



ความชุกและการระบุชนิดเชิงโมเลกุลของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาเดียว
ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

PREVALENCE AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF LARVAL STAGES OF
TREMATODE INFECTION IN FRESHWATER SNAILS AT CHACHOENGSAO PROVINCE

ชนากานต์ อินทศรี

บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ความชุกและการระบุชนิดเชิงโมเลกุลของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียว
ของจังหวัดฉะเชิงเทรา



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
การศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

PREVALENCE AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF LARVAL STAGES OF
TREMATODE INFECTION IN FRESHWATER SNAILS AT CHACHOENGSAO
PROVINCE



A Thesis Submitted in partial Fulfillment of Requirements
for MASTER OF EDUCATION (Biology)
Faculty of Science Srinakharinwirot University
2018
Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ความชุกและการระบุชนิดเชิงโมเลกุลของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียว

ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

ของ

ชนากานต์ อินทศรี

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ที่ปรึกษาหลัก

ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาปนา ชลธนานารถ)

(ดร.กิตติศักดิ์ พุทธชาติ)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนิษฐา นศรีนวล)

ชื่อเรื่อง	ความชุกและการระบุชนิดเชิงโมเลกุลของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอย ฝาดเดียว ของจังหวัดฉะเชิงเทรา
ผู้วิจัย	ชนากานต์ อินทศรี
ปริญญา	การศึกษามหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาพนา ชลธนานารถ

การศึกษาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทรา จากจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 36 จุด พบหอยน้ำจืดฝาดเดียวทั้งหมดจำนวน 10,750 ตัว แบ่งออกเป็น 6 วงศ์ 8 ชนิด ได้แก่ *Bithynia siamensis*, *Filopaludina martensi*, *Filopaludina sumatrensis*, *polygramma*, *Indoplanorbis exustus*, *Lymnaea auricularia*, *Clea helena*, *Melanoides tuberculata* และ *Tarebia granifera* ซึ่งมีค่าความชุกรวมของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทราเท่ากับร้อยละ 11.83 (1,272/10,750 ตัว) โดยพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *B. siamensis*, *F. martensi*, *F. sumatrensis*, *polygramma*, *I. exustus*, *L. auricularia*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* โดยพบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเชอร์คาเรีย 7 รูปแบบ ได้แก่ xiphidiocercaria, echinostome cercaria, parapleurolophocercous cercaria, longifurcate pharyngeate furcocercous cercariae, pleurolophocercous cercaria, monostome cercaria และ megarulous cercaria เมื่อตรวจจสอบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ลำไส้ชนิด *Echinostoma revolutum* และ *Haplorchis taichui* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะพบว่าเกิดขึ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมายที่มีความจำเพาะขนาด 71 และ 1,075 คู่เบส ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *F. martensi*, *F. sumatrensis*, *polygramma*, *I. exustus* และ *L. auricularia* ทำหน้าที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ *E. revolutum* และหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *B. siamensis*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* ทำหน้าที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ *H. taichui* การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบสถานการณ์การระบาดของพยาธิใบไม้ในจังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวางแผนควบคุม ป้องกัน และเฝ้าระวังการติดพยาธิใบไม้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

คำสำคัญ : ค่าความชุก, การติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้, การระบุชนิดเชิงโมเลกุล, หอยน้ำจืดฝาดเดียว, ฉะเชิงเทรา

Title	PREVALENCE AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF LARVAL STAGES OF TREMATODE INFECTION IN FRESHWATER SNAILS AT CHACHOENGSAO PROVINCE
Author	CHANAKAN INTASRI
Degree	MASTER OF EDUCATION
Academic Year	2018
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr. Thapana Chontanarith

The prevalence of the larval stages of trematode infection were examined in several species of freshwater snails from thirty-six sampling sites in Chachoengsao province. A total number of ten thousand seven hundred and fifty snail specimens were classified into six families, with eight species of snails, including *Bithynia siamensis*, *Filopaludina martensi*, *Filopaludina sumatrensis polygramma*, *Indoplanorbis exustus*, *Lymnaea auricularia*, *Clea helena*, *Melanoides tuberculata* and *Tarebia granifera*. The overall prevalence of trematode infection was 11.83% (1,272/10,750 snails) in seven snail species including *B. siamensis*, *F. martensi*, *F. sumatrensis polygramma*, *I. exustus*, *L. auricularia*, *M. tuberculata* and *T. granifera*. The infected snails revealed seven cercarial types, comprised of xiphidiocercaria, echinostome cercaria, parapleurolophocercous cercaria, longifurcate pharyngeate furcocercous cercariae, pleurolophocercous cercaria, monostome cercaria and megarulous cercaria. The larval stages of *Echinostoma revolutum* and *Haplorchis taichui* were amplified by a species specific primer which generated seventy-one and one thousand and seventy-five base pairs, respectively. Moreover, the *F. martensi*, *F. sumatrensis polygramma*, *I. exustus* and *L. auricularia* acted as intermediate hosts for *E. revolutum* while the *B. siamensis*, *M. tuberculata* and *T. granifera* acted as intermediate hosts for *H. taichui*. This study informed the epidemiological situation of trematodes in freshwater snails in Chachoengsao province. In addition, the information from this study can be applied to effectively plan to control and prevent trematode infections.

Keyword : Prevalence, Trematode infection, Molecular identification, Freshwater snail, Chachoengsao province

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์ (สควค.) และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ให้ผ่านลุล่วงและสำเร็จไปได้ด้วยดี

ข้าพเจ้าขอขอบคุณบุคคลสำคัญที่มีส่วนเกี่ยวข้องทำให้เกิดงานวิจัย ดังต่อไปนี้ ขอขอบคุณ ผศ.ดร.สุภาพนา ชลธนานารถ อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือ และช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ทำให้การทำวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์

ขอขอบคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้อง ผู้เป็นที่รักและกำลังใจที่สำคัญยิ่ง ตลอดจนช่วยอำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือในขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง

ขอขอบคุณนางสาวชฎาภรณ์ ดังหังขึ้น นางสาวเมธาวี สบายใจ นายวดิน พานิช และนาย ขจรศักดิ์ ฤทธิเดช รวมทั้งเพื่อน พี่ และน้องในห้องปฏิบัติการทุกคน ผู้ให้คำปรึกษาและคำแนะนำเกี่ยวกับขั้นตอนและเทคนิคต่าง ๆ ในการปฏิบัติงาน รวมทั้งให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมาจนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จและสมบูรณ์แบบมากยิ่งขึ้น

สำหรับคุณงามความดีที่เกิดจากงานวิจัยนี้ ข้าพเจ้าขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณของบิดา มารดา ครู อาจารย์ ผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ชนากานต์ อินทศรี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	4
ความสำคัญของการวิจัย	4
ขอบเขตของการวิจัย	4
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
1. หอยน้ำจืดฝาเดียวที่มีรายงานการพบในจังหวัดฉะเชิงเทรา	6
2. ลักษณะสัณฐานวิทยาโดยทั่วไปของพยาธิตัวไม่.....	8
2.1 ระบบกล้ามเนื้อ (muscular system).....	8
2.2 ระบบทางเดินอาหาร (digestive system).....	9
2.3 ระบบประสาท (nervous system).....	9
2.4 ระบบขับถ่าย (excretory system)	9
2.5 ระบบสืบพันธุ์ (reproductive system)	9
3. วงชีวิตของพยาธิตัวไม่.....	11

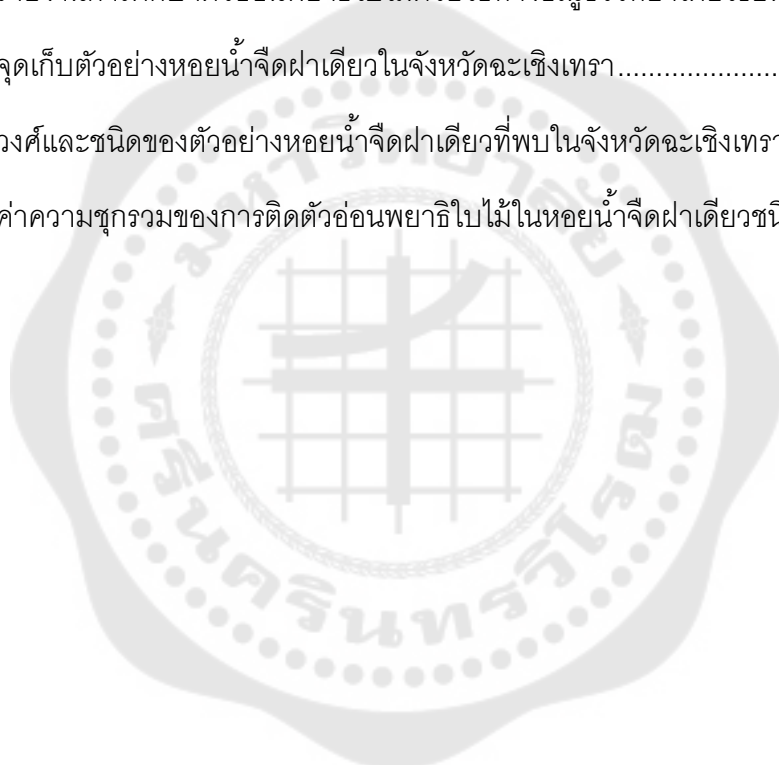
3.1 ไข่	12
3.2 ไมราซีเดียม	12
3.3 สปอโรซิสต์	12
3.4 รีเดีย	12
3.5 เซอร์คาเรีย	12
3.6 เมตาเซอร์คาเรีย	12
4. การศึกษาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะต่าง ๆ โดยจำแนกตามสัณฐานวิทยา	17
5. การศึกษาตัวอ่อนพยาธิใบไม้โดยใช้เทคนิคทางอนุชีววิทยา	26
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	35
1. อุปกรณ์	35
1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาการระบาดและอนุชีววิทยา	35
1.2 ชุดโปรแกรมที่ใช้ในการศึกษาการระบาดและอนุชีววิทยา	35
2. สารเคมี	36
2.1 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาการระบาดและอนุชีววิทยา	36
2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรและการถ่ายภาพ	36
3. วิธีการทดลอง	36
3.1 การขออนุญาตใช้สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์	36
3.2 การกำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างและการเก็บหอยน้ำจืดฝาเดียว	37
3.3 การตรวจหาการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยวิธี crushing และการเก็บรักษาตัวอ่อนพยาธิ	40
3.4 การศึกษาการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาเดียว	41
3.5 การศึกษาชีววิทยาระดับโมเลกุล	41

3.6 การเตรียมยาธิปไตยระยะเต็มวัยเพื่อใช้ทดสอบความจำเพาะและใช้เปรียบเทียบ	
ยืนยันความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์.....	44
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล	44
บทที่ 4 ผลการศึกษา	45
4.1 จุดเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวในจังหวัดฉะเชิงเทรา	45
4.2 หอยน้ำจืดฝาดเดียวที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรา	46
4.3 ความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทรา .	53
4.4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย และระยะเมตาเซอร์คาเรีย	57
4.5 การศึกษาทางอนุชีววิทยา.....	74
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผล.....	79
บรรณานุกรม	89
ประวัติผู้เขียน.....	99

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ลักษณะที่สำคัญของหอยฝาเดียวในแต่ละวงศ์ที่มีรายงานการพบในจังหวัดฉะเชิงเทรา .	6
ตาราง 2 ลักษณะและการพัฒนาของระยะเชอร์คาเรียแต่ละรูปแบบ	13
ตาราง 3 รายงานการศึกษาตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาเดียวที่พบในประเทศไทย	24
ตาราง 4 รายงานการศึกษาตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยวิธีทางอนุชีววิทยาโดยใช้ยีนต่าง ๆ	33
ตาราง 5 จุดเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาเดียวในจังหวัดฉะเชิงเทรา	39
ตาราง 6 วงศ์และชนิดของตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาเดียวที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรา	45
ตาราง 7 ค่าความชุกชุมของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาเดียวชนิดต่าง ๆ	54



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 ลักษณะทั่วไปของพยาธิใบไม้.....	10
ภาพประกอบ 2 วงชีวิตของพยาธิใบไม้โดยทั่วไป	11
ภาพประกอบ 3 รูปร่างของเซอร์คาเรียในลักษณะต่าง ๆ.....	16
ภาพประกอบ 4 จุดเก็บตัวอย่างในแต่ละอำเภอของจังหวัดฉะเชิงเทรา	37
ภาพประกอบ 5 จุดเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวในแหล่งน้ำต่าง ๆ	38
ภาพประกอบ 6 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด <i>Bithynia siamensis</i>	46
ภาพประกอบ 7 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด <i>Clea helena</i>	47
ภาพประกอบ 8 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด <i>Filopaludina sumatrensis polygramma</i>	48
ภาพประกอบ 9 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด <i>Filopaludina martensi</i>	49
ภาพประกอบ 10 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด <i>Indoplanorbis exustus</i>	49
ภาพประกอบ 11 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด <i>Lymnaea auricularia</i>	50
ภาพประกอบ 12 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด <i>Melanoides tuberculata</i>	51
ภาพประกอบ 13 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด <i>Tarebia granifera</i>	52
ภาพประกอบ 14 ค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียววงศ์ต่าง ๆ	53
ภาพประกอบ 15 สัดส่วนของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียรูปแบบต่าง ๆ ที่ ตรวจสอบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว.....	55
ภาพประกอบ 16 ค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียวของ 11 อำเภอ ในจังหวัด ฉะเชิงเทรา	55
ภาพประกอบ 17 แผนที่แสดงการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในจังหวัดฉะเชิงเทรา	56
ภาพประกอบ 18 ลักษณะทั่วไปของ xiphidiocercaria	57

ภาพประกอบ 19 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ xiphidiocercaria ของจังหวัดฉะเชิงเทรา	59
ภาพประกอบ 20 ลักษณะทั่วไปของ longifurcate pharyngeate furcocercous cercariae	60
ภาพประกอบ 21 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ longifurcate pharyngeate furcocercous cercariae ของจังหวัดฉะเชิงเทรา	61
ภาพประกอบ 22 ลักษณะทั่วไปของ parapleurolophocercous cercaria	62
ภาพประกอบ 23 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ parapleurolophocercous cercaria ของจังหวัดฉะเชิงเทรา	63
ภาพประกอบ 24 ลักษณะทั่วไปของ pleurolophocercous cercariae	64
ภาพประกอบ 25 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ pleurolophocercous cercaria ของ จังหวัดฉะเชิงเทรา	65
ภาพประกอบ 26 ลักษณะทั่วไปของ monostome cercaria	66
ภาพประกอบ 27 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ monostome cercaria ของจังหวัด ฉะเชิงเทรา	67
ภาพประกอบ 28 ลักษณะทั่วไปของ megarulous cercaria	68
ภาพประกอบ 29 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ megarulous cercaria ของจังหวัด ฉะเชิงเทรา	69
ภาพประกอบ 30 ลักษณะทั่วไปของ echinostome cercaria	70
ภาพประกอบ 31 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ echinostome cercaria ของจังหวัด ฉะเชิงเทรา	71
ภาพประกอบ 32 ลักษณะทั่วไปของเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ E. revolutum	72
ภาพประกอบ 33 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย ของจังหวัด ฉะเชิงเทรา	73
ภาพประกอบ 34 การตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์จำเพาะต่อ E. revolutum	76
ภาพประกอบ 35 การตรวจสอบความไวของไพรเมอร์จำเพาะต่อ E. revolutum	76

ภาพประกอบ 36 การตรวจสอบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยไพรเมอร์จำเพาะต่อ <i>E. revolutum</i>	77
ภาพประกอบ 37 การตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์จำเพาะต่อ <i>H. taichui</i>	77
ภาพประกอบ 38 การตรวจสอบความไวของไพรเมอร์จำเพาะต่อ <i>H. taichui</i>	78
ภาพประกอบ 39 การตรวจสอบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยไพรเมอร์จำเพาะต่อ <i>H. taichui</i>	78



บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

องค์การอนามัยโลก (World Health Organization : WHO) กำหนดให้โรคพยาธิใบไม้เป็นปัญหาหลักทางสาธารณสุขในหลายประเทศทั่วโลก โดยประชากรจำนวนมากกว่า 10 ล้านคนในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ติดพยาธิใบไม้ เช่น พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ถูกจัดอยู่ในกลุ่มพยาธิก่อมะเร็ง (Group 1, carcinogenic to human) เนื่องจากสารคัดหลั่งจากพยาธิสามารถเหนี่ยวนำก่อให้เกิดมะเร็งท่อน้ำดีได้ (Sripa et al., 2011) นอกจากนี้การติดพยาธิใบไม้ลำไส้ทำให้ทางเดินอาหารเกิดการอักเสบและเกิดบาดแผล เนื่องจากพยาธิใช้อวัยวะยึดเกาะด้านหน้าของลำตัว (oral sucker) ดูดหรือยึดเกาะบริเวณลำไส้ วงชีวิตของพยาธิใบไม้ส่วนใหญ่อาศัยโฮสต์มากกว่า 1 ชนิด สำหรับการพัฒนาจากระยะตัวอ่อนจนถึงระยะตัวเต็มวัย โดยวงชีวิตของพยาธิใบไม้เริ่มจากพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ในอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของโฮสต์เฉพาะ (definitive host) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นมนุษย์หรือสัตว์มีกระดูกสันหลัง

พยาธิระยะตัวเต็มวัยจะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและออกไข่ในบริเวณอวัยวะที่อาศัยอยู่ จากนั้นไข่ที่ได้รับการผสม (embryonated egg) ออกสู่ภายนอกในร่างกายโดยปนออกมากับอุจจาระลงสู่แหล่งน้ำ เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมไข่ที่ได้รับการผสมจะฟักออกมาเป็นตัวอ่อนระยะไมราซิเดียม (miracidium) ซึ่งจะไชทะลุเข้าไปในโฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง (first intermediate host) และเจริญเป็นตัวอ่อนระยะสปอโรซิสต์ (sporocyst) ตัวอ่อนระยะรีเดีย (redia) และตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรีย (cercaria) ตามลำดับ จากนั้นตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียจะเคลื่อนที่ออกจากโฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่งไปอาศัยในโฮสต์กึ่งกลางที่สอง (second intermediate host) และพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย (metacercaria) ซึ่งเป็นระยะติดต่อ (infective stage) จากนั้นเมื่อโฮสต์เฉพาะได้รับระยะเมตาเซอร์คาเรียเข้าสู่ร่างกายจะทำให้ตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพัฒนาเป็นระยะตัวเต็มวัย (adult fluke) ในโฮสต์เฉพาะต่อไป (Roberts & Janovy, 2009) โดย Niaz, Akhtar, Hasanat, and Qureshi (2013) ได้รายงานว่ ปริมาณ น้ำหรือระบบนิเวศในแหล่งน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการระบาดของพยาธิใบไม้ในระบบนิเวศเนื่องจากเป็นแหล่งอาศัยของโฮสต์กึ่งกลาง โดยจังหวัดฉะเชิงเทราเป็นจังหวัดที่ตั้งอยู่บริเวณลุ่มแม่น้ำบางปะกง ซึ่งเป็นลุ่มน้ำที่สำคัญในภาคตะวันออกของประเทศไทย ประกอบด้วยลำน้ำ 3 สาขา ดังนี้ 1) ลำน้ำที่เกิดจากการรวมตัวของแม่น้ำนครนายกกับแม่น้ำปราจีนบุรีที่ไหลมาบรรจบกันก่อนออกสู่อ่าวไทย

2) ลำน้ำที่มีต้นกำเนิดจากเทือกเขาในเขตอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่และไหลมาบรรจบกับแม่น้ำบางปะกง 3) ลำน้ำสาขาคลองท่าลาด มีต้นกำเนิดมาจากการรวมตัวกันของคลองระบมและคลองสิียดก่อนไหลออกสู่อ่าวไทย (สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร, 2555) ซึ่งการมีลำน้ำไหลผ่านอำเภอต่าง ๆ ในจังหวัดฉะเชิงเทราและลำน้ำสาขาย่อยที่แตกสาขาออกไปจำนวนมาก รวมทั้งมีแหล่งเก็บกักน้ำที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น เขื่อนบางปะกง อ่างเก็บน้ำสิียด ฯลฯ ส่งผลให้จังหวัดฉะเชิงเทราเป็นจังหวัดที่มีความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำ ซึ่งมีประโยชน์ต่อการทำเกษตรกรรม การอุปโภคและบริโภค นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นแหล่งอาศัยของสัตว์น้ำโดยเฉพาะหอยฝาเดียวที่มีความหลากหลายในจังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งพบจำนวน 12 สกุล ได้แก่ *Adamietta*, *Bithynia*, *Clea*, *Filopaludina*, *Indoplanorbis*, *Iravadia*, *Rivomarginella*, *Pomacea*, *Tarebia*, *Thiara*, *Lymnaea* และ *Sermyla* (สุชาติ ผึ้งฉิมพลี และ ประสิทธิ์ นิยมไทย, 2555) โดย อาคม สังขวรานนท์ (2536) ได้ศึกษาค่าความชุกของการติดพยาธิใบไม้ในโคพื้นเมืองและโคลูกผสมในพื้นที่ต่าง ๆ ของจังหวัดฉะเชิงเทรา จากการศึกษาพบพยาธิใบไม้ 3 ชนิด ดังนี้ 1) พยาธิใบไม้กระเพาะน้ำในอำเภอพนมสารคาม บ้านโพธิ์ บางคล้า แกลงยาว สนาบชัยเขต บางน้ำเปรี้ยว และราชสาสน์ มีค่าความชุกร้อยละ 10.90 2) พยาธิใบไม้ตับอ่อน *Eurytrema pancreaticum* ในอำเภอบางคล้าและราชสาสน์ มีค่าความชุกร้อยละ 1.00 3) พยาธิใบไม้ตับสกุล *Fasciola* ในอำเภอแกลงยาว มีค่าความชุกร้อยละ 0.50 ต่อมา วรณวิภา มาลัยทอง (2552) ศึกษาประสิทธิภาพของการบันทึกพฤติกรรมการบริโภคปลาอย่างต่อเนื่องด้วยตนเองเพื่อป้องกันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ณ บ้านทุ่งเหียง อำเภอสนมชัยเขต พบว่าการรับประทานก้อยปลาหรือปลาที่ปรุงไม่สุกมีความสัมพันธ์กับการติดพยาธิใบไม้ในตับของมนุษย์โดยตรง หลังจากนั้น Namchote, Sritongtae, Butnin, Wongwain, and Krailas (2015) สำรวจค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดที่พบบริเวณชายฝั่งตะวันออกของอ่าวไทย พบค่าความชุกของการติดพยาธิใบไม้ร้อยละ 0.27 โดยพบรูปแบบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 5 รูปแบบ ได้แก่ 1) *cotylomicrocercous cercariae* เป็นพยาธิใบไม้ *Coitocaecum anaspidis* 2) *echinostome cercariae* เป็นพยาธิใบไม้ *Himasthla interrupta* และ *Hypoderaeum conoideum* 3) *furcocercous cercariae* เป็นพยาธิใบไม้ *Apharyngostrigea pipientis* 4) *xiphidiocercariae* เป็นพยาธิใบไม้ *Ascorhytis charadriiformis* 5) *parapleurophocercous cercariae* เป็นพยาธิใบไม้ *Heterophyes cercaria* I, *Metorchis intermedius* และ *Haplorchis taichui*

การจัดจำแนกพยาธิใบไม้ในอดีที่ผ่านมามีส่วนใหญเป็นการศึกษาโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกโดยใช้หลักการของ Schell (Schell, 1970) ซึ่งบางครั้งจัดจำแนกได้ด้วยความยากลำบากและเกิดความผิดพลาดในการตรวจสอบชนิด เนื่องจากระยะตัวอ่อนของพยาธิบางชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกัน รวมทั้งต้องใช้ผู้ปฏิบัติงานที่มีความชำนาญ เป็นพิเศษจึงจะสามารถจัดจำแนกชนิดของพยาธิได้ ทำให้ต้องมีการนำเทคนิคต่าง ๆ มาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบชนิดของพยาธิเพื่อให้ผลการตรวจสอบที่ถูกต้องและรวดเร็ว (ชโลบล วงศ์สวัสดิ์, 2555) การศึกษาในปัจจุบันจึงนิยมใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาร่วมกับเทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น Barber, Mkoji, and Loker (2000) ระบุชนิดเชิงโมเลกุลของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย *Schistosoma bovis* และ *S. haematobium* ที่พบในหอยฝาดเดียวสกุล *Bulinus* ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ Internal transcribed spacer 2 (ITS2) สามารถแยกชนิดของ *S. haematobium* และ *S. bovis* ได้ โดยมีความถูกต้องในการระบุอัตลักษณ์ของ *S. haematobium* และ *S. bovis* สูงถึงร้อยละ 99.00 นอกจากนี้ Parvathi et al. (2008) พัฒนาวิธีการตรวจสอบพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* โดยใช้ไพรเมอร์ Trem24-F: 5' ACT GGA TAA AAG GAA G 3' และ OV25-4R: 5' AAT GAA CGG AAA TCG TGA CC 3' ซึ่งจากการทดสอบด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction: PCR) พบว่าแสดงผลบวก (positive result) ต่อพยาธิใบไม้ *O. viverrini* ทั้งตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียและตัวเต็มวัย โดยเกิดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR product) ที่มีขนาด 229 คู่เบส ที่มีความจำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *O. viverrini* สำหรับ *Spirometra* sp., *Fasciola gigantica*, *Haplorchis taichui*, *Echinostoma malayanum*, *Centrocestus formosanus*, *Clonorchis sinensis* และ *Taenia saginata* รวมทั้งโฮสต์กึ่งกลางที่สองชนิด *Puntius* spp. แสดงผลลบ (negative result) ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ไพรเมอร์จำเพาะ (specific primer) เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสามารถนำมาประยุกต์ใช้ระบุชนิดของพยาธิใบไม้ได้

การวิจัยในครั้งนี้ทำให้ทราบค่าความชุกและลักษณะสัณฐานวิทยาของพยาธิใบไม้แต่ละชนิดที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสัตวแพทย์ รวมทั้งทำให้ทราบสถานการณ์การระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในจังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวางแผนควบคุม ป้องกันและเฝ้าระวังการติดพยาธิใบไม้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งความมุ่งหมายไว้ดังนี้

1. ศึกษาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทราที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสัตวแพทย์
2. ระบุชนิดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา ร่วมกับอนุชีววิทยา

ความสำคัญของการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทรา ลักษณะสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ รวมทั้งชนิดของพยาธิใบไม้ด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเป็นข้อมูลที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบันสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวางแผนควบคุม ป้องกัน ติดตามและเฝ้าระวังการติดพยาธิใบไม้ อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

ขอบเขตของการวิจัย

สุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวจำนวนชนิดละ 50 ตัว (Tong et al., 2015) จากจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 36 จุดเก็บตัวอย่าง ซึ่งครอบคลุมทั้งหมด 11 อำเภอของจังหวัดฉะเชิงเทรา ด้วยวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบแบ่งชั้น (stratified random sampling) (Freedman, Pisani, & Purves, 2007) โดยแบ่งชั้นต้นตามแต่ละอำเภอของจังหวัดฉะเชิงเทรา จากนั้นสุ่มตัวอย่างตามโอกาส (opportunistic sampling) โดยอำเภอที่มีพื้นที่น้อยกว่า 500 ตารางกิโลเมตร ได้แก่ อำเภอคลองเขื่อน อำเภอรามราช อำเภอบ้านโพธิ์ อำเภอบางคล้า อำเภอแปลงยาว อำเภอบางปะกง อำเภอเมือง และอำเภอบางน้ำเปรี้ยว สุ่มเก็บตัวอย่างอำเภอละ 3 จุดเก็บตัวอย่าง สำหรับอำเภอที่มีพื้นที่มากกว่า 500 ตารางกิโลเมตร ได้แก่ อำเภอพนมสารคาม อำเภอกาตาปะเทียม และอำเภอสนามชัยเขตสุ่มเก็บตัวอย่างอำเภอละ 4 จุดเก็บตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ.2560 ถึง เดือนมกราคม พ.ศ. 2562 เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว รวมทั้งระบุชนิดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสัตวแพทย์ที่พบค่อนข้างสูงในจังหวัดฉะเชิงเทราด้วยโปรแกรมจำเพาะ

นิยามศัพท์เฉพาะ

ไซท์ที่ได้รับการผสม หมายถึง ไซท์ที่มีตัวอ่อนอยู่ภายใน

ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ หมายถึง ตัวอ่อนระยะรีเดีย ระยะเซอร์คาเรีย หรือระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้

โฮสต์กึ่งกลาง หมายถึง โฮสต์ที่มีพยาธิใบไม้ระยะตัวอ่อนหรือระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศอาศัยอยู่

โฮสต์เฉพาะ หมายถึง โฮสต์ที่มีพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยหรือระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศอาศัยอยู่



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. ลักษณะสัณฐานวิทยาของหอยน้ำจืดฝาเดียวที่มีรายงานการพบในจังหวัดฉะเชิงเทรา
2. ลักษณะสัณฐานวิทยาโดยทั่วไปของพยาธิใบไม้
3. วงชีวิตของพยาธิใบไม้
4. การศึกษาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะต่าง ๆ โดยจำแนกตามสัณฐานวิทยา
5. การศึกษาระบาดวิทยาของตัวอ่อนพยาธิใบไม้โดยใช้เทคนิคทางอนุชีววิทยา

1. หอยน้ำจืดฝาเดียวที่มีรายงานการพบในจังหวัดฉะเชิงเทรา

สุชาติ ผึ้งฉิมพลี และ ประสิทธิ์ นิยมไทย (2555) ศึกษาความหลากหลาย ปริมาณและการแพร่กระจายของหอยน้ำจืดในแม่น้ำบางปะกงและแม่น้ำปราจีนบุรี ระหว่างเดือนธันวาคม 2551 ถึง เดือนธันวาคม 2552 จากจุดเก็บตัวอย่าง 9 จุดเก็บตัวอย่าง พบหอยทั้งหมด 14 สกุล ในจังหวัดฉะเชิงเทรา ประกอบด้วย หอยฝาเดียว 12 สกุล และหอยสองฝา 2 สกุล โดยสกุลหอยน้ำจืดฝาเดียวที่ พบ ใน แม่น้ำบางปะกง มีดังนี้ *Adamietta*, *Bithynia*, *Clea*, *Filopaludina*, *Indoplanorbis*, *Iravadia*, *Lymnaea*, *Pomacea*, *Rivomarginella*, *Sermyla*, *Tarebia* และ *Thiara* (ตาราง 1)

ตาราง 1 ลักษณะที่สำคัญของหอยฝาเดียวในแต่ละวงศ์ที่มีรายงานการพบในจังหวัดฉะเชิงเทรา

วงศ์	สกุล	ลักษณะที่สำคัญ
Ampullariidae	<i>Pomacea</i>	เปลือกมีรูปร่างกลมป้อมและมีขนาดใหญ่ พบอัมบิลิคัส (umbilicus) ผิวเปลือกเรียบ ปากเปลือก (operculum) มีขนาดใหญ่และรูปร่างรี แผ่นปิดปากเปลือกเป็นแบบคอนเซนทริก (concentric)

ตาราง 1 (ต่อ)

วงศ์	สกุล	ลักษณะที่สำคัญ
Bulinidae	<i>Indoplanorbis</i>	เปลือกมีลักษณะแบนขดวนเป็นวงในระนาบเดียวกัน
Viviparidae	<i>Filopaludina</i>	เปลือกคล้ายทรงกรวย พบผิวเปลือกที่มีลักษณะผิวเรียบ มีสันยื่นออกมาหรือมีแถบสีบนเปลือก แผ่นปิดปากเปลือกเป็นแบบคอนเซนทริกและมันเงา
Marginellidae	<i>Rivomarginella</i>	เปลือกคล้ายวงรี ขนาดเล็ก มีลักษณะเป็นหนาและมันเงา ปากเปลือกค่อนข้างยาวและแคบ ขอบปากเปลือกหนาไม่พบแผ่นปิดปากเปลือก
Iravadiidae	<i>Iravadia</i>	เปลือกคล้ายทรงกรวยขนาดเล็ก ปากเปลือกเป็นวงรี แผ่นปิดปากเปลือกเป็นแบบคอนเซนทริก มีลักษณะบางและมัน ซึ่งผิวด้านในของแผ่นปิดปากเปลือกจะมีสันยื่นออกมาจำนวนหนึ่งหรือหลายอัน
Buccinidae	<i>Clea</i>	เปลือกคล้ายทรงกรวย ส่วนใหญ่มีเปลือกหนา ผิวเปลือกขรุขระ บางชนิดมีสีและลวดลายโดดเด่น ปากเปลือกกว้าง แผ่นปิดปากเปลือกมีลักษณะมันเงา
Bithyniidae	<i>Bithynia</i>	เปลือกทรงกรวยรูปไข่ ผิวเปลือกมีลักษณะเรียบ ปากเปลือกกลมรี แผ่นปิดปากเปลือกเป็นแบบคอนเซนทริก ที่มีสไปรัลนิวเคลียสอยู่ตรงกลาง (spiral nucleus) เทนเทเคิล (tentacle) ยาวเรียว พบตาติดอยู่ที่ฐานของ เทนเทเคิล

ตาราง 1 (ต่อ)

วงศ์	สกุล	ลักษณะที่สำคัญ
Lymnaeidae	<i>Lymnaea</i>	เปลือกคล้ายทรงกรวยเตี้ยและมีขนาดใหญ่ ยอดเปลือกค่อนข้างมาทางด้านหน้า เทนเทเคิลมีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยม และกว้างแบน
Thiaridae	<i>Thiara</i> , <i>Tarebia</i> , <i>Sermyla</i> และ <i>Adamietta</i>	เปลือกคล้ายทรงกรวยยาว พบเวิร์ล (whorl) เรียงซ้อนไปสู่ยอดเปลือก ผิวเปลือกไม่เรียบ มีสันนูน แผ่นปิดปากเปลือกมีลักษณะบางและมันวาว

2. ลักษณะสัณฐานวิทยาโดยทั่วไปของพยาธิใบไม้

พยาธิใบไม้ (trematode) จัดอยู่ใน Phylum Platyhelminthes Class Trematoda โดยพยาธิใบไม้ส่วนใหญ่ที่สำคัญทางการแพทย์จัดอยู่ใน Subclass Digenea หรือ digenetic flukes รูปร่างมีลักษณะคล้ายใบไม้ ลำตัวบริเวณท้องมีลักษณะแบนและบริเวณหลังมีลักษณะนูน โดยขนาดลำตัวของพยาธิใบไม้มีขนาดตั้งแต่ 6 มิลลิเมตร ถึง 7 เซนติเมตร ภายนอกลำตัวของพยาธิใบไม้พบอวัยวะยึดเกาะ (adhesive organ) สำหรับเกาะติดโฮสต์ซึ่งอาจอยู่รอบปาก เรียกว่า ออรัลซัคเกอร์ (oral sucker) บางชนิดอาจมีอวัยวะยึดเกาะอยู่ด้านท้อง เรียกว่า เวนทรัลซัคเกอร์ (ventral sucker, acetabulum) ซึ่งพยาธิใบไม้บางชนิดมีซัคเกอร์รอบรูเปิดอวัยวะเพศ เรียกว่า เจนิตัลซัคเกอร์ (genital sucker) โดยระบบร่างกายของพยาธิใบไม้ แบ่งออกได้ ดังนี้ (ชโลบล วงศ์ สวัสดิ์, 2555; นิมิตร มรกต และ คม สุคนธสรณ์, 2554; บพิตร จารุพันธุ์ และ นันทพร จารุพันธุ์, 2555)

2.1 ระบบกล้ามเนื้อ (muscular system)

ประกอบด้วย เส้นใยกล้ามเนื้อต่าง ๆ ได้แก่ เส้นใยกล้ามเนื้อวงกลม (circular fibers) เส้นใยกล้ามเนื้อตามยาว (longitudinal fibers) และเส้นใยกล้ามเนื้อเฉียง (oblique fibers) โดยพบกล้ามเนื้อที่ยึดระหว่างด้านหลัง (dorsal) กับด้านท้อง (ventral) และพบเส้นใยกล้ามเนื้อที่ร่วมกับอวัยวะต่าง ๆ จึงทำให้พยาธิใบไม้สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างหรือเคลื่อนไหวได้

2.2 ระบบทางเดินอาหาร (digestive system)

ระบบทางเดินอาหารไม่สมบูรณ์ ประกอบด้วย ปาก (mouth) อยู่ทางด้านหน้าของลำตัวและล้อมรอบด้วยออร์ลซัคเกอร์ โดยปากเชื่อมต่อกับคอหอย (pharynx) ซึ่งมีลักษณะเป็นกระเปาะกล้ามเนื้อ บริเวณปลายสุดของคอหอยเชื่อมต่อกับหลอดอาหาร (esophagus) ที่มีลักษณะเป็นท่อเดี่ยว โดยปลายหลอดอาหารจะแตกออกเป็นลำไส้ (cecum) สองแขนงและมีปลายตัน โดยสิ้นสุดที่ส่วนท้ายของลำตัวเหนือกระเพาะขับถ่าย (excretory bladder)

2.3 ระบบประสาท (nervous system)

มีเส้นประสาท 3 คู่ ได้แก่ เส้นประสาททางด้านหลัง (dorsal nerve cord) เส้นประสาททางด้านข้าง (lateral nerve cord) และเส้นประสาททางด้านท้อง (ventral nerve cord) นอกจากนี้พบเส้นประสาทตามขวางเชื่อมระหว่างเส้นประสาททั้ง 3 คู่

2.4 ระบบขับถ่าย (excretory system)

มีสมมาตรทั้ง 2 ข้างของลำตัว โดยแฟลมเซลล์ (flame cell) ที่กระจายทั่วลำตัวมีซิเลีย (cilia) ทำหน้าที่พัดโบกของเสียเข้าสู่ท่อรวม (collecting tube) และต่อเข้ากับกระเพาะขับถ่าย (excretory bladder) ซึ่งมีรูเปิด (excretory pore) ขับถ่ายของเสียออกสู่ภายนอก่างกาย โดยจำนวนและตำแหน่งการวางตัวของแฟลมเซลล์สามารถใช้เป็นเกณฑ์เบื้องต้นในการจัดจำแนกชนิดของพยาธิได้

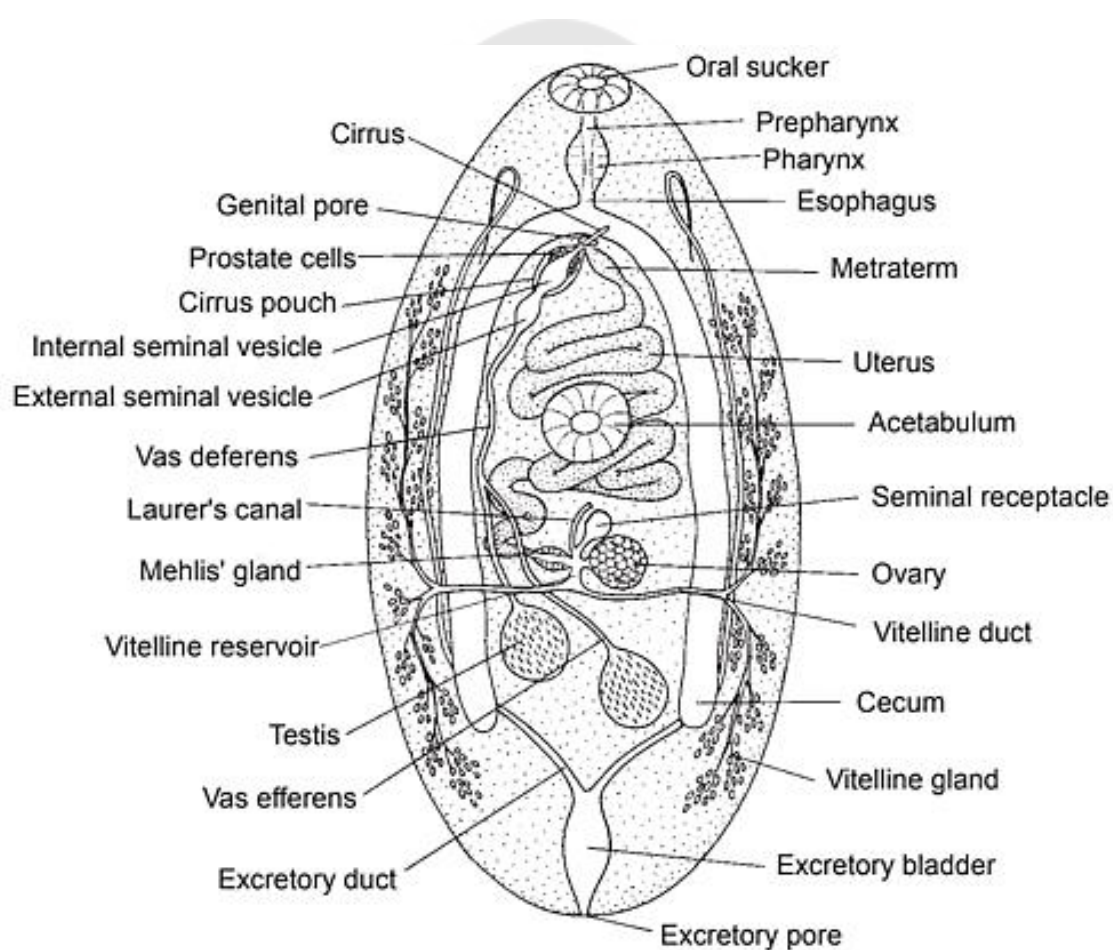
2.5 ระบบสืบพันธุ์ (reproductive system)

พยาธิใบไม้ส่วนใหญ่มี 2 เพศในตัวเดียวกัน (hermaphrodite) ซึ่งอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ประกอบด้วย อัณฑะ (testes) ส่วนใหญ่พบจำนวน 2 ก้อน อยู่บริเวณท้ายลำตัว และมีรูปร่างหลายลักษณะ เช่น ก้อนกลม (globular) พู (lobate) ท่อ (tubular) หรือกิ่งแขนง (dendritic) ขึ้นอยู่กับชนิดของพยาธิ ซึ่งเชื่อมต่อกับท่อนำสุจิ (vas deferens) ก่อนเข้าสู่ถุงเซอรัรัส (cirrus sac) ท่อในถุงเซอรัรัสจะโป่งออกและขดตัวเป็นที่พักอสุจิ (seminal vesicle) โดยปลายท่อจะสิ้นสุดในเซอรัรัสออร์แกน (cirrus organ) ซึ่งเป็นโครงสร้างสืบพันธุ์ของเพศผู้ที่ประกอบด้วยกล้ามเนื้อและสามารถยืดออกจากรูเปิดอวัยวะเพศ (genital pore) ที่อยู่บริเวณเจนิทัลเอเทรียม (genital atrium) ซึ่งมีลักษณะเป็นแอ่งต้นบริเวณลำตัวด้านท้อง

อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ประกอบด้วย รังไข่ (ovary) ท่อนำไข่ (oviduct) และอูไทป์ (Öotype) โดยรอบอูไทป์จะมีต่อมเมห์ลิส (Mehlis' gland) และต่อมวิทิลลิน (vitelline gland) มาเชื่อมต่อกับอูไทป์ ด้านหลังของอูไทป์มีถุงเก็บอสุจิ (seminal receptacle) และท่อลอเรอร์ (Laurer's canal) ไปเปิดที่ส่วนหลังของตัวพยาธิ โดยส่วนที่ต่อจากอูไทป์เป็นมดลูก (uterus) ซึ่งจะขดไปมา ส่วนปลายสุดของมดลูกเป็นกล้ามเนื้อที่เปิดออกสู่ภายนอกทางรูเปิดอวัยวะเพศใน

บริเวณเจนิทัลเอเทรียม ซึ่งการผสมพันธุ์ของพยาธิใบไม้ส่วนใหญ่ผสมพันธุ์กับพยาธิใบไม้ตัวอื่น แล้วจึงวางไข่ (ภาพประกอบ 1)

โดยทั่วไปพยาธิใบไม้สามารถจัดกลุ่มตามอวัยวะที่อาศัยในโฮสต์เฉพาะแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามหลักเกณฑ์การจัดจำแนกของ (ชโลบล วงศ์สวัสดิ์, 2555; นิมิตร มรกต และ คม สุคนธสรพร, 2554) ดังนี้ พยาธิใบไม้ลำไส้ (intestinal fluke) พยาธิใบไม้ปอด (lung fluke) พยาธิใบไม้ตับ (liver fluke) และพยาธิใบไม้เลือด (blood fluke)

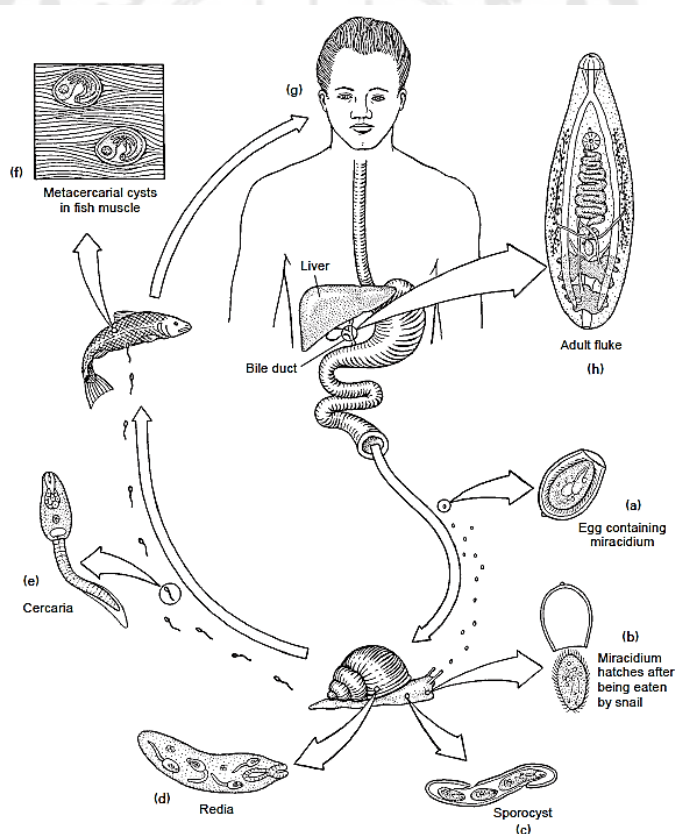


ภาพประกอบ 1 ลักษณะทั่วไปของพยาธิใบไม้

ที่มา: (Roberts & Janovy, 2009)

3. วงชีวิตของพยาธิใบไม้

พยาธิใบไม้ในกลุ่ม digenea อาศัยโฮสต์มากกว่าหนึ่งชนิดสำหรับการพัฒนาตั้งแต่ระยะตัวอ่อนจนถึงระยะตัวเต็มวัย วงชีวิตทั่วไปของพยาธิใบไม้เริ่มจากไข่ที่ได้รับการผสมจะออกสู่ภายนอกร่างกายของโฮสต์เฉพาะ เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ไข่ที่ได้รับการผสมจะฟักออกมาเป็นระยะไมราซิเดียมที่มีซิเลียรอบตัวและว่ายน้ำได้ เมื่อไมราซิเดียมไซเข้าสู่หอยหรือโฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่งจะสลัดซิเลียทิ้งและเจริญเติบโตเป็นสปอโรซิสต์ในหอย ซึ่งภายในสปอโรซิสต์หนึ่งตัวสามารถให้กำเนิดริเดียภายในจำนวนหลายตัว และในริเดียหนึ่งตัวจะพบเซอร์คาเรียหลายตัว ซึ่งกระบวนการเพิ่มจำนวนในลักษณะดังกล่าวเป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ จากนั้นเซอร์คาเรียที่พัฒนาจนสมบูรณ์จะเคลื่อนที่จากโฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่งเข้าสู่โฮสต์กึ่งกลางที่สองเพื่อเข้าซิสต์ (cyst) และพัฒนาเป็นเมตาเซอร์คาเรียซึ่งเป็นระยะติดต่อก่อน โดยพบอวัยวะยึดเกาะและลำไส้ แต่ไม่พบโครงสร้างสืบพันธุ์ เมื่อโฮสต์เฉพาะได้รับเมตาเซอร์คาเรียเข้าสู่ร่างกาย เมตาเซอร์คาเรียจะพัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยต่อไป ดังแสดงในภาพประกอบ 2



ภาพประกอบ 2 วงชีวิตของพยาธิใบไม้โดยทั่วไป

ที่มา: (Roberts & Janovy, 2009)

3.1 ไข่

ไข่พยาธิใบไม้ส่วนใหญ่จะมีฝาปิด โดยไข่จะออกนอกร่างกายผ่านทางรูเปิดอวัยวะเพศ ขณะที่ปล่อยไข่ออกมานั้น ไข่ยังอาจไม่มีตัวอ่อนหรือเจริญจนมีระยะไมราซิเดียมอยู่ภายในไข่

3.2 ไมราซิเดียม

เป็นตัวอ่อนที่มีซีเลียปกคลุมลำตัว ยกเว้นส่วนหัวมีอวัยวะยึดติด (apical papilla) ที่สามารถยึดติดได้ และมีต่อมไข (penetration gland) ทำหน้าที่สร้างเอนไซม์ โดยอวัยวะยึดติดและต่อมไขทำหน้าที่ร่วมกันขณะที่ไมราซิเดียมไขเข้าสู่โฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง

3.3 สปอโรซิสต์

ส่วนใหญ่มีรูปร่างเป็นถุงยาว มีรูกำเนิด (birth pore) และมีเจอร์มบอล (germ ball) ซึ่งเซลล์แบ่งตัวและเพิ่มจำนวนเป็นอีกหลายเจอร์มบอล จากนั้นเปลี่ยนรูปไปเป็นสปอโรซิสต์ลูก (daughter sporocyst) หรือรีเดียแล้วแต่ชนิดของพยาธิ ซึ่งสปอโรซิสต์ลูกจะออกจากสปอโรซิสต์แม่แล้วเคลื่อนที่ออกไปสู่อวัยวะอื่นของหอย โดยรีเดียออกจากสปอโรซิสต์ผ่านทางรูกำเนิด

3.4 รีเดีย

พัฒนาจากระยะสปอโรซิสต์ มีลักษณะตัวยาวและมีทางเดินอาหารเกิดขึ้น ประกอบด้วยคอหอยและถุงลำไส้ มีรูกำเนิดใกล้ส่วนหัว ภายในรีเดียมีเอ็มบริโอซึ่งจะเจริญไปเป็นรีเดียลูกหรือเซอร์คาเรียแล้วแต่ชนิดของพยาธิ

3.5 เซอร์คาเรีย

มีหางสำหรับเคลื่อนที่ บริเวณปากล้อมรอบด้วยออร์ลซึกเกอร์ พบคอหอยและลำไส้ ซึ่งการจัดจำแนกชนิดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียสามารถจำแนกได้โดยใช้ลักษณะโครงสร้างที่สำคัญ เช่น ออร์ลซึกเกอร์ เวนท์ลซึกเกอร์ และครีบทาง เป็นต้น ดังตาราง 2

3.6 เมตาเซอร์คาเรีย

เมื่อเซอร์คาเรียเคลื่อนที่จากโฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่งไปยังโฮสต์กึ่งกลางที่สอง เซอร์คาเรียจะสลัดหางทิ้ง สร้างผนังหุ้มลำตัว และพัฒนาเป็นเมตาเซอร์คาเรีย เมื่อโฮสต์เฉพาะได้รับเมตาเซอร์คาเรียซึ่งเป็นระยะติดต่อเข้าสู่ร่างกาย เมตาเซอร์คาเรียจะพัฒนาเป็นพยาธิระยะตัวเต็มวัยในโฮสต์เฉพาะต่อไปในวงจรชีวิต

ตาราง 2 ลักษณะและการพัฒนาของระยะเซอร์คาเรียแต่ละรูปแบบ

รูปแบบเซอร์คาเรีย	ลักษณะรูปร่าง	พัฒนาเป็นระยะตัวเต็มวัยในวงศ์
amphistome cercaria	ลำตัวมีขนาดใหญ่ หางยาว โดยออร์ลซึกเกอร์มีขนาดเล็ก ส่วนเวนทรีลซึกเกอร์มีขนาดใหญ่อยู่ท้ายลำตัว และพบตาที่มีรงควัตถุ (pigment) ขนาดใหญ่บริเวณส่วนหัวของลำตัว (ภาพประกอบ 3-ก)	Paramphistomatidae
monostome cercaria	ลำตัวขนาดใหญ่ โดยออร์ลซึกเกอร์มีขนาดเล็ก ไม่พบเวนทรีลซึกเกอร์และคอหอย อาจพบตา (eye spot) 2-3 จุด ที่ส่วนหัวของลำตัว และบริเวณหางมีความยาวมากกว่าบริเวณลำตัว (ภาพประกอบ 3-ข)	Notcotyloidae
gymnocephalus cercaria	ลำตัวรูปร่างกลมและพบต่อมซิสโทจีนัส (cystogenous gland) จำนวนมาก พบออร์ลซึกเกอร์บริเวณส่วนหัวของลำตัวและพบเวนทรีลซึกเกอร์บริเวณกึ่งกลางของลำตัว (ภาพประกอบ 3-ค)	Fasciolidae
echinostome cercaria	หางมีลักษณะคล้ายทรงกระบอก มีหนาม (collar spine) ล้อมรอบออร์ลซึกเกอร์ พบคอหอยและลำไส้ซึ่งมีขนาดยาว (ภาพประกอบ 3-ง)	Echinostomatidae
microcercous cercaria	หางสั้นมีลักษณะเป็นปุ่มหรือถั่ว บริเวณลำตัวพบหนาม (stylet) อยู่ในออร์ลซึกเกอร์ ส่วนเวนทรีลซึกเกอร์มีขนาดใหญ่กว่าออร์ลซึกเกอร์และพบอยู่ส่วนท้ายของลำตัว (ภาพประกอบ 3-จ)	Trogloidyidae

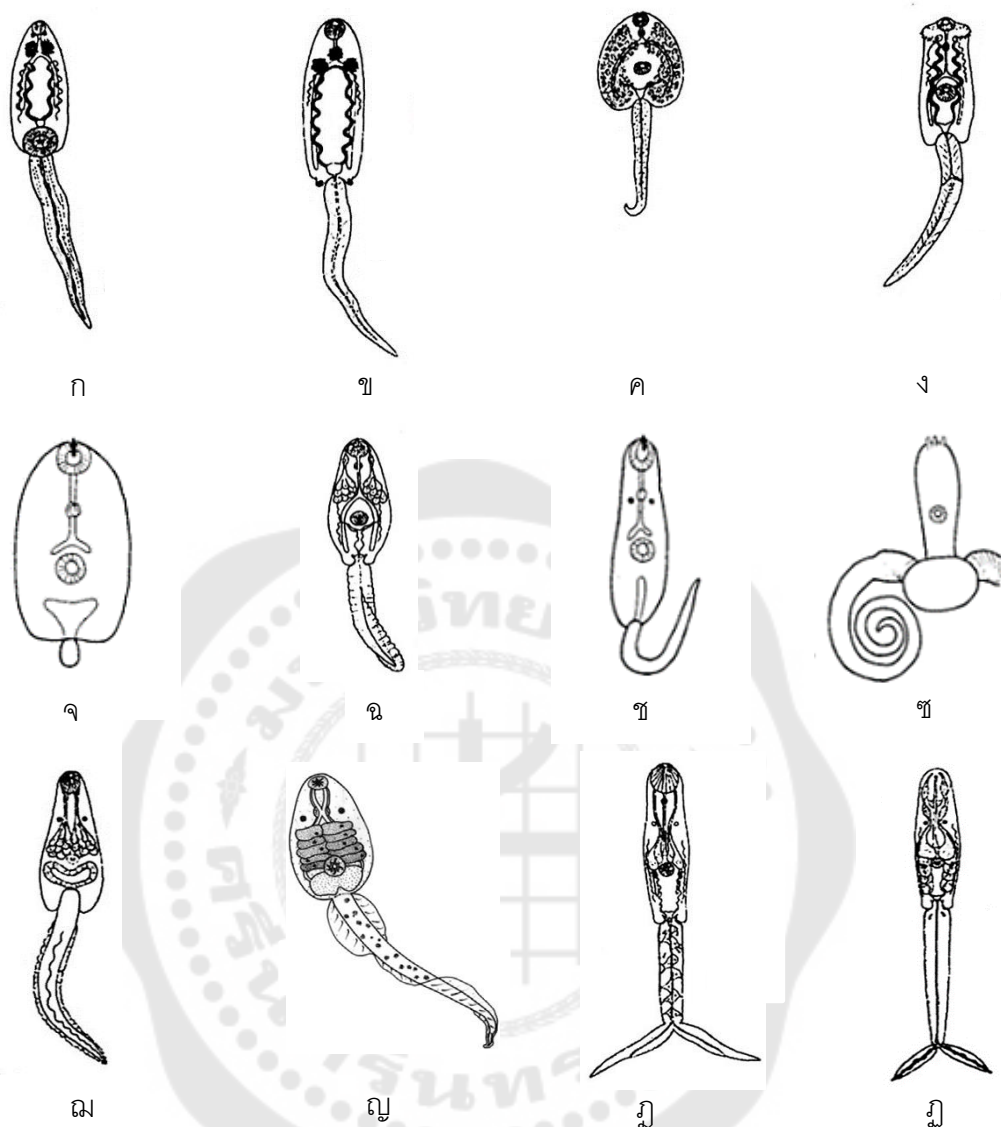
ตาราง 2 (ต่อ)

รูปแบบเซิร์คาเรีย	ลักษณะรูปร่าง	พัฒนาเป็นระยะตัวเต็มวัยในวงศ์
xiphidiocercaria	พบหนามบริเวณออร์ลซีกเกอร์และพบต่อมภายในลำตัว ได้แก่ ต่อมไขและต่อมสร้างเมือก (mucous gland) (ภาพประกอบ 3-ฉ)	Plagiorchiidae
gasterostome cercaria	ทางเดินอาหารมีรูปร่างคล้ายถุง ทางมีขนาดสั้นและแยกออกเป็น 2 แฉกสมมาตรกันคล้ายกับเขาสัตว์ (ภาพประกอบ 3-ช)	Bucephalidae
lophocercous cercaria	หางแยกออกเป็น 2 แฉก ไม่พบคอคอย แต่พบครีบกหาง (dorsal finfold) ตลอดความยาวของลำตัว (ภาพประกอบ 3-ซ)	Sanquinicolidae
pleurolophocercous cercariae	ลำตัวมีรูปร่างกลมรี พบตามบริเวณส่วนหัว ภายในลำตัวพบต่อมไข โดยส่วนหางไม่พบครีบก้านข้าง (lateral finfold) (ภาพประกอบ 3-ฅ)	Opisthorchiidae
parapleurolophocercous cercariae	ลำตัวมีรูปร่างกลมรี ภายในลำตัวพบจุดตาและต่อมไข บริเวณหางพบครีบก้านข้าง (ภาพประกอบ 3-ญ)	Heterophyidae

ตาราง 2 (ต่อ)

รูปแบบเซอ์คาเรีย	ลักษณะรูปร่าง	พัฒนาเป็นระยะตัวเต็มวัยในวงศ์
longifurcatepharyngeate furcocercous cercaria	ลำตัวมีรูปร่างกลมรี ภายในลำตัว พบ ออร์ลซึกเกอร์ คอหอย ต่อมไข ลำไส้ และ เวนทริลซึกเกอร์ โดยปลายหาง (tail stem) ยาวกว่า ส่วน ต้น หาง (stem fork) (ภาพประกอบ 3-ก)	Strigeoidae
brevifurcate apharyngeate furcocercous cercaria	ส่วนต้นหางยาวกว่าส่วนปลายหาง ไม่พบ คอหอย แต่พบออร์ลซึกเกอร์ ลำไส้ ต่อมไข และ เวนทริลซึกเกอร์ (ภาพประกอบ 3-ข)	Schistosomatoidae

ที่มา: (Schell, 1970)



ภาพประกอบ 3 รูปร่างของเซอ์คาเรียในลักษณะต่าง ๆ

- (ก) amphistome cercaria (ข) monostome cercaria (ค) gymnocephalous cercaria
 (ง) echinostome cercaria (จ) microcercous cercaria (ฉ) xiphidiocercaria
 (ช) gasterostome cercaria (ซ) lophocercous cercaria (ฅ) pleurolophocercous cercaria
 (ญ) parapleurolophocercous cercariae (ฎ) longifurcate pharyngeate furcocercous
 cercaria (ฏ) brevifurcate apharyngeate furcocercous cercaria

ที่มา: (Anucherngchai, Tejangkura, & Chontanarth, 2016; Roberts & Janovy, 2009; Schell, 1970)

4. การศึกษาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะต่าง ๆ โดยจำแนกตาม สถานวิทยา

การศึกษาค่าความชุกของการติดพยาธิใบไม้มีหลายวิธี เช่น การตรวจจุลจากระด้วยวิธี Modified Kato thick smear technique การตรวจเสมหะ การทดสอบทางซีรัม วิธี ELISA โดยใช้สารคัดถ่ายและสารคัดหลั่งจากตัวเต็มวัยพยาธิ โดยข้อมูลส่วนใหญ่เป็นข้อมูลที่ได้จากการตรวจผู้ป่วยที่ติดพยาธิ ซึ่งผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่ทราบการติดพยาธิมาก่อนหรือทราบภายหลังจากเกิดพยาธิสภาพ จึงมีการศึกษาการระบาดของพยาธิใบไม้ในโฮสต์ตัวกลางเพื่อหาแนวทางป้องกันการระบาดในมนุษย์ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม หรือสัตว์ปีก เนื่องจากโฮสต์ตัวกลางเป็นแหล่งอาศัยของพยาธิในการพัฒนาจากระยะตัวอ่อนเป็นระยะตัวเต็มวัย โดยมีรายงานการติดพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว ดังนี้

ปี 2537 Abdul-Salam สำนวนค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *Clypeomorus bifasciata* บริเวณอ่าวคูเวต โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวจำนวน 1,855 ตัว ระหว่างเดือนพฤศจิกายน ปี 1992 ถึง เดือนตุลาคม ปี 1993 จากการตรวจสอบพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียเท่ากับร้อยละ 5.00 โดยพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียสูงสุดในฤดูร้อนและฤดูใบไม้ผลิ ระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนตุลาคม และพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียต่ำสุดในฤดูหนาว ระหว่างเดือนมกราคม ถึง เดือนเมษายน (Abdul-Salam, 1994)

ปี 2540 Abdul-Salam et al. สำนวนการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *Clypeomorus bifasciata* บริเวณอ่าวคูเวต โดยสุ่มเก็บหอยน้ำจืดฝาดเดียว จำนวน 1,500 ตัว ระหว่าง ปี 1994 ถึง ปี 1995 จากการตรวจสอบพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้เท่ากับร้อยละ 37.80 โดยพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้สูงสุดใน 2 ฤดู ได้แก่ ฤดูหนาว ระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึง เดือนมกราคม และฤดูร้อน ระหว่างเดือนมิถุนายน ถึง เดือนสิงหาคม (Abdul-Salam, Sreelatha, & Al-Kandari, 1997)

ปี 2543 Al-Kandari et al. สำนวนการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียว *Cerithidea cingulate* บริเวณอ่าวคูเวต โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยจำนวน 2,537 ตัว พบค่าความชุกในการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้เท่ากับร้อยละ 49.90 โดยพบพยาธิใบไม้ในวงศ์ Cyathocotylidae, Echinostomatidae, Haplosporididae, Heterophyidae, Microphallidae, Philophthalmidae, Plagiorchiidae และ Schistosomatidae โดยพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้สูงสุดในช่วงฤดูร้อนและพบความหลากหลายของชนิดพยาธิใบไม้สูงสุดในช่วงฤดูหนาว (Al-Kandari, Abdul-Salam, & Meakins, 2000)

ปี 2544 Loy และ Haas ตรวจสอบความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะ เซอร์คาเรียในหอย *Lymnaea stagnalis* ในแหล่งน้ำจืดของประเทศเยอรมันนี โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง หอยน้ำจืดฝาเดียวจำนวน 43,441 ตัว ระหว่างปี 1980 ถึง ปี 2000 จากการตรวจสอบพบ ค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียเท่ากับร้อยละ 44.90 โดยพบพยาธิ ใบไม้ 9 ชนิด ได้แก่ *Apatemon minor*, *Diplostomum spathaceum*, *Echinostoma revolutum*, *Furcocercariae* sp., *Hypoderaeum conoideum*, *Isthmiophora melis*, *Pseudechinoparyphium echinatum*, *Trichobilharzia ocellate* และ *Xiphidiocercariae* sp. (Loy & Haas, 2001)

ปี 2545 Chingwena et al. ตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาเดียว ของประเทศซิมบับเว โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาเดียว จำนวน 13,789 ตัว ระหว่างเดือน พฤศจิกายน ปี 1998 ถึง เดือนตุลาคม ปี 2000 จากการตรวจสอบพบค่าความชุกของการติดพยาธิ ใบไม้เท่ากับร้อยละ 6.60 โดยพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้สูงสุดในหอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Bulinus tropicus* เท่ากับร้อยละ 13.10 และพบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียรูปแบบ echinostome cercaria สูงสุดคิดเป็นร้อยละ 38.20 รวมทั้งพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อน พยาธิใบไม้สูงสุดในช่วงก่อนฤดูฝน ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง เดือนพฤษภาคม (Chingwena, Mukaratirwa, Kristensen, & Chimbari, 2002)

ปี 2547 นภัสสร ไนตศิริ ตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิในหอยสกุล *Paludomus* spp. บริเวณลุ่มน้ำแควน้อย โดยสุ่มเก็บหอยน้ำจืดฝาเดียวด้วยวิธีใช้มือเก็บ (hand picking method) และกระชอนเก็บตัวอย่าง (scooping method) และสุ่มจับเวลา ซึ่งใช้ผู้เก็บ 5 คน คนละ 10 นาที (counts per unit of time) ในแต่ละพื้นที่สำรวจ จากการสำรวจพบตัวอ่อนพยาธิระยะเซอร์คาเรีย ของพยาธิใบไม้ 4 รูปแบบ ได้แก่ *parapleurolophocercous cercaria* เป็นตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่ก่อ โรคในปลาน้ำจืดขนาดเล็ก *strigea cercaria* เป็นตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในนก *virgulate cercaria* และ *cotylomicrocercous cercaria* เป็นตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในสัตว์สะเทินน้ำ สะเทินบก (นภัสสร ไนตศิริ, 2547)

ปี 2549 Yurlova et al. สำรวจความชุกในการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์ คาเรียในหอยน้ำจืดฝาเดียว *Lymnaea stagnalis* บริเวณทะเลสาบ Chany ของประเทศรัสเซีย โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอย จำนวน 7,543 ตัว ระหว่างปี 1982 ถึง 1999 จากการตรวจสอบพบพยาธิ ใบไม้ 4 ชนิด ได้แก่ *Echinoparyphium aconiatum*, *Echinoparyphium recurvatum*, *Cotylurus cornutus* และ *Moliniella anceps* ซึ่งค่าความชุกในการติดตัวอ่อนพยาธิระยะเมตาเซอร์คาเรียสูง กว่าร้อยละ 60.00 (Yurlova et al., 2006)

ปี 2549 วิวิษุตา เศรษฐา ตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียของ หอยน้ำจืดฝาดิยวงศ์ Thiaridae ในภาคเหนือของประเทศไทย โดยสุ่มเก็บหอยน้ำจืดฝาดิย ด้วยวิธีใช้มือและกระชอนเก็บตัวอย่างและสุ่มจับเวลา ซึ่งใช้ผู้เก็บ 5 คน คนละ 10 นาที ใน แต่ละพื้นที่สำรวจ จากการสำรวจพบตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ *Acanthatrium hitaense*, *Alaria mustelae*, *Cardicola alseae*, *Centrocestus formosanus*, *Cloacitrema philippinum*, *Haematoloechus similis*, *Haplorchis pumilio*, *H. taichui*, *Loxogenoides bicolor* และ *Transversotrema laruei* ซึ่งหอยน้ำจืดฝาดิยชนิด *Tarebia granifera* พบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้สูงถึงร้อยละ 5.00 และสามารถเป็นโฮสต์ กึ่งกลางของพยาธิใบไม้หลายชนิด (วิวิษุตา เศรษฐา, 2549)

ปี 2551 Choubisa ตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืด ฝาดิยจากรัฐราชสถาน ประเทศอินเดีย จากการตรวจสอบพบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะ เซอร์คาเรีย 6 รูปแบบ ได้แก่ xiphidiocercariae, amphistome cercariae, echinostome cerca- riae, furcocercouscercariae, gymnocephalous cercariae และ monostome cercariae โดย ช่วงปลายฝนต้นหนาว เป็นช่วงที่พบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียสูงสุด ซึ่งมีค่า ความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียเท่ากับร้อยละ 95.00 (Choubisa, 2008)

ปี 2553 น้ำฝน ภัทรคุณี ตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียของหอย น้ำจืดฝาดิยวงศ์ Thiaridae ในเขตภาคกลางของประเทศไทย โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืด ฝาดิย จำนวน 18,276 ตัว ด้วยวิธีใช้มือเก็บและกระชอนเก็บตัวอย่างและสุ่มจับเวลา ซึ่งใช้ผู้เก็บ 5 คน คนละ 10 นาที ในแต่ละพื้นที่สำรวจ จากการตรวจสอบพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อน พยาธิใบไม้เท่ากับร้อยละ 7.23 ในหอยฝาดิย 6 ชนิด ได้แก่ *Adamietta housei*, *Brotia costula*, *Melanoides tuberculata*, *Sermyla riqueti*, *Tarebia granifera* และ *Thiara scabra* โดยพบตัว อ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 7 รูปแบบ ได้แก่ 1) furcocercous cercariae เป็นพยาธิใบไม้ *Apatemon gracilis*, *Cardicola alseae*, *Cotylurus cornautus*, *Transversotrema laruei* และ *Alaria mustelae* 2) cotylomicrocercous cercariae เป็นพยาธิใบไม้ *Podocotyle lepomis* 3) megalurous cercariae เป็นพยาธิใบไม้ *Cloacitrema philippinum* และ *Philophthalmus* sp. 4) parapleurophocercous cercariae เป็นพยาธิใบไม้ *Haplorchis taichui*, *Stictodora tridactyla*, *Heterophyes heterophyes* และ *Haplorchis pumilio* 5) xiphidiocercariae เป็น พยาธิใบไม้ *Loxogenoides bicolor*, *Haematoloechus similis* และ *Acanthatrium hitaense* 6) pleurophocercous cercariae เป็นพยาธิใบไม้ *Centrocestus formosanus* 7) Renicolid

cercariae เป็นพยาธิใบไม้ชนิด *Cercaria caribbea* LXVIII โดยพยาธิใบไม้ *Philophthalmus* sp. สามารถพบได้ในหอย 5 ชนิด ได้แก่ *Adamietta housei*, *Brotia costula*, *Melanoides tuberculata*, *Tarebia granifera* และ *Thiara scabra* (น้ำฝน ภัทรคุณฐิติ, 2553)

ปี 2553 พีรพล รัตนไทย สำนวจการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืด ฝาดิยวงศ์ Thiaridae ในภาคใต้ของประเทศไทย โดยสุ้มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดิย จำนวน 21,501 ตัว ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ.2551 ถึง เดือนกันยายน พ.ศ.2552 ด้วยวิธีใช้มือและ กระชอนเก็บตัวอย่างและสุ้มจับเวลา ซึ่งใช้ผู้เก็บ 5 คน คนละ 10 นาที ในแต่ละพื้นที่สำวจ จากการสำวจพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียเท่ากับร้อยละ 13.65 และ พบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 17 ชนิด ได้แก่ *Haematoloechus similis*, *Centrocestus formosanus*, *Heterophyes heterophyes*, *Haplorchis taichui*, *Haplorchis pumilio*, *Stictodora tridactyla*, *Loxogenoides bicolor*, *Mesostephanus appendicalatus*, *Cardicola alseae*, *Alaria mustelae*, *Podocotyle lepomis*, *Transversotrema laruei*, *Apatemon gracilis*, *Acanthatrium hitaense*, *Philophthalmus* sp., *Gastrothylax crumenifer* และ *Cercaria caribbea* LXVIII (พีรพล รัตนไทย, 2553)

ปี 2554 Bdir และ Adwan สำนวจการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอย น้ำจืดฝาดิย *Melanopsis praemorsa* จากแหล่งน้ำจืดในประเทศปาเลสไตน์ โดยเก็บตัวอย่าง หอยน้ำจืดฝาดิยจำนวน 1,880 ตัว ระหว่างเดือนตุลาคม ปี 2008 ถึง เดือนพฤศจิกายน ปี 2010 พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ร้อยละ 5.70 และพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะ เซอร์คาเรีย 3 รูปแบบ ได้แก่ microcercous cercaria, xiphidiocercaria และ brevifurcate lophocercous cercaria (Bdir & Adwan, 2011)

ปี 2554 Devkota et al. ตรวจสอพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะ เซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดิยบริเวณตอนกลางของประเทศเนปาล โดยสุ้มเก็บตัวอย่างหอย น้ำจืดฝาดิย จำนวน 1,448 ตัว ระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึง เดือนตุลาคม ปี 2008 จากการ ตรวจสอพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ร้อยละ 4.30 ซึ่งพบการติดตัวอ่อนพยาธิ ใบไม้ในหอยชนิด *Thiara granifera*, *Gabbia orcula*, *Gyraulus euphraticus*, *Indoplanorbis exustus*, *Bellamya bengalensis* และ *Lymnaea luteola* โดยพบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะ เซอร์คาเรีย 6 รูปแบบ ได้แก่ brevifurcatepharyngeate, amphistome cercariae, clinostome cercariae, xiphidiocercaria, longifurcatepharyngeate และ gymnocephalus cercariae ใน หอย *G. euphraticus* และ *G. orcula* (Devkota, Budha, & Gupta, 2011)

ปี 2556 Niaz et al. ตรวจสอบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้เลือดชนิด *Schistosomae bovis* ในรัฐปัญจาบ ประเทศปากีสถาน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียว จำนวน 10,389 ตัว ระหว่างเดือนพฤศจิกายน ปี 2005 ถึง เดือนตุลาคม ปี 2006 จากการตรวจสอบพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียสูงสุดในหอยฝาดเดียวสกุล *Indoplanorbis* เท่ากับร้อยละ 38.00 รองลงมา ได้แก่ สกุล *Physa*, *Bellamaya*, *Gyraulus*, *Lymnaea*, *Oncomelania* และสกุล *Bulinus* ซึ่งมีค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะ เซอร์คาเรียเท่ากับร้อยละ 17.00, 10.30, 10.00, 9.20, 9.00 และ 6.70 ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ รายงานการพบ *Schistosoma bovis* cercaria ในหอยฝาดเดียวสกุล *Indoplanorbis* เท่านั้น นอกจากนี้ได้รายงานว่าความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝนมีความสัมพันธ์กับการติดตัวอ่อน พยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว โดยพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียสูงสุดในฤดู ร้อนเท่ากับร้อยละ 42.10 รองลงมา ได้แก่ ฤดูหนาว ฤดูใบไม้ร่วงและฤดูใบไม้ผลิ เท่ากับร้อยละ 27.00, 20.20 และ 10.50 ตามลำดับ (Niaz et al., 2013)

ปี 2556 Imani-Baran et al. ตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียใน หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *Lymnaea gedrosiana* ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศอิหร่าน โดยสุ่มเก็บหอยฝาดเดียววงศ์ Lymnaeidae จำนวน 6,759 ตัว ระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึง เดือน ธันวาคม ปี 2010 จากการตรวจสอบด้วยวิธี shedding พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิ ใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *L. gedrosiana* เท่ากับร้อยละ 8.03 โดยพบตัวอ่อน พยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 4 รูปแบบ ได้แก่ xiphidiocercariae, furcocercariae, echinostome cercariae และ monostome cercariae โดยพบเซอร์คาเรียรูปแบบ xiphidiocercariae มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 81.98 รองลงมา ได้แก่ furcocercariae, echinostome cercariae และ monostome cercariae มีค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียเท่ากับ ร้อยละ 32.26, 5.19 และ 1.24 รวมทั้งพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะ เซอร์คาเรียสูงสุดระหว่างเดือนมิถุนายน ถึง เดือนสิงหาคม (Imani-Baran, Yakhchali, Malekzadeh-Viayeh, & Farahnak, 2013)

ปี 2556 Chontanarith และ Wongsawad ศึกษาสถานการณ์การระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดเชียงใหม่ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียว จำนวน 2,479 ระหว่างเดือนเมษายน 2551 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ 2555 พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียร้อยละ 17.27 และพบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 9 รูปแบบ ได้แก่ gymnocephalous cercaria, strigea cercaria, megalurous cercaria, monostome cercaria, virgulate cercaria, pleurolophocercous cercaria, parapleurolophocercous cercaria, furcocercous cercaria และ xiphidiocercaria โดยพบ เซอร์คาเรียรูปแบบ parapleurolophocercous cercaria มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 64.25 (Chontanarith & Wongsawad, 2013)

ปี 2557 สุภัทรรดา ศรีทองแท้ ตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียบริเวณอ่าวไทย โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยฝาดเดียว จำนวน 17,293 ตัว ด้วยวิธีใช้มือและกระชอนเก็บตัวอย่างและสุ่มจับเวลา ซึ่งใช้ผู้เก็บ 5 คน คนละ 10 นาที ในแต่ละพื้นที่สำรวจ ระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ.2556 ถึง เดือนพฤษภาคม พ.ศ.2557 จากการตรวจสอบพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียว *Sermyla riqueti*, *Cerithidea quadrata*, *Cerithidea cingulate*, *Cerithidea djadjariensis*, *Assiminea brevicula*, *Littorinopsis intermedia*, *Cerithidea alata* และ *Clithon pequensis* เท่ากับร้อยละ 2.70, 3.82, 0.61, 0.56, 0.48, 0.39, 0.26 และ 0.22 ตามลำดับ โดยสามารถจัดจำแนกตัวอ่อนพยาธิใบไม้ออกเป็น 11 ชนิด ได้แก่ *Hypoderaeum conoideum*, *Haplorchis taichui*, *Ascorhytis charadriiformis*, *Cloacitrema philippinum*, *Mesostephanus appendiculatoides*, *Stictodora tridactyla*, *Metorchis intermedius*, *Parorchis acanthus*, *Himasthla interrupta*, *Heterophyes cercaria* I และ *Coitocaecum anaspidis* (สุภัทรรดา ศรีทองแท้, 2557)

ปี 2558 Luka และ Mbaya ศึกษาการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว รัฐ Borno ประเทศไนจีเรีย โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียว จำนวน 1,700 ตัว จากการตรวจสอบพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียว *Bulinus globosus*, *Bulinus forskalli* และ *Lymnaea natalensis* เท่ากับร้อยละ 1.75, 0.94 และ 0.55 ตามลำดับ โดยเซอร์คาเรียรูปแบบ distome cercaria เป็นพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola* spp. และ เซอร์คาเรียรูปแบบ cercariae เป็นพยาธิใบไม้เลือด *Schistosoma haematobium* (Luka & Mbaya, 2015)

ปี 2558 Rondelaud et al. สำรวจการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *Lymnaea glabra* ในอุทยานแห่งชาติ Brenne Regional ของประเทศฝรั่งเศส โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียว *L. glabra* จำนวน 321 ตัว ระหว่างปี 2014 ถึง 2015 จากการตรวจสอบพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *Haplometra cylindracea* ร้อยละ 5.30 ค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola hepatica* ร้อยละ 14.50 ค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *Calicophoron daubneyi* ร้อยละ 12.60 ค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิ *Opisthoglyphe ranae* ร้อยละ 5.80 ค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *Plagiorchis* sp., *Echinostoma revolutum* และ *Notocotylus* sp. น้อยกว่าร้อยละ 5.00 (Rondelaud, Vignoles, & Dreyfuss, 2015)

ปี 2559 Yousif et al. สำรวจการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย *Centrocestus formosanus* ในหอย *Melanoides tuberculata* บริเวณคลอง Mansouriya ประเทศอียิปต์ จากการสำรวจพบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียชนิด *opthalmopleurolophocercous cercariae* ซึ่งมีค่าความชุกของการติดพยาธิใบไม้ร้อยละ 1.97 นอกจากนี้พบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียบริเวณเหงือกปลา *Gambusia affinis* หลังจากนั้นนำตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียไปเลี้ยงในหนู *Rattus norvegicus* เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียพัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัย จากการตรวจสอบพบว่าเป็นพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก มีขนาดลำตัวยาว 518 um กว้าง 324 um มี 32 circumoral spines ล้อมรอบ oral sucker ซึ่งเป็นพยาธิใบไม้ *C. formosanus* ในวงศ์ Heterophyidae (Yousif, Ayoub, Tadros, & El Bardicy, 2016)

ปี 2560 Dao et al. สำรวจค่าความชุกของการติดพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในหอยสกุล *Bithynia* และปลาเกล็ดขาวในประเทศเวียดนาม โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวสกุล *Bithynia* จำนวน 1,616 ตัว และปลาเกล็ดขาว จำนวน 745 ตัว จากการสำรวจพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *Opisthorchis viverrini* ในหอย *B. s. goniomphalos* ร้อยละ 0.86 และค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *O. viverrini* ในหอย *B. funiculata* ร้อยละ 0.14 นอกจากนี้ตรวจพบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลา *Carassius auratus* ซึ่งมีค่าความชุกในการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ร้อยละ 74.00 ค่าความชุกในการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในปลา *Rasbora aurotaenia* คิดเป็นร้อยละ 55.80 และค่าความชุกในการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในปลา *Puntius brevis* คิดเป็นร้อยละ 31.60 (Dao et al., 2017)

ปี 2561 ชฎาภรณ์ ดั่งหังขึ้น และ สุภาพนา ชลธนานารถ ตรวจสอบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียวจากพื้นที่เกษตรกรรมของจังหวัดสระบุรี ระหว่างเดือนมกราคม ถึง เดือนมีนาคม พ.ศ.2560 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวจำนวนชนิดละ 50 ตัวต่อจุดเก็บตัวอย่าง โดยใช้วิธี stratified random sampling method รวมหอยน้ำจืดฝาดเดียวทั้งหมด จำนวน 2,029 ตัว จากการตรวจสอบพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ร้อยละ 2.32 โดยพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยฝาดเดียว 4 ชนิด ได้แก่ *Lymnaea auricularia*, *Bithynia siamensis*, *Adamietta housei* และ *Melanoides tuberculata* โดยรูปแบบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียที่พบ ได้แก่ parapleurolophocercous cercaria, xiphidiocercaria, pleurolophocercouscercaria และ echinostome cercaria ซึ่งมีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.79, 0.54, 0.49 และ 0.49 ตามลำดับ (ชฎาภรณ์ ดั่งหังขึ้น และ สุภาพนา ชลธนานารถ, 2561)

ตาราง 3 รายงานการศึกษาตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวที่พบในประเทศไทย

รูปแบบ เซอร์คาเรีย	หอยน้ำจืดฝาดเดียว	วงศ์พยาธิใบไม้	ชนิดพยาธิใบไม้
echinostome cercaria	<i>L. auricularia</i> <i>F. polygramma</i>	Echinostomatidae	<i>Echinostoma revolutum</i> <i>E. malayanum</i>
megalurous cercaria	<i>M. tuberculata</i> <i>T. granifera</i>	Philophthalmidae	<i>Philophthalmus</i> sp.
amphistome cercaria	<i>M. tuberculata</i>	Paramphistomatidae	<i>Gastrothylax crumenifer</i>
pleurolopho- cercous cercaria	<i>B. siamensis</i> <i>M. tuberculata</i> <i>T. scabra</i>	Heterophyidae	<i>Centrocestus formosanus</i>

ตาราง 3 (ต่อ)

รูปแบบ เชอร์คาเรีย	หอยน้ำจืดฝาเดียว	วงศ์พยาธิใบไม้	ชนิดพยาธิใบไม้
xiphidio- cercaria	<i>B. siamensis</i> <i>T. granifera</i> <i>T. scabra</i> <i>A. housei</i> <i>M. tuberculata</i>	Lecithodendriidae	<i>Acanthatrium hitaense</i>
	<i>T. granifera</i> <i>T. scabra</i> <i>M. tuberculata</i>	Haematoloecchidae	<i>Haematoloechus similis</i>
parapleurolo- phocercous cercaria	<i>A. housei</i> <i>M. tuberculata</i> <i>T. scabra</i> <i>T. granifera</i>	Heterophyidae	<i>Haplorchis taichui</i> <i>H. pumilio</i>
	<i>T. granifera</i>		<i>Stictodora tridactyla</i> <i>Heterophyes heterophyes</i>
	<i>Bithynia</i> sp.		<i>Opisthorchis viverrini</i>
furcocercous cercaria	<i>T. granifera</i> <i>T. scabra</i> <i>M. tuberculata</i>	Schistosomatoidae	<i>Transversotrema laruei</i>
	<i>M. tuberculata</i>	Strigeoidae	<i>Alaria mustelae</i>

ตาราง 3 (ต่อ)

รูปแบบ เซอร์คาเรีย	หอยน้ำจืดฝาเดียว	วงศ์พยาธิใบไม้	ชนิดพยาธิใบไม้
furcocercous	<i>M. tuberculata</i>	Strigeoidae	<i>Mesostephanus</i>
cercaria	<i>C. helena</i>		<i>appendiculatus</i>
	<i>M. tuberculata</i>		<i>Apatemon gracilis</i>
	<i>M. tuberculata</i>	Sanguinicolidae	<i>Cardicola alseae</i>

ที่มา: (ชฎาภรณ์ ดั่งหิ่งห้อย และ สุภาพนา ชลธนานารถ, 2561; นภัตสร นิตศิริ, 2547; น้ำฝน ภัทรดุณี, 2553; พีรพล รัตนไทย, 2553; สุภัทรา ศรีทองแท้, 2557; ไสธร อนุเชิงชัย, 2561)

5. การศึกษาตัวอ่อนพยาธิใบไม้โดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา

การระบุชนิดของตัวอ่อนพยาธิในอดีตที่ผ่านมาเป็นการศึกษาโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ซึ่งบางครั้งทำให้เกิดความผิดพลาดในการระบุชนิด จึงมีการนำเทคนิคทางอณูชีววิทยามาประยุกต์ใช้ในการระบุชนิดของพยาธิเพื่อให้ผลการตรวจสอบที่ถูกต้องซึ่งรายงานการระบุชนิดของพยาธิใบไม้ด้วยวิธีการทางอณูชีววิทยามี ดังนี้

ปี 2549 Cucher et al. ตรวจสอบการติดพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola hepatica* ในหอยน้ำจืดฝาเดียว *Lymnaea columella* และ *Lymnaea viatrix* โดยทดสอบด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ซึ่งจากการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ FhCO1F: 5' TAT GTT TTG ATT TTA CCC GGG 3' และ FhCO1R 5' ATG AGC AAC CAC AAA CCA TGT 3' พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมและให้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาดประมาณ 405 คู่เบส และจากการนำไพรเมอร์ (primer) ไปใช้ทดสอบความไว (sensitivity) ในการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับพบว่าสามารถตรวจหาพยาธิใบไม้ตับได้และไม่เกิดปฏิกิริยาข้าม (cross reactivity) กับพยาธิชนิดอื่น แสดงว่าไพรเมอร์จำเพาะมีความจำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *F. hepatica* (Cucher, Carnevale, Prepelitchi, Labbé, & Wisnivesky-Colli, 2006)

ปี 2551 Parvathi et al. พัฒนาวิธีการตรวจหอยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในปลา โดยออกแบบไพรเมอร์จำเพาะต่อ *O. viverrini* ดังนี้ Trem24-F: 5' ACT GGA TAA AAG GAA G 3' และ OV25-4R: 5' AAT GAA CGG AAA TCG TGA CC 3' จากการทดสอบด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสพบว่าแสดงผลบวกต่อพยาธิใบไม้ *O. viverrini* ทั้งตัวอ่อนระยะเมตาเซอ์คารีเยและตัวเต็มวัย โดยเกิดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาด 229 คู่เบส ซึ่งมีความจำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *O. viverrini* สำหรับ *Echinostoma malayanum*, *Centrocestus formosanus*, *Clonorchis sinensis*, *Fasciola gigantica*, *Spirometra* sp., *Haplorchis taichui*, *Taenia saginata* และ *Puntius* spp. แสดงผลลบ (Parvathi et al., 2008)

ปี 2552 Sato et al. ระบุชนิดของพยาธิใบไม้ *Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis*, *Haplorchis taichui* และ *H. pumilio* โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ Internal Transcribed Spacer1 (ITS1) โดยใช้ forward primer: 5' GTA TGC TTC GGC AGC TCG ACC GG 3' และ reverse primer: 5' GGC TGC GCT CTT CAT CGA CAC ACG 3' พบว่า *O. viverrini* ลำดับเบสมีความยาว 800 คู่เบส, *C. sinensis* ลำดับเบสมีความยาว 820 คู่เบส, *H. pumilio* ลำดับเบสมีความยาว 1250 คู่เบส, *H. taichui* ลำดับเบสมีความยาว 930 คู่เบส และเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ ITS2 โดยใช้ forward primer: 5' CTT GAA CGC ACA TTG CGG CCA TGG G 3' และ reverse primer: 5' GCG GGT AAT CAC GTC TGA GCC GAG G 3' พบว่า *O. viverrini* ลำดับเบสมีความยาว 380 คู่เบส, *C. sinensis* ลำดับเบสมีความยาว 390 คู่เบส, *H. pumilio* ลำดับเบสมีความยาว 380 คู่เบส, *H. taichui* ลำดับเบสมีความยาว 530 คู่เบส ซึ่งบริเวณ ITS2 สามารถแยกชนิดของ *H. taichui* ออกจากพยาธิใบไม้ *O. viverrini*, *C. sinensis* และ *H. pumilio* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Sato, Thaenkham, Dekumyoy, & Waikagul, 2009)

ปี 2554 Saijuntha et al. ศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพยาธิใบไม้ *Echinostoma revolutum* และ *Echinoparyphium recurvatum* โดยนำพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัย *E. revolutum* และ *E. recurvatum* ที่ได้จากลำไส้เปิดมาสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ ITS1 ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสด้วยไพรเมอร์ BD1: 5' GTC GTA ACA AGG TTT CCG TA 3' และ BD2 5' TAT GCT TAA ATT CAG CGG GT 3' จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1 พบว่าพยาธิใบไม้ *E. revolutum* และ *E. recurvatum* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน (Saijuntha, Tantrawatpan, Sithithaworn, Andrews, & Petney, 2011a)

ปี 2554 Van De และ Le ตรวจสอบสถานการณ์การระบาดและระบุอัตลักษณ์เชิงโมเลกุลของพยาธิใบไม้ที่พบในจังหวัดน่านมดิงห์ ประเทศเวียดนาม ระหว่างเดือนมกราคม ปี 2009 ถึง เดือนธันวาคม ปี 2010 พบค่าความชุกของพยาธิใบไม้ชนิด *Clonorchis sinensis* ร้อยละ 14.58 ค่าความชุกของพยาธิใบไม้ชนิด *Haplorchis taichui* ร้อยละ 32.29 ค่าความชุกของพยาธิใบไม้ชนิด *Haplorchis pumilio* ร้อยละ 52.08 และค่าความชุกของพยาธิใบไม้ชนิด *Centrocestus formosanus* ร้อยละ 1.04 และจากการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Cytochrome C oxidase 1 (CO1) วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพยาธิใบไม้พบว่าจัดกลุ่มพยาธิใบไม้ได้ 5 กลุ่ม ได้แก่ fasciolid, heterophyid, opisthorchiid, paragonimid และ schistosomid (Van De & Le, 2011)

ปี 2557 จิตติยวดี ศรีภา ตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาน้ำจืดของอำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี พบว่าค่าความชุกของ *C. formosanus* ร้อยละ 25.11 ค่าความชุกของ *H. pumilio* ร้อยละ 9.09 และค่าความชุกของ *H. taichui* ร้อยละ 1.30 และจากการนำตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียที่พบมาสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ ITS2 ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กและพยาธิใบไม้ตับ พบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีความยาว 367 คู่เบส หลังจากเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะกับ *C. formosanus* บริเวณ ITS2 จึงระบุได้ว่าตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียที่พบเป็นตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ *C. formosanus* (จิตติยวดี ศรีภา, 2557)

ปี 2557 Chontanarith et al. ศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพยาธิใบไม้ในวงศ์ Heterophyidae โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ CO1 ของพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยวงศ์ Heterophyidae 5 ชนิด ได้แก่ *Centrocestus caninus*, *Stellantchasmus falcatus*, *Haplorchis pumilio*, *H. taichui*, *Haplorchoides* sp. และตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *H. pumilio*, *H. taichui*, *C. caninus* และ *S. falcatus* มาสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ CO1 ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยใช้ forward primer: 5' TTT TTT GGG CAT CCT GAC GTT TAT 3' และ reverse primer: 5' TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG 3' พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ CO1 ของพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae มีความยาวประมาณ 370-390 คู่เบส และจากการสร้างแผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) เพื่อแสดงความสัมพันธ์ของพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae โดยใช้โปรแกรม MEGA และวิเคราะห์ข้อมูลด้วย maximum likelihood (ML) และ neighbor-

joining (NJ) พบว่าการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย ML และ NJ ให้ผลที่สอดคล้องตรงกัน โดยแผนภาพความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการปรากฏในลักษณะ monophyletic และแบ่งกลุ่มพยาธิใบไม้ออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ 1) กลุ่ม *H. pumilio* 2) กลุ่ม *H. taichui* 3) กลุ่มพยาธิใบไม้อื่น ๆ ที่อยู่ในวงศ์ Heterophyidae เช่น สกุล *Metagonimus*, *Stellantchasmus*, *Haplorchoides*, *Centrocestus* และ *Pygidiopsis* โดย *H. pumilio* และ *H. taichui* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมากกว่าพยาธิใบไม้ชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ในวงศ์ Heterophyidae (Chontanarith, Wongsawat, Chomdej, Krailas, & Chai, 2014)

ปี 2558 W. Y. Al-Kandari et al. ระบุอัตลักษณ์เชิงโมเลกุลของพยาธิใบไม้ *Stictodora tridactyla* ที่พบในหอยฝาเดียว *Cerithidea cingulate* บริเวณอ่าวคูเวต โดยนำตัวอย่างของพยาธิใบไม้มาสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ ITS1 ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ 5' GGT AAG TGC AAG TCA TAA GC 3' และ 5' GCT GCG CTC TTC ATC GAC A 3' พบว่าลำดับเบสมีความยาว 900 คู่เบส จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ ITS2 ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ 5' CTC GGC TCG GTG TCG ATG A 3' และ 5' GCA TGC ATT CAG CGG GTA 3' พบว่าลำดับเบสมีความยาว 450 คู่เบส และจากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ CO1 โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ 5' TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT 3' และ 5' CAA CAA ATC ATG ATG CAA AAG G 3' พบว่าลำดับเบสมีความยาว 1,000 คู่เบส นอกจากนี้การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพยาธิใบไม้ในวงศ์ Heterophyidae โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1 และลำดับนิวคลีโอไทด์ CO1 พบว่า *Stictodora tridactyla* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *Cercariae batillariae* โดยปรากฏในลักษณะ monophyletic clades ขณะที่การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพยาธิใบไม้ในวงศ์ Heterophyidae โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 พบว่า *S. tridactyla* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *Haplorchis pumilio*, *Haplorchis popelkae*, *Haplorchis taichui*, *Haplorchis yokogawai* และ *Procerovum cheni* (Al-Kandari, Alnaqeeb, Isaac, & Al-Bustan, 2015)

ปี 2558 Sanpool et al. ศึกษาลักษณะสัณฐานและระบุอัตลักษณ์เชิงโมเลกุลของ พยาธิใบไม้ *Paragonimus macrorchis* ของประเทศไทย จากการตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิ ใบไม้ในปูน้ำจืดพบตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรีย หลังจากนั้นนำตัวอ่อนพยาธิใบไม้ ระยะเมตาเซอร์คาเรียมาสกัดและเพิ่มสารพันธุกรรมบริเวณ ITS2 โดยใช้ primer 3S: 5' GGT ACC GGT GGA TCA CTC GGC TCG TG 3' และ BD2: 5' TAT GCT TAA ATT CAG CGG GT 3' และเพิ่มลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของ CO1 โดยใช้ primer JB3: 5' TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT 3' และ JB4.5: 5' TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG 3' จากนั้น หาลำดับนิวคลีโอไทด์ ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาพร้อมกับระบุอัตลักษณ์ เชิงโมเลกุลพบว่า เป็นพยาธิใบไม้ปอด *P. macrorchis* และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิง วิวัฒนาการของพยาธิใบไม้ *P. macrorchis* พบว่าบริเวณ ITS2 สามารถระบุความคล้ายคลึง (similarity) สูงถึงร้อยละ 99.00-100.00 ขณะที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ CO1 สามารถระบุความ คล้ายคลึงได้เท่ากับร้อยละ 94.00 (Sanpool et al., 2015)

ปี 2558 Sripalwit et al. ตรวจสอบค่าความชุกและศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ ของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก *Stellantchasmus falcatus* โดยสุ่มเก็บตัวอย่างปลาน้ำจืด 4 ชนิด ได้แก่ *Dermogenys pusillus*, *Henicorhynchus siamensis*, *Cyclocheilichthys armatus* และ *Puntius brevis* พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียเท่ากับร้อยละ 0.90, 0.73, 0.33 และ 0.33 ตามลำดับ ซึ่ง *Dermogenys pusillus* เป็นชนิดปลาที่พบความ หนาแน่นเฉลี่ยสูงสุดในการติดเมตาเซอร์คาเรียเท่ากับ 919 และจากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม บริเวณ ITS2 ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยใช้ forward primer: 5' GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC 3' และ reverse primer: 5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3' พบว่า เมตาเซอร์คาเรียที่พบมีความยาวเบสเท่ากับ 410-590 คู่เบส ซึ่งเป็นพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก ชนิด *S. falcatus* ในวงศ์ Heterophyidae (Sripalwit et al., 2015)

ปี 2559 Anucherngchai et al. ตรวจสอบสถานการณ์การระบาดและระบุอัตลักษณ์ เชิงโมเลกุลของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียที่พบในหอยฝาเดียว บริเวณที่ราบลุ่มน้ำ เจ้าพระยาของประเทศไทย โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยฝาเดียว จำนวน 2,067 ตัว พบค่าความชุกใน การติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียเท่ากับร้อยละ 0.06 ซึ่งหอยฝาเดียววงศ์ Thiaridae พบ การติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้สูงที่สุด รองลงมาคือวงศ์ Lymnaeidae, Bithyniidae, Planorbidae, Viviparidae และ Ampullariidae ตามลำดับ ขณะที่หอยวงศ์ Buccinidae ไม่พบการติดพยาธิ ใบไม้ นอกจากนี้พบเซอร์คาเรีย 9 รูปแบบ ได้แก่ parapleurolophocercous cercaria, xiphidio-

cercaria, megarulous cercaria, furcocercous cercaria, virgulate cercaria, echinostome cercaria, monostome cercaria, cercariae และ pleurolophocercous cercaria นอกจากนี้วิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพยาธิใบไม้โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 พบว่าจำแนกตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอ์คาเรียได้ 5 วงศ์ ดังนี้ Heterophyidae, Echinostomatidae, Philophthalmidae, Lecithodendriidae และ Strigeidae โดย วงศ์ Philophthalmidae มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับ วงศ์ Echinostomatidae มากที่สุด (Anucherngchai et al., 2016)

ปี 2560 Sinuon และ Krailas ตรวจหาค่าความชุกและระบุอัตลักษณ์เชิงโมเลกุลของพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในหอยสกุล *Bithynia* ของจังหวัดกำแพงเพชร ประเทศกัมพูชา โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอย *Bithynia siamensis siamensis* จำนวน 2,797 ตัว และ *B. siamensis goniomphalos* จำนวน 1,769 ตัว พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ร้อยละ 0.46 และ 1.07 ตามลำดับ จากนั้นนำตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอ์คาเรียมาสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ ITS2 ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยใช้ forward primer: 5' CTT GAA CGC ACA TTG CGG CCA TGG G 3' และ reverse primer: 5' GCG GGT AAT CAC GTC TGA GCC GAG G 3' พบลำดับเบสมีความยาว 380 คู่เบส ซึ่งเป็นพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Sinuon & Krailas, 2017)

ปี 2560 Chontanarith et al. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและสร้างแผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพยาธิใบไม้ที่พบในหอยฝาเดียวของจังหวัดนครนายก โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยฝาเดียว จำนวน 2,869 ตัว พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในวงศ์ Thiaridae, Bithyniidae, Buccinidae, Lymnaeidae, Viviparidae และ Planorbidae คิดเป็นร้อยละ 15.90, 8.40, 6.00, 1.70, 1.60 และ 0.64 ตามลำดับ โดยพบเซอ์คาเรียทั้งหมด 7 รูปแบบ ได้แก่ cercariae, megalurous cercariae, echinostome cercariae, furcocercous cercariae, virgulate cercariae, xiphidiocercariae และ parapleurolophocercous cercariae หลังจากนั้นนำตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอ์คาเรียมาสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมบริเวณ ITS2 ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสโดยใช้ forward primer: 5' GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC 3' และ reverse primer: 5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3' พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 จัดกลุ่มพยาธิใบไม้ออกเป็น 6 อันดับและวงศ์ ดังนี้ Opisthorchiida (Heterophyidae), Echinostomatida (Echinostomati-dae), Plagiorchiida (Prosthogonimi-

dae), Plagiorchiida (Lecithodendriidae), Echinostomatida (Philophthalmidae) และ Strigeatida (Cyathocotylidae) (Chontanarith, Tejangkura, Wetchasart, & Chimburut, 2017)

ปี 2560 Chontanarith et al. ระบุอัตลักษณ์ของพยาธิใบไม้ *Centrocestus caninus* และ *Stellantchasmus falcatus* ด้วยกระบวนการ multiplex PCR โดยเพิ่มลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS2 ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ 2 คู่ ได้แก่ 1) ไพรเมอร์จำเพาะต่อ *C. caninus* คือ CC-F 5' CGG CGT GAT TTC CTT GTG CTT TGC 3' และ CC-R 5' GCA CAC ATT AGA AAC GCG TGC AAT 3' 2) ไพรเมอร์จำเพาะต่อ *S. falcatus* คือ ST-F 5' CTG TTG TAG GGT GCC GGA TC 3' และ ST-R 5' GCA CAC ATT AGA AAC GCG TGC AAT 3' พบว่าแสดงผลบวกต่อ *C. caninus* และ *S. falcatus* โดยเกิดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาด 231 และ 137 คู่เบส ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของกระบวนการ annealing อยู่ในช่วง 54-59 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของปริมาณสารพันธุกรรมที่ต่ำที่สุดที่สามารถวัดได้มีความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 ng/mL (Chontanarith, 2017)

ปี 2561 Chontanarith et al. ระบุอัตลักษณ์ของพยาธิใบไม้ลำไส้ *Haplorchis taichui* โดยใช้ forward primer (HT-F: 5' CCT GAG ATA CGG CTA CCA CTT CCA AGG 3' และ reverse primer (HT-R: 5' AGG CAC AGA GGA CAG GCG TAC TA 3') พบว่าแสดงผลบวกต่อ *H. taichui* โดยเกิดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาด 1,075 คู่เบส และไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิใบไม้ชนิดอื่น นอกจากนี้พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของกระบวนการ annealing อยู่ในช่วง 55-60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของปริมาณสารพันธุกรรมที่ต่ำที่สุดที่ไพรเมอร์จำเพาะสามารถวัดได้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.31 ng/mL (Chontanarith, Anucherngchai, & Tejangkura, 2018)

ปี 2562 Anucherngchai และ Chontanarith ระบุอัตลักษณ์ของพยาธิใบไม้ลำไส้ *Echinostoma revolutum* โดยใช้ forward primer: 5' GGT GTG GTC TGG TTA CGA CC 3' และ reverse primer: 5' GAC ACA GCA GAA AGG AAG CAC 3' พบว่าแสดงผลบวกต่อ *E. revolutum* โดยเกิดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาด 71 คู่เบส และไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิใบไม้ชนิดอื่น นอกจากนี้พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของกระบวนการ annealing คือ 53.8 องศาเซลเซียสและความเข้มข้นของปริมาณสารพันธุกรรมที่ต่ำที่สุดที่ไพรเมอร์จำเพาะสามารถวัดได้มีความเข้มข้นเท่ากับ 90 pg/mL (Anucherngchai & Chontanarith, 2019)

ตาราง 4 รายงานการศึกษาตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยาโดยใช้ยีนต่าง ๆ

วงศ์พยาธิใบไม้	ชนิดพยาธิใบไม้	ยีน/บริเวณ	ผู้วิจัย
Opisthorchiidae และ Heterophyidae	<i>Opisthorchis viverrini</i> , <i>Clonorchis sinensis</i> , <i>Haplorchis pumilio</i> และ <i>Haplorchis taichui</i>	ITS1 และ ITS2	Sato et al., 2009
Heterophyidae	<i>Haplorchis pumilio</i> , <i>Haplorchis taichui</i> , <i>Haplorchis yokogawai</i> , <i>Procerovum varium</i> , <i>Procerovum cheni</i> และ <i>Stellantchasmus falcatus</i>	18S rDNA, 28S rDNA และ ITS2	Thaenkham et al., 2010
Echinostomatidae	<i>Echinostoma revolutum</i> และ <i>Echinoparyphium</i> <i>recurvatum</i>	ITS1	Saijuntha et al., 2011
Opisthorchiidae และ Heterophyidae	<i>Clonorchis sinensis</i> , <i>Haplorchis pumilio</i> และ <i>Haplorchis taichui</i>	CO1	Van De & Le, 2011
Paragonimidae และ Fasciolidae	<i>Paragonimus</i> <i>westermani</i> , <i>Fasciolopsis buski</i> และ <i>Fasciola gigantica</i>	ITS2	Prasad et al., 2011

ตาราง 4 (ต่อ)

วงศ์พยาธิใบไม้	ชนิดพยาธิใบไม้	ยีน/บริเวณ	ผู้วิจัย
Heterophyidae	<i>Stictodora tridactyla</i>	ITS1, ITS2 และ CO1	W.Y. Al-Kandari et al., 2015
Paragonimidae	<i>Paragonimus macrorchis</i>	CO1 และ ITS2	Sanpool et al., 2015
Heterophyidae	<i>Stellantchasmus falcatus</i>	ITS2	Sripalwit et al., 2015
Opisthorchiidae	<i>Opisthorchis viverrini</i>	ITS2	Boonmekama et al., 2017
Heterophyidae	<i>Haplorchis taichui</i> และ <i>Haplorchis pumilio</i>	ITS2	Anucherngchai et al. 2017

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาการระบาดของอณูชีววิทยา

- 1.1.1 ถุงมืออนามัย (ศรีตรังโกลฟส์, 03024)
- 1.1.2 อุปกรณ์เครื่องแก้ว (หลอดหยดสาร จานเพาะเชื้อ ปีกเกอร์ เป็นต้น)
- 1.1.3 ชุดเครื่องมือผ่าตัด (กรรไกร เข็มเย็บ มีด ปากคีบ ถาดโลหะ)
- 1.1.4 สไลด์ (slide) และกระจกปิดสไลด์ (cover glass) (HUA, 7101)
- 1.1.5 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) (Olympus, GH30RF-200)
- 1.1.6 เครื่องทำความเย็น (Sanden intercool, SCE-0465)
- 1.1.7 เครื่องปั่นไฟฟ้า (Philips)
- 1.1.8 ตะแกรง (sieve) (sieve Tokyo screen, JIS28801)
- 1.1.9 ไมโครเวฟ (Electrolux, EMM2023MW)
- 1.1.10 thermal cycler machine (Flex Cycler²)
- 1.1.11 micropipette (Thermo scientific)
- 1.1.12 microcentrifuge tube (Quality Scientific Plastics, 16490071)
- 1.1.13 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) (Gyrozen, mini)
- 1.1.14 เครื่องผสมเขย่า (vortex mixer) (Biosan, v.1 plus)
- 1.1.15 เครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า (gel electrophoresis) (Hercuvan Lab Systems, TT-HES-1)

1.2 ชุดโปรแกรมที่ใช้ในการศึกษาการระบาดของอณูชีววิทยา

- 1.2.1 โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)
- 1.2.2 โปรแกรม MEGA 7.0.26
- 1.2.3 โปรแกรม QGIS

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาการระบอดและอณูชีววิทยา

- 2.1.1 ชุดสกัด DNA (GF-1 tissue DNA extraction kit) (Vivantis, Malaysia)
- 2.1.2 primer (Firstbase)
- 2.1.3 *Taq* DNA polymerase (Vivantis company, Malaysia)
- 2.1.4 deoxyribonucleotide triphosphate (dNTP) (Vivantis, Malaysia)
- 2.1.5 agarose (Vivantis company, Malaysia)
- 2.1.6 สีย้อมเจล (DNA gel stain) (SYBR Safe)
- 2.1.7 magnesium chloride ($MgCl_2$) (Vivantis company, Malaysia)
- 2.1.8 ethyl alcohol
- 2.1.9 deionized H_2O
- 2.1.10 proteinase K (Vivantis company, Malaysia)

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรและการถ่ายภาพ

- 2.2.1 haematoxylin
- 2.2.2 2% destain
- 2.2.3 permount (Fisher Chemical, 165656)
- 2.2.4 xylene (PanReacAppliChem ITW Reagents, 0000955725)
- 2.2.5 4% formalin
- 2.2.6 butyl alcohol (Ajax Finechem, 1120)
- 2.2.7 ethyl alcohol (VWR Production Chemicals, 18B094018)
- 2.2.8 neutral red (Ajax Finechem, 2355-25G)

3. วิธีการทดลอง

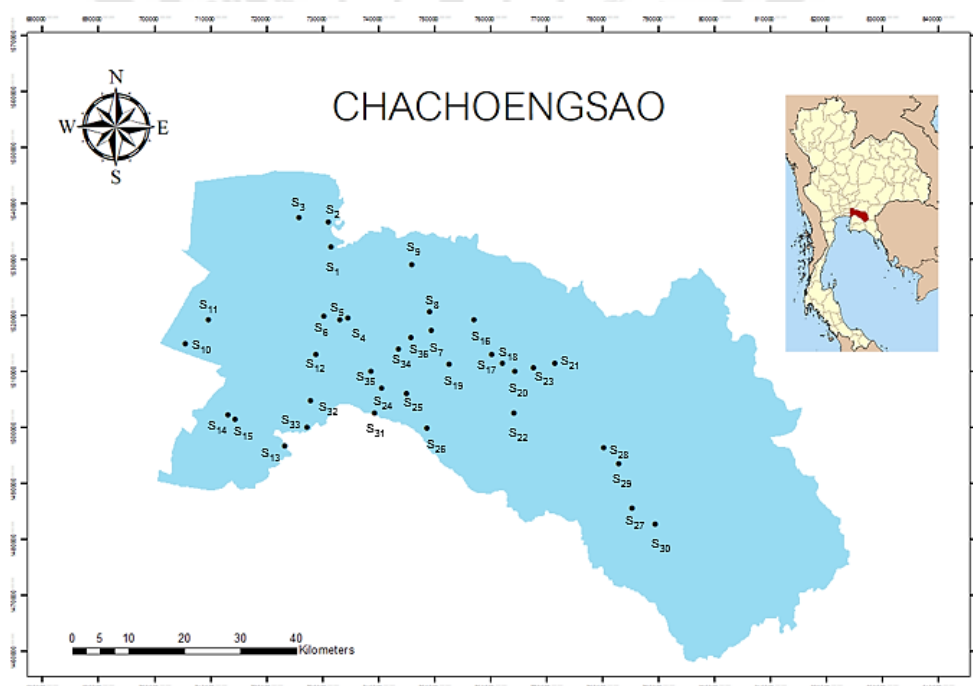
3.1 การขออนุญาตใช้สัตว์ทดลองเพื่องานทางวิทยาศาสตร์

กรอกรายละเอียดข้อมูลลงในใบขออนุญาตใช้สัตว์ทดลอง เช่น ขั้นตอนและวิธีทดลองในสัตว์ทดลอง เหตุผลที่ต้องใช้สัตว์ทดลอง รายละเอียดสัตว์ทดลองที่ใช้ในงานวิจัย และการปฏิบัติกับสัตว์ทดลอง จากนั้นยื่นใบขออนุญาตใช้สัตว์ทดลองที่คณะกรรมการกักกันกรองกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อให้คณะกรรมการ

กำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์พิจารณา โดยได้เลขที่ขออนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ศธ 6912 (1)/ว.จ_2

3.2 การกำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างและการเก็บหอยน้ำจืดฝาดเดียว

สุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวจำนวนชนิดละ 50 ตัวต่อจุดเก็บตัวอย่าง (Tong et al., 2015) และระบุชนิดหอยน้ำจืดฝาดเดียวตามหลักเกณฑ์การจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะสัณฐานทางวิทยาโดยใช้รูปวิธานของ Brandt (Brandt, 1974) ซึ่งตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวได้จากการสุ่มแบบแบ่งชั้น (stratified random sampling) (Freedman et al., 2007) โดยแบ่งชั้นต้นตามแต่ละอำเภอของจังหวัดฉะเชิงเทรา จากนั้นแบ่งอำเภอที่มีพื้นที่น้อยกว่า 50 ตารางกิโลเมตร ได้แก่ อำเภอคลองเขื่อน อำเภอรสาชานส์ อำเภอบ้านโพธิ์ อำเภอบางคล้า อำเภอแปลงยาว อำเภอบางปะกง อำเภอเมืองและอำเภอบางน้ำเปรี้ยว สุ่มเก็บตัวอย่างอำเภอละ 3 จุดเก็บตัวอย่าง สำหรับอำเภอที่มีพื้นที่มากกว่า 50 ตารางกิโลเมตร ได้แก่ อำเภอพนมสารคาม อำเภوتاตะเกียบ และอำเภอสนามชัยเขต สุ่มเก็บตัวอย่างอำเภอละ 4 จุดเก็บตัวอย่าง โดยสุ่มจุดเก็บตัวอย่างตามโอกาส (opportunistic sampling) รวมจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 36 จุด (ภาพประกอบ 4-5) รวมทั้งระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ของแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง และบันทึกด้วยระบบระบุตำแหน่งบนพื้นโลก (Global Positioning System : GPS) โดยแสดงหน่วยเป็น UTM (ตาราง 5)



ภาพประกอบ 4 จุดเก็บตัวอย่างในแต่ละอำเภอของจังหวัดฉะเชิงเทรา



ก



ข



ค



ง



จ



ฉ

ภาพประกอบ 5 จุดเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดผาเดียวในแหล่งน้ำต่าง ๆ

(ก) อ่างบัว (ข) สระน้ำ (ค) หนองน้ำ (ง) คลองชลประทาน (จ) คูระบายน้ำ (ฉ) อ่างเก็บน้ำ

ตาราง 5 จุดเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดผาเดียวในจังหวัดฉะเชิงเทรา

จุดเก็บตัวอย่าง	พิกัดภูมิศาสตร์ (UTM)	รหัส
คลองสามหอม	47Q731507 UTM1532231	S1
บางขนาก	47Q730893 UTM1536626	S2
หมอนทอง	47Q725741 UTM1537400	S3
คลองลุงกิม	47Q734427 UTM1519522	S4
สามร่ม	47Q733015 UTM1519245	S5
คลองตาแก้ว	47Q733016 UTM1519245	S6
คลองชลประทาน	47Q749311 UTM1517278	S7
บางพุทรา	47Q749085 UTM1520725	S8
หินดาษ	47Q745828 UTM1529084	S9
เปรี้ง	47Q705419 UTM1514900	S10
คลองอุดมชลจร	47Q709500 UTM1519249	S11
นครเนื่องเขต	47Q730110 UTM151987	S12
บางผึ้ง	47Q723250 UTM1496730	S13
ปลายคลอง	47Q713092 UTM1502221	S14
ท่าสะพาน	47Q714314 UTM1501433	S15
หนองเสือ	47Q756974 UTM1519170	S16
คลองซอยแปด	47Q760176 UTM1513113	S17
พนมชัย	47Q762036 UTM1511416	S18
หนองแหน	47Q752469 UTM1511324	S19
ห้วยนา	47Q764361 UTM1510061	S20
ป่ายาง	47Q771476 UTM1511475	S21
คูยายหมี	47Q764100 UTM1502563	S22
บ้านตาเล็ก	47Q767612 UTM1510675	S23
หนองไผ่แก้ว	47Q740503 UTM1507015	S24
บ้านคลอง	47Q744914 UTM1505984	S25
วังเย็น	47Q748591 UTM1499944	S26

ตาราง 5 (ต่อ)

จุดเก็บตัวอย่าง	พิกัดภูมิศาสตร์ (UTM)	รหัส
คลองตะเกรา	47Q785150 UTM1485535	S27
ทุ่งยายชี	47Q780196 UTM1496343	S28
หนองประโยชน์	47Q782780 UTM1493562	S29
อ่างเก็บน้ำคลองสียัด	47Q789342 UTM1482685	S30
แหลมประดู่	47Q739234 UTM1502497	S31
บ่อกุ้ง	47Q732924 UTM1503762	S32
สิบเอ็ดศอก	47Q727726 UTM1504859	S33
บ้านหลังใหญ่ เสมัดใต้	47Q738546 UTM1510033	S34
หนองตัน เสมัดเหนือ	47Q728733 UTM1513111	S35
หนองปลาตะเพียน	47Q743508 UTM1513945	S36

3.3 การตรวจหาการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยวิธี crushing และการเก็บรักษาตัวอ่อนพยาธิ

นำหอยน้ำจืดฝาดเดียวมาตรวจหาตัวอ่อนพยาธิระยะต่าง ๆ (ระยะรีเดีย ระยะเซอร์คาเรีย และระยะเมตาเซอร์คาเรีย) ด้วยวิธี crushing (Caron, Rondelaud, & Losson, 2008) โดยนำหอยฝาดเดียวมาตรวจสอบหาตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะต่าง ๆ ทีละ 1 ตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เมื่อพบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ใช้หลอดดูดสารดูดตัวอ่อนพยาธิใบไม้แยกออกมาใส่ในจานแก้ว หลังจากนั้นล้างตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยน้ำสะอาด ดูดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ลงในหลอดเก็บตัวอย่างขนาดเล็กที่บรรจุน้ำสะอาด และเก็บตัวอย่างในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาสภาพตัวอ่อนพยาธิใบไม้

สำหรับการตรวจการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียบริเวณเยื่อหุ้มหัวใจ (pericardium) โดยนำเยื่อหุ้มหัวใจมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง จากนั้นนับจำนวนเมตาเซอร์คาเรียที่พบ เพื่อกำหนดค่าความหนาแน่นเฉลี่ย (mean intensity) และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายสูง เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเมตาเซอร์คาเรียที่พบ หลังจากนั้นใช้เข็มเย็บหรือฟู่กันแยกเมตาเซอร์คาเรียออกจากเยื่อหุ้มหัวใจและล้างเมตาเซอร์คาเรียให้สะอาด พร้อมทั้งดูดเมตาเซอร์คาเรียลงในหลอดเก็บตัวอย่างขนาดเล็กที่บรรจุ

น้ำสะอาด จากนั้นเก็บตัวอย่างในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาสภาพ เมตาเซอรัคเรีย

3.4 การศึกษาการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว

3.4.1 คำนวณค่าความชุก (prevalence) ของตัวอ่อนพยาธิระยะเซอรัคเรีย โดยใช้สูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{ค่าความชุก (ร้อยละ)} = \frac{\text{จำนวนหอยน้ำจืดฝาดเดียวที่ติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ (ตัว)}}{\text{จำนวนหอยน้ำจืดฝาดเดียวทั้งหมดที่ศึกษา (ตัว)}} \times 100$$

3.4.2 คำนวณค่าความหนาแน่นเฉลี่ย (mean intensity) ของตัวอ่อนพยาธิระยะ เมตาเซอรัคเรีย โดยใช้สูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{ค่าความหนาแน่นเฉลี่ย} = \frac{\text{จำนวนเมตาเซอรัคเรียที่พบจากการศึกษา (ตัว)}}{\text{จำนวนหอยน้ำจืดฝาดเดียวที่ติดเมตาเซอรัคเรีย (ตัว)}}$$

3.5 การศึกษาชีววิทยาระดับโมเลกุล

3.5.1 การสกัดดีเอ็นเอจากพยาธิใบไม้ (DNA extraction)

นำพยาธิใบไม้ระยะต่าง ๆ (ระยะรีเดีย ระยะเซอรัคเรีย ระยะเมตาเซอรัคเรีย ระยะตัวเต็มวัย) มาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด GF-1 tissue DNA extraction kit (Vivantis Company, Malaysia) โดยเติม Buffer TL 250 uL, Proteinase K 20 uL และ Lysis enhancer buffer 12 uL พร้อมทั้งนำไป vortex และบ่มที่อุณหภูมิ 65°C จนกว่าเนื้อเยื่อตัวอย่างที่ต้องการ สกัดถูกย่อยหมด จากนั้นเติม Buffer TB 560 uL และบ่มที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติม absolute ethanol 200 uL และนำไป vortex จากนั้นดูดตัวอย่างใส่ column และปั่นเหวี่ยง 1 นาที หลังจากนั้นล้าง filter ด้วย wash buffer 650 uL พร้อมทั้งปั่นเหวี่ยง 1 นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยง filter ให้แห้งอีกครั้ง หลังจากนั้นย้าย filter ใส่ลงหลอดเก็บตัวอย่างใหม่ พร้อมทั้งเติม Elution buffer 50 uL จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยง 1 นาที

หลังจากนั้นเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20°C เมื่อสกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างเสร็จเรียบร้อยแล้ว จึงเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส

3.5.2 การศึกษาทางด้านอนุชีววิทยา

3.5.2.1 การระบุชนิดเชิงโมเลกุลของพยาธิใบไม้ *Echinostoma revolutum* และ *Haplorchis taichui*

นำตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่คาดว่าเป็นกลุ่ม Echinostomatidae และ Heterophyidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามาระบุชนิดพยาธิใบไม้ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ ดังนี้

1) ไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *Echinostoma revolutum* ประกอบด้วย forward primer (5' GGT GTG GTC TGG TTA CGA CC 3') และ reverse primer (5' GAC ACA GCA GAA AGG AAG CAC 3') ซึ่งขึ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมายที่มีความจำเพาะมีขนาด 71 คู่เบส (Anucherngchai & Chontanarith, 2019)

2) ไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *Haplorchis taichui* ประกอบด้วย forward primer (HT-F: 5' CCT GAG ATA CGG CTA CCA CTT CCA AGG 3') และ reverse primer (HT-R: 5' AGG CAC AGA GGA CAG GCG TAC TA 3') ซึ่งขึ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมายที่มีความจำเพาะมีขนาด 1,075 คู่เบส (Chontanarith et al., 2018)

3.5.2.2 การตรวจสอบความจำเพาะ (specificity) ของไพรเมอร์จำเพาะ

การตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์จำเพาะ มีขั้นตอน ดังนี้

1) สกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของพยาธิใบไม้ *Echinostoma revolutum* และ *Haplorchis taichui* โดยสกัดสารพันธุกรรมจากพยาธิใบไม้ระยะรีเดีย ระยะเซอริคาเรีย ระยะเมตาเซอริคาเรีย และระยะตัวเต็มวัย

2) สำหรับการตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *Echinostoma revolutum* นำพยาธิใบไม้ชนิดที่ใกล้เคียงและโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ มาสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ได้แก่ *Centrocestus caninus*, *C. formosanus*, *Diplostomum* sp., *Clea helena*, *Echinostoma ilocanum*, *Filopaludina sumatrensis polygramma*, *Indoplanorbis exustus* และ *Lymnaea auricularia*

สำหรับการตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *Haplorchis taichui* นำพยาธิใบไม้ชนิดที่ใกล้เคียงหรือโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้มาสกัดและเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ได้แก่ *Centrocestus caninus*, *Echinostoma ilocanum*, *E. japonicum*, *Echinostoma revolutum*, *Haplorchoides* sp. และ *Isthmiophora hortensis*

3) ทดสอบด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส เพื่อศึกษาการเกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิใบไม้ชนิดอื่นหรือโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ หากไม่พบการจับคู่ข้ามกับดีเอ็นเอของพยาธิใบไม้ชนิดอื่นหรือโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ แสดงว่าไพรเมอร์มีความจำเพาะ

3.5.2.3 การตรวจสอบความไว (sensitivity) ของไพรเมอร์จำเพาะ

การตรวจสอบความไว มีขั้นตอน ดังนี้

1) วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอเริ่มต้นของพยาธิใบไม้ *Echinostoma revolutum* และ *Haplorchis taichui* ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (nanodrop spectrophotometer)

2) เจือจางดีเอ็นเอของพยาธิใบไม้ทีละ 10 เท่า (10-fold serially diluted) ด้วย sterile deionized water เพื่อศึกษาความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่น้อยที่สุดของพยาธิใบไม้ที่ไพรเมอร์จำเพาะของพยาธิใบไม้ *E. revolutum* และ *H. taichui* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้

3.5.2.4 การตรวจสอบยืนยันความถูกต้องของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *Echinostoma revolutum* และ *Haplorchis taichui*

นำตัวอ่อนพยาธิใบไม้กลุ่ม Echinostomatidae และ Heterophyidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรา มาตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยกระบวนการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) หลังจากนั้นยืนยันความถูกต้องของพยาธิใบไม้ โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปวิเคราะห์บนฐานข้อมูล National Center for Biotechnology Information (NCBI) เพื่อระบุอัตลักษณ์เชิงโมเลกุลของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรา

3.6 การเตรียมพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยเพื่อใช้ทดสอบความจำเพาะและใช้เปรียบเทียบยืนยันความถูกต้องของลำดับนิวคลีโอไทด์

ตรวจการติดพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางที่สองในแหล่งที่ศึกษา โดยนำปลาแต่ละตัวมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (mixer blender) พร้อมกับเติมสารละลายน้ำเกลือ (NaCl) ที่มีความเข้มข้น 0.85% w/v จากนั้นนำมากรองผ่านตะแกรง (sieve mass) ที่มีขนาดช่องห่าง 850, 300 และ 100 ไมโครเมตร ตามลำดับเพื่อแยกชิ้นส่วนปลาที่มีขนาดใหญ่ออก หลังจากนั้นนำมาตกตะกอนในน้ำสะอาดและนำตะกอนมาตรวจหาตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรีย จากนั้นนำตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียไปเลี้ยงในโฮสต์ทดลอง (experimental host) เช่น หนู เป็ด หรือไก่ เพื่อให้ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียพัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัย (adult) เมื่อครบกำหนดตามระยะเวลาของพยาธิใบไม้แต่ละชนิดนำพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยออกจากลำไส้หรืออวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์ทดลอง

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

สร้างแผนที่การระบาดเพื่อแสดงการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งข้อมูลที่ได้ใช้เป็นแนวทางสำหรับวางแผนเฝ้าระวังและป้องกันการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

บทที่ 4

ผลการศึกษา

4.1 จุดเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวในจังหวัดฉะเชิงเทรา

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวจำนวนชนิดละ 50 ตัวต่อจุดเก็บตัวอย่าง (Tong et al., 2015) ซึ่งตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวได้จากการสุ่มแบบแบ่งชั้น (Freedman, 2007) โดยแบ่งชั้นต้นตามแต่ละอำเภอของจังหวัดฉะเชิงเทรา จากนั้นสุ่มจุดเก็บตัวอย่างตามโอกาส รวมจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 36 จุดเก็บตัวอย่าง และจำแนกชนิดหอยน้ำจืดฝาดเดียวโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาตามหลักเกณฑ์การจัดจำแนกของ Brandt (1974) โดยการศึกษาครั้งนี้ตรวจสอบหอยน้ำจืดฝาดเดียวทั้งหมดจำนวน 10,750 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 6 วงศ์ 8 ชนิด ประกอบด้วย *Bithynia siamensis*, *Clea helena*, *Filopaludina martensi*, *Filopaludina sumatrensis*, *polygramma*, *Indoplanorbis exustus*, *Lymnaea auricularia*, *Melanoides tuberculata* และ *Tarebia granifera* (ตาราง 6)

ตาราง 6 วงศ์และชนิดของตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรา

วงศ์ (Families)	ชนิด (species) หรือ ชนิดย่อย (subspecies)
Bithyniidae	<i>Bithynia siamensis</i> (Lea, 1856)
Buccinidae	<i>Clea helena</i> (Philippi, 1847)
Viviparidae	<i>Filopaludina sumatrensis polygramma</i> (Martens, 1860) <i>F. martensi</i> (Frauenfeld, 1865)
Planorbinae	<i>Indoplanorbis exustus</i> (Deshayes, 1834)
Lymnaeidae	<i>Lymnaea auricularia</i> (Linnaeus, 1758)
Thiaridae	<i>Melanoides tuberculata</i> (Olivier, 1804) <i>Tarebia granifera</i> (Lamarck, 1822)

4.2 หอยน้ำจืดฝาดเดียวที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.2.1 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *Bithynia siamensis*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

เปลือกทรงกรวยรี ผิวเปลือกเรียบ มีสีน้ำตาลหรือสีเขียวมะกอก มีลักษณะเปราะบางและมันวาว พบลดตายบริเวณผิวเปลือก แต่ไม่พบสันบริเวณผิวเปลือก ช่องเปิดปากเปลือกและปากเปลือกมีลักษณะกลมรีและเปราะบาง (ภาพประกอบ 6)



ภาพประกอบ 6 หอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *Bithynia siamensis*

แหล่งที่พบ (พบทั้งหมด 3,600 ตัว)

- 1) อำเภอบางน้ำเปรี้ยว ได้แก่ S1 (100 ตัว), S2 (150 ตัว) และ S3 (100 ตัว)
- 2) อำเภอกลองเชื่อน ได้แก่ S4 (100 ตัว), S5 (100 ตัว) และ S6 (100 ตัว)
- 3) อำเภอราชสาส์น ได้แก่ S7 (100 ตัว), S8 (100 ตัว) และ S9 (100 ตัว)
- 4) อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา ได้แก่ S10 (50 ตัว) และ S11 (100 ตัว)
- 5) อำเภอบางพระกน ได้แก่ S13 (100 ตัว), S14 (50 ตัว) และ S15 (50 ตัว)
- 6) อำเภอพนมสารคาม ได้แก่ S16 (150 ตัว), S17 (100 ตัว), S18 (100 ตัว) และ S19 (150 ตัว)
- 7) อำเภอสนามชัยเขต ได้แก่ S20 (150 ตัว), S21 (150 ตัว), S22 (100 ตัว) และ S23 (150 ตัว)
- 8) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S24 (50 ตัว), S25 (100 ตัว) และ S26 (50 ตัว)
- 9) อำเภอท่าตะเกียบ ได้แก่ S27 (150 ตัว), S28 (150 ตัว), S29 (150 ตัว) และ S30 (150 ตัว)
- 10) อำเภอบ้านโพธิ์ ได้แก่ S31 (100 ตัว), S32 (100 ตัว), และ S33 (100 ตัว)
- 11) อำเภอบางคล้า ได้แก่ S34 (50 ตัว), S35 (50 ตัว) และ S36 (150 ตัว)

4.2.2 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Clea helena*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

เปลือกมีลักษณะแข็งและหนา มีรูปร่างคล้ายทรงกรวยรีขนาดกลาง ผิวเปลือกมีลักษณะขรุขระเป็นสันขนานกับแกนกลาง บริเวณผิวเปลือกพบลวดลายที่มีลักษณะเป็นแถบสีน้ำตาลเข้ม 1-3 แถบ ยอดเปลือกมีลักษณะเป็นกรวยแหลม ปากเปลือกกลมรี ช่องเปิดปากเปลือกมีขนาดใหญ่ (ภาพประกอบ 7)



ภาพประกอบ 7 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Clea helena*

แหล่งที่พบ (พบทั้งหมด 500 ตัว)

- 1) อำเภอบางน้ำเปรี้ยว ได้แก่ S1 (100 ตัว)
- 2) อำเภอสนามชัยเขต ได้แก่ S20 (100 ตัว)
- 3) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S26 (100 ตัว)
- 4) อำเภอท่าตะเกียบ ได้แก่ S29 (50 ตัว) และ S30 (50 ตัว)
- 5) อำเภอบ้านโพธิ์ ได้แก่ S33 (50 ตัว)
- 6) อำเภอบางคล้า ได้แก่ S35 (50 ตัว)

4.2.3 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Filopaludina sumatrensis polygramma*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

เปลือกมีรูปร่างคล้ายทรงกรวยขนาดใหญ่ ผิวเปลือกเรียบและมันวาว พบแถบสีน้ำตาลเข้ม 4 – 5 แถบบนผิวเปลือก บอดี้เวอร์ล (body whorl) มีขนาดใหญ่ ยอดเปลือกมีลักษณะเป็นกรวยแหลม ปากเปลือกมีลักษณะกลมรีและเปราะบาง พื้นผิวมีลักษณะมันวาว (ภาพประกอบ 8)



ภาพประกอบ 8 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Filopaludina sumatrensis polygramma*

แหล่งที่พบ (พบทั้งหมด 3,100 ตัว)

- 1) อำเภอบางน้ำเปรี้ยว ได้แก่ S1 (100 ตัว), S2 (100 ตัว) และ S3 (100 ตัว)
- 2) อำเภอกลองเชื่อน ได้แก่ S5 (100 ตัว)
- 3) อำเภอราชสาส์น ได้แก่ S7(50 ตัว), S8 (100 ตัว) และ S9 (150 ตัว)
- 4) อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา ได้แก่ S10 (150 ตัว) และ S11 (100 ตัว)
- 5) อำเภอบางปะกง ได้แก่ S14 (50 ตัว) และ S15 (50 ตัว)
- 6) อำเภอพนมสารคาม ได้แก่ S16 (100 ตัว), S17 (100 ตัว) และ S19 (100 ตัว)
- 7) อำเภอสนามชัยเขต ได้แก่ S20 (100 ตัว), S21 (100 ตัว), S22 (150 ตัว) และ S23 (150 ตัว)
- 8) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S24 (150 ตัว), S25 (150 ตัว) และ S26 (50 ตัว)
- 9) อำเภอท่าตะเกียบ ได้แก่ S27 (150 ตัว), S28 (50 ตัว) และ S29 (150 ตัว)
- 10) อำเภอบ้านโพธิ์ ได้แก่ S32 (50 ตัว) และ S33 (100 ตัว)
- 11) อำเภอบางคล้า ได้แก่ S34 (100 ตัว), S35 (100 ตัว) และ S36 (150 ตัว)

4.2.4 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Filopaludina martensi*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

เปลือกมีรูปร่างคล้ายทรงกรวยเตี้ยขนาดใหญ่ ผิวเปลือกมีสีน้ำตาลเข้ม บอดีเวิร์ลล์มีขนาดใหญ่และพบสันยื่นออกมา ยอดเปลือกมีลักษณะเป็นกรวย แผ่นปิดปากเปลือกกลมรี (ภาพประกอบ 9)



ภาพประกอบ 9 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Filopaludina martensi*

แหล่งที่พบ (พบทั้งหมด 200 ตัว)

- 1) อำเภอราชสาส์ ได้แก่ S7 (50 ตัว)
- 2) อำเภอบางคล้า ได้แก่ S34 (50 ตัว) และ S35 (100 ตัว)

4.2.5 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Indoplanorbis exustus*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

เปลือกมีลักษณะแบนขดวนเป็นวงในระนาบเดียวกัน ผิวเปลือกมีลักษณะมันวาว และไม่มีแผ่นปิดปากเปลือก (ภาพประกอบ 10)



ภาพประกอบ 10 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Indoplanorbis exustus*

แหล่งที่พบ (พบทั้งหมด 500 ตัว)

- 1) อำเภอบางน้ำเปรี้ยว ได้แก่ S2 (50 ตัว) และ S3 (50 ตัว)
- 2) อำเภอกลองเชื่อน ได้แก่ S4 (50 ตัว), S5 (50 ตัว) และ S6 (100 ตัว)
- 3) อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา ได้แก่ S11 (50 ตัว) และ S12 (50 ตัว)
- 4) อำเภอสนามชัยเขต ได้แก่ S22 (50 ตัว)
- 5) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S25 (50 ตัว)

4.2.6 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Lymnaea auricularia*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

เปลือกมีรูปร่างคล้ายทรงกรวยเตี้ย ผิวเปลือกเรียบ เปราะบางและมีสีดำหรือสีน้ำตาลเข้ม ไม่พบลวดลายบนผิวเปลือก ยอดเปลือกมีลักษณะเป็นกรวยแหลม แผ่นปิดปากเปลือกกลมรี (ภาพประกอบ 11)



ภาพประกอบ 11 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Lymnaea auricularia*

แหล่งที่พบ (พบทั้งหมด 400 ตัว)

- 1) อำเภอเมือง ได้แก่ S12 (50 ตัว)
- 2) อำเภอบางปะกง ได้แก่ S15 (50 ตัว)
- 3) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S24 (100 ตัว), S25 (50 ตัว) และ S26 (50 ตัว)
- 4) อำเภอบางคล้า ได้แก่ S34 (50 ตัว) และ S36 (50 ตัว)

4.2.7 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Melanoides tuberculata*

ลักษณะพื้นฐานวิทยา

เปลือกมีรูปร่างคล้ายทรงกรวยยาวขนาดกลาง พบวงขีดเรียงซ้อนไปสู่ยอดเปลือก ผิวเปลือกมีสีน้ำตาลและมีลวดลายเป็นลายเส้นสีน้ำตาลขนานกับแกนลำตัว ยอดเปลือกมีลักษณะเป็นกรวยแหลม แผ่นปิดปากเปลือกกลมรี (ภาพประกอบ 12)



ภาพประกอบ 12 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Melanoides tuberculata*

แหล่งที่พบ (พบทั้งหมด 650 ตัว)

- 1) อำเภอคลองเขื่อน ได้แก่ S5 (50 ตัว)
- 2) อำเภอราชสาสน์ ได้แก่ S7 (50 ตัว)
- 3) อำเภอเมือง ได้แก่ S12 (50 ตัว)
- 4) อำเภอบางปะกง ได้แก่ S15 (50 ตัว)
- 5) อำเภอสนมชัยเขต ได้แก่ S20 (50 ตัว), S22 (150 ตัว) และ S23 (50 ตัว)
- 6) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S24 (50 ตัว)
- 7) อำเภอท่าตะเกียบ ได้แก่ S27 (50 ตัว) และ S28 (50 ตัว)
- 8) อำเภอบางคล้า ได้แก่ S34 (50 ตัว)

4.2.8 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Tarebia granifera*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

เปลือกมีลักษณะแข็งและหนา มีรูปร่างคล้ายทรงกรวยขนาดกลาง ผิวเปลือกขรุขระมีลักษณะเป็นสันนูนหรือปุ่มขนาดเล็ก เปลือกมีสีดำเข้ม แผ่นปิดปากเปลือกกลมรี (ภาพประกอบ 13)



ภาพประกอบ 13 หอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Tarebia granifera*

แหล่งที่พบ (พบทั้งหมด 1,800 ตัว)

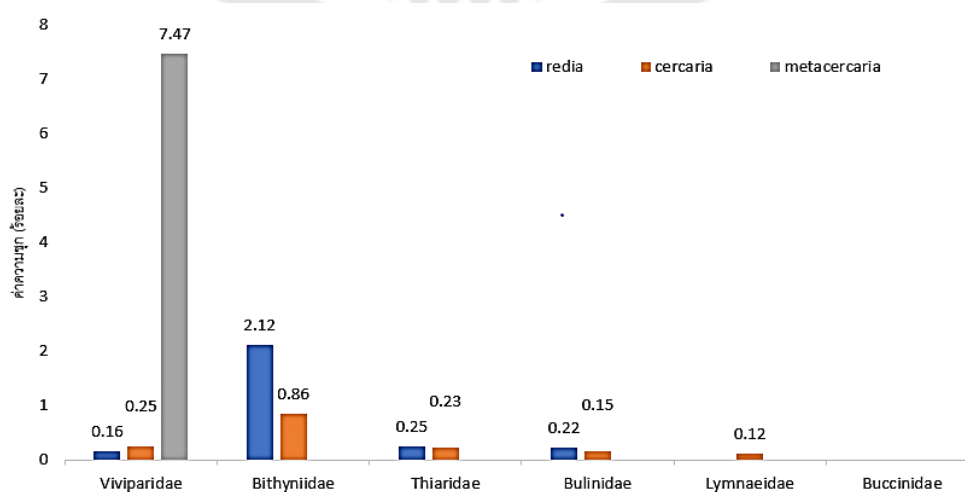
- 1) อำเภอคลองเขื่อน ได้แก่ S4 (100 ตัว), S5 (100 ตัว) และ S6 (100 ตัว)
- 2) อำเภอราชสาสน์ ได้แก่ S7 (50 ตัว)
- 3) อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา ได้แก่ S10 (50 ตัว), S11 (150 ตัว) และ S12 (100 ตัว)
- 4) อำเภอบางปะกง ได้แก่ S13 (150 ตัว), S14 (100 ตัว) และ S15 (50 ตัว)
- 5) อำเภอพนมสารคาม ได้แก่ S16 (50 ตัว), S17 (50 ตัว), S18 (50 ตัว) และ S19 (100 ตัว)
- 6) อำเภอสนมชัยเขต ได้แก่ S20 (50 ตัว)
- 7) อำเภอท่าตะเกียบ ได้แก่ S28 (50 ตัว) และ S30 (50 ตัว)
- 8) อำเภอบ้านโพธิ์ ได้แก่ S31 (50 ตัว) และ S32 (50 ตัว)
- 9) อำเภอบางคล้า ได้แก่ S34 (150 ตัว), S35 (150 ตัว) และ S36 (50 ตัว)

4.3 ความชุกชุมของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัด

ฉะเชิงเทรา

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยฝาดเดียวใน 36 จุดเก็บตัวอย่างในจังหวัดฉะเชิงเทรา สามารถระบุชนิดและตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวทุกระยะทั้งหมด จำนวน 10,750 ตัว แบ่งออกเป็น 6 วงศ์ 8 ชนิด ได้แก่ *B. siamensis*, *C. helena*, *F. martensi*, *F. sumatrensis polygramma*, *I. exustus*, *L. auricularia*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* พบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว จำนวน 1,272 ตัว ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *B. siamensis*, *F. martensi*, *F. sumatrensis polygramma*, *I. exustus*, *L. auricularia*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* โดยมีค่าความชุกชุม (overall prevalence) ของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะรีเดีย ระยะเซอร์คาเรีย และระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียวเท่ากับร้อยละ 2.70 (290/10,750), 1.67 (179/10,750) และ 7.47 (803/10,750) ตามลำดับ โดยค่าความชุกชุมของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทราเท่ากับร้อยละ 11.83 (1,272/10,750)

เมื่อพิจารณาหอยน้ำจืดฝาดเดียวที่มีค่าความชุกชุมของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ทุกระยะ พบค่าความชุกชุมของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียววงศ์ Viviparidae สูงสุดในจังหวัดฉะเชิงเทรา โดยมีค่าความชุกชุมเท่ากับร้อยละ 7.88 (847/10,750) รองลงมา ได้แก่ วงศ์ Bithyniidae, Thiaridae, Bulinidae และ Lymnaeidae ซึ่งมีค่าความชุกชุมเท่ากับร้อยละ 2.98 (320/10,750), 0.48 (52/10,750), 0.37 (40/10,750) และ 0.12 (13/10,750) ตามลำดับ นอกจากนี้ไม่พบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียววงศ์ Buccinidae (ภาพประกอบ 14)



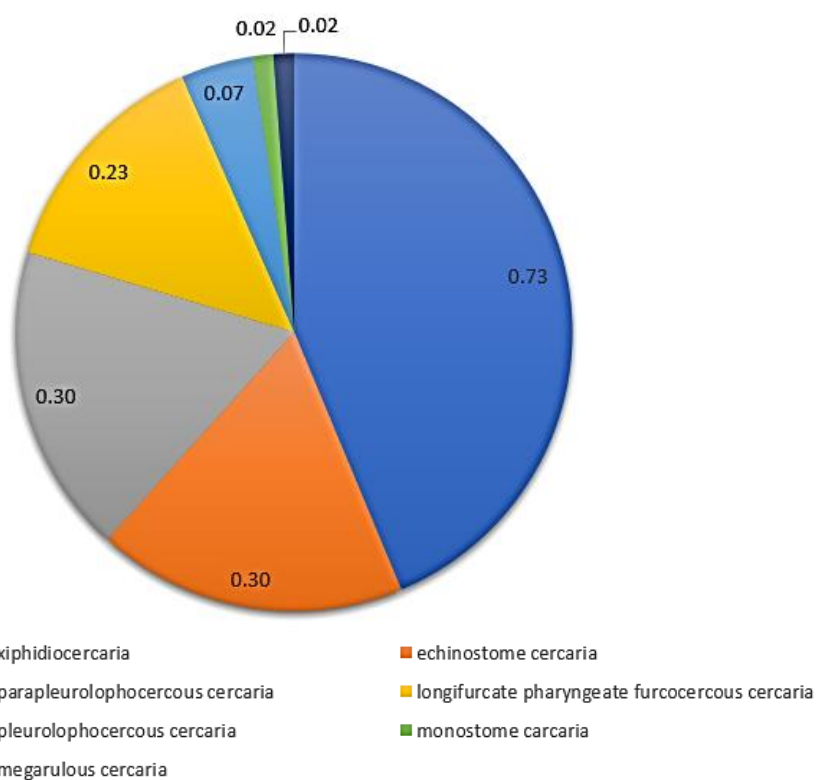
ภาพประกอบ 14 ค่าความชุกชุมของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียววงศ์ต่างๆ

สำหรับรูปแบบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียที่พบสูงสุดในจังหวัดฉะเชิงเทรา คือ xiphidiocercaria มีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.73 (79/10,750) รองลงมา ได้แก่ echinostome cercaria, parapleurolophocercous cercaria, longifurcate pharyngeate furcocercous cercaria, pleurolophocercous cercaria, monostome cercaria และ megarulous cercaria ซึ่งมีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.30 (32/10,750), 0.30 (32/10,750), 0.23 (25/10,750), 0.07 (7/10,750), 0.02 (2/10,750) และ 0.02 (2/10,750) ตามลำดับ (ตาราง 7 และ ภาพประกอบ 15)

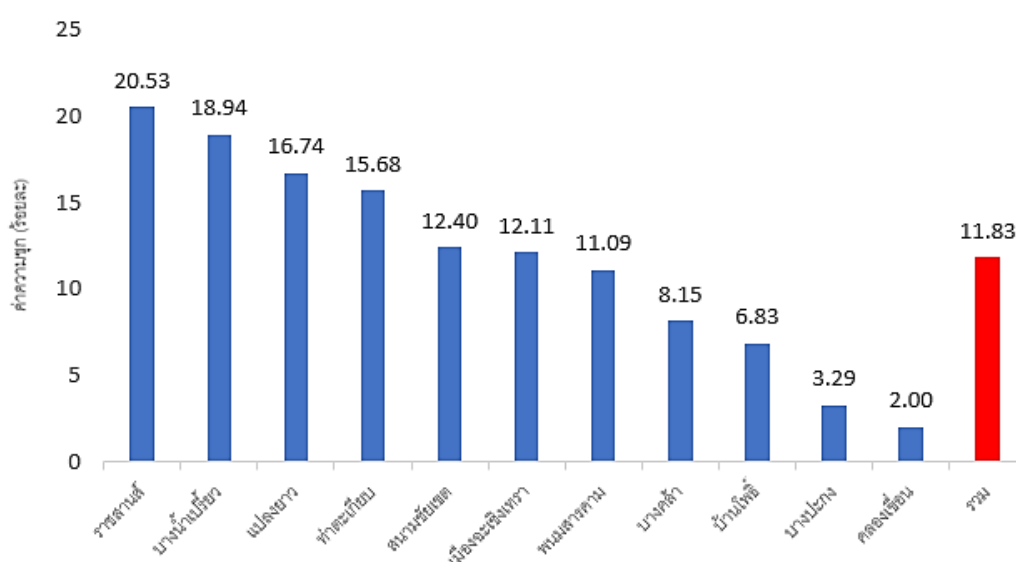
ตาราง 7 ค่าความชุกรวมของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดียวชนิดต่าง ๆ

หอยน้ำจืดฝาดียว		จำนวนหอย น้ำจืด ฝาดียว	รูปแบบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย							ระยะ รีเดีย	ระยะเมตา เซอร์คาเรีย
วงศ์	ชนิด		ech	lon	meg	mon	par	ple	xip		
Bithyniidae	<i>B. siamensis</i>	3,600	-	3	-	2	18	7	70	220	-
Thiaridae	<i>M. tuberculata</i>	650	-	-	2	-	12	-	2	25	-
	<i>T. granifera</i>	1,800	-	-	-	-	2	-	7	2	-
Viviparidae	<i>F. s. polygramma</i>	3,100	21	6	-	-	-	-	-	14	789
	<i>F. martensi</i>	200	-	-	-	-	-	-	-	3	14
Buccinidae	<i>C. helena</i>	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bulinidae	<i>I. exustus</i>	500	1	16	-	-	-	-	-	23	-
Lymnaeidae	<i>L. auricularia</i>	400	10	-	-	-	-	-	-	3	-
รวม		10,750	32	25	2	2	32	7	79	290	803
			0.30	0.23	0.02	0.02	0.30	0.07	0.73	2.70	7.47

ech: echinostome cercaria, lon: longifurcate pharyngeate furcocercous cercariae, meg: megarulous cercaria, mon: monostome cercaria, par: parapleurolophocercous cercaria, ple: pleurolophocercous cercaria, xip: xiphidiocercaria

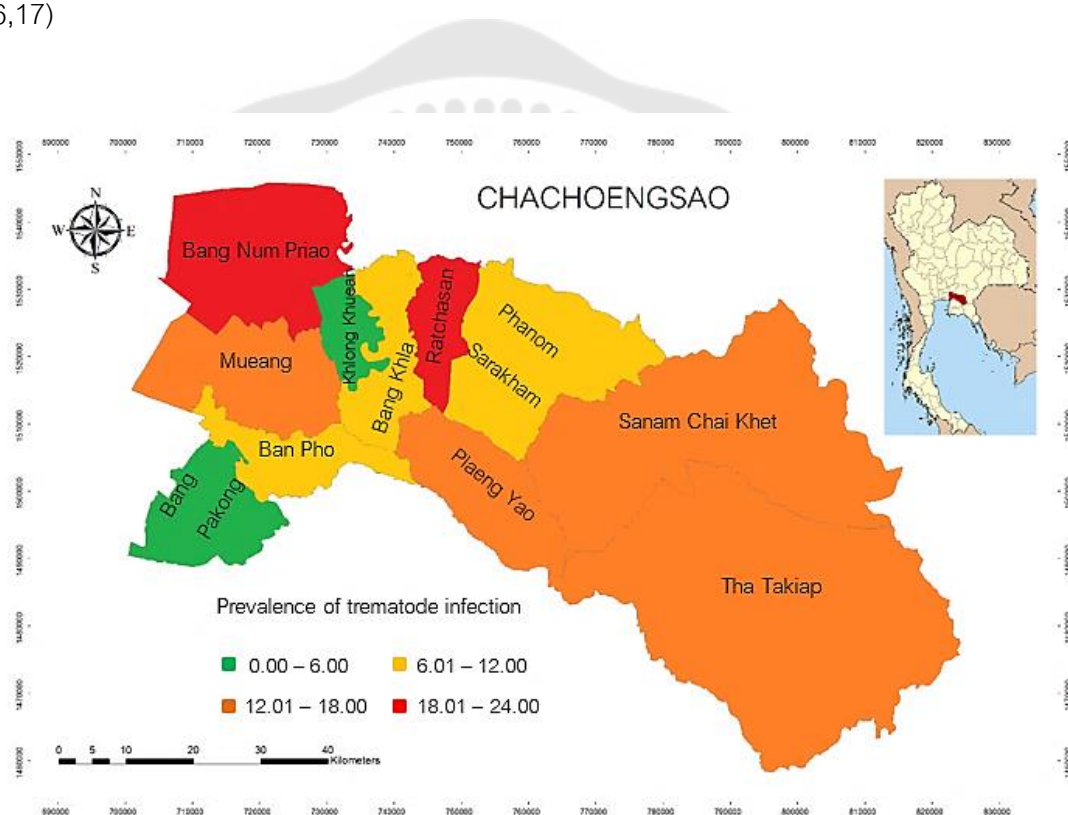


ภาพประกอบ 15 สัดส่วนของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียรูปแบบต่างๆ
ที่ตรวจสอบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว



ภาพประกอบ 16 ค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียวของ 11 อำเภอ
ในจังหวัดฉะเชิงเทรา

เมื่อพิจารณาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยฝาเดียวของจังหวัด
ฉะเชิงเทราในแต่ละอำเภอ พบว่าอำเภอรราชานส์มีค่าความชุกสูงสุดเท่ากับร้อยละ 20.53
(154/750) รองลงมา ได้แก่ อำเภอบางน้ำเปรี้ยว อำเภอแปลงยาว อำเภอกาตาเกียบ อำเภอ
สนามชัยเขต อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา อำเภอพนมสารคาม อำเภอบางคล้า อำเภอบ้านโพธิ์ อำเภอ
บางปะกง และอำเภอดงเคี่ยน ซึ่งมีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 18.94 (161/850), 16.74
(159/950), 15.68 (196/1,250), 12.40 (186/1,500), 12.11 (109/900), 11.09 (122/1,100),
8.15 (106/1,300), 6.83 (41/600), 3.29 (23/700) และ 2.00 (19/950) ตามลำดับ (ภาพประกอบ
16,17)



ภาพประกอบ 17 แผนที่แสดงการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย และระยะเมตาเซอร์คาเรีย

จากการตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวจำนวน 10,750 ตัวอย่างที่สุด่เก็บได้จากพื้นที่ของจังหวัดฉะเชิงเทรา พบรูปแบบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียทั้งหมด 7 รูปแบบ ได้แก่ echinostome cercaria, longifurcate pharyngeate furcocercous cercaria, megarulous cercaria, monostome cercaria, parapleurolophocercous cercaria, pleurolophocercous cercaria และ xiphidiocercaria นอกจากนี้วัดขนาดของลำตัวและหางของเซอร์คาเรียแต่ละชนิด ชนิดละ 10 ตัว และแสดงข้อมูลตัวเลขในหน่วยไมโครเมตร (um) เพื่อบอกความกว้างและความยาว รวมถึงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานซึ่งปรากฏในวงเล็บ

4.4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย

4.4.1.1 Xiphidiocercaria



ภาพประกอบ 18 ลักษณะทั่วไปของ xiphidiocercaria

โฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง

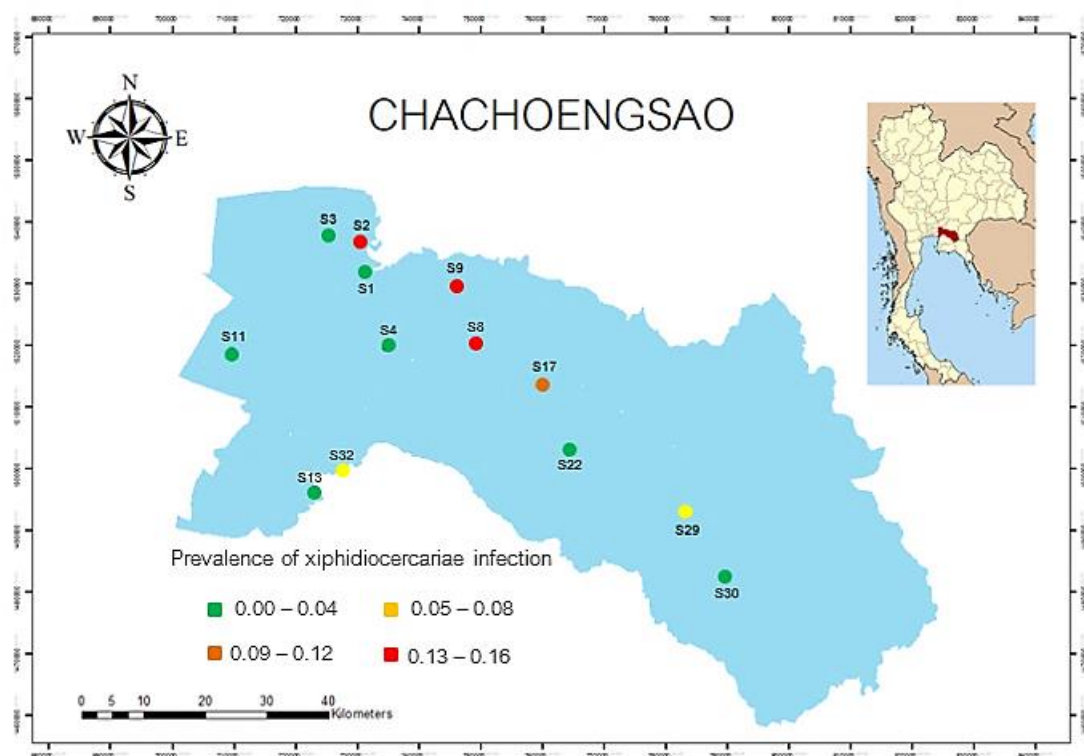
B. siamensis, *M. tuberculata* และ *T. granifera*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

ลำตัวมีรูปร่างกลมรี โดยลำตัวมีขนาด $80.07 - 249.51$ (137.85 ± 50.61) $\times$ $130.51 - 454.90$ (230.72 ± 99.62) ซึ่งบริเวณลำตัวยาวกว่าบริเวณหาง มีออร์ธักเทอร์บริเวณด้านหน้าของลำตัว และมีหนาม (stylet) ที่บริเวณออร์ธักเทอร์ คอหอยอยู่เหนือทางเดินอาหาร ซึ่งทางเดินอาหารแตกออกเป็นสองทาง (bifurcated) และพบเวนทริลชักรออยู่บริเวณกลางลำตัว หางมีลักษณะเรียวยาวและมีขนาด $23.08 - 63.94$ (36.86 ± 14.52) $\times$ $92.31 - 354.33$ (181.51 ± 83.07)

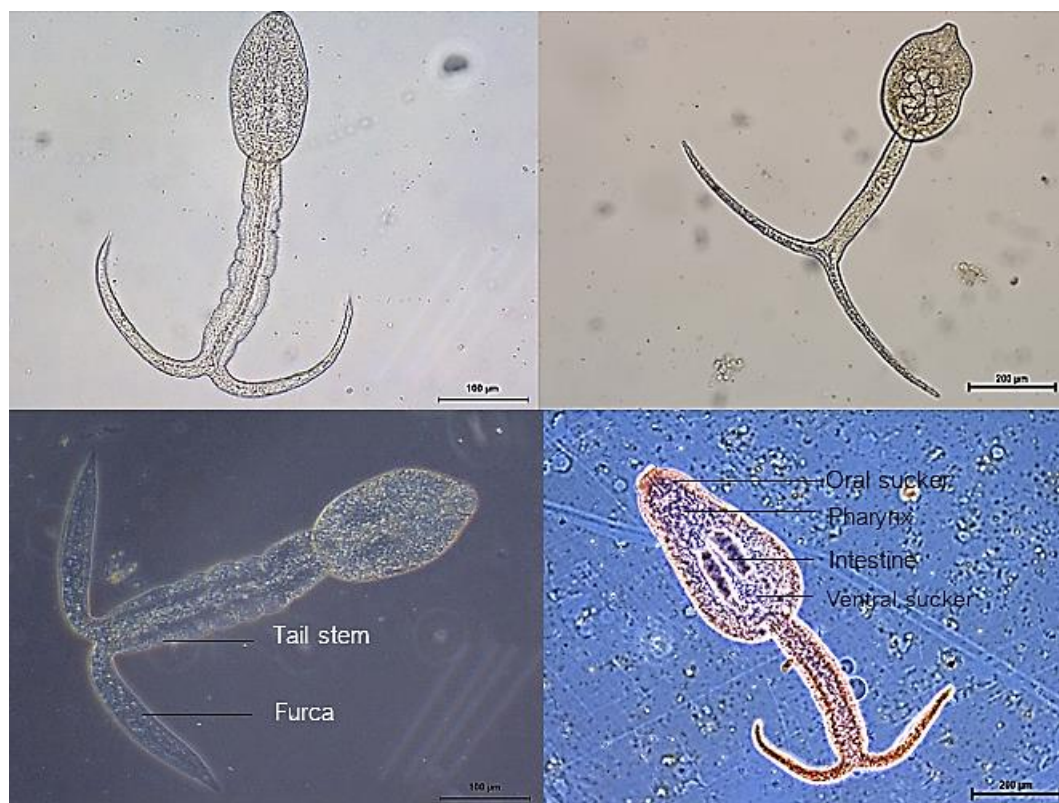
แหล่งที่พบ (ภาพประกอบ 19)

- 1) อำเภอบางน้ำเปรี้ยว ได้แก่ S1 (0.03%), S2 (0.13%) และ S3 (0.01%)
- 2) อำเภอดงเค็งใหญ่ ได้แก่ S4 (0.01%)
- 3) อำเภอราชสาส์น ได้แก่ S8 (0.14%) และ S9 (0.15%)
- 4) อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา ได้แก่ S11 (0.01%)
- 5) อำเภอบางปะกง ได้แก่ S13 (0.01%)
- 6) อำเภอพนมสารคาม ได้แก่ S17 (0.09%)
- 7) อำเภอสนมชัยเขต ได้แก่ S22 (0.02%)
- 8) อำเภอท่าตะเกียบ ได้แก่ S29 (0.06%) และ S30 (0.02%)
- 9) อำเภอบ้านโพธิ์ ได้แก่ S32 (0.07%)



ภาพประกอบ 19 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ xiphidiocercaria ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.4.1.2 Longifurcate pharyngeate furcocercous cercariae



ภาพประกอบ 20 ลักษณะทั่วไปของ longifurcate pharyngeate furcocercous cercariae

โฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง

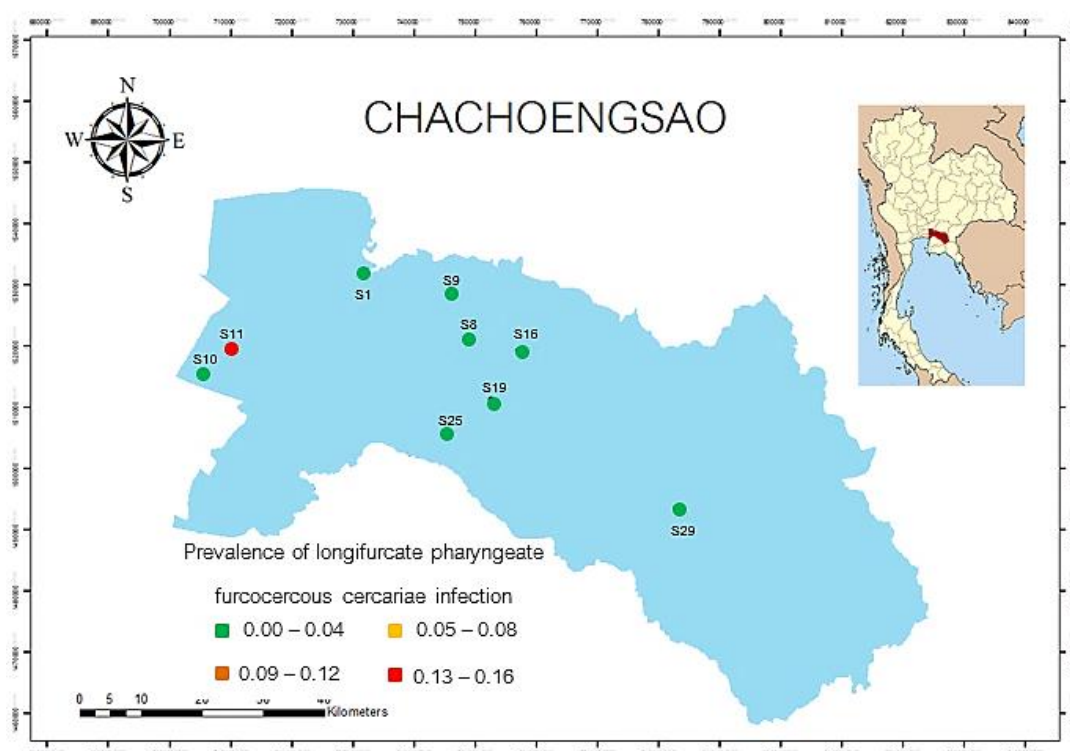
B. siamensis, *F. sumatrensis polygramma* และ *I. exustus*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

ลำตัวกลมรูปไข่ โดยลำตัวมีขนาด $43.29 - 238.46$ (112.85 ± 64.12) $\times$ $84.32 - 469.23$ (212.51 ± 105.06) พบออร์อัลซัคเกอร์บริเวณด้านหน้าของลำตัว ภายในลำตัว พบคอหอยอยู่เหนือทางเดินอาหาร ซึ่งทางเดินอาหารแตกออกเป็นสองทาง และมีเวนทรัลซัคเกอร์อยู่บริเวณ 2/3 ของลำตัว หางมีลักษณะเป็นแฉกคล้ายส้อม (furca) โดยหางส่วนต้น (tail stem) มีความยาว $40.74 - 115.38$ (68.43 ± 28.35) $\times$ $251.85 - 423.08$ (310.65 ± 73.06) และหางส่วนปลาย (furca) มีขนาด $18.52 - 61.54$ (36.52 ± 17.56) $\times$ $203.70 - 423.08$ (36.52 ± 17.56) ซึ่งบริเวณหางมีความยาวมากกว่าบริเวณลำตัว

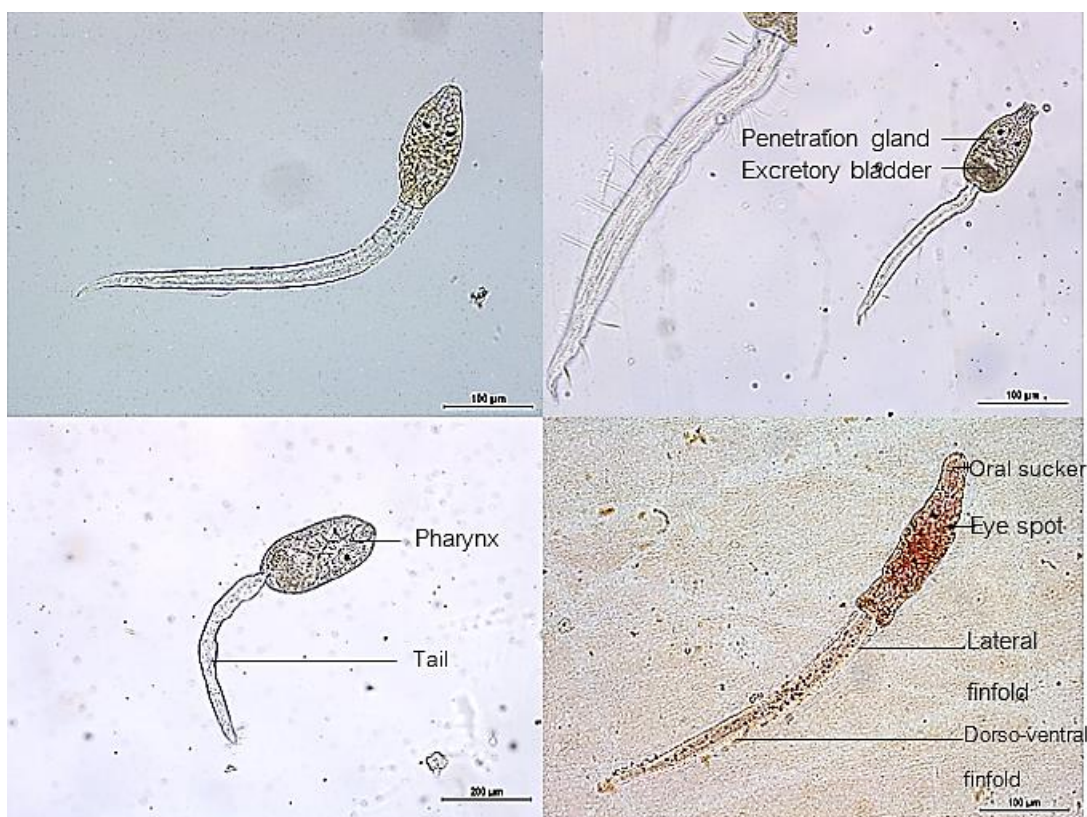
แหล่งที่พบ (ภาพประกอบ 21)

- 1) อำเภอบางน้ำเปรี้ยว ได้แก่ S1 (0.01%)
- 2) อำเภอราชสามสี ได้แก่ S8 (0.02%) และ S9 (0.01%)
- 3) อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา ได้แก่ S10 (0.02%) และ S11 (0.15%)
- 4) อำเภอพนมสารคาม ได้แก่ S16 (0.02%) และ S19 (0.01%)
- 5) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S25 (0.01%)
- 6) อำเภอนาทะเกียบ ได้แก่ S29 (0.01%)



ภาพประกอบ 21 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ longifurcate pharyngeate furcocercous cercariae ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.4.1.3 Parapleurolophocercous cercaria



ภาพประกอบ 22 ลักษณะทั่วไปของ parapleurolophocercous cercaria

โฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง

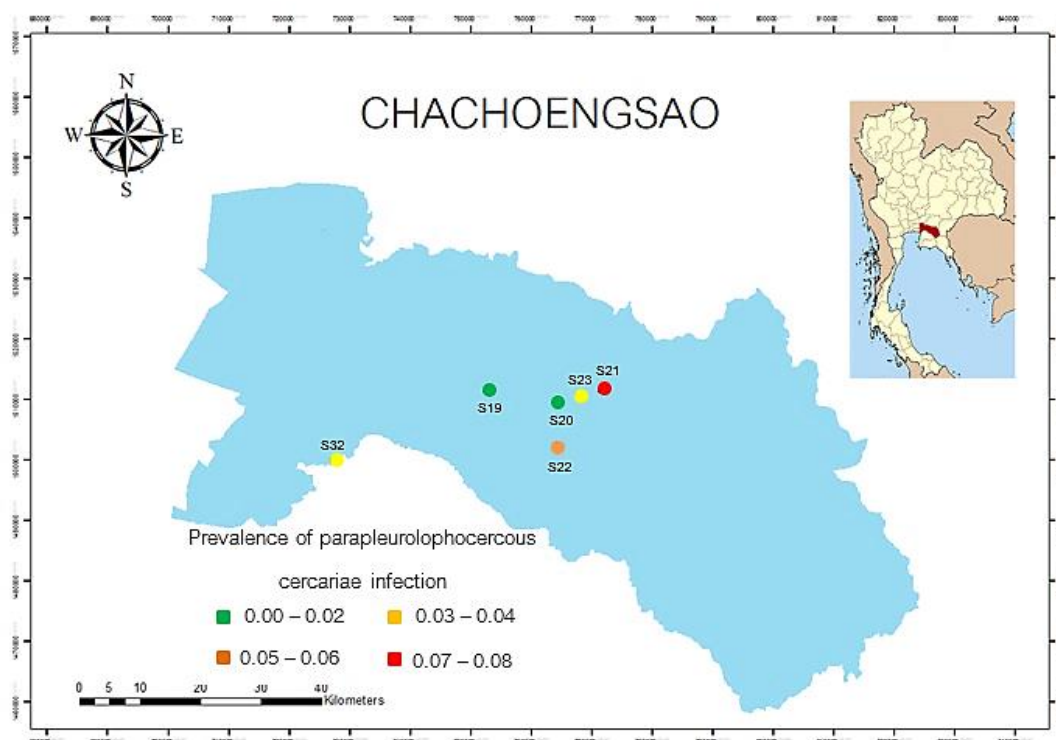
B. siamensis, *M. tuberculata* และ *T. granifera*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

ลำตัวมีรูปร่างกลมรี โดยลำตัวมีขนาด $50.00 - 137.79$ (84.21 ± 37.04) $\times$ $125.53 - 304.89$ (206.50 ± 59.05) พบอวัยวะชักเกอร์บริเวณด้านหน้าของลำตัว และพบจุดตา 1 คู่ (eye spot) อยู่แต่ละข้างของคอหอย โดยคอหอยมีขนาดเล็กอยู่เหนือหลอดอาหารที่ออกเป็นสองทาง ภายในลำตัวพบต่อมไขและพบกระเพาะปัสสาวะอยู่บริเวณท้ายลำตัว หางมีลักษณะเรียวยาวและมีขนาด $22.28 - 47.88$ (32.85 ± 8.67) $\times$ $260.47 - 441.80$ (374.46 ± 61.86) ซึ่งบริเวณหางมีความยาวมากกว่าบริเวณลำตัว รวมทั้งพบครีบด้านข้าง (lateral finfold) และครีบลหลัง (dorso-ventral finfold) ที่บริเวณหาง

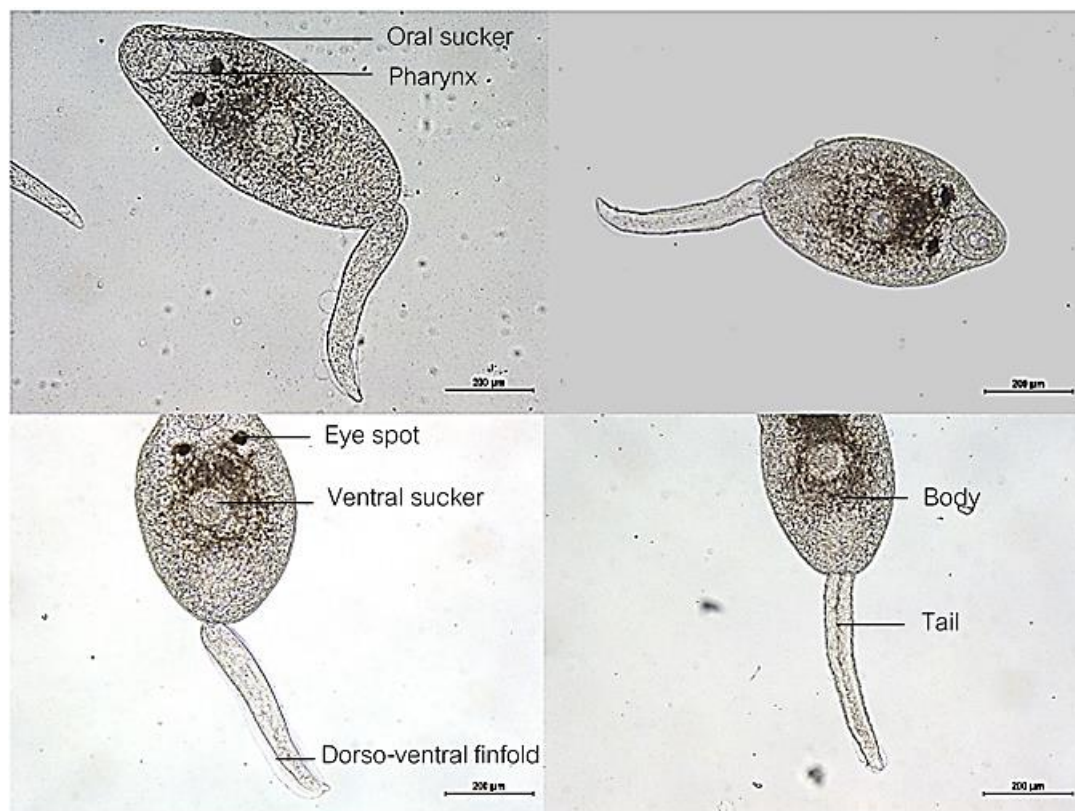
แหล่งที่พบ (ภาพประกอบ 23)

- 1) อำเภอพนมสารคาม ได้แก่ S19 (0.02%)
- 2) อำเภอสนามชัยเขต ได้แก่ S20 (0.01%), S21 (0.08%), S22 (0.05%)
และ S23 (0.03%)
- 3) อำเภอบ้านโพธิ์ ได้แก่ S32 (0.03%)



ภาพประกอบ 23 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ parapleurolophocercous cercaria ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.4.1.4 Pleurolophocercous cercariae



ภาพประกอบ 24 ลักษณะทั่วไปของ pleurolophocercous cercariae

โฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง

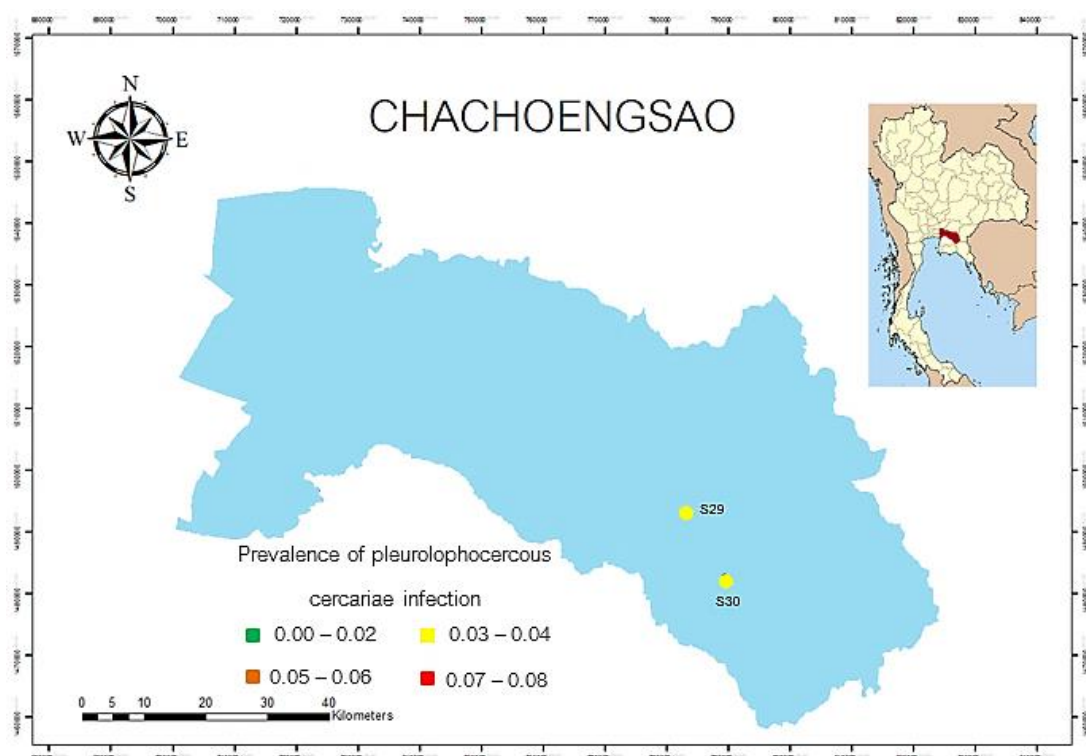
B. siamensis

ลักษณะสัณฐานวิทยา

ลำตัวมีรูปร่างรี โดยลำตัวมีขนาด 131.30 - 324.49 (285.44 ± 64.92) 201.74 - 743.68 (586.55 ± 174.82) พบออร์ลซัคเกอร์บริเวณด้านหน้าของลำตัว ภายในลำตัว พบตา 1 คู่ อยู่แต่ละข้างของคอหอย โดยคอหอยมีขนาดเล็กอยู่เหนือหลอดอาหารที่แตกออกเป็นสองทาง พบเวนทรัลซัคเกอร์อยู่บริเวณกลางลำตัว หางมีลักษณะเรียวยาวและมีขนาด 24.55 - 95.24 (71.39 ± 21.72) x 196.55 - 537.40 (405.18 ± 109.66) ซึ่งบริเวณหางมีความยาวน้อยกว่าบริเวณลำตัวเล็กน้อย รวมทั้งพบครีบล้างที่บริเวณหาง

แหล่งที่พบ (ภาพประกอบ 25)

1) อำเภอท่าตะเกียบ ได้แก่ S29 (0.03%) และ S30 (0.04%)



ภาพประกอบ 25 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ pleurolophocercous cercaria ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.4.1.5 Monostome cercaria



ภาพประกอบ 26 ลักษณะทั่วไปของ monostome cercaria

โฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง

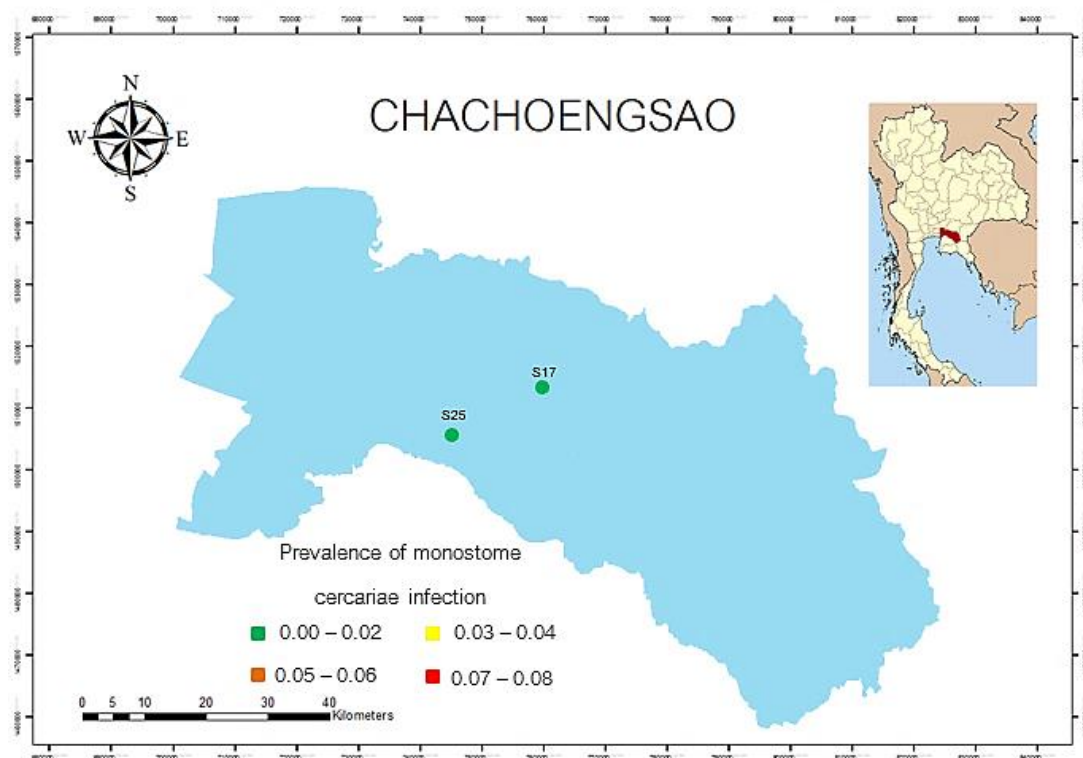
B. siamensis

ลักษณะสัณฐานวิทยา

ลำตัวมีรูปร่างกลมรีคล้ายรูปไข่ โดยบริเวณลำตัวมีขนาด $247.12 - 392.31$ (325.24 ± 77.97) $\times$ $391.06 - 615.38$ (517.00 ± 96.28) พบออร์ลซัคเกอร์บริเวณด้านหน้าของลำตัว ภายในลำตัวพบตา 1 คู่ ซึ่งอยู่เหนือหลอดอาหารที่ออกเป็นสองทาง นอกจากนี้พบรงควัตถุกระจายทั่วบริเวณลำตัว บริเวณหางมีขนาด $95.98 - 153.85$ (125.92 ± 25.46) $\times$ $269.36 - 561.54$ (452.92 ± 138.27) ซึ่งบริเวณหางมีความยาวน้อยกว่าบริเวณลำตัวเล็กน้อย และไม่พบเวนทรัลซัคเกอร์

แหล่งที่พบ (ภาพประกอบ 27)

- 1) อำเภอพนมสารคาม ได้แก่ S17 (0.01%)
- 2) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S25 (0.01%)



ภาพประกอบ 27 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ monostome cercaria ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.4.1.6 Megarulous cercaria



ภาพประกอบ 28 ลักษณะทั่วไปของ megarulous cercaria

โฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง

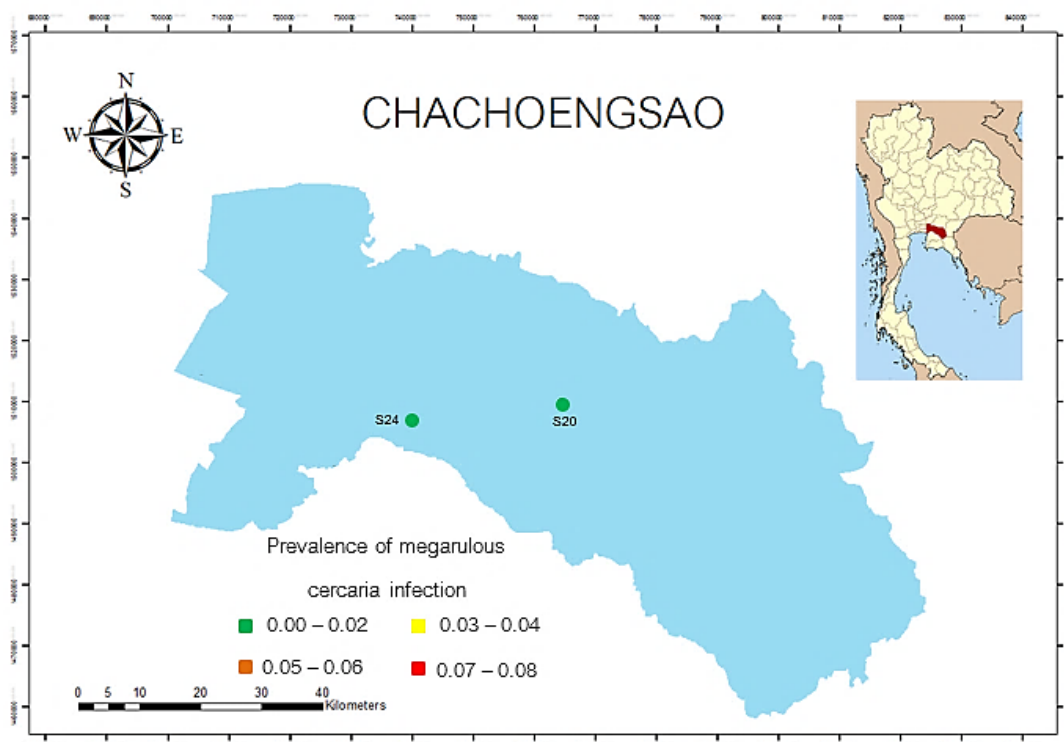
M. tuberculata

ลักษณะสัณฐานวิทยา

ลำตัวมีรูปร่างกลมรี โดยลำตัวมีขนาด $176.24 - 187.80$ (180.32 ± 6.49) $\times$ $408.12 - 530.77$ (478.38 ± 63.25) พบออร์ลซัคเกอร์บริเวณด้านหน้าของลำตัว และพบรงควัตถุกระจายทั่วบริเวณลำตัว บริเวณกลางลำตัวพบเวนทรัลซัคเกอร์ หางมีขนาด $31.48 - 46.15$ (39.94 ± 7.59) $\times$ $384.62 - 478.20$ (432.78 ± 46.85) ซึ่งบริเวณปลายหางพบ adhesive gland cells ใช้สำหรับเกาะยึดพื้นผิววัตถุ

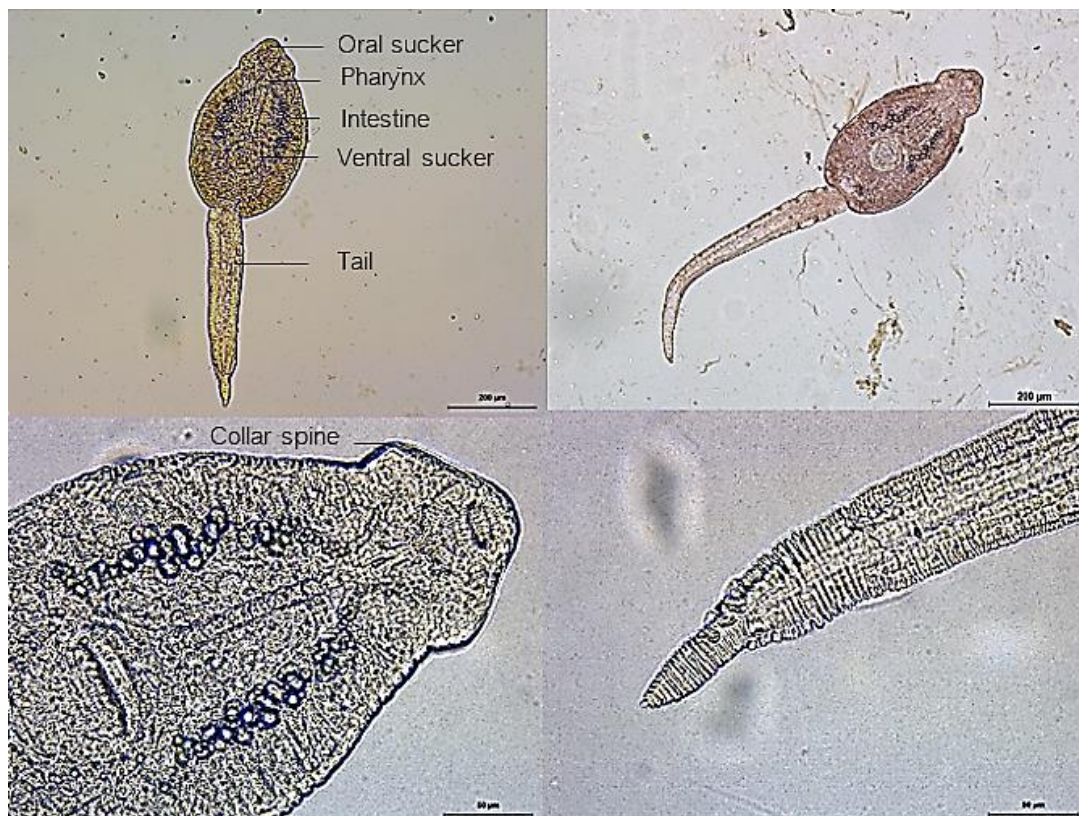
แหล่งที่พบ (ภาพประกอบ 29)

- 1) อำเภอสนมชัยเขต ได้แก่ S20 (0.01%)
- 2) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S24 (0.02%)



ภาพประกอบ 29 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ megarulous cercaria ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.4.1.7 Echinostome cercaria



ภาพประกอบ 30 ลักษณะทั่วไปของ echinostome cercaria

โฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง

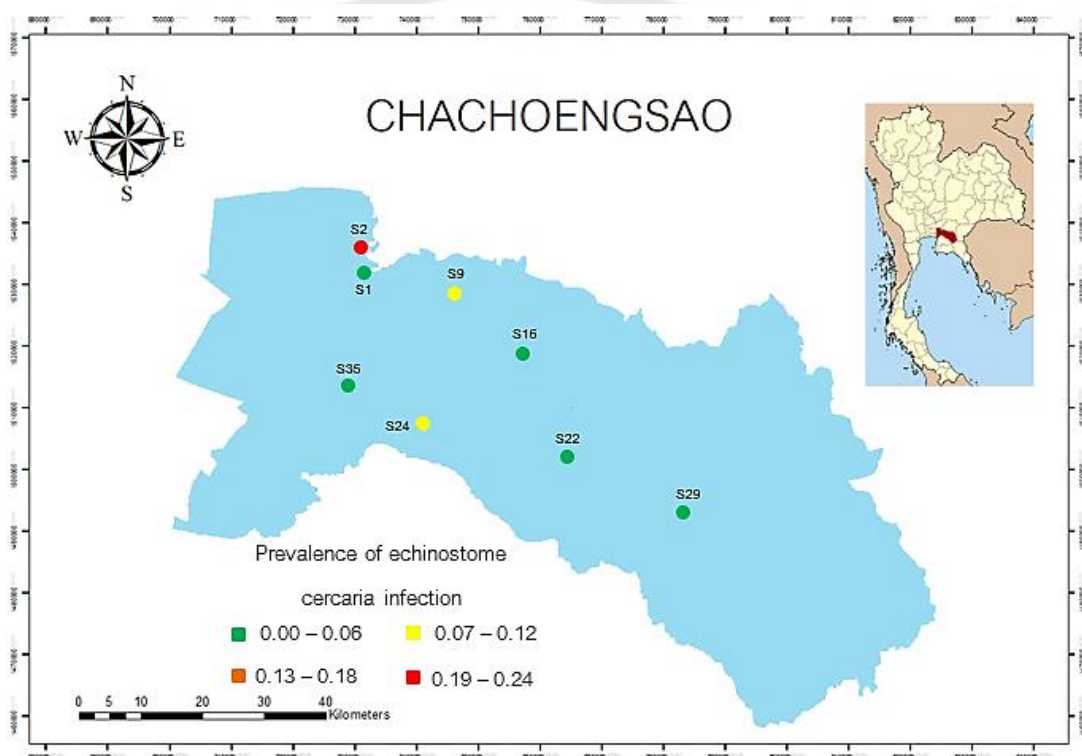
I. exustus, *L. auricularia* และ *F. sumatrensis polygramma*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

ลำตัวมีรูปร่างกลมรี โดยลำตัวมีขนาด $142.39 - 297.46$ (218.63 ± 51.92) $\times$ $232.17 - 515.38$ (364.33 ± 93.03) พบออร์ลซัคเกอร์ด้านหน้าของลำตัวแบบ subterminal และมี collar spine ล้อมรอบออร์ลซัคเกอร์ โดยคอคอยอยู่เหนือทางเดินอาหารที่แตกออกเป็นสองทาง และพบเวนทรัลซัคเกอร์อยู่บริเวณกลางลำตัว บริเวณหางมีขนาด $41.77 - 84.62$ (64.52 ± 15.24) $\times$ $285.44 - 611.24$ (398.11 ± 92.72) ซึ่งมีความยาวมากกว่าบริเวณลำตัวเล็กน้อย

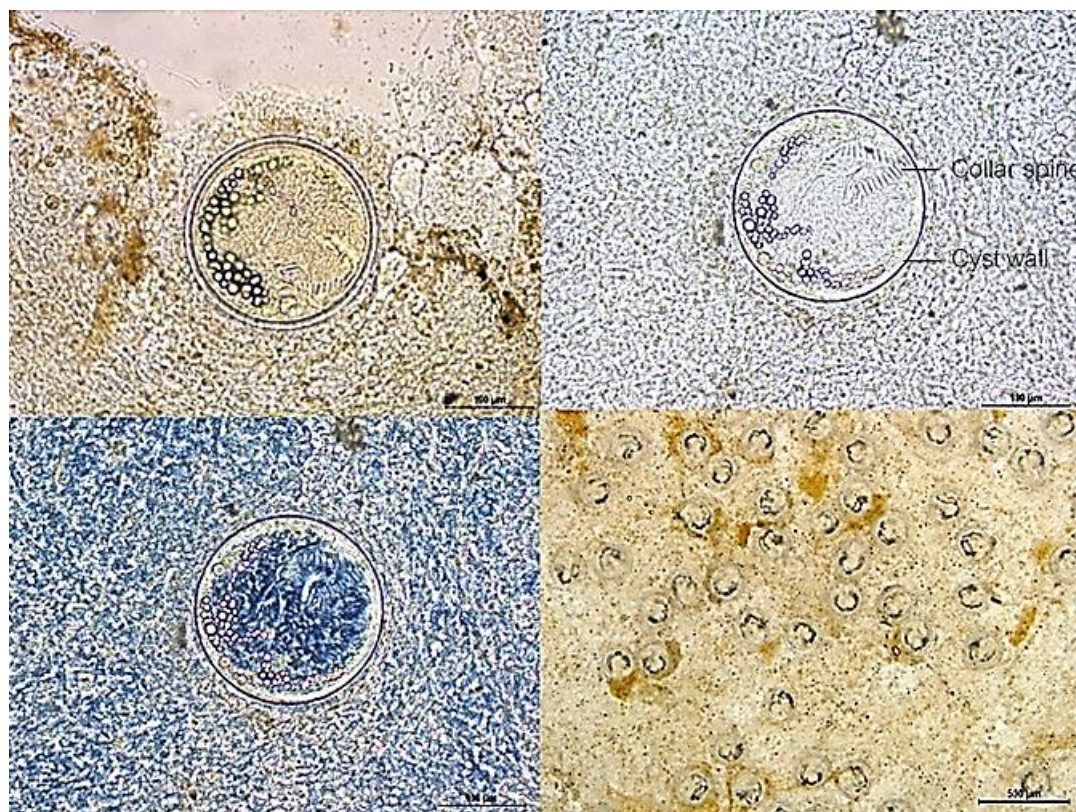
แหล่งที่พบ (ภาพประกอบ 31)

- 1) อำเภอบางน้ำเปรี้ยว ได้แก่ S1 (0.01%) และ S2 (0.22%)
- 2) อำเภอราชสามสี ได้แก่ S9 (0.08%)
- 3) อำเภอพนมสารคาม ได้แก่ S16 (0.01%)
- 4) อำเภอสนมชัยเขต ได้แก่ S22 (0.01%)
- 5) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S24 (0.09%)
- 6) อำเภอท่าตะเกียบ ได้แก่ S29 (0.02%)
- 7) อำเภอบางคล้า ได้แก่ S35 (0.05%)



ภาพประกอบ 31 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบ echinostome cercaria ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.3.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรีย



ภาพประกอบ 32 ลักษณะทั่วไปของเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ *E. revolutum*

โฮสต์กึ่งกลางที่หนึ่ง

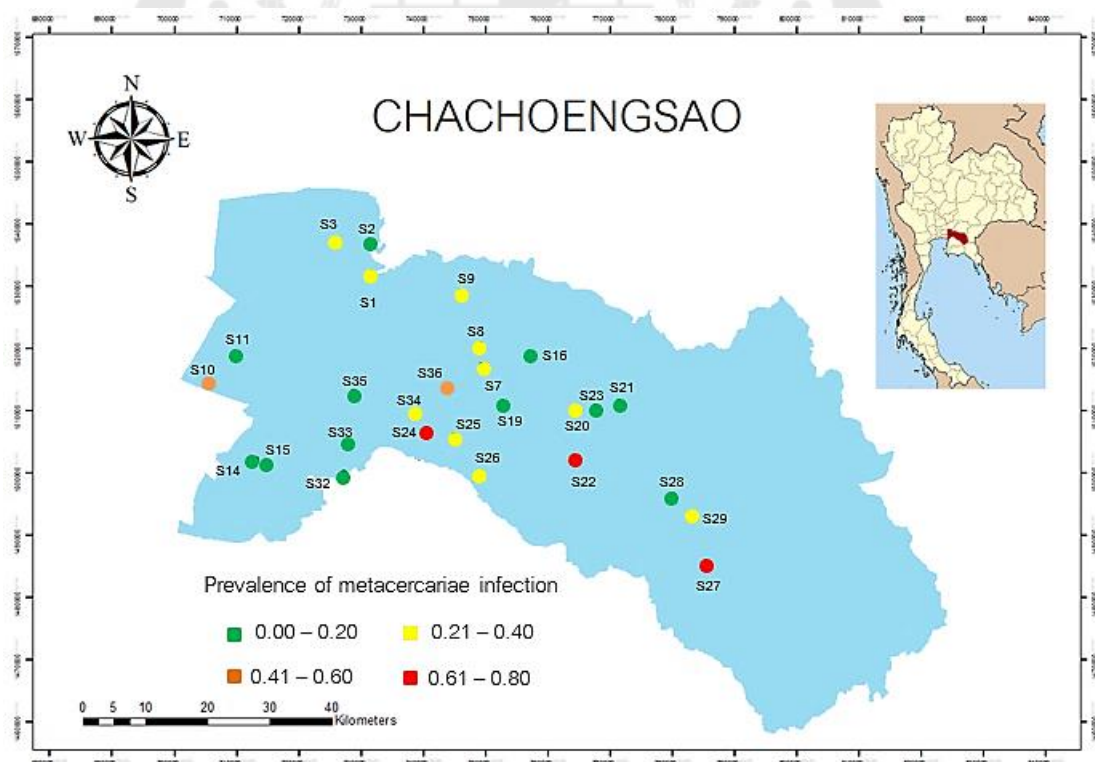
F. martensi และ *F. sumatrensis polygramma*

ลักษณะสัณฐานวิทยา

รูปร่างกลม มีขนาด 199.02 - 226.40 (215.52 ± 8.21) x 204.71 - 226.92 (216.44 ± 7.03) และพบผนัง 2 ชั้น ที่มีลักษณะใสและหนาล้อมรอบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ โดยตัวอ่อนพยาธิใบไม้ไม่มี excretory granule และ collar spine ซึ่ง collar spine เป็นลักษณะเฉพาะของพยาธิใบไม้ในกลุ่ม Echinostomatidae

แหล่งที่พบ (ภาพประกอบ 33)

- 1) อำเภอบางน้ำเปรี้ยว ได้แก่ S1 (0.27%), S2 (0.16%) และ S3 (0.26%)
- 2) อำเภอราชสาสน์ ได้แก่ S7 (0.30%), S8 (0.40%) และ S9 (0.24%)
- 3) อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา ได้แก่ S10 (0.47%) และ S11 (0.04%)
- 4) อำเภอบางปะกง ได้แก่ S14 (0.01%) และ S15 (0.07%)
- 5) อำเภอพนมสารคาม ได้แก่ S16 (0.10%) และ S19 (0.20%)
- 6) อำเภอสนามชัยเขต ได้แก่ S20 (0.21%), S21 (0.08%), S22 (0.65%) และ S23 (0.01%)
- 7) อำเภอแปลงยาว ได้แก่ S24 (0.68%), S25 (0.36%) และ S26 (0.21%)
- 8) อำเภอท่าตะเกียบ ได้แก่ S27 (0.68%), S28 (0.04%) และ S29 (0.34%)
- 9) อำเภอบ้านโพธิ์ ได้แก่ S32 (0.03%) และ S33 (0.20%)
- 10) อำเภอบางคล้า ได้แก่ S34 (0.31%), S35 (0.02%) และ S36 (0.46%)



ภาพประกอบ 33 แผนที่แสดงค่าความชุกและแหล่งที่พบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย
ของจังหวัดฉะเชิงเทรา

4.5 การศึกษาทางอนุชีววิทยา

จากการตรวจสอบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทราพบค่าความชุกการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะรีเดีย ระยะเซอร์คาเรียและระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสัตวแพทย์ ได้แก่ พยาธิใบไม้วงศ์ Echinostomatidae และ Heterophyidae ที่พบค่อนข้างสูงในจังหวัดฉะเชิงเทรา สำหรับพยาธิใบไม้วงศ์ Echinostomatidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรา มีดังนี้ 1) ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียชนิด echinostome cercaria พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *I. exustus*, *L. auricularia* และ *F. s. polygramma* 2) ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *F. martensi* และ *F. s. polygramma* 3) ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะรีเดียพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *F. martensi*, *F. s. polygramma*, *I. exustus* และ *L. auricularia*

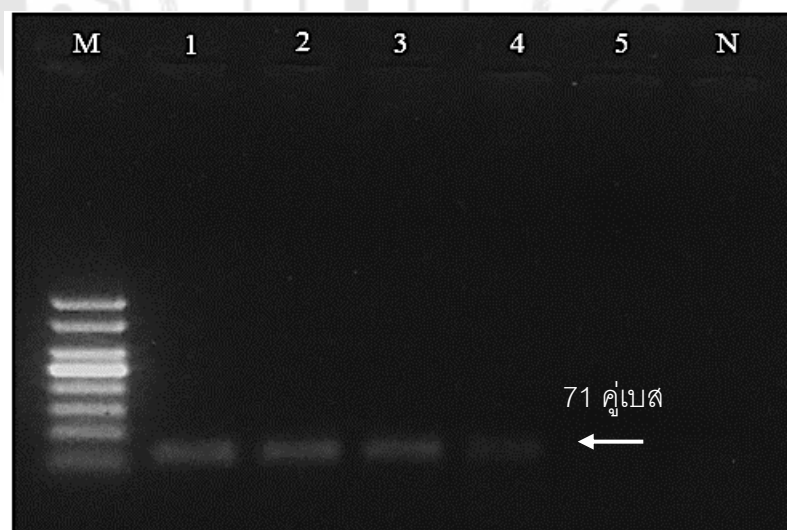
จากการตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *Echinostoma revolutum* โดยอ้างอิงไพรเมอร์จาก Anucherngchai และ Chontanarith (Anucherngchai & Chontanarith, 2019) พบว่าไพรเมอร์มีความจำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *E. revolutum* โดยแสดงผลผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาด 71 คู่เบส และไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิใบไม้ชนิดอื่นหรือไฮสดีกิ้งกลางของพยาธิใบไม้ ได้แก่ *Centrocestus formosanus*, *C. caninus*, *Diplostomum* sp., *Clea helena*, *F. s. polygramma*, *I. exustus* และ *L. auricularia* (ภาพประกอบ 34) และเมื่อตรวจสอบความไวของไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *E. revolutum* พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่มีความเข้มข้นที่น้อยที่สุดเท่ากับ 22.90×10^{-3} ng/uL (ภาพประกอบ 35) เมื่อนำตัวอย่างพยาธิใบไม้วงศ์ Echinostomatidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามาสกัดสารพันธุกรรมและระบุอัตลักษณ์เชิงโมเลกุลโดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อ *E. revolutum* ประกอบด้วย E_rev forward: 5' GGT GTG GTC TGG TTA CGA CC 3' และ E_rev reverse: 5' GAC ACA GCA GAA AGG AAG CAC 3' จากการตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (gel electrophoresis) พบว่าแสดงผลบวกและให้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาด 71 คู่เบส แสดงว่าพยาธิใบไม้วงศ์ Echinostomatidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทราเป็นพยาธิใบไม้ *E. revolutum* (ภาพประกอบ 36) พร้อมทั้งตรวจสอบและยืนยันข้อมูลที่ได้โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาเปรียบเทียบ (BLAST: Basic Local Alignment Search Tool) บนฐานข้อมูลเอ็นซีบีไอ (NCBI database) พบว่าตัวอ่อนพยาธิใบไม้วงศ์ Echinostomatidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามีความเหมือน (identity) *E. revolutum* อยู่ในช่วงร้อยละ 94.30-91.23

สำหรับพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรา มีดังนี้ 1) ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียชนิด *parapleurolophocercous cercaria* พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *B. siamensis*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* 2) ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะรีเดียพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *B. siamensis*, *M. tuberculata* และ *T. granifera*

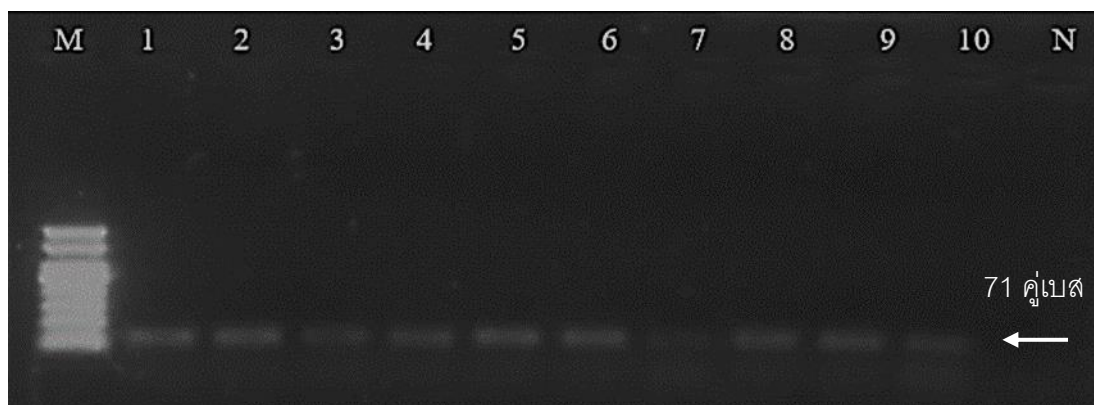
จากการตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *Haplorchis taichui* โดยอ้างอิงไพรเมอร์จาก Chontanarith et al. (2018) พบว่าไพรเมอร์มีความจำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *H. taichui* โดยแสดงผลลักษณะที่พีซีอาร์ที่มีขนาด 1,075 คู่เบส และไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิใบไม้ชนิดอื่น ได้แก่ *Centrocestus caninus*, *E. ilocanum*, *E. japonicum*, *E. revolutum*, *Haplorchoides* sp. และ *Isthmiophora hortensis* (ภาพประกอบ 37) และเมื่อตรวจสอบความไวของไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *H. taichui* พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่มีความเข้มข้นที่น้อยที่สุดเท่ากับ 4.80×10^{-2} ng/uL (ภาพประกอบ 38) เมื่อนำตัวอย่างพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามาสกัดสารพันธุกรรมและระบุอัตลักษณ์เชิงโมเลกุลโดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อ *H. taichui* ประกอบด้วย HT-F: 5' CCT GAG ATA CGG CTA CCA CTT CCA AGG 3' และ HT-R: 5' AGG CAC AGA GGA CAG GCG TAC TA 3' จากการตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสพบว่าแสดงผลบวกและให้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่มีขนาด 1,075 คู่เบส แสดงว่าตัวอย่างพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทราเป็นพยาธิใบไม้ชนิด *H. taichui* (ภาพประกอบ 39) พร้อมทั้งตรวจสอบและยืนยันข้อมูลที่ได้ โดยนำลำดับนิวคลีโอไทด์มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล เอ็นซีบีไอพบว่าตัวอ่อนพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามีความเหมือน *H. taichui* เท่ากับร้อยละ 99.73



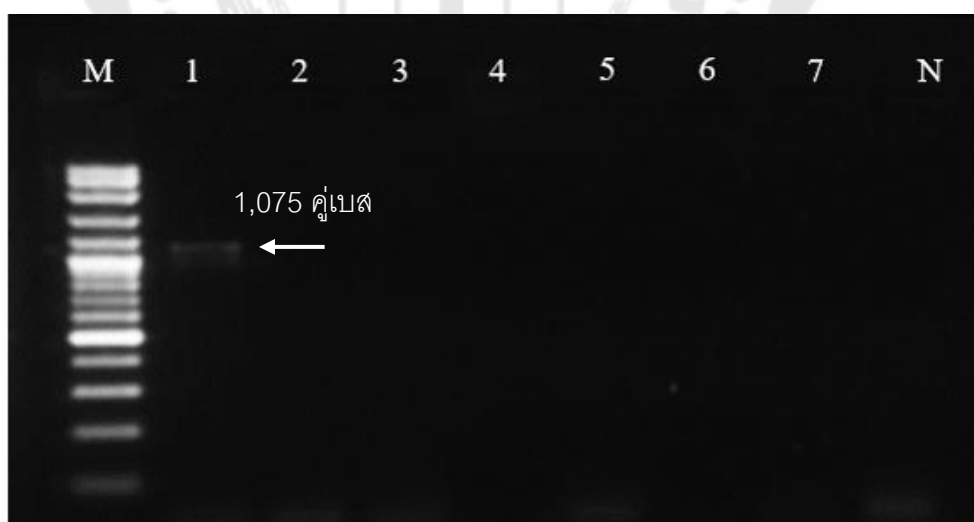
ภาพประกอบ 34 การตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์จำเพาะต่อ *E. revolutum*
 ช่อง (Lane) M: marker 50 คู่เบส, ช่อง 1: *E. revolutum*, ช่อง 2: *Centrocestus formosanus*,
 ช่อง 3: *C. caninus*, ช่อง 4: *Diplostomum* sp., ช่อง 5: *Clea helena*, ช่อง 6: *F. s. polygram-*
ma, ช่อง 7: *I. exustus*, ช่อง 8: *L. auricularia*, ช่อง N: negative control



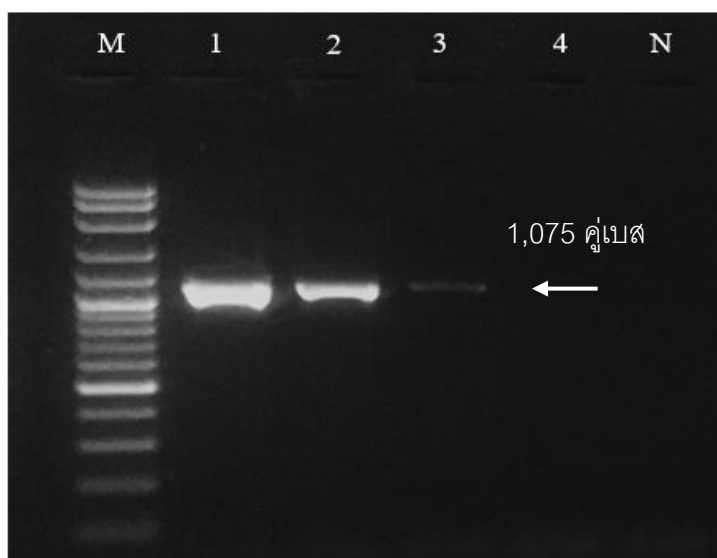
ภาพประกอบ 35 การตรวจสอบความไวของไพรเมอร์จำเพาะต่อ *E. revolutum*
 ช่อง M: marker 50 คู่เบส, ช่อง 1: 22.9 ng/uL, ช่อง 2: 10^{-1} , ช่อง 3: 10^{-2} , ช่อง 4: 10^{-3} , ช่อง 5:
 10^{-4} , ช่อง N: negative control



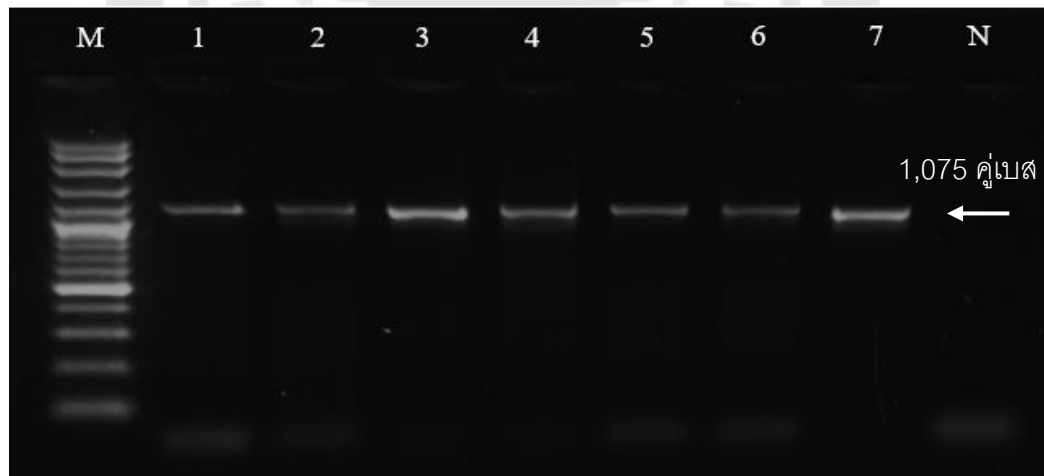
ภาพประกอบ 36 การตรวจสอบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยไพรเมอร์จำเพาะต่อ *E. revolutum*
 ช่อง M: marker 50 คู่เบส, ช่อง 1: *E. revolutum*, ช่อง 2: echinostome cercaria ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *I. exustus*, ช่อง 3: echinostome cercaria ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma*, ช่อง 4: echinostome cercaria ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *L. auricularia*, ช่อง 5: metacercaria ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma*, ช่อง 6: metacercaria ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. martensi*, ช่อง 7: redia ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma*, ช่อง 8-9: redia ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. martensi*, ช่อง N: negative



ภาพประกอบ 37 การตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์จำเพาะต่อ *H. taichui*
 ช่อง M: marker 100 คู่เบส, ช่อง 1: *H. taichui*, ช่อง 2: *Haplorchoides* sp., ช่อง 3: *Centrocestus caninus*, ช่อง 4: *E. revolutum*, ช่อง 5: *E. ilocanum*, ช่อง 6: *Isthmiophora hortensis*, ช่อง 7: *E. japonicum*, ช่อง N: negative control



ภาพประกอบ 38 การตรวจสอบความไวของไพรเมอร์จำเพาะต่อ *H. taichui*
 ช่อง M: marker 100 คู่เบส, ช่อง 1: 4.80 ng/uL, ช่อง 2: 10^{-1} , ช่อง 3: 10^{-2} , ช่อง 4: 10^{-3} , ช่อง N:
 negative control



ภาพประกอบ 39 การตรวจสอบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยไพรเมอร์จำเพาะต่อ *H. taichui*
 ช่อง M: marker 100 คู่เบส, ช่อง 1: *H. taichui*, ช่อง 2: parapleurolophocercous cercaria ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata*, ช่อง 3: parapleurolophocercous cercaria ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *T. granifera*, ช่อง 4: parapleurolophocercous cercaria ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis*, ช่อง 5: redia ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata*, ช่อง 6: redia ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *T. granifera*, ช่อง 7: redia ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis*,
 ช่อง N: negative control

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของ จังหวัดฉะเชิงเทรา พบค่าความชุกรวมของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้เท่ากับร้อยละ 11.83 ใกล้เคียงกับการศึกษาของ พีรพล รัตนไทย (2553) พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ ระยะเซอร์คาเรียในหอยฝาดเดียววงศ์ Thiaridae ในภาคใต้ของประเทศไทยเท่ากับร้อยละ 13.65 ซึ่ง การศึกษาค้นนี้พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้สูงกว่าการศึกษาของ Bdir and Adwan (2011); Chingwena et al. (2002); Devkota et al. (2011); Imani-Baran et al. (2013); Yousif et al. (2016); ชฎาภรณ์ ตั้งหังขึ้น และ สุภาปนา ชลธนานารถ (2561); น้ำฝน ภัทรดุขฎิ (2553) ที่พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้เท่ากับร้อยละ 5.70, 6.60, 4.30, 8.03, 1.97, 2.32 และ 7.23 ตามลำดับ เนื่องจากจังหวัดฉะเชิงเทรามีความหลากหลายชนิดของหอยน้ำจืด ฝาดเดียว (สุชาติ ผึ้งฉิมพลี และ ประสิทธิ์ นิยมไทย, 2555) ซึ่งหอยน้ำจืดฝาดเดียวทำหน้าที่เป็นโฮสต์ กึ่งกลางในวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ จึงทำให้พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้สูงใน จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ใน หอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทราเป็นครั้งแรก เนื่องจากไม่พบรายงานการติดตัวอ่อนพยาธิ ใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทรามาก่อน การศึกษาค้นนี้พบการติดตัวอ่อนพยาธิ ใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวสูงสุดในอำเภอรราชานส์ มีค่าความชุกสูงถึงร้อยละ 20.53 ซึ่ง การระบาดของพยาธิใบไม้ในอำเภอรราชานส์มีสาเหตุจากหลายปัจจัย เช่น อำเภอรราชานส์เป็น อำเภอที่มีพื้นที่ใกล้เคียงกับจังหวัดปราจีนบุรี จึงทำให้อำเภอรราชานส์เป็นพื้นที่ที่รองรับน้ำจาก ลำน้ำหลายสาขา ได้แก่ แม่น้ำนครนายกที่มีต้นกำเนิดมาจากเทือกเขาในเขตอุทยานแห่งชาติ เขาใหญ่ แม่น้ำบางปะกงที่เกิดจากแม่น้ำปราจีนบุรีไหลมาบรรจบกับแม่น้ำนครนายก และคลอง ท่าลาดที่มีต้นกำเนิดจากการรวมตัวกันของคลองระบมและคลองสี่ยัด โดย Alves et al. (2011) รายงานว่าการระบาดของพยาธิใบไม้แพร่กระจายผ่านทางน้ำสอดคล้องกับ สถาบันสารสนเทศ ทรัพยากรน้ำและการเกษตร (2555) รายงานว่าแม่น้ำบางปะกงมีคุณภาพน้ำต่ำพบการปนเปื้อน ของสิ่งปฏิกูลและจุลชีพ เนื่องจากลำน้ำไหลผ่านพื้นที่ชุมชน บริเวณเพาะปลูกทางการเกษตร และ แหล่งปศุสัตว์ นอกจากนี้การมีแหล่งน้ำตามธรรมชาติจำนวนมากส่งผลให้อำเภอรราชานส์มี ความหลากหลายของโฮสต์กึ่งกลางในวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ เช่น *B. siamensis*, *F. martensi*, *F. s. polygramma*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* ส่งผลให้เกิดการแพร่ระบาดของพยาธิ

ไบไม้ในพื้นที่ (Lima, Soares, Barçante, Guimaraes, & Barçante, 2009) รวมทั้งประชาชนในพื้นที่บริเวณอาหารไม่ถูกสุขลักษณะอนามัยยังทำให้เกิดการแพร่ระบาดของพยาธิไบไม้สูงในอำเภอราชสาสน์

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยน้ำจืดฝาดเดียวในจังหวัดฉะเชิงเทราพบหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* สูงสุดจำนวน 3,600 ตัว จากหอยน้ำจืดฝาดเดียวทั้งหมด 10,750 ตัว และพบตัวอ่อนพยาธิไบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* ของจังหวัดฉะเชิงเทรา 5 รูปแบบ ได้แก่ longifurcate pharyngeate furcocercous cercaria, monostome cercaria, parapleurolophocercous cercaria, pleurolophocercous cercaria และ xiphidiocercaria ซึ่งตัวอ่อนพยาธิไบไม้ระยะเซอร์คาเรียแต่ละรูปแบบจะพัฒนาเป็นพยาธิไบไม้ระยะตัวเต็มวัยที่ต่างชนิดกัน การศึกษาครั้งนี้พบว่าหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* ทำหน้าที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิไบไม้หลายชนิดสูงสุดทั้งในจังหวัดฉะเชิงเทราสอดคล้องกับรายงานของชตพรพรช ชวนประสิทธิ์ (2556) ที่พบหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* สูงสุดในการศึกษาการติดตัวอ่อนพยาธิไบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดบริเวณเขื่อนป่าสักชลสิทธิ์ ซึ่งต่างจากการศึกษาของศิริลักษณ์ โชติแสงศรี (2550) พบหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* มีความสามารถในการเป็นโฮสต์กึ่งกลางสูงสุดบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย แต่อย่างไรก็ตามรายงานที่กล่าวมาข้างต้นพบว่ามีคุณสมบัติคล้ายกันเนื่องจากหอยน้ำจืดฝาดเดียวที่พบสูงสุดมีความสามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิไบไม้หลายชนิดสูงสุดในพื้นที่นั้น จึงส่งผลให้พยาธิไบไม้สามารถแพร่ระบาดอย่างกว้างขวาง นอกจากนี้พบว่าหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma*, *I. exustus*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิไบไม้หลายชนิดในจังหวัดฉะเชิงเทราเช่นเดียวกับหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* เนื่องจากพบรูปแบบตัวอ่อนพยาธิไบไม้ระยะเซอร์คาเรียที่แตกต่างกันหลายรูปแบบ ซึ่งหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma* และ *I. exustus* ในจังหวัดฉะเชิงเทราพบ longifurcate pharyngeate furcocercous cercaria และ echinostome cercaria หอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* พบ parapleurolophocercous cercaria และ megarulous cercaria หอยน้ำจืดฝาดเดียว *T. granifera* พบ parapleurolophocercous cercaria และ xiphidiocercaria ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ (Anucherngchai et al., 2016; น้ำฝน ภัทรดุขฎี, 2553; วิวิชชุตตา เดชรักษา, 2549) ที่พบว่า *F. s. polygramma*, *I. exustus*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* มีความสามารถในการเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิไบไม้หลายชนิดในภาคเหนือและภาคกลางของประเทศไทย

การศึกษาค้นคว้าพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้สูงสุดในหอยน้ำจืดฝาดเดียววงศ์ Viviparidae ซึ่งในจังหวัดฉะเชิงเทราพบหอยน้ำจืดฝาดเดียวทั้งชนิด *F. s. polygramma* และ *F. martensi* โดยพบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้สูงสุดในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *F. s. polygramma* มีค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะรีเดีย ระยะเซอร์คาเรียและระยะเมตาเซอร์คาเรียเท่ากับร้อยละ 0.13, 0.25 และ 7.34 ตามลำดับ สำหรับหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. martensi* มีค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะรีเดียและระยะเมตาเซอร์คาเรียเท่ากับร้อยละ 0.03 และ 0.13 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma* และ *F. martensi* สอดคล้องกับรายงานของ Chai, Sohn, Na, and Van De (2011) ที่พบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยสกุล *Filopaludina* ในจังหวัดน่าน ประเทศเวียดนาม ซึ่งค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียของจังหวัดฉะเชิงเทราต่ำกว่ารายงานของ Yurlova et al. (2006) ที่พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *Lymnaea stagnalis* มากกว่าร้อยละ 60.00 ในประเทศรัสเซีย Chantima, Chai, and Wongsawad (2013) พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma* และ *F. martensi* ของจังหวัดเชียงใหม่เท่ากับร้อยละ 41.00 และ 38.50 ตามลำดับ

Noikong and Wongsawad (2014) ได้รายงานค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. dorliaris* และ *F. martensi* เท่ากับร้อยละ 40.89 และ 36.27 ตามลำดับ ในขณะที่ ไสธร อนุเชิงชัย (2561) รายงานค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma* และ *F. martensi* ของจังหวัดชัยนาทเท่ากับร้อยละ 44.44 และ 10.00 ตามลำดับ นอกจากนี้ Anucherngchai and Chontanarath (2019) ได้รายงานค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma* และ *F. martensi* ของจังหวัดลพบุรีเท่ากับร้อยละ 46.54 และ 2.00 ตามลำดับ ซึ่งค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียของการศึกษาค้นคว้านี้ต่ำกว่ารายงานที่กล่าวมาข้างต้น อาจเป็นเพราะพบการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียร่วมกับระยะเมตาเซอร์คาเรีย แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาค้นคว้านี้มีความสอดคล้องกับรายงานข้างต้น (Anucherngchai & Chontanarath, 2019; Chantima et al., 2013; ไสธร อนุเชิงชัย, 2561) เนื่องจากพบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma* สูงกว่า *F. martensi* ดังนั้นหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. s. polygramma* จึงเป็นโฮสต์กึ่งกลางที่มีความเหมาะสม

สูงสุดของพยาธิใบไม้ในวงศ์ Echinostomatidae ในจังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งพยาธิใบไม้ในวงศ์ Echinostomatidae ก่อให้เกิดโรค Echinostomiasis ในมนุษย์ โดยผู้ป่วยจะมีอาการปวดท้อง ท้องเสีย อ่อนเพลีย เหนื่อยง่ายและอาจเสียชีวิตได้ (Chai et al., 2012) ซึ่งจากการศึกษาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในจังหวัดฉะเชิงเทราที่ได้กล่าวมาข้างต้น การศึกษาครั้งนี้พบว่าหอยน้ำจืดฝาเดียว 7 ชนิด ได้แก่ *B. siamensis*, *F. sumatrensis polygramma*, *F. martensi*, *I. exustus*, *L. auricularia*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* ทำหน้าที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ในจังหวัดฉะเชิงเทรา

การศึกษานี้พบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 7 รูปแบบ ได้แก่ xiphidiocercaria, longifurcate pharyngeate furcocercous cercaria, parapleurolophocercous cercaria, echinostome cercaria, pleurolophocercous cercaria, monostome cercaria และ megarulous cercaria

xiphidiocercaria เป็นรูปแบบที่พบสูงสุดในจังหวัดฉะเชิงเทรา มีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.73 สอดคล้องกับรายงานของ (Imani-Baran et al., 2013) ตรวจสอบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาเดียวชนิด *Lymnaea gedrosiana* ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศอิหร่าน พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียรูปแบบ xiphidiocercariae สูงสุดเท่ากับร้อยละ 81.98 ในหอยน้ำจืดฝาเดียว *L. gedrosiana* ซึ่งการศึกษานี้พบค่าความชุกของการติด xiphidiocercaria สูงกว่ารายงานของ ชฎาภรณ์ ดั่งหังขึ้น และ สุภาพนา ชลธนานารถ (2561) ที่พบค่าความชุกของการติด xiphidiocercaria ในหอยน้ำจืดฝาเดียว *B. siamensis* ของจังหวัดสระบุรีเท่ากับร้อยละ 0.54 เนื่องจากพบหอยน้ำจืดฝาเดียว *B. siamensis* ซึ่งทำหน้าที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางในจังหวัดฉะเชิงเทราสูงกว่าจังหวัดสระบุรี นอกจากนี้การศึกษานี้พบว่าหอยน้ำจืดฝาเดียว *B. siamensis* สามารถติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียรูปแบบ xiphidiocercaria ได้ ซึ่งต่างจากรายงานของ Anucherngchai, Tejangkura, and Chontanarath (2017) ที่พบ xiphidiocercaria ในหอยน้ำจืดฝาเดียว *M. tuberculata* และ *T. granifera* ในจังหวัดราชบุรี โดยมีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 51.16 และ 15.00 ตามลำดับ โดย xiphidiocercaria ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทราพบในหอยน้ำจืดฝาเดียว *B. siamensis*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* สอดคล้องกับการศึกษาของ Anucherngchai et al. (2016) ที่พบ xiphidiocercaria ในหอยน้ำจืดฝาเดียว *B. siamensis* บริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยา ชตพรพรช ชวนประสิทธิ์ (2556) พบ xiphidiocercaria ในหอยน้ำจืดฝาเดียว *B. siamensis*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* บริเวณเขื่อนป่าสักชลสิทธิ์ พิษณุ

รัตนไทย (2553) พบ xiphidiocercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* และ *T. granifera* ในภาคใต้ของประเทศไทย สุภัทรตา ศรีทองแท้ (2557) พบ xiphidiocercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* และ *T. granifera* ในภาคกลางของประเทศไทย โดย xiphidiocercaria พัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ในวงศ์ Lecithodendriidae เช่น *Loxogenoides bicolor* และ *Loxogenoides loborichis* เป็นพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในกบ (Christensen, 1981)

เซอร์คาเรียรูปแบบ longifurcate pharyngeate furcocercous cercaria ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.30 โดยพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis*, *F. sumatrensis polygramma* และ *I. exustus* การศึกษาครั้งนี้พบว่า *I. exustus* สามารถติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย longifurcate pharyngeate furcocercous cercaria ได้ในจังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งต่างจากรายงานของ Anucherngchai et al. (2016) และ ชตพรพร ชนวนประสิทธิ์ (2556) ที่พบ longifurcate pharyngeate furcocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis*, *F. sumatrensis polygramma* และ *M. tuberculata* บริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยาและเขื่อนป่าสักชลสิทธิ์ โดย longifurcate pharyngeate furcocercous cercaria พัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ในวงศ์ Strigeoidea เช่น *Alaria mustelae* เป็นพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในเยื่อหุ้มตา และ *Mesostephanus appendicalatus* เป็นพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในนก (Dechruksa, 2006; Hofer & Johnson, 1970)

เซอร์คาเรียรูปแบบ parapleurolophocercous cercaria ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.30 ซึ่งการศึกษานี้พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ต่ำกว่ารายงานของ Chontanarith and Wongsawad (2013) ที่พบค่าความชุกของการติด parapleurolophocercous cercaria สูงสุดในจังหวัดเชียงใหม่เท่ากับร้อยละ 64.25 ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* นอกจากนี้รายงานของ Anucherngchai et al. (2017) พบการติด parapleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* และ *T. granifera* ในจังหวัดราชบุรี มีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 39.53 และ 65.00 ตามลำดับ โดยการศึกษาครั้งนี้พบ parapleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *B. siamensis*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* ในจังหวัดฉะเชิงเทราสอดคล้องกับรายงานของชตพรพร ชนวนประสิทธิ์ (2556) ที่พบ parapleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* และ *M. tuberculata* บริเวณเขื่อนป่าสักชลสิทธิ์ โดยการศึกษาครั้งนี้พบว่าหอยน้ำจืดฝาดเดียว *T. granifera* มีความสามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ในจังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งต่างจากการศึกษาของ ชตพรพร ชนวนประสิทธิ์ (2556) ไม่พบการติดตัวอ่อนในพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืด

ฝาดเดียว *T. granifera* นอกจากนี้ Anucherngchai et al. (2016) พบ parapleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *L. auricularia*, *B. siamensis* และ *M. tuberculata* บริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบ parapleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* และ *M. tuberculata* แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่พบการติดตัวอ่อน parapleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *L. auricularia* โดยการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ พิรพล รัตนไทย (2553) และ สุภัทรรตา ศรีทองแท้ (2557) ที่พบ parapleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* และ *T. granifera* ในภาคใต้และภาคกลางของประเทศไทย โดย parapleurolophocercous cercaria พัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ในวงศ์ Heterophyidae เช่น *H. taichui* และ *H. pumilio* เป็นพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กที่ก่อโรคในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Chai et al., 2013)

เชอร์คาเรียรูปแบบ echinostome cercaria ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.23 ซึ่งการศึกษานี้พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ต่ำกว่ารายงานของ Chingwen et al. (2002) ที่พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ echinostome cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวประเทศซิมบับเว มีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 38.42 โดย echinostome cercaria ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทราพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. sumatrensis polygramma*, *I. exustus* และ *L. auricularia* สอดคล้องกับรายงานของ Anucherngchai et al. (2016) และ Sri-aroon et al. (2005) ที่พบ echinostome cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *I. exustus* และ *L. auricularia* บริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยาและจังหวัดกาฬสินธุ์ โดย echinostome cercaria พัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ในวงศ์ Echinostomatidae เช่น *E. revolutum* และ *Hypoderaeum conoideum* เป็นพยาธิใบไม้ลำไส้ที่ก่อโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีก (Chai et al., 2012; Sohn et al., 2011)

เชอร์คาเรียรูปแบบ pleurolophocercous cercaria ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.07 ซึ่งการศึกษานี้พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ต่ำกว่ารายงานของ ขฎาภรณ์ ดั่งหังขึ้น และ สุภาพนา ชลธนานารถ (2561) ที่พบค่าความชุกของการติด pleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* ในพื้นที่เกษตรกรรมของจังหวัดสระบุรี มีเท่ากับร้อยละ 0.49 โดยการศึกษาครั้งนี้พบ pleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* ในจังหวัดฉะเชิงเทรา สอดคล้องกับรายงานของ Anucherngchai et al. (2016) พบ pleurolophocercous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis*, *F. filosa* และ *M. tuberculata* บริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยา โดย pleurolopho-

cercous cercaria พัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ในวงศ์ Heterophyidae เช่น *Centrocestus formosanus* เป็นพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กที่ก่อโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและนก (Han et al., 2008)

เซอร์คาเรียรูปแบบ monostome cercaria ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.02 ซึ่งการศึกษานี้พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ต่ำกว่ารายงานของ Imani-Baran et al. (2013) ที่พบค่าความชุกของการติด monostome cercariae ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *Lymnaea gedrosiana* ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศอิหร่านเท่ากับร้อยละ 1.24 ซึ่งการศึกษานี้พบ monostome cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *B. siamensis* สอดคล้องกับรายงานของ Anucherngchai et al. (2016) ซึ่งพบ monostome cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis*, *I. exustus* และ *P. diffusa* บริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยา โดย monostome cercaria พัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ในวงศ์ Notcotyloidea เช่น *Notocotylus loeimensis* เป็นพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในหนู (Chaisiri, Morand, & Ribas, 2011)

เซอร์คาเรียรูปแบบ megarulous cercaria ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทรามีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 0.02 ซึ่งการศึกษานี้พบค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ต่ำกว่ารายงานของ Anucherngchai et al. (2017) ที่พบค่าความชุกของการติด megarulous cercaria เท่ากับร้อยละ 2.33 ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* ในจังหวัดราชบุรี โดย megarulous cercaria ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทราพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *M. tuberculata* สอดคล้องกับรายงานของ พีรพล รัตนไทย (2553) และ สุภัทรตา ศรีทองแท้ (2557) ที่พบ megarulous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* ในภาคใต้และภาคกลางของประเทศไทย รวมทั้งสอดคล้องกับการศึกษาของ Anucherngchai et al. (2016) พบ megarulous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. polygramma*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* บริเวณลุ่มน้ำเจ้าพระยา การศึกษานี้ไม่พบการระบาดของ megarulous cercaria ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. polygramma* และ *T. granifera* ในจังหวัดฉะเชิงเทรา โดย megarulous cercaria พัฒนาเป็นพยาธิใบไม้ในวงศ์ Philophthalmidae เช่น *Philophthalmus* sp., *Cloacitrema philippinum* และ *Parorchis acanthus* เป็นพยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในสัตว์ปีก เช่น นกและไก่ (Kraillat et al., 2012)

สำหรับการระบุชนิดเชิงโมเลกุลของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทราด้วยไพรเมอร์จำเพาะ โดยนำตัวอ่อนพยาธิใบไม้กลุ่ม Echinostomatidae ได้แก่ ระยะเวลาเดี่ยว ระยะเซอร์คาเรีย และระยะเมตาเซอร์คาเรีย ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *F. sumatrensis polygramma*, *F. martensi*, *I. exustus* และ *L. auricularia* ตรวจสอบด้วยไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *E. revolutum* ที่อ้างอิงจาก (Anucherngchai & Chontanarith, 2019) ประกอบด้วย forward primer (5' GGT GTG GTC TGG TTA CGA CC 3') และ reverse primer (5' GAC ACA GCA GAA AGG AAG CAC 3') พบว่าแสดงผลบวกต่อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเดี่ยว ระยะเซอร์คาเรีย และระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ *E. revolutum* โดยผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มีขนาด 71 คู่เบส และไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิใบไม้ชนิดอื่น ซึ่งการระบาดของพยาธิใบไม้ *E. revolutum* ในจังหวัดฉะเชิงเทราพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว 4 ชนิด ได้แก่ *F. sumatrensis polygramma*, *F. martensi*, *I. exustus* และ *L. auricularia* ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Chantima et al. (2013) พบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *E. revolutum* ระยะเมตาเซอร์คาเรียในหอยน้ำจืดฝาดเดียว 7 ชนิดในจังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่ *C. helena*, *Eyriesia eyriesi*, *B. funiculata*, *B. siamensis siamensis*, *F. doliaris*, *F. sumatrensis polygramma* และ *F. martensi martensi* ซึ่งมีค่าความชุกเท่ากับร้อยละ 5.10, 12.50, 44.00, 8.20, 58.70, 41.00 และ 38.50 ตามลำดับ โดยไฮสตรึงกลางของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *E. revolutum* ในจังหวัดฉะเชิงเทราพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *I. exustus* และ *L. auricularia* ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Chantima et al. (2013) ที่พบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *E. revolutum* ของจังหวัดเชียงใหม่ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *C. helena*, *E. eyriesi*, *B. funiculata* และ *B. siamensis siamensis* รวมทั้งการศึกษาค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในจังหวัดฉะเชิงเทราไม่พบการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *C. helena* แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับรายงานข้างต้น เนื่องจากจังหวัดฉะเชิงเทราและจังหวัดเชียงใหม่พบการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *E. revolutum* สูงสุดในหอยน้ำจืดฝาดเดียวสกุล *Filopaludina* ได้แก่ *F. martensi* และ *F. sumatrensis polygramma* นอกจากนี้การศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานที่มีมาก่อนที่พบการระบาดของพยาธิใบไม้ *E. revolutum* ในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางของประเทศไทย (Chantima et al., 2013; Saijuntha et al., 2011a) รวมทั้งพบการระบาดของพยาธิใบไม้ *E. revolutum* ในหลายประเทศของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศกัมพูชา (Sohn et al., 2011) ลาว (Saijuntha, Tantrawatpan, Sithithaworn, Andrews, & Petney, 2011b) และเวียดนาม (Chai et al., 2011)

จากการตรวจสอบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะรีเดียและระยะเซอร์คาเรียชนิด *parapleurolophocercous cercaria* ที่พบในหอยน้ำจืดฝาดเดียวชนิด *B. siamensis*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ *Haplorchis taichui* ที่อ้างอิงจาก (Chontanarith et al., 2018) ประกอบด้วย forward primer (HT-F: 5' CCT GAG ATA CGG CTA CCA CTT CCA AGG 3') และ reverse primer (HT-R: 5' AGG CAC AGA GGA CAG GCG TAC TA 3') พบว่าแสดงผลบวกต่อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะรีเดียและระยะเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ *H. taichui* โดยผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มีขนาด 1,075 คู่เบสและไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิใบไม้ชนิดอื่น ซึ่งการระบาดของพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในจังหวัดฉะเชิงเทราพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว 3 ชนิด ได้แก่ *B. siamensis*, *M. tuberculata* และ *T. granifera* ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Krailas, Namchote, and Rattanathai (2011) พบการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata*, *M. jugicostis* และ *Neoradina prasongi* ในภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งมีค่าความชุกของการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้เท่ากับร้อยละ 0.96, 0.11 และ 7.74 ตามลำดับ โดยโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในจังหวัดฉะเชิงเทราพบในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *B. siamensis* และ *T. granifera* ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Krailas et al. (2011) ที่พบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. jugicostis* และ *N. prasongi* แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับรายงานข้างต้น เนื่องจากจังหวัดฉะเชิงเทราและภาคใต้ของประเทศไทยพบการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในหอยน้ำจืดฝาดเดียว *M. tuberculata* รวมทั้งการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานที่มีมาก่อนที่พบการระบาดของพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคใต้ และภาคกลางของประเทศไทย (Chontanarith et al., 2017; Kumchoo, Wongsawad, Chai, Vanittanakom, & Rojanapaibul, 2005; Namchote et al., 2015; พีรพล รัตนไทย, 2553; วิชชุตา เดชรักษา, 2549) รวมทั้งพบการระบาดของพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้หลายประเทศ เช่น ลาว (Chai et al., 2009) เวียดนาม (Van Van, Dalsgaard, Blair, & Le, 2009) และฟิลิปปินส์ (Belizario, de Leon, Bersabe, Baird, & Bangs, 2004)

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกที่แสดงให้เห็นถึงค่าความชุกของการติดตัวอ่อน พยาธิใบไม้ในหอยน้ำจืดฝาดเดียวของจังหวัดฉะเชิงเทรา โดยจังหวัดฉะเชิงเทราเป็นจังหวัดที่ตั้งอยู่บริเวณลุ่มแม่น้ำบางปะกงที่มีความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำ เช่น เขื่อนบางพระระก อ่างเก็บน้ำ สียัด ฯลฯ โดยแหล่งน้ำตามธรรมชาติเหล่านี้มีประโยชน์ต่อการทำเกษตรกรรม การอุปโภคและ บริโภค รวมทั้งทำหน้าที่เป็นแหล่งอาศัยของสัตว์น้ำ โดยเฉพาะหอยน้ำจืดฝาดเดียวที่พบในจังหวัด ฉะเชิงเทราทำหน้าที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางในวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้จึงทำให้เกิดการแพร่ระบาดของ พยาธิใบไม้ในจังหวัดฉะเชิงเทรา นอกจากนี้การศึกษานี้ทำให้ทราบสถานการณ์การระบาดของ พยาธิใบไม้ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และสัตวแพทย์ ได้แก่ *E. revolutum* และ *H. taichui* ซึ่งเป็นพยาธิใบไม้ที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษาใน ครั้งนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวางแผนควบคุม ป้องกัน และเฝ้าระวังการติดพยาธิใบไม้ อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป



บรรณานุกรม

- Abdul-Salam, J. (1994). Seasonal prevalence of trematode cercariae in *Clypeomorus bifasciata* (Gastropoda: Prosobranchia) in Kuwait Bay. *Folia Parasitol*, 41, 247-252.
- Abdul-Salam, J., Sreelatha, B.S., & Al-Kandari, W. (1997). Temporal variations in the infection of a population of *Clypeomorus bifasciata* (Gastropoda: Prosobranchia) by a digenean microphallid larva in Kuwait Bay. *Journal of helminthology*, 71(1), 1-7.
- Al-Kandari, W.Y., Abdul-Salam, J., & Meakins, R. (2000). Temporal variations in the infection of a population of *Cerithidea cingulata* by larval trematodes in Kuwait Bay. *Journal of helminthology*, 74(1), 17-22.
- Al-Kandari, W.Y., Alnaqeeb, M.A., Isaac, A.M., & Al-Bustan, S.A. (2015). Molecular characterization of *Stictodora tridactyla* (Trematoda: Heterophyidae) from Kuwait Bay using rDNA ITS and mtCO1. *Parasitology research*, 114(11), 4259-4266.
- Alves, D.P., Martins, I.V.F., Pereira Júnior, O.S., Almeida, B.R., Avelar, B.R., & Leão, A.G.C. (2011). Distribution and factors associated with *Fasciola hepatica* infection in cattle in the south of Espírito Santo State, Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 17(3), 271-276.
- Anucherngchai, S., & Chontananarth, T. (2019). *Echinostoma revolutum*: Development of a high performance DNA-specific primer to demonstrate the epidemiological situations of their intermediate hosts. *Acta tropica*, 189, 46-53.
- Anucherngchai, S., Tejangkura, T., & Chontananarth, T. (2016). Epidemiological situation and molecular identification of cercarial stage in freshwater snails in Chao-Phraya basin, Central Thailand. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 6(6), 539-545.
- Anucherngchai, S., Tejangkura, T., & Chontananarth, T. (2017). Molecular confirmation of trematodes in the snail intermediate hosts from Ratchaburi Province, Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 7(5), 286-292.
- Barber, K.E., Mkoji, G.M., & Loker, E.S. (2000). PCR-RFLP analysis of the ITS2 region to

- identify *Schistosoma haematobium* and *S. bovis* from Kenya. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 62(4), 434-440.
- Bdir, S., & Adwan, G. (2011). Larval stages of digenetic trematodes in *Melanopsis praemorsa* snails from freshwater bodies in Palestine. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1(3), 200-204.
- Belizario, V.Y., de Leon, W.U., Bersabe, M.J.J., Baird, J.K., & Bangs, M.J. (2004). A focus of human infection by *Haplorchis taichui* (Trematoda: Heterophyidae) in the southern Philippines. *Journal of Parasitology*, 90(5), 1165-1170.
- Brandt, R. A. M. (1974). The non-marine aquatic mollusca of Thailand. *Archiv für Molluskenkunde*, 105, 1-423.
- Caron, Y., Rondelaud, D., & Losson, B. (2008). The detection and quantification of a digenetic infection in the snail host with special emphasis on *Fasciola* sp. *Parasitology research*, 103(4), 735-744.
- Chai, J.Y., Han, E.T., Shin, E.H., Sohn, W.M., Yong, T.S., Eom, K.S., . . . Hoang, E.H. (2009). High prevalence of *Haplorchis taichui*, *Phaneropsolus molenkampi*, and other helminth infections among people in Khammouane province, Lao PDR. *The Korean journal of parasitology*, 47(3), 243-247.
- Chai, J.Y., Sohn, W.M., Na, B.K., & Van De, N. (2011). *Echinostoma revolutum*: metacercariae in *Filopaludina* snails from Nam Dinh Province, Vietnam, and adults from experimental hamsters. *The Korean journal of parasitology*, 49(4), 449-455.
- Chai, J.Y., Sohn, W.M., Yong, T.S., Eom, K.S., Min, D.Y., Hoang, E.H., . . . Rim, H.J. (2012). Echinostome flukes recovered from humans in Khammouane Province, Lao PDR. *The Korean journal of parasitology*, 50(3), 269-272.
- Chai, J.Y., Yong, T.S., Eom, K.S., Min, D.Y., Jeon, H.K., Kim, T.Y., . . . Phommasack, B. (2013). Hyperendemicity of *Haplorchis taichui* infection among riparian people in Saravane and Champasak Province, Lao PDR. *The Korean journal of parasitology*, 51(3), 305-311.
- Chaisiri, K., Morand, S., & Ribas, A. (2011). *Notocotylus loeiensis* n. sp. (Trematoda: Notocotylidae) from *Rattus losea* (Rodentia: Muridae) in Thailand. *Parasite: journal*

de la Société Française de Parasitologie, 18(1), 35-38.

- Chantima, K., Chai, J.Y., & Wongsawad, C. (2013). *Echinostoma revolutum*: freshwater snails as the second intermediate hosts in Chiang Mai, Thailand. *The Korean journal of parasitology*, 51(2), 183-189.
- Chingwena, G., Mukaratirwa, S., Kristensen, T.K., & Chimbari, M. (2002). Larval trematode infections in freshwater snails from the highveld and lowveld areas of Zimbabwe. *Journal of helminthology*, 76(4), 283-293.
- Chontanarith, T., Anucherngchai, S., & Tejangkura, T. (2018). The rapid detection method by polymerase chain reaction for minute intestinal trematodes: *Haplorchis taichui* in intermediate snail hosts based on 18s ribosomal DNA. *Journal of parasitic diseases*, 42(3), 423-432.
- Chontanarith, T., Tejangkura, T., Wetchasart, N., & Chimburut, C. (2017). Morphological characteristics and phylogenetic trends of trematode cercariae in freshwater snails from Nakhon Nayok Province, Thailand. *The Korean journal of parasitology*, 55(1), 47-54.
- Chontanarith, T., & Wongsawad, C. (2013). Epidemiology of cercarial stage of trematodes in freshwater snails from Chiang Mai province, Thailand. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(3), 237.
- Chontanarith, T., Wongsawad, C., Chomdej, S., Krailas, D., & Chai, J.Y. (2014). Molecular phylogeny of trematodes In Family Heterophyidae based on mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (mCO I). *Asian Pacific journal of Tropical Medicine*, 446-450.
- Choubisa, S.L. (2008). Focus on pathogenic trematode cercariae infecting fresh water snails (Mollusca: Gastropoda) of tribal region of southern Rajasthan (India). *J Parasitol Dis*, 32(1), 47-55.
- Christensen, B.M. (1981). A taxonomic review of the genus *Loxogenoides* (Digenea: Lecithodendriidae) with a description of *Loxogenoides loborchis* sp. n. from *Rana catesbeiana* Shaw in western Kentucky. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 48, 65-70.

- Cucher, M.A., Carnevale, S., Prepelitchi, L., Labbé, J.H., & Wisnivesky-Colli, C. (2006). PCR diagnosis of *Fasciola hepatica* in field-collected *Lymnaea columella* and *Lymnaea viatrix* snails. *Veterinary parasitology*, 137(1-2), 74-82.
- Dao, H.T.T., Dermauw, V., Gabriël, S., Suwannatrai, A., Tesana, S., Nguyen, G.T.T., & Dorny, P. (2017). *Opisthorchis viverrini* infection in the snail and fish intermediate hosts in Central Vietnam. *Acta tropica*, 170, 120-125.
- Dechruksa, W. (2006). *Cercarial infections of freshwater snails family Thiaridae in the northern part of Thailand*. (master's thesis), Silpakorn University, Nakornpathom.
- Devkota, R., Budha, P.B., & Gupta, R. (2011). Trematode cercariae infections in freshwater snails of Chitwan district, central Nepal. *Himalayan Journal of Sciences*, 7(9), 9-14.
- Freedman, D., Pisani, R., & Purves, R. (2007). *Statistics*. Norton, New York.
- Han, E.T., Shin, E.H., Phommakorn, S., Sengvilaykham, B., Kim, J.L., Rim, H.J., & Chai, J.Y. (2008). *Centrocestus formosanus* (Digenea: Heterophyidae) encysted in the freshwater fish, *Puntius brevis*, from Lao PDR. *The Korean journal of parasitology*, 46(1), 49-53.
- Hofer, D.P., & Johnson, A.D. (1970). *Alaria mustelae*, *A. marcianae*, and *A. arisaemoides*: chemical nature of mesocercarial capsule. *Transactions of the American Microscopical Society*, 254-259.
- Imani-Baran, A., Yakhchali, M., Malekzadeh-Viayeh, R., & Farahnak, A. (2013). Seasonal and geographic distribution of cercarial infection in *Lymnaea gedrosiana* (Pulmonata: Lymnaeidae) In North West Iran. *Iranian journal of parasitology*, 8(3), 423-429.
- Krailas, D., Chotesaengsri, S., Dechruksa, W., Namchote, S., Chuanprasit, C., Veeravechsukij, N., . . . Koonchornboon, T. (2012). Species diversity of aquatic mollusks and their cercarial infections; Khao Yai National Park, Thailand. *Journal of tropical medicine and parasitology*, 35(35), 37-47.
- Krailas, D., Namchote, S., & Rattanathai, P. (2011). Human intestinal flukes *Haplorchris taichui* and *Haplorchris pumilio* in their intermediate hosts, freshwater snails of the families Thiaridae and Pachychilidae, in southern Thailand. *Zoosystematics and*

Evolution, 87(2), 349-360.

- Kumchoo, K., Wongsawad, C., Chai, J.Y., Vanittanakom, P., & Rojanapaibul, A. (2005). High prevalence of *Haplorchis taichui* metacercariae in cyprinoid fish from Chiang Mai Province, Thailand. *Southeast Asian journal tropical medicine public health*, 36(2), 451-455.
- Lima, W.S., Soares, L.R.M., Barçante, T.A., Guimaraes, M.P., & Barçante, J.M.P. (2009). Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) infection in Brazilian cattle of Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 18(2), 27-30.
- Loy, C., & Haas, W. (2001). Prevalence of cercariae from *Lymnaea stagnalis* snails in a pond system in Southern Germany. *Parasitology research*, 87(10), 878-882.
- Namchote, S., Sritongtae, S., Butnin, S., Wongwain, P., & Krailas, D. (2015). Larval stage of trematodes obtained from brackish water snails in the central and east coast of the gulf of Thailand. *Scientific Research and Essays*, 10(11), 386-401.
- Niaz, S., Akhtar, T., Hasanat, A., & Qureshi, A.W. (2013). Prevalence of snails and Schistosome cercariae and correlation with meteorological factors in Punjab, Pakistan. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 14(2), 161-164.
- Noikong, W., & Wongsawad, C. (2014). Epidemiology and molecular genotyping of echinostome metacercariae in *Filopaludina* snails in Lamphun Province, Thailand. *Asian Pacific journal of Tropical Medicine*, 7(1), 26-29.
- Parvathi, A., Umesha, K.R., Kumar, S., Sithithaworn, P., Karunasagar, I., & Karunasagar, L. (2008). Development and evaluation of a polymerase chain reaction (PCR) assay for the detection of *Opisthorchis viverrini* in fish. *Acta tropica*, 107(1), 13-16.
- Roberts, L.S. , & Janovy, JR. (2009). *Foundations of parasitology*: Mc Graw Hill.
- Saijuntha, W., Tantrawatpan, C., Sithithaworn, P., Andrews, R.H., & Petney, T.N. (2011a). Genetic characterization of *Echinostoma revolutum* and *Echinoparyphium recurvatum* (Trematoda: Echinostomatidae) in Thailand and phylogenetic relationships with other isolates inferred by ITS1 sequence. *Parasitology research*, 108(3), 751-755.
- Saijuntha, W., Tantrawatpan, C., Sithithaworn, P., Andrews, R.H., & Petney, T.N. (2011b).

- Spatial and temporal genetic variation of *Echinostoma revolutum* (Trematoda: Echinostomatidae) from Thailand and the Lao PDR. *Acta tropica*, 118(2), 105-109.
- Sanpool, O., Intapan, P.M., Thanchomnang, T., Janwan, P., Laymanivong, S., Sugiyama, H., & Maleewong, W. (2015). Morphological and molecular identification of a lung fluke, *Paragonimus macrorchis* (Trematoda, Paragonimidae), found in central Lao PDR and its molecular phylogenetic status in the genus *Paragonimus*. *Parasitology international*, 64(6), 513-518.
- Sato, M., Thaenkham, U., Dekumyoy, P., & Waikagul, J. (2009). Discrimination of *O. viverrini*, *C. sinensis*, *H. pumilio* and *H. taichui* using nuclear DNA-based PCR targeting ribosomal DNA ITS regions. *Acta tropica*, 109(1), 81-83.
- Schell, S.C. (1970). *How to know the trematode*: Brown Co.
- Sinuon, M., & Krailas, D. (2017). Morphological and molecular identification of the liver fluke *Opisthorchis viverrini* in the first intermediate host *Bithynia* snails and its prevalence in Kampong Cham Province, Cambodia. *Parasitology international*, 66, 319-323.
- Sohn, W.M. , Chai, J.Y. , Yong, T.S. , Eom, K.S., Yoon, C.H. , Sinuon, M., & Lee, S.H. (2011). *Echinostoma revolutum* infection in children, Pursat Province, Cambodia. *Emerging infectious diseases*, 17(1), 117-119.
- Sri-aroon, P., Butraporn, P., Limsomboon, J., Kerdpuech, Y., Kaewpoolsri, M., & Kiatsiri, S. (2005). Freshwater mollusks of medical importance in Kalasin Province, northeast Thailand. *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 36(3), 653-657.
- Sripa, B., Bethony, J.M., Sithithaworn, P., Kaewkes, S., Mairiang, E., Loukas, A., . . . Brindley, P.J. (2011). Opisthorchiasis and Opisthorchis-associated cholangiocarcinoma in Thailand and Laos. *Acta tropica*, 120, 158-168.
- Sripalwit, P., Wongsawad, C., Chontanarith, T., Anuntalabhochai, S., Wongsawad, P., & Chai, J.Y. . (2015). Developmental and Phylogenetic Characteristics of *Stellantchasmus falcatus* (Trematoda: Heterophyidae) from Thailand. *The Korean journal of parasitology*, 53(2), 201-207.

- Tong, Q.B., Chen, R., Zhang, Y., Yang, G.J., Kumagai, T., Furushima-Shimogawara, R., . . . Lu, S.H. (2015). A new surveillance and response tool: Risk map of infected *Oncomelania hupensis* detected by Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) from pooled samples. *Acta tropica*, 141, 170-177.
- Van De, N., & Le, T.H. (2011). Human infections of fish-borne trematodes in Vietnam: prevalence and molecular specific identification at an endemic commune in Nam Dinh province. *Experimental parasitology*, 129(4), 355-361.
- Van Van, K., Dalsgaard, A., Blair, D., & Le, T.H. (2009). *Haplorchis pumilio* and *H. taichui* in Vietnam discriminated using ITS-2 DNA sequence data from adults and larvae. *Experimental parasitology*, 123(2), 146-151.
- Yousif, F., Ayoub, M., Tadros, M., & El Bardicy, S. (2016). The first record of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924)(Digenea: Heterophyidae) in Egypt. *Experimental parasitology*, 168, 56-61.
- Yurlova, N.I., Vodyanitskaya, S.N., Serbina, E.A., Biserkov, V.Y., Georgiev, B.B., & Chipev, N.H. (2006). Temporal variation in prevalence and abundance of metacercariae in the pulmonate snail *Lymnaea stagnalis* in Chany Lake, West Siberia, Russia: Long-term patterns and environmental covariates. *Journal of Parasitology*, 92(2), 249-259.
- จิตติยวดี ศรีภา. (2557). การตรวจหาเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืด จากอำเภอดอนเจดีย์ จังหวัดอุบลราชธานี. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- ชฎาภรณ์ ดั่งหังขึ้น และ สุภาภา ชลธนานารณ. (2561). ค่าความชุกของการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย
- ในหอยน้ำจืดจากพื้นที่ทำการเกษตรจังหวัดสระบุรีของประเทศไทย. เกษตร, 46(1), 974-979.
- ชตวรรษ ชวนประสิทธิ์. (2556). การติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียของหอยน้ำจืดบริเวณเขื่อนป่าสักชลสิทธิ์ ประเทศไทย. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- ชโลบล วงศ์สวัสดิ์. (2555). ประวัติวิทยา. เชียงใหม่: ธนถาวรพิมพ์.
- นภัสสร ไนต์ศิริ. (2547). การศึกษาความหลากหลายชนิดพันธุ์และการกระจายพันธุ์ของหอยน้ำจืด *Paludomus* spp. บริเวณลุ่มแม่น้ำแควน้อย. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- น้ำฝน ภัทรดุขุ. (2553). การติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียของหอยน้ำจืดวงศ์ Thiaridae

ในเขตภาคกลางของประเทศไทย. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

นิมิตร มรกต และ คม สุคนธสรพ์. (2554). ปรสิตวิทยาทางการแพทย์. เชียงใหม่: โรงพิมพ์กลางเวียงการพิมพ์.

บพิธ จารุพันธุ์ และ นันทพร จารุพันธุ์. (2555). สัตววิทยา. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พีรพล รัตนไทย. (2553). การติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียของหอยน้ำจืดวงศ์ Thiaridae ในภาคใต้ของประเทศไทย. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

วรรณวิภา มาลัยทอง, วีรยุทธ วิริยะบัณฑิตกุล, ศรัณย์ จิรานันท์ศิริ, ปริญญ์ สมัครการไถ, กนกวรรณ นุชประมูล, ญาณिता รัชนิวัติ, นุชรัตน์ สุลีสถิต, ปรมัสน์ อึ้งขจรกุล, ลลิตพรรณ กิตติรัตน์ไพบุลย์, อรณภัส มณีเทศ, เสาวนีย์ ลีละยูวะ, ปานจิต ธรรมศรี, พิชชา สุวรรณหิตาทร, ทวี นาคหล่อ, วิโรจน์ อารีย์กุล, สุธี พานิชกุล, ราม รัสสินธุ์, พจน์ เอมพันธ์, ปณิธาน ประดับพงษา และ มติรุทธ มุ่งถิ่น,. (2552). การศึกษาประสิทธิภาพของการบันทึกพฤติกรรมการบริโภคปลาดิบอย่างต่อเนื่องด้วยตนเอง เพื่อป้องกันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในตับ ณ บ้านทุ่งเหียง ต.ท่ากระดาน อ.สนามชัยเขต จ.ฉะเชิงเทรา. เวชสารแพทย์ทหารบก, 62(1), 27-42.

วิวิชชุดา เดชรักษา. (2549). การติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียของหอยน้ำจืดวงศ์ Thiaridae ในภาคเหนือของประเทศไทย. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ศิริลักษณ์ โชติแสงศรี. (2550). การติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียของหอยน้ำจืดวงศ์ Thiaridae ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.

สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร. (2555). ลุ่มน้ำบางปะกง: แอสดี้คอน คอร์ปอเรชั่น จำกัด.

สุชาติ ผึ้งฉิมพลี และ ประสิทธิ์ นิยมไทย. (2555). ความหลากหลาย ปริมาณและการแพร่กระจายของหอยน้ำจืดในแม่น้ำบางปะกงและแม่น้ำปราจีนบุรี (Vol. 6).

สุภัทรรดา ศรีทองแท้. (2557). ความหลากหลายชนิดพันธุ์และการติดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยฝาเดียวและหอยสองฝาบริเวณอ่าวไทยของประเทศไทย. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

โสธร อนุเชษฐชัย, วสิน พานิช และ สุภาพนา ชลธนานารถ. (2561). อุบัติการณ์การติดพยาธิใบไม้ลำไส้ชนิด *Echinostoma revolutum* (Froelich, 1802) ในหอยน้ำจืดในพื้นที่เกษตรกรรมของจังหวัดชัยนาท. เก่นเกษตร, 46(1), 980-985.

อาคม สังข์วรานนท์, ภิรมย์ ศรีวรรณารถ และ ชัยยงค์ อุโฆษกุล. (2536). การศึกษาภาวะการณั้ปรากฏ และการระบาดของพยาธิภายในโคพื้นเมืองและโคลูกผสมในเขตจังหวัดฉะเชิงเทรา. วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์, 27, 341-346.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ชนากานต์ อินทศรี
วัน เดือน ปี เกิด	8 เมษายน พ.ศ.2537
สถานที่เกิด	จังหวัดฉะเชิงเทรา
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2560 ศึกษาศาสตรบัณฑิต สาขาการสอนวิทยาศาสตร์ (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ที่อยู่ปัจจุบัน	99/1 ม.11 ต.หนองยาว อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา 24120

