



วารสารการแพทย์และสาธารณสุขเขต 4

Office of Disease Prevention and Control, Region 4 Saraburi

<https://he01.tci-thaijo.org/index.php/JMPH4/index>

การติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนตามพื้นที่ ลุ่มน้ำมูลตอนกลางและลุ่มน้ำชีตอนบนด้วยวิธีการทางจุลพยาธิวิทยาและอนุชีววิทยา

Infection of encysted trematode metacercariae in Cyprinoid fish from the middle Mun-upper Chi River basin of Thailand, with micromorphological and molecular approach using

วิวัฒน์ สังฆะบุตร^{1*}, ทวีชัย วิษณุโยธิน¹, ณัฏกพัชร รัตนพิบูลย์^{2,3}, ชัชวาล น้อยวังมั่ง¹, กัลยาณี จันธิมา¹,
เฉลิมพร เทพหัสดิน ณ อยุธยา¹, เกียรติสุดา สายพรหม¹

Wiwat Sungkhabut^{1*}, Taweechai Wisanuyothin¹, Nathkapach Rattanapitoon^{2,3}, Chatchawal Noiwangkan¹,
Kulyanee Junthima¹, Chalernporn Devahastin Na Ayudhya¹, Kaitsuda Saiprom¹

¹สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 9 นครราชสีมา, ²ศูนย์วิจัยโรคปรสิต สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี,
³ศูนย์การแพทย์เฟอเอ็มซี นครราชสีมา

¹Office of Disease Prevention and Control, Region 9 Nakhon Ratchasima, ²Parasitic Diseases Research Center, Institute of
Medicine, Suranaree University of Technology, ³FMC Medical Center Co. Ltd, Nakhon Ratchasima

*Corresponding author: wiwats@kkumail.com

Received: October 31, 2023 Revised: January 5, 2023 Accepted: January 22, 2024

บทคัดย่อ

ปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนมีส่วนสำคัญในการแพร่กระจาย และเพิ่มจำนวนตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในระบบนิเวศ และเป็นตัวกลางสำคัญที่ส่งผ่านโรคพยาธิใบไม้ในคน แต่ยังคงขาดการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของโฮสต์ตัวกลางที่สองตามลุ่มน้ำในพื้นที่เสี่ยงของจังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ และชัยภูมิ ดังนั้นข้อมูลการติดเชื้อในสัตว์รังโรคจึงมีความสำคัญ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียน และสร้างแนวทางการเฝ้าระวังแบบเฉพาะพื้นที่ด้วยวิธีการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาและอนุชีววิทยา พื้นที่ทำการศึกษาคือ 11 ตำบล ตามพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนกลางและลุ่มน้ำชีตอนบน ปลาสดจำนวน 813 ตัวอย่าง เป็นวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด 4 ชนิดพันธุ์ ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี pepsin HCL digestion และยืนยันด้วยวิธี PCR ช่วงฤดูหนาวพบ *Haplorchoides* sp. metacercariae 5 ตำบลในจังหวัดบุรีรัมย์ และ *Opisthorchis viverrini* (Ov) metacercariae 2 ตำบลในจังหวัดชัยภูมิ ช่วงฤดูฝนพบ Unknown metacercariae 4 ตำบลในจังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ สุรินทร์ และ Ov metacercariae 1 ตำบลในจังหวัดนครราชสีมา การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของ *Haplorchoides* sp. metacercariae และสร้างภาพวิธานประกอบคำบรรยายเป็นแหล่งอ้างอิง การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนเป็นโฮสต์ตัวกลางพยาธิใบไม้ได้หลายชนิด และปลาในพื้นที่ลุ่มน้ำชีตอนบนยังคงพบการปนเปื้อนของ Ov metacercariae และการมีส่วนร่วมของหน่วยงานในพื้นที่สามารถเฝ้าระวังการระบาดของโฮสต์ตัวกลางพยาธิใบไม้ที่ส่งผ่านโรคสู่คนในเขตสุขภาพที่ 9

คำสำคัญ: พยาธิใบไม้, เมตาเซอร์คาเรีย, ปลาวงศ์ปลาตะเพียน, การเฝ้าระวังเฉพาะพื้นที่

Abstract

The Cyprinoid fish play a crucial role in the distribution and proliferation of trematode metacercariae in the ecosystem. They also serve as significant intermediate hosts transmitting liver fluke diseases to humans. However, there is a lack of epidemiological surveillance data on the second intermediate host in the river basins of the at-risk areas of Nakhon Ratchasima, Buriram, Surin and Chaiyaphum provinces. Therefore, information on infection in disease reservoir hosts is essential. This study focuses on the infection of trematode metacercariae and aims to develop sentinel surveillance methods using micromorphological and molecular techniques. The study area encompasses 11 sub-districts in the middle Mun-upper Chi River basin of Thailand. A total of 813 fresh fish samples, representing four species of Cyprinoid fish, were collected. The samples underwent pepsin HCL digestion and were subsequently confirmed via PCR, revealing the presence of *Haplorchoides* sp. metacercariae in 5 sub-districts in Buriram province during the winter season, *Opisthorchis viverrini* (*Ov*) metacercariae in 2 sub-districts in Chaiyaphum province during the rainy season, and unknown metacercariae in 4 sub-districts in Nakhon Ratchasima, Chaiyaphum, and Surin provinces during the rainy season. *Ov* metacercariae were also found in 1 sub-district in Nakhon Ratchasima province during the rainy season. Micromorphological examination of *Haplorchoides* sp. metacercariae was performed, and illustrations were created as supporting references. This study emphasizes that Cyprinoid fish act as second intermediate hosts for many species of trematodes, and in the upper Chi River basin, there continues to be contamination with *Ov* metacercariae. The collaboration of local networks is crucial for monitoring the epidemic spread of intermediate hosts transmitting diseases to humans in the areas of regional health 9.

Keywords: trematode, metacercariae, cyprinoid fish, sentinel surveillance

บทนำ

ปลาน้ำจืดหลายชนิดที่อาศัยอยู่ตามแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นโฮสต์ตัวกลางที่สอง (secondary Intermediate host) ในวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ โดยมีตัวอ่อนระยะติดต่อ (infective stage) หรือเมตาเซอร์คาเรียเป็นตัวส่งผ่านจากปลาสู่คน รวมถึงสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง⁽¹⁾ ที่ติดเชื้อด้วยเช่นกัน ในประเทศไทยพบปลาน้ำจืดมากกว่า 570 ชนิดพันธุ์ และมีอย่างน้อย 64 ชนิดพันธุ์ ที่มีรายงานการพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ โดยเฉพาะในวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinoid) ซึ่งเป็นวงศ์ที่ใหญ่ที่สุดของปลาน้ำจืด⁽²⁻³⁾ มีการตรวจพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียทั้งกลุ่มของพยาธิใบไม้ลำไส้ (intestinal flukes) ได้แก่ *Haplorchis taichui*, *Haplorchoides* sp. และพยาธิใบไม้ตับ (liver flukes) *Opisthorchis viverrini* ที่องค์กรการวิจัยมะเร็งเรื้อรังนานาชาติจัดให้เป็นสารก่อมะเร็งชีวภาพกลุ่มที่ 1 จากทั้งหมด 4 กลุ่ม ซึ่งพยาธิใบไม้ตับจัดเป็นสารก่อมะเร็งที่มีผลกระทบในมนุษย์มาก⁽⁴⁾ ทั้งนี้การติดเชื้อตัวอ่อนเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียน สามารถ

ตรวจพบได้ในอวัยวะหลาย ๆ ส่วนของตัวปลา รายงานวิจัยส่วนใหญ่พบซีสต์เมตาเซอร์คาเรียในกล้ามเนื้อของปลาเมื่อเทียบกับอวัยวะส่วนอื่นๆ และมีรายงานว่าตรวจพบในน้ำล้างขอดเกล็ดปลาด้วยเช่นกัน⁽⁵⁻⁶⁾ โดยปัจจัยที่มีผลต่อความชุกและความหนาแน่นของการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลา ได้แก่ ความแตกต่างกันของสภาพแวดล้อมทางกายภาพและทางเคมีในแหล่งน้ำ ช่วงฤดูกาล และชนิดพันธุ์ของปลา จำนวนของตัวพยาธิ และโฮสต์กึ่งกลาง เป็นต้น และปลาบางชนิดพันธุ์พบมากในบางฤดูกาลเท่านั้น ไม่สามารถพบได้ตลอดทั้งปี⁽⁷⁻⁸⁾

พยาธิใบไม้เป็นปรสิตก่อโรคในคน และเป็นปัญหาทางการสาธารณสุข โดยเฉพาะพยาธิใบไม้ตับที่พบอัตราความชุกการติดเชื้อสูงในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือของประเทศไทย สาเหตุจากพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ทำจากปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนแบบปรุงดิบ หรือดิบ ๆ สุก ๆ สถานการณ์โรคพยาธิใบไม้ตับในประชาชนของพื้นที่เขตสุขภาพที่ 9 ซึ่งประกอบด้วย

จังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และสุรินทร์ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2559 - 2562 จากการตรวจคัดกรองโรคตามแนวทางของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข มีอัตราความชุกของพยาธิใบไม้ตับสูงกว่าร้อยละ 20 จำนวน 11 ตำบล ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และลดลงแตกต่างกันไปในแต่ละปี โดยในปี พ.ศ. 2559 พบอัตราความชุกสูงถึง 4 ตำบล สูงสุดร้อยละ 41.21, ร้อยละ 29.12, ร้อยละ 26.92 ในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ และพบร้อยละ 21.05 ในจังหวัดสุรินทร์ ตามลำดับ ในปี พ.ศ. 2560 พบอัตราความชุกลดลงเหลือเพียง 2 ตำบล คิดเป็นร้อยละ 27.91 ในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ และร้อยละ 22.47 ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา แต่ในปี พ.ศ. 2561 กลับพบอัตราความชุกเพิ่มขึ้นเป็น 4 ตำบล และพบในพื้นที่ใหม่ สูงสุดร้อยละ 35.68, ร้อยละ 24.12 ในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิ, ร้อยละ 25.24 ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา และร้อยละ 24.32 ในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ ส่วนในปี พ.ศ. 2562 พบอัตราความชุกเพียง 1 ตำบล คิดเป็นร้อยละ 27.47 ในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิ จากสถานการณ์บ่งชี้ว่าประชาชนในพื้นที่ยังคงมีวิถีชีวิตความเป็นอยู่ และพฤติกรรมกรบริโภคปลาหรืออาหารที่ทำจากปลาน้ำจืดเกิดขบวนการแปรรูปที่ไม่สุก อย่างไรก็ตามโฮสต์ตัวกลางที่สองของพยาธิใบไม้ตับมีจำนวนตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย 1-2 ซีสต์ ต่อปลา 1 ตัว แต่ก็เพียงพอที่จะทำให้เกิการติดเชื้อซ้ำหลายครั้งในช่วงเวลานานหลายปีตลอดช่วงชีวิตได้ ดังนั้นปลาน้ำจืดเกิดขบวนการแปรรูปจึงมีส่วนสำคัญในการแพร่กระจายและเพิ่มจำนวนตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในระบบนิเวศตามพื้นที่ลุ่มน้ำ จึงเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมให้ประชาชนในชุมชนมีโอกาสติดโรคพยาธิใบไม้ โดยพบมีรายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับโฮสต์ตัวกลางที่สองของกลุ่มพยาธิใบไม้ในบางพื้นที่ลุ่มน้ำของประเทศไทยเป็นบางช่วงเวลาเท่านั้น อีกทั้งขาดการเก็บรวบรวมข้อมูลในรูปแบบการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของแต่ละพื้นที่ เพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ข้อมูลการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย ร่วมกับข้อมูลมิติอื่น ๆ ตามแผนยุทธศาสตร์กำจัดพยาธิใบไม้ตับ และมะเร็งท่อน้ำดีของประเทศไทย

คณะผู้วิจัยจึงนำหลักการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาแบบเฉพาะกลุ่มหรือเฉพาะพื้นที่ (sentinel surveillance)

ร่วมกับการตรวจวิเคราะห์ทางจุลพยาธิวิทยาและอนุชีววิทยา มาใช้เพื่อค้นหาเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้จากตัวอย่างปลาน้ำจืดเกิดขบวนการแปรรูปในพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนกลาง และลุ่มน้ำชีตอนบน ครอบคลุมจังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ และชัยภูมิ ดังนั้นจึงทำการศึกษาการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกิดขบวนการแปรรูปที่เป็นโฮสต์ตัวกลางสำคัญต่อการส่งผ่านโรคพยาธิใบไม้สู่คน เพื่อนำไปใช้ประเมินสถานการณ์การแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ และวางแผนการป้องกันควบคุมโรคพยาธิใบไม้ที่เป็นปัญหาสำคัญของเขตสุขภาพที่ 9 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ท้นต่อสถานการณ์ที่เปลี่ยนแปลงไปได้ ทั้งนี้ด้วยข้อจำกัดจากการแพร่ระบาดของโรคโควิด-19 ในช่วงปี พ.ศ. 2563 - 2564 จึงได้ดำเนินการศึกษาในช่วงปลายปี พ.ศ. 2564 - 2565

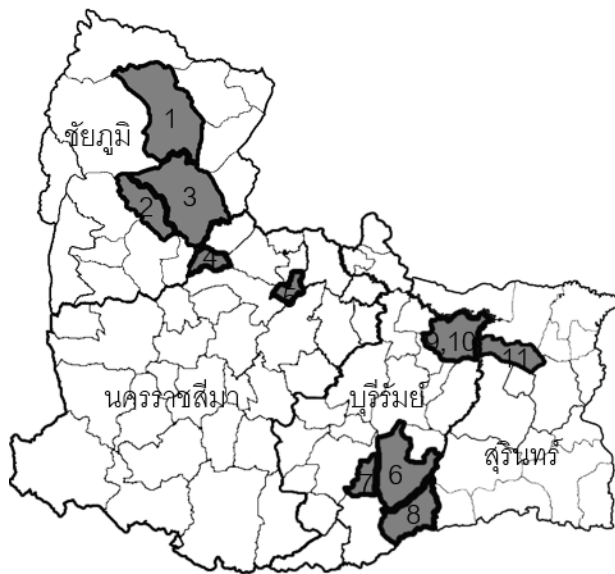
วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกิดขบวนการแปรรูปตามพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนกลาง และลุ่มน้ำชีตอนบนด้วยวิธีการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา และอนุชีววิทยา

วัสดุและวิธีการศึกษา

รูปแบบการศึกษา เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา โดยใช้วิธีการสำรวจแบบภาคตัดขวาง (Descriptive cross-sectional survey study) กำหนดพื้นที่การศึกษาจากอัตราความชุกของโรคพยาธิใบไม้ตับในคน ร้อยละ 20 ขึ้นไปของปี พ.ศ. 2559 - 2562 โดยสำรวจการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกิดขบวนการแปรรูปตามพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนกลาง และลุ่มน้ำชีตอนบนในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ และสุรินทร์ จากพื้นที่ทำการศึกษารวม 11 ตำบล ดังภาพที่ 1

ประชากรที่ทำการศึกษาคือปลาน้ำจืดเกิดขบวนการแปรรูป และคำนวณขนาดตัวอย่างสำหรับการสุ่มแบบง่าย เพื่อประมาณค่าสัดส่วนของปลาน้ำจืดแบบกรณีไม่ทราบจำนวนประชากร ได้เท่ากับ 349.44 ดังนั้น จึงเก็บตัวอย่างปลาในพื้นที่การศึกษาไม่น้อยกว่า 350 ตัวอย่าง ดำเนินการเก็บตัวอย่างปลาในเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม พ.ศ. 2564 และพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2565



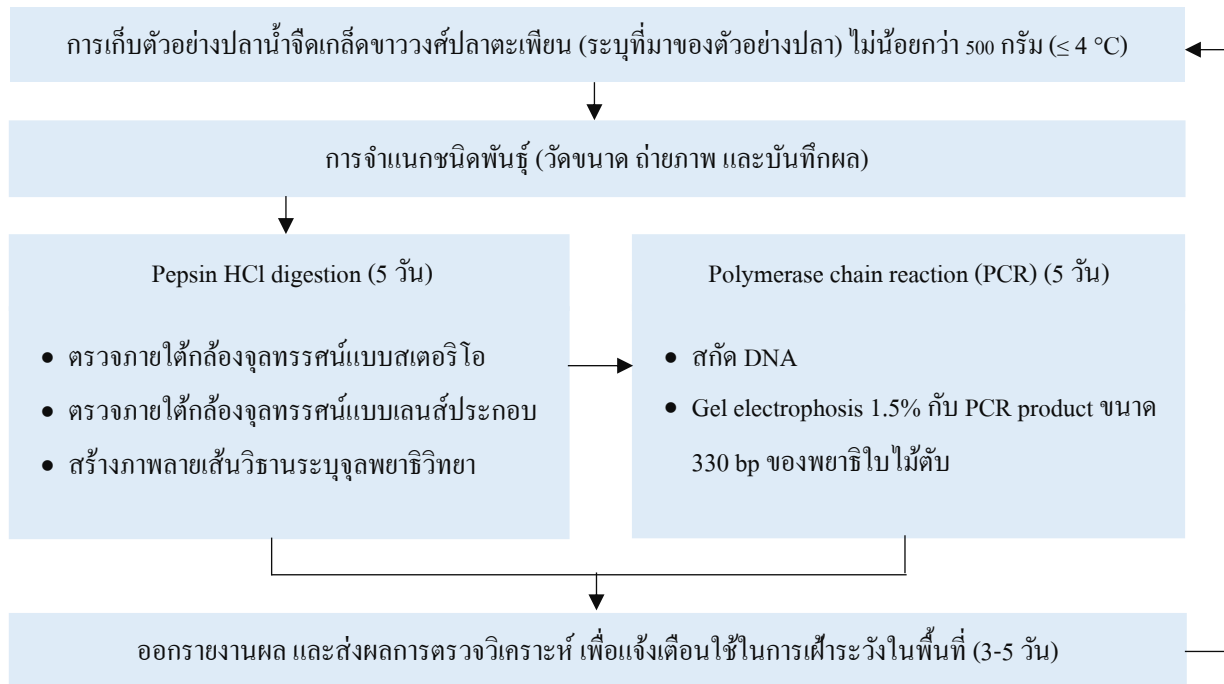
1. ตำบลบ้านเป้า อำเภอเกษตรสมบูรณ์ จังหวัดชัยภูมิ
2. ตำบลลุ่มลำชี อำเภอบ้านเขว้า จังหวัดชัยภูมิ
3. ตำบลนุ่งคล้า อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ
4. ตำบลบ้านเหลื่อม อำเภอบ้านเหลื่อม จังหวัดนครราชสีมา
5. ตำบลคอนขาวใหญ่ อำเภอโนนแดง จังหวัดนครราชสีมา
6. ตำบลไพศาล อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์
7. ตำบลถาวร อำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดบุรีรัมย์
8. ตำบลบึงเจริญ อำเภอบ้านกรวด จังหวัดบุรีรัมย์
9. ตำบลท่าม่วง อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์
10. ตำบลสะแก อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์
11. ตำบลลุ่มระวี อำเภอจอมพระ จังหวัดสุรินทร์

ภาพที่ 1 พื้นที่ทำการศึกษาคัดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอรคาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืด วงศ์ปลาตะเพียนตามพื้นที่กลุ่มน้ำมูลตอนกลาง และกลุ่มน้ำชีตอนบน

ซึ่งอยู่ในฤดูกาลที่แตกต่างกัน การศึกษาตรวจสอบชนิดพันธุ์ของปลาด้วยการจำแนกตามระบบอนุกรมวิธานตาม Nelson และคณะ⁽⁹⁾ วัดขนาด ถ่ายภาพ และบันทึกผลในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง และนำปลาที่จำแนกชนิดแล้วว่าเป็นปลาน้ำจืดเกล็ดขาวในวงศ์ปลาตะเพียนใส่ถุงพลาสติก ซึ่งแยกจุดเก็บตัวอย่างปลาแต่ละ 500 กรัม ทั้งนี้จำนวนตัวอย่างปลาในแต่ละแห่งมีความแตกต่างกันขึ้นกับขนาดปลาที่เก็บตัวอย่างได้ในแต่ละช่วงเวลา นำมาวิเคราะห์การติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอรคาเรียพยาธิใบไม้ด้วยวิธี pepsin HCl digestion และตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอและกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ และสร้างภาพถ่ายเส้นวิธานระบุจุลพยาธิวิทยาประกอบคำบรรยายเน้นส่วนสำคัญหรือลักษณะเฉพาะของเมตาเซอรคาเรีย (taxonomic descriptions) ตามวิธีของ Shameem และ Madhavi⁽¹⁰⁾ และ Scholz และคณะ⁽¹¹⁾ เปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาต่าง ๆ และนำตัวอย่างที่ตรวจพบเมตาเซอรคาเรียมาตรวจวิเคราะห์ยืนยันด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา polymerase chain reaction (PCR) techniques เพื่อระบุชนิดพยาธิใบไม้ด้วยวิธี PCR product ขนาด 330 bp forward primer CTG AAT CTC TCG TTT GTT CA reverse primer GTT CCA GGT GAG TCT CTC TA และ condition PCR ที่ใช้ Heated lid 112 °C, Pre-denaturation 95 °C 3 นาที, Denaturation 95 °C 30 วินาที,

Annealing 50 °C 30 วินาที, Extension 72 °C 30 วินาที, Final extension 72 °C 5 นาที, Store 10 °C และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา

การเฝ้าระวังแบบเฉพาะพื้นที่ (Sentinel surveillance) ด้วยการวิเคราะห์การติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอรคาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนตามพื้นที่กลุ่มน้ำมูลตอนกลางและกลุ่มน้ำชีตอนบน จากการมีส่วนร่วมระดับอำเภอ/ตำบล 1) โรงพยาบาลชุมชน 1 แห่ง สำนักงานสาธารณสุขอำเภอ 1 แห่ง และโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล 9 แห่ง ในการสุ่มเก็บตัวอย่างปลาและบันทึกข้อมูล 2) สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 9 จังหวัดนครราชสีมา และศูนย์วิจัยโรคปรสิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในการตรวจหาการปนเปื้อนของตัวอ่อนระยะเมตาเซอรคาเรียพยาธิใบไม้ด้วยวิธีการทางจุลพยาธิวิทยาและอณูชีววิทยา มีระยะเวลา 10 - 15 วันทำการ และรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ เพื่อแจ้งเตือนหน่วยงานในพื้นที่ทำการศึกษากว่า 11 ตำบล และเป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันและควบคุมโรคพยาธิใบไม้ในปลา ซึ่งเป็นโรคติดต่อที่ต้องเฝ้าระวัง ตามพระราชบัญญัติโรคติดต่อ พ.ศ. 2558 เพื่อดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แผนผังการเฝ้าระวังแบบเฉพาะพื้นที่ (sentinel surveillance) ด้วยการวิเคราะห์การติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ตับในปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนของเขตสุขภาพที่ 9

ผลการศึกษา

การติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียน

ตัวอย่างปลาสดจากการสำรวจพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนกลาง และลุ่มน้ำชีตอนบนในจังหวัดนครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ และชัยภูมิ จำนวน 11 ตำบล ได้ปลาตัวอย่างจำนวน 813 ตัวอย่าง จำแนกเป็นวงศ์ปลาตะเพียนทั้งหมด (Cyprinidae) พบจำนวน 4 ชนิดพันธุ์ คือ ปลากระสูบจุด (*Hampala dispar*) ปลาสลือขาว (*Henicorhynchus siamensis*) ปลาตะเพียนขาว (*Barbonymus gonionotus*) และปลาสลือนกเขา (*Osteochilus hasselti*) จากการตรวจด้วยวิธีทางจุลพยาธิวิทยา และอนุชีววิทยา ตัวอย่างปลาในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคม พ.ศ. 2564 จำนวน 372 ตัว พบการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียใน 7 ตำบล คิดเป็นร้อยละ 63.64 ระบุชนิดเป็น *Opisthorchis viverrini metacercariae* พบในตำบลบ้านเป้า อำเภอเกษตรสมบูรณ์ และตำบลทุ่งคล้า อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ และเป็น *Haplorchoides* sp. metacercariae พบในตำบลไพศาล อำเภอประโคนชัย, ตำบลถาวร อำเภอเฉลิมพระเกียรติ, ตำบลบึงเจริญ อำเภอบ้านกรวด, ตำบลสะแก ตำบลท่าม่วง อำเภอสตึก จังหวัดบุรีรัมย์ และ

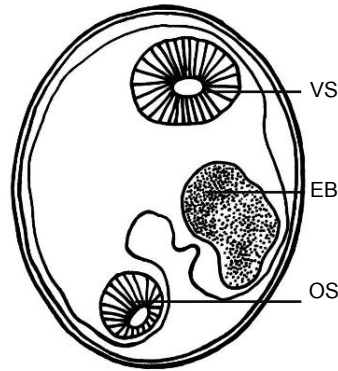
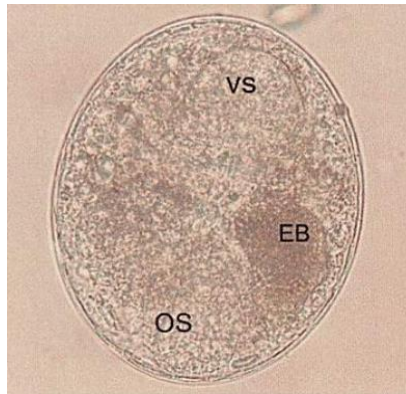
ตัวอย่างปลาเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน พ.ศ.2565 จำนวน 441 ตัว พบการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียใน 5 ตำบล คิดเป็นร้อยละ 45.45 ระบุชนิดเป็น *Opisthorchis viverrini metacercariae* พบในตำบลบ้านเหลื่อม อำเภอบ้านเหลื่อม จังหวัดนครราชสีมา และพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ (Unknown metacercariae) พบในตำบลบ้านเป้า อำเภอเกษตรสมบูรณ์, ตำบลลุ่มลำชี อำเภอบ้านเขว้า จังหวัดชัยภูมิ ตำบลดอนยาวใหญ่ อำเภอโนนแดง จังหวัดนครราชสีมา และตำบลลุ่มระวี อำเภोजอมพระ จังหวัดสุรินทร์ ดังตารางที่ 1

จุลพยาธิวิทยาของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ชนิด *Haplorchoides* sp.

การศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ชนิด *Haplorchoides* sp. โดยพบการกระจายในพื้นที่ทำการศึกษา 5 ตำบลของจังหวัดบุรีรัมย์ จากการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค pepsin HCl digestion และตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ *Haplorchoides* sp. metacercariae มีรูปร่างและโครงสร้างเฉพาะแสดงให้เห็น

ถุงชีสต์ที่มีลักษณะรูปร่างเกือบกลม มี cystic wall 2 ชั้น มองเห็นตัวอ่อนภายในชีสต์มีลักษณะ lance-shaped มีเกล็ดคล้ายหนาม อวัยวะยึดเกาะรอบปากส่วนบน (OS = oral sucker) อวัยวะยึดเกาะส่วนท้อง (VS = ventral sucker) และ

ถุงขับถ่ายของเสียสีน้ำตาลเข้มเป็นเม็ดขนาดเล็กบรรจุอยู่ (EB = excretory bladder) และสร้างภาพลายเส้นวิธานระบุจุลพยาธิวิทยาประกอบคำบรรยายลักษณะจำเพาะ เพื่อเป็นแหล่งอ้างอิง ดังภาพที่ 3

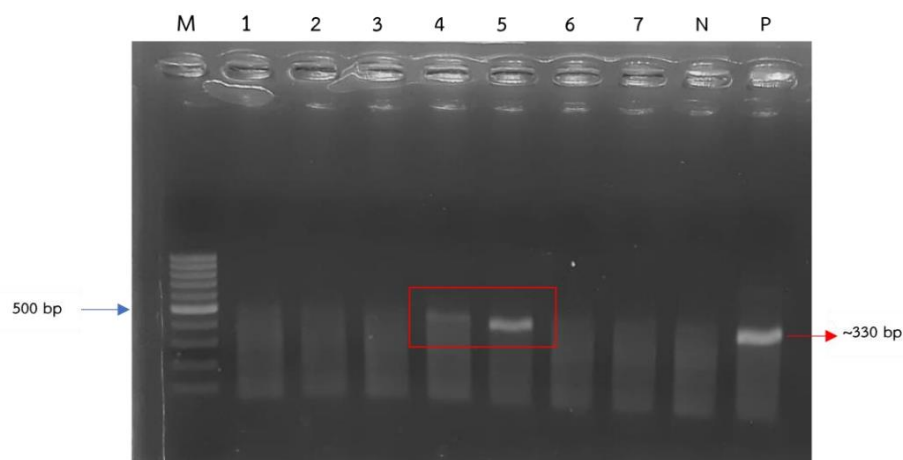


ภาพที่ 3 รูปร่างและโครงสร้างของ *Haplorchoides* sp. metacercariae กำลังขยาย 400 เท่า และภาพลายเส้น จุลพยาธิวิทยาประกอบคำบรรยายลักษณะจำเพาะ (OS = oral sucker, VS = ventral sucker, EB = excretory bladder) จากตัวอย่างปลาในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์

การยืนยันทางอนุชีววิทยาของตัวอ่อนระยะเมตาเซอรัลเรียพยาธิใบไม้ชนิด *Opisthorchis viverrini*

การตรวจวิเคราะห์เพื่อยืนยันทางอนุชีววิทยาเพื่อระบุชนิดพยาธิใบไม้ตับจากตัวอย่างปลาในพื้นที่ทำการศึกษา นำไปสกัดดีเอ็นเอ และยืนยันด้วย polymerase chain reaction (PCR) techniques กับ PCR product ขนาด 330 bp ของพยาธิใบไม้ตับ ตรวจสอบด้วย Gel electrophoresis 1.5% พบการ

แสดงแถบดีเอ็นเอให้ผลเป็นบวก (positive) หมายเลข 4 ที่มีลักษณะจาง จากตัวอย่างทดสอบของตำบลบ้านเป้า อำเภอกะหรังสมุทร จังหวัดชัยภูมิ และแถบหมายเลข 5 ตัวอย่างทดสอบของตำบลนุ่งคล้า อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ ซึ่งบ่งชี้ว่าเป็นตัวอ่อนระยะเมตาเซอรัลเรียพยาธิใบไม้ชนิด *Opisthorchis viverrini* ส่วนแถบหมายเลข 1, 2, 3, 6 และ 7 จากตัวอย่างทดสอบให้ผลเป็นลบ (negative) ยืนยันว่าไม่เป็นตัวอ่อนระยะเมตาเซอรัลเรียพยาธิใบไม้ตับ ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Gel electrophoresis ให้ผลบวกกับ PCR product ขนาด 330 bp ของพยาธิใบไม้ตับในแถบหมายเลข 4 และหมายเลข 5 (N = negative control, P = positive control, M = marker)

ตารางที่ 1 การติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษา (n=813)

จุดเก็บตัวอย่างปลา	พฤศจิกายน - ธันวาคม พ.ศ. 2564			พฤษภาคม - มิถุนายน พ.ศ. 2565			
	จากแหล่งน้ำในพื้นที่ศึกษา	จำนวนปลาที่ตรวจ (ตัว)	ชนิดพันธุ์ปลา	ผลการตรวจวิเคราะห์	จำนวนปลาที่ตรวจ (ตัว)	ชนิดพันธุ์ปลา	ผลการตรวจวิเคราะห์
1	ต.บ้านเป้า อ.เกษตรสมบูรณ์ จ.ชัยภูมิ	23	ปลาสร้อยขาว	<i>Opisthorchis viverrini</i> metacercariae	42	ปลาสร้อยขาว	Unknown metacercariae
2	ต.ลุ่มลำชี อ.บ้านเขว้า จ.ชัยภูมิ	9	ปลาตะเพียนขาว	ไม่พบ metacercariae	21	ปลาตะเพียนขาว	Unknown metacercariae
3	ต.บึงคล้า อ.เมือง จ.ชัยภูมิ	17	ปลาสร้อยขาว	<i>Opisthorchis viverrini</i> metacercariae	23	ปลาสร้อยขาว	ไม่พบ metacercariae
4	ต.บ้านเหลื่อม อ.บ้านเหลื่อม จ.นครราชสีมา	10	ปลาตะเพียนขาว	ไม่พบ metacercariae	45	ปลาตะเพียนขาว	<i>Opisthorchis viverrini</i> metacercariae
5	ต.คอนขาวใหญ่ อ.โนนแดง จ.นครราชสีมา	108	ปลาสร้อยขาว	ไม่พบ metacercariae	82	ปลาตะเพียนขาว	Unknown metacercariae
6	ต.ไพศาล อ.ประโคนชัย จ.บุรีรัมย์	79	ปลากระสูบจุด	<i>Haplorchoides</i> sp. metacercariae	61	ปลาตะเพียนขาว	ไม่พบ metacercariae
7	ต.ถาวร อ.เฉลิมพระเกียรติ จ.บุรีรัมย์	38	ปลาตะเพียนขาว	<i>Haplorchoides</i> sp. metacercariae	35	ปลาตะเพียนขาว	ไม่พบ metacercariae
8	ต.บึงเจริญ อ.บ้านกรวด จ.บุรีรัมย์	38	ปลาตะเพียนขาว	<i>Haplorchoides</i> sp. metacercariae	30	ปลาสร้อยนกเขา	ไม่พบ metacercariae

ตารางที่ 1 การติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนที่พบในพื้นที่ศึกษา (n=813) (ต่อ)

จุดเก็บตัวอย่างปลาจากแหล่งน้ำในพื้นที่ศึกษา	พฤศจิกายน - ธันวาคม พ.ศ. 2564			พฤษภาคม - มิถุนายน พ.ศ. 2565		
	จำนวนปลาที่ตรวจ (ตัว)	ชนิดพันธุ์ปลา	ผลการตรวจวิเคราะห์	จำนวนปลาที่ตรวจ (ตัว)	ชนิดพันธุ์ปลา	ผลการตรวจวิเคราะห์
9 ต.สะแก อ.สตึก จ.บุรีรัมย์	20	ปลาตะเพียนขาว	<i>Haplorchoides</i> sp. metacercariae	47	ปลาตะเพียนขาว	ไม่พบ metacercariae
10 ต.ท่าม่วง อ.สตึก จ.บุรีรัมย์	10	ปลาตะเพียนขาว	<i>Haplorchoides</i> sp. metacercariae	25	ปลาตะเพียนขาว	ไม่พบ metacercariae
11 ต.ลุ่มระวี อ.จอมพระ จ.สุรินทร์	20	ปลาตะเพียนขาว ปลาสร้อยนกเขา	ไม่พบ metacercariae	30	ปลาสร้อยนกเขา	Unknown metacercariae
11 แห่ง	372	4	Positive=7 (63.64%), Negative=4 (36.36%)	441	3	Positive=5 (45.45%), Negative=6 (54.55%)

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียน เพื่อเป็นแนวทางการเฝ้าระวังแบบเฉพาะพื้นที่ (sentinel surveillance) ของเขตสุขภาพที่ 9 ซึ่งเห็นว่าปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนที่อาศัยอยู่ตามพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนกลางและลุ่มน้ำชีตอนบนของทั้ง 4 จังหวัด ยังคงเป็นโฮสต์ตัวกลางของพยาธิใบไม้ได้อย่างน้อย 2 ชนิด คือ *Haplorchoides* sp. metacercariae และ *Opisthorchis viverrini* metacercariae รวมทั้งพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ (Unknown metacercariae) สอดคล้องกับรายงานวิจัยของวัชรยากรวิโรจน์กุล^(๑) ระบุว่าในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เป็นพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้หลายชนิด จากการสำรวจแบ่งเป็นช่วงฤดูหนาว และ

ฤดูฝนพบการติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ในปลาสร้อยขาว ปลาตะเพียนขาว ปลากระสูบจุด ปลาสร้อยนกเขา จะมีการระบาดที่แตกต่างกันทั้งในเชิงพื้นที่และช่วงเวลา บริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนกลาง และลุ่มน้ำชีตอนบนในช่วงฤดูหนาวจะมีการระบาดสูงกว่าในช่วงฤดูฝน โดยเฉพาะการพบตัวอ่อนระยะติดตัวของพยาธิใบไม้ชนิด *Haplorchoides* sp. ระบาดเฉพาะในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ในช่วงฤดูหนาว และบางพื้นที่ในช่วงฤดูหนาวที่ตรวจไม่พบการติดเชื้อในปลาตัวอย่าง กลับพบว่าการติดเชื้อในช่วงฤดูฝน แต่พบ *Opisthorchis viverrini* metacercariae ในพื้นที่ลุ่มน้ำชีตอนบนทั้งฤดูหนาวและฤดูฝน การตรวจพบดังกล่าวอาจเกิดปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อความชุกของการติดเชื้อตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาได้ในแต่ละช่วงเวลา ดังเช่นการศึกษาของ

พิสัย สุทธาวาวิฑูรย์⁽⁷⁾ และวัชรวิภา ภริวิโรจน์กุล⁽⁸⁾ กล่าวว่า ลักษณะทางเคมีของน้ำ ถูกลด ชนิดพันธุ์ปลา เป็นปัจจัยที่ทำให้พบการติดเชื้อในบางฤดูกาลเท่านั้น ซึ่งการศึกษามีข้อจำกัดในการศึกษาทางกายภาพ และเคมีของแหล่งน้ำที่ปลาอาศัย และการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบรูปร่างและโครงสร้างของ *Haplorchoides* sp. Metacercariae มีถุงชีสต์ที่เกือบกลม และมองเห็น ventral sucker (VS) ชัดเจน ต่างจากการศึกษาของ Shameem U and Madhavi R⁽¹⁰⁾ และการศึกษาของ Phyo Myint EE และคณะ⁽¹²⁾ ที่มีถุงชีสต์กลม และอวัยวะยึดเกาะมองเห็นไม่ชัดเจน อาจเกิดจากการอับของตัวอ่อนและชนิดพันธุ์ของปลาที่เข้าไปอาศัย จากการศึกษากลับนี้ช่วยให้ได้ข้อมูลสำคัญที่ยืนยันว่าบริเวณพื้นที่ที่ลุ่มน้ำชื่อนบนของจังหวัดชัยภูมิ และบางส่วนของไหลผ่านจังหวัดนครราชสีมา พบปลาที่ติดเชื้อของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับอัตราความชุกของโรคพยาธิใบไม้ตับที่พบสูงในคนเช่นเดียวกัน ดังนั้นการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาแบบเฉพาะพื้นที่เพื่อติดตามการแพร่กระจายของปรสิตที่อาศัยอยู่ในโฮสต์ตัวกลางที่สองของพยาธิใบไม้ที่สำคัญหลายชนิดตามพื้นที่ลุ่มน้ำหลักไปสู่ยังพื้นที่ลำน้ำสาขาต่างๆ เป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนดทิศทางของแผนงานป้องกันควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับที่แม่นยำ ข้อเสนอแนะให้มีการศึกษาจากตัวอย่างปลาในพื้นที่อื่น ๆ ของเขตสุขภาพที่ 9 และดำเนินการครอบคลุมตลอดทั้งปี เพื่อตรวจหา metacercariae เป็นการเฝ้าระวังโรคพยาธิใบไม้ตับในภาพกว้างของพื้นที่ต่อไป

สรุปผลการศึกษา

ปลาน้ำจืดเกล็ดขาววงศ์ปลาตะเพียนที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางจุลพยาธิวิทยา และอนุชีววิทยา พบการติดเชื้อสูงสุดเป็นชนิด *Haplorchoides* sp. metacercariae กระจายในพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนกลางพบเฉพาะจังหวัดบุรีรัมย์ และสร้างภาพวิธานประกอบคำบรรยายเป็นแหล่งอ้างอิง การติดเชื้อ *Opisthorchis viverrini* metacercariae พบในปลาบริเวณพื้นที่ลุ่มน้ำชื่อนบน ซึ่งมีการระบาดในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิและนครราชสีมา ส่วนปลาที่ติดเชื้อของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้

(Unknown metacercariae) พบกระจายอยู่ได้ทั้งพื้นที่ลุ่มน้ำมูลตอนกลางและลุ่มน้ำชื่อนบน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานสาธารณสุขอำเภอโรงพยาบาลชุมชน โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล อาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้านร่วมดำเนินการศึกษาในพื้นที่ 11 ตำบล และศูนย์วิจัยโรคปรสิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 9 จังหวัดนครราชสีมา ให้การสนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Morakote N, Sukontason K. editors. Medical parasitology: II. helminths. 3rd ed. Chiang Mai: Chiang Mai University; 2011. (in Thai)
2. Ampan P. Prevalence of *opisthorchis viverrini* infection in intermediate hosts in Hua Na dam area, Sisaket province: 2014. Disease Control Journal 2015; 4(3): 227-40. (in Thai)
3. Suntaravitun P, Dokmaikaw A. Prevalence of trematode metacercariae in Cyprinoid fish from Rim Kok subdistrict, Mueang Chiang Rai district, Chiang Rai province. Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine 2014; 9(2): 113-20. (in Thai)
4. IARC. Biological agents. Vo. 100 B. a review of human carcinogens. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012; 100: 1-441.
5. Boonpan T, Kantongdang T. The detection of *Opisthorchis viverrini* metacercaria in Cyprinoid fish by polymerase chain reaction (PCR) [Research project B.Sc.Medical Technology]. Khon Kaen: Khon Kaen University; 2015. (in Thai)
6. Kamchoo K, Chai JY. Trematode metacercariae and adults in cyprinoid fish from Khun Thale Swamp in Surat Thani province, Thailand. Parasites Hosts Dis. 2023; 61(2): 163-71. doi:10.3347/PHD.23030

7. Suntaravitun P. Trematode metacercariae in freshwater fishes of Thailand. Burapha Science Journal 2014; 19(2): 237-49. (in Thai)
8. Purivirojkul W. A survey of fish species infected with trematode metacercariae from some areas in northeast Thailand. Journal of Fisheries Technology Research 2011; 5(2): 75-86. (in Thai)
9. Nelson J, Grande T, Wilson M. Fishes of the world, fifth edition. John Wiley & Sons, New York, USA, 601 pp. Available from: <https://doi.org/10.1002/9781119174844>
10. Shameem U, Madhavi R. The morphology, life-history and systematic position of *Haplorchoides mehrai* Pande & Shukla, 1976 (Trematoda: Heterophyidae). Systematic Parasitology 2004; 11:73-83. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF00006979>
11. Scholz T, Ditrich O, Giboda M. Differential diagnosis of opisthorchid and heterophyid metacercariae (Trematoda) infection of flesh cyprinoid fish from Nam Ngum Dam Lake in Laos. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1991; 22:171-3.
12. Phyto Myint EE, Sereemasun A, Rocklöv J, Nithikathkul C. Discovery of carcinogenic liver fluke metacercariae in second intermediate hosts and surveillance on fish-borne trematode metacercariae infections in Mekong Region of Myanmar. Int J Environ Res Public Health. 2020; 17(11): 4108. doi: 10.3390/ijerph17114108. PMID: 32526911; PMCID: PMC7312695.