

חכמתארת

ภาคผนวกที่ 1

วิธีการตรวจหาพยาธิปากขอ ดังต่อไปนี้

ก. วิธี Modified Formalin-ethyl acetate concentration (Elkins *et al.*, 1986; 1991)

ข. วิธี Harada-Mori Filter Paper Strip Culture (Harada *et al.*, 1995)

ค. วิธี Agar Plate Culture (Arakaki *et al.*, 1988; 1990)

ก. วิธี Modified Formalin-ethyl acetate concentration

เป็นวิธีการตรวจหาเชื้อปรสิตทั้งในเชิงคุณภาพ (Qualitative method) และในเชิงปริมาณ (Quantitative method) ไม่ทำให้รูปร่างของปรสิตบิดไปจากปกติ มีความแม่นยำสูง รวมทั้งในตะกอน (Sediment) ที่ได้ครั้งสุดท้าย จะมีความเข้มข้นของปรสิตมากกว่า Ether และยังเป็นอันตรายน้อยกว่า Ether อีกด้วย

วิธีการ

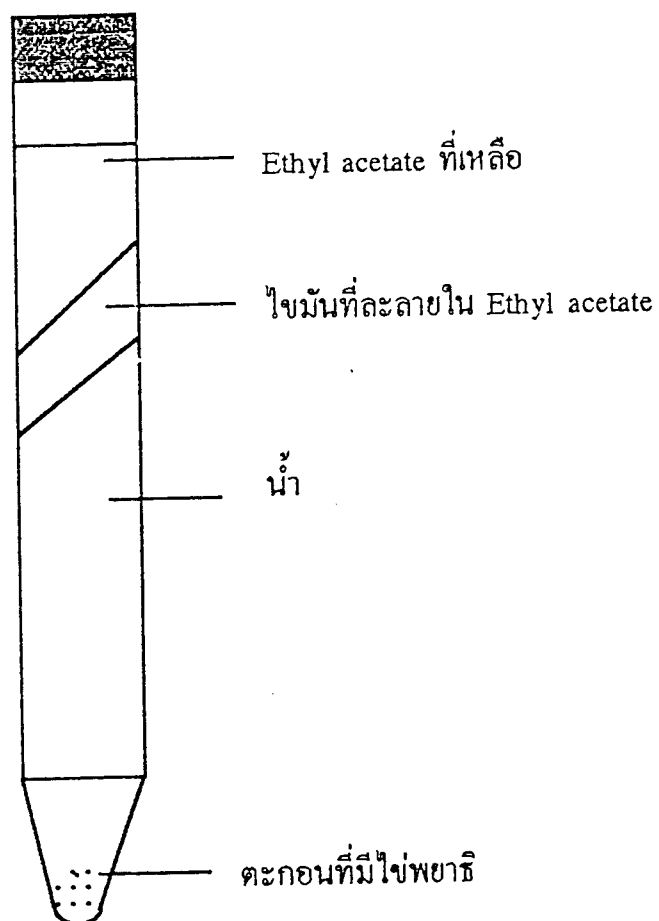
- ชั่งอุจจาระ (Feces) 2 กรัม ใส่หลอดทดลองชนิดพลาสติกขนาด 15 มิลลิลิตร fixed ใน 10% Formalin ในอัตราส่วน 1 : 10 แล้วเขย่าให้เข้ากัน
- นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifugation) ด้วยความเร็ว 2,500 - 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 5 นาที
- เทส่วนที่เป็นน้ำข้างบน (Suspension) ที่เติม Normal Saline หรือน้ำประปา (ในการทดลองใช้น้ำประปา) 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- กรองผ่านผ้าก๊อช (Gauze) 2 ชั้น ที่วางบนกรวยแก้ว โดยใช้น้ำประปาแล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 2,000-2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
- เทส่วนที่เป็นน้ำออก น้ำตะกอนที่ได้ไปเติมด้วย Ethyl acetate 3 มิลลิลิตร และเติมน้ำประปาลงไป 7 มิลลิลิตร เขย่าแรง ๆ ให้เข้ากัน โดยใช้เวลา 1 นาที
- นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 1,800-2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

- จะได้สารละลายเป็นชั้น ๆ (ดังรูปที่ 4.15 และรูปที่ 14.16) ชั้นบนสุดเป็น Ethyl acetate ที่เหลือเป็นไขมันที่ละลายใน Ethyl acetate ชั้นของน้ำ และตะกอนที่มีไขพยาธิที่ละลายใน Ethyl acetate ชั้นของน้ำและตะกอนที่มีไขพยาธิและชีสค์ของโปรโตซัว ตกอยู่ที่ก้นหลอดทดลอง

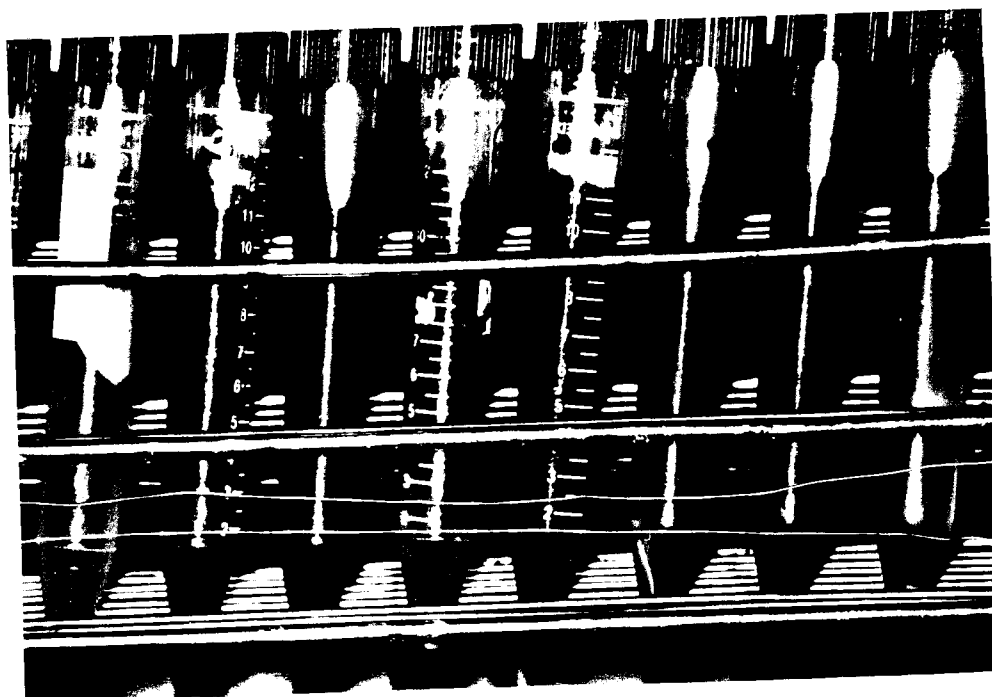
- ใช้ไม้เจาะชั้นไขมันที่ละลายในชั้น Ethyl acetate เจาะไปรอบๆ หลอดทดลอง แล้วจึงเทสารละลาย (Suspension) ออก เช็ดข้าง ๆ หลอดทดลองด้วยไม้พันสำลี

- นำตะกอน (Sediment) ที่ได้ไปเติม 10% Formalin ตามความเหมาะสมกับตะกอนที่ได้

- นำตะกอนที่ได้ไปตรวจหาหนอนพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ Capillary pipette ดูตะกอน



รูปที่ 4.15 ชั้นต่าง ๆ ที่ได้จากการปั่นครั้งสุดท้าย



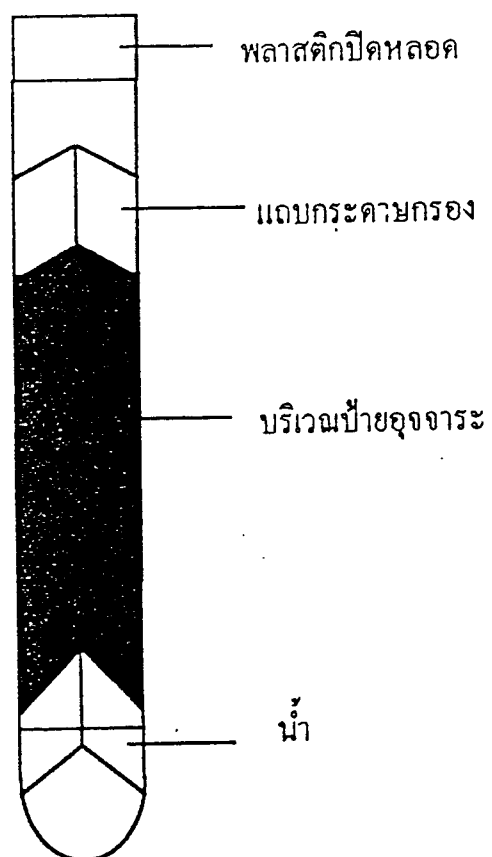
รูปที่ 4.16 ชั้นของสารที่ได้หลังจากการปั่นครั้งสุดท้ายจากการทดลอง

๗. วิธี Harada-Mori Filter Paper Strip Culture

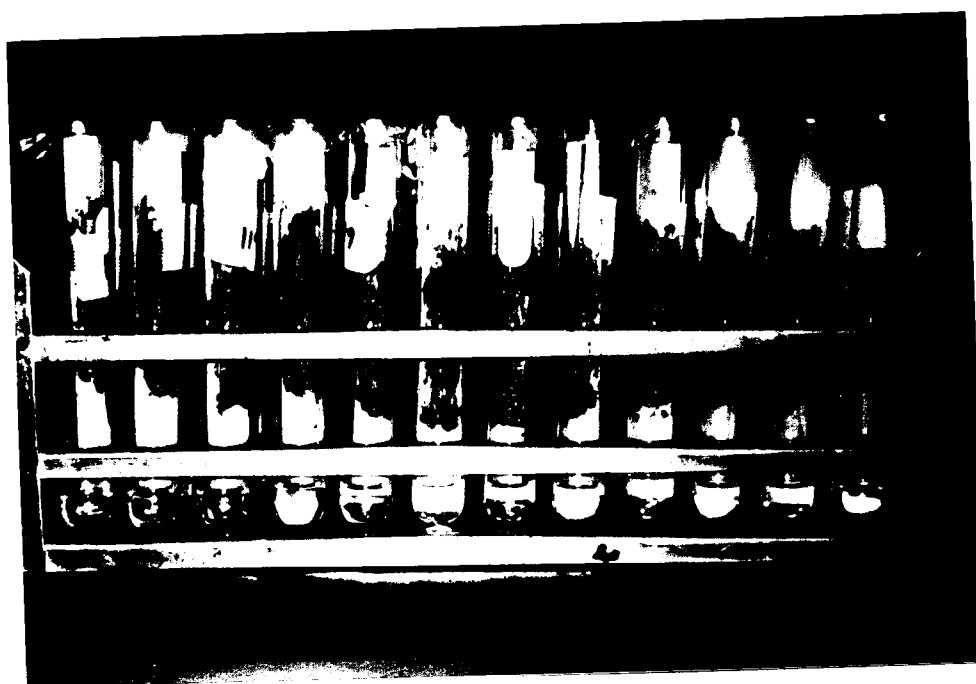
เป็นการตรวจหาการติดเชื้อที่มีปริมาณน้อย ๆ (Light infection) ของพยาธิปากขอ พยาธิ Strongyloides และพยาธิ Trichostrongylus และยังช่วยบ่งชี้ชนิดของหนอนพยาธิตัวอ่อนได้อย่างถูกต้อง

วิธีการ

- ตัดกระดาษกรอง (Whatman No.2) ให้ได้ขนาด 3x13.5 เซนติเมตร ป้ายอุจจาระลงตรงกลางกระดาษให้มีปริมาณอุจจาระ 0.5-1 กรัม ป้ายให้บางพอประมาณ
- สอดกระดาษที่มีอุจจาระนี้ลงในหลอดแก้วขนาด 20x150 มิลลิเมตร ที่มีน้ำอยู่ก้นหลอดประมาณ 4-5 มิลลิเมตร ระวังไม่ให้อุจจาระถูกน้ำ ปิดปากหลอดทดลองด้วยพลาสติก (ดังรูปที่ 4.17 และรูปที่ 4.18)
- นำไปไว้ในที่มืด 7 วัน จนได้ตัวอ่อน Filariform (L3) คอยดูน้ำทุกวันอย่าให้แห้ง ถ้าระดับน้ำลดลงมาก ควรเติมน้ำลงไปอีก
- เติม 10% Formalin ลงในหลอดทดลอง หลังจากตีกระดาษกรองทิ้งแล้ว
- ใช้ Pasture pipette ดูคน้ำจากก้นหลอดมาใส่บนสไลด์ หยด 1% Iodine ลงไปเพื่อฆ่าตัวอ่อนและตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์



รูปที่ 4.17 ส่วนประกอบของ Harada-Mori Filter Paper Strip Culture



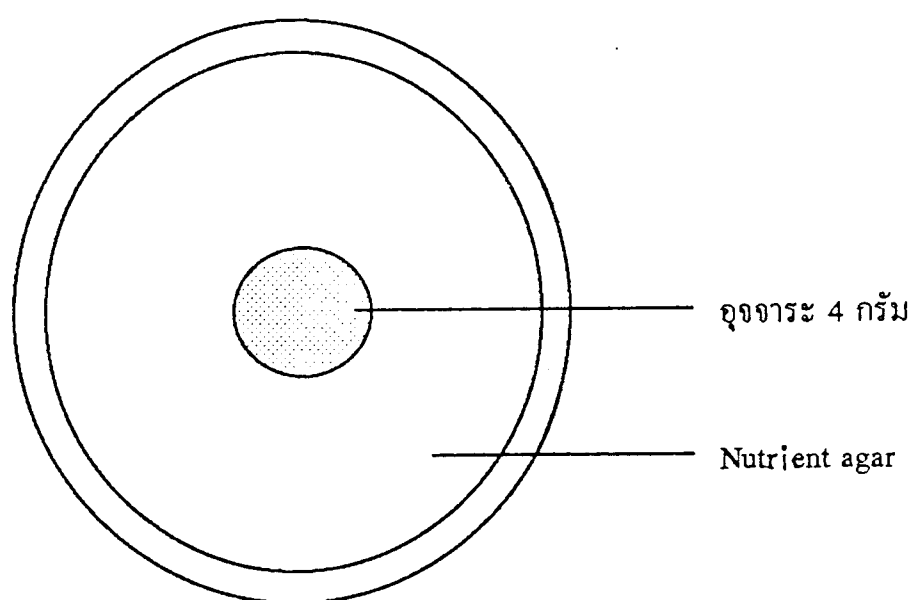
รูปที่ 4.18 Harada-Mori Filter Paper Strip Culture จากการทดลอง

ค. วิธี Agar Plate Culture

วิธีเพาะเลี้ยงหาระยะตัวอ่อนของ *Strongyloides stercoralis* และ Hookworms

วิธีการ

- เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยละลาย 2 กรัมของ Nutrient agar ด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วนึ่งฆ่าเชื้อหรือ Autoclave 10-15 นาที
- เทอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมแล้วลงในเพลทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ประมาณ 15-20 มิลลิลิตร แล้วทิ้งไว้ให้แข็งตัว
- ชั่งอุจจาระ 4 กรัมในเพลท โดยกองอุจจาระบริเวณกลางเพลท (ดังรูปที่ 4.19 และรูปที่ 4.20)
- ตั้งเพลทไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2-3 วัน นำมาตรวจหารอยทางเดินของพยาธิด้วยกล้อง Stereo scope ถ้ายังไม่พบเก็บไว้ตรวจอีกครั้งในวันที่ 7 เติม 10% Formalin ประมาณ 7-10 cc. ลงในเพลท เขย่าเพลทให้ทั่ว ๆ แล้วดูด Formalin มาใส่ในหลอด Tube นำไป Centrifuge แล้วเอาตะกอนมาตรวจหาตัวอ่อนของพยาธิปากขอ

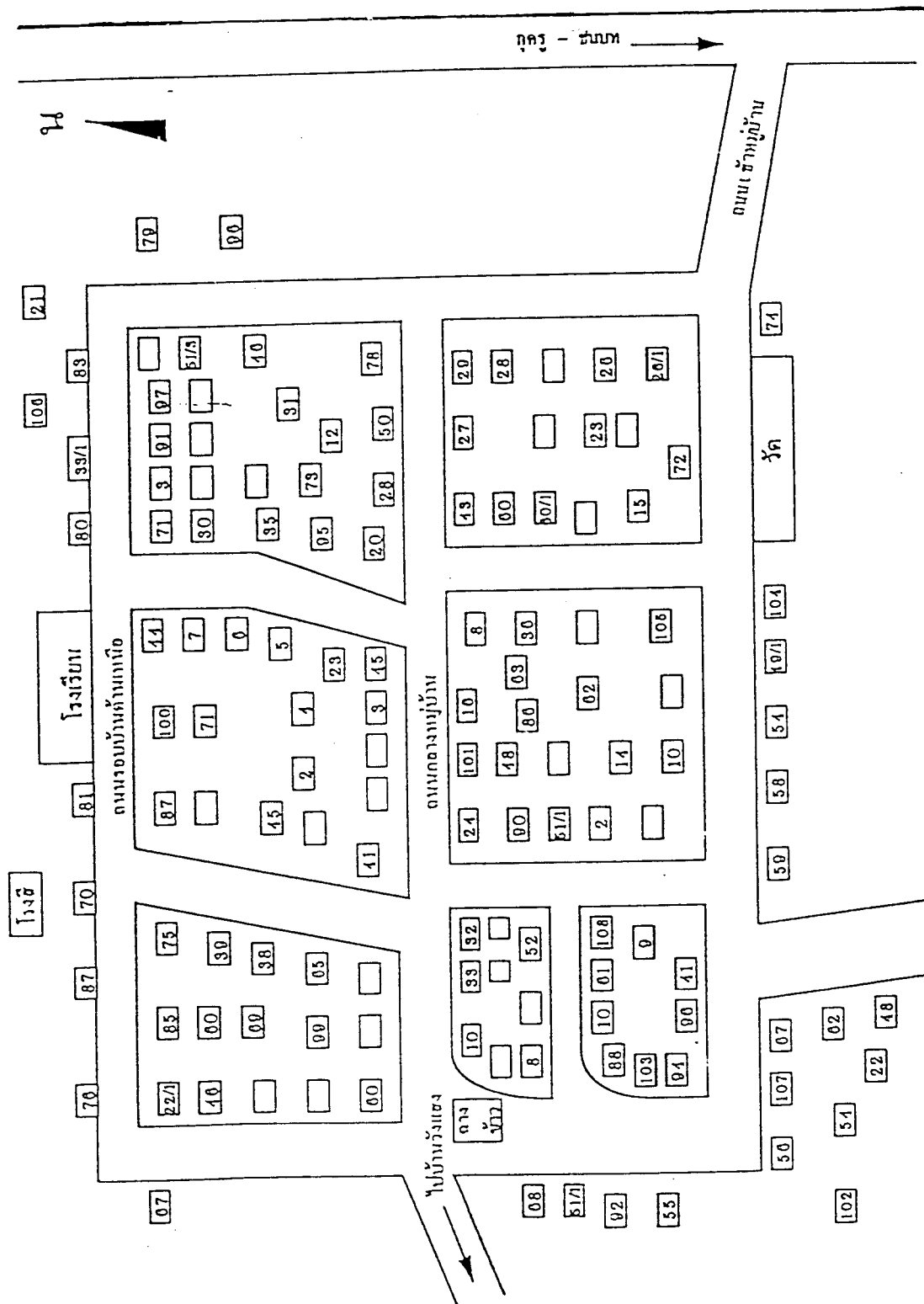


รูปที่ 4.19 ส่วนประกอบของ Agar Plate Culture

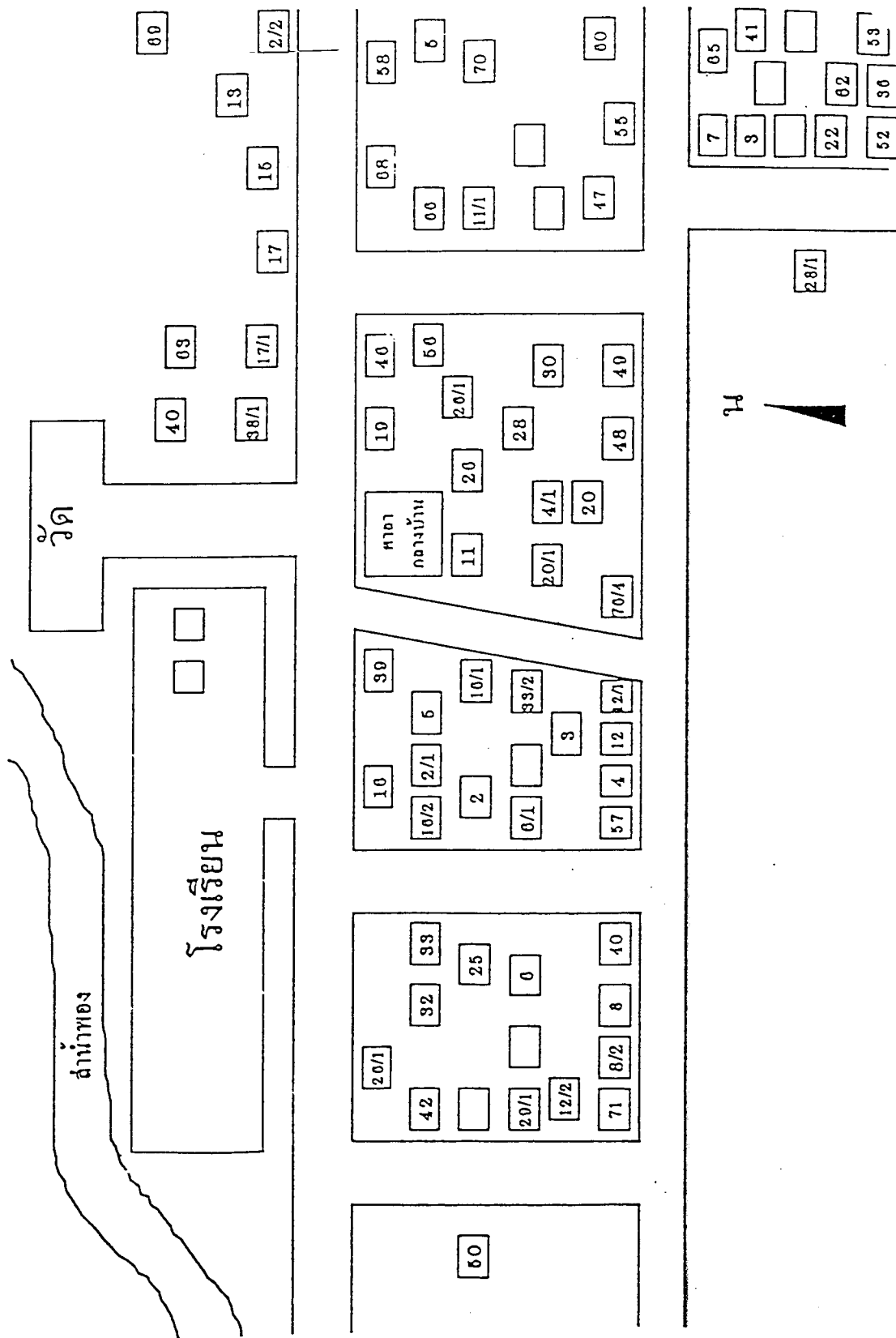


รูปที่ 4.20 ส่วนประกอบของ Agar Plate Culture จากการทดลอง

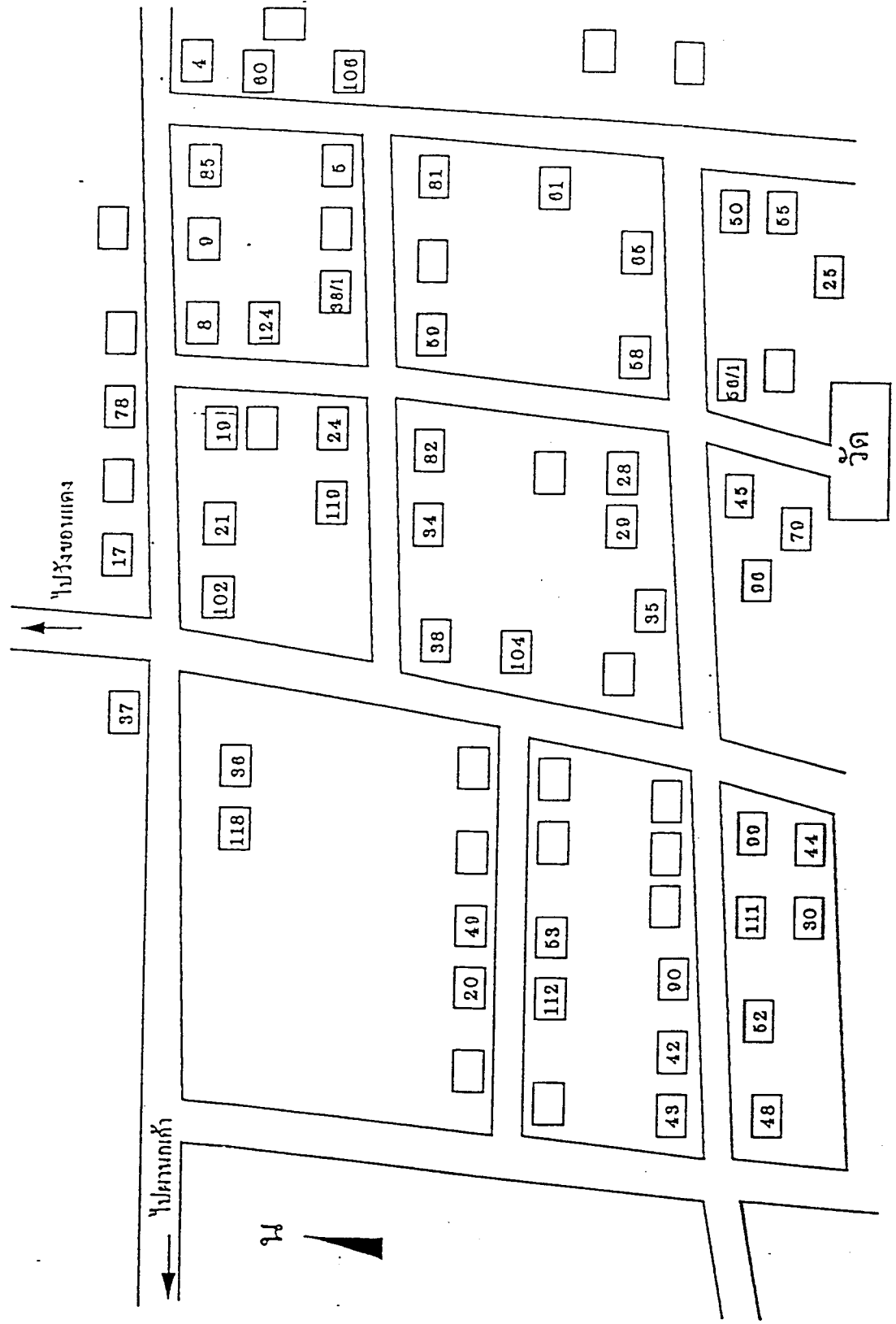
ภาคผนวกที่ 2



ก. แผนผังบ้านกุดเพียขอมเหนือ ค.กุดเพียขอม อ.ชนบท จ.ขอนแก่น



๑. แพนหังบ้านบึงสว่างค้ ต.บึงเนียม อ.เมือง จ.ขอนแก่น



ค. แผนผังบ้านหนองหญ้าปล้อง ต.ดงลาน อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น

ตอนที่ 2

ข้อมูลทางสังคมและเศรษฐกิจ

1. รายได้เฉลี่ยต่อปีของท่านประมาณเท่าใด ?

1 [] < 5,000 บาท

2 [] 5,001 - 10,000 บาท

3 [] 10,001 - 15,000 บาท

4 [] > 15,000 บาท

2. ท่านประกอบอาชีพหลักอะไร ?

0 [] ไม่มี

2 [] ทำสวน

4 [] ทำไร่

6 [] รับจ้าง

8 [] ทอผ้า

1 [] นักเรียน

3 [] ทานา

5 [] เลี้ยงสัตว์

7 [] ค้าขาย

9 [] อื่น ๆ (ระบุ)

ตอนที่ 3
ข้อมูลด้านพฤติกรรม

1. โดยปกติเมื่อท่านอยู่ที่บ้าน ท่านถ่ายทอดภาระที่ไหน ?
 - 1 ☐ ส่วนที่บ้านของท่านเอง
 - 2 ☐ ร่วมร่วมกับบ้านอื่น
 - 3 ☐ บนพื้นดิน ตามป่า หรือทุ่งนา
2. เมื่อท่านออกไปทำไร่ ทำนา ท่านถ่ายทอดภาระที่ไหน ?
 - 1 ☐ ในส่วน
 - 2 ☐ นอกส่วน (บนพื้นดิน ตามป่าหรือทุ่งนา)
3. เวลาออกนอกบ้านท่านสวมรองเท้าหรือไม่ ?
 - 1 ☐ ไม่สวม
 - 2 ☐ สวมเป็นบางครั้ง
 - 3 ☐ สวมประจำ
4. ท่านสวมรองเท้าชนิดใด ?

	เวลานอกบ้าน	เวลาทำงาน	
1	☐	☐	รองเท้าแตะ
2	☐	☐	รองเท้าหุ้มส้น
3	☐	☐	รองเท้าบู๊ทยาง
4	☐	☐	ไม่สวม
5. ท่านกินยาถ่ายหรือฆ่าพยาธิหรือไม่ ถ้าเคยกินครั้งสุดท้ายเมื่อใด ?
 - 1 ☐ ไม่เคยกิน
 - 2 ☐ เคยกินภายใน 3 เดือนที่ผ่านมา
 - 3 ☐ เคยกินนานกว่า 3 เดือน