

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Article

การตรวจหาพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาสจากอุจจาระ
ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี ด้วย simple smear technique, formalin ethyl acetate
concentration technique และ Parasep® faecal parasite concentration technique

Comparative study of simple smear, formalin ethyl acetate concentration and
Parasep® faecal parasite concentration technique for identification of the parasite
and opportunistic protozoa in stool specimen from HIV infected patients

ภาวิตา สุวรรณวัฒนะ วท.ม.

Pawita Suwanvattana, M.Sc.

(การบริหารพยาธิวิทยาคลินิก)

(Clinical Pathology and management)

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

Department of Medical Laboratory,

สถาบันบำราศนราดูร

Bamrasnaradura Infection Diseases Institute

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจหาพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาสโดยวิธีตรวจโดยตรงอย่างง่าย วิธีเข้มข้นชนิดฟอร์มาลินเอธิลอะซีเตท และชุดตรวจอุจจาระสำเร็จรูป Parasep® faecal parasite concentration จากอุจจาระของผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี จำนวนทั้งสิ้น 200 ราย ที่ห้องปฏิบัติการงานจุลทรรศณศาสตร์คลินิกและงานจุลชีววิทยาคลินิก สถาบันบำราศนราดูร ผลการวิจัยพบว่าการตรวจในงานจุลทรรศณศาสตร์คลินิกโดยวิธีดูแบบสดและย้อมสีโอตินตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาสจากชุดตรวจสำเร็จรูป Parasep® คิดเป็นร้อยละ 10.5 สูงกว่าวิธีตรวจโดยตรงอย่างง่ายและวิธีเข้มข้นฟอร์มาลินเอธิลอะซีเตท ซึ่งพบร้อยละ 8.0 และ 4.0 ตามลำดับ ผลการตรวจงานจุลชีววิทยาคลินิกด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า จากเสมียร์อุจจาระที่ย้อมด้วยสี modified Ziehl-Neelsen พบพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาสจากชุดตรวจสำเร็จรูป Parasep® ใกล้เคียงกับวิธีตรวจโดยตรงอย่างง่ายและสูงกว่าวิธีเข้มข้นฟอร์มาลินเอธิลอะซีเตท โดยพบร้อยละ 10.0, 10.5 และ 7.0 ตามลำดับ ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าชุดตรวจสำเร็จรูป Parasep® สามารถนำมาปรับใช้ในการตรวจอุจจาระเพื่อเพิ่มโอกาสการตรวจพบพยาธิและโปรโตซัวได้ดีในงานจุลทรรศณศาสตร์คลินิก แต่สำหรับงานจุลชีววิทยาคลินิกไม่พบความแตกต่างของผลการตรวจเมื่อเทียบกับวิธีเดิม และเพื่อเพิ่มศักยภาพการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการในการตรวจพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาสให้ครอบคลุมทั้งพยาธิโปรโตซัวที่มีขนาดใหญ่และขนาดเล็ก ควรตรวจอุจจาระแบบวิธีตรวจโดยตรงอย่างง่าย คู่กับชุดตรวจสำเร็จรูป Parasep® และวิธีย้อมด้วยสี modified Ziehl-Neelsen

Abstract

This study aimed to compare the diagnostic yields for parasites and opportunistic parasites in stool samples using three methods: simple smear, formalin ethyl acetate concentration and Parasep® faecal

parasite concentration. Two hundred stool samples of HIV-infected patients were collected for laboratory investigation at Bamrasnaradura Infectious Diseases Institute. The stool samples were observed under the light microscope by 3 methods using (1) direct wet smear, (2) iodine preparations and (3) modified Ziehl-Neelsen stain. The diagnostic yield for parasites and opportunistic parasites using Parasep[®] was higher than that of simple smear, formalin ethyl acetate concentration with the percentage of 10.5, 8.0 and 4.0, respectively. The diagnostic yield for opportunistic parasites by modified Ziehl-Neelsen stain. The Parasep[®] and Simple smear were higher than that of formalin ethyl acetate concentration with 10.0, 10.5 and 7.0, respectively. This study suggests that the Parasep[®] together with the standard simple smear can potentially enhance the laboratory reports for diagnosing protozoas and opportunistic parasites. The result indicates that Parasep[®] can be used to improve the diagnostic yields for protozoas and opportunistic parasites in stool samples.

ประเด็นสำคัญ

พยาธิโปรโตซัว, โปรโตซัวฉวยโอกาส, อุจจาระ, เอชไอวี

Key words

Protozoa, Opportunistic Protozoa, Stool, HIV

บทนำ

ปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งของผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีคือ การติดเชื้อพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาส เช่น *Strongyloides stercoralis*, *Isospora belli*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* species เป็นต้น⁽¹⁾ ซึ่งผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีหรือผู้ป่วยเอดส์ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะลดลง เป็นผลทำให้ติดเชื้อโปรโตซัวฉวยโอกาสของระบบทางเดินอาหาร เกิดอาการท้องร่วงรุนแรง ถ่ายบ่อย ถ่ายมีมูกเลือดปน ทำให้ร่างกายอ่อนแอขาดสารอาหาร ส่งผลให้ความสามารถในการป้องกันโรคลดลง จึงทำให้เกิดโรคติดเชื้อฉวยโอกาสชนิดอื่น ๆ ตามมาได้ง่าย เช่น วัณโรค ปอดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ หรือมะเร็ง บางชนิด อีกทั้งเมื่อภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง พยาธิหรือโปรโตซัวจะเจริญเติบโตแพร่กระจายสู่อวัยวะสำคัญ เช่น สมอง หัวใจ ซึ่งจะมีอาการรุนแรงและเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิต⁽²⁻³⁾

ในการตรวจวิเคราะห์ประจำงานจุลทรรศน์ ศาสตร์คลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันบำราศนราดูร มีส่วนสำคัญอย่างมากในการตรวจหาพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาสจาก

อุจจาระผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีเพื่อช่วยให้แพทย์รักษาผู้ป่วยได้ถูกต้องทันที แต่ในสถิติ 3 ปีที่ผ่านมา ปี พ.ศ. 2552 - 2554 มีสถิติการตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัว ฉวยโอกาสในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีน้อยมาก คิดเป็น ร้อยละ เท่ากับ 8.95, 6.64 และ 6.28 ตามลำดับ ปัจจัยสำคัญมีสาเหตุมาจากวิธีที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ในงานประจำ ได้แก่ simple smear ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ปริมาณอุจจาระจากสิ่งส่งตรวจน้อยมีความไวค่อนข้างต่ำ⁽⁴⁾ และบุคลากรยังขาดประสบการณ์ความชำนาญในการตรวจหาพยาธิโปรโตซัวบางชนิด เช่น *Cyclospora cayentanensis*, *Cryptosporidium* species ซึ่งเป็นเชื้อปรสิตที่มีขนาดเล็ก จำแนกชนิดได้ยาก จำเป็นต้องย้อมสีชนิดพิเศษ

วิธีมาตรฐานที่ใช้เตรียมอุจจาระในการตรวจวิเคราะห์หาพยาธิและโปรโตซัวคือ formalin-ethyl acetate concentration technique⁽⁵⁾ แต่เป็นวิธีตรวจที่มีหลายขั้นตอน ยุ่งยาก ใช้เวลานาน และมีสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย โดย formalin สามารถละลายได้ด้วยความร้อนเป็น formaldehyde ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อทางเดินหายใจ ระคายเคืองต่อตา สาร formaldehyde เป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองและสารเหนี่ยวนำโดยตรง

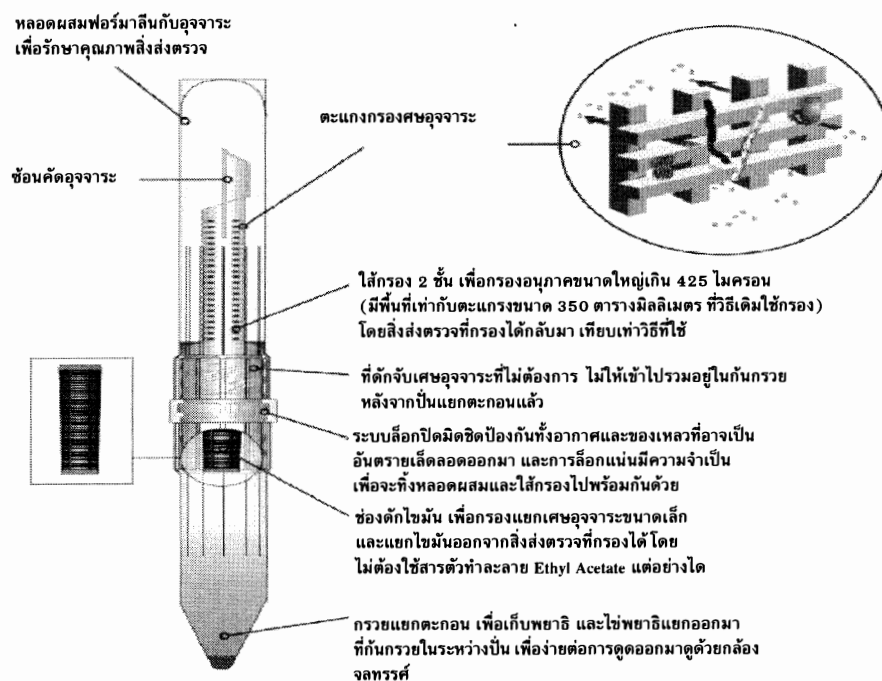
ให้เกิดอาการหอบหืดจากการแพ้ สำหรับ ethyl acetate เมื่อสัมผัสมีผลทำให้เยื่อตาขาวอักเสบ ผิวหนังอักเสบ หลอดลมค้ออักเสบ ผิวหนังอักเสบ และยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมถ้าสารนี้ไม่มีการใช้และจัดการสารอย่างเหมาะสม จึงมักไม่นิยมนำมาตรวจวิเคราะห์ในงานประจำวัน

ในปัจจุบัน มีชุดสำเร็จรูปสำหรับตรวจหาพยาธิ และโปรโตซัวชื่อ Parasep® faecal parasite concentration technique (บริษัทกรุงเทพอินเตอร์โปรดักส์) ซึ่งใช้งานง่าย สะดวก รวดเร็ว ลดโอกาสการสัมผัสและการสูดดมสารเคมีของผู้ตรวจวิเคราะห์⁽⁶⁻⁷⁾ โดยชุดตรวจ Parasep® faecal parasite concentration เป็นชุดตรวจหาพยาธิ และโปรโตซัวด้วยวิธีเข้มข้น อุปกรณ์ชุดตรวจประกอบด้วย หลอดพลาสติกที่บรรจุ ร้อยละ 10 Formalin และ 1 หยดของสาร Triton X ซึ่งเป็น สารลดแรงตึงผิว โดยหลักการทำงานจะใช้ไส้กรอง 2 ชั้น เพื่อกรองอนุภาคขนาดใหญ่เกิน 425 ไมครอน ออกหลังจากปั่นแยกตะกอนเพื่อกรองเศษอุจจาระที่ไม่ต้องการออก ไม่ให้

เข้าไปรวมอยู่ในกันกรวยของหลอด และมีไส้กรองอีกชั้นเป็นช่องดักไขมัน เพื่อกรองแยกเศษอุจจาระขนาดเล็กและแยกไขมันออกจากสิ่งส่งตรวจที่กรองได้ ดังรูปที่ 1 โดยอุปกรณ์และวิธีทำทั้งหมดไม่ใช่ สารละลาย ether หรือ ethyl acetate ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายของผู้ตรวจวิเคราะห์

ดังนั้นจึงศึกษาทดลองเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาสจากอุจจาระผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี ระหว่างวิธีเดิมคือ ตรวจโดยตรงอย่างง่าย (simple smear technique) กับวิธีเข้มข้นชนิดฟอร์มาลิน เอธิลอะซีเตท (formalin ethyl acetate concentration technique) และชุดตรวจอุจจาระสำเร็จรูป Parasep® (Parasep® faecal parasite concentration technique) เพื่อหาวิธีการตรวจที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว ปลอดภัยแก่ผู้ตรวจวิเคราะห์และเพิ่มโอกาสการตรวจพบพยาธิโปรโตซัว และพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาส ซึ่งจะเป็น ข้อมูลที่สำคัญสำหรับการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี ต่อไป

ภาพที่ 1 แสดงชุดเตรียมตัวอย่างอุจจาระแบบเข้มข้น Parasep® Faecal Parasite concentration technique



วัสดุและวิธีการศึกษา

1. ประชากรศึกษาและขนาดตัวอย่างใช้
อุจจาระผู้ป่วยติดเชื้อเฮลิโคแบคทีเรียจากหอผู้ป่วยเฮลิโคแบคทีเรีย
ที่เหลือจากงานตรวจวิเคราะห์ประจำวัน โดยเก็บตัวอย่าง
ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน ปี 2555 ถึง เมษายน 2556
จำนวน 200 ตัวอย่าง คำนวณขนาดตัวอย่างจากสูตรของ
Danial (1991) $N = z^2 \alpha p q / d^2$

2. ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

2.1 ใช้อุจจาระผู้ป่วยที่ติดเชื้อเฮลิโคแบคทีเรียที่เหลือ

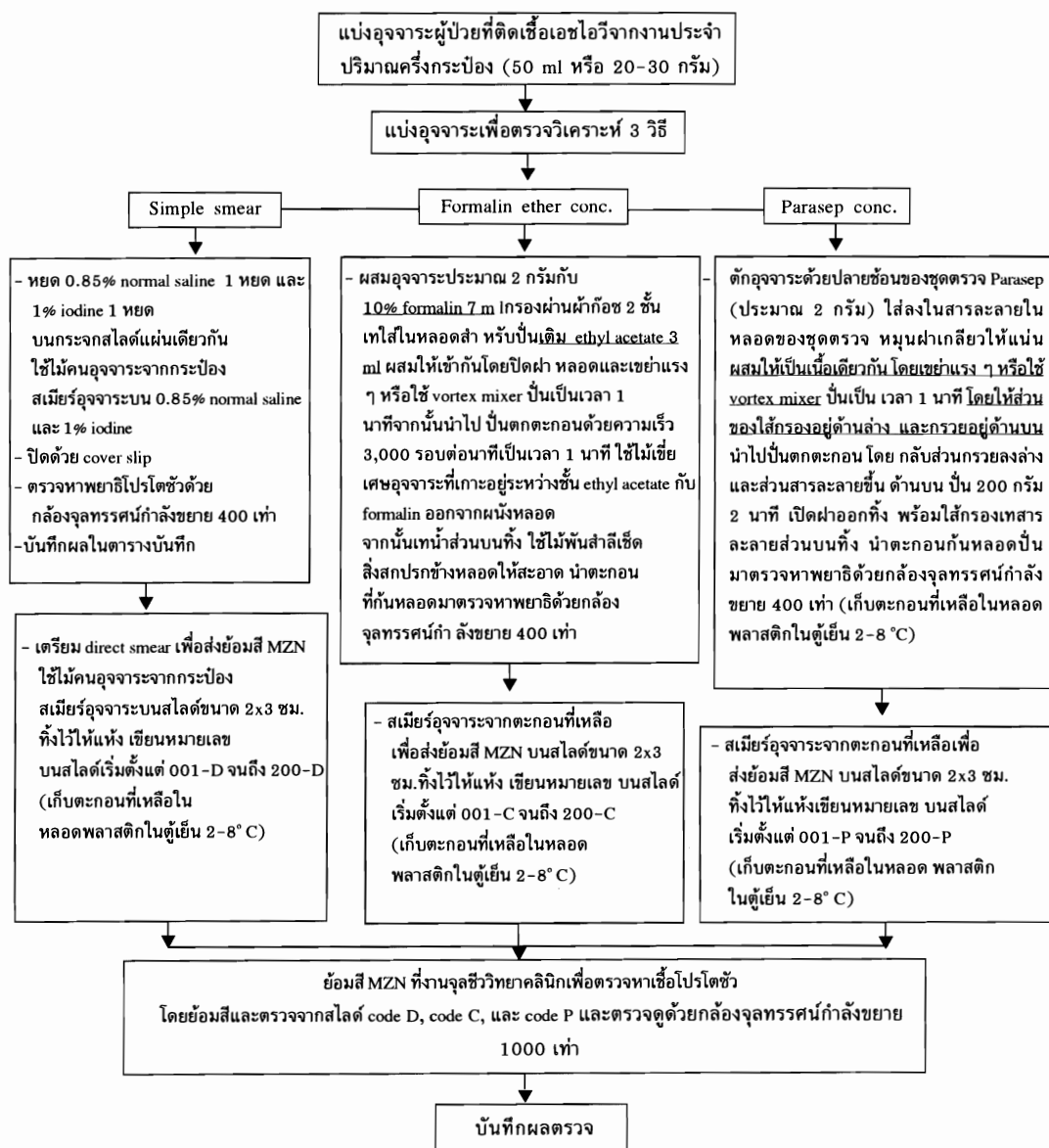
จากงานประจำงานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก งานจุลชีว
วิทยาคลินิก แบ่งใส่กระป๋องเปล่าที่แห้งสะอาดมา
ประมาณครึ่งกระป๋อง (50 มิลลิลิตร หรือ 20-30 กรัม)
กำหนดหมายเลขตั้งแต่ 001 ถึง 200

2.2 ทำการทดสอบด้วยวิธี simple smear วิธี

formalin ethyl acetate concentration และวิธี Parasep®
faecal parasite concentration

2.3 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์หาพยาธิ

โปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาส ดังนี้



2.4 บันทึกผลการตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาสโดยแยกเป็นแต่ละวิธีการทดสอบ

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลโดยเปรียบเทียบร้อยละของการตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและพยาธิโปรโตซัวฉวยโอกาสด้วย 3 วิธี ได้แก่ วิธี simple smear, formalin ethyl acetate concentration และ Parasep® faecal parasite concentration

ผลการศึกษา

จากการศึกษาทดลองเปรียบเทียบผลการตรวจหาพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาส ด้วยวิธีเตรียมตัวอย่างอุจจาระตรวจโดยตรงอย่างง่าย (simple smear technique) วิธีเข้มข้นชนิดฟอร์มาลิน เอธิลอะซีเตท (formalin ethyl acetate concentration technique) และชุดตรวจอุจจาระสำเร็จรูป Parasep® จากอุจจาระของผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี จำนวนทั้งสิ้น 200 ราย ในห้องปฏิบัติการงานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก และงานจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันบำราศนราดูร โดยตัวอย่างอุจจาระที่เตรียมนำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

ด้วยวิธีดูแบบสด วิธีย้อมด้วยสีโอโธดินในห้องปฏิบัติการงานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก และตรวจวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า ด้วยวิธีย้อมสี modified Ziehl-Neelsen (MZN) ที่งานจุลชีววิทยา-คลินิก

ผลการทดลองพบว่าการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการงานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสจาก simple smear technique, formalin ethyl acetate concentration technique และ Parasep® faecal parasite concentration คิดเป็นร้อยละ 8 (16/200), 4 (8/200) และ 10.5 (21/200) ตามลำดับ แบ่งเป็นพบ *Strongyloides stercoralis* larva ร้อยละ 3, 2 และ 3.5 ตามลำดับ Hook worm egg พบร้อยละ 0.5, 0.5 และ 0.5 *Opisthorchis viverrini* egg พบร้อยละ 1, 0.5 และ 1 *Entamoeba coli* พบร้อยละ 0.5, 0 และ 0.5 *Giardia lamblia* cyst พบร้อยละ 1 ทั้ง 3 วิธี *Isospora belli* oocyst พบร้อยละ 2, 0 และ 2 ไม่พบ *Cyclospora* oocyst และพบ *Cryptosporidium* oocyst ร้อยละ 0, 0 และ 2 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสด้วย simple smear technique, formalin ethyl acetate concentration และ Parasep® faecal parasite concentration งานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก

พยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาส	ร้อยละของพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสที่ตรวจพบ (งานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก)		
	Simple smear	formalin ethyl	Parasep®
<i>Strongyloides stercoralis</i> larva	3 (6/200)	2 (4/200)	3.5 (7/200)
Hook worm egg	0.5 (1/200)	0.5 (1/200)	0.5 (1/200)
<i>Opisthorchis viverrini</i> egg	1 (2/200)	0.5 (1/200)	1 (2/200)
<i>Entamoeba coli</i>	0.5 (1/200)	0 (0/200)	0.5 (1/200)
<i>Giardia lamblia</i> cyst	1 (2/200)	1 (2/200)	1 (2/200)
<i>Isospora belli</i> oocyst	2 (4/200)	0 (0/200)	2 (4/200)
<i>Cyclospora</i> oocyst	0 (0/200)	0 (0/200)	0 (0/200)
<i>Cryptosporidium</i> oocyst	0 (0/200)	0 (0/200)	2 (4/200)
รวม	8 (16/200)	4 (8/200)	10.5 (21/200)

ผลการตรวจงานจุลชีววิทยาคลินิก พบพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสจาก simple smear technique, formalin ethyl acetate concentration technique และ Parasep® faecal parasite concentration คิดเป็นร้อยละ 10.5, 7.0 และ 10.0 (20/200) ตามลำดับ โดยแบ่งเป็นพบ *Strongyloides stercoralis*

larva ร้อยละ 1, 0.5 และ 1 *Isospora belli* oocyst พบร้อยละ 1.5, 0.5 และ 1 *Cyclospora* oocyst พบร้อยละ 1 ทั้ง 3 วิธี และ *Cryptosporidium* oocyst พบร้อยละ 7, 5 และ 7 และไม่สามารถตรวจพบ Hook worm egg *Opisthorchis viverrini* egg *Entamoeba coli* และ *Giardia lamblia* cyst ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสด้วย simple smear technique, Formalin Ethyl Acetate Concentration และ Parasep® Faecal Parasite concentration งานจุลชีววิทยาคลินิก

พยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาส	ร้อยละของพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสที่ตรวจพบ (งานจุลชีววิทยาคลินิก)		
	Simple smear	Formalin Ethyl	Parasep®
<i>Strongyloides stercoralis</i> larva	1.0 (2/200)	0.5 (1/200)	1.0 (2/200)
Hook worm egg	0 (0/200)	0 (0/200)	0 (0/200)
<i>Opisthorchis viverrini</i> egg	0 (0/200)	0 (0/200)	0 (0/200)
<i>Entamoeba coli</i>	0 (0/200)	0 (0/200)	0 (0/200)
<i>Giardia lamblia</i> cyst	0 (0/200)	0 (0/200)	0 (0/200)
<i>Isospora belli</i> oocyst	1.5 (3/200)	0.5 (1/200)	1.0 (2/200)
<i>Cyclospora</i> oocyst	1.0 (2/200)	1.0 (2/200)	1.0 (2/200)
<i>Cryptosporidium</i> oocyst	7.0 (14/200)	5.0 (10/200)	7.0 (14/200)
รวม	10.5 (21/200)	7.0 (14/200)	10 (20/200)

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบร้อยละของการตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสในอุจจาระผู้ป่วยที่ติดเชื้อเฮลิโคแบคทีเรียระหว่างการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี simple smear technique, formalin ethyl acetate concentration technique และ Parasep® Faecal Parasite concentration technique จากอุจจาระผู้ป่วยติดเชื้อเฮลิโคแบคทีเรียจำนวน 200 ราย ในการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า การตรวจด้วยวิธีเข้มข้น Ridley-Allen modified formol ether sedimentation technique และวิธี Parasep® มีความไวในการตรวจพบไข่พยาธิ (egg) ระยะซีสต์ (cyst) และตัวอ่อนของพยาธิ (larvae) มากกว่าวิธี direct smear หรือ simple smear แต่มีขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ที่ยุ่งยากต้องใช้อุปกรณ์หลายชิ้น⁽⁶⁾ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Sitara Rao และคณะพบว่า วิธีการตรวจหาพยาธิด้วยวิธี Parasep® เปรียบเทียบกับ

วิธีมาตรฐาน Ridley-Allen modified formol ether sedimentation technique ไม่มีความแตกต่างกันของร้อยละการตรวจพบพยาธิ แต่วิธี Parasep® มีความยุ่งยากน้อยกว่า ลดโอกาสเสี่ยงในการสูดดมสารระเหย ethyl acetate และสามารถเก็บรักษาตะกอนไข่พยาธิได้ดี และยังพบว่าจำนวนการตรวจพบโปรโตซัวฉวยโอกาสวิธี การย้อมด้วยสี acid fast staining จากเสมียร์อุจจาระสามวิธี ได้แก่ direct smear, Ridley-Allen modified formol ether sedimentation technique และวิธี Parasep® พบว่าวิธี Parasep® มีโอกาสในการตรวจพบโปรโตซัวชนิด *Isospora belli* oocyte มากกว่าทั้งสองวิธี (142, 445, 601 ตามลำดับ) และมีจำนวนการตรวจพบโปรโตซัวชนิด *Cyclospora* oocyte มากกว่าทั้งสองวิธี (6, 8, 12 ตามลำดับ) ยกเว้นโปรโตซัวชนิด *Cryptosporidium* oocyte วิธี Parasep® มีโอกาสในการตรวจพบน้อยกว่าวิธี Ridley-Allen modified formol ether sedimentation

technique⁽⁷⁾ จากผลการศึกษาทดลองครั้งนี้ตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสจำนวนไม่มาก ดังตารางที่ 1 และ 2 ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีในปัจจุบันได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสจนส่วนใหญ่มีระดับค่า CD4 ที่สูงขึ้น ทำให้ร่างกายมีภูมิต้านทานต่อเชื้อปรสิตฉวยโอกาสได้ดีขึ้น^(9,10)

จากการศึกษาทดลองนี้พบว่า วิธีทดสอบด้วยชุดตรวจอุจจาระแบบเข้มข้นสำเร็จรูป Parasep® faecal parasite concentration มีร้อยละการตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสมากกว่าวิธีการ formalin ethyl acetate concentration technique ซึ่งเป็นวิธีเดิมที่ใช้ในงานตรวจวิเคราะห์ประจำวันดัง ตารางที่ 1 และ 2 ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องจากวิธี formalin ethyl acetate concentration technique ต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญในการปฏิบัติ เนื่องจากมีหลายขั้นตอนและยุ่งยาก ซึ่งแต่ละขั้นตอนมีโอกาสเสี่ยงที่พยาธิโปรโตซัวจะหลุดหายไป ทำให้การตรวจพบน้อยลง⁽⁶⁾

สำหรับผลการตรวจด้วยวิธี simple smear ในงานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิกจากการเสมียร์อุจจาระบนกระจกสไลด์ ผสมกับ 0.85% normal saline และ 1% iodine สามารถตรวจพบพยาธิหรือโปรโตซัวบางชนิดที่เคลื่อนไหวได้ดี เช่น *Strongyloides stercoralis* larva, *Entamoeba histolytica* ระยะ trophozoite และสามารถตรวจนับนิวเคลียสที่อยู่ภายในไข่พยาธิ และวัดขนาดรูปร่างที่มีลักษณะจำเพาะได้ดี แต่มีข้อเสียคือ เป็นวิธีที่ใช้ปริมาณอุจจาระที่น้อย ดังนั้นจึงมีโอกาสสูงที่จะตรวจไม่พบพยาธิหรือโปรโตซัว แต่สำหรับผลการตรวจวิเคราะห์ในงานจุลชีววิทยาคลินิก วิธีเตรียมเสมียร์อุจจาระด้วย simple smear และย้อม เสมียร์อุจจาระที่เตรียมด้วยสี MZN มีร้อยละการตรวจพบพยาธิและโปรโตซัวใกล้เคียงกับชุดตรวจอุจจาระแบบเข้มข้นสำเร็จรูป Parasep® และมากกว่าวิธี formalin ethyl acetate concentration ดังตารางที่ 2 ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องจากวิธี simple smear สามารถเลือกบริเวณของอุจจาระที่เป็นลักษณะมูกเลือดปน หรือบริเวณที่สีอุจจาระผิดปกติไป ทำให้มี

โอกาสตรวจพบพยาธิและโปรโตซัวที่มีขนาดเล็ก ได้ดีกว่าวิธีอื่นแต่จะย้อมไม่ติดสีของไข่พยาธิและหนอนพยาธิอื่นๆ เช่น Hook worm egg, *Opisthorchis* spp. egg, *Giardia lamblia* cyst, *Giardia lamblia* trophozoite เป็นต้น⁽⁸⁾

วิธี formalin ethyl acetate concentration เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ตรวจหาปรสิต แต่เนื่องจากมีหลายขั้นตอน ยุ่งยาก ใช้เวลานาน และมีสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย จึงมักไม่นิยมนำมาตรวจวิเคราะห์ในงานประจำวัน ควบคู่กับวิธี simple smear ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า วิธีการตรวจอุจจาระแบบเข้มข้นด้วยชุดตรวจอุจจาระสำเร็จรูป Parasep® faecal parasite concentration มีร้อยละการตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสมากกว่าวิธี formalin ethyl acetate concentration จึงสามารถนำมาทดแทนวิธีตรวจอุจจาระด้วยวิธีเข้มข้น formalin ethyl acetate concentration ได้โดยมีต้นทุนการตรวจวิเคราะห์รวมค่าวัสดุอุปกรณ์ไม่แพงมากนัก ประมาณ 50 บาท และไม่สิ้นเปลืองงบประมาณในการจัดหา

ซึ่งจากผลงานวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเพื่อเพิ่มโอกาสการตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี ควรปรับเปลี่ยนวิธีการตรวจจากเดิมที่แยกส่งตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วยเป็น 2 งาน และเจ้าหน้าที่ตรวจวิเคราะห์ไม่ได้วิเคราะห์ผลการตรวจร่วมกันนั้น มาเป็นชุดตรวจรวมวิธี simple smear วิธี Parasep® faecal parasite concentration และวิธีย้อมสีพิเศษ MZN ในตัวอย่างอุจจาระกระป๋องเดียวกัน โดยเจ้าหน้าที่ตรวจวิเคราะห์ได้วิเคราะห์ผลการตรวจเชื่อมโยงกันทั้ง 2 งาน ได้แก่ งานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิกและจุลชีววิทยาคลินิก ซึ่งการตรวจดังกล่าวมีต้นทุนค่าวัสดุอุปกรณ์ประมาณ 55-60 บาท สามารถลดต้นทุนการเก็บอุจจาระ จากเดิมใช้ 2 กระป๋อง เหลือ 1 กระป๋อง ลดเวลาในการจัดเก็บตัวอย่างอุจจาระ ลดระยะเวลาการส่งตรวจและเป็นวิธีการเพิ่มโอกาสการตรวจพบพยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวฉวยโอกาสที่ครอบคลุม มีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น และเป็นการ

พัฒนาระบบงานพัฒนาบุคลากร เพื่อเพิ่มศักยภาพการตรวจวิเคราะห์พยาธิโปรโตซัวและโปรโตซัวด้วยโอกาสของห้องปฏิบัติการ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่งานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก งานจุลชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันบำราศนราดูร ที่ช่วยในการเก็บส่งตรวจและตรวจวิเคราะห์ ขอขอบคุณหัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันบำราศนราดูร ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัย ขอขอบคุณ บริษัทกรุงเทพอินเตอร์ โปรดักส์ ที่ให้การสนับสนุนชุดน้ำยาตรวจ Parasep® faecal parasite concentration เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัย และขอบคุณ ผศ.ดร.อุมาพร รุ่งสุริยะวิบูลย์ คณะเทคนิคการสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ช่วยเหลือให้คำปรึกษา และนำงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Shimelis A, Berhanu E, Girmay M, Zelalem A, Techalew S. Intestinal parasitic infection to HIV/AIDS status, diarrhea and CD4 T-cell count. BMC Infectious Diseases 2009;9:155.
2. Wiwanitkit V. Intestinal parasitic infections in Thai HIV-infected patients with different immunity status. BMC Gastroenterology 2001;1:3.
3. Babatunde SK, Salami AK, Fabiyi JP, Agbede OO, Desalu OO. Prevalence of intestinal parasitic infestation in HIV seropositive and seronegative patients in Ilorin, Nigeria. Ann Afr Med 2010;9:123-8.
4. Levine JA, Estevez EG. Method for concentration of parasites from small amounts of feces. J Clin Microbiol 1983;18:786-8.
5. Feleke M, Yeshambel B, Moges T, Yenew K, Andragachew M, Afework K, et al. Comparison of formol-acetone concentration method with that of the direct iodine preparation and formol-ether concentration methods for examination of stool parasites. Ethiop J Health Dev 2010;24:148-51.
6. Kettelhut M, Moody A, Edwards H, Chiodini PL. Evaluation of Parasep® faecal parasite concentrator [Internet]. [cited 2003 March 07]. Available at: http://www.diasys.com/PDF/ PAR029-HTD_Evaluation_Mkettelhut_AMoody.pdf.
7. Moody A H, Sitara R, Mercedes S. Evaluation of Parasep® SF, Ether and Ethyl Acetate Free Faecal Concentrators. [Internet]. [cited 2011 April 05]. Available at http://www.diasys.com/PDF/ Evaluation_Document_ParasepSF.pdf.
8. Derrick B, Blundell N, Hart CA. The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* Oocysts in faeces. Journal of Hygiene 1984;93: 317-23.
9. Kaplan JE, Benson C, Holmes KH, Brooks JT, Pau A, Masur H. Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. MMWR 2009; 58:1-207.
10. Nelson M, Dockrell D, Edwards S. British HIV Association (BHIVA) 'Guidelines for the treatment of opportunistic infection in HIV-positive individuals 2010' (In consultation period). [Internet]. [cited 2010 June 15]. Available at http://www.liv.ac.uk/hiv/2010_BHIVA_OI-GuidelineConsultationVersion.pdf.