

## เปรียบเทียบวิธี Simple Smear กับวิธี Quantitative Formalin Ethyl

นิพนธ์ต้นฉบับ

Acetate Concentration Technique และวิธี Agar Plate Culture

สำหรับวินิจฉัยโรค Strongyloidiasis ในตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี

(Comparison of the Simple Smear, Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique and Agar Plate Culture for Diagnosis of Strongyloidiasis from Stool Samples of HIV- infected Patients)

ภาวิตา บุพพิ ชาติญา อธิชาชนบดี อัญชญา ถาวรวัน ปวีณา ก้องสนั่น  
กรศิริ บุญประเทือง นพนัฐ จำปาเทศ และบุญช่วย เอี่ยมโกศลาก  
กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ สถาบันบำราศนราดูร

**Pawita Buppi Chatiya Athichathanabadi Unchana Thawornwan Paweena Kongsanan**

**Kornsiri Boonpratuang Nopphanath Chumpathat and Boonchuay Eampokalap**

Medical Technology, Bamrasnaradura Infectious Disease Institute

✉ [b\\_pawita@yahoo.com](mailto:b_pawita@yahoo.com)

### บทคัดย่อ

Strongyloidiasis เป็นโรคที่เกิดจากพยาธิตัวกลมขนาดเล็กชนิดหนึ่งที่มีชื่อว่า *Strongyloides stercoralis* โรคนี้พบได้ทั่วโลก ส่วนมากพบร่วมกับผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น ในเด็กที่ขาดสารอาหาร ผู้ใหญ่ที่ป่วยเป็นโรคเรื้อรังร่างกายอ่อนแอ ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี โรค Leukemia โรค Lymphoma โรค Systemic Lupus Erythematosus (SLE) เป็นต้น การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาพยาธิ *S. stercoralis* คือ เปรียบเทียบวิธี Simple smear กับวิธี Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique และเปรียบเทียบวิธี Agar Plate Culture กับวิธี Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique จากอุจจาระผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 369 ราย เพื่อหาค่าร้อยละการตรวจพบพยาธิ *S. stercoralis* ของทั้ง 3 วิธี ผลการศึกษาพบว่า วิธี Simple smear วิธี Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique และวิธี Agar Plate Culture ได้ค่าร้อยละการตรวจพบพยาธิ *S. stercoralis* เท่ากับ 25.0, 57.7 และ 100.0 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธี Agar Plate Culture มีโอกาสในการตรวจพบพยาธิ *S. stercoralis* ได้มากกว่าวิธีอื่น และสามารถนำมาใช้เป็นวิธีตรวจหาพยาธิ *S. stercoralis* ได้อย่างมั่นใจยิ่งขึ้น

### บทนำ

Strongyloidiasis เป็นโรคที่เกิดจากพยาธิตัวกลมขนาดเล็กชนิดหนึ่งที่มีชื่อว่า *Strongyloides stercoralis* โรคนี้พบได้ทั่วโลก โดยเฉพาะในเขตเมืองร้อน เช่น ประเทศในแถบตะวันออกไกล ย่านเอเชียอาคเนย์ สำหรับประเทศไทยในปี พ.ศ. 2523 - 2524 พบอัตราการติดเชื้อพยาธิชนิดนี้ทั่วประเทศคิดเป็นร้อยละ 0.43 พยาธิชนิดนี้ส่วนมากพบร่วมกับภาวะขาดอาหารและหรือมีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น ในเด็กที่ขาดอาหาร หรือในผู้ใหญ่ที่ป่วยเป็นโรคเรื้อรังร่างกายอ่อนแอและมีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี, โรค Leukemia, โรค Lymphoma, โรค SLE เป็นต้น<sup>(1,2)</sup> เป็นต้น ทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้มีอัตราเสี่ยงต่อการเสียชีวิตค่อนข้างสูง แม้ว่าพยาธิชนิดนี้สามารถถูกทำลายด้วยยาฆ่าพยาธิหลายชนิด แต่ส่วนมากการวินิจฉัยค่อนข้างล่าช้า ทำให้การรักษาด้วยยาไม่ได้ผล ปัจจุบันมีการคิดค้นการตรวจวินิจฉัยพยาธิชนิดนี้จากการวิเคราะห์ทางอิมมูโนวิทยา เช่น วิธี indirect hemagglutination, immunofluorescence และenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)<sup>(3)</sup> ซึ่งเป็นการตรวจวิเคราะห์ที่ค่อนข้างยุ่งยากราคาแพงและไม่นิยมตรวจทางห้องปฏิบัติการ สำหรับห้องปฏิบัติการสถาบันบำราศนราดูรในงานประจำวันการตรวจวิเคราะห์หาพยาธิ *Strongyloides stercoralis* จะใช้วิธี Simple smear เพียงวิธีเดียว ซึ่งสถิติการตรวจพบพยาธิชนิดนี้ ในผู้ป่วยเอชไอวี ตั้งแต่เดือน มกราคม 2548 ถึงเดือน กุมภาพันธ์ 2549 ตรวจทั้งหมดจำนวน 200 ราย พบพยาธิ 8 ราย คิดเป็น

ร้อยละ 4 ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจทำการศึกษาเพื่อใช้ข้อมูลจากการวิจัยเปรียบเทียบวิธีการตรวจวิเคราะห์ 3 วิธีคือ วิธี Simple smear วิธี Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique<sup>(4,5)</sup> และวิธีเพาะเลี้ยงพยาธิบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar Plate Culture)<sup>(6,7,8)</sup> เพื่อเปรียบเทียบหาร้อยละของการตรวจพบพยาธิ *S. stercoralis* ของแต่ละวิธี ซึ่งแต่ละวิธีมีความแตกต่างกันในขั้นตอนการปฏิบัติ ทั้งนี้เพื่อใช้ข้อมูลจากการวิจัยเปรียบเทียบทั้ง 3 วิธีมาใช้ประกอบการเลือกวิธีตรวจวิเคราะห์หาพยาธิ *S. stercoralis* ที่เหมาะสมในการตรวจวินิจฉัยหาพยาธิชนิดนี้ ในงานตรวจวิเคราะห์ประจำวันและเพื่อเป็นแนวทางหรือทางเลือกของแพทย์ ในการเลือกรายการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยหาพยาธิชนิดนี้ได้ถูกต้อง รวดเร็ว และแม่นยำต่อไป

### วัสดุและวิธีการ

1. การศึกษาวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยกรมควบคุมโรคให้ดำเนินการวิจัยได้ในสถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข โดยการเก็บตัวอย่างอุจจาระผู้ติดเชื้อเฮลิโคแบคทิลเลียสจากผู้ป่วยนอก และผู้ป่วยในที่มีอายุตั้งแต่ 15 - 60 ปี จำนวน 1 กระจ่าง 1 ครั้ง ต่อผู้ป่วย 1 ราย จำนวน 369 ราย
2. แบ่งอุจจาระเป็นสามส่วนเพื่อทำการตรวจหาพยาธิทั้ง 3 วิธี โดยทำการตรวจทันทีหรือไม่เกิน 4 ชั่วโมง หลังส่งตรวจอุจจาระส่วนที่ 1 ทำ Simple smear
3. อุจจาระส่วนที่ 2 ทำ Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration- Technique และนับจำนวนตัวของ larva ที่พบต่อตะกอนอุจจาระที่ปั่นได้ทั้งหมด
4. อุจจาระส่วนที่ 3 ทำการเพาะเลี้ยงพยาธิบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar Plate Culture) โดยวางตัวอย่างอุจจาระประมาณ 3 g ตรงกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ (nutrient agar) ที่เตรียมไว้ บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน ตรวจดูพยาธิโดยส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หรือกล้องสเตอริโอไมโครสโคป (Stereomicroscope) ในวันที่ 3 และ 5 เพื่อหา larva หรือตัวเต็มวัยของพยาธิ ถ้าพบพยาธิให้หยด 10 % formalin จำนวน 1 ml บนจานอาหารเพาะเชื้อเพื่อเก็บพยาธิไว้วินิจฉัยสายพันธุ์ต่อไป

### ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจพบพยาธิ *S. stercoralis* ด้วยวิธี Simple smear, Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique (QFEC) และ Agar plate culture (APC)

หมายเลขผู้ป่วยที่พบพยาธิ	Simple smear	APC	ผลการจำแนกชนิดพยาธิ	QFEC	จำนวนพยาธิที่พบด้วย QFEC
002	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	85
006	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	50
010	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
018	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	15
025	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	10
034	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
035	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
042	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
058	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	8
068	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
070	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	100

หมายเลขผู้ป่วย ที่พบพยาธิ	Simple smear	APC	ผลการจำแนก ชนิดพยาธิ	QFEC	จำนวนพยาธิที่พบ ด้วย QFEC
081	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	45
095	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
101	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	55
106	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
119	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	25
120	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	1
128	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
131	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	28
136	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
142	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	10
146	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
148	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	35
155	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	20
158	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	45
160	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
175	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	60
179	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	25
180	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
185	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	52
192	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
199	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	10
205	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
217	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	30
222	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
230	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	10
252	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	48
261	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
268	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	35
273	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	8
284	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
292	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	10
295	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
300	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	40
302	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	20
315	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
324	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	70
335	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
336	+	+	<i>S. stercoralis</i>	+	50
344	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	4
351	-	+	<i>S. stercoralis</i>	+	30
362	-	+	<i>S. stercoralis</i>	-	0
<b>รวมตรวจพบ</b>	<b>13 ราย</b>	<b>52 ราย</b>		<b>30 ราย</b>	

ผลการเปรียบเทียบวิธีการตรวจวิเคราะห์พยาธิ *S. stercoralis* ทั้ง 3 วิธี ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี 369 ราย พบว่าวิธี Simple smear ตรวจพบ *S. stercoralis* 13 ราย (25 %) วิธี Quantitative Formalin Ethyl Acetate-Concentration Technique ตรวจพบ *S. stercoralis* 30 ราย (57.7 %) วิธี Agar Plate Culture ตรวจพบ *S. stercoralis* 52 ราย (100 %) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการเปรียบเทียบวิธี Simple smear, Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique (QFEC) และ Agar plate culture (APC) ในการตรวจพบพยาธิ *S. stercoralis* จากผู้ป่วยทั้งหมด 369 ราย

	Total Positive	Detected cases		
		Simple smear	QFEC	APC
<i>S. stercoralis</i>	52	13	30	52
Detection rate	100	25.0	57.7	100.0

**วิจารณ์**

จากผลการตรวจหาพยาธิ *S. stercoralis* เมื่อเทียบทั้ง 3 วิธีพบว่า วิธี Agar Plate Culture มีค่าร้อยละในการตรวจพบพยาธิ *S. stercoralis* มากกว่าวิธี Simple smear และวิธี Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique ซึ่งจากข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำมาใช้ในการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเพื่อประโยชน์แก่การตรวจวินิจฉัยโรค Strongyloidiasis ในผู้ป่วย เพื่อความถูกต้อง รวดเร็ว แม่นยำขึ้น อีกทั้งการตรวจหาพยาธิ *S. stercoralis* ด้วยวิธี Agar Plate culture ยังสามารถแยกชนิด larva ของ *Strongyloides* larva จากตัวอ่อนพยาธิปากขอ (Hookworm- larva) ได้จากระยะ filariform larva ที่เจริญเติบโตจากระยะ rhabditiform larva เป็นระยะ filariform larva จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยอาศัยความแตกต่างในส่วนปลายหางของพยาธิทั้งสองชนิดนี้ แต่อย่างไรก็ตามวิธี Agar Plate Culture ก็ยังมีข้อเสียและข้อจำกัดของการตรวจวิเคราะห์นั่นคือ วิธี Agar Plate Culture มีต้นทุนในการตรวจวิเคราะห์สูงกว่าวิธี Simple smear และ Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique และระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์นาน อีกทั้งยังไม่สามารถรายงานผลของไข่พยาธิชนิดต่าง ๆ ที่อาจพบได้ในอุจจาระของผู้ป่วย ส่วนวิธี Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique สามารถตรวจพบไข่พยาธิชนิดต่าง ๆ ได้เกือบทุกชนิด ส่วนวิธี Simple smear แม้จะมีความไวในการตรวจพบพยาธิ น้อย แต่ก็มีความสะดวกรวดเร็วในการตรวจวิเคราะห์เหมาะแก่การตรวจกรองเบื้องต้นและเหมาะแก่การตรวจวิเคราะห์หาโปรโตซัวที่ยังมีชีวิตอยู่และดูการเคลื่อนที่ของโปรโตซัว เพื่อการแยกชนิดวินิจฉัยหรือพยากรณ์โรค ซึ่งแต่ละวิธีดังที่กล่าวก็มีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน ดังนั้นการส่งตรวจวิเคราะห์ก็ต้องขึ้นอยู่กับดุลยพินิจของแพทย์ร่วมด้วย แต่สำหรับงานวิจัยที่ได้ดำเนินการนี้ก็เป็นอีกหนทางหนึ่งในการเลือกวิธีตรวจวิเคราะห์พยาธิ *S. stercoralis* ที่เหมาะสมของแพทย์เพื่อประโยชน์สูงสุดในการวินิจฉัยโรค Strongyloidiasis ในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี และผู้ป่วยทั่วไป

## เอกสารอ้างอิง

1. Jucelene Marchi Blatt; Geny Aparecida Cantos. Evaluation of techniques for diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in human immunodeficiency virus(HIV) positive and HIV negative individuals in the city of Itajai, Brazil. Brazilian Journal of Infectious Diseases vol.7 no.6 Salvador Dec. 2003
2. Arenas-Pinto A, Certad G, Ferrara G, Castro J, Bello M.A.; Association between parasitic intestinal infections and acute or chronic diarrhea in HIV-infected patients in Caracas, Venezuela. International Journal of STD & AIDS, Volume 14, Number 7, 1 July 2003, pp. 487-492(6)
3. Jongwutiwes S, Putaporntip C, Pancome T. Indirect immunofluorescent antibody test in strongyloidiasis and its potential diagnostic implication. Chulalongkorn Medical Journal 1995 NOV; 39 (11): 813-22.
4. เกศิน (ณัฐรส) จันทพุม, นิภา รุจิธรรมกุล. การศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจอุจจาระด้วยวิธี simple sedimentation และ formalin – ether concentration .จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2529, 30(2) : 133-43
5. ณัฐรส จันทพุม, เสาวนีย์ ขวัญเลิศจิตต์ . การใช้ Ethyl acetate แทน direct ether ในการตรวจอุจจาระด้วยวิธี formalin ether แบบเข้มข้น. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2535, 36(10): 765-70
6. P.M. Intapan, W. Maleewong, T. Wongsaroj, S. Singthong and N. Morakote “Comparison of the Quantitative Formalin Ethyl Acetate Concentration Technique and Agar Plate Culture for Diagnosis of Human Strongyloidiasis” 2004.
7. Jongwutiwes, S., M. Charoenkorn, P. Sitthicharoenchai, P. Akarabovorn and C. Putaporntip.1999. Increased sensitivity of routine laboratory detection of *Strongyloides stercoralis* and hookworm by agar-plate culture. Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.84: 715-19.
8. Arakaki, T., M. Iwanaga, F. Kinjo, A Saito, R.Asato and T. Ikeshiro.1990. Efficacy of agar plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis* infection . J.Parasitol.76: 425-28.
9. Danial WW. Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences. 5<sup>th</sup> edition. John Wiley and Sons, 1991; 155-57.
10. Galen RS. The predictive values and efficiency of laboratory testing. Pediat Clin N Am 1980; 27: 861- 69.
11. Cohen J, A coefficient of agreement for nominal scale. Educ Psychol Meas 1960; 20: 37-46.
12. Landish JR, Koch GG. The Measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 1997; 159-74.

## ข่าวประชาสัมพันธ์

เรียน ท่านสมาชิก

ตั้งแต่ฉบับแรกของปี พ.ศ. 2550 ทางสำนักโรคบาดวิทยา จะลดจำนวนการส่งรายงานการเฝ้าระวังทางโรคบาดวิทยาประจำสัปดาห์ ที่เป็นสิ่งพิมพ์ให้แก่สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด โดยจัดส่งเฉพาะนายแพทย์สาธารณสุขจังหวัดและงานโรคบาดวิทยา ส่วนสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 – 12 ส่งเฉพาะผู้อำนวยการ และหัวหน้ากลุ่มงาน เพื่อเป็นการประหยัดงบประมาณทางราชการและรวดเร็วกว่าการจัดส่งทางกระดาษ เนื่องจากกองบรรณาธิการมีบริการจัดส่งรายงานฯ ทางสื่ออิเล็กทรอนิกส์แก่ผู้สนใจ โดยไม่เก็บค่าใช้จ่าย

ดังนั้น ท่านใดสนใจสมัครเป็นสมาชิกในการรับรายงานทางสื่ออิเล็กทรอนิกส์ เพียงแจ้งชื่อนามสกุล สถานที่ทำงาน E-mail address ไปยัง [thomya@health.moph.go.th](mailto:thomya@health.moph.go.th) หรือ [member@yahoo.com](mailto:member@yahoo.com)