

บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

พยาธิใบไม้ (digeneatic trematode, fluke) จัดอยู่ใน phylum Platyhelminthes Class Trematoda Order Digenea ซึ่งเป็นอันดับที่สำคัญที่สุดที่เกี่ยวกับทางการแพทย์ ได้แก่ พยาธิใบไม้ชนิดต่างๆ (นิมิตร และเกตุรัตน์, 2539 ; Hickman *et al.*, 1982) พยาธิใบไม้ มีอวัยวะยึดเกาะติดกับโฮสต์สองอันคือ oral sucker และ ventral sucker หรือ acetabulum ระบบทางเดินอาหารยังไม่สมบูรณ์ ระบบการขับถ่ายของเสีย อาศัยการทำงานของ flame cell ไปรวมกันที่ excretory bladder และรูเปิดออกทางท้ายสุดของลำตัวเรียก excretory pore ตัวเต็มวัยของพยาธิใบไม้ส่วนใหญ่ เป็นพวก hermaphrodite มี testes 2 อัน และ ovary 1 อัน การปฏิสนธิเกิดขึ้นได้ภายในตัวเดียวกัน หรือเกิดจากพยาธิ 2 ตัว จับคู่กัน ส่วนของ cirrus อีกตัวหนึ่งจะฉีด sperm เข้าสู่ genital opening ของอีกตัวหนึ่ง ซึ่งพบได้แต่น้อยมาก (Smyth, 1976)

ไข่ของพยาธิใบไม้มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ ส่วนมากมีฝาปิดเปลือกไข่ (operculum) ภายในไข่ประกอบด้วยไข่แดง (yolk) พยาธิใบไม้จะปลดปล่อยไข่ออกมาทาง genital opening และไข่ส่วนมากจะปนออกมากับอุจจาระของโฮสต์ บางชนิดปนออกมากับเสมหะหรือปัสสาวะ ส่วนมากไข่ที่ออกมาจะมีตัวอ่อนภายในไข่ (embryonate egg) หลังจากไข่ลงไปในน้ำแล้วจะฟักออกเป็น miracidium มี ciliated plate ปกคลุมลำตัว ว่ายน้ำได้ ภายในตัวเต็มไปด้วย germ cells ซึ่งเจริญเป็นตัวอ่อนระยะต่อไป นอกจากนี้ miracidium ยังมี penetrate gland และ apical gland ทำหน้าที่สร้าง proteolytic enzyme และมีท่อเปิดออกทางด้านหน้าเพื่อช่วยให้ miracidium ไข่เข้าไปใน first intermediate host ซึ่งได้แก่พวกหอยฝาเดียว (Smyth, 1976) สิ่งที่ทำให้ miracidium ว่ายน้ำ เข้าไปหาหอยได้นั้น Smyth (1976) อ้างตาม Shiff (1969) ; MacInnis (1965); Etges and Decker (1963) ว่าเป็นผลมาจากการตอบสนองทางเคมีของเซลล์โฮสต์ (chemotaxis) Faust *et al.*, (1970) เชื่อว่า miracidium ถูกจับยึดโดยเมือก (mucous) หรือของเหลวที่หอยขับออกมา ต่อจากนั้น miracidium ก็จะใช้ผ่านเนื้อเยื่อนี้ๆ เช่น tentacle, head, foot, mantle หรือ pulmonary tissue หลังจากเข้าไปในเนื้อเยื่อของหอยแล้วก็จะสลัด ciliated plate ทิ้งไป จากนั้นก็จะเคลื่อนที่ไปยัง hepatopancreas หรือหลังจากที่ miracidium สลัด ciliated plate ทิ้งไปแล้ว ก็จะเคลื่อนที่ไปยัง alimentary tract แล้วไข่เข้าสู่เส้นเลือดที่ไปเลี้ยง hepatopancreas แล้วเข้าสู่ hepatopancreas ต่อไป (Cheng, 1964)

พยาธิใบไม้บางชนิด เช่น *Clonorchis* sp., *Metagonimus* sp. ที่หอยต้องกินไข่พยาธิจึงจะฟักออกเป็น miracidium ในลำไส้ (Faust *et al.*, 1970) แล้วไข่ไปยัง hepatopancreas แต่ hepatopancreas ไม่ใช่เป็นที่เจริญของ miracidium เสมอไป ยังมีที่อื่นๆอีก เช่น mantle, lymph space รอบๆลำไส้ gill chamber เป็นต้น ต่อจากนั้น miracidium จะยึดตัวออกเป็นถุงยาว เรียก ว่า sporocyst หรือในบางชนิดอาจจะเจริญเป็น redia ภายในตัวเต็มไปด้วย germ cells ซึ่งต่อมา

แบ่งตัวมากมายเป็น daughter sporocyst คล้ายกับ sporocyst อันเดิม หรือในบางชนิดเป็น redia ฤงยาวๆ ประกอบด้วย mouth, pharynx, intestine ซึ่งเป็นฤงเดี่ยวและมี germ cells ทำหน้าที่เจริญเป็นตัวอ่อนระยะต่อไปอีก แต่อย่างไรก็ตาม daughter sporocyst จะสร้าง cercaria เท่านั้น ส่วน redia จะสร้าง cercaria หรือ redia ระยะต่อไปอีกก็ได้ แต่ผลสุดท้ายสร้าง cercaria เหมือนกัน (Smyth, 1976) cercaria จะไม่มีการกินอาหาร แต่ต้องเข้าไปอาศัยใน second intermediate host ซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ปลาน้ำจืดชนิดต่างๆ ถ้าไม่พบ intermediate host ก็ตายในที่สุด และ cercaria จะมีชีวิตอยู่ในน้ำได้นานแค่ไหน ขึ้นอยู่กับปริมาณของ glycogen ที่มันสะสมเอาไว้ในตัวของมันเอง (Faust *et al.*, 1970)

หลังจาก cercaria ไซผ่านเข้าไปอยู่ในส่วนต่างๆ ของปลาแล้วจะสร้าง cyst wall จาก cystogenous glands ซึ่งกระจายอยู่บริเวณลำตัวในชั้น subcuticular zone (Cheng, 1964) หุ้มตัวมันเอง เรียกตัวอ่อนระยะนี้ว่า metacercaria ซึ่งบางชนิดก็มีความจำเพาะเจาะจงกับอวัยวะของปลาเช่นเดียวกันกับความจำเพาะเจาะจงกับชนิดของปลา บริเวณที่พบ metacercaria ได้แก่ ไตเกล็ด ผิวหนัง กล้ามเนื้อ ครีบ เหงือก ช่องปาก ตา สมอง ไขสันหลัง ไตตับ เยื่อหุ้มหัวใจ เยื่อช่องท้อง ช่องว่างในลำตัว เป็นต้น โดยทั่วไปแล้ว cyst ของ metacercaria ในปลา รูปร่างกลม รูปไข่ หรือยาวรี ส่วน cyst wall มีลักษณะโปร่งแสง แต่ที่มองเห็นหนาที่บนนั้นเนื่องจาก fibrous tissue ของโฮสต์ มาหุ้มเป็น capsule เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์สามารถมองเห็น metacercaria พร้อมทั้งรายละเอียดบางอย่างได้เช่น ผนังลำตัว oral sucker, ventral sucker, pharynx และ excretory bladder ซึ่งเป็นที่เก็บของเสียจาก flame cell ทั้งในรูปของเหลว และ corpuscles ซึ่งบางส่วนขับลงภายใน cyst นอกจากนี้ยังมองเห็นการวางตัวของ metacercaria ตลอดจนการเคลื่อนที่ภายใน cyst (Belding, 1965) cyst wall ที่พยาธิใบไม้สร้างขึ้นประกอบด้วยสารเคมีพวก คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน (Cheng, 1964) นอกจากนี้แล้ว ยังพบว่า cyst wall ของ *Posthodiplostomum minimum* ที่พบในปลาน้ำจืด ประกอบด้วย amino acids 16 ชนิด น้ำตาล 5 ชนิด (Cheng, 1964) (Lynch and Bogitsh, 1962) แต่จากการศึกษาของ Asanji and Williams (1973) เกี่ยวกับ cyst wall ของ *Posthodiplostomum* sp. พบว่ามี 3 ชั้น ชั้นนอกมีความหนามาก แต่ความหนาขึ้นอยู่กับ ความลึกของ cercaria ที่ไซเข้าไป ซึ่งชั้นนี้สร้างจากเนื้อเยื่อของปลา ประกอบด้วย โปรตีน DNA, RNA และ elastic fiber ชั้นกลางเป็นชั้นที่หนาที่สุด ประกอบด้วย mucoprotein, glycoprotein, neutral mucopolysaccharide, glycogen และ acid mucopolysaccharide ชั้นในเป็นชั้นที่บางที่สุดประกอบด้วย acid mucopolysaccharide, glycogen, elastic fiber, mucoprotein, glycoprotein และ mucopolysaccharide ดังนั้น metacercaria จึงเป็นตัวอ่อนที่เจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงต่อจาก cercaria โดยที่ส่วนหางหลุดหายไป พร้อมกับส่วนอื่นๆ ที่หายไปเช่น stylet, eye spot, penetrate gland, cystogenous gland, mucoid gland (Cheng, 1964) การ

เจริญเติบโตของ metacercaria ที่พบใน second intermediate host จำพวกปลาจะมีการเจริญ โดยได้รับอาหารจากการดูดซึมผ่าน cell wall (Belding, 1965)

การศึกษาพยาธิใบไม้ในประเทศไทยได้มีผู้สนใจศึกษากันมากเพราะเป็นปัญหาทาง สาธารณสุขที่สำคัญของประเทศ อันเนื่องมาจากการอุปโภคที่ไม่ถูกสุขอนามัย ในปี ค.ศ.1933 ประเทศไทยได้มีการศึกษาพยาธิใบไม้ในปลาเป็นครั้งแรก โดย Pearse (1933) ได้ทำการ สำรวจปลาน้ำจืด กุ้ง ปู ระหว่างวันที่ 14 พฤษภาคม - 18 มิถุนายน พ.ศ.2473 ใน เขตกรุงเทพมหานคร และปากน้ำเจ้าพระยา (สมุทรปราการ) พบพยาธิรวม 20 ชนิด หนึ่งในนี้ เป็นพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรียของ *Clinostomum piscidum* ซึ่งพบจากตับของปลาสร้อย (*Trichogaster pectoralis*) และจากตับปลากระดี่หม้อ (*Trichogaster trichopterus*) ต่อมาในปี พ.ศ.2504 จำลอง และคณะ (2504) ได้สำรวจหา metacercaria จากปลาในภาคตะวันออก เฉียงเหนือ ระหว่างปี พ.ศ.2500 ถึง พ.ศ.2503 พบเมตาเซอคาเรียของ *Opisthorchis viverrini* ที่พบว่าเป็นพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยในตับคน จากการสำรวจครั้งนี้ พบระยะ เมตาเซอคาเรียที่บริเวณเหงือก ลำตัว และครีบของปลาพวก Cyprinoides (ปลาแม่สะแต้ง ปลาตะเพียนขาว ปลาสวาย ปลากระสูบขีด และปลาวัว) พบเปอร์เซ็นต์การ infected ของ เมตาเซอคาเรียที่พบจากจังหวัดอุดรธานี สกลนคร นครพนม กาฬสินธุ์ มหาสารคาม และ ขอนแก่น เท่ากับ 38.1, 31.7, 56.7, 19.7, 60.4 และ 23.6% ตามลำดับ ต่อมา สุวณีย์ (2512) ได้ทำการสำรวจพยาธิในลำไส้และกระเพาะของปลาน้ำจืดที่ใช้เป็นอาหารทั่วไป ตาม ท้องตลาดในกรุงเทพมหานคร จำนวน 256 ตัว พบพยาธิใบไม้ 3 ชนิด ได้แก่ *Protocladorchis* n.sp. พบในลำไส้ใหญ่ของปลาสังกะวาด *Gauhatiiana batrachii* พบในลำไส้ของปลาดุกค้ำ และปลาดุกอูย และพยาธิใบไม้ที่เป็น genus ใหม่ และตั้งให้เป็นชนิดใหม่ที่พบในลำไส้ของปลา แดง (*Kryptopterus apogen* Bleeker) นอกจากนี้ยังพบพยาธิตัวติด 1 ชนิด พยาธิตัวกลม 7 ชนิด และพยาธิหัวหนาม 4 ชนิด รวม 15 ชนิดซึ่งเป็นชนิดใหม่ ที่ไม่เคยมีผู้ใดรายงานมาก่อน 9 ชนิด จนกระทั่ง ประไพศิริ (2520) ได้ทำการศึกษาความชุกชุมของปรสิตในปลาหมอไทย จากแหล่งน้ำธรรมชาติ ในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา จำนวน 185 ตัว พบปรสิต 10 ชนิด ได้แก่ ไพรโตซัว 2 ชนิด พยาธิปลิงใส 3 ชนิด พยาธิตัวกลม 3 ชนิด พยาธิหัวหนาม 1 ชนิด copepod 1 ชนิด พยาธิใบไม้ 2 ชนิด เป็นตัวเต็มวัยที่ไม่ทราบชื่อ 1 ชนิด ที่พบในลำไส้และ metacercaria ของ *Nanophyetus* sp. ที่พบอยู่ในช่องท้อง ตับ และฝังอยู่ในผนังกระเพาะด้าน นอก และในปีเดียวกันนี้ วันทนา และอุดม (2520) ได้ทำการรวบรวมปรสิตจากปลาน้ำจืด และปลาน้ำเค็ม ที่นำมาขายในเขตกรุงเทพมหานคร และจังหวัดใกล้เคียง พบปรสิตทั้งหมด 89 ชนิด เป็นปรสิตที่พบในปลาน้ำจืด 34 ชนิด และในปลาทะเล 55 ชนิด จัดจำแนกเป็น 6 ไฟลัม ได้แก่ Protozoa 5 ชนิด Platyhelminthes 16 ชนิด Acanthocephala 11 ชนิด Nematoda 15 ชนิด Annelida 2 ชนิด และ Arthropoda 40 ชนิด ต่อมา พิณทิพย์ (2521) ได้ศึกษาชนิดของ

หนอนพยาธิในทางเดินอาหารของปลาน้ำจืด 20 ชนิด จำนวน 300 ตัว ที่บริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ พบพยาธิทั้งหมด 7 สกุล 12 ชนิด เป็นพยาธิตัวกลม 9 ชนิด พยาธิหัวหนาม 1 ชนิด พยาธิตัวตืด 1 ชนิด และพยาธิใบไม้ 1 ชนิดคือ *Allocreadium laymani* พบในลำไส้ปลาหมอช้างเหยียบ หลังจากนั้น มะลิวัลย์ (2524) ทำการสำรวจพยาธิในปลาบู่ทราย ในอ่างเก็บน้ำเขื่อนอุบลรัตน์ จำนวน 236 ตัว พบพยาธิทั้งหมด 8 ชนิด เป็นพยาธิภายนอก 5 ชนิดและพยาธิภายในอีก 3 ชนิด ซึ่งไม่พบพยาธิใบไม้เลย

ประไพศิริ (2526a) ได้ทำการศึกษาฤดูแพร่พันธุ์ของปรสิตในทางเดินอาหารของปลาช่อน จำนวน 240 ตัว จากแหล่งน้ำธรรมชาติ ลำน้ำแม่ลาการ้อง จังหวัดสิงห์บุรี พบปรสิต 4 ชนิด ได้แก่ พยาธิตัวตืด 1 ชนิด พยาธิหัวหนาม 1 ชนิด และพยาธิตัวกลมอีก 2 ชนิด ซึ่งไม่พบพยาธิใบไม้เลย ต่อมา การิมา (2526) ได้ทำการศึกษาหนอนพยาธิในปลากระดี่หม้อ (*Trichogaster trichopterus*) จากแหล่งน้ำธรรมชาติในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา จำนวน 200 ตัว พบในปลา 180 ตัว ที่มีพยาธิ ทั้งหมด 14 สกุล 17 ชนิด แยกเป็นพยาธิตัวตืด 2 ชนิด พยาธิหัวหนาม 1 ชนิด พยาธิตัวกลม 9 ชนิด และพยาธิใบไม้ 5 ชนิด มีระยะตัวเต็มวัย ที่พบ 3 ชนิด ได้แก่ *Deropagus* sp. พบที่หลอดอาหาร *Allocreadium* sp. พบที่ลำไส้ และ *Clinostomum philippinensis* พบที่ช่องท้อง ส่วนระยะเมตาเซอคาเรีย พบ 2 ชนิด ได้แก่ *Nanophyetus* sp. พบที่กล้ามเนื้อ และ *Posthodiplostomum larai* พบที่กล้ามเนื้อ ครีบ และเหงือก และในปีเดียวกันนี้ กมลพร และสุปราณี (2526) ได้ทำการรวบรวมรายชื่อชนิดของปรสิตในปลาน้ำจืดของไทย จากแหล่งน้ำธรรมชาติและบ่อเลี้ยงปลาในประเทศไทย พบพยาธิตัวกลม 2 ชนิด พยาธิหัวหนาม 2 ชนิด พยาธิตัวตืด 1 ชนิด และพยาธิใบไม้ 2 ชนิด ได้แก่ *Helostomatis* sp. และ *Pleurogenoides* sp. นอกจากนั้นแล้ว ในปีนี้ยังมี ประไพศิริ (2526) ได้รายงานการสำรวจพบพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัยของ *Transversotrema* sp. เป็นครั้งแรก ซึ่งพบตามเมือกบนลำตัวปลานิล ที่ได้จากบ่อเลี้ยงปลาในเขตดุสิต กรุงเทพฯ เมื่อปี 2525 พบเพียง 2 ตัว เท่านั้น สุปราณี (2526) ได้ทำการศึกษา digenetic trematodes ในปลาน้ำจืดบางชนิด ในลำน้ำแม่กลองช่วงเหนือเขื่อนวชิราลงกรณ์ จังหวัดกาญจนบุรี จำนวน 216 ตัว จากปลา 7 ชนิด พบพยาธิใบไม้ทั้งหมด 5 ชนิดคือ *Helostomatis* sp. พบในลำไส้เล็กของปลาช้ำ, ปลาสร้อยนกเขา และปลาพรม *Allocreadium* sp. พบที่บริเวณลำไส้เล็กของปลาตะพาก *Macrotrema* sp. พบที่ลำไส้ของปลากระสูบ *Carassotrema* sp. พบจากลำไส้ของปลาแปบ และปลาตะเพียนขาว และ *Asymphyiodora* sp. พบที่ลำไส้ของปลาสร้อยนกเขา หลังจากนั้น ปัทมา (2528) ได้ทำการสำรวจชนิดของหนอนพยาธิในทางเดินอาหารของปลาบางชนิด จำนวน 300 ตัว จากปลา 13 ชนิด จากอ่างเก็บน้ำมาบประชัน จังหวัดชลบุรี พบหนอนพยาธิทั้งหมด 16 ชนิด ได้แก่พยาธิตัวตืด 3 ชนิด พยาธิหัวหนาม 1 ชนิด พยาธิตัวกลม 10 ชนิด และพยาธิใบไม้ 2 ชนิดคือ *Allocreadium* sp. และ *Clinostomum philippinensis* พิสุทธิ

(2530) ได้ทำการศึกษาหอนพยาธิในปลาดุกด้าน และปลาดุกอูย ชนิดละ 240 ตัว จากแหล่งน้ำธรรมชาติ อำเภอรัญบุรี จังหวัดปทุมธานี พบหอนพยาธิ 14 ชนิด ได้แก่ พยาธิตัวติด 5 ชนิด พยาธิตัวกลม 5 ชนิด พยาธิหัวหนาม 1 ชนิด และพยาธิใบไม้ 3 ชนิด คือ *Gauhatiana batrachii*, *Clinostomum complanatum* และ *Nanophyetus* sp.

ต่อมาประไพศิริ (2531) ได้ทำการสำรวจปรสิตจากปลา 5 ชนิด จำนวน 142 ตัว ในบึงมักกะสัน กรุงเทพฯ พบปรสิต 7 ชนิด ได้แก่ พยาธิตัวกลม 3 ชนิด พยาธิหัวหนาม 1 ชนิด พยาธิตัวติด 1 ชนิด และพยาธิใบไม้ 2 ชนิดคือ *Nanophyetus* sp. เป็นตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรีย ที่พบในช่องท้อง และฝังอยู่ในตับของปลากะตักหม้อ และอีกชนิดหนึ่งคือระยะเมตาเซอคาเรียของ *Clinostomum philippinensis* ที่พบในช่องท้องของปลากะตักหม้อ และปลาสลิด ต่อมาประไพศิริ (2534) ยังได้ศึกษาพยาธิในปลาสลิด จากแหล่งน้ำธรรมชาติในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา จำนวน 120 ตัว พบว่ามีพยาธิในปลา 72 ตัว คิดเป็นร้อยละ 60% ของพยาธิที่พบ 4 ชนิด ได้แก่ พยาธิปลิงใส, พยาธิตัวกลม, พยาธิหัวหนาม และ copepod

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการกระจายของพยาธิใบไม้ที่ได้มีการศึกษาในแต่ละแหล่งในแต่ละชนิดของปลา พบว่ามีการกระจายของพยาธิที่ไม่เหมือนกัน ดังเช่น ในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดใกล้เคียง ก็มีรายงานการศึกษาหอนพยาธิในปลาและสัตว์น้ำด้วยเช่นกัน ตั้งแต่ปี ค.ศ .1971 Sujjanun and Thitasut (1971) ได้สำรวจพบพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรีย ของ *Opisthorchis* spp. ที่บริเวณควีน เกล็ด และกล่อมเนื้อของปลาตะเพียนทราย ปลาแก้มขี้ และปลาชิว จากอำเภอสาร์ภี และอำเภอสันกำแพง และต่อมา Ratanasritong and Kliks (1972) ได้ทำการสำรวจหอนพยาธิในปลาน้ำจืดจากลำน้ำปิง ที่อำเภอมองทอง และสถานีประมงน้ำจืด อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ จากปลาจำนวน 95 ตัว พบพยาธิ 12 ชนิด คือ พยาธิตัวกลม 4 ชนิด พยาธิตัวติด 3 ชนิด พยาธิหัวหนาม 2 ชนิด และพยาธิใบไม้ 3 ชนิดคือ *Acanthostomatid* sp. พบจากลำไส้ของปลาดุกด้าน *Oreintocreadium* sp. พบจากลำไส้ของปลาดุกอูย ปลาดุกด้าน และปลาหมอไทย ส่วนอีกชนิดหนึ่งนั้นเป็นพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรียของ *Opisthorchis viverrini* พบได้เกล็ด กล้ามเนื้อ ของปลาตะเพียนขาว ต่อมา Kliks and Tantachamrun (1974) ได้ทำการสำรวจในจังหวัดเชียงใหม่ พบพยาธิใบไม้ระยะ metacercaria ของ *Stellantchasmus falcatus* จากครีบน้ำเข็ม (*Dermogenys pusillus*) และสามารถเจริญเติบโตเป็น adult ในลำไส้เล็กของแมวได้ นอกจากนี้ยังพบ metacercaria ของ *Haplorchis yokogawai* และ *Haplorchis taichui* ที่ครีบน้ำเข็มและกล้ามเนื้อของปลาแก้มขี้ ปลาตะเพียนขาว และปลาตะเพียนทราย และยังพบตัวเต็มวัยของทั้งสองชนิดนี้ในลำไส้ของแมวและคนด้วย จนกระทั่ง พรพิมล (2522) ได้ศึกษาหอนพยาธิจากทางเดินอาหารของปลา 7 ชนิด ได้แก่ ปลาดุกอูย ปลาช่อน ปลากะตักหม้อ ปลานิล ปลาหมอไทย ปลาสวาย และปลาไน รวม 200 ตัว จากบางท้องที่ในจังหวัดเชียงใหม่ พบพยาธิรวมทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ พยาธิตัวติด

2 ชนิด พยาธิหัวหนาม 1 ชนิด พยาธิตัวกลม 7 ชนิด และพยาธิใบไม้ 2 ชนิด คือ *Allocreadium mazoensis* และ *Allocreadium* sp. และในปีเดียวกันนี้ วิรัช (2522) ได้ทำการสำรวจหาเมตาเซอคาเรียในปลาน้ำจืด 5 ชนิด จำนวน 150 ตัว จากบางท้องที่ของอำเภอเมือง อำเภอหางดง และอำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ และอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรีย 10 ชนิด ในปลา 140 ตัว ประกอบด้วย *Acanthostomum* sp., *Centrocestus* sp., *Euchinostomum* sp., *Haplorchis* sp. I & II, *Haplorchoides* sp., *Opisthochis* sp., *Posthodiplostomum* sp. และตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรียของ amphistome และ distome ที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ นอกจากนี้แล้ว กุณศรี (2525) ได้ทำการสำรวจหนอนพยาธิภายนอกของปลาน้ำจืด 5 ชนิด จำนวน 156 ตัว จากอำเภอเมือง อำเภอสันทราย อำเภอสันป่าตอง และอำเภอดอยสะเก็ด ของจังหวัดเชียงใหม่ พบโมโนจีเนีย ทั้งหมด 4 ชนิด ซึ่งไม่พบพยาธิใบไม้ที่เป็นปรสิตภายใน จนกระทั่ง ดวงสมร (2529) ได้ศึกษาหนอนพยาธิในปลาหลุดจากบางท้องที่ของอำเภอเมือง อำเภอหางดง อำเภอจอมทอง และอำเภอดอยสะเก็ด พบพยาธิใบไม้ 4 ชนิด คือ *Allocreadium* sp., เมตาเซอคาเรียของ *Centrocestus* sp., *Isoparorchis pseudobagri* และตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรียที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ และยังพบพยาธิตัวกลมอีก 1 ชนิด การกระจายตัวของหนอนพยาธิในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดใกล้เคียง ตั้งแต่นั้นมาก็ได้มี สุจินา (2538) ทำการสำรวจหนอนพยาธิในทางเดินอาหารของปลาบางชนิดในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวง จังหวัดเชียงใหม่ พบหนอนพยาธิทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ พยาธิตัวดีด 1 ชนิด พยาธิตัวกลม 2 ชนิด พยาธิหัวหนาม 2 ชนิด และพยาธิใบไม้ 1 ชนิดคือ *Haplorchoides* sp. ซึ่งพบในกระเพาะอาหารของปลากดเหลือง นอกจากนี้แล้วยังมี Wongsawad et al., (1995) ได้นำตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรียจากปลาเข้ไปป้อนให้กับหนูขาวใหญ่ (*Rattus norvegicus*) แล้วผ่าตัดเปิดลำไส้ในวันที่ 7 หลังการป้อนพยาธิ แล้วนำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาดเพื่อศึกษาพื้นผิว (tegumental surface) พบว่าเป็นพยาธิใบไม้ *Stellantchasmus* sp. ที่มีรายงานการติดต่อถึงคนได้ โดยพบว่าเป็นพยาธิใบไม้ขนาดเล็ก ที่พบในลำไส้ของคน แมว หนู สุนัข และนก (Pearson, 1964 ; Kliks and Tantachamrun, 1974 ; Tantachamrun and Kliks, 1978 ; Pearson and Ow-Yang, 1982) ต่อมาเมื่อ Wongsawad et al., (1996) ได้ทำการสำรวจตัวอ่อนพยาธิใบไม้จากคูเมืองเชียงใหม่ระยะเวลา 1 ปี พบตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรียของพยาธิใบไม้ที่ติดต่อถึงคนได้ 2 ชนิดคือ *Haplorchis* sp. จากเกล็ดปลาตะเพียนขาว ด้วยค่า prevalence 100% และพบเมตาเซอคาเรียของ *Stellantchasmus* sp. จากปลาเข้ มีค่า prevalence เท่ากับ 88.04% จากนั้นชโลบลและคณะ (2539a) ยังได้ศึกษาการกระจายตัวของตัวอ่อนพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรียในปลาและสัตว์น้ำ ในเขตอำเภอเมือง อำเภอสันทราย อำเภอสันกำแพง อำเภอดอยสะเก็ด และอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอเมือง อำเภอป่าซาง

อำเภอบ้านไธสง และอำเภอสหัสขันธ์ จังหวัดลพบุรี พบตัวอ่อนระยะเมตาเซอคาเรียทั้งหมด 12 ชนิดคือ *Acanthostomum* sp., *Centrocestus* sp., *Echinostoma* sp., *Haplorchis* sp., *Haplorchoides* sp., *Microphalloides* sp., *Opisthorchis* sp., *Posthodiplostomum* sp., *Stellantchasmus* sp. เมตาเซอคาเรียของ family *Allocreadiidae* 1 ชนิด และเมตาเซอคาเรียที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ 1 ชนิด และในปีเดียวกันนี้ ชโลบล และคณะ (2539b) ได้ทำการสำรวจหนอนพยาธิในปลาและสัตว์น้ำอื่น และคุณภาพน้ำบริเวณเขื่อนภูมิพล อำเภอสามเงา จังหวัดตาก พบว่ามีเฉพาะปลาเท่านั้นที่ตรวจพบหนอนพยาธิ ซึ่งแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ใหญ่ๆคือ กลุ่มพยาธิตัวกลม พบ 4 ชนิด กลุ่มพยาธิหัวหนามพบ 4 ชนิด และกลุ่มพยาธิตัวแบนพบทั้งหมด 12 ชนิด แบ่งเป็นพวกโมโนจีเนีย 3 ชนิด พยาธิตัวติด 2 ชนิด และพยาธิใบไม้ 7 ชนิด แบ่งเป็นพยาธิใบไม้ระยะตัวเต็มวัย ได้แก่ *Allocreadium* sp., *Bucephaloides* sp. และไม้ทราบชนิด (Unknown species) 1 ชนิด และพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรีย ได้แก่ *Haplorchis* sp., *Haplorchoides* sp., *Phyllodistomum* sp. และ *Stellantchasmus* sp. สำหรับคุณภาพน้ำทางกายภาพของเขื่อนภูมิพลอยู่ในเกณฑ์ที่ดี มี pH อยู่ระหว่าง 6.45-7.80 ค่าการนำไฟฟ้าอยู่ระหว่าง 0.16-0.33 mS/cm และค่า DO มีค่าอยู่ระหว่าง 3.2-6.8 mg/l

ส่วนการศึกษาพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดในต่างประเทศนั้นมีแพร่หลายกว้างขวาง ซึ่งผู้เขียนได้ศึกษาและค้นคว้าหาข้อมูลที่เกี่ยวข้อง และใช้เป็นเอกสารเปรียบเทียบและประกอบกับการศึกษาในครั้งนี้ดังต่อไปนี้

ในปี 1925 Ozaki ได้ทำการศึกษาพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืด และได้ตั้งให้เป็นจิ้นัสและสปีชีส์ใหม่เป็น *Genarchopsis goppo* ซึ่งตรวจพบในลำไส้ของปลา *Mogurnda obscura* ซึ่งภาษาญี่ปุ่นเรียกว่า *goppo* ซึ่งพบจากลำน้ำใกล้ๆกับตำบล Saijo เมือง Hiroshima ซึ่งพยาธิใบไม้ชนิดนี้ได้ถูกรวบรวมไว้ใน *Systema Helminthum* (Vol. I) โดย Yamaguti (1958) นอกจากนี้แล้ว Chen (1949) ได้ทำการศึกษาพยาธิใบไม้ในกลุ่ม *Heterophyid* ได้แบ่งทั้ง 3 จิ้นัสที่มีอยู่แบ่งออกเป็น 2 subfamily ได้แก่ subfamily *Haplorchinae* ประกอบด้วยจิ้นัส *Haplorchis* (Looss) ซึ่งมีลักษณะสำคัญคือ prepharynx สั้น esophagus ยาว ผนังของ seminal vesicle บาง และตำแหน่งที่ตั้งของ testis และ vitellaria จะอยู่ทางส่วนท้ายของลำตัวมากกว่าที่จะอยู่ทางส่วนหน้าของร่างกาย จิ้นัสที่ 2 คือ *Haplorchoides* ซึ่งเป็นจิ้นัสใหม่ มีลักษณะที่แตกต่างจากจิ้นัส *Haplorchis* คือมี prepharynx ยาว esophagus สั้น และตำแหน่งของ testis และ vitellaria จะตั้งอยู่ทางส่วนหน้าของร่างกายมากกว่าส่วนท้ายของลำตัว ซึ่งเขาได้แนะนำว่าลักษณะนี้ขึ้นอยู่กับแต่ละชนิด ควรจะได้รับการนำมาตรวจสอบใหม่ และอีกหนึ่งจิ้นัสคือ *Procerovum* จัดอยู่ใน subfamily *stellantchasmae* มีลักษณะเด่นคือ มีผนังของ chitinous หนา ซึ่งตั้งอยู่ส่วนปลายของ seminal vesicle

Peters (1957) ได้ทำการศึกษาพยาธิใบไม้ที่พบจาก Water beetles ซึ่งเป็นชนิดใหม่ของ genus *Allocreadium* มีชื่อว่า *A. neotenicum* ซึ่งพบจาก ทะเลสาบ Douglas ประเทศ Michigan ในปี 1958 Thomas ได้ทำการศึกษาพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืดจากแม่น้ำ Black Volta และแม่น้ำ Birim จาก West African พบ *Emoleptalea proteropora*, n. sp., *Phyllodistomum symmetrorchis*, n. sp., และ *P. ghanense* n. sp. ต่อมาในปี 1958 ได้มี Velasquez (1958) ได้ พบพยาธิใบไม้ภายนอกโฮสต์ (ectoparasitie) ที่พบบริเวณใต้เกล็ดของปลากระพงขาว (*Lates calcarifer*) ซึ่งเป็นปลาน้ำกร่อยที่เลี้ยงในบ่อ จากเมืองมะนิลา ประเทศฟิลิปปินส์ มีชื่อว่า *Transversotrema laruei* n. sp. และต่อมา Velasquez (1961) ได้ทำการศึกษาดังวงจรชีวิตของชนิดใหม่นี้

พบว่าก่อนระยะเมตาเซอคาเรียของ *T. laruei* จะมีการเจริญในระบบทางเดินอาหารของ หอยน้ำกร่อย (*Thiara riquettii*) โดย cercaria จะมีการพัฒนามาจาก radia และภายใน radia จะมีการแบ่งเซลล์และเจริญไปเป็น cercaria แบบ furcocercous และมีการเจริญไปเป็น metacercaria ในปลา *Lates calcarifer* และ *Mollicnesia latipinna*

ในปี 1962 Beverley-Burton ได้ทำการศึกษาพยาธิใบไม้บางชนิดจากปลาตระกูลปลา ดุก (*Clarias* spp.) จาก Mazoe และ Gatooma, Rhodesia พบ *Allocreadium mazoensis* n. sp. และ *Eumaseria bangweulensis* n. sp. สำหรับ Colley and Olson (1963) ได้ทำการศึกษาพบเมตาเซอคาเรียของ *Posthodiplostomum minimum* ที่มีการ infected ในตับ ไต หัวใจ และม้าม ในปลา bluegills (*Lepomis macrochirus*) จากบ่อน้ำพัก Lower Otay เมือง San Diego รัฐ California และในปีเดียวกันนี้ Fischthal and Kuntz (1963) ได้ทำการรวบรวมรายละเอียดของพยาธิใบไม้ที่พบในปลาของประเทศอียิปต์ พบ 9 ชนิด ที่มีรายละเอียดบ้างแล้ว ก่อนหน้านี้มี 6 ชนิดที่ Looss ได้ให้รายละเอียดไว้ ระหว่างปี 1896-1902 ได้แก่ *Acanthostomum spiniceps*, *A. absconditum*, *Haplospilachnus pachysomus*, *Saccocoelium obesum*, *Astiotrema impletum* และ *Haplorchoides cahirinus* และมี 3 ชนิดที่ให้รายละเอียด โดย Chen, 1949 ได้แก่ *Nicolla gallica*, *Nematobothrium labeonis* และ *Deropristis inflata* นอกจากนี้แล้ว Gupta (1963) ก็ได้รายงานว่ามีพยาธิใบไม้ชนิดใหม่ 2 ชนิด จากปลาปลาน้ำจืดเมือง Banaras ประเทศอินเดีย ได้แก่ *Eucreadium cameroni* n. sp. ที่พบจากปลา *Chela gora* และ *Allocreadium makundi* n. sp. ที่พบจากปลา *Barbus sarana* ซึ่งรายละเอียดของจีโนมนี้ได้ให้รายละเอียดไว้โดย Looss, 1900 และในขณะนั้น Manter (1963) ได้ทำการศึกษาดังพยาธิใบไม้ในปลาของเมือง Fiji ส่วนที่ II ได้แก่ Family Lepocreadiidae : *Lepocreadium exiguum* n. sp. *Multitestis pyriformis* n. sp. *Guggenheimia thumi* n. sp. *Lobabtrema aniforum* n. sp. *Sphincterostoma* sp. ; Opistholebetidae : *Heterolebes maculosus*, *Opistholebes elongatus* ; Opecoelidae : *Hamacreadium mutabile*, *Plagioporus parvus* n.

sp. *P. longicirratu* n. sp. *Cainocreadium serrani*, *Opecoelus mutu*, *O. rhadinotus* n. sp. *Podocotyle parupenei* n. sp. *P. plectropomi* n. sp. ทั้งหมดที่กล่าวมาทั้งหมดนี้เป็นชนิดที่เคยมีมาก่อนแล้ว และเป็นชนิดที่พบในโฮสต์และสถานที่ใหม่ ในปี 1964 Crusz et al. (1964) ได้ศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างและวงจรชีวิตพยาธิใบไม้ตัวเต็มวัยของ *Transversotrema patialense* Soparkar, 1924 ซึ่งพบได้เกล็ด ของปลาน้ำจืด *Ophicephalus punctatus* และ *Macropodus cupanus* ที่จับได้จาก Batalogoda, Ceylon และในปีนี้ Pearson (1964) ได้ทำการแก้ไขปรับปรุงใหม่ของพยาธิใบไม้ใน family Heterophyidae ที่อยู่ใน subfamily Haplorchinae ที่เคยให้รายละเอียดไว้โดย Looss เมื่อปี 1899

Rao and Ganapati (1967) ได้ทำการศึกษาระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของพยาธิใบไม้ *Transversotrema patialensis* (Soparkar, 1924) จากประเทศอินเดีย พบ *Cercaria patialensis* จากหอย *melanoides tuberculatus* และพบตัวเต็มวัยในปลาน้ำจืด (*Panchax panchax* และ *Esomus danricus* และยังได้ให้ข้อเสนอแนะว่าอาจจะไม่มีระยะ metacercaria และต่อมา Angel (1969) ได้รายงานการตรวจพบ *Prototransversotrema steeri* gen. nov., sp. nov. จากปลาทางตอนใต้ของประเทศออสเตรเลีย โดยได้พบจากชอกเกล็ดจากปลา mullet, *Aldrichetta forsteri* ซึ่งเป็นปลาน้ำกร่อยที่ทนความเค็มได้ในช่วงกว้าง พยาธิชนิดนี้จะต่างจากชนิดอื่นๆใน family Transversotrematidae ก็มีส่วนของ mouth อยู่ภายใน oral sucker ซึ่งขนาดของ oral sucker ใกล้เคียงกับ pharynx

Bashirullah and Islam. (1970) ได้ทำการศึกษาพบพยาธิใบไม้ชนิดใหม่ในกลุ่ม Phyllodistome จากถุงลมของปลาน้ำจืด siluroid (*Rita rita*) จาก Sunamganj เมือง Sylhet และในปีเดียวกันนี้ Manter (1970) ได้รายงานว่าพบพยาธิใบไม้ *Transversotrema licinum* n. sp. ซึ่งพบจากได้เกล็ดปลา *Scorpius* sp. และปลา *Microcanthus strigatus* จากทะเล Moreton Bay, Queensland ประเทศ Australia ต่อมาในปี 1972 Fischthal and Thomas ได้ทำการศึกษาพยาธิใบไม้ในปลาจาก Volta river เมือง Akosombo ในเดือนพฤษภาคม 1964 พบเมตาเซอคาเรีย *Nephrocephalus bagri-incapaulatus* และตัวเต็มวัย *Phyllodistomum symmetrorchis*, *Opisthorchis piscicola*, *Allocreadium ghanensis* n. sp. *Eumaseia ghanensis*, *E. proteropora*, *Siphodera ghanensis*, *Sterrhurus musculus*, *Tubulovesicula lindbergi*, *Brevicaecum niloticum* และ *Sandonia sudanensis* และในปีเดียวกันนี้ Wanson and Larson (1972) ได้ทำการศึกษาวงชีวิตของ *Phyllodistomum nocumis* จาก Inkster river เมือง North Dakota

Pandey (1973) ได้ทำการศึกษารวบรวมปรสิตที่เป็นพยาธิใบไม้ที่ทราบและยังไม่ทราบจากปลา สัตว์สะเทินบกสะเทินน้ำ และสัตว์เลื้อยคลานจาก Nainital, Lucknow, Azamgarh และ Ballia ประเทศอินเดีย หนึ่งในจำนวนนั้นคือ *Genarchopsis goppo* ที่พบในลำไส้ของปลาช่อน (*Channa striatus*)

Asanji and Williams (1973) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างทาง histochemistry ของพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรียบางชนิด ซึ่งพบว่าจำนวนชั้นของ cyst wall ขึ้นอยู่กับชนิดของพยาธิและพวกที่สร้าง cyst ที่อื่น เช่น ที่พืชน้ำจะมีจำนวนชั้นของ cyst wall มากกว่าพวกที่สร้าง cyst ในเนื้อเยื่อของโฮสต์ ส่วนความหนาของ cyst ขึ้นอยู่กับตำแหน่งของ cyst ที่อวัยวะต่างๆ เช่น cyst ของ *Clinostomum tilapiae* บริเวณผิวหนังจะมี cyst wall หนากว่าที่เหงือก ส่วนความหนาของ capsule ที่โฮสต์สร้างขึ้นอยู่กับความลึกของ cercaria ที่ไชเข้าไปในเนื้อเยื่อของปลา และต่อมาในปี 1974 เขาทั้งสองได้ทำการทดลอง excysted metacercaria ในทางเดินอาหารของนกนางนวลสามารถ excysted ได้ถึงแม้ว่าไม่ได้เป็น definitive host แต่จะ excysted ในส่วนใดของทางเดินอาหารก็ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของ cyst เช่น excysted ในส่วนใดของทางเดินอาหารก็ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของ cyst เช่น metacercaria ของ *Posthodiplostomum* sp. และ *Posthodiplostomoides leonensis* ทั้งชั้นนอกและชั้นกลางของ cyst จะถูกย่อยโดยน้ำย่อย pepsin ในกระเพาะ ส่วน cyst ชั้นในจะไม่ถูกย่อย แต่จะแตกออกโดยตัวของมันเอง ที่ลำไส้ของส่วน duodenum เป็นส่วนใหญ่ สำหรับ *Posthodiplostomum nanum* และ *Clinostomum tilapiae* ซึ่งมีผนังชั้นเดียวเป็นพวกโปรตีน ซึ่งจะถูกย่อยโดยน้ำย่อย pepsin และต่อมา cyst ก็เคลื่อนลงสู่ duodenum และในปีเดียวกันนี้ Mitchell (1974) ได้ศึกษาโครงสร้าง cyst เมตาเซอคาเรียของ *Posthodiplostomum minimum* ที่พบจากตับปลา sunfish (*Lepomis* sp.) จาก Ohio, USA พบว่ามีผนัง 2 ชั้น คือชั้นนอก ประกอบด้วย endothelial cell เรียงกันหลายชั้น ซึ่งชั้นนี้ถูกสร้างขึ้นโดยโฮสต์ และอีกชั้นนั้นเป็นชั้นใน ซึ่งจะเป็นชั้นที่พยาธิสร้างขึ้นมาเป็นพวก non-cellular มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ผนังด้านในสุดมี membrane-bound vesicle ติดอยู่ ซึ่งคล้ายกับ vesicle ที่ผนังลำตัวของเมตาเซอคาเรีย สร้างขึ้นกันระหว่างผนังชั้นนอกและชั้นใน เรียกว่า interface zone นอกจากนี้ยังมี fibrous capsule ที่ถูกหุ้มด้วย fibroblast อีกชั้นหนึ่ง และระหว่างเซลล์ยังมี collagen แทรกอยู่ด้วย

Saoud et al., (1974) ได้ทำการศึกษาพบพยาธิใบไม้ *Allocreadium sudanensis* n. sp. จากปลาน้ำจืด ในกลุ่ม cyprinid (*Barbus bynni*) จาก White Nile ประเทศ Sudan และในปีเดียวกันนี้ Schell (1974) ได้พบพยาธิใบไม้ในกลุ่ม *Allocreadiid* ได้จัดตั้งเป็น 2 new genera และ 3 new species ได้แก่ *Pseudurochis catostomi* n. sp. *Nezpercella* gen. et n. sp. และ *Multivitellina idahoensis* gen. et n. sp. จากปลาน้ำจืด ที่รวบรวมจาก Idaho ทั้ง 2 จินัสใหม่นี้ ได้จัดให้อยู่ใน subfamily Urochiinae ของ family Allocreadiidae และต่อมา Schell (1975) ได้

ทำการศึกษาวงชีวิตของ *Plagioporus shawi* ที่เป็นพยาธิใบไม้ในลำไส้ของปลาแซลมอน (*Salmonid fishes*)

Moravec (1976) ได้ทำการรายงานใหม่ของพยาธิใบไม้ในกลุ่ม *Acanthostomatid* 2 ชนิดคือ *Acanthostomum spiniceps* และ *A. absconditum* ที่พบจากปลา *Bagrus bayad* และ *B. docmac* จากประเทศอียิปต์ และในปีเดียวกันนี้ Pande and Shukla (1976) ได้รายงานว่า พบ metacecaria ของ *Haplorchoides* Chen, 1949 ที่เป็นชนิดใหม่ 2 ชนิดได้แก่ *H. pearsoni* และ *H. mehria* ที่พบตัวเต็มวัยจากการทดลองที่พบในปลา *Channa punctatus* และปลา *Mystus vittatus* ในประเทศอินเดีย

Anderson et al., (1977) ได้กล่าวถึงวงชีวิตของพยาธิใบไม้ *Transversotrema patialense* ว่าในระยะตัวเต็มวัยเป็น ectoparasite และมีโฮสต์ 2 ชนิดคือ ปลา เป็น definitive host และหอยฝาเดียวกลุ่ม melanid เป็น intermediate host มีระยะ rediae และระยะ cercaria (furcocercous cercaria) ซึ่งเมื่อออกจากหอยก็จะ infected ได้โดยตรงทางผิวหนังตัวปลา และเจริญเป็นตัวเต็มวัย อยู่ตามซอกเกล็ดปลา จากนั้นจะปล่อยไข่ลงสู่แหล่งน้ำที่ปลานั้นอาศัยอยู่ ไข่เจริญเป็นระยะ miracidium (free-swimming) และไข่เข้าสู่หอยที่เป็น intermediate host เพิ่มจำนวนและพัฒนาเป็นระยะ redia และ cercaria (free-swimming) หลังจากนั้น infected เข้าบริเวณผิวหนังตัวปลา และเจริญเป็นตัวเต็มวัยต่อไป

Madhavi (1978a) ได้ศึกษาวงชีวิตของ *Allocreadium fasciatusi* ที่พบจากลำไส้ของปลาน้ำจืด *Aplocheilichthys melastigma* และเช่นเดียวกับ Madhavi (1978b) ได้ศึกษาวงชีวิตของ *Genarchopsis goppo* ที่พบจากกระเพาะอาหารของปลาน้ำจืด ชนิด *Channa punctata* ในประเทศอินเดีย

Rehana and Bilqees (1980) ได้พบพยาธิใบไม้ *Genarchopsis macrocinus* จากลำไส้ของปลาช่อน (*Ophiocephalus striatus*) จากทะเลสาบ Kalri เมือง Sind ประเทศ Pakistan

Pearson and Ow-Yang (1982) รายงานว่าพบ *Haplorchis* ชนิดใหม่ จากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พร้อมทั้งได้ให้รายละเอียดในการจัดจำแนกพยาธิใบไม้ในกลุ่ม *Haplorchis* ของ family Heterophyidae ประกอบไปด้วย genera *Haplorchis*, *Procervum* และ *Stellantchasmus*

Boomker (1984) ได้ทำการรวบรวมพิจารณาแก้ไขประวัติที่พบในปลาน้ำจืดของ South African ใน genera *Phyllodistomum* Braun, 1899 และรายละเอียดของ *Phyllodistomum bavuri* n. sp. ที่พบในกระเพาะปัสสาวะของปลาดุกเทศ (*Clarias gariepinus*) จากภาคใต้ของ Kruger Nation Park เมือง Transvaal และในปีเดียวกันนี้ Fernandes (1984) ได้รายงานว่า โฮสต์ชนิดใหม่พร้อมทั้งการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ที่ต่างกันของพยาธิใบไม้

Phyllodistomum spatula ที่พบเป็นครั้งแรกจากประเทศ Brazil และพบในโฮสต์ตัวใหม่คือ ปลา *Colossoma macropomum* และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับ *P. spatulaeforme* แล้วพบว่าเป็นชนิดเดียวกัน ต่อมาในปี 1987 Bakke and Bailey ได้ทำการศึกษา *P. umblae* ที่ได้จากปลาในกลุ่ม Salmonids จากประเทศ British Columbia โดยดูรายละเอียดพื้นฐานด้วยการทำการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาด โดยเฉพาะรายละเอียดของจำนวนประเภทและการจัดเรียงของ papillae ซึ่งจากการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างพยาธิที่พบจากปลาในกลุ่มเดียวกันนี้ จากประเทศ Canada, Norway, Sweden และ USSR

Shameem and Madhavi (1988) ได้ศึกษาสัณฐานวิทยาและวงจรชีวิตพร้อมทั้งการจัดตั้งที่เหมาะสมของ *Haplorchoides mehrari* ที่ Pande & Shukla, 1976 ได้รายงานไว้แล้ว

Moravec and Sey (1989) ได้ทำการศึกษาพยาธิใบไม้บางชนิดที่พบในปลาน้ำจืดจากทางตอนเหนือของประเทศเวียดนามพร้อมด้วยรายละเอียดจากที่มีการบันทึกว่า พบหนอนพยาธิที่เป็นปรสิตภายในของปลาได้แก่ *Amurotrema dombrowskajae*, *Platycladorchis microacetabularis*, *P. macroacetabularis*, *Neocladorchis multilobularis*, *Carassotrema Koreanum*, *Azygia hwangtsiyui*, *Phyllodistomum clariasi*, *Phyllodistomum* sp., *Orientocreadium batrachoides*, *Masenia collata*, *Bucephalopsis ozakii*, *Dollfustrema bagarii* n. sp. *Prosorhynchus vietnamensis* n. sp. *Prosorhynchus* sp., *Metadena bagarii* n. sp. *Isoparorchis hypselobagri*

Khan and Bilqees (1990) พบพยาธิใน *Allocreadium kalrai* n. sp. จากปลาช่อน (*Channa striatus*) ที่พบจากทะเลสาบ Kalri ประเทศ Pakistan ต่อมา Bilqees and Khan (1991) ได้รายงานว่าพบพยาธิใบไม้ *Genarchopsis kalrai* n. sp. พบในลำไส้ของปลา *Channa maculatus* และพยาธิใบไม้ *Proctoeces macuratus* ที่พบจากลำไส้ปลาอีสกเทศ (*Labeo rohita*) จากทะเลสาบ Kalri ประเทศ Pakistan

Williams and Dyer (1992) ได้รายงานว่าพบพยาธิใบไม้ *Allocreadium lucyae* n. sp. จากปลาน้ำจืด band fin shiner (*Notropis zonistius*) ของ Alabama และ Florida ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปีเดียวกันนี้ Cribb et al., (1992) ได้ทำการพิจารณาแก้ไข family *Transversotrematidae* พร้อมด้วยรายละเอียดของ *Crusziella* ซึ่งเป็น new genera ของ family นี้ ใน family นี้ ประกอบด้วย genus *Transversotrema*, *Prototransversotrema*, *Squamacola* และ *Crusziella* สำหรับ genus *Transversotrema* ประกอบด้วย *T. licinum*, *T. haasi*, *T. chauhani* และ *T. patialese* ซึ่งชนิดนี้เคยมีรายงานมาแล้ว 4 ชนิด ถือว่าเป็นชนิดที่มีลักษณะเดียวกันมีชื่อที่พ้องกัน ได้แก่ *T. koliensis*, *T. laruei*, *T. chackai* และ *T. soparkari* และ family *Squamacolidae* จัดให้เป็นชื่อพ้องกับ family *Transversotrematidae* ส่วน

Prototransversotrema exquisitum เป็นชนิดที่ได้รายละเอียดจากโฮสต์ *Liza subviridis* พบจากทางตอนเหนือของประเทศ Queensland ส่วน *Crusziella formosa* พบจาก *Crenimugil crenilabis* จากชายฝั่งทะเล Great Barrier ตอนใต้

Shimazu (1992) ได้รายงานพบ *Allocreadium brevivitelatum* n. sp. ที่พบจากลำไส้ของปลาน้ำจืดในกลุ่ม Cyprinidae (*Moroco percnurus sachalinensis*) จาก Hokkaido ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับ *A. tosa* Shimazu, 1988 คือ testes มีขนาดเล็ก และมี excretory vesicle ยาวยื่นไปถึงระดับกึ่งกลางของ testis อันหลัง แต่มีลักษณะที่ต่างกันคือ Vitellaria ของ *A. brevivitelatum* จะมีลักษณะสั้นไม่แผ่ยื่นไปทางด้านหน้าของ ovary จะกระจายอยู่ระดับกึ่งกลางของ ovary และมีไขขนาดเล็ก นอกจากนั้นแล้ว Zhang (1992) ได้รายงานการศึกษาปรสิตที่เป็นพยาธิใบไม้จากปลาที่จังหวัด Sichuan ในประเทศจีน พบพยาธิชนิดใหม่ 4 ชนิด และจิ้งนัสใหม่ 1 จิ้งนัส ได้แก่ *Urotrema glyptothoraci* n. sp. ที่พบจากลำไส้ของปลาน้ำจืด (*Glyptothorax sinense*), *Plagioporus schizothoraci* n. sp. ที่พบจากลำไส้ของปลา *Schizothorax prenanti*, *P. allovaris* n. sp. ที่พบจากลำไส้ของปลา *Triplophysa grahami* และ *Hysterozonoides disaccus* gen. et. n. sp. ซึ่งพบจากลำไส้ของปลา *Semilabeo prochilus*

Brooks and Holcman (1993) ได้พิจารณาแก้ไขในการจัดจำแนกและสมมุติฐานสายวิวัฒนาการของพยาธิใบไม้ใน subfamily Acanthostominae Looss, 1899 ของ family Cryptogonimidae ซึ่งแบ่งออกได้เป็น *Acanthostomum*, *Caimanicola*, *Proctocaecum*, *gymnatrema* และ *Timoniella* ซึ่งเป็น genus พื้นฐานของทุกกลุ่มจากทั้งหมดนี้แบ่งออกได้เป็น 4 subgenus ได้แก่ Subgenus *Timoniella*, *Proctocaecum*, *Blairium* new subgenus, *Atrophecaecum* และในรายงานนี้ได้นำเสนอ *Timoniella ostrowskiae* ซึ่งเป็นชนิดใหม่ในกลุ่มนี้ด้วย

Ahmad and Shakoory (1994) ได้รายงานสถานภาพของโรคและพยาธิในปลาน้ำจืดของประเทศปากีสถาน ซึ่งจากรายงานที่ศึกษาได้ตรวจพบปรสิต 125 ชนิด 69 สกุล ที่มีการพบพยาธิในปลาน้ำจืด 69 ชนิด พบพยาธิใบไม้สูงถึง 35% รองลงมาคือ พยาธิตัวกลม 29% พยาธิตัวตืด 8% พยาธิปลิงใส 10% แมลงจำพวก copepod 10% และโปรโตซัว 8% และในปีเดียวกันนี้ Namuleno and Scholz (1994) ได้ทำการตรวจสอบทางชีววิทยา และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพยาธิใบไม้ในกลุ่ม gorgoderid (*Phyllodistomum folium*) ที่พบจากกระเพาะปัสสาวะของปลา pike (*Esox lucius*) จากทะเลสาบ Macha สาธารณรัฐเชค ซึ่งดูลักษณะของ sucker จากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและอัตราส่วนของ sucker ทั้งคู่ ขนาดจำนวนของไข่ ลักษณะอื่นนอกเหนือจากนั้นแล้ว ยังพบว่า ขนาดของ testes, seminal vesicle, ovary และ vitellaria ซึ่งจะเป็นอวัยวะที่มีความเปลี่ยนแปลงไปไม่เหมือนกัน ส่วนของรูปร่าง

ลำตัวและ testes พบว่ามีความผันแปรในแต่ละกลุ่ม รูปร่างของ vitellaria ไปเป็น lobed ตำแหน่งที่ตั้งของอวัยวะในตัวเต็มวัยค่อนข้างจะคงที่ไม่มี ความแปรปรวน

ในปี 1995 Saad and Abed ได้ทำการศึกษาวงชีวิตของ *Haplorchis pumilio* และได้อธิบายลักษณะสัณฐานวิทยาของพยาธิระยะตัวอ่อน และระยะตัวเต็มวัยนี้ใหม่ โดยพบ cercaria จากหอย *Melania tuberculata* และเข้า encysted metacercaria ในปลา *Oreochromys niloticus* และปลา *Gambusia affinis* จากนั้นมีการพัฒนาไปเป็นระยะ juveniles และระยะตัวเต็มวัยที่ทดลอง infected ในหนู และเปิด ในระยะตัวเต็มวัยพบ ส่วนที่เหลือของต่อม 4 คู่ ที่บริเวณผิวหนัง รูปร่างของลำตัว การจัดเรียงของ ventrogenital complex bars ที่มีความแตกต่างกันใน ระยะตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ชนิดนี้

Hayward (1997) ได้ทำการศึกษาหาหนอนพยาธิภายนอก (ectoparasites) ของปลา sillaginid พบ 19 ชนิด จากการสำรวจในปลา 1,500 ตัว จากปลา 26 ชนิด ใน Indo-west Pacific ซึ่งได้แก่ปลิงใส พยาธิใบไม้ *Transversotrema licinum* ซึ่งพบเป็นครั้งแรกในปลา 4 ชนิด ของปลากลุ่มนี้ได้แก่ *Sillago analis*, *S. ingenuua*, *S. lutea* และ *S. sihama* ในปีเดียวกันนี้ Srisawangwong et al., (1997) ได้ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา โดยดูพื้นผิวหนังของพยาธิใบไม้ *Centrocestus formosanus* ในระยะเมตาเซอคาเรีย ตัวเต็มวัยและไขด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาด

Waikagul et al., (1997) ยังได้ศึกษาการ infected ของพยาธิใบไม้ *Centrocestus caninus* ในกลุ่มคนไทยในภาคเหนือ โดยได้ทำการตรวจสอบอุจจาระของคนที่ได้รับยาถ่ายพยาธิ praziquantel ไปแล้ว พบพยาธิตัวเต็มวัย 5 ตัว จาก 1 ตัวอย่าง ของอำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ และพบตัวเต็มวัย 1 ตัว จากตัวอย่างของอำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย ซึ่งพยาธิใบไม้ชนิดนี้มีลักษณะเด่นสำคัญคือมี circumoral spine 26-30 อัน ซึ่งจัดเรียงเป็น 2 แถว รอบ oral sucker ซึ่งเป็นลักษณะของ *C. caninus* ซึ่งจากรายงานนี้เป็นการพบครั้งแรกในประเทศไทย ที่มีการ infected ของ *Centrocestus* ในธรรมชาติ

ในปัจจุบันการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) ศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคเพียงอย่างเดียว อาจไม่สามารถแยกสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ที่มีความคล้ายคลึงกันมากได้ดีเท่าที่ควร ดังนั้นการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน จึงได้มามีบทบาทช่วยในการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตได้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน การพัฒนาทางด้านวิทยาศาสตร์ที่ทันสมัย มีประสิทธิภาพสูง ดังเช่นการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ได้พัฒนามาเป็นการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเข้าร่วมด้วย เพราะทำให้มีขีดความสามารถใช้ส่องดูสิ่งที่มีขนาดเล็กมากได้ ดังนั้น กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจึงเป็นกล้องจุลทรรศน์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการขยาย (magnification) ที่มีกำลังขยายมากกว่า 10,000 เท่า และ

สามารถแจจรายละเอียด (resolution) ต่ำกว่า 10 อังสตรอมได้ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ

1. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope : TEM) ใช้สำหรับศึกษาองค์ประกอบภายในของตัวอย่าง โดยใช้ลำแสงอิเล็กตรอนทะลุผ่านตัวอย่างไป ตัวอย่างที่จะศึกษาด้วย TEM จะต้องตัดให้บาง เพื่อให้แสงอิเล็กตรอนทะลุผ่านได้

2. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาด (Scanning Electron Microscope : SEM) ใช้ศึกษารายละเอียดพื้นผิวของตัวอย่าง ภาพที่ได้จาก SEM จะเป็นภาพ 3 มิติ (ศิริเพ็ญ และคณะ, 2535)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกวาดนี้จะใช้ลำแสงอิเล็กตรอนฉายหรือส่องกวาดไปบนผิวของตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบให้ได้ข้อมูลของลักษณะพื้นผิวที่ปรากฏเป็นภาพขยายที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และสามารถบันทึกภาพที่ปรากฏลงบนแผ่นฟิล์มได้ (เวคิน , 2527)

การศึกษา SEM ของพื้นผิวของพยาธิใบไม้ไม่เป็นการศึกษารายละเอียดของ คิวติเคิล (cuticle) ซึ่งมีลักษณะเป็น non-cellular และ homogenous layer ซึ่ง subcuticular cells ปลดออกมา cuticle ของพยาธิใบไม้มีหลายแบบเช่น spines หรือ tubercles หรือ ridges หรืออาจจะพบหลายแบบรวมกัน (นพคุณ, 2539 ; Belding, 1965) ได้มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับ tegumental surface ด้วย SEM กันอย่างแพร่หลาย อาทิเช่น

Bennett (1975) ได้ทำการศึกษาลักษณะของพื้นผิว โครงสร้าง sensory papillae ของ newly excysted *Fasciola hepatica* ด้วย SEM แล้วพบว่า sensory 3 แบบคือ ciliated type, domed type และ pit type ซึ่ง ciliated type พบกระจายอยู่ระหว่าง spines ทาง anterior ของ ventrolateral side ส่วน domed type มีลักษณะเหมือน ciliated แต่ไม่มีส่วนของ cilium ยื่นออกมา พบอยู่บริเวณรอบๆ sucker และส่วนของ pit type พบ 6 อัน แบ่งเป็น 2 กลุ่มๆละ 3 อัน ตั้งอยู่ทางด้านข้างของ oral sucker และในปีเดียวกันนี้ Bennett and Theadgold (1975) ได้ทำการศึกษาพื้นผิวของ *Fasciola hepatica* ช่วงที่กำลังเจริญเติบโต และกำลังเข้าสู่ตัวเต็มวัย ที่เจริญในหนู ด้วย SEM อีกพบว่า ลำตัวปกคลุมไปด้วย spines พบ spines ทาง anterior จนถึงส่วนของ ventral sucker มีการจัดเรียงเป็นวงประมาณ 60 วง แต่ละวงประกอบไปด้วย spines 60-70 อัน spines ทาง posterior มีการกระจายไม่เป็นรูปแบบ พบในพยาธิที่มีอายุ 1 สัปดาห์ ส่วนพื้นผิวของพยาธิที่เข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย นอกจากจะพบ spines แล้วยังพบพื้นผิวที่มีลักษณะรูปสี่เหลี่ยม เป็นเนินสูงและเป็นหลุมรอบๆ spine ของแต่ละอันทาง posterior ของร่างกาย ซึ่งจะไม่พบลักษณะนี้ทางด้าน anterior ของร่างกาย

ต่อมา Wittrock (1976) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างชั้นพื้นผิว cirrus ของพยาธิตัวไม่ *Quinqueseiralis quinqueseiralis* ที่พบจาก muskrats (*Ondatra zibethicus*) ที่รวบรวมจาก ทะเลสาบ Iowa ศึกษาแล้วพบว่า cirrus มีความเป็นไปได้ ที่อาจจะมีขนาดยาว 1.4 มม. ในขณะที่มีการยืดตัวออกมา พื้นผิวเมื่อศึกษาด้วย SEM แล้วพบว่ามีลักษณะเป็น spines ยื่นออกมา (spinelike protuberances) จำนวนมาก ซึ่งแต่ละอันมีความยาว 8-10 μm เมื่อขยายดูที่กำลัง ขยายสูงแล้ว พบว่าพื้นผิว spines นี้ มีลักษณะเป็น small surface evagination ในปี 1980 Font and Wittrock ได้ทำการศึกษา พยาธิตัวไม่จากกระยะเมตาเซอคาเรีย ไปเป็นระยะตัวเต็มวัย ของ *Leucochloridiomorpha constantiae* ด้วย SEM พบว่าพื้นผิวของเมตาเซอคาเรีย ที่ excysted แล้วมีลักษณะเป็นสันตามยาวและขวางตัดกัน นอกจากนั้นยังพบ papillae บริเวณ sucker, genital pore และ บริเวณพื้นผิวของร่างกาย ซึ่งพื้นผิวนี้นี้ประกอบด้วย knoblike ยื่นออกมา และระหว่างพื้นผิวนี้นี้ก็มีลักษณะ cobblestonelike เกิดขึ้นด้วย

Dunn et al., (1987) ได้ทำการศึกษา tegumental surface ของพยาธิตัวไม่ในกลุ่ม Paramphistomes 3 ชนิด ได้แก่ *Gigantocotyle explanatum*, *Srivastavia indica* และ *Gantrothylax cruminiifer* ด้วย SEM พบว่าพื้นผิวมีลักษณะเป็น folds และเกิด furrows และ ridges จำนวนมาก พบ sensory papillae บน ridges โดยเฉพาะบริเวณ oral sucker และ acetabulum จะพบมาก Srisawangwonk et al., (1989) ได้ศึกษา tegument ของพยาธิตัวไม่ *Haplorchis pumilio* ที่ได้จากการ infect ในหนู hamster ด้วย SEM พบว่าเกือบตลอดทั้งตัวของ พยาธิถูกปกคลุมด้วย scale-like spines อย่างเป็นระเบียบในแนวขวาง spines ส่วนมากเป็น แบบ pectinate ขนาดและจำนวนซี่ (teeth) บน spine แต่ละอัน จะพบอันใหญ่และมีมากที่สุด ใน spines ที่อยู่บริเวณกลางลำตัว บริเวณรอบๆ excretory pore จะไม่พบ spine พบเพียงรอยย่น เล็กน้อย นอกจากนั้นพบ ciliated papillae จำนวนมาก บริเวณ anterior ประมาณ 2/3 ของลำ ตัว papillae ที่พบบน oral sucker จะมีมากกว่าบริเวณอื่น และยังพบ papillae กระจ่ายและเรียง ตัวเป็นแบบ bilateral Symmetry ของร่างกาย อาจพบเป็นกลุ่ม คู่ หรือเดี่ยว ระหว่าง spines

Sugiyama et al., (1990) ทำการศึกษาพื้นผิวของ *Paragonimus heterotremus* ระยะ เมตาเซอคาเรีย ด้วย SEM พบว่า พื้นผิวไม่ได้ปกคลุมด้วย spine พบ domed-shaped papillae ที่มีขนาดใหญ่ และขนาดเล็ก ที่มีพื้นผิวเรียบ และส่วนปลายของ domed เป็นหลุม (domed-shaped papillae with pit) โดยรอบ suckers พบ small domed-shaped papillae with pit ประมาณ 30 อัน โดยรอบ oral sucker และพบ 9-13 อันรอบ ventral sucker

Scholz et al., (1991) ศึกษาพื้นผิวของ *Haplorchis yokogawai* และ *H. taichui* ซึ่งเป็นพยาธิตัวไม่ในกลุ่ม Heterophyidae ที่สามารถติดต่อถึงคนได้โดยการกินปลาดิบที่มีตัวอ่อนของพยาธิตัวนี้ อยู่ จากการศึกษาด้วย SEM พบว่าพยาธิตัวทั้ง 2 ชนิดนี้ พื้นผิวปกคลุมไป ด้วย scale-like spines ที่มีลักษณะเป็นซี่ฟัน ยกเว้นบริเวณรอบๆ oral sucker, ventrogenital

opening และ excretory pore ทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความแตกต่างกันเล็กน้อย ตรงส่วนซี่ของ spines คือ *H. yokogawai* มีจำนวนซี่ของ spine สูงสุด 14-16 ซี่ ส่วน *H. taichui* มีจำนวนซี่ต่อ spine น้อยกว่าประมาณ 10-12 อัน ในปีเดียวกันนี้ Irwin *et al.*, (1991) ทำการศึกษา tegument ของ excysted metacercaria และ adult ของพยาธิใบไม้ *Zygocotyle lunata* ด้วย SEM พบว่า tegument ของเมตาเซอคาเรีย ไม่มี spine ปกคลุม และพบ papillae เรียงตามยาวของลำตัว เป็นแถวจากบนลงล่าง ส่วนระยะ adults พบว่าพื้นผิวไม่มี spine ปกคลุม จะพบก็เพียงแต่ ridges และ furrows โดยตลอดทั้งทาง dorsal และ ventral surface และยังพบ papillae กระจายทั่วลำตัวมากกว่า excysted metacercaria และในปีนั้น Hong *et al.*, (1997) ศึกษาพื้นผิว ในระยะที่กำลังเจริญเติบโตของ *Heterophyopsis continua* ด้วย SEM พบว่าร่างกายปกคลุมไปด้วย spine ที่มี 10-14 ซี่ ในระยะ 3 วัน postinfection และมีจำนวน 15-17 ซี่ ต่อ spine เมื่อมีอายุ 6 วัน postinfection ในระยะเมตาเซอคาเรีย 5-7 ซี่ ต่อ spine นอกจากนั้นยังพบ papillae 2 แบบ ได้แก่ ciliated papillae ที่มีลักษณะเป็นกลุ่ม clumped papillae หรือแบบเดี่ยว (single) กระจายโดยรอบ suckers แบบที่ 2 domed-shaped papillae ซึ่งเรียงอยู่โดยรอบ ventral sucker

ต่อมา Apinhasmit *et al.*, (1993) ศึกษา tegumental surface ของ *Opisthorchis viverrini* พบ sensory papillae 3 แบบ ได้แก่ 1. single small cone-shaped ciliated papillae 2. dome-shaped base ciliated papillae 3. nonciliated bulb large papillae แบบแรกพบโดยทั่วไป และพบมากที่ oral sucker, ventral sucker และ excretory pore แบบที่สองพบข้างลำตัว และแบบที่ 3 พบที่ lip ของ ventral sucker ลักษณะพื้นผิวเป็น folds ปกคลุมด้วย spine ในตัวเต็มวัย พบพื้นผิวที่มีลักษณะ wave-like folds ทั้งตัว คล้ายกับ microvilli

Sobhon *et al.*, (1994) ได้ศึกษา tegument ของพยาธิใบไม้ *Fasciola gigantica* ด้วย SEM พบว่าพื้นผิวถูกปกคลุมด้วย spines จำนวนมาก ในบางตำแหน่งจะพบ sensory papillae กระจายระหว่าง spine มีลักษณะเป็นแบบ nipple like tip papillae, ciliated papillae และ smooth papillae กระจายอยู่ทั่วไป โดยจะมีจำนวนมากและขนาดใหญ่ขึ้นรอบๆ suckers นอกจากนั้นแล้วพื้นผิวยังมีลักษณะเป็น folds และ grooves ทาง posterior ของร่างกายด้วย

Wongsawad *et al.*, (1995) ทำการศึกษา tegument ด้วย SEM ของพยาธิใบไม้ *Stellantchasmus* sp. ที่ได้จากการทดลอง infected metacercariae จากปลาเข็ม (*Dermogenus pusillus*) ให้กับหนูขาวใหญ่ (*Rattus norvegicus*) พบว่าลำตัวปกคลุมด้วย scale-like spines เกือบตลอดทั้งตัว ยกเว้นบริเวณรอบๆ excretory pore จะพบเพียงรอยย่นเล็กน้อย scale-like spines จะมีลักษณะเป็น pectinate มี 7-9 teeth ขนาดของ scale ใหญ่สุดบริเวณกลางลำตัว แล้วลดขนาดลงไปทาง anterior และ posterior รอบๆ oral sucker จะพบ papillae ที่ประกอบ

ไปด้วย single club-like cilium, solitary หรือแบบ group บริเวณ anterior ของลำตัว acetabulum ยื่นไปทางขวาและยื่นออกมา

ในปี 1996 Ferrer และคณะ ได้ทำการศึกษา tegument ของพยาธิใบไม้ *Postorchigenes gymnesicus* ที่พบจากลำไส้ของหนู Rodent (*Mus musculus*) ที่ประเทศสเปน ด้วยวิธีการ SEM และ TEM ซึ่งพวกเขาไม่ได้กล่าวรายละเอียดของ SEM ไว้มากนัก เพียงแต่พบว่าลักษณะพื้นผิวถูกปกคลุมไปด้วย spines ที่มีลักษณะเป็นแบบ flattened-cone shaped ยกเว้นบริเวณรอบๆ suckers และ genital pore ขนาดของ spines จะมีลักษณะใหญ่ที่ส่วนโคน และมีขนาดเล็กลงไปถึงส่วนปลายของ spines

Srisawangwong et al., (1997) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของพยาธิใบไม้ *Centrocestus formosanus* ระยะเมตาเซอคาเรีย ตัวเต็มวัย และไข่ด้วย SEM พบว่าพื้นผิวของพยาธิระยะเมตาเซอคาเรียและตัวเต็มวัยมีลักษณะใกล้เคียงกันมาก ซึ่งพบ circumoral spines รอบ oral sucker จำนวน 32 อัน (2 แถวๆละ 16 อัน) พบ nonciliate papillae ขนาดใหญ่ 6 อัน ที่ขอบโดยรอบของ ventral sucker และพบ genital opening บริเวณ mid-ventrally ส่วนของ excretory pore ตั้งอยู่ปลายสุด พื้นผิวถูกปกคลุมด้วย scale-like spines ที่มีลักษณะเป็นแบบ pectinate ที่มีขนาดแตกต่างกัน scale ที่อยู่บริเวณกึ่งกลางตัวจะมีขนาดใหญ่ และขนาดลดลงไปทาง anterior และ posterior พบ sensory papillae ที่เป็นแบบ unciliated ที่มีขนาดใหญ่ และพบหนาแน่นทาง anterior ของลำตัวทั้ง 2 ระยะ นอกจากนี้ยังพบโครงสร้างพื้นผิวที่เป็นแบบ cobblestone-like และ grooves กระจายบริเวณ oral sucker และ circumoral spines ใน 4 สัปดาห์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบลักษณะเหล่านี้กับอายุ 10 วันแล้วพบว่า พื้นผิวบริเวณนี้จะเรียบ นอกจากนี้แล้ว ยังพบ multiciliated papillae และ papillae รอบๆ ventral sucker มีขนาดใหญ่ขึ้นใน 10 สัปดาห์ หลังจากการ infected ไข่มี operculum ที่เห็นเด่นชัด และเห็นลวดลายที่บริเวณเปลือกไข่ชัดเจน และในปีเดียวกันนี้ Saville et al., (1997) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกของพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอคาเรียชนิด *pygmaeus* ในกลุ่มของ microphallid ที่เป็นปรสิตของนกทะเล (*Littorina saxatilis*) จากชายฝั่งทะเล Ireland เหนือ ซึ่งพบเมตาเซอคาเรียของ *Microphallus piriformes* และ *M. pygmaeus* พบจากหอยกลุ่ม gastropod จาก Arctic Russia ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับรายละเอียดของ organ พื้นผิวหนัง และลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและ SEM ทำการเปรียบเทียบและวิเคราะห์ผลทางสถิติที่เคยมีการจัดตั้งชนิด *M. piriformes* จาก Ireland เหนือมาแล้ว และที่ไม่เคยมีการวิเคราะห์ชนิด *M. pygmaeus* มาก่อน ซึ่งจะเป็นเครื่องมือให้เห็นว่าผลที่ปรากฏออกมาจะเป็นสิ่งกำหนดข้อแตกต่างของ *M. pygmaeus* นี้ นอกเหนือจาก intermediate และ final host แล้ว

นอกจากนี้แล้ว Pachanawan and Wongsawad (1998) ได้ศึกษาพื้นผิวของพยาธิใบไม้ *Paradistomoides gregarium* ซึ่งรวบรวมได้จากถ้ำน้ำดีของจังหวัดจันทบุรี พบว่าลำตัวไม่มี spines ปกคลุม พื้นผิวลำตัวมีลักษณะสานกันเป็นตาข่ายตลอดตัว ที่เป็นแบบ honeycomb-like pattern ซึ่งพบลักษณะเช่นเดียวกันนี้บริเวณด้านข้างของลำตัวและรอบๆ excretory pore นอกจากนี้แล้วยังพบ papillae 3 แบบ ด้วยกันคือ [1] dome-shaped papillae พบบริเวณ oral sucker และรอบๆ acetabulum [2] small dome-shaped papillae พบกระจายทั่วทั้งลำตัว และพบหนาแน่นทางด้าน dorsal ระหว่างตาข่ายของลำตัว และ [3] button-shaped papillae พบภายใน oral sucker โดยเฉพาะบริเวณปลายสุดทางด้านหน้าและมีการกระจายเป็นแถว 2 ข้างของลำตัว ทางด้าน ventral จากระดับ oral sucker ไปจนถึง acetabulum และในปีเดียวกันนี้ Mhad-arehin *et al.*, (1998) ทำการศึกษา tegumental surface ของพยาธิใบไม้ *Pleurogenoides* sp. จากลำไส้เล็กของกบ (*Rana tigerina*) ด้วย light and scanning electron microscope พบว่า ลำตัวมีรูปร่าง oval หรือ elliptical พื้นผิวของลำตัว ถูกปกคลุมด้วย scale-like spines ยกเว้นบริเวณ oral sucker ซึ่งส่วนของ oral sucker ตั้งอยู่ subterminal ทางด้าน anterior ของลำตัว และมีขนาดใหญ่กว่า ventral sucker เล็กน้อย genital pore เปิดออกทางด้านซ้ายของลำตัว ระดับเดียวกับ oral sucker ส่วนของ excretory pore เปิดออกทาง posterior ในตำแหน่ง subterminal ของลำตัว papillae พบ 2 แบบคือ [1] dome-shaped papillae พบกระจายอยู่บริเวณ oral sucker, ventral sucker และ genital pore [2] dome-shaped papillae with hair-like พบกระจายอยู่ระหว่าง scale-like spines บริเวณ oral sucker และ ventral sucker พร้อมกันนี้ Nichapun *et al.*, (1998) ได้ทำการศึกษา tegumental surface ของพยาธิใบไม้ *Ganeo* sp. จากลำไส้เล็กของกบ (*Rana tigerina*) ด้วย SEM พบว่าลำตัวปกคลุมไปด้วย scale-like spines โดยตลอด oral sucker ตั้งอยู่ระดับ subterminal ใกล้กับ anterior end ของลำตัว นอกจากนั้นยังพบ dome-shaped papillae ที่บริเวณ oral sucker ซึ่งจะแตกต่างไปจากที่พบบริเวณทาง anterior ของ acetabulum

นอกจากนั้นแล้วยังมี นพคุณ (2539) ทำการศึกษาโครงสร้างพื้นผิวของพยาธิตัวเต็มวัย *Diplodiscus* sp. Diesing, 1836 ที่พบในกบ โดยวิธีการ SEM พบว่าส่วนของ oral sucker มี papillae 4 แบบคือ [1] dome-shaped papillae with hair-like structure [2] dome-shaped papillae with pit อยู่บริเวณ upper lip ของ oral sucker [3] button-shaped papillae พบบริเวณภายใน oral sucker บน ridges และ [4] small nipple-like tip กระจายตั้งแต่ anterior จนถึง posterior ทางด้าน ventral ลักษณะของ acetabulum มีลักษณะกลม อยู่ปลายสุดทาง posterior ของลำตัวซึ่งมีขนาดใหญ่ และพบ genital pore เปิดออกด้าน ventral บริเวณกึ่งกลางของลำตัว และมี knobs กระจายอยู่โดยรอบ

ในจังหวัดเชียงใหม่ ยังมีผู้ศึกษา tegumental surface ของหนอนพยาธิชนิดอื่นๆ อีกคือ พงศ์ศักดิ์ (2540) ได้ศึกษา tegument ของพยาธิตัวกลม *Heterakis gallinarum* และ *Tetrameres* sp. ในปีเดียวกันนี้ Namue and Wongsawad (1997) ได้ศึกษา tegument ของพยาธิตัวกลม *Rictularia* sp. ที่พบในหนู Wongsawad and Wongsawad (1997) ได้ทำการศึกษา tegument ของพยาธิตัวกลม *Dispharynx nasuta* ที่พบในไส้ไก่ และยังสามารถศึกษา tegument ของพยาธิตัวดีด *Amoebotaenia spinosa* โดย Rojanapaibul et al., (1997) และ พงศ์ศักดิ์ (2541) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคของพยาธิหัวหนาม *Pallisentis* sp. ในปลาช่อน และประลองยุทธ (2541) ทำการศึกษาสัณฐานวิทยาตัวเต็มวัยของพยาธิหัวหนาม *Moniliformis dubius* กานดา (2541) ศึกษาพื้นผิวระยะตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ *Transversotrema* sp. ที่พบจากหอย *Thiara* sp. โดย SEM

จะเห็นว่าการศึกษาหนอนพยาธิในปลา มีการศึกษาอย่างแพร่หลาย ซึ่งทำให้ทราบถึง ชนิด ลักษณะสัณฐานวิทยา และค่า prevalence ของการกระจายในแต่ละสภาพพื้นที่ ทั้งที่เป็น ปรสิตรภายนอกและภายใน ซึ่งบางชนิดก่อให้เกิดโรคปลา และ/หรือบางชนิดอาจติดต่อมาถึงคน ได้ รวมถึงการแพร่กระจายในแต่ละสภาพภูมิประเทศที่ต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษถึงความหลากหลายชนิดของพยาธิใบไม้ในปลาน้ำจืด จากลำน้ำแม่สา รวมถึงการกระจายอยู่ในโฮสต์ เพื่อเป็นข้อมูลเปรียบเทียบกับการศึกษาที่มีมาแล้ว และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวิจัยในระดับต่อไป และในการศึกษานี้ได้มีการศึกษาถึงพื้นผิวของพยาธิใบไม้ด้วย SEM เพื่อนำไปประกอบในการจัดจำแนกชนิดของพยาธิใบไม้ ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันมากออกจากกัน รวมถึงเปรียบเทียบกับชนิดที่เคยมีการศึกษามากแล้ว

การศึกษาทางด้าน SEM ได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายเช่นกัน ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อที่จะได้ใช้ประกอบกับการศึกษาทางด้านอื่นอีกต่อไป เช่น การศึกษา SEM ของพื้นผิว ประกอบกับการศึกษาด้วย TEM และ Histochemistry ก็เป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้ทราบโครงสร้างภายนอกและภายในอย่างละเอียดได้ เพื่อนำไปศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำชนิดของสารผ่านเข้าออกจากร่างกายโดยทางพื้นผิว ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาอีกแขนงหนึ่งที่มีผลต่อความก้าวหน้าทางด้านปรสิตวิทยาและเพื่อเป็นแนวทางที่จะหาวิธีในการกำจัดพยาธิต่อไป