

DETECTION OF BACTERIAL PATHOGENS AND ENDOSYMBIONTS IN HEAD LOUSE, *PEDICULUS HUMANIS CAPITIS* COLLETED FROM PRIMARY SCHOOL CHILDREN, NONTABURI THAILAND

Supisara JANYAPORNPANID¹, Sakone SUNANTARAPORN², Narisa BROWNNELL² and Padet SIRIYASATIEN²

1 Medical Science program, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Thailand

2 Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand;
Pudding_1995@hotmail.com (Corresponding Author)

ARTICLE HISTORY

Received: 7 April 2025

Revised: 21 April 2025

Published: 6 May 2025

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze and detect bacterial infection in head lice (*Pediculus humanus capitis*) collected from female primary school students in Nonthaburi Province, Thailand. A total of 110 head louse samples were collected. The presence of the DNA of *Bartonella*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus* and *Wolbachia* was detected by a polymerase chain reaction (PCR) technique and confirmed by DNA sequencing. The bacterial pathogens detected were then subjected to classification via the analysis of a phylogenetic tree. The subsequent analysis of the nucleotide sequence revealed one sample to be *A. baumannii* (0.91%) from the *rpoB* gene. *A. baumannii* has been identified as a drug-resistant pathogen that is responsible for nosocomial infections. The detection of *Wolbachia* bacteria was achieved for five samples (4.55%), utilizing the *wsp* gene. Phylogenetic tree analysis classified *Wolbachia* into *Wolbachia* supergroups B and F. However, DNA from *Bartonella* sp. and *Staphylococcus* sp. could not be detected in the head louse samples. This finding contributes to the advancement of knowledge regarding the role of head lice as a vector for pathogenic bacteria, and it can serve as a valuable database for surveillance and information management to address head lice issues at the community and national levels.

Keywords: *Pediculus humanus capitis*, Bacteria Pathogens, Phylogenetic Tree

CITATION INFORMATION: Janyapornpanid, S., Sunantaraporn, S., Brownnell, N., & Siriyasatien, P. (2025). Detection of Bacterial Pathogens and Endosymbionts in Head Louse, *Pediculus humanis capitis* Colleted from Primary School Children, Nonthaburi Thailand. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 3(5), 58

การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่อาศัยร่วมในเหาศีรษะที่เก็บจากนักเรียนประถมศึกษาในจังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย

ศุภิสรา จรรยาพรพาณิชย์¹, สกล สุนันทราภรณ์², นริศ บราวเนล² และ เผด็จ สิริยะเสถียร²

1 วิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2 ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย Pudding_1995@hotmail.com

(ผู้ประพันธ์บรรณกิจ)

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์และตรวจหาการติดเชื้อแบคทีเรียในเหาศีรษะ (*Pediculus humanus capitis*) ที่เก็บจากนักเรียนหญิงในโรงเรียนระดับประถมศึกษา จังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย จากตัวอย่างเหาศีรษะจำนวน 110 ตัวอย่าง ทำการตรวจหาเชื้อด้วยเทคนิค PCR เพื่อหา DNA ของแบคทีเรีย *Bartonella*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus* และ *Wolbachia* และยืนยันผลด้วย DNA sequencing จากนั้นทำการจัดจำแนกกลุ่มของแบคทีเรียก่อโรคที่ตรวจพบด้วยการวิเคราะห์ Phylogenetic tree จากผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบ 1 ตัวอย่างให้ผลเป็น *A. baumannii* (0.91%) จากยีน *rpoB* โดยเชื้อ *A. baumannii* เป็นเชื้อดื้อยาที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล ทั้งนี้สามารถตรวจพบแบคทีเรีย *Wolbachia* จำนวน 5 ตัวอย่าง (4.55%) โดยใช้ยีน *wsp* จากการวิเคราะห์ด้วย Phylogenetic tree สามารถจัดกลุ่มของ *Wolbachia* เป็น *Wolbachia* supergroups B และ supergroup F อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ไม่สามารถตรวจพบ DNA ของ *Bartonella* sp. และ *Staphylococcus* sp. ในตัวอย่างเหาผลการวิจัยนี้ช่วยเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับบทบาทของเหาศีรษะในการเป็นพาหะนำแบคทีเรียก่อโรคและสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลสำคัญสำหรับการเฝ้าระวังและเป็นข้อมูลเพื่อจัดการปัญหาเหาศีรษะในระดับชุมชนและประเทศต่อไป

คำสำคัญ: เหาศีรษะ, แบคทีเรียก่อโรค, แผนภูมิวิวัฒนาการ

ข้อมูลการอ้างอิง: ศุภิสรา จรรยาพรพาณิชย์, สกล สุนันทราภรณ์, นริศ บราวเนล และ เผด็จ สิริยะเสถียร. (2568). การตรวจหาเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่อาศัยร่วมในเหาศีรษะที่เก็บจากนักเรียนประถมศึกษาในจังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 3(5), 58

บทนำ

เหา (Lice) เป็นแมลงดูดเลือดชนิดหนึ่ง โดยจัดอยู่ในอันดับ (order) Phthiraptera ซึ่งเป็น ectoparasite ของทั้งสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีก เหาแต่ละชนิดมีความจำเพาะกับชนิดของโฮสต์ (host specificity) และยังมีความจำเพาะกับอวัยวะของโฮสต์อีกด้วย (site specificity) เหาศีรษะจะอาศัยอยู่ที่ศีรษะของมนุษย์โดยยึดเกาะอยู่บนเส้นผมของโฮสต์ เหาดังกล่าวจะอาศัยบริเวณขนตามร่างกายและเสื้อผ้าที่มักแนบติดกับลำตัวตลอดเวลา ส่วนโลนจะอาศัยอยู่ตามขนบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ ขนตา และขนรักแร้ การรบกวนและก่อโรคของเหา คือ ทำให้โฮสต์มีอาการระคายเคืองที่ผิวหนังเกิดอาการคันและแพ้จากน้ำลายของเหา ในปัจจุบันเหาที่ยังก่อให้เกิดการรบกวนต่อคนที่พบมากที่สุด คือ พบบนศีรษะซึ่งเกิดจากเหาศีรษะ *Pediculosis capitis* คือ เหาค้นซึ่งเป็นปรสิตบนศีรษะของมนุษย์ที่รู้จักกันดีและชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Pediculus humanus capitis* เหาค้นเป็นปรสิตภายนอกที่กินเลือดเป็นอาหารเท่านั้นโดยวงจรชีวิตนั้นอาศัยอยู่บนหนังศีรษะของมนุษย์และยึดอยู่กับเส้นผมอยู่ตลอดทั้งชีวิต การติดเหาศีรษะยังเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขทั่วโลก ส่วนใหญ่พบว่าเกิดขึ้นในประเทศที่กำลังพัฒนาและพบในเด็กมากกว่าผู้ใหญ่โดยอายุเฉลี่ยของเด็กที่เป็นเหาอายุอยู่ระหว่าง 5-13 ปี การแพร่กระจายของเหาศีรษะเกิดขึ้นได้หลายทาง มีการแพร่กระจายได้เร็ว โดยเฉพาะสภาพแวดล้อมที่อยู่อย่างแออัดหรือใกล้ชิดกันเช่นโรงเรียนประถมศึกษา สถานรับเลี้ยงเด็ก อาจเกิดจากการสัมผัสจากการใช้ของร่วมกัน การติดเหาศีรษะก่อให้เกิดอาการคัน ซึ่งเป็นอาการระคายเคืองที่ผิวหนังเกิดอาการคันและแพ้จากน้ำลายของเหา ทำให้เกิดอาการคันอย่างรุนแรงบนหนังศีรษะและรบกวนการนอนหลับ นอกจากนี้ ยังส่งผลกระทบต่อชีวิตประจำวันซึ่งทำให้เกิดความอับอายและสูญเสียความมั่นใจโดยภูมิศาสตร์ (Geographic distribution)

ในประเทศไทยนั้นพบการติดเหาได้ทั่วทุกพื้นที่ของประเทศทั้งชนบท และแม้แต่กรุงเทพมหานครที่เป็นเมืองหลวงของประเทศแต่มีปริมาณต่ำ เนื่องจากการเข้าถึงสาธารณสุข คุณภาพของเศรษฐกิจและสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน เหาดังกล่าวสามารถทำหน้าที่เป็นพาหะในการนำเชื้อโรคได้หลายชนิด เช่น ในเหาดำ (body lice) พบว่าเป็นสาเหตุในการเป็นพาหะนำเชื้อโรค 3 ชนิด คือ เชื้อ *Rickettsia prowazekii* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค epidemic typhus เชื้อ *Bartonella quintana* เป็นสาเหตุของโรค trench fever และเชื้อ *Borrelia recurrentis* ที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรค louse-borne relapsing fever และพบว่าเหาศีรษะยังสามารถพบเชื้อ *B. quintana* ได้ นอกจากนี้ได้มีการตรวจพบเชื้อ *Acinetobacter spp.* ใน DNA เหาศีรษะเป็นครั้งแรกในประเทศไทย เชื้อดังกล่าวมีความสำคัญทางการแพทย์ที่ก่อให้เกิด nosocomial infection ทำให้เกิดอาการได้หลายลักษณะ เช่น อาการปอดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ มีการตรวจพบเชื้อ *Acinetobacter spp.*, *B. quintana*, *Borrelia recurrentis* นอกจากนี้ได้มีการพบเชื้อ *Staphylococcus spp.* เป็นครั้งแรกใน DNA เหาศีรษะของชนพื้นเมืองดั้งเดิมของประเทศมาเลเซียอีกด้วย ซึ่งการติดเหาศีรษะซ้ำ หลังจากการรักษายังคงเป็นปัญหาในประเทศไทย ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษารวบรวมเชื้อแบคทีเรีย จากตัวอย่างอย่างดีเอ็นเอของเหาศีรษะ เพื่อดูความสามารถการเป็นพาหะในการนำเชื้อแบคทีเรียที่พบในเหาศีรษะในโรงเรียนระดับประถมศึกษา จังหวัดนนทบุรีของประเทศไทย

การทบทวนวรรณกรรม

เหา (*Pediculus humanus*) จัดอยู่ในอันดับ (order) Phthiraptera เป็นปรสิตขนาดเล็กและเป็นปรสิตภายนอกที่ต้องอาศัยอยู่บนร่างกายของโฮสต์ โฮสต์ส่วนใหญ่เป็นสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีลักษณะของปากแบบแทงดูด (Piercing mouthpart) ซึ่งโฮสต์ส่วนใหญ่เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเท่านั้น (Veracx et al., 2012) เหาศีรษะ *Pediculus humanus capitis* (De Geer) เป็นปรสิตจำเพาะที่อาศัยอยู่บนศีรษะของมนุษย์ เป็นแมลงที่ไม่มีปีก จะดูดกินเลือดมนุษย์เป็นอาหารเท่านั้น รวมถึงอาศัยและสืบพันธุ์อยู่บริเวณศีรษะมนุษย์ตลอดวงจรชีวิตของมัน สามารถติดต่อกับคนสู่คนด้วยการสัมผัส หรือการใช้สิ่งของร่วมกัน เช่น เสื้อผ้า หมวก หวี หมอน เป็นต้น วงจรชีวิตของเหาจะเป็นแบบไม่สมบูรณ์ (Incomplete metamorphosis) มี 3 ระยะด้วยกัน คือ ไข่ (egg หรือ nit) ระยะตัวอ่อน (nymph) และระยะตัวเต็มวัย (adult) เมื่อเหาดำเมื่อยผสมพันธุ์แล้วจะวางไข่ไว้ที่บริเวณเส้นผมประมาณ 8-10 ฟองต่อวัน โดยในวงจรชีวิตของเหาดำเมื่อยจะออกไข่ประมาณ 50-300 ฟอง เหาดำเมื่อยจะวางไข่ห่างจากหนังศีรษะประมาณ 1-2 มิลลิเมตร สีของไข่เหา

ค่อนข้างเป็นสีเทาขาว ผิวเป็นมันวาว ไข่เหามีขนาดประมาณ 0.8 มิลลิเมตร เมื่อวางไข่เหาตัวเมียจะปล่อยกาเหเหนียว (cement) เป็นสารประเภทโปรตีนทำให้ไข่ยึดติดกับเส้นผมได้ในระยะตัวอ่อน (nymph) ประกอบด้วย 3 ระยะ ตัวกลางวัย เป็นระยะที่การเจริญของระบบสืบพันธุ์ที่ไม่สมบูรณ์ ตัวอ่อนระยะที่ 1 และ 2 จะค่อนข้างอยู่นิ่งไม่มีการเคลื่อนไหว ส่วนตัวอ่อนระยะที่ 3 เริ่มมีการเคลื่อนไหวได้แล้วและสามารถติดต่อยังบุคคลอื่นได้ ระยะตัวอ่อนนั้นจะมีการลอกคราบ 3 ครั้ง จึงจะเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย เมื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย (adult) ตัวเต็มวัยมีขนาดความยาวประมาณ 1-3 มิลลิเมตร โดยเหาตัวผู้จะมีขนาดประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าเหาตัวเมียที่มีขนาดประมาณ 3-4 มิลลิเมตร ความแตกต่างของเหาตัวผู้และตัวเมียอาจอาศัยความแตกต่างบริเวณส่วนปลายท้อง คือ ส่วนของ gonopod ซึ่งเหาตัวผู้จะมี Aedeagus หรืออวัยวะเพศที่ส่วนปลายของท้อง ส่วนเหาตัวเมียส่วนปลายของท้อง จะมี gonopod 2 อันลักษณะปลายแยกเป็นแฉกรูปตัว W เรียกว่า bilobe และมีรูเปิดของอวัยวะเพศอยู่ตรงกลาง เหาตัวผู้จะมีลักษณะของลำตัวแบน ปล้องอกไม่แยกจากกัน ท้องมี 7 ปล้องเห็นได้ชัดเจน มีหนวด 1 คู่ แต่ละเส้นมี 5 ปล้อง ยื่นออกจากหัว ตาประกอบมี 1 คู่ ขา 3 คู่ ลักษณะสัน ปลายขามีกรงเล็บ (claw) 1 อัน จึงสามารถใช้ขาเกี่ยวเส้นผมได้ดี (Di Campli et al., 1919) เหาตัวผู้สามารถอาศัยอยู่นอกโฮสต์ได้ประมาณ 3 วัน ส่วนไข่ของเหาตัวผู้สามารถอยู่นอกโฮสต์ได้นานถึง 10 วัน เมื่อเหาถูกกินเลือดจากโฮสต์น้ำลายของเหาจะมีคุณสมบัติเป็นสาร anti-coagulant และ vasodilator ซึ่งบางคนที่ถูกเหากัดอาจเกิดอาการแพ้เป็นผื่นคันและอักเสบจากน้ำลายของเหาได้ (Pediculosis capitis) (Ko et al., 2004)

Pathogens head lice จากการรายงานในต่างประเทศและในประเทศไทยพบว่าเหาสามารถทำหน้าที่เป็นพาหะในการนำเชื้อโรคได้หลายชนิด ชนิดทั้งในเหาตัว และในเหาตัวเมีย (Candy et al., 2018) มีรายงานการตรวจพบครั้งแรกในเด็กที่อาศัยในชุมชนแออัด ประเทศเนปาล พบเชื้อ *Acinetobacter baumannii* ในเหาตัวและเหาตัวเมียในบุคคลไร้ที่อยู่ (Bouvresse et al., 2011) นอกจากนี้มีการตรวจพบเชื้อ *Acinetobacter baumannii* ในเหาตัวเป็นครั้งแรกในประเทศไทย เชื้อดังกล่าวมีความสำคัญทางการแพทย์ที่ก่อให้เกิด nosocomial infection ทำให้เกิดอาการได้หลายลักษณะ เช่น อาการปอดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และมีรายงานการตรวจพบเชื้อ *Acinetobacter nosocomialis* S. marcescens และ S. aureus ในเหาตัวในประเทศมาเลเซียอีกด้วย (Mokhtar et al., 2020)

เชื้อ *Acinetobacter* spp. เชื้อกลุ่ม *Acinetobacter* spp. เป็นเชื้อแบคทีเรียลักษณะ gram negative รูปทรงแท่ง พบว่า *Acinetobacter* spp. ที่มีความสำคัญทางการแพทย์ คือ เชื้อ *A. baumannii* เป็นเชื้อก่อโรคในโรงพยาบาลที่พบได้บ่อย และมักเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด และเป็นสาเหตุของโรคปอดบวม (pneumonia) การติดเชื้อในกระแสเลือด ระบบปัสสาวะ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบเชื้อนี้มากขึ้นในหลายๆ ประเทศ โดยส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Kempf et al., 2012) เชื้อ *A. baumannii* เป็นที่ทราบกันดีว่าก่อให้เกิดการติดเชื้อภายในโรงพยาบาล (hospital-acquired infections) จากรายงานวิจัยต่างๆ ได้มีการสำรวจปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อดังกล่าวนี้ ผู้ป่วยวัยชราและเด็กที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลเป็นเวลานานๆ มักจะมีการติดเชื้อ (34) สำหรับการตรวจเจอเชื้อ *A. baumannii* ในเหาตัวได้มีรายงานว่าเด็กที่เป็นเหาตัวแล้วมีการติดเชื้อเชื้อกลุ่ม *Acinetobacter* spp. ในประเทศไทย โดยเชื้อดังกล่าวมีความสำคัญทางการแพทย์ ทำให้เกิดอาการได้หลายลักษณะ เช่น อาการปอดบวม เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ซึ่งเหาตัวที่มีการตรวจพบเชื้อ อาจมีความสำคัญในการเป็นแหล่งกักเก็บเชื้อโรคที่อาจเป็นพาหะในการนำเชื้อโรคมาสู่คนได้ (Sunantaraporn et al., 2015)

เชื้อ *Bartonella* spp. เป็นแบคทีเรียประเภท facultative intracellular มีลักษณะเป็น gram-negative รูปร่างเป็นแท่งขนาดประมาณ 1-1.7 μm (35) เป็นเชื้อที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดพิเศษโดยอัตราการเจริญประมาณ 12-14 วัน โดยพบว่าเชื้อ *Bartonella* spp. ที่สำคัญโดยมีเหาเป็นพาหะ คือ *B. quintana* ซึ่งเชื้อมีพาหะนำโรค คือ เหาตัว (Bouvresse et al., 2011) เมื่อเกิดการติดเชื้อ *B. quintana* จากสาเหตุดังกล่าวแล้วจะทำให้เกิดทางคลินิกได้หลายแบบ เช่น trench fever โดยผู้ป่วยจะมีอาการไข้ประมาณ 1-3 วันร่วมกับอาการปวดศีรษะ, ภาวะ Chronic bacteremia, อาการ endocarditis หรือเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ มีการทำลายส่วนของลิ้นเปิดปิดหัวใจ, ลักษณะอาการ bacillary

angiomatosis มีลักษณะของเป็นตุ่มหรือผื่นแดงที่ผิวหนังที่อาจมีอาการลุกลามไปอวัยวะอื่นๆ ได้ เช่น ตับ ม้าม ไชกระดูก และต่อมน้ำเหลือง และอาการ lymphadenopathy ซึ่งมีอาการเกี่ยวกับต่อมน้ำเหลืองอักเสบ (Foucault et al., 2006)

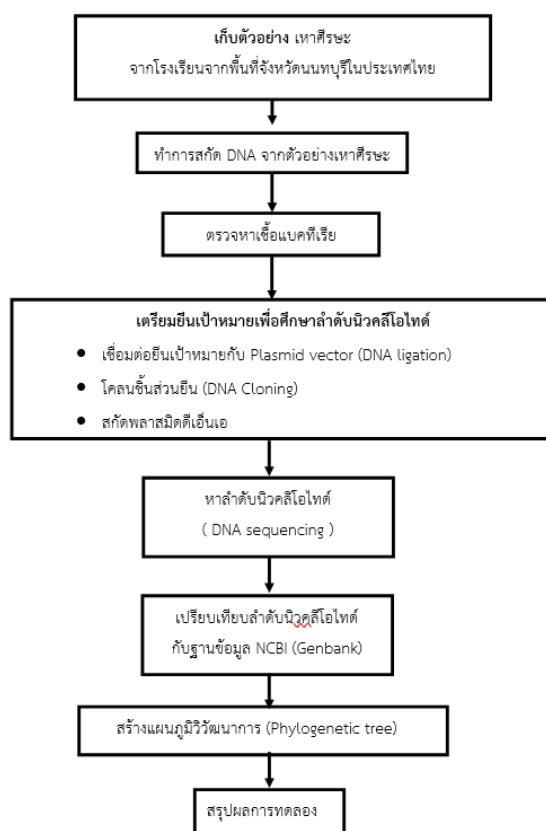
เชื้อ *Staphylococcus spp.* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ในกลุ่ม gram positive cocci พบว่า เชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญในการเกิดโรคได้ในหลายอวัยวะ เชื้อสามารถเป็น normal flora ที่พบได้บริเวณผิวหนัง โพรงจมูก หรือติดตามเสื้อผ้า (Jenkins et al., 2015) มีการตรวจพบเชื้อ *Staphylococcus spp.* เป็นครั้งแรกใน DNA เหาศีรษะของชนพื้นเมืองดั้งเดิมของประเทศมาเลเซีย (Abd Majid et al., 2015) สำหรับการตรวจเจอเชื้อ *S. aureus* ในเหาศีรษะในประเทศไทย ยังไม่มีรายงานว่ามีเด็กที่เป็นเหาศีรษะแล้วมีการติดเชื้อเชื้อกลุ่ม *Staphylococcus spp.* แต่เหาศีรษะอาจมีความสำคัญในการเป็นแหล่งกักเก็บเชื้อโรคซึ่งอาจมีการพัฒนาไปเป็นพาหะในการนำเชื้อโรคมาสู่คนได้

เชื้อ *Wolbachia* เป็นแบคทีเรียเอนโดซิมไบโอติก (endosymbiotic bacteria) แกรมลบที่อาศัยอยู่ในเซลล์ของสัตว์ขาปล้องและไส้เดือนฝอย โดยมีบทบาทสำคัญทั้งในฐานะปรสิตทางการสืบพันธุ์และตัวควบคุมชีวภาพของโรคติดเชื้อที่มีユงเป็นพาหะ มีรายงานการตรวจพบเชื้อ *Wolbachia* ในเหาศีรษะครั้งแรกที่เม็กซิโก 71.42% (Karla Dzul-Rosado et al., 2022)

สมมติฐานการวิจัย

มีการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียในเหาศีรษะที่เก็บจากเด็กโรงเรียนประถมศึกษาในจังหวัดนนทบุรีของประเทศไทย

กรอบแนวคิดการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติและตรวจสอบโดยคณะกรรมการจริยธรรมของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย (COA no. 1510/2024) การศึกษานี้ได้รับการชี้แจงให้ผู้เข้าร่วมและผู้ปกครองหรือผู้ดูแล

รับทราบและได้รับความยินยอมทำการสำรวจการเป็นพาหีระจากเด็กนักเรียนหญิง เก็บตัวอย่างพาหีระจากโรงเรียนประถมศึกษาจังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย โดยเก็บพาหีระระยะตัวเต็มวัย ด้วยวิธีเสียด ใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตรที่มี 70% ethanol เพื่อรักษาสภาพของพาหีระก่อนนำส่งห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสกัด DNA นำตัวอย่างที่ได้ล้างโดยใส่ phosphate-buffered saline (PBS) จำนวน 3 รอบ เพื่อเอา 70% ethanol ออกให้หมด ทำการบดและสกัดดีเอ็นเอพาหีระ โดยใช้ชุดสกัด DNA extraction kit, Invisorb® spin tissue mini kit (STRATEC molecular GmbH, Berlin, Germany) ใส่ elution buffer ปริมาตร 40 µl จากนั้นวัดความเข้มข้นโดยใช้ Nano drop 2000c (Thermo-scientific, USA) และเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอที่ -20 °C ก่อนนำดีเอ็นเอไปใช้ในการทำ PCR **การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR** ตรวจหาเชื้อ *Bartonella* spp. ที่จำเพาะกับยีน *gltA gene* ใช้ primer ที่อ้างอิงจาก (Norman, 1995) ตรวจหาเชื้อ *Acinetobacter* spp. ที่จำเพาะกับยีน *rpoB gene* ใช้ primer ที่อ้างอิงจาก (Kempf, 2012) ตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus* spp. ที่จำเพาะกับยีน *nuc A gene* ใช้ primer ที่อ้างอิงจาก (Brakstad, 1992) และ ตรวจหาเชื้อ *Wolbachia* spp. ที่จำเพาะกับยีน *wsp gene* ใช้ primer ที่อ้างอิงจาก (Yaping, 2020) โดยมี ส่วนประกอบของสารที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR คือ DNA ที่สกัดได้จากตัวอย่าง, Primer, 10XTaq buffer, dNTPs, MgCl₂ และ Taq DNA polymerase ปริมาตรรวม 25 µl โดย ขั้นตอน PCR (Thermal cycle condition) มีดังนี้ Initial denaturation 95°C, 3 นาที, denaturation 95°C, 1 นาที, Annealing ที่ 30 วินาที สำหรับยีน *gltA* (*Bartonella*, 57°C), *rpoB* (*Acinetobacter*, 62°C), *nucA* (*Staphylococcus*, 55°C) และ *wsp* (*Wolbachia*, 55°C) ตามลำดับ และ Extension 72°C, 1 นาที ทำซ้ำจำนวน 35 รอบ และขั้นตอน Final extension 72 องศาเซลเซียส เวลา 7 นาที ทำการตรวจสอบผล PCR โดยใช้ 1.5% Agarose gel electrophoresis ย้อมด้วยเอทิลีเดียมโบรไมด์ และตรวจดูด้วย Quantity One Quantification Analysis Software เวอร์ชัน 4.5.2 (Gel DocEQ System; BioRad, Hercules, CA)

การ Cloning และหาลำดับ DNA ทำ DNA ligation โดยใช้ pGEM®-T Easy (Promega® USA) นำพลาสมิดดีเอ็นเอ ลูกผสมถ่ายโอนเข้าสู่ competent cell โดยวิธีกระตุ้นด้วยความร้อน (heat shock) ในที่นี้ใช้เชื้อ *Escherichia coli DH5α* เป็น competent cell หลังจากนั้นคัดเลือกโคลนที่มีขึ้นส่วนยีน ทำการเลือกโคลนนี้สีขาวในแต่ละตัวอย่าง มาทำ Colony PCR เพื่อตรวจสอบโคลนที่เราเลือกว่ามีขึ้นส่วนดีเอ็นเอที่เราสนใจแทรกอยู่หรือไม่ และขีดลงบนเพลทต้นแบบ (master plate) เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนการสกัดพลาสมิดโดยใช้ชุด Invisorb® Spin Plasmid Mini kit (STRATEC molecular GmbH, Berlin, Germany) และส่งหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (Sequencing)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และการสร้างแผนภูมิ นำผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่าความเหมือนหรือความคล้ายคลึงกันของลำดับ นิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรมออนไลน์ nucleotide BLAST (BLASTN) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนเชื้อแบคทีเรียในพาหีระจากฐานข้อมูลใน GenBank วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ BioEdit Sequence Alignment Editor เวอร์ชัน 7.1.91 ทำการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการโดยใช้โปรแกรม MEGA version 11

ผลการวิจัย

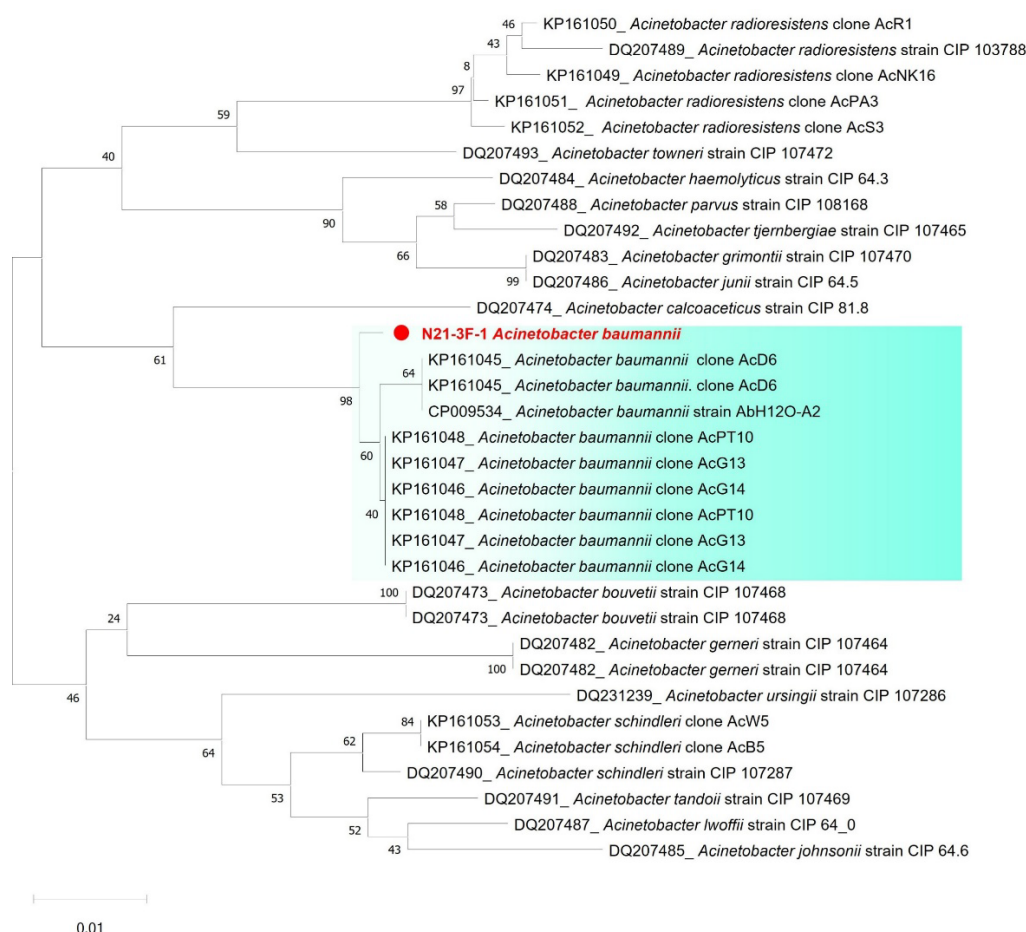
การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างพาหีระ 110 ตัวอย่าง จากจังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย ทำการตรวจเชื้อ *Bartonella* spp., *Acinetobacter* spp., *Staphylococcus* spp. และ *Wolbachia* ด้วยเทคนิค PCR ได้ผล คือ ไม่พบ DNA ของ *Bartonella* spp. และ เชื้อ *Staphylococcus* ในตัวอย่างพาหีระจาก แต่ตรวจพบ DNA ของ *Acinetobacter* spp. จำนวน 1 ตัวอย่าง (0.91%) และเชื้อ *Wolbachia* จำนวน 5 ตัวอย่าง (4.55%) ดังตารางที่ 1

จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม BLAST แสดงให้เห็นเชื้อ *Acinetobacter* sp. มีความเหมือนกับเชื้อ *A. baumannii* ด้วยค่าความเหมือน 99.58% (accession no. AP031581) โดยที่การวิเคราะห์ Phylogenetic tree โดยใช้ Kimura 2-paramerter model (K2P) แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่ให้ผลบวก จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *A. baumannii*

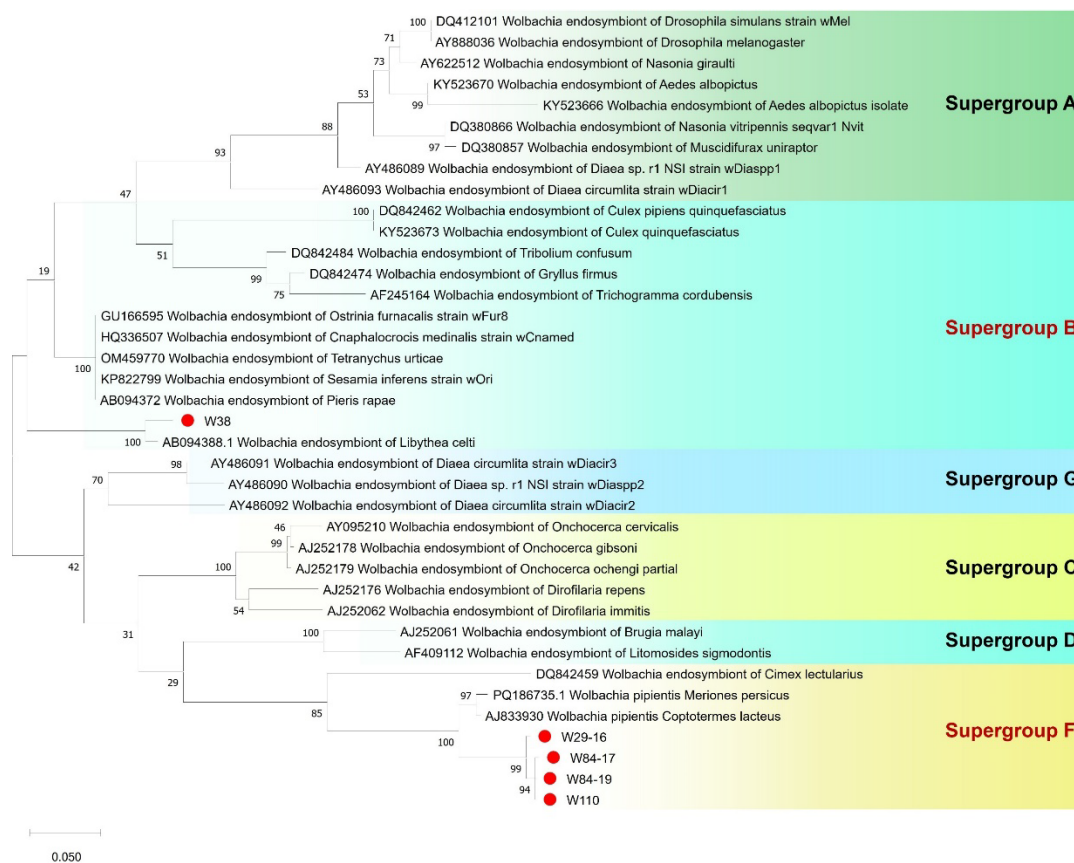
ขณะที่พบตัวอย่างเหาจำนวน 5 ตัวอย่างให้ผลบวกกับเชื้อ *Wolbachia* เมื่อทำการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST พบว่า มีค่าความเหมือนระหว่าง 92.04-93.36 % (accession no. AJ833930) จำนวน 4 ตัวอย่าง และ 1 ตัวอย่างที่มีค่าความเหมือน 97.47% (accession no. AB094388) จากการวิเคราะห์ Phylogenetic tree ด้วย Kimura 3-parameter model (T92+G) พบว่า *Wolbachia* ที่พบสามารถจัดใน 2 กลุ่ม คือ *Wolbachia* supergroups B และ *Wolbachia* supergroups ดังภาพที่ 3

ตารางที่ 1 การตรวจพบเชื้อแบคทีเรียในเหาศีรษะ ของจังหวัดนนทบุรี ประเทศไทย

จังหวัด	จำนวนตัวอย่าง	<i>Acinetobacter</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bartonella</i>	<i>Wolbachia</i>
นนทบุรี	110	1	0	0	5



ภาพที่ 2 แสดง phylogenetic tree ของยีน *rpoB* ใน spp. ที่พบใน DNA เหาศีรษะของจังหวัดนนทบุรี



ภาพที่ 3 แสดง phylogenetic tree ของยีน *wsp* ใน *Wolbachia* ที่พบใน DNA เหาศัตรูของจังหวัดนนทบุรี

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างเหาศัตรูจำนวน 110 ตัวอย่างจากนักเรียนหญิงในโรงเรียนประถมศึกษา จังหวัดนนทบุรี เพื่อสำรวจแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรีย endosymbionts ในเหาศัตรูจากนักเรียนประถมศึกษาในจังหวัดนนทบุรี พบว่า *A. baumannii* ตรวจพบใน 1 ตัวอย่าง (0.91%) ซึ่งเป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์ เนื่องจากสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล เช่น ปอดบวมและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โดยมีผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ในประเทศไทย รายงานการพบ *A. baumannii* ในเหาศัตรูด้วยอัตราการตรวจพบ 1.45% (Sunantaraporn et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นที่สามารถตรวจพบเชื้อ *Acinetobacter* ในเหาศัตรู โดยการศึกษาของ Aida Syafinaz Mokhtar (2020) ตรวจพบ *A. guillouiae*, *A. junii*, *A. baumannii* และ *A. nosocomialis* ครั้งแรกในประเทศมาเลเซีย รายงานการพบเชื้อ *Acinetobacter* spp. ที่ประเทศอัลจีเรียโดย Nassima Mana, 2017 โดยจำแนกได้เป็น *A. baumannii* (14%), *A. johnsonii* (11%) และ *A. variabilis* (1.5%) จากรายงานของ Meriem Louni (2018) ตรวจพบ *A. baumannii*, *A. johnsonii*, *A. variabilis* และ *A. baumannii* และมีรายงานการพบในเหาศัตรูในพื้นที่อื่น ว่ามีอัตราการติดเชื้อสูงขึ้นในประเทศแถบยุโรป และแอฟริกา ได้แก่ โปรตุเกส (10%) เนเธอร์แลนด์ (18%) ฝรั่งเศส (32%) เติร์กเมนิสถาน (52%) และรวันดา (58%)

Wolbachia spp. ตรวจพบใน 5 ตัวอย่าง (4.55%) โดยแบ่งเป็น *Wolbachia* supergroups B (0.91%) และ F (3.64%) ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญในวงจรชีวิตของเหา โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Karla Dzul-Rosado (2022) ที่ตรวจพบเชื้อ *Wolbachia* ในประเทศเม็กซิโก และไม่พบ DNA ของ *Bartonella* spp. ในตัวอย่างทั้งหมด แม้ว่าเชื้อนี้เคยถูกตรวจพบในเหาศัตรูจากพื้นที่อื่น เช่น มาลีและละตินอเมริกา (Dzul-Rosado, 2022) (Amanzougaghene, 2017) ข้อมูลที่ได้ทำการตรวจพบเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการเฝ้าระวังและจัดการปัญหาเหาศัตรู

ในการตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *Acinetobacter* และ *Wolbachia* ในเหาศีรษะมีความสำคัญในการศึกษาวิจัยที่อาจมีผลต่อการเกิดโรคหรือการติดเชื้อในมนุษย์และสัตว์ โดยเชื้อ *Acinetobacter* เป็นแบคทีเรียที่สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อในคนที่ภูมิคุ้มกันอ่อนแอหรือมีบาดแผลที่ผิวหนัง ส่วน *Wolbachia* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ในแมลงหลายชนิดและมีบทบาทในการควบคุมการสืบพันธุ์ของเหา การพบทั้งสองเชื้อในเหาศีรษะอาจบ่งชี้ถึงการเชื่อมโยงระหว่างเหากับการติดเชื้อแบคทีเรียที่สามารถแพร่กระจายสู่มนุษย์หรือสัตว์ได้ ซึ่งอาจต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเพื่อเข้าใจถึงกลไกการติดต่อและผลกระทบทางสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นจากการติดเชื้อเหล่านี้.

เอกสารอ้างอิง

- Abd Majid, M. A., Khoo, J. J., Lim, F. S., Khor, C. S., Loong, S. K., Low, V. L., Lee, H. Y., & AbuBakar, S. (2020). Bacterial profiling of head lice isolated from the Orang Asli: A first report in Malaysia. *Tropical biomedicine*, 37(4), 884-895.
- Aida Syafinaz Mokhtar, Yee Ling Lau, John-James Wilson, Noraishah Mydin Abdul-Aziz (2020) Genetic Diversity of *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) in Peninsular Malaysia and Molecular Detection of Its Potential Associated Pathogens. *Journal of Medical Entomology*, 57(3), 915-926
- Amanzougaghene, N., Fenollar, F., Sangaré, A. K., Sissoko, M. S., Doumbo, O. K., Raoult, D., & Mediannikov, O. (2017). Detection of bacterial pathogens including potential new species in human head lice from Mali. *PloS one*, 12(9), e0184621.
- Bouvresse, S., Socolovshi, C., Berdjane, Z., Durand, R., Izri, A., Raoult, D., Chosidow, O., & Brouqui, P. (2011). No evidence of *Bartonella quintana* but detection of *Acinetobacter baumannii* in head lice from elementary schoolchildren in Paris. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 34(6), 475-477.
- Brakstad, O. G., Aasbakk, K., & Maeland, J. A. (1992). Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *Journal of clinical microbiology*, 30(7), 1654-1660.
- Candy, K., Amanzougaghene, N., Izri, A., Brun, S., Durand, R., Louni, M., Raoult, D., Fenollar, F., & Mediannikov, O. (2018). Molecular Survey of Head and Body Lice, *Pediculus humanus*, in France. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 18(5), 243-251.
- Di Campli, E., Di Bartolomeo, S., Delli Pizzi, P., Di Giulio, M., Grande, R., Nostro, A., & Cellini, L. (2012). Activity of tea tree oil and nerolidol alone or in combination against *Pediculus capitis* (head lice) and its eggs. *Parasitology research*, 111(5), 1985-1992.
- Dzul-Rosado, K., Maldonado-Borges, J. I., Puerto-Manzano, F. I., Lammoglia-Villagómez, M. A., Becker, I., & Sánchez-Montes, S. (2022). First exploratory study of bacterial pathogens and endosymbionts in head lice from a Mayan community in southern Mexico. *Zoonoses and Public Health*, 69(6), 729-736.
- Foucault, C., Brouqui, P., & Raoult, D. (2006). *Bartonella quintana* characteristics and clinical management. *Emerging infectious diseases*, 12(2), 217-223.
- Jenkins, A., Diep, B. A., Mai, T. T., Vo, N. H., Warrenner, P., Suzich, J., Stover, C. K., & Sellman, B. R. (2015). Differential expression and roles of *Staphylococcus aureus* virulence determinants during colonization and disease. *mBio*, 6(1), e02272-14.

- Kempf, M., Abdissa, A., Diatta, G., Trape, J. F., Angelakis, E., Mediannikov, O., La Scola, B., & Raoult, D. (2012). Detection of *Acinetobacter baumannii* in human head and body lice from Ethiopia and identification of new genotypes. *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 16(9), e680-e683.
- Ko, C. J., & Elston, D. M. (2004). Pediculosis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 50(1), 1-14.
- Larkin, K., Toloza, A. C., Gabrie, J. A., Rodríguez, C. A., Rueda, M. M., Matamoros, G., Palacio, O., Jamani, S., Fontecha, G., & Sanchez, A. L. (2023). First Detection of *Acinetobacter baumannii* in *Pediculus humanus capitis* from Latin America. *Tropical medicine and infectious disease*, 8(7), 345.
- Mana, N., Louni, M., Parola, P., & Bitam, I. (2017). Human head lice and pubic lice reveal the presence of several *Acinetobacter* species in Algiers, Algeria. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 53, 33-39.
- Mokhtar, A. S., Ling Lau, Y., Wilson, J. J., & Abdul-Aziz, N. M. (2020). Genetic diversity of *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) in Peninsular Malaysia and molecular detection of its potential associated pathogens. *Journal of medical entomology*, 57(3), 915-926.
- Norman, A. F., Regnery, R., Jameson, P., Greene, C., & Krause, D. (1995). Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR-restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene. *Journal of clinical microbiology*, 33(7), 1797-1803.
- Rodríguez-Ruano, S.M., Lugo-Caballero, C.I., Hernández-Betancor, S.M., et al. (2022). First exploratory study of bacterial pathogens and endosymbionts in head lice from a Mayan community in southern Mexico. *Zoonoses Public Health*, 69(6), 704-713.
- Sunantaraporn, S., Sanprasert, V., Pengsakul, T., Phumee, A., Boonserm, R., Tawatsin, A., ... & Siriyasatien, P. (2015). Molecular survey of the head louse *Pediculus humanus capitis* in Thailand and its potential role for transmitting *Acinetobacter* spp. *Parasites & vectors*, 8, 1-7.
- Veracx, A., & Raoult, D. (2012). Biology and genetics of human head and body lice. *Trends in parasitology*, 28(12), 563-571.

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Conflicts of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.



Copyright: © 2025 by the authors. This is a fully open-access article distributed under the terms of the Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).