ผลการตรวจเชื้ออะมีบาด้วยวิธี direct simple smear และวิธีเพาะเชื้อ*

ชาตรี จินตนาวงศ์**

การตรวจหาเชื้ออะมีบาในผู้ป่วยที่ให้การวินิจฉัยทางคลินิคว่าเป็น amoebiasis โดยแบ่งสิ่งส่งตรวจเป็นสองประเภท คือ ถ้าสิ่งส่งตรวจส่งถึงห้องปฏิบัติการภายใน 30 นาที เป็นสิ่งส่งตรวจชนิดสด ถ้าสิ่งส่งตรวจถึงห้องปฏิบัติการช้ากว่านั้น ซึ่งอาจนานเป็นชั่วโมง ถือว่าสิ่งส่งตรวจไม่สด จากสิ่งส่งตรวจที่เป็นอุจจาระสด 278 ราย หนองฝี 40 ราย ผลการตรวจโดยวิธีเพาะเชื้อไม่ให้ผลเหนือกว่าวิธีการตรวจโดย simple smear และการตรวจอุจจาระไม่สดจำนวน 134 ราย การตรวจโดยวิธี simple smear ก็ให้ผลดีกว่าการเพาะเชื้อ อย่างไรก็ดีจากการศึกษานี้ พบว่าการเพาะเชื้ออาจมีประโยชน์ในการตรวจเชื้อจากหนองฝี เพราะเชื้ออะมีบาสามารถมีชีวิตอยู่ใน culture media ได้นาน 24–72 ชั่วโมง ทำให้มีเวลาตรวจหาเชื้อได้ละเอียดถี่ถ้วนขึ้น และมีโอกาสที่จะพบเชื้อได้มากกว่าการตรวจโดยวิธี simple smear

บุคคลใดที่มีเชื้อ Entamoeba histolytica อยู่ในร่างกายและไม่ว่าเชื้อนั้นจะทำให้เกิดโรคหรือไม่ก็ตามเรียกว่าบุคคลนั้นเป็นโรค amoebiasis (W.H.O. 1969) ซึ่งเป็นโรคติดเชื้อที่สำคัญโรคหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทยมีผู้ป่วยด้วยโรคนี้จำนวนมาก อาการที่สำคัญคือท้องเดินถ่ายอุจจาระเป็นเลือด และเวลาถ่ายอุจจาระมักมีอาการปวดเบ่ง (Juniper Jr. 1971) อาการเหล่านี้จำเป็นต้องแยกจากโรคอื่นที่มีอาการคล้ายกัน ดังนั้นปัญหาสำคัญคือการวินิจฉัยโรคนี้ให้ถูกต้องเพราะมีอยู่บ่อยที่การวินิจฉัยผิดพลาดย่อมทำให้เกิดผลร้ายต่อผู้ป่วยได้ มีรายงานผู้ป่วย amoebic colitis 10 รายซึ่งได้รับการวินิจฉัยผิดว่าเป็น ulcerative colitis หรือ Crohn disease และแพทย์ให้การรักษาผิด (Tucker et al 1975) โดยที่ผู้ป่วยบางรายเป็นฝีปิดในตับ และได้รับการ

*ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ ได้เสนอในการประชุมวิชาการประจำปี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย พ.ศ. 2515

**แผนกวิชาปาราสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

รักษาด้วยการตัดลำไส้ใหญ่ วิธีการตรวจหาเชื้ออะมีบามีหลายวิธีด้วยกัน วิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมีดังนี้คือ

1. direct simple smear เป็นวิธีเก่าแก่ง่าย และสะดวกที่สุด เป็นการตรวจหาระยะ trophozoite และระยะ cyst ถ้าอุจจาระเหลวมักจะพบ trophozoite และระยะ trophozoite นี้จะเสื่อมสภาพเร็วมาก ดังนั้นอุจจาระที่ใช้ตรวจต้องเป็นอุจจาระสด ไม่ควรส่งถึงห้องปฏิบัติการเกิน 10 นาที หลังจากถ่ายอุจจาระ (Chandler 1961)

2. วิธี concentration เป็นวิธีการตรวจที่ทำให้พบระยะ cyst ง่ายขึ้น ที่นิยมมี 2 วิธีคือ $ZnSO_4$ centrifugal flotation technique และ formalin ether sedimentation technique แต่อย่างไรก็ตามทั้ง 2 วิธีนี้ใช้ไม่ได้ผลสำหรับระยะ trophozoite เพราะทำให้ trophozoite เปลี่ยนรูปร่างไปมากยากต่อการวินิจฉัย ตรงกับรายงานของ Healy 1971 ซึ่งได้กล่าวว่าปัจจุบันยังไม่มีวิธีทำ concentration เพื่อตรวจหาระยะ trophozoite ในอุจจาระเหลวหรือเป็นน้ำ

3. iron-hematoxylin stain วิธีทำยุ่งยาก ลำบาก และเสียเวลามาก ระยะ cyst และระยะ trophozoite จะหลุดหายไปบ้างระหว่างย้อมสีล้าง และ fixation ถ้าอะมีบามีจำนวนน้อยก็อาจจะตรวจไม่พบ แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ดีสำหรับดูรายละเอียดรูปร่างลักษณะต่างๆของอะมีบา และใช้สำหรับแยกชนิดของอะมีบาได้ดีในรายที่มีปัญหา

4. วิธีเพาะเชื้อใช้ artificial media เพื่อเพาะเชื้ออะมีบาในหลอดทดลอง media ที่นิยมใช้มีหลายชนิด เช่น Lock egg serum medium of Boeck and Drbohlav liver extract medium of Cleveland and Collier เป็นต้น การเพาะเชื้อด้วยวิธีนี้ต้องมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญร่วมด้วยเชื้ออะมีบาจึงจะเจริญได้ และอุจจาระที่ได้จากผู้ป่วยต้องสด ส่งตรวจภายใน 15 นาทีหลังถ่ายอุจจาระ (Craig 1948)

5. serological tests for amoebiasis นั้นเป็นการตรวจหาภูมิต้านทานต่อเชื้อ Entamoeba histolytica ในร่างกายของผู้ป่วย ดังนั้นจึงไม่ใช่การตรวจหาเชื้อ Entamoeba histolytica โดยตรง Healy กล่าวว่าการตรวจด้วยวิธีนี้ได้ผลดีในผู้ป่วยที่เป็นผีบิดในตับ และ invasive amoebiasis และได้ผลไม่ดีในพวก non-invasive amoebiasis อย่างไรก็ตามผลของ serological test นั้นขึ้นกับผลงานของแต่ละผู้รายงานและความแตกต่างของวิธีการทดสอบแต่ละวิธี Healy และ Juniper ได้กล่าวถึงวิธี serological test ที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือ indirect haemaglutination test ซึ่งเป็นวิธีทดสอบที่มีความไวมากใช้เป็น screening test เมื่อได้ผลบวกและผลบวกจะคงอยู่ 1 ถึง 2 ปี หลังจากให้ยารักษาแล้วส่วน complement fixation test และ Gel-diffusion test มีความไวน้อยกว่า ใช้ตรวจผู้ป่วยที่กำลังเป็น amoebiasis หลังจากการรักษาแล้ว ผลบวกจะคงอยู่นานประมาณ 6 เดือน นอกจากนี้ผู้ป่วยที่เป็นผีบิดในตับ

และตรวจพบเชื้อ Entamoeba histolytica ด้วยแต่ serological test ให้ผลลบซึ่งพบจำนวนไม่มาก จึงเห็นได้ว่าการตรวจโดยวิธีนี้ แพทย์ผู้รักษาจะต้องมีความชำนาญในการแปลผลของ serological test จะเชื่อผลการตรวจอย่างเดียวไม่ได้ และ serological test ไม่ใช่วิธีที่จะใช้ทดแทนการตรวจหาเชื้ออะมีบาในอุจจาระ

การวินิจฉัยโรค amoebiasis โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลำไส้นั้น วิธีที่ง่ายและสะดวกคือ วิธี direct simple smear เนื่องจากแพทย์ผู้รักษาส่วนใหญ่ในคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ต้องการให้แผนกวิชาปาราสิตวิทยาให้การบริการ การวินิจฉัยโรค amoebiasis โดยวิธีเพาะเชื้ออะมีบาด้วย ผู้รายงานจึงได้ทำการทดลองเปรียบเทียบผลการตรวจด้วยวิธี direct simple smear และวิธีเพาะเชื้อ

วัสดุและวิธีการ

1. ใช้อุจจาระและหนองผีจากผู้ป่วยภายในและภายนอกของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เอามาแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1.1 กลุ่มที่หนึ่ง ซึ่งต่อไปนี้จะเรียกว่าสิ่งส่งตรวจสด ประกอบด้วยอุจจาระ 278 ราย หนองผี 40 ราย เป็นหนองผีตับ 36 ราย หนองจากช่องปอด 3 ราย หนองช่องหัวใจ 1 ราย สิ่งส่งตรวจถึงห้องตรวจภายใน 15–30 นาที

1.2 กลุ่มที่สอง สิ่งส่งตรวจไม่สดซึ่งเป็นอุจจาระอย่างเดียว 134 ราย สิ่งส่งตรวจส่วนใหญ่ส่งถึงห้องตรวจประมาณ 2—3 ชั่วโมง หลังถ่ายอุจจาระและส่วนน้อยส่งถึงห้องตรวจก่อน 5 ชั่วโมง หลังถ่าย เนื่องจากเป็นอุจจาระไม่สดถ้าตรวจพบเชื้ออะมีบาที่มีการเคลื่อนไหวน้อย ได้ขออุจจาระสดจากผู้ป่วยมาตรวจอีกจนรู้แน่ว่าเป็น entamoeba histolytica ถ้าเป็นรายที่ไม่สามารถขออุจจาระมาตรวจใหม่ได้ก็ไม่นับอยู่ในการทดลองนี้

2. culture media ผู้รายงานใช้ Boeck-Drbohlav's Locke-egg serum medium (Hunter et al 1966)

2.1 หลอดแก้วทดลองที่มีฝาเกลียวบีดปากหลอดแก้วได้มิดชิดขนาดกว้าง 16 มม. ยาว 150 มม.

2.2 ไข่ไก่ที่มีขนาดใหญ่

2.3 Erlenmeyer flask ขนาด 500 ซี.ซี. และ 1000 ซี.ซี.

2.4 sterile Ringer's solution

sodium chloride	8.0 กรัม
potassium chloride	0.2 กรัม
calcium chloride	0.2 กรัม
magnesium chloride	0.1 กรัม
monosodium phosphate	0.1 กรัม
sodium bicarbonate	0.4 กรัม
distilled water	1000 มล.

ใส่สารเคมีลงใน flask ที่มีน้ำกลั่น 1000 ซี.ซี. เขย่าจนสารเคมีละลายหมด นำไปใส่ไว้ในตู้อบขนาดความดันสูง 15 ปอนด์ นาน 20 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

2.5 modified sterile Ringer's solution (ประกอบด้วย horse serum 1 ส่วนต่อ Ringer's solution 8 ส่วน)

2.6 sterile rice flour เอาแป้งข้าวเจ้า 5 กรัม ใส่ลงในหลอดแก้วทดลองโดยอุดปากหลอดแก้วทดลองด้วยผ้าก๊อส แล้วนำไปทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน โดยวางในท่าราบ 3 วัน ติดต่อกันนานวันละ 4 ชั่วโมง และให้เขย่าหลอดแก้วเพื่อป้องกันไม่ให้แป้งไหม้ ถ้าแป้งไม่ถูกความร้อนมากเกินไปจะมีลักษณะสีขาว

วิธีทำ culture media ล้างไข่ไก่ขนาดใหญ่ 4 ฟองด้วยสบู่ให้สะอาดแล้วล้างน้ำออกให้หมด แช่ใน ethyl alcohol 70% แล้วใช้แปรงนิ่ม ๆ ขัดเปลือกไข่ให้สะอาดอีกครั้ง ต่อยไข่ลงใน Erlenmeyer flask ซึ่งใส่ stirring Bar (Double Magnet ขนาด 5/16 × 1 และ $\frac{3}{8}$ × 2 ซ.ม.) และเติม Ringer's solution 50 มล. เขย่าและคนให้เข้ากันโดยตั้งไว้บนเครื่อง magnetic stirrer จนน้ำยาเป็น emulsion โดยไม่ทำให้เกิดฟอง อากาศตวง emulsion นี้ลงในหลอดแก้วทดลองให้ได้ประมาณหลอดละ 4 มล. แล้วนำไปทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ดังนี้โดยเอียงหลอดแก้วทดลองให้เอียงเป็น slant แล้วใส่ไว้ในเครื่องนึ่งประมาณ 30 นาที ทำเช่นนี้ 3 วันติดต่อกัน

เติม modified Ringer's solution ที่เตรียมไว้ลงในหลอดแก้วทดลองที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เหล่านี้หลอดละประมาณ 5–6 มล. โดยให้ท่วม egg slant นำไปเข้าตู้อบที่ 37°c นาน 24 ชั่วโมง เสร็จแล้วตรวจดูถ้ามีหลอดที่ไม่ปลอดเชื้อให้เอาออก เติมแป้งข้าวเจ้าที่นึ่งแล้วประมาณหนึ่ง wire loop ลงในหลอดทดลองนี้ทุกครั้งก่อนจะเพาะเชื้อ นอกจากนี้ก่อนจะใช้ต้องใส่ streptomycin 3.3 มก. และ penicillin G. Sodium 1666 หน่วย ลงในหลอดแก้วทดลองทุกครั้งก่อนจะเพาะเชื้อเพราะ Spingarn and Edelman 1952 และ Norman and Brooke 1955 ได้ทำการทดลองพบว่าถ้าใส่ยาปฏิชีวนะลงใน culture media เพื่อยับยั้งไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเร็วเกินไปจะทำให้เพาะเชื้อได้ผลบวกมากกว่ากลุ่ม culture media ที่ไม่ได้ใส่ยาปฏิชีวนะ เมื่อใส่ยาปฏิชีวนะแล้วใช้ไม้เขี่ยอุจจาระหรือหนองที่ต้องการจะตรวจประมาณ 1 กรัม ลงในหลอดแก้วนี้ แล้วนำไปเข้าตู้อบที่ 37°c ต้องทำ subculture ทุก 48 ชั่วโมงโดยตรวจหาเชื้ออะมีบาจากก้นหลอดแก้วทดลองทุกวัน ถ้าตรวจไม่พบเชื้ออะมีบาจากหลอดแก้วทดลอง 4 วัน ให้ถือว่าการเพาะเชื้อไม่ขึ้น

สำหรับการเพาะเชื้อจากหนองผีเพื่อหาเชื้ออะมีบานั้น ได้ทำการเพาะเชื้อในหลอดแก้วทดลองหลอดหนึ่งใส่เชื้อ Escherichia coli ส่วนอีกหลอดหนึ่งไม่ได้ใส่เชื้อ Escherichia coli

ผลการศึกษา

กลุ่มที่หนึ่ง สิ่งส่งตรวจสด อุจจาระและหนองผีส่งห้องปฏิบัติการภายใน 15–30 นาที หลังจากได้จากผู้ป่วย

ตารางที่ 1 ตารางเปรียบเทียบการตรวจอุจจาระผู้ป่วย 278 รายด้วยวิธี direct simple smear และวิธีเพาะเชื้อ

Direct simple smear 278 ราย	วิธีเพาะเชื้อ 278 ราย
พบเชื้อ 43 ราย	พบอะมีบา 41 ราย
	ไม่พบเชื้อ 2 ราย
ไม่พบเชื้อ 235 ราย	พบเชื้อ 2 ราย
	ไม่พบเชื้อ 233 ราย

จากผลการตรวจพบว่าผู้ป่วย 278 ราย เป็น amoebiasis ด้วยการตรวจทั้ง 2 วิธีรวม 45 ราย 43 รายได้จาก direct simple smear และอีก 2 รายได้จากการเพาะเชื้อ ผู้ป่วยที่ทำ direct simple smear ไม่พบเชื้อ แต่ผลการตรวจด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งจะได้ผลเท่ากันคือพบว่ามีผู้ป่วยเป็น amoebiasis เพียงวิธีละ 43 รายเท่านั้น ดังนั้นการตรวจร่วมกันทั้งสองวิธีย่อมได้ผลดีกว่าการตรวจเพียงวิธีเดียว

จากผลการทดลองพบว่าตรวจหนองผีด้วยวิธี simple smear นั้นพบเชื้ออะมีบา 7 ราย ไม่พบเชื้ออะมีบา 33 ราย ใน 7 รายที่พบเชื้ออะมีบามีเพียง 1 รายที่สามารถเจริญเติบโตและมีการแบ่งตัวใน culture media ส่วนอีก 6 ราย ที่พบเชื้ออะมีบาจาก simple smear นั้นไม่สามารถแบ่งตัวใน culture media แต่สามารถมีชีวิตอยู่ใน culture media นานประมาณ 24 ถึง 72 ชั่วโมง การที่อะมีบาสามารถมีชีวิตอยู่ใน culture media นานประมาณ 24 ถึง 72 ชั่วโมงนั้นเมื่อตรวจหนองใน culture media ในผู้ป่วย 33 ราย ที่ไม่พบเชื้ออะมีบา simple smear ทำให้ตรวจพบเชื้ออะมีบาอีก 3 รายจึงทำให้เพิ่มจำนวนผู้ป่วย amoebiasis ที่ตรวจพบเชื้ออะมีบาจาก 7 รายเป็น 10 ราย

กลุ่มที่สอง สิ่งส่งตรวจไม่สดส่งถึงห้องทดลองประมาณ 2–3 ช.ม. อย่างช้าไม่เกิน 5 ช.ม.

จากผลการตรวจพบว่าผู้ป่วย 134 รายตรวจพบเชื้ออะมีบา 81 ราย 78 รายตรวจพบโดย

ตารางที่ 2 ตารางเปรียบเทียบการตรวจหนองผีในตับ 36 ราย ช่องปอด 3 ราย และช่องหัวใจ 1 ราย รวม 40 รายด้วยวิธี direct simple smear และวิธีเพาะเชื้อ

Direct simple smear (40 ราย)	วิธีเพาะเชื้อ (40 ราย)	หมายเหตุ
พบเชื้อ 7 ราย	พบเชื้อมาก 1 ราย	สามารถเจริญเติบโตและแบ่งตัวใน culture media
	พบเชื้อน้อย 6 ราย	ไม่สามารถเจริญเติบโตและแบ่งตัว แต่สามารถมีชีวิตอยู่ใน culture media 24 ถึง 72 ช.ม.
ไม่พบเชื้อ 33 ราย	พบเชื้อน้อย 3 ราย	ตรวจหนองใน culture media ทุกวัน พบเชื้ออะมีบาอีก 3 ราย ระหว่าง 24 ถึง 72 ช.ม.
	ไม่พบเชื้อ 30 ราย	

ตารางที่ 3 ตารางเปรียบเทียบการตรวจอุจจาระผู้ป่วย 134 รายด้วยวิธี direct simple smear และวิธี cultivation method

Direct simple smear 134 ราย	วิธีเพาะเชื้อ 134 ราย
ให้ผลบวก 78 ราย	ให้ผลบวก 45 ราย
	ให้ผลลบ 33 ราย
ให้ผลลบ 56 ราย	ให้ผลบวก 3 ราย
	ให้ผลลบ 53 ราย

direct simple smear ส่วนอีก 3 รายได้จากการเพาะเชื้อผู้ป่วยที่ทำ direct simple smear แล้วไม่พบเชื้อ อย่างไรก็ดีถ้าเปรียบเทียบผลการตรวจทั้ง 2 วิธี จะพบว่าวิธี direct simple smear จะให้ผลดีกว่าตรวจด้วยวิธีเพาะเชื้อ

วิจารณ์

ผลการตรวจอุจจาระสดกับอุจจาระไม่สดพบว่าการตรวจอุจจาระสด 278 รายโดยวิธี simple smearได้ผลบวก 43 ราย เท่ากับการตรวจโดยวิธีเพาะเชื้อการตรวจอุจจาระไม่สด 134 รายโดยวิธี simple smear ได้ผลบวก 78 ราย แต่โดยวิธีเพาะเชื้อได้ผลบวกเพียง 48 ราย ผลการทดลองนี้แสดงว่าวิธีเพาะเชื้อจากอุจจาระสดได้ผลดีกว่าอุจจาระไม่สด ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Norman และ Brooke ซึ่งรายงานว่าการตรวจโดยวิธีเพาะเชื้อจากอุจจาระไม่สดได้ผลไม่ดีกว่าการตรวจโดยวิธี concentration และวิธี stained film ส่วนการตรวจอุจจาระสดพบว่าการตรวจโดยวิธีเพาะเชื้อดีกว่าวิธี concentration และวิธี stained film แต่จากรายงานนี้พบว่าการเพาะเชื้อได้ผลดีเท่ากับวิธี stained film รายงานของ Norman และ Brooke ไม่เหมือนกับรายงานนี้ 2 ประการคือ ประการแรก Norman และ Brooke ถือว่าอุจจาระที่ส่งก่อน 6 ชั่วโมงหลังถ่ายอุจจาระนั้นเป็นอุจจาระสด ส่วนรายงานนี้ถือว่าอุจจาระที่ส่งก่อน 5 ชั่วโมงหลังถ่ายอุจจาระนั้นเป็นอุจจาระไม่สด ซึ่งปรากฏว่าตรวจโดยวิธีเพาะเชื้อให้ผลบวกน้อยกว่าตรวจโดยวิธี simple smear ประการที่สองเข้าใจว่าจากรายงาน Norman และ Brooke นั้นได้เพาะเชื้อจากระยะ cyst เพราะงานของท่านทั้งสองเปรียบเทียบกับวิธีทำ concentration ซึ่งไม่เหมาะกับระยะ trophozoite อย่างไรก็ตาม Faust กล่าวว่าพบบ่อยที่ excystation ไม่สามารถทำให้เกิดขึ้นใน culture media เมื่อเป็นเช่นนี้ผลของการเพาะเชื้อจากระยะ cyst ในอุจจาระไม่น่าจะดีกว่าการตรวจโดยวิธี concentration ส่วนการเพาะเชื้อของผู้รายงานนี้ทำจากระยะ trophozoite เพราะผู้ป่วย amoebiasis ในและนอกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เกือบทั้งหมดตรวจพบระยะ trophozoite ซึ่งระยะนี้เมื่ออยู่ในอุจจาระนอกกายย่อมเสื่อมสภาพเร็ว (chandler 1961) จากการทดลองของผู้รายงานเมื่อตรวจอุจจาระที่ไม่สดหรือประมาณสองสามชั่วโมงหลังถ่ายพบว่าประมาณครึ่งหนึ่ง trophozoite มีการเคลื่อนไหวน้อยมาก เมื่อนำอุจจาระเหล่านี้ไปทำการเพาะเชื้อย่อมให้ผลลบ Craig ได้กล่าวว่าการตรวจโดยวิธีเพาะเชื้อ

จะไม่มีประโยชน์เลยถ้าตรวจจากอุจจาระที่ถ่ายนานเกินกว่า 15 นาที จากเหตุผลดังกล่าวนี้การตรวจโดยวิธีเพาะเชื้อจากอุจจาระไม่สดจะให้ผลบวกน้อยกว่าวิธี direct simple smear ซึ่งตรงกับผลการทดลองตามตารางที่ 3 ของผู้รายงาน

สำหรับตารางที่ 2 ซึ่งเป็นการตรวจหนองฝีนั้นวิธี direct simple smear ตรวจพบเชื้ออะมีบา 7 ราย จากหนองฝีที่ตรวจทั้งหมด 40 ราย มีเพียง 1 รายเท่านั้นที่เชื้ออะมีบาสามารถเจริญและมีการแบ่งตัวใน culture media ส่วนอีก 6 รายไม่สามารถแบ่งตัวแต่สามารถมีชีวิตอยู่ใน culture media ตั้งแต่ 24 ชั่วโมงถึง 72 ชั่วโมง ซึ่งในช่วงเวลาเหล่านี้ทำให้ผู้รายงานมีเวลาตรวจหาเชื้ออะมีบาละเอียดขึ้น จึงสามารถตรวจพบเชื้ออะมีบาเพิ่มอีก 3 ราย จากหนองฝีที่ทำ direct simple smear ให้ผลลบ เมื่อรวมกันจึงเท่ากับตรวจพบเชื้ออะมีบา 10 รายในหนองฝีที่ตรวจทั้งหมด 40 ราย การที่เชื้ออะมีบาไม่สามารถมีชีวิตอยู่ใน culture media เกิน 72 ชั่วโมงนั้นคงเนื่องจากเชื้ออะมีบาอยู่ในหนองที่เหนียวและไม่สามารถจะแยกตัวออกจากหนองเหล่านั้นได้ Faust กล่าวว่าถ้าจะแยกเชื้ออะมีบาจากหนองฝีนั้นจึงต้องใส่ streptodornase และ streptokinase แล้วนำเข้าตู้อบที่ 37°c นานครึ่งชั่วโมงปั่นเอาตะกอนไปตรวจหรือไปทำการเพาะเชื้อก็ได้ แต่น่าเสียดายที่ผู้รายงานไม่ได้ทำการทดลองนี้เพราะปัจจุบันบริษัทยาในเมืองไทยได้เลิกสั่งยาชนิดนี้มาขายแล้ว

จากผลการทดลองทั้งสามตารางดังกล่าวแล้วจะเห็นว่าการตรวจโดยวิธีเพาะเชื้อไม่ได้ดีกว่าการตรวจโดยวิธี direct simple smear และสำหรับอุจจาระไม่สดวิธีตรวจหาเชื้อโดย simple smear ได้ผลดีกว่าวิธีเพาะเชื้อเสียอีก ซึ่งต่างกับผลงานของ St. John และ Craig 1927 Poindexter 1933 Svensson และ Linders 1934 Tsuchiya 1942 ทั้งหมดโดยการอ้างอิงของ Craig ซึ่งกล่าวว่าการวินิจฉัยโรค amoebiasis โดยวิธีเพาะเชื้ออะมีบาได้ผลดีกว่าวิธี direct simple smear และวิธี concentration และได้แนะนำให้ใช้วิธีเพาะเชื้อเป็นวิธีที่ควรใช้ประจำ สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรค amoebiasis แต่ผลงานของผู้รายงานก็ตรงกับความเห็นของ Faust 1952 Stamm 1957 และ Faust et al 1975 ซึ่งไม่เชื่อว่าการวินิจฉัยโรค amoebiasis ด้วยวิธีเพาะเชื้อจะดีกว่าวิธี direct simple smear และไม่แนะนำให้ใช้วิธีเพาะเชื้อเป็นวิธีที่ใช้ประจำในการวินิจฉัยโรค amoebiasis ผู้รายงานมีความเห็นว่าการตรวจอุจจาระที่ไม่สดนั้น ไม่ควรตรวจโดยวิธีเพาะเชื้อเพราะทำให้สิ้นเปลือง เสียเวลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเพาะเชื้อให้ผลลบ เราไม่สามารถจะบอกได้ว่าผู้ป่วยเป็น amoebiasis หรือไม่ อาจเป็นเพราะอุจจาระเก่าจึงเลี้ยงเชื้อไม่ขึ้นหรือผู้ป่วยไม่ได้เป็น amoebiasis ก็ได้ ส่วนรายที่อุจจาระสดและหนองฝีนั้นผู้รายงานมีความเห็นว่าควรทำการตรวจโดยวิธี direct simple smear ร่วมกับวิธีเพาะเชื้อและควรส่งอุจจาระหรือหนองฝีให้ตรวจ

ซ้ำหลาย ๆ ครั้ง ผลการตรวจจะดีขึ้นซึ่งตรงกับความเห็นของ Hood ซึ่งกล่าวว่าไม่มีวิธีตรวจวิธีเดียวที่ดีที่สุดเพื่อวินิจฉัยโรค amoebiasis แต่ถ้าใช้วิธีตรวจหลายวิธีร่วมกันและวิธีตรวจซ้ำบ่อย ๆ จะทำให้ผลของการตรวจที่ดีที่สุด

สรุป

ผลการตรวจอุจจาระโดยวิธีเพาะเชื้อไม่ได้ดีกว่าวิธี direct simple smear ถ้าอุจจาระสดผลที่ได้พอ ๆ กัน แต่อุจจาระไม่สดวิธี direct simple smear ได้ผลดีกว่าวิธีเพาะเชื้อ อย่างไรก็ตามถ้าตรวจทั้งสองวิธีร่วมกันจะได้ผลแน่นอนที่สุด ส่วนผลการตรวจหนองผี่พบว่าเชื้ออะมีบาสามารถมีชีวิตอยู่ใน culture media ระหว่าง 24 ถึง 72 ชั่วโมง แต่ไม่สามารถเจริญและแบ่งตัวใน culture media จากคุณสมบัติดังกล่าวนี้ ทำให้ผู้ตรวจมีโอกาสตรวจหนองบ่อยครั้งและละเอียดขึ้นทำให้ผลการตรวจดีขึ้น

ผู้รายงานขอขอบคุณ ศาสตราจารย์นายแพทย์อานนท์ ประทัตสุนทรสาร หัวหน้าแผนกวิชาปาราสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ที่ได้ให้การสนับสนุนแนะนำด้านการวิจัยเรื่องนี้โดยตลอด ขอขอบคุณ คุณนงเยาว์ เพชรชาติ คุณเพ็ญแข อัครบวร และคุณฉลวย ยิ่งยวด ที่มีส่วนในการช่วยเหลือด้านเทคนิคของการทดลอง อีกทั้งขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ดิลก เย็นบุตร หัวหน้าแผนกวิชาจุลชีววิทยา ที่ได้กรุณาให้เชื้อ Escherichia coli นำมาทำการเพาะเชื้อร่วมกับอะมีบา

เอกสารอ้างอิง

1. Amoebiasis. WHO Tech Rep Ser no 421 1969
2. Chandler, AC and Read CP Introduction to Parasitology. 10th ed London: John Wiley and Sons Inc 1961 p 61
3. Craig, CF Laboratory diagnosis of protozoan diserses 2nd ed Philadelphia: Lea & Febiger 1948 pp 72-4
4. Faust, EC Modern criteria for laboratory diagnosis of amebiasis Am J Trop Med 1: 140-45, 52
5. Faust, EC Beaver PC and Jung RC Anmal agents and factors of human disease 4th ed Philadelphia: Lea & Febiger 1975 p 72 p 436
6. Healy, GR Laboratory diagnosis of amebiasis Bull NY Acad Med 47: 478-93, 71
7. Healy, GR and Others Symposium on amebiasis panel discussion: The serology of amebiasis Bull NY Acad Med 47: 494-507, 71
8. Hood, M Sodeman MA and Akenhead WR Comparison of the effectiveness of examination of multiple stools and proctoscopic material for detection of amebiasis. Am J Trop Med 1: 539-42, 52
9. Hunter, GW Frye WW and Swartzwelder JC A manual of tropical medicine. 4th ed Philadelphia: WB Saunders company 1966 pp 850-51
10. Juniper, K Jr. Amebiasis in the United States. Bull NY Acad Med 47: 448-61, 71
11. Juniper K Jr, and Others Serologic diagnosis of amebiasis. Am J Trop Med Hyg 21: 157-68, 72
12. Norman L and Brooke MM Use of penicillin and streptomycin in routine cultivation of ameba from fecal specimens. Am J Trop Med 4:472-78, 55
13. Spingarn, CL and Edelman. MH, Further observations on use of streptomycin and penicillin in cultivation of entamoeba histolytica from stools. Am J Trop Med 1: 412-16, 52
14. Stamm, WP II The laboratory diagnosis of clinical amoebiasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 51: 306-12, 57
15. Tucker, PC Webster PC and Kilpatrick SM Amoebic colitis mistaken for inflammtory bowel disease. Arch Intern Med 135: 681-85, 75