รหัสโครงการ SUT -104-46-24-04

รายงานการวิจัย

การตรวจและควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคลีเจียนแนร์ ในระบบปรับอากาศ

Detection and Control Legionnaires' disease Bacteria in Air-conditioning System

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ทัศนีย์ สุโกศล

สาขาวิชาจุลชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2546-2547

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

เมษายน 2551

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2547 ซึ่งคณะผู้วิจัยขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้ นอกจากนี้ยังใคร่ขอขอบคุณ คุณบ๊อบบี้ ฤทธิ์รัตน์ และบุคลากรส่วนอาคารสถานที่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง และ คุณอารียา กลิ่นโพธิ์กลาง ที่ช่วยทั้งด้านการเก็บตัวอย่าง การตรวจสอบและรวบรวมข้อมูล ทำให้โครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า ผลการวิจัยนี้จะเป็นส่วนหนึ่งของการกระตุ้นให้เกิดความตระหนักในการดูแลสิ่งแวดล้อม เพื่อการพัฒนาคุณภาพชีวิตในชุมชนให้ดีขึ้น

รองศาสตราจารย์ ดร. ทัศนีย์ สุโกศล
หัวหน้าคณะวิจัย

บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย *Legionella* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease) ซึ่งเป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ พบได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติ และแหล่งน้ำที่เป็นสิ่งปลูกสร้างจากมนุษย์ เช่น หอผึ่งเย็นสำหรับระบบปรับอากาศ เป็นต้น งานวิจัยนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น จำนวน 21 ตัวอย่าง และตัวอย่างน้ำจากถาดรองน้ำในเครื่องปรับอากาศ ที่มีอายุการใช้งาน 1 ปีขึ้นไป จำนวน 30 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. จากตัวอย่างน้ำทั้งหมด 51 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Legionella* spp. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย รวมทั้ง *Staphylococcus* spp. แต่พบแบคทีเรียรวมจากตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็นเฉลี่ย 7.03×10^{3} CFU/ml และจากถาดรองน้ำในเครื่องปรับอากาศเฉลี่ย 4.12×10^{5} CFU/ml นอกจากนี้ยังพบ glucose-nonfermenting Gram negative bacilli ชนิด *Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium* และ *Alcaligenes* ในทั้งสองกลุ่มตัวอย่าง รวมทั้งพบ biofilms ในตัวอย่างหอผึ่งเย็นที่มีการดูแลรักษาด้วยการเติมสารชีวฆาตและสารเคมีป้องกันการกัดกร่อนและเกิดตะกรันด้วย เนื่องจากสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Legionella* จึงควรเฝ้าระวังการเกิดโรค และการแพร่กระจายของเชื้อด้วยการปฏิบัติตามประกาศของกรมอนามัย เรื่องข้อปฏิบัติการควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลาในหอผึ่งเย็นของอาคารในประเทศไทย

Abstract

Legionella is the bacteria that causes Legionnaires' disease which is the respiratory infection. This bacteria can be found in natural water and man-made water, such as cooling tower for air conditioning system. This research had collected water samples from 21 cooling towers and 30 trays of the air-conditioners which were used more than 1 year. The total 51 water samples were examined for *Legionella* spp. but none was found, included coliform bacteria and *Staphylococcus* spp. On the other hands, total bacteria from water samples which were collected from the cooling towers were 7.03×10^{3} CFU/ml in average and from trays of air-conditioners were 4.12×10^{5} CFU/ml in average. They were found glucose-nonfermenting Gram negative bacilli which were *Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium* and *Alcaligenes* in both sample groups, the biofilms could be seen in the cooling tower even they were maintenance with biocides and corrosion inhibitors. Since the climate in Thailand is suitable for *Legionella* proliferation. Thus, it is necessary to be aware of the *Legionella* dissemination by following the Department of Health' s recommendation.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์การวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	3
ระเบียบวิธีวิจัย	3
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
Legionella	5
วิทยาการระบาด	5
พยาธิกำเนิด	7
ลักษณะเวชกรรม	7
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
อุปกรณ์และเครื่องมือ	11
วัสดุและสารเคมี	11
การเก็บตัวอย่างน้ำ	11
การเพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำ	12
การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างน้ำ	12
การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างน้ำ	13
บทที่ 4 ผลการศึกษาวิจัย	
การสำรวจและเก็บตัวอย่าง	14
คุณภาพทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
คุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น	16
คุณภาพทางจุลชีววิทยาจากตัวอย่างน้ำในเครื่องปรับอากาศ ที่อาคารเรียนรวม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	19
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา	
อภิปรายผลการศึกษา	22
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา	
สรุปผลการศึกษา	25
ข้อเสนอแนะ	26
บรรณานุกรม	27
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	31
ภาคผนวก ข	35
ภาคผนวก ค	36
ประวัติผู้วิจัย	51

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	ผู้ป่วยโรคลีจิโอเนลลาที่รายงานพบในประเทศไทย	6
4.1	แหล่งที่มาและจำนวนตัวอย่าง	14
4.2	ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ ของตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น	15
4.3	ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา ของตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น.....	17
4.4	ผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาจากตัวอย่างน้ำ ในเครื่องปรับอากาศ ที่อาคารเรียนรวม	20

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

4.1 ตัวอย่างหอผึ่งเย็นแบบทรงกลม แบบทรงเหลี่ยม
และคราบสารเคมี-ตะไคร่เกาะติดภายใน 16

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

เชื้อแบคทีเรีย *Legionella* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease) ซึ่งเป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ พบครั้งแรกเมื่อเกิดการระบาดของโรคปอดอักเสบระหว่างมีการประชุมประจำปีของทหารผ่านศึกในฤดูร้อน ปี พ.ศ. 2519 ที่จัดขึ้นที่โรงแรมแห่งหนึ่งในเมืองฟิลาเดลเฟีย ประเทศสหรัฐอเมริกา (Maiwald *et al.*, 1998) เชื้อนี้แพร่กระจายทั่วไป พบเชื้อได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ รวมถึงโคลนตมและดินที่มีความชื้น (Fliermans, 1996) และแหล่งน้ำที่เป็นสิ่งปลูกสร้างจากมนุษย์ เช่น หอหล่อเย็น เครื่องทำน้ำร้อน ระบบน้ำร้อนที่ใช้ในบ้านเรือน อ่างน้ำพุหรือน้ำพุประดับอาคาร ฝักบัวอาบน้ำหรือแอร์น้ำ ถาดรองรับน้ำจากเครื่องปรับอากาศซึ่งสกปรกและไม่ได้รับการทำความสะอาดเท่าที่ควร (Breiman, 1993) เชื้อเข้าสู่คนโดยการสูดหายใจเอาละอองน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเข้าไป หากผู้ป่วยร่างกายอ่อนแออาจถึงกับเสียชีวิตได้ (Fliermans, 1996; Pasculle, 2000)

มีรายงานการเกิดโรคลีเจียนแนร์ทั้งในทวีปอเมริกา ยุโรป เอเชียและออสเตรเลีย ในประเทศสหรัฐอเมริกามีรายงานว่าพบผู้ป่วยที่เป็นโรคเนื่องจากเชื้อ *L. pneumophila* 1,200-1,600 คน/ปี คิดเป็น 0.44-0.63/100,000 คน ในประเทศอังกฤษพบ 120-160 คน/ปี โดยเกิดการระบาด 2-7 ครั้ง ซึ่งในการระบาดแต่ละปี การเกิดโรคจะเกิดขึ้นในโรงพยาบาลประมาณครึ่งหนึ่งของคนไข้ทั้งหมด ประเทศออสเตรเลียมีรายงานการพบโรคนี้ประมาณ 0.5/100,000 คน ซึ่งจะเกิดในผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 50 ปีขึ้นไป โดยเฉพาะในเดือนเมษายน 2543 ได้มีการระบาดของโรคนี้ในประเทศออสเตรเลียครั้งรุนแรงที่สุด โดยพบผู้ป่วย 66 ราย และมีผู้เสียชีวิต 2 ราย เป็นหญิงสูงอายุ ทั้งนี้เชื่อว่าการระบาดของโรคนี้เกิดจากระบบปรับอากาศที่พิพิธภัณฑ์สัตว์น้ำแห่งใหม่ในนครเมลเบิร์น ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งมีมูลค่า 20 ล้านดอลลาร์สหรัฐ โดยผู้ป่วยล้วนแต่เป็นผู้ที่เคยไปเยือนพิพิธภัณฑ์สัตว์น้ำดังกล่าว ในช่วงกลางเดือนเมษายน 2543 นอกจากนี้ออสเตรเลียเคยเผชิญการระบาดของโรคนี้ครั้งรุนแรงที่สุดที่เมืองวูลลองกอง ใกล้นครซิดนีย์ เมื่อปี 2530 ซึ่งมีผู้ป่วย 44 คน และมีผู้เสียชีวิต 10 คน มาก่อนหน้านี้แล้ว ส่วนในประเทศอื่นๆ มีรายงานการเกิดโรคบ้างประปราย เช่น แคนาดา สวีเดน อิตาลี ฝรั่งเศสและเนเธอร์แลนด์

ปัญหาของเชื้อ *L. pneumophila* ในประเทศไทย จากรายงานของ European Working Group for *Legionella* infection และ Communicable Disease Surveillance แจ้งมายังกระทรวงสาธารณสุขว่า พบผู้ป่วยที่เป็นนักท่องเที่ยวชาวต่างประเทศที่มาท่องเที่ยวในประเทศไทยแล้วกลับไปเป็นโรคลีเจียนแนร์ในระหว่างปี พ.ศ. 2535-2542 มีผู้ป่วยทั้งหมด 11 ราย ตาย 3 ราย ซึ่งจังหวัดที่

นักท่องเที่ยวเหล่านี้ได้เข้าพักคือ กรุงเทพฯ สุราษฎร์ธานี (เกาะสมุย) กระบี่ เชียงใหม่และชลบุรี (พัทยา) เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีระบบการรายงานโรคนี้โดยตรง แต่จะอยู่ในรูปของการรายงานการเกิดโรคปอดอักเสบ โดยไม่มีการแยกชนิดของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอย่างแน่ชัด

สำหรับการศึกษาอุบัติการณ์โรคปอดอักเสบที่เกิดเนื่องจากเชื้อ *Legionella* ในประเทศไทยได้มีการศึกษาเป็นครั้งแรก โดยนายแพทย์ไพรัช ศรีไสวและคณะ (2527) สามารถยืนยันได้ว่าโรคดังกล่าวได้เกิดขึ้นแล้วอย่างแน่นอนในประเทศไทย แต่ที่พบไม่มากอาจเนื่องจากการวินิจฉัยโรคนี้ค่อนข้างยุ่งยากและใช้เวลานาน ต้องอาศัยห้องปฏิบัติการเฉพาะ โรงพยาบาลทั่วๆไปไม่ได้เตรียมการเพื่อวินิจฉัยโรคนี้ไว้ นอกจากนี้ประเทศไทยเป็นประเทศที่อยู่ในเขตร้อน มีอุณหภูมิเฉลี่ยและความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *L. pneumophila* ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ในอุณหภูมิ 20-45 องศาเซลเซียส (Bentham *et al.*, 1993; Garnett *et al.*, 1990; Wadowsky *et al.*, 1985) มีค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 5.0-8.5 (Wadowsky *et al.*, 1985) ชอบอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีน้ำขังนิ่ง ดังนั้นแหล่งน้ำขังต่างๆ ดังกล่าวในตอนต้นจึงเป็นแหล่งเพาะและแพร่เชื้อได้อย่างดี

สมศักดิ์ ชัยพิพัฒน์ และคณะ (2543) จากฝ่ายอนามัยสิ่งแวดล้อมชุมชนและเมือง สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุขได้ทำการศึกษามลพิษอากาศในอาคารโรงแรมตามภาคต่างๆ ในประเทศไทย โดยการตรวจสอบทางกายภาพและตรวจสอบการดำเนินมาตรการป้องกันการระบาดของเชื้อ *L. pneumophila* ในโรงแรมรวม 31 แห่ง พบว่า 24 แห่งมีมาตรการในการควบคุมโดยใช้สารเคมีและมีการขัดล้างทำความสะอาดแหล่งน้ำขังต่างๆ ดังนั้นจากการตรวจทางกายภาพจึงไม่น่าจะมีเชื้อ *L. pneumophila* ส่วนอีก 7 แห่งที่ยังไม่ได้ดำเนินการตามมาตรการป้องกันนั้น สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อมได้ส่งตัวอย่างให้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ทำการตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *L. pneumophila* พบเชื้อ 5 แห่ง นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อ *L. pneumophila* ในอาคารสำนักงาน 1 แห่ง (จากการตรวจ 14 แห่ง) ในโรงพยาบาล 1แห่ง (จากการตรวจ 2 แห่ง)

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ในระบบเครื่องปรับอากาศตามอาคารชุมชนต่างๆ ซึ่งอาจแพร่เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคทางเดินหายใจ หากพบเชื้อก็จะได้แจ้งผู้เกี่ยวข้องทำการแก้ไขและตรวจสอบซ้ำหลังจากแก้ไขแล้ว เพื่อเป็นการกำจัดแหล่งแพร่เชื้อที่ส่งผลต่อกลุ่มคนจำนวนมากต่อไป

2. เพื่อเป็นการประชาสัมพันธ์ให้ความรู้และกระตุ้นให้ผู้ดูแลอาคารสถานที่ในชุมชนต่าง ๆ ตระหนักถึงความสำคัญและดำเนินการดูแลไม่ให้มีแหล่งแพร่เชื้อ *Legionella* spp. ในอาคารต่าง ๆ

1.3 ขอบเขตการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ได้ทำการวิจัยในจังหวัดนครราชสีมาใน 2 กลุ่มตัวอย่าง คือ

1. เครื่องปรับอากาศ โดยปกติเครื่องปรับอากาศที่มีสภาพดี เมื่อมีการควบแน่นเกิดหยดน้ำขึ้นมา ถาดรองน้ำก็จะระบายน้ำออกจากเครื่องได้ หากเครื่องปรับอากาศใช้งานอยู่ประจำและไม่ได้รับการดูแลเท่าที่ควร ก็จะมีการอุดตันของท่อระบายน้ำทิ้ง ทำให้มีน้ำขังในถาดรองน้ำในเครื่องได้ ดังนั้นจึงได้ทำการวิเคราะห์หาแบคทีเรีย *Legionella* spp. ในระบบเครื่องปรับอากาศตามห้องเรียน ห้องประชุม ที่มีผู้ใช้จำนวนไม่น้อยกว่า 30 คน/ห้อง และมีอายุการใช้งานตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป จำนวน 30 ตัวอย่าง

2. ในหอหล่อเย็นสำหรับระบบเครื่องปรับอากาศรวมของอาคารใหญ่ มีรายงานการตรวจพบเชื้อ *Legionella* spp. จึงได้ทำการวิเคราะห์หาแบคทีเรีย *Legionella* spp. ในหอผึ่งเย็น จำนวน 21 ตัวอย่าง ในสถานที่ที่มีระบบเครื่องปรับอากาศบริการชุมชนในจังหวัดนครราชสีมา

การวิจัยเพื่อตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. จึงมีจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ โดยตรวจเครื่องปรับอากาศ 30 ตัวอย่าง และหอหล่อเย็น 21 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 51 ตัวอย่าง

1.4 ระเบียบวิธีวิจัย

1. ติดต่อประชาสัมพันธ์ทำความเข้าใจกับสถานที่ในจังหวัดนครราชสีมา ที่มีระบบเครื่องปรับอากาศบริการต่อชุมชน ซึ่งอาจเป็นแหล่งแพร่เชื้อได้ เพื่อประสานงานในการตรวจทางกายภาพและเก็บตัวอย่างตรวจ เช่น มหาวิทยาลัย โรงเรียน โรงงาน ฯลฯ

2. ดำเนินการตรวจตามมาตรการป้องกันการแพร่เชื้อ *Legionella* spp. และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ตรวจหาเชื้อ

3. เพาะเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อและวิเคราะห์หาเชื้อแบคทีเรีย *Legionella* spp. ซึ่งก่อโรคในระบบทางเดินหายใจจากแหล่งต่าง ๆ ดังนี้

3.1 เพาะเชื้อจากถาดรองน้ำของเครื่องปรับอากาศที่มีอายุการใช้งานตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป

3.2 เพาะเชื้อจากหอหล่อเย็นสำหรับอาคารต่าง ๆ

4. เมื่อพบเชื้อ *Legionella* spp. ในแหล่งใดก็แจ้งให้ผู้ดูแลรีบทำการกำจัดเชื้อ และแก้ไขแหล่งนั้น ๆ ไม่ให้เป็นที่แพร่เชื้อต่อไป

5. สำหรับแหล่งที่ตรวจพบเชื้อในครั้งแรกและทำการกำจัดเชื้อแล้ว จะทำการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ซ้ำอีกครั้งหลังจากการกำจัดเชื้อ เพื่อติดตามผล

6. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเป็นอัตราร้อยละของการพบเชื้อ สรุปและรายงานผล

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ผลที่เกิดทันทีจากการวิจัย คือ การเฝ้าระวังและดูแลสิ่งแวดล้อมไม่ให้เกิดการแพร่เชื้อที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพในสถานที่ที่มีกลุ่มประชากรอยู่รวมกัน

2. เนื่องจากการวินิจฉัยเชื้อนี้ต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อพิเศษกว่าแบคทีเรียทั่ว ๆ ไป ในปัจจุบันมีห้องปฏิบัติการที่รับตรวจเชื้อนี้เพียง 2 แห่ง คือ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ดังนั้นการทำวิจัยนี้จะทำให้มีห้องปฏิบัติการที่สามารถตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ซึ่งอาจให้บริการการตรวจสอบในจังหวัดนครราชสีมาและเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ในโอกาสต่อไป

3. เป็นแนวทางสำหรับโครงการสถานที่/โรงแรมน่าอยู่ เพื่อสนับสนุนเศรษฐกิจด้านการท่องเที่ยวของจังหวัดนครราชสีมาในอนาคต

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Legionella

Legionella จัดอยู่ในวงศ์ Legionellaceae เป็นแบคทีเรียรูปท่อน ติดสีแกรมลบ ขนาดประมาณ 0.3-0.9 × 2-20 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ เพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาไม่ขึ้น เนื่องจากไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโน L-cysteine ได้ (Bergey, 1984) ปัจจุบันเชื้อในสกุลนี้มี 48 สปีชีย์ (species) 70 serogroup แต่มีเพียง 20 สปีชีย์ 39 serogroup ที่ก่อโรคในคน (Fields *et al.*, 2002) โรคที่เกิดขึ้นเรียกว่า โรคลีจิโอเนลโลซิส (legionellosis) มีลักษณะเวชกรรมแตกต่างกัน 2 แบบ คือ โรคลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease) และไข้ปอนติแอก (Pontiac fever) (Garnett *et al.*, 1990) *L. pneumophila* เป็นเชื้อก่อโรคตัวสำคัญและก่อโรครุนแรงที่สุด ประกอบด้วย 15 serogroup โดย serogroup ที่เป็นสาเหตุของโรคมากที่สุด คือ serogroup 1 (Ruef, 1998)

เชื้อ *Legionella* อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีความชื้นสูง และเจริญได้ในน้ำอุณหภูมิ 20 - 45 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 35 - 37 องศาเซลเซียส (Bentham *et al.*, 1993; Garnett *et al.*, 1990; Wadowsky *et al.*, 1985) จึงพบได้ทั้งในแหล่งน้ำธรรมชาติ ได้แก่ ทะเลสาบ ลำธาร ปากอ่าว (ส่วนที่น้ำจืดของแม่น้ำประจบกับน้ำเค็มของทะเล) ดินชายฝั่งและโคลนตม น้ำพุร้อน และแหล่งน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น หอผึ่งเย็น น้ำที่ระเหยจากหน่วยควบแน่น เครื่องทำความชื้น ก๊อกร่วมน้ำร้อนน้ำเย็น หัวฝักบัว น้ำพุจำลอง (Breiman, 1993) ในน้ำอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส เชื้อจะเจริญช้ามาก ถ้ามีสาหร่ายและโปรโตซัวเจริญอยู่จะช่วยเร่งการเจริญของเชื้อยิ่งขึ้น (Kwaik *et al.*, 1998)

วิทยาการระบาด

เชื้อนี้พบได้ทั่วโลก ชุกชุมในฤดูแล้ง แหล่งที่พบเชื้อดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น การระบาดที่สำคัญเกิดจากเชื้อ *L. pneumophila* sergroup1 จากแหล่งน้ำในหอผึ่งเย็น แต่ก็เคยมีรายงานการติดเชื้อจากละอองฝอยในอ่างน้ำวน ละอองน้ำพ่นฉีดต้นไม้ และละอองน้ำพุร้อน (Breiman *et al.*, 1990; Cordes *et al.*, 1980; Dondero *et al.*, 1980; Garbe *et al.*, 1985)

เชื้อ *Legionella* เป็นเชื้อก่อโรคแบบฉวยโอกาส (opportunistic pathogen) ผู้ที่ได้รับเชื้อและเกิดโรคส่วนใหญ่เป็นผู้ที่มีภูมิต้านทานโรคต่ำ เช่น มีโรคประจำตัวบางอย่าง (มะเร็งปอด โรคปอดเรื้อรัง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ) หรือกำลังได้รับการรักษาด้วยยาสเตียรอยด์ หรือเพิ่งผ่าตัดเปลี่ยนอวัยวะ และผู้สูงอายุ (Fliermans, 1996; Ruef, 1998; Sabria and Yu, 2002; Stout and Yu, 1997) ซึ่ง

ส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาล โดยโรคปอดอักเสบติดเชื้อในโรงพยาบาลประมาณร้อยละ 1-30 เกิดจากเชื้อ *Legionella* (Sabria and Yu, 2002)

ในประเทศไทยนั้น มีรายงานผู้ป่วยโรคลีจิโอเนลโลซิส ตั้งแต่ปี 2527 – 2545 จำนวน 16 ราย ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ผู้ป่วยโรคลีจิโอเนลลาที่รายงานพบในประเทศไทย

รายที่	ผู้ป่วย/โรคร่วม	เชื้อสาเหตุ	วิธีการวินิจฉัย
1	หญิงไทยอายุ 19 ปี วัณโรคปอดและโรคปอดโนคาร์เดีย	*L. pneumophila* serogroup 3	MAT, IHA, IFAT
2	หญิงไทยอายุ 24 ปี	*L.pneumophila*	IFAT
3	ชายอายุ 64 ปี โรคมะเร็งปอด	*L.pneumophila*	IFAT
4	ชายอายุ 83 ปี โรคปอดอุดกั้นเรื้อรังและวัณโรคปอด	*L.pneumophila*	IFAT
5	ชายจีนอายุ 78 ปี โรคมะเร็งปอด	*L. jordanis*	IFAT
6 - 9	-	*L. pneumophila* serogroup 3	IFAT
10	หญิงไทยอายุ 16 ปี	*L. pneumophila* serogroup 3	IFAT
11	หญิงไทยอายุ 56 ปี โรคเบาหวานและวัณโรคปอด	*L. pneumophila* serogroup 3	IFAT
12	ชายไทยอายุ 27 ปี วัณโรคเยื่อหุ้มปอด	*L. pneumophila* serogroup 3	IFAT
13	หญิงจีนอายุ 39 ปี	*L.pneumophila* serogroup 2, 3, 6	MAT
14	ชายเดนมาร์กอายุ 77 ปี	*L. pneumophila* serogroup 6	PCR, IFAT
15	ชายไทยอายุ 79 ปี โรคเบาหวาน ดื่มจัด สูบบุหรี่	*Legionella* spp.	IFAT
16	หญิงไทยอายุ 47 ปี	*Legionella* spp.	IFAT

- ไม่ระบุ, IFAT การทดสอบแอนติบอดีย์วิธีเรืองแสงโดยอ้อม, IHA การทดสอบฮีแมกกลูติเนชั่นโดยอ้อม, MAT การทดสอบไมโครแอกกลูติเนชั่น, PCR ปฏิกิริยาสายโซ่พอลีย์เมอเรส,

ที่มา: สมชัย บวรกิตติ, 2546

มีรายงานการเกิดโรคลีจิโอเนลโลซิสประปรายในกลุ่มประเทศทางยุโรป สหรัฐอเมริกา แคนาดา และออสเตรเลีย และเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Fields *et al.*, 2002; Pasculle, 2000; Waterer *et al.*, 2001) อัตราการเกิดโรคสูงในฤดูร้อนในประเทศหนาว ส่วนในประเทศร้อนเป็นได้ทุกฤดู

พยาธิกำเนิด

เชื้อก่อโรคอยู่ในน้ำ และแพร่เชื้อไปกับฝอยละอองน้ำ เช่น ละอองฝอยที่ออกมาจากหอผึ่งเย็น ฝักบัว หรือน้ำพุ เมื่อมีผู้ที่อยู่ในบริเวณนั้น โดยเฉพาะผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ หายใจเอาละอองฝอยที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปถึงระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง จากนั้นจะถูกแมโครเฟจ (macrophage) ในถุงลมจับกินเข้าไป และดำเนินกระบวนการก่อการอักเสบของเนื้อปอด ตั้งแต่ชนิดเฉียบพลันจนถึงชนิดเรื้อรังมีโพรงแผล และเนื้อปอดเกิดผังพืด ระยะเวลาฟักโรค 2 – 10 วัน (Fliermans, 1996; Pasculle, 2000) ไม่พบรายงานการแพร่เชื้อจากคนสู่คน (Brieman, 1993)

ลักษณะเวชกรรม

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Legionella* นี้เรียกว่า โรคลีจิโอเนลโลซิส (Legionellosis) มีลักษณะทางเวชกรรมแตกต่างกัน 2 แบบ คือ โรคลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease) และไข้ปอนติแอก (Pontiac fever)

โรคลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease) พบอาการปอดอักเสบ และถุงลมถูกทำลาย อาการเริ่มแรกได้แก่ ความรู้สึกอ่อนระโหยไม่สบาย ปวดกล้ามเนื้อบริเวณหลัง ต้นคอและแขนขา ปวดศีรษะ มีไข้สูง 38.5-40.5 องศาเซลเซียส หนาวสั่น ท้องเสียอ่อนๆ และปวดท้อง ต่อมา 2-3 วัน จะเริ่มไอแห้งๆ บางครั้งมีเสมหะเป็นเลือด เจ็บหน้าอก หายใจขัด ระยะนี้ผู้ป่วยมีลักษณะของผู้ป่วยหนัก หายใจถี่ และสับสนไม่ค่อยรู้เรื่อง อาจมีอุจจาระปนเลือด โพรงเยื่อหุ้มปอดมีสารน้ำ หัวใจอักเสบ อาจมีอาการทางระบบประสาท เช่น อาการสั่น พูดรัวไม่เป็นคำ ความจำเสื่อม อาการทางระบบทางเดินอาหารอาจรุนแรง มีคลื่นไส้อาเจียน ท้องอืด และตกเลือด สุดท้ายผู้ป่วยจะมีอาการของภาวะไตล้มเหลว ภาพเอกซเรย์ปอดจะพบเงาทึบเป็นปื้นหรือจุดขาวๆ อาจเป็นมากจนลามไปกินปอดทั้งสองข้าง ทำให้หายใจล้มเหลว (สมชัย 2546) มีอัตราการตายในต่างประเทศร้อยละ 5-30 (Cloud *et al.*, 2000) นอกจากนี้ยังมีรายงานการติดเชื้อนอกระบบทางเดินหายใจ และการติดเชื้อทางบาดแผลร่วมด้วย (Ruef, 1998)

ไข้ปอนติแอก (Pontiac fever) มีอาการเหมือนไข้หวัด ไม่มีภาวะปอดอักเสบ จึงไม่รุนแรง และหายเองได้ภายใน 2-5 วัน กลุ่มอาการโรคแบบนี้แสดงปฏิกิริยาที่ร่างกายตอบสนองต่อแอนติเจนที่หายใจเข้าไป ไม่ใช่เพราะการติดเชื้อแบคทีเรีย (Steinert *et al.*, 2002)

การรักษา แต่เดิมยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อ *Legionella* คือ erythromycin ในปัจจุบันพบว่ายาในกลุ่ม macrolides และ new generation fluoro-quinolones มีประสิทธิภาพในการรักษาสูงกว่า โดยการใช้เพียงชนิดเดียวหรือใช้ร่วมกันขึ้นอยู่กับความรุนแรงของอาการ ตัวอย่างยาในกลุ่ม macrolides ได้แก่ azithromycin clarithromycin josamycin และ roxithromycin ตัวอย่างยาในกลุ่ม quinolones ได้แก่ ciprofloxacin levofloxacin rifampin tetracycline minocycline doxycycline trimethoprim-sulfamethoxazole ofloxacin และ clindamycin

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่มีภูมิอากาศแบบร้อนชื้น เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Legionella* อีกทั้งมีรายงานการเกิดโรคในนักท่องเที่ยวที่เดินทางมาพักในโรงแรมในประเทศไทย จึงได้มีการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อในสิ่งแวดล้อมต่างๆ ในหลายภูมิภาค แต่ยังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจหาเชื้อ *Legionella* spp. ในประเทศไทยนั้น มีเนื้อหาโดยสังเขปดังนี้

Tanaka และคณะ (2528) ทำการสำรวจหาแหล่งเชื้อ *Legionella* spp. ในกรุงเทพฯ และจังหวัดจันทบุรี จากตัวอย่างหอผึ่งเย็น (cooling tower) 70 แห่ง พบการปนเปื้อนของ *L. pneumophila* 13 แห่ง (ร้อยละ 18.6)

ประภาวดี ติษยาธิคม และคณะ (2538) ได้ทำการศึกษาการเฝ้าระวังเชื้อสกุล *Legionella* จากสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย ได้สำรวจเชื้อ *Legionella* ในแหล่งน้ำธรรมชาติ (สระน้ำ คลอง แม่น้ำ ทะเลสาบ) รวมทั้งในหอผึ่งเย็น น้ำพุ น้ำตกจำลอง และหน่วยควบแน่นของเครื่องปรับอากาศ จากทุกภูมิภาคในประเทศไทย พบว่า ร้อยละ 57 ของตัวอย่างหอหล่อเย็น 94 แห่ง และร้อยละ 21.8 ของตัวอย่างสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ อีก 78 แห่ง มีการปนเปื้อนของ *Legionella* spp. โดยพบ *L. pneumophila* serogroup 1 ร้อยละ 22.3 และ *L. pneumophila* serogroup 5 ร้อยละ 1.1

นีรภา คงกันคง และคณะ (2543) ศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในระบบน้ำทางทันตกรรมในคณะทันตแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในช่วงเดือนเมษายน - พฤษภาคม 2543 โดยเก็บตัวอย่าง 156 ตัวอย่าง มาทดสอบการปนเปื้อนโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อ ผลการศึกษาพบแบคทีเรียชนิดมีโซฟิลิค เฮทเทอโรโทรฟิค ชนิดใช้ออกซิเจน (aerobic mesophilic heterotrophic bacteria) ปริมาณเฉลี่ย $1.70 \times 10^7 - 2.00 \times 10^7$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) และตรวจพบเชื้อ *L. pneumophila* ในตัวอย่าง 10 ตัวอย่าง (ร้อยละ 6)

สดารัตน์ ผาตินาวิน และคณะ (2543) ทำการสอบสวนโรคลีเจียนแนร์ ในเมืองพัทยา จังหวัดชลบุรี เนื่องจากกองระบาดวิทยา สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข ได้รับแจ้งจากศูนย์เฝ้าระวังโรคติดต่อ ประเทศอังกฤษว่า มีนักท่องเที่ยวชาวเดนมาร์ก 1 คน ป่วยเป็นโรคลีเจียนแนร์หลังกลับจากการเดินทางมาเที่ยวในประเทศไทย โดยเข้าพักที่โรงแรมแห่งหนึ่งในเมืองพัทยา จึงได้

สอบสวนโรคเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ที่ผู้ป่วยจะติดเชื้อจากที่พักในโรงแรม และหาแนวทางป้องกันและควบคุมการกระจายของโรค โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำ 14 ตัวอย่าง จากบ่อพักน้ำ หม้อต้มน้ำในระบบน้ำร้อน หอผึ่งเย็น ห้องพัก และบ่อบำบัดน้ำเสีย รวมทั้งเก็บตัวอย่าง biofilm จากห้องพักและหอผึ่งเย็น 7 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่า ตรวจพบเชื้อ *Legionella* ในตัวอย่างน้ำ 7 ตัวอย่าง (ร้อยละ 50) และในตัวอย่าง biofilm 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 28.6) โดยพบเชื้อ *L. pneumophila* serogroup 1, 5, 6 *L. gormanii* และ *Legionella* spp. ซึ่งผู้ป่วยชาวเดนมาร์กที่เข้าพักในโรงแรมนั้นตรวจพบแอนติบอดีต่อเชื้อ *L. pneumophila* serogroup 6 การพบเชื้อชนิดเดียวกันนี้จึงเป็นข้อมูลสนับสนุนว่า ผู้ป่วยอาจได้รับเชื้อจากโรงแรมแห่งนี้ อย่างไรก็ตามการยืนยันแหล่งรับเชื้อที่แน่ชัดต้องอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการในระดับ DNA ที่สอดคล้องกันของเชื้อในผู้ป่วยและสิ่งแวดล้อม

มณฑล เลิศคณาวานิชกุล (2546) ทำการตรวจหาเชื้อ *Legionella* ในสิ่งแวดล้อมของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยเก็บตัวอย่างน้ำ และ biofilm จากอาคารและสิ่งแวดล้อม รวมทั้งตัวอย่างอากาศ ในสัดส่วน 76: 30: 62 รวมทั้งสิ้น 168 ตัวอย่าง ปรากฏว่าพบเชื้อ *Legionella* ในตัวอย่างน้ำและอากาศ ร้อยละ 2.6 และ 3.2 ตามลำดับ แต่ไม่พบเชื้อใน biofilm โดยเชื้อ *Legionella* ที่ตรวจพบคือ *L. pneumophila* serogroup 5 และ *Legionella* spp.

วันทนา ปวีณกิตติพร และคณะ (2547) ศึกษาเชื้อก่อโรคในน้ำพุร้อนธรรมชาติ โดยตรวจตัวอย่างจากแหล่งน้ำพุร้อนใน 4 จังหวัดภาคเหนือ คือ แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ เชียงราย และลำปาง รวม 18 แห่ง ในช่วงเดือนกันยายน - พฤศจิกายน 2546 ปรากฏว่าตรวจพบเชื้อ *L. pneumophila* serogroup 6 ปริมาณ 3.70×10^3 ใน 1 ตัวอย่างจากจังหวัดแม่ฮ่องสอน

ทิพวรรณ กังแฮ และเกสร บุญยรักษ์โยธิน (2547) ทำการสำรวจเชื้อ *Legionella* จากหอผึ่งเย็นของโรงแรมใน 5 จังหวัดภาคใต้ ได้แก่ ตรัง กระบี่ ภูเก็ต สุราษฎร์ธานี และสงขลา ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2545 ถึง กันยายน 2546 จำนวน 37 แห่ง 161 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างน้ำจากน้ำที่ไหลเข้าถังเพื่อรักษาระดับน้ำ น้ำที่เก็บกักหลังจากฉีดพ่นเป็นละออง และน้ำจากท่อเปิดน้ำทิ้ง เพื่อตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Legionella* ปรากฏว่าพบเชื้อจำนวน 11 แห่ง (ร้อยละ 29.7) 19 ตัวอย่าง จากโรงแรมในจังหวัดภูเก็ตและสุราษฎร์ธานี โดยพบเชื้อ *L. pneumophila* serogroup 1 ใน 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 47.4) *L. pneumophila* serogroup 7 ใน 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 21.0) และพบ *L. pneumophila* serogroup 3, 5, 8 และ *Legionella* spp. สายพันธุ์ละ 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 15.7) และตัวอย่างน้ำที่ตรวจพบเชื้อมากกว่า 1 สายพันธุ์ จำนวน 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 26.3) ตรวจพบเชื้อจากตัวอย่างน้ำทั้ง 3 จุด โดยปริมาณเชื้อที่พบประมาณ 100 – 6500 โคโลนีต่อลิตร (CFU/l)

นอกจากนี้จากรายงานผลการดำเนินงานตามโครงการโรงแรมน่าอยู่น่าพัก ของฝ่ายพัฒนาอนามัยสิ่งแวดล้อมชุมชนและเมือง สำนักอนามัยสิ่งแวดล้อม กรมอนามัย ระหว่างปี 2543 – 2544

เพื่อเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อ *Legionella* โดยการตรวจสอบทางกายภาพและเก็บตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น บ่อหรือถังเก็บน้ำ ระบบทำน้ำร้อน ถาดรองรับน้ำจากเครื่องปรับอากาศ ก๊อกน้ำฝักบัว ระบบหอผึ่งเย็น โรงแรม บ้านพักนักกีฬา อาคารสำนักงาน โรงพยาบาล อาคารห้างสรรพสินค้า ทั้งในเขตกรุงเทพฯ และต่างจังหวัด พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *Legionella* อยู่ในระบบน้ำใช้ภายในอาคารที่ทำการเก็บตัวอย่างมาตรวจ โดยพบเชื้อในตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น 24 ตัวอย่าง จาก 38 ตัวอย่าง ปริมาณเชื้อที่พบคือ $\leq 10-9\times10^{3}$ CFU/100 ml นอกจากนี้ยังพบเชื้อจากตัวอย่างน้ำจากบ่อหรือถังพักน้ำ 3 ตัวอย่าง ก๊อกน้ำหรือฝักบัวในห้องน้ำ 3 ตัวอย่าง และถังหรือหม้อน้ำร้อน 1 ตัวอย่าง

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส
2. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)
3. กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo disecting
4. ชุดกรองปลอดเชื้อ
5. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter)
6. ชุดทดสอบปริมาณคลอรีน (DPD colorimetric kit)
7. เทอร์โมมิเตอร์

3.2 วัสดุและสารเคมี

1. เยื่อกรองชนิดเซลลูโลสไนเตรท pore size 0.2 ไมโครเมตร

2. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE), BCYE ที่ใส่ glycine, Vancomycin, Polymyxin B, Cycloheximide (GVPC), Plate count agar (PCA), MacConkey agar และ Baird-parker agar

3. สารละลาย HCl-KCl (acid wash solution)
4. โซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$)
5. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH)
6. สารละลาย 1% sodium hippurate
7. สารละลาย 3.5% ninhydrin
8. ไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (sterile swab)

3.3 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็นของเครื่องปรับอากาศปริมาตร 500 มิลลิลิตร โดยบรรจุในขวดที่ปราศจากเชื้อ (sterile) เติมสารละลาย 0.1 N โซเดียมไธโอซัลเฟต เพื่อปรับสภาพสาร disinfectant ในตัวอย่างน้ำ (Mietzner and Stout, 2002) เก็บตัวอย่าง biofilms ด้วยไม้พันสำลีปลอดเชื้อ บรรจุในหลอดทดลองปลอดเชื้อโดยเติมน้ำจากหอผึ่งเย็นปริมาตร 5 มิลลิลิตร

เก็บตัวอย่าง biofilms จากถาดรองน้ำในเครื่องปรับอากาศ (หากมีน้ำขังในถาดรองให้เก็บตัวอย่างน้ำด้วย) บรรจุในหลอดทดลองปลอดเชื้อ

นำตัวอย่างน้ำส่งห้องปฏิบัติการให้เร็วที่สุดหลังจากเก็บตัวอย่าง (ภายใน 24 ชั่วโมง) โดยขณะนำส่งเก็บน้ำตัวอย่างในกล่อง หรือภาชนะที่กันความร้อนจัด หรือเย็นจัด และเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิระหว่าง 6-18 องศาเซลเซียส

3.4 การเพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำ (Concentration)

นำตัวอย่างน้ำทั้งหมดไปเพิ่มความเข้มข้น โดยกรองผ่านเยื่อกรองไนโตรเซลลูโลสขนาด 0.2 ไมโครเมตร จากนั้นนำเยื่อกรองมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ใส่ลงในหลอดที่บรรจุน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาณ 5 มิลลิลิตร เขย่าผสมด้วย vortex mixer (Bartie *et al.*, 2003).

3.5 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างน้ำ

โดยวิธีการตามมาตรฐานการวิเคราะห์น้ำของ American public health association. (1992)

3.5.1 การตรวจหาแบคทีเรีย *Legionella* spp.

1 การเตรียมตัวอย่างก่อนเพาะเชื้อ (Pre-treatment) เพื่อลดการปนเปื้อนจากเชื้อชนิดอื่น

เติม acid wash solution (HCl-KCl solution pH 2.2) ในตัวอย่างน้ำจากข้อ 3.4 ใช้อัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 3-5 นาที นำมาปรับค่าความเป็นกรด-เบสด้วย 1.0 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ ให้อยู่ในสภาวะที่เป็นกลาง (pH 7)

2 การเพาะเชื้อ *Legionella* spp.

- นำตัวอย่างจากข้อ 3.3.3 ไปเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) ที่ใส่ glycine และ BCYE ที่ใส่ glycine, Vancomycin, Polymyxin B, Cycloheximide (GVPC) ด้วยวิธี spread plate ที่ 2 ระดับความเจือจาง คือ undilute และ 10^{-1} ความเจือจางละ 2 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในกล่องที่มีความชื้น (humid chamber) เป็นเวลา 14 วัน

- เมื่อบ่มเชื้อวันที่ 3 หรือ 4 เริ่มตรวจผลโดยการดูลักษณะโคโลนีที่ขึ้นบนอาหาร BCYE และ GVPC โคโลนีของ *Legionella* spp. มีสีเทาอมฟ้า เมื่อศึกษาภายใต้กล้อง stereo dissecting microscope พบลักษณะขรุขระ (ground-glass appearance) ที่ผิวโคโลนี

- เลือกโคโลนีที่สงสัยมาเพาะแยกเชื้อด้วยการขีดแยกเชื้อ (steak plate) บน BCYE และ BCYE ที่ไม่มี L-cysteine เพื่อศึกษาความต้องการ cysteine ซึ่งเชื้อ *Legionella* spp. จะเจริญบน BCYE แต่ไม่เจริญบน BCYE ที่ไม่มี L-cysteine

- จากนั้นวินิจฉัยแยกสายพันธุ์ (species) โดยการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี คือ ศึกษาความสามารถในการย่อย hippurate ซึ่งเชื้อ *L. pneumophila* เท่านั้นที่สามารถย่อย hippurate ได้

3. ทำ positive control ด้วยเชื้อ *L. pneumophila* serogroup 1 (ATCC 33152) และ negative control ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ควบคู่กับการเพาะเชื้อจากตัวอย่างน้ำทุกครั้ง

3.5.2 การตรวจหาแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ

1. การตรวจ Heterotrophic bacteria โดยการนำตัวอย่างน้ำจากข้อ 3.4 มาทำการเจือจาง (serial dilution) จากนั้นนำไปเพาะเชื้อบนอาหาร PCA บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนและรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml)

2. การตรวจหาแบคทีเรียแกรมลบ โดยการนำตัวอย่างน้ำจากข้อ 3.4 ไปเพาะเชื้อบนอาหาร MacConkey agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนีลักษณะต่าง ๆ ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี เพื่อระบุชนิดแบคทีเรียแกรมลบที่พบ

3. การตรวจหาแบคทีเรีย *Staphylococcus* spp. โดยการนำตัวอย่างน้ำจากข้อ 3.4 ไปเพาะเชื้อบนอาหาร Baird-parker agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำโคโลนีลักษณะเฉพาะของ *Staphylococcus* spp. คือโคโลนีกลม ขอบเรียบ มีสีเทาถึงดำ ทั้งนี้ *S. aureus* จะสามารถย่อยสลายโปรตีนจากไข่แดงในอาหารได้ เกิดลักษณะเป็นวงใสที่อาหารเลี้ยงเชื้อ นำโคโลนีลักษณะดังกล่าว ไปศึกษาสัณฐานวิทยาและปฏิกิริยาทางชีวเคมีเพื่อระบุชนิดต่อไป

4. การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Coliform bacteria) โดยนำตัวอย่างน้ำจากข้อ 3.3 ไปกรองผ่านเยื่อกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วนำเยื่อกรองดังกล่าวไปเพาะเชื้อบนอาหาร M-Endo บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจนับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของโคลิฟอร์ม คือ โคโลนีที่มีสีชมพูถึงแดง และมีลักษณะเหลือบแสงเงาโลหะ (metallic sheen) รายงานผลที่พบเป็นโคโลนีต่อ 100 มิลลิลิตรตัวอย่างน้ำ สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\text{จำนวนโคโลนีของโคลิฟอร์ม /100 มิลลิลิตร} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีของโคลิฟอร์ม} \times 100}{\text{ปริมาณตัวอย่างน้ำที่นำไปกรอง (ml)}}$$

3.6 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างน้ำ

ตรวจหาคุณภาพทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างน้ำที่นำมาศึกษา โดยวัดอุณหภูมิของน้ำ ณ สถานที่เก็บตัวอย่างด้วยเทอร์โมมิเตอร์ วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) วัดปริมาณคลอรีนทั้งปริมาณค่าคลอรีนทั้งหมด และปริมาณคลอรีนอิสระด้วยชุดทดสอบปริมาณคลอรีน [*N,N*-diethyl-*p*-phenylenediamine (DPD) coloimetric kit]

บทที่ 4
ผลการศึกษาวิจัย

การตรวจและควบคุมเชื้อแบคทีเรียก่อโรคลีเจียนแนร์ ในระบบปรับอากาศนี้ ทำการศึกษาใน 2 กลุ่มตัวอย่าง คือ ตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น ในจังหวัดนครราชสีมา และตัวอย่างน้ำจากถาดรองน้ำของเครื่องปรับอากาศที่มีอายุการใช้งานตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป จากอาคารเรียนรวม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ผลการศึกษาเป็นดังนี้

4.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

จากการสำรวจและประสานงานยังสถานที่ชุมชนต่างๆ ในจังหวัดนครราชสีมา ที่มีการติดตั้งหอผึ่งเย็น มีหน่วยงานต่างๆ ที่สมัครใจเข้าร่วมการศึกษาครั้งนี้ทั้งสิ้น 7 แห่ง แบ่งเป็นห้างสรรพสินค้า 2 แห่ง โรงแรม 3 แห่ง บริษัทเอกชน 2 แห่ง และสถานที่ราชการ 1 แห่ง จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 21 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังดำเนินการเก็บตัวอย่างน้ำจากถาดรองน้ำของเครื่องปรับอากาศที่มีอายุการใช้งานตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไป จากอาคารเรียนรวม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จำนวน 30 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แหล่งที่มาและจำนวนตัวอย่าง

สถานที่	ชนิดตัวอย่าง	จำนวน	ประเภทการใช้งาน
ห้างสรรพสินค้า ก.	น้ำจากหอผึ่งเย็น	3	ระบายความร้อนในระบบปรับอากาศ
ห้างสรรพสินค้า ข.	น้ำจากหอผึ่งเย็น	1	ระบายความร้อนในระบบปรับอากาศ
โรงแรม ก.	น้ำจากหอผึ่งเย็น	1	ระบายความร้อนในระบบปรับอากาศ
โรงแรม ข.	น้ำจากหอผึ่งเย็น	1	ระบายความร้อนในระบบปรับอากาศ
โรงแรม ค.	น้ำจากหอผึ่งเย็น	2	ระบายความร้อนในระบบปรับอากาศ
บริษัทเอกชน ก.	น้ำจากหอผึ่งเย็น	7	ระบายความร้อนในระบบปรับอากาศ
			ระบายความร้อนจากกระบวนการผลิต
บริษัทเอกชน ข.	น้ำจากหอผึ่งเย็น	4	ระบายความร้อนจากกระบวนการผลิต
สถานที่ราชการ ก.	น้ำจากหอผึ่งเย็น	2	ระบายความร้อนในระบบปรับอากาศ
	น้ำจากถาดรองเครื่องปรับอากาศ	30	
	รวม	**51**	

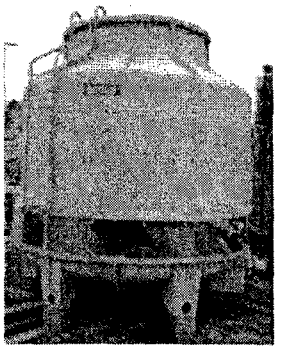
4.2 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็นจากสถานที่ต่าง ๆ นำมาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ คือ ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณคลอรีน และอุณหภูมิ พบว่าตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็นมีค่าความเป็นกรดด่างเฉลี่ยที่ 7.40 ค่าปริมาณคลอรีนทั้งหมดที่ 0.1 ส่วนในล้านส่วน โดยไม่พบปริมาณคลอรีนอิสระในตัวอย่างใดๆ และมีอุณหภูมิเฉลี่ยที่ 28.14 องศาเซลเซียส รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 4.2

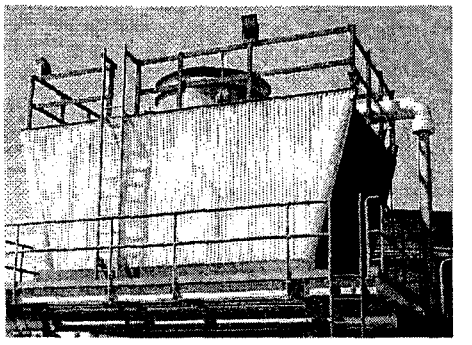
ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น

คุณภาพทางเคมี-กายภาพ	ค่ามัธยฐาน (median)	ค่าเฉลี่ย (mean)	ช่วงข้อมูล (min-max)
pH	7.15	7.40	6.90 – 8.02
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	28	28.14	24 - 35
ความเข้มข้นของคลอรีน (ppm)			
คลอรีนอิสระ	0	0	0
คลอรีนทั้งหมด	0.1	0.1	0 – 0.1

นอกจากนี้ยังศึกษาลักษณะภายนอกและภายในหอผึ่งเย็นด้วยตาเปล่า ตัวอย่างหอผึ่งเย็นที่ทำการศึกษานี้มี 2 ลักษณะคือแบบทรงกลม และแบบทรงเหลี่ยม ส่วนใหญ่ภายในมีการเกาะตัวของตะไคร่และคราบสารเคมีที่ใช้เติมในหอผึ่งเย็น ดังแสดงในภาพที่ 4.1



ก



ข

ค

ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างหอผึ่งเย็นแบบทรงกลม (ก) และแบบทรงเหลี่ยม (ข) พบคราบสารเคมีและตะไคร่เกาะติดภายใน (ค)

4.2 คุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็นปริมาณ 500 มิลลิลิตร จำนวน 21 ตัวอย่าง นำมาศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาด้วยการเพาะเชื้อหาแบคทีเรีย *Legionella* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BCYE และ GVPC ร่วมกับการทำ pre-treatment ด้วย acid wash solution (HCl-KCl solution, pH 2.2) และศึกษาปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์อื่นๆ ได้แก่ ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total plate count) ปริมาณโคลิฟอร์ม *Staphylococcus* spp. และชนิดของแบคทีเรียแกรมลบ ที่พบในตัวอย่างน้ำ

จากการศึกษาพบว่าตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็นที่ทำการศึกษานี้ พบแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างน้ำที่ค่าเฉลี่ย 7.03×10^3 CFU/ml พบแบคทีเรียแกรมลบชนิด *Acinetobacter, Alcaligenes, Flavobacterium* และ *Pseudomonas* แต่ไม่พบการปนเปื้อนของ *Legionella* spp. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Staphylococcus* spp. ในตัวอย่างใดๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น

สถานที่	Total plate count CFU/ml	*Legionella* spp.	แบคทีเรียอื่น ๆ
ห้างสรรพสินค้า ก.			
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 1	3.24×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 2	9.40×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Acinetobacter*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 3	1.45×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter*
ห้างสรรพสินค้า ข.			
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 1	1.68×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter, Alcaligenes*
โรงแรม ก.			
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 1	2.02×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium,*
โรงแรม ข.			
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 1	4.65×10^{3}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Acinetobacter, Alcaligenes*
โรงแรม ค.			
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 1	2.83×10^{3}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Acinetobacter, Alcaligenes*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 2	3.01×10^{3}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Acinetobacter, Alcaligenes*
บริษัท ก.			
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 1	5.80×10^{4}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 2	9.30×10^{3}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Acinetobacter*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 3	1.64×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter*

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

สถานที่	Total plate count CFU/ml	*Legionella* spp.	แบคทีเรียอื่น ๆ
บริษัท ก.			
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 4	3.90×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Acinetobacter*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 5	2.15×10^{3}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 6	2.65×10^{3}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 7	1.62×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter*
บริษัท ข.			
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 1	5.30×10^{3}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter, Alcaligenes*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 2	6.45×10^{3}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 3	1.55×10^{4}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Acinetobacter, Alcaligenes*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 4	3.50×10^{4}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter, Alcaligenes*
สถานที่ราชการ ก.			
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 1	1.35×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter, Alcaligenes*
หอผึ่งเย็นเครื่องที่ 2	1.64×10^{2}	ไม่พบ	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter*

4.4 คุณภาพทางจุลชีววิทยาจากตัวอย่างน้ำในเครื่องปรับอากาศ ที่อาคารเรียนรวม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากถาดรองน้ำของเครื่องปรับอากาศที่มีอายุการใช้งานตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไปจำนวน 30 ตัวอย่าง นำมาศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาด้วยการเพาะเชื้อหาแบคทีเรีย *Legionella* spp. และศึกษาปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์อื่นๆ ได้แก่ ปริมาณแบคทีเรียรวม (total plate count) ปริมาณโคลิฟอร์ม *Staphylococcus* spp. และชนิดของแบคทีเรียแกรมลบ ที่พบในตัวอย่างน้ำ

จากการศึกษาพบว่าตัวอย่างน้ำจากถาดรองน้ำของเครื่องปรับอากาศที่ทำการศึกษานี้ พบแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างน้ำที่ค่าเฉลี่ย 4.12×10^5 CFU/ml พบแบคทีเรียแกรมลบชนิด *Acinetobacter, Alcaligenes, Flavobacterium* และ *Pseudomonas* แต่ไม่พบการปนเปื้อนของ *Legionella* spp. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Staphylococcus* spp. ในตัวอย่างใดๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาจากตัวอย่างน้ำในเครื่องปรับอากาศ ที่อาคารเรียนรวม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ลำดับที่	เลขห้องที่ตรวจ	Total plate count (CFU/ml)	Total coliforms (/100ml)	*Staphylococcus* spp.	*Legionella* spp. (CFU/ml)	Gram-negative bacteria
1	1112	2.86×10^5	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
2	1113	3.15×10^6	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Alcaligenes*
3	1114	7.45×10^5	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas*
4	1115	2.50×10^5	0	ไม่พบ	0	*Flavobacterium, Acinetobacter*
5	1117	1.65×10^4	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
6	1118	4.23×10^3	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Flavobacterium ,Acinetobacter*
7	1119	5.62×10^6	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter, Alcaligenes*
8	1120	6.58×10^4	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas*
9	1121	3.45×10^5	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Flavobacterium*
10	1122	1.27×10^4	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter, Alcaligenes*
11	1123	5.26×10^5	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
12	1125	2.80×10^3	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas*
13	1127	1.95×10^3	0	ไม่พบ	0	*Acinetobacter*
14	1128	6.45×10^3	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
15	1129	2.50×10^3	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

ลำดับที่	เลขห้องที่ตรวจ	Total plate count (CFU/ml)	Total coliforms (/100ml)	*Staphylococcus* spp.	*Legionella* spp. (CFU/ml)	Gram-negative bacteria
16	1132	2.78×10^4	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
17	1133	4.56×10^4	0	ไม่พบ	0	*Flavobacterium, Acinetobacter*
18	1202	4.27×10^2	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
19	1203	1.58×10^3	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
20	1204	8.24×10^3	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter*
21	1205	5.26×10^3	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas*
22	1206	8.63×10^3	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas*
23	2101	3.31×10^5	0	ไม่พบ	0	*Flavobacterium, Acinetobacter*
24	2102	6.03×10^4	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
25	2103	1.50×10^5	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Flavobacterium, Acinetobacter*
26	2104	1.67×10^4	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter, Alcaligenes*
27	3101	3.25×10^4	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas*
28	3102	1.28×10^5	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
29	3103	2.03×10^4	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter*
30	3104	4.87×10^5	0	ไม่พบ	0	*Pseudomonas, Acinetobacter, Alcaligenes*

บทที่ 5
อภิปรายผลการศึกษา

จากผลการศึกษาเพื่อตรวจหาแบคทีเรีย *Legionella* จากตัวอย่างน้ำในระบบเครื่องปรับอากาศในจังหวัดนครราชสีมา พบว่าตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น 21 ตัวอย่างและตัวอย่างน้ำจากถาดรองน้ำในเครื่องปรับอากาศจำนวน 30 ตัวอย่าง นั้น ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของ *Legionella* spp. ในทุกตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ที่ศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดนี้ในตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น ในประเทศไทย พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อนี้อยู่ในช่วง 18.6-57 % (Tanaka และคณะ, 2528; ประภาวดี ติษยาธิคม และคณะ, 2538; ลดารัตน์ ผาตินาวิน และคณะ, 2543) ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างสูง เมื่อตรวจสอบถึงวิธีการดูแลและบำรุงรักษาหอผึ่งเย็นของกลุ่มตัวอย่างพบว่า บางแห่งมีการเติมสารชีวฆาตต่าง ๆ สารป้องกันตะกรัน และสารป้องกันการกัดกร่อนอยู่เสมอ บางแห่งทำความสะอาดด้วยการฉีดล้างด้วยน้ำแรงดันสูง และในตัวอย่างหนึ่งเพิ่งมีการปรับปรุงระบบ และเปิดใช้งานได้ไม่นานเมื่อดำเนินการเก็บตัวอย่าง จึงอาจเป็นสาเหตุให้ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Legionella* ในตัวอย่างที่ทำการศึกษา อีกทั้งน้ำที่ใช้ในระบบหอผึ่งเย็นของตัวอย่างที่ศึกษานั้น ใช้น้ำประปาซึ่งมีขั้นตอนการกำจัดจุลชีพต่างๆ ที่อาจปนเปื้อนในน้ำแล้ว

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างน้ำที่ศึกษานี้ พบว่ามีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 28 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ย 7.40 และตรวจไม่พบปริมาณคลอรีนอิสระตกค้างในระบบ ลักษณะดังกล่าวเหมาะต่อการเจริญของเชื้อ *Legionella* ที่สามารถดำรงชีวิตได้ในช่วงความแตกต่างของอุณหภูมิ (7 – 70 องศาเซลเซียส) และความเป็นกรด-ด่าง (2 - 10) สูง (Bentham *et al.*, 1993) แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของเชื้อนี้ คือ 35 – 37 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิเฉลี่ยของตัวอย่างที่ศึกษานี้ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ จึงอาจทำให้โอกาสการตรวจพบเชื้อลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yee และ Wadowsky (1982) ที่ศึกษาการเจริญเพิ่มจำนวนของ *L. pneumophila* ในตัวอย่างน้ำประปา ในระยะเวลา 35 วัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อยังคงมีชีวิตแต่การเพิ่มจำนวนน้อยมาก และคงที่ตลอดช่วงเวลาการศึกษา ส่วนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีการเจริญเพิ่มจำนวนอย่างชัดเจน

แต่อย่างไรก็ตาม หอผึ่งเย็น เป็นส่วนหนึ่งของระบบปรับอากาศแบบหน่วยกลาง (central air-conditioning system) ทำหน้าที่ระบายความร้อนจากภายในอาคารสู่บรรยากาศ โดยใช้น้ำเป็นตัวช่วยกระจายความร้อน น้ำจะถูกส่งขึ้นไปยังส่วนบนของหอ แล้วปล่อยลงมาปะทะสิ่งกีดขวาง (fill) เพื่อกระจายน้ำเป็นละอองฝอยและระเหยความร้อนส่วนหนึ่งออกไป น้ำที่ส่งขึ้นไปในหอผึ่งเย็นมีอุณหภูมิสูง (ประมาณ 45 องศาเซลเซียส) ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำในระบบได้ และการที่มีความชื้นหล่อเลี้ยงอยู่ตลอดเวลา จึงมักพบการเกิด biofilms สาหร่าย รวมถึงการสะสมของ

ตะกอนต่างๆ ขึ้น ในตัวอย่างหอผึ่งเย็นที่ศึกษาในครั้งนี้ก็เช่นกัน ตัวอย่างส่วนใหญ่ (17 ตัวอย่าง) ที่แม้จะมีการบำบัดด้วยสารเคมีต่างๆ แล้ว แต่ยังพบว่ามีการเกิด biofilms เกาะติดเป็นชั้นหนาในหอผึ่งเย็น ยกเว้นเพียงตัวอย่างที่ทำความสะอาดด้วยการฉีดล้างด้วยน้ำแรงดันสูง และตัวอย่างที่เพิ่งเริ่มระบบเท่านั้นที่พบการเกิด biofilms น้อยเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ทำให้หอผึ่งเย็นเหมาะต่อการเจริญของเชื้อ *Legionella* อีกทั้งการที่หอผึ่งเย็นมีการกระจายน้ำเป็นละอองฝอย ทำให้ผู้คนที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงมีโอกาสจะได้รับเชื้อ โดยการสูดเอาละอองฝอยดังกล่าวเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจได้

การศึกษาอื่นๆ พบว่า การเพาะเชื้อ *Legionella* จากตัวอย่างสิ่งแวดล้อมมักพบว่า จุลชีพชนิดอื่นๆ ที่เจริญได้เร็วกว่า เจริญปกคลุมที่ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ไม่สามารถสังเกตโคโลนีของเชื้อ *Legionella* ได้ นอกจากนี้ การเจริญของจุลชีพเหล่านั้นอาจไปยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Legionella* ได้ (Lye *et al.*, 1997) จากการศึกษาพบว่า *Pseudomonas* spp., *Aeromonas hydrophila* และบางชนิดของ Enterobacteriaceae (*Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Proteus* และ *Salmonella*) สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. pneumophila* บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ โดยการสร้างสาร bacteriocin และ bacteriocin-like substance มายับยั้งการเจริญของ *L. pneumophila* (Gomez-Luș *et al.*, 1993) แต่ในสิ่งแวดล้อมที่มีการเจริญร่วมกันของจุลชีพต่างๆ นั้น ยังไม่สามารถศึกษาได้แน่ชัดว่า แบคทีเรียดังกล่าวจะสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Legionella* ได้หรือไม่

จากปัญหาที่แบคทีเรียชนิดอื่น ๆ เจริญปกคลุมผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง (pre-treatment) จึงใช้วิธี acid pre-treatment ซึ่งเป็นการปรับสภาพตัวอย่างให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 2.2 ด้วยสารละลาย KCl-HCl เพื่อกำจัดเชื้ออื่นที่ปนเปื้อนในตัวอย่างน้ำที่ทำการศึกษา ซึ่งที่ระดับความเป็นกรด-ด่างดังกล่าวเชื้อ *Legionella* สามารถทนได้ แต่หากในตัวอย่างน้ำที่นำมาเพาะเชื้อนั้น มีปริมาณเชื้อ *Legionella* น้อย วิธีการดังกล่าวอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เชื้อลดความสามารถในการเจริญลง ทำให้ตรวจไม่พบเชื้อด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ (Bartie *et al.*, 2003)

ตามธรรมชาติของจุลชีพเมื่อเจริญตามปกติในสิ่งแวดล้อม มักเจริญรวมกันเป็นกลุ่มจุลชีพ (consortium) ในลักษณะของ biofilms โดยแบคทีเรียจะสร้างสารโพลีเมอร์ที่มีความเหนียว (extracellular polymeric substances) มาช่วยเกาะติดกับผนังและจับกับแบคทีเรียอื่น ๆ เพื่อช่วยป้องกันเซลล์จากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (เช่น อุณหภูมิ สารเคมีต่างๆ) และเพื่อประโยชน์ในการแลกเปลี่ยนสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต เนื่องจากในน้ำมักมีปริมาณสารอาหารต่ำ แบคทีเรียต่างๆ รวมทั้งเชื้อ *Legionella* จะปรับตัวโดยการเข้าสู่ระยะอดอาหาร (starvation state) แบคทีเรียจะลดกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ลง รวมทั้งความสามารถในการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย

(viable but noncultured cell) เมื่อนำตัวอย่างน้ำที่อาจจะมีเชื้อ *Legionella* ที่อยู่ในสภาวะดังกล่าวมาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อจึงอาจไม่พบ นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อมักจะสูงจนอาจเกิดความเป็นพิษกับเซลล์ได้ (Donlan, 2002) ทำให้ตรวจไม่พบเชื้อในตัวอย่างน้ำที่นำมาศึกษา

การศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาอื่นๆ ของตัวอย่าง ในตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็นพบแบคทีเรียรวม (total plate count) เฉลี่ย 7.03×10^3 CFU/ml ส่วนตัวอย่างน้ำจากถาดรองน้ำในเครื่องปรับอากาศ จากอาคารเรียนรวมนั้น พบแบคทีเรียรวมเฉลี่ย 4.12×10^5 CFU/ml โดยตรวจไม่พบ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ *Staphylococcus* spp. ในตัวอย่างทั้งสองกลุ่มด้วย

นอกจากนั้น ยังตรวจพบ *Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium* และ *Alcaligenes* ในทั้งสองกลุ่มตัวอย่าง โดยแบคทีเรียดังกล่าวเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน ไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสได้ (glucose-nonfermenting Gram negative bacilli) เชื้อเหล่านี้โดยปกติพบอยู่ในธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำ พืช สัตว์ อาหาร และสิ่งของต่างๆ ในปัจจุบันพบว่า มีบทบาทสำคัญทำให้เกิดโรคในคนมากขึ้น การก่อโรคของแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเป็นลักษณะการติดเชื้อฉวยโอกาส (opportunistic infection) เช่นเดียวกับกลุ่มแบคทีเรียโคลิฟอร์ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบุคคลที่มีภูมิต้านทานร่างกายต่ำ มักเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infection) โดยเชื้อจะเข้าทางเยื่อเมือกหากหายใจเอาละอองน้ำที่มีเชื้อเข้าไป ทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจและเป็นโรคปอดอักเสบได้ นอกจากนี้เชื้ออาจเข้าสู่ร่างกายทางบาดแผลที่ผิวหนัง แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ทำให้เกิดแผลเปื่อยอักเสบและเนื้อเยื่อตายได้ (Ryan, 1984) แบคทีเรียกลุ่มนี้ยังมักพบใน biofilms โดยเฉพาะ *Pseudomonas* เป็นแบคทีเรียชนิดแรก ๆ ที่พบได้ในการเกิด biofilms เช่นเดียวกับจุลชีพอื่นๆ ใน biofilms แบคทีเรียกลุ่มนี้มีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Legionella* ได้ด้วยการเจริญในแบบพึ่งพา (symbiosis) โดยการแลกเปลี่ยนสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต (Donlan, 2002)

บทที่ 6
สรุปผลการศึกษา

เชื้อแบคทีเรีย *Legionella* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease) ซึ่งเป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ เชื้อนี้แพร่กระจายทั่วไป พบเชื้อได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ และแหล่งน้ำที่เป็นสิ่งปลูกสร้างจากมนุษย์ เชื้อจะเข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจเอาเชื้อที่อยู่ในละอองฝอยของน้ำ การศึกษาการระบาดของโรคในต่างประเทศมักพบว่ามีหอผึ่งเย็นเป็นแหล่งรังโรค ในประเทศไทยยังไม่มีระบบการรายงานโรคนี้โดยตรง แต่จะอยู่ในรูปของการรายงานการเกิดโรคปอดอักเสบ โดยไม่มีการแยกชนิดของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอย่างแน่ชัด แต่จากการเก็บตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อม และหอผึ่งเย็นตามภูมิภาคต่างๆ ในประเทศไทย พบการปนเปื้อนของเชื้อในช่วง 2.6-57 % ทั้งยังมีรายงานของ European Working Group for *Legionella* infection และ Communicable Disease Surveillance แจ้งมายังกระทรวงสาธารณสุขว่า พบผู้ป่วยที่เป็นนักท่องเที่ยวชาวต่างประเทศที่มาท่องเที่ยวในประเทศไทยแล้วกลับไปเป็นโรคลีเจียนแนร์ในระหว่างปี พ.ศ. 2535-2542 มีผู้ป่วยทั้งหมด 11 ราย ตาย 3 ราย ซึ่งส่งผลกระทบต่อการท่องเที่ยวของประเทศไทยเป็นอย่างยิ่ง

การตรวจและควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคลีเจียนแนร์นี้ ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็น จากสถานที่ต่างๆ ในจังหวัดนครราชสีมา จำนวน 21 ตัวอย่าง และตัวอย่างน้ำจากถาดรองน้ำในเครื่องปรับอากาศ ที่มีอายุการใช้งาน 1 ปีขึ้นไป จากอาคารเรียนรวม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จำนวน 30 ตัวอย่าง นำมาเพาะเชื้อ *Legionella* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด BCYE และ GVPC โดยทำ acid pre-treatment เพื่อลดจำนวนแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ก่อน จากตัวอย่างน้ำทั้งหมด 51 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Legionella* spp. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย รวมทั้ง *Staphylococcus* spp. แต่พบแบคทีเรียรวมจากตัวอย่างน้ำจากหอผึ่งเย็นเฉลี่ย 7.03×10^{3} CFU/ml ส่วนตัวอย่างน้ำจากถาดรองน้ำในเครื่องปรับอากาศ จากอาคารเรียนรวมนั้น พบแบคทีเรียรวมเฉลี่ย 4.12×10^{5} CFU/ml นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อน ที่ไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส (glucose-nonfermenting Gram negative bacilli) ชนิด *Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium* และ *Alcaligenes* ในทั้งสองกลุ่มตัวอย่าง โดยเป็นแบคทีเรียที่มักพบปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างน้ำ และใน biofilms แม้จะตรวจไม่พบเชื้อ *Legionella* จากการศึกษาครั้งนี้ แต่ยังพบแบคทีเรียรวมในปริมาณที่สูง และพบแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มดังกล่าว รวมทั้งการที่ยังคงมีการพบ biofilms ในตัวอย่างหอผึ่งเย็นที่มีการดูแลรักษาด้วยการเติมสารชีวฆาต สารเคมีป้องกันการกัดกร่อนและเกิดตะกรันแล้ว อีกทั้งสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Legionella* นี้ ทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะเกิดการปนเปื้อนของเชื้อ *Legionella* ในระบบได้ จึงควรเฝ้าระวังการเกิดโรค และการแพร่กระจายของเชื้อ ด้วยการปฏิบัติตามประกาศของกรมอนามัย เรื่องข้อปฏิบัติการควบคุมเชื้อ

ลีจิโอเนลลาในหอผึ่งเย็นของอาคารในประเทศไทย (ภาคผนวก ค) รวมถึงตรวจหาเชื้อจากตัวอย่างน้ำอื่นๆ ที่สามารถสร้างละอองฝอยสู่สิ่งแวดล้อม และมีความเสี่ยงที่จะปนเปื้อนเชื้อ *Legionella* ได้

ข้อเสนอแนะ

1. เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อ ควรทำการศึกษาแหล่งเชื้อในธรรมชาติ และความชุกของเชื้อในหอผึ่งเย็นอาคารต่างๆ รวมทั้งให้ความรู้แก่เจ้าของกิจการ แพทย์ พยาบาล เจ้าหน้าที่สาธารณสุข และผู้เกี่ยวข้อง เพื่อป้องกันไม่ให้ติดเชื้อเหล่านี้ ผู้ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับหอผึ่งเย็นควรใส่ผ้าปิดจมูกเพื่อป้องกันการติดเชื้อจากละอองน้ำและใส่ถุงมือยาง หากมีบาดแผลที่ผิวหนังควรปิดแผลด้วยแผ่นปิดแผลให้เรียบร้อยก่อนปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันไม่ให้แผลสัมผัสกับน้ำ หรือละอองน้ำจากหอผึ่งเย็นซึ่งอาจทำให้เกิดการติดเชื้อและแผลอักเสบได้
2. การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อหาแหล่งระบาด และเฝ้าระวังการเกิดโรค ควรเก็บตัวอย่างเพื่อทำการตรวจหาเชื้อเป็นระยะๆ ควรเก็บตัวอย่างจากหลายๆ จุด และเก็บตัวอย่างตะกอนและ biofilms ที่พบในหอผึ่งเย็น ไม่ควรตรวจเพียงครั้งเดียว เนื่องจากอุณหภูมิ คุณสมบัติทางเคมี และปริมาณน้ำมีผลต่อการพบเชื้อรวมถึงปริมาณของเชื้อด้วย

บรรณานุกรม

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2544). ผลการดำเนินงานตามโครงการโรงแรมน่าอยู่ น่าพัก ระหว่างปี 2543 – 2544 (ออนไลน์). ได้จาก URL http://www.anamai.moph.go.th/env/develop/2543-2544.htm

ทิพวรรณ กังแฮ และเกษร บุญยรักษ์โยธิน. (2547). การสำรวจเชื้อลีจิโอเนลลาจากหอผึ่งเย็นของโรงแรม 5 จังหวัดภาคใต้ พ.ศ. 2545-2546. วารสารวิชาการสาธารณสุข. เล่มที่13. ฉบับที่ 2. หน้า 291-298.

นีรภา คงกันกง, นวรัตน์ วราอัศวปติเจริญ, วรัญญู คงกันกง, ดวงพร จิรวิบูลย์, ภทรมน รัตนาพันธุ์ และวิวัฒน์ ลี้ตระกูลนำชัย. (2543). การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในระบบน้ำทางทันตกรรมในคณะทันตแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. วารสารทันตกรรมขอนแก่น. เล่มที่ 3. ฉบับที่ 1. หน้า 73-79.

ประภาวดี ดิษยาธิคม, สุรางค์ เดชศิริเลิศ, ไพรัช ศรีไสว, มยุรา กุสุมภ์, Yabuuchi, E., Ekado, M., และคณะ. (2538) การเฝ้าระวังเชื้อลีเจียเนลลาจากสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย. จพสท. เล่มที่ 78. หน้า 57-71.

มณฑล เลิศคณาวานิชกุล. (2546). การตรวจหาเชื้อลีจิโอเนลลาในสิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์. วารสารการส่งเสริมสุขภาพอนามัยสิ่งแวดล้อม. เล่มที่ 26. หน้า 75-90.

ลดารัตน์ ผาตินาวิน, ปิยนิตย์ ธรรมาภรณ์พิลาส, สำเริง ภู่ระหงษ์, สมพจน์ เดชะมีนา, ธราภรณ์ กรแก้ว, ขจรจิตต์ วงศ์ชุ่มชวย. (2543). การสอบสวนโรคลีเจียนแนร์ เมืองพัทยา จังหวัดชลบุรี ตุลาคม 2542. วารสารวิชาการสาธารณสุข. เล่มที่ 9. หน้า 63-70.

วันทนา ปวีณกิตติพร, วัฒนพงษ์ วุทธา, สุรางค์ เดชศิริเลิศ, ธำรงค์ หาญวงศ์ และสมชัย บวรกิตติ. (2547). เชื้อก่อโรคในน้ำพุร้อนธรรมชาติ. วารสารวิชาการสาธารณสุข. เล่มที่ 13. ฉบับที่ 1. หน้า 27-31.

สมชัย บวรกิตติ. (2546). โรคลีจิโอเนลลา. วารสารวิชาการสาธารณสุข. เล่มที่ 12. ฉบับที่ 3. หน้า 321-328.

สมศักดิ์ ชัยพิพัฒน์, ประนอม ภูวนัตตรัย, สมพจน์ เดชะมีนา, อนุชา เบญจพรพงศ์ และธราภรณ์ กรแก้ว. (2543). มลพิษอากาศภายในอาคารโรงแรม: กรณีศึกษาโรคลีเจียนแนร์และแนวทางป้องกัน (ออนไลน์). ได้จาก URL http://www.anamai.moph.go.th/factsheet/legionella.htm.

ไพรัช ศรีไสว, สงคราม ทรัพย์เจริญ, เบญจะ เพชรคล้าย, วิบูลย์ศรี พิมลพันธุ์, อรุณรัตน์ ร่มพฤกษ์. (2527). ลีจิโอเนลโลสิส – รายงานผู้ป่วยรายแรกในประเทศไทย. สารศิริราช. เล่มที่ 36. ฉบับที่ 5. หน้า 269-277.

American Public Health Association. (1992). In Greenberg, A.E., Clesceri, L.S. and Eaton, A.D. (eds.). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (18th ed). Washington, D.C.: American Public Health Association.

Bartie, C., Venter, S.N. and Nel, L.H. (2003). Identification methods for *Legionella* from environmental samples. Water research. vol 37. p 1-9.

Bentham, R.H., Broadbent, C.R., Marwood, L.N., March, J.M., McDonald, P.J. and Lee, P.C. (1993). The Ecology and Control of *Legionella* in Cooling towers: Report of a Field Study in Adelaide. Adelaide: Federal Department of Administrative Services.

Bergey, D.H. (1984). Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins.

Breiman, R.F. (1993). Modes of transmission in epidemic and nonepidemic *Legionella* infection: Directions for further study. In Barbaree, J.M., Breiman, R.F. and Dufour, A.P. (eds.). *Legionella* Current Status and Emerging Perspectives (pp. 30-35). Washington, D.C.: American Society Microbiology.

Breiman, R.F., Cozen, W., Fields, B.S., Mastro, T.D., Carr, S.J., Spika, J.S. and Mascola, L. (1990). Role of air-sampling in an investigation of an outbreak of Legionnaires' disease associated with exposure to aerosols from an evaporative condenser. The Journal of Infectious Diseases. vol 161. p 1257-1261

Cloud, J.L., Carroll, K.C., Pixton, P., Erali, M. and Hillyard, D.R. (2000). Detection of *Legionella* species in respiratory specimens using PCR with sequencing confirmation. Journal of Clinical Microbiology. vol 38. no 5. p1709-1712.

Cordes, G.L., Fraser, D.W., Skaliy, D., Perlino, C.A., Elsea, W.R., Mallison, G.F. and Hayes, P.S. (1980). Legionnaires' disease outbreak at an Atlanta, Georgia country club; Evidence for spread from an evaporative condenser. American Journal Epidemiology. vol 111. p 425-431.

Dondero, T.J., Rendtorff, R.C., Mallison, G.F., Weeks, R.M., Levy, J.S., Wong, E.W. and Schaffner, W. (1980). An outbreak of Legionnaires' disease associated with a

contaminated air-conditioning cooling tower. The New England Journal of Medicine. vol 302. p 365-375.

Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. (online) available URL http://www.medscape.com/viewarticle/441355

Fields, B.S., Benson, R.F. and Besser, R.E. (2002). *Legionella* and Legionnnaires' disease; 25 years of investigation. Clinical Microbiology Reviews. vol 15. no 3. p 506-526.

Fliermans, C.B. (1996). Ecology of *Legionella*: From data to knowledge with a little wisdom. Microbial Ecology. vol 32. p 203-228.

Garbe, P.L., Davis, B.J., Weisfeld, J.S., Markowitz, L., Miner, P., Garrity, F., Barbaree, J.M. and Reingold, A.L. (1985). Nosocomial Legionnaires' disease: Epidemiologic demonstration of cooling towers as source. JAMA. vol 254. p 521-524.

Garnett, H.M., Gilmore, K. and Liu, J. (1990). *Legionella*: An unwelcome pollutant. Environmental Technology. vol 11. p 393-400.

Gomez-Lus, R., Lomba, E., Gomez-Lus, P., Abarca, M. S., Gomez-Lus, S., Martinez, A., Duran, E. and Rubio, M. (1993). In vitro antagonistic activity of *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae*, and *Aeromonas* spp. Against *Legionella* spp. In Barbaree, J.M., Breiman, R.F. and Dufour, A.P. (eds.). *Legionella* Current Status and Emerging Perspectives (pp. 265-267). Washington, D.C.: American Society Microbiology.

Lye, D., Fout, G.S., Crout, S.R., Danielson, R., Thio,C.L. and Paszko-Kolva, C.M. (1997). Survey of ground, surface and potable waters for the presence of *Legionella* species by ENVIROAMP^{R} PCR *Legionella* kit, culture and immunofluorescent staining. Water Research. vol 31. no 2. p 287-293.

Kwaik, Y.A., Gao, L.Y., Stone, B.J. and Harb, O.S. (1998). Invasion of mamalian and protozoan cell by *Legionella pneumophila*. Bulletin de l' Institut Pasteur. vol 96. p 237-247.

Maiwald, M., Helbig, J.H. and Lück, P.C. (1998). Laboratory methods for the diagnosis of *Legionella* infections. Journal of Microbiological Methods. vol 33. p 59-79.

Mietzner, S.M. and Stout, J.E. (2002). Laboratory detection of *Legionella* in environmental samples. Clinical Microbiology Newsletter. vol 24. no 11. p 81-85.

Pasculle, W. (2000). Update on *Legionella*. Clinical Microbiology Newsletter. vol 22. no 13. p 97-101.

Ruef, C. (1998). Nosocomial Legionnaires' disease-strategies for prevention. Journal of Microbiological Methods. vol 33. p 81-91.

Ryan, K.J. (1984). *Pseudomonas* and other opportunistic Gram-negative bacilli. In Sherris, J.C. (ed.). Medical Microbiology. An Introduction to infectious diseases (pp. 264-270). New York: Elsevier Science Publishing.

Sabria, M. and Yu, V.L. (2002). Hospital-acquired legionellosis: solutions for a preventable infection. THE LANCET Infectious Diseases. vol 2. pp. 368-373.

Steinert, M., Hentschel, U. and Hack, J. (2002). *Legionella pneumophila*: An aquatic microbe goes astray. FEMS Microbiology Reviews. vol 26. pp. 149-162.

Stout, J.E. and Yu, V.L. (1997). Legionellosis. The New England Journal of Medicine. vol 337. pp. 682-687.

Tanaka, H., สุรางค์ เดชศิริเลิศ, จิราภรณ์ ศรีวัชสันศักดิ์, รัตนสุดา พันธุ์อุไร. (1984). Epidemiological survey of Legionnaires' disease isolation of *Legionella pneumophila* from environmental sources in Bangkok amd chanthaburi. Thai-Japan Cooperative Project, Promotion of Provincial health services. Department of Medical Science Interim Report. vol 5. pp. 40-50

Wadowsky, R.M., Wolford, R., McNamara, A. and Yee, R.B. (1985). Effect of temperature, pH and oxygen level on the multiplication of naturally occurring of *Legionella pneumophila* in potable water. Applied and Environmental Microbiology. vol 49. no 5. pp. 1197-1205.

Waterer, G.W., Baselski, V.S. and Wunderink, R.G. (2001). *Legionella* and community-acquired pneumonia: a review of current diagnostic tests from a clinician' s viewpoint. The American Journal of Medicine. vol 110. pp. 41-48.

Yee, R. B. and Wadowsky, R. M. (1982). Multiplication of *Legionella pneumophila* in unsterilized tap water. Applied and Environmental Microbiology. vol. 43. no 6. pp. 1330-1334.

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

Baird-Parker egg-yolk tellulite agar

ส่วนผสมหลัก

Tryptone	10.0	กรัม
Meat extract	5.0	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
Lithium chloride, hydrate	5.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
Sodium sulphadimide (0.2%)	25	มิลลิลิตร

pH 7.0 ± 0.2

ส่วนผสมเพิ่มเติม

Glycine 20%	6.5	มิลลิลิตร
Potassium tellulite 1%	1.1	มิลลิลิตร
Egg-yolk emulsion	5.4	มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.0 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมส่วนผสมเพิ่มเติม (กำจัดเชื้อด้วยการกรองปลอดเชื้อ) ปริมาตรดังกล่าวในส่วนผสมหลัก (อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลาย sodium sulphadimidine เข้มข้น 0.2 % โดยละลาย sulphadimidine (sulphamezathine) ใน 0.1 N sodium hydroxide 25มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

การเตรียม egg-yolk emulsion โดยแช่ไข่ไก่ในเอทานอลเข้มข้น 70% นาน 1 ชั่วโมง แยกไข่แดงออกจากไข่ขาวโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 4 ส่วนลงในไข่แดง 1 ส่วน ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในตู้เย็น

Buffered charcoal yeast extract alpha base (BCYE)

ส่วนผสม

Charcoal	2.0	กรัม
Yeast extract	10.0	กรัม
ACES buffer	10.0	กรัม
Alpha-ketoglutarate	1.0	กรัม
Ferric pyrophosphate soluble	0.25	กรัม
L-cysteine, $HCl.H_2O$	0.4	กรัม
Agar	15.0	กรัม

pH 6.9 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลาย charcoal, yeast extract, ACES buffer, alpha-ketoglutarate และ agar ในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 6.9 ด้วย 0.1 N KOH ปรับปริมาตรเป็น1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ละลาย L-cysteine 0.4 กรัม และ ferric pyrophosphate 0.25 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่านแผ่นเยื่อกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำไปเตรียมในส่วนผสมหลักที่เย็นแล้ว

BCYE with Glycine vancomycin polymyxin B cyclohexamide medium (GVPC)

ส่วนผสมหลัก

Charcoal	2.0	กรัม
Yeast extract	10.0	กรัม
ACES buffer	10.0	กรัม
Alpha-ketoglutarate	1.0	กรัม
Ferric pyrophosphate soluble	0.25	กรัม
L-cysteine, $HCl.H_2O$	0.4	กรัม
Agar	15.0	กรัม

pH 6.9 ± 0.2

ส่วนผสมเพิ่มเติม

Glycine	3.0	กรัม
Polymyxin B	100	หน่วย/มิลลิลิตร
Vancomycin	5	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

Cycloheramide	80	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

เตรียมส่วนผสมหลักด้วยวิธีการดังกล่าวข้างต้น จากนั้นเติมส่วนผสมเพิ่มเติมที่ผ่านการกรองปลอดเชื้อแล้วในส่วนผสมหลัก ผสมให้เข้ากัน

MacConkey agar

ส่วนผสม

Peptone	17.0	กรัม
Protease peptone	3.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Bile salts	1.5	กรัม
Sodium chloride (NaCl)	5.0	กรัม
Neutral red	0.03	กรัม
Crystal violet	0.001	กรัม
Agar	15.0	กรัม

pH 7.1 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.1 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

M-Endo medium

ส่วนผสม

Tryptose or poly peptone	10.0	กรัม
Thiopeptone or thiotone	5.0	กรัม
Casitone or tryticase	5.0	กรัม
Yeast extract	1.5	กรัม
Lactose	12.5	กรัม
Sodium chloride (NaCl)	5.0	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)	4.375	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)	1.375	กรัม

Sodium lauryl sulfate	0.05	กรัม
Sodium desoxycholate	0.10	กรัม
Sodium sulfite (Na_2SO_3)	2.10	กรัม
Basic fuchsin	1.05	กรัม

pH 7.1 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำ 1 ลิตร ที่เติมเอทานอล 95% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปต้มจนละลาย แล้วทำให้เย็นลงทันที โดยให้อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 45 – 50 องศาเซลเซียส บรรจุในภาชนะสีทึบที่ปลอดเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 – 8 องศาเซลเซียส ไม่ต้องกำจัดเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อ

Plate count agar

ส่วนผสม

Tryptone	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

pH 7.0 ± 0.2

วิธีเตรียม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับ pH เป็น 7.0 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ภาคผนวก ข
น้ำยาทดสอบ

Acid wash solution (0.2 M HCL-KCL pH 2.0)

Solution A: KCl 14.9 กรัม + น้ำกลั่น 1 ลิตร

Solution B: Conc. HCl 16.7 มล. + น้ำกลั่น 1 ลิตร

ผสม solution A : solution B 18:1 วัด pH ควรได้ 2.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

Hippurate test:

1% hippurate

Sodium hippurate	0.1	กรัม
น้ำปราศจากเชื้อ	10	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน แบ่งใส่หลอดฝาเกลียว หลอดละ 0.4 มล. เก็บที่ -20 °C

3.5% Ninhydrin: เตรียมในตู้ดูดควัน

Ninhydrin	0.35	กรัม
1-Butanol	5	มิลลิลิตร
Acetone	5	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมให้เข้ากันโดยเติม ninhydrin ลำดับสุดท้าย เก็บในขวดสีชา ควรเตรียมก่อนใช้

ภาคผนวก ค

ประกาศกรมอนามัย

เรื่อง ข้อปฏิบัติการควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลาในหอผึ่งเย็นของอาคารในประเทศไทย

โดยที่เป็นการสมควรกำหนดข้อปฏิบัติสำหรับควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อลีจิโอเนลลาในหอผึ่งเย็นของอาคารเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการคุ้มครองสุขภาพอนามัยของประชาชนที่อยู่ในและนอกอาคาร กรมอนามัยจึงออกประกาศกำหนดข้อปฏิบัติการควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลาในหอผึ่งเย็นของอาคารในประเทศไทยไว้โดยมีรายละเอียดดังนี้

ส่วนที่ ๑

บทนำ

ข้อ ๑ คำนำ

โรคลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease) เป็นโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียในจีนัสลีจิโอเนลลาอย่างเฉียบพลันในทางเดินหายใจส่วนล่าง โดยกลุ่มคนที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อหรือเกิดโรคนี้ได้แก่ ผู้สูงอายุ เช่น ผู้ที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ที่มีร่างกายอ่อนแอหรือกำลังอยู่ระหว่างรักษาโรคบางชนิด เช่น มะเร็ง เบาหวาน โรคไต และเอ็ชไอวี เป็นต้น ผู้ที่ดื่มสุราหรือสูบบุหรี่จัด และผู้ที่ได้รับการรักษาด้วยยาบางชนิด การติดเชื้ออาจมีอันตรายร้ายแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ โดยโรคนี้มีสาเหตุมาจากการหายใจเอาละอองน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อลีจิโอเนลลาซึ่งเจริญเติบโตได้ดีในหอผึ่งเย็นที่ไม่มีการดูแลบำรุงรักษาอย่างถูกต้องเข้าสู่ร่างกาย

ดังนั้น ข้อปฏิบัติการควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลาในหอผึ่งเย็นของอาคารนี้ กำหนดขึ้นเพื่อลดอุบัติการณ์และลดความเสี่ยงต่อการระบาดของโรคลีเจียนแนร์ในประเทศไทย เพื่อเป็นแนวทางให้เจ้าหน้าที่ของรัฐ ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารที่ใช้หอผึ่งเย็นและภาคเอกชนที่เกี่ยวข้องกับการให้บริการและการบำรุงรักษาหอผึ่งเย็น ตลอดจนผู้ที่รับผิดชอบในการออกแบบ การปฏิบัติการและการดูแลรักษาอาคารได้ถือปฏิบัติ

ข้อ ๒ วัตถุประสงค์และการบังคับใช้

(๑) ข้อปฏิบัติฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นแนวปฏิบัติสำหรับการป้องกันและควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลาในหอผึ่งเย็นเพื่อลดการปนเปื้อนและความเสี่ยงต่อการระบาดของโรคลีเจียนแนร์

(๒) ข้อปฏิบัติฉบับนี้ให้ใช้บังคับกับหอผึ่งเย็นทุกชนิดที่ติดตั้งอยู่ในอาคาร

ข้อ ๓ คำนิยามในข้อปฏิบัติมีดังนี้

"ละอองฝอย (Aerosol)" หมายถึง อนุภาคใดๆ ที่มีขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน

"การปรับภาวะอากาศ (Air-conditioning)" หมายถึง การควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น การระบายอากาศ และการฟอกอากาศในบริเวณที่ต้องการให้อยู่ในเกณฑ์คุณภาพที่กำหนด

"ช่องอากาศเข้า (Air intake)" หมายถึง ช่องเปิดใดๆ ที่ดูดอากาศเข้าสู่ระบบส่งลมเย็นในอาคาร

"สาหร่าย (Algae)" หมายถึง พืชน้ำที่มีขนาดเล็กซึ่งต้องการแสงสว่างในการเจริญเติบโต

"สารชีวฆาต (Biocide)" หมายถึง สารเคมีที่มีประสิทธิภาพทำลายจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก

"น้ำที่ระบายออก (Bleed)" หมายถึง น้ำซึ่งถูกระบายออกจากระบบทำความเย็นอย่างช้าๆ เพื่อควบคุมความเข้มข้นของสารละลายในน้ำ

"สะอาด" หมายถึง ปราศจากกากตะกอน เมือก รา สนิม ตะกรัน ฝุ่น สิ่งสกปรก และสิ่งแปลกปลอมใดๆ โดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่า

"หอผึ่งเย็น (Cooling tower)" หมายถึง อุปกรณ์ที่ใช้ลดอุณหภูมิของน้ำโดยอาศัยหลักการคายความร้อนของละอองน้ำขณะผ่านอากาศ

"สารยับยั้งการกัดกร่อน (Corrosion inhibitors)" หมายถึง สารเคมีที่ใช้ป้องกัน หรือชะลอการกัดกร่อนของโลหะด้านที่สัมผัสกับน้ำ

"ท่อปลายตัน (Deadleg)" หมายถึง ท่อที่มีปลายปิดข้างหนึ่งหรือติดอยู่กับเครื่องอุปกรณ์ต่างๆ เช่น ลิ้น ก๊อก มาตร เป็นต้น

"ตัวกระจายสาร (Dispersant)" หมายถึง สารเคมีซึ่งเติมร่วมกับสารเคมีที่ใช้บำบัดน้ำเพื่อทำให้สารอินทรีย์ที่เกาะติดบริเวณพื้นผิวหน้าของโลหะหลุดออกมาและช่วยป้องกันการจับตัวเป็นก้อนของกากตะกอน

"การทำลายเชื้อ" หมายถึง การชะลอจำนวนจุลินทรีย์โดยใช้สารเคมีหรือวิธีการทางกายภาพ

"ละอองปลิว (Drift)" หมายถึง ละอองน้ำที่ล่องลอยออกจากช่องระบายลมของหอผึ่งเย็น

"อุปกรณ์กำจัดละอองปลิว (Drift eliminator)" หมายถึง แผงดักละอองน้ำที่ล่องลอยออกจากหอผึ่งเย็นทางช่องระบายลม

"ความสกปรก" หมายถึง การปนเปื้อนด้วยสิ่งมีชีวิตหรือการสะสมตะกอนดินบนผิวหน้าวัตถุที่ใช้ในการถ่ายเทความร้อนอันเป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียประสิทธิภาพในการทำงานของหอผึ่งเย็น

"ลีจิโอเนลลา (*Legionella*)" เป็นชื่อจีนัสของแบคทีเรียซึ่งพบได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติ และระบบน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น และอาจก่อโรคได้โดยเฉพาะที่พบบ่อยคือ ลีจิโอเนลลา นิวโมฟิลา (*Legionella pneumophila*)

"โรคลีเจียนแนร์ (Legionnaires' disease)" เป็นโรคติดเชื้ออย่างเฉียบพลันจากแบคทีเรียกลุ่มลีจิโอเนลลา สปีชีย์ ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากลีจิโอเนลลา นิวโมฟีลา มักเกิดในผู้ชายสูงอายุโดยเฉพาะผู้ที่สูบบุหรี่หรือผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องเนื่องจากเป็นโรคบางชนิดหรือการใช้สารเคมี ทั้งนี้ในระยะแรกจะมีอาการคล้ายไข้หวัดใหญ่ ได้แก่ มีไข้เล็กน้อย ปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อและข้อต่อหมดแรง อ่อนเพลีย และเบื่ออาหาร ต่อมาจะมีอาการคล้ายปอดอักเสบ ได้แก่ มีไข้สูง ไอแห้งๆ หรืออาจมีเสมหะ หายใจไม่สะดวก หนาวสั่นและเจ็บหน้าอก

"น้ำที่เติมชดเชย (Make-up water)" หมายถึง น้ำสะอาดที่เติมลงไปในหอผึ่งเย็นเพื่อทดแทนน้ำที่สูญเสียไปจากการระเหย การระบาย การรั่วไหลหรือเป็นละอองปลิว

"การระบาดของโรคลีเจียนแนร์" หมายถึง การเกิดโรคตั้งแต่ ๑ รายขึ้นไป

"สารยับยั้งตะกรัน (Scale inhibitor)" หมายถึง สารเคมีที่เติมลงไปในน้ำเพื่อป้องกันการเกิดตะกรัน

"สารกำจัดตะกรัน (Descalants)" หมายถึง สารเคมีที่เติมลงไปในน้ำเพื่อใช้กำจัดตะกรัน

"อาคาร" หมายถึง

(๑) อาคารตามกฎหมายว่าด้วยอาคารชุด

(๒) อาคารกิจการที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพตามกฎหมายว่าด้วยการสาธารณสุข

(๓) อาคารโรงพยาบาลของทางราชการ หรือสถานพยาบาลตามกฎหมายว่าด้วยสถานพยาบาล

(๔) อาคารโรงงานอุตสาหกรรมตามกฎหมายว่าด้วยโรงแรมหรือนิคมอุตสาหกรรม

(๕) อาคารโรงเรียนสถาบันการศึกษาของทางราชการ และเอกชนตามกฎหมายว่าด้วยโรงเรียนราษฎร์ และกฎหมายว่าด้วยสถาบันอุดมศึกษาของทางราชการ

(๖) อาคารศูนย์การค้าหรือห้างสรรพสินค้า

(๗) อาคารตามกฎหมายควบคุมอาคารหรือการสาธารณสุข

"พนักงานเจ้าหน้าที่" หมายถึง

(๑) เจ้าพนักงานท้องถิ่นหรือเจ้าพนักงานสาธารณสุข หรือผู้ซึ่งได้รับแต่งตั้งจากเจ้าพนักงานท้องถิ่นตามกฎหมายว่าด้วยการสาธารณสุข

(๒) ผู้ซึ่งรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขแต่งตั้งให้ปฏิบัติการ ตามกฎหมายสถานพยาบาล

(๓) เจ้าพนักงานสาธารณสุข หรือผู้ซึ่งรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขแต่งตั้งให้เป็นพนักงานเจ้าหน้าที่ปฏิบัติตามกฎหมายโรคติดต่อ

ข้อ ๔ หน้าที่รับผิดชอบ

(๑) ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารที่มีการติดตั้งหอผึ่งเย็นมีหน้าที่ต้องปฏิบัติการดังต่อไปนี้

(ก) จัดทำแผนหรือโครงการควบคุมป้องกันโรคลีเจียนแนร์ประจำอาคารโดยอย่างน้อยต้องมีองค์ประกอบดังนี้

-การประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของโรคลีเจียนแนร์จากหอผึ่งเย็นตามแบบฟอร์มรายการตรวจสอบเพื่อประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคลีเจียนแนร์ของหอผึ่งเย็นท้ายข้อปฏิบัตินี้

- การจัดเก็บรวบรวมสถิติ ข้อมูล และจัดทำบันทึกรายละเอียดของกิจกรรมที่ได้ดำเนินการตามโครงการหรือแผนปฏิบัติการทั้งหมด

(ข) จัดให้มีและใช้มาตรการคุ้มครองความปลอดภัยแก่ผู้ควบคุม และบำรุงรักษาหอผึ่งเย็นของอาคารโดยผู้ควบคุมจะต้องผ่านการฝึกอบรมหลักสูตรผู้ควบคุมและบำรุงรักษาหอผึ่งเย็นด้านการป้องกันและควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลาที่กรมอนามัยและกรมควบคุมโรคติดต่อร่วมกันกำหนด

(ค) จัดให้มีผู้ควบคุมและบำรุงรักษาหอผึ่งเย็นด้านการป้องกันและควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลาที่มีความรู้ความสามารถและมีคุณวุฒิระดับปริญญาตรี ด้านวิทยาศาสตร์สุขาภิบาล อนามัยสิ่งแวดล้อม อาชีวอนามัย สาธารณสุขศาสตร์หรือสาขาอื่นๆ ที่มีประสบการณ์และความรู้ด้านการสาธารณสุข

ในกรณีที่ไม่สามารถจัดหาผู้ควบคุมและบำรุงรักษาหอผึ่งเย็นไว้เป็นการประจำได้ ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคาร อาจมอบหมายให้บุคคลอื่นหรือผู้รับจ้าง ที่มีความชำนาญประสบการณ์และคุณวุฒิดังกล่าว รวมทั้งผ่านการฝึกอบรมหลักสูตรผู้ควบคุมและบำรุงรักษาหอผึ่งเย็นด้านการป้องกันและควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลา เพื่อควบคุมและบำรุงรักษาหอผึ่งเย็นแทนได้

(๒) ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารมีหน้าที่ต้องจดทะเบียนระบบผึ่งเย็นทุกระบบของอาคาร กับพนักงานเจ้าหน้าที่ตามแบบฟอร์มการจดทะเบียนหอผึ่งเย็นท้ายข้อปฏิบัตินี้

(๓) ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารต้องจัดให้มีคู่มือคำแนะนำไว้ประจำระบบปรับภาวะอากาศทุกระบบ โดยคู่มือคำแนะนำอย่างน้อยต้องมีเนื้อหารายละเอียด ดังต่อไปนี้

(ก) แผนผังของระบบปรับภาวะอากาศ

(ข) วิธีการใช้งานของระบบ

(ค) ข้อควรระวังที่จำเป็น ซึ่งระบุวิธีการและความถี่ในการตรวจสอบสภาพของระบบรวมถึงขั้นตอนการปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของระบบ

(ง) รายละเอียดของผู้จำหน่ายอุปกรณ์ระบบปรับภาวะอากาศ ที่อยู่และหมายเลขโทรศัพท์ที่ใช้ติดต่อ

(๔) ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารต้องปฏิบัติหรือแก้ไขหรือปรับปรุงให้ถูกต้องตามข้อปฏิบัติฉบับนี้ทุกประการ

ส่วนที่ ๒
หอผึ่งเย็น

ข้อ ๕ การออกแบบ และก่อสร้างหอผึ่งเย็นต้องปฏิบัติดังนี้

(๑) เพื่อทำให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพน้อยที่สุดต่อผู้อยู่ในอาคารและประชาชนทั่วไป การติดตั้งระบบผึ่งเย็นของอาคาร ต้องได้รับความเห็นชอบจากผู้อนุญาตตามกฎหมายที่เกี่ยวข้องก่อน

(๒) ระบบผึ่งเย็นควรได้รับการออกแบบ และก่อสร้างในลักษณะช่วยลดการแพร่กระจายของละอองปลิวจากระบบ และช่วยให้เกิดความสะดวก และปลอดภัยต่อการปฏิบัติงานการทำลายเชื้อและการทำความสะอาดเป็นประจำ

(๓) การออกแบบระบบผึ่งเย็น ควรมีลักษณะดังต่อไปนี้

(ก) ง่าย ใช้งานสะดวก ทั้งนี้ให้หลีกเลี่ยงการออกแบบอุปกรณ์ของระบบผึ่งเย็นที่เป็นท่อปลายตัน วง ห่วง และข้องอ

(ข) มีช่องทางเข้าไปบริเวณต่างๆ ของระบบได้โดยสะดวกเพื่อการตรวจสอบ การเก็บตัวอย่าง การทำความสะอาด การทำลายเชื้อ การซ่อมบำรุงและการปรับปรุงแก้ไข

(๔) หอผึ่งเย็นที่ติดตั้งใหม่หรือ ได้รับการปรับปรุงแก้ไขใหม่ต้องมีอุปกรณ์ที่จะช่วยลดการเกิดและการกระจายล่องลอยออกมาของละอองปลิว ดังต่อไปนี้

(ก) ระบบจ่ายน้ำภายในหอผึ่งเย็นที่มีการพ่นละอองปลิวออกจากหอผึ่งเย็นน้อยที่สุด

(ข) อุปกรณ์กำจัดละอองปลิวที่มีประสิทธิภาพสูงในการดักละอองปลิว

(ค) ผนังล้อมรอบด้านข้างเหนืออ่างรองรับน้ำในหอผึ่งเย็นเพื่อลดผลกระทบจากแรงลมภายนอกที่จะพัดพาละอองปลิวออกทางด้านข้างของหอผึ่งเย็นได้ โดยผนังดังกล่าวควรทึบแสง เพื่อป้องกันไม่ให้แสงแดดผ่านเข้าไป ทำให้เกิดการเจริญเติบโตของสาหร่ายและเชื้อ ลีจิโอเนลลา

(๕) วัสดุที่ใช้ก่อสร้างหอผึ่งเย็นต้องไม่สึกกร่อนง่าย ต้องทนทานต่อสารเคมี เรียบ ไม่มีรูพรุน ทึบแสงและผ่านการทำลายเชื้อแล้ว รวมทั้งต้องไม่เป็นวัสดุที่จะเอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มขยายตัวอย่างรวดเร็วของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้

(๖) ระบบระบายน้ำทิ้ง ต้องอยู่ตำแหน่งล่างสุดของอ่างรองรับน้ำในหอผึ่งเย็น เพื่อให้สามารถระบายน้ำทั้งหมดในระบบผึ่งเย็น ได้ง่าย และสะดวก

ข้อ ๖ สถานที่ติดตั้งหอผึ่งเย็น ต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้

(๑) ตำแหน่งที่ตั้งหอผึ่งเย็นต้องอยู่ห่างจากบริเวณต่อไปนี้ไม่น้อยกว่า ๕ เมตร โดยวัดจากฐานตั้งหอผึ่งเย็น

(ก) ทางลมเข้า (Air inlets) เพื่อระบายและหมุนเวียนอากาศในอาคาร

(ข) พื้นที่ที่มีคนอยู่อาศัยและเปิดหน้าต่าง

(ค) ทางเท้า และบริเวณการจราจร

(ง) ที่หรือทางสาธารณะ

(จ) ช่องระบายอากาศทิ้งจากห้องครัว

(ฉ) ระบบส่งลมเย็นหรือบริเวณอื่นๆ ของระบบรวมทั้งช่องดูดอากาศเข้าของอาคารที่อาจมีสารอาหาร เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อลีจิโอเนลลา

(ช) ถังเก็บกักหรือพักน้ำของอาคาร

ในกรณีที่เป็นอาคารเดิมที่ไม่มีการดัดแปลง รื้อถอนและเปลี่ยนแปลงการใช้อาคาร ซึ่งไม่สามารถติดตั้งหอผึ่งเย็นให้อยู่ห่างจากบริเวณดังกล่าวในระยะที่กำหนดได้ ต้องมีการจัดให้มีมาตรการป้องกันการแพร่กระจายของละอองปลิวจากหอผึ่งเย็น

(๒) ในการกำหนดตำแหน่งที่ตั้งของหอผึ่งเย็น ต้องคำนึงถึงอิทธิพลจากผลกระทบของอาคารที่อยู่ใกล้เคียงทิศทางของกระแสลม และการพัดกระจายตัวของลมที่อยู่เหนืออาคารเหล่านี้ด้วย รวมทั้งหอผึ่งเย็นต้องติดตั้งอยู่ห่างและอยู่ได้ทิศทางลมจากช่องดูดอากาศเข้าของอาคารด้วย

ข้อ ๗ น้ำที่เติมชดเชย ในระบบหมุนเวียนน้ำต้องเป็นน้ำจากแหล่งน้ำเดียวกับที่ใช้ในหอผึ่งเย็น

ข้อ ๘ การระบายน้ำทิ้งจากหอผึ่งเย็น ต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) น้ำทิ้งจากหอผึ่งเย็นต้องมีคุณภาพได้มาตรฐานตามกฎหมายว่าด้วยโรงงาน

(๒) น้ำทิ้งจากท่อส่งน้ำและน้ำทิ้งจากระบบปรับภาวะอากาศหรือระบายอากาศ ต้องระบายทิ้งลงสู่ท่อระบายที่มีอุปกรณ์หรือข้อต่อที่ป้องกันมิให้น้ำทิ้งไหลย้อนกลับเข้าสู่ระบบปรับภาวะอากาศหรือระบายอากาศ

ข้อ ๙ การทดสอบก่อนใช้งาน และการใช้งาน ระบบปรับภาวะอากาศต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) ระบบปรับภาวะอากาศของอาคารต้องมีคุณลักษณะ และการใช้งานเป็นไปตามกฎหมายว่าด้วยการควบคุมอาคาร

(๒) หอผึ่งเย็นต้องได้รับการทดสอบอย่างเหมาะสมก่อนใช้งาน เพื่อให้มั่นใจว่าสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย

(๓) ระบบปรับภาวะอากาศทั้งหมดภายในอาคารต้องอยู่ในสภาพสะอาด ปราศจากสิ่งสกปรกก่อนใช้งาน

(๔) ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารต้องจัดให้มีมาตรการควบคุมความเสี่ยงต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างดำเนินการทดสอบก่อนใช้งาน การเริ่มต้นใช้งาน และในระหว่างการใช้งานตามปกติของระบบปรับภาวะอากาศ

(๕) การใช้งานหอผึ่งเย็นของอาคารต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(ก) กรณีที่ใช้งานหอผึ่งเย็นสลับเป็นช่วงๆ อย่างน้อยต้องเปิดใช้งานสัปดาห์ละครั้ง และน้ำที่ใช้ในหอผึ่งเย็นต้องผ่านการบำบัด และตรวจคุณภาพแล้ว

(ข) กรณีที่หยุดใช้งานหอผึ่งเย็นนานกว่า ๑ สัปดาห์ น้ำในหอผึ่งเย็นต้องผ่านการบำบัดด้วยสารชีวฆาตทันทีเมื่อมีการใช้งานหอผึ่งเย็นใหม่

(ค) กรณีที่หยุดใช้งานหอผึ่งเย็นนานกว่า ๑ เดือน ต้องระบายน้ำในหอผึ่งเย็นทิ้งแล้วทำความสะอาด และทำลายเชื้อในหอผึ่งเย็น อย่างน้อยเดือนละครั้ง

(ง) กรณีที่หยุดใช้งานหอผึ่งเย็น โดยไม่มีกำหนด ต้องระบายน้ำในหอผึ่งเย็นทิ้งโดยไม่ปล่อยให้มีน้ำขัง

ส่วนที่ ๓
การดูแลบำรุงรักษาและตรวจสอบเฝ้าระวังระบบผึ่งเย็น

ข้อ ๑๐ ผู้ได้รับอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารต้องดำเนินการและบำรุงรักษาระบบผึ่งเย็นดังต่อไปนี้

(๑) ซ่อมแซม ดูแล และบำรุงรักษาหอผึ่งเย็นให้อยู่ในสภาพที่ดีและสะอาดพร้อมที่จะใช้งานได้ตลอดเวลา

(๒) จัดหาคู่มือการบำรุงรักษาประจำระบบผึ่งเย็นทุกระบบ ซึ่งอย่างน้อยต้องประกอบด้วย

(ก) แผนผังโครงสร้างที่สมบูรณ์ของระบบระบายอากาศและระบบผึ่งเย็น

(ข) วิธีการทำความสะอาด การทำลายเชื้อ และขั้นตอนการกำจัดสิ่งปนเปื้อนพร้อมทั้งคำแนะนำในการรื้อถอดส่วนประกอบ

(ค) วิธีบำบัดน้ำในหอผึ่งเย็น

(ง) วิธีปิด-เปิด และเดินเครื่อง

(๓) การบำรุงรักษาระบบผึ่งเย็นเป็นประจำต้องดำเนินการโดยผู้ที่มีความรู้ความสามารถ ความชำนาญและประสบการณ์ในการป้องกันอันตรายที่เกิดขึ้นจากการปฏิบัติงานได้

(๔) ตรวจตราความสะอาด ความสกปรก และกากตะกอนในหอผึ่งเย็นทุกเครื่อง สัปดาห์ละครั้งโดยใช้สายตา

(๕) ต้องจัดทำและดำเนินการตามแผนการบำรุงรักษาหอผึ่งเย็น รวมถึงการทำความสะอาด การทำลายเชื้อและการบำบัดน้ำสำหรับหอผึ่งเย็นทุกเครื่อง เพื่อเป็นการป้องกันการเพิ่มจำนวนของเชื้อลีจิโอเนลลาและทำให้สารเคมีที่ใช้ในการบำบัดน้ำมีประสิทธิภาพสูงสุด

(๖) อาจนำเครื่องกรองน้ำ แสงอุลตร้าไวโอเลต ก๊าซโอโซนและอื่นๆ มาช่วยในการบำรุงรักษาหอผึ่งเย็นได้ แต่ต้องไม่เป็นการนำมาใช้เพื่อทดแทนการทำความสะอาด การทำลายเชื้อและการบำบัดน้ำตามแผนการประจำในข้อ ๑๐ (๕)

ข้อ ๑๑ การทำความสะอาดและการทำลายเชื้อ ในระบบผึ่งเย็นของอาคารต้องปฏิบัติดังนี้

(๑) การทำลายเชื้อ การทำความสะอาดและการกำจัดตะกอนในหอผึ่งเย็น โดยปกติทั่วไปต้องกระทำอย่างน้อย ๑ ครั้งภายใน ๖ เดือนหรือมากกว่าเมื่อจำเป็น

(๒) การทำความสะอาดและการทำลายเชื้อต้องกระทำในหอผึ่งเย็นที่มีสภาพ ดังต่อไปนี้

(ก) มีการปนเปื้อนในระหว่างการก่อสร้างจากฝุ่นหรือสารอินทรีย์ต่างๆ

(ข) หยุดใช้งานมานานกว่า ๑ เดือน

(ค) ถูกดัดแปลงแก้ไขทางกลไกหรือถอดชิ้นส่วนออกในลักษณะที่อาจทำให้หอผึ่งเย็นได้รับการปนเปื้อนได้

(ง) เมื่อสภาพแวดล้อมรอบหอผึ่งเย็นเต็มไปด้วยฝุ่น หรือไม่สามารถควบคุมคุณภาพน้ำได้หรือเมื่อหอผึ่งเย็นที่อยู่ใกล้เคียงกันเป็นแหล่งการระบาดของโรคลีเจียนแนร์

(จ) อื่นๆ ตามที่เจ้าหน้าที่เห็นควร

(๓) ระบบเก็บกักน้ำพิเศษซึ่งเชื่อมกับระบบผึ่งเย็น และมีลักษณะน้ำขังนิ่ง ต้องได้รับการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้งานในสภาพปกติ

(๔) การทำความสะอาดและทำลายเชื้อ ต้องปฏิบัติ ดังนี้

(ก) เติมคลอรีนครั้งแรกในน้ำในระบบผึ่งเย็นเพื่อให้มีคลอรีนอิสระตกค้าง (residual free chlorine) อยู่ในระดับ ๕ มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อลดความเสี่ยงต่อสุขภาพผู้ทำความสะอาด แล้ว

ทำการหมุนเวียนน้ำพร้อมๆ กับเติมตัวกระจายสารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อโรคของคลอรีน โดยหมุนเวียนน้ำเป็นระยะเวลา ๖ ชั่วโมง ทำการรักษาปริมาณคลอรีนอิสระให้อยู่ในระดับไม่น้อยกว่า ๕ มิลลิกรัมต่อลิตรตลอดเวลา

ถ้าในกรณีที่ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของน้ำมากกว่า ๘.๐ ปริมาณความเข้มข้นของคลอรีนอิสระตกค้างที่วัดได้ต้องอยู่ระหว่าง ๑๕ ถึง ๒๐ มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา ๒ ชั่วโมง หรือใช้วิธีระบายน้ำออกจากระบบอย่างเต็มที่เป็นเวลาหลายๆ ชั่วโมง เพื่อลดค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณคลอรีนในระบบลง

(ข) ระบายน้ำทิ้งออกจากเส้นท่อและทำความสะอาดระบบจ่ายน้ำ บ่อสูบน้ำและหอผึ่งเย็นทำการล้างบริเวณหรือทางที่จะเข้าไปยังหอผึ่งเย็นและอุปกรณ์ต่างๆ สำหรับตะกรันและตะกอนอื่นๆ ที่ไม่สามารถกำจัดออกไปได้ให้ใช้สารเคมีสำหรับกำจัดตะกรันที่ไม่ทำให้เกิดความเสียหายแก่หอผึ่งเย็นและเส้นท่อ

ให้หลีกเลี่ยงวิธีทำความสะอาดที่ก่อให้เกิดละอองน้ำล่องลอยมากเกินไป เช่น ระบบฉีดน้ำแรงดันสูง เป็นต้น หากไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ให้ปิดประตู หน้าต่าง และช่องลมที่อยู่ใกล้เคียงให้สนิทก่อนการทำความสะอาด

ผู้ที่ฉีดน้ำด้วยระบบแรงดันสูงต้องได้รับการฝึกอบรมและต้องสวมอุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลตามข้อ ๑๙(๒) ในขณะปฏิบัติงานทุกครั้ง

(๕) เติมน้ำสะอาดและคลอรีนซ้ำเพื่อให้ระดับคลอรีนอิสระตกค้างไม่น้อยกว่า ๕ มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา ๖ ชั่วโมง

(๖) ระบายและถ่ายเทน้ำทิ้ง แล้วเปลี่ยนถ่ายเติมน้ำสะอาด สารเคมีและสารชีวฆาตที่ใช้ในการบำบัดคุณภาพน้ำให้อยู่ในระดับเหมาะสมก่อนเปิดเดินเครื่องระบบ

(๗) ในระหว่างการทำความสะอาดและการทำลายเชื้อ ควรปิดพัดลมของหอผึ่งเย็นทุกครั้ง

(๘) โดยทั่วไปน้ำในหอผึ่งเย็นต้องมีปริมาณความเข้มข้นของคลอรีนอิสระตกค้างไม่น้อยกว่า ๑.๐ มิลลิกรัมต่อลิตรตลอดเวลา

ข้อ ๑๒ การบำบัดน้ำในระบบผึ่งเย็นของอาคารต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) เพื่อควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลากรรมวิธีการบำบัดน้ำต้องลดหรือป้องกันการเกิดขึ้นของสิ่งต่างๆ ในระบบผึ่งเย็นดังต่อไปนี้

(ก) ตะกรัน และสิ่งที่เป็นผลผลิตจากการกัดกร่อน ซึ่งอาจจะเป็นแหล่งอาศัยคุ้มครองเชื้อลีจิโอเนลลาในระบบ

(ข) ตะกอนซึ่งอาจไปลดประสิทธิภาพกรรมวิธีการบำบัดน้ำ

(ค) แบคทีเรียและจุลินทรีย์อื่นๆ

(๒) ใช้สารชีวฆาตเพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของตะไคร่ และสาหร่าย สำหรับกรณีที่มีการเจริญเติบโตของตะไคร่และสาหร่ายอย่างรวดเร็ว ให้ใช้สารทำความสะอาดที่มีฤทธิ์เป็นด่างกำจัดทำให้แตกกระจายออกไปแล้วจึงขะล้างทำความสะอาดและเติมสารชีวฆาตอีกครั้ง

(๓) ในการกำจัดตะกอนเลนอาจใช้ตัวกระจายสาร หรือสารเคมีที่ช่วยให้เกิดการรวมตัวก็ได้

(๔) สารเคมีที่ใช้ในการบำบัดน้ำต้องไม่มีฤทธิ์ที่เป็นผลเสียต่อวัสดุอุปกรณ์ที่เป็นอโลหะที่ใช้ในระบบเส้นท่อ เช่น ยาง และโลหะที่เคลือบสารอีพ็อกซีย์ป้องกันการกัดกร่อนเป็นต้น และต้องเหมาะสมเป็นกลางต่อวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานระบบเส้นท่อ

(๕) การบรรจุ เก็บสะสมและควบคุมดูแลสารเคมีต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดของกฎหมายที่เกี่ยวข้อง

ข้อ ๑๓ การใช้สารชีวฆาตต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) ต้องใช้สารชีวฆาตอย่างน้อย ๒ ชนิด โดยใส่สลับกันสัปดาห์ละครั้ง เพื่อป้องกันอุบัติการณ์ดื้อสารเคมีของเชื้อจุลินทรีย์

(๒) ก่อนเริ่มดำเนินการบำบัดด้วยสารชีวฆาต ต้องมั่นใจว่าระบบผึ่งเย็นอยู่ในสภาวะที่สะอาด

(๓) การป้องกันการปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ในระบบผึ่งเย็นต้องใช้สารชีวฆาตด้วยวิธีการเติมใส่เป็นครั้งๆ แบบไม่ต่อเนื่อง (Short/Slug dose) และให้รวมการเติมสารชีวฆาตใส่ลงในอ่างรองรับน้ำของหอผึ่งเย็นโดยตรงเป็นระยะสลับกันด้วยวิธีแบบเดียวกัน

(๔) สารชีวฆาตที่ใช้ในการกำจัดและควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อลีจิโอเนลลา ต้องมีคุณสมบัติดังนี้

(ก) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรฐานและได้รับการจดทะเบียนอย่างถูกต้อง โดยสารเคมีทุกชนิดที่ใช้ในการบำบัดต้องได้รับอนุญาตให้ใช้และปฏิบัติตามข้อกำหนดของหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

(ข) มีประสิทธิภาพที่เชื่อถือได้ ในการทำลายเชื้อลีจิโอเนลลาและเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ได้กว้างขวางเมื่อใช้ในปริมาณหรือขนาดตามที่ผู้ผลิตหรือผู้จำหน่ายได้กำหนดหรือแนะนำไว้

(ค) สารชีวฆาตที่นำมาใช้ต้องมีส่วนช่วยสนับสนุน ให้สารชีวฆาตที่ใช้สำหรับทำลายเชื้อลีจิโอเนลลาทำงานอย่างมีประสิทธิภาพสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และช่วยให้ระบบผึ่งเย็นปลอดจากภาวะใดๆ ทางจุลชีววิทยา

(ง) ไม่รบกวนต่อวิธีการชันสูตรเพื่อจำแนกชนิดและประเภทของเชื้อลีจิโอเนลลา

(จ) เหมาะสมทั้งทางด้านกายภาพและเคมีกับน้ำที่ผ่านกรรมวิธีการบำบัดแล้ว

(๕) สารเคมีที่ใช้และผลิตภัณฑ์สุดท้าย (End-products) ที่เกิดขึ้นภายหลังการบำบัดน้ำต้องสามารถย่อยสลายทางชีวภาพและทางเคมีได้ โดยก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด สำหรับในกรณีที่มีการระบายหรือเกิดเหตุรั่วไหลของสารเคมีหรือผลิตภัณฑ์สุดท้ายลงสู่ระบบบำบัดน้ำ น้ำทิ้งจากระบบต้องผ่านการบำบัดคุณภาพน้ำก่อนระบายลงสู่แหล่งรองรับน้ำสาธารณะ

ข้อ ๑๔ การบันทึกข้อมูล ต้องปฏิบัติดังนี้

(๑) ผู้ได้รับอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารต้องจัดให้มีการบันทึกในสมุดบันทึกประจำหอผึ่งเย็นทุกเครื่อง พร้อมให้ข้อมูลที่ถูกต้องเพียงพอและสะดวกต่อการตรวจสอบขอดูของพนักงาน เจ้าหน้าที่ตลอดเวลา การบันทึกข้อมูลต้องครอบคลุมรายละเอียด ดังต่อไปนี้

(ก) รายละเอียดเกี่ยวกับหอผึ่งเย็น เช่น ที่ตั้ง แบบ รุ่น และขนาด เป็นต้น

(ข) ชื่อผู้บันทึกและเก็บรักษาสมุดบันทึกข้อมูล

(ค) ชื่อบุคคลหรือบริษัทที่รับผิดชอบในการประเมินความเสี่ยง แผนปฏิบัติการการจัดมาตรการป้องกันและข้อควรระวัง

(ง) ชื่อบุคคลหรือบริษัทที่ดำเนินการบำบัดน้ำ

(จ) รายละเอียดในการบำรุงรักษา เช่น

- วันที่และผลในการตรวจตราเบื้องต้นโดยสายตา
- วันที่ทำความสะอาดและทำลายเชื้อ
- วันที่ทำการบำบัดด้วยสารเคมีและสารชีวฆาต
- วันที่ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจสอบเฝ้าระวังคุณภาพน้ำและเชื้อ ลีจิโอเนลลา รวมทั้งวันที่รายงานผลการตรวจสอบ

(ฉ) รายละเอียดในการปรับปรุงแก้ไข และวันที่เริ่มดำเนินการ

(๒) การบันทึกข้อมูลตามข้อ ๑๔(๑) ต้องมีลายเซ็นของผู้ปฏิบัติงานหรือผู้ที่รับผิดชอบรับรองกำกับว่าได้ดำเนินงานจริง

(๓) สมุดบันทึกต้องเก็บรักษาไว้อย่างน้อย ๒ ปี

ข้อ (๑๕) แผนการดำเนินงานเมื่อเกิดการระบาดของโรคลีเจียนแนร์ในอาคาร ต้องปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) ถ้าปรากฏว่ามีหรือสงสัยว่าจะมีการระบาดของโรคลีเจียนแนร์เกิดขึ้นผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารต้องแจ้งพนักงานเจ้าหน้าที่ทราบทันที

(๒)ในกรณีที่สงสัยว่ามีการระบาดของโรคลีเจียนแนร์อันเนื่องมาจากหอผึ่งเย็นของอาคารให้พนักงานเจ้าหน้าที่เรียกหรือขอดูเอกสารหรือหลักฐานจากผู้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคาร ดังนี้

(ก) แบบแปลนอาคารที่แสดงรายละเอียดชั้นต่างๆ ในอาคาร ที่ตั้งหอผึ่งเย็น และช่องทางสำหรับอากาศภายนอกระบายเข้าสู่อาคาร

(ข) แผนผังวงจรของหอผึ่งเย็น

(ค) สมุดบันทึกประจำหอผึ่งเย็น

(ง) หอผึ่งเย็นที่สงสัยเป็นต้นเหตุของการระบาดของโรคต้องไม่มีการระบายน้ำทิ้งหรือทำลายเชื้อก่อนพนักงานเจ้าหน้าที่จะดำเนินการเก็บตัวอย่างน้ำส่งตรวจ

(จ) ข้อมูลอื่นๆ ที่จำเป็นสำหรับการสอบสวนทางวิทยาการระบาด

(๓) เมื่อได้ชันสูตรแน่ชัดแล้วว่าหอผึ่งเย็นใดเป็นต้นเหตุการระบาดของโรคลีเจียนแนร์ให้พนักงานเจ้าหน้าที่ออกคำสั่งให้ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารทำความสะอาดและทำลายเชื้อทันทีในหอผึ่งเย็นที่เกี่ยวข้องกับการระบาดของโรคตามขั้นตอน ดังนี้

(ก) เติมคลอรีนหรือสารประกอบคลอรีนลงในน้ำของระบบ เพื่อให้มีคลอรีนอิสระในน้ำอยู่ที่ระดับ ๒๐ – ๕๐ มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน ๑ – ๒ ชั่วโมงพร้อมกับเติมตัวกระจายสารทางชีวภาพ (biodispersant) ทันทีหรือในเวลาเดียวกัน

(ข) หมุนเวียนน้ำในระบบโดยไม่เปิดพัดลมนานอย่างน้อย ๖ ชั่วโมง และรักษาระดับคลอรีนอิสระให้อยู่ต่ำสุดที่ ๑๐ มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดเวลา

(ค) หลังจาก ๖ ชั่วโมงแล้วให้ขจัดคลอรีน (dechlorinate) และระบายน้ำออกจากระบบ

(ง) ทำความสะอาดหอผึ่งเย็น บ่อสูบน้ำ และระบบจ่ายน้ำ ทั้งนี้ผู้ปฏิบัติงานจะต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลตามข้อ ๑๕(๒)

(จ) เติมน้ำสะอาด ใส่สารคลอรีนหรือสารประกอบคลอรีน

(ฉ) หมุนเวียนน้ำซึ่งมีคลอรีนอิสระที่ ๕ มิลลิกรัมต่อลิตร อีกครั้งในขณะปิดพัดลมเป็นเวลา ๖ ชั่วโมง หรือ ๑๐ มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา ๑ ชั่วโมง

(ช) ขจัดคลอรีนและระบายน้ำออกจากระบบ

(ซ) เติมและหมุนเวียนน้ำสะอาดอีกครั้งแล้วเก็บตัวอย่างน้ำไปตรวจวิเคราะห์

(ฌ) เปิดใช้งานระบบผึ่งเย็นตามปกติใหม่

(ญ) โดยทั่วไปน้ำในหอผึ่งเย็นต้องมีปริมาณความเข้มข้นของคลอรีนอิสระตกค้างไม่น้อยกว่า ๑.๐ มิลลิกรัมต่อลิตร ตลอดเวลา

ข้อ ๑๖ การเก็บตัวอย่างน้ำและการตรวจสอบเฝ้าระวังทางจุลชีววิทยา ต้องปฏิบัติดังนี้

(๑) ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารต้องจัดให้มีและดำเนินการทดสอบหาเชื้อลีจิโอเนลลา และการตรวจนับแบคทีเรียทั้งหมดตามแผนเป็นประจำ เพื่อ

ตรวจสอบประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำ โดยมีการตรวจวัดทุกๆ ๓ เดือน สำหรับอาคารสถานพยาบาล และตรวจวัดทุกๆ ๖ เดือนสำหรับอาคารอื่นๆ

(๒) การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อการเฝ้าระวังทางจุลชีววิทยา ต้องปฏิบัติดังนี้

(ก) เก็บตัวอย่างน้ำก่อนมีการใช้สารชีวฆาต หรือเก็บตัวอย่างน้ำขณะที่เปิดเดินเครื่องระบบและมีน้ำไหลเวียนในระบบแล้วอย่างน้อย ๑ ชั่วโมง

(ข) ในกรณีที่มีการทำลายเชื้อจะต้องเก็บตัวอย่างน้ำหลังจากการทำลายเชื้อแล้วไม่น้อยกว่า ๓ วัน

(ค) เก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ ๒- ๘ องศาเซลเซียส หรือแช่เย็น และนำส่งห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวิเคราะห์ทันทีหรืออย่างช้าภายใน ๕ วัน

(ง) เก็บตัวอย่างน้ำ ณ จุดที่น้ำไหลเข้ามาเติมชดเชยในระบบ ในอ่างรองรับน้ำและท่อน้ำทิ้งจากหอผึ่งเย็นแต่ละเครื่องอย่างน้อย ๓ ตัวอย่าง

(๓) ห้องปฏิบัติการเอกชนที่ตรวจวิเคราะห์เชื้อลีจิโอเนลลา ต้องได้รับการรับรองจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

(๔) ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารต้องจัดส่งรายงานผลการตรวจสอบให้พนักงานเจ้าหน้าที่ หรือกรมอนามัยและกรมควบคุมโรคติดต่อ หน่วยงานละ ๑ ชุด ตามเวลาที่กำหนดใน ๑๖(๑) พร้อมกับข้อมูลที่บันทึกตามรายละเอียดในแบบบันทึกข้อมูลสำหรับการควบคุมเชื้อลีจิโอเนลลาในระบบผึ่งเย็นที่แนบท้ายข้อปฏิบัตินี้

(๕) การตรวจสอบเฝ้าระวังเชื้อลีจิโอเนลลาในหอผึ่งเย็นเป็นประจำต้องเป็นส่วนหนึ่งของแผนปฏิบัติที่ดีด้านการบำรุงรักษา การทำความสะอาด และการติดตามผลอย่างสม่ำเสมอ

ข้อ ๑๗ การแก้ไขการปนเปื้อนจากเชื้อลีจิโอเนลลา ต้องปฏิบัติ ดังต่อไปนี้

(๑) ในกรณีที่ตรวจพบเชื้อลีจิโอเนลลาในระบบผึ่งเย็นให้พนักงานเจ้าหน้าที่ออกหนังสือให้ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารต้องดำเนินการแก้ไขด้วยมาตรการต่างๆ ตามระดับการปนเปื้อนของเชื้อลีจิโอเนลลา ดังนี้

(ก) กรณีตรวจพบเชื้อลีจิโอเนลลา น้อยกว่า ๑๐๐,๐๐๐ ซีเอฟยู (Colony Forming Unit) ต่อลิตร ให้ถือว่าการใช้มาตรการบำรุงรักษาอย่างเดียวไม่เพียงพอ ต้องแนะนำให้มีการแก้ไขเพิ่มเติมแผนการบำรุงรักษา การตรวจสอบเฝ้าระวังและการติดตามผลของระบบผึ่งเย็นให้ถูกต้องใหม่

(ข) กรณีตรวจพบเชื้อลีจิโอเนลลา ตั้งแต่ ๑๐๐,๐๐๐ ถึงไม่มากกว่า ๑,๐๐๐,๐๐๐ ซีเอฟยูต่อลิตร ให้ถือว่าอยู่ในสภาวะที่จะมีอันตรายเกิดขึ้นได้ ต้องออกหนังสือตักเตือนให้มีการ

ประเมินผลวิธีการบำรุงรักษาใหม่ รวมทั้ง กระบวนการทำลายเชื้อในน้ำที่ใช้อยู่ การแก้ไขให้ถูกต้อง การตรวจเฝ้าระวัง และการติดตามผล

(ค) กรณีตรวจพบเชื้อลีจิโอเนลลา ตั้งแต่ ๑,๐๐๐,๐๐๐ ซีเอฟยูต่อลิตรขึ้นไป ให้ถือว่าอยู่ในสภาวะที่เป็นอันตรายร้ายแรง ต้องออกคำสั่งปิดระบบทันทีเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน ทำความสะอาด ทำลายเชื้อ ตรวจสอบเฝ้าระวังและติดตามผล

(๒) มาตรการแก้ไขใน ข้อ ๑๗(๑)(ก) และ (ข) ต้องดำเนินการภายใน ๒๔ ชั่วโมง หลังจากได้รับรายงานการตรวจพบเชื้อ และภายหลังดำเนินการตามมาตรการดังกล่าวแล้ว หากยังคงตรวจพบเชื้ออีกต้องแก้ไขซ้ำจนกระทั่งระบบผึ่งเย็นปราศจากการปนเปื้อน

(๓) ในกรณีที่ไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำหรือคำตักเตือน และต่อมาในภายหลังตรวจพบว่ามีการปนเปื้อนจากเชื้อลีจิโอเนลลาอีก ให้พนักงานเจ้าหน้าที่สั่งปิดระบบทันที

ส่วนที่ ๔
ความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน

ข้อ ๑๘ การฝึกอบรม

บุคคลซึ่งมีหน้าที่ดูแลบำรุงรักษา การตรวจสอบเฝ้าระวัง การบำบัดน้ำ และการทำงานของระบบผึ่งเย็น ต้องผ่านการฝึกอบรมตามหลักสูตรที่กรมอนามัย และกรมควบคุมโรคติดต่อกำหนด

ข้อ ๑๙ ผู้ได้รับใบอนุญาต ผู้ดำเนินการ เจ้าของหรือผู้ครอบครองอาคารหรือผู้ที่ได้รับมอบหมายตามข้อ ๔(๑)(ก) ต้องจัดให้มีและใช้มาตรการป้องกันอันตรายส่วนบุคคล ดังต่อไปนี้

(๑) ผู้ปฏิบัติงานซึ่งมีหน้าที่ในการบำรุงรักษาหอผึ่งเย็น ต้องได้รับทราบถึงความเสี่ยงอันตรายของโรคลีเจียนแนร์ และได้รับคำแนะนำการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลที่ถูกต้อง

(๒) ผู้ปฏิบัติงานต้องได้รับและใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลที่เหมาะสมตามประเภทของงานและลักษณะสภาวะอันตรายดังต่อไปนี้

(ก) งานตรวจสอบ สภาวะอันตราย ได้แก่ ละอองฝอย ซึ่งผู้ปฏิบัติงานต้องได้รับและใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลในขณะทำงาน ประกอบด้วยชุดหน้ากากสวมครึ่งหน้า ที่สามารถกรองอนุภาคขนาดเล็กกว่า ๕ ไมครอนได้ พร้อมชุดแต่งกายทำงานทั่วไป

(ข) งานบำบัดน้ำ สภาวะอันตราย ได้แก่ ละอองฝอย และละอองสารเคมี ซึ่งผู้ปฏิบัติงานต้องได้รับและใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลในขณะทำงาน ประกอบด้วยชุด

หน้ากากสวมครึ่งหน้า เช่นเดียวกับข้อ ๑๘(๒)(ก) ถุงมือ รองเท้าครึ่งแข้งซึ่งทำจากวัสดุกันน้ำ และแว่นครอบตาทั้ง ๒ ข้าง

(ค) งานฉีดน้ำแรงดันสูง สภาวะอันตราย ได้แก่ ละอองฝอย ซึ่งผู้ปฏิบัติงานต้องได้รับและใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลในขณะทำงาน ประกอบด้วยชุดหน้ากากสวมครึ่งหน้า ชุดหมีแบบกันน้ำได้ ถุงมือและรองเท้าครึ่งแข้งซึ่งทำจากวัสดุกันน้ำ และแว่นครอบตาทั้ง ๒ ข้าง

(ง) งานทำความสะอาดและบำบัดน้ำด้วยสารเคมีสภาวะอันตราย ได้แก่ ละอองสารเคมี ผู้ปฏิบัติงานต้องได้รับและใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลในขณะทำงาน ประกอบด้วยชุดหน้ากากสวมเต็มหน้าที่มีตลับดูดซึมชนิดที่กันไอระเหยของสารคลอรีนหรือสารเคมี ชุดหมีแบบกันน้ำได้ ถุงมือและรองเท้าครึ่งแข้งซึ่งทำจากวัสดุกันน้ำ

(๓) เมื่อเกิดอุบัติเหตุสารเคมีหกรดผิวหนังต้องล้างด้วยน้ำสะอาดมากๆ ทันที

(๔) ผู้ปฏิบัติงานต้องปฏิบัติตนให้มีสุขลักษณะส่วนบุคคลตามมาตรฐาน รวมทั้งสถานที่ที่ปฏิบัติงานต้องมีอ่างล้างมือและห้องอาบน้ำอย่างเพียงพอ

(๕) ห้ามบริโภคอาหาร เครื่องดื่ม หรือสูบบุหรี่ ขณะปฏิบัติงานดูแลบำรุงรักษา

(๖) ต้องล้างมือและเช็ดมือให้แห้งก่อนบริโภคอาหาร เครื่องดื่มหรือสูบบุหรี่

(๗) ผู้ปฏิบัติงานที่ได้สัมผัสกับสารเคมี หรือสารอันตราย หรือได้รับมอบหมายให้ปฏิบัติงานตามข้อ ๑๑ และ ๑๒ ต้องได้รับการตรวจสุขภาพตามข้อกำหนดของกฎหมายคุ้มครองแรงงาน

(๘) ในกรณีที่ผู้ปฏิบัติงานรู้สึกว่ามีอาการผิดปกติทางผิวหนัง ระบบหายใจ และอื่นๆ เมื่อต้องสัมผัสสารเคมีหรือสารอันตราย ต้องได้รับการตรวจรักษาจากแพทย์ทันที

ประกาศ ณ วันที่ 8 มกราคม 2544

นายวัลลภ ไทยเหนือ

อธิบดีกรมอนามัย

ประวัติผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. ทัศนีย์ สุโกศล เกิดเมื่อวันที่ 26 สิงหาคม 2498 ที่กรุงเทพมหานคร เมื่อ พ.ศ. 2519 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ.2522 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (อายุรศาสตร์เขตร้อน) สาขา Microbiology& Immunologyจากมหาวิทยาลัยมหิดล และ พ.ศ. 2535 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (อายุรศาสตร์เขตร้อน) สาขา Microbiology& Immunology มีผลงานทางวิชาการที่ได้รับการตีพิมพ์ 28 เรื่อง และได้รับรางวัลงานวิจัยดีเด่นทางปรีคลินิก ของคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ปฏิบัติงานเป็นอาจารย์บัณฑิตวิทยาลัย ที่ภาควิชาจุลชีววิทยาและภาควิชาวิทยาภูมิคุ้มกัน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ตั้งแต่ พ.ศ. 2524-2538 ปัจจุบันเป็นอาจารย์ประจำสาขาวิชาจุลชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี