

นิพนธ์ฉบับ

การสำรวจหา *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่นจากกรุงเทพมหานคร และปริมณฑล

ระพีพร ไชยเจริญ¹ วารุณี เงินงามเลิศ¹ ปวีณา ทองมี² และ วิชชุดา คำสมาน²

บทคัดย่อ

Acanthamoeba เป็นอะมีบาอิสระที่พบได้ในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ และฝุ่น ซึ่งสามารถก่อโรค *Acanthamoeba keratitis* ในคนได้โดยการสัมผัสเชื้อจากฝุ่นหรือดิน ผ่านทางกระจกตา การศึกษาครั้งนี้ทำการสำรวจความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่นจากกรุงเทพมหานครและปริมณฑล โดยเก็บตัวอย่างฝุ่น ในปี พ.ศ. 2544 จำนวน 307 ตัวอย่าง จำแนกเป็นฝุ่นภายในอาคาร 204 ตัวอย่าง และฝุ่นภายนอกอาคาร 103 ตัวอย่าง นำมาเพาะเลี้ยงบนจานวุ้นที่ฉาบด้วย *Escherichia coli* และตรวจหา *Acanthamoeba* ระยะ cyst และ trophozoite ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา จำแนกกลุ่มของ *Acanthamoeba* spp. โดยอาศัยลักษณะภายนอกของระยะ cyst ตามวิธีการของ Pussard และ Pons

ผลการศึกษาพบ *Acanthamoeba* spp. ร้อยละ 26.1 (80/307) จากตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด โดยพบ *Acanthamoeba* spp. จากฝุ่นภายนอกอาคาร มากกว่าฝุ่นภายในอาคาร (41.7% และ 18.1%, $p < 0.05$) พบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. สูงสุดบริเวณสวนสาธารณะ และบนพื้น (11.7% และ 9.3%) ลักษณะ cyst ของ *Acanthamoeba* spp. ที่พบสอดคล้องกับลักษณะ cyst ของ *A. polyphaga*, *A. castellanii* และ *A. triangularis* ซึ่งเคยมีรายงานการก่อโรค *Acanthamoeba keratitis* ในประเทศไทยและพบว่า ลักษณะของ cyst ที่พบจัดอยู่ใน กลุ่ม 2 มากกว่ากลุ่ม 3 (18.9% และ 11.4%, $p < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบ อะมีบาอิสระอื่นๆ เช่น *Hartmannella* spp. และ *Vahlkampfi* spp. คิดเป็นร้อยละ 52.1 ของตัวอย่างฝุ่น ผลการสำรวจครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า สามารถพบ *Acanthamoeba* ได้ในสิ่งแวดล้อมภายนอก และภายในตัวอาคารซึ่งอาจเป็นสาเหตุของโรค *Acanthamoeba keratitis* ได้ วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2550; 40: 46-53.

คำรหัส: *Acanthamoeba*, *Acanthamoeba keratitis*, ฝุ่น

¹ ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

² นักศึกษาปี 4 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ปีการศึกษา 2544

Abstract: Survey of *Acanthamoeba* spp. in Dust from Bangkok and Suburban Areas

Rapeeporn Yaicharoen¹, Warunee Ngrenngarmert¹, Paweena Thongmee² and Witchuda Damsaman²

Acanthamoeba is a free living amoeba found in various environments including soil, water and dust. Accidental exposure to *Acanthamoeba* in dust and soil through cornea can cause keratitis. The prevalence of *Acanthamoeba* spp. from 307 dust samples (204 indoor and 103 outdoor samples) was studied in 2001. A total samples were cultured in non-nutrient agar coated with *Escherichia coli* and observed the morphology of *Acanthamoeba* spp. by light microscope using Pussard and Pons criteria.

Acanthamoeba spp. was found in 26.1% of total dust (80/307). Prevalence of *Acanthamoeba* spp. from outdoor dust samples was significantly higher than those from indoor dust samples (41.7% and 18.1%, $p < 0.05$). The highest prevalence was found in park area and on the floor inside of building (11.7% and 9.3%). Based on Pussard and Pons, *Acanthamoeba* spp. cysts found in this study were classified as group II which was significantly higher than group III (18.9% and 11.4%, $p < 0.05$). *Acanthamoeba* spp. found in the study were morphologically similar to *A. polyphaga*, *A. castellanii* and *A. triangularis*. Other free-living amoeba such as *Hartmanella* spp. and *Vahlkampfia* spp. were also found in 52.1% of total dust samples. These results suggested that *Acanthamoeba* spp. found in dust from various environments may cause Acanthamoeba keratitis. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2007; 40: 46-53.

Key words: *Acanthamoeba*, Acanthamoeba keratitis, dust

¹ Department of Parasitology, Faculty of Medical Technology, Mahidol University

² The 4th year Medical Technology student (2001), Faculty of Medical Technology, Mahidol University

บทนำ

Acanthamoeba เป็นอะมีบาอิสระพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น ดิน น้ำ และฝุ่นละออง¹ แยกจากอะมีบาอิสระอื่นๆ ที่พบได้ในสิ่งแวดล้อมโดยระยะ trophozoite มีขนาด 25-40 ไมโครเมตร มีนิวเคลียส 1 อัน, pseudopodia มีลักษณะเป็นหนามแหลมโดยรอบ (acanthopodia) เป็นระยะที่แบ่งตัวเพิ่มจำนวน และกินแบคทีเรียเป็นอาหาร ระยะ cyst มีขนาดต่างกันตั้งแต่ 10-

35 ไมโครเมตร มีผนังสองชั้นคือ ผนังชั้นนอก (ectocyst) และผนังชั้นใน (endocyst) แยกจากกันชัดเจน โดยลักษณะของผนัง cyst สามารถใช้ในการจำแนกกลุ่มของ *Acanthamoeba* spp. ออกเป็น 3 กลุ่มตามการจำแนกของ Pussard และ Pons² ระยะ cyst เป็นระยะที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งสูง¹ เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแบคทีเรียเป็นอาหารจะเปลี่ยนเป็นระยะ trophozoite

Acanthamoeba keratitis เป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบของกระจกตา และบริเวณรอบประสาทตาจากเชื้อ *Acanthamoeba* spp. ผู้ป่วยจะมีการเจ็บปวดในตา ตาแดง น้ำตาไหล ไม่สู้แสง และอาจสูญเสียการมองเห็น หากไม่ได้รับการรักษาทันที่^{1,3} โรค *Acanthamoeba keratitis* พบได้ในผู้ที่ใส่คอนแทคเลนส์ โดยการปนเปื้อนระยะ cyst หรือ trophozoite จากชุดอุปกรณ์ทำความสะอาด คอนแทคเลนส์เข้าสู่ตา⁴ นอกจากนี้ในระยะหลังมีรายงานการเกิดโรคจากการได้รับอุบัติเหตุจากดินหรือฝุ่นละอองกระเด็นเข้าตา⁵⁻⁷ โดยสามารถแยก *Acanthamoeba* spp. จากผู้ป่วยโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด non-nutrient agar ที่ฉาบด้วยแบคทีเรียบนผิววุ้น ชนิดของ *Acanthamoeba* ที่แยกได้จากผู้ป่วย ได้แก่ *Acanthamoeba keratitis* ได้แก่ *A. castellanii*, *A. lugdunensis*, *A. polyphaga*, *A. rhysodes*, *A. culbertsoni* และ *A. griffini*¹

ในประเทศไทยมีรายงานพบผู้ป่วย *Acanthamoeba keratitis* ในปี พ.ศ. 2531 และ พ.ศ. 2533 จากอุบัติเหตุเศษวัสดุกระเด็นเข้าตา⁸ ต่อมา มีรายงานการสำรวจพบอะมีบาอิสระในแหล่งน้ำ และ ดิน⁹ แต่ยังไม่พบรายงานการศึกษาในฝุ่นละอองซึ่งเป็นอนุภาคขนาดเล็ก และเสี่ยงต่อการเกิดอุบัติเหตุปนเปื้อนเข้าสู่ตาได้ง่าย

การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจหาความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่นตามสถานที่สาธารณะ และภายในอาคารที่พักอาศัย ในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล และ จำแนกกลุ่มของ *Acanthamoeba* spp. โดยอาศัยรูปร่างลักษณะของ cyst ตามวิธีการของ Pussard และ Pons

วัสดุและวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างฝุ่นจากสถานที่ต่างๆ ตามสถานที่สาธารณะ ได้แก่ สวนสาธารณะ ทางเดิน สนามเด็กเล่น ป้ายรถโดยสารประจำทาง พื้นถนน และที่พักอาศัย ได้แก่ ฝุ่นจากบริเวณพื้นห้อง หน้าต่าง พัดลม และไส้กรองเครื่องปรับอากาศ จากกรุงเทพมหานคร จังหวัดนครปฐม จังหวัดปทุมธานี และจังหวัดนนทบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2544 โดยใช้พู่กัน

เก็บฝุ่นใส่ถุงพลาสติกที่สะอาด ระบุวัน เวลา สถานที่ และตำแหน่งที่เก็บ

2. การเพาะเลี้ยงเชื้อ

เพาะเลี้ยงเชื้อ *Acanthamoeba* โดยดัดแปลงจากวิธี Page¹⁰ คือนำตัวอย่างฝุ่น ประมาณ 0.5 กรัม โรยบนจานวุ้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ซึ่งมี non-nutrient agar (NNA; 1.5% Difco bacto agar ใน phosphate-buffer saline pH 7.0) ที่ฉาบด้วยแบคทีเรีย *Escherichia coli* บนผิววุ้น ตั้งจานวุ้นในกล่องพลาสติกที่สะอาด ภายในบรรจุแก้วน้ำเพื่อให้ความชื้น ปิดฝากล่อง และนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

3. การตรวจหาปรสิต

นำจานวุ้นที่เพาะเลี้ยงมาตรวจหาระยะ cyst ด้วยกล้อง inverted microscope ทุกวัน จนครบ 7 วัน เมื่อพบระยะ cyst ของอะมีบาอิสระ ใช้ loop สะอาดเขี่ย cyst ลงบน microscopic slide หยดด้วยน้ำเกลือ (0.8% saline solution) ปิดด้วย cover slip และตรวจดูลักษณะของ cyst ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (light microscope) ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ในแต่ละตัวอย่างที่พบอะมีบาอิสระ ทำการ sub-culture จนได้ระยะ cyst เพียงลักษณะเดียว นำ cyst ที่ได้มาย้อมด้วยสี Methylene blue เพื่อจำแนกชนิดของ *Acanthamoeba* cyst ตามวิธีการของ Pussard และ Pons² โดยวัดขนาด cyst และสังเกตลักษณะของผนัง cyst

ทำการแยก *Acanthamoeba* ระยะ trophozoite บนจานวุ้นที่มีแบคทีเรียโดยหยดน้ำเกลือ (0.8% saline solution) ที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 หยดลงบนตำแหน่งที่มีกลุ่ม cyst ปิดด้วย cover slip ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เพาะเลี้ยงต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจึงนำ cover slip มาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนตัวอย่างที่สำรวจพบ *Acanthamoeba* spp. ในแต่ละสถานที่

และจำนวนตัวอย่างที่สำรวจพบระยะ cyst จำแนกตามกลุ่ม โดยใช้สถิติ Chi-square test ($\alpha = 0.05$)

ผลการศึกษา

1. ความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่น

ตัวอย่างฝุ่นที่ทำการศึกษารวม 307 ตัวอย่าง จำแนกเป็นตัวอย่างฝุ่นจากพื้นที่ในกรุงเทพมหานครจำนวน 258 ตัวอย่าง จากจังหวัดนครปฐมจำนวน 33 ตัวอย่าง จังหวัดปทุมธานี จำนวน 11 ตัวอย่าง และจังหวัดนนทบุรี จำนวน 5 ตัวอย่าง จำแนกเป็นฝุ่นภายในอาคาร 204 ตัวอย่าง (66.4%) และฝุ่นภายนอกอาคาร 103 ตัวอย่าง (33.6%) พบ *Acanthamoeba* spp. จากตัวอย่างฝุ่นจำนวน 80 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26.1 ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด จากตัวอย่างฝุ่นที่ทำการศึกษาพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. จากฝุ่นภายนอกตัวอาคารสูงกว่าฝุ่นภายในตัวอาคาร (41.7% และ

18.1%, $p < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบร้อยละของจำนวนตัวอย่างฝุ่นที่เก็บจากสถานที่ต่างๆ พบว่าฝุ่นจากทางเดินในสวนสาธารณะพบ *Acanthamoeba* spp. สูงที่สุดคิดเป็นร้อยละ 11.6 ของตัวอย่างฝุ่นจากภายนอกตัวอาคาร (12/103) และพบ *Acanthamoeba* spp. จากฝุ่นบริเวณพื้นห้องสูงที่สุดคิดเป็นร้อยละ 9.3 ของตัวอย่างฝุ่นจากภายในตัวอาคาร (19/204) ดังแสดงในตารางที่ 1

2. การจำแนกชนิดของ *Acanthamoeba* spp.

ชนิดของ *Acanthamoeba* จำแนกตามวิธีการของ Pussard และ Pons² พบความชุกของ *Acanthamoeba* cyst กลุ่ม 2 สูงกว่า กลุ่ม 3 (18.9% และ 11.4%, $p < 0.05$) แต่ไม่พบ *Acanthamoeba* spp. กลุ่ม 1 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ร้อยละของตัวอย่างที่ตรวจพบ *Acanthamoeba* spp. จำแนกตามสถานที่

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนที่พบ	ร้อยละ ^a
ฝุ่นภายนอกตัวอาคาร			
สวนสาธารณะ	18	12	11.6
ทางเดิน	11	7	6.8
สนามเด็กเล่น	16	7	6.8
ป้ายรถโดยสารประจำทาง	17	5	4.9
พื้นถนน	28	6	5.8
อื่นๆ	13	6	5.8
รวม	103	43	41.7
ฝุ่นภายในตัวอาคาร			
พื้นห้อง	62	19	9.3
ไส้กรองเครื่องปรับอากาศ	23	4	2.0
หน้าต่าง	55	7	3.4
พัดลม	64	7	3.4
รวม	204	37	18.1

^a ร้อยละของจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ *Acanthamoeba* spp. ในแต่ละสถานที่เปรียบเทียบกับจำนวนตัวอย่างที่ทำการสำรวจในแต่ละกลุ่ม

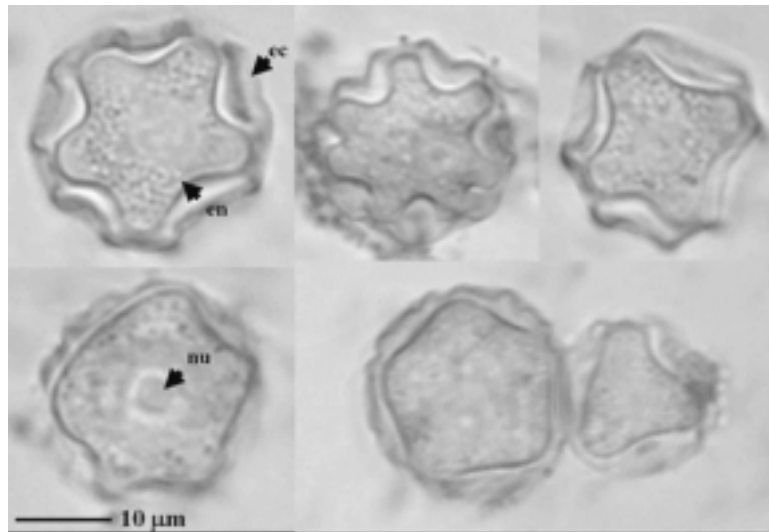
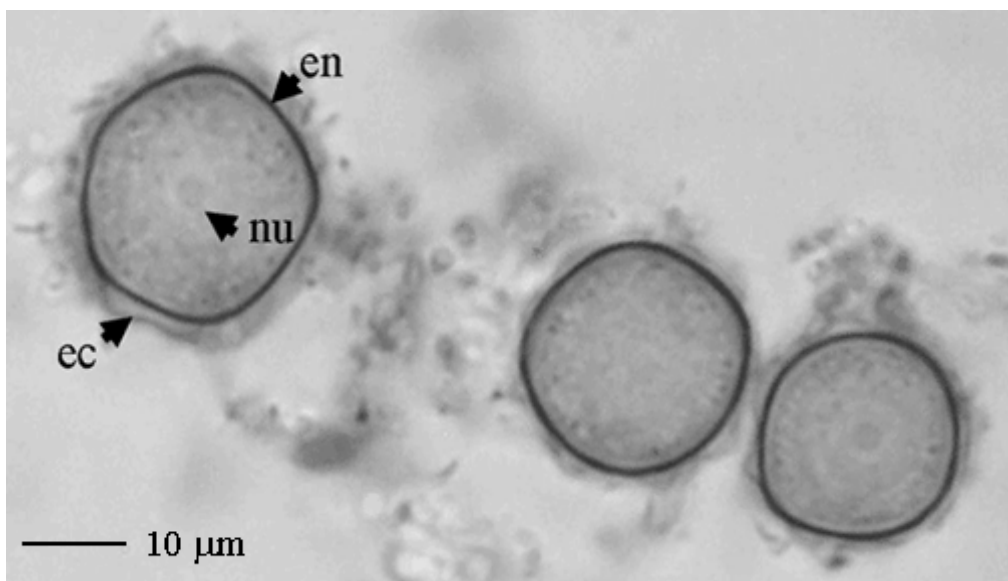
ตารางที่ 2 ความชุกของ *Acanthamoeba* spp. ที่สำรวจพบในฝุ่นภายในและ ภายนอกตัวอาคารจำแนกตามลักษณะของ cyst

<i>Acanthamoeba</i> cyst	จำนวนตัวอย่างฝุ่นที่ตรวจพบ <i>Acanthamoeba</i> cyst		
	ภายในตัวอาคาร (n = 204)	ภายนอกตัวอาคาร (n = 103)	รวม (n = 307)
กลุ่ม 1	0	0	0
กลุ่ม 2	28 (13.7%)	17 (16.5%)	45 (14.7%)
กลุ่ม 3	6 (2.9%)	16 (15.5%)	22 (7.2%)
กลุ่ม 2 และกลุ่ม 3	3 (1.5%)	10 (9.7%)	13 (4.2%)
รวม	37 (18.1%)	43 (41.7%)	80 (26.1%)

Acanthamoeba cyst กลุ่ม 2 มีขนาด 10-20 ไมโครเมตรมีผนัง cyst 2 ชั้น ผนังชั้นนอกเชื่อมต่อกับผนังชั้นใน ผนังชั้นนอกมีลักษณะหยักพลั่ว ผนังชั้นในเป็นรูปเหลี่ยมหรือมีรูปลักษณะคล้ายดาว มีนิวเคลียส 1 อัน ภายในมี karyosome ขนาดใหญ่รูปร่างกลม มีช่องว่างล้อมรอบ (halo) ระหว่าง karyosome กับขอบนิวเคลียส (รูปที่ 1A) ส่วน *Acanthamoeba* cyst กลุ่ม 3 มีขนาด 10-20 ไมโครเมตร มีผนัง cyst 2 ชั้น ไม่มีรอยเชื่อมต่อกันระหว่างผนังชั้นในกับผนังชั้นนอก ผนังชั้นในกลมและหนากว่าผนังชั้นนอกซึ่งมีลักษณะหยักพลั่ว มีนิวเคลียส

1 อันภายในมี karyosome ขนาดใหญ่รูปร่างกลม มีช่องว่างล้อมรอบ (halo) ระหว่าง karyosome กับขอบนิวเคลียส (รูปที่ 1B) สำหรับ *Acanthamoeba* ระยะ trophozoite ที่พบมีขนาด 15-35 ไมโครเมตร มีนิวเคลียส 1 อัน karyosome รูปร่างกลม มีช่องว่างล้อมรอบระหว่าง karyosome กับขอบนิวเคลียส (halo) มี pseudopodia เป็นหนามแหลมบาง

นอกจากนี้ยังพบอะมีบาอิสระอื่นคือ *Hartmanella* spp. และ *Vahlkampfia* spp. จำนวน 160 ตัวอย่าง (52.1%)

A. *Acanthamoeba* cyst กลุ่ม 2B. *Acanthamoeba* cyst กลุ่ม 3

รูปที่ 1 ลักษณะของ *Acanthamoeba* cyst กลุ่ม 2 (A), กลุ่ม 3 (B) แยกได้จากตัวอย่างฝุ่น แสดงผนัง cyst ชั้นนอก (ec), ผนัง cyst ชั้นใน (en) และนิวเคลียส (nu)

วิจารณ์ผลการศึกษา

ในการสำรวจครั้งนี้ พบ *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่นร้อยละ 26.1 ซึ่งต่ำกว่ารายงานของ Rodriguez-Zaragoza และคณะ¹¹ ที่ศึกษาในประเทศเม็กซิโก โดยแยก *Acanthamoeba* spp. จากฝุ่นในทะเลทรายได้สูง

ถึงร้อยละ 39 ของตัวอย่างทั้งหมด ความชุกของ *Acanthamoeba* ในฝุ่นจากการศึกษาครั้งนี้ต่ำกว่ารายงานการพบในแหล่งน้ำ และดินบริเวณแหล่งน้ำในประเทศไทยที่ทำการสำรวจในปี พ.ศ. 2542 โดยพบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. สูงถึงร้อยละ 36.7

และ 48.2 ตามลำดับ⁹ การพบความชุกที่แตกต่างกันเนื่องจากสภาพแวดล้อมของการสำรวจแตกต่างกัน กล่าวคือฝุ่นละอองในที่แห้ง มีอุณหภูมิสูงไม่เหมาะสมกับการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ *Acanthamoeba* ที่จะเปลี่ยนจากระยะ trophozoite เป็นระยะ cyst โดยระยะ cyst สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้งอุณหภูมิระหว่าง -20 ถึง 42 องศาเซลเซียส¹ และสามารถเปลี่ยนเป็นระยะ trophozoite แบ่งตัวเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็วในที่มีความชื้นและมีแบคทีเรียเป็นอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับสภาพแวดล้อมที่เป็นดินชื้นบริเวณแหล่งน้ำตามธรรมชาติ

การพบ *Acanthamoeba* spp. ในฝุ่นทั้งในและนอกตัวอาคารทำให้มีโอกาสเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเข้าตาได้ จากการศึกษาครั้งนี้พบความชุกของ *Acanthamoeba* spp. จากฝุ่นภายนอกอาคาร (41.7%) สูงเป็น 2 เท่าของฝุ่นภายในอาคาร (18.1%) ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะอุณหภูมิและความชื้นภายนอกอาคารเหมาะสมกับการเจริญของเชื้อมากกว่า และการดูแลความสะอาดภายในอาคารทำให้ปริมาณของฝุ่นลดลง การพบ *Acanthamoeba* spp. จากตัวอย่างฝุ่นที่เก็บจากไส้กรองเครื่องปรับอากาศและพัดลมแสดงให้เห็นว่ามีโอกาสเสี่ยงในการแพร่กระจายเชื้อได้สูงกว่าฝุ่นที่พบตามพื้นห้อง รายงานการศึกษานี้แตกต่างจากรายงานจากประเทศบราซิลซึ่งพบ *Acanthamoeba* spp. จากฝุ่นภายในหอผู้ป่วยในโรงพยาบาลสูงถึงร้อยละ 45¹²

ลักษณะของ *Acanthamoeba* cyst จากการสำรวจพบในครั้งนี้ มีลักษณะสอดคล้องกับ cyst ของ *A. polyphaga*, *A. castellanii*, *A. triangularis* และ *A. culbertsoni* ซึ่งเคยมีรายงานการก่อโรค *Acanthamoeba* keratitis ในประเทศต่างๆ รวมทั้งประเทศไทย^{1,8} นอกจากนี้ Roongruangchai และคณะได้รายงานการพบ *Acanthamoeba* cyst ลักษณะเดียวกันนี้ จากการสำรวจชุดอุปกรณ์ล้างคอนแทคเลนส์จากกลุ่มตัวอย่างในประเทศไทย¹³ รายงานการศึกษาพบว่า *Acanthamoeba* spp. ที่จำแนกอยู่ใน กลุ่ม 2 และ 3 เป็นกลุ่มที่มีความสัมพันธ์กับการก่อโรค *Acanthamoeba* keratitis สูง และจำนวน *Acanthamoeba* spp. ที่จัดอยู่ใน กลุ่ม 2 และ 3 มีจำนวนมากถึง 10 และ 5 ชนิด¹⁴ จึงอาจเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้มีรายงานการก่อโรคจากกลุ่มดังกล่าวสูง

Acanthamoeba spp. ที่พบในสิ่งแวดล้อมมีหลายชนิด แต่ละชนิดมีความสามารถในการก่อโรคต่างกัน¹⁵ ปัจจุบันยังไม่มีวิธีใดที่ใช้เป็นมาตรฐานในการจำแนกชนิดของ *Acanthamoeba* spp. ที่สัมพันธ์กับการก่อโรคได้แน่นอน วิธีเบื้องต้นที่นิยมใช้จึงได้แก่การจำแนกชนิดโดยอาศัยรูปร่างลักษณะของ cyst ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ อย่างไรก็ตามพบว่าวิธีนี้ยังไม่แม่นยำเพียงพอเนื่องจากรูปร่างลักษณะของ cyst อาจเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาวะในการเพาะเลี้ยง¹⁶ ปัจจุบันได้มีความพยายามนำเทคนิคต่างๆ มาช่วยในการจำแนกชนิด เช่น PCR โดยใช้ primer ที่จำเพาะต่อสายพันธุ์ที่ก่อโรค¹⁷

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า *Acanthamoeba* spp. ที่พบในฝุ่นจากกรุงเทพมหานครและปริมณฑลมีโอกาสก่อโรค *Acanthamoeba* keratitis ได้ ทั้งนี้ควรทำการศึกษาต่อไปถึงความสามารถในการก่อโรคของ *Acanthamoeba* ชนิดที่แยกได้จากฝุ่นโดยใช้สัตว์ทดลอง หรือการศึกษาคุณลักษณะของสายพันธุ์ที่ก่อโรค เช่น ความคงทนในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง หรือความสามารถในการผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในการรุกรานเซลล์ ตลอดจนการจำแนกสายพันธุ์ที่มีความสัมพันธ์กับการก่อโรคโดยใช้เทคนิคทางอณูวิทยาศาสตร์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยมหิดล ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2544

เอกสารอ้างอิง

1. Armstrong M. The pathogenesis of human *Acanthamoeba* infection. Infect Dis Rev 2000; 2: 65-73.
2. Pussard M, Pons R. Morphologie de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba*. (Protozoa, Amoebida). Protistologica 1977; 13: 557-98.
3. Khan NA. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. FEMS Microbiol Rev 2006; 30: 564-95.

4. Moore MB, McCulley JP, Newton C, *et al.* Acanthamoeba keratitis: A growing problem in soft and hard contact lens wearers. Ophthalmology 1987; 94: 1654-61.
5. Kamel AG, Faridah H, Yusof S, Norazah A, Nakisah MA. A case of trauma related Acanthamoeba keratitis. Trop Biomed 2004; 21: 135-8.
6. Syam PP, Narendran R, van der Hoek J. Persistent acanthamoeba keratitis in a non-contact lens wearer following exposure to bird seed dust. Br J Ophthalmol 2005; 89: 388-9.
7. Vemuganti GK, Pasricha G, Sharma S, Garg P. Granulomatous inflammation in Acanthamoeba keratitis: an immunohistochemical study of five cases and review of literature. Indian J Med Microbiol 2005; 23: 231-8.
8. 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: 335-40.
9. 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.
10. Page FC. Re-definition of the genus *Acanthamoeba* with descriptions of three species. J Protozool 1967; 14: 709-24.
11. Rodriguez-Zaragoza S, Rivera F, Bonilla P, *et al.* Amoebological study of the atmosphere of San Luis Potosi, SLP, Mexico. J Expo Anal Environ Epidemiol 1993; 3: 229-41.
12. Silva MA, Rosa JA. Isolation of potentially pathogenic free-living amoebas in hospital dust. Rev Saude Publica 2003; 37: 242-6.
13. Roongruangchai K, Supadirekkul P. Contamination of contact lens cases by *Acanthamoeba* in Thailand. J Trop Med Parasitol 1997; 20: 25-9.
14. Visvesvara GS. Classification of *Acanthamoeba*. Rev Infect Dis 1991; 13: S369-72.
15. Walochnik J, Haller-Schober E-M, Picher O, Obwaller A, Aspöck H. Discrimination between clinically relevant and non-relevant *Acanthamoeba* strains isolated from contact lens wearing keratitis patients in Austria. J Clin Microbiol 2002; 38: 3932-6.
16. Stratford MP, Griffiths AJ. Variations in the properties and morphology of cysts of *Acanthamoeba castellanii*. J Gen Microbiol 1978; 108: 33-7.
17. Lorenzo-Morales J, Monteverde-Miranda CA, Jimenez C, Tejedor ML, Valladares B, Ortega-Rivas A. Evaluation of *Acanthamoeba* isolates from environmental sources in Tenerife, Canary Islands, Spain. Ann Agric Environ Med. 2005; 12: 233-6.