รายงานการวิจัย

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจอุจจาระ เพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของประชาชนกลุ่มเสี่ยง อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ

Comparison of stool examination techiques for diagnosis liver fluke infections of risk group in Khon Sawan District, Chaiyaphum Province

โดย

นายเมธาวุฒิ พลดอน รหัสนักศึกษา 5940202144

นางสาวกรชนก ดวงกระโทก รหัสนักศึกษา 5940202101

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

ภาคเรียนที่ 2 ปีการศึกษา 2562

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจอุจจาระ เพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของประชาชนกลุ่มเสี่ยง อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ

Comparison of stool examination techiques for diagnosis liver fluke infections of risk group in Khon Sawan District, Chaiyaphum Province

นายเมธาวุฒิ พลดอน รหัสนักศึกษา 5940202144

นางสาวกรชนก ดวงกระโทก รหัสนักศึกษา 5940202101

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

ภาคเรียนที่ 2 ปีการศึกษา 2562

ศูนย์วิจัยโรคปรสิต สำนักแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี
อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
30000

6 มีนาคม 2563

เรื่อง ขอส่งรายงานวิจัยขณะปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา สาขาวิชาชีววิทยา หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ตามที่ข้าพเจ้านายเมธาวุฒิ พลดอน และนางสาวกรชนก ดวงกระโทก นักศึกษาสาขาชีววิทยา หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ได้ปฏิบัติสหกิจศึกษาระหว่างวันที่ 18 เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2562 ถึงวันที่ 6 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2563 ในตำแหน่งผู้ช่วยนักวิจัย ณ ศูนย์วิจัยโรคปรสิต สำนักแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และได้ดำเนินการวิจัย หัวข้อเรื่อง การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจอุจจาระ เพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของประชาชนกลุ่มเสี่ยง อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ (Comparison of stool examination techiques for diagnosis liver fluke infections of risk group in Khon Sawan District, Chaiyaphum Province)

บัดนี้ การดำเนินการวิจัยได้สำเร็จลุล่วงลงแล้ว ข้าพเจ้าจึงขอส่งรายงานวิจัยดังกล่าวมาพร้อมกันนี้ จำนวน 1 เล่ม เพื่อขอรับคำปรึกษาและคำแนะนำต่อไป จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ

.....
(นายเมธาวุฒิ พลดอน)

.....
(นางสาวกรชนก ดวงกระโทก)

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจอุจจาระ เพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของประชาชนกลุ่มเสี่ยง อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ
ผู้วิจัย นายเมธาวุฒิ พลดอน
นางสาวกรชนก ดวงกระโทก
สาขาวิชา ชีววิทยา
คณะ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ปีการศึกษา 2562
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. ปิยะธิดา กุศลรัตน์
ที่ปรึกษา นางสาวภรณ์พิชชา เพชรดี

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจอุจจาระ เพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ของประชาชนกลุ่มเสี่ยง อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ โดยทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562 จากการตอบแบบสอบถามเพื่อคัดกรองกลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (SUT-OV-001) จำนวนทั้งสิ้น 30 ราย และทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 ทำการตรวจวินิจฉัย 3 วิธี ได้แก่ Modified Formalin Ethyl-Acetate Concentration Technique (FECT), Mini Parasep Sovent-Free Parasite Concentration Technique (MPSF) และวิธีชีวโมเลกุล (Polymerase Chain Reaction: PCR) ผลการศึกษาพบว่าประชากรมีระดับความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ อยู่ในระดับปานกลาง เท่ากับร้อยละ 40.0 ความชุกรวมของการติดพยาธิใบไม้ตับ เท่ากับ 13.33 ความหนาแน่นรวมของการติดพยาธิใบไม้ตับ เท่ากับ 29.49 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธี FECT พบผู้ติดเชื้อพยาธิไม้ตับ จำนวน 5 ราย ได้แก่ รหัส K021, Y007, Y008, Y010 และ Y026 วิธี MPSFC พบผู้ติดเชื้อพยาธิไม้ตับ จำนวน 3 ราย ได้แก่ รหัส K021, Y010 และ Y026 และวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR) พบผู้ติดเชื้อพยาธิไม้ตับ จำนวน 2 ราย ได้แก่ รหัส K010 และ Y007 เมื่อนำข้อมูลทั้งสามวิธีมาวิเคราะห์หาค่าคาดหมาย ได้แก่ Sencitivity, Specificity และ Positive – Negative predictive value พบว่าวิธี MPSFC มีค่า Sencitivity, Positive – Negative predictive value สูงที่สุด และวิธี FECT มีค่า Specificity สูงที่สุด เมื่อพิจารณาวิธีการตรวจวินิจฉัย โดยใช้สถิติ t-test พบว่าทั้งสามวิธีไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าวิธี MPSF เป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการวินิจฉัย โรคพยาธิใบไม้ตับ ด้วยการประหยัดเวลาในการเตรียม ราคาถูก ระยะสั้น และปลอดภัยมากกว่าวิธี FECT ส่วนวิธีทางชีวโมเลกุล เป็นวิธีที่สามารถยืนยันผลการตรวจทางปรสิตวิทยาได้

คำสำคัญ: โรคพยาธิใบไม้ตับ Modified Formalin Ethyl-Acetate Concentration Technique (FECT) Mini Parasep Sovent-Free Parasite Concentration Technique (MPSF), Polymerase Chain Reaction (PCR), อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ

Research title Comparison of stool examination techiques for diagnosis liver fluke infections of risk group in Khon Sawan District, Chaiyaphum Province
Authors Mr Metawuth Phondon
Miss Kornchanok Duangkrathok
Department Biology
Faculty Science and Technology
Year 2019
Advisor Dr. Piyatida Kusonrat
Advisor Miss Pornphichcha Pachde

Abstract

The comparison of stool examination techniques for diagnosis liver fluke infections of risk group in Khon Sawan District, Chaiyaphum Province. The objectives of the study were to compare parasitological and molecular method for diagnosis liver fluke infection. The stool samples were collected from November 2019. From the questionnaire to screen the risk groups for liver fluke infection (SUT-OV-001) a total number of 30 specimens, and to study in the laboratory from December 2019 to February 2020. Diagnostic 3 methods by Modified Formalin Ethyl-Acetate Concentration Technique (FECT), Mini Parasep Solvent-Free Parasite Concentration Technique (MPSF) and Biomolecular method (Polymerase Chain Reaction, PCR). Results obtained from risk level for liver fluke infection was medium level 40.0%. The prevalence of liver fluke infection was 13.33%. The total Indensity of liver fluke infections was 29.49%. The result 5 specimen by FECT were K021, Y007, Y008, Y010 and Y026. The result 3 specimen by MPSFC were K021, Y010 and Y026. The result 2 specimen by biomolecular (PCR) method were K010 and Y007. Data was analyzed the values by Sensitivity, Specificity and Positive - Negative predictive value, It was found that the MPSFC had the highest Sensitivity, Positive - Negative predictive value and the FECT had the highest Specificity. A comparison between 3 methods and infection was analyzed (P-value>0.05) was not different. This study indicates that MPSFT is one of choice for diagnosis of liver fluke with a short time preparation and safe more than FECT. For biomolecular methods (PCR) Is a method that confirm the results of parasitological examination.

Keywords: Liver Fluke Disease, Modified Formalin Ethyl - Acetate Concentration Technique (FECT), Mini Parasep Solvent - Free Parasite Concentration Technique (MPSF), Polymerase Chain Reaction (PCR), Khon Sawan District Chaiyaphum Province

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยสหกิจศึกษาฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์หลายท่านที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ รวมทั้งให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงชวัลญ์ญา รัตนพิทูลย์ อาจารย์ประจำหลักสูตรเวชศาสตร์ปริวรรต และผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัธคพัชพ รัตนพิทูลย์ อาจารย์ประจำวิชาปรสิตวิทยาและนักวิจัย ศูนย์วิจัยโรคปรสิต สำนักแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และคอยชี้แนะให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วง

ขอกราบขอบคุณ ดร.ปิยะธิดา กุศลรัตน์ และดร. แววดาว ดาทอง อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ที่ได้ให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาในทุกด้าน ทั้งการติดตาม ดูแลการปฏิบัติงานวิจัยและการปฏิบัติสหกิจจนสำเร็จลุล่วง

ขอกราบขอบคุณ คุณภรณ์พิชชา เพชรดี และคุณอลิสา บุญสุยา นักวิจัยประจำศูนย์วิจัยโรคปรสิตที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ คอยควบคุมการปฏิบัติงานวิจัย และคอยอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ เสมอมาเพื่อให้งานวิจัยเสร็จสมบูรณ์และลุล่วง

ขอกราบขอบพระคุณ พ่อและแม่ที่คอยให้ความสนับสนุน ช่วยเหลือในทุกด้าน และเป็นกำลังใจให้เสมอ ขอบคุณเพื่อนๆ ที่ชวยเหลือ และคอยให้กำลังใจตลอดมาจนทำให้โครงการวิจัยสหกิจสำเร็จไปได้ด้วยดี

สารบัญ

บทที่ **หน้า**

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูปภาพ ..... ช
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขตการวิจัย 2
1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ 4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5
2.1 ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับโรคพยาธิ 5
2.2 วิธีการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธีต่างๆ 9
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 10
2.4 กรอบแนวคิดในการดำเนินการวิจัย 12
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการ 13
3.1 แหล่งข้อมูล 13
3.2 พื้นที่การศึกษา 13
3.3 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง 15
3.4 ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง 16
3.5. วิธีการเก็บตัวอย่าง 16
3.6 สถานที่ดำเนินการวิจัย 16
3.7 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี 16
3.8 วิธีการศึกษาในห้องปฏิบัติการ 19
3.9 การคำนวณและวิเคราะห์ข้อมูล..... 33

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ **หน้า**

บทที่ 4 ผลการศึกษา 36
4.1 ผลการตรวจวัดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) 36
4.2 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) 36
4.3 ผลการศึกษาความชุกและความหนาแน่นของพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) 39
4.4 ผลการเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) 39
4.5 ผลการพิจารณาการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) โดยใช้สถิติ..... 40
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการศึกษา 41
5.1 สรุปผลการศึกษา 41
5.2 อภิปรายผลการศึกษา 41
5.3 ข้อเสนอแนะ 43
บรรณานุกรม 44
ภาคผนวก ก รูปแบบหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมโครงการ..... 48
ภาคผนวก ข แบบคัดกรองความเสี่ยงต่อโรคพยาธิใบไม้ตับ 50
ภาคผนวก ค ผลการตรวจหาไข่พยาธิ ด้วยวิธี FECT และ MPSFC 52
ภาคผนวก ง ตัวอย่างไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ที่ตรวจพบจากวิธี FECT และ MPSFC..... 57
ภาคผนวก จ ผลการคำนวณทางสถิติ 60
ประวัติผู้วิจัย 65

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1 การเตรียมสารเคมีในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 18
ตารางที่ 2 อุณภูมิที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 18
ตารางที่ 3 เกณฑ์ระดับการติดเชื้อปรสิต ด้วยการคำนวณไข่พบในอุจจาระ 1 กรัม 34
ตารางที่ 4 การตรวจวินิจฉัยจากการตรวจมาตรฐาน (Gold standard) 35
ตารางที่ 5 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามปัจจัยส่วนบุคคล 36
ตารางที่ 6 ผลการคัดกรองกลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 37
ตารางที่ 7 ผลการคำนวณไข่พยาธิในอุจจาระ 1 กรัม ด้วยวิธี Modified Folmalin Ethyl- Acetate Concentration Technique (FECT) 37
ตารางที่ 8 ผลการตรวจหาไข่พยาธิในอุจจาระ 1 กรัม ด้วยวิธี Modified Folmalin Ethyl- Acetate Concentration Technique (FECT) 37
ตารางที่ 9 ผลการตรวจหาไข่พยาธิในอุจจาระ 1 กรัม ด้วยวิธี Mini-parasep Solvent-Free Parasite Concentration (MPSFC) 38
ตารางที่ 10 ผลการตรวจหาไข่พยาธิในอุจจาระ 1 กรัม ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) 38
ตารางที่ 11 ผลการเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ทั้งสามวิธี 40
ตารางที่ 12 ผลการพิจารณาวิธีการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ทั้งสามวิธี 40

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่ **หน้า**

ภาพที่ 1 รูปร่างลักษณะของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัย 6
ภาพที่ 2 รูปร่างลักษณะของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะไข่ 7
ภาพที่ 3 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ 9
ภาพที่ 4 แผนที่ที่ตั้งพื้นที่การศึกษา อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ 12
ภาพที่ 5 แผนที่ที่ตั้งพื้นที่การศึกษา ตำบลโคกมั่งงอยและตำบลยางหวาย
อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ 14
ภาพที่ 6 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย 15
ภาพที่ 7 การเตรียมตัวอย่าง ด้วยวิธี FECT 22
ภาพที่ 8 การเตรียมตัวอย่าง ด้วยวิธี MPSFC 23
ภาพที่ 9 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างอุจจาระ ด้วยชุด kitz QIAamp DNA Stool 26
ภาพที่ 10 การวัดปริมาณดีเอ็นเอ 27
ภาพที่ 11 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธี Polymerase Chain reaction (PCR) 28
ภาพที่ 12 รันเจล (Gel Electrophoresis) และอ่านผลและวิเคราะห์ภาพเจล 31
ภาพที่ 13 การเตรียมสไลด์ สำหรับตรวจหาพยาธิ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ 32
ภาพที่ 14 การแสดงแถบดีเอ็นเอจากการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธี PCR 39

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคพยาธิใบไม้ในตับ เกิดได้จากการติดเชื้อพยาธิชนิด *Opisthorchis viverrini*, *Opisthorchis felineus* และ *Clonorchis sinenesis* ซึ่งยังเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เอเชียตะวันออก ยุโรปตอนกลางและยุโรปตะวันออก โดยองค์การอนามัยโลกได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างพยาธิใบไม้ในตับและการก่อกำเนิดมะเร็ง ในปี พ.ศ. 2559 ว่ามะเร็งท่อน้ำดีเกิดจากพยาธิใบไม้ตับชนิด *O. viverrini* ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดโรคดังกล่าว โดยเฉพาะแถบแม่น้ำโขง ลาว เวียดนาม กัมพูชา และพื้นที่ครอบคลุมภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (IARC, 2011; Sripa *et al*., 2012) ตั้งแต่ปี พศ. 2552 – 2557 มีการสูญเสียประชากรจำนวนมากในพื้นที่ภาคตะวันวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดศรีสะเกษ มีอัตราการเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งตับ มะเร็งท่อน้ำดี มากกว่า 40 ต่อแสนประชากร เป็นต้น จึงนำมาสู่การศึกษาในด้านปรสิตเพิ่มมากขึ้น เพื่อลดอัตราการเสียชีวิตลง เช่น โครงการ cascap มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้ดำเนินการสุ่มตรวจหาตัวอ่อนปรสิตระยะติดต่อในปลาวงศ์ปลาตะเพียน ในจังหวัดศรีสะเกษ พบว่าอัตราความชุกในฤดูฝน พ.ศ. 2560 เท่ากับร้อยละ 64.24 (สำนักกระทรวงสาธารณสุขจังหวัดศรีสะเกษ, 2562) การศึกษาการระบาดและพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อหนอนพยาธิของนักเรียนในโรงเรียน สังกัดกองกำกับการตำรวจตระเวนชายแดนที่ 21 ใน พ.ศ. 2558 พบว่านักเรียนมีการติดเชื้อหนอนพยาธิสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนด สาเหตุสำคัญคือ สุขาภิบาลไม่ดี พฤติกรรมบางอย่างของนักเรียนมีความเสี่ยงต่อการติดโรค เช่น การบริโภคอาหารที่เสี่ยงต่อ การมีพยาธิ (สำนักงานควบคุมป้องกันโรคที่ 9 จังหวัดนครราชสีมา, 2558) ซึ่งข้อมูลเหล่านี้มีความสำคัญในการกำหนดแผนยุทธศาสตร์ เช่น การให้ความรู้ และรณรงค์ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมสุขภาพของประชากร ร่วมกับสำนักงานควบคุมป้องกันโรค เขตต่างๆ และหน่วยงานวิจัยโรคปรสิตต่างๆ เพื่อแก้ไขปัญหาการติดเชื้อ ทั้งการดำเนินงานร่วมกับรัฐบาล เช่น การกำหนดเป้าหมาย การสนับสนุนยุทธศาสตร์ อีสานไม่กินปลาดิบ ทศวรรตกำจัดพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี 2559 – 2568 เป็นต้น

จังหวัดชัยภูมิ ตั้งอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างของประเทศไทย มีทำเลที่ตั้งติดกับบึงละหานนา โดยเฉพาะ ตำบลโคกมั่งงอย และตำบลยางหวาย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ ชาวบ้านส่วนใหญ่ มีวิถีชีวิตที่มีความสัมพันธ์กับแหล่งน้ำ เพื่อการใช้ในการอุปโภค บริโภค โดยเฉพาะเป็นแหล่งอาหาร เช่นปลาน้ำจืด และสัตว์น้ำเพื่อเป็นแหล่งอาหารประชาชนส่วนมากประกอบอาชีพการทำประมง เกษตรกรรม และการค้าขาย โดยจังหวัดชัยภูมิเป็นหนึ่งใน 12 จังหวัดที่เป็นพื้นที่เสี่ยงตามโครงการกำจัดปัญหาโรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดีของเขตสุขภาพที่ 9 มีการรายงานการเปรียบเทียบการตรวจหาไข่พยาธิ ด้วยวิธี Mini parasep และ Modified Kato katz .ในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิ นครราชสีมา บุรีรัมย์ และสุรินทร์ พบว่าจังหวัดชัยภูมิมีความชุกการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเป็นลำดับที่สอง เท่ากับร้อยละ 12.6 (วีวัฒน์ สังฆะบุตร และคณะ, 2562)

การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ มีหลากหลายวิธีการที่นำมาใช้ แต่ละวิธีจะมีข้อดี ข้อด้อยที่แตกต่างกัน วิธีการหลักที่นิยมใช้และค่อนข้างแม่นยำในการตรวจวินิจฉัยที่กระทรวงสาธารณสุขแนะนำ ได้แก่ วิธี Kato thick smear, Modified Kato katz thick smear และ วิธี Formalin Ethyl-Acetate Concentration Technique (FECT) นอกจากนี้ยังมีวิธีการที่นำมาใช้ในต่างประเทศ แต่ในประเทสไทยยังมีการใช้น้อย คือ Mini parasep sovent – free parasite concentration ซึ่งมีรายงานว่าเป็นวิธีที่มีความไวและจำเพาะสูง (Lier *et al*., 2009) แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจวินิจฉัยพยาธิด้วยวิธีการดังกล่าวอาจมีข้อจำกัด เช่น ต้องอาศัยผู้ที่มีความเชี่ยวชาญในการตรวจวินิจฉัย ปัจจัยในการตรวจตัวอย่างอุจจาระ และประสบการณ์ของผู้ตรวจวินิจฉัย เป็นต้น ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ มีการพัฒนาเพื่อความแม่นยำและสะดวกรวดเร็วในการวินิจฉัยมากขึ้นมากขึ้น เช่น การตรวจหาการติดเชื้อพยาธิจากแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นมาเพื่อกำจัดพยาธิ ในเลือด ในปัสสาวะ หรือสารคัดหลังต่างๆ หรือการสกัดดีเอ็นเอจากอุจจาระ และการตรวจทางด้านชีวโมเลกุล ซึ่งนับว่าเป็นวิธีที่มีความน่าเชื่อถือและเพิ่มความแม่นยำในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิมากในปัจจุบัน (วีระชัย และชัยรัตน์, 2552)

ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นและสนใจในการศึกษา เพื่อเปรียบเทียบวิธีการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในตัวอย่างอุจจาระ จากพื้นที่ ตำบลโคกมั่งงอย และตำบลยางหวาย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ ด้วยวิธี วิธี Modified Formalin Ethyl-Acetate Concentration Technique (FECT) วิธี Mini Parasep Sovent-Free Parasite Concentration (MPSFC) และวิธีทางชีวโมเลกุล (Polymerase Chain Reaction หรือ PCR) เพื่อหาความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) และเปรียบเทียบค่าคาดหมายของการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อกับวิธีมาตรฐาน (Positive - Negative predictive value) ของการตรวจแต่ละวิธี เพื่อนำเสนอแนวทางในการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถนำไปสู่ การรักษาและการควบคุมโรคที่ติดเชื้อโรคพยาธิต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

2.1 ศึกษาการเปรียบเทียบผลการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ ด้วยวิธีทางปรสิตวิทยา คือ วิธี FECT และ MPSFC และวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR) ของประชาชนกลุ่มเสี่ยงในตำบลโคกมั่งงอย และตำบลยางหวาย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

1.3.1.1 ประชากรในการวิจัย คือประชาชนในเขตอำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ ที่อาศัยแถบบึงละหานนา ที่มีอายุ 18 – 80 ปี

1.3.1.2 กลุ่มตัวอย่าง คือประชาชน ที่มีอายุ 18 – 80 ปี จำนวนทั้งสิ้น 30 คน

1.3.2 ระยะเวลาการดำเนินวิจัย

1.3.2.1 การเก็บตัวอย่างอุจจาระ คือช่วงเดือนเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562

1.3.2.2 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ คือช่วงเดือนเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563

1.3.3 ตัวแปรที่ศึกษา

1.3.3.1 ตัวแปรต้น คือ วิธีการตรวจอุจจาระ ได้แก่ วิธีทางปรสิตวิทยา คือ วิธี FECT และ MPSFC และวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR)

1.3.3.2 ตัวแปรตาม คือ ผลตรวจอุจจาระ ด้วยวิธีทางปรสิตวิทยา คือ วิธี FECT และ MPSFC และวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR) ผลการตรวจด้วยวิธีทางปรสิตเป็นพบไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) และไม่พบไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) และผลการตรวจด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR) เป็นการแสดงแถบดีเอ็นเอที่ขนาด 330 คู่เบส และการไม่แสดงแถบดีเอ็น โดยใช้ผลการตรวจวินิจฉัยจากห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิจัยโรคปรสิต สำนักแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.3.4 วิธีการศึกษา

ลงพื้นที่ ณ ตำบลโคกมั่งงอย และตำบลยางหวาย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ ในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562 เพื่อคัดเลือกประชากรที่อาศัยแถบบึงละหานนา โดยการตอบแบบสอบถามเพื่อคัดกรองกลุ่มเสี่ยงต่อโรคพยาธิใบไม้ตับ (SUT-OV-001) จำนวนทั้งสิ้น 30 คน จากนั้นคำนวณหาร้อยละความเสี่ยงจากคะแนนแบบสอบถาม หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างอุจจาระทั้ง 30 คน เพื่อการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจอุจจาระเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ด้วยวิธี FECT และ MPSFC และวิธีชีวโมเลกุล (PCR) ซึ่งการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี FECT และ MPSFC ใช้กล้องจุลทรรศน์ในการวินิจฉัย นับจำนวนไข่พยาธิ และคำนวณหาระดับการติดเชื้อไข่พยาธิในอุจจาระ 1 กรัม (Eggs per gram of feces หรือ E.P.G.) ส่วนวิธีชีวโมเลกุล (PCR) นำตัวอย่างมาทำการสกัดดีเอ็นเอ เพื่อเพิ่มปริมาณและตรวจสอบการติดเชื้อด้วยการแสดงแถบดีเอ็นเอของพยาธิใบไม้ตับที่จำเพาะกับสารไพรเมอร์ที่ได้จากการออกแบบจากพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ผลการศึกษาการตรวจวินิจฉัยจะถูกวิเคราะห์ผลหาค่า Sensitivity, Specificity และ Positive-Negative Predictive Value ของทั้งสามวิธีที่ทำการศึกษา

1.3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

1.3.5.1 การวิเคราะห์ระดับการติดเชื้อพยาธิ ด้วยการคำนวณไข่พยาธิในอุจจาระ 1 กรัม จากวิธี FECT และ วิธี MPSFC

1.3.5.2 การวิเคราะห์หาค่าความชุกและความหนาแน่นของวิธี FECT และ MPSFC

1.3.5.3 การวิเคราะห์หาค่า Sensitivity, Specificity และ Positive-Negative Predictive Value ของทั้งสามวิธี

1.3.5.4 การเปรียบเทียบค่าทางสถิติของทั้งสามวิธี ด้วยสถิติ T-test

1.4 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.4.1 ตัวอย่าง หมายถึง อุจจาระของคนที่ได้เข้าร่วมโครงการวิจัย การแก้ไขปัญหาโรคพยาธิใบไม้ตับ อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ

1.4.2 พยาธิใบไม้ตับ หมายถึง พยาธิที่มีรูปร่างคล้ายใบไม้ พยาธิตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ในร่างกายโดยพบอยู่ในทางเดินท่อน้ำดี และท่อน้ำดีส่วนปลายที่อยู่ในตับ สามารถเข้าอาศัยอยู่ในร่างกายคนได้ เป็นพยาธิก่อโรคพยาธิใบไม้ตับ ชนิดที่สำคัญคือ *O. viverrini* ติดเชื้อจากการกินปลาดิบ

1.4.3 Sensitivity หมายถึง สัดส่วนของผู้ติดเชื้อที่ทำการทดสอบแล้วได้ผลออกมาเป็นบวก

1.4.4 Specificity หมายถึง สัดส่วนของผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อที่ทำการทดสอบแล้วได้ผลออกมาเป็นลบ

1.4.5 Positive Predictive Value หมายถึง สัดส่วนของผู้ที่ทำการทดสอบได้ผลเป็นบวกแล้วเป็นโรคจริง

1.4.6 Negative Predictive Value หมายถึง สัดส่วนของผู้ที่ทำการทดสอบได้ผลเป็นลบแล้วไม่ได้ติดเชื้อจริง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ระหว่างวิธีทางปรสิตวิทยา คือ วิธี FECT และ MPSFC และวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR) เพื่อใช้เป็นแนวทางเลือกในการตรวจวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

1.5.2 ฐานข้อมูลที่ทันสมัย สำหรับการวางแผนป้องกัน เฝ้าระวัง ติดตาม ประเมินผล และใช้สำหรับเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาประชากรกลุ่มเสี่ยง อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ และพื้นที่กลุ่มเสี่ยงอื่นๆ ต่อไปในอนาคต

1.5.3 ได้เป็นแนวทางเบื้องต้นในการตรวจคัดกรองและควบคุมโรคพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ของประชากรกลุ่มเสี่ยงในอำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ และพื้นที่กลุ่มเสี่ยงอื่นๆ ต่อไปในอนาคต

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับโรคพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*)

พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จัดอยู่ใน

Phylum Platyhelminthes

ClassTrematoda

Subclass Digenea

Order Opisthorchiformes

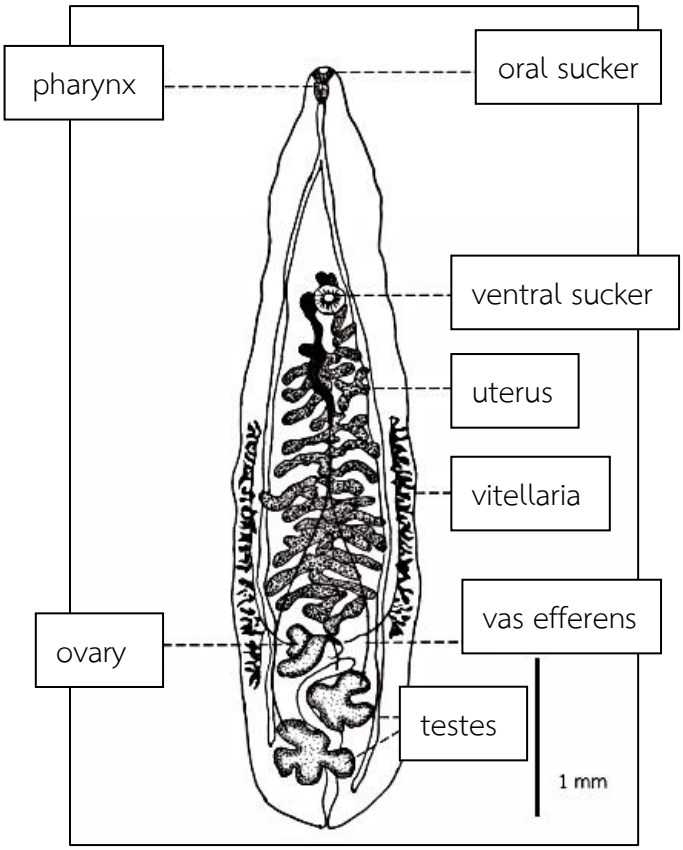
Family Opisthorchiidae

Genus Opisthorchis

พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* คือ พยาธิที่มีรูปร่างคล้ายใบไม้ พยาธิตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ในร่างกาย โดยพบอยู่ในทางเดินท่อน้ำดี และท่อน้ำดีส่วนปลายที่อยู่ในตับ พยาธิชนิดนี้สามารถเข้ามาอาศัยอยู่ในร่างกายคนได้ ซึ่งมีสาเหตุหลักมาจากการรับประทานปลาน้ำจืดเกล็ดขาว ที่ปนเปื้อนตัวอ่อนของพยาธิในเนื้อปลา และพยาธิใบไม้ตับจะไปอาศัยอยู่ในท่อน้ำดีในตับของคน เมื่อมีการสะสมของพยาธิมากๆ เป็นเวลานาน จะเกิดการอักเสบของท่อน้ำดี และมีโอกาสพัฒนากลายเป็นมะเร็งท่อน้ำดีได้ (Kaewker, 2003) โรคพยาธิใบไม้ตับ หมายถึงพยาธิที่ก่อให้เกิดโรคพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อพยาธิ 3 ชนิด ได้แก่ *O. viverrini* เป็นพยาธิใบไม้ตับที่ระบาดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบมากที่สุดในประเทศลาว กัมพูชา และไทย โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงใต้ *Clonorchis sinensis* เป็นพยาธิใบไม้ตับที่ระบาดส่วนใหญ่อยู่ในประเทศไต้หวัน ญี่ปุ่น เวียดนาม เกาหลี ฮ่องกง และจีน และ *O. felineus* เป็นพยาธิใบไม้ตับที่พบมากในบริเวณภาคกลางและภาคตะวันออกของทวีปตะวันออก และเยอรมัน แต่ส่วนมากพบในสัตว์จำพวกแมวและสุนัข โดยพยาธิที่ก่อให้เกิดโรคที่สำคัญคือ *O. viverrini* คนติดเชื้อมาจากการกินปลาดิบวงศ์ปลาตะเพียนที่มีตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิ ตัวอ่อนจะเคลื่อนที่เข้าสู่ท่อน้ำดี กลายเป็นตัวเต็มวัย อาศัยอยู่ในท่อน้ำดี (Kaewker, 2003 อ้างถึงใน ณัฏฐวุฒิ และสรญา แก้วพิทูลย์, 2553)

2.1.1 ระยะตัวเต็มวัย (adult)

ตัวเต็มวัยของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มี 2 เพศในตัวเดียวกัน (Hermaphrodite) รูปร่างคล้ายใบไม้ มีลำตัวแบนยาว ขนาดของลำตัวโดยเฉลี่ยยาว 5.5-9.55 มิลลิเมตร กว้าง 0.77-1.65 มิลลิเมตร ขณะมีชีวิตลำตัวจะบางใส oral sucker อยู่เกือบปลายสุดของส่วนหน้า (anterior) และ ventral sucker อยู่ถัดจากส่วนหน้าประมาณ 1/5 ของความยาวลำตัว คอหอยมีลักษณะเป็นมัดกล้ามเนื้อ มีหลอดอาหารสั้น ลำไส้แยกออกเป็นสองแขนงยาวไปทางด้านข้างถึงส่วนท้ายของลำตัว มีรังไข่ (ovary) 1 อันลักษณะเป็น lobe มดลูก (uterus) ยาวขดไปมาอยู่กลางลำตัวระหว่างรังไข่กับ ventral sucker มีอัณฑะ 2 อัน ลักษณะเป็นก้อนที่มีร่องกลีบเรียงต่อกันตามความยาวของลำตัว (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 รูปร่างลักษณะของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวเต็มวัย
(ที่มา: Division of Parasitic Diseases and Malaria (DPDM), Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA. Laboratory Identification of Parasitic Disease of Public Health Concern. (ออนไลน์) สืบค้นจาก: http://www.cdc.gov/dpdx/az.html. 25 ธันวาคม 2562)

2.1.2 ระยะไข่ (egg)

มีรูปร่างรียาว สีน้ำตาลปนเหลือง ฝาปิดสนิท ขอบรอยต่อของฝามีลักษณะนูนเป็นสันคล้ายไหล่ (Shoulder) ส่วนท้ายเปลือกไข่มีตุ่มเล็กๆ (Knob) เมื่อไข่ออกมากับอุจจาระใหม่ๆ ภายในจะมีตัวอ่อนซึ่งเจริญเต็มที่ เรียกระยะตัวอ่อนระยะไมราซิเดียม (miracidium) ระยะตัวอ่อนที่เจริญอยู่ในไข่พยาธิ รูปร่างคล้ายกระสวย มีขนอยู่รอบตัว มี apical gland อยู่บริเวณด้านบนสุดของส่วนหน้า มี cephalic gland ยาว germinal cell ขนาดใหญ่ และมี flame cell 1 คู่ ไม่พบ eye spots และอวัยวะรับสัมผัส ไมราซิเดียมจะเจริญภายในไข่เป็นระยะ สปอร์โรซีส (sporocyst) และเรเดีย (redia) ตัวอ่อนระยะสปอร์โรซีสมีขนาด 1.1-0.65 มม. มีผนังลำตัวหนา ภายในบรรจุตัวอ่อนระยะเรเดียจำนวนมาก ตัวอ่อนระยะเรเดียเมื่อโตเต็มที่จะออกมาจากสปอร์โรซีส ตัวอ่อนระยะเรเดียจะมีขนาดความยาวของลำตัว 0.18-1.1 มม. และความกว้างของลำตัว 0.08-0.28 มม. ตัวอ่อนระยะเรเดียจะมี pharynx ภายในจะมีเซอร์คาเรียจำนวน 15 เซอร์คาเรีย (Kaewkes, 2003, Wykoff *et al*., 1965) (ภาพที่ 2)

ภาพที่ 2 รูปร่างลักษณะของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะไข่
(ที่มา: Division of Parasitic Diseases and Malaria (DPDM), Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA. Laboratory Identification of Parasitic Disease of Public Health Concern. (ออนไลน์) สืบค้นจาก: http://www.cdc.gov/dpdx/az.html. 25 ธันวาคม 2562)

2.1.3 ระยะเซอร์คาเรีย (cercariae)

ตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) เป็นเซอร์คาเรียในกลุ่ม Parapleurolophocercous cercariae เป็นกลุ่มเซอร์คาเรียที่มีลักษณะเด่น คือมี lateral finfold บริเวณหาง ลำตัวรีมี penetration gland และ cystogenous gland ส่วนของ ventral sucker ที่ยังเจริญไม่เต็มที่และในส่วน eye spots มี pigment ตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) มีขนาดความยาว 490-565 นาโนเมตร ความกว้าง 140-180 นาโนเมตร ลักษณะทั่วไปลำตัว จะมี spines เล็กๆ ปกคลุม มี sensory hairs จำนวน 10 คู่ oral sucker มีลักษณะเป็นทรงรี ขนาด 36-37 นาโนเมตร ถึง 34-51 นาโนเมตร มี eye sports 1 คู่อยู่ส่วนบนของลำตัวถัดจาก oral sucker มีต่อม penetration gland จำนวน 5 คู่ ventral sucker เจริญไม่ดีอยู่ตรงกลางลำตัว excretory bladder เรียงตัวด้วยเซลล์ epithelial อยู่บริเวณส่วนท้ายของลำตัว (posterior) collecting tubes จำนวน 2 เส้น จะเริ่มจากบริเวณ excretory bladder ไปยังส่วนบนของลำตัวเรียกว่า anterior collecting tubes และเส้นที่ไปยังส่วนล่างของลำตัวเรียกว่า posterior collecting tuber โดยพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) จะมีรูปแบบของ flame cell คือ 2[(3+3)+(3+3+3)] ส่วนหางจะมีลักษณะยาวกว่าส่วนลำตัว โดยส่วนหางจะมี lateral finfolds ยาวเป็น 1/3 ของความยาวหาง และมี dorsol-ventral findfold ยาวเป็น 2/3 ของความยาวหาง

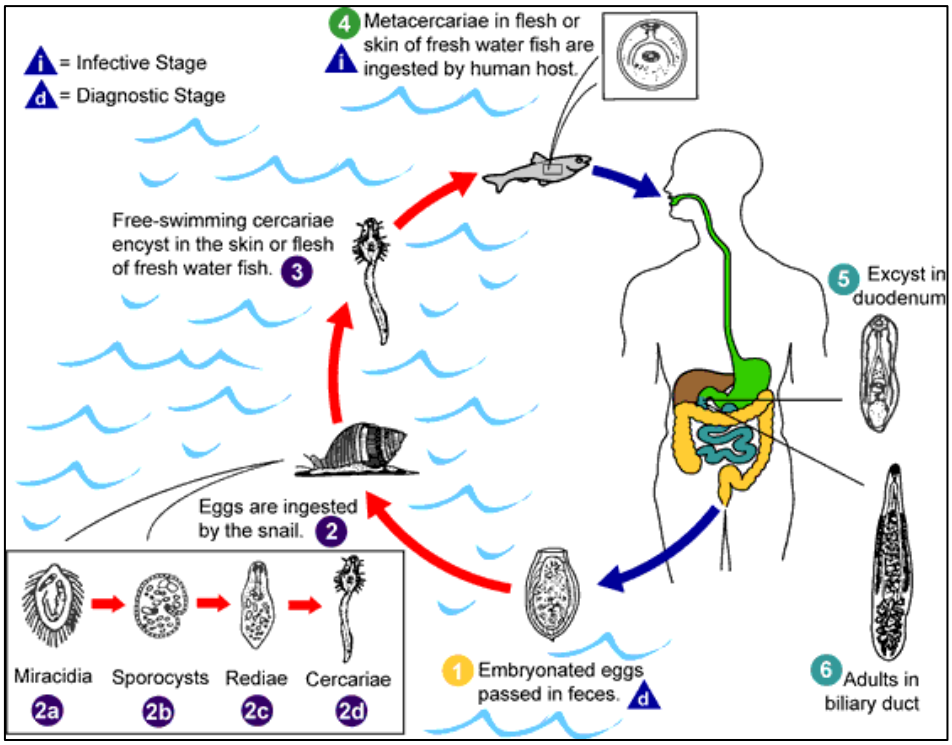
โดยมีท่อ caudal excretory อยู่บริเวณกลางหางและทอดยาวตลอดความยาวหาง (Jiro *et al*., 1962; Wykoff *et al*., 1965)

2.1.4 ตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย (metacercariae)

ตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียจะอยู่ภายในซีสต์ผนัง 2 ชั้น รูปร่างส่วนใหญ่มีลักษณะรูปไข่หรือกลม โดยปกติมีชั้นผนังที่บาง ซึ่งผนังชั้นนอกหนาประมาณ 3-8 ไมโครเมตร และผนังด้านในบางมากจะสามารถสังเกตได้เฉพาะหลังจากตัวอ่อนออกจากซีสต์แล้วเท่านั้น ขนาดของซีสต์โดยเฉลี่ย 201x 167 ไมโครเมตร ลำตัวของเมตาเซอร์คาเรียที่อยู่ในซีสต์ สามารถเคลื่อนไหวไปมา และมักจะงอพับ เห็นลักษณะเป็นรูปทรง C-shaped ผนังตัวบางใส สามารถมองเห็น bladder มีสีน้ำตาลเหลือง (brownis yellow) excretory bladder เห็นเป็นรูปไข่ แกรนูสีดำ สามารถมองเห็น oral sucker และ ventral sucker (Vajrasthira, 1961)

2.1.5 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*)

ไข่พยาธิผ่านทางเดินท่อน้ำดีออกสู่ลำไส้เล็กแล้วปนออกมากับอุจจาระลงสู่น้ำ เมื่อหอยน้ำจืดสกุล Bithynia เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวแรกกินไข่เข้าไป ไมราซิเดียมจะออกจากไข่เจริญเป็นสปอโรซิสต์ ริเดียและเซอร์คาเรีย ตามลำดับ รวมระยะเวลา 1 เดือน เซอร์คาเรียออกจากหอยว่ายน้ำไปสู่ปลาที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง สลัดหาง เจริญเติบโตเป็นเมตาเซอร์คาเรีย อยู่ภายในซิสต์ตามเกล็ด และในเนื้อปลา ใช้เวลาประมาณ 1 เดือน สามารถเจริญเป็นระยะติดต่อ ทั้งวงจรใช้เวลาประมาณ 3 เดือน (ธนเดช สัจจวัฒนา และคณะ, 2558) เมื่อคนหรือสัตว์กินปลาดิบหรือที่ปรุงไม่สุกพอ พยาธิใบไม้ตับระยะเมตาเซอร์คาเรียจะออกจากซิสต์ในลำไส้เล็กส่วนต้น ภายในระยะเวลา 5-10 นาที ถึง 2-3 ชั่วโมง จะเดินทางเข้าไปในท่อน้ำดี เข้าสู่ท่อน้ำดีส่วนปลายในตับ เจริญเป็นตัวแก่ระยะก่อนเชื้อปรากฏประมาณ 1 เดือน และออกไข่เป็นวัฏจักรต่อไป (ภาพที่ 3) (พิศาล ไม้เรียง, 2554)



ภาพที่ 3 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*)
(ที่มา: พิศาล ไม้เรียง และบรรจบ ศรีภา, 2557)

2.2 วิธีการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธีต่างๆ

2.2.1 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิด้วยวิธี FECT

เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดเนื่องจากทำให้มีโอกาสตรวจพบเชื้อปรสิตได้มากกว่าวิธีอื่นๆ และความสามารถในการแยกความหลากหลายของปรสิตได้ทั้งอุจจาระสดและอุจจาระที่ใส่สารรักษาสภาพ (Becker SL *et al*., 2011) แต่วิธีนี้มีข้อควรตระหนักเรื่องขั้นตอน วิธีการที่ยุ่งยาก ต้องใช้วัสดุอุปกรณ์จำนวนมาก และสารเคมีที่ใช้เป็นอันตรายต่อมนุษย์ (Utzinger J *et al*., 2011)

2.2.2 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิด้วยวิธี MPSFC

เป็นวิธีที่ถูกปรับปรุงขึ้นมาใหม่ โดยใช้ระบบปิด มีการใช้อุปกรณ์เพียงครั้งเดียว จึงสามารถป้องกันการปนเปื้อนระหว่างสิ่งส่งตรวจ ช่วยให้มีการตรวจพบเชื้อปรสิตในสิ่งส่งตรวจได้ง่ายขึ้น มีขั้นตอนง่าย รวดเร็ว ประหยัดเวลา และไม่จำเป็นต้องใช้สสารตัวทำละลายที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ นอกจากนี้วิธีนี้ยังได้รับการแนะนำให้เป็นวิธีที่เหมาะสำหรับการวินิจฉัยในการทดลองกลุ่มประชากรตั้งแต่ขนาดเล็กถึงขนาดใหญ่ (Flnk AL *et al*., 2013) (Kaewpitoon SJ *et al*., 2016)

2.2.3 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิด้วยวิธีชีวโมเลกุล

เป็นวิธีที่ให้ผลที่มีความแม่นยำสูง เพิ่มความไวในการวินิจฉัยได้ดียิ่งขึ้น และสามารถลดความผิดพลาดจากการวินิจฉัยโดยการดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เนื่องจากความไม่ชำนาญในการแยกรูปแบบลักษณะที่หลากหลายของเชื้อได้ (Wawrzyniak I *et al*., 2013) อีกทั้งยังเหมาะสมกับการตรวจทางระบาดวิทยาเนื่องจากสามารถตรวจวินิจฉัยตัวอย่างจำนวนมากในเวลาเดียวกันและสามารถ

ระบุสายพันธุ์ของเชื้อได้ ซึ่งจะมีประโยชน์ในการศึกษาการแพร่ระบาดของเชื้อเพื่อสามารถวางแผนป้องกันโรคต่อไป แต่ก็ยังมีปัญหาในด้านค่าใช้จ่ายสูง

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.3.1 วิวัฒน สังฆะบุตร และคณะ (2562) ศึกษาการเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยหาไข่พยาธิใบไม้ตับ ด้วยชุดตรวจ MPSFC กับวิธี Modified Kato-Katz (MKK) ที่ใช้ในภาคสนามของเขตสุขภาพที่ 9 โดยนำ ขอมูลจากกลุมตัวอยางประชาชนที่มีอายุตั้งแต 15 ปขึ้นไป อาศัยอยูในพื้นที่เสี่ยง 12 แหง จำนวน 2,184 ราย มาวิเคราะหดวยเทคนิคทางสถิติพบวา รอยละของผลตรวจที่ตรงกันทั้งสองวิธี (ความสอดคลอง) เทากับ รอยละ 83.9 (Ppos รอยละ 29.9, Pneg รอยละ 90.9) และมีความสอดคลองกัน อยางมีนัยสำคัญทางสถิติที่มีความเชื่อมั่น รอยละ 95 มีขนาดของความสอดคลองในระดับพอใช (Kappa = 0.23, 95%CI; 0.18-0.28) คุณสมบัติดานความตรงของชุดตรวจเทียบกับวิธี MKK ในประชาชนรายเดียวกัน มีสัดสวนของการตรวจพบไขพยาธิในผูที่ติดพยาธิจริง (Sensitivity) รอยละ 20.6 และ สัดสวนของการตรวจไมพบไขพยาธิในผูที่ไมติดพยาธิ (Specificity) รอยละ 96.6 คาทำนายผลบวก รอยละ 54.7 และคาทำนายผลลบรอยละ 85.9

เมื่อเปรียบเทียบผลของวิธี MPSFC กับวิธีเดิมที่ใชในการอางอิง ใหผลขนาดของความสอดคลองกัน (agreement) ในระดับพอใช แสดงใหเห็นวา MPSFC สามารถตรวจพบไขพยาธิใบไมตับในประชาชนกลุมเสี่ยงรายเดียวกันไดตรงกัน แตก็ยังตรวจไมพบในบางรายที่ตรวจพบจากวิธี MKK

อยางไรก็ตาม การตรวจดวย MPSFC เปนวิธีที่มีประโยชน โดยเฉพาะสามารถตรวจพบปรสิตในลำไสกอโรคในระยะตัวออนของพยาธิ และซีสตของโปรโตซัวได สามารถนำมาชวยเสริมในการตรวจวินิจฉัยการติดพยาธิและจำแนกชนิดในระดับชุมชนไดดีขึ้น แตวิธี MKK ยังเปนวิธีการที่เหมาะสมที่สามารถใชในการดำเนินงานควบคุมโรคพยาธิใบไมตับไดดีในภาคสนามระยะยาว ซึ่งมีกระบวนการตรวจที่งาย ประหยัด และชวยในการบริหารจัดการทรัพยากรอยางจำกัดใหเกิดความคุมคาของหนวยงานสาธารณสุขในระดับตำบล

2.3.2 ลักขณาวัลย์ เจริญสุข และคณะ. (2561) ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจอุจจาระเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อปรสิต โดยสุ่มตัวอย่างอุจจาระจากธนาคารเก็บตัวอย่างของภาควิชาปรสิตวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า จำนวน 422 ราย โดยตัวอย่างจะทำการแบ่งเป็น 4 ส่วน เพื่อทำการตรวจอุจจาระด้วย 4 วิธี ประกอบด้วย Simple smear, FECT, Kato และ MPSFC ทำการประเมินประสิทธิภาพของเทคนิค จากค่าความชุก ความไว และค่าทำนายผลลบ

ผลการศึกษาพบว่า FECT มีความไวสูงสุด ร้อยละ 80.2 รองมาคือวิธี Kato, MPSFC และ Simple smear มีความไวร้อยละ 52.4, 30.2 และ 24.5 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าการตรวจด้วย MPSFC มีความไวสูงกว่า วิธี Simple smear

ดังนั้นการตรวจอุจจาระด้วยวิธี FECT มีประสิทธิภาพสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจทั้ง 4 วิธี และ MPSFC ยังไม่แนะนำให้ใช้ทดแทนวิธี FECT และวิธี Kato

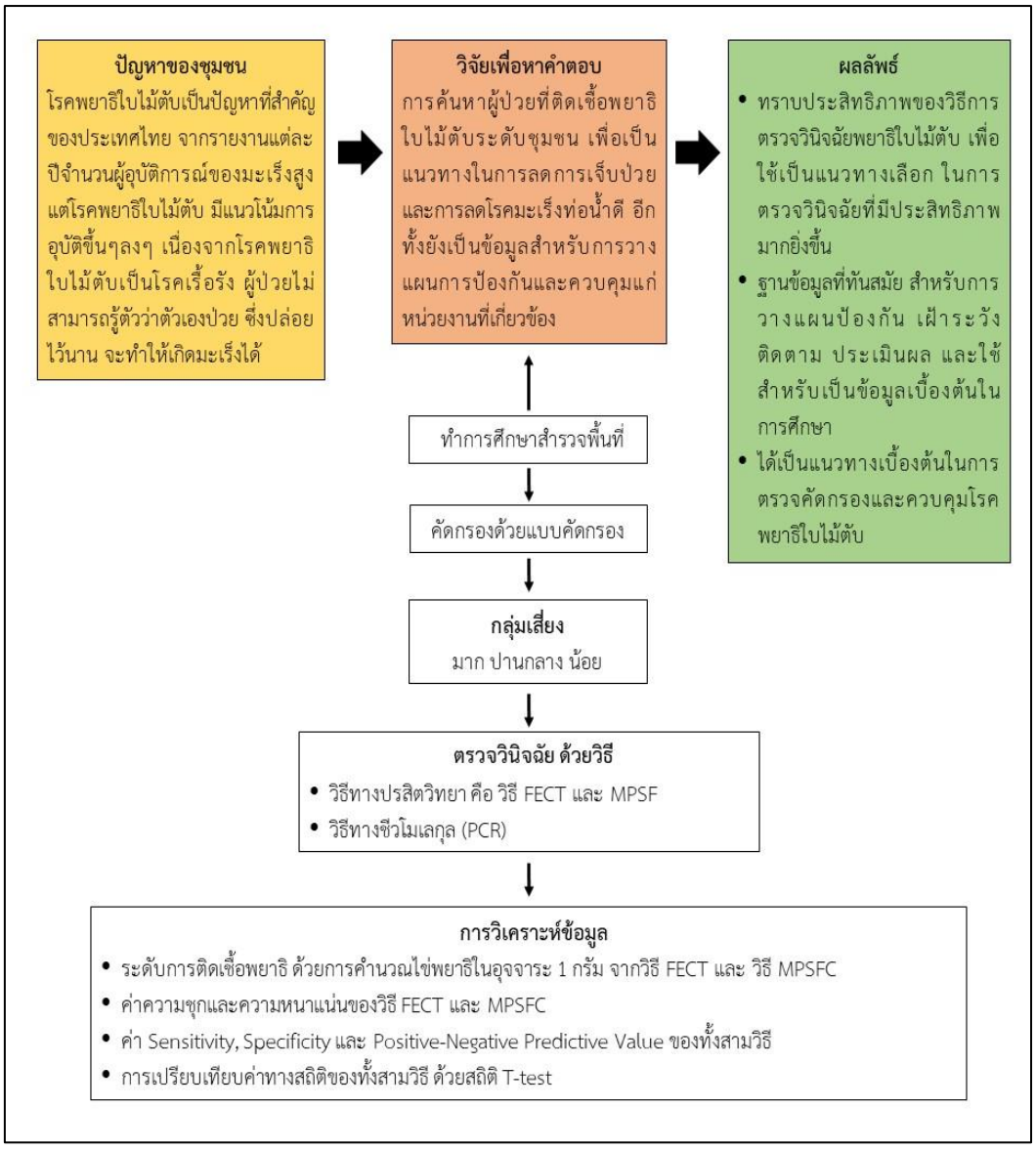
2.3.3 สรญา แก้วพิทูลย์ และคณะ. (2559) ศึกษาผลการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี MPSFT และเปรียบเทียบผลการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ กับ วิธี MKK และวิธี FECT ตรวจอุจจาระที่เก็บมาได้จากชุมชน จำนวน 828 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยการแจกแจงความถี่

ร้อยละ และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแต่ละวิธีด้วย ค่าความไว ค่าความจำเพาะ และค่าทำนายผลลบ

ผลการศึกษา พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี FECT, MPSFT และ MKKT เท่ากับร้อยละ 2.8, 2.5 และ 2.2 ตามลำดับ ค่าความไวของวิธี FECT, PSFT และ KKT เท่ากับร้อยละ 66.7, 55.6 และ 47.6 ตามลำดับ ค่าความจำเพาะของวิธี FECT, MPSFT และ KKT เท่ากับร้อยละ 99.0, 98.9 และ 97.8 ตามลำดับ ค่าความไวของวิธี FECT, MPSFT และ KKT เท่ากับร้อยละ 66.7, 55.6 และ 47.6 ตามลำดับ ค่าทำนายผลลบของวิธี FECT, MPSFT และ KKT เท่ากับร้อยละ 97.2, 97.5 และ 97.8 ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบ วิธี MPSFT มีค่าผลการตรวจไม่แตกต่างจากวิธี FECT (P-value>0.05) MPSFT ดีกว่าวิธี KKT (P-value<0.05) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า วิธี MPSFT เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในห้องปฏิบัติการในการนำมาตรวจวินิจฉัยโรคพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งใช้เวลาและราคาน้อยกว่าวิธี FECT

2.4 กรอบแนวคิดในการดำเนินการวิจัย

จากความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาที่พบในชุมชน ผนวกกับการทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง สามารถนำมาสร้างเป็นกรอบแนวคิดในการดำเนินการวิจัยได้ ดังนี้ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 กรอบแนวความคิดในการดำเนินการวิจัย

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

การวิจัยครั้งนี้ศึกษาเกี่ยวกับการเปรียบเทียบผลการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ ด้วยวิธีทางปรสิตวิทยา คือ วิธี FECT และ MPSFC และวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR) ของประชาชนกลุ่มเสี่ยงในตำบลโคกมั่งงอย และตำบลยางหวาย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ ซึ่งมีขั้นตอนวิธีการศึกษาดังต่อไปนี้

3.1 แหล่งข้อมูล

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงวิเคราะห์แบบภาคตัดขวาง (Cross – section analytical) เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธีทางปรสิตวิทยา และวิธีทางชีวโมเลกุล โดยมีแหล่งข้อมูล ดังนี้

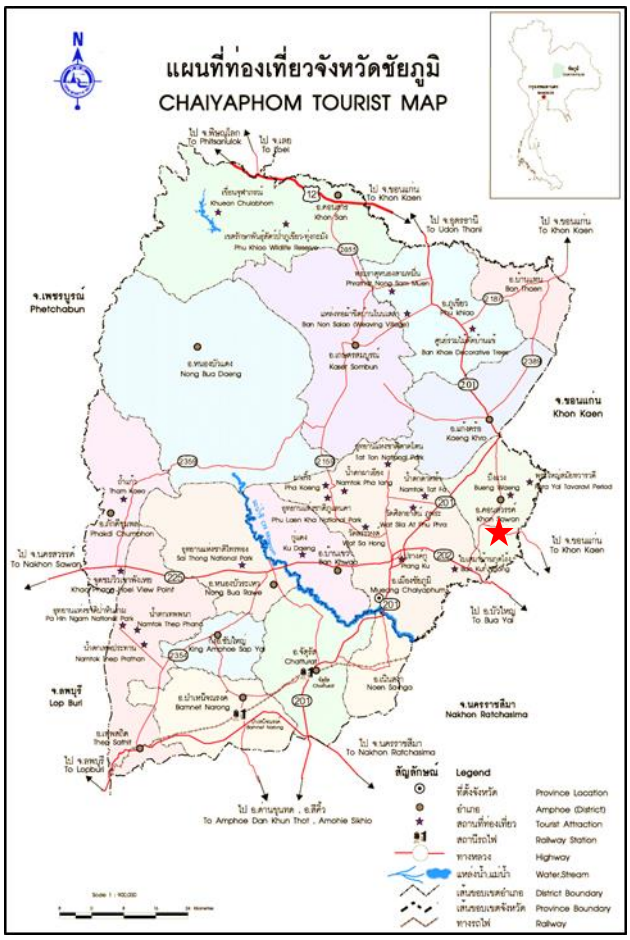
3.1.1 การตรวจคัดกรองกลุ่มเสี่ยงต่อโรคพยาธิใบไม้ตับ ด้วยแบบคัดกรองแบบวาจา จากนั้นใช้ข้อมูลที่ได้จากกลุ่มตัวอย่างประชาชนอายุ 18 – 80 ปี ที่ยินดีเข้าร่วมโครงการวิจัยครั้งนี้

3.1.2 ผลการตรวจอุจจาระของกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธีทางปรสิตวิทยา และวิธีทางชีวโมเลกุล โดยใช้ผลการตรวจวินิจฉัย และการยืนยันผลการตรวจสอบจากนักวิจัย ณ ห้องปฏิบัติการ ศูนย์วิจัยโรคปรสิต สำนักแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2 พื้นที่การศึกษา

สถานที่เก็บข้อมูล คือ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลโคกมั่งงอย และโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลยางหวาย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ

อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ เป็นพื้นที่ราบในฝั่งแม่น้ำชี มีความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 0-300 เมตร และเป็นบริเวณที่ราบที่น้ำสามารถท่วมถึง เป็นบริเวณพื้นที่ราบเรียบ มีความลาดเอียงของพื้นที่อยู่ระหว่างร้อยละ 0-2 ได้แก่ พื้นที่ราบลุ่มแม่น้ำชีในเขตอำเภอเมืองชัยภูมิ อำเภอบ้านเขว้า อำเภอบำเหน็จณรงค์ อำเภอจัตุรัส และอำเภอเนินสง่า (ภาพที่ 5)

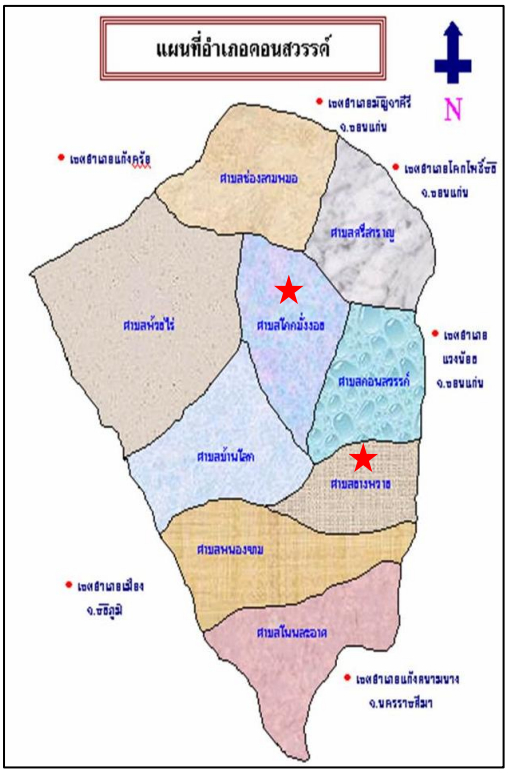


ภาพที่ 5 แผนที่ที่ตั้งพื้นที่การศึกษา อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ
(ที่มา: http://gg.gg/fztqa)

3.2.1 ตำบลโคกมั่งงอย อำเภอคอนสวรรค์ มีสภาพเนื้อที่ราบสูงทางทิศตะวันตกลาดต่ำลงมาทางตอนกลางของตำบล และทิศตะวันออกเป็นพื้นที่ราบลุ่ม โดยมีอาณาเขตติดกับตำบลใกล้เคียง ดังนี้ ทิศเหนือ ติดกับตำบลช่องสามหมอ ตำบลห้วยไร่ อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ ทิศใต้ ติดกับตำบลคอนสวรรค์ ตำบลบ้านโสก อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ ทิศตะวันออก ติดกับตำบลศรีสำราญ อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ และทิศตะวันตก ติดกับตำบลบ้านโสก ตำบลห้วยไร่ อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ (องค์การบริหารส่วนตำบลโคกมั่งงอย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ, สืบค้นจาก: http://www.Kokmungngoi.go.th สืบค้นเมื่อวันที่ 25 พฤศจิกายน 2562) (ภาพที่ 6)

3.2.2 ตำบลบ้านยางหวาย เป็นพื้นที่ราบลุ่มทางตะวันตก และจะลาดต่ำลงมาด้านตะวันออกเฉียงเหนือของตำบล ซึ่งติดกับแม่น้ำชีและลำน้ำก่ำ โดยมีอาณาเขตติดต่อกับตำบลต่าง ๆ ดังนี้ ทิศเหนือ ติดต่อกับตำบลคอนสวรรค์ อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ โดยมีแนวเขตเริ่มต้นจากร่องน้ำลึกลำห้วยโสก ไปทางทิศตะวันออกเฉียงใต้ตามร่องน้ำลึกลำห้วยโสกและลำห้วยน้ำก่ำ ผ่านหนองหลวง ผ่านทุ่งนา สิ้นสุดแนวเขตที่ร่องน้ำลึกแม่น้ำชี ทิศ

ตะวันออก ติดต่อกับตำบลท่านางแนว อำเภอแวงน้อย จังหวัดขอนแก่น โดยมีแนวเขตเริ่มต้นจากร่องน้ำลึกแม่น้ำชี ไปทางทิศใต้ตามร่องน้ำลึกแม่น้ำชี สิ้นสุดแนวเขตที่ร่องน้ำลึกแม่น้ำชีด้านทิศใต้ของสะพานข้ามแม่น้ำชี ทิศใต้ ติดต่อกับตำบลหนองขาม อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ โดยมีแนวเขตเริ่มต้นจากร่องน้ำลึกแม่น้ำชี ไปทางทิศตะวันตก ผ่านป่า ถึงกึ่งกลางลำห้วยน้ำก่ำ ไปตามร่องน้ำลึกลำห้วยยางหวาย สิ้นสุดแนวเขตที่ร่องน้ำลึกลำห้วยยาง และทิศตะวันตก ติดต่อกับตำบลบ้านโสก อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ โดยมีแนวเขตเริ่มต้นจากร่องน้ำลึกลำห้วยยางหวาย ไปทางทิศเหนือตามทุ่งนา ตัดผ่านถนนสายเมืองพล-ชัยภูมิ ไปทางทิศตะวันออกเฉียงเหนือ ผ่านทุ่งนาด้านทิศตะวันออกของบ้านหนองบัวเพวัง ตัดผ่านถนนสายบ้านโสก-บ้านโนนเขวา สิ้นสุดแนวเขตที่ร่องน้ำลึกลำห้วยโสก (องค์การบริหารส่วนตำบลยางหวาย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ, สืบค้นจาก: http://www.yangwai.go.th สืบค้นเมื่อวันที่ 25 พฤศจิกายน 2562) (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 แผนที่ที่ตั้งพื้นที่การศึกษา ตำบลโคกมั่งงอยและตำบลยางหวาย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ (ที่มา: http://gg.gg/fzubb)

3.3 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

3.3.1 ประชากรในการวิจัย คือ ประชาชน ที่มีอายุ 18 – 80 ปี ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิ จำนวน 47,089 คน ข้อมูล ณ เดือน มกราคม 2563

3.3.2 กลุ่มตัวอย่างในการศึกษา คือ ประชาชนที่มีอายุ 18 – 80 ปี และอาศัยอยู่ในเขตพื้นที่แถบบึงละหานนา อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ ที่ยินดีเข้าร่วมโครงการวิจัย จำนวน 30 ราย

3.4 ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่าง

3.4.1 เก็บตัวอย่างอุจจาระ ในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2562

3.4.2 ศึกษาในห้องปฏิบัติการ ในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2563

3.5 วิธีการเก็บตัวอย่าง

3.5.1 จัดทำโครงการและลงพื้นที่ ให้ความรู้ แนะนำวิธีการเก็บตัวอย่างแก่ผู้เข้าร่วมโครงการ โดยมีหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย (ภาคผนวก ก) และแบบคัดกรองความเสี่ยงโรคพยาธิใบไม้ตับ (SUT-OV-001) (ภาคผนวก ข) ให้ผู้เข้าร่วมโครงการบันทึกข้อมูล และมอบกระปุกเก็บตัวอย่าง ป้ายระบุหมายเลขและข้อมูล และแจ้งรับตัวอย่าง

3.5.2 รับตัวอย่าง ทำการตรวจสอบชื่อ หมายเลข และตัวอย่างให้ถูกต้อง จากนั้นนำแช่แข็งในกล่องโฟม โดยทันที และปิดฝากล่องโฟมให้มิดชิดและเรียบร้อย

3.5.3 หากยังไม่ทำการเตรียมตัวอย่าง สามารถย้ายใส่ถุงพลาสติก เก็บแช่แข็งไว้ในตู้แช่แข็ง

3.6 สถานที่ดำเนินการวิจัย

ศูนย์วิจัยโรคปรสิต สังกัดสำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ชั้น 4 ณ อาคารเฉลิมพระเกียรติ 72 พรรษา (F9) ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

3.7 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.7.1 วิธี FECT

1) วัสดุและอุปกรณ์ ได้แก่ หลอดบรรจุตัวอย่าง ขนาด 15 มิลลิลิตร กรวย ผ้ากรอง และไม้เสียบลูกชิ้น

2) สารเคมี ได้แก่ 10% Formalin 0.85% น้ำเกลือ (Normal Saline Solution,NSS) และ Ethyl aceyate

3.7.2 วิธี MPSFC

1) วัสดุและอุปกรณ์ ได้แก่ หลอดบรรจุสารละลาย ในชุดตรวจสอบ 2 ส่วน

2) สารเคมี ได้แก่ 10% Formalin และ TritonX

3.7.3 วิธีทางชีวโมเลกุล

การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างอุจจาระ

1) วัสดุและอุปกรณ์

1.1) ชุดสกัดดีเอ็นเอ (QIAamp DNA Stool kitz)

1.2) เครื่องให้ความร้อนหลอดทดลอง (Heating Block) ยี่ห้อ MS major science รุ่น MD-MINT

1.3) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Thermo SCIENTIFIC รุ่น Sorvall LEGEND MICRO 17

1.4) เครื่องเขย่าสาร (Vortex) ยี่ห้อ Fine vortex FINEPCR

1.5) เครื่องดูดจ่ายสารละลายแบบอัตโนมัติ (autopipette)

1.6) ตู้ดูดควัน (Fume Hood) ยี่ห้อ SK powerable.co รุ่น HF917

1.7) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ สำหรับแช่ตัวอย่าง

1.8) เครื่องตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอ (Spectrophotometer) ยี่ห้อ DeNOVIX รุ่น DS-11 plus

2) สารเคมี

2.1) สำหรับการสกัดดีเอ็นเอ ได้แก่ Inhibit EX Buffer, Protinase K, AL buffer แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (Absolute alcohol), Buffer AW1, Buffer AW2 และน้ำกลั่น (Distilled water)

การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยวิธี PCR การแยกแถบดีเอ็นเอด้วย วิธี agarose gel electrophoresis การอ่านผล และการวิเคราะห์ภาพเจล

1) วัสดุและอุปกรณ์

1.1) เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR machine) ยี่ห้อ G-STORM รุ่น GS482

1.2) ชุดอุปกรณ์แยกสารพันธุกรรมด้วยกระแสไฟฟ้าในแนวนอน (เครื่องจ่ายไฟฟ้า ถาดเตรียมเจล ภาชนะใส่บัฟเฟอร์ หวี และสายไฟ)

1.3) เครื่องถ่ายและวิเคราะห์ภาพเจล. (Gel Documentation EZ Image) ยี่ห้อ BIO RAD รุ่น 1708270

1.4) แผ่นพาราฟิล์ม

2) สารเคมี

2.1) สำหรับการเตรียมสารเคมีในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (ตารางที่ 3)

2.2) สำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (ตารางที่ 4)

2.3) สำหรับเตรียมเจล ได้แก่ 1.5% Gel และ 1% TAE Buffer

2.4) สำหรับการแยกแถบดีเอ็นเอด้วย วิธี agarose gel electrophoresis ได้แก่ มาร์เกอร์ loading dry 1 และ 2 และ 1% TAE Buffer

ตารางที่ 1 การเตรียมสารเคมีในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

สารเคมี	ปริมาตร (µl)
1. 10X Taq Buffer with KCL	2.5
2. dNTP	1
3. Forward (ลำดับเบส คือ 5'- GGG ACC CGA TTA TGT GGT GG -3')	1
4. Reverse (ลำดับเบส คือ 5'- CCC ACT GAA AAC AAG GCT CG -3')	1
5. $MgCl_2$	1.5
6. DNA	1
7. TaqDNA Pololymerase	0.2
8. Distilled water	16.8

ตารางที่ 2 อุณหภูมิที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา
1. Denature*	95	5 นาที
2. Annealing*	55	30 วินาที
3. Extention*	72	30 วินาที
4. Final Extention	72	10 วินาที

หมายเหตุ * ขั้นตอนที่ 1-3 กำหนดทำ 35 รอบ

3.7.4 วิธีเตรียมสไลด์

1) วัสดุและอุปกรณ์

1.1) กล้องจุลทรรศน์

1.2) แผ่นสไลด์ และกระจกปิดสไลด์

1.3) หลอดหยด Pasteur pipette บีกเกอร์ กระบอกตวง และขวด

1.4) ถุงมือพลาสติก ผ้าปิดจมูก และกระดาษทิชชู

1.5) สมุดบันทึก ดินสอ สำหรับบันทึกข้อมูล

2) สารเคมี

2.1) สารละลายไอโอดีน

3.8 วิธีการ

3.8.1 วิธี FECT

1) ระบุหมายเลขตัวอย่างลงข้างหลอดทดลอง จำนวน 2 ชุด ชุดละ 30 ตัวอย่าง

2) ตักตัวอย่าง ประมาณ 3.0 กรัม

3) เติมสารละลาย 0.85% NSS (Normal Saline Solution) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

4) ใช้ไม้คนตัวอย่างและสารละลายให้เข้ากัน

5) กรองผ่านผ้าก๊อซลงในหลอดทดลองใหม่ (ที่ระบุหมายเลขคู่กัน)

6) ปั่น ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง จำนวน 2,500 รอบ/นาที จำนวน 5 นาที

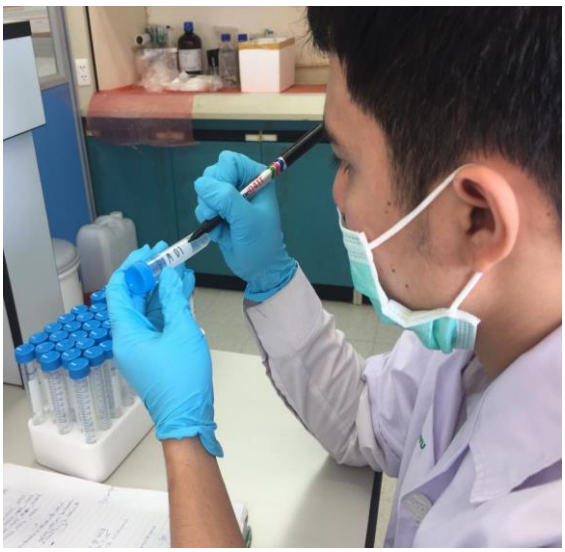
7) เทสารส่วนบนทิ้ง ลงในขวดเก็บสารทิ้ง

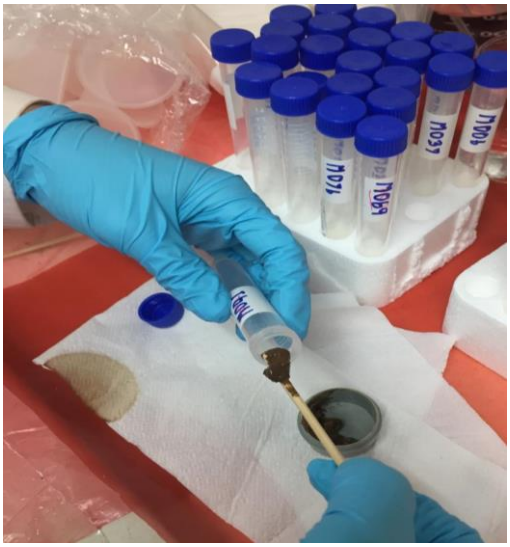
8) เติมสารละลาย 10% Formalin ปริมาตร 7 มิลลิลิตร และ Ethyl aceyate ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

9) ปั่น ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง จำนวน 2,500 รอบ/นาที จำนวน 5 นาที เพื่อ สกัดไขมันและกากอุจจาระออก (สังเกตสารละลายเป็นลักษณะ 4 ชั้น)

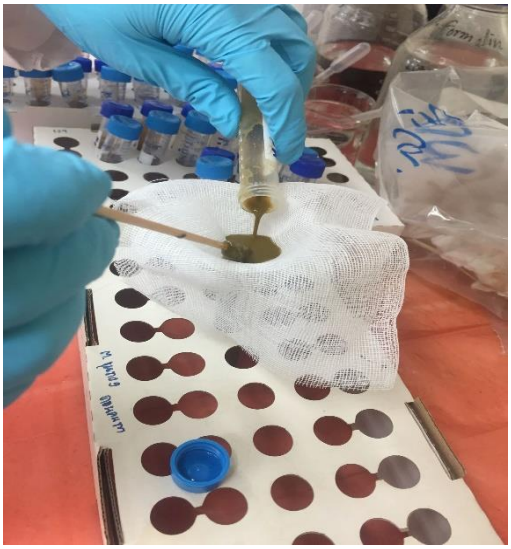
10) ใช้ไม้เขี่ยชั้นที่สองจากด้านข้างหลอดออกแล้วเทสารละลายส่วนบนทิ้ง ลงในขวดเก็บสารทิ้ง

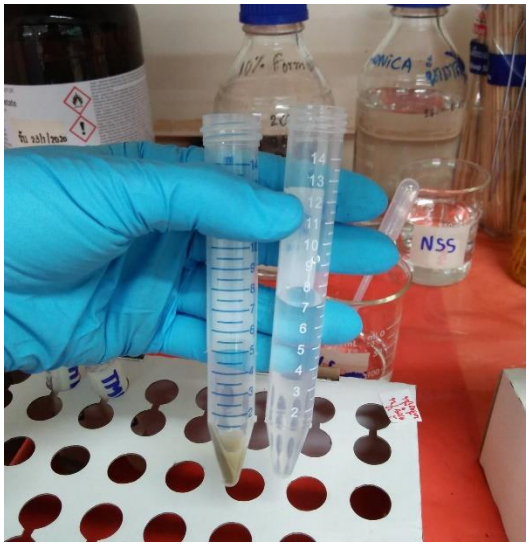
11) เติมสารละลาย 10% Formalin ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

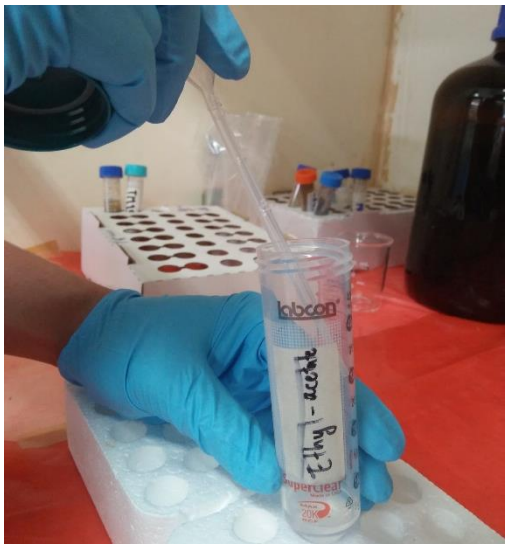




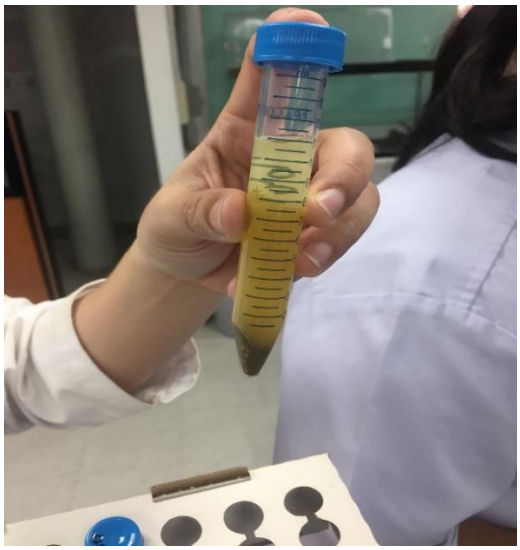
NSS

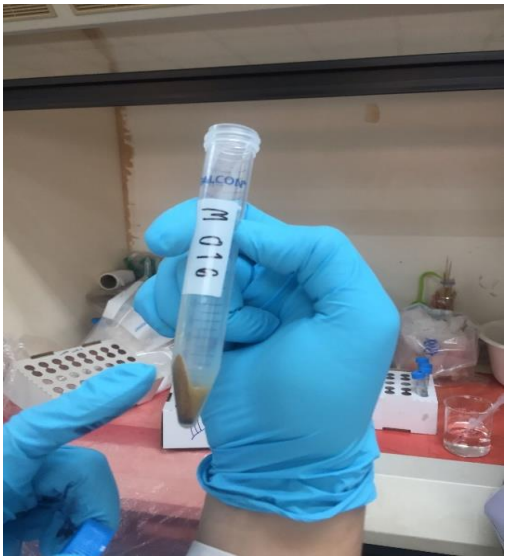


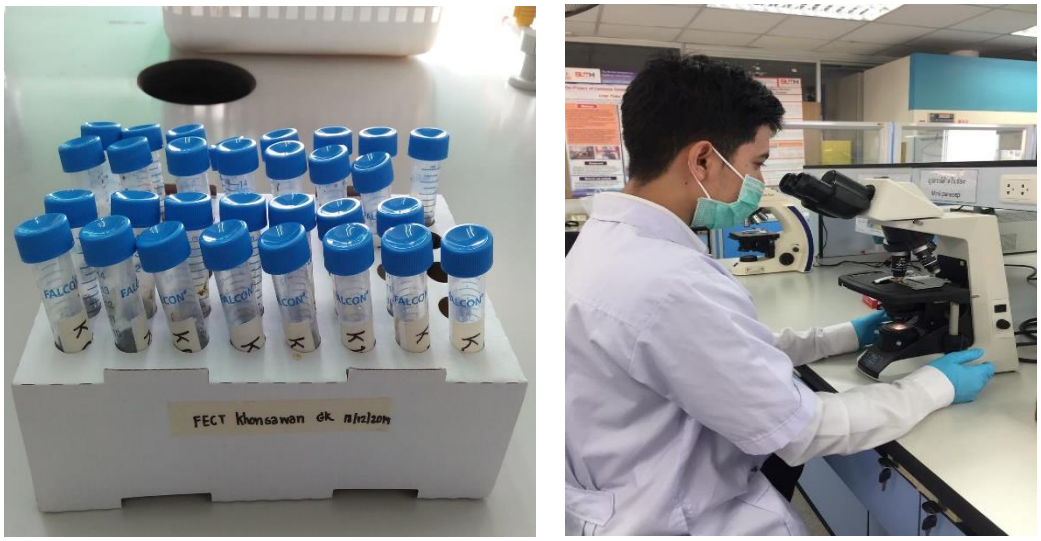




D







ภาพที่ 7 การเตรียมตัวอย่าง ด้วยวิธี FECT

3.8.2 วิธี MPSFC

1) ระบุหมายเลขตัวอย่างลงข้างหลอดตรวจสอบ ในชุดตรวจสอบ ส่วนที่มีสารละลาย

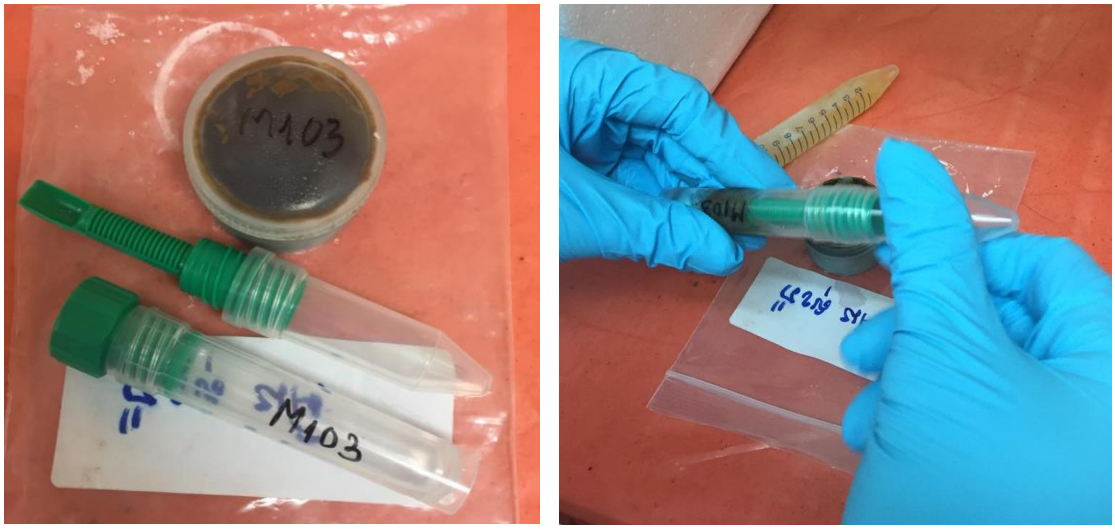
2) หมุนฝาเกลียวออก ซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่ง คือส่วนช้อนสำหรับใช้ตักตัวอย่าง ส่วนที่สอง คือส่วนที่มีสารละลาย 10% Formalin และ TritonX

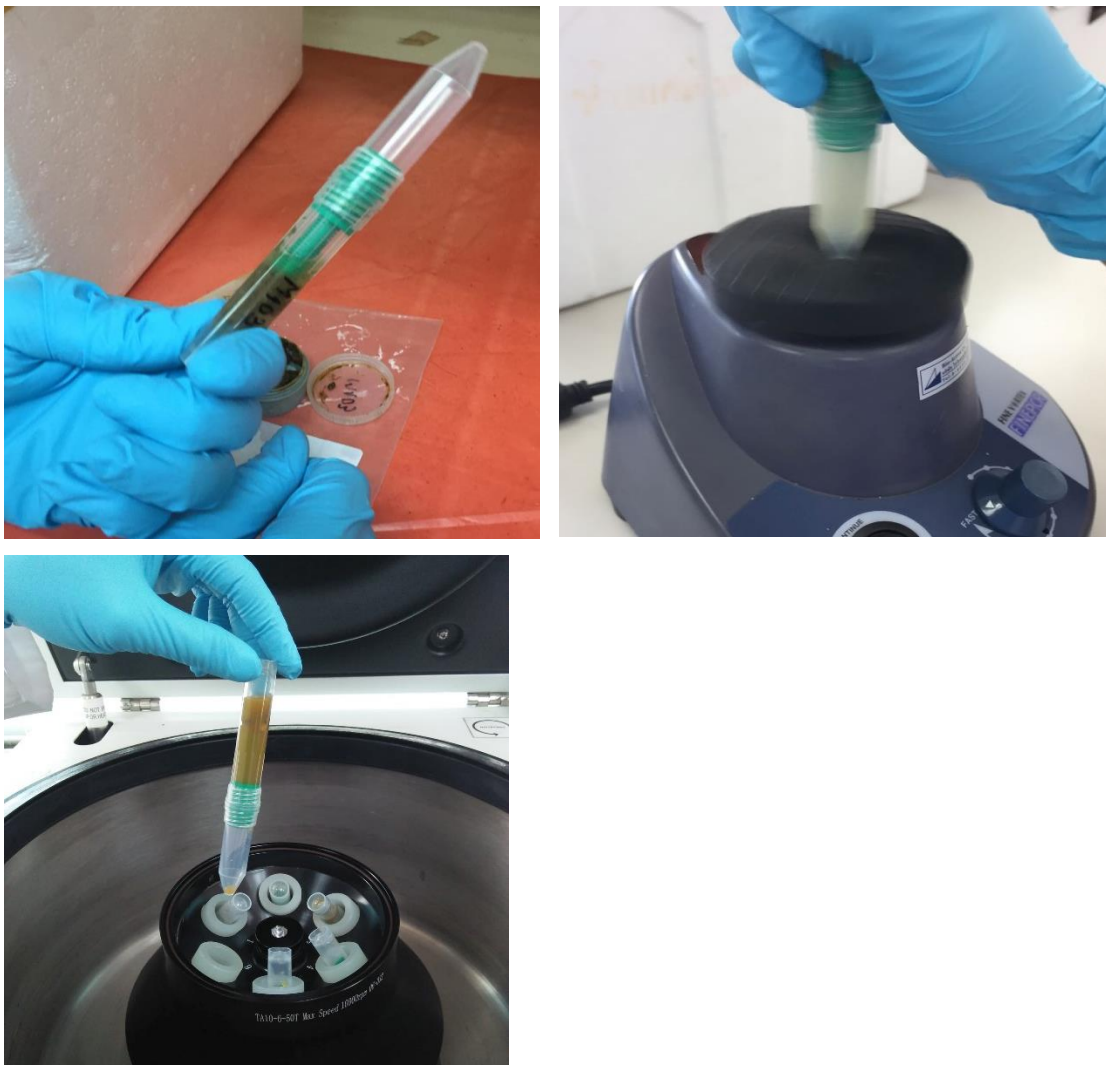
3) ใช้ส่วนที่เป็นช้อนตักตัวอย่าง ประมาณ 1 กรัม

4) นำช้อนใส่ลงไปในสารละลาย และหมุนปิดเกลียวให้แน่น

5) นำมาทำให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร (vortex)

6) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง จำนวน 2,000 รอบ/นาที จำนวน 5 นาที เพื่อให้สิ่งที่มีขนาดเล็ก ดังเช่นไข่พยาธิผ่านการคัดกรอง ตกลงมาอยู่ที่ท้ายหลอดตรวจสอบ





ภาพที่ 8 การเตรียมตัวอย่าง ด้วยวิธี MPSFC

3.8.3 วิธีทางชีวโมเลกุล

การสกัดดีเอ็นเอ

1). ชั่ง stool ประมาณ 0.2 กรัม

2) เติมสารยังยั้ง Inhibit EX Buffer ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3) บ่ม ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องให้ความร้อนหลอดทดลอง (Heating Block) นาน 5 นาที

4) นำไปเขย่าสาร ด้วยเครื่องเขย่าสาร (Vortex) นาน 15 วินาที และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) แบบความเร็วเต็มที่ (full speed) นาน 1 นาที

5) ดูด Supernatant ประมาณ 200 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

6) เติม Protinase K ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และ AL buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

7) นำไปเขย่าสาร ด้วยเครื่องเขย่าสาร (Vortex) นาน 15 วินาที

8) บ่ม (incubate) 70 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องให้ความร้อนหลอดทดลอง (Heating Block) นาน 10 นาที

9) เติมแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (Absolute alcohol) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

10) นำไปเขย่าสาร ด้วยเครื่องเขย่าสาร (Vortex) นาน 15 วินาที และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) แบบความเร็วเต็มที่ (full speed) นาน 1 นาที

11) ดูด Supernatant ใส่ลงในหลอดที่มีตัวกรอง (columntube) และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) แบบความเร็วเต็มที่ (full speed) นาน 1 นาที

12) เทส่วนใสทิ้ง นำคอลลัมที่ไปใส่ในหลอดใหม่ และเติม Buffer AW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร

13) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) แบบความเร็วเต็มที่ (full speed) นาน 1 นาที

14) เทส่วนใสทิ้ง นำคอลัมน์ไปใส่ในหลอดใหม่ และเติม Buffer AW2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร

15) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) แบบความเร็วเต็มที่ (full speed) นาน 1 นาที

16) เทส่วนใสทิ้ง นำคอลลัมที่ไปใส่หลอดใหม่ ขนาด 1.5 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น (Distilled water) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร โดยปล่อยสารตรงๆ

17) บ่มที่อุณหภูมินอกห้อง 1 นาที (อุณภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส)

18) ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) แบบความเร็วเต็มที่ (full speed) นาน 1 นาที

19) เก็บตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้ที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 20 องศาเซลเซียส

ภาพประกอบ

ภาพที่ 9 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างอุจจาระ ด้วย QIAamp DNA Stool kit

การวัดปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ DeNOVIX รุ่น DS-11 plus

1) เปิดเครื่อง แล้วเข้าสู่โปรแกรมการวัดปริมาณดีเอ็นเอ

2) เปิดฝา พร้อมทำความสะอาดจุดที่หยดสาร

3) หยดสารละลายเริ่มต้นเพื่อตั้งค่า (Blank) ปิดฝา และสั่งคำสั่ง

4) เปิดฝา ทำความสะอาด ดูดดีเอ็นเอที่สกัดได้ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร หยดลงจุดหยดสาร ปิดฝา และสั่งคำสั่ง

5) บันทึกค่าการดูดกลืนแสง

ภาพประกอบ

ภาพที่ 10 การวัดปริมาณดีเอ็น

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยวิธี PCR (ภาพที่ 11) ด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR machine) ยี่ห้อ G-STORM รุ่น GS482

3.1) การกำหนด Reaction (ตารางที่ 1) และอุณหภูมิ (ตารางที่ 2)

ภาพประกอบ

ภาพที่ 11 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธี Polymerase Chain reaction (PCR)

การแยกแถบดีเอ็นเอด้วย วิธี agarose gel electrophoresis และอ่านผลและวิเคราะห์ภาพเจล ด้วยเครื่องถ่ายภาพ (Gel Documentation EZ Image) ยี่ห้อ BIO RAD รุ่น 1708270

1) ขั้นตอนการเตรียมเจล ดังนี้

1.1) Gel 1.5% 0.45 กรัม

1.2) 1% TAE Buffer 30 มิลลิลิตร

2) ขั้นตอนการรันดีเอ็นเอ โดยรันให้ช่องที่ 1 คือ มาร์เกอร์ ช่องที่ 2-11 คือ ตัวอย่าง ช่องที่ 12 คือ Positive control และช่องที่ 13 คือ Negative control มีขั้นตอน ดังนี้

1.1) ปิเปตมาร์เกอร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ loading dry1 ปริมาตร 1ไมโครลิตร

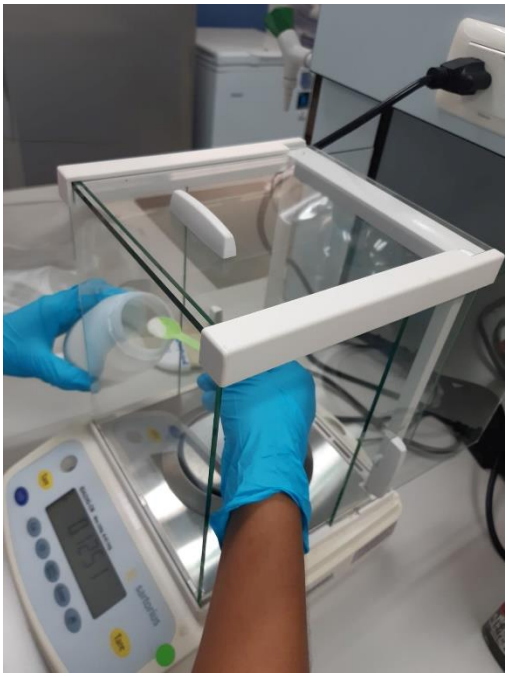
1.2) ปิเปตตัวอย่าง ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ใช้ loading dry1 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ loading dry2 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร

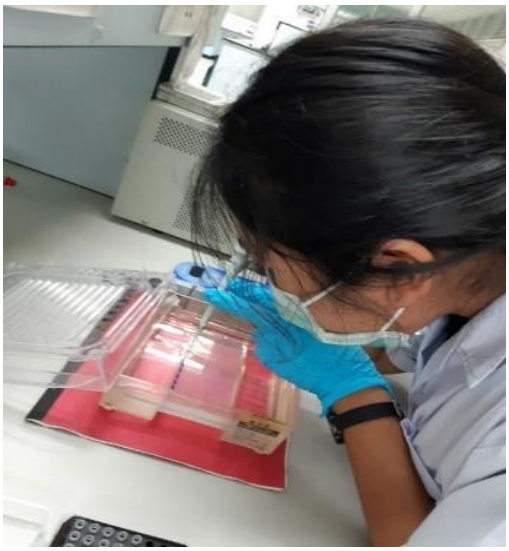
1.3) Positive control และ Negative control ใช้ loading dry1 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ loading dry2 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร

1.4) กำหนดกำลังไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 35 นาที หรือจนกระทั่งแถบดีเอ็นเอหยุดอยู่ที่ สามในสี่ของเจล

1.5) อ่านผลแถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องถ่ายและวิเคราะห์ภาพเจล. (Gel Documentation EZ Image) ยี่ห้อ BIO RAD รุ่น 1708270 และถ่ายภาพ ด้วยโปรแกรม Image Lab 3.0

ภาพประกอบ





ภาพที่ 12 การแยกแถบดีเอ็นเอด้วย วิธี agarose gel electrophoresis และอ่านผลและวิเคราะห์ภาพเจล

3.8.4 วิธีเตรียมสไลด์ เพื่อตรวจสอบเชื้อพยาธิด้วยการนับจำนวน โดยการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีวิธีการ ดังนี้

1) ใช้ Pasteur pipette ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ดูดส่วนผสมเพื่อให้สารละลายและตัวอย่างเข้ากัน จากนั้นดูดขึ้นจนหมด นับจำนวนหยดทั้งหมด และบันทึกข้อมูล

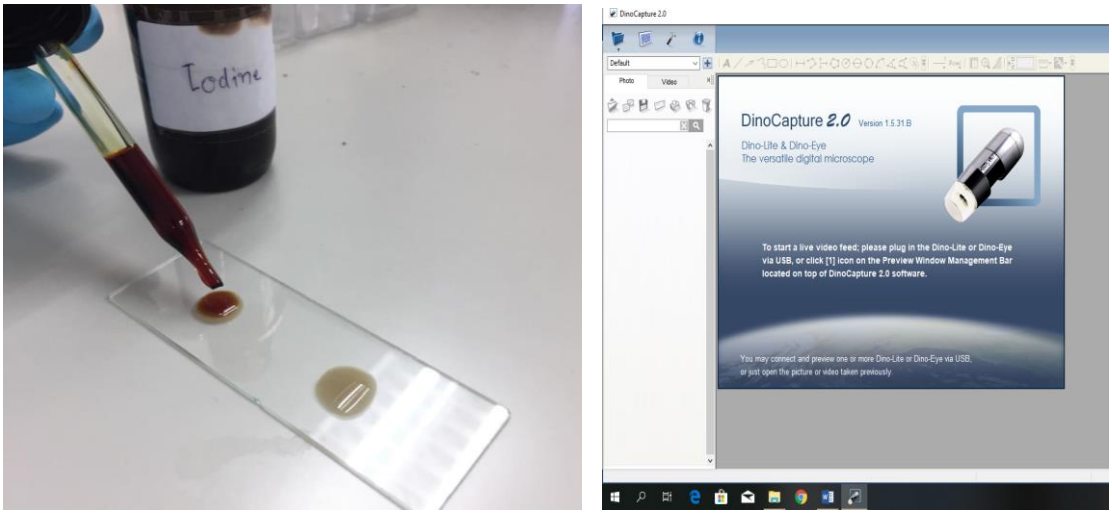
2) หยดสารละลายตัวอย่างลงบนแผ่นกระจกสไลด์ ข้างละ 1หยด

3) หยดสารละลายไอโอดีนลงในสาระละลายตัวอย่างละ 1 หยด

4) ใช้ขอบกระจิกปิดสไลด์ วนสารละลายทั้งสองส่วนให้เข้ากัน และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์นั้น

5) ศึกษาโดยอาศัยการดูลักษณะทางสันฐานวิทยา ขนาด และรูปร่าง ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายเลนส์ใกล้ตาขนาด 10 และ 40 เท่า ตามลำดับ

6) จำแนกชนิดปรสิตที่พบ โดยได้รับความอนุเคราะห์จากเจ้าหน้าที่ที่ศูนย์วิจัยโรคปรสิต สำนักแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และเอกสารอ้างอิง ดังนี้ ATLAS OF MEDICAL PARASITOLOGY (ประยงค์ ระดมยศ และคณะ, 2538) คู่มือปฏิบัติการรายวิชา 266305 ปรสิตวิทยา (รักษิณา พลสีลา และคณะ, 2557) และปรสิตวิทยา สำหรับพยาบาลและสาธารณสุข (ณัฏฐวุฒิ แก้วพิทูลย์, 2560) พร้อมทั้งบันทึกภาพถ่าย ด้วยโปรแกรม DinoCapture 2.0 Version 1.5.31.B



ภาพที่ 13 การเตรียมสไลด์ สำหรับตรวจหาพยาธิ ด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.9 การคำนวณและวิเคราะห์ข้อมูล

3.9.1 วิเคราะห์ความเสี่ยงต่อโรคพยาธิใบไม้ตับ

การตรวจคัดกรองกลุ่มเสี่ยงต่อโรคพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ด้วยแบบสอบถาม (SUT-OV-001) นำคำตอบที่ได้เป็นรายข้อมาให้คะแนน ใช่ = 1 ไม่ใช่ = 0 แล้วมาถ่วงน้ำหนัก ด้วยการคูณค่าคะแนนรายข้อ (ดัดแปลงจาก สรญา แก้วพิทูลย์, 2559) วิเคราะห์ตามลำดับ ดังนี้

ข้อ 1 ค่าคะแนนถ่วงน้ำหนัก 0.2
ข้อ 2 ค่าคะแนนถ่วงน้ำหนัก 0.2
ข้อ 3 ค่าคะแนนถ่วงน้ำหนัก 0.2
ข้อ 4 ค่าคะแนนถ่วงน้ำหนัก 0.2
ข้อ 5 ค่าคะแนนถ่วงน้ำหนัก 0.05
ข้อ 6 ค่าคะแนนถ่วงน้ำหนัก 0.05
ข้อ 7 ค่าคะแนนถ่วงน้ำหนัก 0.05
ข้อ 8 ค่าคะแนนถ่วงน้ำหนัก 0.05

คำนวณผลรวมของคะแนนที่ได้รับการถ่วงน้ำหนักแล้วเป็นรายบุคคล จำแนกระดับความเสี่ยงของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ออกเป็น 4 ระดับ ดังนี้

ไม่เสี่ยง	ระดับความคะแนน 0
เสี่ยงน้อย	ระดับความคะแนน 0.01-0.50
เสี่ยงปานกลาง	ระดับความคะแนน 0.51-0.70
เสี่ยงมาก	ระดับความคะแนน 0.71-1.00

3.9.2 การวิเคราะห์ E.P.G. โดยวิธีการการคำนวณไข่พยาธิในอุจจาระ 1 กรัม (Eggs per gram of feces หรือ E.P.G.)

โดย วิธี MPSFC ใช้อุจจาระ 0.5 กรัม วิธี FECT ใช้อุจจาระ 3 กรัม

ดังนั้นการหาใข่พยาธิต้องหาในปริมาณอุจจาระในแต่ละวิธีก่อน แล้วจึงเทียบกบอุจจาระ 1 กรัม

<u>ตัวอย่าง</u> การหาไข่พยาธิใน 0.5 กรัม (วิธี MPSFC)

ตรวจ 2 หยด พบไข่ทั้งหมด 3 ไข่ มีค่าเฉลี่ยใน 1 หยด เท่ากับ 1.5 ไข่
ถ้าจำนวนหยดทั้งหมด 15 หยด จะมีกี่ไข่ทั้งหมดกี่ไข่

$$\text{ถ้า} \quad 15 \text{ หยด} = \frac{1.5 \times 15}{1}$$

ดังนั้น อุจจาระ 0.5 กรัม **= 22.5 ไข่**

การหาไข่พยาธิใน 1 กรัม โดยการเทียบ 0.5 กรัม =22.5

$$\text{ถ้า} \quad 1 \text{ กรัม} = \frac{22.5 \times 1}{0.5}$$

***ดังนั้นในอุจจาระ 1 กรัม หรือ EPG **= 45 ไข่**

และแปลผลจำนวนไข่พยาธิอุจจาระ 1 กรัม กับระดับความรุนแรงของการติดเชื้อปรสิต (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เกณฑ์ระดับการติดเชื้อปรสิต ด้วยการคำนวณไข่พยาธิในอุจจาระ 1 กรัม (Eggs per gram of feces หรือ E.P.G.) (ที่มา : Sadun EH.,1995)

ระดับการติดเชื้อ	จำนวนไข่พยาธิ (ใบ/อุจจาระ 1 กรัม)
น้อย ไม่รุนแรง (light)	1-999
ปานกลาง (medium)	1,000-9,999
มาก (heavy)	10,000-29,999
รุนแรงมาก (very heavy)	30,000

3.9.3 ความชุก (Prevalence) หมายถึง ร้อยละของประชากรที่พบพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงความสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์

จากสูตร $$\frac{\text{จำนวนรายที่ตรวจพบการติดเชื้อ} \times 100}{\text{จำนวนรายทั้งหมดที่ตรวจ}}$$

3.9.4 ความหนาแน่น (Intensisty) หมายถึง ค่าความหนาแน่นของพยาธิใบไม้ตับที่พบในประชากร 1 ตัว

จากสูตร $$\frac{\text{ผลรวม E.P.G.ของผู้ที่ติดเชื้อปรสิตชนิดนั่นๆ}}{\text{จำนวนผู้ติดเชื้อปรสิตชนิดนั่นๆ}}$$

3.9.5 การวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบผลการวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ โดยใช้ค่าคาดหมาย

1) Sensitivity คือ สัดส่วนของผู้ติดเชื้อที่ทำการทดสอบแล้วได้ผลออกมาเป็น positive

การคำนวณจากข้อมูลในตาราง Sensitivity จะมีค่าเท่ากับ true positive disease (a/a+c) หมายความว่า การทดสอบนี้มีความสามารถในการค้นหาผู้ติดเชื้อได้ดีเพียงใด ยิ่งมีค่า Sensitivity มากก็ยิ่งมีความสามารถมากในการค้นหาผู้ติดเชื้อได้

2) Specificity คือสัดส่วนของผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อที่ทำการทดสอบแล้วได้ผลออกมาเป็น negative

การคำนวณจากข้อมูลในตาราง Specificity จะมีค่าเท่ากับ true negative / all no disease (d/b+d) หมายความว่า การทดสอบนี้มีความสามารถในการค้นหาผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อได้ดีเพียงใด ยิ่งมีค่า Specificity มากก็ยิ่งมีความสามารถมากในการค้นหาผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อได้

3) Positive Predictive Value (PPV) คือสัดส่วนของผู้ที่ทำการทดสอบได้ผลเป็น positive แล้วเป็นโรคจริง

การคำนวณจากข้อมูลในตาราง PPV จะมีค่าเท่ากับ true positive / all positive (a/a+b) หมายความว่าผู้ที่ทำการทดสอบได้ผล positive มีโอกาสเป็นโรคจริงมากน้อยเพียงใด ยิ่งมีค่า PPV มาก เมื่อได้ผล positive ก็ยิ่งมีโอกาสเป็นโรคมาก

4) Negative Predictive Value (NPV) คือสัดส่วนของผู้ที่ทำการทดสอบได้ผลเป็น negative แล้วไม่ได้ติดเชื้อจริง

การคำนวณจากข้อมูลในตาราง NPV จะมีค่าเท่ากับ true negative / all negative (d/c+d) หมายความว่า ผู้ที่ทำการทดสอบได้ผล negative มีโอกาสไม่เป็นโรคจริงมากน้อยเพียงใด ยิ่งค่า NPV มาก เมื่อได้ผล negative ก็ยิ่งมีโอกาสไม่เป็นโรคมาก

ตารางที่ 4 การตรวจวินิจฉัยจากการตรวจมาตรฐาน (Gold standard)

	Disaese	**No Disaese**	
Test positive	True positive (a)	False positive (b)	all positive (a+b)
Test negative	False negative (c)	True negative (d)	all negative (c+d)
	all disease (a+c)	all No disease (b+d)	Total (a+b+c+d)

8.6 การวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบผลการวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ โดยใช้สถิติ t-test

การวิเคราะห์ผลการตรวจวินิจฉัยโรคพยาธิใบไม้ตับ เพื่อพิจารณาว่าข้อมูลการตรวจวินิจฉัยทั้งสามวิธี เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันระหว่างคู่ มีความแตกต่างกันหรือไม่ จาก Paired Sample Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

บทที่ 4
ผลการศึกษา

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจอุจจาระ เพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของประชาชนกลุ่มเสี่ยง อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ จากจำนวนกลุ่มตัวอย่าง 30 ราย ระหว่างเดือนเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2563 ซึ่งคณะผู้วิจัยได้กำหนดแนวทางในการนำเสนอผลการศึกษาเป็นประเด็นต่าง ๆ ดังนี้

4.1 ผลการตรวจวัดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverini*)

การศึกษาผลการตรวจวัดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ในเขตพื้นที่อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ แบ่งระดับความเสี่ยงออกเป็น 4 ระดับ พบว่า มีระดับความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ระดับความเสี่ยงปานกลาง ร้อยละ 40.0 ระดับความเสี่ยงน้อย ร้อยละ 33.3 ระดับความเสี่ยงมาก ร้อยละ 23.3 และไม่มีความเสี่ยง ร้อยละ 3.3 ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการตรวจวัดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverini*)

ระดับความเสี่ยง	จำนวน (N=30)	ร้อยละ
ไม่เสี่ยง	1	3.3
เสี่ยงน้อย	10	33.3
เสี่ยงปานกลาง	12	40.0
เสี่ยงมาก	7	23.3

4.2 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverini*)

4.2.1 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธี FECT

ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ ชนิด *O. viverrini* ระยะไข่ จำนวน 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 16.7 และตรวจไม่พบพยาธิใบไม้ตับ จำนวน 25 ราย คิดเป็นร้อยละ 83.3 (ตารางที่ 6)

โดยผู้ติดเชื้อ จำนวน 5 ราย ได้แก่ รหัส K021, Y007, Y008, Y010 และ Y026 ผู้ที่ติดเชื้อมากที่สุดคือรหัส Y026 พบจำนวน 40.83 ต่ออุจจาระ 1 กรัม รองลงมาคือ รหัส K021, Y008, Y010 และ Y007 พบจำนวน 11.33, 8.50, 4.17 และ 3.50 ต่ออุจจาระ 1 กรัม ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ระดับการติดเชื้อปรสิต (ตารางที่ 3) แล้วพบว่าทั้ง 5 รายมีการติดเชื้อปรสิตอยู่ในระดับน้อย (1-999 ใบ/อุจจาระ 1 กรัม) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลการตรวจหาไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ด้วยวิธี FECT

FECT	จำนวน (N=30)	ร้อยละ
ไม่พบ *O. viverrini*	25	83.3
พบ *O. viverrini*	5	16.7
รวม	30	100.0

ตารางที่ 7 ผลการคำนวณไข่พยาธิ ในอุจจาระ 1 กรัม ด้วยวิธี FECT

ลำดับ	รหัส	จำนวนหยด	น้ำหนัก Feces	ค่าเฉลี่ยจำนวนที่พบ	จำนวนหยด/ Feces 1 กรัม	E.P.G.
1	K021	34	3.00	1.0	11.33	11.33
2	Y007	21	3.00	0.5	7.00	3.50
3	Y008	51	3.00	0.5	17.00	8.50
4	Y010	25	3.00	0.5	8.33	4.17
5	Y026	35	3.00	3.5	11.67	40.83

4.2.2 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธี MPSFC

ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ ชนิด *O. viverrini* จำนวน 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 10.0 และตรวจไม่พบพยาธิใบไม้ตับ จำนวน 27 ราย คิดเป็นร้อยละ 90.0 (ตารางที่ 8)

โดยผู้ติดเชื้อ จำนวน 3 ราย ได้แก่ รหัส K021, Y008 และ Y026 ผู้ที่ติดเชื้อมากที่สุดคือรหัส Y026 พบจำนวน 92.00 ต่ออุจจาระ 1 กรัม รองลงมาคือ รหัส K021 พบจำนวน 30.00 ต่ออุจจาระ 1 กรัม และน้อยที่สุดคือ Y008 พบจำนวน 14.00 ต่ออุจจาระ 1 กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ระดับการติดเชื้อปรสิต (ตารางที่ 3) แล้วพบว่าทั้ง 3 รายมีการติดเชื้อปรสิตอยู่ในระดับน้อย (1-999 ใบ/อุจจาระ 1 กรัม) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลการตรวจหาไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ด้วยวิธี MPSFC

MPSFC	จำนวน (N=30)	ร้อยละ
ไม่พบ *O. viverrini*	27	90.0
พบ *O. viverrini*	3	10.0
รวม	30	100.0

ตารางที่ 9 ผลการคำนวณไข่พยาธิ ในอุจจาระ 1 กรัม ด้วยวิธี MPSFC

ลำดับ	รหัส	จำนวนหยด	น้ำหนัก Feces	ค่าเฉลี่ยจำนวนที่พบ	จำนวนหยด/ Feces 1 กรัม	E.P.G.
1	K021	15	0.5	1.0	30.00	30.00
2	Y008	14	0.5	0.5	28.00	14.00
3	Y026	23	0.5	2.0	46.00	92.00

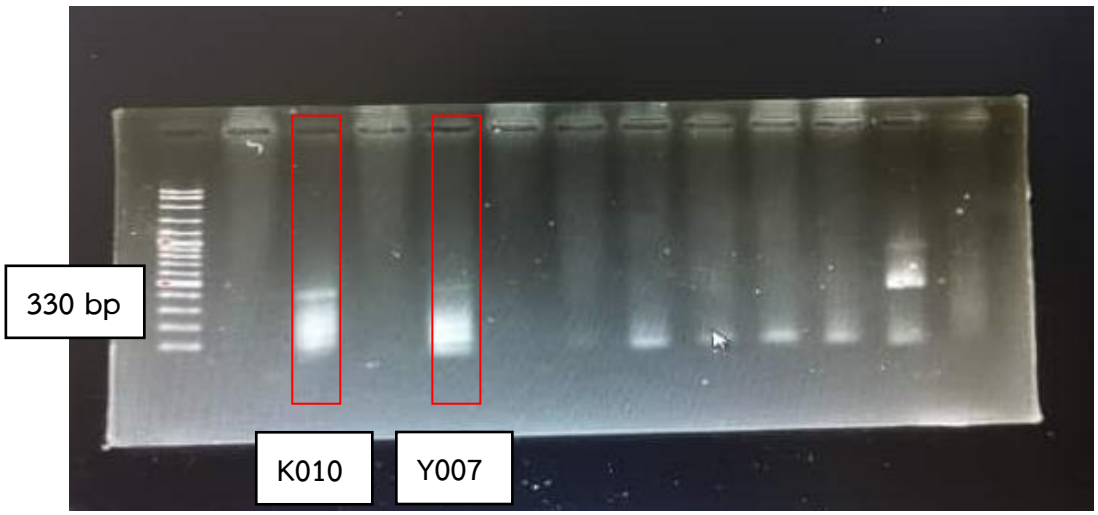
4.2.3 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR)

ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับ ชนิด *O. viverrini* จำนวน 2 ราย (ภาพที่ 14) คิดเป็นร้อยละ 6.66 และตรวจไม่พบพยาธิใบไม้ตับ จำนวน 28 ราย คิดเป็นร้อยละ 93.3 (ตารางที่ 10)

โดยผู้ติดเชื้อ จำนวน 2 ราย ได้แก่ รหัส K010 และ Y007 (ตารางที่ 10) เมื่อตรวจสอบพบว่าผู้ติดเชื้อรหัส K010 เป็นรายที่ถูกตรวจสอบด้วยวิธี FECT และ MPSFC แล้วพบว่า ไม่พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ส่วนผู้ติดเชื้อรหัส Y007 พบว่าติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเช่นเดียวกับวิธี FECT เท่านั้น

ตารางที่ 10 ผลการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR)

PCR	จำนวน (N=30)	ร้อยละ
ไม่แสดงแถบดีเอ็นเอ	28	93.33
แสดงแถบดีเอ็นเอ	2	6.66
รวม	30	100.0



ภาพที่ 14 การแสดงแถบดีเอ็นเอจากการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR)

4.3. ผลการศึกษาความชุกและความหนาแน่นของพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*)

จากการตรวจอุจจาระทั้งหมดจำนวน 30 ตัวอย่าง พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ด้วยวิธี FECT และ MPSFC จำนวน 5 และ 3 ราย ตามลำดับ มีค่าความชุกและความหนาแน่นด้วยวิธี FECT เท่ากับ ร้อยละ 16.66 และร้อยละ 13.66 ตามลำดับ วิธี MPSFC มีค่าเท่ากับร้อยละ 10.00 และร้อยละ 45.33 ตามลำดับ

4.4 ผลการเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ โดยใช้ค่าคาดหมาย

จากผลการศึกษาการพบพยาธิใบไม้ตับของแต่ละวิธีมาเปรียบเทียบด้วยการวิเคราะห์หาค่าคาดหมาย ได้แก่ Sensitivity (ความไว) , Specificity (ความจำเพาะ) , Positive Predictive Value (PPV) (ผลติดเชื้อจริง และเป็นโรคจริง) และ Negative Predictive Value (NPV) (ผลไม่ได้ติดเชื้อจริง และไม่เป็นโรคจริง) พบว่า ค่า Sensitivity พบสูงที่สุดในวิธี MPSFC เท่ากับร้อยละ 100.0 รองลงมาคือวิธี PCR และ FECT เท่ากับร้อยละ 50.0 และ 20.0 ตามลำดับ ค่า Specificity พบสูงที่สุดในวิธี FECT เท่ากับร้อยละ 96.00 รองลงมาคือวิธี MPSFC และ PCR เท่ากับร้อยละ 92.0 และ 85.7 ค่า Positive Predictive Value (PPV) พบสูงที่สุดในวิธี MPSFC เท่ากับร้อยละ 60.00 รองลงมาคือวิธี FECT และ PCR เท่ากับร้อยละ 50.0 และ 20.0 ตามลำดับ และ ค่า Negative Predictive Value (NPV) พบสูงที่สุดในวิธี MPSFC เท่ากับร้อยละ 100.0 รองลงมาคือวิธี PCR และ FECT เท่ากับร้อยละ 96.0 และ 85.7 ตามลำดับ

ดังนั้นการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี MPSFC จึงมีประสิทธิภาพสูงสุดในการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับจากอุจจาระ

ทั้งนี้เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี PCR พบว่ามีการแสดงแถบดีเอ็นเอขึ้น 2 ราย โดย 1 ราย เป็นรายที่พบด้วยวิธี FECT เช่นเดียวกัน และอีก 1 ราย พบว่าไม่ถูกพบด้วยวิธี FECT และ MPSFC

ดังนั้นวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR) จึงเป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูงในการตรวจสอบหาพยาธิใบไม้ตับเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 11 ผลการเปรียบเทียบการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ทั้งสามวิธี

วิธีการตรวจสอบ	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
FECT	20.0	96.0	50.0	85.7
MPSFC	100.0	92.0	60.0	100.0
Molecular (PCR)	50.0	85.7	20.0	96.0

4.5 ผลการพิจารณาการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ โดยใช้สถิติ t-test

เมื่อนำผลการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ทั้งสามวิธีมาคำนวณทางสถิติ พบว่าทั้งสามวิธี มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 12 ผลการพิจารณาวิธีการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ทั้งสามวิธี

คู่การทดสอบ	95% Confidence Interval of the Difference	t	Sig
PCR – MPSFC	-0.18786 - 0.12120	-.441	0.662
PCR - FECT	-0.25033 - 0.05033	-1.361	0.184
MPSFC - FECT	-0.16140 - 0.02807	-1.439	0.161

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

5.1 สรุปผลการศึกษา

5.1.1 ผลการตรวจวัดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*)

ประชากรทั้งสิ้น 30 ราย มีระดับความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ อยู่ในระดับปานกลาง คิดเป็น ร้อยละ 40.0

5.1.2 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*)

1.2.1 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธี FECT พบผู้ติดเชื้อพยาธิไม้ตับ จำนวน 5 ราย ได้แก่ รหัส K021, Y007, Y008, Y010 และ Y026

1.2.2 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธี MPSFC พบผู้ติดเชื้อพยาธิไม้ตับ จำนวน 3 ราย ได้แก่ รหัส K021, Y010 และ Y026

1.2.3 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล (PCR) พบผู้ติดเชื้อพยาธิไม้ตับ จำนวน 2 ราย ได้แก่ รหัส K010 และ Y007

5.1.3 ผลการศึกษาความชุกและความหนาแน่นของพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*)

พบว่า ค่าความชุกและความหนาแน่นด้วยวิธี FECT เท่ากับ ร้อยละ 16.66 และร้อยละ 13.66 ตามลำดับ วิธี MPSFC มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 10.00 และร้อยละ 45.33 ตามลำดับ

5.1.4 ผลการเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*)

จากการเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับด้วยค่าคาดหมาย ได้แก่ Sensitivity (ความไว), Positive Predictive Value (PPV) (ผลติดเชื้อจริง และเป็นโรคจริง) และ Negative Predictive Value (NPV) (ผลไม่ได้ติดเชื้อจริง และไม่เป็นโรคจริง) พบว่าวิธี MPSFC มีค่าคาดหมายดังกล่าวสูงกว่าทั้งสองวิธี ค่า Specificity (ความจำเพาะ) พบสูงในวิธี FECT

5.2 อภิปรายผลการศึกษา

การตรวจพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) โดยวิธี MPSFC ในงานวิจัยนี้นำมาใช้ในการวินิจฉัย การศึกษาครั้งนี้มีความคล้ายคลึงที่เคยศึกษาในจังหวัดนครราชสีมา โดย สรญา แก้วพิทูลย์ และคณะ พบว่าพยาธิใบไม้ตับ โดยการตรวจด้วยวิธี MPSFC โดยวิธี MPSFC ใช้งานง่าย มีการทำงานในระบบปิด มีอันตรายน้อย ขณะที่วิธี FECT มีความอันตรายจากสารเคมี Useh *et al*., 2011 รายงานว่าวิธี MPSFC มีประสิทธิภาพในการตรวจพบปรสิต เนื่องจากเทคโนโลยีและความปลอดภัยที่เรียบง่ายและปลอดภัย

การศึกษาการตรวจพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) โดยวิธี MPSFC เป็นวิธีที่ง่าย ทำในระบบปิด มีความปลอดภัยในการปฏิบัติ แต่มีราคาแพง มีผู้ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธี MPSFC กับวิธีการตรวจอื่นๆ เช่นการศึกษาของ สรญา แก้วพิทูลย์ และคณะ ตรวจพบว่า วิธี MPSFC มีค่าความไวสูง

กว่าการตรวจด้วยวิธีอย่างง่ายอีกด้วย ดังนั้นวิธี MPSFC จึงเป็นอีกตัวเลือกหนึ่งในการนำไปใช้ตรวจหาพยาธิใบไม้ตับได้ อย่างไรก็ตาม วีระชัย และชัยรัตน์ (2552) รายงานว่าวิธีการตรวจทางปรสิตวิทยาเหล่านี้ล้วนแล้วแต่ ยังคงใช้ตรวจหาเชื้อพยาธิต่อไปแต่มีความจำเป็นอย่างมากที่ต้องอาศัยทักษะและความชำนาญ เพราะอาจเกิดความผิดพลาดได้หากผู้ตรวจไม่มีความชำนาญเพียงพอ เช่นเดียวกับ Sithithaworn และคณะ (1991) รายงานว่าวิธีการตรวจทางปรสิตวิทยาเหล่านี้ต้องอาศัยความชำนาญในการจำแนกความแตกต่างของลักษณะไข่พยาธิ รวมทั้งความไวในการตรวจวินิจฉัยยังค่อนข้างต่ำ โดยเฉพาะในรายที่มีการติดเชื้อปริมาณน้อย อาจตรวจไม่พบไข่ในอุจจาระของผู้ติดเชื้อ

เมื่อเปรียบเทียบค่าคาดหมาย จากผลการศึกษาด้วยวิธี FECT, MPSFC และ PCR พบว่าวิธีที่มีค่า Sensitivity สูงที่สุดคือ วิธี MPSFC วิธีที่มีค่า Specification สูงที่สุดคือ วิธี FECT วิธีที่มีค่า PPV และ NPV สูงที่สุดคือ วิธี MPSFC สอดคล้องกับการศึกษาของ Pasuralertsakul และคณะ (2005) และ Sithithaworn และคณะ (1991) พบว่า วิธี MPSFC ให้ความไวสูงที่สุดเปรียบเทียบกับ FECT และ Piangjai และคณะ (2000) พบว่าการตรวจด้วยวิธี FECT ไม่ได้ให้ค่าความไวสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ แต่ไม่สอดคล้องกับ Kaewkes และคณะ (2003); ลักขณาวัลย์ เจริญสุข และคณะ (2561) รายงานว่าการตรวจปรสิตด้วยวิธี FECT ให้ค่าความไวสูงกว่าวิธี MPSFC

ทั้งนี้วิธี FECT ถูกใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการเปรียบเทียบวิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งจากการศึกษาก็พบว่าวิธี FCET เป็นวิธีที่มีค่าความไวในการตรวจสูง โอกาสการตรวจพบได้ง่าย แต่มีข้อเสียคือมีขั้นตอนและมีอุปกรณ์ที่ยุ่งยาก มีการใช้สารเคมี (Ethyl Acetate และ Formalin Solution) ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้ทำการตรวจ

สำหรับวิธีทางชีวเมกุล (PCR) พบว่ามีค่าคาดหมายน้อยที่สุดกว่าทั้งสองวิธีอย่างเห็นได้ชัด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Stensvold และคณะ (2006) และ Wongratanacheewin และคณะ (2002) ที่ได้นำวิธี PCR ดังกล่าวไปใช้เพื่อตรวจวินิจฉัยตัวอย่างอุจจาระของผู้ติดเชื้อพยาธิ *O. viverrini* จากผลการศึกษาพบว่า ให้ผลบวกน้อยกว่าวิธีทางปรสิตวิทยา (FECT และ Kato thick smear) อย่างเห็นได้ชัด แต่อย่างไรก็ตามวิธีทางชีวเมกุล (PCR) สามารถตรวจพบการติดเชื้อในบางรายที่ไม่สามารถตรวจพบไข่พยาธิ คือ รหัส K010 สามารถตรวจพบการแสดงแถบดีเอ็นเอขึ้น ในขณะที่ไม่สามารถตรวจพบด้วยวิธี FECT และ MPSFC หรือวิธีทางปรสิตวิทยาได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Stensvold และคณะ (2006); Lovis และคณะ (2009) ทั้งนี้ผลการศึกษาโดยวิธี PCR ไม่สอดคล้องกับวิธี FECT และ MPSFC หรือวิธีมาตรฐานทางปรสิตวิทยานั้น อาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุ เช่น การตรวจวินิจฉัยชนิดของไข่พยาธิผิดพลาด วิธีการสกัดดีเอ็นเอจากอุจจาระยังไม่ดีพอ ทำให้อาจมีสารปนเปื้อน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Wilson และคณะ (1997) รายงานว่าวิธีการสกัดดีเอ็นเออาจมีบางขั้นตอนที่มีสารปนเปื้อน ซึ่งสารปนเปื้อนนี้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาของ PCR ได้ เนื่องจากในอุจจาระมีตัวยับยั้ง (inhibitor) การเกิดปฏิกิริยา PCR อยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอจึงเป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญในการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี PCR

อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของวิธี MPSFC เป็นวิธีที่ปลอดภัย เนื่องจากเป็นระบบปิด ใช้เวลาสั้น ขั้นตอนไม่ซับซ้อน ทั้งนี้จึงมีความจำเป็นในการศึกษาเพิ่มเติมในประเด็นของความถูกต้อง ความน่าเชื่อถือ ความสะดวก ความปลอดภัย ระยะเวลา และค่าใช้จ่าย จากการศึกษาของ Zeeshan *et*

al., 2011 รายงานว่าเวลาในการตรวจด้วยวิธี MPSFC เท่ากับ 6.03 นาที/ตัวอย่าง วิธี FECT เท่ากับ 12 นาที/ตัวอย่าง เมื่อมีการคำนวณค่าใช้จ่าย พบว่าค่าใช้จ่ายต่อวิธี MPSFC เท่ากับ 0.9 เหรียญสหรัฐ/ตัวอย่าง และวิธี FECTเท่ากับ 0.30 เหรียญสหรัฐ/ตัวอย่าง สำหรับวิธีทางชีวโมเลกุล เป็นที่ยอมรับกันว่าเป็นอีกวิธีมาตรฐานในการตรวจสอบ ให้ผลที่มีความแม่นยำสูง สามารถลดความผิดพลาดจากการวินิจฉัยโดยการดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ อีกทั้งยังสามารถระบุสายพันธุ์ของเชื้อได้ แต่ก็ยังมีปัญหาในด้านค่าใช้จ่ายสูง และใช้ระยะเวลานานในการตรวจสอบ (Wawrzyniak I *et al*., 2013)

ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) นั้นยังยึดถือวิธีทางปรสิตวิทยาเป็นวิธีมาตรฐาน แต่วิธีการทางชีวโมเลกุลก็สามารถช่วยให้การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) และจำแนกการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับออกจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ชนิดอื่นๆ ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำเช่นเดียวกัน โดยการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธีทางปรสิตวิทยา ได้แก่ วิธี FECT และวิธี MPSFC ซึ่งมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน สมารถเลือกใช้ตามความเหมาะสมในสถานที่ ระยะเวลา งบประมาณ รวมถึงความยอมรับได้อีกด้วย และวิธีทางชีววิทยาระดับโมเลกุล ซึ่งสามารถระบุสายพันธ์อย่างชัดเจน มีความสำคัญในการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยให้มีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น โดยการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ด้วยวิธี FECT, MPSFC และ ชีวโมเลกุล (PCR) สามารถเป็นประโยชน์ในแง่การรักษา ควบคุม และป้องกันการระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับในประชากรกลุ่มเสี่ยง จังหวัดชัยภูมิ และพื้นที่กลุ่มเสี่ยงอื่นๆ ได้ต่อไปในอนาคต

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธี FECT มีความเสี่ยงในการรับสารเคมีที่เป็นอันตรายเข้าสู่ร่างกาย ในการปฏิบัติจึงต้องมีความระมัดระวังและสร้างความปลอดภัยแก่ตนเอง

5.3.2 การตรวจหาไข่พยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องได้รับคำแนะนำหรือการยืนยันจากผู้เชี่ยวชาญ รวมทั้งควรได้รับการฝึกฝนจนชำนาญ ในการสังเกตลักษณะของไข่พยาธิ การจำแนกพยาธิออกจากสิ่งปฏิกูล การจำแนกชนิดพยาธิใบไม้ตับออกจากพยาธิลำไส้ชนิดอื่นๆ

5.3.3การสกัดดีเอ็นเอ ควรปฏิบัติด้วยความระมัดระวัง และความเข้าใจในขั้นตอนการปฏิบัติการ สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ

5.3.4 ควรฝึกฝนทักษะการเตรียมสารเคมี และการแยกแถบดีเอ็นเอด้วย วิธี agarose gel electrophoresis เพื่อลดความผิดพลาด และเสริมสร้างความเข้าใจ นำมาซึ่งความสำเร็จลุล่วงตามกำหนดเวลา

บรรณานุกรม

โกศล รุ่งเรืองชัย. 2552. **พยาธิใบไม้ตับ ปัจจัยเสี่ยงมะเร็งท่อน้ำดี**. หน่วยสารสนเทศ โรงพยาบาลสงขลาสงขลานครินทร์, สืบค้นจาก: http://www.medinfo2.psu.ac.th (25 ธันวาคม 2562)

ณัฏฐวุฒิ แก้วพิทูลย์. 2557. พิมพ์ครั้งที่ 2. **ปรสิตวิทยา สำหรับพยาบาลและสาธารณสุข**. นครราชสีมา: มิตรภาพการพิมพ์ 1995.

ณัฏฐวุฒิ แก้วพิทูลย์. 2560. พิมพ์ครั้งที่ 2. **ปรสิตวิทยา สำหรับพยาบาลและสาธารณสุข**. นครราชสีมา: สมบูรณ์การพิมพ์.

ธนเดช สัจจวัฒนา และวิวัฒน์ สังฆะบุตร. (2558). **การระบาดและพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อหนอนพยาธิของนักเรียนในโรงเรียน สังกัดกองกำกับการตรวจตระเวนชายแดนที่ 21**. สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 9 จังหวัดนครราชสีมา. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข.

ประยงค์ ระดมยศ และคณะ. 2538. พิมพ์ครั้งที่ 2. **ATLAS OF MEDICAL PARASITOLOGY**.

พวงทอง ไกรพิบูรณ์. บทความสุขภาพ. **โรคพยาธิใบไม้ในตับ**. วว.รังสีรักษาและเวชศาสตร์นิวเคลียร์. สืบค้นจาก http://haamor.com/th/โรคพยาธิใบไม้ตับ/ (19 ธันวาคม 2562)

ภาพร ภูดีปิยสวัสดิ์. 2560. **การทดลองการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* จากประเทศกัมพูชา ในปลาตะเพียนขาว *Barbodes gonionotus***. ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.

รักษิณา พลสีลา และคณะ. 2557. **คู่มือปฏิบัติการ รายวิชา 266305 ปรสิตวิทยา**. ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ลักขณาวัลย์ เจริญสุข และคณะ. (2561). **การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจอุจจาระเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อปรสิต**. วชิรเวชสารและวารสารเวชศาสตร์เขตเมือง.ปีที่ 62 ฉบับเพิ่มเติม มิถุนายน พ.ศ. 2561.

วิน เชยชมศรี และคณะ. 2541. **คู่มือการตรวจโรคหนอนพยาธิ**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรมควบคุมโรคติดต่อ; กรุงงเทพฯ.

วิวัฒน สังฆะบุตร, บำเพ็ญ เกงขุนทด และเฉลิมพร เทพหัสดิน ณ อยุธยา. (2562). **การเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยหาไขพยาธิใบไมตับดวยชุดตรวจ Mini Parasep SF กับวิธี Modified Kato-Katz ที่ใชในภาคสนามของเขตสุขภาพที่ 9**. สำนักงานปองกันควบคุมโรคที่ 9 จังหวัดนครราชสีมา.

สรญา แก้วพิทูลย์. 2559. **ประสิทธิภาพของการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธีแบบเข้มข้น มินิพาราเซพ โซเวนท์ ฟรีพาราสิต**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

บรรณานุกรม (ต่อ)

องค์การบริหารส่วนตำบลโคกมั่งงอย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ,สืบค้นจาก: http://www.Kokmungngoi.go.th. (25 พฤศจิกายน 2562)

องค์การบริหารส่วนตำบลยางหวาย อำเภอคอนสวรรค์ จังหวัดชัยภูมิ, สืบค้นจาก: http://www.yangwai.go.th. (25 พฤศจิกายน 2562)

Becker SL, Lohourignon LK, Speich B, Rinaldi L, Knopp S, N'Goran E K, et al. Comparison of the Flotac-400 dual technique and the formalin-ether concentration technique for diagnosis of human intestinal protozoon infection. J Clin MicrobioL. 2011; 49(6): 2183-90.

Division of Parasitic Diseases and Malaria (DPDM), Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA. Laboratory Identification of Parasitic Disease of Public Health Concern. (ออนไลน์) สืบค้นจาก: http://www.cdc.gov/dpdx/az.html. (25 ธันวาคม 2562)

Duenngai K. Sithithaworn P, Rudrappa UK, Iddya K, Laha T, Stensvold CR, et al. Improvement of PCR for detection of *Opisthorchis viverrini* DNA in human stool samples. J Clin Microbiol 2008; 46: 366-8.

Flnk AL, Boisson S, Clasen T, Ensink JH. Comparison of Kato-Katz, ethyl-acetate sedimentation, and Midi Parasep(R) in the diagnosis of hookworm, Ascaris and Trichuris infection in the context of an evation of rural sanitation in India. Acta Trop. 2013;126(3): 265-8.

IARC. OPISTHORCHIS VIVERRINI AND CLONORCHIS SINENSIS. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Rick to Humans 2011; 100: 342-70.

Intensity of trematode metacercariae in cyprinoid fish in Chiang Mal Province,

Jongsuksuntigul P, Imsomboon T. Opisthorchiasis control in Thailand. *Acta Trop*2003; 88: 229-232.

Kaewker S, Elkins DB, Sithithaworn P, Haswell-Elkins MR. Comparative studieson the morphology of the eggs of *Opisthorchis viverrini* and Lecthodendriid Trematodes, *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 22. 1991, pp. 623-630.

Kaewkes, S. (2003). Taxonomy and biology of liver flukes. Acta Tropica, 88(3), 177-

Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Tongtawee T, Matrakul L, Panpimanmas S, Wakkuwattapong P, *et al*. Detection of the Carcinogenic Liver Fluke *Opisthorchis viverrini* Using a Mini Parasep SF Faecal Parasite Concentration, Asian Pac J Cancer Prev. 2016; 17(1): 373-6.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Kaewpitoon, S.J. *er al*., 2017. Detection of a carcinogenic liver fluke among migrant eworkers by three coprological concentration method. Tropical Biomedicine 34(4): 877-885.northern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 32(2), 214-217.Parasitology, 51, 207–214.

Lovis L, Mak TK, Phongluxa K, Soukhathammavong P, Sayasone S, Akkhavong K, et al. PCR Diagnosis of *Opisthorchis viverrini* and Haplorchis taichui infections in a Lao community in an area of endemicity and comparison of diagnostic methods for parasitolgical field surveys. J Clin Microbiol 2009; 47: 1517-23.

Sripa B, Pairojkul C. Cholangiocarcinoma: lessons from Thailand. *Curr Opin Gastroenterol*. 2008; 24: 349-56.

Sripa B., Brindley, P. J., Mulvenna, J.,Laha, T.,Smout, M. J., Mairiang, E., & Loukas, A. The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* multiple pathways to cancer. Trends in parasitology. 2012, 28(10), 395-407.

Stensvold CR, Saijuntha W, Sithithaworn P, Wongratanacheewin S, Strandgaard H, Ombjerg N, Johansen MV. Evaluation of PCR based coprodianosis of human opisthorchasis. Acta Trop. 2006 Jan;97(1):26-30.

Stensvold CR, Saijuntha W, Sithithaworn P, Wongratanacheewin S, Strandgaard H, Ombierg N, et al. Evalution of PCR based coprodiagnosis of human opithorchiasis, Acta Trop 2006; 97: 26-30.

Sukontason, K. L., Sukontason, K., Boonsriwong, N., Chaithong, U., & Piangjai S. (2001).

Utzinger J, Botero-Kleiven S, Castelli F, Chiodini PL, Edwards H, Kohler N, et al. Microscopic diagnosis of sodium acetate-acetic acid-formalin-fixed stool samples for helminths and intestinal protozoa: a comparison among European reference laboratories. Clin Microbiol Infect. 2010; 16(3); 267-73.

Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, Dionigia M, Texier C, Delbac F, Alaoui HE. Blastocystis, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. Ther Adv Infect Dis 2013 Oct;1(5):167-78

Wilson IG. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. Appl Environ Microbiol 1997; 63:3741-51.

Wongratanacheewin S, Pumidonming W, Sermswan RW, Pipitgool V, Maleewong W. Detection of *Opisthorchis viverrini* in human stool specimens by PCR. J Clin Microbiol 2002; 40:3879-80.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Woon-Mok Sohn, Tai-Soon Yong, Keeseon S. Eom, Kyoung-Ho Pyo, Mi Youn Lee, Hyemi Lim, Seongjun Choe, Hoo-Gn Jeong, Muth Sinuon, Duong Socheat, Jong-Yil Chai. Prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in humans and fish in Kratie Province, Cambodia. Acta Trop. 2012

Wykoff, D. E., Harinasuta, C., Juttijudata, P., & Winn, M. M. (1965). Opisthorchis viverrini in Thailand—the life cycle and comparison with *O. felineus*. Journal of

Parvathi A, Umesha KR, Kumar S, Sithithaworn P, Karunasagar I, Development and evaluation of a polymerase chain reaction (PCR) assay for the detection of *Opisthorchis viverrini* in fish. Acta Trop 2008; 107: 13-6.186.

ภาคผนวก ก

รูปแบบหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

AF/05-08/01.0

Suranaree University of Technology Institutional Review Board	**หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย** **(Informed Consent Form)**

โครงการวิจัยเรื่อง การแก้ไขปัญหาโรคพยาธิใบไม้ตับ

วันให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2561

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว..... .....ที่อยู่ .....ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่.....และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และวันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่นๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมเท่านั้น

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใดๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อจะผ่านกระบวนการบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

..... ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. .....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

..... ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ ..... เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ ..... เดือน.....พ.ศ.....

ภาคผนวก ข

แบบคัดกรองความเสี่ยงโรคพยาธิใบไม้ตับ

SUT-OV-001

แบบคัดกรองความเสี่ยงโรคพยาธิใบไม้ตับ

ตอนที่ 1 ข้อมูลผู้ตอบ

ชื่อ – สกุล .....เพศ .....อายุ .....ปี

อาชีพ .....ระดับการศึกษา .....รายได้ .....บาท/เดือน

ที่อยู่ปัจจุบัน บ้านเลขที่ .....หมู่ที่ .....ชื่อหมู่บ้าน .....

ตำบล ..... อำเภอ ..... จังหวัด .....

ท่านอยู่ในเขตรับผิดชอบของ รพ.สต .....

ตอนที่ 2 คำถามคัดกรองความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ

คำชี้แจง: โปรดใส่เครื่องหมาย ✓ ในช่องที่ตรงกับท่าน

ข้อ	คำถามคัดกรอง	ใช่	ไม่ใช่
1	ท่านเคยรับประทานอาหารดิบ อาทิ ก้อยปลาดิบ ลาบปลาดิบ (อย่างใดอย่างหนึ่ง) ทำจากปลาน้ำจืดกลุ่มปลาเกล็ดขาว (ปลาขาวนา ปลาตะเพียน ปลากระสูบ ปลาแม่สะแด้ง ฯลฯ)		
2	ท่านเคยรับประทานอาหารดิบ อาทิ ปลาส้มดิบ ปลาจ่อมดิบ ปลาร้าดิบ (อย่างใดอย่างหนึ่ง) ทำจากปลาน้ำจืดกลุ่มปลาเกล็ดขาว (ปลาขาวนา ปลาตะเพียน ปลากระสูบ ปลาแม่สะแด้ง ฯลฯ)		
3	ท่านเคยได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับจากหน่วยงานด้านสุขภาพ		
4	ญาติสายตรง (บิดา มารดา พี่น้องร่วมสายโลหิต) เป็นโรคมะเร็งท่อน้ำดี		
5	หากมีโอกาส ท่านจะรับประทานอาหารดิบ อาทิ ก้อยปลาดิบ ลาบปลาดิบ ปลาส้มดิบ ปลาจ่อมดิบ ปลาร้าดิบ ทำจากปลาน้ำจืดกลุ่มปลาเกล็ดขาว		
6	คนในครอบครัวของท่านเคยได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับจากหน่วยงานด้านสุขภาพ		
7	คนในครอบครัวท่านรับประทานอาหารดิบ อาทิ ก้อยปลาดิบ ลาบปลาดิบ ปลาส้มดิบ ปลาจ่อมดิบ ปลาร้าดิบ (อย่างใดอย่างหนึ่ง)		
8	ที่พักอาศัยของท่านอยู่ใกล้แหล่งน้ำตามธรรชาติ (หนองน้ำ แม่น้ำ ไม่เกิน 10 กิโลเมตร)		

ค่าคะแนนน้ำหนักของแต่ละข้อ

ข้อ 1; 0.2, ข้อ 2; 0.2, ข้อ 3; 0.2, ข้อ 4; 0.2, ข้อ 5; 0.05, ข้อ 6; 0.05, ข้อ 7; 0.05,ข้อ 8; 0.05

เกณฑ์การแปลผล

ไม่เสี่ยง	0	คะแนน
เสี่ยงน้อย	0.01-0.50	คะแนน
เสี่ยงปานกลาง	0.51-0.70	คะแนน
เสี่ยงมาก	0.71-1.00	คะแนน

สรุปผลการประเมินความเสี่ยง

- ❑ เสี่ยงมาก
- ❑ เสี่ยงปานกลาง
- ❑ เสี่ยงน้อย
- ❑ ไม่เสี่ยง

ภาคผนวก ค

ผลการตรวจหาไข่พยาธิด้วยวิธี FECT และ MPSFC

1. ผลการตรวจหาไข่พยาธิด้วยวิธี Modified Formalin Ethyl-Acetate Concentration Technique (FECT)

ลำดับที่	PID	จำนวนหยด	น้ำหนัก feces	หยดที่ 1		หยดที่ 2		ค่าเฉลี่ย	จำนวนหยด / feces 1 g	ผลตรวจ (Resuls: stool concentration)	EPG
				ชนิดไข่พยาธิ	จำนวนไข่พยาธิที่พบ	ชนิดไข่พยาธิ	จำนวนไข่พยาธิที่พบ				
1	K003	17	3.00	-	0	-	0	0.00	5.67	Negative	0.00
2	K004	24	3.00	-	0	-	0	0.00	8.00	Negative	0.00
3	K008	25	3.00	-	0	-	0	0.00	8.33	Negative	0.00
4	K009	46	3.00	-	0	-	0	0.00	15.33	Negative	0.00
5	K010	27	3.00	-	0	-	0	0.00	9.00	Negative	0.00
6	K011	40	3.00	-	0	-	0	0.00	13.33	Negative	0.00
7	K012	50	3.00	-	0	-	0	0.00	16.67	Negative	0.00
8	K013	18	3.00	-	0	-	0	0.00	6.00	Negative	0.00
9	K015	59	3.00	-	0	-	0	0.00	19.67	Negative	0.00
10	K018	61	3.00	-	0	-	0	0.00	20.33	Negative	0.00
11	K019	25	3.00	-	0	-	0	0.00	8.33	Negative	0.00
12	K020	38	3.00	-	0	-	0	0.00	12.67	Negative	0.00
13	K021	34	3.00	OV	2	OV	0	1.00	11.33	Positive	11.33
14	K022	37	3.00	-	0	-	0	0.00	12.33	Negative	0.00
15	K026	16	3.00	-	0	-	0	0.00	5.33	Negative	0.00

1. ผลการตรวจหาไข่พยาธิด้วยวิธี Modified Formalin Ethyl-Acetate Concentration Technique (FECT) (ต่อ)

ลำดับที่	PID	จำนวนหยด	น้ำหนัก feces	หยดที่ 1		หยดที่ 2		ค่าเฉลี่ย	จำนวนหยด / feces 1 g	ผลตรวจ (Resuls: stool concentration)	EPG
				ชนิดไข่พยาธิ	จำนวนไข่พยาธิที่พบ	ชนิดไข่พยาธิ	จำนวนไข่พยาธิที่พบ				
16	Y004	18	3.00	-	0	-	0	0.00	6.00	Negative	0.00
17	Y007	21	3.00	OV	1	-	0	0.50	7.00	Positive	3.50
18	Y008	51	3.00	OV	1	-	0	0.50	17.00	Positive	8.50
19	Y009	24	3.00	-	0	-	0	0.00	8.00	Negative	0.00
20	Y010	25	3.00	OV	1	-	0	0.50	8.33	Positive	4.17
21	Y011	13	3.00	-	0	-	0	0.00	4.33	Negative	0.00
22	Y012	37	3.00	-	0	-	0	0.00	12.33	Negative	0.00
23	Y014	25	3.00	-	0	-	0	0.00	8.33	Negative	0.00
24	Y017	48	3.00	-	0	-	0	0.00	16.00	Negative	0.00
25	Y019	31	3.00	-	0	-	0	0.00	10.33	Negative	0.00
26	Y020	23	3.00	-	0	-	0	0.00	7.67	Negative	0.00
27	Y021	25	3.00	-	0	-	0	0.00	8.33	Negative	0.00
28	Y023	27	3.00	-	0	-	0	0.00	9.00	Negative	0.00
29	Y024	43	3.00	-	0	-	0	0.00	14.33	Negative	0.00
30	Y026	35	3.00	OV	4	OV	3	3.50	11.67	Positive	40.83

2. ผลการตรวจหาไข่พยาธิด้วยวิธี Mini Parasep Sovent-Free Parasite Concentration (MPSFC)

ลำดับที่	PID	จำนวนหยด	น้ำหนัก feces	หยดที่ 1		หยดที่ 2		ค่าเฉลี่ย	จำนวนหยด / feces 1 g	ผลตรวจ (Resuls: stool concentration)	EPG
				ชนิดไข่พยาธิ	จำนวนไข่พยาธิที่พบ	ชนิดไข่พยาธิ	จำนวนไข่พยาธิที่พบ				
1	K003	14	0.5	-	0	-	0	0	28	Negative	0.00
2	K004	33	0.5	-	0	-	0	0	66	Negative	0.00
3	K008	15	0.5	-	0	-	0	0	30	Negative	0.00
4	K009	14	0.5	-	0	-	0	0	28	Negative	0.00
5	K010	20	0.5	-	0	-	0	0	40	Negative	0.00
6	K011	23	0.5	-	0	-	0	0	46	Negative	0.00
7	K012	16	0.5	-	0	-	0	0	32	Negative	0.00
8	K013	27	0.5	-	0	-	0	0	54	Negative	0.00
9	K015	13	0.5	-	0	-	0	0	26	Negative	0.00
10	K018	18	0.5	-	0	-	0	0	36	Negative	0.00
11	K019	22	0.5	-	0	-	0	0	44	Negative	0.00
12	K020	27	0.5	-	0	-	0	0	54	Negative	0.00
13	K021	15	0.5	OV	1	OV	1	1	30	Positive	30.00
14	K022	19	0.5	-	0	-	0	0	38	Negative	0.00
15	K026	19	0.5	-	0	-	0	0	38	Negative	0.00

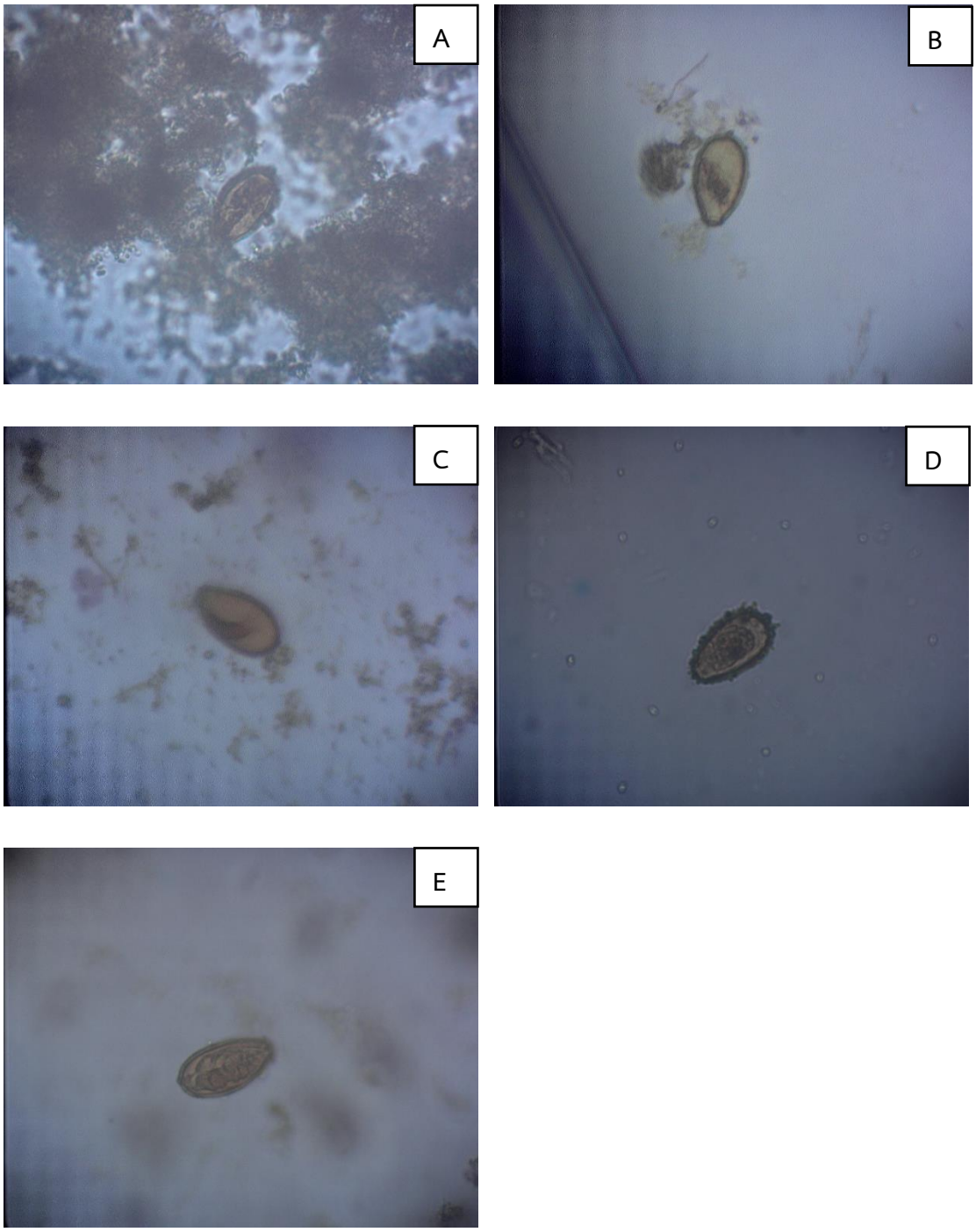
2. ผลการตรวจหาไข่พยาธิด้วยวิธี Mini Parasep Sovent-Free Parasite Concentration (MPSFC) (ต่อ)

ลำดับที่	PID	จำนวนหยด	น้ำหนัก feces	หยดที่ 1		หยดที่ 2		ค่าเฉลี่ย	จำนวนหยด / feces 1 g	ผลตรวจ (Resuls: stool concentration)	EPG
				ชนิดไข่พยาธิ	จำนวนไข่พยาธิที่พบ	ชนิดไข่พยาธิ	จำนวนไข่พยาธิที่พบ				
16	Y004	22	0.5	-	0	-	0	0	44	Negative	0.00
17	Y007	14	0.5	-	0	-	0	0	28	Negative	0.00
18	Y008	14	0.5	OV	1	-	0	0.5	28	Positive	14.00
19	Y009	17	0.5	-	0	-	0	0	34	Negative	0.00
20	Y010	21	0.5	-	0	-	0	0	42	Negative	0.00
21	Y011	15	0.5	-	0	-	0	0	30	Negative	0.00
22	Y012	18	0.5	-	0	-	0	0	36	Negative	0.00
23	Y014	25	0.5	-	0	-	0	0	50	Negative	0.00
24	Y017	25	0.5	-	0	-	0	0	50	Negative	0.00
25	Y019	21	0.5	-	0	-	0	0	42	Negative	0.00
26	Y020	18	0.5	-	0	-	0	0	36	Negative	0.00
27	Y021	21	0.5	-	0	-	0	0	42	Negative	0.00
28	Y023	24	0.5	-	0	-	0	0	48	Negative	0.00
29	Y024	21	0.5	-	0	-	0	0	42	Negative	0.00
30	Y026	23	0.5	OV	2	OV	2	2	46	Positive	92.00

ภาคผนวก ง

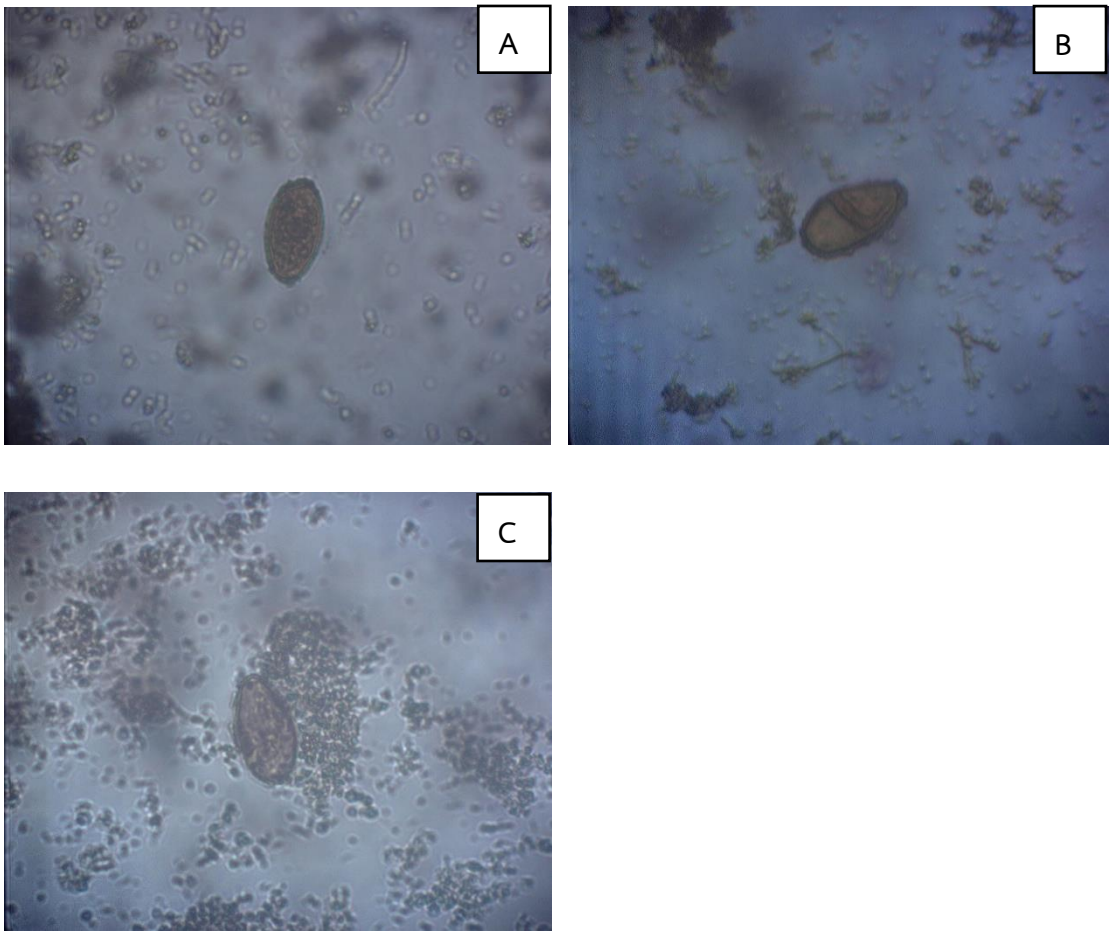
ตัวอย่างไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ที่ตรวจพบจากวิธี FECT และ MPSFC

1. ตัวอย่างไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ที่ตรวจพบจากวิธี FECT



ภาพที่ 1 ตัวอย่างไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ที่ตรวจพบจากวิธี FECT

2. ตัวอย่างไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ที่ตรวจพบจากวิธี MPSFC



ภาพที่ 2 ตัวอย่างไข่พยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*) ที่ตรวจพบจากวิธี MPSFC

ภาคผนวก จ

ผลการคำนวณทางสถิติ

ตารางที่ 1 ผลการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ ระหว่างการตรวจด้วยวิธีชีวโมเลกุล (PCR) กับ MPSFC

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PCR - MPSFC	-.03333	.41384	.07556	-.18786	.12120	-.441	29	.662

ตารางที่ 2 ผลการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ ระหว่างการตรวจด้วยวิธีชีวโมเลกุล (PCR) กับ FECT

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	PCR - FECT	-.10000	.40258	.07350	-.25033	.05033	-1.361	29	.184

ตารางที่ 3 ผลการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ ระหว่างการตรวจด้วยวิธีชีวโมเลกุล (PCR) กับ MPSFC

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MPSFC - FECT	-.06667	.25371	.04632	-.16140	.02807	-1.439	29	.161

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบค่าความคาดหมาย ระหว่างการตรวจด้วยวิธีชีวโมเลกุล (PCR) โดยใช้วิธี FECT เป็นวิธีมาตรฐาน

FECT * PCR Crosstabulation

			PCR		Total
			negative	positive	
FECT	negative	Count	24	1	25
		% within FECT	96.0%	4.0%	100.0%
		% within PCR	85.7%	50.0%	83.3%
	positive	Count	4	1	5
		% within FECT	80.0%	20.0%	100.0%
		% within PCR	14.3%	50.0%	16.7%
Total		Count	28	2	30
		% within FECT	93.3%	6.7%	100.0%
		% within PCR	100.0%	100.0%	100.0%

ตารางที่ 5 ผลการเปรียบเทียบค่าความคาดหมาย ระหว่างการตรวจด้วยวิธี MPSFC โดยใช้วิธี FECT เป็นวิธีมาตรฐาน

FECT * Mini Crosstabulation

			MPSFC		Total
			negative	positive	
FECT	negative	Count	25	0	25
		% within FECT	100.0%	0.0%	100.0%
		% within Mini	92.6%	0.0%	83.3%
	positive	Count	2	3	5
		% within FECT	40.0%	60.0%	100.0%
		% within Mini	7.4%	100.0%	16.7%
Total		Count	27	3	30
		% within FECT	90.0%	10.0%	100.0%
		% within Mini	100.0%	100.0%	100.0%

ตารางที่ 6 ผลการเปรียบเทียบค่าความคาดหมาย ระหว่างการตรวจด้วยวิธี FECT โดยใช้วิธีชีวโมเลกุล (PCR) เป็นวิธีมาตรฐาน

PCR * FECT Crosstabulation

			FECT		Total
			negative	positive	
PCR	negative	Count	24	4	28
		% within PCR	85.7%	14.3%	100.0%
		% within FECT	96.0%	80.0%	93.3%
	positive	Count	1	1	2
		% within PCR	50.0%	50.0%	100.0%
		% within FECT	4.0%	20.0%	6.7%
Total		Count	25	5	30
		% within PCR	83.3%	16.7%	100.0%
		% within FECT	100.0%	100.0%	100.0%

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ นายเมธาวุฒิ พลดอน

วันเดือนปีเกิด 16 พฤศจิกายน 2540

อีเมลล์ Metawuh0452@gmail.com

สถานที่อยู่ปัจจุบัน 200 หมู่ 3 ตำบลไชยมงคล อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2555	จบการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 3 จากโรงเรียนบ้านหนองพลวงใหญ่ อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
พ.ศ. 2558	จบการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนสุรธรรมพิทักษ์ อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
พ.ศ. 2562	กำลังศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

ประวัติย่อผู้วิจัย (ต่อ)

ชื่อ	นางสาวกรชนก ดวงกระโทก
วันเดือนปีเกิด	23 กันยายน 2540
อีเมลล์	std6008@npw.ac.th
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	232/2 ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2555	จบการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 3 โรงเรียนหนองบุญมากประสงค์วิทยา อำเภอหนองบุญมาก จังหวัดนครราชสีมา
พ.ศ. 2558	จบการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนหนองบุญมากประสงค์วิทยา อำเภอหนองบุญมาก จังหวัดนครราชสีมา
พ.ศ. 2562	กำลังศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา