (ร้อยละ 66-100) ปวดกล้ามเนื้อ (ร้อยละ 76-100) และตาแดง (ร้อยละ 74-100) สำหรับอาการตัวเหลืองพบน้อยกว่าคือ ร้อยละ 37-70 อาการอื่นๆได้แก่ ผื่น จุดเลือดออกตามผิวหนัง ไอเป็นเลือด ตับโต ม้ามโต เป็นต้น ความรุนแรงของโรคจะขึ้นกับชนิดและปริมาณของเชื้อ เช่น เชื้อชนิด *L. icterohaemorrhagiae* และ *L. bataviae* มักจะก่ออาการรุนแรง (ดีซ่าน เลือดออกและไตวาย) อัตราป่วยตายโดยเฉลี่ยต่ำ แต่จะเพิ่มขึ้นในคนไข้สูงอายุ และอาจสูงถึงร้อยละ 20 หรือมากกว่าในคนที่เป็นดีซ่านและไตถูกทำลายแต่ไม่ได้รับการรักษาที่รวดเร็วและเพียงพอ ซึ่งรวมถึงการล้างไต (renal dialysis) ด้วย สาเหตุการตายมักมาจากตับและไตวาย ในปัจจุบันพบว่า การที่มีเลือดออกมาก และกลุ่มอาการทางเดินลมหายใจล้มเหลวเป็นสาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตเร็ว สาเหตุการตายอาจมาจากการเต้นของหัวใจผิดปกติเนื่องจากกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบก็ได้

1.7.1 อาการทางคลินิกของโรคอาจแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆได้ 2 กลุ่มได้แก่

- กลุ่มที่ไม่มีอาการเหลือง (อาการไม่รุนแรง) อาการที่พบในกลุ่มอาการไม่รุนแรงได้แก่ ไข้เฉียบพลัน (ไข้สูง 38-40 องศาเซลเซียส อาจมีหนาวสั่นร่วมด้วย) เยื่อบุตาบวมแดง (conjunctival suffusion) ปวดศีรษะและปวดกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง (โดยเฉพาะที่น่อง กล้ามเนื้อหลัง มีอาการกดเจ็บกล้ามเนื้อบริเวณดังกล่าวร่วมด้วย) อาจมีคลื่นไส้ อาเจียน อาการพบตั้งแต่หนึ่งวันถึงหลายวัน ลักษณะของไข้มีลักษณะเป็น biphasic (ระยะมีไข้สลับกับระยะไข้ลดและระยะกลับมีไข้

อีกครั้ง) ระยะแรกเป็นระยะที่มีเชื้อในกระแสเลือดและน้ำไขสันหลัง (septicemic stage) ระยะนี้มีไข้สูงประมาณ 4-7 วัน ตามด้วยระยะไม่มีไข้ไม่มีอาการ 1-3 วัน หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะที่สอง (immune stage) ระยะนี้เป็นช่วงสั้น ประกอบด้วย ไข้ขึ้นอีกครั้ง (recurrence of fever) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) และมีเชื้อออกมาในปัสสาวะ (leptospiruria) อย่างไรก็ตามลักษณะของไข้ที่เป็น biphasic ไม่ได้พบในผู้ป่วยทุกราย

- กลุ่มที่มีอาการเหลือง (อาการรุนแรง) อาการทางคลินิกในกลุ่มที่มีอาการรุนแรงไม่พบลักษณะไข้แบบ biphasic กลุ่มนี้อาการในระยะแรก (septic illness) จะไม่หายไป ความรุนแรงจะเพิ่มขึ้นโดยพบมีอาการเหลืองและไตวาย อาการทางคลินิกประกอบด้วย อาการที่พบในกลุ่มอาการที่ไม่รุนแรงร่วมกับอาการที่เกิดจากพยาธิสภาพในอวัยวะต่างๆ ได้แก่มีผื่นที่เพดานปาก (palatal exanthem) มีจุดเลือดออกตามผิวหนังและเยื่อบุ ตับและไตวาย ดีซ่าน เยื่อหุ้มสมองอักเสบ กล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ อาจมีอาการทางระบบทางเดินหายใจ โดยมีหรือไม่มีอาการไอเป็นเลือด (hemoptysis) กลุ่มที่มีอาการรุนแรงพบไม่ถึงร้อยละ 10 ของผู้ป่วยทั้งหมด กลุ่มนี้อาการเหลืองจะเกิดขึ้นในระหว่างวันที่ 4-6 ของโรค ปัสสาวะเกิดน้อยในสัปดาห์ที่ 2 ของโรคแต่อาจพบได้ตั้งแต่วันที่ 4 ของโรค ผู้ป่วยอาจเสียชีวิตในระยะนี้หรือในต้นสัปดาห์ที่สามจากภาวะไตวาย ภาวะเลือดออกอย่างรุนแรงเป็นสาเหตุการตายจากโรคได้ การเสียชีวิตเนื่องจากตับวายพบน้อย อัตราป่วยตายในกลุ่มที่มีอาการรุนแรงและไม่ได้รับการรักษาพบร้อยละ 15-40

ผู้ป่วยในกลุ่มอาการที่ไม่รุนแรงมีสัดส่วนมากกว่ากลุ่มที่มีอาการรุนแรงถึง 9 เท่า อย่างไรก็ดีจำนวนผู้ป่วยกลุ่มที่มีอาการรุนแรงจะมีจำนวนมากหรือน้อยขึ้นกับความรวดเร็วในการวินิจฉัยและการรักษาของแพทย์ในผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรง

1.7.2 อาการแสดง (signs) ที่สำคัญทางคลินิก ได้แก่

ภาวะเยื่อบุตาบวมแดง (conjunctival suffusion) เกิดขึ้นในตาทั้งสองข้าง ภายใน 3 วันแรกของโรคและอยู่ได้นาน 1 วันถึง 1 สัปดาห์อาจพบร่วมกับเลือดออกที่ตาขาว (conjunctival hemorrhages) ข้างเดียวหรือสองข้างก็ได้แต่ไม่ใช่ตาแดงที่เกิดจากการอักเสบหรือเป็นหนอง

กดเจ็บกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง โดยเฉพาะที่น่อง

มีเลือดออกแบบต่างๆ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงและมีอาการเหลือง เช่น จุดเลือดออกตามผิวหนัง (petechiae), ผื่นเลือดออก (purpuric spots), เลือดออกในเยื่อบุตา (conjunctival hemorrhages) หรือเสมหะเป็นเลือด บางครั้งอาจพบเพียงผื่นเลือดออก 2-3 แห่งที่หน้าอก ท้องหรือแขน เชื่อว่าเกิดจากเส้นเลือดฝอยเปราะ ซึ่งสามารถตรวจพบได้โดย tourniquet for capillary fragility (Hess) test แต่การตรวจ bleeding time, clotting time, prothrombin time มักจะอยู่

ในเกณฑ์ปกติ อย่างไรก็ตามในรายที่มีอาการรุนแรง (classical Wiel's disease) พบว่าค่า prothrombin time ผิดปกติได้

ผื่นอาจพบได้หลายแบบ เช่น ผื่นแดงราบ (erythematous), ผื่นแดง (macular), ผื่นและตุ่มแดง (maculopapular), ผื่นลมพิษ (urticaria) ซึ่งผื่นเหล่านี้อาจจะพบเฉพาะที่หรือเป็นได้ทั้งตัว ผื่นมักจะเป็นแบบชั่วคราวและบางรายอาจจะพบมากกว่าหนึ่งสัปดาห์ได้

อาการเหลือง มักจะไม่ก่อให้เกิดปัญหาในการตรวจทางคลินิก ถ้ามีอาการเหลืองเล็กน้อยๆ อาจจะต้องตรวจในที่มีแสงสว่างเพียงพอ อาการเหลืองจะเกิดระหว่างวันที่ 4-6 ของโรค แต่ก็อาจจะเร็วได้ตั้งแต่วันที่ 2

1.8 การวินิจฉัยโรค

1.8.1 การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

กรณีที่ผู้ป่วยมีอาการอย่างอ่อนการใช้การทดสอบทางห้องปฏิบัติการมาช่วยในการวินิจฉัยจะเป็นประโยชน์ต่อการดูแลรักษาผู้ป่วยและการพยากรณ์โรค และหากสามารถบอกชนิดของเชื้อ (serovars หรืออย่างน้อย serogroup) ได้ ก็จะช่วยในการป้องกันควบคุมโรคในชุมชนได้อีกด้วย

การตรวจหาแบคทีเรีย : อาจตรวจหาเชื้อเลปโตสไปราที่ยังมีชีวิต โดยเก็บตัวอย่างเลือด (ภายใน 7 วัน) ถ้าเป็นตัวอย่างปัสสาวะหรือน้ำไขสันหลัง ควรเก็บในช่วงที่ป่วยได้ 10 วันเป็นต้นไป (การเก็บตัวอย่างปัสสาวะต้องให้ผู้ป่วยกิน $NaHCO_3$ 30 มล. ก่อนนอนและหลังตื่นนอน เช้าวันรุ่งขึ้นจึงเก็บปัสสาวะ) เชื้อจะออกมากับปัสสาวะเป็นช่วงๆหรือติดต่อกัน ถ้าส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พื้นมืด (dark field microscope) จะเห็นเชื้อเป็นเส้นเล็กๆเคลื่อนที่เร็ว แต่วิธีนี้การอ่านผลอาจสับสนกับสิ่งแปลกปลอม (artifact) ที่ปะปนอยู่ การตรวจไม่พบเชื้อโดยวิธีนี้ จะไม่ถือเป็นการยืนยันการวินิจฉัย

การเพาะแยกเชื้อ : โดยการเลือกเก็บตัวอย่างให้เหมาะสมตามระยะเวลา เช่น เลือด (ภายใน 7 วันหลังป่วย) หรือน้ำไขสันหลัง (4-10 วันหลังป่วย) ถ้าเป็นปัสสาวะควรทำหลังเริ่มป่วย 10 วันเป็นต้นไป การเพาะแยกเชื้ออาจทำในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น EMJH หรือในสัตว์ทดลอง เช่น หนูตะเภา หนูแฮมเตอร์ (กระทรวงสาธารณสุข. 2544)

การตรวจทางซีโรโลยี : การตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อสกุลของเชื้อ *Leptospira* (genus specific) จะใช้แอนติเจนที่เตรียมจากเชื้อเพียงซีโรวาร์เดียว หรือจากเชื้อ *L. biflexa* โดยวิธี indirect hemagglutination (IHA), indirect immunofluorescsnt antibody (IFA), macroscopic slide agglutination (MSAT), latex agglutination, ELISA การตรวจหาแอนติบอดีที่

จำเพาะต่อสกุลของเชื้อ *Leptospira* เป็นวิธีในการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสในเบื้องต้นมีความไวในการทดสอบร้อยละ 20-65 สำหรับการวินิจฉัยโรคในสัปดาห์แรกและร้อยละ 70-87 ในสัปดาห์ที่สอง มีความจำเพาะมากกว่าร้อยละ 90

- **Microscopic agglutination test (MAT)**

วิธี MAT คิดค้นโดย Galton และคณะ ในปี ค.ศ. 1958 วิธีนี้ต้องใช้แอนติเจนของเชื้อ *L. interrogans* ที่ยังมีชีวิตทั้ง 24 ซีโรวาร์(สุกัญญา กัณทะชัยวรรณ. 2552) โดยการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อซีโรกรุปหรือซีโรวาร์ของเชื้อ *Leptospira* (serogroup specific) โดยวิธี microscopic agglutination test (MAT) เป็นวิธีการที่องค์การอนามัยโลก (WHO) ถือว่าเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ในการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิส ที่มีความจำเพาะต่อซีโรกรุปของเชื้อ โดยการนำซีรัมของผู้ป่วยที่เจือจางแล้วมาทำปฏิกิริยากับแอนติเจนของเชื้อซีโรวาร์มาตรฐานทั้ง 24 ซีโรวาร์ ที่เป็นตัวแทนของซีโรกรุปต่างๆ (antigen pools) หลังจากทำปฏิกิริยาแล้วจะนำมาตรวจสอบปฏิกิริยาเกาะกลุ่มเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์พื้นมืด ผลบวกพบการเกาะกลุ่มของเชื้อมากกว่าร้อยละ 50 ลักษณะการเกาะกลุ่มเป็น lysis ball, star (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต. 2551)

- **Indirect hemagglutination (IHA)**

หลักการนี้จะนำแอนติเจนของเชื้อเลปโตสไปราเคลือบบนเม็ดเลือดแดงคนหมู่เลือด “O” แล้วทำปฏิกิริยากับซีรัมของผู้ป่วย เกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (Hemagglutination) ในปี ค.ศ. 1998 Levett PN และคณะได้นำวิธี IHA ไปประเมินผลกับผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิสระยะเริ่มต้น พบว่ามีความไว ความจำเพาะเป็นร้อยละ 100, 94 ตามลำดับ โดยที่คณะผู้วิจัยพบว่าวิธี IHA และ ELISA ให้ผลที่สอดคล้องกัน (Levet PN. 1998)

- **Macroscopic slide agglutination (MSAT)**

หลักการนี้จะใช้แอนติเจนความเข้มข้นสูง ทำให้เชื้อตายด้วยความร้อนหรือฟอร์มาลิน (Heat or formalin killed concentrate) ผสมกับซีรัมทดสอบบนสไลด์ในปริมาณที่เท่าๆกัน ซีรัมที่ให้ผลบวกจะทำปฏิกิริยา Agglutination กับแอนติเจนบนสไลด์สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า วิธีนี้มีความจำเพาะต่ำกว่าวิธี MAT และมักเกิดผลบวกปลอมได้ง่าย ถ้าหากขาดการควบคุมคุณภาพในการเตรียมแอนติเจน แต่เป็นวิธีที่เตรียมได้ง่าย ขั้นตอนสะดวก ไม่ยุ่งยาก รวดเร็ว และให้ผลบวกกับการตรวจในระยะเริ่มแรกของโรคได้ดี (กรมควบคุมโรค. 2544)

- **Indirect immunofluorescence assay (IFA)**

หลักการนี้ แอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปราในซีรัมของผู้ป่วยจะทำปฏิกิริยากับแอนติเจนของเชื้อ ตรวจวัดปฏิกิริยาของสารเรืองแสง Fluorescein labeled anti-human

IgM หรือ IgG โดยดูการเรืองแสงด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์และจากการศึกษาของแสงดาวและคณะ โดยเปรียบเทียบวิธี IFA แบบ total Ig กับ IgM พบว่า IgM-IFA จะมีความไวและความจำเพาะสูงกว่า total Ig-IFA และสามารถนำวิธี IgM-IFA ไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรค (Pradutkanchana S. 2003)

- **Indirect immunoperoxidase (IIP)**

วิธีนี้ได้ถูกพัฒนาขึ้นจากวิธี IFA เพื่อให้สามารถนำไปใช้ตรวจกรองในห้องปฏิบัติการทั่วๆไปโดยใช้ Enzyme และ Substrate ที่มีความจำเพาะกันสามารถอ่านผลได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ Light Microscopic จากการศึกษาของ ศราวุธ และ คณะพบว่าวิธี IgM-IIP นี้เมื่อนำไปใช้ตรวจหาแอนติบอดีในผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิสพบว่ามีความไวและความจำเพาะเป็นร้อยละ 100, 95 ตามลำดับซึ่งเหมาะที่จะนำไปใช้ในการตรวจกรองโรคเลปโตสไปโรซิสในระยะเริ่มแรก (ศราวุธ สุทธิรัตน์. 2552)

- **Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)**

หลักการนี้ แอนติเจนของเชื้อเลปโตสไปรา ถูกเคลือบลงบน ELISA plate เมื่อเติมซีรัมของผู้ป่วยที่ถูกทำให้เจือจาง นำไป incubate จะทำให้ส่วนของแอนติเจนและแอนติบอดีจับกัน เมื่อเติม peroxidase conjugated anti-human IgM หรือ IgG ลงไป จะเกิดปฏิกิริยาจำเพาะต่อ IgG หรือ IgM วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นด้วย ELISA reader (กรมควบคุมโรค. 2544)

- **Lepto-dipstick test**

หลักการนี้ แอนติเจนของเชื้อ *Leptospira* ถูกเคลือบบนแผ่น nitrocellulose ร่วมกับ anti-human IgM dye conjugate ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีในซีรัมของผู้ป่วย จะเกิดสีชมพูซึ่งจะมองเห็นได้ชัดเจน ในปี ค.ศ. 1999 Yersin C และคณะ ได้นำวิธี Dipstick test ไปวินิจฉัยผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิสในเมือง Seychelles โดยเปรียบเทียบกับวิธี ELISA พบว่าวิธี dipstick test มีความไวเทียบเท่ากับวิธี ELISA แต่เมื่อนำไปทดสอบกับผู้ที่ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิสที่ยังไม่มีอาการแสดงเทียบกับวิธี MAT พบว่าวิธี dipstick test มีความไวน้อยกว่าวิธี MAT แต่เหมาะที่จะนำไปใช้ในการตรวจภาคสนามและห้องปฏิบัติการทั่วไปได้ (Yersin C. 1991)

- **Microcapsule agglutination test (MCAT)**

แอนติเจนของเชื้อ *Leptospira* ได้แก่ *L. autumanlis, L. hebdomadis, L. australis, L. lcterohaemorrhagiae, L. canicola* และ *L. pyrogenese* จะถูกนำไปเคลือบบน microcapsule (MC) particle ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปราในซีรัมผู้ป่วยเกิดปฏิกิริยา passive agglutination reaction (กรมควบคุมโรค. 2544)

- **Latex agglutination test (LA)**

เป็นชุดทดสอบเพื่อตรวจหาแอนติบอดีในซีรัม ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับแอนติเจนของเชื้อ *Leptospira* ที่เคลือบบนเม็ด latex โดยจะทำปฏิกิริยาการจับกลุ่มของแอนติเจนแอนติบอดี เห็นเป็นการรวมกลุ่มชัดเจน สามารถดูได้ด้วยตาเปล่า ในปีพ.ศ. 2552 สุกัญญา และคณะได้พัฒนาวิธี latex agglutination โดยใช้ total membrane แอนติเจน พบว่ามีความไวและความจำเพาะร้อยละ 97.5, 82.0 ตามลำดับซึ่งสามารถนำไปใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อเลปโตสไปราและเหมาะสมในการตรวจกรองตัวอย่างคนไข้จำนวนมาก (สุกัญญา กัณทะชัยวรรณ. 2552)

ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อจะต้องมีแอนติบอดีไตเตอร์ของซีรัมในระยะโรคบรรเทา มากกว่าหรือเท่ากับ 4 เท่าของระดับแอนติบอดีไตเตอร์ของซีรัมในระยะเฉียบพลัน (four-fold rising titer) แต่ถ้าพบในระดับต่ำๆ (1:50 หรือ 1:100) และแอนติบอดีไตเตอร์ไม่เพิ่มขึ้น 4 เท่าจะถือว่ามีการติดเชื้อมานานแล้ว

องค์การอนามัยโลกได้ตั้งเกณฑ์ในการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสดังนี้คือ ใช้ลักษณะอาการทางคลินิก และการวินิจฉัยเชื้อในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี MAT ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเชื้อ (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต. 2551) การตรวจนี้ทำได้หลายวิธี วิธีมาตรฐานที่ใช้ตรวจยืนยันซีโรวาร์ คือ microscopic agglutination test (MAT) โดยการตรวจหาแอนติบอดีในซีรัมของผู้ป่วยซึ่งเป็นวิธีที่ค่อนข้างยุ่งยากและใช้เวลามาก เนื่องจากต้องใช้แอนติเจนหลายชนิดและต้องเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยการ subculture ทุกสัปดาห์เพื่อไม่ให้เชื้อตาย (กรมควบคุมโรค. 2544)

1.9 การรักษา

เชื้อเลปโตสไปรามีความไวต่อยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ อย่างไรก็ดี Penicillin ชนิดฉีดยังเป็นยาที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยเฉพาะถ้าให้ในระยะแรกของการป่วย วัตถุประสงค์ของการให้ยาปฏิชีวนะเพื่อลดความรุนแรงและป้องกันภาวะแทรกซ้อน โดยพยายามให้ยาปฏิชีวนะโดยเร็วที่สุด เดิมเชื่อกันว่าถ้าจะให้ได้ผลต้องให้ยาภายในระยะเวลา 4-5 วันแรกหลังจากที่มีอาการหรือก่อนที่ผู้ป่วยจะมีอาการเหลือง แต่ในปัจจุบันเชื่อกันว่าการให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสม ถึงแม้ผู้ป่วยจะมาช้าหรือมีอาการดีซ่านแล้วก็ตามก็ยังสามารถลดระยะเวลาของการมีไข้ ลดเชื้อในปัสสาวะ และลดระยะเวลาของภาวะไตวายในผู้ป่วยได้ การรักษาโรคควรประกอบด้วยการให้ยาปฏิชีวนะที่รวดเร็วและเหมาะสมร่วมกับการรักษาตามอาการและการรักษาภาวะแทรกซ้อน

1.9.1 การให้ยาปฏิชีวนะ

การเลือกใช้ยาขึ้นกับความรุนแรงของโรคและสภาวะของผู้ป่วยสามารถแบ่งให้ยาปฏิชีวนะเป็นสองกลุ่มใหญ่ๆดังต่อไปนี้

- ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง

ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงมักเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคช้าหรือมารับการรักษาช้าหรือผู้ป่วยมีภาวะแทรกซ้อน ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีดีซ่านและ serum creatinine สูง ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงพบมีอัตราป่วยตายสูงถึงร้อยละ 15-40 ยาที่ใช้ได้ผลในระยะนี้ได้แก่ Penicillin G ถือเป็นยาที่ดีที่สุดโดยฉีดเข้าเส้นเลือดดำ ใช้ในขนาดสูงคือ 6 ล้านยูนิต/วัน หรือ Ampicillin ฉีดเข้าเส้นเลือดดำ ขนาดที่ใช้ 4 กรัมต่อวันติดต่อกัน 7 วัน

- ผู้ป่วยอาการอ่อนถึงปานกลาง อาจเลือกใช้ยาดังนี้

- Doxycyclin กิน 100 mg วันละ 2 ครั้ง นาน 7 วัน
- Amoxycillin กิน 600 mg ทุก 6 ชั่วโมง นาน 5-7 วัน
- Ampicillin กิน 500-750 mg ทุก 6 ชั่วโมง นาน 5-7 วัน

1.9.2 การรักษาตามอาการและรักษาภาวะแทรกซ้อน

การรักษาประคับประคองตามอาการและอาการแสดงของผู้ป่วย ควรทำในเวลาที่เหมาะสมจะช่วยป้องกันการเกิดภาวะแทรกซ้อนที่ไตและปอดหรืออวัยวะอื่นๆได้โดยการรักษาตามอาการ ได้แก่

- การให้ยาลดไข้
- การให้ยาแก้ปวด
- การให้ diazepam เข้าหลอดเลือด เพื่อควบคุมการชัก
- รายที่มีอาการทางประสาท เช่น หูแว่ว ประสาทหลอน ไม่ควรให้ Largactil เพราะทำให้ไม่ทราบการตอบสนองต่อการรักษาของคนไข้และมีผลต่อตับถ้าจำเป็นอาจฉีด Hadol 5 mg เข้ากล้ามเนื้อ
- การให้ยาแก้อาเจียน
- การให้สารละลายและเกลือแกงหรือ isotonic solution ควรให้ทันทีเมื่อพบว่าความดันโลหิตลดลงและต้องระมัดระวังการให้ fluid มากเกินไป

1.9.2 การรักษาภาวะแทรกซ้อน ได้แก่

- การแก้ไขภาวะเลือดออก กรณีโลหิตจางควรให้เลือดหรือให้ plasma และพบเกล็ดเลือดต่ำรุนแรง การให้เกล็ดเลือดจะดีกว่าการให้ steroids ซึ่งไม่มีผลดีในการรักษา

- รายที่มี bleeding tendency เช่น epistaxis อาจพิจารณาให้ vitamin K1 ฉีดเข้าหลอดเลือด

- การแก้อาการแทรกซ้อนที่ระบบหายใจ ใช้การเฝ้าสังเกตอาการของผู้ป่วยและแก้ไขตามอย่างใกล้ชิด

- การแก้ภาวะการทำงานของหัวใจทำงานผิดปกติ ทำโดยเฝ้าสังเกตอาการผู้ป่วยใกล้ชิดซึ่งโดยทั่วไปอาการหัวใจเต้นผิดปกติ (arrthymia) อย่างอ่อนมักจะเกิดขึ้นชั่วคราวและหายได้เองโดยไม่ต้องรักษาจึงไม่ควรให้ cardiotonic เพราะอาจกระตุ้นให้เกิด fatal arrthymia ได้

- การแก้ปัญหาตับวายทำได้โดยงดอาหารโปรตีน การรักษาสมดุล electrolytes และหลีกเลี่ยงการใช้ยาที่มีผลต่อตับ

- โดยทั่วไปไตวายเฉียบพลันในโรคเลปโตสไปโรซิสเป็น non-oliguric renal failure ซึ่งอาจไม่ต้องล้างไต ก็ได้ แต่ถ้าผู้ป่วยมีภาวะไตวายเรื้อรังและมีปัสสาวะน้อย (oliguric) ซึ่งมักเกิดจาก acute tubular necrosis ต้องพิจารณาทำล้างไต สำหรับในรายที่มีเลือดออกควรเลือกทำ hemodialysis ก่อน ถ้าไม่สามารถทำได้จึงพิจารณาทำ peritoneal dialysis แต่ต้องแก้ไขภาวะเลือดออกก่อนและต้องทำด้วยความระมัดระวัง ทั้งนี้เนื่องจากในการทำ peritoneal dialysis ส่วนใหญ่จำเป็นต้องให้ heparin เพื่อป้องกัน fibrin clot (กรมควบคุมโรค. 2544)

2. เมลิออยโดซิส

เมลิออยโดซิสเป็นโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียที่มีความสำคัญมากในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทย มีรายงานครั้งแรกในประเทศพม่าเมื่อปี พ.ศ.2455 ต่อมาในปี พ.ศ.2480 จึงมีรายงานในประเทศไทย ลักษณะอาการทางคลินิกของโรคนี้มีได้หลายแบบ ล้วนแต่ไม่จำเพาะเจาะจง การวินิจฉัยทางคลินิกจึงกระทำได้ยาก ผู้ป่วยที่เป็นในระยะที่มีการติดเชื้อในเลือดมักมีอาการรุนแรงสร้างปัญหาให้แก่ผู้ดูแลรักษามากเพราะผู้ป่วยจะเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว ผู้ป่วยมักมีโรคอื่นโดยเฉพาะโรคเรื้อรังหรือมีภูมิคุ้มกันต่ำมาก่อน ระดับแอนติบอดีในผู้ป่วยมักมีระดับต่ำไม่เพียงพอที่จะใช้ในการวินิจฉัยโรคได้ จึงก่อให้เกิดปัญหาในการวินิจฉัยโรค (พิพัฒน์ ลักษมีจรัลกุล. 2543)

2.1 สาเหตุของโรค

B. pseudomallei เป็นแบคทีเรียแรมลบรูปแท่งขนาด 0.5-1×1.5-4 ไมโครเมตร เซลล์ติดสีแดงเข้มบริเวณหัวท้ายของเซลล์ (bipolar staining) คล้ายเข็มกลัดซ่อนปลาย (close safety pin) เคลื่อนที่ได้โดยมีแฟลกเจลลาที่ขั้วทั้ง 2 ข้างๆละ 3 เส้นหรือมากกว่า (multitrichous polar flagella) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 42 °C เมื่อเพาะเลี้ยงบน 5 % sheep blood agar เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ในบรรยากาศปกติ โคโลนีมีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ สีขาวนวลหรือสีครีม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 มิลลิเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 48-72 ชั่วโมง โคโลนีจะมีลักษณะหยาบ เหี่ยวย่น

(wrinkled colonies) แผ่เป็นรัศมีออกจากศูนย์กลาง มีสีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาล มีกลิ่นเฉพาะคล้ายกลิ่นไอระเหยจากดินหลังฝนตกใหม่ๆ (earthy smell) ถ้าเพาะเลี้ยงบนอาหารคัดเลือกชนิด Ashdown medium (ประกอบด้วย trypicase soy agar คริสทัลไวโอเลต นิวทัลเรด กรีเซอรอลและยาเจนทาไมซิน) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีจะมีสีม่วง ผิวเหี่ยวย่น แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารเหลวเชื้อจะเจริญเป็นแผ่นฝ้าบนผิวหน้าอาหาร ลักษณะทางชีวเคมีที่เด่นของเชื้อนี้คือการทดสอบ TSI ให้ผล A/K เนื่องจากการเกิดกรดบริเวณผิวหน้า (slant) ของอาหาร สามารถออกซิไดซ์น้ำตาลได้หลายชนิด เช่นกลูโคส มอลโทส แล็กโทสและซูโครสและรีดิวซ์ไนไทรต์เป็นก๊าซไนโตรเจนได้ เชื้อนี้สามารถจำแนกตามการออกซิไดซ์น้ำตาลแอล-อะราบิโนสและการก่อโรคเป็น 2 ไบโอไทป์ ได้แก่ ไบโอไทป์ *Pseudomallei* เป็นสายพันธุ์ที่ไม่ออกซิไดซ์น้ำตาลแอล-อะราบิโนส (Ara-) แยกเชื้อได้จากสิ่งแวดล้อม สิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วย ก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์และมีความสามารถในการก่อโรคในสัตว์ทดลองสูง และไบโอไทป์ *Thailandensis* เป็นสายพันธุ์ที่ออกซิไดซ์น้ำตาลแอล-อะราบิโนส (Ara+) แยกเชื้อได้จากสิ่งแวดล้อมและมีความสามารถในการก่อโรคในสัตว์ทดลองต่ำ ปัจจุบันมีการแยกไบโอไทป์นี้ออกมาตั้งเป็นสปีชีส์ใหม่คือ *B. thailandensis*

B. pseudomallei พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติในดินและแหล่งน้ำในทวีปออสเตรเลียตอนเหนือและประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย กัมพูชา มาเลเซียและเวียดนาม จัดเป็นเชื้อก่อโรคที่แท้จริง (true pathogen) โดยเป็นสาเหตุของโรคเมลิออยโดซิส ส่วนใหญ่มีรายงานการก่อโรคในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และทวีปออสเตรเลียตอนเหนือ โดยประเทศไทยมีรายงานจำนวนผู้ป่วยมากที่สุดในโลก โรคนี้ได้รับความสนใจจากต่างประเทศตั้งแต่ปี พ.ศ. 2491 เนื่องจากมีทหารต่างชาติไปรบในสงครามโลกครั้งที่ 2 (สงครามเวียดนามและสงครามอินโดจีน) ป่วยและเสียชีวิตจำนวนมากขณะปฏิบัติงานและหลังกลับจากสมรภูมิหลายสิบปี จึงเรียกโรคนี้ว่า Vietnamese time bomb เชื้อนี้ติดต่อทางการหายใจหรือการสัมผัสโดยตรงกับเชื้อผ่านผิวหนังที่มีบาดแผล (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต. 2551)

2.2 ส่วนประกอบของแอนติเจน

เชื้อนี้มีส่วนประกอบของแอนติเจนค่อนข้างซับซ้อน ประกอบด้วย envelope antigen ซึ่งอยู่ตรงผิวชั้นนอกของแบคทีเรีย ส่วนใหญ่เป็น lipopolysaccharide ถัดเข้าไปเป็น somatic O antigen ซึ่งเป็นส่วนของเชื้อทั้งตัวซึ่งประกอบด้วยสารพวกโปรตีน นอกจากนี้เวลาเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถตรวจพบสารละลายที่เชื้อปล่อยออกมาเรียกว่า soluble antigen ส่วนใหญ่เป็น polysaccharide

2.3 Toxin

Toxin ของ *B. pseudomallei* มี 2 ประเภทได้แก่

2.3.1 Thermolabile toxin (ถูกทำลายด้วยความร้อน) ได้แก่ lethal toxin (ทำให้สัตว์ทดลองตาย) และ necrotizing toxin (ทำให้เนื้อเยื่อเน่าตาย)

2.3.2 Thermostable toxin มีคุณสมบัติเหมือน enterotoxin ของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบทั่วไป ทำให้มีไข้และช็อกได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อสามารถสร้าง proteolytic enzyme ย่อยโปรตีนได้ (พิพัฒน์ ลักษมีจรัลกุล. 2543)

2.4 วิธีการติดต่อ

การติดต่อทางผ่านผิวหนัง (skin inoculation)

การติดต่อโดยวิธีนี้เป็นที่ยอมรับกันทั่วไป เพราะเชื้อ *B. pseudomallei* อยู่ในดินและน้ำ เมื่อผู้ป่วยเกิดบาดแผลเชื้อจะเข้าสู่บาดแผลโดยตรง จากการศึกษาทางระบาดวิทยาก็พบว่าผู้ป่วยร้อยละ 81 เป็นชาวนา ผู้ป่วยอายุ 40-59 ปีที่มีประวัติสัมผัสดินและน้ำมากมีโอกาสเป็นโรคเมลิออยโดซิสเพิ่มขึ้น

การติดต่อทางการหายใจ (inhalation)

การติดต่อทางการหายใจเป็นการติดต่อที่คิดว่าน่าจะเป็นไปได้มาก เพราะผู้ป่วยส่วนใหญ่ของโรคเมลิออยโดซิสมีการติดเชื้อที่ปอดมากที่สุดและผู้ป่วยส่วนหนึ่งมีอาการและอาการแสดงที่บ่งบอกว่าปอดเป็นตำแหน่งของการติดเชื้อแบบปฐมภูมิ พยาธิกำเนิดของปอดอักเสบก็น่าจะเหมือนการติดเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ อย่างไรก็ตามหลักฐานที่บ่งบอกว่าการติดต่อโดยการสูดหายใจนำเชื้อ *B. pseudomallei* เข้าปอดแล้วเกิดการติดเชื้อขึ้นพบได้ไม่มาก

การติดต่อทางการกิน (ingestion)

การตรวจทางพยาธิวิทยาไม่พบหลักฐานทางเข้าของเชื้อจากทางเดินอาหารและพยาธิสภาพในทางเดินอาหารของผู้ป่วยเมลิออยโดซิสพบได้น้อย มีเพียงการระบาดในประเทศออสเตรเลียที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *B. pseudomallei* ในน้ำดื่ม

การติดต่อระหว่างคน (man-to-man transmission)

มีรายงานผู้ป่วยบางรายเท่านั้นที่มีการติดต่อระหว่างคน เช่นการติดต่อทางเพศสัมพันธ์ในผู้ป่วยชายที่มีการติดเชื้อที่ต่อมลูกหมากและภรรยาของผู้ป่วยมีเมลิออยโดซิสแอนติบอดีสูงถึง 1:10,240 รายงานการติดต่อจากแม่สู่ลูกโดยมารดาคลอดลูกก่อนกำหนดและลูกมีการติดโรคเมลิออยโดซิสอย่างรุนแรง เมื่อเพาะเชื้อจากช่องคลอดแม่และจากรกที่มีฝีขึ้นซึ่งเป็นสายพันธุ์เดียวกับลูก และนอกจากนี้มีรายงานการส่งผ่านเชื้อจากคนไปสู่คนใกล้ชิดซึ่งมีรายงานครั้งแรกในประเทศไทย ผู้ป่วยชายเบาหวานเกิดเมลิออยโดซิสแบบแพร่กระจาย พี่สาวผู้ป่วยซึ่งดูแลใกล้ชิดและเป็นเบาหวานอยู่เดิมเกิดการติดเชื้อเมลิออยโดซิสหลังจากนั้นไม่นาน การตรวจสายพันธุ์ของเชื้อทั้ง

สอง โดยวิธี SDS-PAGE ให้รูปแบบที่เหมือนกัน และรายงานการติดเชื้อระหว่างพี่น้องที่เป็น cystic fibrosis ทั้งคู่และเมื่อนำไปตรวจก็พบว่าผู้ป่วยทั้ง 2 รายติดเชื้อสายพันธุ์เดียวกัน

การติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infection)

มีรายงานการติดโรคเมลิออยซิสที่เกิดขึ้นในโรงพยาบาล 3 รายงาน รายงานแรกเกิดขึ้นที่ประเทศออสเตรเลียในสถานพักฟื้นคนชรา ผู้ป่วย 2 รายซึ่งเป็นเบาหวานทั้งคู่ ใส่สายสวนปัสสาวะหรือสายสวนท่อไตทิ้งไว้แล้วเพาะเชื้อ *B. pseudomallei* ขึ้นจากปัสสาวะดังกล่าว นอกจากนี้การสำรวจดินบริเวณรอบๆสถานพักฟื้นพบเชื้อ *B. pseudomallei* 1 ใน 20 ของดินที่ส่งตรวจ รายงานที่ 2 เกิดที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์ในช่วงปี พ.ศ. 2521-2528 มีผู้ป่วย 8 รายเข้ารับการรักษาด้วยโรคอื่นๆ ระหว่างที่อยู่ในโรงพยาบาลเพาะเชื้อ *B. pseudomallei* ขึ้นจากตำแหน่งต่างๆทั้งในเลือด น้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด น้ำในช่องท้อง แผล cut down, ปลายของท่อสวนปัสสาวะและthroat swab ซึ่งมีผู้ป่วย 2 รายจัดเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาลมีอาการและอาการแสดงของการติดเชื้อ 2 รายจัดเป็น nosocomial colonization ซึ่งเพาะเชื้อขึ้นแต่ไม่ก่อโรค และอีก 4 รายจัดเป็น environmental contamination คือน่าจะเป็นการปนเปื้อนเชื้อระหว่างการจัดเก็บสิ่งส่งตรวจและนำไปห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงมีการสำรวจหาแหล่งที่มาของการปนเปื้อนเชื้อ *B. pseudomallei* โดยเพาะเชื้อจากสิ่งแวดล้อมและน้ำยาต่างๆที่ใช้ในหอผู้ป่วยพบว่าน้ำยา Savlon ที่ใช้ในหอผู้ป่วยที่มีผู้ป่วยเมลิออยโดซิสอยู่รวมทั้งน้ำยา Savlon ซึ่งใช้แช่อุปกรณ์เครื่องมือ สายดูดเสมหะซึ่งผ่านการล้างด้วยน้ำยาและสบู่ก็ยังพบเชื้อ *B. pseudomallei* แสดงให้เห็นว่าน้ำยา Savlon ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการฆ่าเชื้อ *B. pseudomallei* (เพลินจันทร์ เชษฐ์โชติศักดิ์. 2537)

2.5 อาการของโรค

การเกิดโรคอาจมีตั้งแต่ไม่แสดงอาการจนถึงอาการป่วย สมาคมโรคติดเชื้อแห่งประเทศไทยจึงจำแนกโรคเมลิออยโดซิสเป็น 6 ชนิดได้แก่

2.5.1 โรคเมลิออยโดซิสติดเชื้อในกระแสโลหิตแบบแพร่กระจาย ผู้ป่วยจะมีการติดเชื้อในกระแสเลือดร่วมกับที่อวัยวะอื่นอีกหลายตำแหน่งทำให้ผู้ป่วยมีอาการรุนแรงและเสียชีวิตได้ภายใน 48 ชั่วโมง อัตราการตายสูงถึงร้อยละ 40-75

2.5.2 โรคเมลิออยโดซิสติดเชื้อในกระแสโลหิตแบบไม่แพร่กระจาย ผู้ป่วยมีอาการติดเชื้อในกระแสโลหิต แต่ไม่มีอาการติดเชื้อที่อวัยวะอื่นหรือพบเพียง 1-2 ตำแหน่ง อาการจะไม่รุนแรง อัตราตายร้อยละ 17

2.5.3 โรคเมลิออยโดซิสติดเชื้อเฉพาะที่ จะไม่พบการติดเชื้อในกระแสเลือด แต่มีตำแหน่งการติดเชื้อตามอวัยวะต่างๆ 1-2 ตำแหน่ง เช่น ปอด ตับหรือม้าม อาการทางคลินิกจะเปลี่ยนแบบค่อยเป็นค่อยไป

2.5.4 โรคเมลิออยโดซิสติดเชื้อในกระแสเลือดแบบชั่วคราว เป็นผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อหลบอยู่ในร่างกาย แต่เชื้อสามารถเข้าสู่กระแสโลหิตได้เป็นครั้งคราว

2.5.5 โรคเมลิออยโดซิสชนิดที่มีอาการเข้าได้กับโรคเมลิออยโดซิส ผู้ป่วยมีอาการทางคลินิกเข้ากันได้กับโรคเมลิออยโดซิส ผลการตรวจทางน้ำเหลืองวิทยาให้ผลบวก แต่ผลเพาะเชื้อให้ผลลบ

2.5.6 โรคเมลิออยโดซิสชนิดไม่มีอาการ เป็นผู้ป่วยที่ไม่แสดงอาการของการติดเชื้อ แต่ผลการตรวจทางน้ำเหลืองให้ผลบวก (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต. 2551)

ซึ่งลักษณะอาการจะแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 อาการและอาการแสดงของโรคเมลิออยโดซิส (พิพัฒน์ ลักษมีจรัลกุล. 2543)

อวัยวะ	การติดเชื้อ *B. pseudomallei*	
	พบบ่อย	พบน้อย
ทางเดินหายใจ	Pneumonitis, Lung abscess Pleural effusion' Empyema	Glanuloma
ผิวหนัง	Cellulitis Chronic granuloma Subcutaneous abscess Infect wound	Cutaneous pustules Ecthyma gangrenosum Hemorrhagic bleb Urticaria
กล้ามเนื้อและกระดูก	Septic arthritis Osteomyelitis	Subperiosteal abscess Pyomyositis
ทางเดินปัสสาวะ	การติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ต่อมลูกหมากอักเสบหรือเป็นฝี	Epididymo-orchitis Perinephric abscess Scrotal abscess
ตับและถุงน้ำดี	ฝีในตับและม้าม	ท่อน้ำดีอักเสบ (cholangitis) ฝีที่ตับอ่อน
ต่อมน้ำเหลือง	ต่อมน้ำเหลืองอักเสบหรือเป็นฝี	
หัวใจและเส้นเลือด	เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ Pericardial effusion	Endocarditis
ระบบประสาท	ฝีในสมอง (cerebral abscess)	Meningitis, Encephalitis
อื่นๆที่พบได้	ไข้ไม่ทราบสาเหตุ โลหิตเป็นพิษ	Ophthalmitis Parotitis, Masitis

2.6 วิทยาการระบาด

เมลิออยโดซิสเป็นโรคติดเชื้อที่เป็นปัญหาของหลายประเทศ ประเทศทางแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และทางตอนเหนือของทวีปออสเตรเลียเป็นบริเวณที่มีโรคชุกชุม (endemic area) และสามารถตรวจพบโรคนี้ได้บ้างในฮ่องกง ไต้หวัน อินเดีย นิวซีแลนด์ และประเทศอื่นๆทั่วโลก

ในประเทศไทยพบผู้ป่วยได้ทุกภาคของประเทศ แต่พบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจังหวัดขอนแก่นและจังหวัดอุบลราชธานี ผู้ป่วยส่วนใหญ่ (ร้อยละ 60-95) เป็นเกษตรกร ชาวไร่ ชาวนาหรือผู้ทำงานเกี่ยวกับดินและน้ำ พบผู้ป่วยมากในฤดูฝน และเคยมีรายงานการติดเชื้อในโรงพยาบาล ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นบุคคลที่มีปัจจัยเสี่ยง เช่น โรคติดเชื้อทางเดินลมหายใจเรื้อรัง วัณโรค เบาหวาน โรคไต โรคเลือด มะเร็ง และภาวะบกพร่องทางภูมิคุ้มกัน เป็นต้น

จากการคาดคะเนคิดว่าน่าจะมีผู้ป่วยมากกว่าปีละ 2,000 รายในประเทศไทยแต่ขาดการศึกษายืนยันและไม่มีรายงานในผู้ป่วยส่วนมาก จากการสำรวจแอนติบอดีต่อเชื้อของคนปกติในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบมีการติดเชื้อ (seroprevalence) ประมาณร้อยละ 20 (พิพัฒน์ ลักษมีจรัลกุล. 2543)

2.7 การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

ผู้ป่วยโรคเมลิออยซิสมีอาการและอาการแสดงแตกต่างกันไปตั้งแต่ไม่รุนแรงจนถึงสียชีวิต ซึ่งมีอัตราการตายสูงกว่าร้อยละ 50 อาการของโรคคล้ายคลึงกับโรคอื่นๆอีกหลายชนิดจึงเป็นการยากที่จะวินิจฉัยโรคนี้โดยอาศัยอาการทางคลินิก จำเป็นต้องอาศัยการตรวจยืนยันทางห้องปฏิบัติการในการวินิจฉัยโรคเสมอ วิธีมาตรฐานในการวินิจฉัยผู้ป่วยเมลิออยโดซิสทางห้องปฏิบัติการ (gold standard) คือการเพาะเชื้อ *B. pseudomallei* จากสิ่งส่งตรวจ ซึ่งต้องใช้เวลาอย่างน้อย 2-3 วันเนื่องจากเชื้อนี้เติบโตช้า โดยเฉพาะการเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจที่มีเชื้ออื่นปนเปื้อน เช่น เสมหะและปัสสาวะ เป็นต้น จำเป็นต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความจำเพาะเพื่อช่วยแยกเชื้อ *B. pseudomallei* ออกจากเชื้ออื่นและไม่ถูกเชื้อชนิดอื่นซึ่งเติบโตเร็วกว่าขึ้นกลบ ด้วยเหตุนี้จึงมีการพัฒนาเพื่อหาวิธีการตรวจวินิจฉัยที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว มีความไวและความจำเพาะสูง โดยอาศัยเทคนิคทางภูมิคุ้มกันวิทยาซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อตัวเชื้อ หรือส่วนหนึ่งส่วนใดของเชื้อหรือการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อและการวินิจฉัยโดยอาศัยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (molecular biology) ซึ่งเป็นการตรวจหา genetic material ของเชื้อ

2.7.1 การตรวจหา specific antigen ในสิ่งส่งตรวจ

ได้มีการพัฒนาวิธีเพื่อตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ *B. pseudomallei* ในสิ่งส่งตรวจชนิดต่าง ๆ รวมถึงการตรวจหาเชื้อจาก hemoculture เพื่อลดเวลาในการเพาะเชื้อทำให้สามารถอ่านผลได้เร็วยิ่งขึ้นได้ โดยมีการพัฒนาวิธีการตรวจต่าง ๆ ดังนี้

- Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

เป็นวิธีที่เริ่มใช้ในการตรวจ Exotoxin โดยมีความไวเท่ากับ 16 นาโนกรัม/มล. และเมื่อใช้ avidin-biotin ELISA จะมีความไวถึง 3.9 นาโนกรัม/มล. ทั้งสองวิธีเป็นการพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ตรวจหาแอนติเจนในซีรัมเท่านั้นไม่ได้ใช้ในการตรวจในสิ่งส่งตรวจอื่นๆของผู้ป่วย ต่อมาในปี พ.ศ.2537 มีการพัฒนาวิธี ELISA เพื่อใช้ในการตรวจหาแอนติเจนในปัสสาวะ โดยเพิ่มความไวของการตรวจด้วย fluorescein isothiocyanate (FITC)-anti-FITC amplification system ในปี พ.ศ. 2539 นริศรา อนันตกุล และคณะ ได้ใช้ monoclonal antibody กับเทคนิค ELISA (sandwich ELISA) เพื่อตรวจหาแอนติเจนในสิ่งส่งตรวจต่างๆที่ไม่ใช่เลือด พบว่ามีความไวและความจำเพาะร้อยละ 74.6 และ 98.1 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการเพาะเชื้อ

- Indirect immunofluorescence assay (IFA)

ในปี พ.ศ.2536 มีรายงานการใช้ IFA เพื่อใช้ในการวินิจฉัยโคโลนีของ *B. pseudomallei* ให้รวดเร็วและแม่นยำยิ่งขึ้น ต่อมาในปีพ.ศ.2537 Walsh และคณะได้นำวิธี immunofluorescence มาช่วยในการวินิจฉัยโรคเมลิออยโดซิสได้รวดเร็วยิ่งขึ้นโดยใช้เวลาเพียง 2 ชั่วโมง วิธีนี้ใช้ heat killed suspension ของเชื้อไปเตรียมแอนติบอดีเพื่อนำมาใช้ในการตรวจหาเชื้อจากสิ่งส่งตรวจเช่น เสมหะ หนอง และปัสสาวะพบว่าวิธีนี้มีความไวร้อยละ 73.3 ความจำเพาะร้อยละ 99.0 เมื่อเทียบกับการเพาะเชื้อ

-Latex agglutination

เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว ดังนั้นจึงได้พัฒนาขึ้นมาใช้ในการตรวจหาแอนติเจนในปัสสาวะ ในปี พ.ศ.2538 Smith และคณะพบว่าเมื่อใช้ปัสสาวะที่ไม่ concentrate จะสามารถตรวจหาเชื้อด้วยวิธีนี้ได้เพียงร้อยละ 18 ของผู้ป่วยโรคเมลิออยโดซิส แต่เมื่อนำไปตรวจในปัสสาวะที่ concentrate 100 เท่าจะทำให้ความไวเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 73.3 และความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 100 ต่อมาได้มีการผลิต monoclonal antibody หลายชนิด โดยกลุ่มนักวิจัยหลายกลุ่มเพื่อนำมาพัฒนาเป็น latex agglutination ช่วยในการวินิจฉัยเชื้อจาก hemoculture โดยใช้ monoclonal antibody ต่อ 20 kDa antigen ต่อ exopolysaccharide (ใช้ในการวินิจฉัยเชื้อที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมและจากผู้ป่วย) ต่อ 30 kDa โปรตีน และต่อ LPS มาเคลือบบน latex เพื่อใช้ใน latex agglutination test

2.7.2 การตรวจหา specific antibody ในสิ่งส่งตรวจ

มีการพัฒนาวิธีการวินิจฉัยโรคเมลิออยโดซิสจากซีรัมของผู้ป่วยโดยวิธีที่ใช้ตรวจมีดังนี้

- Agglutination

เป็นวิธีแรกๆของการตรวจหาแอนติบอดีโดยการตรวจหาแอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยากับเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เตรียมเป็น cell suspension เกิดการเกาะกลุ่มให้เห็น วิธีนี้เป็นวิธีง่ายๆแต่มีความไวค่อนข้างต่ำ

- Complement fixation test (CFT)

เป็นวิธีที่คิดค้นโดย Nigg และ Johnston ในปี ค.ศ.1961 มีรายงานว่าวิธี CFT ที่ทำโดยใช้ sonically disrupted นั้นมีความไวในการตรวจสูงถึงร้อยละ 80-100 และสามารถตรวจหาแอนติบอดีได้หลังจากที่ผู้ป่วยเริ่มมีอาการของโรคเพียง 1 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามวิธีนี้อาจให้ผลลบในผู้ป่วยที่ยังมีอาการอยู่และอาจให้ผลบวกปลอม (false positive) กับซีรัมของผู้ป่วยโรคติดเชื้ออื่นๆ เช่น วัณโรค เลปโตสไปโรซิส *Brucellosis* ไข้ไทฟอยด์ ไข้หวัดใหญ่ (Influenza) และการติดเชื้อ *P. aeruginosa*

- Indirect Hemagglutination test (IHA)

เป็นวิธีที่นิยมมากในปัจจุบัน เป็นวิธีที่พัฒนาโดย IIeri ในปี ค.ศ.1965 และได้มีคิดค้นดัดแปลงต่อๆมา การตรวจด้วย IHA พบว่ามีความไวสูงถึงร้อยละ 80-100 และมีความจำเพาะสูงกว่าวิธี CFT แต่ก็ยังอาจมี cross-reaction กับซีรัมของผู้ป่วยบางรายในโรคต่าง ๆ เช่น วัณโรค การติดเชื้อ *P. aeruginosa* และไข้ไทฟัส นอกจากนี้ยังตรวจพบแอนติบอดีด้วยวิธี IHA นี้ในคนปกติซึ่งอาศัยอยู่ในพื้นที่ระบาด (endemic area) ข้อเสียของการตรวจหาแอนติบอดีที่กล่าวมาคือ ไม่สามารถใช้แยกระหว่างการติดเชื้อปัจจุบัน (current infection) หรือการติดเชื้อที่หายแล้ว (previous infection) และเนื่องจากประชากรที่อาศัยอยู่ในท้องที่ต่างๆกันมีระดับแอนติบอดี (titer) ไม่เท่ากัน ระดับแอนติบอดีที่ใช้ในการแยกผู้ป่วยจากคนปกติ (cut off titer) จึงแตกต่างกันออกไปในแต่ละแห่งทำให้การใช้ระดับแอนติบอดีในการวินิจฉัยเป็นไปด้วยความลำบาก

- Indirect immunofluorescent assay (IFA)

เป็นวิธีที่คิดค้นขึ้นโดย Ashdown โดยการประยุกต์เอาวิธี immunofluorescence มาใช้ในการตรวจหาแอนติบอดี อ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์ fluorescence วิธีนี้ช่วยแยกผู้ป่วยที่กำลังเป็นโรคหรือเคยติดเชื้อและหายแล้วหรือเคยได้รับเชื้อโดยที่ไม่มีอาการ วิธีนี้มีความไวสูงกว่า IHA และยังมีความจำเพาะสูงอีกด้วย เนื่องจากไม่พบผลบวกปลอมในซีรัมคนปกติ และผลที่ได้ยังมีความสัมพันธ์กับอาการของโรคด้วย

Vadivelu และ Puthucheary ได้ตรวจหาแอนติบอดีโดยวิธี IFA ในซีรัมผู้ป่วยที่เป็นเมลิออยโดซิส 66 ราย พบว่ามีระดับแอนติบอดีมากกว่าหรือเท่ากับ 1:320 ทุกราย ผู้ป่วยที่เป็นโรคอื่นๆ 523 ราย ร้อยละ 23.4 มีแอนติบอดีมากกว่าหรือเท่ากับ 1:80 การตรวจหาแอนติบอดีเป็นระยะๆในผู้ป่วย 14 ราย พบว่าระดับแอนติบอดีในผู้ป่วยที่เป็นการติดเชื้อเฉพาะที่จะลดลงแต่ผู้ที่เป็น Septicemia มีระดับแอนติบอดีของคนปกติที่มีภูมิลำเนาในพื้นที่ต่างๆกันมีระดับแตกต่างกันมาก จึงจำเป็นต้องมี Cut off titer ที่แตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพงและผู้อ่านผลจะต้องมีประสบการณ์มากพอสมควร

- Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

เป็นวิธีที่ได้นำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีหลายชนิด การตรวจด้วยวิธี ELISA ดังกล่าวให้ผลค่อนข้างดีมีความไวและความจำเพาะสูงแต่อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวข้างต้นใช้ crude antigen ต่อมาในปี พ.ศ. 2538 พัชรินทร์ รักเดช และคณะ ได้ผลิต monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ surface envelop และ LPS ซึ่งจำเพาะต่อเชื้อ *B. pseudomallei* (clone 58) ซึ่งต่อมาได้ประยุกต์ใช้ในการเตรียมแอนติเจนด้วยวิธี affinity purified และใช้ตรวจหา IgG และ IgM โดยวิธี ELISA โดยมีความไวและความจำเพาะของ ELISA IgG ร้อยละ 85.7, 82.5 และ ELISA IgM ร้อยละ 63.5 และ 81.8 ตามลำดับ และในปี พ.ศ. 2544 ได้มีการใช้ IgM และ IgG ELISA กับ culture filtrate antigen ในการตรวจผู้ป่วยเมลิออยโดซิส 95 ราย พบว่า IgG ELISA น่าจะเป็นตัวบ่งชี้การเกิดโรคดีกว่า IgM

- Gold blot

ในปี พ.ศ.2534 มงคล คุณากร และคณะ รายงานการใช้ gold blot ในการตรวจหา IgG และ IgM พบว่ามีความไวร้อยละ 100 และ 87.5 ตามลำดับ ความจำเพาะร้อยละ 91.0 และ 88.0 ตามลำดับ แต่ในรายงานนี้ผู้วิจัยได้ทำการทดสอบโดยเปรียบเทียบกับซีรัมคนปกติแทนที่จะเป็นผู้ป่วยติดเชื้อโรคอื่น ๆ และจำนวนผู้ป่วยเมลิออยโดซิสที่ศึกษามีเพียง 40 ราย

- Dot immunoassay

ในปี พ.ศ. 2538 สุรศักดิ์ วงศ์รัตนชีวิน และคณะ รายงานการตรวจหาแอนติบอดีโดยวิธี dot immunoassay โดยใช้ culture filtrate antigen ของเชื้อ *B. pseudomallei* พบว่าได้ผลดีกว่าวิธี ELISA และ IHA โดยมีความไวและความจำเพาะร้อยละ 94.1 และ 99.2 ตามลำดับ แต่เมื่อนำมาศึกษาด้วยวิธี retrospective พบว่า ELISA จะให้ความจำเพาะมากกว่า ขณะที่ dot immunoassay จะให้ความไวที่สูงกว่า

-Immunochromatographic test

เป็นวิธีที่ใช้เทคโนโลยี immunochromatography พัฒนาเพื่อตรวจหา IgG และ IgM มีรายงานการศึกษาในผู้ป่วยเมลิออยโดซิส 30 ราย เปรียบเทียบกับโรคอื่นๆ และผู้บริจาคโลหิต พบว่า IgG มีความไวร้อยละ 100 IgM มีความไวร้อยละ 93.3 และมีความจำเพาะร้อยละ 95 (เพลินจันทร์ เชษฐ์โชติศักดิ์. 2537)

2.7.3 การวินิจฉัยโดยอาศัยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (Molecular biology)

ในปัจจุบันเทคนิคทางอณูชีววิทยาก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว นักวิทยาศาสตร์สามารถใช้เทคนิคดังกล่าวมาตรวจหาเชื้อจุลชีพและสิ่งแปลกปลอมที่มีปริมาณน้อยๆ โดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณ DNA ในหลอดทดลองที่เรียกว่า polymerase chain reaction (PCR) ปัญหาของการตรวจหาเชื้อ *B. pseudomallei* ในสิ่งส่งตรวจโดยตรงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเลือดผู้ป่วย (โดยไม่ผ่านกระบวนการเพาะเชื้อมาก่อน) ยังเป็นไปได้ยากเนื่องจากมีปริมาณเชื้ออยู่ในเลือดน้อยหรือถ้าใช้การตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยาอาจมีการรบกวนจากสารประกอบเชิงซ้อน แอนติเจน-แอนติบอดี (immune complex) ดังนั้นจึงได้มีนักวิจัยหลายกลุ่มพยายามพัฒนาเทคนิค PCR มาใช้ โดยใช้ primer ที่แตกต่างกันออกไป โดยเริ่มตั้งแต่ปีพ.ศ. 2537 รศนา วงศ์รัตนชีวิน และคณะ ได้สร้างตัวตรวจสอบที่จำเพาะชนิด DNA (DNA probe) ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *B. pseudomallei* มีขนาดประมาณ 1.5 kb (เรียกว่า pKKU-S23L) DNA probe นี้สามารถใช้ตรวจสอบหาเชื้อโดยมีความไว 40,000 เซลล์ ต่อมา Lew และ Desmarchelier ได้พัฒนาวิธี PCR เพื่อตรวจหาเชื้อ *B. pseudomallei* ในเลือดโดยใช้ primer ที่ออกแบบจาก 23S rRNA sequence ของเชื้อที่ species ใกล้เคียงใน genus *Pseudomonas* วิธีนี้สามารถตรวจได้ 10^2 เซลล์/มล. ของเลือดที่เพาะเชื้อค้างคืน (ถ้าตรวจโดยตรงจะได้ความไว 10^4 เซลล์/มล.)

ในปีพ.ศ. 2538 มงคล คุณากรและคณะได้พัฒนาวิธีการ seminested PCR และ enzyme immuno assay (EIA) โดยใช้ primer ที่ออกแบบจาก 16S rRNA spacer gene ให้ความไวถึง 75 เซลล์/มล. และปีพ.ศ. 2539 ธารารัชต์ ธารากุลและคณะได้ใช้ primer ที่ออกแบบจาก 16S rRNA เพื่อพัฒนาวิธี nested PCR ให้ความไวถึง 2 เซลล์/มล. ในปี พ.ศ. 2540 อริยา รัตนทองคำและคณะได้พัฒนาวิธี PCR โดยออกแบบ primer จาก specific DNA probe ให้ความไวในการตรวจถึง 1 เซลล์/มล. และธัญชัย สุระและคณะได้พัฒนาวิธี PCR ซึ่งสามารถตรวจหาเชื้อได้ความไว 35 CFU/ml ใน saline suspension และทดลองใช้ PCR นี้ตรวจหาเชื้อ *B. pseudomallei* ในเนื้อเยื่อม้ามของหนูที่ทำให้ติดเชื้อ *B. pseudomallei* แบบไม่มีอาการและเพาะเชื้อไม่ขึ้นพบว่าให้ผลบวก วิธีดังกล่าวมีความจำเพาะสูงไม่เกิดผลบวกปลอมกับเชื้อ *B. mallei, B. cepacia*, และ *B. pseudomonas* ในปี พ.ศ. 2541 Bauernfeind และคณะได้พัฒนาวิธี PCR สำหรับแยกเชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. mallei* โดย

อาศัยการออกแบบ primer จาก 23S rRNA sequences ที่แตกต่างกันของเชื้อทั้งสองชนิด ในปีพ.ศ 2541 Haase และคณะได้เปรียบเทียบวิธี PCR ของ Lew ธารารัชต์ ธารากุลและคณะ และมงคล คุณากรและคณะพบว่าวิธี PCR ที่ออกแบบ primer จาก 16S rRNA sequence มีความไวมากกว่าวิธีของ Lew และ Desmarchelier ถึง 100 เท่าและเมื่อนำไปใช้กับสิ่งส่งตรวจต่างๆพบว่าให้ผลดีมากเกือบร้อยละ 100 แต่มีความจำเพาะเพียงร้อยละ 66.7 ในปี พ.ศ. 2543 มงคล คุณากรและคณะได้ทำการเปรียบเทียบวิธี PCR ทั้ง 3 วิธี กับสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยโรคเมลิออยโดซิสและผู้ป่วยที่ติดเชื้อแบคทีเรียอื่น ๆ พบว่าวิธี PCR ที่ใช้ primer ออกแบบจาก specific DNA probe มีความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 100 ส่วนวิธีที่ใช้ primer ที่ออกแบบจาก 16S rRNA gene และ RNA spacer gene จะมีความจำเพาะร้อยละ 47.4 และร้อยละ 58.8 ตามลำดับ ส่วนความไวของการตรวจนั้น วิธีที่ใช้ primer จาก 16S rRNA gene ให้ผลดีสุดคือร้อยละ 41.4 ส่วนวิธีที่ออกแบบ primer จาก RNA spacer gene และ specific DNA probe มีความไวร้อยละ 34.5 และร้อยละ 31.0 ตามลำดับ (ผกากรอง ลุมพิกานนท์. 2543)

2.8 การรักษา

การรักษาผู้ป่วยเมลิออยโดซิส ความสำคัญอยู่ที่การวินิจฉัยโรคให้ได้ถูกต้องรวดเร็วและตัดสินได้ว่าผู้ป่วยอยู่ในระยะใด ถ้ามีการติดเชื้อที่ลุกลามเร็วโดยมิได้เกิดจากการติดเชื้อในโรงพยาบาลหรือการพบรอยโรคมากกว่าหนึ่งแห่งซึ่งอาจมีรอยโรคเดิมแล้วแพร่กระจายไปอวัยวะอื่น ถ้าระดับ IHA สูงกว่า 1:320 ให้สงสัยว่าเป็นโรคเมลิออยโดซิสเป็นอันดับแรก การให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมเท่านั้นที่จะทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสหายจากโรคได้บ้าง ผู้ป่วย Septicemia มีอันตรายสูงแม้จะได้รับยาที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อก็ตาม ผู้ป่วยเหล่านี้ถ้ารายใดได้รับการรักษาไม่เหมาะสมหรือไม่ได้รับการรักษาจะไม่มีโอกาสรอดชีวิตเลย ส่วนโรคเมลิออยโดซิสแบบเฉพาะที่มีอันตรายต่ำ

โรคเมลิออยโดซิสระยะเฉียบพลัน โรคระยะนี้ต้องการการรักษาด้วยยาชนิดฉีดเข้าเส้นเลือดดำเสมอ ยาที่มีการศึกษาว่ามีประสิทธิภาพในการรักษา ได้แก่ Ceftazidine, Amoxicillin-lavulanic acid, Imipenemc และ Piperacillin

โรคเมลิออยโดซิสในระยะ maintenance เริ่มให้ยาปฏิชีวนะชนิดกินหลังจากอาการโดยทั่วไปดีขึ้นและไข้ลดเป็นเวลาอย่างน้อย 48-72 ชั่วโมง ยาที่ใช้ได้ผล ได้แก่ ยากลุ่ม conventional ประกอบด้วย TMP-SMX (พรรณทิพย์ ฉายากุล. 2548)

2.9 การป้องกันและควบคุมโรค

ในปัจจุบันวิธีการที่ดีที่สุดในการป้องกันโรคคือการรักษาอนามัยส่วนบุคคลให้ดี การใช้ universal precaution ของบุคลากรทางการแพทย์เพื่อป้องกันการติดเชื้อในโรงพยาบาล การ

ทำให้ร่างกายสะอาดอยู่เสมอ การออกกำลังกาย การพักผ่อนเต็มที่ รับประทานอาหารให้ครบ 5 หมู่ จะช่วยให้ร่างกายแข็งแรงแม้ว่าจะได้รับเชื้อก็จะไม่ก่อให้เกิดโรค ตลอดจนต้องอาศัยความรู้ทางระบาดวิทยาเพื่อศึกษาปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อเพื่อนำไปสู่แนวทางการป้องกันที่ถูกต้องต่อไป (พิพัฒน์ ลักษมีจรัลกุล. 2543)

3 โรคสครับไทฟัส

3.1 ลักษณะโรค

โรคสครับไทฟัส เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Rickettsia* จีนัสใหม่คือ *O. tsutsugamushi* โดยคนเป็น accidental host ได้รับเชื้อโดยถูกพาหะคือตัวอ่อนของไรแดง (Chigger)กัด ลักษณะเฉพาะของโรคคือ ผิวหนังที่ถูกตัวไรกัด ลักษณะคล้ายรอยบุหรี่จี้ ซึ่งพบอยู่นานประมาณ 6-18 วัน ต่อมาผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง ปวดศีรษะมาก คลื่นไส้ อาเจียน หูอื้อ เหงื่อออก หนาวสั่น ปวดเมื่อยตามตัว บางรายมีอาการปวดน่อง ตาแดง มีต่อมน้ำเหลืองอักเสบ ตับโต ม้ามโต หลังมีไข้ 4-5 วัน บางรายปรากฏผื่นนูนแดง (maculopapular rash) ตามลำตัวซึ่งจะกระจายไปยังแขนและขา ผื่นเหล่านี้จะหายไปภายใน 2-3 วัน นอกจากนี้อาจตรวจพบคอแข็งหรือดีซ่านได้ สำหรับในรายที่มีอาการรุนแรงจะเกิดภาวะดังต่อไปนี้ ภาวะติดเชื้อและมีภาวะระบบไหลเวียนเลือดล้มเหลว ไตวายเฉียบพลัน ตับวายเฉียบพลัน เยื่อหุ้มสมองหรือสมองอักเสบ ปอดอักเสบ ภาวะระบบหายใจล้มเหลวเฉียบพลัน ผู้ป่วยโรคสครับไทฟัสมักมาพบแพทย์ด้วยไข้เฉียบพลันไม่ทราบสาเหตุ ในการศึกษาโรคสครับไทฟัสในกลุ่มผู้ป่วย septic shock ที่โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา ในปี พ.ศ.2543 โดยสุนทร ชินประสาทศักดิ์ พบว่ามีผู้ป่วย septic shock ร้อยละ 35 เป็นโรคสครับไทฟัส เนื่องจากความชุกของโรคสครับไทฟัสนั้นสูงมาก จึงควรพิจารณาให้ยาปฏิชีวนะที่ครอบคลุมเชื้อก่อโรคชนิดนี้ในผู้ป่วย septic shock ที่ยังหาสาเหตุอื่นไม่พบ เพราะจากการศึกษาพบว่าผู้ป่วย septic shock ที่เกิดจากโรคสครับไทฟัสมีอัตราการตายสูงถึงร้อยละ 12 นอกจากนี้ในการศึกษาผู้ป่วย septic shock และในกลุ่มไข้เฉียบพลันไม่ทราบสาเหตุจำนวน 698 รายที่โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมาในช่วงปี พ.ศ.2535-2545 พบว่าเป็นโรคสครับไทฟัส 165 รายคิดเป็นร้อยละ 23.7 และมีอัตราการตายจากโรคสครับไทฟัสร้อยละ 2.5

ในผู้ป่วยโรคสครับไทฟัสถ้ารักษาไม่ถูกต้องหรือวินิจฉัยโรคสครับไทฟัสไม่ได้อาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ มีการศึกษาความรุนแรงของโรคสครับไทฟัสในผู้ป่วยเอดส์ พบว่าโรคเอดส์ไม่ได้ทำให้รุนแรงขึ้น หากผู้ป่วยไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ (Doxycyclin หรือ Chloramphenical) จะมีไข้อยู่นาน 14 วันอัตราป่วยตายในผู้ไม่ได้รับการรักษาอยู่ระหว่างร้อยละ 0-30 ขึ้นอยู่กับพื้นที่ สายพันธุ์

ของเชื้อและประวัติการสัมผัสโรคของผู้ป่วย ซึ่งอัตราการป่วยและตายมักพบในกลุ่มประชากรที่มีอายุมากขึ้น

3.2 เชื้อก่อโรค

เชื้อ *Rickettsia* ชื่อ *O. tsutsugamushi* (เดิมเป็น *R. tsutsugamushi* หรือ *R.oreintalis*) อยู่ในจีนัส Orientia, Rickettsia และ Family Rickettsiaeceae สำหรับ Orientia ซึ่งเป็น Genus ที่จัดใหม่โดย Tamura และคณะ เมื่อปี พ.ศ.2538 มีความแตกต่างจากจีนัส *Rickettsia* ที่โครงสร้างของ outer envelope ซึ่งในส่วนนอกของผนังเซลล์ *O. tsutsugamushi* จะหนากว่าส่วนในและโครงสร้างทางเคมีของ *O. tsutsugamushi* จะไม่มี peptidoglycan และ lipopolysaccharides เช่น muramic acid, glucosamine, hydroxyfatty acid และ 2-keto-3-deoxyoctonic acid ซึ่งทำให้เชื้อนี้มีการดื้อยาปฏิชีวนะในกลุ่มยับยั้งผนังเซลล์ได้แก่ penicillin มากกว่าเชื้อ Rickettsia อื่นๆ *O. tsutsugamushi* มีโครงสร้างทางเคมีของผนังเซลล์คล้ายคลึงกับแบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบแท่ง (gram negative bacilli) มีขนาด 0.5-1.5 μm × 1.2-3.0 μm ซึ่งสามารถย้อมติดสี Giemsa ได้ เจริญเติบโตได้ในไข่แดง (yolk sac) ของไข่ไก่ cell lines L-929, mouse fibroblast cell หรือ Vero cell เชื้อจะเจริญเติบโตใน perinuclear cytoplasm ของ host cell และแบ่งตัวเหมือนการแตกหน่อ (budding) และดันตัวออกนอก cytoplasmic membrane เหมือนไวรัส การแบ่งตัวใช้เวลา 8-9 ชั่วโมง การแบ่งตัวส่วนใหญ่เป็นแบบ transverse binary fission

โปรตีนที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของเชื้อ *O. tsutsugamushi* ที่แยกได้โดย sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis มีความแตกต่างจาก Rickettsia อื่นในโครงร้างของ envelope ซึ่งจะมีโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 54-58 kDa เป็นส่วนประกอบของผิวเซลล์ ส่วนโปรตีนชั้นในมีขนาด 60 kDa โดย Stover และคณะ และ Ohashi และคณะ ได้ศึกษาพบว่ามีแอนติบอดีชนิด IgG และ IgM เกาะที่ 54-56 kDa นี้ที่ผิวของ *O. tsutsugamushi* ดังนั้น 54-56 kDa protein จึงเป็นโปรตีนที่มีความจำเพาะทั้งสายพันธุ์และ group ของเชื้อนี้ ในขณะที่ 60 kDa protein จะมีความจำเพาะต่อ group ของเชื้อเท่านั้น จากการศึกษาของ Seoung และคณะ พบว่าควรใช้ 56 kDa protein สำหรับผลิตวัคซีนป้องกันโรคสครับไทฟัส เชื้อ *O. tsutsugamushi* มีหลายสายพันธุ์ (antigenic) และมีความแตกต่างทางน้ำเหลืองอย่างชัดเจน จะมี 3 serotype ใหญ่ (*Gilliam, Karp และ Kato*) ซึ่งสามารถมีปฏิกิริยากับสายพันธุ์อื่นๆ

3.3 ลักษณะโรคและพยาธิสภาพของโรค

โรคนี้เป็นโรคซึ่งมีอาการและอาการแสดงทางคลินิกเหมือนโรคเขตร้อนอื่นๆ การซักประวัติ ระบาดวิทยาและพาหะนำโรค (arthropod vector) และช่วยในการวินิจฉัยโรค การวินิจฉัยโรค *Rickettsia* ในขณะนี้ยังมีปัญหาเพราะว่าเชื้อไม่สามารถเพาะได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป

แต่ต้องเพาะเลี้ยงใน eukaryotic host cell (เช่น cell culture, embryonated eggs) สำหรับสัตว์ที่สามารถใส่เชื้อเข้าไปเลี้ยงได้ เช่น หนู นอกจากนั้นยังสามารถวินิจฉัยโดยอาศัยการตรวจทางน้ำเหลืองวิทยา เช่น IFA, IIP, ELISA หรือวิธี Polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งขณะนี้ยังไม่มีการตรวจในโรงพยาบาลทั่วไป มีแต่ในสถาบันที่ทำการศึกษาโดยเฉพาะเท่านั้น ทำให้มีการวินิจฉัยโรค *Rickettsia* น้อยกว่าความเป็นจริง และมีผู้ป่วยบางคนเสียชีวิตโดยไม่ทราบสาเหตุ ขณะนี้มีการศึกษาการทดสอบด้วยวิธีใหม่เพื่อวินิจฉัยโรคได้ง่ายและรวดเร็ว เช่น dipstick test (Dot ELISA) ซึ่งให้ผลการทดสอบที่มีความไวและความจำเพาะสูงแต่มีราคาค่อนข้างแพง การตรวจโรคด้วยการแยกเชื้อ *O. tsutsugamushi* โดยการฉีดเลือดผู้ป่วยเข้าไปในช่องท้องหนู และการทดสอบทางน้ำเหลืองวิทยาทำได้ยุ่งยาก ส่วนใหญ่ทำเพื่อการวิจัย ขณะการวินิจฉัยโรคสครับไทฟัสที่นิยมคือวิธี indirect immunofluorescence assay (IFA) และ immunoperoxidase test (IIP) ซึ่งจะให้ผลการตรวจที่มีความไวและความจำเพาะสูงประมาณร้อยละ 80-90 สำหรับวิธีตรวจแบบใหม่ซึ่งไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ เช่น ELISA, Dot blot ELISA และ Dipstick test เป็นต้นที่ให้ผลการวินิจฉัยโรคแม่นยำดีเทียบเท่าการตรวจโดยวิธี IFA และ IIP สำหรับการทดสอบ Weil-Felix โดยใช้สายพันธุ์ *Proteus* OX-K ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลทั่วไปให้ผลการตรวจที่มีความไวร้อยละ 12-30 ความจำเพาะร้อยละ 40-50 ซึ่งค่อนข้างต่ำ สำหรับ PCR ใช้ Primer 56 kDa Antigen ให้ผลการตรวจดีแต่เป็นการตรวจเพื่องานวิจัยเป็นส่วนใหญ่

การวินิจฉัยที่เป็นมาตรฐานสากลสำหรับโรคสครับไทฟัสตามข้อแนะนำขององค์การอนามัยโลก (WHO) ได้แก่

1. การตรวจพบ Eschar
2. ตรวจทาง Serology ด้วยวิธี IFA
   2.1 ถ้า IFA-IgM titer $\geq$1:400, IgG titer $\geq$1:1,600
      2.1.1 ถ้า IFA titer $\geq$1:400 จะมีความไวร้อยละ 80 ความจำเพาะร้อยละ 96
      2.1.2 ถ้า IFA titer $\geq$1:200 จะมีความไวร้อยละ 70 ความจำเพาะร้อยละ 92
      2.1.3 ถ้า IFA titer $\geq$1:100 จะมีความไวร้อยละ 84 ความจำเพาะร้อยละ 78
   2.2 IIP-IgM titer $\geq$1:400, IgG titer $\geq$1:1,600 ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
3. มีการเพิ่มขึ้นของไตเตอร์ $\geq$ 4 เท่า เมื่อเจาะน้ำเหลือง 2 ครั้งห่างกัน 10-14 วัน โดยไตเตอร์ที่สอง $\geq$1:200 มีความจำเพาะร้อยละ 98 ความไวร้อยละ 54

ในการตรวจวินิจฉัยโรคสครับไทฟัสนอกจากประวัติที่อยู่อาศัยหรือการเดินทางเข้าไปในถิ่นที่มีรายงานของโรคนี้ และโอกาสเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อจากตัวไรอ่อนซึ่งเป็นพาหะกัด และที่สำคัญต้องพยายามตรวจร่างกายเพื่อหา Eschar ซึ่งพบได้ร้อยละ 30-40 ของผู้ป่วย กรณีที่ตรวจไม่พบรอย

Eschar ต้องอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการดังที่ได้กล่าวมาบ้างแล้ว ได้แก่ immunological method, PCR และการตรวจหาแอนติเจนหรือการฉีดเข้าไปในสัตว์ทดลอง

3.4 การวินิจฉัยโรค

3.4.1 Immunological method

3.4.1.1 Weil-Felix test

เป็นการตรวจที่ใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากง่ายและสะดวก อาศัยหลักการที่แอนติเจน OX-K ของเชื้อ Proteus มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอนติเจนของ *O. tsutsugamushi* โดยจะมีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับน้ำเหลืองของผู้ป่วยโรคสครับไทฟัสที่มีแอนติบอดีชนิด IgM ซึ่งจะตรวจพบได้ภายใน 5-10 วันหลังมีอาการ รวมทั้งยืนยันได้ว่าเป็นการติดเชื้อครั้งแรก แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีความไวและความจำเพาะต่ำ นอกจากนี้พบอัตราการเกิดผลบวกปลอมได้ประมาณร้อยละ 1.1-4.0 จากสาเหตุการติดเชื้ออื่นๆเช่น การติดเชื้อ Proteus, ไข้มาลาเรีย, เลปโต-สไปโรซิส และ relapsing fever เป็นต้น

3.4.1.2 Complement fixation test (CFT)

ใช้แอนติเจนจากการเพาะเชื้อ *O. tsutsugamushi* บนไข่แดง BS-C-1 และนำไปใช้ในปฏิกิริยา CFT โดยนำน้ำเหลืองของผู้ป่วยมาทดสอบ ซึ่งจะมีแอนติบอดีต่อเชื้อ *O. tsutsugamushi* สายพันธุ์ *Karp, Gilliam* และ *Kato* จากการศึกษาของ Lida และคณะ พบว่าวิธีนี้มีความจำเพาะดีโดยเฉพาะน้ำเหลืองที่ตรวจในครั้งแรก แต่วิธีนี้มีขั้นตอนในการเตรียมยุ่งยากมากเกินไป (พรรณทิพย์ ฉายากุล. 2548)

3.4.1.3 Indirect immunofluorescent antibody test (IFA)

เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากในปัจจุบันเพราะมีความไวและความจำเพาะดี และยังใช้ในการยืนยันผลการตรวจวิธีอื่นได้อีกด้วย (Koh GC. 2010) นอกจากนี้หากทำการตรวจด้วย microimmunofluorescent antibody (micro-IFA) ยิ่งเพิ่มความไวและความจำเพาะให้สูงขึ้นไปอีก วิธีนี้ใช้แอนติบอดีชนิด IgM และ IgG ที่ได้จาก field rodent, trombiculid mite และผู้ป่วยในถิ่นระบาด ในการวินิจฉัยโรคสครับไทฟัสด้วยวิธี IFA นั้นควรพิจารณาการเพิ่มขึ้นของ titer เป็น 4 เท่า (four-fold rising) ของซีรัมคู่ (paired sera) มาประกอบกัน (Blacksell S. 2007)

3.4.1.4 Indirect immunoperoxidase test

เป็นวิธีที่พัฒนามาจากวิธี IFA โดยเปลี่ยนจากการตรวจหาโดยอ่านการเรืองแสงของสาร fluorescent มาเป็นการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ peroxidase แทนวิธีของ IFA วิธีนี้

มีข้อดีคือ อ่านผลได้ง่ายและรวดเร็วกว่า โดยตรวจพบได้ตั้งแต่ 4-5 วัน หลังจากมีอาการไข้ อย่างไรก็ตามอาจตรวจพบแอนติบอดีด้วยวิธีการนี้ปรากฏอยู่นานถึง 10 ปี (พรรณทิพย์ ฉายากุล. 2548)

3.4.1.5 Enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA)

เป็นการตรวจหาแอนติบอดีในน้ำเหลืองของผู้ป่วยโดยเตรียมแอนติเจนจาก L cell ของหนูที่ติดเชื้อแล้วนำไปผ่านกระบวนการปั่นแยก หลังจากเติมน้ำเหลืองผู้ป่วยแล้วล้างออก จากนั้นใส่แอนติบอดีชนิด anti-human IgG peroxidase conjugate ซึ่งนำมาใช้แทน anti-human IgG FITC conjugate ซึ่งใช้ในวิธี IFA โดยสรุปวิธีนี้ใช้แอนติเจนชนิดจำเพาะขนาด 54-56 kDa ซึ่งเป็น polypeptide บนผิวของ *O. tsutsugamushi* สายพันธุ์ *Kawasaki* เป็นเป้าหมาย วิธีทดสอบ ELISA นี้มีข้อดีได้แก่ สามารถทำได้ง่ายและรวดเร็ว ทำได้พร้อมกันหลายๆรายอย่างมีประสิทธิภาพ จึงเป็นวิธีที่ถูกนำมาใช้ในการศึกษาทางระบาด และจากการศึกษาของ Jang WJ ได้ใช้วิธี IgM capture ELISA โดยใช้ recombinant Bor 56 antigen ที่ได้พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับวิธี IFA พบว่าวิธี IgM capture ELISA มีความไวร้อยละ 96.3 เมื่อเทียบกับ IgG-IFA และมีความไวเป็นร้อยละ 100 เมื่อเทียบกับ IgM-IFA ความจำเพาะเป็นร้อยละ 99.0 ซึ่งวิธีนี้เหมาะที่จะนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยโรค สครับไทฟัสในระยะเริ่มต้น (Jang WJ. 2003)

3.4.1.6 Immunohistochemistry

จากการศึกษาของ Kim DM และคณะ พบว่าการย้อมเนื้อเยื่อบริเวณที่เป็นรอยโรคที่เรียกว่า Eschar นั้นมีความไวและความจำเพาะดีและเทคนิคนี้ยังสามารถนำไปใช้ในการตรวจยืนยันโรคสครับไทฟัสได้อีกด้วย (Kim DM. 2008)

3.4.17 IgM dot immunobinding assay (IgM-DIA)

Koay As และคณะพัฒนาขึ้นเพื่อวินิจฉัยโรคสครับไทฟัสโดยใช้ whole cell แอนติเจนของ เชื้อ *O. tsutsugamushi* สายพันธุ์ *Gilliam, Karp และ Kato* โดย immobilized แอนติเจนลงบนกระดาษไนโตรเซลลูโลสแล้วนำมาทำปฏิกิริยากับซีรัมของผู้ป่วย สามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่าบนกระดาษไนโตรเซลลูโลส โดยผลบวกจะมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาล จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธีนี้มีความไวและความจำเพาะเป็นร้อยละ 90.4 และ 81.4 ตามลำดับเมื่อเทียบกับวิธี IIP ซึ่งวิธี IgM-DIA สามารถทำได้ง่ายและรวดเร็วไม่ต้องอาศัยการอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์ เหมาะที่จะนำไปใช้ในการตรวจกรองผู้ป่วยโรคสครับไทฟัสในภาคสนามได้ (Koay AS. 1995)

3.4.2 Polymerase chain reaction (PCR)

เป็นวิทยาการที่กำลังถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการศึกษาโรคติดเชื้อ โดยเป็นการเพิ่มปริมาณ DNA ของ *O. tsutsugamushi* แล้วทำการค้นหาดีเอ็นเอเป้าหมาย ซึ่งทำให้สามารถตรวจหาเชื้อได้โดยตรงทั้งในเลือด blood monocyte, blood clot และ whole blood วิธีนี้ช่วยในการวินิจฉัยให้เร็วขึ้นโดยสามารถตรวจพบ *O. tsutsugamushi* ตั้งแต่ 6 ชั่วโมงหลังติดเชื้อ และยังสามารถนำมาใช้วินิจฉัยผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาจนอาการดีขึ้นแล้ว

3.4.3 Antigen detection และ isolation method เป็นการ inoculate เชื้อ *O. tsutsugamushi* เข้าไปในหนูหรือเซลล์เลี้ยงเชื้อแล้วจึงนำมาวิเคราะห์ต่อไป วิธีนี้ใช้เวลานานประมาณ 1-3 เดือน ต้องใช้ห้องปฏิบัติการที่ทันสมัย และมีความปลอดภัยสูง ประกอบกับต้องมีบุคลากรที่ผ่านการฝึกฝนมาเป็นอย่างดี วิธีนี้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการศึกษาสายพันธุ์ของเชื้อ *O. tsutsugamushi*

ในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการตรวจใหม่ๆหลายอย่างขึ้นมาใช้ในการวินิจฉัย เช่น การตรวจ IFA ของโรคในกลุ่ม Rickettsia อื่นๆ เช่น rocky mountain spotted fever โดยใช้เนื้อเยื่อบริเวณที่เกิดรอยโรค

3.5 พยาธิกำเนิดและพยาธิสภาพ

เชื้อ *O. tsutsugamushi* เข้าสู่เยื่อบุเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยกระบวนการ attachment และ phagocytosis และหลุดจาก phagosome โดยอยู่อย่างอิสระและแบ่งตัวใน cytoplasm ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิด cell injury มีการแบ่งตัวเข้าสู่ mesothelial cell ในหลอดเลือดขนาดเล็กเกิด vasculitis ได้ทั่วร่างกาย ความรุนแรงของโรคขึ้นกับตัวเชื้อและภูมิต้านทานของ host ภูมิคุ้มกันชนิด humoral ในคนสามารถป้องกันโรคอยู่นานประมาณ 2 ปีต่อสายพันธุ์เดียวกันกับการติดเชื้อครั้งแรก ถ้าต่างสายพันธุ์จะป้องกันได้ไม่กี่เดือน

3.5 การเกิดโรค

โรคนี้พบได้ในเอเชียกลาง เอเชียตะวันออก และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตั้งแต่ไซบีเรียตะวันออกเฉียงใต้และตอนเหนือของญี่ปุ่น ไปจนถึงตอนเหนือของออสเตรเลียและวานูอาตู ทางตะวันตกถึงปากีสถาน และยังพบโรคนี้ได้ในพื้นที่สูง 10,000 ฟุตเหนือระดับน้ำทะเลบนเทือกเขาหิมาลัย ในประเทศไทยพบโรคนี้ชุกชุมทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ ซึ่งเป็นเขตที่ตัวไรอ่อนติดเชื้อนี้เป็นพาหะนำโรค โดยมีหนูและสัตว์ปีกเป็นแหล่งรังโรคที่เหมาะสมอาศัยอยู่ อาชีพมีส่วนที่ทำให้การกระจายแยกตามเพศและอายุที่แตกต่างกัน โรคมักจำกัดอยู่ในกลุ่ม

ผู้ใหญ่วัยทำงานในบริเวณที่มีตัวไรชุกชุม เช่น ทุ่งนา ไร่ บริเวณป่าที่ปลูกใหม่ บริเวณที่สร้างชุมชนใหม่

3.6 วิธีการแพร่เชื้อ

แพร่เชื้อโดยถูกไรอ่อนที่มีเชื้อ *O. tsutsugamushi* กัด ตัวไรระยะที่เป็น nymph และระยะตัวเต็มวัยไม่ดูดเลือดคนและสัตว์

3.7 ระยะฟักตัว

ระยะฟักตัวปกติ 10-12 วันอาจแตกต่างกันได้ตั้งแต่ 6-21 วัน

3.8 การรักษา

การให้ยาปฏิชีวนะที่สามารถฆ่าเชื้อ *O. tsutsugamushi* เป็นปัจจัยเดียวที่ช่วยลดอาการของโรคได้และลดอัตราการเจ็บป่วย อัตราการตายและการระบาดของโรคในผู้ป่วย ส่วนใหญ่รักษาด้วย Tetracycline 500 mg วันละ 2 ครั้ง Doxycyclin 100 mg กินวันละ 2 ครั้ง นาน 7 วัน หรือใช้ Chloramphenicol 50 mg/kg/day ให้ผลการรักษาเช่นเดียวกัน การให้ยา Tetracycline 500 mg วันละ 4 ครั้งจะช่วยลดการกลับมาเป็นซ้ำของโรคแต่ไม่สามารถใช้ยากลุ่มนี้กับเด็กและหญิงตั้งครรภ์ได้อาจให้ยา Azithromycin แทน ในประเทศไทยมีรายงานการดื้อยาของโรคสครับไทฟัสต่อการรักษาด้วย Chloramphenicol และ Tetracycline

3.9 วิธีการควบคุม

3.9.1 หลีกเลี่ยงการเข้าไปสัมผัสแหล่งที่อยู่ของไรอ่อนหรือป้องกันไม่ให้ไรอ่อนกัด โดยสวมเสื้อผ้าชุบสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการกำจัดตัวไรอ่อน

3.9.2 กำจัดตัวไรอ่อนและตัวไร โดยการฉีดพ่นยาในกลุ่ม chlorinate hydrocarbon บนพื้นดินและพุ่มไม้รอบ ๆ ที่พัก และบริเวณที่มีคนอาศัยในถิ่นระบาดของโรค (พรรณทิพย์ ฉายากุล. 2548)