



การสำรวจหาอะแคนทามีบาในแหล่งน้ำธรรมชาติจากชุมชนรอบมหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา ประเทศไทย

จิตรกุล สุวรรณเจริญ* วิชรพงษ์ ศรีชุม*

บทคัดย่อ

อะแคนทามีบาเป็นอะมีบาอิสระที่พบได้ตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อโรคกระจกตาอักเสบและสมองอักเสบชนิดแกรนูโลมาในมนุษย์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจความชุกของอะแคนทามีบาจากแหล่งน้ำธรรมชาติรอบมหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา สำรวจหาอะแคนทามีบาจากน้ำ 60 ตัวอย่างโดยการเพาะเลี้ยง และจำแนกกลุ่มโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของซีสต์ตามวิธีการของ Pussard และ Pons ผลการทดลองพบอะแคนทามีบาร้อยละ 48.3 ซึ่งความชุกไม่มีความแตกต่างกันในพื้นที่เก็บตัวอย่างระหว่างแหล่งน้ำในหมู่บ้านและทุ่งนา ($p>0.05$) เมื่อจัดจำแนกซีสต์พบอะแคนทามีบาทั้งกลุ่ม 1 กลุ่ม 2 และกลุ่ม 3 ร้อยละ 1.7, 16.7, และ 21.6 ตามลำดับ บางตัวอย่างพบกลุ่ม 2 และ

กลุ่ม 3 ร่วมกันร้อยละ 8.3 ซีสต์ที่พบมีลักษณะสอดคล้องกับ *A. castellani*, *A. polyphaga*, *A. triangularis*, และ *A. culbertsoni* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม 2 และกลุ่ม 3 ที่มีรายงานความสัมพันธ์ก่อให้เกิดโรคกระจกตาอักเสบในประเทศไทย ส่งผลให้ประชาชนในพื้นที่มีโอกาสติดเชื้อจากแหล่งน้ำนั้น ในเบื้องต้นนิยมใช้ลักษณะของซีสต์ในการจำแนกกลุ่มแต่อาจยังไม่แม่นยำและเพียงพอต่อการจำแนกชนิดของอะแคนทามีบาที่มีความสัมพันธ์ก่อโรคในมนุษย์ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้สัตว์ทดลองและเทคนิคระดับโมเลกุลต่อไป

คำสำคัญ: อะแคนทามีบา, สัณฐานวิทยา, โรคกระจกตาอักเสบ, แหล่งน้ำธรรมชาติ, พะเยา



บทนำ

อะแคนทามีบาเป็นโปรโตซัวฉวยโอกาสและก่อโรคในมนุษย์ชนิดร้ายแรง ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา อะแคนทามีบามีความสำคัญและพบอุบัติการณ์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยก่อโรคที่สำคัญในมนุษย์ ได้แก่ โรคกระจกตาอักเสบ (*Acanthamoeba keratitis*: AK) ที่เกิดจากการแทรกตัวของเชื้อเข้าสู่กระจกตา ทำให้มีอาการตาแดง ม่านตาและลูกตาอักเสบ อาจทำให้ผู้ป่วยตาบอดได้^{1,2} และสมองอักเสบชนิดแกรนูโลมา (*Granulomatous Amoebic Encephalitis*: GAE) ซึ่งเชื้อเข้าสู่ร่างกายทางบาดแผลที่ผิวหนัง ทางตา หรือทางการหายใจ แพร่ไปตามกระแสเลือดและขึ้นสู่สมอง ทำให้เกิดการอักเสบของสมอง ผู้ป่วยมีการบวมของเนื้อสมอง ความดันในสมองเพิ่มขึ้น ชัก และเสียชีวิตในที่สุด³ ประเทศไทยเริ่มมีรายงานการพบ AK ในผู้ป่วยที่รักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 2 ราย ในปี พ.ศ. 2531 และ พ.ศ. 2533 ตามลำดับ⁴ นอกจากนี้ GAE ถูกรายงานครั้งแรกในปี พ.ศ. 2535 ซึ่งผู้ป่วยเสียชีวิตจากการติดเชื้ออะแคนทามีบาที่สมองในโรงพยาบาลศิริราช⁵

อะแคนทามีบาสามารถดำรงชีพอิสระได้ในสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ เช่น แหล่งน้ำตามธรรมชาติ แม่น้ำ ลำคลอง บ่อน้ำ แอ่งน้ำ สระน้ำ สระว่ายน้ำ ทะเลสาบ น้ำจืดหรือน้ำเค็ม บ่อบำบัดน้ำเสีย น้ำจากเครื่องปรับอากาศ หรือแม้แต่ในอากาศและฝุ่นละออง ตามวงจรชีวิตของอะแคนทามีบาเจริญเป็น 2 ระยะ ได้แก่ ระยะโทรโฟซอइटและระยะซิสต์ โดยระยะโทรโฟซอइट มีขนาด 12-35 ไมโครเมตร มีนิวเคลียส 1 อัน ใช้ขาเทียมที่มีลักษณะคล้ายหนาม (*Acanthopodia*) ในการเคลื่อนที่ ส่วนระยะซิสต์มีขนาด 10-20 ไมโครเมตร มีผนัง 2 ชั้น ได้แก่ ผนังชั้นนอก (*Ectocyst*) และผนังชั้นใน (*Endocyst*) ที่มองเห็นแยกออกจากกัน

ได้ชัดเจน ซึ่งลักษณะของผนังซิสต์สามารถใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มของอะแคนทามีบาออกเป็น 3 กลุ่ม ตามการจัดจำแนกของ Pussard และ Pons⁶ ระยะซิสต์พบได้ในอากาศจึงเป็นสื่อกลางในการแพร่กระจายเชื้อไปสู่สิ่งแวดล้อม^{7,8} ในปี พ.ศ. 2548 มีการสำรวจอะมีบาที่ดำรงชีพอิสระในน้ำพุร้อนตามธรรมชาติ พบอะแคนทามีบาร้อยละ 13.2⁹ และเมื่อไม่นานมานี้ ในปี พ.ศ. 2550 มีรายงานสำรวจอะแคนทามีบาในฝุ่นจากสิ่งแวดล้อมจากเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล พบอะแคนทามีบาร้อยละ 26.1¹⁰ นอกจากนี้ยังมีการสำรวจพบอะมีบาที่ดำรงชีพอิสระในแหล่งน้ำธรรมชาติถึงร้อยละ 71.4 และเป็นอะแคนทามีบาร้อยละ 14.3 ในจังหวัดเชียงใหม่¹¹

อย่างไรก็ตาม อะแคนทามีบาพบได้ทั่วไปแต่ในประเทศไทยการศึกษาถึงความชุกและการกระจายตัวของอะแคนทามีบาในสิ่งแวดล้อมยังมีไม่มากนัก การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและหาความชุกของอะแคนทามีบาในแหล่งน้ำธรรมชาติจากชุมชนรอบมหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน และจัดจำแนกกลุ่มของอะแคนทามีบาโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของระยะซิสต์ตามการจัดจำแนกของ Pussard และ Pons⁶

วิธีการศึกษา

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยครั้งนี้เป็นเชิงสำรวจแบบตัดขวาง โดยกลุ่มตัวอย่างมาจากแอ่งน้ำตามธรรมชาติในหมู่บ้านและบริเวณทุ่งนาจำนวน 4 หมู่บ้านรอบ ๆ มหาวิทยาลัยพะเยา ได้แก่ บ้านแม่กาห้วยเคียน บ้านแม่กาโทกหาวก บ้านหม้อแกงทอง และบ้านโซ้ ทำการเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2557 ถึงเดือนมกราคม



พ.ศ. 2558 ขนาดของตัวอย่างคำนวณจากสูตร
เพื่องานสำรวจและไม่ทราบจำนวนประชากร จึง
ประมาณการณขนาดตัวอย่างที่ต้องเก็บอย่างน้อย
46 ตัวอย่าง

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2(p)(1-p)}{e^2}$$

$$n = \frac{(1.96)^2(0.14)(0.86)}{0.1^2} = 46 \text{ ตัวอย่าง}$$

เมื่อ

n = ขนาดประชากรที่ต้องการ

Z = ค่าคงที่ กำหนดระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ

95 = 1.96

p = ความชุกจากการสำรวจอะแคนทามีบาจาก
แหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทยครั้งล่าสุดของ
วรรณสารและคณะ¹¹ = ร้อยละ 14.3

e = ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับร้อยละ 10 = 0.10

ตัวอย่างน้ำทั้งหมดจำนวน 60 ตัวอย่างจาก
หมู่บ้านต่าง ๆ ตัวอย่างละ 500 มิลลิลิตร เก็บใส่ใน
ภาชนะปิดที่ปราศจากเชื้อ พร้อมระบุตำแหน่ง สถานที่
และวัน/เดือน/ปี นำส่งตัวอย่างภายในเวลา 1-2 ชั่วโมง
มาที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา
คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา
และตรวจวัดอุณหภูมิและ pH ของตัวอย่างน้ำทันที

การเพาะเลี้ยงเชื้ออะแคนทามีบา

นำแต่ละตัวอย่างน้ำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว
750 g นาน 15 นาที แล้วนำตะกอนที่ได้หยดลงบน
กึ่งกลางของจานอาหาร Non-nutrient Agar (NNA;
1.5% HiMedia Agar Powder ใน Page's Saline
pH 7.0)^{12, 13} ที่ฉาบผิวหน้าด้วย Inactivated
Escherichia coli (60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที)¹⁴
นำจานอาหารไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 7-10 วัน เติม Inactivated *E. coli* ทุกวัน
และตรวจจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์
แบบส่องกลับ (Invert Microscope) ซึ่งจะปรากฏ
ระยะซิสต์หรือโทรโฟซอยต์ของอะแคนทามีบาบนผิวหน้า
อาหารวัน ทำการ Sub-culture ตัวอย่างที่พบอะมีบา
บน NNA จานใหม่เพื่อให้ได้ซิสต์เพียงลักษณะเดียว

การจำแนกกลุ่มของอะแคนทามีบาตาม ลักษณะสัณฐานวิทยา

ตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อให้นำจานอาหารมาล้าง
ผิวหน้าด้วย Page's Saline แล้วนำสารละลายที่ได้
หยดลงบนสไลด์ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ ตรวจดู
ลักษณะของซิสต์และโทรโฟซอยต์ และถ่ายภาพภายใต้
กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light Microscope)
ที่กำลังขยาย 100x จัดจำแนกชนิดของอะแคนทามีบา
โดยการวัดขนาดและพิจารณาลักษณะของผนังซิสต์
ตามวิธีการของ Pussard และ Pons⁶

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้โปรแกรมสำเร็จรูป
SPSS version 20.0 โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา เช่น
ค่าเฉลี่ยและร้อยละ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ
ตัวแปรใช้ Chi-square Test กำหนด $\alpha = 0.05$

ผลการศึกษา

ความชุกของอะแคนทามีบาจากแหล่งน้ำตาม หมู่บ้าน

ตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติที่ทำการศึกษา
ทั้งหมด 60 ตัวอย่างจาก 4 หมู่บ้าน มีอุณหภูมิเฉลี่ย
เท่ากับ 24 องศาเซลเซียส และ pH เฉลี่ยเท่ากับ 6.5
จำแนกเป็นตัวอย่างจากแหล่งน้ำในหมู่บ้าน 27 ตัวอย่าง
(ร้อยละ 45.0) และตัวอย่างจากแหล่งน้ำบริเวณ
ทุ่งนา 33 ตัวอย่าง (ร้อยละ 55.0) พบความชุกของ
อะแคนทามีบาจำนวน 29 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 48.3



จากตัวอย่างน้ำทั้งหมด นอกจากนี้พบว่า ความชุกของอะแคนทามีบาในตัวอย่างน้ำจากทุ่งนาสูงกว่าตัวอย่างน้ำจากในหมู่บ้าน (ร้อยละ 48.5 และร้อยละ 48.1, $p>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบความชุกของอะแคนทามีบาในหมู่บ้านต่าง ๆ พบความชุกของอะแคนทามีบาจากบ้านไ้สูงที่สุดคิดเป็นร้อยละ 69.2

เมื่อพิจารณาบริเวณที่เก็บตัวอย่างพบว่า แหล่งน้ำในหมู่บ้านที่บ้านหม้อแกทองพบความชุกของอะแคนทามีบาสูงที่สุด คิดเป็นร้อยละ 25.9 (7/27 ตัวอย่าง) ส่วนบริเวณทุ่งนาพบความชุกของอะแคนทามีบาสูงที่สุด คิดเป็นร้อยละ 27.3 (9/33 ตัวอย่าง) ที่บ้านไ้สูงแสดงในตารางที่ 1

Table 1 Prevalence of *Acanthamoeba* From Different Villages and Natural Water Sources.

Villages	Water source within villages	Water source in rice fields	No. positive/Total (%)
	No. positive/Total (%)	No. positive/Total (%)	
Ban Mae Ka Huai Khian	4/11 (36.7%)	2/5 (40.0%)	6/16 (37.5%)
Ban Mae Ka Thok Wak	2/4 (50.0%)	1/7 (14.3%)	3/11 (27.3%)
Ban Mo Kaeng Thong	7/8 (87.5%)	4/12 (33.3%)	11/20 (55.0%)
Ban Zou	0/4 (0.0%)	9/9 (100.0%)	9/13 (69.2%)
Total	13/27 (48.1%) ^a	16/33 (48.5%) ^a	29/60 (48.3%)

a. Fisher's Exact Test: $\chi^2 = 0.001$, $p = 0.979$

การจำแนกกลุ่มของอะแคนทามีบา

การจำแนกกลุ่มของอะแคนทามีบาโดยใช้ลักษณะของซิสต์ตามวิธีการของ Pussard และ Pons⁶ ซึ่งสังเกตจากผนังซิสต์ทั้ง 2 ชั้น ภายในนิวเคลียส สังเกตเห็น Karyosome รูปร่างกลมขนาดใหญ่ พบช่องว่าง (Halo) ระหว่าง Karyosome กับขอบนิวเคลียส จากผลการทดลองพบอะแคนทามีบาทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ อะแคนทามีบา กลุ่ม 1 มีขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ไมโครเมตร ผนังชั้นนอกบางและเรียบจะแยกออกจากผนังชั้นในชัดเจน พบแขน

ของผนังทั้ง 2 ชั้นมาสัมผัสกันตั้งแต่ 4-14 แขน (ภาพ 1 A, B) กลุ่ม 2 มีขนาดน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร ผนังทั้ง 2 ชั้นอยู่ชิดและติดกันมาก ผนังชั้นนอกเป็นหยักรีว ผนังชั้นในรูปร่างเป็นหลายเหลี่ยมหรือเป็นมุม (ภาพ 1 C, D) และกลุ่ม 3 มีขนาดน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร ผนังชั้นในกลมและอาจหนากว่าผนังชั้นนอกที่บางและเป็นหยักรีว (ภาพ 1E) เมื่อเติม Inactivated *E. coli* ถึงวันที่ 10 ระยะโทรโฟซอยต์จะออกจากซิสต์เป็นจำนวนมาก สังเกตเห็นขาเทียม มีลักษณะคล้ายหนามแหลมดังภาพที่ 1

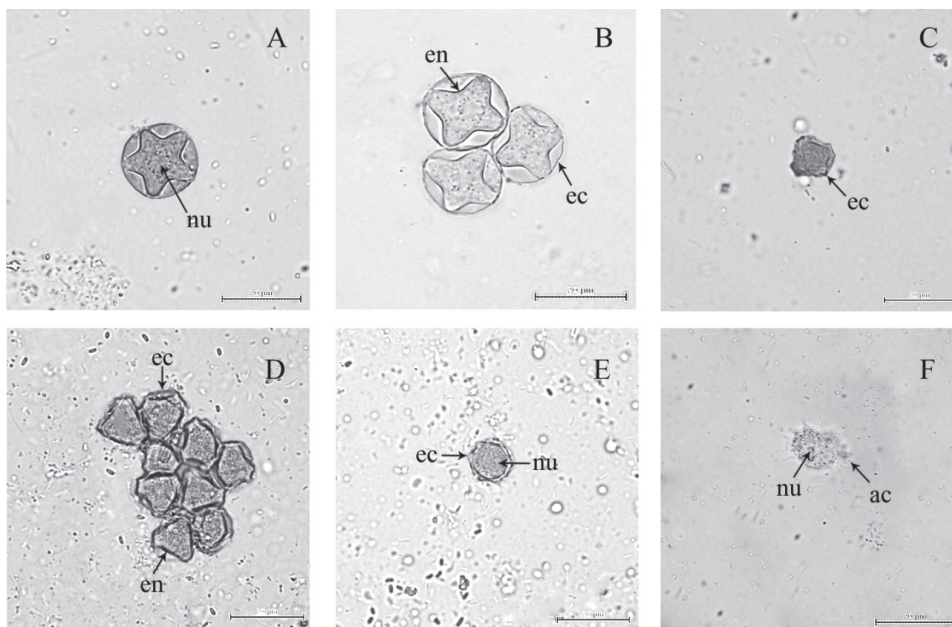


Figure 1 Morphological Observation of *Acanthamoeba* Cyst and Trophozoite in Wet Smear. (A and B) Group I of Cyst; (C and D) Group II of Cyst; (E) Group III of Cyst; (F) Trophozoite; Scale Bar = 20 μ m. (ec: Ectocyst, en: Endocyst, nu: Nucleus, ac: Acanthopodia).

ความชุกของอะแคนตามีบาจำแนกตามการจัดกลุ่มของระยะซิสต์

จากการทดลองพบอะแคนตามีบาทั้ง 3 กลุ่ม โดยพบกลุ่ม 3 สูงที่สุด รองลงมาคือ กลุ่ม 2 และกลุ่ม 1 คิดเป็นร้อยละ 21.6, 16.7 และ 1.7 ตามลำดับ

ซึ่งพบซิสต์กลุ่ม 1 ในตัวอย่างน้ำจากบ้านไช้เท่านั้น คิดเป็นร้อยละ 7.7 (1/13 ตัวอย่าง) นอกจากนี้ บางตัวอย่างน้ำพบซิสต์กลุ่ม 2 และ 3 ร่วมกัน คือ บ้านแม่กาห้วยเคียนพบร้อยละ 12.5 และบ้านหม้อแกงทองพบร้อยละ 15.0 ดังแสดงในตารางที่ 2

Table 2 Prevalence of *Acanthamoeba* According to Morphology of Cyst.

<i>Acanthamoeba</i> group	Number of <i>Acanthamoeba</i> cyst (%)				
	Mae Ka Huai Khian (n = 16)	Mae Ka Thok Wak (n = 11)	Mo Kaeng Thong (n = 20)	Ban Zou (n = 13)	Total (n = 60)
Group I	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (7.7%)	1 (1.7%)
Group II	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (10.0%)	8 (61.5%)	10 (16.7%)
Group III	4 (25.0%)	3 (27.3%)	6 (30.0%)	0 (0.0%)	13 (21.6%)
Group II and III	2 (12.5%)	0 (0.0%)	3 (15.0%)	0 (0.0%)	5 (8.3%)
Total	6/16 (37.5%)	3/11 (27.3%)	11/20 (55.0%)	9/13 (69.2%)	29/60 (48.3%)



อภิปรายผล

ผลการศึกษาครั้งนี้สำรวจพบความชุกของอะแคนทามีบาในแหล่งน้ำธรรมชาติร้อยละ 48.3 ซึ่งมีอัตราความชุกสูงกว่าการสำรวจในประเทศไทยที่ผ่านมาในปี พ.ศ. 2544 พบความชุกของอะแคนทามีบาในแหล่งน้ำต่าง ๆ จาก 14 จังหวัดในประเทศไทยร้อยละ 36.7¹⁵ ปี พ.ศ. 2548 พบอะแคนทามีบาในน้ำพุร้อนตามธรรมชาติร้อยละ 13.2⁹ และปี พ.ศ. 2552 พบอะแคนทามีบาในแหล่งน้ำธรรมชาติจากจังหวัดเชียงใหม่ ร้อยละ 14.3¹¹ การพบความชุกที่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากพื้นที่สำรวจ สภาพแวดล้อม และภูมิประเทศที่แตกต่างกัน แม้ว่าซิสต์ของอะแคนทามีบาสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งและทนต่ออุณหภูมิระหว่าง -20 ถึง 42 องศาเซลเซียสได้ แต่เชื่อว่าจะแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในบริเวณที่มีความชื้นสูงและมีแบคทีเรียเป็นอาหาร^{7, 8} ซึ่งก็สอดคล้องกับพื้นที่สำรวจในงานวิจัยนี้ที่มีภูมิประเทศเป็นภูเขา สภาพแวดล้อมเป็นดินชื้นและมีแหล่งน้ำตามธรรมชาติ จึงทำให้พบความชุกของอะแคนทามีบาสูงกว่าบริเวณอื่น ๆ

อะแคนทามีบาสามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทั้งในอากาศ ผุ่นละออง และแหล่งน้ำต่าง ๆ จากผลการทดลองพบเชื้อจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติทั้งในบริเวณหมู่บ้านและบริเวณทุ่งนา โดยความชุกของอะแคนทามีบาที่พบไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่รายงานการศึกษาครั้งนี้ พบความชุกของอะแคนทามีบาต่ำกว่าและแตกต่างจากการรายงานของประเทศญี่ปุ่นในปี พ.ศ. 2550 ที่สำรวจอะแคนทามีบาจากแม่น้ำตามธรรมชาติและน้ำตก 51 แหล่ง มีความชุกของอะแคนทามีบาสูงถึงร้อยละ 61.0¹⁶

จากการจัดจำแนกกลุ่มของอะแคนทามีบาพบเชื้อทั้ง 3 กลุ่ม โดยกลุ่ม 1 สอดคล้องกับลักษณะซิสต์ของ

A. astronyxis ส่วนกลุ่มที่ 2 และกลุ่ม 3 สอดคล้องกับลักษณะซิสต์ของ *A. castellanii*, *A. polyphaga*, *A. triangularis* และ *A. culbertsoni* ซึ่งอะแคนทามีบาที่อยู่ในกลุ่ม 2 และกลุ่ม 3 เป็นกลุ่มหลักที่มีความสัมพันธ์กับการก่อให้เกิด AK¹⁷ โดยมีอุบัติการณ์สูงขึ้นในประเทศต่าง ๆ เช่น ประเทศอังกฤษและอเมริกา¹ และยังคงมีรายงานก่อให้เกิด AK ในประเทศไทยอีกด้วย^{4, 5} จึงเป็นเหตุผลที่มีการรายงานการก่อโรคจากอะแคนทามีบาทั้ง 2 กลุ่มนี้สูงกว่ากลุ่มอื่น

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การพบอะแคนทามีบากกลุ่ม 2 และกลุ่ม 3 จากแหล่งน้ำตามธรรมชาติในหมู่บ้าน ทำให้ประชาชนมีโอกาสได้รับเชื้อจากการสัมผัสและลงเล่นน้ำ ซึ่งอาจก่อให้เกิด AK และ GAE ได้ และประชาชนยังมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อร่วมกับหนองพยาธิที่ติดต่อผ่านทางดินเมื่อสัมผัสดินที่ชื้นแฉะตามแหล่งน้ำนั้น ๆ อีกด้วย เช่น พยาธิไส้เดือน พยาธิเส้นด้าย หรือพยาธิปากขอ เป็นต้น¹⁸ นอกจากนี้การพบอะมีบาที่ดำรงชีพอิสระตามธรรมชาติจะกลายเป็นบริเวณสืบพันธุ์และเพิ่มจำนวนของเชื้อเป็นจำนวนมากและอาจก่อโรคที่ร้ายแรงในมนุษย์ได้ ทั้งนี้การจำแนกกลุ่มของอะแคนทามีบาในเบื้องต้นนิยมใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของซิสต์ แต่อาจยังไม่เพียงพอและจำเพาะกับชนิดของอะแคนทามีบาที่สัมพันธ์กับการก่อโรคในมนุษย์ได้อย่างชัดเจน จึงควรมีการจำแนกชนิดของอะแคนทามีบาที่มีความสัมพันธ์ในการก่อโรคในระดับชีวโมเลกุล รวมถึงการศึกษาความสามารถในการก่อโรคในสัตว์ทดลองต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

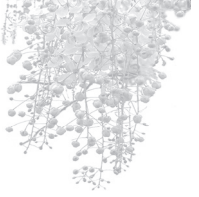
ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนการศึกษานี้จากสาขาวิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา ประจำปี พ.ศ. 2557



ขอขอบคุณอาจารย์นพดล ยศบุญเรือง สาขาวิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่ให้คำปรึกษาด้านสถิติการวิจัย และขอขอบคุณนายวิทยา สุนะดี นักวิชาการคอมพิวเตอร์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา สำหรับการเตรียมภาพเพื่อการตีพิมพ์ผลงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Lorenzo-Morales J, Martin-Navarro CM, Lopez-Arencibia A, Arnalich-Montiel F, Penero JE, Valladares B. *Acanthamoeba* keratitis: an emerging disease gathering importance worldwide?. Trends Parasitol 2013; 29(4): 181-87.
2. Lorenzo-Morales J, Khan NA, Walochnik J. An update on *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. Parasite 2015; 22: 1-20.
3. Khan NA. *Acanthamoeba* and the blood-brain barrier: the breakthrough. J Med Microbiol 2008; 57: 1051-7.
4. Jongwutiwes S, Pariyakanok L, Charoenkorn M, Yagita K, Endo T. Heterogeneity in cyst morphology within isolates of *Acanthamoeba* from keratitis patients in Thailand. Trop Med Int Health 2012; 5: 335-40.
5. Jariya P, Lerlaituan P, Warachoon K. *Acanthamoeba* spp.: a cause of chronic granulomatous amoebic meningoencephalitis. Siriraj Hosp Gaz 1992; 44: 148-53.
6. Pussard M, Pons R. Morphologie de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba*. (Protozoa, Amoebida). Protistologica 1997; 13: 557-98.
7. Khan NA. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. FEMS Microbiol Rev 2006; 30: 564-95.
8. Siddiqui R, Khan NA. Biology and pathogenesis of *Acanthamoeba*. Parasite & Vectors 2012; 5: 1-13.
9. Lekkla A, Sutthikornchai C, Bovornkitti S, Sukthana Y. Free-living amebae contamination in natural hot springs in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005; 36: 5-9.
10. Yaicharoen R, Ngrenngamlert W, Thongmee P, Damsaman W. Survey of *Acanthamoeba* spp. in dust from Bangkok and suburban areas. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2007; 40(1): 46-53.
11. Wannasan A, Chaiwong P, Bunchoo M, Morakote N. Occurrence of thermo-tolerant *Naegleria* and *Acanthamoeba* in some natural water sources in Chiang Mai. Chiang Mai Med J 2009; 48: 117-24.
12. Garcia LS. Diagnostic Medical Parasitology. 5th ed. Washington: ASM Press; 2007.
13. Schuster FL. Cultivation of pathogenic and opportunistic free-living amebas. Clin Microbiol Rev 2002; 15: 342-54.



14. Lek-Uthai U, Passara R, Roongruangchai K. Morphological features of *Acanthamoeba* causing keratitis contaminated from contact lens cases. J Med Assoc Thai 2009; 92: 156-63.
15. Nacapunchai D, Kino Hideto, Ruangsittichai C, Sriwichai P, Ishih A, Terada M. A brief survey of free-living amoebae in Thailand and Hamamatsu district, Japan. 2001; 32(2): 179-82.
16. Kawaguchi K, Matsuo J, Osaki T, Kamiya S, Yanaguchi H. Prevalence of *Helicobacter* and *Acanthamoeba* in natural environment. Lett Appl Microbiol 2009; 48: 465-71.
17. Kilvington S, White DG. *Acanthamoeba*: biology, ecology and human disease. Rev Med Microbiol 1994; 5: 12-20.
18. Seangpraw K, Nakai W, Pawan V. Prevalence and factors related to prevention behavior of soil transmitted helminthes among primary school students in border patrol police schools, Mae Hong Son province, Thailand. Journal of Public Health 2016; 46(1): 16-30.



Survey of *Acanthamoeba* in Natural Water Sources in Communities Around the University of Phayao, Phayao Province, Thailand

Chittakun Suwancharoen* Watcharapong Srichoom*

ABSTRACT

Acanthamoeba is a free-living amoeba found in the natural environment. This parasite causes opportunistic infection in humans known as *Acanthamoeba* keratitis (AK) and granulomatous amoebic encephalitis (GAE). This study aimed to survey the prevalence of *Acanthamoeba* cysts in natural water sources around the University of Phayao, Phayao Province, Thailand. A total of 60 water samples were cultured and observed for morphological cysts using Pussard and Pons criteria. According to the experiments, *Acanthamoeba* was found in 48.3% of the total water samples. No significant difference was found between natural water sources within the villages and rice fields regarding the cyst detection rate ($p>0.05$). Based on Pussard and Pons criteria, *Acanthamoeba* cysts were classified as group I, II and III at 1.7%, 16.7% and 21.6% respectively, and some

samples were found to be a mixed detection of groups II and III at 8.3%. In this survey, detected cysts were morphologically similar to *A. castellani*, *A. polyphaga*, *A. triangularis* and *A. culbertsoni* as groups II and III members, which are associated with *Acanthamoeba* keratitis cases in Thailand. Thus, the local people are occasionally infected with *Acanthamoeba* from natural water sources. However, the morphology and identification of cysts is commonly an initial classification, and inaccurate and insufficient identification of pathogenic *Acanthamoeba* have occurred. Further studies on mouse inoculation for pathogenicity and molecular techniques for species identification are vital.

Keywords: *Acanthamoeba*, morphology, keratitis, natural water sources, Phayao Province