

รูปแบบรายงานฉบับสมบูรณ์

(สำหรับโครงการวิจัยเดี่ยวหรือโครงการวิจัยย่อย)

รายงานฉบับสมบูรณ์

(ตุลาคม 2557–กันยายน 2559)

ความชุกของเชื้อ enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) ในเนื้อสัตว์  
Prevalence of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in retailed meats

คณะนักวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภรณ์ัย สุขุมังกูร

นางสาวศิริวรรณ ศิริแก้ว

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2558

ความชุกของเชื้อ enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) ในเนื้อสัตว์  
Prevalence of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in retailed meats

คณะนักวิจัยและหน่วยงานต้นสังกัด

นักวิจัยหัวหน้าโครงการ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภรณ์ัย สุขุมังกูร ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาผู้รับทุน : นางสาวศิริวรรณ ศิริแก้ว ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

## สารบัญ

หัวข้อ	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	4
บทคัดย่อ	5
บทสรุปผู้บริหาร	7
วัตถุประสงค์	8
สรุปผลการศึกษา	9
การนำไปใช้ประโยชน์	10
เอกสารอ้างอิง	10
ภาคผนวก	11
ตารางตัวชี้วัดศักยภาพและผลลัพธ์ของโครงการวิจัย (แบบวิจัย 16.1_58)	12

## กิตติกรรมประกาศ

ในการนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณผู้ให้ทุน คือ ทุนงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2558 (สัญญาให้ทุน เลขที่ SCI580246d) ที่ได้ให้ความกรุณาจัดสรรทุนการวิจัยในครั้งนี้มาให้ในปริมาณที่เหมาะสม ทำให้สามารถดำเนินการวิจัยได้อย่างราบรื่นคล่องตัว ตลอดจนขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ของสำนักวิจัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ รวมถึงเจ้าหน้าที่ในหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำในการดำเนินการด้านต่างๆด้วยดีมาตลอด

ขอบพระคุณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้ให้การสนับสนุนด้านการวิจัย ไม่ว่าจะเป็นด้านการเงิน รวมถึงเครื่องมือที่จำเป็นสำหรับการวิจัย

ขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ได้กรุณาอ่านข้อเสนอโครงการวิจัย รวมถึงท่านผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้กรุณาอ่านร่างรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ พร้อมข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ เพื่อการทําวิจัยที่ดีขึ้นต่อไปในอนาคต สุดท้ายนี้ขอขอบคุณผู้มีพระคุณท่านอื่นๆทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้

ภารณีย์ สุขุมังกร

เมษายน 2559

## บทคัดย่อ

*E. coli* O26 เป็นเชื้อซีโรทัยป์ที่สำคัญที่สุดในกลุ่ม non-O157 ซึ่งมีบทบาทในการก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเกี่ยวกับความชุกและลักษณะต่างๆของตัวเชื้อในประเทศไทยนั้นมีน้อย เนื้อสัตว์ดิบพบว่าเป็นแหล่งของ diarrheagenic *E. coli* เป็นจำนวนมาก ดังนั้นในการศึกษานี้ ได้ตรวจหา *E. coli* O26 จาก *E. coli* จำนวน 1,279 ไอโซเลทจากเนื้อสัตว์ดิบจำนวน 157 ตัวอย่าง ที่วางขายในเขตอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา โดยวิธี immunomagnetic separation จากการศึกษาพบเชื้อ *E. coli* O26 จำนวน 27 ไอโซเลทจากเนื้อ 18 ตัวอย่าง ทั้ง เนื้อวัว เนื้อหมู และเนื้อไก่ เชื้อทั้ง 27 ไอโซเลท เมื่อทำการระบุ pathotype แล้ว พบว่าไม่สามารถจัดเข้าไประหว่าง pathotype ใดๆของ diarrheagenic *E. coli* ได้เลย อีกทั้งยังไม่มียีนก่อโรคอีกด้วย ยกเว้น 5 ไอโซเลทที่มี *escV* ซึ่งเป็นยีนที่สร้างองค์ประกอบของ type III secretion system เมื่อตรวจสอบ phylogenetic group พบว่าเชื้อทั้งหมดเป็นสมาชิกของ group A ยกเว้น 1 ไอโซเลท เป็น group D ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ พบว่าเชื้อส่วนใหญ่เป็น multi-drug resistance เมื่อทำการตรวจหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อ O26 ด้วยกัน โดยวิธี (GTG)<sub>5</sub>-PCR และ ERIC2-PCR พบว่า เชื้อ O26 ที่แยกได้จากคนละตัวอย่างและแยกได้ในเวลาที่ต่างกัน ให้ผลลายพิมพ์ DNA ที่เหมือนกันทุกประการ แสดงให้เห็นว่า เชื้อนាំมีบรรพบุรุษร่วมกัน ผลการตรวจสอบยีนที่ฝาจใช้ในการแทรกตัวจำนวน 5 ตำแหน่งโดยวิธี PCR พบว่า มีเชื้อ O26 จำนวน 6 สายพันธุ์ที่มีโพรฟาจ (prophage) แทรกตัวอยู่ ณ ตำแหน่ง *sbcB* แสดงให้เห็นว่า เชื้อมีความสามารถในการได้รับยีนก่อโรคจากฝาจได้ในอนาคต ยิ่งไปกว่านั้น ณ ตำแหน่ง *yecE* และ *wrbA* ของเชื้อทั้งหมด ยังพร้อมรับการสอดแทรกของฝาจได้ในอนาคตอีกด้วย

**คำสำคัญ :** *Escherichia coli* O26, diarrhea, phylogenetic group, raw meat, (GTG)<sub>5</sub>-PCR, ERIC2-PCR, Thailand.

## Abstract

*Escherichia coli* O26 is the most important serotype in non-O157 group, which plays a significant role in gastrointestinal illnesses. However, information regarding the prevalence and its characteristics are lacking in Thailand. As raw meat is frequently a source of diarrheagenic *E. coli*, a total of 1,279 *E. coli* colonies were obtained from 157 raw meat samples obtained from retail markets, Hat-Yai city, Songkhla province, Thailand and *E. coli* O26 isolated using an immunomagnetic separation technique. Twenty-seven *E. coli* O26 strains were isolated from 18 samples of raw beef, chicken and pork meats. These *E. coli* O26 strains could not be classified into the six diarrheagenic *E. coli* categories and did not harbor virulence genes, except 5 strains carrying *escV*, encoding type III secretion system component, Phylogenetic group examination demonstrated that 26 strains belonged to phylogenetic group A, and one to group D. Antimicrobial susceptibility test revealed that the *E. coli* O26 strains were the multi-drug resistant strains. Genetic relatedness employing (GTG)<sub>5</sub>-PCR and ERIC2-PCR showed that some of O26 which isolated from different samples and different time intervals revealed the identical fingerprint pattern, suggesting that they were derived from the same clone. Examination of five *stx*<sub>2</sub>-containing phage integration sites showed that 6 strains had prophage occupancy at *sbcB*, suggesting that these isolates have the potential in horizontal gene transfer of virulence trait. Moreover, the intactness of *yecE* and *wrbA*, the important integration sites in *E. coli* O26, indicated the possibility of *stx*<sub>2</sub>-phage lysogenization in the future.

**Keywords:** *Escherichia coli* O26, diarrhea, phylogenetic group, raw meat, (GTG)<sub>5</sub>-PCR, ERIC2-PCR, Thailand.

## บทสรุปผู้บริหาร

### บทนำ

ในประเทศไทย เนื้อสัตว์จัดเป็นกลุ่มของอาหารที่มีความสำคัญที่ใช้บริโภคทั้งภายในประเทศรวมถึงเพื่อการส่งออก จากรายงานของ FAO ในปี 2007 (FAO, 2007) พบว่า ชนิดของเนื้อสัตว์ที่มีการบริโภคภายในประเทศมากที่สุดคือ เนื้อหมู ตามมาด้วยเนื้อไก่ และเนื้อวัวตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เนื้อสัตว์เหล่านี้จัดเป็นพาหะของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารได้ โรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารจัดเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุขของไทย โดยมีอุบัติการณ์การเกิดโรคอาหารเป็นพิษถึง 120,000 รายในแต่ละปี (FAO, 2004) โดยเชื้อที่สามารถก่อโรคได้มีหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* เป็นต้น

*E. coli* คือแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง โดยปกติไม่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตาม *E. coli* บางสายพันธุ์สามารถก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารได้ เชื้อสามารถก่อให้เกิดอาการได้หลายระดับ ตั้งแต่อาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง จนถึงอาการอุจจาระร่วง มีมูกเลือดจนกระทั่งเสียชีวิต *E. coli* ที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้นั้น แบ่งออกเป็น 6 pathotypes ดังนี้ enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC) และ diffusely adherent *E. coli* (DAEC)

EPEC จัดเป็นหนึ่งในแบคทีเรียที่มีความสำคัญและมีบทบาทในการก่อโรคโดยเฉพาะในเด็กที่อยู่ในประเทศกำลังพัฒนา กลไกการก่อโรคของตัวเชือนั้นโดยหลักแล้ว เชื้อจะเกาะติดและทำลาย epithelial cells ของลำไส้ ทำให้เกิดภาวะการเสียสมดุลของการดูดซึมและการขับน้ำ และอิเล็กโทรไลต์ โดยมีการขับน้ำและอิเล็กโทรไลต์ออกในปริมาณมากกว่าที่จะดูดกลับ เกิดการสะสมของเหลวในลำไส้ และเกิดภาวะถ่ายเหลวตามมา อย่างไรก็ตาม EPEC บางสายพันธุ์สามารถสร้าง stable toxin ได้อีกด้วย โดยมีรายงานการเกิดการระบาดใหญ่จำนวน 2 ครั้งของ EPEC ที่มีจีน *ast1* ซึ่งเป็นจีนที่สร้าง EAST-1 stable toxin ในรัฐมินเนโซต้าของสหรัฐอเมริกาและประเทศฟินแลนด์ โดยเป็นการระบาดในผู้ใหญ่

การติดเชื้อ EPEC ถึงแม้จะมีอุบัติการณ์ค่อนข้างต่ำ แต่การติดเชื้อที่มีปัจจัยก่อโรคที่รุนแรงก็อาจจะนำมาซึ่งการเสียชีวิตได้ ในภาคใต้ของประเทศไทย Kalnauwakul และคณะ (2007) ได้ทำการตรวจสอบตัวอย่างอุจจาระจากผู้ป่วยในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ จำนวน 530 ตัวอย่าง สามารถพบ EPEC จำนวน 13 ตัวอย่าง (2.5%) นอกจากนี้ ในส่วนของความชุกของการพบ EPEC ในอาหารในประเทศไทย นั้น Chomvarin และ คณะ (2005) ได้ตรวจสอบ diarrheagenic *E. coli* (DEC) ในอาหารหลายประเภทในจังหวัดขอนแก่น และสามารถพบ EPEC จำนวน 1.6% จากตัวอย่างอาหารจำนวน 186 ตัวอย่าง

แม้ว่าจะมีรายงานการพบ EPEC จากตัวอย่างในบางพื้นที่ของประเทศไทยแล้ว อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีข้อมูลของความชุกของเชื้อ EPEC ในอาหารในเขตจังหวัดสงขลาเลย ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเป้าไปที่การตรวจสอบความชุกของ EPEC ในเขตจังหวัดสงขลา โดยเฉพาะ *E. coli* ซีโรทัยป์ O26 ซึ่งเป็นซีโรทัยป์ที่มักจะพบว่าเป็น atypical EPEC และซีโรทัยป์นี้ มีความสำคัญที่สุดในกลุ่ม *E. coli* non-O157 ข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลที่สำคัญเพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตและสร้างเสริมความมั่นคงด้านสุขภาพของประชากรในเขตจังหวัดสงขลาต่อไป

### วัตถุประสงค์

- 1 เพื่อแยกเชื้อ *E. coli* O26 จากตัวอย่างเนื้อสัตว์ดิบโดยวิธี immunomagnetic separation technique
- 2 เพื่อตรวจสอบยีนก่อโรคของเชื้อ *E. coli* O26 ที่แยกได้และการตรวจสอบ phylogenetic group ของเชื้อ
- 3 ตรวจสอบแบบแผนการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *E. coli* O26
- 4 ตรวจสอบตำแหน่งยีนที่ bacteriophage สามารถเข้าไปแทรกจีโนม เพื่อดูโอกาสในการวิวัฒนาการความสามารถของเชื้อในการก่อโรคในอนาคต
- 5 ตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อ *E. coli* O26 ที่แยกได้โดยวิธีการสร้างลายพิมพ์ DNA ด้วยวิธี repetitive-sequence-based methods



## สรุปผลการศึกษา

จากการตรวจหา *E. coli* O26 จากตัวอย่างเนื้อสัตว์ดิบชนิดต่างๆ เป็นเวลา 8 เดือนโดยใช้วิธี immunomagnetic separation โดยตรวจจากโคลนที่คาดว่าจะเป็ *E. coli* จำนวน 1,279 ไอโซเลทจากเนื้อสัตว์ดิบจำนวน 157 ตัวอย่าง พบเชื้อ *E. coli* ที่ให้ผลบวกต่อปฏิกิริยา PCR ที่จำเพาะต่อ *wzx-wzy* O26 จำนวน 27 ไอโซเลท จากเนื้อ 18 ตัวอย่าง เมื่อนำไปยืนยันผลการเป็นซีโรทัยป์ O26 โดยวิธี agglutination โดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ O26 แล้วพบผลที่สอดคล้องกัน เชื่อทั้งหมด เมื่อนำมายืนยันการเป็น *E. coli* โดยการตรวจสอบหายีน *uidA* ที่จำเพาะต่อเชื้อ *E. coli* พบว่าทั้งหมดให้ผลบวกต่อ *uidA* โดยวิธี PCR ดังนั้นเชื่อทั้ง 27 ไอโซเลท จัดเป็น *E. coli* O26 (ความชุกเท่ากับ 2.11%) เมื่อทำการระบุ pathotype แล้ว พบว่าเชื่อทั้งหมดไม่สามารถจัดเข้าปออยู่ใน pathotype ใดๆของ diarrheagenic *E. coli* ได้เลย อีกทั้งยังไม่มียีนก่อโรครออีกด้วย ยกเว้น 5 ไอโซเลทที่มี *escV* ซึ่งเป็นยีนที่สร้างองค์ประกอบของ type III secretion system ดังนั้น *E. coli* O26 ดังกล่าว ไม่เป็นสมาชิกของกลุ่ม EPEC เมื่อตรวจสอบ phylogenetic group พบว่าเชื่อทั้งหมดเป็นสมาชิกของ group A ยกเว้น 1 ไอโซเลท เป็น group D ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ พบว่าเชื่อส่วนใหญ่เป็น multi-drug resistance โดยเชื่อบางไอโซเลทดื้อยาถึง 7 จาก 9 ชนิดที่ทดสอบ เมื่อทำการตรวจหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อ O26 ด้วยกัน โดยวิธี (GTG)<sub>5</sub>-PCR และ ERIC2-PCR พบว่า เชื้อ O26 ที่แยกได้จากคนละตัวอย่างและในช่วงเวลาที่ต่างกัน ให้ผลลายพิมพ์ DNA ที่เหมือนกันทุกประการ แสดงให้เห็นว่าเชื่อเหล่านี้มีบรรพบุรุษร่วมกัน ผลการตรวจสอบยีนที่ฝาจมักใช้ในการแทรกตัวจำนวน 5 ตำแหน่ง (5 ยีน) โดยวิธี PCR พบว่า มีเชื้อ O26 จำนวน 6 สายพันธุ์ที่มีโพรฝาจ (prophage) แทรกตัวอยู่ ณ ตำแหน่ง *sbCB* อยู่แล้ว แสดงให้เห็นว่า เชื้อมีความสามารถในการได้รับยีนก่อโรครจากฝาจได้ในอนาคต ยิ่งไปกว่านั้น ณ ตำแหน่ง *yecE* และ *wrBA* ของเชื่อทั้งหมดยังคงมีสภาพปกติ (intact) ซึ่งในอนาคต ยีนสองตำแหน่งนี้ ยังสามารถถูกฝาจแทรกเข้าไปรวมได้ในอนาคต ยังผลให้ปัจจัยก่อโรครที่ถูกนำพาโดยฝาจ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการก่อโรครของแบคทีเรียให้มากขึ้นได้

การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า แม้ว่า *E. coli* O26 ในการศึกษานี้ ไม่ได้เป็นสมาชิกของ *E. coli* ก่อโรครใน pathotypes ใดๆ และมียีนก่อโรครจำนวนน้อย แต่ความสามารถในการได้รับปัจจัยก่อโรครจากภายนอก รวมถึงความสามารถในการดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิดของเชื่อเหล่านี้ ทำให้เป็นที่น่ากังวลใจและควรเฝ้าระวังอย่างสม่ำเสมอ เพื่อคุณภาพชีวิตของประชากรในพื้นที่นี้ต่อไป

## การนำไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาชี้ให้เห็นว่าเชื้อ *E. coli* O26 มีอยู่จริงในตัวอย่างเนื้อสัตว์ในพื้นที่อำเภอหาดใหญ่ เนื้อสัตว์สามารถเป็นพาหะนำเชื้อสู่มนุษย์ได้โดยสามารถปนเปื้อนมากับมือของผู้ประกอบอาหาร หรือปนเปื้อนในภาชนะที่ใช้ และอาจก่อให้เกิดโรคได้ ทำให้เกิดความเสียหายต่อสังคมในเชิงสุขภาพและเชิงเศรษฐกิจ ดังนั้นข้อมูลส่วนนี้ สามารถนำไปใช้เป็นประโยชน์แก่องค์กรทางสาธารณสุขทั้งในส่วนกลางและส่วนท้องถิ่น เพื่อให้ความรู้แก่ประชากร ในการป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อชนิดนี้ต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

(ส่วนที่ไม่ปรากฏในผลงานตีพิมพ์)

Chomvarin C, Ratchtrachenchai O, Chantarasuk Y, Srigulbutr S, Chaicumpar K, Namwat W, Kotimanusvanij D ( 2005) Characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from food in Khon kaen, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 36: 931-939.

FAO (Food and Agriculture Organization) (2004) Foodborne diseases: Situation of diarrheal diseases in Thailand. In FAO/WHO regional conference on food safety for Asia and the Pacific

FAO (Food and Agriculture Organization) (2007) <[http://www.fao.org/statistics/yearbook/vol\\_1\\_2/pdf/Thailand.pdf](http://www.fao.org/statistics/yearbook/vol_1_2/pdf/Thailand.pdf)>.

Kalnauwakul S, Phengmak M, Kongmuang U, Nakaguchi Y, Nishibuchi M (2007) Examination of diarrheal stools in Hat Yai city, southern Thailand, for *Escherichia coli* O157 and other diarrheagenic *Escherichia coli* using immunomagnetic separation and PCR method. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 38: 871-880.

## ภาคผนวก

### สำเนาบทความที่ตีพิมพ์แล้ว

1. Sirikaew S, Rattanachuay P, Nakaguchi Y, Sukhumungoom P. Immuno-magnetic isolation, characterization and genetic relationship of *Escherichia coli* O26 from raw meats, Hat-Yai city, Songkhla, Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 2015; 46: 241-253. (IF 2014 = 0.546).

ลำดับ	ตัวชี้วัด	หน่วยนับ			
		ปีที่ 1		ปีที่ 2	
		ปีงบประมาณ 2558	ปีงบประมาณ 2559	เป้าหมาย	ผลที่ได้
<b>1</b>	<b>ผลผลิตเชิงองค์ความรู้</b>				
	1.1 จำนวนผลงานตีพิมพ์ (ชิ้น)				
	- วารสารระดับชาติที่ สกอ. หรือ สกว. ยอมรับ				
	- วารสารระดับนานาชาติที่ไม่ได้อยู่ในฐาน ISI หรือ Scopus				
	- วารสารระดับนานาชาติฐาน ISI หรือ Scopus			1	1
	1.2 จำนวนผลงานที่นำเสนอในที่ประชุม/สัมมนา (ชิ้น)				
	- ระดับชาติ			1	0
	- ระดับนานาชาติ				
	1.3 อื่น ๆ (โปรดระบุ)				
<b>2</b>	<b>ผลผลิตเชิงผลิตภัณฑ์/นวัตกรรม</b>				
	2.1 จำนวนโครงการวิจัยต่อยอด (โครงการ)				
	2.2 จำนวนโครงการขอทุนขนาดใหญ่จากแหล่งทุนภายนอก (โครงการ / เงิน)				
	2.3 จำนวนผลิตภัณฑ์/นวัตกรรม (ชิ้น/ระบุชื่อ)				
	2.4 เอกสารการยื่นจดอนุสิทธิบัตร (เรื่อง)				
	2.5 เอกสารการยื่นจดสิทธิบัตร (เรื่อง)				
	2.6 เทคโนโลยีที่สามารถนำไปถ่ายทอดได้				

	- จำนวนโครงการ/จำนวนครั้ง - จำนวนผู้ได้รับประโยชน์ (คน/ชุมชน)				
	2.7 ข้อเสนอเชิงนโยบาย/ข้อเสนอเพื่อแก้ไขปัญหา (จำนวนข้อเสนอ)				
	2.8 การนำไปใช้ประโยชน์อย่างอื่น ที่หน่วยงานที่นำไปใช้ประโยชน์มีเอกสารรับรอง (เรื่อง)				
	2.9 อื่น ๆ (ระบุ).....				