

บทคัดย่อ

เชื้อ *Acanthamoeba* เป็นเชื้ออะมีบาที่ดำรงชีวิตอิสระในธรรมชาติ ที่พบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป เชื้อนี้สามารถก่อโรคได้ มีรายงานการก่อให้เกิดโรคเยื่อสมองอักเสบและกระจกตาอักเสบ การวินิจฉัยที่รวดเร็วและมีความจำเพาะต่อเชื้อจะช่วยให้การรักษามีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น วิธีพีซีอาร์ได้รับการพัฒนาขึ้นมาเพื่อให้การวินิจฉัยได้อย่างแม่นยำยิ่งขึ้น แต่ที่ผ่านยังมีขั้นตอนของการสกัดดีเอ็นเอเพื่อใช้เป็นตัวตั้งต้นในการเพิ่มจำนวนยีน ทำให้ต้องเสียเวลาและมีค่าใช้จ่ายสูง การศึกษารุ่นนี้เพื่อพัฒนาวิธีพีซีอาร์โดยไม่ต้องทำการสกัดดีเอ็นเอและสามารถวินิจฉัยเชื้อได้แม้ในตัวอย่างผู้ป่วยจะมีเชื้อเพียงเซลล์เดียว และไพรเมอร์ออกแบบมาจากยีนไรโบโซมอลลาร์เอ็นเอขนาด 16S ในไมโทคอนเดรียที่จำเพาะต่อเชื้อ *Acanthamoeba* ซึ่งจากการทดลองพบว่าที่ความร้อน 94°C โดยใช้เวลา 10 นาทีทำให้ชีสต์แตก และไพรเมอร์เข้าจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายและเพิ่มจำนวนยีนได้โดยมีขนาดประมาณ 180 bp ดังนั้นเทคนิคนี้จึงมีความไวและความจำเพาะสูงเนื่องจากแม้เพียงชีสต์เดียวก็สามารถตรวจวินิจฉัยได้ โดยไม่ต้องเสียเวลาและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการสกัดดีเอ็นเอก่อนทำพีซีอาร์ นอกจากนี้การศึกษารุ่นนี้ยังได้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากธรรมชาติจากจังหวัดต่างๆในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมาทำการเพาะหาเชื้อ *Acanthamoeba* เพื่อศึกษาชนิดของ *Acanthamoeba* ทั้งหมดที่กระจายในแหล่งน้ำธรรมชาติเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาเชื้อที่อาจก่อโรคที่พบในธรรมชาติ และศึกษาชนิดของเชื้อในระดับสปีชีส์โดยการทำพีซีอาร์และการหาลำดับเบสโดยวิธี DNA sequencing ซึ่งจากผลการศึกษาพบเชื้อสายพันธุ์ที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำดังต่อไปนี้คือ *A. castellanii*, *A. polyphaga*, *A. lenticulata*, *Acanthamoeba* sp. strain LVEI and *Acanthamoeba* sp. strain OSHU นับเป็นการรายงานครั้งแรกของการพบเชื้อสายพันธุ์อื่นๆนอกเหนือจากเชื้อ *A. castellanii* ที่เคยมีรายงานแล้วในผู้ป่วยโรคกระจกตาอักเสบในไทย

คำหลัก: *Acanthamoeba* , Polymerase chain reaction, acanthamoebic keratitis,