



Modification of Polyethylene Tube Culture Technique in Cultivation of Hookworm Larvae

Surapol Sa-nguankiat¹, Wanna Maipanich¹, Tippayarat Yoonuan¹,
Teera Kusolsuk¹, Supalarp Puangsa-art², Wantana Outchareon³,
Thanee Raknam³, Sompan Srinukham³, Suntara Nabangchang³

¹ Department of Helminthology, ² Department of Tropical Hygiene, ³ Hospital for
Tropical Diseases, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University,
420/6 Ratchawithi Road, Bangkok 10400, Thailand

Abstract

Cultivation is a good technique for obtaining hookworm larvae from a fecal sample. Polyethylene tube cultivation is practical for field studies, since the materials and prepared samples are easily handled during transportation. However, one limitation is the high cost of filter paper. If a suitable replacement can be found, and clean drinking water can be used in the process, this method can be used in remote areas where laboratory supplies are scarce. Four kinds of paper—filter paper, copy paper, paper towel, and absorbent paper, were tested for their comparative usefulness in harvesting hookworm larvae in normal saline, distilled water, and bottled drinking water. In each test, 330 mg of feces from a hookworm-infected person were smeared onto the paper and retained in the polyethylene tube with the designated water solution. The presence and number of larvae were observed at days 5, 7, and 10. It was found that copy paper and distilled water yielded the highest number of larvae. A low survival rate was noted at day 10. Therefore, for identification or further study, cultured hookworm larvae should be observed and collected on day 7.

Keywords: polyethylene tube, cultivation, hookworm larvae, copy paper, distilled water

คำนำ

พยาธิปากขอ มีการแพร่กระจายอยู่ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะหลายพื้นที่ของจังหวัดทางภาคใต้ ที่ยังพบประชาชนเป็นโรคพยาธิปากขอ ในอัตราและความรุนแรงที่สูงในพื้นที่ที่ได้รับการรักษาแบบเฉพาะกลุ่ม (Targeted treatment) แล้ว ประชาชนร้อยละ 16.2 ไม่เคยได้รับการตรวจอุจจาระและรักษาโรคพยาธิปากขอ [1] อัตราการติดเชื้อซ้ำ พบมากในกลุ่มบุคคลที่มีความรุนแรงของโรค ปานกลางและสูง [2] การวินิจฉัย

ผู้ที่ติดเชื้อพยาธิปากขอ ทำได้โดยการตรวจพบไข่หรือตัวอ่อนของพยาธิ ที่ปะปนออกมากับอุจจาระ โดยวิธี Direct smear และ/หรือ Kato's thick smear แต่ในผู้ป่วยบางรายที่มีไข่พยาธิจำนวนน้อยๆ ในอุจจาระก็ไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยวิธีดังกล่าว ปัจจุบันการตรวจโรคพยาธิปากขอ ด้วยวิธีการเพาะเชื้อบนกระดาศกรอง Harada-Mori cultivation technique [3] พบว่ามีประสิทธิภาพสูงกว่าวิธีอื่นๆ [4,5] วิธีนี้ยังสามารถตรวจพบตัวอ่อนพยาธิ *Strongyloides* และตัวอ่อน *Trichostrongylus* ในอุจจาระอีกด้วย การตรวจเพาะเชื้อตัวอ่อนของพยาธิที่มีข้อจำกัดคือ ใช้ตรวจได้เฉพาะพยาธิที่สามารถฟักตัวได้บนพื้นดินเท่านั้น กระดาศกรองที่ใช้เปรียบเสมือนดินที่ขึ้นเพื่อให้พยาธิเจริญเติบโต การเพาะเชื้อพยาธิปากขอ ทำให้สามารถแยกชนิดตัวอ่อนว่าเป็นชนิด *Necator* หรือชนิด *Ancylostoma* โดยดูจากลักษณะของตัวอ่อน

Correspondence:

Wanna Maipanich,

Email: ctmwmp@mahidol.ac.th

ในระยะ filariform พยาธิทั้งสองชนิดนี้จะแตกต่างกันที่ความยาวลำตัว ลักษณะรูปร่างของหลอดอาหารและปลายหาง ปลายของปลอกหุ้มตัว และความกว้างของรอยต่อระหว่างหลอดอาหารส่วนปลายและลำไส้ [6] การแยกชนิดของพยาธิปากขอ มีประโยชน์ในด้านการรักษา ทำให้แพทย์สามารถเลือกยาในการรักษาผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง [7] นอกจากนี้การเพาะเชื้อโดยวิธีนี้ ยังสามารถใช้ในการเก็บรวบรวมตัวอ่อนของพยาธิได้จำนวนมากกว่าวิธีอื่น โดยตัวอ่อนที่ได้จะมีลักษณะสมบูรณ์ แข็งแรง สะอาด และมีจำนวนมากพอสำหรับงานสอน งานวิจัย การตรวจวินิจฉัยโรคโดยเฉพาะงานด้านอิมมูโนวินิจฉัย เป็นต้น

วิธีการที่นิยมใช้ในการเพาะเชื้อพยาธิปากขอ คือ Polyethylene tube cultivation โดยใช้ถุงพลาสติกแทนหลอดแก้ว ซึ่งเหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูง ในการหาอัตราการติดเชื้อโรคพยาธิปากขอในชุมชน แต่เนื่องจากอุปกรณ์หลักที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ คือ กระดาษกรองและน้ำกลั่น กระดาษกรองเป็นวัสดุที่มีราคาแพง และน้ำกลั่น ซึ่งต้องจัดเตรียมไปจากห้องปฏิบัติการ ทำให้ไม่สะดวกในการปฏิบัติงานจริงในบางโอกาส หากเราสามารถนำกระดาษชนิดอื่นและน้ำสะอาด มาทดแทนวัสดุเหล่านี้ได้ จะทำให้การปฏิบัติงานในพื้นที่สะดวกยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการศึกษา เพื่อต้องการดัดแปลงวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงไข่พยาธิปากขอ ให้เหมาะสมสำหรับการปฏิบัติงานในพื้นที่ โดยที่วิธีประยุกต์นี้ยังคงประสิทธิภาพสูงเช่นเดียวกับวิธีเดิม

วัสดุและวิธีการศึกษา

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษาวิจัย คือ อุจจาระที่มีไข่พยาธิปากขอ ภาควิชาปรสิตหนอนพยาธิ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล มีการศึกษาวิจัยเรื่อง โรคหนอนพยาธิที่แพร่เชื้อผ่านทางดิน ในจังหวัดนครศรีธรรมราช และพบว่าในพื้นที่อำเภอท่าศาลา จังหวัดนครศรีธรรมราช มีประชากรเป็นโรคพยาธิปากขอในอัตราที่สูง (40.8%) ดังนั้นคณะผู้วิจัย จึงเก็บตัวอย่างอุจจาระจากผู้ป่วยโรคพยาธิปากขอ จำนวน 1 ราย ที่มีไข่พยาธิปากขอเพียงชนิดเดียวในอุจจาระ จำนวนไข่พยาธิเท่ากับ 3,048 ใบ ในอุจจาระ 1 กรัม ลักษณะความแข็ง-เหลวของอุจจาระอยู่ในระดับ mushy stool น้ำหนักรวมของอุจจาระที่ใช้ในการทดลองประมาณ 100 กรัม ระหว่างการทดลองบันทึกค่าอุณหภูมิทุกวัน ณ เวลา 8.00 น. 12.00 น. และ 24.00 น. เพื่อหาค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิขณะทำการทดลอง การทดลองนี้กระทำในห้องปฏิบัติการชั่วคราว อำเภอนาบอน จังหวัดนครศรีธรรมราช

การทดลองใช้วิธี Polyethylene tube culture technique ในการเพาะเชื้อพยาธิปากขอ กระดาษชนิดต่างๆ ที่เลือกใช้ คือ 1. กระดาษกรอง (Whatman No. 2) 2. กระดาษอัดสำเนา (A4) ขนาด 80 กรัม (ผลิตโดยบริษัทแอ็ดวานซ์ เปเปอร์ จำกัด) 3. กระดาษเอนกประสงค์ และ 4. กระดาษซับ น้ำที่ใช้ทดสอบคือ 1. น้ำกลั่น 2. น้ำเกลือ (0.85% NaCl) และ 3. น้ำดื่มตราสิงห์ มีการตรวจสอบค่า pH ของน้ำทุกชนิด ก่อนทำการทดสอบ และหลังจากการใส่กระดาษลงในน้ำประมาณ 10 นาที การทดลองได้กำหนดรูปแบบดังนี้

การทดลองที่ 1	กลุ่มที่ 1	1	กระดาษกรอง	+	น้ำเกลือ
		2	กระดาษกรอง	+	น้ำกลั่น
		3	กระดาษกรอง	+	น้ำดื่มตราสิงห์
การทดลองที่ 2	กลุ่มที่ 1	1	กระดาษอัดสำเนา	+	น้ำเกลือ
		2	กระดาษอัดสำเนา	+	น้ำกลั่น
		3	กระดาษอัดสำเนา	+	น้ำดื่มตราสิงห์
การทดลองที่ 3	กลุ่มที่ 1	1	กระดาษเอนกประสงค์	+	น้ำเกลือ
		2	กระดาษเอนกประสงค์	+	น้ำกลั่น
		3	กระดาษเอนกประสงค์	+	น้ำดื่มตราสิงห์
การทดลองที่ 4	กลุ่มที่ 1	1	กระดาษซับ	+	น้ำเกลือ
		2	กระดาษซับ	+	น้ำกลั่น
		3	กระดาษซับ	+	น้ำดื่มตราสิงห์

หมายเหตุ ทำการตรวจนับตัวอ่อนพยาธิปากขอ ในวันที่ 5, 7 และ 10 หลังการเพาะเลี้ยงเชื้อ

การกำหนดน้ำหนักอุจจาระที่ใช้ในการทดสอบ ได้กระทำล่วงหน้า ดังนี้ นำกระดาษแข็งหนา 1.3 มิลลิเมตร ขนาดความกว้าง 3 เซนติเมตร ความยาว 4 เซนติเมตร มาเจาะรูไว้ตรงกลาง ขนาดของรูเท่ากับ 6.4 มิลลิเมตร นำกระดาษแข็งนี้วางบนแผ่นสไลด์ อุจจาระที่ต้องการนำมาชั่งน้ำหนัก ต้องนำมากรองกากและเส้นใยออกก่อน โดยวางตะแกรงลวดทับลงไปตามก่อนอุจจาระตัวอย่าง

ใช้ไม้ไผ่กดลงบนตะแกรง เพื่อให้เนื้ออุจจาระถูกดันให้ขึ้นมาข้างด้านบนของตะแกรง ปาดอุจจาระที่อยู่บนตะแกรงด้วยไม้ไผ่ นำไปใส่ลงในรูของกระดาษแข็งที่ได้เตรียมไว้ล่วงหน้าจนเต็ม ปาดผิวหน้าของอุจจาระให้เรียบเสมอกับหน้ากระดาษ ยกกระดาษแข็งออก จะได้อุจจาระค้างอยู่บนแผ่นสไลด์ นำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักอุจจาระบนสไลด์ จากการใช้กระดาษแข็งดังกล่าว จึงได้ค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 1 ค่า pH ของกระดาดและน้ำ ที่ใช้ในการทดลอง

ชนิดของกระดาด	น้ำกลั่น	น้ำเกลือ	น้ำดื่มตราสิงห์
ไม่มีกระดาด	5.56	6.78	7.96
กระดาดกรอง	6.94	7.88	7.92
กระดาดอัดสำเนา	6.55	7.40	7.90
กระดาดซับ	6.08	6.62	7.91
กระดาดเอนกประสงค์	6.58	7.04	7.78

ตารางที่ 2 ค่าของอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง (°C)

วันที่	8.00 น.	12.00 น.	24.00 น.
1	24	32	28
2	25	33	28
3	26	34	28.5
4	25	34.5	28.5
5	24.5	35	28.5
6	25.5	33	28.5
7	26	33	28
8	24.5	33.5	28
9	23.5	34	28
10	24	35	28.5
11	23	34	28
ค่าเฉลี่ยแต่ละช่วงเวลา	24.6	33.7	28.2
ค่าเฉลี่ยรวม = 28.83			

น้ำหนักอุจจาระในการเตรียมแต่ละครั้ง เท่ากับ 33.3 มิลลิกรัม ในการทดลองปริมาณอุจจาระที่ใช้ในทุก ๆ กลุ่ม จะมีน้ำหนักเท่า ๆ กัน คือ 330 มิลลิกรัม วิธีการคือ เตรียมอุจจาระปริมาณ 330 มิลลิกรัม ไว้บนแผ่นกระดาดทดสอบที่มีขนาด 4x15 เซนติเมตร ป้ายอุจจาระลงบนผิวกระดาดให้เรียบเสมอกัน โดยให้ชิดปลาย ด้านหนึ่ง การป้ายอุจจาระจะใช้พื้นที่ประมาณ 2/3 ของความยาว ขอบกระดาด ดังนั้นจะมีพื้นที่ของกระดาดที่ว่างเหลืออยู่ประมาณ 1/3 จากนั้นจึงพับกระดาดที่ป้ายอุจจาระไว้แล้ว โดยให้ด้านที่มี

อุจจาระอยู่ด้านใน ใส่กระดาดลงในหลอด Polyethylene ที่บรรจุ น้ำไว้ประมาณ 2 มิลลิตร โดยใช้ปลายด้านที่ไม่มีอุจจาระจุ่มลงไป จนถึงก้นหลอด พับปลายหลอด Polyethylene หลาย ๆ หลอด รวมกัน ใช้คลิปหนีบและแขวนแยกตามกลุ่มทดสอบ ตั้งทิ้งไว้ใน อุณหภูมิห้อง หลังการเพาะเลี้ยงเชื้อ 5, 7 และ 10 วัน ตรวจสอบ จำนวนตัวอ่อนพยาธิปากขอทั้งหมด จากทุกกลุ่มทดสอบ กลุ่ม ละ 6 ตัวอย่าง บันทึกจำนวนตัวอ่อนที่มีชีวิต และจำนวนตัวอ่อน ที่ตาย ทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Mann Whitney U test

ตารางที่ 3 จำนวนตัวอ่อนของพยาธิปากขอ ที่ตรวจพบในวันที่ 5

กระดาด+น้ำ	จำนวนตัวอ่อนที่พบในแต่ละตัวอย่างตรวจ						รวม	ค่าเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อน	P-value
	1	2	3	4	5	6				
A + NSS	10	20	20	30	40	10	130	21.6	0	0.008
A + DW	280	210	30	70	450	240	1280	213.3	4	กลุ่มควบคุม ¹
A + SW	110	100	220	160	140	120	850	141.6	4	0.423
B + NSS	10	20	10	30	30	60	160	26.6	0	0.010
B + DW	810	210	780	900	660	150	3,510	585.0	3	0.092
B + SW	260	200	80	20	30	30	620	103.3	4	0.147
C + NSS	0	10	30	0	10	0	50	8.3	0	0.005
C + DW	40	180	10	250	10	20	510	85.0	4	0.078
C + SW	0	50	100	110	0	10	270	45.0	4	0.037
D + NSS	20	0	0	20	10	0	50	8.3	0	0.004
D + DW	130	200	60	190	90	60	730	121.7	2	0.199
D + SW	250	150	210	180	250	270	1,310	218.3	4	0.930

A = กระดาดกรอง, B = กระดาดอัดสำเนา, C = กระดาดเอนกประสงค์, D = กระดาดขับ, NSS = 0.85% NaCl, DW = น้ำกลั่น, SW = น้ำดื่มตราสิงห์, 1 = กลุ่มควบคุมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกับทุกกลุ่ม ด้วยวิธี Mann Whitney U test

ตารางที่ 4 จำนวนตัวอ่อนของพยาธิปากขอ ที่ตรวจพบในวันที่ 7

กระดาด+น้ำ	จำนวนตัวอ่อนที่พบในแต่ละตัวอย่างตรวจ						รวม	ค่าเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อน	P-value
	1	2	3	4	5	6				
A + NSS	260	80	130	90	160	210	930	155.0	30	0.037
A + DW	420	180	230	280	190	320	1,620	270.0	25	กลุ่มควบคุม ¹
A + SW	440	160	50	130	180	140	1,100	183.3	30	0.065
B + NSS	30	120	10	60	40	50	310	51.7	25	0.004
B + DW	870	880	1,360	560	750	920	5,340	890.0	25	0.004
B + SW	360	440	190	250	300	180	1,720	286.7	25	0.748
C + NSS	100	50	40	60	70	30	350	58.3	25	0.004
C + DW	70	50	110	120	90	100	540	90.0	20	0.004
C + SW	80	20	50	60	40	90	340	56.7	25	0.004
D + NSS	220	700	100	90	280	160	1,550	258.3	30	0.297
D + DW	420	650	320	240	390	410	2,430	405.0	20	0.077
D + SW	340	860	260	290	240	300	2,290	381.7	25	0.262

A = กระดาดกรอง, B = กระดาดอัดสำเนา, C = กระดาดเอนกประสงค์, D = กระดาดขับ, NSS = 0.85% NaCl, DW = น้ำกลั่น, SW = น้ำดื่มตราสิงห์, 1 = กลุ่มควบคุมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกับทุกกลุ่ม ด้วยวิธี Mann Whitney U test

ตารางที่ 5 จำนวนตัวอ่อนของพยาธิปากขอ ที่ตรวจพบในวันที่ 10

กระดาดน้ำ	จำนวนตัวอ่อนที่พบในแต่ละตัวอย่างตรวจ						รวม	ค่าเฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอ่อน	P-value
	1	2	3	4	5	6				
A + NSS	290	220	300	340	330	500	1,980	330.0	90	0.688
A + DW	250	190	420	160	580	330	1,930	321.7	80	กลุ่มควบคุม ¹
A + SW	400	120	390	510	80	320	1,820	303.3	85	
B + NSS	170	110	90	160	150	140	820	136.7	90	0.008
B + DW	900	680	870	740	1,470	1,690	6,350	1,058.3	85	0.004
B + SW	560	440	480	620	680	430	3,210	535.0	80	0.025
C + NSS	30	0	70	20	50	110	280	46.7	100	0.004
C + DW	440	190	40	600	60	660	1,990	331.7	90	0.936
C + SW	160	50	10	80	200	580	1,080	180.0	100	0.108
D + NSS	260	310	240	320	280	610	2,020	336.7	85	0.749
D + DW	420	450	490	610	560	420	2,950	491.7	80	0.053
D + SW	360	290	410	420	380	580	2,440	406.7	90	0.261

A = กระดาดกรอง, B = กระดาดอัดสำเนา, C = กระดาดเอนกประสงค์, D = กระดาดขับ, NSS = 0.85% NaCl, DW = น้ำกลั่น, SW = น้ำดื่มตราสิงห์, 1 = กลุ่มควบคุมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกับทุกกลุ่ม ด้วยวิธี Mann Whitney U test

ผลการศึกษา

pH ของน้ำกลั่น มีค่าต่ำที่สุดคือ 5.56 เมื่อใส่กระดาดลงในน้ำที่ใช้ในการทดลอง จะทำให้ค่า pH เปลี่ยนไป (ตารางที่ 1) ในขณะทำการทดลองอุณหภูมิช่วงเวลา 8.00 น. จะต่ำสุด (ระหว่าง 23-26°C) อุณหภูมิเวลา 12.00 น. จะสูงขึ้น (ระหว่าง 32-35°C) และในเวลา 24.00 น. อุณหภูมิจะลดลงอีกครั้ง (ระหว่าง 28-28.5°C) ค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิในแต่ละช่วงเวลา เท่ากับ 24, 33.7 และ 28.2°C ตามลำดับ (ตารางที่ 2) โดยมีค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิห้องที่ 28.8°C

จากการทดสอบค่าด้วยวิธีทางสถิติ (Mann Whitney U test) ยืนยันว่าการใช้กระดาดอัดสำเนาจุ่มในน้ำกลั่น (B+DW) เพาะเลี้ยงเชื้อพยาธิปากขอ ให้ผลดีกว่าการใช้กระดาดชนิดอื่นๆ จริง โดยเปรียบเทียบจำนวนพยาธิกับกลุ่มควบคุม (A+DW) จากตารางที่ 3 จำนวนตัวอ่อนที่พบในวันที่ 5 ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (585.0 vs 213.3) ($p > 0.05$) จากตารางที่ 4 และ 5 ในวันที่ 7 และ 10 ตามลำดับ จำนวนตัวอ่อนที่เพาะเลี้ยงในกระดาดอัดสำเนาจุ่มในน้ำกลั่น มีจำนวนมากกว่ากลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญ (จำนวนพยาธิตัวอ่อนในวันที่ 7 คือ 890.0 vs 270.0 และในวันที่ 10 คือ 1,058.3 vs 321.7) ($p < 0.01$) ส่วนกลุ่มทดลองอื่นๆ จำนวนตัวอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยง ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่บางกลุ่มทดลอง จำนวนตัวอ่อนพยาธิที่พบ น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน และมีนัยสำคัญด้วย

วิจารณ์ผลการศึกษา

ในการทดสอบวิธีการเพาะเลี้ยงนี้ ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิห้องคือ 28.8°C ซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของไข่พยาธิปากขอชนิด *Necator* [8] ส่วนค่า pH ของน้ำอาจมีผลต่อการเจริญเติบโตของไข่ได้เช่นกัน น้ำกลั่นซึ่งมีค่า pH ต่ำที่สุดทั้งก่อนและหลังการใส่กระดาดลงไป และกระดาดที่มีผิวหน้ากระดาดเรียบและสม่ำเสมอ เมื่อกระดาดแน่น อาจทำให้จุลจากระยิบบนแผ่นกระดาดได้ดี ไม่หล่นลงน้ำขณะเพาะเลี้ยงเชื้อ น้ำที่ปนเปื้อนเศษจุลจากระยิบจะเน่าเสีย ทำให้ตัวอ่อนที่ฟักออกมาตายได้ ความหนาแน่นของเนื้อกระดาด ยังอาจส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของตัวอ่อนจากกระดาดลงสู่ น้ำ กระดาดที่ผิวหน้าเรียบและเนื้อกระดาดแน่น อาจทำให้ตัวอ่อนพยาธิเคลื่อนที่ได้รวดเร็วกว่าบนผิวกระดาดซึ่งมีลักษณะขรุขระ เนื้อกระดาดไม่แน่น ทำให้ตัวอ่อนพยาธิบางส่วนอาจไม่สามารถเคลื่อนลงมาสู่ น้ำได้ และอาจตายอยู่บริเวณฟิล์มจุลจากระ

ในการศึกษานี้ ใช้ตัวอย่างจากผู้ป่วยรายเดียวกัน ดังนั้นชนิดของกระดาดและน้ำ จึงเป็นตัวแปรสำหรับจำนวนตัวอ่อนพยาธิที่พบจากการทดลอง จากผลการศึกษาพบว่า การเพาะเลี้ยงเชื้อในน้ำกลั่นโดยใช้กระดาดอัดสำเนา ให้ผลดีที่สุด คือได้จำนวนตัวอ่อนพยาธิมากที่สุด และการมีชีวิตของตัวอ่อนมากกว่าการทดสอบในกลุ่มอื่น การตรวจและเก็บพยาธิปากขอ ควรกระทำในวันที่ 7 หลังการเพาะเชื้อ เนื่องจากตัวอ่อนพยาธิปากขอเจริญเต็มที่ และตัวอ่อนที่มีชีวิตมีจำนวนมาก

กระดาดสดตำเนย มีราคาถูกและหาง่าย น้ำดื่มตราสิงห์หรือน้ำดื่มสะอาดบรรจุขวด ก็หาซื้อได้ทั่วไป สามารถนำมาใช้เพาะเลี้ยงพยาธิปากขอได้ดีเช่นเดียวกัน ดังนั้นอุปกรณ์ที่จำเป็นและมีราคาแพงจากห้องปฏิบัติการ จึงทดแทนด้วยวัสดุซึ่งหาได้ง่าย แสดงว่าผลการทดลอง นำมาประยุกต์ในการเพาะเลี้ยงเชื้อพยาธิปากขอ ทั้งในห้องปฏิบัติการและในการปฏิบัติงานภาคสนามได้จริง โดยยังมีประสิทธิภาพสูงเช่นเดียวกับวิธีเดิม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอกราบขอบพระคุณที่ปรึกษาคณะเวชศาสตร์เขตร้อน ศาสตราจารย์เกียรติคุณคุณชัชวาล บุญนาท ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำในกระบวนการศึกษาวิจัยจนเสร็จสิ้นโครงการ ขอขอบคุณคุณสุวิชาติ มงคลหมู่ คุณรังสรรค์ แพ้วาณิชย์ คุณจริเมศ หลิมสมบูรณ์ และคุณมนัส แก้วพูลศรี ที่ร่วมงานตรวจทางห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณเป็นพิเศษ สำหรับท่านผู้อำนวยการสวนยางนาบอน คุณสมนึก วงศ์สุวรรณ ที่ได้อนุเคราะห์สถานที่ในการปฏิบัติงานครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. ประกาศรี จงสุขสันติกุล, ธนวรรณ อิ่มสมบูรณ์, ภาดาณี จิระดิษฐ์, ประสิทธิ์ สุรัตนวนิช. การประเมินผลงานควบคุมโรคหนอนพยาธิได้แก่ภาคใต้ ปี 2538. วารสารวิชาการสาธารณสุข. 2540;6:230-40.
2. Jongsuksantikul P, Manatrakul S, Wonsaroj S. Evaluation of the helminthiasis control program in Thailand at the end of the 8th Health Development Plan, 2001. J Trop Med Parasitol. 2003;26:38-46.
3. Harada Y, Mori O. A new method for culturing hookworm. Yonago Acta Med. 1951;1:177.
4. Komiyama Y, Kobayashi A. Evaluation of Kato thick smear technique with a cellophane cover for helminth eggs in faeces. Jpn J Med Sci Biol. 1966;19.
5. Kitvanachai S, Pipitgool V. Efficacy of three methods in the detection of hookworm and *Strongyloides stercoralis* infections. J Trop Med Parasitol. 1999;22:80-1.
6. Sesa M, Mitsui G, Harinasuta C, Vajrasthira S. A polyethylene-tube culture method for diagnosis of parasite infection by hookworm and related nematodes. Jap J Exp Med. 1965;1:177.
7. Cabrera BD. Species determination of human hookworm using the polyethylene-tube culture technique in selected area in the Philippines. In: Yokogawa M, et al, editors. Collected Papers on the Control of Soil-transmitted Helminthiasis Vol II; 1983; Tokyo, Japan. p. 11-8.
8. Chandler AC, Read CP. Introduction to parasitology. 10th ed. New York: John Wiley & Sons, 1961.