เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2556; 11(3): 263-269

รายงานสัตว์ป่วย

ตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิ *Centrocestus* spp. ที่เหงือกในปลาทอง (*Carassius auratus*)

สุรชัย พิกุลแก้ว[1,*] ปัญญิศา โปติบุตร[2]

[1]ภาควิชาคลินิกสัตว์บริโภค คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[2]นักศึกษาบัณฑิตศึกษา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2555

บทคัดย่อ ปลาทองป่วย 10 ตัว เข้ามารับการรักษาที่หน่วยคลินิกสัตว์น้ำด้วยอาการหายใจลำบาก และลอยตัวบนผิวน้ำ การตรวจวินิจฉัยทางคลินิกพบการติดเชื้อของพยาธิชนิด *Dactyrogyrus* spp. จำนวนมากที่บริเวณเยื่อบุเหงือก และพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ฝังที่กระดูกอ่อนของเหงือก การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบการเพิ่มขึ้นของกระดูกอ่อนรอบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียที่ซี่เหงือก ผลการตรวจด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสตัวอย่างเหงือกยืนยันว่าเป็นดีเอ็นเอของพยาธิชนิด *Centrocestus* spp. ที่ 389 คู่เบส นอกจากนี้พบว่า การรักษาด้วยการแช่ยาพราซิควอนเทลขนาด 5 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการกำจัดพยาธิชนิด *Dactyrogyrus* spp. ในเหงือกของปลาทอง **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2556; 11(3): 263-269**

คำสำคัญ: ปลาทอง พยาธิใบไม้ ตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย เหงือก

ติดต่อสำเนาบทความได้ที่ : สุรชัย พิกุลแก้ว ภาควิชาคลินิกสัตว์บริโภค คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100 E-mail address : s.pikul@chiangmai.ac.th ได้รับบทความวันที่ 16 มกราคม 2556

บทนำ

ปลาทอง (Goldfish; *Carussius auratus*) เป็นปลาสวยงามน้ำจืดที่นิยมเลี้ยง อีกทั้งยังมีหลากหลายสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่นิยมคือเลี้ยง ปลาทองหัวสิงห์จีน ปลาทองสิงห์ตากลับ ปลาทองออลันดาหัววุ้น และปลาทองโคเมท เป็นต้น อย่างไรก็ตามการเลี้ยงปลาทองมักพบปัญหามากมายทั้งที่เกิดจากโรคติดเชื้อ และโรคไม่ติดเชื้อ โดยเฉพาะปัญหาโรคติดเชื้อที่เกิดจากพยาธิ โดยปลิงใส (monogenea) เป็นพยาธิใบไม้ที่เป็นปรสิตภายนอกของเหงือก และผิวหนังปลา ก่อโรคโดยทำให้เกิดความระคายเคืองต่ออวัยวะและเป็นสาเหตุของการติดเชื้ออื่นตามมา ในไทยมีรายงานความเสียหายของปลิงใสต่ออุตสาหกรรมการส่งออกปลาสวยงามซึ่งสัมพันธ์กับความหนาแน่นของปลา (อรัญญา และคณะ, 2548) ส่วนตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ชนิด *Centrocestus* spp. ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเหงือกปลาเนื่องจากการฝังตัวของตัวอ่อน ยังไม่มีรายงานการระบาดของพยาธิชนิดนี้ในประเทศไทย แต่มีรายงานความเสียหายในต่างประเทศ เช่น ทำให้เกิดการตายจำนวนมากของลูกปลาไน (*Cyprinus carpio*) ในประเทศอินเดีย (Mohan et al., 1999) การเฝ้าระวังการระบาดของโรคในประเทศไทยจึงเป็นสิ่งที่ควรมีการศึกษา รายงานสัตว์ป่วยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ที่เหงือกของปลาทอง โดยวิธีการทำสไลด์เปียก การศึกษา

ทางจุลพยาธิวิทยา และวิธีทางอณูชีววิทยา ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ทางคลินิกในการตรวจวินิจฉัยโรคที่เกิดในปลาสวยงามน้ำจืดทางคลินิก

ประวัติสัตว์ป่วย

ปลาทองสายพันธุ์ออรันดา ความยาวมาตรฐานเฉลี่ยประมาณ 4.8±0.5 เซนติเมตร จำนวน 10 ตัว เข้ารับการรักษาที่หน่วยคลินิกสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ด้วยอาการหายใจลำบาก ลอยตัวบนผิวน้ำและพบการตาย จากการซักประวัติพบว่าเจ้าของซื้อปลาจากร้านขายปลาสวยงามแห่งหนึ่งในจังหวัดเชียงใหม่จำนวน 15 ตัว และนำมาเลี้ยงในตู้ปลาใหม่ขนาดความจุ 200 ลิตร เป็นเวลาประมาณหนึ่งสัปดาห์ มีระบบกรองข้างตู้ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 2 ครั้ง จากนั้นเจ้าของเริ่มพบปลาตายในวันที่ 2 ของการเลี้ยงจนเหลือเพียง 10 ตัว ในวันที่เข้ารับการรักษา จากการสังเกตอาการภายนอกพบว่า ปลาแสดงอาการหายใจลำบากโดยการเปิดปิดแผ่นปิดเหงือกถี่และเร็ว

การตรวจวินิจฉัย

สังเกตอาการภายนอกและบันทึกอาการทางคลินิก จากนั้นสลบปลาป่วยด้วยน้ำมันกานพลูขนาด 50 พีพีเอ็ม เพื่อตรวจร่างกายภายนอกเช่น เก็บตัวอย่างเมือกจากผิวหนังและครีบ และตัวอย่างเหงือก ด้วยวิธีส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่าน จำนวนทั้งหมด 6 ตัว จาก 10 ตัว โดยไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างปลาที่ไม่แสดงอาการชัดเจน ส่วนตัวอย่างเหงือกจำนวน 2 ใน 6 ตัว นำไปศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาและอณูชีววิทยาดังนี้

<u>วิธีทางจุลพยาธิวิทยา</u>

รักษาสภาพของตัวอย่างเหงือกที่ทำการเก็บตัวอย่างด้วยน้ำยา 10% neutral buffered formalin ผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างทางจุลพยาธิวิทยาโดยใช้เครื่องมืออัตโนมัติ โดยฝังชิ้นเนื้อลงในพาราฟิน และนำมาตัดแบ่งโดยมีความหนา 4 ไมครอน แล้วย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลีนและอีโอซิน (H&E) จากนั้นศึกษารอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่าน

<u>วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส</u>

เก็บตัวอย่างเหงือกด้วยวิธีปราศจากเชื้อประมาณ 10 มิลลิกรัม ในหลอดเก็บตัวอย่าง จากนั้นสกัดสารพันธุกรรมด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป QIAamp DNA Mini kit ตามคำแนะนำของผู้ผลิต และเก็บรักษาสารพันธุกรรมที่สกัดได้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ออกแบบไพรเมอร์ของเชื้อ *Centrocestus formosanus (C. formosanus)* AY245759.1 โดยใช้โปรแกรม Primer3 ไพรเมอร์คือ

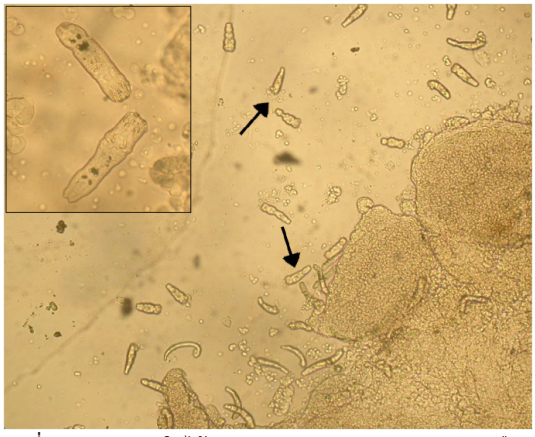
1. Cfo-F 5’ ACG ATC AGA TCC GTC CTA GTT C 3’
2. Cfo-R 5’ GGA TAC AGA GGA CAG GCG TAC T 3’

ในสารละลายของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสมีปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร ประกอบไปด้วย 10X *Taq* buffer (100 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl pH 8.8, 500 มิลลิโมลาร์ KCl) 2 มิลลิโมลาร์ $MgCl_2$ 0.2 มิลลิโมลาร์ dNTP ไพรเมอร์ความเข้มข้น 100 พิโคโมล และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase (Fermentus®) ปริมาณ 1.25 หน่วยมาตรฐาน จีโนมิคดีเอ็นเอ 20 นาโนกรัม แล้วนำมาทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสด้วยเครื่อง Thermocycler (Biometra-UNO II, Geramany) โดยใช้สภาวะแบบ Touch-Down PCR ดังนี้ 95 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ตามด้วย 11 รอบของ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และใช้อุณหภูมิของขั้นตอน annealing ลดลงทุก 1 องศาเซลเซียส ต่อรอบ ตั้งแต่อุณหภูมิ 68 ถึง 58 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 25 วินาที จากนั้นตามด้วย 29 รอบของ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ที่ 58 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 25 วินาที และตามด้วย 1 รอบของ 72 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที อ่านผลการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม โดยการแยกขนาดของดีเอ็นเอด้วย 1.5 % agarose gel ร่วมกับ 1 ส่วนของ Novel Juice (GeneDirex®) อ่านผลแถบสารพันธุกรรมด้วยเครื่องแยกแถบดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ของวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส ที่ได้ถูกนำส่งไปวิเคราะห์ลำดับเบส ด้วยเครื่อง automate DNA sequencer (บริษัท MACROGEN) ทำการวิเคราะห์

ลำดับเบสที่ได้ด้วยโปรแกรม GENE Scan, โปรแกรม BioEdit และทำการ Blast ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ด้วย http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

ผลการศึกษา

จากการตรวจร่างกายปลาป่วยพบแผ่นปิดเหงือกเปิดอ้าออกและเนื้อเยื่อเหงือกผิดรูป และผลการทำสไลด์เปียกของตัวอย่างเหงือกพบพยาธิใบไม้ชนิด *Dactyrogyrus* spp. ที่ระดับความรุนแรงแตกต่างกันโดยพบมากที่สุดที่ประมาณ 30-40 ตัวต่อภาพกำลังขยาย 40 เท่า (6/6) (รูปที่ 1) และพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ชนิด *Centrocestus* spp. (4/6) ที่ซี่เหงือกโดยมีลักษณะเป็นเซลล์รูปไข่มีถุงหุ้มใสชั้นเดียวพบกระจายตัวทั้งส่วนปลายและส่วนกลางของซี่เหงือก (รูปที่ 2A) ที่ระดับความรุนแรงแตกต่างกันโดยพบมากที่สุดที่จำนวน 20-25 ตัวต่อภาพกำลังขยาย 40 เท่า (2/4) และพบที่จำนวน 3-5 ตัวต่อภาพกำลังขยาย 40 เท่า (2/4) โดยผลทางจุลพยาธิวิทยาพบสภาวะการเพิ่มจำนวนของกระดูกอ่อนบริเวณซี่เหงือก ล้อมรอบตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ พบการเสียรูปของซี่เหงือกและกิ่งเหงือก (รูปที่ 2B) นอกจากนี้ยังพบสภาวะเลือดคั่งที่บริเวณเหงือก (gill congestion) ผลการชันสูตรซากปลาไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายใน และผลการศึกษา

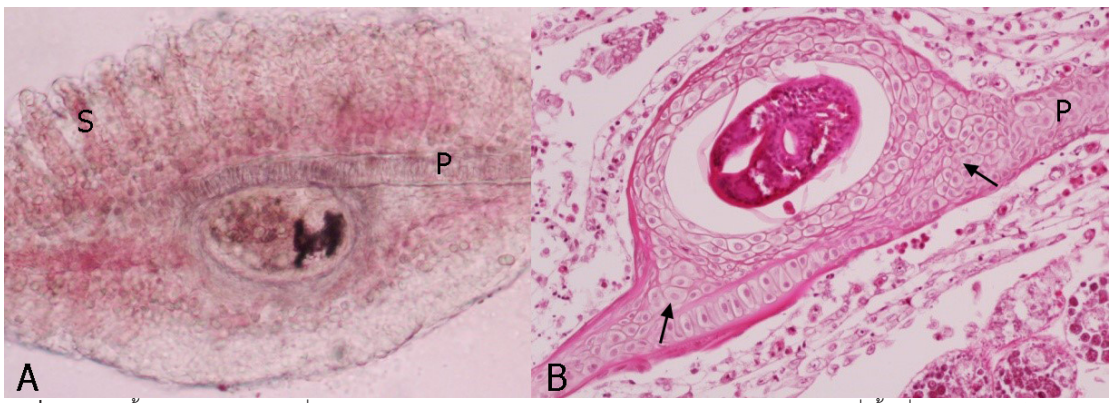


รูปที่ 1 แสดงพยาธิใบไม้ *Dactyrogyrus* spp. จากตัวอย่างเหงือกของปลาทองที่กำลังขยาย 40 เท่า (ลูกศรชี้) ภาพขยายด้านบนซ้ายที่กำลังขยาย 100 เท่า

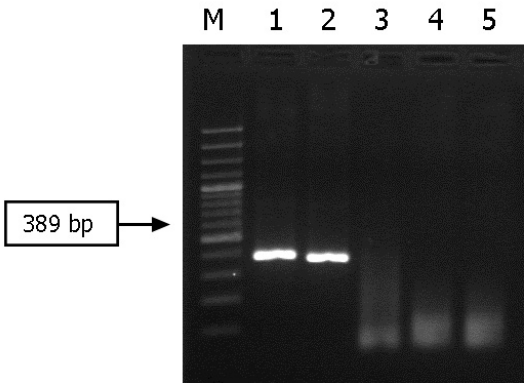
ทางอณูชีววิทยาด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสพบว่าปลาป่วยให้ผลบวกกับ *Centrocestus* spp. ที่ผลิตภัณฑ์ 389 คู่เบส โดยเปรียบเทียบกับจีโนมิกดีเอ็นเอของเชื้อ *Ichthyophthirius multifiliis* ซึ่งเป็นเชื้อพยาธิภายนอกที่พบได้บ่อยโดยสามารถก่อโรคได้ในเหงือกของปลาทอง ผลดังรูปที่ 3

การรักษา

ทำการรักษาปลาป่วยด้วยยาพราซิควอนเทล (praziquentel) ขนาด 5 พีพีเอ็ม โดยให้วิธีละลายน้ำทุก 3 วัน จำนวน 3 ครั้ง ร่วมกับการใช้ยาปฏิชีวนะ



รูปที่ 2 แสดงเชื้อตัวอ่อนพยาธิใบไม้ที่เหงือกของปลาทอง A: ภาพสไลด์เปียกแสดงระยะเมทตาเซอร์คาเรียที่เนื้อเยื่อเหงือกโดยเห็นลักษณะใสรอบตัวพยาธิโฮสต์ (X400) B: ภาพทางจุลพยาธิวิทยาของซีสต์ของระยะเมทตาเซอร์คาเรียของพยาธิ *Centrocestus* spp. ที่ส่วนซี่เหงือก (Primary lamellar ; p) ของเหงือกร่วมกับการเพิ่มขึ้นของกระดูกอ่อน (Cartilage proliferation; ลูกศร) (H&E, X400) s = Secondary lamellar



รูปที่ 3 แสดงตัวอย่างผลการตรวจด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสของปลาทองป่วย (M = 100 bp DNA marker, 1-2 = ตัวอย่างเหงือกจากปลาทองป่วย, 3= ตัวอย่างเหงือกจากปลาทองปกติ, 4= ตัวอย่างเหงือกจากปลาทองที่ติดเชื้อ *Ichthyophthirius multifiliis*, 5 = Negative control (น้ำกลั่น))

เอ็นโรฟล็อกซาซินขนาด 2 พีพีเอ็ม โดยให้วิธีละลายน้ำวันละครั้งติดต่อกัน 5 วัน (Noga, 2010: 375-420) และในวันที่ 4 ของการศึกษาพบปลาตายจำนวน 2 ตัว โดยเป็นปลาที่พบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ชนิด *Centrocestus* spp. มากที่สุด อย่างไรก็ตามไม่ได้ทำการผ่าชันสูตรซากเนื่องจากซากปลาเริ่มเน่า และในวันที่ 7 ของการศึกษาตรวจไม่พบพยาธิชนิด *Dactyrogyrus* spp. จากการเก็บตัวอย่างเหงือกและส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่านคิดเป็นร้อยละ 100 (8/8) แต่ยังคงพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิใบไม้ชนิด *Centrocestus* spp. อยู่ในระดับใกล้เคียงกับการตรวจครั้งแรก (2/8)

สรุปและวิจารณ์ผล

พยาธิใบไม้ที่ก่อโรคในปลาน้ำจืดชนิดที่พบได้บ่อยคือปลิงใส ซึ่งเป็นพยาธิภายนอกที่ผิวหนังและเหงือก การตรวจวินิจฉัยสามารถทำได้ง่ายด้วยการเก็บตัวอย่างเมือกที่ผิวหนังหรือเนื้อเหงือก และทำสไลด์เปียกส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงส่องผ่าน ส่วนการรักษาพยาธิจะตอบสนองต่อการรักษาด้วยสารเคมีหลายชนิด เช่น ฟอร์มาลิน ยาฆ่าแมลงกลุ่มออกาโนฟอสเฟต และยาพราซิควอนเทล เป็นต้น โดยการรักษาควรคำนึงถึงวงจรชีวิต การออกฤทธิ์ของยา สิ่งแวดล้อม และตัวสัตว์ เป็นต้น ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ายาพราซิควอนเทลสามารถควบคุมพยาธิชนิด *Dactyrogyrus* spp. ได้ดี โดยตรวจไม่พบในวันสุดท้ายของการศึกษา อย่างไรก็ตาม สัตวแพทย์ควรติดตามและหรือดำเนินการรักษาอีกครั้งในอีก 2 สัปดาห์เนื่องจากอาจมีตัวอ่อนที่หลงเหลืออยู่ในสิ่งแวดล้อม (Noga, 2010: 128-129) นอกจากนี้สัตวแพทย์ควรให้คำแนะนำต่อเจ้าของปลา ในเรื่องการตรวจวินิฉัยโรคและหรือวิธีการกักโรคสำหรับปลาใหม่ เนื่องจากพยาธิใบไม้ชนิดนี้สามารถพบได้บ่อยในร้านขายปลาสวยงาม

ตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ที่ฝังในซี่เหงือก พบจากการตรวจด้วยการทำสไลด์เปียกและวิธีทางจุลพยาธิวิทยา โดยจะพบตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรีย มีลักษณะคล้ายถุงซีสต์รูปไข่ฝังตัวที่ส่วนปลายและส่วนกลางของซี่เหงือก อาจพบที่ส่วนกระดูกเหงือก (Noga, 2010: 220-222) การฝังตัวของตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียที่เนื้อเยื่อเหงือก จะทำให้เกิดสภาวะการเพิ่มขึ้นของเซลล์กระดูกอ่อนส่งผลให้เกิด cartilagenous capsule ซึ่งมีลักษณะเป็นถุงหุ้มหนารอบตัวอ่อนของพยาธิ อาจพบการอักเสบร่วมเมื่อมีการติดเชื้อจำนวนมาก เหงือกจะไม่สามารถทำงานได้และจะส่งผลต่อการสูญเสียการแลกเปลี่ยนออกซิเจน โดยลักษณะความผิดปกติภายนอกที่พบคือการเปิดอ้าของแผ่นปิดเหงือกและการพบเนื้อเยื่อเหงือกเสียหาย และส่งผลให้ปลาตายในที่สุด (Velez-Hernandez et al., 1998) จากการศึกษาด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสพบว่า เป็นพยาธิใบไม้ในตระกูล *centrocestus* ส่วน Dzikowski et al (2004) รายงานการตรวจวินิจฉัยเพื่อแยกสปีชีส์ของพยาธิใบไม้ตระกูล *centrocestus* ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสร่วมกับเอนไซม์ตัดเฉพาะ (endonuclease restriction enzyme) พยาธิใบไม้ในตระกูล *centrocestus* อยู่ไฟลัม plathelminthes ชั้น trematoda มีวงชีวิตหลายระยะ คือ radia, cercaria, encysted metacercariae, excysted metacercariae และตัว

เต็มวัย (Hernandez et al., 2003)

มีรายงานว่าตัวอ่อนของ *C. formosanus* ที่เหงือกทำให้เกิดการป่วยและการตายเป็นจำนวนมากในปลาธรรมชาติและปลาเพาะเลี้ยงในหลายประเทศ เช่น ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Scholtz & Salgado 2000; Mitchell et al., 2005) และมีรายงานในประเทศอิสราเอลเป็นสาเหตุการตายในปลาที่เลี้ยงเป็นจำนวนมาก (Paperna, 1991; Dzikowski et al., 2004) การนำเข้าปลาที่มีเชื้อเป็นปัญหาที่ก่อให้เกิดการระบาดที่สำคัญ โดยในประเทศสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1950 มีการนำเข้าปลาจากเกาะฮาวายต่อมาในปี ค.ศ. 1980 มีรายงานปลาตายที่เกิดการติดพยาธิใบไม้ที่เหงือกในปลาหลายชนิดตามมา ต่อมาในปี ค.ศ. 1990 พบรายงานการเกิดโรคในปลาแม่น้ำหลายสายในรัฐเท็กซัส ประเทศสหรัฐอเมริกา จนทำให้ปลาพื้นถิ่นตายเป็นจำนวนมาก และยังพบการก่อโรคในกบนาโดยพบเมตาเซอร์คาเรียที่ส่วนผนังของลำไส้และกล้ามเนื้อ ส่วนในประเทศไทยมีรายงานการสำรวจพบการติดพยาธิใบไม้ *C. caninus* ในปลาตะเพียนทราย จากอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (อนวัทย์ ผาลี และคณะ, 2552) บริเวณอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่ (กิ่งกานต์ บุญโชติ และคณะ, 2545) และบางท้องที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ เขื่อนลำตะคอง จังหวัดนครราชสีมา เขื่อนลำปาว จังหวัดกาฬสินธุ์ เขื่อนน้ำอูน และบึงหนองหาน จังหวัดสกลนคร (วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล, 2554) แต่ยังไม่พบรายงานการระบาดที่ทำให้เกิดการตายเป็นจำนวนมาก เนื่องจากการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามในบางท้องที่ของประเทศไทย ยังคงมีการเพาะเลี้ยงในบ่อดินหรือในธรรมชาติ จึงมีความเป็นไปได้ว่าอาจพบโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ *Centrocestus* ซึ่งสอดคล้องกับการสำรวจพบพยาธิดังกล่าวในประเทศไทย เมื่อมีการนำปลาสวยงามที่มีเชื้อดังกล่าวมาจำหน่ายจึงอาจส่งผลเสียต่อผู้เลี้ยงปลาหรือผู้จำหน่ายปลา เนื่องจากการติดเชื้อตัวอ่อนของพยาธิดังกล่าวในปลาไม่มีวิธีในการรักษา การป้องกันโรคในฟาร์มจึงเป็นสิ่งที่ควรให้ความสำคัญ

สำหรับการรักษาและควบคุมการก่อโรคของตัวอ่อนของ *Centrocestus* spp. ระยะเมตาเซอร์คาเรียเป็นไปได้ยากเนื่องจากมีโฮสต์หลายชนิดเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งโฮสต์กึ่งกลางของพยาธิใบไม้ที่เหงือกปลา คือ หอยชนิด redrim melania (*Melanoides tuberculatus*) แต่ในประเทศเม็กซิโกพบว่าหอยชนิด thiarid snail (*Thiara tuberculata*) เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งของพยาธิ *C. formosanus* (Mitchell et al., 2000) โดยตัวอ่อนพยาธิระยะ cercaria จากโฮสต์กึ่งกลางตัวที่หนึ่งจะเจาะเข้าสู่โฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง โดยมีรายงานปลาน้ำจืดมากถึง 59 ชนิด ทั้งปลาในธรรมชาติและปลาเพาะเลี้ยง เช่น ปลาในกลุ่ม centrarchid กลุ่ม cichlid กลุ่ม cyprinid กลุ่ม cyprinodontid และกลุ่ม poecilid ที่เป็นโฮสต์กึ่งกลางตัวที่สอง (Aguilar-Aguilar et al., 2009; Bogéa, et al. 2005) ในระยะตัวเต็มวัยของพยาธิ *centrocestus* จะอยู่ในทางเดินอาหารของนกกินปลาหรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mitchell et al., 2005) ในประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่านกยางเขียว (*Butorides virescens*) และนกยางโทนใหญ่ (Ardea alba) เป็นโฮสต์สุดท้ายของพยาธิชนิดนี้ (Scholz & Salgado-Maldonado, 2000) เมื่อปลามีการติดเชื้อการใช้ยาและสารเคมีมักไม่ค่อยได้ผลเนื่องจากเหงือกเป็นอวัยวะที่บอบบาง ดังนั้นแนวทางการป้องกันที่ดีคือการกำจัดหอยซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางแรก โดยใช้น้ำที่มีอุณหภูมิมากกว่า 50 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที หรือสารเคมี เช่น quaternary ammonium ขนาด 10 พีพีเอ็ม นาน 24 ชั่วโมง กับอุปกรณ์ต่างๆ อย่างไรก็ตามหอยมีแผ่นปิดเหงือกซึ่งสามารถป้องกันตัวเองจากสารเคมีและความเค็ม ยาที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพกำจัดหอยคือ Bayluscide® (Noga, 2010: 220-222)

พยาธิใบไม้ก่อให้เกิดอันตรายได้ในปลาน้ำจืดทั่วไป โดยเฉพาะหากมีการติดเชื้อกับอวัยวะที่มีความสำคัญคือเหงือก ก็อาจส่งผลทำให้ปลาตายได้ ถึงแม้ว่าในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการระบาดของพยาธิ *Centrocestus* spp. ที่ทำให้เกิดปลาตายจำนวนมาก การเฝ้าระวังและระบบการป้องกันโรคในการเพาะเลี้ยงปลาก็ควรมีการทำอย่างสม่ำเสมอ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณณัฐพงศ์ วังใน นักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการชันสูตรซากในการเตรียมสไลด์เนื้อเยื่อ

เอกสารอ้างอิง

วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล. (2554). การสำรวจชนิดของปลาที่ติดพยาธิใบไม้ระยะเมตาเซอร์คาเรียจากบางท้องที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง, 5(2), 75-86.

กิ่งกานต์ บุญโชติ กานดา ค้ำชู ชโลบล วงศ์สวัสดิ์ และ สบชัย สุวัฒนคุปต์. (2545). การสำรวจเมตาเซอคาเรียในปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus*) จากเขื่อนแม่งัดสมบูรณ์ชล จังหวัดเชียงใหม่. การประชุม วทท. ครั้งที่ 28 ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพฯ, 401. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อนวัทย์ ผาลี ชโลบล วงศ์สวัสดิ์ พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์ และ สุขสรรค์ ชูบุญ. (2552). อัตราการติดพยาธิใบไม้ *Centrocestus caninus* (Leiper.1913) ในปลาตะเพียนทราย จากอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา, 4(2).

อรัญญา พลพรพิสิฐ ศักดิ์ชัย โตภาณุรักษ์ มงคล เตชะกำพุ และ จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์. (2548). พยาธิภายนอกที่พบในปลาหางนกยูงส่งออกและแนวทางการพัฒนาคุณภาพ. เวชสารสัตวแพทย์, 35(1);59.

Aguilar-Aguilar, R., Martínez-Aquino, A., Pérez-Rodríguez, R., Pérez-Ponce de León G. (2009). Digenea, Heterophyidae, *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) metacercariae: distribution extension for Mexico, new state record, and geographic distribution map. Check List, 5, 357-359.

Dzikowski, R., Levy, M.G., Poore, M.F., Flowers, J.R., Paperna, I. (2004). Use of rDNA polymorphism for identification of Heterophyidae infecting freshwater fishes. Diseases of aquatic organisms, 59, 35–41.

Bogéa, T., Cordeiro, F.M., Gouveia, J.S. (2005). *Melanoides tuberculatus* (Gastropoda: Thiaridae) as intermediate host of Heterophyidae (Trematoda: Digenea) in Rio de Janeiro metropolitan area, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 47, 87-90.

Hernandez, L.E., Díaz, M.T., Bashirullah, A. (2003). Description of different developmental stages of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) (Digenea: Heterophyidae). Revista Científica, 13, 285-292.

Mitchell, A.J., Overstreet, R.M., Goodwin, A.E., Brandt, T.M. (2005). Spread of an exotic fish-gill trematode: a far-reaching and complex problem. Fisheries, 30, 11-16.

Mitchell, A.J., Salmon, M.J., Huffman, D.G., Goodwin, A.E., Brandt, T.M. (2000). Prevalence and pathogenicity of a heterophyid trematode infecting the gills of an endangered fish, the Fountain Darter, in two central Texas spring-fed rivers. Journal of Aquatic Animal Health, 12, 283-289.

Mohan, C.V., Shankar, K.M., Ramesh, K.S. (1999). Mortalities of juvenile common carp, *Cyprinus carpio* associated with larval trematode infection-a case study. Journal of Aquaculture in the Tropics, 14, 137-142.

Noga, E. J. (2010). Fish Disease: Diagnosis and Treatment. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.

Ortega, C., Fajardo, R., Enríquez, R. (2009). Trematode *Centrocestus formosanus* infection and distribution in ornamental fishes in Mexico. Journal of Aquatic Animal Health, 21, 18-22.

Paperna, I., (1991). Diseases caused by parasites in the aquaculture of warm water fish. Annual Review of Fish Diseases, 1, 155–194.

Scholz, T., Salgado-Maldonado, G. (2000). The introduced and dispersal of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) (Digenea: Heterophyidae) in México: a review. American Midland Naturalist, 143, 185-200.

Velez-Hernandez, E.M., Constantino-Casas, F., Garcia-Marquez, L.J., Osorio-Sarabia, D. (1998). Gill lesions in common carp, *Cyprinus carpio* L., in Mexico due to the metacercariae of *Centrocestus formosanus*. Journal of Fish Diseases, 21, 229-232.