



การสำรวจหาเชื้ออะแคนทามีบาจากแหล่งดินโดยวิธีเพาะเลี้ยงในจังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย

Survey of Free-living Amoeba from Soil Sources using Culture Method

in Narathiwat Province, Thailand

เครือวัลย์ ห้วนกิ่ง^{1*}, พนม สุขจันทร์¹, เพ็ญพร สุจิตต์นารัตน์¹,

ณัฐกาญจน์ แดงมณี², พีรพล สรยง³

Kruawan Hounkong^{1*}, Phnom Sukchan¹, Penporn Sujitwanarat¹,

Nattakan Dangmanee², Peerapon Sornying³

(Received: August 10, 2020; Revised: October 8, 2020; Accepted: November 6, 2020)

บทคัดย่อ

อะแคนทามีบาเป็นโปรโตซัวที่ดำรงชีวิตอย่างอิสระสามารถพบได้ตามธรรมชาติ สามารถทำให้เกิดโรคกระจกตาอักเสบ (*Acanthamoeba keratitis*) และสมองอักเสบชนิดแกรนูโลมา (Granulomatous Amoebic Encephalitis) ในมนุษย์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจหาความชุกของ *Acanthamoeba* spp. จากตัวอย่างดินโดยวิธีการเพาะเลี้ยงในอำเภอบาเจาะ ยี่งอ และระแงะ จังหวัดนราธิวาส การจำแนกกลุ่มใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของซิสต์ตามวิธีการของ Pussard และ Pons ผลการศึกษาพบ *Acanthamoeba* spp. ร้อยละ 73.33 จากดิน 60 ตัวอย่าง ซึ่งความชุกไม่มีความแตกต่างกันในพื้นที่เก็บตัวอย่างแต่ละอำเภอ ($p>0.05$) เมื่อจัดจำแนกกลุ่มซิสต์พบซิสต์กลุ่ม 3 มากที่สุดทั้ง 3 อำเภอ โดยอำเภอ ยี่งอพบมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 45 ส่วนอำเภอระแงะ และอำเภอบาเจาะ คิดเป็นร้อยละ 35 และ 30 ตามลำดับ รองลงมาคือ ซิสต์กลุ่ม 2 พบในอำเภอระแงะ คิดเป็นร้อยละ 25 และพบซิสต์กลุ่ม 1 ในอำเภอบาเจาะ คิดเป็นร้อยละ 15 การศึกษาครั้งนี้นับได้ว่าเป็นการรายงานความชุกของ *Acanthamoeba* spp. จากตัวอย่างดินครั้งแรกในจังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย และจากผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าจำเป็นต้องให้ความสนใจในการป้องกันมากขึ้น เนื่องจากอาจทำให้ประชาชนในพื้นที่มีโอกาสติดเชื้อจากแหล่งดินนั้นได้

คำสำคัญ: อะมีบาที่อาศัยอยู่อย่างอิสระ อะแคนทามีบา ดิน นราธิวาส

¹คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹Faculty of medicine, Princess of Naradhiwas University

²คณะอุตสาหกรรมเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

²Faculty of Agro and Bio Industry, Thaksin University

³คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

³Faculty of Veterinary Science, Prince of Songkla University

Corresponding Author: kruawan.h@pnu.ac.th



Abstract

Acanthamoeba spp. are free-living amoeba found in the natural environment *Acanthamoeba* spp. can cause *Acanthamoeba* keratitis (AK) and Granulomatous Amoebic Encephalitis (GAE) in human. The aim of this study was to survey the prevalence of *Acanthamoeba* spp. from soil samples including Bacho, Yi-ngo and Ra-ngae district in Narathiwat province, Thailand by culture method. Identification of *Acanthamoeba* strains was based on the morphology of the cyst forms according to the criteria given by Pussard and Pons. Of the 60 soil samples, the result showed that the overall prevalence of *Acanthamoeba* spp. was 73.3%. No significant difference in prevalence was found on sampling areas in each district ($p>0.05$). Based on Pussard and Pons classification, the most *Acanthamoeba* cysts were classified as group III in all of the 3 districts. The highest cyst number was found in Yi-ngo district at 45 percent while Ra-ngae and Bacho district were 35 and 30 percent, respectively, followed by group II that was found in Ra-ngae district at 25 percent. In addition, group I was found in Bacho district at 15 percent. This is the first report of *Acanthamoeba* spp. from soil sources in Narathiwat province of Thailand, and the results suggest that more attention is needed to protect, which might be the population in the areas can infect *Acanthamoeba* spp.

Keywords: Free-living amoeba, *Acanthamoeba* spp., soil, Narathiwat

บทนำ

Acanthamoeba spp. เป็นโปรโตซัวที่ดำรงชีวิตอย่างอิสระ (free living amoeba; FLA) ในสิ่งแวดล้อม สามารถมีชีวิตรอดและเพิ่มจำนวนได้โดยไม่อาศัยโฮสต์ พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ เช่น แหล่งน้ำตามธรรมชาติ แม่น้ำ สระว่ายน้ำ ดิน ฝุ่นละออง และสามารถพบในคอนแทกเลนส์ (Trabelsi et al., 2012) เชื้อ *Acanthamoeba* spp. มีวงจรชีวิต 2 ระยะประกอบด้วยระยะโทรโฟซอยต์ (trophozoite) และระยะซีสต์ (cyst) โดยระยะโทรโฟซอยต์มีขนาด 12-35 ไมโครเมตร มีนิวเคลียส 1 อัน ใช้ขาเทียม (pseudopodia) ที่มีลักษณะคล้ายหนามแหลม (Acanthapodia) ในการเคลื่อนที่ซึ่งเป็นระยะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและกินแบคทีเรียเป็นอาหาร ส่วนระยะซีสต์มีขนาดต่างกันตั้งแต่ 10-35 ไมโครเมตร มีผนัง 2 ชั้น ได้แก่ ผนังชั้นนอก (Ectocyst) และผนังชั้นใน (Endocyst) แยกจากกันชัดเจน โดยลักษณะของผนังซีสต์สามารถใช้ในการจำแนกกลุ่มของ *Acanthamoeba* spp. ออกเป็น 3 กลุ่มตามการจัดจำแนกของ Pussard & Pons (1977) ระยะซีสต์เป็นระยะที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งและพบได้ในอากาศจึงสามารถแพร่กระจายไปสู่สิ่งแวดล้อมได้ (Siddiqui & Khan, 2012) และยังพบว่า



Acanthamoeba spp. เป็นโปรโตซัวฉวยโอกาสที่มีบทบาทสำคัญในการก่อโรคในมนุษย์ ได้แก่ โรคกระจกตาอักเสบ (*Acanthamoeba keratitis*: AK) ทำให้เกิดการติดเชื้อในกระจกตาของมนุษย์นำไปสู่การอักเสบของคอร์เนียตาซึ่งอาจทำให้ผู้ป่วยตาบอดได้ (Lorenzo-Morales, Khan, & Walochnik, 2015) จากรายงานการติดเชื้อ *Acanthamoeba* ของผู้ที่ใส่คอนแทกเลนส์ในประเทศสหรัฐอเมริกา พบผู้ติดเชื้อ 1 ถึง 2 รายต่อล้านคนต่อปีในคนที่ใส่คอนแทกเลนส์และ *Acanthamoeba* spp. ยังก่อให้เกิดโรคสมองอักเสบชนิดแกรนูโลมา (Granulomatous Amoebic Encephalitis: GAE) ทำให้สมองอักเสบ ผู้ป่วยมีการบวมของเนื้อสมอง ความดันในสมองเพิ่มขึ้น ชักและเสียชีวิตในที่สุด โดยพบน้อยกว่าหรือเท่ากับ 200 รายทั่วโลก (Diaz, 2010) นอกจากนี้ยังพบว่า *Acanthamoeba* spp. ยังเป็นพาหะและแหล่งสะสมของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Legionella* sp. (Scheikl et al., 2014)

ในประเทศไทยเริ่มมีรายงานพบผู้ป่วย AK จำนวน 2 รายที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในปี พ.ศ. 2531 และ พ.ศ. 2533 ตามลำดับ (Jongwutiwes, Pariyakanok, Charoenkorn, Yagita, & Endo, 2000) ต่อมาพบรายงานการเสียชีวิตของผู้ป่วย GAE จากการติดเชื้อ *Acanthamoeba* spp. ที่สมองครั้งแรกในปี พ.ศ. 2535 ที่โรงพยาบาลศิริราช (Jariya, Lerlaituan, & Warachoon, 1992) นอกจากนี้มีการสำรวจพบอะมีบาที่ดำรงชีพอิสระในแหล่งดินร้อยละ 48 และน้ำร้อยละ 36 (Nacapunchai, et al., 2001) ในปี พ.ศ. 2548 มีรายงานการสำรวจอะมีบาที่ดำรงชีพอิสระในน้ำพุร้อนตามธรรมชาติพบ *Acanthamoeba* spp. ร้อยละ 13.2 (Lekkla, Sutthikornchai, Bovornkitti, & Sukthana, 2005) รวมทั้งการพบ *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่นจากสิ่งแวดล้อมเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ร้อยละ 26.1 ในปี พ.ศ. 2550 (Yaicharoen, Ngrenngarmert, Thongmee, & Damsaman, 2007) และในจังหวัดเชียงใหม่มีรายงานพบ free-living amoeba ในแหล่งน้ำธรรมชาติถึงร้อยละ 71.4 ซึ่งเป็น *Acanthamoeba* spp. ร้อยละ 14.3 (Wannasan, Chaiwong, Bunchoo, & Morakote, 2009) อย่างไรก็ตาม *Acanthamoeba* spp. พบได้ทั่วไปแต่ในประเทศไทยมีการศึกษาความชุกและการกระจายตัวของ *Acanthamoeba* spp. ยังไม่มากนักโดยเฉพาะในดินและในพื้นที่จังหวัดนราธิวาสยังไม่พบรายงานนี้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจความชุกของ *Acanthamoeba* spp. โดยวิธีการเพาะเลี้ยงจากตัวอย่างดินจากแหล่งต่าง ๆ ในจังหวัดนราธิวาส โดยอาศัยการจำแนกรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชีสต์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสำรวจ free-living amoeba จากตัวอย่างดินโดยวิธีการเพาะเลี้ยงในจังหวัดนราธิวาสและศึกษาว่าเป็น *Acanthamoeba* spp. โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของชีสต์
2. เพื่อหาอัตราความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ในแหล่งดินต่าง ๆ ในจังหวัดนราธิวาส



วิธีการวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยครั้งนี้เป็นการสำรวจตัวอย่างดินใน 3 อำเภอของจังหวัดนราธิวาส ได้แก่ อำเภอช้างเผือก อำเภอบาเจาะ และอำเภอระแงะ เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2562 ขนาดของตัวอย่างคำนวณจากสูตรเพื่องานสำรวจและไม่ทราบประชากร จึงประมาณการขนาดตัวอย่างที่ต้องเก็บอย่างน้อย 46 ตัวอย่าง

$$n = \frac{Z^2_{a/2}(p)(1-p)}{e^2}$$

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

$$n = 46$$

เมื่อ n = ขนาดประชากรที่ต้องการ

z = ค่าคงที่ กำหนดระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 = 1.96

p = ความชุกของ *Acanthamoeba* spp. จากข้อมูลการสำรวจ *Acanthamoeba* spp. จากแหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทย = ร้อยละ 14.3 (Wannasan et al., 2009)

e = ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับร้อยละ 10 = 0.10

ตัวอย่างดินทั้งหมดจำนวน 60 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างดิน 20 ตัวอย่างในแต่ละอำเภอ ตัวอย่างละ 5 กรัม โดยเก็บจากดินชั้นบน (0-10 เซนติเมตร) (Denet et al., 2017) ซึ่งเป็นดินที่อยู่ใกล้บริเวณแหล่งน้ำหรือดินที่มีความชื้น มีทั้งดินร่วน ดินทรายและดินร่วนปนทรายเก็บใส่ในภาชนะที่สะอาดพร้อมระบุตำแหน่ง สถานที่ และวัน/เดือน/ปี ที่เก็บ นำตัวอย่างดินที่เก็บได้มาที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

การเพาะเลี้ยงเชื้อและการคัดแยกเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่างดิน (ดัดแปลงจาก Mohaghegh et al., 2016) โดยนำตัวอย่างดิน 2 กรัม มาร่อนด้วยตะแกรงร่อนขนาด 1 มิลลิเมตร แล้วนำส่วนที่ผ่านการร่อนมาผสมกับ Page's Amoeba Saline (PAS) จากนั้นนำไปผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixture หยดสารผสมปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงกึ่งกลางของจานอาหาร Non-nutrient Agar ที่ฉาบผิวหน้าด้วย Inactivated *Escherichia coli* ATCC 25922 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียสในที่มืด เป็นเวลา 7 วัน สังเกตดูการเปลี่ยนแปลงในจานเพาะเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดส่องกลับ (Inverted microscope) เพื่อตรวจหา free-living amoeba โดยดูลักษณะของโทรโฟซอยต์ (1-3 วันแรก) เมื่อเชื้อเข้าสู่ระยะซิสต์ทำการ Sub-culture ซิสต์ตัวอย่างที่



พบ free-living amoeba บนอาหาร Non-nutrient Agar ที่ฉาบผิวหน้าวุ้นด้วย Inactivated *E. coli* ATCC 25922 งานใหม่เพื่อให้ได้ชีสต์เพียงลักษณะเดียว

การจำแนกกลุ่มของอะแคนทามีบาตามลักษณะพื้นฐานวิทยา

ตัวอย่างที่ตรวจพบ free-living amoeba ที่มีชีสต์เพียงลักษณะเดียวบนอาหาร Non-nutrient Agar นำไปจัดจำแนกชนิดของอะแคนทามีบาตามวิธีการของ Pussard & Pons (1977) โดยการวัดขนาดและพิจารณาจากลักษณะของชีสต์จากนั้นถ่ายภาพตัวอย่างชีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา คือค่าเฉลี่ยและร้อยละ การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของตัวแปรใช้ Chi-square Test ($p < 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 26

ผลการวิจัย

ความชุกของอะแคนทามีบาจากแหล่งดิน

จากการเก็บตัวอย่างดินทั้งหมดจำนวน 60 ตัวอย่างจาก 3 อำเภอ อำเภอละ 20 ตัวอย่าง ได้แก่ อำเภอบาเจาะ อำเภอช้าง และอำเภอรันัง นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Non-nutrient agar ที่ฉาบผิวหน้าวุ้นด้วย Inactivated *E. coli* จากนั้นดูลักษณะรูปร่างโทรโฟซอยต์ (ภาพที่ 1D) กับชีสต์ (ภาพที่ 1A-C) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ พบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. จำนวน 44 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 73.33 จากตัวอย่างดินทั้งหมด โดยอำเภอบาเจาะ พบความชุก 13 ตัวอย่าง (ร้อยละ 65) อำเภอช้าง พบความชุก 16 ตัวอย่าง (ร้อยละ 80) และอำเภอรันัง พบความชุก 15 ตัวอย่าง (ร้อยละ 75) เมื่อเปรียบเทียบความชุกของอะแคนทามีบาในอำเภอต่าง ๆ พบความชุกของอะแคนทามีบาจากอำเภอช้างสูงที่สุดคิดเป็นร้อยละ 80 ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ร้อยละของ *Acanthamoeba* spp. ในตัวอย่างดินจากอำเภอต่าง ๆ ในจังหวัดนราธิวาส

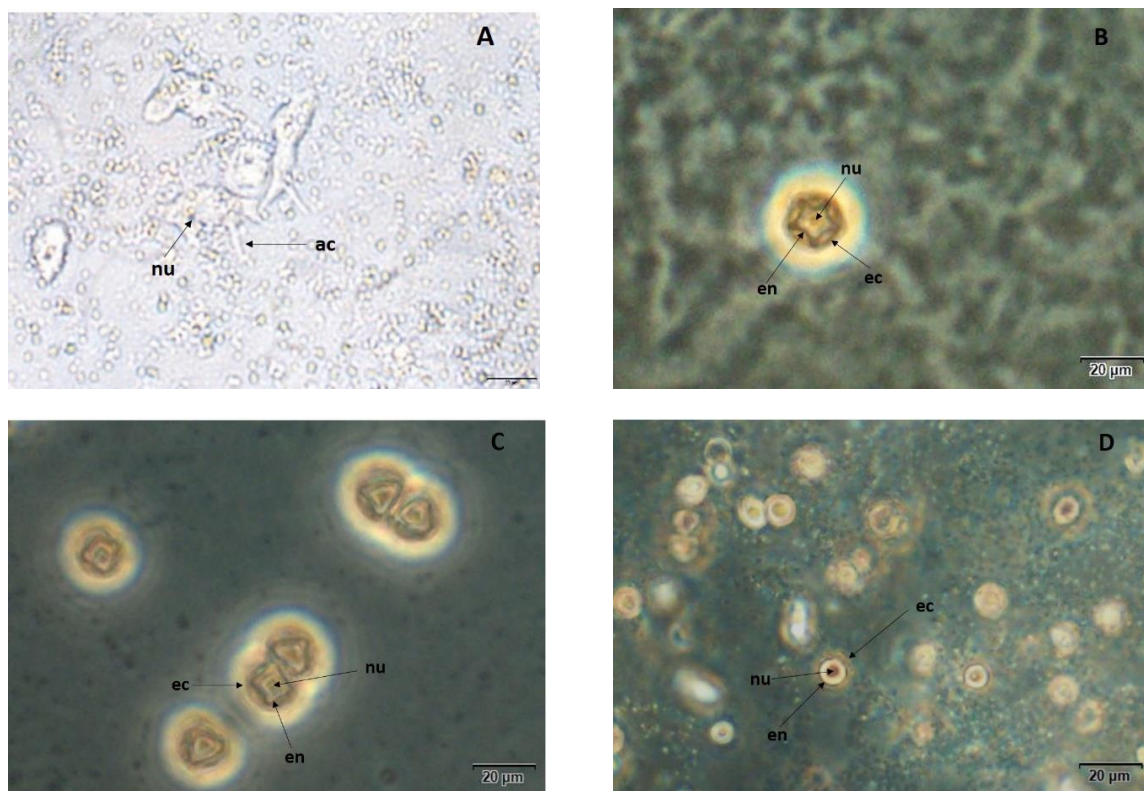
สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่พบ <i>Acanthamoeba</i> spp.	ร้อยละ
อำเภอบาเจาะ	20	13 ^a	65
อำเภอช้าง	20	16 ^a	80
อำเภอรันัง	20	15 ^a	75
รวม	60	44	73.33

^aChi-square test: $\chi^2 = 0.318$, $p = 0.853$



การจำแนกกลุ่มของอะแคนทามีบาตามลักษณะลักษณะพื้นฐานวิทยา

เมื่อจำแนกตามชนิดของอะแคนทามีบาโดยอาศัยลักษณะของซีสต์ตามวิธีการของ Pussard & Pons (1977) จากผลการทดลองพบเชื้ออะแคนทามีบาทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ อะแคนทามีบา กลุ่ม 1 ระยะซีสต์มีขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ไมโครเมตร โดยผนังชั้นนอกบางและเรียบแยกออกจากผนังชั้นในอย่างชัดเจน พบแกนของผนังทั้ง 2 ชั้นมาสัมผัสกันเป็นแนกคล้ายดาวมีแขนหรือรัศมีตั้งแต่ 4 แขนขึ้นไป (ภาพที่ 1B) กลุ่ม 2 ซีสต์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร ผนังชั้นในและผนังชั้นนอกอยู่ชิดติดกันมาก ผนังชั้นนอกอาจหนาหรือบาง ผนังชั้นในอาจเป็นรูปหลายเหลี่ยมหรือสามเหลี่ยม (ภาพที่ 1C) กลุ่ม 3 ซีสต์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร แต่ผนังชั้นนอกบาง และผนังชั้นในค่อนข้างกลม (ภาพที่ 1D)



ภาพที่ 1 ลักษณะโทรโฟซอइट (A) และซีสต์ของเชื้อ *Acanthamoeba* spp. กลุ่ม 1 (B) กลุ่ม 2 (C) และกลุ่ม 3 (D) บนอาหาร Non-nutrient agar (Scale bar = 20 μ m, nu = นิวเคลียส, en = ผนังซีสต์ชั้นใน, ec = ผนังซีสต์ชั้นนอก, ac = Acanthapodia)



ความชุกของเชื้ออะแคนทามีบาจำแนกการจัดกลุ่มตามลักษณะของซิสต์

จากผลการทดลองพบ *Acanthamoeba* spp. ทั้ง 3 กลุ่ม โดยซิสต์กลุ่ม 3 จะพบมากที่สุดทั้ง 3 อำเภอ โดยอำเภอยิ่งงพบมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 45 ส่วนอำเภอรະแงะ และอำเภอปาเจะ คิดเป็นร้อยละ 35 และ 30 ตามลำดับ รองลงมาคือ ซิสต์กลุ่ม 2 พบในอำเภอรະแงะคิดเป็นร้อยละ 25 และพบซิสต์กลุ่ม 1 ในอำเภอปาเจะคิดเป็นร้อยละ 15 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความชุกของเชื้อ *Acanthamoeba* spp. ทั้ง 3 กลุ่ม ที่สำรวจพบจากตัวอย่างดินใน 3 อำเภอของ จังหวัดนราธิวาสโดยจำแนกตามลักษณะรูปร่างของซิสต์

<i>Acanthamoeba</i> cyst	จำนวนซิสต์ของ <i>Acanthamoeba</i> spp. ที่ตรวจพบ (%)			
	อำเภอปาเจะ (n=20)	อำเภอยิ่งง (n=20)	อำเภอรະแงะ (n=20)	รวม (n=60)
กลุ่ม 1	3 (15%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (5.00%)
กลุ่ม 2	2 (10%)	2 (10%)	5 (25%)	9 (15.00%)
กลุ่ม 3	6 (30%)	9 (45%)	7 (35%)	22 (36.67%)
กลุ่ม 1 และ กลุ่ม 2	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	1 (1.67%)
กลุ่ม 1 และ กลุ่ม 3	2 (10%)	3 (15%)	1 (5%)	6 (10.00%)
กลุ่ม 2 และ กลุ่ม 3	0 (0%)	1 (5%)	2 (10%)	3 (8.33%)
รวม	13 (65%)	16 (80%)	15 (75%)	44 (73.33%)

อภิปรายผล

การสำรวจหาความชุกของ *Acanthamoeba* spp. จากแหล่งดินในอำเภอปาเจะ อำเภอยิ่งง และอำเภอรະแงะ จังหวัดนราธิวาส เป็นการศึกษาแรก โดยพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. คิดเป็นร้อยละ 73.33 จากตัวอย่างดินทั้งหมด 60 ตัวอย่างซึ่งเก็บตัวอย่างดินอำเภอละ 20 ตัวอย่าง โดยพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 80 ในอำเภอยิ่งง รองลงมาคืออำเภอรະแงะ และอำเภอปาเจะ คิดเป็นร้อยละ 75 และ 65 ตามลำดับ ซึ่งความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ที่พบในแต่ละอำเภอไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่การศึกษาครั้งนี้พบอัตราความชุกสูงกว่าการสำรวจในประเทศไทยที่ผ่านมา ในปี พ.ศ. 2542 มีรายงานความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ในแหล่งน้ำต่าง ๆ และดินบริเวณแหล่งน้ำใน 14 จังหวัดของประเทศไทย พบความชุกร้อยละ 36.7 และ 48.2 ตามลำดับ (Nacapunchai et al., 2001) ต่อมา มีรายงานพบในน้ำพุร้อนตามธรรมชาติร้อยละ 13.2 (Lekkla et al., 2005) และจากการศึกษาแหล่งน้ำธรรมชาติในจังหวัดเชียงใหม่ก็พบความชุกร้อยละ 14.3 (Wannasan et al.,



2009) นอกจากนี้ก็ยังมีรายงานพบ *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่นจากกรุงเทพมหานครและปริมณฑลร้อยละ 26.1 (Yaicharoen et al., 2007) ซึ่งมีความชุกมากกว่าจากการสำรวจแหล่งน้ำตามธรรมชาติใน 11 จังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยที่พบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. เท่ากับร้อยละ 15.9 (Thammaratana, Laummaunwai, & Boonmars, 2016) จากรายงานปี พ.ศ. 2560 ก็พบ *Acanthamoeba* spp. ในแหล่งน้ำธรรมชาติจากชุมชนรอบมหาวิทยาลัยพะเยาซึ่งจากผลการสำรวจพบความชุกร้อยละ 48.3 (Suwancharoen & Srichoom, 2017) และในปี พ.ศ. 2561 จากการสำรวจตัวอย่างน้ำในสวนสาธารณะในประเทศไทย 15 จังหวัดพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. คิดเป็นร้อยละ 35 (Buppan et al., 2018) จะเห็นได้ว่าจากการสำรวจหาเชื้อ *Acanthamoeba* spp. สามารถพบได้เกือบทุกภาคในประเทศไทยทั้งแหล่งน้ำ ดินหรือแม้กระทั่งในฝุ่นซึ่งเชื้อ *Acanthamoeba* spp. เป็นอะมีบาที่ดำรงชีพอิสระที่พบในธรรมชาติแต่เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ จากการสำรวจหาความชุกในประเทศไทยส่วนใหญ่จะเป็นการสำรวจจากตัวอย่างน้ำซึ่งแต่ละพื้นที่จะมีความชุกแตกต่างกันเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ต่างกันถึงแม้ว่าชีสต์ของ *Acanthamoeba* spp. จะสามารถทนต่ออุณหภูมิระหว่าง -20 ถึง 42 องศาเซลเซียส และสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งได้ แต่เชื้อสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในบริเวณที่มีแบคทีเรียเป็นอาหารและมีความชื้นสูง (Siddiqui & Khan, 2012) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ทำการศึกษานี้ที่ได้ทำการสำรวจหาความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ในตัวอย่างดินเป็นครั้งแรกในจังหวัดนราธิวาส โดยการกระจายตัวของ *Acanthamoeba* spp. ที่พบส่วนใหญ่จะเป็นตัวอย่างดินที่มีลักษณะร่วนและชื้นจึงทำให้พบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. สูงในตัวอย่างดินที่ทำการสำรวจ นอกจากการสำรวจในประเทศไทยยังมีรายงานการพบ *Acanthamoeba* strains ในตัวอย่างแหล่งน้ำและดินจากการศึกษาในพื้นที่ต่าง ๆ บริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Bunsuwansakul et al., 2019) และจากหลายที่ทั่วโลกเช่น การศึกษาหาความชุกของเชื้อ *Acanthamoeba* spp. ในตัวอย่างดินจากประเทศอิหร่านและสเปนพบความชุกคิดเป็นร้อยละ 33.3 และ 62.5 ตามลำดับ (Meighani et al., 2018; Reyes-Battle et al., 2014) จากรายงานการศึกษาความชุกของเชื้อ *Acanthamoeba* spp. ของฝุ่นในเครื่องปรับอากาศจากประเทศมาเลเซียพบความชุกคิดเป็นร้อยละ 23 (Chan et al., 2011) และตัวอย่างน้ำจากประเทศปากีสถานพบความชุกคิดเป็นร้อยละ 92 (Tanveer et al., 2013) เป็นต้น

การจัดจำแนกกลุ่ม *Acanthamoeba* spp. โดยอาศัยลักษณะพื้นฐานวิทยาของชีสต์ในครั้งนี้พบลักษณะของชีสต์ทั้ง 3 กลุ่ม โดยกลุ่ม 1 จะมีลักษณะสอดคล้องกับชีสต์ของ *A. astronyxis* ในขณะที่กลุ่ม 2 และ 3 จะสอดคล้องกับลักษณะของชีสต์ *A. castellani*, *A. polyphaga*, *A. triangularis*, และ *A. culbertsoni* ซึ่งชีสต์ในกลุ่ม 2 และ 3 เป็นกลุ่มหลักที่มีรายงานความสัมพันธ์กับการก่อให้เกิดโรคกระจกตาอักเสบในประเทศไทย (Jongwutiwes et al., 2000) และสอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้ทำการ



สำรวจความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ในแหล่งน้ำธรรมชาติจากชุมชนรอบมหาวิทยาลัยพะเยา (Suwancharoen & Srichoom, 2017) นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังให้ผลสอดคล้องกับการสำรวจหา *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่นจากกรุงเทพมหานครและปริมณฑลอีกด้วย (Yaicharoen et al., 2007) ซึ่งจากรายงานวิจัยที่ผ่านมาจะพบลักษณะของซิสต์กลุ่ม 2 และ กลุ่ม 3 มากกว่ากลุ่ม 1 จึงเป็นไปได้ว่า *Acanthamoeba* spp. ที่สำรวจเจอในตัวอย่างดินจังหวัดนราธิวาสอาจก่อโรคในคนได้ซึ่งจะทำให้ประชาชนที่อยู่ในพื้นที่ดังกล่าวมีโอกาสที่จะได้รับเชื้อจากการสัมผัสดินหรือเล่นน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติที่ปนเปื้อนดินเหล่านี้ นอกจากนี้ การพบอะมีบาที่อาศัยอยู่อย่างอิสระตามธรรมชาติจะทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคในคนที่ภูมิคุ้มกันบกพร่องและคนที่มีสุขภาพดีได้

สรุป

จากผลการวิจัยพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. จากตัวอย่างดินในอำเภอบาเจาะ อำเภอยี่งอ และอำเภอระแงะ จังหวัดนราธิวาส โดยวิธีการเพาะเลี้ยงและจำแนกกลุ่มของซิสต์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาร้อยละ 73.33 จากตัวอย่างดินทั้งหมด 60 ตัวอย่าง เมื่อจัดจำแนกกลุ่มซิสต์พบซิสต์กลุ่ม 3 มากที่สุดทั้ง 3 อำเภอ โดยอำเภอยี่งอพบมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 45 ส่วนอำเภอระแงะ และอำเภอ บาเจาะ คิดเป็นร้อยละ 35 และ 30 ตามลำดับ รองลงมาคือ ซิสต์กลุ่ม 2 พบในอำเภอระแงะคิดเป็นร้อยละ 25 และพบซิสต์กลุ่ม 1 ในอำเภอบาเจาะคิดเป็นร้อยละ 15

ข้อเสนอแนะ

การจำแนกกลุ่มของ *Acanthamoeba* spp. โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของซิสต์เป็น การศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น ข้อมูลอาจจะไม่เพียงพอและจำเพาะกับชนิดของ *Acanthamoeba* spp. ที่ สัมพันธ์กับการก่อโรคในมนุษย์ได้อย่างชัดเจน จึงควรมีการศึกษาในระดับชีวโมเลกุลโดยใช้เทคนิคทาง อณูวิทยาเพื่อใช้จำแนกสายพันธุ์ที่สัมพันธ์กับการก่อโรคต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ประจำปีงบประมาณ 2562



รายการอ้างอิง (References)

- Bunsuwansakul, C., Mahboob, T., Hounkong, K., Laohaprapanon, S., Chitapornpan, S., Jawjit, S., Yasiri, A., et al. (2019). *Acanthamoeba* in Southeast Asia – Overview and Challenges. *The Korean Journal of Parasitology*, 57 (4), 341-357.
- Buppan, P., Meeboon, C., Klamsiri, T., Ko- amornsup, W., Promyuttana, W., Kosuwin, R., et al., (2018). Survey of *Acanthamoeba* spp. in Water Samples from the Public Park of Thailand. *Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning*, 9(1), 36-45.
- Chan, L.L., Mak, J.W., Low, Y.T., Koh, T.T., Ithoi, I., & Mohamed, S.M. (2011). Isolation and characterization of *Acanthamoeba* spp. from air-conditioners in Kuala Lumpur, Malaysia. *Acta Tropica*, 117(1), 23-30.
- Denet, E., Coupat-Goutaland, B., Nazaret, S., Plandakis, M., & Favre-Bont, S. (2017). Diversity of free-living amoebae in soils and their associated human opportunistic bacteria. *Parasitology Research*, 116, 3151-3162.
- Diaz, J. H. (2010). Increasing intracerebral infections caused by free-living amebae in the United States and worldwide. *Journal of Neuroparasitology*, 1, 1-10.
- Jariya, P., Lerlaituan, P., & Warachoon, K. (1922). *Acanthamoeba* spp.: a cause of chronic granulomatous amoebic meningoencephalitis. *Siriraj Hospital Gazette*, 44, 148-153.
- Jongwutiwes, S., Pariyakanok, L., Charoenkorn, M., Yagita, K., & Endo, T. (2000) Heterogeneity in cyst morphology within isolates of *Acanthamoeba* from keratitis patients in Thailand. *Tropical Medicine and International Health*, 5, 335-340.
- Lekkla, A., Suttikornchai, C., Bovornkitti, S., & Sukthana, Y. (2005). Free-living ameba contamination in natural hot springs in Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 36(4), 5-9.
- Lorenzo-Morales, J., Khan, N. A., & Walochnik, J. (2015). An update on *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. *Parasite*, 22, 1-20.
- Meighani, M., Eslamirad, Z., Hajhossein, R., Ahmadi, A., & Saki, S. (2018). Isolation and Genotyping of *Acanthamoeba* from Soil Samples in Markazi Province, Iran. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(12), 2290 – 2294.



- Mohaghegh, M. A., Azimi Resketi, M., Mohammadimanesh, R. Mehdi, A., Farzaneh, M., Mohammad, F., et al. (2016). Soil contamination with free-living amoeba in north of Iran. *International Journal of Infection*, 3(4), e37923. doi: 10.17795/iji-37923.
- Nacapunchai, D., Kino, H., Ruangsitticha, C., Sriwichai, P., & Ishih, A. (2001). Terada M. A brief survey of free-living amebae in Thailand and Hamamatsu District, Japan. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 32, 179-182.
- Pussard, M., & Pons, R. (1977). Morphologie de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba* (Protozoa, Amoebida). *Protistologica*, 13(4), 557-598.
- Reyes-Batlle, M., Todd, C.D., Martin-Navarro, C.M., Lopez-Arencibia, A., Cabello-Vilchez, A.M., Gonzalez, A.C., Cordoba-Lanus, E., Lindo, J.F., Valladares, B., Pinero, J.E., & Lorenzo-Morales, J. (2014). Isolation and characterization of *Acanthamoeba* strains from soil samples in Gran Canaria, Canary Islands, Spain. *Parasitology Research*, 113(4), 1383-1388.
- Scheikl, U., Sommer, R., Kirschner, A., Rameder, A., Schrammel, B., Zweimuller, I., et al. (2014). Free-living amoebae (FLA) co-occurring with legionellae in industrial waters. *European Journal of Parasitology*, 50(4), 422-429.
- Siddiqui, R., & Khan, N. A. (2012). Biology and pathogenesis of *Acanthamoeba*. *Parasite and Vectors*, 5, 1-13.
- Suwancharoen, C., & Srichoom, W. (2017). Survey of *Acanthamoeba* in natural water sources in communities around the University of Phayao, Phayao province, Thailand. *Journal of Public Health*, 47(3), 255-263.
- Tanveer, T., Hameed, A., Muazzam, A.G., Jung, S.Y., Gul, A., & Matin, A. (2013). Isolation and molecular characterization of potentially pathogenic *Acanthamoeba* genotypes from diverse water resources including household drinking water from Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Parasitology Research*, 112(8), 2925-2932.
- Thammaratana, T., Laummaunwai, P. & Boonmars, T. (2016). Isolation and identification of *Acanthamoeba* species from natural water sources in the northeastern part of Thailand. *Parasitology Research*, 115(4), 1705-1709.



- Trabelsi, H., Dendana, F., Sellami, A., Sellami, H., Cheikhrouhou, F., Neji, S., et al., (2012) Pathogenic freeliving amoebae: epidemiology and clinical review. *Pathologie Biologie*, 60(6), 399–405.
- Wannasan, A., Chaiwong, P., Bunchoo, M., Morakote, N. (2009). Occurrence of thermotolerant *Naegleria* and *Acanthamoeba* in some natural water sources in Chiang Mai. *Chiang Mai Medical Journal*, 48, 117-124.
- Yaicharoen, R., Ngrenngarmkert, W., Thongmee, P. & Damsaman, W. (2007). Survey of *Acanthamoeba* spp. in dust from Bangkok and suburban areas. *Journal of Associated Medical Sciences*, 40(1), 46-53.