

บทความทั่วไป

อะแคนทามีบา (Acanthamoeba)

อัญชลี วรรณสาร*

อะแคนทามีบา (*Acanthamoeba*) เป็นโปรโตซัวที่จัดอยู่ใน Phylum Sarcomastigophora, Sub-phylum Sarcodina, Superclass Rhizopoda, Class Lobosea, Subclass Gymnamoebia, Order Amoebida, Family Acanthamoebidae, Genus *Acanthamoeba* พบเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2473 โดย Castellani ซึ่งพบเชื้ออะแคนทามีบา ปนเปื้อนมาในระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Cryptococcus pararoseus*¹

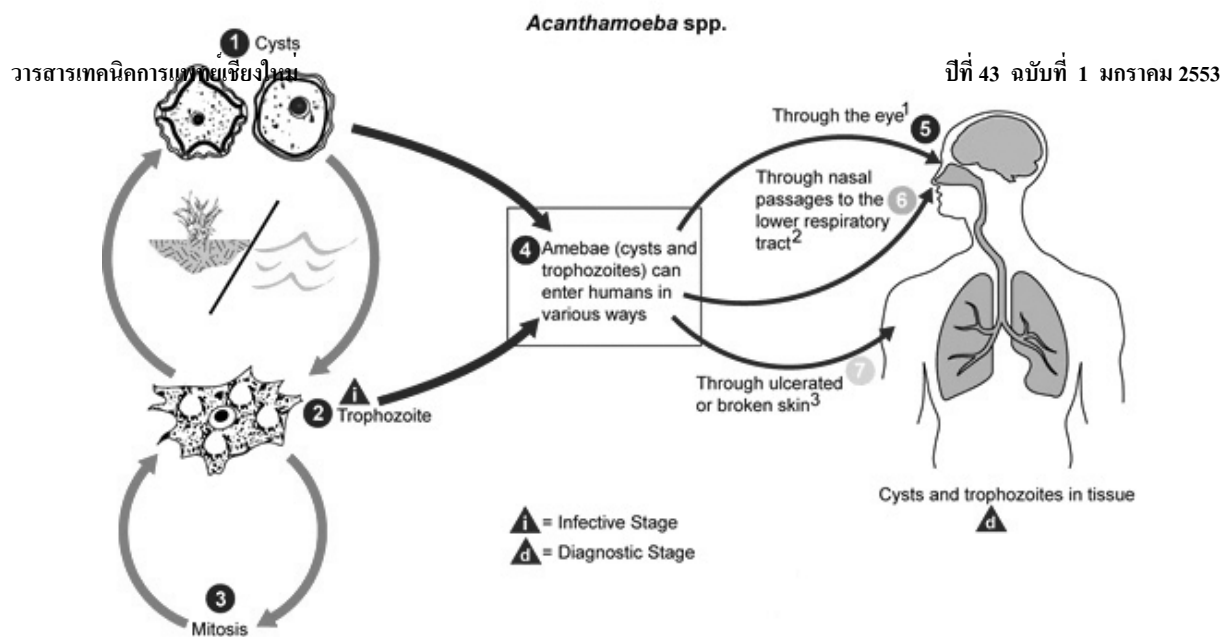
อะแคนทามีบาดำรงชีพอิสระ (free-living amoebae) พบได้ทั่วโลก อยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ ทั้งบนดิน ในน้ำ และในอากาศ โดยมีผู้สามารถแยกเชื้อนี้ได้จากแหล่งน้ำตามธรรมชาติ ได้แก่ น้ำทะเล น้ำจืด น้ำกร่อย น้ำพุร้อน ทะเลสาบ แม่น้ำ ชายหาด น้ำประปา น้ำโสโครก สระว่ายน้ำ และน้ำทิ้ง จากท่อของเครื่องปรับอากาศ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง พบมากในแหล่งน้ำนิ่งที่มีการไหลเวียนน้อย เช่น ดินที่มี น้ำขัง บ่อน้ำ และสระน้ำ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบเชื้อในโพรงจมูกและลำคอของคนปกติ และผู้ป่วยระบบทางเดินหายใจ และพบในอุจจาระของผู้ป่วยที่มีอาการถ่ายเหลว²

วงจรชีวิต

อะแคนทามีบามีสองระยะในวงจรชีวิตคือ ระยะโทรโฟซอยต์และระยะซิสต์ (รูปที่ 1) โทรโฟซอยต์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 12-35 ไมโครเมตร มีนิวเคลียสเดี่ยวซึ่งมีขนาดหนึ่งในหกส่วนของตัวโทรโฟซอยต์ มีคาร์ิโอโซมกลมใหญ่ มีการเคลื่อนที่อย่างเชื่องช้า

แบบสไลด์ไหลค้อยๆ ผ่านไป (gliding) โดยใช้ขาเทียมลักษณะคล้ายหนาม (acanthopodia) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของเชื้อใน genus นี้ (คำว่า *acanth* มาจากภาษากรีก แปลว่า หนาม) นอกจากนี้ acanthopodia ยังมีความสำคัญในด้านการยึดติดกับพื้นผิวและใช้จับเหยื่อ โทรโฟซอยต์กินพวกแบคทีเรีย สาหร่าย ยีสต์ หรืออนุภาคอินทรีย์เล็กๆ โดยเก็บไว้ในโพรงอาหาร (food vacuole) ซึ่งมีมากมายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ มีการแบ่งตัวแบบไมออสัยเพศ จากหนึ่งเป็นสอง (binary fission) เมื่อโทรโฟซอยต์อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ขาดอาหาร จะเกิดการเหนียวน้ำให้อะแคนทามีบาเข้าซิสต์ (encystation) โดยสร้างสารห่อหุ้มตัวและขับน้ำ อาหาร รวมถึงสารอนินทรีย์ที่เป็นส่วนเกินออกไป ตัวเชื้อจะแน่นและกลมขึ้นเป็นซิสต์อ่อน ซึ่งจะสมบูรณ์เมื่อมีผนังซิสต์สองชั้น ระยะซิสต์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5-20 ไมโครเมตร รูปทรงซิสต์มีลักษณะโค้งนูนหรือหลายเหลี่ยม ผนังซิสต์สองชั้นประกอบด้วย ผนังชั้นใน (endocyst) และผนังชั้นนอก (ectocyst) ผนังทั้งสองนี้แตะกันหลายจุดและเกิดรู (ostioles) ตรงตำแหน่งนั้น รูเหล่านี้มีหน้าที่คอยตรวจตราสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อซิสต์อยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม โทรโฟซอยต์จะออกจากซิสต์ (excystation) และแบ่งตัวแพร่พันธุ์ต่อไป ระยะโทรโฟซอยต์เท่านั้นที่เป็นระยะติดต่อ ส่วนระยะซิสต์แพร่กระจายได้ในอากาศในสิ่งแวดล้อม และคงความสามารถในการก่อโรคได้นานหลายปี

* ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



รูปที่ 1 วงจรชีวิตของอะแคนตามีบา

การจัดกลุ่มจำแนกเชื้อ

ในปี พ.ศ. 2540 Pussard และ Ponds ได้จัดกลุ่มอะมีบาใน genus *Acanthamoeba* ออกเป็นสามกลุ่มโดยอาศัยลักษณะกายสัณฐานวิทยาที่สำคัญสองประการของระยะซิสต์ ได้แก่ ขนาดของซิสต์ และจำนวนของจุดที่ผนังชั้นในและผนังชั้นนอกมาแต่กัน ในปัจจุบันสามารถจำแนกได้แล้ว 20 ชนิด (species)³

กลุ่มที่ 1 มีลักษณะร่วมกันคือ ระยะซิสต์และระยะโทรโฟซอยต์มีขนาดใหญ่ ซิสต์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยตั้งแต่ 18 ไมโครเมตรขึ้นไป ผนังชั้นในและผนังชั้นนอกแยกห่างจากกันมาก มีสมาชิก 4 ชนิด ได้แก่ *A. astronyxis*, *A. comandoni*, *A. echinulata* และ *A. tubiashi*

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มใหญ่ พบบ่อยและพบได้ทั่วไป มักแยกได้จากตัวอย่างกระจกตาและคอนแทคเลนส์ กลุ่มนี้ซิสต์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร ผนังชั้นในและผนังชั้นนอกอาจแยกห่างจากกันมากหรือใกล้กันก็ได้ ผนังชั้นนอกอาจหนาหรือบาง ผนังชั้นในอาจเป็นรูปหลายเหลี่ยม สามเหลี่ยมหรือกลม มักไม่ค่อยเห็นจุดที่ตะกักระหว่างผนังชั้นใน

และผนังชั้นนอก มีสมาชิก 11 ชนิด ได้แก่ *A. mauritaniensis*, *A. castellanii*, *A. polyphaga*, *A. quina*, *A. divionensis*, *A. triangularis*, *A. lugdunensis*, *A. griffini*, *A. rhyodes*, *A. paradivionensis* และ *A. hatchetti*

กลุ่มที่ 3 ซิสต์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 18 ไมโครเมตร แต่ผนังชั้นนอกบาง และผนังชั้นในค่อนข้างกลม อาจมีจุดที่ตะกักระหว่างผนังชั้นนอกอยู่ 3-5 จุด มีสมาชิก 5 ชนิด ได้แก่ *A. palestinensis*, *A. culbertsoni*, *A. royreba*, *A. lenticulata* และ *A. pustulosa*

ต่อมาพบว่าการใช้ลักษณะของซิสต์แต่เพียงอย่างเดียวในการจำแนกชนิดนั้นยังมีปัญหาอยู่มาก เช่น พบว่ารูปร่างของซิสต์จะเปลี่ยนแปลงไปในสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างกัน จึงมีการจัดจำแนกชนิดใหม่โดยใช้เทคนิคทางโมเลกุลเข้ามาช่วย เช่น Polymerase chain reaction (PCR) โดยศึกษาลำดับเบสของ ribosomal RNA gene ซึ่งพบว่าสัมพันธ์กับวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต มีความน่าเชื่อถือสูง และด้วยวิธีนี้นักวิทยาศาสตร์ได้แบ่งเชื้อใน genus *Acanthamoeba* ออกได้เป็น 15 genotypes (T1-T15) แต่ละ genotype มีความแตกต่างของลำดับเบสมากกว่าร้อยละ 5 ขึ้นไป⁴

ชนิดที่พบว่าก่อโรคในคนได้แก่ *A. astronyxis*, *A. castellanii*, *A. polyphaga*, *A. quina*, *A. lugdunensis*, *A. rhysodes*, *A. hatchetti*, *A. palestinensis*, *A. culbertsoni* และ *A. griffini* นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษาแบบแผนของไอโซเอนไซม์ (isoenzyme pattern) และรูปแบบของการย่อยดีเอ็นเอจากไมโทคอนเดรีย (restriction fragment length polymorphism analysis, RFLP) มาใช้ในการจำแนกชนิดด้วย

ความสำคัญทางสาธารณสุข

อะแคนทามีบาเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคสมองอักเสบชนิด Granulomatous amoebic encephalitis (GAE) และโรคกระจกตาอักเสบจากเชื้ออะแคนทามีบา (Acanthamoeba keratitis, AK)

โรคสมองอักเสบชนิด Granulomatous amoebic encephalitis (GAE)

เชื้อเข้าสู่ร่างกายได้หลายทาง เช่น ทางผิวหนังที่เป็นแผล เยื่อเมือก (mucous membrane) ตา หรือทางเดินหายใจ ทำให้เกิดรอยโรคบริเวณที่ได้รับเชื้อ จากนั้นจึงแพร่ไปตามกระแสเลือดเข้าสู่สมอง คนที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยง ได้แก่ ผู้ที่มีอายุมาก สุขภาพอ่อนแอ ผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ภูมิคุ้มกันต่ำหรือได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ระยะเวลาพักตัวของโรคอาจนานกว่า 10 วัน หรือเป็นเดือนก็ได้ ผู้ป่วยมักจะมาด้วยอาการที่คล้ายกับการติดเชื้อไวรัส แบคทีเรีย หรือโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบจากเชื้อวัณโรค (tuberculosis meningitis) คือ มีอาการไข้ต่ำเป็นระยะๆ ปวดศีรษะรุนแรง ต่อมาจึงแสดงอาการทางคลินิกที่เหมือนกับโรคเนื้อสมองตายบางส่วน โดยมีการกระจายเคื่องต่อเยื่อหุ้มสมองและสมองอักเสบ มีการบวมของเนื้อสมอง พบฝีหลายแห่งในเนื้อสมอง แต่บริเวณ olfactory bulb มักปกติ มีอาการแสดงเฉพาะทางระบบประสาท (focal neurological deficits) เช่น มีพฤติกรรมเปลี่ยนไป เป็นอัมพาตครึ่งซีก เชื่องซึม คอแข็ง พูดลำบาก กล้ามเนื้อทำงานไม่ประสานกัน คลื่นไส้ อาเจียน ความดันในสมองเพิ่มขึ้น ชัก และเสียชีวิตในที่สุด การดำเนินโรคมักค่อยเป็นค่อยไป (subacute) อาจนานเป็นสัปดาห์หรือเป็นเดือนก็ได้

โรคกระจกตาอักเสบจากเชื้ออะแคนทามีบา (Acanthamoeba keratitis, AK)

เชื้อสามารถแทรกตัวเข้าบาดแผลที่กระจกตา (cornea) ได้โดยตรงหลังจากมีการสัมผัสกับน้ำ ดิน อวัยวะหรือสิ่งของอื่นๆ ที่ปนเปื้อนเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่าเกี่ยวข้องกับการใช้คอนแทคเลนส์เป็นเวลานานๆ โดยรักษาความสะอาดไม่เพียงพอ ทำให้มีคราบฟิล์มเกาะอยู่บนคอนแทคเลนส์ คราบเหล่านั้นจะเพิ่มความสามารถของเชื้อในการเกาะกับคอนแทคเลนส์ได้ยิ่งขึ้น และยังเป็นแหล่งอาหารของเชื้อได้อีกด้วย เมื่อคอนแทคเลนส์สัมผัสกับบาดแผลที่กระจกตา เชื้อจะเข้าสู่ร่างกาย ส่วนในผู้ป่วยที่ใช้คอนแทคเลนส์บางรายที่ตรวจไม่พบแผลที่กระจกตา อาจทำให้การวินิจฉัยผิดพลาดว่าเกิดจากการติดเชื้อ Herpes simplex virus อาการของผู้ป่วยด้วยโรคนี้คือ มีการผลิตน้ำตา มากกว่าปกติ ตาแดง กระจกตาขุ่น โดยมีเซลล์เข้ามาแทรกซึมมากจนอาจเห็นเป็นวงแหวนสีขาวขุ่น (stromal ring infiltrate formation) (รูปที่ 2) ซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่สำคัญที่ช่วยในการวินิจฉัยโรคได้เป็นอย่างดี แต่ควรคำนึงถึงการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบซึ่งอาจทำให้เกิด ring infiltration ได้เช่นเดียวกัน⁵ นอกจากนี้ยังอาจมีอาการม่านตาและเปลือกกระจกตาอักเสบ มีหนองในลูกตา (hypopyon) ซึ่งหากมีการติดเชื้อแบคทีเรียซ้ำจะทำให้การรักษาเป็นไปได้อย่างยากยิ่งขึ้น มีอาการปวดตาอย่างรุนแรงและตาบอดได้ในที่สุด

ถึงแม้ว่าการติดเชื้ออะแคนทามีบาส่วนใหญ่จะเกิดกับตาและระบบประสาทส่วนกลาง แต่การที่เชื้อสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ทางบาดแผลที่ผิวหนังจึงทำให้เกิดรอยโรคที่ผิวหนัง (granulomatous skin lesions) ขึ้นได้ ซึ่งมักพบในคนที่ภูมิคุ้มกันบกพร่อง จากนั้นเชื้อจะแพร่กระจายไปตามกระแสเลือดไปสู่อวัยวะอื่นๆ (disseminated acanthamoebiasis) เช่น หู ปอด ตับ ตับอ่อน ม้าม ไต ต่อมลูกหมาก ไทรอยด์ เต้านม และต่อมน้ำเหลือง เป็นต้น โดยพบรอยโรคเป็น granulomatous infiltrates ซึ่งส่วนใหญ่เชื้อมักเข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางและดำเนินไปเป็น GAE ในที่สุด^{6,7}



รูปที่ 2 โรคกระจกตาอักเสบจากเชื้ออะแคนทามีบา

การวินิจฉัย

GAE ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักได้รับการวินิจฉัยหลังจากที่เสียชีวิตแล้ว เนื่องจากอาการแสดงทางคลินิกส่วนใหญ่ของ GAE คล้ายกับโรคทางระบบประสาทส่วนกลางอื่นๆ การวินิจฉัยเบื้องต้นค่อนข้างยาก ต้องอาศัยประวัติการสัมผัสกับน้ำที่อาจปนเปื้อนเชื้อ อาศัยความชำนาญในการดูเชื้อจากผู้เชี่ยวชาญ รวมถึงผลการวิเคราะห์หลายๆ อย่างมาสนับสนุนการวินิจฉัย เช่น ภาพถ่ายทางสมองจาก computed tomography (CT) หรือ magnetic resonance imaging (MRI) การหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ ซึ่งสามารถช่วยได้ในกรณีที่มีการติดเชื้อจำนวนน้อย แต่อาจมีข้อจำกัดในกรณีที่ผู้ป่วยมีความผิดปกติทางระบบภูมิคุ้มกันอยู่แล้ว และควรคำนึงถึงระดับแอนติบอดีต่อเชื้อที่สามารถพบได้ในคนปกติด้วย การตรวจดูคุณสมบัติที่เปลี่ยนไปในน้ำไขสันหลัง เช่น ปริมาณเม็ดเลือดขาวและความเข้มข้นของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของกลูโคสที่ลดลง การตรวจหาเชื้อจากชิ้นเนื้อสมองหรือจากน้ำไขสันหลัง โดยนำตะกอนที่ได้จากการปั่นน้ำไขสันหลังมาตรวจดูการเคลื่อนที่ของโทรโฟซอยต์สดๆ จะสังเกตเห็น acanthopodia หรือการย้อมสีตะกอนด้วยสี Trichrome หรือ Iron-hematoxylin ซึ่งถ้าผู้ป่วยวินิจฉัยไม่ชำนาญพออาจวินิจฉัยผิดพลาดเพราะคิดว่าเป็นเม็ดเลือดขาวชนิด mononuclear หรือ gitter cell (foamy histiocyte) ได้ ส่วนการเพาะเลี้ยงเชื้อจะช่วยยืนยันผลได้แน่นอนยิ่งขึ้น โดยหยดสิ่งส่งตรวจลงใน 1.5% non-nutrient agar

ที่ผิวหน้าฉาบด้วยแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli* ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของอะแคนทามีบา วางจานเลี้ยงเชื้อไว้ในที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใน 2-3 วันจะสังเกตเห็นวงใสๆ อันเกิดจากการที่เชื้อกินแบคทีเรีย แต่ถ้ายังไม่พบก็ควรเก็บจานเลี้ยงเชื้อไว้และตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ต่อไปอีกจนครบ 1 สัปดาห์ ส่วนการเพาะเลี้ยงเชื้อจากสิ่งแวดล้อมใช้วิธีเดียวกัน ซึ่งหากต้องการพิสูจน์คุณสมบัติการก่อโรคของเชื้อที่แยกได้ ต้องทำหอยดอะมีบาที่แยกได้เข้าสัตว์ทดลองต่อไป หรืออาจใช้วิธีทางอณูชีววิทยาช่วยยืนยันอีกทางหนึ่ง

AK นอกจากอาการแสดงทางคลินิกซึ่งคล้ายกับอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ Herpes simplex virus ตามที่กล่าวแล้วข้างต้น ประวัติการใช้คอนแทคเลนส์ก็ช่วยในการวินิจฉัยได้อีกทางหนึ่ง โดยอาจแยกเชื้อจากคอนแทคเลนส์ ตลับใส่คอนแทคเลนส์ หรือการขูดแผลบนกระจกตาไปทำสเมียร์ย้อมสีหรือเพาะเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย ไม่แพง และจำนวนเชื้อที่เพิ่มมากขึ้นหลังจากการเพาะเชื้อยังสามารถนำไปศึกษาด้านอื่นๆ ต่อไปได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิค PCR มาใช้ตรวจหาเชื้อจากสิ่งส่งตรวจ ซึ่งพบว่ารวดเร็ว มีความจำเพาะสูงและสามารถตรวจพบเชื้อได้แม้ว่าในสิ่งส่งตรวจจะมีจำนวนเชื้ออยู่น้อยก็ตาม

การรักษา

GAE ยังไม่มีรายงานการรักษาที่ได้ผลแน่นอน

เพราะเชื้อนี้ทำให้เกิดฝีในสมองหลายแห่ง ทำให้ยากต่อการผ่าตัด อีกทั้งเชื้ออะแคนทามีบาไม่ค่อยไวต่อยาต้านเชื้ออะมีบา และยาเหล่านั้นส่วนใหญ่ไม่สามารถผ่าน blood-brain barrier ได้ อย่างไรก็ตาม ยาที่อาจใช้ร่วมกันในการรักษาได้แก่ ketoconazole, fluconazole, sulfadiazine, pentamidine, isethionate, amphotericin B, azithromycin, itraconazole หรือ rifampin ซึ่งอาจมีผลข้างเคียงได้ในรายที่มีอาการรุนแรงถึงแม้ไม่เสียชีวิต แต่อาจสูญเสียการได้ยินหรือการมองเห็นได้

AK การรักษาเป็นไปได้ยาก ชับซ้อน อาจใช้เวลานานเป็นปี และมักได้ผลเฉพาะในรายที่ทำการวินิจฉัยได้รวดเร็ว และให้การรักษาได้ทันทั่วทั้งที่ยาที่ใช้ ได้แก่ biguanide (0.02% polyhexamethylene biguanide, PHMB หรือ 0.02% chlorhexidine digluconate, CHX) ร่วมกับ diamidine (0.1% propamidine isethionate, Brolene หรือ 0.1% hexamidine, Desomedine) และในรายที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียร่วมด้วยควรให้ยาปฏิชีวนะร่วมในการรักษา เช่น neomycin หรือ chloramphenicol หากผู้ป่วยมีอาการปวดและอักเสบ อาจบรรเทาอาการได้โดยให้ยากลุ่มสเตียรอยด์ สำหรับผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อระยะเริ่มแรกอาจใช้วิธีการกำจัดผิวกระจกตาที่ติดเชื้อ (debridement) ซึ่งให้ผลการรักษาเป็นที่น่าพอใจ แต่ในผู้ป่วยบางรายที่โรคดำเนินมาถึงขั้นปลายแล้วจะต้องปลูกถ่ายกระจกตาใหม่

ระบาดวิทยา

การติดเชื้ออะแคนทามีบาในคน แม้มีรายงานไม่มากนัก แต่การติดเชื้อมักรุนแรงถึงตายได้ถ้าเชื้อแพร่เข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลาง ในปี พ.ศ. 2504 Fowler และ Carter รายงานว่าพบผู้ป่วยที่ติดเชื้ออะแคนทามีบารายแรกของโลก¹ ผู้ป่วยเป็นเด็กชายมีประวัติสุขภาพแข็งแรงอายุเพียง 9 ปี อาศัยอยู่ทางตอนใต้ของประเทศออสเตรเลีย มาโรงพยาบาลด้วยอาการไข้ เชื่องซึม ปวดหัวอย่างรุนแรง และเจ็บคอ มีการวินิจฉัยเบื้องต้นว่าเกิดจากการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ ซึ่งต่อมาผู้ป่วยรายนี้มีความดันในสมองเพิ่มขึ้น อาเจียนอย่างรุนแรง และสติสัมปชัญญะลดลง แพทย์จึงลงความเห็นว่า เป็น acute bacterial meningitis เมื่อเจาะน้ำ

ไขสันหลังมาย้อมสีและทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียก็ไม่พบเชื้อ ผู้ป่วยเสียชีวิตหลังจากเริ่มมีอาการเพียง 4 วัน จากการผ่าศพพบเชื้ออะแคนทามีบาในเยื่อหุ้มสมองและเนื้อสมองจำนวนมาก ต่อมา มีรายงานว่าพบผู้ป่วยที่ติดเชื้อชนิดนี้เพิ่มขึ้นจากทั่วโลก โดยในปี พ.ศ. 2532 มีจำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้ออะแคนทามีบาในระบบประสาทส่วนกลางมากถึง 40 ราย และมีมากกว่า 200 รายที่ป่วยเป็นโรคกระจกตาอักเสบจากเชื้ออะแคนทามีบา² หลังจากนั้นอีกประมาณสิบปีต่อมาพบจำนวนผู้ป่วยโรคสมองอักเสบชนิด Granulomatous amoebic encephalitis จากทั่วโลกเพิ่มมากถึง 120 ราย และผู้ป่วยโรคกระจกตาอักเสบจากเชื้ออะแคนทามีบามีจำนวนมากถึง 3,000 ราย² โดยจำนวนผู้ป่วยที่เพิ่มมากขึ้นนี้ เน้นให้เห็นถึงปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของโลกที่เกิดจากเชื้ออะแคนทามีบา

ผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงโรคสมองอักเสบชนิด Granulomatous amoebic encephalitis ส่วนใหญ่เป็นผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือเป็นโรคเอดส์ และมักเป็นการวินิจฉัยภายหลังจากที่ผู้ป่วยเสียชีวิตแล้วเนื่องจาก ไม่ได้รับการวินิจฉัยโรคได้อย่างถูกต้องและทันทั่วทั้งที่ จำนวนผู้ป่วยที่แท้จริงอาจสูงกว่านี้ เพราะการวินิจฉัยโรคต้องอาศัยผู้ที่มีประสบการณ์ และความชำนาญในการจำแนกชนิดของเชื้อโรค จึงทำให้ในบางประเทศ เช่น ประเทศแอฟริกาใต้ซึ่งมีผู้ติดเชื้อ HIV เป็นจำนวนมาก แต่กลับไม่มีรายงานผู้ป่วยโรคสมองอักเสบจากเชื้อ อะแคนทามีบาเลย อีกทั้งการผ่าพิสูจน์ศพก็ไม่เป็นที่นิยมทำกันในประเทศ

ส่วนกลุ่มเสี่ยงของโรคกระจกตาอักเสบจากเชื้ออะแคนทามีบา ได้แก่ ผู้ที่มีกิจกรรมที่สัมพันธ์กับการใช้น้ำมีการกระเด็นของน้ำที่ปนเปื้อนเข้าสู่ตา เช่น การแช่ตัวในอ่างอาบน้ำ การว่ายน้ำ หรือล้างตาขณะใส่คอนแทคเลนส์ การใช้น้ำยาแช่คอนแทคเลนส์ที่มีคลอรีนเป็นส่วนผสม ซึ่งพบว่าเชื้ออะแคนทามีบาสามารถทนต่อคลอรีนในระดับความเข้มข้นที่สูงได้ แต่การใช้ 2-step hydrogen peroxide system ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 3 มาแช่คอนแทคเลนส์สามารถฆ่าทั้งระยะโทรฟอยต์และซิสต์ได้³ ในปัจจุบันนี้พบว่าผู้ใช้คอนแทคเลนส์ถึงประมาณ 70 ล้านคนทั่วโลก ซึ่งคนกลุ่มนี้มีโอกาส

เสี่ยงต่อการได้รับเชื้ออะแคนทามีบา มากกว่าคนที่ไม่ได้ใช้คอนแทคเลนส์ถึง 80 เท่า เชื้ออะแคนทามีบาเป็นหนึ่งในสามจุลชีพที่เป็นสาเหตุหลักของโรคกระจกตาอักเสบในกลุ่มคนที่ใช้คอนแทคเลนส์ นอกเหนือจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* และ *Staphylococcus*¹⁰ ดังนั้นจึงควรระวังอย่าให้ฝุ่นดินหรือน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอย่าให้น้ำจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติสัมผัสลูกแว่นเข้าตาหรือจุ่ม สำหรับการผลิตวัคซีนที่ใช้ในการป้องกันการติดเชื้ออะแคนทามีบา ในขณะนี้ยังไม่มีรายงานถึงความก้าวหน้าในการผลิตวัคซีนดังกล่าว

รายงานผู้ป่วยติดเชื้ออะแคนทามีบาในประเทศไทย

จากบทความพินิจของ พนอจิตร จริยา และคณะ เมื่อปี พ.ศ. 2535¹¹ กล่าวว่ามีการพบผู้ป่วย รายแรก ในปี พ.ศ. 2530 จากโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า (ไม่ได้ตีพิมพ์) และในปีต่อมา พบผู้ป่วยอีกหนึ่งรายจากโรงพยาบาลศิริราช ซึ่งเสียชีวิตจากการติดเชื้ออะแคนทามีบาที่สมอง โดยผู้ป่วยเป็นหญิงชาวอุบลราชธานี อายุ 50 ปี ไม่มีประวัติการว่ายน้ำมาก่อนและมีสุขภาพแข็งแรงดี จากนั้นในปี พ.ศ. 2536 กำธร ธรรมประเสริฐ และคณะ¹² ได้กล่าวว่าก่อนหน้านี้มีผู้ป่วยด้วยโรคกระจกตาอักเสบจากเชื้ออะแคนทามีบา 2 ราย ซึ่งไม่ได้ตีพิมพ์ไว้ (นพ. พิสมัย กรวิชัย ภาควิชาปรสิตวิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ติดต่อส่วนตัว) และได้รายงานผู้ป่วยรายแรกของไทยที่ติดเชื้ออะแคนทามีบาที่ผลในกระเพาะอาหาร ผู้ป่วยเป็นหญิง อายุ 42 ปี มีประวัติ chronic intermittent epigastric pain มานาน 3 ปี เข้ารักษาตัวที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ เมื่อ 31 ตุลาคม พ.ศ. 2535 พบรูขนาด 1 เซนติเมตร ที่ผลในกระเพาะอาหาร ได้ทำการผ่าตัดและดูดน้ำในช่องท้องออก ตัดชิ้นเนื้อที่ขอบแผลมาย้อมสีตรวจพบเชื้ออะแคนทามีบาทั้งระยะซิสต์และโทรโฟซอิตจำนวนมาก ผู้ป่วยมีการติดเชื้อแทรกซ้อน อาการแยลงและเสียชีวิตในวันที่ 13 หลังเข้ารับการรักษาตัว ต่อมา ตุ่มทิพย์ แสงรุจิ และคณะ¹³ ได้รายงานว่าพบผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำและเป็นโรคสมองอักเสบชนิด Granulomatous amoebic encephalitis จำนวน 4 รายในช่วงปี พ.ศ. 2533-2535 จากโรงพยาบาลศิริราช โดยติดเชื้ออะแคนทามีบา 2 ราย และอีก 2 ราย

ติดเชื้อ leptomycid amoeba ผู้ป่วยที่ติดเชื้ออะแคนทามีบารายหนึ่งเป็นคณงานหญิง อายุ 26 ปีป่วยเป็นโรค systemic lupus erythematosus (SLE) ส่วนอีกรายเป็นชวนาชอายุ 20 ปีป่วยด้วยโรค aplastic anemia และ paroxysmal nocturnal hemoglobinuria ทั้งสองรายกำลังได้รับการรักษาด้วยยาสเตียรอยด์ รายแรกพบเชื้ออะแคนทามีบาจากการตัดชิ้นเนื้อสมองมาตรวจ และเสียชีวิตในวันที่ 8 หลังเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาล ในช่วงปลายเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2534 ส่วนอีกรายพบเชื้อจากการตรวจชิ้นเนื้อสมองจากศพ และเสียชีวิตภายในวันที่ 2 หลังเข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาล ในช่วงต้นเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2533 การทำ indirect immunofluorescence test จาก tissue section สามารถบ่งชี้ได้ว่าอะแคนทามีบาชนิด *A. castellanii* และ *A. healyi* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในผู้ป่วยทั้งสองรายตามลำดับ จากข้อมูลรายงานการติดเชื้อในประเทศไทยที่ผ่านมา ยังไม่พบว่าผู้ป่วยรายใดรอดชีวิตจากการติดเชื้ออะแคนทามีบาที่สมองเลย จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2541 สามารถ นิธินันท์¹⁴ และคณะได้รายงานว่าพบผู้ป่วยที่รอดชีวิตจากการติดเชื้ออะแคนทามีบาที่เยื่อหุ้มสมอง (*Acanthamoeba meningitis*) จำนวน 3 ราย ที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้าในปี พ.ศ. 2539 โดยเป็นผู้ป่วยชายอายุ 64 ปี จากจังหวัดกาญจนบุรี และอายุ 82 ปี จากจังหวัดนครปฐม และผู้ป่วยหญิงอายุ 62 ปี จากกรุงเทพมหานคร ผู้ป่วยทั้งสามรายมาโรงพยาบาลในเวลาใกล้เคียงกัน ในช่วงเดือนสิงหาคมและเดือนกันยายน ซึ่งเป็นช่วงที่มีฝนตกชุกและน้ำท่วม ผลการตรวจวินิจฉัยพบเชื้อในน้ำไขสันหลังทุกราย จะเห็นได้ว่าการวินิจฉัยโรคที่ถูกต้องส่งผลให้การรักษาเป็นไปได้อย่างรวดเร็วและทันที่ ในเวลาต่อมาเมื่อเทคนิคทางโมเลกุลก้าวหน้าขึ้น สมชาย จงวุฒิเวศย์ และคณะ¹⁵ ได้นำเทคนิค Restriction fragment length polymorphism analysis (RFLP) มาช่วยในการวินิจฉัยผู้ป่วยโรคกระจกตาอักเสบจากเชื้ออะแคนทามีบาเป็นครั้งแรกในประเทศไทย กับผู้ป่วยจำนวน 2 ราย ที่เข้ารับการรักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เมื่อปี พ.ศ. 2531 และ 2533 ตามลำดับ โดยร่วมกับการใช้ลักษณะกายสัณฐานวิทยาในการจำแนกชนิด โดยผู้ป่วย

รายแรกเป็นหญิงอายุ 58 ปี เศษฟางเข้าตาซ้าย ขณะขุดดินในสวนแถวชานเมืองในกรุงเทพ เมื่อเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2531 ผลจากการวินิจฉัยเบื้องต้นคาดว่าผู้ป่วยติดเชื้อ Herpes simplex virus แต่ต่อมาตรวจพบเชื้ออะแคนทามีบาจาก corneal biopsy ซึ่งจากการวินิจฉัยโดยใช้ลักษณะกายสัณฐานวิทยาพบว่าเป็นเชื้ออะแคนทามีบาชนิด *A. castellanii* และ *A. polyphaga* ผู้ป่วยรายที่สองเป็นชายอายุ 30 ปี มาโรงพยาบาลเมื่อวันที่ 12 มีนาคม พ.ศ. 2533 ด้วยอาการตาอักเสบที่เกิดจากเศษไม้ไผ่กระเด็นเข้าตาซ้ายและน้ำจากบ่อปลากระเด็นเข้าตาข้างเดิมซ้ำอีก ผลจากการวินิจฉัยเบื้องต้นคาดว่าผู้ป่วยติดเชื้อราที่กระจกตา ต่อมาภายหลังได้ตรวจพบเชื้ออะแคนทามีบาจาก corneal biopsy ซึ่งจากการวินิจฉัยโดยใช้ลักษณะกายสัณฐานวิทยาจึงสรุปว่าเป็นเชื้ออะแคนทามีบาชนิด *A. castellanii* และ *A. triangular* และเมื่อนำเชื้อที่แยกได้จาก corneal biopsy มาเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนและสกัดไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ (mtDNA) จากนั้นย่อยด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ พบว่าเชื้อทั้งสองที่แยกได้จากผู้ป่วยแต่ละคนนั้นมี mtRFLP pattern ที่เหมือนกัน ซึ่งแสดงถึงการมีลักษณะทางพันธุกรรมที่คล้ายคลึงกันหรือเหมือนกัน จึงสรุปว่าผู้ป่วยแต่ละรายมีการติดเชื้อแบบ single infection จากเชื้ออะแคนทามีบาสายพันธุ์หนึ่ง ในช่วงต้นปี พ.ศ. 2544 พาสิริสิทธินามสุวรรณ และคณะ¹⁶ ได้ตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยที่ติดเชื้ออะมีบาขึ้นสมอง จำนวน 2 ราย โดยรายหนึ่งป่วยเป็นโรค PAM (Primary amoebic meningoencephalitis) ที่มีสาเหตุจากเชื้ออะมีบาชนิด ไนกลีเรีย ฟาวเลอร์ (*Naegleria fowleri*) และอีกรายป่วยเป็นโรค GAE ที่มีสาเหตุจากเชื้ออะแคนทามีบา ซึ่งผู้ป่วยหญิงที่ติดเชื้ออะแคนทามีบาเป็นชาวสุพรรณบุรี อายุ 17 ปี มีประวัติเคยไปว่ายน้ำในเขื่อน ซึ่งผลการตรวจชิ้นเนื้อจากสมองพบเชื้ออะแคนทามีบา และผู้ป่วยได้เสียชีวิตในเวลาต่อมาสำหรับผู้ป่วยรายล่าสุดที่รายงานโดย จุฑาทิพย์ ศิริพันธุ์ และคณะ¹⁷ เป็นชายที่มีสุขภาพแข็งแรง มีประวัติเคยดำน้ำในสระน้ำตามธรรมชาติมาประมาณ 2-3 วันก่อนเข้ารับการรักษาตัวที่โรงพยาบาลโรคเขตร้อน เมื่อเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2547 ด้วยอาการไข้ต่ำๆ มีน้ำมูกเหนียวข้นปนเลือดเล็กน้อย และมีอาการปวดหัวอย่างรุนแรง

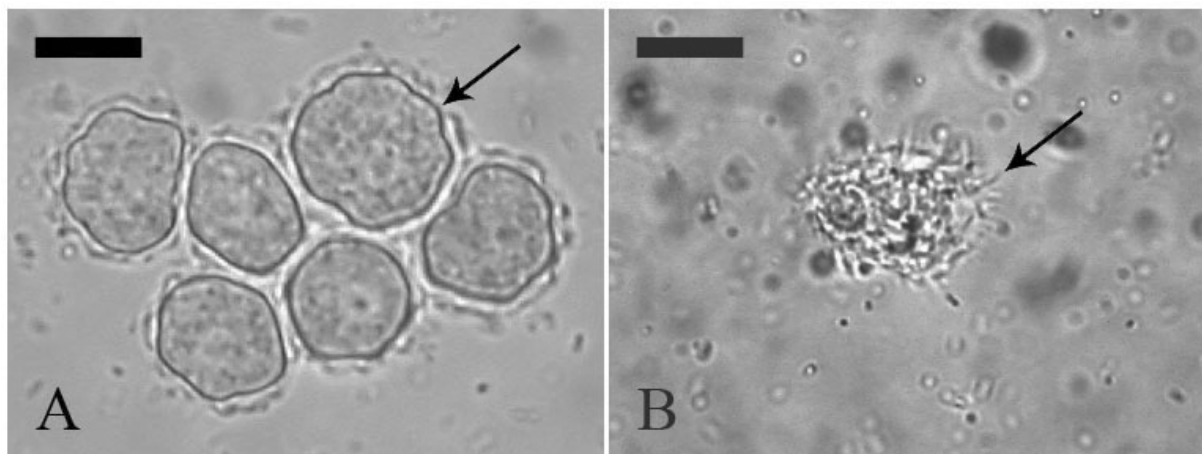
มาประมาณหนึ่งสัปดาห์ จากการตรวจน้ำมูกสดๆ และย้อมด้วยสี Giemsa พบเชื้ออะแคนทามีบาและเชื้อไนกลีเรียร่วมกับการติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นการพบการติดเชื้ออะมีบาสองชนิดร่วมกันในโพรงจมูกเป็นครั้งแรก แต่เนื่องจากผู้ป่วยรายนี้ได้รับการวินิจฉัยอย่างถูกต้องและรวดเร็วในเบื้องต้นและได้รับการรักษาอย่างทันที่ท่วงที ก่อนที่ผู้ป่วยจะแสดงอาการผิดปกติทางสมอง จึงทำให้ผู้ป่วยรอดชีวิต โดยสรุปแล้วการติดเชื้ออะแคนทามีบาในประเทศไทยยังมีรายงานไม่มากนัก จากข้อมูลผู้ป่วยจำนวน 12 รายที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นนั้น มีการรายงานตีพิมพ์เผยแพร่เพียง 11 ราย ได้แก่ การติดเชื้ออะแคนทามีบาที่สมอง (GAE) จำนวน 4 ราย การติดเชื้ออะแคนทามีบาที่เยื่อหุ้มสมอง (*Acanthamoeba meningitis*) จำนวน 3 ราย การติดเชื้ออะแคนทามีบาที่กระจกตาจำนวน 2 ราย การติดเชื้ออะแคนทามีบาที่แผลในกระเพาะอาหารจำนวน 1 ราย และการติดเชื้ออะแคนทามีบาร่วมกับเชื้อไนกลีเรียจำนวน 1 ราย ถึงแม้ว่ามีรายงานพบผู้ป่วยเพียงไม่กี่รายแต่จำนวนที่แท้จริงของผู้ป่วยด้วยโรคนี้อาจมากกว่าความเป็นจริงก็ได้ เนื่องจากการวินิจฉัยโรคได้อย่างถูกต้องและแม่นยำนั้นต้องอาศัยผู้ที่มีความชำนาญในการจำแนกชนิดของเชื้อโรค อีกทั้งลักษณะอาการทางคลินิกของโรคนี้อาจคล้ายคลึงกับอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ จึงทำให้การวินิจฉัยในเบื้องต้นเกิดความผิดพลาดได้

รายงานการสำรวจเชื้ออะแคนทามีบาในประเทศไทย

หลังจากรายงานการเสียชีวิตของผู้ป่วยติดเชื้อที่สมองที่มีสาเหตุจากเชื้ออะมีบาที่ดำรงชีพอิสระ การสำรวจการแพร่กระจายของเชื้ออะมีบาดังกล่าวจึงเริ่มขึ้นเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2528 โดย พนอจิตร จริยา และคณะ¹⁸ ได้ทำการสำรวจหาเชื้อในแหล่งน้ำจำนวน 105 แหล่งจากจังหวัดนครราชสีมาและจังหวัดสุรินทร์ พบเชื้อ *Acanthamoeba* spp. ร้อยละ 4.8 และ *Naegleria* spp. ร้อยละ 19 และในปี พ.ศ. 2542 ดวงพร นาคะพันธุ์ชัย และคณะ¹⁹ พบเชื้ออะมีบาที่ดำรงชีพอิสระ 5 ชนิด จาก 14 จังหวัดของประเทศไทย ซึ่งตัวอย่างจากแหล่งน้ำพบเชื้อ *Acanthamoeba* ร้อยละ 36.7 และเชื้อ *Naegleria* ร้อยละ 28.6 และตัวอย่างจากดินพบเชื้อ *Acanthamoeba* ร้อยละ

48.2 และเชื้อ *Naegleria* ร้อยละ 4.8 นอกจากนี้ยังมีการสำรวจหามะมีบาที่ดำรงชีพอิสระจากแหล่งน้ำพุร้อนตามธรรมชาติหลายแหล่งด้วยกัน พบเชื้ออะแคนทามีบา ร่วมกับอะมีบาชนิดอื่นเช่นกัน²⁰ ส่วนการสำรวจหาเชื้ออะแคนทามีบาในฝุ่นในเขตกรุงเทพมหานคร และปริมณฑล พบเชื้ออะแคนทามีบาถึงร้อยละ 26.1 จากฝุ่น²¹ และเมื่อไม่นานมานี้มีการหาความชุกของเชื้ออะแคนทามีบาจากชุดเก็บคอนแทกเลนส์ โดยใช้เทคนิค Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) ในการตรวจหา 18S ribosomal DNA ของเชื้อ ซึ่งพบเชื้ออะแคนทามีบาถึงร้อยละ 7²² และล่าสุดในปี พ.ศ. 2550 อัญชลีวรรณสาร และคณะ²³ ได้สำรวจหามะมีบาที่ทนต่ออุณหภูมิสูง (thermotolerant amoebae) จาก 28 แหล่งน้ำธรรมชาติในจังหวัดเชียงใหม่ พบ thermotolerant amoebae ร้อยละ 28.6 โดยแยกเชื้อได้จากตัวอย่างแอ่งดินในอัตราสูงสุด (ร้อยละ 75) รองลงมาคือตัวอย่างจากนาข้าว (ร้อยละ 50)

คูน้า (ร้อยละ 25) อ่างเก็บน้ำขนาดใหญ่ (ร้อยละ 16.7) และบ่อปลา (ร้อยละ 15) โดยจำนวน thermotolerant amoebae ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำ (ร้อยละ 62.5) มีมากกว่าที่แยกได้จากตัวอย่างดินตะกอน (ร้อยละ 37.5) จำแนกเป็นเชื้อ *Naegleria* spp. ร้อยละ 37.5 และเชื้อ *Acanthamoeba* spp. ร้อยละ 18.8 โดยมี 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 31.3) ที่พบอะมีบาปนกันทั้งสองชนิด และอีก 2 ตัวอย่างที่ยังจำแนกชนิดไม่ได้ (รูปที่ 3) ซึ่งจากการพบ thermotolerant amoebae ในการสำรวจครั้งนี้เน้นให้เห็นถึงความเสี่ยงต่อการติดเชื้ออะมีบาของคนในท้องถิ่นที่ต้องใช้ และ/หรือสัมผัสกับน้ำเป็นประจำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งน้ำจากนาข้าวและคูน้า เพราะมีรายงานที่น่าเชื่อถือได้ว่าเชื้ออะมีบาชนิดที่สามารถเจริญเติบโตได้ในที่มีอุณหภูมิสูงมีศักยภาพสูงในการก่อโรคในคนได้²⁴



รูปที่ 3 ตัวอย่างส่งตรวจ A และ B ที่มีอะมีบาซึ่งจำแนกชนิดไม่ได้

ถึงแม้ว่าการรายงานจำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้ออะมีบาที่ดำรงชีพอิสระในประเทศไทยยังมีจำนวนไม่มากนักก็ตาม แต่สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือ เชื้ออะมีบาเหล่านี้ไม่เพียงสามารถก่อโรคได้ในผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรง แต่ยังสามารถเป็นเชื้อฉวยโอกาสได้ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยโรคเอดส์ ซึ่งในประเทศไทยมีจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคนี้เพิ่มขึ้นทุกปี รวมถึงผู้ป่วย

ด้วยโรคที่ต้องรับการรักษาด้วยยากดภูมิคุ้มกัน เช่น ผู้ป่วยที่มีการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อหรืออวัยวะ ผู้ป่วยโรคมะเร็ง และผู้ป่วยโรค SLE เป็นต้น และเนื่องจากในปัจจุบันนี้มีจำนวนผู้ที่ใช้คอนแทกเลนส์เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นโรคกระจกตาอักเสบที่เกิดจากเชื้ออะมีบาเป็นสิ่งที่ควรเฝ้าระวังเช่นกัน รวมถึงการพัฒนาวิธีการวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพ แม่นยำและรวดเร็วก็เป็นสิ่งสำคัญ

ในการวินิจฉัยโรคนี้ ลักษณะภูมิอากาศของไทย ที่ร้อน และมีฝนตกชุก รวมถึงการมีน้ำท่วมเกิดขึ้นบ่อยๆ จึงเป็นปัจจัยที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของเชื้ออะมีบานี้ได้ดี นอกจากนี้ยังมีการนำน้ำจากแหล่งน้ำต่างๆ มาใช้เล่น หรือ สาดใส่กันในประเพณีสงกรานต์ของไทย จึงควรตระหนักถึงความเสี่ยงของการติดเชื้อนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Visvesvara GS. Classification of *Acanthamoeba*. Rev Infect Dis 1991; 13 Suppl 5: S369-72.
2. Shin HJ, Im KI. Pathogenic free-living amoebae in Korea. Korean J Parasitol 2004; 42(3): 93-119.
3. Khan NA. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. FEMS Microbiol Rev 2006; 30(4): 564-95.
4. Schuster FL, Visvesvara GS. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. Int J Parasitol 2004; 34(9): 1001-27.
5. Illingworth CD, Cook SD. *Acanthamoeba* keratitis. Surv Ophthalmol 1998; 42(6): 493-508.
6. Ma P, Visvesvara GS, Martinez AJ, Theodore FH, Daggett PM, Sawyer TK. *Naegleria* and *Acanthamoeba* infections: review. Rev Infect Dis 1990; 12(3): 490-513.
7. De Jonckheere JF. Ecology of *Acanthamoeba*. Rev Infect Dis 1991; 13 Suppl 5: S385-7.
8. Fowler M CR. Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp.: a preliminary report. Br Med J 1965; 25(2(5464)): 740-2.
9. Beattie TK, Tomlinson A, Seal DV. Anti-*Acanthamoeba* efficacy in contact lens disinfecting systems. Br J Ophthalmol 2002; 86(11): 1319-20.
10. Giese MJ, Weissman BA. Contact lens associated corneal infections. Clin Exp Optom 2002; 85: 141-8.
11. Jariya P, Lerlaituan P, Warachoon K. *Acanthamoeba* spp.: a cause of chronic granulomatous amoebic meningoencephalitis. Siriraj Hosp Gaz 1992; 44: 148-53.
12. Thamprasert K, Khunamornpong S, Morakote N. *Acanthamoeba* infection of peptic ulcer. Ann Trop Med Parasitol 1993; 87(4): 403-5.
13. Sangruchi T, Martinez AJ, Visvesvara GS. Spontaneous granulomatous amoebic encephalitis: report of four cases from Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1994; 25(2): 309-13.
14. Nidhinandana S, Leelayoova S. Report of three cases of *Acanthamoeba* meningoencephalitis and literature review. RTA Med J 1998; 51: 235-9.
15. 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 2000; 5(5): 335-40.
16. Sithinamsuwan P, Sangruchi T, Chiewvit P, Pongvarin N. Free-living amoeba infection of the central nervous system in Thailand: Report of two patients and review of the literature. Intern Med J Thai 2001; 17: 350-60.
17. Siripanth C, Punpoowong B, Riganti M. Early detection and identification of amphizoic amoebae from nasal exudates of a symptomatic case. J Med Assoc Thai 2005; 88(4): 545-9.
18. Jariya P, Singprasert P, Lerlaituan P. Survey of amoeba in stagnant waters of northeastern Thailand. J Parasit Trop Med Ass Thailand 1988; 11(2): 40-6.
19. Nacapunchai D, Kino H, Ruangsitticha C,

- Sriwichai P, Ishih A, Terada M. A brief survey of free-living amebae in Thailand and Hamamatsu District, Japan. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2001; 32 Suppl 2: 179-82.
20. Lekkla A, Sutthikornchai C, Bovornkitti S, Sukthana Y. Free-living ameba contamination in natural hot springs in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005; 36 Suppl 4: 5-9.
21. Yaicharoen R, Ngrenngarmert 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.
22. Lek-Uthai U, Passara R, Roongruangchai K, Buddhirakkul P, Thammapalerd N. Rapid identification of *Acanthamoeba* from contact lens case using loop-mediated isothermal amplification method. Exp Parasitol 2009; 121(4): 342-5.
23. Wannasan A, Chaiwong P, Bunchoo M, Morakote N,. Occurrence of thermotolerant *Naegleria* and *Acanthamoeba* in some natural water sources in Chaing Mai. Chiang Mai Med J 2009; 48(3): 117-24.
24. Griffin JL. Temperature tolerance of pathogenic and nonpathogenic free-living amoebas. Science 1972; 178(63): 869-70.