

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ของหอยฝาเดียวในจังหวัดสระบุรี

Trematode Infections of Gastropods in Saraburi Province

วิวิฐชุตตา เดชรักษา, มนัสชนก สังข์ชาล, ศิริพร เลี่ยมโชติวน, จรีภรณ์ แซ่ตั้ง, ภัทราวรรณ ปุ่มเกวียน,
ดวงเดือน ไกรลาศ, นวลพรรณ วีระเวชสุกิจ และ ศรัณย์ภัทร์ สุวรรณรัตน์

Wivitchuta Dechruksa, Manuschanok Sungkal, Siriporn Leamkaitun, Jareeporn Saetung,

Phattrawan Pumkwean, Duangduen Krailas, Nuanpan Veeravechsukij and Saranphat Suwanrat

หน่วยวิจัยปรสิตวิทยาและสัณฐานวิทยาทางการแพทย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ประเทศไทย

Parasitology and Medical Malacology Research Unit, Department of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University, Thailand

Received : 24 November 2025, Received in revised form : 25 January 2026, Accepted : 2 February 2026

Available online : 10 February 2026

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์และที่มา : หอยฝาเดียวจัดเป็นหอยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจแต่หอยบางชนิดเป็นหอยที่มีความสำคัญทางการแพทย์ เนื่องจากสามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ได้หลากหลายชนิด ซึ่งโรคพยาธิใบไม้แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ พยาธิใบไม้ตับ พยาธิใบไม้ปอด พยาธิใบไม้ลำไส้ และพยาธิใบไม้เลือด โดยโรคที่เกิดจากพยาธิใบไม้แต่ละชนิดจะมีการติดต่อจากโฮสต์สุดท้ายในสัตว์มีกระดูกสันหลังไปสู่หอยน้ำจืดที่สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งเพื่อเพิ่มจำนวนตัวอ่อน พยาธิใบไม้ในหอยโดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ หลังจากนั้นจะเข้าสู่โฮสต์กึ่งกลางตัวที่สองเจริญพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะ เมตาเซอร์คาเรียซึ่งเป็นระยะติดต่อในสัตว์น้ำจำพวกกุ้ง หอย ปู ปลา เป็นต้น เพื่อเจริญพัฒนาเป็นระยะตัวเต็มวัยได้ในโฮสต์สุดท้ายจากการบริโภคอาหารไม่สุก อาหารที่ปรุงสุก ๆ ดิบ ๆ ยกเว้น พยาธิใบไม้เลือดที่มีตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะ เซอร์คาเรียซึ่งเป็นระยะติดต่อจะสามารถไชเข้าสู่ผิวหนังของคนและสัตว์ได้โดยตรง ทำให้เกิดโรคพยาธิใบไม้เลือดได้ จะเห็นได้ว่าโรคพยาธิใบไม้พบการเกิดโรคได้ในหลายพื้นที่ในประเทศไทย ซึ่งหากทราบการกระจายตัวของหอยฝาเดียวที่มีความสามารถในการเป็นโฮสต์กึ่งกลางกระจายอยู่ตามแหล่งน้ำก็จะเป็นองค์ความรู้ในการช่วยประเมินความเสี่ยงในการเกิดโรคพยาธิใบไม้และการระบาดวิทยาได้ ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในหอยฝาเดียวและการจำแนกชนิดพยาธิใบไม้ที่พบในหอยฝาเดียวบริเวณจังหวัดสระบุรี ซึ่งเป็นจังหวัดหนึ่งที่เคยมีการรายงานพบการระบาดของโรคพยาธิใบไม้ปอดในประเทศไทย

วิธีดำเนินการวิจัย : ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างหอยฝาเดียวตามแหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งหมด 13 จุดสำรวจ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอมวกเหล็ก อำเภอวังม่วง อำเภอเมืองสระบุรี และอำเภอเสาไห้ จังหวัดสระบุรี ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2566 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหอยโดยใช้มือเก็บและใช้กระชอนเก็บตัวอย่างด้วยวิธี counts per unit of time ซึ่งมีผู้เก็บตัวอย่าง 5 คน ใช้เวลา 10 นาที ในแต่ละจุดสำรวจ หลังจากนั้นทำการตรวจสอบการติดเชื้อปรสิตด้วยวิธี shedding โดยนำหอยฝาเดียวที่สุ่มเก็บได้ใส่ในถ้วยพลาสติกที่ใส่น้ำปราศจากคลอรีนและเลี้ยงหอยที่เก็บตัวอย่างมาทิ้งไว้ข้ามคืน หลังจากนั้นทำการตรวจสอบการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะ เซอร์คาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ เมื่อพบตัวอ่อนระยะ เซอร์คาเรีย ทำการศึกษาด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาแบบไม่ย้อมสีและย้อมสีด้วย 0.5% neutral red และแช่ในสารละลาย

10% ฟอรัมาลิน เพื่อทำการวัดขนาดตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรีย 10 ตัว ในหน่วยไมโครเมตร สำหรับวิธี crushing จะนำหอยมาทำการกะเทาะเปลือกหอยให้แตกแล้วนำส่วนเนื้อเยื่อส่วนทางเดินอาหารของหอยมาทำการตรวจหาตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อหาอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียว หลังจากนั้นทำการจำแนกชนิดหอยฝาดเดียวและชนิดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ผลการวิจัย : พบหอยฝาดเดียวทั้งหมด 970 ตัว สามารถระบุชนิดหอยฝาดเดียวด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาออกเป็น 15 ชนิด ดังนี้ *Radix rubiginosa* 5 ตัว, *Bithynia siamensis siamensis* 187 ตัว, *Rivomarginella morrisoni* 1 ตัว, *Mienplotia scabra* 118 ตัว, *Melanoides tuberculata* 8 ตัว, *Tarebia granifera* 362 ตัว, *Anentome helena* 183 ตัว, *Mekongia swainsoni braueri* 8 ตัว, *M. s. swainsoni* 2 ตัว, *Filopaludina filosa* 1 ตัว, *F. sumatrensis polygramma* 23 ตัว, *F. martensi martensi* 63 ตัว, *Indoplanorbis exustus* 6 ตัว, *Gyraulus convexiusculus* 1 ตัว และ *Pomacea canaliculata* 2 ตัว หลังจากนั้นทำการตรวจสอบการติดเชื้อปรสิตด้วยวิธี shedding และวิธี crushing พบหอยที่มีการติดเชื้อทั้งหมด 14 ตัว คิดเป็นอัตราการติดเชื้อปรสิตทั้งหมด 1.44% (14/970) พบหอยที่ติดเชื้อทั้งหมด 5 ชนิด โดยหอยฝาดเดียว *M. scabra* พบการติดเชื้อมากที่สุด เมื่อทำการจำแนกชนิดพยาธิใบไม้สามารถระบุชนิดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ทั้งหมด 3 รูปแบบ 4 ชนิด ดังนี้ รูปแบบที่ 1 Xiphidiocercariae (*Maritreminoides obstipus*, *Loxogenoides bicolor*), รูปแบบที่ 2 Cotylomicrocercous cercariae (*Coitocaecum anaspidis*), และรูปแบบที่ 3 Parapleurolophocercous cercariae (*Acanthotrema tridactyla*) อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบชนิดหอยฝาดเดียวที่สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางให้กับพยาธิใบไม้ได้หลายชนิด ซึ่งพบหอย 5 ชนิด ที่จัดอยู่ในวงศ์ Thiaridae (*M. scabra*, *T. granifera*), Viviparidae (*F. s. polygramma*, *F. m. martensi*), และ Nassariidae (*A. helena*) ที่สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งของพยาธิใบไม้ลำไส้และเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ในปลา กบ นก และคน ถึงแม้ว่าอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้โดยรวมจะอยู่ในระดับต่ำ แต่การตรวจพบตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์นั้นก็ช่วยประเมินถึงความเสี่ยงที่อาจจะเกิดขึ้นจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ได้

สรุปผลการวิจัย : การศึกษานี้พบหอยฝาดเดียวหลายชนิดในจังหวัดสระบุรี โดยสามารถระบุชนิดหอยฝาดเดียวด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ทั้งหมด 15 ชนิด ได้แก่ *R. rubiginosa*, *B. s. siamensis*, *R. morrisoni*, *M. scabra*, *M. tuberculata*, *T. granifera*, *A. helena*, *M. s. braueri*, *M. s. swainsoni*, *F. filosa*, *F. s. polygramma*, *F. m. martensi*, *I. exustus*, *G. convexiusculus* และ *P. canaliculata* สำหรับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ของหอยฝาดเดียวในจังหวัดสระบุรี พบหอยฝาดเดียวที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ *A. helena*, *M. scabra*, *T. granifera*, *F. m. martensi* และ *F. s. polygramma* และพบชนิดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ลำไส้ในระยะเซอร์คาเรีย ทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *M. obstipus*, *L. bicolor*, *C. anaspidis*, และ *A. tridactyla* โดยพยาธิใบไม้ *A. tridactyla* มีการติดเชื้อในหอยฝาดเดียวได้หลายชนิดมากที่สุด ดังนั้นการทราบชนิดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียจะช่วยทำให้ประเมินความเสี่ยงในการเกิดโรคพยาธิใบไม้และทราบการปรับตัวของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่อาศัยอยู่ในหอยที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางได้ เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมป้องกันโรคพยาธิใบไม้ในประเทศให้มีศักยภาพมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ : พยาธิใบไม้ ; เซอร์คาเรีย ; โฮสต์กึ่งกลาง ; หอยฝาดเดียว ; จังหวัดสระบุรี

Abstract

Background and Objectives : Gastropods are economically important and also play a significant role in medical malacology as intermediate hosts of various trematode parasites. Trematode infections of humans and animals are generally classified into four major groups: liver flukes, lung flukes, intestinal flukes, and blood flukes. Each trematode group is transmitted from the definitive host to freshwater snails that serve as the first intermediate host, where the larval stages multiply asexually to increase the number of trematode larvae within the snail. The cercarial stage released from snails then infect the second intermediate hosts and develop into metacercariae, the infective stage found in second intermediate hosts in aquatic animals such as shrimp, snails, crabs, and fish. These metacercarial stage develop into adult flukes in the definitive host following the consumption of raw or undercooked food, except for blood flukes, whose cercarial stage is infective and can directly penetrate the skin of humans and animals, causing schistosomiasis. Trematode infections are found in many areas of Thailand. Knowledge of the distribution of snails that can serve as intermediate hosts in aquatic habitats can provide important information for assessing the risk and epidemiology of trematode infections. Therefore, this study aimed to investigate trematode infections in gastropods and to identify the species of trematodes infecting gastropods in Saraburi Province, which is one of the provinces where outbreaks of paragonimiasis have previously been reported in Thailand.

Methodology : Snail samples were randomly collected from natural water sources at 13 sampling sites in 5 districts (Wang Muang, Muak Lek, Kaeng Khoi, Mueang Saraburi, and Sao Hai) in Saraburi Province, Thailand, in June 2023. Snails were collected by hand picking and scooping method using the counts per unit of time method, with five collectors sampled for 10 minutes at each site. Parasitic infections were examined using the shedding and crushing methods. For the shedding method, snails were placed individually in plastic cups containing dechlorinated water and maintained overnight, after which cercarial emergence was examined under a stereomicroscope. The emerging cercariae were described as the morphology based on living cercariae which unstained or vitally stained with 0.5% neutral red. Measurements in micrometers were taken from 10 specimens fixed with 10% formalin. For the crushing method, snail shells were cracked, and the digestive glands were then examined for larval trematodes under a light microscope to estimate trematode infection rates in the gastropods. Snail species and trematode larvae were identified based on morphological characteristics.

Main Results : A total of 970 snails were collected and identified morphologically into 15 species. The species identified were *Radix rubiginosa* (5), *Bithynia siamensis siamensis* (187), *Rivomarginella morrisoni* (1), *Mieniplotia scabra* (118), *Melanoides tuberculata* (8), *Tarebia granifera* (362), *Anentome helena* (183), *Mekongia swainsoni braueri* (8), *M. s. swainsoni* (2), *Filopaludina filosa* (1), *F. sumatrensis polygramma* (23), *F. martensi martensi* (63),

Indoplanorbis exustus (6), *Gyraulus convexiusculus* (1) and *Pomacea canaliculata* (2). The prevalence of cercarial infection in snails was investigated using the shedding and crushing methods. Fourteen snails were found to be infected with cercarial larvae. A total infection rate of 1.44% (14/970). Infected snails were found in five snail species, with *M. scabra* exhibiting the highest infection prevalence. Cercariae were morphologically classified into three types and four species: type 1, Xiphidiocercariae (*Maritreminoides obstipus* and *Loxogenoides bicolor*); type 2, Cotylomicrocercous cercariae (*Coitocaecum anaspidis*); and type 3, Parapleurolophocercous cercariae (*Acanthotrema tridactyla*). However, this study identified several snail species in Saraburi Province that serve as the first intermediate hosts for various trematodes. The data showed that five snail species in the families Thiariidae (*M. scabra*, *T. granifera*), Viviparidae (*F. s. polygramma*, *F. m. martensi*), and Nassariidae (*A. helena*) can act as the first intermediate hosts for intestinal flukes, which develop into adult worms in fish, frogs, birds, and humans. Although the overall prevalence of trematode infections is low, the detection of medically important cercarial larvae is useful for assessing the potential risk of trematode infection.

Conclusions : These studies were found snails variation species from Saraburi province, Thailand. The snails were identified by shell morphology into 15 species consist of *R. rubiginosa*, *B. s. siamensis*, *R. morrisoni*, *M. scabra*, *M. tuberculata*, *T. granifera*, *A. helena*, *M. s. braueri*, *M. s. swainsoni*, *F. filosa*, *F. s. polygramma*, *F. m. martensi*, *I. exustus*, *G. convexiusculus* and *P. canaliculata*. Trematode infections in freshwater gastropods in Saraburi Province revealed five snail species acting as the first intermediate hosts: *A. helena*, *M. scabra*, *T. granifera*, *F. m. martensi*, and *F. s. polygramma*. Four species of intestinal trematode cercariae were identified: *M. obstipus*, *L. bicolor*, *C. anaspidis*, and *A. tridactyla*. In addition, *A. tridactyla* infected the highest number of gastropod species. Therefore, identifying cercarial species helps to assess the risk of trematode disease occurrence and to understand their adaptation in intermediate hosts. This information provides guidance for enhancing the effectiveness of trematode disease prevention and control in the country.

Keywords : trematode ; cercaria ; intermediate host ; gastropod ; Saraburi Province

*Corresponding author. E-mail : suwanrat_s2@su.ac.th

Introduction

จังหวัดสระบุรี ตั้งอยู่ในภาคกลางของประเทศไทยและมีแหล่งน้ำธรรมชาติสำคัญหลายสาย โดยมีแม่น้ำป่าสักเป็นแม่น้ำสายหลักที่ไหลผ่านจังหวัดสระบุรี แม่น้ำลำตะคอง และลำคลองต่าง ๆ ซึ่งแหล่งน้ำเหล่านี้เป็นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญในการมีบทบาทช่วยส่งเสริมเศรษฐกิจ เกษตรกรรม และระบบนิเวศในประเทศไทย โดยเฉพาะในภาคเกษตรกรรมที่คนในพื้นที่ส่วนใหญ่ใช้แหล่งน้ำในการทำไร่ ทำนา และการประมง นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของสัตว์น้ำหลากหลายชนิด

เช่น กุ้ง หอย ปู ปลา หอยสองฝา หอยฝาเดียว ที่คนทั่วไปมักนิยมนำมาบริโภครับประทานเป็นอาหาร การศึกษาครั้งนี้สนใจกลุ่มหอยฝาเดียว (gastropoda) ที่จัดอยู่ในไฟลัมมอลลัสกา (Phylum Mollusca) ซึ่งสามารถพบการกระจายตัวตามแหล่งน้ำต่าง ๆ ในจังหวัดสระบุรีได้หลายพื้นที่ เช่น น้ำตก แม่น้ำ คลอง และอ่างเก็บน้ำ ซึ่งหอยฝาเดียวเป็นหอยที่มีความสำคัญทางการแพทย์ที่เคยมีการรายงานไว้ในกรณีเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ได้หลายชนิด ซึ่งในปี พ.ศ. 2500 จังหวัดสระบุรีเคยมีรายงานพบโรคพยาธิใบไม้ปอดเป็นครั้งแรกที่อำเภอวิหารแดง จังหวัดสระบุรี ในผู้ป่วยสองราย ปี พ.ศ. 2537 จังหวัดสระบุรียังเป็นแหล่งที่มีความชุกของอุบัติการณ์ของโรคพยาธิใบไม้ปอด โดยพบผู้ป่วยที่เป็นโรคพยาธิใบไม้ปอดถึงร้อยละ 66.5 (Srisonti, 1997) และปี พ.ศ. 2548 พบการระบาดของโรคพยาธิใบไม้ปอดในคนที่รับประทานกุ้งน้ำจืด ปูน้ำจืดที่ไม่ได้ทำให้สุก ซึ่งพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย (metacercaria) ที่เป็นระยะติดต่อ (infective stage) ในปู บริเวณน้ำตกเจ็ดคด อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี (Yoonuan *et al.*, 2008) โดยหอยที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่ง (first intermediate host) ยังไม่เคยมีการรายงานชนิดหอยที่แน่ชัดในประเทศไทย แต่มีการรายงานของ Brandt (1974) ที่พบหอยเจดีย์ (*Melanoides tuberculata*) สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งของพยาธิใบไม้ปอด (*Paragonimus westermani*)

จากข้อมูลดังกล่าว ทำให้เห็นว่าหอยฝาเดียวสามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ได้อย่างมีความจำเพาะต่อชนิดพยาธิ เช่น พยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ที่มีหอยไซ (B. s. siamensis) เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่ง และพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (Minute intestinal fluke) *Haplorchis taichui* มีหอยฝาเดียวที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งในหอยเจดีย์ (*M. tuberculata*) และหอยเจดีย์ปุม (*T. granifera*) โดยมีโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง (secondary intermediate host) เป็นปลาน้ำจืดเกล็ดขาว เมื่อคนรับประทานอาหารแบบดิบหรือสุก ๆ ดิบ ๆ เช่น ลาบปลาดิบ ก้อยปลา ปลาต้ม และปลาจ่อมก็จะทำให้เกิดโรคพยาธิใบไม้ตับหรือพยาธิใบไม้ลำไส้ในคนได้ นอกจากนี้ยังพบพยาธิใบไม้ลำไส้ *Echinostoma malayanum*, *E. revolutum*, *E. ilocanum* และ *Hypoderaeum conoideum* ในคนหรือสัตว์ จากการรับประทานหอยขมที่มีตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียซึ่งเป็นระยะติดต่อในเนื้อเยื่อหอยโดยไม่ทำให้สุกก่อน เช่น ลาบหอยขมดิบ พล่าหอย ขมดิบ ยำหอยขมสุก ๆ ดิบ ๆ ก็จะทำให้เกิดโรคพยาธิใบไม้ลำไส้ได้ (Anantaphruti *et al.*, 2011; Chontanarith & Wongsawad, 2013; Noikong & Wongsawad, 2014; Krairut *et al.*, 2020) นอกจากนี้ยังมีการรายงานพบหอยคัน (*Indoplanorbis exustus*) ที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งของพยาธิใบไม้เลือดชนิด *Schistosoma indicum* ที่ก่อโรคในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น วัว ควาย แกะ แพะ และสามารถไชเข้าผิวหนังคน ทำให้มีผื่นคันและมีตุ่มขึ้นตามผิวหนัง หรือทำให้เกิดโรคหอยคัน (cercarial dermatitis) (Krairas *et al.*, 2022; Wongpim *et al.*, 2023)

พยาธิใบไม้มีวงจรชีวิตเริ่มจากโฮสต์ตัวสุดท้าย (definitive host) เช่น คนหรือสัตว์ที่ได้รับตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะติดต่อและเจริญพัฒนาไปเป็นระยะตัวเต็มวัย (adult) ในโฮสต์ เมื่อพยาธิออกไข่ (egg) ไข่อาจปนออกมากับอุจจาระหรือปัสสาวะของโฮสต์ตัวสุดท้าย เมื่อไข่พยาธิตกลงสู่แหล่งน้ำ ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ก็จะฟักเป็นตัวอ่อนระยะไมราซิเดียม (miracidium) และว่ายน้ำเข้าสู่หอยที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่ง หรือไข่อาจถูกหอยกิน จากนั้นจะมีการเจริญพัฒนาไปเป็นตัวอ่อนระยะสปอโรซิสต์ (sporocyst) ระยะรีเดีย (redia) และระยะเซอร์คาเรีย (cercaria) โดยตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียจะเป็นระยะสุดท้ายที่อยู่ในตัวหอย เมื่อออกจากตัวหอยว่ายน้ำอิสระก็จะไชเข้าสู่โฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง ได้แก่ พืชน้ำ หอย ปลา กุ้งน้ำตก ปูน้ำตก เป็นต้น หลังจากนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียซึ่งเป็นระยะติดต่อ

เมื่อโฮสต์ตัวสุดท้ายได้รับตัวอ่อนพยาธิระยะติดต่อเข้าไปก็จะสามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยต่อไป ยกเว้นพยาธิใบไม้เลือดที่สามารถไชเข้าสู่ผิวหนังได้โดยตรง

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียวและระบุชนิดพยาธิใบไม้ที่พบในหอยฝาดเดียวบริเวณจังหวัดสระบุรี ทำให้ช่วยประเมินสถานการณ์ความเสี่ยงในการเกิดโรคพยาธิใบไม้ที่มีหอยน้ำจืดฝาดเดียวเป็นโฮสต์กึ่งกลางในสถานการณ์ปัจจุบัน และเป็นประโยชน์ต่องานทางด้านปรสิตวิทยา สังขวิทยา สังขวิทยาทางการแพทย์ และงานด้านสาธารณสุข ในจังหวัดสระบุรีต่อไป

Methodology

1. ทำการศึกษาข้อมูลพื้นที่และรวบรวมข้อมูลจากเอกสารงานวิจัย บทความวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อของพยาธิใบไม้ในพื้นที่จังหวัดสระบุรี
2. การพิจารณาจริยธรรมการวิจัยสัตว์ (Ethics Statement) งานวิจัยนี้ได้รับการรับรองการใช้สัตว์ทดลองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร เลขที่ อว 8603.16/5729 ลงวันที่ 17 พฤศจิกายน 2565 (รหัสโครงการ 18/2565)

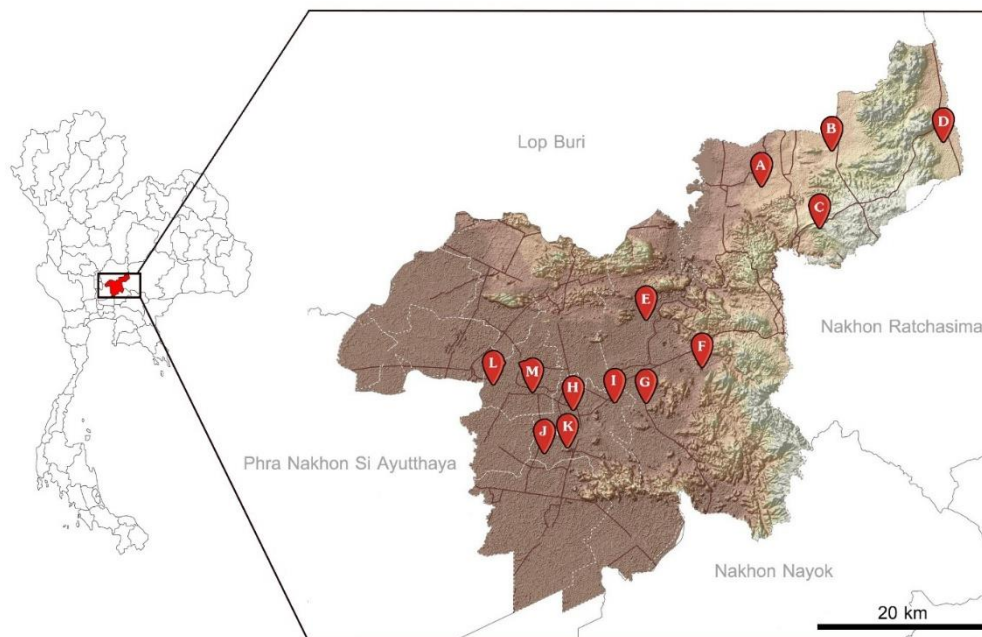


Figure 1 Gastropod collection sites at 13 locations across five districts in Saraburi Province, Thailand

3. สำรวจและเก็บตัวอย่างหอยฝาเดียวในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2566 บริเวณแหล่งน้ำจาก 5 อำเภอ จำนวน 13 จุดเก็บตัวอย่างในจังหวัดสระบุรี (Figure 1) ประกอบด้วย อำเภอวังม่วง จำนวน 1 จุดเก็บตัวอย่าง คือ จุด 1 อ่างเก็บน้ำมวกเหล็ก (Figure 2A) อำเภอมวกเหล็ก จำนวน 3 จุดเก็บตัวอย่างคือ จุด 2 ลำธารน้ำตกตงพญาเย็น จุด 3 ลำธารน้ำตกเจ็ดสาวน้อย และจุด 4 ลำธารน้ำตกแก่งหุ (Figure 2B-D) อำเภอแก่งคอย จำนวน 3 จุดเก็บตัวอย่าง คือ จุด 5 แม่น้ำป่าสัก (วัดบ้านธาตุเหนือ) จุด 6 แม่น้ำป่าสัก (วัดแก่งคอย) และจุด 7 แม่น้ำป่าสัก (วัดตาลเดี่ยว) (Figure 2E-G) อำเภอเมืองสระบุรี จำนวน 4 จุดเก็บตัวอย่าง คือ จุด 8 อ่างเก็บน้ำคลองเพรียว จุด 9 คลองเพรียว (วัดเจริญราษฎร์บำรุง) จุด 10 แม่น้ำป่าสัก (วัดศรีบุรีรัตนาราม) และจุด 11 แม่น้ำป่าสัก (วัดบ้านอ้อย) (Figure 2H-K) และอำเภอเสาไห้ จำนวน 2 จุดเก็บตัวอย่าง คือ จุด 12 แม่น้ำป่าสัก (วัดสมุหประดิษฐาราม) และจุด 13 แม่น้ำป่าสัก (คลองปากบาง) (Figure 2L-M) พร้อมบันทึกพิกัดด้วยเครื่องระบุตำแหน่ง (GPS; Garmin Taiwan, eTrex 10)

4. เก็บตัวอย่างหอยฝาเดียวบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง โดยใช้มือเก็บ (hand picking method) และใช้กระชอนเก็บ (scooping method) ด้วยวิธี Counts per unit of time คือ การกำหนดระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างจุดละ 10 นาที และใช้ผู้เก็บตัวอย่างจำนวน 5 คน (Olivier & Schneiderman, 1956)

5. จำแนกและระบุชนิดของหอยน้ำจืดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเปลือกหอย (shell morphology) เช่น สีเปลือก รูปร่าง ขนาด ลวดลายบนผิวเปลือก การเวียนของเปลือกซ้าย-ขวา การมีหนาม ตุ่ม การมีร่องไขฟอน และการมี/ไม่มีฝาปิดปากเปลือก และจำนวนเวิร์ล เป็นต้น ตามวิธีการจัดจำแนกของ Brandt (1974) และ Uptham *et al.* (1983)

6. วัดขนาดหอยฝาเดียวทั้งหอยทรงกรวยและหอยทรงแบน โดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) ประกอบด้วย ความสูงของเปลือก (shell height, H) ความกว้างของเปลือก (shell width, W) ความสูงของปากเปลือก (aperture height, HA) ความกว้างของปากเปลือก (aperture width, WA) ความสูงของบอดี้เวิร์ล (height of body whorl, HBW) และความสูงของเวิร์ลที่สาม (height of last three whorl, H3W) (Figure 3)

7. ตรวจสอบการติดเชื้อปรสิต 2 วิธี ดังนี้

7.1 วิธีการ Shedding

นำหอยฝาเดียวที่เก็บได้ใส่ในถ้วยพลาสติกที่ใส่น้ำปราศจากคลอรีน และเลี้ยงหอยที่เก็บตัวอย่างมาได้เป็นเวลา 1 คืน หลังจากนั้นทำการตรวจสอบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ กรณีที่ไม่พบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียจะทำการ shedding ซ้ำอีก 2 ครั้ง เพื่อตรวจหาตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ กรณีหอยพบการติดเชื้อปรสิตจะนำไปทำการตรวจหาปรสิตในเนื้อเยื่อหอยโดยวิธี crushing ต่อไป

7.2 วิธีการ Crushing

นำตัวอย่างหอยมาทำการผ่อนคลาย (relax) ด้วยสารละลายเมนทอล (menthol) ที่เตรียมไว้ โดยหยดสารละลายลงไปประมาณ 1-2 หยด ทิ้งไว้ประมาณ 5-10 นาที เมื่อหอยมีการยื่นแผ่นเท้าออกมาจากเปลือกหอยมากที่สุด ให้ทำการกะเทาะเปลือกหอยให้แตกแล้วนำส่วนเนื้อเยื่อส่วนทางเดินอาหารของหอยมาบดบนกระจกสไลด์และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ หลังจากนั้นทำการตรวจหาตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ที่พบในเนื้อเยื่อ เช่น ระยะสปอโรซิสต์ ระยะรีเดีย ระยะเซอร์คาเรีย ระยะเมตาเซอร์คาเรีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

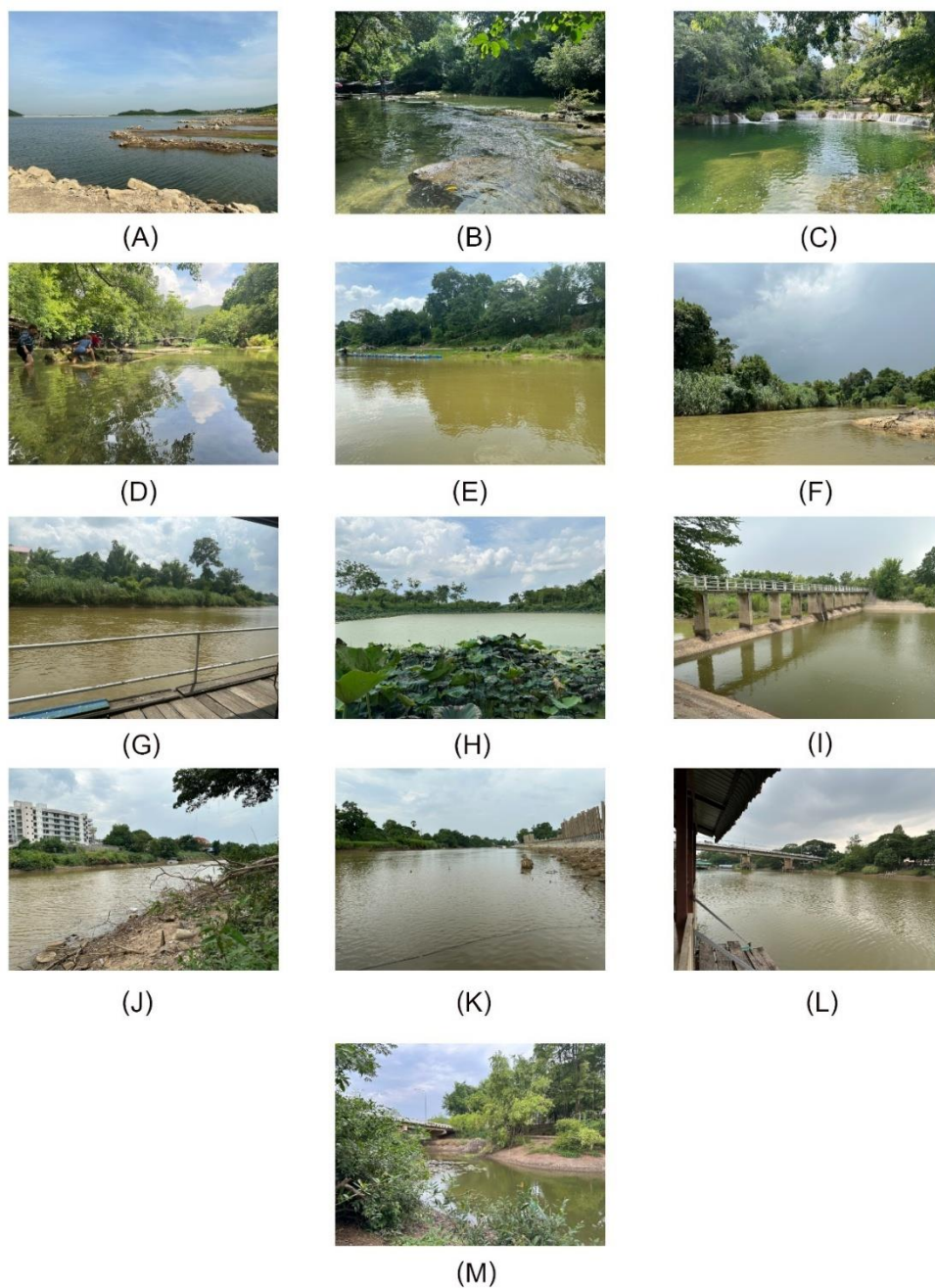


Figure 2 Habitat characteristics of the 13 sampling sites in Saraburi province, Thailand

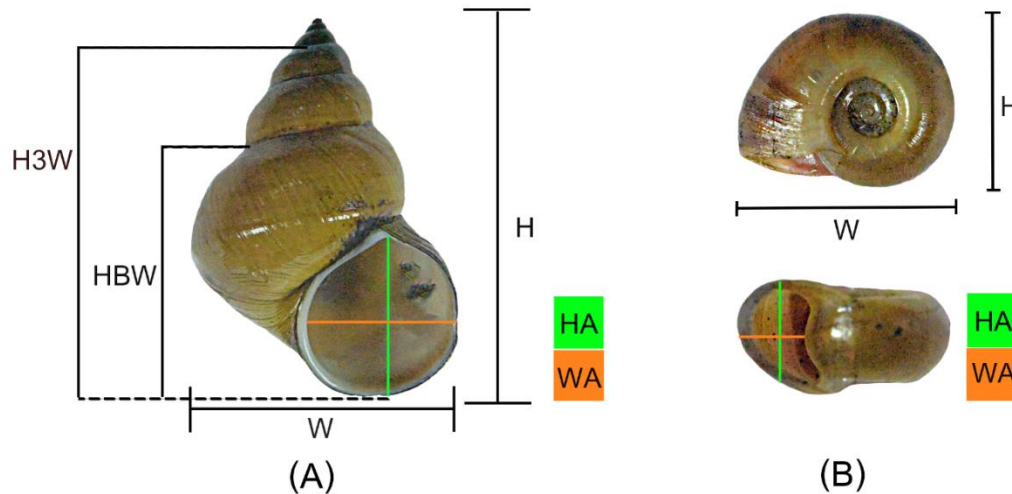


Figure 3 Shell size measurement of gastropods: (A) Conical snail, and (B) Flattened snail.

(Abbreviations : H, shell height; W, shell width; HA, aperture height; WA, aperture width;

HBW, height of body whorl; H3W, height of last three whorl)

8. ระบุชนิดพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียโดยการศึกษาลักษณะรูปร่างและอวัยวะต่าง ๆ ดังนี้ ลำตัว (body) การมีหาง/ไม่มีหาง (tail) ปลายหางไม่มีแฉก/มีสองแฉก และส่วนประกอบของอวัยวะต่าง ๆ ดังนี้ eyespots, oral sucker, ventral sucker, stylet, dorso-median finfold, caudal body, spine, pharynx, penetration gland และ excretory bladder เป็นต้น ตามวิธีการจัดจำแนกของ Schell (1962); Schell (1970); Ito (1980); Yamaguti (1975); Krailas *et al.* (2012, 2014, 2022); Veeravechsukij *et al.* (2018) และ Apiraksena *et al.* (2020)

9. วัดขนาดตัวอ่อนพยาธิใบไม้โดยการนำหยดน้ำที่มีตัวอ่อนพยาธิใบไม้หยดลงบนกระจกปิดสไลด์ แล้วย้อมสีด้วย 0.5% neutral red (เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:10) โดยหยดข้าง ๆ แผ่นกระจกปิดสไลด์ที่ขอบด้านหนึ่ง แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ หลังจากนั้นนำตัวอย่างพยาธิที่อยู่ในสไลด์มาวัดขนาดภายใต้กล้องกล้องจุลทรรศน์โดยการวัดค่าความกว้างและความยาวของ body, tail, excretory bladder, oral sucker, ventral sucker, stylet และ pharynx สำหรับตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียที่มีหางสองแฉกจะทำการวัดส่วนหางไปจนถึงปลายสุดทั้งสองแฉก (furca) หลังจากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยขนาดของพยาธิ โดยจะทำการวัดขนาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ชนิดละ 10 ตัว

10. การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ชนิดหอยฝาเดียว ชนิดพยาธิใบไม้ และการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้

10.1 รวบรวมข้อมูลความหลากหลายชนิดของหอยฝาเดียวที่สำรวจพบในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง

10.2 วิเคราะห์อัตราการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยแต่ละชนิด

$$\text{อัตราการติดเชื้อปรสิต (\%)} = \frac{\text{จำนวนหอยที่ติดเชื้อ (ตัว)}}{\text{จำนวนหอยทั้งหมด (ตัว)}} \times 100$$

10.3 ระบุนิคมพยาธิใบไม้ที่พบจากตัวอย่างหอยฝาดเดียว ตามลักษณะรูปร่างสัณฐานวิทยาและบันทึก การตรวจพบตัวอ่อนระยะต่าง ๆ ในเนื้อเยื่อหอย เช่น ระยะสปอโรซิสต์ ระยะรีเดีย ระยะเซอร์คาเรีย และระยะเมตาเซอร์คาเรีย

10.4 รวบรวมข้อมูลหอยฝาดเดียวที่พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างหอยที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางและชนิดของพยาธิใบไม้ที่มีความจำเพาะต่อกัน

10.5 วิเคราะห์อัตราการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ในหอยแต่ละชนิด

10.6 วิเคราะห์ความสามารถของหอยฝาดเดียวในการเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ชนิดต่าง ๆ

Results

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยฝาดเดียว จำนวน 13 จุดเก็บตัวอย่าง ซึ่งมีลักษณะพื้นที่เป็นลำธารน้ำตก (3 จุดเก็บตัวอย่าง) อ่างเก็บน้ำ (2 จุดเก็บตัวอย่าง) คลอง (1 จุดเก็บตัวอย่าง) และแม่น้ำ (7 จุดเก็บตัวอย่าง) โดยแต่ละจุดเก็บตัวอย่างมีสีของน้ำค่อนข้างใสไปจนถึงขุ่นสีเหลืองออกน้ำตาล ดินเป็นดินร่วนปนทราย มีดินเหนียวปนทรายในบางพื้นที่ นอกจากนี้ยังพบพืชน้ำบริเวณริมตลิ่งน้ำ และมักพบหอยอาศัยตามพื้นดิน เกาะตามพืชน้ำ ใบไม้ ขอนไม้ ขอบปูน และรากพืช

1. ความหลากหลายของหอยฝาดเดียว

จากการเก็บตัวอย่างหอยฝาดเดียวบริเวณแหล่งน้ำในอำเภอต่าง ๆ ของจังหวัดสระบุรี รวม 5 อำเภอ จำนวน 13 จุดเก็บตัวอย่าง สำนวจพบหอยฝาดเดียวรวมทั้งสิ้น 970 ตัว สามารถระบุชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ทั้งหมด 15 ชนิด ดังนี้ *R. rubiginosa* 5 ตัว, *B. s. siamensis* 187 ตัว, *R. morrisoni* 1 ตัว, *M. scabra* 118 ตัว, *M. tuberculata* 8 ตัว, *T. granifera* 362 ตัว, *A. helena* 183 ตัว, *M. s. braueri* 8 ตัว, *M. s. swainsoni* 2 ตัว, *F. filosa* 1 ตัว, *F. s. polygramma* 23 ตัว, *F. m. martensi* 63 ตัว, *I. exustus* 6 ตัว, *G. convexiusculus* 1 ตัว และ *P. canaliculata* 2 ตัว (Table 1, Figure 4)

2. การตรวจสอบการติดเชื้อปรสิตในหอยฝาดเดียว

เมื่อทำการตรวจสอบการติดเชื้อปรสิตในหอยฝาดเดียวด้วยวิธี shedding และวิธี crushing พบว่า มีหอยที่ติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ทั้งหมด 14 ตัว คิดเป็นอัตราการติดเชื้อปรสิต 1.44% (14/970) โดยชนิดของหอยฝาดเดียวที่ตรวจสอบพบการติดเชื้อมี 5 ชนิด คือ *A. helena* (4 ตัว) *M. scabra* (4 ตัว) *T. granifera* (2 ตัว), *F. m. martensi* (2 ตัว) และ *F. s. polygramma* (2 ตัว) (Table 1)

3. การจำแนกตัวอ่อนพยาธิใบไม้

จากตัวอย่างหอยฝาดเดียวที่พบการติดเชื้อรวม 14 ตัว สามารถระบุชนิดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ได้ 3 รูปแบบ 4 ชนิด ดังนี้ รูปแบบที่ 1 Xiphidiocercariae (*Loxogenoides bicolor*, *Maritreminoides obstipus*) รูปแบบที่ 2 Cotylomicrocercous cercariae (*Coitocaecum anaspidis*) และรูปแบบที่ 3 Parapleurolophocercous cercariae (*Acanthotrema tridactyla*) โดยตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียแต่ละชนิดมีลักษณะ ดังนี้

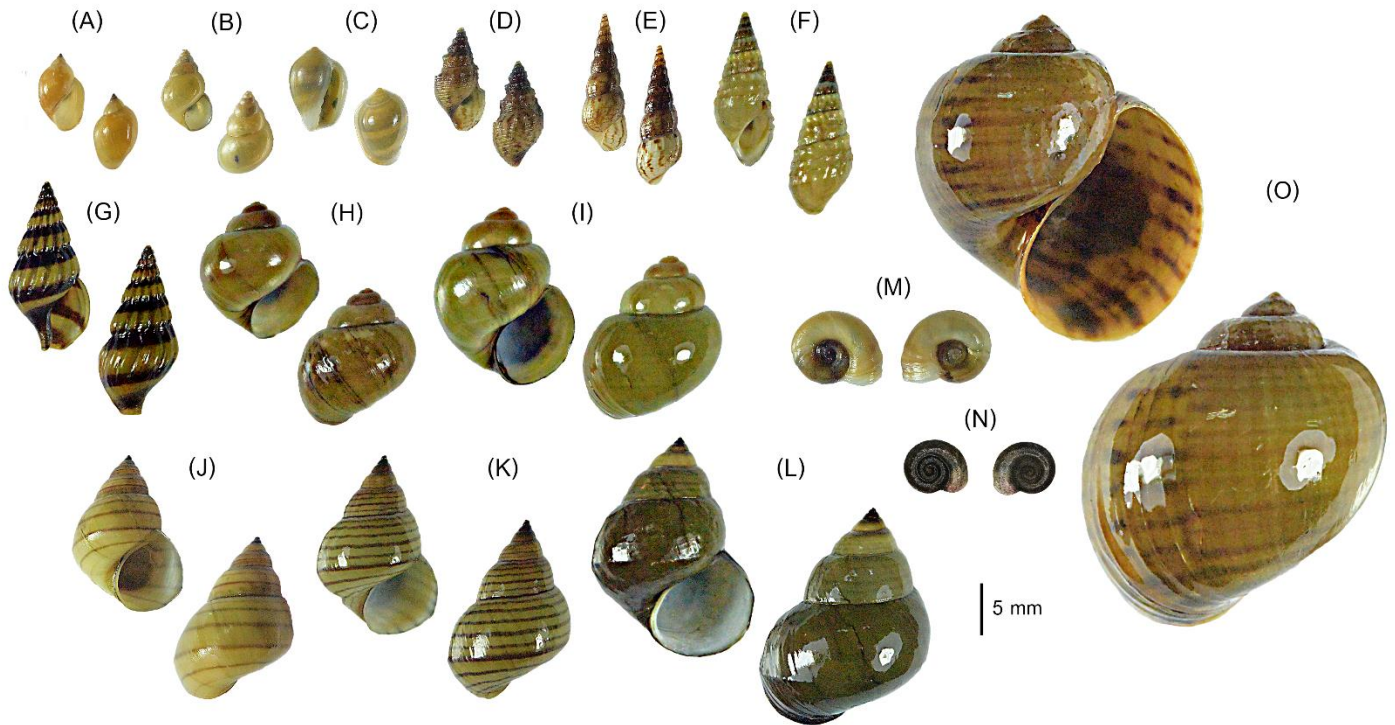


Figure 4 Gastropod species recorded at all 13 sampling sites in Saraburi Province, Thailand.

- | | | |
|------------------------------------|--|---|
| (A) <i>Radix rubiginosa</i> ; | (B) <i>Bithynia siamensis siamensis</i> ; | (C) <i>Rivomarginella morrisoni</i> ; |
| (D) <i>Mieniplotia scabra</i> ; | (E) <i>Melanoides tuberculata</i> ; | (F) <i>Tarebia granifera</i> ; |
| (G) <i>Anentome helena</i> ; | (H) <i>Mekongia swainsoni braueri</i> ; | (I) <i>Mekongia swainsoni swainsoni</i> ; |
| (J) <i>Filopaludina filosa</i> ; | (K) <i>Filopaludina sumatrensis polygramma</i> ; | (L) <i>Filopaludina martensi martensi</i> ; |
| (M) <i>Indoplanorbis exustus</i> ; | (N) <i>Gyraulus convexiusculus</i> ; | (O) <i>Pomacea canaliculata</i> |

Table 1 Infection rates of trematodes in each gastropod species collected from Saraburi Province, Thailand.

Species	Total snails	Infected snails	Infection rate (%)
<i>Radix rubiginosa</i>	5	0	0
<i>Bithynia siamensis siamensis</i>	187	0	0
<i>Rivomarginella morrisoni</i>	1	0	0
<i>Mieniplotia scabra</i>	118	5	0.51
<i>Melanoides tuberculata</i>	8	0	0
<i>Tarebia granifera</i>	362	2	0.21
<i>Anentome helena</i>	183	4	0.41
<i>Mekongia swainsoni braueri</i>	2	0	0
<i>Mekongia swainsoni swainsoni</i>	8	0	0
<i>Filopaludina filosa</i>	1	0	0
<i>Filopaludina sumatrensis polygramma</i>	23	1	0.10
<i>Filopaludina martensi martensi</i>	63	2	0.21
<i>Indoplanorbis exustus</i>	6	0	0
<i>Gyraulus convexiusculus</i>	1	0	0
<i>Pomacea canaliculata</i>	2	0	0
Total	970	14	1.44

รูปแบบที่ 1 Xiphidiocercariae จำแนกออกเป็น 2 รูปแบบย่อย ดังนี้

รูปแบบย่อยที่ 1 Armatae xiphidiocercaria cercariae

ชนิดที่ 1 *Maritreminoides obstipus* Van Cleave & Müller, 1932 (Figure 5A)

ระยะเซอร์คาเรีย: ลำตัวมีรูปร่างทรงไข่ มีขนาดเฉลี่ย $65.74\ \mu\text{m} \times 114.76\ \mu\text{m}$ ออร์ลซัคเกอร์ (oral sucker) ของลำตัว มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $15.66\ \mu\text{m} \times 23.67\ \mu\text{m}$ มีสไตเล็ต (stylet) สั้นขนาดเล็ก ไม่พบเวอกูลา (virgular organ) บริเวณออร์ลซัคเกอร์ มีคอหอย (pharynx) ย้อมติดสี 0.5% neutral red เห็นชัดเจนติดกับบริเวณออร์ลซัคเกอร์ มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $7.29\ \mu\text{m} \times 8.22\ \mu\text{m}$ มีต่อมขับน้ำย่อย (penetration gland) 4 คู่ มีเวนทรัลซัคเกอร์ (ventral sucker) อยู่บริเวณกลางลำตัวขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $14.56\ \mu\text{m} \times 12.21\ \mu\text{m}$ มีถุงขับถ่าย (excretory bladder) ผนังบาง ขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $14.91\ \mu\text{m} \times 21.65\ \mu\text{m}$ ส่วนหางมีลักษณะสั้นกว่าลำตัว มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $13.71\ \mu\text{m} \times 97.19\ \mu\text{m}$ เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี crushing พบตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรีย มีการเจริญพัฒนามาจากระยะ สปอโรซีสต์ การศึกษาครั้งนี้มีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ *M. obstipus* ในหอยฝาดเดียวชนิด *F. m. martensi* และ *F. s. polygramma* ในบริเวณอำเภอแก่งคอย 1 จุดเก็บตัวอย่าง คือ จุด 6 แม่น้ำป่าสัก (วัดแก่งคอย)

รูปแบบย่อยที่ 2 Virgulate xiphidiocercaria cercariae

ชนิดที่ 2 *Loxogenoides bicolor* Krull, 1933 (Figure 5B)

ระยะเซอร์คาเรีย: ลำตัวมีรูปร่างทรงไข่ มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $113.50\ \mu\text{m} \times 162.11\ \mu\text{m}$ ลำตัวปกคลุมไปด้วยหนาม มีออร์ลซีกเกอร์ ขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $32.12\ \mu\text{m} \times 20.12\ \mu\text{m}$ อยู่บริเวณด้านหน้าของลำตัว พบว่ามีสไตเลตและมัยวียะที่สะสมสารเมือกในตัวอ่อนเรียกเวอกูลา 1 คู่ อยู่บริเวณออร์ลซีกเกอร์ เมื่อย้อมด้วยสี 0.5% neutral red สามารถมองเห็นโครงสร้างได้อย่างชัดเจน มีคอหอยติดกับออร์ลซีกเกอร์ มีต่อมขับน้ำย่อย 3 คู่ เวทลซีกเกอร์ มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $24.98\ \mu\text{m} \times 23.56\ \mu\text{m}$ อยู่บริเวณกลางลำตัว ถูกขบถายเป็นรูปตัววี (v-shape) มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $9.78 \times 16.30\ \mu\text{m}$ ส่วนหางมีลักษณะสั้นกว่าลำตัว มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $13.71\ \mu\text{m} \times 118.10\ \mu\text{m}$ เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี crushing พบตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรีย มีการเจริญพัฒนามาจากระยะสปอโรซิสต์ การศึกษาครั้งนี้พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ *L. bicolor* ในหอยฝาดเดียวชนิด *F. m. martensi*, *F. s. polygramma* และ *T. granifera* พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ทั้งหมด 2 จุดเก็บตัวอย่าง ได้แก่ บริเวณอำเภอเมืองสระบุรี 1 จุดเก็บตัวอย่าง คือ แม่น้ำป่าสัก (วัดบ้านอ้อย) และอำเภอเสนาห์ 1 จุดเก็บตัวอย่าง คือ จุด 12 แม่น้ำป่าสัก (วัดสมุหประดิษฐาราม)

รูปแบบที่ 2 Cotylomicrocercous cercariae

ชนิดที่ 3 *Coitocaecum anaspidis* Hickman, 1934 (Figure 5C)

ระยะเซอร์คาเรีย: ลำตัวมีรูปร่างทรงกระบอก มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $50.59\ \mu\text{m} \times 180.27\ \mu\text{m}$ บริเวณด้านหน้าออร์ลซีกเกอร์ มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $24.2\ \mu\text{m} \times 27.08\ \mu\text{m}$ และมีสไตเลตขนาดสั้นยื่นออกไปด้านหน้าออร์ลซีกเกอร์ มีคอหอย มีต่อมขับน้ำย่อย 3 คู่ บริเวณกึ่งกลางด้านท้องพบเวทลซีกเกอร์ มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $17.12\ \mu\text{m} \times 33.58\ \mu\text{m}$ มีถุงขบถขนาดใหญ่และผนังหนา มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $18.13\ \mu\text{m} \times 24.83\ \mu\text{m}$ ส่วนหางมีลักษณะคล้ายรูปถ้วยมีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $38.75\ \mu\text{m} \times 62.43\ \mu\text{m}$ และมีต่อมสำหรับยึดเกาะ (adhesive gland) ทางด้านท้ายลำตัว เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี crushing พบตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียมีการเจริญพัฒนามาจากระยะสปอโรซิสต์ โดยการศึกษาครั้งนี้พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ *C. anaspidis* ในหอยฝาดเดียวชนิด *A. helena* ในบริเวณอำเภอมวกเหล็ก 1 จุดเก็บตัวอย่าง คือ จุด 1 อ่างเก็บน้ำมวกเหล็ก

รูปแบบที่ 3 Parapleurolophocercous cercariae

ชนิดที่ 4 *Acanthotrema tridactyla* Martin & Kuntz, 1955 (Figure 5D)

ระยะเซอร์คาเรีย: ลำตัวมีรูปร่างทรงรี มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $70.8\ \mu\text{m} \times 140.42\ \mu\text{m}$ บริเวณด้านหน้าออร์ลซีกเกอร์ ขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $32.87\ \mu\text{m} \times 37.34\ \mu\text{m}$ และมีตา (eyespot) 1 คู่ เป็นรูปสี่เหลี่ยม มีสีน้ำตาลออกดำ มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $5.43\ \mu\text{m} \times 6.45\ \mu\text{m}$ มีคอหอยเป็นมัดเล็ก ๆ อยู่ตรงกลางเหนือต่อมขับน้ำย่อย โดยต่อมขับน้ำย่อยเรียงตัวกันเป็นกลุ่ม มี 7 คู่ (3:4:4:3) อยู่ระหว่างคอหอยและเวทลซีกเกอร์ มีเวทลซีกเกอร์ ขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย $19.65\ \mu\text{m} \times 15.32\ \mu\text{m}$ ค่อนไปทางส่วนท้ายของลำตัว แต่ยังไม่เจริญพัฒนาดี มีถุงขบถค่อนไปทางส่วนท้ายลำตัวติดกับหางมีรูปร่างเป็นตัววี (v-shape) มีขนาดความกว้างและความยาวเฉลี่ย

30.97 μm x 25.54 μm ส่วนหางมีความยาวมากกว่าลำตัว มีขนาดเฉลี่ย 14.67 μm x 347.89 μm พบครีบบอกด้านหลัง และท้อง (dorsal-ventral finfold) และ ครีบบอกด้านข้าง (lateral finfold) บริเวณหาง เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี crushing พบตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียมีการเจริญพัฒนามาจากระยะรีเดีย โดยการศึกษาครั้งนี้พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ *A. tridactyla* ในหอยฝาเดียวชนิด *A. helena*, *M. scaba* และ *T. granifera* พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ทั้งหมด 2 จุดเก็บตัวอย่าง ได้แก่ บริเวณอำเภอมวกเหล็ก 2 จุดเก็บตัวอย่าง คือ จุด 2 ลำธารน้ำตกดงพญาเย็น และจุด 3 ลำธารน้ำตกเจ็ดสาวน้อย

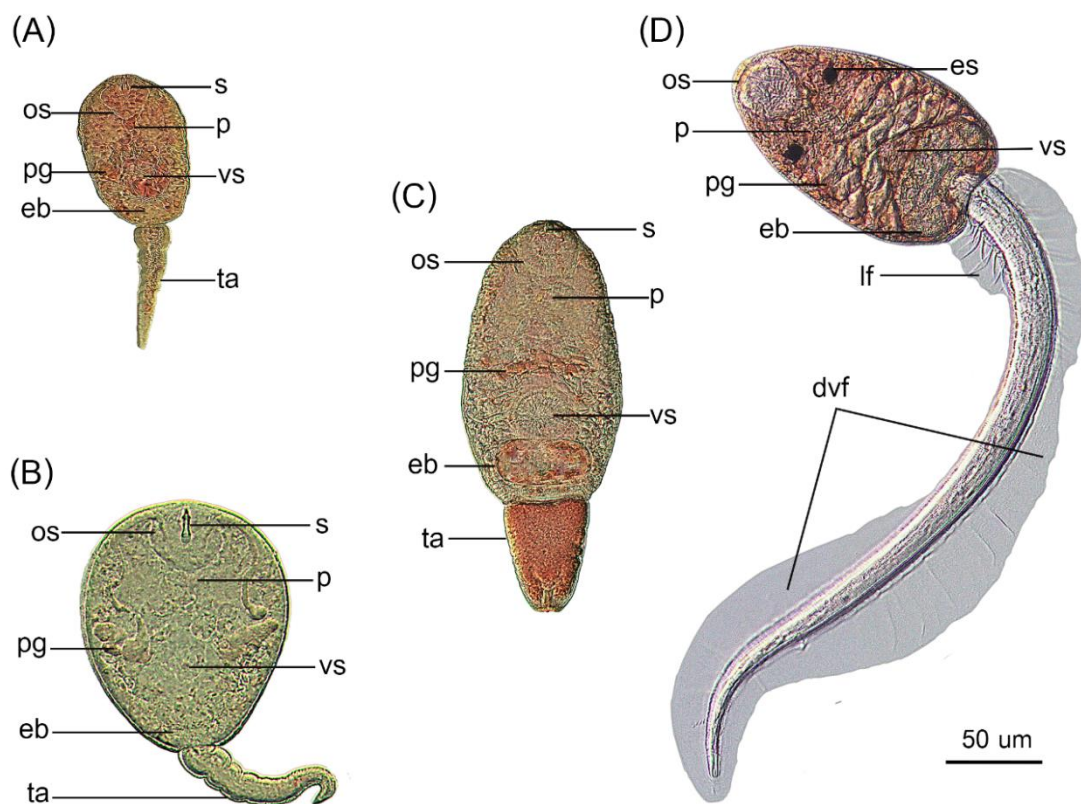


Figure 5 Cercarial stages of four trematode species stained with 0.5% neutral red.

(A) *Maritreminoides obstipus*; (B) *Loxogenoides bicolor*;

(C) *Coitocaecum anaspidis*; (D) *Acanthotrema tridactyla*

(Abbreviations: dvf, dorso-ventral finfold; eb, excretory bladder;

es, eyespot; lf, lateral finfold; p, pharynx; pg, penetration gland;

os, oral sucker; s, stylet; ta, tail; vs, ventral sucker)

4. ความสัมพันธ์ระหว่างหอยที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางและชนิดของพยาธิใบไม้

จากการศึกษาครั้งนี้พบหอยฝาเดียว 5 ชนิดที่สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ได้ทั้งหมด 4 ชนิด ดังนี้

- 1) หอย *A. helena* พบการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 2 ชนิด คือ *C. anaspidis* และ *A. tridactyla*
- 2) หอย *M. scabra* พบการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 1 ชนิด คือ *A. tridactyla* 3) หอย *T. granifera* พบการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 2 ชนิด คือ *L. bicolor* และ *A. tridactyla* 4) หอย *F. m. martensi* และ
- 5) หอย *F. s. polygramma* พบการติดเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย 2 ชนิด คือ *M. obstipus* และ *L. bicolor*

นอกจากนี้พยาธิใบไม้ *A. tridactyla* พบว่ามีจำนวนและชนิดของหอยฝาเดียวที่สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางได้มากที่สุด โดยพบหอยติดเชื้อทั้งหมด 8 ตัว 3 ชนิด ได้แก่ *A. helena* (3 ตัว), *M. scabra* (4 ตัว) และ *T. granifera* (1 ตัว) รองลงมาคือ พยาธิใบไม้ *L. bicolor* มีหอยที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางทั้งหมด 3 ตัว 3 ชนิด ในหอย *T. granifera* (1 ตัว), *F. m. martensi* (1 ตัว) และ *F. s. polygramma* (1 ตัว) พยาธิใบไม้ *M. obstipus* มีหอยที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางทั้งหมด 2 ตัว 2 ชนิด ในหอย *F. m. martensi* (1 ตัว) และ *F. s. polygramma* (1 ตัว) และพยาธิใบไม้ *C. anaspidis* มีหอยฝาเดียวที่เป็นโฮสต์กึ่งกลาง 1 ตัว 1 ชนิด คือ หอย *A. helena* (1 ตัว) (Table 2)

Table 2 Number of gastropods infected with four trematode species in Saraburi Province, Thailand.

Species	Xiphidiocercariae		Cotylomicrocercous	Parapleurolophocercous
			cercariae	cercariae
	Armatae	Virgulate		
	<i>M. obstipus</i>	<i>L. bicolor</i>	<i>C. anaspidis</i>	<i>A. tridactyla</i>
<i>Anentome helena</i>	-	-	1	3
<i>Mieniplotia scabra</i>	-	-	-	4
<i>Tarebia granifera</i>	-	1	-	1
<i>Filopaludina martensi martensi</i>	1	1	-	-
<i>Filopaludina sumatrensis polygramma</i>	1	1	-	-
Total	2	3	1	8

Discussion

หอยฝาเดียวมีความสำคัญในระบบนิเวศสามารถเป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์รวมถึงการเป็นดัชนีความสมบูรณ์ทางชีวภาพของระบบนิเวศของแหล่งน้ำ (Rungsiwiat et al., 2018) ในทางการแพทย์ หอยฝาเดียวยังสามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางให้กับพยาธิใบไม้ทำให้วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้สมบูรณ์ โดยหอยแต่ละชนิดมีความสามารถในการเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งหรือเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สองของพยาธิใบไม้ได้หลายชนิด เช่น *F. m. martensi*, *F. s. polygramma*, *S. trochoideus* และ *A. helena* มีรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้สกุลเอคิโนสโตมา (*Echinostoma*) (Chantima et al., 2013;

Wiroonpan *et al.*, 2021) และหอยวงศ์ไทอาริดี (Thiaridae) ชนิด *M. tuberculata* มีรายงานการติดเชื้อของพยาธิใบไม้ ชนิด *H. taichui*, *H. pumilio*, *C. formosanus*, *A. gracilis* (Krailas *et al.*, 2014) และหอย *T. granifera* พบการติดเชื้อ พยาธิใบไม้ ชนิด *C. alseae*, *E. revolutum*, *L. bicolor*, *A. histaense* (Veeravechsukij *et al.*, 2018) ซึ่งหอยฝาเดียว แต่ละชนิดจะมีความสามารถในการเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ได้หลากหลายและมีความจำเพาะต่อชนิด ของพยาธิใบไม้ที่แตกต่างกันไป

จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ลำไส้ทั้งหมด 4 ชนิด โดยมีหอยที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่ง คือ *A. helena*, *M. scabra*, *T. granifera*, *F. m. martensi* และ *F. s. polygramma* มีอัตราการติดเชื้อรวมทั้งหมด 1.44% (14/970) จากผลอัตราการติดเชื้อนี้ทำให้เห็นว่าโอกาสในการเกิดโรคพยาธิใบไม้ในคนและสัตว์ยังคงมีอยู่ค่อนข้างสูง เนื่องจากตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะต่างๆ เช่น ระยะสปอโรซิสต์ ระยะรีเดีย จะอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อหอย โดยมีการสืบพันธุ์ แบบไม่อาศัยเพศและมีการเพิ่มจำนวนตัวอ่อนพยาธิใบไม้เป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรีย ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายที่อาศัยอยู่ในหอยฝาเดียวไชออกมาจากหอยเป็นจำนวนมากในแหล่งน้ำ เมื่อพบโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง เช่น กุ้ง หอย ปู ปลา และพืชน้ำ ก็จะสามารถเจริญพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียหรือระยะติดต่อกได้เป็นจำนวนมาก เช่นกัน ดังนั้นหากคนและสัตว์ได้รับเข้าสู่ร่างกายจากการบริโภคอาหารไม่สุกก็น่าจะทำให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคพยาธิใบไม้ ได้สูง เมื่อวิเคราะห์ชนิดหอยฝาเดียวที่มีความสัมพันธ์กับพยาธิใบไม้แต่ละชนิดพบว่าหอยฝาเดียววงศ์วิพริดี (Viviparidae) ที่เคยมีการรายงานพบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในหอยชนิด *F. m. martensi*, *F. s. speciosa*, *F. s. polygramma* และ *F. s. dorliaris* ซึ่งเป็นกลุ่มหอยที่มีการรายงานว่ามีความสำคัญทางการแพทย์ในการเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ ได้หลายชนิด โดยเฉพาะพยาธิใบไม้วงศ์เอคิโนสโตมาทิดี (Echinostomatidae) ได้แก่ *E. revolutum*, *E. malayanum*, *Echinostoma* sp. ที่สามารถก่อให้เกิดโรค Echinostomiasis ได้ในสัตว์ปีกและมนุษย์ (Chai, 2009; Toledo & Esteban, 2016; Toledo *et al.*, 2022) นอกจากพบหอยฝาเดียวที่สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งของพยาธิใบไม้ยังพบว่าสามารถ เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง โดยพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิ *E. revolutum* ในเนื้อเยื่อหอย *Filopaludina* sp. (Chai *et al.*, 2011) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้หอย *Filopaludina* ไม่พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้กลุ่ม Echinostome พบเพียงการติดเชื้อพยาธิใบไม้ชนิด *M. obstipus* และ *L. bicolor* ซึ่ง *M. obstipus* เป็นพยาธิใบไม้ในวงศ์ไมโครฟาลลิดี (Microphallidae) สามารถพบระยะตัวเต็มวัยได้ในสัตว์ปีก โดยในประเทศไทยเคยมีรายงานการติดเชื้อในหอยชนิด *T. granifera* (Veeravechsukij *et al.*, 2018) พยาธิ *M. obstipus* มีปลาเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง โดยระยะติดต่อก เมตาเซอร์คาเรียสามารถติดต่อกจากปลาสู่นกกินปลาที่เป็นโฮสต์สุดท้ายทำให้การแพร่กระจายของโรคจากสัตว์สู่สัตว์ และจากสัตว์สู่คนที่สามารถขยายพื้นที่การติดเชื้อได้ง่าย

พยาธิใบไม้ *L. bicolor* จัดอยู่ในวงศ์เลซิโทเดนดริอิดี (Lecithodendriidae) เป็นพยาธิใบไม้ของสัตว์สะเทินน้ำ สะเทินบก มีรายงานระยะตัวเต็มวัยพบในกบ (*Rana clamitans*) (Yamaguti, 1975) ในประเทศไทยพบการแพร่กระจายพยาธิ ชนิดนี้ได้ทั่วประเทศ และมีรายงานการพบตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียจากหอยหลายชนิด ได้แก่ *M. tuberculata*, *M. jugicostis*,

Thiara scabra (= *Mieniplotia scabra*), *Brotia costula*, *B. dautzenbergiana*, *B. wykoffi*, *T. granifera*, *Stenomelania cf. torulosa*, *Neoradidina aff. Prasongi*, *F. m. martensi* และ *Bithynia siamensis goniomphalos* (Ukong et al., 2007; Dechruksa et al., 2007, 2017; Krailas et al., 2012, 2014; Pratumskajom et al., 2017; Veeravechskij et al., 2018; Apiraksena et al., 2020) การศึกษาครั้งนี้พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอย 2 ชนิด คือ *F. m. martensi* และ *F. s. polygramma* ซึ่งเป็นการรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ชนิดนี้เพิ่มเติมในหอยสกุล *Filopaludina*

พยาธิใบไม้ *Coitocaecum anaspidis* จัดอยู่ในวงศ์โอเปโคเอลิดี (Opecoelidae) โดยมีระยะตัวเต็มวัยอยู่ในลำไส้ของปลา *Galaxias brevipennis*, *G. attenuatus*, *Gobiomorphus gobioides* และสามารถพบตัวอ่อนระยะสปอโรซิสต์และระยะเซอร์คาเรียในหอย *Potamopyrgus antipodum* และ *P. badia* ที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่ง โดยรายงานโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สองพบระยะเมตาเซอร์คาเรียในพวกแอมฟิพอด (amphipod) เช่น ไนน้ำ จากการศึกษาวงศ์ชีวิตของพยาธิชนิดนี้ในประเทศนิวซีแลนด์ (Macfarlane, 2009) สำหรับในประเทศไทยมีการรายงานพยาธิใบไม้ชนิดนี้น้อยมาก โดยมีรายงานพบในหอยฝาเดียวน้ำจืดชนิด *Littorinopsis intermedia* บริเวณชายฝั่งของภาคตะวันออกถึงภาคกลางของประเทศไทย (Namchote et al., 2015) การศึกษาครั้งนี้พบการติดเชื้อในหอยนักล่าชนิด *A. helena* ซึ่งเป็นการรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ชนิดนี้เพิ่มเติมในหอยสกุล *Anentome* ในประเทศไทย

พยาธิใบไม้ *Acanthotrema tridactyla* (= *Stictodora tridactyla*) จัดอยู่ในวงศ์เฮเทอโรไฟิডি (Heterophyidae) เป็นพยาธิใบไม้ลำไส้ของนก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น สุนัข แมว และคน โดยพบระยะเมตาเซอร์คาเรียในปลา *Aphanius dispar* (Al-Kandari et al., 2015; Khosravi et al., 2023) ในประเทศไทยมีการรายงานการติดเชื้อในหอย *M. tuberculata*, *M. jugicostis*, *C. cingulata*, *B. costula*, *T. granifera* และ *P. cingulata* (Ukong et al., 2007; Krailas et al., 2014; Pratumskajom et al., 2017; Veeravechskij et al., 2018; Khosravi et al., 2023) สำหรับการศึกษาในครั้งนี้พบการติดเชื้อจากหอย *A. helena*, *T. granifera* และ *M. scabra* ทำให้เพิ่มการบันทึกโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่ง จากรายงานการติดเชื้อพยาธิ *A. tridactyla* จากวงศ์เทอริดี 1 ชนิด คือ *M. scabra* และวงศ์นาสซาริডি (Nassariidae) สำหรับหอยวงศ์เทอริดี พบว่าเป็นหอยที่มีความไวในการติดเชื้อของพยาธิใบไม้ได้หลายชนิดโดยเฉพาะพยาธิในวงศ์เฮเทอโรไฟิডি เมื่อพิจารณาจากลักษณะเปลือกของหอยวงศ์เทอริดี พบว่าหลายชนิดมีเปลือกไม่หนา ขนาดตัวเล็กถึงปานกลาง และพบตามแหล่งน้ำได้ทั่วไป ทำให้พบการแพร่กระจายสูงเป็นโอกาสให้พบการติดเชื้อพยาธิได้ง่าย การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของพยาธิกับหอย *A. helena* การศึกษาครั้งนี้สามารถพบความสามารถในการเป็นโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้เพิ่มขึ้นจากรายงานที่ผ่านมา อาจเนื่องมาจากจำนวนตัวอย่างของหอย *A. helena* ที่สุ่มเก็บได้มีจำนวนมากจึงทำให้มีโอกาสพบการติดเชื้อพยาธิได้

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบชนิดหอยที่สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางให้กับพยาธิใบไม้ได้หลายชนิดในจังหวัดสระบุรี มีจำนวนทั้งหมด 5 ชนิด (*Mieniplotia scabra*, *T. granifera*, *F. m. martensi*, *F. s. polygramma* และ *A. helena*) โดยพบหอยวงศ์เทอริดี วงศ์วิพาริডি (Viviparidae) และวงศ์นาสซาริডি ที่สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งของพยาธิใบไม้ลำไส้และเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ในปลา กบ นก และคน โดยเฉพาะหอยชนิด *F. m. martensi*, *F. s. polygramma* สามารถเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สองของพยาธิใบไม้ลำไส้ได้ โดยมีตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะติดต่ออาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อหอย หากคนรับประทานหอยชนิดนี้ หรือไม่ปรุงให้สุก ก็อาจจะทำให้เกิดโรคพยาธิใบไม้ลำไส้ได้ ดังนั้นการเฝ้าระวัง

การเกิดโรคพยาธิใบไม้ด้วยวิธีการตรวจสอบการติดเชื้อในหอยฝาดเดียว จึงเป็นวิธีการที่ช่วยประเมินความเสี่ยงในการเกิดโรคพยาธิใบไม้ได้ ทำให้ทราบแนวทางวิธีการป้องกันเพื่อควบคุมโรคติดต่อที่เกิดจากสัตว์มาสู่คนได้จากการกิน โดยการให้ความรู้ประชาชนและหลีกเลี่ยงการกินอาหารที่ปรุงไม่สุก อาหารกึ่งสุกกึ่งดิบ ฯลฯ จะช่วยทำให้ปลอดภัยจากโรคพยาธิใบไม้ได้ งานวิจัยนี้ยังเป็นประโยชน์ต่องานทางด้านสังขวิทยา สังขวิทยาทางการแพทย์ ประสิดวิทยา ในการเป็นข้อมูลให้กับหน่วยงานต่าง ๆ ในสถาบันการศึกษา กระทรวงสาธารณสุข และชุมชนที่เกี่ยวข้อง ช่วยส่งเสริมการควบคุมป้องกันการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในหอยฝาดเดียวในประเทศให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

Conclusions

การติดเชื้อพยาธิใบไม้ของหอยฝาดเดียวในจังหวัดสระบุรี ทำการเก็บตัวอย่างหอยฝาดเดียวในเดือนมิถุนายน 2566 ทั้งหมด 13 จุดสำรวจ พบหอยฝาดเดียวทั้งหมด 970 ตัว ระบุชนิดของหอยฝาดเดียวด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาออกเป็น 15 ชนิด พบหอยฝาดเดียว 5 ชนิด ที่มีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ ได้แก่ *A. helena*, *M. scabra*, *T. granifera*, *F. m. martensi* และ *F. s. polygramma* รวมจำนวน 14 ตัว คิดเป็นอัตราการติดเชื้อทั้งหมด 1.44% (14/970) ระบุชนิดตัวอ่อนพยาธิใบไม้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาออกเป็น 3 รูปแบบ 4 ชนิด ได้แก่ รูปแบบที่ 1 Xiphidiocercariae (*L. bicolor*, *M. obstipus*) รูปแบบที่ 2 Cotylomicrocercous cercariae (*C. anaspidis*) และรูปแบบที่ 3 Parapleurolophocercous cercariae (*A. tridactyla*)

Acknowledgments

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) กองทุนส่งเสริม วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 และ พ.ศ. 2566 ขอขอบคุณทุนสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร เลขสัญญาบัตร SRIF-JRG-2569-07 ขอขอบคุณหน่วยวิจัยปรสิตวิทยาและสังขวิทยาทางการแพทย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร และขอขอบคุณนายณภัทร พิมเทศ นักศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ช่วยเก็บตัวอย่างและข้อมูลในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

References

- Al-Kandari, W. Y., Alnaqeeb, M. A., Isaac, A. M., & Al-Bustan, S. A. (2015). Molecular characterization of *Stictodora tridactyla* (Trematoda: Heterophyidae) from Kuwait Bay using rDNA ITS and mtCO1. *Parasitology research*, 114, 4259-4266.
- Anantaphruti, M. T., Nawa, Y., & Vanvanitchai, Y. (2011). Human sparganosis in Thailand: an overview. *Acta Tropica*, 118, 171-176.

- Apiraksena, K., Namchote, S., Komsuwan, J., Dechraksa, W., Tharapoom, K., Veeravechsukij, N., Glaubrecht, M., & Krailas, D. (2020). Survey of *Stenomelania* Fisher, 1885 (Cerithioidea, Thiaridae): The potential of trematode infections in a newly-recorded snail genus at the coast of Andaman Sea, South Thailand. *Zoosystematics and Evolution*, 96(2), 807-819.
- Brandt, A. M. (1974). *The non-marine aquatic Mollusca of Thailand*. Frankfurt: Arch Moll Band 105.
- Chai, J. Y. (2009). Echinostomes in humans. In R. Toledo & B. Fried (Eds.), *The biology of echinostomes: from the molecule to the community* (pp. 147–183). New York: Springer.
https://doi.org/10.1007/978-0-387-09577-6_7
- Chai, J. Y., Sohn, W. M., Na, B. K., & Nguyen, V. D. (2011). *Echinostoma revolutum*: metacercariae in *Filopaludina* snails from Nam Dinh Province, Vietnam, and adults from experimental hamsters. *The Korean Journal of Parasitology*, 49(4), 449-455. <https://doi.org/10.3347/kjp.2011.49.4.449>
- Chantima, K., Chai, J.Y., & Wongsawad, C. (2013). *Echinostoma revolutum*: Freshwater Snails as the Second Intermediate Hosts in Chiang Mai, Thailand. *The Korean Journal of Parasitology*, 51(2), 183-189.
- Chontanarith, T., & Wongsawad, C. (2013). Epidemiology of cercarial stage of trematodes in freshwater snails from Chiang Mai province, Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(3), 237–243.
[https://doi.org/10.1016/s2221-1691\(13\)60058-1](https://doi.org/10.1016/s2221-1691(13)60058-1)
- Dechraksa, W., Glaubrecht, M., & Krailas, D. (2017). Natural trematode infections of freshwater snail *Melanoides jugicostis* Hanley & Theobald, 1876 (Family Thiaridae), the first intermediate host of animal and human parasites in Thailand. *Silpakorn University Science and Technology Journal*, 11(1), 9-16.
- Dechraksa, W., Krailas, D., Ukong, S., Inkapatanakul, W., & Koonchornboon, T. (2007). Trematode infections of the freshwater snail family Thiaridae in the Khek river, Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 38(6), 1016-1028.
- Ito, J. (1980). *Studies on cercariae in Japan*. Shizuoka: Shizuoka University Press.
- Khosravi, M., Díaz-Morales, D. M., Thieltges, D. W., Wahl, M., & Vajedsamiei, J. (2023). Thermal optima of cercarial emergence in trematodes from a marine high-temperature ecosystem, the Persian Gulf. *Scientific Reports*, 13, 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31670-0>

- Krailas, D., Chotesaengsri, S., Dechruksa, W., Namchote, S., Chuanprasit, C., Veeravechsukij, N., Boonmekam, D., & Koonchornboon, T. (2012). Species diversity of aquatic mollusks and their cercarial infections; Khao Yai National Park, Thailand. *The Journal of Tropical Medicine and Parasitology*, 35(2), 37-47.
- Krailas D., Namchote S., Koonchornboon T., Dechruksa W., Boonmekam D. (2014). Trematodes obtained from the thiarid freshwater snail *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) as vector of human infections in Thailand. *Zoosystematics and Evolution*, 90(1), 57-86. <https://doi.org/10.3897/zse.90.7306>
- Krailas, D., Namchote, S., Komsuwan, J., Wongpim, T., Apiraksena, K., Glaubrecht, M., Sonthiporn, P., Sansawang, C., & Suwanrit, S. (2022). Cercarial dermatitis outbreak caused by ruminant parasite with intermediate snail host: schistosoma in Chana, South Thailand. *Evolutionary Systematics*, 6, 151–173. <https://doi.org/10.3897/evolsyst.6.87670>
- Krairut, P., Thawnon-ngiw, B., & Kongim, B. (2020). Genetic diversity of genus *Filopaludina* in the upper northeastern Mekong Basin of Thailand revealed by mitochondrial DNA sequences. *Interdisciplinary Research Review*, 15(3). 39-43.
- Macfarlane, V. W. (2009). Life cycle of *Coitocaecum anaspidis* Hickman, a New Zealand digenetic trematode. *New Zealand Journal of Zoology*, 31(2), 172-184.
- Namchote, S., Sritongtae, S., Butnin, S., Wongwain, P., & Krailas, D. (2015). Larval stage of trematodes obtained from brackish water snails in the central and east coast of the Gulf of Thailand. *Scientific Research and Essays*, 10(11), 386–401. <https://doi.org/10.5897/SRE2015.6160>
- Noikong, W., & Wongsawad, C. (2014). Epidemiology and molecular genotyping of echinostome metacercariae in *Filopaludina* snails in Lamphun Province, Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(1), 26-29.
- Olivier, L. J., & Schneiderman, M. (1956). A method for estimating the density of aquatic snail populations. *Experimental Parasitology*, 5, 109–117. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(56\)90008-X](https://doi.org/10.1016/0014-4894(56)90008-X)
- Pratumsrikajorn, P., Namchote, S., Boonmekam, D., Koonchornboon, T., Glaubrecht, M., & Krailas, D. (2017). Cercarial Infections of Freshwater Snail Genus *Brotia* in Thailand. *Science, Engineering and Health Studies*, 9-15.

- Rungsiwiat, A., Rayan, S., & Chartchumni, B. (2018). Abundance of freshwater gastropods and correlation with water quality in Nam Oun Reservoir, Sakon Nakhon Province. *Journal of Science and Technology Ubon Ratchathani University*, 21, 21-26. (in Thai)
- Schell, S. C. (1962). *Parasitology laboratory manual*. New York & London: John Wiley & Sons, Inc.
- Schell, S. C. (1970). *How to know the Trematodes*. Iowa: Wm. c. Brown Company Publishers.
- Srisonti, D. (1997). *Lung fluke. Bangkok: Living Transmedia*. (in Thai)
- Toledo, R., Alvarez-Izquierdo, M., Esteban, J. G., & Munoz-Antoli, C. (2022). Neglected food-borne trematodiasis: echinostomiasis and gastrodiscoidiasis. *Parasitology*, 149(10), 1319-1326.
<https://doi.org/10.1017/S0031182022000385>
- Toledo, R., & Esteban, J. G. (2016). An update on human echinostomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 110(1), 37-45. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trv099>
- Ukong, S., Krailas, D., Dangprasert, T., & Channgarm, P. (2007, April). Studies on the morphology of cercariae obtained from freshwater snails at Erawan Waterfall, Erawan National Park, Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 38(2), 302–312.
- Upatham, E. S., Sornmani, S., Kittikoon, V., Lohachit, C., & Burch, J. B. (1983). Identification key for fresh and brackish water snails of Thailand. *Malacological Review*, 16, 107-132.
- Veeravechsukij, N., Namchote, S., Neiber, M. T., Glaubrecht, M., & Krailas, D. (2018). Exploring the evolutionary potential of parasites: Larval stages of pathogen digenic trematodes in their thiarid snail host *Tarebia granifera* in Thailand. *Zoosystematics and Evolution*, 94(2), 425–460.
<https://doi.org/10.3897/zse.94.28793>
- Wiroonpan, P., Chontanarith, T., & Purivirojkul, W. (2021). Cercarial trematodes in freshwater snails from Bangkok, Thailand: prevalence, morphological and molecular studies and human parasite perspective. *Parasitology*, 148(3), 366-383. <https://doi.org/10.1017/S0031182020002073>

Wongpim, T., Komsuwan, J., Janmanee, C., Thongchot, P., Limsampan, S., Wichianarat, N., Chaowatut, W., Suwanrat, S., Dechruksa, W., Veeravechskij, N., Glaubrecht, M., & Krailas, D. (2023). Freshwater pulmonate snails and their potential role as trematode intermediate host in a cercarial dermatitis outbreak in Southern Thailand. *Evolutionary systematics*, 7(2), 293-315.

Yamaguti, S. (1975). *A synoptical review of life histories of digenetic Trematode of Vertebrates*. Tokyo: Keigaku publishing.

Yoonuan, T., Vanvanitchai, Y., Dekumyoy, P., Komalamisra, C., Kojima, S., & Waikagul, J. (2008). Paragonimiasis prevalences in Saraburi province, Thailand, measured 20 years apart. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 39(4), 593 – 600.