



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

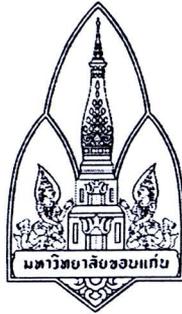
การศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมต่อการคงอยู่ของเชื้อ

Burkholderia pseudomallei

**Study on the relationships of environmental factors and the persistence of *Burkholderia*
*pseudomallei***

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิสิษฐ์ เจริญสุดใจ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์
และรศ.ดร.รศนา วงศ์รัตนชีวิน
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมต่อการคงอยู่ของเชื้อ

Burkholderia pseudomallei

**Study on the relationships of environmental factors and the persistence of *Burkholderia*
*pseudomallei***

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิสิษฐ์ เจริญสุขใจ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์

และรศ.ดร.รศนา วงศ์รัตนชีวิน

ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552



คำนำ

โรคเมลิออยโดซิสเป็นโรคติดเชื้อชนิดหนึ่ง เกิดจากเชื้อแบคทีเรียชื่อ *Burholderia pseudomallei* ผู้ป่วยมีอัตราการเสียชีวิตสูงถึงร้อยละ 40 อุบัติการณ์ของโรคพบสูงสุดในประเทศไทยและพบได้มากในภาคอีสาน โดยเฉพาะจังหวัดขอนแก่น และอุบลราชธานี จนจังหวัดขอนแก่นได้ชื่อว่าเป็นเมืองหลวงของโรคนี้ การที่เชื้อโรคที่ก่อให้เกิดโรคนี้อาศัยอยู่ประจำอยู่ที่จังหวัดนี้ น่าเชื่อได้ว่าเกี่ยวข้องกับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมซึ่งอาจเป็นปัจจัยทางกายภาพหรือชีวภาพ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจทำการศึกษาโดยตั้งความหวังว่าหากเข้าใจปัจจัยที่บ่งบอกถึงการคงอยู่ของเชื้อจะทำให้สามารถควบคุมโรคนี้โดยควบคุมที่ตัวเชื้อโดยตรง อันจะเป็นผลดีต่อเกษตรกรซึ่งจำเป็นต้องสัมผัสกับเชื้อโรคดังกล่าว

คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าข้อมูลและข้อเสนอแนะจากการวิจัยจะได้นำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ควบคุมเชื้อโรค โดยการปรับเปลี่ยนปัจจัยต่างๆ ให้เป็นผลลบต่อจุลินทรีย์ และหวังว่าเมื่อปรับสภาพแวดล้อมแล้วจะทำให้อุบัติการณ์ของโรค และจำนวนผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากโรคนี้นลดลง

คณะผู้วิจัย
สิงหาคม 2553

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความเอื้อเฟื้อเครื่องมือวิจัย และสถานที่ในการทำการวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการวิจัย และศูนย์วิจัยโรคเมลิออยโดสิสที่เอื้ออำนวยข้อมูล และช่วยให้ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณนางสาวสุพรรณิกา หวังงาม นักศึกษาระดับมหาบัณฑิตสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ที่อนุเคราะห์เก็บข้อมูลเชิงปริมาณ เชิงคุณภาพ และนายธนภัทรสีบราสี ซึ่งช่วยเก็บตัวอย่างดิน และทำการวิเคราะห์ข้อมูลจำนวนเชื้อจุลินทรีย์

และสุดท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552 ทำให้สามารถดำเนินการวิจัยจนสำเร็จลุล่วง

เพื่อสำรวจและหาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมในดินที่มีผลต่อการคงอยู่ของเชื้อ *B. pseudomallei* ซึ่งเป็นต้นเหตุของโรคmelioidosis ได้ทำการศึกษาปัจจัยทางกายภาพและเคมีของดินในบริเวณน้ำพองจำนวน 50 ตัวอย่าง โดยแบ่งออกเป็นดินที่คาดว่าจะมีการพบเชื้อ 40 ตัวอย่าง และบริเวณที่คาดว่าจะไม่พบเชื้อ 10 ตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นชุดควบคุมทำการกำหนดจุดพิกัดโดยใช้เครื่องกำหนดตำแหน่งด้วยสัญญาณดาวเทียม ทำการศึกษาสองฤดูกาลคือ ช่วงฝนแรกของฤดูฝนในช่วงเดือนพฤษภาคมที่มีรายงานการพบอุบัติการณ์ของโรคสูงสุด และฤดูแล้งในช่วงเดือนธันวาคม ผลการศึกษาพบว่า ดินส่วนใหญ่ที่ศึกษาเป็นดินทุ่งนาในฤดูฝนดินบริเวณอำเภอน้ำพองมีความหลากหลายของปัจจัยต่างๆ สูงมาก ดินเป็นกรดอ่อนมาก เฉลี่ยที่ 6.11 ความชื้นของดินพบระหว่างสูงถึงสูงมาก มีค่าเฉลี่ย 18.75% ความเค็มดินต่ำมาก (ค่าการนำไฟฟ้า) ที่เฉลี่ย 0.14 dS/m ความสามารถในการอุ้มน้ำของดินค่อนข้างดี มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 32.76% ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินต่ำ มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1.56% ปริมาณของคาร์บอนปานกลาง มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.89% ปริมาณไนโตรเจนปานกลาง มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.14% ปริมาณฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ประโยชน์ มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 25.64 mg/kg ปริมาณแมงกานีส มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 41.89 mg/kg ความเข้มข้นของเหล็กมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 53.49 mg/kg ปริมาณอะลูมิเนียม มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 5.90 g/kg ปริมาณชีวมวลของจุลินทรีย์ในดิน มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 194.28 $\mu\text{g g}^{-1}$ soil ในฤดูแล้งในภาพรวมปัจจัยทางกายภาพและเคมีส่วนใหญ่มีค่าเพิ่มขึ้น เช่น ปริมาณฟอสฟอรัส เหล็ก อะลูมิเนียม แมงกานีส และปริมาณชีวมวลของจุลินทรีย์ในดินมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้น แต่ปัจจัยที่มีค่าลดลงได้แก่ความเป็นกรด-ด่าง ความเค็มดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินและปริมาณของคาร์บอน ปริมาณไนโตรเจน ในขณะที่ความชื้นและความจุน้ำในดินยังไม่เปลี่ยนแปลงมาก และพบว่าการคงอยู่ของจุลินทรีย์ในสนามถูกควบคุมโดยปัจจัยทางกายภาพและเคมีจำนวน 5 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณความจุน้ำของดิน คุณภาพของอินทรีย์วัตถุในดิน (สัดส่วนของปริมาณคาร์บอน และปริมาณไนโตรเจน) ความเข้มข้นของเหล็กและอะลูมิเนียม และอาจมีความสัมพันธ์กับปัจจัยทางชีวภาพอื่นคือ มวลชีวภาพของจุลินทรีย์รวมในดิน

คำสำคัญ: *Burholderia pseudomallei*, อำเภอน้ำพอง จ.ขอนแก่น, ปัจจัยทางกายภาพและเคมี, การคงอยู่ของจุลินทรีย์

Abstract

248919

In order to survey and study the relationships between environmental factors and the persistence of *Burholderia pseudomallei*, the causing agent of melioidosis, fifty samples (forty expected positives and ten controls) from Nampong district, Khon kaen Province were collected, positioned using GPS and analysed. The study was carried out in two seasons – early rainy season (May 2009) and dry season (Dec 2009). The results showed that most of the landuses in this area were rice paddy fields. In rainy season the soils were slightly acidic, high moisture and water holding capacity (WHC), low salinity and medium organic matter (C and N). The concentrations of Fe, Al and Mn were 53.49, 5.90 and 41.89 mg/kg respectively. The average soil microbial biomass was $194.28 \pm 28 \mu\text{g g}^{-1}$. In dry season, the values of most parameters were slightly higher although the acidity, salinity and organic matters were lower than in rainy season. The moisture and WHC values remained unchanged. The study between environmental factors and the persistence of *B. pseudomallei* revealed that it was controlled by five physico-chemical parameters including WHC, Carbon, Nitrogen, Fe and Al, and microbial; biomass as the biological parameter

Keywords: *Burholderia pseudomallei*, Nampong district, Khon Kaen province, environmental factors, persistence

สารบัญ

คำนำ	2
กิตติกรรมประกาศ.....	3
บทคัดย่อ.....	4
Abstract	5
สารบัญ	6
สารบัญตาราง	8
สารบัญภาพ.....	9
บทที่ 1 บทนำ.....	11
1.1 หลักการและเหตุผล.....	11
1.2 วัตถุประสงค์	13
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	14
2.1 อาการของโรคเมลิออยโดสิส	14
2.2 การติดต่อของโรคเมลิออยโดสิส.....	15
2.2.1 การติดต่อผ่านทางผิวหนัง (skin inoculation).....	15
2.2.2 การติดต่อผ่านทางลมหายใจ (inhalation).....	15
2.2.3 การติดต่อผ่านทางกรกิน (ingestion).....	15
2.2.4 การติดต่อระหว่างคนสู่คน (man to man transmission).....	15
2.2.5 การติดเชื้อจากห้องปฏิบัติการ (laboratory acquired infection).....	15
2.2.6 การติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infection).....	16
2.3 ระบาดวิทยาของโรคเมลิออยโดสิส.....	16
2.3.1 การระบาดของโรคในออสเตรเลีย.....	17
2.3.2 การระบาดของโรคในประเทศไทย	17
2.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการแพร่กระจายของเชื้อ <i>B. pseudomallei</i>	18
2.4.1 ปัจจัยทางกายภาพ (Physical Factors).....	18
2.4.2 ปัจจัยทางเคมี (Chemical Factors)	18
2.4.2 ปัจจัยทางชีวภาพ (Biological Factors).....	19
2.4.3 ปัจจัยอื่นๆ.....	19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	28

4.1 การระบุตำแหน่งโดยใช้เครื่องระบุพิกัดตำแหน่งจากดาวเทียม	28
4.2 ปัจจัยทางกายภาพ.....	30
4.2.1 ความเป็นกรด-ด่างของดิน	30
4.2.2 ความชื้นและความสามารถอุ้มน้ำของดิน	31
4.2.3 ความเค็มของดิน	33
4.3 ปัจจัยทางเคมีของดิน	34
4.3.1 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ และปริมาณคาร์บอนในดิน	34
4.3.2 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน.....	36
4.3.2 สัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนในดิน	37
4.3.4 ปริมาณฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในดิน.....	38
4.3.5 ปริมาณโลหะในดิน	39
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย.....	42
5.1 เปรียบเทียบปัจจัยทางกายภาพระหว่างฤดูกาล	42
5.2 เปรียบเทียบปัจจัยทางเคมีระหว่างฤดูกาล.....	44
5.3 การศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางกายภาพและเคมีที่มีผลต่อการคงอยู่ของเชื้อ	48
บทที่ 6 เอกสารอ้างอิง.....	50

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 อัตราการพบเชื้อ <i>B. pseudomallei</i> จากดินในภาคต่างๆ ของประเทศไทย (Vuddhakul et al., 1999)	17
ตารางที่ 2 สถานที่ที่เก็บตัวอย่างดิน อำเภอป่าพอง จังหวัดขอนแก่น ระบุพิกัดที่ถูกต้องด้วย GPS	28
ตารางที่ 3 ตารางสถิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพต่อการคงอยู่ของเชื้อ <i>B. pseudomallei</i> ในช่วงหน้าฝน (พฤษภาคม)	49
ตารางที่ 4 ตารางสถิติแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพต่อการคงอยู่ของเชื้อ <i>B. pseudomallei</i> ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม)	49

สารบัญญภาพ

รูปที่ 1 แผนที่โลกแสดงระดับความรุนแรงของการแพร่กระจายของเชื้อ <i>B. pseudomallei</i>	16
รูปที่ 2 แผนผังแสดงขั้นตอนในการศึกษา	20
รูปที่ 4 การขุดดินและการเลือกเก็บตัวอย่างดินจากสถานที่ที่เก็บตัวอย่าง.....	22
รูปที่ 5 การผสมตัวอย่างดินและการแบ่งส่วนเพื่อเก็บตัวอย่างดิน.....	22
รูปที่ 6 ความเป็นกรด-เบส ของดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552).....	30
รูปที่ 7 ความชื้นของดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552).....	31
รูปที่ 8 ความจุในการอุ้มน้ำของดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552).....	32
รูปที่ 9 ค่าการนำไฟฟ้าของดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552).....	33
รูปที่ 10 ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552).....	34
รูปที่ 11 ร้อยละของคาร์บอนในดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552).....	35
รูปที่ 12 ร้อยละของไนโตรเจนทั้งหมดของดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552)	36
รูปที่ 13 สัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนของดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552)	37
รูปที่ 14 ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ประโยชน์ของดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552)	38
รูปที่ 15 ความเข้มข้นของเหล็กในดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552).....	39
รูปที่ 16 ความเข้มข้นของอลูมิเนียมในดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552).....	40
รูปที่ 17 ความเข้มข้นของแมงกานีสในดินบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง อำเภอ น้ำพอง จ.ขอนแก่น ก) ในช่วงหน้าฝนแรก (พฤษภาคม 2552) และ ข) ในช่วงหน้าแล้ง (ธันวาคม 2552).....	41
รูปที่ 18 เปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่างของดินทั้งสองฤดู.....	42

รูปที่ 19 เปรียบเทียบความชื้นของดินทั้งสองฤดู.....	43
รูปที่ 20 เปรียบเทียบความสามารถอุ้มน้ำของดินทั้งสองฤดู	43
รูปที่ 21 เปรียบเทียบความเค็มของดินทั้งสองฤดู.....	44
รูปที่ 22 เปรียบเทียบปริมาณคาร์บอนของดินทั้งสองฤดู	45
รูปที่ 23 เปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนของดินทั้งสองฤดู.....	45
รูปที่ 24 เปรียบเทียบความเข้มข้นของฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินทั้งสองฤดู.....	46
รูปที่ 25 เปรียบเทียบมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ของดินทั้งสองฤดู.....	46
รูปที่ 26 เปรียบเทียบความเข้มข้นของเหล็กในดินทั้งสองฤดู	47
รูปที่ 27 เปรียบเทียบความเข้มข้นของอลูมิเนียมในดินทั้งสองฤดู.....	47
รูปที่ 28 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแมงกานีสของดินทั้งสองฤดู.....	48