การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในชุมชนเสี่ยง ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ณัฐชา แสงสว่างวัฒนะ

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาปรสิตวิทยา
ปีการศึกษา 2566
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในชุมชนเสี่ยง ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ณัฐชา แสงสว่างวัฒนะ

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาปรสิตวิทยา
ปีการศึกษา 2566
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในชุมชนเสี่ยง ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก"

ของ ณัฐชา แสงสว่างวัฒนะ

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปรสิตวิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงชวัลญ์ญา รัตนพิทูลย์)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาวัณย์ ภูมิดอนมิ่ง)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ ดร.รักษิณา พลสีลา)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ วิทย์ตะ)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

(รองศาสตราจารย์ ดร.นพวรรณ บุญชู)

อนุมัติ

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.กรองกาญจน์ ชูทิพย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ในชุมชนเสี่ยง ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ผู้วิจัย ณัฐชา แสงสว่างวัฒนะ
ประธานที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.วิลาวัณย์ ภูมิดอนมิ่ง
กรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.รักษิณา พลสีลา
รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ วิทย์ตะ

ประเภทสารนิพนธ์ วิทยานิพนธ์ วท.ม. ปรสิตวิทยา, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2566
คำสำคัญ พยาธิใบไม้ตับ, ปัจจัยเสี่ยง, ปลาวงศ์ปลาตะเพียน

บทคัดย่อ

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดี พบระบาดในหลายประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงประเทศไทย ชุมชนที่พบการระบาดสูงมักเป็นชุมชนที่มีวัฒนธรรมการบริโภคอาหารที่ทำจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุก ตำบลท่าสะแกเป็นพื้นที่ที่มีแม่น้ำและแหล่งน้ำกระจายอยู่ทุกหมู่บ้าน อีกทั้งประชากรนิยมรับประทานอาหารที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุก ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการติดเชื้อ และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รวมถึงศึกษาชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียน และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนจากแหล่งน้ำในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก กลุ่มประชากรที่เก็บตัวอย่างอุจจาระ ข้อมูลพื้นฐาน และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ คือ ประชากรที่มีอายุ 20 ปีขึ้นไปที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก การตรวจหาไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ใช้เทคนิค formalin ethyl acetate concentration และ kato thick smear เก็บข้อมูลโดยใช้แบบสอบถาม วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา และวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องด้วยการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกแบบ 2 กลุ่ม (Binary logistic regression) เก็บตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนโดยใช้ตาข่ายดักปลา และตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาโดยวิธี artificial digestion ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มตัวอย่างจำนวน 1,016 ราย พบผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รวม 98 ราย (ร้อยละ 9.65) เป็นเพศชาย (ร้อยละ 13.62) เพศหญิง (ร้อยละ 6.78) ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่จบการศึกษาระดับประถมศึกษา ประกอบอาชีพเกษตรกรรม และมีพฤติกรรมบริโภคอาหารพื้นบ้านที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุก ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ เพศชาย (ORadj= 1.63, 95% CI. 1.03-2.59) การรับประทานก้อยปลาดิบ (ORadj = 3.13, 95%CI. 1.84-5.30) และผู้ที่ไม่เคยกินยากำจัดพยาธิ (ORadj = 1.73, 95%CI. 1.05-

2.85) ในพื้นที่ 9 หมู่บ้านประกอบด้วยแหล่งน้ำทั้งหมด 7 แหล่ง พบปลาวงศ์ปลาตะเพียน 8 สกุล 11 ชนิด ชนิดที่พบมากที่สุด คือ ปลาตะเพียนขาว (*Barbonymus gonionotus*) ทั้งนี้ปลาทุกชนิดตรวจไม่พบเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* การศึกษานี้พบว่าในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลกยังคงพบการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และประชาชนมีพฤติกรรมการรับประทานอาหารที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุกที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี รวมถึงการมีชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่หลากหลายซึ่งเป็นโฮสต์ที่สำคัญสำหรับการแพร่กระจายของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ผลการศึกษาครั้งนี้เป็นประโยชน์อย่างมากในการวางแผนการดำเนินงาน เฝ้าระวัง ป้องกัน และควบคุมการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชนได้ในอนาคตต่อไป

Title INFECTION OF *OPISTHORCHIS VIVERRINI* IN HIGH RISK COMMUNITY THASAKAE SUBDISTRICT, CHAT TRAKAN DISTRICT PHITSANULOK PROVINCE

Author Nuttacha Sangsawangwattana

Advisor Associate Professor Wilawan Pumidonming, Ph.D.

Co-Advisor Associate Professor Raxsina Polseela, Ph.D.

Associate Professor Apichat Vitta, Ph.D.

Academic Paper M.S. Thesis in Parasitology - (Type A 2), Naresuan University, 2023

Keywords Liver fluke, Risk factors, Cyprinid fish

ABSTRACT

Cholangiocarcinoma (CCA) is significantly influenced by the presence of the liver fluke *Opisthorchis viverrini*, making it a crucial risk factor. This infection is prevalent in Southeast Asia, particularly in Thailand. Communities that have a tradition of consuming raw or undercooked cyprinid fish are particularly vulnerable to this infection. Thasakae Subdistrict, located in the Chat Trakan District of Phitsanulok Province. Residents have a preference for consuming dishes made from uncooked cyprinid fish. Additionally, the village contains various intermediate host habitats, rivers, and sources of water that are spread out. Therefore, the objectives of this study were to investigate *O. viverrini* infection and risk factors associated with the infection, including examining cyprinid fish species and *O. viverrini* metacercaria in fish in the Thasakae area. Stool samples were collected along with basic demographic information and risk factors from individuals aged 20 years and over. Stool examination using formalin ethyl acetate concentration and kato thick smear techniques. Risk factors were assessed using binary logistic regression. Cyprinid fish were collected using net and examined for *O. viverrini* using the artificial digestion method. The results showed that out of the 1,016 stool samples, a total of 98 cases (9.65%) were found to be infected with the *O. viverrini*, including males (13.62%) and females (6.78%). The majority of the infections were detected in participants who had primary school

education, worked in agriculture, had the habit of consuming uncooked cyprinid menu. Factors associated with *O. viverrini* infection were male (ORadj = 1.63, 95% CI 1.03-2.59), consuming chopped raw fish salad (koi pla) (ORadj = 3.13, 95% CI 1.84-5.30), and never having taken anthelmintic drugs (ORadj = 1.73, 95% CI 1.05-2.85). Cyprinid fish were caught from 7 bodies of water, and 11 species of the cyprinid fish were found. The most common type was the *Barbonymus gonionotus*. Metacercariae of the *O. viverrini* were not detected for all types of fish. The data from this study are considered the important to development of strategies for surveillance, prevention, and control of opisthorchiasis, which might reduce the incidence of cholangiocarcinoma.

ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ รองศาสตราจารย์ ดร. วิลาวัณย์ ภูมิดอนมิ่ง ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้อุตส่าห์สละเวลาอันมีค่ามาเป็นที่ปรึกษาพร้อมทั้งให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ และขอกราบขอบพระคุณกรรมการวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. รักษิณา พลสีลา และรองศาสตราจารย์ ดร. อภิชาติ วิทย์ตะ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์และทรงคุณค่า

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ชวัลญ์ญา รัตนพิทูลย์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. นพวรรณ บุญชู กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน ที่ให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวรที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์สถานที่รวมถึงอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ และอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดี กราบขอบพระคุณนายณัฐพงษ์ ฟองจางวาง ผู้อำนวยการโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลท่าสะแก จังหวัดพิษณุโลก ตลอดจนเจ้าหน้าที่โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลท่าสะแกทุกท่าน นายพายัพ แสงทอง นักวิชาการสาธารณสุขชำนาญการโรงพยาบาลชาติตระการที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการเก็บตัวอย่างรวมถึงข้อมูล และกราบขอบพระคุณอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้านทุกท่านรวมไปถึงประชากรในพื้นที่ตำบลท่าสะแกที่ให้ความร่วมมือ และอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดี และขอขอบคุณพี่ๆ สาขาวิชาปรสิตทุกท่านที่ช่วยเหลือสนับสนุน และให้คำแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

เหนือสิ่งอื่นใดขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ของผู้วิจัยที่ให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านอย่างดีที่สุดเสมอมา ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจบ้างไม่มากก็น้อย

ณัฐชา แสงสว่างวัฒนะ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

ประกาศคุณูปการ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความเป็นมาของปัญหา 1

จุดมุ่งหมายของการวิจัย 3

ขอบเขตของการวิจัย 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

อนุกรมวิธาน และสัณฐานวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 4

สัณฐานวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 4

วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 9

โฮสต์ตัวกลางของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 11

ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 14

โฮสต์ตัวกลางลำดับที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศไทย 18

โฮสต์ตัวกลางลำดับที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในต่างประเทศ 19

ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศไทย 20

ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในต่างประเทศ 22
ปัจจัยเสี่ยง (Risk factors) 24
พยาธิสภาพและอาการ 26
กระบวนการก่อโรคมะเร็งท่อน้ำดีจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 26
เทคนิคการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 28
การรักษาโรคพยาธิใบไม้ตับ (Opisthorchiasis) 33
การควบคุมป้องกันการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 34
นวัตกรรมการควบคุม ป้องกันการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 35

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 41
การศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในคน 41
การศึกษาข้อมูลประชากร ปัจจัยเสี่ยง และความรู้ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 51
การศึกษาชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียน และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน 53
การให้สุขศึกษาเรื่องการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่น ๆ 57
การประชุมชี้แจงและนำเสนอข้อมูล 58
จริยธรรมการวิจัย 59

บทที่ 4 ผลการวิจัย 60
ข้อมูลพื้นฐานประชากรกลุ่มตัวอย่างในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 60
การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 60
พื้นเพดั้งเดิมของประชากร และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 63
การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในแต่ละหมู่บ้านในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 65
ปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 67
ผลการทดสอบความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ของกลุ่มตัวอย่าง 71
ผลการตรวจยืนยันไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ตรวจพบในอุจจาระด้วยเทคนิค PCR 74

การติดเชื้อปรสิตชนิดอื่นในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 76
ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 77
การตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 81

บทที่ 5 บทสรุป 85
สรุปผลการวิจัย 85
อภิปรายผลการวิจัย 86

บรรณานุกรม 94

ภาคผนวก 110

ประวัติผู้วิจัย 120

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 แสดงตำแหน่งยีนเป้าหมายที่ใช้ในการตรวจหาไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้เทคนิค PCR 32

ตาราง 2 แสดงส่วนประกอบที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR 50

ตาราง 3 แสดง condition ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR 50

ตาราง 4 แสดงข้อมูลประชากร และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 61

ตาราง 5 แสดงจำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จำแนกตามพื้นเพดั้งเดิม 64

ตาราง 6 แสดงจำนวนการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในแต่ละหมู่บ้าน ในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 66

ตาราง 7 แสดงการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 68

ตาราง 8 แสดงจำนวนประชาชนที่ตอบคำถามความรู้เกี่ยวกับพฤติกรรมการป้องกันพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 72

ตาราง 9 แสดงจำนวนประชาชนที่ตอบคำถามความรู้เกี่ยวกับการติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 72

ตาราง 10 แสดงจำนวนประชาชนที่ตอบคำถามความรู้เกี่ยวกับการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 73

ตาราง 11 แสดงจำนวนประชาชนที่ตอบคำถามความรู้เกี่ยวกับโรคและอาการทางคลินิกที่มีสาเหตุจากพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 73

ตาราง 12 แสดงระดับความรู้เกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 73

ตาราง 13 แสดงชื่อปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 80

ตาราง 14 ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษาจำแนกตามหมู่บ้าน 81

ตาราง 15 แสดงปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษาจำแนกตามแหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่าง 83

ตาราง 16 แสดงผลการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่นในพื้นที่ตำบลท่าสะแก 115

ตาราง 17 แสดงผลการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่น ๆ โดยใช้เทคนิค Formalin ethyl acetate concentration (FECT) และเทคนิค Kato thick smear 115
ตาราง 18 แสดงปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กในพื้นที่หมู่ 4 ท่าสะแก 119

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ 1 พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัย(OS: oral sucker, PH: pharynx, CE: ceacum, VS: ventral sucker, VT: vitelline grands, UT: uterus, OV: ovary, TE: testis) (scale bars = 0.75 mm) 5

ภาพ 2 ระยะไข่ของพยาธิ: A) พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* B) พยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก *Haplochis* C) พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* D) *H. pumilio* E) *H. taichui* F) *P. bonnei* และ G) *P. molenkampi* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด 6

ภาพ 3 พยาธิใบไม้ตับ *O.viverrini*: A) ระยะตัวเต็มวัย B) ระยะไข่ C) ระยะเซอร์คาเรีย D) ระยะเมตาเซอร์คาเรีย (OS: oral sucker, VS: ventral sucker, EB: excretory bladder) 9

ภาพ 4 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 10

ภาพ 5 A) *B. funiculata* B) *B. s. goniomphalos* C) *B. s. simensis* 12

ภาพ 6 ลักษณะภายนอกของปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั่วไป 14

ภาพ 7 ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย A) ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*), B) ปลาตะโกก (*C. enoplos*), C) ปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*), D) ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), E) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*), F) ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*), G) ปลากระสูบจุด (*H. dispar*), H) ปลากระสูบขีด (*H. macrolepidota*) 17

ภาพ 8 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศไทย 22

ภาพ 9 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และ *C. sinensis* ในภูมิภาคลุ่มแม่น้ำโขงตอนล่าง ได้แก่ ประเทศไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว กัมพูชา เมียนมาร์ และเวียดนาม 24

ภาพ 10 หลักการและขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR 32

ภาพ 11 พื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 42

ภาพ 12 การประสานงานกับโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลท่าสะแกเพื่อนำชุดเก็บตัวอย่างอุจจาระมอบให้แก่ประชากร 44

ภาพ 13 แหล่งน้ำในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 54

ภาพ 14 การเก็บตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนจากแหล่งน้ำในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 55
ภาพ 15 อวัยวะภายนอก และส่วนต่างๆที่ใช้ในการจำแนกชนิดปลา 56
ภาพ 16 A-B ลักษณะตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีลักษณะกลมรี ภายในมองเห็น excretory bladder ขนาดใหญ่สีน้ำตาลเข้มสามารถเห็นการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนที่อยู่ภายในซีสต์ 57
ภาพ 17 การให้ความรู้ สุขศึกษา และคำแนะนำเพื่อให้ประชาชนรู้จักป้องกันตนเอง และครอบครัวไม่ให้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 58
ภาพ 18 การประชุมชี้แจงจำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่น 58
ภาพ 19 ระยะไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ตรวจด้วยเทคนิค A) FECT B) Kato thick smear 61
ภาพ 20 อัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 66
ภาพ 21 ผลการตรวจตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยเทคนิค PCR ที่ให้ PCR product ขนาด 330 bp (Lane M: 100 bp plus DNA marker, Lane N: negative control, Lane P: positive control (adult *O. viverrini*), Lane 1-14: ดีเอ็นเอจากตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*) 74
ภาพ 22 ผลการตรวจตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยเทคนิค PCR ที่ให้ PCR product ขนาด 330 bp (Lane M: 100 bp plus DNA marker, Lane N: negative control, Lane P: positive control (adult *O. viverrini*), Lane 15-28: ดีเอ็นเอจากตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*) 75
ภาพ 23 ผลการตรวจตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่ที่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยเทคนิค PCR ที่ให้ PCR product ขนาด 330 bp (Lane M: 100 bp plus DNA marker, Lane N: negative control, Lane P: positive control (adult *O. viverrini*), Lane 29-35: ดีเอ็นเอจากตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*) 75
ภาพ 24 แสดงความชุกการติดเชื้อปรสิตในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 76
ภาพ 25 ภาพปรสิตที่ตรวจพบจากตัวอย่างอุจจาระในพื้นที่ตำบลท่าสะแก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ตรวจด้วยเทคนิค FECT A) พยาธิเส้นด้าย (*S. stercoralis*) B) พยาธิปากขอ (hookworm) C) พยาธิตืด (*Taenia* spp.) D) พยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (MIFs) (scale bars = 50 μm) 76

ภาพ 26 ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก A) ปลากระมัง (*P. proctozystron*) B) ปลาตะโกก (*C. enoplos*) C) ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*) D) ปลาซิวควาย (*R. aurotaenia*) E) ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*) F) ปลาสร้อย (*H. siamensis*) G) ปลาตะเพียน (*B. gonionotus*) H) ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) I) ปลากา (*L. chrysophekadion*) J) ปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*) 78

ภาพ 27 ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษาจำแนกตามหมู่บ้าน 83

ภาพ 28 ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษาจำแนกตามแหล่งน้ำ 84

ภาพ 29 ลักษณะตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย A) *H. taichui* และ B) *H. pumilio* (scale bars = 50 µm) 119

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

การติดเชื้อปรสิตทางการแพทย์เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย ปรสิตที่พบการระบาดมากที่สุด คือ พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* (Pumidonming et al., 2018; Sithithaworn, Andrews, Nguyen, et al., 2012) ข้อมูลจากการสำรวจในปี พ.ศ. 2552 พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เฉลี่ยร้อยละ 8.7 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สูงกว่าภาคอื่น ๆ ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือร้อยละ 16.6 ภาคเหนือร้อยละ 10.0 ภาคกลางร้อยละ 1.3 และภาคใต้ร้อยละ 0.1 (Sithithaworn, Andrews, Nguyen, et al., 2012) การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ก่อให้เกิดโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) การติดเชื้อในระยะยาวก่อให้เกิดการอักเสบเรื้อรังเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma; CCA) ซึ่งเป็นโรคที่พบได้บ่อยในพื้นที่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รวมถึงพื้นที่ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยที่พบอัตราการเป็นมะเร็งท่อน้ำดีสูงกว่าพื้นที่อื่น ๆ (Sripa et al., 2011) การระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางภูมิประเทศ การกระจายตัวของโฮสต์ตัวกลางที่ 1 และโฮสต์ตัวกลางที่ 2 และพฤติกรรมการบริโภคอาหารพื้นบ้านที่ทำจากโฮสต์ตัวกลางที่ 2 ที่มีระยะติดต่อของพยาธิแบบไม่ปรุงสุก เช่น ก้อยปลา ปลาจ่อมและปลาส้ม (Pumidonming et al., 2018) การบริโภคอาหารที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางที่สองที่มีตัวอ่อนระยะติดต่อ (metacercaria) ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยไม่ปรุงให้สุกทำให้คนที่เป็นโฮสต์เฉพาะของปรสิตได้รับตัวอ่อนระยะติดต่อเข้าไป ตัวอ่อนเจริญเป็นตัวเต็มวัยในท่อน้ำดี และสามารถอาศัยอยู่ในท่อทางเดินน้ำดีได้นานกว่า 20 ปี หรือจนกว่าจะได้รับยากำจัดพยาธิออกไป (Sripa et al., 2011)

ในปัจจุบันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สามารถรักษาได้โดยใช้ยาพราซิควอนเทล (praziquantel) แต่ปัญหาสำคัญ คือ ประชากรในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการระบาดของโรคไม่ได้รับการตรวจรักษาโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) อย่างสม่ำเสมอ การติดเชื้อซ้ำจากพฤติกรรมการบริโภคอาหารพื้นบ้านแบบไม่ปรุงสุก และการขับถ่ายที่ไม่ถูกสุขอนามัยส่งผลให้ในพื้นที่เสี่ยงยังมีการระบาดของเชื้อปรสิตอยู่ (Thinkhamrop et al., 2019) การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในระยะแรก หรือการติดเชื้อในปริมาณน้อย (light infection) จะไม่มีอาการทางคลินิกที่ชัดเจน แต่อาจ

สังเกตเห็นอาการท้องอืด แน่นท้อง เจ็บบริเวณใต้ชายโครงขวา ใต้ลิ้นปี่ ปวดหลัง อ่อนเพลีย แต่การติดเชื้อระยะรุนแรงเป็นเวลานานมีความสัมพันธ์กับอาการของโรคตับ และท่อน้ำดีหลายชนิด เช่น ท่อน้ำดีอักเสบ โรคดีซ่าน ตับโต ถุงน้ำดีอักเสบรวมไปถึงโรคมะเร็งท่อน้ำดี โรคมะเร็งตับ และท่อทางเดินน้ำดีซึ่งมีระยะเวลาการฟักตัวของโรคนาน ส่วนมากจะตรวจพบในระยะสุดท้ายซึ่งรักษาได้ยาก ผู้ป่วยมีอัตราการเสียชีวิตสูง (Sripa et al., 2007) จากการศึกษาด้านระบาดวิทยาพบว่าอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งท่อน้ำดีมีความสัมพันธ์กับความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ดังนั้นการศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชนเสี่ยงต่อการระบาดของโรค การให้การรักษา สุขศึกษา และการเฝ้าระวัง สามารถลดอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งท่อน้ำดีได้

จังหวัดพิษณุโลกเป็นจังหวัดในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างที่พบการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เช่น ในพื้นที่ตำบลไทรย้อย อำเภอเนินมะปราง พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 12 (Pumidonming et al., 2018) ปี พ.ศ. 2563 พื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการได้ทำการตรวจหาการติดเชื้อปรสิตในอุจจาระในประชาชนจำนวน 768 ราย พบการติดเชื้อปรสิตหนอนพยาธิจำนวน 72 ราย (ร้อยละ 9.38) เป็นพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 61 ราย (ร้อยละ 84.72) พยาธิตืด 9 ราย (ร้อยละ 12.50) และพยาธิไส้เดือน 2 ราย (ร้อยละ 2.78) ตำบลท่าสะแกเป็นพื้นที่ที่มีคลอง หรือแม่น้ำไหลผ่านทุกหมู่บ้านครอบคลุม 9 หมู่บ้าน แหล่งน้ำที่สำคัญในพื้นที่ได้แก่ ลำน้ำภาค ลำน้ำคลึง และแม่น้ำแควน้อย ลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่เอื้อต่อการแพร่กระจายของโฮสต์ตัวกลางของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รวมถึงประชากรในพื้นที่มีการบริโภคอาหารแบบไม่ปรุงสุก โดยเฉพาะอาหารที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่เป็นโฮสต์ตัวกลางของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เพื่อเป็นการเฝ้าระวัง ควบคุม ป้องกัน และลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็งตับ และท่อทางเดินน้ำดี ที่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จึงควรมีการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องเพื่อเฝ้าระวัง และแก้ไขปัญหาการระบาดได้ตรงประเด็น จึงนำไปสู่การศึกษาวิจัยในเรื่องการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชนเสี่ยงตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก โดยจะประยุกต์ใช้ความรู้ทางทฤษฎีร่วมกับการสนับสนุนทางสังคม รวมถึงทำการรักษาผู้ติดเชื้อ เสริมสร้างพฤติกรรมการป้องกัน และควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประชาชน เพื่อลดความเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งตับ และท่อน้ำดีในพื้นที่ต่อไป

จุดมุ่งหมายของการวิจัย

1. ศึกษาอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

2. ศึกษาปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

3. ตรวจยืนยันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยวิธี polymerase chain reaction

4. ศึกษาชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียน และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนจากแหล่งน้ำในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาเป็นแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study) เพื่อศึกษาอัตราการติดเชื้อ และปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียน และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน ขอบเขตการศึกษาวิจัยครอบคลุมพื้นที่ 9 หมู่บ้านของพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก ตัวอย่างส่งตรวจ คือ ตัวอย่างอุจจาระ การเก็บข้อมูลพื้นฐานประชากรใช้แบบสอบถาม ประชากรกลุ่มตัวอย่าง คือ ประชากรที่มีอายุ 20 ปีขึ้นไป ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ 9 หมู่บ้านในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ประชากรกลุ่มเสี่ยง และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลกได้ข้อมูลอัตราการติดเชื้อ ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้อง ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่เป็นโฮสต์ตัวกลางที่ 2 ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ตำบลท่าสะแกที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการควบคุม ป้องกันและเฝ้าระวังการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ทำให้การติดเชื้อ และความเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งตับ และท่อทางเดินน้ำดีลดลง

บทที่ 2

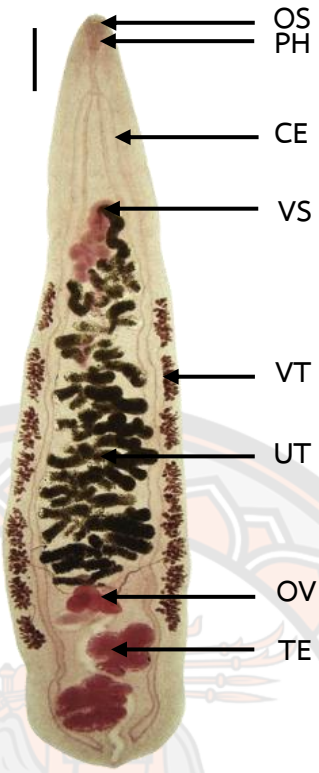
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อนุกรมวิธาน และสัณฐานวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Poirier, 1886) จัดอยู่ใน Phylum Platyhelminthes (flat worm), Class Trematoda (flukes), Subclass Digenea, Order Opisthorchiformes, Family Opisthorchiidae, Genus Opisthorchis

สัณฐานวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

1. ระยะตัวเต็มวัย (Adult) มีลักษณะลำตัวแบนยาวคล้ายใบหอก (lancet shape) ขณะมีชีวิตลำตัวบางใส มี 2 เพศในตัวเดียวกัน (monoecious) มีอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ และเพศเมียอยู่ในตัวเดียวกัน ขนาดของลำตัวเฉลี่ยยาว 5.4 – 10.2 มิลลิเมตร กว้าง 0.8 – 1.9 มิลลิเมตร มีอวัยวะที่ใช้ยึดเป็นกล้ามเนื้อรูปถ้วยเรียกว่า sucker คือ oral sucker อยู่ที่ส่วนปากซึ่งอยู่เกือบปลายสุดของส่วนหน้า (anterior) 1 อัน และบริเวณกลางลำตัว หรือด้านท้าย (posterior) 1 อันเรียกว่า ventral sucker หรือacetabulum ระบบทางเดินอาหารประกอบด้วย คอหอย (pharynx) มีลักษณะเป็นมัดกล้ามเนื้อ ต่อจากคอหอยเป็นหลอดอาหาร (esophagus) สั้นแล้วเป็นลำไส้แยกออกเป็นสองแขนงยาวไปทางด้านข้างของลำตัวถึงส่วนท้าย ระบบทางเดินอาหารเป็นแบบท่อตันไม่มีทวารหนักจึงขับถ่ายของเสียออกทางปาก ระบบสืบพันธุ์เพศเมีย ประกอบด้วยมดลูก (uterus) ขดไปมาอยู่กลางลำตัวตั้งแต่ ventral sucker ไปจนถึงรังไข่ รังไข่ (ovary) 1 อัน ลักษณะเป็นกลีบอยู่ทางด้านหน้าของอัณฑะ (testes) และบริเวณใกล้เคียงเป็นถุงรับสเปิร์ม (seminal receptacle) ต่อมสร้างไข่แดง (vitelline grands) เป็น follicles เล็ก ๆ กระจายอยู่สองข้างของลำตัวตั้งแต่ ventral sucker จนถึงอัณฑะ ระบบสืบพันธุ์เพศผู้ ประกอบไปด้วย อัณฑะ 2 อัน ลักษณะของอัณฑะเป็นก้อนมีร่องลึกคล้ายกรีบดอกไม้ อัณฑะเรียงเยื้องกันตามความยาวของลำตัว (Kaewkes, 2003) (ภาพ 1 และภาพ 3A)

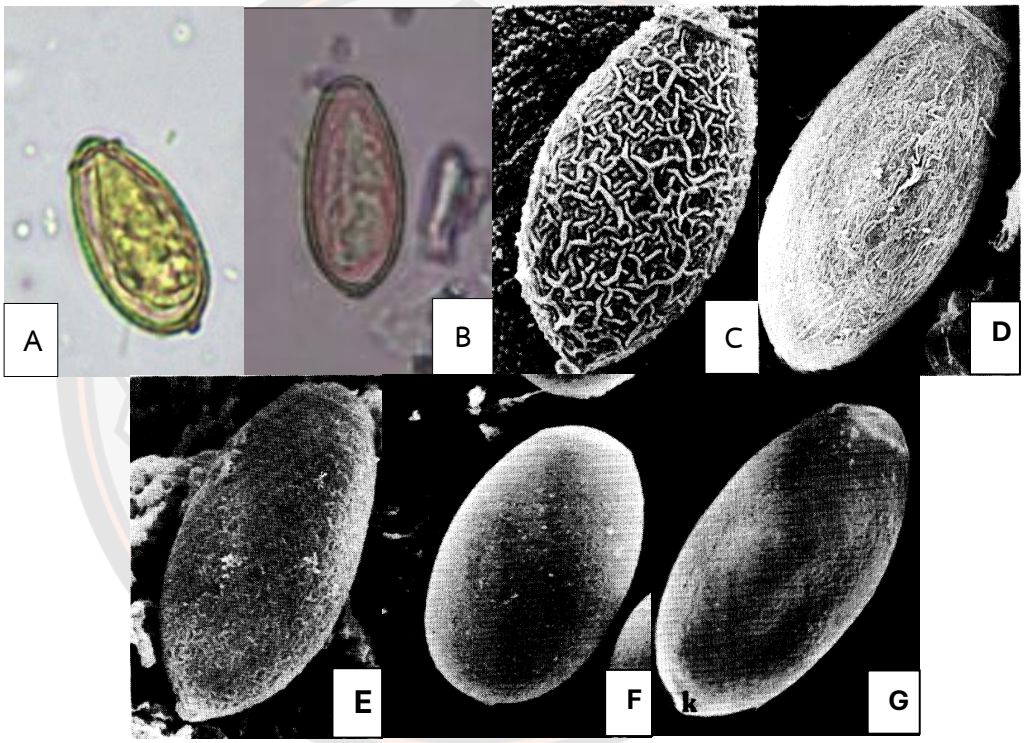


ภาพ 1 พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัย(OS: oral sucker, PH: pharynx, CE: ceacum, VS: ventral sucker, VT: vitelline grands, UT: uterus, OV: ovary, TE: testis) (scale bars = 0.75 mm)

ที่มา: Jung et al., 2023

2. ระยะไข่ (Egg) มีขนาด 22-23 x 11–12 ไมโครเมตร รูปร่างรีคล้ายหลอดไฟ สีน้ำตาลปนเหลือง เปลือกไข่หนาและขรุขระ มีฝาปิด (operculum) ชัดเจน รอยฝาปิดมีส่วนเปลือกไข่ยื่นออกมาเรียกว่าไหล่ (shoulder) ส่วนท้ายของไข่ค่อนข้างกว้างตรงปลายมีตุ่มเล็ก ๆ (knob) ไข่ที่ออกมากับอุจจาระใหม่ ๆ จะมีตัวอ่อนระยะไมราซิเดียเจริญเต็มที่อยู่ภายใน (ภาพ 2A และภาพ 3B) ระยะไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีรูปร่างลักษณะที่คล้ายกับไข่ของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กในวงศ์ Lecithodendriidae ได้แก่ *Phaneropsolus bonnei* และ*Prosthodendrium molenkampi* และพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กวงศ์ Heterophyidae ได้แก่ *Haplochis taichui* และ *Haplorchis pumilio* (Sripa et al., 2011) ไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีลักษณะต่างจากไข่ของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กตรงที่ไข่ของพยาธิใบไม้ลำไส้จะมีฝาปิดบาง ไหล่ และจุกมองเห็นได้ไม่ชัด ผิวของเปลือกไข่เรียบ (ภาพ 2B) นอกจากนี้เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

ลายที่ผิวของไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จะชัด และเส้นลายมีขนาดใหญ่กว่า (ภาพ 2C) ในขณะที่ผิวของไข่พยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กมีเส้นลายเล็ก หรือบางชนิดไม่มีลายบนผิวไข่ (ภาพ 2D-G) (Tesana et al., 1991) นอกจากนี้สามารถทำการย้อมสีเพื่อดูลักษณะผิวของไข่ เช่น การย้อมโดยใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ($KMnO_4$) หรือการใช้สีเมทิลีนบลู (methylene blue) และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงจะสังเกตเห็นพื้นผิวของเปลือกไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีลักษณะเหมือนแตงไทย มีลักษณะขรุขระ เห็นสันนูนบนผิวของเปลือกได้ชัด (Pasuralertsakul et al., 2005; Sukontason et al., 1999)



ภาพ 2 ระยะไข่ของพยาธิ: A) พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* B) พยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก *Haplochis* C) พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* D) *H. pumilio* E) *H. taichui* F) *P. bonnei* และ G) *P. molenkampi* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

ที่มา: Waikagul et al., 2014

3. ตัวอ่อนระยะไมราซิเดียม (Miracidium) เป็นตัวอ่อนที่เจริญอยู่ภายในไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รูปร่างคล้ายกระสวย มีขน (cilia) ปกคลุมรอบลำตัว ส่วนหลัง (posterior) มีตัวอ่อน (embryos) ที่จะพัฒนาไปเป็นตัวตัวอ่อนระยะสปอร์โรซีสต์ (sporocyst) ส่วนหัวมีปุ่มปลายแหลม (apical papilla) ยืดหดได้ใช้เกาะติดกับเนื้อหอยแล้วขับน้ำย่อยเพื่อช่วยในการไชเข้าสู่เนื้อหอย และมีต่อมไช (penetration glands) เปิดสู่ภายนอกใช้สำหรับไชเข้าหอย ชอนไชเข้าไปจนหมดภายในเวลา 30 นาที ขณะไชเข้าไป cilia จะหลุดออก จากนั้นไมราซิเดียมจะเข้าสู่อวัยวะภายในเจริญไปเป็นสปอร์โรซีสต์ เมื่อไมราซิเดียมออกจากไข่สามารถว่ายน้ำได้อย่างอิสระ (free-swimming) ด้วยอัตราเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อวินาที

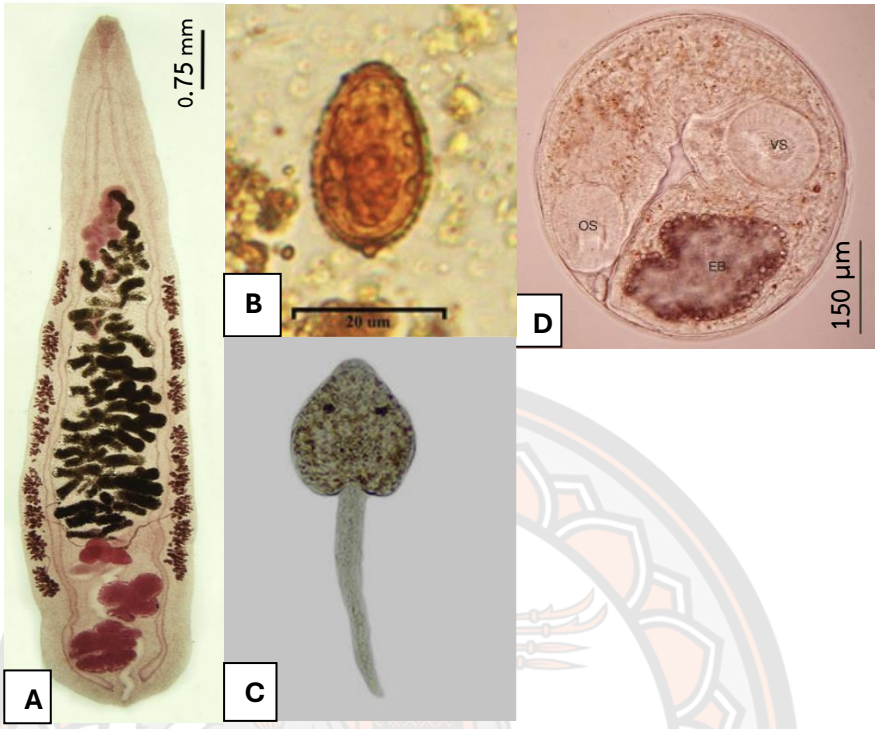
4. ตัวอ่อนระยะสปอร์โรซีสต์ (Sporocyst) ไม่มีปาก หรือระบบย่อยอาหาร ดูดซึมสารอาหารจากเนื้อเยื่อของโฮสต์ มีผนังลำตัวหนา ตัวอ่อนภายในสามารถพัฒนาเป็นระยะเรเดียได้

5. ตัวอ่อนระยะเรเดีย (Redia) ตัวอ่อนระยะเรเดียมีขนาดความยาวของลำตัว 0.18 - 1.1 มิลลิเมตร และกว้าง 0.08 - 0.28 มิลลิเมตร มีปาก คอหอย และลำไส้ ใช้กล้ามเนื้อคอหอย และเยื่อหุ้มด้านนอก (tegument) ในการดูดซึมอาหาร ตัวอ่อนระยะเรเดียจะพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียต่อไป (Wykoff et al., 1965)

6. ตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรีย (Cercariae) ลำตัวกลมรี สีน้ำตาลอ่อน มี eye spots 1 คู่ หลอดอาหารแยกออกเป็น 2 ทาง มี oral sucker อยู่บริเวณด้านหน้าของลำตัว มี ventral sucker เจริญไม่เต็มที่อยู่กลางลำตัว pharynx รูปร่างกลมขนาดเล็กอยู่ตรงกลาง excretory vesicle ขนาดใหญ่ หางเรียวยาวกว่าความยาวลำตัวเล็กน้อย มีครีบหลังที่บริเวณหาง (dorso-ventral finfolds) เมื่อเจริญเต็มที่เซอร์คาเรียจะไชออกจากหอยเข้าสู่ปลาวงศ์ปลาตะเพียนซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางที่สอง (ภาพ 3C) (Anucherngchai et al., 2017)

7. ตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย (Metacercariae) มีลักษณะกลมรี มีผนัง 2 ชั้น ผนังชั้นนอกหนาประมาณ 3 - 8 ไมโครเมตร ผนังชั้นในบางมาก ขนาดของซีสต์เฉลี่ย 201 x 167 ไมโครเมตร ตัวอ่อนที่อยู่ภายในซีสต์มีลักษณะเป็นรูป C-shaped มองเห็น oral suckers และ ventral suckers ได้ชัดเจน มีลักษณะกลมมน ขนาดใกล้เคียงกัน oral sucker มีขนาดเฉลี่ย 60 x 67.9 ไมโครเมตร และ ventral suckers มีขนาดเฉลี่ย 72.7 x 76.5 ไมโครเมตร prepharynx สั้นมีขนาดประมาณ 26.3 x 17.2 ไมโครเมตร ยื่นออกมาจาก oral sucker เพื่อเชื่อมกับคอหอย (oval pharynx) หลอดอาหาร (oesophagus) ที่แยกออกเป็นสองทาง ระบบขับถ่ายประกอบด้วยกระเพาะปัสสาวะ (bladder) รูขับถ่าย (excretory pore) ท่อนำปัสสาวะ (collecting tubule) เส้นเลือดฝอย (capillaries) และเฟลมเซลล์ (flame cell) excretory bladder เต็มไปด้วย calcareous corpuscles จำนวนมาก รูขับถ่าย (excretory pore) เปิดออกทางปลายสุดของ bladder ตัวอ่อนมีรูปร่างเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าเรียวเล็กไปทางส่วนหน้า ความยาวโดยเฉลี่ยประมาณ 558 ไมโครเมตร

กว้าง 145 ไมโครเมตร ผิวชั้นนอกทั้งหมดยกเว้นบริเวณ oral suckers และventral suckers ถูกปกคลุมด้วยหนาม (spines) เล็ก ๆ ลักษณะเฉพาะของเมตาเซอร์คาเรียในวงศ์ Opisthorchiidae ส่วนที่ต่างจากพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (MIFs) คือ เมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีขนาดประมาณ 201 x 167 ไมโครเมตร ซึ่งใหญ่กว่าของ *C. sinensis* ที่มีขนาดประมาณ 140 x 113 ไมโครเมตร สามารถมองเห็น oral sucker และventral sucker ได้ และไม่มีส่วนของ ventrogenital sac สามารถมองเห็น excretory bladder ลักษณะกลม และเห็นแกรนูลสีดำภายใน นอกจากนี้ลักษณะเฉพาะอีกประการหนึ่งของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ ผนังซีสต์บาง สามารถทำให้ตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียออกจากซีสต์ได้ง่ายด้วยการกดเล็กน้อยบนกระจกปิดสไลด์ ซึ่งต่างกับตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของ *O. felineus* และ*C. sinensis* ที่สามารถนำตัวอ่อนออกจากซีสต์ได้โดยการย่อยด้วยน้ำย่อยและทริปซินเท่านั้น และตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีเซลล์ขนรับความรู้สึก (sensory hairs) หลายเส้นที่บริเวณส่วนท้ายของร่างกาย ในขณะที่ *C. sinensis* ไม่มี และ excretory corpuscles ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยทั่วไปมีขนาดเล็กกว่าของ *C. sinensis* ตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่โตเต็มที่จะเคลื่อนไหวไปมาได้ที่อุณภูมิห้อง พบได้ในอวัยวะหลายส่วนของปลา พบได้มากที่บริเวณหาง และกล้ามเนื้อหาง (ภาพ 3D) (Vajrasthira et al., 1961)



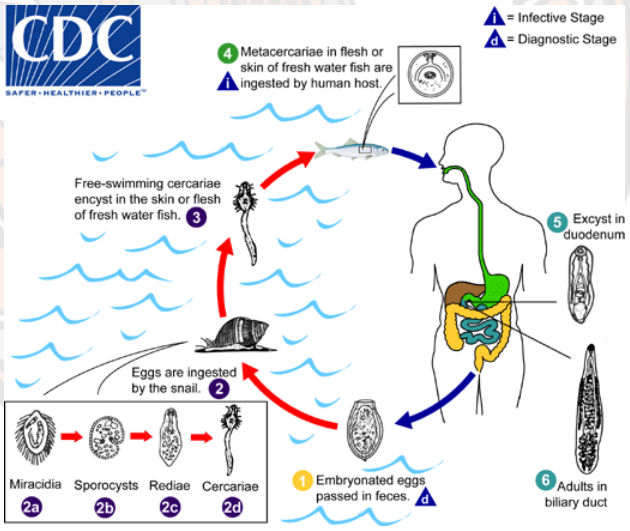
ภาพ 3 พยาธิใบไม้ตับ *O.viverrini*: A) ระยะตัวเต็มวัย B) ระยะไข่ C) ระยะเซอร์คาเรีย D) ระยะเมตาเซอร์คาเรีย (OS: oral sucker, VS: ventral sucker, EB: excretory bladder)

ที่มา: Johansen et al., 2015; Nguyen et al., 2021; Rim et al., 2008

วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีคนเป็นโฮสต์เฉพาะ (definitve host) มีหอยไซ หรือหอยทราย (*Bithynia* spp.) เป็นโฮสต์ตัวกลางที่หนึ่ง (first intermediate host) ซึ่งในประเทศไทยมีรายงาน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bithynia siamensis goniomphalos* (*B. s. goniomphalos*) พบได้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ *Bithynia siamensis siamensis* (*B. s. siamensis*) พบได้ในภาคตะวันตกและภาคกลาง และ*Bithynia funiculata* (*B. funiculata*) พบได้ในภาคเหนือของประเทศไทย (Petney et al., 2012) มีปลาวงศ์ปลาตะเพียน (cyprinid fish) เป็นโฮสต์ตัวกลางที่สอง มีสุนัข และแมวเป็นโฮสต์กักตุน (reservoir host) พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ในท่อทางเดินน้ำดี และถุงน้ำดีของคนซึ่งเป็นโฮสต์เฉพาะ หรือโฮสต์กักตุน เช่น สุนัขและแมว เมื่อตัวเต็มวัยผสมพันธุ์ออกไข่ ไข่จะปนออกมากับน้ำดีเข้าสู่ลำไส้เล็ก และออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกมากับอุจจาระของโฮสต์ เมื่อไข่ตกลงสู่แหล่งน้ำจืด และถูกกินโดยหอยน้ำจืดสกุล *Bithynia* spp. ตัวอ่อนระยะไมรา

ซิเดียม (miracidium) ที่เจริญอยู่ภายในไข่จะฝักออกจากไข่ในระบบทางเดินอาหารของหอย และสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเจริญเป็นตัวอ่อนระยะสปอร์โรซีสต์ (sporocyst) และเจริญไปเป็นรีเดียและเซอร์คาเรีย จากนั้นเซอร์คาเรียจะถูกปล่อยออกมาทุกวันประมาณ 2 เดือนหลังการติดเชื้อ ตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียจะไชออกจากหอยเข้าสู่ปลาวงศ์ปลาตะเพียนซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางที่สอง โดยจะไชเข้าไปอยู่ใต้ครีบ ใต้เกล็ดและเนื้อปลา พัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย (metacercaria) ฝังตัวในรูปซีสต์ซึ่งเป็นระยะติดต่อ (infective stage) ในเวลาประมาณ 3 สัปดาห์ เมื่อคนที่เป็นโฮสต์เฉพาะ หรือสัตว์ที่เป็นโฮสต์กักตุนกินปลาที่มีระยะเมตาเซอร์คาเรียเข้าไป ตัวอ่อนจะออกจากซีสต์บริเวณลำไส้เล็กตอนต้น (duodenum) หรือลำไส้เล็กตอนกลาง (jejunum) แล้วเดินทางเข้าสู่ท่อน้ำดีในตับ อาศัยอยู่ในท่อน้ำดี และถุงน้ำดีในคน พัฒนาจนเจริญเป็นระยะตัวเต็มวัยภายในเวลาประมาณ 4 สัปดาห์ จากนั้นสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศออกไข่เป็นวัฏจักรต่อไป และตัวเต็มวัยสามารถอาศัยอยู่ภายในร่างกายโฮสต์ได้นานกว่า 25 ปี (ภาพ 4) (Khampoosa et al., 2018; Prasopdee et al., 2015; Sithithaworn, Andrews, et al., 2014)



ภาพ 4 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

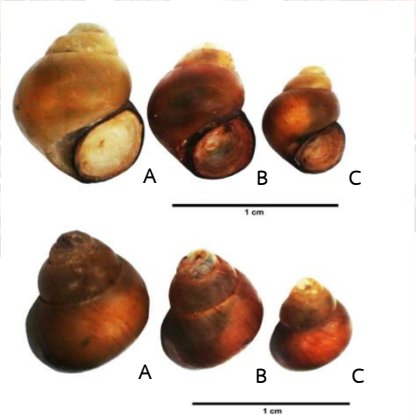
ที่มา: Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria, 2018

โฮสต์ตัวกลางของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

โฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่ง (First intermediate host)

โฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่งของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ หอยน้ำจืดสกุล *Bithynia* spp. อยู่ใน phylum Mollusca, class Gastropoda, subclass Prosobranchia, order Mesogastropo - da, superfamily Rissooidea, family Bithyniidae หอยในวงศ์ Bithyniidae ที่เป็นโฮสต์ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bithynia siamensis goniomphalos* (*B. s. goniomphalos*) พบได้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว เวียดนามตอนใต้ และทะเลสาบเขมร (Tonle Sap) ในกัมพูชา *Bithynia siamensis siamensis* (*B. s. siamensis*) พบได้ในภาคตะวันตก และภาคกลางของประเทศไทย ตอนใต้ของมัณฑะเลย์ (Mandalay) ในพม่า และ *Bithynia funiculata* (*B. funiculata*) พบได้ในภาคเหนือของประเทศไทย โดยทั่วไปหอยในวงศ์ Bithyniidae จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืดที่ไหลช้า ดินโคลน แม่น้ำ สระน้ำ ทะเลสาบ บึง คลองชลประทาน หนองน้ำ โขดหิน หรือพืชน้ำ มีการศึกษาพบว่า *B. s. goniomphalos* เป็นสายพันธุ์ที่สามารถอาศัยอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่หลากหลายแต่จะพบมากที่สุดในนาข้าวทั้งบนโคลน และในโคลน บนโขดหิน อ่างเก็บน้ำ และชอบอาศัยตามพื้นที่ที่มีพืชน้ำขึ้นน้อย นอกจากนี้พบได้ที่ความลึกมากกว่า 1.5 เมตร อุณหภูมิของน้ำตั้งแต่ 18 - 33 องศาเซลเซียส ความขุ่น 8 - 450 FTU, pH ตั้งแต่ 6.3 - 8.5 และค่าออกซิเจนในน้ำ (dissolved oxygen, DO) ตั้งแต่ 2–10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ *B. s. siamensis* พบมากในคลองชลประทาน และคูระบายน้ำที่มีน้ำไหล สระน้ำเทียม มีพืชน้ำ เช่น ใบบัว และสาหร่าย (Petney et al., 2012) สำหรับ *B. funiculata* พบในนาที่มีดินร่วนปนดินเหนียว แต่ไม่พบในคลองชลประทาน หรือในนาที่มีดินทรายปนดินเหนียว รวมถึงชอบอาศัยในแหล่งน้ำใส ความลึกน้อยกว่า 30 เซนติเมตร อุณหภูมิระหว่าง 24.5 - 31.8 องศาเซลเซียส ค่าออกซิเจนในน้ำ (dissolved oxygen, DO) ตั้งแต่ 2.0-7.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าออกซิเจนในน้ำ (DO%) 26.70-95.00 % ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) 0.000-0.2642 mS/cm ความขุ่น 16.00 - 288.00 NTU และ ค่า pH อยู่ระหว่าง 6.58 - 7.56 (Ngern-klun et al., 2006) และการศึกษาอัตราการติดเชื้อของหอยในวงศ์ Bithyniidae พบว่าอัตราการติดเชื้อสัมพันธ์กับอายุ และสายพันธุ์ของโฮสต์โดย *B. s. siamensis* ขนาดเล็ก (2–4 มม.) มีความไวต่อการติดเชื้อมากกว่าขนาดตัวเต็มวัย (6–8 มม.) (Chanawong & Waikagul, 1991) นอกจากนี้ *B. funiculata* และ*B. s. siamensis* มีความไวต่อการติดเชื้อสูงกว่า *B. s goniomphalos* ประมาณ 4 – 7 เท่า และหอยที่มีอายุ 1-3 เดือน มีความไวต่อการติดเชื้อสูงกว่าหอยที่มีอายุมาก (Thammasiri et al., 2009) การจำแนกชนิดของหอยวงศ์ Bithyniidae สามารถจำแนกโดยใช้ขนาด รูปทรง สี ลวดลายบนเปลือก และฝาปิดเปลือก (operculum) รวมทั้งรูปทรง และรูปแบบการจัดเรียงตัวของฟัน (radula teeth) (Jumlongpho & Tabsripair, 2012)

โดยลักษณะทั่วไปของหอยวงศ์ Bithyniidae คือ เปลือกหอยขดเวียนขวา (dextral) ขอบปากเปลือก (peristome) ไม่เว้าเป็นคลื่น (sinuate) ฝาปิดช่องเปลือกมีลวดลายเป็นวงเดี่ยวซ้อนกันหลายวง (operculum concentric) เปลือกเป็นมัน วง (whorl) มีลักษณะกลมนูน อวัยวะภายใน (ทางเดินหายใจ ระบบขับถ่าย และระบบสืบพันธุ์) อยู่ทางด้านขวา หอยที่โตเต็มวัยจะมีวง (whorl) 4 วง และยอดเปลือกจะสึกกร่อน (apex eroded) *B. siamensis siamensis* มีรูปร่างเพรียวกว่า *B. funiculata* มีรู (umbilicus) แคบ และสันเปลือก (carina) แทบไม่เห็น ในขณะที่ *B. funiculata* มีรู (umbilicus) รูปกรวย สันเปลือก (carina) แข็งแรง เปลือกมีสีหม่นเขียวปนน้ำตาลแดง (สีน้ำตาลมะกอก) มีขนาดใหญ่กว่า *B. siamensis siamensis* เล็กน้อย สำหรับ *B. s. goniomphalos* เปลือกมีสีน้ำตาลแดง รู (umbilicus) กว้าง ความสูงของเปลือกไม่เกิน 10.2–14.9 มิลลิเมตร และความกว้างของเปลือกอยู่ระหว่าง 5.6–8.5 มิลลิเมตร (Mekong River, 2006) (ภาพ 5) การกำจัดหอยน้ำจืดสกุล *Bithynia* spp. นับเป็นการควบคุมการแพร่กระจายของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เนื่องจากเป็นการขัดขวางวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เช่น การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมประชากรหอย ตัวอย่างสารเคมีเช่น niclosamide (bayluscide) (Sithithaworn, Andrews, et al., 2014) การใช้หอยนักฆ่า (assassin snail) หรือ *Anentome helena* ซึ่งเป็นหอยน้ำจืดขนาดเล็กที่กินหอยเป็นอาหาร สามารถช่วยเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพเพื่อลดจำนวน *Bithynia* spp. โดยพบว่า *A. helena* สามารถบริโภค *B. s. goniomphalos* ได้ (Haruay & Piratae, 2023)

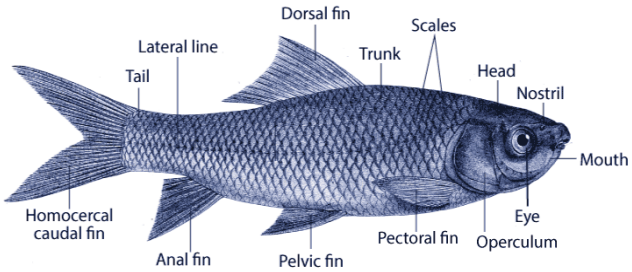


ภาพ 5 A) *B. funiculata* B) *B. s. goniomphalos* C) *B. s. simensis*

ที่มา: Petney et al., 2012

โฮสต์ตัวกลางลำดับที่สอง (Secondary intermediate host)

โฮสต์ตัวกลางที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ ปลาวงศ์ปลาตะเพียน (cyprinid) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนจัดอยู่ใน phylum Chordata, class Actinopterygii, order Cypriniformes, family Cyprinidae ลักษณะทั่วไปมีลำตัวค่อนข้างยาว หรือยาว แบนข้าง ส่วนหัวไม่มีเกล็ด (scale) ปกคลุม เส้นข้างลำตัว (lateral line) ค่อนข้างสมบูรณ์ ไม่มีฟันที่ขากรรไกร แต่มีฟันที่คอหอย 1-3 แถว แต่ละแถวมีฟันไม่เกิน 8 ซี่ ช่องเปิดเหงือกกว้างติดกับต้นคอ ริมฝีปากบาง ปากอยู่ปลายสุดของส่วนหัว หรืออยู่ค่อนลงมาทางด้านล่าง หรืออยู่ด้านล่างของส่วนหัว อาจมี หรือไม่มีหนวด (barbel) กรณีที่มีหนวดจะมีไม่เกิน 2 คู่ (ภาพ 6) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนเป็นวงศ์ที่มีชนิด และจำนวนมากที่สุดในปลาน้ำจืดของไทย ในประเทศไทยมีจำนวนชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนมากที่สุดพบอย่างน้อย 204 ชนิด และเป็นวงศ์ปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมีการค้าขายตามตลาดปลาทั่วไป มีการบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งในรูปแบบการปรุงสด การปรุงสุก และการแปรรูปเพื่อถนอมไว้บริโภคและจำหน่าย (ธวัช ดอนสกุล และอนันต์ พู่พิทยาสถาพร, 2545) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนมีความสำคัญทางการแพทย์ เนื่องจากเป็นโฮสต์ตัวกลางที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (MIFs) มีการศึกษาจำนวนมากรายงานว่าการรับประทานอาหารที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่ปรุงไม่สุก เช่น ก้อยปลาดิบ ปลาส้มดิบ และลาบปลาดิบ เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในคน (Pumidonming et al., 2018; Sithithaworn, Yongvanit, et al., 2014; Sripa et al., 2010) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบมากในสกุล *Cyclocheilichthys* (ปลาไส้ตัน), *Puntius* (ปลาแก้มช้ำ) และ*Hampala* (ปลากระสูบ) ชนิดปลาที่นิยมบริโภค และมีรายงานว่าเป็นโฮสต์ตัวกลางที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลากระสูบ (*Hampala* sp.) และปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*) (Pinlaor et al., 2013) ตัวอ่อนของพยาธิที่เข้าไปอยู่ในปลาน้ำจืดเกล็ดขาวนั้นเป็นตัวอ่อนระยะติดต่อ หรือตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย (metacercaria) โดยตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาน้ำจืดเกล็ดขาวมักพบฝังตัวเป็นถุงซีสต์ในทุกส่วนของปลา โดยพบมากสุดที่กล้ามเนื้อหลัง (dorsal) ครีบอก (pectoral) ครีบท้อง (pelvic) และครีบก้น (anal fin) ตามลำดับ สำหรับส่วนหัวส่วนใหญ่จะอยู่ในกล้ามเนื้อแก้ม (cheek) และคาง (chin muscle) (Kaewkes, 2003; Sripa et al., 2007) ความชุกของระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับฤดูกาล แหล่งน้ำ ขนาดปลา และชนิดของปลา (Namsanor et al., 2020)



ภาพ 6 ลักษณะภายนอกของปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั่วไป

ที่มา: JU'S Biology, n.d.

ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Cyclocheilichthys* (ปลาไส้ตัน), *Puntius* (ปลาแก้มช้ำ) และ*Hampala* (ปลากระสูบ) (Pinlaor et al., 2013)

ปลาสกุล *Cyclocheilichthys*

ลักษณะทั่วไป: ครีบสันหลัง (dorsal fin) มีลักษณะเป็นรอยหยักคล้ายฟันเลื่อย ครีบท้อง (pelvic fins) แตกแขนงแยกเป็น 9 ก้าน จมูกรูปทรงกรวย ปากมีขนาดเล็กคล้ายเกือกม้า บริเวณแก้มและจะงอยปากมีตุ่มประสาทเล็ก ๆ เรียงกันเป็นแถว (Rainboth, 1996)

Cyclocheilichthys armatus

ชื่อสามัญ: ปลาปากเหลี่ยม (ภาพ 7A)

ลักษณะเด่น: ลำตัวมีสีเงิน หรือน้ำตาลจาง ด้านบนของส่วนหัวมีสีเข้มมากกว่าชนิดอื่นที่อยู่ในสกุลเดียวกัน มีหนวด 2 คู่อยู่ที่ขากรรไกรบน และจะงอยปาก มีเกล็ดรอบคอดหาง 16-17 เกล็ด เกล็ดบนแนวเส้นข้างตัว 35 - 37 เกล็ด ก้านครีบแข็งอันสุดท้ายของครีบหลังใหญ่ และแข็งแรง ที่ขอบด้านท้ายมีลักษณะเป็นฟันเลื่อย ครีบหาง และครีบก้นมีสีคล้ำโดยเฉพาะขอบท้ายสุดจะมีสีดำ และบริเวณครีบต่าง ๆ จะมีจุดเล็ก ๆ สีดำจำนวนมากกระจายอยู่ทั่วครีบ

แหล่งที่พบ: บริเวณลุ่มแม่น้ำโขง ประกอบด้วยสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว กัมพูชา เวียดนาม และประเทศไทยสามารถพบได้ในจังหวัดแพร่ สุโขทัย พิษณุโลก พิจิตร นครสวรรค์

นอกจากนี้ยังพบแพร่กระจายในลุ่มแม่น้ำแม่กลอง ลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำทางใต้ และภาคตะวันออกของไทย (สิงหา วงศ์โรจน์, 2547) (fish base online)

Cyclocheilichthys enoplos

ชื่อสามัญ: ปลาตะโกก (ภาพ 7B)

ลักษณะเด่น: รูปร่างเพรียวยาว ลำตัวสีเงิน ด้านบนของลำตัวมีสีค่อนข้างเข้ม ด้านล่างของลำตัวมีสีขาว มีหนวด 2 คู่ที่ขากรรไกรบน และหนวดที่จะงอยปาก เกล็ดมีขนาดใหญ่ ขอบเรียบ เส้นข้างตัวสมบูรณ์ ครีบหลังสูง และมีความยาวมากกว่าความยาวหัวเล็กน้อย ก้านครีบแข็งอันสุดท้ายของครีบหลังมีขอบด้านในหยักคล้ายฟันเลื่อย ส่วนท้ายสุดของครีบก้นเว้าเข้า ครีบหางหยักลึกคล้ายส้อม ครีบหลัง และครีบหางมีจุดสีดำเล็ก ๆ ประอยู่ทั่วไป ท่อบนเส้นข้างตัวแตกปลายเป็น 2-3 แขนง

แหล่งที่พบ: บริเวณลุ่มแม่น้ำโขง ประกอบด้วยสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว กัมพูชา เวียดนาม อินโดนีเซีย มาเลเซียและประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดพิษณุโลก พิจิตร นครสวรรค์ เรื่อยลงมาตามแม่น้ำเจ้าพระยาตลอดแนว ลุ่มแม่น้ำแม่กลอง และลุ่มแม่น้ำโขง (สิงหา วงศ์โรจน์, 2547)(fish base online)

Cyclocheilichthys apogon

ชื่อสามัญ: ปลาไส้ตันตาแดง (ภาพ 7C)

ลักษณะเด่น: ลำตัวเรียวยาว และแบนข้าง ปากเล็ก ขอบตาบนมีสีแดง ครีบสีแดงเรื่อ หรือแดงสด ไม่มีหนวด จะงอยปาก และหน้าผากมีริ้วบาง ๆ หลายริ้ว ครีบหลังสูง ก้านครีบแข็งจำนวน 4 ก้าน ก้านครีบอันสุดท้ายหยักเป็นฟันเลื่อย ครีบก้นมีก้านครีบเดี่ยว 4 ก้าน เกล็ดเล็ก เกล็ดตามแนวเส้นข้างตัวมี 33-35 เกล็ด ครีบหางเว้าลึก โคนหางมีแต้มรูปกลมสีคล้ำ

แหล่งที่พบ: จังหวัดพิษณุโลก พิจิตร นครสวรรค์เรื่อยลงมาตามแม่น้ำเจ้าพระยาตลอดแนว นอกจากนี้ยังพบได้ในลุ่มแม่น้ำแม่กลอง ลุ่มแม่น้ำโขง และแม่น้ำทางใต้ (ธวัช ดอนสกุล และอนันต์ พู่พิทยาสถาพร, 2545)

Cyclocheilichthys repasson

ชื่อสามัญ: ปลาไส้ตันตาขาว (ภาพ 7D)

ลักษณะเด่น: ลำตัวเรียวยาว และแบนข้าง ลำตัวมีสีเงินวาว หรือน้ำตาลอ่อน ด้านหลังสีเข้มกว่าด้านท้อง ที่คอดหางมีจุดสีดำกลม มีหนวดสั้น ๆ 2 คู่ มีรูปร่างคล้ายปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*) แต่ขอบตาบนไม่มีสีแดง มีแถบสีคล้ำอยู่ในแนวตามความยาวของลำตัว 5-6 แถบ ครีบสีเหลืองอ่อนหรือชมพูจาง ๆ ครีบหางหยักลึกคล้ายส้อม เส้นข้างตัวสมบูรณ์ มีขนาดเฉลี่ย 15-20 เซนติเมตร

แหล่งที่พบ: จังหวัดพิษณุโลก พิจิตร นครสวรรค์เรื่อยลงมาตามแม่น้ำเจ้าพระยาตลอดแนว นอกจากนี้ยังพบได้ในลุ่มแม่น้ำแม่กลอง ลุ่มแม่น้ำโขง และแม่น้ำทางใต (สิงหา วงศ์โรจน์, 2547)

ปลาสกุล *Puntius*

ลักษณะโดยทั่วไป: ตำแหนงปาก และแกมไม่มีตุมแข็ง ครีบหลังเรียบไม่มีรอยหยัก มีจุดสีดำที่ปลายครีบหลัง

Puntius brevis

ชื่อสามัญ: ปลาตะเพียนทราย (ภาพ 7E)

ลักษณะเด่น: ลำตัวแบนข้าง มีสีขาวเงิน มีจุดสีดำรูปร่างกลมอยู่บนคอดหาง ครีบหลังเรียบมีสีเหลืองและมีจุดสีดำเล็ก ๆ กระจายเป็นแถวอยู่ในแนวขวางบริเวณครีบ ครีบก้นมีสีเหลือง ครีบหูใส ครีบท้องมีสีเหลืองส้ม ครีบหางสีเทา มีหนวด 1 คู่ ที่ขากรรไกรบนอยู่ที่มุมปาก และมีความยาวน้อยกว่าความยาวตา มีเกล็ดรอบคอดหางจำนวน 13 เกล็ด

แหล่งที่พบ: จังหวัดชัยนาท และสิงห์บุรี นอกจากนี้พบแพร่กระจายในลุ่มแม่น้ำโขง ลุ่มแม่น้ำแม่กลอง ลุ่มน้ำทางภาคตะวันออก และลุ่มน้ำทางภาคใต้ (สิงหา วงศ์โรจน์, 2547)

Puntius orphoides

ชื่อสามัญ: ปลาแก้มช้ำ ปลาปก (ภาพ 7F)

ลักษณะเด่น: บริเวณแก้มมีสีส้ม แดง หรือชมพู หลังแผ่นปิดเหงือกมีสีดำ ขอบแพนหางบนและล่างมีแถบสีดำตลอดแพนหาง ครีบทุกครีบเป็นสีแดง

แหล่งที่พบ: พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย และตลอดลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยา ลุ่มแม่น้ำแม่กลอง ลุ่มแม่น้ำโขง (สิงหา วงศ์โรจน์, 2547)

ปลาสกุล *Hampala*

ลักษณะโดยทั่วไป: ลักษณะค่อนข้างยาว แบนข้างเล็กน้อย หัวยาว ปากกว้าง ครีบหลังค่อนข้างเล็ก เกล็ดค่อนข้างใหญ่แบบขอบเรียบ ครีบหลังมีก้านครีบเดี่ยว 3 ก้าน ก้านครีบหลังอันสุดท้ายมีลักษณะฟันเลื่อย ตัวมีสีเงิน มีหนวดที่มุมปากบนหนึ่งคู่

Hampala dispar

ชื่อสามัญ: ปลากระสูบจุด (ภาพ 7G)

ลักษณะเด่น: จุดสีดำใหญ่อยู่บริเวณกลางลำตัว ครีบมีสีแดงอ่อน ครีบหางมีสีแดง

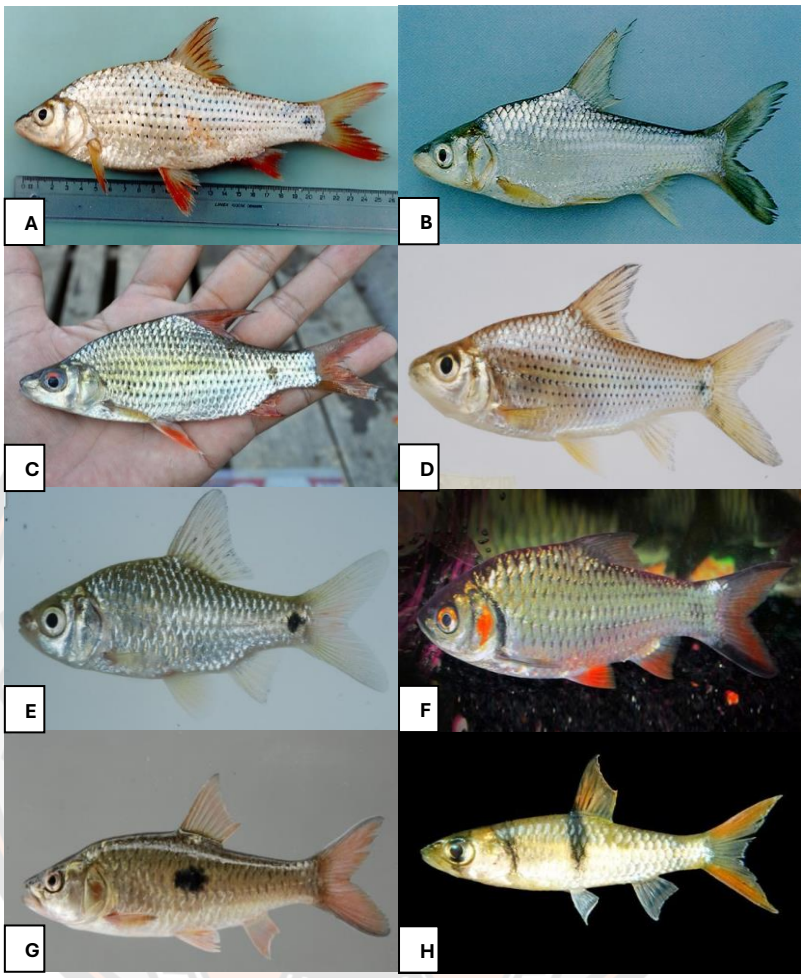
แหล่งที่พบ: ลุ่มแม่น้ำโขง ได้แก่ ประเทศไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว เวียดนาม กัมพูชา อินโดนีเซีย และแม่น้ำเจ้าพระยา

Hampala macrolepidota

ชื่อสามัญ: ปลากระสูบขีด (ภาพ 7H)

ลักษณะเด่น: คล้ายปลากระสูบจุด แต่ด้านข้างของลำตัวมีแถบสีดำพาดขวางกลางลำตัว ในปลาขนาดเล็กมีแถบ 2 แถบที่กลางลำตัวและโคนหาง

แหล่งที่พบ: ลุ่มแม่น้ำโขง ได้แก่ ประเทศไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว เวียดนาม กัมพูชา อินโดนีเซีย และแม่น้ำเจ้าพระยา (ธวัช ดอนสกุล และอนันต์ พู่พิทยาสถาพร, 2545)



ภาพ 7 ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย A) ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*), B) ปลาตะโกก (*C. enoplos*), C) ปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*), D) ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), E) ปลาตะเพียนทราย (*P. brevis*), F) ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*), G) ปลากระสูบจุด (*H. dispar*), H) ปลากระสูบขีด (*H. macrolepidota*)

ที่มา: https://www.fishbase.se/summary/16120, https://en.wikipedia.org/wiki/Hampala_macrolepidota, https://ffish.asia/?page=file&pid=438&lang=e, http://jejakpetualang sungai.blogspot.com/2011/07/fishclopedia-mengenal-ikan-di sekitar.html

โฮสต์ตัวกลางลำดับที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศไทย

ในประเทศไทยมีรายงานการศึกษาการแพร่ระบาดของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทำการสุ่มจับปลาจากแหล่งน้ำขนาดใหญ่ ได้แก่ เขื่อน 10 แห่ง แม่น้ำ 26 แห่ง และบ่อน้ำ/ทะเลสาบ 38 แห่ง ใน 20 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 12,890 ตัว รวม 13 ชนิด ได้แก่ *C. armatus* (ปลาปากเหลี่ยม), *H. dispar* (ปลากระสูบจุด), *P. proctozysron* (ปลากระมัง), *P. orphoides* (ปลาแก้มช้ำ), *Oreochromis niloticus* (ปลานิล), *Pristolepis fasciatus* (ปลาหมอช้างเหยียบ), *Devario regina* (ปลาซิวใบไผ่ยักษ์), *Labeo chrysophekadion* (ปลากา), *B.* gonionotus (ปลาตะเพียนขาว), *R. tornieri* (ปลาซิวควาย), *H. siamensis* (ปลาสร้อยขาว), *O. hasselti* (ปลาสร้อยนกเขา) และ *Chitala ornate* (ปลากราย) ทำการจำแนก นับ ชั่งน้ำหนัก และตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียโดยใช้วิธีการย่อยปลาโดยใช้ pepsin-HCl ตกตะกอน และจำแนกภายใต้กล้อง stereomicroscope พบปลาติดเชื้อเมตาเซอร์คาเรียจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *C. armatus*, *P.orphoides*, *H. dispar*, *H.siamensis*, *O. hasselti* และ *P. proctozysron* จาก 13 จังหวัดในบรรดาแหล่งที่พบปลาที่ติดเชื้อพบว่าปลาที่มีการติดเชื้อเมตาเซอร์คาเรียจะอาศัยอยู่บริเวณเขื่อนร้อยละ 70.0 บริเวณสระน้ำร้อยละ 23.7 และบริเวณแม่น้ำร้อยละ 7.7 ความหนาแน่นของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสถานที่ และช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่างปลา ค่าเฉลี่ยจำนวนเมตาเซอร์คาเรียในปลาแต่ละตัว คือ 0.01 - 6.5 ซีสต์ต่อปลาหนึ่งตัว (หรือ 1.3 - 287.5 ซีสต์ต่อปลาหนึ่งกิโลกรัม) พบความหนาแน่นเฉลี่ยของเมตาเซอร์คาเรียต่อปลา (>3 ซีสต์) ใน 5 จังหวัด ได้แก่ อำนาจเจริญ (6.5 ซีสต์) นครพนม (4.3 ซีสต์) มุกดาหาร (4.1 ซีสต์) ขอนแก่น (3.5 ซีสต์) และศรีสะเกษ (3.4 ซีสต์) อย่างไรก็ตามตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบได้บ่อยในปลาวงศ์ปลาตะเพียนตามธรรมชาติโดยมีอัตราการติดเชื้อแตกต่างกันไปตามชนิดและแหล่งที่อยู่อาศัยของปลา (Pinlaor et al., 2013) นอกจากนี้การศึกษาของ Charoensuk et al. (2022) ได้ศึกษาความชุกของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน และหาความสัมพันธ์ของการติดเชื้อในกลุ่มผู้บริโภคที่ซื้อปลาในตลาดเป็นประจำใน 9 จังหวัดครอบคลุม 20 อำเภอในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ได้แก่ เลย อุดรธานี หนองคาย หนองบัวลำพู บึงกาฬ สกลนคร ขอนแก่น กาฬสินธุ์ และนครพนม ทำการตรวจสอบตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนจำนวน 778 ตัวอย่าง ที่ซื้อจากตลาดในท้องถิ่น พบว่าในทุกเขตที่ทำการสำรวจพบปลาวงศ์ปลาตะเพียนติดเชื้อ โดยมีอัตราการติดเชื้ออยู่ระหว่างร้อยละ 3.9 - 21.1 โดยปลาทั้ง 5 ชนิดที่ติดเชื้อ ได้แก่ *H. siamensis* (ร้อยละ 13.7), *Cyclocheilichtys* spp. (ร้อยละ12.7), *Hampala* spp. (ร้อยละ 8.1), *Systomus* spp. (ร้อยละ6.9) และ*B. goniatus* (ร้อยละ 5.0)

โฮสต์ตัวกลางลำดับที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในต่างประเทศ

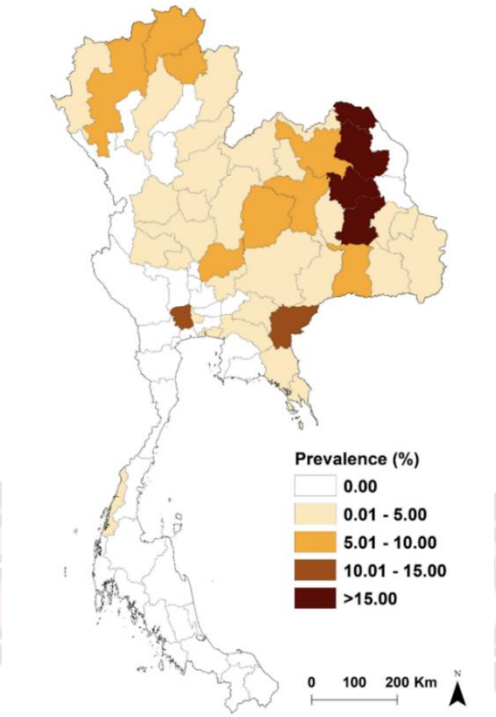
ในประเทศเวียดนาม มีรายงานการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในหลายพื้นที่ของเวียดนาม จากการตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนโดยใช้เทคนิคการย่อยเทียม artificial digestion และเทคนิคทางอณูชีววิทยาพบการติดเชื้อในปลาวงศ์ปลาตะเพียน ได้แก่ *Carassius auratus* (ปลาทอง), *R. aurotaenia* (ปลาซิวควาย), *P. brevis* (ปลาตะเพียนทราย), *Esomus metallicus* (ปลาซิวหนวดยาว) และ *H. dispar* (ปลากระสูบจุด) ซึ่งความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบมากที่สุดในปลา *C. auratus* (ร้อยละ74.0) รองลงมา คือ *R. aurotaenia* (ร้อยละ 55.8) และ *P. brevis* (ร้อยละ 31.6) (Dao, Bui, et al., 2016) และรายงานการศึกษาในประเทศกัมพูชา ทำการเก็บตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนโดยใช้ตาข่ายพบปลาวงศ์ตะเพียนทั้งหมด 1,874 ตัวรวม 17 ชนิด ได้แก่ *Amblyrhynchichthys truncates* (ปลาตามิน), *B. altus* (ปลาตะเพียนทอง), *B. gonionotus* (ปลาตะเพียนขาว), *B. schwanenfeldi* (ปลากระแห), *Crossocheilus reticulates* (ปลาเล็บมือนาง), *C. apogon* (ปลาไส้ตันตาแดง), *C. armatus* (ปลาปากเหลี่ยม), *C. lagleri* (ปลาไส้ตันสนธิรัตน), *H. dispar* (ปลากระสูบจุด), *H. lobatus* (ปลาสร้อยหน้าแหลม), *H. siamensis* (ปลาสร้อยขาว), *L. siamensis* (ปลาสร้อยลูกกล้วย), *O. hasselti* (ปลาสร้อยนกเขา), *P. proctozysron* (ปลากระมัง), *P. brevis* (ปลาตะเพียนทราย), *S. orphoides* (ปลาแก้มช้ำ) และ*Thynnichthys thynnoides* (ปลาเกล็ดถี่) ปลาทั้ง 17 ชนิดพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ตั้งแต่ร้อยละ 5.6 ใน *C. reticulates* และร้อยละ 100 ใน *A. truncates* นอกจากนี้ตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียยังพบตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง ยกเว้นในเดือนสิงหาคมซึ่งเป็นช่วงที่พื้นที่แห้ง และจับปลาไม่ได้ (Chai et al., 2016) จากการศึกษาการติดเชื้อในปลาวงศ์ปลาตะเพียน ในแขวงคำม่วนในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวทำการเก็บตัวอย่างปลาในช่วงฤดูหนาว (พฤศจิกายน–กุมภาพันธ์) ฤดูร้อน (มีนาคม–พฤษภาคม) และฤดูฝน (มิถุนายน–ตุลาคม) และนำมาตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนโดยใช้วิธี artificial digestion และวิเคราะห์อัตราการติดเชื้อตามพื้นที่ศึกษา ฤดูกาล และขนาดปลา พบว่าความชุก และความรุนแรงของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในพื้นที่ศึกษาขึ้นอยู่กับฤดูกาล โดยจะสูงในฤดูหนาว และค่าเฉลี่ยจำนวนเมตาเซอร์คาเรียในปลาแต่ละตัว คือ 6.67 ± 12.88 ซีสต์/ปลา โดยปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบการติดเชื้อ ได้แก่ *C. armatus*, *H. dispar*, *P. brevis*, *L. leptocheilus*, *L. siamensis*, *H. siamensis*, *D. ashmeadi*, *O. hasselti*, *C. reticulatus* และ *S. rubripinnis* ในบรรดาปลาวงศ์ปลาตะเพียนชนิดที่ตรวจพบการติดเชื้อมากที่สุด คือ *H. dispar* (ร้อยละ 86.5), *C. armatus* (ร้อยละ 73.2) และ*P. brevis* (ร้อยละ 42.7) โดยผลการวิจัยพบว่า ฤดูกาล พื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง ขนาดปลา และชนิดของปลามีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ

O. viverrini กล่าวคือ ปัจจัยด้านโฮสต์ และสิ่งแวดล้อมมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของการแพร่กระจายของเชื้อ (Namsanor et al., 2020) นอกจากนี้ การศึกษาการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว พบปลาวงศ์ปลาตะเพียน 280 ตัว (ร้อยละ 37.9) จาก 699 ตัว รวม 24 ชนิด ได้แก่ *P. brevis* (ปลาตะเพียนทราย), *C. armatus* (ปลาปากเหลี่ยม), *C. repasson* (ปลาไส้ตันตาขาว), *H. dispar* (ปลากระสูบจุด), *M. marginatus* (ปลาหนามหลัง), *Onychostoma elongatum*, *H. siamensis* (ปลาสร้อย), *C. apogon* (ปลาไส้ตันตาแดง), *Poropuntius deauratus* (ปลาจาด), *O. vittatus* (ปลาสร้อยนกเขา), *Esomus metallicus* (ปลาซิวหนวดยาว), *Hypsibarbus wetmorei* (ปลาตะพากเหลือง), *P. proctozysron* (ปลากระมัง), *P. falciper* (ปลากระมังครีบสูง), *Hypsibarbus lagleri* (ปลาตะพากใบไม้), *Paralaubuca barroni* (ปลาแปบควาย), *L. chrysophekadion* (ปลากา), *Onychostoma fusiforme*, *B. altus* (ปลาตะเพียนทอง), *C. enoplos* (ปลาตะโกก), *C. furcatus* (ปลาโจกไหม), *Hypsibarbus pierrei* (ปลาตะเพียนปากหนวด), *B. schwanefeldii* (ปลากระแห), และ *Neolissochilus stracheyi* (ปลาพลวงหิน) โดยชนิดปลาที่มีอัตราการติดเชื้อสูง ได้แก่ *O. elongatum*, *C. armatus*, *C. apogon*, *H. dispar* และ *P. brevis* (Chai et al., 2019)

ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศไทย

ในประเทศไทยตรวจพบพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในคนครั้งแรกในจังหวัดเชียงใหม่ โดย Leiper เมื่อปี พ.ศ. 2458 (Leiper, 1915) ต่อมาในพ.ศ. 2470 มีรายงานการตรวจพบพยาธิชนิดนี้อีกครั้งในท่อน้ำดีของศพชายไทยอายุ 17 ปี จากจังหวัดร้อยเอ็ด (Prommas, 1927) และมีการสำรวจทั่วประเทศไทยครั้งแรกในปี พ.ศ. 2524 พบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยรวมทั่วประเทศ ร้อยละ 14.7 โดยพบผู้ติดเชื้อสูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือร้อยละ 34.6 รองลงมา คือ ภาคกลาง ร้อยละ 6.3 ภาคเหนือร้อยละ 5.6 และภาคใต้ร้อยละ 0.01 (Jongsuksuntigul & Imsomboon, 1998) จากนั้นเริ่มมีโครงการควบคุม และกิจกรรมบริการทางสาธารณสุขอย่างต่อเนื่องส่งผลให้อัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ทั่วประเทศลดลงเหลือร้อยละ 9.6 ในปี พ.ศ. 2544 (Jongsuksuntigul & Imsomboon, 2003) และลดลงเหลือร้อยละ 8.7 ในปี พ.ศ. 2552 โดยที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือยังคงพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สูงที่สุด ร้อยละ 16.6 รองลงมา คือ ภาคเหนือ ร้อยละ 10 ภาคกลาง ร้อยละ 1.30 และภาคใต้ ร้อยละ 0.01 (Sithithaworn, Andrews, Nguyen, et al., 2012) ต่อมามีการศึกษาจากหลายจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบรายงานอัตราการติดเชื้อแตกต่างกันไป เช่น จังหวัดขอนแก่นพบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 32 (Promthet et al., 2011) จังหวัดยโสธรพบติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 38.68 (Saengsawang et al., 2012) จังหวัดสกลนครพบความชุกของ

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปี พ.ศ. 2561 อยู่ที่ร้อยละ 3.60 พ.ศ. 2562 ร้อยละ 5.21 และพ.ศ. 2563 ร้อยละ 7.01 (Perakanya et al., 2022) นอกจากนี้การศึกษาการติดเชื้อในประชาชนชาวชนบทในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 45.7 ซึ่งสูงกว่าการติดเชื้อพยาธิชนิดอื่น ๆ และยังพบว่าอุบัติการณ์ของโรคมะเร็งท่อน้ำดีมีความสัมพันธ์กับความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Songserm et al., 2012) และจากการตรวจอุจจาระของประชาชนที่อาศัยอยู่ตามลำน้ำปิง จังหวัดเชียงใหม่ มีผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 6.54 (Wongsawad et al., 2012) ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างพบอัตราความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยรวมร้อยละ 9.5 จาก 7 จังหวัด ได้แก่ เพชรบูรณ์ พิษณุโลก นครสวรรค์ สุโขทัย อุทัยธานี พิจิตร และตาก โดยมีความชุกแตกต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 2.1 ถึงร้อยละ 28.7 และพบผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่ (ร้อยละ 64.3) อพยพมาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (Pumidonming et al., 2018) สำหรับรายงานความชุกล่าสุดใน พ.ศ. 2562 กระทรวงสาธารณสุขได้ดำเนินการสำรวจโรคหนอนพยาธิใน 76 จังหวัดของประเทศไทย ผู้เข้าร่วมรวม 16,187 ราย ผลการสำรวจพบความชุกโดยรวมของการติดเชื้อปรสิตอยู่ที่ร้อยละ 9.79 โดยพบการติดเชื้อมากกว่า 14 สายพันธุ์โดยความชุกสูงสุด คือ พยาธิปากขอ (hookworm) ร้อยละ 4.47 รองลงมา คือ พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (ร้อยละ 2.2) สำหรับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมีความชุกสูงสุดร้อยละ 4.97 รองลงมา คือ ภาคเหนือร้อยละ 1.79 ภาคกลางร้อยละ 0.87 และภาคใต้ร้อยละ 0.11 โดยจังหวัดที่พบความชุกสูงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดบึงกาฬ จังหวัดสกลนคร จังหวัดกาฬสินธุ์ จังหวัดร้อยเอ็ด และจังหวัดนครพนม ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดปราจีนบุรี และจังหวัดสระแก้ว และจังหวัดในภาคเหนือตอนบนของประเทศ สำหรับภาคใต้ไม่พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ยกเว้นจังหวัดระนอง (ภาพ 8) (Wattanawong et al., 2021) ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่เพิ่มสูงขึ้นในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยเป็นผลมาจากพฤติกรรมที่แพร่หลายของคนในท้องถิ่นที่นิยมรับประทานอาหารที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียน (cyprinid) แบบดิบหรือไม่ผ่านการทำให้สุก (Sripa et al., 2011) โดยปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่นิยมบริโภค และมีรายงานว่าเป็นโฮสต์ตัวกลางที่ 2 ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) ปลากระสูบ (*Hampala* sp.) ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) และปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*) เป็นต้น (Pinlaor et al., 2013) นิยมนำมาปรุงหรือทำอาหาร เช่น ก้อยปลา ปลาส้ม ปลาร้า ซึ่งเป็นอาหารที่นิยมรับประทานในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ (Pumidonming et al., 2018)



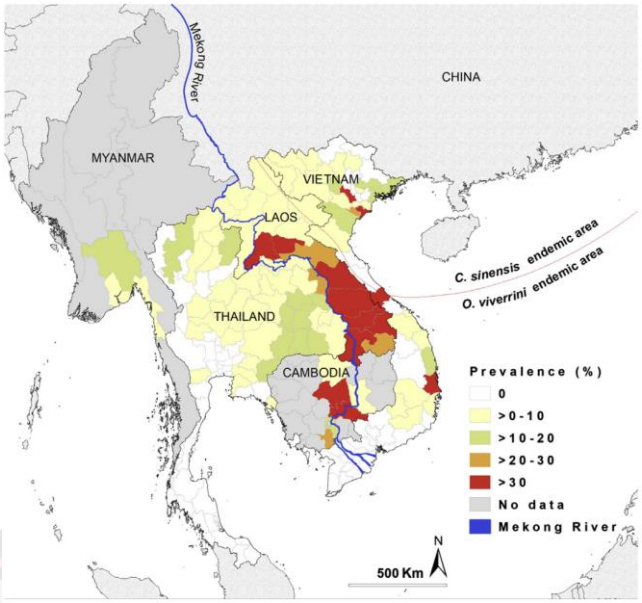
ภาพ 8 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประเทศไทย

ที่มา: Wattanawong et al., 2021

ระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในต่างประเทศ

ปัจจุบันมีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากหลาย ๆ ประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว เมียนมาร์ กัมพูชา เวียดนาม มาเลเซีย สิงคโปร์ และฟิลิปปินส์ จากการศึกษาทางระบาดวิทยาของโรคพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มากกว่า 2 ล้านคน โดยเฉพาะภาคกลางและภาคใต้ที่พบอัตราการติดเชื้อสูง (Sithithaworn, Andrews, Nguyen, et al., 2012) การศึกษาในเด็กนักเรียนชั้นประถมศึกษาจาก 17 แขวงพบความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 10.9 โดยพบความชุกสูงในพื้นที่ริมฝั่งแม่น้ำโขง เช่น แขวงคำม่วน (Khammouane) พบความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 32.2 แขวงสาละวัน (Salavan) ร้อยละ 21.5 และสุวรรณเขต (Savannakhet) ร้อยละ 25.9 (Rim et al., 2003) อย่างไรก็ตามการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีการระบาดมากในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว โดยเฉพาะในพื้นที่ราบลุ่ม และบริเวณเขตแม่น้ำโขง (ร้อยละ 92.0) (Sithithaworn, Andrews, Nguyen, et al., 2012) เช่นเดียวกับการศึกษาในประเทศกัมพูชาที่พบอัตราความชุกของ

การติดเชื้อสูงในพื้นที่บริเวณที่ราบลุ่มแม่น้ำโขง มีการศึกษาก่อนหน้านี้รายงานสถานการณ์การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในจังหวัดกันดาล (Kandal) บริเวณตอนใต้ของกรุงพนมเปญพบอัตราการติดเชื้อร้อยละ 11 ซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาวงศ์ปลาตะเพียนจำนวน 10 ชนิด โดยมีอัตราการติดเชื้อตั้งแต่ร้อยละ 2.1 ถึงร้อยละ 66.7 (Touch et al., 2013) ทั้งนี้บริเวณตอนบน และตอนล่างของภาคกลางมีอัตราความชุกของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยเฉลี่ยสูงกว่าพื้นที่อื่น ๆ อย่างไรก็ตามสามารถพบการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้ทั่วทั้งประเทศกัมพูชา และมีแนวโน้มว่าการติดเชื้อพยาธิที่เกิดจากการกิน (food-borne trematodiasis) จะเพิ่มขึ้นในอนาคตโดยจะมีผลกระทบที่อันตรายต่อสุขภาพรวมถึงการเพิ่มขึ้นของมะเร็งท่อน้ำดีที่เกิดจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Khieu et al., 2019) สำหรับประเทศเวียดนามพบการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ 2 ชนิด คือ *C. sinensis* และ*O. viverrini* อย่างไรก็ตามพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบระบาดในบริเวณภาคกลาง และภาคใต้ของประเทศ (Waikagul et al., 2014) จากการศึกษาก่อนหน้านี้มีรายงานพบพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในเวียดนามกลางโดยเฉพาะในจังหวัดบิ่ญดิ่ญ (Bình Định) และจังหวัดฟู้เอียน (Phú Yên) เป็นจังหวัดที่มีโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) เป็นโรคประจำถิ่น (endemic) ซึ่งเป็นจังหวัดที่ประชากรในท้องถิ่นชื่นชอบการรับประทานปลาดิบเป็นอย่างมาก (Dao, Abatih, et al., 2016) และในพื้นที่ชนบทบริเวณที่ราบลุ่มของจังหวัดบิ่ญดิญ (Bình Định) มีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 11.4 และพบว่าปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญ คือ เพศชาย และการบริโภคอาหารที่ปรุงจากปลาน้ำจืดขนาดเล็กที่จับได้จากธรรมชาติ (Dao, Bui, et al., 2016) นอกจากนี้มีการสำรวจความชุกการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และ*C. sinensis* ในภูมิภาคลุ่มแม่น้ำโขงตอนล่าง โดยพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในคนประมาณ 10 ล้านคน (ไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว กัมพูชา เมียนมาร์ และเวียดนามตอนใต้) และพบว่าในกัมพูชาความชุกโดยรวมของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* อยู่ที่ร้อยละ 7.7 พบความชุกสูงสุดในจังหวัดกำปงธม (Kampong Thom) ร้อยละ 34.8 จังหวัดกำปงจาม (Kampong Cham) ร้อยละ 33.2 จังหวัดตาแก้ว (Takeo) ร้อยละ 21.5 และร้อยละ 20.2 ในจังหวัดกันดาล (Kandal) สำหรับเวียดนามพบความชุกตั้งแต่ร้อยละ 0.20 ถึง 40 ใน 6 เขตในเวียดนามกลาง โดยพบความชุกสูงสุด ในเขต Tuy An และ Phu My (ร้อยละ 10.1 - 40.0) ในพื้นที่ราบลุ่มของ Binh Dinh ในภาคกลางของเวียดนามรายงานการติดเชื้อร้อยละ 11.4 และในเมียนมาร์พบความชุกใน 3 ภูมิภาคทางตอนล่างของประเทศ โดยพบความชุกสูงสุดในเขตพะโค (Bago) ร้อยละ 18.9 รองลงมา คือ รัฐมอญ (Mon) ร้อยละ 5 และเขตย่างกุ้ง (Yangon) ร้อยละ 3.6 (ภาพ 9) (Suwannatrai et al., 2018)



ภาพ 9 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และ *C. sinensis* ในภูมิภาคลุ่มแม่น้ำโขงตอนล่าง ได้แก่ ประเทศไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว กัมพูชา เมียนมาร์ และเวียดนาม

ที่มา: Suwannatrai et al., 2018

ปัจจัยเสี่ยง (Risk factors)

ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย แต่การศึกษาจำนวนมากรายงานว่าส่วนใหญ่เกิดขึ้นในพื้นที่ที่มีการรับประทานอาหารพื้นบ้านประเภทที่ปรุงจากปลาดิบ หรือปลาที่ไม่ผ่านการปรุงสุก เช่น ก้อยปลาดิบ ปลาร้าดิบ แจ่วบอง และลาบปลาดิบเป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Chavengkun et al., 2016; Prakobwong et al., 2017; Saiyachak et al., 2016) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Thaewnongiew et al. (2014) รายงานว่าการรับประทานปลาดิบและ/หรือปลาร้า หรือการรับประทานเมนูที่ปรุงจากปลาน้ำจืดเกล็ดขาวแบบดิบ (cyprinids) ไม่ว่าจะทำที่ไหน หรือโดยใครจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยรสชาติของปลาชนิดนี้ และคนเชื่อว่าเมื่อรับประทานแล้วสามารถกำจัดพยาธิได้ด้วยการทานยา และจะช่วยขจัดความเสี่ยงของโรคมะเร็งด้วยทำให้คนไม่เปลี่ยนพฤติกรรมและเกิดการติดเชื้อซ้ำ ๆ โดยผู้ที่รับประทานปลาที่ปรุงไม่สุกมีโอกาสเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมถึงผู้ที่บริโภคแอลกอฮอล์ และอาหารที่มีไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารพิษที่สามารถพบได้ในอาหารหมัก เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป เช่น กุนเชียง แหนม แฮม และเบคอน (Sripa et al., 2007)

โรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) เกิดจากปัจจัยหลายประการทั้งปัจจัยด้านเศรษฐกิจและสังคม คือ ปลาสามารถหาเองได้ง่าย ราคาถูก วัฒนธรรม ประเพณี รสนิยม และความเชื่อเป็นสาเหตุที่ทำให้ประชาชนมีพฤติกรรมที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* อยู่ตลอดเวลา นอกจากนี้ในการวิเคราะห์หลายตัวแปรพบว่าเพศชายเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญสำหรับการติดเชื้อ (Thaewnongiew et al., 2014) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Boondit et al. (2020) พบว่าเพศชายมีความเสี่ยงมากกว่าเพศหญิง 3.1 เท่า (95% CI =1.1–8.4) ในขณะที่การศึกษาอื่น ๆ ในประเทศไทยไม่ได้แสดงความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างเพศ และการติดเชื้อเชื้อพยาธิ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยเสี่ยงที่มีนัยสำคัญเกี่ยวกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ อายุ การศึกษา รายได้ และนิสัยที่เกี่ยวข้องกับการเลือกอาหาร และการปรุงอาหาร พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Chavengkun et al., 2016; Prakobwong et al., 2017) สอดคล้องกับผลการศึกษาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยที่พบว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ เพศ อายุ ความใกล้ชิด และระยะเวลาที่อาศัยอยู่ใกล้แหล่งน้ำ พบว่าผู้ที่อาศัยอยู่ใกล้แหล่งน้ำมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อมากกว่าผู้ที่อาศัยอยู่ห่างออกไป 1.5 เท่า (Thaewnongiew et al., 2014) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Nakbun et al. (2018) พบว่าปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ ได้แก่ อายุ (≥ 55 ปี) โดยกลุ่มอายุ 55 ปีขึ้นไปมีความเสี่ยงต่อโรคสูงกว่ากลุ่มอายุ 15-24 ปีประมาณ 6.36 เท่า (ORadj=6.36, 95%CI= 1.28–31.66) และผู้ที่รับประทานก้อยปลาดิบมีความเสี่ยงของโรค 28.74 เท่าเมื่อเทียบกับผู้ที่ไม่ได้รับประทานก้อยปลา (ORadj 28.74, 95% CI 3.59–230.24) เนื่องจากก้อยปลาเป็นอาหารประเภทปลาดิบที่ไม่ผ่านกระบวนการใด ๆ โดยทำจากปลาดิบสับผสมกับสมุนไพร และเครื่องปรุงซึ่งแตกต่างจากอาหารที่ผ่านการหมักอย่างปลาร้า ก้อยปลาจึงอาจพบตัวอ่อนพยาธิระยะเมตาเซอร์คาเรียที่ยังมีชีวิตทำให้มีอัตราการติดเชื้อสูง รวมถึงพฤติกรรมการบริโภคปลาที่ปรุงไม่สุก (ORadj = 5.17, 95%CI = 2.49-10.74) ประวัติการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (ORadj = 5.64, 95%CI = 2.10-15.18) ประวัติการรับประทานพราซิควอนเทล (ORadj = 5.66, 95%CI = 3.11-10.29) และการกำจัดเศษอาหารที่ไม่ปลอดภัยพบว่าเป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Chudthaisong et al., 2015) และมีรายงานพบว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ พฤติกรรมการบริโภคปลาที่ปรุงไม่สุก (OR = 6.33, 95%CI = 0.32-0.59) ประวัติการตรวจอุจจาระหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (OR = 8.93, 95%CI = 5.15-15.47) ประวัติการติดเชื้อ (OR = 3.64, 95%CI = 1.17-1.44) และประวัติการใช้ยาพราซิควอนเทล (OR = 3.64, 95%CI = 1.17-1.44) (Perakanya et al., 2022) ดังนั้นเพื่อลดความชุกของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ควรให้ประชาชนหันมาสนใจในการเปลี่ยนพฤติกรรมการรับประทานอาหาร รวมถึงการปรุงอาหารให้ปลอดภัย และจำเป็นต้องมีการรณรงค์ให้ความรู้ด้านสุขภาพในพื้นที่ที่อยู่ใกล้กับแหล่งน้ำโดยต้อง

สอดคล้องกับบริบทด้านสิ่งแวดล้อม ประชากรศาสตร์ และความอ่อนไหวทางวัฒนธรรม นอกจากนี้ การปลูกฝังให้เยาวชนได้รับการศึกษา และความรู้ที่ถูกต้องเป็นสิ่งจำเป็น ดังนั้นเพื่อการป้องกัน และควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) จึงต้องเข้าใจปัจจัยด้านสังคมที่เป็นตัวกำหนดพฤติกรรมการกินอยู่ของประชาชนให้ชัดเจน และหาวิธีการแก้ไขพฤติกรรมเสี่ยงต่อโรคต่อไป มิฉะนั้นอัตราการติดเชื้อซ้ำจะคงมีอยู่ตลอดไปทำให้การป้องกัน และควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ไม่เกิดผลสำเร็จได้

พยาธิสภาพและอาการ

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ส่วนใหญ่ไม่แสดงอาการ และจะไม่ทราบว่าเป็นโรคนี้จนกว่าจะตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในอุจจาระ หรือจนกว่าจะมีอาการของระบบทางเดินน้ำดีอักเสบ หรืออุดตันซึ่งใช้เวลานานกว่าจะเกิดอาการ หรืออาจมีอาการได้ในผู้ป่วยบางรายโดยอาการจะไม่เฉพาะ เช่น อาหารไม่ย่อย ปวดท้อง ท้องผูก ท้องเสีย แน่นท้อง อ่อนเพลีย รู้สึกร้อน ๆ บริเวณใต้ชายโครงขวา หรือบริเวณลิ้นปี่ เมื่อมีการติดเชื้อเรื้อรังอาการจะรุนแรงขึ้น อาจมีภาวะตับโตและภาวะขาดสารอาหารร่วมด้วย พยาธิระยะตัวเต็มวัยที่อาศัยอยู่ในทางเดินน้ำดีสามารถทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์เยื่อบุผิว และอาจเกิดการอุดตันของทางเดินน้ำดีซึ่งนำไปสู่ท่อน้ำดีอักเสบ ท่อทางเดินน้ำดีอุดตัน เกิดพังผืดรอบ ๆ ท่อน้ำดี และการขยายตัวของถุงน้ำดี ผู้ป่วยอาจเสียชีวิตจากโลหิตเป็นพิษ หรือจากการทำงานของตับ และไตล้มเหลว นอกจากนี้ยังมีภาวะแทรกซ้อน หรือโรคที่มักพบร่วมกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ ท่อน้ำดีอักเสบ ถุงน้ำดีอักเสบ ตับแข็ง และมะเร็งตับชนิดมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) ผู้ป่วยจะมีอาการทรุดลง และเสียชีวิตในที่สุด อย่างไรก็ตามความรุนแรงของพยาธิสภาพ และอาการขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่มีพยาธิอยู่ในตับ หรือท่อน้ำดี และจำนวนของพยาธิ (Khuntikeo et al., 2018)

กระบวนการก่อโรคมะเร็งท่อน้ำดีจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

ผลกระทบที่ร้ายแรงที่สุดประการหนึ่งของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ การเกิดมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma; CCA) มีรายงานว่าความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และอัตราอุบัติการณ์การเป็นโรคมะเร็งท่อน้ำดีสูงสุดพบในประเทศไทย โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (Thinkhamrop et al., 2021) องค์การวิจัยโรคมะเร็งนานาชาติ (international agency for research on cancer; IARC) จัดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เป็นสารก่อมะเร็งประเภทที่หนึ่ง (Group 1, carcinogenic to human) ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2537 และจากการศึกษาทางระบาดวิทยาแสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เพิ่มความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งมะเร็งท่อน้ำดีเป็นโรคที่ไม่แสดงอาการ หรือไม่มีอาการเฉพาะ ส่วนใหญ่จะ

ตรวจพบเมื่ออยู่ในระยะที่มีการพัฒนาของมะเร็งเต็มขั้น การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพต่อท่อน้ำดีภายในและนอกตับ รวมถึงตับและถุงน้ำดี ในช่วงแรกของการติดเชื้อจะเกิดการอักเสบแบบเฉียบพลัน (acute inflammation) ในท่อน้ำดีที่อยู่ภายในตับ (large intrahepatic bileducts) และเนื้อเยื่อพอทัล (portal connective tissue) และพบการตายของเนื้อตับเป็นหย่อม ๆ ต่อมาเมื่อพยาธิเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยจะพบว่าเนื้อเยื่อบุผิวของท่อทางเดินน้ำดีมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น (hyperplasia) นอกจากนี้พยาธิสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบเรื้อรังชนิด granulomatous ซึ่งมีลักษณะเป็นการรวมตัวกัน หรือการสะสมของเซลล์ภูมิคุ้มกันเกิดจากภูมิคุ้มกันพยายามที่จะห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอมแต่ไม่สามารถกำจัดได้ ส่งผลให้เกิดพังผืดรอบ ๆ ท่อน้ำดี (periductal fibrosis ;PDF) และเกิดแผลเป็นที่ท่อน้ำดีซึ่งเป็นลักษณะที่แสดงถึงการติดเชื้อแบบเรื้อรัง และยังพบการหลุดลอกของเยื่อบุท่อน้ำดี (desquamation of the biliary epithelium) เนื่องจากการเกาะดูดของพยาธิด้วย oral sucker และ ventral sucker ที่ยึดเกาะกับเยื่อบุท่อน้ำดี รวมถึงสารคัดหลั่งของพยาธิ (excretory-secretory products) สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ส่งผลให้เยื่อบุท่อน้ำดีหนาขึ้นและพัฒนาเป็นมะเร็งท่อน้ำดี นอกจากนี้แอนติเจนของพยาธิสามารถกระตุ้นเซลล์แมคโครฟาจ (macrophage) ให้มีการแสดงออกของ Toll-like receptors (TLR-2), Induced NOS (iNOS) และ cyclooxygenases (COX-2) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่เกี่ยวกับการอักเสบ ส่งผลให้มีการสร้างสารอนุมูลอิสระที่เรียกว่า ไนตริคออกไซด์ (NO) เพิ่มขึ้น โดยไนตริคออกไซด์ (NO) เป็นโมเลกุลที่สำคัญในการกระตุ้นให้เกิดมะเร็งผ่านกระบวนการอักเสบเรื้อรัง และทำให้เกิดความเสียหายแก่สารชีวโมเลกุล เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน เป็นต้น เนื่องจากไนตริคออกไซด์ (NO) จะทำปฏิกิริยากับ superoxide anion ทำให้เกิดการสร้าง peroxynitrite ซึ่งสามารถไปทำลายดีเอ็นเอ ดังนั้นการติดพยาธิซ้ำ ๆ ก็จะทำให้เกิดความผิดปกติของดีเอ็นเอเพิ่มขึ้น และหากดีเอ็นเอที่ผิดปกติไม่สามารถซ่อมแซมได้ทำให้เซลล์ท่อน้ำดีเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ผิดปกติ และเพิ่มจำนวนมากขึ้นจนกระทั่งกลายเป็นมะเร็งท่อน้ำดี นอกจากนี้สารอนุมูลอิสระ peroxynitrite เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสที่ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่าง ๆ รวมถึงมะเร็งได้ และมีรายงานว่าคนที่ติดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบว่ามีการสร้างไนตริคออกไซด์ (NO) เพิ่มสูงขึ้นมากกว่าคนที่ไม่ติดพยาธิ แต่เมื่อรักษาด้วยยาพราซิควอนเทล (praziquantel) การเกิดพังผืดรอบ ๆ ท่อน้ำดี (periductal fibrosis) จะลดลง และสารก่อมะเร็งที่เกิดขึ้นจากการตอบสนองของโฮสต์ต่อพยาธิก็มีแนวโน้มลดลง แต่หากเกิดพังผืดรอบท่อน้ำดีระยะเรื้อรังแล้วพังผืดจะยังคงอยู่ หรืออาจสลายแต่ไม่หมดแม้จะกำจัดพยาธิแล้วทำให้เกิดการสะสมของพังผืดรอบท่อน้ำดี และมีผลกระทบต่อระบบทางเดินน้ำดีให้ผิดปกติ ซึ่งอาจเป็นอีกปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดมะเร็งท่อน้ำดี สรุป คือ การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในระยะเฉียบพลันทำให้เกิดการอักเสบ และทำลายเซลล์ตับ ในระยะเรื้อรังเกิดกระบวนการอักเสบแบบเรื้อรัง และเกิดการหนาตัวของท่อทางเดินน้ำดี การติดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ซ้ำ ๆ จะทำให้มี

การสร้างอนุมูลอิสระทั้งชนิดออกซิเจน และไนโตรเจนเพิ่มขึ้น และการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระลดลง เกิดการกระตุ้นให้เกิดมะเร็งท่อน้ำดีตามมา อีกทั้งการอักเสบสามารถกระตุ้นให้เกิดพังผืดรอบท่อน้ำดี ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีเช่นกัน นอกจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ปัจจัยร่วมที่เกี่ยวข้องกับความเสี่ยงที่เพิ่มขึ้นของการพัฒนาไปเป็นมะเร็งท่อน้ำดี ได้แก่ การบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และอาหารที่มีไนโตรซามีน เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูป รวมถึงผลิตภัณฑ์ที่หมักจากปลาอย่างปลาร้า ปลาส้ม เป็นต้น (Intuyod et al., 2013; Sithithaworn, Andrews, et al., 2014; Sripa et al., 2007)

เทคนิคการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สามารถทำได้หลายวิธีประกอบไปด้วย 1) การตรวจวินิจฉัยทางพยาธิวิทยา (parasitological) โดยตรง ได้แก่ การตรวจหาระยะไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในอุจจาระ และการตรวจหาตัวเต็มวัยของพยาธิในตับ หรือจากถุงน้ำดี 2) การตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา (immunological test) เช่น Immunoelectrophoresis หรือ IEP, Indirect haemaglutination หรือIHA และIndirect enzyme linked immunosorbent assay หรือ Indirect ELISA 3) เทคนิคทางอณูชีววิทยา (molecular technique) และ 4) การตรวจอัลตราซาวด์ (ultrasonography)

การตรวจหาระยะไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในอุจจาระเป็นการตรวจวินิจฉัยที่ดี ง่าย ประหยัด ใช้ระยะเวลา และขั้นตอนในการตรวจน้อย และน่าเชื่อถือมากที่สุด แต่มีความจำเป็นต้องอาศัยความชำนาญเนื่องจากการตรวจหาไข่พยาธิในอุจจาระจะต้องวินิจฉัยแยกจากไข่พยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (minute intestinal flukes: MIFs) เนื่องจากมีรูปร่างลักษณะที่คล้ายกัน แยกได้ยาก พยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กในวงศ์ Heterophyidae ได้แก่ *H. taichui* และ*H. pumilio* และพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กวงศ์ Lecithodendriidae ได้แก่ *P. bonnie* และ*P. molenkampi* (Sripa et al., 2011) ซึ่งเทคนิคการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากตัวอย่างอุจจาระที่นิยมใช้ปัจจุบัน ได้แก่

1. การตรวจอย่างง่าย (Simple smear) เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ประหยัด สามารถเห็นระยะไข่ของพยาธิได้ชัดเจน วิธี คือ หยดน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 หรือสารละลายไอโอดีนลงบนแผ่นสไลด์ ใช้ไม้เขี่ยอุจจาระขนาดเท่าหัวไม้ขีดไฟ หรือประมาณ 1-2 มิลลิกรัมต่อ 1 สไลด์ กวนเป็นรูปวงกลมบนบริเวณที่หยดสารลงไป จากนั้นปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10 เท่า และ40 เท่า ข้อจำกัดของเทคนิคนี้ คือ มีความไวต่ำ และโอกาสที่จะพบเชื้อมีน้อยโดยเฉพาะในรายที่ติดเชื้อจำนวนน้อย (light infection)

2. วิธี Kato’s thick smear เป็นเทคนิคที่ใช้ปริมาณอุจจาระมากกว่าวิธีการตรวจอย่างง่าย (simple smear) ทำให้มีโอกาสตรวจพบเชื้อมากขึ้นแม้จะมีพยาธิจำนวนน้อย เป็นวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบัน สะดวก รวดเร็ว ค่อนข้างประหยัด และประสิทธิภาพดี แต่มีข้อจำกัด คือ รูปร่างของไข่พยาธิบางชนิดจะเปลี่ยนแปลงไปซึ่งอาจทำให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้ โดยเฉพาะหากทิ้งสไลด์ไว้นานเกิน 30 นาที ดังนั้นต้องอาศัยประสบการณ์ และความชำนาญในการตรวจ ไม่เหมาะสำหรับอุจจาระเป็นก้อนแข็ง หรือเหลวเป็นน้ำ (Charoensuk et al., 2018) วิธี คือ เขี่ยอุจจาระประมาณ 50-60 มิลลิกรัม ลงบนกระจกสไลด์ ปิดด้วยแผ่นกระดาษเซลโลเฟนที่แช่ด้วยน้ำยาคาโต้ (glycerine malachite green) ใช้จุกยางกดลงบนกระดาษเซลโลเฟนตรงบริเวณที่มีอุจจาระอยู่เพื่อให้อุจจาระกระจายสม่ำเสมอ และมีความบางพอดีที่สามารถตรวจได้ ทิ้งไว้ประมาณ 20-30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า และ 40 เท่า

3. วิธี Formalin-ether (ethyl acetate) concentration technique (FECT) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากโอกาสการตรวจพบเชื้อปรสิตได้มากกว่าวิธีอื่น ๆ เพราะใช้ปริมาณอุจจาระมาก สามารถตรวจได้ทั้งอุจจาระสด และอุจจาระที่ใส่สารรักษาสภาพ และปรสิตจะถูกแยกจากสิ่งเจือปน คือ ไขมัน และกากอุจจาระโดยการกรองด้วย ether หรือethyl acetate จึงทำให้ตรวจหาปรสิตได้ง่ายขึ้น ตะกอนอุจจาระสามารถเก็บไว้ได้เป็นเวลานาน เนื่องจากใช้ 10% formalin รักษาสภาพ (fixation) ปรสิตไว้ แต่วิธีนี้มีข้อเสีย คือ วิธีการยุ่งยาก ใช้วัสดุอุปกรณ์มาก สารเคมีที่ใช้เป็นอันตรายต่อมนุษย์ และมีราคาแพง ไม่เหมาะสำหรับการตรวจภาคสนาม (Charoensuk et al., 2018) จะเห็นได้ว่าทุกเทคนิคในการตรวจหาเชื้อปรสิตมีข้อจำกัดทั้งในด้านความไวที่อาจตรวจไม่พบเชื้อในกรณีที่มีไข่ในอุจจาระปริมาณน้อย ๆ วัสดุอุปกรณ์ขั้นตอนในการตรวจที่ยุ่งยาก รวมถึงอันตรายจากการใช้สารเคมี ดังนั้นการเลือกใช้เทคนิคอื่น ๆ ร่วมด้วยจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจหาพยาธิมากขึ้น

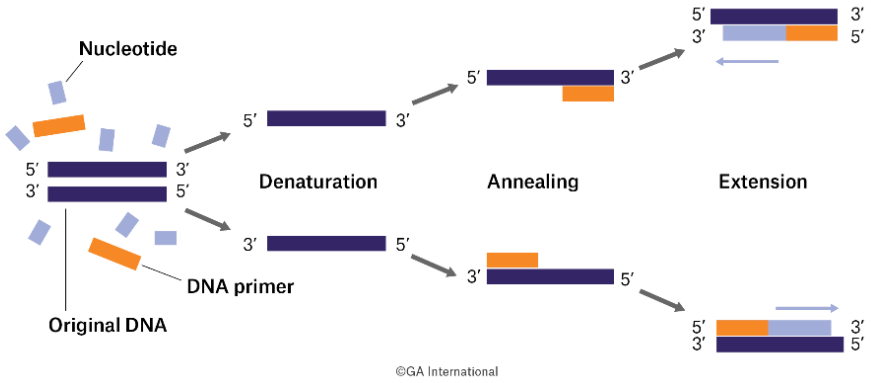
การตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา (immunological test) เนื่องจากการตรวจหาระยะไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในอุจจาระเป็นการตรวจวินิจฉัยที่ง่าย ราคาไม่แพง แต่ความไว และความจำเพาะขึ้นอยู่กับวิธีการ และประสบการณ์ของบุคลากร ในกรณีที่มีการติดเชื้อน้อย (light infections) หรือไข่ออกมาน้อยในอุจจาระอันเนื่องจากการอุดตันของทางเดินน้ำดี (biliary obstruction) ดังนั้นการตรวจอุจจาระด้วยกล้องจุลทรรศน์อาจให้ผลการวินิจฉัยที่ผิดพลาด นอกจากนี้ลักษณะไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และไข่ของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (MIFs) มีลักษณะที่คล้ายกัน แยกได้ยากภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยาได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางโดยมีเป้าหมายเพื่อเพิ่มความไว และความจำเพาะในการตรวจวินิจฉัย (Kimawaha et al., 2018; Sripa et al., 2011) เทคนิคการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยาที่นิยม ได้แก่

1. Immunoelectrophoresis (IEP) เป็นการแยก และจำแนกชนิดโปรตีนตามความแตกต่างของประจุไฟฟ้า และปฏิกิริยากับแอนติบอดี โดยการหยดซีรัมผู้ป่วยลงในหลุมแล้วนำไปผ่านสนามไฟฟ้าเพื่อแยกโปรตีนชนิดต่าง ๆ ออกจากกัน แล้วเติมแอนติบอดีทิ้งไว้ค้างคืน เมื่อเกิด immuneprecipitation ขึ้นจะเห็นแถบตะกอนขาวเพื่อบ่งบอกชนิดของโปรตีนได้ อย่างไรก็ตามความไวของการทดสอบค่อนข้างต่ำ และเกิดปฏิกิริยา cross reaction กับผู้ป่วยที่เป็นโรคพยาธิตัวจี๊ด (gnathostomiasis) และโรคพยาธิใบไม้ในเลือด (schistosomiasis) (Wongratanacheewin et al., 2003)

2. Indirect enzyme linked immunosorbent assay (Indirect ELISA) สำหรับตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในซีรั่ม (สามารถตรวจได้ทั้งในตัวอย่างเลือด ปัสสาวะ น้ำลาย และอุจจาระ) ของผู้ป่วยโดยแอนติเจนที่ใช้เป็น crude somatic ของระยะตัวเต็มวัยของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Jamornthanyawat, 2002) โดยมีค่าความไวสำหรับ IgG ประมาณร้อยละ 76-100 IgE ร้อยละ 74 และIgA ร้อยละ 63 (Poopyruchpong et al., 1990; Wongsaroj et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีการใช้แอนติเจนที่ปล่อยจากตัวพยาธิ (excretory secretory antigen: ES) โดยเฉพาะโปรตีนที่มีมวลโมเลกุล 89 kDa พบว่ามีค่าความไวสูงสำหรับการตรวจหาการติดเชื้อ (Sripa et al., 2011) นอกจากนี้ Indirect ELISA เป็นวิธีที่มีความไว และความจำเพาะกว่าวิธีการตรวจหาพยาธิจากตัวอย่างอุจจาระ และเป็นวิธีคัดกรองการติดเชื้อที่เป็นที่นิยมในพื้นที่ถิ่นระบาด (endemic areas) (Kimawaha et al., 2018) อย่างไรก็ตามวิธีการตรวจหาแอนติบอดีมีข้อเสีย คือ ไม่สามารถแยกความแตกต่างของการติดเชื้อในอดีตและปัจจุบันได้ เนื่องจากการตอบสนองของแอนติบอดีต่อพยาธิสามารถคงอยู่ในโฮสต์ที่ติดเชื้อ และไม่ติดเชื้อได้หลายปีหลังจากการรักษา (Sripa et al., 2011)

เทคนิคทางอณูชีววิทยา (molecular technique) เป็นการตรวจหา nucleic acid ทั้งดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ของปรสิตโดยอาศัยการเพิ่มจำนวนของชุดยีนดีเอ็นเอ หรืออาร์เอ็นเอ ด้วยวิธีต่าง ๆ เช่น conventional PCR และ real time PCR เป็นเทคนิคที่ให้ผลที่มีความแม่นยำสูง มีความน่าเชื่อถือ และมีความจำเพาะ (specificity) ความไวสูง (sensitivity) ซึ่งเหมาะสำหรับการวินิจฉัยที่มีการติดเชื้อจำนวนน้อย (light infection) ในตัวอย่างจากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่อาจให้ผลลบ และหลีกเลี่ยงความสับสนกับพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (MIFs) สามารถใช้ได้กับตัวอย่างจำนวนมากในคราวเดียว และรู้ผลภายในหนึ่งวัน ทันสมัยแต่มีราคาแพง ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) โดยเฉพาะในรายที่มีการติดเชื้อในระยะเริ่มแรก หรือมีการอุดตันของท่อทางเดินน้ำดีที่ทำให้ไม่สามารถตรวจพบไข่พยาธิในอุจจาระได้ นอกจากนี้ยังสามารถจำแนกชนิดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก (MIFs) ที่มีลักษณะคล้ายกันซึ่งแยกได้ยากหากตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เทคนิค

ทางอณูชีววิทยาเป็นอีกทางเลือกที่ได้มีการนำมาใช้เพื่อศึกษาทางด้านปรสิต ปัจจุบันมีการใช้อย่างแพร่หลายมากขึ้น เทคนิคที่นิยมใช้ตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ polymerase chain reaction หรือ PCR วิธีนี้ให้ความไวและความจำเพาะสูง เป็นปฏิกิริยาการเพิ่มขยายปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมาย (target DNA) ในหลอดทดลอง (*in vitro*) ส่วนประกอบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ได้แก่ ดีเอ็นเอต้นแบบ (template DNA), thermostable DNA polymerase เช่น taq polymerase, oligonucleotide primer อย่างน้อย 1 คู่, deoxynucleotide triphosphate (dNTPs) ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ dATP dGTP dCTP และdTTP, PCR buffer และองค์ประกอบอื่น ๆ เช่น $MgCl_2$ การเพิ่มขยายปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมายประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอน denaturation เป็นขั้นตอนแยกดีเอ็นเอสายคู่ให้เป็นสายเดี่ยวด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียสเพื่อทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบส ต่อมาเป็นขั้นตอน annealing เป็นขั้นตอนที่มีการลดอุณหภูมิลงอยู่ที่ประมาณ 45-60 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิในช่วงนี้จะขึ้นกับค่า Tm ของไพรเมอร์ที่ใช้เพื่อให้ไพรเมอร์ซึ่งเป็น oligonucleotide สายเดี่ยวสั้น ๆ มาจับอย่างจำเพาะกับดีเอ็นเอต้นแบบในตำแหน่งที่มีลำดับเบสที่จำเพาะกับไพรเมอร์ ขั้นสุดท้าย extension เป็นขั้นตอนการขยายสายดีเอ็นเอโดยการต่อลำดับนิวคลิโอไทด์เข้าที่ปลาย 3’ ของไพรเมอร์ทั้ง 2 ในทิศ 5’ ไป 3’ โดยอาศัยเอนไซม์ Taq DNA polymerase ช่วยสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ที่มีลำดับเบสเหมือนดีเอ็นเอต้นแบบโดยจะต้องใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 70-75 องศาเซลเซียสจึงทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของช่วงดีเอ็นเอที่ต้องการซึ่งอยู่ในช่วงที่ไพรเมอร์มีการจับอย่างจำเพาะกับสายดีเอ็นเอ เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิเพื่อให้สายดีเอ็นเอแยกตัว และลดอุณหภูมิเพื่อให้มีการจับกันระหว่างสายดีเอ็นเอกับไพรเมอร์ และมีการทำงานของ Taq DNA polymerase อีกครั้งก็จะได้สายดีเอ็นเอในช่วงที่ต้องการเพิ่มเป็นเท่าตัวลักษณะทวีคูณเป็น 2^n ดังภาพ 10 เมื่อนำสายดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจสอบขนาดด้วยวิธี gel electrophoresis ขนาดของสายดีเอ็นเอที่จำเพาะจะสามารถบ่งบอกชนิดของปรสิตที่ต้องการตรวจสอบได้ (Giasuddin, 1995) ยีนเป้าหมายที่นิยมศึกษา ได้แก่ Internal transcribed spacer region (ITS1และITS2), Cytochrome c oxidase subunit I (COI หรือ CoxI) และCytochrome b (CYTB) และNicotinamide adenine dinucleotide dehydrog - enase (nad) (Pumpa et al., 2021)



ภาพ 10 หลักการและขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR

ที่มา: Goldberg, 2019

ตาราง 1 แสดงตำแหน่งยีนเป้าหมายที่ใช้ในการตรวจหาไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้เทคนิค PCR

ยีนเป้าหมาย	ตัวอย่าง	ความไว	ปฏิกิริยาข้าม	อ้างอิง
Trem24F และ OV25-4R	อุจจาระ	5 egg/g	ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิ *H. taichui*, *C. sinensis*, *F. gigantica*, *T. saginata* และHookworm	Umesha et al., 2008
Trem24F และ OV25-4R	เมตาเซอร์คาเรียในปลาสกุล *Puntius*	3 เมตาเซอร์คาเรีย	ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิ *H. taichui*, *T. saginata*, hookworm, *C. sinensis*, *F. gigantica*, *Spirometra* sp., *E. malayanum*, และ *C. formosanus*	Parvathi et al., 2008
ITS2	อุจจาระ	76.9%	ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิ *Taenia* spp., hookworms, *T. trichiura*, *A. lumbricoides* และ *C. philippinensis*	Pumpa et al., 2021
pOV-A6 DNA	มูลหนู แฮมสเตอร์	$2x10^{-17}$ ngหรือ 1 egg/g	ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิ *Centrocestus* spp. และ *H. taichui*	Wongratanacheewin et al., 2001
pOV-A6 DNA	อุจจาระ	79.3 %	ไม่มีข้อมูล	Duenngai et al., 2008

ตาราง 1 (ต่อ)

ยีนเป้าหมาย	ตัวอย่าง	ความไว	ปฏิกิริยาข้าม	อ้างอิง
Cox1	อุจจาระ	96.2%	ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิ *Taenia* spp., hookworms, *T. trichiura*, *A. lumbricoides* และ *C. philippinensis*	Pumpa et al., 2021
CYB	อุจจาระ	100%	ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิ *Taenia* spp., hookworms, *T. trichiura*, *A. lumbricoides* และ *C. philippinensis*	Pumpa et al., 2021
Nad	อุจจาระ	5 egg/g หรือ 100%	ไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิ hookworm, A. *lumbricoides*, *S. stercoralis*, *Taenia* spp., และ *T. trichiura*	Phadungsil et al., 2021
ITS1	อุจจาระ	76.2%	ไม่มีข้อมูล	Sato et al., 2009
ITS2	อุจจาระ	95.2%	ไม่มีข้อมูล	Sato et al., 2009

การรักษาโรคพยาธิใบไม้ตับ (Opisthorchiasis)

การรักษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ การทานยาพราซิควอนเทล (praziquantel; PZQ) เป็นยาที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รวมถึงพยาธิใบไม้ชนิดอื่น ๆ และพยาธิตัวตืด มีความปลอดภัยสูง ผลข้างเคียงน้อย พราซิควอนเทล (praziquantel) เป็นยาในกลุ่ม Isoquinolone ชื่อทางการค้า คือ Biltricide กลไกการออกฤทธิ์ของยาต่อตัวพยาธิพบว่ายาจะเพิ่มการซึมผ่านของเกลือแคลเซียมอิออน (Calcium ion; Ca^{++}) ที่ผนังเซลล์ของตัวพยาธิ ทำให้พยาธิเกิดการเสียสมดุลของแคลเซียมไอออน มีผลกระตุ้นให้ตัวพยาธิเกิดการหดตัว และเกิดภาวะคล้ายอัมพาตตามมาจนทำให้พยาธิตายลง จากนั้นร่างกายจะกำจัดตัวพยาธิที่ตายแล้วออกมาทางอุจจาระ (Supiyaphun & Sitthichareonchai, 2008) (สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค, 2559)

ยาพราซิควอนเทล (praziquantel) ใช้ได้ผลดีในผู้ป่วยที่เป็นโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ชนิดมีอาการน้อยถึงปานกลาง และไม่มีโรคอื่นร่วมด้วย เช่น โรคตับแข็ง หรือเนื้องอกในตับ เป็นยาที่มีผลข้างเคียงน้อย อาการที่พบได้หลังรับประทานยา คือ เวียนศีรษะ คลื่นไส้อาเจียน บางรายปวดเมื่อยตัว และรู้สึกร้อน ๆ ปวดมวนในท้อง ท้องเสีย ปวดศีรษะ อาการมักหายเองภายใน 1-2 วัน ดังนั้นควรแนะนำให้ผู้ป่วยรับประทานยาหลังอาหารเย็น หรือก่อนนอน เนื่องจากยามี

ฤทธิ์ระงับประสาท หากผู้ป่วยได้รับการพักผ่อนหลังรับประทานยา เมื่อตื่นขึ้นมาอาการปวดศีรษะและเวียนศีรษะจะหายไป ซึ่งจะช่วยให้อาการข้างเคียงลดลงได้ สำหรับขนาดและวิธีการใช้ยา การใช้ยาจะมีประสิทธิภาพดีเมื่อใช้ยาขนาด 25 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม รับประทานวันละ 3 ครั้ง หลังอาหาร เป็นเวลา 1-2 วัน (ตามน้ำหนักตัว) ในพื้นที่เกิดโรคสูงควรใช้ยาขนาด 40 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม รับประทานครั้งเดียว (single dose) หลังอาหารเย็นหรือก่อนนอน ห้ามใช้ยาในหญิงตั้งครรภ์ หญิงให้นมบุตร เด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี ผู้ที่แพ้หรือไวต่อตัวยา และส่วนประกอบของยา และผู้ป่วยโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ที่ยังมีอาการเจ็บป่วยเนื่องจากสาเหตุอื่น ๆ (ผู้ป่วยโรคหัวใจ ความดัน เบาหวาน ต้องอยู่ในความดูแลของแพทย์) การประเมินประสิทธิภาพของยาหลังจากการรับประทานยาแล้วแนะนำให้ตรวจอุจจาระ 15–30 วัน เนื่องจากยาจะทำให้ผิวของตัวพยาธิแตกออก อวัยวะภายใน และไข่พยาธิจำนวนมากจะหลุดออกจากตัวพยาธิแล้วออกมาในอุจจาระ ดังนั้นหากมีการตรวจอุจจาระผู้ป่วยหลังรับประทานยาทันทีจะพบจำนวนไข่พยาธิเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะในช่วง 2-3 วันแรกแล้วจะค่อย ๆ ลดลงจนกระทั่งตรวจไม่พบอีกหลังจากรับประทานยาประมาณ 1 สัปดาห์ (ประยงค์ ระดมยศ et al., 2541) แม้ว่าการรักษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยการทานยาพราซิควอนเทล (praziquantel) จะเป็นวิธีรักษาที่มีประสิทธิภาพที่สุด ทั้งนี้การรักษาด้วยยาถือเป็นการเพิ่มการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม และเพิ่มการแพร่กระจายของเชื้อ เนื่องจากยาจะทำให้ผิวของตัวพยาธิแตกออก และไข่พยาธิจำนวนมากจะหลุดออกจากตัวพยาธิแล้วออกมาในอุจจาระ ดังนั้นการปรับปรุงสภาพสุขอนามัย และการให้ความรู้ที่ถูกต้องเกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ถือเป็นกุญแจสำคัญในการลดการแพร่เชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Thanh et al., 2017)

การควบคุมป้องกันการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

การป้องกัน และควบคุมการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ประกอบด้วยสามวิธีหลัก คือ การตรวจอุจจาระ และการรักษาผู้ที่ติดเชื้อด้วยยาพราซิควอนเทล (praziquantel) เพื่อกำจัดแหล่งรังโรคที่สำคัญอย่างมนุษย์ การให้สุขศึกษาโดยส่งเสริมการบริโภคอาหารที่ปรุงจากปลาที่ผ่านการปรุงสุกเพื่อป้องกันการติดเชื้อ และการขับถ่ายอุจจาระที่ถูกสุขลักษณะเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของไข่พยาธิ เนื่องจากอุจจาระที่มีไข่ของพยาธิเมื่อลงสู่แหล่งน้ำจะทำให้ไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ออกมาพร้อมอุจจาระมีโอกาสแพร่กระจายเข้าสู่หอยน้ำจืดซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่งของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้ (Jongsuksuntigul & Imsomboon, 2003) การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีสาเหตุหลักจากการรับประทานปลา (fishborns zoonotic trematodes; FZT) ที่ปรุงไม่สุก เช่น ก้อยปลา ปลาส้ม ปลาจ่อม การป้องกันที่ดีที่สุดสำหรับโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) คือ หลีกเลี่ยงการบริโภคปลาที่ไม่ปรุงสุก การทำอาหารพื้นบ้าน

ปลอดพยาธิสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การนำปลาไปแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าปลาแข็งจนทั่วจะทำให้พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะติดต่อตาย หรือนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ – 15 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอย่างน้อย 5 วัน หรืออุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียสเป็นเวลาอย่างน้อย 3 วันก่อนนำปลาไปประกอบอาหารจะช่วยในการกำจัดพยาธิระยะติดต่อในปลา นอกจากการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมแล้วควรมีการให้ความรู้ที่ถูกต้องซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการป้องกัน และควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) (Pumidonming et al., 2020) การหลีกเลี่ยงการบริโภคปลาที่ปรุงไม่สุกเป็นวิธีปฏิบัติที่ดีที่สุดในการป้องกันการติดเชื้อ รวมถึงการสร้างห้องน้ำที่ถูกสุขลักษณะ และการจัดการดูแลความสะอาดของบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่เป็นโฮสต์ตัวกลางอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนจะช่วยหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนไข่ของพยาธิที่มาพร้อมกับอุจจาระได้ซึ่งการปฏิบัติดังกล่าวข้างต้นมีส่วนทำให้วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* หยุดได้ (Thanh et al., 2017)

นวัตกรรมการควบคุม ป้องกันการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

นวัตกรรมการควบคุม ป้องกันการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ต้องครอบคลุมปัจจัยที่เกี่ยวข้องในวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ตั้งแต่การมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* วงจรชีวิต โฮสต์ที่เกี่ยวข้อง ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการแพร่ระบาด การตรวจวินิจฉัย การรักษา และการควบคุมป้องกัน ตัวอย่างนวัตกรรมการควบคุม ป้องกันการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เช่น

ละว้าโมเดล

โครงการวิจัย และควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* แบบบูรณาการ โดยนำความรู้จากงานวิจัยสู่ชุมชนอย่างใกล้ชิด โดยศาสตราจารย์บรรจบ ศรีภา หัวหน้าศูนย์ความร่วมมือองค์การอนามัยโลกด้านการวิจัย และการควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มหาวิทยาลัยขอนแก่น และทีมวิจัย พบว่าพื้นที่แก่งละว้า จังหวัดขอนแก่นมีอัตราการติดเชื้อสูงถึงร้อยละ 60 ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการติดเชื้อมากที่สุดในจังหวัดขอนแก่น เนื่องจากประชาชนในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีวิถีชีวิตดั้งเดิมที่มีการดำรงชีวิตด้วยการรับประทานปลาดิบ และเป็นอาหารประจำภูมิภาค ดังนั้นการจะปรับเปลี่ยนวิถีชีวิตจึงต้องใช้เวลาและความเข้าใจ แต่ด้วยความตั้งใจที่แน่วแน่ของทีมวิจัย การแทรกซึม คลุกคลีอย่างใกล้ชิดกับคนในชุมชนส่งผลให้สามารถลดอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากร้อยละ 67 ลดลงเหลือร้อยละ 24 “ละว้าโมเดล” เป็นการมุ่งเน้นให้ชุมชนจัดการตนเองเนื่องจากการทำงานด้วยคนในชุมชนเองจะมีความยั่งยืน และเข้าถึงกลุ่มคนได้ง่ายกว่า โดยทีมวิจัยจะมีหน้าที่เสริมสร้างองค์ความรู้ให้กับกลุ่มผู้นำของชุมชน และอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน หรือ อสม. ที่เป็นแม่ทัพหลักในการลงพื้นที่ให้ความรู้อย่างใกล้ชิดกับชาวบ้าน โดยมีสถานี

อนามัยในท้องที่เป็นพี่เลี้ยง เรียกได้ว่าชุมชนหันมาดูแลกันและกัน ระดมความคิดว่าจะทำอย่างไรเพื่อปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการรับประทานปลาที่ไม่ปรุงสุกของคนในชุมชนได้ ทำให้การดำเนินโครงการสามารถปรับพฤติกรรมได้ทีละน้อยทำให้ลดการแพร่กระจายพยาธิจากคนที่ติดพยาธิลงสู่แหล่งน้ำ จนถึงปัจจุบันอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาขาวนาซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางลดลงจากสูงสุดร้อยละ 70 เหลือเพียงน้อยกว่าร้อยละ 1 ดังนั้นถึงแม้จะมีประชาชนบางส่วนที่มีพฤติกรรมการรับประทานปลาที่ปรุงไม่สุก แต่หากปลาในแหล่งน้ำปลอดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ชุมชนก็จะลดอัตราเสี่ยงลงมาก นอกจากนี้ทีมวิจัยยังได้มีการให้ความรู้กับนักเรียนในพื้นที่รอบแก่งละว้า 9 แห่ง ส่งผลให้สามารถลดการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในตับ *O. viverrini* จากเฉลี่ยร้อยละ 10 เหลือน้อยกว่าร้อยละ 1 และไม่พบการติดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ซ้ำหลังจากการรักษาควบคู่ไปกับสุขศึกษาภายใต้โครงการ “โรงเรียนปลอดพยาธิใบไม้ในตับ *O. viverrini*” ทีมวิจัยจึงได้สร้างหลักสูตร “โรคพยาธิใบไม้ในตับ และมะเร็งท่อน้ำดีสำหรับนักเรียนระดับประถมศึกษาปีที่ 4 ถึง 6” ร่วมกับสำนักงานสาธารณสุข จังหวัดขอนแก่น สำนักงานเขตพื้นที่การศึกษาระดับประถมศึกษา (สพป.) จังหวัดขอนแก่น นอกจากผู้ใหญ่ที่เป็นเป้าหมายหลักแล้วเด็กนักเรียนถือเป็นจุดเริ่มต้นสำคัญ หากสามารถปลูกฝังเรื่องพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ตั้งแต่วัยเด็กในอนาคตปัญหาเรื่องโรคพยาธิก็จะหายไป (Patomnakul & Boonmars, 2016)

อาหารพื้นบ้านปลอดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ตำบลโคกปรง จังหวัดเพชรบูรณ์

รศ.ดร.วิลาวัณย์ ภูมิดอนมิ่ง และทีมวิจัยร่วมกับโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลโคกปรง จังหวัดเพชรบูรณ์ และสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 2 จังหวัดพิษณุโลก ได้ร่วมมือกันจัดทำโครงการควบคุมการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชนโคกปรงเพื่อลดความเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งตับและทางเดินน้ำดี ภายใต้แนวคิด “ปลอดภัย ไร้พยาธิ รสชาติดั้งเดิม” เป็นแนวทางสำหรับการควบคุม และลดการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชนที่นิยมบริโภคอาหารพื้นบ้านแบบไม่ปรุงสุกได้ ผู้วิจัยและแกนนำชุมชนเก็บรวบรวมข้อมูลการทำอาหารพื้นบ้านพบว่าประชากรในพื้นที่นิยมบริโภคปลาส้ม ก้อยปลา ปลาร้า และปลาจ่อมแบบไม่ปรุงสุกที่สามารถพบตัวอ่อนระยะติดต่อในจำนวนที่ใกล้เคียงกับปลาสดที่ยังไม่ผ่านการปรุง แต่ในปลาร้ามีตัวอ่อนระยะติดต่อที่สภาพไม่สมบูรณ์เนื่องจากปลาร้ามีปริมาณเกลือสูง ระยะเวลาการหมักนาน ผู้วิจัยจึงได้เสนอขั้นตอนการกำจัดพยาธิในอาหารพื้นบ้านโดยการกำจัดพยาธิระยะติดต่อในปลา โดยที่ปลายังคงความสด วิธีคือ การนำปลาไปแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เพื่อเปลี่ยนสถานะของโมเลกุลของน้ำให้เป็นน้ำแข็งโดยการนำไปแช่แข็งในช่องแช่แข็งของตู้เย็นทั่วไป หรือในตู้แช่แข็งพิเศษเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าปลาแข็งจนทั่วจะทำให้พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะติดต่อตาย โดยปลาที่ผ่านการแช่แข็ง ยังคงความสดสามารถนำไปประกอบอาหารที่มีการรับประทานแบบไม่ปรุงสุกได้ ซึ่งผลการตรวจในอาหารพื้นบ้านดังกล่าวไม่พบระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

นอกจากนี้ได้จัดอบรมการทำอาหารพื้นบ้านปลอดพยาธิ พร้อมทั้งให้มีส่วนร่วมในการคิดค้นสูตรอาหารพื้นบ้านปลอดพยาธิ และมีการจัดกิจกรรมประกวดการทำอาหารพื้นบ้านปลอดพยาธิ ผลที่ได้ทำให้ประชากรในชุมชนทราบขั้นตอนการปรุงอาหารพื้นบ้านแบบปลอดพยาธิ สามารถผลิตอาหารพื้นบ้านที่ปลอดพยาธิ นำไปใช้ในครัวเรือนของตนเพื่อป้องกันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และป้องกันการติดเชื้อซ้ำหลังการกินยากำจัดพยาธิแล้ว นอกจากนี้ได้มีการจัดกิจกรรมให้สุขศึกษาเกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่นที่พบในชุมชน ทั้งในเรื่องวงจรชีวิต วิธีติดต่อมาสู่คน การก่อให้เกิดโรค การควบคุมป้องกันการติดเชื้อพยาธิให้แก่อาสาสมัครสาธารณสุข 17 หมู่บ้าน บุคลากรในโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล รวมถึงผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เพื่อสร้างแกนนำที่มีความรู้ความเข้าใจในชุมชน และจัดทำแผ่นพับที่มีเนื้อหาครอบคลุมเข้าใจง่ายมอบให้กับแกนนำ จากนั้นให้แกนนำร่วมจัดกิจกรรมให้สุขศึกษาแก่โรงเรียนผู้สูงอายุ ครู นักเรียนทั้งระดับประถมและมัธยมศึกษา ผู้มารับบริการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และผู้ติดเชื้อในพื้นที่ ผลที่ได้ คือ คนในชุมชนได้รับการถ่ายทอดนวัตกรรมรวมทั้งมีความรู้ความเข้าใจ และตระหนักถึงประโยชน์ และความปลอดภัยของการบริโภคอาหารพื้นบ้านปลอดพยาธิพร้อมนำความรู้ไปใช้ในครัวเรือนของตน (Pumidonming et al., 2020)

นวัตกรรมเพื่อการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมในการป้องกันโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ในชุมชนในพื้นที่จังหวัดสกลนคร

จังหวัดสกลนครเป็นพื้นที่ในการทดลองใช้รูปแบบการพัฒนาอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้านเพื่อปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการป้องกันโรคให้กับคนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นวัตกรรมที่ใช้ได้แก่ 1) หนังจ๋อน้อยลดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยเจ้าหน้าที่ และอาสาสมัครสาธารณสุขร่วมกันให้สุขศึกษาแนวใหม่ที่ตรงกับปฏิทิน และเวลาที่เหมาะสมของชุมชนโดยใช้วิธีการบรรยายแลกเปลี่ยนเรียนรู้ ตอบคำถามสลับกับการเปิดภาพยนตร์ที่ประชาชนชื่นชอบ 2) กด LIKE ให้ถ้าไผ่บ่กินดิบเป็นป้าย (future board) ที่มีข้อความร่วมกับรูปภาพกระตุ้นการไม่กินปลาดิบในชุมชน และตั้งในกิจกรรมของชุมชน ได้แก่ งานศพ งานแต่งงาน งานบุญในชุมชน เป็นต้น 3) ปลาร้ากระปุก “สุกกะแซ่บ” โดยเจ้าหน้าที่สาธารณสุขร่วมกับอาสาสมัครจัดทำกระปุกปลาร้าสุกโดยการทำตัวอักษรลงในขวดปลาร้าและให้อสม. แจกให้แก่ประชาชนที่ตนเองรับผิดชอบ 4) ป้ายครอบครัวตัวอย่างบ้านนี้ไม่กินปลาดิบและปลาร้าดิบ เจ้าหน้าที่สาธารณสุขร่วมกับอาสาสมัครจัดทำป้ายครอบครัวนี้ไม่กินปลาดิบและปลาร้าดิบมอบให้แก่บ้านในชุมชน 5) เสียงใสเตือนใจพยาธิใบไม้ตับ เจ้าหน้าที่สาธารณสุขร่วมกับอาสาสมัครร่วมกันค้นหาความรู้ที่เกี่ยวข้องบันทึกลง CD และประสานไปที่ดีเจชุมชนเพื่อดำเนินการเปิดเสียงตามสายให้แก่ประชาชนในพื้นที่ (Limpawittayakul et al., 2016)

นวัตกรรมเพื่อการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมในการป้องกันโรคพยาธิใบไม้ตับในชุมชน ในพื้นที่จังหวัดร้อยเอ็ด

จังหวัดร้อยเอ็ดเป็นพื้นที่ทดลองใช้รูปแบบการพัฒนาอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้านเพื่อปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการป้องกันโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ให้แก่ประชาชนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมีการพัฒนานวัตกรรมทั้งหมด 6 นวัตกรรม ดังนี้ 1) ลด ละ เลิก ปลอดโรคพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ให้อสม. และ อย. น้อยในชุมชนเป็นสื่อบุคคลในการถ่ายทอดให้ประชาชนเกิดการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการป้องกันโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) 2) จัดทำสื่อหมอลำพื้นบ้านเพื่อการป้องกันโรคพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 3) งานบุญปลอดปลาดิบ 4) “ร้านนี้ปลาร้าต้มส้มตำแซ่บ” มุ่งเน้นให้ร้านค้าโดยเฉพาะร้านส้มตำในชุมชนใช้ปลาร้าต้ม และมอบป้ายเพื่อเป็นการรับรอง 5) โส ซอม ส่อ ต่อต้านโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) เป็นกิจกรรมทางสุขศึกษาในการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ระหว่าง อสม. และประชนชน 6) ปลาหมอชวนคิด จัดทำที่ติดตู้เย็นและมีข้อความชักชวนให้ประชาชนมีพฤติกรรมต่อการป้องกันโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) (Limpawittayakul et al., 2016)

โครงการประเทศไทยไร้พยาธิใบไม้ตับ (Fluke Free Thailand)

โครงการ “Fluke Free Thailand” เป็นการทำงานเพื่อแก้ไขปัญหาโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) และมะเร็งท่อน้ำดีแบบครบวงจรตั้งแต่ระดับปฐมภูมิ ทุติยภูมิ และตติยภูมิ โดยมีนักวิจัยจากโครงการแก้ไขปัญหาโรคพยาธิใบไม้ตับ และมะเร็งท่อน้ำดีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (cholangiocarcinoma screening and care program; CASCAP) ร่วมกับกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และกระทรวงศึกษาธิการ โดยมีกิจกรรมทั้งหมด 11 โครงการดังนี้ 1) “อาหารปลอดภัย : ปลาปลอดพยาธิ” เพื่อสำรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลา และหอยในพื้นที่ที่มีการระบาด 84 อำเภอในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ และแนะนำวิธีปรุงอาหารปลอดพยาธิ 2) “การรักษาโรคพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในสุนัขและแมวแบบกลุ่ม” ในพื้นที่ระบาด 84 อำเภอ 110 หมู่บ้าน 3) โครงการ “แผนภูมิความชุก และระบาดวิทยาของโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ใน 27 จังหวัด: การประยุกต์ใช้การตรวจวินิจฉัยวิธีใหม่ในการกำจัดพยาธิในชุมชนต้นแบบ” เพื่อสร้างแผนภูมิการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เชิงพื้นที่ในสถานการณ์ปัจจุบันโดยหารูปแบบการกระจายอัตราชุก และความหนาแน่นของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากการตรวจอุจจาระเพื่อหาไข่พยาธิวิธีใหม่ (parasep stool kit) ผสมผสานกับการตรวจปัสสาวะเพื่อหาโปรตีนจากสารคัดหลั่งของพยาธิในชุมชนต้นแบบใน 152 หมู่บ้านของ 84 อำเภอใน 27 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือภาคเหนือและภาคกลาง จนสามารถประยุกต์ใช้การตรวจโปรตีนในปัสสาวะเพื่อประเมินหาอัตราชุกและความหนาแน่นของพยาธิในระยะยาวเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจอุจจาระวิธี parasep stool kit

และวิธี formalin ethyl acetate concentration (FECT) รวมทั้งติดตามผลการให้ยาพราซิควอนเทล (praziquantel) จำนวน 15,000 ราย เพื่อติดตามความหนาแน่น การติดเชื้อซ้ำ การติดเชื้อใหม่ โดยใช้การตรวจปัสสาวะเป็นเกณฑ์ตัดสิน และจัดทำฐานข้อมูลระบาดวิทยาของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะยาวใน Isan cohort 4) “การจัดระบบสุขาภิบาลเพื่อกำจัดการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*” เพื่อศึกษาสภาพปัจจุบัน และจัดทำฐานข้อมูลการจัดการสิ่งปฏิกูลโดยใช้กระบวนการมีส่วนร่วม และส่งเสริมการดำเนินกิจกรรมรูปแบบที่เหมาะสมในการจัดการสิ่งปฏิกูลเพื่อให้เป็นชุมชนต้นแบบในการจัดการสิ่งปฏิกูล 5) “การพัฒนาและบำรุงรักษาระบบเทคโนโลยีสารสนเทศสำหรับการเฝ้าระวังพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และมะเร็งท่อน้ำดีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (isan cohort)” เพื่อพัฒนาซอฟต์แวร์ ชื่อ isan cohort สำหรับเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาสำหรับพฤติกรรมเสี่ยงพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และมะเร็งท่อน้ำดีโดยสามารถใช้งานบนอินเตอร์เน็ตแบบ real time และสามารถติดตามผลได้ในระยะยาว เพื่อจัดการข้อมูลที่ได้จาก isan cohort วิเคราะห์ข้อมูล และจัดทำรายงานเพื่อให้บริการที่ทั่วถึงสอดคล้องกับลักษณะของปัญหาและทันเวลา 6) “หลักสูตรเกี่ยวกับโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) และมะเร็งท่อน้ำดีในโรงเรียนและประชาชนทั่วไป” ร่วมกับกระทรวงศึกษาธิการเพื่อจัดทำ และนำหลักสูตรเกี่ยวกับโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) และมะเร็งท่อน้ำดีไปใช้ในโรงเรียน และผลิตสื่อให้ความรู้เรื่องโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) และมะเร็งท่อน้ำดีไปใช้ในประชาชนทั่วไป 7) “การตรวจคัดกรองกลุ่มเสี่ยงมะเร็งท่อน้ำดี เพื่อคัดกรองกลุ่มเสี่ยงมะเร็งท่อน้ำดีด้วยวิธีอัลตร้าซาวด์จำนวน 100,000 คนใน 27 จังหวัด รวมทั้งนำผู้ที่สงสัยว่าเป็นมะเร็งท่อน้ำดีจากการตรวจคัดกรองเข้าสู่ระบบการตรวจยืนยันและการรักษา และติดตามเฝ้าระวังกลุ่มเสี่ยงสูงเพื่อให้สามารถตรวจพบผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีระยะเริ่มแรกที่ยังไม่ปรากฏอาการทางคลินิกให้สามารถเข้ารับการรักษาได้อย่างทันการณ์ 8) “การศึกษาแบบสุ่มของการรักษาเสริมด้วยเคมีบำบัดสองขนานระหว่าง cisplatin และgemcitabine เปรียบเทียบกับ gemcitabine ในผู้ป่วยผู้ใหญ่โรคมะเร็งท่อน้ำดี” เพื่อนำผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีเข้าถึงการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด ศึกษาระยะเวลาการรอดชีวิตโดยรวมควบคุม และศึกษาระยะเวลาการปลอดโรค (disease-free survival rate) 9) โครงการ “การวิจัยเชิงนโยบายด้านผลกระทบของการดำเนินโครงการท้าทายไทยต่อการเปลี่ยนแปลงนโยบายที่เกี่ยวข้องกับการแก้ปัญหาโรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี” เพื่อศึกษาผลกระทบของการดำเนินงานโครงการท้าทายไทยต่อการเปลี่ยนแปลงนโยบายที่เกี่ยวข้องกับการแก้ไขปัญหาโรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี 10) “การศึกษาทางมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์เพื่อแก้ปัญหาโรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี” นำไปสู่การแก้ปัญหาแบบยั่งยืน 11) ระบบภูมิสารสนเทศโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) และมะเร็งท่อน้ำดีภาคตะวันออกเฉียงเหนือ” เพื่อสร้างฐานข้อมูล และพัฒนาระบบภูมิสารสนเทศโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) และมะเร็งท่อน้ำดีเพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางด้านภูมิ

สารสนเทศกับการเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) และมะเร็งท่อน้ำดี และเพื่อวิเคราะห์ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศต่อการเกิดโรคและความชุกพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (ณรงค์ ขันตีแก้ว et al., 2559)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

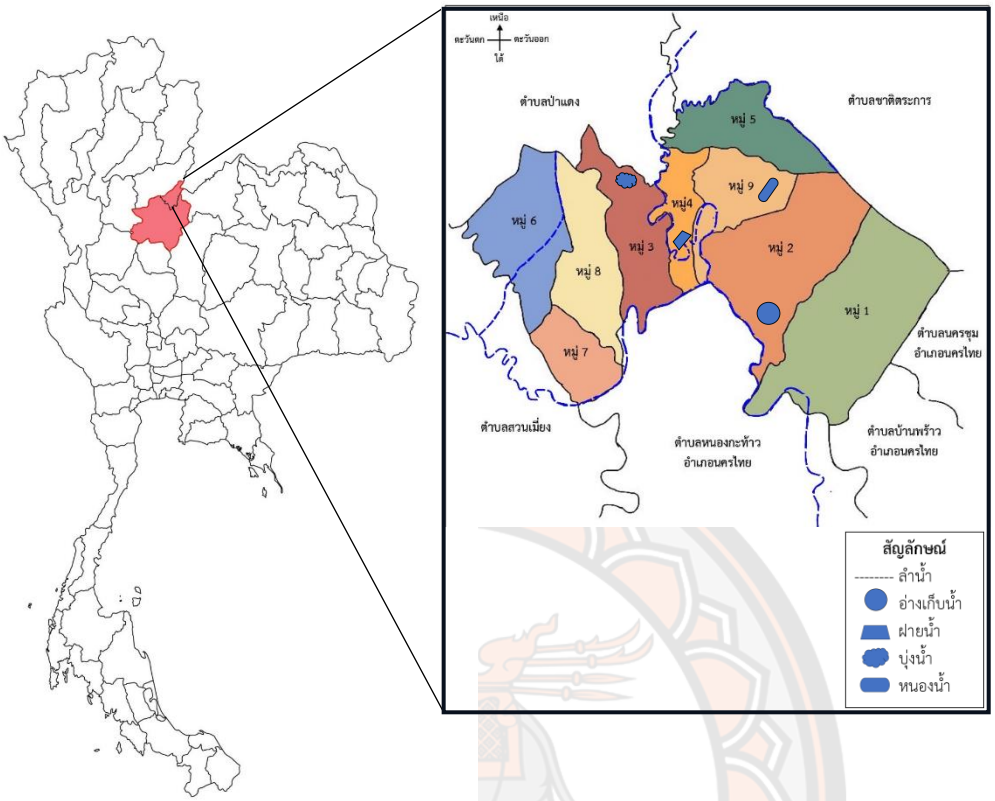
ขั้นตอนของแบบแผนการวิจัย

1. การศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในคน ประกอบด้วย 5 ขั้นตอน ดังนี้
   1.1 กำหนดพื้นที่ศึกษา
   1.2 กำหนดกลุ่มตัวอย่าง
   1.3 การเก็บตัวอย่างอุจจาระ
   1.4 การตรวจวินิจฉัยตัวอย่างอุจจาระ
   1.5 การวิเคราะห์การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ศึกษา
2. การศึกษาข้อมูลประชากร ปัจจัยเสี่ยง และความรู้ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนดังนี้
   2.1 กำหนดพื้นที่ศึกษา
   2.2 กำหนดกลุ่มตัวอย่าง
   2.3 การเก็บข้อมูลทั่วไป และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้อง
   2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้อง
3. การศึกษาชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียน และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน ประกอบด้วย 5 ขั้นตอนดังนี้
   3.1 การกำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียน
   3.2 การเก็บตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียน
   3.3 การแยกชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียน
   3.4 การตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน
   3.5 การจำแนกตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

การศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในคน

1. กำหนดพื้นที่ศึกษา

พื้นที่ศึกษา คือ พื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก มีทั้งหมด 9 หมู่บ้าน ได้แก่ หมู่ 1 บ้านหนองน้ำปอ หมู่ 2 บ้านขอนสองสลึง หมู่ 3 บ้านน้อย หมู่ 4 บ้านท่าสะแก หมู่ 5 บ้านนาม่วง หมู่ 6 บ้านห้วยท้องฟาน หมู่ 7 บ้านห้วยดี หมู่ 8 บ้านศรีจันทร์ และหมู่ 9 บ้านหนองบัวขาว



ภาพ 11 พื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ที่มา: Vemaps, 2024

2. กำหนดกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร และกลุ่มตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ครอบคลุมประชากรที่มีอายุ 20 ปีขึ้นไปที่อาศัยในพื้นที่ 9 หมู่บ้านของตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก ขนาดกลุ่มตัวอย่างคำนวณโดยใช้สูตร ทาโร่ยามาเน่ (Taro Yamane) โดยกำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ได้กลุ่มตัวอย่างน้อยที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ คือ 359 คน แต่เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ให้ประชากรที่อาศัยในพื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้รับการตรวจรักษาให้ครอบคลุมทั้งหมู่บ้าน อีกทั้งประชาชนในพื้นที่มีความสนใจที่จะเข้าร่วม การวิจัยครั้งนี้จึงมีผู้เข้าร่วมรวมทั้งสิ้น 1,016 คน

การคำนวณขนาดตัวอย่าง

สูตร ทาโร่ยามาเน่

$$n = \frac{N}{1+Ne^2}$$

n คือ ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

N คือ ขนาดของประชากร (ประชากรทั้งหมดมี 3513 คน)

e คือ ระดับความคลาดเคลื่อนของการสุ่มตัวอย่างที่ยอมรับได้

$$n = \frac{3513}{1+3513\ (0.05)^2}$$

$$n = \frac{3513}{9.783}$$

$$n = 359.092$$

3. การเก็บตัวอย่างอุจจาระ

ตัวอย่างส่งตรวจที่ใช้สำหรับตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ ตัวอย่างอุจจาระ ผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระจากประชากรที่เข้าร่วมโครงการ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างประกอบด้วยกระปุกสำหรับเก็บตัวอย่าง สติกเกอร์สำหรับใส่ข้อมูล ได้แก่ ชื่อ-สกุล อายุ และที่อยู่ ช้อนตักอุจจาระ และชุดคำแนะนำในการเก็บตัวอย่างอุจจาระ การเก็บตัวอย่างผู้วิจัยได้ทำการประสานงานกับโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลท่าสะแกเพื่อนำชุดเก็บตัวอย่างอุจจาระมอบให้แก่ประชากรที่เข้าร่วมโครงการพร้อมกับประชุมชี้แจงวัตถุประสงค์โครงการ รายละเอียดโครงการ และประโยชน์ที่ผู้เข้าร่วมโครงการจะได้รับ วิธีการเก็บตัวอย่างอุจจาระเพื่อตรวจหาเชื้อปรสิตโดยทำการถ่ายอุจจาระใส่ในภาชนะที่แห้งและสะอาด จากนั้นใช้ช้อนพลาสติกตักอุจจาระใส่ในกระปุกเก็บตัวอย่างและปิดฝาให้สนิท ไม่เก็บอุจจาระที่ถ่ายลงพื้นดิน หรือในโถส้วมเนื่องจากอาจมีไข่พยาธิ หรือโปรโตซัวที่อยู่ตามพื้นดิน หรือโถสุขภัณฑ์ปนเปื้อนมาด้วย อุจจาระที่เก็บไม่ควรมีปัสสาวะปน หากเป็นอุจจาระแข็งควรเก็บ 20-30 กรัม กรณีที่เป็นอุจจาระเหลวควรเก็บ 20-30 มิลลิลิตร การเก็บต้องเก็บหลาย ๆ บริเวณของอุจจาระ ตัวอย่างทั้งหมดจะถูกเก็บไว้ในกล่องน้ำแข็งเพื่อรักษาสภาพ และขนส่งภายใน 24 ชั่วโมงมายังห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่นด้วยกล้องจุลทรรศน์

ภาพ 12 การประสานงานกับโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลท่าสะแกเพื่อนำชุดเก็บตัวอย่างอุจจาระมอบให้แก่ประชากร

4. การตรวจวินิจฉัยตัวอย่างอุจจาระ

4.1 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อปรสิตโดยเทคนิค formalin ethyl acetate concentration (FECT)

เทคนิค FECT เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับการตรวจหาการติดเชื้อปรสิตในอุจจาระแบบเข้มข้น (concentration technique) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด สามารถตรวจพบปรสิตได้ทุกชนิดทั้งกลุ่มหนอนพยาธิ และโปรโตซัว ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ การนำอุจจาระ 2-3 กรัม ละลายในน้ำเกลือ 0.85% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร กรองผ่านผ้ากอซ 2 ชั้น เทส่วนที่กรองได้ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge) ด้วยความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที เทสารละลายออกให้เหลือแต่ตะกอน เติมฟอร์มาลีนความเข้มข้น 10% ปริมาตร 7 มิลลิลิตร และเติม ethyl acetate ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายและอุจจาระผสมเข้าด้วยกัน และนำไปปั่นด้วยความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที จะสังเกตเห็นสารละลายแยกออกเป็น 4 ชั้น ชั้นล่างสุดเป็นตะกอนที่มีไข่พยาธิ และโปรโตซัวรวมทั้งกากอุจจาระบางส่วน ใช้ไม้พันสำลีวนบริเวณรอบ ๆ ผนังหลอดทดลองเพื่อเลาะชั้นไขมัน จากนั้นเทสารละลายออกให้เหลือแต่ตะกอน นำตะกอนมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10x และ 40x เพื่อตรวจหาการติดเชื้อปรสิต และวินิจฉัยชนิดของปรสิตต่อไป (Brummaier et al., 2021)

4.2 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อปรสิตโดยเทคนิค Kato thick smear

เทคนิค Kato thick smear เหมาะสำหรับการตรวจหาไข่ของหนอนพยาธิ ให้ผลการตรวจที่แม่นยำ สะดวกรวดเร็ว ประหยัด สามารถตรวจพยาธิได้เกือบทุกชนิด เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค ปริมาณอุจจาระที่ใช้ประมาณ 30 – 60 มิลลิกรัม ป้าย (smear) ลงบนสไลด์และปิดด้วยกระดาษแก้ว cellophane ที่แช่

ในน้ำยา glycerine malachite green อย่างน้อย 12 ชั่วโมง แทน cover slip โดย glycerine จะทำหน้าที่ย่อยเศษอาหารทำให้ fecal film ใส malachite green ช่วยลดปริมาณแสงเข้าสู่ตาทำให้มองเห็นไข่หนอนพยาธิได้ง่าย จากนั้นใช้จุกยางกดลงบนกระดาษแก้ว cellophane ตรงบริเวณที่มีอุจจาระเพื่อให้อุจจาระกระจายสม่ำเสมอ และมีความบางพอดีที่สามารถตรวจดูเชื้อปรสิตได้ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 20-30 นาที และตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Komiya & Kobayashi, 1966)

4.3 การตรวจยืนยันไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ตรวจพบในอุจจาระโดยวิธี PCR

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction หรือ PCR) สามารถตรวจหาพยาธิได้หลายระยะในวงจรชีวิต เช่น ไข่ (egg), เมตาเซอร์คาเรีย (metacercaria), เซอร์คาเรีย (cercaria) และตัวเต็มวัย (adult) มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะสูง (specificity) ยีนที่นิยมศึกษาส่วนมาก ได้แก่ mitochondrial cytochrome c oxidase subunit one (COX1), NADH dehydroge nase subunit one (nad1) และinternal transcribed spacer 2 (ITS 2) (Pumpa et al., 2021) โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้ primer ที่จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ OV-6F (5′-ctgaatctctcgtttgttca-3′) และ OV-6R (5′-gttccaggtgagtctctcta-3′) ขนาด 330 bp (Sermswan et al., 1991; Wongratanacheewin et al., 2001) ขั้นตอนการตรวจยืนยันไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ตรวจพบในอุจจาระโดยวิธี PCR ดังนี้

การทำให้อุจจาระเข้มข้นด้วยวิธี Ethyl acetate concentration และการสกัดดีเอ็นเอของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

นำตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มาทำการปั่นตกตะกอนโดยใช้วิธี ethyl acetate concentration ก่อนนำไปสกัดดีเอ็นเอโดยวิธีการคล้ายกับเทคนิค FECT ต่างกันที่ในขั้นตอนที่มีการใช้ฟอร์มาลีนจะนำน้ำเกลือเข้มข้น 0.85% มาเป็นส่วนประกอบแทน จากนั้นนำตะกอนอุจจาระมาสกัดด้วยชุดสกัด NucleoSpin® DNA Stool โดยมีขั้นตอนการสกัดดังนี้

1) ดูดตะกอนอุจจาระปริมาตร 180–220 มิลลิกรัม ลงในหลอด MN Bead Tube Type A

2) เติม Buffer ST1 ปริมาตร 850 ไมโครลิตร

3) ปิดฝา MN Bead Tube และเขย่าเป็นเวลา 2–3 วินาทีเพื่อผสมตัวอย่างอุจจาระและlysis buffer ให้เข้ากัน

4) นำไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 ℃ นาน 5 นาที

5) นำหลอด MN Bead Tube ปั่นด้วย vortex ที่ความเร็วสูงสุดที่อุณหภูมิห้อง (18–25 ℃) เป็นเวลา 10 นาที

6) ตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 x g นาน 3 นาที

7) ดูดส่วนใสปริมาตร 600 ไมโครลิตร ลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตรที่มีฝาปิด

8) เติม Buffer ST2 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปิดฝาและ vortex นาน 5 วินาที

9) บ่มในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2–8 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที

10) ตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 x g นาน 3 นาที

11) วาง NucleoSpin® Inhibitor Removal Column (redring) ลงใน collection tube (2 mL, lid)

12) ดูดส่วนใสปริมาตร 550 ไมโครลิตร ไปยัง NucleoSpin® Column (redring) โดยหลีกเลี่ยงตะกอน

13) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 x g นาน 1 นาที

14) ทิ้ง NucleoSpin® Column (redring)

15) เติม Buffer ST3 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

16) ปิดฝา และ vortex นาน 5 วินาที

17) วาง NucleoSpin® DNA Stool Column (green ring) ลงใน collection Tube (2 ml)

18) ดูดตัวอย่างปริมาตร 700 ไมโครลิตรลงใน column (green ring)

19) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 x g นาน 1 นาที

20) ทิ้งสารละลายที่ไหลผ่าน column (สารละลายที่อยู่ใน collection tube) และวาง column กลับเข้าไปใน collection tube

21) เติม Buffer ST3 ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ลงใน column (green ring)

22) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 x g นาน 1 นาที

23) ทิ้งสารละลายที่ไหลผ่าน column (สารละลายที่อยู่ใน collection Tube) และวาง column กลับเข้าไปใน collection tube

24) เติม Buffer ST4 ปริมาตร 550 ไมโครลิตร ลงใน column (green ring)

25) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 x g นาน 1 นาที

26) ทิ้งสารละลายที่ไหลผ่าน column (สารละลายที่อยู่ใน collection tube) และวาง column กลับเข้าไปใน collection tube

27) เติม Buffer ST5 ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ลงใน column (green ring)

28) ปิดฝา และ vortex นาน 2 วินาที

29) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 x g นาน 1 นาที

30) ทิ้งสารละลายที่ไหลผ่าน column (สารละลายที่อยู่ใน collection tube) และวาง column กลับเข้าไปใน collection tube

31) เติม Buffer ST5 ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ลงใน column (green ring)

32) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 x g นาน 1 นาที

33) ทิ้งสารละลายที่ไหลผ่าน column (สารละลายที่อยู่ใน collection tube) และวาง column กลับเข้าไปใน collection tube

34) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 13,000 x g นาน 2 นาที

35) วาง column (green ring) ลงในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร อันใหม่

36) เติม Buffer SE ปริมาตร 30 ไมโครลิตรลงใน column (green ring)

37) ปิดฝาและปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็ว 13,000 x g นาน 1 นาที

38) ทิ้ง column (green ring)

39) vortex เป็นเวลา 2 วินาที เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสใช้สำหรับเป็น DNA Template ในการทำ PCR ต่อไป

ตรวจสอบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis

วิธี agarose gel electrophoresis เป็นการแยกขนาดของดีเอ็นเอโดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุ โดยเมื่อมีกระแสไฟฟ้าวิ่งผ่าน ดีเอ็นเอที่มีประจุเป็นลบจะวิ่งผ่านเจลที่เตรียมขึ้นจาก agarose เคลื่อนที่ไปยังขั้วบวกโดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย 1x TBE buffer ซึ่งเป็นสารนำกระแสไฟฟ้า ใช้เวลาประมาณ 30-60 นาที และตรวจสอบระยะทางที่ดีเอ็นเอวิ่งผ่านเจลโดยการย้อมสี ethidium bromide ที่จะเกิดการเรืองแสงเมื่อเข้าไปจับกับสายดีเอ็นเอ โดยความเร็วในการเคลื่อนที่ขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่าง สำหรับดีเอ็นเอที่มีรูปร่างเป็นเกลียวจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าดีเอ็นเอที่มีรูปร่างเป็นเส้นตรง และดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็กจะเคลื่อนที่เร็วกว่าดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่ ขั้นตอนในการทำ gel electrophoresis มีดังนี้

1) เตรียม 0.8 % agarose โดยใช้ agarose powder (bio basic) จำนวน 0.8 กรัมละลายใน 1x TBE buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปละลายด้วยความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟประมาณ 2 นาที หรือจนกว่า agarose จะละลายหรือใสไม่มีสี

2) รอให้สารละลายเย็นตัวลงเล็กน้อยแล้วนำไปเทลงในถาด (tray) สำหรับเตรียมเจลที่มีหวี(comb) เพื่อทำให้เกิดช่องว่าง รอจนเจลเซตตัวจนแข็งแล้วจึงนำหวีออกจากเจล

3) นำถาดเจลวางลงในเครื่อง gel electrophoresis (MS major science) และเติม 1x TBE buffer ลงไปจนท่วมแผ่นเจล

4) เตรียมแผ่นพาราฟิล์มสำหรับใช้ผสมดีเอ็นเอปริมาตร 2 ไมโครลิตรผสมกับสีย้อม (loading dye) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร

5) หยอดดีเอ็นเอที่ผสมสีแล้วลงในหลุมเจล โดยเว้นช่องแรกสำหรับ DNA ladder (SibEnzyme) 100 bp จำนวน 1 ไมโครลิตร เพื่อเป็น marker สำหรับเทียบขนาดดีเอ็นเอ (หยอดหลังจากหยอดดีเอ็นเอเรียบร้อยแล้วเนื่องจาก DNA ladder ระเหยได้ง่าย)

6) นำสายไฟขั้วลบต่อเข้ากับขั้วลบและสายไฟขั้วบวกต่อกับขั้วบวก เปิดเครื่องตั้งค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์นาน 30 นาที

7) เมื่อครบเวลา ปิดเครื่องและนำแผ่นเจลไปย้อม ethidium bromide เป็นเวลา 15 นาที

8) อ่านผลภายใต้เครื่อง UV โดยเทียบผลดีเอ็นเอกับ DNA ladder เพื่อระบุขนาดของดีเอ็นเอ

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากตัวอย่างอุจจาระโดยใช้เทคนิค polymerase chain reaction (PCR)

นำดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดมาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้ primer ที่จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ OV-6F (5′-ctgaatctctcgtttgttca-3′) และ OV-6R (5′-gttccaggtgagtctctcta-3′) ขนาด 330 bp ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ 20 ตัว OV-6F และOV-6R เป็น primer ที่สร้างตามลำดับนิวคลีโอไทด์ของ pOV-A6 probe ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีลำดับการเรียงตัวของเบสซ้ำต่อกันเป็นช่วงยาว (tandem repeats) แบบ satellite (highly repetitive DNA) บนสายดีเอ็นเอส่วนที่ไม่ใช่ยีน (non gene) ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยดีเอ็นเอที่มีเบสซ้ำ ๆ กัน (repetitive DNA) จะให้ hybridization signals ที่แรงกว่าการเรียงตัวของเบสที่ไม่ซ้ำกัน (nonrepetitive หรือunique หรือ single-copy DNA) เป็น primer ที่มีความจำเพาะสำหรับการตรวจหา complementary DNA ของไข่พยาธิในอุจจาระที่จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และไม่เกิดปฏิกิริยาข้าม (cross reaction) กับดีเอ็นเอของปรสิตชนิดอื่น ได้แก่ *Clonorchis sinensis*, *Paragonimus siamensis*, *Fasciola gigantica*, *Schistosoma mansoni*, *Gnathostoma spinigerum*, *Angiostrongylus cantonensis*, *Hymenolepis nana*, *Giardia intestinalis* และ *Entamoeba histolytica* แบคทีเรียในลำไส้ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Proteus* และ *Salmonella* รวมถึงพยาธิใบไม้ในวงศ์ Heterophyidae (Sermswan et al., 1991; Wongratanacheewin et al., 2001) ส่วนประกอบของการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ได้แก่ master mix (Quick Taq® HS DyeMix, toyobo) ปริมาตร 15 ไมโครลิตร, forward primer ปริมาตร 1.5 ไมโครลิตร, reverse primer ปริมาตร 1.5 ไมโครลิตร, น้ำกลั่นบริสุทธิ์ (distill water) ปริมาตร 9 ไมโครลิตร

และดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 30 ไมโครลิตรต่อปฏิกิริยา จากนั้นนำไปทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เครื่อง Biometra TaDVANCED โดยขั้นตอนในการทำ PCR ดังนี้ 1. Initial denature เป็นช่วงต้นของปฏิกิริยาเพื่อช่วยให้ดีเอ็นเอคลายตัวได้ดีขึ้นโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที 2. Denature ทำให้ดีเอ็นเอสายคู่กลายเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว ด้วยความร้อนสูงที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียสนาน 30 วินาที 3. Annealing ลดอุณหภูมิลง 52 องศาเซลเซียสนาน 1 นาทีเพื่อให้ไพรเมอร์จับกับดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ในตำแหน่งที่จำเพาะ เพื่อเตรียมที่จะสร้าง PCR product ใหม่ 4. Extension เพิ่มอุณหภูมิเป็น 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที เพื่อสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้นมาโดยเริ่มจากจุดต้นของไพรเมอร์ในดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) แต่ละข้าง และนำ dNTPs มาต่อกันในลักษณะคู่สมกับดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ซึ่งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Taq DNA polymerase 5. Final extension เป็นขั้นตอนในการต่อสายดีเอ็นเอให้ยาวเท่า ๆ กัน ใช้ความร้อน 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 นาที เพื่อให้มั่นใจว่าการสร้างสายดีเอ็นเอทั้ง forward และ reverse primers ทำได้สมบูรณ์ รวมถึงเพื่อเพิ่มความเสถียรของ PCR product ใหม่ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น รวมทั้งสิ้น 30 cycle ของขั้นตอน denaturation annealing และextension และ6. เก็บที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำออกจากเครื่อง PCR จากนั้นนำไปตรวจสอบ PCR product โดยใช้เทคนิค gel electrophoresis โดยใช้เจลความเข้มข้น 1.2 % ในสารละลาย 1X TBE buffer ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที และนำมาย้อมด้วย ethidium bromide เป็นเวลา 15 นาที นำไปอ่านผลภายใต้แสงยูวี (UV Transilluminators, Cleaver Scientific) โดยเทียบขนาดกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส และPCR product ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัย

ตาราง 2 แสดงส่วนประกอบที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR

ส่วนประกอบ	ปริมาตร (µl)
master mix	15
Forward Primer	1.5
Reverse Primer	1.5
น้ำกลั่นบริสุทธิ์ (Distill water)	9
ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template)	3
ปริมาตรรวม	30

ตาราง 3 แสดง condition ที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR

ขั้นตอน	อุณหภูมิ	เวลา
Initial denaturation	94 ℃	5 นาที
Denaturation	94 ℃	30 วินาที
Annealing	52 ℃	1 นาที
Extension	72 ℃	1 นาที
Final extension	72 ℃	8 นาที
Store	15 ℃	∞

ตรวจสอบ PCR product ที่ได้ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis

1) เตรียม 1.2 % agarose โดยใช้ agarose powder (BIO BASIC) จำนวน 1.2 กรัมละลายใน 1x TBE buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปละลายด้วยความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟประมาณ 3 นาที หรือจนกว่า agarose จะละลาย หรือใสไม่มีสี

2) เมื่อสารละลายเย็นตัวลงเล็กน้อยแล้วนำไปเทลงในถาด (tray) สำหรับเตรียมเจลที่มีหวี (comb) เพื่อทำให้เกิดช่องว่าง รอจนเจลเซตตัวจนแข็งแล้วจึงนำหวีออกจากเจล

3) นำถาดเจลวางลงในเครื่อง gel electrophoresis (MS major science) และเติม 1x TBE buffer ลงไปจนท่วมแผ่นเจล

4) เตรียมแผ่นพาราฟิล์มสำหรับใช้ผสมดีเอ็นเอปริมาตร 3 ไมโครลิตรผสมกับสีย้อม (loading dye) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร

5) หยอดดีเอ็นเอที่ผสมสีแล้วลงในหลุมเจล โดยเว้นช่องแรกสำหรับ DNA ladder 100 bp (SibEnzyme) จำนวน 1 ไมโครลิตร เพื่อเป็น marker สำหรับเทียบขนาดดีเอ็นเอ (หยอดหลังจากหยอดดีเอ็นเอเรียบร้อยแล้วเนื่องจาก DNA ladder ระเหยได้ง่าย) และสองช่องแรกสำหรับ negative control (master mix และน้ำกลั่นบริสุทธิ์) และpositive control (master mix และดีเอ็นเอของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัย)

6) นำสายไฟขั้วลบต่อเข้ากับขั้วลบ และสายไฟขั้วบวกต่อกับขั้วบวก เปิดเครื่องตั้งค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์นาน 30 นาที

7) เมื่อครบเวลา ปิดเครื่อง และนำแผ่นเจลไปย้อม ethidium bromide เป็นเวลา 15 นาที

8) อ่านผลภายใต้เครื่อง UV สำหรับตัวอย่างดีเอ็นเอที่แสดงผลของ PCR product ที่มีขนาดเท่ากับ 330 bp ให้แปลผลเป็นบวก

5. วิเคราะห์การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ศึกษา

วิเคราะห์อัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ได้จากการตรวจด้วยเทคนิค kato thick smear technique และ FECT โดยใช้สถิติพรรณนา (descriptive statistic) แสดงเป็นค่าร้อยละ

6. การรักษาผู้ติดเชื้อ

รักษาผู้ติดเชื้อปรสิตที่ตรวจพบโดยขอความร่วมมือกับหน่วยงานสุขภาพในชุมชน โดยยาที่ใช้รักษาโรคพยาธิใบไม้ในตับ (opisthorchiasis) คือ ยาพราซิควอนเทล (praziquantel) ขนาด 40 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม กินครั้งเดียว ซึ่งเป็นขนาดที่ให้ผลดีและมีผลข้างเคียงน้อย เช่น ปวดศีรษะ เวียนศีรษะ ปวดท้อง อาเจียน ผื่นคัน และง่วงนอน (Supiyaphun & Sitthichareonchai, 2008) (สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค, 2559)

การศึกษาข้อมูลประชากร ปัจจัยเสี่ยง และความรู้ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

การศึกษาข้อมูลประชากร ปัจจัยเสี่ยง และความรู้ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ประกอบด้วย 4 ขั้นตอนดังนี้

1. กำหนดพื้นที่ศึกษา

2. กำหนดกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ศึกษา คือ ประชากรอายุ 20 ปีขึ้นไปที่อาศัยในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

3. การเก็บข้อมูลทั่วไป และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้อง

เก็บข้อมูลประชากรเพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐาน ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ และความรู้เกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้แบบสอบถามซึ่งมีรายละเอียด 3 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของประชากร ได้แก่ ชื่อ นามสกุล เพศ อายุ ที่อยู่ปัจจุบัน จำนวนสมาชิกในครอบครัว พื้นเพดั้งเดิม ระยะเวลาที่อาศัยในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก อาชีพ และการศึกษา

ส่วนที่ 2 ข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ การรับประทานอาหารพื้นบ้านที่ทำจากปลาที่ปรุงไม่สุก พฤติกรรมการขับถ่ายอุจจาระ ประวัติการตรวจอุจจาระหาพยาธิ ผลการตรวจหาพยาธิในอุจจาระ และประวัติการกินยากำจัดพยาธิ

ส่วนที่ 3 ความรู้เกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยมีคำถามเกี่ยวกับความรู้ความเข้าใจพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ประกอบด้วย

ด้านพฤติกรรมการป้องกันทั้งหมด 4 ข้อ ได้แก่ 1. การกินอาหารปรุงสุก เช่น ต้ม ปิ้งย่าง เป็นการป้องกันการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 2. พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สามารถทำให้ตายโดยการแช่แข็ง (0 องศาเซลเซียส) หรือทำให้สุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 3. การนำปลาไปแช่แข็งก่อนนำไปปรุงอาหารสามารถกำจัดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้ 4. การถ่ายอุจจาระลงส้วมเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดของโรคพยาธิ

ด้านการติดต่อทั้งหมด 3 ข้อ ได้แก่ 1. พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีระยะติดต่ออยู่ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน เช่น ปลาตะเพียน ปลาสร้อยขาว ปลาแก้มช้ำ 2. การกินปลาดิบ ลาบปลา ก้อยปลา ทำให้ติดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 3. สุนัข และแมวติดพยาธิได้ถ้ากินปลาที่ปรุงไม่สุก

ด้านการแพร่ระบาด 2 ข้อได้แก่ 1. ไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ออกมากับอุจจาระของคน และสามารถแพร่ลงสู่แหล่งน้ำได้ 2. สุนัข และแมวสามารถแพร่ไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สู่สิ่งแวดล้อมได้จากการขับถ่ายทั่วไป

ด้านโรคและอาการทางคลินิก 3 ข้อได้แก่ 1. พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* อาศัยอยู่ในท่อทางเดินน้ำดีในตับของคน 2. พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เป็นสาเหตุของโรคมะเร็งตับ และท่อน้ำดี 3. อาการของโรคพยาธิใบไม้ตับเรื้อรัง คือ ท้องอืด ตัวเหลือง ตาเหลือง

รวมจำนวน 12 ข้อ ลักษณะคำถามเป็นแบบถูก-ผิด (True-False Items)

การตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาข้อมูลประชากร และปัจจัยเสี่ยง คือ แบบสอบถาม โดยอ้างอิงมาจากการศึกษาของ Pumidonming et al. (2018) ที่ได้ทำการศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องในชุมชนเสี่ยงต่อการระบาดของโรคในพื้นที่ 9 จังหวัด

ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย รวม 971 ราย นอกจากนี้ยังมีการใช้แบบสอบถามนี้ศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องในพื้นที่ 17 หมู่บ้าน ตำบลโคกปรง อำเภอวิเชียรบุรี จังหวัดเพชรบูรณ์ (Pumidonming et al., 2020)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้อง

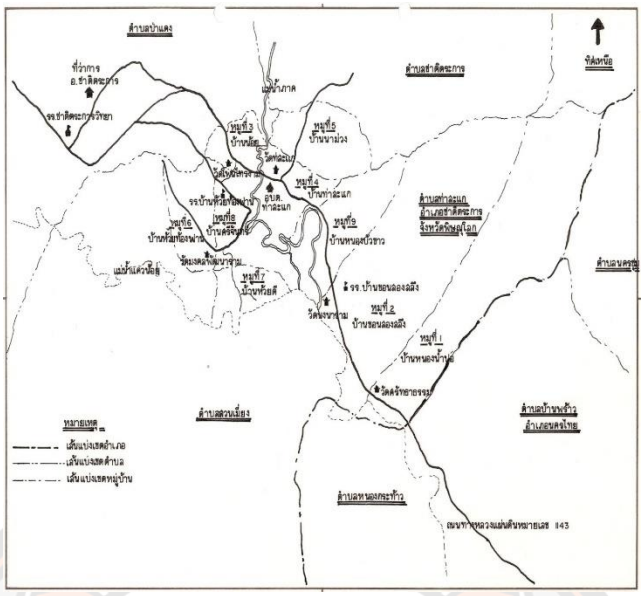
นำข้อมูลที่ได้จากแบบสอบถามทั้ง 3 ส่วนมาทำการวิเคราะห์โดยส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของประชากร และส่วนที่ 2 ข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มาทำการวิเคราะห์การถดถอยโลจีสติกแบบสองกลุ่ม (binary logistic regression analysis) คำนวณค่าอัตราเสี่ยงอย่างหยาบ (crude odds ratio: COR) และodds ratio ที่ปรับแล้ว (adjusted odds ratio: AOR) ที่ช่วงเชื่อมั่น 95% (confidence interval: CI) ของ OR เพื่อหาปัจจัยที่มีผลกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยกำหนดค่าระดับนัยสำคัญ (P-value) เท่ากับ 0.05 การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for windows ในส่วนที่ 3 ความรู้เกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ทั้งหมด 12 ข้อ โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้ ตอบถูกให้ 1 คะแนน ตอบผิดให้ 0 คะแนน จากนั้นนำคะแนนมารวมกัน และจัดระดับความรู้เป็น 3 ระดับ โดยใช้เกณฑ์แบ่งระดับคะแนนแบบอิงเกณฑ์ของบลูม (Bloom et al., 1971) ดังนี้

คะแนนร้อยละ	**แปลผล**
80 – 100	ความรู้อยู่ในระดับมาก
60 - 79	ความรู้อยู่ในระดับปานกลาง
น้อยกว่าร้อยละ60	ความรู้อยู่ในระดับน้อย

การศึกษาชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียน และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน

1. การกำหนดพื้นที่เก็บตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียน

พื้นที่ตำบลท่าสะแกเป็นพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีลักษณะทางภูมิศาสตร์เอื้อต่อการแพร่กระจายของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีคลอง หรือแม่น้ำไหลผ่านทุกหมู่บ้าน ในตำบลท่าสะแกมีแหล่งน้ำ 7 แหล่ง ประกอบด้วยลำน้ำ 4 แห่ง อ่างเก็บน้ำ 1 แห่ง หนองน้ำ 1 แห่ง บุ่งน้ำ 1 แห่ง ได้แก่ ลำน้ำภาค ลำน้ำแควน้อย ลำน้ำคลึง ลำน้ำพึง หนองควายเถื่อน บุ่งน้ำลัดเหนือ และอ่างเก็บน้ำห้วยปูน (ภาพ13) ตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียน (cyprinids) ได้ทำการเก็บจากแหล่งน้ำในชุมชนทั้ง 9 หมู่บ้าน และเป็นแหล่งน้ำที่ประชากรในพื้นที่หาปลามาประกอบอาหาร



ภาพ 13 แหล่งน้ำในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ที่มา: องค์การบริหารส่วนตำบลท่าสะแก, ม.ป.ป.

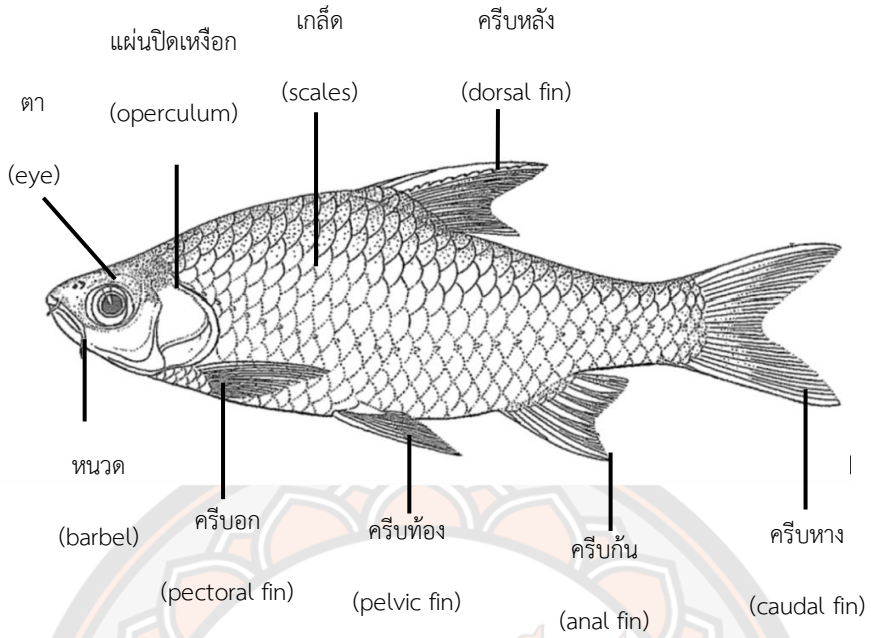
2. การเก็บตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียน

การเก็บตัวอย่างดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2565 โดยการใช้ตาข่ายดักปลาซึ่งเป็นวิธีที่คนในพื้นที่ชุมชนใช้ในการเก็บปลา ทำการเก็บปลาจำนวนตัวอย่าง 1 กิโลกรัมต่อแหล่งน้ำ ตัวอย่างปลาที่ได้นำใส่กล่องโฟมบรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาอุณหภูมิ และนำปลามาจำแนกชนิด ชั่งน้ำหนักและตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ภาพ 14 การเก็บตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนจากแหล่งน้ำในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

3. การแยกชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียน

การศึกษาชนิดของปลาน้ำจืดวงศ์ปลาตะเพียนจำแนกโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะลำตัว ครีบ สี ขนาดและเกล็ด เปรียบเทียบตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยเปรียบเทียบกับหนังสือ Fish of the Cambodian mekong (Rainboth, 1996) และฐานข้อมูล Fish base online (http://www.fishbase.org) เพื่อระบุชนิดปลาจากแต่ละแหล่งน้ำ และพื้นที่ ชั่งน้ำหนัก ถ่ายรูปและบันทึกผล ลักษณะทั่วไปของปลาในวงศ์ปลาตะเพียนจะมีลำตัวค่อนข้างยาว แบนข้าง ส่วนหัวไม่มีเกล็ด (scale) ปากคลุม ปากมีขนาดเล็ก ครีบหางส่วนมากเป็นแฉกเว้าลึก มีเกล็ดแบบขอบเรียบบาง (cycloid scale) เส้นข้างลำตัวค่อนข้างสมบูรณ์ (Rainboth, 1996)



ภาพ 15 อวัยวะภายนอก และส่วนต่างๆที่ใช้ในการจำแนกชนิดปลา

ที่มา: Rainboth, 1996

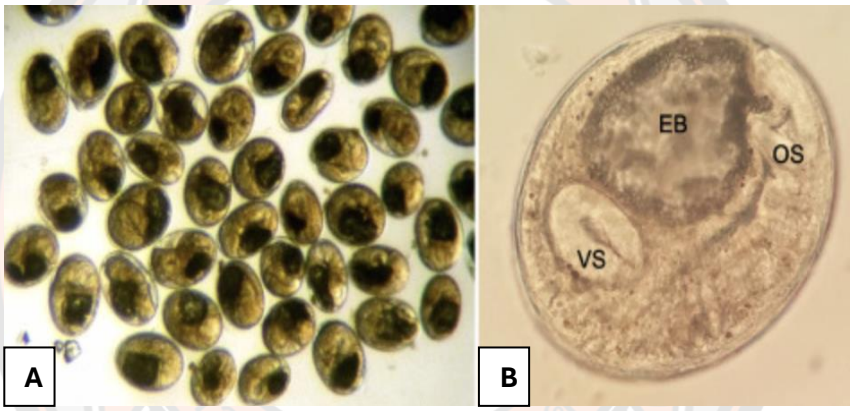
4. การตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน

การตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน โดยการตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาโดยใช้วิธี artificial digestion method หลักการ คือ การจำลองกระบวนการย่อยอาหารในกระเพาะอาหาร โดยควบคุมอุณหภูมิ เวลา และสภาพแวดล้อมในห้องปฏิบัติการ ดังนี้ จำลองเอนไซม์สำหรับย่อยอาหาร และกรดในกระเพาะอาหารและลำไส้ (เอนไซม์เปปซินเพื่อย่อยโปรตีนในเนื้อปลา และกรดไฮโดรคลอริกเพื่อจำลองสภาพที่เป็นกรดของกระเพาะอาหาร) (Kim et al., 2013) ซึ่งวิธี artificial digestion มีวิธีการและขั้นตอนดังนี้ นำปลามาสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำมาผสมกับสารละลาย pepsin 0.7% (สาร pepsin A powder 7 กรัม สาร HCl 10 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 990 มิลลิลิตร) ในอัตราส่วนสารละลาย pepsin 3 ลิตร ต่อปลา 1 กิโลกรัม จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า นำส่วนผสมที่ปั่นได้ไปบ่มในเครื่องบ่ม water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง หรือจนกว่าเนื้อปลาจะย่อยหมด กรองส่วนผสมที่ย่อยได้ด้วยตะแกรงกรองขนาด 600, 420, 250 และ106 ไมโครเมตร เพื่อกรองเศษปลาที่มีขนาดใหญ่ออก นำส่วนที่ได้จากการกรองมาตกตะกอนในน้ำเกลือ 0.85% ใน sediment jar แล้วตั้งทิ้งไว้จนตกตะกอน จากนั้นเทน้ำเกลือส่วนบนออกแล้วทำการตกตะกอนใหม่จนกระทั่งน้ำเกลือส่วนบนใส ใช้

pasteur pipette ดูดตะกอนที่ได้ใส่ลงเพลตเพื่อนำไปตรวจหาระยะเมตาเซอร์คาเรียภายใต้กล้องสเตอริโอ (Srisawangwong et al., 1997; Tesana et al., 1985)

5. การจำแนกตัวอ่อนระยะติดต่อเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

จำแนกตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย (metacercariae) ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สังเกตได้ภายใต้กล้องสเตอริโอ ได้แก่ ซีสต์มีลักษณะกลมรีคล้ายไข่ ขนาดของซีสต์โดยเฉลี่ย 201 x 167 ไมโครเมตร ตัวอ่อนจะงอพับอยู่ในซีสต์เห็นลักษณะเป็นรูปตัว C อยู่ภายในซีสต์ มองเห็น excretory bladder ขนาดใหญ่สีน้ำตาลเข้ม ventral sucker และoral sucker มีขนาดใหญ่มองเห็นชัดเจน ตัวอ่อนที่โตเต็มที่จะเคลื่อนไหวไปมาได้ที่อุณหภูมิห้อง สามารถเห็นการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนที่อยู่ภายในซีสต์ (Vajrasthira et al., 1961) (ภาพ 16A-B)



ภาพ 16 A-B ลักษณะตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีลักษณะกลมรี ภายในมองเห็น excretory bladder ขนาดใหญ่สีน้ำตาลเข้มสามารถเห็นการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนที่อยู่ภายในซีสต์

ที่มา: Charoensuk et al., 2022

การให้สุขศึกษาเรื่องการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่น ๆ

ให้ความรู้ และสุขศึกษาในรูปแบบการบรรยาย และให้คำแนะนำเพื่อให้ประชาชนรู้จักป้องกันตนเอง และครอบครัวไม่ให้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยมีเนื้อหาเกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ทั้งเรื่องวงจรชีวิต วิธีติดต่อมาสู่คน โฮสต์ที่เกี่ยวข้อง ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการแพร่ระบาด การควบคุมป้องกันการติดเชื้อ นอกจากนี้ได้มีการจัดกิจกรรมอบรมวิธีการกำจัดพยาธิระยะติดต่อในปลาก่อนนำไปประกอบอาหาร โดยการนำปลาไปแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส

เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง หรือปลาแข็งจนทั่วจะทำให้พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะติดต่อตาย (Pumidonming et al., 2020) เพื่อให้ประชาชนสามารถรับประทานอาหารพื้นบ้านได้อย่างปลอดภัย ป้องกันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และป้องกันการติดเชื้อซ้ำหลังการรักษา (ภาพ 17)

ภาพ 17 การให้ความรู้ สุขศึกษา และคำแนะนำเพื่อให้ประชาชนรู้จักป้องกันตนเอง และครอบครัวไม่ให้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

การประชุมชี้แจงและนำเสนอข้อมูล

จัดประชุมเพื่อชี้แจงจำนวนผู้ติดเชื้อพร้อมทั้งนำเสนอข้อมูลผลกระทบที่เกิดขึ้นกับสุขภาพของผู้ติดเชื้อให้กับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องรวมทั้งประชาชนในพื้นที่รับทราบเพื่อให้ประชาชนเกิดความตระหนักถึงความสำคัญของการแก้ปัญหา การป้องกัน และควบคุมการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชน และพร้อมให้ความร่วมมือ (ภาพ18)

ภาพ 18 การประชุมชี้แจงจำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่น

จริยธรรมการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณารับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เมื่อวันที่ 7 กรกฎาคม พ.ศ. 2565 เลขที่ P1-0092/2565 และได้ผ่านการพิจารณารับรองจรรยาบรรณการใช้สัตว์ จากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เมื่อวันที่ 9 มีนาคม พ.ศ. 2565 เลขที่ NU-AQ650201

บทที่ 4

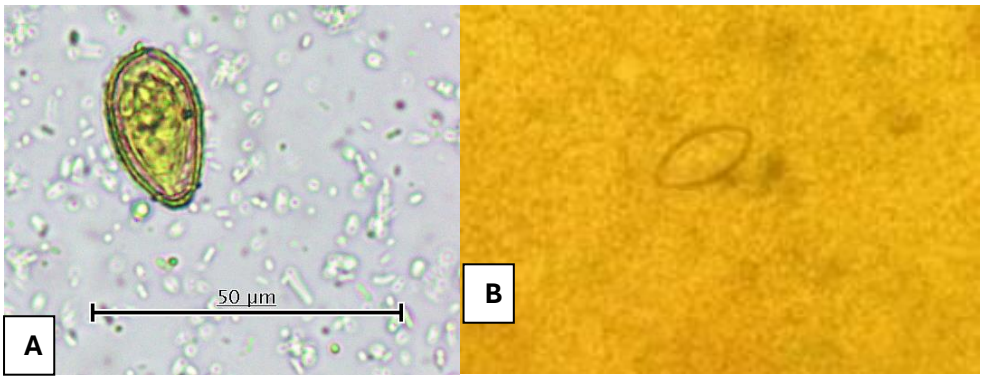
ผลการวิจัย

ข้อมูลพื้นฐานประชากรกลุ่มตัวอย่างในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

การศึกษาครั้งนี้ครอบคลุมพื้นที่ 9 หมู่บ้านของตำบลท่าสะแก มีประชากรที่ส่งตัวอย่างอุจจาระและแบบสอบถามครบสมบูรณ์ทั้งสิ้น 1,016 ราย ประกอบด้วยเพศชาย 426 ราย (ร้อยละ 41.93) และเพศหญิง 590 ราย (ร้อยละ 58.07) อายุระหว่าง 20-59 ปี 711 ราย (ร้อยละ 69.98) ประกอบอาชีพเกษตรกรรม 819 ราย (ร้อยละ 80.61) อาชีพรับจ้าง 81 ราย (ร้อยละ 7.97) จบการศึกษาระดับประถมศึกษามากที่สุด 747 ราย (ร้อยละ 73.52) มัธยมศึกษา 191 ราย (ร้อยละ 18.81) กลุ่มตัวอย่างมีพฤติกรรมการบริโภคอาหารพื้นบ้านแบบไม่ปรุงสุกจำนวน 610 ราย (ร้อยละ 60.04) เมื่อจำแนกตามชนิดอาหารประกอบด้วย ปลาส้มดิบ 151 ราย (ร้อยละ 14.86) ก้อยปลาดิบ 206 ราย (ร้อยละ 20.28) และปลาจ่อมดิบ 135 ราย (ร้อยละ 13.29) ขับถ่ายอุจจาระตามไร่ นา สวน บางครั้ง 117 ราย (ร้อยละ 11.52) ผู้เข้าร่วม 762 ราย (ร้อยละ 75) ไม่เคยได้รับการตรวจอุจจาระหาการติดเชื้อปรสิต และ646 ราย (ร้อยละ 63.58) ไม่เคยกินยากำจัดพยาธิ (ตาราง 4)

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

จากการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในตัวอย่างอุจจาระทั้งหมด 1,016 ราย พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ทั้งสิ้น 98 ราย (ร้อยละ 9.65) พบการติดเชื้อในเพศชายจำนวน 58 ราย (ร้อยละ 13.62) เพศหญิงจำนวน 40 ราย (ร้อยละ 6.78) กลุ่มที่มีอายุมากกว่า 60 ปีพบติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สูงสุดจำนวน 36 ราย (ร้อยละ 11.80) รองลงมาคือ กลุ่มอายุ 50-59 ปี จำนวน 35 ราย (ร้อยละ 9.43) ผู้ที่ประกอบอาชีพเกษตรกรติดเชื้อมากที่สุดจำนวน 88 ราย (ร้อยละ 10.74) ระดับประถมศึกษาพบติดเชื้อสูงสุดจำนวน 83 ราย (ร้อยละ 11.11) กลุ่มที่รับประทานก้อยปลาดิบพบการติดเชื้อสูงสุดจำนวน 44 ราย (ร้อยละ 21.36) ผู้ติดเชื้อขับถ่ายอุจจาระตามไร่ นา สวนบางครั้ง จำนวน 16 ราย (ร้อยละ 13.68) และผู้ติดเชื้อไม่เคยกินยากำจัดพยาธิจำนวน 70 ราย (ร้อยละ 10.82) (ตาราง 4)



ภาพ 19 ระยะไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ตรวจด้วยเทคนิค A) FECT B) Kato thick smear

ตาราง 4 แสดงข้อมูลประชากร และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน	ร้อยละ	การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ	
			จำนวน	ร้อยละ
รวม	1,016	100	98	9.65
เพศ				
ชาย	426	41.93	58	13.62
หญิง	590	58.07	40	6.78
กลุ่มอายุ (ปี)				
20-29	24	2.36	2	8.33
30-39	72	7.08	4	5.56
40-49	244	24.02	21	8.61
50-59	371	36.52	35	9.43
>60	305	30.02	36	11.80
อาชีพ				
เกษตรกร	819	80.61	88	10.74
ค้าขาย	22	2.17	2	9.09
รับจ้าง	81	7.97	5	6.17

ตาราง 4 (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน	ร้อยละ	การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ	
			จำนวน	ร้อยละ
รับราชการ-รัฐวิสาหกิจ	20	1.97	2	10
นักเรียน-นักศึกษา	4	0.39	0	0
ว่างงาน	70	6.89	1	1.43
ระดับการศึกษา				
ประถมศึกษา	747	73.52	83	11.11
มัธยมศึกษา	191	18.81	11	5.76
ปวช-ปวส-อนุปริญญา	18	1.77	0	0
ปริญญาตรีหรือสูงกว่า	24	2.36	1	4.16
ไม่ได้ระบุ	36	3.54	3	8.33
ชนิดอาหาร				
ปลาส้มดิบ				
รับประทาน	151	14.86	23	15.23
ไม่รับประทาน	865	85.14	75	8.67
ก้อยปลาดิบ				
รับประทาน	206	20.28	44	21.36
ไม่รับประทาน	810	79.72	54	6.66
ปลาจ่อมดิบ				
รับประทาน	135	13.29	16	11.85
ไม่รับประทาน	881	86.71	82	9.31
พฤติกรรมการขับถ่าย				
ขับถ่ายลงส้วมทุกครั้ง	899	88.48	82	9.12
ขับถ่ายตามไร่ นา สวน บางครั้ง	117	11.52	16	13.68

ตาราง 4 (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไป	จำนวน	ร้อยละ	การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ	
			จำนวน	ร้อยละ
การตรวจอุจจาระ				
เคยได้รับการตรวจ	254	25	25	9.84
ไม่เคยได้รับการตรวจ	762	75	73	9.58
การกินยากำจัดพยาธิ				
เคยกินยาถ่ายพยาธิ	370	36.42	28	7.59
ไม่เคยกินยากำจัดพยาธิ	646	63.58	70	10.82

พื้นเพดั้งเดิมของประชากร และการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

กลุ่มตัวอย่างจำนวน 936 ราย (ร้อยละ 92.13) เป็นคนพื้นที่ที่มีพื้นเพดั้งเดิมอยู่ในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลกแต่กำเนิด และ 23 ราย (ร้อยละ 2.26) มีพื้นเพดั้งเดิมอยู่ในภาคเหนือตอนล่างที่อพยพมาจาก 5 จังหวัด ได้แก่ อุตรดิตถ์ นครสวรรค์ กำแพงเพชร พิจิตร และสุโขทัย จำนวน 26 ราย (ร้อยละ 2.56) อพยพมาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยมาจาก 15 จังหวัด ได้แก่ อุบลราชธานี หนองบัวลำภู ชัยภูมิ ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ เลย อำนาจเจริญ ร้อยเอ็ด ขอนแก่น สุรินทร์ มหาสารคาม นครราชสีมา นครพนม สกลนคร และกาฬสินธุ์ ภาคกลาง 16 ราย (ร้อยละ 1.57) อพยพมาจาก 5 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร เพชรบูรณ์ สิงห์บุรี ลพบุรี และสุพรรณบุรี ภาคเหนือตอนบน 8 ราย (ร้อยละ 0.79) อพยพมาจาก 4 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย น่าน แพร่ และพะเยา ภาคตะวันออก 3 รายอพยพมาจากจังหวัดจันทบุรี (ร้อยละ 0.30) ภาคตะวันตก 2 ราย (ร้อยละ 0.20) อพยพมาจากจังหวัดตาก และอพยพมาจากภาคใต้ 2 ราย (ร้อยละ 0.20) มาจากจังหวัดชุมพรและสุราษฎร์ธานี จากผลการตรวจอุจจาระพบว่าผู้ที่ติดเชื้อเป็นคนจังหวัดพิษณุโลกมากที่สุดจำนวน 94 ราย จังหวัดขอนแก่น 2 ราย จังหวัดอุตรดิตถ์ 1 ราย และจังหวัดกำแพงเพชรจำนวน 1 ราย ในขณะที่หากคำนวณเป็นค่าร้อยละพบว่าผู้ที่ติดเชื้อมีพื้นเพดั้งเดิมเป็นคนขอนแก่นร้อยละ 66.67 จังหวัดกำแพงเพชรร้อยละ 16.67 จังหวัดอุตรดิตถ์ร้อยละ 12.5 และจังหวัดพิษณุโลกร้อยละ 10.04 (ตาราง 5)

ตาราง 5 แสดงจำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จำแนกตามพื้นเพดั้งเดิม

ภูมิภาค	จังหวัด	ตัวอย่างอุจจาระ	จำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ	
			จำนวน	ร้อยละ
ภาคเหนือ	เชียงราย	2	0	0
	น่าน	2	0	0
	แพร่	3	0	0
	พะเยา	1	0	0
	รวม	8	0	0
ภาคเหนือตอนล่าง	พิษณุโลก	936	94	10.04
	อุตรดิตถ์	8	1	12.50
	นครสวรรค์	5	0	0
	กำแพงเพชร	6	1	16.67
	พิจิตร	2	0	0
	สุโขทัย	2	0	0
	รวม	959	96	10.01
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	อุบลราชธานี	2	0	0
	หนองบัวลำภู	1	0	0
	ชัยภูมิ	1	0	0
	ศรีสะเกษ	4	0	0
	บุรีรัมย์	2	0	0
	เลย	4	0	0
	อำนาจเจริญ	1	0	0
	ร้อยเอ็ด	1	0	0
	ขอนแก่น	3	2	66.67
	สุรินทร์	1	0	0
	มหาสารคาม	1	0	0
	นครราชสีมา	1	0	0
	นครพนม	2	0	0
	สกลนคร	1	0	0
	กาฬสินธุ์	1	0	0
	รวม	26	2	7.69

ตาราง 5 (ต่อ)

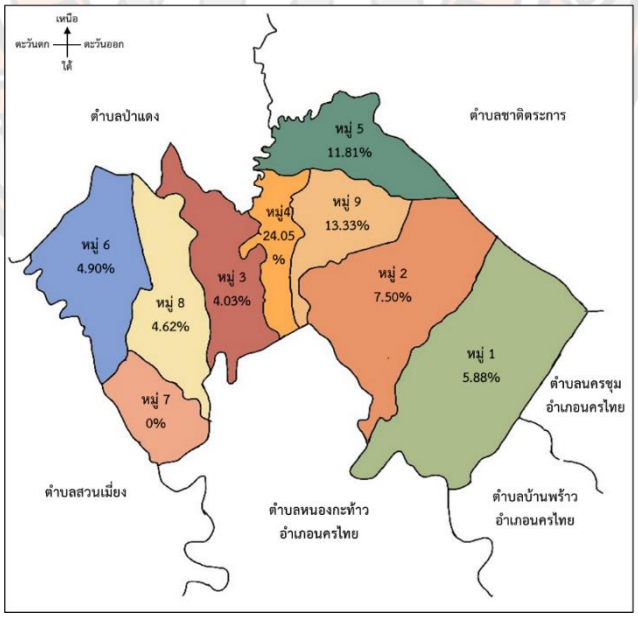
ภูมิภาค	จังหวัด	ตัวอย่างอุจจาระ	จำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ	
			จำนวน	ร้อยละ
ภาคกลาง	กรุงเทพมหานคร	1	0	0
	เพชรบูรณ์	12	0	0
	สิงห์บุรี	1	0	0
	ลพบุรี	1	0	0
	สุพรรณบุรี	1	0	0
	รวม	16	0	0
ภาคใต้	ชุมพร	1	0	0
	สุราษฎร์ธานี	1	0	0
	รวม	2	0	0
ภาคตะวันตก	ตาก	2	0	0
ภาคตะวันออก	จันทบุรี	3	0	0

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในแต่ละหมู่บ้านในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ในพื้นที่ตำบลท่าสะแกมีทั้งหมด 9 หมู่บ้าน หมู่บ้านที่พบอัตราการติดเชื้อมากที่สุด คือ หมู่ 4 บ้านท่าสะแก จำนวน 38 ราย (ร้อยละ 24.05) รองลงมา คือ หมู่ที่ 9 บ้านหนองบัวขาว พบผู้ติดเชื้อ 12 ราย (ร้อยละ 13.33) (ตาราง 6)

ตาราง 6 แสดงจำนวนการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในแต่ละหมู่บ้าน ในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

หมู่บ้าน	จำนวนอุจจาระ	การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ	
		จำนวน	ร้อยละ
หมู่ 1 บ้านหนองน้ำปอ	51	3	5.88
หมู่ 2 บ้านขอนสองสลึง	120	9	7.50
หมู่ 3 บ้านน้อย	149	6	4.03
หมู่ 4 บ้านท่าสะแก	158	38	24.05
หมู่ 5 บ้านนาม่วง	144	17	11.81
หมู่ 6 บ้านห้วยท้องฟาน	143	7	4.90
หมู่ 7 บ้านห้วยดี	31	0	0.00
หมู่ 8 บ้านศรีจันทร์	130	6	4.62
หมู่ 9 บ้านหนองบัวขาว	90	12	13.33
รวม	1016	98	9.65



ภาพ 20 อัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

จากการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติก (binary logistic regression analysis) กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 และช่วงเชื่อมั่นร้อยละ 5 เพื่อหาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยวิเคราะห์ระหว่างเพศ อายุ อาชีพ ระดับการศึกษา การรับประทานอาหารพื้นบ้านที่ทำจากปลาที่ปรุงไม่สุก พฤติกรรมการขับถ่ายอุจจาระ ประวัติการตรวจอุจจาระ และประวัติการกินยากำจัดพยาธิกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ เพศ โดยเพศชายมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าเพศหญิง 1.63 เท่า (ORadj= 1.63, 95% CI. 1.03-2.59) การบริโภคอาหารแบบไม่ปรุงสุก ประเภทก้อยปลาดิบ โดยผู้ที่รับประทานก้อยปลาดิบมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าผู้ที่ไม่รับประทาน 3.13 เท่า (ORadj = 3.13, 95%CI. 1.84-5.30) และประวัติการกินยากำจัดพยาธิ ผู้ที่ไม่เคยกินยากำจัดพยาธิมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าผู้ที่เคยกินยากำจัดพยาธิ 1.73 เท่า (ORadj = 1.73, 95%CI. 1.05-2.85) (ตาราง 7)

ตาราง 7 แสดงการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

Characteristics	จำนวนตัวอย่างอุจจาระ	จำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (ร้อยละ)	Crude OR (95%CI)	p-value	Adjusted OR (95% CI)	p-value
รวม	1,016	98 (9.65)				
เพศ				< 0.001*		0.038*
ชาย	426	58(13.62)	2.17 (1.42-3.31)		1.631(1.03-2.59)	
หญิง	590	40(6.78)	1		1	
กลุ่มอายุ (ปี)						
20-29	24	2(8.33)	1	0.508	1	0.561
30-39	72	4(5.56)	0.65 (0.11-3.78)	0.629	0.84(0.13-5.54)	0.857
40-49	244	21(8.61)	1.04 (0.23-4.71)	0.964	0.81(0.15-4.29)	0.808
50-59	371	35(9.43)	1.15 (0.26-5.08)	0.858	0.79(0.15-4.21)	0.785
>60	305	36(11.80)	1.47 (0.33-6.52)	0.611	1.23(0.23-6.61)	0.808
อาชีพ						
เกษตรกร	819	88(10.74)	2.69 (0.83-8.73)	0.100	2.10 (0.61-7.26)	0.240
ค้าขาย	22	2(9.09)	2.23 (0.35-14.31)	0.397	1.91 (0.27-13.66)	0.521
รับจ้าง	81	5(6.17)	1.47 (0.34-6.38)	0.608	1.58 (0.34-7.37)	0.560
รับราชการ-รัฐวิสาหกิจ	20	2(10)	0.00 (0.00)	0.998	0.00 (0.00)	0.998
นักเรียน-นักศึกษา	4	0(0)	0.00 (0.00)	0.999	0.00 (0.00)	0.999
ว่างงาน	70	1(1.43)	1	0.525	1	0.901

ตาราง 7 (ต่อ)

Characteristics	จำนวนตัวอย่างอุจจาระ	จำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (ร้อยละ)	Crude OR (95%CI)	p-value	Adjusted OR (95% CI)	p-value
ระดับการศึกษา						
ประถมศึกษา	747	83(11.11)	1.38 (0.41-4.58)	0.604	1.41 (0.39-5.03)	0.599
มัธยมศึกษา	191	11(5.76)	0.67 (0.18-2.54)	0.558	0.696 (0.16-3.00)	0.627
ปวช-ปวส-อนุปริญญา	18	0(0)	0.00 (0.00)	0.998	0.00 (0.00)	0.998
ปริญญาตรีหรือสูงกว่าปริญญาตรี	24	1(4.16)	0.48 (0.05-4.89)	0.534	1.26 (0.10-15.62)	0.855
ไม่ได้ระบุ	36	3(8.33)	1	0.225	1	0.479
ปลาส้มดิบ				0.013*		0.948
รับประทาน	151	23(15.23)	1.89 (1.14-3.13)		1.02(0.52-2.00)	
ไม่รับประทาน	865	75(8.67)	1		1	
ก้อยปลาดิบ				< 0.001*		< 0.001*
รับประทาน	206	44(21.36)	3.80 (2.47-5.86)		3.13(1.84-5.30)	
ไม่รับประทาน	810	54(6.66)	1		1	
ปลาจ่อมดิบ				0.352		0.057
รับประทาน	135	16(11.85)	1.31 (0.74-2.315)		0.49(0.24-1.02)	
ไม่รับประทาน	881	82(9.31)	1		1	

ตาราง 7 (ต่อ)

Characteristics	จำนวนตัวอย่างอุจจาระ	จำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (ร้อยละ)	Crude OR (95%CI)	p-value	Adjusted OR (95% CI)	p-value
พฤติกรรมการขับถ่าย				0.119		0.874
ขับถ่ายอุจจาระลงส้วมทุกครั้ง	899	82(9.12)	1		1	
ขับถ่ายตามท้องไร่ท้องนา สวน บางครั้ง	117	16(13.68)	1.58(0.89-2.80)		1.05(0.56-1.98)	
การตรวจอุจจาระหาพยาธิ				0.902		0.580
เคยได้รับการตรวจ	254	25(9.84)	1.03(0.64-1.66)		1.16(0.69-1.96)	
ไม่เคยได้รับการตรวจ	762	73(9.58)	1		1	
ประวัติการกินยา - ถ่ายพยาธิ				0.095		0.032*
เคยกินยาถ่ายพยาธิ	370	28(7.59)	1		1	
ไม่เคยกินยาถ่าย - พยาธิ	646	70(10.82)	1.48 (0.93-2.34)		1.73 (1.05-2.85)	

*P< 0.05

ผลการทดสอบความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ของกลุ่มตัวอย่าง

จากคำถามเกี่ยวกับความรู้ความเข้าใจพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ทั้งหมด 12 ข้อ พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีระดับความรู้อยู่ในระดับมากจำนวน 808 คน (ร้อยละ 79.53) คำถามที่ตอบถูกมากที่สุด คือการกินปลาดิบ ลาบปลา ก้อยปลา ทำให้ติดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 97.73 รองลงมา คือ การถ่ายอุจจาระลงส้วมเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดของโรคพยาธิร้อยละ 97.24 พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีระยะติดต่ออยู่ในปลาวงศ์ปลาตะเพียน เช่น ปลาตะเพียน ปลาสร้อยขาว ปลาแก้มช้ำร้อยละ 94.67 การกินอาหารปรุงสุก เช่น ต้ม ปิ้ง ย่าง เป็นการป้องกันการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 93.00 อาการของโรคพยาธิใบไม้ตับเรื้อรัง คือ ท้องอืด ตัวเหลือง ตาเหลืองร้อยละ 91.72 ไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ออกมากับอุจจาระของคน และสามารถแพร่ลงสู่แหล่งน้ำได้ร้อยละ 90.73 สุนัข และแมวติดพยาธิได้ถ้ากินปลาที่ปรุงไม่สุกร้อยละ 90.04 พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เป็นสาเหตุของโรคมะเร็งตับ และท่อน้ำดีร้อยละ 88.76 พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* อาศัยอยู่ในท่อทางเดินน้ำดีในตับของคนร้อยละ 86.49 สุนัข และแมวสามารถแพร่ไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สู่สิ่งแวดล้อมได้จากการขับถ่ายทั่วไปร้อยละ 85.80 พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สามารถทำให้ตายโดยการแช่แข็ง (0 องศาเซลเซียส) หรือทำให้สุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ร้อยละ 79.39 และข้อที่ตอบถูกน้อยที่สุด คือ การนำปลาไปแช่แข็งก่อนนำไปปรุงอาหารสามารถกำจัดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้ร้อยละ 59.27 (ตาราง 8)

ตาราง 8 แสดงจำนวนประชาชนที่ตอบคำถามความรู้เกี่ยวกับพฤติกรรมการป้องกันพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

คำถาม	ตอบถูก		ตอบผิด	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
การกินอาหารปรุงสุก เช่น ต้ม ปิ้ง ย่าง เป็นการป้องกันการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ	943	93.00	71	7.00
พยาธิไม้ตับสามารถทำให้ตายโดยการแช่แข็ง (0 องศาเซลเซียส) หรือทำให้สุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	805	79.39	209	20.61
การนำปลาไปแช่แข็งก่อนนำไปปรุงอาหารสามารถกำจัดพยาธิใบไม้ตับได้	601	59.27	413	40.73
การถ่ายอุจจาระลงส้วมเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดของโรคพยาธิ	986	97.24	28	2.76

ตาราง 9 แสดงจำนวนประชาชนที่ตอบคำถามความรู้เกี่ยวกับการติดต่อของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

คำถาม	ตอบถูก		ตอบผิด	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
พยาธิใบไม้ตับมีระยะติดต่ออยู่ในปลาวงศ์ตะเพียน เช่น ปลาตะเพียน ปลาสร้อยขาว ปลาแก้มช้ำ	960	94.67	54	5.33
การกินปลาดิบ ลาบปลา ก้อยปลา ทำให้ติดพยาธิใบไม้ตับ	991	97.73	23	2.27
สุนัข และแมวติดพยาธิได้ถ้ากินปลาที่ปรุงไม่สุก	913	90.04	101	9.96

ตาราง 10 แสดงจำนวนประชาชนที่ตอบคำถามความรู้เกี่ยวกับการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

คำถาม	ตอบถูก		ตอบผิด	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
ไข่ของพยาธิใบไม้ตับออกมากับอุจจาระของคน และสามารถแพร่ลงสู่แหล่งน้ำได้	920	90.73	94	9.27
สุนัข และแมวสามารถแพร่ไข่พยาธิใบไม้ตับสู่สิ่งแวดล้อมได้จากการขับถ่ายทั่วไป	870	85.80	144	14.20

ตาราง 11 แสดงจำนวนประชาชนที่ตอบคำถามความรู้เกี่ยวกับโรคและอาการทางคลินิกที่มีสาเหตุจากพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

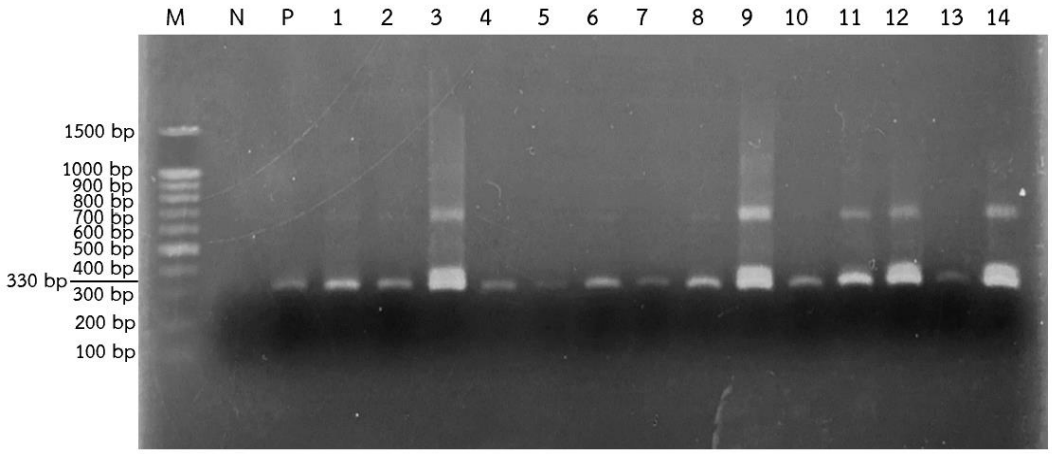
คำถาม	ตอบถูก		ตอบผิด	
	จำนวน	ร้อยละ	จำนวน	ร้อยละ
พยาธิใบไม้ตับอาศัยอยู่ในท่อทางเดินน้ำดีในตับของคน	877	86.49	137	13.51
พยาธิใบไม้ตับเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งตับ และท่อน้ำดี	900	88.76	114	11.24
อาการของโรคพยาธิใบไม้ตับเรื้อรังคือ ท้องอืด ตัวเหลือง ตาเหลือง	930	91.72	84	8.28

ตาราง 12 แสดงระดับความรู้เกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

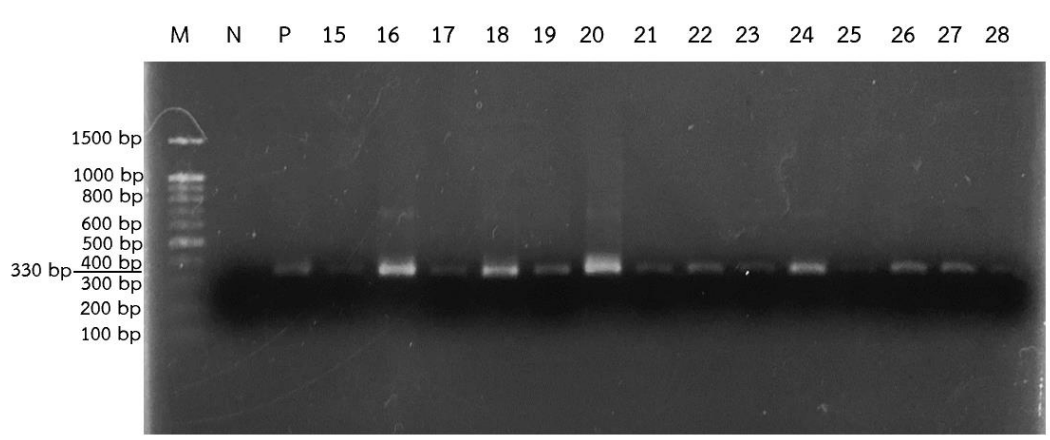
ระดับคะแนน	จำนวน (คน)	ร้อยละ	แปลผล
ร้อยละ 80-100 (10-12 คะแนน)	808	79.53	มีความรู้อยู่ในระดับมาก
ร้อยละ 60-79 (8-9 คะแนน)	130	12.80	มีความรู้อยู่ในระดับปานกลาง
น้อยกว่าร้อยละ 60 (0-7 คะแนน)	78	7.68	มีความรู้อยู่ในระดับน้อย

ผลการตรวจยืนยันไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ตรวจพบในอุจจาระด้วยเทคนิค PCR

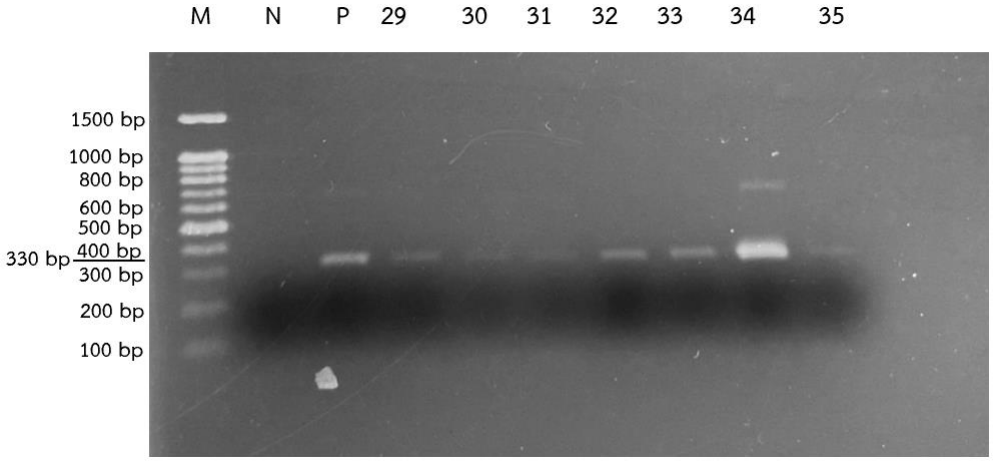
จากการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้กล้องจุลทรรศน์พบการติดเชื้อจำนวน 98 ตัวอย่าง นำตัวอย่างอุจจาระดังกล่าวมาทำการตรวจยืนยันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ primer ที่จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ OV-6F (5′-ctgaatctctcgtttgttca-3′) และ OV-6R (5′-gttccaggtgagtctctcta-3′) ที่ให้ PCR product ขนาด 330 bp (Sermswan et al., 1991) พบตัวอย่างที่ให้ผลบวกรวม 35 ตัวอย่าง และให้ผลลบจำนวน 46 ตัวอย่าง (ภาพ 21-23)



ภาพ 21 ผลการตรวจตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยเทคนิค PCR ที่ให้ PCR product ขนาด 330 bp (Lane M: 100 bp plus DNA marker, Lane N: negative control, Lane P: positive control (adult *O. viverrini*), Lane 1-14: ดีเอ็นเอจากตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*)



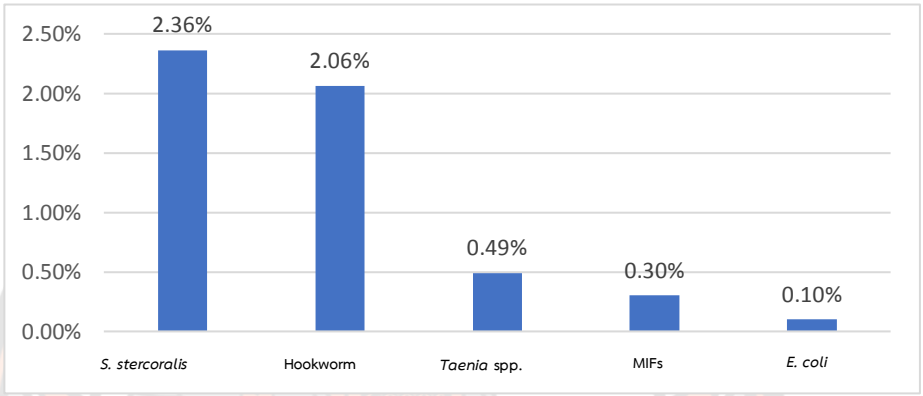
ภาพ 22 ผลการตรวจตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยเทคนิค PCR ที่ให้ PCR product ขนาด 330 bp (Lane M: 100 bp plus DNA marker, Lane N: negative control, Lane P: positive control (adult *O. viverrini*), Lane 15-28: ดีเอ็นเอจากตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*)



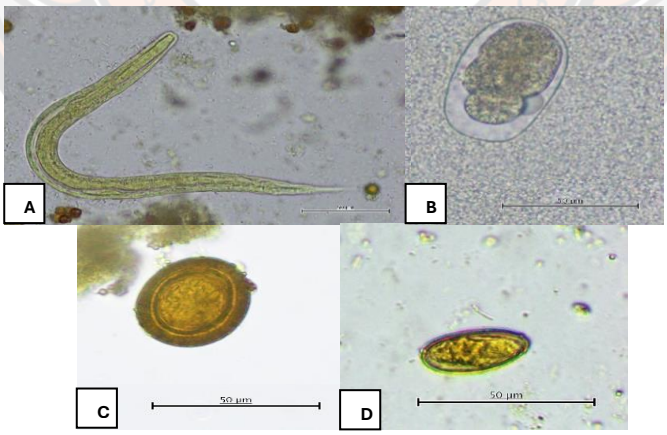
ภาพ 23 ผลการตรวจตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่ที่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยเทคนิค PCR ที่ให้ PCR product ขนาด 330 bp (Lane M: 100 bp plus DNA marker, Lane N: negative control, Lane P: positive control (adult *O. viverrini*), Lane 29-35: ดีเอ็นเอจากตัวอย่างอุจจาระที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*)

การติดเชื้อปรสิตชนิดอื่นในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ผลการตรวจอุจจาระ 1,016 ราย พบการติดเชื้อปรสิตชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ พยาธิเส้นด้าย *Strongyloides stercoralis* 24 ราย (ร้อยละ 2.36) พยาธิปากขอ (hookworm) 21 ราย (ร้อยละ 2.06) พยาธิตืด *Taenia* spp. 5 ราย (ร้อยละ 0.49) พยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (MIFs) 3 ราย (ร้อยละ 0.30) และโปรโตซัว *Entamoeba coli* 1 ราย (ร้อยละ 0.10)



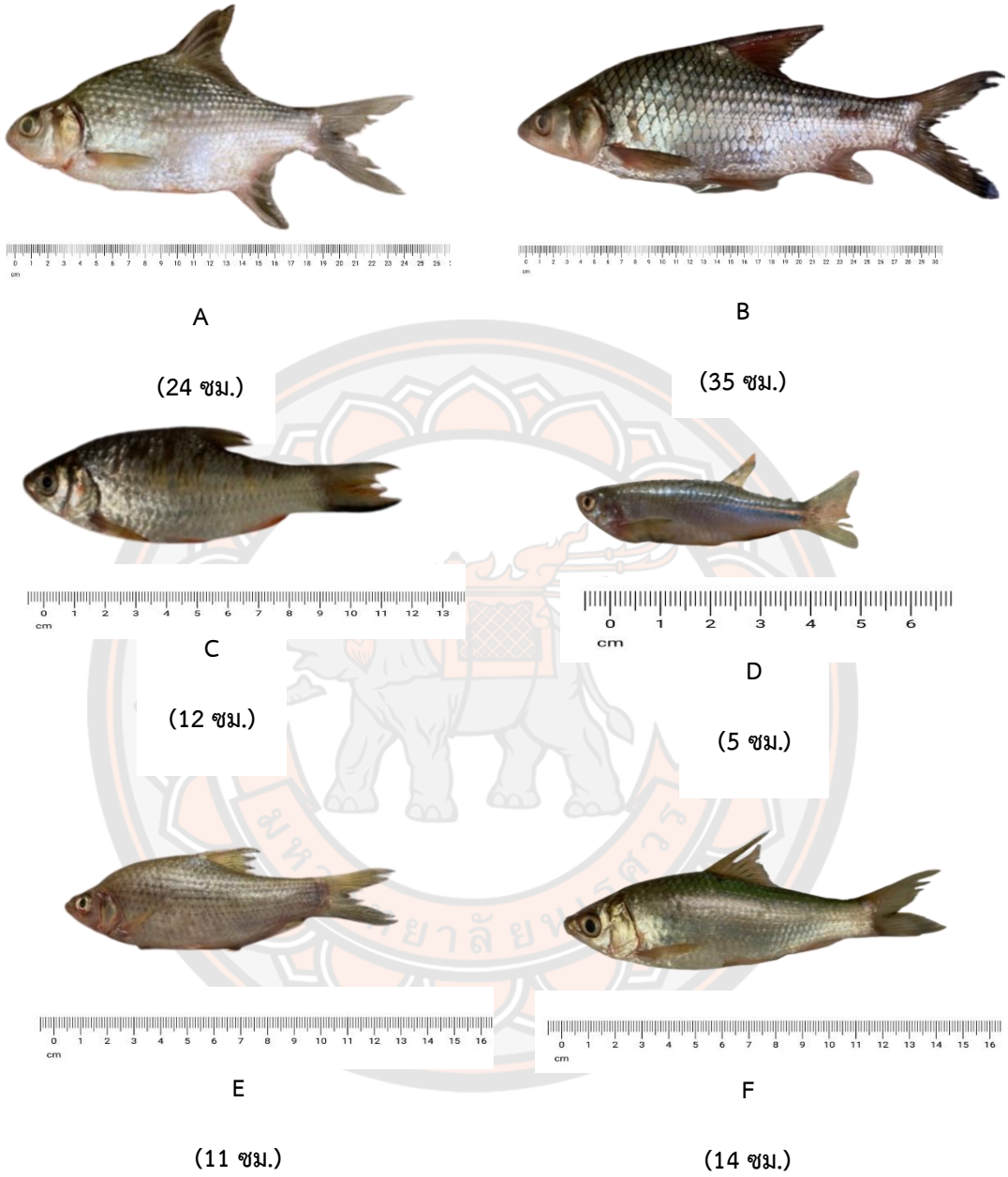
ภาพ 24 แสดงความชุกการติดเชื้อปรสิตในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก



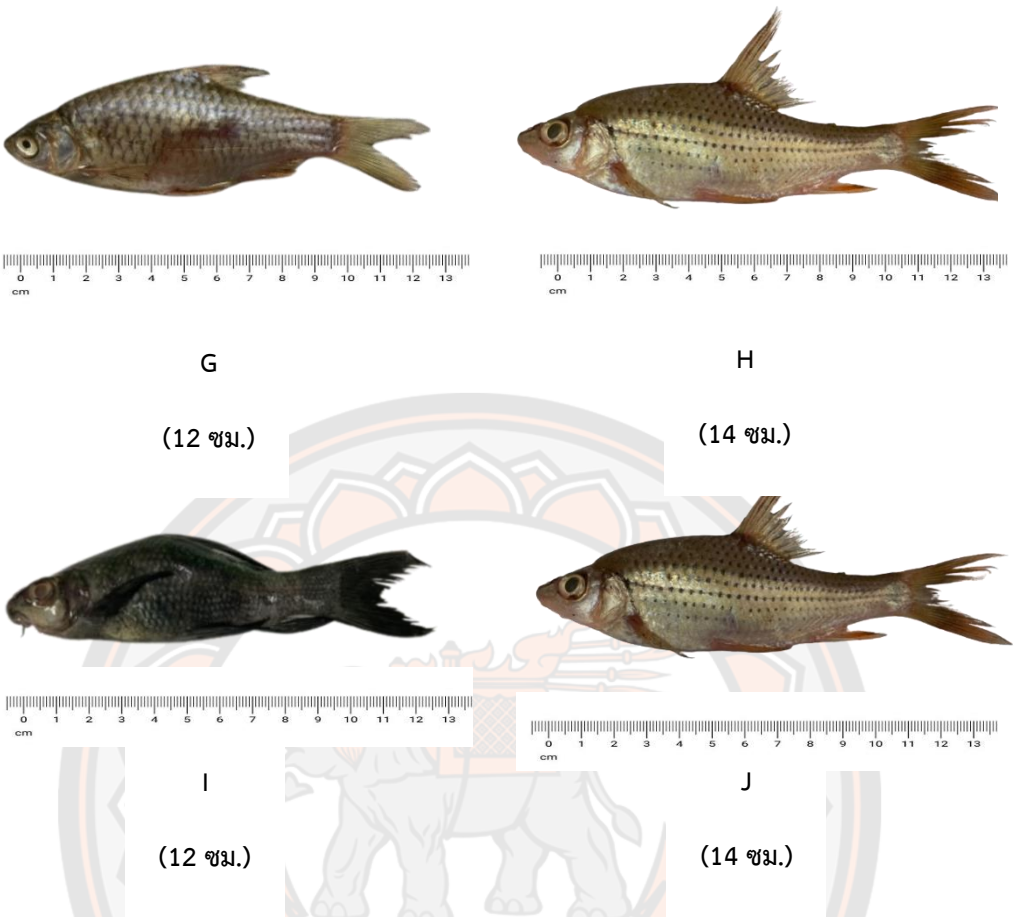
ภาพ 25 ภาพปรสิตที่ตรวจพบจากตัวอย่างอุจจาระในพื้นที่ตำบลท่าสะแก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ตรวจด้วยเทคนิค FECT A) พยาธิเส้นด้าย (*S. stercoralis*) B) พยาธิปากขอ (hookworm) C) พยาธิตืด (*Taenia* spp.) D) พยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (MIFs) (scale bars = 50 µm)

ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ในพื้นที่ 9 หมู่บ้านของตำบลท่าสะแกมีแหล่งน้ำทั้งหมด 7 แหล่งประกอบด้วย ลำน้ำ 4 แห่ง ได้แก่ ลำน้ำภาค ลำน้ำแควน้อย ลำน้ำคลึง และลำน้ำพึง อ่างเก็บน้ำ 1 แห่ง คือ อ่างเก็บน้ำห้วยปูน หนองน้ำ 1 แห่ง คือ หนองควายเถื่อน และบุ่งน้ำ 1 แห่ง คือ บุ่งน้ำลัดเหนือ ทำการเก็บตัวอย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียน และนำมาจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา จำแนกได้เป็น 8 สกุล 11 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนขาว (*Barbonymus gonionotus*), ปลากา (*Labeo chrysophekadion*), ปลากระสูบ (*Hampala* sp.), ปลาซิวควาย (*Rasbora aurotaenia*), ปลาปากเหลี่ยม (*Cyclocheilichthys armatus*), ปลาไส้ตันตาขาว (*Cyclocheilichthys repasson*), ปลาตะโกก (*Cyclocheilichthys enoplos*), ปลากระมัง (*Puntioplites proctozystron*), ปลาแก้มช้ำ (*Puntius orphoides*), ปลาสร้อยขาว (*Henicorhynchus siamensis*), และปลาไส้ตันตาแดง (*Cyclocheilichthys apogon*) (ภาพ 26 A-J) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนชนิดที่พบมากที่สุด คือ ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) รองลงมา คือ ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*) โดยหมู่บ้านที่พบชนิดปลามากที่สุด คือ หมู่ 4 ท่าสะแกพบปลาวงศ์ปลาตะเพียน 9 ชนิด ได้แก่ ปลาซิวควาย (*R. aurotaenia*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*), ปลากา (*L. chrysophekadion*), ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*), ปลากระมัง (*P. proctozystron*), ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), และปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*) (ภาพ 27) และแหล่งน้ำที่พบชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนมากที่สุด คือ ลำน้ำภาคพบปลาวงศ์ปลาตะเพียน 9 ชนิด ได้แก่ ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*), ปลากระมัง (*P. proctozystron*), ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*), ปลาซิวควาย (*R. aurotaenia*), ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), ปลากา (*L. chrysophekadion*), และปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*) (ภาพ 28)



ภาพ 26 ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก A) ปลากระมัง (*P. proctozystron*) B) ปลาตะโกก (*C. enoplos*) C) ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*) D) ปลาซิวควาย (*R. aurotaenia*) E) ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*) F) ปลาสร้อย (*H. siamensis*) G) ปลาตะเพียน (*B. gonionotus*) H) ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) I) ปลากา (*L. chrysophekadion*) J) ปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*)



ภาพ 26 ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก A) ปลากระมัง (*P. proctozystron*) B) ปลาตะโกก (*C. enoplos*) C) ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*) D) ปลาซิวควาย (*R. aurotaenia*) E) ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*) F) ปลาสร้อย (*H. siamensis*) G) ปลาตะเพียน (*B. gonionotus*) H) ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) I) ปลากา (*L. chrysophekadion*) J) ปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon* (ต่อ)

ตาราง 13 แสดงชื่อปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ
Barbonymus gonionotus	ปลาตะเพียนขาว ปลาตะเพียน ปลาตะเพียนเงิน	Thai silver barb, Silver barb, Common silver barb, Barb
Labeo chrysophekadion	ปลากา ปลากาดำ	Black sharkmin now
Hampala sp.	ปลากระสูบ	Hampala barb, Jungle perch
Rasbora aurotaenia	ปลาซิวควาย ปลาซิวแถบทอง	Pale rasbora
Cyclocheilichthys armatus	ปลาปากเหลี่ยม ปลาหนามหลัง	Indian river barb
Cyclocheilichthys repasson	ปลาไส้ตันตาขาว	-
Cyclocheilichthys enoplos	ปลาตะโกก ปลาโจก	Soldier river barb Beardless Barb
Cyclocheilichthys apogon	ปลาไส้ตันตาแดง	
Puntioplites proctozystron	ปลากระมัง ปลาสะกาง	Smith's barb
Puntius orphoides	ปลาแก้มช้ำ ปลาซ่าปก ปลาปกส้ม	Red-cheek barb, Barb
Henicorhynchus siamensis	ปลาสร้อยขาว ปลาสร้อย ปลาสร้อยหัวกลม	Siamese mud carp, Jullien's mud carp

การตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

การตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่เก็บมาจากแหล่งน้ำทั้งหมด 7 แหล่งในพื้นที่ศึกษารวม 11 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*), ปลากา (*L. chrysophekadion*), ปลากระสูบ (*Hampala* sp.), ปลาซิวควาย (*R. aurotaenia*), ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), ปลาตะโกก (*C. enoplus*), ปลากระมัง (*P. proctozystron*), ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*), ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), และปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*) จากตัวอย่างปลาทั้งหมด 11 ชนิด คิดเป็นปลาทั้งหมด 30.69 กิโลกรัม เมื่อแยกตามชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนพบว่าชนิดที่มีจำนวน (น้ำหนัก) มากที่สุด คือ ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) 10.63 กิโลกรัม ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*) 5.1 กิโลกรัม ปลากา (*L. chrysophekadion*) 4.02 กิโลกรัม ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*) 3.44 กิโลกรัม ปลาซิวควาย (*R. aurotaenia*) 2.39 กิโลกรัม ปลาตะโกก (*C. enoplus*) 1.58 กิโลกรัม ปลากระมัง (*P. proctozystron*) 1.37 ปลากระสูบ (*Hampala* sp.) 1 กิโลกรัม ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*) 0.34 กิโลกรัม ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*) 0.059 กิโลกรัม และปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*) 51 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตาราง 14) โดยทั้ง 11 ชนิดไม่พบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

ตาราง 14 ปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษาจำแนกตามหมู่บ้าน

พื้นที่หมู่บ้าน	แหล่งน้ำ	ชื่อวิทยาศาสตร์	น้ำหนัก (กรัม)
หมู่ 1 หนองน้ำปอ	ลำน้ำแควน้อย	*Barbonymus gonionotus*	2,000
	ลำน้ำแควน้อย	*Cyclocheilichthys enoplus*	1,000
	ลำน้ำแควน้อย	*Labeo chrysophekadion*	1,000
หมู่ 2 บ้านขอนสองสลึง	อ่างเก็บน้ำห้วยปูน	*Barbonymus gonionotus*	1,000
	ลำน้ำภาค	*Barbonymus gonionotus*	600
	ลำน้ำแควน้อย	*Puntioplites proctozystron*	677
	ลำน้ำแควน้อย	*Cyclocheilichthys enoplus*	587
หมู่ 3 บ้านน้อย	บุ่งน้ำลัดเหนือ	*Puntius orphoides*	1,000
	บุ่งน้ำลัดเหนือ	*Hampala* sp.	1,000
	บุ่งน้ำลัดเหนือ	*Barbonymus gonionotus*	1,000
หมู่ 4 ท่าสะแก	บุ่งน้ำลัดเหนือ	*Rasbora aurotaenia*	1,100

ตาราง 14 (ต่อ)

พื้นที่หมู่บ้าน	แหล่งน้ำ	ชื่อวิทยาศาสตร์	น้ำหนัก (กรัม)
	ลำน้ำภาค	*Henicorhynchus siamensis*	2,442
	ลำน้ำภาค	*Puntius orphoides*	1,100
	ลำน้ำภาค	*Labeo chrysophekadion*	1,015
	ลำน้ำภาค	*Barbonymus gonionotus*	1,031
	ลำน้ำภาค	*Puntioplites proctozystron*	688
	ลำน้ำภาค	*Rasbora aurotaenia*	297
	ลำน้ำภาค	*Cyclocheilichthys armatus*	59
	ลำน้ำภาค	*Cyclocheilichthys repasson*	342
	ลำน้ำภาค	*Cyclocheilichthys apogon*	51
หมู่ 5 นาม่วง	ลำน้ำพึง	*Puntius orphoides*	1,000
	ลำน้ำพึง	*Barbonymus gonionotus*	1,000
หมู่ 6 ห้วยท้องฟาน	ลำน้ำแคว้อย	*Barbonymus gonionotus*	1,000
	ลำน้ำแคว้อย	*Labeo chrysophekadion*	1,000
หมู่ 7 ห้วยดี	ลำน้ำแคว้อย	*Barbonymus gonionotus*	1,000
	ลำน้ำแคว้อย	*Labeo chrysophekadion*	1,000
หมู่ 8 ศรีจันทร์	ลำน้ำคลึง	*Barbonymus gonionotus*	1,000
	ลำน้ำคลึง	*Henicorhynchus siamensis*	1,000
	ลำน้ำคลึง	*Puntius orphoides*	1,000
หมู่ 9 หนองบัวขาว	หนองควายเถื่อน	*Barbonymus gonionotus*	1,000
	หนองควายเถื่อน	*Puntius orphoides*	1,000
	หนองควายเถื่อน	*Rasbora aurotaenia*	1,000
	ลำน้ำภาค	*Barbonymus gonionotus*	700

ชนิดปลา	หมู่บ้าน								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*)	●	●	●	●	●	●	●	●	●
ปลากา (*L. chrysophekadion*)	●			●		●	●		
ปลากระสูบ (*Hampala* sp.)			●						
ปลาชิวควาย (*R. aurotaenia*)				●					●
ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*)				●					
ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*)				●					
ปลาตะโกก (*C. enoplus*)	●	●							
ปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*)				●					
ปลากระมัง (*P. proctozystron*)		●		●					
ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*)			●	●	●			●	●
ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*)				●				●	

ภาพ 27 ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษาจำแนกตามหมู่บ้าน

ตาราง 15 แสดงปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษาจำแนกตามแหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่าง

แหล่งน้ำ	พื้นที่หมู่บ้าน	ชื่อวิทยาศาสตร์
ลำน้ำภาค	หมู่ 2 บ้านขอนสองสลึง	*Henicorhynchus siamensis*
	หมู่ 4 บ้านท่าสะแก	*Barbonymus gonionotus*
	หมู่ 9 บ้านหนองบัวขาว	*Puntioplites proctozystron*
		Puntius orphoides
		Rasbora aurotaenia
		Cyclocheilichthys armatus
		Cyclocheilichthys repasson
		Labeo chrysophekadion
		Cyclocheilichthys apogon
ลำน้ำแควน้อย	หมู่ 1 บ้านหนองน้ำปอ	*Barbonymus gonionotus*
	หมู่ 2 บ้านขอนสองสลึง	*Cyclocheilichthys enoplus*
	หมู่ 6 บ้านห้วยท้องฟาน	*Labeo chrysophekadion*
	หมู่ 7 บ้านห้วยดี	*Puntioplites proctozystron*

ตาราง 15 (ต่อ)

แหล่งน้ำ	พื้นที่หมู่บ้าน	ชื่อวิทยาศาสตร์
ลำน้ำคลึง	หมู่ 8 บ้านศรีจันทร์	*Barbonymus gonionotus*
		Henicorhynchus siamensis
		Puntius orphoides
ลำน้ำพึง	หมู่ 5 บ้านนาม่วง	*Puntius orphoides*
		Barbonymus gonionotus
หนองควายเถื่อน	หมู่ 9 บ้านหนองบัวขาว	*Barbonymus gonionotus*
		Puntius orphoides
		Rasbora aurotaenia
บุ่งน้ำลัดเหนือ	หมู่ 3 บ้านน้อย	*Puntius orphoides*
	หมู่ 4 บ้านท่าสะแก	*Hampala* sp.
		Barbonymus gonionotus
		Rasbora aurotaenia
อ่างเก็บน้ำห้วยปูน	หมู่ 2 บ้านขอนสองสลึง	*Barbonymus gonionotus*

ชนิดปลา	ลำน้ำภาค	ลำน้ำแควน้อย	ลำน้ำคลึง	ลำน้ำพึง	หนองควายเถื่อน	บุ่งน้ำลัดเหนือ	อ่างเก็บน้ำห้วยปูน
ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*)	●	●	●	●	●	●	●
ปลากา (*L. chrysophekadion*)	●	●					
ปลากระสูบ (*Hampala* sp.)						●	
ปลาซิวควาย (*R. aurotaenia*)	●				●	●	
ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*)	●						
ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*)	●						
ปลาตะโกก (*C. enoplus*)		●					
ปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*)	●						
ปลากระมัง (*P. proctozystron*)	●	●					
ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*)	●		●	●	●	●	
ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*)	●		●				

ภาพ 28 ชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษาจำแนกตามแหล่งน้ำ

บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชนเสี่ยงตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก จากตัวอย่างอุจจาระ และแบบสอบถามทั้งหมด 1,016 ตัวอย่าง พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จำนวน 98 ราย (ร้อยละ 9.65) พบการติดเชื้อมากในกลุ่มเพศชาย ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่มีการศึกษาอยู่ในระดับประถมศึกษา ประกอบอาชีพเกษตรกรรม และพบการติดเชื้อในผู้ที่มีพฤติกรรมบริโภคอาหารพื้นบ้านที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุก ในพื้นที่ตำบลท่าสะแกการบริโภคอาหารพื้นบ้านแบบไม่ปรุงสุกเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สำหรับการสำรวจปลาวงศ์ปลาตะเพียนในแหล่งน้ำทั้งหมด 7 แหล่งในพื้นที่ซึ่งเป็นแหล่งน้ำที่ชุมชนหาปลามาประกอบอาหาร พบปลาวงศ์ปลาตะเพียน 8 สกุล 11 ชนิด และปลาวงศ์ปลาตะเพียนชนิดที่พบมากที่สุด คือ ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*) รองลงมา คือ ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*) ทั้ง 11 ชนิดมีรายงานว่าเป็นโฮสต์ตัวกลางที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Charoensuk et al., 2022; Laoprom et al., 2021; Pinlaor et al., 2013; Saijuntha et al., 2022; Sohn et al., 2021) อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ไม่พบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนทั้ง 11 ชนิด จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก ยังพบการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* อีกทั้งมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ถึงร้อยละ 9.65 ซึ่งเกินกว่าเป้าหมายที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด คือไม่เกินร้อยละ 5 ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จึงมีความสำคัญต่อการใช้ในการวางแผนควบคุม ป้องกัน และเฝ้าระวังการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และโรคมะเร็งท่อน้ำดีในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

อภิปรายผลการวิจัย

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ก่อให้เกิดโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญของการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดี (cholangiocarcinoma) พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระบาดอยู่ในหลายประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงประเทศไทย (Sithithaworn, Andrews, Petney, et al., 2012) อัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยรวมทั่วประเทศร้อยละ 2.2 โดยพบผู้ติดเชื้อสูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือร้อยละ 4.97 ภาคเหนือร้อยละ 1.79 ภาคกลางร้อยละ 0.87 และภาคใต้ร้อยละ 0.11 โดยจังหวัดที่พบความชุกสูงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดบึงกาฬ จังหวัดสกลนคร จังหวัดกาฬสินธุ์ จังหวัดร้อยเอ็ด และจังหวัดนครพนม (Wattanawong et al., 2021) ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างพบอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยรวมร้อยละ 9.5 จาก 7 จังหวัด โดยมีความชุกแตกต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 2.1 ถึงร้อยละ 28.7 ความชุกสูงสุดพบในตำบลโคกปรง อำเภอวิเชียรบุรี จังหวัดเพชรบูรณ์ (ร้อยละ 28.7) อำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก (ร้อยละ 12) อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ (ร้อยละ 6.9) อำเภอบ้านด่านลานหอย จังหวัดสุโขทัย (ร้อยละ 5.5) อำเภอวังทรายพูน จังหวัดพิจิตร (ร้อยละ 3.8) อำเภอทัพทัน จังหวัดอุทัยธานี (ร้อยละ 3.6) และอำเภอเมืองตาก จังหวัดตาก (ร้อยละ 2.1) (Pumidonming et al., 2018) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราการติดเชื้อ และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และศึกษาชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียน และการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก ตำบลท่าสะแกแบ่งเป็น 9 หมู่บ้าน มีแม่น้ำและคลองน้ำกระจายอยู่ภายในพื้นที่ทุกหมู่บ้าน แหล่งน้ำต่าง ๆ ที่มีมากมายอยู่ภายในตำบลจะไหลมาบรรจบกันที่แม่น้ำแควน้อย และไหลลงสู่แม่น้ำน่าน ด้วยสภาพแวดล้อมของทุกหมู่บ้านมีแหล่งน้ำจืดซึ่งเป็นที่อยู่ของโฮสต์ตัวกลางลำดับที่หนึ่ง คือ หอยไซ หรือหอยทราย *Bithynia* spp. และปลาวงศ์ปลาตะเพียน (cyprinidae) ซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางลำดับที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เนื่องจากความใกล้ชิดกับแหล่งน้ำเป็นหนึ่งในปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในคน Chaisiri et al. (2018) รายงานว่าความรุนแรงของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* กับระยะห่างจากที่อยู่อาศัยไปยังแม่น้ำมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ โดยผู้ที่อาศัยอยู่ใกล้แม่น้ำ (ระยะห่างจากแม่น้ำอยู่ภายใน 60 เมตร) มีความรุนแรงของการติดเชื้อมากถึง 9 เท่าเมื่อเทียบกับผู้ที่อาศัยอยู่ไกลจากแม่น้ำ (ระยะห่างจากแม่น้ำมากกว่า 100 เมตร) เช่นเดียวกับการศึกษาอื่นที่รายงานว่าการระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางภูมิประเทศ การศึกษาของ Prakobwong et al. (2017) ศึกษาความชุกการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่ 16 อำเภอในจังหวัดอุดรธานี พบว่าพื้นที่ที่อยู่ใกล้แหล่งน้ำมีอุบัติการณ์การติดเชื้อสูงสุด ในขณะที่พื้นที่ที่อยู่ห่างจากแหล่งน้ำมีการติดเชื้อในจำนวนน้อย และสอดคล้องกับการศึกษาอื่น ๆ ที่รายงานว่า

ความใกล้ชิดกับแหล่งน้ำเป็นหนึ่งในปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* นอกเหนือจากปัจจัยทางเศรษฐกิจ สังคม ประชากรศาสตร์ และพฤติกรรม (Ong et al., 2016; Thaewnongiew et al., 2014) ทั้งนี้แม้ว่าการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในคนจะมีความเกี่ยวข้องกับการตั้งถิ่นฐานที่อยู่อาศัยใกล้กับแหล่งน้ำ แต่มีผู้ติดเชื้ออย่างน้อยร้อยละ 5-10 ที่อาศัยอยู่ห่างไกลจากแหล่งน้ำที่เป็นแหล่งที่อยู่ของโฮสต์ตัวกลางซึ่งเป็นแหล่งกักตุนพยาธิตามธรรมชาติ (Charoensuk et al., 2022) เนื่องจากในแต่ละพื้นที่ที่มีการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีสาเหตุ และปัจจัยที่แตกต่างกันทั้งปัจจัยทางด้านเศรษฐกิจ สังคม ประชากรศาสตร์ สิ่งแวดล้อมรวมถึงพฤติกรรมของคนในชุมชน เพื่อนำข้อมูลมาใช้สำหรับการวางแผนเฝ้าระวัง ป้องกันและควบคุมการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชนให้มีประสิทธิภาพจึงควรมีการสำรวจ และศึกษาอัตราการติดเชื้อ และปัจจัยเสี่ยงของพื้นที่นั้น ๆ เพื่อให้ทราบถึงข้อมูลที่แท้จริงของพื้นที่ การศึกษาครั้งนี้จึงได้ศึกษาอัตราการติดเชื้อ และปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รวมถึงศึกษาชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนในพื้นที่ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก ผลการศึกษาพบว่าการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ยังคงเป็นปัญหาสำคัญในพื้นที่ตำบลท่าสะแก จังหวัดพิษณุโลก จากการศึกษาครั้งนี้มีผู้ส่งตัวอย่างอุจจาระ และตอบแบบสอบถามทั้งหมด 1,016 ราย จาก 9 หมู่บ้าน พบผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รวม 98 ราย (ร้อยละ 9.65) พบการติดเชื้อในเพศชาย 58 ราย (ร้อยละ 13.62) เพศหญิงจำนวน 40 ราย (ร้อยละ 6.78) สอดคล้องกับการศึกษาอื่น ๆ ที่รายงานว่าการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ส่วนใหญ่พบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง (Boondit et al., 2020; Boonjaraspinyo et al., 2022) กลุ่มที่มีอายุมากกว่า 60 ปีพบติดเชื้อสูงสุดรองลงมา คือ กลุ่มอายุ 50-59 ปี สอดคล้องกับการศึกษาอื่นที่รายงานว่าการบริโภคปลาดิบเป็นที่ชื่นชอบของผู้สูงอายุด้วยความคุ้นเคยกับรสชาติของปลาดิบ การปรุงที่ง่าย และวิถีชีวิตดั้งเดิมที่ชอบบริโภคอาหารประเภทสุก ๆ ดิบ ๆ มากกว่ากลุ่มวัยอื่น และมีรายงานว่าผู้ที่มีอายุ 55 ปีขึ้นไปมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มากกว่ากลุ่มอายุ 15-24 ปีถึง 6.36 เท่า (Nakbun et al., 2018) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Boondit et al. (2020) พบว่าความชุกสูงสุดของการติดเชื้อ พบในผู้ที่มีอายุมากกว่า 59 ปี และสอดคล้องกับการศึกษาที่เกี่ยวข้องในพื้นที่อื่น ๆ ของประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าความชุก และความหนาแน่นของจำนวนไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในตัวอย่างอุจจาระเพิ่มขึ้นเมื่อประชากรมีอายุมากขึ้น แม้ว่าคนทุกช่วงวัยสามารถติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้ แต่ความเสี่ยงของการติดเชื้อเพิ่มตามอายุที่เพิ่มขึ้นของประชากรกลุ่มเสี่ยง (Pengput & Schwartz, 2020) ในขณะที่คนรุ่นใหม่ที่อยู่ในช่วงวัยอายุน้อยกว่า 40 ปีได้รับการให้ความรู้เกี่ยวกับการป้องกันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รวมถึงความเสี่ยงในการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ดังนั้นการติดเชื้อในกลุ่มอายุดังกล่าวจึงน้อยกว่าในกลุ่มผู้สูงวัย (Boondit et al., 2020; Suwannahitatorn et al., 2019)

การศึกษาครั้งนี้พบว่าผู้ที่ประกอบอาชีพเกษตรกรติดเชื้อมากที่สุดจำนวน 88 ราย (ร้อยละ 10.74) เนื่องด้วยลักษณะการดำรงชีวิตของเกษตรกรสิ่งที่จะนำมารับประทานจึงมาจากสิ่งที่มีอยู่ตามสภาพแวดล้อม และทรัพยากรที่มีอยู่ในท้องถิ่น อย่างปลาวงศ์ปลาตะเพียนซึ่งเป็นวงศ์ที่มีชนิดและจำนวนมากที่สุดในปลาน้ำจืดของไทยส่งผลให้อาชีพเกษตรกรมีอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มากกว่าอาชีพอื่น ๆ (Saenna et al., 2017) สอดคล้องกับการศึกษาของ Chuangchaiya et al. (2019) รายงานว่าอาชีพมีความเกี่ยวข้องกับอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และการบริโภคปลาวงศ์ปลาตะเพียนในกลุ่มเกษตรกรที่นิยมนำมาปรุงเป็นอาหารพื้นบ้านที่มีการรับประทานแบบไม่ปรุงสุก พบว่าผู้ที่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมรับประทานอาหารพื้นบ้านแบบไม่ปรุงสุกร้อยละ 67.5 ซึ่งมีจำนวนมากกว่าอาชีพอื่น ๆ ในพื้นที่ เนื่องจากเกษตรกรมักจะหาปลาจากแหล่งน้ำมาบริโภค และอาหารที่นิยมรับประทาน คือ ก้อยปลาเนื่องจากง่ายต่อการเตรียม สำหรับระดับการศึกษาพบว่าผู้ที่จบการศึกษาระดับประถมศึกษามีการติดเชื้อสูงสุดจำนวน 83 คน (ร้อยละ 11.11) เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นผู้สูงอายุ ซึ่งในสมัยก่อนประชาชนส่วนใหญ่จะจบการศึกษาในระดับประถมศึกษา ซึ่งอาจมีผลต่อความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการป้องกันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร่วมกับการมีวัฒนธรรมดั้งเดิมที่ชอบรับประทานอาหารประเภทปลาดิบ เช่น ก้อยปลา ลาบปลาดิบ (Kaewpitoon et al., 2012) ด้านพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ทำจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุก พบว่ากลุ่มที่รับประทานอาหารประเภทปลาส้มดิบ ก้อยปลาดิบ และปลาจ่อมดิบ พบติดเชื้อมากกว่ากลุ่มที่รับประทานแบบปรุงสุก โดยกลุ่มที่รับประทานก้อยปลาดิบพบการติดเชื้อสูงสุดจำนวน 44 ราย (ร้อยละ 21.36) รองลงมา คือ กลุ่มที่รับประทานปลาส้มดิบจำนวน 23 ราย (ร้อยละ 15.23) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาที่ผ่านมา และจากวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบว่าตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาเป็นระยะที่ติดต่อสู่คนโดยตรง ดังนั้นการบริโภคปลาวงศ์ปลาตะเพียนแบบไม่ปรุงสุกจึงมีโอกาสได้รับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มากกว่าคนบริโภคแบบปรุงสุก (Sithithaworn, Yongvanit, et al., 2014) ด้านพฤติกรรมการขับถ่ายอุจจาระพบว่า กลุ่มตัวอย่างที่มีพฤติกรรมขับถ่ายอุจจาระตามท้องไร่ ท้องนา สวนบางครั้ง มีการตรวจพบพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จำนวน 16 ราย (ร้อยละ 13.68) และผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่ไม่เคยกินยากำจัดพยาธิจำนวน 70 ราย (ร้อยละ 10.82) เนื่องจากการทานยากำจัดพยาธิสามารถป้องกันโรคพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้ร้อยละ 57 (Steele et al., 2018; Wichaiyo et al., 2019) อีกทั้งการรักษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่มีประสิทธิภาพที่สุด คือ การทานยาพราซิควอนเทล (praziquantel) ขนาด 40 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม รับประทานครั้งเดียว (single dose) (Jongsuksuntigul & Imsomboon, 2003)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ประกอบด้วย 3 ปัจจัยจากการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติก กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 และช่วงเชื่อมั่นร้อยละ 5 ได้แก่ เพศ การบริโภคก้อยปลาดิบ และประวัติการกินยากำจัดพยาธิ โดยเพศชายมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าเพศหญิง 1.63 เท่า (ORadj= 1.63, 95% CI. 1.03-2.59) การบริโภคก้อยปลาดิบ โดยผู้ที่รับประทานก้อยปลาดิบมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าผู้ที่ไม่รับประทาน 3.13 เท่า (ORadj = 3.13, 95%CI. 1.84-5.30) และประวัติการกินยากำจัดพยาธิ ผู้ที่ไม่เคยกินยากำจัดพยาธิมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าผู้ที่เคยกินยากำจัดพยาธิ 1.73 เท่า (ORadj = 1.73, 95%CI. 1.05-2.85) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเพศชายมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าเพศหญิง 1.63 เท่า สอดคล้องกับการศึกษาอื่น ๆ ที่รายงานว่าเพศชายมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าเพศหญิง (Boondit et al., 2020; Boonjaraspinyo et al., 2022; Grundy-Warr et al., 2012) โดยพบว่าเพศชายมีความเสี่ยงในการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สูงกว่าเพศหญิง 3.1 เท่า เนื่องจากเพศชายนิยมรับประทานอาหารที่ปรุงไม่สุก รวมถึงการบริโภคอาหารประเภทก้อยปลาเป็นกับแกล้มร่วมกับเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในช่วงสังสรรค์ (Boondit et al., 2020; Pengput & Schwartz, 2020) รวมถึงความเชื่อว่าการรับประทานอาหารที่ปรุงไม่สุกแสดงถึงความเป็นชายและความแข็งแรง และความเชื่อว่าแอลกอฮอล์เข้มข้นสามารถกำจัดเชื้อโรคและพยาธิได้ อีกทั้งยังมีความเชื่อที่ว่าน้ำมะนาวที่เป็นส่วนประกอบของเมนูปลาดิบ เช่นก้อยปลาสามารถกำจัดพยาธิได้ (Grundy-Warr et al., 2012) การศึกษาครั้งนี้พบว่าการบริโภคก้อยปลาดิบเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrin* โดยผู้ที่รับประทานก้อยปลาดิบมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าผู้ที่ไม่รับประทาน 3.13 เท่า เช่นเดียวกับหลายการศึกษาก่อนหน้านี้ที่รายงานว่าปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrin* ในประเทศไทย คือ การบริโภคปลาโดยเฉพาะก้อยปลา (Chudthaisong et al., 2015; Nakbun et al., 2018; Pumidonming et al., 2018) ก้อยปลาเป็นอาหารประเภทปลาดิบที่ไม่ผ่านกระบวนการใด ๆ ทำจากปลาดิบสับผสมกับพริก น้ำมะนาว ผัก และรับประทานทันที ซึ่งอาจพบตัวอ่อนระยะติดต่อ (metacercariae) ที่ยังมีชีวิตอยู่ การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าเมนูก้อยปลาพบเมตาเซอร์คาเรียร้อยละ 63 ยังคงมีชีวิตอยู่ (Prasongwatana et al., 2013) อีกทั้งก้อยปลาเป็นอาหารที่นิยมรับประทานในชุมชนโดยเฉพาะในหมู่ชาวประมง และเกษตรกรเนื่องจากเป็นอาหารที่มีโปรตีน ราคาถูก เตรียมได้เร็ว และง่ายใช้เวลาประมาณ 20 นาที จึงสะดวกสำหรับชาวประมงและเกษตรกร (Grundy-Warr et al., 2012; Nakbun et al., 2018) นอกจากนี้ยังเป็นอาหารที่นิยมรับประทานร่วมกับเครื่องดื่มแอลกอฮอล์รวมถึงครอบครัวที่มีนิสัยชอบรับประทานปลาดิบเป็นประจำ (Suwannahitatorn et al., 2019) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Prasongwatana et al. (2013) ได้ทำการตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrin*i ในอาหารที่ปรุงจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนพบว่าก้อยปลาพบเมตาเซอร์คาเรียจำนวน 245, 150 และ150 เมื่อเวลา 0, 2 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ และปลาส้มพบเมตาเซอร์คาเรียจำนวน 101 และ8 เมื่อเวลา 45

และ69 ชั่วโมง ตามลำดับ อีกหนึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ การกินยากำจัดพยาธิ พบว่าผู้ที่ไม่เคยกินยากำจัดพยาธิมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าผู้ที่เคยกินยากำจัดพยาธิ 1.73 เท่า สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่รายงานว่ากลุ่มที่ไม่เคยรับประทานยากำจัดพยาธิมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มากกว่า 2.33 เท่า ในขณะที่กลุ่มที่เคยรับประทานยากำจัดพยาธิมีความเสี่ยงต่อโรคพยาธิใบไม้ตับเพียง 0.43 เท่า เนื่องจากการใช้ยากำจัดพยาธิสามารถป้องกันโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ได้ร้อยละ 57 (Wichaiyo et al., 2019) โดยยาสำหรับการรักษาพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ ยาพราซิควอนเทล (praziquantel) ซึ่งเป็นยาที่ปลอดภัย และมีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าพยาธิ (Crellen et al., 2021)

ปลาวงศ์ปลาตะเพียนเป็นโฮสต์ตัวกลางที่สำคัญต่อการแพร่กระจายของโรคในชุมชน ตำบลท่าสะแกมีสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อความหลากหลาย และจำนวนประชากรปลาวงศ์ปลาตะเพียน อย่างไรก็ตามแม้ว่าปลาวงศ์ปลาตะเพียนจะพบได้ทั่วไปในหลายพื้นที่ทั้งทางตอนใต้ของเวียดนาม (Dao et al., 2017) กัมพูชา (Sohn et al., 2021) ลาว (Namsanor et al., 2020) และไทย (Charoensuk et al., 2022; Namsanor et al., 2020) แต่ชนิดปลาที่มีแนวโน้มพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ การศึกษาครั้งนี้จึงได้มีการสำรวจชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนและตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนจากการเก็บตัวอย่างในพื้นที่ 9 หมู่บ้านพบปลาวงศ์ปลาตะเพียน 11 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียนขาว (*Barbonymus gonionotus*) ปลากา (*Labeo chrysophekadion*) ปลากระสูบ (*Hampala* sp.) ปลาซิวควาย (*Rasbora aurotaenia*) ปลาปากเหลี่ยม (*Cyclocheilichthys armatus*) ปลาไส้ตันตาขาว (*Cyclocheilichthys repasson*) ปลาตะโกก (*Cyclocheilichthys enoplus*) ปลากระมัง (*Puntioplites proctozystron*) ปลาแก้มช้ำ (*Puntius orphoides*) ปลาสร้อยขาว (*Henicorhynchus siamensis*) และปลาไส้ตันตาแดง (*Cyclocheilichthys apogon*) โดยแหล่งน้ำที่พบชนิดปลาวงศ์ปลาตะเพียนมากที่สุด คือ ลำน้ำภาค พบปลาวงศ์ปลาตะเพียน 9 ชนิด ได้แก่ ปลาสร้อยขาว (*H. siamensis*), ปลาตะเพียนขาว (*B. gonionotus*), ปลากระมัง (*P. proctozystron*), ปลาแก้มช้ำ (*P. orphoides*), ปลาซิวควาย (*R. aurotaenia*), ปลาปากเหลี่ยม (*C. armatus*), ปลาไส้ตันตาขาว (*C. repasson*), ปลากา (*L. chrysophekadion*), และปลาไส้ตันตาแดง (*C. apogon*) เมื่อทำการตรวจหาการติดเชื้อในปลาทั้ง 11 ชนิดตรวจไม่พบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* อย่างไรก็ตามปลาดังกล่าวทุกชนิดมีรายงานว่าเป็นโฮสต์ตัวกลางที่สองของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Charoensuk et al., 2022; Laoprom et al., 2021; Pinlaor et al., 2013; Saijuntha et al., 2022; Sohn et al., 2021) ทั้งนี้อัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในคนพื้นที่ตำบลท่าสะแกค่อนข้างต่ำเพียงร้อยละ 9.65 เมื่อเทียบกับในการศึกษาอื่น (Prakobwong et al., 2017; Songserm et al., 2012; Thaewnongiew et al., 2014) ส่งผลให้

โอกาสการพบการติดเชื้อในปลาต่ำ เนื่องด้วยปริมาณเมตาเซอร์คาเรียในปลามีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการติดเชื้อในมนุษย์ (Pinlaor et al., 2013) การศึกษาก่อนหน้าในจังหวัดนครราชสีมาพบความหนาแน่นของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลามีความหนาแน่นของการติดเชื้อต่ำ สอดคล้องกับความชุกของโรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ในคนที่ต่ำ (ร้อยละ 2.5) (Kaewpitoon et al., 2012) ในขณะที่ในจังหวัดอำนาจเจริญ นครพนม และมุกดาหาร พบความหนาแน่นของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียสูงในปลาซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ในพื้นที่จังหวัดดังกล่าวมีอัตราการติดเชื้อในคนสูง (Sithithaworn, Andrews, Nguyen, et al., 2012) ทั้งนี้อาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ประเภทแหล่งน้ำ ชนิด และจำนวนของหอยน้ำจืด และพันธุ์ปลาน้ำจืดที่เป็นโฮสต์ตัวกลางที่อาศัยอยู่รวมกันในแหล่งน้ำเดียวกัน ช่วงเวลา ฤดูกาล รวมถึงพฤติกรรมการบริโภคปลาดิบและพฤติกรรมการขับถ่ายอุจจาระของคน นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากจำนวนปลาที่เก็บรวบรวมมาได้น้อยกว่าการศึกษาอื่น ๆ (Pinlaor et al., 2013; Touch et al., 2009) ปลาวงศ์ปลาตะเพียนเป็นโฮสต์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์นอกจากจะเป็นโฮสต์ตัวกลางของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* อีกทั้งยังเป็นโฮสต์ที่สำคัญของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กในวงศ์ Heterophyidae ได้แก่ *Haplorchis taichui*, *H. pumilio*, *Centrocestus caninus*, *Stellantchasmus falcatus* และ *Haplorchoides* sp. ซึ่งมักพบในปลาที่ติดเชื้อร่วมกับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* (Manpratum et al., 2017; Sripa et al., 2011) การศึกษาในครั้งนี้นอกจากจะทำให้ทราบถึงชนิดของปลาวงศ์ปลาตะเพียนซึ่งเป็นโฮสต์ที่สำคัญสำหรับการแพร่กระจายของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากทางด้านสาธารณสุขเพื่อใช้สำหรับการวางแผน เฝ้าระวังป้องกัน และควบคุมการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชน เนื่องจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีความเกี่ยวข้องกับโรคตับ และท่อน้ำดี อีกทั้งก่อให้เกิดโรคตับโต (hepatomegaly) ท่อน้ำดีอักเสบ (cholangitis) ถุงน้ำดีอักเสบ (cholecystitis) นิ่วในถุงน้ำดี (gall Stone) และเป็นสาเหตุสำคัญของมะเร็งท่อน้ำดี (CCA)

การตรวจคัดกรองการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยใช้เทคนิค Kato thick smear และเทคนิค FECT เป็นเทคนิคที่ให้ความแม่นยำ สะดวกรวดเร็ว มีประสิทธิภาพ และปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในตัวอย่างอุจจาระภายใต้กล้องจุลทรรศน์ถือเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) (Boondit et al., 2020; Buathong et al., 2020) อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกันกับไข่ของพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก (MIFs) อาจส่งผลให้การวินิจฉัยไม่ถูกต้อง (Buathong et al., 2020) ดังนั้นจึงมีการใช้เทคนิคระดับโมเลกุลในการวินิจฉัย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะ (specificity) และความไวสูง (sensitivity) สามารถตรวจพบได้แม้ในตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อน้อยที่ซึ่งอาจให้ผลลบจากการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ อีกทั้งสามารถตรวจได้หลาย

ตัวอย่างในครั้งเดียว มีหลายการศึกษาใช้เทคนิค PCR เพื่อแยกความแตกต่างของไข่พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และ MIFs (Boondit et al., 2020; Buathong et al., 2020; Onsurathum et al., 2016) ในการศึกษานี้ใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ OV-6 ขนาด 330 bp (Sermswan et al., 1991; Wongratanacheewin et al., 2001) นำตัวอย่างที่ตรวจพบไข่ของพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*-like eggs) มาทำการยืนยันโดยใช้เทคนิค PCR ผลพบว่าให้ผลบวกร้อยละ 43.21 (35/81) และให้ผลลบร้อยละ 56.79 (46/81) อย่างไรก็ตามจากการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบระยะไข่ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จำนวนน้อยจึงอาจทำให้ได้ความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ไม่เพียงพอต่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR อีกทั้งเทคนิค PCR ใช้ตัวอย่างอุจจาระในปริมาณที่น้อยเพียง 0.2 กรัม ในขณะที่เทคนิค FECT ใช้ตัวอย่างอุจจาระ 3 กรัม อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการตรวจหาการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในปลาวงศ์ปลาตะเพียนโดยผลการศึกษาพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก 2 ชนิด คือ *H. taichui* และ *H. pumilio* จึงอาจเป็นไปได้ว่าตัวอย่างอุจจาระที่ให้ผลบวกจากการตรวจด้วยเทคนิค PCR อาจเป็นพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (*H. taichui* และ *H. pumilio*) ทั้งนี้ตัวอย่างที่ให้ผลลบทั้ง 46 ตัวอย่างไม่ได้ถูกจำแนกชนิดของปรสิตเพิ่มเติมโดยใช้ยีนเป้าหมายอื่นๆ จึงไม่สามารถยืนยันได้ว่าเป็นพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก หรือปรสิตชนิดอื่นหรือไม่ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ณ ปัจจุบันการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลกยังคงพบได้อยู่เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้าในพื้นที่ 9 จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง พบว่าอำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลกมีอัตราความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ร้อยละ 12 (Pumidonming et al., 2018) นอกจากนี้กระทรวงสาธารณสุขได้รายงานว่าจังหวัดพิษณุโลกมีอัตราการตายจากโรคมะเร็งตับและท่อน้ำดี (อัตราต่อแสนประชากร) เพิ่มสูงขึ้นในปี พ.ศ. 2560-2563 ดังนี้ 22.80, 23.59, 22.56 และ 26.99 ตามลำดับ และสำหรับอำเภอชาติตระการ อัตราการตายจากโรคมะเร็งตับและท่อน้ำดี (อัตราต่อแสนประชากร) ในปี พ.ศ. 2560-2563 ดังนี้ 19.44, 33.9, 38.71 และ 14.51 ตามลำดับ (กองยุทธศาสตร์และแผนงานกระทรวงสาธารณสุข, ม.ป.ป.) จากการศึกษาครั้งนี้มีเพียงจำนวน 2 หมู่บ้านที่มีอัตราการติดเชื้อต่ำกว่าร้อยละ 5 ซึ่งเป็นไปตามเป้าหมายของกรมควบคุมโรคที่ตั้งเป้าให้หมู่บ้านในพื้นที่มีการระบาดของโรคมีอัตราการติดเชื้อต่ำกว่าร้อยละ 5 (Sripa et al., 2011) แม้ว่าจากการศึกษาครั้งนี้จะพบการติดเชื้อที่ไม่รุนแรง แต่หากติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* เรื้อรังซ้ำบ่อย ๆ ครั้งในระยะยาวจะเพิ่มสารก่อมะเร็งซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดีและนำไปสู่การเสียชีวิต (Pumidonming et al., 2018) ดังนั้นการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการรับประทานปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่ไม่ปรุงสุกที่ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงหลักที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จึงเป็นสิ่งสำคัญในการป้องกัน

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* รวมถึงการขับถ่ายอุจจาระให้ถูกสุขลักษณะเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และเพื่อนำไปสู่การป้องกัน ควบคุมการติดเชื้อปรสิตในชุมชนอย่างมีประสิทธิภาพ

บรรณานุกรม

กองยุทธศาสตร์และแผนงานกระทรวงสาธารณสุข. (ม.ป.ป.). *โรงมะเร็งตับและท่อน้ำดี สถิติสุขภาพคนไทย.* https://www.hiso.or.th/thaihealthstat/area/index.php?ma=**3**&pf=01818101**&tp=**13_2

ณรงค์ ขันตีแก้ว, พวงรัตน์ ยงวณิชย์, ไพบูลย์ สิทธิถาวร, บัณฑิต ถิ่นคำรพ, วัชรินทร์ ลอยลม, & นิษณา นามวาท. (2559). เมื่อ CASCAP พิชิตยอดเขาลูกแรก. *วารสารโครงการ CASCAP โครงการแก้ไขปัญหาโรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดีในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ*, *2*(6), 1-16.

ธวัช ดอนสกุล, และอนันต์ พู่พิทยาสถาพร. (2545). *คาริโอไทป์ของปลาวงศ์ไซไพรนิดี 15 ชนิดที่พบในประเทศไทย* (รายงานผลการวิจัย). มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ประยงค์ ระดมยศ, ชูเกียรติ ศิริวิชยกุล, อัญชลี ตั้งตรงจิตร, พลรัตน์ วิไลรัตน์, ศรชัย หลูอารีย์สุวรรณ, ฐิติมา วงศาโรจน์, ประภาศรี จงสุขสันติกุล, เชาวลิตร จีระดิษฐ์, วราห์ มีสมบูรณ์, และดัชนี มานะตระกูล. (2541). ปรสิตหนอนพยาธิทางการแพทย์ ทฤษฎีและปฏิบัติ. *กองโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค* กระทรวงสาธารณสุข.

สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค. (2559). *คู่มือปฏิบัติงานโครงการควบคุมโรคหนอนพยาธิในโครงการตามพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. สำนักโรคติดต่อทั่วไป* กรมควบคุมโรค.

สิงหา วงศ์โรจน์. (2547). *การศึกษาอนุกรมวิธานของปลาน้ำจืดในพื้นที่กรุงเทพมหานครฝั่งตะวันออก* [มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ]. กรุงเทพฯ.

องค์การบริหารส่วนตำบลท่าสะแก. (ม.ป.ป.). *ประวัติ/สภาพทั่วไป.* https://www.thasakae.go.th/tambon/general

Anucherngchai, S., Tejangkura, T., & Chontananarth, T. (2017). Molecular confirmation of trematodes in the snail intermediate hosts from Ratchaburi Province, Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *7*, 286-292.

Bloom, B. S., Hastings, T., & Madaus, G. F. (1971). Handbook on formative and summative evaluation of student learning. In: McGraw-Hill.

Boondit, J., Suwannahitatorn, P., Siripattanapipong, S., Leelayoova, S., Mungthin, M., Tan-Ariya, P., Piyaraj, P., Naaglor, T., & Ruang-Areerate, T. (2020). An Epidemiological Survey of *Opisthorchis viverrini* Infection in a Lightly Infected

Community, Eastern Thailand. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(4), 838-843. https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0864

Boonjaraspinyo, S., Boonmars, T., Ekobol, N., Artchayasawat, A., Sriraj, P., Aukkanimart, R., Pumhirunroj, B., Sripan, P., Songsri, J., Juasook, A., & Wonkchalee, N. (2022). Prevalence and Associated Risk Factors of Intestinal Parasitic Infections: A Population-Based Study in Phra Lap Sub-District, Mueang Khon Kaen District, Khon Kaen Province, Northeastern Thailand. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8, 22. https://doi.org/10.3390/tropicalmed8010022

Brummaier, T., Archasuksan, L., Watthanakulpanich, D., Paris, D. H., Utzinger, J., McGready, R., Proux, S., & Nosten, F. (2021). Improved Detection of Intestinal Helminth Infections with a Formalin Ethyl-Acetate-Based Concentration Technique Compared to a Crude Formalin Concentration Technique. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 6(2). https://doi.org/10.3390/tropicalmed6020051

Buathong, S., Phaiphilai, K., Ruang-Areerate, T., Sitthichot, N., Thita, T., Mungthin, M., & Suwannahitatorn, P. (2020). Genetic Differentiation of Opisthorchis-Like Eggs in Northern Thailand Using Stool Specimens Under National Strategic Plan to Control Liver Fluke Infection and Cholangiocarcinoma. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(3), 1118-1124. https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0231

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. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105100

Chai, J. Y., Sohn, W. M., Na, B. K., Jeoung, H. G., Sinuon, M., & Socheat, D. (2016). *Stellantchasmus falcatus* (Digenea: Heterophyidae) in Cambodia: Discovery of Metacercariae in Mullets and Recovery of Adult Flukes in an Experimental Hamster. *The Korean Journal of Parasitology*, 54(4), 537-541. https://doi.org/10.3347/kjp.2016.54.4.537

Chaisiri, K., Jollivet, C., Della Rossa, P., Sanguankiat, S., Wattanakulpanich, D., Lajaunie, C., Binot, A., Tanita, M., Rattanapikul, S., Sutdan, D., Morand, S., & Ribas, A. (2018). Parasitic infections in relation to practices and knowledge in a rural

village in Northern Thailand with emphasis on fish-borne trematode infection. *Epidemiology and Infection*, 147, e45. https://doi.org/10.1017/s0950268818002996

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. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106216

Charoensuk, L., Subrungruang, I., Naaglor, T., & Suwannahitatorn, P. (2018). Comparison of Stool Examination Techniques for Detection of Parasitic Infections. *Vajira Medical Journal : Journal of Urban Medicine*, 62(Supplement), S1-10. https://he02.tci-thaijo.org/index.php/VMED/article/view/209247

Chavengkun, W., Kompor, P., Norkaew, J., Kujapun, J., Pothipim, M., Ponphimai, S., Kaewpitoon, S. J., Padchasuwan, N., & Kaewpitoon, N. (2016). Raw Fish Consuming Behavior Related to Liver Fluke Infection among Populations at Risk of Cholangiocarcinoma in Nakhon Ratchasima Province, Thailand. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(6), 2761-2765.

Chuangchaiya, S., Laoprom, N., & Idris, Z. M. (2019). Prevalence and associated risk factors of *Opisthorchis viverrini* infections in rural communities along the Nam Kam River of Northeastern Thailand. *Tropical Biomedicine*, 36(1), 81-93.

Chudthaisong, N., Promthet, S., & Bradshaw, P. (2015). Risk factors for *Opisthorchis viverrini* Infection in Nong Khai Province, Thailand. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(11), 4593-4596. https://doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.11.4593

Crellen, T., Sithithaworn, P., Pitaksakulrat, O., Khuntikeo, N., Medley, G. F., & Hollingsworth, T. D. (2021). Towards Evidence-based Control of *Opisthorchis viverrini*. *Trends in Parasitology*, 37(5), 370-380. https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.12.007

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. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.02.028

Dao, T. T., Abatih, E. N., Nguyen, T. T., Tran, H. T., Gabriël, S., Smit, S., Le, P. N., & Dorny, P. (2016). Prevalence of *Opisthorchis viverrini*-Like Fluke Infection in Ducks in Binh Dinh Province, Central Vietnam. *The Korean Journal of Parasitology*, 54(3), 357-361. https://doi.org/10.3347/kjp.2016.54.3.357

Dao, T. T., Bui, T. V., Abatih, E. N., Gabriël, S., Nguyen, T. T., Huynh, Q. H., Nguyen, C. V., & 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. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.01.029

Duenngai, K., Sithithaworn, P., Rudrappa, U. K., Iddya, K., Laha, T., Stensvold, C. R., Strandgaard, H., & 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. https://doi.org/10.1128/jcm.01323-07

Giasuddin, A. S. M. (1995). Polymerase Chain Reaction Technique: Fundamental Aspects and Applications in Clinical Diagnostics. *Journal of Islamic Academy of Sciences*, 8(1), 29-32. https://dx.doi.org/

Global Health, & Division of Parasitic Diseases and Malaria. (2018). *Opisthorchiasis*. Retrieved May 5, 2023 from https://www.cdc.gov/dpdx/opisthorchiasis/index.html

Goldberg, A. (2019). *A Brief History of PCR and Its Derivatives*. Retrieved May 5, 2023 from https://blog.labtag.com/a-brief-history-of-pcr-and-its-derivatives/

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. https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.06.015

Haruay, S., & Piratae, S. (2023). Considering the role of the assassin snail *Anentome helena* as a biological control of *Bithynia siamensis goniomphalos*, the first

intermediate host of *Opisthorchis viverrini*. *Bioscience Journal*, 39, e39003. https://doi.org/10.14393/BJ-v39n0a2023-62710

Intuyod, K., Pinlaor, S., & Yongvanit, P. (2013). Molecular Carcinogenesis of Cholangiocarcinoma I: Host-liver Fluke Interaction. *Srinagarind Medical Journal*, 27(0), 356-363. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/SRIMEDJ/article/view/11160

Jamornthanyawat, N. (2002). The diagnosis of human opisthorchiasis. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 33 *Suppl* 3, 86-91.

Johansen, M. V., Lier, T., & Sithithaworn, P. (2015). Towards improved diagnosis of neglected zoonotic trematodes using a One Health approach. *Acta Tropica*, 141(Pt B), 161-169. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.07.006

Jongsuksuntigul, P., & Imsomboon, T. (1998). Epidemiology of opisthorchiasis and national control program in Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 29(2), 327-332.

Jongsuksuntigul, P., & Imsomboon, T. (2003). Opisthorchiasis control in Thailand. *Acta Tropica*, 88(3), 229-232. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2003.01.002

JU'S Biology. (n.d.). *Diagram of Labeo rohita*. Retrieved May 5, 2023 from https://byjus.com/biology/labeo-rohita-diagram/

Jumlongpho, R., & Tabsripair, P. (2012). Comparative External Morphology and Pigmentation Patterns of Verge of The Familly Bithyniidae in Thailand. *KKU RESEARCH JOURNAL*, 464-473.

Jung, B. K., Hong, S., Chang, T., Cho, J., Ryoo, S., Lee, K. H., Lee, J., Sohn, W. M., Hong, S. J., Khieu, V., Huy, R., & Chai, J. Y. (2023). High endemicity of *Opisthorchis viverrini* infection among people in northern Cambodia confirmed by adult worm expulsion. *Scientific Reports*, 13(1), 9654. https://doi.org/10.1038/s41598-023-36544-z

Kaewkes, S. (2003). Taxonomy and biology of liver flukes. *Acta Tropica*, 88(3), 177-186. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2003.05.001

Kaewpitoon, S. J., Rujirakul, R., & Kaewpitoon, N. (2012). Prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in Nakhon Ratchasima province, Northeast Thailand. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(10), 5245-5249. https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.10.5245

Khampoosa, P., Jones, M. K., Lovas, E. M., Piratae, S., Kulsuntiwong, J., Prasopdee, S., Srisawangwong, T., Laha, T., Sripanidkulchai, B., Thitapakorn, V., & Tesana, S. (2018). Egg-Hatching Mechanism of Human Liver Fluke, *Opisthorchis viverrini*: A Role For Leucine Aminopeptidases From the Snail Host, *Bithynia siamensis goniomphalos*. *Journal of Parasitology*, 104(4), 388-397. https://doi.org/10.1645/16-125

Khieu, V., Fürst, T., Miyamoto, K., Yong, T. S., Chai, J. Y., Huy, R., Muth, S., & Odermatt, P. (2019). Is *Opisthorchis viverrini* Emerging in Cambodia? *Advances in Parasitology*, 103, 31-73. https://doi.org/10.1016/bs.apar.2019.02.002

Khuntikeo, N., Titapun, A., Loilome, W., Yongvanit, P., Thinkhamrop, B., Chamadol, N., Boonmars, T., Nethanomsak, T., Andrews, R. H., Petney, T. N., & Sithithaworn, P. (2018). Current Perspectives on Opisthorchiasis Control and Cholangiocarcinoma Detection in Southeast Asia. *Frontiers in Medicine*, 5, 117. https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00117

Kim, M. K., Pyo, K. H., Hwang, Y. S., Chun, H. S., Park, K. H., Ko, S. H., Chai, J. Y., & Shin, E. H. (2013). Effect of citric acid on the acidification of artificial pepsin solution for metacercariae isolation from fish. *Veterinary Parasitology*, 198(1-2), 111-115. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.004

Kimawaha, P., Jusakul, A., Sithithaworn, P., & Techasen, A. (2018). Determination of antibodies to crude *Opisthorchis viverrini* antigen in sera of cholangiocarcinoma patients. *Archives of Allied Health Sciences*, 30(3), 350-360. https://he01.tcithaijo.org/index.php/ams/article/view/163951

Komiya, Y., & Kobayashi, A. (1966). Evaluation of Kato's thick smear technic with a cellophane cover for helminth eggs in feces. *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, 19(1), 59-64. https://doi.org/10.7883/yoken1952.19.59

Laoprom, N., Prathummang, S., Chuangchaiya, S., Navanesan, S., Munajat, M. B., Suwannatrai, A. T., & Idris, Z. M. (2021). *Opisthorchis viverrini* metacercarial infection in cyprinid fish in Nakhon Phanom Province, Northeastern Thailand. *Tropical Biomedicine*, 38(2), 25-30. https://doi.org/10.47665/tb.38.2.033

Leiper, R. T. (1915). Notes of the occurrence of parasites presumably rare in man. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 24, 569-575.

Limpawittayakul, M., Boonchuaythanasit, K., Chaiyapan, N., Ponrachom, C., & Sukolpuk, M. (2016). The model of village health volunteer development for behavior modification for liver fluke prevention of local people in northeast region. *Disease Control Journal*, 42(1), 15-24.

Manpratum, Y., Kaewkes, W., Echaubard, P., Sripa, B., & Kaewkes, S. (2017). New locality record for *Haplorchoides mehrai* and possible interactions with *Opisthorchis viverrini* metacercariae in cyprinid fishes in Northeast Thailand. *Parasitology Research*, 116(2), 601-608. https://doi.org/10.1007/s00436-016-5324-7

Mekong River, C. (2006). *Identification of freshwater invertebrates of the Mekong River and its tributaries*. Mekong River Commission Vientiane.

Nakbun, S., Thongkrajai, P., & Nithikathkul, C. (2018). Risk factors for infection in Nakhon Phanom, Thailand, where the infection is highly endemic. *Asian Biomedicine*, 12(1), 45-51. https://doi.org/doi:10.1515/abm-2018-0030

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. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(1), 110-116. https://doi.org/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), 662-672.

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. https://doi.org/10.1007/s00436-020-07027-1

Ong, X., Wang, Y. C., Sithithaworn, P., Namsanor, J., Taylor, D., & Laithavewat, L. (2016). Uncovering the Pathogenic Landscape of Helminth (*Opisthorchis viverrini*) Infections: A Cross-Sectional Study on Contributions of Physical and Social Environment and Healthcare Interventions. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(12), e0005175. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005175

Onsurathum, S., Pinlaor, P., Charoensuk, L., Haonon, O., Chaidee, A., Intuyod, K., Laummaunwai, P., Boonmars, T., Kaewkes, W., & Pinlaor, S. (2016). Contamination of *Opisthorchis viverrini* and *Haplorchis taichui* metacercariae in fermented fish products in northeastern Thailand markets. *Food Control*, 59, 493-498. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.020

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. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.04.001

Pasuralertsakul, S., Ngrenngarmlert, W., Sripochang, S., Khantiyanan, N., & Akkara-ngamsiri, O. (2005). Methylene blue staining method for identification of *Opisthorchis viverrini* egg. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 36 *Suppl* 4, 107-109.

Patomnakul, S., & Boonmars, T. (2016). INSIDE KKU RESEARCH. *KKU Research*, 1, 21-26.

Pengput, A., & Schwartz, D. G. (2020). Risk Factors for *Opisthorchis Viverrini* Infection: A Systematic Review. *Journal of Infection and Public Health*, 13(9), 1265-1273. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.05.028

Perakanya, P., Ungcharoen, R., Worrabannakorn, S., Ongarj, P., Artchayasawat, A., Boonmars, T., & Boueroy, P. (2022). Prevalence and Risk Factors of *Opisthorchis viverrini* Infection in Sakon Nakhon Province, Thailand. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 7(10). https://doi.org/10.3390/tropicalmed7100313

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. https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.07.019

Phadungsil, W., Pumpa, S., Sirisabhabhorn, K., Geadkaew-Krenc, A., Grams, R., Mungthin, M., Ruang-Areerate, T., Adisakwattana, P., Labbunruang, N., & Martviset, P. (2021). Efficiency of the Stool-PCR Test Targeting NADH Dehydrogenase (Nad) Subunits for Detection of *Opisthorchis viverrini* Eggs. *Journal of Tropical Medicine*, 2021, 3957545. https://doi.org/10.1155/2021/3957545

Pinlaor, S., Onsurathum, S., Boonmars, T., Pinlaor, P., Hongsrichan, N., Chaidee, A., Haonon, O., Limviroj, W., Tesana, S., Kaewkes, S., & Sithithaworn, P. (2013). Distribution and abundance of *Opisthorchis viverrini* metacercariae in cyprinid fish in Northeastern Thailand. *The Korean Journal of Parasitology*, 51(6), 703-710. https://doi.org/10.3347/kjp.2013.51.6.703

Poirier, J. (1886). Trématodes nouveaux ou peu connus. *Bulletin de la Société Philomathique de Paris*, 10, 20-40.

Poopyruchpong, N., Viyanant, V., Upatham, E. S., & Srivatanakul, P. (1990). Diagnosis of opisthorchiasis by enzyme-linked immunosorbent assay using partially purified antigens. *Asian Pacific journal of allergy and immunology*, 8(1), 27-31.

Prakobwong, S., Suwannatrai, A., Sancomerang, A., Chaipibool, S., & Siriwechtumrong, N. (2017). A Large Scale Study of the Epidemiology and Risk Factors for the Carcinogenic Liver Fluke *Opisthorchis viverrini* in Udon Thani Province, Thailand. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 18(10), 2853-2860. https://doi.org/10.22034/apjcp.2017.18.10.2853

Prasongwatana, J., Laummaunwai, P., Boonmars, T., & Pinlaor, S. (2013). Viable metacercariae of O*pisthorchis viverrini* in northeastern Thai cyprinid fish dishes—as part of a rational program for control of *O. viverrini*-associated cholangiocarcinoma. *Parasitology Research*, 112(3), 1323-1327. https://doi.org/10.1007/s00436-012-3154-9

Prasopdee, S., Tesana, S., Cantacessi, C., Laha, T., Mulvenna, J., Grams, R., Loukas, A., & Sotillo, J. (2015). Proteomic profile of *Bithynia siamensis goniomphalos* snails upon infection with the carcinogenic liver fluke *Opisthorchis viverrini*. *Journal of Proteome Research*, 113, 281-291. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.09.018

Prommas, C. (1927). Report of a Case of *Opisthorchis Felineus* in Siam. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 21(1), 9-10. https://doi.org/10.1080/00034983.1927.11684513

Promthet, S., Saranrittichai, K., Kamsa-ard, S., Senarak, W., Vatanasapt, P., Wiangnon, S., Wongphuthorn, P., & Moore, M. A. (2011). Situation analysis of risk factors related to non-communicable diseases in Khon Kaen Province, Thailand. *The Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 12(5), 1337-1340.

Pumidonming, W., Grongang, D., Sangkaeo, K., Thammatrakun, N., & Kotanon, P. (2020). Promoting *O. viverini*-free Traditional Food Consumption to Reduce Infection and Prevent Reinfection of *O. viverrini* in Khok Prong Sub-district, Phetchabun Province. *Area Based Development Research Journal*, 12(1), 22-40. https://so01.tci-thaijo.org/index.php/abcjournal/article/view/209985

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. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.11.023

Pumpa, S., Phadungsil, W., Grams, R., Martviset, P., Ruang-Areerate, T., Mungthin, M., & Geadkaew-Krenc, A. (2021). Improvement of a PCR-based method for the detection of *Opisthorchis viverrini* eggs in human stool samples by targeting internal transcribed spacer-2 (ITS-2), cytochrome oxidase subunit 1 (cox1), and cytochrome b (cyb). *Journal of Parasitic Diseases*, 45(2), 474-478. https://doi.org/10.1007/s12639-020-01329-y

Rainboth, W. J. (1996). Fishes of the cambodian mekong. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.

Rim, H. J., Chai, J. Y., Min, D. Y., Cho, S. Y., Eom, K. S., Hong, S. J., Sohn, W. M., Yong, T. S., Deodato, G., Standgaard, H., Phommasack, B., Yun, C. H., & Hoang, E. H. (2003). Prevalence of intestinal parasite infections on a national scale among primary schoolchildren in Laos. *Parasitology Research*, 91(4), 267-272. https://doi.org/10.1007/s00436-003-0963-x

Rim, H. J., Sohn, W. M., Yong, T. S., Eom, K. S., Chai, J. Y., Min, D. Y., Lee, S. H., Hoang, E. H., Phommasack, B., & Insisengmay, S. (2008). Fishborne trematode metacercariae detected in freshwater fish from Vientiane Municipality and Savannakhet Province, Lao PDR. *The Korean Journal of Parasitology*, 46(4), 253-260. https://doi.org/10.3347/kjp.2008.46.4.253

Saengsawang, P., Promthet, S., & Bradshaw, P. (2012). Prevalence of OV infection in Yasothon Province, Northeast Thailand. *The Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(7), 3399-3402. https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.7.3399

Saenna, P., Hurst, C., Echaubard, P., Wilcox, B. A., & Sripa, B. (2017). Fish sharing as a risk factor for *Opisthorchis viverrini* infection: evidence from two villages in north-eastern Thailand. *Infectious Diseases of Poverty*, 6(1), 66. https://doi.org/10.1186/s40249-017-0281-7

Saijuntha, W., Andrews, R. H., Sithithaworn, P., & Petney, T. N. (2022). Current assessment of the systematics and population genetics of O*pisthorchis viverrini* sensu lato (Trematoda: Opisthorchiidae) and its first intermediate host *Bithynia siamensis* sensu lato (Gastropoda: Bithyniidae) in Thailand and Southeast Asia. *Infection, Genetics and Evolution*, 97, 105182. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105182

Saiyachak, K., Tongsotsang, S., Saenrueang, T., Moore, M. A., & Promthet, S. (2016). Prevalence and Factors Associated with *Opisthorchis viverrini* Infection in Khammouane Province, Lao PDR. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(3), 1589-1593. https://doi.org/10.7314/apjcp.2016.17.3.1589

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. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.09.015

Sermswan, R., Mongkolsuk, S., Panyim, S., & Sirisinha, S. (1991). Isolation and characterization of *Opisthorchis viverrini* specific DNA probe. *Molecular and Cellular Probes*, 5(6), 399-407. https://doi.org/10.1016/s0890-8508(05)80011-8

Sithithaworn, P., Andrews, R., Shekhovtsov, S., Mordvinov, V. A., & Furman, D. (2014). *Opisthorchis viverrini* and *Opisthorchis felineus*. In (pp. 170-178).

Sithithaworn, P., Andrews, R. H., Nguyen, V. D., Wongsaroj, T., Sinuon, M., Odermatt, P., Nawa, Y., Liang, S., Brindley, P. J., & Sripa, B. (2012). The current status of opisthorchiasis and clonorchiasis in the Mekong Basin. *Parasitology international*, 61(1), 10-16. https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.08.014

Sithithaworn, P., Andrews, R. H., Petney, T. N., Saijuntha, W., & Laoprom, N. (2012). The systematics and population genetics of *Opisthorchis viverrini* sensu lato: implications in parasite epidemiology and bile duct cancer. *Parasitology international*, 61(1), 32-37. https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.07.020

Sithithaworn, P., Yongvanit, P., Duenngai, K., Kiatsopit, N., & Pairojkul, C. (2014). Roles of liver fluke infection as risk factor for cholangiocarcinoma. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*, 21(5), 301-308.

Sohn, W. M., Choi, S. H., Jung, B. K., Hong, S., Ryoo, S., Chang, T., Lee, K. H., Na, B. K., Hong, S. J., Khieu, V., & Chai, J. Y. (2021). Prevalence and Intensity of *Opisthorchis viverrini* Metacercarial Infection in Fish from Phnom Penh, Takeo, and Kandal Provinces, Cambodia. *The Korean Journal of Parasitology*, 59(5), 531-536. https://doi.org/10.3347/kjp.2021.59.5.531

Songserm, N., Promthet, S., Wiangnon, S., & Sithithaworn, P. (2012). Prevalence and co-infection of intestinal parasites among thai rural residents at high-risk of developing cholangiocarcinoma: a cross-sectional study in a prospective cohort study. *The Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(12), 6175-6179. https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.12.6175

Sripa, B., Bethony, J. M., Sithithaworn, P., Kaewkes, S., Mairiang, E., Loukas, A., Mulvenna, J., Laha, T., Hotez, P. J., & Brindley, P. J. (2011). Opisthorchiasis and Opisthorchis-associated cholangiocarcinoma in Thailand and Laos. *Acta Tropica*, 120 *Suppl* 1(Suppl 1), S158-168. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.07.006

Sripa, B., Kaewkes, S., Intapan, P. M., Maleewong, W., & Brindley, P. J. (2010). Food-borne trematodiases in Southeast Asia epidemiology, pathology, clinical manifestation and control. *Advances in Parasitology*, 72, 305-350. https://doi.org/10.1016/s0065-308x(10)72011-x

Sripa, B., Kaewkes, S., Sithithaworn, P., Mairiang, E., Laha, T., Smout, M., Pairojkul, C., Bhudhisawasdi, V., Tesana, S., Thinkamrop, B., Bethony, J. M., Loukas, A., & Brindley, P. J. (2007). Liver Fluke Induces Cholangiocarcinoma. *PLOS Medicine*, 4(7), e201. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040201

Srisawangwong, T., Sithithaworn, P., & Tesana, S. (1997). Metacercariae isolated from cyprinoid fishes in Khon Kaen District by digestion technic. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 28 *Suppl* 1, 224-226.

Steele, J. A., Richter, C. H., Echaubard, P., Saenna, P., Stout, V., Sithithaworn, P., & Wilcox, B. A. (2018). Thinking beyond *Opisthorchis viverrini* for risk of cholangiocarcinoma in the lower Mekong region: a systematic review and meta-

analysis. *Infectious Diseases of Poverty*, 7(1), 44. https://doi.org/10.1186/s40249-018-0434-3

Sukontason, K., Piangjai, S., Sukontason, K., & Chaithong, U. (1999). Potassium permanganate staining for differentiation the surface morphology of *Opisthorchis viverrini*, *Haplorchis taichui* and *Phaneropsolus bonnei* eggs. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 30(2), 371-374.

Supiyaphun, C., & Sitthichareonchai, P. (2008). Anthelmintic drugs for the treatment of intestinal nematode infections. *Chulalongkorn Medical Journal*, 52(1), 63-76.

Suwannahitatorn, P., Webster, J., Riley, S., Mungthin, M., & Donnelly, C. A. (2019). Uncooked fish consumption among those at risk of *Opisthorchis viverrini* infection in central Thailand. *PLOS ONE*, 14(1), e0211540. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211540

Suwannatrai, A., Saichua, P., & Haswell, M. (2018). Epidemiology of *Opisthorchis viverrini* Infection. *Advances in Parasitology*, 101, 41-67. https://doi.org/10.1016/bs.apar.2018.05.002

Tesana, S., Kaewkes, S., Srisawangwonk, T., & Phinlaor, S. (1985). The distribution and density of *Opisthorchis viverrini* metacercariae in cyprinoid fish in Khon Kaen Province. *Journal of Parasitology and Tropical Medicine Association of Thailand*, 8, 36-39.

Tesana, S., Srisawangwonk, T., Kaewkes, S., Sithithaworn, P., Kanla, P., & Arunyanart, C. (1991). Egg shell morphology of the small eggs of human trematodes in Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 22(4), 631-636.

Thaewnongiew, K., Singthong, S., Kutchamart, S., Tangsawad, S., Promthet, S., Sailugkum, S., & Wongba, N. (2014). Prevalence and risk factors for *Opisthorchis viverrini* infections in upper Northeast Thailand. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(16), 6609-6612. https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.16.6609

Thammasiri, C., Tesana, D. S., Suwannatrai, A., Piratae, S., Khampoosa, P., Kulsantiwong, J., Prasopdee, S., Ruangjirachuporn, D. W., Wongpanich, V., & Tarbsripair, D. P. (2009). Molluscicidal Effects of Bayluscide (niclosamide) on *Bithynia siamensis goniomphalos*, First Intermediate Host of Liver Fluke, *Opisthorchis viverrini*.

Khon Kaen University Journal (Graduate Studies), 09, 107-117. https://doi.org/10.5481/KKUJGS.2009.09.2.12

Thanh, D. T. H., Dorny, P., Thanh, N. T. G., & Gabriël, S. (2017). *Epidemiology of Opisthorchis spp. In Central Vietnam.* Ghent University.

Thinkhamrop, K., Khuntikeo, N., Laohasiriwong, W., Chupanit, P., Kelly, M., & Suwannatrai, A. T. (2021). Association of comorbidity between *Opisthorchis viverrini* infection and diabetes mellitus in the development of cholangiocarcinoma among a high-risk population, northeastern Thailand. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 15(9), e0009741. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009741

Thinkhamrop, K., Khuntikeo, N., Sithithaworn, P., Thinkhamrop, W., Wangdi, K., Kelly, M. J., Suwannatrai, A. T., & Gray, D. J. (2019). Repeated praziquantel treatment and *Opisthorchis viverrini* infection: a population-based cross-sectional study in northeast Thailand. *Infectious Diseases of Poverty*, 8(1), 18. https://doi.org/10.1186/s40249-019-0529-5

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. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.03.002

Touch, S., Yoonnan, 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. *The Journal of Tropical Medicine and Parasitology*, 36, 1-7.

Umesha, K. R., Kumar, S., Parvathi, A., Duenngai, 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. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.09.004

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, 413-418. https://doi.org/10.1080/00034983.1961.11686068

Vemaps. (2024). *Maps of Thailand*. Retrieved May 5, 2023 from https://vemaps.com/thailand

Waikagul, J., & Thaenkham, U. (2014). Chapter 2 - Collection of Fish-Borne Trematodes from the Final Host. *Academic Press*, 17-37.

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), 152-154. https://doi.org/10.3201/eid2001.130168

Wattanawong, O., Iamsirithaworn, S., Kophachon, T., Nak-Ai, W., Wisetmora, A., Wongsaroj, T., Dekumyoy, P., Nithikathkul, C., Suwannatrai, A. T., & Sripa, B. (2021). Current status of helminthiases in Thailand: A cross-sectional, nationwide survey, 2019. *Acta Tropica*, 223, 106082. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106082

Wichaiyo, W., Parnsila, W., Chaveepojnkamjorn, W., & Sripa, B. (2019). Predictive risk factors towards liver fluke infection among the people in Kamalasai District, Kalasin Province, Thailand. *SAGE Open Medicine*, 7. https://doi.org/10.1177/2050312119840201

Wikipedia contributors. (2024). *Opisthorchis viverrini. In Wikipedia, The Free Encyclopedia*. Retrieved February 3, 2024 from https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Opisthorchis_viverrini&oldid=1194193734

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(Pt 2), 175-180. https://doi.org/10.1017/s0031182001007235

Wongratanacheewin, S., Sermswan, R. W., & Sirisinha, S. (2003). Immunology and molecular biology of *Opisthorchis viverrini* infection. *Acta Tropica*, 88(3), 195-207. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2003.02.002

Wongsaroj, T., Sakolvaree, Y., Chaicumpa, W., Maleewong, W., Kitikoon, V., Tapchaisri, P., Chongsanguan, M., & Cross, J. (2002). Affinity purified oval antigen for diagnosis of *Opisthorchiasis Viverrini*. *Asian Pacific journal of allergy and immunology / launched by the Allergy and Immunology Society of Thailand*, 19, 245-258.

Wongsawad, C., Phalee, A., Noikong, W., Chuboon, S., & Nithikathkul, C. (2012). Co-infection with *Opisthorchis viverrini* and *Haplorchis taichui* detected by human fecal examination in Chomtong district, Chiang Mai Province, Thailand. *Parasitology international*, 61(1), 56-59. https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.10.003

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. https://doi.org/10.2307/3276083

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก แบบสัมภาษณ์อาสาสมัคร

รหัส.....

แบบสัมภาษณ์อาสาสมัคร

โครงการ: การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในชุมชนเสี่ยง ตำบลท่าสะแก อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก

<u>ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป</u>

ชื่อ-นามสกุล.....อายุ.....

เพศ ☐ 1.ชาย ☐ 2. หญิง

ที่อยู่บ้านเลขที่.....หมู่ที่.....บ้าน.....ตำบล.....

อำเภอ.....จังหวัด.....รหัสไปรษณีย์.....เบอร์โทร.....

จำนวนสมาชิกในครอบครัว.....คน

พื้นเพดั้งเดิมจังหวัด.....

ระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ตำบลท่าสะแก.....

อาชีพ

☐ 1. เกษตรกร ☐ 2. ค้าขาย ☐ 3. รับจ้าง ☐ 4. รับราชการ-รัฐวิสาหกิจ

☐ 5. นักเรียน-นักศึกษา ☐ 6. ว่างงาน

การศึกษา

☐ 1. ประถมศึกษา ☐ 2. มัธยมศึกษา

☐ 3. ปวช-ปวส-อนุปริญญาตรี ☐ 4. ปริญญาตรี หรือสูงกว่าปริญญาตรี

<u>ส่วนที่ 2 ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ</u>

☐ ไม่กินปลาร้าดิบ ☐ กินปลาร้าดิบ หรือปลาร้าไม่ต้ม จำนวน..... ครั้งต่อสัปดาห์

☐ ไม่กินปลาส้มดิบ ☐ กินปลาส้มดิบ จำนวน..... ครั้งต่อสัปดาห์

☐ ไม่กินก้อยปลาดิบ ☐ กินก้อยปลาหรือลาบปลาดิบ จำนวน..... ครั้งต่อสัปดาห์

☐ ไม่กินปลาจ่อมดิบ ☐ กินปลาจ่อมดิบ จำนวน..... ครั้งต่อสัปดาห์

พฤติกรรมการขับถ่ายอุจจาระ

☐ ขับถ่ายอุจจาระลงส้วมทุกครั้ง ☐ ขับถ่ายอุจจาระตามท้องไร่ ท้องนา สวน บางครั้ง

ประวัติการตรวจอุจจาระหาพยาธิ

☐ เคยได้รับการตรวจอุจจาระหาพยาธิ ☐ ไม่เคยได้รับการตรวจอุจจาระหาพยาธิ

ผลการตรวจหาพยาธิในอุจจาระ

☐ ครั้งที่ 1 ☐ ไม่มีพยาธิ ☐ มีพยาธิ ชนิด.....

☐ ครั้งที่ 2 ☐ ไม่มีพยาธิ ☐ มีพยาธิ ชนิด.....

ประวัติการกินยาถ่ายพยาธิ

☐ เคยกินยาถ่ายพยาธิ ☐ ไม่เคยกินยาถ่ายพยาธิ

☐ ครั้งที่ 1 กินเมื่อเดือน.....ปี.....ชื่อยา.....

☐ ครั้งที่ 2 กินเมื่อเดือน.....ปี.....ชื่อยา.....

☐ ครั้งที่ 3 กินเมื่อเดือน.....ปี.....ชื่อยา.....

ส่วนที่ 3 ความรู้เกี่ยวกับพยาธิใบไม้ตับ ให้ตอบใช่ หรือ ไม่ใช่

คำถาม	ใช่	ไม่ใช่
พยาธิใบไม้ตับอาศัยอยู่ในท่อทางเดินน้ำดีในตับของคน		
พยาธิใบไม้ตับเป็นสาเหตุของโรคมะเร็งตับและท่อน้ำดี		
อาการของโรคพยาธิใบไม้ตับเรื้อรังคือ ท้องอืด ตัวเหลือง ตาเหลือง		
พยาธิใบไม้ตับมีระยะติดต่ออยู่ในปลาพวกปลาตะเพียน เช่นปลาตะเพียน ปลาขาว สร้อย ปลาแก้มช้ำ		
การกินปลาดิบ ลาบปลา ก้อยปลา ทำให้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ		
การกินอาหารปรุงสุกเช่น ต้ม ปิ้ง ย่าง เป็นการป้องกันการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ		
พยาธิใบไม้ตับสามารถทำให้ตายโดยการแช่แข็ง (0 องศา)หรือต้มให้สุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส		
การนำปลาไปแช่แข็งก่อนนำไปปรุงอาหารสามารถกำจัดพยาธิใบไม้ตับได้		
ไข่ของพยาธิใบไม้ตับออกมากับอุจจาระของคนและสามารถแพร่ลงสู่แหล่งน้ำได้		
การถ่ายอุจจาระลงส้วมเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดของของโรคพยาธิ		
สุนัขและแมวติดพยาธิได้ถ้ากินปลาที่ปรุงไม่สุก		
สุนัขและแมวสามารถแพร่ไข่พยาธิใบไม้ตับสู่สิ่งแวดล้อมได้จากการขับถ่ายทั่วไป		

ภาคผนวก ข สารที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลายน้ำเกลือ 0.85%

น้ำกลั่น (distilled water) 1000 มิลลิลิตร

NaCl 8.5 กรัม

ชั่ง NaCl ปริมาตร 8.5 กรัม เทลงในน้ำกลั่นที่มีปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จากนั้นคนให้ NaCl ละลาย

2. ฟอร์มาลีนความเข้มข้น 10%

น้ำกลั่น (distilled water) 750 มิลลิลิตร

ฟอร์มาลีนเข้มข้น (stock solution 40%) 250 มิลลิลิตร

นำฟอร์มาลีนเข้มข้น 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 750 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้ฟอร์มาลีนความเข้มข้น 10% ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

3. glycerine malachite green

น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
กลีเซอรีน	100	มิลลิลิตร
3% มาลาไคท์กรีน	1	มิลลิลิตร

ผสมส่วนประกอบต่าง ๆ ให้เข้ากัน และบรรจุในขวดที่ทนกรด-ด่าง และสารเคมี

4. สารละลาย 0.7% pepsin

ผง pepsin	7	กรัม
กรด HCl	10	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	990	มิลลิลิตร

เติมกรด HCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงในน้ำกลั่นที่มีปริมาตร 990 มิลลิลิตร จากนั้นเทผง pepsin ปริมาตร 7 กรัม และคนสารให้เข้ากัน

5. 0.8 % agarose gel

agarose powder	0.8	กรัม
1x TBE buffer	100	ลลิลิตร

เทผง agarose ปริมาตร 0.8 กรัมลง ใน 1X TBE Buffer ให้มีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำไปละลายโดยใช้ไมโครเวฟประมาณ 3 นาที หรือจนกว่า agarose จะละลาย หรือใสไม่มีสี

6. 1.2 % agarose gel

ผง agarose (BIO BASIC)	1.2	กรัม
1x TBE buffer	100	มิลลิลิตร

เท agarose ปริมาตร 1.2 กรัมลงใน 1X TBE Buffer ให้มีปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร นำไปละลายโดยใช้ไมโครเวฟประมาณ 3 นาที หรือจนกว่า agarose จะละลาย หรือใสไม่มีสี

ภาคผนวก ค การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่นในพื้นที่ตำบลท่าสะแก

ตาราง 16 แสดงผลการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่นในพื้นที่ตำบลท่าสะแก

ชนิดปรสิต	จำนวนที่ติดเชื้อ (ร้อยละ)
Opisthorchis viverrini	87 ราย (ร้อยละ 8.56)
Taenia spp.	2 ราย (ร้อยละ 0.20)
Strongyloides stercoralis	22 ราย (ร้อยละ 2.17)
hookworm	13 ราย (ร้อยละ 1.28)
Minute intestinal fluke	2 ราย (ร้อยละ 0.20)
Opisthorchis viverrini และ *Taenia* spp.	2 ราย (ร้อยละ 0.20)
Opisthorchis viverrini และ hookworm	7 ราย (ร้อยละ 0.69)
Opisthorchis viverrini และ *Strongyloides stercoralis*	1 ราย (ร้อยละ0.10)
Opisthorchis viverrini และ *Entamoeba coli*	1 ราย (ร้อยละ0.10)
Minute intestinal fluke และ hookworm	1 ราย (ร้อยละ0.10)
Strongyloides stercoralis และ *Taenia* spp.	1 ราย (ร้อยละ 0.10)
รวม	139 (ร้อยละ 13.68)

ตาราง 17 แสดงผลการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และปรสิตชนิดอื่น ๆ โดยใช้เทคนิค Formalin ethyl acetate concentration (FECT) และเทคนิค Kato thick smear

ชนิดปรสิต	Kato thick smear		FECT	
	จำนวน (คน)	ร้อยละ	จำนวน (คน)	ร้อยละ
O. viverrini	61	6.00	60	5.91
Taenia spp.	3	0.30	2	0.20
Strongyloides stercoralis	2	0.20	23	2.26
hookworm	5	0.49	13	1.28
Entamoeba coli	0	0.00	1	0.10
Minute intestinal fluke	0	0.00	2	0.20
O. viverrini และ *Taenia* spp.	0	0.00	2	0.20
O. viverrini และ hookworm	0	0.00	7	0.49
Minute intestinal fluke และ hookworm	0	0.00	1	0.10
รวม	**71**	**6.99**	**111**	**10.93**

ภาคผนวก ง ขั้นตอนการจำแนกชนิดปลา และการตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียจากปลาวงศ์ปลาตะเพียนโดยใช้วิธี artificial digestion method

1. **จำแนกชนิดปลา วัดขนาด และชั่งน้ำหนัก**

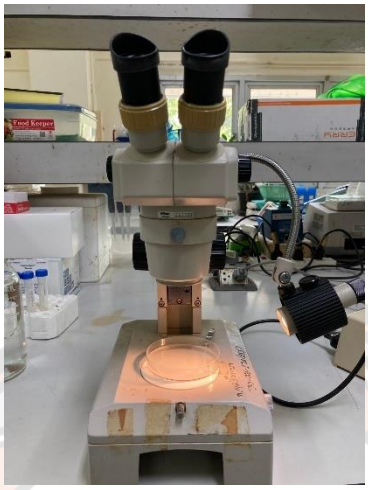
2. **สับปลาเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ผสมกับสารละลาย pepsin 0.7% และปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า**

3. ย่อยเนื้อปลาโดยใช้เครื่อง water bath อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง

4. กรองส่วนผสมที่ย่อยได้ด้วยตะแกรงกรองขนาด 600, 420, 250 และ106 ไมโครเมตร ตามลำดับ เพื่อกรองเศษเนื้อปลาที่มีขนาดใหญ่ออก

5. ตกตะกอนในน้ำเกลือ 0.85% ใน sediment jar ตั้งทิ้งไว้จนตกตะกอน

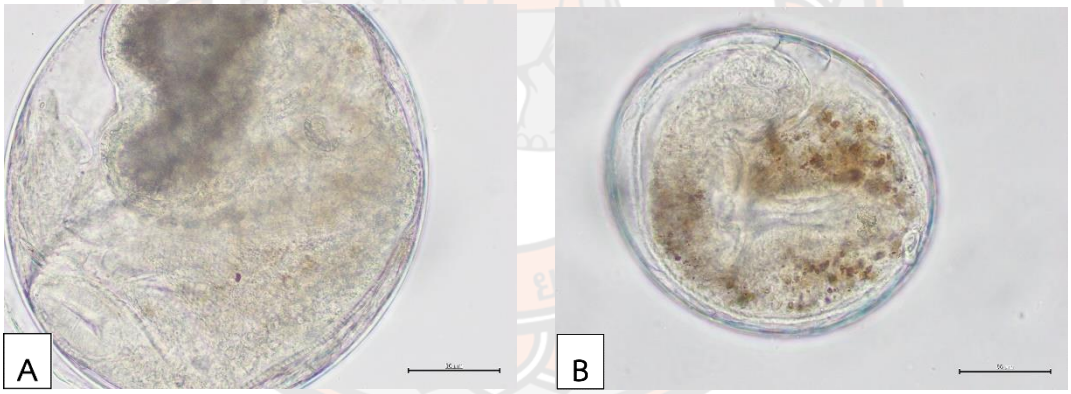
6. ใช้ pasteur pipette ดูดตะกอนที่ได้ใส่ลงเพลตเพื่อนำไปตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียภายใต้กล้องสเตอริโอ



ภาคผนวก จ ผลการตรวจหาตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาวงศ์ปลาตะเพียนในพื้นที่ตำบลท่าสะแก

ตาราง 18 แสดงปลาวงศ์ปลาตะเพียนที่พบการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็กในพื้นที่หมู่ 4 ท่าสะแก

ชนิดปลา	น้ำหนัก (กรัม)	ชนิดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรีย
Henicorhynchus siamensis	397.99	*Haplorchis taichui*
Cyclocheilichthys repasson	264.69	*Haplorchis taichui*
Puntioplites proctozystron	475.45	*Haplorchis taichui*
Puntius orphoides	83.55	*Haplorchis taichui*
Cyclocheilichthys apogon	51.27	*Haplorchis taichui* และ *Haplorchis pumilio*



ภาพ 29 ลักษณะตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย A) *H. taichui* และ B) *H. pumilio* (scale bars = 50 µm)