

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ระบาดวิทยาและชีวประวัติของพยาธิใบไม้ในลำไส้

Haplorchis taichui Witenberg, 1930 ในจังหวัดเชียงใหม่

ผู้เขียน

นางสาวกานดา คำชู

ปริญญา

วิทยาศาสตร์สุขภาพบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. ชโลบล

วงศ์สวัสดิ์

ประธานกรรมการ

Prof. Dr. Jong -Yil Chai

กรรมการ

รศ. ดร. ปราโมทย์

วัฒนัยธนาคม

กรรมการ

อ. ดร. อำนาจ

โรจนไพบูลย์

กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้ได้สำรวจพยาธิใบไม้ *Haplorchis taichui* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย (metacercariae) ในปลาเกล็ดขาวบางชนิดจากอำเภอจอมทองและอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2544 ถึงเดือนตุลาคม 2545 จากการตรวจสอบปลา 15 ชนิด จำนวน 617 ตัว พบพยาธิ *H. taichui* ระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลาทั้ง 15 ชนิด อัตราการติดเชื้อในปลาจากอำเภอจอมทองมีค่าความชุก (prevalence) เป็น 91.70% และในอำเภอแม่แตงมีค่าเป็น 83.80% ความหนาแน่น (intensity) ของการติดเชื้อในปลาจากอำเภอจอมทองมีค่าเป็น 242.93 เมตาเซอร์คาเรียต่อปลา 1 ตัว และในอำเภอแม่แตงมีค่า 107.44 เมตาเซอร์คาเรียต่อปลา 1 ตัว ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการติดเชื้อในส่วนต่างๆ ของลำตัวปลาจากทั้งสองอำเภอพบว่ากล้ามเนื้อมีพยาธิมากกว่าส่วนอื่นๆ รองลงมาเป็นส่วนหัว ครีบ เกล็ดและเหงือก นอกจากนี้ยังพบมีการติดเชื้อของพยาธิใบไม้ชนิดอื่นปนอยู่ด้วยได้แก่ *Centrocestus caninus*, *Haplorchoides* sp., และ *Haplorchis pumilio*

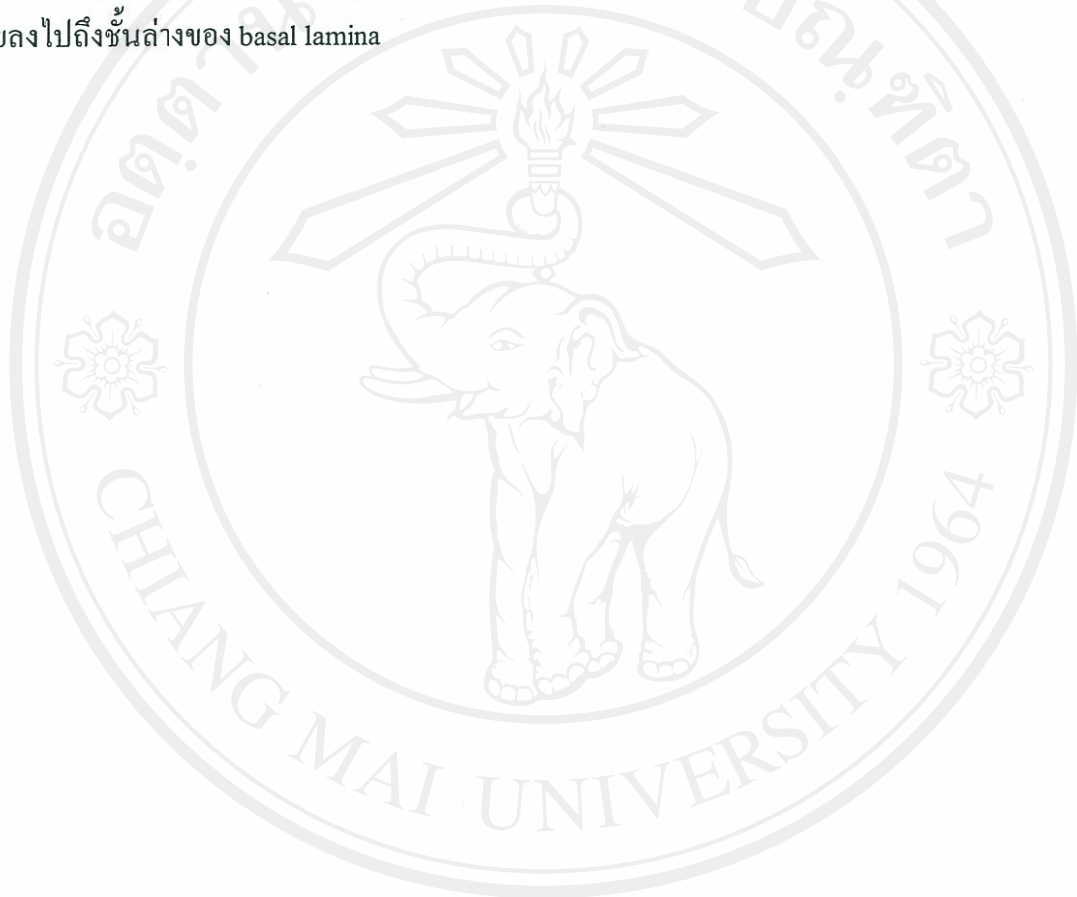
การศึกษาชีวประวัติของ *H. taichui* โดยทำการทดลองในโฮสต์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการพบว่าพยาธิเจริญเป็นตัวเต็มวัยในหนู mice และไก่ ภายใน 3 วันหลังจากป้อนเมตาเซอร์คาเรีย สามารถตรวจพบไข่ของพยาธิจากมูลของหนู 7 วันและไก่ 9 วันหลังจากป้อนเมตาเซอร์คาเรีย และเมื่อนำไข่พยาธิไปให้หอย *Tarebia granifera* ซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งกิน หลังจากนั้น 10 วันพบมีการเจริญของตัวอ่อนระยะสปอโรซิสต์ (sporocyst) และตัวอ่อนเรเดีย (redia) อยู่ในระบบทางเดินอาหารและเนื้อเยื่อของหอย หลังจาก 49 วัน ที่ให้หอยกินไข่พยาธิพบมีการติดเชื้อของตัว

อ่อนพยาธิในระยะเรเดียโดยมีทั้งแม่เรเดีย (mother redia) และดอเทอร์เรเดีย (daughter redia) รวมทั้งมีการเจริญของระยะเซอร์คาเรีย (cercaria) จากนั้นนำเซอร์คาเรียไปเลี้ยงร่วมกับปลาตะเพียนขาว (*Barbodes gonionotus*) เพื่อให้ติดเชื้อในปลาซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง สามารถตรวจพบซีสต์เมตาเซอร์คาเรียในวันแรก และในวันที่ 3 หลังจากติดเชื้อพยาธิเริ่มมีการเจริญของอวัยวะสืบพันธุ์ หลังจาก 6 วัน พบระยะเมตาเซอร์คาเรียมีการเจริญที่สมบูรณ์เริ่มสังเกตเห็นอวัยวะสืบพันธุ์ชัดเจนขึ้น จากการศึกษาครั้งนี้ *H. taichui* มีวงชีวิตในห้องปฏิบัติการประมาณ 58 วัน โดยพบว่าในหนู mice พยาธิเจริญเป็นตัวเต็มวัยมีไข่ในวันที่ 3 และพบไข่ปนในมูลหนูวันที่ 7 หลังจากป้อนเมตาเซอร์คาเรีย และในไก่พยาธิเจริญเป็นตัวเต็มวัยมีไข่ในวันที่ 3 พบไข่ปนในมูลไก่วันที่ 9 หลังจากป้อนเมตาเซอร์คาเรีย

การศึกษาพื้นผิวของพยาธิ *H. taichui* ในระยะเมตาเซอร์คาเรียและตัวเต็มวัยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าระยะเมตาเซอร์คาเรียพื้นผิวปกคลุมด้วยหนาม (spines) ที่มีลักษณะส่วนปลายแยกเป็นซี่ๆ ส่วนหน้าของลำตัวรอบ oral sucker 1-3 แถว หนามมีจำนวน 3-7 ซี่ บริเวณ 2/5 มีจำนวน 8-11 ซี่ บริเวณกลางลำตัวมี 6-9 ซี่ ยกเว้นรอบ ventrogenital sac 1-5 แถว มีจำนวน 3-7 ซี่ โดยส่วนท้ายลำตัวปกคลุมด้วยหนามมี 6-8 ซี่ ถัดมา 5 ซี่ 4 ซี่ และลดลงเป็น 3 ซี่ สำหรับพื้นผิวของตัวเต็มวัยอายุ 7 วัน พบว่ามีลักษณะคล้ายกับระยะเมตาเซอร์คาเรีย โดยบริเวณ 2/5 ของลำตัวปกคลุมด้วยหนามมีจำนวน 9-12 ซี่ และบริเวณรอบ ventrogenital sac มีจำนวน 6-9 ซี่ ทางส่วนท้ายลำตัวหนามจะลดจำนวนของส่วนปลายที่แยกเป็นซี่ลงจาก 9 ซี่ลงไปเรื่อยๆ จนเหลือ 3 ซี่ทางส่วนท้ายสุดของลำตัว อวัยวะรับรู้สัมผัสของพยาธิที่กระจายตลอดลำตัวมี 4 แบบ คือ 1) round swellings of the tegument papillae 2) ciliated dome-shaped papillae 3) non-ciliated dome-shaped papillae และ 4) button-shaped papillae ส่วนผิวของเปลือกไข่พยาธิ *H. taichui* มีลักษณะเป็นลายแบบ thread-like curly ridges

ผลของยาถ่ายพยาธินิโคลซามิด (niclosamide) ต่อผิวหนังของพยาธิตัวเต็มวัย *H. taichui* ในสภาพทดลอง โดยทดสอบในยานิโคลซามิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.01, 0.1, 1.0 และ 10.0 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 30 นาที 1, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง พยาธิชุดควบคุมบ่มในสารละลาย Tyrode ยังคงมีชีวิตตลอดเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 0.1 $\mu\text{g/ml}$ พยาธิตายหมดหลังจาก 1 ชั่วโมง การเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวพยาธิหลังตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าผิวลำตัวพยาธิเกิดการบวมและเป็นตุ่มพอง (bleb) ขึ้นทั้งทางด้านท้องและด้านหลัง โดยการเปลี่ยนแปลงเกิดตุ่มพองจากนั้นมีการแตกของตุ่มพองทำให้พื้นผิวชั้นนอกบางส่วนถูกทำลายและหลุดลอกไปเกิด empty spine sockets และเกิดเป็นรูเล็กๆ กระจายอยู่บน basal lamina และพบว่าพื้นผิวส่วนท้ายลำตัวจะถูกทำลายมากกว่าส่วนหน้าทั้งทางด้านท้องและด้านหลัง

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างภายในของพยาธิหลังจากสัมผัสยานิโคลซาไมด์ จากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าชั้นผิวหนังของพยาธิเกิดการบวมของ mitochondria, basal infolds และเกิด vacuolization เมื่อเวลานานขึ้นการเปลี่ยนแปลงจะรุนแรงเพิ่มขึ้น เซลล์ในชั้นเนื้อเยื่อจะถูกทำลายและเกิดเป็นแผล ชั้นเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่าง basal infolds และ basal plasma membrane จะถูกทำลายไปและมีการแยกออกของชั้น syncytium ทำให้มีการทำลายลงไปถึงชั้นล่างของ basal lamina



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Epidemiology and Life History of the Intestinal
Trematode, *Haplorchis taichui* Witenberg, 1930
in Chiang Mai Province

Author Miss Kanda Kumchoo

Degree Doctor of Science (Biology)

Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Chalobol Wongsawad	Chairperson
	Prof. Dr. Jong-Yil Chai	Member
	Assoc. Prof. Dr. Pramote Vanittanakom	Member
	Lect. Dr. Amnat Rojanapaibul	Member

ABSTRACT

This study investigated *Haplorchis taichui* metacercarial infections in cyprinoid fish collected from Chom Thong and Mae Tang Districts, Chiang Mai Province during November 2001 to October 2002. A total 617 cyprinoid fish of 15 species were randomly collected and examined for *H. taichui* metacercariae. All the species of fish were found to be infected with *H. taichui*. The prevalence of infection was 91.70% and 83.80%, with the mean intensities of 242.93 and 107.44 metacercariae/fish in Chom Thong and Mae Tang Districts, respectively. The portion of the fish body with the highest metacercarial density was the muscles followed by the head, fins, scales, and gills in both districts. In addition, the fish had mixed-

infected with other species of trematodes, namely: *Centrocestus caninus*, *Haplorchoides* sp., and *Haplorchis pumilio*.

The life history of *H. taichui* was examined in the various hosts under laboratory conditions. Adult worms can develop in the definitive host for 3 days post-infection (PI) in mice and chicks after being infected with metacercariae. The eggs of this fluke were observed 7 days PI in mice and 9 days PI in chicks from fecal samples. Embryonated eggs were ingested by the first intermediate host, a snail (*Tarebia granifera*). After 10 days PI, sporocysts and young rediae developed in the digestive tract and tissue of the snail. The snail was infected with the larval stage, two generations of rediae, mother redia and daughter redia and cercariae developed after 49 days PI. The second intermediate host a fish, (*Barbodes gonionotus*) was infected with cercariae by keeping them together. Encysted metacercariae developed on the first day and the rudimentary genital organ of metacercaria can be observed on day 3 PI. Metacercarial stage fully developed after 6 days PI and the rudimentary genital organ can be clearly observed. This study found that the complete life cycle of *H. taichui* in the laboratory required about 58 days. In mice, adult worms were found on 3 days PI and eggs could be observed in feces on day 7 after being infected with metacercariae. In chicks, adults were found on day 3 PI in chicks and the egg could be observed in feces on day 9 after being infected with metacercariae.

A study was performed on the tegumental surface of metacercariae and adults of *H. taichui* by using scanning electron microscopy (SEM). In excysted metacercariae, the surface is covered with scale-like, multi-pointed tegumental spines. Tegumental spines around the oral sucker in 1-3 rows were digitated into 3-7 points. The anterior 2/5 were digitated into 8-11 points and the middle surface with 6-9

points, except in 1-5 rows of the spines around the ventrogenital sac contained 3-7 points. The posterior region was covered with 6-8 points, followed by 5 points, 4, and decreased to 3 points. Adult worms 7 days PI were similar to metacercariae. The anterior 2/5 were digitated into 9-12 points. The digitated spines had 6-9 points around the ventrogenital sac. In the posterior part, the spines continuously decreased from 9 into 3 points. Four types of sensory papillae existed throughout the body: type I, round swellings of the tegument; type II, ciliated dome-shaped; type III, non-ciliated dome shaped; and type IV, button-shaped papillae. The outer surface of the eggshells of *H. taichui* showed flat, thread-like curly ridges.

The effect of niclosamide on the tegument of adult *H. taichui* exposed *in vitro* was observed. *H. taichui* adults were incubated in Tyrode's solution containing 0.01, 0.1, 1.0, and 10 µg/ml of niclosamide for 30 minutes, 1, 6, 12, and 24 hours. Control groups were incubated in Tyrode's solution without niclosamide and the worms were active for 24 hours. In 0.1 µg/ml of niclosamide, all worms died 1 hour after incubation. The tegumental changes to the flukes were determined by SEM. Swelling and blebbing of the tegument was observed on both the ventral and dorsal sides. These changes consisted of bleb formation followed by the rupture and loss of the apical plasma membrane, then empty spine sockets occurred, and small holes penetrated the basal lamina. The surface destruction was more pronounced in the posterior than anterior region on both surfaces. The internal structure damage of flukes was determined by transmission electron microscopy (TEM). The mitochondria and basal infolds became swollen and vacuoles appeared in the syncytium. These changes became progressively more severe with longer incubation times and the cells showed disorganization and necrosis. Some of the connections between the basal

infolds and the rest of the basal plasma membrane became broken, while the entire syncytium became detached, exposing the basal lamina beneath.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved