บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เชื้อ *V. cholerae* เป็นเชื้อก่อโรคที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำและเป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดอหิวาตกโรคในประเทศกำลังพัฒนาหลายประเทศรวมถึงประเทศไทย (54) โดยเชื้อดังกล่าวสามารถแพร่กระจายได้ดีในแหล่งน้ำและเข้าสู่ร่างกายผ่านทางการรับประทานอาหารและน้ำดื่มที่มีการปนเปื้อนของเชื้อหรือการสัมผัสกับผู้ป่วย (49) เชื้อกลุ่ม *V. cholerae* serogroup O1 และ O139 เป็นกลุ่มเชื้อที่มีความเกี่ยวข้องและพบได้บ่อยที่สุดเมื่อมีการระบาดของโรค ในขณะที่เชื้อในกลุ่มที่เป็น non-O1/non-0139 ซึ่งปกติมักตรวจไม่พบการสร้าง (CT) และ (TCP) แต่มีการศึกษาพบว่าสามารถก่อโรคในคนได้โดยการทำให้เกิดการอักเสบของเซลล์ในบริเวณลำไส้ใหญ่ เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด รวมทั้งก่อให้เกิดอาการของโรคคล้ายกับอหิวาตกโรค (cholera-like syndrome) และมีการระบาดได้ในบางช่วง (6, 18, 40) แสดงว่าเชื้อมีปัจจัยอื่นที่ช่วยในการก่อโรค โดยปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องได้แก่ ยีน *hly A* ที่สามารถตรวจพบได้ในเชื้อ *V.cholerae* กลุ่ม O1 ไบโอไทป์ El Tor และกลุ่ม non-O1/non-O139 ยีนนี้ทำหน้าที่สร้างเอกโซท็อกซินที่เรียกว่า "El Tor Haemolysin " หรือ *V. cholerae* cytolysin (VCC) (27, 60) ทำให้เกิดความเป็นพิษและเกิดการตายของเซลล์ในร่างกาย อีกทั้งเชื้อยังมีการสร้างเอนไซม์อื่น ได้แก่ soluble hemagglutinin/protease (HA/ Protease) มีส่วนในการทำให้ occludin ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญของ tight junction เสื่อมลง (59) รวมถึงความสามารถในการทนทานต่อสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่ากลุ่ม O1 อย่างไรก็ตามกลไกในการก่อโรคของเชื้อในกลุ่ม non-O1/non-0139 ยังไม่ทราบแน่ชัด (18, 40) ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงศึกษาถึงความสามารถของเชื้อในการสร้างสารพิษหรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการก่อโรค รวมถึงความสามารถของเชื้อที่มี *hlyA*+ ในการเหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis ของเซลล์ โดยเปรียบเทียบระหว่างเชื้อกลุ่ม non-O1 ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมและผู้ป่วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาความสามารถในการสร้างสารพิษหรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรคของเชื้อกลุ่ม non-O1 ที่แยกได้จากผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อม

2. เปรียบเทียบคุณสมบัติในด้าน cytotoxic ต่อเซลล์ และความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis ของเชื้อ *V. cholerae* กลุ่ม non - O1 ที่มี *hlyA*(+) ที่แยกได้จากผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อม

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1. ตัวอย่างที่นำมาศึกษาได้จาก

เชื้อ *V. cholerae* กลุ่ม non - O1 ที่แยกได้ ตั้งแต่ปี 2546-2549

1.3.2. ศึกษาความสามารถในการสร้างสารพิษหรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรคของเชื้อกลุ่ม non-O1 โดย

- การตรวจหายีน *rtxA* และ *rtxC* โดยวิธี PCR ในเชื้อ *V.cholerae* non-O1 ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมและผู้ป่วยอย่างละ30 สายพันธุ์
- ตรวจ cytotoxicity โดยใช้ Chinease Hamster Ovary (CHO) cells ในเชื้อ *V.cholerae* non-O1 ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมและผู้ป่วยอย่างละ 2 สายพันธุ์
- ตรวจการสร้าง Hemolysin ด้วยวิธี Hemolysin assay ในเชื้อ *V.cholerae* non-O1 ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมและผู้ป่วยอย่างละ30 สายพันธุ์
- ตรวจการสร้าง Haemagglutinin/ Protease ด้วยวิธี Haemagglutinin / Protease (HA/P) assay ในเชื้อ *V.cholerae* non-O1ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมและผู้ป่วยอย่างละ30 สายพันธุ์

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน หรือกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

1.4.1 เชื้อกลุ่ม *V .cholerae* non-O1 ที่แยกได้จากผู้ป่วยจะมีความสามารถสร้างสารพิษหรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรคในเปอร์เซ็นต์ที่มากกว่าเชื้อกลุ่ม non-O1 ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม

1.4.2 เชื้อกลุ่ม *V.cholerae* non-O1 ที่มี *hlyA*+ ทั้งที่แยกได้จากผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อม มีคุณสมบัติด้าน cytotoxic ต่อเซลล์และเหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis ได้เหมือนกัน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับความสามารถในการสร้างเอนไซม์หรือสารพิษของเชื้อกลุ่ม non-O1 ที่แยกได้จากผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อม ส่งผลให้เกิดประโยชน์ในด้านการทำนายความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อกลุ่ม non-O1
2. เกิดประโยชน์ในการเฝ้าระวังและป้องกันโรคอุบัติใหม่ (re-emerging disease)
3. พัฒนาการเรียนการสอนบัณฑิตศึกษา ในระดับปริญญาเอก
4. ชื่อวารสารที่คาดว่าจะเสนอตีพิมพ์ : วารสารนานาชาติ เช่น Microbial Pathogenesis
5. **หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์**
   - กองควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
   - กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

- สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 6 จังหวัดขอนแก่น (สคร.6 ขอนแก่น)
- ห้องปฏิบัติการของหน่วยงานกระทรวงสาธารณสุข
- นักวิจัยที่ศึกษากลไกการก่อโรคของเชื้อ *V.cholerae*

1.6 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

1. คาดว่าจะนำผลการวิจัยที่ได้ลงตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ
2. นำเสนอในสัมมนาทางวิชาการระดับชาติและนานาชาติ

1.7 สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล

สถานที่ทำการวิจัย : ห้องปฏิบัติการวิจัยจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น