

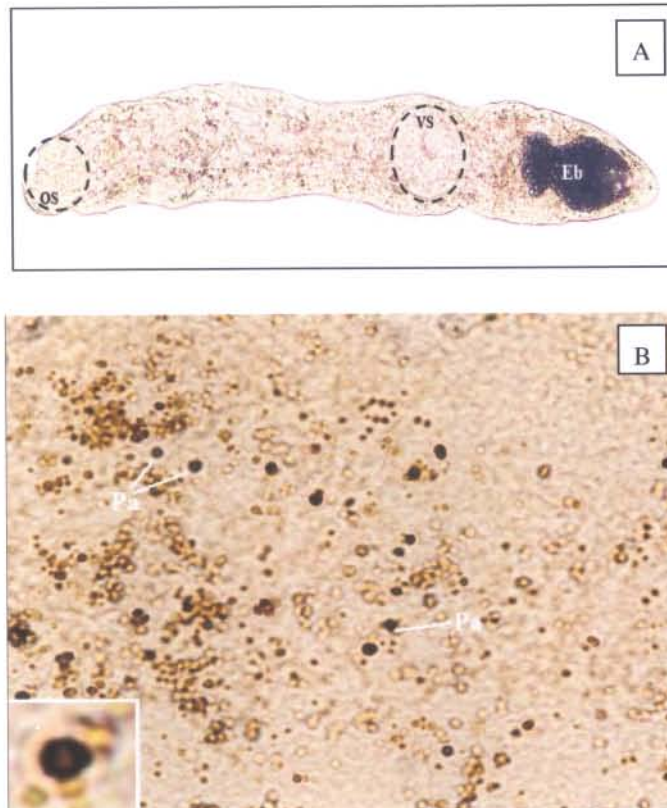
บทที่ 4

ผลการวิจัย

ตัวอ่อนระยะเมตาเซอ์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ออกจากถุงหุ้ม มีขนาดลำตัว โดยเฉลี่ยยาว 0.43 มิลลิเมตร และกว้าง 0.14 มิลลิเมตร มี oral sucker อยู่ปลายด้านหน้า (anterior end) เป็นแบบ subterminal และด้านท้อง (ventral sucker) ที่ตำแหน่ง 3/5 ของลำตัว พยาธิจากด้านหน้า sucker ทั้งสองมีลักษณะเป็นวงกลมใส ventral sucker มีขนาดใหญ่กว่า oral sucker เล็กน้อย และสังเกตเห็น sucker ได้ชัดเจน (ภาพที่ 4-1A) รูปร่างของลำตัวแบนคล้าย ใบไม้ ลักษณะลำตัวใสจนสามารถมองเห็นอวัยวะภายในได้ ภายในลำตัวมีรงควัตถุสีน้ำตาล (brown pigment) กระจายอยู่ตลอดทั่วทั้งตัว และมีแกรนูล (granule) สีดำจำนวนมากซึ่งเป็นของเสียที่ตกค้างบรรจุอยู่ใน excretory bladder

1. ผลการศึกษาการจัดเรียงตัวของ sensory papilla ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

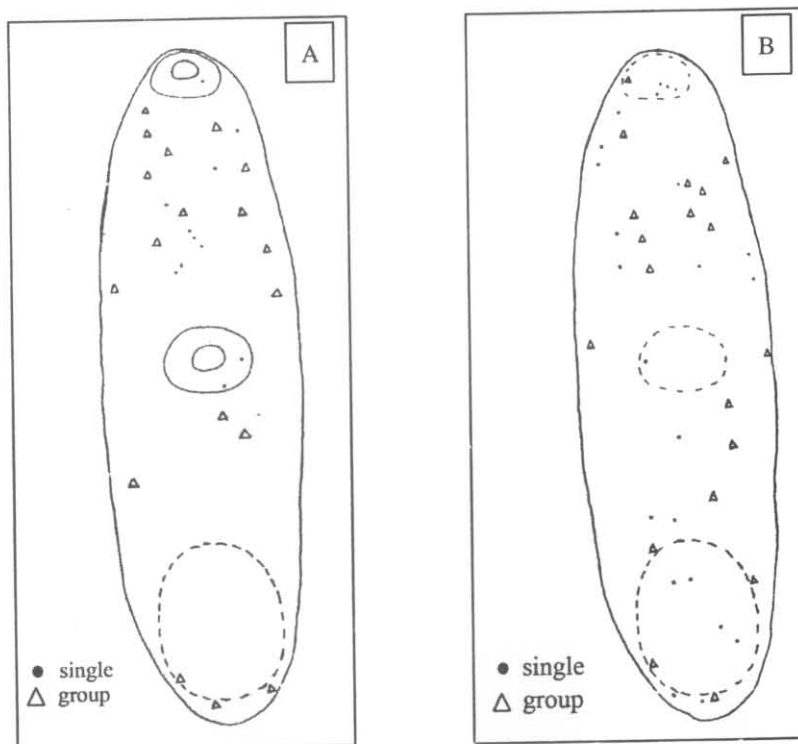
จากการย้อมพยาธิด้วย silver nitrate พบการติดสีน้ำตาลดำกระจายทั่วตัวพยาธิ รวมทั้งบริเวณ excretory bladder ที่กำลังขยายต่ำกว่า 1000 เท่า ไม่สามารถจำแนก sensory papilla ออกจากโครงสร้างอื่นได้ ด้วยกำลังขยาย 1000 เท่า พบลักษณะ sensory papilla เป็นปุ่มกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 ไมโครเมตร ตรงกลางติดสีจาง (ภาพที่ 4-1B) นอกจากนี้ silver nitrate ยังย้อมติดโครงสร้างอื่นด้วย โดยมีลักษณะเป็นเม็ดสีน้ำตาลดำแต่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ใหญ่กว่า 2 ไมโครเมตร การจัดเรียงตัวของ papilla ที่ย้อมติดสีน้ำตาลดำนั้นพบว่า กระจายตัวไม่สมมาตรกันตลอดทั้งตัวระหว่างด้านซ้ายและด้านขวา ด้านหลัง พบ papilla มีความหนาแน่นมากกว่าด้านท้อง (ภาพที่ 4-2B) ด้านท้อง (ventral) (ภาพที่ 4-2A) พบว่ามี sensory papilla แบบเดี่ยวจำนวน 16 ปุ่ม และแบบกลุ่มประมาณ 17 กลุ่ม โดยพบที่บริเวณ oral sucker เพียงอันเดียว และพบมีความหนาแน่นมากที่บริเวณครึ่งตัวทางด้านหน้าของตัวพยาธิ และที่ตำแหน่ง ventral sucker พบ papilla 2 ปุ่ม ในขณะที่ด้านหลัง (dorsal) พบ sensory papilla โดยแบ่งเป็นแบบเดี่ยว (ภาพที่ 4-2A) ประมาณ 25 ปุ่ม และแบบกลุ่มประมาณ 19 กลุ่ม ที่ตำแหน่ง oral sucker พบ papilla แบบกลุ่ม 2 กลุ่ม และพบแบบเดี่ยว 1 ปุ่ม (ภาพที่ 4-2B) รวมจำนวน papilla ทั้งหมดที่พบที่ด้านท้อง และด้านหลัง เป็นแบบเดี่ยว 41 ปุ่ม และแบบกลุ่ม 36 กลุ่ม กลุ่มละประมาณ 2-3 ปุ่ม



ภาพที่ 4-1 ตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ที่ออกจากถุงหุ้ม
 ย้อมพยาธิด้วย silver nitrate ทำการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

A. ภาพตัวอ่อน พบเม็ดสีน้ำตาลกระจายในลำตัว มี ventral sucker (VS) ขนาด
 ใหญ่กว่า oral sucker (OS) เล็กน้อย มีแกรนูลสีดำใน excretory bladder (Eb)

B. ภาพแสดง sensory papilla (Pa) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า มีลักษณะเป็นเม็ด กลม
 ตรงกลางเม็ดติดสีจาง เห็นชัดในภาพเล็กมุมล่างซ้าย (ที่กำลังขยาย 3000 เท่า)



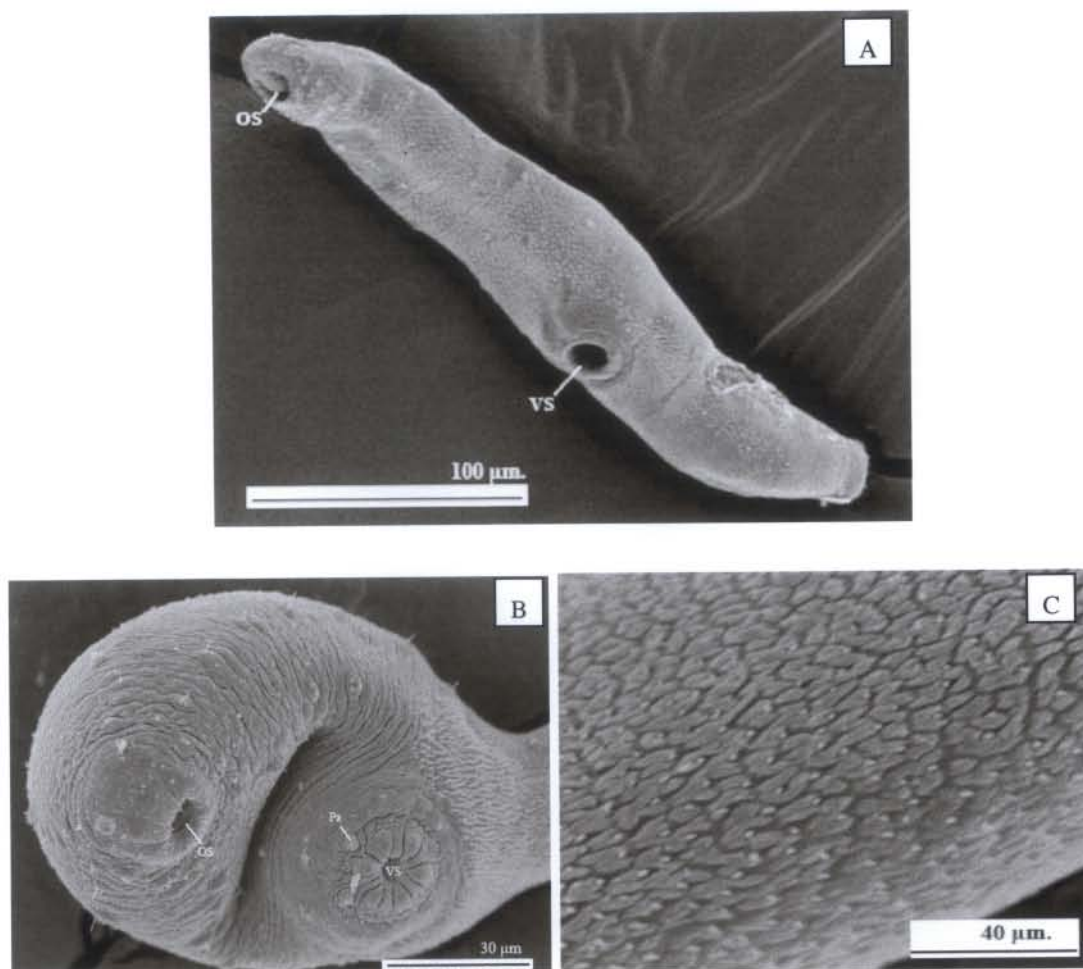
ภาพที่ 4-2 แผนภาพการจัดเรียงตัวของ sensory papilla ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียที่ออกจากถุงหุ้มที่ย้อมติดตะกอนสี silver nitrate ด้านท้อง (A) และด้านหลัง (B) ทั้งแบบเดี่ยว (●) และแบบกลุ่ม (△)

2. ผลการศึกษาจุลกายวิภาคของผนังลำตัวของเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ดับ

O. viverrini ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

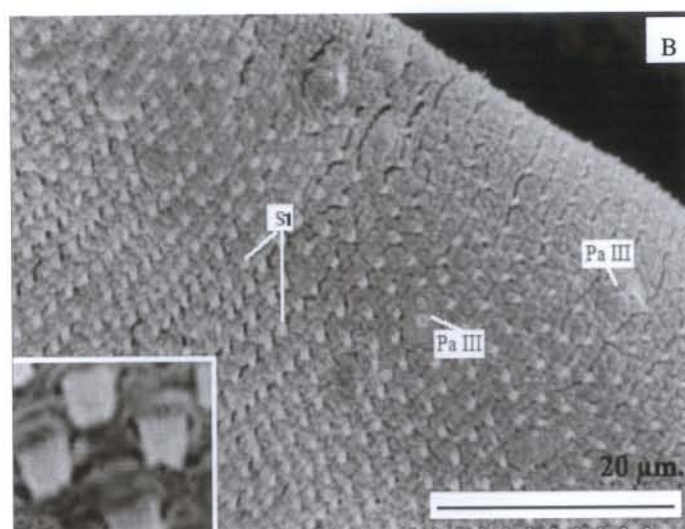
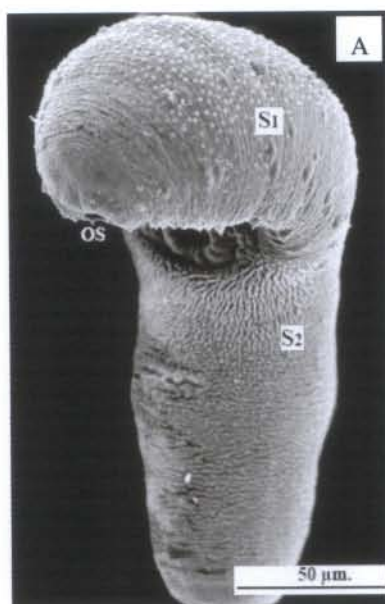
2.1 ลักษณะของผนังลำตัวโดยทั่วไป

ผนังลำตัวของพยาธิใบไม้ดับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 450 เท่า พบ oral sucker ที่ปลายส่วนหน้าทางด้านท้อง (anteroventral end) มีลักษณะกลม (ภาพที่ 4-3A) มีขอบเป็นสันนูนคล้ายริมฝีปาก (lip) ที่ผิวของ oral sucker มีลักษณะเป็นจีบในแนวรัศมีจากศูนย์กลาง พบ papilla ปรากฏอยู่บนบริเวณขอบของ oral sucker (ภาพที่ 4-3B) ส่วน ventral sucker ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า oral sucker เล็กน้อยขอบของ ventral sucker มีขนาดใหญ่เห็นเป็นขอบนูนชัดเจน และมีลักษณะเป็นจีบคล้ายกับ oral sucker ที่ผนังลำตัวมีลักษณะเป็นสันนูนในแนวขวางตามลำตัวพยาธิ มีร่องลึกแทรกอยู่ระหว่างแถวของสันนูน เมื่อศึกษาด้วยกำลังขยาย 2100 เท่า พบสันนูนแต่ละแถวประกอบด้วยสันนูนเล็กๆ หลายอันเรียงต่อกัน (ภาพที่ 4-3C) นอกจากนี้ที่ผนังลำตัวพยาธิมีหนาม (spine) จำนวนมากปกคลุมอยู่ ยกเว้นบริเวณรอบๆ oral และ ventral suckers (ภาพที่ 4-4A) หนามเหล่านี้กระจายอยู่ทั้งด้านท้องและด้านหลังของตัวพยาธิ โดยแทรกอยู่ในร่องระหว่างสันนูนแต่ละแถว รูปร่างลักษณะของหนามพยาธิจำแนกเป็น 2 ชนิด ดังนี้ ชนิดแรกมีรูปร่างเป็นแผ่นแบน ความยาวประมาณ 1.56 ไมโครเมตร และมีความกว้างประมาณ 2.14 ไมโครเมตร ที่ปลายบนของหนามมีลักษณะเป็นแฉกประมาณ 3-5 แฉก ดูคล้ายลักษณะฟันเลื่อย มีการจัดเรียงตัวเป็นแบบแถวสลับ (alternate row) ในแนวขวางของลำตัว (ภาพที่ 4-4B) หนามชนิดนี้พบตั้งแต่ใต้ oral sucker ลงมาจนถึงระดับ ventral sucker และปลายสุดส่วนหน้าของลำตัวด้านหลัง หนามที่ด้านหลังยาวประมาณ 0.73 ไมโครเมตร และกว้างประมาณ 2.19 ไมโครเมตร ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าและความหนาแน่นน้อยกว่าด้านท้อง (ภาพที่ 4-4A) จัดเรียงตัวในแนวขวางเหมือนกับด้านท้อง ขนาดและความหนาแน่นจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนถึงกลางลำตัวจากนั้นจะค่อยๆ พบน้อยลง และไม่พบที่บริเวณปลายสุดของด้านหลัง หนามชนิดนี้ยังพบที่ด้านข้าง (lateral side) ของลำตัวด้วย แต่มีความหนาแน่นน้อยและขนาดเล็กกว่าด้านหลังและด้านท้อง หนามชนิดที่ 2 พบเฉพาะที่ด้านท้อง ถัดจากหนามชนิดแรกและมีความหนาแน่นมากที่บริเวณใต้ ventral sucker (ภาพที่ 4-4A, 4-5A) หนามมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมปลายเรียวแหลมมีฐานกว้างประมาณ 1.95 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4-5B) จากนั้นความหนาแน่นและขนาดของหนามจะค่อยๆ ลดลงจนมีขนาด 0.24 ไมโครเมตร และไม่พบหนามที่บริเวณ 1/5 ทางด้านท้ายของลำตัวพยาธิ (ภาพที่ 4-4A, 4-5A) นอกจากนี้ที่ผนังลำตัวพยาธิยังพบ sensory papilla หลายชนิดกระจายตัวอย่างสมมาตรกัน ทั้งข้างซ้ายและขวาของลำตัว และพบบนขอบ oral และ ventral sucker ด้วย



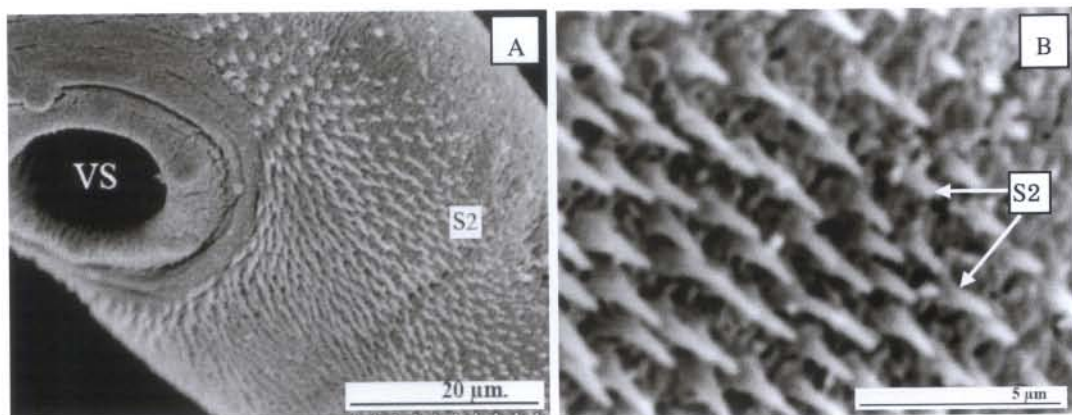
ภาพที่ 4-3 ผนังลำตัวพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

- A. ภาพตัวอ่อนด้าน ventro-lateral มี oral sucker (OS) อยู่ในตำแหน่งเกือบปลายสุดทางด้านหน้า และ ventral sucker (VS) ที่ตำแหน่ง 3/5 ของลำตัวพยาธิจากด้านหน้า
- B. ภาพแสดง oral sucker (OS) และ ventral sucker (VS) มีลักษณะเป็นจีบในแนวรัศมีจากศูนย์กลาง พบ sensory papilla (Pa) ที่ขอบนูนของ sucker ทั้งสอง
- C. ภาพผนังลำตัวมีลักษณะสันนูนขึ้นมาไม่เป็นแถวเดียวกัน และมีร่องอยู่ระหว่างสันนูนแต่ละอัน



ภาพที่ 4-4 การกระจายตัวของหนามทั้ง 2 ชนิดบนผนังลำตัวของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

- A. หนามชนิดที่ 1 (S1) พบที่ด้านหลังลำตัวพยาธิ และครึ่งหน้าของตัวพยาธิตั้งแต่ oral sucker (OS) ถึง ventral sucker ส่วนหนามชนิดที่ 2 (S2) พบตั้งแต่หลัง ventral sucker ลงมาจนถึงครึ่งหนึ่งของลำตัวส่วนท้าย
- B. การจัดเรียงตัวของหนามชนิดที่ 1 (S1) ที่ผิวหนังท้องโดยจัดเรียงตัวเป็นแถวแทรกอยู่ในร่องของสันนูนแต่ละอัน หนามมีลักษณะเป็นแผ่นแบนที่ปลายแยกเป็นแฉก คล้ายฟันเลื่อย และที่ด้านท้องของพยาธิพบ sensory papilla ชนิดที่ 3 (Pa III) ภาพเล็กที่มุมล่างซ้ายเป็นภาพขยายหนามชนิดที่ 1

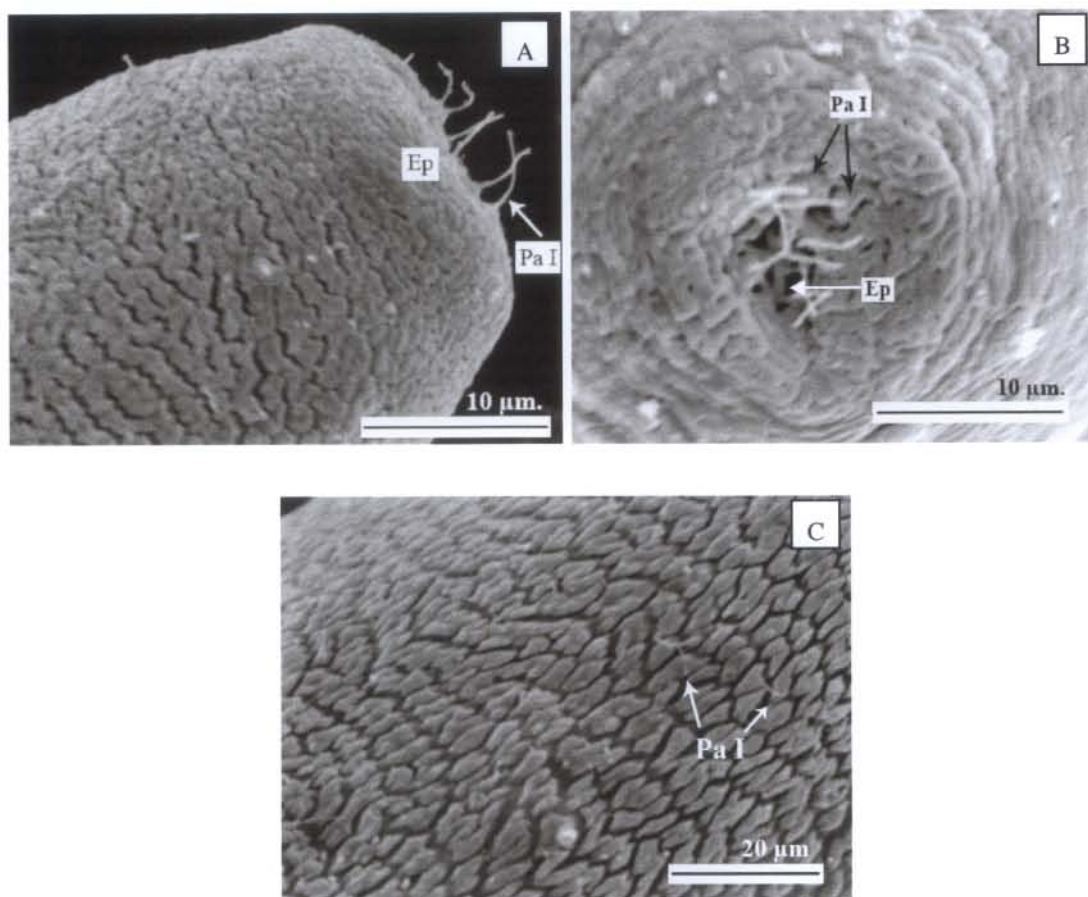


ภาพที่ 4-5 ศึกษาการจัดเรียงตัวของ หนามชนิดที่ 2 (S2) บนผนังลำตัวพยาธิใบไม้ตับ
O. viverrini ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

- A. หนามชนิดที่ 2 (S2) จัดเรียงตัวเป็นแถวแทรกตัวอยู่ในร่องของสันนูนแต่ละอัน มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมปลายเรียวยาว พบที่ด้านท้องบริเวณถัดจาก ventral sucker (VS) แต่ไม่ปรากฏหนามบนขอบของ ventral sucker
- B. ภาพขยายหนามชนิดที่ 2 (S2) เป็นสามเหลี่ยมปลายเรียวแหลม

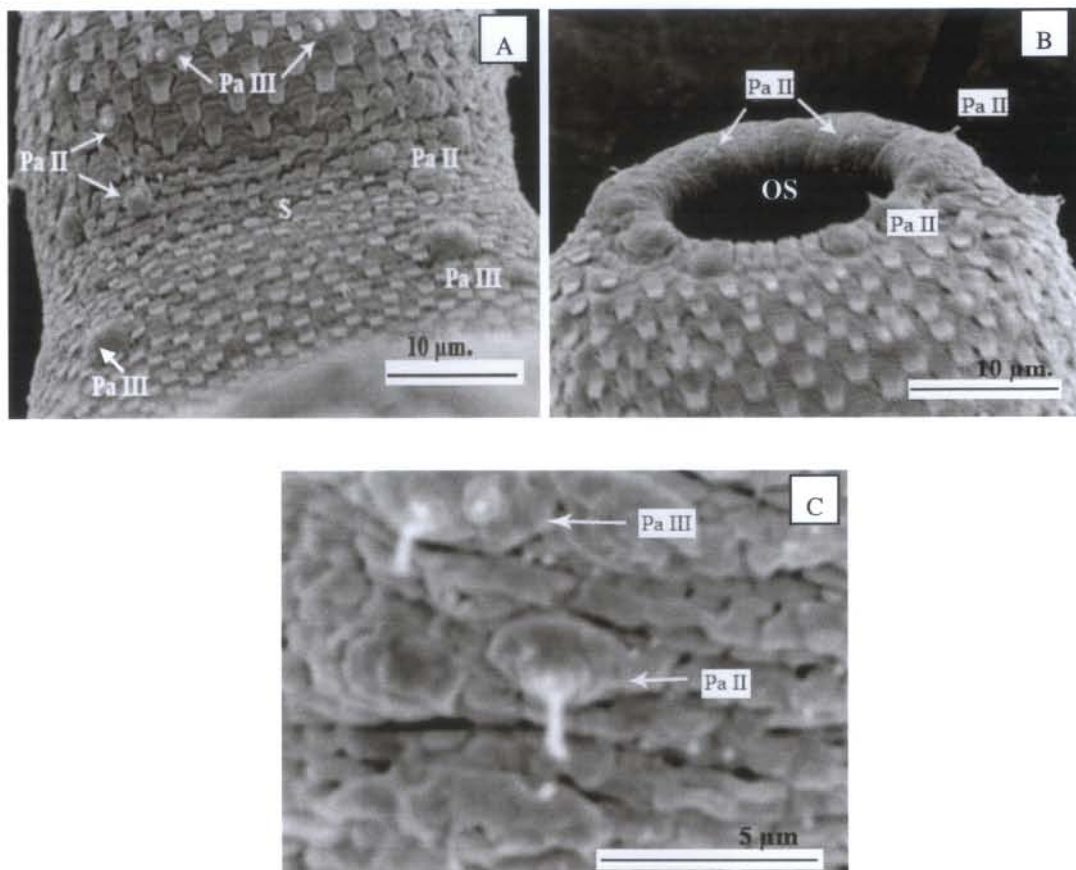
2.2 ลักษณะภายนอกของ sensory papilla

พบ sensory papilla กระจายอยู่รอบตัว (ภาพที่ 4-10A, 4-10B) มีลักษณะเป็นปุ่มนูนขึ้นมาจากผิวของตัวพยาธิ จากรูปร่างลักษณะภายนอกและความยาวของ cilium แบ่ง sensory papilla ได้เป็น 4 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4-1 ชนิดที่ 1 มี cilium ยาวเส้นเดียวยื่นออกมาจากฐานที่มีลักษณะเป็นปุ่มนูนเล็กซึ่งเกิดจากการยกตัวขึ้นเล็กน้อยของผนังลำตัว (small papilla with long cilium)(ภาพที่ 4-6A) cilium มีความยาว ประมาณ 2.90-5.61 ไมโครเมตร และมีฐานกว้างประมาณ 1.35-1.62 ไมโครเมตร cilium ชนิดนี้มีความยาวกว่า cilium ชนิดอื่นๆ พบประมาณ 8 ปุ่ม เรียงตัวเป็นวงอยู่รอบๆ ช่องขับถ่ายของเสีย (excretory pore) ของตัวพยาธิ (ภาพที่ 4-6B) และพบที่บริเวณ 1/5 ทางด้านท้ายของลำตัว (ภาพที่ 4-6C) ชนิดที่ 2 เป็นปุ่มนูนมี cilium สั้น เส้นเดียวยื่นออกมาจากฐานที่มีลักษณะเป็นปุ่มนูนใหญ่รูปกรวยคว่ำ (large conical papilla with short cilium)(ภาพที่ 4-7A, 4-7B และ 4-7C) มีฐานกว้างประมาณ 0.62-2.50 ไมโครเมตร และ cilium ยาวประมาณ 1.87-3.40 ไมโครเมตร พบแต่ละประมาณ 6-9 ปุ่มที่บริเวณส่วนหน้าทางด้านท้องและทางด้านหลังของตัวพยาธิ ซึ่งจัดเรียงตัวเป็นแนวตามยาวของลำตัว นอกจากนี้ยังพบรอบๆ oral sucker โดยเรียงตัวเป็นวง 2 วง วงละ 5 ปุ่ม (ภาพที่ 4-7B) ซึ่ง papilla บริเวณนี้มีขนาดเล็กกว่าที่พบบริเวณด้านท้องและด้านหลัง ชนิดที่ 3 เป็นปุ่มนูน 2-4 ปุ่ม อยู่บนฐานนูน dome shape ขนาดใหญ่เดียวกัน ฐานกว้างประมาณ 2.90-5.90 ไมโครเมตร โดยแต่ละปุ่มมี cilium ที่มีความยาวแตกต่างกัน (ภาพที่ 4-8A, 4-8B และ 4-8C) cilium ชนิดสั้นมีความยาวประมาณ 0.52 ไมโครเมตร ส่วน cilium ชนิดยาวมีความยาวประมาณ 2.28 ไมโครเมตร และขนาดของปุ่ม papilla บนฐานนูนมีขนาดใกล้เคียงกันประมาณ 0.67 ไมโครเมตร papilla ชนิดนี้เรียงตัวเป็นแนวตามยาวของลำตัวที่ด้านหลังและด้านท้องแต่ละ 6-9 ปุ่ม และยังพบที่ด้านข้างลำตัวประมาณ 8-10 ปุ่ม ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าที่พบบริเวณอื่นๆ (ภาพที่ 4-10A, 4-10B) ด้านท้องของพยาธิ มักพบ papilla ชนิดที่ 3 กระจายอยู่ใกล้ๆ ชนิดที่ 2 papilla ชนิดที่ 4 เป็นปุ่มนูนรูปกรวยเดี่ยวไม่มี cilium (non-ciliate with conical papilla) พบเฉพาะที่ขอบด้านในของ oral และ ventral sucker แต่ละประมาณ 4 ปุ่ม โดยแต่ละปุ่มมีฐานกว้างประมาณ 2.38-3.57 ไมโครเมตร และสูง 2.14 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4-9A) การศึกษาลักษณะภายนอกของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ตับที่ excyst โดยการย่อยด้วย trypsin และใช้เข็มจิ้มให้ผนังหุ้มแตกให้ได้ตัวอ่อนออกมา แล้วศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน



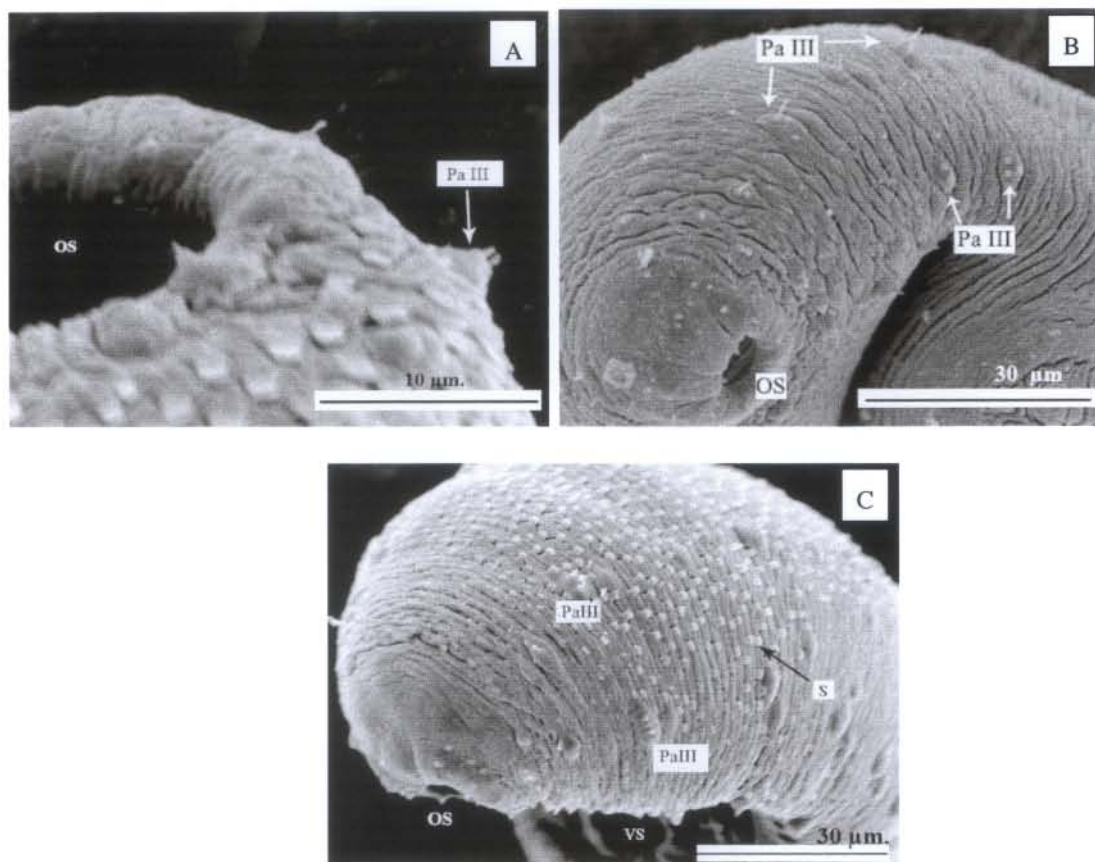
ภาพที่ 4-6 ลักษณะการกระจายของ sensory papilla ชนิดที่ 1 ที่มี cilium ยาวเส้นเดียวยื่นออกมาจากฐาน

- A. ภาพด้านข้างของลำตัวพยาธิ แสดงการกระจายของ sensory papilla ชนิดที่ 1 (Pa I) รอบๆ excretory pore (Ep)
- B. sensory papilla ชนิดที่ 1 (Pa I) กระจายอยู่รอบๆ excretory pore (Ep) ของพยาธิ พบประมาณ 8 คู่
- C. sensory papilla ชนิดที่ 1 (Pa I) ที่กระจายอยู่บริเวณ 1/5 ด้านท้ายของลำตัว



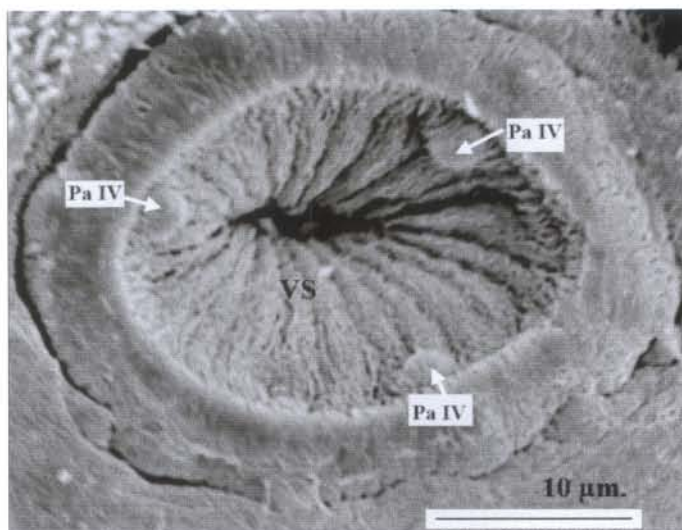
ภาพที่ 4-7 ลักษณะ sensory papilla ชนิดที่ 2 และชนิดที่ 3 และการจัดเรียงตัวบนผนังลำตัว พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย

- A. sensory papilla ชนิดที่ 2 (Pa II) เป็นปุ่มนูนเล็กมี cilium สั้นเส้นเดียวพบบริเวณ ด้าน ventral พบอยู่ใกล้กับตำแหน่งที่พบ sensory papilla ชนิดที่ 3 (Pa III)
- B. sensory papilla ชนิดที่ 2 (Pa II) เรียงเป็นวงรอบ oral sucker (OS)
- C. ภาพขยาย sensory papilla ชนิดที่ 2 (Pa II) พบที่บริเวณลำตัวพาด้านท้อง มักพบคู่กับ sensory papilla ชนิดที่ 3 (Pa III)



ภาพที่ 4-8 ลักษณะ sensory papilla ชนิดที่ 3 และการจัดเรียงตัวบนผนังลำตัวพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย

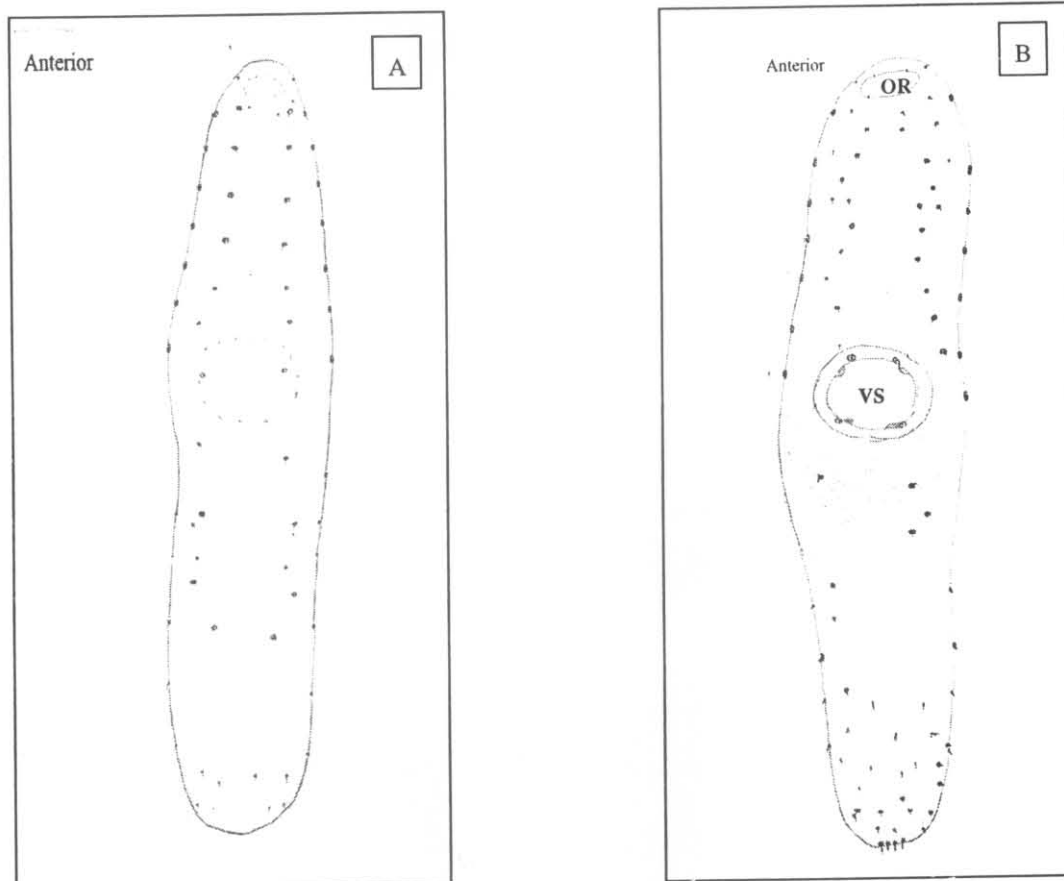
- A. แสดงภาพ sensory papilla ชนิดที่ 3 (Pa III) บริเวณรอบๆ oral sucker (OS) มี conical papilla สองปุ่มและมี cilium ยาวใกล้เคียงกัน วางอยู่บนฐานที่มีรูปร่าง dome-shaped
- B. แสดงภาพ sensory papilla ชนิดที่ 3 (Pa III) เป็นกลุ่มพบบริเวณด้านข้างลำตัว มี cilium ยาวไม่เท่ากัน
- C. แสดงภาพ sensory papilla ชนิดที่ 3 (Pa III) ซึ่งพบกลุ่ม conical papilla ตั้งอยู่บนฐาน dome-shaped พบบริเวณด้านข้างลำตัว แต่ละปุ่มมี cilium ยาวแตกต่างกัน



ภาพที่ 4-9 แสดง sensory papilla ชนิดที่ 4 (PA IV) ที่ขอบด้านในของ ventral sucker (VS) ของพยาธิตัวโต *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียด้วย

ตารางที่ 4-1 สรุปรูปชนิด ขนาด และตำแหน่งที่พบ sensory papillae ของ *O. viverrini*
ระยะเมตาเซอร์คาเรีย

ชนิด	รูปร่างลักษณะ	ความยาวฐาน (ไมโครเมตร)	ตำแหน่งที่พบ
Type I	small papilla with long cilium	1.35-1.62	- รอบ ๆ excretory pore - บริเวณตำแหน่ง 4/5 ของลำตัวจนถึงปลายสุดทางด้านท้าย
Type II	large conical papilla with short cilium	0.62-2.50	- พบบริเวณส่วนหน้าทางด้านท้องและทางด้านหลัง - ตำแหน่งรอบ ๆ oral sucker
Type III	multiconical papilla on a dome-shaped base with cilia	2.90-5.90	- พบบริเวณส่วนหน้าทางด้านท้องและทางด้านหลัง - พบทั้ง 2 ข้างของลำตัว
Type IV	non-ciliate with conical papilla	2.38-3.57	- พบเฉพาะที่ขอบด้านในของ oral sucker และ ventral sucker



ภาพที่ 4-10 ภาพวาดการจัดเรียงตัวของ sensory papilla (เป็นจุดเข็ม) บนผนังลำตัวของพยาธิ ไบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

- A. การจัดเรียงตัวของ sensory papilla ที่ด้านหลัง (dorsal) พบ papilla เรียงเป็นแถวเดียว สองแถวพบมีการจัดเรียงตัวที่สมมาตรกัน ทั้งสองข้างทั้งซ้ายและขวา
- B. การจัดเรียงตัวของ sensory papilla ด้านท้อง (ventral) สมมาตรกันทั้งด้านซ้ายและด้านขวา ซึ่งที่ด้านท้องนี้มีการกระจายของ papilla หนาแน่นกว่าที่ด้านหลัง

3. ผลการศึกษาจุลกายวิภาคของผนังลำตัวของเมตาเซอรัคาเรียของพยาธิใบไม้ตับ

O. viverrini ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

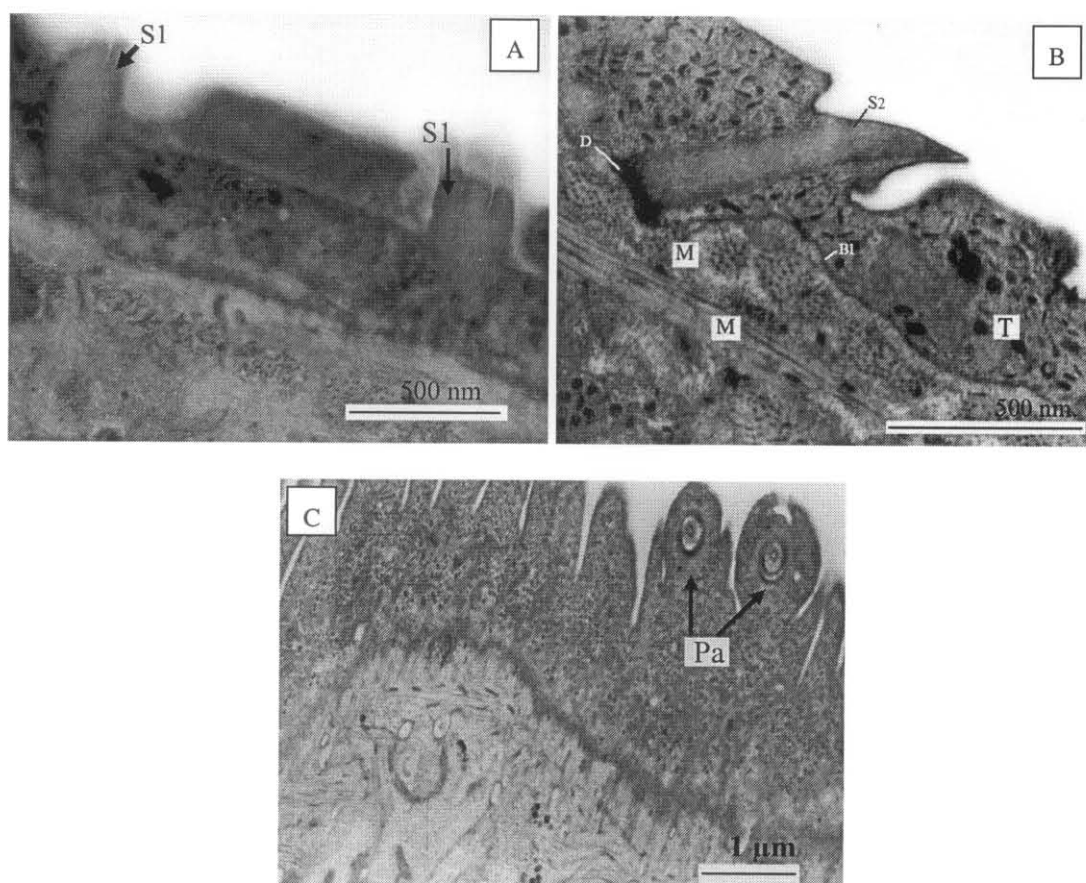
3.1 ลักษณะของผนังลำตัวพยาธิโดยทั่วไป

ผนังของลำตัวปกคลุมด้วยโครงสร้างของ syncytial cell ซึ่งมีลักษณะหน้าตัดคล้ายปุ่ม (knob-like) ยื่นขึ้นมาจากผิวของลำตัว มีร่องอยู่ระหว่างแต่ละปุ่ม มีหนามยื่นขึ้นมาจากร่อง หนามชนิดที่ 1 ที่พบใน SEM เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าขอบบนหนามชนิดนี้มีรอยหยักเป็นร่องตื้น ๆ คล้ายฟันปลา (ภาพที่ 4-11A) ด้านล่างของหนามอยู่ชิดกับ basal lamina ส่วนชนิดหนามที่ 2 พบว่าภาคตัดตามยาวมีรูปร่างคล้ายสามเหลี่ยมหน้าจั่วทรงสูง ฐานแคบ ด้านล่างของฐานปรากฏเป็นแถบ electron dense วางชิดกับ basal lamina หุ้มด้วย membrane ของ syncytial cell (ภาพที่ 4-11B) ใต้ basal lamina เป็นชั้นกล้ามเนื้อของผนังลำตัว พบ sensory papilla สองชนิด คือชนิดที่มี cilium และไม่มี cilium กระจายอยู่บนผนังลำตัวชั้นนอกของพยาธิ (ภาพที่ 4-11C)

3.2 ลักษณะของ sensory papilla

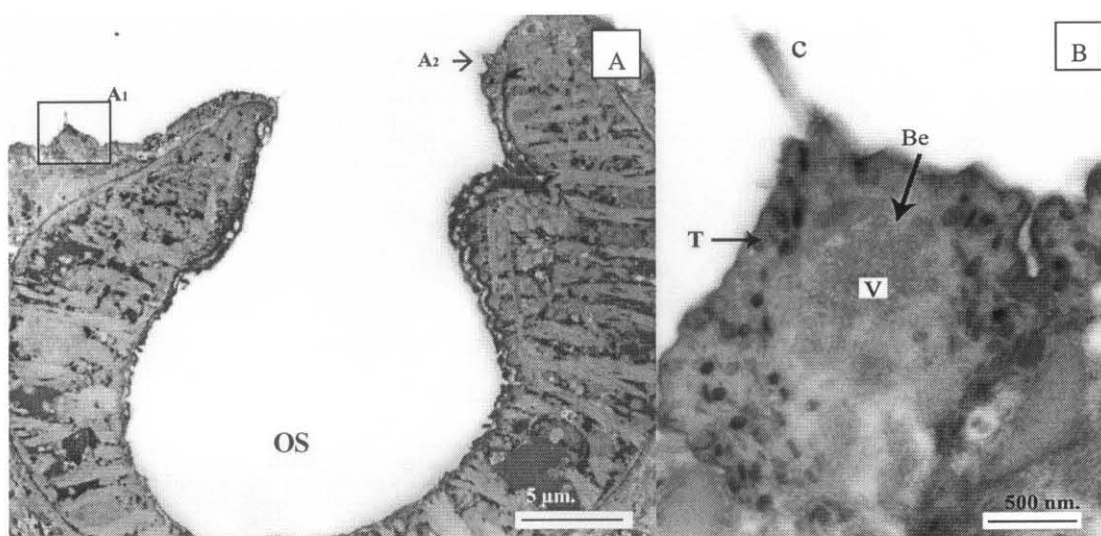
พบ sensory papilla ประกอบด้วย bulbous ending มีลักษณะเป็นรูปโดมแทรกตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ basal lamina และอยู่ในชั้นผนังลำตัวชั้นนอก มี 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดมี cilium เส้นเดียว (unciliate papilla) และชนิดไม่มี cilium (non-ciliate papilla) โดยชนิดที่มี cilium สามารถแบ่งตามโครงสร้างภายในได้ 3 ชนิดย่อย คือ A1, A2 และ A3 ชนิด A1 พบที่ขอบนอกของ ventral sucker มี cilium ยาวยื่นออกมาจาก bulbous ending โดยไม่มี membrane ของ tegument หุ้มอยู่ มี tegument collar ยกตัวสูงขึ้นเล็กน้อยจากผนังลำตัว พบ electron dense area ที่ปลายของ cilium (ภาพที่ 4-12A, 4-12B และ 4-16A) ภายใน bulbous ending พบ septate desmosome เชื่อมระหว่างผนังของ bulbous ending ที่บริเวณ electron dense collar กับ tegumentary membrane ที่อยู่ตรงกันข้าม พบ cross-striated rootlet ขนาดใหญ่ โดยมี basal body เป็นตัวยึด cilium ไว้กับ rootlet มี electron lucent vesicle จำนวนมากบรรจุอยู่ใน bulbous ending (ภาพที่ 4-13A) ที่ส่วนล่างของ bulbous ending พบโครงสร้างคล้าย neurotubule ประมาณ 2-3 แห่ง ซึ่งบริเวณดังกล่าวยังพบโครงสร้างคล้ายปลายประสาท (nerve process) ยื่นต่อเนื่องไปยัง bulbous ending โดยแทรกผ่านชั้น basal lamina และชั้นกล้ามเนื้อ (ภาพที่ 4-13B) ชนิด A2 มี cilium สั้นยื่นผ่านผนังลำตัวชั้นนอกขึ้นมา โดยมี tegument collar ยื่นขึ้นมาล้อมรอบ cilium ซึ่งความสูงของ tegumental collar เกือบเท่ากับ ความยาวของ cilium ในช่องว่างระหว่าง tegument collar พบ electron lucent vesicle บรรจุอยู่ที่ปลายสุดของ cilium มีแถบสีดำเข้ม ภายใน bulbous ending ประกอบด้วย mitochondria, electron lucent vesicle, electron dense collar สองอันที่ด้านบนของ bulbous ending ซึ่งพบว่า electron dense collar อันบนที่อยู่ใกล้กับ septate desmosome ยาวกว่า electron dense collar อันที่อยู่ถัดลงมา และพบ basal body ที่ฐานของ cilium (ภาพที่ 4-14A)

และ 4-16B) ชนิด A3 มี tegument collar ค่อนข้างหนาล้อมรอบ cilium ที่ยื่นขึ้นมา ซึ่ง tegument collar ที่ล้อมรอบนี้สูงเพียงครึ่งหนึ่งของความยาวของ cilium และมี electron dense area ที่ปลายสุดของ cilium ภายใน bulbous ending ประกอบด้วย mitochondria, electron lucent vesicle, electron dense collar ขนาดใหญ่สองอัน และไม่พบ rootlet ภายในกระเปาะ แต่พบ basal body และ basal plate บางๆ วางตั้งฉากกับ axoneme ฐานของ cilium พบ papilla ชนิดนี้ที่ด้านหลังและด้านท้องบริเวณส่วนหน้าของลำตัวพยาธิ ที่แกนกลางของ cilium พบ microtubule 1 คู่ (ภาพที่ 4-14B, 4-14C และ 4-16C) ส่วนชนิด B เป็น sensory papilla แบบไม่มี cilium (non-ciliate papilla) ผนังลำตัวชั้นนอกของพยาธิขึ้นจาก bulbous ending ดันตัวสูงขึ้นจากแนวลำตัวปกติโดยที่ยังมีผนังลำตัวปกคลุมอยู่ จึงไม่มีช่องทางที่ติดกันระหว่าง ภายในกระเปาะและสิ่งแวดล้อมภายนอก ภายใน bulbous ending ประกอบด้วย electron lucent vesicle, septate desmosome และ electron dense collar สองอันที่ส่วนบนสุดของ bulbous ending (ภาพที่ 4-15A และ 4-16D) พบ papilla ชนิดนี้ที่บริเวณส่วนหน้าทางด้านหลังของลำตัวพยาธิ นอกจากนี้พยาธิกลุ่มที่ 2 ซึ่งย้อมตัวอย่างด้วย silver nitrate 0.1 % ก่อนเข้าสู่กระบวนการเตรียม ตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วย TEM พบตะกอน silver nitrate เป็นจำนวนมากที่บริเวณผิวนอกของพยาธิ รวมทั้งผิวนอกของ sensory papilla ส่วนตะกอนแทรกซึมเข้าสู่ภายในตัวพยาธิพบว่ากระจายตัว มากที่บริเวณหนาม แต่ไม่พบตะกอนสีของ silver nitrate ภายใน bulb ของ sensory papilla



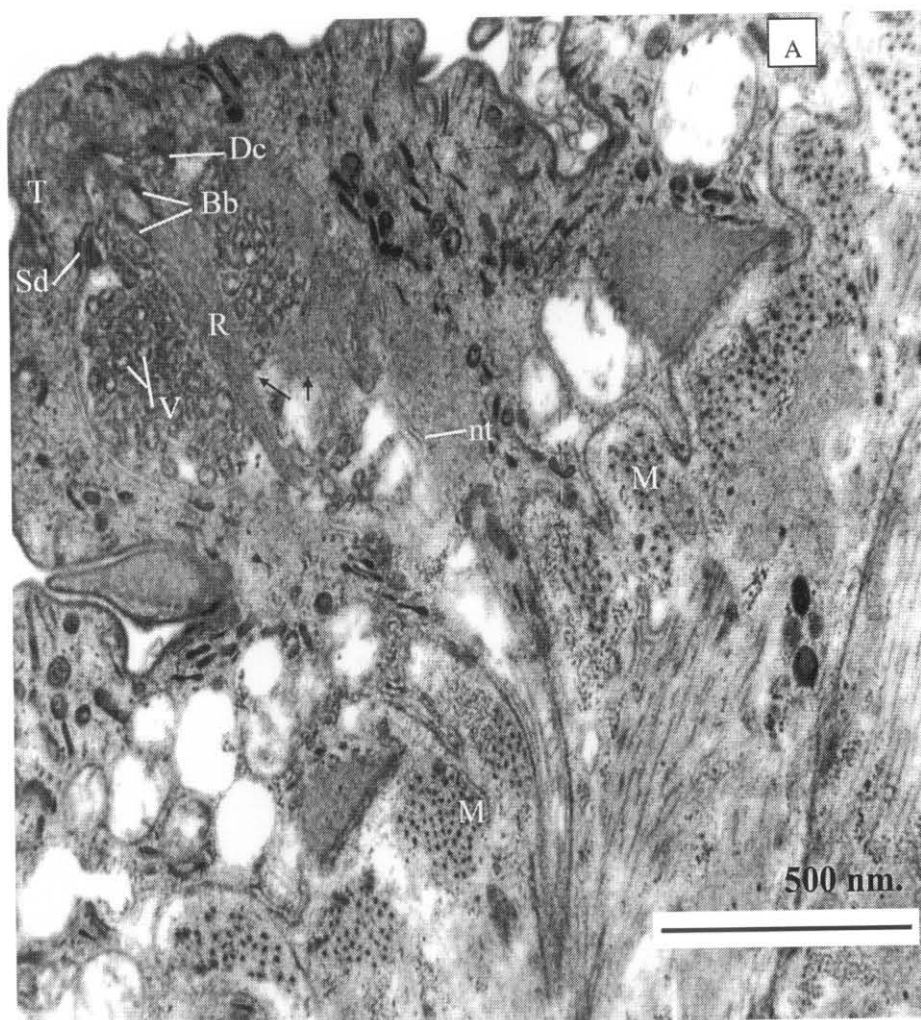
ภาพที่ 4-11 ลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของผนังลำตัวของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini*
ระยะเมตาเซอร์คาเรีย ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

- A. ลักษณะหน้าตัดของปุ่ม (knob like) และหนามชนิดที่ 1 (S1) ยื่นขึ้นมา
ระหว่างร่องที่แทรกอยู่ระหว่างปุ่มนูนแต่ละอัน
- B. ภาพตัดในแนวตามยาวของหนามชนิดที่ 2 (S2) ตั้งอยู่ที่ผนังลำตัวชั้นนอก (T)
รูปร่างคล้ายสามเหลี่ยมหน้าจั่วทรงสูง มีฐานแคบ ด้านล่างของฐานปรากฏเป็น
แถบ electron dense area วางชิดกับ basal lamina และถัดลงมาพบชั้น
กล้ามเนื้อ (M)
- C. ภาพตัดขวางผนังลำตัว พบหน้าตัดของสันนูน knob like และพบ sensory papilla
(Pa) ที่ผนังลำตัวของพยาธิ

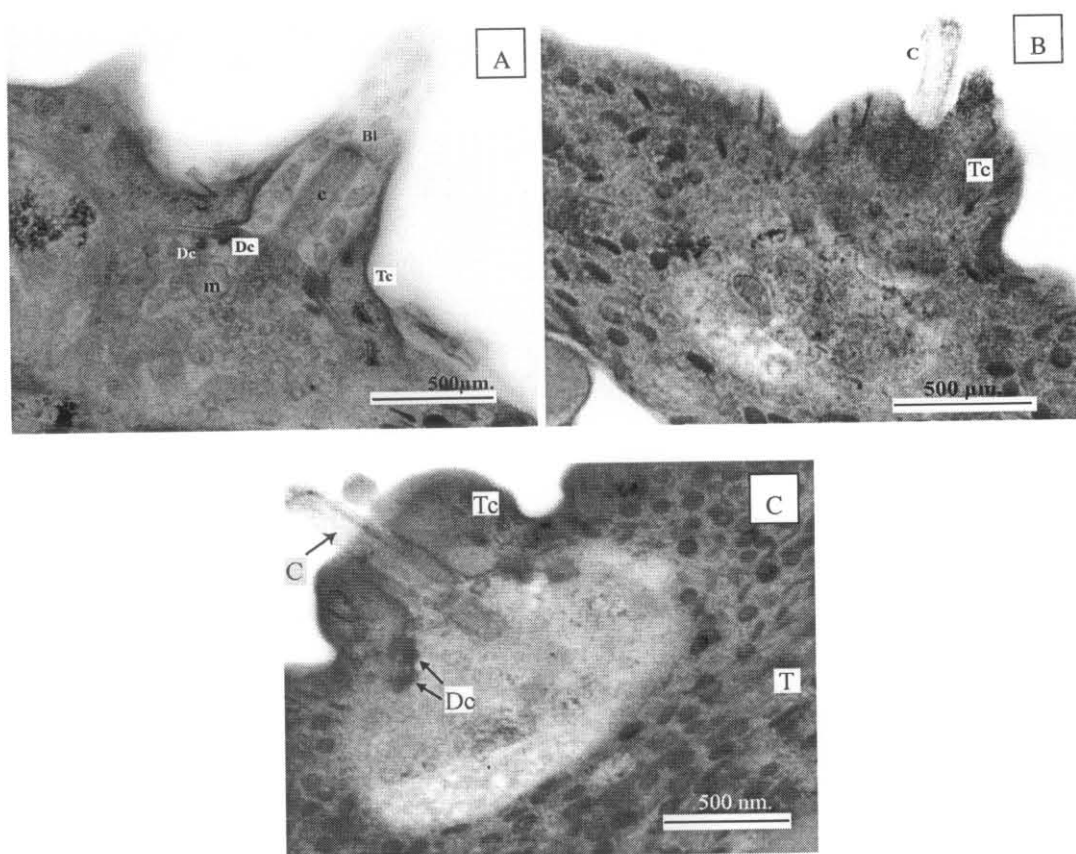


ภาพที่ 4-12 แสดงภาพตัดตามยาวของ oral sucker (OS) ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย

- A. ภาพตัดตามยาวที่บ่งชี้ผ่าน uniciliate sensory papilla ชนิด A1 และ uniciliate sensory papilla ชนิด A2
- B. ภาพขยายจากภาพกรอบเล็กในรูป A แสดง uniciliate sensory papilla ชนิด A1 มี cilium ยื่นออกมาจาก bulbous ending ที่ปลาย cilium พบลักษณะของ electron dense area มี tegument ยกตัวสูงขึ้นเล็กน้อยเป็น tegumentary collar จากผนังลำตัว และพบ electron dense area ที่ปลายของ cilium

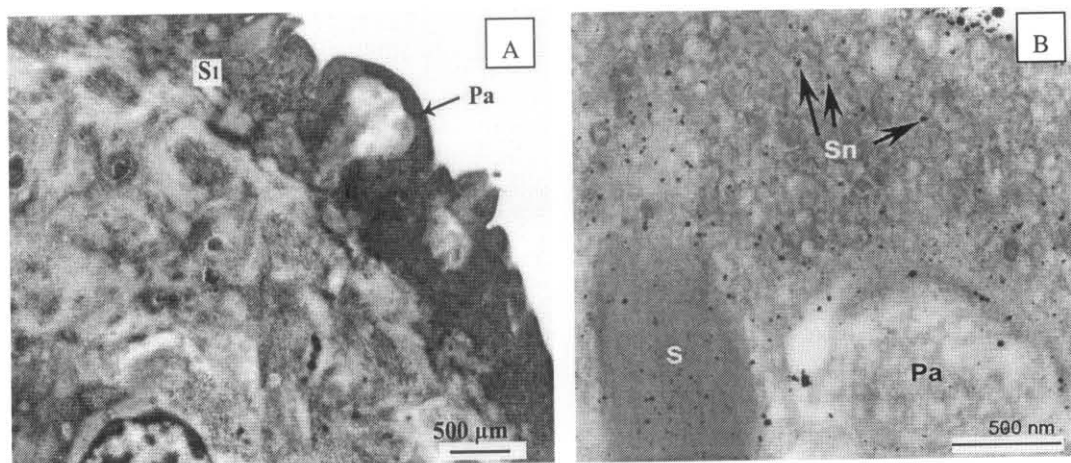


ภาพที่ 4-13 section ถัดจากภาพที่ 4-12B โครงสร้างภายในของ bulbous ending ประกอบด้วย cilium ที่ฐานมี basal body (Bb) เชื่อมต่อกับ rootlet (R) ขนาดใหญ่ มี electron dense collar (Dc) หนึ่งอันการเชื่อมต่อกับ bulbous ending กับเซลล์ผนังลำตัว ภายใน bulbous ending พบ electron lucent vesicle บรรจุอยู่ใน bulbous ending เป็นจำนวนมาก ที่บริเวณฐานของ bulbous ending พบ nerve process ยื่นขึ้นมาจากไตชั้นกล้ามเนื้อผ่านชั้น basal laminar ขึ้นมาเชื่อมต่อกับส่วนปลายของ bulbous ending และพบโครงสร้างคล้าย neurotubule (nt)



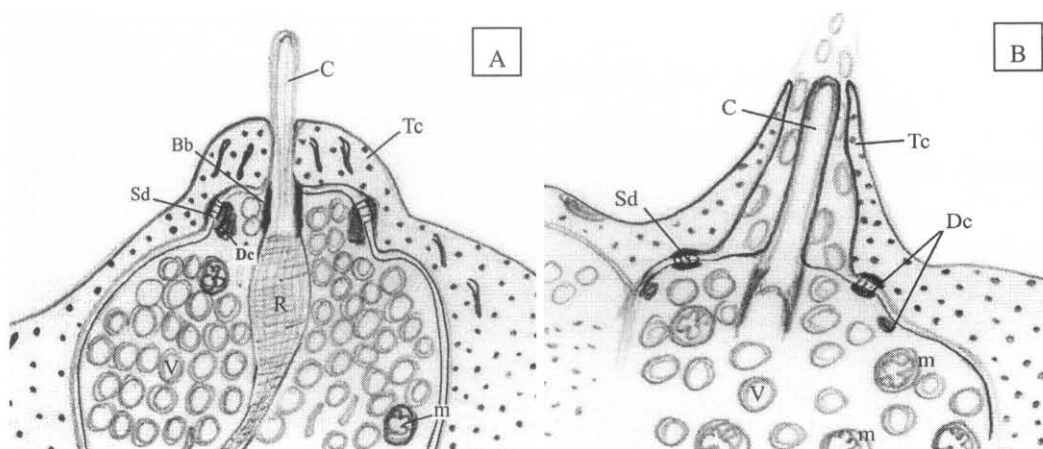
ภาพที่ 4-14 จุลกายวิภาคระดับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของ unciliated sensory papillae ชนิด A2 และ A3 ของ พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย

- A. sensory papilla ชนิด A2 มี tegument collar (Tc) ยื่นขึ้นมาล้อมรอบ cilium ซึ่งความสูงของ tegument collar เกือบเท่ากับ ความยาวของ cilium สังเกตเห็น electron lucent vesicle ในช่องว่างระหว่าง tegument collar และพบ black area (Bl) ที่ปลายสุดของ cilium ใน bulbous ending พบ mitochondria (m), electron lucent vesicle, basal body, electron dense collar (Dc) สองอันที่ด้านบน
- B. ลักษณะภายในของ sensory papilla ชนิด A3 พบ tegument collar (Tc) ค่อนข้างหนาล้อมรอบ cilium (C) ซึ่ง tegument collar สูงเพียงครึ่งหนึ่งของ ความยาวของ cilium แต่ในภาพนี้ไม่เห็นโครงสร้างภายใน bulbous ending
- C. section ต่อจากภาพ 4-12B มี tegument collar (Tc) ค่อนข้างหนาล้อมรอบ cilium ซึ่ง tegument collar สูงเพียงครึ่งหนึ่งของความยาวของ cilium ภายใน bulbous ending ประกอบด้วย mitochondria (m), electron lucent vesicle, electron dense collar (Dc) ขนาดใหญ่สองอันที่ตำแหน่ง septate desmosome (Sd) และไม่พบ rootlet



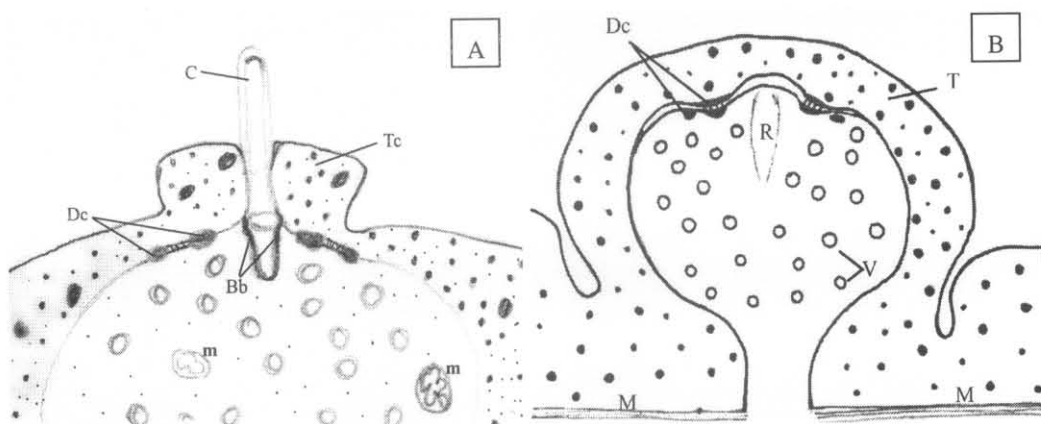
ภาพที่ 4-15 จุลกายวิภาคระดับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ของลำตัวพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย

- A. แสดง sensory papilla ชนิด B แบบ nonciliate papilla (Pa) และไม่มีช่องทางติดต่อกับสิ่งแวดล้อมภายนอก ตั้งอยู่ระหว่าง หนาม (S1) และ sensory papilla ที่ระบุชนิดไม่ได้
- B. พยาธิที่ย้อมด้วย silver nitrate พบตะกอนสี silver nitrate (Sn) หนาแน่นมากที่ผนังลำตัวพยาธิ หนาม (Spine, S) และผิวของ sensory papilla (Pa) แต่ไม่พบอยู่ภายใน sensory papilla



ภาพที่ 4-16 ภาพวาดโครงสร้างภายในของ unilocular papilla ชนิด A1 และ A2 บนผนังลำตัวของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

- A. ลักษณะโครงสร้างภายในของ sensory papilla ชนิด A1 มี cilium (C) ล้อมรอบด้วย tegumental collar (Tc) ยื่นออกมาจาก bulbous ending ทะลุผ่านผนังลำตัวพยาธิขึ้นมา ภายใน bulbous ending ประกอบด้วย rootlet (R), basal body (Bb), electron dense collar (Dc), mitochondria (m) และ electron lucent vesicle (V) เป็นจำนวนมาก
- B. ลักษณะโครงสร้างภายในของ sensory papilla ชนิด A2 มี tegument collar ยื่นขึ้นมาล้อมรอบ cilium (C) ซึ่งความสูงของ tegumental collar (Tc) เกือบเท่ากับ ความยาวของ cilium สังเกตเห็น electron lucent vesicle (V) บรรจุอยู่ในช่องว่างระหว่าง tegument collar ภายใน bulbous ending ประกอบด้วย mitochondria (m), electron lucent vesicle (V), basal body (Bb), electron dense collar สองอันที่ด้านบนของ bulbous ending ซึ่งพบว่า electron dense collar (Dc) อันบนยาวกว่า



ภาพที่ 4-17 ภาพวาดโครงสร้างภายในของ unilaminar sensory papilla ชนิด A3 และ ชนิด B บนผนังลำตัวของพยาธิตัวแบน *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

- A. ลักษณะโครงสร้างภายในของ sensory papilla ชนิด A3 มี tegument collar (Tc) ค่อนข้างหนาล้อมรอบ cilium (C) ซึ่ง tegument collar สูงเพียงครึ่งหนึ่งของความยาวของ cilium ภายใน bulbous ending ประกอบด้วย mitochondria (m), electron lucent vesicle, electron dense collar (Dc) ขนาดใหญ่สองอัน และไม่พบ rootlet
- B. รูปร่างลักษณะ sensory papilla ชนิด B ผนังลำตัวชั้นนอกของพยาธิตัวแบนขึ้นจาก bulbous ending ต้นตัวสูงขึ้นจากแนวลำตัวปกติโดยที่ยังมีผนังลำตัวปกคลุมอยู่ภายใน bulbous ending ประกอบด้วย electron lucent vesicle (V), septate desmosome และ electron dense collar (Dc) สองอัน ไม่มีช่องทางที่ติดกันระหว่างภายในกระเปาะและสิ่งแวดล้อมภายนอก