

การสำรวจอะแคนทามีบาในตัวอย่างน้ำสวนสาธารณะในประเทศไทย

ภัทรกร บุปผัน* ชลาลัย มีบุญญ จิตินันท์ กล้าศิริ วรากร พรหมยุทธนา
วสุมดี ก่ออมรทรัพย์ รัตน์ดิพร โกสุวิรินทร์ และปะการัง ศรีมี

สาขาการส่งเสริมสุขภาพ คณะกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ องครักษ์ นครนายก 26120

*E-mail: Pattakorn.b@gmail.com

รับบทความ: 14 กันยายน 2560 ยอมรับตีพิมพ์: 29 มีนาคม 2561

บทคัดย่อ

อะแคนทามีบาเป็นอะมีบาที่ดำรงชีวิตเป็นอิสระในสิ่งแวดล้อมและเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ทำให้เกิดโรคสมองอักเสบชนิดเรื้อรัง โรคผิวหนังชนิดเฉียบพลัน และโรคกระดูกอักเสบ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจความชุกของอะแคนทามีบาจากตัวอย่างน้ำที่เก็บสวนสาธารณะและจัดกลุ่มอะแคนทามีบาโดยใช้รูปร่างลักษณะของซิสต์ จากตัวอย่างน้ำทั้งหมด 300 ตัวอย่างที่อุณหภูมิเฉลี่ย 24.53 องศาเซลเซียส ค่า pH ประมาณ 5.3 โดยเฉพาะเลี้ยงอะแคนทามีบาบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฉาบด้วย *Escherichia coli* ผลการวิจัยพบ *Acanthamoeba* spp. ร้อยละ 35 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด จังหวัดสระบุรีและสงขลาพบความชุก *Acanthamoeba* spp. มากที่สุด และจังหวัดนครราชสีมาและราชบุรีพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. น้อยที่สุด โดยสามารถแบ่งเป็นลักษณะซิสต์ที่พบได้ 3 กลุ่ม และลักษณะซิสต์กลุ่มที่ 2 พบจำนวนมากที่สุด จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นว่าอะแคนทามีบาสามารถพบได้ตามแหล่งน้ำสวนสาธารณะซึ่งเป็นข้อมูลที่สำคัญเพื่อเฝ้าระวังการติดเชื้ออะแคนทามีบา

คำสำคัญ: อะแคนทามีบา สวนสาธารณะ อะมีบาดำรงชีพอิสระ

Survey of *Acanthamoeba* spp. in Water Samples from the Public Park of Thailand

Pattakorn Buppan^{*}, Chalalai Meeboon, Thitinan Klamsiri, Warakorn Promyuttana,
Wasumadee Ko-amornsup, Rattiporn Kosuwin and Pakarang Srimee

Program in Health Promotion, Faculty of Physical Therapy, Srinakharinwirot University,
Ongkharak Campus, Nakhon Nayok 26120, Thailand
^{*}E-mail: Pattakorn.b@gmail.com

Received: 14 September 2017 Accepted: 29 March 2018

Abstract

Acanthamoeba are free-living amoebae found in the environment and are opportunistic pathogens causing infections of the Granulomatous Amebic Encephalitis (GAE), *Acanthamoeba* Keratitis (AK) and Subacute granulomatous dermatitis. The aim of this study was to investigate the prevalence of *Acanthamoeba* spp. in water samples from the public park and identify *Acanthamoeba* spp. based on the morphology of cyst. A total of 300 water samples were recovered at average of 24.53°C, approximate pH 5.3. The *Acanthamoeba* spp. were cultured in non-nutrient agar coated with *Escherichia coli* and observed the morphology under compound light microscope. The results showed that there were 35% of *Acanthamoeba* spp. from total water samples. The highest prevalence of *Acanthamoeba* spp. was found in Saraburi and Songkhla, whereas the lowest prevalence was found in Nakhon Ratchasima and Ratchaburi. *Acanthamoeba* spp. in this study were classified into 3 groups based on cyst morphology, and the highest prevalence of cyst were classified in group II. This study suggested that *Acanthamoeba* spp. can be found the water samples collected from the public park. It is essential information to monitor the *Acanthamoeba* spp. infection.

Keywords: *Acanthamoeba* spp., Public park, Free-living amoebae (FLA)

บทนำ

Acanthamoeba spp. เป็นโพรโทซัวชนิด
ฉวยโอกาสที่ดำรงชีพอิสระในธรรมชาติ (free-
living amoeba) สามารถพบได้ทั่วโลก รวมถึง

ประเทศไทยและพบมีการกระจายตัวได้ทั้งในดิน
แหล่งน้ำ น้ำประปา น้ำกลั่น น้ำแร่ ทะเลสาบ ทะเล
สระว่ายน้ำ ท่อระบายอากาศ ตลับคอนแทคเลนส์
และตลับที่มีการปนเปื้อน (Sharma, 1990)

Acanthamoeba spp. เป็นสาเหตุของภาวะเยื่อหุ้มสมองอักเสบชนิด Granulomatous Encephalitis (GAE) เมื่อเกิดการติดต่อเชื้อจะเข้าไปทำลายระบบประสาทส่วนกลางของมนุษย์ เป็นเหตุให้เกิดการเสียชีวิตได้ (Frederick, 2004) แม้ว่าอุบัติการณ์ของการติดเชื้อดังกล่าวพบได้ค่อนข้างน้อย แต่การพยากรณ์ของโรคนับว่ามีความรุนแรงมากเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ โดยผู้ติดเชื้อมักได้รับการวินิจฉัยที่ล่าช้า ส่งผลให้เกิดอัตราการเสียชีวิตสูง นอกจากนี้ *Acanthamoeba* spp. ยังทำให้เกิดโรคผิวหนังชนิดเฉียบพลัน (*Acanthamoeba* skin infection) และโรคกระจกตาอักเสบ (*Acanthamoeba* keratitis, AK) (Migueles, 1998) เนื่องจากการวินิจฉัยที่ล่าช้าและการดำเนินของโรคเป็นไปอย่างรวดเร็วทำให้ร่างกายของผู้ป่วยเกิดการตอบสนองต่อยาที่ใช้ในการรักษาได้ไม่ดี ผู้ป่วยส่วนใหญ่จึงต้องสูญเสียดวงตาไปในที่สุด

Acanthamoeba spp. สืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ โดยการแบ่งตัวมีรูปร่าง 2 แบบ คือ โทรโฟซอइट (trophozoite) ซึ่งแบ่งตัวได้มีขนาด 25–40 ไมโครเมตร ใช้ขาเทียมลักษณะคล้ายหนาม (acanthopodia) ยื่นออกมาเพื่อใช้ในการยึดเกาะพื้นผิว เคลื่อนที่ และจับเหยื่อ กินแบคทีเรีย สาหร่าย และยีสต์เป็นอาหาร ส่วนอีกรูปร่างหนึ่งคือ ซีสต์ (cyst) ขนาดของซีสต์แตกต่างกันตั้งแต่ 10–35 ไมโครเมตร เป็นระยะที่ไม่มี การแบ่งตัวและมีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมภายนอกซึ่งไม่เอื้อต่อการเจริญสูง เช่น ภาวะแห้ง ซีสต์สามารถอยู่รอดได้จากการเก็บรักษาไว้ในน้ำที่อุณหภูมิห้องได้นาน 2 ปี และที่ 4 องศาเซลเซียสได้นานถึง 24 ปี ยังคงความสามารถในการก่อโรค เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแบคทีเรีย

เป็นอาหารจะเปลี่ยนเป็นระยะโทรโฟซอइट ซีสต์มีผนัง 2 ชั้น คือ ผนังชั้นนอกและผนังชั้นในแยกกันอย่างชัดเจน สามารถจำแนกกลุ่มของซีสต์ออกเป็น 3 กลุ่ม (Pussard and Pons, 1977) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ซีสต์จะเปลี่ยนเป็นโทรโฟซอइटอีกครั้ง สามารถติดต่อสูคนและก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ซึ่งมีอาการและความรุนแรงของโรคแตกต่างกันไป บางชนิดสามารถก่อโรคได้สูง บางชนิดมีความสามารถในการก่อโรคได้น้อย หรืออาจจะไม่ก่อโรคเลย

สำหรับประเทศไทย มีการค้นพบ *Acanthamoeba* spp. ครั้งแรกในปีพ.ศ. 2531 ที่จังหวัดนครราชสีมา ในปี พ.ศ. 2541 มีการสำรวจเชื้ออะมีบาที่ดำรงชีวิตอิสระจากแหล่งน้ำและดินจาก 14 จังหวัดในประเทศไทย ตรวจพบ *Acanthamoeba* spp. ใน 9 จังหวัด ได้แก่ สุโขทัย ตากบุรีรัมย์ สระบุรี ปทุมธานี ราชบุรี เพชรบุรี พัทลุง และกรุงเทพฯ คิดเป็นร้อยละ 46.4 จากตัวอย่าง 125 ตัวอย่าง (Nacapunchai, 2542) นอกจากนี้ยังพบอะมีบาดำรงชีพแบบอิสระในบ่อน้ำร้อนเป็นครั้งแรกที่จังหวัดลพบุรี และพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ร้อยละ 13 (Lekkla, 2005)

การสำรวจหา *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่นจากกรุงเทพฯ และปริมณฑลมีการเก็บตัวอย่างฝุ่นจากสถานที่ต่าง ๆ เพื่อหา *Acanthamoeba* spp. ได้แก่ สวนสาธารณะ ทางเดิน สนามเด็กเล่น บ้ายรถโดยสารประจำทาง พื้นถนน และที่พักอาศัย จากกรุงเทพฯ นครปฐม ปทุมธานี และนนทบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงสิงหาคม พ.ศ. 2544 มาเพาะเลี้ยงพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. จากฝุ่นภายนอกตัวอาคาร (ร้อยละ 41.7) สูงกว่าฝุ่นภายในอาคาร (ร้อยละ 18.1) ($p < 0.05$) และตัวอย่างฝุ่นจากสถานที่ต่าง ๆ พบว่า

ฝุ่นจากทางเดินในสวนสาธารณะพบ *Acanthamoeba* spp. สูงที่สุดคิดเป็นร้อยละ 11.6 ของตัวอย่างฝุ่นจากภายนอกอาคาร และพบ *Acanthamoeba* spp. จากฝุ่นพื้นที่ห้องสูงที่สุดคิดเป็นร้อยละ 9.3 ของตัวอย่างฝุ่นจากภายในตัวอาคาร (Yaicharoen, 2007)

จากการตรวจโพโรโทซัวในสระว่ายน้ำสาธารณะ ในเขตกรุงเทพฯ ชั้นใน เก็บตัวอย่างน้ำทั้งหมด 16 สระ และนำตัวอย่างน้ำที่เก็บมาตรวจหาโพโรโทซัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยวิธี wet examination และ culture method พบ *Acanthamoeba* spp. จากสระว่ายน้ำ 3 แห่ง และ *Naegleria* spp. 1 แห่ง จากการทดสอบด้วย fisher's exact test ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสระ และการตรวจวัดคุณภาพน้ำไม่พบเชื้อโพโรโทซัวในสระ และการทดสอบด้วย Mann-Whitney U test ไม่พบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอุณหภูมิของน้ำและอากาศ ปริมาณคลอรีนตกค้าง ความขุ่น และความเป็นกรด-เบส *Acanthamoeba* spp. สามารถติดต่อผ่านผิวหนังที่เป็นแผล หรือติดต่อผ่านกระจกตาที่เป็นแผล ดังนั้นผู้ที่ มีบาดแผล หรือรอยถลอกตามร่างกายไม่ควรลงเล่นน้ำในสระว่ายน้ำ และหากใส่คอนแทกเลนส์ลงเล่นน้ำ ควรล้างเลนส์ด้วยน้ำยาให้สะอาดหลังเล่นน้ำทุกครั้ง (Chaimongkol, 2549)

การตรวจหาเชื้อ *Acanthamoeba keratitis* ในตลับคอนแทกเลนส์ จากการเก็บตัวอย่างตลับคอนแทกเลนส์จากนักศึกษามหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ที่ใส่คอนแทกเลนส์ จำนวน 150 ชิ้น ระหว่างเดือนมีนาคมถึงตุลาคม 2550 ผลการศึกษาโดยวิธีเพาะเชื้อและวิธี loop-mediated isothermal amplification (LAMP) พบอะแคนทามีบาในตัวอย่าง

ตลับคอนแทกเลนส์ 10 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 6.7 ซึ่งจากการเพาะเชื้อพบว่า อะแคนทามีบาเจริญที่อุณหภูมิระหว่าง 36.8–37.2°C และอุณหภูมิ 65°C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในปฏิกิริยาของวิธี LAMP (Passara, 2009) และมีการศึกษาความชุกของอะแคนทามีบาในดินที่มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตพญาไท ศาลายา และกาญจนบุรี โดยเก็บดินตัวอย่างของทั้ง 3 วิทยาเขต ทั้งหมด 130 ตัวอย่าง แบ่งเป็นผิวดิน 90 ตัวอย่าง ดินลึก 90 ตัวอย่าง นำมาเพาะเชื้อเพื่อหา *Acanthamoeba* พบเชื้อร้อยละ 63.3 86.67 และ 50.00 ในผิวดิน และร้อยละ 56.67 83.30 และ 76.67 ในดินลึกจากวิทยาเขตพญาไท ศาลายา และกาญจนบุรี ตามลำดับ โดยวิทยาเขตศาลายามีอะแคนทามีบาชุกมากที่สุด (Soigliaw, 2011)

ประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อ free-living amoeba อย่างจำกัดทำให้ขาดความตระหนักถึงระบาดวิทยาของโรคที่แท้จริง และมีผู้ป่วยหลายรายที่ไม่ได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้อง (Sharma, 1990) ดังนั้น *Acanthamoeba* spp. จึงมีความสำคัญในด้านสาธารณสุข แต่ในประเทศไทยเรายังขาดข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับอะแคนทามีบาอยู่มาก การศึกษาที่มุ่งเน้นหาอัตราความชุกของอะแคนทามีบาในแหล่งน้ำที่น่าจะมีโอกาสแพร่กระจายสู่ประชากรกลุ่มต่าง ๆ ได้มากที่สุด และศึกษาสมบัติของเชื้อนี้โดยอาศัยลักษณะรูปร่างด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ที่เก็บจากตัวอย่างน้ำสวนสาธารณะในประเทศไทย

2. จัดกลุ่มของ *Acanthamoeba* spp. โดยอาศัยรูปร่างลักษณะของซิสต์

ประชากรและตัวอย่าง

ขนาดตัวอย่าง: การคำนวณขนาดตัวอย่างอาศัยข้อมูลจากการสำรวจความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล (Yaicharoen, 2007) พบว่า มีอัตราความชุกร้อยละ 26 โดยกำหนดให้อัตราความชุกของ *Acanthamoeba* spp. เท่ากับร้อยละ 26 ($P = 0.26$) มีค่าความคลาดเคลื่อนได้ไม่เกินร้อยละ 5 ($d = 0.05$) และกำหนดระดับความเชื่อมั่นในการสรุปข้อมูลร้อยละ 95 ค่าซี (Z) ที่ใช้ในการคำนวณแบบสองทางเท่ากับ 1.96 ค่า $Q = 1 - P$ ซึ่งเท่ากับ $1 - 0.26 = 0.74$

$$\begin{aligned} \text{จากสูตรขนาดตัวอย่าง (n)} &= Z^2 PQ/d \\ n &= (1.96)^2(0.26)(0.74)/(0.05) \\ &= 295 \text{ ตัวอย่าง} \end{aligned}$$

ดังนั้นในการศึกษาคั้งนี้จึงเก็บรวบรวมตัวอย่างน้ำเพื่อสำรวจหา free-living amoebae จากแหล่งน้ำตามธรรมชาติของประเทศไทย 295 ตัวอย่าง แต่เนื่องจากการศึกษาคั้งนี้เป็นการศึกษาคั้งแรกในการสำรวจหา free-living amoebae จากแหล่งน้ำตามธรรมชาติของประเทศไทย จึงใช้ขนาด 300 ตัวอย่าง ทั้งนี้เพื่อลดความคลาดเคลื่อนจากการชักตัวอย่างแบบสุ่ม

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างน้ำ: การศึกษาคั้งนี้เก็บตัวอย่างน้ำทั้งหมด 300 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนกันยายน 2559 ถึงสิงหาคม 2560 จาก 15 จังหวัดในประเทศไทย ได้แก่ จันทบุรี ชลบุรี นครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธานี เชียงใหม่ พิษณุโลก

สระบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี จังหวัดเพชรบุรี สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราชและสงขลา (ตาราง 1) โดยใช้ขวดพลาสติกที่สะอาดเก็บตัวอย่างน้ำลงไปจากผิวหน้าน้ำ 10 เซนติเมตรจนได้ตัวอย่างน้ำเต็มขวด ปิดฝาให้สนิท วัดสมบัติบางประการของแหล่งน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-เบส โดยเทอร์มอมิเตอร์และมาตรวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH meter รุ่น pH-80) จากนั้นบันทึกค่าโดยระบุวัน เวลา สถานที่ ตำแหน่งที่เก็บ และค่าที่วัดได้

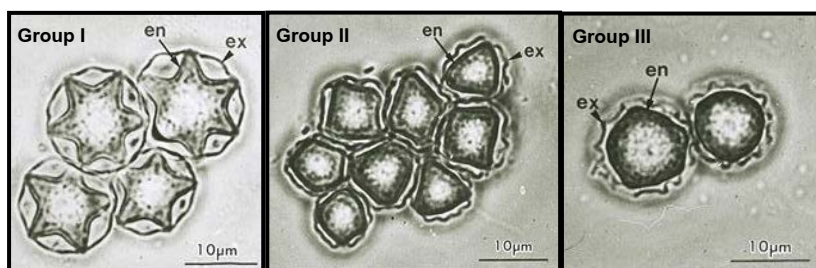
การเพาะเลี้ยงอะมีบา: นำตัวอย่างน้ำแต่ละตัวอย่างปริมาตร 500 มิลลิลิตร กรองผ่านสำลีและวางไว้บนอาหารเลี้ยงใน non-nutrient agar ที่ฉาบด้วย *Escherichia coli* บนผิวอาหาร ปิดฝาให้สนิท ระบุวัน เวลา สถานที่ ตำแหน่งที่เก็บบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) ตรวจสอบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อทุกวันภายใต้กล้อง inverted microscope เป็นเวลา 7 วัน เมื่อพบซิสต์ของ *Acanthamoeba* spp. ให้แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยการตัดวันบริเวณที่ตรวจพบเชื้อมาวางไว้บนอาหารเลี้ยงอีกจานหนึ่ง ถ่ายไปจนไม่มีสิ่งมีชีวิตอื่นปะปนและหลังจากนั้น 7 วัน ตรวจจุดผลอีกคั้ง

การตรวจหา *Acanthamoeba* spp.: นำตัวอย่างซิสต์ย้อมด้วยสี Giemsa จากนั้นตรวจดูภายใต้โดยกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 400 เท่า อาศัยหลักการของ Pussard and Pons (1977) โดยใช้สไลด์ฐานวิทย์ของซิสต์ (ภาพที่ 2) เป็นเกณฑ์ ดังนี้

ซิสต์กลุ่มที่ 1 มีขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 18 ไมโครเมตรขึ้นไป ผนังชั้นนอกและชั้นในของซิสต์มีระยะกันมาก ผนังชั้นนอกของซิสต์มีผิวเรียบหรือหยักเป็นรอยย่นเล็ก

ตาราง 1 ตัวอย่างที่ตรวจพบอะมีบาที่ดำรงชีวิตเป็นอิสระจากแหล่งน้ำธรรมชาติจำแนกตามสถานที่

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนแหล่งน้ำ	อุณหภูมิเฉลี่ย (°C)	pH	จำนวนที่พบ (ร้อยละของจำนวนตัวอย่าง)
จันทบุรี	10	1	24	5	3(30.00)
ชลบุรี	15	2	23	5	4(26.67)
นครราชสีมา	30	3	23	5	4(13.33)
ขอนแก่น	20	2	23	5	7(35.00)
อุดรธานี	20	2	24	6	6(30.00)
เชียงใหม่	25	2	23	6	8(32.00)
พิษณุโลก	20	2	23	5	8(40.00)
สระบุรี	15	1	26	5	8(53.33)
สุพรรณบุรี	15	1	28	6	7(46.67)
กาญจนบุรี	25	2	25	6	11(44.00)
ราชบุรี	15	1	25	5	2(13.33)
เพชรบุรี	15	1	25	5	6(40.00)
สุราษฎร์ธานี	30	3	23	5	12(40.00)
นครศรีธรรมราช	30	3	26	5	11(36.67)
สงขลา	15	2	27	6	8(53.33)
รวม	300				105(35.00)



ภาพที่ 2 การจัดจำแนกกลุ่มอะแคนทามีบาตามขนาดและรูปร่างของซีสต์จำแนกตามหลักเกณฑ์ของ Pussard and Pons (1977)

น้อย ผนังชั้นในมีลักษณะเป็นแจกคล้ายดาว

ซีสต์กลุ่มที่ 2 มีเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุด และแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ผนังชั้นนอกและผนังชั้นในอาจอยู่ชิดหรือห่างกัน ผนังชั้นในมีรูปร่างหลายแบบ ทั้งสามเหลี่ยม หลายเหลี่ยม เป็นแจก รูปร่างกลม หรือรูปไข่ มักเห็นแขนหรือ

แจกไม่ชัดเจน

ซีสต์กลุ่มที่ 3 มีเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร รูปร่างค่อนข้างกลม ผนังชั้นนอกเรียบและบางหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย ผนังชั้นในมักกลมอาจเห็นเป็นมุม 3-5 มุม

การวิเคราะห์ผล: วิเคราะห์ผลโดยใช้สถิติพรรณนา บรรยายความแตกต่างของจำนวนตัว-

อย่างที่สำรวจพบ *Acanthamoeba* spp. ในแต่ละสถานที่และจำนวนตัวอย่างที่สำรวจพบระยะชีวิตจำแนกตามกลุ่ม

ผลการศึกษา

ความชุกของ Acanthamoeba spp.

ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างน้ำทั้งหมด 300 ตัวอย่าง จาก 15 จังหวัดในประเทศไทย โดยกระจายตามแต่ละภูมิภาคดังนี้ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือประกอบด้วยจังหวัดภาคตะวันออกเฉียงเหนือประกอบด้วยจังหวัดจันทบุรีและชลบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือประกอบด้วยจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธานี ภาคเหนือประกอบด้วยจังหวัดเชียงใหม่และพิษณุโลก ภาคกลางประกอบด้วยจังหวัดสระบุรี สุพรรณบุรี ภาคตะวันตกประกอบด้วยจังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี ภาคใต้ประกอบด้วยจังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราชและสงขลา ตัวอย่างน้ำที่เก็บแต่ละแห่งมีอุณหภูมิเฉลี่ย 24.53°C และค่าความเป็นกรด-เบส (pH) เฉลี่ยของน้ำมีค่าเท่ากับ 5.33

จากการศึกษาเปรียบเทียบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ในแต่ละสถานที่พบทั้งหมด 105 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 35 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด โดยตัวอย่างน้ำจากจังหวัดสระบุรีและสงขลาพบมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 53.33 ของจำนวนตัวอย่าง ส่วนตัวอย่างน้ำจากจังหวัดนครราชสีมาและราชบุรีตรวจพบน้อยที่สุด คิดเป็นร้อยละ 13.33 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด ดังในตาราง 1

การจำแนกชนิดของ *Acanthamoeba* spp.

ชีวิตของ *Acanthamoeba* spp. พบได้ทั้ง 3 กลุ่มดังนี้ ชีวิตกลุ่มที่ 1 ตรวจพบได้จำนวน

25 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 23.81 โดยที่จังหวัดกาญจนบุรีตรวจพบชีวิตในกลุ่มที่ 1 มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 24 ชีวิตในกลุ่มที่ 2 ตรวจพบจำนวน 29 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.62 จังหวัดนครศรีธรรมราชสามารถตรวจพบชีวิตในกลุ่มนี้มากที่สุดจำนวน 11 ตัวอย่าง จังหวัดขอนแก่น สระบุรีและกาญจนบุรี พบชีวิตของ *Acanthamoeba* spp. ในกลุ่มที่ 3 จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ดังในตาราง 2

ตาราง 2 ความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ที่สำรวจพบจำแนกตามลักษณะของชีวิต

สถานที่เก็บตัวอย่าง	ชีวิตของ <i>Acanthamoeba</i> spp.		
	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3
จันทบุรี	0	3	0
ชลบุรี	2	3	0
นครราชสีมา	0	4	0
ขอนแก่น	2	5	1
อุดรธานี	0	6	0
เชียงใหม่	5	3	0
พิษณุโลก	2	6	0
สระบุรี	2	5	1
สุพรรณบุรี	1	5	1
กาญจนบุรี	6	5	0
ราชบุรี	2	0	0
เพชรบุรี	1	5	0
สุราษฎร์ธานี	2	10	0
นครศรีธรรมราช	0	11	0
สงขลา	0	8	0
รวม	25	79	3

รูปร่างลักษณะของ *Acanthamoeba* spp.

รูปร่างลักษณะของโทรโฟซอइटพบหนามแหลมและมีลักษณะใส มีรูปร่างไม่แน่นอนและมีขนาดใหญ่ รูปร่างลักษณะของชีวิตนี้จัดอยู่

ในกลุ่มที่ 1 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 13–25 ไมโครเมตร โดยเฉลี่ยมากกว่า 18 ไมโครเมตร ผนังชั้นนอกมีผิวเรียบมีระยะห่างออกจากผนังชั้นในอย่างชัดเจนและสัมผัสเพียงบางส่วนเป็นแฉกคล้ายดาวมีแขนหรือรัศมีตั้งแต่ 4 แขนขึ้นไป (ภาพที่ 2ก) รูปร่างลักษณะของซีสต์กลุ่มที่ 2 ผนังชั้นนอกพบทั้งผิวหนาและผิวบางมีลักษณะ

หยักเป็นคลื่น ผนังชั้นในมีรูปร่างหลายแบบไม่แน่นอน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 7–18 ไมโครเมตร โดยเฉลี่ยน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร (ภาพที่ 2ข) กลุ่มที่ 3 ซีสต์มีเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร ผนังชั้นนอกเรียบและบาง (ภาพที่ 2ค)



ภาพที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของซีสต์ใน (ก) กลุ่มที่ 1 (ข) กลุ่มที่ 2 และ (ค) กลุ่มที่ 3 ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำสวนสาธารณะในประเทศไทย

สรุปและอภิปรายผล

ตัวอย่างน้ำทั้งหมด 300 ตัวอย่าง พบ *Acanthamoeba* spp. ทั้งหมด 105 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 35 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด โดยจังหวัดสระบุรีและสงขลาพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 53.33 และจังหวัดนครราชสีมาและราชบุรีตรวจพบเชื้อ *Acanthamoeba* spp. น้อยที่สุด คิดเป็นร้อยละ 13.33 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด โดยสามารถแบ่งเป็นลักษณะซีสต์ที่พบได้ทั้ง 3 กลุ่ม โดยซีสต์กลุ่มที่ 2 ตรวจพบจำนวน 29 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.62 จังหวัดนครศรีธรรมราชตรวจพบซีสต์ในกลุ่มนี้มากที่สุด จำนวน 11 ตัวอย่าง มีอุณหภูมิเฉลี่ย 24.53°C ค่า pH ประมาณ 5.3 ดังนั้นอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-เบสของแหล่งน้ำโดยทั่วไป ผลปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันจากแหล่งน้ำที่พบและไม่พบเชื้อ

การสำรวจครั้งนี้ สามารถจำแนกลักษณะของซีสต์ออกเป็น 3 กลุ่ม โดยใช้วิธีการจำแนกตามหลักการของ Pussard and Pons (1977) พบซีสต์กลุ่มที่ 2 มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานพบ *Acanthamoeba* spp. กลุ่มที่ 2 ในสิ่งแวดล้อมมากที่สุด และเป็นกลุ่มที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อโรคสมองอักเสบแบบแกรนูโลมาตัส (Granulomatous amoebic encephalitis) และโรคกระจกตาอักเสบ (Amoebic keratitis) ในคนมากที่สุด (Khan, 2009) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า *Acanthamoeba* spp. ที่พบในงานวิจัยนี้อาจก่อโรคในคน นอกจากนี้ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nuprasert (2009) ตรวจพบ *Acanthamoeba* spp. ตามแหล่งน้ำต่าง ๆ ในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล และ Wannasan (2010) พบ *Acanthamoeba* spp. ในแหล่งน้ำธรรมชาติของจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งพบ *Acanthamoeba* spp. กลุ่มที่ 2

มากที่สุดเช่นกัน ในส่วนการศึกษาของ Yaicharoen (2007) ตรวจพบซีสต์ในกลุ่มที่ 2 และ 3 จากตัวอย่างฝุ่นภายในและภายนอกอาคารในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล แสดงให้เห็นว่าซีสต์กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่พบได้มากกว่ากลุ่มอื่น ๆ และสามารถพบได้ในสภาพแวดล้อมในแต่ละแห่งมีความแตกต่างกัน จึงมีผลให้ซีสต์แต่ละกลุ่มเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน

ในการศึกษาต่อไปควรจำแนกจีโนไทป์ของ *Acanthamoeba* spp. ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำ โดยใช้ความเหมือนของลำดับเบสใน 18S rRNA gene ว่ามีจีโนไทป์ที่ก่อโรคในคนได้หรือไม่ หากเป็นจีโนไทป์เดียวกัน แสดงว่า มีการแพร่กระจายของ *Acanthamoeba* spp. ในตัวอย่างน้ำสวนสาธารณะ นอกจากนี้ยังควรทดสอบสมบัติ osmotolerance และ thermotolerance ของ *Acanthamoeba* spp. ที่พบจากตัวอย่างน้ำ เพื่อศึกษาว่ามีแนวโน้มที่จะสามารถก่อโรคได้หรือไม่ ซึ่งหากอะแคนทามีบาสามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของเกลือตั้งแต่ร้อยละ 1 ขึ้นไป (osmotolerance) แสดงว่า อะแคนทามีบานี้สามารถทนต่อความเข้มข้นของเกลือในร่างกายคนได้ และหาก *Acanthamoeba* spp. ที่พบในการศึกษานี้สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 37°C (thermotolerance) ซึ่งเป็นอุณหภูมิของร่างกายคน แสดงว่า *Acanthamoeba* spp. จากตัวอย่างน้ำ มีแนวโน้มที่จะเจริญและก่อโรคในคนได้ รวมถึงควรตรวจสอบว่ามีแบคทีเรียหรือไวรัสที่สามารถก่อโรคได้อาศัยอยู่ภายในเซลล์ของ *Acanthamoeba* spp. ที่พบในการศึกษานี้ด้วยหรือไม่ ซึ่งถ้ามีการตรวจพบแบคทีเรียหรือไวรัสก็แสดงว่า *Acanthamoeba* spp. เหล่านี้ยังเป็นโฮสต์ให้กับแบคทีเรียหรือไวรัสก่อโรคด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปีงบประมาณ 2558

เอกสารอ้างอิง

- Chaimongkol, K. (2006). **Protozoa in Public Swimming Pools, Inner Zone, Bangkok.** Master Thesis in Public Health. Bangkok: Mahidol University. (in Thai)
- Khan, N. A. (2009). ***Acanthamoeba: Biology and Pathogenesis.*** Norfolk, UK: Caister Academic.
- Lekkla, A., Sutthikornchai, C., Bovornkitti, S., and Sukthana Y. (2005). Free-living ameba contamination in natural hot springs in Thailand. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health** 4(36): 1–9.
- Migueles, S., and Kumar, P. (1998). Primary cutaneous *Acanthamoeba* Infection in a Patient The patient with AIDS. **Clinical Infectious Diseases** 27(6): 1547–1548.
- Nacapunchai, D., Kino, H., Ruangsitticha, C., Sriwichai, P., Sriwichai, P., Ishih, A., and Terada, M. (2001). A brief survey of free-living amebae in Thailand and Hamamatsu district, Japan. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health** 2(32): 178–182.
- Nuprasert, W. (2009). **Genotyping Analysis of *Acanthamoeba* from Freshwater Sam-**

- ples in Bangkok and Nearby Provinces.** Master Thesis in Medical Parasitology. Bangkok: Chulalongkorn University. (in Thai)
- Passara, P. (2007). **Detection of *Acanthamoeba keratitis* from Contact Lens Storage Cases Using Loop-Mediated Isothermal Amplification Method.** Master Thesis in Public Health. Bangkok: Mahidol University. (in Thai)
- Pussard, M., and Pons, R. (1977). Morphologie de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba* (Protozoa, Amoebida). **Protistologica** 13(4): 557–598.
- Sharma, S., Srinivasan, M., and George, C. (1990). *Acanthamoeba keratitis* in non-contact lens wearers. **Archives of Ophthalmology** 108(5): 676–678.
- Schuster, F. L., and Visvesvara, G. S. (2004). Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. **International Journal for Parasitology** 34(9): 1001–1027.
- Soigliaw, K. (2011). **Distribution of Soil *Acanthamoeba* spp. in Phayathai, Salaya and Kanchanaburi Campuses of Mahidol University.** Retrieved from www.sc.mahidol.ac.th/sciex/Abstract2011/BI/BI-P-09.pdf, February 10, 2014.
- Wannasan A. (2010). *Acanthamoeba*. **Journal of Associated Medical Sciences** 43(1): 20–29.
- Yaicharoen, R., Ngrenngarmert, W., Thongmee, P., and Damsaman, W. (2007). Survey of *Acanthamoeba* spp. in Dust from Bangkok and Suburban Areas **Journal of Associated Medical Sciences** 1(40): 46–53. (in Thai)