

ความชุกของการพบเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ในดินจาก
ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ของประเทศไทย
Prevalence of *Burkholderia pseudomallei* in soil from the
North, the Northeast and the South of Thailand.

รายงานฉบับสมบูรณ์ เสนอต่อ สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย

โดย

ประสิทธิ์	ธราวิจิตรกุล	นริศร	นางาม	วราภรณ์	วาทะกุล
ยรรยง	คันธวะ	พิทักษ์	น้อยเมธ	ศิโรจ	จิตต์สุรงค์
		พันธ์เพชร	น้อยเมธ	อนุชิต	บิลหะ
		หมพูนุก	หมั่นละไพโร		

คำนำ

รายงานผลการวิจัยฉบับนี้ได้รับงบประมาณจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว) และสำเร็จลงได้ด้วยความร่วมมือระหว่างมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยมี ศ.นพ.วิษณุ ธรรมลิขิตกุล เป็นผู้ประสานงาน ให้คำแนะนำและช่วยเหลือ คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ใน ด้านระบาดวิทยาแก่ผู้ที่กำลังศึกษาเชื้อ *B. pseudomallei* ทุกท่าน

12 มีนาคม 2541

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
บทที่ 1 บทนำ	2
บทที่ 2 วิธีวิจัย	5
บทที่ 3 ผลการวิจัย	7
บทที่ 4 วิจารณ์	10
รายละเอียดงบประมาณโครงการวิจัยทางภาคเหนือ	20
รายละเอียดงบประมาณโครงการวิจัยทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	23
รายละเอียดงบประมาณโครงการวิจัยทางภาคใต้	25
ภาคผนวก	27
เอกสารอ้างอิง	30

ความชุกของการพบเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ในดินจาก
ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ของประเทศไทย
Prevalence of *Burkholderia pseudomallei* in soil from the North,
the Northeast and the South of Thailand.

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาหาความชุกของเชื้อ *B. pseudomallei* จากดินบริเวณสองข้างทาง
หลวงภาคเหนือ ครอบคลุม 19 จังหวัด ภาคตะวันออกเฉียงเหนือครอบคลุม 17 จังหวัด และ
ภาคใต้ครอบคลุม 17 จังหวัด ของประเทศไทย โดยใช้ basal salt solution ซึ่งเติม
L-threonine (TBSS) เป็น selective enrichment broth และ modified Ashdown's agar เป็น
selective-differential medium บ่มที่ 42°C ช่วงเวลาที่ศึกษาอยู่ระหว่างเดือนกันยายน ถึง
เดือนธันวาคม 2540 ผลปรากฏว่า จากตัวอย่างดินที่เก็บทั้งหมด 3,585 ตัวอย่าง พบเชื้อ
B. pseudomallei เป็นจำนวน 408 ตัวอย่าง (11.4%) แบ่งเป็นดินที่เก็บบริเวณสองข้างทาง
หลวงภาคเหนือ 816 ตัวอย่าง พบเชื้อ 38 ตัวอย่าง (4.7%) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 1,428
ตัวอย่าง พบเชื้อ 291 ตัวอย่าง (20.4%) และภาคใต้ 1,341 ตัวอย่าง พบเชื้อ 79 ตัวอย่าง
(5.9%) ความชุกของการพบเชื้อ *B. pseudomallei* จากตัวอย่างดินตามตำแหน่งที่เก็บ พบสูง
สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ เก็บดิน 357 ตำแหน่ง พบเชื้อ 179 ตำแหน่ง (50.3%)
รองลงมาคือภาคใต้ เก็บดิน 335 ตำแหน่ง พบเชื้อ 63 ตำแหน่ง (18.8%) และภาคเหนือ เก็บ
ดิน 204 ตำแหน่ง พบเชื้อ 31 ตำแหน่ง (15.2%) จากผลการวิจัยสนับสนุนอุบัติการณ์ของการ
พบผู้ป่วย melioidosis เป็นจำนวนมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

บทที่ 1

บทนำ

B.pseudomallei เป็นสาเหตุของโรค melioidosis โรคนี้มีรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1912 โดย Whitmore และ Krishnaswami¹ ในประเทศพม่า และในปี ค.ศ. 1955 ได้มีรายงานผู้ป่วยที่เป็นคนไทยรายแรก² โรคนี้ถูกให้ความสนใจมากขึ้น เมื่อมีรายงานว่าทหารอเมริกันที่ไปรบในเวียดนามเจ็บป่วยและถึงแก่กรรมจากโรคนี้เป็นจำนวนมาก melioidosis เป็นโรคที่พบระบาดอยู่ในประเทศแถบเอเชียอาคเนย์ ที่ตั้งอยู่ระหว่างเส้นรุ้งขนาน 20 องศาเหนือและใต้ เช่น มาเลเซีย ไทย อินโดนีเซีย พม่า เวียดนาม กัมพูชา และลาว และพบได้ทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย นอกจากนี้มีรายงานผู้ป่วยที่เคยอยู่ในแถบที่มีโรคนี้แล้วย้ายเข้าไปอยู่ในสหรัฐอเมริกา อังกฤษ ฝรั่งเศส และแอฟริกา³

ในประเทศไทยโรคนี้พบได้ทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีรายงานผู้ป่วยจากจังหวัดอุบลราชธานี และขอนแก่น ปีละ 100-150 คน รองลงมาคือภาคใต้และภาคเหนือ⁴ ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นพวกชาวนา ชาวไร่ ที่ต้องสัมผัสกับดินและน้ำ ผู้ป่วยมีทั้งที่เป็นผู้ที่มีสุขภาพดี แข็งแรง และมีโรคเดิม เช่น โรคเบาหวาน โรคไต โรคธาลัสซีเมีย มะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็นต้น⁵ พบโรคนี้ในผู้ที่มีโรคเดิมอยู่ถึง 53% อายุผู้ป่วยมีตั้งแต่เป็นทารกแรกเกิดจนอายุมากกว่า 80 ปี แต่พบมากในช่วงอายุ 40-50 ปี เพศชายเป็นมากกว่าเพศหญิง โรคนี้เป็นได้กับทุกอวัยวะของร่างกาย อาการแสดงออกของโรคมีได้หลายแบบขึ้นกับอวัยวะที่ติดเชื้อ^{6,7} ผู้ป่วยส่วนใหญ่ประมาณ 88% มีอาการไข้ซึ่งพบร่วมกับอาการอื่นถึง 35.3% นอกจากนั้นก็มีอาการไอ ซึ่งเกือบครึ่งหนึ่งมีเสมหะร่วมด้วย เบื่ออาหาร ปวดท้อง ปวดตามตัว กลืนได้ ท้องเสีย ผู้ป่วยที่มีอาการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน (acute form) เป็นพวกที่มีอาการรุนแรง จะมีการติดเชื้อในกระแสโลหิต ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบอัตราการตายในพวกนี้สูงถึง 60-80% และสูงกว่าการติดเชื้อในกระแสเลือดจากเชื้อตัวอื่นอย่างมีนัยสำคัญ^{8,9} ผู้ป่วยจะเสียชีวิตภายใน 1-3 วัน จากการตรวจศพจะพบหนองฝีกระจายอยู่ในอวัยวะภายในทั่ว ๆ ไป เช่น ปอด ตับ และม้าม ผู้ป่วยเรื้อรัง (chronic form)

จะพบฝืดตามที่ต่าง ๆ เช่น ที่ผิวหนัง ต่อมน้ำเหลือง กระจก การติดเชื้ออาจอยู่นานหลายปี โดยผู้ป่วยมีอาการไม่รุนแรง ผู้ป่วยแบบสุดท้ายคือ subacute form เป็นผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อแฝงอยู่ในร่างกายเป็นเวลานาน เมื่อมีภาวะที่กระตุ้นให้เกิดโรค จึงจะปรากฏอาการออกมา ผู้ป่วยอาจมีไข้โดยไม่ทราบสาเหตุ พบเชื้อในกระแสโลหิตเป็นครั้งคราว มีไข้เป็น ๆ หาย ๆ และอาจเปลี่ยนเป็นแบบเฉียบพลันได้ ผู้ป่วย melioidosis เมื่อได้รับการรักษาจนอาการดีขึ้น และติดตามไปอีกระยะหนึ่ง จะพบว่ามีการกลับเป็นซ้ำของโรคได้ถึง 23% โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบในผู้ติดเชื้อที่อวัยวะหลาย ๆ แห่ง หรือมีการติดเชื้อในกระแสโลหิต¹⁰

B. pseudomallei ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคนี เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบอยู่ในสภาวะแวดล้อมทั่วไป แหล่งธรรมชาติที่พบมากที่สุดคือในดินและน้ำ ในประเทศไทยเคยมีการสำรวจเชื้อตัวนี้ในปี ค.ศ. 1970 และพบเชื้ออยู่ทั่วประเทศ¹¹ โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบที่จังหวัดบุรีรัมย์ อุบลราชธานี นครพนม และเลย ภาคกลางพบที่จังหวัดปราจีนบุรี สุพรรณบุรี สระบุรี และนครนายก ภาคเหนือพบที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน ส่วนทางภาคใต้พบเชื้อที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ สงขลา ปัตตานี ยะลา และนราธิวาส และจากการสำรวจประชากรไทยที่มีสุขภาพสมบูรณ์ แข็งแรง พบว่ามีแอนติบอดีต่อเชื้อตัวนี้อยู่ถึง 20-30%¹² โดยเฉพาะที่จังหวัดอุบลราชธานี จากการศึกษาย้อนหลังในผู้ป่วย 169 คน ที่โรงพยาบาลสรรพสิทธิประสงค์ พบผู้ให้ผลบวกต่อเชื้อ *B. pseudomallei* เกือบครึ่งหนึ่งของเลือดที่ตรวจ¹³ ในขณะที่ทางภาคใต้ สืบสายและคณะ ได้ทำการทดสอบหาแอนติบอดีในประชากรภาคใต้ พบผู้ที่ให้ผลบวก 12.1%¹⁴ แสดงว่าประชากรไทยบางส่วนมีการติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ นอกจากนี้ในปี ค.ศ.1985 ได้มีการประชุม National workshop on melioidosis และมีรายงานผู้ป่วย melioidosis จากประเทศไทยสูงที่สุดคือ 772 ราย ซึ่งสูงที่สุดในโลก¹⁵ แสดงว่าโรคนีเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทย น่าจะมีการศึกษาค้นคว้าอย่างละเอียด โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่น่าสนใจคือในประเทศไทยบริเวณที่พบผู้ป่วยมากที่สุดคือทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี ศรีสะเกษ ขอนแก่น มหาสารคาม บุรีรัมย์ ร้อยเอ็ด สุรินทร์ และนครราชสีมา¹⁶⁻¹⁹ เมื่อเทียบกับภาคอื่น ๆ ของประเทศ เช่น ภาคเหนือ และภาคใต้ จะพบน้อยกว่ามาก ถึงแม้ว่าจะมีรายงานการพบเชื้อ *B. pseudomallei* ก่อนข้างสูงในภาคใต้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง จังหวัดสงขลา พบเชื้อได้ถึง 30.3% จากตัวอย่าง

ดินและน้ำที่เก็บมาตรวจ โดยพบเชื้อมากที่สุดที่ดินบริเวณสวนยางพารา คือ 60.9%²⁰ จึงน่าจะมีการศึกษาการกระจายของเชื้อในสิ่งแวดล้อมขึ้นใหม่ เพื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค รวมทั้งศึกษาความแตกต่างของเชื้อที่พบในภาคต่าง ๆ ว่าเป็นปัจจัยสำคัญหรือไม่ที่ทำให้อุบัติการณ์ของโรคแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาค

บทที่ 2

วิธีวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่างดิน

ภาคเหนือ

เก็บดินบริเวณสองข้างทางหลวง เส้นทางที่ 1 เชียงราย ถึงนครสวรรค์
เส้นทางที่ 2 เชียงใหม่ถึงกรุงเทพฯ รวมระยะทางทั้งหมด
ประมาณ 1,589 กม. ครอบคลุม 19 จังหวัด (รูปที่ 1)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

เก็บดินบริเวณสองข้างทางหลวง เส้นทางที่ 1 อุบลราชธานี ถึงกรุงเทพฯ
เส้นทางที่ 2 อุบลราชธานี ถึงขอนแก่น เส้นทางที่ 3 หนองคายถึงนครราชสีมา
เส้นทางที่ 4 อุรธานีถึงนครพนม เส้นทางที่ 5 นครพนมถึงยโสธร รวมระยะทาง
ทั้งหมดประมาณ 1,982 กม. ครอบคลุม 17 จังหวัด

ภาคใต้

เก็บดินบริเวณสองข้างทางหลวง เส้นทางที่ 1 สงขลา ถึง นราธิวาส เส้นทางที่ 2
สงขลาถึงกรุงเทพฯ เส้นทางที่ 3 สตูลถึงระนอง รวมระยะทางทั้งหมดประมาณ
1,977 กม. ครอบคลุม 17 จังหวัด (ตารางที่ 1)

2.2 วิธีการเก็บดินตัวอย่าง

เก็บดินบริเวณที่มีความชื้น เช่น จากทุ่งนา หรือสวนพืชผลไม้ ทุ่งหญ้า บริเวณสอง
ข้างทางหลวง โดยเก็บดินในระยะทางทุก ๆ 5-10 กม. ซึ่งแต่ละตำแหน่งจะเก็บดิน 4
ตัวอย่าง (ข้างละ 2 ตัวอย่าง และแต่ละข้างจะเก็บห่างกัน 1 เมตร)

การเก็บตัวอย่างดินจะทำโดยใช้จอบที่ปราศจากเชื้อจุดดินลึกลงไปประมาณ 30
ซม. แล้วจึงใช้ spatula ตักตัวอย่างดินที่ก้นหลุม จำนวนประมาณ 3 กรัม ใส่งลงในน้ำ
กักัน 2 มล. เขย่าแรง ๆ แล้วนำส่งห้องปฏิบัติการทันที

2.3 วิธีแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากดิน^{21,22}

นำ soil suspension มาเขย่าอย่างแรงด้วยเครื่อง vortex mixture แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน จากนั้นดูดน้ำส่วนบนที่มีดินปนอยู่ด้วย จำนวน 0.5-1.0 มล. ใส่ลงใน threonine-basal salt solution (ซึ่งเติม colistin 20 ไมโครกรัม/ล.) ซึ่งมีปริมาณ 8 มล. บ่มที่ 42°C 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาจึงนำน้ำส่วนบนมาจำนวน 10 ไมโครลิตร ไปเพาะเลี้ยงต่อบน modified Ashdown's agar ที่ 42°C เป็นเวลา 1-4 วัน เมื่อเชื้อเจริญจึงนำโคโลนีที่สงสัย คือโคโลนีที่มีลักษณะคล้ายดอกเดซี่ เทียว่น สีม่วงแดง ไปพิสูจน์ต่อโดยการทดสอบทางชีวเคมี²³

2.4 การทดสอบทางชีวเคมี

B. pseudomallei จะให้ผลการทดสอบทางชีวเคมีดังต่อไปนี้

ได้ผล A/N บน TSI (บางครั้งอาจใช้ K/N ได้ แต่เป็นส่วนน้อย)

สร้าง oxidase

เคลื่อนที่ได้ใน motility medium

สามารถใช้ citrate

เปลี่ยน nitrate ให้เป็น nitrite และให้แก๊ส N₂

ให้ผลบวกกับการทดสอบ OF- glucose, lactose, maltose, mannose

fructose, และ mannitol

ให้ผลบวกกับการทดสอบ arginine dihydrolase

สามารถ hydrolyse gelatin

flagella เป็นแบบ polar tuft มี 3 เส้น

2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลทั้งหมดถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Chi-square

บทที่ 3

ผลการวิจัย

3.1 ผลการเก็บตัวอย่างดิน

ทางภาคเหนือเก็บดินได้ทั้งหมด 204 ตำแหน่ง เป็นจำนวน 816 ตัวอย่าง เป็นดินจากนาข้าว 784 ตัวอย่าง และดินจากสวนพืชผลอื่น 32 ตัวอย่าง ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือเก็บดินได้ทั้งหมด 357 ตำแหน่ง เป็นจำนวน 1,428 ตัวอย่าง เป็นดินจากนาข้าว 1,116 ตัวอย่าง ดินจากสวนพืชผลอื่น 286 ตัวอย่าง และดินริมคลอง 26 ตัวอย่าง และทางภาคใต้เก็บดินได้ทั้งหมด 335 ตำแหน่ง เป็นจำนวน 1,341 ตัวอย่าง เป็นดินจากนาข้าว 223 ตัวอย่าง ดินจากสวนยาง 380 ตัวอย่าง ดินจากสวนพืชผลอื่น 393 ตัวอย่าง ดินจากทุ่งหญ้า 174 ตัวอย่าง ดินจากป่าละเมาะ 166 ตัวอย่าง และดินจากทะเลสาบ 5 ตัวอย่าง รวมดินที่เก็บทั้งหมดจาก 3 ภาค ของประเทศไทย จำนวน 3,585 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2)

3.2 ผลการแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากดินในภาคเหนือ

จากดินที่เก็บบริเวณสองข้างทางหลวงในภาคเหนือ จำนวนทั้งหมด 816 ตัวอย่าง พบว่าสามารถแยกเชื้อ *B. pseudomallei* ได้ทั้งหมด 38 ตัวอย่าง คิดเป็น 4.7% เป็นเชื้อจากนาข้าว 33 ตัวอย่าง และเชื้อจากสวนพืชผลอื่น 5 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2) ดินที่เก็บบริเวณเส้นทางหลวงอุดรดิษฐ์-พิษณุโลก พบเชื้อมากที่สุดคือ 17.5% รองลงมาคือ อ่างทอง-อยุธยา และอยุธยา-ปทุมธานี พบเชื้อ 15% ลำปาง-แพร่ พบเชื้อ 13.7% เชียงใหม่-ลำพูน พบเชื้อ 8.3 เชียงใหม่-เชียงราย พบเชื้อ 7.0% ดาก-กำแพงเพชร พบเชื้อ 6.8% ลำพูน-ลำปาง 6.2% ชัยนาท-สิงห์บุรี พบเชื้อ 3.1% พิจิตร-นครสวรรค์ พบเชื้อ 1.6% และ ลำปาง-ดาก พบเชื้อ 1.2% ไม่พบเชื้อจากดินที่เก็บในเส้นทางเชียงราย-พะเยา พะเยา-ลำปาง กำแพงเพชร-นครสวรรค์ พิษณุโลก-พิจิตร นครสวรรค์-ชัยนาท สิงห์บุรี-อ่างทอง และ ปทุมธานี-นนทบุรี (ตารางที่ 3 และรูปที่ 2)

3.3 ผลการแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ดินบริเวณสองข้างทางหลวงภาคตะวันออกเฉียงเหนือทั้งหมด 1,428 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อ *B. pseudomallei* ได้ทั้งหมด 291 ตัวอย่าง คิดเป็น 20.4% โดยแยกเชื้อได้จากนาข้าว 235 ตัวอย่าง สวนพืชผลอื่น 51 ตัวอย่าง และจากดินริมคลอง 5 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2) เป็นดินที่เก็บบริเวณเส้นทางหลวง ร้อยเอ็ด-ยโสธรพบเชื้อมากที่สุดคือ 40.3% ส่วนดินที่เก็บในเส้นทางอุดรธานี-ขอนแก่น พบเชื่อน้อยที่สุดคือ 4.3% ไม่พบว่ามีเส้นทางใดที่กำหนดไว้ในงานวิจัยนี้ ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ตรวจไม่พบเชื้อในดิน (ตารางที่ 4 และรูปที่ 3)

3.4 ผลการแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากดินในภาคใต้

จากการเก็บดินบริเวณสองข้างทางหลวงภาคใต้ ทั้งหมด 1,341 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อ *B. pseudomallei* ได้ทั้งหมด 79 ตัวอย่าง คิดเป็น 5.9 % โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากนาข้าว 49 ตัวอย่าง จากสวนยาง 3 ตัวอย่าง จากสวนพืชผลอื่น 6 ตัวอย่าง จากทุ่งหญ้า 8 ตัวอย่าง และจากป่าละเมาะ 13 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2) ดินที่เก็บบริเวณเส้นทางหลวง เส้นทางที่แยกเชื้อได้มากที่สุดคือ เส้นทางปัตตานี-สงขลา แยกเชื้อได้ 16.1% ส่วนเส้นทางที่แยกเชื้อได้น้อยที่สุด คือ เส้นทางชุมพร-เพชรบุรี แยกเชื้อได้ 0.4% เส้นทางที่ไม่พบเชื้อเลยคือเส้นทางพังงา-ภูเก็ต (ตารางที่ 5 และรูปที่ 4)

3.5 ความชุกของการพบเชื้อ *B. pseudomallei* จากตำแหน่งที่เก็บดินในภาคต่าง ๆ

งานวิจัยครั้งนี้เก็บดินทั่วประเทศเป็นจำนวนทั้งหมด 896 ตำแหน่ง พบว่าตำแหน่งดินที่พบเชื้อ *B. pseudomallei* มากที่สุดคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเก็บดินทั้งหมด 357 ตำแหน่ง พบเชื้อถึง 179 ตำแหน่ง คิดเป็น 50.3% (ตารางที่ 6) รองลงมาคือภาคใต้ เก็บดินทั้งหมด 335 ตำแหน่ง พบเชื้อ 63 ตำแหน่ง (18.8%) และภาคเหนือ เก็บดินทั้งหมด 204 ตำแหน่ง พบเชื้อ 31 ตำแหน่ง (15.2%)

จากตัวอย่างดินที่เก็บ ตำแหน่งละ 4 ตัวอย่าง พบว่า ตำแหน่งที่พบเชื้อ

B. pseudomallei ในดิน 1 ตัวอย่าง จากดินที่เก็บทั้งหมด 4 ตัวอย่าง มีจำนวนสูงสุด ทั้งภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ (ตารางที่ 7) รองลงมาคือตำแหน่งที่พบเชื้อ 2 ตัวอย่างใน 4 ตัวอย่าง พบว่าภาคเหนือพบ 1 ตำแหน่ง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบ 53 ตำแหน่ง และภาคใต้พบ 16 ตำแหน่ง ส่วนตำแหน่งที่พบเชื้อ 3 ตัวอย่างใน 4 ตัวอย่าง พบเฉพาะภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ 3 และ 16 ตำแหน่ง ตามลำดับ และสุดท้ายตำแหน่งที่พบเชื้อจากดินที่เก็บทั้ง 4 ตัวอย่าง พบเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือเท่านั้น มีจำนวน 9 ตำแหน่ง (ตารางที่ 7)

บทที่ 4

วิจารณ์

จากงานวิจัยครั้งนี้พบว่าสามารถแยกเชื้อ *B. pseudomallei* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้มากกว่าภาคเหนือ และภาคใต้ อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 2 และตารางที่ 6) ซึ่งสนับสนุนอุบัติการณ์ของโรค melioidosis ที่พบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นอกจากนี้ยังพบว่าแหล่งที่พบเชื้อมากที่สุดคือ นาข้าว และสวนพืชผลอื่น ซึ่งก็ตรงกับรายงานที่พบผู้ป่วย melioidosis ส่วนใหญ่เป็นชาวนา ชาวไร่ ซึ่งเป็นอาชีพที่ต้องสัมผัสอยู่กับดิน ทำให้มีโอกาสได้รับเชื้อสูง นอกจากนี้จะพบเชื้อในดินบริเวณที่กล่าวมาแล้ว ยังพบเชื้อในดินบริเวณทุ่งหญ้า ป่าละเมาะ และริมคลอง

สาเหตุที่มีการกระจายของเชื้อ *B. pseudomallei* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มากกว่าภาคเหนือและภาคใต้ น่าจะมาจากอิทธิพลของภูมิอากาศที่ค่อนข้างแตกต่างกันมากในแต่ละภาค โดยทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะมีอากาศร้อนจัดในฤดูร้อน ส่วนทางภาคเหนือจะมีอากาศหนาวจัดในฤดูหนาว สำหรับทางภาคใต้จะมีอากาศเย็นสบายตลอดปี ซึ่งการแปรเปลี่ยนของอุณหภูมิในแต่ละฤดู อาจจะมีผลต่อการเพิ่มหรือลดลงของจุลินทรีย์ประจำถิ่นบางกลุ่มในดิน และมีผลกระทบต่อความอยู่รอดของเชื้อ *B. pseudomallei*

ถึงแม้ว่างานวิจัยครั้งนี้จะช่วยตอบปัญหาที่สงสัยกันมานานแล้วว่า ทำไมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จึงพบผู้ป่วย melioidosis มากกว่าภาคอื่น ๆ ของประเทศ ควรมีการศึกษาเปรียบเทียบถึงความแตกต่างทางด้านสายพันธุ์ของเชื้อที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมจากสัตว์ และจากผู้ป่วยในแต่ละภาค เพื่อดูว่ามีปัจจัยอื่นหรือไม่ที่เสริมให้เชื้อ *B. pseudomallei* ก่อโรคกับประชาชนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมากกว่าภาคอื่น ๆ

ตารางที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานด้านการเก็บตัวอย่างดินในการศึกษา

	ภาคเหนือ	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคใต้
ระยะทางทั้งหมดที่สำรวจ	1,589 กม	1,982 กม.	1,977 กม
จำนวนจังหวัดที่ครอบคลุม	19 จังหวัด	17 จังหวัด	17 จังหวัด

ตารางที่ 2 แหล่งที่เก็บดิน และจำนวนดินที่พบเชื้อ *B. pseudomallei* แยกตามภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย

	นาข้าว	สวนยาง	สวนพืชผลอื่น	ทุ่งหญ้า	ป่าละเมาะ	ทะเลสาบ	ริมคลอง	รวม	% ที่พบเชื้อ
ภาคเหนือ (N)	33/784*	-	5/32	-	-	-	-	38/816	4.7**
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (NE)	235/1,116	-	51/286	-	-	-	5/26	291/1,428	20.4
ภาคใต้ (S)	49/223	3/380	6/393	8/174	13/166	0/5	-	79/1,341	5.9
รวม	317/2,123	3/380	62/711	8/174	13/166	0/5	5/26	408/3,585	11.4

* จำนวนดินที่พบเชื้อ/จำนวนดินที่เก็บ

** $P < 0.0001$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง N & NE

$P < 0.0001$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง S & NE

$P = 0.25$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง N & S

ตารางที่ 3 ผลการแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากดินบริเวณสองข้างทางหลวงเชื่อมจังหวัดต่าง ๆ ในภาคเหนือ

ทางหลวงระหว่างจังหวัด	ระยะทาง (กม.)	จำนวน ตัวอย่าง	จำนวนที่พบเชื้อ (%)
เชียงใหม่-เชียงราย	182	128	9 (7.0)
เชียงราย-พะเยา	94	48	0 (0)
พะเยา-ลำปาง	131	52	0 (0)
เชียงใหม่-ลำพูน	21	24	2 (8.3)
ลำพูน-ลำปาง	71	32	2 (6.2)
ลำปาง-แพร่	109	36	5 (13.7)
ลำปาง-ตาก	174	80	1 (1.2)
ตาก-กำแพงเพชร	68	44	3 (6.8)
กำแพงเพชร-นครสวรรค์	117	56	0 (0)
แพร่-อุตรดิตถ์	74	32	1 (3.1)
อุตรดิตถ์-พิษณุโลก	118	40	7 (17.5)
พิษณุโลก-พิจิตร	73	24	0 (0)
พิจิตร-นครสวรรค์	113	64	1 (1.6)
นครสวรรค์-ชัยนาท	64	28	0 (0)
ชัยนาท-สิงห์บุรี	53	32	1 (3.1)
สิงห์บุรี-อ่างทอง	40	32	0 (0)
อ่างทอง-อยุธยา	31	20	3 (15)
อยุธยา-ปทุมธานี	30	20	3 (15)
ปทุมธานี-นนทบุรี	26	24	0 (0)
รวม	1,589	816	38 (4.7)

ตารางที่ 4 ผลการแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากดินบริเวณสองข้างทางหลวงเชื่อมจังหวัดต่าง ๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ทางหลวงระหว่างจังหวัด	ระยะทาง (กม.)	จำนวน ตัวอย่าง	จำนวนที่พบเชื้อ (%)
หนองคาย-อุดรธานี	51	40	4 (10.0)
อุดรธานี-ขอนแก่น	115	92	4 (4.3)
ขอนแก่น-นครราชสีมา	190	152	28 (18.4)
นครราชสีมา-สระบุรี	152	120	24 (20.0)
สระบุรี-นครนายก	58	44	17 (38.6)
นครนายก-ปทุมธานี	101	80	26 (32.5)
อุดรธานี-สกลนคร	159	148	37 (25.0)
สกลนคร-นครพนม	93	48	4 (8.3)
นครพนม-มุกดาหาร	104	48	17 (35.4)
มุกดาหาร-ยโสธร	111	48	13 (27.1)
นครราชสีมา-บุรีรัมย์	151	120	8 (6.7)
บุรีรัมย์-สุรินทร์	111	56	12 (21.4)
สุรินทร์-ศีร์ษะเกษ	143	112	16 (14.3)
ศีร์ษะเกษ-อุบลราชธานี-อ.เดชอุดม	91	48	18 (37.5)
ขอนแก่น-มหาสารคาม	73	48	7 (14.6)
มหาสารคาม-ร้อยเอ็ด	40	40	3 (7.5)
ร้อยเอ็ด-ยโสธร	71	72	29 (40.3)
ยโสธร-อุบลราชธานี-เขื่อนสิรินธร	178	112	21 (18.7)
รวม	1,982	1,428	291 (20.4)

ตารางที่ 5 ผลการแยกเชื้อ *B. pseudomallei* จากดินบริเวณสองข้างทางหลวงเชื่อมจังหวัดต่าง ๆ ในภาคใต้

ทางหลวงระหว่างจังหวัด	ระยะทาง (กม.)	จำนวน ตัวอย่าง	จำนวนที่พบเชื้อ (%)
นราธิวาส-ปัตตานี	100	80	11 (13.7)
ปัตตานี-สงขลา	195*	130	21 (16.1)
สงขลา-นครศรีธรรมราช	180	100	3 (3.0)
นครศรีธรรมราช-สุราษฎร์ธานี	137	98	7 (7.1)
สุราษฎร์ธานี-ชุมพร	172	150	16 (10.7)
ชุมพร-เพชรบุรี	333	234	1 (0.4)
เพชรบุรี-กรุงเทพฯ	169	100	6 (6.0)
สตูล-ตรัง	140	86	4 (4.6)
ตรัง-กระบี่	140	102	1 (1.0)
กระบี่-พังงา	84	64	2 (3.1)
พังงา-ระนอง	290	188	7 (3.7)
พังงา-ภูเก็ต	37	9	0 (0)
รวม	1977	1341	79 (5.9)

*รวมเส้นทางเชื่อมอำเภอต่าง ๆ ในจังหวัดสงขลาด้วย

ตารางที่ 6 ความชุกของการพบเชื้อ *B. pseudomallei* จากตัวอย่างดินตามตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง

ภาค	จำนวนตำแหน่งที่เก็บดิน	จำนวนตำแหน่งดินที่พบเชื้อ (%)
ภาคเหนือ (N)	204	31 (15.2)
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (NE)	357	179 (50.3)
ภาคใต้ (S)	335	63 (18.8)
รวม	896	273 (30.5)

$P < 0.0001$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง N & NE

$P < 0.0001$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง S & NE

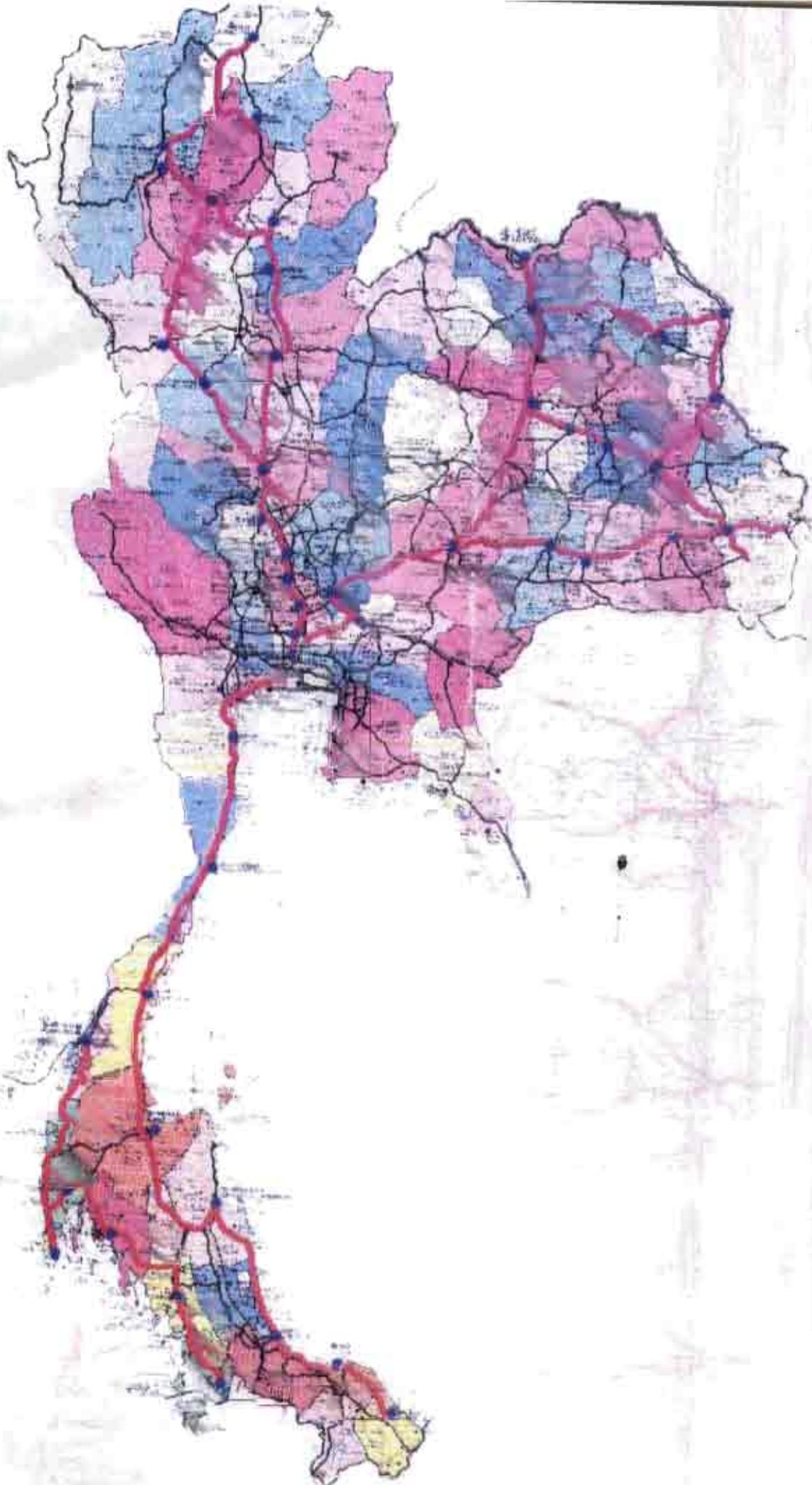
$P = 0.3$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง N & S

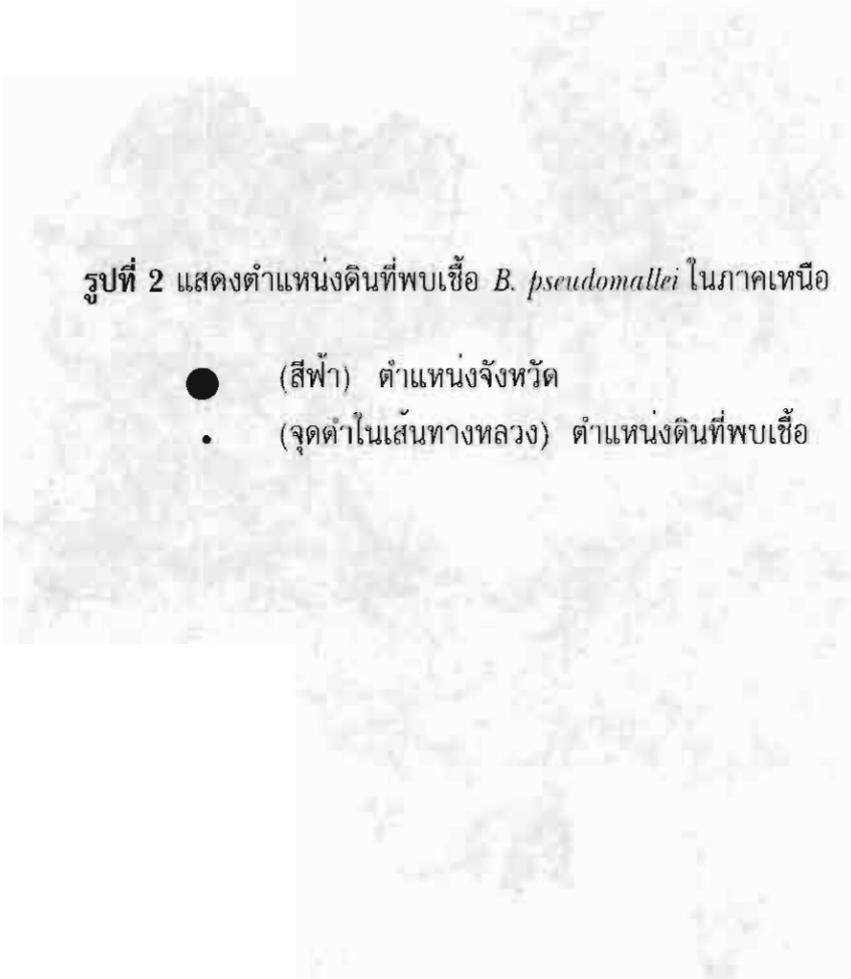
ตารางที่ 7 จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ *B. pseudomallei* ที่ตำแหน่งต่าง ๆ ที่เก็บดิน

	ภาคเหนือ	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ภาคใต้
จำนวนตำแหน่งทั้งหมด	204	357	335
จำนวนตำแหน่งที่ไม่พบเชื้อ	173	178	272
จำนวนตำแหน่งที่พบเชื้อ	31	179	63
จำนวนตำแหน่งที่พบ 1 ใน 4 ตัวอย่าง	29	101	47
จำนวนตำแหน่งที่พบ 2 ใน 4 ตัวอย่าง	1	53	16
จำนวนตำแหน่งที่พบ 3 ใน 4 ตัวอย่าง	3	16	-
จำนวนตำแหน่งที่พบ 4 ใน 4 ตัวอย่าง	-	9	-

รูปที่ 1 แสดงเส้นทางหลวงภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ที่เก็บตัวอย่างดิน

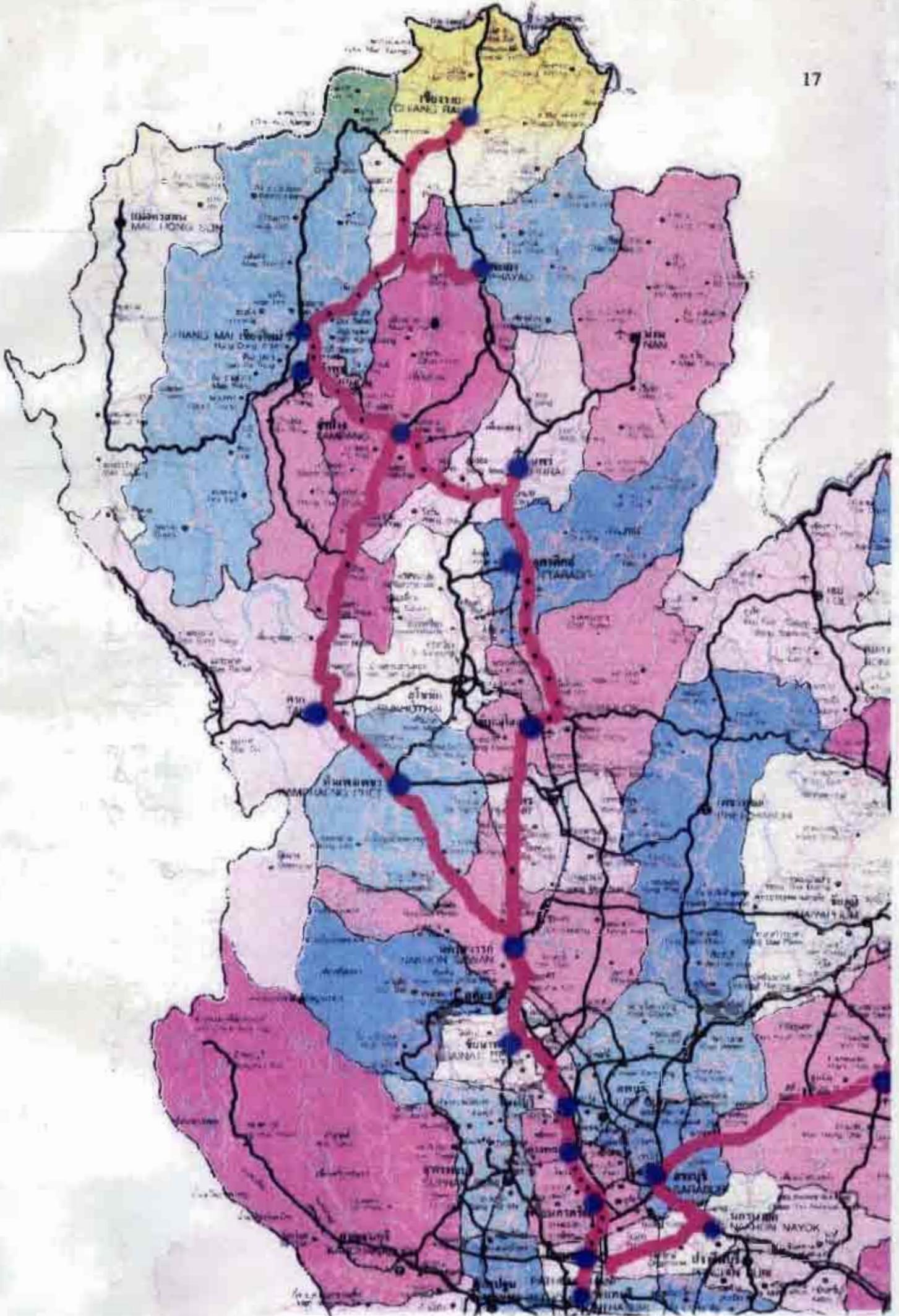
● ตำแหน่งจังหวัด

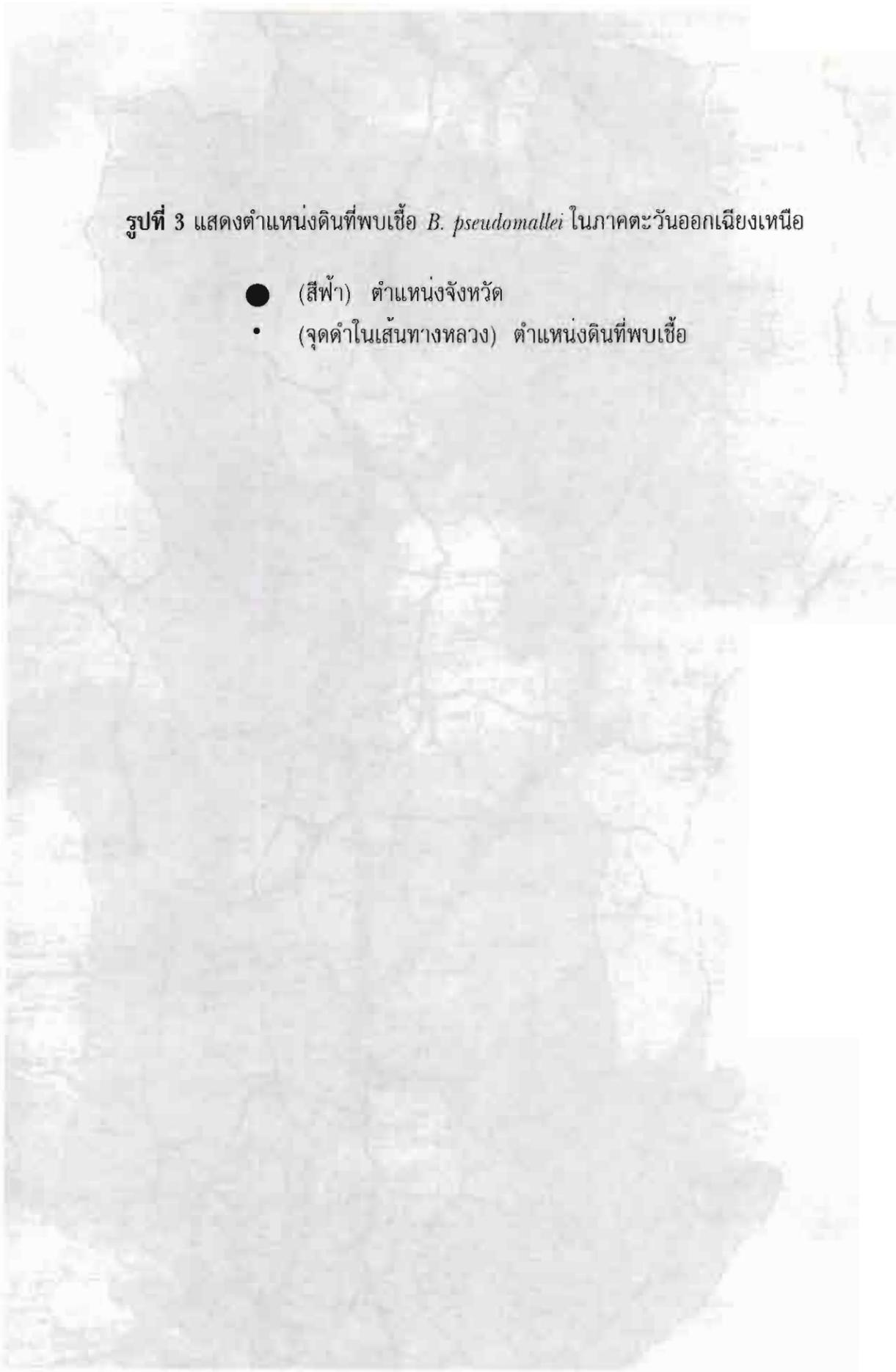




รูปที่ 2 แสดงตำแหน่งดินที่พบเชื้อ *B. pseudomallei* ในภาคเหนือ

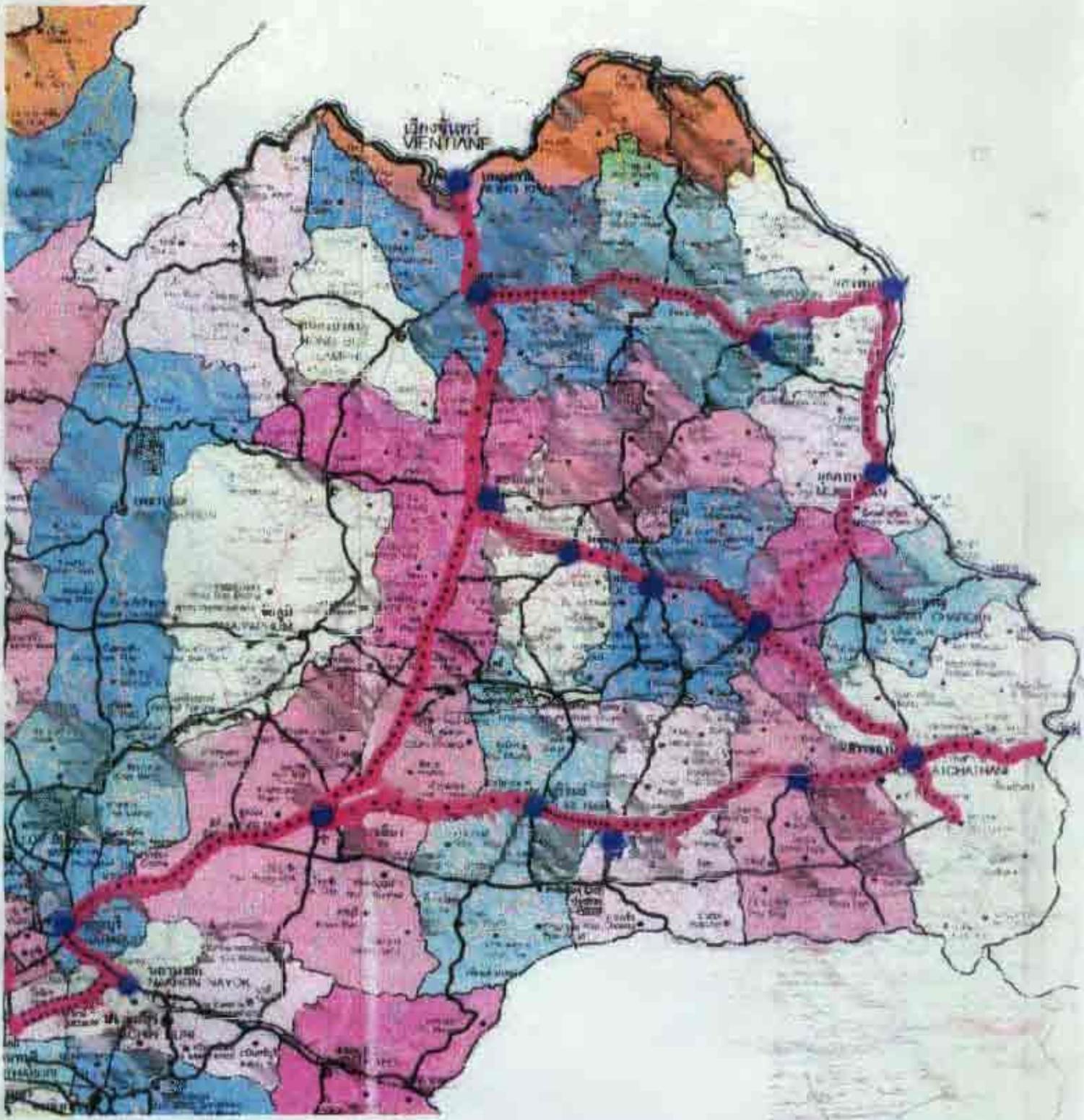
- (สีฟ้า) ตำแหน่งจังหวัด
- (จุดดำในเส้นทางหลวง) ตำแหน่งดินที่พบเชื้อ

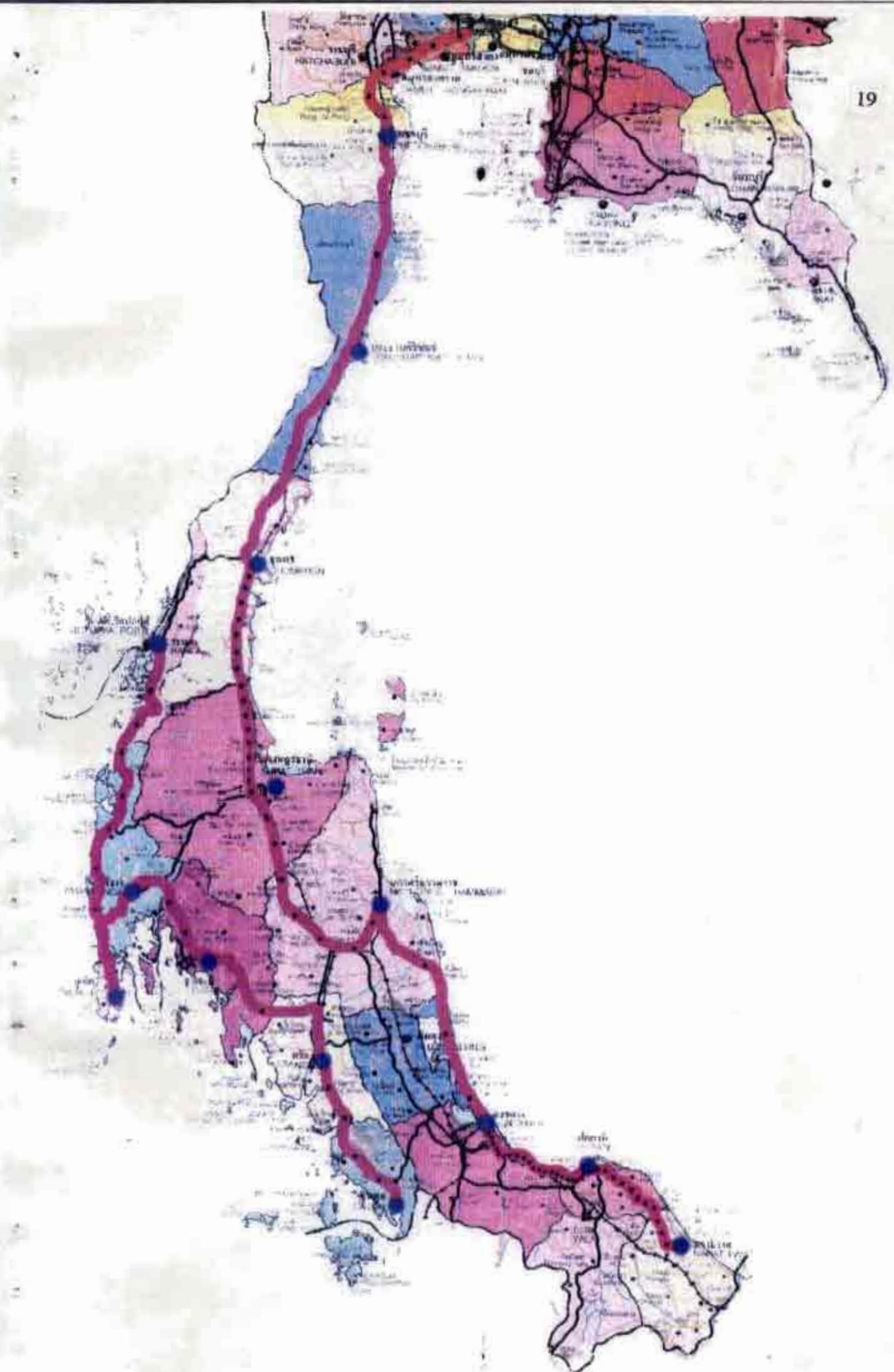




รูปที่ 3 แสดงตำแหน่งดินที่พบเชื้อ *B. pseudomallei* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

- (สีฟ้า) ตำแหน่งจังหวัด
- (จุดดำในเส้นทางหลวง) ตำแหน่งดินที่พบเชื้อ





รายละเอียดงบประมาณโครงการวิจัยทางภาคเหนือ

1. หมวดค่าตอบแทน	งบประมาณที่ได้	งบประมาณใช้ไป	คงเหลือ
รศ. ประสิทธิ์ ชราวจิตรกุล	19,608	19,608	-
นายบรรยง กันชวะ	6,956	13,912	-6,956
รวม หมวดค่าตอบแทน	26,564	33,520	-6,956
2. หมวดค่าจ้าง			
ผู้ช่วยวิจัย-เก็บดิน	11,250	11,250	-
ผู้ช่วยวิจัย-ช่วยแยกและพิสูจน์เชื้อ	12,000	9,000	3,000
ผู้ช่วยวิจัย-ช่วยเตรียมอาหารและ น้ำยาเคมี	12,000	9,000	3,000
คนงานช่วยเก็บดิน	15,000	15,000	-
ผู้ร่วมเก็บบันทึกข้อมูล	3,000	3,000	-3,000
ผู้ล้างเครื่องแก้ว	3,000	3,000	-3,000
ผู้พิมพ์เอกสาร	1,000	1,000	-
รวม	50,250	50,250	-
3. หมวดค่าวัสดุและอุปกรณ์			
อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพาะเชื้อ	20,000	23,916	-3,916
อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับใช้พิสูจน์เชื้อ	20,000	9,000	11,000
สารเคมี	20,000	14,394.09	5,605.91
หลอดแก้ว 25 x 150 mm. ใช้เก็บตัวอย่างดิน	12,000	11,960	40
อุปกรณ์ชุดดิน (จอบ, เสียมและ พลั่วขนาดเล็ก) 4 ชุด	1,200	918	282

	งบประมาณที่ได้	งบประมาณใช้ไป	คงเหลือ
ถุงพลาสติก 5 กก.	300	96	204
ตะเกียงอัลกอฮอลล์ 2 อัน	500	-	500
ตะกร้าพลาสติก	400	-	400
ยางรัดของ 1 ถุง	100	-	100
ไม้ตักดิน 1 กล่อง (1,000 อัน)	2,400	-	2,400
กระดาษห่อของก่อนนำเข้าอบนึ่ง 30 แผ่น	300	-	300
หลอดพลาสติกเก็บเชื้อ (ชนิดนึ่งได้) 1000 หลอด	8,000	-	8,000
ถุงมือยางใช้ครั้งเดียวทิ้ง 10 กล่อง	1,200	-	1,200
ผ้าปิดจมูก	1,000	900	100
กล่องสำหรับใช้บรรจุหลอดเก็บเชื้อ	2,000	-	2,000
Rack พลาสติกนึ่งได้ 30 อัน	12,000	23,265	-11,265
Millipore filter	5,000	5,412	-412
สำลี 10 ม้วน	900		
Label tape 4 กล่อง	100		
ปากกาเขียนแก้ว 10 ด้าม	500	2,088.99	-228.99
กระดาษชำระยาว 1 โหล	200		
กระดาษชำระสั้น 2 โหล	160		
Tips, blue 2 ถุง	5,200	6,160	-2,160
หลอดอาหารสำหรับส่งเชื้อให้ สกว. 1 กล่อง	3,000	-	3,000
รวม	115,360	98,110.08	17,249.92

4. หมวดค่าใช้จ่าย	งบประมาณที่ได้	งบประมาณใช้ไป	คงเหลือ
ค่าเช่ารถ	32,500	30,000	2,500
ค่าเช่าโรงแรม	32,000	25,180	6,820
ค่าน้ำมันรถ	12,500	8,257	4,243
ค่าเดินทางรายงานผล	15,000	-	15,000
ค่าพิมพ์และเข้าเล่มรายงาน	5,000	1,000	4,000
ค่าถ่ายเอกสารและวัสดุสำนักงาน	10,000	6,930.91	3,069.09
ค่าเบี้ยประกันอุบัติเหตุ 4 เดือน	4,800	5,270	-470
ค่าเบี้ยเลี้ยง	25,000	12,280	12,720
รวม	136,800	88,917.91	47,882.09
รวมทั้งสิ้น	328,874	274,636.72	54,237.28

6.2 รายละเอียดงบประมาณโครงการวิจัยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ			
1. หมวดค่าตอบแทน	งบประมาณที่ได้	งบประมาณใช้ไป	คงเหลือ
นายนิศร นางาม นายพิทักษ์ น้อยเมธ น.ส.ชมพูนุท หมั่นละไพโร นางพันเพชร น้อยเมธ ค่าเบี้ยเลี้ยงเจ้าหน้าที่วิจัย ค่าเบี้ยเลี้ยงนักศึกษา ค่าตอบแทนเลขานุการ <p style="text-align: right;">รวม</p>	116,000	144,300	-27,300
2. หมวดค่าจ้าง ค่าพิมพ์เอกสาร ค่าจ้างคนงานประจำห้องปฏิบัติการ ค่าเช่าเหมารถ <p style="text-align: right;">รวม</p>	16,000	83,697	-67,697
3. หมวดค่าใช้จ่าย ค่าฟิล์มและล้างอัดรูป ค่าถ่ายเอกสาร, เข้าเล่มรายงานวิจัย ค่าอุปกรณ์เครื่องเขียน ค่าแผ่น diskette ค่าน้ำมันเชื้อเพลิง ค่าโรงแรม <p style="text-align: right;">รวม</p>	167,600	106,338	61,262

4. หมวดค่าวัสดุและสารเคมี	งบประมาณที่ได้	งบประมาณใช้ไป	คงเหลือ
ค่าอาหารเลี้ยงเชื้อ			
ค่าอาหารเลี้ยงเชื้อทดสอบทาง			
ชีวเคมี			
ค่าเครื่องแก้ว			
ค่าเสียม, จอบและพลั่วคักดิน			
ค่าถุงมือ			
ผ้าปิดจมูก			
cryobank (เก็บเชื้อ) 8 กล่อง			
รวม	114,900	106,632.20	82,678
รวมทั้งสิ้น	415,533.72	439,967.20	-24,433.48

6.3 รายละเอียดงบประมาณโครงการวิจัยทางภาคใต้			
1. หมวดค่าตอบแทน	งบประมาณที่ได้	งบประมาณใช้ไป	คงเหลือ
นางสาววราภรณ์ วุฑฒะกุล	11,520	11,520	-
นายศิโรช จิตต์สุรงค์	9,254	9,254	-
รวม	20,774	20,774	-
2. หมวดค่าจ้าง			
คนงานเก็บตัวอย่างดิน	39,600	32,400	7,200
ผู้ช่วยวิจัย	16,000	16,000	-
ค่าจ้างคนงานในห้องปฏิบัติการ	4,000	4,000	-
รวม	59,600	52,400	7,200
3. หมวดค่าวัสดุและอุปกรณ์			
อาหารเลี้ยงเชื้อ	40,000	26,400	-4,664
อาหารทดสอบเชื้อ	20,000		
สารเคมี	5,000		
ค่าเครื่องแก้ว	10,000		
millipore filter	2,000		
pipette tip	4,000		
cryobank (เก็บเชื้อ) 4 ถัง	9,000		
อุปกรณ์ชุดดิน (จอบ, เสียม และพลั่ว) 4 ชุด	1,200	605	595
รวม	91,200	86,270	4,930

4. หมวดค่าใช้จ่าย	งบประมาณที่ได้	งบประมาณใช้ไป	คงเหลือ
ค่าน้ำมันรถ	26,400	16,959.56	9,440.44
ค่าโรงแรม	52,800	33,459	19,341
ค่าเบี้ยประกันอุบัติเหตุ	2,635	2,570	65
ค่าเบี้ยเลี้ยงคนขับรถ	5,940	8,500	-2,560
ค่าเบี้ยเลี้ยงในการออกเก็บตัวอย่างดิน	33,000	27,000	6,000
ค่าเดินทางรายงานผลการวิจัย	5,000	3,880	1,120
ค่าถ่ายเอกสาร	500	1,500	-1,000
ค่าพิมพ์รายงาน	3,500	3,500	-
ค่าฟิล์มและค่าล้างฟิล์ม	-	715	-715
ค่าล้างรถ	-	840	-840
ค่ากระดาษรถ	-	2,700	-2700
ค่าตรวจยืนยันเชื้อจากห้องปฏิบัติ การ Welcome	-	2,360	-2,360
ค่าไปรษณีย์	-	922	-922
จีปาดะ	-	70	-70
รวม	129,775	104,975.56	24,799.44
รวมทั้งสิ้น	301,349	264,419.56	36,929.44

ภาคผนวก ก.

Threonine basal salt solution (TBSS)

BASE

KH_2PO_4	0.451	g.
K_2HPO_4	1.730	g.
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.123	g.
CaCl_2	0.0147	g.
NaCl	10.0	g.
Nitrioltriactic acid	0.200	g.
Solution A	20.0	ml.
Distilled water	900.0	ml.

ปรับ pH ให้ได้ 7.2 ด้วย 1N KOH, sterile ที่ 120°C 15 lbs เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติม L-threonine ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.05 M. (5.956 g/L) เติม colistin ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 20 mg/l แบ่งใส่หลอดละ 8 ml.

SOLUTION A

H_3PO_4 85%	2.306	ml. (1.96 g/L)
$\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.556	g.
$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.297	g.
$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0218	g. ($\text{CuSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.025 g.)
$\text{MnSO}_2\cdot \text{H}_2\text{O}$	0.125	g.
$\text{CO}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.030	g.
$\text{MoO}_3\cdot \text{Na}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.030	g.
H_3BO_3	0.062	g.
Distilled water	1000.0	ml.

L-threonine (sigma)

L-threonine	11.9	g.
Distilled water	100.0	ml.

sterile โดยการกรอง จากนั้นใช้ 50 ml. เติมลงไป 950 ml. ของ TBSS ให้ได้ความเข้มข้น
สุดท้ายเท่ากับ 0.05 M

Modified Asdown's agar

TSB (tryptic soy broth)	10	gm.
Agar	15	gm.
Glycerol	40	ml.
1% Neural red	5	ml.
0.1 Crystal violet	2.5	ml.
Distilled water	1,000	ml.

หลัง autoclave เติม gentamicin ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 5 mg/l.

เอกสารอ้างอิง

1. Whitmore A, Krishnaswami CS. An account of discovery of a hitherto undescribed infectious disease occurring among the population of Rangoon. *Indian Med Gazette* 1912; 47:262-267.
2. จิตติ จิตติเวชช์, สำเนียง บุษปนิช. อรุณ เขาวนาศัย. เมลิออยโดสิส รายงานผู้ป่วยที่เป็นคนไทย 1 ราย *วิทยาสารเสนารักษ์* 2498: 8: 11.
3. Patamasucon P, Schaad UB, Nelson JD. Melioidosis. *J. Ped* 1982;100: 175-182.
4. Leelarasamee A. Epidemiology of Melioidosis. *J Infect Dis* 1986; 3: 584-593.
5. Currie B, Howard D, Vinh N. The 1990-1991 outbreak of melioidosis in the northern territory of Australia: clinical aspect. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth* 1993;246: 43-443.
6. Yee KC, Lee MK, Chua CT. Melioidosis. The great mimicker: a report of 10 cases from Malaysia. *J Trop Med Hyg* 1988; 91: 249-254.
7. Poe RH, Vassalo CL, Domm BM. Melioidosis: The remarkable imitator. *Am Rev Resp Dis* 1971; 104: 427-431.
8. Chaowagul W, White NJ, Dance DA. Melioidosis: a major cause of community acquired septicaemia in northeastern Thailand. *J Inf Dis* 1989;159: 890-899.
9. Asche V. Melioidosis - a disease for all organs. *Today's Life Science* 1991;6: 34-40.
10. Chaowagul W, Suputtamongkol Y, Dance DA. Relapse in melioidosis: incidence and risk factors. *J Inf Dis* 1993; 168: 1181-1185.
11. Atthasampunna P, Grossman RA, Noyes HE. SEATO Med Res Lab Ann Prog Rep 1970; 83-86.
12. Nigg C. Serologic studies on subclinical melioidosis. *J Immunol* 1963;91: 18-28.

13. วิภาดา เชาวกุล. เพ็ญจันทร์ สายพันธุ์ พิมพ์ใจ นัยโกวิท นิตยา ชีระวัฒนสุข. เมลิออยโดสิส การศึกษาย้อนหลัง 3 ปี ในผู้ป่วย 169 รายที่โรงพยาบาลสรรพสิทธิประสงค์ อุบลราชธานี. สรรพสิทธิเวชสาร 2529; 7: 7-22.
14. สืบสาย กฤษณะพันธุ์ สุเทพ จารุรัตน์ศิริกุล ภาตรี วันสิทธิ์ จินตนา วุฒยากร การสำรวจแอนติบอดีในซีรัมต่อเชื้อ *Pseudomonas pseudomallei* ในประชากรภาคใต้ Proceeding of National Workshop on Melioidosis 2528:73-79.
15. Proceeding of National Workshop on Melioidosis. 1985. Nov; 23-24.
16. สุภาภรณ์ พัวเพิ่มพูนศิริ, ประจักษ์ พัวเพิ่มพูนศิริ. เมลิออยโดสิส รายงานผู้ป่วย 43 รายที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์. รามาธิบดีเวชสาร 2526;6: 96-105.
17. อรทัย พาศีรัตน์, วัฒนชัย สุแสงรัตน์. เยวถักษณ์ เอื้ออนันต์. ภาวะหนองในช่องเยื่อหุ้มสมองหัวใจเกิดจากเมลิออยโดสิส. ขอนแก่นเวชสาร 2527;8: 23-27.
18. สมทรง พัวไพโรจน์, วัฒนชัย สุแสงรัตน์. Pulmonary melioidosis. ขอนแก่นเวชสาร 2527;8: 28-32.
19. วิภาดา เชาวกุล. เมลิออยโดสิส การศึกษาในผู้ป่วย 112 ราย การประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 1 ของราชวิทยาลัยอายุรศาสตร์แห่งประเทศไทย 19 เมษายน 2528.
20. Nachiangmai N, Patamasucon P. Tipayamonthein B, *Pseudomonas pseudomallei* in southern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1985; 16: 83-87.
21. Wuthiekanun V, Smith MD, Dance DAB, White N.J. Isolation of *Pseudomonas pseudomallei* from soil in north-eastern Thailand. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1995;89:41 - 43.
22. Ashdown LR, Clarke SG. Evaluation of culture techniques for isolation of *Pseudomonas pseudomallei* from soil. Appl Environ Microbiol 1992; 58:4011-4015.
23. Gilardi GL. *Pseudomonas*. In : Lenette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ. Manual of clinical microbiology, 4 th ed. Washington DC. American Society for Microbiology, 1985 : 350-372.