วารสารวิชาการสาธารณสุข
ปีที่ 23 ฉบับที่ 4 กรกฎาคม - สิงหาคม 2557

Journal of Health Science
Vol. 23 No. 4 July - August 2014

นิพนธ์ต้นฉบับ *Original Article*

การนำวิธีมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* ของศูนย์ควบคุมโรคของสหรัฐอเมริกามาใช้ในการตรวจตัวอย่างน้ำ ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี

ทรรศนีย์ มาศจำรัส วท.บ. (จุลชีววิทยา), วท.ม. (จุลชีววิทยา)
สุภาทินี โสบุญ วท.บ. (จุลชีววิทยา), วท.ม. (จุลชีววิทยา)
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

บทคัดย่อ *Legionella* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคปอดอักเสบลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease) เป็นปัญหาของนักท่องเที่ยวที่ส่วนใหญ่เป็นชาวต่างชาติ วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ใช้อยู่เดิม เป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นเอง ดังนั้นเพื่อให้สอดคล้องกับสภาพปัญหา ตลอดจนการนำผลการตรวจพิสูจน์ยืนยันไปใช้ระหว่างประเทศ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี จึงนำวิธีมาตรฐานของ US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2005 มาใช้ในการปฏิบัติงานของหน่วยงาน การศึกษาดำเนินการในช่วงเดือนมกราคม - สิงหาคม 2556 ทำการตรวจหาเชื้อ *Legionella* ในห้องปฏิบัติการ โดยการเติมเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน *Legionella pneumophila* ATCC 33152 ลงในตัวอย่างน้ำที่เตรียมขึ้นเองในปริมาณความเข้มข้นของเชื้อที่กำหนด จำนวน 3 ระดับ ได้แก่ 10-100, 100-1,000 และ 1,000-10,000 CFU/L และใช้ตัวอย่างน้ำที่ไม่เติมเชื้อมาตรฐานเป็นตัวอย่างควบคุมผลลบ แล้วนำไปดำเนินการทดสอบตามวิธีการตรวจ-วิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมของ CDC, 2005 พบว่า วิธีดังกล่าวมีความถูกต้องร้อยละ 99.29 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p = 0.05$) และมีความคลาดเคลื่อนต่ำ เท่ากับ 0.0721 ดังนั้น การนำวิธีมาตรฐานของ CDC, 2005 มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี จึงมีความเหมาะสมอย่างยิ่ง เป็นการเพิ่มศักยภาพในการตรวจวินิจฉัยตามมาตรฐานสากล สามารถสร้างความเชื่อมั่นต่อนักท่องเที่ยว ผู้มาเยือนและผู้ใช้บริการ ตลอดจนหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการนำผลวิเคราะห์ไปใช้ได้ทั่วโลก

คำสำคัญ: **เชื้อ *Legionella*, โรคปอดอักเสบลีเจียนแนร์, ศูนย์ควบคุมโรคของสหรัฐ, การตรวจวิเคราะห์เชื้อทางห้องชันสูตร**

บทนำ

Legionella เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคปอดอักเสบลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease) พบครั้งแรกเมื่อเกิดการระบาดของโรคปอดอักเสบระหว่างมีการประชุมประจำปีของทหารผ่านศึกในปี ค.ศ. 1976 ที่เมืองฟิลาเดลเฟีย ประเทศสหรัฐอเมริกา สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Legionella pneumophila* [1] มีผู้ป่วยมากกว่า 130 ราย ส่วนใหญ่เป็นผู้ชาย และเสียชีวิต 25 ราย[2] เชื้อนี้แพร่กระจายทั่วไป พบได้ตามแหล่งน้ำธรรมชาติและแหล่งน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น[3] สามารถอยู่รอดในสิ่งแวดล้อม โดยการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในโปรโตซัวได้หลากหลายชนิด[4] เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิช่วงกว้าง

ระหว่าง 25°C ถึง 43°C และทนต่ออุณหภูมิสูงช่วง 55°C ถึง 60°C[5] เชื้อแพร่กระจายสู่คนโดยการหายใจเอาละอองฝอยของน้ำจากแหล่งน้ำในสิ่งแวดล้อม เช่น หอผึ่งเย็น ที่ปนเปื้อนเชื้อเข้าไปในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดปอดอักเสบ[6]

โรคปอดอักเสบลีเจียนแนร์เป็นปัญหาของนักท่องเที่ยวที่ส่วนใหญ่เป็นชาวต่างชาติ จากข้อมูลของสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค ระหว่างปี พ.ศ. 2549-2553 มีผู้ป่วยจำนวน 22 ราย ไม่มีผู้เสียชีวิต ซึ่งจังหวัดที่นักท่องเที่ยวเหล่านี้ได้เข้าพักคือ กรุงเทพมหานคร สุราษฎร์ธานี (เกาะสมุย) กระบี่ ภูเก็ต ประจวบคีรีขันธ์ (หัวหิน) ชลบุรี (พัทยา) พิษณุโลก เชียงใหม่ และเชียงราย[7] และจากข้อมูลดังกล่าวพบว่าโรคปอดอักเสบลีเจียนแนร์ยังเป็นปัญหาในพื้นที่รับผิดชอบที่เป็นแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญ เช่น เกาะสมุย ซึ่งในแต่ละปีมีนักท่องเที่ยวชาวต่างชาติมาเยือนเป็นจำนวนมาก จากข้อมูลสถิติการท่องเที่ยวของจังหวัดสุราษฎร์ธานี พ.ศ. 2554 แสดงจำนวนนักท่องเที่ยวที่มาเยือนจังหวัดสุราษฎร์ธานีทั้งปีมากถึง 1,152,785 คน โดยมีรายได้จากการท่องเที่ยวสูงถึง 15,832 ล้านบาท[8]

วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ใช้อยู่เดิม เป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นเอง ดังนั้นเพื่อให้สอดคล้องกับสภาพปัญหา ตลอดจนการนำผลการตรวจพิสูจน์ยืนยันไปใช้ระหว่างประเทศ คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำโดยใช้มาตรฐานวิธีการตรวจของ US Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2005[9] หากได้ผลดีก็จะนำวิธีมาตรฐานนี้มาใช้ในการปฏิบัติงานของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี ต่อไป

วิธีการศึกษา

ทำการศึกษาในช่วงเดือนมกราคม-สิงหาคม 2556

วัสดุอุปกรณ์

1. จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

Legionella pneumophila ATCC 33152 สายพันธุ์มาตรฐาน

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 Buffered Charcoal Yeast Extract agar (BCYE)

2.2 Buffered Charcoal Yeast Extract agar without L-cysteine (BCYE (-))

2.3 Buffered Charcoal Yeast Extract agar with Polymyxin B, Cycloheximide and Vancomycin (PCV)

2.4 Buffered Charcoal Yeast Extract agar with Polymyxin B, Cycloheximide and Vancomycin without L-cysteine (PCV (-))

2.5 Buffered Charcoal Yeast Extract agar with Glycine, Polymyxin B, Cycloheximide and Vancomycin (GPCV)

3. สารเคมี น้ำยาสำหรับย้อมสีแกรม

4. น้ำกรองปราศจากเชื้อ

5. แผ่นกรองชนิด polycarbonate ขนาดรู 0.2 μm

6. จานเพาะเชื้อ

7. ปิเปต ขนาด 1 และ 5 ml

8. แท่งแก้วสามเหลี่ยม (spreader)

9. ชุดกรองพร้อมเครื่องสูบสูญญากาศ

10. เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer)

11. กล้องจุลทรรศน์

12. ตู้แสงยูวี ความยาวคลื่น 365 nm

13. ตู้บ่มเพาะเชื้อ

วิธีการตรวจ

1. การเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบในตัวอย่างน้ำกรองปราศจากเชื้อ

การเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบโดยการเติมเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน *Legionella pneumophila* ATCC 33152 ลงในตัวอย่างน้ำกรองปราศจากเชื้อที่เตรียมขึ้นเอง ในปริมาณความเข้มข้นของเชื้อที่กำหนด จำนวน 3 ระดับ ได้แก่ 10-100, 100-1,000 และ 1,000-10,000 CFU/L โดยใช้ตัวอย่างน้ำที่ไม่ได้เติมเชื้อมาตรฐาน เป็นตัวอย่างควบคุมผลลบ (negative control) ก่อนนำไปดำเนินการทดสอบตามวิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ

Legionella spp. ในตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมของ CDC - 2005

2. การทดสอบตามวิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ของ CDC, 2005

นำน้ำกรองปราศจากเชื้อที่มีความเข้มข้นของเชื้อ 3 ระดับจากข้อ 1 กรองผ่านแผ่นกรองขนาดรู 0.2 µm หลังจากนั้นนำแผ่นกรองที่มีเชื้อใส่ในหลอดที่มีน้ำกรองปราศจากเชื้อปริมาตร 5 ml แล้วนำไปผสมด้วยเครื่องผสมสารละลาย เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นใช้ปิเปตดูดตัวอย่างปริมาตร 0.1 ml แล้วนำมาทำ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE, PCV, PCV(-), GPCV agar ความเข้มข้นละ 20 ตัวอย่าง และตัวอย่างควบคุมผลลบบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจดูลักษณะโคโลนีของเชื้อ *L. pneumophila* และนับปริมาณเชื้อ หน่วยเป็น CFU/L

3. การทดสอบยืนยันเชื้อ *L. pneumophila* สายพันธุ์มาตรฐาน

การทดสอบยืนยันเชื้อ *L. pneumophila* สายพันธุ์มาตรฐานที่นับได้ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ 2 โดยการนำมาย้อมสีแกรม ตรวจหาสารเรืองแสง (autofluorescence) ในตู้แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 365 nm และทดสอบความต้องการใช้ L-cysteine ในการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE และ BCYE(-) agar

4. การคำนวณปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* สายพันธุ์มาตรฐาน

การคำนวณปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* สายพันธุ์มาตรฐานที่นับได้จากข้อ 2 และผ่านการทดสอบยืนยันจากข้อ 3 หน่วยเป็น CFU/L สามารถทำได้ดังต่อไปนี้

4.1 หาค่าเฉลี่ยโคโลนีของเชื้อ *L. pneumophila* ต่อตัวอย่างด้วยสูตร

$$\text{ค่าเฉลี่ยโคโลนีของเชื้อ } L.\ pneumophila \text{ ต่อตัวอย่าง} = \frac{\Sigma X}{\text{จำนวนจานเพาะเชื้อ}}$$

โดย $X = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่สงสัยบนอาหารแต่ละจาน x จำนวนโคโลนีที่เจริญบน BCYE แต่ไม่เจริญบน BCYE(-)}}{\text{จำนวนโคโลนีทั้งหมดที่นำมาทดสอบ}}$

4.2 คูณกลับด้วย dilution factor ของวิธีการกรองเพื่อหาปริมาณเชื้อ ด้วยสูตร

ปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* ที่นับได้

= ค่าเฉลี่ยโคโลนีของเชื้อ *L. pneumophila* ต่อตัวอย่าง x10x5

โดย 10 คือ dilution factor ของตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกรอง ปริมาตร 0.1 ml ซึ่งนำมาทำ spread plate และ 5 คือ ปริมาตรน้ำกรองปราศจากเชื้อ 5 ml ที่เติมในหลอดที่บรรจุแผ่นกรองที่ผ่านการกรอง

5. การเปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *L. pneumophila*

ทำการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* ที่เติมในตัวอย่างน้ำกรองปราศจากเชื้อความเข้มข้นจำนวน 3 ระดับ กับปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* ที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ หน่วยเป็น CFU/L โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (simple linear regression)[10]

ผลการศึกษา

จากการตรวจหาเชื้อ *L. pneumophila* ในตัวอย่างน้ำผสมเชื้อที่เตรียมไว้ พบว่าเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบมีลักษณะโคโลนี กลม นูน ขอบเรียบ มีสีขาว เมื่อนำไปย้อมสีแกรม เป็นแกรมลบ รูปแท่ง และเมื่อตรวจหาสารเรืองแสงที่ความยาวคลื่น 365 nm พบว่าโคโลนีไม่เกิดการเรืองแสง แต่มีความต้องการใช้ L-cysteine ในการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ *L. pneumophila* สายพันธุ์มาตรฐาน นับปริมาณเชื้อที่ความเข้มข้นทั้ง 3 ระดับได้ผลตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* ที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (CFU/L)

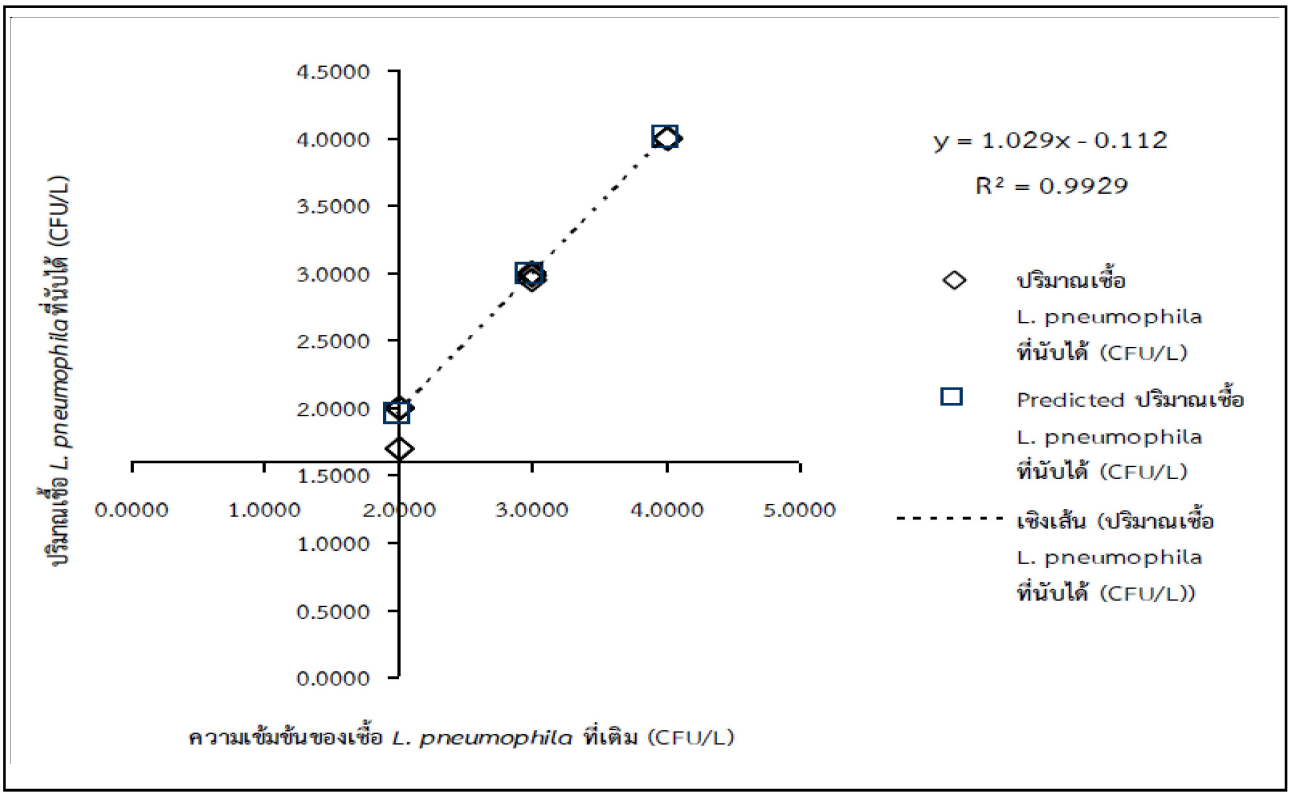
ลำดับที่	ปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* ที่นับได้ (CFU/L)			
	ตัวควบคุมผลลบ	ความเข้มข้นเชื้อที่ระดับ $10-10^2$ (CFU/L)	ความเข้มข้นเชื้อที่ระดับ 10^2-10^3 (CFU/L)	ความเข้มข้นเชื้อที่ระดับ 10^3-10^4 (CFU/L)
ตัวอย่างที่ 1	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 2	0	10^2	$9.50x10^2$	$9.90x10^3$
ตัวอย่างที่ 3	0	10^2	$9.00x10^2$	$9.90x10^3$
ตัวอย่างที่ 4	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 5	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 6	0	10^2	10^3	$9.90x10^3$
ตัวอย่างที่ 7	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 8	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 9	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 10	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 11	0	50	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 12	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 13	0	50	$9.50x10^2$	$9.95x10^3$
ตัวอย่างที่ 14	0	50	$9.00x10^2$	10^4
ตัวอย่างที่ 15	0	10^2	$9.00x10^2$	10^4
ตัวอย่างที่ 16	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 17	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 18	0	10^2	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 19	0	50	10^3	10^4
ตัวอย่างที่ 20	0	10^2	10^3	9.95x10

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* ที่เติมในตัวอย่างน้ำกรองปราศจากเชื้อความเข้มข้นจำนวน 3 ระดับ และปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* ที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ พบว่า สามารถตรวจพบเชื้อในปริมาณสูงใกล้เคียงกับปริมาณของเชื้อที่เติมลงในตัวอย่างน้ำ โดยเมื่อทดสอบทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย พบว่า Multiple R เท่ากับ 0.9964 และมีความคลาดเคลื่อนต่ำ (standard deviation เท่ากับ 0.0721) (ตารางที่ 2) เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9929 แสดงว่าผลการทดสอบมีความถูกต้องร้อยละ 99.29 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p=0.05) (ภาพที่ 1) และการทดสอบในครั้งนี้มี Upper limit เท่ากับ 0.0530 และ Lower limit เท่ากับ -0.2479 ซึ่งอยู่ในช่วงการยอมรับ คือ ไม่เกิน ± 2 (ภาพที่ 2)

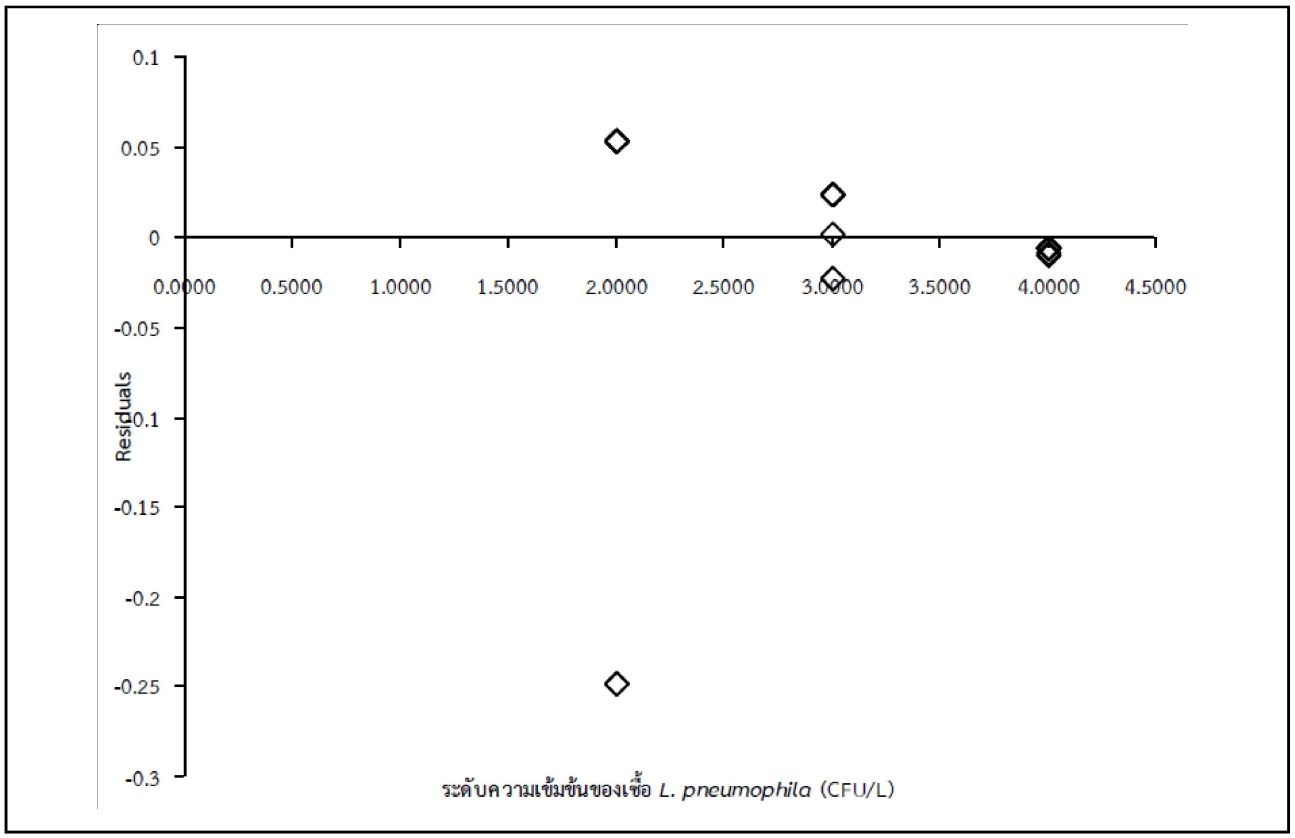
ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นอย่างง่ายเปรียบเทียบผลการทดสอบกับปริมาณเชื้อที่เติมลงในตัวอย่างน้ำ

	Regression Statistics
Multiple R	0.9964
R Square	0.9929
Standard deviation	0.0721
Observations	60

ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเชื้อ *L. pneumophila* ที่เติมในน้ำกรองและปริมาณเชื้อ *L. pneumophila* ที่นับได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (CFU/L)



ภาพที่ 2 ค่า Upper limit และ Lower limit ของการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อ *L. pneumophila* ที่กำหนด (CFU/L)



วิจารณ์

วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำของ CDC, 2005 ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอนการแยกเชื้อหลากหลายชนิด ได้แก่ BCYE, PCV, PCV(-) และ GPCV agar เป็นการเพิ่มโอกาสการพบเชื้อ *Legionella* spp. ที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำจากสิ่งแวดล้อม ให้ครอบคลุมหลากหลายสายพันธุ์มากขึ้น เนื่องจากเชื้อ *Legionella* spp. อาจมีการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงในสิ่งแวดล้อมเพื่อการอยู่รอด[9] เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์พัฒนาขึ้นเอง ซึ่งใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในขั้นตอนการแยกเชื้อเพียงชนิดเดียว ได้แก่ Wadowsky Yee Okuda (WYO) agar[11] ซึ่งอาจทำให้ไม่ครอบคลุมสายพันธุ์ของเชื้อ *Legionella* spp. ในสิ่งแวดล้อม และวิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมของ CDC, 2005 มีความน่าเชื่อถือเนื่องจากเป็นวิธีมาตรฐานสากลที่ยอมรับกันทั่วโลก และจากผลการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่นำมาใช้มีความถูกต้องร้อยละ 99.29 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p=0.05) และมีความคลาดเคลื่อนต่ำ เท่ากับ 0.0721

ดังนั้นการนำวิธีมาตรฐานของ CDC, 2005 มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Legionella* spp. ในตัวอย่างน้ำของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานีจึงมีความเหมาะสมอย่างยิ่งในการเฝ้าระวังและควบคุมการระบาดของเชื้อ *Legionella* spp. ในเขตพื้นที่รับผิดชอบบริเวณภาคใต้ตอนบน ซึ่งเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญของประเทศ เป็นการเพิ่มศักยภาพในการตรวจวินิจฉัยตามมาตรฐานสากล สามารถสร้างความเชื่อมั่นต่อนักท่องเที่ยว ผู้มาเยือนและผู้ใช้บริการ ตลอดจนหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการนำผลการตรวจวิเคราะห์ไปใช้ได้ทั่วโลก

ข้อเสนอแนะ

การทดสอบในครั้งนี้ใช้ตัวอย่างน้ำกรองปราศจากเชื้อที่เตรียมขึ้นเอง ไม่ได้ใช้ตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งถือว่าเป็นข้อจำกัดของวิธีทดสอบ การใช้ตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อมจะเป็นตัวแทนที่ดีเนื่องจากอาจมีปัจจัยที่ส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Legionella* spp.[9]

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ดร. กมล ฝอยหิรัญ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างดี พร้อมทั้งตรวจทานต้นฉบับ คุณเพ็ญศรี รอดมา ที่กรุณาสอนสถิติสำหรับชีววิทยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่อนุเคราะห์เอกสารมาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ที่เอื้อเฟื้อฐานข้อมูลของเอกสารอ้างอิง และนักวิเคราะห์ กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 11 สุราษฎร์ธานี ที่ร่วมทำการทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

1. Brenner DJ, Steigerwalt AG, Weaver RE, McDade JE, Feeley JC, Mandel M. Classification of the Legionnaires' disease bacterium: an interim report. Curr Microbiol 1978; 1: 71-75.
2. The Philadelphia Killer. abc Time 1976 Aug 16; 64-65.
3. Fliermans CB. Ecology of *Legionella*: from data to knowledge with a little wisdom. Microb Ecol. 1996; 32: 203-228.
4. Fields BS. The molecular ecology of legionellae. Trends Microbiol. 1996; 4: 286-290.
5. Leoni E, Legnani PP, Bucci Sabattini MA, Righi F. Prevalence of *Legionella* spp. in swimming pool environment. Water Res. 2001; 35 (15): 3749-3753.
6. Keller DW, Hajjeh R, DeMaria A, Fields BS, Pruckler JM, Benson RS, et al. Community outbreak of Legionnaires' disease: an investigation confirming the potential

for cooling towers to transmit *Legionella* species. Clin Infect Dis. 1996; 22: 257-261.

7. วัชรี แก้วนอกเขา. โรคปอดอักเสบ ประเทศไทย ปี พ.ศ. 2548-2553. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์. ปีที่ 43 ฉบับพิเศษ; 2555. หน้า 94.
8. สำนักงานสถิติจังหวัดสุราษฎร์ธานี สำนักงานสถิติแห่งชาติ. รายงานสถิติจังหวัด พ.ศ. 2556. ISSN 1905-8314; 2556.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Procedures for the recovery of *Legionella* from the environment. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention; 2005.
10. สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. แนวปฏิบัติการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบทางจุลชีววิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: อรุณการพิมพ์; 2554.
11. วันทนา ปวีณกิตติพร. การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Legionella* spp. จากแหล่งน้ำ. มาตรฐานการปฏิบัติงาน. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2553.

Abstract: Introduction of the US Centers for Disease Control and Prevention's Standard Method for the Detecting *Legionella* in Water Samples from the Environment into the Routine Laboratory Program of Regional Medical Sciences Center 11, Surat Thani

Thatsanee Masjamras, B.S. (Microbiology), M.S. (Microbiology); Supatinee Soboon, B.S. (Microbiology), M.S. (Microbiology)

Regional Medical Sciences Center 11 Surat-Thani, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health

Journal of Health Science 2014;23:712-8.

Legionellosis, a bacterial disease caused by *Legionella*, is a health problem among foreign tourists. In Thailand, the laboratory test for *Legionella* bacteria was developed by Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. The objective of this study was to assess the standard procedure for the recovery of *Legionella* spp. in water samples from the environment developed by the US Centers for Disease Control and Prevention (CDC). The study was conducted in the laboratory of the Regional Medical Sciences Center 11 (RMSC 11), Surat Thani province during January - August 2013. In the process, the reference strain of *Legionella pneumophila* ATCC 33152 was added to sterilized deionized water samples and diluted to become 3 sets of samples with the concentrations of 10-100, 100-1,000 and 1,000-10,000 CFU/L, respectively. All three water samples were subsequently tested for *Legionella* spp., using the CDC method. It was found that *Legionella pneumophila* was detected in all 3 sets of samples. The detection rate was 99.29% (95% confidence interval, p=0.05) and the standard deviation was 0.0721. Thus, it is justifiable for the RMSC 11 to utilize the standard CDC procedure for testing *Legionella* spp. on a routine basis as this process could upgrade the competency of the Center to meet international standard and build confidence of foreign tourists and other clients, as well as ensure the utilization of the test results at the international level.

***Key words: Legionella*, legionnaires' disease, CDC, laboratory procedure**