โรคที่เกิดจากการติดพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* และพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดเล็ก *H. taichui* ยังเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณะสุข โดยเฉพาะในเขตภาคอีสาน และภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ซึ่งต้องการวิธีการตรวจสอบที่ถูกต้อง แม่นยำ และเฉพาะเจาะจง เพื่อการวางแผนควบคุมการระบาดที่มีประสิทธิภาพ การศึกษาครั้งนี้ จึงได้ทำการ หาตัวติดตามของพยาธิใบไม้ *O. viverrini* และ *H. taichui* โดยใช้เทคนิค HAT-RAPD PCR ร่วมกับ arbitrary primers 14 ชนิด (Operon Technologies) เพื่อทดสอบหา HAT-RAPD marker ที่มีความจำเพาะต่อพยาธิ ทั้งสองชนิด ผลการทดสอบ พบว่า primer OPA-04 สามารถทำให้เกิด HAT-RAPD marker ขนาด 330 bp ที่มีความจำเพาะต่อพยาธิ *O. viverrini* และ primer OPP-11 สามารถทำให้เกิด HAT-RAPD marker ขนาด 260 bp ที่มีความจำเพาะต่อพยาธิ *H. taichui* จากข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ ได้ออกแบบ specific primers โดยใช้โปรแกรม Genetyx - MAC ver. 11 เพื่อใช้ตรวจสอบพยาธิชนิดดังกล่าว ดังนี้ specific primers ของพยาธิ *H. taichui* ให้ PCR product ขนาด 180 bp มีลำดับนิวคลีโอไทด์ ดังนี้ คือ Hapt_F 5'–GGCCAACGCAATCGTCATCC-3' และ Hapt_R 5'–CTCTCGACCTCCTCTAGAAT-3' ส่วน specific primers ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ให้ PCR product ขนาด 330 bp มีลำดับนิวคลีโอไทด์ ดังนี้ คือ OpV-1F: 5'-AATCGGGCTGCATATTGACCGAT-3' และ OpV-1R: 5'-CGGTGTTGCTTA TTTTGCAGACAA-3' เมื่อนำ specific primers ทั้งสองคู่ ไปทดสอบกับตัวอย่างพยาธิชนิดอื่น พบว่า สามารถเกิดแถบ ดีเอ็นเอ ขนาด 330 bp ในตัวอย่างพยาธิ *O. viverrini* และ 180 bp ในตัวอย่างพยาธิ *H. taichui* โดยไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับตัวอย่างพยาธิชนิดอื่นๆ และเงื่อนไขในการทำ PCR เหมือนปกติ แต่ปรับอุณหภูมิในช่วง annealing เป็น 68 °C และใช้ $MgCl_2$ 0.5 mM จากการทดลองตรวจสอบกับตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่พบในหอย ปลา และระยะไข่ที่พบในอุจจาระ พบว่าสามารถเกิดแถบดีเอ็นเอขนาด 330 และ 180 bp จากตัวอย่างอุจจาระที่มีการติดพยาธิทั้งสองชนิดนี้ร่วมกันได้ ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการติดตามตรวจสอบการระบาดของพยาธิ *O. viverrini* และ *H. taichui* ได้อย่างสมบูรณ์ ทั้งในโฮสต์กึ่งกลาง และโฮสต์เฉพาะ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการวางแผนจัดการตรวจสอบ และป้องกันการระบาดของพยาธิต่อไปได้ จากแบบสอบถามอาจกล่าวได้ว่า การได้รับข่าวสารข้อมูลอย่างต่อเนื่อง ทำให้ชาวบ้านมีการตื่นกลัวต่อการติดพยาธิ แต่ก็ยังไม่ละทิ้งวิถีชีวิต และวัฒนธรรมในการบริโภคอาหารที่มีความเสี่ยงต่อการติดพยาธิ ในขณะเดียวกันก็ยังมีการป้องกันและรักษาตัวเอง โดยการตรวจการติดพยาธิจากอุจจาระ และกินยาถ่ายพยาธิเป็นระยะๆ ซึ่งยังคงมีความเสี่ยงต่อการติดพยาธิ แต่อย่างไรก็ การนำเสนอผลการวิจัย และถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้สู่ชาวบ้าน จะเป็นการสร้างโอกาสและวิธีการในการแก้ปัญหาที่ถูกต้อง และมีประสิทธิภาพสูงสุด

Diseases caused by the liver fluke, *Opisthorchis viverrini* and minute intestinal fluke, *Haplorchis taichui* are considered to have clinical importance especially in the northeastern and northern regions of Thailand. A sensitive, accuracy and specific detection of these flukes is required for the effective epidemiological control program. Hence, specific primers for the detection of *O. viverrini* and *H. taichui* were investigated in this study by using HAT-RAPD PCR method and 14 arbitrary primers (Operon Technologies) were also performed for the generation of polymorphic DNA profiles. The result showed that, a 330 bp fragment generated from OPA-04 primer was expected to be *O. viverrini*-specific while a 260 bp fragment generated from OPP-11 primer was considered to be *H. taichui*- specific. Based on the sequence data of each fragment, 2 pairs of specific primers were designed with Genetyx–MAC ver.11 software. The sequences of *H. taichui*-specific primers were indicated as follows; Hapt_F5'–GGCCAACGCAATCGTCATCC-3' which can yield a 180 bp PCR product whereas the sequences of *O. viverrini*-specific primers were OpV-1F: 5'-AATCGGGCTGCATATTGACCGAT-3' and OpV-1R: 5'-CGGTGTTGCTTATTTTGCAGACAA-3' which can generate a 330 bp PCR product. These specific primers were tested for efficacy and specific detection by applying to amplified with all 13 parasites DNA samples as described above. The result showed that, a 256 bp was generated as same as give positive result in only *H. taichui* sample and have no cross-reaction with any testing parasites. However, PCR conditions must be recommended by it should be taken at 68 ^{o}C annealing temperature and 0.937 mM magnesium chloride ($Mg\ Cl_2$). By the way, the minimum DNA template needed was 1 fg (femtogram) and at least 1 egg was needed as same as give positive result for the detection by PCR in human stool specimens contaminated with *H. taichui'* s eggs.

The *H. taichui* - specific primers with succesfully developed in this study can be use in several applications base on epidemiological monitoring and detection in either intermediate host or definitive host which usefulness for preventing management and epidemiological control program.