

นายนาว ลา: การวินิจฉัยไข่พยาธิใบไม้ตับก่อโรคมะเร็งท่อน้ำดี ด้วยวิธีทางปรสิตวิทยาและชีวโมเลกุล ในประเทศกัมพูชา (DISCRIMINATION OF HUMAN CARCINOGENIC LIVER FLUKE-LIKE EGGS FROM CAMBODIA USING PARASITOLOGICAL AND MOLECULAR METHODS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงชวัลัญญา รัตนพิบูลย์, 174 หน้า.

คำสำคัญ: ออพิสทอร์คิสวิเวอร์ริณี/ ฟอ์มาลินเอทิลอะซิเตท/ ปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส/ โรคมะเร็งท่อน้ำดี/ ไฟโลจีเนติกทรี/ ประเทศกัมพูชา

ออพิสทอร์คิสวิเวอร์ริณีเป็นพยาธิใบไม้ตับ ที่พบในพื้นที่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้และมีความสัมพันธ์ในการเกิดโรคมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุขในปัจจุบัน ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยโรคอย่างแม่นยำและรวดเร็วจึงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการควบคุมการติดเชื้อพยาธิชนิดนี้ได้ อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่เดียวกันการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ยังคงเป็นวิธีการหลักสำหรับการตรวจวินิจฉัย แต่วิธีการนี้ยังมีข้อจำกัดของความไวหากมีการติดเชื้อในระดับที่ต่ำ ดังนั้นการวิจัยนี้ จึงมีการประยุกต์ใช้วิธีการของปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส [polymerase chain reaction (PCR)] สำหรับตรวจสอบยีน internal transcribed spacer 2 (ITS2) รวมทั้งยีน cytochrome c oxidase subunit 1 (COX1) และ ยีน NADH nicotinamide adenine dinucleotide subunit 1 (NAD1) เพื่อแยกชนิดย่อยทางพันธุกรรม อีกทั้งยังใช้การตรวจวินิจฉัยของวิธีความเข้มข้นของฟอ์มาลินเอทิลอะซิเตท [formalin-ethyl acetate concentration technique (FECT)] ควบคู่ด้วย วิธีการข้างต้นเป็นการตรวจการติดเชื้อพยาธิออพิสทอร์คิสวิเวอร์ริณี ในตัวอย่างอุจจาระคน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาด้วยการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะชนิด *Fau1* เพื่อจำแนกความแตกต่างของพันธุกรรมในพยาธิออพิสทอร์คิสวิเวอร์ริณีระหว่างประเทศไทยและประเทศกัมพูชา

การสำรวจความชุกของการติดเชื้อพยาธิออพิสทอร์คิสวิเวอร์ริณี ใช้วิธีการวิเคราะห์ข้อมูลแบบสองตัวแปรและหลายตัวแปรด้วยโปรแกรมซอฟต์แวร์ SPSS เวอร์ชัน 23.0 ผลการวิเคราะห์พบว่าอัตราการติดเชื้อปรสิตในลำไส้เท่ากับ 15.91% (จำนวนอุจจาระ 377 ตัวอย่าง) จากการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี FECT พบการติดเชื้อพยาธิออพิสทอร์คิสวิเวอร์ริณี มากที่สุด (5.57%) ตามด้วยพยาธิปากขอ (4.24%), โปรโตซัวกลุ่มอะมีบา (*Entamoeba coli*) (3.97%), พยาธิไส้เดือน (*Ascaris lumbricoides*) (1.06%), พยาธิติตแคระ (*Hymenolepis nana*) (1.06%), กลุ่มพยาธิตืด (*Taenia* spp.) (0.53%) และพยาธิแส้ม้า (*Trichuris trichiura*) (0.53%) ตามลำดับ ส่วนการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี PCR ของพยาธิออพิสทอร์คิสวิเวอร์ริณี (6.89%) พบสูงกว่าวิธี FECT โดยพบในผู้ชาย (8.92%) สูงกว่าผู้หญิง (5.45%) และกลุ่มอายุน้อย (13.40%) มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อพยาธิออพิสทอร์คิสวิเวอร์ริณี ในบุคคลที่ไม่รู้หนังสือ (8.74%), อาชีพอื่น ๆ (อาชีพที่ไม่เฉพาะเจาะจง) (11.63%), และ

ประชากรที่อาศัยอยู่ในหมู่บ้านตรอยเปียง สแระ (Trapaing Srae) (9.94%) อำเภอสนัว (Snuol) จังหวัด กระแจะ (Kratie) โดยกลุ่มอายุต่ำกว่า 20 ปี มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อพยาธิ ออพิสทอร์คิสิเวอรรี นีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) มีค่า adjusted OR = 0.601, 95% CI = 0.410-0.882 และ $P = 0.009$

นอกจากนี้สายพันธุ์กรรมของพยาธิออพิสทอร์คิสิเวอรรี นีในพื้นที่ของ Snuol Kratie มีความแตกต่างของพยาธิออพิสทอร์คิสิเวอรรี นีที่พบในพื้นที่ของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมถึงภาค ตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย สปป. ลาว เวียดนาม และกัมพูชาอย่างชัดเจน ในส่วนของการ ตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีการระดับชีวโมเลกุลพบที่มีความไวสูงสำหรับตรวจพยาธิออพิสทอร์คิสิเวอรรี นี ในตัวอย่างอุจจาระ เมื่อเทียบกับวิธีการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบดั้งเดิม ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึง ผลกระทบด้านสาธารณสุขของการติดเชื้อพยาธิออพิสทอร์คิสิเวอรรี นีในกัมพูชาแล้ว จึงจำเป็นต้องมี การนำวิธีการตรวจวินิจฉัยระดับโมเลกุลเข้ามาใช้คัดกรองควบคู่กับวิธีทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน พื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูง เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลทางระบาดวิทยาที่แม่นยำยิ่งขึ้น นอกจากนี้พยาธิออพิส ทอร์คิสิเวอรรี นีมีระบาดวิทยาในพื้นที่ชนบทใกล้เคียงกับแหล่งน้ำจืด จึงจำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังเชิงรุก สำหรับการตรวจทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับหน้าที่ตับและมะเร็งท่อน้ำดี รวมทั้งจำเป็นต้องมีการให้ ความรู้ด้านสุขภาพเพื่อลดความเสี่ยงให้กับประชาชนในพื้นที่นั้นๆด้วย



สาขาวิชา เวชศาสตร์ปริวรรต

ปีการศึกษา 2566

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

NAV LA: DISCRIMINATION OF HUMAN CARCINOGENIC LIVER FLUKE-LIKE EGGS FROM CAMBODIA USING PARASITOLOGICAL AND MOLECULAR METHODS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SCHAWANYA RATTANAPITON, M.D. 174 PP.

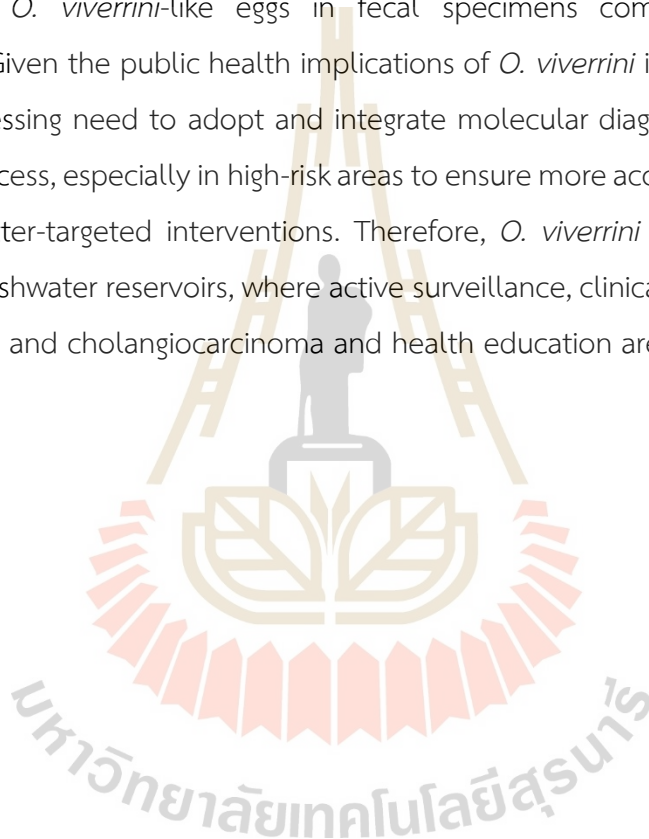
Keywords: *Opisthorchis viverrini*/ Formalin-ethyl acetate concentration technique/Polymerase chain reaction/ Cholangiocarcinoma/ Phylogenetic tree/ Cambodia

Opisthorchis viverrini, a liver fluke endemic in several Southeast Asian countries and worldwide, poses a significant public health risk due to its association with cholangiocarcinoma. Accurate and early detection is critical for effective disease controlling, while microscopy remains a conventional diagnostic tool, its sensitivity is often compromised, especially in low-intensity infections. The present study aimed to determine *O. viverrini* eggs through fecal samples using formalin-ethyl acetate concentration technique (FECT) and internal transcribed spacer 2 (ITS2) gene-based polymerase chain reaction (PCR), and restriction enzyme *Fau1* to discriminate the liver fluke-like eggs and cytochrome c oxidase subunit 1 (COX1), NADH nicotinamide adenine dinucleotide subunit 1 (NAD1) gene mtDNA for genetic sub-type isolation.

Associated prevalence of *O. viverrini* infection was examined within bivariate and multivariate analyses using SPSS version 23.0 software program. Results showed that the infection rate of intestinal parasites was 15.91% (n=377) based on FECT. Among intestinal parasites, *O. viverrini* showed higher frequency (5.57%), followed by Hookworm (4.24%), *Entamoeba coli* (3.97%), *Ascaris lumbricoides* (1.06%), *Hymenolepis nana* (1.06%), *Taenia* spp. (0.53%), and *Trichuris trichiura* (0.53%). Meanwhile, *O. viverrini* positive cases were found to be higher by PCR (6.89%) than by FECT. Both parasitological and molecular methods were analyzed. Infections of *O. viverrini* were found to be higher in men (8.92%) than in women (5.45%), and to be associated more frequently with younger age groups (13.40%), illiteracy (8.74%), participation in other careers (non-specific occupations) (11.63%), and residence in the Trapaing Srae village (9.94%) of the Snuol district, Kratie Province. Age groups under 20

years old were significantly linked with *O. viverrini* infection, with adjusted OR=0.601, 95% CI=0.410-0.882, $p=0.009$ and significant value established at ($P<0.05$).

Furthermore, there is no *O. viverrini* of Snuol Kratie grouping in the same reference cluster as the commonly found *O. viverrini*, indicating that the *O. viverrini* in this area of Kratie Province is clearly distinct from common *O. viverrini* found throughout Southeast Asia, including northeastern Thailand, Lao PDR, Vietnam, and Cambodia. Molecular methods, particularly PCR, demonstrates that higher sensitivity in detecting *O. viverrini*-like eggs in fecal specimens compared to traditional microscopy. Given the public health implications of *O. viverrini* infection in Cambodia, there is a pressing need to adopt and integrate molecular diagnosis into the routine screening process, especially in high-risk areas to ensure more accurate epidemiological data and better-targeted interventions. Therefore, *O. viverrini* is distributed in rural areas near freshwater reservoirs, where active surveillance, clinical examination related hepatobiliary, and cholangiocarcinoma and health education are needed.



Translational Medicine Program
Academic Year 2023

Student's Signature.....
Advisor's Signature.....
Co-Advisor's Signature.....