

บทนำ

ผลการศึกษาการระบาดของโรคพยาธิใบไม้ตับ (*Opisthorchis viverrini*) ในชุมชนภาคตะวันออกเฉียงเหนือแสดงให้เห็นว่าความหนาแน่นของพยาธิมีความสัมพันธ์โดยตรงกับอายุของประชากร (Haswell-Elkins et al 1992) ลักษณะการติดเชื้อดังกล่าวนี้แสดงถึงความต้านทานต่อการติดเชื้อพยาธิว่า อาจเกิดขึ้นน้อยหรือไม่มีภูมิคุ้มกันเลย ประกอบกับการใช้ยาเพื่อควบคุมการระบาดของพยาธิในเขตจังหวัดขอนแก่นพบว่าประชากรกลับมาเป็นโรคพยาธิใบไม้ตับอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาเพียง 1 ปี (Sormani et al, 1984, Upatham et al, 1988) แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าผลการศึกษาของ Upatham et al (1988) กลับพบว่ากลุ่มคนบางกลุ่มมี อาจจะไม่มีความต้านทานต่อการติดเชื้อค่อนข้างมาก ในขณะที่กลุ่มอื่น ๆ จะมีความต้านทานน้อย ทั้งนี้โดยอาศัยความหนาแน่นของพยาธิที่เกิดจากการติดเชื้อใหม่ภายหลังการรักษาด้วยยาเป็นเกณฑ์เปรียบเทียบ

นอกจากนี้แล้วจะเห็นได้ชัดเจนว่าจำนวนพยาธิใบไม้ตับมีการกระจายในประชากรของโฮสต์อย่างไม่ปกติ (non-normal distribution) (Elkins et al, 1991, Sithithaworn et al, 1991) ซึ่งสาเหตุประการหนึ่งก็เชื่อว่าการเกิดจากภูมิคุ้มกันของโฮสต์ทำให้มีพยาธิเจริญเติบโตได้น้อยลงในคนบางกลุ่ม แม้ว่าจะอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกันที่มีโอกาสติดโรคใกล้เคียงกันก็ตาม ดังนั้นจึงอาจจะกล่าวได้ว่า ความต้านทานต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (acquired resistance to reinfection) น่าจะมีอิทธิพลต่อการติดเชื้อหรือต่อการออกไข่ของพยาธิ ซึ่งความรู้และความเข้าใจเรื่องนี้มีผลสำคัญอย่างยิ่งต่อการประเมินผลการควบคุมโรค ทั้งจากการใช้ยารักษา และวิธีการอื่น ๆ เพราะว่าธรรมชาติที่ใช้วัดผลการควบคุมโรคขึ้นอยู่กับ การตรวจหาไข่พยาธิในอุจจาระเพื่อประเมินถึงจำนวนพยาธิใบไม้ตับว่าควรจะมีอยู่จริง มากน้อยอย่างไร

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะหาความต้านทานต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับภายหลังการรักษาด้วยยา praziquantel ในแฮมสเตอร์ที่ได้รับพยาธิด้วยวิธี repeated infection ทั้งนี้เพื่อจำลองลักษณะการติดเชื้อพยาธิของคนในธรรมชาติ ตัววัดที่ใช้ประเมินหาความต้านทานนี้ประกอบด้วย จำนวนพยาธิตัวแก่ ไข่พยาธิที่ปล่อยออกมาในมูลหนูก่อนพยาธิในมดลูกในตัวพยาธิ และขนาดความกว้างและความยาวของพยาธิในกลุ่มการทดลองที่ได้รับพยาธิขนาดต่างๆ กันเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

วัสดุและวิธีการ

สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นแฮมสเตอร์ เพศผู้ อายุ 8-10 สัปดาห์ผลิตโดยหน่วยสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น แฮมสเตอร์ที่ใช้ทดลองจะถูกขังรวมกัน 6-8 ตัว/กรง เลี้ยงในห้องปรับอากาศอุณหภูมิ 22-24°C โดยมีน้ำและอาหารเม็ดให้กินตลอดเวลา

การเตรียมและการป้อนพยาธิให้สัตว์ทดลอง

ตัวอ่อนระยะติดต่อ (metacercaria) ของพยาธิใบไม้ตับ เตรียมมาจากการย่อยปลาขาว ซึ่งได้จากอ่างเก็บน้ำบ้านสะอาด อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ปลาที่ได้มาจะถูกนำมาปั่นให้แหลกด้วยเครื่องปั่นผลไม้ ในน้ำย่อย pepsin (0.1% ในน้ำเกลืออนมัล) แล้วนำปลาที่ปั่นแล้วย่อยใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำปลาที่ย่อยแล้วมากรองด้วยตะแกรงขนาดต่าง ๆ โดยใช้น้ำเกลือเป็นตัวทำให้เจือจาง จนชั้นสุดท้ายหลังจากการกรองด้วยตะแกรงขนาด 105 μm นำตะกอนที่ได้มาตกตะกอนด้วย sedimentation jar เพื่อเลือกหา metacercaria ของพยาธิใบไม้ตับด้วยกล้องจุลทรรศน์ หลังจากได้ metacercaria ครบตามจำนวนที่ต้องการ ก็จะนำไปป้อนให้แฮมสเตอร์ โดยดูด metacercaria ที่นับจำนวนไว้ในน้ำเกลือปริมาตรไม่เกิน 1 ml ด้วย syringe ขนาด 5 ml ที่มีท่อ polyethylene tube ต่อจากปลายเข็ม เมื่อแฮมสเตอร์สลบจากการดมอีเทอร์ ก็จะสอดท่อเข้าทางปากไปจนถึงกระเพาะของหนู แล้วจึงค่อยๆ กด syringe ไล่พยาธิออก ซึ่งหลังจากการป้อนชั่วคราว แฮมสเตอร์ก็จะฟื้นกลับมาเป็นปกติ

การให้ยา praziquantel

เมื่อถึงเวลาที่ต้องการก็จะทำการให้ยา praziquantel ในสภาพแขวนลอยใน 0.2 % cremophore EL (Sigma) ทางท่ออย่าง polyethylene โดยใช้ยาขนาด 40 mg/Kg body weight ซึ่งขนาดยานี้พบว่าให้ cure rate ถึง 100 %

การนับจำนวนไข่พยาธิในมูลสัตว์

ก่อนจะถึงกำหนดการฆ่าสัตว์ทดลอง 1-2 วัน จะแยกสัตว์ทดลองแต่ละตัวออกจากกัน เพื่อเก็บมูลของมันเป็นเวลา 24 ชม. มูลสัตว์ที่เก็บได้จะนำมาตั้งไว้ให้แห้ง แล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนัก ก่อนจะไปทำการนับไข่พยาธิโดยวิธี dilution technique โดยใช้ volumetric flask 10 ml ซึ่งมี 0.1 N NaOH เป็น

ตัวทำละลาย หลังจากมูลสัตว์แตกสลายใน NaOH แล้ว ก็สูมตัวอย่างมา 0.015 ml มาทำการนับไข่พยาธิ 4 ครั้ง เพื่อคำนวณหา egg per gram of faeces (epg) ต่อไป

การค้นหาและการนับจำนวนพยาธิตัวแก่

ภายหลังจากที่แฮมสเตอร์ได้รับพยาธิ ครอบกำหนดเวลาที่จะต้องฆ่า และผ่านการเก็บมูลของมัน เพื่อหา faecal egg count แล้วจะนำมาฆ่าโดยใช้ฮีเทอร์ เมื่อตายสนิทแล้วก็จะเปิดช่องท้อง เพื่อเจาะเลือดจากหัวใจ และตัดตับและถุงน้ำดีออกมาใส่ในเพลทที่มีน้ำเกลือ นำตับมาฉีกด้วย forceps เพื่อค้นหาพยาธิตัวแก่ที่อยู่ในท่อน้ำดีและนับจำนวนพยาธิตัวแก่ที่พบในสัต์หลอดแต่ละตัวเพื่อหาคำนวน worm recovery และใช้คำนวณหา egg per gram per worm (epg /worm)

การวัดขนาดพยาธิตัวแก่

พยาธิที่ได้จากหนูแต่ละตัวจะถูกนำมาคัดเลือกเอาเฉพาะตัวที่ยังสมบูรณ์ ไม่มีรอยขาดหาย หรือฉีกขาด นำมาดองใน 10 % formalin และนำมาแผ่นสไลด์ เพื่อวัดความกว้างและความยาวโดยใช้กล้อง Stereomicroscope ที่มี micrometer ติดอยู่

การนับจำนวนไข่พยาธิในมดลูก

เพื่อให้ทราบถึงความสามารถในการผลิตไข่ หรือ fecundity ที่แท้จริง นอกจากจะทำการนับไข่ที่พยาธิปล่อยออกมาโดยการนับไข่ในมูลแฮมสเตอร์แล้ว ไข่ที่ยังอยู่ในมดลูกหรือในตัวพยาธิก็เป็นอีกส่วนหนึ่งของจำนวนไข่พยาธิทั้งหมดที่พยาธิสามารถผลิตได้ เพื่อให้ทราบถึงข้อมูลดังกล่าว หลังจากทีวัดขนาดลำตัวของพยาธิตัวแก่แล้ว ก็จะนำพยาธิเหล่านี้ซึ่งมีรูปร่างครบสมบูรณ์ มาบดให้ละเอียดด้วย tissue grinder โดยนำพยาธิจากหนูแต่ละตัวมารวมกันให้ได้ 5 ตัว มาบดรวมกัน จากนั้นก็นำไปทำให้เจือจางด้วย 10 % formalin และนับจำนวนไข่พยาธิ เพื่อคำนวณหาจำนวนไข่พยาธิเฉลี่ยต่อพยาธิ 1 ตัว (egg per worm, epw) ซึ่งไข่พยาธิเหล่านี้จะประกอบด้วยไข่ที่มีอายุต่าง ๆ กัน ทั้ง immature และ mature egg

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่เก็บทั้งหมดจะนำมาเข้าโปรแกรมฐานข้อมูล Paradox 3.5 เพื่อทำการสรุปข้อมูลขั้นต้น ก่อนจะนำไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยละเอียดด้วยโปรแกรม SPSS/PC+ ในการทดสอบทางสถิตินั้นใช้ Analysis of variance (ANOVA) และ T-test

การวางแผนการทดลอง

เพื่อการทดสอบหาปัจจัยที่มีผลต่อความต้านทานต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ โดยเฉพาะความต้านทานที่เกิดจากการติดเชื้อซ้ำเป็นระยะเวลาไม่เท่ากัน และเพื่อให้สามารถประเมินประสิทธิภาพของความต้านทานได้ โดยไม่มีพยาธิจากการติดเชื้ออื่นมาปะปน จึงต้องให้ยา praziquantel เพื่อกำจัดพยาธิกลุ่มเดิมก่อนแล้วจึงให้ challenge infection ใหม่เพื่อตรวจหาความต้านทานต่อการติดเชื้อ การทดลองส่วนแรกเป็นการทดสอบให้ทราบถึงสภาพความต้านทานในหนูปกติ (innate resistance) เกี่ยวกับจำนวนพยาธิตัวแก่ที่เจริญเติบโตตลอดจนความสามารถในการออกไข่ จึงได้ทำการทดลองโดยป้อนพยาธิเพียงครั้งเดียวจำนวน 20, 40, 80, 120 metacercariae ต่อหนูแต่ละตัว หลังจากนั้น 2 เดือน ก็เก็บมูลหนูนับหาจำนวนไข่พยาธิและฆ่าหนูเพื่อนับหาพยาธิตัวแก่

การทดลองต่อมาจะเป็นการทดลองหลักในการศึกษาครั้งนี้ โดยแบ่งหนูแฮมสเตอร์ออกเป็น 3 กลุ่ม (ตามตารางที่ 1) กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม (control) ซึ่งจะเป็นหนูที่ไม่ได้รับพยาธิและยา praziquantel แต่จะมีอายุ และเพศเหมือนหนูกลุ่มที่ 2 และ 3 และได้รับ challenge infection เป็นพยาธิ 40 metacercariae/hamster ในเวลาเดียวกับหนูกลุ่มอื่น

กลุ่มที่ 2 แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อยโดยแต่ละกลุ่มได้รับพยาธิ 10 metacercaria / hamster ต่อเดือนเป็นจำนวน 1, 3 หรือ 6 ครั้ง และหลังจากได้รับพยาธิครั้งสุดท้าย 1 เดือนก็จะได้รับ praziquantel เพื่อกำจัดพยาธิ ภายหลังจากได้รับยา 1 สัปดาห์ หนูแต่ละกลุ่มก็จะได้รับ challenge infection อีก 40 metacercaria/hamster และอีก 2 เดือนต่อมาหนูกลุ่มนี้จึงถูกนำมาเก็บมูลเพื่อหา faecal egg count และฆ่าเพื่อหาจำนวนพยาธิตัวแก่

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 3 กลุ่มย่อยเหมือนกลุ่มที่ 2 แต่ได้รับพยาธิจำนวน 40 metacercariae/hamster ต่อเดือน โดยจำนวนครั้งที่รับพยาธิ การรับยารักษาพยาธิ ตลอดจน challenge infection เหมือนกับกลุ่มที่ 2

ตารางที่ 1 Experimental design แสดงกลุ่มการทดลอง จำนวนพยาธิที่ป้อนสัตว์ ทดลอง และ จำนวนสัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่ม รวมหนูทั้งหมด 115 ตัว

Experimental groups	Dose of infection	Experience of monthly infection before challenge		
		1	2	3
Control	0	20	9	11
Low dose	10	13	15	14
High dose	40	10	12	11

ผลการทดลอง

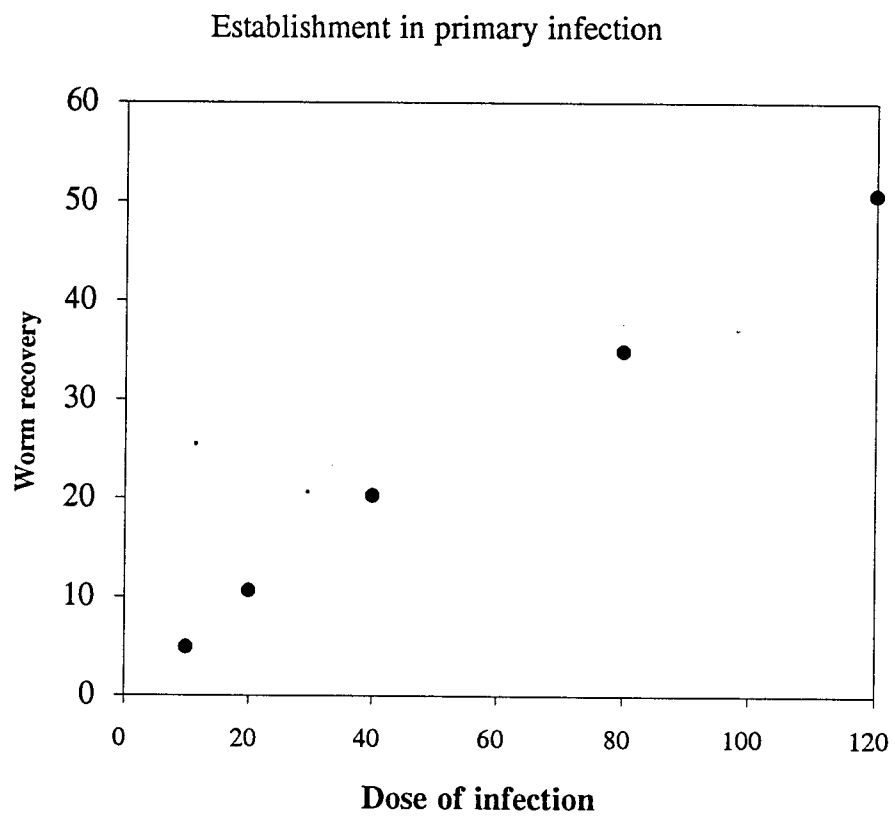
การติดเชื้อครั้งเดียวในหนูปกติ

ผลการทำให้หนูแฮมสเตอร์ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเพียงครั้งเดียวจะพบว่าจำนวนพยาธิตัวแก่ที่ตรวจพบเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวน metacercariae ที่ป้อน ไม่ว่าจะใช้ metacercariae เท่าใดก็ตาม (20-120 metacercariae/hamster) จะมีพยาธิตัวแก่เจริญเติบโตสมบูรณ์คงที่เฉลี่ยประมาณ 43 % (รูปที่ 1 และตารางที่ 2)

จากตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่าจำนวนไข่ในมูลแฮมสเตอร์ (epg) มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามจำนวน metacercariae (dose of infection) ยกเว้นในกรณีของกลุ่มที่ได้รับ 120 metacercariae ซึ่งจะมีค่า epg ค่อนข้างต่ำ และผลการคำนวณ epg/worm ก็พบว่าหนูกลุ่มเดียวกันนี้มีค่า epg/worm เพียง 65.3 ซึ่งมีค่าต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับ dose of infection ที่ต่ำกว่า แนวโน้มของการออกไข่ได้น้อยลงนี้จะมองเห็นได้ชัดเจนยิ่งขึ้นในรูปที่ 2 ซึ่งจำนวนไข่ที่พยาธิใบไม้ตับปล่อยออกมาในมูลหนูแฮมสเตอร์มีความสัมพันธ์ในเชิงผกผันอย่างมีนัยสำคัญ

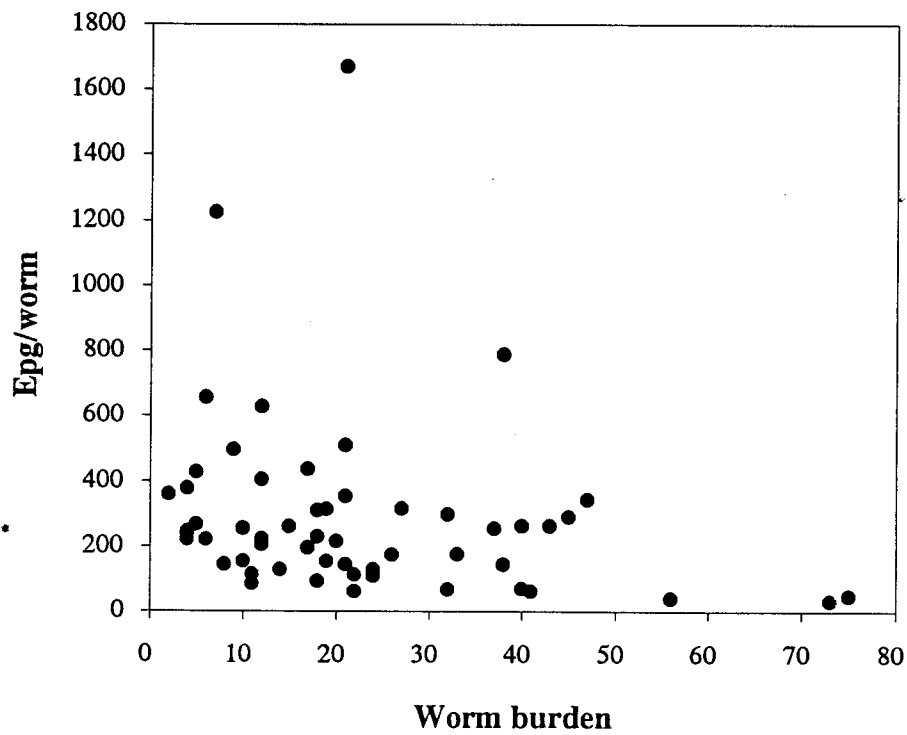
ตารางที่ 2 แสดงจำนวนพยาธิตัวแก่ epg และ epg/worm ของพยาธิใบไม้ตับที่ได้จากแฮมสเตอร์ซึ่งได้รับพยาธิเพียงครั้งเดียว

Dose of infection	n	Worm recovery mean $\pm$ s.d.	epg mean $\pm$ s.d.	epg/worm mean $\pm$ s.d.
10	10	4.9 $\pm$ 1.73	1957.9 $\pm$ 2357.6	372.7 $\pm$ 311
20	8	10.63 $\pm$ 2.4	2991.6 $\pm$ 2228	308.1 $\pm$ 242
40	22	20.27 $\pm$ 5.77	6252.2 $\pm$ 6904.7	312.7 $\pm$ 323.5
80	10	34.9 $\pm$ 9.78	10144.5 $\pm$ 8587.4	265.7 $\pm$ 205.8
120	8	50.75 $\pm$ 15.48	3158.1 $\pm$ 1231	65.33 $\pm$ 40.46

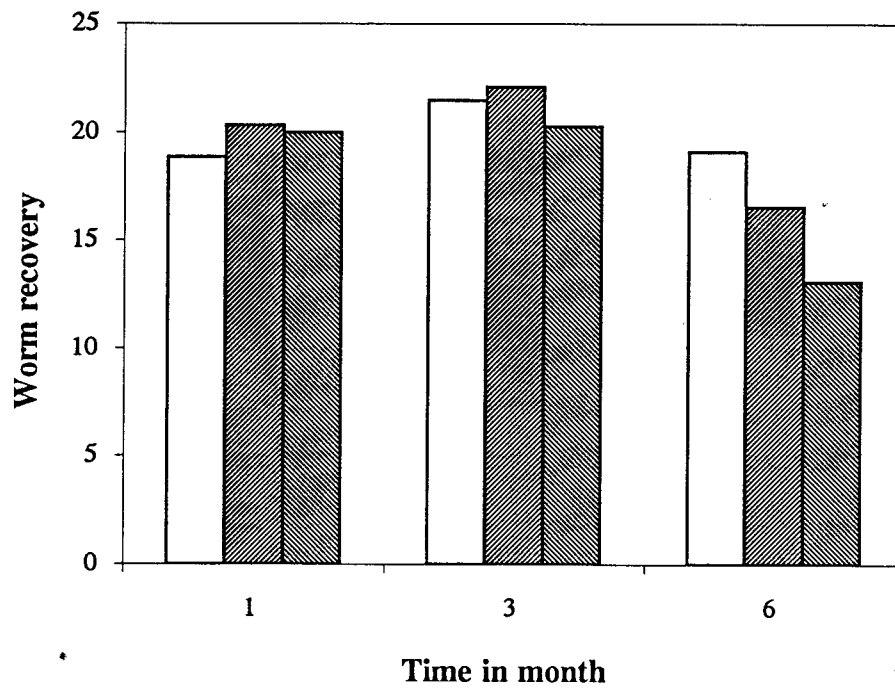


รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน metacercariae และจำนวนพยาธิตัวแก่
 ที่เกิดจากการ infect แฮมสเตอร์เพียงครั้งเดียว ($R^2 = .98$)
 (ANOVA, $F = 383.1$, $P < .001$)

Density-dependent fecundity



รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนพยาธิตัวแก่ และ epg/worm ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ในเชิงผกผัน (invert relationship) (ANOVA, $P < .05$)



รูปที่ 3 แสดง worm recovery ของพยาธิใบไม้ตับในกลุ่มที่ได้รับ monthly infection นาน 1-6 เดือน ก่อนที่จะได้รับยา praziquantel และ challenge ด้วย 40 metacercaria โดย dose of infection ก่อนการ challenge คือ

- ☐ 0 metacercariae (control group)
- ☒ 10 metacercariae
- ☒ 40 metacercariae

ความต้านทานต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ

จำนวนพยาธิตัวแก่ : ดังแสดงในตารางที่ 3 และรูปที่ 3 จะเห็นว่าเวลาในการได้รับพยาธิ มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อจำนวนพยาธิตัวแก่ที่ตรวจพบ (ANOVA, $F = 4.92$, $p = 0.009$) ส่วน dose of infection ไม่มีผลต่อจำนวนพยาธิอย่างมีนัยสำคัญ (ANOVA, $F = 0.577$, $P > .05$)

หากดูเฉพาะที่กลุ่มที่รับพยาธินาน 6 เดือนก่อน challenge infection จะพบว่าจำนวนพยาธิ ในกลุ่มที่ได้รับ 40 metacercariae มีค่าต่ำกว่ากลุ่ม ควบคุม และกลุ่ม 10 metacercariae อย่างมีนัยสำคัญ (T-test, $P < .05$) ในขณะที่เดียวกันหากดูที่กลุ่มที่ก่ได้รับ 40 metacercariae จำนวนพยาธิในกลุ่มนี้ ที่เวลา 6 เดือน ก็จะมีค่าต่ำกว่า กลุ่ม 1 และ 3 เดือนอย่างมีนัยสำคัญ (T-test, $P < .05$)

ตารางที่ 3 จำนวนพยาธิตัวแก่ ในแฮมสเตอร์ของกลุ่มทดลองต่าง ๆ ที่ได้รับพยาธิจำนวน ต่าง ๆ กัน และได้รับ prajiquantel ภายหลังและหลังจากนั้นจึงได้รับ challenge infection ด้วย 40 metacercariae

Dose of infection	Duration of monthly infection before challenge		
	1	3	6
0	18.85 ± 6.71 (n = 20)	21.44 ± 6.085 (n = 9)	19.09 ± 6.5 (n = 11)
10	20.31 ± 8.97 (n = 13)	22.80 ± 7.94 (n = 15)	16.57 ± 4.01 (n = 14)
40	20 ± 7.02 (n = 10)	20.25 ± 6.56 (n = 12)	13.09 ± 5.15 (n = 11)

จำนวนไข่พยาธิ : แนวน้ำมโดยรวมพบว่า epg/worm ขึ้นอยู่กับตัวแปร 2 ตัว คือ dose of infection และเวลาที่รับประทานยา ก่อนการ challenge (ANOVA, $F = 399; 5.09, P < .05$) สำหรับหนูแต่ละกลุ่มนั้นมีแนวน้ำมที่ไม่ชัดเจน กล่าวคือกลุ่มควบคุม มีค่า epg/w ที่มีแนวน้ำมเพิ่มขึ้นตามเวลาของการ challenge ในทำนองเช่นเดียวกันกับกลุ่ม 10 metacercariae ยกเว้นในกรณีที่ epg/worm มีค่าค่อนข้างต่ำในกลุ่มที่เวลา 3 เดือน ในทางตรงกันข้ามในกลุ่ม 40 metacercariae กลับมีแนวน้ำมของ epg/worm ลดลงเป็นต้น

สำหรับกรณีของ egw หรือจำนวนไข่ในมดลูกของพยาธิ นั้น เวลาในการติดเชื้อพยาธิ ไม่มีผลต่อจำนวนไข่อย่างมีนัยสำคัญ (ANOVA, $P > 0.05$) ขณะที่กลุ่มควบคุมมีแนวน้ำมของ epw ค่อนข้างคงที่ กลุ่ม 10 metacercariae มีแนวน้ำมว่ามีไขลดลง ในขณะที่กลุ่ม 40 metacercariae กลับมีแนวน้ำมว่าจำนวนไข่จะสะสมเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ติดเชื้อพยาธิ

ตารางที่ 4 แสดง epg/w (egg per gm per worm) ของกลุ่มการทดลองต่าง ๆ ที่ได้รับพยาธินาน 1-6 เดือนก่อนการรักษาด้วยยา praziquantel และ หลังจากนั้นจึงได้รับ challenge infection ด้วย 40 metacercariae

Dose of infection	<u>Duration of monthly infection before challenge (month)</u>		
	1	3	6
	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD
	(n)	(n)	(n)
0	271.57 $\pm$ 184 (n = 19)	300.3 $\pm$ 170.5 (n = 9)	345.1 $\pm$ 188.56 (n = 11)
10	254.8 $\pm$ 119 (n = 10)	172.78 $\pm$ 70.62 (n = 15)	272 $\pm$ 160 (n = 14)
40	357.7 $\pm$ 166.9 (n = 10)	249.74 $\pm$ 201.6 (n = 12)	281 $\pm$ 161.8 (n = 10)

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนไข่ในมดลูกของพยาธิใบไม้ตับ epw (egg per worm) ของกลุ่ม การทดลองต่าง ๆ ที่ได้รับพยาธิเป็นเวลา 1-6 เดือน ก่อนการรักษาด้วยยา praziquantel หลังจากนั้นจึงได้รับ challenge infection ด้วย 40 metacercariae

Dose of infection	Duration of monthly infection before challenge (month)		
	1	3	6
	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD
	(n)	(n)	(n)
0	4672.5 $\pm$ 4697 (n = 20)	3786.6 $\pm$ 1745 (n = 3)	4228 $\pm$ 2882 (n = 11)
10	6675.4 $\pm$ 5370 (n = 13)	4147 $\pm$ 2552 (n = 14)	4131.3 $\pm$ 2959 (n = 13)
40	6888.7 $\pm$ 3228.4 (n = 10)	7721 $\pm$ 6550 (n = 9)	8549.8 $\pm$ 5870.1 (n = 9)

ขนาดของพยาธิ : ความยาวของลำตัวพยาธิใบไม้ตับมีส่วนสัมพันธ์กับเวลาในการติดเชื้อพยาธิอย่างมีนัยสำคัญ (ANOVA, $F = 11.6$, $P = 0$) ส่วน dose of infection ไม่มีผลอย่างชัดเจน ในกลุ่มควบคุมและกลุ่ม 10 metacercariae (ตารางที่ 6 ,7) จะเห็นว่ามีสัญญาณว่าขนาดของพยาธิจะลดลงเมื่อเวลาของการติดเชื้อพยาธิมากขึ้นในส่วนความกว้างของพยาธินั้น มีแนวโน้มว่าขนาดจะกว้างขึ้นตามเวลา และ dose of infection (ANOVA, $P < .05$)

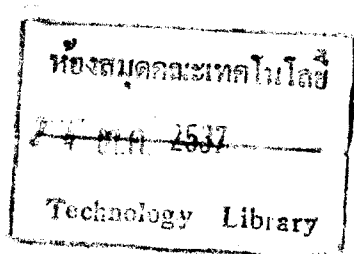
ตารางที่ 6 แสดงผลการวัดขนาดลำตัว (มม) ของพยาธิตัวแก่จากกลุ่มการทดลองต่างๆ

(6 ก : ความยาว)

Dose of infection	Experience of monthly infection before challenge		
	1	3	6
	mean $\pm$ s.d.	mean $\pm$ s.d.	mean $\pm$ s.d.
	(n)	(n)	(n)
0	3.58 $\pm$ 0.44 (20)	5.97 $\pm$ 0.67 (3)	5.94 $\pm$ 0.78 (11)
10	4.51 $\pm$ 1.47 (13)	5.37 $\pm$ 0.97 (14)	4.27 $\pm$ 0.37 (14)
40	5.00 $\pm$ 1.03 (10)	4.4 $\pm$ 0.78 (10)	4.85 $\pm$ 0.50 (10)

(6 ข : กว้าง)

Dose of infection	Experience of monthly infection before challenge		
	1	3	6
	mean $\pm$ s.d.	mean $\pm$ s.d.	mean $\pm$ s.d.
	(n)	(n)	(n)
0	1.43 $\pm$ 0.08 (20)	1.36 $\pm$ 0.13 (3)	1.53 $\pm$ 0.15 (11)
10	1.35 $\pm$ 0.08 (13)	1.36 $\pm$ 0.22 (14)	1.38 $\pm$ 0.13 (14)
40	1.47 $\pm$ 0.12 (10)	1.52 $\pm$ 0.18 (10)	1.73 $\pm$ 0.04 (10)



วิจารณ์

หอสมุดกลาง
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ทอ 02131

รูปแบบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของชุมชนมักจะพบว่า อัตราความชุกของพยาธิจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงอายุ 1-20 ปี หลังจากนั้นจะมีค่าค่อนข้างคงที่ เมื่ออายุมากกว่า 20 ปีขึ้นไป ส่วนความหนาแน่นของพยาธินั้นมักจะพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุจนกระทั่งอายุช่วงอายุเกิน 40 หรือ 50 ปี จะมีความหนาแน่นลดลงเล็กน้อย (Upatham et al, 1982, 1984). แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าวิธีการวัดความหนาแน่นของพยาธิเป็นการนับจำนวนไข่พยาธิในอุจจาระ ซึ่งมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง และอาจจะไม่สะท้อนถึงจำนวนพยาธิโดยตรง จากการศึกษา โดยการตรวจนับตัวพยาธิจากตับโดยตรงของ Sithithaworn et al (1991) และ Haswell-Elkins et al (1991) พบว่าความหนาแน่นของพยาธิมีแนวโน้มลดลงค่อนข้างชัดเจน เมื่ออายุเกิน 30-40 ปี การที่พยาธิมีจำนวนลดลงนั้นอาจเป็นผลมาจากการติดเชื้อของกลุ่มคนอายุดังกล่าวลดลงหรืออาจจะเป็นผลมาจากภูมิคุ้มกันของโฮสต์ที่ทำให้พยาธิติดได้น้อยลง หรืออาจจะมีผลต่อการออกไข่ของพยาธิ (Sirisinha et al, 1983) หรืออาจจะเป็นผลของทั้งสองสาเหตุรวมกันก็เป็นได้

เนื่องจากการศึกษาถึงความต้านทานต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในคนกระทำได้ลำบาก การศึกษาในสัตว์ทดลองจึงอาจจะให้คำตอบที่นำไปเป็นแนวทางในการคาดการณ์เหตุการณ์ที่จะเกิดขึ้นในคนได้ และเนื่องจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับของคนเป็นการติดเชื้อครั้งละน้อย ๆ ซ้ำ ๆ เป็นระยะเวลานาน ไม่ใช่เป็นการได้รับพยาธิมาครั้งเดียวเป็นจำนวนมาก ๆ ดังนั้นหัวใจสำคัญของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงใช้วิธีการให้ติดเชื้อพยาธิซ้ำเดือนละ 1 ครั้งเป็นเวลาตั้งแต่ 1 - 6 เดือนโดยใช้จำนวนพยาธิ 10 และ 40 metacercariae โดยมีกลุ่มที่ไม่ได้รับพยาธิเป็นกลุ่มควบคุม ส่วนการใช้ยา praziquantel ก็เป็น การกำจัดพยาธิที่เกิดจาก immunize ให้หมดไปทั้งนี้จะได้วัดความต้านทานที่เกิดขึ้นได้อย่างละเอียดถูกต้อง

ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าความต้านทานต่อการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับมีผลต่อการเจริญเติบโต มีชีวิตรอดของพยาธิที่เกิดจาก challenge infection เมื่อหนูได้รับพยาธิเดือนละครั้งเป็นเวลานาน 6 เดือน จำนวนไข่พยาธิปรากฏว่ามีผลของความต้านทานของโฮสต์ให้เห็นได้แม้ว่าจะไม่ชัดเจนมาก และความต้านทานดังกล่าวก็มีผลต่อขนาดของตัวพยาธิเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามมีข้อบ่งชี้บางประการที่แสดงว่าความต้านทานของโฮสต์อาจจะทำให้การปล่อยไข่ออกจากตัวพยาธิลดลง

ถ้าเคยได้รับพยาธิเป็นเวลานาน ซึ่งข้อสังเกตนี้คล้ายตามกับผลการศึกษาของ Flavell et al (1982) ที่รายงานไว้ว่า แอนติบอดีต่อพยาธิสามารถลดการออกไข่ของพยาธิในหลอดทดลองได้

ข้อพิจารณาอีกประการหนึ่งที่ควรคำนึงถึงก็คือ ความต้านทานของแฮมสเตอร์ที่ เกิดจากการติดเชื้อเดือนละครั้งนาน 1-6 ครั้งนั้น อาจจะมีผลอย่างอื่นที่ไม่ได้ตรวจวัดในการศึกษานี้ เช่น ระดับของแอนติบอดีต่อแอนติเจน ส่วนต่าง ๆ ของพยาธิ หรือภาวะภูมิคุ้มกันผ่านเซลล์อาจจะมีการเปลี่ยนแปลงไป ทำให้มีภูมิคุ้มกันผ่านเซลล์น้อยลง (Wongratanacheewin et al, 1987) ตลอดจนกระทั่งปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อรอบ ๆ ท่อน้ำดีที่พยาธิ อาศัยอยู่ อาจจะมีมากขึ้นก็เป็นไปได้ เพราะว่า พยาธิสภาพของท่อน้ำดีขึ้นอยู่กับภาวะภูมิคุ้มกันโฮสต์ (Flavell & Flavell, 1986).

ข้อปัญหาต่อไปที่น่าสนใจก็คือ ความต้านทานที่ตรวจพบในการศึกษานี้มีส่วนประกอบอะไรบ้าง และเป็นผลมาจาก specific acquired immunity หรืออาจจะเกิดจาก pathology ของ bile duct ทำให้สภาพของ bile duct ซึ่งเป็น habitat ของพยาธิใบไม้ตับเปลี่ยนแปลงไปเหมือนในกรณีของพยาธิ schistosome (Dean, 1983) หรือไม่ก็เป็นสิ่งที่น่าศึกษาต่อไป เพื่อความเข้าใจถึงต้นกำเนิดและที่มาของ acquired resistance ที่พบในการศึกษาค้างนี้