การตรวจหาเชื้อ *Cryptococcus neoformans* จากมูลนกและไก่ในเขตจังหวัดยะลา

Isolation of *Cryptococcus neoformans* from Bird and Chicken Droppings in Yala Province

นุรอัยนี หะยียูโซะ[1], คอสียาห์ สะลี[1*], อับดุลลาห์ โดลาห์ ดาลี[1],
ซูไบด๊ะ หะยีวาเงาะ[1], และพูรกอนนี สาและ[1]
Nur-ainee Hayeeyusoh[1], Khosiya Sali[1*], Abdullah Dolah Dalee[1],
Zubaidah Hayiwangoh[1] and Phurkonni Salaeh[1]

บทคัดย่อ

Cryptoccoccus neoformans เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่สามารถก่อโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Cryptococcosis) ที่มีแหล่งแพร่เชื้อในมูลสัตว์ปีก ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยที่มีความสนใจในการตรวจหาเชื้อ *C. neoformans* จากมูลนกและไก่ในเขตจังหวัดยะลา โดยสุ่มเก็บตัวอย่างทั้งหมด 120 ตัวอย่าง แบ่งเป็นมูลนกพิราบ นกเขา ไก่บ้าน และไก่เนื้อ ชนิดละ 30 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง พฤศจิกายน 2558 ซึ่งคลอบคลุมทั้งฤดูฝนและฤดูร้อน โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหาร Sabouraud Dextrose Agar และจำแนกโดยการย้อมสี India Ink ทดสอบการสร้างเอนไซม์ Urease บนอาหาร Urea Base Agar และทดสอบการหมักน้ำตาล 6 ชนิด คือ แลกโทส กลูโคส มอลโทส ซูโครส กาแลกโทส และราฟฟิโนส

ผลการศึกษาพบว่า การปนเปื้อนของเชื้อ *C. neoformans* ในมูลนกพิราบมีความถี่ในการพบเชื้อสูงสุด คือ 6/30 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 20 ส่วนนกเขาและไก่บ้านพบรองลงมาคือ 3/30 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 10 ส่วนการแพร่กระจายของเชื้อ *C. neoformans* พบมากในฤดูฝนคิดเป็นร้อยละ 75 โดยพบในมูลนกพิราบร้อยละ 33.33 ไก่บ้านร้อยละ 25 และนกเขาร้อยละ 16.67 ตามลำดับ จากการวิจัยครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าการปนเปื้อนของเชื้อ *C. neoformans* พบมากที่สุดในมูลนกพิราบและพบมากในช่วงฤดูฝน

[1] สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

*Corresponding author, E-mail : khosiya_s@yahoo.com

ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้เป็นประโยชน์กับหน่วยงานผู้รับผิดชอบเพื่อวางมาตรการในป้องกันและการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อ *C. neoformans*

คำสำคัญ **:** *Cryptococcus neoformans*, มูลนก, มูลไก่

Abstract

Cryptoccoccus neoformans is an opportunistic infection causing meningitis, the so-called Cryptococcosis and having poultry manure as a source of infection. In this study, bird and chicken droppings around Yala Province were subjected to investigation for detectable *C. neoformans*. By sampling a total of 120 samples constituting each 30 dropping samples of pigeons, doves, folk and meat chicken. Samplings were conducted in both rainy and summer seasons (May to November 2015).

Results following their culture on Sabouraud Dextrose Agar and subsequent India Ink Staining, Urease Test on Urea Base Agar, and sugar fermentation of lactose, glucose, maltose, sucrose, galactose and Raffinose, showed that of *C. neoformans* highest contamination was observed in pigeon droppings from 6 out of 30 samples (20%). Relatively, next were 3 out of 30, each from droppings of doves and folk chicken (20%). Seasonally, it was found that their distribution during rainy season was higher (77%), of which pigeon droppings contributed 33.33%, folk chickens 25% and doves 16.67%. Conclusively, *C. neoformans* distribution was most common in pigeon droppings during rainy season. Moreover, these primary data were expected to be useful in figuring measures to prevent and control *C. neoformans* spread.

Keywords: *Cryptococcus neoformans***,** bird droppings, chicken droppings

1. บทนำ

มูลสัตว์ปีกเป็นปัญหาทางสิ่งแวดล้อมอย่างหนึ่งที่จะต้องคำนึงถึง ซึ่งนอกจากทำให้อาคารหรือสถานที่ต่าง ๆ ไม่สะอาดแล้ว ยังเป็นพาหะนำโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (Cryptococcosis) ซึ่งมีสาเหตุจากการติดเชื้อ *Cryptococcus neoformans* เชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อประจำถิ่นในกลุ่มสัตว์ปีก และพบมีการปนเปื้อนในมูลสัตว์ปีกต่าง ๆ ได้แก่ มูลนกพิราบ มูลนกเขา มูลนกหงส์หยก และมูลไก่ เป็นต้น หรือพบในบริเวณดินปนเปื้อนหรือสถานที่ที่มีการสะสมของมูลสัตว์เหล่านี้ โดยเฉพาะในตระกูลนกพิราบ (พิไลพันธ์ พุทธวัฒนะ, 2541) บุคคลที่มีภาวะเสี่ยงติดเชื้อ

โรคชนิดนี้ ได้แก่ ผู้ป่วยโรคเอดส์ กลุ่มเด็กเล็ก คนชรา ผู้ป่วยโรคมะเร็ง ผู้ป่วยที่รับสเตียรอยด์ และผู้ป่วยโรคเรื้อรัง ในประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อยีสต์ฉวยโอกาสที่พบได้บ่อยเป็นอันดับที่ 3 ในผู้ป่วยเอดส์ รองจากวัณโรค และโรคปอดอักเสบ (กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข, 2557) รายงานการศึกษาที่โรงพยาบาลรามาธิบดีโดยศึกษาย้อนหลัง 17 ปี จากผู้ป่วยเยื่อหุ้มสมองอักเสบ จำนวน 40 ราย ที่ไม่ได้ติดเชื้อเอดส์ พบว่าผู้ป่วยอยู่ในช่วงอายุ 16-83 ปี เป็นผู้หญิงร้อยละ 73 และมีโรคประจำตัวร้อยละ 65 อัตราเสียชีวิตโดยรวมคิดเป็นร้อยละ 27 (Fakthongyoo, 2013) นอกจากนั้น ยังมีรายงานผู้ติดเชื้อชนิดนี้ประมาณ 1 ล้านคน และมากกว่า 625,000 คน ที่ทำให้เสียชีวิต (Park, Rajasingham, Smith, & Boulware, 2014; Warkentien and Crum-Cianflone, 2010) และพบกลุ่มที่มีภาวะเสี่ยงต่อการติดเชื้อนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะในกลุ่มผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง จากการรายงานของนายแพทย์ประชา ชยาภัม ผู้อำนวยการโรงพยาบาลศูนย์ยะลา เปิดเผยว่าสถานการณ์ผู้ป่วยเอดส์และผู้ติดเชื้อที่มีอาการในประเทศไทยเมื่อ วันที่ 31 มีนาคม 2554 ของสำนักระบาดวิทยารายงานว่ามีผู้ป่วยเอดส์ทั้งสิ้นจำนวน 372,874 ราย เสียชีวิต แล้วจำนวน 98,153 ราย และสถานการณ์เอดส์ในจังหวัดยะลาตั้งแต่ปี 2531 ถึง 30 มิถุนายน 2554 มีผู้ติดเชื้อเอดส์และผู้ป่วย 1,633 คน และมีรายงานเกี่ยวกับโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบใน ปี พ.ศ. 2552 สำนักระบาดวิทยาได้รับรายงานผู้ป่วยเยื่อหุ้มสมองอักเสบรวม 2,112 ราย เสีย ชีวิต 22 ราย ซึ่งมีสาเหตุหลายประการ คือ เกิดจากพยาธิ และอื่น ๆ (พิมพ์ชนก ลิ่มเริ่มสกุล, 2554; อมรา ทองหงษ์ และคณะ, 2555)

ปัจจุบันพื้นที่จังหวัดยะลาเป็นจังหวัดหนึ่งที่ประสบปัญหามูลสัตว์ปีกเหล่านี้ เนื่องจากมีนกมาอาศัยทำรังและทำให้เกิดความสกปรก โดยเฉพาะบริเวณอาคารตามสถานที่ต่าง ๆ เช่น โรงพยาบาล อาคารของมหาวิทยาลัย และอาคารบ้านเรือน โดยเฉพาะตามอาคารบ้านเรือน จากการสำรวจพื้นที่ในอำเภอเมือง พบว่าวิธีการเลี้ยงนกและไก่นิยมเลี้ยงใกล้บ้านเรือนหรือตามชุมชน ซึ่งมีโอกาสทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อได้ง่ายและมีความเสี่ยงที่จะติดเชื้อชนิดนี้สูง ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการวิจัยในพื้นที่ทำการสำรวจปริมาณของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคนี้ ดังนั้น ผู้วิจัยได้สนใจที่จะศึกษาตรวจหาแหล่งของมูลนกและไก่มาทำการแยกเชื้อ *C. neoformans* เพื่อเป็นข้อมูลที่สามารถนำมาวิเคราะห์และเผยแพร่ความรู้และแนะนำให้ข้อมูลให้กับผู้ที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้มีความตระหนักถึงปัญหาดังกล่าว และสามารถหาแนวทางป้องกันการติดเชื้อนี้ต่อไป

2. วิธีการวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างมูลนกเขา นกพิราบ และมูลไก่บ้าน ไก่เนื้อ จากพื้นที่ 5 ตำบล ในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดยะลา ได้แก่ ตำบลสะเตง สะเตงนอก บือนังสาเรง ลำใหม่ และท่าสาป โดยแต่ละพื้นที่จะแบ่งเก็บเป็น 2 รอบ ให้ครอบคลุมช่วงฤดูฝนและฤดูร้อน คือ ช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนพฤศจิกายน 2558 โดยแบ่งเป็นมูลนกพิราบและนกเขา ชนิดละ 30 ตัวอย่าง มูลไก่เนื้อและไก่บ้าน ชนิดละ 30 ตัวอย่าง การเก็บตัวอย่างใช้วิธี Purposive Sampling โดยตัวอย่างถูกตักใส่ขวดที่ปราศจากเชื้อและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพตัวอย่างก่อนนำไปวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาและทางเคมี ในระหว่างการเก็บตัวอย่างผู้เก็บจะต้องใช้ผ้าปิดจมูก เพื่อเป็นการป้องกันการฟุ้งกระจายของมูลที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *C. neoformans* ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้เก็บได้

2.2 การคัดแยกเชื้อ C. neoformans จากมูลนกและไก่

เตรียมตัวอย่างมูลนกและไก่ ปริมาณ 5 กรัม เติมลงในโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 0.85% ที่ผสมยา Penicillin V ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที ดูด Supernatant ไปเจือจางให้ได้ความเจือจางเท่ากับ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} จากนั้นนำไป Spread Plate บน Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ที่ผสม 0.4 g/L Chloramphenicol บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยตรวจผลทุก ๆ วัน สังเกตลักษณะโคโลนีที่มีลักษณะทึบแสง ขอบเรียบ สีขาวครีม และเป็นเมือก

2.3 การทดสอบคุณสมบัติ C. neoformans

เชื้อที่คัดแยกถูกนำมาทดสอบการสร้าง Encapsulated Yeast โดยมีวิธีการย้อมด้วย India Ink ทดสอบการสร้างเอนไซม์ Urease บนอาหาร Urea Base Agar สังเกตการเปลี่ยนสี ถ้าเป็นสีชมพูแสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ Urease (ณัฏฐีวรรณ ปุ่นวัน, 2557) และทดสอบการหมักน้ำตาล โดยมีวิธีการปฏิบัติดังนี้ นำโคโลนีของเชื้อ *C. neoformans* ที่มีอายุ 48-72 ชั่วโมง เติมลงในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ Mc. Farland Tube No.4 ปริมาตรหลอดละ 0.2 มิลลิลิตร เติมเชื้อลงไปใน Basal Medium ที่เติมน้ำตาลแลกโทส กลูโคส มอลโทส ซูโครส กาแลกโทส และราฟฟิโนสอย่างละหลอด จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหาร Basal Medium เป็นสีเหลือง แสดงว่าเชื้อสามารถหมักน้ำตาล ซึ่งคุณสมบัติของเชื้อ *C. neoformans* ไม่สามารถหมักน้ำตาลทั้ง 6 ชนิด (ธันยาการณ์ ศรีวรมาศ และธารินี ไชยวงค์, 2554)

3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

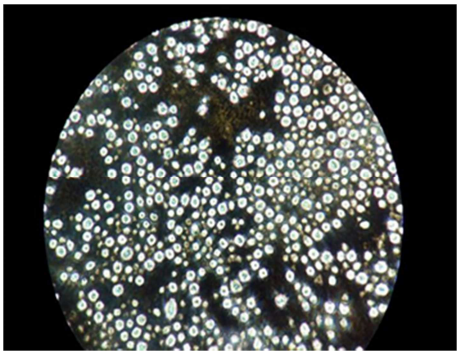
3.1 การคัดแยกเชื้อ C. neoformans จากมูลนกและไก่

จากผลการคัดแยกเชื้อ *C. neoformans* จากตัวอย่างมูลนกและมูลไก่ในพื้นที่ 5 ตำบล ได้แก่ ตำบลสะเตง สะเตงนอก บือนังสาเรง ลำใหม่ ท่าสาป อำเภอเมือง จังหวัดยะลา เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2558 จำนวน 120 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นมูลนกพิราบ 30 ตัวอย่าง มูลนกเขา 30 ตัวอย่าง มูลไก่บ้าน 30 ตัวอย่าง และมูลไก่เนื้อ 30 ตัวอย่าง พบโคโลนีของเชื้อที่มีลักษณะทึบแสง ขอบเรียบ สีขาวครีม และเป็นเมือก (ภาพที่ 1) จำนวน 120 ไอโซเลต สำหรับตัวอย่างและพื้นที่เก็บตัวอย่างพบว่ามีลักษณะที่แตกต่างกัน คือ ตัวอย่างมูลนกและไก่ที่เก็บในฤดูร้อนลักษณะของมูลจะแห้ง ยกเว้นในส่วนของมูลไก่เนื้อจะมีลักษณะเปียก ส่วนในฤดูฝนลักษณะของมูลจะเปียก ส่วนสถานที่เก็บตัวอย่างส่วนใหญ่มีแสงแดดส่องผ่านเล็กน้อย

ภาพที่ 1 ลักษณะของเชื้อ *C. neoformans* บนอาหาร Sabouraud Dextrose Agar

3.2 การทดสอบคุณสมบัติ C. neoformans

การทดสอบคุณสมบัติ *C.neoformans* จำนวน 120 ไอโซเลต โดยการทดสอบการสร้าง Encapsulated Yeast ด้วยการย้อมสี India Ink พบว่าเชื้อมีการสร้าง Encapsulated Yeast (ดังภาพที่ 2) จำนวน 44 ไอโซเลต (36.63%) แบ่งเป็นฤดูร้อน 21 ไอโซเลต (47.73%) และช่วงฤดูฝน 23 ไอโซเลต (52.27%) โดยเชื้อยีสต์ทั้งหมด 44 ไอโซเลต ที่สร้างแคปซูล คัดแยกได้จากมูลนกพิราบ จำนวน 17 ไอโซเลต (38.64%) รองลงมาคือ มูลไก่บ้าน จำนวน 11 ไอโซเลต (25%) มูลนกเขา จำนวน 10 ไอโซเลต (22.73%) และจากตัวอย่างมูลไก่เนื้อพบเพียง 6 ไอโซเลต (13.64%) ส่วนการทดสอบการสร้างเอนไซม์ Urease ของเชื้อยีสต์ทั้ง 44 ไอโซเลต พบว่าเชื้อที่เปลี่ยนอาหาร Urea Base Agar จากสีเหลืองเป็นสีชมพู เนื่องจากเชื้อสามารถ Hydrolyze Urea เป็น Ammonia จำนวน 42 ไอโซเลต (95.45%) ส่วนผลการทดสอบน้ำตาล 6 ชนิด ได้แก่ แลกโทส กลูโคส มอลโทส ซูโครส กาแลกโทส และราฟฟิโนส พบเชื้อที่ไม่สามารถหมักน้ำตาลทั้ง 6 ชนิด จำนวน 12 ไอโซเลต (27.27%) ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากนกพิราบ 6 ไอโซเลต นกเขา 3 ไอโซเลต ไก่บ้าน 3 ไอโซเลต



ภาพที่ 2 ลักษณะของแคปซูลของเชื้อ *C. neoformans* ที่ย้อมด้วย India Ink เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 1,000X

การศึกษาความถี่การพบ *C. neoformans* พบว่ามูลนกพิราบมีปริมาณความถี่การพบเชื้อมากที่สุดคือ 6/30 (20%) ส่วนนกเขาพบ 3/30 (10%) ไก่บ้าน 3/30 (10%) (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับรายงานของ ธันยากรย์ ศรีมรมาศ และ ธารินี ไชยวงค์ (2554) ได้ทำการตรวจหาเชื้อรา *C. neofomans* โดยแยกเชื้อราได้จากมูลนกพิราบมากที่สุดคือ 20 จาก 37 ตัวอย่าง (ร้อยละ 54.05) รองลงมาคือ มูลนกกระจอกบ้าน 1 จาก 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 16.66) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Keerativasee, Takarn, Sanwong, Tharavichitkul, and Sriburee, (2008) ที่แยกเชื้อ *C. neofomans* จากมูลนกที่เก็บในเขต 7 อำเภอของจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 263 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างจากมูลนกเอี้ยง นกพิราบ นกเขา และมูลไก่บ้าน จากการศึกษาพบเชื้อ *C. neofomans* ในมูลนกพิราบมากที่สุดคือ 16 ตัวอย่าง จาก 61 ตัวอย่าง (ร้อยละ 26.2) มูลนกเขา 2 ตัวอย่าง จาก 10 ตัวอย่าง (20%) มูลไก่บ้าน 1 ตัวอย่าง จาก 189 ตัวอย่าง (0.5%) และสอดคล้องกับการศึกษาการศึกษาของ Khosravi (1997) พบการปนเปื้อนของ *C. neoformans* ในมูลนกพิราบในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไอร์แลนด์เหนือ 175 (17.8%) ตัวอย่างจาก 985 ตัวอย่าง เช่นเดียวกับรายการของ Tharavichitkul & Kanjanasthiti (2012) ดำเนินการสำรวจแหล่งของเชื้อ *C. neoformans* ในจังหวัดเชียงใหม่ สามารถแยกเชื้อ *C. neoformans* ได้จากมูลนกพิราบ 57.14% (จาก 91 ตัวอย่าง) มูลนกเขา 69.40% (จาก 219 ตัวอย่าง)

ส่วนการศึกษาของ Khayhan (2001) สำรวจแหล่ง *C. neoformans* ในเขตอำเภอเมืองและอำเภอใกล้เคียงของจังหวัดเชียงใหม่ พบเชื้อนี้ในมูลนกพิราบ ร้อยละ 16.4 มูลนกเขา ร้อยละ 45 และจากต้นยูคาลิปตัส ร้อยละ 1 ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการปนเปื้อนของเชื้อ *C. neoformans* ส่วนใหญ่จะพบในมูลนกพิราบและนกเขา ทั้งนี้ เนื่องจากในมูลนกพิราบมีสารประกอบอินทรีย์สูง โดยเฉพาะยูเรีย และสารครีอาตินิน (Creatinine) เป็นสารประกอบที่เชื้อ *C. neoformans* ใช้เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการเจริญเติบโต (Rad et al., 2013; Xavier et al., 2013; Soltani, Bayat, Hashemi, Zia & Pestechian, 2013; Li et al., 2012; Costa, Sidrim, Cordeiro, Brilante, Monteiro & Rocha, 2010; Dickx, Beeckman, Dossche, Tavernier & Vanrompay, 2010) อย่างไรก็ตามยังคงพบแหล่งธรรมชาติของเชื้อ *C. neoformans* ในมูลสัตว์

ปีกชนิดอื่น ๆ เช่น มูลนกเขา มูลนกหงส์หยก มูลไก่ เป็นต้น หรืออาจพบได้ในบริเวณดินหรือสถานที่ที่มีการสะสมของมูลสัตว์เหล่านี้ (Kemoi, Okemo & Bii, 2012; พิไลพันธ์ พุทธวัฒนะ, 2541; รุ่งโรจน์, 2542) ส่วนในมูลไก่พบการปนเปื้อนของของเชื้อเพียง 3 ตัวอย่าง จาก 60 ตัวอย่าง โดยพบในไก่บ้านในช่วงฤดูฝน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Keerativasee et al., 2008 ที่พบการปนเปื้อนของเชื้อเพียง 0.5% และพบการปนเปื้อนของเชื้อในฤดูฝนเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตาม มูลไก่ยังมีรายงานเป็นแหล่งธรรมชาติที่พบเชื้อชนิดนี้ (Kuroki, Phichai chumpon, Yasuoka, Chiranairadul, Chosa, Sirinirund, & Ishida, 2004)

ตารางที่ 1

แสดงจำนวนและร้อยละของการพบเชื้อ *C. neoformans* ในมูลนกและไก่

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จำนวนตัวอย่างที่พบเชื้อ *C. neoformans*		ร้อยละ
		ฤดูร้อน	ฤดูฝน	
นกพิราบ	30	2	4	20
นกเขา	30	1	2	10
ไก่บ้าน	30	0	3	10
ไก่เนื้อ	30	0	0	0
รวม	**120**	**3**	**9**	**10**

เมื่อศึกษาตามฤดูกาลพบการแพร่กระจายของเชื้อ *C. neoformans* มากที่สุดในช่วงฤดูฝน (75%) โดยพบมากที่สุดในมูลนกพิราบ (33.33%) รองลงมา คือ ไก่บ้าน (25%) (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2) ทั้งนี้อาจเกิดจากลักษณะทางนิเวศวิทยาของเชื้อ *C. neoformans* ที่มีสภาพ แวดล้อมที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส และสามารถทนความร้อนได้ถึง 40 องศาเซลเซียส และหากอุณหภูมิสูงกว่านั้นหรือความชื้นน้อยกว่าจะตรวจพบเชื้อราได้น้อยลง ซึ่ง Serotype A strain ทนความร้อนได้ดีกว่า Serotype D, B และ C stain ทำให้พื้นที่ที่มีอุณหภูมิที่ต่างกันพบเชื้อ Serotype ที่แตกต่างกัน และบริเวณที่มีการตรวจพบเชื้อนี้มาก คือ บริเวณแดดส่องไม่ถึงและมีความชื้นค่อนข้างมาก เนื่องจากบริเวณที่มีแดดส่องถึงจะช่วยลดการอยู่รอดของเชื้อ *C. neoformans* ในดิน (Stuart, 1991; Denton & Salvo, 1968) ซึ่งจะต่างจากนกเขา เนื่องจากนกเขาจะอยู่ในกรงที่มีแสงแดดส่องตลอดเวลา และทำความสะอาดสม่ำเสมอ อุณหภูมิจะสูงกว่าพื้นที่ในฟาร์มหรือบริเวณที่ไก่นอน ซึ่งบริเวณนี้ส่วนใหญ่จะเป็นที่กำบังแดดและมีความชื้น ตรงกับคำกล่าวของ มาลี นิสสัยสรกานต์ (2553) ที่ว่ามูลนกจะมีสาร ครีอาตินิน

(Creatinine) เป็นสารประกอบ เชื้อราจึงใช้สารเหล่านี้เป็นแหล่งธาตุไนโตรเจนในการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ ในมูลนกหลายชนิดเป็นแหล่งเพาะเชื้อราได้ดีในภาวะชื้นและแสงแดดส่องไม่ถึง บริเวณที่ตรวจพบเชื้อชนิดนี้มากมักเป็นสถานที่ที่มีแสงแดดส่องไม่ถึง และมีความชื้น เช่น บริเวณขอบหน้าต่างระเบียงที่อยู่ใต้ชายคา เป็นต้น นอกจากนั้น การเจริญเติบโตของเชื้อ *C. neoformans* จะถูกยับยั้งในมูลไก่ที่มีการทับถมและมีค่า pH สูง และสารโมเลกุลต่ำที่ทนร้อน (Walter & Yee, 1968)

จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่า บริเวณที่มีการตรวจพบเชื้อและมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ เช่น นกพิราบตามอาคารวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ซึ่งเป็นอาคารเรียนและเป็นที่พักของอาจารย์ และในชุมชนที่มีความนิยมเลี้ยงนกและไก่ใกล้บ้านเรือน ซึ่งมีโอกาสทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อได้ง่ายและมีความเสี่ยงที่จะติดเชื้อชนิดนี้สูงโดยเฉพาะเด็กเล็กและผู้สูงอายุ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระบบภูมิคุ้มกันของแต่ละบุคคลด้วยเช่นกัน ดังนั้น จึงควรมีการให้ความรู้เกี่ยวกับการจัดการสถานที่เลี้ยงสัตว์ปีกและการปนเปื้อนของเชื้อต่าง ๆ ในมูลสัตว์เพื่อความปลอดภัยจากโรคภัยที่เกี่ยวข้อง

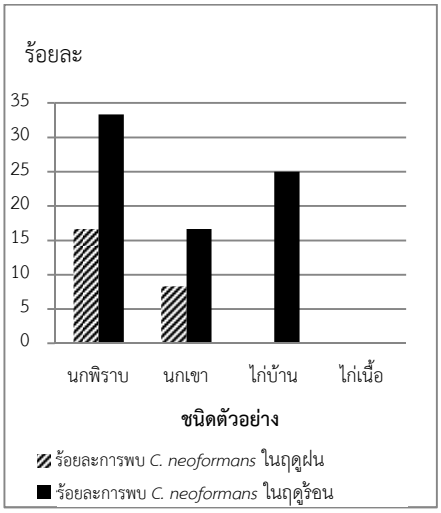
ตารางที่ 2

การเปรียบเทียบร้อยละของการพบเชื้อ *C. neoformans* ในในมูลนกและไก่แต่ละฤดูกาล

ชนิดตัวอย่าง	**ร้อยละของตัวอย่างที่พบเชื้อ *C. neoformans* (% = (x*100)/n)**		
	ฤดูร้อน	**ฤดูฝน**	**รวม**
นกพิราบ	16.67	33.33	50
นกเขา	8.33	16.67	25
ไก่บ้าน	0	25	25
ไก่เนื้อ	0	0	10
รวม	**25**	**75**	**100**

หมายเหตุ: x = ความถี่ของการพบเชื้อในแต่ละฤดูกาล

n = จำนวนการพบเชื้อทั้งหมด (n=12)



ภาพที่ 2 แผนภูมิแสดงร้อยละของตัวอย่างที่พบเชื้อ *C. neoformans* ในมูลนกและไก่แต่ละฤดูกาล

4. สรุปผลการศึกษา

จากผลการคัดแยกเชื้อ *C. neoformans* จากตัวอย่างมูลนกและไก่ในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดยะลา ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2558 จำนวน 120 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นมูลนกพิราบ 30 ตัวอย่าง มูลนกเขา 30 ตัวอย่าง มูลไก่บ้าน 30 ตัวอย่าง และมูลไก่เนื้อ 30 ตัวอย่าง พบว่า มูลนกพิราบมีปริมาณความถี่การพบเชื้อมากที่สุดคือ 6/30 (20%) รองลงมา คือ นกเขาพบ 3/30 (10%) และไก่บ้าน 3/30 (10%) ส่วนไก่เนื้อไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *C. neoformans* และการแพร่กระจายจะพบมากในช่วงฤดูฝน เมื่อเปรียบเทียบตามฤดูกาล พบว่า ในช่วงฤดูฝนพบเชื้อ *C. neoformans* ถึง 75% โดยพบมากที่สุดในมูลนกพิราบ (33.33%) รองลงมาคือไก่บ้าน (25%)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย ขอขอบคุณสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ตลอดระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย

บรรณานุกรม

กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. (2557). *แนวทางการตรวจรักษาและการป้องกันการติดเชื้อเอชไอวี ประเทศไทย ปี 2557*. สืบค้น 2 พฤษภาคม 2557, จาก http://www.silomclinic.in.th/file/2014ThailandHIVguidelines.pdf.

ธันยาการย์ ศรีวรมาศ และธารินี ไชยวงศ. (2554). การตรวจหาเชื้อรา *Cryptococcus neoformans* จากมูลนกภายในบริเวณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, *13*(4): 14-21.

มาลี นิสสัยสรกานต์. (2553). อันตรายจากมูลนก. สืบค้น 2 พฤษภาคม 2557, จาก http://www.nokkhao.com/birddrop.htm.

พิมพ์ชนก ลิ่มเริ่มสกุล. (2554). *งานประชาสัมพันธ์กลุ่มงานสุขศึกษา รพ.ยะลา.* ยะลา: สำนักสารนิเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข.

พิไลพันธ์ พุทธวัฒนะ. (2541). *เอชไอวีและจุลชีพฉวยโอกาส*. กรุงเทพฯ: อักษรสมัย.

ณัฏฐีวรรณ ปุ่นวัน. (2557). *คู่มือการปฏิบัติงานแบคทีเรียและรา สำหรับโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป*. สืบค้น 20 พฤศจิกายน 2558, จาก http://narst.dmsc.moph.go.th/data/book.pdf..

อมรา ทองหงษ์, กมลชนก เทพสิทธา, ภาคภูมิ จงพิริยะอนันต์, และธนวันต์ กาบภิรมย์. (2555). *รายงานการเฝ้าระวังโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง พ.ศ. 2553.* กรุงเทพฯ: สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข.

Costa, A. K., Sidrim, J. J., Cordeiro, R. A., Brilhante, R. S., Monteiro, A. J., & Rocha, M. F. (2010). Urban pigeons (Columba livia) as a potential source of pathogenic yeasts: a focus on antifungal susceptibility of Cryptococcus strains in Northeast Brazil. *Mycopathologia*, *169*(3), 207-213.

Denton, J. F., & Di Salvo, A. F. (1968). The prevalence of *Cryptococcus neoformans* in various natural habitats. *Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology*, *6*(3), 213-217.

Dickx, V., Beeckman, D. S. A., Dossche, L., Tavernier, P., & Vanrompay, D. (2010). *Chlamydophila psittaci* in homing and feral pigeons and zoonotic transmission. *Journal of medical microbiology*, *59*(11), 1348-1353.

Fakthongyoo, A. (2013). Cryptococcosis in Non-AIDS Patients. *UTTARADIT HOSPITAL MEDICAL JOURNAL*, *28*(1), 30-46.

Keerativasee, S., Takarn, P., Sanwong, K., Tharavichitkul, P., & Sriburee, P. (2009). Isolation of *Cryptococcus neoformans* from Avian Droppings in Chiang Mai from December 2005 to MAY 2006. *Chiang Mai Medical Journal-เชียงใหม่ เวช สาร*, *47*(4), 149-154.

Khayhan, S. (2001). *Serotyping DNA analysis by PCR-fingerprinting of clinical and environmental isolates of Cryptococcus neoformans in Chiang Mai*. Doctoral dissertation, Chiang Mai: Graduate School, Chiang Mai University. Chiang Mai.

Kemoi, E.K., Okemo, P. & Bii, C.C. (2012). Presence of Cryptococcus species in domestic chicken (*Gallus gallus*) droppings and the possible risk it posed to humans in Kabigeriet village, Nakura County, Kenya. *East African Medical Journal*, *89*, 277-80.

Khosravi, A. R. (1997). Isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon (Columba livia) droppings in northern Iran. *Mycopathologia*, *139*(2), 93-95.

Kuroki, M., Phichaichumpon, C., Yasuoka, A., Chiranairadul, P., Chosa, T., Sirinirund, P., & Ishida, Y. (2004). Environmental isolation of *Cryptococcus neoformans* from an endemic region of HIV-associated cryptococcosis in Thailand. *Yeast*, *21*(10), 809-812.

Li, A.S., Pan, W.H., Wu, S.X., Hideaki, T., Guo, N., Shen, Y.N., Lu, G.X., Pan, R.G., Zhu, M.C., Chen, M., Shi, W.M., Liao, W.Q,. (2012). Ecological surveys of Cryptococcus species complex in China. *Chinese Medical Journal*, *125*:511-6.

Park, B.J., Wannermuehlerm, K.A., Marston, B.J., Govender, N., Pappas, P.G,, Chiller, T.M. (2009). Estimation of the current global berden of *Cryptococcus mengingitis* among persons living with HIV. *AIDS, 23*,525-530.

Park, J., Rajasingham, R., Smith, R. M., & Boulware, D. R. (2014, May). Update on the global burden of Cryptococcosis. *Mycoses,* 57, 6-6.

Rad, F. S. (2013). Isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon excreta in Qazvin. *Life Sci J*, *10*, 214-219.

Stuart, M.L. (1991). The Ecology of *Cryptococcus neoformans* and the Epidemiology of Cryptococcosis. *Reviews of Infectious Diseases, 13*: 1163-1169.

Soltani, M., Bayat, M., Hashemi, S. J., Zia, M., & Pestechian, N. (2013). Isolation of *Cryptococcus neoformans* and other opportunistic fungi from pigeon droppings. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, *18*(1), 56.

Tharavichitkul, P., & Kanjanasthiti, P. (2012). Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in dove excreta. *Chiang Mai Medical Journal-เชียงใหม่ เวช สาร, 12*(2), 99-123.

Warkentien, T., & Crum-Cianflone, N. F. (2010). An update on Cryptococcus among HIV-infected patients. *International journal of STD & AIDS*, *21*(10), 679-684.

WALTER, J. E., & YEE, R. B. (1968). Factors that determine the growth of *Cryptococcus neoformans* in avian excreta. *American journal of epidemiology*, *88*(3), 445-450.

Xavier, T.F., Auxillia, A., Kannan, M., Rose, A.F., Kumar, S.R. (2013). Isolation and identification of *Cryptococcus neoformans* from pigeon droppings in Tiruchirapalli district of Tamil Nudu, South India, *International Journal Current Microbiology Applied Science*, *2*, 404-9.