



การปนเปื้อน และแบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพ ของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่แยกได้ จากหอยนางรมดิบที่จำหน่ายในตลาดสด กรุงเทพมหานคร

ปิยะรัตน์ จิตรกริรมย์^{1*}, ปิยะ วงศ์ญาณิน², ชิตยาภรณ์ ก้อนสิน³,
อลงกรณ์ อมรกิจศาล³, พชรพล ศิริตะปัญญะ³ และชนิกานต์ เวภาระ³

Received: December 4, 2025

Revised: May 8, 2026

Accepted: May 8, 2026

บทคัดย่อ

เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เป็นสาเหตุสำคัญของโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบเฉียบพลันที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคอาหารทะเลดิบโดยเฉพาะหอยนางรม การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการปนเปื้อน ตรวจหายีนก่อโรค และศึกษาแบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากหอยนางรมดิบที่จำหน่ายในตลาดสด กรุงเทพมหานคร ดำเนินการศึกษาเชิงสำรวจโดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยนางรมดิบจำนวน 50 ตัวอย่าง จากตลาดสด 14 แห่ง ทำการแยกเชื้อ *V. parahaemolyticus* ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อมาตรฐานบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ TCBS agar และ CHROMagar™ *Vibrio* และตรวจยืนยันด้วยปฏิกิริยาทางชีวเคมี ร่วมกับการตรวจหายีน *toxR* ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ทำการตรวจหายีนก่อโรค 2 ชนิด คือ thermostable direct hemolysin (*tdh*) และ TDH-related hemolysin (*trh*) ด้วยวิธี Multiplex PCR และทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิด ด้วยวิธี Disk diffusion ผลการศึกษาพบการปนเปื้อนเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างหอยนางรมดิบ 22 ตัวอย่าง (ร้อยละ 44.0) โดยสามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 75 ไอโซเลต ผลการตรวจหายีนก่อโรคพบว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ทั้ง 75 ไอโซเลต (ร้อยละ 100) ไม่พบยีน *tdh* และ *trh* จากการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพในเชื้อ 29 ไอโซเลต พบเชื้อที่ดื้อยาอย่างน้อย 1 ชนิด จำนวน 9 ไอโซเลต (ร้อยละ 31.03) โดยพบการดื้อต่อยา Ampicillin สูงที่สุด รองลงมาคือ Cefoxitin, Tetracycline, Meropenem และ Trimethoprim-sulfamethoxazole นอกจากนี้ ยังตรวจพบเชื้อดื้อต่อยาหลายชนิด (MDR) 1 ไอโซเลต (ร้อยละ 3.45) ซึ่งดื้อต่อยา 4 ชนิดร่วมกัน (Ampicillin, Meropenem, Tetracycline และ Trimethoprim-sulfamethoxazole) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าหอยนางรมดิบที่จำหน่ายในตลาดสด กรุงเทพมหานคร มีอัตราการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในระดับที่ค่อนข้างสูง แม้ว่าเชื้อที่แยกได้ทั้งหมดจะไม่ใช้สายพันธุ์ก่อโรครุนแรง แต่การปนเปื้อนในระดับสูงยังคงเป็นความเสี่ยงด้านความปลอดภัยทางอาหารต่อผู้บริโภค การตรวจพบเชื้อที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ โดยเฉพาะเชื้อ MDR สะท้อนถึงความจำเป็นในการเฝ้าระวังการดื้อยาในห่วงโซ่อาหาร และการจัดการสุขาภิบาลอาหารต่อไป

คำสำคัญ: แบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพ / หอยนางรมดิบ / วิบริโอ พาราฮีโมไลติคัส / ยีนก่อโรค

* ผู้รับผิดชอบบทความ: ปิยะรัตน์ จิตรกริรมย์ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
E-mail: piyarat.ch@bsru.ac.th

¹ วท.ม. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

² วท.ด. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

³ วท.บ. นักศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา





Contamination and Antibioqram of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Raw Oysters in Wet Markets, Bangkok

Piyarat Chitpirom^{1*}, Piya Wongyanin², Chittayaporn Konsin³,
Alongkorn Amornkitsarn³, Patcharawalai Sritapunya³ and Chanikan Waphara³

Abstract

Vibrio parahaemolyticus is a primary causative agent of acute gastroenteritis associated with the consumption of raw seafood, particularly oysters. This study aimed to evaluate the prevalence, detect virulence genes, and determine the antimicrobial susceptibility patterns of *V. parahaemolyticus* isolated from raw oysters sold in wet markets in Bangkok. A cross-sectional study was conducted on 50 raw oyster samples collected from 14 markets. *V. parahaemolyticus* was isolated using standard culture methods on selective media (TCBS agar and CHROMagar™ *Vibrio*) and confirmed by biochemical tests and Polymerase Chain Reaction (PCR) for the *toxR* gene. Virulence genes identification, thermostable direct hemolysin (*tdh*) and TDH-related hemolysin (*trh*), were detected via Multiplex PCR. Antimicrobial susceptibility testing against 10 antibiotics was performed using the disk diffusion method. The results indicated that 22 of the 50 samples (44.0%) were contaminated with *V. parahaemolyticus*, from which 75 isolates were obtained. Notably, all 75 isolates (100%) were negative for both the *tdh* and *trh* virulence genes. Susceptibility testing on 29 representative isolates revealed that 9 isolates (31.03%) were resistant to at least one antibiotic. The highest resistance rate was observed against Ampicillin, followed by Cefoxitin, Tetracycline, Meropenem, and Trimethoprim-sulfamethoxazole. Furthermore, one multidrug-resistant (MDR) isolate (3.45%) was identified. In conclusion, this study demonstrates a relatively high prevalence of *V. parahaemolyticus* in raw oysters from Bangkok markets. Although all isolates were non-pathogenic, the presence of antimicrobial-resistant strains, including MDR, highlights a significant food safety risk and underscores the necessity for continuous antimicrobial resistance surveillance and stringent hygiene management in the food chain.

Keywords: Antibioqram / Raw oysters / *Vibrio parahaemolyticus* / Virulence genes

* **Corresponding Author:** Piyarat Chitpirom, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Bansomdejchaopraya Rajabhat University, E-mail: piyarat.ch@bsru.ac.th

¹ M.Sc., Assistant Professor, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Bansomdejchaopraya Rajabhat University

² Ph.D., Assistant Professor, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Bansomdejchaopraya Rajabhat University

³ B.Sc., Undergraduate Student, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Bansomdejchaopraya Rajabhat University





1. บทนำ

โรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) ยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญของประเทศไทย แม้ว่าภาครัฐจะมีนโยบายส่งเสริมความปลอดภัยด้านอาหาร (Food safety) เพื่อยกระดับประเทศไทยสู่ Healthy Thailand ก็ตาม จากรายงานระบบเฝ้าระวังโรค (รง.506) ของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข พบว่าในช่วงปี พ.ศ. 2563-2567 ประเทศไทยยังคงพบผู้ป่วยโรคอาหารเป็นพิษอย่างต่อเนื่องและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยในปี พ.ศ. 2567 พบอัตราป่วยสูงถึง 203.51 ต่อประชากรแสนคน (กรมควบคุมโรค, 2568) โรคดังกล่าวส่วนใหญ่ มักเกิดจากการบริโภคอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์หรือสารพิษที่เชื้อสร้างขึ้น โดยเชื้อแบคทีเรียสำคัญที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* และ *Vibrio parahaemolyticus* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบเฉียบพลัน (Acute gastroenteritis) ที่สัมพันธ์กับการบริโภคอาหารทะเลดิบหรือกึ่งสุกกึ่งดิบ โดยเฉพาะหอยนางรมดิบ (Stratev et al., 2023)

เชื้อ *V. parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างค็อกซ์หรือแท่งสั้น จัดอยู่ในกลุ่ม Halophilic bacteria ซึ่งหมายถึงแบคทีเรียที่ต้องการเกลือในการเจริญเติบโตและไม่สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่ไม่มีเกลือ พบได้ทั่วไปในน้ำทะเล น้ำกร่อย ปากแม่น้ำ และชายฝั่งทะเล โดยเฉพาะในเขตร้อนและเขตอบอุ่น เชื้อสามารถเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 15 องศาเซลเซียส (Ngasotter et al., 2022; Tewawong et al., 2024) ประเทศไทยซึ่งมีภูมิอากาศร้อนและมีแนวชายฝั่งทะเลยาว จึงเอื้อต่อการคงอยู่และการแพร่กระจายของเชื้อได้ตลอดทั้งปี โดยเฉพาะในช่วงที่อุณหภูมิ น้ำทะเลสูงขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของการติดเชื้อในคน การติดเชื้อส่วนใหญ่เกิดจากการบริโภคอาหารทะเลดิบหรือปรุงไม่สุก โดยผู้ป่วยมักมีอาการถ่ายเหลว ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และอาจมีไข้ร่วมด้วยภายหลังรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อประมาณ 4-96 ชั่วโมง (กรมควบคุมโรค กลุ่มระบาดวิทยาโรคติดต่อ, 2562)

แม้ว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* จะพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทางทะเลและสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น กุ้ง ปู ปลา และหอย แต่สายพันธุ์ก่อโรคที่มียีน Thermostable direct hemolysin (*tdh*) และ/หรือ TDH-related hemolysin (*trh*) มักพบในสัดส่วนต่ำ โดยพบเพียงประมาณร้อยละ 1 ของตัวอย่างสิ่งแวดล้อม (Wang et al., 2022) อย่างไรก็ตาม เชื้อชนิดนี้ยังคงเป็นสาเหตุสำคัญของโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบจากอาหารทะเลทั่วโลก โดยเฉพาะในประเทศแถบเอเชียที่นิยมบริโภคอาหารทะเลดิบหรือกึ่งสุกกึ่งดิบ ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งสหรัฐอเมริกา (CDC) รายงานว่าเชื้อ *Vibrio* spp. ก่อให้เกิดโรค Vibriosis ประมาณ 80,000 รายต่อปี และส่วนหนึ่งมีสาเหตุจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* ซึ่งมักสัมพันธ์กับการบริโภคหอยนางรมดิบ (Centers for Disease Control and Prevention, 2024)

อาหารทะเลประเภทหอยสองฝา โดยเฉพาะหอยนางรม ถือเป็นแหล่งสะสมเชื้อที่สำคัญ เนื่องจากมีพฤติกรรมกรากินอาหารแบบกรอง (Filter feeder) ทำให้เชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำทะเลสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของหอยได้ในปริมาณสูง หลายการศึกษาการตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรมในอัตรา ร้อยละ 20-60 และบางพื้นที่อาจสูงกว่าร้อยละ 80 ขึ้นอยู่กับฤดูกาลและสภาพแวดล้อม (Stratev et al., 2023) สำหรับประเทศไทย Tewawong et al. (2024) รายงานการตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรม สูงถึงร้อยละ 48.8-100 และพบสายพันธุ์ที่มียีนก่อโรค *tdh* และ *trh* ในบางพื้นที่ชายฝั่งทะเล สะท้อนให้เห็นว่า หอยนางรมดิบยังคงเป็นอาหารที่มีความเสี่ยงต่อการแพร่เชื้อสู่ผู้บริโภค แม้ว่าสายพันธุ์ก่อโรคจะพบในสัดส่วนต่ำก็ตาม

ปัจจัยก่อความรุนแรงสำคัญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้แก่ สารพิษ Thermostable direct hemolysin (TDH) และ TDH-related hemolysin (TRH) ซึ่งถูกควบคุมโดยยีน *tdh* และ *trh* ตามลำดับ



(Vandeputte et al., 2024) อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าเชื้อสายพันธุ์จากสิ่งแวดล้อมบางส่วนยังสามารถก่อโรคได้ผ่านปัจจัยก่อความรุนแรงอื่น เช่น ระบบการหลั่งสารชนิดที่ 3 (Type III secretion systems; T3SS) ความสามารถในการสร้าง Biofilm และการสร้าง Extracellular enzymes ซึ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการอยู่รอดและการก่อโรคของเชื้อ (Stratev et al., 2023) นอกจากนี้ปัญหาคือการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *V. parahaemolyticus* โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาหลายชนิด (Multidrug-resistant; MDR) กำลังได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นในระดับโลกจากการศึกษาในประเทศจีนพบว่าเชื้อที่แยกได้จากอาหารทะเลมีการดื้อต่อยา Ampicillin สูงถึงร้อยละ 90.8 (Bai et al., 2024) โดยการเกิดเชื้อดื้อยาในสิ่งแวดล้อมทางทะเลอาจสัมพันธ์กับการใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ การปนเปื้อนน้ำเสียจากชุมชนหรือโรงพยาบาล รวมถึงการถ่ายทอดยีนดื้อยาระหว่างแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมทางน้ำ (Xiao et al., 2023; Deng et al., 2025)

แม้ว่าจะมีรายงานการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในอาหารทะเลหลายพื้นที่ของประเทศไทย แต่ข้อมูลการเฝ้าระวังเชื้อในหอยนางรมดิบที่จำหน่ายในตลาดสด กรุงเทพมหานคร โดยเฉพาะข้อมูลด้านยีนก่อโรคและแบบแผนการดื้อยาต้านจุลชีพยังมีจำกัด ทั้งที่กรุงเทพมหานครเป็นพื้นที่ที่มีการบริโภคและกระจายอาหารทะเลจากหลายแหล่งผลิต ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีความสำคัญในการเฝ้าระวังเชื้อในสิ่งแวดล้อมทางอาหารเพื่อประเมินสถานการณ์การปนเปื้อนของ เชื้อ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรมดิบที่จำหน่ายในตลาดสด กรุงเทพมหานคร รวมถึงตรวจหายีนก่อโรค *tdh* และ *trh* และศึกษาแบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อที่แยกได้ ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการประเมินความเสี่ยงด้านความปลอดภัยอาหาร การเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาในห่วงโซ่อาหารทะเล และการกำหนดมาตรการป้องกันควบคุมโรคอาหารเป็นพิษในอนาคตต่อไป

2. วัตถุประสงค์

- 2.1 เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรมดิบ
- 2.2 เพื่อตรวจหายีนก่อโรค *tdh* และ *trh* ในเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากหอยนางรมดิบ
- 2.3 เพื่อศึกษาแบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จาก

หอยนางรมดิบ

3. วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงสำรวจ (Survey study) ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (Cross-sectional)

3.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยนางรมดิบที่จำหน่ายในตลาดสดที่ตั้งอยู่ในกรุงเทพมหานคร จำนวน 50 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างละประมาณ 200-300 กรัม จากตลาดสด 14 แห่ง ด้วยวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบแบ่งชั้น (Stratified sampling) โดยแบ่งพื้นที่กรุงเทพมหานครออกเป็น 3 กลุ่มตามที่ตั้ง ได้แก่ เขตชั้นใน เขตชั้นกลาง และเขตชั้นนอก (สุขุมพันธุ์ บริพัตร, 2556) ดังนี้ เขตชั้นในได้สุ่มเก็บตัวอย่างจากตลาดสด จำนวน 4 เขต จาก 21 เขต ได้แก่ เขตบางกอกน้อย (ตลาดศาลาน้ำร้อน 6 ตัวอย่าง และตลาดพรานนก 1 ตัวอย่าง) เขตคลองเตย (ตลาดคลองเตย 3 ตัวอย่าง) เขตสาทร (ตลาดสะพานปลา 1 ตัวอย่าง) และเขตคลองสาน (ตลาดเงินวิจิตร 2 ตัวอย่าง) เขตชั้นกลางได้สุ่มเก็บตัวอย่างจากตลาดสด จำนวน 4 เขต จาก 18 เขต ได้แก่ เขตบางเขน (ตลาดยิ่งเจริญ 6 ตัวอย่าง) เขตบางกะปิ (ตลาดบางกะปิ 7 ตัวอย่าง) เขตบางแค (ตลาดวันเดอร์ 3 ตัวอย่าง และตลาดสี่แยกทศกัณฐ์ 1 ตัวอย่าง) และเขตวังทองหลาง (ตลาดสะพานสอง 1 ตัวอย่าง) และเขตชั้นนอกได้สุ่มเก็บตัวอย่างจากตลาดสด จำนวน 3 เขต จาก 11 เขต ได้แก่ เขตทวีวัฒนา (ตลาดสดธนบุรี 8 ตัวอย่าง และตลาดเวฬุรมาภิรักษ์ 5 ตัวอย่าง) เขตบางบอน (ตลาดเอกชัย 3 ตัวอย่าง) และเขตบางขุนเทียน (ตลาดบางขุนเทียน 3 ตัวอย่าง) ภายหลังจากเก็บตัวอย่าง



ตัวอย่างหอยนางรมดิบถูกบรรจุในภาชนะปลอดเชื้อ เก็บรักษาในภาชนะควบคุมอุณหภูมิระหว่างการขนส่ง และนำส่งห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวิเคราะห์ทันที

3.2 การเตรียมและตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่าง โดยการตัดตัวอย่างหอยนางรมดิบให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ผสมให้เข้ากัน สุ่มตัวอย่างหอยนางรมดิบปริมาณ 25 กรัม ใส่ลงใน Stomacher bag และบดตัวอย่างหอยนางรมดิบด้วยเครื่อง Stomacher ที่ความเร็ว 300 rpm เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปตรวจหาเชื้อ *V. parahaemolyticus* ด้วยวิธีมาตรฐานสำหรับการตรวจวิเคราะห์เชื้อในอาหารตามวิธีของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (กระทรวงสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2561) ซึ่งแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

1) การเพิ่มปริมาณเชื้อขั้นต้น (Primary selective enrichment) โดยการเติม Alkaline peptone water (APW) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างหอยนางรมดิบที่อยู่ใน Stomacher bag จากนั้นใส่ลงขวด Duran เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มเพาะเลี้ยงในตู้บ่มเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 41.5 องศาเซลเซียส นาน 6 ± 1 ชั่วโมง

2) การเพิ่มปริมาณเชื้อขั้นที่สอง (Secondary selective enrichment) ถ่ายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากบริเวณผิวหน้า APW (ข้อ 1) โดยไม่ต้องเขย่าขวด ใส่ลงในหลอดที่มี APW ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะเลี้ยงในตู้บ่มเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 41.5 องศาเซลเซียส นาน 18 ± 1 ชั่วโมง

3) การแยกและจำแนกเชื้อ (Isolation and identification) ถ่ายเชื้อจากบริเวณผิวหน้า APW ที่บ่มครบ 6 ± 1 ชั่วโมง (ข้อ 1) และ 18 ± 1 ชั่วโมง (ข้อ 2) โดย Streak บนผิวหน้า Thiosulfate citrate bile salts sucrose agar (TCBS agar) และ CHROMagar™ *Vibrio* นำไปบ่มเพาะเลี้ยงในตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ± 3 ชั่วโมง ภายหลังการเพาะแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ จะทำการคัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะหรือโคโลนีที่สงสัยจากแต่ละตัวอย่าง จำนวน 1-3 โคโลนี ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพิจารณาจากลักษณะของโคโลนี ได้แก่ โคโลนีผิวเรียบสีเขียว ขนาด 2-3 มิลลิเมตร บนอาหาร TCBS agar และโคโลนีผิวเรียบสีม่วงมันวาว ขนาด 2-3 มิลลิเมตร บนอาหาร CHROMagar™ *Vibrio*

ในการศึกษานี้ ได้คัดเลือกโคโลนีที่สงสัยรวมทั้งสิ้น 75 ไอโซเลต จากตัวอย่างหอยนางรมดิบจำนวน 50 ตัวอย่าง เพื่อนำไปตรวจยืนยันชนิดของเชื้อและตรวจหาชนิดของเชื้อด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยจำนวนไอโซเลตที่ได้มากกว่า 1 ไอโซเลต ต่อหนึ่งตัวอย่าง เนื่องจากบางตัวอย่างพบโคโลนีที่สงสัยหลายลักษณะบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ จึงทำการคัดเลือกหลายโคโลนีเพื่อเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเชื้อสายพันธุ์ก่อโรคที่อาจปะปนอยู่ในตัวอย่างเดียวกัน

4) การตรวจยืนยัน (Confirmation) โดยเลือกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะ หรือโคโลนีที่สงสัยจาก TCBS agar และ CHROMagar™ *Vibrio* นำโคโลนีที่คัดเลือกไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร Tryptic soy agar (TSA) จากนั้นนำมาตรวจยืนยันด้วยการย้อม Gram's stain การทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี และการตรวจยืนยันด้วยวิธี PCR

3.3 การตรวจยืนยันเชื้อ *V. parahaemolyticus*

นำโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะ หรือโคโลนีที่สงสัยจากข้อ 4) มาทำการตรวจยืนยัน ดังนี้

- 1) การตรวจยืนยันด้วยการย้อม Gram's stain จะให้ผลเป็น gram negative curved rod
- 2) การตรวจยืนยันด้วยการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ได้แก่ Oxidase test, Motility test, Decarboxylase test, Indole test, Halotolerance test (0% NaCl, 6% NaCl, 10% NaCl) จะให้ผลบวกต่อการทดสอบ Oxidase test, Motility test, Lysine decarboxylase test, Indole test, 6% NaCl และจะให้ผลลบกับการทดสอบ Arginine dihydrolase test, 0% NaCl, 10% NaCl





3) การตรวจยืนยันด้วยวิธี PCR โดยการตรวจหาชิ้น *toxR* เริ่มต้นด้วยการสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) จากเชื้อที่สงสัย โดยเชื้อโคลนเชื้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร TSA จำนวน 1 loop ลงในหลอด Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่บรรจุ Nuclease-free water ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนใน Heating block ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 13,000 g เป็นเวลา 5 นาที ก่อนเก็บส่วนใส (Supernatant) มาใช้เป็น DNA template สำหรับการทดสอบด้วยวิธี PCR การตรวจยืนยันเชื้อ *V. parahaemolyticus* ดำเนินการโดยตรวจหาชิ้น *toxR* ตามวิธีของ Kim et al. (1999) ซึ่งเป็นยีนจำเพาะของเชื้อและใช้เป็น Molecular marker สำหรับการยืนยันชนิดของเชื้อ โดยเตรียม Reaction mixture ต่อ 1 ปฏิกริยา ประกอบด้วย Master Mix 2x ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร, Forward primer 0.5 ไมโครลิตร, Reverse primer 0.5 ไมโครลิตร, DNA template 2 ไมโครลิตร และเติม Nuclease-free H₂O จนครบปริมาตร 25 ไมโครลิตร โดยลำดับ Primers ที่ใช้สำหรับตรวจหาชิ้น *toxR* แสดงดังตารางที่ 1 และเงื่อนไขอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกริยา PCR แสดงดังตารางที่ 2 ภายหลังสิ้นสุดปฏิกริยา PCR นำ PCR product ไปแยกขนาดด้วยวิธี Agarose gel electrophoresis บน 1.5% Agarose gel ที่ผสม RedSafe™ Nucleic acid staining solution โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นอ่านผลภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยเครื่องวิเคราะห์เจล (Gel documentation) โดย PCR product ของยีน *toxR* มีขนาด 368 bp

3.4 การตรวจหาชิ้น *tdh* และ *trh* ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ด้วยวิธี Multiplex PCR

นำเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ให้ผลบวกต่อการตรวจยืนยันด้วยวิธี PCR ของยีน *toxR* มาทำการตรวจหาชิ้นก่อโรค *tdh* และ *trh* ด้วยวิธี Multiplex PCR โดยใช้ยีน *toxR* เป็น Internal control เพื่อยืนยันคุณภาพของ DNA template และประสิทธิภาพของปฏิกริยา PCR ในแต่ละตัวอย่าง การเตรียม Reaction mixture ต่อ 1 ปฏิกริยา ประกอบด้วย Master Mix 2x ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร, Forward Primer 0.5 ไมโครลิตร, Reverse Primer 0.5 ไมโครลิตร, DNA template 2 ไมโครลิตร และเติม Nuclease-free H₂O จนครบปริมาตร 25 ไมโครลิตร โดยใช้ Primers สำหรับการตรวจหาชิ้น *tdh* และ *trh* ตามวิธีของ Bej et al. (1999) ดังตารางที่ 1 ส่วนอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกริยา Multiplex PCR สำหรับยีน *tdh* และ *trh* แสดงดังตารางที่ 2 ภายหลังสิ้นสุดปฏิกริยา PCR นำ PCR product ไปแยกขนาดด้วยวิธี Agarose gel electrophoresis บน 1.5% Agarose gel ที่ผสม RedSafe™ Nucleic acid staining solution โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นอ่านผลภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยเครื่องวิเคราะห์เจล โดย PCR product ของยีน *tdh* มีขนาด 269 bp และ ยีน *trh* มีขนาด 500 bp

3.5 การทดสอบความไวต่อยาด้านจุลชีพ (Antimicrobial Susceptibility Testing, AST)

ทำการทดสอบความไวต่อยาด้านจุลชีพของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ตามวิธีของ Kirby-Bauer disk diffusion โดยการนำเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ต้องการทดสอบ และเชื้อแบคทีเรียควบคุมคือ *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 และ *V. parahaemolyticus* ATCC17802 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้มาปรับความขุ่นในน้ำเกลือปราศจากเชื้อ (Sterile normal saline solution) ให้มีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard โดยใช้เครื่อง Densitometer จากนั้นนำไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ (Sterile cotton swab) มาจุ่มลงในหลอดทดลองดังกล่าว ปิดไม้พันสำลีกับหลอดทดลองให้หมดแล้วนำไปป้ายบน Mueller-Hinton agar ให้เป็น 3 ระบาย เพื่อให้เชื้อกระจายทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ 3-5 นาที เพื่อให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง จากนั้นใช้คีมคีบ (Forcep) คีบแผ่นยา (Antibiotics disk) 10 ชนิด ได้แก่ Ampicillin, Piperacillin-tazobactam, Cefoxitin, Cefotaxime, Ceftazidime, Meropenem, Gentamicin, Tetracycline, Ciprofloxacin



และ Trimethoprim-sulfamethoxazole วางลงบนผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง อ่านผลและแปลผลตามคำแนะนำของ Clinical and Laboratory Standard Institute (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015)

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล และสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลจะใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ จำนวนร้อยละ พร้อมทั้งนำเสนอข้อมูลวิสัย โดยใช้ตาราง

ตารางที่ 1 ลำดับไพรเมอร์ของยีน *toxR*, *tdh* และ *trh*

Primer	Primer sequence	PCR product (bp)	Reference
<i>toxR</i>			Kim et al., 1999
Forward	5'-GTC TTC TGA CGC AAT CGT TG -3'	368	
Reverse	5'-ATA CGA GTG GTT GCT GTC ATG -3'		
<i>tdh</i>			Bej et al., 1999
Forward	5'-GTA AAG GTC TCT GAC TTT TGG AC -3'	269	
Reverse	5'-TGG AAT AGA ACC TTC ATC TTC ACC -3'		
<i>trh</i>			Bej et al., 1999
Forward	5'-TTG GCT TCG ATA TTT TCA GTA TCT -3'	500	
Reverse	5'-CAT AAC AAA CAT ATG CCC ATT TCC G -3'		

ตารางที่ 2 อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR

Stage	<i>toxR</i>			<i>tdh/trh</i>		
	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาท.)	จำนวน รอบ	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาท.)	จำนวนรอบ
Pre-heating	96	5	1	94	3	1
Amplification	Denaturation	94	1	94	1	
	Annealing	63	1.5	58	1	30
	Extension	72	1.5	72	1	
Post amplification	72	7	1	72	5	1

4. ผลการวิจัย

4.1 การปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างหอยนางรมดิบ

จากการเก็บตัวอย่างหอยนางรมดิบจำนวน 50 ตัวอย่าง จากตลาดสดจำนวน 14 แห่ง ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ 3 เขตที่ตั้ง ได้แก่ เขตชั้นนอก เขตชั้นกลาง และเขตชั้นใน ในกรุงเทพมหานคร พบว่ามีตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* จำนวน 22 ตัวอย่าง (ร้อยละ 44.0) เมื่อจำแนกการปนเปื้อนตามเขตที่ตั้งของตลาดที่เก็บตัวอย่าง พบมีการปนเปื้อนเชื้อในทุกเขตที่ตั้งและมีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ดังนี้ เขตชั้นใน ได้แก่ ตลาดคลองเตย ตลาดเงินวิจิตร ตลาดศาลาน้ำร้อน และตลาดพรานนก พบมีการปนเปื้อนสูงสุด ร้อยละ 69.23 (9 ตัวอย่าง จาก 13 ตัวอย่าง) เขตชั้นกลาง ได้แก่ ตลาดยิ่งเจริญ ตลาดบางกะปิ และตลาดวันเดอร์ ตรวจพบเชื้อ



ร้อยละ 55.56 (10 ตัวอย่าง จาก 18 ตัวอย่าง) และเขตชั้นนอก ได้แก่ ตลาดสดธนบุรี และตลาดเวลิต์มาร์เก็ต พบมีการปนเปื้อนต่ำที่สุดร้อยละ 15.79 (3 ตัวอย่าง จาก 19 ตัวอย่าง) ดังตารางที่ 3

4.2 การตรวจหายีนก่อโรค *tdh* และ *trh* ของเชื้อ *V. parahaemolyticus*

เชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากตัวอย่างหอยนางรมดิบ ทั้ง 75 ไอโซเลต จากจำนวน 22 ตัวอย่าง นำมาตรวจหายีนก่อโรค 2 ชนิด คือ *tdh* และ *trh* ด้วยเทคนิค Multiplex PCR ผลการตรวจไม่พบยีนก่อโรคทั้งสองชนิดในเชื้อทั้ง 75 ไอโซเลต

4.3 ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ

นำเชื้อ *V. parahaemolyticus* จำนวน 29 ไอโซเลต ไปทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ จำนวน 10 ชนิด ซึ่งครอบคลุม 9 กลุ่มยา (Antimicrobial categories) ด้วยวิธี Kirby-Bauer disk diffusion และแปลผลตามเกณฑ์ของ CLSI ผลการทดสอบพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ส่วนใหญ่มีการดื้อต่อยา Ampicillin ร้อยละ 31.03 (9 ไอโซเลต) รองลงมาคือ Cefoxitin และ Tetracycline ร้อยละ 6.90 (2 ไอโซเลต) และพบว่าเชื้อทุกไอโซเลต (ร้อยละ 100) มีความไวต่อยา 5 ชนิด ได้แก่ Piperacillin-tazobactam, Cefotaxime, Ceftazidime, Gentamicin และ Ciprofloxacin ดังตารางที่ 4

4.4 แบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพ

จากผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ส่วนใหญ่มีความไวต่อยาต้านจุลชีพ โดยพบว่ามีจำนวน 20 ไอโซเลต (ร้อยละ 68.97) ไม่แสดงการดื้อต่อยาต้านจุลชีพทั้ง 10 ชนิด ที่ทดสอบ และพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ดื้อต่อยาจำนวน 9 ไอโซเลต (ร้อยละ 31.03) โดยพบมีแบบแผนการดื้อยา 3 แบบ ดังนี้ แบบที่ 1 การดื้อยา 1 ชนิด (Single-drug resistance) พบจำนวน 5 ไอโซเลต (ร้อยละ 17.24) โดยทั้ง 5 ไอโซเลต แสดงแบบแผนการดื้อยาชนิดเดียวกัน คือดื้อต่อยา Ampicillin แบบที่ 2 การดื้อยา 2 ชนิด พบจำนวน 3 ไอโซเลต (ร้อยละ 10.34) โดยพบการดื้อยามี 2 แบบแผน คือ ดื้อต่อยา Ampicillin และ Tetracycline จำนวน 1 ไอโซเลต (ร้อยละ 3.45) และ ดื้อต่อยา Ampicillin และ Cefoxitin จำนวน 2 ไอโซเลต (ร้อยละ 6.90) และแบบที่ 3 การดื้อยาหลายชนิดหรือดื้อต่อยาตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป (MDR) พบจำนวน 1 ไอโซเลต (ร้อยละ 3.45) โดยแบบแผนการดื้อยาหลายชนิดที่พบ คือการดื้อยาร่วมกันระหว่าง Ampicillin, Meropenem, Tetracycline และ Trimethoprim-sulfamethoxazole ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 3 ผลการตรวจหาเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างหอยนางรมดิบ (n=50)

เขตที่ตั้ง	เขต	ชื่อตลาด	จำนวนตัวอย่าง หอยนางรมดิบ	จำนวนตัวอย่าง (ร้อยละ) ที่ตรวจพบเชื้อ
เขตชั้นใน	คลองเตย	ตลาดคลองเตย	3	2
	สาทร	ตลาดสะพานปลา	1	0
	คลองสาน	ตลาดเงินวิจิตร	2	2
	บางกอกน้อย	ตลาดศาลาน้ำร้อน	6	4
		ตลาดพรานนก	1	1
		รวม	13	9 (69.23)
เขตชั้นกลาง	บางเขน	ตลาดยิ่งเจริญ	6	4
	บางกะปิ	ตลาดบางกะปิ	7	5
	วังทองหลาง	ตลาดสะพานสอง	1	0

ตารางที่ 3 ผลการตรวจหาเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างหอยนางรมดิบ (n=50) (ต่อ)

เขตที่ตั้ง	เขต	ชื่อตลาด	จำนวนตัวอย่าง หอยนางรมดิบ	จำนวนตัวอย่าง (ร้อยละ) ที่ตรวจพบเชื้อ
เขตชั้นกลาง	บางแค	ตลาดวันเดอร์	3	1
		ตลาดสี่แยกทศกัณฐ์	1	0
		รวม	18	10 (55.56)
เขตชั้นนอก	บางบอน	ตลาดเอกชัย	3	0
	บางขุนเทียน	ตลาดบางขุนเทียน	3	0
	ทวีวัฒนา	ตลาดสดธนบุรี	8	1
		ตลาดเวिल्ด์มาร์เก็ต	5	2
		รวม	19	3 (15.79)
รวมทั้งหมด			50	22 (44.0)

ตารางที่ 4 ผลความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *V. parahaemolyticus* (n=29)

ยาต้านจุลชีพ	ความเข้มข้น (ไมโครกรัม)	จำนวนไอโซเลตของแบคทีเรีย (ร้อยละ)		
		Susceptible	Intermediate	Resistant
กลุ่ม Penicillins and beta-lactam/ beta-lactamase inhibitor combinations				
Ampicillin (AMP)	10	17 (58.62)	3 (10.35)	9 (31.03)
กลุ่ม Penicillins/ beta-lactamase inhibitor combinations				
Piperacillin-tazobactam (TZP)	110	29 (100)	0 (0)	0 (0)
กลุ่ม Cephamycins				
Cefoxitin (FOX)	30	26 (89.65)	1 (3.45)	2 (6.90)
กลุ่ม 3 rd Generation Cephalosporins				
Cefotaxime (CTX)	30	29 (100)	0 (0)	0 (0)
Ceftazidime (CAZ)	30	29 (100)	0 (0)	0 (0)
กลุ่ม Carbapenems				
Meropenem (MEM)	10	28 (96.55)	0 (0)	1 (3.45)
กลุ่ม Aminoglycosides				
Gentamicin (CN)	10	29 (100)	0 (0)	0 (0)
กลุ่ม Tetracyclines				
Tetracycline (TE)	30	27 (93.10)	0 (0)	2 (6.90)
กลุ่ม Fluoroquinolones				
Ciprofloxacin (CIP)	5	29 (100)	0 (0)	0 (0)
กลุ่ม Folate pathway inhibitors				
Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)	25	28 (96.55)	0 (0)	1 (3.45)

ตารางที่ 5 แบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *V. parahaemolyticus* (n=29)

แบบแผนความไวต่อยาต้านจุลชีพ	จำนวนไอโซเลต (ร้อยละ)
ไวต่อยาทุกชนิด	20 (68.97)
ดื้อต่อยา	9 (31.03)
ดื้อต่อยา 1 ชนิด	
- AMP	5 (17.24)
ดื้อต่อยา 2 ชนิด	
- AMP-TE	1 (3.45)
- AMP-FOX	2 (6.90)
ดื้อต่อยา 4 ชนิด	
- AMP-MEM-TE-SXT	1 (3.45)

5. อภิปรายผล

จากการศึกษาพบการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างหอยนางรมดิบที่จำหน่ายในตลาดสด ในกรุงเทพมหานคร ร้อยละ 44.0 (22 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 50 ตัวอย่าง) ถือเป็นอัตราการปนเปื้อนที่ค่อนข้างสูง ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Tewawong et al. (2024) ที่พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในหอยนางรม ในอัตราสูงถึงร้อยละ 48.8-100 และสอดคล้องกับการศึกษาในต่างประเทศที่มักพบการปนเปื้อนเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างหอยนางรมดิบ ในช่วงร้อยละ 20-60 (Ngasotter et al., 2022) จะเห็นได้ว่าหอยนางรมดิบเป็นแหล่งรังโรค (Reservoir) ที่สำคัญของเชื้อนี้ เนื่องจากธรรมชาติของหอยนางรมที่เป็นสัตว์ที่กินอาหารแบบกรอง จึงทำให้เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในน้ำทะเลหรือในสิ่งแวดล้อมทางทะเล สามารถสะสมไว้ในเนื้อเยื่อของหอยนางรมได้ในปริมาณมาก (Gosling, 2015) และจากการตรวจพบเชื้อในสัดส่วนที่ค่อนข้างสูงในตลาดสด กรุงเทพมหานคร ทั้ง 3 เขต ได้แก่ เขตชั้นนอก เขตชั้นกลาง และเขตชั้นใน อาจเกิดจากกระบวนการล้าง การแยกเปลือก การบรรจุในภาชนะ การจัดเก็บ รวมถึงการจำหน่ายหอยนางรมดิบในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม อาจส่งผลให้เชื้อ *V. parahaemolyticus* สามารถเจริญเติบโตได้ง่าย ดังนั้นผู้บริโภคที่นิยมรับประทานหอยนางรมดิบหรือปรุงไม่สุก อาจมีโอกาสดูดซับเชื้อเข้าสู่ร่างกาย อันจะส่งผลให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษหรือโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบเฉียบพลันได้

จากผลการตรวจหายีนก่อโรค *tdh* และ *trh* ซึ่งเป็น Virulence factor gene ที่เกี่ยวข้องกับความเสี่ยงในการก่อโรค พบว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้ทั้งหมด 75 ไอโซเลต ไม่พบยีนก่อโรคทั้งสองชนิด แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากหอยนางรมดิบเป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการก่อโรคต่ำกว่าสายพันธุ์ที่มีความสำคัญทางคลินิก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Tewawong et al. (2024) อาจแสดงให้เห็นว่าแม้หอยนางรมดิบที่จำหน่ายในตลาดสดจะมีการปนเปื้อนเชื้อ แต่อาจไม่ได้ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษหรือโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบเฉียบพลันในผู้บริโภคทุกราย ทั้งนี้ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อที่ได้รับ (กรมควบคุมโรค กลุ่มระบาดวิทยาโรคติดต่อ, 2562) สภาพของร่างกายหรือภูมิคุ้มกันของผู้บริโภค และพฤติกรรมกรบริโภค เช่น การบริโภคหอยนางรมดิบ เป็นต้น ทั้งนี้พบว่าสารพิษ TRH ที่เชื้อสร้างขึ้นจะถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สำหรับสารพิษ TDH ถึงแม้จะมีความคงทนต่อความร้อนสูงกว่าสารพิษ TRH แต่สามารถคงสภาพได้ที่อุณหภูมิ 70-100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีเท่านั้น ดังนั้นหากรับประทานหอยนางรมผ่านการปรุงสุกด้วยการให้ความร้อนสูงกว่าอุณหภูมิดังกล่าวที่เพียงพอและทั่วถึง จะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคอาหารเป็นพิษได้





อย่างไรก็ตาม แม้การศึกษาจะตรวจไม่พบยีนก่อโรค *tdh* และ *trh* ซึ่งเป็น Virulence factor หลักของเชื้อ *V. parahaemolyticus* แต่มีรายงานว่าเชื้อสายพันธุ์จากสิ่งแวดล้อมบางส่วนยังสามารถก่อโรคได้ผ่านปัจจัยก่อความรุนแรงอื่น (Alternative virulence factors) เช่น ระบบการหลั่งสารชนิดที่ 3 (Type III secretion systems; T3SS1 และ T3SS2) ระบบการหลั่งสารชนิดที่ 6 (Type VI secretion systems; T6SS) ความสามารถในการสร้าง Biofilm การสร้าง Extracellular proteases รวมถึงความสามารถในการยึดเกาะและบุกรุกเซลล์เยื่อลำไส้ (Wang et al., 2022; Stratev et al., 2023) โดยเฉพาะ T3SS1 ซึ่งพบได้ในเชื้อเกือบทุกสายพันธุ์ มีบทบาทเกี่ยวข้องกับความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity) และการทำลายเซลล์เจ้าบ้าน ขณะที่ T3SS2 มักสัมพันธ์กับสายพันธุ์ก่อโรคในคน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าความสามารถในการสร้าง Biofilm ของเชื้อ อาจช่วยเพิ่มความสามารถในการอยู่รอดในสิ่งแวดล้อมและเพิ่มโอกาสการปนเปื้อนในอาหารทะเล (Bai et al., 2024) ดังนั้นการตรวจไม่พบยีน *tdh* และ *trh* ในงานวิจัยนี้ จึงไม่ได้หมายความว่าหอยนางรมดิบดังกล่าวจะปราศจากความเสี่ยงทางสาธารณสุขทั้งหมด

จากผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ 10 ชนิด พบเชื้อที่ดื้อยา ร้อยละ 31.03 ในขณะที่เชื้อส่วนใหญ่ (ร้อยละ 68.97) ยังคงไวต่อยาทั้งหมดที่ทดสอบ จะเห็นได้ว่าการพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากหอยนางรมดิบมีการดื้อยาถึงร้อยละ 31.03 เป็นสิ่งที่ควรตระหนักและให้ความสำคัญแม้ว่าส่วนใหญ่ยังไวต่อยาก็ตาม เมื่อพิจารณาจากแบบแผนการดื้อยาทั้ง 3 แบบที่พบ ได้แก่ แบบที่ 1 ดื้อยา 1 ชนิด พบ ร้อยละ 17.24 ดื้อยา Ampicillin ทุกไอโซเลต แบบที่ 2 ดื้อยา 2 ชนิด พบร้อยละ 10.34 โดยพบมีการดื้อยา Ampicillin เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ดื้อยา Ampicillin-Tetracycline และ ดื้อยา Ampicillin-Cefoxitin แบบที่ 3 ดื้อยาหลายชนิด หรือ Multidrug-resistance (MDR) พบร้อยละ 3.45 โดยพบดื้อยา Ampicillin เป็นองค์ประกอบร่วมด้วย (Ampicillin, Meropenem, Tetracycline และ Trimethoprim- sulfamethoxazole) จะเห็นได้ว่ายา Ampicillin เป็นยาที่พบการดื้อยาบ่อยที่สุดในการศึกษานี้ โดยพบในทุกแบบแผนของการดื้อยาที่ตรวจพบ สอดคล้องกับการศึกษาของ Bai et al. (2024) ในประเทศจีน ที่พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากอาหารทะเลมีการดื้อยา Ampicillin สูงถึงร้อยละ 90.8 และจากการศึกษาของ วินน์ คันต์ (2561) ที่พบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากหอยนางรมและน้ำบริเวณปากแม่น้ำทางภาคใต้ของประเทศไทย มีการดื้อยา Ampicillin ใกล้เคียงกัน จะเห็นได้ว่าการดื้อยา Ampicillin ของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากหอยนางรมดิบ หรือที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมทางทะเลเกิดจากการแพร่กระจายของยีนดื้อยาอย่างกว้างขวางในสิ่งแวดล้อม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานจำนวนมากทั่วโลกที่ระบุว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* มักดื้อยาในกลุ่ม Penicillins ตามธรรมชาติ (Intrinsic resistance) (Chiou et al., 2015) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างกว้างขวางในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และจากการพบการดื้อยา 2 ชนิด ได้แก่ การดื้อยาร่วมกันระหว่าง Ampicillin และ Cefoxitin หรือ Ampicillin และ Tetracycline ซึ่งให้เห็นถึงการสะสมยีนดื้อยาที่หลากหลายในเชื้อนี้

นอกจากนี้จากการศึกษาพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ดื้อยาหลายชนิด (MDR) โดยมีแบบแผนการดื้อยาร่วมกันระหว่าง Ampicillin, Meropenem, Tetracycline และ Trimethoprim- sulfamethoxazole ร้อยละ 3.45 ใกล้เคียงกับการศึกษาของวินน์ คันต์ (2561) ที่ทำการศึกษาดื้อยาด้านจุลชีพของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากหอยนางรมและน้ำบริเวณปากแม่น้ำทางภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งพบเชื้อดื้อยาแบบ MDR ร้อยละ 5.1 ดังนั้นการตรวจพบเชื้อ MDR ในหอยนางรมดิบหรือในห่วงโซ่อาหารนับเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุข เพราะอาจทำให้การรักษาการติดเชื้อที่รุนแรงมีความซับซ้อนและมีข้อจำกัดมากขึ้น จึงจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง การพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ดื้อยาและดื้อยาหลายชนิดในตัวอย่างหอยนางรมดิบจากสิ่งแวดล้อมทางทะเล อาจเกิดจากหลายปัจจัยร่วมกัน ได้แก่ การใช้ยาปฏิชีวนะ



อย่างกว้างขวางในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ การปนเปื้อนของน้ำเสียจากชุมชน โรงพยาบาล และภาคการเกษตร ลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ รวมถึงการสะสมของสารตกค้างจากยาต้านจุลชีพในตะกอนทะเล ซึ่งส่งผลเชื้อแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม (Xiao et al., 2023; Yuan et al., 2023) นอกจากนี้เชื้อในสกุล *Vibrio* ยังสามารถแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยา เช่น Plasmids, Integrans และ Transposons กับแบคทีเรียชนิดอื่นผ่านกระบวนการ Horizontal gene transfer ได้ ส่งผลให้ยีนดื้อยาสามารถแพร่กระจายในห่วงโซ่อาหารทะเลอย่างต่อเนื่อง (Deng et al., 2025) ดังนั้นการตรวจพบเชื้อดื้อยาในหอยนางรมดิบจึงอาจใช้เป็นตัวชี้วัดหนึ่งของการปนเปื้อนยาต้านจุลชีพในสิ่งแวดล้อมทางทะเล และสะท้อนความจำเป็นของการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาแบบ One Health ที่เชื่อมโยงระหว่างมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อมในอนาคต และจากการศึกษาพบว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ดื้อยาแบบ MDR นี้ พบมีการดื้อยา Meropenem ซึ่งเป็นยาที่อยู่ในกลุ่ม Carbapenems ถือเป็นสิ่งที่ควรตระหนักและให้ความสำคัญอย่างมากทางด้านสาธารณสุข เนื่องจากยา Carbapenems จัดเป็นยาทางเลือกสุดท้าย (Last-resort antibiotics) สำหรับการรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ดื้อยาหลายชนิด ทั้งนี้จากการตรวจพบการดื้อยาในกลุ่ม Carbapenems ในเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่แยกได้จากหอยนางรมดิบชี้ให้เห็นว่าอาจเกิดจากการแพร่กระจายของยีนดื้อยาจากสิ่งแวดล้อมทางคลินิกสู่สิ่งแวดล้อมทางทะเล และอาจเกิดการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาเข้าสู่มนุษย์ผ่านห่วงโซ่อาหาร อันจะส่งผลให้การเลือกใช้ยาในการรักษาการติดเชื้อในกระแสเลือดหรือการติดเชื้อในระบบอื่น ๆ จากเชื้อดังกล่าวมีข้อจำกัดได้ และจากการตรวจพบว่าเชื้อส่วนใหญ่ (ร้อยละ 68.97) ยังไวต่อยาทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ และเชื้อทุกไอโซเลตยังคงไวต่อยาสำคัญ เช่น ยาในกลุ่ม Fluoroquinolones (Ciprofloxacin) และยาในกลุ่ม 3rd Generation Cephalosporins (Cefotaxime, Ceftazidime) ถือเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับแพทย์ในการพิจารณาให้การรักษาเบื้องต้นแบบ Empirical therapy ในผู้ป่วยที่สงสัยว่ามีการติดเชื้อ *V. parahaemolyticus*

จากการศึกษานี้จะพบว่าหอยนางรมดิบที่จำหน่ายในตลาดสด กรุงเทพมหานคร ทั้งในเขตที่ตั้ง ชานนอก ชานกลาง และชั้นใน มีการปนเปื้อนเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในระดับที่สูง และจากผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพยังเป็นข้อมูลสำคัญที่สะท้อนให้เห็นว่า เชื้อดังกล่าวมีการดื้อยา Ampicillin และยังพบเชื้อมีการดื้อยาหลายชนิด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องมีการเฝ้าระวังเชื้อก่อโรคและการดื้อยาในห่วงโซ่อาหารอย่างต่อเนื่อง และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับหน่วยงานด้านสาธารณสุขในการสื่อสารหรือประชาสัมพันธ์ให้ความรู้เกี่ยวกับความเสี่ยงหรืออันตรายจากการบริโภคหอยนางรมดิบหรือปรุงไม่สุกต่อผู้บริโภคต่อไป

6. ข้อเสนอแนะ

การพบการปนเปื้อนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตัวอย่างหอยนางรมดิบ อาจส่งผลให้ผู้บริโภคมีโอกาสได้รับเชื้อดังกล่าวเข้าสู่ร่างกาย และมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบเฉียบพลัน ดังนั้นควรมีการประชาสัมพันธ์และให้ข้อมูลด้านความปลอดภัยทางอาหารไปยังผู้บริโภคให้ตระหนักถึงความเสี่ยงของการบริโภคหอยนางรมดิบหรือหอยนางรมที่ปรุงสุกไม่ทั่วถึง โดยแนะนำให้บริโภคหอยนางรมที่ผ่านการปรุงสุกด้วยความร้อนอย่างเพียงพอ เพื่อลดการติดเชื้อและป้องกันการเกิดโรคดังกล่าว นอกจากนี้ควรมีการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อของหอยนางรมดิบในตลาดสดอย่างสม่ำเสมอ เพื่อเป็นการเฝ้าระวังและเพิ่มความปลอดภัยทางอาหารให้กับผู้บริโภค

จากข้อมูลแบบแผนการดื้อยาที่ได้จากการศึกษา มีประโยชน์ต่อการเลือกใช้ยาในการรักษาโรคอาหารเป็นพิษ หรือโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบเฉียบพลันที่สงสัยว่าเกิดจากเชื้อ *V. parahaemolyticus* จะเห็นได้ว่าไม่ควรเลือกใช้ยา Ampicillin ในการรักษา และควรพิจารณาเลือกยาในกลุ่ม Fluoroquinolones ได้แก่ Ciprofloxacin หรือยาในกลุ่ม 3rd Generation Cephalosporins ได้แก่ Cefotaxime, Ceftazidime เป็นยา





ทางเลือกแรกในการรักษาผู้ป่วย และจากการศึกษาการตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ดื้อต่อยาหลายชนิด รวมทั้งพบดื้อต่อยา Meropenem ซึ่งเป็นยาที่อยู่ในกลุ่ม Carbapenems ถือเป็นเรื่องที่ต้องให้ความสำคัญ เนื่องจากยาในกลุ่ม Carbapenems จัดเป็นยาทางเลือกสุดท้ายสำหรับการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ดื้อยาหลายชนิด ดังนั้นควรทำการเฝ้าระวังสำหรับเชื้อดื้อยาในหอยนางรมดิบและในอาหารทะเลชนิดอื่น ๆ

7. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

8. เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมโรค. (2568). *ประกาศกรมควบคุมโรค เรื่องการป้องกันโรคและภัยสุขภาพ ที่เกิดในช่วงฤดูร้อนของประเทศไทย พ.ศ. 2568*. กรมควบคุมโรค, <https://ddc.moph.go.th/uploads/publish/1686320250311080656.pdf>
- กระทรวงสาธารณสุข, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2561). *วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่ 6*. พิทู ดีไซน์ แอนด์ พรินท์.
- กรมควบคุมโรค, กลุ่มระบาดวิทยาโรคติดต่อ. (2562). *อาหารเป็นพิษ (Food Poisoning)*. กรมควบคุมโรค, https://ddc.moph.go.th/disease_detail.php?d=10.
- วินน์ คันต์. (2561). *การตรวจหาการดื้อยาด้านจุลชีพในไวรัสโอ พาราฮีโมลิติกส์ ที่แยกได้จากหอยนางรมและน้ำบริเวณปากแม่น้ำ* [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย].
- สุขุมพันธุ์ บริพัตร. (2556). *แผนการบริหารราชการกรุงเทพมหานคร พ.ศ.2556-2560*. สำนักงานยุทธศาสตร์และประเมินผล, <https://thaipublica.org/wp-content/uploads/2016/07/plan-กรุงเทพฯ-2556-2560.pdf>
- Bai, Y., Yang, Q., Sun, Y., Li, F., Sun, J., Yang, S., Yang, D., Peng, Z., Yang, B., Xu, J., Dong, Y., Yan, S., & Li, N. (2024). Antimicrobial susceptibility and genomic characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from aquatic foods in 15 provinces, China, 2020. *International Journal of Food Microbiology*, 418, 110737. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110737>
- Bej, A. K., Patterson, D. P., Brasher, C. W., Vickery, M. C. L., Jones, D. D., & Kaysner, C. A. (1999). Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of *tl*, *tdh* and *trh*. *Journal of Microbiological Methods*, 36(3), 215-225. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(99\)00037-8](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(99)00037-8)
- Centers for Disease Control and Prevention. (2024). *About Vibrio infection (vibriosis)*. U.S. Department of Health and Human Services. <https://www.cdc.gov/vibrio/index.html>
- Chiou, J., Li, R., & Chen, S. (2015). Carb-17 family of beta-lactamases mediates intrinsic resistance to penicillins in *Vibrio parahaemolyticus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(6), 3593–3595. <https://doi.org/10.1128/AAC.00047-15>





- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2015). *Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria* (3rd ed.; CLSI M45). CLSI.
- Deng, Y., Tan, A., Zhao, F., Wang, F., Gong, H., Lai, Y., & Huang, Z. (2025). Global distribution of antimicrobial resistance genes in aquaculture. *One Health Advances*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s44280-025-00071-5>
- Gosling, E. (2015). *Marine bivalve molluscs* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- Kim, Y. B., Okuda, J., Matsumoto, C., Takahashi, N., Hashimoto, S., & Nishibuchi, M. (1999). Identification of *Vibrio parahaemolyticus* strains at the species level by PCR targeted to the *toxR* gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(4), 1173-1177. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.4.1173-1177.1999>
- Ngasotter, S., Mukherjee, S., Singh, S. K., Bharti, D., Haque, R., Varshney, S., Nanda, C., Waikhom, D., Devi, M. S., & Singh, A. S. (2022). Prevalence, virulence and antibiotic resistance profiles of *Vibrio parahaemolyticus* from seafood and its environment: An updated review. *Mediterranean Journal of Infection Microbes and Antimicrobials*, 11(1), 1-1. <https://doi.org/10.4274/mjima.galenos.2021.2021.1>
- Stratev, D., Fasulkova, R., & Krumova-Valcheva, G. (2023). Incidence, virulence genes and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from seafood. *Microbial Pathogenesis*, 177, 106050. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106050>
- Tewawong, N., Kowaboot, S., Kengkarn, S., Thawornwan, U., Ramasoota, P., & Suthienkul, O. (2024). Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from clinical specimens and oysters in Thailand. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 18(6), 900-908. <https://doi.org/10.3855/jidc.18470>
- Vandeputte, M., Coppens, S., Bossier, P., Vereecke, N., & Vanrompay, D. (2024). Genomic mining of *Vibrio parahaemolyticus* highlights prevalence of antimicrobial resistance genes and new genetic markers associated with AHPND and *tdh* + */trh* + genotypes. *BMC Genomics*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10093-9>
- Wang, J., Zhan, Y., Sun, H., Fu, X., Kong, Q., Zhu, C., & Mou, H. (2022). Regulation of virulence factors expression during the intestinal colonization of *Vibrio parahaemolyticus*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 19(3), 169-178. <https://doi.org/10.1089/fpd.2021.0057>
- Xiao, Y., Wang, H., Wang, C., Gao, H., Wang, Y., & Xu, J. (2023). Trends in and future research direction of antimicrobial resistance in global aquaculture systems: A review. *Sustainability*, 15(11), 9012. <https://doi.org/10.3390/su15119012>
- Yuan, X., Lv, Z., Zhang, Z., Han, Y., Liu, Z., & Zhang, H. (2023). A review of antibiotics, antibiotic resistant bacteria, and resistance genes in aquaculture: occurrence, contamination, and transmission. *Toxics*, 11(5), 420. <https://doi.org/10.3390/toxics11050420>

