



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะลำไส้บีบตัวผิดปกติ
และการติดเชื้อปรสิต

The study of association of irritable bowel syndrome (IBS)
and parasitic infections

โดย ผศ.พญ. อัญชลี ตั้งตรงจิตร และคณะ

มกราคม 2547

Signature

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะลำไส้บีบตัวผิดปกติ
และการติดเชื้อปรสิต

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. ผศ. พญ. อัญชลี ตั้งตรงจิตร	คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
2. ศ.ดร.วันเพ็ญ ชัยคำภา (Mentor)	คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ รังสิต
3. รศ.นพ.สถาพร มานัสสภิกข์	คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
4. ผศ. พญ. โฉมศรี โขนิศชัยวัฒน์	คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล.
5. ผศ. นพ. สมชาย ลีลากุลสงศ์	คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
6. รศ.ดร. ศรีสุรางค์ ตันติมาวานิช	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยความร่วมมือและความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจากผู้เกี่ยวข้องหลายฝ่าย คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้เป็นอาสาสมัครในหอผู้ป่วย และแม่ผญงผู้ป่วย รวมทั้งแพทย์ พยาบาล ตลอดจนเจ้าหน้าที่ห้องตรวจอายุรศาสตร์และคลินิกโรคระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งเจ้าหน้าที่ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลศิริราช คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล และคณะ แพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

ขอขอบคุณ คุณเปรมณี ศรีงาม ที่ได้ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างและเตรียมตัวอย่าง สำหรับตรวจหาเชื้อปรสิต

ขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณาเกี่ยวกับการวิจัยในคนของคณะแพทยศาสตร์ศิริราช พยาบาล และคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ส่งเสริมให้คณะผู้วิจัยได้มีโอกาสดำเนินการ วิจัยจนสำเร็จลงไปได้

งานวิจัยนี้ไม่อาจสำเร็จลงได้ถ้าขาดการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุน สนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนทุนวิจัยรุ่นโทม ปีระจำปี 2545 สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการให้ ทุน โอกาสนี้ด้วย

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	6
วัตถุประสงค์ของโครงการ	8
สมมติฐานการวิจัย	8
ระเบียบและวิธีการวิจัย	8
ขอบเขตงานวิจัย	11
วิธีวิเคราะห์ข้อมูล	11
แผนการดำเนินงานตลอดโครงการ	12
ผลการทดลอง	14
บทวิจารณ์	20
หนังสืออ้างอิง	24
Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจากสภา	27
ภาคผนวก	
- เอกสารรับรองคณะกรรมการจริยธรรมในคน	
- การเสนอผลงานในที่ประชุม 4 th Seminar on Food- and Water-borne Parasitic Zoonoses, 2 nd International Meeting on Gnathostomiasis, and Joint International Tropical Medicine Meeting 2003, 2-4 December 2003, Siam City Hotel, Bangkok, Thailand	
- Manuscript	

The study of association of irritable bowel syndrome (IBS) and parasitic infections

Wang, C. and Cornejo, S. 2011. *Journal of Great Lakes Research*, 37: 103-110.

Introduction : IBS is a common functional gastrointestinal disorder. Recently, some studies revealed that IBS might arise from previous gastrointestinal infection and have possible link with chronic infection.

Objectives: This research aims (1) to evaluate the prevalence of parasitic infections and the possible association of irritable bowel syndrome (IBS) and the parasitic infections and (2) to find out the appropriate laboratory methods for stool examination in IBS patients.

Results : For the 50 IBS patients, diet and

path. The χ^2 test was used to compare the two groups.

1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026, 2027, 2028, 2029, 2030, 2031, 2032, 2033, 2034, 2035, 2036, 2037, 2038, 2039, 2040, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2046, 2047, 2048, 2049, 2050, 2051, 2052, 2053, 2054, 2055, 2056, 2057, 2058, 2059, 2060, 2061, 2062, 2063, 2064, 2065, 2066, 2067, 2068, 2069, 2070, 2071, 2072, 2073, 2074, 2075, 2076, 2077, 2078, 2079, 2080, 2081, 2082, 2083, 2084, 2085, 2086, 2087, 2088, 2089, 2090, 2091, 2092, 2093, 2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2099, 2100, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2122, 2123, 2124, 2125, 2126, 2127, 2128, 2129, 2130, 2131, 2132, 2133, 2134, 2135, 2136, 2137, 2138, 2139, 2140, 2141, 2142, 2143, 2144, 2145, 2146, 2147, 2148, 2149, 2150, 2151, 2152, 2153, 2154, 2155, 2156, 2157, 2158, 2159, 2160, 2161, 2162, 2163, 2164, 2165, 2166, 2167, 2168, 2169, 2170, 2171, 2172, 2173, 2174, 2175, 2176, 2177, 2178, 2179, 2180, 2181, 2182, 2183, 2184, 2185, 2186, 2187, 2188, 2189, 2190, 2191, 2192, 2193, 2194, 2195, 2196, 2197, 2198, 2199, 2200, 2201, 2202, 2203, 2204, 2205, 2206, 2207, 2208, 2209, 2210, 2211, 2212, 2213, 2214, 2215, 2216, 2217, 2218, 2219, 2220, 2221, 2222, 2223, 2224, 2225, 2226, 2227, 2228, 2229, 2230, 2231, 2232, 2233, 2234, 2235, 2236, 2237, 2238, 2239, 2240, 2241, 2242, 2243, 2244, 2245, 2246, 2247, 2248, 2249, 2250, 2251, 2252, 2253, 2254, 2255, 2256, 2257, 2258, 2259, 2260, 2261, 2262, 2263, 2264, 2265, 2266, 2267, 2268, 2269, 2270, 2271, 2272, 2273, 2274, 2275, 2276, 2277, 2278, 2279, 2280, 2281, 2282, 2283, 2284, 2285, 2286, 2287, 2288, 2289, 2290, 2291, 2292, 2293, 2294, 2295, 2296, 2297, 2298, 2299, 2300, 2301, 2302, 2303, 2304, 2305, 2306, 2307, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312, 2313, 2314, 2315, 2316, 2317, 2318, 2319, 2320, 2321, 2322, 2323, 2324, 2325, 2326, 2327, 2328, 2329, 2330, 2331, 2332, 2333, 2334, 2335, 2336, 2337, 2338, 2339, 2340, 2341, 2342, 2343, 2344, 2345, 2346, 2347, 2348, 2349, 2350, 2351, 2352, 2353, 2354, 2355, 2356, 2357, 2358, 2359, 2360, 2361, 2362, 2363, 2364, 2365, 2366, 2367, 2368, 2369, 2370, 2371, 2372, 2373, 2374, 2375, 2376, 2377, 2378, 2379, 2380, 2381, 2382, 2383, 2384, 2385, 2386, 2387, 2388, 2389, 2390, 2391, 2392, 2393, 2394, 2395, 2396, 2397, 2398, 2399, 2400, 2401, 2402, 2403, 2404, 2405, 2406, 2407, 2408, 2409, 2410, 2411, 2412, 2413, 2414, 2415, 2416, 2417, 2418, 2419, 2420, 2421, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431, 2432, 2433, 2434, 2435, 2436, 2437, 2438, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2447, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2453, 2454, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2478, 2479, 2480, 2481, 2482, 2483, 2484, 2485, 2486, 2487, 2488, 2489, 2490, 2491, 2492, 2493, 2494, 2495, 2496, 2497, 2498, 2499, 2500, 2501, 2502, 2503, 2504, 2505, 2506, 2507, 2508, 2509, 2510, 2511, 2512, 2513, 2514, 2515, 2516, 2517, 2518, 2519, 2520, 2521, 2522, 2523, 2524, 2525, 2526, 2527, 2528, 2529, 2530, 2531, 2532, 2533, 2534, 2535, 2536, 2537, 2538, 2539, 2540, 2541, 2542, 2543, 2544, 2545, 2546, 2547, 2548, 2549, 2550, 2551, 2552, 2553, 2554, 2555, 2556, 2557, 2558, 2559, 2560, 2561, 2562, 2563, 2564, 2565, 2566, 2567, 2568, 2569, 2570, 2571, 2572, 2573, 2574, 2575, 2576, 2577, 2578, 2579, 2580, 2581, 2582, 2583, 2584, 2585, 2586, 2587, 2588, 2589, 2590, 2591, 2592, 2593, 2594, 2595, 2596, 2597, 2598, 2599, 2600, 2601, 2602, 2603, 2604, 2605, 2606, 2607, 2608, 2609, 2610, 2611, 2612, 2613, 2614, 2615, 2616, 2617, 2618, 2619, 2620, 2621, 2622, 2623, 2624, 2625, 2626, 2627, 2628, 2629, 2630, 2631, 2632, 2633, 2634, 2635, 2636, 2637, 2638, 2639, 2640, 2641, 2642, 2643, 2644, 2645, 2646, 2647, 2648, 2649, 2650, 2651, 2652, 2653, 2654, 2655, 2656, 2657, 2658, 2659, 2660, 2661, 2662, 2663, 2664, 2665, 2666, 2667, 2668, 2669, 2670, 2671, 2672, 2673, 2674, 2675, 2676, 2677, 2678, 2679, 26

... ..

... ..

1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026, 2027, 2028, 2029, 2030, 2031, 2032, 2033, 2034, 2035, 2036, 2037, 2038, 2039, 2040, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2046, 2047, 2048, 2049, 2050, 2051, 2052, 2053, 2054, 2055, 2056, 2057, 2058, 2059, 2060, 2061, 2062, 2063, 2064, 2065, 2066, 2067, 2068, 2069, 2070, 2071, 2072, 2073, 2074, 2075, 2076, 2077, 2078, 2079, 2080, 2081, 2082, 2083, 2084, 2085, 2086, 2087, 2088, 2089, 2090, 2091, 2092, 2093, 2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2099, 2100, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2122, 2123, 2124, 2125, 2126, 2127, 2128, 2129, 2130, 2131, 2132, 2133, 2134, 2135, 2136, 2137, 2138, 2139, 2140, 2141, 2142, 2143, 2144, 2145, 2146, 2147, 2148, 2149, 2150, 2151, 2152, 2153, 2154, 2155, 2156, 2157, 2158, 2159, 2160, 2161, 2162, 2163, 2164, 2165, 2166, 2167, 2168, 2169, 2170, 2171, 2172, 2173, 2174, 2175, 2176, 2177, 2178, 2179, 2180, 2181, 2182, 2183, 2184, 2185, 2186, 2187, 2188, 2189, 2190, 2191, 2192, 2193, 2194, 2195, 2196, 2197, 2198, 2199, 2200, 2201, 2202, 2203, 2204, 2205, 2206, 2207, 2208, 2209, 2210, 2211, 2212, 2213, 2214, 2215, 2216, 2217, 2218, 2219, 2220, 2221, 2222, 2223, 2224, 2225, 2226, 2227, 2228, 2229, 2230, 2231, 2232, 2233, 2234, 2235, 2236, 2237, 2238, 2239, 2240, 2241, 2242, 2243, 2244, 2245, 2246, 2247, 2248, 2249, 2250, 2251, 2252, 2253, 2254, 2255, 2256, 2257, 2258, 2259, 2260, 2261, 2262, 2263, 2264, 2265, 2266, 2267, 2268, 2269, 2270, 2271, 2272, 2273, 2274, 2275, 2276, 2277, 2278, 2279, 2280, 2281, 2282, 2283, 2284, 2285, 2286, 2287, 2288, 2289, 2290, 2291, 2292, 2293, 2294, 2295, 2296, 2297, 2298, 2299, 2300, 2301, 2302, 2303, 2304, 2305, 2306, 2307, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312, 2313, 2314, 2315, 2316, 2317, 2318, 2319, 2320, 2321, 2322, 2323, 2324, 2325, 2326, 2327, 2328, 2329, 2330, 2331, 2332, 2333, 2334, 2335, 2336, 2337, 2338, 2339, 2340, 2341, 2342, 2343, 2344, 2345, 2346, 2347, 2348, 2349, 2350, 2351, 2352, 2353, 2354, 2355, 2356, 2357, 2358, 2359, 2360, 2361, 2362, 2363, 2364, 2365, 2366, 2367, 2368, 2369, 2370, 2371, 2372, 2373, 2374, 2375, 2376, 2377, 2378, 2379, 2380, 2381, 2382, 2383, 2384, 2385, 2386, 2387, 2388, 2389, 2390, 2391, 2392, 2393, 2394, 2395, 2396, 2397, 2398, 2399, 2400, 2401, 2402, 2403, 2404, 2405, 2406, 2407, 2408, 2409, 2410, 2411, 2412, 2413, 2414, 2415, 2416, 2417, 2418, 2419, 2420, 2421, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431, 2432, 2433, 2434, 2435, 2436, 2437, 2438, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2447, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2453, 2454, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2478, 2479, 2480, 2481, 2482, 2483, 2484, 2485, 2486, 2487, 2488, 2489, 2490, 2491, 2492, 2493, 2494, 2495, 2496, 2497, 2498, 2499, 2500, 2501, 2502, 2503, 2504, 2505, 2506, 2507, 2508, 2509, 2510, 2511, 2512, 2513, 2514, 2515, 2516, 2517, 2518, 2519, 2520, 2521, 2522, 2523, 2524, 2525, 2526, 2527, 2528, 2529, 2530, 2531, 2532, 2533, 2534, 2535, 2536, 2537, 2538, 2539, 2540, 2541, 2542, 2543, 2544, 2545, 2546, 2547, 2548, 2549, 2550, 2551, 2552, 2553, 2554, 2555, 2556, 2557, 2558, 2559, 2560, 2561, 2562, 2563, 2564, 2565, 2566, 2567, 2568, 2569, 2570, 2571, 2572, 2573, 2574, 2575, 2576, 2577, 2578, 2579, 2580, 2581, 2582, 2583, 2584, 2585, 2586, 2587, 2588, 2589, 2590, 2591, 2592, 2593, 2594, 2595, 2596, 2597, 2598, 2599, 2600, 2601, 2602, 2603, 2604, 2605, 2606, 2607, 2608, 2609, 2610, 2611, 2612, 2613, 2614, 2615, 2616, 2617, 2618, 2619, 2620, 2621, 2622, 2623, 2624, 2625, 2626, 2627, 2628, 2629, 2630, 2631, 2632, 2633, 2634, 2635, 2636, 2637, 2638, 2639, 2640, 2641, 2642, 2643, 2644, 2645, 2646, 2647, 2648, 2649, 2650, 2651, 2652, 2653, 2654, 2655, 2656, 2657, 2658, 2659, 2660, 2661, 2662, 2663, 2664, 2665, 2666, 2667, 2668, 2669, 2670, 2671, 2672, 2673, 2674, 2675, 2676, 2677, 2678, 2679, 26

Figure 3.

Percent of *B. hominis* infection

Year	Number of people (millions)
1980	12.5
1985	13.0
1990	13.5
1995	13.8
2000	14.0
2005	14.2
2010	14.4
2015	14.5
2020	14.5

Month	IBS (Solid line)	Control (Dashed line)
0	11.5	11.5
1	11.0	11.0
2	10.5	10.5
3	10.0	10.0
4	9.5	9.5
5	9.0	9.0
6	8.5	8.5
7	8.0	8.0
8	7.5	7.5
9	7.0	7.0
10	6.5	6.5
11	6.0	6.0
12	5.5	5.5

Figure 1 shows representative histological sections of the hippocampus. The top row displays sections from the CA1 region, and the bottom row displays sections from the CA2 region. The left column represents the control group, and the right column represents the 100 mg/kg group. The panels are labeled with numbers 1 through 12. The control sections show normal morphology, while the 100 mg/kg sections show significant damage and cell loss.

Discussion

those of the temperate zone. It is different from that of the tropical zone.

infection, the culture method should be used for diagnosis.

be further investigated.

Methodology: IBS patients were diagnosed using symptoms-based criteria known as Rome Criteria II with the absence of intestinal parasitic infection investigated by direct smear. Stool sample of each patient was examined as 7 mounts for identification for stool occult blood, simple saline concentration, Gram stain–other techniques, culture for *Campylobacter*, modified Ziehl-Neelsen stain, Modified

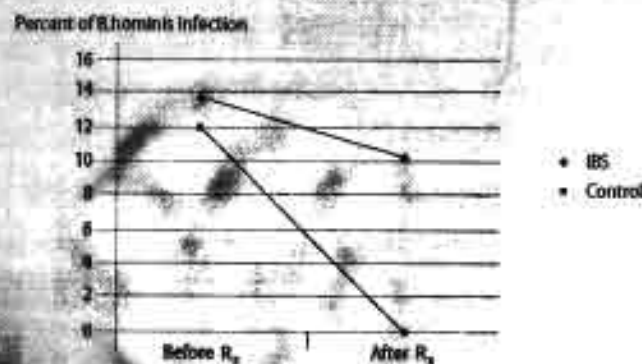
Table 1.

Parasite	IBB (N = 39)	Control (N = 25)	p-value
<i>Blastocystis hominis</i> (unisolated form)	13.6 % (8/39)	12.0 % (3/25)	0.67
Non-pathogenic protozoa (<i>Endolimax nana</i> spp)	3.1 % (5/39)	-	-
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1.7 %	-	-
Shedding from larva	(1/39)	-	-
Hookworm egg	-	8.0 % (2/25)	-
<i>Gamete Isodina</i> cyst	1.7 % (1/60)	-	-

Table 2

	Hematoxylin	Iron stain	Formalin after method	Culture for <i>B. hominis</i>	Trichrome stain	Modified Trichrome stain	Modified acid fast stain	Total
DBS								
<i>Blasiotrypan hominis</i> (vacuolated form)	-	5	4	3	4		-	2
Non-pathogenic protozoa, cyst (<i>Entodamoeba nana</i>)	-	1	-	-	-			1
<i>Strongyloides stercoralis</i>	-	-	-	-	3			3
Rhabditiform larva	-	-	-	-	-			-
<i>Giardia lamblia</i> cyst	-	1	1	-	-			1
Control								
<i>Blasiotrypan hominis</i> (vacuolated form)	-	2	-	3	-			3
Hookworm egg	-	1	-	-	-			1

Figure 3.



Discussion and Conclusions

those of the former reports (1,2). The results are different from that of the BS pattern. Therefore, the routine diagnostic method is with the BS pattern. Infection, the culture method should be used. It should be further investigated.

รายงานผลการวิจัยโครงการวิจัย
ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภททุนส่งเสริมนักวิจัยรุ่นใหม่ ประจำปี 2545
สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) : การศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะลำไส้บีบตัวผิดปกติและการติดเชื้อ
ปรสิต

(ภาษาอังกฤษ) : The study of association of irritable bowel syndrome (IBS) and parasitic
infections

บทนำ

กลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) เป็นกลุ่มอาการที่เกิดจากการทำงานผิดปกติลำไส้ โดยเฉพาะลำไส้ใหญ่ ทำให้เกิดอาการสำคัญ (hallmarks) คืออาการปวดท้องและการแปรปรวนของการถ่ายอุจจาระ โดยตรวจไม่พบพยาธิสภาพ^(1,2) เริ่มมีการศึกษาคั้งแรกตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 19 โดยในปี ค.ศ. 1818 Powell ได้อธิบายถึงอาการสำคัญ (Cardinal symptoms) ของภาวะนี้คือ ปวดท้อง การย่อยอาหารผิดปกติ และอาการแน่นท้อง ท้องอืด ต่อมาในปี ค.ศ. 1830 Howship ได้อธิบายถึงภาวะ spasmodic stricture ของลำไส้ใหญ่แต่ยังไม่ชัดเจนว่าภาวะผิดปกติของลำไส้เกิดจากการเกร็งตัวของลำไส้⁽²⁾ ในช่วง 120 ปีหลังจากนั้นความรู้เกี่ยวกับ IBS ดำเนินต่อไปน้อยมาก จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1962 Chaudhary และ Truelove ได้ศึกษาผู้ป่วย IBS อย่างเป็นระบบและรวบรวมเป็นรูปแบบต่างๆ ของ IBS รวมทั้งได้แยกผู้ป่วยกลุ่มหนึ่งออกมาที่ปัจจุบันจัดเป็น functional diarrhea เป็นที่น่าสังเกตว่าหนึ่งในสี่ของผู้ป่วยเหล่านี้เริ่มต้นจากมีภาวะติดเชื้อในทางเดินอาหาร ในปี 1978 Ken Heaton, Adrian Manning และ W. Grant Thompson เป็นผู้ศึกษาวิจัยกลุ่มแรกที่ได้จัดกลุ่มแยกประเภทผู้ป่วย functional gastrointestinal disorder โดยการสัมภาษณ์ผู้ป่วยนอกที่มารับการรักษาที่ Bristol ประเทศอังกฤษ ด้วยอาการปวดท้องร่วมกับการผิดปกติของการขับถ่าย ซึ่งต่อมาเรียกว่า "Manning criteria"⁽¹⁴⁾ จากข้อมูลดังกล่าวนี้ ต่อมาในปี ค.ศ. 1984 Kruls *et al* ได้ดำเนินการศึกษาต่อและระบุภาวะที่เป็นสัญญาณอันตราย (alarm symptoms) เพื่อให้แพทย์ระวังภาวะที่จะเป็น organic disease จึงมีการเพิ่มเกณฑ์การวินิจฉัย

ที่เรียกกันว่า "red flags" ซึ่งถ้าผู้ป่วย IBS อยู่ในเกณฑ์ดังกล่าวนี้ว่าจำเป็นอย่างยิ่งที่แพทย์จะต้องสืบค้นหาสาเหตุและให้การวินิจฉัยใหม่⁽¹⁶⁾ ในปี ค.ศ. 1984 ได้จัดประชุม 12th International Congress of Gastroenterology ที่กรุงลิสบอน ประเทศโปรตุเกส ได้มีการรวบรวมข้อมูลเป็นร่างของเกณฑ์ในการวินิจฉัย IBS ซึ่งสำเร็จออกมาเป็น Rome I criteria ในปี 1988 และนำเสนอในการประชุมครั้งที่ 13 ที่กรุงโรม มีการทบทวนและปรับปรุงอีกในปี 1992 ขณะนี้ก็ยังมีการทำงานอย่างต่อเนื่อง ในการพิจารณาปรับปรุงเกณฑ์ในการวินิจฉัยให้ชัดเจนยิ่งขึ้น เพื่อจัดเป็น Rome III criteria⁽²⁾

ในตารางที่ 1 เป็นเกณฑ์ที่ใช้ในการวินิจฉัย IBS ตาม Rome criteria ซึ่งวินิจฉัยจากอาการต่างๆ ของระบบทางเดินอาหารหลังจากสืบค้นไม่พบ organic disease เห็นได้ว่าการวินิจฉัยที่อาศัยเกณฑ์ของอาการเป็นหลักจะมีข้อจำกัดมาก และไม่มี gold standard ที่ชัดเจน ดังนั้น Vanner *et al* ได้ศึกษาย้อนกลับในผู้ป่วย ตาม Rome criteria เพื่อการวินิจฉัย IBS โดยไม่รวม red flags criteria พบว่ามีความไว (sensitivity) ร้อยละ 65 ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 100 และค่าการทำนายความถูกต้องของผลบวก (positive predictive value) ร้อยละ 100 การศึกษาต่อมาในผู้ป่วยใหม่ใช้วิธีการเดิมมีค่าการทำนายความถูกต้องของผลบวกร้อยละ 98 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Ringel *et al* ก็พบว่าได้ผลใกล้เคียงกันโดยมีความไวร้อยละ 63 ความจำเพาะร้อยละ 100 และค่าการทำนายความถูกต้องของผลบวกร้อยละ 98 แม้ว่าเกณฑ์การวินิจฉัยตาม Rome criteria จะมีความจำเพาะสูงในการวินิจฉัยภาวะ IBS แต่จะใช้เกณฑ์นี้วินิจฉัยได้ต่อเมื่อผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการและการสืบค้นต่างๆ ไม่พบความผิดปกติใดๆ ในสหรัฐอเมริกาแนวทางในการสืบค้นว่า การสืบค้นที่ควรทำในผู้ป่วยที่มีอาการของ IBS คือการตรวจทางโลหิตวิทยา stool occult blood test, flexible sigmoidoscopy และ lactose intolerance test ในกรณีที่มีข้อสงสัยควรทำการตรวจเพิ่มเติมคือการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาสาเหตุที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียหรือปรสิตในระบบทางเดินอาหาร pelvic floor muscle dyssynergia, colonic inertia, peptic ulcer หรือ inflammatory bowel disease⁽¹⁸⁾ ในสหรัฐอเมริกาทำหนดให้การตรวจอุจจาระทุกรายด้วยวิธี simple saline smear, concentration และการย้อมสีแบบถาวรเพื่อดูพยาธิโปรโตซัว ซึ่งจะครอบคลุมเชื้อปรสิตต่างๆ ได้มากกว่า

และมีประสิทธิภาพในการตรวจสูงกว่าร้อยละ 80 ในขณะที่ห้องปฏิบัติการปรสิต์ในประเทศไทยโดยส่วนใหญ่ยังคงตรวจด้วยวิธี simple saline smear เท่านั้น จึงมีโอกาสผิดพลาดสูงมาก

การศึกษาจำนวนมากพบว่าผู้ป่วย IBS ส่วนใหญ่มีปัญหาทางด้านจิตใจ ได้แก่ บุคลิกภาพผิดปกติ (personality disorder) ความวิตกกังวล (anxiety) ภาวะซึมเศร้า (depression) หรือมีอาการทางร่างกายที่เกิดจากภาวะทางจิตใจ (somatization)⁽¹⁹⁻²²⁾ ทำให้เชื่อว่าภาวะทางจิตใจเป็นตัวกระตุ้นให้ลำไส้เคลื่อนตัวผิดปกติในลักษณะที่มากเกินไปหรือหยุดนิ่ง การรักษาจึงเป็นการรักษาด้วยยาตามอาการและยาในกลุ่ม antidepressant แต่ในอีกกลุ่มของผู้ศึกษาวิจัยเชื่อว่าการติดเชื้อในทางเดินอาหารแล้วเกิดการอักเสบตามมามีความสัมพันธ์ทำให้เกิด functional disorder ในผู้ป่วย IBS⁽²³⁾ Mao et al พบว่าหนูขาว (mice) ที่มีการติดเชื้อ *Trichinella spiralis* มีความผิดปกติของ neuromuscular function ทั้งในลำไส้ใหญ่และในลำไส้เล็ก โดยความผิดปกตินี้จะยังคงอยู่แม้ว่าพยาธิสภาพที่เกิดจากการติดเชื้อหายไปแล้ว และตรวจไม่พบเชื้อปรสิต์ Sullivan et al ตรวจพบมีการเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนของ nitric oxide (NO) synthetase และ nitrotyrosine (NT) ในผู้ป่วย IBS ขณะที่ Tomblom et al รายงานว่ามีภาวะที่ป้องกันการอักเสบในส่วนต้นของลำไส้เล็กส่วน jejunum โดยพบมีการคั่งของ lymphocytes ใน syenteric plexus ของผู้ป่วย IBS Gwee et al เป็นนักวิจัยกลุ่มแรกๆ ที่พบถึงความสัมพันธ์ของภาวะลำไส้อักเสบจากเชื้อ *Campylobacter* ว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด IBS แต่ยังไม่ทราบว่ามีความเกี่ยวข้องกับ virulence ของเชื้อหรือไม่ การศึกษาวิจัยที่เชื่อว่าการเปลี่ยนแปลงภาวะ normal flora มีความสัมพันธ์กับการเกิด IBS เนื่องจากพบว่า ผู้ป่วย IBS จำนวนมากตรวจพบว่ามี enteric colonization และการเปลี่ยนแปลงสภาพของ colonic flora⁽²⁶⁾ Chan et al รายงานพบ interleukin (IL)-10-1082* G allele ซึ่งเป็น anti-inflammatory cytokine ลดลง (บ่งชี้ว่ามีภาวะการอักเสบ) อย่างชัดเจนในผู้ป่วย IBS เมื่อเทียบกับคนปกติ

IBS เป็นภาวะที่พบได้บ่อยมากในเวชปฏิบัติทั่วไป ในสหรัฐอเมริกาพบว่าเป็นโรคในระบบทางเดินอาหารที่พบมาก และเป็นสาเหตุที่ทำให้คนหยุดงานเป็นอันดับสองรองจากไข้หวัด American Gastroenterological Association รายงานอัตราความชุก (prevalence) ของ IBS ที่สำรวจในประชากรทั่ว

ไปในสหรัฐอเมริกา ยุโรป จีน และญี่ปุ่น โดยอาศัยตามเกณฑ์ Rome II criteria พบภาวะนี้ 14-24% ในผู้หญิงและปริมาณร้อยละ 5-19 ในผู้ชาย⁽³⁾ แต่มีผู้ป่วยเพียงร้อยละ 14-50 ที่มีอาการของ IBS ต้องการไปพบแพทย์เพื่อรับการศึกษา และเพียงร้อยละ 25-50 ของผู้ป่วยนอกในกลุ่มนี้ถูกส่งตัวเพื่อรับการรักษาจากแพทย์เฉพาะทางโรคระบบทางเดินอาหาร^(2,4) ในประเทศไทยได้ทำการสำรวจเมื่อปี พ.ศ. 2531 โดยใช้หลักเกณฑ์เดียวกันพบเพียงร้อยละ 0.5-4.8 ซึ่งน้อยมากเมื่อเทียบกับอัตราความชุกที่รายงานจากประเทศอื่น⁽⁵⁾ ขณะนี้สมาคมแพทย์โรคระบบทางเดินอาหารแห่งประเทศไทยได้ร่วมกันจัดทำการศึกษาสำรวจผู้ป่วยทั่วประเทศตามเกณฑ์ของ Rome II criteria เพื่อหาอัตราความชุกที่แท้จริงของ IBS คาดว่าจะแล้วเสร็จประมาณปี พ.ศ. 2548

มีรายงานการศึกษาจำนวนมากในประเทศตะวันตกและสหรัฐอเมริกาพบว่าผู้ป่วย IBS เสียค่าใช้จ่ายในการดูแลสุขภาพสูงมาก โดยเฉพาะค่าใช้จ่ายในการสืบค้น นอกจากนี้เป็นค่ายา ค่าใช้จ่ายในการไปพบแพทย์แต่ละครั้ง รวมทั้งการไปพบแพทย์ที่แผนกฉุกเฉิน ผลทางอ้อม คือ สาเหตุภาวะเจ็บป่วยเรื้อรังลดความสามารถการทำงาน⁽⁶⁾ จากการประเมินในสหรัฐอเมริกาพบว่าเสียค่าใช้จ่ายใน IBS ทั้งทางตรงและทางอ้อม คิดเป็นเงินประมาณ 8,000 ล้านดอลลาร์ต่อปี ในแง่เศรษฐกิจถือเป็นค่าใช้จ่ายสิ้นเปลืองสูงมาก⁽⁷⁾ แต่ในแง่ของสุขภาพและจิตใจความเจ็บป่วยเรื้อรังจะมีผลอย่างมากต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยในกลุ่มโรคที่มีอัตราตายสูงมากเช่นโรคหัวใจขาดเลือด โรคหัวใจล้มเหลวและโรคเบาหวาน จะพบว่าคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย IBS จะแย่กว่ามาก โดยอาการปวดท้องจะเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อคุณภาพชีวิตผู้ป่วยมากกว่าการแปรปรวนของการถ่ายอุจจาระและภาวะทางจิตใจ⁽⁸⁾

ตารางที่ 1 Description of Rome Criteria (I) and (II) and Common Red Flags. (Vanner *et al.*, 1999)

Rome Criteria

Three months or continuous or recurrent symptoms of:

Abdominal pain or discomfort that is:

Relief with defecation

and/or associated with a change in the frequency of stool

and/or associated with a change in consistency of stool

AND

Two or more of the following, at least 25% of occasions or days:

Altered stool frequency (> 3 movements/day or < 3/week)

Altered stool form (lumpy and hard or loose and watery)

Altered stool passage (straining, urgency, tenesmus)

Passage of mucus

Bloating or feeling abdominal distension

Red Flags

Documented weight loss

Nocturnal symptoms

Blood mixed in the stools

Recent antibiotics use

Family history of colon cancer

Relevant abnormalities on physical examination

หลักการและเหตุผล

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

แม้ว่าจะมีการศึกษามากมาย แต่จนถึงปัจจุบันยังไม่ทราบสาเหตุและกลไกการเกิดโรคอย่างแน่ชัด คงสรุปได้แต่เพียงว่ามีพยาธิกำเนิดแบบ multifactorial โดยเชื่อว่าการเคลื่อนตัวของลำไส้ผิดปกติที่อาจเกิดจากมีภาวะการรับรู้ของลำไส้ไวเกิน^(8,10) หรือภาวะทางจิตใจเป็นตัวกระตุ้น หรือการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารนำมาก่อนเกิดอาการของ IBS และการเปลี่ยนแปลงของ normal flora ในทางเดินอาหาร แต่ในปัจจุบันแนวทางที่เชื่อว่าการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารนำมาก่อนเป็นสาเหตุสำคัญในการเกิด IBS ตามมาได้รับความเชื่อถือและกำลังศึกษาอย่างต่อเนื่องกันมาก โดยเฉพาะการติดเชื้อปรสิตต่างๆ น่าจะมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิด IBS มากกว่าการติดเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ^(11,12) เนื่องจากการติดเชื้อปรสิตซึ่งเป็นภาวะเรื้อรังทำให้เกิดการอักเสบอย่างต่อเนื่อง การศึกษาในประเทศปากีสถานพบอัตราความชุกของ *Blastocystis hominis* ในผู้ป่วย IBS สูงถึงร้อยละ 39.2⁽¹¹⁾ Windsor and Johnson ศึกษาในผู้ป่วย IBS พบมีการติดเชื้อ *Dientamoeba fragilis* ถึงร้อยละ 20⁽¹³⁾ Suresh et al (unpublished observation) ได้ทำการตรวจอุจจาระผู้ป่วย IBS ในมาเลเซียด้วยวิธี simple saline smear การย้อมสีถาวรเพื่อหาเชื้อโปรโตซัว และการเพาะเชื้อสำหรับ *Blastocystis hominis* พบอัตราความชุกของปรสิต *D. fragilis*, *B. hominis*, *Microsporidium* และ *Cryptosporidium* คิดเป็นร้อยละ 48.4, 12.9, 22.3 และ 3.22 ตามลำดับ ดังนั้นปรสิตที่น่าจะมีความสัมพันธ์กับการทำให้เกิด IBS คือ *B. hominis* และ *D. fragilis* ปรสิตอื่นๆ ที่อาจเป็นสาเหตุของการเกิด IBS ได้ คือ *Microsporidium*, *Cryptosporidium*, *Cyclospora* ซึ่งปรสิตกลุ่มนี้จัดเป็น emerging parasites ที่มีความสำคัญมากขึ้นทั้งในผู้ป่วย IBS และผู้ป่วยทั่วไป รวมทั้งผู้ภูมิคุ้มกันบกพร่อง

ในประเทศไทยการติดเชื้อปรสิตไม่เฉพาะ emerging parasites ยังถือเป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุข *B. hominis* เป็นปรสิตที่พบได้บ่อยมาก การตรวจอุจจาระผู้ใช้แรงงานไทยระหว่าง พ.ศ. 2536-2540 ที่โรงพยาบาลศิริราชพบว่า *B. hominis* เป็นปรสิตที่มีอัตราการติดเชื้อสูงสุดถึงร้อยละ 12.15⁽³⁰⁾ จึงน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับอุบัติการณ์ของ IBS

การวินิจฉัย IBS ต้องอาศัยกลุ่มอาการเป็นหลัก ร่วมกับการตรวจทางห้องปฏิบัติการและการสืบค้นต่างๆ เพื่อแยกโรคที่มีอาการคล้ายกัน เนื่องจากผู้ป่วยมีการแปรปรวนในการถ่ายอุจจาระ การตรวจพื้นฐานที่สำคัญที่สุดคือการตรวจอุจจาระ ในห้องปฏิบัติการทั่วๆ ไป วิธีที่ใช้ใน routine diagnosis คือวิธี simple saline smear ซึ่งโดยวิธีนี้มีประสิทธิภาพการตรวจพบการติดเชื้อปรสิตเพียงร้อยละ 40-60 การส่งตรวจต่อเนื่อง 3 วัน ก็จะทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการตรวจสูงสุดเป็นร้อยละ 80 ในบางห้องปฏิบัติการ เช่น ในโรงพยาบาลศูนย์ โรงพยาบาลในโรงเรียนแพทย์ ห้องปฏิบัติการอ้างอิง (reference laboratory) อาจมีการตรวจด้วยวิธีเข้มข้นที่อาจเป็น Formalin-ether technique หรือ Floatation ร่วมด้วยทุกรายซึ่งทำให้มีประสิทธิภาพการตรวจเพิ่มขึ้น แต่ไม่เพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจพบเชื้อโปรโตซัวหลายชนิดโดยเฉพาะกลุ่มที่เชื่อว่าอาจเป็นสาเหตุของ IBS และ emerging parasites ที่กล่าวมาแล้ว เมื่อผลการตรวจไม่พบปรสิตผู้ป่วยจะได้รับการวินิจฉัยผิดพลาดเป็น IBS จากผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่มีประสิทธิภาพไม่เพียงพอ ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาตามอาการ โดยไม่ถูกต้องกับโรคที่เป็นอยู่จริง หรือส่งตรวจโดยใช้เครื่องมือต่อเพื่อสืบค้นหาสาเหตุว่าเป็น organic disease หรือไม่ ซึ่งการสืบค้นเหล่านั้นจะมีวิธีการยุ่งยาก ซับซ้อน invasive ค่าใช้จ่ายสูง และที่สำคัญไม่สามารถทำได้ในทุกระดับของสถานพยาบาล

ในขณะนี้มีการศึกษาเกี่ยวกับภาวะ IBS ในประเทศไทยน้อยมาก และยังไม่มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการติดเชื้อปรสิต และภาวะ IBS ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีความมุ่งหมายที่จะศึกษาการติดเชื้อปรสิตในกลุ่มผู้ป่วย IBS โดยการตรวจอุจจาระอย่างละเอียดด้วยวิธีต่างๆ เพื่อให้ครอบคลุมการติดเชื้อปรสิตทุกชนิดและผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยและการรักษาอย่างถูกต้อง ในกรณีที่

ตรวจพบการติดเชื้อปรสิต ผู้ป่วยจะได้รับการรักษาด้วยยา (antiparasitic drug) ตามชนิดของปรสิต ที่พบและติดตามผู้ป่วยหลังได้รับการรักษาเพื่อศึกษาผลของการรักษาและประเมินภาวะ IBS

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ศึกษาหาอัตราความชุกของการติดเชื้อปรสิตในผู้ป่วย IBS
2. ศึกษาหาวิธีในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วย IBS
3. ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะอาการทางคลินิกของผู้ป่วย IBS หลังได้รับยา

สมมุติฐานการวิจัย

ผลจากการทำวิจัยครั้งนี้คาดว่ากลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ในประเทศไทยบางส่วนจะมีการติดเชื้อปรสิตทั้งที่ทำให้เกิดโรคและไม่ทำให้เกิดโรค สูงกว่าในผู้ป่วยที่มีสุขภาพแข็งแรงหรือสามารถกำจัดเชื้อได้โดยไม่ต้องใช้ยา (Self-limited) ซึ่งเชื้อปรสิตที่พบ อาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติเหล่านี้ได้ ซึ่งการตรวจพบจะทำให้การวินิจฉัยและการรักษามีประสิทธิภาพมากขึ้น

ระเบียบและวิธีการวิจัย

วิธีการคัดเลือกพื้นที่ที่จะทำการวิจัย

เนื่องจากผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) มีอาการที่สำคัญ คือ อาการปวดท้องและการแปรปรวนของการถ่ายอุจจาระ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงคัดเลือกผู้ป่วยที่มาพบแพทย์ในโรงพยาบาลศิริราชและโรงพยาบาลวชิรพยาบาล ซึ่งเป็นโรงพยาบาลสังกัดมหาวิทยาลัยมหิดล โดยได้รับความร่วมมือจากอาจารย์แพทย์ทางอายุรกรรม หน่วยทางเดินอาหารของโรงพยาบาลทั้งสองแห่ง ซึ่งได้รับความสะดวกเป็นอย่างมาก

วิธีคัดเลือกผู้ป่วย

คัดเลือกผู้ป่วยโดยขอความร่วมมือด้วยความสมัครใจ และจัดทำแบบสอบถามเพื่อประเมินลักษณะอาการทางคลินิกและจัดกลุ่มผู้ป่วยโดยการตอบแบบสอบถาม

การคัดเลือกผู้ป่วยเพื่อเข้าในโครงการวิจัย (inclusion criteria) ได้คัดเลือกจากผู้ป่วยนอกที่มารับการตรวจรักษาที่ห้องตรวจอายุรศาสตร์และคลินิกโรคระบบทางเดินอาหาร ตึกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลศิริราชและโรงพยาบาลรามธิบดี หรือผู้ป่วยในที่ได้รับการวินิจฉัยหรือสงสัยว่าเป็น Irritable bowel syndrome ตามเกณฑ์มาตรฐานของ Rome II criteria โดยไม่มีลักษณะอาการทางคลินิกที่เป็น Red Flags

- เกณฑ์การคัดออกประชากร (exclusion criteria)

1. ผู้ป่วย/ผู้เข้าร่วมโครงการ ไม่สมัครใจเข้าร่วมโครงการ หรือปฏิบัติไม่ถูกต้องตามระเบียบปฏิบัติในการดำเนินงานศึกษาวิจัย
2. ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยจากประวัติและอาการว่าเป็น IBS แล้วต่อมาตรวจพบลักษณะอาการที่เป็น Red Flags
3. ผู้ป่วย IBS ที่มีโรคเรื้อรังอื่นๆ ร่วมด้วยที่อาจทำให้เกิดอาการท้องเสีย เช่น เบาหวาน เป็นต้น
4. ผู้ป่วย IBS เริ่มมีอาการเมื่ออายุ มากกว่า 50 ปี

จำนวนผู้ป่วยและอาสาสมัครปกติ เพื่อเข้าในโครงการวิจัย

- ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยหรือสงสัยว่าเป็น IBS 50 - 70 คน
- กลุ่มอาสาสมัครปกติ (control) อายุ 18-40 ปี 30 - 40 คน

จำนวนผู้ป่วยที่จะ คัดเลือกเข้าในโครงการวิจัยได้จากการคำนวณจากสูตร

$$N = Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot (1-p) / (d^2)$$

โดย

Z_{α} = ค่าวิกฤต Z ที่ระดับนัยสำคัญ α (=0.05)

d = ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ในครั้งนี้ (ประมาณ 10-15%)

n = ขนาดตัวอย่าง

p = สัดส่วนของตัวแปรที่สำคัญที่คาดว่าจะพบ (ในที่นี้อัตราความชุกของ IBS ที่มีการสำรวจในประชากรทั่วไปในสหรัฐอเมริกา ยุโรป และเอเชีย ประมาณ 10-20% (ค่าเฉลี่ย 15%)

ดังนั้นเมื่อแทนค่า

$$n = 1.96 \times 1.96 \times 0.15 \times (1.0-0.15) / (0.1 \times 0.1)$$

$$= 48.9 \text{ หรือประมาณ } 50 \text{ คน}$$

เก็บอุจจาระ (วิธีการเก็บอุจจาระ ดังในเอกสารแนะนำการเก็บอุจจาระ) ผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการในช่วงที่มีถ่ายเหลว / อาการปวดท้อง (symptomatic period) เพื่อส่งตรวจหาภาวะเลือดออกในระบบทางเดินอาหาร การติดเชื้อโรคปรสิตและแบคทีเรียด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

Stool occult blood

Simple saline smear

Formalin-ether technique

Culture for *Blastocystis hominis*

Modified Trichrome stain

Modified Ziel-Neelson method

Trichrome stain

Stool culture & sensitivity **

Test for bacterial enteric infections (*Salmonella* spp. & *Shigella* spp.) by using diagnostic test kits **

**ในกรณีที่อุจจาระมีลักษณะเป็นน้ำ หรือตรวจพบ WBC > 3-5 cells/HD จะส่งอุจจาระไปทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ ร่วมกับการทดสอบด้วย diagnostic test kits เพื่อตรวจหา pathogenic bacteria

ผู้ป่วยที่ตรวจพบการติดเชื้อทางปรสิตจะได้รับการรักษาด้วย antiparasitic drug ชนิดของยาที่ใช้ขึ้นกับ drug of choice ของปรสิตชนิดนั้นๆ และให้การรักษาตามความเหมาะสม

ติดตามผล โดยให้ผู้ป่วยตอบแบบสอบถาม ภายใน 1 เดือนหลังจากได้รับยาเพื่อ ประเมินลักษณะอาการทางคลินิก ของผู้ป่วย

วิเคราะห์ข้อมูลและจัดทำรายงานสรุปผล

ขอบเขตงานวิจัย

ในการศึกษาวิจัยนี้ไว้คัดเลือกผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น IBS โดยใช้เกณฑ์คัดเลือกผู้ป่วยจากลักษณะอาการคลินิกร่วมกับผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีเบื้องต้น ได้แก่ complete blood count และ stool examination แล้วนำมาทำการตรวจซ้ำอย่างละเอียด เพื่อค้นหาการติดเชื้อปรสิตที่ไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยวิธีใน routine examination ในระหว่างการติดตามผล โดยเฉพาะหลังได้รับการรักษาด้วยยาถ่ายพยาธิแล้ว ผู้ป่วยที่มีลักษณะอาการคลินิกร่วมเกี่ยวข้องกับ IBS จำเป็นต้องได้รับการตรวจสอบทางห้องปฏิบัติการซ้ำก็ถูกรวมอยู่ในโครงการนี้

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้ถูกนำมาตรวจสอบความถูกต้องและบันทึกในรูปแบบของแฟ้มข้อมูลในส่วนของความจำของคอมพิวเตอร์ ทดสอบการกระจายของข้อมูล normality ทั้ง skewness และ kurtosis ข้อมูลที่เป็น normal distribution การเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มได้ใช้วิธีการทางสถิติแบบ parametric method ได้แก่ Anova และ independent student t test แต่ข้อมูลที่ทดสอบแล้วไม่เป็น normal distribution การนำเสนอทำการเสนอเป็น median, 95% confidence interval และ range และใช้วิธีการทางสถิติแบบ non-parametric method การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มใช้ Kruskal-Wallis

analysis of variance และ Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W test การทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรใช้ Spearman's rank correlation ข้อมูลที่มีลักษณะเป็น nominal และ binomial นำเสนอเป็นอัตราร้อยละ และใช้การเปรียบเทียบโดยการทดสอบ Chi square test

แผนการดำเนินงานตลอดโครงการ

แผนการดำเนินงานของโครงการที่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ

1. การเตรียมการหาข้อมูลเบื้องต้นของอัตราความทุกข์ของผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) จากห้องตรวจโรคระบบทางเดินอาหาร ห้องตรวจอายุรศาสตร์ ดึกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลศิริราช และโรงพยาบาลรามาธิบดี
2. การคัดเลือกผู้ป่วยและเก็บตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วย ซึ่งต้องทำการคัดเลือกผู้ป่วยตลอดระยะเวลาการศึกษา เนื่องจากจำนวนผู้ป่วยในแต่ละช่วงเวลาจะมีจำนวนที่ไม่แน่นอน
3. การติดตามอาการผู้ป่วยเพื่อให้การรักษาเมื่อตรวจพบพยาธิปรีสิตในอุจจาระ

แผนการดำเนินงาน	เดือน											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. ขั้นตอนเตรียมการ - จัดทำแบบสอบถามเพื่อประเมินอาการผู้ป่วยตามเกณฑ์ที่กำหนด - คำนวณหากลุ่มประชากรตัวอย่าง - คัดเลือกผู้ป่วยตามเกณฑ์ที่ตั้งไว้	✓	✓	✓									
2. เก็บตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วยที่คัดเลือกไว้ในการศึกษาวิจัย เพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีต่างๆ ตามที่กำหนดไว้		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			
3. ประเมินผลการรักษาด้วยการประเมินผู้ป่วยและตรวจอุจจาระซ้ำหลังได้รับยาอย่างน้อย 1 เดือน												
4. วิเคราะห์ข้อมูลและเขียนสรุปรายงานการศึกษา									✓	✓	✓	✓

แผนการดำเนินงาน	ผลลัพธ์ (output)
1. ชื่นเตรียมการ - จัดทำแบบสอบถามเพื่อประเมินอาการผู้ป่วยตามเกณฑ์ที่กำหนด - คำนวณหากกลุ่มประชากรตัวอย่าง - คัดเลือกผู้ป่วยตามเกณฑ์ที่ตั้งไว้	แบบสอบถามที่ใช้ในการคัดเลือกผู้ป่วย ผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการตามเกณฑ์ที่กำหนด
2. เก็บตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วยที่คัดเลือกไว้ในการศึกษาวิจัย เพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีต่างๆ ตามที่กำหนดไว้	ตรวจวิเคราะห์ specimen ตามวิธีที่กำหนด ผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ
3. ประเมินผลการรักษาด้วยการประเมินผู้ป่วยและตรวจอุจจาระซ้ำหลังได้รับยาอย่างน้อย 1 เดือน	ผลการรักษาผู้ป่วยด้วย antiparasitic drug
4. วิเคราะห์ข้อมูลและเขียนสรุปรายงานการศึกษา	รายงานผลการศึกษารวบรวมและนำข้อมูลเพื่อเขียนเอกสารเพื่อตีพิมพ์เผยแพร่

ผลการทดลอง

จากการคำนวณขนาดของตัวอย่างจากสูตรซึ่งได้นำเสนอในระเบียบและวิธีวิจัยพบว่าขนาดตัวอย่างที่ควรจะเป็นคือ 50 ราย จากอัตราความชุกของ IBS ที่มีการสำรวจในประชากรทั่วไปในสหรัฐอเมริกา ยุโรป และเอเชีย ประมาณ 10-20% อย่างไรก็ตามเมื่อทำการศึกษาริวิจัยจริงพบว่าอัตราความชุกของโรค IBS ไม่แน่นอนตามระยะเวลา การเก็บตัวอย่างเพื่อให้ได้จำนวนที่แน่นอนและมีความน่าเชื่อถือตามเกณฑ์ของสถิติที่คำนวณจึงทำได้ยากนอกจากนี้ยังมีผู้ป่วยที่อยู่ใน inclusion criteria น้อย ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้พยายามหาจำนวนผู้ป่วยเพิ่มเติมจากแผนกผู้ป่วยอายุรกรรม โรงพยาบาลวามาริตี ซึ่งได้รับการสนับสนุนและความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจึงแม้จะทำให้ระยะเวลาของโครงการวิจัยขึ้นนี้ต้องขยายออกไป อย่างไรก็ตามจำนวนผู้ป่วยที่คณะผู้วิจัยศึกษาได้ขนาดตัวอย่าง 59 ราย

ตารางที่ 2 อัตราความชุกของเชื้อปรสิตที่พบในผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) และกลุ่มควบคุม

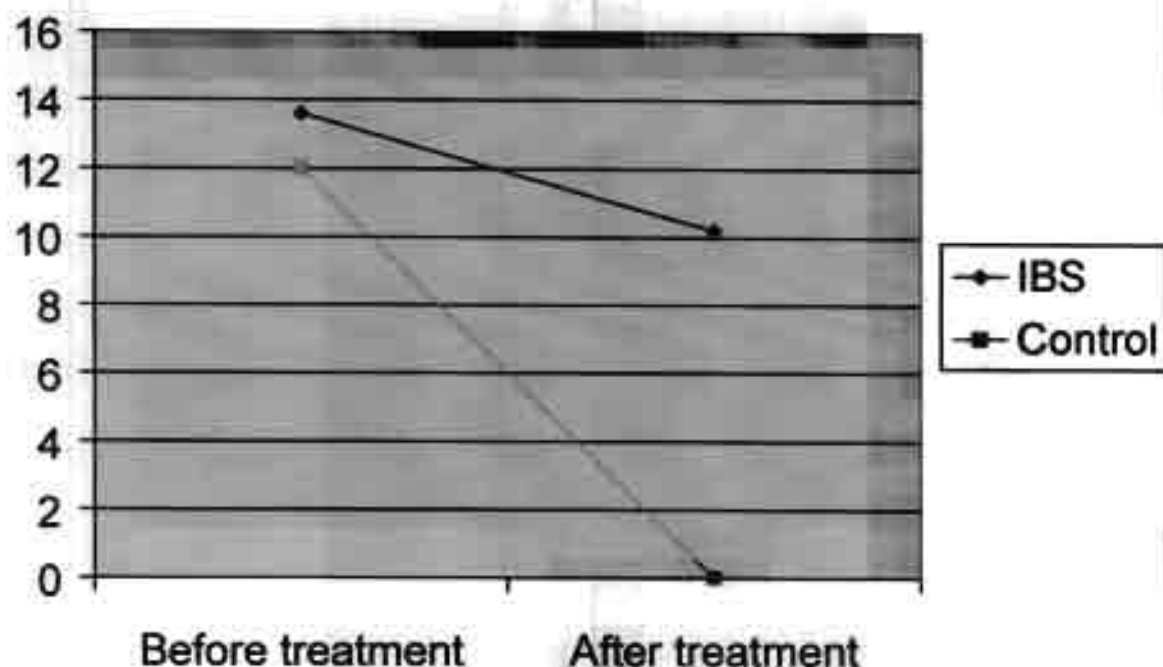
Parasite & Protozoa	IBS (N=59)	Control (N =25)	p-value
<i>Blastocystis hominis</i> (vacuolated form)	13.6 % (8/59)	12.0% (3/25)	0.87
Non-pathogenic protozoa (<i>Endolimax nana</i> cysts)	5.1 % (3/59)	-	-
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1.7 % (1/59)	-	-
Rhabditiform larvae	-	8.0 % (2/25)	-
Hookworm ova	-	-	-
<i>Giardia lamblia</i> cysts	1.7 % (1/59)	-	-

ตารางที่ 3 อัตราความชุกของเชื้อปรสิตที่พบในผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) เมื่อใช้การตรวจแบบต่างๆ

	Hematest	Direct smear	Formalin ether method	Culture for <i>B. hominis</i>	Trichrome stain	Modified trichrome stain	Modified acid fast stain	Total
IBS								
- <i>Blastocystis hominis</i> (vacuolated form)	-	5	3	8	4	-	-	8
-Non-pathogenic protozoa, cysts (<i>Endolimax nana</i>)	-	-	-	-	3	-	-	3
- <i>Strongyloides stercoralis</i> Rhabditiform larvae	-	1	-	-	-	-	-	1
- <i>Giardia lamblia</i> cysts	-	1	1	-	-	-	-	1
Control								
- <i>Blastocystis hominis</i> (vacuolated form)	-	2	-	3	-	-	-	3
-Hookworm ova	-	1	2	-	-	-	-	2

แผนภูมิที่ 1 อัตราการรักษาการติดเชื้อ *B. hominis* ของคนไข้ IBS ด้วยยา Metronidazole 1200 mg ต่อวัน เป็นเวลานาน 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับ control

Percent

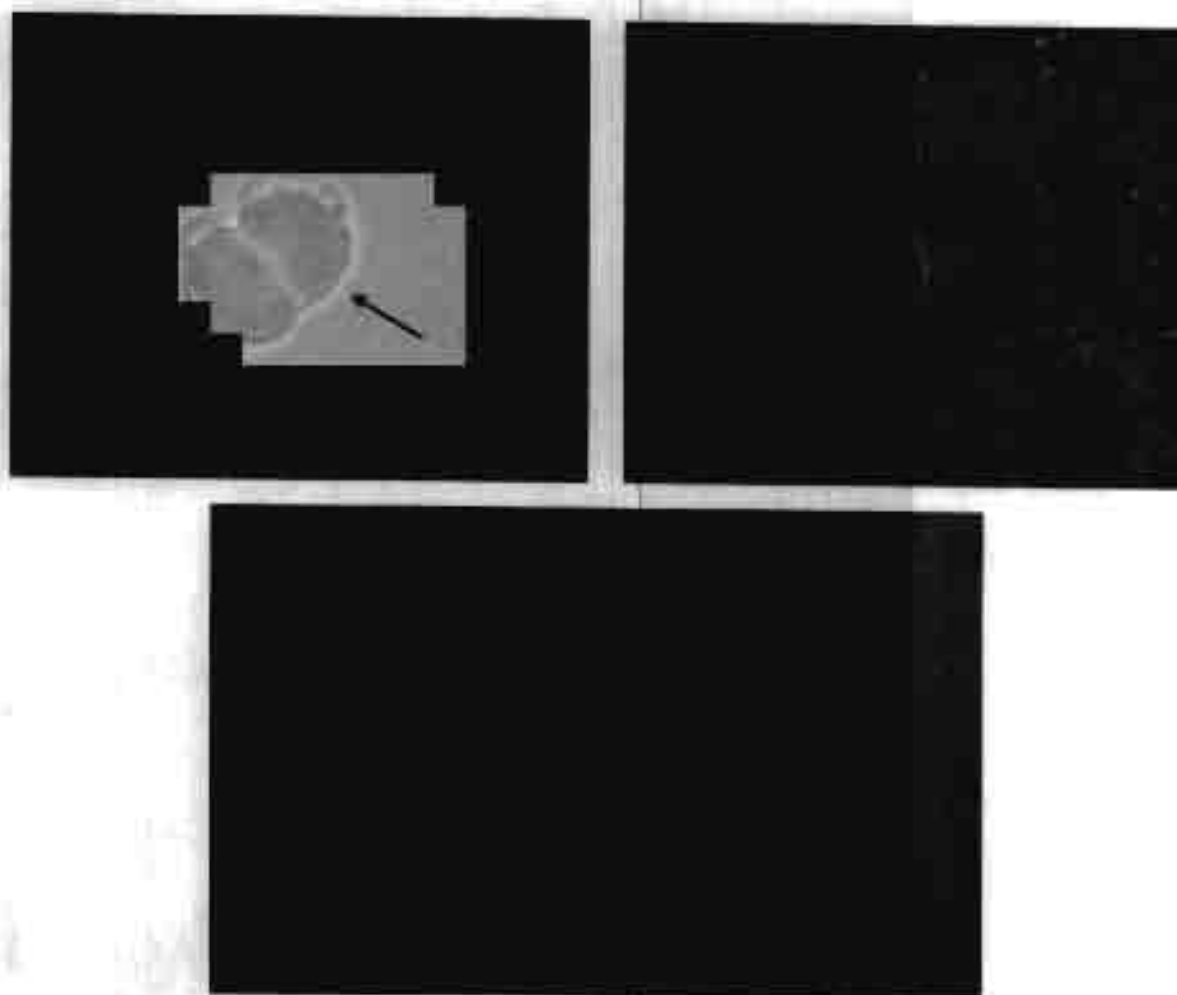


จากตารางที่ 2 พบว่าอัตราความชุกของ *B. hominis* (รูปที่ 1) ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) มีจำนวนร้อยละ 13.6 เปรียบเทียบกับร้อยละ 12 ในกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) มี non-pathogenic protozoa ร้อยละ 5.1 *Strongyloides stercoralis* ร้อยละ 1.7 และ *Giardia lamblia* ร้อยละ 1.7 ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอัตราการรักษาพยาธิ Hookworm ถึงร้อยละ 8.0 เมื่อเปรียบเทียบอัตราความชุกของ *B. hominis* กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) กับกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Chi's square = 0.03, $p = 0.87$)

ในตารางที่ 3 แสดงถึงอัตราความชุกของเชื้อปรสิตที่พบในผู้ป่วยกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ในการตรวจแบบต่างๆ เช่น Hematest, normal saline (NSS),

Formalin-ether technique, Culture for *B. hominis*, Trichrome stain, modified trichrome stain และ modified acid fast stain สามารถตรวจพบพยาธิและ protozoa ใน NSS ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) และกลุ่มควบคุม การใช้การย้อมสีชนิดพิเศษเช่น trichrome และ modified trichrome รวมทั้ง modified acid fast stain ตรวจไม่พบ intestinal protozoa อื่นๆ การตรวจการติดเชื้อ *B. hominis* พบว่าตรวจด้วยวิธีการเพาะเลี้ยง *B. hominis* (รูปที่ 2) มีความไวกว่าการตรวจด้วย direct smear และ formalin-ether technique ซึ่ง 2 วิธีหลังนี้ให้ผลใกล้เคียงกัน

ในแผนภูมิที่ 1 นำเสนออัตราการรักษาการติดเชื้อ *B. hominis* ของคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) เปรียบเทียบกับการรักษาของกลุ่มควบคุมด้วยยา metronidazole ขนาด 1200 mg ต่อวัน เป็นเวลา 7 วัน พบว่าในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ทั้ง 8 ราย มีเพียง 2 รายเท่านั้นที่ตรวจไม่พบ *B. hominis* ด้วยวิธี simple saline smear และ culture หลังได้รับการรักษาในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ที่เหลือจำนวน 6 ราย ยังพบ *B. hominis* สำหรับกลุ่มควบคุมหลังจากตรวจอุจจาระซ้ำ 7 วันถัดมา โดยไม่ได้รับยา แล้วไม่ปรากฏว่าพบ *B. hominis* เลย ทั้งการตรวจจาก stool smears และการเพาะเลี้ยง แสดงว่าอัตราการรักษาของคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ต่อ *B. hominis* เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 6.73, p = 0.014$, Fisher's exact test) เมื่อคำนวณอัตราการรักษาของคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ต่อ *B. hominis* ด้วยยา metronidazole พบว่ามีประสิทธิภาพคิดเป็นร้อยละ 25 ในขณะที่ประสิทธิภาพการรักษา *B. hominis* ในคนปกติจะเป็นร้อยละ 100



รูปที่ 3 ภาพแสดง *Blastocystis hominis*, vacuolated form จากผู้ป่วย IBS
จากการเพาะเชื้อ (arrow bead) (กำลังขยาย 400 เท่า)

บทวิจารณ์

B. hominis จัดเป็น protozoa ที่พบได้ในลำไส้คนซึ่งอาจจะทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วงซึ่งเป็นทั้งชนิดเฉียบพลันหรือเรื้อรัง⁽³¹⁾ โดยธรรมชาติของการติดเชื้อของ *B. hominis* พบว่าอัตราการติดเชื้อโดยปกติอาจจะสูงถึงร้อยละ 41 ในคนงานที่ทำงานเกี่ยวกับสัตว์⁽³⁰⁾ ในประเทศเนปาล อัตราการติดเชื้อ *B. hominis* ในผู้ที่ไม่มีอาการและมีอาการท้องเสียจะเป็นร้อยละ 30 และ 36 ตามลำดับ⁽²⁰⁾ ดังนั้นคนไข้จึงมีความประสงค์ที่จะศึกษาความสัมพันธ์ของการติดเชื้อปรสิตในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) โดยการตรวจอุจจาระอย่างละเอียดด้วยวิธีต่างๆ เพื่อให้ครอบคลุมการติดเชื้อปรสิตทุกชนิดในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) จากผลการศึกษาพบว่าอัตราความชุกของ *B. hominis* ในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) และในกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือการติดเชื้อปรสิตคิดเป็นร้อยละ 13.6 ในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) และร้อยละ 12.0 ในกลุ่มควบคุม (Chi's square = 0.03, $p=0.87$) ยิ่งกว่านั้นยังพบว่าในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) มีการติดเชื้อปรสิตหลายชนิดเช่น *Strongyloides stercoralis*, non-pathogenic protozoa (*Endolimax nana*), *Giardia lamblia* (ตารางที่ 2) การศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Giacometti (1999) ซึ่งพบว่าจำนวนปรสิตของคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) มีมากกว่าคนไข้ที่ไม่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ โดยพบอัตราความชุกของ *B. hominis* เป็นจำนวนร้อยละ 11.1 เปรียบเทียบกับร้อยละ 6.1 ในกลุ่มที่ไม่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ⁽¹²⁾ โดยเฉพาะที่พบอัตราการติดเชื้อ *Dientamoeba fragilis*, *Cryptosporidium parvum* และ microsporidium ที่ค่อนข้างสูงซึ่งมีการตรวจพบ protozoa เหล่านี้ในการศึกษาวิจัยผู้ป่วย IBS ที่ประเทศมาเลเซีย สำหรับ *C. parvum* และ microsporidium จัดเป็น opportunistic protozoa ที่พบในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง แม้ว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีภาวะการลำไส้บีบตัวผิดปกติและได้รับการรักษาต่อเนื่องคล้ายโรคเรื้อรัง แต่โรคนี้ไม่มีผลต่อภาวะภูมิคุ้มกันของผู้ป่วย ดังนั้นจึงตรวจไม่พบ

protozoa 2 ตัวนี้ อย่างไรก็ดี เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วย IBS ที่เข้าร่วมโครงการในการศึกษาที่มาเลเซีย จะเลือกผู้ป่วยใหม่จากอาการทางคลินิก (Rome criteria II) โดยยังไม่ได้ตรวจจุลจากระ ต่างจากการศึกษาในที่ ผู้ป่วยได้รับการตรวจวินิจฉัยด้วย routine lab ก่อนจะคัดเข้าร่วมโครงการ เป็นที่น่าสังเกตว่ามีรายงานว่าคน ไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) มีอุบัติการณ์พบหรือเกี่ยวข้องกับ *B. hominis* หลายการศึกษา เช่น พบว่าในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ที่มีอาการและไม่มีอาการ จะมีระดับของ IgG antibodies เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p < 0.0001$) โดยเฉพาะ IgG2 subclass ถึงร้อยละ 46.8-47.8 ทั้งในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ที่พบ *B. hominis* ในอุจจาระและไม่พบ *B. hominis* เลย⁽¹¹⁻¹²⁾ ปฏิกริยาทางต้านภูมิคุ้มกันของ *B. hominis* ในร่างกายพบว่ามี IgG subclass ที่เกี่ยวข้องและ สำคัญอยู่ 2 subclass คือ IgG1 และ IgG2 โดย IgG2 อาจจะถูกกระตุ้นได้โดย virus, bacteria, toxin, และ protozoa ชนิดอื่นๆ แต่พบว่า IgG2 มีความจำเพาะมากต่อ *B. hominis* และไม่สามารถเกิด cross-reactivity กับ *E. histolytica* ซึ่งต่อมาพบว่าถึงแม้ *E. histolytica* จะกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้เช่นเดียวกับ *B. hominis* แต่จากการศึกษาของ Sinha ในปี 1997 ในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับ การติดเชื้อ *E. histolytica* เลย⁽³³⁾ IgG2 antibodies สัมพันธ์ กับระดับของปริมาณของ carbohydrate antigens ของ *B. hominis* ที่ยังหลงเหลืออยู่ถึงแม้ว่าคนไข้กลุ่ม ผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ได้รักษาซึ่งเป็นยาเฉพาะสำหรับ รักษา *B. hominis* จนหมดไปแล้วแต่ carbohydrate antigens ยังคงหลงเหลือและถูกตรวจพบอีกนานใน tissues การที่มี IgG2 และ carbohydrate antigens ของ *B. hominis* คณะผู้วิจัยเรื่องนี้เชื่อว่าจะเป็น ปฏิกริยาที่ร่างกายพยายามจะขจัดสิ่งแปลกปลอมออกไป ซึ่ง Gravelli (1991) แนะนำว่าเป็นไปได้ที่ปฏิกริยา ที่เกิดขึ้นนี้เป็น toxic allergic reaction ของ *B. hominis* และอาจจะเป็นสาเหตุให้เกิดอาการร่วมอย่างใด อย่างหนึ่งในคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ซึ่งจำเป็นต้อง มีการศึกษาต่อไป

จากตารางที่ 2 แสดงถึงอัตราความถูกต้องของเชื้อปรสิตที่พบในผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) เมื่อใช้การตรวจแบบต่างๆ เช่น Hematest, simple saline smear, Formalin ether method, Culture for *B. hominis*, Trichrome stain, modified trichrome, modified AFB เป็นต้น พบว่าการตรวจ *B. hominis* ด้วย simple saline smear (NSS) ก็มีความไว (sensitivity) เพียงพอ อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ Formalin-ether method ไม่พบว่าจะตรวจพบ *B. hominis* เพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้วิธี culture จะทำให้ sensitivity เพิ่มขึ้น แสดงว่าการใช้การตรวจ NSS และ culture (combination) จะทำให้การทดสอบดีขึ้น การศึกษาวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยไม่ได้ทำการทดสอบ IgG antibodies ต่อ *B. hominis* antigen เนื่องจากมีราคาแพงและทุนวิจัยมีจำกัด ซึ่ง Hussain (1997) รายงานว่าการตรวจ IgG2 subclass antibodies ต่อ *B. hominis* ซึ่ง antibodies เป็น antibodies ต่อ antigens ทั้ง protein และ carbohydrate antigens ของ *B. hominis* ซึ่งพบว่าสามารถตรวจพบได้เช่นเดียวกับการตรวจ parasite ในอุจจาระ และสัมพันธ์กับผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ผลจากการศึกษาครั้งนี้ให้ผลได้เช่นเดียวกับ Giacometti *et al.* 1999 ซึ่งใช้เพียง simple smear และ iodine stain สำหรับตรวจหา *B. hominis* ในอุจจาระ โดยใช้ low-power (x10) และ high-power (x40) ซึ่งคณะผู้วิจัยก็ใช้วิธีการศึกษาเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามการ culture *B. hominis* อาจจะเป็นวิธีที่จำเป็นสำหรับการตรวจที่ต้องการผลที่แน่นอน เพราะคณะผู้วิจัยพบว่าการใช้วิธีใดวิธีหนึ่งอาจจะไม่ครอบคลุมถึงการวินิจฉัย *B. hominis* infection ได้ จำเป็นต้องใช้หลายวิธีร่วมกัน เพราะจากตารางในกลุ่มควบคุมก็พบว่าการใช้ Formalin-ether method ก็ตรวจไม่พบในขณะที่ถ้าใช้การ culture จะตรวจพบ *B. hominis* มากกว่าการใช้ simple smear เป็นต้น ในผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) จะตรวจพบ *B. hominis* ด้วยวิธี Formalin-ether method ใกล้เคียงกับวิธี simple smear

หลังจากการตรวจพบ *B. hominis* ในผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) และในกลุ่มควบคุม คณะผู้วิจัยได้ทำการให้ยาซึ่งเป็นยาเฉพาะสำหรับ *B. hominis* คือยา metronidazole ขนาดวันละ 1200 mg ระยะเวลา 7 วัน เป็น regimen ที่ใช้ทั่วไปในการรักษา⁽³⁷⁾ พบว่าใน

ผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) จำนวน 8 รายสามารถรักษา *B. hominis* ให้หายขาดได้เพียง 2 ราย ส่วนอีก 6 รายยังตรวจพบ *B. hominis* ในขณะที่ในกลุ่มควบคุมที่ ตรวจพบ *B. hominis* เมื่อให้ยา metronidazole ขนาดวันละ 1200 mg ระยะเวลา 7 วัน⁽³⁶⁾ พบว่าตรวจไม่พบ *B. hominis* เลย เมื่อเปรียบเทียบผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) กับกลุ่มควบคุม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Chi's square = 6.73, $p = 0.014$, Fisher's exact test) เมื่อคำนวณอัตราการรักษาของคนไข้กลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ต่อ *B. hominis* ด้วยยา metronidazole พบว่ารักษาหายขาดได้เพียงร้อยละ 25 ในขณะที่ อัตราการรักษา *B. hominis* หายขาดในคนปกติจะเป็นร้อยละ 100 แสดงให้เห็นว่าในผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ที่ตรวจพบ *B. hominis* จะมีการตอบสนองต่อยา (คือยา) ที่ผิดแผกแตกต่างจากคนปกติมาก ทั้งนี้การศึกษาค้างนี้ไม่สามารถสรุปได้ว่า *B. hominis* จะเป็นสาเหตุของกลุ่มผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ได้ แต่ *B. hominis* น่าจะสัมพันธ์กับผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ได้โดยร่างกายของคนไข้ อาจจะมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ *B. hominis* โดยการลด humoral immune response⁽³⁴⁾ อย่างไรก็ตาม ยาที่ใช้ในการรักษา *B. hominis* อาจจะมีข้อจำกัดทำให้ผลการศึกษาในครั้งนี้ผิดพลาดได้ เพราะการศึกษา โดย ตราวรรณ วะชีวนาวิน และคณะ ได้รายงานว่าการใช้ยา metronidazole ขนาดวันละ 1200 mg เป็นเวลา 7 วัน มีอัตราการหายร้อยละ 68.4 เท่านั้น⁽³⁰⁾ แต่เมื่อพิจารณาถึงอัตราการหายของผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) ที่ติดเชื้อ *B. hominis* เพียงร้อยละ 25 เท่านั้น แสดงว่าการวินิจฉัยและการรักษาการติดเชื้อ *B. hominis* ด้วยยาต่างๆ ในผู้ป่วยกลุ่มอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) จำเป็นต้องทำอย่างละเอียดถี่ถ้วน เพราะถึงแม้ *B. hominis* ไม่ได้เป็นสาเหตุให้เกิดอาการลำไส้บีบตัวผิดปกติ (Irritable bowel syndrome, IBS) แต่ *B. hominis* ก็อาจจะทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้เกิดอาการ diarrhea ร่วมได้⁽³⁵⁾

หนังสืออ้างอิง

1. Thompson, WG. The road to Rome (Rome II: A multinational consensus document on functional gastrointestinal disorders). *Gut* 1999; 45: 1180-1.
2. Richard LB, Lawrence FS. Current concepts: Irritable bowel syndrome. *N Engl J Med* 1993; 329: 1940-5.
3. American Gastroenterological Association. Medical position statement: Irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1997; 112: 2118-9.
4. Hamm LR, Sorells SC, Harding JP, Northcutt AR, Heath AT, Kapke GF, Hunt CM, Mangel AL. Additional investigations fail to alter the diagnosis of irritable bowel syndrome in subjects fulfilling the Rome criteria. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1279-82.
5. Danvivat D, Tankayoon M, Sriratanaban A. Prevalence of irritable bowel syndrome in a non-western country. *Br Med J* 1988; 296:1710.
6. Martin R, Barron JJ, Zacker C. Irritable bowel syndrome: toward a cost-effective management approach. *Am J Manag Care* 2001 Jul; 7(8 Suppl): S268-75.
7. Schuster MM. Defining and diagnosing irritable bowel syndrome. *Am J Manag Care* 2001 Jul; 7(8 Suppl): S246-51.
8. Lea R, Whorwell PJ. Quality of life in irritable bowel syndrome. *Pharmacoeconomics* 2001; 19(6): 643-53.
9. Linn CD. Motility disorders in the irritable bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am* 1991; 20: 279-95.
10. Hasler WL, Owyang C. Irritable bowel syndrome. *Textbook of Gastroenterology*. J.B. Lippincott, Philadelphia 1991; 1696-714.
11. Hussain R, Jaferi W, Zuberi S, Baqai R, Abrar N, Ahmed A, Zaman V. Significantly increased IgG2 subclass antibody levels to *Blastocystis hominis* in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 301-6.
12. Giacometti A, Cirioni O, Fiorentini A, Fortuna M, Scalise G. Irritable bowel syndrome in patients with *Blastocystis hominis* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 436-9.
13. Windsor JJ and Johnson EH. *Dientamoeba fragilis*: the unflagellated human flagellate. *Brit J Biomed Sci* 1999; 56: 293-306.
14. Manning AP, Thompson WG, Heaton KW, Morris AF. Towards positive diagnosis of the irritable bowel. *BMJ* 1978; 2: 653-4.

15. Kruis W, Thieme C, Weinzierl M. A diagnostic score for the irritable bowel syndrome. Its value in the exclusion of organic disease. *Gastroenterology* 1984; 87: 1-7.
16. Vanner SJ, Depew WT, Paterson WG, DeCosta LR, Groll AG, Simon JB, Djurfeldt M. Predictive value of the Rome criteria for diagnosing the irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2912-7.
17. Ringel Y, Drossman DA. Toward a positive and comprehensive diagnosis of irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2000; 6: 2.
18. Talley NJ. Drug therapy options for patients with irritable bowel syndrome. *Am J Manag Care* 2001 Jul; 7(8 Suppl): S261-7.
19. Blanchard EB, Scharff L, Schwarz SP, Suls JM, Barlow DH. The role of anxiety and depression in the irritable bowel syndrome. *Behav Res Ther* 1990; 28: 1014-7.
20. Whitehead WE, Crowell MD. Psychologic considerations in the irritable bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am* 1991; 20: 249-67.
21. Drossman DA, McKee DC, Sandler RS. Psychosocial factors in the irritable bowel syndrome: a multivariate study of patients and nonpatients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1988; 95: 701-8.
22. Camilleri M, Neri M. Motility disorders and stress. *Dig Dis Sci* 1989; 34: 1777-86.
23. Talley NJ. Irritable bowel syndrome: a post-infectious and inflammatory disorder? *Digestive Disease Week* 2000.
24. Mao Y, Wang L, Chen Y, Blennerhassett PA, Collins SM, Tougas G. Hyperalgesic colonic sensory afferent pathways following *Trichinella spiralis* enteritis: involvement of NK receptors. Program and abstracts of Digestive Disease Week 2000.
25. O'Sullivan MA, Clayton N, Wong T, Bountra C, Buckley MM, O'Morain CA. Increase iNOS and nitrotyrosine expression in irritable bowel syndrome (IBS). Program and abstracts of Digestive Disease Week 2000.
26. Tomblom H, Lindberg G, Nyberg B, Veress B. Histopathological findings in jejunum of patients with severe irritable bowel syndrome. Program and abstracts of Digestive Disease Week 2000.
27. Gwee KA, Leong YL, Graham C. The role of psychological and biological factors in post-infective gut dysfunction. *Gut* 1999; 44: 400-6.

28. Yakovenko E, Grigoriev P, Tcherenchimedlin S, Yakovenko A, Agafonova N, Michailova I, Chtcherbina E, Solujanova I, Prjanishnikova A, Guljaev P. Is irritable bowel syndrome (IBS) related to altered gut flora? *Gut* 1997; 41: 123.
29. Chan J, Gonsalkorale M, Perrey C. IL-10 and TGF-beta genotypes in irritable bowel syndrome: evidence to support a inflammatory component? Program and abstracts of Digestive Disease Week 2000.
30. คาราวรรณ วนะชีวนาวิน วิรัช จันทนู จีรวรรณ องค์วิโรจน์กุล และคณะ อัตราการติดเชื้อปรสิตจากการตรวจอุจจาระในผู้ใช้แรงงานไทย โรงพยาบาลศิริราช สารศิริราช 2542; 51: 1073-80.
31. Phillips BP, Zierdt CH. *Blastocystis hominis*: Pathogenic potential in human patients and in gnotobionts. *Exp Parasitol* 1976; 39: 358-64.
32. Gravelli PL, Scaglione L, Bloccocchi R, Libanore M. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *Infection* 1991; 19: 185-...
33. Sinha P, Ghoshal UC, Choudhuri G, Naik S, Ayyagari A, Naik SR. Does *Entamoeba histolytica* cause irritable bowel syndrome? *Indian J Gastroenterol* 1997; 16: 130-3.
34. Chen J, Vaudry WL, Kowalewska K, Wenman W. Lack of serum immune response to *Blastocystis hominis*. *Lancet* 1987; 2: 1021 (letter).
35. Tan KSW, Singh M, Yap EH. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *Int J Parasitol* 2002; 32: 789-804.
36. Herwaldt BL, de Arroyave KR, Wahlquist SP, de Merida AM, Lopez AS, Juraneck DD. Multiyear Prospective study of intestinal parasitism in a cohort of Peace Corps volunteers in Guatemala. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 34-42.
37. Garcia LS editor. *Diagnosis medical parasitology*. 4th ed. Washington DC.: ASM Press; 2001.
38. Wanachiwanawin D, Kaewmanee S, Sripiengjan J. The comparative effectiveness of metronidazole, Furazolidone and cotrimoxazole in *Blastocystis hominis* infection. *Siriraj Hosp Gaz* 1995; 47(6): 509-514.
39. Yoshikawa H, Abe N, Iwasawa M, Kitano S, Nagano I, Wu Z, Takahashi Y. Genomic analysis of *Blastocystis hominis* strains isolated from two long term health care facilities. *J Clin Microbiol* 2000; 38(4): 1324-1330.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุน สกว.

1. นำเสนอผลงานในรูปนิทรรศการ (Poster presentation) ในการประชุม 4th Seminar on Food- and Water-borne Parasitic Zoonoses, 2nd International Meeting on Gnathostomiasis, and Joint International Tropical Medicine Meeting 2003, 2-4 December 2003 (เอกสารแนบหมายเลข 1)
2. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ จัดทำ manuscript (เอกสารแนบหมายเลข 1) อยู่ในระหว่างรอการพิจารณาจาก editorial board ของ Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health

ภาคผนวก

เอกสารรับรองคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

เลขที่ 216/2002

ชื่อโครงการ	การศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะลำไส้บีบตัวผิดปกติและการติดเชื้อปรสิต
ชื่อหัวหน้าโครงการ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงอัญชลี ตั้งทรงจิตร
เลขที่โครงการ/รหัส	—
สังกัดหน่วยงาน	ภาควิชาปรสิตวิทยา
เอกสารที่รับรอง	- โครงการวิจัย - หนังสือยินยอมและสมัครใจเข้าร่วมโครงการโดยได้รับการอธิบาย

ได้ผ่านการพิจารณาและรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคนเมื่อวันที่ 20 ธันวาคม 2545

ลงนาม
(ศาสตราจารย์แพทย์หญิงศุมาลี นิมนานินิตย์)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

ลงนาม
(ศาสตราจารย์คลินิกนายแพทย์ปิยะสกล สกลสัตยาทร)
คณบดี คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

๒ ถนนพราหมณ์ บางกอกน้อย กรุงเทพฯ ๑๐๗๐๐
โทร. (๐๖-๒) ๔๑๑-๔๑๒๕, ๔๑๑-๓๑๕๐
โทรสาร. (๐๖-๒) ๔๑๒-๑๓๑๕



2 PRANNOK Rd., BANGKOKNOI, BANGKOK 10700
TEL. (66-2) 411-1429, 411-3253
FAX : (66-2) 412-1371

Faculty of Medicine Siriraj Hospital
Mahidol University

The Ethical Committee on Research Involving Human Subject
Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

No. 216/2002

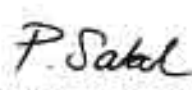
Protocol Title	The study of association of irritable bowel syndrome and parasitic infections
Protocol Number	_____
Principal Investigator	Dr. Anchalee Tungtrongchitr
Name of Department	Parasitology

The aforementioned project and informed consent have been reviewed and approved by the Ethical Committee, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, based on the Declaration of Helsinki on December 20, 2002

Signature of Chairman


.....
(Prof. Sumalee Nimmannit)

Signature of Dean


.....
(Clin. Prof. Piyasakol Sakolsatayadom)



คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนพระราม 6 กทม. 10400
โทร. (662) 245-5704, 201-1296 โทรสาร (662) 246-2123
Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University
Rama VI Road, Bangkok 10400, Thailand
Tel. (662) 245-5704, 201-1296 Fax (662) 246-2123

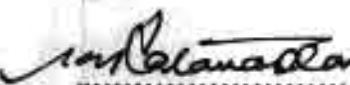
**Documentary Proof of Ethical Clearance Committee on Human Rights
Related to Researches Involving Human Subjects
Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University**

0180/2003 (I)

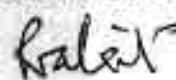
Title of Project	The Study of Association of Irritable bowel Syndrome (IBS) and Parasitic Infections
Protocol Number	ID 03-46-34
Principal Investigator	Asst.Prof.Chomsri Kositchaiwat, M.D.
Official Address	Department of Medicine Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital Mahidol University

The aforementioned project has been reviewed and approved by Committee on Human Rights Related to Researches Involving Human Subjects, based on the Declaration of Helsinki.

Signature of Chairman
Committee on Human Rights Related to
Researches Involving Human Subjects


Prof. Krisada Ratana-olarn, M.D., FRCST, FICS.

Signature of Dean


Prof. Prakrit Vathesatogkit, M.D., ABIM, FRCP.

Date of Approval

March 19, 2003



คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนพระราม 6 กทม. 10400
โทร. (662) 245-5704, 201-1296 โทรสาร (662) 246-2123
Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University
Rama VI Road, Bangkok 10400, Thailand
Tel. (662) 245-5704, 201-1296 Fax (662) 246-2123

เอกสารรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี
มหาวิทยาลัยมหิดล

๐๑๘๐/๒๕๕๖ (I)

ชื่อโครงการ การศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะต่ำสปีบตัวผิดปกติและการติดเชื้อปอด
เลขที่โครงการ/รหัส ID ๐๓-๔๖-๓๔ ๖
ชื่อหัวหน้าโครงการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง โฉมศรี โฉมศรีวัฒน์
ที่ทำงาน ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี
มหาวิทยาลัยมหิดล

ขอรับรองว่าโครงการดังกล่าวข้างต้นได้ผ่านการพิจารณาเห็นชอบโดยสอดคล้องกับแนวปฏิบัติ
เสตจิงกิ จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

ลงนาม
ประธานกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน (ศาสตราจารย์นายแพทย์กฤษฏา รัตนโอฬาร)
ลงนาม
คณบดีคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี (ศาสตราจารย์นายแพทย์ประทีป วาทีสารกิจ)

วันที่รับรอง ๑๕ มีนาคม ๒๕๕๖



The 4th Seminar on Food- and Water-borne Parasitic Zoonoses
Second International Meeting on Gnathostomiasis
Joint International Tropical Medicine Meeting 2003 (JITMM 2003)

2-4 December 2003 Siam City Hotel, Bangkok, Thailand

No. FBPZ - JITMM 2003/SC 141

31 October 2003

Dr. Anchalee Tungtrongchitr
Department of Parasitology,
Faculty of Medicine, Siriraj Hospital,
Mahidol University, Bangkok

Subject: Acceptance of abstract for 4th FBPZ and JITMM 2003

Dear Dr. Anchalee,

We are pleased to acknowledge receipt of your abstract entitled "The study of association of irritable bowel syndrome (IBS) and parasitic infections". It has been accepted for poster presentation at the upcoming 4th Seminar on Food- and Water-Borne Parasitic Zoonoses and the Joint International Tropical Medicine Meeting 2003, 2-4 December 2003 at the Siam City Hotel, Bangkok, Thailand.

The poster presentation session will take place in front of the exhibition area. The rectangular poster board surface area for each presenter is 100 cm wide x 250 cm high. The guidelines for preparing a poster are attached.

The papers presented at the JITMM will be considered and selected according to their quality and consistency with the journal's standard format for publication in a supplement of the Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. You are requested to bring the full paper [printed out on A4 paper and saved on a diskette (MS Word)] to the Seminar. However, we cannot guarantee that all papers will be published as a result of the consideration process.

If you have any questions regarding your presentation, please contact the Poster Presentation Subcommittee.

Looking forward to your presentation at the Meeting.

Sincerely yours,

Pompimon Adams.

Mrs. Pompimon Adams
Secretary, Scientific Subcommittee, 4th FBPZ and JITMM 2003
Tel./Fax. +66 (0) 2643 5578 e-mail: tmpww@mahidol.ac.th
for
Assoc. Prof. Dr. Wichit Rojekittikhun
Chairman, Poster Presentation Subcommittee, 4th FBPZ and JITMM 2003

cc: Assoc. Prof. Dr. Wichit Rojekittikhun



The 4th Seminar on Food- and Water-borne Parasitic Zoonoses
Second International Meeting on Gnathostomosis
Joint International Tropical Medicine Meeting 2003 (JITMM 2003)

2-4 December 2003, Siam City Hotel, Bangkok, Thailand

No. FBPZ - JITMM 2003/SC 260

12 November 2003

Dr. Anchalee Tungtrongchitr
Department of Parasitology,
Faculty of Medicine, Siriraj Hospital,
Mahidol University, Bangkok

Dear Dr. Anchalee,

The Poster Presentation Subcommittee of 4th FBPZ & JITMM 2003 wishes to inform you that the abstracts accepted for poster presentation in the Meeting will be divided into 2 rounds, as follows:

Round 1 Posters presented 8:00 to 18:00 hr. Tuesday 2 December 2003

Round 2 Posters presented 8:00 to 18:00 hr. Wednesday 3 December 2003
and 8:00 to 13:30 hr. on Thursday 4 December 2003

Please check the list of poster presentations attached to this announcement to confirm the round to which your presentation(s) has been allocated

You are requested to put your poster(s) up at 8:00 hr. on the date allocated. The poster(s) should be taken down before 18:30 hr. on 2 Dec. 03, or 13:30 hr. on 4 Dec. 03. If they are not removed, the Poster Presentation Subcommittee will take them down. In the latter case, we regret that no responsibility for damage or loss will be able to be taken.

Thank you very much for your cooperation and contribution to the Meeting.

Sincerely yours,

Pornpimon Adams

Mrs. Pornpimon Adams
Secretary, Scientific Subcommittee, 4th FBPZ and JITMM 2003

Tel./Fax: +66 (0) 2643 5578 e-mail: tmpww@mahidol.ac.th

for

Assoc. Prof. Dr. Wichit Rojekittikhun

Chairman, Poster Presentation Subcommittee, 4th FBPZ and JITMM 2003

cc: Assoc. Prof. Dr. Wichit Rojekittikhun

Secretary of the FBPZ Organizing Committee

c/o Office for International Cooperation

Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University 420/6 Ratchawithi Road, Bangkok 10400, Thailand

Phone: (662) 3549100-19 Ext. 1327, 1343, 1576 Fax: (662) 3549141, (662) 3549139

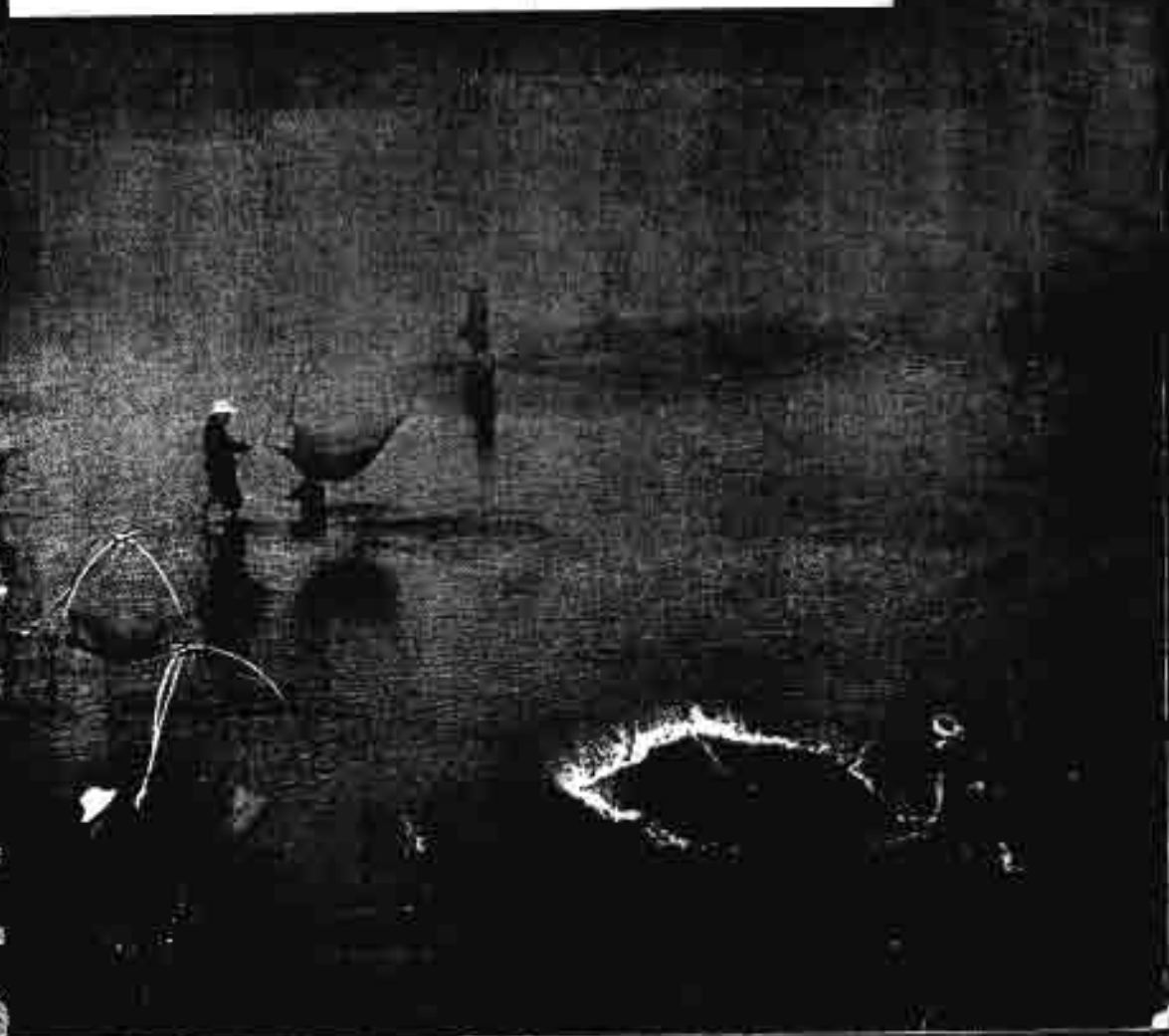
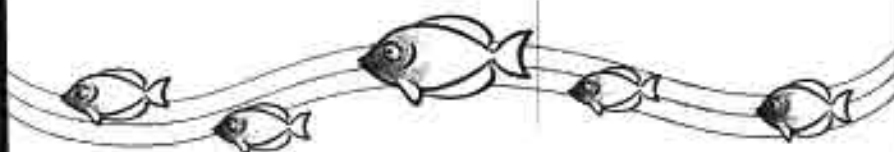
E-mail: tmesp@mahidol.ac.th, tmass@mahidol.ac.th Web site: www.tmm.mahidol.ac.th

JITMM 2003



**4th Seminar on Food- and Water-borne Parasitic Zoonoses
2nd International Meeting on Gnathostomiasis
Joint International Tropical Medicine Meeting 2003**

2-4 December 2003, Siam City Hotel, Bangkok, Thailand



THE STUDY OF ASSOCIATION OF IRRITABLE BOWEL SYNDROME (IBS) AND PARASITIC INFECTIONS

Anchalee Tungtrongchitr¹,
Jeerawan Ongrotchanakun¹,
Nantiya Munkong¹, Pisith Chinabutr¹,
Wanpen Chaicumpa²,
Sathaporn Manatsathit³,
Chomsri Kositchaiwat⁴,
Somchai Leelakusolvong³

¹ Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

² Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathumthani, Thailand

³ Department of Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

⁴ Department of Medicine, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

This research aims (1) to evaluate the prevalence of parasitic infections and the possible association of irritable bowel syndrome (IBS) and the parasitic infections and (2) to find out the appropriate laboratory method for stool examination in IBS patients. Fifty-nine IBS patients were recruited using symptoms-based criteria known as Rome Criteria II. Stool samples of individual patients were examined by 7 methods for parasitic and bacterial infections i.e. examination for stool occult blood, simple saline smear method, Formalin-ether technique, culture for *Blastocystis hominis*, modified Trichrome stain, Modified Ziel-Neelson method and Trichrome stain.

Thirteen samples (22.1%) from 59 specimens were positive for parasitic infections. These were: *Blastocystis hominis* (13.6%), *Strongyloides stercoralis* larvae (1.7%), *Giardia lamblia* cysts (1.7%) and non-pathogenic protozoa, i.e. *Endolimax nana* cysts (5.1%). The prevalence rate of *Blastocystis hominis* infection in this study was lower than those of the former reports. Parasitic infection rate in the control group (20%) was not statistically different from that of the patients. In the control group, *B. hominis* infection was also predominated (12%) while hookworm infection was found in 8%. The culture method for *B. hominis* was more sensitive than the direct (simple) stool smear method. Therefore, in suspected cases of *B. hominis* infection, stool should be investigated by the culture method. *

Title Page (English)

Title: *Blastocystis hominis* infection in irritable bowel syndrome patients

Anchalee Tungtrongchitr, Sathaporn Manatsathit², Chomsri Kositchaiwat³,
Jeerawan Ongrotchanakun¹, Nantiya Munkong¹, Pisith Chinabutr¹, Somchai
Leelakusolvong², Wanpen Chaicumpa⁴

¹ *Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University,
Bangkok, Thailand*

² *Department of Medicine, Faculty Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University,
Bangkok, Thailand*

³ *Department of Medicine, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol
University, Bangkok, Thailand*

⁴ *Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathum-thani, Thailand.*

Running Title: *Blastocystis hominis* in IBS

Correspondence: Assist. Prof. Anchalee Tungtrongchitr

Department of Parasitology,
Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University,
2 Prannok Road, Bangkoknoi,
Bangkok 10700, Thailand

Tel. 66-2-4197000 ext. 6468

Fax. 66-2-4112084

e-mail address: siatc@mahidol.ac.th

Key words:

Blastocystis hominis, IBS, parasitic infection, diarrhea

***Blastocystis hominis* infection in irritable bowel syndrome patients**

Anchalee Tungtrongchitr, Sathaporn Manatsathit², Chomsri Kositchaiwat³, Jeerawan Ongrotchanakun¹, Nantiya Munkong¹, Pisith Chinabutr¹, Somchai Leelakusolvong², Wanpen Chaicumpa⁴

¹ Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

² Department of Medicine, Faculty Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

³ Department of Medicine, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

⁴ Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathum-thani, Thailand.

Abstract

Irritable bowel syndrome (IBS) is a functional bowel disorder in which abdominal pain is associated with a defect or a change in bowel habit. Subtle inflammation, especially after infectious enteritis, has been sometimes suspected as one mechanism of pathogenesis. This research aims (1) to evaluate the prevalence of parasitic infections and the possible association of IBS and parasitic infection and (2) to determine the appropriate laboratory method for stool examination of IBS patients. Fifty-nine IBS patients were recruited using symptom-based criteria (Rome Criteria II) with the absence of intestinal parasitic infection by direct smear method. Stool samples of individual patient were examined using 7 methods, i.e. examination for stool occult blood, simple saline smear method, formalin-ether technique, culture for *Blastocystis hominis*, modified trichrome stain, modified Ziehl-Neelsen method and trichrome stain for parasitic and bacterial infections. Of the 59 patients, stool samples of 13 patients (22.1%) were positive for parasitic infections. These were *B. hominis* (13.6%), *Strongyloides stercoralis* larvae (1.7%), *Giardia lamblia* cysts (1.7%) and non-pathogenic protozoa, i.e. *Endolimax nana* cysts (5.1%). The prevalence rate of *B. hominis* infection in this study was lower than those of former reports

(1,2) The prevalence rate of parasitic infections in the control group (20%) was not statistically different from that of the patients. In the control group, *B. hominis* infection also predominated (12%), while hookworm infection was found in 8%. The culture method for *B. hominis* is more sensitive than the direct (simple) stool smear method, which is the routine diagnostic method in most laboratories. Therefore, in suspected cases of *B. hominis* infection, stool examination should include the culture method.

Introduction

Irritable bowel syndrome (IBS) is defined as "a functional bowel disorder in which abdominal pain is associated with defecation or a change in bowel habit with features of disordered defecation and distention" (Drossman *et al.*, 1999). The consensus definition and criteria for IBS have been formalized in the "Rome criteria" which are based on the Manning criteria (Manning *et al.*, 1978). The overall prevalence rate is similar (approximately 10%) in most industrialized countries (Camilleri, 2001). The illness has a large economic impact on health care use, and indirect costs, chiefly through absenteeism. IBS is a bio-psychosocial disorder in which three major mechanisms interact: psychosocial factors, altered motility, and/or heightened sensory function of the intestine (Thompson *et al.*, 1989; Camilleri and Prather, 1992; Drossman *et al.*, 1997; Camilleri and Choi, 1997; Thompson *et al.*, 1999). Subtle inflammatory changes suggest a role for inflammation, especially after infectious enteritis. An infectious origin has been suspected but has not yet been proven. Bacteria, protozoa, and helminths have come under scrutiny, and recent attention has been focused on the alteration of the intestinal ecosystem as a possible pathogenetic cofactor (McKendrick and Read, 1994; Agreus *et al.*, 1995; Lembo *et al.*, 1996; Barbara *et al.*, 1997; Sinha *et al.*, 1997). Studies have been in progress for many years to determine whether the so-called "non-pathogenic" intestinal protozoa, such as *Entamoeba* spp. (Sinha *et al.*, 1997), *Giardia lamblia* (D'Anchino *et al.*, 2002), and *B. hominis* (Giacometti *et al.*, 1999) might have a role in some pathologic conditions involving the gastrointestinal tract (Borcham *et al.*, 1996; Morgan *et al.*, 1996; Hussain *et al.*, 1997). The geographic distribution of *B. hominis* appears to be global, with infections common in tropical, subtropical, and developing countries (Tan *et al.*, 2002). In general, studies from developed countries report approximately a

1.5-10% overall prevalence of *B. hominis* (Guignard *et al.*, 2000; Jensen *et al.*, 2000; Tasova *et al.*, 2000; Herwaldt *et al.*, 2001; Kaneda *et al.*, 2001). However, reports of prevalence and the importance of the protozoan, *B. hominis*, as an intestinal pathogen in IBS have been scarce, especially in Thailand. Therefore, to explore a possible link between *B. hominis* infection and IBS, its prevalence among individuals with gastrointestinal symptoms of IBS was investigated.

Materials and Methods

The study was performed with a cohort of 59 patients (27 male; 32 female), with 25 normal subjects serving as controls. Thai volunteers who attended the Out-patient Department-General Practice Sections of Siriraj Hospital and Ramathibodi Hospital, Bangkok, for a physical check-up, were investigated. They all visited the clinic voluntarily, and were diagnosed by physical and biochemical laboratory examination for the inclusion criteria As Rome Criteria II. The exclusion criteria were as follows: IBS patients with red flags, and chronic diseases such as diabetic mellitus, coronary heart diseases, etc. Clinical and epidemiological data about each subject were obtained using standardized questionnaires. The questions covered health status, presence of gastrointestinal symptoms, previous parasitic infections, personal hygiene, drug intake, weight loss, and contact with animals. Based on the clinical data, according to the Rome II diagnostic criteria, the patients were diagnosed with IBS. All individuals were asked to provide one stool sample in a disposable stool box for analysis. Samples were sent to the Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University for *B. hominis* determination. Then the sample was smeared into a semitransparent fecal membrane on the surface of a glass slide. Then the smears were determined under a microscope with fresh normal saline solution and iodine solution for the presence of parasites. Trichrome, modified

trichrome and acid fast staining were done after the smears had dried naturally. The stained smears were examined under a microscope. The shape and size of *B. hominis*, including other parasitic infections, were observed. Aliquots of all stool e samples were individually inoculated into monophasic medium for culture of *B. hominis*. If a case were positive for *B. hominis*, both IBS and control were treated with 1200 mg metronidazole for 7 days, and stool examinations were re-investigated for *B. hominis*.

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, No.216/2002 and Ethic Clearance Committee on Human Rights Related to Researches Involving Human Subjects, Faculty of Medicine, Ramathibdi Hospital, Mahidol University, No. 0180/2003(I). The informed consent was obtained from each participant.

Results

The prevalence of *B. hominis* in both IBS and control subjects is shown in Table 1. Eight out of 59 subjects (13.6%) were found positive for *B. hominis* among the IBS patients while in the control group 12.0% (2 out of 25) were positive. Stool examination of IBS patients found 5.1, 1.7, and 1.7% of the non-pathogenic protozoa (*Endolimax nana*), *Strongyloides stercoralis*, and *Giardia lamblia*, respectively. Using different methods to determine *B. hominis* and other parasites, culture method was found more sensitive than the other methods (Table 2).

To examine whether *B. hominis* infections in IBS and controls were different, both IBS and control cases positive for *B. hominis* were treated with 1200 mg of metronidazole for 7 days and the stool examinations re-investigated for *B. hominis*. The results showed that *B. hominis*

infection in IBS could not be fully cured using the standard treatment (1200 mg of metronidazole for 7 days).

Discussion

The result of this study showed that *B. hominis* infection in the IBS was high, but not statistically significantly different from *B. hominis* infection in the control subjects (Table 1). This result was inconsistent with the report by Giacometti *et al.* (1999), who found that *B. hominis* infection in IBS was 11.1%, compared with 6.1% in non-IBS patients (Giacometti *et al.*, 1999). It has been reported that the positive rates of *B. hominis* infection in stools taken from patients with diarrhea living in urban and in rural areas were 7.5% (17/226) and 3.95% (7/177), respectively, compared with the positive rate of *B. hominis* infection in stools of healthy people, which was only 0.67% (2/300) (Wang *et al.*, 2002). These data supported the supposition that *B. hominis* infection was associated with diarrhea. Parasitic infection in IBS seemed to be significantly more likely than in control subjects. Although our finding did not show any statistically significant difference between *B. hominis* infection in IBS and control subjects, the higher percentage of *B. hominis* infection in IBS compared with *B. hominis* infection in the controls might corroborate an association between *B. hominis* infection and IBS. Nevertheless, *B. hominis* infection may be a more likely indicator of intestinal dysfunction or resident intestinal flora disorders. It has been suggested that an intestinal tract that is abnormal for any reason may provide conditions suitable for the proliferation of *B. hominis* (Udkow and Markell, 1993; Neal *et al.*, 1997).

Individuals whose stool specimens contained *B. hominis* were further investigated and given the standard treatment of metronidazole (1200 mg/day for 7 days). Up to 10% of IBS cases

could not be successfully treated and *B. hominis* infection remained (Figure 1). It may be concluded that *B. hominis* infection in IBS might develop resistance. It has been reported that IBS might decrease the humoral immune response (Chen *et al.*, 1987) and cellular immune function in *B. hominis* infection (Kaneda *et al.*, 2000; Long *et al.*, 2001; Nasirudeen *et al.*, 2001; Tan *et al.*, 2001). The level of CD_3^+ , CD_4^+ and CD_4^+/CD_8^+ decreased in *B. hominis*-infected individuals, CD_8^+ was normal (Wang *et al.*, 2002). Compared with the *B. hominis*-negative group, the difference was significant ($p < 0.05$). Recent advances in *B. hominis* research found that, in subjects suffering from immunodepression, *B. hominis* showed a significant association with gastrointestinal symptoms (Germani *et al.*, 1998; Ghosh *et al.*, 1998; Mathewson *et al.*, 1998; Amenta *et al.*, 1999; Cimerman *et al.*, 1999; Menon *et al.*, 1999; Li, 2000; Prasad *et al.*, 2000; Wilcox, 2000; Lebbad *et al.*, 2001), and that *B. hominis* infection was related to host cellular immune function. This may be the reason for the drug resistance of *B. hominis* in IBS. In conclusion, *B. hominis* should be kept in mind by parasitologists and physicians when dealing with patients with diarrhea and IBS. *B. hominis* has long been described as a non-pathogenic protozoan parasite, until recently, when claims have been made that it can result in pathogenic conditions (Cirioni *et al.*, 1999; Koutsavlis *et al.*, 2001; Waring and Reed, 2001). On the other hand, it is possible that a subgroup of *B. hominis* could be pathogenic in some patients. Recent studies have identified two variants of this organism, on the basis of different polypeptide patterns and DNA nucleotide sequences (Kukoschke and Muller, 1991; Keystone, 1995). Further research into *B. hominis* infection, especially in IBS, should be conducted to elucidate this issue.

Acknowledgments

The authors wish to express their sincere thanks to all volunteers at the Out-patient General Practice sections of Siriraj Hospital and Ramathibodi Hospital, and to the staff of the Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Department of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, for their cooperation in this research. Thanks also to Mr. Paul Adams for editing the manuscript. This work was supported by the Thailand Research Fund (TRF) and the Mahidol University Research Fund.

References

- Agreus L, Engstrand L, Svardsudd K, Nyren O, Tibblin G. *Helicobacter pylori* seropositivity among Swedish adults with and without abdominal symptoms. A population-based epidemiologic study. *Scand J Gastroenterol* 1995;30:752-7.
- Amenta M, Dalle Nogare ER, Colomba C, Prestileo TS, Di Lorenzo F, Fundaro S, Colomba A, Ferrieri A. Intestinal protozoa in HIV-infected patients: effect of rifaximin in *Cryptosporidium parvum* and *Blastocystis hominis* infections. *J Chemother* 1999;11:391-5.
- Barbara G, Vallance BA, Collins SM. Persistent intestinal neuromuscular dysfunction after acute nematode infection in mice. *Gastroenterology* 1997;113:1224-32.

- Boreham RE, Benson S, Stenzel DJ, Boreham PF. *Blastocystis hominis* infection. *Lancet* 1996;348:272-3.
- Camilleri M, Choi MG. Review article: irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11:3-15.
- Camilleri M, Prather CM. The irritable bowel syndrome: mechanisms and a practical approach to management. *Ann Intern Med* 1992;116:1001-8.
- Camilleri M. Management of the irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2001;120:652-68.
- Chen J, Vaudry WL, Kowalewska K, Wenman W. Lack of serum immune response to *Blastocystis hominis*. *Lancet* 1987;2:1021.
- Cimernan S, Cimernan B, Lewi DS. Prevalence of intestinal parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome in Brazil. *Int J Infect Dis* 1999;3:203-6.
- Cirioni O, Giacometti A, Drenaggi D, Ancarani F, Scalise G. Prevalence and clinical relevance of *Blastocystis hominis* in diverse patient cohorts. *Eur J Epidemiol* 1999;15:389-93.
- D'Anchino M, Orlando D, De Feudis L. *Giardia lamblia* infections become clinically evident by eliciting symptoms of irritable bowel syndrome. *J Infect*. 2002 Oct;45(3):169-72.
- Drossman DA, Corazziari E, Talley NJ, Thompson WG, Whitehead WE. Rome II: a multinational consensus document on functional gastrointestinal disorders. *Gut* 1999;45(suppl II):1-81.
- Drossman DA, Whitehead WE, Camilleri M. Irritable bowel syndrome: a technical review for practice guideline development. *Gastroenterology* 1997;112:2120-37.
- Germani Y, Minssart P, Vohito M, Yassibanda S, Glaziou P, Hocquet D, Bertheleny P, Morvan J. Etiologies of acute, persistent, and dysenteric diarrheas in adults in Bangui, Central

- African Republic, in relation to human immuno-deficiency virus serostatus. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:1008-14.
- Ghosh K, Ayyaril M, Nirmala V. Acute GVHD involving the gastrointestinal tract and infestation with *Blastocystis hominis* in a patient with chronic myeloid leukaemia following allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:1115-7.
- Giacometti A, Cirioni O, Fiorentini A, Fortuna M, Scalise G. Irritable bowel syndrome in patients with *Blastocystis hominis* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:436-9.
- Guignard S, Arienti H, Freyre L, Lujan H, Rubinstein H. Prevalence of enteroparasites in a residence for children in the Cordoba Province, Argentina. *Eur J Epidemiol* 2000;16:287-93.
- Herwaldt BL, De Arroyave KR, Wahlquist SP, de Merida AM, Lopez AS, Juranek DD. Multiyear prospective study of intestinal parasitism in a cohort of Peace Corps volunteers in Guatemala. *J Clin Microbiol* 2001;39:34-42.
- Hussain R, Jaferi W, Zuberi S, Baqai R, Abrar N, Ahmed A, Zaman V. Significantly increased IgG2 subclass antibody levels to *Blastocystis hominis* in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Trop Med Hyg* 1997;56:301-6.
- Jensen B, Kepley W, Guarner J, Anderson K, Anderson D, Clairmont J, De L'aune W, Austin GE. Comparison of polyvinyl alcohol fixative with three less hazardous fixatives for detection and identification of intestinal parasites. *J Clin Microbiol* 2000;38:1592-8.
- Kaneda Y, Horiki N, Cheng X, Tachibana H, Tsutsumi Y. Serologic response to *Blastocystis hominis* infection in asymptomatic individuals. *Tokai J Exp Clin Med* 2000;25:51-6.

- Kaneda Y, Horiki N, Cheng XJ, Fujita Y, Maruyama M, Tachibana H. Ribodemes of *Blastocystis hominis* isolated in Japan. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65:393-6.
- Keystone JS. *Blastocystis hominis* and traveler's diarrhea. *Clin Infect Dis* 1995;21:102-3.
- Koutsavlis AT, Valiquette L, Allard R, Soto J. *Blastocystis hominis*: a new pathogen in day-care centres? *Can Commun Dis Rep* 2001;27:76-84.
- Kukoschke KG, Muller HE. SDS-PAGE and immunological analysis of different axenic *Blastocystis hominis* strains. *J Med Microbiol* 1991;35:35-9.
- Lebbad M, Norrgren H, Naucier A, Dias F, Andersson S, Linder E. Intestinal parasites in HIV-2 associated AIDS cases with chronic diarrhoea in Guinea-Bissau. *Acta Trop* 2001;80:45-9.
- Lembo T, Fullerton S, Diehl D, Raen H, Munakata J, Naliboff B, Mayer EA. Symptom duration in patients with irritable bowel syndrome. *Amer J Gastroenterol* 1996;91:898-905.
- Li MD. Diarrhea in AIDS. *Shijie Hauren Xiaohua Zazhi* 2000;8:637-938.
- Long HY, Handschack A, Konig W, Ambrosch A. *Blastocystis hominis* modulates immune responses and cytokine release in colonic epithelial cells. *Parasitol Res* 2001;87:1029-30.
- Manning AP, Thompson WG, Heaton KW, Morris AF. Towards positive diagnosis of the irritable bowel. *BMJ* 1978;2:653-4.
- Mathewson JJ, Salmeh BM, Dupont HL, Jiang ZD, Nelson AC, Arduino R, Smith MA, Masozera N. HEp-2 cell adherent *Escherichia coli* and intestinal secretory immune response to human immunodeficiency virus (HIV) in out-patients with HIV-associated diarrhea. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998;5:87-90.
- McKendrick MW, Read NW. Irritable bowel syndrome—post salmonella infection. *J Infect* 1994;29:1-3.

- Menon BS, Abdullah MS, Mahamud F, Singh B. Intestinal parasites in Malaysian children with cancer. *J Trop Pediatr* 1999;45:241-2.
- Morgan D, Whitworth J, Eotu H, Omoding N, Moore M. Gastrointestinal parasite infections. *Lancet* 1996;348:965-6.
- Nasirudeen AM, Tan KS, Singh M, Yap EH. Programmed cell death in a human intestinal parasite, *Blastocystis hominis*. *Parasitology* 2001;123:235-46.
- Neal KR, Hebden J, Spiller R. Prevalence of gastrointestinal symptoms six months after bacterial gastroenteritis and risk factors for development of the irritable bowel syndrome: postal survey of patients. *BMJ* 1997;314:779-82.
- Prasad KN, Nag VL, Dhole TN, Ayyagari A. Identification of enteric pathogens in HIV-positive patients with diarrhoea in northern India. *J Health Popul Nutr* 2000;18:23-6.
- Sinha P, Ghoshal UC, Choudhuri G, Naik S, Ayyagari A, Naik SR. Does *Entamoeba histolytica* cause irritable syndrome? *Indian J Gastroenterol* 1997;16:130-3.
- Tan KS, Ibrahim M, Ng GC, Nasirudeen AM, Ho LC, Yap EH, Singh M. Exposure of *Blastocystis* species to a cytotoxic monoclonal antibody. *Parasitol Res* 2001;87:534-8.
- Tan KS, Singh M, Yap EH. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *Int J Parasitol* 2002;32:789-804.
- Tasova Y, Sahin B, Koltas S, Paydas S. Clinical significance and frequency of *Blastocystis hominis* in Turkish patients with hematological malignancy. *Acta Med Okayama* 2000;54:133-6.
- Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Muller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut* 1999;45 Suppl 2:1143-7.

- Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Kruis W. Irritable bowel syndrome: guidelines for the diagnosis. *Gastroenterol Int* 1989;2:92-5.
- Udkow MP, Markell EK. *Blastocystis hominis*: prevalence in asymptomatic versus symptomatic hosts. *J Infect Dis* 1993;168:242-4.
- Wang KX, Li CP, Wang J, Cui YB. Epidemiological survey of *Blastocystis hominis* in Huainan City, Anhui Province, China. *World J Gastroenterol* 2002;8:928-32.
- Waring L, Reed C. *Blastocystis hominis*. Causative organism or harmless commensal? *Aust Fam Physician* 2001;30:374, 378.
- Wilcox CM. Etiology and evaluation of diarrhea in AIDS: a global perspective at the millennium. *World J Gastroenterol* 2000;6:177-86.

Table 1 Prevalence of parasitic infections in irritable bowel syndrome (IBS) and control subjects

Parasite & Protozoa	IBS (N=59)	Control (N=25)	p-value
<i>B. hominis</i> (vacuolated form)	13.6 % (8/59)	12.0% (3/25)	0.87
Non-pathogenic protozoa (<i>Endolimax nana</i> cyst)	5.1 % (3/59)	-	-
<i>Strongyloides stercoralis</i> Rhabditiform larva	1.7 % (1/59)	-	-
Hookworm egg	-	8.0 % (2/25)	-
<i>Giardia lamblia</i> cyst	1.7 % (1/59)	-	-

Table 2. Prevalence of parasitic infections in irritable bowel syndrome (IBS) using different examination methods

	Hematest	Direct smear	Formalin-ether method	Culture for <i>B. hominis</i>	Trichrome stain	Modified trichrome stain	Modified acid-fast stain	Total
IBS								
- <i>B. hominis</i> (vacuolated form)	-	5	3	8	4	-	-	8
-Non-pathogenic protozoa, cyst (<i>Endolimax nana</i>)	-	-	-	-	3	-	-	3
- <i>Strongyloides stercoralis</i> Rhabditiform larva	-	1	-	-	-	-	-	1
- <i>Giardia lamblia</i> cyst	-	1	1	-	-	-	-	1
Control								
- <i>B. hominis</i> (vacuolated form)	-	2	-	3	-	-	-	3
-Hookworm egg	-	1	2	-	-	-	-	2

Figure 1 Prevalence of *B. hominis* in IBS and control before and after metronidazole treatment (1200 mg/day for 7 day)

Percent

