



ศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในชุมชน  
เสี่ยงในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาปรสิตวิทยา  
ปีการศึกษา 2566  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

ศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในชุมชน  
เสี่ยงในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาปรสิตวิทยา  
ปีการศึกษา 2566  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "ศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน  
ในชุมชนเสี่ยงในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย"  
ของ จีรศักดิ์ จำปาแก้ว  
ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปรสิตวิทยา

### คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชูศักดิ์ นิธิเกตุกุล)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาวัลย์ ภูมิดอนมิ่ง)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.รักษิณา พลสีลา)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ วิทย์ตะ)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน  
(รองศาสตราจารย์ ดร.นพวรรณ บุญชู)

### อนุมัติ

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.กรรองกาญจน์ ชูทิพย์)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	ศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ <i>Opisthorchis viverrini</i> ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในชุมชนเสี่ยงในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย
ผู้วิจัย	จิรัชกดิ์ จำปาแก้ว
ประธานที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาวัลย์ ภูมิดอนมิ่ง
กรรมการที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.รัชนีภา พลสีลา รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ วิทย์ตะ
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. ประสิดวิทยา, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2566
คำสำคัญ	ปลาวงศ์ปลาตะเพียน, พยาธิใบไม้ตับ <i>Opisthorchis viverrini</i>

### บทคัดย่อ

โรคพยาธิใบไม้ตับเป็นโรคปรสิตที่เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของไทย คนติดเชื้อจากการกินปลาวงศ์ตะเพียนที่เป็นโฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่มีระยะติดต่อเมตาเซอร์คาเรียการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดปลาและการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาวงศ์ตะเพียนในชุมชนที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง ได้แก่ จังหวัดอุทัยธานี นครสวรรค์ สุโขทัย อุตรดิตถ์ พิษณุโลก เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร และตาก ตัวอย่างปลาจะถูกเก็บแบบสุ่มจากแหล่งน้ำ ได้แก่ แม่น้ำ 2 แหล่ง สระน้ำ 3 แหล่ง เขื่อน 2 แห่ง ฝายกั้นน้ำ 2 แห่งและคลองน้ำ 8 แห่ง ตัวอย่างปลานำมาจำแนกชนิดและตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ ผลการศึกษาพบปลาวงศ์ตะเพียนทั้งหมด 15 ชนิด และปลาวงศ์ตะเพียน 12 ชนิด ได้แก่ ปลากระมัง (*Puntioplites proctozysron*), ปลาสร้อยนกเขา (*Osteochilus hasselti*), ปลาสร้อยขาว (*Henicorhynchus siamensis*), ปลาแก้มขี้ (*Puntius orphoides*), ปลาหนามหลัง (*Mystacoleucus marginatus*), ปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*), ปลาไส้ตันตาขาว (*Cyclocheilichthys repasson*), ปลาปากเหลี่ยม (*Cyclocheilichthys apogon*), ปลาตะเพียนขาว (*Barbodes gonionotus*), ปลาตะเพียนหางแดง (*Barbodes schwanenfeldi*), ปลาชู่ (*Osteochilus vittatus*), และปลาชิวควาย (*Rasbora aurotaenia*) เป็นชนิดที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ผลการศึกษาในชุมชนเสี่ยงของภาคเหนือตอนล่างพบการติดเชื้อในปลาวงศ์ตะเพียน 5 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanenfeldi*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), ปลาหนามหลัง (*M. marginatus*) และ ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาวงศ์ตะเพียนที่มีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับนั้นพบในชุมชนเสี่ยงในจังหวัดเพชรบูรณ์และจังหวัดสุโขทัย ซึ่งเป็นพื้นที่มีอัตราการติดเชื้อในคนสูงเกินร้อยละ 5 การศึกษารุ่นนี้ทราบถึงข้อมูลการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่เป็นโฮสต์ที่สำคัญใน

ธรรมชาติ สามารถนำข้อมูลมาจัดทำโปรแกรมป้องกันเพื่อลดอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของคน  
ภายในชุมชนได้



<b>Title</b>	STUDY OF <i>OPISTHORCHIS VIVERRINI</i> INFECTION IN CYPRINID FISH IN RISK COMMUNITIES IN LOWER NORTHERN THAILAND
<b>Author</b>	Cheerasak Champakaew
<b>Advisor</b>	Associate Professor Wilawan Pumidonming, Ph.D.
<b>Co-Advisor</b>	Associate Professor Raxsina Polseela, Ph.D. Associate Professor Apichat Vitta, Ph.D.
<b>Academic Paper</b>	M.S. Thesis in Parasitology - (Type A 2), Naresuan University, 2023
<b>Keywords</b>	Cyprinid fish, Liver fluke

### ABSTRACT

Liver fluke infection caused by *Opisthorchis viverrini* is a major parasitic disease in the public health problem of Thailand. Cyprinid fish serves as a second intermediate host (metacercaria) which infects to human. Therefore, we aimed to survey cyprinid fish and *O. viverrini* infection in risk communities in the lower northern Thailand including Uthai Thani, Nakhonsawan, Sukhothai, Uttaradit, Phichit, Phitsanulok, Phetchabun, Kamphaengphet and Take province. Fish samples were randomly collected from 2 rivers, 3 ponds, 2 dams, 2 water barrier and 8 canals. Species of Fishes were further identified and examined for *O. viverrini* metacercaria infection by digestion method and molecular technique. Fifteen Cyprinid fish species were identified. Twelve species including *Puntioplites proctozysron*, *Osteochilus hasselti*, *Henicorhynchus siamensis*, *Puntius orphoides*, *Mystacoleucus marginatus*, *Puntius brevis*, *Cyclocheilichthys repasson*, *Cyclocheilichthys apogon*, *Barbodes gonionotus*, *Barbodes schwanenfeldi*, *Osteochilus vittatus* and *Rasbora aurotaenia* are potential hosts of *O. viverrini* infection. Metacercaria of *O. viverrini* was found in 5 species of cyprinid fish, *B. schwanenfeldi* (114 cysts), *H. siamensis* (46 cysts), *C. repasson* (24 cysts), *M. marginatus* (16 cysts), and *P. orphoides* (2 cysts). Infection of *O. viverrini* in cyprinid fish was found in 2 high-risk communities of 2 provinces including Phetchabun and Sukhothai where the infection rate in humans was more than 5%. In this study, we

provide the information of *O. viverrini* infection in cyprinid fish, which is an important host in nature, can use the information for making a prevention program to decrease the infection in people community from *O. viverrini*.



## ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาวัลย์ ภูมิ  
ดอนมิ่ง ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้อุทิศส่วสละเวลาอันมีค่ามาเป็นที่ปรึกษา พร้อมทั้งให้  
คำแนะนำตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการ  
วิทยานิพนธ์อันประกอบไปด้วย รองศาสตราจารย์ ดร. รักษิณา พลสีลา รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ  
วิทย์ตะ กรรมการ และรองศาสตราจารย์ ดร.นพวรรณ บุญชู กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน ที่ได้กรุณา  
ให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้  
สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์และทรงคุณค่า

กราบขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์  
มหาวิทยาลัยนเรศวรที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์สถานที่รวมถึงเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัยและอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดี

เหนือสิ่งอื่นใดขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ของผู้วิจัยที่เฝ้าก้าลังใจและให้การสนับสนุน  
ในทุกๆ ด้านอย่างดีที่สุดเสมอมา

คุณค่าและคุณประโยชน์อันพึงจะมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแต่ผู้ที่มี  
พระคุณทุกๆ ท่าน ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อประเทศและผู้ที่สนใจบ้างไม่  
มากก็น้อย

จิรศักดิ์ จำปาแก้ว



# สารบัญ

## หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
ประกาศคุณูปการ.....	ช
สารบัญ.....	ซ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....	3
ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ประวัติการค้นพบพยาธิใบไม้ตับ.....	5
โฮสต์กักตุน (Reservoirs host).....	20
โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ที่สำคัญในประเทศไทย.....	20
ปลาสกุล ( <i>Cyclocheilichthys</i> ).....	20
ปลาโจก ( <i>Cyclocheilichthys armatus</i> ).....	21
ปลาปากเหลี่ยม ( <i>Cyclocheilichthys apogon</i> ).....	21
ปลาไส้ตันตาขาว ( <i>Cyclocheilichthys repasson</i> ).....	22
ปลาสกุล ( <i>Hampala</i> ).....	22
ปลากระสูบจุด ( <i>Hampala dispar</i> ).....	22
ปลากระสูบขีด ( <i>Hampala macrolepidota</i> ).....	23

ปลาสกุล ( <i>Puntius</i> ).....	23
ปลาตะเพียนทราย ( <i>Puntius brevis</i> ).....	24
ปลาแก้มซำ ( <i>Puntius orphoides</i> ).....	24
โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ <i>O. viverrini</i> ในประเทศไทย.....	25
โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ <i>O. viverrini</i> ในประเทศพม่า.....	26
โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ <i>O. viverrini</i> ในประเทศกัมพูชา.....	27
โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ <i>O. viverrini</i> ในประเทศลาว.....	28
ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> .....	31
ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ในประเทศประเทศไทย.....	31
ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว.....	32
ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ในประเทศเวียดนาม.....	34
ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ในประเทศพม่า.....	34
ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ในประเทศกัมพูชา.....	35
โรคพยาธิใบไม้ตับ (Opisthorchiasis).....	36
การรักษาโรคพยาธิใบไม้ตับ (Opisthorchiasis).....	37
การป้องกันและควบคุมพยาธิใบไม้ตับ.....	37
เทคนิคการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> .....	38
เทคนิคการตรวจทั่วไป (conventional technique).....	38
เทคนิคการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunological technique).....	39
เทคนิคทางอณูชีววิทยา (Molecular technique).....	39
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	43
พื้นที่ศึกษา.....	43
รูปแบบการศึกษา.....	44
การเก็บตัวอย่าง.....	44
ขนาดของตัวอย่าง.....	44
การจำแนกชนิดปลา.....	46
การตรวจหาตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ในตัวอย่างปลาวงศ์ตะเพียน.....	46
การจำแนกตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> .....	47
การตรวจยืนยันตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> .....	47
การสกัดดีเอ็นเอของตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> .....	47

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) และการทำ electrophoresis.....	48
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	49
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย .....</b>	<b>50</b>
แหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างปลาในชุมชนที่ศึกษาในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง .....	50
ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง .....	51
ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในแหล่งน้ำในแต่ละชุมชนที่ศึกษา.....	52
การติดเชื้อมีตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิตัวแบน <i>O. viverrini</i> ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน ในแต่ละชุมชนที่ศึกษา .....	61
ชนิดปลาที่ติดเชื้อมีตัวอ่อนพยาธิตัวแบนในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง .....	62
การตรวจยืนยันตัวอ่อน metacercaria ของพยาธิตัวแบน <i>O. viverrini</i> ที่ตรวจพบในปลา .....	70
<b>บทที่ 5 บทสรุป.....</b>	<b>72</b>
บรรณานุกรม.....	80
ภาคผนวก.....	100
ประวัติผู้วิจัย.....	110

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1	แสดงชนิดของหอยที่เป็นโฮสต์ของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ..... 13
ตาราง 2	แสดงชนิดปลาที่มีรายงานการตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ..... 14
ตาราง 3	แสดงการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ในปลาน้ำจืดจากประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว ..... 30
ตาราง 4	แสดงตำแหน่งของยีนเป้าหมายที่ใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> โดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล ..... 41
ตาราง 5	แสดงชุมชนที่เก็บตัวอย่างปลาในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย . 43
ตาราง 6	แสดงจำนวนตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่เป็นตัวแทนของประชากรปลาวงศ์ปลาตะเพียนแต่ละชนิด..... 45
ตาราง 7	แสดงแหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างปลา และแหล่งน้ำที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ ..... 50
ตาราง 8	แสดงปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบใน 9 ชุมชน ในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง .... 52
ตาราง 9	แสดงชนิดปลา แหล่งน้ำ จำนวน ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในแต่ละพื้นที่ชุมชนที่ศึกษา. 55
ตาราง 10	แสดงปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างในประเทศไทย ..... 60
ตาราง 11	แสดงการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในแต่ละชุมชนที่ศึกษาพื้นที่ (ตำบล, อำเภอ, จังหวัด)..... 64

## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 1 พยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ระยะตัวเต็มวัย .....	6
ภาพ 2 พยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ระยะไข่ กำลังขยาย 40X.....	6
ภาพ 3 ตัวอ่อนระยะ cercaria ของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> .....	7
ภาพ 4 ตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ; VS; ventral sucker, OS; oral sucker, EB; excretory bladder .....	8
ภาพ 5 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> .....	9
ภาพ 6 หอย <i>Bithynia</i> ที่ a. <i>Bithynia funiculata</i> . b. <i>B. siamensis goniomphalos</i> . c. <i>B. s. simensis</i> .....	11
ภาพ 7 ปลาโจก ( <i>C. armatus</i> ).....	21
ภาพ 8 ปลาปากเหลี่ยม ( <i>C. apogon</i> ).....	21
ภาพ 9 ปลาไส้ตันตาขาว ( <i>C. repasson</i> ).....	22
ภาพ 10 ปลากะสูบจุด ( <i>H. dispar</i> ).....	23
ภาพ 11 ปลากะสูบขีด ( <i>H. macrolepidota</i> ) .....	23
ภาพ 12 ปลาตะเพียนทราย ( <i>P. brevis</i> ) .....	24
ภาพ 13 ปลาแก้มขี้ ( <i>P. orphoides</i> ).....	24
ภาพ 14 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ในประเทศไทยระหว่าง พ.ศ. 2524 ถึง พ.ศ. 2562 กราฟเส้น = ความชุกเฉลี่ยของประเทศ .....	32
ภาพ 15 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ <i>Opisthorchis viverrini</i> ในประเทศลาว ปี 2000 -2002 และ ปี 2012-2017 : CK, Champasack Province; KM, Khammouane; SK, Savannakhet; SV, Saravane; VT, Vientiane .....	33
ภาพ 16 เวียดนาม ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ <i>Opisthorchis viverrini</i> และ <i>Clonorchis sinensis</i> ในประเทศที่ตั้งอยู่ในบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง.....	35
ภาพ 17 ขั้นตอนการแยกตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิในปลา .....	47
ภาพ 18 ตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะกลมรี สีน้ำตาลเข้มภายในมองเห็นส่วนของ excretory bladder ลักษณะกลมมีสีดำขนาดใหญ่ และสามารถมองเห็นการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนภายในซิสต์ได้.....	62

- ภาพ 19 ผลการตรวจยืนยันของตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้เทคนิค PCR ประกอบด้วย Lane M; 100 bp DNA marker, Lane Ov1-Ov20; 10 OvMc/lane, Lane Ov21; 3 OvMc, Lane P; Positive control (adult OV), Lane N; Negative control, Lane N1; Non-Ov (5 Mc) และ Lane PO; ตัวอย่างปลาแก้มขี้ ( *P. orphoides* ) ..... 71
- ภาพ 20 ผลการทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ (Trem2-F และ OV25-4R) ต่อพยาธิชนิดอื่น และปลาที่ตรวจพบการติดเชื้อระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับ *O.viverrini* ประกอบด้วย Lane M; 100 bp DNA marker, Lane N1-N3; Non-OvMc (10 OvMc/lane), BS; *B. schwanefeldi*, HS; *H. siamensis*, CR; *C. repasson*, PO; *P. orphoides*, MM; *M. marginatus*, Ov1; *O. viverrini* metacercaria 10 OvMc, P; Positive control และ N; Negative contro..... 71
- ภาพ 21 ผลการทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ (Trem2-F และ OV25-4R) ต่อพยาธิชนิดอื่น และปลาที่ตรวจพบการติดเชื้อระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับ *O.viverrini* ประกอบด้วย Lane M, 100 bp DNA ladder ;(1) negative control; (2) *O. viverrini* adult; (3) *O. viverrini* metacercaria; (4) *C. sinensis*; (5) *O. felineus*; (6) *H. taichui*; (7) *T. saginata*; (8) *C. formosanus*; (9) *E. malayanum*; (10) *Spirometra* sp.; (11) *F. gigantica*; (1) hookworms; (13) unknown metacercariae; (14) ปลาแก้ม (*Puntius* spp.) ..... 79

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาของปัญหา

พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว กัมพูชา เวียดนาม พม่า และประเทศไทย (Doanh & Nawa, 2016; Sripa, Kaewkes, Intapan, Maleewong, & Brindley, 2010) การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเกิดจากการบริโภคอาหารที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุก ทำให้ได้รับตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ที่อยู่ตามส่วนต่างๆ ของปลา เช่น เนื้อปลา ครีบ หลังจากคนได้รับตัวอ่อนของพยาธิเข้าไปตัวอ่อนจะเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยในถุงน้ำดีและท่อทางเดินน้ำดีในตับ มีรายงานพบว่าพยาธิระยะตัวเต็มวัยสามารถอยู่ในท่อทางเดินน้ำดีได้นานกว่า 20 ปี (Sripa, Tangkawattana, & Brindley, 2018) พยาธิสภาพที่เป็นผลจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับที่พบได้บ่อย ได้แก่ ท่อน้ำดีอักเสบ (cholangitis) นิ่วในถุงน้ำดี (gallstones) และมะเร็งท่อทางเดินน้ำดี (cholangiocarcinoma: CCA) ในพื้นที่ที่มีการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ มีรายงานผู้ป่วยและเสียชีวิตจากโรคมะเร็งตับและท่อทางเดินน้ำดีสูง เช่น ในประเทศไทยพบอัตราการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดี สูงที่สุดในโลกโดยมีผู้เสียชีวิตกว่า 20,000 คนต่อปี (Banales et al., 2016; Shin et al., 2010; Sripa et al., 2018; Vatanasapt et al., 1990)

ปัจจุบันมีประมาณการการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ประมาณ 12.39 ล้านคน ใน 4 ประเทศ ได้แก่ ประเทศไทย (6.71 ล้านคน) สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว (2.45 ล้านคน) เวียดนาม (2.07 ล้านคน) และกัมพูชา (1.00 ล้านคน) (Zhao, Feng, et al., 2021) ในประเทศไทยปัจจุบันพบอัตราการติดเชื้อเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 2.2 อัตราการติดเชื้อสูงสุดพบในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือร้อยละ 4.98 ภาคเหนือพบการติดเชื้อร้อยละ 1.79 ภาคกลางพบการติดเชื้อร้อยละ 0.87 และภาคใต้พบการติดเชื้อร้อยละ 0.01 (Wattanawong et al., 2021) ปัจจัยที่สำคัญของการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับในทุกพื้นที่ คือ การรับประทานอาหารที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่เป็นโฮสต์ตัวกลางของพยาธิใบไม้ตับแบบไม่ปรุงสุก

ปลาวงศ์ปลาตะเพียนเป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีนสำหรับคนที่อาศัยอยู่เขตชนบท ในประเทศไทยการบริโภคนิยมนำมาปรุงเป็นอาหารพื้นบ้าน เช่น ลาบปลา ก้อยปลา ปลาร้า ปลาสามปลาจ่อม และบริโภคแบบไม่ปรุงสุก (Chuboon, 2005; Grundy-Warr et al., 2012; Prasongwatana, Laummaunwai, Boonmars, & Pinlaor, 2013) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนเป็นโฮสต์ตัวกลางที่ 2 ของพยาธิใบไม้ตับที่มีระยะติดต่อเมตาเซอร์คาเรียอาศัยอยู่ คนซึ่งเป็นโฮสต์เฉพาะได้รับพยาธิจากการบริโภคอาหารพื้นบ้านที่ทำจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีระยะติดต่อปนเปื้อนอยู่แบบไม่ปรุงสุก

สุก เมื่อรับประทานตัวอ่อนที่อยู่ตามส่วนต่างๆ ของปลาเข้ามา ตัวอ่อนจะฟักตัวที่ลำไส้เล็กส่วนต้น และเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยในท่อทางเดินน้ำดีและถุงน้ำดีของผู้ติดเชื้อ (Prasongwatana et al., 2013; Sadun, 1955; Sithithaworn & Haswell-Elkins, 2003; Sripa et al., 2011; Upatham et al., 1984) จากที่มีรายงานปลาวงศ์ปลาตะเพียนประมาณ 48 สกุล 50 สปีชีส์ โดยพบในประเทศลาว 28 สกุล 46 สปีชีส์ (Ditrich, Scholz, & Giboda, 1990; Manivong, Komalamisra, Waikagul, & Radomyos, 2009; Rim et al., 2008) กัมพูชา 24 สกุล 43 สปีชีส์ (Ngoen-klan et al., 2010; Sadun, 1955; Touch, Komalamisra, Radomyos, & Waikagul, 2009), ประเทศเวียดนาม 22 สกุล 35 สปีชีส์ (Dao et al., 2017; Dung et al., 2014; Thu, Dalsgaard, Loan, & Murrell, 2007) และประเทศไทย 27 สกุล 46 สปีชีส์ (Ong, Wang, Sithithaworn, Grundy-Warr, & Pitaksakulrat, 2016; Pinaor et al., 2013; Sithithaworn, Pipitgool, Srisawangwong, Elkins, & Haswell-Elkins, 1997; Srisawangwong, Sithithaworn, & Tesana, 1997; Sukontason et al., 1999; Vichasri, Viyanant, & Upatham, 1982; Wykoff, Harinasuta, Juttijudata, & Winn, 1965) (Komalamisra & Setasuban, 1989) ในประเทศไทยปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับอยู่ในสกุลปลาแก้มขี้ (Puntius) ปลากระสูบ (Hampala) และปลาไส้ตัน (Cyclocheilichthys) (Srisawangwong et al., 1997; Sukontason et al., 1999; Vichasri et al., 1982) ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบการติดเชื้อสูงในปลาวงศ์ปลาตะเพียน 6 ชนิด ได้แก่ *Cyclocheilichthys armatus*, *Puntius orphoides*, *Hampala dispar*, *Henicorhynchus siamensis*, *Osteochilus hasselti* และ *Puntioplites proctozysron* (Pinaor et al., 2013) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่ขายภายในตลาดชุมชนในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับสูง โดยมีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 3.9-21.1 พบการติดเชื้อ ร้อยละ 13.7 ในปลาสร้อยขาว *H. siamensis* ร้อยละ 12.7 ในปลาไส้ตัน (*Cyclocheilichthys* spp.) ร้อยละ 8.1 ในปลากระสูบ (Hampala spp.) ร้อยละ 6.9 ในสกุลปลาแก้มขี้ (*Systemus* spp.) และร้อยละ 5 ในปลาตะเพียนขาว (*Barbonymus goniatius*) ตามลำดับ พื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นพื้นที่ที่มีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคนสูง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาสูงเช่นกัน (Charoensuk, Ribas, Chedtabud, & Prakobwong, 2022)

พื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย พบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเฉลี่ยร้อยละ 7.2 พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ร้อยละ 2.1-28.7 ในชุมชนเสี่ยงต่อการแพร่ระบาดของพยาธิ ผู้ติดเชื้อร้อยละ 64.3 เป็นผู้พวยพจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และร้อยละ 80 ของประชากรกลุ่มดังกล่าวมีพฤติกรรมการบริโภคอาหารพื้นบ้านที่ทำจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุกทำให้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูงกว่าคนที่ไม่บริโภคถึง 3 เท่า (Pumidonming et



al., 2018) ข้อมูลสำคัญสำหรับการควบคุมการแพร่ระบาดและการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ ได้แก่ ข้อมูลการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในโฮสต์ต่างๆ ข้อมูลการกระจายตัวของโฮสต์ ในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ จากรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง และข้อมูลการบริโภคอาหารพื้นบ้านแบบไม่ปรุงสุกของคนในชุมชน (Pumidonming et al., 2018) ข้อมูลการกระจายตัวและการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในแหล่งน้ำบริเวณรอบชุมชนที่มีประชากรกลุ่มเสี่ยงอาศัยอยู่ เป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับการเฝ้าระวัง และรณรงค์ลดการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในชุมชนของพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างต่อไปในอนาคต

### จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. ศึกษาชนิดปลาวงศ์ตะเพียนจากแหล่งน้ำในชุมชนที่มีความเสี่ยงต่อการระบาดของพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง
2. ศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนจากแหล่งน้ำในชุมชนที่มีความเสี่ยงต่อการระบาดของพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง

### ขอบเขตของงานวิจัย

ขอบเขตการวิจัยดังนี้

1. ศึกษาชนิดปลาวงศ์ตะเพียนจากแหล่งน้ำในชุมชนที่มีความเสี่ยงต่อการระบาดของพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง ที่มีข้อมูลการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคน ในพื้นที่จังหวัด 1) จังหวัดเพชรบูรณ์ 2) จังหวัดพิษณุโลก 3) จังหวัดกำแพงเพชร 4) จังหวัดสุโขทัย 5) จังหวัดอุทัยธานี 6) จังหวัดตาก 7) จังหวัดนครสวรรค์ 8) จังหวัดอุตรดิตถ์ และ 9) จังหวัดพิจิตร

2. ชุมชนที่ทำการเก็บตัวอย่างปลา เลือกจากชุมชนที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับตามรายงานการศึกษาของ Pumidonming et al. (2018) ได้แก่ ชุมชน 1) ตำบลโคกปรัง อำเภอวิเชียรบุรี จังหวัดเพชรบูรณ์ 2) ตำบลไทรย้อย อำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก 3) ตำบลคลองลาน อำเภอลองลานพัฒนา จังหวัดกำแพงเพชร 4) ตำบลตลุกชัน อำเภอบ้านด่านลานหอย จังหวัดสุโขทัย 5) ตำบลตลุกคู่ อำเภอทับทัน จังหวัดอุทัยธานี 6) ตำบลวังประจบ อำเภอเมืองตาก จังหวัดตาก 7) ตำบลธารทหาร อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ 8) ตำบลม่วงเจ็ดต้น อำเภอบ้านโคก จังหวัดอุตรดิตถ์ 9) ตำบลวังทรายพูน อำเภอวังทรายพูน จังหวัดพิจิตร ซึ่งครอบคลุม 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง

3. แหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างปลา แหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างปลา เป็นแหล่งน้ำที่ชุมชนใช้เป็นแหล่งหาปลาวงศ์ปลาตะเพียนมาประกอบอาหาร โดยประเภทของแหล่งน้ำจะประกอบด้วย เขื่อนอ่างเก็บน้ำ คลอง สระ ฝายกั้นน้ำ ซึ่งประเภทของแหล่งน้ำจะแตกต่างกันอยู่กับแต่ละพื้นที่ชุมชน

4. วิธีการเก็บตัวอย่างปลา สำหรับการเก็บตัวอย่างปลาจะเก็บโดยการใช้ตาข่ายดักปลาที่วางไว้ข้ามคั้นและเก็บตัวอย่างปลาในตอนเช้า และรับซื้อจากตลาดที่ขายปลาในบริเวณชุมชนเป้าหมาย ตัวอย่างปลาที่ศึกษาเป็นปลาในกลุ่มปลาวงศ์ปลาตะเพียน ที่มีรายงานการเป็นโฮสต์ตัวกลาง และรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับสูงทั้งในประเทศไทย

5. การระบุชื่อวิทยาศาสตร์ของปลาที่ศึกษา การระบุชนิดปลาจะใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะลำตัว ครีบ สี และเกล็ด โดยเปรียบเทียบกับหนังสือ Fish of the Cambodian mekong และ ฐานข้อมูล Fish base online (<http://www.fishbase.org>)



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ประวัติการค้นพบพยาธิใบไม้ตับ

พยาธิใบไม้ตับที่มีคนเป็นโฮสต์เฉพาะ มี 3 ชนิดได้แก่ *Clonorchis sinensis* ระบาดในแถบประเทศจีน ญี่ปุ่น ฮองกง เกาหลี เวียดนาม และไต้หวัน (Doanh & Nawa, 2016; Fedorova et al., 2018; Sripa et al., 2010) *Opisthorchis felinus* ระบาดในประเทศจีน ตอนบนของเวียดนาม ตอนใต้ของเกาหลี ตะวันออกของรัสเซีย และทางตะวันตกของไซบีเรีย (Fedorova et al., 2018; Fedorova et al., 2020; Keiser & Utzinger, 2005; Qian, Utzinger, Keiser, & Zhou, 2016) และ *Opisthorchis viverrini* พบระบาดในประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว กัมพูชา เวียดนาม และไทย (Aung et al., 2017; Sithithaworn et al., 2012) พบรายงานในคนครั้งแรกโดย Verdun และ Bruyant ในปี ค.ศ. 1908 ในจังหวัด Tonkin ประเทศเวียดนาม และวินิจฉัยว่าเป็น *O. felinus* (Verdun & Bruyant, 1908) ในปี ค.ศ. 1915 มีการวินิจฉัยพยาธิที่ได้จากการตรวจศพในจังหวัดเชียงใหม่ และระบุว่าเป็นพยาธิ *O. felinus* (Leiper, 1915) ต่อมาในปี ค.ศ. 1927 มีรายงานว่าพบพยาธิใบไม้ตับ *O. felinus* กว่า 1,000 ตัว ในท่อนำดีของศพชายไทย อายุ 17 ปี ที่จังหวัดร้อยเอ็ด ในปี ค.ศ. 1953-1955 ประเทศไทยได้มีการศึกษาพยาธิใบไม้ตับและมีการวินิจฉัยโดยละเอียดและระบุว่าเป็นพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Sadun, 1955) และได้รับการยืนยันอีกครั้งในปี ค.ศ. 1965 ว่าพยาธิใบไม้ตับที่พบระบาดในประเทศไทย เป็นพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Wykoff et al., 1965)

#### ลักษณะพื้นฐานวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

##### พยาธิใบไม้ตับตัวเต็มวัย (Adult)

ลำตัวแบนหน้าหลัง รูปร่างมีลักษณะคล้ายใบหอก (lanceolate) แบนเรียวไปข้างหน้า มีความยาวเฉลี่ยประมาณ 2 - 4.5 มม. ผิวมีลักษณะเรียบมี tegument ปกคลุม อวัยวะประกอบด้วย ventral sucker, cecum, collar, cirrus sac, excretory bladder, eggs (within uterus), esophagus, genitoacetabulum, intestine, oral sucker, ovary, pharynx, seminal receptacle, testes, uterus และ vitelline glands (ภาพ 1) ส่วนของ oral sucker อยู่เกือบส่วนปลายของลำตัว ส่วน ventral sucker มีลักษณะกลมหรือรีวางอยู่ในตำแหน่ง 1 ใน 3 ของลำตัว คอหอยมีลักษณะเป็นกล้ามเนื้อ หลอดอาหารสั้น ลำไส้แยกเป็นสองแขนงยาวไปทางด้านข้างถึงส่วนท้าย ventral sucker อยู่ประมาณ 1/5 ของลำตัวส่วนหัว รังไข่มีลักษณะเป็นขดกลับขนาดค่อนข้างเล็กอยู่

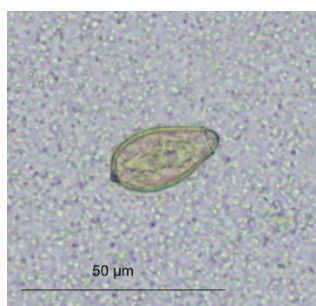
ประมาณ 2/3 ของลำตัวส่วนหัว มดลูกยาวขดไปมาอยู่กลางตัวตั้งแต่ ventral sucker ไปจนถึงรังไข่ มีไข่อุ้เป็นจำนวนมาก vitelline follicles เรียงตัวตามขวางเป็นกลุ่มเล็ก ๆ กระจายอยู่สองข้างตรงกลางลำตัว อวัยวะ 2 อัน มีลักษณะเป็น lobe เรียงตามยาวของตัวในลักษณะเยื้องกัน อยู่เกือบท้ายสุดของตัว excretory bladder เป็นท่อยาวตั้งแต่รังไข่ไปจนถึงส่วนท้ายของลำตัว (Scholz, Ditrich, & Giboda, 1992)



ภาพ 1 พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัย

#### ระยะไข่ (Egg)

ระยะไข่ของพยาธิ *O. viverrini* รูปร่างคล้ายหลอดไฟ หรือเหยือกน้ำ มีฝาปิด (operculum) ชัดเจน มีไหล่ (shoulder) และจุก (knob) อยู่ด้านตรงข้ามฝาชัดเจน ไข่มีขนาดเฉลี่ย ประมาณ 25.8-31 x 12.4-17.6  $\mu\text{m}$  ภายในไข่มีตัวอ่อนระยะ miracidium (ภาพ 2) (Khampoosa et al., 2012; Scholz et al., 1992)



ภาพ 2 พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะไข่ กำลังขยาย 40X

### ตัวอ่อนระยะเซอ์คาเรีย (cercaria)

เซอ์คาเรียเป็นตัวอ่อนระยะสุดท้ายที่พบในหอยที่เป็นโฮสต์ตัวกลางที่หนึ่ง (first intermediate host) ระยะ cercaria เจริญมาจากระยะรีเดียและสปอโรซีสต์ ลำตัวมีลักษณะรี มีหาง รูปร่างลักษณะทั่วไปคล้ายกับตัวเต็มวัย มีส่วนของ oral sucker และ ventral sucker ลำไส้สั้น แยกเป็น 2 แฉก เมื่อเจริญเต็มที่จะไซออกจากหอย เข้าสู่โฮสต์ตัวกลางลำดับที่สอง (ภาพ 3) (Khampoosa et al., 2012; Scholz et al., 1992)

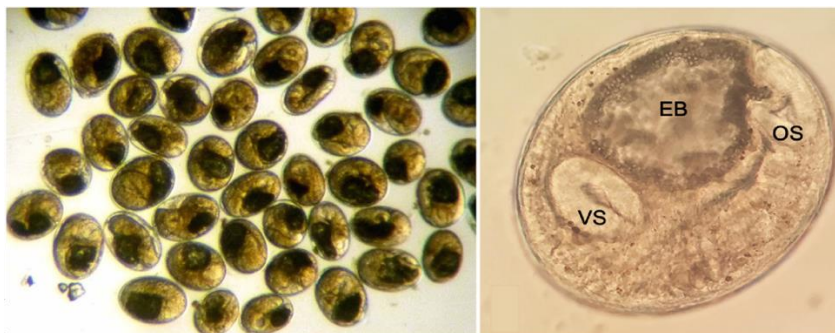


ภาพ 3 ตัวอ่อนระยะ cercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

ที่มา: [https://www.siamhealth.net/public\\_html/Disease/infectious/parasite/opis.htm](https://www.siamhealth.net/public_html/Disease/infectious/parasite/opis.htm)

### ตัวอ่อนระยะเมตาเซอ์คาเรีย (metacercaria)

ตัวอ่อนระยะ metacercaria เป็นระยะติดต่อ พบได้ในปลาน้ำจืดมีเกล็ดวงศ์ปลาตะเพียน ลักษณะเป็นซีสต์ รูปร่างกลม เปลือกหนา มีตัวอ่อนอยู่ภายใน มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 202 x 168 ไมโครเมตร (Kaewkes, 2003) ลักษณะเด่นที่แยกความแตกต่างของตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* กับพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก) คือ ส่วนของ oral sucker และ ventral sucker ที่ชัดเจน มี excretory bladder ลักษณะกลม ไม่มีส่วนของ ventrogenital sac เหมือนกับตัวอ่อน metacercaria ของพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก (ภาพ 4) (Rim et al., 2008; Sohn et al., 2014) ทั้งนี้รูปร่างและขนาดของตัวอ่อนระยะ metacercaria อาจจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับโฮสต์ที่เป็นปลาน้ำจืดที่พยาธิเข้าไปอาศัยอยู่ด้วย (Pubua & Wongsawad, 2007)



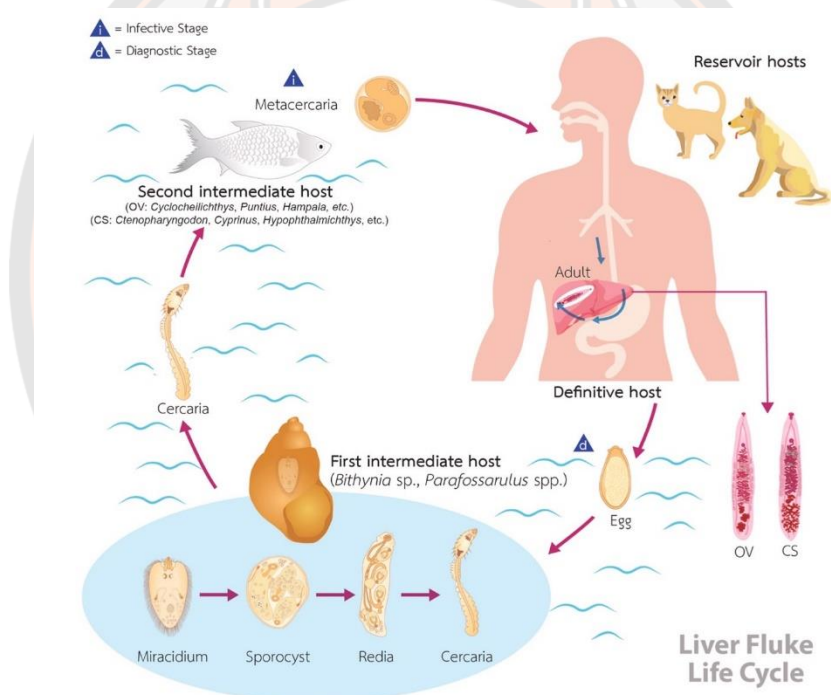
ภาพ 4 ตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ; VS; ventral sucker, OS; oral sucker, EB; excretory bladder

ที่มา: Charoensuk et al., 2022

#### วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini*

พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีวงจรชีวิตแบบ complex life cycle (ภาพ 5) ตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ในท่อทางเดินน้ำดีทั้งภายในและภายนอกตับ เมื่อตัวเต็มวัยผสมพันธุ์ออกไข่ ไข่ของพยาธิเป็น embryonated egg มีตัวอ่อนระยะ miracidium อยู่ภายในไข่ ถูกขับออกมาพร้อมกับน้ำดีทางท่อทางเดินน้ำดี สู่ลำไส้เล็ก และออกมาสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกโดยปนเปื้อนออกมากับอุจจาระ เมื่อไข่ถูกหอยสกุล *Bithynia* กินเข้าไป หอย *Bithynia* ที่พบในประเทศไทย ได้แก่ หอย *B. funiculata*, *B. siamensis*, *goniomphalos* และ *B. s siamensis* (Doanh & Nawa, 2016; Nguyen, Van, Ho, Tatonova, & Madsen, 2021; Petney et al., 2018) พบในอ่างเก็บน้ำบริเวณน้ำตื้น นาข้าว หรือบริเวณพื้นที่ชุ่มน้ำ หอยที่ติดเชื้อมักพบในแหล่งน้ำใกล้กับพื้นที่ ๆ พบการติดเชื่อพยาธิใบไม้ตับในคนสูง (Dao et al., 2017; Kaewkes, Kaewkes, Tesana, Laha, & Sripa, 2012; Kim et al., 2016; Kopolrat et al., 2020; Petney et al., 2018; Pitaksakulrat et al., 2013) เมื่อหอยกินไข่ของพยาธิเข้าไป ไข่จะฟักตัวเพื่อปล่อยตัวอ่อนระยะ miracidium ออกมา พัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะ sporocysts ซึ่งมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) ก่อให้เกิดตัวอ่อนระยะ rediae จำนวนมากมาย จากนั้นพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะ cercariae ตัวอ่อนระยะ cercaria จะไข่ออกจากตัวหอย ไปเกาะติดและเจาะบนผิวหนังของปลาน้ำจืดกลุ่มปลาวงศ์ปลาตะเพียน พัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria (Dao et al., 2017; Namsanor et al., 2020; Zhang et al., 2020) จากการศึกษาพบปลาน้ำจืดประมาณ 50 ชนิด ใน 28 สกุล ที่มีรายงานการติดเชื่อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Ditrich et al., 1990; Komalamisra & Setasuban, 1989; Manivong et al., 2009; Ngoen-klan et al., 2010; Ong et al., 2016; Pinlaor et al., 2013;

Rim et al., 2008; Saijuntha, Sithithaworn, Kaitsopit, Andrews, & Petney, 2014; Sithithaworn et al., 1997; Srisawangwong et al., 1997; Touch et al., 2009; Vichasri et al., 1982; Wykoff et al., 1965) พบว่าปลาจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติมีการติดเชื้อสูงกว่าปลาที่เพาะเลี้ยง (Bui et al., 2016) คนจะได้รับเชื้อพยาธิใบไม้ตับโดยการกินอาหารพื้นบ้านที่ทำจากปลา วงศ์ปลาตะเพียนที่ปนเปื้อนระยะติดต่อ metacercariae แบบไม่ปรุงสุกเข้าไป จากนั้นตัวอ่อนจะถูกย่อยโดยน้ำย่อยและปล่อยตัวอ่อนออกมาและเคลื่อนที่ไปยังท่อทางเดินน้ำดีในตับพัฒนาเป็นระยะตัวเต็มวัยอยู่ภายในท่อน้ำดีและถุงน้ำดี พัฒนาเจริญเป็นระยะตัวเต็มวัย จากนั้นมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexually reproduction) ไข่จะขับออกมากับอุจจาระลงสู่สิ่งแวดล้อม (ภาพ 5) (Sithithaworn et al., 1991; Sripa et al., 2021)



ภาพ 5 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

ที่มา: Sripa et al., 2021

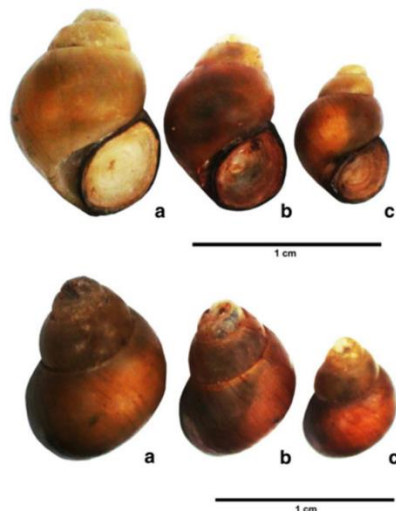
## โฮสต์ในธรรมชาติของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

### โฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่ง (first intermediate host)

โฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่งหอย *Bithynia* มี 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Bithynia funiculata*, *B. siamensis goniomphalos*, *B. s. siamensis*. โดยหอยชนิด *B. s. goniomphalos* พบได้ในประเทศลาว กัมพูชา ตอนใต้ของเวียดนาม และประเทศไทย (ตาราง 1) (ภาพ 6) ในประเทศไทย พบรายงานในพื้นที่ภาคตะวันตกและภาคกลางภาคใต้ ภาคเหนือ หอยสกุล *B. funiculata* พบในมณฑลทะเลย์ คาบสมุทรมลายูประเทศเมียนมาร์ พื้นที่ทางใต้ของกัมพูชา ตอนใต้ของเวียดนาม รวมทั้งภาคตะวันตกและภาคกลางของประเทศไทย (Petney et al., 2018) สำหรับหอยสกุล *B. s. goniomphalos* มักพบได้ใน นาข้าว บ่อน้ำริมถนน และคลองชลประทาน (Papasarathorn, Sumethanurugkul, Viboolyavatana, Temcharoen, & Tongkoom, 1990; Suwannatrai et al., 2011; Wang, Ho, Feng, Namsanor, & Sithithaworn, 2015) อีกทั้งสามารถพบได้ในพืชน้ำโคลน ทราย และพื้นผิวที่เป็นของแข็ง เช่น หินและคอนกรีตในช่องชลประทาน (Papasarathorn et al., 1990; Petney et al., 2012) หอยสกุล *B. funiculata* สามารถขยายพันธุ์ได้ในนาข้าว (Ngern-Klun et al., 2006) การเคลื่อนที่จากที่หนึ่งไปยังที่หนึ่งของหอยสกุล *Bithynia* จะอาศัยการเกาะบนพืชน้ำที่ลอยตามกระแส น้ำ (Petney et al., 2012) จากการศึกษาหอยสกุล *B. s. goniomphalos* ในแง่ลว่า จังหวัดขอนแก่น พบว่าความอุดมสมบูรณ์ของหอยชนิดนี้ขึ้นกับระดับไนโตรเจนและความเค็มในน้ำซึ่งจะพบสูงในช่วงฤดูฝน พื้นที่ ๆ พบหอย *B. s. goniomphalos* จะมีความหนาแน่นของประชากรปลาวงศ์ปลาตะเพียนด้วย เนื่องจากระดับไนโตรเจนในน้ำส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เป็นแหล่งอาหารของหอยและปลาเกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อความสมบูรณ์ของวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Kim et al., 2016; Kim et al., 2017) มีรายงานพบว่าหอย *B. s. goniomphalos* พบได้บ่อยในนาข้าว ซึ่งในนาข้าวนี้มีอุณหภูมิสูงสุด และมีค่า pH ต่ำสุด มีความแตกต่างของระดับออกซิเจนในน้ำ มีระดับความเค็มที่ต่างกัน ทั้งนี้ความอุดมสมบูรณ์ของหอย *B. s. goniomphalos* มีความสัมพันธ์กับ อุณหภูมิ, ค่า pH, ระดับความเค็ม และระดับออกซิเจนในน้ำ ค่าเฉลี่ยที่เหมาะสมต่อความหนาแน่นของประชากรหอยจะมีค่าเฉลี่ยรวมกันคิดเป็น 23.3% (Wang et al., 2015) หอยสกุล *B. funiculata* มีความไวต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มากกว่าหอยสกุล *B.s. siamensis* และ *B.s. goniomphalos* (Chanawong & Waikagul, 1991) และมักพบได้บ่อยในแหล่งน้ำตื้น (<30 ซม.) และแหล่งน้ำที่มีค่าความเค็มที่ต่ำกว่าแหล่งน้ำที่เป็นที่อยู่อาศัยของหอยสกุล *B. s. goniomphalos* พบได้ในน้ำที่ค่อนข้างขุ่น โดยมีช่วง pH อยู่ในช่วงตั้งแต่ 6.6 ถึง 7.6 (Ngern-Klun et al., 2006) สำหรับหอย *B. s. goniomphalos* พบความชุกของการติดเชื้อเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิของน้ำที่เป็นแหล่งที่อยู่อาศัย พบการติดเชื้อสูงสุดที่ 34 องศาเซลเซียส



และพบการติดเชื้อได้บ่อยในหอยขนาดกลาง ( 6.1-10 mm) เพศของหอยไม่มีความสัมพันธ์ต่ออัตราการติดเชื้อ (Prasopdee et al., 2015)



ภาพ 6 หอย *Bithynia* ที่ a. *Bithynia funiculata*. b. *B. siamensis goniomphalos*. c. *B. s. siamensis*.

ที่มา: Petney et al., 2012

#### โฮสต์ตัวกลางลำดับที่สอง (Secondary intermediate host)

ปลาน้ำจืดกลุ่มปลาวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinid fish) โฮสต์ตัวกลางที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เป็นสกุลปลาที่พบมากบริเวณตอนล่างของกลุ่มแม่น้ำโขง พบได้โดยทั่วไปในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Howes, Winfield, & Nelson, 1991) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนมีความสำคัญทางทางเศรษฐกิจของชุมชน (Shoemaker, Baird, Baird, & Lao, 2001) และทางโภชนาการ เป็นแหล่งโปรตีนที่หาได้ง่าย (Hortle, 2007) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนนิยมนำมาปรุงเป็นอาหารพื้นบ้านแบบสุกๆ ดิบๆ หรือกึ่งสุกกึ่งดิบ เช่น ลาบปลา ก้อยปลา ปลาร้า ปลาส้ม เป็นต้น (Chuboon, 2005; Prasongwatana et al., 2013) การบริโภคอาหารที่ทำจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่ไม่ปรุงสุกมีความเสี่ยงสูงที่จะได้รับตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับเข้าไป ตัวอ่อนจะฟักตัวที่ลำไส้เล็กส่วนต้น เจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยในท่อทางเดินน้ำดีและถุงน้ำดีของผู้ติดเชื้อ ตัวเต็มวัยของพยาธิใบไม้ตับอาศัยอยู่ในถุงน้ำดีของคนได้นานกว่า 20 ปี ทำให้เซลล์เยื่อบุผิวท่อทางเดินน้ำดีถูกทำลาย ถุงน้ำดีอักเสบเรื้อรัง นำไปสู่การเกิดโรคมะเร็งตับและท่อทางเดินน้ำดีได้ (Sripa et al., 2011) มีรายงานพบปลาวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinid fish) ประมาณ 50 ชนิด จาก 28 สกุล เป็นโฮสต์ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีรายงานพบตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับในปลาชนิดอื่นนอกเหนือจากปลา

วงศ์ปลาตะเพียน ได้แก่ ปลาสกุล *Anabas testudineus*, *Channa striata* และ *Trichopodus microlepis* แต่มีอัตราการติดเชื้อต่ำและพบได้น้อยมากเมื่อเทียบกับปลาวงศ์ปลาตะเพียน (Ditrich et al., 1990; Komalamisra & Setasuban, 1989; Manivong et al., 2009; Ngoen-klan et al., 2010; Ong et al., 2016; Pinlaor et al., 2013; Rim et al., 2008; Saijuntha et al., 2014; Srisawangwong et al., 1997; Sukontason et al., 1999; Touch et al., 2009; Vichasri et al., 1982; Wykoff et al., 1965) (Kiatsopit et al., 2012) ในประเทศไทยพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน 3 สกุล ได้แก่ สกุล ปลาไส้ตัน (*Cyclocheilichthys*) สกุลปลากระสูบ (*Hampala*) และสกุลปลาแก้มขี้ (*Puntius*) (Pitaksakulrat et al., 2013; Saijuntha et al., 2014) ปลาวงศ์อื่นที่ไม่จัดอยู่ในกลุ่มวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อ ได้แก่ ปลา *Anabas testudineus* และปลา *Trichopodus microlepis* แต่มีความชุกและความรุนแรงของการติดเชื้อต่ำ (Eom et al., 2015).

จากปลาวงศ์ตะเพียน 50 ชนิด มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* metacercariae ในประเทศลาว 46 ชนิด (28 สกุล), ไทย 46 ชนิด (27 สกุล), กัมพูชา 43 ชนิด (24 สกุล) และประเทศเวียดนาม 35 ชนิด (22 สกุล) (ตาราง 2) อัตราการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อในปลาจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับอัตราการติดเชื้อในคนที่เป็นแหล่งระบาดของโรค สถานการณ์ความรุนแรงของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในตับในปลาแตกต่างกันไปตามฤดูกาล สายพันธุ์ ประเภทของแหล่งน้ำ และอัตราการติดเชื้อในคนภายในพื้นที่นั้นๆ (Eom et al., 2015; Pinlaor et al., 2013; Sithithaworn et al., 1997; Vichasri et al., 1982) ในประเทศกัมพูชาพบว่าชนิดของปลาแตกต่างกันไปในแต่ละปีและแตกต่างกันในแต่ละฤดูกาล ความชุกและความรุนแรงของการติดเชื้อแตกต่างกัน โดยพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาสูงในช่วงฤดูแล้งและพบการติดเชื้อต่ำในช่วงฤดูฝน (Ngoen-klan et al., 2010) ผลการศึกษาเปรียบเทียบชนิดของปลาวงศ์ปลาตะเพียนในอ่างเก็บน้ำอุบลรัตน์ ในจังหวัดขอนแก่น ใน ฤดูฝน ฤดูปลายฝน และฤดูหนาว พบปลาสร้อยขาว (*Henicorhynchus siamensis*) สูงสุดคิดเป็นร้อยละ 82.3 ปลา *Labiobarbus leptocheilus* ร้อยละ 27 และปลา *Cyclocheilichthys armatus* ร้อยละ 24 ปลาที่พบแต่ละชนิดจะแปรผันตามช่วงฤดูกาล ปลาจากอ่างเก็บน้ำจะมีความหนาแน่นสูงและมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สูง ดังนั้นแหล่งที่มาของปลาฤดูกาล มีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับระยะ metacercaria (Ong et al., 2016)

ตาราง 1 แสดงชนิดของหอยที่เป็นโฮสต์ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

ประเทศ	พื้นที่	ชนิดหอย	อ้างอิง
เวียดนาม	ภาคกลางตอนบน	<i>B. s. goniomphalos</i> <i>B. funiculata</i>	Dao et al. (2017); Doanh & Nawa (2016); Nguyen, H. M. et al. (2021); Nguyen, P. T. X. et al. (2021)
ลาว	ภาคกลางและภาคใต้	<i>B. s. goniomphalos</i> <i>B. s. siamensis</i> (2012)	Giboda, Ditrich, Scholz, Viengsay, & Bouaphanh (1991); Kiatsopit et al.
กัมพูชา	ภาคใต้	<i>B. s. goniomphalos</i> <i>B. s. siamensis</i> (2020)	Boonmekam et al. (2017); Miyamoto et al. (2014); Tantrawatpan et al.
ไทย	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ	<i>B. s. goniomphalos</i> <i>B. s. siamensis</i> B. <i>funiculata</i>	Prasopdee et al. (2015); Suwannatrai et al. (2011)

ตาราง 2 แสดงชนิดปลาที่มีรายงานการตรวจพบตัวอ่อนระยะติดตัวของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

ชนิดปลา	ประเทศ	อ้างอิง
<b>Family Cyprinidae</b>		
<i>Amblyrhynchichthys truncatus</i>	ไทย กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Dao et al. (2017); Petney et al. (2018); Rim et al. (2008); Saijuntha et al. (2014); Touch et al. (2013)
<i>Barbodes rhombeus</i>	ไทย กัมพูชา ลาว	Chai, Lee, Rim, Sohn, & Phommasack (2019); Manivong et al. (2009); Ngoen-klan et al. (2010); Petney et al. (2018)
<i>Barbonymus altus</i>	กัมพูชา	Ngoen-klan et al. (2010); Touch et al. (2009); Touch et al. (2013)
<i>Barbonymus gonionotus</i>	ไทย กัมพูชา เวียดนาม	Ditrich et al. (1990); Giboda et al. (1991); Miyamoto et al. (2014); Scholz et al. (1992); Sukontason et al. (1999); Touch et al. (2013); Wykoff et al. (1965) Pitaksakulrat et al., 2013
<i>Barbonymus schwanenfeldii</i>	ไทย กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Dao et al. (2017); Petney et al. (2018); Rim et al. (2008); Saijuntha et al. (2014); Touch et al. (2009)
<i>Carassius auratus</i>	เวียดนาม	Dung et al. (2014)
<i>Cirrhinus jullieni</i>	ไทย กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Petney et al. (2018)

ตาราง 2 (ต่อ)

ชนิดปลา	ประเทศ	อ้างอิง
Family Cyprinidae		
<i>Cirrhinus microlepis</i>	ไทย กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Dao et al. (2017); Komalamisra & Setasuban (1989); Petney et al. (2018); Rim et al. (2008); Sithithaworn et al. (1997); Touch et al. (2009)
<i>Crossocheilus reticulatus</i>	ไทย กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Dao et al. (2017); Komalamisra & Setasuban (1989); Petney et al. (2018); Pinlaor et al. (2013); Rim et al. (2008); Sithithaworn et al. (1997); Touch et al. (2009)
<i>Cyclocheilichthys apogon</i>	ไทย กัมพูชา ลาว	Rim et al. (2013); Sithithaworn et al. (2007); Touch et al. (2009); Touch et al. (2013); Vichasri et al. (1982)
<i>Cyclocheilichthys armatus</i>	ไทย กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Dao et al. (2017); Petney et al. (2018); Pinlaor et al. (2013)
<i>Cyclocheilichthys repasson</i>	ไทย กัมพูชา ลาว	Ditrich et al. (1990); Giboda et al. (1991); Kaewpitoon et al. (2012); Manivong et al. (2009); Miyamoto et al. (2014); Rim et al. (2008); Scholz, Ditrich, & Giboda (1990)
<i>Cyclocheilichthys lagleri</i>	ลาว	Touch et al. (2013)
<i>Cyclocheilichthys enoptos</i>	กัมพูชา ลาว	Manivong et al. (2009); Rim et al. (2013); Sayasone et al. (2011); Touch et al. (2009)

ตาราง 2 (ต่อ)

ชนิดปลา	ประเทศ	อ้างอิง
<b>Family Cyprinidae</b>		
<i>Cyclocheilichthys furcatus</i>	กัมพูชา ลาว	Ngoen-klan et al. (2010); Rim et al. (2013)
<i>Esomus metallicus</i>	ไทย ลาว	Rim et al. (2008); Wykoff et al. (1965)
<i>Henicorhynchus lineatus</i>	ลาว	Manivong et al. (2009)
<i>Henicorhynchus lobatus</i>	กัมพูชา	Touch et al. (2013)
<i>Henicorhynchus siamensis</i>	ไทย กัมพูชา ลาว	Pinlaor et al. (2013); Touch et al. (2009); Touch et al. (2013)
<i>Hampala dispar</i>	ไทย กัมพูชา ลาว	Pinlaor et al. (2013); Rim et al. (2008); Touch et al. (2009)
<i>Hampala macrolepidota</i>	ไทย กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Chai et al. (2019); Dao et al. (2017); Sukontason et al. (1999); Touch et al. (2009)
<i>Hypsibarbus lagleri</i>	ลาว	Rim et al. (2008)
<i>Hypsibarbus pierrei</i>	ลาว	Rim et al. (2013)
<i>Hypsibarbus wetmorei</i>	ลาว	Rim et al. (2013)
<i>Labiobarbus leptochelilus</i>	ไทย กัมพูชา	Miyamoto et al. (2014); Touch et al. (2013)
<i>Labiobarbus siamensis</i>	ไทย กัมพูชา	Miyamoto et al. (2014); Touch et al. (2013)

ตาราง 2 (ต่อ)

ชนิดปลา	ประเทศ	อ้างอิง
<b>Family Cyprinidae</b>		
<i>Lobocheilus melanotaenia</i>	ลาว	Sayasone et al. (2011)
<i>Mystacoleucus atridorsalis</i>	ไทย กัมพูชา ลาว	Chai et al. (2019); Manivong et al. (2009); Sithithaworn et al. (1997); Touch et al. (2009)
<i>Mystacoleucus marginatus</i>	ไทย ลาว	Rim et al. (2008); Srisawangwong et al. (1997)
<i>Neolissochilus stracheyi</i>	ลาว	Rim et al. (2013)
<i>Onychostoma elongatum</i>	ลาว	Rim et al. (2008)
<i>Onychostoma fusiforme</i>	ลาว	Manivong et al. (2009)
<i>Oreichthys parvus</i>	ลาว	Sayasone et al. (2011)
<i>Osteochilus hasselti</i>	ไทย กัมพูชา ลาว	Miyamoto et al. (2014); Ngoen-klan et al. (2010); Pinlaor et al. (2013); Rim et al. (2008); Touch et al. (2013)
<i>Osteochilus sp.</i>	ไทย	Wykoff et al. (1965)
<i>Osteochilus vittatus</i>	กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Dao et al. (2017); Petney et al. (2018); Rim et al. (2008); Touch et al. (2009)
<i>Osteochilus waandersii</i>	ลาว	Manivong et al. (2009)
<i>Paralaubuca barroni</i>	ลาว	Rim et al. (2013)

ตาราง 2 (ต่อ)

ชนิดปลา	ประเทศ	อ้างอิง
<i>Pethia stoliczkana</i>	ไทย ลาว	Chai et al. (2019); Petney et al. (2018); Waikagul (1998)
<i>Poropuntius deauratus</i>	ลาว	Rim et al. (2013)
<i>Poropuntius laoensis</i>	ไทย กัมพูชา ลาว	Saijuntha et al. (2014); Sanpool, Aung, Rodpai, Maleewong, & Intapan (2018); Touch et al. (2009)
<i>Puntioplites falcifer</i>	ไทย กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Dao et al. (2017); Komalamisra & Setasuban (1989); Petney et al. (2018); Pinlaor et al. (2013); Rim et al. (2008); Sithithaworn et al. (1997); Touch et al. (2009)
<i>Puntioplites proctozysron</i>	ไทย กัมพูชา ลาว	Manivong et al. (2009); Ngoen-klan et al. (2010); Pinlaor et al. (2013); Rim et al. (2013); Sohn et al. (2012); Touch et al. (2009); Touch et al. (2013); Wykoff et al. (1965)
<i>Puntioplites partipentazona</i>	ไทย	Vichasri et al. (1982)
<i>Puntius brevis</i>	ไทย กัมพูชา ลาว เวียดนาม	Dung et al. (2014); Giboda et al. (1991); Miyamoto et al. (2014); Rim et al. (2008); Sayasone et al. (2011); Sithithaworn et al. (1997); Touch et al. (2009); Vichasri et al. (1982)
<i>Rasbora ourotacnatiiran</i>	ลาว	Sayasone et al. (2011)



ตาราง 2 (ต่อ)

ชนิดปลา	ประเทศ	อ้างอิง
<i>Puntius orphoides</i>	ไทย ลาว	Manivong et al. (2009); Ngoen-klan et al. (2010); Pinlaor et al. (2013); Rim et al. (2013); Sohn et al. (2012); Touch et al. (2009); Touch et al. (2013); Wykoff et al. (1965)
<i>Thynnichthys thynnoides</i>	ไทย กัมพูชา	Sukontason et al. (1999); Touch et al. (2009); Touch et al. (2013)
<b>Noncyprinids</b>		
<b>Family Anabantidae</b>		
<i>Anabas testudineus</i>	ลาว เวียดนาม	Dao et al. (2016); Thu et al. (2007)
<b>Family Channidae</b>		
<i>Channa striata</i>	เวียดนาม	Dao et al. (2017); Thu et al. (2007)
<b>Family Osphronemidae</b>		
<i>Trichopodus microlepis</i>	กัมพูชา ลาว	Petney et al. (2018); Rim et al. (2008); Touch et al. (2009)

### โฮสต์กักตุน (Reservoirs host)

สุนัขและแมวเป็นโฮสต์กักตุนที่สำคัญของพยาธิ *O. viverrini* ในพื้นที่ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทั้งใน ประเทศลาว เวียดนาม กัมพูชา และไทย (Lin et al., 2011; Nguyen, Tatonova, & Madsen, 2018; Tangkawattana & Tangkawattana, 2018) (Hung et al., 2015; Xu et al., 2021) จากการสำรวจในพื้นที่ตอนกลางของประเทศเวียดนามพบการติดเชื้อ ในแมวร้อยละ 33-60 (Doanh & Nawa, 2016) ในประเทศไทยในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคนสูงนั้น พบแมวที่ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับมากกว่าร้อยละ 35 ซึ่งมากกว่าการติดเชื้อในสุนัข (Aunpromma et al., 2012; Enes, Wages, Malone, & Tesana, 2010) ในภาคเหนือตอนล่าง ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการติดเชื้อในคนน้อยกว่าพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบการติดเชื้อในแมวร้อยละ 3.3 และพบการติดเชื้อในสุนัขน้อยกว่าการติดเชื้อในแมว (Pumidonming et al., 2016) ยังไม่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่น เช่น ลิง หนู (Tangkawattana, Sereerak, Upontain, Tangkawattana, & Sripa, 2021) โฮสต์กักตุนนั้นมีความสำคัญ เพราะไข่ของพยาธิใบไม้ตับสามารถปะปนมากับอุจจาระของโฮสต์กักตุนลงสู่แหล่งน้ำ และทำให้วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับสมบูรณ์ได้เช่นเดียวกับในโฮสต์เฉพาะ (definitive host) (Tangkawattana & Tangkawattana, 2018)

### โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่สำคัญในประเทศไทย

ในประเทศไทยพบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สูงในปลาวงศ์ตะเพียน 3 สกุล ได้แก่ *Puntius*, *Cyclocheilichthys*, และ *Hampala* (Srisawangwong et al., 1997; Sukontason et al., 1999; Vichasri et al., 1982; Waikagul, 1998)

#### ปลาสกุล (*Cyclocheilichthys*)

ลักษณะเด่น คือ 1) ครีบสันหลังมีลักษณะเป็นรอยหยักคล้ายฟันเลื่อย 2) จมูกรูปทรงกรวย 3) ปากมีขนาดเล็กมีรูปคล้ายเกือกม้า 4) บริเวณแก้มและจะงอยปากมีตุ่มประสาทเล็กๆ เรียงกันเป็นแถว 5) บางชนิดมีหนวด 2 คู่ บางชนิดมีหนวด 1 คู่ หรือไม่มีหนวด 6) ขนาดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด สามารถพบได้ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติทั่วไป เช่น คลอง แม่น้ำ Rainboth (1996); fish base online ในประเทศไทยมักพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่จัดอยู่ในสกุล *Cyclocheilichthys* จำนวน 3 ชนิด ได้แก่

### ปลาโจก (*Cyclocheilichthys armatus*)

ลักษณะเด่น เส้นข้างลำตัวไม่แตกแขนง มีจุดสีดำอยู่ตำแหน่งโคนครีบหาง ไม่มีส่วนของ barbels สามารถพบได้ในแม่น้ำ ลำธาร อ่างเก็บน้ำ และมักพบในแหล่งน้ำประเภทน้ำไหล สามารถพบได้ในประเทศกัมพูชา ลาว ไทย และเวียดนาม (ภาพ 7) Rainboth (1996); fish base online



ภาพ 7 ปลาโจก (*C. armatus*)

ที่มา: <https://www.fishbase.se/Summary/SpeciesSummary.php?id=16120&lang=thai>

### ปลาปากเหลี่ยม (*Cyclocheilichthys apogon*)

ลักษณะเด่น ลำตัวจะมีจุดสีดำขนาดเล็กเรียงเป็นแถวขนานกับลำตัว มีจุดสีดำขนาดใหญ่อยู่ตำแหน่งโคนครีบหาง ไม่มีส่วนของ barbels พบได้ในลำธารขนาดเล็ก อ่างเก็บน้ำ ทะเลสาบ ลำคลอง และคูน้ำ โดยทั่วไปมักพบในบริเวณที่มีน้ำนิ่งหรือบริเวณที่มีกระแสน้ำไหลช้า สามารถพบได้ในประเทศ กัมพูชา ลาว ไทย และเวียดนาม (ภาพ 8) Rainboth (1996); fish base online



ภาพ 8 ปลาปากเหลี่ยม (*C. apogon*)

ที่มา: <https://www.floridamuseum.ufl.edu/fish/catfish/indonesia-expedition/>

### ปลาไส้ตันตาขาว (*Cyclocheilichthys repasson*)

ลักษณะเด่น มีจุดสีดำตรงบริเวณโคนครีบหางซึ่งไม่เด่นชัดเหมือนชนิดอื่น ลำตัวจะมีจุดสีดำขนาดเล็กเรียงเป็นแถวขนานกับลำตัว มี barbels 2 คู่ พบในแม่น้ำขนาดเล็ก คลอง บ่อน้ำและอ่างเก็บน้ำ สามารถพบได้ในประเทศ กัมพูชา ลาว ไทย และเวียดนาม (ภาพ 9) Rainboth (1996); fish base online



ภาพ 9 ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*)

ที่มา: <https://ffish.asia/?page=file&pid=10920>

### ปลาสกุล (*Hampala*)

ลักษณะ ส่วนหัวมีขนาดใหญ่ ปากกว้าง มุมปากยาวถึงขอบตา มีหนวดที่มุมปากบนหนึ่งคู่ ครีบหลังมีก้านครีบแขนงแปดก้าน เกล็ดเป็นแบบขอบบางเรียบ บนลำตัวมีจุดหรือเส้นขีดสีดำเห็นได้ชัดเจน อาจแปรเปลี่ยนไปได้ตามช่วงวัยและแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิด Rainboth (1996); fish base online มักพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาสกุล *Hampala* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่

### ปลากระสุนจุด (*Hampala dispar*)

ลักษณะ มีจุดสีดำอยู่บริเวณกลางลำตัวตรงตำแหน่งครีบหลัง ครีบหางจะมีสีเทา บริเวณแก้มจะมีลักษณะคล้ายหยดน้ำพบได้ในตัวเต็มวัย หนวด (barbel) สั้นกว่าความกว้างของตาเสมอ มักพบได้ในแหล่งน้ำนิ่งหรือบริเวณที่กระแสน้ำไหลช้า ๆ ยังพบในธารน้ำเชี่ยวกรากของแม่น้ำโขงตอนกลาง พบได้ในประเทศกัมพูชา ลาว และไทย (ภาพ 10) Rainboth (1996); fish base online



ภาพ 10 ปลากระสูบจุด (*H. dispar*)

ที่มา: <https://ffish.asia/?page=file&pid=438&lang=e>

### ปลากระสูบขีด (*Hampala macrolepidota*)

ลักษณะ มีเส้นสีดำขนาดใหญ่พาดลำตัวตำแหน่งครีบหลัง ครีบหางจะมีสีแดงปนดำ หนวด (barbel) ยาวกว่าความกว้างของตาเสมอ พบได้ในประเทศกัมพูชา ลาว ไทย และเวียดนาม (ภาพ 11) Rainboth (1996); fish base online



ภาพ 11 ปลากระสูบขีด (*H. macrolepidota*)

ที่มา: <https://alchetron.com/Hampala-macrolepidota>

### ปลาสกุล (*Puntius*)

ลักษณะ ครีบสันหลังจะมีผิวเรียบไม่มีรอยหยัก มีจุดสีดำอยู่บริเวณโคนปลายครีบหลัง มีหนวดแบบ maxillary barbels มักพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาวางศ์ปลาตะเพียนที่จัดอยู่ในสกุล *Puntius* นี้ใน 2 ชนิด ได้แก่

### ปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*)

ลักษณะ บริเวณครีบหลังเรียบ มีหนวด maxillary barbells 1 คู่ มีจุดสีดำบริเวณโคนครีบหลัง มีเส้น ครีบหลังและครีบท้ายไม่มีจุดสีดำ มีเส้น lateral line ที่สมบูรณ์ มักพบในแหล่งน้ำนิ่งหรือแหล่งน้ำที่มีการไหลช้า ๆ และพบได้ในคลอง คูน้ำ และลำธารขนาดเล็ก สามารถพบได้ในประเทศ กัมพูชา ลาว ไทย และเวียดนาม (ภาพ 12) Rainboth (1996); fish base online

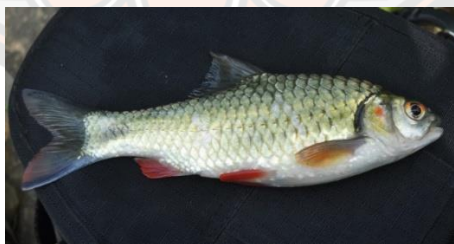


ภาพ 12 ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*)

ที่มา: <https://ffish.asia/?page=file&pid=22838&lang=e>

### ปลาแก้มขี้ (*Puntius orphoides*)

ลักษณะ มีหนวด maxillary barbells 1 คู่ บริเวณแก้มจะมีสีแดง ส่วนหางจะมีสีแดงสว่างปนกับสีดำ พบได้ในแม่น้ำ แอ่งน้ำขนาดเล็ก ทะเลสาบ รวมถึงอ่างเก็บน้ำ สามารถพบได้ในประเทศประเทศไทย กัมพูชา ลาว ไทย และเวียดนาม (ภาพ 13) Rainboth (1996); fish base online



ภาพ 13 ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*)

ที่มา: [https://th.m.wikipedia.org/wiki/%E0%B9%84%E0%B8%9F%E0\\_%E0%\\_orpho\\_120127-22820\\_tsm.JPG](https://th.m.wikipedia.org/wiki/%E0%B9%84%E0%B8%9F%E0_%E0%_orpho_120127-22820_tsm.JPG)

## โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ *O. viverrini* ในประเทศไทย

จากรายงานการสำรวจการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในแหล่งน้ำในพื้นที่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับใน 20 จังหวัดภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อในปลาวงศ์ตะเพียน 6 ชนิด ได้แก่ ปลาโจก (*C. armatus*) ปลาแก้มขำ (*P. orphoides*) ปลากระสูบจุด (*H. dispar*) ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาสร้อยนกเขา (*O. hasselti*) และปลากระมัง (*P. proctozystron*) อัตราการตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อเฉลี่ย 0.01 – 6.5 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ 1 ตัว หรือประมาณ 1.3 – 287.5 ซีสต์ต่อปลา 1 กิโลกรัม ปลาจากพื้นที่ 5 จังหวัดมีความหนาแน่น มากกว่า 3 ซีสต์/ปลา 1 ตัวที่ติดเชื้อ ได้แก่ จังหวัดอำนาจเจริญ 6.5 ซีสต์, นครพนม 4.3 ซีสต์ มุกดาหาร 4.1 ซีสต์ ขอนแก่น 3.5 ซีสต์ และศรีสะเกษ 3.4 ซีสต์ และปลาที่เก็บจากเขื่อนมีอัตราการติดเชื้อสูงกว่าปลาที่นำมาจาก คลอง และแม่น้ำ (Pinlaor et al., 2013) ชนิดของปลาที่ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับระบบนิเวศของแหล่งน้ำ ฤดูกาล ช่วงเวลาในการศึกษา เช่นเดียวกันจากการสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในจังหวัดนครราชสีมา ในช่วงเดือนเมษา พ.ศ. 2554 ถึงเดือนกุมภาพันธ์พ.ศ.2555 เก็บตัวอย่างปลาจากเขื่อน แม่น้ำ และบ่อน้ำหรือทะเลสาบ พบปลา 3 ชนิด ได้แก่ *P. orphoides*, *C. armatus*, และ *H. dispar* พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาเพียง 1 ชนิด ได้แก่ *P. orphoides* ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อที่ 33 ซีสต์ จากการศึกษาก่อนหน้านี้ในปี พ.ศ. 2553 ในพื้นที่เดียวกันแต่เก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำที่แตกต่างกัน พบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาร้อยละ 12.3 โดยส่วนใหญ่พบการติดเชื้อในเป็นปลา *C. armatus*, *C. repasson*, *P. proctozystron*, *Hampala macrolepidota* และ *H. dispar* สำหรับความหนาแน่นของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลานั้นแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสถานที่และช่วงเวลาของปีที่เก็บตัวอย่างปลา (Kaewpitoon et al., 2012)

ในประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาสูงสุดจากพื้นที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (8-88 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ) (Vichasri et al., 1982) ซึ่งสูงกว่าในภาคเหนือ (1.4 ซีสต์ ต่อ ปลาที่ ติด เชื้อ) (Sukontason et al., 1999) อย่างไรก็ตามในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีอัตราการติดเชื้อในปลาลดต่ำลงอย่างมาก จากรายงานการศึกษาในระหว่างเดือนเมษายนพ.ศ. 2523 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2524 พบความหนาแน่นของตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ 8-88 ซีสต์/ปลา 1 ตัว (Vichasri et al., 1982) ต่อมามีการสำรวจระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2554 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 พบความหนาแน่นของตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ 0.01-6.5 ซีสต์/ปลา 1 ตัวที่ติดเชื้อ แม้ว่าความหนาแน่นของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดในช่วง 30 ปีที่ผ่านมา แต่ยังคงมีความหนาแน่นของการติดเชื้อในปลาสูงในบางจังหวัด ได้แก่ จังหวัดอำนาจเจริญ จังหวัดนครพนม จังหวัดมุกดาหาร จังหวัดขอนแก่น และ

จังหวัดศรีสะเกษ ซึ่งมีความหนาแน่นของตัวอ่อนระยะติดต่อกับปลา 1 ตัวมากกว่า 3 ซีสต์ (Pinlaor et al., 2013) การติดเชื้อในปลาดังกล่าวนั้นมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอัตราการติดเชื้อในคน จากรายงานพบว่าในพื้นที่จังหวัดอำนาจเจริญมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคนสูงกว่าร้อยละ 32.6 จังหวัดนครพนมร้อยละ 60.8 จังหวัดมุกดาหารร้อยละ 29.5 จังหวัดขอนแก่นร้อยละ 14.2 และ จังหวัดศรีสะเกษร้อยละ 38.6 (Sithithaworn et al., 2012)

สำหรับในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทยมีการศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการศึกษาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยจากรายงานพบปลาจากภาคเหนือมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเพียงร้อยละ 0.2 พบตัวอ่อนระยะติดต่อกับปลา 1.4 ซีสต์ต่อปลา 1 ตัวที่ติดเชื้อติดเชื้อมากที่สุดในปลาแก้มขี้ (P. orphoides) พบตัวอ่อนระยะติดต่อกับปลา 1.39 ซีสต์ต่อปลา 1 ตัว รองลงมาคือ ปลาตะเพียนขาว (B. gonionotus) (0.95 ซีสต์/ปลาที่ติดเชื้อ) ปลากระสูบขีด (H. macrolepidota) (0.20 ซีสต์/ปลาที่ติดเชื้อ) ปลาเกล็ดถี่ (T. thynoides) (0.02 ซีสต์/ปลาที่ติดเชื้อ) (Sukontason et al., 1999)

## โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อกับ *O. viverrini* ในประเทศพม่า

สถานการณ์การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาน้ำจืดของประเทศพม่า มีรายงานการศึกษาครั้งแรกในปี 2020 โดยการตรวจหาระยะติดต่อกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากตัวอย่างปลาในตลาดภายในชุมชนเขต yangon จากการตรวจหาระยะติดต่อกับพยาธิใบไม้ตับในปลาน้ำจืด 10 ชนิด พบปลา 4 ชนิดที่พบระยะติดต่อกับพยาธิใบไม้ตับ ได้แก่ ปลา *Channa lucius* มีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 100 ปลา *Anabas testudineu* ร้อยละ 7.1 ปลา *Puntioplites* sp. ร้อยละ 6.7 และปลา *C. striata* ร้อยละ 3.5 (Sohn et al., 2019) จากรายงานการศึกษาดูแลตัวอ่อนระยะติดต่อกับปลาน้ำจืด 12 ชนิดจากตลาดภายในชุมชน ในเขต Tachileik ที่ตั้งอยู่ทางตอนใต้ของประเทศพม่า ในปี 2020 จากพบปลาเพียง 1 ชนิด ที่ตรวจพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ คือ ปลา *Cyclocheilichthys repasson* พบอัตราการติดเชื้อร้อยละ 2.64 (Phyo Myint, Sereemaspun, Rocklöv, & Nithikathkul, 2020)



## โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ *O. viverrini* ในประเทศเวียดนาม

ในประเทศเวียดนาม รายงานการตรวจหาหอยระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ครั้งแรกในปี 2007 ในจังหวัด Giang ที่ตั้งอยู่ในบริเวณปากแม่น้ำโขงทางตะวันตกเฉียงใต้ของประเทศเวียดนาม และมีพรมแดนติดกับทางตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศกัมพูชา จากรายงานพบการติดเชื้อในปลาเพียง 1 ชนิด ได้แก่ ปลา *Channa striata* และมีอัตราการติดเชื้อต่ำเพียงร้อยละ 1.9 (Thu et al., 2007) ต่อมาจากการสำรวจในระหว่างปี 2010 - 2012 โดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติในพื้นที่ ๆ มีประชากรภายในท้องถิ่นนิยมบริโภคปลาดิบใน 3 อำเภอ ได้แก่ Hoa Xuan Dong, Tuy An, และ Song Hinh จากเมือง Tuy Hoa ของประเทศเวียดนาม จากรายงานพบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อสูงสุดร้อยละ 63 ในปลา *Puntius brevis* รองลงมาคือปลา *Carassius auratus* อัตราการติดเชื้อร้อยละ 28.1 ปลา *Channa* spp. ร้อยละ 8.3 และปลา *Rasbora* spp. ร้อยละ 4.3 ตามลำดับ (Dung et al., 2014) ในปี 2017 มีรายงานการศึกษาในจังหวัด Binh Dinh ตั้งอยู่ทางตอนกลางของประเทศเวียดนามซึ่งเป็นพื้นที่ ๆ ที่เป็นแหล่งระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับ opisthorchiasis จากรายงานพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับสูงในปลา 6 ชนิด มีการติดเชื้อสูงสุดในปลา *Carassius auratus* ร้อยละ 74 รองลงมาคือปลา *Rasbora aurotaenia* ร้อยละ 55.8 ปลา *Puntius brevis* ร้อยละ 31.6 ปลา *Mystus carassius* ร้อยละ 26.7 ปลา *Oreochromis niloticus* ร้อยละ 18.8 และปลา *Esomus metallicus* ร้อยละ 13.6 (Dao et al., 2017)

## โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ *O. viverrini* ในประเทศกัมพูชา

การติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศกัมพูชา มีรายงานการศึกษาในระหว่างเดือนพฤษภาคมปี 2007 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2008 โดยสำรวจการติดเชื้อในปลาวงศ์ปลาตะเพียนจาก Lake 500 ที่อยู่ชายแดนระหว่างจังหวัด Kandal และ Takeo ทางตอนใต้ของประเทศกัมพูชา แหล่งระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับ มีรายงานอัตราการติดเชื้อในคนสูงกว่าร้อยละ 13.4 จากการสำรวจพบการติดเชื้อตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ตับในปลาอัตราการติดเชื้อร้อยละ 17.5 โดยมีความหนาแน่นของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ตับที่ 1-65 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ 1 ตัว จากการสำรวจพบการติดเชื้อในปลา 10 ชนิด มีอัตราการติดเชื้อสูงสุดในปลา *Barbodes altus* (ร้อยละ 66.7) ปลา *H. dispar* ร้อยละ 33.3 ปลา *S. orphoides* ร้อยละ 31 ปลา *Cyclocheilichthys apogon* ร้อยละ 31.4 ปลา *P. brevis* ร้อยละ 23.6 ปลา *H. siamensis* ร้อยละ 4.3 ปลา *Thynnichthys thynnoides* ร้อยละ 3.7, ปลา *H. macrolepidota* ร้อยละ 2.6 ปลา *C. enoplos* ร้อยละ 2.1 และปลา *P. proctozysron* ร้อยละ 2 ตามลำดับ (Touch et al., 2009) ในระหว่างปี 2008-2009 ได้มีการสำรวจในจังหวัดเดียวกับการศึกษาก่อนหน้าในบริเวณรอบ Lake 500 ในจังหวัด Kandal ตอนใต้ของกัมพูชา พบอัตราการติดเชื้อร้อยละ 34.3 มีการติดเชื้อในปลา 17 ชนิด พบการ

ติดเชื้อสูงสุดในปลา *Amblyrhynchichthys truncates* ร้อยละ 100 รองลงมาคือ *C. armatus* ร้อยละ 84.6 และพบการติดเชื้อต่ำสุดในปลา *Osteochilus hasseltii* ร้อยละ 6.1 (Touch et al., 2013) จากรายงานการศึกษาแสดงให้เห็นว่าช่วงเวลานั้นมีผลต่ออัตราการติดเชื้อตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ตับในปลาเช่นเดียวกัน ต่อมาในปี 2012 ได้มีการสำรวจการติดเชื้อในปลาจากจังหวัด Kratie ที่ตั้งอยู่ทางตะวันออกเฉียงกลางของประเทศกัมพูชา ในพื้นที่ดังกล่าวมีอัตราการติดเชื้อในคนร้อยละ 4.6 จากการตรวจหาระยะติดต่อในปลาพบอัตราการติดเชื้อร้อยละ 22.9 โดยเฉลี่ยอยู่ที่ 1-75 ซีสต์ต่อปลา 1 ตัว พบการติดเชื้อในปลา 3 ชนิด มีการติดเชื้อสูงสุดในปลา *P. orphoides* ร้อยละ 90 รองลงมาคือ ปลา *P. proctozyron* ร้อยละ 60 และปลา *Labeo chrysophekadion* ร้อยละ 40 ตามลำดับ (Sohn et al., 2012) นอกจากนี้มีการสำรวจการติดเชื้อในปลาจากกรุงเทพมหานครพบการติดเชื้อในปลา 11 ชนิด ติดเชื้อสูงสุดในปลา *H. lobatus* ร้อยละ 100 โดยมีการการติดเชื้อเฉลี่ยอยู่ที่ 18.6 ซีสต์ต่อปลา 1 ตัวที่ติดเชื้อ (Chai et al., 2014) เช่นเดียวกันการสำรวจใจจังหวัด Pursat พบปลาที่ติดเชื้อ 2 ชนิด ได้แก่ ปลา *H. lineatus* และปลา *Puntioplites falcifer* โดยปลาทั้ง 2 ชนิดมีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 10 (Chai et al., 2014)

จากการรายงานปี 2020 มีการสำรวจการติดเชื้อในปลาที่ขายในตลาดชุมชนในกรุงเทพมหานคร จังหวัด Takeo และจังหวัด Kandal พบปลาติดเชื้อร้อยละ 23.7 การติดเชื้อเฉลี่ยที่ 4.3 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ และมีปลา 4 ชนิดที่ตรวจพบการติดเชื้อพบการติดเชื้อสูงสุดในปลา *P. proctozyron* ร้อยละ 100 ปลา *H. wetmorei* ร้อยละ 20 ปลา *Channa striata* และปลา *B. altus* ร้อยละ 22.2 ในจังหวัด Takeo พบปลาที่ติดเชื้อร้อยละ 38.1 พบการติดเชื้อเฉลี่ยที่ 14.4 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ และมีปลา 10 ชนิดที่ตรวจพบการติดเชื้อ พบติดเชื้อสูงสุดในปลา 3 ชนิด ได้แก่ ปลา *L. chrysophekadion*, *S. orphoides* และ *Puntius* sp. ทั้ง 3 ชนิดมีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 100 และพบการติดเชื้อต่ำสุดในปลา *Cirrhinus julieni* ร้อยละ 6.7 ในจังหวัด Kandal พบการติดเชื้อในปลาร้อยละ 90.2 มีการติดเชื้อเฉลี่ยที่ 24 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ พบการติดเชื้อในปลา 6 ชนิด มีอัตราการติดเชื้อสูงสุดร้อยละ 100 ในปลา 2 ชนิด ได้แก่ ปลา *S. orphoides* และปลา *B. altus* (Sohn et al., 2021)

## โฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ *O. viverrini* ในประเทศลาว

สถานการณ์การติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวได้มีรายงานการศึกษาครั้งแรกในปี 2010 โดยการสำรวจจากตัวอย่างปลาในอ่างเก็บน้ำ Nam Ngum และในนาข้าว ในพื้นที่นครหลวงเวียงจันทน์ พบปลาที่ติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับสูงสุดในปลา *C. repasson* โดยพบตัวอ่อนของพยาธิเฉลี่ยที่ 15 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ 1 ตัว รองลงมาคือปลา *P. brevis* พบตัวอ่อนเฉลี่ยที่ 11 ซีสต์, ปลา *B.*

*gonionotus* พบตัวอ่อนเฉลี่ยที่ 7 ซีสต์, ปลา *H. dispar* และปลา *H. macrolepidota* พบตัวอ่อนเฉลี่ยที่ 6 ซีสต์ (Scholz et al., 1990) ในปี 2002-2012 มีการสำรวจสถานการณ์การติดเชื้อตัวอ่อนของพยาธิตัวแบนในปลาในพื้นที่แหล่งระบาดของโรคพยาธิตัวแบนใน 6 พื้นที่ ได้แก่ Vientiane Municipality, Savannakhet, Luang Prabang, Khammuane, Saravane และ Champasack Provinces ที่ตั้งอยู่ทางตอนกลางถึงตอนใต้ของประเทศลาว พบปลาที่ติดเชื้อทั้งหมดร้อยละ 37.9 การติดเชื้อเฉลี่ยที่ 297 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ โดยเฉพาะปลา *O. elongatum*, *C. armatus*, *C. apogon*, *H. dispar* และ *P. brevis* มีความหนาแน่นของการติดเชื้อสูง (ตาราง 3) สำหรับความชุกของการติดเชื้อในแต่ละพื้นที่และการติดเชื้อในปลานั้นจะแสดงไว้ในตาราง 3 จากการรายงานพบอัตราการติดเชื้อในปลาสูงสุดในพื้นที่ Vientiane Municipality (ปี 2002) และ Savannakhet (ปี 2002) อัตราการติดเชื้อร้อยละ 75.7 และร้อยละ 73.7 ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยของตัวอ่อนพยาธิตัวแบนสูงอยู่ที่ 340 และ 419 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ ตามลำดับ และค่า endemicity ของการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อในปลาสูงสุดในจังหวัด Savannakhet (ปี 2002) ที่ 206 ซีสต์ รองลงมาคือ Vientiane Municipality (ปี 2002) ที่ 200.2 ซีสต์, Saravane Province (ปี 2003) ที่ 85.1 ซีสต์, Vientiane Municipality (ปี 2010) ที่ 65.3 ซีสต์, Khammuane Province (ปี 2003) ที่ 42.2 ซีสต์, Luang Prabang Province (ปี 2004) ที่ 16.9 ซีสต์, Vientiane Province (2011) ที่ 5.6 ซีสต์ และ Champasak Province (2010) ที่ 0.1 ซีสต์ (Chai et al., 2013; Chai et al., 2014; Eom et al., 2015; Rim et al., 2008; Rim et al., 2013; Sohn et al., 2014)

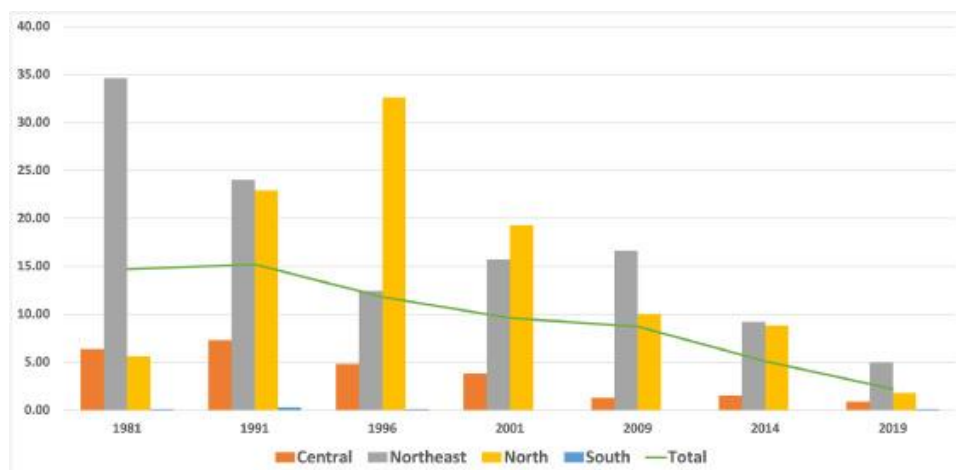
ตาราง 3 แสดงการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาน้ำจืดจากประเทศสาธารณรัฐ  
ประชาธิปไตยประชาชนลาว

ชนิดปลาที่ติดเชื้อ	จำนวนปลา	จำนวนปลาที่ ติดเชื้อ (%)	จำนวนระยะ metacercaria	
			ช่วง	เฉลี่ย
<i>Puntius brevis</i>	163	85 (52.2)	1-1,227	225
<i>Cyclocheilichthys armatus</i>	82	49 (59.8)	1-6,980	570
<i>Anematichthys repasson</i>	68	31 (45.6)	1-10	4
<i>Hampala dispar</i>	54	47 (87)	1-1,958	305
<i>Mystacoleucus marginatus</i>	44	2 (4.6)	12-30	21
<i>Onychostoma elongatum</i>	36	15 (41.7)	5-9,500	1,169
<i>Henichorhynchus siamensis</i>	35	1 (2.9)	-	1
<i>Anabas testudineus</i>	33	1 (3)	-	2
<i>Cyclocheilichthys apogon</i>	27	16 (59.3)	26-1,509	312
<i>Poropuntius deauratus</i>	25	2 (8)	3-7	5
<i>Osteochilus vittatus</i>	29	2 (6.9)	-	1
<i>Esomus metallicus</i>	20	6 (30)	5-17	11
<i>Hypsibarbus wetmorei</i>	20	1 (5)	0	20
<i>Puntioplites proctozyron</i>	19	8 (42.1)	1-6	2
<i>Scalphognathopsis bandanensis</i>	17	3 (17.7)	3-8	5
<i>Puntioplites falciper</i>	15	3 (20)	1-2	1
<i>Hypsibarbus lagleri</i>	11	1 (9.1)	-	115
<i>Paralabuca barroni</i>	10	1 (10)	-	1
<i>Labeo chrysophekadion</i>	9	1 (11.1)	-	1
<i>Onychostoma fusiforme</i>	8	1 (12.5)	-	65
<i>Barbonymus altus</i>	7	2 (28.6)	-	1
<i>Cyclocheilichthys enoplos</i>	5	1 (20)	-	6
<i>Cyclocheilichthys furcatus</i>	4	1 (25)	-	3
<i>Hypsibarbus pierrei</i>	4	2 (25)	-	4
<i>Barbonymus schwanefeldii</i>	2	1 (50)	-	2
<i>Neolissochilus stracheyi</i>	2	2 (100)	1-3	2
	749		1-9,500	297

## ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

### ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศไทย

ในประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับครั้งแรกในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยพบอัตราการติดเชื้อสูงถึงร้อยละ 100 (Sadun, 1955) ต่อมาในปี 1980-1981 มีการสำรวจทั่วประเทศครั้งแรกพบความชุกโดยรวมของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 14 พบการความชุกของการติดเชื้อสูงสุดในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีการติดเชื้อร้อยละ 34.6 ภาคกลางร้อยละ 6.3 ภาคเหนือ ร้อยละ 5.6 และภาคใต้ร้อยละ 0.01 ตามลำดับ จากนั้นมีการจัดโปรแกรมควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับต่อมาในปี 2000 ความชุกของการติดเชื้อทั่วประเทศโดยเฉลี่ยลดลงเหลือร้อยละ 9.4 (Jongsuksuntigul & Imsomboon, 1997) และต่อมาในปี 2009 ความชุกของการติดเชื้อโดยรวมลดลงเหลือร้อยละ 8.7 นอกจากนี้ยังพบการความชุกของการติดเชื้อสูงสุดในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีการติดเชื้อร้อยละ 16.6 ภาคเหนือร้อยละ 10 ภาคกลางร้อยละ 1.3 และภาคใต้ร้อยละ 0.01 ตามลำดับ (Dung et al., 2014) อย่างไรก็ตาม ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นั้นพบความชุกการติดเชื้อในปี 2009 นั้นใกล้เคียงกับผลการสำรวจครั้งก่อนเมื่อ 10 ปีที่แล้วในปี 2000 โดยมีความชุกของการติดเชื้อร้อยละ 15.7 (ภาพ 14) (Sripa et al., 2021) หลังจากนั้นกระทรวงสาธารณสุขดำเนินการเฝ้าระวังโรคหนอนพยาธิ ทั่วประเทศ ทุกๆ 5 ปี และจากการสำรวจในปี ความชุกของ การติดเชื้อ *O. viverrini* ทั่วประเทศ ลดลงเหลือร้อยละ 5.1 ความชุกของการติดเชื้อในภาคตะวันออกเฉียงเหนือลดลงเหลือร้อยละ 9.2 ภาคเหนือร้อยละ 5.2 ภาคกลางร้อยละ 0.9 และภาคใต้ร้อยละ 0 ตามลำดับ (Wongsaroj et al., 2017) จากรายงานการสำรวจทั่วประเทศครั้งล่าสุดในปี 2019 พบความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยรวมลดลงเหลือร้อยละ 2.2 และยังคงพบความชุกของการติดเชื้อสูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือร้อยละ 4.98 รองลงมาคือภาคเหนือ ร้อยละ 1.79 ภาคกลางร้อยละ 0.87 และภาคใต้ร้อยละ 0.01 (Wattanawong et al., 2021)



ภาพ 14 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศไทยระหว่าง พ.ศ. 2524 ถึง พ.ศ. 2562 กราฟเส้น = ความชุกเฉลี่ยของประเทศ

ที่มา: Sripa et al., 2021

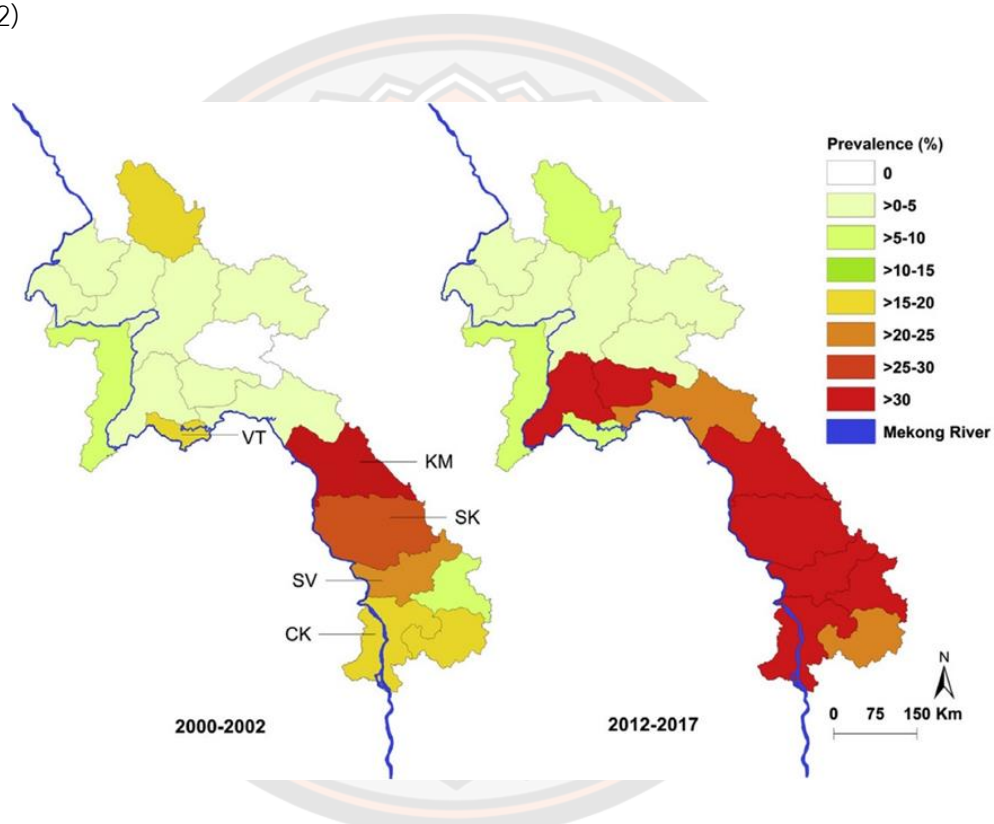
รายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชนเสี่ยงในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย พบว่าในบางชุมชนมีความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับสูงกว่าการสำรวจระดับชาติของกระทรวงสาธารณสุข จากรายงานพบอัตราความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับโดยรวมร้อยละ 7.2 และพบสูงสุดในพื้นที่ชุมชนตำบลโคกปรัง อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดเพชรบูรณ์ พบความอัตรการติดเชื้อสูงถึงร้อยละ 28.7 ผู้ติดเชื้อกว่าร้อยละ 64.3 เป็นผู้ที่ยอพยพจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย กว่าร้อยละ 80 มีพฤติกรรมการบริโภคอาหารพื้นบ้านที่ทำจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุกทำให้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูงกว่าคนที่ไม่บริโภคกรรมวิธีถึง 3 เท่า (Pumidonming et al., 2018)

#### ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชน

##### ลาว

มีการสำรวจการติดเชื้อทั่วประเทศ ครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 2000 - 2002 โดยตรวจตัวอย่างอุจจาระเด็กจากโรงเรียนระดับประถม 317 แห่ง ใน 17 จังหวัด โดยพบความชุกของการติดเชื้ออยู่ที่ 10.9 % โดยพบความชุกของการติดเชื้อสูงในโรงเรียนที่ตั้งอยู่บริเวณริมแม่น้ำโขง ได้แก่ Khammouane (ร้อยละ 32.2) Savannakhet (ร้อยละ 25.9) และ Saravane (ร้อยละ 21.5) (Rim et al., 2003) ทั้งนี้การติดเชื้อในเด็กมักจะต่ำกว่าผู้ใหญ่ สำหรับพื้นที่บริเวณแม่น้ำโขงนั้นมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ประชากรที่อาศัยอยู่บริเวณแม่น้ำโขง มีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กสูงถึงร้อยละ 67.1 (Chai et al., 2007)

ในหมู่บ้านในจังหวัดจำปาศักดิ์ พบการติดเชื้อ *O. viverrini* อยู่ที่ร้อยละ 61.1 (Forrer et al., 2012) ในจังหวัดทางตอนใต้ริมฝั่งแม่น้ำโขง ในอำเภอโขงและมุลลาภในจังหวัดจำปาศักดิ์ พบการแพร่ระบาดมากกว่าร้อยละ 90 (Sayasone et al., 2011) ในพื้นที่ภูเขาของอำเภอปากซงมีรายงานการติดเชื้อเพียงร้อยละ 5.7 (Sayasone et al., 2011) สำหรับการศึกษากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ในปี พ.ศ. 2017 พบว่าการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในประเทศลาวไม่ได้มีการติดเชื้อที่ลดลงโดยพบอัตราการติดเชื้อร้อยละ 51-53 (Nakamura, 2017) (ภาพ 15) จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในประเทศลาวยังคงมีการติดเชื้ออยู่ในระดับที่สูงโดยเฉพาะในพื้นที่ลุ่มแม่น้ำโขง (Sithithaworn et al., 2012)



ภาพ 15 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในประเทศลาว ปี 2000 -2002 และ ปี 2012-2017 : CK, Champasack Province; KM, Khammouane; SK, Savannakhet; SV, Saravane; VT, Vientiane

ที่มา: Sithithaworn et al., 2012

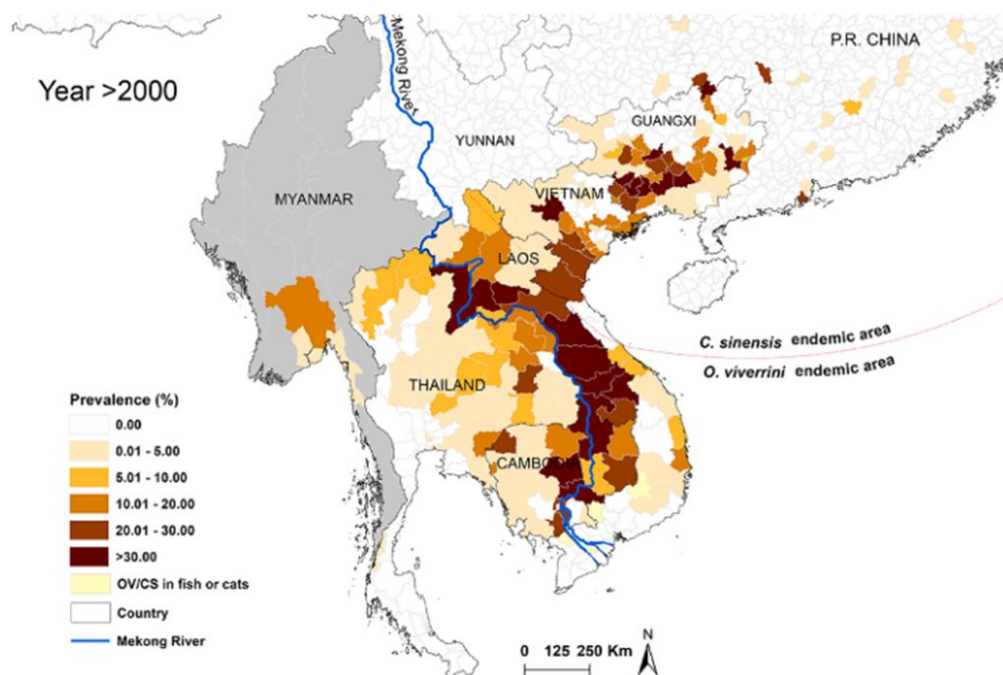
### ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศเวียดนาม

ในประเทศเวียดนามมีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ 2 ชนิด ได้แก่ *Clonorchis sinensis* และ *O. viverrini* โดยพยาธิใบไม้ตับ *C. sinensis* พบรายงานการติดเชื้อในพื้นที่ 21 จังหวัด ในภาคเหนือของประเทศ และพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบรายงานการติดเชื้อในพื้นที่ 11 จังหวัด ในภาคกลาง ภาคใต้ของประเทศ (ภาพ16) (De, Murrell, Cam, Toan, & Dalsgaard, 2003; Sripa et al., 2021) จากการสำรวจทางระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *C. sinensis* ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศ พบความชุกของการติดเชื้ออยู่ระหว่างร้อยละ 0.2 ถึงร้อยละ 26 โดยเฉพาะพื้นที่แม่น้ำ Red River มักพบอัตราการติดเชื้อสูงกว่าบริเวณพื้นที่อื่น (De et al., 2003; The Western Pacific Region & World Health Organization, 2008) การติดเชื้อในพื้นที่ภาคกลางและภาคใต้ของประเทศเวียดนาม พบอัตราการติดเชื้อตั้งแต่ร้อยละ 0.3 ถึงร้อยละ 36.9 (De et al., 2003) อัตราการติดเชื้อสูงสุดในจังหวัด Phu Yen ร้อยละ 36.9 Quang Tri ร้อยละ 32 Binh Dinh ร้อยละ 11.9 Dac Lac ร้อยละ 7.6 Quang Nam ร้อยละ 4.6 Khanh Hoa ร้อยละ 1.4 Da Nang ร้อยละ 0.3 และ Thua Thien Hue ใน 6 จังหวัดที่ตั้งอยู่ในภาคกลางซึ่งเป็นแหล่งระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับ ได้แก่ จังหวัด Nui Thanh, Mo Duc, Nhu My, Song Cau, Tuy An และ Buon Don พบอัตราการติดเชื้อสูงกว่าร้อยละ 40 (The Western Pacific Region & World Health Organization, 2008) และพบว่าคนที่อาศัยอยู่ในเขตพื้นที่ ๆ มีการระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับ มีพฤติกรรมการบริโภคปลาดิบมากกว่าร้อยละ 46 ในจังหวัด Phu Yen, จังหวัด Binh Dinh ร้อยละ 61.3 และจังหวัด Dac Lac ร้อยละ 74 (Sithithaworn et al., 2012)

### ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศพม่า

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศพม่ามีรายงานการศึกษาครั้งแรกในปี พ.ศ.2560 พบความชุกของการติดเชื้อโดยรวมร้อยละ 9.3 พบการติดเชื้อใน 3 พื้นที่ทางตอนใต้ของประเทศพม่า มีรายงานสูงสุดในพื้นที่ Bago อัตราความชุกของการติดเชื้อที่ร้อยละ 18.9, Mon State ร้อยละ 5 และ Yangon ร้อยละ 3.6 (Aung et al., 2017) ในปี พ.ศ. 2562 มีรายงานความชุกของพยาธิใบไม้ตับในคนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอ North Dagon, อำเภอ South Dagon และอำเภอ Hlaing-Thayar ที่ตั้งอยู่ในจังหวัด Yangon โดยอัตราความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับอยู่ที่ร้อยละ 0.7 (Sohn et al., 2019) มีรายงานการศึกษากการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercariae ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในจังหวัด Yangon Tachileik พบตัวอ่อนระยะติดต่อในปลา 5 ชนิด ได้แก่ ปลา Channa Lucius อัตราการติดเชื้อที่ร้อยละ 100, ปลา *Anabas testudineus* ร้อยละ 7.1, ปลา *Puntioplites* sp. ร้อยละ 6.7, ปลา *C. striata* ร้อยละ 3.5 และจากการสำรวจใน ปลา *Cyclocheilichthys repasson* ร้อยละ 2.64 (Sohn et al., 2019; Phyto Myint et al., 2020)





ภาพ 16 เวียดนาม ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* และ *Clonorchis sinensis* ในประเทศที่ตั้งอยู่ในบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง

ที่มา: Sripa et al., 2021

#### ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศกัมพูชา

ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศกัมพูชา จากรายงานการในปี 2002 พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับร้อยละ 4 ในเด็กนักเรียนในพื้นที่จังหวัด Kampong Cham (Lee et al., 2002) และในจังหวัด Takeo มีความชุกของการติดเชื้อสูงกว่าร้อยละ 32 (Sohn et al., 2012) ต่อมาในปี 2006-2010 ในพื้นที่จังหวัด Takeo พบความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับตั้งแต่ร้อยละ 0.2 ถึงร้อยละ 47.5 (Miyamoto et al., 2014; Yong et al., 2012) อย่างไรก็ตาม ในปี พ.ศ.2554 มีรายงานการสำรวจความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในประชากรจาก 60 หมู่บ้าน พบความชุกของการติดเชื้อเพียงร้อยละ 0.2 (Khieu et al., 2014) ต่อมาในปี พ.ศ. 2006-2011 ได้มีการสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และกลุ่มพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก (MIF) ในประชากรที่อาศัยอยู่ในเขต 19 จังหวัด ซึ่งพบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และ MIF โดยรวมอยู่ที่ร้อยละ 5.7 และพบความชุกของการติดเชื้อสูงในพื้นที่ภาคกลางและภาคใต้ โดยเฉพาะจังหวัด Takeo และจังหวัด Kampong Cham มีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และ

MIF ร้อยละ 23.8-24 (Yong et al., 2014) ต่อมาในปี พ.ศ. 2554 มีรายงานความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สูงในจังหวัด Kampong Cham และจังหวัด Kandal โดยมีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 23.9-28.5 และร้อยละ 20.2 ตามลำดับ (Miyamoto et al., 2014)

จากรายงานการสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับทั่วประเทศในปี 2013 พบความชุกของการติดเชื้อโดยรวมอยู่ที่ร้อยละ 4.1 (Khieu et al., 2019) และพบอัตราการติดเชื้อสูงกว่าร้อยละ 7.9 ในจังหวัด Kandal ที่ตั้งอยู่ทางตอนใต้ของกรุงพนมเปญ (Khieu et al., 2013) ซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวางศ์ปลาตะเพียน โดยพบการติดเชื้อในปลา 10 ชนิดในจังหวัด Kandal มีอัตราความชุกสูงกว่าร้อยละ 2.1 ถึงร้อยละ 66.7 (Touch et al., 2009) ในทำนองเดียวกันจากรายงานความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาวางศ์ปลาตะเพียนในกรุงพนมเปญพบความชุกของการติดเชื้อสูงกว่าร้อยละ 50 (Chai et al. 2014) อย่างไรก็ตามข้อมูลในปัจจุบันชี้ให้เห็นว่าระดับความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* นั้นใกล้เคียงกับประเทศที่ตั้งอยู่บริเวณลุ่มแม่น้ำโขงตอนล่าง โดยมีการประมาณการการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของประชากรที่อาศัยอยู่ในประเทศกัมพูชากว่า 1 ล้านคน (Zhao, Fang, & Lai, 2021))

### โรคพยาธิใบไม้ตับ (Opisthorchiasis)

ผู้ป่วยติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มักไม่แสดงอาการทางคลินิก เมื่อผู้ป่วยได้รับเชื้อเป็นเวลานานอาจจะทำให้มีอาการ ท้องอืด แน่นท้อง เจ็บบริเวณชายโครงขวา ปวดท้อง ท้องผูกหรือท้องเสีย พบการอักเสบของท่อน้ำดี ตัวเหลือง ตาเหลือง (ดีซ่าน) ตับโต ในผู้ป่วยบางรายพบอาการตับแข็ง มีน้ำในช่องท้องหรือท้องมาน (Pungpak, Bunnag, & Harinasuta, 1983; Upatham et al., 1984; Zhao, Fang, et al., 2021) สาเหตุของอาการของโรคพยาธิใบไม้ตับนั้นเกิดจากตัวของพยาธิและสารที่หลั่งจากตัวของพยาธิ โดยพยาธินั้นจะเกาะบนผนังลำไส้ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผนังท่อน้ำดีและทำให้เกิดการอุดตันของท่อน้ำดี (Upatham et al., 1982) นอกจากนี้ของเสียที่ขับถ่ายออกจากตัวของพยาธิก่อให้เกิดการระคายเคืองของท่อน้ำดี ผู้ป่วยมักมีอาการเบื่ออาหาร มีไข้ต่ำ ตับอาจกดเจ็บ และเริ่มมีอาการตัวเหลือง และเริ่มภาวะแทรกซ้อน เช่น ท่อน้ำดีอักเสบ (cholangitis) ถุงน้ำดีอักเสบ (cholecystitis) และเยื่อช่องท้องอักเสบร่วมด้วย (bile peritonitis) และอาจนำไปสู่การเกิดมะเร็งท่อน้ำดีร่วมด้วย (cholangiocarcinoma) (Pungpak et al., 1994; Sripa, 2003)

### การรักษาโรคพยาธิใบไม้ตับ (Opisthorchiasis)

ยา praziquantel เป็นยาที่ใช้สำหรับรักษาผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*, พยาธิ *O. felinus* และพยาธิ *C. sinensis* ขนาดที่ใช้คือ 40 และ 50 มก./กก. ครั้งเดียว (single dose) ยามีประสิทธิภาพในการกำจัดพยาธิที่ร้อยละ 91 และร้อยละ 97 ตามลำดับ (Bunnag, Harinasuta, & Desakorn, 1981; Pungpak, Bunnag, & Harinasuta, 1985) ถ้าให้ยาขนาด 25 มก./กก. แบบแบ่งรับประทาน 3 ครั้ง มีประสิทธิภาพในการกำจัดพยาธิที่ร้อยละ 100 ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจากการรับประทานยา praziquantel ได้แก่ อาการคลื่นไส้ อาเจียน ไม่สบายท้อง และปวดศีรษะ (Bunnag & Harinasuta, 1980)

สำหรับการรักษาโดยใช้ยา mebendazole ขนาด 30 มก./กก. ระยะเวลา 21 และ 28 วัน มีประสิทธิภาพในการกำจัดพยาธิที่ร้อยละ 94 และร้อยละ 89 ตามลำดับ (Jaronvesama, Charoenlarp, & Cross, 1981) และการรักษาโดยใช้ยา albendazole ขนาด 400 มก./กก. โดยแบ่งเป็น 2 โดส ระยะเวลา 7 วันนั้น มีประสิทธิภาพในการกำจัดพยาธิเพียงร้อยละ 63 (Pungpak, Bunnag, & Harinasuta, 1984) อย่างไรก็ตามด้วยประสิทธิภาพของยา praziquantel โดยการให้เพียงครั้งเดียวมีประสิทธิภาพสูงกว่ายาชนิดอื่น ยานี้จึงถูกนำมาใช้สำหรับโครงการควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ในประเทศไทย ซึ่งไม่เพียงแต่กำจัดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เท่านั้น แต่ยังรวมถึงสามารถกำจัดพยาธิใบไม้ในลำไส้อื่น ๆ อีกด้วย (Jongsuksuntigul & Imsomboon, 1997) อย่างไรก็ตาม การให้ความรู้ด้านสุขภาพเกี่ยวกับนิสัยการกินเป็นสิ่งสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อพยาธิใบไม้หลังจากการรักษา

### การป้องกันและควบคุมพยาธิใบไม้ตับ

การป้องกันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับจำเป็นต้องให้ประชาชนเข้าใจถึงวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ และหลีกเลี่ยงพฤติกรรมที่เสี่ยงต่อการสัมผัสกับน้ำที่ปนเปื้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการสัมผัสกับน้ำในแหล่งน้ำ เนื่องจากแหล่งน้ำในธรรมชาติมีโฮสต์ โดยเฉพาะหอย *Bithynia* sp. ที่พร้อมจะส่งต่อระยะตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ตับสู่ปลาที่เป็นโฮสต์ตัวกลางลำดับที่สองที่ตรวจพบระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับสู่คน รวมถึงการสำรวจอุบัติการณ์ของโรคพยาธิใบไม้ตับเป็นประจำ ซึ่งเป็นการสำรวจเชิงรุกและตรวจรักษาผู้ที่ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ เพื่อตัดวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ หลีกเลี่ยงการบริโภคปลาดิบ โดยเฉพาะอาหารพื้นบ้านที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุก เช่น ปลาจ่อม ปลาต้ม ปลาจ่อม เป็นต้น เพื่อลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ หรือปรับเปลี่ยนมาบริโภคอาหารพื้นบ้านปลอดพยาธิเพื่อลดอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ

สำหรับอาหารพื้นบ้านปลอดพยาธิเป็นทางเลือกสำหรับประชากรที่นิยมบริโภคอาหารพื้นบ้านแบบไม่ปรุงสุกอันเป็นสาเหตุของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ โดยการกำจัดพยาธิในอาหารพื้นบ้านนั้นจะกำจัดระยะติดต่อในปลาก่อนที่จะนำไปประกอบอาหารโดยการนำปลาไปแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 24 ชั่วโมง ทำให้ระยะติดต่อของพยาธิใบตาย โดยปลาที่ผ่านกระบวนการนี้ยังคงความสด และสามารถนำไปประกอบอาหารพื้นบ้านแบบไม่ปรุงสุก เช่น ปลาต้ม ปลาจ่อม เป็นต้น ซึ่งจากการตรวจหาพยาธิในอาหารดังกล่าวไม่พบระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ นอกจากนี้ยังพบว่ารสชาติของอาหารไม่แตกต่างจากอาหารพื้นบ้านที่ปรุงแบบดั้งเดิม (Pumidonming et al., 2018)

### เทคนิคการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

การตรวจระยะไข่ของพยาธิในอุจจาระด้วยกล้องจุลทรรศน์ถือเป็นวิธีการมาตรฐานในการวินิจฉัยโรคพยาธิใบไม้ตับ (Saijuntha et al., 2014; Sithithaworn & Haswell-Elkins, 2003). สำหรับระยะไข่ของพยาธิใบไม้ตับนั้นจะมีลักษณะเด่นที่ใช้ในการระบุชนิดคือมีเปลือกไข่ที่หยาบและหนา ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับไข่ของกลุ่มพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็กที่อยู่ในวงศ์ Heterophyidae และวงศ์ Lecithodendriidae (Chai et al., 2007; Van De & Le, 2011) สำหรับวิธีการตรวจหาไข่ของพยาธิจากตัวอย่างอุจจาระนั้นมีหลายวิธี ได้แก่

#### เทคนิคการตรวจทั่วไป (conventional technique)

1. เทคนิคการตรวจอย่างง่าย simple smear เป็นวิธีการตรวจที่ง่ายและสะดวก อุปกรณ์น้อย เป็นวิธีที่ใช้ปริมาณอุจจาระน้อยและสามารถเห็นไข่ของพยาธิได้ชัดเจน โดยใช้ปริมาณอุจจาระ 1-2 กรัม ต่อ 1 สไลด์ ในกรณีที่ผู้ป่วยติดเชื้อน้อยจะมีโอกาสตรวจพบไข่ของพยาธิได้น้อย จึงควรตรวจ 2-3 สไลด์ต่อ 1 ตัวอย่าง

2. เทคนิค Kato thick smear เป็นเทคนิคที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน ซึ่งเป็นเทคนิคที่รวดเร็ว ประหยัด และให้ประสิทธิภาพดี สามารถใช้ได้กับพยาธิเกือบทุกชนิด เทคนิคนี้จะใช้ปริมาณของอุจจาระ 20 – 30 เท่าของการตรวจด้วยวิธีธรรมดา โดยกากอุจจาระที่มีขนาดใหญ่จะถูกรองออกด้วยแผ่นตะแกรง จากนั้นส่วนที่เหลือจะถูกย่อยทำให้ใสโดยใช้น้ำยากลิเซอริน และใช้แผ่นเซลโลเฟนที่แช่ในน้ำยามาลาไคท์กรีนปิดบนสไลด์แทนแผ่น cover glass (Hong, Shin, Kang, & Ryu, 2003; Johansen, Lier, & Sithithaworn, 2015; Katz, Chaves, & Pellegrino, 1972)

3. เทคนิค Formalin ethyl acetate concentration technique วิธีนี้จะอาศัยการตกตะกอนโดยนำอุจจาระมาละลายน้ำเกลือเพื่อกรองเอากากอาหารที่ไม่ต้องการออก เติมน้ำเกลือ ethyl acetate เพื่อกำจัดไขมัน สารที่มีไขมันออก โดยจะเห็นการแยกชั้นของตะกอนที่ชัดเจนในหลอดทดลอง ตะกอนด้านบนจะเป็นส่วนของไขมันและกากอุจจาระที่ไม่ต้องการ ในการตรวจโดยวิธีนี้

จะใช้ตะกอนที่อยู่กันตลอดซึ่งประกอบด้วยตะกอนและไข่ของพยาธิที่ถูก fixation โดยน้ำยาฟอร์มาลีนนำมาตรวจหาพยาธิ (Elkins et al., 1990)

### เทคนิคการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunological technique)

การตรวจด้วยภูมิคุ้มกัน (Immunodiagnostic) โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่าง antigen (Ag) และ antibody (Ab) มีข้อดีคือสามารถนำไปใช้ได้ในทุกระยะของโรค จึงมักใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อในสถานการณ์ภาคสนาม (Wongratanacheewin, Sermswan, & Sirisinha, 2003) ในการตรวจวินิจฉัยแบบ serodiagnosis มักจะนำ crude somatic ของระยะตัวเต็มวัยของพยาธิใบไม้ตับมาใช้สำหรับตรวจแอนติบอดีโดยใช้เทคนิค ELISA ซึ่งมีประสิทธิภาพและแม่นยำสูงกว่าการตรวจหาพยาธิในอุจจาระ (ELISA (Haswell, Satarug, & Elkins, 1992; Wongratanacheewin et al., 2003) สำหรับองค์ประกอบของ somatic ในตัวเต็มวัยของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ประกอบไปด้วยโปรตีนหลายขนาด ได้แก่ โปรตีนที่มีขนาด >116, 89, 78 และ 20 kDa โดยเฉพาะโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 89 kDa พบแอนติเจนที่จำเพาะสูงสำหรับการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในมนุษย์ (Wongratanacheewin & Sirisinha, 1986) สำหรับการตรวจหา antibody โดยใช้เทคนิค ELISA นั้นสามารถตรวจได้ทั้งในตัวอย่างเลือด ปัสสาวะ น้ำลาย รวมถึงอุจจาระของผู้ที่ติดเชื้อ (Saijuntha et al., 2018; Tesana, Srisawangwong, Sithithaworn, Itoh, & Phumchaiyothin, 2007) อย่างไรก็ตามการตรวจหาแอนติบอดีโดยวิธี ELISA ในตัวอย่างปัสสาวะและน้ำลายได้รับความนิยมสูงในการใช้ตรวจหา หา IgG และ IgG4 ในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคพยาธิใบไม้ตับ opisthorchiasis (Tesana et al., 2007) นอกจากนี้ การตรวจหา IgG ของปัสสาวะที่จำเพาะต่อ *O. viverrini* antigen อาจบ่งบอกถึงระดับของพยาธิสภาพของไตในผู้ป่วย นอกเหนือจากความเสี่ยงที่จะเกิดมะเร็งท่อน้ำดี (Saichua et al., 2013) อีกทั้งน้ำลายของผู้ป่วยมีประสิทธิภาพในการตรวจหา antibody ได้มากกว่าปัสสาวะ (Sawangsotha et al., 2012) และระดับของ antibody ของน้ำลายนั้นมีความสัมพันธ์กับโรคพยาธิใบไม้ตับอีกด้วย (Chaiyarit, Sithithaworn, Thuwajit, & Yongvanit, 2011)

### เทคนิคทางอณูชีววิทยา (Molecular technique)

สำหรับเทคนิคการตรวจวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการตรวจทางภูมิคุ้มกันนั้นมีข้อจำกัด เช่น ยากต่อการแยกระยะไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากพยาธิกลุ่มอื่นที่มีความใกล้เคียงกัน ในกรณีที่มีการติดเชื้อระดับต่ำมักส่งผลทำให้ตรวจทางภูมิคุ้มกันผิดพลาด และรวมถึงปฏิกิริยา cross reaction ที่อาจจะเกิด ดังนั้นเทคนิคทางอณูชีววิทยาถูกนำมาเป็นทางเลือกในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้น โดยเทคนิคที่นิยมใช้นั้น ได้แก่ เทคนิค PCR (Polymerase chain reaction) เป็นที่นิยมนำมาใช้เนื่องจากมีประสิทธิภาพและมีความแม่นยำสูง เทคนิค PCR จะอาศัยการเพิ่มปริมาณของสารพันธุกรรมในหลอดทดลอง โดยอาศัยดีเอ็นเอต้นแบบเป็นจุดเริ่มต้น ในกระบวนการเพิ่ม

ปริมาณของดีเอ็นเอจะประกอบไปด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอน denaturation เป็นขั้นตอนแยกสายดีเอ็นเอเป็นสายเดี่ยวโดยอาศัยความร้อนที่อุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส ขั้นตอน annealing เป็นขั้นตอนที่ปรับลดอุณหภูมิลงอยู่ที่ 45-60 องศาเซลเซียส เพื่อให้ไพรเมอร์เกาะติดกับดีเอ็นเอแม่แบบ โดยไพรเมอร์และตำแหน่งยีนเป้าหมายที่ใช้จะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับตัวอย่างและวัตถุประสงค์ของการศึกษาสำหรับยีนเป้าหมายที่ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ satellite DNA, ITS1, ITS2, 28S rRNA, mitochondrial DNA และ microRNA ดังตาราง 4 และขั้นตอน extension จะขยายสายดีเอ็นเอโดยการต่อลำดับนิวคลีโอไทด์เข้าที่ปลาย 3' ของไพรเมอร์ และมีการสร้างสายดีเอ็นเอใหม่จากทิศทาง 5' ไป 3' โดยใช้อุณหภูมิที่ 70-75 องศาเซลเซียส (Sato, Thaenkham, Dekumyoy, & Waikagul, 2009; Thaenkham et al., 2011)



ตาราง 4 แสดงตำแหน่งของยีนเป้าหมายที่ใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล

DNA Target	Specimens	Purpose of Study	References
pOV-A6 DNA	Egg spite in hamster feces	Diagnosis/detection	Wongratanacheewin, Pumidonming, Sermswan, & Maleewong (2001)
pOV-A6 DNA	Feces	Diagnosis/detection	(Duengai et al., 2008); Stensvold et al. (2006)
pOVCRA26-5 DNA	Fish tissue/ metacercariae	Diagnosis/detection	Parvathi et al. (2008)
pOVCRA26-5 DNA	Feces	Diagnosis/detection	Umesha et al. (2008)
pOV-A6 DNA	Snail and fish tissue	Diagnosis/detection	Maleewong et al. (2003)
Mitochondrial DNA	Adult, metacercariae and egg	Differential diagnosis	Le, Van De, Blair, Sithithaworn, & McManus (2006)
CO1	Feces	Detection	Lamaningao et al. (2017)
CO2	Feces	Diagnosis/detection	Hashizume et al. (2017)
ND2	Feces	Differential diagnosis	Kaewkong et al. (2013)
RPL0 gene	Liver tissue	Detection	Suksumek, Leelawat, Leelawat, Russell, & Lek-Uthai (2008)
pOv-A6 DNA	Feces	Detection	Intapan, Thanchomnang, Lulitanond, Pongsaskulchoti, & Maleewong (2009)
pOv-A6 DNA	Infected fish	Detection	Intapan, Thanchomnang, Lulitanond, Phongsaskulchoti, & Maleewong (2008)
pOv-A6 DNA	Feces	Differential diagnosis	(Janwan et al., 2011)
pOv-A6 DNA	Infected Bithynia snails	Detection	Sri-Aroon et al. (2011)

ตาราง 4 (ต่อ)

DNA Target	Specimens	Purpose of Study	References
ND2	Feces	Differential diagnosis	Sanpool et al. (2012)
CO1	Adult DNA	Differential diagnosis	Cai et al. (2014)
28S rRNA	Adult DNA and feces	Differential diagnosis	Tantrawatpan et al. (2014)
18S-ITS1-5.8S rDNA	Adult DNA	Differential diagnosis	Kang et al. (2008)
CO1	Feces	Confirmation identification	Aung et al. (2017)
ITS2	Cercaria from infected snails	Confirmation identification	Boonmekam et al. (2017)
CO1	Feces	Differential diagnosis	Lamaningao et al. (2017)
CO1	Adult DNA	Confirmation identification	Aung et al. (2017)
CO1 and ND1	Feces	Diagnosis and identification	Buathong et al. (2015); Buathong et al. (2017)
ITS2	Feces	Diagnosis/identification	Buathong et al. (2017); Traub et al. (2009)
ND1	Feces	Diagnosis	Lee et al. (2002)
MicroRNA	Urine	Diagnosis	Silakit et al. (2017)
Retrotransposon DNA (OV-RTE-1)	Adult DNA and feces	Diagnosis	Phung, Loukas, Brindley, Sripa, & Laha (2014)
CO1	Water	Detection in environment	Hashizume et al. (2017)
ITS2	Adult DNA	Differential diagnosis	Sun et al. (2011)



### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### พื้นที่ศึกษา

พื้นที่ศึกษาได้แก่ชุมชนเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง ประกอบด้วย 9 ชุมชน ที่มีรายงานความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของคนภายในชุมชน ตามรายงานการวิจัยของ Pumidonming et al. (2018) รายละเอียดของชุมชนที่เก็บตัวอย่างและข้อมูลการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* แสดงดังตาราง 5

ตาราง 5 แสดงชุมชนที่เก็บตัวอย่างปลาในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย

จังหวัด	อำเภอ	ตำบล	อัตราการติดเชื้อ <i>O.</i>
			<i>viverrini</i> (ร้อยละ)
เพชรบูรณ์	วิเชียรบุรี	โคกปรัง	28.7
พิษณุโลก	เนินมะปราง	ไทรย้อย	12.0
กำแพงเพชร	คลองลาน	คลองลานพัฒนา	0.0
สุโขทัย	ด่านลายหอย	ตลิ่งชัน	5.5
อุทัยธานี	ทัพทัน	ตลุกคู่	3.6
ตาก	เมืองตาก	วังประจบ	2.1
นครสวรรค์	หนองบัว	ธารทหาร	6.9
อุตรดิตถ์	บ้านโคก	ม่วงเจ็ดต้น	0.0
พิจิตร	วังทรายพูน	วังทรายพูน	3.8

## รูปแบบการศึกษา

การศึกษาเป็นแบบ cross-sectional study โดยเก็บตัวอย่างปลาจากแหล่งน้ำในชุมชนที่ศึกษา ระหว่างเดือนตุลาคม – เดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2563 ตามรายงานการศึกษาช่วงปลายฤดูฝน ต้นฤดูหนาว เป็นช่วงเวลาที่สามารถตรวจพบตัวอ่อนระยะติดตัวของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้สูงสุด (Sithithaworn et al., 1997)

## การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างปลา ใช้วิธีเก็บแบบสุ่ม (simple random sampling) ตามวิธีการของ Pinlaor et al. (2013) โดยเก็บตัวอย่างปลาจากแหล่งน้ำได้แก่ เขื่อน คลอง สระ ฝายกั้นน้ำ บ่อ เป็นแหล่งน้ำที่ชุมชนใช้เป็นแหล่งหาปลาวงศ์ปลาตะเพียนมาประกอบอาหาร การเก็บตัวอย่างปลาโดยใช้วิธีการเดียวกับคนในชุมชนใช้ในการจับปลา คือ ใช้ตาข่ายตักจับ ตัวอย่างปลาที่ได้จะนำไปใส่กล่องโฟมที่ใส่น้ำแข็งเพื่อรักษาอุณหภูมิ และนำมาห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อจำแนกชนิด ตรวจนับจำนวน ชั่งน้ำหนัก และตรวจหาตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

## ขนาดของตัวอย่าง

กำหนดตัวอย่างของประชากรปลาวงศ์ปลาตะเพียน เพื่อหาจำนวนตัวอย่างที่น้อยที่สุด ซึ่งเป็นตัวแทนของประชากรปลาวงศ์ปลาตะเพียนแต่ละชนิด (ตาราง 6) โดยใช้สูตรดังนี้ (Martin, Meek, & Willeberg, 1987)

$$n = z^2pd/d^2$$

เมื่อ

$n$  = ขนาดของตัวอย่าง

$z$  = ค่ามาตรฐานที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (1.96)

$q$  =  $1-p$  (เท่ากับ 0.8762)

$d$  = ค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับให้เกิดขึ้นได้ ( $d=0.05$ )

$p$  = ค่าสัดส่วนของความชุกของตัวอ่อนระยะติดต่อเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่เป้าหมายโอกาสที่จะตรวจพบหรือตรวจไม่พบตัวอ่อนระยะติดต่อ โดยค่า  $P$  ที่ใช้ในการคำนวณตัวอย่างจะแสดงในตาราง 6

ตาราง 6 แสดงจำนวนตัวอย่างปลาดวงศ์ปลาดวงศ์เพียงที่เป็นตัวแทนของประชากรปลาดวงศ์ปลาดวงศ์เพียงแต่ละชนิด

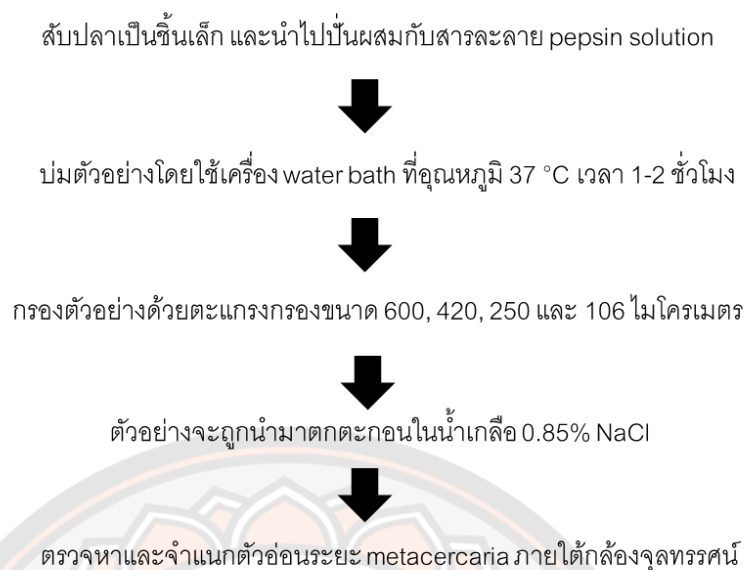
ชื่อภาษาไทย	ชื่อวิทยาศาสตร์	จำนวนปลาชิ้นต่ำ (ตัว)	ค่าสัดส่วนของความ ชุกของตัวอ่อนระยะ เมตาเซอร์คาเรีย (P)	อ้างอิง
ปลาดวงศ์เพียงทราย	<i>Puntius brevis</i>	113	0.054 (5.4%)	Dao et al. (2017)
ปลาดวงศ์ย่อยขาว	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	273	0.043 (4.3%)	Touch et al. (2009)
ปลาดวงศ์มะม่วง	<i>Puntioplites proctozystron</i>	42	0.020 (2%)	Touch et al. (2009)
ปลาดวงศ์ลิ้น	<i>Thynnichthys thynnoides</i>	40	0.019 (1.9%)	Sukontason et al. (1999)
ปลาดวงศ์สุบจุด	<i>Hampala dispar</i>	40	0.019 (1.9%)	Sukontason et al. (1999)
ปลาดวงศ์แก้ว	<i>Puntius orphoides</i>	652	0.31 (31%)	Touch et al. (2009)
ปลาดวงศ์สุบจุด	<i>Hampala macrolepidota</i>	420	0.20 (20%)	Sukontason et al. (1999)

### การจำแนกชนิดปลา

ได้แก่ ลักษณะของเกล็ด (เกล็ดเล็ก เกล็ดใหญ่ เกล็ดถี่) สี (ลำตัว ครีบ ตา) ขนาดปลาซึ่งแต่ละชนิดจะมีขนาดที่แตกต่างกัน ลักษณะของหนวด (maxillary barbel, mandible barbel, snout barbel, rostral barbel, chin barbel) โดยเปรียบเทียบลักษณะสัญญาณวิทยาจากหนังสือ Fish of the Cambodian mekong และ ฐานข้อมูล Fish base online (<http://www.fishbase.org>) เพื่อระบุชนิดปลา จากนั้นวัดขนาด ชั่งน้ำหนัก และถ่ายรูปตัวอย่างปลาแต่ละชนิด และบันทึกผล

### การตรวจหาตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ในตัวอย่างปลาวงศ์ตะเพียน

การตรวจหาตัวอ่อนระยะ metacercaria ในปลาใช้วิธี artificial digestion method (Srisawangwong et al., 1997; Tesana, Kaewkes, Srisawangwonk, & Phinlaor, 1985) ขั้นตอนแรกนำปลามาสับเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำปลาที่สับได้ ไปผสมกับ สารละลาย pepsin 0.7% อัตราส่วน ปลา 1 กิโลกรัม ต่อ สารละลาย pepsin 0.7% ปริมาณ 3 ลิตร แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า จากนั้นนำส่วนผสมที่ปั่นได้ไปต้มโดยใช้เครื่อง water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง หลังจากต้มเสร็จให้กรองส่วนผสมด้วยตะแกรงกรองขนาด 600, 420, 250 และ 106 ไมโครเมตร เพื่อกรองเศษ เนื้อปลาออก ส่วนที่ได้จากการกรองจะถูกนำมาตกตะกอนในน้ำเกลือ 0.85% โดยใช้ sediment jar แล้วตั้งทิ้งไว้จนสังเกตเห็นตะกอนด้านล่างแล้วจึงเทน้ำเกลือส่วนบนออกและทำการตกตะกอนใหม่จนกระทั่งน้ำเกลือส่วนบนใส หลังจากนั้นตะกอนที่ได้จะถูกนำมาตรวจหาตัวอ่อนระยะ metacercaria ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (ภาพ 18) การจำแนกชนิด metacercaria จะดูลักษณะที่สำคัญ ได้แก่ ลักษณะกลมรี ภายในจะมีสีน้ำตาลเข้ม มองเห็นส่วน excretory bladder สีดำน้ำตาล สามารถเห็นการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนอยู่ภายในซิสต์ได้ชัดเจน ถ่ายรูปและบันทึกข้อมูล ตัวอ่อนระยะ metacercaria ที่ตรวจพบจะถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการตรวจยืนยันชนิดโดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลในขั้นตอนต่อไป



### ภาพ 17 ขั้นตอนการแยกตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิตัวแบน

#### การจำแนกตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิตัวแบน *O. viverrini*

จำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ ลักษณะตัวอ่อนระยะติดต่อเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิตัวแบน *O. viverrini* มีลักษณะกลมหรือรี ขนาดเฉลี่ย 202 x 168 ไมโครเมตร มีผนัง 2 ชั้น ผนังของซิสต์มีขนาดประมาณ 3-8 ไมโครเมตร ภายในซิสต์ มีตัวอ่อน ที่มี ventral sucker, oral sucker ที่ใช้ในการยึดเกาะกับโฮสต์ และ excretory bladder ที่ปรากฏชัดเจน ภายใต้กล้องสามารถมองเห็นการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนอยู่ภายในซิสต์ได้ชัดเจน (Vajrasthira, Harinasuta, & Komiya, 1961)

#### การตรวจยืนยันตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิตัวแบน *O. viverrini*

การตรวจยืนยันตัวอ่อนระยะ metacercaria ใช้เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งประกอบไปด้วยขั้นตอน การสกัดดีเอ็นเอ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และการทำ electrophoresis รายละเอียดขั้นตอนมีดังนี้

#### การสกัดดีเอ็นเอของตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิตัวแบน *O. viverrini*

ตัวอ่อน metacercaria ที่ตรวจพบจากปลาแต่ละชนิด ในแต่ละชุมชน จะถูกนำมาสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้ชุดสกัด Genomic DNA from tissue (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Duren, Germany) โดยเติมสาร buffer T1 ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิตัวแบน จากนั้นบดตัวอ่อนของพยาธิตัวแบนโดยใช้ sterile tip

ขนาด 1,000 ไมโครลิตร จนละเอียด เติมสาร proteinase K ใช้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ผสมสาร และนำไปปั่นโดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ใช้อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 ชั่วโมง เติม buffer B3 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และนำไปปั่นด้วยอ่าง น้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 10 นาที เติม absolute ethanol ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex และย้ายสารละลายทั้งหมดลงใน NucleoSpin Tissue Column นำไปปั่นเหวี่ยงโดยใช้ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที นำสารละลาย ด้านล่างหลอดทิ้ง และนำ NucleoSpin Tissue Column กลับมาใส่ใน collection tube ขนาด 2 มิลลิลิตร และเติม buffer BW ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งสารละลายด้านล่าง และเติม buffer B5 ปริมาตร 600 ไมโครลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งสารละลายด้านล่าง ปั่น เหวี่ยงอีก 1 รอบโดยใช้ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นย้าย NucleoSpin Tissue Column ลงใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และเติม Buffer BE ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที และนำมาปั่นเหวี่ยงอีกครั้งโดยใช้ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้ดีเอ็นเอตกตะกอน จากนั้นนำดีเอ็นเอที่อยู่ในหลอด microcentrifuge tube ไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค gel electrophoresis โดยใช้ความเข้มข้นของ เจล 0.8% ในสารละลาย 1X TBE buffer ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที และ นำมาข้อมด้วย ethidium bromide เป็นเวลา 30 นาที และนำไปส่องดูผลภายใต้แสงยูวี โดยจะ เทียบผลกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส เพื่อระบุขนาดของดีเอ็นเอที่ได้เทียบขนาดกับดีเอ็นเอ มาตรฐาน

### การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) และการทำ electrophoresis

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอใช้ forward primer Trem2-F (5'- actggataaaaggaag -3' ) และ reverse primer OV25-4R (5'-aatgaacggaaatcgtgacc -3' ) เป็น primer ที่มีความจำเพาะสำหรับการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่อยู่บนตำแหน่ง pOVCR26-5 DNA โดย PCR product ที่ได้จะมีความยาว 229 คู่เบส (Parvathi et al., 2008) (ภาพ 21) องค์ประกอบของ PCR reaction ประกอบด้วย 10X Buffer ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 25 mM MgCl<sub>2</sub> ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร, 200 mM dnNTP<sub>s</sub> ปริมาตร 0.05 ไมโครลิตร, Forward Primer (5 μM) และ Reverse Primer (5 μM) อย่างละ 0.1 ไมโครลิตร, Taq DNA polymerase (5 U/ml) ปริมาตร 0.05 ไมโครลิตร, ดีเอ็นเอของตัวอ่อนระยะ metacercaria ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 7.2 ไมโครลิตร การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอใช้เครื่อง Biometra TOne 96G, 230V ประกอบด้วยขั้นตอน

initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ขั้นตอน denature ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ขั้นตอน extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และขั้นตอน final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 35 รอบ และตรวจสอบ DNA product โดยใช้เทคนิค gel electrophoresis โดยใช้เจลความเข้มข้น 1.2% ในสารละลาย 1X TBE buffer ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที และนำมาย้อมด้วย ethidium bromide เป็นเวลา 30 นาที และนำไปส่องดูผลภายใต้แสงยูวี โดยเทียบผลกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส กับ PCR product ของ พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัย

### การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลจะแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่

1. วิเคราะห์ข้อมูลชนิดปลาที่พบในแต่ละแหล่งน้ำในพื้นที่ 9 ชุมชน โดยจะแยกชนิดปลาออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ และชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่ไม่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ
2. วิเคราะห์ข้อมูลการติดเชื้อระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับในปลาแต่ละชนิด ในแต่ละชุมชน ทั้ง 9 ชุมชน
3. วิเคราะห์ผลการตรวจยืนยันชนิดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาในการตรวจยืนยันตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่พบในปลาวงศ์ปลาตะเพียนแต่ละชนิดในแต่ละพื้นที่

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### แหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างปลาในชุมชนที่ศึกษาในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง

แหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างปลา คือ แหล่งน้ำที่อยู่ในรัศมี 1 กิโลเมตร ของชุมชนที่ตรวจพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ผลการสำรวจชุมชนที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จำนวน 9 ชุมชน ในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง พบแหล่งน้ำที่อยู่รอบชุมชน จำนวนทั้งหมด 17 แหล่ง แบ่งเป็น แม่น้ำ 2 แหล่ง สระ 3 แหล่ง อ่างเก็บน้ำ 2 แหล่ง ฝายกั้นน้ำ 2 แหล่ง และคลองน้ำ 8 แหล่ง แหล่งน้ำที่พบสัดส่วนปลาวงศ์ปลาตะเพียนสูงสุดคือ อ่างเก็บน้ำคิดเป็นร้อยละ 50.42 (2,625/5,205) ของจำนวนปลาที่จับได้ทั้ง และแหล่งน้ำที่พบปลาวงศ์ปลาตะเพียนน้อยที่สุดคือ สระ คิดเป็นร้อยละ 1.42 (74/5,205) ของปลาที่จับได้ทั้งหมด แหล่งน้ำที่ตรวจพบปลาวงศ์ปลาตะเพียนติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ได้แก่ แหล่งน้ำในชุมชนที่อยู่ในเขตพื้นที่ ตำบลโคกปรัง อำเภอวิเชียรบุรี จังหวัดเพชรบูรณ์ และแหล่งน้ำในชุมชน ในเขตพื้นที่ตำบลดงลิ้นช้าง อำเภอบ้านด่านลานหอย จังหวัดสุโขทัย รายละเอียดแหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างปลาในแต่ละพื้นที่ แสดงในตาราง 7

ตาราง 7 แสดงแหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างปลา และแหล่งน้ำที่ตรวจพบตัวอ่อนระยะติดต่อก

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	แหล่งน้ำที่สำรวจ/แหล่งน้ำที่พบปลาติดเชื้อ					แหล่งน้ำที่ให้ผลบวก
	แม่น้ำ	สระ	อ่างเก็บน้ำ	ฝายกั้นน้ำ	คลอง	
โคกปรัง เพชรบูรณ์	0	0	1/0	1/0	2/1	1
เนินมะปราง พิษณุโลก	0	0	0	0	2/0	0
คลองลาน กำแพงเพชร	1/0	0	0	0	0	0
บ้านด่านลานหอย สุโขทัย	0	0	1/1	0	0	1
ทัพทัน อุทัยธานี	0	0	0	0	2/0	0
เมืองตาก ตาก	0	3/0	0	0	0	0
หนองบัว นครสวรรค์	1/0	0	0	0	0	0
บ้านโคก อุตรดิตถ์	0	0	0	1/0	0	0
วังทรายพูน พิษณุโลก	0	0	0	0	2/0	0



### ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง

ปลาวงศ์ตะเพียนที่เก็บตัวอย่างได้จากแหล่งน้ำ 17 แหล่ง ใน 9 ชุมชน มีทั้งหมด 5,205 ตัว จำแนกได้ 11 สกุล ได้แก่ สกุลปลาหนามหลัง (*Mystacoleucus*) สกุลปลาชีวอ้าว (*Luciosoma*) สกุลปลาสร้อยขาว (*Henicorhynchus*) สกุลปลาแก้มขี้ (*Puntius*) สกุลปลาชีวควาย (*Rasbora*) สกุลไส้ตัน (*Cyclocheilichthys*) สกุลปลาซ่า (*Osteochilus*) สกุลปลาตะเพียน (*Barbodes*) สกุลกระมัง (*Puntioplites*) สกุลปลาเย่สก (*Labeo*) และ สกุลปลานวลจันทร์ (*Cirrhina*) สกุลที่พบสัดส่วนสูงสุดคือ สกุลปลาชีว (*Luciosoma*) ร้อยละ 26.88 (1,399/5,205) และพบสัดส่วนต่ำสุด คือสกุลปลานวลจันทร์ (*Cirrhina*) ร้อยละ 0.12 (6/5,205) (ตาราง 8) ปลาวงศ์ตะเพียนที่พบใน 11 สกุล สามารถจำแนกได้เป็น 15 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนหางแดง (*Barbodes schwanefeldii*) ปลาสร้อยขาว (*Henicorhynchus siamensis*) ปลาไส้ตันตาขาว (*Cyclocheilichthys repasson*) ปลาหนามหลัง (*Mystacoleucus marginatus*) ปลาแก้มขี้ (*Puntius orphoides*) ปลากระมัง (*Puntioplites proctozystron*) ปลาตะเพียนทราย (*Puntius brevis*) ปลาตะเพียนขาว (*Barbodes gonionotus*) ปลาสร้อยนกเขา (*Osteochilus hasseltii*) ปลาปากเหลี่ยม (*Cyclocheilichthys apogon*) ปลาซ่า (*Osteochilus vittatus*), ปลาชีวอ้าว (*Luciosoma bleekeri*) ปลาชีวควาย (*Rasbora aurotaenia*) ปลานวลจันทร์ (*Cirrhina microlepis*) และปลาเย่สกเทศ (*Labeo rohita*) ชนิดปลาที่พบสัดส่วนสูงสุดคือปลาชีวอ้าว (*L. bleekeri*) คิดเป็นร้อยละ 26.87 (1,399/5,205) ของจำนวนปลาทั้งหมดที่สุ่มเก็บได้จากแหล่งน้ำต่างๆ และชนิดปลาที่พบน้อยที่สุดคือปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanefeldii*) คิดเป็นร้อยละ 0.33 (3/5,205) ของจำนวนปลาทั้งหมดที่สุ่มเก็บได้

จากปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 15 ชนิดที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง พบเป็นปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ระบาดอื่นจำนวน 12 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanefeldii*) ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) ปลาหนามหลัง (*M. marginatus*) ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลากระมัง (*P. proctozystron*) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) ปลาสร้อยนกเขา (*O. hasseltii*) ปลาปากเหลี่ยม (*C. apogon*) ปลาซ่า (*O. vittatus*) และปลาชีวควาย (*R. aurotaenia*) และอีก 3 ชนิด ได้แก่ ปลาชีวอ้าว (*L. bleekeri*), ปลาเย่สกเทศ (*L. rohita*) และปลานวลจันทร์ (*C. microlepis*) ยังไม่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ระบาดอื่นๆ

ตาราง 8 แสดงปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบใน 9 ชุมชน ในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง

ชื่อสกุล	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อภาษาไทย	จำนวน (ร้อยละ)
<i>Cyclocheilichthys</i>	<i>Cyclocheilichthys apogon</i>	ปลาปากเหลี่ยม	4 (0.08)
	<i>Cyclocheilichthys repasson</i>	ปลาไส้ตันตาขาว	243 (4.67)
<i>Henicorhynchus</i>	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	ปลาสร้อยขาว	1,015 (19.50)
<i>Puntius</i>	<i>Puntius orphoides</i>	ปลาแก้มขี้	258 (4.96)
	<i>Puntius brevis</i>	ปลาตะเพียนทราย	329 (6.32)
<i>Osteochilus</i>	<i>Osteochilus hasseltii</i>	ปลาสร้อยนกเขา	18 (0.35)
	<i>Osteochilus vittatus</i>	ปลาซ่า	146 (2.80)
<i>Barbodes</i>	<i>Barbodes schwanenfeldii</i>	ปลาตะเพียนหางแดง	3 (0.06)
	<i>Barbodes gonionotus</i>	ปลาตะเพียนขาว	153 (2.94)
<i>Mystacoleucus</i>	<i>Mystacoleucus marginatus</i>	ปลาหนามหลัง	1,068 (20.52)
<i>Puntioplites</i>	<i>Puntioplites proctozystron</i>	ปลากระมัง	328 (6.30)
<i>Rasbora</i>	<i>Rasbora aurotaenia</i>	ปลาชีวกวาย	223 (4.28)
<i>Luciosoma</i>	<i>Luciosoma bleekeri</i>	ปลาชีวอ้าว	1,399 (26.88)
<i>Labeo</i>	<i>Labeo rohita</i>	ปลายี่สกเทศ	12 (0.23)
<i>Cirrhina</i>	<i>Cirrhina microlepis</i>	ปลานวลจันทร์	6 (0.12)
<b>รวม</b>	-	-	<b>5,205</b>

#### ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในแหล่งน้ำในแต่ละชุมชนที่ศึกษา

จากผลการศึกษาพบปลาวงศ์ปลาตะเพียนในแหล่งน้ำที่อยู่ในรัศมี 1 กิโลเมตรของชุมชนที่มีการระบาดของพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง ชนิดและจำนวนปลาที่พบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชุมชน ชนิดและระบบนิเวศของแหล่งน้ำในชุมชนนั้น พื้นที่ที่พบจำนวนปลาวงศ์ปลาตะเพียนมากที่สุดคือพื้นที่ตำบลตลิ่งชัน อำเภอบ้านด่านลานหอย จังหวัดสุโขทัยซึ่งจับได้ทั้งหมด 1,455 ตัว คิดเป็นร้อยละ 27.95 พื้นที่ที่พบจำนวนปลาวงศ์ปลาตะเพียนน้อยที่สุดคือพื้นที่ตำบลธารทหาร อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ จำนวนปลาที่จับได้ทั้งหมด 17 ตัว คิดเป็นร้อยละ 0.33 (ตาราง 9) พื้นที่ที่พบชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สูงที่สุดคือพื้นที่ตำบลโคกปรัง อำเภอวิเชียรบุรี จังหวัดเพชรบูรณ์ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanenfeldii*) ปลาหนามหลัง (*M. marginatus*) ปลา

ตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) และปลาช่า (*O. vittatus*) (ตาราง 9) และพื้นที่ตำบลไทรย้อย อำเภอนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ ปลาปากเหลี่ยม (*C. apogon*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ปลาสร้อยนกเขา (*O. hasseltii*) ปลากระมัง (*P. proctozystron*) ปลาช่า (*O. vittatus*) และปลาชีวกวาย (*R. aurotaenia*) (ตาราง 9)

ในแต่ละพื้นที่ ได้แก่ ตำบลโคกปรอง อำเภอวิเชียรบุรี จังหวัดเพชรบูรณ์พบปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 376 ตัว จำแนกออกเป็น 7 สกุล แบ่งออกเป็น 9 ชนิด ได้แก่ ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanenfeldtii*) ปลาหนามหลัง (*M. marginatus*) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) ปลาช่า (*O. vittatus*) และ ปลาชีวอ้าว (*L. bleekeri*) ในตำบลไทรย้อย อำเภอนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก พบปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 478 ตัว จำแนกออกเป็น 7 สกุล แบ่งออกเป็น 9 ชนิด ได้แก่ ปลาปากเหลี่ยม (*C. apogon*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ปลาสร้อยนกเขา (*O. hasseltii*) ปลากระมัง (*P. proctozystron*) ปลาช่า (*O. vittatus*) ปลาชีวกวาย (*R. aurotaenia*) และปลาชีวอ้าว (*L. bleekeri*) ในตำบลคลองลานพัฒนา อำเภอกองลาน จังหวัดกำแพงเพชร พบปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 1,164 ตัว จำแนกออกเป็น 6 สกุล และแยกเป็น 6 ชนิด ได้แก่ ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลากระมัง (*P. proctozystron*) และปลาชีวกวาย (*R. aurotaenia*) ปลาชีวอ้าว (*L. bleekeri*) และปลาอีสกเทศ (*L. rohita*) ในตำบลตลิ่งชัน อำเภอบ้านด่านลานหอย จังหวัดสุโขทัย พบปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 1,445 ตัว จำแนกออกเป็น 7 สกุล และแยกเป็น 7 ชนิด ได้แก่ ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาหนามหลัง (*M. marginatus*) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) ปลาช่า (*O. vittatus*) และปลาชีวอ้าว (*L. bleekeri*) ในตำบลตลุกคู่ อำเภอทัพทัน จังหวัดอุทัยธานี พบปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 351 ตัว จำแนกออกเป็น 7 สกุล และแยกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*), ปลาช่า (*O. vittatus*) ปลาชีวอ้าว (*L. bleekeri*) และ ปลาอีสกเทศ (*L. rohita*) ในตำบลวังประจบ อำเภอเมืองตาก จังหวัดตาก พบปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 74 ตัว จำแนกออกเป็น 6 สกุล และแยกเป็น 7 ชนิด ได้แก่ ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ปลากระมัง (*P. proctozystron*) ปลาช่า (*O. vittatus*), ปลานวลจันทร์ (*C. microlepis*) และปลาอีสกเทศ (*L. rohita*) ในตำบลธารทหาร อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ พบปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 17 ตัว จำแนกออกเป็น 5 สกุล และแยกเป็น 5 ชนิด ได้แก่ ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*)

ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) ปลาช่า (*O. vittatus*) และ ปลาชีวกาย (*R. aurotaenia*) ในตำบลม่วงเจ็ดต้น อำเภอบ้านโคก จังหวัดอุดรดิตถ์ พบปลาวงศ์ ปลาตะเพียนทั้งหมด 458 จำแนกออกเป็น 5 สกุล และแยกเป็น 5 ชนิด ได้แก่ ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) และปลาช่า (*O. vittatus*) ในตำบลวังทรายพูน อำเภอวังทรายพูน จังหวัดพิจิตร พบปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 833 ตัว จำแนกออกเป็น 5 สกุล และแยกเป็น 6 ชนิด ได้แก่ ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*) ปลากระมัง (*P. proctozystron*) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) และปลาช่า (*O. vittatus*) (ตาราง 9)



ตาราง 9 แสดงชนิดปลา แหล่งน้ำ จำนวน ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในแต่ละพื้นที่ชุมชนที่ศึกษา

พื้นที่ศึกษา (ตำบล, อำเภอ, จังหวัด)	ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ร้อยละ)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	
โคกปรัง, วิเชียรบุรี, เพชรบูรณ์	<i>Cyclocheilichthys repasson</i>	ฝายกั้นน้ำ	37 (9.84)	0.51	
	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	ฝายกั้นน้ำ	7 (1.86)	0.21	
	<i>Puntius orphoides</i>	แม่น้ำ, ฝายกั้นน้ำ	7 (1.86)	0.2	
	<i>Puntius brevis</i>	แม่น้ำ, อ่างเก็บน้ำ	12 (3.19)	0.02	
	<i>Barbodes schwanenfeldii</i>	ฝายกั้นน้ำ	1 (0.27)	0.02	
	<i>Mystacoleucus marginatus</i>	ฝายกั้นน้ำ	61 (16.22)	0.81	
	<i>Barbodes gonionotus</i>	คลอง	10 (2.66)	0.32	
	<i>Osteochilus vittatus</i>	คลอง	8 (2.13)	0.4	
	<i>Luciosoma bleekeri</i>	คลอง	233 (61.97)	0.56	
	<b>รวม</b>	-	<b>376</b>	<b>3.05</b>	
	ไทรน้อย, เหมินมะปราง, พิษณุโลก	<i>Cyclocheilichthys apogon</i>	คลอง	4 (0.84)	0.04
		<i>Henicorhynchus siamensis</i>	คลอง	236 (49.37)	4.5
<i>Puntius orphoides</i>		คลอง	4 (0.84)	0.04	
<i>Puntius brevis</i>		คลอง	3 (0.63)	0.02	

ตาราง 9 (ต่อ)

พื้นที่ศึกษา (ตำบล, อำเภอ, จังหวัด)	ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ร้อยละ)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)
	<i>Osteochilus hasseltii</i>	คลอง	18 (3.77)	0.53
	<i>Puntiplites proctozystron</i>	คลอง	27 (5.64)	0.61
	<i>Rasbora aurotaenia</i>	คลอง	79 (16.53)	0.1
	<i>Osteochilus vittatus</i>	คลอง	1 (0.21)	0.3
	<i>Luciosoma bleekeri</i>	คลอง	106 (22.18)	0.38
<b>รวม</b>	-	-	<b>478</b>	<b>6.52</b>
คลองลานพัฒนา, คลองลาน, กำแพงเพชร	<i>Cyclocheilichthys repasson</i>	แม่น้ำ	95 (8.16)	1.65
	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	แม่น้ำ	136 (11.65)	1.89
	<i>Puntiplites proctozystron</i>	แม่น้ำ	145 (12.45)	3.22
	<i>Rasbora aurotaenia</i>	แม่น้ำ	141 (12.11)	0.28
	<i>Luciosoma bleekeri</i>	แม่น้ำ	644 (55.33)	1.89
	<i>Labeo rohita</i>	แม่น้ำ	3 (0.26)	1.13
<b>รวม</b>	-	-	<b>1,164</b>	<b>10.06</b>

ตาราง 9 (ต่อ)

พื้นที่ศึกษา (ตำบล, อำเภอ, จังหวัด)	ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ร้อยละ)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	
ตลิ่งชัน, บ้านด่านลานทอย, สุโขทัย	<i>Cyclocheilichthys repasson</i>	เขื่อน	28 (1.92)	1.21	
	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	เขื่อน	115 (7.90)	1.38	
	<i>Puntius orphoides</i>	เขื่อน	92 (6.32)	1.38	
	<i>Mystacoleucus marginatus</i>	เขื่อน	1,007 (69.21)	3.4	
	<i>Barbonymus gonionotus</i>	เขื่อน	44 (3.02)	1.33	
	<i>Osteochilus vittatus</i>	เขื่อน	25 (1.72)	1.47	
	<i>Luciosoma bleekeri</i>	เขื่อน	144 (9.89)	0.28	
	-	-	<b>1,455</b>	<b>10.45</b>	
	ตลุกคู่, ท้าพัน, อุทัยธานี	<i>Cyclocheilichthys repasson</i>	คลอง	27 (7.69)	1.11
		<i>Henicorhynchus siamensis</i>	คลอง	7 (1.99)	0.11
<i>Puntius orphoides</i>		คลอง	5 (1.42)	0.05	
<i>Puntius brevis</i>		คลอง	3 (0.85)	0.03	
<i>Barbodes gonionotus</i>		คลอง	7 (1.99)	0.29	
<i>Osteochilus vittatus</i>		คลอง	22 (6.27)	0.34	
<i>Luciosoma bleekeri</i>		คลอง	272 (77.49)	0.56	

ตาราง 9 (ต่อ)

พื้นที่ศึกษา (ตำบล, อำเภอ, จังหวัด)	ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ร้อยละ)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)
	<i>Labeo rohita</i>	คลอง	8 (2.28)	0.27
<b>รวม</b>			<b>351</b>	<b>2.76</b>
วังประจวบ, เมืองตาก, ตาก	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	สระ	4 (5.41)	0.1
	<i>Puntius orphoides</i>	สระ	2 (2.70)	0.11
	<i>Puntius brevis</i>	สระ	25 (33.78)	0.34
	<i>Puntioplites proctozystron</i>	สระ	3 (4.05)	0.11
	<i>Osteochilus vittatus</i>	สระ	33 (44.59)	1.42
	<i>Labeo rohita</i>	สระ	1 (1.35)	0.25
	<i>Cirrhina microlepis</i>	สระ	6 (8.11)	3.27
<b>รวม</b>			<b>74</b>	<b>5.6</b>
চারতারা, হনোংবী, নরসারণী	<i>Cychoheilichthys repasson</i>	แม่น้ำ	4 (23.53)	0.11
	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	แม่น้ำ	7 (41.18)	0.2
	<i>Barbodes gonionotus</i>	แม่น้ำ	2 (17.76)	0.6
	<i>Rasbora aurotaenia</i>	แม่น้ำ	3 (17.65)	0.2



ตาราง 9 (ต่อ)

พื้นที่ศึกษา (ตำบล, อำเภอ, จังหวัด)	ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ร้อยละ)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)
	<i>Osteochilus vittatus</i>	แม่น้ำ	1 (5.88)	0.2
<b>รวม</b>			<b>17</b>	<b>1.31</b>
ม่วงเจ็ดต้น,บ้านโคก,อุดรดิตถ์	<i>Cylocheilichthys repasson</i>	ฝายกั้นน้ำ	52 (11.35)	0.94
	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	ฝายกั้นน้ำ	220 (48.03)	2.6
	<i>Puntius orphoides</i>	ฝายกั้นน้ำ	98 (21.39)	1.5
	<i>Barbonymus gonionotus</i>	ฝายกั้นน้ำ	50 (10.92)	2.7
	<i>Osteochilus vittatus</i>	ฝายกั้นน้ำ	38 (8.29)	2.4
<b>รวม</b>			<b>458</b>	<b>10.14</b>
วังทรายพูน,วังทรายพูน,พิจิตร	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	คลอง	283 (33.97)	3.25
	<i>Puntius orphoides</i>	คลอง	50 (6.00)	0.89
	<i>Puntius brevis</i>	คลอง	286 (34.33)	0.56
	<i>Puntioplites proctozystron</i>	คลอง	156 (18.73)	3.22
	<i>Barbonymus gonionotus</i>	คลอง	40 (4.80)	1.22
	<i>Osteochilus vittatus</i>	คลอง	18 (2.16)	0.97
<b>รวม</b>			<b>833</b>	<b>10.11</b>

### ตาราง 10 แสดงปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างในประเทศไทย

กลุ่มปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างในประเทศไทย

ชนิดปลา	จำนวนตัว	ร้อยละ
ปลาปากเหลี่ยม ( <i>Cyclocheilichthys apogon</i> )	4	0.08
ปลาไส้ตันตาขาว ( <i>Cyclocheilichthys repasson</i> )	243	4.67
ปลาสร้อยขาว ( <i>Henicorhynchus siamensis</i> )	1,015	19.5
ปลาแก้มช้ำ ( <i>Puntius orphoides</i> )	258	4.96
ปลาตะเพียนทราย ( <i>Puntius brevis</i> )	329	6.32
ปลาสร้อยนกเขา ( <i>Osteochilus hasseltii</i> )	18	0.35
ปลาตะเพียนหางแดง ( <i>Barbodes schwanenfeldi</i> )	3	0.06
ปลาหนามหลัง ( <i>Mystacoleucus marginatus</i> )	1,068	20.52
ปลากระมัง ( <i>Puntioplites proctozystron</i> )	328	6.3
ปลาตะเพียนขาว ( <i>Barbodes gonionotus</i> )	153	2.94
ปลาชีวกวาย ( <i>Rasbora aurotaenia</i> )	223	4.28
ปลาซ่า ( <i>Osteochilus vittatus</i> )	146	2.8
รวม	5205	100%

กลุ่มปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่ไม่พบรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างในประเทศไทย

ชนิดปลา	จำนวนตัว	ร้อยละ
ปลาชีว้าว ( <i>Luciosoma bleekeri</i> )	1,399	26.88
ปลาเย่สกเทศ ( <i>Labeo rohita</i> )	12	0.23
ปลานวลจันทร์ ( <i>Cirrhina microlepis</i> )	6	0.12

### การติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในแต่ละชุมชนที่ศึกษา

จากการตรวจหาจากตัวอย่างปลาทั้งหมด 5,205 ตัว คิดเป็นปลาทั้งหมด 60.54 กิโลกรัม ตัวอย่างปลาถูกแยกตามชนิด แหล่งน้ำ และสถานที่เก็บตัวอย่าง เพื่อนำมาตรวจหาตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ซึ่งตรวจพบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จำนวนทั้งหมด 203 ซีสต์ (ภาพ 18) พบการติดเชื้อจากตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนใน 2 พื้นที่ ได้แก่ พื้นที่ตำบลพื้นที่ตำบลโคกปรัง อำเภอวิเชียรบุรี จังหวัดเพชรบูรณ์ พบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อในปลา 3 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanefeldi*) พบตัวอ่อนระยะติดต่อในปลา 114 ซีสต์ ต่อปลา 0.2 กิโลกรัม, ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) พบตัวอ่อนระยะติดต่อในปลา 43 ซีสต์ ต่อปลา 0.21 กิโลกรัม และปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) พบตัวอ่อนระยะติดต่อในปลา 24 ซีสต์ ต่อปลา 0.51 กิโลกรัม ปลาที่พบการติดเชื้อเป็นปลาจากแหล่งน้ำประเภทคลองและอ่างเก็บน้ำ (ตาราง 11) ในส่วนของแหล่งน้ำประเภทอื่น ได้แก่ แม่น้ำ สระ และฝายกั้นน้ำ ไม่พบปลาที่ติดเชื้อ ในพื้นที่ตำบลตลิ่งชัน อำเภอบ้านด่านลานหอย จังหวัดสุโขทัย พบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อในปลา 3 ชนิด ได้แก่ ปลาหนามหลัง (*M. marginatus*) พบตัวอ่อนระยะติดต่อในปลา 16 ซีสต์ ต่อปลา 1.38 กิโลกรัม ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) พบตัวอ่อนระยะติดต่อในปลา 3 ซีสต์ ต่อปลา 1.38 กิโลกรัม และปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) พบตัวอ่อนระยะติดต่อในปลา 3 ซีสต์ ต่อปลา 1.21 กิโลกรัม โดยพบการติดเชื้อจากปลาที่เก็บจากแหล่งน้ำประเภทเขื่อนทั้งหมด (ตาราง 11)

ในส่วนของตัวอย่างปลาจากแหล่งพื้นที่อื่น ๆ ได้แก่ พื้นที่ตำบลไทรย้อย อำเภอนิคมบ่งช้าง จังหวัดพิษณุโลก พื้นที่ตำบลคลองลานพัฒนา อำเภอกลองลาน จังหวัดกำแพงเพชร พื้นที่ตำบลลูกคู่ อำเภอกงพิสัย จังหวัดอุทัยธานี พื้นที่วังประจวบ อำเภอเมืองตาก จังหวัดตาก พื้นที่ตำบลธารทหาร อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ พื้นที่ตำบลม่วงเจ็ดต้น อำเภอบ้านโคก จังหวัดอุดรธานี และพื้นที่ตำบลวังทรายพูน อำเภอวังทรายพูน จังหวัดพิจิตร นั้นไม่พบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากตัวอย่างจากแหล่งน้ำตามพื้นที่ดังกล่าว (ตาราง 11)



ภาพ 18 ตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ มีลักษณะกลมรี สีน้ำตาลเข้มภายในมองเห็นส่วนของ excretory bladder ลักษณะกลมมีสีดำขนาดใหญ่ และสามารถมองเห็นการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนภายในซิสต์ได้

#### ชนิดปลาที่ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง

สำหรับปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างจากทั้งหมดจำนวน 15 ชนิด โดยสามารถแบ่งชนิดปลาได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ชนิดปลาที่มีรายงานการตรวจพบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และกลุ่มชนิดปลาที่ไม่เคยมีรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

จากตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบทั้งหมด 15 ชนิด พบมีปลาวงศ์ปลาตะเพียน 12 ชนิดที่จัดอยู่ในกลุ่มชนิดของปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ ปลาปากเหลี่ยม (*C. apogon*), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*), ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*), ปลาสร้อยนกเขา (*O. hasseltii*), ปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanenfeldi*), ปลาหนามหลัง (*M. marginatus*), ปลากระมัง (*P. proctozystron*), ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*), ปลาชีวกวาย (*R. aurotaenia*), และปลาซ่า (*O. vittatus*) และกลุ่มชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่ไม่มีรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ปลาชีวกวาย (*L. bleekeri*), ปลาอีสกเทศ (*L. rohita*), และปลานวลจันทร์ (*C. microlepis*) (ตาราง 10)

ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างนั้นจากการตรวจการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria จากปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบทั้งหมดจำนวน 15 ชนิด ที่เก็บรวบรวมจากชุมชน 9 ชุมชน ตรวจพบการติดเชื้อได้ในตัวอย่างปลา 5 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanenfeldi*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), ปลาหนามหลัง (*M. marginatus*), และปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*) (ตาราง 11)



ตาราง 11 แสดงการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวางศ์ปลาตะเพียนในแต่ละชุมชนที่ศึกษาในพื้นที่ (ตำบล, อำเภอ, จังหวัด)

พื้นที่ (ตำบล อำเภอ จังหวัด)	การติดเชื้อพยาธิ ใบไม้ตับในคน (%)	ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ตัว)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ตัวอ่อนพยาธิ ใบไม้ตับ <i>O. viverrini</i> (จุด)
โคกปรัง, วิเชียรบุรี, เพชรบูรณ์	28.70%	<i>Cyclocheilichthys repasson</i>	ฝายกั้นน้ำ	37	0.51	24
		<i>Henicorhynchus siamensis</i>	ฝายกั้นน้ำ	7	0.21	43
		<i>Puntius orphoides</i>	แม่น้ำ, ฝายกั้นน้ำ	7	0.2	0
		<i>Puntius brevis</i>	แม่น้ำ, อ่างเก็บน้ำ	12	0.02	0
		<i>Barbodes schwanefeldi</i>	ฝายกั้นน้ำ	1	0.02	114
		<i>Mystacoleucus marginatus</i>	ฝายกั้นน้ำ	61	0.81	0
		<i>Barbodes gonionotus</i>	คลอง	10	0.32	0
		<i>Osteochilus vittatus</i>	คลอง	8	0.4	0
		<i>Luciosoma bleekeri</i>	คลอง	233	0.56	0
<b>รวม</b>				<b>376</b>	<b>3.05</b>	<b>181</b>

ตาราง 11 (ต่อ)

พื้นที่ (ตำบล อำเภอ จังหวัด)	การติดเชื้อพยาธิ		ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ตัว)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ตัวอ่อนพยาธิ ไปไม้ตับ O. viverrini (ซิสต์)
	ไปไม้ตับในคน (%)	ไปไม้ตับในปลา					
ไทรน้อย,เนินมะปราง,พิษณุโลก	12%		<i>Cylocheilichthys apogon</i>	คลอง	4	0.04	0
			<i>Henicorhynchus siamensis</i>	คลอง	236	4.5	0
			<i>Puntius orphoides</i>	คลอง	4	0.04	0
			<i>Puntius brevis</i>	คลอง	3	0.02	0
			<i>Osteochilus hasseltii</i>	คลอง	18	0.53	0
			<i>Puntioplites proctozystron</i>	คลอง	27	0.61	0
			<i>Rasbora aurotaenia</i>	คลอง	79	0.1	0
			<i>Osteochilus vittatus</i>	คลอง	1	0.3	0
			<i>Luciosoma bleekeri</i>	คลอง	106	0.38	0
<b>รวม</b>					<b>478</b>	<b>6.52</b>	<b>0</b>
ธารพาร,หนองบัว,นครสวรรค์	6.90%		<i>Cylocheilichthys repasson</i>	แม่น้ำ	4	0.11	0
			<i>Henicorhynchus siamensis</i>	แม่น้ำ	7	0.2	0

ตาราง 11 (ต่อ)

พื้นที่ (ตำบล อำเภอ จังหวัด)	การติดเชื้อพยาธิ ใบไม้ตับในคน (%)	ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ตัว)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ตัวอ่อนพยาธิ ใบไม้ตับ <i>O.</i> <i>viverrini</i> (จีสต์)
		<i>Barbodes gonionotus</i>	แม่น้ำ	2	0.6	0
		<i>Rasbora aurotaenia</i>	แม่น้ำ	3	0.2	0
		<i>Osteochilus vittatus</i>	แม่น้ำ	1	0.2	0
<b>รวม</b>				<b>17</b>	<b>1.31</b>	<b>0</b>
ตลิ่งชัน,ด่านลานหอย,สุโขทัย	5.50%	<i>Cylocheilichthys repasson</i>	คลอง	28	1.21	0
		<i>Henicorhynchus siamensis</i>	คลอง	115	1.38	3
		<i>Puntius orphoides</i>	คลอง	92	1.38	3
		<i>Mystacoleucus marginatus</i>	คลอง	1007	3.4	16
		<i>Barbonymus gonionotus</i>	คลอง	44	1.33	0
		<i>Osteochilus vittatus</i>	คลอง	25	1.47	0
		<i>Luciosoma bleekeri</i>	คลอง	144	0.28	0
<b>รวม</b>				<b>1,455</b>	<b>10.45</b>	<b>22</b>



ตาราง 11 (ต่อ)

พื้นที่ (ตำบล อำเภอ จังหวัด)	การติดเชื้อพยาธิ ใบไม้ตับในคน (%)	ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ตัว)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ตัวอ่อนพยาธิ ใบไม้ตับ <i>O.</i> <i>viverrini</i> (ชีสต์)
วังทรายพูน, วังทรายพูน, พิจิตร	3.80%	<i>Henicorhynchus siamensis</i>	แม่น้ำ	283	3.25	0
		<i>Puntius orphoides</i>	แม่น้ำ	50	0.89	0
		<i>Puntius brevis</i>	แม่น้ำ	286	0.56	0
		<i>Puntioplites proctozystron</i>	แม่น้ำ	156	3.22	0
		<i>Barbonymus gonionotus</i>	แม่น้ำ, ฝายกั้นน้ำ	40	1.22	0
		<i>Osteochilus vittatus</i>	แม่น้ำ	18	0.97	0
<b>รวม</b>				<b>833</b>	<b>10.11</b>	<b>0</b>
ตลุกตู่, ทัพทัน, อุทัยธานี	3.60%	<i>Cyclocheilichthys repasson</i>	ฝายกั้นน้ำ	27	1.11	0
		<i>Henicorhynchus siamensis</i>	ฝายกั้นน้ำ	7	0.11	0
		<i>Puntius orphoides</i>	ฝายกั้นน้ำ	5	0.05	0
		<i>Puntius brevis</i>	ฝายกั้นน้ำ	3	0.03	0
		<i>Barbodes gonionotus</i>	ฝายกั้นน้ำ	7	0.29	0

ตาราง 11 (ต่อ)

พื้นที่ (ตำบล อำเภอ จังหวัด)	การติดเชื้อพยาธิ		ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ตัว)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ตัวอ่อนพยาธิ ไปไม้ตับ O. viverrini (ซีสต์)
	ไปไม้ตับในคน (%)						
			<i>Osteochilus vittatus</i>	ฝายกั้นน้ำ	22	0.34	0
			<i>Luciosoma bleekeri</i>	ฝายกั้นน้ำ	272	0.56	0
			<i>Labeo rohita</i>	ฝายกั้นน้ำ	8	0.27	0
<b>รวม</b>					<b>351</b>	<b>2.76</b>	<b>0</b>
วังประจวบ, เมืองตาก, ตาก	2.10%		<i>Henicorhynchus siamensis</i>	สระ	4	0.1	0
			<i>Puntius orphoides</i>	สระ	2	0.11	0
			<i>Puntius brevis</i>	สระ	25	0.34	0
			<i>Puntioplites proctozystron</i>	สระ	3	0.11	0
			<i>Osteochilus vittatus</i>	สระ	33	1.42	0
			<i>Labeo rohita</i>	สระ	1	0.25	0
			<i>Cirrhina microlepis</i>	สระ	6	3.27	0
<b>รวม</b>					<b>74</b>	<b>5.6</b>	<b>0</b>

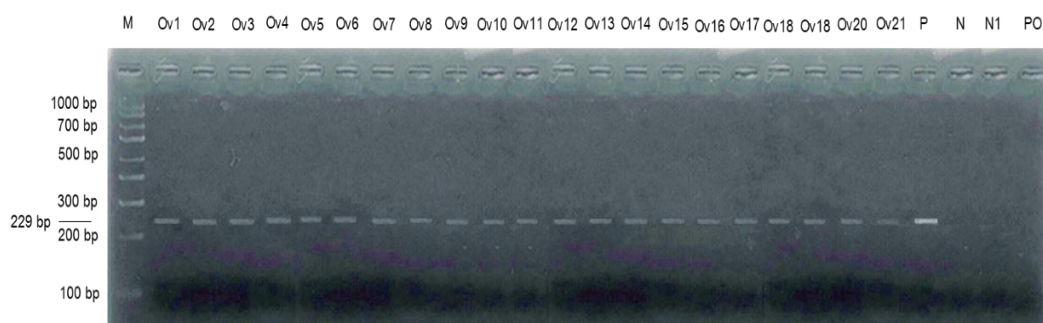
ตาราง 11 (ต่อ)

พื้นที่ (ตำบล อำเภอ จังหวัด)	การติดเชื้อพยาธิ ใบไม้ตับในคน (%)	ชนิดปลา	แหล่งน้ำ	จำนวน (ตัว)	น้ำหนัก (กิโลกรัม)	ตัวอ่อนพยาธิ ใบไม้ตับ <i>O.</i> <i>viverrini</i> (ซีสต์)
คลองลานพัฒนา, คลองลาน, กำแพงเพชร	0%	<i>Cychoheilichthys repasson</i>	อ่างเก็บน้ำ	95	1.65	0
		<i>Henicorhynchus siamensis</i>	อ่างเก็บน้ำ	136	1.89	0
		<i>Puntiolites proctozystron</i>	อ่างเก็บน้ำ	145	3.22	0
		<i>Rasbora aurotaenia</i>	อ่างเก็บน้ำ	141	0.28	0
		<i>Luciosoma bleekeri</i>	อ่างเก็บน้ำ	644	1.89	0
		<i>Labeo rohita</i>	อ่างเก็บน้ำ	3	1.13	0
<b>รวม</b>				<b>1,164</b>	<b>10.06</b>	<b>0</b>
ม่วงเจ็ดต้น, บ้านโคก, อุดรดิตถ์	0%	<i>Cychoheilichthys repasson</i>	ฝายกั้นน้ำ	52	0.94	0
		<i>Henicorhynchus siamensis</i>	ฝายกั้นน้ำ	220	2.6	0
		<i>Puntius orphoides</i>	ฝายกั้นน้ำ	98	1.5	0
		<i>Barbonymus gonionotus</i>	ฝายกั้นน้ำ	50	2.7	0
		<i>Osteochilus vittatus</i>	ฝายกั้นน้ำ	38	2.4	0
<b>รวม</b>				<b>458</b>	<b>10.14</b>	<b>0</b>

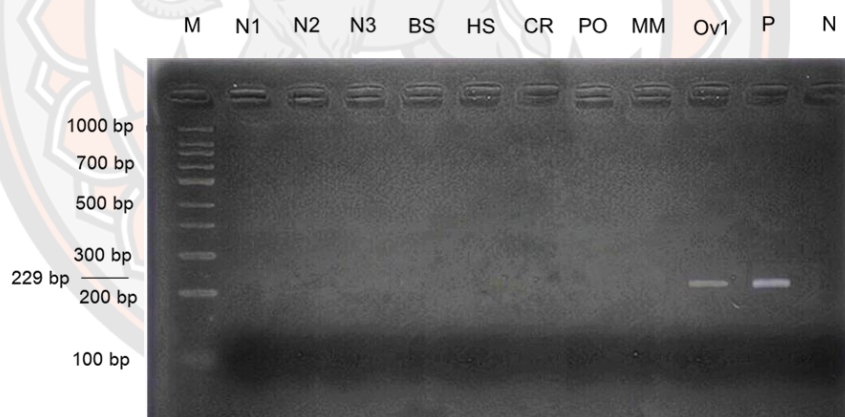
### การตรวจยืนยันตัวอ่อน metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ตรวจพบในปลา

สำหรับตัวอ่อนระยะ metacercaria ที่ตรวจยืนยันทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แล้วจะนำมาตรวจยืนยันผลโดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา ได้แก่ เทคนิค (Polymerase chain reaction) การเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอโดยใช้ตำแหน่งโดยใช้ตำแหน่งดีเอ็นเอ pOVCRA26-5 DNA โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* Trem2-F (5'- actggataaaaaggaag -3') และ OV25-4R (5'-aatgaacggaaatcgtgacc -3') (Parvathi et al., 2008) จากการตรวจยืนยันผลโดยมีตัวอย่างระยะ metacercaria จากแหล่งต่างๆ และจากปลาชนิดต่างๆ จะถูกนำมาสกัดดีเอ็นเอและตรวจยืนยันด้วยเทคนิค PCR ที่ใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และเปรียบเทียบกับขนาด PCR product ของพยาธิใบไม้ตับระยะตัวเต็มวัย ที่ใช้เป็น positive control และ PCR product ของตัวอย่าง non-OV และตัวอย่างปลาที่เป็นโฮสต์ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ ปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanefeldi*), ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), ปลาหนามหลัง (*M. marginatus*) และปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*)

จากการตรวจยืนยันผลพบว่า PCR products ของตัวอย่าง DNA ของพยาธิใบไม้ตับ ระยะ metacercaria ที่ตรวจพบ และตัวอย่าง OV positive control ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ที่มีขนาด 229 คู่เบส และในตัวอย่างตัวอย่าง negative control, ตัวอย่าง Non-Ov (N), และตัวอย่างปลาแก้มช้ำ ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอขึ้น (ภาพ 19) และจากการนำตัวอย่างปลาที่ตรวจพบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนหางแดง (BS; *B. schwanefeldi*), ปลาสร้อยขาว (HS; *H. siamensis*), ปลาแก้มช้ำ (PO; *P. orphoides*) ปลาหนามหลัง (MM; *M. marginatus*) และปลาไส้ตันตาขาว (CR; *C. repasson*) มาตรวจสอบและเปรียบเทียบกับตัวอย่างตัวอ่อน metacercaria ที่พบและตัวอย่าง positive control จากผลการทดลองดังกล่าวไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอขึ้นในตัวอย่างของปลาทั้ง 5 ชนิด ในทางกลับกันแถบดีเอ็นเอจะปรากฏขึ้นในตัวอย่างที่เป็น DNA ของพยาธิใบไม้ตับ ระยะ metacercaria ที่ตรวจพบ และตัวอย่าง P (positive control) เท่านั้น และมีขนาดของปริมาณดีเอ็นเอที่ 229 คู่เบส (ภาพ 20)



ภาพ 19 ผลการตรวจยืนยันของตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้เทคนิค PCR ประกอบด้วย Lane M; 100 bp DNA marker, Lane Ov1-Ov20; 10 OvMc/lane, Lane Ov21; 3 OvMc, Lane P; Positive control (adult OV), Lane N; Negative control, Lane N1; Non-Ov (5 Mc) และ Lane PO; ตัวอย่างปลาแก้มขี้ ( *P. orphoides* )



ภาพ 20 ผลการทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ (Trem2-F และ OV25-4R) ต่อพยาธิชนิดอื่นและปลาที่ตรวจพบการติดเชื้อระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ประกอบด้วย Lane M; 100 bp DNA marker, Lane N1-N3; Non-OvMc (10 OvMc/lane), BS; *B. schwanefeldi*, HS; *H. siamensis*, CR; *C. repasson*, PO; *P. orphoides*, MM; *M. marginatus*, Ov1; *O. viverrini* metacercaria 10 OvMc, P; Positive control และ N; Negative contro

## บทที่ 5

### บทสรุป

จากการศึกษาชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนและการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในชุมชนเสี่ยงต่อการแพร่ระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย พบว่าชนิดปลาและจำนวนปลาที่พบจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับระบบนิเวศของแหล่งน้ำในแต่ละพื้นที่ แหล่งน้ำที่พบสัดส่วนของปลาวงศ์ปลาตะเพียนสูงสุดคือ อ่างเก็บน้ำคิดเป็นร้อยละ 50.42 ของจำนวนปลาที่จับได้ เนื่องจากแหล่งน้ำประเภทอ่างเก็บน้ำมีการหมุนเวียนแลกเปลี่ยนทรัพยากรจากภายนอกทำให้มีความอุดมสมบูรณ์และความหลากหลายของอาหาร นอกจากนี้แหล่งน้ำประเภทนี้มีระดับปริมาณไนเตรดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายซึ่งเป็นแหล่งอาหารหลักของปลาและหอย ส่งผลให้มีประชากรของปลาและหอยที่หนาแน่นสูงกว่าแหล่งน้ำประเภทอื่น (Kim et al., 2016) นอกจากนี้แหล่งน้ำประเภทอ่างเก็บน้ำและทะเลสาบมีระดับไนโตรเจนและระดับความเค็ม (nitrogen-salinity gradient) เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหอยกลุ่มหอย *Bithynia* spp. (Kim et al., 2016; Kim et al., 2017) สำหรับในช่วงฤดูฝนน้ำมีระดับไนโตรเจน-ความเค็มเหมาะสมมากที่สุดกว่าช่วงฤดูอื่นส่งผลต่อความหนาแน่นของประชากรหอยและปลาซึ่งมักจะพบสูงในช่วงฤดูฝน และบริเวณที่มีความหนาแน่นของประชากรหอย *Bithynia* spp. สูงมักจะพบความหนาแน่นของประชากรปลาวงศ์ปลาตะเพียนสูงเช่นเดียวกัน (Kim et al., 2016; Kim et al., 2017)

ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างที่มีความหนาแน่นสูงสุด ได้แก่ กลุ่มสกุลปลาฉิว (*Luciosoma*) คิดเป็นร้อยละ 26.68 ของสกุลปลาที่จับได้ทั้งหมด เนื่องจากปลาสกุลนี้มีขนาดเล็กและมีพฤติกรรมการอยู่รวมกันเป็นสังคมและมักอาศัยอยู่บนบริเวณพื้นผิวน้ำเพื่อหาอาหาร (Rainboth, 1996; Fish base online) จึงทำให้มีโอกาสพบได้สูงเมื่อเทียบกับปลาสกุลอื่น ๆ เช่น ปลาสกุลปลานวลจันทร์ (*Cirrhinus*) เป็นปลาที่มีขนาดใหญ่และไม่มีพฤติกรรมการอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม มักอาศัยอยู่บนน้ำลึกบริเวณก้นแม่น้ำและหาอาหารบริเวณหน้าดินทำให้มีโอกาสพบได้น้อยกลุ่มสกุลปลาฉิว Rainboth (1996); Fish base online ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบปลาสกุลปลานวลจันทร์เพียงร้อยละ 0.12 ของสัดส่วนสกุลปลาที่พบทั้งหมด

อย่างไรก็ตามความหนาแน่นและความหลากหลายของชนิดปลานั้นยังขึ้นอยู่กับช่วงฤดูกาลเช่นเดียวกันจากการสำรวจชนิดปลาจากอ่างเก็บน้ำอุบลรัตน์ ในจังหวัดขอนแก่นของประเทศไทย ในช่วงฤดูกาลที่แตกต่างกัน ประกอบด้วย ช่วงฤดูต้นฝน ฤดูปลายฝน และฤดูแล้ง การสำรวจพบปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) สูงสุดที่ร้อยละ 83.3 ของจำนวนปลาทั้งหมดที่พบ และพบว่าจำนวนของ

ปลาสร้อยขาวนั้นไม่แปรผันตามฤดูกาล ซึ่งในทางกลับกันปลาสร้อยลูกกล้วย (*Labiobarbus leptocheilus*) พบร้อยละ 27 และปลาโจก (*Cyclocheilichthys armatus*) ร้อยละ 24 ของปลาที่พบทั้งหมด ซึ่งปลาทั้งสองชนิดนี้มีจำนวนของประชากรแตกต่างกันในแต่ละช่วงฤดูกาลในการสำรวจ (Ong et al., 2016) นอกจากนี้ปลาจากอ่างเก็บน้ำมีความรุนแรงและความหนาแน่นของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สูงกว่าแหล่งน้ำประเภทอื่น เนื่องจากแหล่งน้ำประเภทนี้มีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหอยและปลาที่เป็นโฮสต์ของพยาธิใบไม้ตับ ส่งผลให้วงจรชีวิตเกิดความสมบูรณ์จึงมีโอกาพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาสูง (Pinlaor et al., 2013) ดังนั้นแหล่งที่มาของปลามีความสำคัญอย่างมากต่อวงจรการแพร่กระจายของพยาธิใบไม้ตับ นอกจากนี้ความแตกต่างของฤดูกาลมีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นของการติดเชื้อในปลา ซึ่งบ่งชี้ว่าฤดูกาลนั้นเป็นปัจจัยสำคัญในวงจรการแพร่เชื้ออีกด้วย (Namsanor et al., 2020; Sithithaworn et al., 1997)

สำหรับปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่จัดเป็นโฮสต์ตัวกลางลำดับที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* แม้ว่าจะพบรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาจากหลายประเทศบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง ได้แก่ ประเทศลาว (Ditrich et al., 1990; Manivong et al., 2009; Ngoen-klan et al., 2010; Rim et al., 2008; Touch et al., 2009), กัมพูชา (Ngoen-klan et al., 2010; Touch et al., 2009), ประเทศเวียดนาม, และประเทศไทย (Komalamisra & Setasuban, 1989; Ong et al., 2016; Pinlaor et al., 2013; Sithithaworn et al., 1997; Srisawangwong et al., 1997; Sukontason et al., 1999; Vichasri et al., 1982; Wykoff et al., 1965) แต่สำหรับชนิดปลาที่ตรวจพบการติดเชื้อและระดับความรุนแรงของการติดเชื้อในปลาจะแตกต่างกันไปแต่ละภูมิภาค จากรายงานการสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาจากประเทศลาว ในพื้นที่จังหวัดหลวงพระบาง พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลา 4 ชนิด ได้แก่ ปลาพวงหิน (*Neolissochilus stracheyi*), ปลาโจก (*Cyclocheilichthys apogon*), ปลาตะเพียนปากหนวด (*Hypsibarbus pierrei*) และปลาโจกไหม (*Cyclocheilichthys furcatus*) (Rim et al., 2013) เช่นเดียวกันจากการสำรวจในพื้นที่จังหวัดในจังหวัดสกละวัน ซึ่งมีการติดเชื้อในปลาหลายชนิดกว่าในจังหวัดหลวงพระบาง ซึ่งในจังหวัดสกละวันพบการติดเชื้อในปลา 6 ชนิด ได้แก่ ปลาแปบควาย (*Paralaubuca barroni*), ปลากระสุนจุด (*H. dispar*), ปลากระมัง (*P. proctozyron*), ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*), ปลาจาด (*Poropuntius dearatus*) และปลาตะโกก (*Cyclocheilichthys enoplos*) (Rim et al., 2013) เช่นเดียวกันในการศึกษารังนี้ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย พบความแตกต่างของชนิดปลาและความรุนแรงของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาที่แตกต่างกันในแต่ละจังหวัด ซึ่งอาจเนื่องมาจากความแตกต่างของแหล่งกักเก็บน้ำ ความหลากหลายทางชีวภาพของระบบนิเวศน์ ปฏิสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่งคือ

หอย *Bithynia* spp. กับปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่เป็นโฮสต์ตัวกลางลำดับที่สอง (Wang et al., 2015) ลักษณะนิสัยการขับถ่ายอุจจาระของประชากรภายในพื้นที่ (Kim et al., 2017)

ในประเทศไทยมักพบรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน 3 สกุล ได้แก่ สกุลปลากระสูบ (*Hampala*), สกุลปลาไส้ตัน (*Cyclocheilichthys*) และสกุลแก้มขี้ (*Puntius*) (Srisawangwong et al., 1997; Sukontason et al., 1999; Vichasri et al., 1982; Waikagul, 1998) จากการสำรวจในระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2554 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ตรวจพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลา 6 ชนิด ได้แก่ ปลาโจก (*C. armatus*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลากระสูบจุด (*H. dispar*), ปลาสร้อยนกเขา (*O. hasselti*), ปลากระมัง (*P. proctozysron*) และปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) (Pinlaor et al., 2013) ในทำนองเดียวกันในการสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาจากพื้นที่จังหวัดนครราชสีมาในระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2553 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2554 พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับร้อยละ 12.3 โดยพบการติดเชื้อสูงสุดในปลาปากแหลม (*C. armatus* ร้อยละ 19.16), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson* ร้อยละ 18.07), ปลากระมัง (*P. proctozysron* ร้อยละ 9.64), ปลากระสูบขีด (*H. macrolepitota* ร้อยละ 8.13) และปลากระสูบจุด (*H. dispar* ร้อยละ 6.49) (Kaewpitoon et al., 2012) ต่อมาในระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2554 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 ได้สำรวจในพื้นที่เดียวกันพบการติดเชื้อในปลาเพียง 1 ชนิด ได้แก่ ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides* ที่ 33 ซีสต์) (Pinlaor et al., 2013) จากการสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาจากพื้นที่จังหวัดเดียวแต่ช่วงเวลาการศึกษาต่างกันส่งผลต่อผลลัพธ์ที่ได้แตกต่างกันทั้งชนิดของปลาที่ติดเชื้อและจำนวนตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับที่พบ

ในทำนองเดียวกันจากการศึกษาครั้งนี้ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย จากตัวอย่างปลาที่เก็บจากแหล่งน้ำบริเวณเขตชุมชน ประกอบด้วย แม่น้ำ สระ อ่างเก็บน้ำ คลอง ฝายกั้นน้ำ ซึ่งตรวจพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลา 5 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนหางแดง (*B. schwanefeldi*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), ปลาแก้มขี้ (*P. orphoides*) และปลาหนามหลัง (*M. marginatus*) ซึ่งจะเห็นว่าชนิดของปลาที่ติดเชื้อที่พบในภาคเหนือตอนล่างนั้นจะมีความแตกต่างกันกับปลาที่ติดเชื้อในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือในบางชนิด โดยชนิดของปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับนั้นจะมีความแตกต่างกันอาจจะขึ้นอยู่กับระบบนิเวศน์ ปฏิสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่ง (Wang et al., 2015)



ระดับความหนาแน่นของการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิใบไม้ดับ *O. viverrini* ที่พบในปลาวงศ์ปลาตะเพียนนั้นอาจจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสถานที่ ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างปลา และช่วงฤดูกาล (Namsanor et al., 2020; Pinlaor et al., 2013; Sithithaworn et al., 1997) โดยจากการศึกษาก่อนหน้าในประเทศลาวพบความหนาแน่นของตัวอ่อนระยะติดต่อที่ 297 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ (Chai et al., 2014) ในขณะที่ทางตอนใต้ของประเทศเวียดนามพบความหนาแน่นที่ 1-15 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ (Touch et al., 2009) ในประเทศไทยมีรายงานความหนาแน่นของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในปลาสูงในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบที่ 8-88 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ (Vichasri et al., 1982) ซึ่งสูงกว่าการติดเชื้อของปลาในพื้นที่ภาคเหนือ (1.4 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ) (Sukontason et al., 1999) ซึ่งการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในปลาจะสัมพันธ์กับอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับ *O. viverrini* ในคน ปัจจุบันในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในปลาการลดลงอย่างมาก จากการสำรวจในระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2523 ถึง มีนาคม พ.ศ. 2524 (8-88 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อ) (Vichasri et al., 1982) ต่อมาจากการศึกษาครั้งล่าสุดในระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2554 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 พบความหนาแน่นของการติดเชื้อในปลาที่ 0.1-6.5 ซีสต์ต่อปลาที่ติดเชื้อแม้ว่าความหนาแน่นของการติดเชื้อในปลาจะลดลงในช่วงระยะเวลา 30 ปีที่ผ่านมา แต่ยังคงพบความหนาแน่นของการติดเชื้อในปลาสูงในบางจังหวัด (>3 ซีสต์) ได้แก่ จังหวัด อำนาจเจริญ จังหวัดนครพนม จังหวัดมุกดาหาร จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดศรีสะเกษ เนื่องจากในพื้นที่จังหวัดดังกล่าวยังคงพบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในคนค่อนข้างสูง (Pinlaor et al., 2013) เช่นเดียวกับในการศึกษาก่อนหน้าในพื้นที่ 9 จังหวัดของภาคเหนือตอนล่างพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในปลาสูงในจังหวัดเพชรบูรณ์ (181 ซีสต์ หรือประมาณ 59.54 ซีสต์ต่อปลา 1 กิโลกรัม) ซึ่งเป็นพื้นที่ ๆ พบอัตราการติดเชื้อในคนสูงกว่าร้อยละ 28.7 แต่ในบางจังหวัดที่ไม่พบการติดเชื้อหรือมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในคนต่ำมักจะไม่พบการติดเชื้อในปลาด้วยเช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่อย่างไรก็ตามความหนาแน่นของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างยังคงต่ำกว่าการติดเชื้อในปลาจากพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับของประชากรในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างมีอัตราการติดเชื้อที่ต่ำกว่าอัตราการติดเชื้อของประชากรในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือจึงส่งผลต่อความหนาแน่นของการติดเชื้อที่พบในปลา (Pumidonming et al., 2018; Wattanawong et al., 2021) รวมไปถึงประเภทของแหล่งกักเก็บน้ำนั้นมีความสำคัญต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในปลาโดยเฉพาะแหล่งน้ำประเภทเขื่อน อ่างเก็บน้ำ มีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของโฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่งคือหอย *Bithynia* spp. (Ong et al., 2016) และมีระดับปริมาณไนเตรดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายซึ่งเป็นแหล่งอาหารของปลาและหอยส่งผลให้มีประชากรของปลาและหอยที่หนาแน่นสูงกว่าแหล่งน้ำประเภทอื่น ทำให้วงจรชีวิตของพยาธิ

ใบไม้ดับเกิดความสมบูรณ์ และมีโอกาสสูงที่ตัวอ่อนระยะ cercaria จะเคลื่อนที่ไปสู่โฮสต์ตัวกลาง ลำดับที่สอง และพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะ metacercaria ต่อไป (Kim et al., 2016) โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่พบแหล่งน้ำที่มีความเสี่ยงสูง ได้แก่ เขื่อน อ่างเก็บน้ำ และทะเลสาบ (แหล่งน้ำ 74 แห่ง ประกอบด้วย เขื่อน 10 แห่ง แม่น้ำ 26 แห่ง และทะเลสาบ/บึง 38 แห่ง) (Pinlaor et al., 2013) มีมากกว่าในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง (จำนวน 17 แห่ง แบ่งเป็น แม่น้ำ 2 แห่ง สระ 3 แห่ง อ่างเก็บน้ำ 2 แห่ง ฝายกั้นน้ำ 2 แห่ง และคลองน้ำ 8 แห่ง) จึงทำให้มีโอกาสพบการติดเชื้อในปลาสูงกว่าปลาจากพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง อย่างไรก็ตามชนิดของปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและในภาคเหนือตอนล่างนั้นมีความคล้ายคลึงกัน แต่ในขณะที่จำนวนตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ดับที่พบในปลามีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าประชากรของหอย *Bithynia* อาจส่งผลต่อการแพร่กระจายของตัวอ่อนระยะ cercaria ไปยังปลาที่เป็นโฮสต์ตัวกลางลำดับที่สอง (Kiatsopit et al., 2011) ปริมาณการติดเชื้อตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ที่พบในปลาวงศ์ปลาตะเพียนนั้นมีความสัมพันธ์กับอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในคน โดยจากการศึกษาก่อนหน้านี้ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบว่าในจังหวัดที่พบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในคนสูง เช่น จังหวัดอำนาจเจริญ (ร้อยละ 32.6), จังหวัดนครพนม (ร้อยละ 60.8) และจังหวัดมุกดาหาร (ร้อยละ 29.5) (Sithithaworn et al., 2012) ในจังหวัดดังกล่าวตรวจพบอัตราการของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในปลาสูงกว่าร้อยละ 20, ร้อยละ 20 และร้อยละ 25 ตามลำดับ (Pinlaor et al., 2013) นอกจากนี้พื้นที่ ๆ พบอัตราการการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในคนและในปลาส่งมักจะพบการติดเชื้อในโฮสต์กักตุนในธรรมชาติ ได้แก่ สุนัขและแมว ด้วยเช่นเดียวกัน จากการสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในโฮสต์กักตุน ในจังหวัดขอนแก่นซึ่งเป็นแหล่งระบาดของโรคพยาธิใบไม้ดับโดยมีอัตราการติดเชื้อที่พบในคนอยู่ที่ร้อยละ 14.2 (Sithithaworn et al., 2012) และพบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ในปลาสูงกว่าร้อยละ 50 (Pinlaor et al., 2013) โดยจากการสำรวจพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในโฮสต์กักตุนในแมวสูงกว่าร้อยละ 35.1 (Aunpromma et al., 2012)

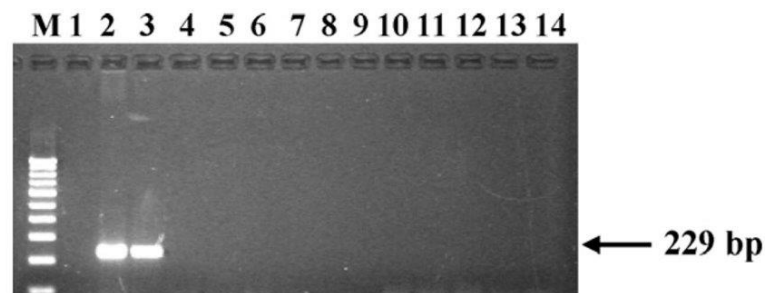
ในทำนองเดียวกันจากการศึกษาครั้งนี้จากการตรวจหาการติดเชื้อระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ดับ *O. viverrini* ในปลาจากพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างซึ่งพบการติดเชื้อในปลาจากพื้นที่ 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ (181 ซีสต์ หรือประมาณ 59.54 ซีสต์ต่อปลา 1 กิโลกรัม) และจังหวัดสุโขทัย (22 ซีสต์ หรือประมาณ 0.2 ซีสต์ต่อปลา 1 กิโลกรัม) โดยการติดเชื้อที่พบในปลานั้นสัมพันธ์กับอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในคน โดยจากรายงานการศึกษาความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับของประชากรในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยพบว่าในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์และจังหวัดสุโขทัยมีอัตราการติดเชื้อสูงกว่าร้อยละ 28.7 และ ร้อยละ 5.5 ตามลำดับ (Pumidonming et al., 2018) แต่ในทางกลับกันไม่พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับในปลาจากจังหวัด

กำแพงเพชรและจังหวัดอุตรดิตถ์ซึ่งสอดคล้องกับอัตราความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคน ซึ่งคนภายในพื้นที่ดังกล่าวนี้ไม่พบรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (Pumidonming et al., 2018) และในพื้นที่ จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดตาก และจังหวัดพิจิตรไม่พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลา เช่นเดียวกัน เนื่องจากในพื้นที่พบรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคนค่อนข้างต่ำเพียง ร้อยละ 3.6, 2.1 และ 3.8 ตามลำดับ (Pumidonming et al., 2018) โดยระดับอัตราการติดเชื้อที่ต่ำส่งผลให้มีโอกาสพบการติดเชื้อในปลาได้น้อยกว่าพื้นที่ ที่มีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคนสูง เช่น ในจังหวัดมุกดาหารที่ตั้งอยู่ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคนสูงกว่าร้อยละ 29.5 (Sithithaworn et al., 2012) ซึ่งสัมพันธ์กับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาโดยพบการติดเชื้อในปลาสูงกว่าร้อยละ 25 (Pinlaor et al., 2013) ในพื้นที่อื่นที่มีอัตราการติดเชื้อสูงกว่าร้อยละ 5 ได้แก่ จังหวัดพิษณุโลก (ร้อยละ 12) และจังหวัดนครสวรรค์ (ร้อยละ 6.9) (Pumidonming et al., 2018) จากการสำรวจไม่พบการติดเชื้อในปลาจากแหล่งน้ำในพื้นที่ดังกล่าว อย่างไรก็ตามจากข้อมูลการรายงานความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคนในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลกมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในประชากรที่อพยพย้ายถิ่นฐานมาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือกว่าร้อยละ 28.6 ซึ่งสูงกว่าประชากรที่มีถิ่นฐานดั้งเดิมอยู่ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง (ร้อยละ 8.5) เช่นเดียวกันในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์มีอัตราการติดเชื้อจากประชากรที่อพยพมาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ร้อยละ 13.6 สูงกว่าการติดเชื้อในประชากรที่มีถิ่นฐานดั้งเดิมอยู่ภายในพื้นที่ (ร้อยละ 3.9) การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในประชากรในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างกว่าร้อยละ 14.4 เป็นประชากรที่อพยพมาจากพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยมีการอพยพย้ายถิ่นฐานมาก่อนที่จะมีการจัดโปรแกรมการรักษาโรคพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (Pumidonming et al., 2018) โดยจากข้อมูลดังกล่าวอาจจะเป็นไปได้ว่าเชื้อของพยาธิใบไม้ตับยังคงจำกัดอยู่เพียงประชากรที่อพยพมาจากพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ยังไม่ได้มีการแพร่ระบาดลงสู่สิ่งแวดล้อมและโฮสต์ในธรรมชาติ

อย่างไรก็ตามปัจจัยในด้านของแหล่งน้ำมีความสำคัญต่ออัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาเช่นเดียวกัน โดยแหล่งน้ำประเภทอ่างเก็บน้ำ ฝายกั้นน้ำนั้นมักจะมีโอกาสพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาสูง จากรายงานการสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบว่าปลาที่เก็บจากเขื่อนมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาสูงกว่าร้อยละ 70 ในขณะที่ปลาที่เก็บจากสระน้ำและแม่น้ำมีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 23.7 และร้อยละ 7 ตามลำดับ (Pinlaor et al., 2013) เนื่องจากแหล่งน้ำประเภทเขื่อนหรือฝายกั้นน้ำมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายซึ่งเป็นแหล่งอาหารของปลา และมีสภาวะของระดับปริมาณไนโตรเจนและความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหอยที่เป็นโฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่ง โดยบริเวณที่มีความหนาแน่นของประชากรหอยสูงมักจะพบความหนาแน่นของประชากรปลาสูงด้วยเช่นกัน จึงทำให้แหล่งน้ำประเภทดังกล่าวมีโอกาสพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาสูง (Ong et al., 2016)

นอกจากนี้ช่วงฤดูกลางยังเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการตรวจพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลา โดยจากการศึกษาพบว่าในช่วงฤดูปลายฝนต้นหนาวหรือในช่วงฤดูแล้งมีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาสูงกว่าช่วงฤดูฝน (Namsanor et al., 2020; Sithithaworn et al., 1997) จากการศึกษา ก่อนหน้าในปี พ.ศ. 2564 ได้มีการสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาจากพื้นที่ ระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับ ได้แก่ ประเทศลาวและในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาสูงสุดในช่วงฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน – เดือนกุมภาพันธ์), ฤดูร้อน (เดือนมีนาคม-เดือนเมษายน) และฤดูฝน (เดือนมิถุนายน-เดือนตุลาคม) ตามลำดับ (Namsanor et al., 2020) เนื่องจากฤดูกาลนั้นมีความสัมพันธ์กับความแรงของกระแส น้ำซึ่งส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของตัวอ่อนระยะ cercaria ที่เคลื่อนจากหอยมาสู่ปลา พบว่าในช่วงฤดูปลายฝนต้นหนาวหรือในช่วงฤดูแล้งมีระดับความแรงของกระแสน้ำเบาว่าในช่วงฤดูฝนทำให้มีโอกาสพบการติดเชื้อในปลาได้สูง (Namsanor et al., 2020; Sithithaworn et al., 1997) ในทำนองเดียวกันจากการศึกษาครั้งนี้ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในปลาต่ำเนื่องจากมีการเก็บตัวอย่างในช่วงฤดูฝน (เดือนมิถุนายน-เดือนพฤศจิกายน) ซึ่งอาจจะส่งผลต่อระดับความรุนแรงของกระแสน้ำจึงทำให้มีโอกาสพบการติดเชื้อในปลาต่ำกว่าพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

จากการตรวจยืนยันผลของตัวอ่อนระยะติดต่อ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้เทคนิค PCR จากการตรวจสอบโดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นบนตำแหน่งดีเอ็นเอ pOVCR26-5 DNA โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ Trem2-F (5'-actggataaaaggaag -3') และ OV25-4R (5'-aatgaacggaaatcgtgacc -3') ผลการศึกษาพบแถบแบนดีเอ็นเอปรากฏที่ขนาด 229 คู่เบส ในทุกตัวอย่างของตัวอ่อนระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และไม่ปรากฏแถบแบนดีเอ็นเอขึ้นในตัวอื่น ๆ ได้แก่ ตัวอย่างปลาตะเพียนหางแดง ปลาสร้อยขาว ปลาไส้ตันตาขาว ปลาแก้มช้ำ ปลาหนามหลัง รวมถึงตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ ชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าได้นำไพรเมอร์ Trem2-F และ OV25-4R ทดสอบกับพยาธิใบไม้ตับที่มีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรม ได้แก่ *O. felinus* และ *C. sinensis* และกับพยาธิชนิดอื่น ได้แก่ *H. taichui*, *T. saginata*, *C. formosanus*, *E. malayanam*, *Spirometra* sp., *F. gigantica*, hookworm, ตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิของพยาธิใบไม้ที่ไม่ทราบชนิด และปลาที่เป็นโฮสต์ของพยาธิใบไม้ตับ (ปลาแก้มช้ำ) ผลที่ได้พบว่าไม่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอเกิดขึ้น (ภาพ 21) แสดงให้เห็นว่าไพรเมอร์นี้มีความจำเพาะกับลำดับเบสเป้าหมายที่อยู่ในจีโนมของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เท่านั้น (Parvathi et al., 2008)



ภาพ 21 ผลการทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ (Trem2-F และ OV25-4R) ต่อพยาธิชนิดอื่นและปลาที่ตรวจพบการติดเชื้อระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับ *O.viverrini* ประกอบด้วย Lane M, 100 bp DNA ladder ;(1) negative control; (2) *O. viverrini* adult; (3) *O. viverrini* metacercaria; (4) *C. sinensis*; (5) *O. felineus*; (6) *H. taichui*; (7) *T. saginata*; (8) *C. formosanus*; (9) *E. malayanum*; (10) *Spirometra* sp.; (11) *F. gigantica*; (12) hookworms; (13) unknown metacercariae; (14) ปลาแก้ม (*Puntius* spp.)

ที่มา: Parvathi et al., 2008

## บรรณานุกรม

- Aung, W. P. P., Htoon, T. T., Tin, H. H., Thinn, K. K., Sanpool, O., Jongthawin, J., . . . Intapan, P. M. (2017). First report and molecular identification of opisthorchis viverrini infection in human communities from lower myanmar. *PloS one*, *12*(5), e0177130.
- Aunpromma, S., Tangkawattana, P., Papirom, P., Kanjampa, P., Tesana, S., Sripa, B., & Tangkawattana, S. (2012). High prevalence of opisthorchis viverrini infection in reservoir hosts in four districts of khon kaen province, an opisthorchiasis endemic area of thailand. *Parasitology international*, *61*(1), 60-64.
- Banales, J. M., Cardinale, V., Carpino, G., Marzioni, M., Andersen, J. B., Invernizzi, P., . . . Fouassier, L. (2016). Expert consensus document: Cholangiocarcinoma: Current knowledge and future perspectives consensus statement from the european network for the study of cholangiocarcinoma (ens-cca). *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, *13*(5), 261-280.
- Boonmekam, D., Namchote, S., Matsuda, H., Kirinoki, M., Miyamoto, K., 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*(3), 319-323.
- Buathong, S., Leelayoova, S., Mungthin, M., Naaglor, T., Taamasri, P., Suwannahitatorn, P., & Tan-Ariya, P. (2015). Development and evaluation of pcr methods based on cytochrome c oxidase subunit one (cox1) and nadh dehydrogenase subunit one gene (nad1) to detect opisthorchis viverrini in human fecal samples. *Parasitology research*, *114*, 3547-3549.
- Buathong, S., Leelayoova, S., Mungthin, M., Ruang-Areerate, T., Naaglor, T., Suwannahitatorn, P., . . . Tan-Ariya, P. (2017). Molecular discrimination of opisthorchis-like eggs from residents in a rural community of central thailand. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *11*(11), e0006030.
- Bui, T. N., Pham, T. T., Nguyen, N. T., Nguyen, H. V., Murrell, D., & Phan, V. T. (2016). The

- importance of wild fish in the epidemiology of clonorchis sinensis in vietnam. *Parasitology Research*, 115(9), 3401-3408. doi:10.1007/s00436-016-5100-8
- Bunnag, D., & Harinasuta, T. (1980). Studies on the chemotherapy of human opisthorchiasis in thailand: I. Clinical trial of praziquantel. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 11(4), 528-531.
- Bunnag, D., Harinasuta, T., & Desakorn, V. (1981). Studies on the chemotherapy of human opisthorchiasis: II. Clinical trial of niclofolan. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 12(1), 107-109.
- Cai, X.-Q., Yu, H.-Q., Li, R., Yue, Q.-Y., Liu, G.-H., Bai, J.-S., . . . Zhu, X.-Q. (2014). Rapid detection and differentiation of *clonorchis sinensis* and *opisthorchis viverrini* using real-time pcr and high resolution melting analysis. *The Scientific World Journal*, 2014, 893981. doi:10.1155/2014/893981
- Chai, J.-Y., Lee, S.-H., Rim, H.-J., Sohn, W.-M., & Phommasack, B. (2019). Infection status with zoonotic trematode metacercariae in fish from lao pdr. *Acta Tropica*, 199, 105100.
- Chai, J.-Y., Sohn, W.-M., Yong, T.-S., Eom, K. S., Min, D.-Y., Lee, M. Y., . . . Rim, H.-J. (2013). *Centrocestus formosanus* (heterophyidae): Human infections and the infection source in lao pdr. *Journal of Parasitology*, 99(3), 531-536. doi:10.1645/12-37.1
- Chai, J. Y., Han, E. T., Guk, S. M., Shin, E. H., Sohn, W. M., Yong, T. S., . . . Rim, H. J. (2007). High prevalence of liver and intestinal fluke infections among residents of savannakhet province in laos. *Korean J Parasitol*, 45(3), 213-218. doi:10.3347/kjp.2007.45.3.213
- Chai, J. Y., Sohn, W. M., Na, B. K., Yong, T. S., Eom, K. S., Yoon, C. H., . . . Socheat, D. (2014). Zoonotic trematode metacercariae in fish from phnom penh and pursat, cambodia. *Korean J Parasitol*, 52(1), 35-40. doi:10.3347/kjp.2014.52.1.35
- Chaiyarit, P., Sithithaworn, P., Thuwajit, C., & Yongvanit, P. (2011). Detection of salivary antibodies to crude antigens of opisthorchis viverrini in opisthorchiasis and cholangiocarcinoma patients. *Clinical Oral Investigations*, 15(4), 477-483. doi:10.1007/s00784-010-0421-y
- Chanawong, A., & Waikagul, J. (1991). Laboratory studies on host-parasite relationship of bithynia snails and the liver fluke, opisthorchis viverrini. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 22(2), 235-239.

- Charoensuk, L., Ribas, A., Chedtabud, K., & Prakobwong, S. (2022). Infection rate of opisthorchis viverrini metacercariae in cyprinoid fish from the markets and its association to human opisthorchiasis in the local community in the northeast thailand. *Acta Tropica*, *225*, 106216.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106216>
- Chuboon, S., Wongsawad, C., Ruamsuk, A., & Nithikathkul, C. (2005). Survival of haplorchis taichui metacercariae in lab-pla, thai traditional food preparation. *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, *36*, 110-111.
- 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.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.02.028>
- Dao, T. T. H., Van Bui, T., Abatih, E. N., Gabriël, S., Nguyen, T. T. G., Huynh, Q. H., . . . Dorny, P. (2016). Opisthorchis viverrini infections and associated risk factors in a lowland area of binh dinh province, central vietnam. *Acta tropica*, *157*, 151-157.
- De, N. V., Murrell, K. D., Cam, P. D., Toan, N. D., & Dalsgaard, A. (2003). The food-borne trematode zoonoses of vietnam. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *34*, 12-34.
- Ditrich, O., Scholz, T., & Giboda, M. (1990). Occurrence of some medically important flukes (trematoda: Opisthorchiidae and heterophyidae) in nam ngum water reservoir, laos. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *21*(3), 482-488.
- Doanh, P. N., & Nawa, Y. (2016). Clonorchis sinensis and opisthorchis spp. In vietnam: Current status and prospects. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *110*(1), 13-20.
- Duengai, K., Sithithaworn, P., Rudrappa, U. K., Iddya, K., Laha, T., Stensvold, C. R., . . . Johansen, M. V. (2008). Improvement of pcr for detection of opisthorchis viverrini DNA in human stool samples. *Journal of clinical microbiology*, *46*(1), 366-368.
- Dung, V. T., Waikagul, J., Thanh, B. N., Vo, D. T., Nguyen, D. N., & Murrell, K. D. (2014). Endemicity of opisthorchis viverrini liver flukes, vietnam, 2011–2012. *Emerging infectious diseases*, *20*(1), 152.



- Elkins, D. B., Haswell-Elkins, M. R., Mairiang, E., Mairiang, P., Sithithaworn, P., Kaewkes, S., . . . Uttaravichien, T. (1990). A high frequency of hepatobiliary disease and suspected cholangiocarcinoma associated with heavy *opisthorchis viverrini* infection in a small community in north-east thailand. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *84*(5), 715-719.  
doi:10.1016/0035-9203(90)90159-c
- Enes, J. E., Wages, A. J., Malone, J. B., & Tesana, S. (2010). Prevalence of *opisthorchis viverrini* infection in the canine and feline hosts in three villages, khon kaen province, northeastern thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, *41*(1), 36-42.
- Eom, K. S., Park, H. S., Lee, D., Sohn, W. M., Yong, T. S., Chai, J. Y., . . . Phommasack, B. (2015). Infection status of zoonotic trematode metacercariae in fishes from vientiane municipality and champasak province in lao pdr. *Korean J Parasitol*, *53*(4), 447-453. doi:10.3347/kjp.2015.53.4.447
- Fedorova, O. S., Fedotova, M. M., Sokolova, T. S., Golovach, E. A., Kovshirina, Y. V., Ageeva, T. S., . . . Odermatt, P. (2018). *Opisthorchis felinus* infection prevalence in western siberia: A review of russian literature. *Acta tropica*, *178*, 196-204.
- Fedorova, O. S., Fedotova, M. M., Zvonareva, O. I., Mazeina, S. V., Kovshirina, Y. V., Sokolova, T. S., . . . Odermatt, P. (2020). *Opisthorchis felinus* infection, risks, and morbidity in rural western siberia, russian federation. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *14*(6), e0008421. doi:10.1371/journal.pntd.0008421
- Forrer, A., Sayasone, S., Vounatsou, P., Vonghachack, Y., Bouakhasith, D., Vogt, S., . . . Odermatt, P. (2012). Spatial distribution of, and risk factors for, *opisthorchis viverrini* infection in southern lao pdr. *PLoS Negl Trop Dis*, *6*(2), e1481.  
doi:10.1371/journal.pntd.0001481
- Giboda, M., Ditrich, O., Scholz, T., Viengsay, T., & Bouaphanh, S. (1991). Current status of food-borne parasitic zoonoses in laos. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, *22*, 56-61.
- Grundy-Warr, C., Andrews, R. H., Sithithaworn, P., Petney, T. N., Sripa, B., Laithavewat, L., & Ziegler, A. D. (2012). Raw attitudes, wetland cultures, life-cycles: Socio-cultural dynamics relating to *opisthorchis viverrini* in the mekong basin. *Parasitology*

- International*, 61(1), 65-70. doi:<https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.06.015>
- Hashizume, H., Sato, M., Sato, M. O., Ikeda, S., Yoonuan, T., Sanguankiat, S., . . . Minamoto, T. (2017). Application of environmental DNA analysis for the detection of opisthorchis viverrini DNA in water samples. *Acta Tropica*, 169, 1-7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.01.008>
- Haswell, M. R., Satarug, S., & Elkins, D. B. (1992). Opisthorchis viverrini infection in northeast thailand and its relationship to cholangiocarcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 7(5), 538-548. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.1992.tb01035.x>
- Hong, S.-J., Shin, J.-K., Kang, S.-Y., & Ryu, J.-R. (2003). Ultrastructural localization of phosphoglycerate kinase in adult clonorchis sinensis. *Parasitology Research*, 90(5), 369-371. doi:10.1007/s00436-003-0857-y
- Hortle, K. G. (2007). Consumption and the yield of fish and other aquatic animals from the lower mekong basin. *MRC technical paper*, 16, 1-88.
- Howes, G. J., Winfield, I. J., & Nelson, J. S. (1991). *Cyprinid fishes: Systematics, biology and exploitation*. New Delhi: Tomson Press (India).
- Hung, N. M., Dung, D. T., Lan Anh, N. T., Van, P. T., Thanh, B. N., Van Ha, N., . . . Canh, L. X. (2015). Current status of fish-borne zoonotic trematode infections in gia vien district, ninh binh province, vietnam. *Parasites & Vectors*, 8(1), 21. doi:10.1186/s13071-015-0643-6
- Intapan, P., Thanchomngang, T., Lulitanond, V., Phongsaskulchoti, P., & Maleewong, W. (2008). Real-time fluorescence resonance energy transfer pcr with melting curve analysis for the detection of opisthorchis viverrini in fish intermediate hosts. *Veterinary parasitology*, 157(1-2), 65-71.
- Intapan, P. M., Thanchomngang, T., Lulitanond, V., Pongsaskulchoti, P., & Maleewong, W. (2009). Rapid molecular detection of opisthorchis viverrini in human fecal samples by real-time polymerase chain reaction. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 81(5), 917-920.
- Janwan, P., Intapan, P. M., Thanchomngang, T., Lulitanond, V., Anamnart, W., & Maleewong, W. (2011). Rapid detection of opisthorchis viverrini and strongyloides stercoralis in human fecal samples using a duplex real-time pcr

- and melting curve analysis. *Parasitology Research*, 109(6), 1593-1601.  
doi:10.1007/s00436-011-2419-z
- Jaroonvesama, N., Charoenlarp, K., & Cross, J. (1981). Treatment of opisthorchis viverrini with mebendazole. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 12(4), 595-597.
- Johansen, M. V., Lier, T., & Sithithaworn, P. (2015). Towards improved diagnosis of neglected zoonotic trematodes using a one health approach. *Acta Tropica*, 141, 161-169. doi:https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.07.006
- Jongsuksuntigul, P., & Imsomboon, T. (1997). The impact of a decade long opisthorchiasis control program in northeastern thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 28(3), 551-557.
- Kaewkes, S. (2003). Taxonomy and biology of liver flukes. *Acta tropica*, 88(3), 177-186.
- Kaewkes, W., Kaewkes, S., Tesana, S., Laha, T., & Sripa, B. (2012). Fecal bacterial contamination in natural water reservoirs as an indicator of seasonal infection by opisthorchis viverrini in snail intermediate hosts. *Parasitology International*, 61(1), 49-51. doi:https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.08.013
- Kaewkong, W., Intapan, P. M., Sanpool, O., Janwan, P., Thanchomnang, T., Laummaunwai, P., . . . Maleewong, W. (2013). Molecular differentiation of opisthorchis viverrini and clonorchis sinensis eggs by multiplex real-time pcr with high resolution melting analysis. *Korean J Parasitol*, 51(6), 689-694.  
doi:10.3347/kjp.2013.51.6.689
- Kaewpitoon, N., Kaewpitoon, S. J., Ueng-Arporn, N., Rujirakul, R., Churproong, S., Matrakool, L., . . . Sripa, B. (2012). Carcinogenic human liver fluke: Current status of opisthorchis viverrini metacercariae in nakhon ratchasima, thailand. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(4), 1235-1240.
- Kang, S., Sultana, T., Loktev, V. B., Wongratanacheewin, S., Sohn, W.-M., Eom, K. S., & Park, J.-K. (2008). Molecular identification and phylogenetic analysis of nuclear rdna sequences among three opisthorchid liver fluke species (opisthorchiidae: Trematoda). *Parasitology International*, 57(2), 191-197.
- Katz, N., Chaves, A., & Pellegrino, J. (1972). A simple, device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. *Revista do instituto de medicina*

*tropical de São Paulo*, 14(6), 397-400.

Keiser, J., & Utzinger, J. (2005). Emerging foodborne trematodiasis. *Emerging infectious diseases*, 11(10), 1507.

Khampoosa, P., Jones, M. K., Lovas, E. M., Srisawangwong, T., Laha, T., Piratae, S., . . . Tesana, S. (2012). Light and electron microscopy observations of embryogenesis and egg development in the human liver fluke, *opisthorchis viverrini* (platyhelminthes, digenea). *Parasitology Research*, 110(2), 799-808.  
doi:10.1007/s00436-011-2557-3

Khieu, V., Fürst, T., Miyamoto, K., Yong, T.-S., Chai, J.-Y., Huy, R., . . . Odermatt, P. (2019). Chapter three - is *opisthorchis viverrini* emerging in cambodia? In J. Keiser (Ed.), in *Advances in parasitology* (103, 31-73): Academic Press.

Khieu, V., Schär, F., Marti, H., Bless, P. J., Char, M. C., Muth, S., & Odermatt, P. (2014). Prevalence and risk factors of *strongyloides stercoralis* in takeo province, cambodia. *Parasites & Vectors*, 7(1), 221. doi:10.1186/1756-3305-7-221

Khieu, V., Schär, F., Marti, H., Sayasone, S., Duong, S., Muth, S., & Odermatt, P. (2013). Diagnosis, treatment and risk factors of *strongyloides stercoralis* in schoolchildren in cambodia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 7(2), e2035.  
doi:10.1371/journal.pntd.0002035

Kiatsopit, N., Sithithaworn, P., Boonmars, T., Tesana, S., Chanawong, A., Saijuntha, W., . . . Andrews, R. H. (2011). Genetic markers for studies on the systematics and population genetics of snails, *bithynia* spp., the first intermediate hosts of *opisthorchis viverrini* in thailand. *Acta Tropica*, 118(2), 136-141.  
doi:https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.02.002

Kiatsopit, N., Sithithaworn, P., Saijuntha, W., Boonmars, T., Tesana, S., Sithithaworn, J., . . . Andrews, R. H. (2012). Exceptionally high prevalence of infection of *bithynia siamensis goniomphalos* with *opisthorchis viverrini* cercariae in different wetlands in thailand and lao pdr. *Am J Trop Med Hyg*, 86(3), 464-469.  
doi:10.4269/ajtmh.2012.11-0217

Kim, C. S., Echaubard, P., Suwannatrai, A., Kaewkes, S., Wilcox, B. A., & Sripa, B. (2016). Seasonal and spatial environmental influence on *opisthorchis viverrini* intermediate hosts, abundance, and distribution: Insights on transmission

- dynamics and sustainable control. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(11), e0005121. doi:10.1371/journal.pntd.0005121
- Kim, C. S., Smith, J. F., Suwannatrai, A., Echaubard, P., Wilcox, B., Kaewkes, S., . . . Sripa, B. (2017). Role of socio-cultural and economic factors in cyprinid fish distribution networks and consumption in lawa lake region, northeast thailand: Novel perspectives on opisthorchis viverrini transmission dynamics. *Acta Tropica*, 170, 85-94. doi:https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.02.010
- Komalamisra, C., & Setasuban, P. (1989). Heterophyid flukes and opisthorchis viverrini: Intensity and rates of infection in cyprinoid fish from an endemic focus in northeast thailand. *J Trop Med Parasitol*, 12, 22-28.
- Kopolrat, K., Sithithaworn, P., Kiatsopit, N., Namsanor, J., Laoprom, N., Tesana, S., . . . Petney, T. N. (2020). Influence of water irrigation schemes and seasonality on transmission dynamics of opisthorchis viverrini in the snail intermediate host, bithynia siamensis goniomphalos in rice paddy fields in northeast thailand. *Am J Trop Med Hyg*, 103(1), 276-286. doi:10.4269/ajtmh.19-0290
- Lamaningao, P., Kanda, S., Laimanivong, S., Shimono, T., Darcy, A. W., Phyaluanglath, A., . . . Nishiyama, T. (2017). Development of a pcr assay for diagnosing trematode (opisthorchis and haplorchis) infections in human stools. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 96(1), 221.
- Le, T. H., Van De, N., Blair, D., Sithithaworn, P., & McManus, D. P. (2006). Clonorchis sinensis and opisthorchis viverrini: Development of a mitochondrial-based multiplex pcr for their identification and discrimination. *Experimental Parasitology*, 112(2), 109-114. doi:https://doi.org/10.1016/j.exppara.2005.09.012
- Lee, K.-J., Bae, Y.-T., Kim, D.-H., Deung, Y.-K., Ryang, Y.-S., Kim, H.-J., . . . Yong, T.-S. (2002). Status of intestinal parasites infection among primary school children in kampongcham, cambodia. *Korean J Parasito*, 40(3), 153-155. doi:10.3347/kjp.2002.40.3.153
- Leiper, E. (1915). Notes of the occurrence of parasites presumably rare in man. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 24(6), 569-575.
- Lin, R.-Q., Tang, J.-D., Zhou, D.-H., Song, H.-Q., Huang, S.-Y., Chen, J.-X., . . . Zhou, X.-N. (2011). Prevalence of clonorchis sinensis infection in dogs and cats in

- subtropical southern china. *Parasites & Vectors*, 4(1), 180. doi:10.1186/1756-3305-4-180
- Maleewong, W., Intapan, P. M., Wongkham, C., Wongsaroj, T., Kowsuwan, T., Pumidonming, W., . . . Kitikoon, V. (2003). Detection of opisthorchis viverrini in experimentally infected bithynid snails and cyprinoid fishes by a pcr-based method. *Parasitology*, 126(1), 63-67. doi:10.1017/S0031182002002573
- Manivong, K., Komalamisra, C., Waikagul, J., & Radomyos, P. (2009). Opisthorchis viverrini metacercariae in cyprinoid fish from three rivers in khammouane province, lao pdr khemphavanh. *The Journal of Tropical Medicine and Parasitology*, 32(23-29).
- Martin, S. W., Meek, A. H., & Willeberg, P. (1987). *Veterinary epidemiology: Principles and methods*. Ames, IA: Iowa State University Press.
- Miyamoto, K., Kirinoki, M., Matsuda, H., Hayashi, N., Chigusa, Y., Sinuon, M., . . . Kitikoon, V. (2014). Field survey focused on opisthorchis viverrini infection in five provinces of cambodia. *Parasitology International*, 63(2), 366-373. doi:https://doi.org/10.1016/j.parint.2013.12.003
- Nakamura, S. (2017). Present situation of opisthorchiasis in vientiane capital, lao peoples' democratic republic. *Nihon eiseigaku zasshi. Japanese journal of hygiene*, 72, 101-105.
- Namsanor, J., Kiatsopit, N., Laha, T., Andrews, R. H., Petney, T. N., & Sithithaworn, P. (2020). Infection dynamics of opisthorchis viverrini metacercariae in cyprinid fishes from two endemic areas in thailand and lao pdr. *Am J Trop Med Hyg*, 102(1), 110-116. doi:10.4269/ajtmh.19-0432
- Ngern-Klun, R., Sukontason, K. L., Tesana, S., Sripakdee, D., Irvine, K. N., & Sukontason, K. (2006). Field investigation of bithynia funiculata, intermediate host of opisthorchis viverrini in northern thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 37(4), 662.
- Ngoen-klan, R., Piangjai, S., Somwang, P., Moophayak, K., Sukontason, K., Sukontason, K. L., . . . Irvine, K. (2010). Emerging helminths infection in snails and cyprinoid fish in sewage treatment wetlands waters in cambodia. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*, 7, 13-21.
- Nguyen, H. M., Tatonova, Y. V., & Madsen, H. (2018). Infections by hepatic trematodes in cats

- from slaughterhouses in vietnam. *The Journal of Parasitology*, *104*(3), 306-309.
- Nguyen, H. M., Van, H. H., Ho, L. T., Tatonova, Y. V., & Madsen, H. (2021). Are melanoides tuberculata and tarebia granifera (gastropoda, thiaridae), suitable first intermediate hosts of clonorchis sinensis in vietnam? *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *15*(1), e0009093. doi:10.1371/journal.pntd.0009093
- Nguyen, P. T. X., Van Hoang, H., Dinh, H. T. K., Dorny, P., Losson, B., Bui, D. T., & Lempereur, L. (2021). Insights on foodborne zoonotic trematodes in freshwater snails in north and central vietnam. *Parasitology Research*, *120*(3), 949-962. doi:10.1007/s00436-020-07027-1
- Ong, X., Wang, Y.-C., Sithithaworn, P., Grundy-Warr, C., & Pitaksakulrat, O. (2016). Dam influences on liver fluke transmission: Fish infection and human fish consumption behavior. *Annals of the American Association of Geographers*, *106*(4), 755-772.
- Papasarathorn, T., Sumethanurugkul, P., Viboolyavatana, J., Temcharoen, P., & Tongkoom, B. (1990). Studies of life history and ecological requirements of *Bithynia (Digoniostoma siamensis goniomphalos)*, 21-27.
- Parvathi, A., Umesha, K. R., Kumar, S., Sithithaworn, P., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (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. doi:https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.04.001
- Petney, T., Sithithaworn, P., Andrews, R., Kiatsopit, N., Tesana, S., Grundy-Warr, C., & Ziegler, A. (2012). The ecology of the bithynia first intermediate hosts of opisthorchis viverrini. *Parasitology International*, *61*(1), 38-45.
- Petney, T. N., Andrews, R. H., Saijuntha, W., Tesana, S., Prasopdee, S., Kiatsopit, N., & Sithithaworn, P. (2018). Taxonomy, ecology and population genetics of opisthorchis viverrini and its intermediate hosts. *Advances in parasitology*, *101*, 1-39.
- Phung, L. T., Loukas, A., Brindley, P. J., Sriipa, B., & Laha, T. (2014). Retrotransposon ov-rte-1 from the carcinogenic liver fluke opisthorchis viverrini: Potential target for DNA-based diagnosis. *Infection, Genetics and Evolution*, *21*, 443-451.
- Phyo Myint, E. E., Sereemasapun, A., Rocklöv, J., & Nithikathkul, C. (2020). Discovery of carcinogenic liver fluke metacercariae in second intermediate hosts and

- surveillance on fish-borne trematode metacercariae infections in mekong region of myanmar. *International journal of environmental research and public health*, 17(11), 4108.
- Pinlaor, S., Onsurathum, S., Boonmars, T., Pinlaor, P., Hongsrirachan, N., Chaidee, A., . . . Sithithaworn, P. (2013). Distribution and abundance of opisthorchis viverrini metacercariae in cyprinid fish in northeastern thailand. *Korean J Parasitol*, 51(6), 703-710. doi:10.3347/kjp.2013.51.6.703
- Pitaksakulrat, O., Sithithaworn, P., Laoprom, N., Laha, T., Petney, T. N., & Andrews, R. H. (2013). A cross-sectional study on the potential transmission of the carcinogenic liver fluke opisthorchis viverrini and other fishborne zoonotic trematodes by aquaculture fish. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10(1), 35-41. doi:10.1089/fpd.2012.1253
- Prasongwatana, J., Laummaunwai, P., Boonmars, T., & Pinlaor, S. (2013). Viable metacercariae of opisthorchis viverrini in northeastern thai cyprinid fish dishes--as part of a rational program for control of o. Viverrini-associated cholangiocarcinoma. *Parasitol Res*, 112(3), 1323-1327. doi:10.1007/s00436-012-3154-9
- Prasopdee, S., Kulsantiwong, J., Piratae, S., Khampoosa, P., Thammasiri, C., Suwannatrai, A., . . . Tesana, S. (2015). Temperature dependence of opisthorchis viverrini infection in first intermediate host snail, bithynia siamensis goniomphalos. *Acta Tropica*, 141, 112-117. doi:https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.10.011
- Pubua, J., & Wongsawad, C. (2007). Redescription of the trematode metacercariae from the mullet (liza subviridis) and half-beak (dermogenys pusillus). *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 38, 106.
- Pumidonming, W., Katahira, H., Igarashi, M., Salman, D., Abdelbaset, A. E., & Sangkaeo, K. (2018). Potential risk of a liver fluke opisthorchis viverrini infection brought by immigrants from prevalent areas: A case study in the lower northern thailand. *Acta Tropica*, 178, 213-218. doi:https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.11.023
- Pumidonming, W., Salman, D., Gronsang, D., Abdelbaset, A. E., Sangkaeo, K., Kawazu, S.-i., & Igarashi, M. (2016). Prevalence of gastrointestinal helminth parasites of zoonotic significance in dogs and cats in lower northern thailand. *Journal of Veterinary Medical Science*, 78(12), 1779-1784.



- Pungpak, S., Bunnag, D., & Harinasuta, T. (1983). Clinical and laboratory evaluation of praziquantel in opisthorchiasis. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 14(3), 363-366.
- Pungpak, S., Bunnag, D., & Harinasuta, T. (1985). Studies on the chemotherapy of human opisthorchiasis: Effective dose of praziquantel in heavy infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 16(2), 248-252.
- Pungpak, S., Chalermrut, K., Harinasuta, T., Viravan, C., Schelp, P. F., Hempfling, A., . . . Bunnag, D. (1994). Opisthorchis viverrini infection in thailand: Symptoms and signs of infection—a population-based study. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(5), 561-564.  
doi:[https://doi.org/10.1016/0035-9203\(94\)90164-3](https://doi.org/10.1016/0035-9203(94)90164-3)
- Pungpak, S., Bunnag, D., & Harinasuta, T. (1984). Albendazole in the treatment of opisthorchiasis and concomitant intestinal helminthic infections. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 15(1), 44-50.
- Qian, M.-B., Utzinger, J., Keiser, J., & Zhou, X.-N. (2016). Clonorchiasis. *The Lancet*, 387(10020), 800-810.
- Rainboth, W. J. (1996). *Fishes of the cambodian mekong*. Roma: Food & Agriculture Org.
- Rim, H. J., Chai, J. Y., Min, D. Y., Cho, S. Y., Eom, K. S., Hong, S. J., . . . Hoang, E. H. (2003). Prevalence of intestinal parasite infections on a national scale among primary schoolchildren in laos. *Parasitol Res*, 91(4), 267-272. doi:10.1007/s00436-003-0963-x
- Rim, H. J., Sohn, W. M., Yong, T. S., Eom, K. S., Chai, J. Y., Min, D. Y., . . . Insisengmay, S. (2008). Fishborne trematode metacercariae detected in freshwater fish from vientiane municipality and savannakhet province, lao pdr. *Korean J Parasitol*, 46(4), 253-260. doi:10.3347/kjp.2008.46.4.253
- Rim, H. J., Sohn, W. M., Yong, T. S., Eom, K. S., Chai, J. Y., Min, D. Y., . . . Insisengmay, S. (2013). Fishborne trematode metacercariae in luang prabang, khammouane, and saravane province, lao pdr. *Korean J Parasitol*, 51(1), 107-114.  
doi:10.3347/kjp.2013.51.1.107
- Sadun, E. H. (1955). Studies on opisthorchis viverrini in thailand. *American journal of hygiene*, 62(2), 81-115.
- Saichua, P., Sithithaworn, P., Jariwala, A. R., Deimert, D. J., Sithithaworn, J., Sripana, B., . . .

- Bethony, J. M. (2013). Microproteinuria during opisthorchis viverrini infection: A biomarker for advanced renal and hepatobiliary pathologies from chronic opisthorchiasis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 7(5), e2228.  
doi:10.1371/journal.pntd.0002228
- Saijuntha, W., Duengai, K., Tangkawattana, S., Petney, T. N., Andrews, R. H., & Sithithaworn, P. (2018). Recent advances in the diagnosis and detection of opisthorchis viverrini sensu lato in human and intermediate hosts for use in control and elimination programs. *Advances in Parasitology*, 101, 177-214.
- Saijuntha, W., Sithithaworn, P., Kaitsopit, N., Andrews, R. H., & Petney, T. N. (2014). Liver flukes: Clonorchis and opisthorchis. In R. Toledo, & B. Fried (Eds.), in *Digenetic trematodes* (pp. 153-199). New York, NY: Springer New York.
- Sanpool, O., Aung, W. P. P., Rodpai, R., Maleewong, W., & Intapan, P. M. (2018). Human liver fluke opisthorchis viverrini (trematoda, opisthorchiidae) in central myanmar: New records of adults and metacercariae identified by morphology and molecular analysis. *Acta Tropica*, 185, 149-155.  
doi:https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.05.009
- Sanpool, O., Intapan, P. M., Thanchomnang, T., Janwan, P., Lulitanond, V., Doanh, P. N., . . . Nawa, Y. (2012). Rapid detection and differentiation of clonorchis sinensis and opisthorchis viverrini eggs in human fecal samples using a duplex real-time fluorescence resonance energy transfer pcr and melting curve analysis. *Parasitology Research*, 111(1), 89-96. doi:10.1007/s00436-011-2804-7
- 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.  
doi:https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.09.015
- Sawangsooda, P., Sithithaworn, J., Tesana, S., Pinlaor, S., Boonmars, T., Mairiang, E., . . . Sithithaworn, P. (2012). Diagnostic values of parasite-specific antibody detections in saliva and urine in comparison with serum in opisthorchiasis. *Parasitology international*, 61(1), 196-202.
- Sayasone, S., Mak, T. K., Vanmany, M., Rasphone, O., Vounatsou, P., Utzinger, J., . . . Odermatt, P. (2011). Helminth and intestinal protozoa infections, multiparasitism

- and risk factors in champasack province, lao people's democratic republic. *PLoS Negl Trop Dis*, 5(4), e1037. doi:10.1371/journal.pntd.0001037
- Scholz, T., Ditrich, O., & Giboda, M. (1990). Larval stages of medically important flukes (trematoda) from vientiane province, laos.-part. 1. Metacercariae. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 65(5-6), 238-243.
- Scholz, T., Ditrich, O., & Giboda, M. (1992). Study on the surface morphology of the developmental stages of the liver fluke, *opisthorchis viverrini* (trematoda: Opisthorchiidae). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 67(3), 82-90.
- Shin, H. R., Oh, J. K., Masuyer, E., Curado, M. P., Bouvard, V., Fang, Y. Y., . . . Hong, S. T. (2010). Epidemiology of cholangiocarcinoma: An update focusing on risk factors. *Cancer science*, 101(3), 579-585.
- Shoemaker, B., Baird, I. G., Baird, M., & Lao, P. (2001). *The people and their river*. Vientiane, Laos: Canada Fund for Local Initiatives.
- Silakit, R., Loilome, W., Yongvanit, P., Thongchot, S., Sithithaworn, P., Boonmars, T., . . . Chamadol, N. (2017). Urinary microrna-192 and microrna-21 as potential indicators for liver fluke-associated cholangiocarcinoma risk group. *Parasitology international*, 66(4), 479-485.
- Sithithaworn, P., Andrews, R. H., Nguyen, V. D., Wongsaroj, T., Sinuon, M., Odermatt, P., . . . Sripa, B. (2012). The current status of opisthorchiasis and clonorchiasis in the mekong basin. *Parasitol Int*, 61(1), 10-16. doi:10.1016/j.parint.2011.08.014
- Sithithaworn, P., & Haswell-Elkins, M. (2003). Epidemiology of *opisthorchis viverrini*. *Acta tropica*, 88(3), 187-194.
- Sithithaworn, P., Nuchjungreed, C., Srisawangwong, T., Ando, K., Petney, T. N., Chilton, N. B., & Andrews, R. H. (2007). Genetic variation in *opisthorchis viverrini* (trematoda: Opisthorchiidae) from northeast thailand and laos pdr based on random amplified polymorphic DNA analyses. *Parasitology Research*, 100(3), 613-617. doi:10.1007/s00436-006-0304-y
- Sithithaworn, P., Pipitgool, V., Srisawangwong, T., Elkins, D. B., & Haswell-Elkins, M. R. (1997). Seasonal variation of *opisthorchis viverrini* infection in cyprinoid fish in north-east thailand: Implications for parasite control and food safety. *Bull World Health Organ*, 75(2), 125-131.

- Sithithaworn, P., Tesana, S., Pipitgool, V., Kaewkes, S., Thaiklar, K., Pairojkul, C., . . . Aranyanat, C. (1991). Quantitative post-mortem study of *opisthorchis viverrini* in man in north-east thailand. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *85*(6), 765-768.
- Sohn, W.-M., Yong, T.-S., Eom, K. S., Min, D.-Y., Lee, D., Jung, B.-K., . . . Chai, J.-Y. (2014). Prevalence of *haplorchis taichui* among humans and fish in luang prabang province, lao pdr. *Acta Tropica*, *136*, 74-80.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.04.020>
- Sohn, W.-M., Yong, T.-S., Eom, K. S., Pyo, K.-H., Lee, M. Y., Lim, H., . . . Socheat, D. (2012). Prevalence of *opisthorchis viverrini* infection in humans and fish in kratie province, cambodia. *Acta tropica*, *124*(3), 215-220.
- Sohn, W. M., Choi, S. H., Jung, B. K., Hong, S., Ryoo, S., Chang, T., . . . Chai, J. Y. (2021). Prevalence and intensity of *opisthorchis viverrini* metacercarial infection in fish from phnom penh, takeo, and kandal provinces, cambodia. *Korean J Parasitol*, *59*(5), 531-536. doi:10.3347/kjp.2021.59.5.531
- Sohn, W. M., Jung, B. K., Hong, S. J., Lee, K. H., Park, J. B., Kim, H. S., . . . Chai, J. Y. (2019). Low-grade endemicity of *opisthorchiasis*, yangon, myanmar. *Emerg Infect Dis*, *25*(7), 1435-1437. doi:10.3201/eid2507.190495
- Sri-Aroon, P., Intapan, P. M., Lohachit, C., Phongsasakulchoti, P., Thanchomnang, T., Lulitanond, V., . . . Brey, P. T. (2011). Molecular evidence of *opisthorchis viverrini* in infected bithyniid snails in the lao people's democratic republic by specific hybridization probe-based real-time fluorescence resonance energy transfer pcr method. *Parasitology Research*, *108*(4), 973-978. doi:10.1007/s00436-010-2140-3
- Sripa, B. (2003). Pathobiology of *opisthorchiasis*: An update. *Acta tropica*, *88*(3), 209-220.
- 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*, S158-S168.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.07.006>
- Sripa, B., Kaewkes, S., Intapan, P. M., Maleewong, W., & Brindley, P. J. (2010). Chapter 11 - food-borne trematodiasis in southeast asia: Epidemiology, pathology, clinical manifestation and control. In X.-N. Zhou, R. Bergquist, R. Olveda, & J. Utzinger

- (Eds.), in *Advances in parasitology* (72, 305-350): Academic Press.
- Sripa, B., Suwannatrai, A. T., Sayasone, S., Do, D. T., Khieu, V., & Yang, Y. (2021). Current status of human liver fluke infections in the greater mekong subregion. *Acta Tropica*, 224, 106133. doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106133>
- Sripa, B., Tangkawattana, S., & Brindley, P. J. (2018). Chapter five - update on pathogenesis of opisthorchiasis and cholangiocarcinoma. In B. Sripa, & P. J. Brindley (Eds.), in *Advances in parasitology* (102, 97-113): Academic Press.
- Srisawangwong, T., Sithithaworn, P., & Tesana, S. (1997). Metacercariae isolated from cyprinoid fishes in khon kaen district by digestion technic. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 28 Suppl 1, 224-226.
- Stensvold, C. R., Saijuntha, W., Sithithaworn, P., Wongratanacheewin, S., Strandgaard, H., Ørnbjerg, N., & Johansen, M. V. (2006). Evaluation of pcr based coprodiagnosis of human opisthorchiasis. *Acta Tropica*, 97(1), 26-30. doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2005.08.008>
- Sukontason, K., Piangjai, S., Muangyimpong, Y., Sukontason, K., Methanitikorn, R., & Chaithong, U. (1999). Prevalence of trematode metacercariae from cyprinoid fish of ban pao district, Chiang Mai province, northern Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 30(2), 365-370.
- Suksumek, N., Leelawat, K., Leelawat, S., Russell, B., & Lek-Uthai, U. (2008). Taqman real-time pcr assay for specific detection of opisthorchis viverrini DNA in Thai patients with hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *Experimental Parasitology*, 119(2), 217-224. doi:<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.01.018>
- Sun, J., Xu, J., Liang, P., Mao, Q., Huang, Y., Lv, X., . . . Yu, X. (2011). Molecular identification of clonorchis sinensis and discrimination with other opisthorchid liver fluke species using multiple ligation-dependent probe amplification (mlpa). *Parasites & Vectors*, 4(1), 98. doi:10.1186/1756-3305-4-98
- Suwannatrai, A., Suwannatrai, S., Haruay, S., Piratae, S., Thammastiri, C., Khamphoo, P., . . . Suwanwerakamtorn, R. (2011). Effect of soil surface salt on the density and distribution of the snail bithynia siamensis goniomphalos in northeast Thailand. *Geospatial Health*, 5(2), 183-190.
- Tangkawattana, S., Sereerak, P., Upontain, S., Tangkawattana, P., & Sripa, B. (2021).

- Investigation of possible alternate animal reservoir hosts of *opisthorchis viverrini*. *Acta Tropica*, 217, 105850. doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105850>
- Tangkawattana, S., & Tangkawattana, P. (2018). Chapter three - reservoir animals and their roles in transmission of *opisthorchis viverrini*. In B. Sripa, & P. J. Brindley (Eds.), in *Advances in parasitology* (101, 69-95): Academic Press.
- Tantrawatpan, C., Intapan, P. M., Thanchomnang, T., Sanpool, O., Janwan, P., Lulitanond, V., . . . Maleewong, W. (2014). Development of a pcr assay and pyrosequencing for identification of important human fish-borne trematodes and its potential use for detection in fecal specimens. *Parasites & Vectors*, 7(1), 88. doi:10.1186/1756-3305-7-88
- Tantrawatpan, C., Saijuntha, W., Bunchom, N., Suksavate, W., Pilap, W., Walalite, T., . . . Petney, T. N. (2020). Genetic structure and geographical variation of *bithynia siamensis goniomphalos sensu lato* (gastropoda: Bithyniidae), the snail intermediate host of *opisthorchis viverrini sensu lato* (digenea: Opisthorchiidae) in the lower mekong basin revealed by mitochondrial DNA sequences. *International Journal for Parasitology*, 50(1), 55-62. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.10.007>
- Tesana, S., Kaewkes, S., Srisawangwonk, T., & Phinlaor, S. (1985). The distribution and density of *opisthorchis viverrini metacercariae* in cyprinoid fish in khon kaen province. *J Parasit Trop Med Ass Thai*, 8, 36-39.
- Tesana, S., Srisawangwong, T., Sithithaworn, P., Itoh, M., & Phumchaiyothin, R. (2007). The elisa-based detection of anti-*opisthorchis viverrini* igg and igg4 in samples of human urine and serum from an endemic area of north–eastern thailand. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 101(7), 585-591. doi:10.1179/136485907X229068
- Thaenkham, U., Nuamtanong, S., Vonghachack, Y., Yoonuan, T., Sanguankiat, S., Dekumyoy, P., . . . Waikagul, J. (2011). Discovery of *opisthorchis lobatus* (trematoda: Opisthorchiidae): A new record of small liver flukes in the greater mekong sub-region. *Journal of Parasitology*, 97(6), 1152-1158. doi:10.1645/ge-2764.1
- The Western Pacific Region, & World Health Organization. (2008). *Who review on the epidemiological profile of helminthiases and their control in the western pacific*

- region, 1997-200. Retrived May 20, 2021,  
<http://iris.wpro.who.int/handle/10665.1/5248>
- Thu, N. D., Dalsgaard, A., Loan, L. T., & Murrell, K. D. (2007). Survey for zoonotic liver and intestinal trematode metacercariae in cultured and wild fish in an giang province, vietnam. *Korean J Parasitol*, *45*(1), 45-54. doi:10.3347/kjp.2007.45.1.45
- Touch, S., Komalamisra, C., Radomyos, P., & Waikagul, J. (2009). Discovery of opisthorchis viverrini metacercariae in freshwater fish in southern cambodia. *Acta Tropica*, *111*(2), 108-113.  
 doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.03.002>
- Touch, S., Yoonuan, T., Nuamtanong, S., Homsuwan, N., Phuphisut, O., Thaenkham, U., & Waikagul, J. (2013). Seasonal variation of opisthorchis viverrini metacercarial infection in cyprinid fish from southern cambodia. *J Trop Med Parasitol*, *36*(36), 1-7.
- Traub, R. J., Macaranas, J., Mungthin, M., Leelayoova, S., Cribb, T., Murrell, K. D., & Thompson, R. C. A. (2009). A new pcr-based approach indicates the range of clonorchis sinensis now extends to central thailand. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *3*(1), e367. doi:10.1371/journal.pntd.0000367
- Umesha, K. R., Kumar, S., Parvathi, A., Duengngai, K., Sithithaworn, P., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2008). Opisthorchis viverrini: Detection by polymerase chain reaction (pcr) in human stool samples. *Experimental Parasitology*, *120*(4), 353-356. doi:<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.09.004>
- Upatham, E. S., Viyanant, V., Kurathong, S., Brockelman, W. Y., Menaruchi, A., Saowakontha, S., . . . Warren, K. S. (1982). Morbidity in relation to intensity of infection in opisthorchiasis viverrini: Study of a community in khon kaen, thailand. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, *31*(6), 1156-1163. doi:10.4269/ajtmh.1982.31.1156
- Upatham, E. S., Viyanant, V., Kurathong, S., Rojborwonwitaya, J., Brockelman, W. Y., Ardsungnoen, S., . . . Vajrasthira, S. (1984). Relationship between prevalence and intensity of opisthorchis viverrini infection, and clinical symptoms and signs in a rural community in north-east thailand. *Bull World Health Organ*, *62*(3), 451-461.
- Vajrasthira, S., Harinasuta, C., & Komiya, Y. (1961). The morphology of the metacercaria

- of opisthorchis viverrini, with special reference to the excretory system. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 55(4), 413-418.  
doi:10.1080/00034983.1961.11686068
- 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.
- Vatanasapt, V., Uttaravichien, T., Mairiang, E.-O., Pairojkul, C., Chartbanchachai, W., & Haswell-Elkins, M. (1990). Cholangiocarcinoma in north-east thailand. *Lancet (British edition)*, 335(8681), 116-117.
- Verdun, P., & Bruyant, L. (1908). La douve du chat opisthorchis felinus (riv.) existe au tonkin et s' observe chez l'homme. *Archives de Parasitologie*, 12, 125-134.
- Vichasri, S., Viyanant, V., & Upatham, E. (1982). Opisthorchis viverrini: Intensity and rates of infection in cyprinoid fish from an endemic focus in northeast thailand. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 13(1), 138-141.
- Waikagul, J. (1998). Opisthorchis viverrini metacercaria in thai freshwater fish. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 29(2), 324-326.
- Wang, Y.-C., Ho, R. C. Y., Feng, C.-C., Namsanor, J., & Sithithaworn, P. (2015). An ecological study of bithynia snails, the first intermediate host of opisthorchis viverrini in northeast thailand. *Acta Tropica*, 141, 244-252.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.02.009>
- Wattanawong, O., Iamsirithaworn, S., Kophachon, T., Nak-ai, W., Wisetmora, A., Wongsaroj, T., . . . Sripa, B. (2021). Current status of helminthiasis in thailand: A cross-sectional, nationwide survey, 2019. *Acta Tropica*, 223, 106082.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106082>
- Wongratanacheewin, S., Pumidonming, W., Sermswan, R. W., & Maleewong, W. (2001). Development of a pcr-based method for the detection of opisthorchis viverrini in experimentally infected hamsters. *Parasitology*, 122(2), 175-180.  
doi:10.1017/S0031182001007235
- Wongratanacheewin, S., Sermswan, R., & Sirisinha, S. (2003). Immunology and molecular biology of opisthorchis viverrini infection. *Acta tropica*, 88(3), 195-207.
- Wongratanacheewin, S., & Sirisinha, S. (1986). Analysis of opisthorchis viverrini antigens



- by radioimmunoprecipitation. *Asian Pac. J. Allerg. Immunol.*, 4, 62.
- Wongsaroj, T., Nithikathkul, C., Rojkitikul, W., Nakai, W., Royal, L., & Rammasut, P. (2017). Brief communication (original). National survey of helminthiasis in thailand. *Asian Biomedicine*, 8(6), 779-783. doi:doi:10.5372/1905-7415.0806.357
- Wykoff, D. E., Harinasuta, C., Juttijudata, P., & Winn, M. M. (1965). Opisthorchis viverrini in thailand: The life cycle and comparison with o. Felineus. *The Journal of Parasitology*, 51(2), 207-214. doi:10.2307/3276083
- Xu, G., Zhu, P., Zhu, W., Ma, B., Li, X., & Li, W. (2021). Characterization of the complete mitochondrial genome of notocotylus sp. (trematoda, notocotylidae) and its phylogenetic implications. *Parasitology Research*, 120(4), 1291-1301. doi:10.1007/s00436-021-07075-1
- Yong, T. S., Shin, E. H., Chai, J. Y., Sohn, W. M., Eom, K. S., Lee, D. M., . . . Socheat, D. (2012). High prevalence of opisthorchis viverrini infection in a riparian population in takeo province, cambodia. *Korean J Parasitol*, 50(2), 173-176. doi:10.3347/kjp.2012.50.2.173
- Zhang, Y., Gong, Q.-L., Lv, Q.-B., Qiu, Y.-Y., Wang, Y.-C., Qiu, H.-Y., . . . Wang, C.-R. (2020). Prevalence of clonorchis sinensis infection in fish in south-east asia: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Fish Diseases*, 43(11), 1409-1418. doi:https://doi.org/10.1111/jfd.13245
- Zhao, T.-T., Fang, Y.-Y., & Lai, Y.-S. (2021). Assessment of the burden of clonorchiasis and its temporal changes in china. *Zhongguo xue xi Chong Bing Fang zhi za zhi= Chinese Journal of Schistosomiasis Control*, 33(2), 162-168.
- Zhao, T.-T., Feng, Y.-J., Doanh, P. N., Sayasone, S., Khieu, V., Nithikathkul, C., . . . Lai, Y.-S. (2021). Model-based spatial-temporal mapping of opisthorchiasis in endemic countries of southeast asia. *eLife*, 10, e59755. doi:10.7554/eLife.59755



ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยนครพนม

ภาคผนวก ก ขั้นตอนและวิธีการการจำแนกชนิดปลา และตรวจหาตัวอ่อนระยะติดต่อพยาธิใบไม้  
ตับ *O. viverrini*

ขั้นตอนการจำแนกชนิดปลา และนับจำนวน วัดขนาด และชั่งน้ำหนัก



ขั้นตอนการย่อยปลาโดยใช้เทคนิค Artificial digestion method

- นำตัวอย่างปลามาปั่นโดยใช้เครื่องปั่น ให้ละเอียดผสมกับสารละลาย 0.7% pepsin solution



- เทตัวอย่างใส่ในบีกเกอร์นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง






- จากนั้นตัวอย่างโดยใช้ตะแกรงที่ขนาดต่างกัน ได้แก่ 600, 425, 250 และ 106 ไมโครเมตร







- ตกตะกอนใน 0.85% NaCl ใน sediment jar




ภาคผนวก ข ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างในประเทศไทย และตัวอ่อนระยะติดต่อเมตาเซอรคาร์เรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrine* กลุ่มปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

ชนิดปลา	ภาพ
ปลากปากเหลี่ยม ( <i>Cyclocheilichthys apogon</i> )	
ปลาใต้ต้นตาขาว ( <i>Cyclocheilichthys repasson</i> )	
ปลาสร้อยขาว ( <i>Henicorhynchus siamensis</i> )	

ชนิดปลา	ภาพ
ปลาแก้มช้ำ ( <i>Puntius orphoides</i> )	
ปลาตะเพียนทราย ( <i>Puntius brevis</i> )	
ปลาสร้อยนกเขา ( <i>Osteochilus hasseltii</i> )	
ปลาตะเพียนหางแดง ( <i>Barbodes schwanenfeldi</i> )	

ชนิดปลา	ภาพ
ปลาหนามหลัง ( <i>Mystacoleucus marginatus</i> )	
ปลากระมัง ( <i>Puntiplites proctozystron</i> )	
ปลาตะเพียนขาว ( <i>Barbodes gonionotus</i> )	
ปลาซิวคาวาย ( <i>Rasbora aurotaenia</i> )	

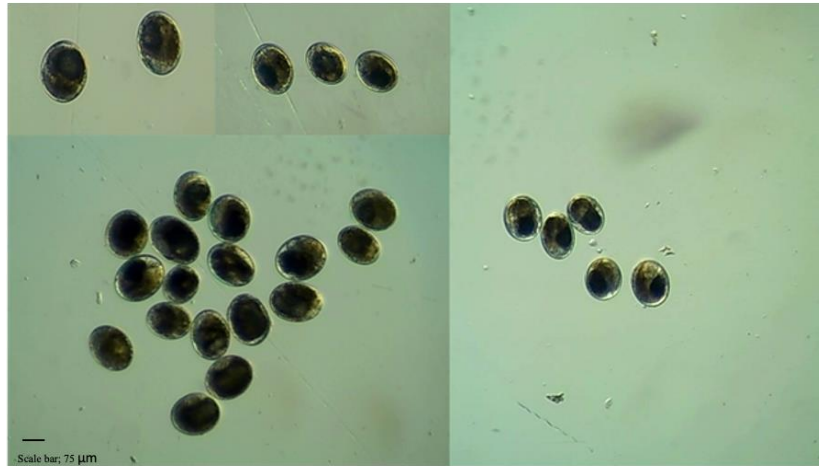


ชนิดปลา	ภาพ
ปลาซ่า ( <i>Osteochilus vittatus</i> )	

กลุ่มปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่ไม่พบรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

ชนิดปลา	ภาพ
ปลาชิว้า ( <i>Luciosoma bleekeri</i> )	
ปลาอีสกเทศ ( <i>Labeo rohita</i> )	
ปลานวลจันทร์ ( <i>Cirrhina microlepis</i> )	

ตัวอ่อนระยะติดต่อเมตาเซอ์คาร์เรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*



ตัวอ่อนระยะ metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ลักษณะกลมรี สีน้ำตาลเข้มภายในมองเห็นส่วนของ excretory bladder กลมมีสีดำขนาดใหญ่ และสามารถมองเห็นการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนภายในซิสต์ได้