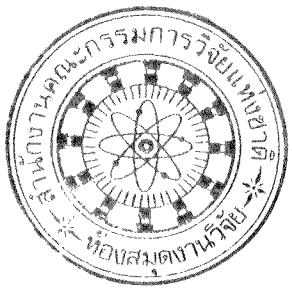

บทที่ 5
อภิปรายผลการศึกษา

การศึกษาอัตลักษณ์ทางอณูชีววิทยาและการกระจายเชิงภูมิศาสตร์ของพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae ในลุ่มน้ำปิงตอนบน เป็นการศึกษาเพื่อบ่งบอกคุณลักษณะเฉพาะตัวของพยาธิ โดยการนำเทคนิคทางอณูชีววิทยาใหม่ ๆ คือ ISSR marker, Specific primer ลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณ Internal Transcribed Spacer Subunit 2 (ITS-2) และ Cytochome C Oxydase (COX I) เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจสอบและจำแนกชนิดของพยาธิ ร่วมกับการศึกษาอัตราการติดเชื้อของพยาธิใบไม้ในปลา และหอย และการศึกษาทางสัณฐานวิทยาของพยาธิเพื่อประเมินสภาวะการระบาด จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาศึกษาการระบาดเชิงพื้นที่ (spatial distribution) โดยการจัดทำแผนที่การระบาดของพยาธิ ซึ่งในปัจจุบันถือว่ามีความจำเป็นต่อการวางแผนการควบคุมการระบาดของพยาธิในคน รวมทั้งการระบาดในโฮสต์กึ่งกลาง เช่น ปลา และหอย โดยกำหนดพื้นที่ศึกษาในลุ่มน้ำปิงตอนบน ทั้งหมด 10 จุดเก็บตัวอย่าง ตลอดแม่น้ำปิง และแม่น้ำสาขา ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ในจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และตาก

การศึกษาการระบาดของพยาธิในปลาแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง พบตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรีย จำนวน 5 ชนิด แบ่งเป็นพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae 4 ชนิด ได้แก่ *Haplorchis taichui*, *Haplorchoides* sp., *Stellantchasmus falcatus*, *Centrocestus caninus*. และพยาธิใบไม้วงศ์ Diplostomatidae 1 ชนิด ได้แก่ *Posthodiplostomum* sp. โดยพบว่าในจุดเก็บตัวอย่างอำเภอแม่แตงมีค่าความชุกรวมของพยาธิสูงที่สุด เท่ากับ 68.00% และจุดเก็บตัวอย่างในอำเภอดอยเต่ามีค่าความชุกรวมน้อยที่สุด เท่ากับ 33.96% สำหรับพยาธิที่พบการระบาดในอัตราที่สูง และพบทุกจุดเก็บตัวอย่าง คือ *Haplorchoides* sp. และ *H. taichui* ซึ่งพบมากในกลุ่มปลาเกล็ดขาว ซึ่งสอดคล้องกับ Kumchoo *et al.* (2005) รายงานว่าโฮสต์กึ่งกลางตัวที่ 2 ที่มีความจำเพาะเจาะจง ต่อ *H. taichui* สูงมาก คือ ปลาสร้อยขาว (*Henicorhynchus siamensis*) โดยมีการแพร่กระจายตามแหล่งน้ำทั่วไป และเป็นปลาที่ชาวบ้านนิยมนำมาบริโภคมากที่สุด ปลาในกลุ่มนี้เป็นปลาที่มีการกระจายตัวอยู่เป็นจำนวนมากในแม่น้ำปิง และแม่น้ำสาขา ส่วนพยาธิ *C. caninus* และ *S. falcatus* เป็นพยาธิที่มีค่าความชุกค่อนข้างต่ำ เนื่องจากพยาธิสองชนิดนี้มีความจำเพาะต่อโฮสต์กึ่งกลางที่เป็นปลาสูงมาก โดยพยาธิ *C. caninus* พบในเฉพาะปลาตะเพียนทราย และปลาซิวหนวดยาวเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับ Phalee *et al.* (2009)

รายงานว่าพบพยาธิชนิดนี้ในปลาตะเพียนทราย แต่แตกต่างกับรายงานของ Srisawangwong *et al.* (1997) และ Gjurcevic *et al.* (2007) รายงานการพบพยาธิชนิดนี้ในปลาทอง ขณะที่พยาธิ *S. falcatus* พบเฉพาะในปลาเข็ม และพบในจุดเก็บตัวอย่างอำเภอบ้านโฮ่งเพียงจุดเดียว ซึ่งสอดคล้องกับการสำรวจของ Sripalwit *et al.* (2003) สำรวจพบพยาธิ *S. falcatus* จำนวนมากในปลาเข็ม นอกจากนี้ยังพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้วงศ์ Diplostomatidae 1 ชนิด ได้แก่ *Posthodiplostomum* sp. ซึ่งตรงกับรายงานการวิจัยของ ชโลบล และคณะ (2543) มีการพบพยาธิชนิดนี้ในปลาเข็มเช่นเดียวกัน ทั้งนี้จากการศึกษาการระบาดของพยาธิในวงศ์ Heterophyidae ในปลา ทำให้พบการระบาดของพยาธิในวงศ์นี้มีอัตราค่อนข้างสูงในเขตพื้นที่ลุ่มน้ำปิงตอนบน โดยพบพยาธิที่มีความสำคัญทางการแพทย์จำนวน 3 ชนิด คือ พยาธิ *H. taichui, C. caninus* และ *S. falcatus* พยาธิเหล่านี้สามารถติดเชื้อในคนและสัตว์เลี้ยงได้ ซึ่งจากการศึกษาของ Wongsawad *et al.* (2012) ศึกษาการติดพยาธิในอุจจาระของคนจากอำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ พบไข่ของพยาธิ *H. taichui* เป็นส่วนใหญ่ ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าพยาธิเหล่านี้ที่พบในปลาสามารถติดไปยังคนในพื้นที่ได้ การระบาดของพยาธิเหล่านี้ในอัตราสูงในพื้นที่ทำให้คน และสัตว์เลี้ยงมีอัตราเสี่ยงสูงต่อการติดพยาธิในกลุ่มนี้สูงตามไปด้วย

สำหรับการศึกษาการระบาดของพยาธิในหอยพบตัวอ่อนระยะเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ ทั้งหมด 8 รูปแบบ คือ xiphidiocercaria, monostome cercaria, distome cercaria, pleurolophocercous cercaria, parapleurolophocercous cercaria, echinostome cercaria, furcocercous cercaria และ tranversotrema cercaria ค่าความชุกรวมของเซอร์คาเรียที่พบในหอยแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง พบว่าจุดเก็บตัวอย่างอำเภอแม่แตง มีค่าความชุกรวมมากที่สุดเท่ากับ 38.16% รองลงมาคือ จุดเก็บตัวอย่างอำเภอป่าซาง เท่ากับ 30.65% และจุดเก็บตัวอย่างที่มีค่าความชุกรวมน้อยที่สุด คือ อำเภอพร้าว มีค่าเท่ากับ 11.76% ซึ่งจากการศึกษาทางอณูชีววิทยาสามารถยืนยันได้ว่า parapleurolophocercous cercaria และ pleurolophocercous cercaria เป็นตัวอ่อนของพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae สอดคล้องกับการศึกษาของ Chuboon and Wongsawad (2009) โดยใช้ HAT-RAPD PCR พบว่า pleurolophocercous cercaria เป็นตัวอ่อนของพยาธิ *H. taichui* จากผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาการระบาดในปลา ซึ่งส่วนใหญ่พบพยาธิใบไม้ *H. taichui* และ *Haplorchoides* sp. ในการศึกษาครั้งนี้พบ parapleurolophocercous cercaria ในหอยทุกจุดเก็บตัวอย่าง และมีอัตราการระบาดในอัตราที่สูงกว่าเซอร์คาเรียแบบอื่นๆ การระบาดของเซอร์

คาเรียในหอยในอัตราสูงทำให้โอกาสของพยาธิที่ส่งผ่านไปยังโฮสต์กึ่งกลางในลำดับต่อไป เช่น ปลา สูงตามไปด้วย

การศึกษาการกระจายเชิงภูมิศาสตร์ของพยาธิใบไม้วงศ์ Heterophyidae นั้น เมื่อนำข้อมูลการระบาดของพยาธิที่พบในปลา และหอยมาสร้างเป็นแผนที่การระบาด เพื่อศึกษาแนวโน้มการระบาด โดยใช้โปรแกรม ArcGis ver. 9.3 ทำให้ได้แผนที่การระบาด และทราบแนวโน้มการระบาดของพยาธิใบไม้ชนิดต่างๆ โดยพบว่าในลุ่มน้ำปิงตอนบน มีการระบาดของพยาธิใบไม้ในกลุ่ม Heterophyidae หลายชนิด เช่น *H. taichui, S. falcatus, C. caninus* และ *Haplorchoides* sp. โดยพยาธิ *Haplorchoides* sp. พบการระบาดในทุกจุดเก็บตัวอย่างตลอดลุ่มน้ำปิงตอนบน ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาการระบาดของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียในหอยชนิดต่างๆ โดยพบว่า parapleurophocercous cercaria มีจำนวนค่อนข้างมาก และสามารถพบได้ในทุกจุดเก็บตัวอย่าง ซึ่ง parapleurophocercous cercaria สามารถพัฒนาไปเป็นพยาธิ *Haplorchoides* sp. ทั้งนี้ในเขตลุ่มน้ำปิงตอนบนมีแม่น้ำปิงเป็นแม่น้ำสายหลัก และมีแม่น้ำสาขาต่างๆ มากมาย เช่น แม่น้ำแม่งัด แม่น้ำแม่แตง แม่น้ำแม่กวง แม่น้ำลี้ และแม่น้ำแม่แจ่ม รวมไปถึงอ่างเก็บน้ำดอยเต่า และเขื่อนภูมิพล ทำให้มีการแพร่กระจายของปลาต่างมากมาย โดยเฉพาะปลาในกลุ่มปลาเกล็ดขาว ซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สองของพยาธิใบไม้หลายชนิด นอกจากนี้ยังมีหอยซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งสามารถเจริญเติบโต และแพร่กระจายในพื้นที่ได้ตลอดเวลา ขณะเดียวกันจากแผนที่การระบาด พบว่าเขตอำเภอแม่แตงมีการระบาดของพยาธิในอัตราที่สูงกว่าจุดเก็บตัวอย่างอื่นๆ เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวเป็นเขตพื้นที่ชลประทานของเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล ทำให้มีน้ำขังตลอดเวลาเหมาะสำหรับการแพร่กระจายของปลา และหอย ซึ่งสอดคล้องกับ Tum *et al.* (2004) พบว่าอัตราเสี่ยงจะเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ใกล้แม่น้ำสายหลัก และทะเลสาบ และอัตราเสี่ยงจะลดลงเมื่ออยู่ใกล้กับแม่น้ำ และทะเลสาบ และในพื้นที่สูง

การศึกษาอัตลักษณ์ทางอณูชีววิทยาเพื่อบ่งบอกคุณลักษณะเฉพาะตัวของพยาธิ โดยการนำ DNA ของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียที่พบในปลาทั้งหมด 5 ชนิด คือ *H. taichui, C. caninus, S. falcatus, Haplorchoides* sp. และ *Posthodiplostomum* sp. และตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเซอร์คาเรียที่พบในหอย ทั้งหมด 8 รูปแบบ คือ pleurolophocercous cercaria, parapleurolophocercous cercaria, monostome cercaria, xiphidiocercous cercaria, furcocercous cercaria, echinostome cercaria, distome cercaria และ Transversotrema cercaria ไปใช้ในปฏิกิริยา PCR ด้วยเทคนิค Inter-Simple Sequence Repeats, ISSRs โดยใช้ ISSR primer จำนวน 10 primers ซึ่งทำให้เกิดแถบ DNA ที่มีความแตกต่างกัน (polymorphic DNA)

พบว่าไพรเมอร์สามารถเข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นแบบเฉพาะเจาะจงกับพยาธิจำนวน 3 ชนิด คือ *H. taichui, S. falcatus* และ *Opisthorchis viverrini* ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอ ขนาด 400 bp เมื่อนำแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำไปหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของพยาธิใน Genbank พบว่าพยาธิ *H. taichui* และ *O. viverrini* เป็นพยาธิชนิดเดียวกันกับพยาธิที่พบใน Genbank ขณะที่พยาธิ *S. falcatus* กลับมีความแตกต่างกันกับพยาธิที่พบใน Genbank

เมื่อเปรียบเทียบการศึกษาทางอณูชีววิทยาทั้ง 3 วิธี พบว่าการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS-2 และ COX I มีความเหมาะสมสำหรับนำมาศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของพยาธิในวงศ์ Heterophyidae เนื่องจากเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลในระดับนิวคลีโอไทด์ โดยทั้ง 2 วิธี มีความจำเพาะและความคงตัวในการเป็น conserved region และมีความเหมือนกันในประชากรกลุ่มเดียวกัน ขณะที่การใช้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอจาก ISSRs นั้น สามารถใช้เพื่อจำแนกชนิดของพยาธิเบื้องต้นเท่านั้น ซึ่งคล้ายกับ RAPD marker แต่ ISSRs marker มีความจำเพาะมากกว่าเทคนิค RAPD เพราะว่าความยาวของ primers ที่ใช้ใน ISSR (16-20 bp) มีความยาวมากกว่า RAPD (10 bp) อีกประการหนึ่งคือ ISSR primers ออกแบบมาจากบริเวณที่เป็น repeated sequences ที่มีอยู่อย่างหลากหลายใน genomes เช่น $(AGTG)_4$ หรือ $(AG)_8$ ซึ่งบริเวณนี้จะมีความไวต่อการผันแปร หรือกลายพันธุ์มากกว่า coding regions (Wolfe *et al.*, 1998) แต่ทั้ง ISSRs และ RAPD มีข้อเสีย คือ ในบางครั้งแถบดีเอ็นเอเกิดขึ้นไม่ชัดเจน ทำให้การนับจำนวนแถบดีเอ็นเอเป็นไปอย่างยากลำบาก ซึ่งการนับแถบดีเอ็นเอเพื่อนำไปคำนวณหาความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตจะนับเฉพาะแถบที่ชัดเจนเท่านั้น เมื่อนำค่าที่ได้ไปคำนวณความแตกต่างทำให้ค่าที่ได้มีความคลาดเคลื่อน

การตรวจสอบชนิดของพยาธิที่สำรวจพบ โดยใช้ specific primer ของพยาธิแต่ละชนิด ซึ่งได้ออกแบบไพรเมอร์จากชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ด้วยเทคนิค HAT-RAPD จำนวน 5 คู่ พบว่า specific primer ของพยาธิแต่ละชนิดที่ทำการศึกษาสามารถ amplify และทำให้ PCR product ที่มีขนาดต่างๆ กันของพยาธิแต่ละชนิด จากการตรวจสอบพบว่าไพรเมอร์ดังกล่าวสามารถเข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบเฉพาะเจาะจงกับพยาธิแต่ละชนิด โดยพยาธิ *H. taichui* ทำการตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ Hapt-F: 5′-GGC CAA CGC AAT CGT CAT CC-3′ และ Hapt-R: 5′-GCG TCG GGT TTC AGA CAT GG-3′ สามารถ amplify และทำให้ PCR product ที่มีขนาดประมาณ 256 bp จากการตรวจสอบพบว่าไพรเมอร์ดังกล่าวสามารถเข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบเฉพาะเจาะจงกับพยาธิ *H. taichui* และ parapleurolophocercous cercaria ซึ่งแสดงว่า parapleurolophocercous cercaria ที่พบใน

หอย *Tarebia granifera* เป็นตัวอ่อนของพยาธิ *H. taichui* ส่วนพยาธิ *S. falcatus* ทำการตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ St-F 5′-GGC CAA CGC AAT CGT CAT CC-3′ และ St-R 5′-GCG TCG GGT TTC AGA CAT GG-3′) ซึ่งสามารถ amplify และทำให้ PCR product ที่มีขนาดประมาณ 380 bp จากการตรวจสอบพบว่าไพรเมอร์สามารถเข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบเฉพาะเจาะจงกับพยาธิ *S. falcatus* และ parapleurolophocercous cercaria ซึ่งแสดงว่า parapleurolophocercous cercaria ที่พบในหอย *Melanoides tuberculata* เป็นตัวอ่อนของพยาธิ *S. falcatus* ขณะที่พยาธิ *Haplorchoides* sp. ทำการตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ HPC-F1: 5′-CCA AAA AGT CGT GGC TTG GG-3′ และ HPC-R1: 5′-ACA GGT TAG ACA GCA GAG CG-3′ ซึ่งสามารถ amplify และทำให้ PCR product ที่มีขนาดประมาณ 195 bp จากการตรวจสอบพบว่าไพรเมอร์สามารถเข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบเฉพาะเจาะจงกับพยาธิ *Haplorchoides* sp. และ parapleurolophocercous cercaria ซึ่งแสดงว่า parapleurolophocercous cercaria ที่พบในหอย *Melanoides tuberculata* เป็นตัวอ่อนของพยาธิ *Haplorchoides* sp. สำหรับพยาธิ *C. caninus* ทำการตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ CC-F: 5′- CCA AAA AGT CGT GGC TTG GG -3′ และ CC-R: 5′- GTG TGA TGA GAG GTC GGG AA-3′ ซึ่งสามารถ amplify และทำให้ PCR product ที่มีขนาดประมาณ 292 bp จากการตรวจสอบพบว่าไพรเมอร์สามารถเข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบเฉพาะเจาะจงกับพยาธิ *C. caninus* และ pleurolophocercous cercaria ซึ่งแสดงว่า parapleurolophocercous cercaria ที่พบในหอย *Tarebia granifera* เป็นตัวอ่อนของพยาธิ *C. caninus* นอกจากนี้ยังใช้ specific primer ของพยาธิ *O. viverrini* โดยใช้ไพรเมอร์ OpV-1F: 5′-AAT CGG GCT GCA TAT TGA CCG AT-3′ และ OpV-1R: 5′-CGG TGT TGC TTA TTT TGC AGA CAA-3′ ซึ่งสามารถเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 330 bp จากการตรวจสอบพบว่าไพรเมอร์สามารถเข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบเฉพาะเจาะจงกับพยาธิ *O. viverrini* ที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบเพียงชนิดเดียวเท่านั้น จากการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับ Wongratanacheewin *et al.* (2001) และ Maleewong *et al.* (2003) ได้นำ primers และ probe ไปใช้ทดสอบ sensitivity ในการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ ทั้งในระยะไข่จากอุจจาระของสัตว์ทดลอง และจากโฮสต์กึ่งกลางที่ทดลอง พบว่าสามารถตรวจหาพยาธิใบไม้ตับได้ และไม่เกิดปฏิกิริยาข้ามกับพยาธิชนิดอื่น ซึ่งให้ตรงกับการศึกษาในครั้งนี้ที่ทดสอบการใช้ specific primers กับพยาธิชนิดอื่นๆ พบว่าไม่เกิดแถบดีเอ็นเอกับพยาธิชนิดอื่นเลย แสดงว่า specific primers มีความจำเพาะต่อพยาธิ *H. taichui* และพยาธิ *O. viverrini* โดยเกิดแถบดีเอ็นเอ ขนาด 256 bp ในพยาธิ *H.*

taichui และเกิดแถบดีเอ็นเอ ขนาด 330 bp ในพยาธิ *O. viverrini* เพียงแถบเดียว นอกจากนั้น ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นว่า การศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบ primer จากชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ด้วยเทคนิค HAT-RAPD ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sripalwit *et al.*, (2003) ตามที่กล่าวมาข้างต้น แต่แตกต่างจากการศึกษาของ Hamburger *et al.* (2001) ที่ออกแบบ primer มาจาก ส่วนที่เป็น highly repeat sequence ที่มีขนาด 121 bp ซึ่งพบจากการ sequence จีโนม ของพยาธิ *Schistosoma mansoni* และยังแตกต่างจากการศึกษาของ Pontes *et al.* (2002) ซึ่งใช้ส่วนที่เป็น highly repeat sequence ในการออกแบบ primer เพื่อตรวจสอบ *S. mansoni* เช่นเดียวกัน แต่ชิ้นส่วน ดีเอ็นเอเป้าหมาย มีขนาด 110 bp นอกจากนั้นยังแตกต่างจากการศึกษาของ Hertel *et al.* (2002) ที่ได้ออกแบบ primer ในการตรวจหาพยาธิ *Trichobilhazia ocellata* จากส่วน tandem repeat DNA sequence ที่มีขนาด 396 bp ซึ่งได้จากการ sequence จีโนมของพยาธิ นอกจากจะมีการใช้ข้อมูลส่วนที่เป็น repeat sequence ในจีโนมแล้ว ยังมีการการใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์จากบริเวณอื่นในการออกแบบ primer ด้วย เช่น การศึกษาของ Dinkel *et al.* (1998) ที่ใช้ส่วน mitochondrial 12S rRNA gene ในการตรวจหาพยาธิ *Echinococcus mutilocularis* และให้ PCR product ที่เกิดจาก specific primer ขนาด 250 bp ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษาในครั้งนี้ คือ PCR product ที่เกิดจาก specific primer ขนาด 267 bp แต่การศึกษาครั้งนี้ออกแบบ primer มาจาก species-specific HAT-RAPD marker นอกจากนี้ในการศึกษาของ Magalhaes *et al.* (2004) ที่ได้ออกแบบ specific primer ที่ใช้ตรวจสอบพยาธิ *Fasciola hepatica* ในหอย *Lymnea columella* โดยใช้ complete mitochondrial DNA sequence จาก Genebank และตรวจสอบด้วยวิธี multiplex PCR โดยใช้ร่วมกับ primers ที่ไป amplify ส่วน Internal Transcribe Spacer 2 (ITS 2) เพื่อทำหน้าที่เป็น internal control ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ ที่ใช้ primers เพียงคู่เดียว การใช้ primers หลายคู่ทำงานร่วมกันในเทคนิค multiplex PCR จะช่วยลดความผิดพลาดในการเข้าไปเกาะกับ DNA template ของ specific primers คือช่วยให้มีความแม่นยำในการเกาะกับ DNA template ในตำแหน่งที่ต้องการ ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้ สามารถพัฒนาเทคนิค และวิธีการ ในการตรวจสอบให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นได้ ในอนาคต

ผลจากการสำรวจแบบสอบถามพบว่ามีผู้ให้ข้อมูลในการกรอกแบบสอบถามจำนวน 86 คน พบว่าเป็นชายจำนวน 72.10% และเพศหญิง 27.91% ส่วนใหญ่มีอายุอยู่ในช่วง 41-50 ปี (53.49%) รองลงมาอยู่ในช่วง 50 ปีขึ้นไป (27.91%) และน้อยที่สุดอยู่ในช่วง 31-40 ปี (20.93%) ด้านการศึกษาส่วนใหญ่อยู่ในระดับประถมศึกษา (76.74%) ส่วนใหญ่ประกอบอาชีพทำการเกษตร (67.44%) รองลงมาเป็นอาชีพรับจ้าง (13.95%) ส่วนใหญ่มีรายได้ต่อเดือน

มากกว่า อยู่ในช่วง 2,000–5,000 บาท (55.81%) จากการประเมินเกี่ยวกับความรู้ความเข้าใจและการได้รับและเข้าถึงข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการติดพยาธิ พบว่าส่วนใหญ่มีความรู้ความเข้าใจและรู้จักพยาธิในระดับน้อย (67.44%) ซึ่งส่วนใหญ่ชาวบ้านรู้จักพยาธิจำนวน 2 ชนิด คือ พยาธิตัวตืด และพยาธิตัวกลม (56.98%) และ 3 ชนิด คือ พยาธิตัวตืด พยาธิตัวกลม และพยาธิใบไม้ (27.91%) โดยชาวบ้านทราบถึงสาเหตุของการติดพยาธิส่วนใหญ่จำนวน 2 ข้อ ซึ่งได้แก่ การรับประทานปลาดิบ และรับประทานเนื้อดิบ (70.93%) และรู้ถึงการก่อให้เกิดโรคร้ายแรงจากการติดพยาธิอยู่ในระดับปานกลาง (52.33%) และกลัวการติดพยาธิอยู่ในระดับมากที่สุด (67.44%) ซึ่งอาหารที่ชาวบ้านนิยมรับประทานคือลาบปลาดิบ (32.56%) รองลงมาคือเนื้อดิบ (20.93%) การรับประทานอาหารที่ทำจากปลาดิบ พบว่าชาวบ้านส่วนใหญ่รับประทานนาน ๆ ครั้ง (63.95%) และการรับประทานอาหารที่ทำจากเนื้อหรือหมูดิบนานๆ ครั้ง (68.60%) สำหรับความถี่ในการตรวจอุจจาระนั้นพบว่าชาวบ้านตรวจอุจจาระนานๆ ครั้ง (52.33%) ขณะเดียวกันยังพบว่าชาวบ้านไม่เคยตรวจอุจจาระ (9.30%) และในการรับประทานยาถ่ายพยาธินั้นพบว่าส่วนใหญ่รับประทานนานๆ ครั้ง (68.60%) ในจำนวนนี้มีผู้ที่ไม่เคยถ่ายพยาธิจำนวน 29.07% โดยสรุปแล้วจากการได้รับข่าวสารข้อมูล ชาวบ้านมีการตื่นกลัวต่อการติดพยาธิ ในขณะเดียวกันก็ยังไม่ละทิ้งวิถีชีวิต และวัฒนธรรมในการบริโภคอาหารที่มีความเสี่ยงต่อการติดพยาธิ นอกจากนี้ชาวบ้านบางส่วนก็ยังรู้จักการป้องกันและรักษาตัวเอง โดยการตรวจอุจจาระ กินยาถ่ายพยาธิเป็นระยะๆ แต่อย่างไรก็ตามก็ยังมีบางคนที่ยังจัดอยู่ในกลุ่มเสี่ยงต่อการติดพยาธิ ไม่มีการป้องกันรักษา ซึ่งการนำเสนอผลการวิจัย และให้ความรู้ผ่านการเผยแพร่ข้อมูล เป็นการถ่ายทอดองค์ความรู้ที่ได้สู่ชาวบ้าน การมีโอกาสแลกเปลี่ยนความคิดเห็น อภิปรายผลการวิจัยร่วมกัน จึงเป็นการสร้างโอกาสและวิธีการในการแก้ปัญหาที่ถูกต้อง และมีประสิทธิภาพสูงสุด