รหัสโครงการ SUT6-609-61-12-04

รายงานการวิจัย

ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธีทางปรสิตวิทยาแบบเข้มข้นและทางชีวโมเลกุล

Comparison of the Opisthorchiasis diagnostic Methods by Using Parasitological Concentration and Molecular Biological Method

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT6-609-61-12-04

รายงานการวิจัย

ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธีทางปรสิตวิทยาแบบเข้มข้นและทางชีวโมเลกุล

Comparison of the Opisthorchiasis diagnostic Methods by Using Parasitological Concentration and Molecular Biological Method

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงชวัลญ์ญา รัตนพิทูลย์

เวชศาสตร์ครอบครัวและชุมชน

สำนักวิชาแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัธคพัชฬ รัตนพิทูลย์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2561

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

เมษายน 2564

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ด้วยการสนับสนุนของผู้เกี่ยวข้องหลายฝ่าย คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ หน่วยงานต่าง ๆ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาการทำวิจัย ได้แก่ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สถานวิจัย สำนักวิชาแพทยศาสตร์ และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่งที่ได้เห็นความสำคัญและสนับสนุนงบประมาณงานวิจัยนี้ ขอขอบพระคุณท่านคณบดีและผู้บริหารสำนักวิชาสำนักแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ได้ให้คำปรึกษาและชี้แนะการทำวิจัย และขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ บุคลากร นักวิจัยศูนย์วิจัยโรคปรสิต สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความร่วมมือช่วยเหลือดำเนินโครงการเป็นไปด้วยความเรียบร้อยและมีประสิทธิภาพ และท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณครูบาอาจารย์ที่อบรมสั่งสอน และบุพการีที่สนับสนุนการศึกษามาโดยตลอด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

โรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดีนับเป็นปัญหาที่มีความสำคัญทางด้านสาธารณสุขของประเทศไทยโดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ การติดเชื้อในปัจจุบันไม่ได้มีความหนาแน่นสูง จึงทำให้พบการติดเชื้อได้น้อยด้วยวิธีการตรวจวินิจฉัยที่มีความไวและจำเพาะต่ำ จึงจำเป็นต้องหาวิธีการที่เหมาะสมมาใช้ในพื้นที่เสี่ยง ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ด้วยวิธี Mini Parasep SF Faecal Concentrator (MPSF) กับวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR)- cytochrome c oxidase subunit (COI) นำตัวอย่างอุจจาระจำนวน 168 ตัวอย่าง ตรวจด้วยทั้ง 2 วิธี เปรียบเทียบค่าความไว ค่าความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก ค่าทำนายผลลบ และค่าความแม่นยำ ผลการศึกษาพบว่า การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* 22.02% พยาธิเส้นด้าย *Strongyloides stercoralis* 7.56% และพยาธิตัวตืด *Taenia* sp. 0.58% จากการตรวจด้วยวิธี MPSF ผลการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ส่วนหน้า CTG AAT CTC TCG TTT GTT CA และไพรเมอร์ส่วนหลัง GTT CCA GGT GAG TCT CTC TA พบ 66.86% เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ มีค่า MPSF sensitivity specificity NPV PPV และ accuracy เท่ากับ 31.09, 100, 100, 37.4 และ 51.19 ตามลำดับ และวิธี PCR มีค่า sensitivity specificity NPV PPV และ accuracy เท่ากับ 95.83, 100, 100, 90.74 และ 97.04 การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการตรวจวินิจฉัยพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลมีความทำนายผลลบ และความแม่นยำสูง จึงเหมาะสมในการนำไปใช้ตรวจในพื้นที่เสี่ยงที่มีรายงานความหนาแน่นการติดเชื้อเบาบาง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำสำคัญ: พยาธิใบไม้ตับ ชีวโมเลกุล Mini Parasep SF Faecal Concentrator

Abstract

Opisthorchiasis and cholangiocarcinoma are still a major health problem in Thailand particular in northeastern and northern part. Currently, low intense infections are detected by diagnose method with low sensitivity and specificity. Therefore, high sensitivity and specificity method is needed for the risk areas. This study was aimed to compare between Mini Parasep SF Faecal Concentrator (MPSF) and Polymerase Chain Reaction (PCR) based cytochrome c oxidase subunit (COI) for diagnose *Opisthorchis viverrine* among 168 samples. The efficacy of diagnostic tool; sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and accuracy were analyzed. The results reveal that *O. viverrini* 22.02%, *Strongyloides stercoralis* 7.56%, *Taenia* sp. 0.58% were detected by MPSF. Meanwhile, *O. viverrini* (66.86%) infections were diagnosed by PCR using forward primer; CTG AAT CTC TCG TTT GTT CA and reverse primer; GTT CCA GGT GAG TCT CTC TA. In comparison with gold standard, MPSF method was sensitivity (31.09%) specificity (41.00%), PPV (100%), NPV (37.4 %), and accuracy (51.19%) and PCR method were sensitivity (95.83%) specificity (100%), PPV (100%), NPV (90.74 %), and accuracy (97.04%), respectively. This study indicates that molecular tool is suitable for using diagnose opisthorchiasis in the risk areas where have been reported low intensity.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Keyword: liverfluke molecular Mini Parasep SF Faecal Concentrator

สารบัญ

	หน้าที่
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
1 บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 สมมุติฐานของโครงการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
2 บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	3
2.1 การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*	3
2.2 การวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ	5
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
3 บทที่ 3 การดำเนินงานโครงการวิจัย	10
3.1 กรอบแนวคิดการดำเนินงานวิจัย	10
3.2 การเก็บตัวอย่าง	11
3.3 การดำเนินการทดลอง	12
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล	18
4 บทที่ 4 ผลการดำเนินโครงการวิจัย	19
4.1 ผลข้อมูลทั่วไปและแบบประเมินความเสี่ยงการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*	19

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้าที่
4.2 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิด้วยวิธี MPSF	22
4.3 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี PCR	23
4.4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพด้วยวิธี MPSF กับวิธี PCR	28
5 บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	29
6 บรรณานุกรม	31
7 ประวัติผู้วิจัย	36

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงสารที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR สำหรับ 1 หลอด PCR ปริมาตร 25 µl 15

ตารางที่ 2 แสดง condition ในการตั้งค่าเครื่อง PCR เพื่อให้เกิดการทำปฏิกิริยาของสาร ในหลอด PCR 16

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ของการติดเชื้อ พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* กับข้อมูลทั่วไปเพศและช่วงอายุ ด้วย x2-test 19

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิ ความชุกของการติดเชื้อ ค่าความหนาแน่นจากค่าเฉลี่ย EPG ของ และระดับของการติดเชื้อ พยาธิแต่ละชนิดที่ตรวจพบจากวิธี MPSF และ วิธี PCR 20

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนผู้ตอบคำถามความเสี่ยงของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ 21

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบผลเป็นบวก และผลเป็นลบของการตรวจด้วยวิธี PCR และวิธี MPSF 23

ตารางที่ 7 ตาราง 2x2 ของข้อมูลผลตรวจด้วยวิธี MPSF เปรียบเทียบกับมาตรฐาน 28

ตารางที่ 8 ตาราง 2x2 ของข้อมูลผลตรวจด้วยวิธี PCR เปรียบเทียบกับมาตรฐาน 28

ตารางที่ 9 แสดงค่า sensitivity specificity NPV PPV accuracy ของวิธี MPSF และวิธี PCR 28

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ . 5

ภาพที่ 2 กรอบแนวคิดการดำเนินงานวิจัย 10

ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนวิธีการเตรียมตัวอย่างและการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิ ของชุดตรวจสำเร็จรูป mini parasep SF concentater technique 13

ภาพที่ 4 แสดงภาพรวมของการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ เริ่มจากการสกัด DNA การวัดปริมาณ DNA การเพิ่มปริมาณ DNA การรัน Gel electropholesis และ ถ่ายภาพแผ่นเจล ด้วยเครื่อง Gel Doc. 17

ภาพที่ 5 ร้อยละความชุกของการติดเชื้อพยาธิชนิดต่าง ๆ จากการวินิจฉัยด้วยวิธี MPSF 22

ภาพที่ 6 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิชนิดต่าง ๆ ที่เมื่อยินยันด้วยวิธี PCR มีการติดเชื้อ พยาธิใบไม้ตับเพิ่มเป็น 66.86% 23

ภาพที่ 7 ภาพเจลที่แสดงแถบตัวอย่าง DNA ของพยาธิใบไม้ตับ 24

ภาพที่ 8 แสดงข้อมูลความเหมือนของลำดับเบสจากตัวอย่างผลเป็นบวก positive ในวิธี PCR กับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ percent Identity 99.45% ที่เลข Accession AB281491.1 25

ภาพที่ 9 แสดงข้อมูลคะแนน Alignment สีแดงคือมีความเหมือน ≥200 base สีชมพู 80-200 base และสีเขียว 50-80 base 26

ภาพที่ 10 แสดงการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) 27

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

โรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดีจัดเป็นปัญหาที่สำคัญทางด้านสาธารณสุขของกลุ่มประเทศภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยโรคพยาธิใบไม้ตับที่เป็นปัญหาสำคัญและจัดเป็นโรคประจำถิ่นในประเทศ ไทย ลาว กัมพูชา และเวียดนามเกิดจากพยาธิใบไม้ตับชนิด *Opisthorchis viverrini* โรคพยาธิใบไม้ตับมีความสัมพันธ์กับโรคและอาการทางระบบตับและท่อทางเดินน้ำดี อาทิ ท่อน้ำดีอักเสบ ตัวเหลือง ตับ ม้ามโต นิ่วในถุงน้ำดี และเป็นเชื้อก่อโรคมะเร็งท่อน้ำดี (Sripa et al., 2007) ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทยมีอุบัติการณ์โรคมะเร็งท่อน้ำดีสูงมากที่สุดในโลก และโรคนี้มีต้นทุนในการรักษาสูงประมาณ 5 แสนบาทต่อคน (WHO, 2011) จากข้อมูลล่าสุดในปี พ.ศ. 2557 พบความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในภาคตะวันออกเฉียงเหนือร้อยละ 9.2 และพบว่าผู้ป่วยมีอัตราการรอดชีวิตต่ำมาก เนื่องจากพบผู้ป่วยมะเร็งในระยะท้ายๆ สาเหตุของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเกิดจากการรับประทานอาหารที่ปรุงไม่สุกหรือสุกๆดิบๆที่ทำมาจากปลาเกล็ดขาวกลุ่มปลาวงศ์ตะเพียน ซึ่งนิยมรับประทานกันมากตามชุมชนชนบททางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ (Kaewpitoon et al., 2008, Sripa et al., 2010) โดยพบว่าคนที่รับประทานปลาดิบมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเป็น 3.5 เท่าของคนที่ไม่รับประทาน (OR = 3.5, 95% CI = 2.7–4.5, P < 0.001) (Yoon et al., 2014) แต่ยังมีอีกหลายปัจจัยที่ยังมีความแตกต่างกันไปตามแต่ละพื้นที่ ทำให้การควบคุมป้องกันโรคของหน่วยงานที่เกี่ยวข้องไม่ประสบผลสำเร็จ

จากข้อมูลข้างต้น จะพบว่า โรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดีจัดว่าเป็นปัญหาที่มีความสำคัญทางด้านสาธารณสุขที่ควรแก้ไขอย่างเร่งด่วน เนื่องจากเป็นโรคที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของประชาชน และมีแนวโน้มอัตราการเสียชีวิตเพิ่มสูงขึ้นทุกปี และปัจจุบันงานควบคุมโรคหนอนพยาธิ เป็นงานหนึ่งของแผนงานป้องกันควบคุมโรคติดต่อในแผนพัฒนาการสาธารณสุขแห่งชาติ ฉบับที่ 11 (พ.ศ. 2556-2560) ซึ่งส่วนกลางได้มีการกำหนดกลยุทธ์เสนอให้จังหวัดมีการดำเนินการและมีพื้นที่ครอบคลุมทุกจังหวัดทั่วประเทศ โดยเน้นการค้นหาพื้นที่เสี่ยงและกลุ่มเสี่ยงโดยการตรวจคัดกรอง ดังนั้น ความถูกต้อง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

แม่นยำของวิธีการตรวจวินิจฉัยในชุมชนที่มีความเสี่ยง เพื่อให้การรักษาที่มีประสิทธิภาพ และนำไปสู่การควบคุมป้องกันต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบความถูกต้องแม่นยำ (sensitivity specific negative and positive predictive value (NPV และ PPV)) ของวิธีการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี Mini Parasep SF Faecal Concentrator กับวิธีการตรวจมาตรฐาน Polymerase Chain Reaction

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยเชิงสำรวจ ณ ช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง (Cross-sectional survey research) ทำการศึกษาในประชากรในพื้นที่เสี่ยง ที่สามารถให้ข้อมูลได้ และยินดีเข้าร่วมโครงการ โดยยินยอมให้เก็บอุจจาระเพื่อการส่งตรวจ คัดเลือกกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธีสมัครใจ

1.4 สมมุติฐานของโครงการวิจัย

ความถูกต้องไว ความแม่นยำ ค่าคาดหมายผลบวกและค่าคาดหมายผลลบ จากการตรวจด้วย 2 วิธี ได้แก่ Mini Parasep SF Faecal Concentrator และวิธีทางชีวโมเลกุล PCR

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงความถูกต้องไว sensitivity ความแม่นยำ specificity ค่าคาดหมายผลบวกและค่าคาดหมายผลลบ (positive and negative predictive value (PPV and NPV)) ระหว่างวิธีการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี Mini Parasep SF Faecal Concentrator กับวิธีการตรวจมาตรฐาน Polymerase Chain Reaction ซึ่งสามารถนำวิธีที่ดีที่สุดไปใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ได้ถูกต้อง และแม่นยำ เพื่อลดความเสี่ยงเป็นมะเร็งท่อน้ำดีในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

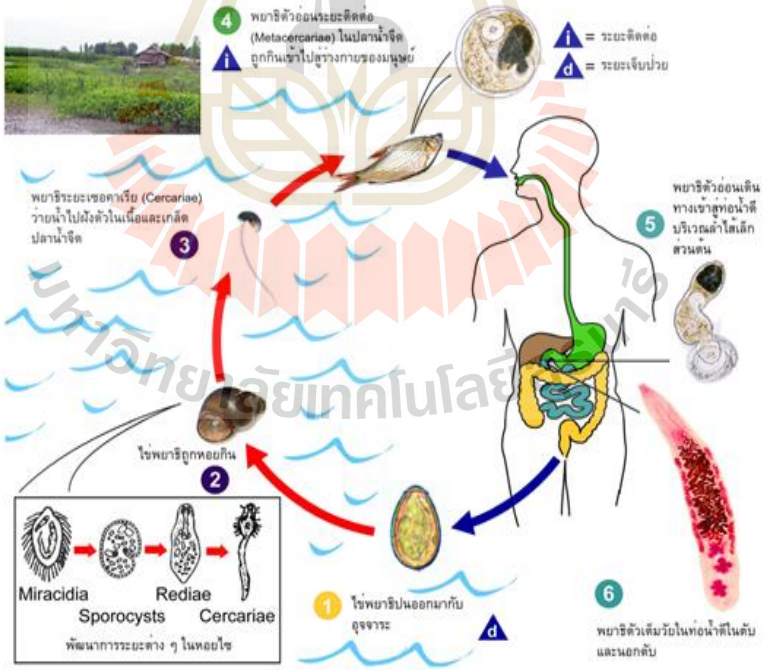
2.1 การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

โรคพยาธิใบไม้ตับจากเชื้อ *O. viverrini* เป็นพยาธิที่เป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยมายาวนาน โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ปัจจุบันมีรายงานการสำรวจพบว่าการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่เสี่ยง 5 จังหวัด ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีความชุกของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับสูงถึง 14.3% (Prakobwong and Suwannatrai, 2020) จากข้อมูลการสำรวจดังกล่าว ประมาณการได้ว่ามีกลุ่มเสี่ยงประมาณ 3,315,000 คน ที่ติดเชื้อพยาธินี้ พยาธิใบไม้ตับได้รับการบันทึกจากองค์กรด้านมะเร็งว่าเป็นเชื้อก่อมะเร็ง (IARC, 2012) การติดเชื้อทำให้เกิดพยาธิสภาพการอักเสบหรือการแบ่งเซลล์พบมากเฉพาะบริเวณเยื่อบุผิวท่อน้ำดีที่บริเวณผิวสัมผัสระหว่างผิวด้านนอกของพยาธิ (tegument) จากการกลไกการทำลายทางกายภาพ เช่น การกัดกินเนื้อเยื่อด้วยปากดูดหรือตอบสนองต่อสารคัดหลั่งออกมาจากพยาธิ และกลไกทางอิมูโนพยาธิวิทยา (immunopathology) จากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนพยาธิที่แทรกซึมเข้าไปในเซลล์เยื่อบุผิวท่อน้ำดี (Sripa and Kaewkes, 2000) การติดเชื้อซ้ำซาก ติดเชื้อเรื้อรังร่วมกับปัจจัยการได้รับสารไนโตรซามีนจากอาหาร การดื่มสุรา พันธุกรรม ก็นำไปสู่การเกิดเป็นมะเร็งท่อน้ำดี (Sripa et al., 2007) มะเร็งท่อน้ำดีมีอุบัติการณ์สูงมากในประเทศไทย โดยมีรายงานตีพิมพ์และชี้ให้เห็นว่าไทยเป็นประเทศที่มีอุบัติการณ์สูงที่สุดในโลก (Bridgewater et al., 2014) มะเร็งท่อน้ำดีทำให้มีความสูญเสียชีวิต ทำให้สูญเสียงบประมาณของประเทศไม่น้อยกว่า 4,212,000,000 บาท/ปี (Andrews, 2006) มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งที่เป็นสาเหตุอันดับหนึ่งของการเสียชีวิตของคนไทย

จากข้อมูลการใช้วิธีการตรวจพยาธิใบไม้ตับด้วยชุดตรวจ mini parasep sf faecal concentrator มาประยุกต์ใช้ก็เพิ่มความไวและความจำเพาะมากยิ่งขึ้น สะดวก ปลอดภัยจากสารก่อมะเร็ง (Kaewpitoon et al., 2016a) และการตรวจโดยการใช้ ITS-polymerase chain reaction เหมาะที่จะนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคพยาธิใบไม้ตับ (Kaewpitoon et al., 2012) จากข้อมูลข้างต้นนี้การศึกษาเปรียบเทียบของทั้งสองวิธีนับเป็นการหาวิธีการคัดกรองโรคเชิงรุกเพื่อป้องกันควบคุมการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ที่สำคัญในการลดปัญหาการเสียชีวิต การป่วย การสูญเสียงบประมาณได้เป็นอย่างดี

2.2.1 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ

วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* สาเหตุเกิดจากการรับประทานปลาน้ำจืดในวงศ์ปลาตะเพียนที่ปรุงไม่สุก เช่น การรับประทาน ก้อยปลา หรือพวกปลาที่หมักดอง เช่น ปลาร้า ปลาส้ม ปลาจ่อม ที่อาจมีระยะติดต่อเมตาเซอร์คาเรียในเนื้อปลา (Jongsuksuntigul and Imsomboon, 2003) เมื่อเมตาเซอร์คาเรียไปเจริญเติบโตที่ท่อน้ำดีจนเป็นตัวเต็มวัยของพยาธิจะปล่อยไข่ ผสมน้ำดีและปนเปื้อนออกมากับอุจจาระ จากการรายงานการศึกษาพบว่า พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีโฮสต์ตัวกลางสองชนิด โฮสต์ตัวกลางตัวแรก คือหอยน้ำจืดในสกุล *Bithynia* ซึ่งจะกินไข่พยาธิ และไข่พยาธิเข้าไปเจริญแบ่งตัวภายในระบบทางเดินอาหารของหอย เป็นระยะต่างๆ เช่น ไมราซิเดียม สปอโรซีส รีเดีย และระยะสุดท้าย คือ ระยะเซอร์คาเรีย ซึ่งระยะเซอร์คาเรียจะไชออกจากหอย จากนั้นเข้าสู่โฮสต์ตัวกลางตัวที่สอง เป็นปลาน้ำจืดเกล็ดขาวในวงศ์ปลาตะเพียน (Cyprinidae) (Wykoff et al., 1965) เซอร์คาเรียจะไชเข้าภายไต้เนื้อปลาสลัดหางและขดตัวสร้างถุงซีสหุ้มเป็นระระเมตาเซอร์คาเรียในเนื้อปลา ซึ่งคนจะติดเชื้อโดยการรับประทานระยะติดต่อเมตาเซอร์คาเรียที่อยู่ในเนื้อปลา (Tesana, 1986) เป็นวงจรดังภาพที่ 2



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ

ที่มา: พิศาล ไม้เรียง, บรรจบ ศรีภา (2557)

2.2 การวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ

ในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ มีหลายวิธีซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการตรวจจากการปนเปื้อนของไข่พยาธิมากับอุจจาระ การตรวจตัวอย่างอุจจาระเพื่อหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับมีหลากหลายวิธี เช่น วิธีการตรวจหาปรสิตเชิงคุณภาพ (Qualitative method) เช่น วิธี Simple smear technique วิธี Kato's thick smear วิธีSimple sedimentation (การตกตะกอนแบบธรรมดา) วิธี Simple centrifugation (การตกตะกอนโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง) Formalin-ether (ethyl acetate) centrifugation technique และ Brine floatation technique (การลอยตัวในน้ำเกลืออิ่มตัว) เป็นต้น และ วิธีที่ 2 เป็นการตรวจหาปรสิตเชิงปริมาณ (Quantitative method) เช่น วิธี Stoll's dilution egg count technique วิธี Modified Stoll's dilution method วิธี Kato-Katz technique (Modified kato-katz technique) วิธี Modified formalin-ether (ethyl acetate) concentration technique และวิธี Faecal Parasite Concentrator – Solvent Free เป็นต้น (Kaewpitoon et al., 2018)

ซึ่งวิธีการตรวจข้างต้นเป็นวิธีที่ถูกใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ รวมถึงการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วย ซึ่งต้องอาศัยผู้เชี่ยวชายในการตรวจหาการติดเชื้อเพื่อความแม่นยำ รวมทั้งวิธีการ มีขั้นตอนที่มีความจำเพาะขึ้นอยู่กับการเลือกมาใช้ในการศึกษา ปัจจุบันกรมความคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข แนะนำวิธีที่มีความไวในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิจากตัวอย่างอุจจาระ คือวิธี Kato-Katz technique หรือ วิธี Modified kato-katz technique (กรมควบคุมโรค, 2020) เพื่อใช้วินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิ ถึงแม้ว่าจะเป็นวิธีดีที่สุดตอนนี้ แต่อาจมีข้อจำกัดในการตรวจ เช่น ผู้เชี่ยวชาญ ความรุนแรงของการติดเชื้อ หรือปัจจัยอื่นๆ อาจไม่สามารถตรวจพบไข่พยาธิในอุจจาระได้ จึงมีการพัฒนาวิธีการที่มีความไวและความจำเพาะในการตรวจหาการติดเชื้อ เช่น การตรวจหาการติดเชื้อทางภูมิคุ้มกัน ด้วยการตรวจหาแอนติเจน แอนติบอดีในปัสสาวะ หรือซีรัม และการตรวจด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล โดยการสกัด DNA และเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยวิธี PCR เป็นต้น (Wongratanacheewin et al., 2003, Kaewpitoon et al., 2012; Worasith et al., 2015)

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิ ที่ง่ายและสะดวก รวดเร็วในการวินิจฉัยในรูปแบบสำเร็จรูป เช่น ชุดตรวจ mini parasep® sf faecal concentrator มีการนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิ ที่สะดวก ปลอดภัยจากสารอันตราย (Kaewpitoon et al., 2016a) อย่างไรก็ตามการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิโดยใช้ชุดตรวจ mini parasep® sf faecal concentrator โดยการเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาการติดเชื้อของพยาธิใบไม้ตับในอุจจาระ ในพื้นที่ที่มีความหนาแน่นของการติดเชื้อต่ำ ด้วย4 วิธี คือ วิธี formalin-ethyl acetate concentration technique (FECT) วิธี Kato-Katz วิธี fecal parasite concentrator kit (FPCK) และวิธี direct simple smear ผลารศึกษาพบว่า วิธีที่ดีที่สุดในการตรวจหาการติดเชื้อคือวิธี FECT มิ sensitivity เท่ากับ 91.0% รองลมาคือวิธี Kato-Katz ซึ่งวิธี FPCK หรือ mini parasep และ direct simple smear มีค่า sensitivity ต่ำและไม่แนะนำให้ใช้ในพื้นที่ที่มีความหนาแน่นในการติดเชื้อต่ำ (Charoensuk et al., 2019) การศึกษาการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับที่เป็นสาเหตุของการเป็นมะเร็งท่อน้ำดีในอุจจาระ โดยใช้วิธี mini parasep kit และวิธี simple smear เมื่อตรวจสอบความคุ้มค่าและประโยชน์ของทั้งสองวิธีเปรียบเทียบกัน พบว่า วิธี simple smear มีความจำเพาะต่ำว่าวิธี mini parasep แต่ใช้เวลา และค่าใช้จ่ายต่อ 1 ตัวอย่างน้อยกว่า วิธี mini parasep ซึ่งวิธี mini parasep ถึงแม้จะใช้เวลามากกว่า และมีค่าใช้จ่ายสูงกว่าประมาณ 2 เท่า แต่วิธีนี้เป็นระบบปิด มีความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน และมีความจำเพาะสูงกว่าวิธี simple smear จึงแนะนำให้ใช้เพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อในห้องปฏิบัติการ แทนการใช้วิธี simple smear (Kaewpitoon et al., 2016a) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจพยาธิ Mini Parasep® solvent-free faecal parasite concentrator (SF) เทียบวิธี Kato-Katz และ วิธี McMaster เพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิในอุจจาระของเด็ก ผลการศึกษาพบว่าวิธี มี sensitivity สูงที่สุดเมื่อเทียบกับ 2 วิธี เท่ากับ 90.2% และ negative predictive values เท่ากับ 62.4% (Adugna et al., 2017) ในปี 2018 แก้วพิทูลย์ และคณะได้ตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ในประชากรกลุ่มอาเซียน ที่อาศัยในประเทศไทย โดยใช้ mini parasep kit ผลการตรวจสอบพบว่า มีค่า sensitivity สูงเท่ากับ 93.48% ค่า specificity เท่ากับ 86.70% NPV เท่ากับ 98.32% และ accuracy เท่ากับ 87.95% (Kaewpitoon et al., 2018) และ การทดสอบประสิทธิภาพของในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิในระบบทางเดินอาหารโดยการใช้ formol-ether method (FEM) Mini Parasep® SF และวิธี Direct wet mount เปรียบเทียบกับวิธี

Direct wet mount ผลการทดสอบพบว่า วิธี Mini Parasep มีความไวมากที่สุดคือ 98.7% วิธี FEM และ Direct wet mount คือ 95% และ 90.1% ตามลำดับ (Mewara et al., 2019) จะเห็นได้ว่ามีการทดสอบประสิทธิภาพของวิธี mini parasep kit ด้วยวิธีอื่น ๆ แต่ผลการทดสอบก็ชี้ให้เห็นถึงความแม่นยำและไม่แม่นยำในการวินิจฉัยอยู่บ้าง ซึ่งแสดงว่า วิธีการนี้ก็อาจจะมีความผิดพลาดในการวินิจฉัยได้ข้อนข้างสูง ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการนำไปสู่การรักษาได้

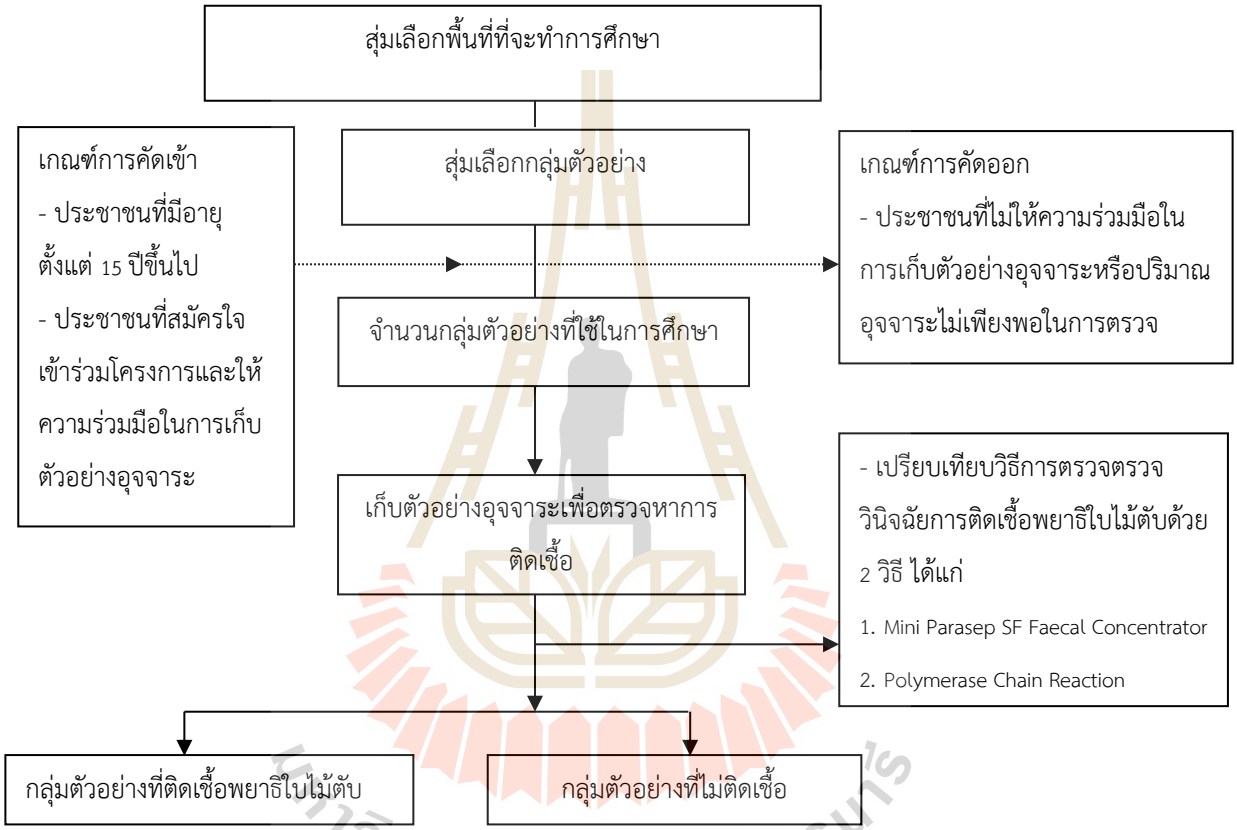
และการตรวจโดยการใช้ ITS-polymerase chain reaction เหมาะที่จะนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคพยาธิใบไม้ตับ (Kaewpitoon et al., 2012) จากข้อมูลข้างต้นนี้การศึกษาเปรียบเทียบของทั้งสองวิธีนับเป็นการหาวิธีการคัดกรองโรคเชิงรุกเพื่อป้องกันควบคุมการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ที่สำคัญในการลดปัญหาการเสียชีวิต การป่วย การสูญเสียงบประมาณได้เป็นอย่างดี จากงานวิจัยที่ผ่านมา มีการศึกษาการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ จากตัวอย่างอุจจาระ ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) จากตัวอย่างอุจจาระผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าวิธี PCR เป็นเครื่องมือ และวิธีที่เหมาะสมในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* โดยเฉพาะในตัวอย่างที่มีเยอะๆ และต้องตรวจพร้อม ๆ กัน ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูงในการวินิจฉัย การพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในหนูที่ติดเชื้อด้วยวิธี PCR โดยออกแบบไพรเมอร์ที่มีขนาด 330 bp ผลการทดสอบตรวจไข่ของหนูที่ติดเชื้อพยาธิ ตั้งแต่ 1 ไข่ที่ได้จากการ dilution ของมูลหนูที่ติดเชื้อและ วิธี PCR มีความไวสูงสุด 100 % ในทุกกลุ่มของมูลหนูที่ติดเชื้อ (Wongratanacheewin et al., 2001) ในปี 2008 มีการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของอุจจาระคนที่ติดเชื้อ ด้วยวิธี PCR พบว่า การวินิจฉัยด้วยวิธี PCR มีความไวในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคนได้ต่ำสูด 5 ไข่/กรัม ซึ่งชี้ให้เห็นว่าวิธี PCR มีความไวและความจำเพาะสูงในการตรวจหาการติดชื้อในอุจจาระ (Umesha et al., 2008) การทดสอบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยวิธี PCR ซึ่งยีนที่ใช้ทดสอบคือ cytochrome c oxidase subunit one (cox1) และ NADH dehydrogenase subunit one gene (nad1) ผลการทดสอบพบว่า PCR ในยีน cox1 และยีน nad1 มีความไว 66.7 และ 50 % เมื่อเปรียบเทียบกับยีน internal transcribe spacer 2 (ITS2) ซึ่งยีน ITS2 ยังคงเป็นยีนที่ใช้ในการตรวจสอบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ที่มีความไวสูงในปัจจุบัน (Buathong et al., 2015)มีการปรับปรุงวิธีการตรวจการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับจากตัวอย่างอุจจาระ ด้วยวิธี PCR โดยการเปรียบเทียบระหว่าง โยการใช้ cetyltrimethyl-ammoniumbromide เพื่อลดการเกิด PCR inhibitor ในวิธี PCR และเปรียบเทียบกับชุดสกัด DNA จากอุจจาระ แบบสำเร็จรูป (commercial stool kit) ผลการทดสอบ

พบว่า เมื่อหาความไวของวิธีตรวจ พบว่าวิธีใหม่ที่มีการเติม cetyltrimethyl-ammoniumbromide พบว่ามีความไวในการตรวจหาการติดเชื้อด้วยวิธี PCR และแนะนำให้ใช้ในวิธีการตรวจในตัวอย่างที่เป็นการติดเชื้อน้อย ๆ ซึ่งอาจจะตรวจหาการติดเชื้อไม่เจอด้วยวิธีมาตรฐาน (Duenngai et al., 2008) ในปี 2013 ทดสอบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ จาก DNA ของที่สกัดจากตัวอย่างอุจจาระ ในอุจจาระหนูที่ติดเชื้อเริ่มแรกและหนูที่ติดเชื้อได้รับการรักษาด้วยยา Praziquentel โดยเปรียบเทียบกับวิธี formalin-ethyl acetate concentration technique (FECT) ผลการทดสอบพบว่า ผลการทดสอบก็ชี้ให้เห็นว่า วิธี PCR เหมาะสมที่สุดในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ซึ่งสามารถตรวจหาการติดเชื้อได้ตั้งแต่เริ่มการติดเชื้อและหลังจากให้ยา แต่วิธี FECT สามารถตรวจได้หลังจากการติดเชื้อจนกว่าพยาธิจะพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยและปล่อยไข่ปนเปื้อนออกมากับอุจจาระ (Duenngai et al., 2013) การตรวจวินิจฉัยการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และ *Haplorchis taichui* ซึ่งพยาธิ 2 ชนิดนี้มีลักษณะของไข่ที่คล้ายกัน โดยวินิจฉัยด้วยด้วยวิธี conventional PCR และวิธี real-time PCR (qPCR) ผลการทดสอบพบว่า ตัวอย่างที่พบว่าเป็นไข่พยาธิ Opisthorchis-like จากกล้องจุลทรรศน์ มีความไว 100% และแยกได้ว่ามีการติดเชื้อ *O. viverrini* และ *H. taichui* 71% และ 91% ตามลำดับ ซึ่งวิธีทางชีวโมเลกุลนับเป็นวิธีที่ดีในการวินิจฉัยการติดเชื้อของไข่พยาธิที่มีความคล้ายคลึงกันได้อย่างแม่นยำ (Lamaningao et al., 2017) การวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และ *H. taichui* ด้วยวิธี PCR โดยเปรียบเทียบจากผลตรวจด้วยวิธี Kato-Katz (KK) ผลการตรวจสอบพบว่า การตรวจหาการติดเชื้อด้วยวิธี PCR ของ พยาธิ *O. viverrini* มีค่า ความไว 93.7% และ พยาธิ *H. taichui* มีความไวเท่ากับ 73.3% ซึ่งชี้ให้เห็นว่าวิธีการการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลมีความแม่นยำในการจำแนกพยาธิได้ดีกว่า (Lovis et al., 2009) แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีผลการทดสอบการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากตัวอย่างอุจจาระของคนที่ติดเชื้อพยาธิ ด้วยวิธี PCR เปรียบเทียบกับการตรวจด้วยวิธี Kato-Katz และวิธี FECT ผลการศึกษาพบว่าการวินิจฉัยด้วย PCR มีการตรวจพบเป็น negative ในรายที่ตรวจพบไข่พยาธิใบไม้ตับสูง ซึ่งผลการศึกษานี้ ชี้ให้เห็นว่า ถึงแม้ว่าวิธีทางชีวโมเลกุลจะค่อนข้างมีความแม่นยำสูงในการวินิจฉัยจากรายงานที่ผ่านมา ขั้นตอนและวิธีการเตรียมตัวอย่างเพื่อทำ PCR ก็มีความสำคัญซึ่งอาจจะทำให้ผลการวินิจฉัยเกิดปัญหา (Stensvold et al., 2006)

บทที่ 3

การดำเนินงานโครงการวิจัย

3.1 กรอบแนวคิดการดำเนินงานวิจัย



ภาพที่ 2 กรอบแนวคิดการดำเนินงานวิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2 การเก็บตัวอย่าง

3.2.1 สถานที่เก็บตัวอย่าง

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ลงพื้นที่เก็บตัวอย่างอุจจาระในเขตอำเภอที่มีอุบัติการณ์การติดเชื้อหนอนพยาธิสูง โดยมีเกณฑ์การคัดเข้าคือ ประชาชนที่มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไปประชาชนที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการและให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างอุจจาระ และเกณฑ์การคัดออก คือประชาชนที่ไม่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างอุจจาระหรือปริมาณอุจจาระไม่เพียงพอในการตรวจ

3.2.2 การคำนวณประชากรในการเก็บตัวอย่าง

การคำนวณประชากรเพื่อเปรียบเทียบสองวิธี จุดประสงค์ส่วนใหญ่ของการวิจัยการทดสอบเพื่อการวินิจฉัย คือ การวิจัยว่าการทดสอบใหม่ (new diagnostic test) มีคุณภาพดีหรือไม่

ขนาดตัวอย่างที่ต้องการใช้เพื่อการทดสอบความไวและความจำเพาะ เมื่อกำหนดหนดระดับนัยสำคัญ 0.05 และ Power = 80% และกำหนด H0=0.7 H1=0.8

P = อัตราอุบัติการณ์โรค *O. viverrini* = 0.161 (Sithithaworn et al., 2012)

จำนวนตัวอย่างที่จะใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เท่ากับ 153 คน (Hajian-Tilaki, 2014)

3.2.3 เครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูล

แบบสอบถามเพื่อคัดกรองความเสี่ยงการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ

3.2.4 สถานที่ศึกษาและทดลอง

หลังจากลงพื้นที่เก็บตัวอย่าง ตัวอย่างอุจจาระจะถูกเก็บในกระปุกที่ปิดสนิท พร้อมติดชื่อนามสกุล และอายุ ใส่ซองซิบพลาสติกหุ้มอีกรอบเพื่อป้องกันน้ำซึมเข้าปนเปื้อนไปยังกระปุก จากนั้นเก็บตัวอย่างในกล่องโฟม ที่มีน้ำแข็งเพื่อให้ความเย็นและรักษาสภาพของตัวอย่างระหว่างนำตัวอย่างส่งมายังห้องปฏิบัติการ สถานที่ที่ใช้ในการปฏิบัติการทดสอบคือ ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยโรคปรสิต สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เลขที่ 111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.3 การดำเนินการทดลอง

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจ

หลังจากที่ รับตัวอย่างจากการลงพื้นที่มาที่ห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างอุจจาระ จะถูกตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลที่อยู่บนกระปุก กับข้อมูลจากแบบสอบถามและคำยินยอม เมื่อข้อมูลและตัวอย่างตรงกันแล้ว จะแต่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่ 1 ใช้สำหรับตรวจวินิจฉัยด้วยวิธี mini parasep SF concentater technique หรือ วิธี MPSF ประมาณ 0.5-1 กรัม และส่วนที่ 2 แบ่งเพื่อเตรียมสำหรับการวินิจฉัยด้วยวิธี PCR ประมาณ 0.5-1 กรัม เช่นกัน และตัวอย่างอุจจาระที่เหลือจะถูกเก็บไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส และตู้แช่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพตัวอย่างสำหรับการศึกษาครั้งต่อไป

3.3.2 การตรวจด้วยวิธี MPSF

MPSF เป็นชุดเครื่องมือสำเร็จรูปในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิ ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

- **วิธีการเตรียมตัวอย่าง**

1) ใช้ก้านช้อนของชุดตรวจตักตัวอย่างอุจจาระให้เต็มช้อนพอดี จากนั้นใส่ลงไปในส่วนของน้ำยาชุดตรวจ พร้อมหมุนเกรียวปิดให้สนิท
2) จากนั้นละลายอุจจาระและสารละลายในหลอดชุดตรวจ ด้วยเครื่อง vortex ประมาณ 30-1 นาที
3) นำหลอดชุดตรวจที่มีตัวอย่างไปปั่นให้ตกตะกอน ด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 2500 RPM เวลา 5 นาที โดยหันด้านที่มีสารละลายตัวอย่างขึ้นด้านบน
4) จากนั้นนำตะกอนไปตรวจหาการติดเชื้อพยาธิภายใต้กล้องจุลทรรศน์

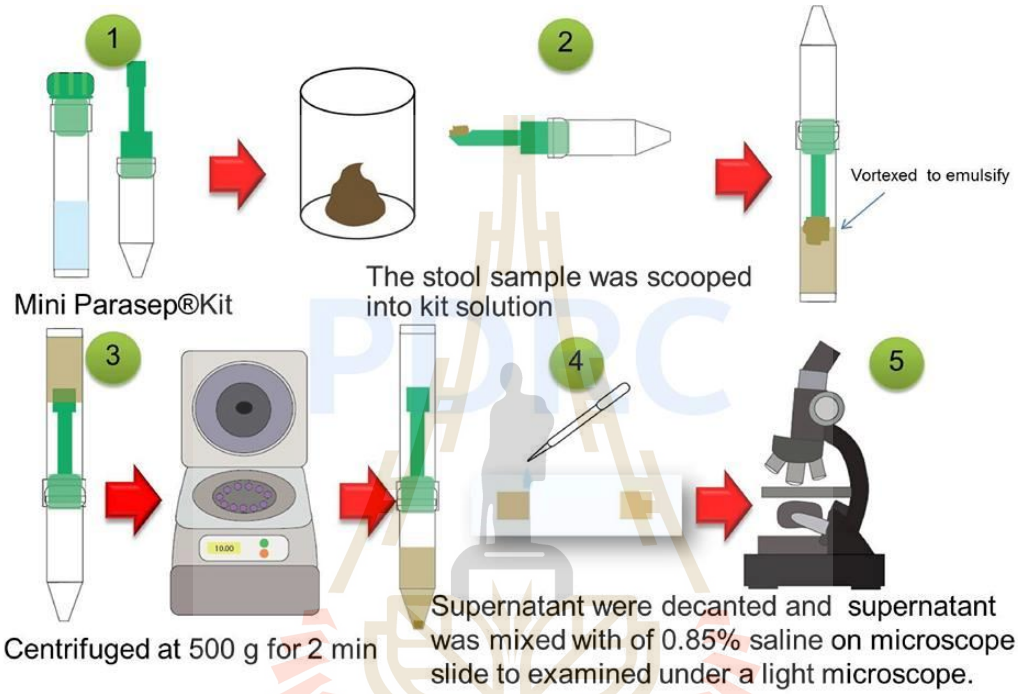
- **วิธีการเตรียมสไลด์ เพื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์**

1) เทน้ำส่วนใสเหนือตะกอนออกเล็กน้อย จากนั้นใช้ไปเปตพลาสติก ดูดตะกอนและสารละลายที่ก้นหลอด โดยการดูดขึ้น และปล่อยลงเพื่อผสมน้ำและตะกอนให้เข้ากัน

2) จากนั้นนับจำนวนปริมาตรสารละลายตัวอย่าง โดยการนับจำนวนหยดทั้งหมดในหลอดนั้น จากนั้นหยดสารละลายตัวอย่างลงบนแผ่นสไลด์ 2 หยด ซ้ายและขวา

3) จากนั้นหยดน้ำเกลือ ลงบนหยดตัวอย่างแรก และสารละลายไอโอดีน 4 % ลงบนหยดตัวอย่างที่สอง แล้วปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์

4) ตรวจหาการติดเชื้อ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยายของเลนส์ใกล้วัตถุที่กำลังขยาย 10 เท่า เพื่อทำการสแกนหาไข่พยาธิจนทั่วแผ่นสไลด์ และใช้เลนส์ใกล้วัตถุที่กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อเป็นการยืนยันชนิดของไข่พยาธิที่ตรวจพบ



ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนวิธีการเตรียมตัวอย่างและการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิ ของชุดตรวจสำเร็จรูป mini parasep SF concentater technique

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.3.3 การตรวจด้วยวิธี PCR

- การสกัด DNA จากตัวอย่างอุจจาระ

การสกัด DNA ตัวอย่างอุจจาระจะสกัดจากชุดสกัด DNA ชื่อทางการค้าคือ QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit โดยมีขั้นตอนการสกัดดังนี้

1) 1 เตรียมตัวอย่างอุจจาระ โดยชั่งอุจจาระปริมาตร 180–220 มิลลิกรัม ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2) เติมสารละลาย Inhibit EX Buffer ลงไปในตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อทำให้เซลล์แตก ผสมสารละลายและอุจจาระให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex 1 นาที จากนั้น incubated ใน กล่องทำความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้น vortex อีกรอบ 15 วินาที
3) จากนั้นตกตะกอนตัวอย่างด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 14000 RPM 1 นาที
4) ดูดส่วนใสปริมาตร 200 µl ไปยัง หลอดใหม่ จากนั้นเติม Proteinase K ปริมาตร 15 µl เพื่อย่อยโปรตีน และเติม Buffer AL ปริมาตร 200 µl จากนั้น vortex ให้เข้ากัน 15 วินาที แล้วจึงนำไป incubated ใน กล่องทำความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
5) เติม ethanol (96–100%) ปริมาตร 200 µl จากนั้น vortex 15 วินาที จากนั้นดูด supernatant จากหลอด 600 µl ลงใน spin column และ ตกตะกอนตัวอย่างด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 14000 RPM 1 นาที เอาสารละลายที่ผ่าน column ด้านล้างทิ้ง
6) วาง column ลงในหลอดใหม่ จากนั้นเติม Buffer AW1 ลงใน spin column ปริมาตร 500 µl แล้ว ตกตะกอนตัวอย่างด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 14000 RPM 1 นาที เอาสารละลายที่ผ่าน column ด้านล้างทิ้ง
7) วาง column ลงในหลอดใหม่ จากนั้นเติม Buffer AW2 ลงใน spin column ปริมาตร 500 µl แล้ว ตกตะกอนตัวอย่างด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 14000 RPM 3 นาที เอาสารละลายที่ผ่าน column ด้านล้างทิ้ง แล้ววาง column ลงในหลอดใหม่ ปั่นตกตะกอนอีกรอบเพื่อให้แห้งอีก 3 นาที
8) วาง column ลงในหลอดใหม่ การ Elution โดยหยด Buffer ATE ปริมาตร 25 µl แล้วตกตะกอนตัวอย่างด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 14000 RPM 1 นาที จะได้ DNA จากตัวอย่างอุจจาระที่สกัดได้ที่ก้นหลอด
9) จากนั้นนำตัวอย่าง DNA 1 µl ไปวัดปริมาณ DNA ด้วยเครื่องวัดปริมาณ DNA (NanoDrop)

- การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยวิธี PCR

เป็นการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเครื่องทำ PCR โดยเตรียมรวมสำหรับทุกตัวอย่าง แล้วค่อยแบ่งใส่หลอดทำ PCR ที่ปริมาตรหลอดละ 25 µl สารที่ในการทำปฏิกิริยา PCR มีดังตารางด้านล่างนี้ โดยใช้ primer จากการศึกษาของ (Wongratanacheewin et al., 2001) ซึ่งมีขนาด 330 bp ประกอบด้วย

forward primer CTG AAT CTC TCG TTT GTT CA และ reverse primer GTT CCA GGT GAG TCT CTC TA

ตารางที่ 1 แสดงสารที่ใช้ในปฏิกิริยา PCR สำหรับ 1 หลอด PCR ปริมาตร 25 µl

สาร	**ปริมาณ/1 หลอด PCR**
DW Water molecular	16.8 µl
10X Taq buffer	2.5 µl
dNTP	1 µl
F primer	1 µl
R primer	1 µl
Taq DNA pol	0.2 µl
$MgCl_2$	1.5 µl
DNA template	1 µl
ปริมาตรสุดท้าย	25 µl

ซึ่งมีการตั้งค่า condition ของเครื่อง PCR ตามตารางที่แสดงด้านล่าง รวมทั้งสิ้น 35 cycles ของขั้นตอน Denaturation Annealing และ Extension เมื่อเครื่อง PCR เสร็จตามขั้นตอนแล้ว จะได้ PCR product ซึ่ง PCR product นี้จะถูกนำไป Gel electrophoresis ต่อไป

ตารางที่ 2 แสดง condition ในการตั้งค่าเครื่อง PCR เพื่อให้เกิดการทำปฏิกิริยาของสารในหลอด PCR

ขั้นตอน	อุณหภูมิ	เวลา
Heated lid	112 °C	
Pre denaturation	95 °C	3
Denaturation	95 °C	30 วินาที
Annealing	50 °C	30 วินาที
Extension	72 °C	30 วินาที
Final extension	72°C	5 นาที
Store	10 °C	

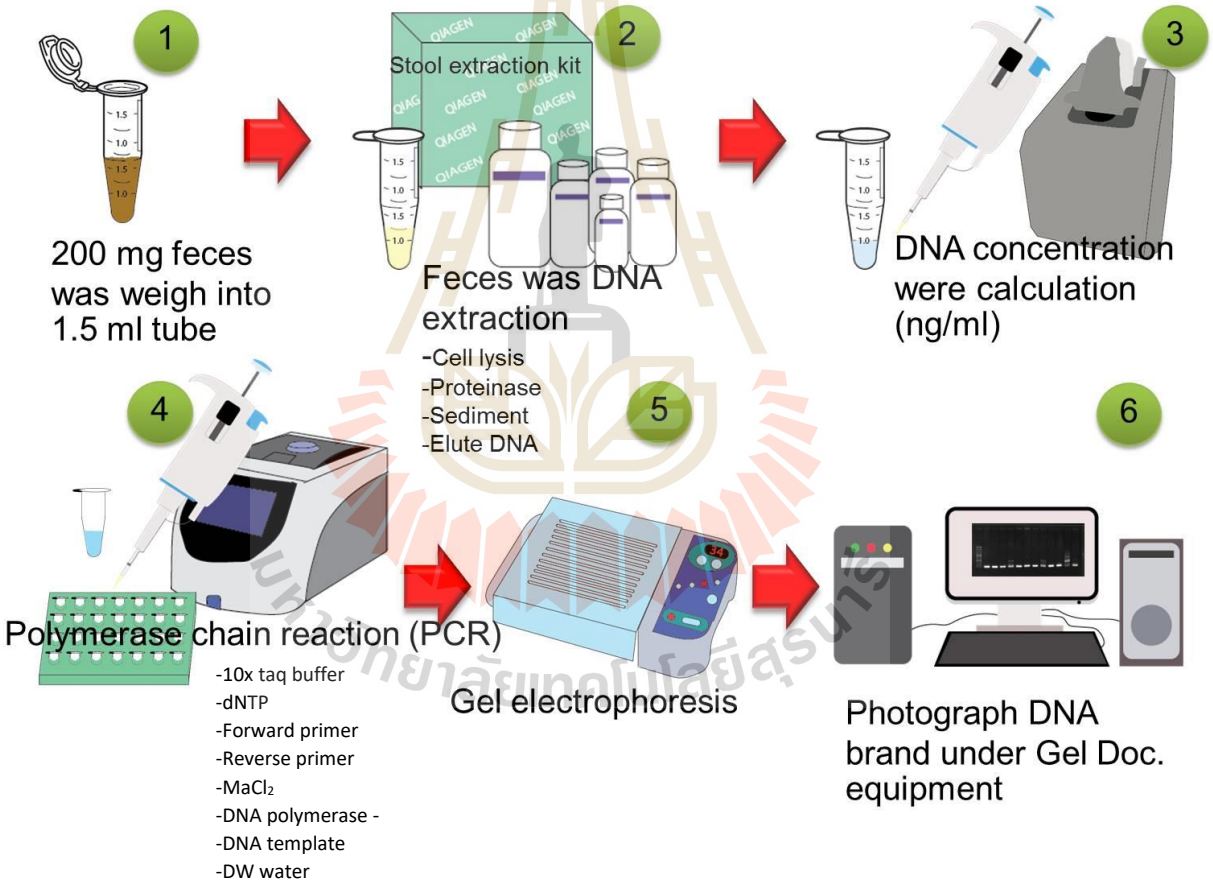
- การทำ Gel electrophoresis

การทำ Gel electrophoresis เป็นการผลัก DNA ที่ขนาดแตกต่างกันผ่านรูพรุนของ 1.5 % Agarose gel โดยใช้กระแสฟ้าผ่านตัวกลาง 1 X TAE buffer ที่เป็นสารนำกระแสฟ้า โดยผลักจากขั้วลบไปหาขั้วบวก โยประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

1) 1 การเตรียม 1.5 % Agarose gel ในน้ำ 1 X TAE buffer จะใช้ Agarose 0.45 กรัม ผสมใน 1 X TAE buffer 30 มิลลิลิตร แล้วนำไปละลายด้วยความร้อนจน Agarose ละลายและใสไม่มีสี
2) จากนั้นรอให้สารละลายเย็นตัวลงนิดหน่อย แล้วค่อยๆ เทลงในถาดที่ใช้สำหรับเตรียมเจล ที่มีหวีวางด้านบนเพื่อให้เกิดช่องว่างสำหรับวาง PCR product ลงไป รอจนเจลเซตตัวจนแข็ง แล้วค่อยๆ ดึงหวีออก
3) จากนั้นวางแผ่นเจลลงในเครื่องรัน Gel electrophoresis จากนั้นเติมสารละลาย 1 X TAE buffer ลงไปจนท่วมแผ่นเจล
4) เตรียมแผ่น para flim วางลงบนพื้นสะอาด จากนั้นผสม PCR product กับสีย้อม DNA สำเร็จรูปที่ไม่ผสมสารก่อมะเร็ง ในปริมาณ 5/1 µl ซึ่งช่องแรกจะใส่ DNA larder 1000 bp เพื่อเป็น maker สำหรับเปรียบเทียบขนาด DNA ที่ได้จากการรัน PCR product และสองช่องสุดท้ายจะเป็น positive control (DNA ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*) และ negative control

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5) เมื่อใส่ตัวอย่าง maker positive control และ negative control เสร็จแล้วจะเปิดเครื่องรันเจลที่ 100 V เวลาประมาณ 30 นาที เพื่อให้กระแสไฟฟ้าผลัก DNA ผ่านรูพรุนของเจล
6) เมื่อ DNA วิ่งมายังบริเวณที่เหมาะสมแล้ว ปิดเครื่อง และยกแผ่นเจลออกมาเพื่อนำไปถ่ายภาพแผ่นเจลโดยใช้แสง UV ด้วยเครื่อง Gel Doc.
7) เมื่อพบว่า ตัวอย่าง DNA เกิดแถบที่บริเวณประมาณ 330 bp แสดงถึงตัวอย่างนั้นมีการ positive หรือตัวอย่างนั้นติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ และนำ PCR product ที่ positive นี้ ส่งให้บริษัทเพื่อทำการ purify และ sequencing เพื่อดูลำดับเบสเปรียบเทียบกับ *O. viverrini* ใน Data base



ภาพที่ 4 แสดงภาพรวมของการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ เริ่มจากการสกัด DNA การวัดปริมาณ DNA การเพิ่มปริมาณ DNA การรัน Gel electrophoresis และ ถ่ายภาพแผ่นเจล ด้วยเครื่อง Gel Doc.

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากแบบสอบถามเช่น เพศ อายุ จะนำมาวิเคราะห์เพื่อหาความสำพันธ์ของการติดเชื้อพยาธิ โดยใช้โปรแกรม SPSS version 16.0 หาค่า Chi-square test ที่ P-value 0.05

ชนิด และจำนวนไข่พยาธิที่ตรวจพบ จากการตรวจด้วยวิธี MPS จะนำมาวิเคราะห์หาค่าความชุก และความหนาแน่นของการติดเชื้อ ซึ่งความชุกจะแสดงออกเป็นร้อยละ ต่อจำนวนทั้งหมดที่ศึกษา ส่วนหนาแน่นคำนวณจากค่าเฉลี่ยจำนวนไข่พยาธิที่ตรวจพบในแต่ละชนิดของพยาธิ แล้วรายงานในเป็นความหนาแน่นมาก ปานกลาง และต่ำ ของการติดเชื้อ

ผลการตรวจทั้ง 2 วิธี จะนำมาเปรียบเทียบกัน โดยใช้ วิธี PCR เป็นวิธีมาตรฐาน โดยใช้โปรแกรม SPSS version 16.0 วิเคราะห์ค่า ความแม่นยำ (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) ค่าคาดหมายบวกค่าคาดหมายลบ (PPV และ NPV)

หลังจากที่ได้ผลการ Sequencing จากบริษัท เป็นไฟล์ FASTA นำไปตรวจสอบความเหมือนของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ใน data base ด้วยเวปไซส์ NCBI

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4

ผลการดำเนินโครงการวิจัย

4.1 ผลข้อมูลทั่วไปและแบบประเมินความเสี่ยงการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

4.1.1 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป

เมื่อนำข้อมูลจำนวนไข่พยาธิชนิดต่าง ๆที่พบ และคำนวณเทียบกับ 1 กรัมของอุจจาระ (EPG) มาวิเคราะห์หาความหนาแน่นของการติดเชื้อพยาธิพบว่า พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีจำนวน EPG เฉลี่ยเท่ากับ 42.24 (ช่วงจำนวนไข่ที่ตรวจพบ 12-180) มีความหนาแน่นของการติดเชื้อน้อย พยาธิเส้นด้าย *S. stercoralis* จำนวน EPG เฉลี่ยเท่ากับ 207.31 (ช่วงจำนวนไข่ที่ตรวจพบ 16-2232) มีความระดับความหนาแน่นของการติดเชื้อน้อย และพยาธิตัวตืด *Taenia* sp. ซึ่งจะไม่รายงานความหนาแน่น เนื่องจากไข่ของพยาธิตัวตืดจะอยู่ในปล้องสุก จะพบเมื่อปล้องสุกของพยาธิฉีกขาดเท่านั้น จึงไม่สามารถคำนวณหาจำนวนไข่พยาธิที่แน่นอนตามอัตราการออกไข่ในแต่ละวันได้

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนผู้ติดเชื้อพยาธิ ความชุกของการติดเชื้อ ค่าความหนาแน่นจากค่าเฉลี่ย EPG ของและระดับของการติดเชื้อ พยาธิแต่ละชนิดที่ตรวจพบจากวิธี MPSF และ วิธี PCR

ชนิดพยาธิ	จำนวนผู้ติดเชื้อ	ความชุกของการติดเชื้อ	ความหนาแน่นของการติดเชื้อ (ช่วงระหว่าง)	ระดับของการติดเชื้อ
Opisthorchis viverrini	120	71.43	42.24 (12-180)	light
Strongyloides stercoralis	13	7.74	207.31(16-2232)	light
Teania sp.	1	0.59	-	-

เมื่อนำข้อมูลทั่วไประหว่างเพศและอายุมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ พบว่า เพศและอายุในช่วงต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 3 ในการศึกษาครั้งนี้มีเพศชาย 83 คน เพศหญิง 85 คน ผลบวก (Positive) ในเพศชาย 61 ราย และหญิง 64 ราย รวมทั้งสิ้นจำนวน 168 คน (ผู้ชาย 3 ราย

และผู้หญิง 1 ราย มีการติดเชื้อซ้ำซ้อน ซึ่งในตารางวิเคราะห์จะนับซ้ำคนที่ติดเชื้อซ้ำซ้อนจึงมีจำนวนรวมเท่ากับ 172 คน) อัตราการติดเชื้อเท่ากับ 34.52% และ 36.90% ตามลำดับ ข้อมูลช่วงอายุ โดยแบ่งออกเป็นอายุน้อยกว่า 20 ปี 21-30 ปี 31-40 ปี 41-50 ปี 51-60 ปี และมากกว่า 60 ปี พบว่ามีผู้มีผลตรวจเป็นบวก 2, 4, 6, 26, 33 และ 49 ตามช่วงวัยข้างต้นตามลำดับ ซึ่งมีอัตราการติดเชื้อเท่ากับ 1.19, 2.38, 3.57, 15.48, 19.64, และ 29.17 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์กับการติดเชื้อพบว่า ทั้งเพศและอายุ ไม่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับที่ *O. viverrini* P=0.05

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ของการติดเชื้อ พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* กับข้อมูลทั่วไปเพศและช่วงอายุด้วย x^2-test

ตัวแปร		**จำนวน (%)**	**จำนวนผู้ติดเชื้อ(%)**	**ความชุกของการติดเชื้อ Prevalence**	**P-value**
เพศ					
	ชาย	83 (49.40)	58(69.88)	34.52	
	หญิง	85 (50.60)	62(72.94)	36.90	0.507
อายุ (ปี)					
	≤20	3(1.79)	2(66.67)	1.19	
	21 – 30	5(2.98)	4(80.00)	2.38	
	31 – 40	7(4.17)	85.71	3.57	
	41 – 50	30(17.86)	26(86.67)	15.48	0.338
	51 – 60	51(30.36)	33(64.71)	19.64	
	> 60	72(42.86)	49(68.06)	29.17	

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.1.2 แบบประเมินความเสี่ยงการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*

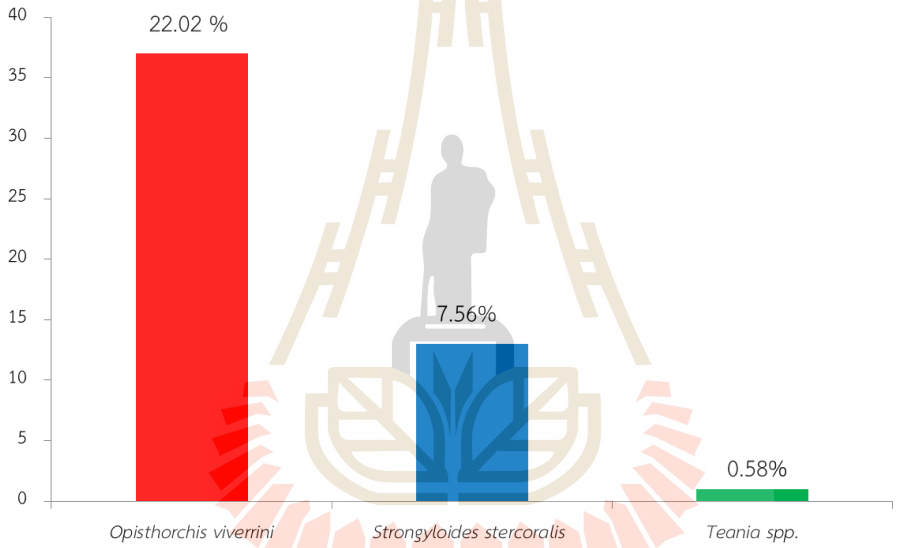
ประกอบด้วยข้อคำถามเกี่ยวกับพฤติกรรม และความเสี่ยงต่อการเกิดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และมะเร็งท่อน้ำดี รวมผลการประเมินจากคำตอบ เคย และ ไม่เคย แล้วนำผลรวมจำนวนคนที่ให้คำตอบเคยหรือมีความเสี่ยงมาวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยพบว่าข้อคำถามที่ 1- 8 มีร้อยละความเสี่ยงต่อการเกิดพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และมะเร็งท่อน้ำดีเท่ากับ 73.25, 91.86, 56.98, 20.93, 64.53, 42.44, 77.91 และ 57.56 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนผู้ตอบคำถามความเสี่ยงของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ

ข้อ	คำถามคัดกรอง	เคย	ไม่เคย	ร้อยละความเสี่ยง
1.	ท่านเคยรับประทานอาหารดิบ อาทิ ก้อยปลาดิบ ลาบปลาดิบ (อย่างใดอย่างหนึ่ง)ทำจากปลาน้ำจืดกลุ่มปลาเกล็ดขาว (ปลาขาวนา ปลาตะเพียร ปลากระสูบ ปลาแม่สะแด้ง ฯลฯ)	126	46	73.25
2.	ท่านเคยรับประทานอาหารดิบ อาทิ ปลาส้มดิบ ปลาจ่อมดิบ ปลาร้าดิบ (อย่างใดอย่างหนึ่ง) ทำจากปลาน้ำจืดกลุ่มปลาเกล็ดขาว (ปลาขาวนา ปลาตะเพียร ปลากระสูบ ปลาแม่สะแด้ง ฯลฯ)	158	14	91.86
3.	ท่านเคยได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับจากหน่วยงานด้านสุขภาพ	98	84	56.98
4.	ญาติสายตรง (บิดา มารดา พี่น้องร่วมสายโลหิต) เป็นโรคมะเร็งท่อน้ำดี	36	136	20.93
5.	หากมีโอกาส ท่านจะรับประทานอาหารดิบ อาทิ ก้อยปลาดิบ ลาบปลาดิบ ปลาส้มดิบ ปลาจ่อมดิบ ปลาร้าดิบ ทำจากปลาน้ำจืดกลุ่มปลาเกล็ดขาว	111	61	64.53
6.	คนในครอบครัวของท่านเคยได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับจากหน่วยงานด้านสุขภาพ	73	99	42.44
7.	คนในครอบครัวท่านรับประทานอาหารดิบ อาทิ ก้อยปลาดิบ ลาบปลาดิบ ปลาส้มดิบ ปลาจ่อมดิบ ปลาร้าดิบ (อย่างใดอย่างหนึ่ง)	134	38	77.91
8.	ที่พักอาศัยของท่านอยู่ใกล้แหล่งน้ำตามธรรมชาติ (ไม่เกิน 10 กิโลเมตร)	99	73	57.56

4.2 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิด้วยวิธี MPSF

ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิด้วยวิธี MPSF จากตัวอย่างทั้งหมด 168 ตัวอย่าง พยาธิที่ตรวจพบได้แก่ พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบติดเชื้อ 37 คน เมื่อวิเคราะห์ความชุกของการติดเชื้อพบว่ามีค่าเท่ากับ 22.02% พยาธิเส้นด้าย *S. stercoralis* พบติดเชื้อ 13 คน เมื่อวิเคราะห์ความชุกของการติดเชื้อพบว่ามีค่าเท่ากับ 7.56 % และพยาธิตัวตืด *Taenia* sp. พบติดเชื้อ 1 คน เมื่อวิเคราะห์ความชุกของการติดเชื้อพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.58% เนื่องจากมี 4 รายที่ติดเชื้อพยาธิ 2 ชนิดพร้อมกัน คือติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับร่วมกับพยาธิเส้นด้าย 3 คน และติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับร่วมกับพยาธิตัวตืด 1 คน ดังภาพที่ 5

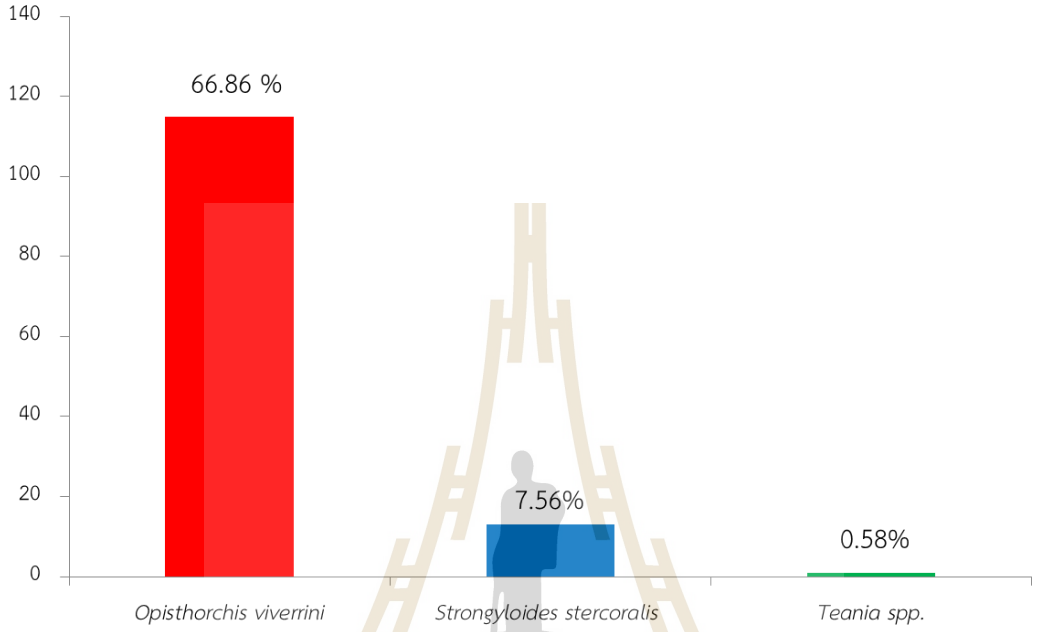


ภาพที่ 5 ร้อยละความชุกของการติดเชื้อพยาธิชนิดต่าง ๆ จากการวินิจฉัยด้วยวิธี MPSF

4.3 ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี PCR

จากตัวอย่างอุจจาระ 168 ตัวอย่าง เมื่อนำมาสกัด DNA และนำไปเพิ่มปริมาณด้วยวิธี PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA ของพยาธิใบไม้ตับ โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ และนำ PCR product ไปตรวจสอบขนาด DNA ที่ 330 bp พบว่ามีตัวอย่าง DNA ที่ขึ้นแถบขนาด 330 bp 115 ตัวอย่าง ซึ่งเมื่อผลบวก (Positive) จากวิธี PCR นำไปเปรียบเทียบกับผลการวินิจฉัยด้วยวิธี MPSF พบว่ามี 32 ตัวอย่างที่ผลเป็นบวกตรงกัน มี 5 ตัวอย่างที่ วิธี PCR เป็นผลลบ (Negative) แต่ วิธี MPSF เป็นผลบวก และ 82 ตัวอย่างจากวิธี PCR เป็นผลบวกแต่ วิธี MPSF เป็นผลลบ (รายละเอียดในตารางที่ 6) หลังจากทราบตัวอย่างที่ผลเป็นบวก ตัวอย่าง

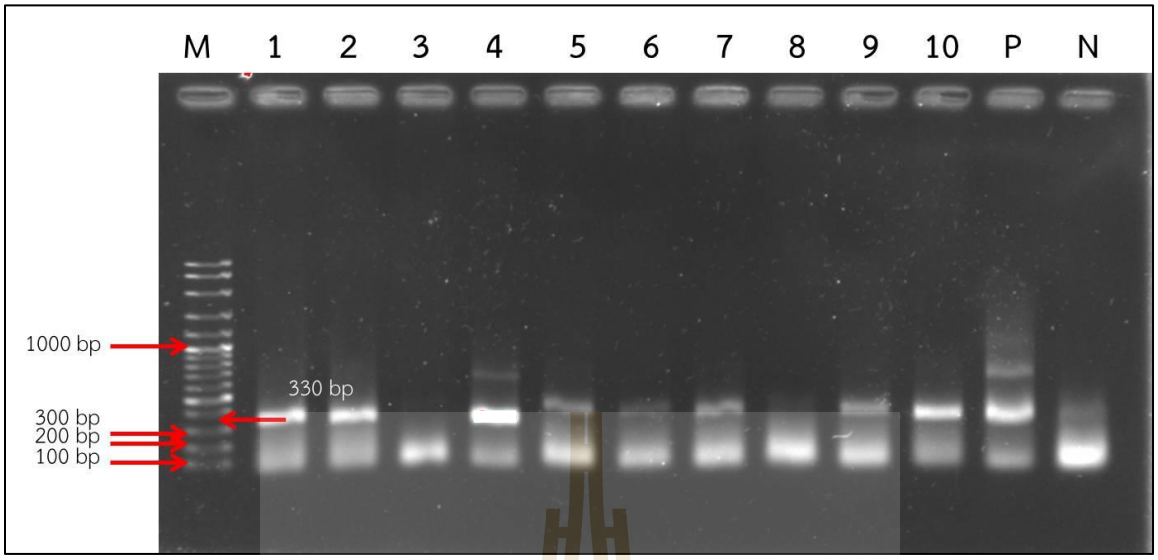
จะส่งไปส่งไปยังบริษัทที่รับ sequencing เพื่อยืนยันความเหมือนกับข้อมูลทางชีวโมเลกุลของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ใน data base ของ Genbank



ภาพที่ 6 ความชุกของการติดเชื้อพยาธิชนิดต่าง ๆ ที่เมื่อยินยันด้วยวิธี PCR มีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเพิ่มเป็น 66.86%

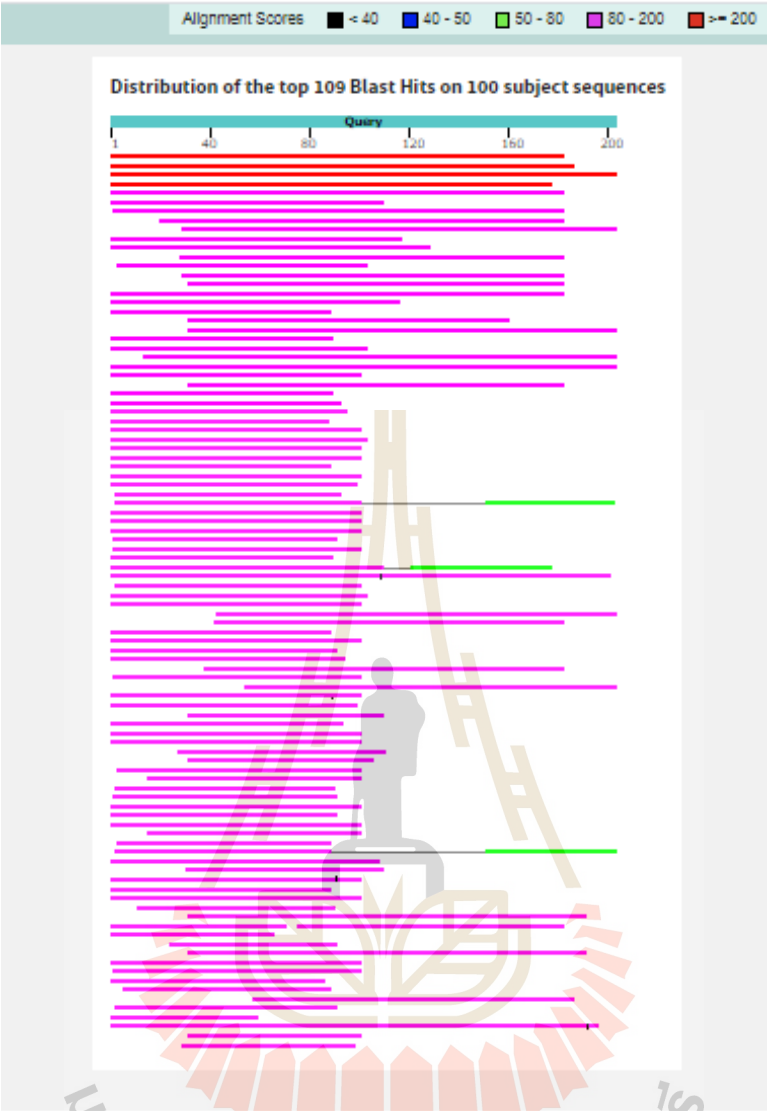
ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบผลเป็นบวก และผลเป็นลบของการตรวจด้วยวิธี PCR และวิธี MPSF

รายละเอียด	จำนวนที่ตรวจพบ
วิธี MPSF และ PCR เป็นผลบวก	120
วิธี MPSF เป็นผลบวก แต่ วิธี PCR เป็นผลลบ	5
วิธี PCR เป็นผลบวก แต่ วิธี MPSF เป็นผลลบ	82
วิธี PCR เป็นผลบวก	115
วิธี MPSF เป็นผลบวก	37



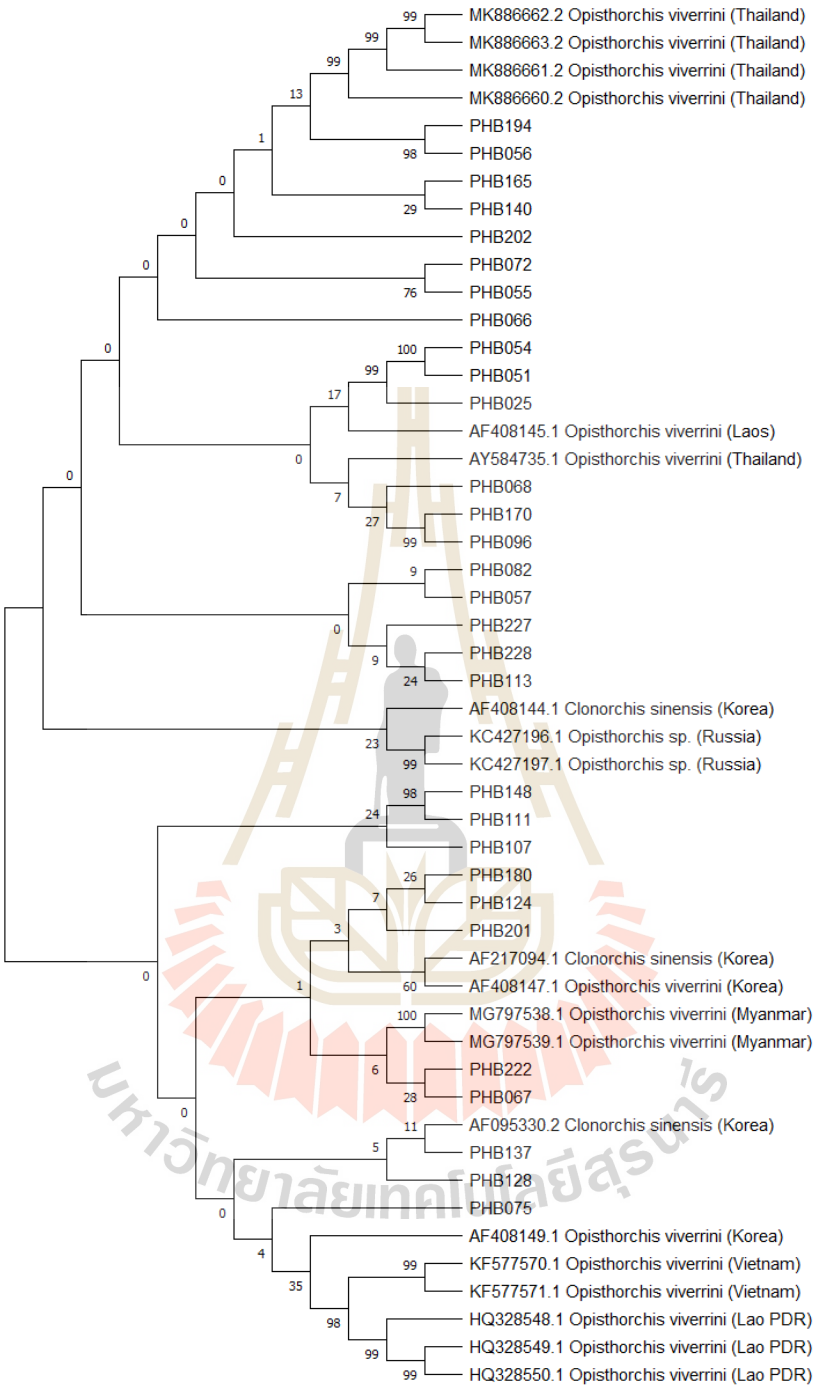
ภาพที่ 7 ภาพเจลที่แสดงแถบตัวอย่าง DNA ของพยาธิใบไม้ตับที่ positive ที่ 330 bp แถบ M คือ DNA larder หรือ marker แถบที่ 1-10 คือ DNA จากตัวอย่างอุจจาระ แถบ P คือ Positive control และแถบ N คือ Negative control

ภาพที่ 8 แสดงข้อมูลความเหมือนของลำดับเบสจากตัวอย่างผลเป็นบวก positive ในวิธี PCR กับพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ percent Identity 99.45% ที่ เลข Accession AB281491.1



ภาพที่ 9 แสดงข้อมูลคะแนน Alignment สีแดงคือมีความเหมือน ≥200 base สีชมพู 80-200 base และสีเขียว 50-80 base

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 11 แสดงการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของตัวอย่าง DNA ของพยาธิใบไม้ตับ ที่ได้จากการหาลำดับเบสของตัวอย่าง และเปรียบเทียบกับลำดับเบสในยีน cox-1 ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากพื้นที่ต่างๆ เช่น ไทย ลาว เวียดนาม เกาหลี พม่า และรัสเซีย

4.4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพด้วยวิธี MPSF กับวิธี PCR

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี MPSF กับวิธี PCR พบว่า (ผลตรวจของทั้งสองวิธีรวมกันใช้เป็น Gold standard) วิธี MPSF มีค่า sensitivity specificity NPV PPV และ accuracy เท่ากับ 31.09, 100, 100, 37.4 และ 51.19 ตามลำดับ และวิธี PCR มีค่า sensitivity specificity NPV PPV และ accuracy เท่ากับ 95.83, 100, 100, 90.74 และ 97.04 (ตารางที่ 10) โดยคำนวณจากตาราง 2x2 ของข้อมูลผลตรวจด้วยวิธี MPSF และวิธี PCR กับ วิธีมาตรฐาน ในตารางที่ 8 และ 9

ตารางที่ 7 ตาราง 2x2 ของข้อมูลผลตรวจด้วยวิธี MPSF เปรียบเทียบกับมาตรฐาน

	มาตรฐาน	
	Positive	Negative
Positive	True positive = 37	False positive = 0
Negative	False negative =82	True negative =49

ตารางที่ 8 ตาราง 2x2 ของข้อมูลผลตรวจด้วยวิธี PCR เปรียบเทียบกับมาตรฐาน

	มาตรฐาน	
	Positive	Negative
Positive	True positive = 115	False positive = 0
Negative	False negative =5	True negative =49

ตารางที่ 9 แสดงค่า sensitivity specificity NPV PPV accuracy ของวิธี MPSF และวิธี PCR

	วิธี MPSF (%)	วิธี PCR (%)
Sensitivity	31.09	95.83
Specificity	100	100
PPV	100	100
NPV	37.4	90.74
Accuracy	51.19	97.04

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

ผลการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิด้วยวิธี MPSF จากตัวอย่างทั้งหมด 168 ตัวอย่าง พบว่ามีติดเชื้อพยาธิ 37 คน ซึ่งมี 4 ที่ติดเชื้อพยาธิ 2 ชนิดพร้อมกัน (3 คนติดพยาธิ *O. viverrini* และ *S. stercoralis* และ 1 คนติดพยาธิ *O. viverrini* และ *Teania* sp.) พยาธิที่มีการติดเชื้อสูงสุดคือ พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบติดเชื้อ 37 คน มีความชุกของการติดเชื้อพบว่ามีค่าเท่ากับ 22.02% รองลงมาคือพยาธิเส้นด้าย *S. stercoralis* พบติดเชื้อ 13 คน ความชุกของการติดเชื้อพบว่ามีค่าเท่ากับ 7.56% และพยาธิตัวตืด *Teania* sp. พบติดเชื้อ 1 คน ความชุกของการติดเชื้อพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.58% เนื่องจากมี ซึ่งการตรวจด้วยวิธี MPSF เป็นวิธีการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิ ที่ง่ายและสะดวก รวดเร็วในการวินิจฉัย มีการนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิ ที่สะดวก ปลอดภัยจากสารอันตราย (Kaewpitoon et al., 2016a) แต่อัตราการติดเชื้อ เมื่อเทียบกับวิธีอื่นพบว่ายังมีความไวและความจำเพาะที่ค่อนข้างต่ำอยู่ (Charoensuk et al., 2019, Adugna et al., 2017) แต่อย่างไรก็ตามยังมีรายงานข้อดีขอการใช้ชุดตรวจ MPSF และมีความไวและความจำเพาะสูงอยู่ (Kaewpitoon et al., 2016a, Kaewpitoon et al., 2018)

ค่า Chi-square test พบว่า เพศและอายุในช่วงต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในการศึกษาครั้งนี้มีเพศชาย 83 คน เพศหญิง 85 คน ผลเป็นบวก ในเพศชาย 61 ราย และหญิง 63 ราย อัตราการติดเชื้อเท่ากับ 34.52% และ 36.90 % ตามลำดับ ข้อมูลช่วงอายุ โดยแบ่งออกเป็นอายุ ≤20, 21 – 30, 31 – 40, 41 – 50, 51 – 60 และ > 60 ปี พบว่ามีผู้มีผลตรวจเป็นเท่ากับ 2, 4, 6, 26, 35 และ 51 ตามช่วงวัยข้างต้นตามลำดับ ซึ่งมีอัตราการติดเชื้อเท่ากับ 1.19, 2.38, 3.57, 15.48, 19.64 และ 29.17 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ (Prakobwong and Suwannatrai, 2020) ที่พบว่าหลังจากอายุ 40 ขึ้นไปอัตราการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับจะสูงขึ้น อาจจะเนื่องมาจากประสบการณ์ และพฤติกรรมการรับประทานปลาดิบจะอยู่ในคนที่อายุมาก มากกว่าเด็ก

ความหนาแน่นของการติดเชื้อ พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีจำนวน EPG เฉลี่ยเท่ากับ 42.24 (ช่วงจำนวนไข่ที่ตรวจพบ 12-180) พยาธิเส้นด้าย *S. stercoralis* จำนวน LPG เฉลี่ยเท่ากับ 207.31(16-2232)

(ช่วงจำนวนไข่ที่ตรวจพบ 16-2232) และพยาธิตัวตืด *Taenia* sp. พบไข่พยาธิในอุจจาระ 1 กรัม เท่ากับ 819 ซึ่งผลการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* มีความหนาแน่นของการติดเชื้อที่ยังอยู่ในระดับต่ำอยู่

PCR product เมื่อนำไปตรวจสอบด้วยวิธี Gel electrophoresis พบว่า มีตัวอย่าง DNA ที่ขึ้นแถบขนาด 330 bp 115 ตัวอย่าง (ผลบวกจริง True positive) มี 5 ตัวอย่างที่ เป็นผลลบในวิธี PCR แต่เป็นผลบวกในวิธี MPSF (ผลลบเท็จ false negative) และทั้งสองวิธีมีผลลบตรงกันเท่ากับ 49 ตัวอย่าง (ผลลบจริง True negative) เมื่อนำไปลำดับเบสที่ได้จากการทำ sequencing แล้วข้อมูลความเหมือนของลำดับเบสจากตัวอย่างจากการทำ alignment กับข้อมูลของพยาธิไม้ตับ *O. viverrini* ในฐานข้อมูล NCBI ของ Genbang พบว่ามี percent Identity สูงถึง 99.45% ที่ เลข Accession AB281491.1 ซึ่งจะเห็นได้ว่า ระหว่างผลการตรวจพบผลเป็นบวกในวิธี MPSF อาจจะเนื่องมาจากความผิดพลาดของผู้ตรวจในการจำแนกชนิดของไข่พยาธิ ซึ่งอาจจะเป็นไข่ของพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก (minute intestinal fluke) ซึ่งไข่ของพยาธิใบไม้ตับ และไข่ของ MIF มีลักษณะข้อนข้างเหมือนกัน จำเป็นต้องใช้ผผู้เชี่ยวชาญในการยืนยัน และเมื่อนำอุจจาระที่ผลเป็นบวกในวิธี MPSF มาตรวจสอบด้วยวิธี PCR จึงทำให้พบว่า ผลเป็นลบ และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับด้วยวิธี MPSF และวิธี PCR กับ Gold standard วิธี มีค่า MPSF sensitivity specificity NPV PPV และ accuracy เท่ากับ 31.09, 100, 100, 37.4 และ 51.19 ตามลำดับ และวิธี PCR มีค่า sensitivity specificity NPV PPV และ accuracy เท่ากับ 95.83, 100, 100, 90.74 และ 97.04 จะเห็นได้ว่าวิธี PCR มีความไว มีค่าคาดหมายผลลบ และค่าความเชื่อมั่น สูงกว่าวิธี MPSF ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ด้วยวิธี PCR ควรจะเป็นอีกวิธีที่ใช้ควบคู่กับการตรวจโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อลดความผิดพลาดของการตรวจในห้องปฏิบัติการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

Adugna, S., Kebede, T., Mekonnen, Z., Degarege, A., Liang, S., Erko, B., 2017. Diagnostic performance of Mini Parasep(R) solvent-free faecal parasite concentrator relative to Kato-Katz and McMaster for the diagnosis of intestinal parasitic infections. Trans R Soc Trop Med Hyg 111, 572-578.

Andrews, R.M., 2006. The National Hospital Bill: The Most Expensive Conditions by Payer, 2006: Statistical Brief #59, In: Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs.Rockville (MD).

Bridgewater, J., Galle, P.R., Khan, S.A., Llovet, J.M., Park, J.W., Patel, T., Pawlik, T.M., Gores, G.J., 2014. Guidelines for the diagnosis and management of intrahepatic cholangiocarcinoma. J Hepatol 60, 1268-1289.

Buathong, S., Leelayoova, S., Mungthin, M., Naaglor, T., Taamasri, P., Suwannahitatorn, P., Tan-Ariya, P., 2015. Development and evaluation of PCR methods based on cytochrome c oxidase subunit one (cox1) and NADH dehydrogenase subunit one gene (nad1) to detect *Opisthorchis viverrini* in human fecal samples. Parasitol Res 114, 3547-3549.

Charoensuk, L., Subrungruang, I., Mungthin, M., Pinlaor, S., Suwannahitatorn, P., 2019. Comparison of stool examination techniques to detect *Opisthorchis viverrini* in low intensity infection. Acta Trop 191, 13-16.

Duenngai, K., Boonmars, T., Sithithaworn, J., Sithithaworn, P., 2013. Diagnosis of early infection and post chemotherapeutic treatment by copro-DNA detection in experimental opisthorchiasis. Parasitol Res 112, 271-278.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Duenngai, K., Sithithaworn, P., Rudrappa, U.K., Iddya, K., Laha, T., Stensvold, C.R., Strandgaard, H., Johansen, M.V., 2008. Improvement of PCR for detection of *Opisthorchis viverrini* DNA in human stool samples. J Clin Microbiol 46, 366-368.

Hajian-Tilaki, K., 2014. Sample size estimation in diagnostic test studies of biomedical informatics. J Biomed Inform 48, 193-204.

IARC, 2012. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans.

World Health Organ. Int. Agency Res. on Cancer Lyon 100B, 341–370.

Jongsuksuntigul, P., Imsomboon, T., 2003. Opisthorchiasis control in Thailand. Acta tropica 88, 229-232.

Kaewpitoon, N., Kaewpitoon, S., Meererksom, T., Chan-Aran, S., Sangwalee, W., Norkaew, J., Chuatanam, J., Kujapan, J., Padchasuwan, N., Tongtawee, T., Matrakool, L., Loyd, R., Wakkhuwatthapong, P., 2018. Detection of *Opisthorchis viverrini* Infection among the ASEAN Population in Thailand Using a Verbal Screening Test and Fecal Concentrator Kit. Iran J Parasitol 13, 258-266.

Kaewpitoon, N., Kaewpitoon, S.J., Pengsaa, P., 2008. Opisthorchiasis in Thailand: review and current status. World J Gastroenterol 14, 2297-2302.

Kaewpitoon, N., Kaewpitoon, S.J., Ueng-arporn, N., Rujirakul, R., Churproong, S., Matrakool, L., Auiwatanagul, S., Sripa, B., 2012. Carcinogenic human liver fluke: current status of *Opisthorchis viverrini* metacercariae in Nakhon Ratchasima, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev 13, 1235-1240.

Kaewpitoon, S.J., Rujirakul, R., Tongtawee, T., Matrakul, L., Panpimanmas, S., Wakkuwattapong, P., Loyd, R.A., Kaewpitoon, N., 2016a. Detection of the Carcinogenic Liver Fluke *Opisthorchis viverrini* Using a Mini Parasep SF Faecal Parasite Concentrator. Asian Pac J Cancer Prev 17, 373-376.

Kaewpitoon, S.J., Rujirakul, R., Wakkuwattapong, R., Matrakool, L., Tongtawee, T., Panpimanmas, S., Pengsaa, P., Jomkoa, D., Joosiri, A., Kaewpitoon, N., 2016b. *Opisthorchis viverrini* Infection Among People in the Border Areas of Three Provinces, Northeast of Thailand. Asian Pac J Cancer Prev 17, 2973-2977.

Lamaningao, P., Kanda, S., Laimanivong, S., Shimono, T., Darcy, A.W., Phyaluanglath, A., Mishima, N., Nishiyama, T., 2017. Development of a PCR Assay for Diagnosing Trematode (Opisthorchis and Haplorchis) Infections in Human Stools. Am J Trop Med Hyg 96, 221-228.

Lovis, L., Mak, T.K., Phongluxa, K., Soukhathammavong, P., Sayasone, S., Akkhavong, K., Odermatt, P., Keiser, J., Felger, I., 2009. PCR Diagnosis of *Opisthorchis viverrini* and Haplorchis taichui Infections in a Lao Community in an area of endemicity and comparison of diagnostic methods for parasitological field surveys. J Clin Microbiol 47, 1517-1523.

Mewara, A., Khurana, S., Gupta, S., Munda, V.S., Singh, S., Sehgal, R., 2019. Diagnostic performance of mini parasep (R) solvent-free foecal parasite concentrator for the diagnosis of intestinal parasitic infections. Indian J Med Microbiol 37, 381-386.

Prakobwong, S., Suwannatrai, K., 2020. Reduction of Reinfection Rates with *Opisthorchis viverrini* through a Three-Year Management Program in Endemic Areas of Northeastern Thailand. Korean J Parasitol 58, 527-535.

Sithithaworn, P., Andrews, R.H., Nguyen, V.D., Wongsaroj, T., Sinuon, M., Odermatt, P., Nawa, Y., Liang, S., Brindley, P.J., Sripa, B., 2012. The current status of opisthorchiasis and clonorchiasis in the Mekong Basin. Parasitol Int 61, 10-16.

Sripa, B., 2008. Concerted action is needed to tackle liver fluke infections in Asia. PLoS Negl Trop Dis 2, e232.

Sripa, B., Kaewkes, S., 2000. Localisation of parasite antigens and inflammatory responses in experimental opisthorchiasis. Int J Parasitol 30, 735-740.

Sripa, B., Kaewkes, S., Intapan, P.M., Maleewong, W., Brindley, P.J., 2010. Food-borne trematodiases in Southeast Asia epidemiology, pathology, clinical manifestation and control. Adv Parasitol 72, 305-350.

Sripa, B., Kaewkes, S., Sithithaworn, P., Mairiang, E., Laha, T., Smout, M., Pairojkul, C., Bhudhisawasdi, V., Tesana, S., Thinkamrop, B., Bethony, J.M., Loukas, A., Brindley, P.J., 2007. Liver fluke induces cholangiocarcinoma. PLoS Med 4, e201.

Stensvold, C.R., Saijuntha, W., Sithithaworn, P., Wongratanacheewin, S., Strandgaard, H., Ornbjerg, N., Johansen, M.V., 2006. Evaluation of PCR based coprodiagnosis of human opisthorchiasis. Acta Trop 97, 26-30.

Tesana, S., Kaewkes, S., Pinlaor, S., 1986. Infectivity and survivorship of *Opisthorchis viverrini* metacercaria infecmented fish. J. Parasitol. Trop. 9, 21-29.

Umesha, K.R., Kumar, S., Parvathi, A., Duenngai, K., Sithithaworn, P., Karunasagar, I., Karunasagar, I., 2008. *Opisthorchis viverrini*: detection by polymerase chain reaction (PCR) in human stool samples. Exp Parasitol 120, 353-356.

WHO, 2011. Helminth Control in School Age Children: A Guide for Managers of Control Programmes. World Health Organization Geneva.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Wongratanacheewin, S., Pumidonming, W., Sermswan, R.W., Maleewong, W., 2001. Development of a PCR-based method for the detection of *Opisthorchis viverrini* in experimentally infected hamsters. Parasitology 122, 175-180.

Wongratanacheewin, S., Sermswan, R.W., Sirisinha, S., 2003. Immunology and molecular biology of *Opisthorchis viverrini* infection. Acta Trop 88, 195-207.

Worasith, C., Kamamia, C., Yakovleva, A., Duenngai, K., Wangboon, C., Sithithaworn, J., Watwiengkam, N., Namwat, N., Techasen, A., Loilome, W., Yongvanit, P., Loukas, A., Sithithaworn, P., Bethony, J.M., 2015. Advances in the Diagnosis of Human Opisthorchiasis: Development of *Opisthorchis viverrini* Antigen Detection in Urine. PLoS Negl Trop Dis 9, e0004157.

Wykoff, D.E., Harinasuta, C., Juttijudata, P., Winn, M.M., 1965. *Opisthorchis viverrini* in Thailand--the Life Cycle and Comparison with O. Felineus. The Journal of parasitology 51, 207-214.

Yoon, J.H., Kim, Y.J., Baik, G.H., Kim, Y.S., Suk, K.T., Kim, J.B., Kim, D.L., 2014. The Impact of Body Mass Index as a Predictive Factor of Steatocholecystitis. Hepatogastroenterology 61, 902-907.

กรมควบคุมโรค, 2020. แนวทางการดำเนินงาน แนวทางกำจัดพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดีถวายเป็นพระราชกุศลฯ. กรมควบคุมโรค.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ พญ. ชวัลญ์ญา รัตนพิทูลย์

Asscociate Professor Schawanya Rattanapitoon

1. ประวัติส่วนตัว

1.1 ชื่อ-สกุล รองศาสตราจารย์ พญ.ชวัลญ์ญา รัตนพิทูลย์ (สรญา แก้วพิทูลย์)

1.2 วัน เดือน ปี เกิด / สถานที่เกิด ประเทศไทย

1.3 สถานที่ทำงาน สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. การศึกษา

วุฒิการศึกษา	**ปีที่จบการศึกษา**	**สถาบัน**
อ.ว. (เวชศาสตร์ครอบครัว)	พ.ศ. 2549	ราชวิทยาลัยแพทย์เวชศาสตร์ครอบครัวแห่งประเทศไทย
ประกาศนียบัตรแพทย์เพิ่มพูนทักษะ	พ.ศ. 2545	แพทยสภา
แพทยศาสตรบัณฑิต	พ.ศ. 2543	มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การศึกษาหลังปริญญา

1) หลักสูตรผู้บริหารกลุ่มสถาบันแพทยศาสตร์แห่งประเทศไทย
2) Certificate in Medical Education, UIC, USA (collaboration with Narathiwas University)
3) SW25x: Global Health: Biosocial Perspective, Harvard University, USA
4) Acedemic Fellowship, Family Medicine, OHSU, USA

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์สาขาวิชาเวชศาสตร์ครอบครัว

4. ตำแหน่งทางวิชาการ รองศาสตราจารย์

5. ประสบการณ์

5.1 ประสบการณ์การทำงาน

พ.ศ. 2560-**ปัจจุบัน** รองศาสตราจารย์สาขาเวชศาสตร์ครอบครัว

พ.ศ. 2552-2560 ผู้ช่วยศาสตราจารย์สาขาเวชศาสตร์ครอบครัว

พ.ศ. 2551-2552 ผู้ช่วยศาสตราจารย์สาขาเวชศาสตร์ครอบครัว มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

พ.ศ. 2548-2551	อาจารย์สาขาวิชาเวชศาสตร์ครอบครัว วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2546-2547	แพทย์ใช้ทุนโรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชกระนวน
พ.ศ. 2545	แพทย์ใช้ทุนโรงพยาบาลภูผาม่าน อ.ภูผาม่าน จ.ขอนแก่น
พ.ศ. 2544	แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลขอนแก่น

5.2 ประสบการณ์การอบรม / ดูงาน

1) Medical education ณ ประเทศสหรัฐอเมริกา แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา
2) Family Medicine ณ ประเทศสหรัฐอเมริกา แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา
3) ระบบบริการสุขภาพและผู้สูงอายุ ประเทศสิงคโปร์ แหล่งทุนสถาบันวิจัยระบบบริการสุขภาพอาเซียน
4) การบริหารการศึกษาประเทศฮ่องกง โครงการอบรมผู้บริหารรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
5) ระบบการบริหารโรงพยาบาลผู้สูงอายุ เมืองฟุกุโอกะ ประเทศญี่ปุ่น
6) อบรมการประเมินคุณภาพการศึกษาตามเกณฑ์ AUN-QA
7) อบรมจริยธรรมวิจัยในมนุษย์
8) อบรม GCP คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5.3 ประสบการณ์การด้านการบริหาร

2558-ปัจจุบัน	หัวหน้าสถานวิจัย สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
2561-ปัจจุบัน	ประธานหลักสูตรบัณฑิตศึกษาระดับนานาชาติหลักสูตรเวชศาสตร์ปริวรรต (Translational Medicine)
2556-ปัจจุบัน	ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยโรคปรสิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
พ.ศ. 2553-2558	หัวหน้าสถานแพทยศาสตรศึกษา สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
พ.ศ. 2550-2551	ผู้ช่วยคณบดีหลักสูตรแพทยศาสตรบัณฑิต วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2550-2552	คณะกรรมการบริหารกลุ่มสถาบันแพทยศาสตร์แห่งประเทศไทย
พ.ศ. 2548-2550	ผู้อำนวยการสุขภาพ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

5.4 ประสบการณ์ด้านวิชาการ

พ.ศ. 2548	คณะกรรมการร่างหลักสูตรแพทยศาสตรบัณฑิต วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2548	คณะกรรมการร่างหลักสูตรสาธารณสุขศาสตรบัณฑิต หลักสูตรแพทยศาสตรบัณฑิต (ต่อเนื่อง) วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2550	คณะกรรมการร่างหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตและปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2550	คณะกรรมการและเลขานุการวิชาการ วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2550-2551	รองประธานกรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2549-2551	คณะกรรมการบริหารงานวิจัย บริการวิชาการ และทำนุบำรุงศิลปวัฒนธรรม วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2551	คณะกรรมการบริหาร สถาบันลุ่มน้ำโขงศึกษา มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ตามคำสั่งมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ ๘๗/ ๒๕๕๑ สั่ง ณ วันที่ ๑๒ ตุลาคม ๒๕๕๑
พ.ศ. 2554	เลขานุการคณะกรรมการปรับปรุงหลักสูตรแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
พ.ศ. 2553-ปัจจุบัน	คณะกรรมการวิจัยสถาบัน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
พ.ศ. 2554-ปัจจุบัน	กรรมการสภาวิชาการ ประเภทผู้แทนคณาจารย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
พ.ศ. 2556	กรรมการพัฒนาเกณฑ์ WFME ร่วมกับกลุ่มสถาบันแพทยศาสตร์แห่งประเทศไทย
พ.ศ. 2554-ปัจจุบัน	กรรมการตรวจประเมินคุณภาพ WFME
พ.ศ. 2554-2556	เลขานุการกรรมการประจำสำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
พ.ศ. 2555	กรรมการพัฒนามาตรฐานคุณวุฒิระดับอุดมศึกษา มคอ1 สาขาวิชาแพทยศาสตร์

พ.ศ. 2556	กรรมการตรวจประเมินคุณภาพการศึกษาภายในระดับสำนักวิชา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
2558-ปัจจุบัน	กรรมการสภาวิชาการประเภทผู้แทนคณาจารย์
2558-ปัจจุบัน	รองบรรณาธิการวารสาร Suranaree Journal of Science and Technology
พ.ศ. 2560	เลขานุการกรรรมการพัฒนาหลักสูตรทันตแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
พ.ศ 2560	เลขานุการกรรมการพัฒนาหลักสูตรนานาชาติ Ph.D., Ms.C. in Translational Medicine
พ.ศ. 2561	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์นักศึกษาระดับปริญญาโทและปริญญาเอกสาขาวิชาเวชศาสตร์ปริวรรต
พ.ศ. 2559-ปัจจบัน	อาจารย์พิเศษหลักสูตรแพทย์ประจำบ้านสาขาวิชาเวชศาสตร์ครอบครัว
พ.ศ. 2559-ปัจจุบัน	กรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ กรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่น มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา มหาวิทยาลัยวงษ์ชวลิตกุล

6. ผลงานวิชาการ / ผลงานวิจัย

งานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติ

Associate Professor Schawanya Rattanapitoon has authored or co-authored 69 publications and 573 total citations, h-Index of 12 in SCOPUS database mainly in medicine and Infection.

Citations 903, h-index 16, i10-index 24 in Google Scholar (December, 2020)

หนังสือ

- เวชศาสตร์ครอบครัวและชุมชน
- คู่มือการปฏิบัติงานโครงการควบคุมโรคหนอนพยาธิในโครงการตามพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

- โปรแกรมปรับเปลี่ยนพฤติกรรม ถอดบทเรียนจากโครงการตรวจคัดกรองพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดีในพื้นที่นครชัยบุรินทร์

7.บริการวิชาการ

- Community Intervention
- Executive Board Member for several professional and scientific societies
- International Advisory Committee for several international and national conferences
- Organizing Committee for several international and national conferences
- Plenary/ Keynote/ Invited Speaker at several international and national conferences
- Session Chair and Co-Chair at several international and national conferences
- Guest Editor, Editor, Editorial Board for several international and national journals
- Regular Referee for more than 10 international and national journals
- WHO SEARO

Funding

Parasitic Research Center, SUT

Thailand Research Fund (TRF)

ITAP (Innovation and technology assistance program) for Clinical Research

The Thailand Research Fund

Suranaree University of Technology (SUT)

ASEAN Institute for Health Development (AIHD)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัธคพัชพ รัตนพิทูลย์

Assistant Professor Dr.Nathkapach Rattanapitoon

ประวัติการศึกษา

ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาสาธารณสุขศาสตร์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาอาชีวอนามัยและความปลอดภัย มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช

Research training for molecular biology at Healminth Laboratory, Queensland Institute of Medical Research, Australia, 2006-2007

หลักสูตรประกาศนียบัตร

Spatial Analysis and Modeling in GIS, สำนักงานพัฒนาเทคโนโลยีอวกาศและภูมิสารสนเทศ (องค์การมหาชน)

Evaluating Social Program, **Massachusetts Institute of Technology**

Global Health: A Biosocial Perspective, **Harvard University**

ระบาดวิทยาประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หลักวิจัยชุมชน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Work Experience

2013 – 2017	**Assistant Professor** Faculty of Public Health, Vongchavalitkul University, Thailand
2015 – 2017	**Research Supervisor** Division of Research, Suranaree University of Technology Hospital, Thailand
2012 – present	**Researcher** Parasitic Disease Research Unit, Suranaree University of Technology, Thailand
2012 – 2014	**Guest lecturer** Faculty of Science, Nakhon Ratchasima Rajabhat University, Thailand
2010 – 2013	**Assistant Professor** Department of Pathology, Suranaree University of Technology, Thailand
2008 – 2010	**Guest lecturer** Sirindhon college of public health, Ubonratchathani, Thailand
2007 – 2010	**Vice dean in research affair/Lecturer** College of Medicine and Public Health, Ubon Ratchathani University, Thailand

Awards & Grants

Dec 2016	Award: The 1st runner of oral presentation, the Annual Academic Conference of Institute of Medicine, Suranaree University of Technology, affiliated with Mahidol University, Nakhon Sawan Campus, and Faculty of Medicine, Naresuan University
Jul 2016	Grant: INTESDA & VU for Plenary speaker: International Conference on Advancing the Life Sciences & Public Health Awareness at Nagoya Sakae Tokyo REI Hotel, Nagoya, Japan
Sep 2015	Grant: SUTH: Research present in the Conference of Association for Medical Education in Europe (AMEE) 2015, Scottish Exhibition and Conference Centre (SECC), Glasgow G3 8YW, UK

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Sep 2015 Award: The best paper award of poster presentation, IDEN 2015 / 14th KJSGE Scientific Sessions, at Grand Hilton Seoul Hotel, Seoul, South Korea

Aug 2015 Grant: VU: Research presentation in the Second Asian Symposium on Healthcare Without Borders, the Mitsui Garden Hotel in Hiroshima, Japan

Jun 2015 Grant: SUTH: Research present in the 3rd International Conference on Prevention and Infection Control (ICPIC 2015) Geneva, Switzerland

Dec 2014 Award: Best paper award of oral presentation (medical & public health research field), the Annual Academic Conference, Institute of Medicine, Suranaree University of Technology, Thailand

Dec 2014 Award: Best paper award of poster presentation (child & mother research field), the Annual Academic Conference, Institute of Medicine, Suranaree University of Technology, Thailand

Aug 2014 Grant: VU: Research presentation in the Inaugural Asian Symposium on the Healthcare Without Borders and the 69th Hiroshima Peace Memorial & Remembrance Ceremony, The Kokusai Hotel, Hiroshima, Japan

Dec 2013 Award: Best paper award of poster presentation, the Annual Academic & National Conference, Institute of Medicine, Suranaree University of Technology, Thailand

Sep 2013 Award: Best paper award of oral presentation, the Clute Institute International Academic Conference in Las Vegas, Nevada, USA

Mar 2013 Grant: SUT: Research presentation in the International Conference on Molecular Biology and Biomedicine, Tokyo, Japan

Dec 2012 Award: The 1st runner of poster presentation, the Annual Academic Conference, Institute of Medicine, Suranaree University of Technology, Thailand

Sep 2012 Grant: SUT: Research Presentation in 52nd ICAAC Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy

Feb 2012 Award: The 1st runner of poster presentation, the national conference, Institute of Research and Development, Khon Kaen University, Thailand

Feb 2012 Award: The 1st runner of poster presentation, the National Conference, Institute of Medicine, Suranaree University of Technology, Thailand

Aug 2011 Grant: Research presentation in the 21st World Congress on Psychosomatic Medicine, Seoul, Korea

Mar 2011 Grant: SUT: Research Presentation in 6th Congress of the Asian Medical Education Association (AMEA)

Dec 2010 Award: Best paper award of poster presentation, the Annual Conference, College of Medicine and Public Health, Unonratchathani University, Thailand

Nov 2010 Grant: SUT: Research presentation in MEEGID XI international Conference on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases

Dec 2009 Award: The outstanding award of academic instructor, College of Medicine and Public Health, Ubonratchathani University, Thailand

Sep 2006 Scholarship: QIMR: visiting scholarship for research training in Queensland Institue of Medical Research, Australia

Oct 1998 Scholarship: KKU; visiting scholar of Student Affair and Related in Nanyang Technology University, Singapore

Oct 1998 Scholarship: KKU grant; visiting scholar of Student Affair and Related in Stamford International University, Malasia

International Publications

1. Kaewpitoon SJ, Ponphimai S, Petdee P, Thueng-in K, Khiaowichit J, Meererksom T, Wakkhuwatapong P, Bukkhunthod P, Leng M, Namhong T, Taweepakdeechot A, Yardcharoen N, Panithanang B, Srithongklang W, Panpimanmas S, Kaewpitoon N. The

prevalence of intestinal helminthic infection in rural villagers, Northeastern Thailand. Trop Biomed 36(1): 152–164 (2019)

2. Bukkhunthod P, Meererksom T, Pechdee P, Ponphimai S, Khiaowichit J, Kaewpitoon N, Thueng-in K, Leng M, Namhong T, Taweepakdeechot A, Yardcharoen N, Srithongklang W, Wakhuwathapong P, Keeratibharat N, Kaewpitoon SJ. Animation as Supplementary Learning Material about Carcinogenic Liver Fluke in Classes for Primary Schoolchildren. J Canc Educ. 2018 Oct 5.

3. Padchasuwan N, Banchonhattakit P, Kaewpitoon N. Health literacy associated with liver fluke prevention and control among secondary school students in northeast Thailand. Suranaree J Sci Tech. 2018;25(3):307-318

4. Srithongklang W, Panithanang B, Kompor P, Pengsaa P, Kaewpitoon N, Wakkhuwatapong P, Kaewpitoon S. Effect of Educational Intervention Based on the Health Belief Model and Self-Efficacy in Promoting Preventive Behaviors in a Cholangiocarcinoma Screening Group. J Canc Educ. 2018; https://doi.org/10.1007/s13187-018-1424-7

5. Panithanang B, Kaewpitoon N, Srithongklang W, Kompor P, Pengsaa P, Wakkhuwattapong P, Kaewpitoon SJ. The Effect of Health Behavior Modification Program for Liver Fluke Prevention among the Risk Group in Rural Communities, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2018;19 (9):2673-2680

6. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ, Sangwalee W, Kujapun J, Norkaew J, Chuatanam J, Ponphimai S, Chavengkun W, Tongtawee T, Matrakool L, Panpimanmas S, Padchasuwan N, Meererksom T, Wakkhuwatapong P. Active screening of gastroenterological helminthic infection among migrant workers in Thailand. J Inter Med Res.

7. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ, Tongtawee T, Panpimanmas S, Matrakool L, Loyd RA, Ponphimai S, Wakkhuwattapong P, Norkaew J, Kujapan J, Sangwalee W, Pothipim M, Chuatanam J, Meererksom T, Chan-Aran S, Padchasuwan N. Detection of the carcinogenic liver fluke risk groups by verbal screening questionnaires using a mobile application. Asian Pac J Cancer Prev. 2018;19(7):2013-2019.

8. Kaewpitoon SJ, Sangwalee W, Kujapun J, Norkaew J, Wakkhuwatapong P, Chuatanam J, Loyd RA, Pontip K, Ponphimai S, Chavengkun W, Padchasuwan N, Meererksom T, Tongtawee T, Matrakool L, Panpimanmas S, Kaewpitoon N. A carcinogenic human liver fluke infection among migrant workers in northeastern Thailand, indicates continued needs for active surveillance. Trop Biomed. 2018;35(2): 453–463.

9. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ, Meererksom T, Chan-Aran S, Sangwalee W, Kujapun J, Norkaew J, Chuatanam J, Tongtawee T, Matrakool L, Loyd RA, Wakkhuwatapong P. Detection of *Opisthorchis viverrini* Infection Among the ASEAN Population in Thailand. Iran J Parasitol. 2018;13(2):258-266.

10. Kaewpitoon, SJ, Wakkhuwatapong P, Loyd RA, Sangwalee W, Kujapun J, Norkaew J, Pontip K, Chuatanam J, Ponphimai S, Chavengkun W, Pothipim M, Padchasuwan N, Tongtawee T, Matrakool L, Panpimanmas S, Kaewpitoon N. Detection of a carcinogenic liver fluke among migrant workers by three coprological concentration methods. Trop Biomed. 2017;34(4): 877–885.

11. Tongtawee T, Wattanawongdon W, Simawaranon T, Kaewpitoon SJ, Kaengpenkae S, Jintabanditwong N, Tangjanyatham P, Ratchapol W, Kangwantas K, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Kaewpitoon N, Matrakool L, Panpimanmas S. Expression of Cancer Stem Cell Marker CD44 and Its Polymorphisms in Patients with Chronic Gastritis, Precancerous Gastric Lesion, and Gastric Cancer: A Cross-Sectional Multicenter Study in Thailand. BioMed Res Inter. 2017 (2017), Article ID 4384823, 8 pages

12. Tongtawee T, Bartpho T, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Loyd RA, Talabnin K, Matrakool L, Panpimanmas S. Genetic polymorphisms in TLR1, TLR2, TLR4, and TLR10 of *Helicobacter pylori*-associated gastritis: a prospective cross-sectional study in Thailand. Eur J Cancer Prev. 2017 Mar 31.

13. Kaewpitoon SJ, Ryan RA, Rujirakul R, Wakkuwattapong P, Matrakool L, Tongtawee T, Panpimanmas S, Bencharoen F, Namwichaisirikul N, Phatisena T, Eaksanti T, Keubkuntod P, Pothipim M, Norkaew J, Kujapun J, Ponphimai S, Chavenkun W, Kompor P, Kaewpitoon N. Primary Care Intervention to Prevent and Control

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Cholangiocarcinoma: Lesson from Nakhon Ratchasima, Thailand. J Med Assoc Thai Vol. 99 Suppl. 2016

14. Kaewpitoon SJ, Sawaspol S, Chaimeerang Phandee M, Phandee W, Phanurak W, Ryan RA, Rujirakul R, Wakkuwattapong P, Matrakool L, Tongtawee T, Panpimanmas S, Jomkoa D, Joosiri A, Kaewpitoon N. Analysis of Risk Areas of *Opisthorchis viverrini* in Rural Communities by Using SUT-OV-001. J Med Assoc Thai Vol. 99 Suppl. 2016

15. Padchasuwan N, Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Wakkuwattapong P, Norkaew J, Kujapun J, Ponphimai S, Chavenkun W, Kompor P, Kaewpitoon N. Modifying Health Behavior for Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Prevention with the Health Belief Model and Social Support Theory. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(8):3721-5.

16. Tongtawee T, Bartpho T, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. TLR1 Polymorphism Associations with Gastric Mucosa Morphologic Patterns on Magnifying NBI Endoscopy: A Prospective CrossSectional Study. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(7):3391-4.

17. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Wakkuwattapong R, Matrakool L, Tongtawee T, Panpimanmas S, Pengsaa P, Jomkoa D, Joosiri A, Kaewpitoon N. *Opisthorchis viverrini* Infection Among People in the Border Areas of Three Provinces, Northeast of Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(6):2973-7.

18. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Wakkuwattapong P, Benjaoran F, Norkaew J, Kujapun J, Ponphimai S, Chavenkun W, Kompor P, Padchasuwan N, Kaewpitoon N. Development of a Health Education Modification Program Regarding Liver Flukes and Cholangiocarcinoma in High-Risk Areas of Nakhon Ratchasima Province Using Self-Efficacy and Motivation Theory. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(6):2947-51.

19. Phatisena P, Eaksanti T, Wichantuk P, Tritipsombut J, Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Wakkhuwattapong P, Tongtawee T, Matrakool L, Panpimanmas S, Norkaew J, Kujapun J, Chavengkun W, Kompor P, Pothipim M, Ponphimai S, Padchasuwan N, Kaewpitoon

N. Behavioral Modification Regarding Liver Fluke and Cholangiocarcinoma with a Health Belief Model Using Integrated Learning. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(6):2889-94.

20. Chavengkun W, Kompor P, Norkaew J, Kujapun J, Pothipim M, Ponphimai S, Kaewpitoon SJ, Padchasuwan N, Kaewpitoon N. Raw Fish Consuming Behavior Related to Liver Fluke Infection among Populations at Risk of Cholangiocarcinoma in Nakhon Ratchasima Province, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(6):2761-5.

21. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Wakkuwattapong P, Matrakool L, Tongtawee T, Panpimanmas S, Kujapun J, Norkaew J, Photipim M, Ponphimai S, Chavengkun W, Kompor P, Padchasuwan N, Sawaspol S, Phandee MC, Phandee W, Phanurak W, Kaewpitoon N. Overweight Relation to Liver Fluke Infection among Rural Participants from 4 Districts of Nakhon Ratchasima Province, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(5):2565-71.

22. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Loyd RA, Panpimanmas S, Matrakool L, Tongtawee T, Kompor P, Norkaew J, Chavengkun W, Wakkhuwattapong P, Kujapun J, Ponphimai S, Phatisena T, Eaksunti T, Polsripradist P, Joosiri A, Sukkasam I, Padchasuwan N, Kaewpitoon N. Surveillance of Populations at Risk of Cholangiocarcinoma Development in Rural Communities of Thailand Using the Korat-CCA Verbal Screening Test. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(4):2205-9.

23. Painsing S, Sripong A, Vensontia O, Pengsaa P, Kompor P, Kootanavanichapong N, Kaewpitoon SJ, Kaewpitoon N. Health Behavior Regarding Liver Flukes among Rural People in Nakhon Ratchasima, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(4):2111-4.

24. Matrakool L, Tongtawee T, Bartpho T, Dechsukhum C, Loyd RA, Kaewpitoon SJ, Kaewpitoon N. Improved Detection of *Helicobacter pylori* Infection and Premalignant Gastric Mucosa Using Conventional White Light Source Gastroscopy. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(4):2099-103.

25. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Wakkuwattapong P, Matrakool L, Tongtawee T, Norkaew J, Kujapun J, Kampangsri W, Kaewpitoon N. Implementation of Health Behavior Education

Concerning Liver Flukes among Village Health Volunteers in an Epidemic Area of Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(4):1713-6.

26. Tongtawee T, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(4):1631-5.

27. Tongtawee T, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. Characteristics and Risk Factors of Helicobacter pylori Associated Gastritis: A Prospective Cross-Sectional Study in Northeast Thailand. Gastroenterol Res Pract. 2016;2016:9130602.

28. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Sangkudloa A, Kaewthani S, Khemplila K, Cherdjirapong K, Kujapun J, Norkaew J, Chavengkun W, Ponphimai S, Polsripradist P, Padchasuwan N, Joosiri A, Wakkhuwattapong P, Loyd RA, Matrakool L, Tongtawee T, Panpimanmas S, Kaewpitoon N. Distribution of the Population at Risk of Cholangiocarcinoma in Bua Yai District, Nakhon Ratchasima of Thailand Using Google Map. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(3):1433-6.

29. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Joosiri A, Jantakate S, Sangkudloa A, Kaewthani S, Chimplee K, Khemplila K, Kaewpitoon N. GIS Database and Google Map of the Population at Risk of Cholangiocarcinoma in Mueang Yang District, Nakhon Ratchasima Province of Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(3):1293-7.

30. Kaewpitoon SJ, Thanapatto S, Nuathong W, Rujirakul R, Wakkuwattapong P, Norkaew J, Kujapun J, Padchasuwan N, Kaewpitoon N. Effectiveness of a Health Educational Program Based on Self-Efficacy and Social Support for Preventing Liver Fluke Infection in Rural People of Surin Province, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(3):1111-4.

31. Kaewpitoon SJ, Kaewpitoon N, Rujirakul R, Wakkuwattapong P, Matrakul L, Tongtawee T, Loyd RA, Norkaew J, Kujapun J, Chavengkun W, Ponphimai S, Polsripradist P, Eksanti T, Phatisena T. Nurses and Television as Sources of Information Effecting Behavioral

Improvement Regarding Liver Flukes in Nakhon Ratchasima Province, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(3):1097-102.

32. Tongtawee T, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. Role of the Mdm2 SNIP 309 Polymorphism in Gastric Mucosal Morphologic Patterns of Patients with *Helicobacter pylori* Associated Gastritis. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(3):1057-60.

33. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Loyd RA, Matrakool L, Sangkudloa A, Kaewthani S, Khemplila K, Eaksanti T, Phatisena T, Kujapun J, Norkaew J, Joosiri A, Kaewpitoon N. Spatial Distribution of the Population at Risk of Cholangiocarcinoma in Chum Phaung District, Nakhon Ratchasima Province of Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016; 17(2):719-22.

34. Kompor P, Muang Karn R, Norkaew J, Kujapun J, Photipim M, Ponphimai S, Chavengkun W, Phong Paew S, Kaewpitoon S, Rujirakul R, Wakhuwathapong P, Phatisena T, Eaksanti T, Joosiri A, Polsripradistdist P, Padchasuwan N, Kaewpitoon N. Population-Based Intervention for Liver Fluke Prevention and Control in Meuang Yang District, Nakhon Ratchasima Province, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(2):685-9.

35. Mongsawaeng C, Kokorn N, Kujapun J, Norkaew J, Kootanavanichpong N, Chavenkun W, Ponphimai S, Kaewpitoon SJ, Tongtawee T, Padchasuwan N, Pengsaa P, Kompor P, Kaewpitoon N. Knowledge, Attitude, and Practice Regarding Cervical Cancer among Rural Community Women in Northeast Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016; 17(1):85-8.

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

37. Kaewpitoon SJ, Loyd RA, Rujirakul R, Panpimanmas S, Matrakool L, Tongtawee T, Kootanavanichpong N, Pengsaa P, Kompor P, Chavengkun W, Kujapun J, Norkaew J,

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Ponphimai S, Padchasuwan N, Polsripradist P, Eksanti T, Phatisena T, Kaewpitoon N. *Helicobacter* Species are Possible Risk Factors of Cholangiocarcinoma. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(1):37-44.

38. Tongtawee T, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. *Helicobacter Pylori* Associated Gastritis Increases Risk of Colorectal Polyps: a Hospital Based-Cross-Sectional Study in Nakhon Ratchasima Province, Northeastern Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(1):341-5.

39. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Loyd RA, Panpimanmas S, Matrakool L, Tongtawee T, Kompor P, Norkaew J, Chavengkun W, Kujapan J, Polphimai S, Phatisena T, Eaksunti T, Polsripradist P, Padchasuwan N, Kaewpitoon N. Re-Examination of *Opisthorchis viverrini* in Nakhon Ratchasima Province, Northeastern Thailand, Indicates Continued Needs for Health Intervention. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(1):231-4.

40. Phongsiripapat R, Chimplee K, Rujirakul R, Kaewpitoon S, Keawpitoon N. People Participation Towards *Opisthorchis viverrini*Prevention and Control in Chaiyaphum Province, Northeastern Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(1):177-81.

41. Tongtawee T, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. Improved Detection of *Helicobacter pylori* Infection and Premalignant Gastric Mucosa Using “Site Specific Biopsy”: a Randomized Control Clinical Trial. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(18):8487-90.

42. Kaewpitoon SJ, Namwichaisirikul N, Loyd RA, Churproong S, Ueng-Arporn N, Matrakool L, Tongtawee T, Rujirakul R, Nimkhuntod P, Wakhuwathapong P, Kaewpitoon N. Nutritional Status among Rural Community Elderly in the Risk Area of Liver Fluke, Surin Province, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(18):8391-6.

43. Tongtawee T, Dechsukhum C, Matrakool L, Panpimanmas S, Loyd RA, Kaewpitoon SJ, Kaewpitoon N. High Prevalence of *Helicobacter pylori* Resistance to Clarithromycin: A Hospital-Based Cross-Sectional Study in Nakhon Ratchasima Province, Northeast of Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(18):8281-5.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

44. Kaewpitoon SJ, Loyd RA, Rujirakul R, Panpimanmas S, Matrakool L, Tongtawee T, Kootanavanichpong N, Kompor P, Chavengkun W, Kujapun J, Norkaew J, Ponphimai S, Padchasuwan N, Pholsripradit P, Eksanti T, Phatisena T, Kaewpitoon N. Benefits of Metformin Use for Cholangiocarcinoma. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(18):8079-83.

45. Kaewpitoon SJ, Kaewpitoon N, Rujirakul R, Ueng-Arporn N, Matrakool L, Tongtawee T. The Carcinogenic Liver Fluke *Opisthorchis viverrini* among Rural Community People in Northeast Thailand: a Cross- Sectional Descriptive Study using Multistage Sampling Technique. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(17):7803-7. PubMed PMID: 26625801.

46. Tongtawee T, Dechsukhum C, Talabnin K, Leeanansaksiri W, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. Correlation between Patterns of Mdm2 SNIP 309 and Histopathological Severity of *Helicobacter pylori* Associated Gastritis in Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(17):7781-4.

47. Tongtawee T, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. Genetic Polymorphism of MDM2 SNP309 in Patients with *Helicobacter Pylori*-Associated Gastritis. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(16):7049-52.

48. Kaewpitoon N, Kootanavanichpong N, Kompor P, Chavenkun W, Kujapun J, Norkaew J, Ponphimai S, Matrakool L, Tongtawee T, Panpimanmas S, Rujirakul R, Padchasuwan N, Pholsripradit P, Eksanti T, Phatisena T, Loyd RA, Kaewpitoon SJ. Review and Current Status of *Opisthorchis viverrini* Infection at the Community Level in Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(16):6825-30. Review.

49. Rattanasing W, Kaewpitoon SJ, Loyd RA, Rujirakul R, Yodkaw E, Kaewpitoon N. Utilization of Google Earth for Distribution Mapping of Cholangiocarcinoma: A Case Study in Satuek District, Buriram, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(14):5903-6.

50. Nimkuntod P, Kaewpitoon S, Uengarporn N, Ratanakeereepun K, Tongdee P. Perceptions of Medical Students and Facilitators of an Early Clinical Exposure Instructional Program. J Med Assoc Thai. 2015 May;98 Suppl 4: S64-70.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

51. Kaewpitoon SJ, Loyd RA, Kaewpitoon N. A Cross-Sectional Survey of Intestinal Helminthiases in Rural Communities of Nakhon Ratchasima Province, Thailand. J Med Assoc Thai. 2015 May;98 Suppl 4:S27-32.

52. Rujirakul R, Ueng-arporn N, Kaewpitoon SJ, Loyd RA, Kaewthani S, Kaewpitoon N. Risk Areas of Liver Flukes in Surin Province of Thailand using Geographic Information System. J Med Assoc Thai. 2015 May;98 Suppl 4:S22-6. Retraction in: J Med Assoc Thai. 2015 Nov;98(11):1154.

53. Kaewpitoon N, Loyd RA, Kaewpitoon SJ, Rujirakul R. Malaria Risk Areas in Thailand Border. J Med Assoc Thai. 2015 May;98 Suppl 4:S17-21.

54. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ. Localization of Tubulin from the Carcinogenic Human Liver Fluke, *Opisthorchis viverrini*. J Med Assoc Thai. 2015 May;98 Suppl 4:S9-16.

55. Kaewpitoon SJ, Loyd RA, Kaewpitoon N. Home Healthcare Program for Soil-Transmitted Helminthiasis in Schoolchildren along the Mekong River Basin. J Med Assoc Thai. 2015 May;98 Suppl 4:S1-8.

56. Tongtawee T, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. Improved Helicobacter pylori Eradication Rate of Tailored Triple Therapy by Adding *Lactobacillus delbrueckii* and *Streptococcus thermophilus*in Northeast Region of Thailand: A Prospective Randomized Controlled Clinical Trial. Gastroenterol Res Pract. 2015; 2015:518018.

57. Tongtawee T, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Loyd RA, Matrakool L, Panpimanmas S. Effect of Pretreatment with *Lactobacillus delbrueckii* and *Streptococcus thermophillus* on Tailored Triple Therapy for *Helicobacter pylori*Eradication: A Prospective Randomized Controlled Clinical Trial. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(12):4885-90.

58. Tongtawee T, Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Dechsukhum C, Loyd RA, Matrakool L. Correlation between Gastric Mucosal Morphologic Patterns and Histopathological Severity of *Helicobacter pylori* Associated Gastritis Using Conventional Narrow Band

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Imaging Gastroscopy. Biomed Res Int. 2015; 2015:808505. doi: 10.1155/2015/808505. Epub 2015 May 18.

59. Tongtawee T, Kaewpitoon SJ, Loyd R, Chanvitan S, Leelawat K, Praditpol N, Jujinda S, Kaewpitoon N. High Expression of Matrix Metalloproteinase-11 indicates Poor Prognosis in Human Cholangiocarcinoma. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(9):3697-701.

60. Rujirakul R, Ueng-arporn N, Kaewpitoon S, Loyd RJ, Kaewthani S, Kaewpitoon N. GIS-based spatial statistical analysis of risk areas for liver flukes in Surin Province of Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(6):2323-6.

61. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Kaewpitoon N. Prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in Nakhon Ratchasima province, Northeast Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2012;13(10):5245-9.

62. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Ueng-Arporn N, Matrakool L, Namwichaisiriku N, Churproong S, Wongkaewpothong P, Nimkuntod P, Sripa B, Kaewpitoon N. Community-based cross-sectional study of carcinogenic human liver fluke in elderly from Surin province, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2012;13(9):4285-8.

63. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ, Ueng-arporn N, Rujirakul R, Churproong S, Matrakool L, Auiwatanagul S, Sripa B. Carcinogenic human liver fluke: current status of *Opisthorchis viverrini* metacercariae in Nakhon Ratchasima, Thailand. Asian Pac J Cancer Prev. 2012;13(4):1235-40.

64. Pinlaor P, Kaewpitoon N, Laha T, Sripa B, Kaewkes S, Morales ME, Mann VH, Parriott SK, Suttiprapa S, Robinson MW, To J, Dalton JP, Loukas A, Brindley PJ. Cathepsin F cysteine protease of the human liver fluke, *Opisthorchis viverrini*. PLoS Negl Trop Dis. 2009;3(3):e398. doi: 10.1371/journal.pntd.0000398. Epub 2009 Mar 24.

65. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ, Pengsaa P. Food-borne parasitic zoonosis: distribution of trichinosis in Thailand. World J Gastroenterol. 2008 Jun 14;14(22):3471-5. Review.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

66. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ, Pengsaa P. Opisthorchiasis in Thailand: review and current status. World J Gastroenterol. 2008 Apr 21;14(15):2297-302. Review.

67. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ, Pengsaa P, Sripa B. *Opisthorchis viverrini*: the carcinogenic human liver fluke. World J Gastroenterol. 2008 Feb 7;14(5):666-74. Review.

68. Saichua P, Nithikathkul C, Kaewpitoon N. Human intestinal capillariasis in Thailand. World J Gastroenterol. 2008 Jan 28;14(4):506-10. Review.

69. Kaewpitoon N, Laha T, Kaewkes S, Yongvanit P, Brindley PJ, Loukas A, Sripa B. Characterization of cysteine proteases from the carcinogenic liver fluke, *Opisthorchis viverrini*. Parasitol Res. 2008 Mar;102(4):757-64. Epub 2007 Dec 19.

70. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ, Pengsaa P, Pilasri C. Knowledge, attitude, and practice related to liver fluke infection in northeast Thailand. World J Gastroenterol. 2007 Mar 28;13(12):1837-40.

71. Kaewpitoon N, Kaewpitoon SJ, Philasri C, Leksomboon R, Maneenin C, Sirilaph S, Pengsaa P. Trichinosis: epidemiology in Thailand. World J Gastroenterol. 2006 Oct 28;12(40):6440-5. Review.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี