



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญและ
คุณสมบัติทางการดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี
(Effect of global warming on the occurrence of important pathogenic
bacteria and multi-drug resistance properties of bacteria in Bangsaen and
Pattaya beaches, Chon Buri Province)

นางสุภัณฑิต นิมรัตน์
นายวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย
นายปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560
มหาวิทยาลัยบูรพา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 79/2560

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาถึงผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญและคุณสมบัติทางการดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี การศึกษาได้แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ 1 ที่ทำการศึกษาถึงยีนความรุนแรงในการก่อโรค ได้แก่ กลุ่มยีนดื้อยา *sul1*, *cmlA*, *cat1*, *sul1/dhfrV*, *CITM* และ *tetA* ซึ่งเป็นยีนดื้อต่อยา Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline ใน *E. coli* และ *K. pneumoniae* ผลการศึกษาตรวจพบ *E. coli* จำนวน 90 สายพันธุ์ ที่มียีนก่อโรคลุ่มดื้อยา Sulfonamide (ยีน *sul1*) 6.66%, ยีนดื้อยา Chloramphenicol (ยีน *cmlA* และ *cat1*) 7.78%, ยีนดื้อยา Trimethoprim-sulfamethoxazole (ยีน *sul1/dhfrV*) 1.11%, ยีนดื้อยา Ampicillin (ยีน *CITM*) 16.66% แต่ไม่พบยีนก่อโรคในกลุ่ม AmpC (ยีน *bla_{CMY-1}* และ *bla_{CMY-2}*) และ Tetracycline (ยีน *tetA*) ส่วนการตรวจหายีนความรุนแรงในการก่อโรคใน *K. pneumoniae* จำนวน 56 สายพันธุ์ ตรวจพบยีนดื้อยา Sulfonamide (ยีน *sul1*) 12.50%, ยีนดื้อยา Chloramphenicol (ยีน *cmlA* และ *cat1*) 10.71%, ยีนดื้อยา Trimethoprim-sulfamethoxazole (ยีน *sul1/dhfrV*) 12.50%, ยีนดื้อยา Ampicillin (ยีน *CITM*) 19.64% แต่ไม่พบยีนก่อโรคลุ่ม AmpC (ยีน *bla_{CMY-1}* และ *bla_{CMY-2}*) และ Tetracycline (ยีน *tetA*) ส่วนที่ 2 ได้แก่ การศึกษาถึงสายพันธุ์ O111 และ O26 ของ *E. coli* ผลการศึกษาพบว่า *E. coli* ทั้งหมด 90 สายพันธุ์ไม่ใช่สายพันธุ์ O111 และ O26 และส่วนที่ 3 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยา ผลการทดลองพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยาของ *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี มีความสัมพันธ์ต่ำ ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยาของ *K. pneumoniae* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี พบว่ามีความสัมพันธ์กันสูง จึงทำให้เกิดความน่าสงสัยที่จะทำการศึกษาต่อเนื่องถึงเหตุผลดังกล่าวเพื่อให้สามารถควบคุมและคาดการณ์การเกิดโรคระบาดรวมทั้งการรักษาได้อย่างถูกต้องของ *E. coli* และ *K. pneumoniae* โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณที่ทำการศึกษา เพื่อจะทำให้ลดค่าใช้จ่ายที่มีผลกระทบต่อทางด้านสาธารณสุข ทางการท่องเที่ยวและทางด้านสังคมเศรษฐกิจของประเทศไทยอย่างมากมายมหาศาลนั่นเอง

คำสำคัญ: สภาวะโลกร้อน, *E. coli*, *E. coli* O111, *E. coli* O26, *K. pneumoniae*, การดื้อยา, ยีนดื้อยา, บางแสน, พัทยา, ชลบุรี, ประเทศไทย

ABSTRACT

In this study, the effect of global warming on the occurrence of important pathogenic bacteria and multi-drug resistance properties of bacteria in Bangsaen and Pattaya beaches, Chon Buri Province were investigated. The experiment was divided into 3 parts. In the first phase, antibiotic resistant genes; *sul1*, *cmlA*, *cat1*, *sul1/dhfrV*, CITM and *tetA* which resisted to Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin and Tetracycline, respectively, in *E. coli* and *K. pneumoniae* were monitored. Results demonstrated that 90 strains of *E. coli* consisted of antibiotic resistant genes for Sulfonamide (*sul1*, 6.66%), Chloramphenicol (*cmlA* and *cat1*, 7.78%), Trimethoprim-sulfamethoxazole (*sul1/dhfrV*, 1.11%), Ampicillin (CITM, 16.66%). However, AmpC genes (*bla_{CMY-1}* and *bla_{CMY-2}* genes) and *tetA* gene were not found in tested *E. coli*. While antibiotic resistant genes in *K. pneumoniae* for Sulfonamide (*sul1*, 12.50%), Chloramphenicol (*cmlA* and *cat1*, 10.71%), Trimethoprim-sulfamethoxazole (*sul1/dhfrV*, 12.50%), Ampicillin (CITM, 19.64%). AmpC (*bla_{CMY-1}* and *bla_{CMY-2}* genes) and Tetracycline (*tetA* gene) were not monitored in the tested *K. pneumoniae*. In the second part, the occurrence of *E. coli* strains O111 and O26 in this study was determined. Results showed that all of 90 tested *E. coli* strains were not strain O111 and O26. In the third part, the relationship among antibiogram, beta-lactamase production and occurrence of resistant genes was investigated. Results showed that those relationships in *E. coli* isolated from sediment and seawater at Bangsaen and Pattaya beaches, Chon Buri Province was rather low. In contrast, those relationships in *K. pneumoniae* from sediment and seawater at Bangsaen and Pattaya beaches, Chon Buri Province was high. This information provided the requirement for the further study in order to control, forecast and treatment the disease outbreak caused by *E. coli* and *K. pneumoniae*, particularly in the studied areas. This knowledge could greatly reduce the expenses in terms of public health, tourism, society and economic in Thailand.

Keywords: Global warming, *E. coli*, *E. coli* O111, *E. coli* O26, *K. pneumoniae*, Drug resistance, Antibiotic resistant gene, Bangsaen, Pattaya, Chon Buri Province, Thailand

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	I
บทคัดย่อ.....	II
Abstract.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	V
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	18
4 ผลการทดลอง.....	28
5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....	58
เอกสารอ้างอิง.....	63
ผลผลิต (Output).....	70
ประวัติคณะผู้วิจัย.....	71

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ประมาณการณั้บญชีก้าชเรื้อนกระจกของประเทศไทย จ้าแนกตามสาขาที่ม่การปลดปล่อยระหว่าง พ.ศ. 2546-2563.....	10
2	ประมาณการณั้บญชีก้าชเรื้อนกระจกของประเทศไทย จ้าแนกตามประเภทของก้าชเรื้อนกระจกระหว่างปี พ.ศ. 2546-2563.....	11
3	ไพรมเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา.....	23
4	การตรวจหายีนดื้อยาใน <i>E. coli</i> ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	29
5	การแพร่กระจายของยีนดื้อยากลุ่ม Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline ใน <i>E. coli</i> (n = 90) ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	32
6	การแพร่กระจายของยีนก่อโรคกลุ่ม NSBL, ESBL และ AmpC ใน <i>E. coli</i> (n = 90) ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี	33
7	สรุปการแพร่กระจายของยีนก่อโรคใน <i>E. coli</i> (n = 90) ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	34
8	การตรวจหายีนดื้อยาใน <i>K. pneumoniae</i> ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	35
9	การแพร่กระจายของยีนดื้อยากลุ่ม Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline ใน <i>K. pneumoniae</i> (n = 56) ทั้งชนิดที่ไม่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และชนิดที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี.....	37
10	การแพร่กระจายของยีนก่อโรคกลุ่ม NSBL, ESBL และ AmpC ใน <i>K. pneumoniae</i> (n = 56) ทั้งชนิดที่ไม่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และชนิดที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	38
11	สรุปการแพร่กระจายของยีนก่อโรคใน <i>K. pneumoniae</i> ทั้งชนิดที่ไม่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และชนิดที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	39
12	ผลการทดสอบอุบัติการณ์ของ <i>Escherichia coli</i> สายพันธุ์ก่อโรคกลุ่ม O26 และ O111 ด้วยปฏิกิริยา Agglutination ของ <i>E.coli</i> ที่คัดแยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย.....	40

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน <i>E. coli</i> ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี....	47
14	ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน <i>K. pneumoniae</i> ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี.....	54

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนที่หาดบางแสนและพัทยา.....	20
2	เครื่องปั่นเหวี่ยง.....	22
3	สารเคมีที่เกี่ยวข้องในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่จำเพาะ.....	22
4	การผสมสารเพื่อเตรียมหลอดปฏิกิริยา.....	23
5	เครื่อง Thermocycler.....	24
6	การนำหลอดปฏิกิริยาเข้าเครื่อง.....	24
7	การผสมระหว่างผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้กับสีย้อม.....	25
8	การโหลดดีเอ็นเอลงในหลุมเจล.....	25
9	การทำอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซิส.....	25
10	เครื่อง UV-transilluminator.....	26
11	Agglutination serum (a) <i>E. coli</i> O26 K60 (b) <i>E. coli</i> O111 K58.....	26
12	การทดสอบ Agglutination ต่อ <i>E. coli</i> สายพันธุ์ก่อโรคกลุ่ม O26.....	44
13	การทดสอบ Agglutination ต่อ <i>E. coli</i> สายพันธุ์ก่อโรคกลุ่ม O111.....	45

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันสภาวะโลกร้อน (Global warming) มีผลกระทบกับการดำรงชีวิตของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตทั้งทางตรงและทางอ้อมอย่างชัดเจนและรุนแรง ดังที่เห็นได้ทั้งในประเทศไทยและทั่วโลก โดยในประเทศไทยพบอุทกภัยที่มากกว่าปกติทั่วประเทศ รวมทั้งมีการเกิดภัยพิบัติอย่างมากมาทั่วโลก ยกตัวอย่างเช่น ในช่วงปี พ.ศ. 2552-2554 นี้ ได้เกิดเหตุการณ์สัตว์จำนวนมากตายอย่างหาสาเหตุไม่ได้ในหลายพื้นที่ไม่ว่าจะเป็นมลรัฐอาร์คันซอส ประเทศสหรัฐอเมริกา มีนกแบล็กเบิร์ดกว่า 5,000 ตัว ตกลงมาตายเกลื่อนถนน และมลรัฐหลุยเซียน่า นกแบล็กเบิร์ดปีกแดง นกสตาร์ลิงและนกกระจอก รวมแล้วกว่า 5,000 ตัว ก็ตกลงมาตายเกลื่อนในช่วงปีใหม่ในปีนี้ และนอกจากนี้มลรัฐอื่น ๆ ในประเทศสหรัฐอเมริกาที่มีนกกและปลาตายเช่นกัน ได้แก่ มลรัฐอิลลินอยส์ เทนเนสซี มิสซิสซิปปี้ แมร์รี่แลนด์และมิสซูรี นอกจากนี้ในแถบยุโรปก็พบปรากฏการณ์ดังกล่าว โดยในประเทศอิตาลีได้มีนกพิราบตกลมาตายหลายพันตัว และทางตอนใต้ของประเทศสวีเดนที่กำลังเผชิญกับอากาศหนาวเย็นก็มีนกกตกลมาตายบนกองหิมะอีกหลายร้อยตัว ขณะที่ทวีปอเมริกาใต้ก็ได้รับผลกระทบทางสภาวะการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศโลกเช่นเดียวกัน โดยประมาณเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2553 พบว่าจะระเซ้ เต่า ปลาโลมาและสัตว์น้ำอีกหลายชนิดลอยตายเกลื่อนในทะเลสาบและแม่น้ำในประเทศโบลิเวีย และในประเทศบราซิลในช่วงก่อนเทศกาลปีใหม่มีปลาชาร์ดิน ปลาโคริกเกอร์และปลาตุ๊กทะเลรวมกว่า 100 ตัน ตายอยู่ในทะเลอย่างไม่ทราบสาเหตุ และยังมีเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในแถบเอเชีย ได้แก่ ตั้งแต่ช่วงก่อนเทศกาลปีใหม่ พ.ศ. 2554 ในประเทศเวียดนามได้มีปลาหลายพันตัวลอยแพขึ้นเหนือแม่น้ำ

นอกจากการพบปรากฏการณ์เตือนภัยต่าง ๆ ยังพบว่าในปัจจุบันหลายประเทศทั่วโลกมีภัยพิบัติเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งสภาวะโลกร้อน อากาศแปรปรวนและภัยพิบัติต่าง ๆ มีผลกระทบถึงการเปลี่ยนแปลงวงจรชีวิตของสิ่งมีชีวิต ไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์และจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเปลี่ยนแปลงของอุบัติการณ์ ความชุก การแพร่ระบาด ความรุนแรงและการกลายพันธุ์ของเชื้อก่อโรคชนิดต่าง ๆ (Miraglia et al., 2009) ยกตัวอย่างเช่น การแพร่ระบาดของโรค Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS; McMichael and Woodruff, 2008; Frumkin and McMichael, 2008) โรคอาหารเป็นพิษ (Tirado et al., 2010) โรคติดเชื้อจากน้ำ (Confalonieri et al., 2007) โรคมะลาเรีย (Khasnis and Nettleman, 2005) และโรคไข้เลือดออก (Kurane, 2010) เป็นต้น

จากการที่คณะผู้วิจัยได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม พืชวิทยาและการบริหารจัดการสารเคมี ในหัวข้อวิจัยเรื่อง “สภาวะโลกร้อนและอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” เพื่อดำเนินการวิจัยในช่วงวันที่ 4 มกราคม พ.ศ. 2554 ถึง 3 มกราคม พ.ศ. 2555 และโครงการวิจัยเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ

2558 เมื่อทำการวิจัยในหัวข้อดังกล่าวรวมกับการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับหัวข้อวิจัยพบว่า สภาวะโลกร้อนอาจจะมีผลกระทบอย่างมากไม่เฉพาะอุบัติการณ์ของแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ เท่านั้น แต่อาจทวีความรุนแรงทั้งทางด้านการแพทย์และสาธารณสุข โดยทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณของ แบคทีเรียกลุ่มก่อโรคที่สำคัญ รวมทั้งอาจเกิดการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งมีผลทำให้มีการก่อโรคที่รุนแรงขึ้นอย่างมาก รวมทั้งเกิดการดื้อยาที่ใช้รักษาในปัจจุบัน ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญ ที่สุดทางด้านการแพทย์และสาธารณสุขในปัจจุบัน

รวมทั้งมีผลกระทบต่อแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ก่อโรคในอดีตจากสภาวะอากาศที่แปรปรวน โดย อาจจะมีผลต่อการเจริญที่แตกต่างและผิดปกติ ทำให้เปลี่ยนจากแบคทีเรียไม่ก่อโรคมานเป็นแบคทีเรีย ก่อโรคและดื้อยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นตามรายงานบางฉบับที่กล่าวไว้ ยกตัวอย่างเช่น การเพิ่มความ รุนแรงในการก่อโรคของแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดทั้งในต่างประเทศรวมทั้งประเทศไทย โดยแบคทีเรีย ก่อโรคบางชนิดมีการเพิ่มจำนวนและมีความรุนแรงในการก่อโรคมมากขึ้น เมื่ออุณหภูมิของ สภาพแวดล้อมสูงขึ้น ยกตัวอย่างเช่น *Salmonella* จะมีปริมาณเพิ่มขึ้น 5-10% เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น 1 องศาเซลเซียส ภายในระยะเวลา 1 สัปดาห์ (Cullen, 2009; Kovats et al., 2004) นอกจากนี้ แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ เช่น *Vibrio parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* ซึ่งเป็นแบคทีเรีย ก่อโรคในมนุษย์ที่สำคัญที่มักเกิดจากการบริโภคอาหารทะเล (FAO, 2008) เป็นแบคทีเรียอีกกลุ่ม หนึ่งที่พบการระบาดเพิ่มมากขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น (Drake et al., 2007; McLaughlin et al., 2005) รวมทั้งจากรายงานของกระทรวงสาธารณสุขร่วมกับแผนงานสร้างกลไกเฝ้าระวังและ พัฒนาระบบยา (กพย.) คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่พบว่า “เชื้อแบคทีเรียหลาย ชนิดมีแนวโน้มดื้อยาเพิ่มขึ้น ได้แก่ *Acinetobacter baumannii* ดื้อยาหลายชนิดถึง 50-60% โดยเฉพาะดื้อยาคาร์บาเพนิม (Carbapenems) ซึ่งเคยมีประสิทธิภาพที่ดี แต่ในเวลาเพียง 10 ปี พบการดื้อยานี้สูงขึ้นเป็น 30-60 เท่า (จากปี พ.ศ. 2543 พบการดื้อยาเพียง 1-2% ต่อมาในปี พ.ศ. 2553 การดื้อยาเพิ่มเป็น 60-62%) และยังพบเชื้อ *Escherichia coli* ดื้อยาในกลุ่ม beta-lactam ถึง 79-80% เป็นต้น”

จากข้อมูลดังกล่าวนอกจากจะทำให้เกิดการตระหนักถึงสภาวะโลกร้อนที่มีผลต่ออุบัติการณ์ ของแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ในบริเวณต่าง ๆ ของโลกตามที่กล่าวมาแล้ว จึงทำให้เกิดการดำเนินงานวิจัย เกี่ยวกับผลกระทบของโลกร้อนที่มีต่อแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญที่สุดของประเทศไทย ที่รู้จักในระดับ โลก ได้แก่ ทะเลบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี ซึ่งมหาวิทยาลัยบูรพา ได้ตั้งอยู่ในบริเวณดังกล่าว โดยทะเลบางแสนเป็นทะเลที่เหมาะสมสำหรับนักท่องเที่ยวทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติ (Vuthiphandchai et al., 2004; Office of Environment Policy and planning, 1997; Thongra-ar et al., 1995) และพัทยาก็เป็นสถานที่ท่องเที่ยวยอดนิยมอีกแห่งหนึ่งตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากพัทยาอยู่ ไม่ห่างจากกรุงเทพ ฯ มากนัก เหมาะสำหรับการมาพักผ่อนในวันหยุดสุดสัปดาห์ การเดินทางมา พัทยาในปัจจุบันมีความสะดวกมาก โดยใช้เวลาไม่ถึง 2 ชั่วโมง ก็ถึงชายหาดพัทยา และพัทยายัง เป็นสถานที่ที่มีชื่อเสียง เนื่องจากมีแหล่งบันเทิงและการแสดงต่าง ๆ เป็นจำนวนมาก รวมทั้งมี พิพิธภัณฑสถาน เครื่องเล่นกีฬานานาชนิด ร้านค้า ร้านอาหาร และกิจกรรมการนั่งเรือเร็ว (speed boat) ไปเล่นน้ำ จนทำให้หลายคนจะรู้จักพัทยามากกว่าชลบุรีซึ่งเป็นตัวจังหวัดเสียอีก (ธนาการกสิกรไทย, 2553)

จากการศึกษาวิจัยเรื่อง “สภาวะโลกร้อนและอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ที่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม พืชวิทยาและการบริหารจัดการสารเคมี เพื่อดำเนินการวิจัยในช่วงวันที่ 4 มกราคม พ.ศ. 2554 ถึง 3 มกราคม พ.ศ. 2555 ทำให้ผู้วิจัยต้องค้นคว้าความรู้มากมายเกี่ยวกับ (1) การเพิ่มของอุณหภูมิหรือสภาวะโลกร้อนในบริเวณที่ทำการศึกษานำข้อมูลดังกล่าวเพื่อวางแผนจัดการลดสภาวะโลกร้อนในพื้นที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพและ (2) ผลกระทบของการเพิ่มของอุณหภูมิหรือสภาวะโลกร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและชนิดของแบคทีเรียบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา และทำให้ทราบถึงแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Escherichia coli* O157:H7, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio furnissii* และ *Vibrio parahaemolyticus* และโครงการวิจัยเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2558 พบว่ามีแบคทีเรียบางชนิดที่ดื้อยาหลายขนานและพบยีนดื้อยาหลายชนิด ดังนั้นจึงทำการศึกษาต่อไปเพื่อทำให้มีข้อมูลเพิ่มเติมเอื้อต่อประสิทธิภาพมากพอในการควบคุมและป้องกันการระบาดของแบคทีเรียก่อโรคที่มีความรุนแรงและดื้อต่อยามากขึ้น ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาต่อเนื่องเพราะแบคทีเรียก่อโรคร้ายพันธุ์ใหม่ที่อาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากผลกระทบของสภาวะโลกร้อนหรือการแปรปรวนของสภาวะอากาศดังกล่าว สามารถทำให้เกิดการเกิดโรคที่รุนแรงขึ้นและดื้อต่อยาเพิ่มขึ้นเนื่องจากสภาวะโลกร้อนในทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา ซึ่งจะทำให้เกิดองค์ความรู้และมีข้อมูลต่อเนื่องในเชิงลึกเพิ่มเติม พร้อมทั้งจะรับมือกับปัญหาที่จะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพดีขึ้น เนื่องจากในปัจจุบันองค์ความรู้ด้านนี้ที่มีผลกระทบจากสภาวะโลกร้อนยังมีอยู่น้อยมากทั้งในระดับนานาชาติและระดับประเทศ รวมทั้งข้อมูลที่จะได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทั้งทางด้านสุขภาพของนักท่องเที่ยวภายในประเทศและนักท่องเที่ยวต่างประเทศ รวมทั้งทราบข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากสามารถทราบการระบาดของแบคทีเรียและสามารถเตือน รวมทั้งกระบวนการรักษาที่ถูกต้องจากยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมและรวดเร็วแก่นักท่องเที่ยวได้อย่างทันท่วงที และทำให้หาดบางแสนและพัทยาเป็นสถานที่ท่องเที่ยวที่ได้รับความเชื่อมั่นต่อระบบสาธารณสุขเพิ่มขึ้นอย่างสูง รวมทั้งจะทำให้มหาวิทยาลัยบูรพาเป็นมหาวิทยาลัยศูนย์กลางรวบรวมองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยเกี่ยวกับปัญหาสภาวะโลกร้อนด้านผลกระทบต่อความหลากหลายของแบคทีเรียและแบคทีเรียก่อโรคที่ดื้อต่อยาและมีความรุนแรงที่สามารถรับมือต่อปัญหาจากผลกระทบจากสภาวะโลกร้อนต่อชุมชนในบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นสถานที่ท่องเที่ยวของจังหวัดชลบุรีและของประเทศไทยได้อย่างครอบคลุมและต่อเนื่องนั่นเอง

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

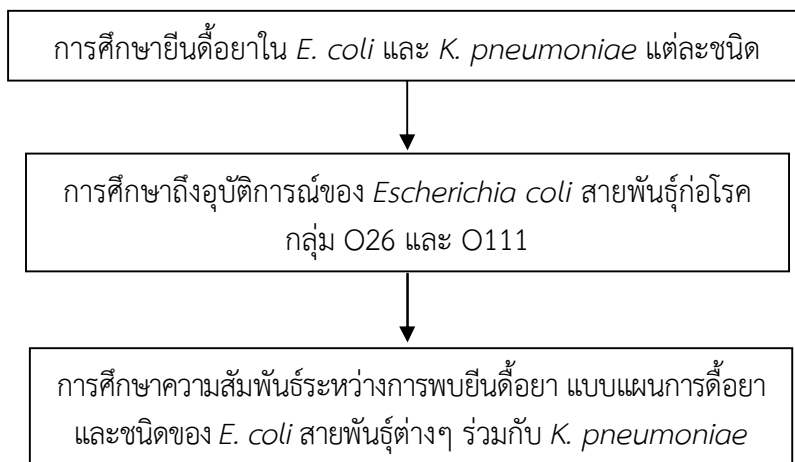
เพื่อศึกษาต่อเนื่องถึงผลของสภาวะโลกร้อนจากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและลักษณะทางกายภาพของดินตะกอนและน้ำทะเลต่ออุบัติการณ์ของการดื้อยาของแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี โดยในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จะดำเนินการต่อเนื่องถึง (1) การศึกษาถึงการจำแนกสายพันธุ์ก่อโรคของ *E. coli* ซึ่งคัดแยกมาก่อนใน

โครงการวิจัยที่ผ่านมาที่พบได้ในบริเวณที่ทำการศึกษ (2) ทำการศึกษาถึงยีนดื้อยาชนิดอื่น ๆ เพิ่มเติมเนื่องจากพบว่าแบคทีเรีย *E. coli* และ *Klebsiella pneumoniae* ดื้อต่อยาชนิดดังกล่าวจากการศึกษาที่ผ่านมา (3) รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ของการดื้อยาของแบคทีเรีย *E. coli* และ *K. pneumoniae* และสายพันธุ์ก่อโรคของ *E. coli* เพื่อทำให้เกิดองค์ความรู้ที่ครบถ้วนเพื่อสามารถป้องกันและทำการควบคุมแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ เนื่องจากชายหาดบางแสนและชายหาดพัทยา จ. ชลบุรี เป็นชายหาดที่มีความสำคัญที่สุดแห่งหนึ่งของประเทศไทยที่จะสามารถทำให้เกิดความเชื่อมั่นของนักท่องเที่ยวทั้งในระดับชาติและระดับสากล

ขอบเขตของโครงการวิจัย

จากการที่คณะผู้วิจัยได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ในหัวข้อวิจัยเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ในปีงบประมาณ 2558 ซึ่งทำให้ทราบถึงรูปแบบการดื้อยาและการมียีนดื้อยาบางกลุ่ม และเพื่อทำให้เกิดองค์ความรู้ในเชิงลึกมากขึ้น ซึ่งจะสามารถทำให้มีข้อมูลเพียงพอที่ทำให้ควบคุมการระบาดของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อต่อยาหลายขนานในนักท่องเที่ยวทั้งในระดับประเทศและต่างประเทศ จึงทำให้ผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะศึกษาต่อเนื่องถึง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญและคุณสมบัติทางการดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” โดยนำแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่คัดแยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลจากการศึกษาที่ผ่านมา นำมาศึกษาต่อเนื่องถึงการมียีนดื้อยา กลุ่มอื่น ๆ ที่พบว่ามีการดื้อยาในการศึกษาที่ผ่านมา นอกเหนือจากที่ได้ศึกษามาแล้วในโครงการวิจัยที่ผ่านมา รวมทั้งการศึกษาถึงแบคทีเรียที่คัดแยกได้นำมาจัดจำแนกเป็นสายพันธุ์ก่อโรคอื่น ๆ รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียก่อโรคลายพันธุ์ต่าง ๆ โดยเฉพาะ *E. coli* สายพันธุ์ต่าง ๆ และ *K. pneumoniae* และแบบแผนการดื้อยา ร่วมกับการพบยีนดื้อยา เพื่อให้สามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาป้องกันการระบาดของโรคที่เกิดจากแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว

วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎีและ/หรือแนวทางการคิดที่นำมาใช้ในงานวิจัย



ประโยชน์ที่ได้รับ

ทำให้ทราบถึงผลกระทบของการเพิ่มของอุณหภูมิหรือสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและเชื้อหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา และสามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาป้องกันการระบาดของโรคที่เกิดจากแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว และทำให้หาดบางแสนและพัทยาเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่ปลอดภัยทั้งนักท่องเที่ยวในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากมีระบบทางสาธารณสุขที่มีประสิทธิภาพ สามารถเตือนภัยการเกิดโรคระบาดได้อย่างรวดเร็ว เพราะมีการติดตามการแพร่กระจายของแบคทีเรียทุกกลุ่มดังกล่าวมาแล้ว

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

1. สภาวะโลกร้อน
2. แบคทีเรียก่อโรค
3. เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. สภาวะโลกร้อน

ตลอดระยะเวลาหลายปีที่ผ่านมา โลกได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศของโลกอย่างรวดเร็วและรุนแรงอย่างไม่เคยมีบันทึกมาก่อน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้สร้างผลกระทบต่อการค้าทางซีพของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ทั่วโลก ดังนั้นจึงมีการจัดตั้งคณะกรรมการระหว่างประเทศว่าด้วยการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศหรือไอพีซีซี (Intergovernment Panel on Climate Change; IPCC) ในปี ค.ศ. 1988 จาก World Meteorological Organization (WMO) และ U.N. Environment Program (UNEP) เพื่อประเมินและศึกษาความเปลี่ยนแปลงสภาพดิน ฟ้าอากาศที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรง โดยเฉพาะในส่วนที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์ (Laver, 1998; Glantz, 2001)

ปัจจุบันสภาวะโลกร้อน (Global warming) พบได้มากขึ้นและชัดเจนขึ้นทั่วโลก โดยที่ปรากฏการณ์โลกร้อน ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิเฉลี่ยของอากาศใกล้พื้นผิวโลกและน้ำในมหาสมุทรตั้งแต่ช่วงครึ่งหลังของคริสต์ศตวรรษที่ 20 และมีการคาดการณ์ว่าอุณหภูมิเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยพบว่าในช่วง 100 ปีที่ผ่านมา นับถึง พ.ศ. 2548 อากาศใกล้ผิวดินทั่วโลกโดยเฉลี่ยมีค่าสูงขึ้น 0.74 ± 0.18 องศาเซลเซียส (Confalonieri et al., 2007; Intergovernmental Panel on Climate Change., 2007) ซึ่งคณะกรรมการระหว่างรัฐบาลว่าด้วยการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Inter-governmental Panel on Climate Change: IPCC; McMichael et al., 2006; Hays et al., 2005) ของสหประชาชาติได้สรุปไว้ว่า “จากการสังเกตการณ์การเพิ่มอุณหภูมิโดยเฉลี่ยของโลกที่เกิดขึ้นตั้งแต่กลางคริสต์ศตวรรษที่ 20 (ตั้งแต่ พ.ศ. 2490) ค่อนข้างแน่ชัดว่าเกิดจากการเพิ่มความเข้มข้นของแก๊สเรือนกระจกที่เกิดขึ้นโดยกิจกรรมของมนุษย์ที่เป็นผลในรูปของปรากฏการณ์เรือนกระจก” (Confalonieri et al., 2007; Intergovernmental Panel on Climate Change., 2007) นอกจากนี้ปรากฏการณ์ธรรมชาติบางอย่าง เช่น ความผันแปรของการแผ่รังสีจากดวงอาทิตย์ และการระเบิดของภูเขาไฟ อาจส่งผลเพียงเล็กน้อยต่อการเพิ่มอุณหภูมิในช่วงก่อนยุคอุตสาหกรรมจนถึง พ.ศ. 2490 และมีผลเพียงเล็กน้อยต่อการลดอุณหภูมิหลังจากปี พ.ศ. 2490 เป็นต้นมา (Ammann et al., 2007)

การเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศโลกจากสภาวะโลกร้อนจะทำให้พื้นที่ขนาดใหญ่หลายแห่งทั่วโลกแห้งแล้งมากกว่าที่เป็นอยู่ถึง 4 เท่า ล่าสุดโครงการ Global Carbon Project พบว่าระหว่างปี พ.ศ. 2543-2548 โลกปล่อยก๊าซเรือนกระจกในอัตรา 3.2% มากกว่าเมื่อทศวรรษก่อนในอัตรา 0.8% ถึง 4 เท่า ทำให้สถานการณ์น่าเป็นห่วงยิ่งขึ้น (หนังสือพิมพ์มติชนรายวัน, 2549)

นอกจากนี้จากการศึกษาแบบจำลองการคาดคะเนภูมิอากาศที่สรุปโดย IPCC บ่งชี้ว่าอุณหภูมิโลกโดยเฉลี่ยที่ผิวโลกจะเพิ่มขึ้น 1.1 ถึง 6.4 องศาเซลเซียส ในช่วงคริสต์ศตวรรษที่ 21 (พ.ศ. 2544–2643; Confalonieri et al., 2007) และระดับน้ำทะเลก็จะสูงขึ้นต่อเนื่องไปอีกหลายสหัสวรรษ แม้ว่าระดับของแก๊สเรือนกระจกจะเข้าสู่ภาวะเสถียรแล้วก็ตาม การที่อุณหภูมิและระดับน้ำทะเลเข้าสู่สภาวะดุลยภาพได้ช้าเป็นเหตุมาจากความจุความร้อนของน้ำในมหาสมุทรซึ่งมีค่าสูงมาก (Confalonieri et al., 2007; Intergovernmental Panel on Climate Change., 2007)

1.1 ผลกระทบจากสภาวะโลกร้อน

สภาวะโลกร้อนก่อให้เกิดผลกระทบต่อมนุษย์ในหลาย ๆ ด้าน ได้แก่

1.1.1 ผลกระทบของภาวะโลกร้อนต่อแหล่งน้ำและแหล่งอาหาร

สภาวะโลกร้อนเป็นผลทำให้อุณหภูมิโดยเฉลี่ยของโลกเพิ่มสูงขึ้นทำให้อัตราการระเหยของน้ำจากแหล่งน้ำผิวดินต่าง ๆ เพิ่มขึ้นด้วย ส่งผลให้แหล่งน้ำที่ใช้ในการอุปโภคบริโภคของประชาชนลดลงหรือแห้งหายไป (ประกาย กิจธิคุณ, 2550) ยกตัวอย่างเช่น การเกิดปรากฏการณ์ฝนทิ้งช่วง อากาศร้อนและแห้งแล้งจัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2534 ตามด้วยความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูงติดต่อกันยาวนานในภาคเหนือ ส่งผลให้เกิดการระบาดของโรคใหม่ในต้นข้าวระยะคอรวง (Neck blast) อย่างรุนแรงในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน ซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการระบาดของโรคดังกล่าว ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่ไม่เคยเกิดขึ้นมาก่อน และในปี พ.ศ. 2547 เกิดปรากฏการณ์ฝนสิ้นสุดเร็วกว่าปกติตั้งแต่เดือนกันยายน ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนกลางและตอนล่าง ส่งผลให้เกษตรกรขาดแคลนน้ำในการเพาะปลูกข้าวและผลผลิตข้าวลดลงตามไปด้วย (Office of Environmental Policy and Planning, 2000)

1.1.2 ผลกระทบของภาวะโลกร้อนต่อระดับน้ำทะเลและพื้นที่ชายฝั่ง

นักวิทยาศาสตร์และผู้เชี่ยวชาญด้านสภาวะโลกร้อนได้มีการคาดการณ์ว่า ระดับน้ำในทะเลจะเพิ่มสูงขึ้นประมาณ 50 เซนติเมตร ภายในปี พ.ศ. 2563 โดยสภาวะโลกร้อนได้ทำให้การละลายของภูเขาน้ำแข็งขั้วโลกเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งทำให้เกิดการขยายตัวของผิวน้ำทะเล ภายใต้ปรากฏการณ์นี้ย่อมส่งผลกระทบต่อที่ตั้งถิ่นฐานของมนุษย์บริเวณชายฝั่งทะเล เนื่องมาจาก การเพิ่มขึ้นของระดับน้ำทะเล การกัดเซาะชายฝั่งทะเล เกิดการสูญเสียที่ดินทำกิน ยกตัวอย่างเช่น ประเทศสหรัฐอเมริกาได้สูญเสียพื้นที่เกาะเวเลสเกต (Whale Skate) ในบริเวณหมู่เกาะฮาวาย จากการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำทะเล นอกจากนี้ประเทศตุวาลู ซึ่งเป็นประเทศหมู่เกาะที่ตั้งอยู่บริเวณกลางมหาสมุทรแปซิฟิกตอนใต้กำลังหายไปจากแผนที่โลก เนื่องมาจากระดับน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกัน ทั้งนี้ประเทศที่มีอาณาเขตติดต่อกับทะเลและอยู่ต่ำกว่าระดับน้ำทะเล หรือมีภูมิประเทศเป็นเกาะจะได้รับผลกระทบอย่างรุนแรงจากสภาวะโลกร้อน โดยมีการคาดการณ์ว่าหากระดับน้ำทะเลสูงขึ้นอีก 1 เมตร พื้นที่ชายฝั่งของประเทศอูรุกวัยจะหายไปร้อยละ 0.05 ประเทศอียิปต์ร้อยละ 1 ประเทศเนเธอร์แลนด์ร้อยละ 6 ประเทศบังกลาเทศร้อยละ 17.5 และหมู่เกาะมาร์แชลล์อาจสูญเสยร้อยละ 80

สำหรับประเทศไทย ชายฝั่งบริเวณอ่าวไทยได้รับผลกระทบจากการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำทะเล โดยบริเวณชายฝั่งที่ประสบปัญหารุนแรง คือ กรุงเทพมหานคร สมุทรปราการ ระยอง เพชรบุรี ลงไปถึงนราธิวาส บริเวณดังกล่าวกำลังถูกคลื่นกัดเซาะชายฝั่ง ทำให้บริเวณถิ่นที่อยู่อาศัยของประชาชนหายไปและต้องเคลื่อนย้ายบ้านเรือนหลายครั้ง ส่งผลกระทบต่อวิถีชีวิต การประกอบอาชีพประมงและการท่องเที่ยวเป็นอย่างมาก ทำให้สูญเสียรายได้จากกิจกรรมดังกล่าวและสิ้นเปลืองงบประมาณของประเทศมหาศาลในการป้องกันและฟื้นฟูสภาพ (Office of Environmental Policy and Planning, 2000)

1.1.3 ผลกระทบของภาวะโลกร้อนต่อการเกิดภัยพิบัติทางธรรมชาติ

อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจากผลกระทบของปรากฏการณ์โลกร้อนทำให้สภาพภูมิอากาศและฤดูกาลทั่วโลกมีความแปรปรวนตามไปด้วย เช่น การมีฤดูหนาวที่สั้นลง การมีฤดูร้อนที่ยาวนานขึ้น ความแปรปรวนของฤดูกาล เป็นต้น ซึ่งส่งผลกระทบต่อเรื่องไปถึงความถี่และความรุนแรงของภัยพิบัติทางธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น การเกิดพายุเฮอริเคนมิตซ์ที่ทำให้ประชาชนในประเทศแถบแคริบเบียนและอเมริกากลางเสียชีวิตกว่า 75,000 คน ในปี พ.ศ. 2541 นอกจากนั้นในปี พ.ศ. 2548 เฮอริเคนแคทรินาได้สร้างความเสียหายอย่างใหญ่หลวงมากที่สุดในประวัติศาสตร์ของประเทศสหรัฐอเมริกา โดยทำให้บริเวณชายฝั่งด้านตะวันออกของสหรัฐอเมริกา และทางตอนใต้ของประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมืองนิวออร์ลีนส์ มลรัฐหลุยเซียนา โดยส่งผลให้ผู้คนสูญหาย ล้มตายและไร้ที่อยู่อาศัยเป็นจำนวนมาก อีกทั้งยังไม่นับรวมการเปลี่ยนแปลงฤดูกาลอย่างผิดปกติจากที่เคยมีฤดูใบไม้ผลิก่อนฤดูร้อนในแถบยุโรปก็เปลี่ยนเป็นไม่มีฤดูใบไม้ผลิแต่ข้ามไปเป็นฤดูร้อนที่ร้อนจัดเกินปกติ (ประกาย กิจธิคุณ, 2550) สำหรับประเทศไทยได้รับผลกระทบจากภัยพิบัติทางธรรมชาติเช่นเดียวกัน เช่น เหตุการณ์น้ำท่วมและโคลนถล่มในหมู่บ้านน้ำก้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ และที่หมู่บ้านแม่ระมาด จังหวัดตาก หรือเหตุการณ์ฝนตกหนักติดต่อกันเป็นระยะเวลาานาน จนทำให้เกิดภาวะน้ำท่วมหนักใน 47 จังหวัดของประเทศไทย ในช่วงปี พ.ศ. 2549 เป็นต้น

1.1.4 ผลกระทบของภาวะโลกร้อนต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์

ความแปรปรวนของสภาพภูมิอากาศและฤดูกาลอันเป็นผลมาจากสภาวะโลกร้อนสามารถสร้างผลกระทบต่อมนุษย์ทั้งทางด้านสุขภาพร่างกายและสุขภาพจิต ยกตัวอย่างเช่น ประชาชนที่อาศัยอยู่ในบริเวณพื้นที่เขตกึ่งหนาว เช่น ทวีปยุโรป มักปรับตัวไม่ได้หรืออยู่ในภาวะเครียดเมื่อประสบกับอากาศที่ร้อนขึ้น ผลกระทบนี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนในครั้งเมื่อเกิดปรากฏการณ์คลื่นความร้อน (อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส) ในหลายประเทศในทวีปยุโรปเมื่อปี พ.ศ. 2546 ได้ทำให้คนชราและเด็กเสียชีวิตกว่า 35,000 คน (ประกาย กิจธิคุณ, 2550) สำหรับประชาชนในประเทศในเขตร้อนก็ประสบปัญหาได้เช่นเดียวกัน เช่น ประเทศอินเดียมีประชาชนนับพันคนเสียชีวิตจากการที่อุณหภูมิสูงกว่า 47.5 องศาเซลเซียส นอกจากนั้นการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิยังได้ก่อให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพ คือ การแพร่ระบาดของโรคติดต่อทั้งโรคที่เคยสูญหายไปแล้วในอดีตและโรคอุบัติขึ้นใหม่ โดยแพร่ระบาดไปถึงพื้นที่ที่ไม่เคยพบการแพร่ระบาดมาก่อน ทั้งนี้ปรากฏการณ์ดังกล่าวเป็นผลมาจากการที่อุณหภูมิสูงขึ้นทำให้สภาวะเหมาะสมต่อการเจริญและการเพิ่มจำนวนของ

เชื้อก่อโรคต่าง ๆ เช่น การระบาดของโรคไข้เลือดออกในปี พ.ศ. 2547 (59,000 ราย) ของประเทศ อินโดนีเซีย โดยมีผู้เจ็บป่วยเพิ่มสูงขึ้นจากสถิติ 2 ปี ก่อนหน้านี้อยู่ถึงร้อยละ 18

1.2 สถานการณ์ปัจจุบันและอนาคตของสภาวะโลกร้อนในประเทศไทย

จากการติดตามความแปรปรวนของสภาวะภูมิอากาศโลกพบว่า ตลอดระยะเวลา 30 ปี ที่ผ่านมา อุณหภูมิเฉลี่ยของโลกเพิ่มสูงขึ้นตลอด โดยกรมอุตุนิยมวิทยาได้รายงานไว้ว่า อุณหภูมิของ ประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2494 - 2549 มีแนวโน้มสูงขึ้นทั้งอุณหภูมิเฉลี่ย อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยและ อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย ส่วนปริมาณฝนและวันที่มีฝนตกมีแนวโน้มลดลง ส่วนพายุหมุนเขตร้อนที่เคลื่อน ผ่านประเทศไทยมีแนวโน้มลดลง สำหรับสถิติอุณหภูมิสูงสุดที่ตรวจวัดได้ในภาคเหนือ 45.5 องศาเซลเซียส ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 43.9 องศาเซลเซียส ภาคกลาง 43.5 องศาเซลเซียส ภาค ตะวันออก 42.9 องศาเซลเซียส ภาคใต้ฝั่งตะวันออก 41.2 องศาเซลเซียส และภาคใต้ฝั่งตะวันตก 40.5 องศาเซลเซียส (ศูนย์ภูมิอากาศแห่งชาติ กรมอุตุนิยมวิทยา, 2554)

จากรายงานแห่งชาติ (Review of National Communication: A Case of Thailand's Climate Change Action Plan) ที่รายงานสถานการณ์การปล่อยก๊าซเรือนกระจกของ ประเทศไทย ตามอนุสัญญาสหประชาชาติว่าด้วยการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศ หรือ UNFCCC สรุป ได้ว่า ประเทศไทยมีการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกหลัก ๆ 3 ชนิด ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทนและก๊าซไนตรัสออกไซด์ โดยภาคเกษตรกรรม ป่าไม้และอุตสาหกรรมเป็นสาขาที่มีการ ปล่อยก๊าซเรือนกระจกมากที่สุด (Office of Environmental Policy and Planning, 2000)

จากข้อมูลการปล่อยก๊าซเรือนกระจกในปี พ.ศ. 2537 และปี พ.ศ. 2546 พบว่าการปล่อย ก๊าซเรือนกระจกในภาคพลังงานเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 48.8 ในภาคการเกษตรเพิ่มขึ้นร้อยละ 7 และ สำหรับภาคของเสียเพิ่มขึ้นจาก 0.74 ล้านตันคาร์บอนไดออกไซด์หรือเทียบเท่า เป็น 26.87 ล้านตัน คาร์บอนไดออกไซด์หรือเทียบเท่า เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเพิ่มขึ้นของการปล่อยก๊าซเรือนกระจก ราย สาขากับอัตราการเจริญเติบโตของมูลค่าผลิตภัณฑ์มวลรวมและอัตราการเจริญเติบโตของประชากร พบว่า การเพิ่มของการปล่อยก๊าซเรือนกระจกในภาคพลังงานคิดเป็น 1.7 เท่าของการเติบโตของ มูลค่าผลิตภัณฑ์มวลรวม และคิดเป็น 5.29 เท่าของการเติบโตของประชากร และสำหรับภาคของเสีย นั้น การเพิ่มของการปล่อยก๊าซเรือนกระจกคิดเป็น 123.28 เท่าของการเติบโตของมูลค่าผลิตภัณฑ์ มวลรวม และคิดเป็น 382.85 เท่าของการเติบโตของประชากร ซึ่งนับว่าเป็นการเพิ่มที่สูงมาก การ วิเคราะห์ในเบื้องต้นดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าภาคพลังงานและภาคของเสียเป็นภาคส่วนที่มีการเพิ่มของ ก๊าซเรือนกระจกที่สูง ซึ่งรัฐบาลควรให้ความสำคัญในการกำหนดนโยบายที่เหมาะสมเพื่อปรับปรุง การปล่อยก๊าซเรือนกระจก (Office of Environmental Policy and Planning, 2000)

การคาดการณ์ปริมาณก๊าซเรือนกระจกของประเทศไทยในอนาคต โดยทั่วไปแล้ว ปริมาณการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกในแต่ละสาขามีความสัมพันธ์กับระดับการขยายตัวทาง เศรษฐกิจของประเทศในระดับที่แตกต่างกันไป เช่น โดยภาคพลังงานเป็นภาคที่มีความสัมพันธ์อย่าง สูงกับผลิตภัณฑ์มวลรวมของประเทศ (GDP) ดังนั้นการคาดการณ์ระดับการขยายตัวทางเศรษฐกิจจึง เป็นข้อมูลที่สำคัญประการหนึ่งที่ใช้ในการประเมินปริมาณการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกในอนาคต ในปัจจุบันประเทศไทยไม่มีพันธกรณีที่บังคับให้ต้องดำเนินการเพื่อลดก๊าซเรือนกระจกในปริมาณที่

กำหนด และปริมาณการปล่อยก๊าซเรือนกระจกยังคงน้อยเมื่อเทียบกับประชาคมโลก นอกจากนี้การคาดการณ์การปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกในอนาคตได้อย่างแม่นยำของประเทศไทยโดยไม่ส่งผลกระทบต่อการพัฒนาทางเศรษฐกิจนั้นทำได้ยาก เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศกำลังพัฒนาซึ่งมีฐานทางเศรษฐกิจที่อยู่ระหว่างการเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ (Office of Environmental Policy and Planning, 2000)

แต่อย่างไรก็ตามได้มีการประมาณการณ์แนวโน้มการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกของประเทศไทยในระหว่างปี พ.ศ. 2546 - 2563 ดังสรุปในตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 ประมาณการณ์บัญชีก๊าซเรือนกระจกของประเทศไทย จำแนกตามสาขาที่มีการปลดปล่อยระหว่าง พ.ศ. 2546-2563

Sectors	CO ₂ -equivalent emissions (Mt)					Annual Growth (%)		
	2546	2548	2553	2558	2563	2548-2553	2553-263	2548-2563
1. Energy	193.20	195.26	243.49	297.54	387.46	4.51%	4.75%	4.67%
2. Industrial process	18.74	19.70	25.25	28.90	35.96	5.09%	3.60%	4.09%
3. Solvent and Other Product USE	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00%	0.00%	0.00%
4. Agriculture	82.79	81.78	82.12	80.90	81.91	0.08%	-0.03%	0.01%
5. Land USE Change and Forestry	22.61	21.71	21.34	20.94	20.66	-0.34%	-0.32%	-0.33%
6. Waste	26.87	27.87	29.69	30.80	32.53	1.27%	0.92%	1.04%
Total Emission & Removals	344.21	346.33	401.90	459.07	558.52	3.02%	3.35%	3.24%
Total Population (Million people) ¹	63.08	65.04	67.23	69.08	70.51	0.67%	0.48%	0.54%
Emission per Capita (t CO ₂ e/capita)	5.46	5.33	5.98	6.65	7.92	2.34%	2.86%	2.68%

ที่มา : บริษัท อีอาร์เอ็ม-สยาม จำกัด (พ.ศ. 2548)

¹ข้อมูลการพยากรณ์จำนวนประชากร Human resources planning division, National Economic and Social Development Board

ตารางที่ 2 ประมาณการณ์บัญชีก๊าซเรือนกระจกของประเทศไทย จำแนกตามประเภทของก๊าซ
เรือนกระจกระหว่างปี พ.ศ. 2546-2563

Sectors	Co ₂ -equivalent emissions (Mt)					Annual Growth (%)		
	2546	2548	2553	2558	2563	2548-2553	2553-263	2548-2563
CO ₂	218.36	224.14	277.29	334.21	430.06	4.35%	4.49%	4.44%
CH ₄	95.35	93.98	95.64	96.02	98.29	0.37%	0.27%	0.31%
N ₂ O	29.71	27.50	28.07	27.85	29.02	0.41%	0.33%	0.36%
HFCs	0.79	0.80	0.91	1.00	1.16	2.47%	2.50%	2.49%
Total Emission & Removals	344.21	346.33	401.90	459.07	558.52	3.02%	3.35%	3.24%

ที่มา : Office of Environmental Policy and Planning (2000)

2. แบคทีเรียก่อโรค

2.1 แบคทีเรียสกุล *Escherichia*

แบคทีเรียสกุลนี้มีเพียง 1 ชนิด ที่มีความสำคัญในทางการแพทย์ คือ *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน พบในลำไส้ของคนและสัตว์ นอกจากนี้ยังจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มที่มีความสำคัญที่สุดทั้งในแง่ของการก่อโรคและเป็นดัชนีบ่งบอกถึงการปนเปื้อนด้วยอุจจาระ สำหรับ *E. coli* มีหลายซีโรไทป์และหลายไบโอไทป์ (Biotypes) ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ บางสายพันธุ์มีแคปซูล แบคทีเรียชนิดนี้สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี เช่น มีชีวิตอยู่ตามเสื้อผ้าแห้งและในฝุ่นละอองได้หลายวัน มีชีวิตอยู่ในน้ำได้นานหลายสัปดาห์ เป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่พบบ่อยที่สุดในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน (Gram negative bacilli) และที่สำคัญคือเป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดของการติดเชื้อในกระแสเลือดโดยแบคทีเรียแกรมลบและ Septicemic shock

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์ และมีความสามารถในการติดต่อสูงมาก โดยหากได้รับเชื้อเพียง 100 เซลล์ ก็สามารถทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ โดยทั่วไปจะพบเชื้อ EHEC อยู่ในลำไส้ของสัตว์บางชนิด เช่น วัว แต่เชื้อนี้อาจแพร่กระจายสู่ผู้บริโภคได้ โดยการรับประทานอาหารและดื่มน้ำที่มีเชื้อชนิดนี้ปนเปื้อนอยู่ มีรายงานการแพร่กระจายของโรคนี้ว่าเกิดจากการกินเนื้อวัวบดที่ไม่ได้ทำให้สุกดีเสียก่อน เช่น ในแฮมเบอร์เกอร์ ถ้าผู้ป่วยมีอาการรุนแรงมากขึ้นอาจเกิดโรคแทรกซ้อน เช่น Hemorrhagic colitis หรือ Hemolytic uremic syndrome (HUS) ซึ่งพบได้ในทุกวัย แต่พบมากในวัยเด็กและทารก นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุของอาการไตวายในเด็ก ซึ่งอาจทำให้มีอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์หนึ่งที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ ซึ่งสามารถสร้างสารพิษได้อย่างน้อย 2 ชนิด คือ Shiga-like toxin 1 (Verotoxin 1) และ Shigella-like toxin 2 (Verotoxin 2) เป็นสารพิษที่มีลักษณะคล้ายกับสารพิษของเชื้อบิดไม่มีตัวที่เกิดจาก *Shigella dysenteriae* ในปัจจุบันพบว่าเชื้อ *E. coli* มากกว่า 50 ซีโรไทป์ ที่จัดอยู่ในกลุ่มของ EHEC (มี Shiga-like toxin) เช่น ซีโรไทป์ O157: H7, O26 : H11, O111 : H8 และ O113: H21 เป็นต้น แต่เนื่องจากซีโรไทป์ O157: H7 เป็นซีโรไทป์ที่พบได้บ่อย และเป็นปัญหาทางสาธารณสุขมากที่สุด โดยทั่วไปในการตรวจหาเชื้อ EHEC นี้ จึงหาเฉพาะซีโรไทป์ O157: H7 เท่านั้น (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547)

E. coli O157: H7 เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญ เป็นสาเหตุของการก่อโรคในมนุษย์ เช่น ก่อให้เกิดอาการอุจจาระร่วง (Pai et al, 1988) โรคลำไส้อักเสบ (Riley, 1987) Hemolytic-Uremic Syndrome (HUS) และ Thrombocytopenic Purpura (TTP; Griffin and Tauxe, 1991; Karmali, 1992)

2.2 แบคทีเรียสกุล *Vibrio*

แบคทีเรียในสกุลนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น มักเป็นท่อนโค้งคล้ายเครื่องหมายจุลภาคหรือท่อนตรง เซลล์มีขนาด 0.5-0.8 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์และแคปซูล เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่ปลายเซลล์ แฟลกเจลลามีเปลือกหุ้ม (Sheath) ต่อเนื่องกันจากเยื่อหุ้มชั้นนอก (Outer membrane) ของผนังเซลล์ บางชนิดอาจพบแฟลกเจลลาอยู่ด้านข้างของเซลล์ ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* และ *V. alginolyticus* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ปัจจุบันสามารถจำแนกแบคทีเรียสกุลนี้ได้มากกว่า 30 ชนิด โดยบางชนิดก่อโรคและบางชนิดไม่ก่อโรค *Vibrio* ทนต่อความเป็นด่างได้ดีและเจริญได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 7.4-9.6 ดังนั้นตามธรรมชาติจึงสามารถพบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม (Baumann et al., 1984; Farmer et al., 2005; สุบัณฑิต นิมรัตน์, 2551)

V. parahaemolyticus เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทางทะเลและเป็นสาเหตุของอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบอย่างรุนแรงจากการบริโภคอาหารทะเลดิบ โดยจะแสดงอาการหลังจากบริโภคอาหารทะเลดิบประมาณ 15 ชั่วโมง (Wittman and Flick, 1995; Munn, 2004) การระบาดของแบคทีเรียชนิดนี้เกิดขึ้นทั่วโลก ในประเทศญี่ปุ่น *V. parahaemolyticus* เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษถึง 50-70% ของผู้ป่วยที่เป็นโรคอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้แบคทีเรียชนิดนี้ยังทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดและติดเชื้อที่บาดแผลได้อีกด้วย (Farmer et al., 2005; สุบัณฑิต นิมรัตน์, 2551)

V. alginolyticus เดิมเคยจัดเป็น *V. parahaemolyticus* ไบโอดี 2 เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทางทะเล บางครั้งพบในสิ่งส่งตรวจทางการแพทย์ (Braude et al., 1986; Farmer et al., 2005) จัดเป็นแบคทีเรียฉวยโอกาสในคน โดยทำให้เกิดการติดเชื้อที่บาดแผล หู และตา รวมทั้งเนื้อเยื่ออ่อนนุ่มบริเวณต่าง ๆ (Farmer et al., 2003; สุบัณฑิต นิมรัตน์, 2551)

2.3 แบคทีเรียสกุล *Klebsiella*

แบคทีเรียสกุลนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ โคโลนีสมีขนาดใหญ่ประมาณ 3-6 มิลลิเมตร และลักษณะเป็นเมือกเนื่องจากมีแคปซูล เมื่อนำเข็มขีดโคโลนีและดึงขึ้นมักจะเห็นเป็นเมือกยึดติด เข็มขึ้นมา ดำรงชีวิตได้อย่างอิสระในสภาวะแวดล้อมทั่วไป เช่น น้ำ ดิน ขนมหวาน อาหารที่ทำจากนม ผัก ผลไม้ น้ำดื่ม ในลำไส้คนพบได้ประมาณ 5% แต่จะพบไม่มากและพบเป็นครั้งคราวเท่านั้น (Transient flora) ในลำคออาจพบได้บ้างและพบที่ผิวหนังโดยเฉพาะที่มือซึ่งมักจะปนเปื้อนเข้ามาจากอุจจาระ นอกจากนี้สิ่งแวดล้อมในโรงพยาบาลที่มักจะพบ ได้แก่ บริเวณอ่างน้ำ พรหม ดอกไม้ พื้นผิวต่าง ๆ และน้ำดื่ม จัดเป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในทางการแพทย์ โดยเป็นสาเหตุสำคัญของ การติดเชื้อในโรงพยาบาลโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็ก คนชราและผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ นอกจากนี้ยัง จัดเป็นแบคทีเรียฉวยโอกาส โดยเฉพาะ *K. pneumoniae* ซึ่งทำให้เกิดโรคปอดบวม ติดเชื้อใน กระแสเลือด เยื่อหุ้มสมองอักเสบ แผลติดเชื้อ ช่องท้องอักเสบ โรคอุจจาระร่วง (เกิดจากสายพันธุ์ที่มีเอนเทอโรทอกซิน) และการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น (สุบัณฑิต นิมรัตน์, 2552)

3. เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นอกจากที่ได้กล่าวถึงสภาวะโลกร้อนตั้งแต่ในช่วง “ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย” ในช่วงนี้ขอกว่าเพิ่มเติมข้อมูลบางส่วนถึงสภาวะโลกร้อนทั่วโลกและผลกระทบที่มีมากมายครอบคลุมทุกด้านมีดังต่อไปนี้

Colwell (1996) ได้รายงานเกี่ยวกับการระบาดของอย่างรวดเร็วของ *Vibrio cholerae* ซึ่งทำให้เกิดโรคอหิวาตกโรค นั้น ปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการระบาดของรวดเร็วของแบคทีเรียชนิดนี้เกิดจากการเพิ่มอุณหภูมิของโลกหรือเรียกว่าสภาวะโลกร้อน ยกตัวอย่างเช่น การเกิดปรากฏการณ์ El Nino ที่ทำให้อุณหภูมิของน้ำทะเลเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นปัจจัยอีกประการหนึ่งที่ทำให้เกิดการระบาดของรวดเร็ว ได้แก่ การแพร่กระจายของแพลงก์ตอน ซึ่งพบว่า เป็นเจ้าบ้านของแบคทีเรียกลุ่ม *V. cholerae* ดังนั้นจึงมีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีรีโมทเซนซิง เพื่อทำนายการเกิดการระบาดของ *V. cholerae* โดยเฉพาะการระบาดของรวดเร็ว

Motes et al. (1998) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิและความเค็มต่อการระบาดของ *Vibrio vulnificus* ซึ่งได้ทำการศึกษาการระบาดของ *V. vulnificus* จากการศึกษาดังกล่าว พบว่าน้ำทะเลและหอยนางรมมีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อทางอาหารจาก *V. vulnificus* บริเวณ Black Bay และ Apalachicola Bay ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งเป็นแหล่งที่มีการเลี้ยงหอยนางรมมากที่สุดของประเทศสหรัฐอเมริกา จากการศึกษาพบว่าปริมาณของ *V. vulnificus* ที่เพิ่มขึ้นนั้นขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นถึง 26 องศาเซลเซียส และคงที่อยู่ต่ออุณหภูมิสูง ดังผลที่พบว่าการระบาดของ *V. vulnificus* ในหอยนางรมมีการแพร่กระจายของ *V. vulnificus* ตามฤดูกาลมีความคล้ายคลึงกันและมีความสม่ำเสมอ (MPN เท่ากับ 2,300 เซลล์ต่อกรัม) แต่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นในช่วงปลายเดือนมีนาคมและเมษายนในช่วงฤดูร้อน ส่วนผลของความเค็มต่อการระบาดของ *V. vulnificus* ในหอยนางรมพบว่าปริมาณ *V. vulnificus* ที่พบมากจะมีค่าเท่ากับ $>10^3$ MPN/g จะพบในหอยนางรมที่ระดับความเค็มอยู่ระหว่าง 5 ถึง 25 พีพีที และการพบปริมาณ *V. vulnificus* ที่ต่ำจะมีค่าเท่ากับ $<10^2$ MPN/g ซึ่งจะพบในระดับความเค็มมากกว่า 28 พีพีที

Rose et al. (2001) ได้กล่าวว่าสภาวะอากาศมีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ก่อโรคทางน้ำและอาหารที่สามารถพบได้ในน้ำดื่ม อาหารทะเล และพบว่าถ้ามีการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศที่เพิ่มสูงขึ้นพบว่ายังไม่มีกฎหมายของสหพันธรัฐและมลรัฐ รวมทั้งกฎระเบียบของประเทศสหรัฐอเมริกาที่สามารถควบคุมและป้องกันโรคทางน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดสภาวะโลกร้อนในสิ่งแวดล้อมทางทะเลยังไม่มีการศึกษาที่มากนักจึงทำให้ไม่สามารถอธิบายถึงสภาวะโลกร้อนว่ามีผลกระทบทางด้านใดจึงทำให้กระบวนการเตือนภัยและการป้องกันยังมีประสิทธิภาพต่ำ

Lipp et al. (2002) ได้รายงานเกี่ยวกับผลกระทบของสภาวะโลกร้อนต่อโรคติดเชื้อ ซึ่งบทบาทของสภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศในการเกิดโรคการเปลี่ยนแปลงได้กลายเป็นเรื่องที่น่าสนใจเป็นอย่างมากต่อนักจุลชีววิทยา ด้านการแพทย์ ระบาดวิทยาและนักนิเวศวิทยา โดยปัญหาที่พบ ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของการติดต่ออายุปฏิชีวนะของแบคทีเรียก่อโรค การเกิดโรคติดเชื้อและ/หรือการเกิดโรคอุบัติซ้ำของโรคติดเชื้อในทั่วโลกเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ซึ่งโรคอหิวาตกโรคเป็นโรคที่มีความสำคัญที่เกิดจาก *Vibrio cholerae* และได้ถูกนำไปวิเคราะห์เกี่ยวกับบทบาทของสภาพภูมิอากาศที่มีผลต่อการเกิดโรคติดเชื้อควบคู่กับการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ก่อโรค และยังพบว่าประชากรของ *V. cholerae* ในสภาพแวดล้อมจะขึ้นอยู่กับปัจจัยในสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิของน้ำ ความเค็ม และสาหร่ายกลุ่มโคพีพอด (Copepods) นอกจากนี้รูปแบบของการแพร่กระจายแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอหิวาตกโรคจากสิ่งแวดล้อมไปสู่มนุษย์ได้มีความเกี่ยวข้องกับความแปรปรวนของสภาพภูมิอากาศ ซึ่งในการศึกษาคั้งนี้จึงมีการพัฒนาโมเดลเพื่อทำนายการเกิดการระบาดของ *V. cholerae* โดยต้องมีการรวบรวมข้อมูลต่างๆ ทั้งปัจจัยในสิ่งแวดล้อมดังที่ได้กล่าวมาเพื่อจะทำให้ทำนายการเกิดการระบาดได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาถึงข้อมูลดังที่ได้กล่าวมาแล้วให้สมบูรณ์เพื่อการทำนายที่ถูกต้องนั่นเอง

Monirul Qader Mirza (2002) รายงานว่าตามปกติแล้วประเทศบังคลาเทศเป็นประเทศที่ได้รับอิทธิพลจากการไหลมารวมกันของแม่น้ำคงคา พรหมบุตรและเมฆนา ทำให้ประสบปัญหาน้ำท่วมทุกปี โดยในแต่ละปีจะเกิดน้ำท่วมคิดเป็น 20.5% ของพื้นที่ทั้งหมดของประเทศ แต่ในบางปีหากเกิดอุทกภัยครั้งใหญ่อาจท่วมพื้นที่คิดเป็น 70% ของพื้นที่ทั้งหมดของประเทศ ซึ่งสร้างความเสียหายอย่างใหญ่หลวงต่อเศรษฐกิจ จากการศึกษาแบบจำลองของสภาวะโลกร้อนชี้ให้เห็นว่าปริมาณน้ำที่ไหลมาจากแม่น้ำจะมีปริมาณมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้อุทกภัยทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น อันจะก่อให้เกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจ การเกษตรและระบบสาธารณสุขของประเทศบังคลาเทศอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้

Khasnis and Nettleman (2005) รายงานว่าสภาวะโลกร้อนเป็นปัญหาสำคัญที่มีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อชีวิตมนุษย์ โดยสภาวะโลกร้อนส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศ การอพยพย้ายถิ่นฐานของประชากรและสภาวะแห้งแล้ง ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของการระบาดของโรค โดยโรคบางชนิดอาจมีการระบาดโดยการปนเปื้อนในน้ำดื่ม รวมทั้งมีการระบาดในพื้นที่ที่ไม่เคยมีประวัติการระบาดมาก่อน เช่น โรคมาลาเรีย ไข้เลือดออก กาฬโรคและโรคที่เกิดจากไวรัสบางชนิด เป็นต้น นอกจากนั้นสภาวะโลกร้อนยังสร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจ

และการเมืองซึ่งจะส่งผลทำให้สาธารณสุขและระบบสาธารณสุขปโภคพื้นฐานได้รับความเสียหาย ซึ่งปัจจัยดังกล่าวย่อมส่งผลต่อการระบาดของโรคได้เช่นกัน

Paz et al. (2007) ได้รายงานว่าการระบาดของ *Vibrio vulnificus* ในคนงานตลาดปลาในประเทศอิสราเอล พบว่า ณ บริเวณการเกิดโรคในครั้งนี้สัมพันธ์กับการเพิ่มของอุณหภูมิในบรรยากาศ โดยในปี ค.ศ. 1996-1998 มีอุณหภูมิที่ร้อนที่สุดในประเทศอิสราเอลและพบว่าผู้ป่วยในโรงพยาบาล ณ บริเวณดังกล่าวสูงสุดเช่นกัน ดังนั้นจึงคาดคะเนว่าการเพิ่มของอุณหภูมิน้ำจะมีผลต่อการเจริญของ *V. vulnificus* ในน้ำทะเลและเชื่อมโยงมายังการเกิดการระบาดของโรคไวรัสโอซีจาก *V. vulnificus* นั้นเอง

Mendelsohn and Dawson (2008) ได้ทำการสรุปว่าผลกระทบของสภาพภูมิอากาศและสิ่งแวดล้อมในด้านต่าง ๆ เช่น ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิพื้นผิวทะเล ระดับความสูงของน้ำทะเลและปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทำการรวบรวมข้อมูลจากดาวเทียมและจากการวัดในภาคพื้นดินทำให้เกิดการระบาดของรวดเร็วของโรคอหิวาตกโรคในเมือง KwaZulu – Natal ประเทศแอฟริกาใต้ ในช่วงปี ค.ศ. 2000-2001 โดยพบว่าอุณหภูมิพื้นผิวทะเลและปริมาณน้ำฝนมีผลกระทบที่มากที่สุด รองลงมาคือ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ส่วนระดับความสูงของน้ำทะเลมีผลต่อการระบาดของโรคอหิวาตกโรคน้อยที่สุด ดังนั้นจากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้เกิดการตระหนักถึงการพัฒนาข้อมูลของกลไกการเชื่อมโยงระหว่างแหล่งสะสมของโรคอหิวาตกโรคตามชายฝั่งทะเลและระบบการสำรวจสภาวะภูมิอากาศในระดับภูมิภาคในอนาคตเพื่อทำให้สามารถเฝ้าระวังการระบาดของโรคนี้ในภูมิภาคและทำให้สามารถคาดการณ์ในด้านระบาดวิทยาก่อนที่จะมีการเกิดโรคระบาดขึ้นซึ่งจะทำให้มีผลต่อการพัฒนาระบบเตือนภัยและเตรียมความพร้อมเมื่อเกิดโรคระบาดของโรคนี้ได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพต่อไป

DaMatta et al. (2010) รายงานว่าการปลดปล่อยคาร์บอนจะมีผลทำให้ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ทั้งทางตรงและทางอ้อม ยกตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืชเศรษฐกิจและการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพผลิตผลทางการเกษตร กล่าวคือเมื่ออุณหภูมิของโลกสูงขึ้นจะมีผลทำให้พืชบางชนิดเจริญเติบโตเร็วและมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา จากการศึกษาพบว่าสภาวะโลกร้อนจะทำให้พืชกลุ่ม C_3 มีผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น และพืชกลุ่ม C_3 และ C_4 จะใช้น้ำในการเจริญเติบโตลดลงเนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามสภาวะโลกร้อนที่ทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นและเกิดความแปรปรวนของสภาพอากาศจะมีผลทำให้คุณภาพของพืชเปลี่ยนแปลงไป เช่น พืชจะมีปริมาณโปรตีนและแร่ธาตุลดลง รวมถึงองค์ประกอบของไขมันในพืชอาจมีการเปลี่ยนแปลง เป็นต้น

Karvonen et al. (2010) สภาวะโลกร้อนที่มีผลทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นนั้นส่งผลให้ความเสี่ยงในการเกิดโรคเพิ่มมากขึ้น กล่าวคือ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะเพิ่มอัตราการระบาดของโรค ทั้งนี้เป็นผลมาจากเชื้อก่อโรคมีความแข็งแรงมากขึ้นในขณะที่ผู้ให้อาศัยกลับมีสุขภาพที่อ่อนแอลง นอกจากนี้ อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นยังทำให้ระยะเวลาในการระบาดของโรคยาวนานขึ้น ส่งผลให้การระบาดแพร่กระจายได้กว้างมากขึ้น

Martinez-Urtaza et al. (2010) ได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของความแปรปรวนของสภาพภูมิอากาศต่อการเจ็บป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio vulnificus* จากการบริโภคอาหารทะเล โดยทำการเก็บข้อมูลทางสภาวะภูมิอากาศจากพื้นที่ที่ทำการศึกษาค้นคว้าเป็นแหล่งที่ทำการผลิตอาหารทะเลร่วมกับการเกิดโรคระบาดที่เกิดเนื่องจาก *V. parahaemolyticus* ในประเทศเปรูและมลรัฐอลาสกา ประเทศสหรัฐอเมริกา ผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าการระบาดของโรคดังกล่าวน่าจะมีความสอดคล้องอย่างใกล้ชิดกับความผิดปกติของสภาพภูมิอากาศซึ่งนำมาสู่การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำทะเล ยกตัวอย่างเช่น การเกิดปรากฏการณ์ El Nino ซึ่งทำให้เกิดความผิดปกติของกระแสน้ำอุ่นในภูมิภาคดังกล่าว รวมทั้งพบว่าการเจ็บป่วยที่เกิดจาก *V. vulnificus* น่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการบริโภคหอยนางรมที่เก็บเกี่ยวจากอ่าวเม็กซิโกในช่วงเดือนเมษายนและพฤศจิกายน ปีค.ศ. 1989-2008 ที่พบว่ามีอุณหภูมิของน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ตระหนักว่าความผิดปกติของสภาพภูมิอากาศได้มีการขยายตัวทั่วโลกและน่าจะมีผลต่อการระบาดของโรคในกลุ่มไวรัสที่ติดจากแบคทีเรียกลุ่มไวรัส จึงทำให้ควรมีการปรับเปลี่ยนกระบวนการต่าง ๆ ในภาคอุตสาหกรรมและควรมีนโยบายการกำกับดูแล โดยเฉพาะอย่างยิ่งการบริโภคอาหารทะเลดิบ เช่น อาหารทะเลประเภทหอย เป็นต้น เพื่อเป็นการป้องกันและควบคุมการเกิดโรคระบาดจากแบคทีเรียที่อาจจะมีจำนวนที่เพิ่มขึ้นจากสภาวะโลกร้อนหรือสภาวะอากาศแปรปรวนนั่นเอง

Lourenco et al. (2007) ศึกษาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมตลอดจนการจำแนกชนิดของแบคทีเรียวงศ์ Enterobacteriaceae และศึกษาความไวต่อสารต้านจุลชีพของแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวจากการเก็บตัวอย่างน้ำในบริเวณปากแม่น้ำของเมือง São Vicente รัฐเซาเปาโล ประเทศบราซิล โดยจัดจำแนกแบคทีเรียโดยใช้การทดสอบทางชีวเคมีและแบบแผนความไวต่อสารต้านจุลชีพด้วยเทคนิค Disk diffusion จากตัวอย่าง 26 ตัวอย่าง พบว่า *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่พบมากที่สุด (40.1%) รองลงมาเป็น *Citrobacter*, *Enterobacter* และ *Klebsiella* สารต้านจุลชีพที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียที่แยกได้ คือ Gentamycin, Netilmicin, Ciprofloxacin และ Cefepime แบคทีเรียเหล่านี้พบได้ทั่วไปในบริเวณชายฝั่งทะเลที่มีการปนเปื้อนของน้ำเสีย ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าน้ำในบริเวณปากแม่น้ำของเมือง São Vicente มีการปนเปื้อนและอาจสามารถเป็นสาเหตุของโรคติดต่อและการแพร่กระจายของแบคทีเรียก่อโรคไปสู่แหล่งชุมชนได้

Patra et al. (2009) ทำการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในบริเวณชายฝั่งทะเลและบริเวณที่ห่างออกไปจากชายฝั่งทะเลเป็นระยะทางเท่ากับ 10 กิโลเมตร รวมทั้งสิ้น 6 บริเวณ ในระหว่างปี ค.ศ. 2005-2006 และปี ค.ศ. 2006-2007 โดยทำการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด ฟีคอลลีฟอร์ม ฟีคอลลีสเตอร์ปโตคอคโค Presumptive *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Protues*, *Klebsiella*, Total *Vibrio*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* และ *Pseudomonas aeruginosa* รวมทั้งปัจจัยทางกายภาพและปัจจัยทางเคมี พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดในบริเวณ Mahanadi, Paradip และ Puri มีปริมาณสูงกว่าในบริเวณอื่น ๆ ปริมาณของแบคทีเรียบริเวณสถานีเก็บตัวอย่างที่ใกล้กับชายฝั่งมีค่าสูงกว่าสถานีเก็บตัวอย่างที่ไกลจากชายฝั่ง (5 และ 10 กิโลเมตร) นอกจากนั้นการตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มฟีคอลลีฟอร์มมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณ Presumptive ของ *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella* และ *Proteus/Klebsiella*,

Total *Vibrio*, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* และ *P. aeruginosa* การตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณ Presumptive ของ *E. coli*, Total *Vibrio*, *V. cholerae* และ *P. aeruginosa* ปริมาณของฟิโคลสเตอร์ปโตคอคไคมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณ *Salmonella*, Total *Vibrio*, *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* และ *Shigella* การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียดัชนีในอุจจาระและแบคทีเรียก่อโรคแสดงความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณแบคทีเรียมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับค่า BOD แต่ปริมาณแบคทีเรียมีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญกับค่าความเค็ม แสดงให้เห็นว่าการปนเปื้อนของแบคทีเรียได้รับอิทธิพลจากกิจกรรมของมนุษย์

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

1. วัสดุอุปกรณ์

- 1.1 แผ่นสไลด์
- 1.2 หลอดเซนติพีพขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่ปราศจากเชื้อ
- 1.3 ทิปปราศจากเชื้อ

2. เครื่องมือ

- 2.1 ตู้บ่มเชื้อ (ยี่ห้อ Clayson รุ่น ClaysonIM1000, ประเทศออสเตรเลีย)
- 2.2 Autopipette (ยี่ห้อ Gilson รุ่น Pipettman, ประเทศฝรั่งเศส)
- 2.3 หม้อน้ำฆ่าเชื้อ (ยี่ห้อ Sturdy รุ่น SA-300VL, ประเทศไต้หวัน)
- 2.4 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) (ยี่ห้อ Memmert รุ่น W760, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
- 2.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Microcentrifuge; ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Sigma 1-14, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
- 2.6 เครื่อง Thermocycler (ยี่ห้อ Biometra รุ่น T-Gradient, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
- 2.7 เครื่อง UV-transilluminator (ยี่ห้อ Spectroline รุ่น TVC-312A ประเทศสหรัฐอเมริกา)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อและชุดทดสอบ

- 3.1 Trypticase Soy Agar (TSA) (ยี่ห้อ Difco™, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 3.2 Trypticase Soy Broth (TSB) (ยี่ห้อ Difco™, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 3.3 ชุดทดสอบ Latex agglutination (ยี่ห้อ Serosystem, ประเทศไทย)

4. รีเอเจนต์และสารเคมีสำหรับงานชีวโมเลกุล

- 4.1 10 mM dNTP mix (ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)
- 4.2 *Taq* DNA Polymerase (ประกอบด้วย 10X PCR reaction buffer, 50 mM MgCl₂ และเอนไซม์ *Taq* DNA Polymerase; ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)
- 4.3 ไพรมเมอร์ (สังเคราะห์จากบริษัท Bioneer, ประเทศไทย)
- 4.4 6X Loading buffer
- 4.5 50X TAE buffer

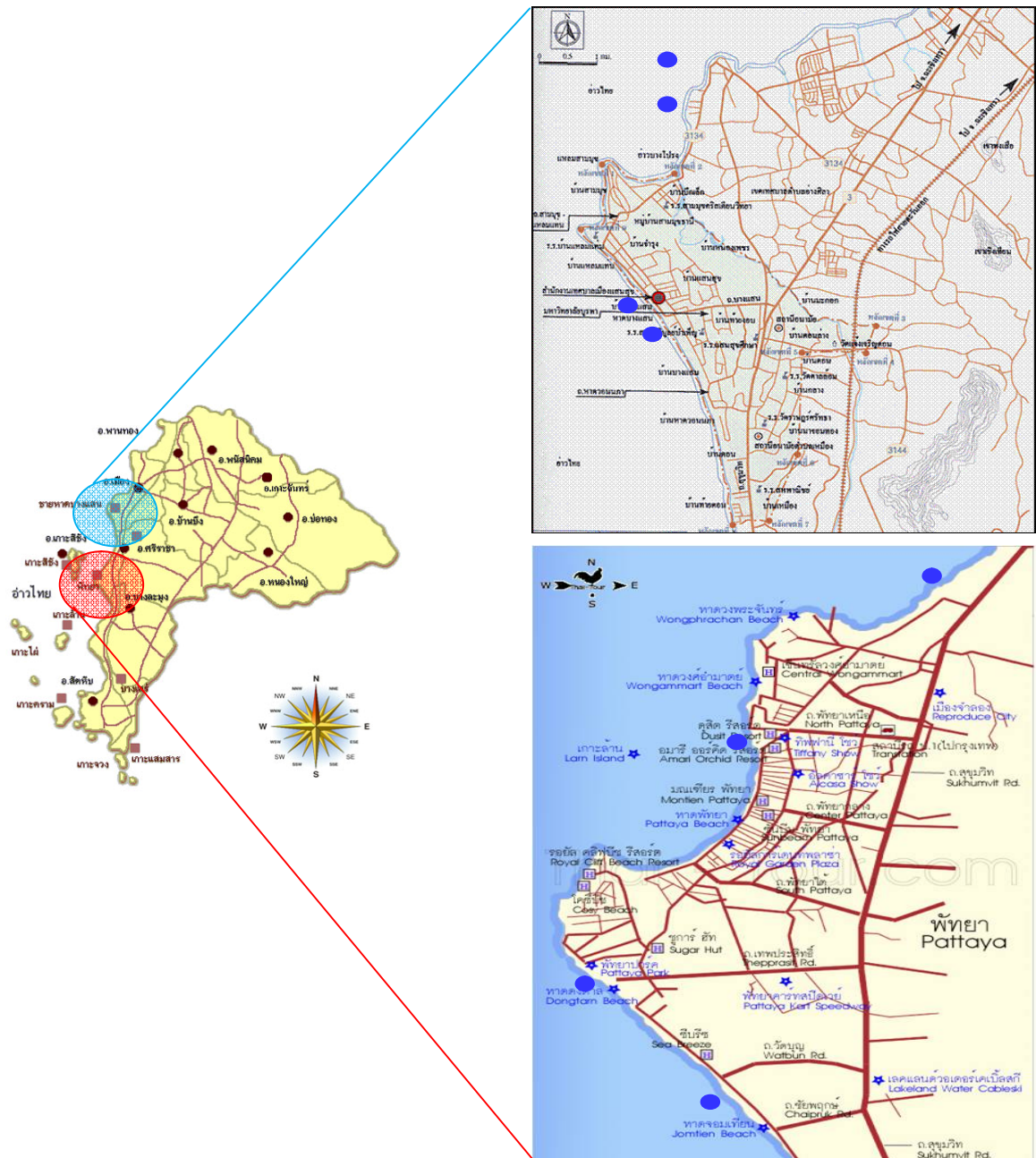
วิธีดำเนินการทดลอง

จากการศึกษาถึง “สภาวะโลกร้อนและอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ที่คณะผู้วิจัยได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม พิชิตวิทยาและการบริหารจัดการสารเคมี ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 และโครงการวิจัยเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 และพบว่าต้องค้ความรู้อีกมากมาย ได้แก่ (1) ทราบถึงผลของสภาวะโลกร้อนจากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและลักษณะทางกายภาพของดินตะกอนและน้ำทะเลต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี และ (2) ทราบถึงรูปแบบการดื้อยาของ *E. coli* และ *Klebsiella pneumoniae* รวมถึงยีนดื้อยาบางกลุ่มของแบคทีเรียดังกล่าวบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา

จากผลการวิจัยดังกล่าวทำให้ทีมงานวิจัยเกิดความมุ่งมั่นในการวางแผนศึกษาต่อเนื่องจากงานวิจัยดังกล่าว โดยจะดำเนินการดังต่อไปนี้ (1) การตรวจหายีนก่อโรคกลุ่มอื่นที่พบว่ามีกรดในปริมาณสูงและยังไม่ได้ทำการตรวจหายีนดื้อยาในโครงการในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 (2) ทำการจำแนกชนิดของ *E. coli* สายพันธุ์ก่อโรคที่อุบัติในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา เนื่องจากในการศึกษาที่ผ่านมาได้ทำการศึกษาถึงเฉพาะ *E. coli* ก่อโรคทางเดินอาหารชนิด *E. coli* O157 แต่อย่างไรก็ตาม *E. coli* ก่อโรคมียังมีอีกมากมายหลายชนิด ได้แก่ กลุ่ม O26 และ O111 ที่กำลังระบาดทั่วโลกในปัจจุบัน ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงชนิดของ *E. coli* กลุ่มดังกล่าวเพื่อให้ทราบว่ามีการระบาดของ *E. coli* ที่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคปะปนอยู่หรือไม่ (3) ต่อมาจะทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยาจากโครงการปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 และการพบยีนดื้อยาจากโครงการปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 บางส่วนและจากโครงการในครั้งนี้รวมกัน จากการศึกษา 2 โครงการที่ผ่านมาและโครงการวิจัยในครั้งนี้จะทำให้เกิดองค์ความรู้ที่ครบถ้วนเพื่อสามารถคาดการณ์ถึงการถ่ายทอดยีนและการดื้อต่อยาที่จะรักษา รวมทั้งสามารถนำข้อมูลมาใช้เพื่อป้องกันการระบาดของโรคที่เกิดจากแบคทีเรียกลุ่ม *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่มีอยู่ในชายหาดบางแสนและพัทยาซึ่งเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่ปลอดภัยต่อทั้งนักท่องเที่ยวในประเทศและต่างประเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว และทำให้ชายหาดบางแสนและพัทยาเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่ปลอดภัยต่อทั้งนักท่องเที่ยวในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากมีระบบทางสาธารณสุขที่มีประสิทธิภาพ สามารถเตือนภัยของการเกิดโรคระบาดได้อย่างรวดเร็ว เพราะทราบถึงแบบแผนการดื้อยาที่จะทำให้สามารถเลือกใช้ยาได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็วในการรักษา รวมทั้งทราบถึงการมียีนดื้อยาและความสัมพันธ์ของแบบแผนการดื้อยาและการพบยีนดื้อยานั้นจะสามารถทำนายการดื้อยาของเชื้อในอนาคตได้ชัดเจนขึ้นนั่นเอง

1. การเก็บตัวอย่าง

นำตัวอย่างแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณหาดบางแสน และพัทยา จ. ชลบุรี แหล่งละ 4 จุด ดังแสดงในภาพที่ 1 มาใช้ในการทดสอบครั้งนี้



ภาพที่ 1 แผนที่หาดบางแสนและพัทยา
หมายเหตุ ● บริเวณเก็บตัวอย่าง

2. การศึกษายีนดื้อยาของแบคทีเรียก่อโรคแต่ละชนิด

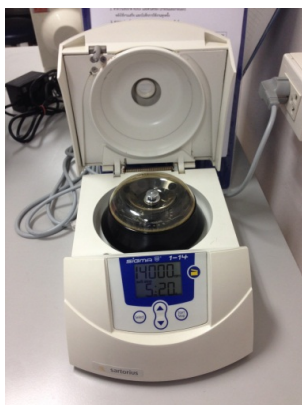
การศึกษายีนดื้อยาบางชนิดของ *E. coli* และ *K. pneumoniae* แต่ละชนิด

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาทางการศึกษายีนดื้อยา (Antibiotic resistant genes) ของ *E. coli* และ *K. pneumoniae* จากโครงการวิจัย “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ที่ผ่านมาได้ทำการศึกษายีนดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่ม β -lactamase แต่ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียดังกล่าวมีการดื้อยาปฏิชีวนะชนิดอื่นอีกหลายชนิด โดยเรียงจากการดื้อยามากไปหาน้อย ได้แก่ ยา Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline ดังนั้นในการศึกษาต่อเนื่องนี้จึงได้ทำการศึกษายีนดื้อยา *sul1*, *cmlA*, *cat1*, *sul1/dhfrV*, CITM และ *tetA* ซึ่งเป็นยีนดื้อยา Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline นั้นเอง โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

โดยนำแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่คัดแยกได้ไปสกัดดีเอ็นเอและนำมาตรวจสอบหายีนดื้อยา โดยมีขั้นตอนและวิธีการทดลองดังนี้

2.1 การเตรียมตัวอย่างและการสกัดดีเอ็นเอ (Sambrook et al., 1989)

เพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร LB broth เป็นเวลา 14-16 ชั่วโมง นำเซลล์แบคทีเรียปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ใน Microcentrifuge tube และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง เติมสารละลาย TE buffer ปริมาตร 467 ไมโครลิตร และใช้ออโตปีเปตดูดขึ้นลงเพื่อกระจายเซลล์ เติม 10% (w/v) SDS ปริมาตร 30 ไมโครลิตร และ Protinase K (20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการกลับลှุดไปมา นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เติม Phenol/Chloroform ในปริมาตรที่เท่ากับกับตัวอย่าง ผสมโดยการกลับลှุดไปมา และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดของเหลวส่วนบน (สารละลายดีเอ็นเอ) ใส่ลงใน Microcentrifuge tube หลอดใหม่ และเติม Phenol/Chloroform ในปริมาตรที่เท่ากับกับตัวอย่าง ผสมโดยการกลับลှุดไปมา และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และเก็บสารละลายดีเอ็นเอส่วนบนใส่หลอดใหม่ เติม Sodium acetate ความเข้มข้น 3 โมลาร์ (pH 5.2) ปริมาตร 0.1 เท่า และเติม Isopropanol ปริมาตร 0.6 เท่า ผสมเบา ๆ โดยการกลับลှุดจนกระทั่งดีเอ็นเอตกตะกอน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่มีส่วน Isopropanol และเติม 70% (v/v) Ethanol ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพื่อล้างตะกอนดีเอ็นเอ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วน Ethanol ที่ทิ้ง นำหลอดที่มีตะกอนดีเอ็นเออยู่มาวางคว่ำบนกระดาษทิชชูที่สะอาดทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หรือที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ละลายดีเอ็นเอในสารละลาย TE buffer หรือน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 15-20 ไมโครลิตร และเก็บหลอดที่มีสารละลายดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ 4 หรือ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้



ภาพที่ 2 เครื่องปั่นเหวี่ยง

2.2 การเพิ่มปริมาณยีนดื้อยาด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (Griffiths et al., 2001)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจสอบหายีนดื้อยา ได้แก่ ยีน *sul1*, *cmlA*, *cat1*, *sul1/dhfrV*, CITM และ *tetA* ซึ่งเป็นยีนดื้อยา Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline โดยใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR reaction โดยสารที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่จำเพาะประกอบด้วย 2.5 mM $MgCl_2$, 100 μM dNTP, 0.64 μM ของไพรเมอร์ (ดังแสดงในตารางที่ 3) และ 1X PCR reaction buffer ที่เติม 1.25 U ของ *Taq* DNA Polymerase ต่อปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ผสมให้เข้ากัน ปิดหลอดปฏิกิริยาให้สนิท



ภาพที่ 3 สารเคมีที่เกี่ยวข้องในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่จำเพาะ



ภาพที่ 4 การผสมสารเพื่อเตรียมหลอดปฏิกิริยา

ตารางที่ 3 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'----3')	ขนาดของ ผลิตภัณฑ์ (คู่เบส)	อ้างอิง
<i>sul1</i> -Forward	TTCGGCATTCTGAATCTCAC	822	Heidary et al. (2014)
<i>sul1</i> -Reverse	ATGATCTAACCTCGGTCTC		
<i>cmlA</i> -Forward	CCGCCACGGTGTGTTGTTATC	698	Heidary et al. (2014)
<i>cmlA</i> -Reverse	CACCTTGCCTGCCATCATTAG		
<i>cat1</i> -Forward	AGTTGCTCAATGTACCTATAACC	547	Heidary et al. (2014)
<i>cat1</i> -Reverse	TTGTAATTCATTAAGCATTCTGCC		
<i>dhfrV</i> -Forward	CTGCAAAAGCGAAAAACGG	432	Sabarinath et al. (2011)
<i>dhfrV</i> -Reverse	AGCAATAGTTAATGTTTGGCTAAAG		
CITM-Forward	TGGCCAGAACTGACAGGCAAA	462	Heidary et al. (2014)
CITM -Reverse	TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC		
<i>tetA</i> -Forward	GGTTCACCTCGAACGACGTCA	577	Heidary et al. (2014)
<i>tetA</i> -Reverse	CTGTCCGACAAGTTGCATGA		

จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง Thermocycler โดยตั้งโปรแกรมดังนี้



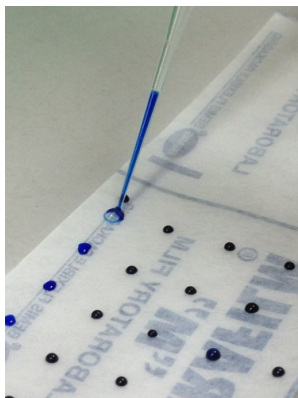
ภาพที่ 5 เครื่อง Thermocycler



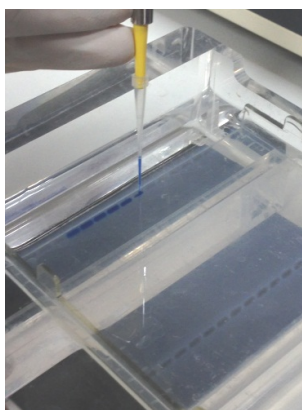
ภาพที่ 6 การนำหลอดปฏิกิริยาเข้าเครื่อง

Initiation denaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 5 นาที (1 รอบ)
จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ	ตามขั้นตอนต่อไปนี้	จำนวน 30 รอบ
Denaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที
Annealing	55 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที
Elongation	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 1 นาที
Final extention	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา 30 นาที (1 รอบ)

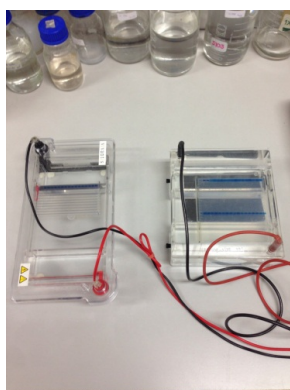
ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์โดยการทำอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซิสบน 1% (w/v) อะกาโรสเจล โดยใช้ TAE เป็นบัฟเฟอร์ หลังจากนั้นนำเจลที่ได้มาย้อมด้วย Ethidium bromide (ความเข้มข้นสุดท้าย 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เป็นเวลา 20 นาที และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV-transilluminator พร้อมบันทึกภาพ



ภาพที่ 7 การผสมระหว่างผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้กับสีย้อม



ภาพที่ 8 การโหลดดีเอ็นเอลงในหลุมเจล



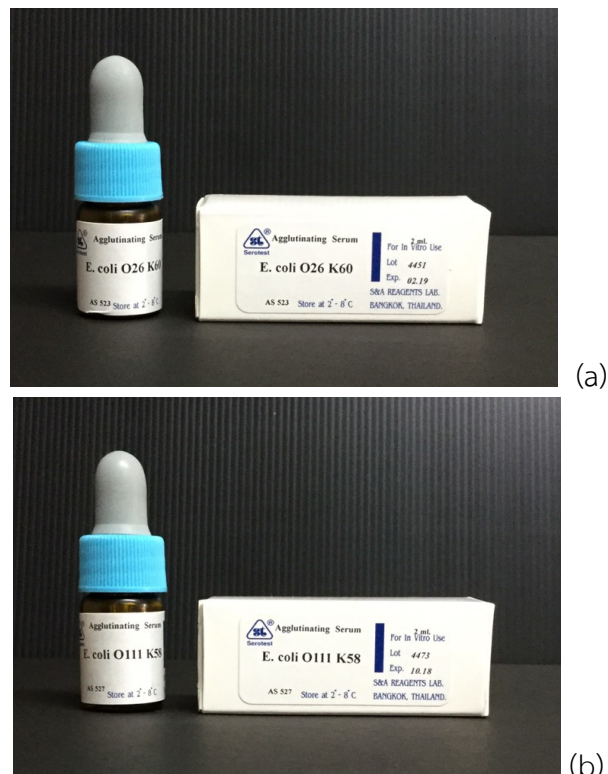
ภาพที่ 9 การทำอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซิส



ภาพที่ 10 เครื่อง UV-transilluminator

3. การศึกษาถึงอุบัติการณ์ของ *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคลกลุ่ม O26 และ O111 (Schets et al., 2005)

นำแบคทีเรีย *E. coli* ชนิดที่ไม่ใช่ O157 ที่แยกได้จากการศึกษาโครงการวิจัยเรื่อง“สภาวะโลกร้อนและอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” มาจัดจำแนกเป็น *E. coli* สายพันธุ์ต่าง ๆ ได้แก่ O26 และ O111 ด้วยเทคนิค Agglutination (ปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี) ด้วยแอนติซีรัมของ O antigen ตามคู่มือการจัดจำแนกของบริษัท Murex Biotech Limited, Dartford สหราชอาณาจักร



ภาพที่ 11 Agglutination serum (a) *E. coli* O26 K60 (b) *E. coli* O111 K58

4. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการพบยีนดื้อยา แบบแผนการดื้อยาและชนิดของ *E. coli* สายพันธุ์ต่างๆ ร่วมกับ *K. pneumoniae*

นำผลการทดลองการดื้อยาและการพบยีนดื้อยาสายพันธุ์ก่อโรคต่าง ๆ ของ *E. coli* สายพันธุ์ต่างๆ และ *K. pneumoniae* มาศึกษาถึงความสัมพันธ์เพื่อสามารถเข้าใจถึงกลไกการดื้อต่อยาและข้อควรระวังในการระบาดของแบคทีเรียชนิดนี้ต่อไป

บทที่ 4

ผลการทดลอง

จากการศึกษาถึงยีนดื้อยาของ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี และการศึกษาถึงอุบัติการณ์ของ *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรครกลุ่ม O26 และ O111 รวมถึงการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการพบยีนดื้อยา แบบแผนการดื้อยาและชนิดของ *E. coli* สายพันธุ์ต่างๆ ร่วมกับ *K. pneumoniae* ผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

1. การศึกษาถึงยีนดื้อยาของแบคทีเรียก่อโรคแต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

จากการศึกษาถึงยีนดื้อยาของ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ในโครงการวิจัยที่ผ่านมาเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ที่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการดื้อยาของ *E. coli* และ *K. pneumoniae* และพบว่าตรวจพบ *E. coli* ที่มียีนก่อโรคในกลุ่ม NSBL (*bla*_{TEM} และ *bla*_{SHV}) จำนวน 18 ไอโซเลท (20%) และยีนก่อโรครกลุ่ม ESBL (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} และ *bla*_{CTX-M}) จำนวน 41 ไอโซเลท (45.56%) แต่ไม่พบยีนก่อโรครกลุ่ม AmpC (*bla*_{CMY-1} และ *bla*_{CMY-2}) ส่วนการตรวจหาความรุนแรงในการก่อโรคใน *K. pneumoniae* พบว่าตรวจพบยีนก่อโรครกลุ่ม NSBL (*bla*_{TEM} และ *bla*_{SHV}) จำนวน 2 ไอโซเลท (3.57%) และยีนก่อโรครกลุ่ม ESBL (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} และ *bla*_{CTX-M}) จำนวน 8 ไอโซเลท (14.29%) แต่ไม่พบยีนก่อโรครกลุ่ม AmpC (*bla*_{CMY-1} และ *bla*_{CMY-2}) และจากรายงานของนักวิจัยกลุ่มอื่นพบว่า *E. coli* และ *K. pneumoniae* บางสายพันธุ์มีการดื้อยาชนิดอื่น ๆ ได้แก่ ยา Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline ดังนั้นในการศึกษาต่อเรื่องนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงยีนดื้อยา *sul1*, *cmlA*, *cat1*, *sul1/dhfrV*, CITM และ *tetA* ซึ่งเป็นยีนดื้อยา Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline ใน *E. coli* และ *K. pneumoniae* นั้นเอง

จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสามารถตรวจพบ *E. coli* ที่มียีนดื้อยา Sulfonamide (ยีน *sul1*) จำนวน 6 ไอโซเลท Chloramphenicol (ยีน *cmlA* และ *cat1*) จำนวน 7 ไอโซเลท Trimethoprim-sulfamethoxazole (ยีน *sul1/dhfrV*) จำนวน 1 ไอโซเลท Ampicillin (ยีน CITM) จำนวน 15 ไอโซเลท และไม่พบยีนดื้อยา Tetracycline (ยีน *tetA*) ดังแสดงในตารางที่ 4 และพบการแพร่กระจายของยีนดื้อยาใน *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 4 การตรวจหายีนดื้อยาใน *E. coli* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

เดือน	ลำดับ	ยีนดื้อยา					
		Sulfonamide	Chloramphenicol		Trimethoprim-sulfamethoxazole	Ampicillin	Tetracycline
		<i>sul1</i>	<i>cmlA</i>	<i>cat1</i>	<i>sul1/dhfV</i>	CITM	<i>tetA</i>
เมษายน 2554	1	x	x	x	x	x	x
	2	x	x	x	x	x	x
	3	x	x	x	x	x	x
	4	x	x	x	x	x	x
	5	x	x	x	x	x	x
	6	x	x	x	x	✓	x
	7	x	x	x	x	✓	x
	8	x	x	x	x	✓	x
พฤษภาคม 2554 *หมายเลข 9 และ 10 คือ <i>E. coli</i> O157	9*	x	x	x	x	✓	x
	10*	x	x	x	x	x	x
	11	x	x	x	x	x	x
	12	x	x	x	x	x	x
	13	x	x	x	x	✓	x
	14	x	x	x	x	x	x
	15	x	x	x	x	x	x
	16	x	x	x	x	✓	x
	17	x	x	x	x	✓	x
	18	x	x	x	x	x	x
	19	x	x	x	x	✓	x
	20	x	x	x	x	x	x
2554 มิถุนายน	21	x	x	x	x	✓	x
	22	x	x	x	x	x	x
	23	x	x	x	x	✓	x
	24	x	x	x	x	x	x
	25	x	x	x	x	x	x
	26	x	x	x	x	x	x
	27	x	x	x	x	x	x
	28	x	x	x	x	x	x

หมายเหตุ: ✓ คือ ตรวจพบยีนดื้อยา, x คือ ตรวจไม่พบยีนดื้อยา, ND* คือ ไม่ได้ตรวจสอบเนื่องจากไม่พบแบคทีเรียในเดือนนี้

ตารางที่ 4 การตรวจหายีนดื้อยาใน *E. coli* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	ยีนดื้อยา					
		Sulfonamide	Chloramphenicol		Trimethoprim-sulfamethoxazole	Ampicillin	Tetracycline
		<i>sul1</i>	<i>cmlA</i>	<i>cat1</i>	<i>sul1/dhfV</i>	CITM	<i>tetA</i>
กรกฎาคม 2554 *หมายเลข 29 และ 30 คือ <i>E. coli</i> O157	29*	x	x	x	x	x	x
	30*	x	x	x	x	x	x
	31	x	x	x	x	x	x
	32	x	x	x	x	x	x
	33	x	x	x	x	x	x
	34	x	x	x	x	x	x
	35	x	x	x	x	x	x
	36	x	x	x	x	x	x
	37	x	x	x	x	x	x
	38	x	x	x	x	✓	x
	39	x	x	x	x	✓	x
	40	x	x	x	x	✓	x
สิงหาคม 2554	41	x	x	x	x	x	x
	42	x	x	x	x	x	x
	43	x	x	x	x	x	x
	44	x	x	x	x	x	x
	45	x	x	x	x	x	x
	46	x	x	x	x	✓	x
	47	x	x	x	x	✓	x
	48	x	x	x	x	x	x
	49	x	x	x	x	x	x
	50	x	x	x	x	x	x
	51	x	x	x	x	x	x
	52	x	x	x	x	x	x
	53	x	x	x	x	x	x

หมายเหตุ: ✓ คือ ตรวจพบยีนดื้อยา, x คือ ตรวจไม่พบยีนดื้อยา, ND* คือ ไม่ได้ตรวจสอบเนื่องจากไม่พบแบคทีเรียในเดือนนี้

ตารางที่ 4 การตรวจหายีนดื้อยาใน *E. coli* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	ยีนดื้อยา					
		Sulfonamide	Chloramphenicol		Trimethoprim-sulfamethoxazole	Ampicillin	Tetracycline
		<i>sul1</i>	<i>cmlA</i>	<i>cat1</i>	<i>sul1/dhfV</i>	CITM	<i>tetA</i>
กันยายน 2554	54	x	x	x	x	x	x
	55	x	x	x	x	x	x
	56	x	x	x	x	x	x
	57	x	x	x	x	x	x
	58	✓	x	x	x	x	x
	59	x	x	x	x	x	x
	60	✓	x	x	x	x	x
	61	x	x	x	x	x	x
	62	x	x	x	x	x	x
	63	x	x	x	x	x	x
	64	x	x	x	x	x	x
	65	✓	x	x	x	x	x
	66	✓	x	x	x	x	x
	67	x	x	x	x	x	x
	68	✓	x	x	x	x	x
ตุลาคม 2554	69	x	x	x	x	x	x
	70	x	x	x	x	x	x
	71	x	x	✓	x	x	x
	72	x	x	x	x	x	x
	73	x	x	x	x	x	x
	74	x	x	x	x	x	x
	75	x	x	x	x	x	x
	76	x	x	x	x	x	x
	77	x	x	x	x	x	x
	78	x	x	x	x	x	x
	79	x	x	x	x	x	x
	80	x	x	x	x	x	x
	81	✓	x	x	x	x	x
	82	x	✓	x	x	x	x
	83	x	x	✓	x	x	x

หมายเหตุ: ✓ คือ ตรวจพบยีนดื้อยา, x คือ ตรวจไม่พบยีนดื้อยา, ND* คือ ไม่ได้ตรวจสอบเนื่องจากไม่พบแบคทีเรียในเดือนนี้

ตารางที่ 4 การตรวจหายีนดื้อยาใน *E. coli* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	ยีนดื้อยา					
		Sulfonamide	Chloramphenicol		Trimethoprim-sulfamethoxazole	Ampicillin	Tetracycline
		<i>sul1</i>	<i>cmlA</i>	<i>cat1</i>	<i>sul1/dhfrV</i>	CITM	<i>tetA</i>
พฤศจิกายน 2554	84	x	✓	✓	✓	x	x
	85	x	x	✓	x	x	x
	86	x	✓	x	x	x	x
	87	x	x	x	x	x	x
	88	x	x	x	x	x	x
	89	x	✓	x	x	x	x
	90	x	x	x	x	x	x
ธันวาคม 2554	ND*	ND	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ: ✓ คือ ตรวจพบยีนดื้อยา, x คือ ตรวจไม่พบยีนดื้อยา, ND* คือ ไม่ได้ตรวจสอบเนื่องจากไม่พบแบคทีเรียในเดือนนี้

ตารางที่ 5 การแพร่กระจายของยีนดื้อยาในกลุ่ม Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline ใน *E. coli* (n = 90) ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

กลุ่มยา	ยีนดื้อยา	จำนวนไอโซเลท (%)		
		<i>E. coli</i> (n = 90)	<i>E. coli</i> ชนิดที่ไม่ใช่ O157 (n = 86)	<i>E. coli</i> O157 (n = 4)
			ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส	ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส
Sulfonamide	<i>sul1</i>	6 (6.66)	6 (6.97)	0 (0.00)
Chloramphenicol	<i>cmlA</i>	4 (4.44)	4 (4.65)	0 (0.00)
	<i>cat1</i>	4 (4.44)	4 (4.65)	0 (0.00)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	<i>sul1/dhfrV</i>	1 (1.11)	1 (1.16)	0 (0.00)
Ampicillin	CITM	15 (16.66)	14 (16.27)	1 (25.00)
Tetracycline	<i>tetA</i>	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

จากตารางที่ 5 สามารถสรุปได้ว่าการแพร่กระจายของยีนดื้อยาใน *E. coli* (n = 90) ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี พบว่ามียีนดื้อยาในกลุ่ม Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole และ Ampicillin

นอกจากนั้นจากผลการศึกษาในโครงการวิจัยที่ผ่านมาในหัวข้อเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ที่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 พบว่าสามารถตรวจพบ *E. coli* ที่มียีนก่อโรคในกลุ่ม NSBL (bla_{TEM} และ bla_{SHV}) จำนวน 18 ไอโซเลท (20%) และยีนก่อโรคกลุ่ม ESBL (bla_{TEM} , bla_{SHV} และ bla_{CTX-M}) จำนวน 41 ไอโซเลท (45.56%) แต่ไม่พบยีนก่อโรคในกลุ่ม AmpC (bla_{CMY-1} และ bla_{CMY-2}) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การแพร่กระจายของยีนก่อโรคกลุ่ม NSBL, ESBL และ AmpC ใน *E. coli* (n = 90) ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

กลุ่มยีน	ยีนดื้อยา	จำนวนไอโซเลท (%)		
		<i>E. coli</i> (n = 90)	<i>E. coli</i> ชนิดที่ไม่ใช่ O157 (n = 86)	<i>E. coli</i> O157 (n = 4)
			ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส	ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส
NSBL	bla_{TEM}	3 (3.33)	2 (2.36)	1 (25.00)
	bla_{SHV}	15 (16.67)	14 (16.28)	1 (25.00)
	bla_{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	$bla_{TEM} + bla_{SHV}$	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	$bla_{TEM} + bla_{PSE-1}$	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	$bla_{SHV} + bla_{PSE-1}$	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	$bla_{TEM} + bla_{SHV} + bla_{PSE-1}$	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
ESBL	bla_{TEM}	3 (3.33)	2 (2.36)	1 (25.00)
	bla_{SHV}	16 (17.78)	15 (17.44)	1 (25.00)
	bla_{CTX-M}	28 (31.11)	28 (32.56)	0 (0.00)
	$bla_{TEM} + bla_{SHV}$	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	$bla_{TEM} + bla_{CTX-M}$	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	$bla_{SHV} + bla_{CTX-M}$	6 (6.66)	6 (6.98)	0 (0.00)
	$bla_{TEM} + bla_{SHV} + bla_{CTX-M}$	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
AmpC	bla_{CMY-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	bla_{CMY-2}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	$bla_{CMY-1} + bla_{CMY-2}$	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าการแพร่กระจายของยีนก่อโรคใน *E. coli* (n = 90) ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี พบว่ามียีนดื้อยาในกลุ่ม NSBL, ESBL, Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole และ Ampicillin แต่ไม่พบยีนดื้อยาในกลุ่ม AmpC และ Tetracycline ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 สรุปการแพร่กระจายของยีนก่อโรคใน *E. coli* (n = 90) ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

กลุ่มยีน	ยีนดื้อยา	จำนวนไอโซเลท (%)		
		<i>E. coli</i> (n = 90)	<i>E. coli</i> ชนิดที่ไม่ใช่ O157 (n = 86)	<i>E. coli</i> O157 (n = 4)
NSBL	<i>bla</i> _{TEM}	3 (3.33)	2 (2.36)	1 (25.00)
	<i>bla</i> _{SHV}	15 (16.67)	14 (16.28)	1 (25.00)
	<i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
ESBL	<i>bla</i> _{TEM}	3 (3.33)	2 (2.36)	1 (25.00)
	<i>bla</i> _{SHV}	16 (17.78)	15 (17.44)	1 (25.00)
	<i>bla</i> _{CTX-M}	28 (31.11)	28 (32.56)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{CTX-M}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{CTX-M}	6 (6.66)	6 (6.98)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{CTX-M}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
AmpC	<i>bla</i> _{CMY-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{CMY-2}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{CMY-1} + <i>bla</i> _{CMY-2}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
Sulfonamide	<i>sul1</i>	6 (6.66)	6 (6.97)	0 (0.00)
Chloramphenicol	<i>cmlA</i>	4 (4.44)	4 (4.65)	0 (0.00)
	<i>cat1</i>	4 (4.44)	4 (4.65)	0 (0.00)
	<i>cmlA</i> + <i>cat1</i>	1 (1.11)	1 (1.16)	0 (0.00)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	<i>sul1/dhfrV</i>	1 (1.11)	1 (1.16)	0 (0.00)
Ampicillin	CITM	15 (16.66)	14 (16.27)	1 (25.00)
Tetracycline	<i>tetA</i>	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

จากการตรวจหายีนดื้อยาใน *K. pneumoniae* พบว่าสามารถตรวจพบ *K. pneumoniae* ที่มียีนดื้อยา Sulfonamide (ยีน *sul1*) จำนวน 7 ไอโซเลท Chloramphenicol (ยีน *cmlA* และ *cat1*) จำนวน 6 ไอโซเลท Trimethoprim-sulfamethoxazole (ยีน *sul1/dhfrV*) จำนวน 7 ไอโซเลท Ampicillin (ยีน CITM) จำนวน 11 ไอโซเลท และไม่พบยีนดื้อยา Tetracycline (ยีน *tetA*) ดังแสดงในตารางที่ 8-9

ตารางที่ 8 การตรวจหายีนดื้อยาใน *K. pneumoniae* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดิน ตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

เดือน	ลำดับ	ยีนดื้อยา					
		Sulfonamide	Chloramphenicol		Trimethoprim-sulfamethoxazole	Ampicillin	Tetracycline
		<i>sul1</i>	<i>cmlA</i>	<i>cat1</i>	<i>sul1/dhfrV</i>	CITM	<i>tetA</i>
เมษายน 2554	1	×	×	×	×	×	×
พฤษภาคม 2554	2	×	×	×	×	×	×
	3	×	×	×	×	×	×
	4	×	×	×	×	×	×
มิถุนายน 2554	5	×	×	×	✓	×	×
	6	×	×	×	×	×	×
	7	×	×	×	×	×	×
	8	×	×	×	×	×	×
	9	×	×	×	✓	×	×
	10	×	×	×	✓	×	×
กรกฎาคม 2554	11	×	×	×	×	×	×
	12	×	×	×	×	×	×
	13	×	×	×	×	×	×
	14	×	×	×	✓	×	×
	15	×	×	×	✓	✓	×
	16	×	×	×	✓	×	×
	17	×	×	×	✓	×	×
	18	×	×	×	×	✓	×
สิงหาคม 2554	19	×	×	×	×	×	×
	20	×	×	×	×	×	×
	21	×	×	×	×	×	×
	22	×	×	×	×	×	×

หมายเหตุ: ✓ คือ ตรวจพบยีนดื้อยา, × คือ ตรวจไม่พบยีนดื้อยา

ตารางที่ 8 การตรวจหายีนดื้อยาใน *K. pneumoniae* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดิน ตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	ยีนดื้อยา					
		Sulfonamide	Chloramphenicol		Trimethoprim-sulfamethoxazole	Ampicillin	Tetracycline
		<i>sul1</i>	<i>cmlA</i>	<i>cat1</i>	<i>sul1/dhfrV</i>	CITM	<i>tetA</i>
สิงหาคม 2554	23	x	x	x	x	x	x
	24	x	x	x	x	x	x
	25	x	x	x	x	x	x
	26	x	x	x	x	x	x
	27	x	x	x	x	x	x
	28	x	x	x	x	x	x
	29	x	x	x	x	x	x
	30	x	x	x	x	x	x
กันยายน 2554	31	x	x	x	x	x	x
	32	x	x	x	x	x	x
	33	x	x	x	x	x	x
	34	x	x	x	x	✓	x
	35	x	x	x	x	✓	x
	36	x	x	x	x	x	x
	37	x	x	x	x	✓	x
	38	x	x	x	x	x	x
	39	x	x	x	x	✓	x
ตุลาคม 2554	40	x	x	x	x	x	x
	41	x	x	x	x	✓	x
	42	x	x	x	x	✓	x
	43	x	x	x	x	✓	x
	44	x	x	x	x	x	x
	45	x	x	x	x	x	x
	46	x	x	x	x	x	x
	47	x	x	x	x	✓	x
	48	x	x	x	x	✓	x
	49	✓	✓	✓	x	x	x
	50	✓	✓	✓	x	x	x
	51	x	x	✓	x	x	x
	52	✓	x	x	x	x	x

หมายเหตุ: ✓ คือ ตรวจพบยีนดื้อยา, x คือ ตรวจไม่พบยีนดื้อยา

ตารางที่ 8 การตรวจหายีนดื้อยาใน *K. pneumoniae* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดิน ตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	ยีนดื้อยา					
		Sulfonamide	Chloramphenicol		Trimethoprim-sulfamethoxazole	Ampicillin	Tetracycline
		<i>sul1</i>	<i>cmlA</i>	<i>cat1</i>	<i>sul1/dhfrV</i>	CITM	<i>tetA</i>
ตุลาคม 2554	53	✓	x	x	x	x	x
	54	✓	x	✓	x	x	x
พฤศจิกายน 2554	55	✓	x	✓	x	x	x
	56	✓	x	✓	x	x	x
ธันวาคม 2554	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ: ✓ คือ ตรวจพบยีนดื้อยา, x คือ ตรวจไม่พบยีนดื้อยา, ND คือ ไม่ได้ตรวจสอบ เนื่องจากไม่พบแบคทีเรียในเดือนนี้

ตารางที่ 9 การแพร่กระจายของยีนดื้อยาในกลุ่ม Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Ampicillin และ Tetracycline ใน *K. pneumoniae* (n = 56) ทั้งชนิดที่ไม่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และชนิดที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี

กลุ่มยา	ยีนดื้อยา	จำนวนไอโซเลท (%)		
		<i>K. pneumoniae</i> (n = 56)	<i>K. pneumoniae</i> ชนิดที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส (n = 41)	<i>K. pneumoniae</i> ชนิดที่ไม่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส (n = 15)
Sulfonamide	<i>sul1</i>	7 (12.50)	7 (17.07)	0 (0.00)
Chloramphenicol	<i>cmlA</i>	2 (3.57)	2 (4.87)	0 (0.00)
	<i>cat1</i>	6 (10.71)	6 (14.63)	0 (0.00)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	<i>sul1/dhfrV</i>	7 (12.50)	5 (12.19)	2 (13.33)
Ampicillin	CITM	11 (19.64)	6 (14.63)	5 (33.33)
Tetracycline	<i>tetA</i>	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

จากตารางที่ 9 สามารถสรุปได้ว่าการแพร่กระจายของยีนดื้อยาใน *K. pneumoniae* (n = 56) ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี พบว่ามียีนดื้อยา กลุ่ม Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole และ Ampicillin

นอกจากนั้นจากผลการศึกษาในโครงการวิจัยหัวข้อเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ที่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 พบว่าสามารถตรวจพบ *K. pneumoniae* ที่มียีนดื้อยา กลุ่ม NSBL และ ESBL แต่ไม่พบยีนดื้อยา กลุ่ม AmpC ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การแพร่กระจายของยีนก่อโรคกลุ่ม NSBL, ESBL และ AmpC ใน *K. pneumoniae* (n = 56) ทั้งชนิดที่ไม่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และชนิดที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

กลุ่มยีน	ยีนดื้อยา	จำนวนไอโซเลท (%)		
		<i>K. pneumoniae</i> (n = 56)	<i>K. pneumoniae</i> ชนิดที่ผลิตเอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส (n = 41)	<i>K. pneumoniae</i> ชนิดที่ไม่ผลิตเอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส (n = 15)
NSBL	<i>bla</i> _{TEM}	2 (3.57)	2 (4.88)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV}	1 (1.79)	1 (2.44)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV}	1 (1.79)	1 (2.44)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
ESBL	<i>bla</i> _{TEM}	2 (3.57)	2 (4.88)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV}	1 (1.79)	1 (2.44)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{CTX-M}	6 (10.71)	5 (12.19)	1 (6.67)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV}	1 (1.79)	1 (2.44)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{CTX-M}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{CTX-M}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{CTX-M}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
AmpC	<i>bla</i> _{CMY-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{CMY-2}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{CMY-1} + <i>bla</i> _{CMY-2}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าการแพร่กระจายของยีนก่อโรคใน *K. pneumoniae* ทั้งชนิดที่ไม่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และชนิดที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส ที่แยกได้จากดินตะกอนและ

น้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี พบว่ามียีนดื้อยาในกลุ่ม NSBL, ESBL, Sulfonamide, Chloramphenicol, Trimethoprim-sulfamethoxazole และ Ampicillin แต่ไม่พบยีนดื้อยาในกลุ่ม AmpC และ Tetracycline ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 สรุปการแพร่กระจายของยีนก่อโรคใน *K. pneumoniae* ทั้งชนิดที่ไม่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และชนิดที่ผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

กลุ่มยีน	ยีนดื้อยา	จำนวนไอโซเลท (%)		
		<i>K. pneumoniae</i> (n = 56)	<i>K. pneumoniae</i> ชนิดที่ผลิต เอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส (n = 41)	<i>K. pneumoniae</i> ชนิดที่ไม่ผลิต เอนไซม์เบต้า- แลคตาเมส (n = 15)
NSBL	<i>bla</i> _{TEM}	2 (3.57)	2 (4.88)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV}	1 (1.79)	1 (2.44)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV}	1 (1.79)	1 (2.44)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{PSE-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
ESBL	<i>bla</i> _{TEM}	2 (3.57)	2 (4.88)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV}	1 (1.79)	1 (2.44)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{CTX-M}	6 (10.71)	5 (12.19)	1 (6.67)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV}	1 (1.79)	1 (2.44)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{CTX-M}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{CTX-M}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{CTX-M}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
AmpC	<i>bla</i> _{CMY-1}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{CMY-2}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>bla</i> _{CMY-1} + <i>bla</i> _{CMY-2}	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
Sulfonamide	<i>sul1</i>	7 (12.50)	7 (17.07)	0 (0.00)
Chloramphenicol	<i>cmlA</i>	2 (3.57)	2 (4.87)	0 (0.00)
	<i>cat1</i>	6 (10.71)	6 (14.63)	0 (0.00)
	<i>cmlA</i> + <i>cat1</i>	2 (3.57)	2 (4.88)	0 (0.00)
Trimethoprim-sulfamethoxazole	<i>sul1/dhfrV</i>	7 (12.50)	5 (12.19)	2 (13.33)
Ampicillin	<i>CITM</i>	11 (19.64)	6 (14.63)	5 (33.33)
Tetracycline	<i>tetA</i>	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

2. การศึกษาถึงอุบัติการณ์ของ *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคลกลุ่ม O26 และ O111 ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

จากการศึกษาแบคทีเรียกลุ่ม *E. coli* ชนิดที่ไม่ใช่ O157 ที่แยกได้จากการศึกษาโครงการวิจัยเรื่อง “สภาวะโลกร้อนและอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” โดยนำ *E. coli* เหล่านี้มาศึกษาถึงว่าเป็น *E. coli* สายพันธุ์ก่อโรคลกลุ่ม O26 และ O111 ด้วยเทคนิค Agglutination (ปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี) ผลการทดลองพบว่า *E. coli* ทุกไอโซเลทในการศึกษาครั้งนี้ไม่ใช่ *E. coli* สายพันธุ์ O26 และ O111 ดังแสดงในตารางที่ 12 และภาพที่ 12-13

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบอุบัติการณ์ของ *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคลกลุ่ม O26 และ O111 ด้วยปฏิกิริยา Agglutination ของ *E. coli* ที่คัดแยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

ไอโซเลท	Antiserum	
	O26	O111
1	-	-
2	-	-
3	-	-
4	-	-
5	-	-
6	-	-
7	-	-
8	-	-
9	NT*	NT*
10	NT*	NT*
11	-	-
12	-	-
13	-	-
14	-	-
15	-	-
16	-	-
17	-	-
18	-	-
19	-	-

หมายเหตุ : - คือ ไม่เกิดปฏิกิริยากับ antiserum, NT คือ ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ O157

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบอุบัติการณ์ของ *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคกลุ่ม O26 และ O111 ด้วยปฏิกิริยา Agglutination ของ *E.coli* ที่คัดแยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย (ต่อ)

ไอโซเลข	Antiserum	
	O26	O111
20	-	-
21	-	-
22	-	-
23	-	-
24	-	-
25	-	-
26	-	-
27	-	-
28	-	-
29	NT	NT
30	NT	NT
31	-	-
32	-	-
33	-	-
34	-	-
35	-	-
36	-	-
37	-	-
38	-	-
39	-	-
40	-	-
41	-	-
42	-	-
43	-	-
44	-	-
45	-	-
46	-	-

หมายเหตุ :- คือ ไม่เกิดปฏิกิริยากับ antiserum, NT คือ ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ O157

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบอุบัติการณ์ของ *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคกลุ่ม O26 และ O111 ด้วยปฏิกิริยา Agglutination ของ *E.coli* ที่คัดแยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย (ต่อ)

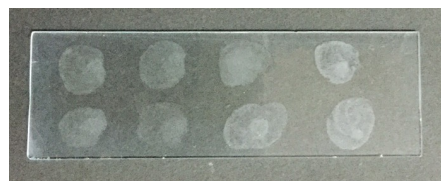
ไอโซเลท	Antiserum	
	O26	O111
47	-	-
48	-	-
49	-	-
50	-	-
51	-	-
52	-	-
53	-	-
54	-	-
55	-	-
56	-	-
57	-	-
58	-	-
59	-	-
60	-	-
61	-	-
62	-	-
63	-	-
64	-	-
65	-	-
66	-	-
67	-	-
68	-	-
69	-	-
70	-	-
71	-	-
72	-	-
73	-	-

หมายเหตุ :- คือ ไม่เกิดปฏิกิริยากับ antiserum, NT คือ ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ O157

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบอุบัติการณ์ของ *Escherichia coli* สายพันธุ์ก่อโรคกลุ่ม O26 และ O111 ด้วยปฏิกิริยา Agglutination ของ *E.coli* ที่คัดแยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี ประเทศไทย (ต่อ)

ไอโซเลข	Antiserum	
	O26	O111
74	-	-
75	-	-
76	-	-
77	-	-
78	-	-
79	-	-
80	-	-
81	-	-
82	-	-
83	-	-
84	-	-
85	-	-
86	-	-
87	-	-
88	-	-
89	-	-
90	-	-

หมายเหตุ : - คือ ไม่เกิดปฏิกิริยากับ antiserum, NT คือ ไม่ได้ทดสอบ เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ O157



ไอโซเลทที่ 1-8



ไอโซเลทที่ 11-18



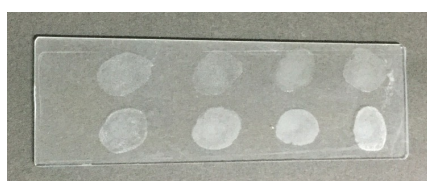
ไอโซเลทที่ 19-26



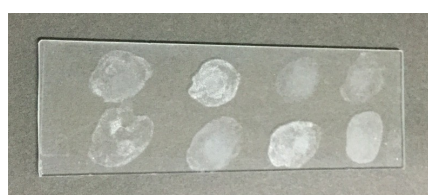
ไอโซเลทที่ 27-28,31-36



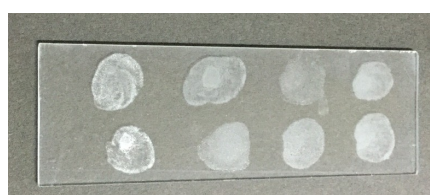
ไอโซเลทที่ 37-44



ไอโซเลทที่ 45-52



ไอโซเลทที่ 53-60



ไอโซเลทที่ 61-68



ไอโซเลทที่ 69-76



ไอโซเลทที่ 77-84



ไอโซเลทที่ 85-91

ภาพที่ 12 การทดสอบ Agglutination ต่อ *E. coli* สายพันธุ์ก่อโรคกลุ่ม O26



ไอโซเลขที่ 1-8



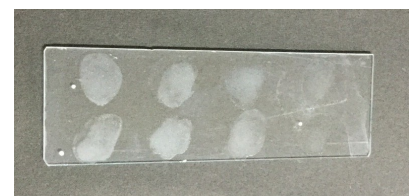
ไอโซเลขที่ 11-18



ไอโซเลขที่ 19-26



ไอโซเลขที่ 27-28,31-36



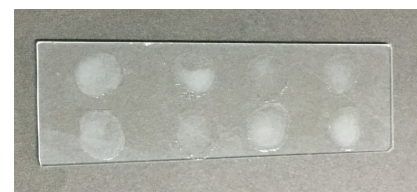
ไอโซเลขที่ 37-44



ไอโซเลขที่ 45-52



ไอโซเลขที่ 53-60



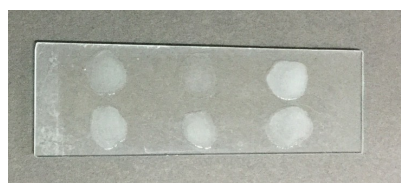
ไอโซเลขที่ 61-68



ไอโซเลขที่ 69-76



ไอโซเลขที่ 77-84



ไอโซเลขที่ 85-91

ภาพที่ 13 การทดสอบ Agglutination ต่อ *E. coli* สายพันธุ์ก่อโรคกลุ่ม O111

3. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการพบยีนดื้อยา แบบแผนการดื้อยาและชนิดของ *E. coli* สายพันธุ์ต่างๆ ร่วมกับ *K. pneumoniae*

ต่อมาทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการพบยีนดื้อยา แบบแผนการดื้อยาและชนิดของ *E. coli* สายพันธุ์ต่างๆ ร่วมกับ *K. pneumoniae* เพื่อทำให้เกิดองค์ความรู้ที่ครบถ้วนเพื่อสามารถป้องกันและทำการควบคุมแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ซึ่งเป็นการรวบรวมความรู้จากการศึกษาถึงการติดต่อสารต้านจุลชีพของ *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี (จากการศึกษาในโครงการวิจัยเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรครุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยา ผลการทดลองพบว่า (1) แบบแผนการดื้อยาสัมพันธ์กับการพบยีนดื้อยาน้อยมากโดยพบว่า *E. coli* ที่ไวต่อยาทั้งหมดทุกชนิด แต่พบยีนดื้อยาสูงถึง 35 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 38.89 (2) รวมทั้งพบว่าแบบแผนการดื้อยาสัมพันธ์กับการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสน้อยมากเช่นกัน โดยพบว่า *E. coli* ที่ไวต่อยาทั้งหมดทุกชนิด แต่พบการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสสูงถึง 60 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 66.67 (3) นอกจากนั้นพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยามีความสัมพันธ์น้อยมากเช่นกัน โดยพบว่า *E. coli* ที่ไวต่อยาทั้งหมดทุกชนิด แต่พบยีนดื้อยาและสามารถผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสสูงถึง 35 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 38.89

ตารางที่ 13 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี

เดือน	ลำดับ	AK	AMC	AMP	C	CTX	CIP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE	TZP	การสร้างเอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส	ยีนที่พบ
เมษายน 2554	1	S	I	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	I	R	R	R	R	S	✓	×
	2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	×
	3	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	I	S	R	S	S	S	✓	ESBL (bla _{CTX-M})
	4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	I	S	R	S	S	S	w+	×
	5	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	×
	6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S	S	S	w+	CITM
	7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S	S	S	w+	ESBL (bla _{SHV} , bla _{CTX-M}), CITM
	8	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	CITM
พฤษภาคม 2554	9	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	✓	NSBL (bla _{TEM}), ESBL (bla _{TEM}), CITM
	10	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	w+	×
	11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	12	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	×
	13	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV} , bla _{CTX-M}), CITM
	14	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	×
	16	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M}), CITM
	17	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M}), CITM
	18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	×

ตารางที่ 13 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส																	ยีนที่พบ		
		AK	AMC	AMP	C	CTX	GIP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE		TZP	
มิถุนายน 2554	19	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M}), CITM
	20	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	×
	21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	CITM
	22	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	×
	23	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV}), CITM
	24	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV})
	25	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	26	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	×
	27	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV})
28	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV})	
กรกฎาคม 2554	29	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S	R	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV})
	30	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	w+	×
	*หมายเลข 29 และ 30 คือ <i>E. coli</i> O157	31	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	32	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV})
	33	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	34	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV})
	35	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV})
	36	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	×

ตารางที่ 13 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ
บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส																	ยีนที่พบ		
		AK	AMC	AMP	C	CTX	CIP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE		TZP	
กรกฎาคม 2554	37	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV})
	38	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV} , bla _{CTX-M}), CITM
	39	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	CITM
	40	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	CITM
สิงหาคม 2554	41	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	42	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	43	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	44	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	45	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	46	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	CITM
	47	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	CITM
	48	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	49	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	50	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	51	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	52	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	53	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})

ตารางที่ 13 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	AK	AMC	AMP	C	CTX	CIP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE	TZP	การสร้างเอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส	ยีนที่พบ
กันยายน 2554	54	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	55	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	56	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV} , bla _{CTX-M})
	57	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	I	R	R	R	S	S	S	✓	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV})
	58	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M}), <i>sul1</i>
	59	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	w+	X
	60	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M}), <i>sul1</i>
	61	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV} , bla _{CTX-M})
	62	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	63	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	X
	64	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	X
	65	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	<i>sul1</i>
	66	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	<i>sul1</i>
	67	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	✓	NSBL (bla _{TEM}), ESBL (bla _{TEM})
68	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	<i>sul1</i>	
ตุลาคม 2554	69	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	70	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	X
	71	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	<i>cat1</i>

ตารางที่ 13 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	AK	AMC	AMP	C	CTX	CIP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE	TZP	การสร้างเอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส	ยีนที่พบ
ตุลาคม 2554	72	S	S	S	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	73	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	X
	74	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	✓	NSBL (bla _{TEM}), ESBL (bla _{TEM})
	75	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	I	S	w+	X
	76	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	77	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	78	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	79	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	80	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	X
	81	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	R	R	S	✓	<i>sul1</i>
	82	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	✓	<i>cmlA</i>
83	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	<i>cat1</i>	
พฤศจิกายน 2554	84	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M}), <i>cmlA</i> , <i>cat1</i> , <i>sul1/dhfV</i>
	85	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M}), <i>cat1</i>
	86	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	I	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M}), <i>cmlA</i>
	87	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	R	R	S	w+	X
	88	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	R	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})
	89	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	w+	<i>cmlA</i>
	90	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	w+	ESBL (bla _{CTX-M})

ตารางที่ 13 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	รหัส	AK	AMC	AMP	C	CTX	CIP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE	TZP	การสร้าง เอนไซม์เบต้า- แลคตาเมส	ยีนที่พบ
Control	-	<i>E. coli</i> O157: H7 ATCC 35218	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	✓	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV} , bla _{CTX-M})
	-	<i>E. coli</i> ATCC 25922	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV} , bla _{CTX-M})

หมายเหตุ : S คือ มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ

I คือ มีความไวต่อยาปฏิชีวนะปานกลาง

R คือ ตื้อต่อยาปฏิชีวนะ

✓ คือ ให้ผลการทดสอบบวกกับการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสภายใน 1-2 นาที

w+ คือ ให้ผลการทดสอบบวกกับการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสเมื่อเวลามากกว่า 5 นาทีขึ้นไป

ชื่อย่อขางยาปฏิชีวนะ คือ AK = Amikacin (30 ไมโครกรัม), AMC = Amoxicillin-Clavulanic acid (30 ไมโครกรัม), AMP = Ampicillin (10 ไมโครกรัม) C = Chloramphenicol (30 ไมโครกรัม), CTX = Cefotaxime (30 ไมโครกรัม), CIP = Ciprofloxacin (5 ไมโครกรัม), CN = Gentamicin (10 ไมโครกรัม), CRO = Ceftriaxone (30 ไมโครกรัม), MEM = Meropenem (10 ไมโครกรัม), FOX = Cefoxitin (30 ไมโครกรัม), IMP = Imipenem (10 ไมโครกรัม), KF = Cephalotin (30 ไมโครกรัม), K = Kanamycin (30 ไมโครกรัม), NA = Nalidixic acid (30 ไมโครกรัม), S3 = Sulfonamides (300 ไมโครกรัม), SXT = Trimethoprim-sulfamethoxazole (25 ไมโครกรัม), TE = Tetracycline (30 ไมโครกรัม) และ TZP = Piperacillin-tazobactam (110 ไมโครกรัม)

ส่วนการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดี้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดี้อยาของ *K. pneumoniae* พบว่า (1) แบบแผนการดี้อยาสัมพันธ์กับการพบยีนดี้อยาสูงมาก โดยพบว่า *K. pneumoniae* ที่ดี้อยาและพบยีนดี้อยาสูงถึง 29 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 51.79 (2) รวมทั้งพบว่าแบบแผนการดี้อยาสัมพันธ์กับการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสสูงมาก โดยพบว่า *K. pneumoniae* ที่ดี้อยาและพบการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส มี 41 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 73.21 (3) นอกจากนั้นพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดี้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดี้อยามีความสัมพันธ์สูงมากเช่นกัน โดยพบว่ามี *K. pneumoniae* ที่ดี้อยาและพบยีนดี้อยาและสามารถผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส จำนวน 22 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 39.29 *K. pneumoniae* ที่พบจากการศึกษาครั้งนี้มีการดี้อยาทุกสายพันธุ์ ซึ่งแตกต่างจาก *E. coli* ที่พบว่ามีการดี้อยาน้อยมาก (สายพันธุ์ที่ไวต่อยาทุกชนิดเท่ากับร้อยละ 66.67)

ตารางที่ 14 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *K. pneumoniae* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ
บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี

เดือน	ลำดับ	AK	AMC	AMP	C	CTX	CIP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE	TZP	การสร้างเอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส	ยีนที่พบ
เมษายน 2554	1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	R	S	S	R	S	S	S	✓	×
พฤษภาคม 2554	2	S	I	R	R	I	R	S	I	S	R	S	R	I	R	R	R	R	I	×	×
	3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	R	S	R	✓	×
	4	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	I	I	S	I	I	✓	×
มิถุนายน 2554	5	I	I	R	S	I	S	S	I	S	I	S	I	I	S	R	S	S	R	✓	<i>sul1/dhfrV</i>
	6	S	S	R	S	I	R	S	I	S	I	S	R	I	I	R	S	S	I	✓	×
	7	I	I	R	I	I	S	R	S	S	S	S	S	I	I	R	S	S	R	✓	×
	8	I	I	R	S	S	I	S	I	S	S	S	R	S	I	R	I	I	S	✓	×
	9	I	S	R	S	I	S	S	I	S	S	S	I	I	S	R	S	I	R	✓	<i>sul1/dhfrV</i>
	10	I	S	R	S	I	I	I	I	S	S	S	R	I	S	R	S	S	R	✓	<i>sul1/dhfrV</i>
กรกฎาคม 2554	11	R	S	R	I	I	I	S	I	S	I	R	S	I	S	R	I	I	R	✓	×
	12	I	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	I	S	R	S	S	I	✓	×
	13	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	I	✓	×
	14	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R	S	S	I	✓	<i>sul1/dhfrV</i>
	15	R	I	R	S	S	S	S	I	S	I	S	R	I	I	R	I	I	R	×	<i>sul1/dhfrV, CITM</i>
	16	S	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	R	I	S	R	S	S	I	×	<i>sul1/dhfrV</i>
	17	I	I	R	S	I	I	S	S	S	S	S	R	I	S	R	S	S	R	✓	<i>sul1/dhfrV</i>
	18	I	S	R	R	S	R	R	I	S	S	S	I	I	R	R	R	R	I	✓	CITM

ตารางที่ 14 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *K. pneumoniae* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	AK	AMC	AMP	C	CTX	CP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE	TZP	การสร้างเอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส	ยีนที่พบ
สิงหาคม 2554	19	I	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	I	I	I	R	S	S	R	X	X
	20	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	I	X	X
	21	I	R	R	S	S	S	R	S	S	R	I	R	R	S	R	S	S	I	✓	X
	22	S	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	R	S	S	R	S	S	I	X	X
	23	S	S	R	S	S	S	S	I	S	S	S	I	I	S	R	S	S	I	✓	X
	24	I	R	R	S	S	I	S	S	I	R	R	R	I	S	R	S	S	I	✓	X
	25	I	S	R	S	I	I	I	I	S	I	S	I	I	I	R	I	I	I	✓	X
	26	I	S	R	S	I	I	S	I	S	S	S	I	I	S	R	I	S	I	X	ESBL (bla _{CTX-M})
	27	I	S	R	S	S	I	S	I	S	S	S	R	I	S	R	S	S	I	✓	X
	28	I	S	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	I	S	R	S	S	I	✓	ESBL (bla _{CTX-M})
กันยายน 2554	29	I	S	R	S	I	I	S	I	S	S	S	I	I	R	S	S	I	X	X	
	30	I	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	I	S	R	S	S	I	✓	X	
	31	R	S	R	R	I	I	R	I	S	S	S	R	R	I	R	R	R	R	X	X
	32	I	R	R	R	S	S	I	I	S	S	S	R	I	S	R	R	R	I	✓	ESBL (bla _{CTX-M})
	33	I	I	R	S	I	I	I	I	S	S	S	I	I	S	R	S	I	I	X	X
	34	R	S	R	S	I	I	S	S	S	S	S	I	R	R	R	S	I	R	X	CITM
	35	I	S	R	S	S	I	S	I	S	S	I	R	I	S	R	S	S	R	X	CITM
	36	R	S	R	S	S	I	I	I	S	S	S	I	I	S	R	S	I	I	X	X
	37	I	I	R	R	I	S	S	I	S	S	S	R	I	S	R	S	R	R	✓	CITM
	38	S	S	R	S	S	I	S	I	S	S	S	I	I	S	R	S	I	I	✓	X
	39	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	I	X	CITM

ตารางที่ 14 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *K. pneumoniae* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	AK	AMC	AMP	C	CTX	CP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE	TZP	การสร้างเอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส	ยีนที่พบ
ตุลาคม 2554	40	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	✓	X
	41	S	R	I	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	✓	NSBL (bla _{TEM}), ESBL (bla _{TEM}), CITM
	42	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	✓	ESBL (bla _{CTX-M}), CITM
	43	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	X	CITM
	44	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	R	S	S	✓	X
	45	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	✓	X
	46	S	I	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	✓	NSBL (bla _{TEM} , bla _{SHV}), ESBL (bla _{TEM} , bla _{SHV})
	47	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S	✓	CITM
	48	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	✓	ESBL (bla _{CTX-M}), CITM
	49	S	I	I	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	✓	<i>sul1, cmlA, cat1</i>
	50	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	✓	<i>sul1, cmlA, cat1</i>
	51	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	✓	<i>cat1</i>
	52	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	✓	<i>sul1</i>
	53	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	✓	<i>sul1</i>
54	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	✓	<i>sul1, cat1</i>	
พฤศจิกายน 2554	55	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	✓	ESBL (bla _{CTX-M}), <i>sul1, cat1</i>	
	56	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	✓	<i>sul1, cat1</i>	

ตารางที่ 14 ความไวต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และยีนที่พบใน *K. pneumoniae* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณ บางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี (ต่อ)

เดือน	ลำดับ	รหัส	AK	AMC	AMP	C	CTX	CIP	CN	CRO	MEM	FOX	IMP	KF	K	NA	S3	SXT	TE	TZP	การสร้างเอนไซม์ เบต้า-แลคตาเมส	ยีนที่พบ
Control	-	<i>K. pneumoniae</i> ATCC700603	S	R	S	R	I	S	I	I	S	R	S	R	S	I	R	S	I	S	✓	NSBL (bla _{SHV}), ESBL (bla _{SHV} , bla _{CTX-M})

หมายเหตุ : S คือ มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ

I คือ มีความไวต่อยาปฏิชีวนะปานกลาง

R คือ ตื้อต่อยาปฏิชีวนะ

✓ คือ ให้ผลการทดสอบบวกกับการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสภายใน 1-2 นาที

w+ คือ ให้ผลการทดสอบบวกกับการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสเมื่อเวลามากกว่า 5 นาทีขึ้นไป

ชื่อย่อของยาปฏิชีวนะ คือ AK = Amikacin (30 ไมโครกรัม), AMC = Amoxicillin-Clavulanic acid (30 ไมโครกรัม), AMP = Ampicillin (10 ไมโครกรัม) C = Chloramphenicol (30 ไมโครกรัม), CTX = Cefotaxime (30 ไมโครกรัม), CIP = Ciprofloxacin (5 ไมโครกรัม), CN = Gentamicin (10 ไมโครกรัม), CRO = Ceftriaxone (30 ไมโครกรัม), MEM = Meropenem (10 ไมโครกรัม), FOX = Cefoxitin (30 ไมโครกรัม), IMP = Imipenem (10 ไมโครกรัม), KF = Cephalotin (30 ไมโครกรัม), K = Kanamycin (30 ไมโครกรัม), NA = Nalidixic acid (30 ไมโครกรัม), S3 = Sulfonamides (300 ไมโครกรัม), SXT = Trimethoprim-sulfamethoxazole (25 ไมโครกรัม), TE = Tetracycline (30 ไมโครกรัม) และ TZP = Piperacillin-tazobactam (110 ไมโครกรัม)

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

1. การศึกษาถึงยีนความรุนแรงในการก่อโรคใน *E. coli* พบว่าสามารถตรวจพบ *E. coli* ที่มียีนก่อโรคในกลุ่ม NSBL (ยีน *bla*_{TEM} และ *bla*_{SHV}) จำนวน 18 ไอโซเลท (20%), ยีนก่อโรคกลุ่ม ESBL (ยีน *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} และ *bla*_{CTX-M}) จำนวน 41 ไอโซเลท (45.56%), ยีนก่อโรคกลุ่มดื้อยา Sulfonamide (ยีน *sul1*) จำนวน 6 ไอโซเลท (6.66%), ยีนดื้อยา Chloramphenicol (ยีน *cmlA* และ *cat1*) จำนวน 7 ไอโซเลท (7.78%), ยีนดื้อยา Trimethoprim-sulfamethoxazole (ยีน *sul1/dhfrV*) จำนวน 1 ไอโซเลท (1.11%), ยีนดื้อยา Ampicillin (ยีน CITM) จำนวน 15 ไอโซเลท (16.66%) แต่ไม่พบยีนก่อโรคในกลุ่ม AmpC (ยีน *bla*_{CMY-1} และ *bla*_{CMY-2}) และ Tetracycline (ยีน *tetA*)

2. การตรวจหายีนความรุนแรงในการก่อโรคใน *K. pneumoniae* พบว่าตรวจพบยีนในกลุ่ม NSBL (ยีน *bla*_{TEM} และ *bla*_{SHV}) จำนวน 2 ไอโซเลท (3.57%), ยีนก่อโรคกลุ่ม ESBL (ยีน *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} และ *bla*_{CTX-M}) จำนวน 8 ไอโซเลท (14.29%), ยีนดื้อยา Sulfonamide (ยีน *sul1*) จำนวน 7 ไอโซเลท (12.50%), ยีนดื้อยา Chloramphenicol (ยีน *cmlA* และ *cat1*) จำนวน 6 ไอโซเลท (10.71%), ยีนดื้อยา Trimethoprim-sulfamethoxazole (ยีน *sul1/dhfrV*) จำนวน 7 ไอโซเลท (12.50%), ยีนดื้อยา Ampicillin (ยีน CITM) จำนวน 11 ไอโซเลท (19.64%) แต่ไม่พบยีนก่อโรคกลุ่ม AmpC (ยีน *bla*_{CMY-1} และ *bla*_{CMY-2}) และ Tetracycline (ยีน *tetA*)

3. จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าในบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา ระหว่างเดือนเมษายนถึงสิงหาคม พ.ศ. 2554 มีอุบัติการณ์ของแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *E. coli* O157 ชนิดที่ผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมสทั้งหมด รวมทั้งพบ *K. pneumoniae* ชนิดที่ไม่ผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมส และ *K. pneumoniae* ชนิดที่ผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมสที่มีการดื้อยาก่อนข้างสูง รวมทั้งพบยีนดื้อยาบางชนิด ดังนั้นควรมีความระมัดระวังในด้านการระบาดวิทยาของแบคทีเรียดังกล่าวในนักท่องเที่ยวหรือผู้ที่มีโอกาสสัมผัสกับแบคทีเรียทุกชนิดดังที่ได้กล่าวมาแล้ว รวมทั้งการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดนี้ซึ่งได้ถึงการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคลำไส้หลายชนิด เช่น *Salmonella*, *Shigella* และ *Vibrio cholerae* รวมทั้ง *E. coli* O157 แต่ *E. coli* ที่พบในครั้งนี้นี้ทั้งหมดไม่เป็นสายพันธุ์ O111 และ O26 การพบแบคทีเรียก่อโรดังกล่าวมีความสำคัญต่อสุขภาพของประชาชนที่อยู่บริเวณนั้น ดังนั้นควรมีการช่วยกันรักษาความสะอาดของบริเวณดังกล่าวเพื่อลดการปนเปื้อนของสิ่งปนื้อกมลลงสู่ทะเล พร้อมทั้งตรวจติดตามอุบัติการณ์ของเชื้อก่อโรคเหล่านี้และเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรคเหล่านี้ต่อไป

4. จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมสและการพบยีนดื้อยา ผลการทดลองพบว่า (1) แบบแผนการดื้อยาสัมพันธ์กับการพบยีนดื้อยาน้อยมากโดยพบว่า *E. coli* ที่ไวต่อยาทั้งหมดทุกชนิด แต่พบยีนดื้อยาสูงถึง 35 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 38.89 (2) รวมทั้งพบว่าแบบแผนการดื้อยาสัมพันธ์กับการผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมสน้อยมากเช่นกัน โดยพบว่า *E. coli* ที่ไวต่อยาทั้งหมดทุกชนิด แต่พบการผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมสสูงถึง 60 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 66.67 (3) นอกจากนั้นพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยาการผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยามีความสัมพันธ์น้อยมากเช่นกัน โดยพบว่า

E. coli ที่ไวต่อยาทั้งหมดทุกชนิด แต่พบยีนดื้อยาและสามารถผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสสูงถึง 35 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 38.89 ส่วนการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยาของ *K. pneumoniae* พบว่า (1) แบบแผนการดื้อยาสัมพันธ์กับการพบยีนดื้อยาสูงมาก โดยพบว่า *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยาและพบยีนดื้อยาสูงถึง 29 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 51.79 (2) รวมทั้งพบว่าแบบแผนการดื้อยาสัมพันธ์กับการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมสสูงมาก โดยพบว่า *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยาและพบการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส มี 41 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 73.21 (3) นอกจากนั้นพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยามีความสัมพันธ์สูงมากเช่นกัน โดยพบว่า *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยาและพบยีนดื้อยาและสามารถผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส จำนวน 22 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 39.29

5. ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้สามารถกล่าวได้ว่า *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ที่ไวต่อยาต้านจุลชีพและบางสายพันธุ์ที่มีการดื้อยา น่าจะมีกลไกการดื้อยาจากกลไกอื่น ๆ นอกเหนือจากความสามารถในการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการกลไกที่เกี่ยวข้องกับยีนดื้อยา รวมทั้งพบว่าถึงแม้จะมีทั้งการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และมียีนดื้อยา แต่พบว่ามีแบบแผนความไวต่อยา คือ ไวต่อยาที่ทดสอบเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งแตกต่างจาก *K. pneumoniae* ที่คัดแยกจากแหล่งน้ำและดินบริเวณเดียวกัน แต่พบว่าทุกสายพันธุ์ดื้อต่อยาอย่างน้อย 1 ชนิด และการดื้อยาสัมพันธ์การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการมียีนดื้อยา จึงทำให้เกิดความน่าสนใจที่จะทำการศึกษาต่อเนื่องถึงเหตุผลดังกล่าวเพื่อให้สามารถควบคุมและคาดการณ์การเกิดโรครวมทั้งการรักษาโรคที่เกิดจาก *E. coli* และ *K. pneumoniae* ได้อย่างถูกต้องต่อไป เพื่อจะทำให้ลดค่าใช้จ่ายทางด้านสาธารณสุข ทางกาการท่องเที่ยวและทางด้านสังคม เศรษฐกิจอย่างมากมายมหาศาล

อภิปรายผลการทดลอง

จากการที่คณะผู้วิจัยได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ในหัวข้อวิจัยเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 ซึ่งทำให้ทราบถึงรูปแบบการดื้อยาและการมียีนดื้อยาบางกลุ่มและเพื่อทำให้เกิดองค์ความรู้ในเชิงลึกมากขึ้น ซึ่งจะสามารถทำให้มีข้อมูลเพียงพอที่ทำให้ควบคุมการระบาดของแบคทีเรียก่อโรคที่รุนแรงและดื้อยาหลายขนานในนักท่องเที่ยวทั้งในระดับประเทศและต่างประเทศ จึงทำให้ผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะศึกษาต่อเนื่องถึง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญและคุณสมบัติทางการดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” โดยนำแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่คัดแยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลจากการศึกษาที่ผ่านมาการศึกษาต่อเนื่อง ผลการศึกษาจากโครงการวิจัยในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 และปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 พบว่าในส่วนการศึกษาถึงยีนความรุนแรงในการก่อโรคใน *E. coli* พบว่าสามารถตรวจพบ *E. coli* ที่มียีนก่อโรคในกลุ่ม NSBL (ยีน *bla_{TEM}* และ *bla_{SHV}*) จำนวน 18 ไอโซเลท (20%), ยีนก่อโรคกลุ่ม ESBL (ยีน *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}* และ *bla_{CTX-M}*) จำนวน 41 ไอโซเลท (45.56%), ยีนก่อโรคกลุ่มดื้อยา Sulfonamide (ยีน *sul1*) จำนวน 6 ไอโซเลท

(6.66%), ยีนดื้อยา Chloramphenicol (ยีน *cmlA* และ *cat1*) จำนวน 7 ไอโซเลท (7.78%), ยีนดื้อยา Trimethoprim-sulfamethoxazole (ยีน *sul1/dhfrV*) จำนวน 1 ไอโซเลท (1.11%), ยีนดื้อยา Ampicillin (ยีน CITM) จำนวน 15 ไอโซเลท (16.66%) แต่ไม่พบยีนก่อโรคในกลุ่ม AmpC (ยีน *bla_{CMY-1}* และ *bla_{CMY-2}*) และ Tetracycline (ยีน *tetA*)

การตรวจหายีนความรุนแรงในการก่อโรคใน *K. pneumoniae* พบว่าตรวจพบยีนในกลุ่ม NSBL (ยีน *bla_{TEM}* และ *bla_{SHV}*) จำนวน 2 ไอโซเลท (3.57%), ยีนก่อโรคกลุ่ม ESBL (ยีน *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}* และ *bla_{CTX-M}*) จำนวน 8 ไอโซเลท (14.29%), ยีนดื้อยา Sulfonamide (ยีน *sul1*) จำนวน 7 ไอโซเลท (12.50%), ยีนดื้อยา Chloramphenicol (ยีน *cmlA* และ *cat1*) จำนวน 6 ไอโซเลท (10.71%), ยีนดื้อยา Trimethoprim-sulfamethoxazole (ยีน *sul1/dhfrV*) จำนวน 7 ไอโซเลท (12.50%), ยีนดื้อยา Ampicillin (ยีน CITM) จำนวน 11 ไอโซเลท (19.64%) แต่ไม่พบยีนก่อโรคกลุ่ม AmpC (ยีน *bla_{CMY-1}* และ *bla_{CMY-2}*) และ Tetracycline (ยีน *tetA*)

จากผลการศึกษาครั้งนี้ที่พบ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มมีการดื้อยาบางชนิดดังที่ได้กล่าวมาแล้ว และสอดคล้องกับการศึกษาของกิจจา จิตรภิมมัย และวชิระ สิงหะคเชนทร์ (2557) ที่พบว่าแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ได้แก่ Ampicillin (AMP), Nalidixic acid (NA), Ciprofloxacin (CIP), Gentamicin (CN) และ Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT) และมีการดื้อต่อ Ampicillin (AMP) มากที่สุด ร้อยละ 55.8 โดยมีรูปแบบการดื้อต่อยาปฏิชีวนะทั้งหมด 4 รูปแบบหลัก ซึ่งพบดื้อต่อยา 1, 2 ชนิด และดื้อต่อยา 3 ชนิดใน 3 กลุ่มยา ร้อยละ 50.7, 4.4 และ 3.6 ตามลำดับ ดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มบางชนิดในการศึกษาครั้งนี้ จัดว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้มีการดื้อยาหลายชนิด หรือ Multidrug resistant bacteria (Magiorakos et al., 2012) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Sayah et al. (2005) ที่พบว่าสามารถแยกแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มจากสิ่งแวดล้อม และดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้หลายชนิด และพบว่าแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถส่งผ่านยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาไปสู่แบคทีเรียกลุ่มอื่นผ่านทาง plasmid (Sayah et al., 2005; Winokur et al., 2001) ดังการศึกษาของ Melissa (2004) ที่พบว่าเกิดการส่งผ่านยีนดื้อยา Ampicillin จาก *E. coli* ไปสู่ *Salmonella* spp. เชื้อก่อโรคที่นำมาเพาะเลี้ยงร่วมกัน ดังนั้นจากการศึกษาพบว่า *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่มียีนดื้อต่อยาและอยู่ในสิ่งแวดล้อมทางทะเล อาจจะมีการส่งผ่านยีนดังกล่าวไปสู่เชื้อก่อโรคโดยเฉพาะเชื้อก่อโรคทางอาหารซึ่งมีโอกาสเกิดขึ้นได้มากเนื่องจากมีแหล่งที่มาเดียวกัน และสอดคล้องกับรายงานของ Alves et al. (2014) ที่พบว่าน้ำทะเลเป็นแหล่งสะสมของ *E. coli* ที่ดื้อยา การดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อก่อโรคส่งผลกระทบต่อทางเลือกในการใช้ยารักษาที่น้อยลง เสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นและอาจเป็นอันตรายต่อผู้ป่วยได้

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าในบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา ระหว่างเดือนเมษายนถึงสิงหาคม พ.ศ. 2554 มีอุบัติการณ์ของแบคทีเรียชนิด *E. coli* และ *E. coli* O157 ชนิดที่ผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมสทั้งหมด รวมทั้งพบ *K. pneumoniae* ชนิดที่ไม่ผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมส และ *K. pneumoniae* ชนิดที่ผลิตเอ็นไซม์เบต้า-แลคตาเมส ที่มีการดื้อยาก่อนข้างสูง รวมทั้งพบยีนดื้อยาบางชนิด ดังนั้นควรมีความระมัดระวังในด้านการระบาดวิทยาของแบคทีเรียดังกล่าวในนักท่องเที่ยวหรือผู้ที่มีโอกาสสัมผัสต่อแบคทีเรียทุกชนิดดังที่ได้กล่าวมาแล้ว รวมทั้งการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดนี้บ่งชี้ได้ถึงการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้หลายชนิด เช่น *Salmonella*, *Shigella*

และ *Vibrio cholerae* รวมทั้ง *E. coli* O157 แต่ *E. coli* ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ทั้งหมดไม่ใช่สายพันธุ์ O111 และ O26 การพบแบคทีเรียก่อโรครดดังกล่าวมีความสำคัญต่อสุขภาพของประชาชนที่อยู่บริเวณนั้น ดังนั้นควรมีการช่วยกันรักษาความสะอาดของบริเวณดังกล่าวเพื่อลดการปนเปื้อนของสิ่งปฏิกูลลงสู่ทะเล พร้อมทั้งตรวจติดตามอุบัติการณ์ของเชื้อก่อโรคเหล่านี้และเฝ้าระวังการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรคเหล่านี้ต่อไป

ในการศึกษาครั้งนี้ที่ *E. coli* ทั้งหมดไม่ใช่สายพันธุ์ก่อโรครุนแรง O111 และ O26 ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่น่ายินดีต่อนักท่องเที่ยวและคนที่อยู่ในบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้เข้าสู่ร่างกายโดยการกินอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อ ปริมาณต่ำสุดของเชื้อที่ทำให้เกิดอาการประมาณ 10-100 CFU เพราะ *E. coli* สายพันธุ์ O111 และ O26 เป็นสายพันธุ์ในกลุ่ม Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* strains (EHEC) ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงรุนแรง เป็นเลือด และทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนรุนแรงของกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตวายที่เรียกว่าโรค Haemorrhagic Colitis (HC) และ Haemolytic Uraemic Syndrome (HUS) ที่สำคัญชนิดหนึ่งและก่อให้เกิดโรคทั่วโลก (Markus et al., 2012) โดยเฉพาะในผู้ป่วยเด็กหรือผู้สูงอายุ เชื้อกลุ่มนี้เป็นเชื้อก่อโรคที่มีคุณสมบัติในการสร้าง Virulence factor ที่สำคัญคือ สร้างสารพิษ “Shiga toxin” หรือ “Verocytotoxin” *E. coli* สายพันธุ์ O26 ก่อโรคในมนุษย์ทั่วโลก (Vaz et al., 2004; Jelacic et al., 2003; Paciorek, 2002; Elliott et al., 2001) รวมทั้งทำให้เกิดโรคท้องเสียในเด็กตั้งแต่ปี ค.ศ. 1951 (Levine, 1987) นอกจาก Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) สายพันธุ์ O157:[H7] แล้ว สายพันธุ์ O26:[H11] ยังเป็น EHEC ที่แยกจากผู้ป่วยโรค HUS และโรคท้องเสียในประเทศออสเตรเลีย เยอรมนีและอิตาลี (Gerber et al., 2002; Beutin et al., 2004; Tozzi et al., 2003) นอกจากนั้นศูนย์ US Centers for Disease Control and Prevention ได้รายงานไว้ว่า *E. coli* ชนิด O serotypes 6 สายพันธุ์ ได้แก่ O26, O111, O103, O121, O45 และ O145 เป็นสาเหตุของโรคที่เกิดจาก non-O157 STEC (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*) สูงถึง 71% (Brooks et al., 2005)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยา ผลการทดลองพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยาของ *E. coli* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี มีความสัมพันธ์ต่ำ ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยา การผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส และการพบยีนดื้อยาของ *K. pneumoniae* ที่แยกได้จากดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จ.ชลบุรี พบว่ามีความสัมพันธ์กันสูง จึงทำให้เกิดความน่าสนใจที่จะทำการศึกษาต่อเนื่องถึงเหตุผลดังกล่าวเพื่อทำให้สามารถควบคุมและคาดการณ์การเกิดโรครุนแรงรวมทั้งการรักษาได้อย่างถูกต้องของ *E. coli* และ *K. pneumoniae* ต่อไป เพื่อจะทำให้ลดค่าใช้จ่ายที่มีผลกระทบต่อทางด้านสาธารณสุข ทางการท่องเที่ยวและทางด้านสังคมเศรษฐกิจอย่างมากมายมหาวิทยาลัยนั่นเอง

จากการศึกษาของทีมงานสุบัตินิตและคณะที่ผ่านมาจากโครงการวิจัยเรื่อง “สภาวะโลกร้อนและอุบัติการณ์ของแบคทีเรียในหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ที่คณะผู้วิจัยได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม พิษวิทยาและการบริหารจัดการ

สารเคมี ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 และโครงการวิจัยเรื่อง “ผลของสภาวะโลกร้อนต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรครุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี” ทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 และพบว่าต้องค้ความรู้อีกมากมาย ได้แก่ (1) ทราบถึงผลของสภาวะโลกร้อนจากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและลักษณะทางกายภาพของดินตะกอนและน้ำทะเลต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียก่อโรครุนแรงและดื้อยาหลายขนานจากชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี และ (2) ทราบถึงรูปแบบการดื้อยาของ *E. coli* และ *K. pneumoniae* รวมถึงยีนดื้อยาบางกลุ่มของแบคทีเรียดังกล่าวบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา และในปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 นี้ที่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ได้ทำการศึกษาต่อเนื่อง (3) การตรวจหายีนก่อโรครุ่นอื่นที่พบว่ามีฤทธิ์ดื้อยาในปริมาณสูงและยังไม่ได้ทำการตรวจหายีนดื้อยาในโครงการในปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 (4) และทำการจำแนกชนิดของ *E. coli* สายพันธุ์ก่อโรคที่อุบัติในช่วงเวลาที่ทำการศึกษานี้ เนื่องจากในการศึกษาที่ผ่านมาได้ทำการศึกษาถึงเฉพาะ *E. coli* ก่อโรคทางเดินอาหารชนิด *E. coli* O157 แต่อย่างไรก็ตาม *E. coli* ก่อโรครุ่นอื่นอีกมากมายหลายชนิด ได้แก่ กลุ่ม O26 และ O111 ที่กำลังระบาดทั่วโลกในปัจจุบัน ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาถึงชนิดของ *E. coli* กลุ่มดังกล่าวเพื่อทำให้ทราบว่าสายพันธุ์ของ *E. coli* ที่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคปะปนอยู่หรือไม่ (5) ต่อมา จะทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนการดื้อยาจากโครงการปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 และการพบยีนดื้อยาจากโครงการปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 บางส่วนและจากโครงการในครั้งนี้รวมกัน

จากการศึกษาของทุกโครงการที่ผ่านมาทำให้เกิดองค์ความรู้ที่ครอบคลุมหลายด้านที่ทำให้สามารถคาดการณ์ถึงการถ่ายทอดยีนและการดื้อต่อยาที่จะรักษา โดยพบว่าใน *E. coli* มียีนดื้อยาแต่ไม่พบมีการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ แต่ตรงข้ามกับ *K. pneumoniae* ที่พบว่าการมียีนดื้อยาและการผลิตเอนไซม์เบต้า-แลคตาเมส ร่วมกับแบบแผนการดื้อยา ทำให้มีข้อมูลเพื่อป้องกันการระบาดของโรคที่เกิดจากแบคทีเรียกลุ่ม *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่มีอยู่ในชายหาดบางแสนและพัทยาซึ่งเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่ปลอดภัยต่อทั้งนักท่องเที่ยวในประเทศและต่างประเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว และทำให้ชายหาดบางแสนและพัทยาเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่ปลอดภัยต่อทั้งนักท่องเที่ยวในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากมีระบบทางสาธารณสุขที่มีประสิทธิภาพ สามารถเตือนภัยของการเกิดโรครุนแรงได้อย่างรวดเร็ว เพราะทราบถึงแบบแผนการดื้อยาที่จะทำให้สามารถเลือกใช้ยาได้อย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็วในการรักษา รวมทั้งทราบถึงการมียีนดื้อยาและความสัมพันธ์ของแบบแผนการดื้อยาและการพบยีนดื้อยานั้นจะสามารถทำนายการดื้อยาของเชื้อในอนาคตได้ชัดเจนขึ้นนั่นเอง ซึ่งความรู้ทั้งหมดควรทำการรวบรวมและถ่ายทอดให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กัจจา จิตรภิมมย์ และวชิระ สิงหะคเชนทร์. (2557). รูปแบบการติดต่อของแบคทีเรียที่แยกได้จากสุขาธารณะ. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.*, 42(3), 561-570.
- ธนาคารกสิกรไทย. (2553). *พืชยา*. วันที่ค้นข้อมูล 9 สิงหาคม พ.ศ. 2553 เข้าถึงได้จาก <http://www.kbeautifullife.com/travel.html>
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2547). *แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค*. กรุงเทพฯ: Noble Print.
- ประกาย กิจจิคุณ. (2550). วิถีโลกร้อน ความจริงที่โลกต้องเผชิญ: ผลกระทบต่อประเทศไทยและภาคการเกษตร. *วารสารเศรษฐกิจการเกษตร*, 53, 16-19.
- ศูนย์ภูมิอากาศแห่งชาติ กรมอุตุนิยมวิทยา. (2554). *ภาวะโลกร้อนกับการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ*. เข้าถึงได้จาก <http://www.tmd.go.th/NCCT/article99.pdf>.
- สุบัณฑิต นิมรรัตน์. (2551). *การจัดจำแนกแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างท่อน : วงศ์ Vibrionaceae*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุบัณฑิต นิมรรัตน์. (2552). *การจัดจำแนกแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน วงศ์ Enterobacteriaceae*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- หนังสือพิมพ์มติชนรายวัน. (2549). *อาหารทะเลจะหมดโลก หนึ่งในวิกฤตการณ์ของโลกที่มนุษย์กำลังจะเผชิญอย่างหนักหน่วงคือ “วิกฤตการณ์อาหาร”*. ฉบับวันที่ 18 พฤศจิกายน 2549.
- Alves, M. S., Pereira, A., Araújo, S. M., Castro, B. B., Correia, A. C. M., and Henriques, I. (2014). Seawater is a reservoir of multi-resistant *Escherichia coli*, including strains hosting plasmid-mediated quinolones resistance and extended-spectrum beta-lactamases genes. *Frontiers in Microbiology*, 5, 426.
- Ammann, C. M., Joos, F., Schimel, D. S., Otto-Bliesner, B. L., and Tomas, R. A. (2007). Solar influence on climate during the past millennium: Results from transient simulations with the NCAR Climate System Model. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(10), 3713-3718.
- Baumann, P., Furniss, A. L., and Lee, J. V. (1984). Genus I. *Vibrio*. In: N.R., Krieg and J.G., Holt (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, (pp. 518-538). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Beutin, L., Krause, G., Zimmermann, S., Kaulfuss, S., and Gleier, K. (2004). Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *J. Clin. Microbiol.*, 42, 1099-1108.
- Braude, A. I., Davis, C. E., and Joahua, F. (1986). *Infectious Disease and Medical Microbiology* (2nd ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company.

- Brooks, J. T., Sowers, E. G., Wells, J. G., Greene, K. D., Griffin, P. M., Hoekstra, R. M., and Strockbine, N. A. (2005). Non-O157 Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* infection in the United States, 1983–2002. *J. Infect. Dis.*, 192, 1422–1429.
- Colwell, R. R. (1996). Global climate and infectious disease: The cholera paradigm. *Science*, 274(5295), 2025-2031.
- Confalonieri, U., Menne, B., Akhtar, R., Ebi, K. L., Hauengue, M., Kovats, R. S., Revich, B., and Woodward, A. (2007). Human health. In M. L. Parry, O. F. Canziani, J. P. Palutikof, P. J. van der Linden, & C. E. Hanson (Eds.), *Climate change 2007: Impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of working group II to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change* (pp. 391–431). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Cullen, E. (2009). *The impact of climate change on the future incidence of specified foodborne diseases in Ireland*. In Conference of the international society of environmental epidemiologists, Dublin, Ireland.
- DaMatta, F. M., Grandis, A., Arenque, B. C., and Buckeridge, M. S. (2010). Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. *Food Research International*, 43, 1814-1823.
- Drake, S. L., DePaola, A., and Jaykus, L. (2007). An overview of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6, 120-144.
- Elliott, E. J., Robins-Browne, R. M., O’Loughlin, E. V., Bennett- Wood, V., Bourke, J., Henning, P., Hogg, G. G., Knight, J., Powell, H. and Redmond, D. (2001). Nationwide study of haemolytic uraemic syndrome: clinical microbiological and epidemiological features. *Arch. Dis. Child.*, 85, 125–131.
- FAO (2008). *Food safety and climate change. FAO conference on food security and the challenges of climate change and bioenergy*. From http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/HLC1_Climate_Change_and_Food_Safety.pdf.
- Farmer III, J. J., Janda, J. M., and Birkhead, K. M., (2003). *Vibrio*. In: P.R. Murray, E.J., Baron, J. H., Jorgensen, M. A. Pfaller and R. H. Tenover (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (8th ed.), (pp. 706-718). Washington, D.C.: ASM Press.
- Farmer III, J. J., Janda, J. M., Brenner, F. W., Cameron, D. N., and Birkhead, K. M. (2005). Genus I. *Vibrio*. In: D.J., Brenner, N. R. Krieg and J. M., Staley (Eds.), *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Part B. (2nd ed.), (pp. 494-546). New York: Springer.

- Frumkin, H., and McMichael, A. J. (2008). Climate change and public health: Thinking, Communicating, Acting. *American Journal of Preventive Medicine*, 35(5), 403-410.
- Gerber, A., Karch, H., Allerberger, F., Verweyen, H. M., and Zimmerhackl, L.B. (2002). Clinical course and the role of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in the hemolytic-uremic syndrome in pediatric patients, 1997-2000, in Germany and Austria: a prospective study. *J. Infect. Dis.*, 186, 493-500.
- Glantz, M. H. (2001). *Currents of change : Impacts of El Niño and La Niña on climate and society* (2nd ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Griffin, P. M., and Tauxe, R. V. (1991). The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157: H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiologic Reviews*, 13, 60-98.
- Griffiths, S., Melville, K., Cook, M., and Vincent, S. (2001). Profiling of bacterial species associated with haddock larviculture by PCR amplification of 16S rDNA and denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Aquatic Animal Health*, 13, 355-363.
- Hays, G. C., Richardson, A. J., and Robinson, C. (2005). Climate change and marine plankton. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(6), 337-344.
- Heidary, M., Momta, H., and Madani, M. (2014). Characterization of diarrheagenic antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from pediatric patients in Tehran, Iran. *Iran Red Crescent Med J.*, 16(4), e12329.
- Intergovernmental Panel on Climate Change. (2007). Summary for policymakers. In: S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, M. Tignor and H. L. Miller (Eds.), *Climate change 2007: the physical science basis* (pp. 1-18). Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press.
- Jelacic, J. K., Damrow, T., Chen, G. S., Jelacic, S., Bielaszewska, M., Ciol, M., Carvalho, H. M., Melton-Celsa, A. R., O'Brien, A. D., and Tarr, P. I. (2003). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in montana: bacterial genotypes and clinical profiles. *J. Infect. Dis.*, 188, 719-729.
- Karmali, M. A. (1992). The associated of VT and the classification hemolytic-uremic syndrome. In: B. S. Kaplan, R. S. Trompeter, and J. L. Moake, (Eds.). (pp.199-212). *Hemolytic Uremic Syndrome and Thrombocytopenic Purpura*.
- Karvonen, A., Rintamaki, P., Jokela, J., and Valtonen E. T. (2010). Increasing water temperature and disease risks in aquatic systems: Climate change increases

- the risk of some, but not all, diseases. *International Journal for Parasitology*, 40(13), 1483-1488.
- Khasnis, A. A., and Nettleman, M. D. (2005). Global warming and infectious disease. *Archives of Medical Research*, 36, 689-696.
- Kovats, R. S., Edwards, S. J., Hajat, S., Armstrong, B. G., Ebi, K. L., and Menne, B. (2004). The effect of temperature on food poisoning: a time-series analysis of salmonellosis in ten European countries. *Epidemiol. Infect.*, 132, 443-453.
- Kurane, I. (2010). The effect of global warming on infectious. *Public Health and Research Perspectives*, 1(1), 4-9.
- Laver, J. (1998). *Prediction and monitoring products of the Climate Prediction Center (CPC)*. In Proceeding in workshop on seasonal climate prediction, Singapore, Feb. 9-10, 1998) NCEP. NOAA.
- Levine, M. M. (1987). *Escherichia coli* that cause diarrhea enterotoxigenic enteropathogenic enteroinvasive enterohemorrhagic and enteroadherent. *J. Infect. Dis.*, 155, 377-389.
- Lipp, E. K., Huq, A., and Colwell, R. R. (2002). Effects of global climate on infectious disease: The cholera model. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(4), 757-770.
- Lourenco, N. G. G. S., Takahshi, C. K., Lopes, T. F., and Lopes, C. A. M. (2007). Environmental parameters and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae isolated from estuarine waters of São Vicente, São Paulo state, Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 13, 472-478.
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B. and Carmeli, Y. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.*, 18, 268-281.
- Markus T., Annett M., and Lothar B. (2012). A rapid procedure for the detection and isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serogroup O26, O103, O111, O118, O121, O145 and O157 strains and the aggregative EHEC O104:H4 strain from ready-to-eat vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 152, 19-30.
- Martinez-Urtaza, J., Bowers, J. C., Trinanés, J., and DePaola, A. (2010). Climate anomalies and the increasing risk of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* illnesses. *Food Research International*, 43, 1780-1790.
- McLaughlin, J. C., DePaola, A., Bopp, C. A., Martinek, K. A., Napolilli, N. P., Allison, C. G., Murray, S. L., Thompson, E. C., Bird, M. M., and Middaugh, J. P. (2005).

- Outbreak of *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis associated with Alaskan oysters. *New England Journal of Medicine*, 353, 1463–1470.
- McMichael, A. J., and Woodruff, R. E. (2008). Climate change and infectious diseases. *The Social Ecology of Infectious Diseases*, 378-407.
- McMichael, A. J., Woodruff, R. E., and Hales, S. (2006). Climate change and human health: present and future risks. *The Lancet*, 367(9513), 859-869.
- Melissa, O. (2004). Transfer of Antibiotic resistant Genes between *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurum*. *Cantaurus*, 12, 13-14.
- Mendelsohn, J., and Dawson, T. (2008). Climate and cholera in KwaZulu-Natal, South Africa: The role of environmental factors and implications for epidemic preparedness. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 211, 156–162.
- Miraglia, M., Marvin, H. J. P., Kleter, G. A., Battilani, P., Brera, C., Coni, E., Cubadda, F., Croci, L. De Santis, B., Dekkers, S., Filippi, L., Hutjes, R. W. A., Noordam, M. Y., Pisante, M., Piva, G., Prandini, A., Toti, L., van den Born, G. J., and Vespermann, A. (2009). Climate change and food safety: An emerging issue with special focus on Europe. *Food and Chemical Toxicology*, 47(5), 1009-1021.
- Monirul Qader Mirza, M. (2002). Global warming and changes in the probability of occurrence of floods in Bangladesh and implications. *Global Environmental Change*, 12(2), 127-138.
- Motes, M. L., DePaola, A., Cook, D. W., Veazey, J. E., Hunsucker, J. C., Garthright, W. E., Blodgett, R. J., and Chirtel, S. J. (1998). Influence of water temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* in Northern Gulf and Atlantic Coast oysters (*Crassostrea virginica*). *Applied and Environmental Microbiology*, 64(4), 1459-1465.
- Munn, C. B. (2004). *Marine Microbiology*. London: BIOS Scientific Publishers.
- Office of Environmental Policy and Planning. (1997). *Final report of the project titled the carrying capacity of the development of natural resources and environments in selected areas (Petcha Buri, Chum Porn, and Chonburi)*. Ministry of Science, Technology and Environment, Thailand.
- Office of Environmental Policy and Planning. (2000). *Thailand's Initial National Communication under the United Nations Framework Convention on Climate Change*. Ministry of Science, Technology and Environment. Bangkok, Thailand. p. 100.
- Paciorek, J. (2002). Virulence properties of *Escherichia coli* faecal strains isolated in Poland from healthy children and strains belonging to serogroups O18, O26,

- O44, O86, O126 and O127 isolated from children with diarrhoea. *J. Med. Microbiol.*, 51, 548–556.
- Pai, C. H., Ahmed, N., Lior, H., Johnson, W.M., Sims, H. V., and Woods, D. E. (1988). Epidemiology of sporadic diarrhea due to VT-producing *Escherichia coli*: a two-years prospective study. *The Journal of Infectious Disease*, 157, 1054-1057.
- Patra, A. K., Acharya, B. C., and Mohapatra, A. (2009). Occurance and distribution of bacterial indicator and pathogens in coastal waters of Orissa. *Indian Journal of Marine Science*, 38(4), 474-480.
- Paz, S., Bisharat, N., Paz, E., Kidar, O., and Cohen, D. (2007). Climate change and the emergence of *Vibrio vulnificus* disease in Israel. *Environmental Research*, 103(3), 390-396.
- Riley, L. W. (1987). The epidemiologic, clinical, and microbiologic features of hemorrhagic colitis. *Annual Review of Microbiology*, 41. 383-407.
- Rose, J. B., Epstein, P. R., Lipp, E. K., Sherman, B. H., Bernard, S. M., and Patz, J. A. (2001). Climate variability and change in the United States: Potential impacts on water- and foodborne diseases caused by microbiologic agents. *Environmental Health Perspectives*, 109(2), 211-220.
- Sabarinath, A., Tiwari, K. P., Deallie, C., Belot, G., Vanpee, G., Matthew, V., Sharma, R. and Hariharan, H. (2011). Antimicrobial resistance and phylogenetic groups of commensal *Escherichia coli* isolates from healthy pigs in Grenada. *Webmed Central (Research articles)*, WMC001942, 1-10.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: A laboratory manual*, 2nd edition. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sayah, R. S., Kaneene, J. B., Johnson, Y. and Miller, R. A. (2005). Patterns of antimicrobial resistance observed in *Escherichia coli* isolates obtained from domestic and wild-animal fecal samples, human septage, and surface water. *Appl Environ Microbiol.*, 71, 1394-1404.
- Schets, F. M. During, M., Italiaander, R., Heijnen, L. Rutjes, S. A., van der Zwaluw, W. K., and de Roda Husman, D.M. (2005). *Escherichia coli* O157:H7 in drinking water from private water supplies in the Netherlands. *Water Research*, 39, 4485–4493.
- Thongra-ar, W., Putchakarn, S., Musika, C., Poonpium, P., and Wongsudawan, W. (1995). *Impact of the Estern seaboard development programme on the water qoulity od marine recreation areas*. Research report. Institute of Marine Science, Burapha University.

- Tirado, M. C., Clarke, R., Jaykus, L. A., McQuatters-Gollop, A., and Frank, J. M. (2010). Climate change and food safety: A review. *Food Research International*, 43, 1745–1765.
- Tozzi, A. E., Caprioli, A., Minelli, F., Gianviti, A., DePetris, L., Edefonti, A., Montini, G., Ferretti, A., DePalo, T., Gaido, M., Rizzoni, G., and the Hemolytic Uremic Syndrome Study Group. (2003). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections associated with hemolytic uremic syndrome Italy. *Emerg. Infect. Dis.*, 9, 106–108.
- Vaz, T. M., Irino, K., Kato, M. A., Dias, A. M., Gomes, T. A., Medeiros, M. I., Rocha, M. M., and Guth, B. E. (2004). Virulence properties and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Sao Paulo Brazil from 1976 through 1999. *J. Clin. Microbiol.*, 42, 903–905.
- Vuthiphandchai, V., Thongra-ar, W., Rungsupa, S., Makkongpai, P., Musika, C., Sriwilat, P., Juntaropakorn, M., Intarachart, A., Narksuwan, P., Rattana, S., Wisuttiphaet, M., and Nimrat, S. (2004). *Chonburi Initial Risk Assessment. GEF/UNDP/IMO Regional Programme on Building Partnerships in Environmental Management for the Seas of East Asia (PEMSEA) and the Chonburi Integrated Coastal Management National Demonstration Site, Chonburi, Thailand*, 101 pp.
- Winokur, P. L., Vonstein, D. L., Hoffman, L. J., Uhlenhopp, E. K., and Doern, G. V. (2001). Evidence for transfer of CMY-2 AmpC -lactamase plasmids between *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and humans. *Antimicrob Agents Chemother*, 45, 2716–2722.
- Wittman, R. J., and Flick, G. J. (1995). Microbial contamination of shellfish: prevalence, risk to human health, and control strategies. *Annual Review of Public Health*, 16, 123-140.