บทที่ 4

วิจารณ์

4.1 การแยกเชื้อ *V. cholerae* จากสิ่งแวดล้อม

การศึกษาแยกเชื้อ *V. cholerae* จากแพลงก์ตอนในแหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย รวมทั้งตัวอย่างน้ำ พบว่าทุกพื้นที่มีโอกาสพบ *V. cholerae* non-O1/non-O139 เช่นเดียวกับที่แยกได้จากอาหารทะเลได้แก่ หอย กุ้ง ปู และปลา แต่การศึกษาครั้งนี้ตรวจไม่พบ *V. cholerae* O1 และ O139 ที่เป็นสาเหตุของอหิวาตกโรค ซึ่งการตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าว ทั้งในสิ่งแวดล้อมและในอาหารทะเล เป็นข้อบ่งบอกได้ระดับหนึ่งว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจากอุจจาระผู้ป่วยลงสู่แหล่งน้ำ การตรวจพบ *V. cholerae* non-O1/non-O139 ในแหล่งน้ำถือเป็นเรื่องปกติ เพราะโดยธรรมชาติสามารถพบเชื้อนี้แพร่กระจายได้ทั่วไป ซึ่งนอกจากเชื้อจะดำรงชีวิตเป็นอิสระแล้ว ยังพบว่าเชื้อสามารถอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นในแหล่งน้ำได้ด้วย โดยเฉพาะแพลงก์ตอนสัตว์ ในกลุ่ม copepod ที่มีส่วนประกอบของโครงสร้างเป็นสารประเภทไคตินเป็นส่วนใหญ่ และ *V. cholerae* สามารถสร้าง chitinase เพื่อย่อยสลายไคตินได้สารอาหารสำหรับนำมาใช้ในการดำรงชีวิต (Nalin *et al.*, 1979) นอกจากนี้พบว่าการดื่มน้ำที่มี copepod ปะปนกับเชื้อ copepod จะช่วยป้องกันเชื้อไม่ให้ถูกทำลายด้วยกรดในกระเพาะอาหารได้อีกด้วย สำหรับการแยกเชื้อจากอาหารทะเล พบว่าในปูมีโอกาสตรวจพบ *V. cholerae* non-O1/non-O139 สูงที่สุด ถึงแม้จำนวนปูที่นำมาศึกษาจะมีปริมาณน้อย จากผลการแยกเชื้อในปู มีโอกาสพบ *V. cholerae* ได้สูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ หอย กุ้งและปลา พบได้ 75 66.7 และ 44.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในอดีตเคยมีรายงานการระบาดของ *V. cholerae* เนื่องจากอาหารทะเลเป็นจำนวนมาก เช่นในปี ค.ศ. 1969 มาเลเซียได้รายงานการติดเชื้อ *V. cholerae* O1ในผู้ป่วย 135 ราย (Dutt *et al.*, 1971) ปี ค.ศ. 1973 พบผู้ติดเชื้อเนื่องจากการรับประทานหอยแมลงภู่ ในประเทศอิตาลี 278 ราย (Baine *et al.*, 1973) จากการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อในกลุ่ม *Vibrio* ในหอยนางรมแถบพื้นที่เขตร้อน ประเทศบราซิล มีโอกาสพบ *V. cholerae* non-O1/non-O139 ได้ถึง 31 เปอร์เซ็นต์ (Matte *et al.*, 1994) และพบผู้ป่วยติดเชื้อ *V. cholerae* หลังจากรับ

ประทานอาหารทะเลที่จับได้จากอ่าวของประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งจากผลการสำรวจอาหารทะเล ในปี ค.ศ. 1991 พบว่าสามารถแยกเชื้อ *V. cholerae* O1 El Tor Inaba ได้จากหอยนางรมและปลา (DePaola *et al.*, 1992; Centers for Disease Control, 1993) และจากการประเมินความเสี่ยงผู้ป่วยติดเชื้ออหิวาตกโรคในสหรัฐอเมริการะหว่างปี ค.ศ. 1965-1991 พบว่าสาเหตุส่วนใหญ่เนื่องมาจากการรับประทานอาหารทะเล โดยเฉพาะปู ที่จับได้ในอ่าวเม็กซิโก (Weber *et al.*, 1994) มีรายงานการศึกษาระยะเวลาการอยู่รอดของ *V. cholerae* ในเนื้อปู หอย กุ้ง พบว่าที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถมีชีวิตรอดได้นานถึง 21 วัน ส่วนในปลาดิบ ที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส อยู่ได้นาน 7-14 วัน ปลาที่ปรุงสุกแล้ว 14-25 วัน หรือแม้แต่ในสภาวะแช่แข็ง พบว่ามีชีวิตรอดได้มากกว่า 180 วัน (Roberts *et al.*, 1996) นอกจากอาหารทะเลจะเป็นแหล่งสะสมเชื้อสำคัญของ *V. cholerae* แล้ว ยังมีรายงานการตรวจพบเชื้อในอาหารอื่นๆ เนื่องจากมีการปนเปื้อนเชื้อ เช่น การตรวจพบ *V. cholerae* ในเนื้อหมูแบบสุกๆ ดิบๆ ในงานศพแถบจังหวัดเชียงใหม่ (Swaddiwudhipong *et al.*, 1990) และ การตรวจพบ *V. cholerae* ในน้ำกะทิที่นำเข้าจากประเทศไทย (Center for Disease Control, 1991; Taylor *et al.*, 1993)

4.2 การแยกเชื้อ *V. cholerae* จากผู้ป่วย

ได้ทำการศึกษาเชื้อ *V. cholerae* ที่แยกได้จากผู้ป่วยอหิวาตกโรค ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลต่างๆ ทางภาคกลาง ภาคใต้ ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ระหว่าง เมษายน 2544 – มีนาคม 2545 จำนวน 92 isolates พบว่าทั้งหมดเป็น *V. cholerae* O1, biotype El Tor, serotype Inaba ซึ่งต่างจากเชื้อซึ่งแยกจากพื้นที่ทางภาคใต้ในปี พ.ศ. 2540–2541 ที่พบ *V. cholerae* O1, biotype El Tor, serotype Ogawa ทั้งหมด (Kondo *et al.*, 2001) และเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อที่แยกจากผู้ป่วยในทั่วทุกภาคของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2533-2539 พบซีโรทัยป์ Ogawa และ Inaba ในสัดส่วนร้อยละ 94 และ 6 ตามลำดับ (กรองแก้ว ศุภวัฒน์ และศรีวรรณา หัทยานานนท์, 2540) จะเห็นได้ว่าในแต่ละช่วงปีมีการปรากฏตัวของ *V. cholerae* O1 El Tor ใน serotype ที่แตกต่างกัน แสดงว่าเชื้อดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลง serotype มีรายงานพบว่าความถี่ของ Ogawa เปลี่ยนเป็น Inaba มีประมาณ 10^{-5} ข้อสันนิษฐานของการเปลี่ยนแปลง serotype อาจเกิดจากการ

คัดเลือกสายพันธุ์ เพื่อหลีกเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันของโฮสท์ (Manning *et al*., 1994) สำหรับ *V. cholerae* non-O1/non-O139 จำนวน 6 isolates แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลวชิระภูเก็ต ถึงแม้ว่าทั้ง 6 isolates นี้ให้ hemolysin บน Blood agar แต่จากการศึกษาครั้งนี้ ตรวจไม่พบจีน *ctx* หรือปัจจัยอื่นๆ ในการก่อโรค ที่เคยมีรายงานว่าเป็น virulence factor ของ *V. cholerae* non-O1/non-O139 เช่น *stn/sto* เป็นที่น่าสังเกตว่า ถึงแม้เชื้อทั้ง 6 isolates แยกจากผู้ป่วยในจังหวัดภูเก็ต แต่ผู้ป่วยทั้งหมดเป็นคนไทย ซึ่งน่าจะมีภูมิต้านทานสูงต่อเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นกลไกการก่อโรคของเชื้อ *V. cholerae* non-O1/non-O139 ทั้ง 6 isolates จึงน่าสนใจและทำการศึกษาต่อไปในอนาคต

4.3 การบ่งชี้ *V. cholerae*

เชื้อ *V. cholerae* ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ ทั้งแพลงก์ตอน น้ำ อาหารทะเลและผู้ป่วย โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อและทดสอบทางชีวเคมี ซึ่งการทดสอบทางชีวเคมีมีโอกาสให้ผลที่คลาดเคลื่อนได้บ้าง จึงนำเชื้อที่แยกได้มาตรวจยืนยันในระดับโมเลกุล เพื่อบ่งชี้ว่าเป็น *V. cholerae* ด้วยวิธี PCR โดยใช้จีน *ompW* เป็นจีนเป้าหมาย จะให้ผลผลิต PCR ขนาด 588 bp จีน *ompW* เป็นจีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนขนาด 22 kDa ซึ่งหน้าที่ๆ สำคัญของโปรตีนชนิดนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ทราบว่าเป็นส่วนหนึ่งของ outer membrane protein (Jalajakumari and Manning, 1990) การศึกษาครั้งนี้ใช้ primer ที่จำเพาะสำหรับจีน *ompW* เพราะจัดเป็นจีนอนุรักษ์ (conserve sequence) จีนหนึ่งของ *V. cholerae* ที่ให้ผลการทดสอบที่จำเพาะต่อ *V. cholerae* 100 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ก่อนหน้านี้มีหลายงานวิจัยได้ศึกษาโดยออกแบบ primer ที่จำเพาะต่อจีน *toxR* เป็นตัวบ่งชี้ แต่การศึกษาต่อมาพบว่าจะให้ผลจำเพาะเพียง 98 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น อีกทั้งเมื่อใช้วิธี DNA dot blot hybridization ยังสามารถเกิดปฏิกิริยาข้าม (cross reaction) กับเชื้อในสปีชีส์อื่นเช่นกัน ได้แก่ *V. mimicus* *V. alginolyticus* และ *V. vulnificus* เป็นต้น (Nandi *et al*., 2000) จากการทดสอบ *V. cholerae* ที่แยกได้จากแพลงก์ตอน อาหารทะเล น้ำ และผู้ป่วย จะให้ผลบวกต่อจีน *ompW* ทั้งหมดร้อยละ 95.8 98.5 100 และ 100 จากสายพันธุ์ทั้งหมดที่นำมาตรวจยืนยัน ทั้งนี้เพราะเชื้อที่แยกได้จากแหล่งธรรมชาติอาจมีปัจจัยบางอย่างส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงสาย

พันธุ์ ทำให้ผลการทดสอบทางชีวเคมีเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเล็กน้อย ทำให้อ่านผลผิดพลาดได้ ดังนั้นการตรวจยืนยัน โดยวิธี PCR จึงนับว่ามีประสิทธิภาพสูงกว่า

4.4 การตรวจหาจีนก่อโรคใน *V. cholerae*

การทดสอบหาจีนที่สำคัญในการก่อโรค ได้แก่ *ctxA* เป็นจีนส่วนหนึ่งที่ควบคุมการสร้าง cholera toxin *tcpA* ควบคุมการสร้าง toxin co-regulated pilus และยังสามารถแยกได้ว่าเป็น biotype El Tor (*tcpA-E*) หรือ Classical (*tcpA-C*) ส่วน *toxR* ควบคุมการสร้าง transmembrane DNA-binding protein รวมทั้งมีผลในการกระตุ้นการทำงานของจีนก่อโรคตัวอื่นๆ จีน *zot* ควบคุมการสร้างสารพิษที่มีผลกระทบต่อโครงสร้างของ intercellular tight junction หรือ zonula occludens จีน *ace* ควบคุมการสร้าง Accessory cholera enterotoxin ซึ่งจัดเป็นสารพิษชนิดที่สามของ *V. cholerae* O1 และ จีน *stn/sto* ควบคุมการสร้าง Heat stable enterotoxin จากการศึกษาเชื้อที่แยกได้ทั้งหมด ที่ผ่านการตรวจยืนยันโดยใช้จีน *ompW* แล้ว เมื่อนำมาทดสอบกับจีนต่างๆ ข้างต้น พบว่า *V. cholerae* O1 ทุก isolates ที่แยกได้จากผู้ป่วย ตรวจพบจีนดังกล่าวทั้งหมด ยกเว้น *stn/sto* ซึ่งเชื้อที่แยกได้เป็นเชื้อจากผู้ป่วยทั้งหมดดังนั้นการตรวจพบจีนก่อโรคจึงถือว่าปกติ ส่วน *V. cholerae* non-O1/non-O139 สามารถตรวจพบ *tcpA* biotype El Tor ใน เชื้อ 4 isolates ที่แยกจากตัวอย่างแพลงก์ตอน ซึ่งโดยปกติโอกาสการตรวจพบจีนก่อโรคใน *V. cholerae* non-O1/non-O139 เป็นไปได้ยาก โดยเฉพาะในพื้นที่ๆ ไม่ได้อยู่ในช่วงการระบาดของอหิวาตกโรค แต่ปัจจัยหนึ่งที่เชื่อได้ว่าอาจมีส่วนเกี่ยวข้องในการปรากฏจีนดังกล่าว นั้นคือการมีฟาจชนิด VPIϕ อยู่ในแหล่งน้ำ ซึ่ง VPIϕ จะมีจีนส่วนของ *tcpA* อยู่ในจีโนมด้วย และเมื่อ VPIϕ สามารถบุกรุกเข้าสู่เซลล์ของ *V. cholerae* แล้วจะสอดแทรก *tcpA* ซึ่งอยู่บนจีโนมของฟาจลงบนโครโมโซมของเชื้อ และเมื่อเชื้อมีส่วนของ *tcpA* ซึ่งนอกจากจะควบคุมการสร้าง toxin co-regulated pilus แล้วยังเป็นที่รับจำเพาะของ CTXϕ ซึ่ง CTXϕ มีจีนสร้าง cholera toxin ซึ่งดังนั้นจึงมีโอกาสสูงที่ทั้ง 4 isolates อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นสายพันธุ์ที่สร้างสร้างพิษได้และก่อโรคได้

4.5 การศึกษาความแตกต่างของ *V. cholerae* โดยวิธี AP-PCR

ในอดีตการศึกษาทางด้านระบาดวิทยาของ *V. cholerae* ค่อนข้างมีข้อจำกัด เนื่องจากขาดวิธีการที่เหมาะสม แต่ช่วงระยะเวลาหลายปีที่ผ่านมา ความรู้ทางด้านระดับโมเลกุลถูกพัฒนาเพิ่มมากขึ้น ทำให้เพิ่มศักยภาพในการจัดจำแนกสายพันธุ์ที่แยกในฤดูกาลการระบาดที่ต่างกันหรือในพื้นที่ๆต่างกัน เพื่อหาความสัมพันธ์ ความหลากหลาย รวมทั้งทราบถึงสาเหตุของการระบาด ปัจจุบันมีวิธีการศึกษารูปแบบดีเอนเอในระดับโมเลกุลหลายวิธี ได้แก่ ribotyping (RT) (Popovic *et al*., 1993), restriction fragment length polymorphism (RFLP) (Kaper *et al*., 1982) arbitrarily primed (AP-PCR) (Welsh and McClelland, 1990; William *et al*., 1990) pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) (Maslow *et al*., 1993) amplified fragment length polymorphism (AFLP) (Janssen *et al*., 1996) เป็นต้น แต่ละวิธีมีขั้นตอน ความยุ่งยาก รวมทั้งประสิทธิภาพในการจัดจำแนกที่แตกต่างกัน สำหรับการศึกษาครั้งนี้ได้นำวิธี arbitrarily primed มาศึกษาเชื้อ *V. cholerae* ทั้งที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม และจากผู้ป่วย วิธีนี้จะใช้ primer ที่ออกแบบมาแบบสุ่ม เพื่อจับกับสายดีเอนเอของเชื้อในตำแหน่งที่จำเพาะ และเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอนเอด้วยวิธี PCR ซึ่งพบว่ารูปแบบดีเอนเอของ *V. cholerae* non-O1/non-O139 ที่แยกจากสิ่งแวดล้อมโดยสุ่มเลือกบางสายพันธุ์มีความแตกต่างและหลากหลาย ยกเว้นเชื้อที่แยกได้จากแพลงก์ตอน 4 isolates (รูปที่ 3.4) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ตรวจพบจีน *tcpA* จะให้รูปแบบดีเอนเอที่เหมือนกันทั้งที่ทดสอบกับ primer 2 หรือ primer 4 ทั้ง 4 isolates โดยแยกจากตัวอย่างที่เก็บบริเวณวัดคูเต่า และตัวอย่างที่เก็บจากสะพานชุมชนบ้านคูเต่า ซึ่งเป็นบริเวณใกล้เคียงกัน ทำให้เชื้อดังกล่าวอาจมาจากต้นกำเนิด (clone) เดียวกัน สำหรับ *V. cholerae* non-O1/non-O139 ที่แยกได้จากผู้ป่วยทั้ง 6 isolates ให้รูปแบบดีเอนที่ต่างกัน (รูปที่ 3.4) และเมื่อเปรียบเทียบกับ *V. cholerae* ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม พบว่า *V. cholerae* non-O1/non-O139 ที่แยกได้ทั้งจากผู้ป่วย และสิ่งแวดล้อม ไม่มีความเกี่ยวเนื่องกัน อาจเป็นเพราะพื้นที่ของแหล่งที่พบเชื้อต่างกัน สำหรับ *V. cholerae* O1 ที่แยกจากผู้ป่วย ให้รูปแบบดีเอนเอ 2 แบบ นั้นคือ รูปแบบ A และรูปแบบ B โดยพบว่ารูปแบบ A พบได้ในทุกภาคของประเทศไทย แต่รูปแบบ B พบได้เฉพาะพื้นที่ในภาคใต้ ซึ่งการพบรูปแบบที่ต่างกันของเชื้อในพื้นที่ภาคใต้ อาจเป็นเพราะเชื้อมีการปรับตัว หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสบนโครโมโซมที่ต่างไปจากเดิม นอก

จากนี้พบว่าพื้นที่ๆ พบรูปแบบ B ได้แก่ ใน อ.จะนะ อ.เทพา และ อ.นาทวี เป็นพื้นที่ๆ ใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเกิดการระบาดจากแหล่งหนึ่งไปอีกแหล่งหนึ่งได้โดยการไปมาหาสู่กัน หรือรูปแบบ B ที่ปรากฏอาจเป็นสายพันธุ์ที่ระบาดมาจากประเทศเพื่อนบ้าน เช่น มาเลเซีย ซึ่งอาจต้องทำการตรวจสอบ โดยนำเชื้อที่แยกได้ในประเทศมาเลเซียมาศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบดีเอนเอ เพื่อความแน่ชัดยิ่งขึ้น และจากการเปรียบเทียบรูปแบบดีเอนเอของ *V. cholerae* O1 El Tor Inaba ที่แยกได้จากการศึกษาครั้งนี้ (พ.ศ. 2544–2545) กับ *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa ที่แยกได้จากภาคใต้ในปี พ.ศ. 2540-2541 (Kondo *et al.*, 2001) (รูปที่ 3.8 และ รูปที่ 3.12) พบว่าให้ดีเอนเอรูปแบบ A เหมือนกัน ดังนั้นจึงน่าจะเป็นเชื้อที่มาจาก clone เดียวกัน การนำวิธี arbitrarily primed มาศึกษาในครั้งนี้ เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ได้ผลรวดเร็ว ไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย รวมทั้งไม่ต้องการเครื่องมือหรืออุปกรณ์พิเศษใดๆ แต่มีข้อจำกัดว่าในแต่ละขั้นตอนการทดสอบควรทำโดยบุคคลคนเดียวกัน รวมทั้งสภาวะการทดสอบแต่ละครั้งต้องใกล้เคียงกันที่สุด แต่เมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ เช่น pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) และ amplified fragment length polymorphism (AFLP) แม้ทั้ง 2 วิธีนี้ จะเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากกว่า แต่มีขั้นตอนยุ่งยาก ใช้เครื่องมือราคาแพง และค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง อีกทั้งต้องอาศัยความชำนาญในการทำ

4.6 ความไวของ *V. cholerae* ต่อยาต้านจุลชีพ

V. cholerae non-O1/non-O139 6 isolates ที่แยกได้จากผู้ป่วย ส่วนใหญ่ให้ผลไวต่อยาที่ทดสอบ ยกเว้น ampicillin ที่ให้ผลดื้อต่อยาจำนวน 3 isolates co-trimoxazole และ tetracycline 1 isolates มีรายงานว่าโดยส่วนใหญ่เชื้อ *V. cholerae* non-O1/non-O139 จะไวต่อยาทุกชนิด (Dalsgaard *et al.*, 1995) อย่างไรก็ตามจากรายงานการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาระหว่าง ปี พ.ศ. 2536-2538 ของโรงพยาบาลเด็กในกรุงเทพฯ พบว่า 58 เปอร์เซ็นต์ ของ *V. cholerae* non-O1/non-O139 ดื้อต่อยา 3 ชนิด ได้แก่ colistin streptomycin และ sulfamethoxazole และยังพบเชื้อดื้อยาแบบหลายชนิดพร้อมกัน (Multiple drug resistance) ถึงร้อยละ 41 นอกจากนี้สามารถตรวจพบพลาสมิดขนาดเล็กแต่ไม่มีจีนดื้อยาอยู่ภายในเซลล์ (Dalsgaard *et al.*, 1999b) และเมื่อนำเชื้อกลุ่มดังกล่าวมาศึกษาจีนดื้อยาในระดับโมเลกุลพบว่า 9 สายพันธุ์ของ *V. cholerae* non-O1/non-O139 ที่ดื้อต่อยา sulfonamides จะ

มีส่วนของ class 1 integron อยู่บนโครโมโซมของเชื้อ ซึ่งเป็นกลุ่มจีนที่ควบคุมการดื้อต่อยาหลายชนิด และยังพบได้ในเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอื่นๆ เช่น *Salmonella enterica* Typhimurium (Dalsgaard *et al*., 2000) ดังนั้นการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพในกลุ่ม *V. cholerae* non-O1/non-O139 ที่แยกได้จากผู้ป่วย ยังเป็นสิ่งสำคัญเพื่อการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา เช่นเดียวกับ *V. cholerae* O1 จากการศึกษาการดื้อยาของเชื้อ *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 129 สายพันธุ์ ที่แยกได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ในช่วงเดือน ตุลาคม 2540-มกราคม 2541 พบว่ามีอัตราการดื้อยาสูงมาก คือเชื้อทั้งหมดดื้อต่อ co-trimoxazole และ tetracycline สูงถึงร้อยละ 64.3 ดื้อต่อ chloramphenicol ร้อยละ 69.1 สำหรับ erythromycin และ ampicillin มีแนวโน้มดื้อยามากขึ้น เนื่องจากพบว่าส่วนใหญ่มีความไวปานกลาง (กลุ่มงานบักเตรีทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2541) และในช่วงปีเดียวกันพบว่าทุกสายพันธุ์ของ *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa ที่แยกได้จากพื้นที่ทางภาคใต้ ดื้อต่อยา tetracycline, chloramphenicol และ co-trimoxazole (Kondo *et al*., 2001) จนกระทั่งในปลายปี พ.ศ. 2542 - กันยายน 2543 เริ่มปรากฏ *V. cholerae* O1 El Tor Inaba จำนวน 9 สายพันธุ์ และพบว่าเชื้อดังกล่าวไม่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ ยกเว้น furazolidone แต่ในระยะปลายปี พ.ศ. 2543- มีนาคม 2544 *V. cholerae* O1 El Tor Inaba 275 สายพันธุ์ เริ่มมีการดื้อต่อยาสารต้านจุลชีพ 6 ชนิด ได้แก่ tetracycline, co-trimoxazole, erythromycin, furazolidone, chloramphenicol และ norfloxacin ร้อยละ 6.2, 3.4, 13.2, 81.0, 1.6 และ 0.4 ตามลำดับ (ศรีวรรณา หัทยานานนท์ และคณะ, 2544) ซึ่งต่างจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า *V. cholerae* O1 El Tor Inaba (เมษายน 2544 – มีนาคม 2545) จำนวน 82 สายพันธุ์ มีแนวโน้มการดื้อยาที่ไม่สูงมากนัก เพราะจากการทดสอบ พบว่าเชื้อทั้งหมดยังไวต่อยา cholramphenicol, ciprofloxacin, co-trimoxazole, gentamicin, nalidixic acid, norfloxacin และ tetracycline ยกเว้น ampicillin และ erythromycin ที่พบเชื้อดื้อต่อยาร้อยละ 11 และ 2.4 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.9) ถึงแม้จากงานวิจัยครั้งนี้ จะพบการดื้อยาของเชื้อไม่มากนัก แต่ต่อไปโอกาสที่จะพบเชื้อดื้อต่อ ampicillin และ erythromycin มีได้สูงเช่นกัน เพราะส่วนใหญ่เชื้ออยู่ในระดับไวปานกลาง (ร้อยละ 50 และ 97.6 ตามลำดับ) (ตารางที่3.9) ดังนั้นเพื่อตระหนักถึงปัญหาเชื้อดื้อยา ควรมีการเฝ้าระวังอย่างสม่ำเสมอต่อเนื่องและเป็นระบบ ควรมีการปรับปรุงการใช้ยาให้เหมาะสม ใช้ยาชนิดที่มีผลต่อตัวเชื้อ ในระยะเวลานานพอที่

จะทำให้เชื้อถูกทำลายจนหมด ไม่ให้มีการหลงเหลือที่จะเกิดการพัฒนาการดื้อยาในภายหลัง และป้องกันการกระจายของเชื้อดื้อยา