

ปรสิติในเนื้อเยื่อและพยาธิสภาพในกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834)



นาย เจตจันทร์ เศรษฐสิทธิ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา

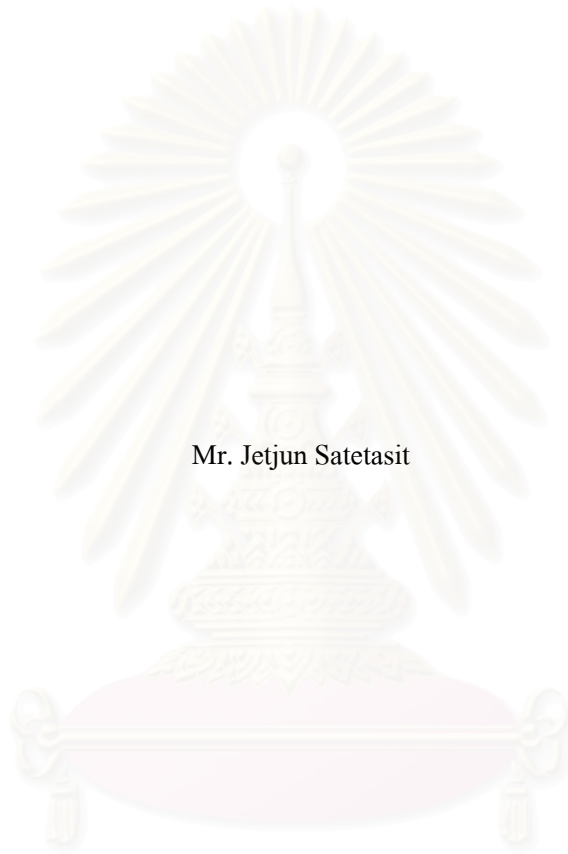
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

TISSUE PARASITES AND PATHOGENICITY IN RICE FIELD FROG

Hoplobatrachus rugulosus (Wiegmann, 1834)



Mr. Jetjun Satetasit

สถาบันวิทยบริการ

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Zoology

Department of Biology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

เจดจันทร์ เศรษฐสิทธิ์ : ประดิษฐ์เนื้อเยื่อและพยาธิสภาพในกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834) (TISSUE PARASITES AND PATHOGENICITY IN RICE FIELD FROG, *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834)) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
หลัก : รศ. ดร.มาลินี ฉัตรมงคลกุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ. ศพญ. ดร. อัจฉริยา ไสละสูต, 118 หน้า

ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม 2550 ได้เก็บตัวอย่างกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834) จำนวน 140 ตัวจากจังหวัดสระแก้ว ประเทศไทย ศึกษาปรสิตโดยทำแผ่นฟิล์มเลือดและแผ่นฟิล์มเนื้อเยื่อของ คับ ปอด ม้ามและไต ย้อมด้วยสีจิมซ่า ศึกษาเคมีคเลือดแดงอัดแน่น โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจ ศึกษาพยาธิสภาพของปรสิตจากคับ ปอด ม้ามและไต โดยกระบวนการเตรียมทางเนื้อเยื่อวิทยาด้วยสีฮีมาทอกไซลินและอีโอซิน ผลการศึกษาพบว่ามิกบนาติดปรสิตจำนวน 98 ตัว (ร้อยละ 70) โดยพบการติดปรสิตห้าชนิดได้แก่ *Trypanosoma rotatorium-like*, *Trypanosoma chattoni*, *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b และ *Lankesterella minima* โดยมีค่าร้อยละอุบัติการณ์เท่ากับ 27.86, 32.14, 20.00, 3.57 และ 16.43 ตามลำดับ สำหรับค่าเคมีคเลือดแดงอัดแน่นเฉลี่ยระหว่างกบนาที่ติดปรสิต กับกบนาที่ไม่ติดปรสิตพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ผลทางจุลพยาธิวิทยาพบว่ากบนาที่ติด *Trypanosoma rotatorium-like* และ *Trypanosoma chattoni* ไม่พบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ ส่วนกบนาที่ติด *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b มีการอักเสบและการตายของเนื้อเยื่อคับ โดยเป็นการรวมสะสมของลิมโฟไซต์และอีโอซิโนฟิลจำนวนมากบริเวณรอบๆเมอโรนธ์ของ *Hepatozoon* sp. ในขณะที่กบนาที่ติด *Lankesterella minima* พบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ โดยคับและม้ามมีการอักเสบโดยเป็นการรวมตัวกันของเมลาโนแมคโครเฟจรอบๆไซซอนท์และเมอโรซอซด์ ส่วนในปอดและไตพบรอยโรคที่เกิดจากเมอโรซอซด์แต่ไม่พบการอักเสบ ผลการศึกษานี้สรุปได้ว่า *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b และ *Lankesterella minima* ทำให้เกิดพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อของกบนาได้

ภาควิชา ชีววิทยา

ลายมือชื่อนิสิต.....เจดจันทร์ เศรษฐสิทธิ์.....

สาขาวิชา สัตววิทยา

ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....ดร.มาลินี ฉัตรมงคลกุล.....

ปีการศึกษา 2551

ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

4872251923 : MAJOR ZOOLOGY

KEYWORDS : TISSUE PARASITE/ *Hepatozoon* sp./ *Hoplobatrachus rugulosus*/ *Lankesterella* sp./ *Trypanosoma* sp.

JETJUN SATETASIT : TISSUE PARASITES AND PATHOGENICITY IN RICE FIELD FROG, *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834). ADVISOR : ASSOC. PROF. MALINEE CHUTMONGKONKUL, Ph.D., CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. ACHARIYA SAILASUTA, D.V.M, Ph.D., 118 pp.

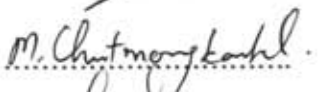
During July – October 2007, 140 adult rice field frogs, *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834), were collected from Srakaew province, Thailand. For parasite examination, blood and tissue impression smears from liver, lung, spleen and kidney were made and stained with Giemsa. Blood samples were collected from the heart and measured for haematocrit. For histopathological examination, tissue samples collected from liver, lung, spleen and kidney of the infected frogs were processed by routine histology and stained with Haematoxylin-eosin. The result showed that 98 (70%) frogs were infected with blood parasites. Five species of tissue parasites were found: *Trypanosoma rotatorium*-like, *Trypanosoma chattoni*, *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b and *Lankesterella minima* with the prevalence of 27.86%, 32.14%, 20.00%, 3.57% and 16.43% respectively. Average haematocrit of infected frogs and uninfected frogs showed no significant difference. Histopathological examination of *Trypanosoma rotatorium*-like and *Trypanosoma chattoni* infected frogs showed no pathological change in the tissue. *Hepatozoon* sp. a and *Hepatozoon* sp. b infected frogs developed a inflammatory lesion in liver tissue, hepatocellular necrosis and aggregation of lymphocytes and eosinophils centered on *Hepatozoon* sp. meronts. Tissue sections of *Lankesterella minima* infected frogs showed pathological change. Liver and spleen section developed a inflammatory lesion by accumulation of melanomacrophages centered around schizont and merozoites. Lung and kidney section showed degenerating tissue caused by merozoites of *Lankesterella minima* but without inflammation. It is suggested that *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b and *Lankesterella minima* infections are capable of inducing inflammatory lesions in *Hoplobatrachus rugulosus*.


Department: Biology

Field of Study: Zoology

Academic Year: 2008

Student's Signature : J. Satets


Advisor's Signature : M. Chutmongkonkul


Co-advisor's Signature : A. Sailasuta


กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ดร. มาลินี ฉัตรมงคล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ รองศาสตราจารย์ ศักดิ์แพทย์หญิง ดร. อัจฉริยา ไสละสูต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งได้ให้คำแนะนำ และข้อเสนอแนะต่างๆ ตลอดจนให้การสนับสนุน และให้กำลังใจด้วยดีตลอดมา ขอขอบพระคุณด้วยความเคารพยิ่ง

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. กำธร ชีรคุปต์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ ศุภศิริ ปริยานนท์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำ และช่วยแก้ไข วิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้คำปรึกษาจนวิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรวรรณ สัตยาลัย และคุณอัจฉริยา ไชยรัตน์ ที่ได้ สนับสนุนเครื่องมือที่ใช้ในการปฏิบัติการ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนการเขียนรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้ สมบูรณ์

หน่วยปฏิบัติการวิจัยสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและสัตว์เลื้อยคลาน ภาควิชาชีววิทยา คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์ในการศึกษา

คุณ อุไร ผู้สนับสนุนประสานงานการเก็บตัวอย่างกบนาธรรมชาติจาก จังหวัดสระแก้ว

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ น้องทุกท่านในภาควิชาชีววิทยาที่ให้ความช่วยเหลืออย่างดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณ บิดามารดา ที่ได้ให้การสนับสนุนการศึกษาตลอดจนค่าใช้จ่ายต่างๆด้วยดี เสมอมา

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2550 ภายใต้ แผนงานวิจัยอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพ และศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะ ทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รหัสโครงการ CEB_M_32_2007

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 จีววิทยาของกบนา.....	3
2.2 ประวัติที่พบในเนื้อเยื่อของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก.....	7
2.3 พยาธิสภาพ และจุลพยาธิวิทยา.....	27
บทที่ 3 วิธีการศึกษา.....	35
3.1 สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง.....	35
3.2 วัสดุ และอุปกรณ์.....	35
3.3 สารเคมี.....	36
3.4 วิธีดำเนินการ.....	37
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	41
4.1 Snoutvent length (SVL) และน้ำหนักของกบนา.....	41
4.2 การจำแนกชนิดของปรสิตในเลือด.....	42
4.3 การติดปรสิตของกบนา.....	53

4.4 พยาธิสภาพของปรสิตต่อเนื้อเยื่อของกบนา.....	59
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง.....	91
5.1 ความสัมพันธ์ระหว่างการติดปรสิต และขนาดของกบนา.....	91
5.2 ชนิดของปรสิต.....	91
5.3 เปรียบเทียบค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นระหว่างกบนาที่ติดปรสิตกับกบนาปกติ.....	96
5.4 พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นจากการติดปรสิตในเนื้อเยื่อ.....	98
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ.....	100
รายการอ้างอิง.....	101
ภาคผนวก.....	108
ประวัติผู้วิจัย.....	118

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2-1 แสดงชนิด และ โฮสต์ของปรสิตในสกุล *Dactylosoma*.....19

ตารางที่ 2-2 แสดงปรสิตสกุล *Lankesterella* สปีชีส์ต่างๆที่พบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก
 ในภูมิภาคต่างๆ และเอกสารอ้างอิง.....22

ตารางที่ 4-1 แสดงการจำแนกชนิดของปรสิตในเลือดที่พบในกบนาจำนวน 140 ตัว.....42

ตารางที่ 4-2 แสดงระยะของปรสิต และคำร้อยละความหนาแน่นในเลือด.....43

ตารางที่ 4-3 แสดงจำนวนกบนาที่พบปรสิตในเลือดทั้งห้าชนิด ตั้งแต่
 เดือนกรกฎาคม -ตุลาคม 2550.....54

ตารางที่ 4-4 แสดงจำนวนกบนาที่มีการติดปรสิตร่วมกัน..... 56

ตารางที่ 4-5 แสดงค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของกบนาที่ทำการศึกษาใน
 เดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550.....59

ตารางที่ 5-1 แสดงขนาดเปรียบเทียบระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like กับ
Trypanosoma rotatorium Mayer, 1843 ที่ตรวจพบในกบสกุล *Rana* ในพื้นที่ต่างๆ
 และแสดงขนาดเปรียบเทียบระหว่าง *Trypanosoma chattoni*
 Mathis and Léger, 1911 กับ *Trypanosoma chattoni* ที่ตรวจพบในสัตว์สะเทินน้ำ
 สะเทินบกในพื้นที่ต่างๆ.....93

ตารางที่ 5-2 เปรียบเทียบขนาดของ *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b และ
Lankesterella minima ที่พบในเลือดของกบนา *Hoplobatrachus rugulosus*.....95

ตารางที่ 5-3 แสดงขนาดของสปอโรซอยต์เปรียบเทียบระหว่าง *Lankesterella* sp.
 ที่พบในเลือดของกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* กับ *Lankesterella minima*
 Chaussat, 1850 ที่ตรวจพบในกบสกุล *Rana* ในพื้นที่ต่างๆ.....97

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2-1 แสดงสัณฐานภายนอกของ <i>Hoplobatrachus rugulosus</i> ตัวเต็มวัย.....	4
ภาพที่ 2-2 ภาพวาดแสดงสัณฐานวิทยาภายในของ <i>Hoplobatrachus rugulosus</i> ตัวเต็มวัย.....	5
ภาพที่ 2-3 ภาพวาดแสดงการเจริญ และวงชีวิตของ <i>Hoplobatrachus rugulosus</i>	6
ภาพที่ 2-4 เปรียบเทียบลักษณะของ trypanosomes สปีชีส์ต่างๆที่มีการรายงานพบใน สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก.....	12
ภาพที่ 2-5 ภาพวาดแสดงวงชีวิตของ <i>Hepatozoon catesbiana</i> ในกบบูลฟร็อก <i>Rana catesbeiana</i> และยุงรำคาญ <i>Culex territans</i>	14
ภาพที่ 2-6 เปรียบเทียบลักษณะของ apicomplexa สปีชีส์ต่างๆที่มีการรายงานพบใน สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก.....	18
ภาพที่ 2-7 แสดงลักษณะของปรสิตกลุ่ม Eimeriids ที่สำรวจพบใน <i>Pseudacris triseriata triseriata</i>	24
ภาพที่ 2-8 จุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อจาก <i>Rana catesbeiana</i> ที่ตายด้วยการติดเชื้อไวรัส FV3.....	28
ภาพที่ 2-9 จุลพยาธิวิทยาของผิวหนังจาก <i>Litoria caerulea</i> ที่เป็นโรค Chytridiomycosis.....	28
ภาพที่ 2-10 พื้นผิวของผิวหนังจาก <i>Litoria lesueuri</i> ที่เป็นโรค Chytridiomycosis.....	29
ภาพที่ 2-11 จุลพยาธิวิทยาในไตของหนูที่ติดปรสิต <i>Trypanosoma lewisi</i>	30
ภาพที่ 2-12 จุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในจากเบนดิคูทที่ติดปรสิต <i>Trypanosoma evansi</i>	31
ภาพที่ 2-13 จุลพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่อของ <i>Rana pipiens</i>	32
ภาพที่ 2-14 ลักษณะของปรสิต และจุลพยาธิวิทยาที่เกิดการติดปรสิต <i>Hepatozoon</i> sp. ในงู <i>Nerodia fasciata pictiventris</i>	33

ภาพที่ 4-1 แสดง SVL เฉลี่ยของกบนาละเพศจำนวนเดือนละ 35 ตัว ที่เก็บได้ใน	
เดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2550.....	41
ภาพที่ 4-2 แสดงน้ำหนักเฉลี่ยของกบนาละเพศจำนวนเดือนละ 35 ตัว ที่เก็บได้ใน	
เดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2550.....	41
ภาพที่ 4-3 ลักษณะของโปรโทซัว <i>Trypanosoma rotatorium</i> -like I, II, III, IV และ V form.....	46-47
ภาพที่ 4-4 ลักษณะของโปรโทซัว <i>Trypanosoma chattoni</i>	48
ภาพที่ 4-5 ลักษณะของโปรโทซัว <i>Hepatozoon</i> sp. a.....	49
ภาพที่ 4-6 ลักษณะของโปรโทซัว <i>Hepatozoon</i> sp. b.....	50
ภาพที่ 4-7 ลักษณะของโปรโทซัว <i>Lankesterella minima</i>	52
ภาพที่ 4-8 แสดงคำร้อยละอุบัติการณ์ของกบนาที่ติดปรสิตในเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550....	53
ภาพที่ 4-9 แสดงคำร้อยละอุบัติการณ์ของกบนาที่ติดปรสิตเมื่อพิจารณาจากน้ำหนักของ	
กบนาละเพศ.....	53
ภาพที่ 4-10 แสดงคำร้อยละอุบัติการณ์ของปรสิตในเลือดแต่ละชนิดรวมห้าชนิดใน	
เดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550.....	54
ภาพที่ 4-11 แสดงคำร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิต <i>Trypanosoma rotatorium</i> -like	
ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550.....	55
ภาพที่ 4-12 แสดงคำร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิตร่วมกันในเลือดใน	
เดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550.....	56
ภาพที่ 4-13 แสดงคำร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิต <i>Trypanosoma chattoni</i>	
ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550.....	57

ภาพที่ 4-14 แสดงคำร้อยละเอียดปฏิบัติการณ์ของการติดปรสิต <i>Hepatozoon</i> sp. a	
ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550.....	57
ภาพที่ 4-15 แสดงคำร้อยละเอียดปฏิบัติการณ์ของการติดปรสิต <i>Hepatozoon</i> sp. b	
ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550.....	58
ภาพที่ 4-16 แสดงคำร้อยละเอียดปฏิบัติการณ์ของการติดปรสิต <i>Lankesterella minima</i>	
ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550.....	58
ภาพที่ 4-17 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของกบนาที่ไม่ติดปรสิต.....	61
ภาพที่ 4-18 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต	
<i>Trypanosoma rotatorium</i> -like I form ชนิดเดี่ยวตัวที่หนึ่ง.....	63
ภาพที่ 4-19 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต	
<i>Trypanosoma rotatorium</i> -like II form ชนิดเดี่ยว.....	64
ภาพที่ 4-20 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต	
<i>Trypanosoma rotatorium</i> -like III form ชนิดเดี่ยว.....	65
ภาพที่ 4-21 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต	
<i>Trypanosoma rotatorium</i> -like IV form ชนิดเดี่ยว.....	66
ภาพที่ 4-22 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต	
<i>Trypanosoma rotatorium</i> -like V form ชนิดเดี่ยว.....	67
ภาพที่ 4-23 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต	
<i>Trypanosoma chattoni</i> ชนิดเดี่ยว.....	69
ภาพที่ 4-24 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต	
<i>Hepatozoon</i> sp. a ชนิดเดี่ยว.....	70-71

ภาพที่ 4-25 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต	
<i>Hepatozoon</i> sp. b ชนิดเดียว.....	73
ภาพที่ 4-26 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต	
<i>Lankesterella minima</i> ชนิดเดียว.....	74-75
ภาพที่ 4-27 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง	
<i>Trypanosoma rotatorium-like</i> II form และ <i>Trypanosoma chattoni</i>	77
ภาพที่ 4-28 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง	
<i>Trypanosoma rotatorium-like</i> I form และ <i>Hepatozoon</i> sp. a.....	79
ภาพที่ 4-29 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง	
<i>Trypanosoma rotatorium-like</i> IV form และ <i>Hepatozoon</i> sp. a.....	81
ภาพที่ 4-30 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง	
<i>Trypanosoma chattoni</i> และ <i>Hepatozoon</i> sp. a.....	83
ภาพที่ 4-31 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง	
<i>Trypanosoma rotatorium-like</i> I form และ <i>Lankesterella minima</i>	85
ภาพที่ 4-32 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง	
<i>Trypanosoma rotatorium-like</i> IV form และ <i>Lankesterella minima</i>	87
ภาพที่ 4-33 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง	
<i>Hepatozoon</i> sp. a และ <i>Hepatozoon</i> sp. b.....	88
ภาพที่ 4-34 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง	
<i>Hepatozoon</i> sp. a และ <i>Lankesterella minima</i>	89-90

บทที่ 1

บทนำ

สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่อาศัยอยู่ในธรรมชาติมีโอกาสสูงที่จะเผชิญกับปรสิตและสิ่งมีชีวิตกลุ่มต่างๆที่สามารถทำให้เกิดโรคได้ เนื่องจากวงชีวิตของสัตว์กลุ่มนี้อาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมทั้งในน้ำและบนบก จากการศึกษาพบว่าปรสิตมีผลอย่างมากต่อร่างกายของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก โดยเข้าไปมีผลต่อเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆเช่น ตับ ปอด ม้ามและไต (Bardsley and Harmsen, 1973; Dessler, 1993) ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของสัตว์ทำให้ร่างกายอ่อนแอและนำไปสู่การเป็นโรคได้

การศึกษาปรสิตในเนื้อเยื่อของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกพบว่ากลุ่มที่มีการศึกษากันมากคือ ปรสิตในเลือดในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกอันดับกบเขียดหรือ Order Anura มีการศึกษาพบปรสิตในเลือดหลายสกุลได้แก่ *Trypanosoma*, *Hepatozoon*, *Haemogregarina* และ *Lankesterella* เป็นต้น ซึ่งพบในประเทศต่างๆเช่น สหรัฐอเมริกา (Levine and Nye, 1977) แคนาดา (Barta and Dessler, 1984) และจีน (Werner, 1993) โดยพบว่าวงชีวิตของปรสิตเหล่านี้จะมีอยู่ระยะหนึ่งที่ต้องเข้าไปเจริญอยู่ในเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆด้วยเช่น ตับ ปอด ม้ามและไต (Bardsley and Harmsen, 1973; Dessler, 1993) สำหรับในประเทศไทยการศึกษาปรสิตในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกอันดับกบเขียดเริ่มทำการศึกษาจากปรสิตกลุ่มหนอนพยาธิ โดยพบเป็นปรสิตภายในทางเดินอาหารเป็นส่วนมาก (วิชาญ เชาวลิต, 2523; วิภา เมฆวิชัย และคณะ, 2532) ส่วนการศึกษาปรสิตในเลือดมีการรายงานพบโปรโตซัวสกุล *Trypanosoma*, *Hepatozoon* และ *Lankesterella* นอกจากนี้ยังรายงานพบริคเก็ตเซียในสกุล *Aegyptianella* อีกด้วย (Chutmongkonkul and Pariyanonth, 2005) สำหรับการศึกษาอุบัติการณ์ได้มีการรายงานในปรสิตสกุล *Lankesterella* โดยมีการสำรวจในกบนาจากพื้นที่ต่างๆหลายจังหวัดได้แก่ อุบลราชธานี นครราชสีมา สุรินทร์และเชียงใหม่ พบว่ามีค่าร้อยละอุบัติการณ์อยู่ในช่วง 3.03-55.56 (นิจธร สังข์ศรีรินทร์, 2550) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของปรสิตสกุล *Lankesterella* ด้วยพบมีก้อนแกรนูโลมา (granuloma) และการตายของเนื้อเยื่อหลายแห่งแทรกกระจายในตับและไตของกบนา จากผลข้างต้นผู้วิจัยได้ให้ความเห็นว่าการติดปรสิตสกุล *Lankesterella* ในเลือดอาจเป็นสาเหตุโน้มนำให้เกิดภาวะกดภูมิคุ้มกัน (pre-disposing cause) และเกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนจากแบคทีเรียในภายหลังได้ (Chutmongkonkul et al., 2005)

กบนา *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834) เป็นสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่คนไทยนิยมนำมาบริโภคเป็นอาหารพบได้ในทั่วทุกภาคของประเทศไทย ซึ่งในอดีตกบชนิดนี้มีการแพร่กระจายอยู่เป็นจำนวนมากในธรรมชาติ แต่ในปัจจุบันประชากรกบนาในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากสาเหตุหลายประการเช่น พื้นที่อาศัยเดิมถูกเปลี่ยนเป็นเขตที่อยู่อาศัยของมนุษย์ พื้นที่การเกษตรและพื้นที่อุตสาหกรรม สภาพแวดล้อมของโลกที่เปลี่ยนแปลงไป รวมไปถึงโรคและศัตรูทางธรรมชาติต่างๆ ขณะเดียวกันกับที่

ความต้องการกบนาเชิงพาณิชย์ของตลาดในประเทศและตลาดต่างประเทศขยายตัวสูงขึ้น ทำให้กบนาจากธรรมชาติไม่สามารถสนองความต้องการของตลาดในปริมาณที่สม่ำเสมอได้ ด้วยเหตุดังกล่าวจึงมีการพัฒนาการเลี้ยงกบนาอย่างเป็นระบบจนมีการเพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน (มุสตี ปริยานนท์, 2535) นอกจากนี้ความสำคัญทางด้านพาณิชย์ของกบนาแล้ว กบนายังเป็นสัตว์ทดลองในการศึกษาวิจัยทางชีววิทยาและทางการแพทย์ รวมทั้งเป็นสัตว์เลี้ยงด้วย ในทางระบบนิเวศกบนายังมีบทบาทที่เป็นประโยชน์เช่น เป็นผู้ล่าแมลงศัตรูพืช เป็นต้น อย่างไรก็ตามการเลี้ยงกบนาในประเทศไทยยังประสบกับปัญหาหลายด้านเช่น โรคและการจัดการ เป็นต้น ประกอบกับการศึกษาชนิดและพยาธิสภาพที่เกิดจากปรสิตในกบนายังมีน้อย ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายของชนิดปรสิตในเนื้อเยื่อ และจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อจากปรสิตจึงมีความสำคัญ ซึ่งจะช่วยให้ทราบข้อมูลทางชีววิทยาและสามารถนำไปปรับใช้ในการวางแผนป้องกันการติดปรสิตในกบนาเลี้ยงได้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความหลากหลายของชนิดปรสิตที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อต่างๆ ได้แก่ เลือด ดับ ปอด ม้ามและไตของกบนาธรรมชาติ
2. ศึกษาจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆ จากกบนาที่ติดปรสิต

ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาความหลากหลายของปรสิตในเนื้อเยื่อในกบนาธรรมชาติ จากอำเภอวังน้ำเย็น จังหวัดสระแก้ว ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550
2. ศึกษาผลของปรสิตในเนื้อเยื่อต่อกบนา จากการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ ได้แก่ ดับ ปอด ม้ามและไต

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบชนิดและจำนวนของปรสิตที่พบในเนื้อเยื่อของกบนาธรรมชาติ
2. ทราบจำนวนร้อยละของกบนาที่ติดปรสิต
3. ทราบพยาธิสภาพในอวัยวะต่างๆของกบนาที่ติดปรสิต
4. ความรู้ที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐาน ในการศึกษาวงจรชีวิตของปรสิตในเนื้อเยื่อที่ส่งผลกระทบต่อกบนาต่อไป

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชีวิตวิทยาของกบนา

2.1.1 อนุกรมวิธาน

Hoplobatrachus rugulosus (Wiegmann, 1834) มีชื่อสามัญว่า rice field frog หรือ rugose frog หรือ กบนา การจัดจำแนกได้ใช้ลักษณะตามเกณฑ์ของ Frost *et al.*, 2006 ซึ่งจัดเรียงได้ดังนี้

Phylum Chordata

Class Amphibia

Order Anura

Family Dicroglossidae

Genus *Hoplobatrachus*

Species *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1834)

ชื่อพ้อง : *Rana rugulosa* (Wiegmann, 1834)

Hydrostentor pantherinus (Steindachner, 1867)

Rana tigrina var. *pantherina* (Steindachner, 1867)

Rana esculenta chinensis (Wolterstorff, 1906)

Rana burkilli (Annandale, 1910)

Rana rugulosa (Annandale, 1918)

Rana tigrina var. *burkilli* (Boulenger, 1920)

Rana (Rana) tigrina var. *pantherina* (Boulenger, 1920)

Rana tigrina rugulosa (Smith, 1930)

Rana tigrina rugulosa (Fang and Chang, 1931)

Rana tigrina pantherina (Taylor and Elbel, 1958)

Euphlyctis tigrina rugulosa (Poynton and Broadley, 1985)

Limnonectes (Hoplobatrachus) rugulosus (Dubois, 1987)

Tigerina rugulosa (Fei, Ye and Huang, 1991)

Hoplobatrachus rugulosus (Dubois, 1992)

2.1.2 ลักษณะวิทวิทยาภายนอก และเพศ

กบนาถูกจัดอยู่ในกลุ่มกบขนาดกลางมีความยาววัดจากกริมฝีปากจนถึงก้นหรือ snout-vent length ประมาณ 90 ถึง 180 มิลลิเมตร มีน้ำหนักประมาณ 80 ถึง 300 กรัม หัวสั้นเป็นรูปทรงสามเหลี่ยมมีส่วนยาวเกือบเท่าส่วนกว้าง ขาหลังยาวประมาณเท่าครึ่งของความยาวลำตัวและยาวเป็นสองเท่าของขาหน้า ขาหลังมีน้ำหนักคิดเป็นห้าเท่าของขาหน้า ลูกตากกลมค่อนข้างโตและมีขนาดใหญ่กว่าวงหู (tympanum) เล็กน้อย ภายในปากมีฟัน (vomerine teeth) ขนาดใหญ่จัดเรียงเป็นสองแถวในแนวทแยงที่เพดานปาก ส่วนหน้าของขากรรไกรล่างมีปุ่มที่เจริญติคล้ายฟันอยู่ตรงพอดีกับหลุมในขากรรไกรบน นิ้วมือและนิ้วเท้าเรียวยาวแหลม ช่องระหว่างนิ้วเท้ามีพังผืดยึดโดยรอบ

สีผิวด้านหลังส่วนมากมีสีเขียวถึงสีน้ำตาลเข้ม ประด้วยจุดหรือแต้มดำทั่วไปจากหัวตลอดตัวจนสุดปลายขาหลัง บางตัวจะเห็นลายเป็นแถบดำ 3-4 แถบพาดส่วนบนของโคนขาและหน้าแข้ง ผิวหนังด้านหลังบนขรุขระมีรอยย่นเป็นสันอยู่ทั่วไป ผิวหนังด้านหลังเรียบมีสีขาจนถึงสีขาอมเหลืองโดยเฉพาะบริเวณเอว ใต้คางจะมีจุดหรือเส้นดำอยู่ทั่วไปโดยเส้นดำจะอยู่ตรงกึ่งกลาง (จากกริมปาก-คอ) ที่ขากรรไกรบนและขากรรไกรล่างมีแถบสีดำและสีขาวสลับชัดเจน

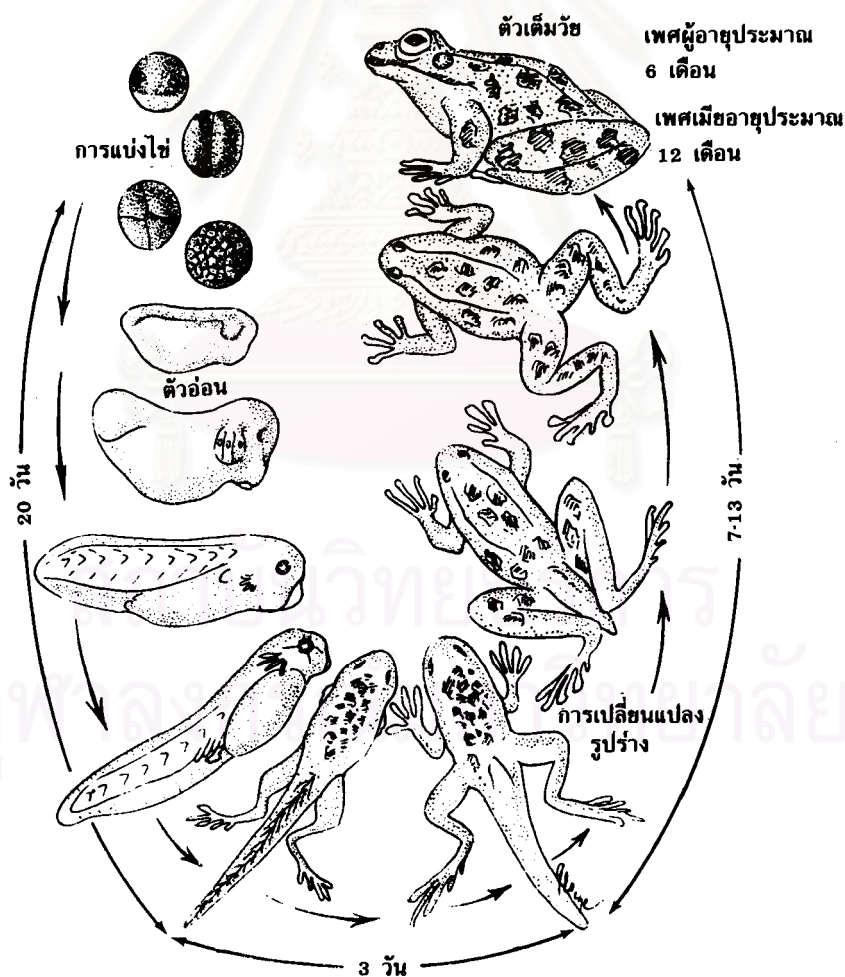
กบนาเพศผู้มีขนาดเล็กกว่ากบนาเพศเมีย เมื่อโตเต็มที่ (อายุประมาณ 6 เดือน) จะสังเกตเห็นรอยย่นของถุงเสียงเป็นสีเทาคล้ายได้คางสองข้าง (vocal sac) เพื่อใช้ในการร้องเรียกเพศเมีย นอกจากนี้ในช่วงฤดูผสมพันธุ์จะพบแถบหนาสีน้ำตาลทางด้านในของนิ้วหัวแม่มือทั้งสองข้าง เพื่อช่วยยึดเกาะเพศเมียในเวลาผสมพันธุ์

กบนาเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ มีจุดสังเกตตรงบริเวณเอวที่จะพองและโตกว่ากบนาเพศผู้ โดยเฉพาะกรณีที่มีไข่แก่อยู่เต็มท้อง ผิวหนังใต้คางสองข้างจะเรียบตลอดไม่มีรอยย่นหรือสีคล้ำ (กัมพล อิศรางกูร ณ อยุธยา, 2535)



ภาพที่ 2-1 แสดงลักษณะภายนอกของ *Hoplobatrachus rugulosus* ตัวเต็มวัยเพศผู้ (ซ้าย) และเพศเมีย (ขวา)

ไข่ที่ได้รับการผสมกับสเปิร์มแล้วจะเจริญฟักออกเป็นตัวภายใน 18-28 ชั่วโมงหรือประมาณ 1 วัน ไข่ที่ได้รับการผสมใหม่ ๆ จะมีรูปร่างกลมและจะเห็นแถบสีเทา (gray crescent) อยู่ระหว่างแถบสีเข้มกับแถบสีจาง จากนั้นไข่จะเปลี่ยนเป็นรูปรี่แล้วค่อยๆเพิ่มความยาวขึ้นเรื่อยๆจนมองเห็น ส่วนหัว ลำตัวและหางอย่างชัดเจน ลูกอ๊อดที่ฟักออกเป็นตัวใหม่ๆจะเกาะนิ่งยังไม่กินอาหารจนกว่าถุงอาหารจะยุบหมดช่วงนี้ลูกอ๊อดจะมีอายุประมาณ 3 วัน จากนั้นลูกอ๊อดจะเริ่มกินอาหารและมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นตามลำดับ ในขณะเดียวกันร่างกายของลูกอ๊อดจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) ไปด้วย (ภาพที่ 2-3) เมื่ออายุ 20 วันจะงอกขาหลัง อายุ 23 วันจะงอกขาหน้า อายุ 30-43 วันหางของลูกอ๊อดจะหดหายไปจนหมดได้เป็นลูกกบตัวเล็กที่มีรูปร่างครบสมบูรณ์ ใช้เวลาของการเจริญจากไข่ที่ถูกผสมจนเป็นลูกกบประมาณ 30-40 วัน (ธีรวรรณ นุดประพันธ์, 2535)



ภาพที่ 2-3 ภาพวาดแสดงการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และวงจรชีวิตของ *Hoplobatrachus rugulosus* (ธีรวรรณ นุดประพันธ์, 2535)

2.1.5 ขอบเขตการกระจายของกบนา และแหล่งอาศัย

ในธรรมชาติ กบนามีการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ตั้งแต่ภาคกลาง ภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศจีน เรื่อยลงมาถึงประเทศเวียดนาม พม่า ลาว กัมพูชา ไทยและไปสิ้นสุดที่ตอนกลางของคาบสมุทรมาลายู แต่ก็มีการนำกบนาเข้าไปในบริเวณทางตอนปลายของแหลมมาลายูและเกาะบอร์เนียวซึ่งรวมทั้งที่เป็นส่วนของประเทศมาเลเซีย (รัฐซาบฮ์) และประเทศอินโดนีเซีย (วิโรจน์ ดาวฤกษ์, 2535) นอกจากนี้ยังมีการนำกบนาเข้าไปในประเทศฟิลิปปินส์ที่ตอนกลางของเกาะลูซอนและเกาะปาลาวันอีกด้วย (Inger and Tan, 1996)

แหล่งอาศัย (habitat) กบนาสามารถอาศัยได้ในพื้นที่หลายแบบ เช่น ที่ราบลุ่ม ที่ดอนหรือแม้แต่เชิงเขาหรือในสภาพดินที่เป็นดินทราย ขอเพียงให้มีเงื่อนไขสำคัญคือ แหล่งน้ำ เพราะแหล่งน้ำจะเป็นแหล่งให้ ความชื้นกับกบนาและยังเป็นแหล่งผสมพันธุ์อีกด้วย โดยแหล่งน้ำนั้นอาจเป็นแหล่งธรรมชาติหรือมนุษย์สร้างขึ้นก็ได้

2.2 ปรสิต

ปรสิตที่พบในเนื้อเยื่อของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีดังต่อไปนี้

ไวรัส (Virus)

Ranavirus เป็นไวรัสในกลุ่ม iridovirus พบมากในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในระยะลูกออดหรือระยะที่กำลังเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ไวรัสนี้สามารถทำให้อวัยวะในหลายระบบเกิดภาวะเนื้อตาย (necrosis) ได้ เช่น ไชกระดูก ตับ ทางเดินอาหารและผิวหนัง เป็นต้น การระบวมมักจะปะปนไปกับอาหารและน้ำ (Pessier, 2002) อาการทางคลินิกที่สำคัญคือเกิดแผล (ulcer) ที่ผิวหนัง ดังที่ Cunningham *et al.* (1996) พบในกบ *Rana temporaria* นอกจากนี้ยังอาการอื่นร่วมด้วยเช่น ไม่กินอาหาร เป็นต้น ไวรัสนี้เป็นสาเหตุทำให้ประชากรของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกหลายชนิดลดจำนวนลงในทวีปอเมริกาเหนือ (Green *et al.*, 2002; Greer *et al.*, 2005)

Frog erythrocytic virus (FEV) และ Frog leucocytic virus (FLV) เป็นไวรัสที่พบทั้งในเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาวของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก สามารถทำให้เซลล์ที่ติดไวรัสขยายใหญ่ขึ้นและรูปร่างเปลี่ยนไปได้ พบการแพร่กระจายในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกแถบทวีปเอเชียได้แก่ *Rana nigromaculata*, *Rana Boulengeri* และ *Bufo gargarizans* เป็นต้น (Werner, 1993) และทวีปอเมริกา ได้แก่ *Eleutherodactylus fitzingeri* เป็นต้น (Desser, 2001)

แบคทีเรีย (Bacteria)

Aeromonas hydrophila เป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกคือ โรคขาแดง อาการทางคลินิกคือ ผิวหนังมีจุดแดงเนื่องจากเลือดคั่ง โดยเฉพาะผิวหนังทางด้านท้องที่เป็นสีขาวอาจรมองจนถึงขั้นอักเสบเป็นแผล (Cipriano *et al.*, 1984; Taylor *et al.*, 2001) บางครั้งพบจุดขาวๆกระจายทั่วตัว มีน้ำมูก น้ำตาขุ่นข้นและสัตว์ที่ติดโรคอาจตายได้เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดแดงถูกทำลาย (Thanawongnuwech *et al.*, 2003) ความรุนแรงของการระบาดและการตายขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประชากร (Paul and Dillehay, 1991) โดยเฉพาะในการทำฟาร์มเลี้ยงกบจะมีโอกาสในการระบาดมากที่สุด (มุสดี ปริยานนท์, 2535)

นอกจาก *A. hydrophila* แล้วยังมีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียในสกุล *Chlamydia* ก็สามารถทำให้กบตายเป็นจำนวนมากได้ยกตัวอย่างเช่น *Chlamydia suis* สามารถทำให้ *Rana temporaria* ตายได้เนื่องจากภาวะติดเชื้อในลำไส้ (Blumer *et al.*, 2007) และ *Chlamydia pneumoniae* ที่ Newcomer *et al.* (1982) ได้ทำการทดลองนำเชื้อนี้เข้าไปติด *Xenopus laevis* พบว่าตัวกบที่ติดเชื้อจะตายเนื่องจากเกิดภาวะหลายอย่างเช่น ผิวหนังซีด (depigmentation), จุดเลือดออก (petechiation), แผลเรื้อรัง (ulceration) และ ผิวหนังโป่งพองจากการบวมน้ำ (subcutaneous edema) เป็นต้น

ริคเก็ตเซีย (Rickettsia)

Aegyptianella ranarum

Desser (1987) ศึกษาพบปรสิตชนิดนี้เป็นอินคลูชัน (inclusion) อยู่ภายในไซโตพลาซึมของเซลล์เม็ดเลือดแดงของ *Rana catesbeiana*, *Rana clamitans* และ *Rana septentrionalis* ในประเทศแคนาดา อินคลูชันมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-11 ไมโครเมตรซึ่งภายในจะมีปริสิตที่มีลักษณะเป็นแท่งยาวประมาณ 1.7 ไมโครเมตรและ Barta *et al.* (1989) ก็พบปริสิตลักษณะเดียวกันนี้ใน *Rana esculenta* จากทวีปยุโรปโดยอินคลูชันวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ประมาณ 4.9 ± 0.6 ไมโครเมตร

Aegyptianella bacterifera

Desser and Barta (1989) ศึกษาพบอินคลูชันของปรสิตชนิดนี้อยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงของ *Rana esculenta* ภายในอินคลูชันที่มีเยื่อหุ้มมีปริสิตตั้งแต่ 1-12 ตัว ในขณะที่ Werner (1993) ก็พบปริสิตชนิดเดียวกันในเซลล์เม็ดเลือดแดงของ *Rana nigromaculata* จากประเทศจีนและวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของอินคลูชันได้ 2.9 ± 1.10 ไมโครเมตร

Aegyptianella sp.

Chutmongkonkul and Pariyanonth (2005) ศึกษาพบอินคลูชันภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงของ *Polypedates leucomystax*, *Limnodynastes blythii* และ *Hoplobatrachus rugulosus* จากจังหวัดน่าน ประเทศไทย อินคลูชันมีลักษณะกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 4.33 ไมโครเมตร นิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่พบ *Aegyptianella* sp. อยู่ภายในจะถูกดันออกด้านข้าง

ฟังไจ (Fungi)

Batrachochytrium dendrobatidis

Longcore *et al.* (1999) ศึกษาพบว่าราชนิดนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค Chytridiomycosis ซึ่งทำให้สัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่เป็นโรคนี้นี้ตาย เนื่องจากสภาวะสูญเสียสภาพการรักษาความเข้มข้นของสารในร่างกาย (homeostasis) สภาวะสูญเสียพื้นที่ในการแลกเปลี่ยนก๊าซอันเนื่องมาจากผิวหนังเป็นแผล (ulcer) และการได้รับสารพิษ (mycotoxin) ที่ราผลิตขึ้น (Pessier, 2002) โรคนี้นี้เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ประชากรของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกลดจำนวนลงในหลายภูมิภาคของโลก (Berger *et al.*, 1998; Mutschmann *et al.*, 2000; Raverty and Reynolds, 2001) ในปี 2004 Weldon ศึกษาการระบาดของโรคนี้นี้ในทวีปอเมริกาแล้วให้ความเห็นว่ากบ *Rana catesbeiana* มีโอกาสเป็นพาหะที่สำคัญของโรคนี้นี้และทำให้ Chytridiomycosis แพร่กระจายไปทั่วโลก เนื่องจากกบชนิดนี้มีความสำคัญทางการค้า รวมทั้งประเทศไทยที่นำกบชนิดนี้เข้ามาเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภค (ผุสดี ปริยานนท์, 2535)

Saprolegnia sp.

Frye and Gillespie (1989) ศึกษาลักษณะการรุกรานของราชนิดนี้พบว่า บริเวณที่ติดราจะมีลักษณะเป็นเส้นใยขาวคล้ายสาหร่ายและเกิดแผลเรื้อรัง (ulcer) โรคนี้นี้สามารถเกิดขึ้นได้กับผิวหนังทุกส่วนของร่างกาย แต่พบน้อยมากในอวัยวะภายใน ในบางครั้งราอาจเข้าไปเจาะทำลายไขกระดูกจนทำให้เอ็มบริโอมีการเจริญที่ผิดปกติและอาจถึงตายได้ (Robinson *et al.*, 2003)

โพรโทซัว (Protozoa)

โพรโทซัวที่พบเป็นปรสิตในเนื้อเยื่อของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีการรายงานไว้ดังนี้

Trypanosomes

Trypanosomes เป็นกลุ่มของ flagellate ที่ดำรงชีพเป็นปรสิตภายในระบบหมุนเวียนเลือดของทั้งสัตว์มีกระดูกสันหลังเลือดเย็นและสัตว์มีกระดูกสันหลังเลือดอุ่น โดยมีสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเป็นพาหะ เช่น ยุง (Desser *et al.*, 1973) และปลิง (Bardsley and Harmsen, 1973) เป็นต้น ปรสิตในกลุ่มนี้มีรูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปได้หลายรูปแบบขึ้นอยู่กับชนิดของโฮสต์ (host) และขึ้นกับระยะเวลาที่สำรวจเลือดว่าในขณะนั้นจะตรงกับช่วงใดของวงจรชีวิตซึ่งระยะต่างๆของ trypanosomes แบ่งออกตามรูปร่างเป็นสองกลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ round-form และ mastigote-form (Farmer, 1980)

Round-form ได้แก่

- Amastigotes (leishmanial form) ระยะนี้เซลล์จะมีรูปทรงกลมหรือไข่ โคนเอนโดพลาสต์อยู่ก่อนไปทางปลายด้านหน้า ระยะนี้แฟลเจลลัมเริ่มปรากฏเป็นเส้นสั้นๆ โดยมีจุดเริ่มต้นจากโคนเอนโดพลาสต์ แต่ไม่มีแฟลเจลลัมอิสระ

Mastigote-form ใต้แก้ว

- Promastigote เซลล์มีรูปร่างยาว ไคเนโตพลาสต์ยังคงคงก่อนไปทางปลายด้านหน้า แฟลเจลลัมอิสระ เริ่มปรากฏเป็นสายสั้นๆแต่ยังไม่ปรากฏเชือกคลื่น
- Epimastigote เซลล์มีรูปร่างยาวมากขึ้น ไคเนโตพลาสต์เลื่อนตำแหน่งเข้ามาใกล้นิวเคลียส แฟลเจลลัมเปลี่ยนไปเป็นเชือกคลื่นแต่ยังสั้นอยู่ แฟลเจลลัมอิสระมีความยาวมากขึ้น
- Trypomastigote เซลล์มีรูปร่างยาวคล้ายใบไม้ ไคเนโตพลาสต์เคลื่อนตำแหน่งผ่านนิวเคลียสไปทางปลายด้านท้าย แฟลเจลลัมมีการพัฒนาไปเป็นเชือกคลื่นมีความยาวจนเกือบเต็มความยาวของเซลล์ แฟลเจลลัมอิสระมีความยาวมากกว่าทุกระยะของวงจรชีวิต

โปรโทซัวกลุ่ม trypanosomes ชนิด (species) ที่มีรายงานการพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีดังต่อไปนี้

Trypanosoma rotatorium Mayer, 1843

เป็นชนิดที่มีรายงานพบกระจายไปทั่วโลก (Kudo, 1922; Bardsley and Harmsen, 1973; Ray, 1984; Barta *et al.*, 1989; Werner, 1993; Zickus, 2002) ในกบสกุล *Rana* ตามภูมิภาคนั้นๆ *T. rotatorium* มีรูปร่างลักษณะหลากหลาย (polymorphism) สามารถพบได้ในระยะทั้ง mastigote form และ round form ซึ่งแบบ round form ต่อมาได้มีการศึกษาเพิ่มเติมและแยกออกมาเป็นสปีชีส์ใหม่คือ *Trypanosoma chattoni* Mathis and Léger, 1911 (Diamond, 1965) (ภาพที่ 2-4 G) mastigote form เท่าที่ศึกษาพบว่าสามารถแบ่งเป็นสองกลุ่มคือ แบบที่หนึ่ง (ภาพที่ 2-4 A) เซลล์มีไคเนโตพลาสต์ห่างจากปลายด้านท้าย (posterior end) เล็กน้อย ไชโตพลาซึมเต็มไปด้วยแกรนูล (vacuolation) นิวเคลียสรูปไข่และมีขนาดอยู่ในช่วงประมาณ $44-70 \times 10-35$ ไมโครเมตร ซึ่งรูปแบบนี้พบปรากฏในทางฝั่งทวีปอเมริกาเหนือ (Kudo, 1922; Werner and Walewski, 1976; Barta and Dessler, 1984) นอกจากนี้ยังสามารถพบในกบสกุล *Bufo* และ *Leptodactylus* ได้อีกด้วย และแบบที่สอง (ภาพที่ 2-4 B) เซลล์มีรูปร่างกว้าง นิวเคลียสยาวประมาณอย่างน้อยหนึ่งในสามของความยาวลำตัวที่ขั้วของนิวเคลียสอาจข้อมติดลิ้นเข็ม ไคเนโตพลาสต์อยู่บริเวณใกล้กับปลายด้านท้าย เชือกคลื่น (undulating membrane) มีการพัฒนาดีสามารถเห็นได้ 7-8 แอมพลิจูดและมีแฟลเจลลัมอิสระยาวซึ่งรูปแบบนี้พบปรากฏในทางฝั่งทวีปยุโรปและทวีปเอเชีย (Ray, 1984; Barta *et al.*, 1989 ; Werner, 1993; Zickus, 2002 ; Chutmongkonkul and Pariyanonth, 2005)

Trypanosoma pipientis Diamond, 1950

เป็นชนิดที่พบในกบสกุล *Rana* ทางฝั่งทวีปอเมริกาเหนือ (Werner and Walewski, 1976; Levine and Nye, 1977; Barta and Dessler, 1984) มีขนาดและรูปร่างเล็กกว่า *Trypanosoma rotatorium* วัดขนาดได้ประมาณ 39.2×2.6 ไมโครเมตร มีแฟลเจลลัมอิสระยาวเฉลี่ยวัดได้ 19.4 ไมโครเมตร (ภาพที่ 2-4 C)

Trypanosoma ranarum Lankester, 1871

เป็นชนิดที่มีรายงานการพบในทางฝั่งทวีปอเมริกาเหนือเช่นเดียวกับ *Trypanosoma pipientis* แต่มีขนาดที่ใหญ่กว่าวัดเฉลี่ยได้ประมาณ 54.6×12.1 ไมโครเมตรและมีแฟลเจลลัมอิสระยาวเฉลี่ยประมาณ 13.6 ไมโครเมตร (ภาพที่ 2-4 D) มีรายงานการพบในกบสกุล *Rana* (Werner and Walewski, 1976; Barta and Dessler, 1984) และคางคก *Bufo americanus* (Barta and Dessler, 1984)

Trypanosoma loricatum Mayer, 1843

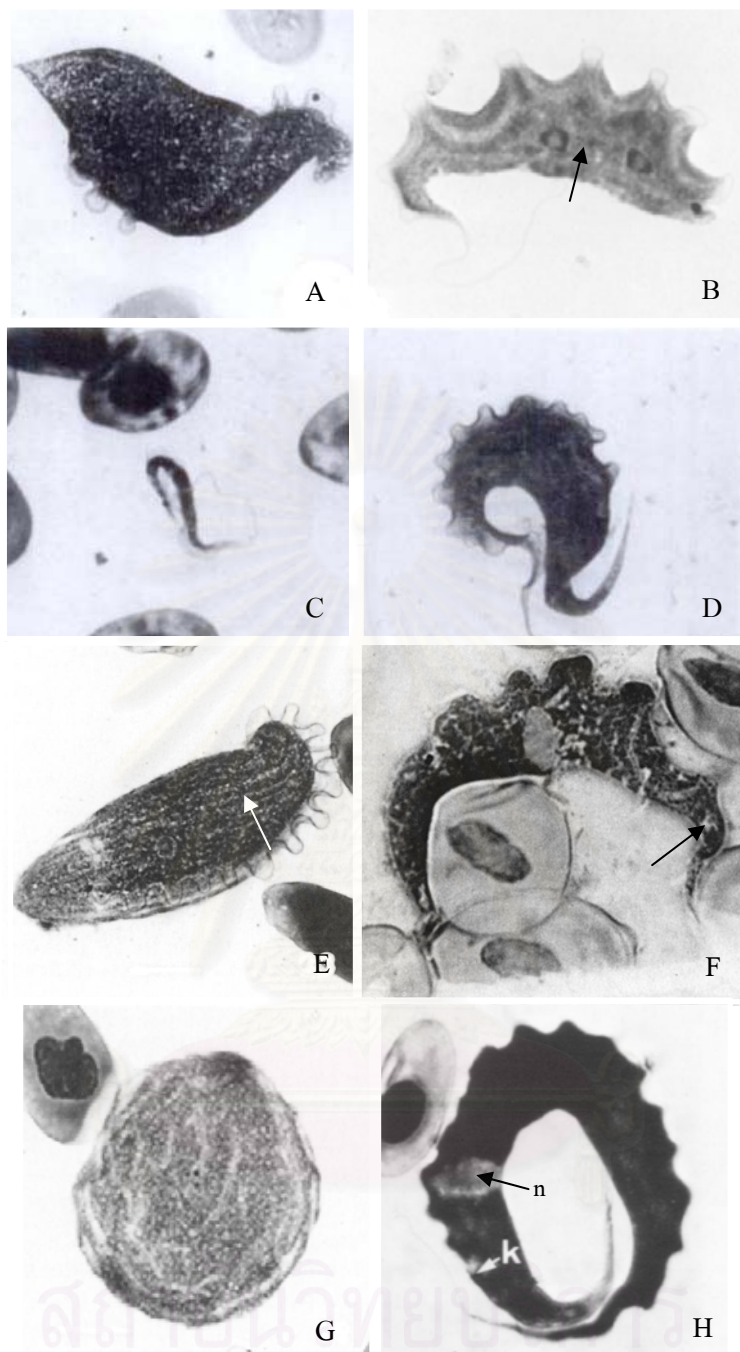
เป็นอีกหนึ่งชนิดที่มีรายงานการพบในเกือบทุกภูมิภาคของโลกทั้งทวีปยุโรป (Barta *et al.*, 1989) ทวีปเอเชีย (Werner, 1993) และทวีปอเมริกา (Dessler, 2001) ซึ่งทั้งหมดบรรยายลักษณะของปรสิตได้ใกล้เคียงกันคือ เซลล์มีรูปร่างคล้ายไข่มีความยาวของเซลล์มากกว่าความกว้างประมาณครึ่งหนึ่ง นิวเคลียสรูปร่างกลมอยู่ตรงกลางเซลล์ ไคเนโตพลาสต์อยู่ใกล้นิวเคลียสเป็นจุดเชื่อมอยู่ประมาณครึ่งหนึ่งของระยะทางระหว่างนิวเคลียสกับปลายด้านท้าย เชื้อคลื่นเริ่มจากตำแหน่งของไคเนโตพลาสต์ไปทางปลายด้านหน้า ไม่มีแฟลเจลลัมอิสระ ที่ผิวเซลล์มีแถวของเส้นใยเล็กๆจำนวนมากเรียงตัวไปตามความยาวของเซลล์จำนวน 6-12 แถว (ภาพที่ 2-4 E) รายงานพบในกบสกุล *Rana* และมีอัตราการติดปรสิตสูงถึง 61 เปอร์เซ็นต์ (Werner, 1993) และ 71 เปอร์เซ็นต์ (Dessler, 2001)

Trypanosoma bufophlebotomi Ayala, 1970

Werner and Walewski (1976) รายงานการพบเป็นครั้งแรกใน *Bufo americanus* และพบมีลักษณะเด่นคือ บริเวณไคเนโตพลาสต์ (Ayala, 1970) (ภาพที่ 2-4 F)

Trypanosoma neveulemairei Brumpt, 1928

Barta *et al.* (1989) รายงานพบใน *Rana esculenta* พร้อมทั้งบรรยายลักษณะดังนี้ ปรสิตมีรูปร่างยาว ย้อมติดสีเข้ม ปลายทั้งสองด้านของเซลล์เรียวแหลม ส่วนที่กว้างที่สุดของเซลล์จะอยู่บริเวณกลางเซลล์ นิวเคลียสรูปร่างยาวอยู่ประมาณสองในห้าของความยาวเซลล์นับจากปลายด้านท้าย ไคเนโตพลาสต์อยู่ประมาณหนึ่งในสี่ของระยะทางจากนิวเคลียสไปปลายด้านท้าย แฟลเจลลัมอิสระสั้นประมาณหนึ่งในสิบของความยาวเซลล์ (ภาพที่ 2-4 H) ซึ่งรูปร่างโดยรวมจะคล้ายกับ *Trypanosoma ranarum*



ภาพที่ 2-4 เปรียบเทียบลักษณะของ trypanosomes ชนิดต่างๆที่มีการรายงานพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก A: แสดงลักษณะของ *Trypanosoma rotatorium* ที่พบในทวีปอเมริกาเหนือ (Barta and Dessler , 1984) B: แสดงลักษณะของ *T. rotatorium* ที่พบในทวีปยุโรป (Barta et al. ,1989) ลูกศรชี้แสดงลักษณะนิวเคลียสที่ยื่นยาวออกมา C: แสดงลักษณะของ *T. pipientis* Diamond, 1950 (Barta and Dessler , 1984) D: แสดงลักษณะของ *T. ranarum* Lankester, 1871 (Barta and Dessler , 1984) E: แสดงลักษณะของ *T. loricatum* Mayer, 1843 (Dessler, 2001) ลูกศรชี้แสดงลักษณะแถวของเส้นใยเล็กๆที่เรียงไปตามความยาวของเซลล์ F: แสดงลักษณะของ *T. bufophlebotomi* Ayala, 1970 (Werner and Walewski, 1976) ลูกศรชี้แสดงบริเวณไซโรบโคเนโทพลาสต์ G: แสดงลักษณะของ *T. chattoni* Mathis and Léger, 1911(Dessler, 2001) H: แสดงลักษณะของ *T. neveulemairei* Brumpt, 1928 (Barta et al. ,1989) k = ไคเนโทพลาสต์; n = นิวเคลียส

สำหรับ Trypanosomes ที่พบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยนั้น Chutmongkonkul and Pariyanonth (2005) ได้รายงานพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกจากจังหวัดน่านหลายชนิด ได้แก่ *Polypedates leucomystax*, *Limnnectes pileatus* และ *Hoplobatrachus rugulosus* นอกจากนี้ยังมีรายงานพบใน *Limnnectes kuhlii*, *L. pileatus*, *L. blythii* และ *Polypedates leucomystax* จากจังหวัดเชียงใหม่อีกด้วย (Chutmongkonkul *et al.*, 2005) แต่ไม่ได้ระบุถึงระดับชนิดของปรสิตเนื่องจาก trypanosomes ที่ตรวจพบมีรูปร่างลักษณะที่หลากหลายมาก ซึ่ง Dessler (2001) ได้ให้ความเห็นเกี่ยวกับการมีรูปร่างที่หลากหลายของปรสิตว่า น่าจะเป็นอิทธิพลจากชนิดของโฮสต์และบริเวณที่อาศัยของสัตว์เหล่านั้นที่มีความหลากหลายสูงรวมไปถึงอิทธิพลที่มาจากพาหะเช่น ปลิง และยุงด้วย

Apicomplexa

Apicomplexa เป็นกลุ่ม sporozoa ที่ดำรงชีพเป็นปรสิตในเนื้อเยื่อของสัตว์เกือบทุกไฟลัม โดยเฉพาะสัตว์มีกระดูกสันหลัง โพรโทซัวในกลุ่มนี้จะมีอวัยวะพิเศษที่เรียกว่า Apical complex พบอยู่ทางปลายด้านหน้าของเซลล์ทำหน้าที่ในการเจาะเยื่อหุ้มเซลล์ของโฮสต์ วงจรชีวิตของโพรโทซัวกลุ่มนี้มีสามระยะแบ่งตามลักษณะของการแบ่งเซลล์ได้ดังนี้ (Farmer, 1980)

Merogony เป็นช่วงของวงจรชีวิตที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสทำให้ได้เซลล์ใหม่เป็นจำนวนมาก และเซลล์ดังกล่าวจะมีลักษณะเหมือนกับเซลล์ต้นแบบเรียกว่าเมโรซอइट (merozoite) พบในโฮสต์กึ่งกลาง (intermediate host)

Gametogony เป็นช่วงของวงจรชีวิตที่ต่อเนื่องจาก Merogony เมโรซอइटบางส่วนจะเข้าสู่การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเพื่อให้ได้ เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (macrogametocyte) และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (microgametocyte) พบในโฮสต์กึ่งกลาง

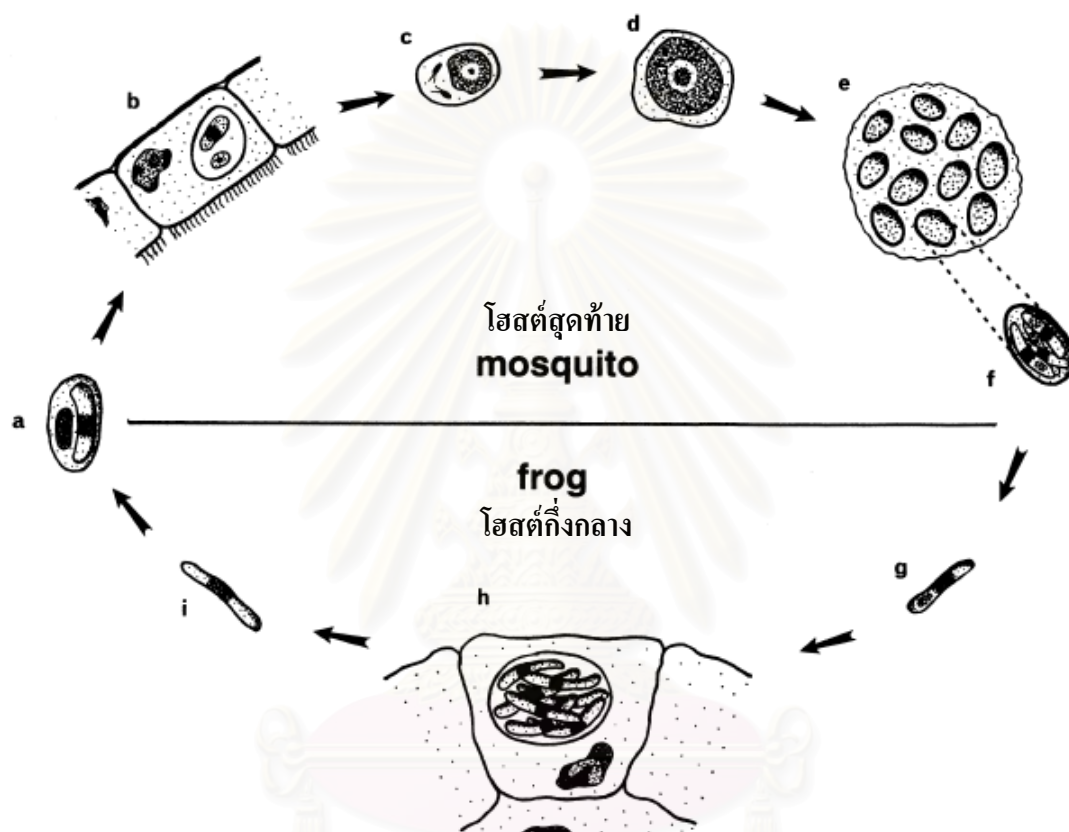
Sporogony เป็นช่วงของวงจรชีวิตที่เกิดขึ้นเมื่อเซลล์สืบพันธุ์ถูกส่งผ่านเข้าสู่โฮสต์สุดท้าย (final host) เซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองจะรวมตัวกันเกิดเป็นไซโกต ไซโกตจะแบ่งเซลล์ต่อไปจนได้เซลล์ใหม่จำนวนมากเรียกว่าสปอโรซอइट (sporozoite)

โพรโทซัวกลุ่ม apicomplexa ที่มีรายงานการพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีดังต่อไปนี้

Haemogregarines (สกุล *Haemogregarina* และ *Hepatozoon*)

โพรโทซัวกลุ่มนี้ดำรงชีพเป็นปรสิต โดยพบในเลือดและเนื้อเยื่อของสัตว์มีกระดูกสันหลังซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลาง และพบในทางเดินอาหารและต่อมน้ำลายของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังซึ่งเป็นโฮสต์สุดท้าย โดยในปี 1995 Dessler และคณะได้ทำการศึกษาวงจรชีวิตของ *Hepatozoon catesbiana* ในกบบูลฟร็อก

Rana catesbeiana โดยใช้ยุงรำคาญ *Culex territans* เป็นพาหะ การพัฒนาระยะต่างๆของปรสิตจนครบวงจรชีวิตแสดงในภาพที่ 2-5 สำหรับการจำแนกโพรโทซัวกลุ่มนี้จากลักษณะรูปร่างจะใช้ลักษณะของแกมมอนท์ (gamont) ที่อาศัยในเซลล์เม็ดเลือดแดงของสัตว์มีกระดูกสันหลังเป็นหลัก (Desser, 1993)



ภาพที่ 2-5 ภาพวาดแสดงวงจรชีวิตของ *Hepatozoon catesbeiana* ในกบบูลฟร็อก *Rana catesbeiana* และยุงรำคาญ *Culex territans* a: ยุงดูดเลือดที่มีปรสิตเข้ามาในทางเดินอาหาร b: microgamont และ macrogamont เคลื่อนที่สู่เซลล์ของ malpighian tubule โดยอยู่ภายในพาราซิโตพอร์สแควคิโอล c: แกมมอนท์เกิดกระบวนการ gametogenesis ได้เป็น microgamete และ macrogamete ซึ่งทั้งสองปฏิสนธิกันได้เป็นไซโกต d: ไซโกตที่ได้จะเปลี่ยนรูปร่างไปเป็นโอโอซิสต์ซึ่งภายในมีการแบ่งเซลล์เป็น sporoblast e: โอโอซิสต์ที่เจริญเต็มที่ภายในจะมี sporocyst เป็นจำนวนมาก f: แต่ละ sporocyst ภายในมีสปอโรซอต์ g: สปอโรซอต์จะถูกปล่อยออกมาสู่ทางเดินอาหารของกบหลังจากกบกินยุงที่มีโอโอซิสต์เข้าไป h: สปอโรซอต์เคลื่อนที่เข้าสู่เนื้อเยื่อตับ และมีการแบ่งเซลล์เป็นจำนวนมากกลายเป็นเมอร์รอนท์ i: เมอร์รอนท์ถูกปล่อยออกจากเมอร์รอนท์ เข้าสู่กระแสเลือดของกบและเข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดง จากนั้นเปลี่ยนตัวเองเข้าสู่ระยะแกมมอนท์เพื่อรอที่จะเข้าสู่ยุงอีกครั้ง (Desser et al., 1995)

โพรโทซัวกลุ่ม Haemogregarines ชนิดที่มีรายงานการพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีดังต่อไปนี้

Haemogregarina magna Labbé, 1899

Levine and Nye (1977) พบการติดปรสิต *H. magna* ในกบ *Rana pipiens* แอมอนที่อยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงวัดขนาดได้ 18×6 ไมโครเมตรและส่วนปลายด้านท้ายที่ตัวกลับวัดความยาวได้ประมาณ 5 ไมโครเมตร นิวเคลียสมีขนาดประมาณ 4×4 ไมโครเมตร ปรสิตอยู่ภายในพาราซิโตฟอร์สแควิวโอล (parasitophorus vacuole) และทำให้นิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดงถูกดันออกด้านข้างหรือปลายของเซลล์ แอมอนที่พบเป็นอิสระในกระแผลเลือดวัดขนาดได้ 29×4 ไมโครเมตร มีปลายด้านหน้ามนกว่าปลายด้านท้าย เมอรอนท์ (meront) พบในเนื้อเยื่อตับอยู่ภายในพาราซิโตฟอร์สซิสต์ (parasitophorus cyst) ที่มีรูปทรงกลมแทรกตัวอยู่ระหว่างเซลล์พาราไคมา (parenchyma) ของตับ ภายในหนึ่งวงของพาราซิโตฟอร์สซิสต์ที่พบสามารถนับเมอโรซอยต์ได้ประมาณ 100 เซลล์หรืออาจมากถึง 3,000 เซลล์ ซึ่งเป็นลักษณะที่คล้ายกับที่ Barta *et al.* (1989) พบใน *Rana esculenta* (ภาพที่ 2-6 A)

Haemogregarina perinucleophilum Ray, 1980

มีรายงานการพบในกบ *Rana tigrina* จากเบงกอลตะวันตก ประเทศอินเดีย ปรสิตมีขนาดเล็กกว่า *H. magna* ปรสิตมักอยู่ใกล้หรือโอบล้อมนิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดง และไม่มีพาราซิโตฟอร์สแควิวโอล (Ray, 1984)

Haemogregarina scheini Mathis and Léger, 1911

มีรายงานการค้นพบในกบ *Rana tigrina* จากประเทศเวียดนาม (Mathis and Léger, 1911)

Haemogregarina berestneffi Castellani and Willey, 1905

มีรายงานการค้นพบในกบ *Rana tigrina* และ *Rana limnocharis* จากประเทศอินเดีย (Van Den Berghe, 1942)

Haemogregarina hortai Brumpt, 1928

มีขนาดเล็กแอมอนท์วัดขนาดได้เพียง $9.5 \pm 0.6 \times 5.3 \pm 0.7$ ไมโครเมตร เซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดปรสิต มีขนาดใหญ่ขึ้น ไม่พบพาราซิโตฟอร์สแควิวโอลในเซลล์เม็ดเลือดแดง (ภาพที่ 2-6 B) อาจพบการติดปรสิต ชนิดนี้รวมกันกับ *H. magna* และ *Lankesterella minima* ในกบ *Rana esculenta* ตัวเดียวกันได้ (Barta *et al.*, 1989)

Barta and Desser (1984) รายงานพบแอมอนท์ของ *Haemogregarina* sp. ใน *Rana* spp. จากประเทศแคนาดาพบว่ามีสองรูปแบบคือ แบบข้อมติคสีเข้ม (ภาพที่ 2-6 C) วัดขนาดเฉลี่ยได้ 21.8×4.6 ไมโครเมตร และแบบข้อมติคสีอ่อนวัดขนาดเฉลี่ยได้ 23.6×7.2 ไมโครเมตร ซึ่งทั้งสองแบบทำให้นิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดปรสิตถูกเบียดไปด้านข้างเป็นผลให้เซลล์เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างที่ผิดปกติไป โดยแบบที่ข้อมติคสีอ่อนยังมีผลทำให้นิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่ขึ้นและถูกแบ่งเป็นหย่อมๆด้วย เมื่อเทียบรูปร่างกับชนิดในรายงานของ Levine and Nye (1977) พบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับ *H. magna* อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถระบุชนิดได้

Smith (1996) ได้ทำการศึกษาโปรโตซัวในสกุล *Haemogregarina* ที่เป็นปรสิตในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก พบว่าลักษณะรูปร่างของปรสิตอาจมีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น โครงสร้างและการพัฒนาของแอมอนท์ ความจำเพาะต่อโฮสต์ รวมไปถึงความซับซ้อนและการพัฒนาในช่วงต่างๆของวงจรชีวิต โดยได้ศึกษาเปรียบเทียบกับปรสิตสกุล *Hepatozoon* พบว่าทั้งสองสกุลมีการพัฒนาในถุงซึ่งเป็นโฮสต์สุดท้ายคือ แอมอนท์มีการพัฒนาไปเป็นแกมีโตไซต์และรวมตัวกันเป็นไซโกตในเซลล์ malpighian tubule จึงได้สรุปความเห็นว่าการโปรโตซัวสกุล *Haemogregarina* ที่เคยมีรายงานในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกควรจะเปลี่ยนเป็นสกุล *Hepatozoon* ทั้งหมด ดังนั้นงานวิจัยศึกษาปรสิตกลุ่ม *Haemogregarines* ในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกช่วงหลังจากปี 1996 จึงรายงานเป็นสกุล *Hepatozoon* ซึ่งอาจจะไม่สามารถระบุชนิดได้ โดยดูจากลักษณะรูปร่างของปรสิตที่พบในเลือดของโฮสต์อย่างเดียว เนื่องจากการจำแนกชนิดจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลต่างๆอีกมาก เช่น ศึกษาวงจรชีวิต และข้อมูลทางพันธุกรรม เป็นต้น

Desser (2001) รายงานการพบ *Hepatozoon* sp. ในเซลล์เม็ดเลือดแดงของกบ *Rana forreri* และ *Rana vaillanti* จากประเทศคอซอวอ แอมอนท์ที่พบใน *Rana forreri* (ภาพที่ 2-6 D) มีรูปร่างเซลล์คล้ายไส้กรอกวัดขนาดได้ $18.8 \pm 3.4 \times 3.7 \pm 0.8$ ไมโครเมตร ปลายด้านท้ายมีการพับกลับแนบกับตัวเซลล์ นิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดปรสิตจะขยายขนาดใหญ่และถูกเบียดออกด้านข้าง แอมอนท์อิสระสามารถเห็นได้ในกบตัวที่ติดปรสิตจำนวนมาก ส่วนแอมอนท์ที่พบใน *Rana vaillanti* (ภาพที่ 2-6 E) เซลล์มีรูปร่างยาวอยู่ภายในพาราซิโตพอร์สแคววโอลตำแหน่งที่มีการพับตัวอยู่บริเวณตรงกลางเซลล์พอดี แต่ นิวเคลียสจะอยู่ก่อนไปทางปลายด้านหน้ามากกว่า แอมอนท์วัดขนาดได้ $19.9 \pm 1.0 \times 3.2 \pm 0.9$ ไมโครเมตร

Chutmongkonkul and Pariyanonth (2005) รายงานการพบ *Hepatozoon* sp. ในกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* จากจังหวัดน่านและเชียงใหม่ ประเทศไทย แอมอนท์พบในเซลล์เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างคล้ายไส้กรอกปลายด้านท้ายมีการพับแนบไปกับตัวเซลล์วัดขนาดได้ 25×3 ไมโครเมตร บางครั้งสามารถพบปรสิตสองตัวในเซลล์เม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์ได้ (double infection) นิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่ขึ้นและถูกดันไปด้านข้างหรือปลายด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ ปรสิตอยู่ภายในพาราซิโตพอร์สแคววโอลซึ่งที่ปลายมีการโป่งออกเป็นถุงข้อมติคสีชมพูชัดเจน (ภาพที่ 2-6 F)

Dactylosomatids

โพรโทซัวกลุ่มนี้ดำรงชีพเป็นปรสิตในเซลล์เม็ดเลือดแดงของสัตว์เลือดเย็น โดยมีรายงานการพบครั้งแรกในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกและมีการแพร่กระจายไปทั่วโลกโดยมีปลิงเป็นพาหะ (Barta, 1991) การจำแนกโพรโทซัวกลุ่มนี้จะอาศัยจำนวนเมอโรซอยต์ที่อยู่ภายในไซซอนท์ (schizont) เป็นหลัก (Farmer, 1980; Barta, 1991)

โพรโทซัวกลุ่ม Dactylosomatids ชนิดที่มีรายงานการพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีดังต่อไปนี้

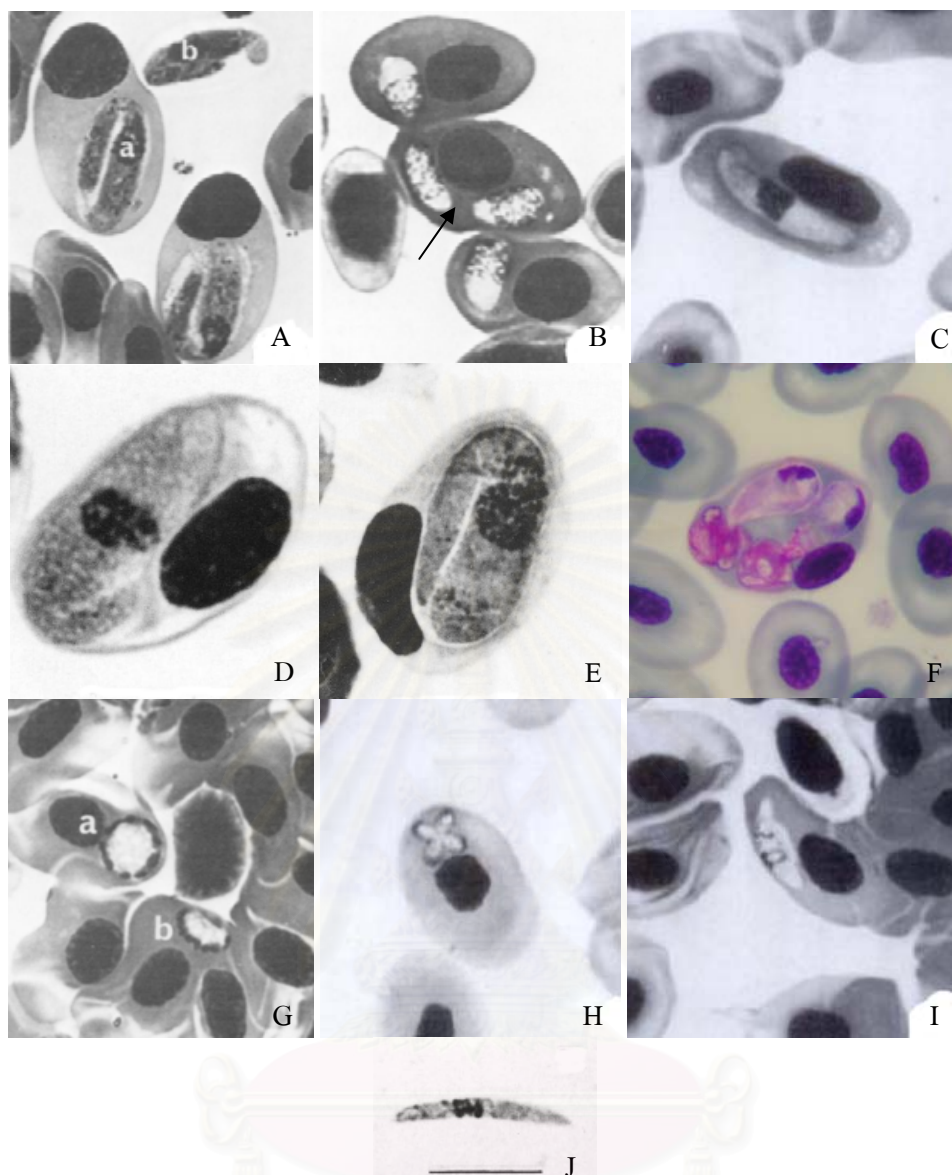
Dactylosoma ranarum Lankester, 1882

Barta *et al.* (1989) ได้รายงานการพบ *D. ranarum* ในกบ *Rana esculenta* โดยไซซอนท์ที่พบภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงมีสองแบบ ไซซอนท์แบบที่หนึ่งมีขนาดใหญ่ล้อมติดสีอ่อนวัดขนาดได้ 7.3 ± 0.6 ไมโครเมตรและไซซอนท์แบบที่สองมีขนาดเล็กล้อมติดสีเข้มวัดขนาดได้ 4.5 ± 0.5 ไมโครเมตร โดยไซซอนท์แบบที่หนึ่งสามารถผลิตเมอโรซอยต์ได้ถึง 16 ตัว จากนั้นเมอโรซอยต์จะเข้าสู่การแบ่งเซลล์ในรอบที่สองกลายเป็นไซซอนท์แบบที่สอง ซึ่งไซซอนท์ในแบบที่สองนี้สามารถผลิตเมอโรซอยต์ได้เพียง 6 ตัวและเมอโรซอยต์เหล่านี้จะพัฒนาไปเป็นแกมมอนต์ต่อไป (ภาพที่ 2-6 G) ชนิดและโฮสต์ของปรสิตในสกุล *Dactylosoma* รวมทั้งพื้นที่ที่พบและเอกสารอ้างอิงได้สรุปไว้ในตาราง 2-1 (Barta, 1991)

Babesiasoma stableri Schmittner and McGhee, 1961

Barta and Desser (1984) ได้รายงานการพบ *B. stableri* ระยะไซซอนท์รูปทรงสี่แฉก (cruciform) ในเซลล์เม็ดเลือดแดงของกบ *Rana septentrionalis* และ *Rana catesbeiana* จากประเทศแคนาดาซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะวินิจฉัยของปรสิตชนิดนี้ (ภาพที่ 2-6 H)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 2-6 เปรียบเทียบลักษณะของ apicomplexa ชนิดต่างๆที่มีการรายงานพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก A: แสดงลักษณะของ *Haemogregarina magna* Labbé, 1899 a : แกมมอนท์ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง; b : แกมมอนท์ภายนอกเซลล์เม็ดเลือดแดง (Barta *et al.* , 1989) B: แสดงลักษณะแกมมอนท์ของ *H. hortai* Brumpt, 1928 ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง (Barta *et al.* ,1989) ลูกศรชี้แสดง double infection C: แสดงลักษณะแกมมอนท์ของ *Haemogregarina* sp. แบบข้อมติติติเข้มที่พบใน *Rana* spp. (Barta and Dessler , 1984) D: แสดงลักษณะแกมมอนท์ของ *Hepatozoon* sp. ที่พบในเลือดของ *R. forreri* (Dessler , 2001) E: แสดงลักษณะแกมมอนท์ของ *Hepatozoon* sp. ที่พบในเลือดของ *R. vaillanti* (Dessler, 2001) F: แสดงลักษณะ double infection ของ *Hepatozoon* sp. ที่พบในเลือดของกบ *Hoplobatrachus rugulosus* (Chutmongkonkul and Pariyanonth, 2005) G: แสดงลักษณะไซซอนท์ของ *D. ranarum* Lankester, 1882 (Barta *et al.*, 1989) a: ไซซอนท์แบบที่หนึ่ง; b: ไซซอนท์แบบที่สอง H: แสดงลักษณะไซซอนท์ของ *B. stableri* Schmittner and McGhee, 1961 ที่มีรูปทรงสี่แฉก (Barta and Dessler ,1984) I: แสดงลักษณะสปอโรซอइट์ของ *L. minima* Chaussat, 1850 ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง (Barta and Dessler ,1984) J: แสดงลักษณะสปอโรซอइट์ของ *L. minima* Chaussat, 1850 ที่เป็นอิสระ (Dessler, 2001) บาร์ = 10 ไมโครเมตร

ตารางที่ 2-1 แสดงชนิดและโฮสต์ของปรสิตในสกุล *Dactylosoma* (Barta, 1991)

Parasites	Host(s)	Distribution	Reference(s)
<i>Dactylosoma ranarum</i>	<i>Rana esculenta</i> , <i>Rana temporaria</i> , <i>Triton</i> sp. frogs toads frogs	Europe Brazil Tunis, North Africa	Lankester (1871,1882), Kruse(1890), Labbé(1894), Laveran (1898), Hintze (1902) Durham (1902) Billet (1904)
<i>Rappia marmorata</i> <i>Rana galemensis</i> , <i>R. oxyrhynchus</i> , <i>R. macarensis</i> , <i>Bufo regularis</i>	frogs	The Gambia, Africa Caucasus Europe	Dutton <i>et. al.</i> (1907) Finkelstein (1908) França (1908)
<i>Rana güntheri</i>		Tonkin, Indochina	Mathis and Léger (1912)
<i>Rana esculenta</i>		Europe	Nöller (1913)
<i>Bufo regularis</i>		Transvaal, South Africa	Fantham <i>et. al.</i> (1942)
<i>Bufo marinus</i>		Central and South America	Walton (1946, 1947, 1948, 1949, 1950)
<i>Rana albilabris</i>		Africa	
<i>R. labialis</i>		Siam	–
<i>R. ridibunda</i>		North Africa	
<i>R. tigerina</i>		Burma, Ceylon and India	
<i>B. marinus</i>		Costa rica	Ruiz (1959)
<i>R. nigromaculata</i>		Japan	Tanabe (1931)
<i>D. salvelini</i>	<i>Salvelinus fontinalis</i>	Eastern Canada	Fantham <i>et. al.</i> (1942)
<i>D. sylvatica</i>	<i>Rana sylvatica</i>	Eastern Canada	Fantham <i>et. al.</i> (1942)
<i>D. lethrinorum</i>	<i>Lethrinus nebulosus</i> , <i>L. mahsenoides</i>	Red Sea	Saunders (1960)
<i>D. taiwanensis</i>	<i>Rana limnocharis</i>	Taiwan	Manwell (1964)
<i>D. tritonis</i>	<i>Triton cristatus</i>	Europe	Fantham (1905)
<i>D. amaniae</i>	<i>Chameleon fischeri</i>	West Africa	Awerinzew (1914)

Lankesterellids

โพรโทซัวกลุ่มนี้ดำรงชีพเป็นปรสิตในเนื้อเยื่อ มีลักษณะสำคัญคือมีช่วงการพัฒนาของระยะต่างๆ ในวงจรชีวิตครบสมบูรณ์ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ส่วนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังทำหน้าที่เป็นเพียงพาหะเท่านั้นไม่มีการพัฒนาใดๆ และมีการศึกษาพบว่าปลิงน้ำจืดเป็นพาหะของปรสิตกลุ่มนี้ในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (Tse *et al.*, 1986; Desser *et al.*, 1990) ระยะที่พบได้ง่ายที่สุดของโพรโทซัวกลุ่มนี้คือ สปอโรซอยต์ (sporozoite) โดยพบอยู่ในระบบหมุนเวียนเลือด (Farmer, 1980; Desser, 1993) โพรโทซัวในกลุ่มนี้ที่มีรายงานพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกอยู่ในสกุล *Lankesterella* ซึ่งมีรายงานพบชนิดต่างๆ ดังนี้

Lankesterella minima Chaussat, 1850

เป็นชนิดที่มีการแพร่กระจายไปในหลายภูมิภาคของโลกทั้งทวีปอเมริกา (Levine and Nye, 1977; Barta and Desser, 1984) ทวีปยุโรป (Barta *et al.*, 1989) และทวีปเอเชีย (Werner, 1993) ระยะที่พบเป็นปรสิตในกระแสเลือดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกคือ สปอโรซอยต์ โดยสปอโรซอยต์ในแต่ละพื้นที่มีลักษณะโดยรวมคล้ายกันคือ เซลล์เรียวยาว ไซโทพลาซึมใส มีนิวเคลียสกลมอยู่กลางหรือค่อนไปทางปลายด้านหน้าของเซลล์และมีออร์แกเนล (organelle) ดิสคิสจางรูปร่างกลมเรียกว่าพารานิวเคลียร์บอดี (paranuclear body) ประกอบด้วยทางด้านหน้าและด้านท้ายของนิวเคลียสด้านละหนึ่งอัน (Clark *et al.*, 1969; Levine and Nye, 1977; Barta *et al.*, 1989; Desser, 2001) (ภาพที่ 2-6 I,J)

Lankesterella monilis Labbé, 1899

Bhatia (1938) ศึกษา *L. monilis* ที่สำรวจพบในกบ *Rana tigrina* และ *Rana limnocharis* จากประเทศอินเดีย สปอโรซอยต์ที่พบในเลือดของกบทั้งสองชนิดมีลักษณะพิเศษคือ มีการเคลื่อนที่แบบเกลียวคลื่นทำให้เห็นระนาบของเซลล์เป็นสามส่วนโดยมีนิวเคลียสอยู่ในส่วนกลางของเซลล์

Lankesterella bufonis Mansour and Mohammed, 1962

Mansour and Mohammed (1962) ศึกษา *L. bufonis* ที่สำรวจพบในคางคก *Bufo regularis* จากประเทศอียิปต์ สปอโรซอยต์ที่พบในกระแสเลือดส่วนใหญ่จะเป็นระยะที่อยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงส่วนระยะที่เป็นอิสระนั้นพบอยู่ในปอด นอกจากนี้ยังมีการติดปรสิตร่วมกันกับปรสิตกลุ่ม haemogregarines ด้วยเมื่อย้อมสีแล้วพบว่าสปอโรซอยต์ดิสคิสจาง ไซโทพลาซึมใสแต่บริเวณขอบเซลล์มีการติดสีที่เข้ม นิวเคลียสติดสีชมพูเข้ม แวกิวโอลขนาดใหญ่หนึ่งอันไม่ติดสีอยู่ค่อนไปทางปลายด้านหน้า สปอโรซอยต์บางเซลล์มีแกรนูลอยู่รอบแวกิวโอล สปอโรซอยต์ระยะที่อยู่ในเซลล์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่มีรูปร่างคล้ายกับสปอโรซอยต์ที่อยู่เป็นอิสระ

Lankesterella hylae Cleland and Johnston, 1910

Stebens (1966) สํารวจพบสปอโรซอยต์ของ *L. hylae* ในเลือดของ *Hyla caerulea* จากประเทศออสเตรเลีย สปอโรซอยต์ในกระแสเลือดมีลักษณะต่างๆดังนี้ ส่วนใหญ่พบอยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงวัดความยาวและความกว้างของเซลล์ได้ $7-11 \times 1-3$ ไมโครเมตรตามลำดับ รูปร่างเรียวยาวและโค้ง ปลายด้านหนึ่งทู่และสั้นกว่าปลายอีกด้านหนึ่ง เซลล์เม็ดเลือดแดงหนึ่งเซลล์จะพบสปอโรซอยต์เพียงหนึ่งตัวเท่านั้น และตัวสปอโรซอยต์จะหันส่วนเว้าเข้าหานิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยบริเวณส่วนเว้าของสปอโรซอยต์ที่หันเข้าหานิวเคลียสเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้น มีการบวมยื่นออกมาคล้ายโดมใกล้กับนิวเคลียสของสปอโรซอยต์ ซึ่งเป็นลักษณะที่ใช้ในการวินิจฉัยปรสิต *L. hylae* ออกจากปรสิตชนิดอื่นในสกุล *Lankesterella* สำหรับสปอโรซอยต์ที่อยู่เป็นอิสระภายนอกเซลล์เม็ดเลือดแดงพบได้น้อย

Lankesterella dicroglossi Paperna, 2001

Paperna and Martin (2001) สํารวจพบ *L. dicroglossi* ใน *Hoplobatrachus occipitalis* จากประเทศไนเจอร์ ทวีปแอฟริกา โดยพบเป็นจำนวนมากในตับและม้าม ระยะสปอโรซอยต์วัดขนาดได้เท่ากับ $12.4-14.4 \times 1.4-2.0$ ไมโครเมตรและมีรีแฟรกไทล์บ่อคืออยู่ทางด้านหน้าและด้านท้ายของนิวเคลียสด้านละหนึ่งอัน

Chutmongkonkul and Pariyanonth (2005) สํารวจพบสปอโรซอยต์ของ *Lankesterella* sp. ในเลือดของกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* จากจังหวัดน่านและเชียงใหม่ มีค่าร้อยละอุบัติการณ์ 71.4 และ 44.4 ตามลำดับ ระยะสปอโรซอยต์ที่ตรวจพบมีรูปร่างเรียวยาว นิวเคลียสอยู่ตำแหน่งเกือบตรงกลางเซลล์และที่หัวและท้ายถูกประกบด้วยออร์แกนเนลที่ย้อมติดสีจาง สปอโรซอยต์พบทั้งภายในและภายนอกเซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่งวัดขนาดได้ดังนี้ $7.3(6-11) \times 1.63(1-2)$ และ $11.30(10-12.5) \times 1.13(1-1.5)$ ไมโครเมตรตามลำดับซึ่งลักษณะดังกล่าวคล้ายกับ *Lankesterella minima*

ชนิดและโฮสต์ของปรสิตในสกุล *Lankesterella* รวมทั้งพื้นที่ที่พบและเอกสารอ้างอิงได้สรุปไว้ในตาราง 2-2

ตารางที่ 2-2 แสดงปรสิตสกุล *Lankesterella* ชนิดต่างๆที่พบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในภูมิภาคต่างๆ และเอกสารอ้างอิง

Parasites	Distribution	Host(s)	Sporozoite measurement (μm)	Reference(s)
<i>L. minima</i>	USA, North America	<i>Rana cascade,</i>	10.1×2.2	Clark <i>et al.</i> (1969)
		<i>R. pretiosa,</i>	12.4×1.5	
		<i>R. pipiens</i>	14.0×3.6	Levine and Nye (1977)
	Canada, North America	<i>R. catesbeiana,</i>	$12.7(11.5-14.8) \times 2.1(1.6-3.2)$ (n = 10)	Barta and Desser (1984)
		<i>R. clamitans,</i>		
		<i>R. septentrionalis</i>		
	Corsica, Europe	<i>R. esculenta</i>	$10.4 \pm 0.9 \times 2.9 \pm 0.5$ (n = 25)	Barta <i>et al.</i> (1989)
China, Asia	<i>R. limnocharis</i>	$10.4 \pm 0.99 \times 2.8 \pm 0.37$	Werner (1993)	
Costa Rica, Central America	<i>R. forreri</i>	$13.8 \pm 0.9 \times 1.1 \pm 0.2$ (n = 12)	Desser (2001)	
	<i>R. vaillanti</i>	$13.1 \pm 0.8 \times 1.6 \pm 0.1$ (n = 12)	Desser (2001)	
<i>L. bufonis</i>	Egypt, Africa	<i>Bufo regularis</i>	$9.2 (6.0-12.2) \times 1.3(0.9-2.1)$ (intracellular form)	Mansour and Mohammed (1962)
			$10.3(6.2-12.8) \times 1.2(0.7-2.0)$ (extracellular form)	
<i>L. hylae</i>	Australia	<i>Hyla caerulea</i>	$7-11 \times 1-3$ (intracellular form)	Stehbens (1966)
<i>L. dicroglossi</i>	Niger, Africa	<i>Hoplobatrachus occipitalis</i>	$12.4-14.4 \times 1.4-2.0$	Paperna and Martin (2001)
<i>L. sp</i>	Thailand, Asia	<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>	$11.30(10-12.5) \times 1.13(1-1.5)$ (extracellular form) n = 15	Chutmongkonkul and Pariyanonth (2005)
			$7.3(6-11) \times 1.63(1-2)$ (intracellular form) n = 15	

Eimeriids

โพรโทซัวกลุ่มนี้ดำรงชีพเป็นปรสิตอยู่ในเนื้อเยื่ออวัยวะภายในของสัตว์มีกระดูกสันหลัง มีวงจรชีวิตครบสมบูรณ์ในโฮสต์ตัวเดียว ช่วง schizogony และ gametogony เกิดภายในร่างกายของโฮสต์โดยจะอยู่ในอวัยวะที่ต่างกันไปตามแต่ละชนิด ส่วนช่วง sporogony จะเกิดภายในโอโอซิสต์ (oocyst) โดยส่วนนี้จะเป็นส่วนที่ถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมเพื่อรอให้โฮสต์ตัวใหม่มากินต่อไป การจำแนกจะอาศัยจำนวน รูปร่าง และรูปแบบการเรียงตัวของสปอโรซิสต์ภายในโอโอซิสต์ รวมไปถึงรูปร่างและจำนวนของสปอโรซอยต์ภายในสปอโรซิสต์เป็นหลัก (Farmer, 1980)

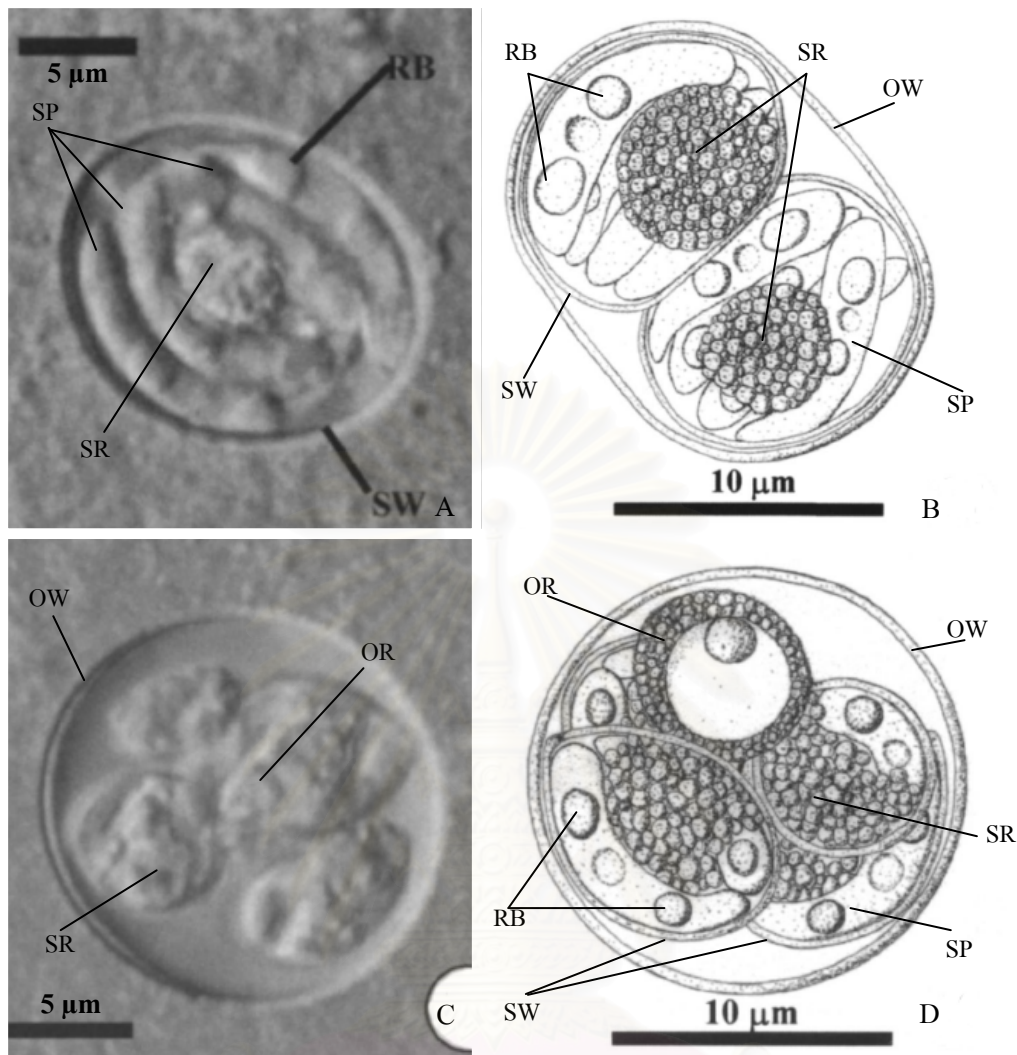
โพรโทซัวกลุ่ม Eimeriids ที่รายงานพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีสองสกุลคือ *Eimeria* และ *Isospora* สำหรับชนิดต่างๆมีรายงานดังนี้

Isospora lieberkuehni (Labbé, 1894)

Levine and Nye (1977) สํารวจพบ *I. lieberkuehni* ในไตของกบ *Rana pipiens* จากประเทศสหรัฐอเมริกาโดยอยู่ในระยะเมอโรซอยต์ ระยะดังกล่าวมีรูปร่างยาวโค้งเล็กน้อยมีความยาวประมาณ 6-7 ไมโครเมตร นิวเคลียสรูปร่างกลมอยู่บริเวณกลางเซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร ไม่ปรากฏโอโอซิสต์

Isospora cogginsi n. sp.

Bolek et al. (2003) สํารวจพบ *I. cogginsi* ในลำไส้เล็กของ *Pseudacris triseriata triseriata* (Anura: Hylidae) จากประเทศสหรัฐอเมริกา ปรสิตที่พบมีหลายระยะจึงได้ทำการวัดขนาดและอธิบายลักษณะต่างๆ ดังนี้ โอโอซิสต์ (ภาพที่ 2-7 B) รูปร่างไข่มีขนาด $19.3(18-23) \times 15.1(11-20)$ ไมโครเมตร เปลือกนอกเป็นผนังเรียบและบางซึ่งผนังนี้มักจะแตกไปหลังจากสปอโรซอยต์มีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์ (sporulation) ไม่มีไมโคร-ไฟล์ โพลาร์แกรนูลและ oocyst residuum สปอโรซิสต์รูปร่างไข่มีขนาด $13.3(11-15) \times 9.9(9-13)$ ไมโครเมตร (ภาพที่ 2-7 A) มีเปลือกหุ้มเป็นผนังบางเรียบที่บางกว่าผนังของโอโอซิสต์ sporocyst residuum เป็นกลุ่มของแกรนูลที่ยึดแน่นกับเมมเบรนทำให้มีรูปร่างเป็นทรงกลมวัดขนาดได้ $5.5(4-7) \times 5.3(4-7)$ ไมโครเมตร สปอโรซอยต์รูปร่างยาวมีขนาด $12.8(10-15) \times 3.2(2.5-4)$ ไมโครเมตร นิวเคลียสรูปร่างกลมมีขนาด $1.5(1.4-1.6) \times 1.7(1.5-1.8)$ ไมโครเมตรถูกประกบด้วยริแฟรกไทล์บอดีรูปร่างกลมหรือทรงรีมีขนาด $2.6(2.0-3.0) \times 2.4(2.2-2.8)$ ไมโครเมตร โอโอซิสต์พบอยู่ภายในไซโตพลาซึมของเซลล์บุลำไส้เล็กวางตัวอยู่บริเวณข้างของเซลล์เหนือนิวเคลียสและจะหลุดออกจากเซลล์บุลำไส้เล็กเมื่อปรสิตเริ่มมี sporulation



ภาพที่ 2-7 แสดงลักษณะของปรสิตกลุ่ม Eimeriids ที่สำรวจพบใน *Pseudacris triseriata triseriata* A: ภาพถ่าย Nomarski interference contrast แสดงลักษณะสปอโรซิสต์ของ *Isospora cogginsi* B: ภาพวาดโอโอซิสต์ของ *I. cogginsi* C: ภาพถ่าย Nomarski interference contrast แสดงลักษณะโอโอซิสต์ของ *Eimeria streckeri* D: ภาพวาดโอโอซิสต์ของ *E. streckeri* OR: oocyst residuum; OW: oocyst wall; RB: refractile body; SW: sporocyst wall; SP: sporozoite; SR: sporocyst residuum (Bolek *et al.*, 2003)

Eimeria streckeri Upton and McAllister, 1988

Bolek *et al.* (2003) สำรวจพบโอโอซิสต์ของ *E. streckeri* ปนออกมากับอุจจาระของ *Pseudacris triseriata triseriata* จากประเทศสหรัฐอเมริกา ปรสิตที่พบมีหลายระยะจึงได้ทำการวัดขนาดและอธิบายลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ โอโอซิสต์ทรงกลมมีขนาด $15.7(14-17) \times 15.4(14-19)$ ไมโครเมตร (ภาพที่ 2-7 C,D) ไม่มีไมโครไฟล์ oocyst residuum ประกอบด้วยแกรนูลจำนวนมากที่ล้อมรอบพื้นที่ว่างขนาดใหญ่มีขนาด $5.0(3-6) \times 4.7(4-6)$ ไมโครเมตร สปอโรซิสต์ทรงรีมีขนาด $9.1(7-10) \times 6.1(5-7)$ ไมโครเมตร sporocyst

residuum มีขนาด $5.8(3-8) \times 3.6(2-6)$ ไมโครเมตร สปอโรซอยต์เรียวยาวมีขนาด $7.9(6.5-10) \times 2.2(2-3)$ ไมโครเมตร นิวเคลียสเห็นไม่ชัด รีแฟรกไทล์บอดีประกบด้านหน้าและด้านท้ายของนิวเคลียสมีขนาด $1.9(1.8-2.2) \times 1.9(1.8-2.0)$ และ $2.5(1.8-3.0) \times 2.3(2.0-2.8)$ ไมโครเมตรตามลำดับ

Ciliophora

Ciliophora หรือ Ciliate เป็นกลุ่มของโพรโทซัวที่มีซิเลียเป็นโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ ในช่วงวงจรชีวิตมีสองระยะที่สำคัญคือ trophozoite และ cyst มีทั้งที่ดำรงชีพอิสระและเป็นปรสิต โดยกลุ่มที่ดำรงชีพเป็นปรสิตในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกมีทั้งปรสิตภายในและปรสิตภายนอก

ปรสิตภายในเช่น *Opalina* sp. (Chutmongkonkul and Pariyanonth, 2005) และ *Balantidium* sp. (Senler and Yildiz, 1999) พบที่ลำไส้ใหญ่

ปรสิตภายนอกเช่น *Ichthyophthirus multifiliis* ที่ทำให้เกิดเป็นโรคผิวหนังในกบกลุ่มที่ช่วงชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในน้ำ (aquatic species) (Gleeson, 1999)

หนอนพยาธิ (helminths)

หนอนพยาธิที่เป็นปรสิตส่วนใหญ่พบในเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก โดยเฉพาะลำไส้ โดยจะคอยดูดซึมแย่งสารอาหารที่ย่อยแล้วซึ่งอาจทำให้โฮสต์มีการเจริญที่ผิดปกติแต่ไม่ทำให้ถึงตาย นอกจากนี้ยังสามารถพบในเนื้อเยื่ออื่นๆ ได้ดังเช่นในรายงานของ Vaucher (1990) ที่สำรวจพบปลิงใส (Phylum Platyhelminthes; Class Monogenea) *Polystoma cuvieri* ในกระเพาะปัสสาวะของกบ *Physalaemus cuvieri* จากทวีปอเมริกาใต้ รวมทั้งรายงานของ Barta and Desser (1984) และ Barta *et al.* (1989) ที่สำรวจพบหนอนพยาธิไมโครฟิลาเรีย *Foleyella* sp. และ *Icosiella neglecta* ในเลือดของกบจากทวีปอเมริกาและยุโรปตามลำดับ

Muzzall (2001) สำรวจหนอนพยาธิของกบ *Rana clamitans* จากรัฐมิชิแกน ประเทศสหรัฐอเมริกา พบหนอนพยาธิ *Haematoloechus varioplexus* ระยะตัวเต็มวัย หนอนพยาธิ *Gorgoderia amplicava* และ *Fibricola* sp. ในระยะตัวอ่อน พยาธิตัวตัด *Mesocostoides* sp. ระยะตัวเต็มวัย โดยหนอนพยาธิทั้งหมดนั้นตรวจพบในทางเดินอาหารของกบ และพบว่ากบตัวเต็มวัยมีอัตราการติดหนอนพยาธิและความหนาแน่นของหนอนพยาธิมากกว่าในระยะลูกอ๊อด

Burse et al. (2007) สำรวจหนอนพยาธิในกบ *Hylophorbus rufescens* จากประเทศปาปัวนิวกินี พบหนอนพยาธิในลำไส้เล็กหลายชนิดดังนี้ หนอนพยาธิตัวกลมได้แก่ *Moaciria moraveci*, *Cosmocerca novaeguineae*, *C. tyleri* และ *Oswaldocruzia bakeri* นอกจากนี้ยังพบซิสตาแคนท์ (cystacanth) ของหนอนพยาธิหัวหนามสกุล *Physocephalus* sp. ที่เยื่ออีกลำไส้ของกบอีกด้วย

การสำรวจหนอนพยาธิของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในประเทศไทยทำการสำรวจโดย วิชาญ เชาว-
 ลิต (2523) โดยสำรวจหนอนพยาธิในกบห้าชนิดได้แก่ กบทูต *Rana blythii* กบน้ำเค็ม *Rana cancrivora* กบ
 หนอง *Rana limnocharis* กบนา *Rana rugulosa* และกบนา *Rana tigerina* จากจังหวัดเชียงใหม่พบ
 หนอนพยาธิดังนี้ หนอนพยาธิตัวตืดหนึ่งชนิดคือ *sparcanum* โดยพบขดตัวอยู่ในกล้ามเนื้อโดยเฉพาะ
 กล้ามเนื้อขา หนอนพยาธิใบไม้สี่สกุลได้แก่ *Diplodiscus* sp., *Pleurogenoides* sp., *Prosotocus* sp. และ
Ophiotaenia sp. กับอีกหนึ่งชนิดได้แก่ *Glythelminths staffordi* โดยหนอนพยาธิใบไม้ทั้งหมดนี้พบใน
 ทางเดินอาหาร หนอนพยาธิตัวกลมสี่สกุลได้แก่ *Cosmocerca* sp., *Oswaldocruzia* sp., *Zanclophorus* sp.
 และ *Strongyloides* sp. กับอีกสองชนิดได้แก่ *Gnatostoma spinigerum* และ *Rhabdias ranae* โดย
 หนอนพยาธิตัวกลมทั้งหมดนี้พบในทางเดินอาหารเช่นเดียวกัน ยกเว้นหนอนพยาธิสกุล *Strongyloides* sp.
 เท่านั้นที่พบในตับ สูดถ่ายพบหนอนพยาธิหัวหนามหนึ่งสกุลได้แก่ *Pallisentis* sp. กับอีกหนึ่งชนิดได้แก่
Acanthocephalus lucidus โดยทั้งคู่พบเป็นระยะซิสตาแค่นธ์อยู่ในตับและเยื่อยึดลำไส้

วิภา เมฆวิชัย และคณะ (2532) ทำการสำรวจหนอนพยาธิในกบนา *Rana tigrina* จากธรรมชาติใน
 จังหวัดนครนายก อ่างทองและอุบลราชธานี ตรวจพบหนอนพยาธิใบไม้ทั้งหมดสี่สกุลได้แก่ *Diplodiscus*
 sp., *Glythelminths* sp., *Ganeo* sp. และ *Pleurogenoides* sp. หนอนพยาธิตัวกลมสองสกุลได้แก่
Cosmocerca sp. และ *Zanclophorus* sp. นอกจากนี้ยังทำการสำรวจหนอนพยาธิในกบนา *R. tigrina* จาก
 ฟาร์มเลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทราอีกด้วย ซึ่งพบหนอนพยาธิใบไม้เพียงสกุลเดียวได้แก่ *Glythelminths* sp.
 และพบหนอนพยาธิตัวกลมเพียงสกุลเดียวเช่นกันได้แก่ *Spinitectus* sp. จากการศึกษาเปรียบเทียบความ
 หลากหลายของหนอนพยาธิสังเกตได้ว่า กบนาที่อยู่ในธรรมชาติพบหนอนพยาธิจำนวนมากวกกว่ากบนาที่อยู่
 ในฟาร์มเลี้ยง โดยปัจจัยที่ทำให้เกิดผลเช่นนั้นอาจมาจากรื่องของอาหาร ทั้งนี้เพราะในธรรมชาติกบนาทำ
 หน้าที่เป็นผู้ล่า (predator) ที่กินอาหารได้หลายประเภทเช่น แมลงหรือตัวอ่อนของแมลงในน้ำ ปู กุ้งและปลา
 น้ำจืดขนาดเล็กรชนิดต่างๆตลอดจนไรน้ำ ซึ่งสัตว์เหล่านี้มีโอกาสที่จะเป็นโฮสต์กึ่งกลางของหนอนพยาธิบาง
 ชนิดได้ ในขณะที่กบนาที่เลี้ยงในฟาร์มนั้นอาหารหลักที่ได้รับเป็นพวกปลาทะเลซึ่งโอกาสที่จะพบ
 หนอนพยาธิหรือตัวอ่อนของหนอนพาสินนั้นมีน้อยกว่าในปลาน้ำจืด ดังนั้นกบนาในฟาร์มเลี้ยงจึงมีโอกาส
 น้อยกว่ากบนาในธรรมชาติที่จะได้รับหนอนพยาธิจากโฮสต์กึ่งกลาง

Chutmongkonkul *et al.* (2005) ทำการสำรวจปรสิตในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกห้าชนิดได้แก่ ปาด
 บ้าน *Polypedates leucomystax* คางคกบ้าน *Bufo melanostictus* กบหนอง *Fejervarya limnocharis* กบหนอง
Limnodynastes dorsalis จากสวนสัตว์เปิดเขาเขียว จังหวัดชลบุรี และกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* จาก
 จังหวัดน่าน พบหนอนพยาธิดังนี้ โดยเป็นหนอนพยาธิใบไม้หนึ่งสกุลได้แก่ *Mesocoelium* sp. หนอนพยาธิ
 ตัวกลมสี่สกุลได้แก่ *Aplectana* sp., *Cosmocerca* sp., *Rhabdias* sp. และ *Oswaldocruzia* sp. และหนอนพยาธิ
 หัวหนามในระยะซิสตาแค่นธ์ สำหรับโพรโทซัวพบในสองสกุลได้แก่ *Opalina* sp. และ *Balantidium* sp.
 โดยที่กล่าวมาในข้างต้นทั้งหมดนี้เป็นปรสิตที่พบในทางเดินอาหาร

2.3 พยาธิสภาพและจุลพยาธิวิทยา

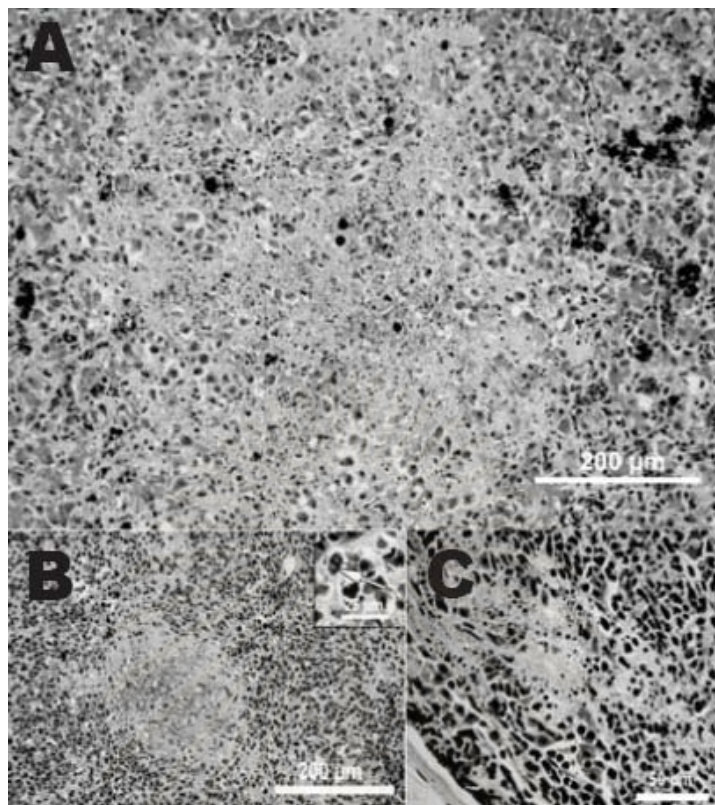
พยาธิสภาพและจุลพยาธิวิทยาจากการติดเชื้อโรคและปรสิตในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก สัตว์เลี้ยง-
 กลานและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีรายงานดังนี้

ไวรัส

Miller *et al.* (2007) ศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อของกบ *Rana catesbeiana* ในฟาร์มเลี้ยงจาก
 ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่ตายเนื่องจากการติดเชื้อ *Ranavirus* ชนิด Frog Virus 3 (FV3) โดยพบว่าไวรัสสามารถ
 ทำให้เกิดพยาธิสภาพได้ในหลายอวัยวะเช่น ผิวหนังมีการเสื่อมสภาพเป็นหย่อมรอยสีเทา มีเลือดออกที่
 ผิวหนังและทางเดินอาหาร หัวใจมีรอยปื้นสีน้ำตาลดำ ตับแข็งเปราะและถุงน้ำดีโต นอกจากนี้ยังศึกษาจุลพยาธิ-
 วิทยาในหลายอวัยวะได้แก่ ต่อมไทมัส (ภาพที่ 2-8 B) ม้าม (ภาพที่ 2-8 A,C) และผิวหนัง เป็นต้น โดยอวัยวะ
 ทั้งหมดนั้นพบเนื้อตาย (necrosis) ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าร่างกายของ *R. catesbeiana* จะอ่อนแอลงเมื่ออวัยวะ
 หรือเนื้อเยื่อน้ำเหลืองเกิดพยาธิสภาพและมีโอกาสเป็นสาเหตุให้แบคทีเรียเข้ามาทำให้การติดเชื้อใน *R.*
*catesbeiana*หนักขึ้นไปอีกได้

ฟังไจ หรือรา

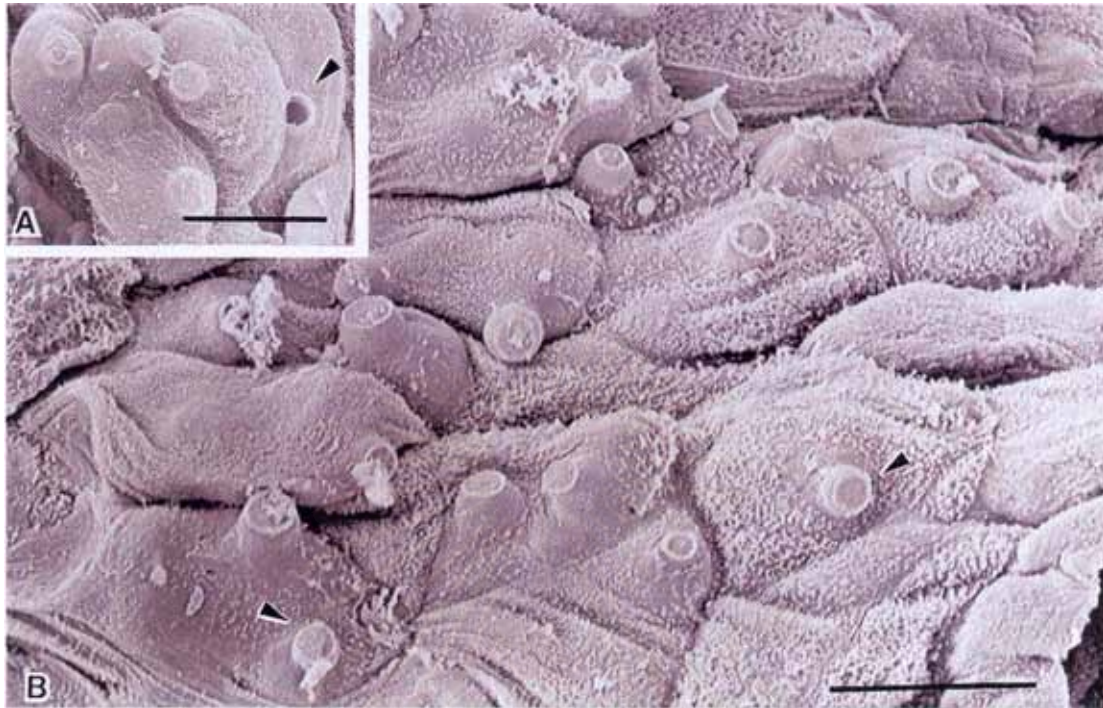
Berger *et al.* (1998) ศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อจากกบ *Litoria caerulea* ที่ตายด้วย
 Chytridiomycosis ซึ่งมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ *Batrachochytrium dendrobatidis* โดยนำผิวหนังในบริเวณที่
 เป็นแผลหนองมาศึกษาพบว่า ชั้นของผิวหนังเต็มไปด้วยอับสปอร์ของราโดยพบในผิวหนังชั้น stratum
 corneum และ stratum granulosum (ภาพที่ 2-9) เป็นผลให้ชั้นเอพิเดอร์มิส (epidermis) เสื่อมสภาพไป
 เนื่องจากเกิดการสูญเสียของเซลล์และยังทำให้ชั้นเดอร์มิส (dermis) แบ่งเซลล์มากกว่าปกติ (hyperplasia)
 ด้วย นอกจากนี้ Berger และคณะยังได้นำผิวหนังของกบ *Litoria lesueuri* ที่ตายด้วย Chytridiomycosis มา
 ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าผิวหนังมีความขรุขระมากขึ้น เนื่องจากเต็มไปด้วย
 ด้วยตุ่มของอับสปอร์ที่แทรกตัวอยู่และผิวหนังจะเป็นแผลเมื่ออับสปอร์หลุดออกไป (ภาพที่ 2-10)



ภาพที่ 2-8 จุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อจากกบ *Rana catesbeiana* ที่ตายด้วยการติดเชื้อไวรัส FV3 A: แสดงการตายของเนื้อเยื่อ
 ม้ามเป็นจำนวนมากเนื่องจากการติดเชื้อ FV3 B: แสดงการตายของเนื้อเยื่อต่อมไขมันเป็นจำนวนมากเนื่องจากการติดเชื้อ FV3 ภาพ
 เล็ก แสดง อนุภาคไวรัสที่อยู่ในเซลล์ไขมัน C: แสดงภาวะเนื้อตายในม้าม (Miller *et al.*, 2007)



ภาพที่ 2-9 จุลพยาธิวิทยาของผิวหนังจาก *Litoria caerulea* ที่เป็นโรค Chytridiomycosis แสดงชั้นผิวหนัง stratum
 corneum ที่เต็มไปด้วยอับสปอร์ของราทำให้มีความหนาเพิ่มขึ้น S = อับสปอร์ที่แทรกตัวอยู่ในชั้นของเซลล์ผิวหนัง; D =
 อับสปอร์ที่กำลังจะหลุดออกจากชั้นผิวหนัง (บาร์ = 30 ไมโครเมตร) (Berger *et al.*, 1998)

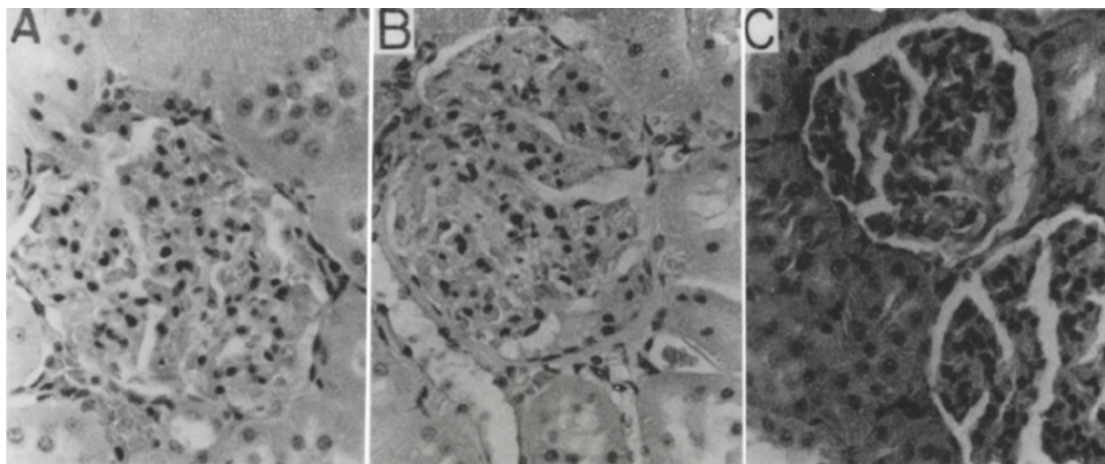


ภาพที่ 2-10 พื้นผิวของคิวน้ำจาก *Litoria lesueuri* ที่เป็นโรค Chytridiomycosis A: แสดงกลุ่มของอับสปอร์ที่แทรกตัวอยู่ในคิวน้ำและแสดงบริเวณคิวน้ำที่เป็นแผลเนื่องจากอับสปอร์ที่หลุดออกไป (หัวลูกศรชี้) บาร์ = 10 ไมโครเมตร B: แสดงบริเวณพื้นผิวของคิวน้ำที่ถูกแทรกตัวด้วยอับสปอร์เป็นจำนวนมากและอับสปอร์ที่กำลังจะหลุดออกจากคิวน้ำ (หัวลูกศรชี้) บาร์ = 10 ไมโครเมตร (Berger *et al.*, 1998)

โพรโทซัว

Trypanosomes

Thoongsuwan and Cox (1978) ทำการศึกษาหนูที่ติดปรสิต *Trypanosoma lewisi* พบพยาธิสภาพดังนี้ หนูที่ติดปรสิตเกิดภาวะโลหิตจาง (anemia) โดยความรุนแรงจะแปรตามความหนาแน่นของปรสิตในกระแสเลือด (parasitaemia) ม้ามของหนูที่ติดปรสิตมีภาวะเลือดคั่งทำให้มีขนาดใหญ่กว่าปกติและเมื่อศึกษาจุลพยาธิวิทยาพบเซลล์เม็ดเลือดแดงเข้าไปแทรกอยู่เป็นจำนวนมากในเนื้อเยื่อม้ามทั้งส่วนสีแดง (red pulp) และส่วนสีขาว (white pulp) นอกจากนี้ยังพบ *T. lewisi* แทรกในเนื้อเยื่อปะปนอยู่กับเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยไตของหนูที่ติดปรสิตพบว่า มีขนาดใหญ่ขึ้น และทางจุลพยาธิวิทยาพบว่า โกลเมอรูลัสบวมจนเกือบแนบชิดกับโบว์แมนแคปซูล (ภาพที่ 2-11) เซลล์เอพิทีเลียลของท่อไตส่วนต้นมีการบวมทำให้ช่องว่างของท่อไตส่วนนี้หายไปและยังพบกลุ่มก้อนของสารกลุ่มไฮยาลิน (hyaline cast) สะสมที่ท่อไตส่วนท้ายด้วย



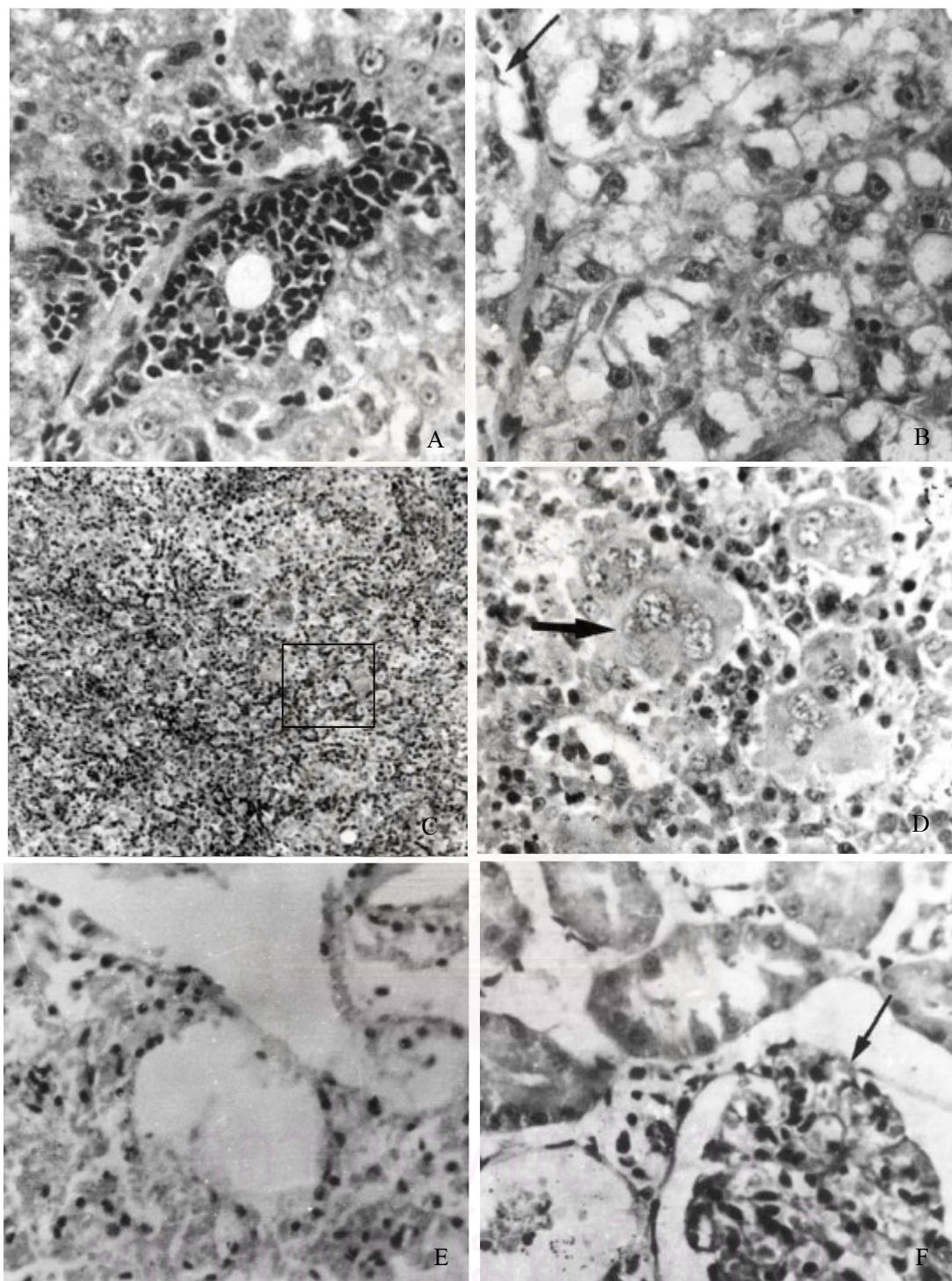
ภาพที่ 2-11 จุลพยาธิวิทยาในไตของหนูที่ติดปรสิต *Trypanosoma lewisi* A: จากหนูที่ติดปรสิตแสดงไกลเมอรูลัสที่ขยายใหญ่ขึ้นจนแนบชิดกับโบว์แมนแคปซูล B: แสดงบริเวณเซลล์ของท่อไตที่บวมและมีการสะสมของ hyaline cast C: จากหนูที่ไม่ติดปรสิต (Thoongsuwan and Cox, 1978)

Biswas และคณะ (2001) ทำการศึกษาจุลพยาธิวิทยาที่เกิดจากการติดปรสิต *Trypanosoma evansi* ในแบนดิคูท (bandicoot rat) โดยพบจุลพยาธิวิทยาในอวัยวะต่างๆดังนี้

ตับ ลักษณะภายนอกบวมโตและมีสีจางเมื่อเทียบกับปกติ เซลล์ตับบวมและมีการสะสมของไขมันอย่างผิดปกติจนเกิดการสลายตัว (fatty degeneration) ทำให้มีการเข้ามาของเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นจำนวนมากจนเกิดการอักเสบและเนื้อเยื่อตาย (necrosis) ตามลำดับ โดยพื้นที่ที่พบการอักเสบมากที่สุดคือ บริเวณรอบๆท่อน้ำดีและพอร์ทัลเวน (portal vein) (ภาพที่ 2-12 A) และยังพบปรสิตแทรกตัวอยู่ในบริเวณที่มีเนื้อเยื่อตายด้วย (ภาพที่ 2-12 B) นอกจากนี้ Biswas และคณะยังให้ความเห็นว่า การตกเลือดที่เกิดจากภาวะเลือดคั่งในไขกระดูกก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เซลล์ตับมีการตายมากขึ้นได้

ม้าม ลักษณะภายนอกขยายใหญ่และมีสีเข้มขึ้นเมื่อเทียบกับปกติ มีภาวะตกเลือดเนื่องจากมีเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นจำนวนมากคั่งอยู่ตามไขกระดูก ส่วนสีขาว (white pulp) มีขนาดใหญ่เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดขาวมีการแบ่งเซลล์สะสมมากกว่าปกติ (granuloma) (ภาพที่ 2-12 C) และปรากฏเซลล์ขนาดใหญ่ (giant cell) แทรกอยู่ตามเนื้อเยื่อเป็นจำนวนมากทำให้ม้ามมีขนาดใหญ่ขึ้น (ภาพที่ 2-12 D)

ปอด ลักษณะภายนอกมีสีเข้ม บวมและมีเมือกมากเมื่อเทียบกับปกติ เส้นเลือดขยายใหญ่มีการเข้ามาของเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นจำนวนมากจนเกิดการอักเสบ ถุงลมปอดบวม (ภาพที่ 2-12 E) เนื่องจากมีแมคโครเฟจ (macrophage) เข้ามาแทรกอยู่เป็นจำนวนมากเนื่องจากการอักเสบทำให้ขีดขวางการไหลเวียนของเลือดจนทำให้เนื้อเยื่อปอดตาย

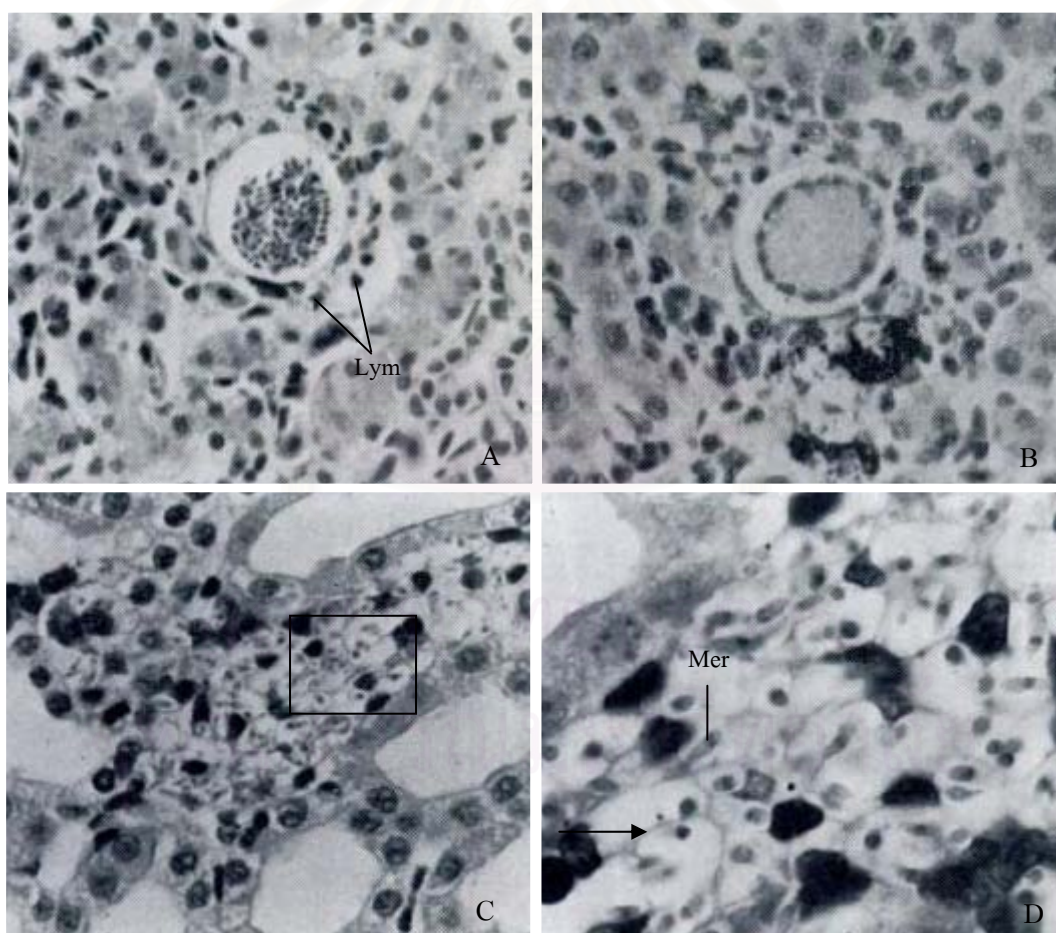


ภาพที่ 2-12 จุลพยาธิวิทยาของอวัยวะภายในจาก bandicoot rat ที่ติดปรสิต *Trypanosoma evansi* A: แสดงการอักเสบ (บริเวณที่เป็นสีเข้ม) รอบๆเส้นเลือดพอร์ทัลเวโนในตับ $\times 334$ B: แสดงเซลล์ตับที่มีการบวมและมีการเสื่อมสลายของไขมันภายในเซลล์ (fatty degeneration) ลูกศรชี้แสดง *Trypanosoma evansi* ที่แทรกตัวในเนื้อเยื่อตับ $\times 340$ C: แสดงลิมโฟไซต์ที่มีจำนวนมากผิดปกติในม้าม $\times 84$ D: ภาพขยายบริเวณกรอบสี่เหลี่ยมของภาพ C ลูกศรชี้แสดงลักษณะของ giant cell ที่แทรกตัวอยู่เป็นจำนวนมากในม้าม $\times 355$ E: แสดงผนังถุงลมปอดที่มีการบวม $\times 335$ F: แสดงลักษณะเซลล์ของท่อไตที่บวมและมีรูปร่างผิดปกติ ลูกศรชี้แสดงบริเวณที่มีเนื้อเยื่อตายของ โกลเมอรูลัส $\times 335$ (Biswas *et al.*, 2001)

ไต มีภาวะตกเลือดเนื่องจากไกลเมอรูลัสบวมและบางส่วนตาย (ภาพที่ 2-11 F) มีการแทรกเข้ามาของเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นจำนวนมากจนเกิดการอักเสบ เนื้อเยื่อของท่อไตมีการตาย นอกจากนี้ยังพบปรสิตในบริเวณที่มีการตายของเนื้อเยื่อด้วย

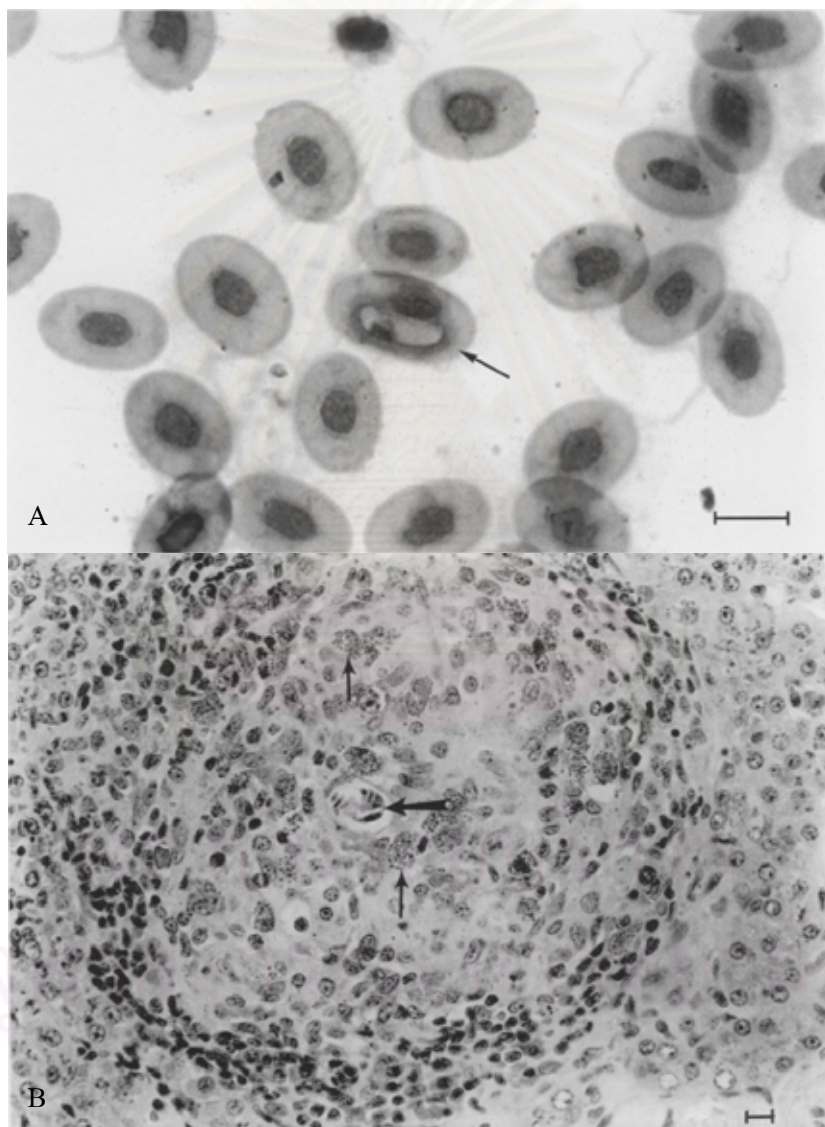
Haemogregarines

Levine and Nye (1977) สํารวจพบระยะเมอรอนท์ (meront) ของ *Haemogregarina magna* แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับของกบ *Rana pipiens* โดยพบทั้งที่อยู่ในระยะเจริญเต็มที่ (mature meront) (ภาพที่ 2-13 A) และระยะเจริญไม่เต็มที่ (immature meront) (ภาพที่ 2-13 B) ซึ่งทั้งสองมีเซลล์เม็ดเลือดขาวเข้ามาล้อมรอบทำให้เนื้อเยื่อตับโดยรอบเกิดการอักเสบ นอกจากนี้ยังตรวจพบจุลพยาธิวิทยาในไตซึ่งมีสาเหตุมาจากปรสิต *Isospora lieberkuehni* โดยระยะเมโรซอยต์แทรกกระจายอยู่ในเนื้อเยื่อส่วนท่อไตและทำให้เซลล์ท่อไตในบริเวณนั้นถูกทำลาย (ภาพที่ 2-13 C,D)



ภาพที่ 2-13 จุลพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่อของกบ *Rana pipiens* A: แสดงเมอรอนท์ที่เจริญเต็มที่ของ *Haemogregarina magna* ในเนื้อเยื่อตับ $\times 350$ B: แสดงเมอรอนท์ของ *H. magna* ที่ยังเจริญไม่เต็มที่ในเนื้อเยื่อตับ $\times 350$ C: แสดง *Isospora lieberkuehni* ระยะเมโรซอยต์ที่แทรกกระจายในเนื้อเยื่อส่วนท่อไต $\times 350$ D: ภาพขยายรอยโรคในภาพ C แสดงลักษณะเมโรซอยต์ ลูกครีซึ่งแสดงเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ท่อไตที่ถูกทำลาย $\times 1,750$ (Levine and Nye, 1977) Lym: ลิมโฟไซต์; Mer: เมโรซอยต์

Wozniak และคณะ (1998) ศึกษาตับจากงู *Nerodia fasciata pictiventris* ที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. (ภาพที่ 2-14 A) พบปรสิตระยะเมอโรนที่แทรกตัวอยู่ในเนื้อเยื่อตับโดยทำให้เกิดจุลพยาธิวิทยาคือ เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อตับโดยมีการแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวนมากทั้ง แมกโครเฟจ ลิมโฟไซต์ รวมไปถึงพลาสมาเซลล์ทำให้เกิดเป็นก้อนขนาดใหญ่ (granuloma) โดยมีซิสต์ของปรสิตเป็นจุดศูนย์กลางซึ่งก้อนเหล่านี้อาจมีเส้นผ่านศูนย์กลางได้ถึง 800 ไมโครเมตร (ภาพที่ 2-14 B) นอกจากนี้ Wozniak และคณะได้ให้ความเห็นว่า *Hepatozoon* sp. เป็นปรสิตกลุ่มที่มีผลกระทบต่องูที่จับมาจากธรรมชาติน้อย เนื่องจากงูทุกตัวที่จับได้ในการศึกษารั้งนี้เมื่อพิจารณาลักษณะภายนอกพวกมัน ไม่แสดงอาการหรือมีพยาธิสภาพใดๆ จนกว่าจะได้ทำการตรวจปรสิตในเลือด



ภาพที่ 2-14 ลักษณะของปรสิตและจุลพยาธิวิทยาที่เกิดการติดปรสิต *Hepatozoon* sp. ในงู *Nerodia fasciata pictiventris* A: แสดงลักษณะ แกมมอนที่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงของ *Hepatozoon* sp. บาร์ = 10 ไมโครเมตร B: แสดงจุลพยาธิวิทยาที่เกิดจาก *Hepatozoon* sp. ในเนื้อเยื่อตับ โดยมีเซลล์เม็ดเลือดขาวเข้ามาล้อมรอบเมอโรนที่เป็นจำนวนมาก ลูกศรหนาชี้แสดงเมอโรนของ *Hepatozoon* sp. ลูกศรบางชี้แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวเฮเทอโรฟิล (heterophil) บาร์ = 10 ไมโครเมตร (Wozniak *et al.*, 1998)

Lankesterellids

Chutmongkonkul และคณะ (2005) ทำการตรวจจุลพยาธิวิทยาในเนื้อเยื่อของกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* ที่ติดปรสิต *Lankesterella* sp. พบว่าตับและไตเป็นอวัยวะที่ได้รับผลกระทบจากปรสิตมากที่สุดโดย เนื้อเยื่อตับพบก้อนแกรนูโลมาจำนวนมากที่เกิดจากการตายของเนื้อเยื่อตับและมีลักษณะที่สำคัญคือ มีเม็ดลาโนแมคโครเฟจเข้ามาในบริเวณนี้เป็นจำนวนมาก ส่วนเนื้อเยื่อไตพบก้อนแกรนูโลมาและยังพบมีการสะสมแคลเซียมบริเวณท่อไตทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนี้ตายเป็นจำนวนมากด้วย อย่างไรก็ตาม Chutmongkonkul และคณะได้ให้ความเห็นว่าก้อนแกรนูโลมาที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลจากภาวะเรื้อรังของการติดเชื้อโดยมีปรสิตที่อาจเป็นปัจจัยเริ่มต้นโดยไปกดภูมิคุ้มกันทำให้ร่างกายของกบนาอ่อนแอลง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีการศึกษา

1. สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

1.1 ตัวอย่างกบนาธรรมชาติจากอำเภอลำน้ำเย็น จังหวัดสระแก้ว จำนวน 140 ตัว เก็บในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม พ.ศ. 2550 เดือนละ 35 ตัว

1.2 ตัวอย่างกบนาระยะโตเต็มวัยจากฟาร์มเลี้ยงกบแบบบ่อซีเมนต์ถาวรในจังหวัดนครปฐม จำนวน 2 ตัว เพื่อเป็นกลุ่มควบคุม

2. วัสดุและอุปกรณ์

- อุปกรณ์ภาคสนามที่ใช้เก็บตัวอย่างกบนาธรรมชาติได้แก่ ถูตาข่ายพลาสติก ไฟฉายและกล่องพลาสติก สำหรับใช้บรรจุตัวอย่างระหว่างการเดินทาง

- วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงกบได้แก่ ตู้เลี้ยงปลา(เลี้ยงรวม) ภาชนะพลาสติกแบบมีฝาปิด(แยกเลี้ยง) ถึงสำรองน้ำ อาหารเม็ดและสวิง

- อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

- เครื่องมือผ่าตัดได้แก่ กรรไกรผ่าตัด เข็มเขี่ย ปากคีบ ถาดพลาสติก

- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบหน้าปัดตาชั่งรับน้ำหนักสูงสุด 1 กิโลกรัม

- หลอดฉีดยา Nipro ขนาดความจุ 3 มิลลิลิตร

- หัวเข็มฉีดยา Nipro ขนาด $26G \times \frac{1}{2}$ "

- แผ่นสไลด์

- กระจกปิดสไลด์

- ปีกเกอร์ขนาดความจุ 50 และ 100 มิลลิลิตร

- กระบอกลงขนาด 100, 200, 300, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

- ขวดแก้วมีฝาปิด ขนาด 100 และ 200 มิลลิลิตร

- Petridish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

- ขวดเก็บสารเคมี SCHOTT Duran ขนาดความจุ 100, 250, 500, 1,000 และ 2,000 มล.

- กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอไอยี่ห้อ Olympus รุ่น SZ-PT

- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงยี่ห้อ Olympus รุ่น CH30

- กล้องถ่ายภาพดิจิทัลยี่ห้อ Olympus รุ่น C-5050

- อุปกรณ์การวาดภาพได้แก่ ปากกาคอปเปอร์มาเนนต์ ดินสอ แผ่นใส และกระดาษไข

- Objective micrometer ยี่ห้อ Olympus ขนาด 0.01 มิลลิเมตร
- Occular micrometer ยี่ห้อ Olympus รุ่น NCWHK 10X/18L
- เครื่องตัดชิ้นเนื้อเยื่อ (Microtome) ยี่ห้อ American Optical รุ่น 820 rotary
- ใบมีดไมโครโทมยี่ห้อ Feather รุ่น N35 และ C35
- ตู้อบความร้อนยี่ห้อ memmert
- Copling jar พร้อมฝาปิดจำนวน 18 ชุด
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- แบบพิมพ์ (block)
- hot plate

3. สารเคมี

- Formalin concentrate
- Methanol (Merck Darmstadt, Germany)
- Ethanol 95 % (องค์การสุรา กรมสรรพสามิต จังหวัดฉะเชิงเทรา ประเทศไทย)
- n – Butanol (Merck Darmstadt, Germany)
- Permout (Fisher Scientific, New Jersey, U.S.A.)
- Xylene (Fisher Scientific, UK Limited, U.K.)
- Sodium dihydrogen orthophosphate – NaH_2PO_4 (Asia Pacific Specialty Chemicals Limited, New South-Wales, Australia)
- Disodium hydrogen phosphate – Na_2HPO_4 (Asia Pacific Specialty Chemicals Limited, New South-Wales, Australia)
- 1 % HCl ใน 70% Ethanol (differentiator)
- สี Giemsa (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
- สี Ehrlich's Haematoxylin
- สี Eosin
- Mayer's glycerol egg Albumen
- Paraffin wax
- น้ำมันสำหรับกลึงจุลทรรศน์
- น้ำกลั่น

วิธีดำเนินการ

1. เก็บตัวอย่างกบนาจากธรรมชาติ

- เก็บกบนาธรรมชาติจาก อ. วังน้ำเย็น จ. สระแก้ว โดยการรับซื้อจากชาวบ้านท้องถิ่นซึ่งจะมีลักษณะต่างจากกบนาเลี้ยงคือ มีแผลตามร่างกายเล็กน้อยและมีปลิงเกาะตามลำตัว เดือนละ 1 ครั้ง ครั้งละ 35 ตัวคละเพศ เป็นเวลา 4 เดือน ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550

2. ตรวจสอบสภาพร่างกายกบนา

- ชั่งน้ำหนักและวัดความยาวจากปากถึงรูทวาร (snout-vent length) ทดสอบความต่างกันทางสถิติของน้ำหนักกบนาและ SVL ในแต่ละเดือนโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance : ANOVA)

3. ตรวจสอบปรสิตในเลือดและเนื้อเยื่อของกบนา

- ทำให้กบตายอย่างสงบโดยนำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 45-60 นาที
- ผ่าตัดเปิดช่องและเจาะเก็บเลือดจากหัวใจ
- นำเลือดที่เจาะเก็บได้มาทำสไลด์แผ่นฟิล์มเลือดแบบบาง และส่วนหนึ่งนำมาหาค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) โดยเก็บตัวอย่างเลือดไว้ในหลอดแคปิลลารี (capillary tube) (ข้อ 4)
- แผ่นฟิล์มเลือดที่สเมียร์แล้วปล่อยให้แห้งในอากาศทำหนึ่งสไลด์ต่อกบนาหนึ่งตัว
- รักษาสภาพแผ่นฟิล์มเลือดโดยการจุ่มใน 100% เมทานอลแล้วผึ่งให้แห้งในอากาศ
- จัดเตรียมสีย้อมสไลด์โดยเตรียมสารละลายสี Giemsa : 0.1 M phosphate buffer pH 7.4 ในอัตราส่วนหนึ่งต่อสิบ และนำสไลด์ที่รักษาสภาพและผึ่งแห้งแล้วมาข้อมด้วยสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้น ข้อมทิ้งไว้ประมาณ 20-30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาดังกล่าวส่วนเกินออกด้วยน้ำประปาแล้วผึ่งให้แห้ง
- ตรวจสอบปรสิตในเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์
- จัดเก็บชิ้นส่วนอวัยวะภายในคือ ตับ ปอด ม้ามและไต ทำ impression smear โดยตัดอวัยวะแล้วนำหน้าตัดนั้นมากดบนสไลด์ที่แห้งและสะอาด ปล่อยให้แห้งในอากาศ
- นำสไลด์มารักษาสภาพและข้อมสีด้วย Giemsa ตามวิธีการที่กล่าวมาแล้วในข้างต้น สำหรับส่วนที่เหลือเหลือของอวัยวะรักษาสภาพไว้ใน 10 เปอร์เซ็นต์ฟอรัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน (ข้อ 5)
- ตรวจสอบปรสิตในเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์
- บรรยายลักษณะและบันทึกอวัยวะที่พบปรสิตแต่ละชนิด พร้อมทั้งถ่ายรูป วาดรูป กำหนดค่าร้อยละอุบัติการณ์ (percent prevalence) ค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตในเลือด (percent parasitaemia) ตามสูตรที่แสดงไว้ด้านล่าง (นิจธร สังข์ศิริพันธ์, 2550)

$$\text{ค่าร้อยละของอุบัติการณ์} = \frac{\text{จำนวนกบนาที่ติดปรสิต (แต่ละชนิด) ในตัวอย่างกบนาที่ศึกษา}}{\text{จำนวนตัวอย่างทั้งหมดของกบนาที่ศึกษา}} \times 100$$

$$\text{ค่าความหนาแน่นของปรสิตในเลือด} = \frac{\text{จำนวนปรสิต}}{\text{จำนวนเม็ดเลือดแดง 10,000 เซลล์}} \times 100$$

4. ตรวจค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

- นำหลอดแยกปัสสาวะที่มีตัวอย่างเลือดจากกบนำมาปั่นด้วยเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) ที่อัตราเร็ว 5,000 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 5 นาที
- วัดและบันทึกความสูงของชั้นเซลล์เม็ดเลือดแดงเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์
- ทดสอบความต่างทางสถิติของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t - test แบ่งกลุ่มของกบนาออกเป็น กลุ่มที่ติดปรสิตและกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

5. ศึกษาจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อ

- นำอวัยวะที่รักษาสภาพไว้ใน 10 เปอร์เซ็นต์บัฟเฟอร์ฟอร์มาลินมาล้างผ่านน้ำไหลประมาณ 3 ชั่วโมงก่อนจะผ่านขั้นตอนดึ่งน้ำออกจากเนื้อเยื่อ สำหรับเนื้อเยื่อที่เป็นกระดูกให้นำเนื้อเยื่อแช่ใน 5% Na_2SO_4 นาน 10-30 นาที ต่อมานำเนื้อเยื่อแช่ใน Decalcification solution นาน 1-3 ชั่วโมง ก่อนที่ผ่านเข้าขั้นตอนดึ่งน้ำออกจากเนื้อเยื่อ
- การดึ่งน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (dehydration) โดยผ่านกระบวนการดังต่อไปนี้

70 เปอร์เซ็นต์เอทานอล	นาน	24	ชั่วโมง (เก็บได้นาน)
90 เปอร์เซ็นต์เอทานอล	นาน	6	ชั่วโมง
95 เปอร์เซ็นต์เอทานอล	นาน	6	ชั่วโมง
95 เปอร์เซ็นต์เอทานอล	นาน	6	ชั่วโมง
n-butanol	นาน	1	ชั่วโมง
- นำเนื้อเยื่อที่ดึ่งน้ำออกแล้วมาทำให้ใส (clearing) โดยแช่ใน xylene นานประมาณ 1 ชั่วโมง
- นำเนื้อเยื่อมาผ่านเข้าสู่ขั้นตอนฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน (embedding) โดยผ่านกระบวนการดังต่อไปนี้

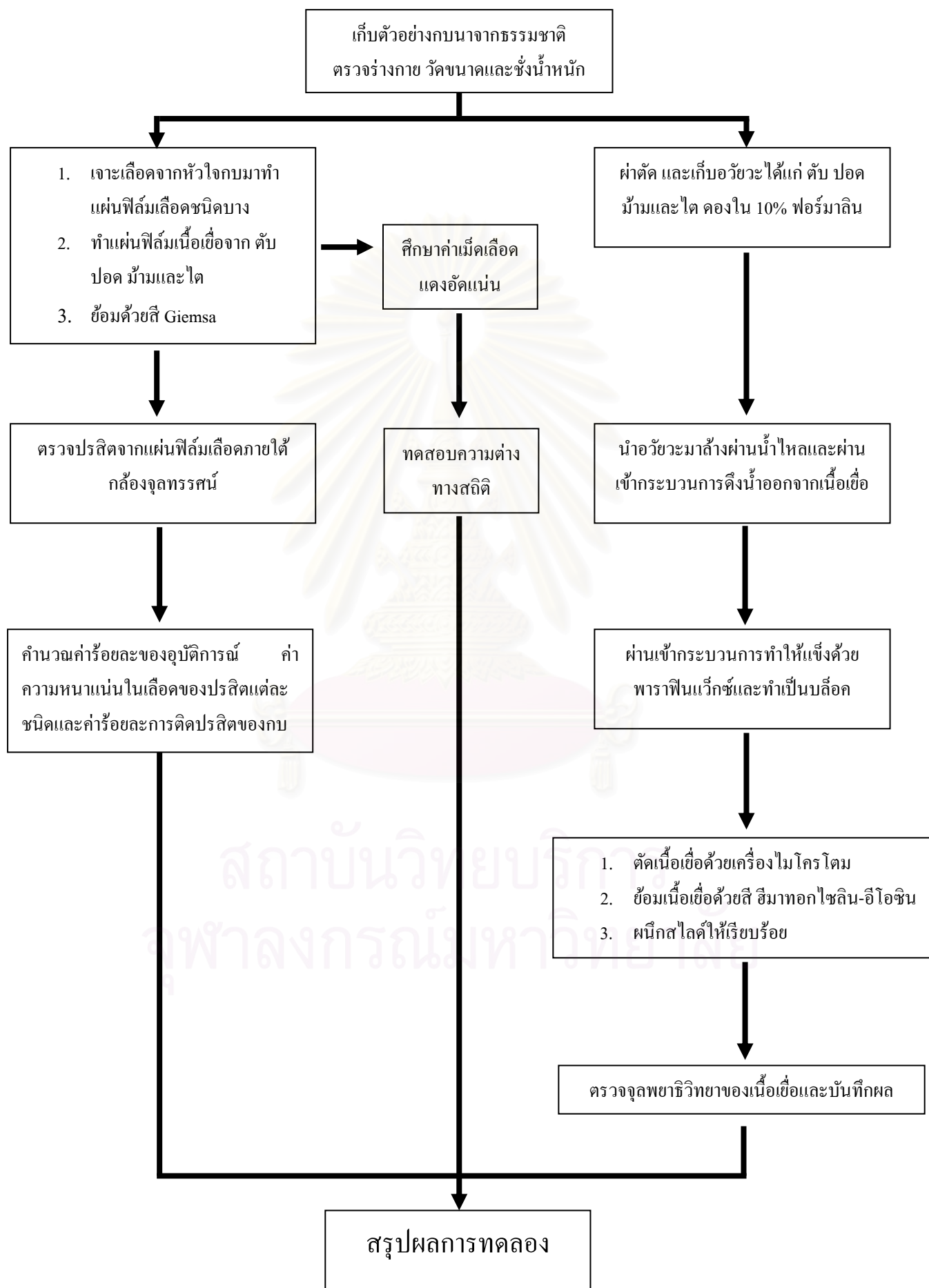
xylene : paraffin wax ในอัตราส่วน 1:1	นาน	30	นาที
paraffin wax 1	นาน	30	นาที
paraffin wax 2	นาน	1	ชั่วโมง

 นำเนื้อเยื่อใส่ในแบบพิมพ์ (block) ที่เตรียมไว้ เติมพาราฟินเหลวรอให้เย็นแล้วค่อยๆ เติมน้ำมันพิมพ์ออกมาตัดแต่งให้มีขนาดเหมาะสมกับการตัดเนื้อเยื่อ
- นำแบบพิมพ์ที่ผ่านการตกแต่งแล้วมาตัด (section) ด้วยเครื่องมือไมโครทอม (microtome) กำหนดความหนาของแผ่นเนื้อเยื่อไว้ที่ 5 ไมโครเมตร นำแผ่นเนื้อเยื่อมาติดลงบนสไลด์ด้วย Mayer's glycerol egg albumen อุณหภูมิห้องบน hot plate รอให้แห้ง
- นำสไลด์ที่แห้งแล้วมาย้อมด้วยสี Hematoxylin & eosin ตามขั้นตอนดังนี้

xylene	นาน	3	นาที
n-butanol	นาน	3	นาที
95% ethanol	นาน	3	นาที
90% ethanol	นาน	3	นาที
70% ethanol	นาน	3	นาที
tap water	นาน	3	นาที
haematoxylin	นาน	5	นาที
tap water (flow)	นาน	5	นาที
differentiator	นาน	จุ่มขึ้นลง 4-5 ครั้ง	
tap water	นาน	3	นาที
eosin	นาน	2	นาที
95% ethanol	นาน	5	นาที
n-butanol	นาน	5	นาที
xylene	นาน	3	นาที
xylene	นาน	ข้ามคืน	
- ทำสไลด์ถาวรโดยหยดน้ำยา permount ลงบนสไลด์ที่ย้อมสีแล้ว ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (ระวังมิให้เกิดฟอง) ทิ้งไว้ให้แห้ง			
- นำสไลด์ถาวรมาตรวจสอบจุลพยาธิวิทยาในอวัยวะส่วนต่างๆภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกลักษณะเนื้อเยื่อที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเทียบกับกลุ่มที่ไม่ติดปรสิตและถ่ายรูปเก็บไว้เป็นหลักฐาน			

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนผังแสดงขั้นตอนปฏิบัติการศึกษาปรสิตในเลือดและจุลพยาธิวิทยาในกบนาธรรมชาติ



บทที่ 4

ผลการทดลอง

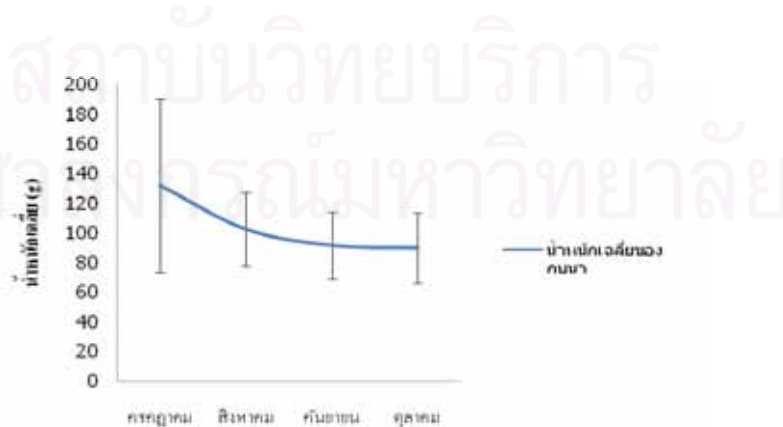
การเก็บตัวอย่างกบนาเพื่อนำมาศึกษาชนิดของปรสิตในเลือดและพยาธิสภาพที่เกิดจากปรสิต ได้เริ่มทำการเก็บตัวอย่างจาก อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว เป็นระยะเวลาสี่เดือนตั้งแต่เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2550 เก็บตัวอย่างกบนาละเพศเดือนละ 35 ตัวเป็นจำนวนทั้งหมด 140 ตัวโดยเป็นเพศผู้จำนวน 42 ตัวและเป็นเพศเมียจำนวน 98 ตัว ผลการศึกษาดังแสดงต่อไปนี้

1. Snout-vent length (SVL) และน้ำหนักของกบนา

ผลการศึกษา SVL และน้ำหนักของกบนาละเพศตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550 ดังแสดงในภาพที่ 4-1 และ 4-2 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความต่างทางสถิติแล้วพบว่าเดือนกรกฎาคม กบนามีความต่างอย่างมีนัยสำคัญคือมี SVL และน้ำหนักมากกว่าเดือนอื่นๆ ในขณะที่เดือนสิงหาคม กันยายนและตุลาคม ไม่มีความต่างกันทางสถิติ สำหรับผลทดสอบทางสถิติทั้ง SVL และน้ำหนักของกบนาแสดงในภาคผนวก ข ตารางที่ 1 และ 2



ภาพที่ 4-1 แสดง SVL เฉลี่ยของกบนาละเพศจำนวนเดือนละ 35 ตัว ที่เก็บได้ในเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2550



ภาพที่ 4-2 แสดงน้ำหนักเฉลี่ยของกบนาละเพศจำนวนเดือนละ 35 ตัว ที่เก็บได้ในเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2550

2. การจำแนกชนิดของปรสิตในเลือด

จากการตรวจสไลด์แผ่นฟิล์มเลือดแบบบางและสไลด์แผ่นฟิล์มเนื้อเยื่อ (impression smear) จากอวัยวะตับ ปอด ม้ามและไตของกบนาจำนวน 140 ตัว พบปรสิตในเลือดทั้งหมด 5 ชนิดโดยทั้งหมดเป็นโพรโทซัว จัดอยู่ใน Phylum Sarcomastigophora 2 ชนิดได้แก่ *Trypanosoma rotatorium*-like และ *Trypanosoma chattoni* Phylum Apicomplexa 3 ชนิดได้แก่ *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b และ *Lankesterella minima* การจัดจำแนกนี้อ้างอิงตาม Bardsley and Harmsen (1973), Desser (1993), Barta (1991), Smith (1996) และ Farmer (1980) การจำแนกชนิดของปรสิตในเลือดของกบนาแสดงในตาราง 4-1 ส่วนระยะของปรสิตที่พบและคำร้อยละความหนาแน่นในเลือดเฉลี่ยแสดงในตาราง 4-2

ตารางที่ 4-1 แสดงการจำแนกชนิดของปรสิตในเลือดที่พบในกบนาจำนวน 140 ตัว

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species
Sarcomastigophora	Zoomastigophora	Kinetoplastida	Trypanosomatidae	<i>Trypanosoma</i> Gruby, 1843	<i>Trypanosoma rotatorium</i> -like
					I form
					II form
					III form
					IV form
					Vform
					<i>Trypanosoma chattoni</i>
Apicomplexa	Sporozoon	Eucoccidia Levine, 1982	Hepatozoidae	<i>Hepatozoon</i> Miller, 1908	<i>Hepatozoon</i> sp. a
					<i>Hepatozoon</i> sp. b
			Lankesterellidae Nöller, 1920	<i>Lankesterella</i> Labbé, 1899	<i>Lankesterella minima</i>

ตารางที่ 4-2 แสดงระยะของปรสิตและค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือด

ชนิดของปรสิต	ระยะของปรสิต	ตำแหน่งที่พบ	ร้อยละอุบัติการณ์*	ค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดเฉลี่ย**
<i>Trypanosoma rotatorium</i> -like I form	แมสติโกต (mastigote)	เลือด ตับ ไต	12.14	0.012 ± 0.005
II form	เอพิแมสติโกต (epimastigote)	เลือด	4.29	0.019 ± 0.009
III form	แมสติโกต	เลือด	7.86	0.013 ± 0.006
IV form	แมสติโกต	เลือด	1.41	0.010 ± 0.000
V form	แมสติโกต	เลือด	2.14	0.011 ± 0.002
<i>Trypanosoma chattoni</i>	อะแมสติโกต (amastigote)	เลือด ตับ ไต	32.14	0.015 ± 0.008
<i>Hepatozoon</i> sp. a	แกมอนท์ (gamont)	เลือด ตับ	20	0.124 ± 0.184
<i>Hepatozoon</i> sp. b	แกมอนท์	เลือด ตับ	3.57	0.128 ± 0.204
<i>Lankesterella minima</i>	สปอโรซอยต์ (sporozoite)	เลือด ตับ ม้าม	16.43	0.150 ± 0.455

$$\text{*ร้อยละอุบัติการณ์ (prevalence)} = \frac{\text{จำนวนกบนาที่พบปรสิต (แต่ละชนิด)}}{\text{จำนวนกบนาที่ทำการศึกษา}} \times 100$$

$$\text{**ร้อยละความหนาแน่นในเลือด (parasitaemia)} = \frac{\text{จำนวนปรสิต}}{\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง 10,000 เซลล์}} \times 100$$

กำหนดค่าแสดงในรูป ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Trypanosoma rotatorium-like

ตำแหน่งที่พบปรสิต	เลือด คับและไต
ระยะของปรสิต	แมสติโกตและเอพิแมสติโกต
จำนวนกบที่ติดปรสิต	39 ตัวจากกบนา 140 ตัว (ร้อยละอุบัติการณ์เท่ากับ 27.86)

ลักษณะรูปร่าง *n = จำนวนตัวของปรสิตที่นำมาคำนวณหาค่าขนาดเฉลี่ย

รูปร่างของ *Trypanosoma rotatorium-like* ที่สำรวจพบมีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันสามารถแบ่งได้เป็น 5 form โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกดังนี้

Form I (n* = 18) เซลล์มีรูปร่างยาว ปลายด้านหน้า (anterior end) แหลม ปลายด้านท้าย (posterior end) มน มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $48.96 \pm 4.16 \times 9.53 \pm 1.49$ ไมโครเมตร ไคเนโตพลาสต์ (kinetoplast) เป็นจุดข้อมติคสีม่วงแดงเข้มอยู่บริเวณใกล้กับปลายด้านท้ายห่างประมาณ 2.49 ± 1.16 ไมโครเมตร นิวเคลียสรูปร่างเรียวยาวข้อมติคสีชมพูมีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $22.87 \pm 4.27 \times 1.51 \pm 0.29$ ไมโครเมตรมีตำแหน่งต่อจากไคเนโตพลาสต์ขนานไปกับตัวเซลล์ ไซโตพลาซึมข้อมติคสีม่วงอ่อนภายในประกอบด้วยแกรนูลเป็นจำนวนมากจึงทำให้มองเห็นเป็นจุดๆเต็มไปหมด เยื่อคลื่น (undulating membrane) มีการพัฒนาดี แฟลเจลลัมมีลักษณะเป็นเส้นยาวมีจุดเริ่มในบริเวณใกล้กับไคเนโตพลาสต์พาดผ่านเซลล์ไปตามแนวของเยื่อคลื่นจนถึงสิ้นสุดที่ปลายด้านหน้าและเลยออกไปเป็นแฟลเจลลัมอิสระ มีกบนาที่พบปรสิตในฟอรัมนี่จำนวน 17 ตัว (ภาพที่ 4-3 A,B)

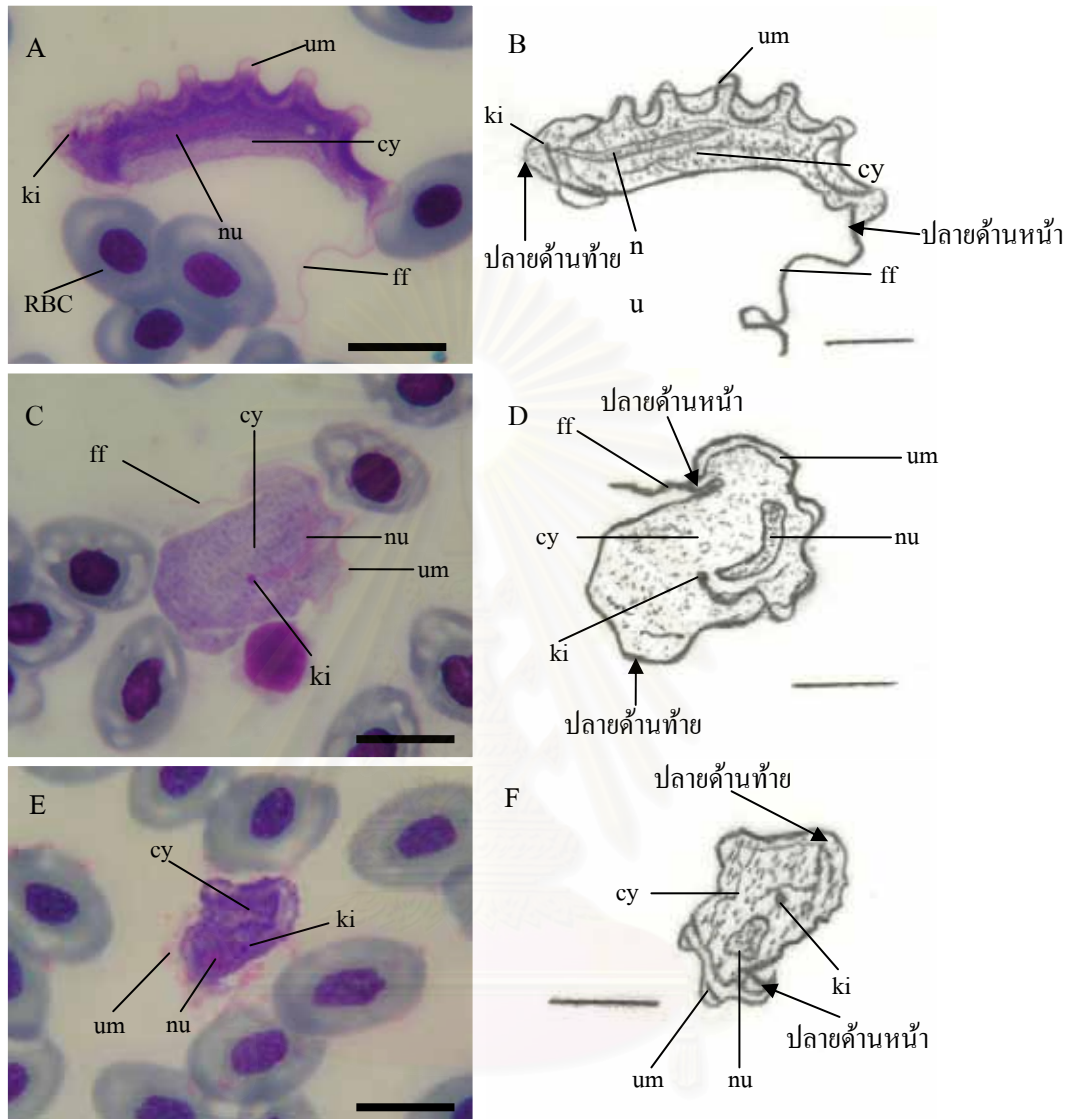
Form II (n = 8) เซลล์มีรูปร่างรี ปลายด้านหน้าแหลมแต่ปลายด้านท้ายยังมีลักษณะมนจนเกือบกลม ตัวเซลล์มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $27.99 \pm 4.97 \times 15.62 \pm 2.59$ ไมโครเมตร ไคเนโตพลาสต์เป็นจุดข้อมติคสีม่วงเข้มอยู่บริเวณตรงกลางเซลล์ นิวเคลียสมีรูปร่างที่ยาววัดขนาดความยาวและความกว้างเฉลี่ย $8.49 \pm 1.71 \times 2.76 \pm 0.74$ ไมโครเมตรอยู่บริเวณกลางเซลล์ใกล้กับไคเนโตพลาสต์ไปทางปลายด้านหน้า ไซโตพลาซึมข้อมติคสีม่วงอ่อนภายในประกอบด้วยแกรนูลเป็นจำนวนมาก เยื่อคลื่นมีการพัฒนามากขึ้นแต่ยังมีขนาดที่เล็กกว่าของ Form I แฟลเจลลัมอิสระเริ่มเห็นแล้วแต่ยังเป็นสายสั้นๆ มีกบนาที่พบปรสิตในฟอรัมนี่จำนวน 6 ตัว (ภาพที่ 4-3 C,D)

Form III (n = 12) เซลล์มีขนาดเล็ก ปลายด้านหน้าแหลม ปลายด้านท้ายมน ตัวเซลล์มีความยาวและความกว้างเฉลี่ยเท่ากับ $21.22 \pm 2.95 \times 10.25 \pm 2.58$ ไมโครเมตร ไคเนโตพลาสต์เป็นจุดข้อมติคสีม่วงแดงอยู่บริเวณตรงกลางและค่อนข้างไปทางด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ นิวเคลียสมีรูปร่างรีมีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $5.71 \pm 1.01 \times 2.17 \pm 0.60$ ไมโครเมตรอยู่บริเวณกลางเซลล์ใกล้กับไคเนโตพลาสต์ไปทางปลายด้านหน้า ไซโตพลาซึมข้อมติคสีม่วงอ่อนภายในประกอบด้วยแกรนูลเป็นจำนวนมาก เยื่อคลื่นพัฒนาดีแต่มี

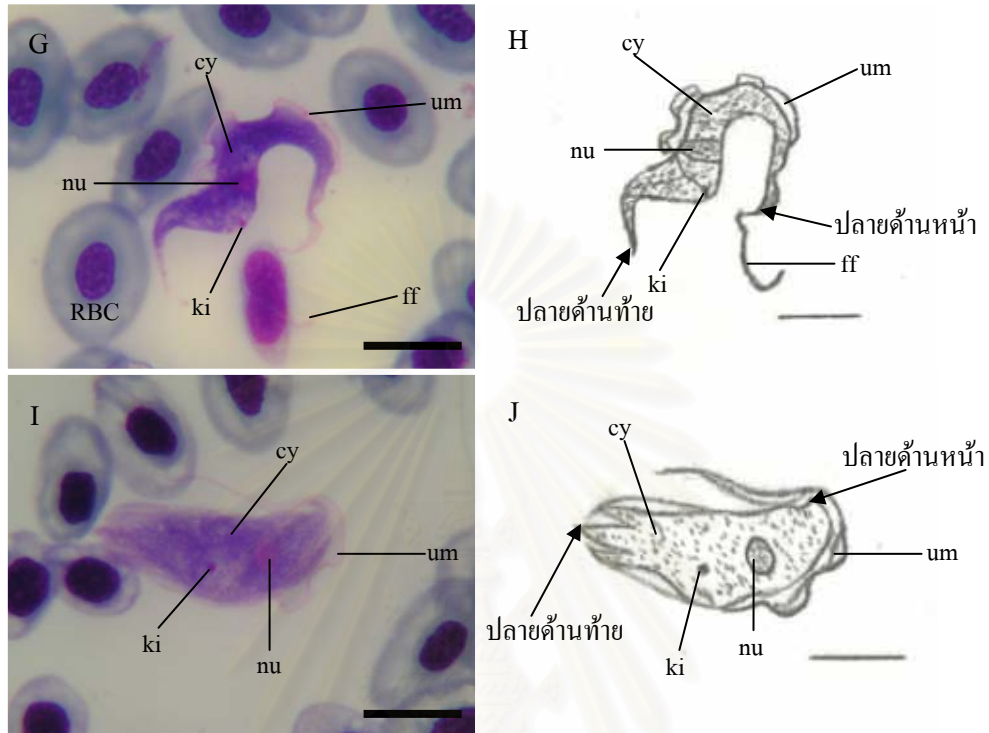
ขนาดเล็ก ไม่ปรากฏแฟลเจลลัมอิสระหรือเห็นแต่เป็นสายสั้นๆ มีกบนาที่พบปรสิตในฟอร์มนี้จำนวน 11 ตัว (ภาพที่ 4-3 E,F)

Form IV (n = 3) เซลล์มีลำตัวยาว ปลายด้านหน้าและปลายด้านท้ายแหลม มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $46.85 \pm 6.84 \times 6.97 \pm 4.60$ ไมโครเมตร โคนโทพลาสต์เป็นจุดข้อมติคสีม่วงแดงอยู่เกือบกลาง เซลล์ห่างจากปลายด้านท้ายประมาณ 15.23 ± 4.34 ไมโครเมตร นิวเคลียสรูปปร่างเรียวยาวข้อมติคสีชมพู มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $8.82 \pm 4.32 \times 2.13 \pm 0.59$ ไมโครเมตรอยู่พาดผ่านเต็มความกว้างของเซลล์ ห่างจากโคนโทพลาสต์ประมาณ 5.71 ± 1.42 ไมโครเมตร ไซโทพลาซึมข้อมติคสีม่วงอ่อนภายใน ประกอบด้วยแกรนูลเป็นจำนวนมาก เยื่อคลื่นมีการพัฒนาดีและปรากฏแฟลเจลลัมอิสระ มีกบนาที่พบปรสิตในฟอร์มนี้จำนวน 2 ตัว (ภาพที่ 4-3 G,H)

Form V (n = 2) เซลล์มีรูปร่างรี ปลายด้านหน้ามนและปลายด้านท้ายมีลักษณะเป็นรีๆ มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $32.09 \pm 3.85 \times 10.40 \pm 1.62$ ไมโครเมตร โคนโทพลาสต์เป็นจุดข้อมติคสีม่วงแดงอยู่ตรงกลางของเซลล์อยู่ห่างจากปลายด้านท้ายประมาณ 14.42 ± 2.20 ไมโครเมตร นิวเคลียสรูปปร่างรีข้อมติคสีชมพูมีความยาวและความกว้าง $4.82 \pm 0.09 \times 2.90 \pm 0.35$ ไมโครเมตรอยู่ก่อนไปทางปลายด้านหน้าของเซลล์ห่างจากโคนโทพลาสต์ประมาณ 6.28 ± 0.81 ไมโครเมตร ไซโทพลาซึมข้อมติคสีม่วงเกือบเข้มภายใน ประกอบด้วยแกรนูลเป็นจำนวนมาก เยื่อคลื่นมีการพัฒนาดีและไม่ปรากฏแฟลเจลลัมอิสระ มีกบนาที่พบปรสิตในฟอร์มนี้จำนวน 3 ตัว (ภาพที่ 4-3 I,J)



ภาพที่ 4-3 ลักษณะของโปรโตซัว *Trypanosoma rotatorium*-like I, II และ III form ที่พบในกระแสเลือด ย้อมด้วยสี Giemsa (คอตมันน์ซ้าย) และภาพวาดของปรสิตริต (คอตมันน์ขาว) A และ B: แสดงลักษณะของ I form C และ D: แสดงลักษณะของ II form E และ F: แสดงลักษณะของ III form (บาร์ = 10 ไมโครเมตร) ki = ไคเนโทพลาสต์; nu = นิวเคลียส; um = เชือกสั้น; cy = ไซโตพลาซึม; ff = แฟลเจลลัมอิสระ; RBC = เซลล์เม็ดเลือดแดง



ภาพที่ 4-3 (ต่อ) ลักษณะของโปรโตซัว *Trypanosoma rotatorium*-like IV และ V form ที่พบในกระแสเลือดย้อมด้วยสี Giemsa (คอลัมน์ซ้าย) และภาพวาดของปรสิต (คอลัมน์ขวา) G และ H: แสดงลักษณะของ IV form I และ J: แสดงลักษณะของ V form (บาร์ = 10 ไมโครเมตร) ki = ไคเนโตพลาสต์; nu = นิวเคลียส; um = เยื่อคลื่น; cy = ไซโตพลาซึม; ff = แฟลเจลลัมอิสระ; RBC = เซลล์เม็ดเลือดแดง

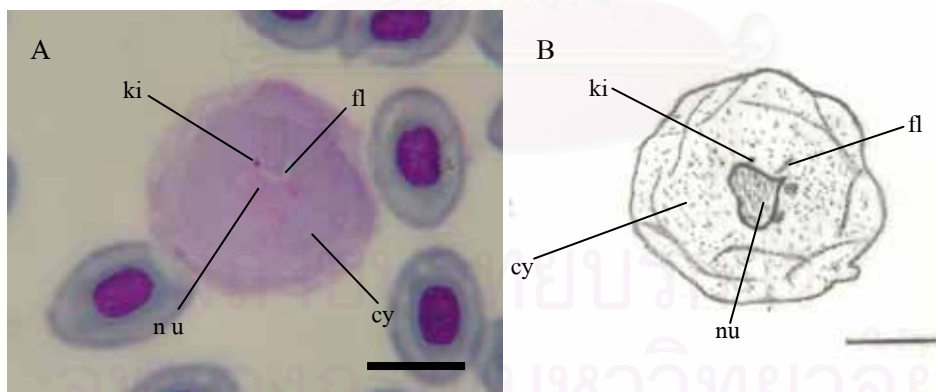
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Trypanosoma chattoni

ตำแหน่งที่พบปรสิต	เลือด ตับและไต
ระยะของปรสิต	อะแมสติกโกต
จำนวนกบที่ติดปรสิต	45 ตัวจากกบนา 140 ตัว (ร้อยละอุบัติการณ์เท่ากับ 32.14)

ลักษณะรูปร่าง

เซลล์มีรูปร่างกลมมีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $30.50 \pm 4.07 \times 26.70 \pm 3.56$ ไมโครเมตร ($n = 35$) ไคเนโตพลาสต์เป็นจุดยึดติดสีม่วงเข้มอยู่บริเวณตรงกลางเซลล์ นิวเคลียสอยู่บริเวณกลางเซลล์ใกล้กับ ไคเนโตพลาสต์รูปร่างกลมรีที่ขั้วยึดติดสีชมพูเข้ม ไซโตพลาซึมยึดติดสีม่วงอ่อนภายในประกอบด้วย แกรนูลเป็นจำนวนมาก ไม่มีการพัฒนาของเยื่อคลื่นหรือแฟลเจลลัมอิสระแต่มีการพัฒนาของแฟลเจลลัม สายสั้นๆอยู่ในเซลล์ (ภาพที่ 4-4 A,B)



ภาพที่ 4-4 ลักษณะของโปรโตซัว *Trypanosoma chattoni*

A. แสดงลักษณะของเซลล์ที่พบในกระแสเลือดย้อมด้วยสี Giemsa (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

B. แสดงภาพวาดของ *Trypanosoma chattoni* (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

ki = ไคเนโตพลาสต์; nu = นิวเคลียส; cy = ไซโตพลาซึม; fl = แฟลเจลลัม

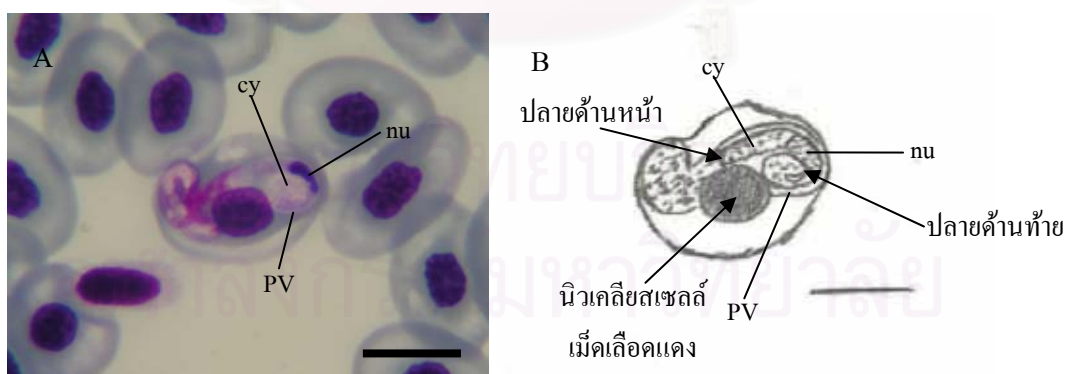
Hepatozoon sp. a

ตำแหน่งที่พบปรสิต	เลือดและตับ
ระยะของปรสิต	แกมมอนท์
จำนวนกบที่ติดปรสิต	28 ตัวจากกบนา 140 ตัว (ร้อยละอุบัติการณ์เท่ากับ 20.00)

ลักษณะรูปร่าง

เซลล์ของ *Hepatozoon* sp. a อยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างยาว ปลายด้านหนึ่งเรียวตรงมนคือ ปลายด้านหน้าเซลล์ ส่วนอีกด้านหนึ่งมีการพับตัวกลับคือ ปลายด้านหลัง ตัวเซลล์มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $22.28 \pm 2.54 \times 1.83 \pm 0.48$ ไมโครเมตร ($n = 25$) นิวเคลียสล้อมติดสีม่วงอยู่เกือบกึ่งกลางเซลล์มีความยาวและความกว้างประมาณ $5.00 \pm 1.36 \times 1.83 \pm 0.48$ ไมโครเมตร ไซโตพลาซึมล้อมติดสีม่วงอ่อน ตัวเซลล์ทั้งหมดอยู่ภายในแวคิวโอลขนาดใหญ่เรียกว่า พาราซิโตฟอร์สแวคิวโอล (parasitophorus vacuole) ซึ่งบริเวณปลายโป่งออกเป็นถุงล้อมติดสีชมพู

สำหรับเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดปรสิตจะขยายขนาดขึ้นเล็กน้อย นิวเคลียสมีขนาดโตขึ้นและถูกดันออกด้านข้าง (ภาพ 4-5 A และ B)



ภาพที่ 4-5 ลักษณะของโปรโตซัว *Hepatozoon* sp. a

A. แสดงลักษณะของแกมมอนท์ย้อมด้วยสี Giemsa (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

B. แสดงภาพวาดของ *Hepatozoon* sp. a (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

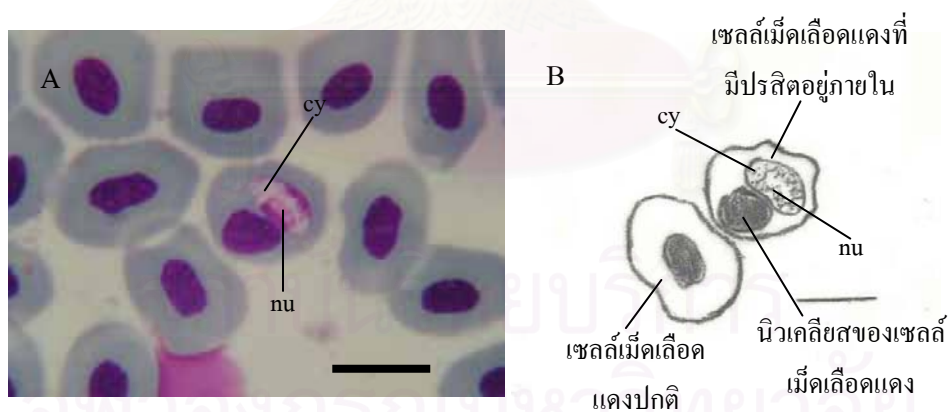
nu = นิวเคลียส ; cy = ไซโตพลาซึม ; PV = พาราซิโตฟอร์สแวคิวโอล

Hepatozoon sp. b

ตำแหน่งที่พบปรสิต	เลือดและตับ
ระยะของปรสิต	แกมมอนท์
จำนวนกบที่ติดปรสิต	5 ตัวจากกบนา 140 ตัว (ร้อยละของอุบัติการณ์ = 3.57%)

ลักษณะรูปร่าง

เซลล์ของ *Hepatozoon* sp. b อยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างกลมรีมีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $11.40 \pm 1.70 \times 4.30 \pm 0.77$ ไมโครเมตร ($n = 9$) นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ล้อมติดสีชมพูมีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $5.66 \pm 0.91 \times 3.89 \pm 0.57$ ไมโครเมตรอยู่เกือบกึ่งกลางเซลล์ ไซโตพลาซึมล้อมติดสีจางมองไม่เห็นพาราซิโตพอร์สแวคิวโอลอย่างชัดเจน นิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดปรสิตถูกดันไปทางด้านข้าง (ภาพ 4-6 A และ B)



ภาพที่ 4-6 ลักษณะของโปรโตซัว *Hepatozoon* sp. b

A. แสดงลักษณะของแกมมอนท์ย้อมด้วยสี Giemsa (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

B. แสดงภาพวาดของ *Hepatozoon* sp. b (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

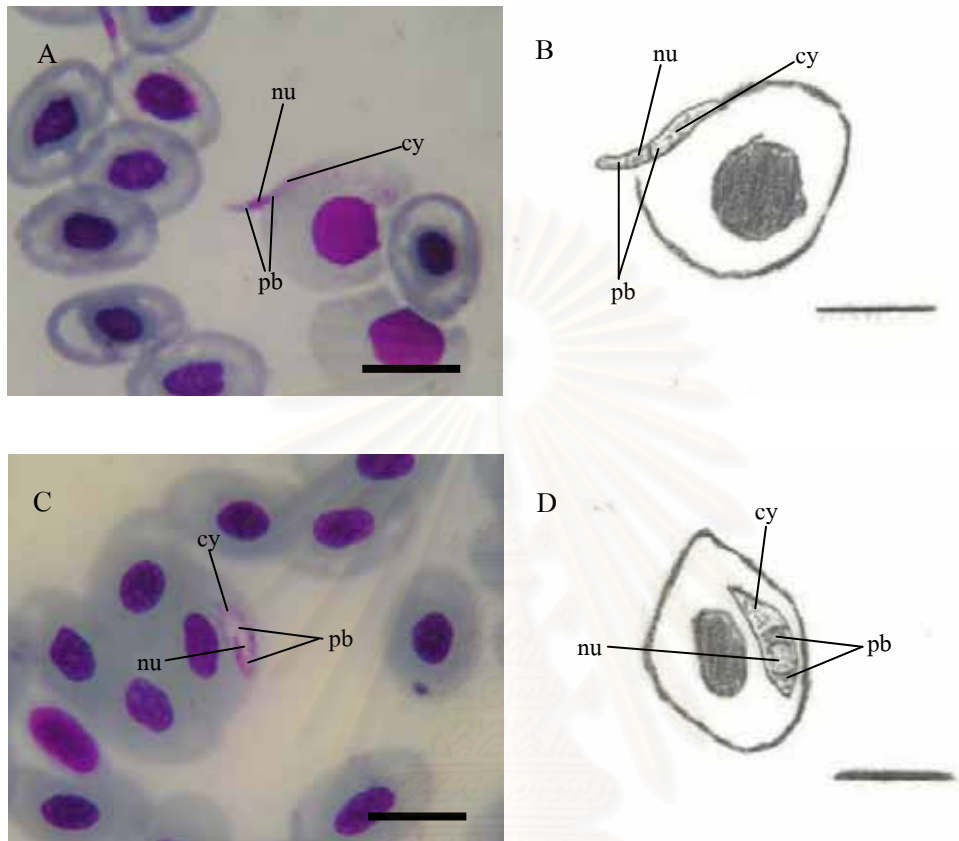
nu = นิวเคลียส ; cy = ไซโตพลาซึม

Lankesterella minima

ตำแหน่งที่พบปรสิต	เลือด ตับและม้าม
ระยะของปรสิต	สปอโรซอยต์
จำนวนกบที่ติดปรสิต	23 ตัวจากกบนา 140 ตัว (ร้อยละของอุบัติการณ์ = 16.43 %)

ลักษณะรูปร่าง

เซลล์มีรูปร่างเรียวยาว หัวและท้ายแหลม มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $13.07 \pm 1.80 \times 1.75 \pm 0.40$ ไมโครเมตร ($n = 25$) นิวเคลียสรูปร่างรีล้อมติดสีม่วงมีความยาวและความกว้างเฉลี่ย $3.13 \pm 0.73 \times 1.75 \pm 0.40$ ไมโครเมตรอยู่ประมาณหนึ่งในสามของความยาวเซลล์ ที่หัวและท้ายของนิวเคลียสถูกประกบด้วยออร์แกเนลล์ (organelle) ล้อมติดสีจางเรียกว่า พารานิวเคลียร์บอดี (paranuclear body) สามารถพบสปอโรซอยต์ได้ทั้งที่อยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง (intraerythrocytic sporozoite) และเป็นอิสระในกระแสเลือด (free sporozoite) (ภาพ 4-7 A, B, C และ D)



ภาพที่ 4-7 ลักษณะของโปรโตซัว *Lankesterella minima*

A. แสดงลักษณะของสปอโรซอยต์ที่เป็นอิสระย้อมด้วยสี Giemsa (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

B. แสดงภาพวาดของ *Lankesterella minima* (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

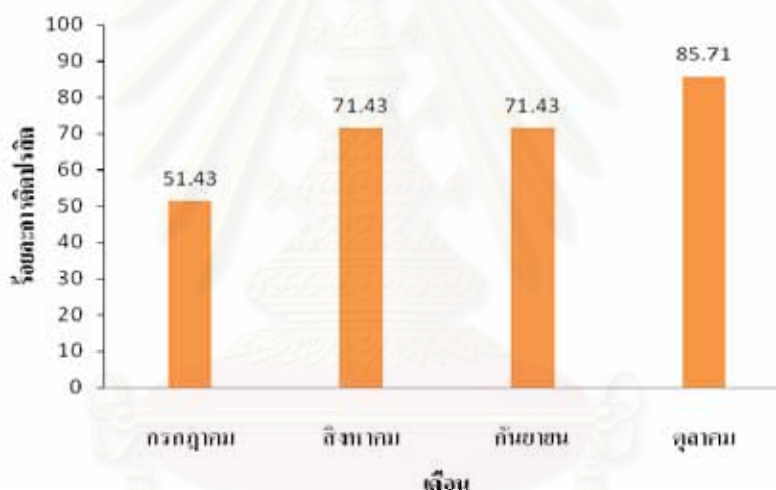
C. แสดงลักษณะของสปอโรซอยต์ที่อยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงย้อมด้วยสี Giemsa (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

D. แสดงภาพวาดของ *Lankesterella minima* (บาร์ = 10 ไมโครเมตร)

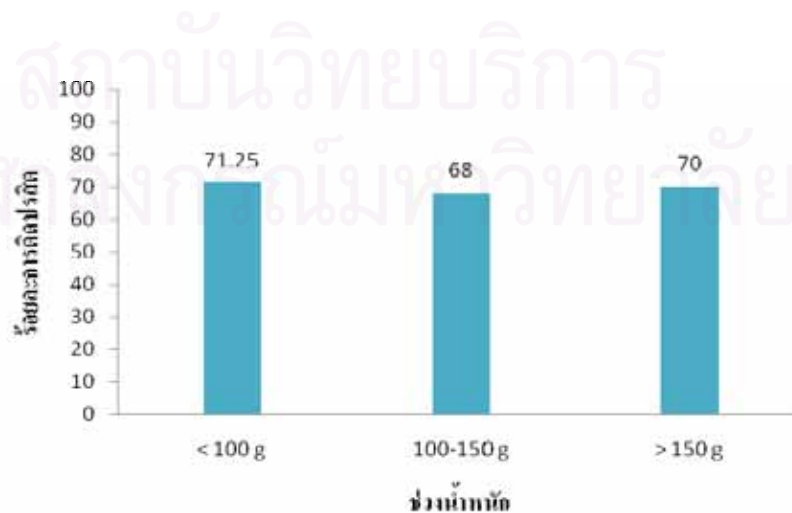
nu = นิวเคลียส ; cy = ไซโตพลาซึม ; pb = พารานิวเคลียร์บอดี

3. การติดปรสิตของกบนา

จากการตรวจปรสิตในเลือดของกบนาตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550 เดือนละ 35 ตัวคณะแพศรวมกบนาที่ศึกษาทั้งหมดจำนวน 140 ตัว พบปรสิตในเลือดรวมห้าชนิด ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4-8 โดยค่าร้อยละอุบัติการณ์ของกบนาที่ติดปรสิตในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม กันยายนและตุลาคมเท่ากับ 51.43, 71.43, 71.43 และ 85.71 ตามลำดับ นำผลข้างต้นมาทดสอบทางสถิติพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะระหว่างเดือนกรกฎาคมและตุลาคม ตารางผลทดสอบทางสถิติแสดงในภาคผนวก ข ตารางที่ 3 สำหรับภาพที่ 4-9 แสดงค่าร้อยละอุบัติการณ์ของกบนาที่ติดปรสิตโดยพิจารณาจากกลุ่มของน้ำหนักกบนาคณะแพศ ซึ่งแบ่งได้สามกลุ่มดังนี้ น้อยกว่า 100 กรัม ระหว่าง 100-150 กรัมและมากกว่า 150 กรัม โดยทั้งสามกลุ่มมีค่าร้อยละการติดปรสิตเท่ากับ 71.25, 68.00 และ 70.00 ตามลำดับ นำผลข้างต้นมาทดสอบทางสถิติไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มน้ำหนักทั้งสามกลุ่ม ตารางผลทดสอบทางสถิติแสดงในภาคผนวก ข ตารางที่ 4



ภาพที่ 4-8 แสดงค่าร้อยละอุบัติการณ์ของกบนาที่ติดปรสิตในเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550



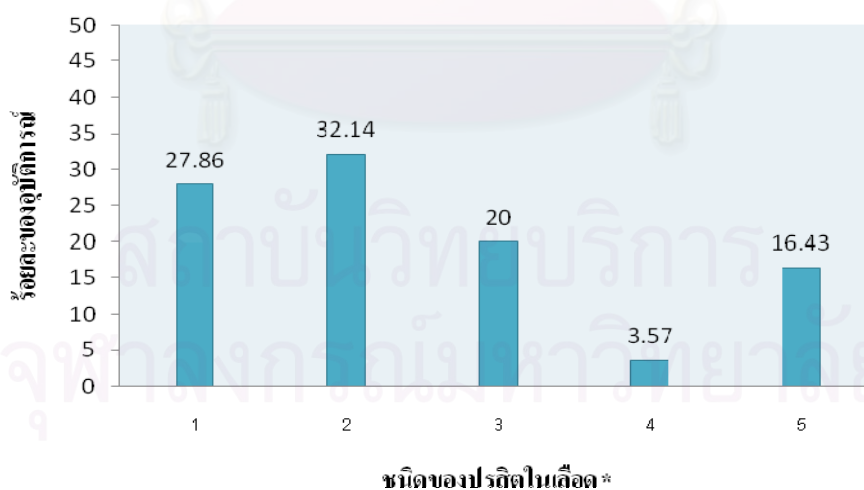
ภาพที่ 4-9 แสดงค่าร้อยละอุบัติการณ์ของกบนาที่ติดปรสิตเมื่อพิจารณาจากน้ำหนักของกบนาคณะแพศ

สำหรับการติดปรสิตแต่ละชนิดของกบนา ดังแสดงในตารางที่ 4-3 และค่าร้อยละอุบัติการณ์ของปรสิตแต่ละชนิด ได้แก่ *Trypanosoma rotatorium-like*, *Trypanosoma chattoni*, *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b และ *Lankesterella minima* แสดงในภาพที่ 4-10 พบว่ามีปรสิตในเลือดที่กบนามีอัตราการติดปรสิตสูงสุดที่ชนิดได้แก่ *Trypanosoma chattoni*, *Trypanosoma rotatorium-like*, *Hepatozoon* sp. และ *Lankesterella minima* โดยมีค่าร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิตคือ 32.14, 27.86, 20.00 และ 16.43 ตามลำดับ สำหรับปรสิต *Hepatozoon* sp. b มีค่าร้อยละของอุบัติการณ์ของการติดปรสิตที่ต่ำคือต่ำกว่า 5%

ตารางที่ 4-3 แสดงจำนวนกบนาที่พบปรสิตในเลือดทั้งห้าชนิดตั้งแต่เดือนกรกฎาคม -ตุลาคม 2550

เดือน	ชนิดปรสิต	จำนวนกบ ที่นำมา ศึกษา (ตัว)	จำนวนกบที่พบปรสิตในเลือด (ตัว)				
			1	2	3	4	5
ก.ค.-50		35	8	6	2	0	3
ส.ค.-50		35	9	16	5	2	2
ก.ย.-50		35	9	14	10	2	4
ต.ค.-50		35	13	9	11	1	14
รวม		140	39	45	28	5	23

* 1 = *Trypanosoma rotatorium-like* 2 = *Trypanosoma chattoni* 3 = *Hepatozoon* sp. a
4 = *Hepatozoon* sp. b 5 = *Lankesterella minima*



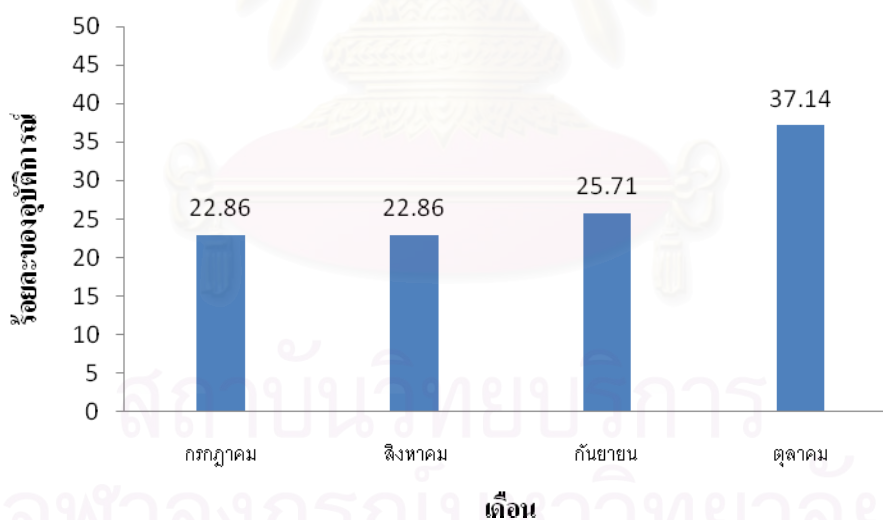
ภาพที่ 4-10 แสดงค่าร้อยละอุบัติการณ์ของปรสิตในเลือดแต่ละชนิดรวมห้าชนิดในเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550

* 1 = *Trypanosoma rotatorium-like* 2 = *Trypanosoma chattoni* 3 = *Hepatozoon* sp. a
4 = *Hepatozoon* sp. b 5 = *Lankesterella minima*

ตารางที่ 4-4 แสดงจำนวนกบนาที่มีการติดปรสิตร่วมกัน (mix infection) ในกรณีต่างๆ โดยมีค่าร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like กับ *Hepatozoon* sp. a มากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 7.14 รองลงมาคือมีการติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like กับ *Trypanosoma chattoni*, *Trypanosoma rotatorium*-like กับ *Lankesterella minima* และ *Trypanosoma chattoni* กับ *Hepatozoon* sp. a คิดเป็นร้อยละ 3.57 เท่ากัน สำหรับการติดปรสิตร่วมกันในกรณีอื่น ๆ นั้นมีค่าร้อยละอุบัติการณ์ต่ำกว่า 3 ดังแสดงในภาพที่ 4-12

สำหรับค่าร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิตแต่ละชนิดในแต่ละเดือนรวมห้าชนิดมีข้อมูลดังนี้
Trypanosoma rotatorium-like

ค่าร้อยละอุบัติการณ์ในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม กันยายน และตุลาคม 2550 แสดงในภาพที่ 4-11 พบว่าค่าร้อยละอุบัติการณ์ของทั้งสี่เดือนมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น โดยในเดือนตุลาคมมีค่าร้อยละอุบัติการณ์สูงที่สุดเท่ากับ 37.14 ส่วนเดือนกรกฎาคมและสิงหาคมมีค่าร้อยละอุบัติการณ์ต่ำที่สุดเท่ากับ 22.86



ภาพที่ 4-11 แสดงค่าร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550

ตารางที่ 4-4 แสดงจำนวนกบนาที่มีการติดปรสิตร่วมกัน

ชนิดปรสิต เดือน	จำนวนกบ ที่นำมา ศึกษา (ตัว)	จำนวนกบที่พบปรสิตในเลือด (ตัว)															
		Tr	Tc	H.a	H.b	L	Tr+Tc	Tr+H.a	Tr+L	Tc+H.a	Tc+L	H.a+H.b	H.a+L	Tr+Tc+L	Tr+H.a+H.b	Tc+H.a+H.b	Tr+H.a+L
ก.ค.-50	35	8	6	2		2			1								
ส.ค.-50	35	3	11	3	2	1	2	1		1				1			
ก.ย.-50	35	2	9			1	1	4	1	3	1	1	1		1		
ต.ค.-50	35	3	5	1		6	1	5	3	1	2		1			1	2
รวม	140	16	31	6	2	10	4	10	5	5	3	1	2	1	1	1	2

Tr = *Trypanosoma rotatorium*-like Tc = *Trypanosoma chattoni*

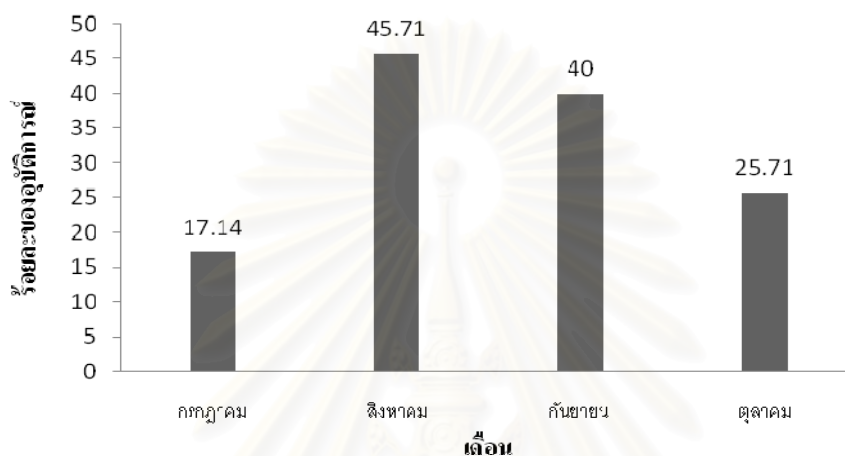
H.a = *Hepatozoon* sp. a H.b = *Hepatozoon* sp. b L = *Lankesterella minima*



ภาพที่ 4-12 แสดงค่าร้อยละของอุบัติการณ์ของการติดปรสิตร่วมกันในเลือดในเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550

Trypanosoma chattoni

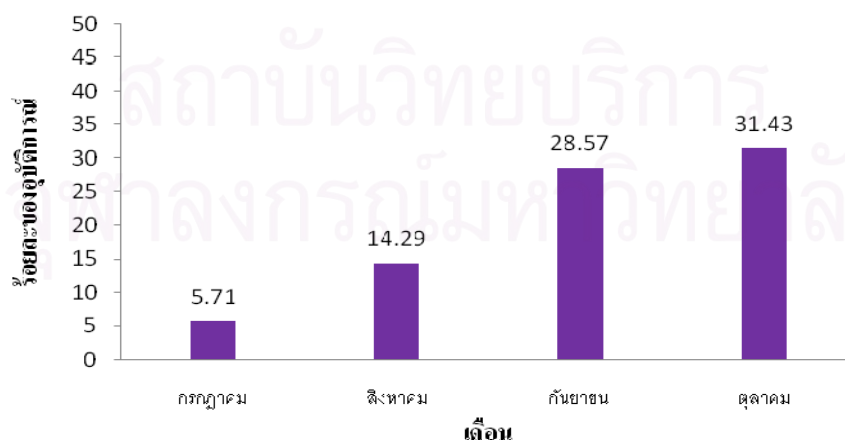
ค่าร้อยละอุบัติการณ์ในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม กันยายนและตุลาคม 2550 แสดงในภาพที่ 4-13 พบว่าค่าร้อยละอุบัติการณ์ของทั้งสี่เดือนมีค่าสูงกว่า 15 โดยมีค่าสูงสุดในเดือนสิงหาคมเท่ากับ 45.71 และมีค่าต่ำสุดในเดือนกรกฎาคมเท่ากับ 17.14



ภาพที่ 4-13 แสดงค่าร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิต *Trypanosoma chattoni* ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550

Hepatozoon sp. a

ค่าร้อยละอุบัติการณ์ในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม กันยายนและตุลาคม 2550 แสดงในภาพที่ 4-14 พบว่าค่าร้อยละอุบัติการณ์ของทั้งสี่เดือนมีแนวโน้มที่สูงขึ้น โดยมีค่าสูงสุดในเดือนตุลาคมเท่ากับ 31.43



ภาพที่ 4-14 แสดงค่าร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิต *Hepatozoon sp. a* ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550

Hepatozoon sp. b

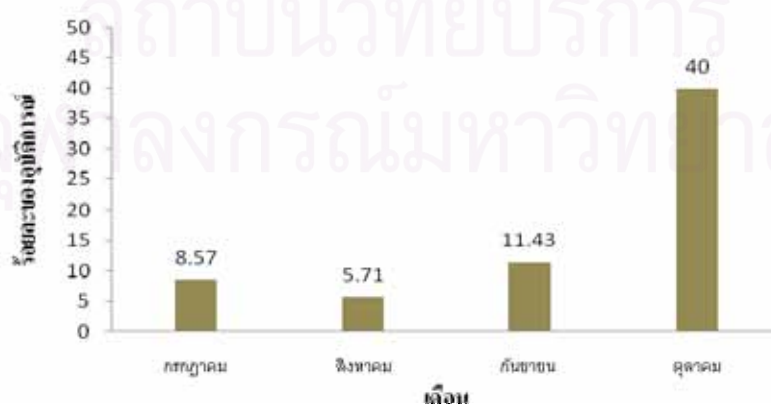
ค่าร้อยละอุบัติการณ์ในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม กันยายนและตุลาคม 2550 แสดงในภาพที่ 4-15 พบว่าค่าร้อยละอุบัติการณ์ของทั้งสี่เดือนมีค่าต่ำกว่า 10 โดยในเดือนสิงหาคมและกันยายนมีค่าร้อยละของอุบัติการณ์สูงสุดเท่ากันคือ 5.71 ในขณะที่เดือนตุลาคมมีค่าร้อยละอุบัติการณ์ลดลงเหลือ 2.86 ส่วนเดือนกรกฎาคมเป็นเพียงเดือนเดียวที่ไม่พบการติดปรสิต



ภาพที่ 4-15 แสดงค่าร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิต *Hepatozoon* sp. b ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550

Lankesterella minima

ค่าร้อยละอุบัติการณ์ในเดือนกรกฎาคม สิงหาคม กันยายนและตุลาคม 2550 แสดงในภาพที่ 4-16 พบว่าค่าร้อยละอุบัติการณ์มีค่าลดลงในเดือนสิงหาคมและเป็นค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 5.71 จากนั้นในเดือนกันยายนค่าร้อยละอุบัติการณ์มีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 11.43 และค่าร้อยละอุบัติการณ์เพิ่มสูงที่สุดในเดือนตุลาคมมีค่าเท่ากับ 40



ภาพที่ 4-16 แสดงค่าร้อยละอุบัติการณ์ของการติดปรสิต *Lankesterella minima* ในแต่ละเดือนจากกรกฎาคม-ตุลาคม 2550

4. ผลการศึกษาทางพยาธิสภาพของปรีติต่อเนื้อเยื่อของกบนา

การศึกษาพยาธิสภาพของปรีติต่อเนื้อเยื่อของกบนา ทำการศึกษาเป็นสองส่วนคือ

1. ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของกบนา (haematocrit)
2. การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของอวัยวะภายในที่สำคัญโดยเลือกอวัยวะที่มีเลือดผ่านเข้าไปเป็นจำนวนมากเช่น ตับ ปอด ม้ามและไต

4.1 ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

เปรียบเทียบค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของกบนาแต่ละเพศกลุ่มที่ติดปรีติจำนวน 96 ตัวและกลุ่มที่ไม่ติดปรีติจำนวน 42 ตัวดังแสดงในตาราง 4-5 ผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี t-test แสดงในภาคผนวก ข ตารางที่ 6 ผลการศึกษาพบว่าค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของกบนาทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($t = 0.167$)

ตารางที่ 4-5 แสดงค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของกบนาที่ทำการศึกษาในเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550

เดือน	ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น*	
	ติดปรีติ (n = 98)	ไม่ติดปรีติ (n = 42)
กรกฎาคม	25.67 ± 4.35	23.53 ± 4.58
สิงหาคม	22.08 ± 3.19	22.90 ± 3.38
กันยายน	23.63 ± 7.31	22.90 ± 7.87
ตุลาคม	20.43 ± 4.41	20.00 ± 9.25
รวม	22.64 ± 5.31	22.81 ± 5.82

*มีหน่วยเป็นเปอร์เซนต์แสดงค่าในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

หมายเหตุ ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของกบนาแต่ละตัวแสดงในภาคผนวก ข ตารางที่ 5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

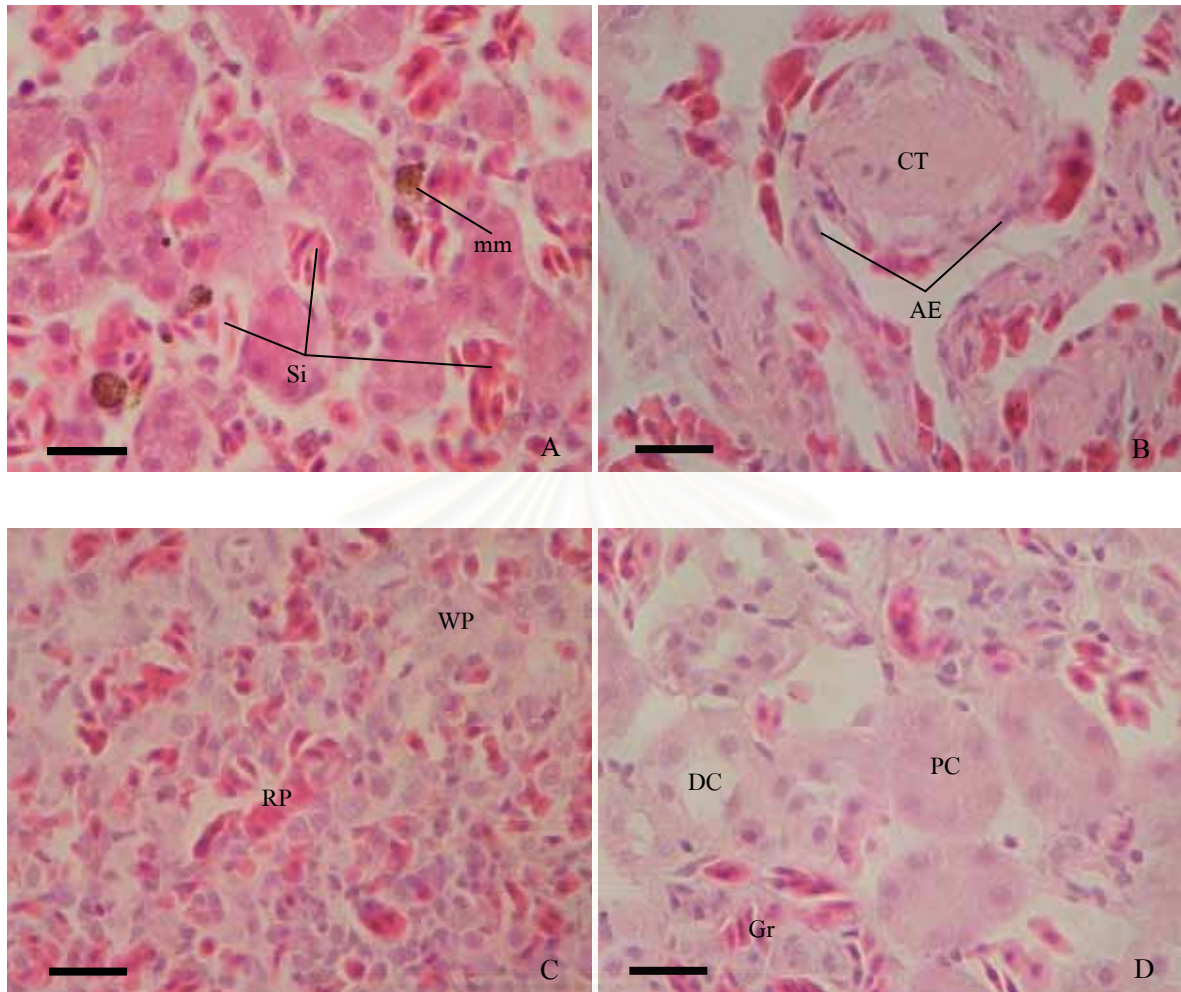
4.2 ผลทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของกบนาที่ไม่ติดปรสิต (กลุ่มควบคุม)

ตับ เซลล์ตับรูปร่างกลมเรียงตัวเป็นกลุ่มแต่ละกลุ่มถูกแทรกด้วยไซนุซซอยด์ เซลล์ตับมีนิวเคลียสรูปร่างกลม นิวคลีโอลัสรวมตัวกันตรงกลาง ไซโตพลาซึมติดสีเรียบและมีเมลานิน-แมคโครเฟจ (melanomacrophage) แทรกกระจายอยู่ระหว่างเซลล์ตับและไซนุซซอยด์ (ภาพที่ 4-17 A)

ปอด ถุงลมปอด (alveoli) มีลักษณะเป็นถุงกลมเล็กประกอบมาจากเยื่อบุผิวชนิด simple squamous epithelium เพียงชั้นเดียว ซึ่งเนื้อเยื่อชั้นดังกล่าวมีเลือดมาเลี้ยงเป็นจำนวนมากและมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันแทรกตัวอยู่เพื่อช่วยให้ถุงลมปอดเกาะกลุ่มกันได้ (ภาพที่ 4-17 B)

ม้าม เซลล์ม้ามประกอบด้วย ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเรียงตัวกันอย่างหนาแน่นเรียกว่า white pulp สำหรับเส้นเลือดมีลักษณะเป็นไซนุซซอยด์แทรกกระจายอยู่ทั่วไปเรียกว่า red pulp (ภาพที่ 4-17 C)

ไต เนื้อเยื่อไตประกอบด้วย โกลเมอรูลัสและท่อของหน่วยไตซึ่งแบ่งได้เป็น ท่อไตส่วนต้น (proximal convoluted tubule) และท่อไตส่วนท้าย (distal convoluted tubule) โดยท่อไตประกอบมาจากเยื่อบุผิวชนิด simple cuboidal epithelium นิวเคลียสของเซลล์เหล่านี้มีรูปร่างกลม ไซโตพลาซึมติดสีเรียบ ขอบเขตเซลล์ชัดเจน ท่อไตส่วนต้นประกอบจากเซลล์ simple large cuboidal epithelium จึงทำให้ช่องว่าง (lumen) มีขนาดเล็กมากหรือมองไม่เห็น ซึ่งต่างจากท่อไตส่วนท้ายที่ประกอบจากเซลล์ simple small cuboidal epithelium ทำให้มองเห็นช่องว่างชัดเจน (ภาพที่ 4-17 D)



ภาพที่ 4-17 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของกบนาที่ไม่ติดปริสิต (Hematoxylin & eosin stain) A: ตับ B: ปอด C: ม้าม D: ไต Si: ไชนูซอยด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; AE: alveolar epithelium; CT: เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3 ผลทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตในเลือดหนึ่งชนิด

4.3.1 *Trypanosoma rotatorium*-like

4.3.1.1 *Trypanosoma rotatorium*-like I form

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like I form ชนิดเดียวโดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 2 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Trypanosoma rotatorium*-like I form ในเลือดเท่ากับ 0.016 และ 0.014 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาของกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆจากกบนาทั้งสองตัวมีดังนี้

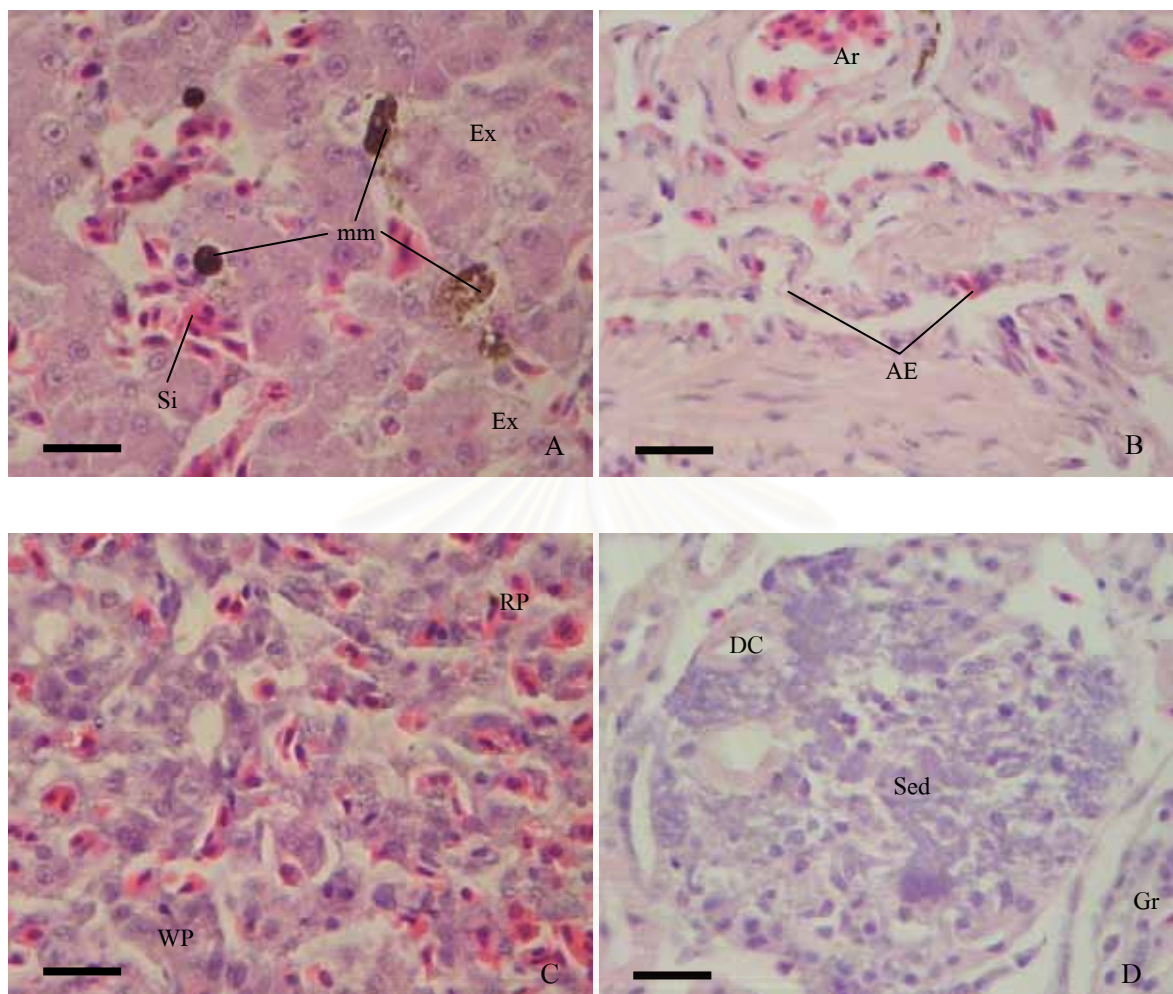
กบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like I form ตัวที่หนึ่ง
ตับ เซลล์ตับมีนิวเคลียสขนาดใหญ่ขึ้น มีการกระจายตัวของเมลานินเมโครเฟจเพิ่มมากขึ้น และยังพบว่าการสะสมของสารเป็นหย่อมภายนอกเซลล์ตับ โดยกลุ่มสารดังกล่าวนี้มีผลเกิดการเบียดและกดทับต่อเซลล์ตับทำให้เซลล์ตับบริเวณใกล้เคียงลีบเล็กลง (atrophy) (ภาพที่ 4-18 A)

ปอด มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-18 B)

ม้าม มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-18 C)

ไต พบตะกอนแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อท่อไตที่ตาย (necrosis) และมีการเพิ่มจำนวนของ endothelial cell เป็นจำนวนมากในโกลเมอรูลัส แต่ไม่พบเห็นการตอบสนองของเนื้อเยื่อไตต่อกลุ่มตะกอนดังกล่าว (ภาพที่ 4-18 D)

กบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like I form ตัวที่สองศึกษาไม่พบรอยโรคในอวัยวะทั้งสิ้น



ภาพที่ 4-18 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อบนาคที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like I form ชนิดเดี่ยวตัวที่หนึ่ง (Hematoxylin & eosin stain) **A:** ตับ แสดงสารที่สะสมเป็นหย่อมภายนอกเซลล์ตับ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ตไต แสดงการสะสมของตะกอนระหว่างท่อไตที่ตาย (necrosis) Si: ไซนุซอยด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; Ex: extracellular substance; Ar: เส้นเลือดแดง; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; DC: ท่อไตส่วนท้าย; Sed: ตะกอน (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.3.1.2 *Trypanosoma rotatorium*-like II form

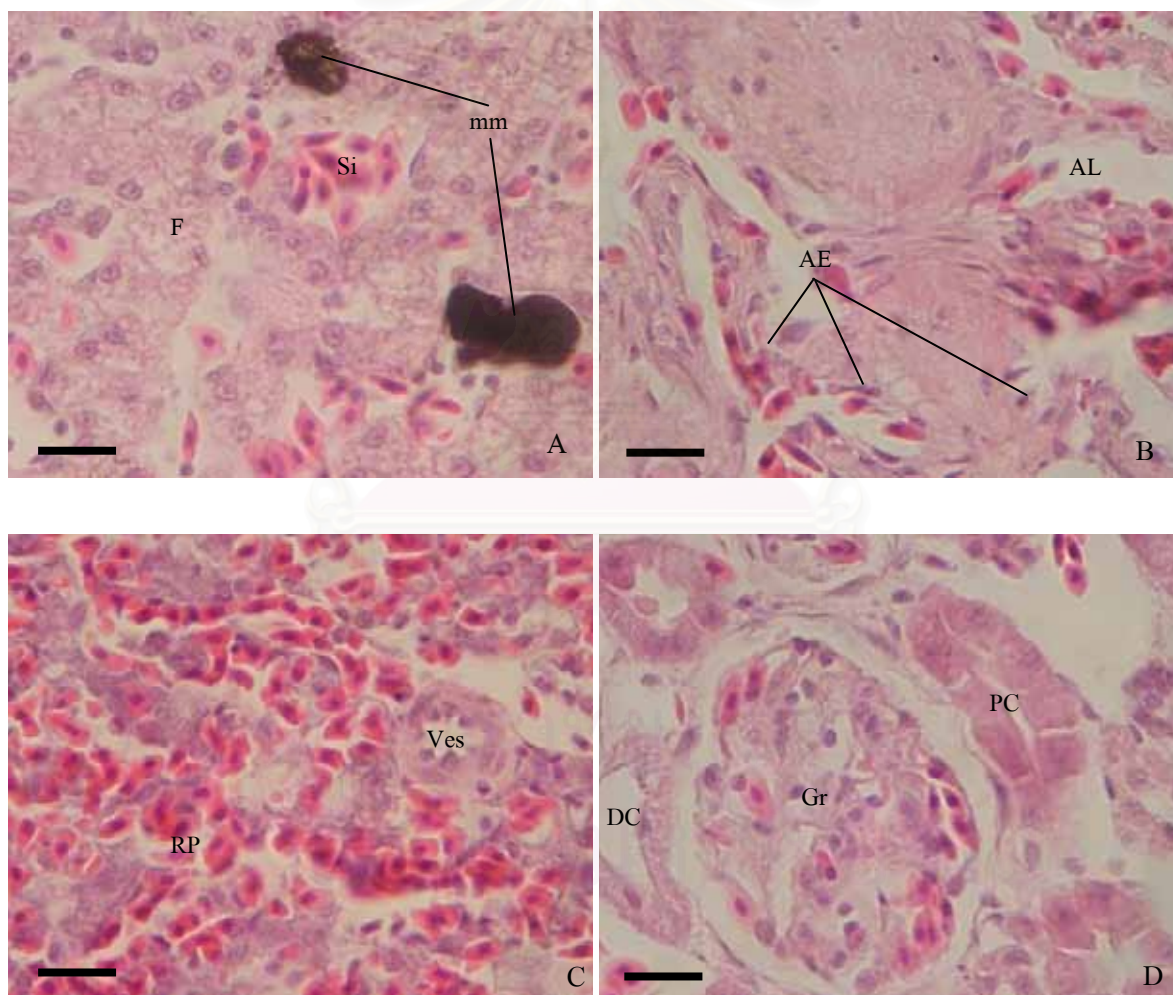
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like II form ชนิดเดียวโดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Trypanosoma rotatorium*-like II form ในเลือดเท่ากับ 0.015 โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนา กลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ เซลล์ตับบวมเนื่องจากการสะสมไขมันเป็นจำนวนมากในไซโตพลาซึม นิวเคลียสของเซลล์ถูกดันออกด้านข้าง ไซนุซอยด์มีขนาดเล็กลง (ภาพที่ 4-19 A)

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-19 B)

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-19 C)

ไต เซลล์ท่อไตมีการบวมเล็กน้อย (ภาพที่ 4-19 D)



ภาพที่ 4-19 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like II form ชนิดเดียว (Hematoxylin & eosin stain) **A:** ตับ แสดงการสะสมไขมันเป็นจำนวนมากในเซลล์ตับ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ไต แสดงเซลล์ท่อไตที่มีการบวมเล็กน้อย Si: ไซนุซอยด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; F: ไขมันที่สะสมในเซลล์; AL: อลูมิเนียมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; Ves: เส้นเลือด; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.3.1.3 *Trypanosoma rotatorium*-like III form

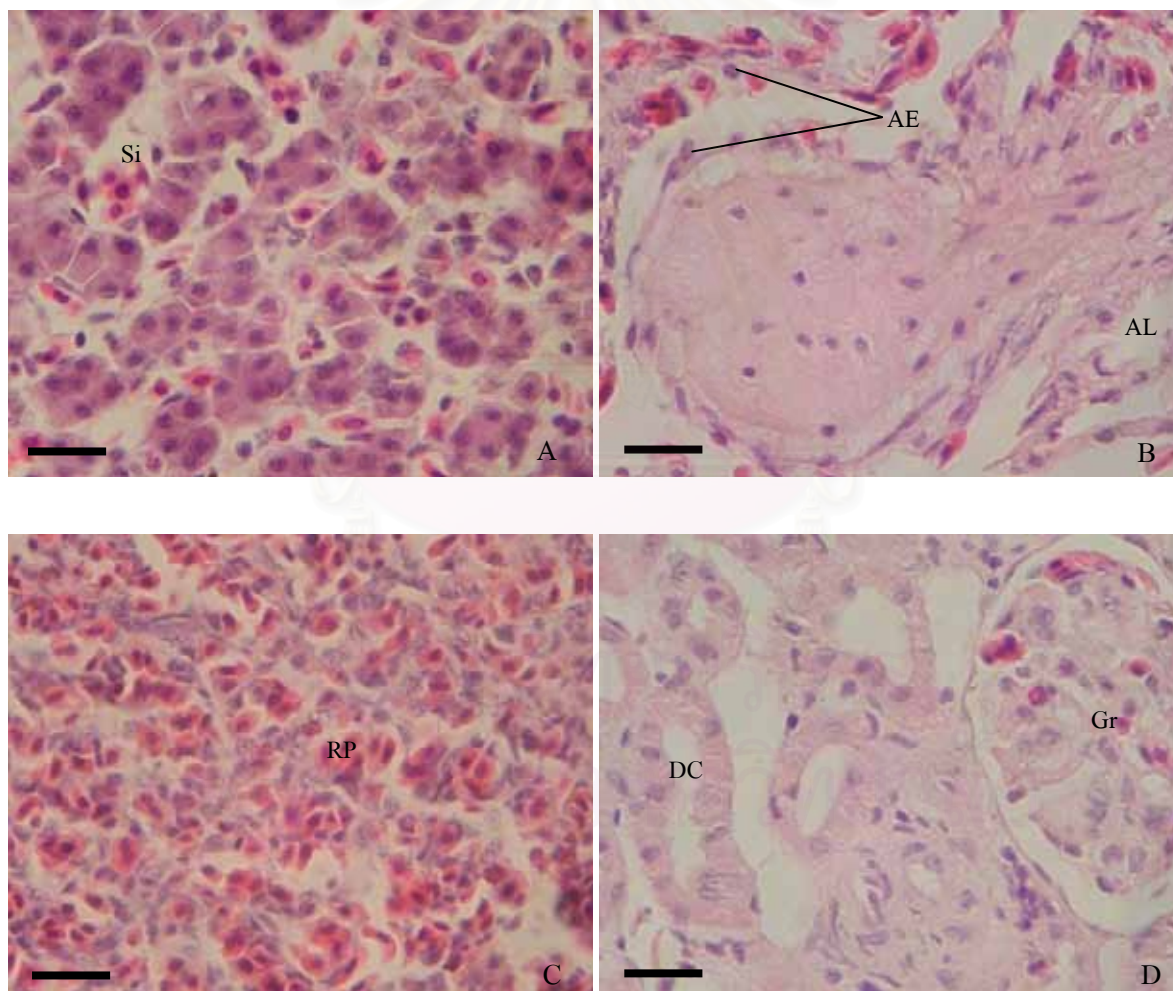
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like III form ชนิดเดี่ยวโดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 3 ตัว ซึ่งทั้งสามตัวมีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Trypanosoma rotatorium*-like III form ในเลือดเท่ากับ 0.01 โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต กบนาทั้งสามตัวมีลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อทั้งสี่วัยวะเหมือนกันดังนี้

ตับ ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-20 A)

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-20 B)

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-20 C)

ไต เซลล์ท่อไตส่วนท้ายและ โกลเมอรูลัสมีการบวมเล็กน้อย (ภาพที่ 4-20 D)



ภาพที่ 4-20 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like III form ชนิดเดี่ยว (Hematoxylin & eosin stained) **A:** ตับ มีลักษณะปกติ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ไต แสดงเซลล์ท่อไตส่วนท้ายที่มีการบวมเล็กน้อย Si: ไซนัสซอด; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.3.1.4 *Trypanosoma rotatorium*-like IV form

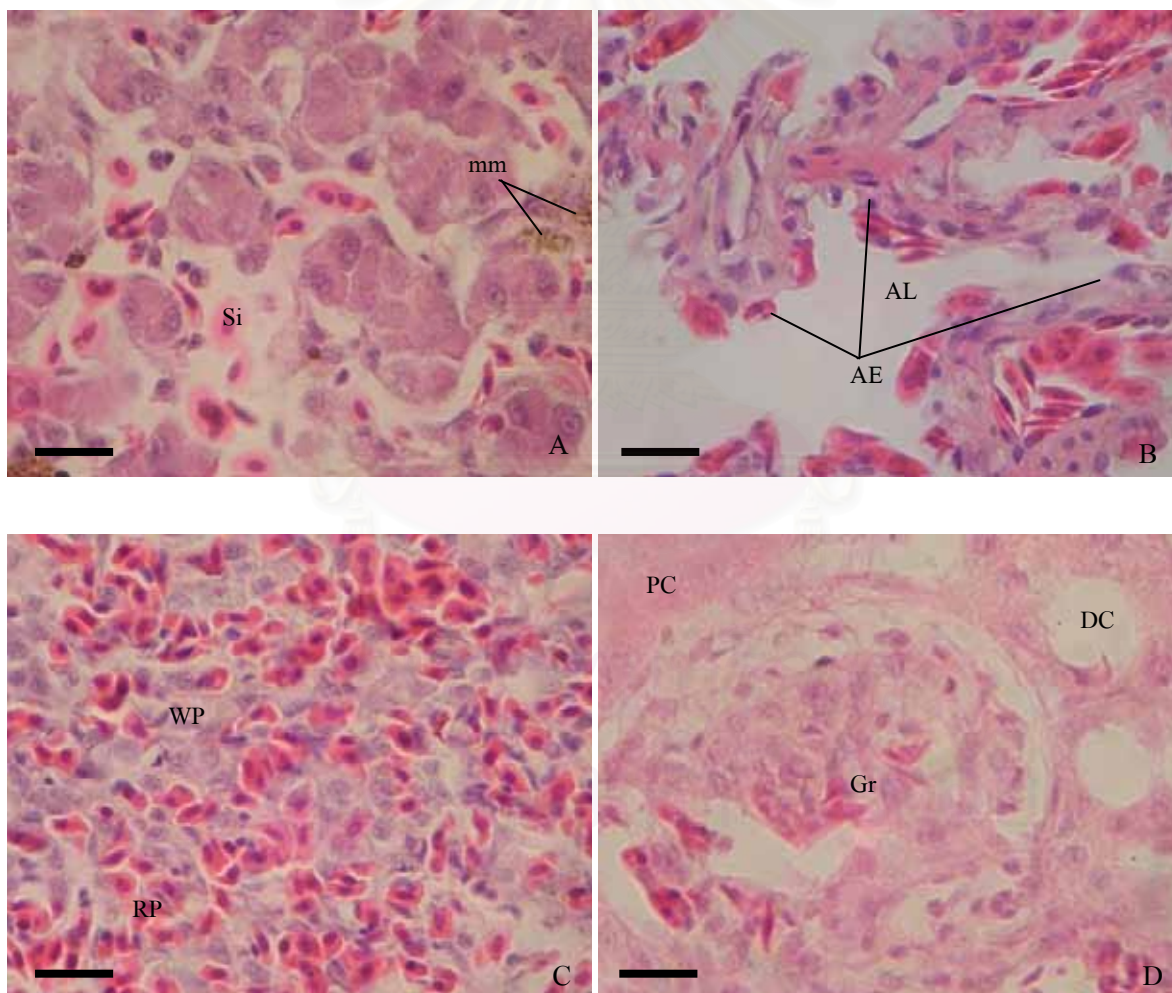
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like IV form ชนิดเดี่ยวโดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Trypanosoma rotatorium*-like IV form ในเลือดเท่ากับ 0.01 โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-21 A)

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-21 B)

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-21 C)

ไต เซลล์ของท่อไตและโกลเมอรูลัสบวม นิวเคลียสขยายใหญ่ ไชโตพลาซึมติดสีไม่เรียบ (ภาพที่ 4-21 D)



ภาพที่ 4-21 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like IV form ชนิดเดี่ยว (Hematoxylin & eosin stained) **A:** ตับ มีลักษณะปกติ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ไต แสดงการบวมของเซลล์ท่อไต Si: ไชนูซอยด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; AL: อูจลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.3.1.5 *Trypanosoma rotatorium*-like V form

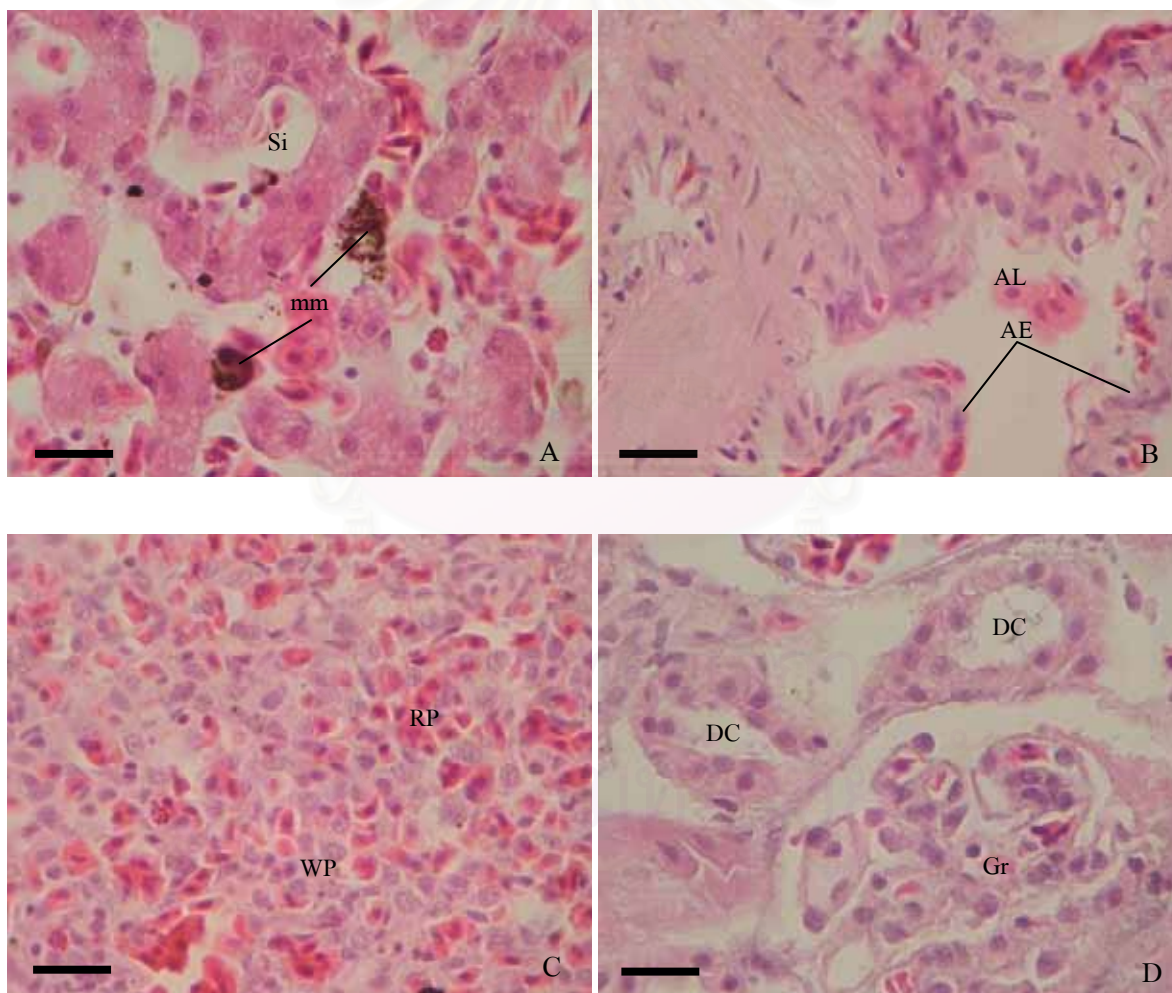
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like V form ชนิดเดี่ยวโดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Trypanosoma rotatorium*-like V form ในเลือดเท่ากับ 0.01 โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-22 A)

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-22 B)

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-22 C)

ไต เซลล์ของท่อไตและโกลเมอรูลัสบวม นิวเคลียสขยายใหญ่ ไชโตพลาซึมติดสีไม่เรียบ (ภาพที่ 4-22 D)



ภาพที่ 4-22 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like V form ชนิดเดี่ยว (Hematoxylin & eosin stain) **A:** ตับ มีลักษณะปกติ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ไต แสดงการบวมของเซลล์หน่วยไตทุกส่วน Si: ไซนัสซอยด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; AL: อูจลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.3.2 *Trypanosoma chattoni*

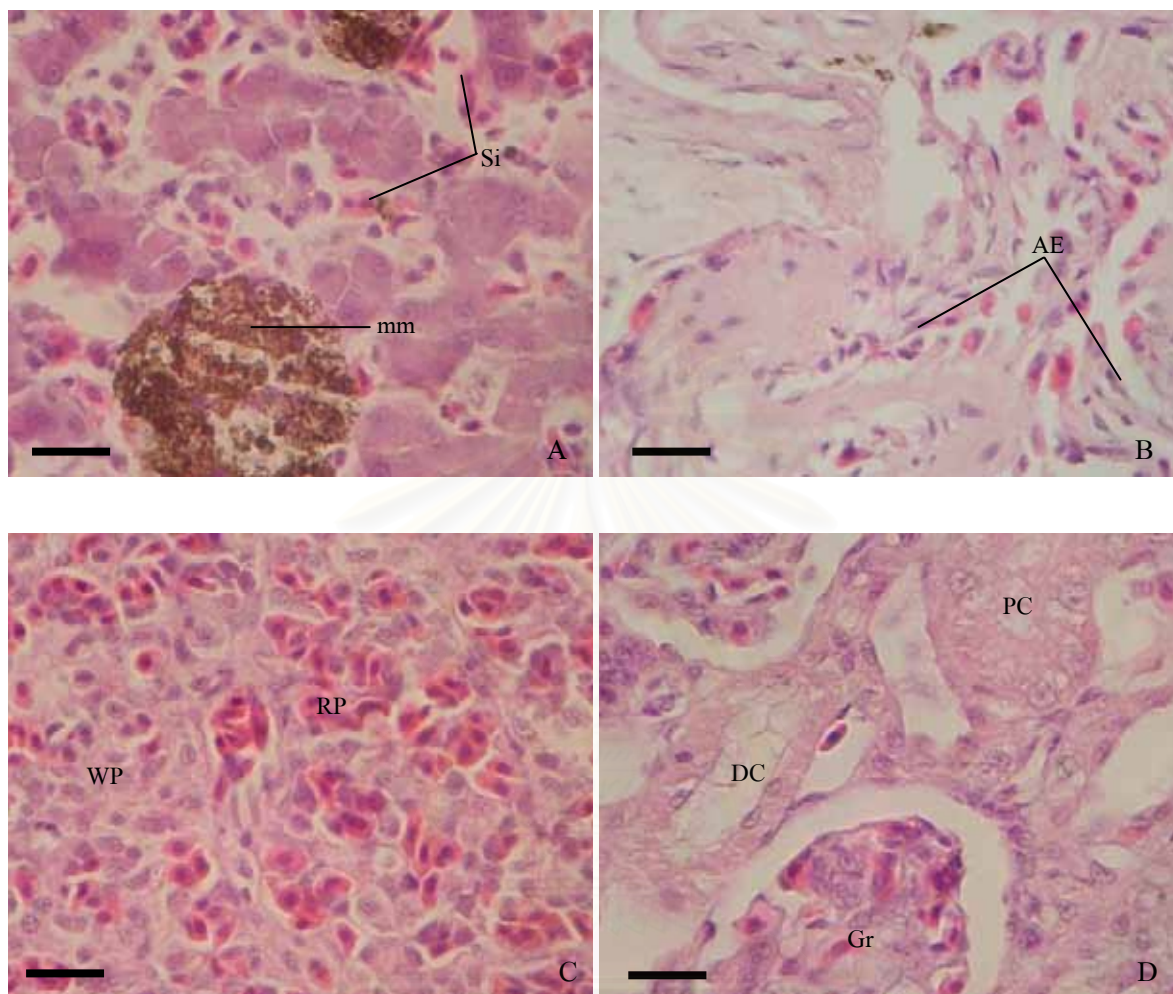
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma chattoni* ชนิดเดียวโดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 2 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Trypanosoma chattoni* ในเลือดเท่ากับ 0.03 และ 0.025 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆจากกบนาทั้งสองตัวให้ผลเหมือนกันดังนี้

ตับ เซลล์ตับและไซนุซรอยด์มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต แต่พบกลุ่มของเมลาโนแมคโครเฟจมีขนาดใหญ่ และกระจายตัวเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 4-23 A)

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-23 B)

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-23 C)

ไต เซลล์ของท่อไตส่วนต้นบวมมาก นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ ไซโตพลาซึมติดสีไม่เรียบ ช่องว่างในท่อไตส่วนนี้หายไป ในขณะที่เซลล์ของท่อไตส่วนท้ายมีการบวมเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 4-23 D)



ภาพที่ 4-23 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อบนาคที่ติดปรสิต *Trypanosoma chattoni* ชนิดเดี่ยว (Hematoxylin & eosin stain) **A:** ตับ แสดงการรวมกลุ่มของเมลานोแมคโครเฟจ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ตับ แสดงลักษณะเซลล์ของท่อไตส่วนต้นที่มีการบวมอย่างผิดปกติ Si: ไชนูซอยด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3.3 *Hepatozoon* sp. a

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a ชนิดเดียวโดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 3 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Hepatozoon* sp. a ในเลือดเท่ากับ 0.89 0.28 และ 0.17 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆจากกบนาทั้งสามตัวให้ผลดังนี้

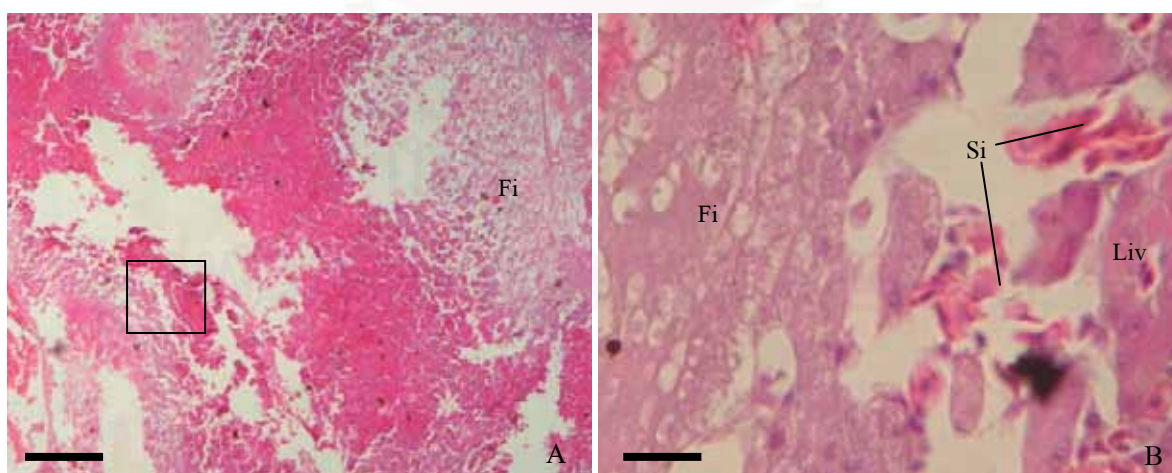
ตับ กบนาตัวที่ 1 พบเนื้อเยื่อตาย (necrosis) เป็นบริเวณกว้างมีลักษณะเป็นที่ว่างของเนื้อเยื่อ ตับที่หายไปหรือแผลเป็นที่ถูกแทนที่ด้วยเส้นใยไฟบริน (fibrin) (ภาพที่ 4-24 A,B) แต่ไม่พบตัว *Hepatozoon* sp. a ในเนื้อเยื่อ

กบนาตัวที่ 2 และ 3 ให้ผลเหมือนกันดังนี้ พบเมอรอนท์ของ *Hepatozoon* sp. a แพร่กระจายในเนื้อเยื่อตับ เมอรอนท์มีลักษณะเป็นเซลล์เรียวยาวอยู่รวมเป็นกลุ่มทรงกลมหรือรีมีการเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบ กลุ่มเซลล์นี้มีขนาด $35.69 \pm 3.21 \times 31.04 \pm 2.50$ ไมโครเมตร ($n = 17$) ซึ่งทั้งหมดอยู่ภายในเปลือกหุ้มที่เรียกว่า พาราซิโตฟอร์ซิสซิสต์ (parasitophorus cyst) (ภาพที่ 4-24 D) พบกระจายทั่วทั้งตับและพบการอักเสบในเนื้อเยื่อตับบริเวณที่พบเมอรอนท์โดยเป็นผลมาจากการรวมตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวกลุ่มลิมโฟไซต์และอีโอซิโนฟิลจำนวนมากที่เข้ามาเพื่อทำลายปรสิต (ภาพที่ 4-24 C)

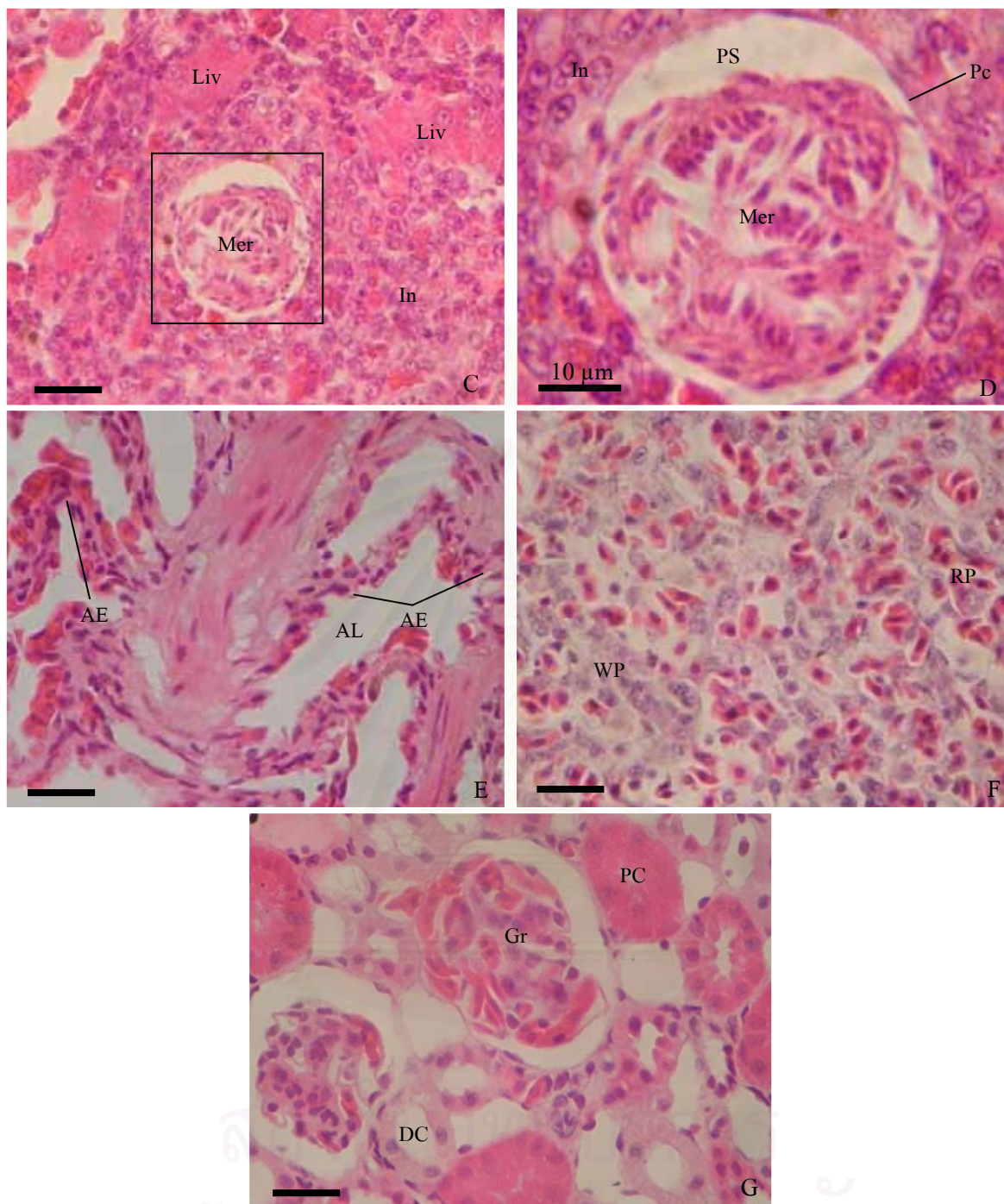
ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-24 E)

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-24 F)

ไต ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-24 G)



ภาพที่ 4-24 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a ชนิดเดียว (Hematoxylin & eosin stain) **A:** แสดงเนื้อเยื่อตับที่มีการตายเป็นบริเวณกว้างและถูกแทนที่ด้วยเส้นใยไฟบริน (ติดสีแดง-ชมพู) (บาร์ = 80 ไมโครเมตร) **B:** แสดงภาพขยายในกรอบสี่เหลี่ยมบริเวณเส้นใยไฟบรินของภาพ A (บาร์ = 20 ไมโครเมตร) Liv: เนื้อเยื่อตับ; Fi: เส้นใยไฟบริน; Si: ไซนูซอยด์



ภาพที่ 4-24 (ต่อ) ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a ชนิดเดี่ยว (Hematoxylin & eosin stain) **C:** แสดงเมอรอนท์ของ *Hepatozoon* sp. a ที่แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับและบริเวณรอบๆมีการอักเสบของเนื้อเยื่อตับ **D:** ภาพขยายเมอรอนท์จากภาพ C แสดงกลุ่มเซลล์เมอรอนท์ที่มีลักษณะเรียวยาวเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบอยู่ภายในพาราซิโตฟอร์ตซิสต์ **E:** ปอด มีลักษณะปกติ **F:** ม้าม มีลักษณะปกติ **G:** ไต มีลักษณะปกติ Liv: เนื้อเยื่อตับ; In: กลุ่มเซลล์ที่รวมตัวกันเนื่องจากการอักเสบประกอบด้วยลิมโฟไซต์และโอซิโนฟิลจำนวนมาก; Mer: เมอรอนท์; Pc: พาราซิโตฟอร์ตซิสต์; PS: ช่องว่างในพาราซิโตฟอร์ตซิสต์; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.3.4 *Hepatozoon* sp. b

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของกบนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. b ชนิดเดียวโดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 2 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Hepatozoon* sp. b ในเลือดเท่ากับ 0.49 และ 0.06 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆจากกบนาทั้งสองตัวให้ผลดังนี้

กบนาตัวที่หนึ่ง

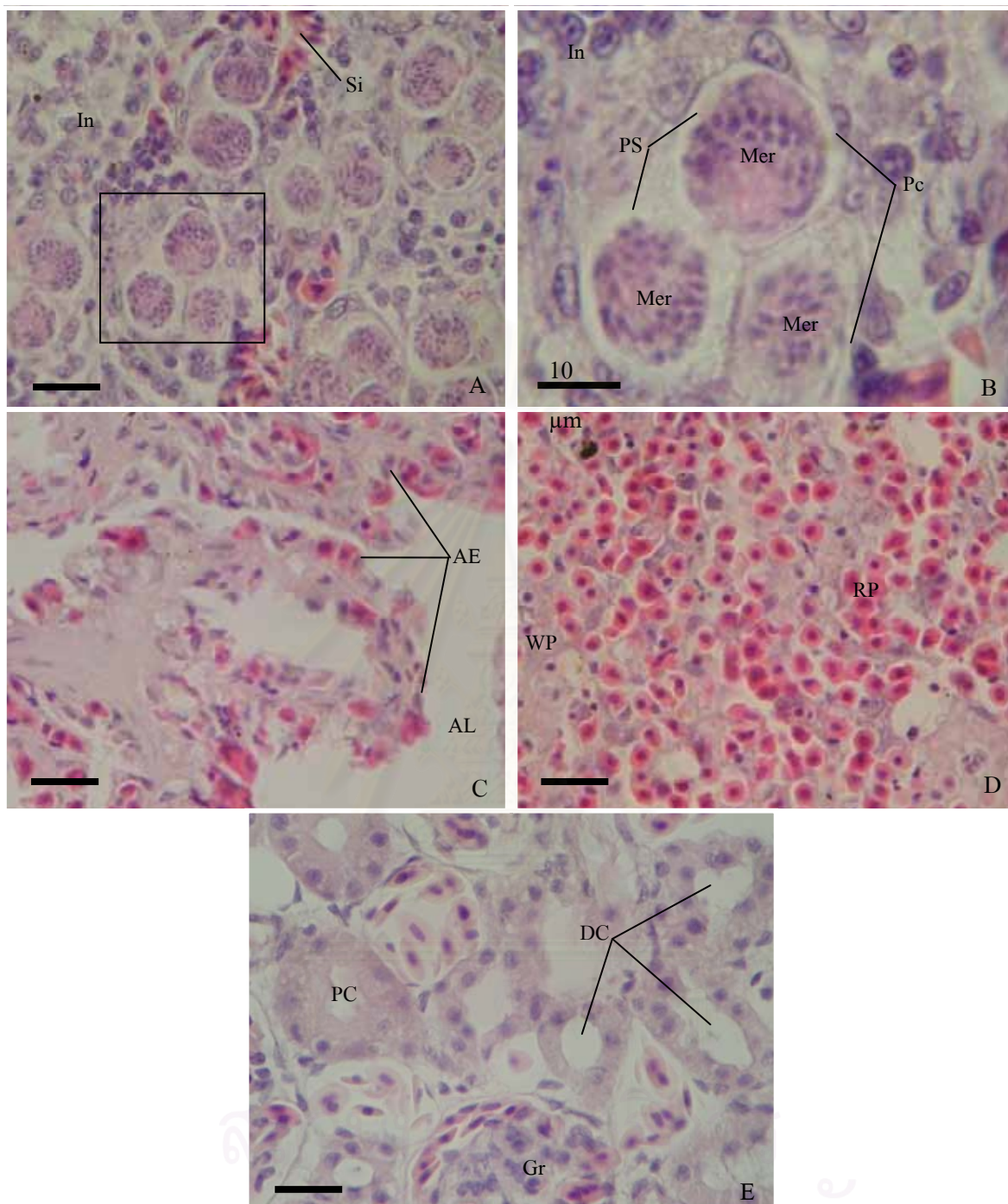
ตับ พบปรสิตในระยะเมอโรนัทของ *Hepatozoon* sp. b แทรกกระจายในเนื้อเยื่อตับ เมอโรนัทมีลักษณะเป็นเซลล์อยู่รวมเป็นกลุ่มทรงกลมมีการเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบ กลุ่มเซลล์นี้มีขนาด $18.49 \pm 1.57 \times 16.59 \pm 1.28$ ไมโครเมตร ($n = 17$) โดยทั้งหมดอยู่ในเปลือกหุ้มที่เรียกว่า พาราซิโตฟอร์ซิสต์ เช่นเดียวกับ *Hepatozoon* sp. a พบเมอโรนัทกระจุกอยู่เป็นกลุ่ม เนื้อเยื่อตับบริเวณรอบๆเมอโรนัทมีการอักเสบ เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดขาวกลุ่มลิมโฟไซต์และอีโอซิโนฟิลเข้ามารวมตัวกันเป็นจำนวนมากในขณะเดียวกันยังไม่พบเนื้อเยื่อตาย (necrosis) (ภาพที่ 4-25 A,B)

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-25 C)

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-25 D)

ไต ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-25 E)

กบนาตัวที่สอง ศึกษาไม่พบรอยโรคในอวัยวะทั้งสิ้น



ภาพที่ 4-25 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกับนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. b ชนิดเดี่ยว (Hematoxylin & eosin stain)
A: แสดงเมอรอนท์ของ *Hepatozoon* sp. b แทรกกระจุกเป็นกลุ่มในเนื้อเยื่อตับ **B:** ภาพขยายกลุ่มเมอรอนท์จากภาพ A แสดงเมอรอนท์ของ *Hepatozoon* sp. b ที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่อยู่รวมกันเป็นทรงรีและมีการเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ
C: ปอด มีลักษณะปกติ **D:** ม้าม มีลักษณะปกติ **E:** ไต มีลักษณะปกติ Si: ไซนูซอยด์; In: กลุ่มเซลล์ที่รวมตัวกันเนื่องจากการอักเสบประกอบด้วยลิมโฟไซต์และโอซิโนฟิลจำนวนมาก; Mer: เมอรอนท์; Pc: พาราซิโตฟอร์สซิสต์; PS: ช่องว่างในพาราซิโตฟอร์สซิสต์; AL: หลุมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.3.5 *Lankesterella minima*

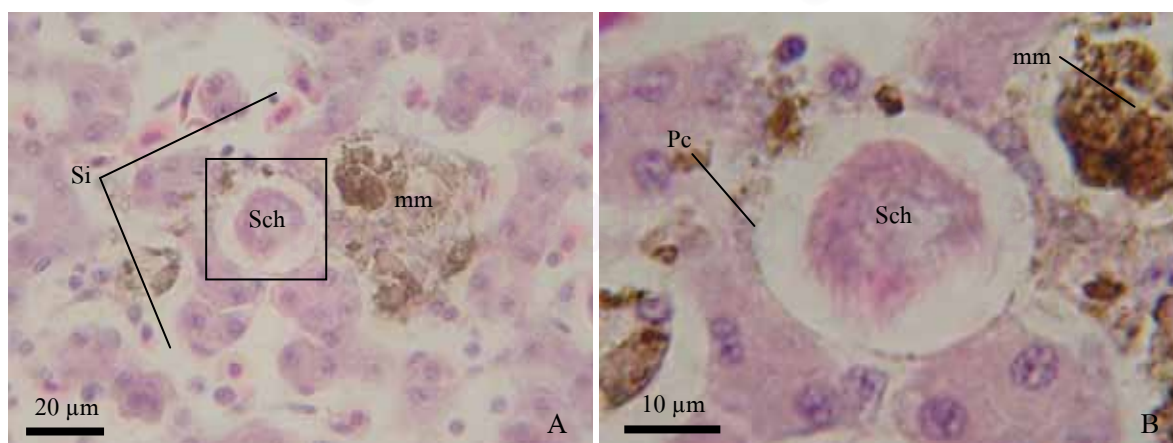
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *L. minima* ชนิดเดียวโดยทำการตรวจจาก กบนาจำนวน 2 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *L. minima* ในเลือดเท่ากับ 0.21 และ 0.1 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาจากกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของ เนื้อเยื่อต่างๆจากกบนาทั้งสองตัวให้ผลเหมือนกันดังนี้

ตับ ตรวจพบไซซอนท์ของ *L. minima* แทรกกระจายอยู่ภายในตับ (ภาพที่ 4-26 A) ไซซอนท์มี รูปร่างกลมขนาด $18.36 \pm 1.77 \times 15.85 \pm 1.71$ ไมโครเมตร ($n = 10$) ภายในเป็นที่อยู่ของกลุ่ม เมอโรซอยต์ซึ่งมีการเรียงตัวเป็นระเบียบออกไปในแนวรัศมีมองคล้ายกลีบดอกไม้ (ภาพที่ 4-26 B) นอกจากนี้ยังพบเมอโรซอยต์ของ *L. minima* ที่แตกออกมาจากไซซอนท์แทรกกระจายใน เนื้อเยื่อตับ โดยเนื้อเยื่อตับในบริเวณที่พบเมอโรซอยต์นั้นจะถูกทำลายเห็นเป็นเศษเซลล์กับ โครงสร้างเส้นใย fibrin และมีเซลล์เม็ดเลือดขาวกลุ่มเมลาโนแมคโครเฟจเข้ามารวมตัวกันเป็น จำนวนมาก (ภาพที่ 4-26 C) ส่วนบริเวณนอกขอบเขตของไซซอนท์หรือไซซอนท์ที่แตกออก เนื้อเยื่อตับยังเป็นปกติ (ภาพที่ 4-26 A,C)

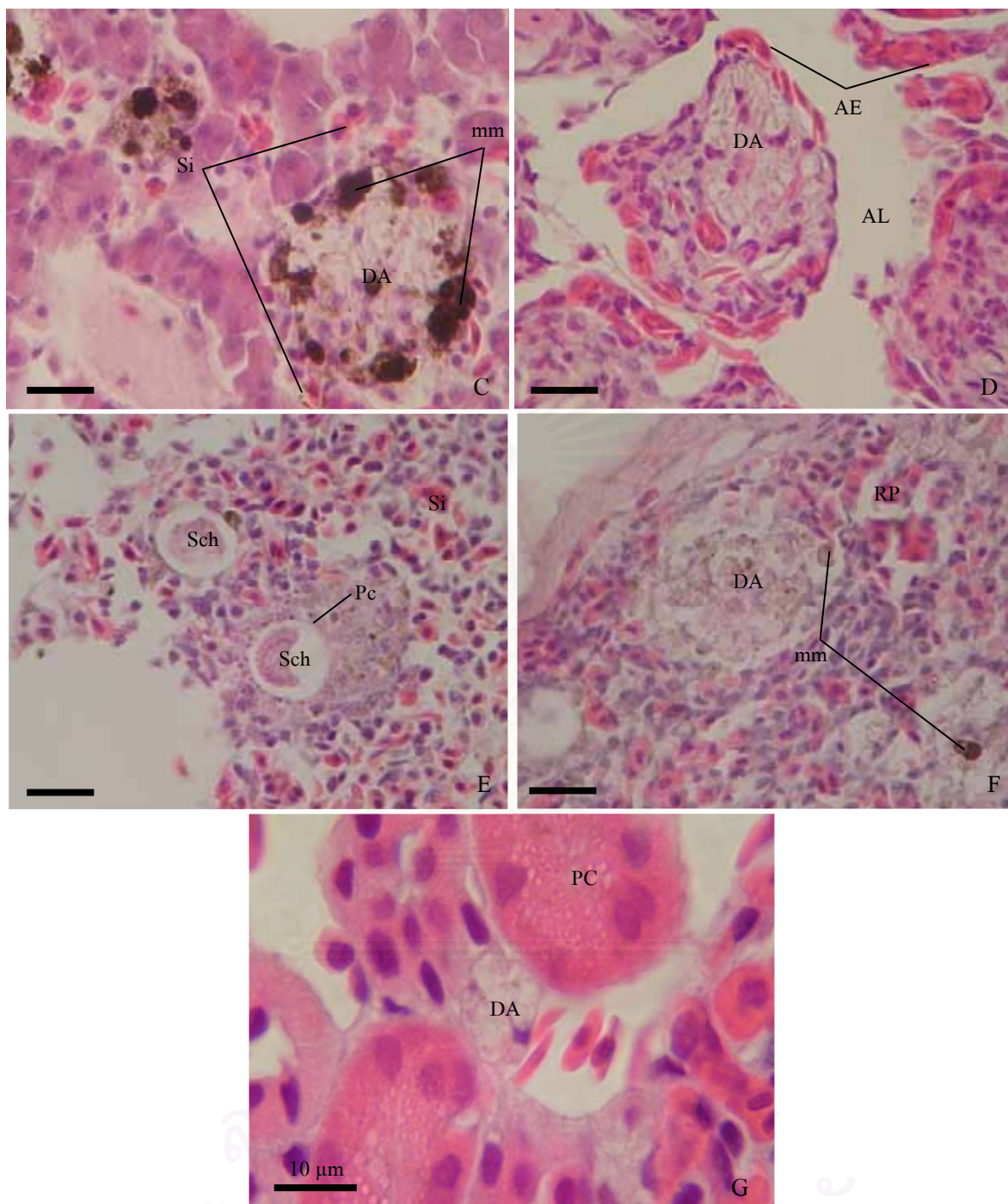
ปอด ตรวจพบมีการตายของเนื้อเยื่อปอดและพบเมอโรซอยต์ของ *L. minima* กระจายอยู่ภายใน ขอบเขตของเนื้อเยื่อปอดที่ตายซึ่งเป็นลักษณะเดียวกับที่พบในเนื้อเยื่อตับ แต่ไม่มีการเข้ามาของ เมลาโนแมคโครเฟจและพบมีเนื้อเยื่อปอดตายเป็นหย่อม (ภาพที่ 4-26 D)

ม้าม ตรวจพบไซซอนท์ของ *L. minima* แทรกกระจายในเนื้อเยื่อม้าม (ภาพที่ 4-26 E) และพบ เมอโรซอยต์ของ *L. minima* กระจายอยู่ภายในขอบเขตของเนื้อเยื่อม้ามที่ตายซึ่งเป็นลักษณะ เดียวกับที่พบในเนื้อเยื่อตับ (ภาพที่ 4-26 F)

ไต กบนาตัวที่หนึ่งตรวจพบเมอโรซอยต์ของ *L. minima* โดยพบจำนวนน้อยมากเป็นกลุ่มเล็กๆ แทรกกระหว่างท่อไต (ภาพที่ 4-26 G) สำหรับกบตัวที่สองไม่พบพยาธิสภาพใด



ภาพที่ 4-26 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิต *Lankesterella minima* ชนิดเดียว (Hematoxylin & eosin stain) **A:** แสดง ระยะเวลาไซซอนท์ของ *L. minima* ที่แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับ **B:** ภาพขยายไซซอนท์จากภาพ A แสดงการเรียงตัวของเมอโรซอยต์อย่างเป็นระเบียบใน แนวรัศมีคล้ายกลีบดอกไม้ Si: ไซนูซอยด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; Sch: ไซซอนท์; Pc: พาราซิโตพอร์ติสซิสต์



ภาพที่ 4-26 (ต่อ) ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อปอดที่ติดเชื้อ *Lankesterella minima* ชนิดเดียว (Hematoxylin & eosin stain) **C:** แสดงขอบเขตเนื้อเยื่อค้ำที่ตายไปเนื่องจากเมอโรซอइटของ *L. minima* **D:** แสดงขอบเขตเนื้อเยื่อปอดที่ตายไปเนื่องจากเมอโรซอइटของ *L. minima* **E:** แสดงไซซอนท์ของ *L. minima* ที่แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อปอด **F:** แสดงขอบเขตของเนื้อเยื่อปอดที่ตายไปเนื่องจากเมอโรซอइटของ *L. minima* **G:** แสดงกลุ่มของเมอโรซอइटที่แทรกในช่องว่างระหว่างท่อไต (interstitial space) Si: ไซนูซอइट; mm: เมลาโนแมโครเฟจ; Sch: ไซซอนท์; Pc: พาราซิโตพอสซิสต์; DA: ร่องรอยของเนื้อเยื่อที่มีความเสียหายเนื่องจากเมอโรซอइट; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; PC: ท่อไตส่วนต้น (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.4 ผลทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของกบนาที่ติดปรสิตในเลือดมากกว่าหนึ่งชนิด

4.4.1 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Trypanosoma chattoni*

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Trypanosoma chattoni* โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.01 และ 0.01 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ไต ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

4.4.2 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Trypanosoma rotatorium*-like III form

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Trypanosoma rotatorium*-like III form โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.01 และ 0.015 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ไต ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

4.4.3 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like II form และ *Trypanosoma chattoni*

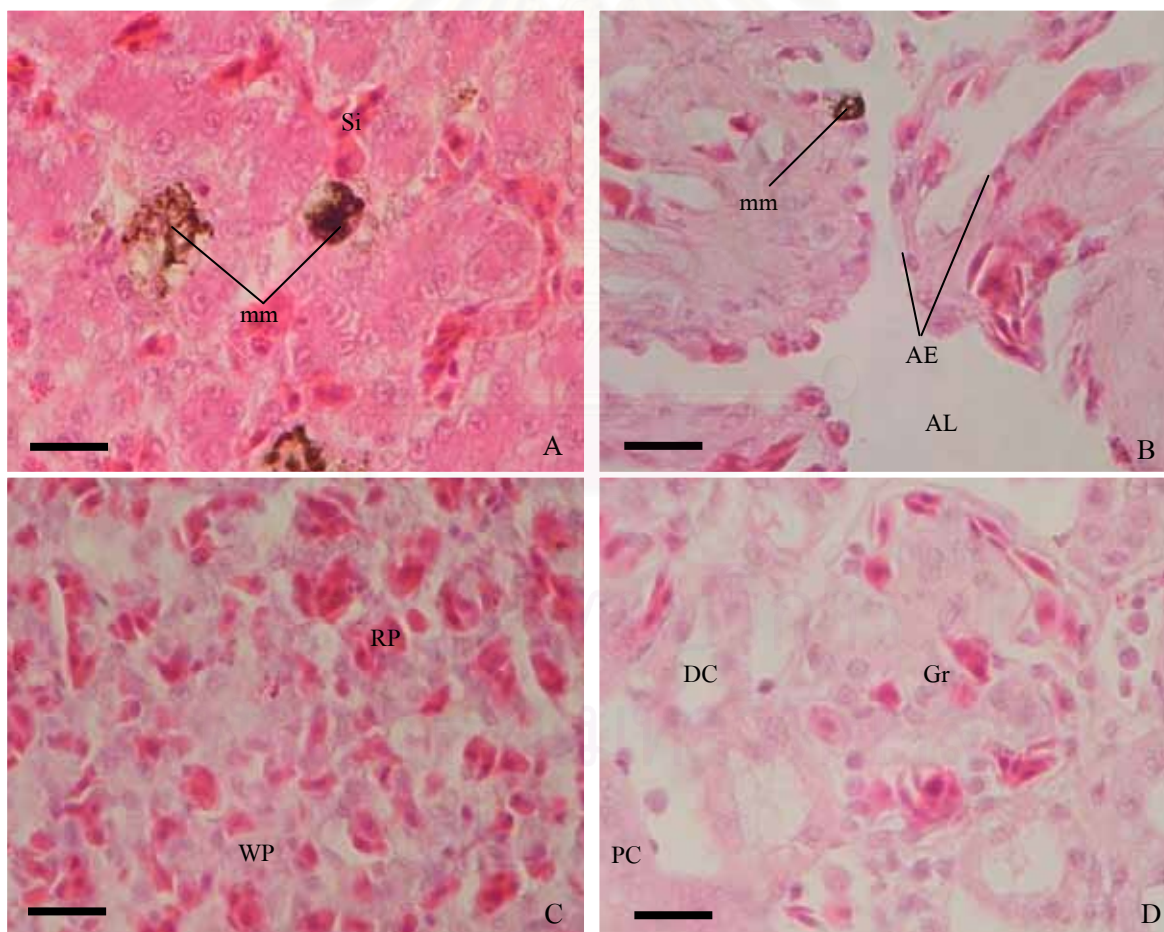
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like II form และ *Trypanosoma chattoni* โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.03 และ 0.01 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-27 A)

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-27 B)

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-27 C)

ไต เซลล์ของท่อไตและโกลเมอรูลัสบวม (ภาพที่ 4-27 D) เช่นเดียวกับที่ตรวจพบในกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like II, III, IV, V form และ *Trypanosoma chattoni* ชนิดเดียว



ภาพที่ 4-27 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like II form และ *Trypanosoma chattoni* (Hematoxylin & eosin stain) **A:** ตับ มีลักษณะปกติ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ไต แสดงการบวมของเซลล์ท่อไต และ โกลเมอรูลัส Si: ไซนัสซอยด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.4.4 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like III form และ *Trypanosoma chattoni*

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like III form และ *Trypanosoma chattoni* โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.015 และ 0.03 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ปอด ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ม้าม ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ไต ลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

4.4.5 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Hepatozoon* sp. a

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Hepatozoon* sp. a โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 2 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.01 กับ 0.13 และ 0.01 กับ 0.02 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆจากกบนาทั้งสองตัวให้ผลดังนี้

กบนาตัวที่หนึ่ง

ตับ ตรวจพบระยะเมอโรนัทของ *Hepatozoon* sp. a แทรกกระจายในเนื้อเยื่อตับ ภายในเมอโรนัทเป็นกลุ่มเซลล์ทรงกลมหรือรีมีการเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบ กลุ่มเซลล์นี้อยู่ภายในพาราซิโตพลาสซึมเช่นเดียวกับที่ตรวจพบในกบนาที่มีการติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a ชนิดเดียว (ภาพที่ 4-28 A,B) พบการอักเสบของเนื้อเยื่อตับในบริเวณที่พบเมอโรนัทโดยเป็นผลมาจากเซลล์เม็ดเลือดขาวกลุ่มลิมโฟไซต์และอีโอซิโนฟิลจำนวนมากที่เข้ามาเพื่อทำลายปรสิต

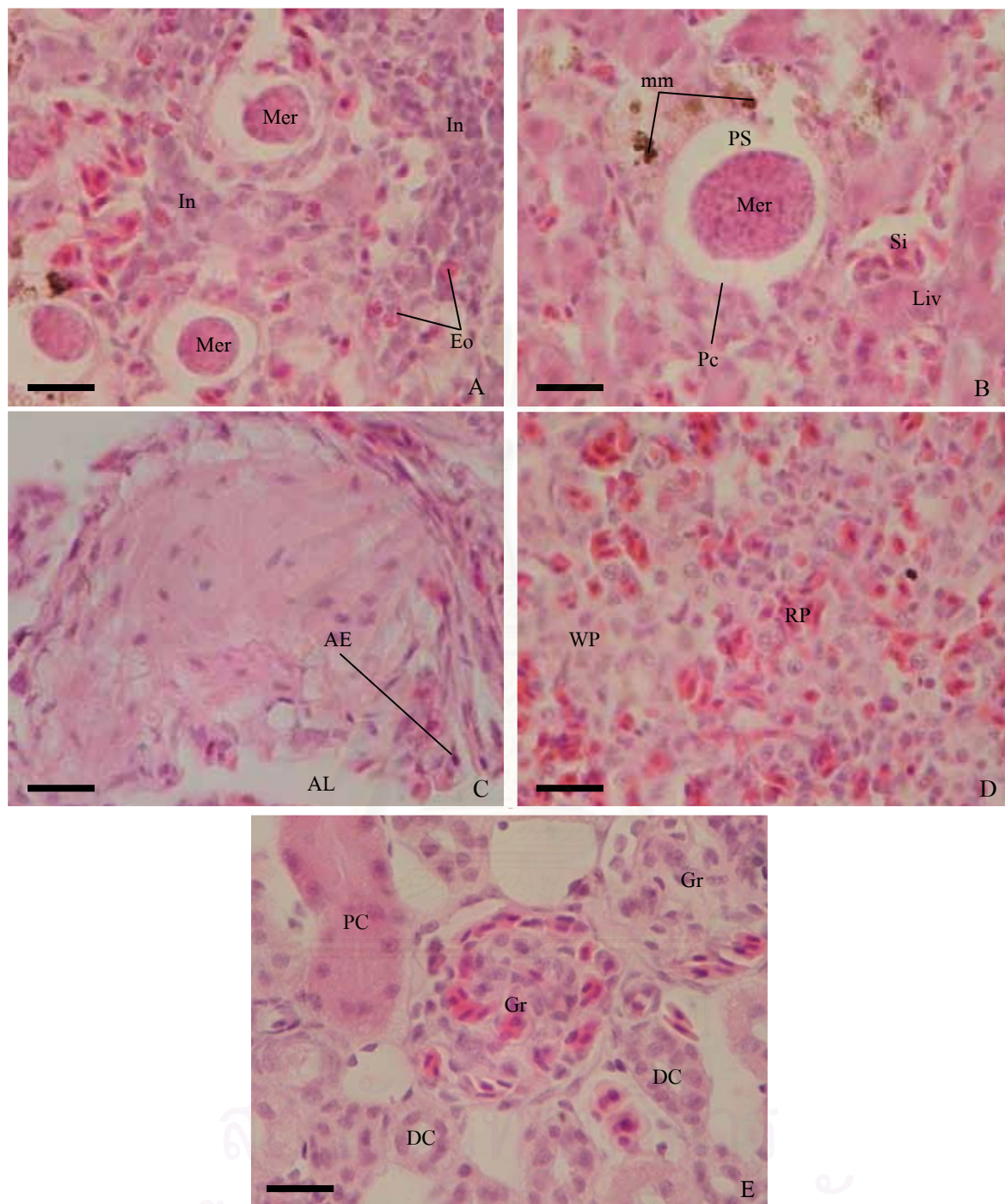
ปอด มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-28 C)

ม้าม มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-28 D)

ไต มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-28 E)

กบนาตัวที่สอง

ตรวจไม่พบรอยโรคในอวัยวะทั้งสิ้น



ภาพที่ 4-28 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Hepatozoon* sp. a (Hematoxylin & eosin stain) **A,B**: แสดงเมอรอนท์ของ *Hepatozoon* sp. ที่แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อกบนาโดยบริเวณรอบๆมีลิมโฟไซต์และอีโอซิโนฟิลจำนวนมาก **C**: ปอด มีลักษณะปกติ **D**: ม้าม มีลักษณะปกติ **E**: ไต มีลักษณะปกติ Liv: เนื้อเยื่อกบนา; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; Si: ไซนุซอยด์; Eo: อีโอซิโนฟิล; In: กลุ่มเซลล์ที่รวมตัวกันเนื่องจากการอักเสบประกอบด้วยลิมโฟไซต์ และอีโอซิโนฟิลจำนวนมาก; Mer: เมอรอนท์; Pc: พาราซิโตฟอร์สซิสต์; PS: ช่องว่างในพาราซิโตฟอร์สซิสต์; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.4.6 ดิจปริสตีร์วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like IV form และ *Hepatozoon* sp. a

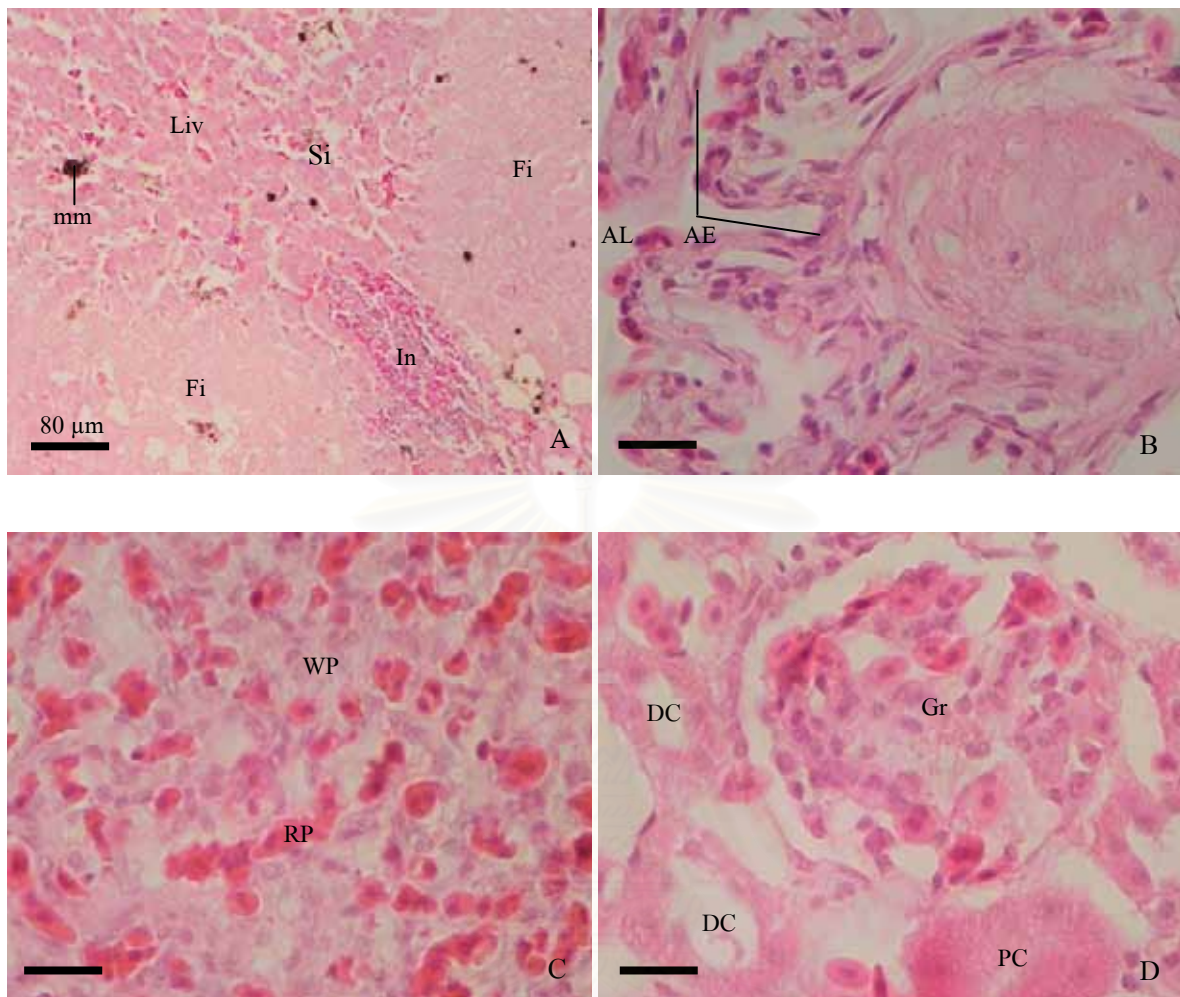
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อคอบนาที่ดิจปริสตีร์วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like IV form และ *Hepatozoon* sp. a โดยทำการตรวจจากคอบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปริสตีร์วมทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.01 และ 0.31 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของคอบนากลุ่มที่ไม่ดิจปริสตีร์วมกัน ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ ตรวจพบเนื้อเยื่อตับตายเป็นบริเวณกว้างซึ่งถูกแทนที่ด้วยเส้นใยไฟบรินและมีการอักเสบของเนื้อเยื่อตับร่วมด้วย (ภาพที่ 4-29 A) เช่นเดียวกับที่ตรวจพบในคอบนาที่ดิจปริสตีร์วมกัน *Hepatozoon* sp. a ชนิดเดียว อย่างไรก็ตามในกรณีนี้ตรวจไม่พบเมอโรนทของ *Hepatozoon* sp. a ในเนื้อเยื่อตับ

ปอด มีลักษณะไม่แตกต่างจากคอบนากลุ่มที่ไม่ดิจปริสตีร์วมกัน (ภาพที่ 4-29 B)

ม้าม มีลักษณะไม่แตกต่างจากคอบนากลุ่มที่ไม่ดิจปริสตีร์วมกัน (ภาพที่ 4-29 C)

ไต เซลล์ท่อไตและ โกลเมอรูลัสบวม ไซโตพลาซึมติดสีไม่เรียบ (ภาพที่ 4-29 D)



ภาพที่ 4-29 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like IV form และ *Hepatozoon* sp. a (Hematoxylin & eosin stain) **A:** แสดงเนื้อเยื่อตับที่ตายเป็นบริเวณกว้างและบริเวณที่มีการอักเสบ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ไต แสดงเซลล์ท่อไต และ โกลเมอรูลัสที่มีการบวม Liv: เนื้อเยื่อตับ; Fi: เส้นใยไฟบริน; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; Si: ไซนุซอยด์; In: กลุ่มเซลล์ที่รวมตัวกันเนื่องจากการอักเสบประกอบด้วยลิมโฟไซต์และอีโอซิโนฟิลจำนวนมาก; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.4.7 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma chattoni* และ *Hepatozoon* sp. a

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma chattoni* และ *Hepatozoon* sp. a โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 2 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.02 กับ 0.25 และ 0.01 กับ 0.01 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆจากกบนาทั้งสองตัวให้ผลดังนี้

กบนาตัวที่หนึ่ง

ตับ ตรวจพบเมอรอนท์ของ *Hepatozoon* sp. a แทรกกระจายในเนื้อเยื่อตับ ภายในเมอรอนท์เป็นกลุ่มเซลล์ทรงกลมหรือรีมีการเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบ กลุ่มเซลล์นี้อยู่ในพาราซิโตพอร์ซิซิสต์เช่นเดียวกับที่ตรวจพบในกบนาที่มีการติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a ชนิดเดียว เมอรอนท์อาจพบแยกเดี่ยวหรือรวมกันเป็นกลุ่มก็ได้ (ภาพที่ 4-30 A) เนื้อเยื่อตับในบริเวณที่พบเมอรอนท์มีการอักเสบ โดยเป็นผลมาจากการรวมตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวกลุ่มลิมโฟไซตส์และอีโอซิโนฟิลจำนวนมากที่เข้ามาเพื่อทำลายปรสิต เช่นเดียวกับที่ตรวจพบในกบนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a ชนิดเดียว

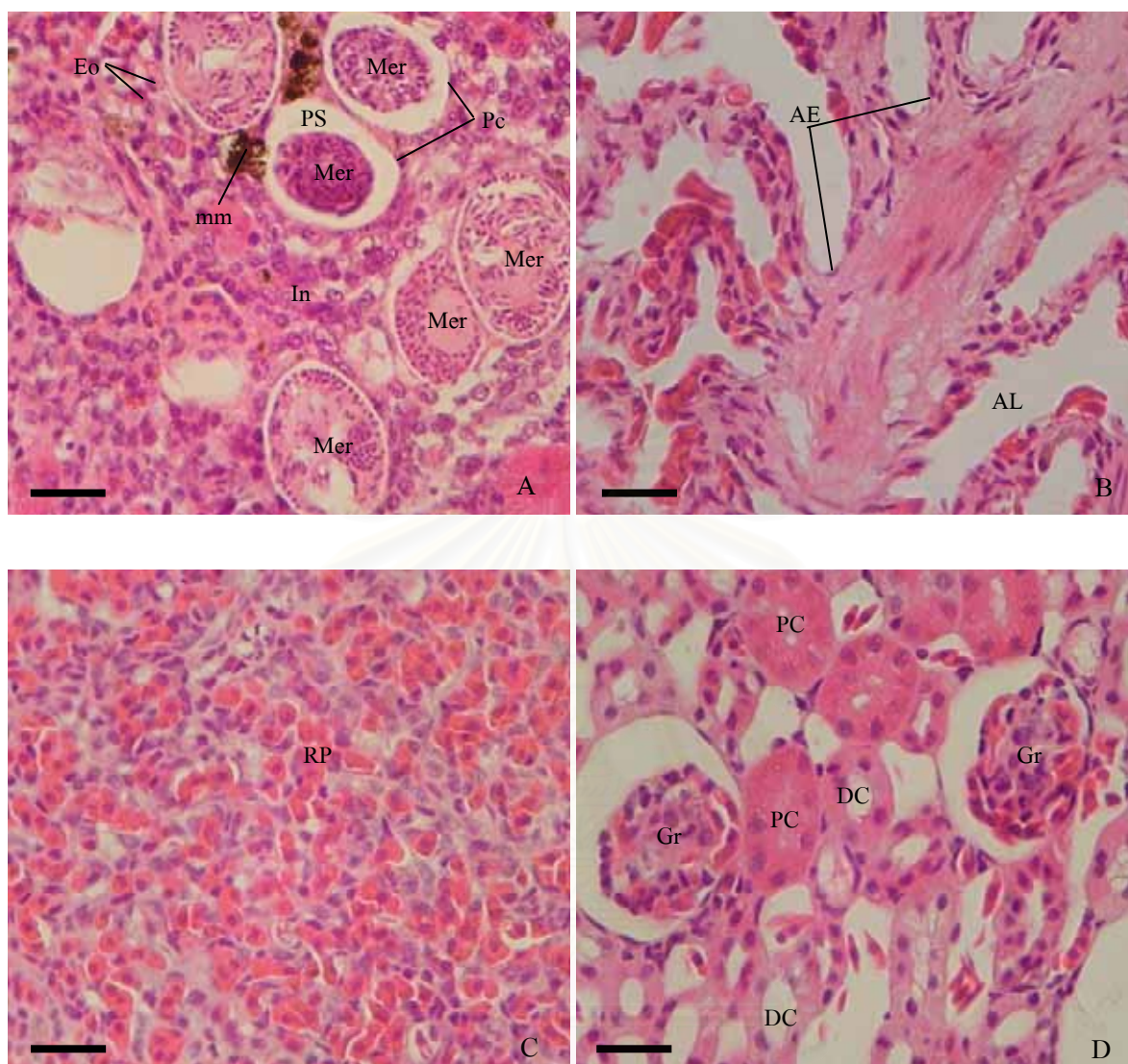
ปอด มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-30 B)

ม้าม มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-30 C)

ไต มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-30 D)

กบนาตัวที่สอง

ตรวจไม่พบรอยโรคในอวัยวะทั้งสิ้น



ภาพที่ 4-30 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma chattoni* และ *Hepatozoon* sp. a (Hematoxylin & eosin stain) **A:** แสดงเมอรอนท์ของ *Hepatozoon* sp. ที่แทรกอยู่ในเนื้อเยื่อตับและบริเวณรอบๆ เต็มไปด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวนมาก **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ไต มีลักษณะปกติ mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; Eo: อีโอซิโนฟิล; In: กลุ่มเซลล์ที่รวมตัวกันเนื่องจากการอักเสบประกอบด้วยลิมโฟไซต์ และอีโอซิโนฟิล; Mer: เมอรอนท์; Pc: พาราซิโตฟอร์ซิซิสต์; PS: ช่องว่างในพาราซิโตฟอร์ซิซิสต์; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.4.8 คติปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma chattoni* และ *Hepatozoon* sp. b

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma chattoni* และ *Hepatozoon* sp. b โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.02 และ 0.02 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของกบนา กลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ปอด มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ม้าม มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ไต มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

4.4.9 คติปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Lankesterella minima*

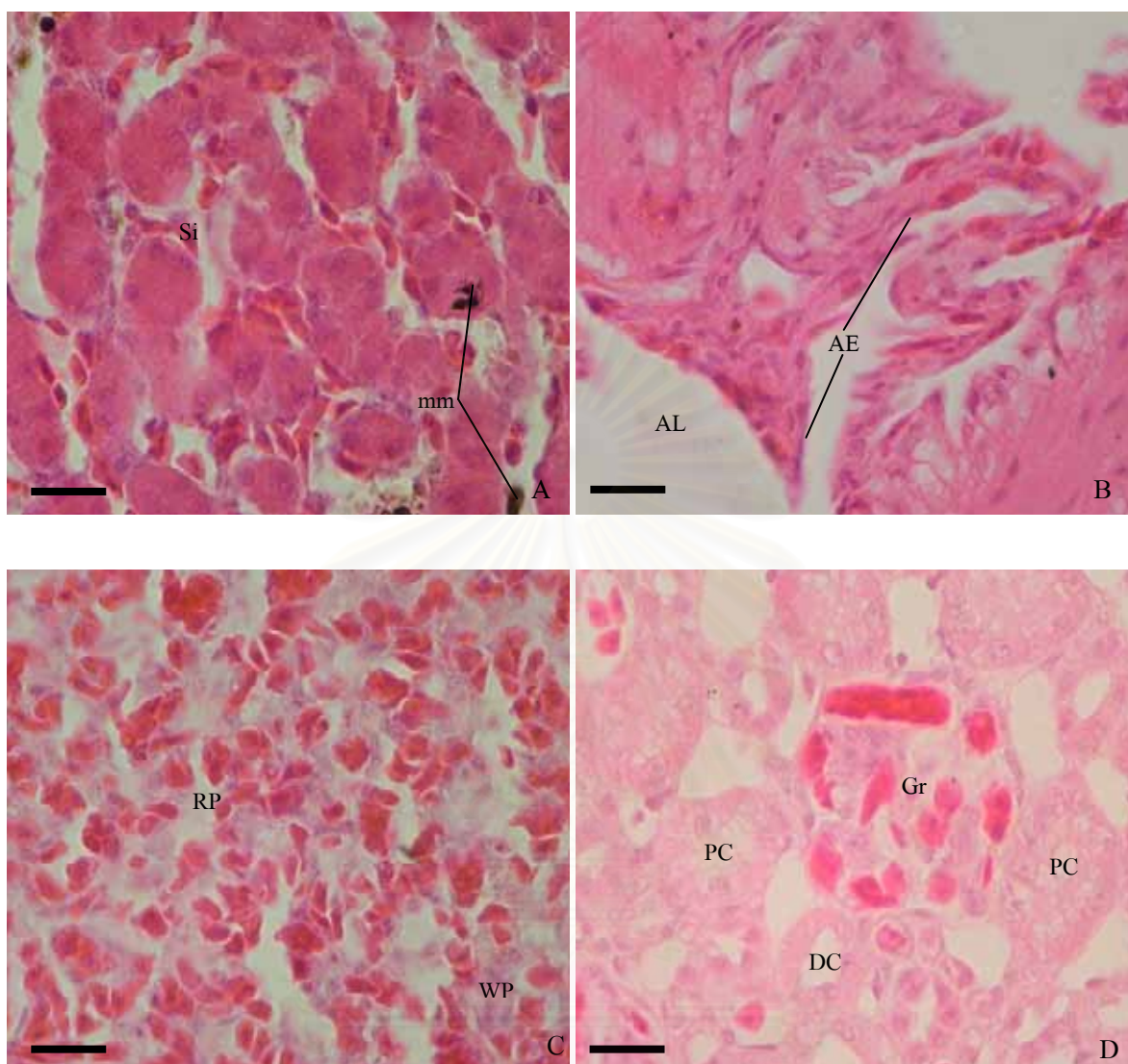
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Lankesterella minima* โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.01 และ 0.05 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-31 A)

ปอด มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-31 B)

ม้าม มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-31 C)

ไต เซลล์ท่อไตและโกลเมอรูลัสบวมมาก ไชโตพลาซิมติดสีไม่เรียบ (ภาพที่ 4-31 D) เช่นเดียวกับที่ตรวจพบในกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like II, III, IV, V form และ *Trypanosoma chattoni* ชนิดเดียว



ภาพที่ 4-31 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like I form และ *Lankesterella minima* (Hematoxylin & eosin stain) **A:** ตับ มีลักษณะปกติ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ไต แสดงเซลล์ท่อไตและโกลเมอรูลัสที่มีการบวม mm: เมลลาโนแมคโครเฟจ; Si: ไซนูซอยด์; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.4.10 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like III form และ *Lankesterella minima*

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like III form และ *Lankesterella minima* โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.01 และ 0.025 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ปอด มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ม้าม มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

ไต มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต

4.4.11 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like IV form และ *Lankesterella minima*

ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like IV form และ *Lankesterella minima* โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.01 และ 0.225 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

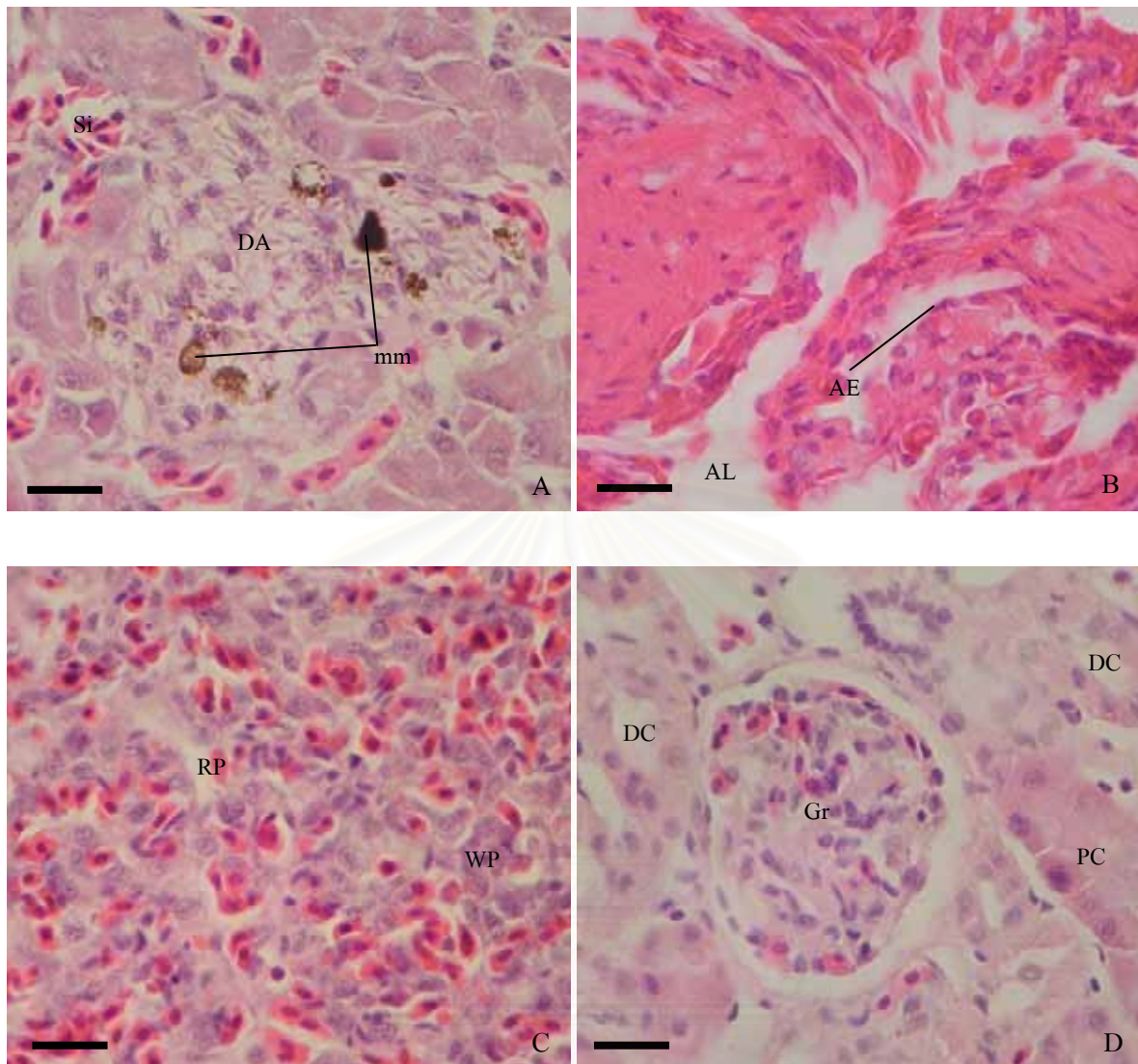
ตับ ตรวจพบเมอโรซอยต์ของ *Lankesterella minima* แพร่กระจายในเนื้อเยื่อตับ (ภาพที่ 4-32 A) และทำให้เนื้อเยื่อตับในบริเวณนั้นตาย นอกจากนี้ยังมีเซลล์เม็ดเลือดขาวกลุ่มเมลาโน-แมโครเฟจจำนวนมากเข้ามาในบริเวณข้างต้นเช่นเดียวกับที่ตรวจพบในกบนาที่ติดปรสิต

Lankesterella minima ชนิดเดียวอย่างไรก็ตามในกรณีนี้ตรวจไม่พบปรสิตในระยะไซซอนท์

ปอด มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-32 B)

ม้าม มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-32 C)

ไต มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-32 D)



ภาพที่ 4-32 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อบนที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like IV form และ *Lankesterella minima* (Hematoxylin & eosin stain) **A:** แสดงขอบเขตของเนื้อเยื่อที่ตายไปเนื่องจากเมอโรซอยต์ของ *Lankesterella minima* **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ตับ มีลักษณะปกติ Si: ไซนัสชอยด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; DA: ร่องรอยของเนื้อเยื่อที่มีความเสียหายเนื่องจากเมอโรซอยต์; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.4.12 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b

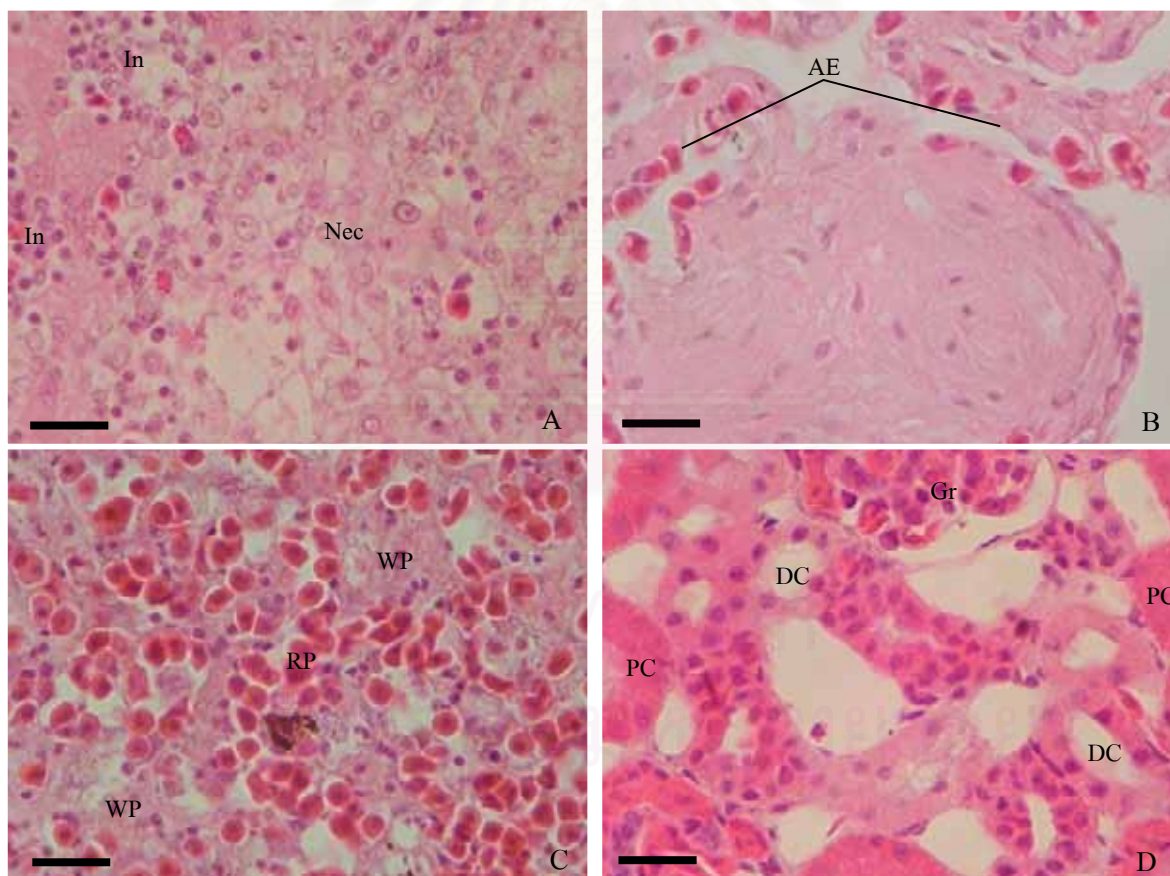
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.89 และ 0.49 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ ตรวจพบร่องรอยของเนื้อเยื่อตายและเนื้อเยื่ออักเสบ (ภาพที่ 4-33 A) เช่นเดียวกับที่ตรวจพบในกบนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b ชนิดเดียว แต่ตรวจไม่พบระยะเมอโรนทซ์ของปรสิตทั้งสองชนิด

ปอด มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-33 B)

ม้าม มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-33 C)

ไต มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-33 D)



ภาพที่ 4-33 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b (Hematoxylin & eosin stain) **A:** แสดงบริเวณเนื้อเยื่อตายในตับ **B:** ปอด มีลักษณะปกติ **C:** ม้าม มีลักษณะปกติ **D:** ไต มีลักษณะปกติ Nec: เนื้อเยื่อตาย; In: กลุ่มเซลล์ที่มารวมตัวกันเนื่องจากการอักเสบประกอบด้วยลิมโฟไซต์และอีโอซิโนฟิล; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

4.4.13 ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Hepatozoon* sp. a และ *Lankesterella minima*

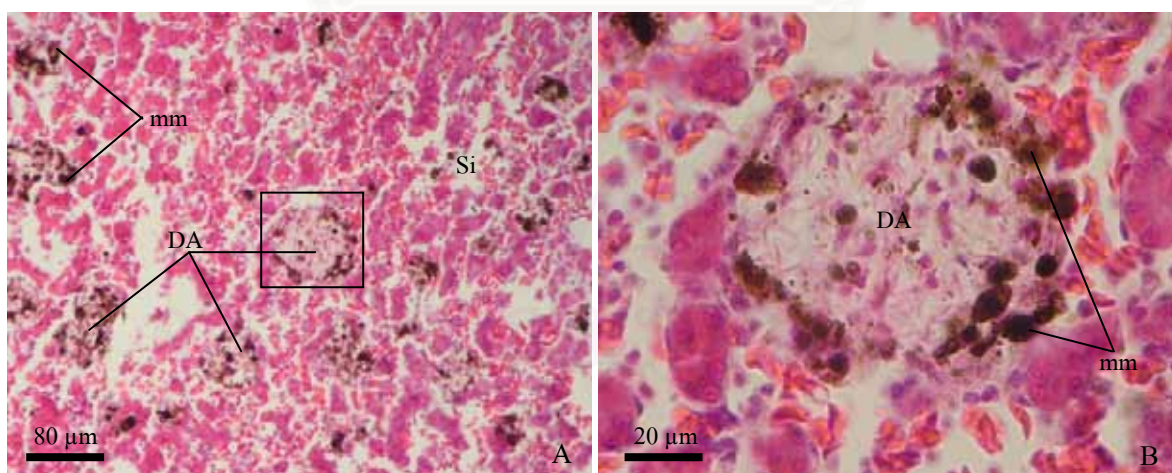
ตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Hepatozoon* sp. a และ *Lankesterella minima* โดยทำการตรวจจากกบนาจำนวน 1 ตัวที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตทั้งสองในเลือดเท่ากับ 0.17 และ 2.22 ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของกบนา กลุ่มที่ไม่ติดปรสิต ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อต่างๆมีดังนี้

ตับ ตรวจพบเมอโรซอยต์ของ *Lankesterella minima* แทรกกระจายเป็นหย่อมในเนื้อเยื่อตับ โดยมีขนาดที่หลากหลายและกระจายไปทั่วทั้งตับ (ภาพที่ 4-34 A,B) ซึ่งมีลักษณะเดียวกันกับที่ตรวจพบในกบนาที่ติดปรสิต *Lankesterella minima* ชนิดเดียวแต่ไม่พบปรสิตในระยะไซซอนท์ นอกจากนี้ยังตรวจพบบริเวณเนื้อเยื่อตายที่ถูกแทนที่ด้วยเส้นใยไฟบริน (ภาพที่ 4-34 C,D) เช่นเดียวกับที่ตรวจพบในกบนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a ชนิดเดียวซึ่งรอยโรคนี้พบกระจายประปรายและตรวจไม่พบระยะเมอโรนท์ของปรสิต *Hepatozoon* sp. a

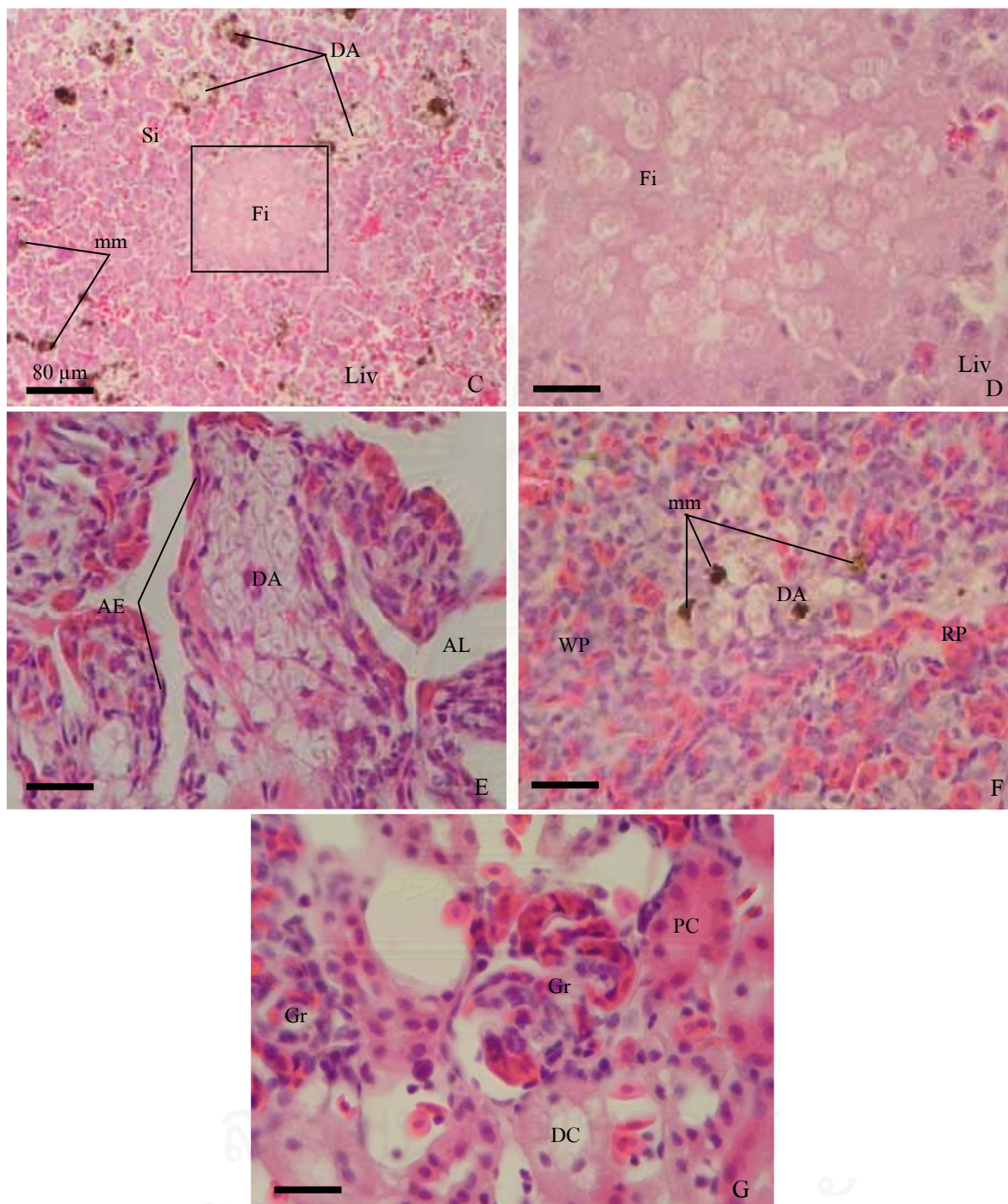
ปอด ตรวจพบมีการตายของเนื้อเยื่อปอดและพบเมอโรซอยต์ของ *Lankesterella minima* แทรกกระจายอยู่ในขอบเขตของเนื้อเยื่อปอดที่ตาย (ภาพที่ 4-34 E) ซึ่งเป็นลักษณะเดียวกับที่พบในกบนาที่ติดปรสิต *Lankesterella minima* ชนิดเดียวและพบมีเนื้อเยื่อปอดตายเป็นหย่อม

ม้าม ตรวจพบการตายของเนื้อเยื่อม้าม (ภาพที่ 4-34 F) ซึ่งเป็นลักษณะเดียวกับที่พบในกบนาที่ติดปรสิต *Lankesterella minima* ชนิดเดียวพบมีการกระจายเป็นหย่อม

ไต มีลักษณะไม่แตกต่างจากกบนาในกลุ่มที่ไม่ติดปรสิต (ภาพที่ 4-34 G)



ภาพที่ 4-34 ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Hepatozoon* sp. a และ *Lankesterella minima* (Hematoxylin & eosin stain) **A:** แสดงหย่อมเนื้อตายในตับ **B:** ภาพขยายหย่อมเนื้อตายจากภาพ A แสดงเมอโรซอยต์ของ *Lankesterella minima* ที่กระจายอยู่ภายในและมีเซลล์เม็ดเลือดขาวกลุ่มเมลาโนแมคโครเฟจเข้ามาล้อมรอบจำนวนมาก Si: ไซนัสซอซด์; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ ; DA: ร่องรอยของเนื้อเยื่อที่มีความเสียหายเนื่องจากเมอโรซอยต์



ภาพที่ 4-34 (ต่อ) ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติดปรสิตร่วมกันระหว่าง *Hepatozoon* sp. a และ *Lankesterella minima* (Hematoxylin & eosin stain) C: แสดงห่อมเนื้อตายที่ถูกแทนที่ด้วยเส้นใยไฟบรินในเนื้อเยื่อตับ D: ภาพขยายห่อมเนื้อตายจากภาพ C E: แสดงเนื้อเยื่อปอดที่ตายและมีเมอโรซอइटของ *Lankesterella minima* กระจายอยู่ภายใน F: แสดงห่อมเนื้อตายในม้าม G: ไต มีลักษณะปกติ Liv: เนื้อเยื่อตับ; Si: ไซนัส; mm: เมลาโนแมคโครเฟจ; Fi: เส้นใยไฟบริน; DA: ร่องรอยของเนื้อเยื่อที่มีความเสียหายเนื่องจากเมอโรซอइट; AL: ถุงลมปอด; AE: alveolar epithelium; RP: red pulp; WP: white pulp; Gr: โกลเมอรูลัส; PC: ท่อไตส่วนต้น; DC: ท่อไตส่วนท้าย (บาร์ = 20 ไมโครเมตร)

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

กบนาเป็นสัตว์ที่มีช่วงชีวิตอยู่ทั้งในน้ำและบนบก ดังนั้นจึงมีโอกาสสัมผัสกับสัตว์ที่เป็นพาหะของโปรโตซัวที่เป็นปรสิตในเนื้อเยื่อที่อาศัยกระจายอยู่ทั้งในน้ำและบนบกได้ การศึกษาครั้งนี้พบว่ากบนาจากจังหวัดสระแก้ว ที่เก็บตัวอย่างในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550 มีการติดปรสิตในเลือดห้ำชนิดได้แก่ *Trypanosoma rotatorium*-like, *Trypanosoma chattoni*, *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b และ *Lankesterella minima* โดยมีค่าร้อยละอุบัติการณ์การติดปรสิตของกบนาเพศผู้ ($n = 42$) เท่ากับ 71.43 กบนาเพศเมีย ($n = 98$) เท่ากับ 69.39 และกบนาทะเลเพศ ($n = 140$) เท่ากับ 70

1. ความสัมพันธ์ระหว่างการติดปรสิต และขนาดของกบนา

จากการเก็บตัวอย่างกบนาธรรมชาติทะเลเพศในช่วงเดือนกรกฎาคม สิงหาคม กันยายนและตุลาคม 2550 พบว่าขนาดของกบนามีแนวโน้มลดลง โดยตัวอย่างที่เก็บได้ในเดือนกรกฎาคมมีขนาดใหญ่กว่าเดือนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P = 0.001$) สำหรับอุบัติการณ์การติดปรสิตของกบนาในเดือนกรกฎาคม มีค่าร้อยละ 51.43 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นถึงเดือนตุลาคม มีค่าร้อยละ 85.71 ซึ่งทั้งสองเดือนนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P = 0.004$) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาการติดปรสิตโดยพิจารณาจากกลุ่มน้ำหนักของกบนาทะเลเพศที่แบ่งเป็นสามกลุ่มคือ น้อยกว่า 100 กรัม, ระหว่าง 100-150 กรัมและมากกว่า 150 กรัม พบว่าการติดปรสิตของกลุ่มน้ำหนักต่างๆไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นความแตกต่างของการติดปรสิตในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550 ไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับขนาดหรือน้ำหนักของกบนา แต่เกี่ยวข้องกับปัจจัยอื่นๆเช่น จำนวนของพาหะซึ่งอาจมีจำนวนแตกต่างกันในแต่ละเดือนและวงจรชีวิตของปรสิตในโฮสต์ เป็นต้น ซึ่งพาหะที่คาดว่าจะมีผลต่อการติดปรสิตของกบนาคือ ปลิงน้ำจืด โดยพบปลิงเกาะตามลำตัวจากตัวอย่างกบนาที่นำมาศึกษาและจากการศึกษาพบว่าสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้สามารถเป็นพาหะนำปรสิตได้หลายชนิด (Bardsley and Harmsen, 1973; Tse *et al.*, 1986; Dessler *et al.*, 1990) ดังนั้นจำนวนของปลิงจึงน่าจะมีผลให้การติดปรสิตของกบนาเพิ่มสูงขึ้น

2. ชนิดของปรสิต

การศึกษาปรสิตในเนื้อเยื่อของกบนาครั้งนี้พบปรสิตห้ำชนิดได้แก่ *Trypanosoma rotatorium*-like, *Trypanosoma chattoni*, *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b และ *Lankesterella minima* โดยมีค่าร้อยละอุบัติการณ์ของปรสิตแต่ละชนิดเท่ากับ 27.86, 32.14, 20.00, 3.57 และ 16.43 ตามลำดับ ชนิดของปรสิตจะกล่าวดังต่อไปนี้

Trypanosomes

Trypanosomes เป็นปรสิตในเนื้อเยื่อที่พบว่ามีอุบัติการณ์สูงที่สุดในการศึกษาภนาจากจังหวัดสระแก้ว โดยในครั้งนี้ Trypanosomes ที่พบมีหลายรูปแบบแบ่งเป็น รูปแบบ mastigote พบแตกต่างกันห้ารูปแบบ และรูปแบบ amastigote การศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Desser (2001) ซึ่งศึกษาปรสิตในเลือดของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกกลุ่มกบเขียด (anurans) หลายชนิดที่ประเทศคอซตาริกาพบว่า Trypanosomes เป็นกลุ่มปรสิตที่พบว่ามีอุบัติการณ์สูงและมีรูปร่างหลากหลายรูปแบบ และ Trypanosomes ยังเป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดในกบชนิดที่มีช่วงชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในน้ำ (aquatic species) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกที่ออนตาริโอ ประเทศแคนาดา โดยพบว่าสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกชนิดที่มีช่วงชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในน้ำจะเป็นกลุ่มที่ติดปรสิต *Trypanosoma* sp. และ *Lankesterella minima* มากที่สุดโดยปรสิตเหล่านี้มีปลิงน้ำจืดเป็นพาหะ (Barta and Desser, 1984; Desser *et al.*, 1990)

Trypanosomes ที่พบในการศึกษานี้พบว่ามีสองชนิดได้แก่ *Trypanosoma rotatorium-like* ซึ่งมีรูปร่างหลายแบบ (polymorphism) และ *Trypanosoma chattoni*

Trypanosoma rotatorium-like

เมื่อเปรียบเทียบรูปร่างลักษณะของ Trypanosomes กลุ่ม mastigote แต่ละแบบที่พบในกบนาในการศึกษานี้พบว่ามีรูปร่างใกล้เคียงกับ *Trypanosoma rotatorium* Mayer, 1843 (Bardsley and Harmsen, 1973; Barta *et al.*, 1989; Werner, 1993; Desser, 2001; Žickus, 2002; Ferreira *et al.*, 2007) ดังนั้น Trypanosomes กลุ่ม mastigote ที่ตรวจพบในครั้งนี้จึงอาจเป็น *Trypanosoma rotatorium*

ตารางที่ 5-1 แสดงเปรียบเทียบขนาดเฉลี่ยของ Trypanosomes กลุ่ม mastigote กับ *Trypanosoma rotatorium* ที่สำรวจพบในโฮสต์ชนิดต่างๆจากแต่ละพื้นที่พบว่า Trypanosomes ที่ตรวจพบในกบนา นั้นมีขนาดใหญ่กว่า *Trypanosoma rotatorium* ที่ตรวจพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกชนิดอื่นๆเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าขนาดของปรสิตแตกต่างกันขึ้นกับชนิด และลักษณะทางภูมิศาสตร์ของถิ่นอาศัยของโฮสต์ (Ferreira *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามแม้ว่าข้อมูลทางสัณฐานวิทยาจะบ่งชี้ว่า Trypanosomes กลุ่ม mastigote ที่พบในกบนาจะเป็น *Trypanosoma rotatorium* แต่จากรายงานของ Ferreira *et al.* (2007) ที่ศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมของ Trypanosomes จากสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกกลุ่มกบเขียดในประเทศบราซิลเปรียบเทียบกับสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกกลุ่มกบเขียดจากประเทศอื่นๆพบว่าพันธุกรรมของ Trypanosomes ที่พบในโฮสต์แต่ละชนิดจากพื้นที่ต่างๆมีความแตกต่างกันและอาจเป็น Trypanosomes ชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกันได้ โดยเสนอว่าชนิดของโฮสต์และลักษณะพื้นที่ที่ศึกษา มีความเกี่ยวข้องกับวิวัฒนาการของ Trypanosomes ประกอบกับ Lun and Desser (1996) ทำการศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมของ Trypanosomes จากสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกกลุ่มกบเขียดโดยวิธี random amplified polymorphic DNA พบว่า Trypanosomes ที่มีลักษณะรูปร่างคล้ายกันมาก แต่พบในโฮสต์ต่างชนิดกันในพื้นที่ศึกษาต่างๆมีข้อมูลทางพันธุกรรมแตกต่างกัน ซึ่ง

ตารางที่ 5-1 แสดงขนาดเปรียบเทียบระหว่าง *Trypanosoma rotatorium*-like ที่พบในเลือดของกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* จากจ.สระแก้ว กับ *Trypanosoma rotatorium* Mayer, 1843 ที่ตรวจพบในกบสกุล *Rana* ในพื้นที่ต่างๆและแสดงขนาดเปรียบเทียบระหว่าง *Trypanosoma chattoni* Mathis and Léger, 1911 ที่พบในเลือดของกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* จากจ.สระแก้ว กับ *Trypanosoma chattoni* ที่ตรวจพบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกในพื้นที่ต่างๆ

<i>Trypanosoma</i> species	Host species	Location	Studies	Form	Average Size (µm)	
					Length	Width
<i>T. rotatorium</i> -like	<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>	Thailand	This study	mastigote	48.9	9.5
<i>T. rotatorium</i>	<i>Rana esculenta</i>	Corsica	Barta <i>et al.</i> (1989)	mastigote	43.9	15.6
<i>T. rotatorium</i>	<i>R. limnocharis</i>	China	Werner (1993)	mastigote	38.1	17.1
<i>T. rotatorium</i>	<i>R. nigromaculata</i>	China	Werner (1993)	mastigote	37.1	17.1
<i>T. rotatorium</i>	<i>Rana</i> spp.	Lithuania	Žickus (2002)	mastigote	42.4	10.8
<i>T. chattoni</i>	<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>	Thailand	This study	amastigote	30.5	26.7
<i>T. chattoni</i>	<i>Bufo gargarizans</i>	China	Werner (1993)	amastigote	52	n/a*
<i>T. chattoni</i>	<i>Rana</i> spp.	Costa Rica	Desser (2001)	amastigote	35.3	34.2

*n/a: ค่าที่ไม่สามารถทำการวัดได้

สามารถแยกเป็นชนิดที่ต่างกันได้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงยังไม่สามารถจำแนก Trypanosomes กลุ่ม mastigote จนถึงระดับชนิดที่แน่นอนได้ทำได้เพียงจำแนกว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับ *Trypanosoma rotatorium* มากที่สุดคือ *Trypanosoma rotatorium-like*

การศึกษาอุบัติการณ์ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม ของ *Trypanosoma rotatorium-like* พบว่าค่าร้อยละอุบัติการณ์มีค่าสูงสุดในเดือนตุลาคม (ร้อยละ 37.14) และมีค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 0.01

Trypanosoma chattoni

เมื่อเปรียบเทียบรูปร่างลักษณะของ Trypanosomes กลุ่ม amastigote ที่พบในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีรูปร่างคล้ายกับ *Trypanosoma chattoni* Mathis and Léger, 1911 (Werner, 1993; Desser, 2001; Ferreira *et al.*, 2007) และจากการศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมของ Trypanosomes ชนิดต่างๆที่รูปแบบ mastigote และ amastigote โดยศึกษาลำดับเบสของ SSU rDNA พบว่า *Trypanosoma chattoni* ที่มีรูปร่างลักษณะเป็นแบบ amastigote นั้นมีข้อมูลทางพันธุกรรมแตกต่างจาก Trypanosomes รูปแบบ mastigote อย่างชัดเจนทำให้สามารถแยกเป็นชนิดที่ต่างกันได้ (Ferreira *et al.*, 2007) ดังนั้น Trypanosomes กลุ่ม amastigote ที่ตรวจพบในครั้งนี้อาจเป็น *Trypanosoma chattoni*

ตารางที่ 5-1 แสดงเปรียบเทียบขนาดเฉลี่ยของ Trypanosomes กลุ่ม amastigote กับ *Trypanosoma chattoni* ที่ตรวจพบในโฮสต์ชนิดต่างๆในแต่ละพื้นที่พบว่า Trypanosomes กลุ่ม amastigote ที่ตรวจพบในกบนา มีขนาดเล็กกว่า *Trypanosoma chattoni* จากรายงานของ Desser (2001) เล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าขนาดของปรสิตแตกต่างกันขึ้นกับชนิดและลักษณะทางภูมิศาสตร์ของถิ่นอาศัยของโฮสต์ (Ferreira *et al.*, 2007)

การศึกษาอุบัติการณ์ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม ของ *Trypanosoma chattoni* พบว่าค่าร้อยละอุบัติการณ์มีค่าสูงสุดในเดือนสิงหาคม (ร้อยละ 45.71) และมีค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 0.015

Hepatozoon

Hepatozoon ที่พบในกบนาจากจังหวัดสระแก้ว มีแกมมอนต์สองรูปแบบที่แตกต่างกันได้แก่ *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b โดย *Hepatozoon* sp. a มีลักษณะเซลล์เรียวยาว นิวเคลียสอยู่ตรงบริเวณรอยพับของเซลล์ โดยเฉพาะถูกข้อมติคีสซิมพู่ที่อยู่ตรงปลายของพาราซิโตพอร์สแคววโอล และ *Hepatozoon* sp. b มีลักษณะเซลล์มีขนาดเล็กคล้ายเม็ดธัญพืช นิวเคลียสมีขนาดใหญ่และไม่มีพาราซิโตพอร์สแคววโอลที่เห็นชัดเจน โดย *Hepatozoon* sp. a มีรูปร่างลักษณะเหมือนกับ *Hepatozoon* sp. ที่พบในกบนาจากจังหวัดน่านและอุบลราชธานี (Chutmongkonkul and Pariyanonth, 2005; นิจร สัจศิริรินทร์, 2550) โดย

มีความเป็นไปได้ว่าจะเป็นชนิดเดียวกัน ส่วน *Hepatozoon* sp. b มีรูปร่างลักษณะใกล้เคียงกับ *Haemogregarina hortai* Brumpt, 1928 ที่พบใน *Rana esculenta* จากทวีปยุโรป (Barta *et al.*, 1989) สำหรับขนาดของ *Hepatozoon* sp. ทั้งสองชนิดแสดงเปรียบเทียบในตารางที่ 5-2

ตารางที่ 5-2 เปรียบเทียบขนาดของ *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b และ *Lankesterella minima* ที่พบในเลือดของกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* จากจ.สระแก้ว

Host	<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>		
Parasites species	<i>Hepatozoon</i> sp. [a] (n = 25)	<i>Hepatozoon</i> sp. [b] (n = 25)	<i>Lankesterella minima</i> (n = 25)
BL ^b	22.28 ± 2.54	11.40 ± 1.70	13.07 ± 1.80
BW	1.83 ± 0.48	4.30 ± 0.77	1.75 ± 0.40
NL	5.00 ± 1.36	5.66 ± 0.91	3.13 ± 0.73
NW	1.83 ± 0.48	3.89 ± 0.57	1.75 ± 0.40
N-A	10.02 ± 1.39	4.27 ± 0.85	4.49 ± 1.07
N-P	12.05 ± 2.79	6.93 ± 1.42	8.66 ± 1.21
BW/BL	0.084 ± 0.028	0.390 ± 0.114	0.134 ± 0.035
NW/NL	0.402 ± 0.226	0.705 ± 0.155	0.587 ± 0.189

^bค่าในตารางบันทึกโดยใช้หน่วย ไมโครเมตร ในรูปของ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน BL = ความยาวของเซลล์, BW = ความกว้างของเซลล์, NL = ความยาวของนิวเคลียส, NW = ความกว้างของนิวเคลียส, N-A = ระยะทางระหว่างจุดกึ่งกลางนิวเคลียสถึง anterior end, N-P = ระยะทางระหว่างจุดกึ่งกลางนิวเคลียสถึง posterior end

ในช่วงก่อนปี ค.ศ. 1995 ระยะแกมมอนท์ของปรสิตที่พบในเซลล์เม็ดเลือดแดงของสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกหลายชนิดในหลายพื้นที่ได้เคยถูกจำแนกอยู่ในสกุล *Haemogregarina* ต่อมา Desser *et al.* (1995) ได้พบว่ายุงรำคาญชนิด *Culex territans* เป็นพาหะของ *Hepatozoon catesbiana* ในกบบูลฟร็อก *Rana catesbeiana* โดยปรสิตมีการเจริญของระยะ sporogonic ที่ malpighian tubule ของยุง ซึ่งเป็นลักษณะของปรสิตในสกุล *Hepatozoon* ไม่ใช่สกุล *Haemogregarina* ซึ่งต่อมา Smith (1996) ได้ทำการย้ายปรสิตในสกุล *Haemogregarina* ที่พบในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบกกลุ่มกบเขียดเปลี่ยนมาอยู่ในสกุล *Hepatozoon* แทน

ดังนั้นเป็นไปได้ว่ายุงรำคาญ (*Culex* spp.) เป็นพาหะของ *Hepatozoon* sp. ที่พบในกบนาจากประเทศไทย นอกจากนี้ขนาดของปรสิตทั้งสองชนิดในระยะเมอโรนท์ที่พบในตัวยุงนั้นก็มีความแตกต่างกันโดย *Hepatozoon* sp. b มีขนาดเล็กกว่าอย่างชัดเจน และเนื่องจาก *Hepatozoon* sp. ทั้งสองชนิดมีรูปร่างและ

ขนาดแตกต่างกันอย่างชัดเจนทั้งในระยะแกมมอนท์และเมอรอนท์ ผู้วิจัยจึงสรุปว่า *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b เป็นคนละชนิดกัน

การศึกษาอุบัตินิยามในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม ของ *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b พบว่า *Hepatozoon* sp. a มีค่าร้อยละอุบัตินิยามสูงสุดในเดือนตุลาคม (ร้อยละ 31.43) และมีค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 0.124 ส่วน *Hepatozoon* sp. b มีค่าร้อยละอุบัตินิยามสูงสุดในเดือนสิงหาคม และกันยายน (ร้อยละ 5.71) และมีค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 0.128

Lankesterellids

Lankesterellids ที่พบในการศึกษาค้างนี้พบว่ามีหนึ่งชนิด ได้แก่ *Lankesterella minima*

จากการศึกษารูปร่างสเปอโรซอยต์ของ *Lankesterella* sp. ในเลือดกบนาจากจังหวัดสระแก้วพบว่ามีสองระยะคือ ระยะที่อยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงและระยะที่อยู่เป็นอิสระภายนอกเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งทั้งสองระยะได้แสดงขนาดเฉลี่ยในตารางที่ 5-2 พบว่ามีรูปร่างใกล้เคียงกับรายงานของ Chutmongkonkul and Pariyanonth (2005) และนิจร สัจศิริรินทร์ (2550) ที่ศึกษา *Lankesterella* sp. ในเลือดของกบนาจากจังหวัดน่านและจังหวัดอุบลราชธานีตามลำดับทำให้มีความเป็นไปได้ว่าจะเป็นชนิดเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบขนาดของสเปอโรซอยต์ที่พบในกบนา กับสเปอโรซอยต์ของ *Lankesterella minima* จากรายงานของ Clark *et al.* (1969), Werner (1993) และ Desser (2001) พบว่ามีขนาดใกล้เคียงกันดังแสดงในตารางที่ 5-3

จากขนาดที่ใกล้เคียงกันประกอบกับ *Lankesterella minima* เป็นชนิดที่มีรายงานการกระจายไปทั่วโลก (Clark *et al.*, 1969; Levine and Nye, 1977; Barta and Desser, 1984; Ray, 1984; Barta *et al.*, 1989; Desser, 2001; Jiminez *et al.*, 2001) โดยเฉพาะในรายงานของ Ray (1984) ที่สำรวจพบ *Lankesterella minima* ในกบ *Rana tigrina* จากประเทศอินเดีย ดังนั้น *Lankesterella* sp. ที่พบในการศึกษาค้างนี้เป็นไปได้ที่จะเป็นชนิด *Lankesterella minima* Chaussat, 1850

นิจร สัจศิริรินทร์ (2550) ได้ทำการศึกษาวงชีวิตของปรสิต *Lankesterella* sp. ในกบนาโดยใช้ปลิง *Alboglossiphonia weberi* เป็นพาหะ ซึ่งปลิงชนิดนี้โดยธรรมชาติจะดูดเลือดกบเป็นอาหารและสามารถนำ *Lankesterella* sp. ไปสู่กบนาตัวอื่นได้โดยการดูดเลือด ทำให้มีความเป็นไปได้ว่าปลิงชนิดนี้อาจเป็นพาหะของ *Lankesterella minima* ในธรรมชาติ นอกจากนี้ยังมีปรสิตในกบบางกลุ่มที่อาศัยปลิงเป็นพาหะเช่นเดียวกันเช่น Trypanosomes (Bardsley and Harmsen, 1973; Desser, 2001) และริคเก็ตเซียสกุล *Aegyptianella* (Desser, 2001) เป็นต้น

การศึกษาอุบัตินิยามในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม ของ *Lankesterella minima* พบว่าค่าร้อยละอุบัตินิยามมีค่าสูงสุดในเดือนตุลาคม (ร้อยละ 40.00) และมีค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 0.15

ตารางที่ 5-3 แสดงขนาดของสปอร์โรซอยต์เปรียบเทียบระหว่าง *Lankesterella minima* ที่พบในเลือดของกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* จากจ.สระแก้ว กับ *Lankesterella minima* Chaussat, 1850 ที่ตรวจพบในกบสกุล *Rana* ในพื้นที่ต่างๆ

<i>Lankesterella</i> species	Host species	Location	Studies	Form	Size (µm)	
					Length	Width
<i>L. minima</i>	<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>	Thailand	This study	extracellular	13.9	1.7
<i>L. sp.</i>	<i>H. rugulosus</i>	Thailand	นิจธร สังข์ศิริพันธ์ (2550)	extracellular	11	1.7
<i>L. sp.</i>	<i>H. rugulosus</i>	Thailand	Chutmongkonkul and Pariyanonth (2005)	extracellular	11.3	1.1
<i>L. minima</i>	<i>Rana forreri</i>	Costa rica	Desser (2001)	extracellular	13.8	1.1
<i>L. minima</i>	<i>R. vaillanti</i>	Costa rica	Desser (2001)	extracellular	13.1	1.6
<i>L. minima</i>	<i>R. cascade</i>	USA, North America	Clark <i>et al.</i> , 1969	extracellular	12.4	1.5
<i>L. sp.</i>	<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>	Thailand	This study	intracellular	9.9	1.8
<i>L. sp.</i>	<i>H. rugulosus</i>	Thailand	นิจธร สังข์ศิริพันธ์ (2550)	intracellular	10.1	2.1
<i>L. sp.</i>	<i>H. rugulosus</i>	Thailand	Chutmongkonkul and Pariyanonth (2005)	intracellular	7.3	1.6
<i>L. sp.</i>	<i>Rana limnocharis</i>	China	Werner (1993)	intracellular	10.4	2.8
<i>L. minima</i>	<i>Rana spp.</i>	Canada	Barta and Desser (1984)	intracellular	12.7	2.1
<i>L. minima</i>	<i>R. cascade</i>	USA, North America	Clark <i>et al.</i> , 1969	intracellular	10.1	2.2

3. เปรียบเทียบค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นระหว่างกบนาที่ติดปรสิตกับกบนาปกติ

จากการคำนวณค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของกบนาทะเลเพศในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550 โดยแบ่งเป็นสองกลุ่มคือ กบนาที่ติดปรสิต ($n = 98$) และกบนาปกติ ($n = 42$) พบว่ากบนาทั้งสองกลุ่มมีค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่ใกล้เคียงกันและไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($t = 0.167$) แสดงว่าการติดปรสิตในเลือดของกบนาไม่ได้ทำให้ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นหรือปริมาณเซลล์เม็ดเลือดแดงเปลี่ยนแปลงไป

4. พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นจากการติดปรสิตในเนื้อเยื่อ

Trypanosomes

เนื้อเยื่อของกบนาที่ติดปรสิต *Trypanosoma rotatorium*-like และ *Trypanosoma chattoni* ไม่พบว่ามีจุลพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อของ ตับ ปอด ม้ามและไต โดยลักษณะของเนื้อเยื่อต่างๆ ไม่แตกต่างจากกบนาปกติที่ไม่ติดปรสิต ซึ่งอาจเป็นเพราะค่าร้อยละความหนาแน่นของ Trypanosomes ทั้งสองชนิดในเลือดมีค่าที่ต่ำมากประมาณร้อยละ 0.01 และจากค่าข้างต้นจำนวนปรสิตยังมีไม่มากพอที่จะทำให้เกิดพยาธิสภาพต่อเนื้อเยื่อของกบนาได้

สำหรับกรณีของกบนาที่ติด *Trypanosoma rotatorium*-like ที่พบการสะสมของสารในตับและตะกอนในท่อไตนั้นพบในกบนาเพียงหนึ่งตัว และไม่พบลักษณะข้างต้นในกบนาที่ติด *Trypanosoma rotatorium*-like ตัวอื่นจึงอาจเป็นไปได้ว่าลักษณะดังกล่าวไม่ได้เป็นผลมาจากการติด *Trypanosoma rotatorium*-like และน่าจะเป็นผลมาจากสาเหตุอื่น โดยสาเหตุที่เหินยวนำให้เกิดการสะสมของตะกอนในท่อไตมีหลายสาเหตุ เช่น ไตอักเสบเรื้อรัง ติดเชื้อแบคทีเรียและมะเร็ง เป็นต้น (อนุเทพ รังสีพิพัฒน์ และคณะ, 2548)

Haemogregarines

กบนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b ที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตในเลือดเท่ากับ 0.28 และ 0.49 พบว่ามีจุลพยาธิสภาพเกิดขึ้นที่เนื้อเยื่อตับ โดยพบว่าเนื้อเยื่อมีการอักเสบอันเนื่องมาจากเมอรอนท์ที่พบในตับ โดยการอักเสบเป็นการเข้ามารวมตัวกันเป็นจำนวนมากของลิมโฟไซต์และอีโอซิฟิลรอบๆเมอรอนท์ นอกจากนี้ยังมีพยาธิสภาพอีกหนึ่งอย่างคือ เนื้อเยื่อตับมีการถูกแทนที่ด้วยเส้นใยไฟบริน ซึ่งเป็นระยะที่ต่อเนื่องมาจากการอักเสบในข้างต้น (อนุเทพ รังสีพิพัฒน์ และคณะ, 2548) ส่วนเนื้อเยื่อปอด ม้ามและไตไม่พบพยาธิสภาพใด สำหรับกบนาที่ติดปรสิต *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b ที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดน้อยกว่า 0.1 ไม่พบพยาธิสภาพใดในเนื้อเยื่อตับ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าความรุนแรงของการเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อจาก *Hepatozoon* sp. แปรตามค่าร้อยละความหนาแน่นของปรสิตในเลือด

Lankesterellids

จากการตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อกบนาที่ติด *Lankesterella minima* ที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดสูง (เฉลี่ยร้อยละ 0.15) พบว่ามีผลทางจุลพยาธิวิทยามาจากปรสิตสองระยะคือ ไชซอนท์และเมอโรซอยต์ โดยไชซอนท์พบในตับและม้าม ส่วนเมอโรซอยต์พบในตับ ปอด ม้ามและไต ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Desser *et al.* (1990) ที่พบการพัฒนาไชซอนท์และเมอโรซอยต์ของ *Lankesterella minima* ในกลุ่มเซลล์ reticuloendothelial system ของอวัยวะภายในของกบ สำหรับการตอบสนองจากเนื้อเยื่อต่อปรสิตทั้งสองระยะให้ผลเหมือนกันในแต่ละอวัยวะดังนี้

เนื้อเยื่อตับและม้าม มีการเข้ามารวมตัวกันเป็นจำนวนมากของเมลานินแมคโครเฟจบริเวณรอบๆ ไชซอนท์และเมอโรซอยต์ โดยเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายเนื่องจากเมอโรซอยต์จะมีบริเวณกว้างกว่าไชซอนท์และเหลือเป็นเพียงเศษเซลล์ ซึ่งลักษณะดังกล่าวสอดคล้องรายงานของ Chutmongkonkul และคณะ (2005)

เนื้อเยื่อปอดและไต พบระยะเมอโรซอยต์แทรกกระจายในเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย โดยไม่พบว่ามีกรรวมตัวกันของเซลล์เม็ดเลือดขาวหรือการอักเสบเกิดขึ้น

จากการตรวจระดับความหนาแน่นในเลือดของ *Lankesterella minima* พบว่ากบนาตัวที่เกิดพยาธิสภาพนี้มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Lankesterella minima* ในเลือดสูง (เฉลี่ยร้อยละ 0.15) ในขณะที่กบนาที่มีค่าร้อยละความหนาแน่นของ *Lankesterella minima* ในเลือดต่ำ (< ร้อยละ 0.1) กลับไม่พบพยาธิสภาพใดๆ ในอวัยวะทั้งสี่ แสดงให้เห็นว่าความรุนแรงของการเกิดพยาธิสภาพของ *Lankesterella minima* แปรตามค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดของปรสิต

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาภนาในธรรมชาติจำนวน 140 ตัวจาก จังหวัดสระแก้ว พบปรสิตในเนื้อเยื่อทั้งหมด ห้าชนิดได้แก่ *Trypanosoma rotatorium-like*, *Trypanosoma chattoni*, *Hepatozoon* sp. a, *Hepatozoon* sp. b และ *Lankesterella minima* โดยปรสิตทั้งหมดมีค่าร้อยละอุบัติการณ์เท่ากับ 27.86, 32.14, 20.00, 3.57 และ 16.43 ตามลำดับ และมีค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 0.013, 0.015, 0.124, 0.128 และ 0.15 ตามลำดับ โดยน้ำหนักของภนาไม่มีผลกับการติดปรสิตในเนื้อเยื่อและการติดปรสิตในเนื้อเยื่อไม่ส่งผลกระทบต่อค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของภนา

โปรโตซัว *Trypanosoma rotatorium-like* และ *Trypanosoma chattoni* ไม่ทำให้เกิดพยาธิสภาพในตับ ปอด ม้าม และไตของภนา

โปรโตซัว *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b ระยะเวลาที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพคือ เมอร์อนท์ พบในตับของภนา ซึ่งทำให้เกิดการอักเสบจากการรวมตัวกันเป็นจำนวนมากของเซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ และอีโอซิโนฟิล และทำให้เนื้อเยื่อตายเป็นบริเวณกว้าง โดยความรุนแรงของพยาธิสภาพจะแปรตามค่าร้อยละความหนาแน่นในเลือดของ *Hepatozoon* sp. a และ *Hepatozoon* sp. b ส่วนปอด ม้ามและไตไม่เกิดพยาธิสภาพใด

โปรโตซัว *Lankesterella minima* ระยะเวลาที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพคือ ไชซอนท์และเมอโรซอยต์ โดยทั้งสองระยะทำให้เกิดพยาธิสภาพเหมือนกันคือ เข้าไปแทรกและทำลายเนื้อเยื่อ โดยในตับและม้ามจะพบรอยโรคของเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย และมีการอักเสบจากการรวมตัวกันเป็นจำนวนมากของเซลล์เม็ดเลือดขาว เมลาโนแมคโครเฟจร่วมด้วย ส่วนในปอดและไตไม่มีการอักเสบพบแต่รอยโรคของเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายไปเพียงอย่างเดียว

เมื่อเปรียบเทียบผลทางพยาธิสภาพระหว่าง *Hepatozoon* sp. และ *Lankesterella minima* พบว่า *Hepatozoon* sp. แม้ว่าจะทำให้เกิดพยาธิสภาพในตับเพียงอย่างเดียว แต่ทำให้เกิดการอักเสบอย่างรุนแรง และมีการตายของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นเป็นบริเวณกว้าง ซึ่งแตกต่างจาก *Lankesterella minima* ที่มีการอักเสบ และมีการตายของเนื้อเยื่อเป็นหย่อมโดยจำกัดเฉพาะขอบเขตของไชซอนท์และเมอโรซอยต์เท่านั้น จึงสรุปได้ว่าพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นจาก *Hepatozoon* sp. มีความรุนแรงมากกว่า *Lankesterella minima* ทำให้การป้องกันการติดปรสิตของภนาจึงมีความสำคัญ เพราะเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะกำหนดความแข็งแรงของภนา โดยเฉพาะภนาเลี้ยงที่มีการอยู่รวมกันเป็นจำนวนมาก ซึ่งการป้องกันนั้นทำได้หลายวิธีเช่น กางมุ้งคลุมบ่อเลี้ยงไว้เพื่อป้องกันยุงเนื่องจากยุงเป็นพาหะของ *Hepatozoon* sp. และกรองน้ำที่จะใช้เลี้ยงภนาเพื่อป้องกันการปลิงเนื่องจากปลิงเป็นพาหะของ *Trypanosomes* และ *Lankesterella minima* เป็นต้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อสามารถระบุชนิดของปรสิตในเนื้อเยื่อที่ยังไม่สามารถจำแนกลงไปถึงระดับชนิดได้ ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น ศึกษาวงจรชีวิตของปรสิต และศึกษาข้อมูลในระดับยีนและโมเลกุลต่อไป
2. ศึกษาปัจจัยต่างๆที่ปรสิตในเนื้อเยื่อเหล่านี้ต้องใช้ในการวงจรชีวิต ทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวางแผนป้องกันการติดปรสิตของกบนาเลี้ยงได้เช่น กางมุ้งเพื่อป้องกันยุง และกรองน้ำเพื่อป้องกันปลิง เป็นต้น



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กัมพล อิศรางกูร ณ อยุธยา. 2535. ลักษณะภายนอกของกบนา. ใน ศุสดี ปริยานนท์ (บรรณาธิการ). การเลี้ยงกบ ชีววิทยา การเลี้ยง และวิธีการขยายพันธุ์, หน้า 7-8. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ธีรวรรณ นุตประพันธ์. 2535. ระบบสืบพันธุ์ของกบนา. ใน ศุสดี ปริยานนท์ (บรรณาธิการ). การเลี้ยงกบ ชีววิทยา การเลี้ยง และวิธีการขยายพันธุ์, หน้า 12-17. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นงเยาว์ จันทร์ผ่อง. 2535. ลักษณะภายในของกบนา. ใน ศุสดี ปริยานนท์ (บรรณาธิการ). การเลี้ยงกบ ชีววิทยา การเลี้ยง และวิธีการขยายพันธุ์, หน้า 9-11. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศุสดี ปริยานนท์. 2535. การเพาะเลี้ยงกบนา. ใน ศุสดี ปริยานนท์ (บรรณาธิการ). การเลี้ยงกบ ชีววิทยา การเลี้ยง และวิธีการขยายพันธุ์, หน้า 22-47. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศุสดี ปริยานนท์. 2535. ชีววิทยาของกบบูลฟร็อก. ใน ศุสดี ปริยานนท์ (บรรณาธิการ). การเลี้ยงกบ ชีววิทยา การเลี้ยง และวิธีการขยายพันธุ์, หน้า 50-54. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ว่าที่ร้อยตรี นิจธร สังข์ศรีรินทร์. 2550. การแพร่เชื้อ *Jankesterella* sp. ในกบนา *Hoplobatrachus rugulosus* โดยปลิง glossiphoniid. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วิชาญ เขาวลิต. 2523. การสำรวจพยาธิของกบ (*Rana* spp.) ในบางท้องที่ของจังหวัดเชียงใหม่. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วิโรจน์ ดาวฤกษ์. 2535. สภาพแวดล้อมและที่อยู่อาศัย. ใน ศุสดี ปริยานนท์ (บรรณาธิการ). การเลี้ยงกบ ชีววิทยา การเลี้ยง และวิธีการขยายพันธุ์, หน้า 18-21. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วีณา เมฆวิชัย, กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ, และศุสดี ปริยานนท์. 2532. การศึกษาเปรียบเทียบหนอนพยาธิของกบนาที่เลี้ยงในฟาร์ม และกบนาในธรรมชาติ. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 14, 1: 34-41.
- อนุเทพ รังสีพิพัฒน์ (บรรณาธิการ). 2548. พยาธิวิทยาทั่วไปทางสัตวแพทย์. กรุงเทพมหานคร : ปอຍท์ กราฟฟิค. 336 หน้า.

ภาษาไทยอังกฤษ

- Ayala, S.C. 1970. Two new trypanosomes from California toads and lizards. **Journal of Protozoology** 17: 370-373.
- Bardsley, J.E. and Harmsen, R. 1973. The Trypanosomes of Anura. **Advances in Parasitology** 11: 1-73.
- Barta, J.R. and Desser, S.S. 1984. Blood parasites of amphibians from Algonquin park, Ontario. **Journal of Wildlife Diseases** 20,3: 180-189.
- Barta, J.R., Boulard, Y. and Desser, S.S. 1989. Blood parasites of *Rana esculenta* from Corsica : Comparison of Its Parasites with Those of Eastern North American Ranids in the Context of Host Phylogeny. **Transactions of American Microscopical Society** 108,1: 6-20.
- Barta, J.R. 1991. The Dactylosomatidae. **Advances in parasitology** 30: 1-37.
- Berger, Lee, Speare, Rick, Daszak, Peter, Green, D. Earl, Cunningham, Andrew A., Goggin, C. Louise, Slocombe, Ron, Ragan, Mark A., Hyatt, Alex D., McDonald, Keith R., Hines, Harry B., Lips, Karen R., Marantelli, Gerry and Parkes, Helen. 1998. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 95: 9031-9036.
- Bhatia, B.L. 1938. Protozoa : Sporozoa. **The Journal of British india, London** : Taylor and francis.
- Biswas, Debjani, Choudhury, A. and Misra, K. K. 2001. Histopathology of *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* Infection in Bandicoot Rat. I. Visceral Organs. **Experimental Parasitology** 99: 148-159.
- Blumer, C., Zimmermann, D.R., Weilenmann, R., Vaughan, L. and Pospichil, A. 2007. Chlamydiae in free-ranging and captive frogs in Switzerland. **Veterinary Pathology** 44: 144-150.
- Bolek, Matthew G., Janovy Jr., John and Irizarry-Rovira, Armando R. 2003. Observations on the Life History and Descriptions of Coccidia (Apicomplexa) from the Western Chorus Frog, *Pseudacris triseriata triseriata*, from Eastern Nebraska. **Journal of Parasitology** 89,3: 522-528.
- Burse, C.R., Goldberg, S.R. and Kraus, F. 2007. A new species of *Moaciria* (Nematoda; Heterakidae) and other helminthes in the red mawatta frog, *Hylophorbus cf. rufescens* (Anura; Microhylidae) from Papua New Guinea. **Act Parasitol** 52,3: 233-237.
- Chutmongkonkul, M. and Pariyanonth, P. 2005. Endoparasites of five species of Anurans in Thailand. **5th World Congress of Herpetology, Stellenbosch, South Africa**: 125.
- Chutmongkonkul, M., Khonsue, W. and Pariyanonth, P. 2005. Blood parasites of six species of wild amphibians from khun mae kuang forest area, Thailand. **2nd Symposium of the Asian Zoo and**

Wildlife Medicine and the 1st Workshop on the Asian Zoo and Wildlife Pathology, Thailand
: 48.

- Chutmongkonkul, M., Pariyanonyh, P., Tangtrongpaisros, J. and Sailasuta, A. 2005. *Lankesterella* in *Hoplobatrachus rugulosus* in Thailand. **31st Congress on Sciences and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, Thailand**: 89-90.
- Chutmongkonkul, M. and Pariyanonth, P. 2007. Hematozoa of amphibians in Thailand. **14th Proceedings Association of Reptilian and Amphibians Veterinarians, New Orleans, Lousiana, United States**: 118.
- Cipriano, R., Bullock, G.L. and Pyle, S.W. 1984. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. **Fish Dis Leaf** 68.
- Clark, G.W., Bradford, J. and Nussbaum, R. 1969. Blood parasites of some Pacific Northwest amphibians. **Bull Wild Dis Assoc** 5: 117-118.
- Cunningham A.A., Langton, TES and Bennett P.M. 1996. Pathological and Microbiological findings from incidents of unusual mortality of the common frog (*Rana temporaria*). **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci** 351: 1539-1557.
- Desser, S.S., McIver, S.B. and Ryckman, A. 1973. *Culex territans* as a potential vector of *Trypanosoma rotatorium*. I. Development of the flagellate in the mosquito. **Journal of Parasitology** 59,2: 353-358.
- Desser, S.S. 1987. *Aegyptianella ranarum* sp. n. (rickettsiales, Anaplasmataceae) : ultrastructure and prevalence in frogs from Ontario. **Journal of Wildlife Diseases** 23,1: 52-59.
- Desser, S.S. and Barta, J.R. 1989. The morphological features of *Aegyptianella bacterifera* : an intraerythrocytic rickettsia if frogs from Corsica. **Journal of Wildlife diseases** 25,3: 313-318.
- Desser, S.S., Siddall, M.E. and Barta, J.R. 1990. Ultrastructural observations on the development stages of *Lankesterella minima* (Apicomplexa) in experimentally infected *Rana catesbeiana* tadpoles. **Journal of Parasitology** 76: 97-103.
- Desser, S.S. 1993. The Haemogregarinidae and Lankesterellidae. **Parasitic protozoa, Vol. 4, Julius P. Kreier (ed.)**, Academic Press, New York: 247-272.
- Desser, S.S., Hong, H. and Martin, D.S. 1995. The life history, ultrastructure and experimental transmission of *Hepatozoon catesbiana* n. comb., an apicomplexan parasite of the bullfrog, *Rana catesbeiana* and the mosquito, *Culex territans* in Algonquin Park, Ontario. **Journal of Parasitology** 81: 212-222.

- Desser, S.S. 2001. The blood parasites of anurans from Costa Rica with reflections on the taxonomy of their trypanosomes. **Journal of Parasitology** 87,1: 152-160.
- Diamond, L.S. 1965. Study of the morphology, biology and taxonomy of the trypanosomes of Anura. **Wildl Dis** 44: 1-77 (Microfiche).
- Farmer, J.N. 1980. Coccidians. **The Protozoa**, C.V. Mosby company, St. Louis, Missouri: 385-436.
- Ferreira, R.C., Campaner, M., Viola, L.B., Takata, C.S.A., Takeda, G.F. and Teixeira, M.M.G. 2007. Morphological and molecular diversity and phylogenetic relationships among anuran trypanosomes from the Amazonia, Atlantic forest and Pantanal biomes in Brazil. **Parasitology** 134: 1623-1638.
- Frost, D.R., Grant, T., Fainovich, J., Bain, R.H., Haas, A., Haddad, C.F.B., De Sa, R.O., Channing, A., Wilkinson, M., Donnellan, S.C., Raxworthy, C.J., Campbell, J.A., Blotto, B.L., Moler, P., Drewes, R.C., Nussbaum, R.A., Lynch, J.D., Green, D.M. and Wheeler, W.C. 2006. The amphibian tree of life. **Bull Am Mus Nat His** 297 : 370 pp.
- Frye F.L. and Gillespie D.S. 1989. Saprolegniasis in a zoo collection of aquatic amphibians. **Proc Third Int Colloq Patholo Reptiles Amphibians**, Orlando, Florida: 43.
- Gleeson, D.J. 1999. Experimental infection of Striped Marsh frog Tadpoles (*Limnodynastes peronii*) by *Ichthyophthirius multifiliis*. **Journal of Parasitology** 85,3: 568-570.
- Green, D.E., Converse, K.A. and Schrader, A.K. 2002. Epizootiology of sixty-four amphibian morbidity and mortality events in the USA, 1996-2001. **Annals of the New York Academy of Sciences** 969: 323-339.
- Greer, A.L., Berrill, M. and Wilson, P.J. 2005. Five amphibian mortality events associated with *Ranavirus* infection in south central Ontario, Canada. **Diseases of Aquatic Organisms** 67: 9-14.
- Inger, R.F. and Tan, F.L. 1996. Checklist of the frogs of Borneo. **Raff Bull Zool** 44,2: 551-574.
- Jiminez, M.S., Zapatero, L.M. and Castano, C. 2001. Parasites of *Rana perezi* Seoane, 1885 in Avila province Spain. **Sour Resand Rev Parasitol** 61,3: 73-78.
- Kudo, R. 1922. On The Protozoa Parasitic in Frogs. **Transactions of American Microscopical Society** XLI, 2: 59-76.
- Levine, N.D. and Nye, R.R. 1977. A Survey of Blood and Other Tissue Parasites of Leopard frogs *Rana pipiens* in The United States. **Journal of Wildlife diseases** 13: 17-23.
- Longcore, J.E., Pessier A.P. and Nichols D.K. 1999. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. **Mycologia** 91: 219-227.

- Lun, Z.R. and Desser. S.S. 1996. Analysis of isolates within species of anuran trypanosomes using random amplified polymorphic DNA. **Parasitology research** 82: 22-27.
- Mansour, N.S. and Mohammed, A.H.H. 1962. *Lankesterella bufonis* sp. nov. Parasitizing Toads, *Bufo regularis* Reuss, in Egypt. **Protozoology** 9,2: 243-248.
- Mathis, C. and Léger, M. 1911. Hémogrégarines de reptiles et des batrachians du Tonkin. **Bull Soc Path Exot** 4: 446-451.
- Miller, D.L., Rajeev, Sreekumari, Gray, M.J. and Baldwin, C.A. 2007. Frog Virus 3 Infection, Cultured American Bullfrogs. **Emerging Infectious Diseases** 13,2: 342-343.
- Mutschmann, F., Berger, L. and Zwart, P. 2000. Chytridiomycosis on amphibians – first report from Europe. **Berl Munch Tierarztl Wochenschr** 113: 380-383.
- Muzzall, P.M., Gilliland, M.G., Summer, C.S. and Mehne, C.J. 2001. Helminth communities of green frogs *Rana clamitans* Latreille, from Southwestern Michigan. **Journal of Parasitology** 87,5: 962-968.
- Newcomer, C.E., Anver, M.R. and Simmons J.L. 1982. Spontaneous and experimental infections of *Xenopus laevis* with *Chlamydia psittaci*. **Lab Anim Sci** 32: 680-686.
- Paperna, I. and Martin, C. 2001. The development and fine structure of *Lankesterella* cf. *dicroglossi* (Apicomplexa: Lankesterellidae) infecting frogs in Niger, West Africa. **Fol Parasitol** 48,3: 178-186.
- Paul, K.S. and Dillehay, D.L. 1991. Diagnostic exercise : High mortality in leopard frog (*Rana pipiens*). **Lab Anim Sci** 41: 169-170.
- Pessier, A.P. 2002. An Overview of Amphibian skin Disease. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine** 11,3: 162-174.
- Raverty, S. and Reynolds, T. 2001. Cutaneous chytridiomycosis in dwarf aquatic frogs (*Hymenochirus boettgeri*) originating from southeast Asia and in a western toad (*Bufo boreas*) from northeastern British Columbia. **Can Vet J** 42: 385-386.
- Ray, R. 1984. Blood parasites of Indian bull frog, *Rana tigrina* Daud. **Sour Rec Zool Surv Ind** 81,1: 55-67.
- Reavill D.R. 2001. Amphibians skin diseases. **Vet Clin North Am Exotic Anim Pract** 4: 413-440.
- Robinson, J., Griffiths, R.A. and Jeffries, P. 2003. Susceptibility of frog (*Rana temporaria*) and toad (*Bufo bufo*) eggs to invasion by *Saprolegnia*. **Amphibia-Reptilia** 24: 261-268.

- Sanders, E.P. 1928. Observations and Experiments on The Haemogregarines of certain amphibia. **Journal of Parasitology** 14: 188-192.
- Senler, Naciye Gülkiz and Yildiz Ismail. 2000. The Ciliate fauna in the Digestive System of *Rana ridibunda* (Amphibia: Anura) I: *Balantidium* (Balantidiidae, Trichostomatida). **Turk J Zool** 24: 33-43.
- Smith, T.G. 1996. The Genus *Hepatozoon* (Apicomplexa : Adeleina). **Journal of Parasitology** 82,4: 565-585.
- Smith, T.G., Kim, Betty, Hong, Henry and Desser, S.S. 2000. Intraerythrocytic Development of Species of *Hepatozoon* Infecting Ranid frogs : Evidence for Convergence of Life cycle Characteristics among Apicomplexans. **Journal of Parasitology** 86,3: 451-458.
- Stehbens, W. E. 1966. Observations on *Lankesterella hylae*. **Journal of Protozoology** 13,1: 59-62.
- Taylor, S.K., Green, D.E., Wright, K.M. 2001. Bacterial diseases. **Amphibian Medicine and Captive Husbandry**, Malabar, FL, Krieger: 160-179.
- Thanawongnuwech, R., Wongtavatchai, J., Rungsipipat, A., Ingkaninun, P. Chumkeo, A. and Surachetpong, W. 2003. Common disease of farmed frogs (*Rana tigrina*) in Thailand. **Proceedings 11th International Symposium of the world association of Veterinary Laboratory Diagnosticians and OIE Seminar on Biotechnology**, Bangkok, Thailand: 40.
- Thoongsuwan, Santi and Cox, Herbert W. 1978. Anemia, Splenomegaly and Glomerulonephritis associated with autoantibody in *Trypanosoma lewesi* infections. **Journal of Parasitology** 64,4: 669-673.
- Tse, B., Barta, J.R. and Desser, S.S. 1986. Comparative ultrastructural features of the sporozoite of *Lankesterella minima* (Apicomplexa) in its anuran host and leech vector. **Canadian Journal of Zoology** 64: 2344-2347.
- Van Den Berghe, L. 1942. Enquête parasitologique. I. Parasite du sang des vertébrés. **Explor Parc Natnl, Albert, Bruxelles. Mission L. van den Berghe (1936) 1: 3-15.**
- Vaucher, C. 1990. *Polystoma cuvieri* n. sp. (Monogenea; Polystomatidae), a parasite of the urinary bladder of the leptodactylid frog *Physalaemus cuvieri* in Paraguay. **Journal of Parasitology** 76,4: 501-504.
- Weldon, Ché, du Preez, Louis H., Hyatt, Alex D., Muller, Reinhold and Speare, Rick. 2004. Origin of the Amphibian Chytrid Fungus. **Emerging Infectious Diseases** 10,12: 2100-2104.

Werner, J.K. and Walewski, K. 1976. Amphibian Trypanosomes from the McCormick forest, Michigan.

The Journal of Parasitology 62,1: 20-25.

Werner, J.K. 1993. Blood parasites of amphibians from Sichuan Province, People's Republic of China.

Journal of Parasitology 79,3: 356-363.

Wozniak, E.J., Telford, S.R., DeNardo, D.F., McLaughlin, G.L. and Butler, J.F. 1998. Granulomatous

Hepatitis associated with *Hepatozoon* sp. meronts in a Southern water snake (*Nerodia fasciata*

pictiventris). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine** 29,1: 68-71.

Žickus, Tadas. 2002. The first data on the fauna and distribution of blood parasites of amphibians in

Lithuania. **Acta Zoologica Lituanica**: 197-202.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี และสีย้อม

1. 10 เปอร์เซนต์บัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน

Sodium dihydrogen orthophosphate (NaH_2PO_4)	4.0	กรัม
Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4)	6.5	กรัม
Formalin concentrate	100.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	900.0	มิลลิลิตร

2. Ehrlich's Haematoxylin

2.1 ผสมส่วนผสมทั้งสองให้เข้ากัน คนให้ละลายนำไปอุ่น ยกกลงให้เย็นแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์สี่

Haematoxylin	8.0	กรัม
95% ethanol	400.0	มิลลิลิตร

2.2 ผสมส่วนผสมทั้งสองให้เข้ากัน คนให้ละลายนำไปอุ่น ยกกลงให้เย็นแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์สี่

Potassium or Aluminium alum	8.0	กรัม
น้ำกลั่น	400.0	มิลลิลิตร

2.3 นำส่วนผสมจากข้อ 2.1 และ 2.2 ผสมเข้าด้วยกันแล้วเติม

Glycerine	400.0	มิลลิลิตร
-----------	-------	-----------

2.4 ผสมสารละลายในข้อ 2.3 ให้เข้ากันแล้วเติม

Glacial acetic acid	40.0	มิลลิลิตร
---------------------	------	-----------

เก็บส่วนผสมทั้งหมดไว้เป็นเวลาประมาณ 6 เดือน ก่อนนำมาใช้

3. Eosin

Eosin	0.5	กรัม
95% ethanol	100.0	มิลลิลิตร

4. Mayer's glycerol egg albumen

ไข่ขาว	50.0	มิลลิลิตร
Glycerol	50.0	มิลลิลิตร
Thymol	2-3	เกล็ด

Glacial acetic acid

2-3 หยด

หมายเหตุ : ผสมไข่ขาว และ glycerol ให้เข้ากันก่อน แล้วจึงเติม Thymol และ Glacial acetic acid ตามลำดับ สารละลายที่ได้เก็บไว้เป็น stock เมื่อจะใช้ให้ละลาย 1 หยดในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

5. Giemsa's stain

ผสมส่วนผสมทั้งสองให้เข้ากัน

ผงสี Giemsa	7	กรัม
Glycerol	500.0	มิลลิลิตร

อุ่นสารละลายในข้อ 2.1 ในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
เติมเมทานอล และกรองผ่านกระดาษกรอง

Absolute methanol	500.0	มิลลิลิตร
-------------------	-------	-----------

เก็บสีที่ผ่านการผสมแล้วไว้ในตู้อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาประมาณ 2-3 เดือน

ก่อนนำไปใช้ให้นำสีไปเจือจางใน 0.1 M phosphate buffer pH 7.4 ในอัตราส่วน 1:10

ภาคผนวก ข

แสดงตารางข้อมูลต่างๆที่ได้จากการทดลอง

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี one-way ANOVA ของ SVL กบนาตั้งแต่เดือน กรกฎาคม-ตุลาคม กำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

SVL	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.031	3	4.010	3.994	.009
Within Groups	136.573	136	1.004		
Total	148.604	139			

Multiple Comparisons

SVL

LSD

(I) month	(J) month	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
july	august	.5229*	.2395	.031	.049	.997
	september	.6829*	.2395	.005	.209	1.157
	october	.7457*	.2395	.002	.272	1.219
august	july	-.5229*	.2395	.031	-.997	-.049
	september	.1600	.2395	.505	-.314	.634
	october	.2229	.2395	.354	-.251	.697
september	july	-.6829*	.2395	.005	-1.157	-.209
	august	-.1600	.2395	.505	-.634	.314
	october	.0629	.2395	.793	-.411	.537
october	july	-.7457*	.2395	.002	-1.219	-.272
	august	-.2229	.2395	.354	-.697	.251
	september	-.0629	.2395	.793	-.537	.411

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางที่ 2 แสดงผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี one-way ANOVA ของน้ำหนักกบนาตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-ตุลาคม กำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

weigh	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39504.286	3	13168.095	10.295	.000
Within Groups	173951.600	136	1279.056		
Total	213455.886	139			

Multiple Comparisons

weigh

LSD

(I) month	(J) month	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
july	august	29.400*	8.549	.001	12.49	46.31
	september	40.343*	8.549	.000	23.44	57.25
	october	41.800*	8.549	.000	24.89	58.71
august	july	-29.400*	8.549	.001	-46.31	-12.49
	september	10.943	8.549	.203	-5.96	27.85
	october	12.400	8.549	.149	-4.51	29.31
september	july	-40.343*	8.549	.000	-57.25	-23.44
	august	-10.943	8.549	.203	-27.85	5.96
	october	1.457	8.549	.865	-15.45	18.36
october	july	-41.800*	8.549	.000	-58.71	-24.89
	august	-12.400	8.549	.149	-29.31	4.51
	september	-1.457	8.549	.865	-18.36	15.45

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี one-way ANOVA ของร้อยละการติดปรสิตของกบนาโดยแบ่งตามเดือน กำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

parasite	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.736	3	.579	2.887	.038
Within Groups	27.257	136	.200		
Total	28.993	139			

Multiple Comparisons

parasite

LSD

(I) month	(J) month	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
july	august	-.171	.107	.112	-.38	.04
	september	-.171	.107	.112	-.38	.04
	october	-.314*	.107	.004	-.53	-.10
august	july	.171	.107	.112	-.04	.38
	september	.000	.107	1.000	-.21	.21
	october	-.143	.107	.184	-.35	.07
september	july	.171	.107	.112	-.04	.38
	august	.000	.107	1.000	-.21	.21
	october	-.143	.107	.184	-.35	.07
october	july	.314*	.107	.004	.10	.53
	august	.143	.107	.184	-.07	.35
	september	.143	.107	.184	-.07	.35

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี one-way ANOVA ของร้อยละการติดปรสิตของกบนาโดยแบ่งตามกลุ่มของน้ำหนัก กำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.032	2	.016	.076	.927
Within Groups	29.367	137	.214		
Total	29.400	139			

Multiple Comparisons

P
LSD

(I) W	(J) W	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ต่ำกว่า 100 กรัม	100-150 กรัม	.032	.083	.698	-.13	.20
	มากกว่า 150 กรัม	.012	.155	.936	-.29	.32
100-150 กรัม	ต่ำกว่า 100 กรัม	-.032	.083	.698	-.20	.13
	มากกว่า 150 กรัม	-.020	.160	.901	-.34	.30
มากกว่า 150 กรัม	ต่ำกว่า 100 กรัม	-.012	.155	.936	-.32	.29
	100-150 กรัม	.020	.160	.901	-.30	.34

ตารางที่ 5 แสดงค่าเมื่อดัดแปลงอันดับของภนาที่ทำการศึกษาในเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2550 (มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์)

ตัวที่	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.
1	31	27	26	20
2	27	21	20	15
3	26	21	24	18
4	26	22	24	20
5	32	26	20	17
6	14	21	18	21
7	32	24	18	4
8	22	22	22	32
9	23	20	24	25
10	19	26	15	22
11	23	21	15	24
12	26	23	12	23
13	27	30	38	23
14	21	24	35	25
15	22	25	17	25
16	18	24	n/a*	19
17	19	17	18	24
18	20	19	23	28
19	22	25	12	23
20	28	25	21	26
21	29	20	13	22
22	32	18	23	19
23	27	23	19	24.5
24	21	22	39	n/a*
25	24	24	22	18
26	23	17	31	17
27	26	19	32	17
28	24	15	25	11
29	32	24	21	15
30	29	19	34	25
31	20	23	34	19
32	21	26	30	19
33	26	25	26	17
34	29	23	29	15
35	21	20	16	20

*ไม่ได้ทำการวัดค่า

ตารางที่ 6 แสดงผลการทดสอบทางสถิติด้วยวิธี t-test ของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นกำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

Group Statistics

Hc	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Hcrit normal type	42	22.8095	5.81519	.89730
parasitic type	96	22.6406	5.30923	.54187

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Hcrit Equal variances assumed	.299	.586	.167	136	.868	.16890	1.01136	-1.83112	2.16892
Equal variances not assumed			.161	72.212	.872	.16890	1.04823	-1.92060	2.25840

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ข้าพเจ้า นาย เจตจันทร์ เศรษฐสิทธิ์ เกิดเมื่อวันที่ 18 กรกฎาคม พ.ศ. 2526 ที่โรงพยาบาลหัวเฉียว เขตป้อมปราบศัตรูพ่าย จังหวัดกรุงเทพมหานคร

สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนวัดบวรนิเวศในปีการศึกษา 2543 ต่อมาเข้ารับการศึกษาระดับปริญญาตรีหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จบการศึกษาในปีการศึกษา 2547 หลังจากนั้นได้เข้ารับการศึกษาระดับปริญญาโทหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปีการศึกษา 2548 และจบการศึกษาในปีการศึกษา 2551 ได้รับทุนวิจัยสนับสนุนปฏิบัติการวิทยานิพนธ์จากศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขณะศึกษาระดับปริญญาโทได้เป็นผู้ช่วยสอนในวิชา ชีววิทยาทั่วไป ของหลักสูตรปริญญาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลงานทางวิชาการ

Satetasit, J., Chutmongkonkul, M. and Sailasuta, A. 2009. Blood Parasites of Rice Field Frog, *Hoplobatrachus rugulosus* (Wiegmann, 1835), from Wang Nam Yen district, Sra-kaew Province, Thailand. **Proceedings of the 8th Chulalongkorn University Veterinary Annual Conference, The Thai Journal of Veterinary Medicine** 39,1: 84.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย