



แบบรายงานการวิจัยและการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์

เสนอ สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

รหัสโครงการวิจัย PRP6305030580

แผนงานวิจัยเรื่อง

การศึกษาเพื่อการวางแผน การควบคุมและป้องกัน โรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในโคเนื้อและ  
โคนม โดยใช้โมเดลการศึกษาในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

คณะผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมรรัตน์ เกิดแก้ว เกริ่นซ์	คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศกร มาตย์วิเศษ	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พันทิพย์ ปิยะทัศนานนท์	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
สัตวแพทย์หญิง ดร.ชมพูนุท ว่างบุญ	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ดร.วรรษิกา ผดุงศิลป์	คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ดร.มณฑนา แจ่มกลาง	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ดร.ศิริลักษณ์ ชุมเขียว	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
นายสัตวแพทย์ รุชติโรจน์ จิโรจน์วงศ์	สำนักงานปศุสัตว์เขต ๓ กรมปศุสัตว์
แพทย์หญิง รวิปรียา ภูมิโคกรักษ์	โรงพยาบาลสิคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

คลังเตอร์สัตว์เศรษฐกิจ ปีงบประมาณ 2563

## แผนงานวิจัย

### ชื่อแผนงานวิจัย

(ภาษาไทย) การศึกษาเพื่อการวางแผน การควบคุมและป้องกัน โรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในโคเนื้อและโคนม โดยใช้โมเดลการศึกษาในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

(ภาษาอังกฤษ) Study for planning, control, and prevention of liver fluke infection (*Fasciola gigantica*) in beef cattle and dairy cattle by using educational model in Pak Chong district, Nakhon Ratchasima province

### โครงการย่อยที่ 1

#### ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) การศึกษาระบาดวิทยาในระดับโมเลกุลและความหลากหลายทางพันธุกรรมของพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* ในโคเนื้อ โคนม และโฮสต์ตัวกลางของพยาธิ ในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

(ภาษาอังกฤษ) Molecular epidemiology and genetic variation of *Fasciola gigantica* concising in the beef cattle and dairy cattle and parasitic-intermediate host in Pak Chong district, Nakhon Ratchasima province

### โครงการย่อยที่ 2

#### ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) การจัดการเชิงพื้นที่ในการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในโคเนื้อ โคนม และมนุษย์ ด้วยเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ พื้นที่ศึกษา อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

(ภาษาอังกฤษ) Spatial management for prevention and control the liver fluke infection in beef cattle, dairy cattle, and human by applying Geoinformatics technology, study area Pak Chong district, Nakhon Ratchasima province

## กิตติกรรมประกาศ ( Acknowledgements)

แผนงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีจากการได้รับทุนอุดหนุนการพัฒนาการวิจัยการเกษตรจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (คลังเตอร์สัตว์เศรษฐกิจ) ประจำปีงบประมาณ 2563 ตามสัญญาเลขที่ PRP6305030580 และขอขอบพระคุณคณะสหเวชศาสตร์และคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในการสนับสนุนอุปกรณ์ สถานที่และเวลาในการทำงาน เพื่อให้คณะผู้วิจัยสามารถดำเนินงานได้อย่างคล่องตัว นอกจากนี้ขอขอบพระคุณผู้ทรงคุณวุฒิในการให้คำแนะนำสำหรับปรับปรุงและพัฒนางานวิจัย

ท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณผู้ประสานงานในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา เจ้าหน้าที่สำนักงานปศุสัตว์เขต 3 และเจ้าหน้าที่โรงพยาบาลสัตว์ จังหวัดนครราชสีมา ที่สละเวลาและอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างงานและข้อมูลงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

## บทคัดย่อ

พื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา เป็นพื้นที่ที่มีการทำฟาร์มปศุสัตว์ที่เป็นโฮสต์จำเพาะของพยาธิใบไม้ *Fasciola gigantica* อยู่หลายชนิด เช่น โค กระบือ เป็นต้น โดยสัตว์เศรษฐกิจที่มีการเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในพื้นที่ดังกล่าว คือโคเนื้อและโคนม นอกจากปัจจัยด้านปศุสัตว์แล้ว ลักษณะทางภูมิศาสตร์ของอำเภอปากช่องซึ่งเป็นพื้นที่ราบสูงเชิงเขาและที่ราบลุ่มมีแหล่งน้ำขนาดเล็กใหญ่กระจายอยู่ทั่วไป มีความเหมาะสมต่อการแพร่พันธุ์ของหอยตัวกลางชนิดที่หนึ่งของพยาธิใบไม้ *F. gigantica* จึงทำให้มีโอกาสสูงที่พยาธิจะสามารถดำรงชีวิตแบบครบวงจรได้ การศึกษาวิจัยภายใต้แผนงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเชิงระบาดวิทยาโดยใช้การเก็บข้อมูลร่วมกับการศึกษาระดับโมเลกุลเพื่อให้ได้ข้อมูลทั้งเชิงภูมิศาสตร์และพฤติกรรม รวมถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของพยาธิและหอย เพื่อนำไปสู่การประยุกต์ระบบภูมิสารสนเทศที่จะสามารถใช้ในการประเมินความเสี่ยงของปศุสัตว์ในพื้นที่ต่อโอกาสการติดพยาธิต่อไปในอนาคต โดยการศึกษาด้านระบาดวิทยาได้ทำการเก็บตัวอย่างจากโคเนื้อและโคนมได้ทั้งสิ้น 231 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นตัวอย่างมูลสัตว์ จำนวน 201 ตัวอย่าง และตัวอย่างซีรัม จำนวน 231 ตัวอย่าง ซึ่งผลการตรวจพบความชุกการติดเชื้อพยาธิใบไม้ดับ *Fasciola spp.* จากการตรวจมูลสัตว์ ร้อยละ 5.97 และความชุกการติดเชื้อจากการตรวจซีรัม (seroprevalence) ร้อยละ 27.27 โดยโคเนื้อมียอตราการติดเชื้อสูงกว่าโคนม นอกจากนั้นปัจจัยอื่นที่ส่งเสริมการติดเชื้อคือลักษณะโรงเรือนและอาหาร ในส่วนของการศึกษาที่จะต่อยอดไปยังปีที่ 2 พบว่าหอยในพื้นที่มีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ *F. gigantica* ในระดับสูง (ทดสอบโดยวิธี PCR) และเมื่อได้นำข้อมูลความชุกการติดเชื้อของพยาธิใบไม้ *F. gigantica* ที่ตรวจพบจากมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนม โดยใช้การออกแบบฐานข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์ข้อมูลขั้นสูงเพื่อหาความสัมพันธ์เชิงตำแหน่งที่พบพยาธิใบไม้ดับและปัจจัยทางกายภาพต่างๆ โดยเฉพาะปัจจัยเชิงพื้นที่ รวมถึงปัจจัยที่มีผลกระทบเชิงพื้นที่ในระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ และใช้การวิเคราะห์แบบ Local Moran's I โดยมีการตรวจสอบค่า Outlier ของทุกตัวแปรก่อนทำการวิเคราะห์เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่เป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรฟาร์มโคในพื้นที่อำเภอปากช่อง ผลการศึกษาพบว่า การเลี้ยงโคด้วยระบบเปิด การปล่อยสัตว์หากินตามธรรมชาติ ที่ตั้งของฟาร์มโคที่มีระยะใกล้แหล่งน้ำในระยะห่างไม่เกิน 500 เมตร และฟาร์มโคที่ตั้งอยู่ใกล้กับฟาร์มที่พบพยาธิ ล้วนเป็นสาเหตุของการระบาดของพยาธิใบไม้ *F. gigantica* อย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาทำให้สามารถแนะนำเกษตรกรได้ว่า ควรมีการเลี้ยงโคโดยเฉพาะฟาร์มโคที่มีการติดเชื้อพยาธิใบไม้อย่างรุนแรงใช้ระบบการเลี้ยงโคแบบปิด ไม่ปล่อยโคให้ออกมาต็มน้ำหรือถ่ายมูลในบริเวณแหล่งน้ำธรรมชาติ รวมถึงการหลีกเลี่ยงการใช้หญ้าบริเวณแหล่งน้ำในพื้นที่เสี่ยงสูง อันได้แก่ ตำบลจันทึก ตำบลหนองสาหร่าย และตำบลคลองม่วง อำเภอปากช่อง นอกจากระบบการเลี้ยงที่ดีแล้ว เกษตรกรควรกำจัดพยาธิในโคทุกตัวอย่างถูกต้องและเหมาะสมตามคำแนะนำของกรมปศุสัตว์ โดยแนะนำให้เพิ่มการถ่ายพยาธิตัวแบนร่วมด้วย จากการสืบค้นข้อมูลเวชระเบียนของผู้ป่วยในเขตอำเภอปากช่อง ช่วง 10 ปีย้อนหลัง ไม่พบข้อมูลรายงานการติดเชื้อพยาธิใบไม้ *F. gigantica* ในคนในเขตอำเภอปากช่อง อันอาจเนื่องมาจากการวินิจฉัยโรคเชื้อพยาธิชนิดนี้ในคนมีความซับซ้อนและต้องการผู้เชี่ยวชาญในการวินิจฉัยทำให้ผู้ป่วยที่มาด้วยอาการทางตับถูกส่งต่อไปยังโรงพยาบาลประจำจังหวัด



## Abstract

Pakchong district in Nakhon Ratchasima province is one of the most important livestock farming areas, especially for the definitive hosts of the liver fluke *Fasciola gigantica*, including cattle and buffalo. The most common livestock in this region are beef cattle and dairy cattle. The landscape of this region is mainly hilltop plateau with many water sources which are suitable for the development of the first intermediate host (snails) of *F. gigantica*. This study aims to survey the prevalence of *F. gigantica* infection in beef cattle and dairy cattle farmed in Pakchong district by formalin-ethyl acetate concentration and seroprevalence measurement by indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (indirect ELISA), and merging it with a geoinformation system to provide data on the risk of *F. gigantica* infection in this region. A total of 231 samples from beef cattle and dairy cattle were collected, consisting of 201 fecal samples and 231 serum samples. The prevalence (evaluated from fecal samples) of *Fasciola spp.* infection was 5.97% while the seroprevalence (evaluated from serum samples) reached 27.27%. The results reveal that the *Fasciola sp* infection in this area remains high. The beef cattle had higher prevalence than dairy cattle, due to their behavior and to the farming system. A preliminary study, by PCR, of freshwater snails of the family Lymnaeidae, explicitly known as a primary intermediate host of *F. gigantica*, showed a high incidence of *F. gigantica* infection. More collected samples are needed in the second year of this project. The database design for advanced data analysis in GIS was used to determine the spatial relationships of the presence of liver fluke and other physical factors. The study was performed using Local Moran's I analysis, where outliers of all variables were examined before the analysis process, to obtain actual representations. The study found that raising cows with an open system using food and water from natural sources, a short distance between the farms and water sources of less than 500 meters, and the location of the farms, are causes of fluke outbreaks in Pak Chong. The causations also affect roundworm outbreaks in this area. The results of the study suggest raising the cattle in a closed system, quarantining infected cattle, providing clean drinking water for cattle in high-risk areas, and avoiding feeding the cattle with grass collected from high-risk areas, including in Tambon Chan Thuck, Tambon Nong Sa Rai, and Tambon Klong Muang. Moreover, the farmers should give the appropriate medicines not only for roundworms, which are regularly used, but also for flatworms to all cattle following the advice of specialists of the department of livestock. In addition, in the last 10 years there has been no report of human fascioliasis in medical records in Pakchong district, due to the absence of specialists able to diagnose this complicated infection. Therefore, the patients have been transferred to the provincial hospital, causing the apparent non-occurrence of human fascioliasis patients in the records of the local hospital.

## สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	3
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	4
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	5
สารบัญตาราง	7
สารบัญภาพ	8
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	10
บทนำ	11
วิธีดำเนินการวิจัย	
โครงการวิจัยย่อยที่ 1	13
โครงการวิจัยย่อยที่ 2	18
ผลการวิจัย	
โครงการวิจัยย่อยที่ 1	31
โครงการวิจัยย่อยที่ 2	41
ข้อวิจารณ์	55
สรุปและข้อเสนอแนะ	57
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก	61

## สารบัญตาราง (List of Tables)

ตาราง	หน้า
1. แสดงไพรเมอร์สำหรับการระบุสายพันธุ์ของหอยด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase chain reaction)	17
2. แสดงข้อมูลจากการสำรวจมูลโคบริเวณแหล่งน้ำที่ใกล้ฟาร์มโคในระยะ 500 เมตร	27
3. แสดงผลลัพธ์จากการคำนวณด้วย Local Moran's I	30
4. แสดงจำนวนตัวอย่างมูลสัตว์และเลือด (ซีรัม) ที่เก็บได้จากโคเนื้อและโคนม ในพื้นที่ 12 ตำบลของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา จำแนกตามชนิดของตัวอย่าง	32
5. แสดงจำนวนตัวอย่างมูลสัตว์และเลือด (ซีรัม) ที่เก็บได้จากโคเนื้อและโคนม ในพื้นที่ 12 ตำบลของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (จำแนกตามตำบล)	32
6. แสดงผลการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิในตัวอย่างมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนมและความชุกของการติดเชื้อ <i>Fasciola</i> spp. ด้วยวิธี formalin-ethyl acetate concentration method	34
7. แสดงผลการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิ <i>Fasciola</i> spp. ในตัวอย่างซีรัมของโคเนื้อและโคนม (seroprevalence)	36
8. แสดงจำนวนไข่ต่อมูลสัตว์ 1 กรัม (Egg per gram; EPG) ของมูลสัตว์ที่พบ <i>Fasciola</i> spp.-like egg	39
9. แสดงค่าการกระจุกตัวของข้อมูลพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	44
10. แสดงค่าสถิติจากการวิเคราะห์ Global Moran's I ของความสัมพันธ์เชิงพื้นที่และรูปแบบการกระจายตัวของข้อมูลพยาธิใบไม้ตับ ในอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา	46
11. แสดงหมู่บ้านที่อยู่ในพื้นที่เสี่ยงสูงจากโรคตับอักเสบที่เกิดจากพยาธิใบไม้ตับ <i>F. gigantica</i> ในอำเภอปากช่อง	57

## สารบัญภาพ (List of illustrations)

รูปภาพ	หน้า
1. การตั้งค่าพิกัดอ้างอิงของพื้นที่ศึกษาในโครงการวิจัย	18
2. Field ของข้อมูลตาราง Attribute ใน GIS ของกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษา	19
3. แผนที่แสดงตำแหน่งของฟาร์มที่ทำการเก็บข้อมูลแบ่งตามประเภทโคเนื้อและโคนม	21
4. คลิปสอนการสร้าง Google Account	22
5. คลิปสอนการสร้างและใช้งาน Google Drive	22
6. คลิปสอนการสร้างและใช้งาน Google Forms	22
7. คลิปสอนการสร้างและใช้งาน Google Sheets	22
8. คลิปสอนการสร้างและใช้งาน Google Maps	23
9. ชื่อไฟล์สื่อการสอน ชนิดของไฟล์ และขนาดของไฟล์	23
10. คู่มือการเผยแพร่ข้อมูล GIS บนเว็บไซต์ (คู่มือฉบับสมบูรณ์อยู่ในภาคผนวก)	24
11. ข้อมูลตัวอย่างการนำเข้าข้อมูลฟาร์มและค่าพิกัดอ้างอิงเพื่อทำการวิเคราะห์ใน GIS	25
12. แสดงเครื่องอ่านค่าพิกัดสัญญาณดาวเทียมจีพีเอส ยี่ห้อ GARMIN รุ่น eTrex 32x ที่ใช้ในการระบุค่าพิกัดเชิงตำแหน่งในการสำรวจข้อมูลเชิงพื้นที่ในพื้นที่ศึกษา	26
13. เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์การกระจายตัวของพยาธิโคเนื้อโคนม	28
14. แสดงตำแหน่งการกระจายตัวของฟาร์มโคเนื้อและโคนมในพื้นที่ 12 ตำบล ของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา จากข้อมูลของสำนักงานปศุสัตว์เขต 3 ปี พ.ศ. 2561 (จุดสีแดง)	31
15. แสดงข้อมูลเชิงระบาดวิทยาของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ <i>F. gigantica</i> ในโคเนื้อและโคนมในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา	38
16. แสดง PCR products สังเคราะห์ด้วย <i>Radix rubiginosa</i> specific primers (ขนาด 192 bp) แยกด้วยกระแสไฟฟ้าบน 1% agarose gel electrophoresis (M = 100 bp plus marker, ThermoScientific, USA; 1-4 = แสดงตัวอย่างหมายเลข 1-4)	40
17. แสดง PCR products ที่สังเคราะห์ด้วย <i>F. gigantica</i> Tubulin specific primers (ขนาด 202 bp) บน 2% agarose gel electrophoresis (M = 100 bp plus marker, ThermoScientific, USA; NC = negative control; PC = positive control; 1-10 = แสดงตัวอย่างหมายเลข 1-10)	40
18. ภาพถ่ายดาวเทียมรายละเอียดสูงบริเวณพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา	41
19. แสดงตำแหน่งหมู่บ้านและขอบเขตตำบลต่างๆ ในอำเภอปากช่อง	42
20. แผนที่แสดงตำแหน่งหมู่บ้านและการใช้ประโยชน์ที่ดินในอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา	43
21. ลักษณะทางกายภาพของพื้นที่อำเภอปากช่องและตำแหน่งที่มีความชุกของการระบาดของพยาธิใบไม้ตับและพยาธิตัวกลม	44

22. ความชุกของพยาธิใบไม้ตับและบริเวณที่เสี่ยงต่อการระบาดอย่างรุนแรงในตำบลจันทึก อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา	45
23. แผนที่แสดงการกระจายตัวของพยาธิชนิดต่างๆ ที่พบจากฟาร์มโคบริเวณที่ลุ่มๆ ใน อ.ปาก ช่อง จ.นครราชสีมา	47
24. กราฟแสดง Spatial auto-correlation ของผลการตรวจพบพยาธิต่างๆ ในพื้นที่ศึกษา	47
25. การเลี้ยงโคแบบเปิดและตำแหน่งของฟาร์มที่พบพยาธิใน ต. จันทึก อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา	48
26. การเลี้ยงโคแบบเปิดและตำแหน่งของฟาร์มที่พบพยาธิใน ต. หนองสาหร่าย อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา	49
27. การเลี้ยงโคแบบเปิดและตำแหน่งของฟาร์มที่พบพยาธิใน ต. คลองม่วง อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา	50
28. ระบบการเลี้ยงโคและการตรวจพบพยาธิใน ต. พญาเย็น ต. กลางดง ต. ปากช่อง อ. ปากช่อง จ.นครราชสีมา	51
29. ระบบการเลี้ยงโคและการตรวจพบพยาธิใน ต. วังกะทะ อ. ปากช่อง จ.นครราชสีมา	52
30. แสดงแหล่งน้ำที่ใช้เลี้ยงโคและการแสดงผลการพบพยาธิในฟาร์มโค ใน อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา	53

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (List of Abbreviations)

คำย่อ	คำเต็ม
µl	Microliter
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
EPG	Egg per gram
<i>F. gigantica</i>	<i>Fasciola gigantica</i>
GIS	Geographic information system
IgG1	Immunoglobulin G isotype 1
ITS1	Internal transcribed spacer 1
ITS2	Internal transcribed spacer 2
mtDNA	Mitochondrial DNA
nad1	NADH dehydrogenase 1
NSS	Normal saline solution
PBS	Phosphate buffered saline
PBS-T	Phosphate buffered saline with tween
PCR	Polymerase chain reaction
rDNA	Ribosomal DNA
TMR	Total mixed ration (complete diet)
xg	Times gravity

## บทนำ (Introduction)

พยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* เป็นปรสิตของสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด อาทิ โคเนื้อ โคนม กระบือ แพะ และแกะ โดยพยาธิตัวเต็มวัยอาศัยอยู่ในเนื้อตับและท่อน้ำดีขนาดใหญ่ภายในตับของสัตว์ ส่งผลให้สัตว์เกิดอาการป่วย โดยหากมีปริมาณของเชื้อปรสิตไม่มากอาจไม่แสดงอาการใดๆ แต่หากมีปริมาณมากจะทำให้สัตว์ป่วยจนอาจเสียชีวิตได้ ผลกระทบที่มักพบหากสัตว์ติดเชื้อปรสิตดังกล่าวไม่เพียงแต่ผลกระทบต่อสุขภาพของสัตว์เท่านั้น แต่นำไปสู่การสูญเสียผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่ติดเชื้อปรสิตด้วย เช่น ส่งผลต่อการผลิตน้ำนมของโคนม ทำให้ปริมาณและคุณภาพของน้ำนมที่ผลิตได้ลดลง หรือหากพบในโคเนื้อจะทำให้สัตว์ผอม และมีปริมาณของกล้ามเนื้อลดลงเช่นเดียวกัน แม้ว่าในปัจจุบันจะมีการแนะนำปศุสัตว์ให้มีการให้ยาเพื่อป้องกันการติดเชื้อ (prophylactic agent) ในสัตว์เหล่านี้ ส่งผลให้อัตราการติดเชื้อลดลง แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาว่าการให้ยาดังกล่าวลดการติดเชื้อได้มากน้อยเพียงใด และมีความไม่สม่ำเสมอของการให้ยาเพื่อป้องกันการติดเชื้อ อีกทั้งมีการรายงานว่า การให้ยาในลักษณะนี้อาจนำไปสู่ปัญหาการดื้อยาได้ในอนาคตดังเช่นที่พบในหลายประเทศ โดยเฉพาะในแถบอเมริกาใต้ ดังนั้นการควบคุมโดยวิธีอื่นน่าจะมีความจำเป็นมากกว่า การให้ยาในสัตว์ เช่น การได้รับการตรวจวินิจฉัยในระยะแรกเริ่มของการติดเชื้อ (early diagnosis) ซึ่งจะนำไปสู่การให้ยาเฉพาะสัตว์ที่ติดเชื้อน่าจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมเพื่อลดความรุนแรงของโรคและลดอัตราการดื้อยาที่อาจจะเกิดขึ้น อย่างไรก็ตามไม่ว่าจะเป็นการพัฒนาวัคซีนหรือการพัฒนาชุดตรวจวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพ จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องข้อมูลในเชิงระบาดวิทยาซึ่งจะทำให้ทราบถึงจำนวนของสัตว์ที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ ปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งเสริมการติดเชื้อ เช่น อาหาร แหล่งน้ำ และภูมิประเทศ ซึ่งจะนำไปสู่การวิเคราะห์และหาต้นตอของการติดเชื้อของสัตว์ เพื่อให้พบการติดเชื้อในระยะเริ่มแรกได้อย่างแม่นยำมากขึ้น รวมถึงจะสามารถต่อยอดสู่การศึกษาหาเป้าหมายในระดับโมเลกุลต่อไป สำหรับข้อมูลการสำรวจในประเทศไทยนั้น พบว่าในปี พ.ศ. 2549 (ค.ศ. 2006) นั้นมีอัตราการติดเชื้อปรสิตสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องนับจากปีที่เริ่มทำการสำรวจ แต่ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานการศึกษาในประเทศไทย ทำให้ไม่ทราบถึงจำนวนสัตว์ที่ติดเชื้ออย่างแท้จริง ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการรายงานผลการสำรวจเพื่อต่อยอดการวิจัยในแผนการวิจัยนี้ โดยการศึกษาในครั้งนี้จะทำการศึกษาระบาดวิทยาของการติดเชื้อปรสิต *Fasciola gigantica* ในพื้นที่ของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมาและพื้นที่ใกล้เคียง เนื่องจากในพื้นที่ดังกล่าวมีการทำปศุสัตว์หลายชนิดที่เป็นโฮสต์จำเพาะ (definitive host) ของเชื้อปรสิต ทำให้มีโอกาสที่จะพบการระบาดในพื้นที่ได้สูง ประกอบกับสัตว์ที่มีการเลี้ยงในพื้นที่ล้วนเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทั้งสิ้น อาทิเช่น โคเนื้อ โคนม เป็นต้น ซึ่งหากพบการระบาดย่อมส่งผลกระทบต่อผลผลิตต่าง ๆ อย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ โดยทำการเก็บตัวอย่างทั้ง มูลสัตว์และเลือดของสัตว์ เพื่อใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อปรสิต และจะทำการเก็บตัวอย่างปรสิตจากสัตว์ที่ติดเชื้อ เพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมของเชื้อปรสิตที่พบเปรียบเทียบกับข้อมูลพันธุกรรมในฐานข้อมูลที่มีการรายงาน เมื่อได้ข้อมูลในเชิงระบาดวิทยาจากสัตว์ที่ติดเชื้อแล้ว จะทำการสำรวจต่อไปยังหอยซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางชนิดหนึ่งของพยาธิที่พบในแหล่งน้ำที่ใกล้เคียงกับแหล่งที่อยู่ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของสัตว์เหล่านั้นเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหอยซึ่งยังไม่มีรายงานในพื้นที่นี้มาก่อน และจะสามารถใช้เป็น

ข้อมูลในการควบคุมประชากรหอยและตั๊กแตนของปรสิตในอนาคต โดยจะสามารถนำข้อมูลทางระบาดวิทยาดังกล่าวผนวกเข้ากับข้อมูลด้านภูมิสารสนเทศเพื่อใช้พัฒนาการควบคุมป้องกันการติดเชื้อให้มีประสิทธิภาพต่อไป



## วิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods) โครงการย่อยที่ 1

### 1. พื้นที่ดำเนินการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาในพื้นที่ทั้ง 12 ตำบลของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดและมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนม ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2562 ถึงธันวาคม 2563

นอกจากนั้น ได้ทำการเก็บตัวอย่างหอยในวงศ์ (Family) Lymnaeidae ซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางชนิดที่หนึ่งของพยาธิ *F. gigantica* ในช่วงเดือน พฤศจิกายน ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2563 เพื่อต่อยอดสู่การวิจัยในปีที่สอง

### 2. การรับรองความปลอดภัยทางชีวภาพและจริยธรรมการวิจัยในสัตว์

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาระบาดวิทยาในระดับโมเลกุลและความหลากหลายทางพันธุกรรม ของพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* ในโคเนื้อ โคนม และโฮสต์ตัวกลางของพยาธิ ในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยมี ผศ.ดร.พงศกร มาตย์วิเศษ เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย ได้รับการรับรองความปลอดภัยทางชีวภาพ จากคณะกรรมการควบคุมความปลอดภัยทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (เลขที่ 125/2562) และได้รับการรับรองจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สำหรับการทดลองในโคเนื้อและโคนม (เลขที่ 025/2562) และได้รับการรับรองจรรยาบรรณการใช้สัตว์น้ำ สำหรับการทดลองในหอย (เลขที่ 027/2562) จากคณะอนุกรรมการจรรยาบรรณและติดตามโครงการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

### 3. กลุ่มตัวอย่างโคเนื้อและโคนม

การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดและมูลสัตว์จากโคเนื้อและโคนมในเขตพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งคำนวณขนาดตัวอย่าง (sample size) ที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาโดยอ้างอิงจำนวนปศุสัตว์ของอำเภอปากช่องจากรายงานของสำนักงานปศุสัตว์เขต 3 ในปี พ.ศ. 2561 โดยใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$n = \frac{Z^2 \left(\frac{\alpha}{2}\right) P(1 - P)N}{Z^2 \left(\frac{\alpha}{2}\right) P(1 - P) + Nd^2}$$

n = ขนาดตัวอย่าง (sample size)

Z = ค่าคะแนนมาตรฐานเมื่อกำหนดให้ระดับนัยสำคัญเท่ากับ  $\alpha$  (Z = 1.96)

$\alpha$  = ค่าความแปรปรวน กำหนดให้เท่ากับ 0.05

P = สัดส่วนตัวแปรที่สนใจต่อประชากร (P = 0.16; กรมควบคุมโรค, 2006)

N = จำนวนประชากรที่ต้องการศึกษา (จำนวนโคเนื้อและโคนมในอำเภอปากช่อง ปี 2561 = 89,227 ตัว)

d = ค่าความผิดพลาดสูงสุดระหว่างกลุ่มตัวอย่างและประชากร (0.01)

ดังนั้น กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้จะสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.05/2) (0.16) (0.84) (89,227)}{(1.96)^2 (0.05/2) (0.16) (0.84) + 89,227(0.01)^2}$$
$$n = 128.97$$

ดังนั้น ขนาดกลุ่มตัวอย่างที่เหมาะสมที่จะใช้ในการศึกษาค้างนี้ควรมีขนาดอย่างน้อยที่สุด 128 ตัวอย่าง (d = 0.01,  $\alpha$  = 0.05)

การศึกษาในโครงการนี้จึงได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่ครบทั้ง 12 ตำบลของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยจำนวนตัวอย่างของแต่ละตำบลจะขึ้นกับจำนวนและชนิดของปศุสัตว์ของตำบลนั้น ๆ โดยวางแผนทำการเก็บทั้งสิ้น 200 ตัวอย่าง แบ่งเป็นโคเนื้อ และโคนม อย่างละ 100 ตัวอย่าง

#### 4. การตรวจหาการติดเชื้อปรสิตจากตัวอย่างมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนม

ทำการเก็บตัวอย่างมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนม ในปริมาณประมาณ 10-20 กรัม จากการล้างทวาร จากนั้นนำมูลสัตว์ที่ได้มาตกตะกอนด้วยวิธีเข้มข้น (concentration method) ด้วย Formalin-ethyl acetate concentration method ซึ่งมีขั้นตอนโดยสังเขปดังนี้ นำตัวอย่างมูลสัตว์ ประมาณ 1 กรัม มาละลายใน 0.85% NaCl (NSS) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นทำการกรองผ่านผ้าก๊อซเพื่อกำจัดเศษตะกอนมูลสัตว์ เทมูลสัตว์ที่ผ่านการกรองแล้วใส่ลงในหลอด centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 ×g เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนบนทิ้ง จากนั้นทำการเติม 10% formalin ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ ethyl acetate ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 ×g เป็นเวลา 10 นาที แยกเทชั้นบนทิ้งไป จะได้ตะกอนมูลสัตว์ที่มีไข่พยาธิ นำตะกอนมูลสัตว์มาตรวจหาไข่พยาธิภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า และรายงานเชื้อปรสิตที่พบ โดยหากพบระยะไข่ (egg) จะรายงานเป็นจำนวน egg per gram (EPG) ด้วย และจะทำการยืนยันด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ Polymerase Chain Reaction; PCR ต่อไป

#### 5. การเก็บตัวอย่างเลือดและการตรวจหาการติดเชื้อในโคเนื้อและโคนมจากซีรัม

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากโคเนื้อและโคนมโดยสัตวแพทย์และเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ หน่วยพัฒนาสุขภาพและผลผลิตสัตว์ ปากช่อง ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในหลอดเก็บเลือดชนิดไม่มีสารกันเลือดแข็ง (S-Monovette®, SARSTEDT, Germany) จากนั้นนำเลือดมาปั่นแยกซีรัมด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 – 6,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และนำมาตรวจหาแอนติบอดีต่อ recombinant cathepsin L ของพยาธิใบไม้ *F. gigantica* ด้วยเทคนิค indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (indirect ELISA) (Grams, 2001; Raina, 2006; Sriveny, 2006; Gupta, 2015; Villa-Mancera, 2016)

เคลือบหลุมบน ELISA plate ด้วยรีคอมบิแนนท์โปรตีน *Fasciola gigantica* cathepsin-L (FgCat-L) ที่ความเข้มข้น 100 ng/100  $\mu$ l/หลุม ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลาหนึ่งคืน ล้าง ELISA plate ด้วย PBS-T (1x PBS, pH 7.2, 0.5% Tween 20) จำนวน 4 ครั้ง (แต่ละครั้งใช้ปริมาตรหลุมละ 400  $\mu$ l) จากนั้นใส่ blocking solution (1% BSA in 1x PBS, pH 7.2) หลุมละ 200  $\mu$ l และนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาล้างด้วย PBS-T จำนวน 4 ครั้ง และใส่ซีรัมตัวอย่างที่เจือจางด้วย 1xPBS ที่ dilution 1:400 ปริมาตร 100  $\mu$ l โดยมีใช้ fetal bovine serum เป็น negative control ที่ dilution เดียวกัน บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างด้วย PBS-T จำนวน 4 ครั้ง หลังจากนั้นเติม secondary antibody (sheep anti bovine IgG1 polyclonal antibody, Thermo Scientific™, USA) ที่ dilution 1:50,000 ปริมาตร 100  $\mu$ l บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วย PBS-T จำนวน 4 ครั้ง และใส่ TMB substrate (Thermo Scientific™, USA) ปริมาตร 100  $\mu$ l จากนั้นบ่มในที่ปลอดภัย อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที นำ ELISA plate ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

การแปลผลการทดสอบ คือ ถ้าค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมากกว่าหรือเท่ากับ 2 เท่าของค่าการดูดกลืนแสงของ negative control จะแปลผลเป็น positive (มีการสร้างแอนติบอดีต่อพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica*) และถ้าค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างน้อยกว่า 2 เท่าของค่าการดูดกลืนแสงของ negative control จะแปลผลเป็น negative (ไม่มีการสร้างแอนติบอดีต่อพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica*)

## 6. การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูลเชิงระบาดวิทยาของการติดเชื้อปรสิต

นอกจากการตรวจหาการติดเชื้อปรสิตในโคเนื้อและโคนมแล้ว ผู้วิจัยได้ทำการเก็บข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์ผลในเชิงระบาดวิทยาร่วมด้วย เช่น เพศ อายุ น้ำหนัก ลักษณะอาหารและน้ำ แหล่งที่มาของอาหาร และน้ำ วิธีการเลี้ยง ลักษณะฟาร์ม เป็นต้น เพื่อนำมาวิเคราะห์ให้เห็นความสอดคล้องของการติดเชื้อมีปัจจัยที่ส่งเสริมการติดเชื้อ โดยใช้โปรแกรมทางสถิติในการวิเคราะห์ ได้แก่ Prism GraphPad version 7 (GraphPad Software, Northside, CA, USA)

## 7. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพยาธิใบไม้ *F. gigantica* ที่พบในโคเนื้อและโคนม

ตัวอย่างมูลสัตว์ที่พบการติดเชื้อ *F. gigantica* จะถูกนำมาแยกเอาไข่พยาธิ โดยการตกตะกอนด้วยวิธีเข้มข้น (concentration method) ด้วย PBS-ethyl acetate concentration method มีหลักการเช่นเดียวกันกับการเตรียมตะกอนเพื่อการตรวจหาไข่พยาธิในมูลสัตว์โดยมีสารเคมีแตกต่างกันเล็กน้อย ซึ่งมีขั้นตอนโดยสังเขปดังนี้ นำตัวอย่างมูลสัตว์ ประมาณ 1 กรัม มาละลายใน 0.85% NaCl (NSS) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นทำการกรองผ่านผ้าก๊อซเพื่อกำจัดเศษตะกอนมูลสัตว์ เทมูลสัตว์ที่ผ่านการกรองแล้วใส่ลงในหลอด centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000  $\times$ g เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนบนทิ้ง จากนั้นทำการเติม PBS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ ethyl acetate ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000  $\times$ g เป็นเวลา 10 นาที แยกเทชั้นบนทิ้งไป จะได้ตะกอนมูลสัตว์ที่มีไข่พยาธิ

ทำการแยกไข่พยาธิเป็นใบเดี่ยว ๆ (single egg) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อนำไปสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด QIAamp® PowerFecal® DNA kit (QIAGEN, Germany) ซึ่งสำหรับการวิจัยในปีที่ 1 จะยังอยู่ระหว่างการเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสมและเพียงพอสำหรับการตรวจสอบความหลากหลายของพยาธิใบไม้ *F. gigantica* ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ (polymerase chain reaction; PCR) ต่อไป โดยจะใช้ ribosomal DNA (rDNA) internal transcribed spacer; ITS1 and ITS2 และ mitochondrial (mtDNA) *nad1* เป็นยีนเป้าหมายที่จะใช้ในการตรวจสอบซึ่งจะรายงานในรายงานการวิจัยปีที่ 2 ต่อไป

## 8. การศึกษาสายพันธุ์ของหอยซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางชนิดที่หนึ่งของพยาธิใบไม้ *F. gigantica*

สำหรับการศึกษาความหลากหลายของหอย *Lymnaeid* ในพื้นที่อำเภอปากช่องในปีที่ 1 ผู้วิจัยทำการเก็บตัวอย่างหอยจากแหล่งน้ำในพื้นที่ตำบลหนองสาหร่าย อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งพบการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* มากที่สุด จำนวน 60 ตัวอย่าง จากแหล่งน้ำ 5 แหล่ง เพื่อทำการตรวจสอบสายพันธุ์ของหอยและอัตราการติดเชื้อพยาธิ *F. gigantica* ในหอย โดยทำการเก็บตัวอย่างหอยจากนั้นทำการ snap freezing ด้วย liquid nitrogen และเก็บตัวอย่างหอยไว้ที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$

สำหรับการสกัด genomic DNA จากตัวอย่างหอยใช้หลักการ phenol chloroform เริ่มจากการนำตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  ออกมาพักไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการนำตัวอย่างหอยออกจากเปลือก จากนั้นตัดส่วนเท้าของหอยกรณีที่มีหอยตัวค่อนข้างใหญ่ หรือใช้หอยทั้งตัวกรณีที่มีขนาดเล็ก จากนั้นนำชิ้นส่วนของหอยที่ได้ใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 ml และเติม lysis buffer (50 mM Tris-Cl, pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM EDTA, 1% SDS, 200 ng/ $\mu\text{l}$ ) ปริมาตร 400  $\mu\text{l}$  และ 20.2 mg/ml proteinase K (ThermoFisher Scientific, Lithuania) ปริมาตร 4  $\mu\text{l}$  แล้วทำการตัดชิ้นส่วนของหอยให้มีขนาดเล็กประมาณ 2-3 mm หลังจากนั้นนำไป vortex เพื่อผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่  $55^{\circ}\text{C}$  นาน 2 ชั่วโมง โดย vortex ทุกๆ 15 นาที เมื่อครบ 2 ชั่วโมงแล้วทำการเติม saturated KCl 100  $\mu\text{l}$  เพื่อทำลายเมือกของหอยและเขย่าเบาๆ ให้ผสมกัน นำไปแช่ในน้ำแข็งนาน 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบที่ 12,000  $\times g$  เป็นเวลา 15 นาที ดูดเก็บส่วน supernatant ใส่หลอดใหม่ จากนั้นเติม phenol:chloroform:isoamylalcohol (25:24:1) ในอัตราส่วนการเติมสารต่อตัวอย่างเท่ากับ 1:1 เพื่อตกตะกอนโปรตีน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบที่ 12,000  $\times g$  เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดเก็บ supernatant ออกมาใส่หลอดใหม่และทำซ้ำจนครบสองรอบ แล้วเติม chloroform อัตราส่วน 1:1 นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบที่ 12,000  $\times g$  เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดเก็บ supernatant ออกมาใส่หลอดใหม่ หลังจากนั้นเติม isopropanol เพื่อตกตะกอน DNA ในอัตราส่วน 1:1 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบที่ 12,000  $\times g$  เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเท supernatant ทิ้ง เพื่อเก็บตะกอนของ DNA ทำการล้างตะกอนให้สะอาดโดยเติม 70% ethanol ปริมาตร 700  $\mu\text{l}$  นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบที่ 12,000  $\times g$  เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เทสารละลายและดูดน้ำทิ้งให้เหลือน้อยที่สุด ทิ้งให้ตะกอนแห้งสนิทเองประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อแห้งสนิทแล้วเติมน้ำกลั่น 100  $\mu\text{l}$  ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันบ่มที่  $4^{\circ}\text{C}$  ซ้ำมคืนให้ตะกอนละลาย หลังจากนั้นเติม 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  RNase A ปริมาตร 2  $\mu\text{l}$

ป่มที่ 37°C นาน 1 ชั่วโมงเพื่อทำลาย RNA และนำมาทดสอบเพื่อดูความบริสุทธิ์ของ genomic DNA และความเข้มข้น โดยการทำให้ 1% agarose gel electrophoresis และ Nanodrop spectrophotometer (ThermoScientific, USA) ตามลำดับ

ทำการระบุชนิดหอยและการติดเชื้อ *F. gigantica* โดยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase chain reaction หรือ PCR) โดยใช้ mitochondrial 16S ribosomal DNA ของหอย *Lymnaea* เพื่อระบุและแยกชนิดของตัวอย่างหอย โดยใช้ชุดน้ำยา PCR ของ GoTaq® Hot Start Colorless Master Mix (Promega, USA) ซึ่งใช้ primers ในการตรวจหาชนิดของหอย 3 ชนิดหลักที่พบในประเทศไทย ประกอบด้วย *Radix rubiginosa* (T1), *Radix swinhoei* (T2) และ *Austropeplea viridis* (T3) และตรวจการติดเชื้อ *F. gigantica* ในหอยโดยใช้ *F. gigantica* Tubulin specific primer (TU) ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์สำหรับการระบุสายพันธุ์ของหอยด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase chain reaction)

Primer name	Sequence
16S T1 FW	5'-TTTAATAAAGAATTTTCTGTCTTCTTTAAA-3'
16S T1 RV	5'-TCACAAAACCTTAATGTCCAGTGGAGTATTT-3'
16S T2 FW	5'-AAGAATAAAGAATTAACCTGTCTCTTTTTAAT-3'
16S T2 RV	5'-GTACAAAAATTAATGTCTTGAAAACTTA-3'
16S T3 FW	5'-TTTGTTAAAGAATTTTCTGTCTCTTTTTAGC-3'
16S T3 RV	5'-ATACAAAAAATGACATGTTTTTATG-3'
16S TU FW	5'-TGAAGCCTGGGCTCGTTTGGACCACAA-3'
16S TU RV	5'-GGTGAAGGCGAGGGTGAAGAATACTAA-3'

โดยในแต่ละหลอดประกอบไปด้วย GoTaq® Hot Start Colorless Master Mix (2X) ปริมาตร 10 µl, forward primer (10 pmol/µl) ปริมาตร 1 µl, reverse primer (10 pmol/µl) ปริมาตร 1 µl, DNA template 300 ng/µl และ Nuclease-Free Water ให้มีปริมาตรสุทธิ 20 µl โดยใช้อุณหภูมิแต่ละขั้นตอน ดังนี้ initial denaturation ใช้อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 4 นาที, denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลา 1 นาที, annealing ที่อุณหภูมิ 54°C เป็นเวลา 1 นาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 1 นาที ทำปฏิกิริยา PCR ทั้งหมด 35 รอบและ final extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 10 นาที

ตรวจสอบ PCR product โดยแยกด้วยกระแสไฟฟ้าบน 1% agarose gel electrophoresis สำหรับการระบุสายพันธุ์ของหอยและ 2 % agarose gel electrophoresis สำหรับตรวจสอบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ *F. gigantica* โดยการวิเคราะห์ขนาดของ PCR product และ DNA sequencing (Solgent, Republic of Korea)

## วิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods) โครงการย่อยที่ 2

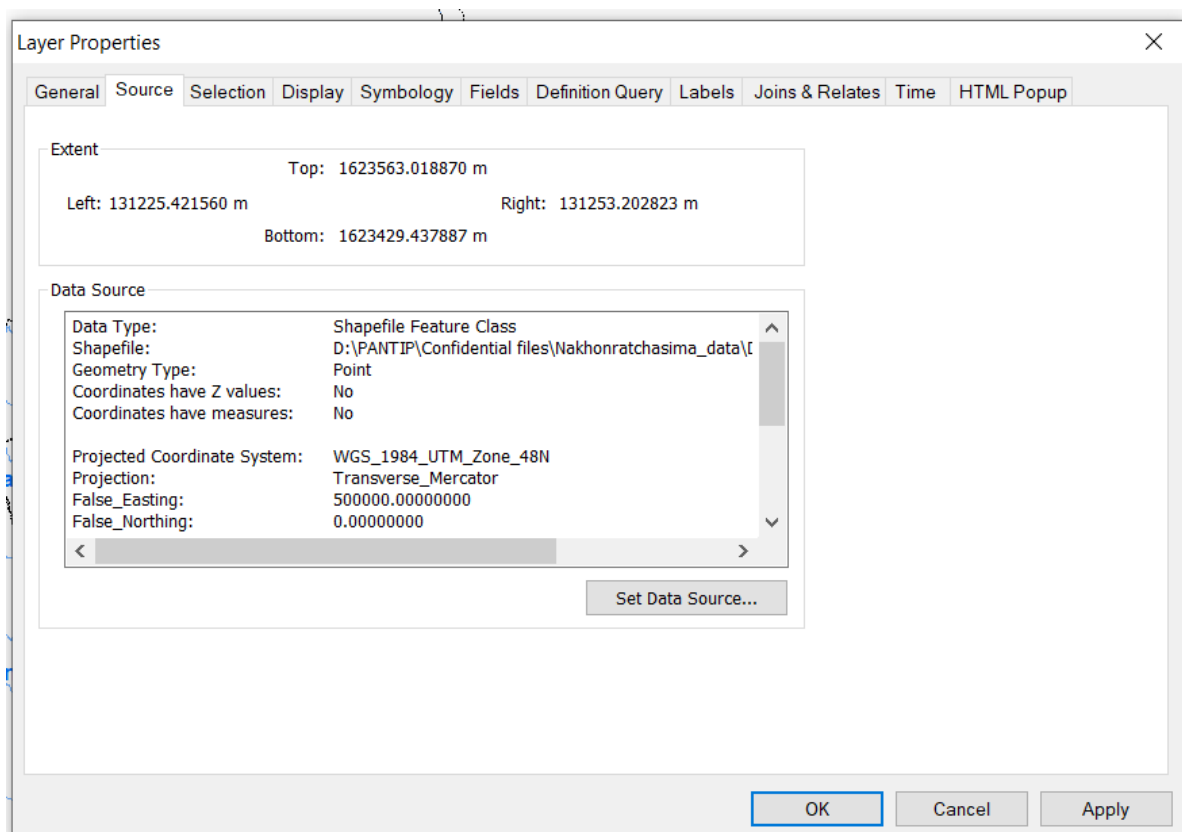
### 1. สร้างฐานข้อมูลและนำเข้าตำแหน่งฟาร์มโคเนื้อและโคนมทั้งหมดในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

1.1 ฐานข้อมูลฟาร์มโคเนื้อและโคนม อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา โดยกำหนดให้การใช้ค่าพิกัดอ้างอิงทั้งโครงการดังนี้ (ภาพที่ 1)

Projected Coordinate System: WGS\_1984\_UTM\_Zone\_48N

Projection: Transverse\_Mercator

การออกแบบ Attribute ที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลพยาธิและความสัมพันธ์ในพื้นที่ในโปรแกรมการวิเคราะห์ข้อมูลสารสนเทศภูมิศาสตร์ ได้ทำการออกแบบตารางตามภาพที่ 2



ภาพที่ 1 การตั้งค่าพิกัดอ้างอิงของพื้นที่ศึกษาในโครงการวิจัย

FID	Shape *	no	farm_name	cattle_c	cattle_typ	cattle_nam	cattle_age	date_sam	x	y	farm	wate	surf	disease	food	serum	note	result	round_worm	epg_round_	fluke	epg_fluke	Tot
30	Point	31	นายอิน	04/001	2	แมต	5	14/07/63	101.460711	14.794133	1	1	1	1	หญ้าสด	ไม่มีการถ่ายพ	วัวหนึ่งฝูง 15	2	0	50	1	50	
31	Point	32	นายอิน	04/002	2	ทรวน	6	14/07/63	101.460711	14.794133	1	1	1	1				2	0	25	1	25	
32	Point	33	นายอิน	04/003	2	นวล	1.5	14/07/63	101.460711	14.794133	1	1	1	1				3	0	11	0	0	
33	Point	34	นายอิน	04/004	2	แดง	5	14/07/63	101.460711	14.794133	1	1	1	1				3	0	23	0	0	
34	Point	35	นายอิน	04/005	2	โบ้ท	2	14/07/63	101.460711	14.794133	1	1	1	1				1	0	0	5	62	
35	Point	36	นายอิน	04/006	2	สมทวน	1	14/07/63	101.460711	14.794133	1	1	1	1				2	0	10	1	10	
36	Point	37	ป้ายหิน	05/001	2	แดงน้อย	1	14/07/63	101.480083	14.757972	1	1	1	1	หญ้าสด	ไม่มีการถ่ายพ	วัวหนึ่งฝูง	3	0	347	0	0	

ภาพที่ 2 Field ของข้อมูลตาราง Attribute ใน GIS ของกลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษา

คำอธิบาย Field สำคัญของ Attribute ที่ถูกออกแบบขึ้นเพื่อเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ในระบบ GIS

FID = Feature ID (หมายเลขของสัญญาณ)

Cattle\_typ = ประเภทของโค, โคนม = 1, โคเนื้อ = 2

Cattle\_age = อายุโค

X = ค่าพิกัด Longitude

Farm\_system = ระบบการเลี้ยงของฟาร์ม, เลี้ยงแบบระบบเปิด = 1, เลี้ยงแบบระบบปิด = 2

ผิวดิน = 1, น้ำจากบ่อน้ำบาดาล = 2, น้ำประปา = 3

= 1, พื้นซีเมนต์ = 2, พื้นผสม = 3, อื่นๆ = 4

ฟาร์ม

Result = ผลตรวจพยาธิ, ไม่พบพยาธิ, พบพยาธิไปไม่อย่างเดียวก = 1, พบพยาธิไปไม่และพยาธิตัวกลม = 2, พบพยาธิตัวกลมอย่างเดียว = 3

Round\_worm = การตรวจพบพยาธิตัวกลม, ไม่พบพยาธิตัวกลม = 0, พบพยาธิตัวกลม = 1

Farm\_name = ชื่อฟาร์ม

Cattle\_nam = ชื่อโค

Date\_sam = วันที่เก็บตัวอย่างมูลโค

Y = ค่าพิกัด Latitude

Water = แหล่งน้ำที่ใช้ในการเลี้ยง, น้ำ

Surf = สภาพคอก, พื้นดิน

Disease = ประวัติโรคระบาดใน

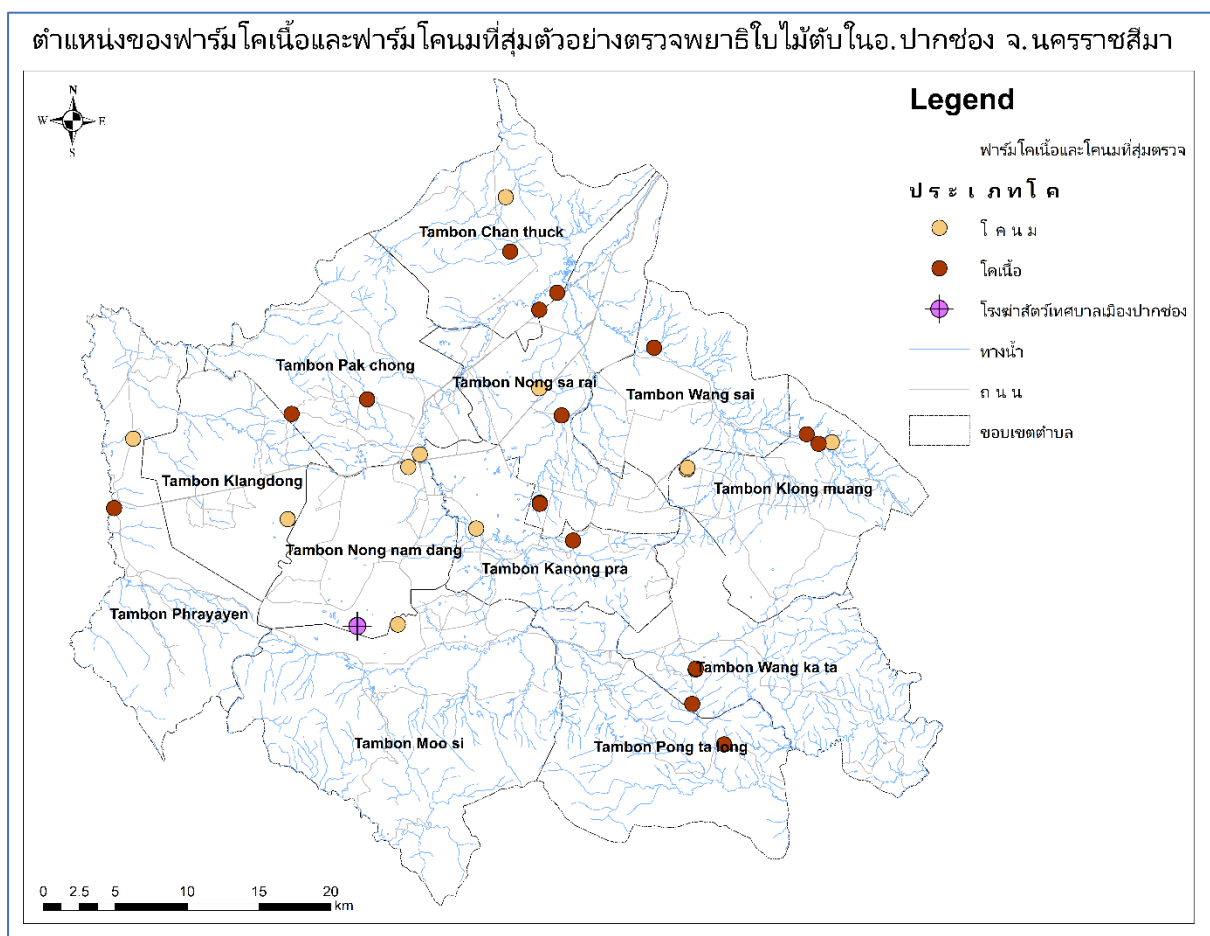
Egg\_worm = จำนวนไข่พยาธิตัวกลม ต่อ 1 กรัมมูลสัตว์  
Fluke = การตรวจพบพยาธิใบไม้ตับ, ไม่พบพยาธิใบไม้ตับ = 0, พบพยาธิใบไม้ตับ = 1  
Egg\_fluke = จำนวนไข่พยาธิใบไม้ตับ ต่อ 1 กรัมมูลสัตว์



## 2. นำเข้าตำแหน่งฟาร์มโคเนื้อและโคนมทั้งหมดในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

เพื่อศึกษาการกระจายตัวของฟาร์มทั้งหมดในพื้นที่อำเภอปากช่อง ซึ่งจะเห็นได้ว่า ฟาร์มโคเนื้อและโคนมเหล่านี้กระจายตัวตามแนวเส้นทางน้ำและถนน โดยมีการกระจุกตัวสูงทางด้านเหนือของพื้นที่อำเภอปากช่อง เนื่องจากทางด้านใต้ของอำเภอปากช่องเป็นอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่

จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อทำการเก็บตัวอย่างมูลโคเพื่อตรวจหาพยาธิใบไม้ตับ (โครงการวิจัยย่อยที่ 1) โดยการสุ่มตัวอย่างนี้เป็นแบบ Stratified random เพื่อหาตัวแทนของฟาร์มทั้งหมดในพื้นที่อำเภอปากช่อง จ. นครราชสีมา ดังแสดงในภาพที่ 3

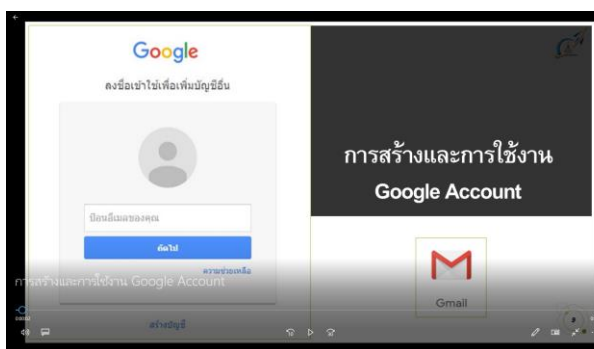


ภาพที่ 3 แผนที่แสดงตำแหน่งของฟาร์มที่ทำการเก็บข้อมูลแบ่งตามประเภทโคเนื้อและโคนม

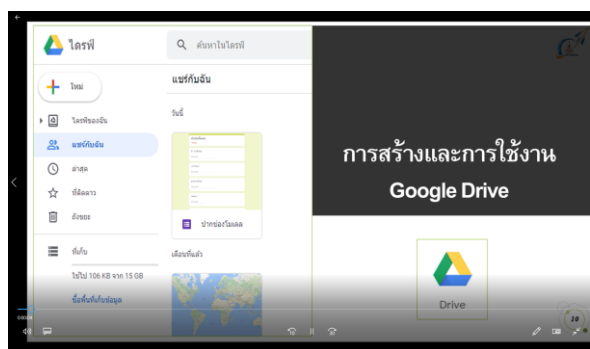
### 3. ออกแบบเครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูลและบันทึกข้อมูล

เมื่อได้ตำแหน่งที่ตั้งของฟาร์มที่จะทำการเก็บข้อมูลแล้ว ได้ทำการออกแบบเครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูล และบันทึกข้อมูล เพื่อให้เจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ และเจ้าของฟาร์ม หรือ ผู้ช่วยนักวิจัย ใช้ในการเก็บข้อมูลในแต่ละครั้ง เพื่อป้องกันการสูญหายของข้อมูล และสะดวกรวดเร็ว ลดการทำงานซ้ำซ้อน ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

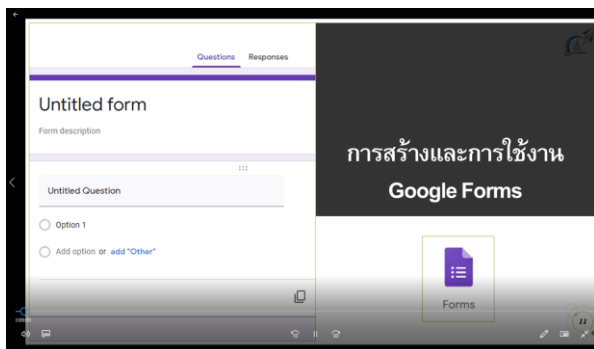
3.1 สร้างเครื่องมือสำหรับเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ในการเก็บข้อมูลเชิงพื้นที่ในการเก็บมูลโคเพื่อตรวจหาเชื้อพยาธิใบไม้ตับ โดยใช้ Google templates ต่างๆ ในระบบออนไลน์ เพื่อให้เจ้าหน้าที่เก็บข้อมูล ตำแหน่งค่าพิกัดฟาร์มและข้อมูลเชิงบรรยายของฟาร์ม เช่น จำนวนโค ชื่อโคที่เป็นเจ้าของมูลโคตัวอย่าง เจ้าของฟาร์ม วิธีเลี้ยงแบบระบบปิดหรือระบบเปิด เป็นต้น โดยแสดงหน้าคลิกที่เตรียมการสอน และสื่อการสอนทั้งหมดดังนี้ (ภาพที่ 4-9)



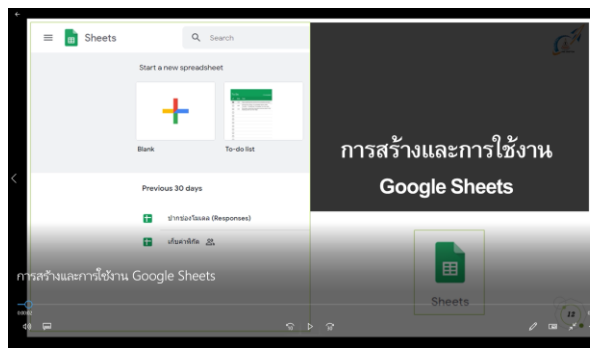
ภาพที่ 4 คลิปสอนการสร้าง Google Account



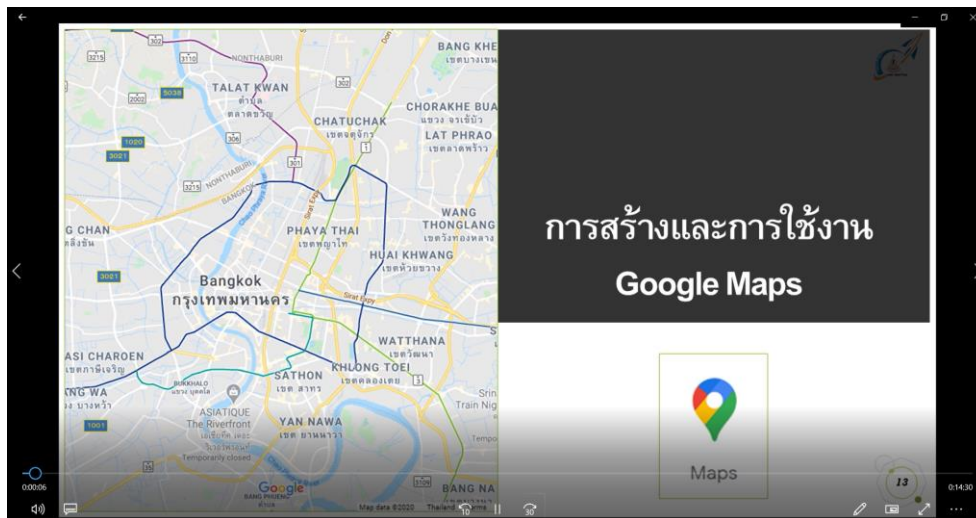
ภาพที่ 5 คลิปสอนการสร้างและใช้งาน Google Drive








ภาพที่ 6 คลิปสอนการสร้างและใช้งาน Google Forms



ภาพที่ 7 คลิปสอนการสร้างและใช้งาน Google Sheets

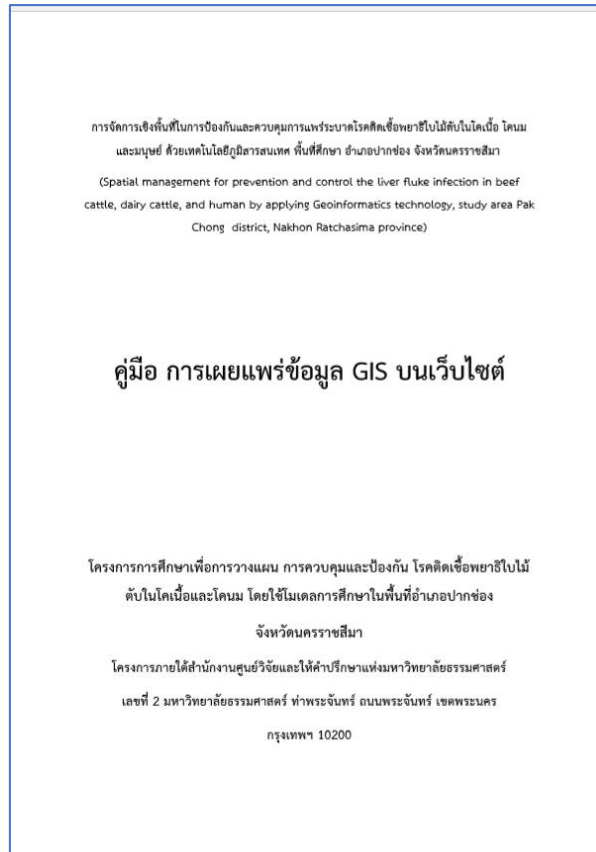


ภาพที่ 8 คลิปสอนการสร้างและใช้งาน Google Maps

 การสร้างและใช้งาน Google Account	MP4 File	114,501 KB
 การสร้างและใช้งาน Google Drive	MP4 File	68,581 KB
 การสร้างและใช้งาน Google Forms	MP4 File	219,488 KB
 การสร้างและใช้งาน Google Maps	MP4 File	474,589 KB
 การสร้างและใช้งาน Google Sheets	MP4 File	53,138 KB

ภาพที่ 9 ชื่อไฟล์สื่อการสอน ชนิดของไฟล์ และขนาดของไฟล์

นอกจากนี้ กวิจัยได้จัดทำคู่มือ การเผยแพร่ข้อมูล GIS บนเว็บไซต์ โดยเน้นที่การสำรวจเก็บข้อมูล ภาคนามของตำแหน่งค่าพิกัดพารามที่เจ้าหน้าที่ที่มีส่วนเกี่ยวข้องได้นำไปใช้งาน (คู่มือ อยู่ในภาคผนวก)



ภาพที่ 10 คู่มือการเผยแพร่ข้อมูล GIS บนเว็บไซต์ (คู่มือฉบับสมบูรณ์อยู่ในภาคผนวก)

3.2 นำเข้าข้อมูลและจัดการข้อมูลที่ได้จากการสำรวจเก็บข้อมูลโดยเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ สัตวแพทย์ และ สัตวบาล ที่ได้จาก Google map

3.3 Export ข้อมูลจาก Google sheet เป็นข้อมูลใน Excel (.xls) และ (.csv) เพื่อจัดทำฐานข้อมูลในระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ (GIS)

3.4 นำเข้าข้อมูลตำแหน่งฟาร์มที่ตรวจพบพยาธิใบไม้ตับและพยาธิอื่นๆ ที่พบจากผลการตรวจสอบในโครงการย่อยที่ 1 (แสดงในภาพที่ 11)

FID	Shape *	no	farm_name	cattle_	cattle_typ	cattle_	cattle_age	date_sampl	x	y	farm_sy	water	surface	disease
0	Point	1	คุณแม่	01/001	1	ข้าวโพด	3	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
1	Point	2	คุณแม่	01/002	1	ดาวเรือง	3	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
2	Point	3	คุณแม่	01/003	1	ดีด	4	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
3	Point	4	คุณแม่	01/004	1	ขี้เหม	4	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
4	Point	5	คุณแม่	01/005	1	สายใจ	4	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
5	Point	6	คุณแม่	01/006	1	รัก	3	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
6	Point	7	คุณแม่	01/007	1	มีนา	3	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
7	Point	8	คุณแม่	01/008	1	มะลิ	8	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
8	Point	9	คุณแม่	01/009	1	ขมุน	4	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
9	Point	10	คุณแม่	01/010	1	ไม้เลื้อย	6	30/06/63	101.576929	14.65926	2	NA	3	0
10	Point	11	บุญอู่ม้ง	02/001	1	พองฟ้า	8	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
11	Point	12	บุญอู่ม้ง	02/002	1	เขาคมน	9	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
12	Point	13	บุญอู่ม้ง	02/003	1	จั๊ว	7	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
13	Point	14	บุญอู่ม้ง	02/004	1	รูเซ่า	4	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
14	Point	15	บุญอู่ม้ง	02/005	1	เจเช้ง	2	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
15	Point	16	บุญอู่ม้ง	02/006	1	ลำไย	4	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
16	Point	17	บุญอู่ม้ง	02/007	1	เขวรน	2	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
17	Point	18	บุญอู่ม้ง	02/008	1	72	8	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
18	Point	19	บุญอู่ม้ง	02/009	1	มุ่น	2	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
19	Point	20	บุญอู่ม้ง	02/010	1	แพนด้า	2	30/06/63	101.577168	14.660469	2	NA	3	0
20	Point	21	นายปิติ	03/001	2	แม่	4	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
21	Point	22	นายปิติ	03/002	2	สมจิต	5	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
22	Point	23	นายปิติ	03/003	2	คุณนาย	9	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
23	Point	24	นายปิติ	03/004	2	เหมือง	8	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
24	Point	25	นายปิติ	03/005	2	หัวลิ้น	7	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
25	Point	26	นายปิติ	03/006	2	เหิน	10	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
26	Point	27	นายปิติ	03/007	2	สอ	10	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
27	Point	28	นายปิติ	03/008	2	นาค	8	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
28	Point	29	นายปิติ	03/009	2	ด้า	7	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
29	Point	30	นายปิติ	03/010	2	เขาก	5	15/07/63	101.491438	14.76882	1	1	1	0
30	Point	31	นายชิน	04/001	2	เม็ด	5	14/07/63	101.460711	14.794133	1	1	1	1
31	Point	32	นายชิน	04/002	2	หวาน	6	14/07/63	101.460711	14.794133	1	1	1	1

ภาพที่ 11 ข้อมูลตัวอย่างการนำเข้าข้อมูลฟาร์มและค่าพิกัดอ้างอิงเพื่อทำการวิเคราะห์ใน GIS

#### 4. ตรวจสอบข้อมูลและนำเข้าข้อมูลเชิงพื้นที่ของผู้ป่วยจากโรงพยาบาลในท้องถิ่นที่มีบันทึกการรักษาเกี่ยวกับโรคตับอักเสบจากพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* (ข้อมูลจากโรงพยาบาลปากช่องนานา อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา)

จากการลงพื้นที่สำรวจและขอข้อมูลจากแผนกสารสนเทศ โรงพยาบาลปากช่องนานา สรุปได้ว่าไม่พบผู้ป่วยที่ตรวจพบพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* ในพื้นที่ศึกษา จากโรงพยาบาลปากช่องนานา อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา ในระยะเวลา 5 ปีย้อนหลัง หรือ ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2558 ถึง พ.ศ. 2563 ทั้งนี้เนื่องจากผู้ป่วยที่มาเข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลปากช่องนานา ที่มาด้วยอาการตับอักเสบ จะถูกส่งตัวไปยังโรงพยาบาลประจำจังหวัดหรือโรงพยาบาลที่มีศักยภาพของเครื่องมือและความชำนาญจากแพทย์เฉพาะทาง ทำให้โรงพยาบาลปากช่องนานา ไม่มีบันทึกประวัติผู้ป่วยที่ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica*

เนื่องจากข้อมูลเรื่องความเจ็บป่วย และการวินิจฉัยโรคของผู้ป่วย เป็นข้อมูลที่เป็นความลับ มีกระบวนการขั้นตอนหลายอย่างที่จะยื่นเรื่องขอข้อมูลผู้ป่วยเพื่อนำมาศึกษาวิจัย โดยมีการดำเนินการขอข้อมูลไปทางโรงพยาบาลท้องถิ่น แต่โดยปกติโรงพยาบาลจะไม่มีการติดตามเคสผู้ป่วยต่อ จึงไม่มีโอกาสทราบได้ว่าเคสผู้ป่วยที่ถูกวินิจฉัยว่าเป็นตับอักเสบที่ให้การรักษาที่โรงพยาบาลท้องถิ่นไม่ดีขึ้นถูกส่งตัวไปรักษาต่อที่โรงพยาบาลจังหวัดหรือที่ใด ทำให้ทางคณะผู้วิจัย ต้องดำเนินการขอข้อมูลการวินิจฉัยโรคไปที่สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดนครราชสีมา

คณะผู้วิจัย จึงได้ทำหนังสือเป็นลายลักษณ์อักษร ไปยังฝ่ายควบคุมโรคตามที่สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดนครราชสีมาแนะนำ ในระหว่างการพิจารณาดำเนินเรื่องอนุญาตให้ข้อมูลนั้น เกิดเหตุการณ์ระบาดของโรคไวรัสโคโรนา 2019 รุนแรง ทำให้หน่วยงานภาครัฐหลายหน่วยงานปิดทำการ สำหรับฝ่ายควบคุมโรค สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดนครราชสีมา ต้องปรับเปลี่ยนภาระงานเพื่อรองรับสถานการณ์ฉุกเฉิน จึงเป็นเหตุสุดวิสัยทำให้ไม่มีเจ้าหน้าที่ประจำฝ่ายควบคุมโรคหาข้อมูลตามที่คณะผู้วิจัยต้องการได้ ภายหลังจากสถานการณ์ดังกล่าวคลี่คลาย เจ้าหน้าที่ประจำฝ่ายได้มีการปรับโครงสร้างงานโดยเน้นการรับมือกับโรคโคโรนาไวรัส จึงไม่มีเจ้าหน้าที่พร้อมให้ข้อมูลในส่วนนี้ และแนะนำให้คณะผู้วิจัยทำหนังสือเข้ามาอีกครั้งเนื่องจากหนังสือต้นเรื่องเดิมผ่านเวลาไปหลายเดือนแล้ว

ขณะนี้คณะผู้วิจัยได้ร่างหนังสือเพื่อขอข้อมูลจากฝ่ายควบคุมโรค สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดนครราชสีมา อีกครั้ง ซึ่งในปัจจุบันสถานการณ์โควิด-19 เริ่มคลี่คลาย และมีแนวโน้มที่ดีขึ้น การได้ข้อมูลจากหน่วยงานนี้จะนำไปวิเคราะห์เพิ่มเติมในโครงการวิจัยในปีที่ 2 ต่อไป

## 5. สํารวจตำแหน่งเชิงพื้นที่ของสถานที่ที่เกี่ยวข้องกับวงจรชีวิตของโคเนื้อและโคนมที่มีพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* ในพื้นที่ศึกษา

โดยทีมนักวิจัยโครงการย่อยที่ 2 ได้ทำการสำรวจภาคสนามด้วยเครื่องอ่านค่าพิกัดสัญญาณดาวเทียม Handheld GPS ยี่ห้อ Garmin รุ่น eTrex 32x และกำหนดค่าความคลาดเคลื่อนของข้อมูลเชิงตำแหน่งในระหว่างการสำรวจเท่ากับ  $\pm 5$  เมตร (แสดงในภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 แสดงเครื่องอ่านค่าพิกัดสัญญาณดาวเทียมจีพีเอส ยี่ห้อ GARMIN รุ่น eTrex 32x ที่ใช้ในการระบุค่าพิกัดเชิงตำแหน่งในการสำรวจข้อมูลเชิงพื้นที่ในพื้นที่ศึกษา

การสำรวจภาคสนามเพื่อเก็บข้อมูลเชิงพื้นที่มีขั้นตอนดังนี้

5.1 นำเข้าข้อมูลแผนที่แสดงตำแหน่งฟาร์มที่กำหนดว่าจะทำการเก็บตัวอย่างมูลสัตว์ ลงในเครื่องอ่านค่าพิกัดสัญญาณดาวเทียมจีพีเอส

5.2 เตรียมข้อมูลภาพดาวเทียมรายละเอียดสูงที่แสดงลักษณะที่ปรากฏในพื้นที่ที่จะใช้เป็นตัวแปรในการวิเคราะห์ข้อมูล ได้แก่ แหล่งน้ำบริเวณฟาร์ม ระยะห่างของแหล่งน้ำธรรมชาติและฟาร์มระบบเปิด ที่ตั้งหมู่บ้าน เป็นต้น

5.3 บันทึกค่าพิกัดและวัดระยะทางด้วยเทปวัดระยะแล้วเปรียบเทียบกับแผนที่รายละเอียดสูงของพื้นที่เพื่อยืนยันตำแหน่งของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ข้อมูล

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลจากการสำรวจมูลโคบริเวณแหล่งน้ำที่ใกล้ฟาร์มโคในระยะ 500 เมตร

1	D		H		I	J	K			M	N	O	T		U
	ID ฟาร์ม	ชนิดโค	Lat	Lon			พบบูลโคใกล้แหล่งน้ำในระยะ 50 เมตร	สภาพแหล่งน้ำขุ่นและมีวัชพืชรอบแหล่งน้ำ	แหล่งน้ำมีใบ				สภาพตลิ่ง	ประวัติโรคระบาด	
3	1	1	14.65926	101.576929	2	0	0	3	3	0	0	0	0	0	
13	11	1	14.6604694	101.5771678	2	0	0	3	3	0	0	0	0	0	
23	21	2	14.76882	101.491438	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
33	31	2	14.794133	101.460711	1	1	1	1	1	1	1	1	1	50	
39	37	2	14.757972	101.480083	1	1	1	1	1	1	1	1	1	347	
47	45	2	14.6371106	101.4823061	1	0	0	3	1	0	0	0	0	72	
52	50	2	14.6363369	101.4823283	2	0	0	3	1	0	0	0	0	0	
57	55	2	14.691998	101.495561	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
62	60	2	14.613625	101.504201	1	0	0	3	2	0	1	0	1	37	
67	65	2	14.6776381	101.6701181	1	1	1	2	1	0	1	0	1	70	
77	75	2	14.6824943	101.6537838	2	0	0	3	1	0	1	0	1	80	
82	80	2	14.735314	101.554553	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	
85	83	2	14.6766213	101.6616162	2	0	0	3	1	0	0	0	0	0	
88	86	1	14.8282348	101.4572516	1	1	1	2	1	1	0	0	0	0	
98	96	1	14.5593209	101.3920806	1	1	1	2	1	0	1	0	1	48	
104	102	1	14.62025	101.441639	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	
114	112	1	14.6581229	101.3971926	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	
120	118	1	14.6661203	101.4045596	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	
126	124	1	14.708788	101.480882	1	1	1	2	1	0	0	0	0	0	
137	135	2	14.7000644	101.369993	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	
143	141	2	14.6730527	101.2195511	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	
152	150	2	14.6793386	101.2080315	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	
155	153	1	14.624225	101.320029	2	1	0	2	0	0	1	0	1	22	
161	159	2	14.5340349	101.5843994	1	0	0	3	1	0	0	0	0	0	
164	162	2	14.534631	101.5846077	1	0	0	3	1	0	0	0	0	0	
170	168	2	14.534631	101.5846077	1	1	1	3	1	0	1	0	1	16	
176	174	2	14.512386	101.5825959	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
193	191	2	14.4873555	101.6035238	2	1	1	1	1	0	1	0	1	215	

การสำรวจในพื้นที่ศึกษา จะทำการเลือกแหล่งน้ำที่ใกล้ฟาร์มโคในระยะไม่เกิน 500 เมตร โดยทำการสำรวจมูลโคในระยะ 50 เมตรรอบแหล่งน้ำนั้นๆ และกำหนดค่าตัวแปรดังนี้

การสำรวจแหล่งน้ำรอบฟาร์ม

- พบบูลโคใกล้แหล่งน้ำในระยะ 50 เมตร

ตัวแปร 0 = ไม่พบ และ 1 = พบ

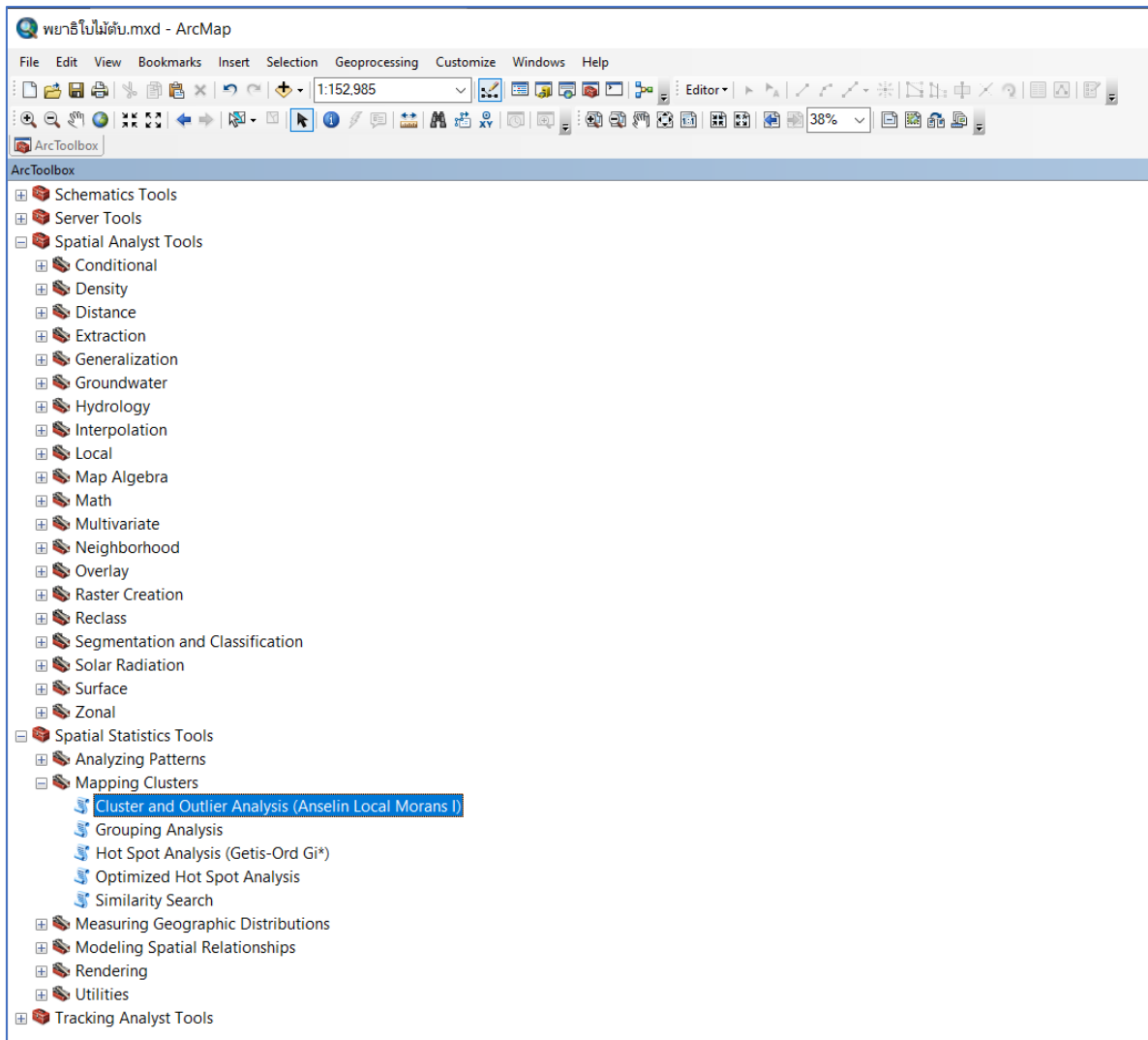
- สภาพแหล่งน้ำมีความขุ่นและมีวัชพืชขึ้นรอบๆแหล่งน้ำ

ตัวแปร 0 = ไม่พบ และ 1 = พบ

5.4 เก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้ในระบบ GIS

5.5 วิเคราะห์การกระจุกตัว (Cluster analysis) ของโคเนื้อและโคนมที่มีพยาธิใบไม้ตับในระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ โดยใช้ฟังก์ชันจาก ArcToolBox --> Spatial Statistics Tools --> Mapping Clusters --> Cluster and Outlier (Anselin Local Morans I) ใน ArcMap 10.3 (แสดงในภาพที่ 13)





ภาพที่ 13 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์การกระจุกตัวของพยาธิโคเนื้อโคนม

การวิเคราะห์ค่าการกระจุกตัวด้วยเครื่องมือ Mapping Clusters ใช้ทำการวิเคราะห์คลัสเตอร์เพื่อระบุตำแหน่งของ hotspot ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ Cold spot ค่าผิดปกติเชิงพื้นที่และคุณลักษณะหรือโซนที่คล้ายคลึงกัน ชุดเครื่องมือ Mapping Clusters มีประโยชน์อย่างยิ่งเมื่อจำเป็นต้องมีการดำเนินการตามตำแหน่งของคลัสเตอร์หนึ่งหรือหลายคลัสเตอร์ เครื่องมือ Mapping Clusters ช่วยให้สามารถมองเห็นตำแหน่งและขอบเขตของคลัสเตอร์ได้ เครื่องมือเหล่านี้ตอบคำถามกลุ่มเชิงตำแหน่งของ Hotspot and Cold spot) ว่าอยู่ที่ใดในพื้นที่ศึกษาได้, รวมถึงความหนาแน่นของจุดหรือข้อมูลที่สำคัญ

5.6 แสดงผลการวิเคราะห์การกระจุกตัวและค่าทางสถิติเชิงพื้นที่ โดยใช้คำสั่ง overlay เพื่อแสดงตำแหน่งที่ตั้งของฟาร์มและความชุกของพยาธิที่พบในพื้นที่ศึกษา

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ (Spatial Autocorrelation) มีหลักการที่ว่า ทุกสิ่งทุกอย่างล้วนมีความสัมพันธ์กัน แต่สิ่งที่อยู่ใกล้กันย่อมมีความสัมพันธ์กันมากกว่า (Tobin, 2004) โดยมีวิธีทางสถิติในการ



วิเคราะห์หลักการนี้ ซึ่งเรียกว่า สถิติ Moran's I (Moran, 1950) ค่าสถิติที่ใช้วัดความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ (Global Moran's I) มีค่าตั้งแต่ -1 ถึง 1 โดยที่ค่าที่ได้หากมีค่าใกล้ 1 แสดงว่า ข้อมูลมีการเกาะกลุ่ม หากมีค่าเข้าใกล้ -1 แสดงว่าข้อมูลมีการกระจาย และหากมีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่า การกระจายมีลักษณะแบบสุ่ม นอกจากการพิจารณาลักษณะของข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาแล้ว ตัวบ่งชี้ความสัมพันธ์เชิงพื้นที่เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่จำเป็นต้องพิจารณาในโครงการนี้ ด้วยคุณสมบัติของค่าสถิติ Moran's I ทำให้ได้ข้อมูลสถิติเพียงอย่างเดียวเพื่อสรุปพื้นที่ศึกษาทั้งหมด หากต้องการทราบรูปแบบการกระจายเชิงพื้นที่ที่ปรากฏออกมาในรูปแบบของค่าสถิติ Moran's I นั้นว่ามีการกระจายอยู่ในพื้นที่ใดบ้าง จำเป็นต้องหาค่าการเกาะกลุ่มในระดับพื้นที่เพื่อเป็นตัวชี้วัดความสัมพันธ์เชิงพื้นที่และประเมินการจัดกลุ่มในแต่ละหน่วยด้วยการคำนวณ Local Moran's I ซึ่งเป็นการคำนวณเปรียบเทียบกับขอบเขตของพื้นที่ใกล้เคียง (Anselin, 1995) ซึ่งมีสมการในการคำนวณดังนี้

$$I_i = \frac{x_i - \bar{x}}{S_i^2} \sum_{j=1, j \neq i}^N w_{ij} (x_j - \bar{x}) \quad \dots\dots\dots(1)$$

เมื่อ

$$S_i^2 = \frac{\sum_{j=1, j \neq i}^N w_{ij}^2}{N-1} - \bar{x}^2 \quad \dots\dots\dots(2)$$

และ

$$w_{ij}(d) = \frac{1}{d^{\alpha}} \quad \dots\dots\dots(3)$$

เมื่อใช้รูปแบบการถ่วงน้ำหนัก สถิตินี้จะคำนวณสำหรับแบนด์เท่านั้น ซึ่งอาจใช้เมตริกซ์น้ำหนักเชิงพื้นที่ร่วมกับการคำนวณได้ และการคำนวณหาค่าความแปรปรวนในสถิตินี้ คือ

$$Var(I_i) = \frac{(N - b_2) \sum_{j=1, j \neq i}^N w_{ij}^2}{N-1} - \frac{(2b_2 - N) \sum_{k=1, k \neq i}^N \sum_{l=1, l \neq i}^N w_{ik} w_{il}}{(N-1)(N-2)} - [E(I_i)]^2 \quad \dots\dots\dots(4)$$

เมื่อ

$$b_2 = \frac{N \sum_{i=1, i \neq j}^N (x_i - \bar{x})^4}{\left( \sum_{i=1, i \neq j}^N (x_i - \bar{x})^2 \right)^2} \quad \dots\dots\dots(5)$$

ด้วยชุดคุณสมบัติ (คลาสคุณสมบัติอินพุต) และฟิลด์การวิเคราะห์ (ฟิลด์อินพุต) เครื่องมือ Cluster และ Outlier Analysis ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงพื้นที่ จะสามารถระบุกลุ่มของพีเจอร์เชิงพื้นที่ที่มีค่าสูงหรือต่ำ เครื่องมือนี้ยังระบุความผิดปกติเชิงพื้นที่ ในการดำเนินการนี้เครื่องมือจะคำนวณค่า  $I$  ของโมแรนในพื้นที่, คะแนน  $z$ , ค่า pseudo และรหัสที่แสดงถึงประเภทคลัสเตอร์สำหรับคุณลักษณะที่มีนัยสำคัญทางสถิติแต่ละรายการ คะแนน  $z$  และค่า pseudo แสดงถึงนัยสำคัญทางสถิติของค่าดัชนีที่คำนวณ (Aneslin, 2002)

### รูปแบบของผลลัพธ์จากการคำนวณ

ไฟล์เอาต์พุตประกอบด้วยไฟล์ข้อมูลอินพุตและจำนวนจุดทั้งหมด สำหรับแต่ละระยะทางที่ระบุจะมีการพิมพ์ตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 3 แสดงผลลัพธ์จากการคำนวณด้วย Local Moran's  $I$

Observation #	Observed $I_i$	Expected $I_i$	Variance	Z-value
1				
2				
⋮				

การแปลผลลัพธ์ที่ได้ ถ้าผลลัพธ์แสดงค่าบวกสำหรับ  $I$  จะบ่งชี้ว่าสถานที่นั้นมีคุณลักษณะใกล้เคียงที่มีค่าแอตทริบิวต์สูงหรือต่ำในทำนองเดียวกัน ลักษณะนี้เป็นส่วนหนึ่งของคลัสเตอร์ หากผลลัพธ์แสดงค่าลบสำหรับ  $I$  จะบ่งชี้ว่าสถานที่นั้นมีคุณลักษณะใกล้เคียงที่มีค่าต่างกัน คุณลักษณะนี้เป็นค่าผิดปกติ ไม่ว่าจะในกรณีใด ค่า  $p$  สำหรับคุณลักษณะต้องมีขนาดเล็กพอที่คลัสเตอร์หรือค่าผิดปกติจึงจะถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

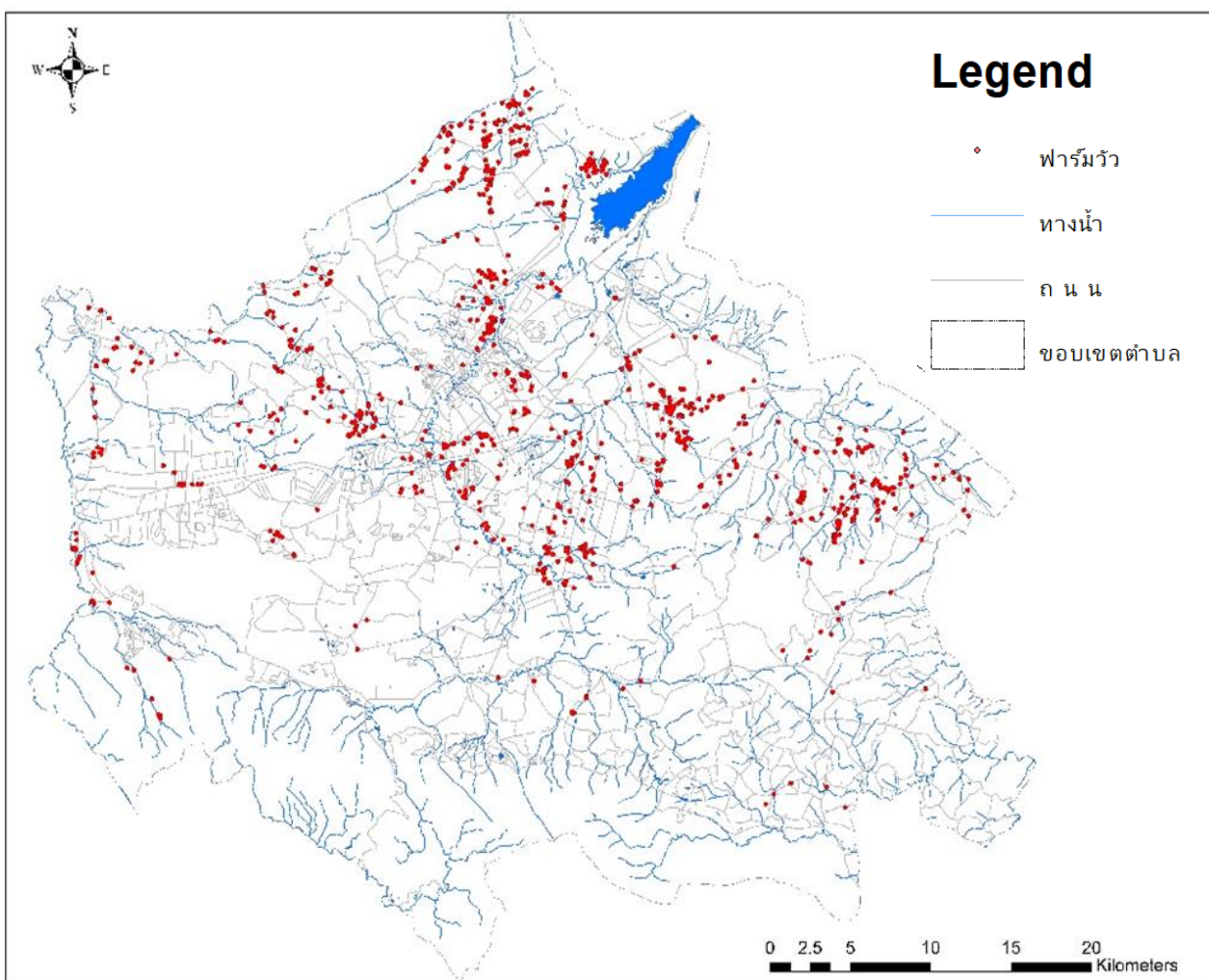
คะแนน  $Z$  คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ตัวอย่างเช่น ค่า  $z$ -score เท่ากับ  $+2.5$  แสดงว่าผลลัพธ์ คือ  $2.5$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทั้ง  $z$ -score และ  $p$ -values สัมพันธ์กับการแจกแจงปกติมาตรฐานดังที่แสดงด้านล่าง

5.7 เสนอแนวทางการจัดการเชิงพื้นที่เพื่อควบคุมและป้องกันการระบาดของพยาธิใบไม้ตับในโคเนื้อและโคนมสู่คนในชุมชน

## ผลการวิจัย (Results) โครงการย่อยที่ 1

### 1. จำนวนตัวอย่างมูลสัตว์และซีรัมของโคเนื้อและโคนม

จากการนำข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์ของฟาร์มโคเนื้อและโคนมในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา มาทำการวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลดาวเทียม พบว่าการกระจายตัวของฟาร์มโคเนื้อและโคนมจะกระจุกตัวอยู่ใน 4 ตำบล ได้แก่ หนองสาหร่าย จันทึก วังไทร และคลองม่วง รองลงมาคือตำบลปากช่อง ขนงพระ และหนองน้ำแดง ส่วนตำบลอื่น ได้แก่ วังกระทะ พญาเย็น หมูสี กลางดง และโป่งตาลอง มีปริมาณปศุสัตว์น้อย ดังแสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 14 แสดงตำแหน่งการกระจายตัวของฟาร์มโคเนื้อและโคนมในพื้นที่ 12 ตำบล ของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา จากข้อมูลของสำนักงานปศุสัตว์เขต 3 ปี พ.ศ. 2561 (จุดสีแดง)

จากข้อมูลการกระจายดังกล่าว ผู้วิจัยจึงได้ทำการวางแผนดำเนินการเก็บตัวอย่างมูลสัตว์และเลือดของโคเนื้อและโคนม จำนวน 200 ตัวอย่าง (โคเนื้อและโคนม อย่างละ 100 ตัวอย่าง) โดยขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของฟาร์มปศุสัตว์ของแต่ละตำบล

การศึกษาวิจัยภายใต้โครงการในปีที่ 1 สามารถเก็บตัวอย่างมูลสัตว์ได้จำนวน 201 ตัวอย่าง ประกอบด้วย โคเนื้อ 100 ตัวอย่าง และโคนม 101 ตัวอย่าง ตัวอย่างเลือดได้จำนวน 231 ตัวอย่าง ประกอบด้วย โคเนื้อ 100 ตัวอย่าง และโคนม 131 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4 และจำแนกตามตำบลดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนตัวอย่างมูลสัตว์และเลือด (ซีรัม) ที่เก็บได้จากโคเนื้อและโคนม ในพื้นที่ 12 ตำบลของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา จำแนกตามชนิดของตัวอย่าง

ชนิดโค	ตัวอย่างมูลสัตว์	ตัวอย่างเลือด (ซีรัม)
โคเนื้อ	100	100
โคนม	101	131
รวม	201	231

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนตัวอย่างมูลสัตว์และเลือด (ซีรัม) ที่เก็บได้จากโคเนื้อและโคนม ในพื้นที่ 12 ตำบลของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (จำแนกตามตำบล)

ตำบล	โคเนื้อ		โคนม	
	ตัวอย่างมูลสัตว์	ตัวอย่างเลือด (ซีรัม)	ตัวอย่างมูลสัตว์	ตัวอย่างเลือด (ซีรัม)
หนองสาหร่าย	19	19	11	11
จันทึก	20	20	10	10
วังไทร	3	3	20	20
คลองม่วง	10	10	8	8
ปากช่อง	12	12	18	18
ชนงพระ	5	5	10	10
หนองน้ำแดง	-	-	6	6
วังกะทะ	20	20	-	15
กลางดง	-	-	6	6
พญาเย็น	6	6	6	6
หมูสี	-	-	6	6
โป่งตาลอง	5	5	-	15

รวม	100	100	101	131
-----	-----	-----	-----	-----

## 2. ผลการตรวจหาการติดเชื้อหนอนพยาธิในตัวอย่างมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนม

จากการตรวจหาการติดเชื้อหนอนพยาธิในมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนม จำนวน 201 ตัวอย่าง ด้วยวิธี formalin-ethyl acetate concentration method ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบการติดเชื้อพยาธิทั้งสิ้น ร้อยละ 35.32 (71/201) โดยพบ *Fasciola* spp.-like egg ร้อยละ 5.97 (12/201) แบ่งเป็น การติดเชื้อเดี่ยว (พบเพียง *Fasciola* spp.-like egg) ร้อยละ 1.99 (4/201) และการติดเชื้อร่วมกับพยาธิชนิดอื่นร้อยละ 3.98 (8/201) นอกจากนั้นเป็นการติดเชื้อพยาธิตัวกลมร้อยละ 29.35 (59/201) ตรวจไม่พบไข่พยาธิหรือตัวอ่อนพยาธิร้อยละ 64.68 (130/201)

เมื่อทำการแยกตัวอย่างออกเป็นโคเนื้อและโคนม โดยพิจารณาเพียงการติดเชื้อ *F. gigantica* ที่ผู้วิจัยทำการศึกษาพบว่า โคเนื้อมีการติดเชื้อสูงกว่าโคนม โดยโคนมพบอัตราการติดเชื้อเพียงร้อยละ 0.99 (1/101) ในขณะที่โคเนื้อพบอัตราการติดเชื้อร้อยละ 11.00 (11/100) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงผลการตรวจหาการติดเชื้อหนอนพยาธิในตัวอย่างมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนมและความชุกของการติดเชื้อ *Fasciola* spp. ด้วยวิธี formalin-ethyl acetate concentration method

ชนิดโค	จำนวนตัวอย่าง (ตัวอย่าง)	Results of microscopic examination				Prevalence of <i>Fasciola</i> spp.-like infection
		Positive for Parasite eggs (sample)			Negative (sample)	
		<i>Fasciola</i> spp.-like eggs only	<i>Fasciola</i> spp.-like eggs with roundworm eggs	Roundworm eggs only		
โคนม	101	1	0	9	91	0.99 %
โคเนื้อ	100	3	8	50	39	11.00 %
รวม	201	4 (1.99 %)	8 (3.98 %)	59 (29.35 %)	130 (64.68 %)	5.97 %

### 3. ผลการตรวจหาการติดเชื้อ *F. gigantica* ในซีรัม (Seroprevalence)

การศึกษาการติดเชื้อโดยการตรวจหาแอนติบอดีต่อโปรตีนลูกผสม cathepsin-L (recombinant cathepsin-L) ของพยาธิ *F. gigantica* ในซีรัมของโคเนื้อและโคนมด้วยวิธี indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (indirect ELISA) พบอัตราการติดเชื้อร้อยละ 27.27 (63/231) โดยพบการติดเชื้อในโคเนื้อร้อยละ 41.00 (41/100) สูงกว่าในโคนมซึ่งพบร้อยละ 16.79 (22/131) ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงผลการตรวจหาการติดเชื้อพยาธิ *Fasciola* spp. ในตัวอย่างซีรัมของโคเนื้อและโคนม (seroprevalence)

ชนิดโค	จำนวนตัวอย่าง (ตัวอย่าง)	ผลการตรวจ		Seroprevalence of <i>Fasciola gigantica</i> infection
		Positive (sample)	Negative (sample)	
โคนม	131	22	109	16.79 %
โคเนื้อ	100	41	59	41.00 %
รวม	231	63	168	27.27 %



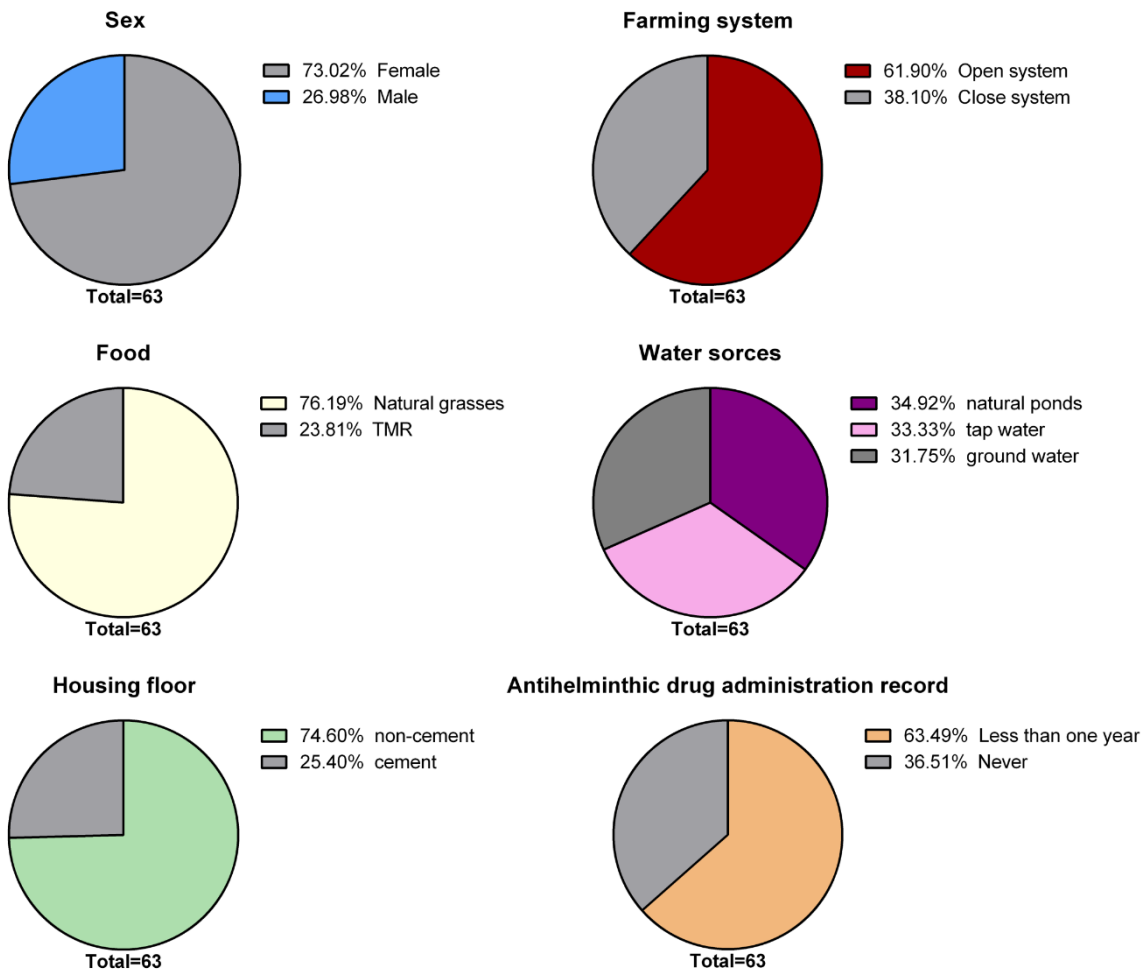
#### 4. การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงระบาดวิทยา

จากการเก็บข้อมูลเพื่อวิเคราะห์ทางระบาดวิทยา โดยใช้ข้อมูลการตรวจมูลสัตว์ร่วมกับผลตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา (ให้ผลบวกจำนวน 63 ตัวอย่าง) พบว่าโคเพศเมียมีอัตราการติดเชื้อสูงกว่าเพศผู้ โดยในตัวอย่างที่ให้ผลบวก เป็นโคเพศเมียร้อยละ 73.02 (46/63) ในขณะที่เป็นโคเพศผู้ร้อยละ 26.98 (17/63) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) โดยฟาร์มที่พบการติดเชื้อเป็นฟาร์มระบบเปิด (ร้อยละ 61.90; 39/63) มากกว่าระบบปิด (ร้อยละ 38.10; 24/63) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และโรงเรือนเป็นพื้นดิน (ร้อยละ 74.60; 47/63) มากกว่าพื้นซีเมนต์หรือคอนกรีต (ร้อยละ 25.40; 16/63) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

ในส่วนของการใช้เลี้ยงสัตว์ พบว่าโคที่ปล่อยให้แทะเล็มหญ้าจากแหล่งธรรมชาติมีส่วนการติดเชื้อมากที่สุด สูงถึงร้อยละ 76.19 (48/63) ของการติดเชื้อทั้งหมด และมีเพียงร้อยละ 23.81 (15/63) ของโคที่ติดเชื้อซึ่งกินฟางเป็นอาหาร

สำหรับแหล่งน้ำที่สัตว์บริโภค พบว่า อัตราการติดเชื้อสูงสุด คือ น้ำผิวดิน ร้อยละ 34.92 (22/63) รองลงมา คือ น้ำประปา ร้อยละ 33.33 (21/63) และ น้ำบาดาล 31.75 (20/63) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นอกจากนั้น ร้อยละ 63.49 (40/63) ของโคที่ติดเชื้อ เคยได้รับการถ่ายพยาธิมาไม่เกิน 1 ปี ส่วนที่เหลืออีก ร้อยละ 36.51 (23/63) ไม่เคยได้รับการถ่ายพยาธิ ดังแสดงในภาพที่ 15



ภาพที่ 15 แสดงข้อมูลเชิงระบาดวิทยาของการติดเชื้อพยาธิใบไม้ *F. gigantica* ในโคเนื้อและโคนมในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

## 5. จำนวนตัวอย่างไข่พยาธิสำหรับการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม

จากการตรวจหาไข่พยาธิจากมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนม พบว่ามี 12 ตัวอย่างที่พบ *Fasciola* spp.-like egg จากการตรวจตะกอนมูลสัตว์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จึงได้ทำการตรวจนับเพื่อรายงานจำนวนไข่ต่อมูลสัตว์ 1 กรัม (Egg per gram; EPG) โดยผลการตรวจแสดงดังตารางที่ 8 จากผลการวิจัยดังกล่าว ผู้วิจัยจะได้ทำการตรวจสอบว่าไข่ที่พบเป็นไข่ของ *F. gigantica* หรือไม่ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR โดยใช้ยีน tubulin เป็นเป้าหมายการตรวจหา โดยทำการตรวจจากไข่พยาธิแบบแยกใบเดี่ยว (single egg PCR) ซึ่งจะทำการทดสอบนี้ในปีที่ 2 ต่อไป

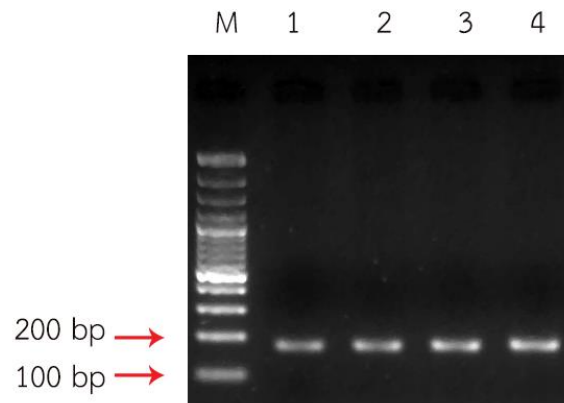
นอกจากนั้นจะได้ทำการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของยีน Nuclear ribosomal (rDNA) internal transcribed spacer; ITS1 and ITS2 และ mitochondrial (mtDNA) *nad1* เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพยาธิ *F. gigantica* ที่พบต่อไปด้วย

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนไข่ต่อมูลสัตว์ 1 กรัม (Egg per gram; EPG) ของมูลสัตว์ที่พบ *Fasciola* spp.-like egg

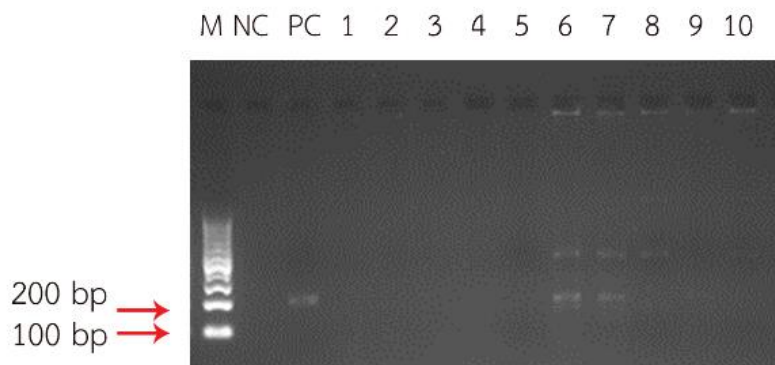
ชนิดโค	Code	EPG
โคนม	DC-D-2-1	7
โคเนื้อ	BC-D-2-1	20
	BC-B-1-1	50
	BC-B-1-2	25
	BC-B-1-5	62
	BC-B-1-6	10
	BC-D-3-2	1
	BC-B-3-7	21
	BC-B-3-8	26
	BC-B-3-9	50
	BC-B-3-10	48
	BC-B-2-4	8

6. ผลการสำรวจเบื้องต้นของสายพันธุ์หอยและอัตราการติดเชื้อ *F. gigantea* ในหอยสกุล Lymnaeid

ตัวอย่างหอยจำนวน 61 ตัวอย่าง ที่เก็บจากแหล่งน้ำในตำบลหนองสาหร่าย อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา พบว่าทั้ง 61 ตัวอย่างเป็นหอยสายพันธุ์ *Radix rubiginosa* โดยผลจากการทดสอบด้วยปฏิกิริยา PCR (ตัวอย่างของผล PCR ดังภาพที่ 16) ส่วนอัตราการติดเชื้อ *F. gigantea* ในหอยที่พบอยู่ที่ร้อยละ 39.40 (24/61) โดยผล PCR แสดงดังภาพที่ 17



ภาพที่ 16 แสดง PCR products สังเคราะห์ด้วย *Radix rubiginosa* specific primers (ขนาด 192 bp) แยกด้วยกระแสไฟฟ้าบน 1% agarose gel electrophoresis (M = 100 bp plus marker, ThermoScientific, USA; 1-4 =แสดงตัวอย่างหมายเลข 1-4)

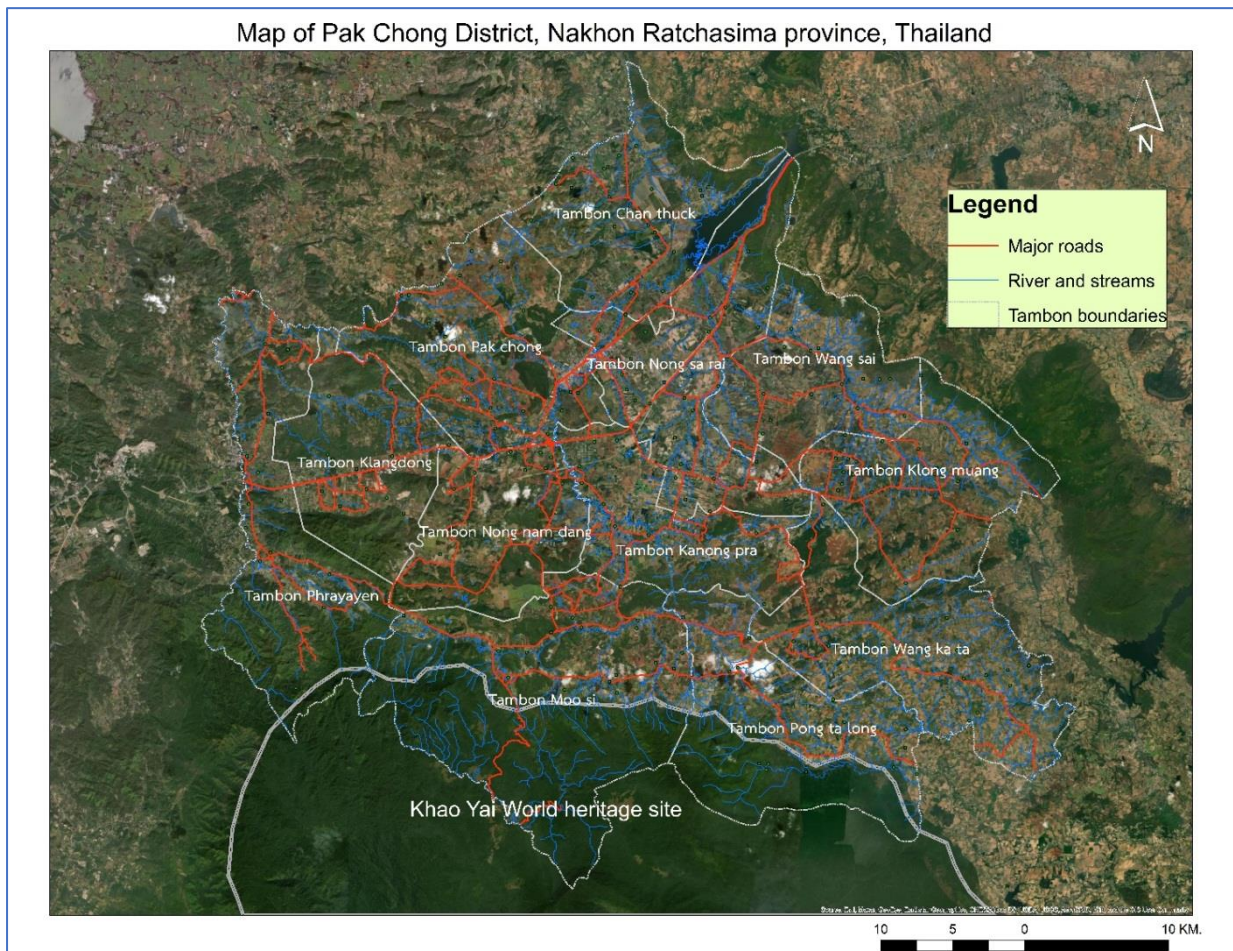


ภาพที่ 17 แสดง PCR products ที่สังเคราะห์ด้วย *F. gigantea* Tubulin specific primers (ขนาด 202 bp) บน 2% agarose gel electrophoresis (M = 100 bp plus marker, ThermoScientific, USA; NC = negative control; PC = positive control; 1-10 =แสดงตัวอย่างหมายเลข 1-10)

## ผลการวิจัย (Results) โครงการย่อยที่ 2

### 1. สภาพทั่วไปของพื้นที่ศึกษา

อำเภอปากช่อง เป็นอำเภอแรกของจังหวัดนครราชสีมา ที่ผู้เดินทางจากกรุงเทพต้องผ่านมายังภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อำเภอปากช่องมีเขตติดต่อกับอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ ซึ่งทางขึ้นอุทยานด้านอำเภอปากช่องเป็นถนนที่สามารถขึ้นไปถึงบริเวณอุทยานได้สะดวก เนื่องจากเขตอำเภอมีอาณาเขตติดต่อกับผืนป่าดงพญาเย็นประกอบด้วยเป็นที่ราบสูงสลับภูเขา ทำให้สภาพภูมิอากาศโดยทั่วไปมีความเย็นจนได้รับการจัดอันดับว่า ปากช่องมีระดับโอโซนเป็นอันดับ 7 ของโลก เหมาะแก่การทำปศุสัตว์ขนาดใหญ่ จึงมีฟาร์มขนาดใหญ่หลายแห่ง และมีรีสอร์ท และโรงแรมอีกมาก ซึ่งสามารถรองรับนักท่องเที่ยวได้จำนวนมาก โดยเฉพาะช่วงวันหยุดซึ่งจะมีนักท่องเที่ยวจำนวนมากมาใช้จ่าย พักผ่อน และบริโภคอาหารพื้นเมืองของปากช่อง (ที่มา: [th.wikipedia.org/wiki/อำเภอปากช่อง](http://th.wikipedia.org/wiki/อำเภอปากช่อง) )

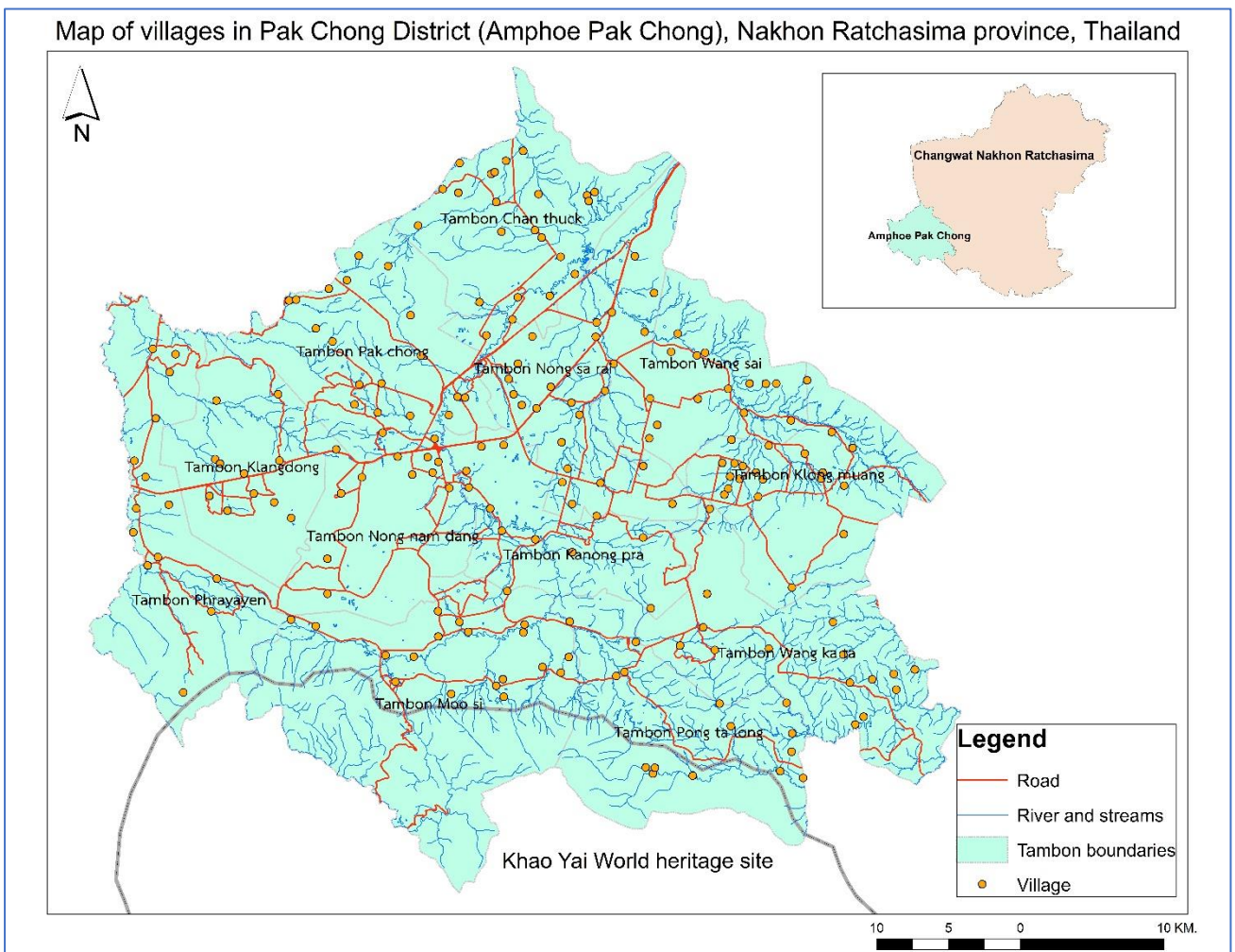


ภาพที่ 18 ภาพถ่ายดาวเทียมรายละเอียดสูงบริเวณพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา



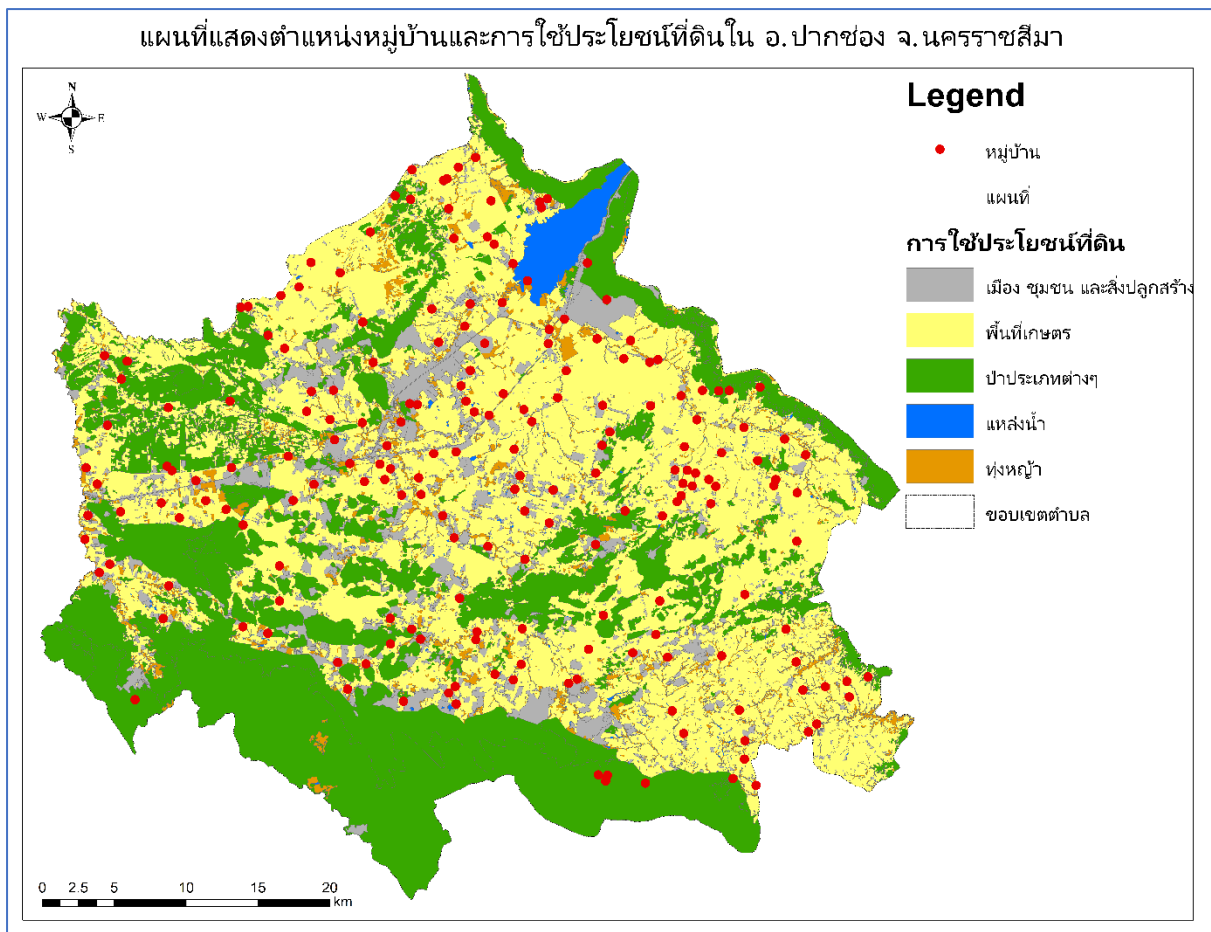
อำเภอปากช่องแบ่งพื้นที่การปกครองออกเป็น 12 ตำบล 219 หมู่บ้าน ได้แก่

- |                           |                                |
|---------------------------|--------------------------------|
| 1. ปากช่อง (Pak Chong)    | 7. ขนงพระ (Khanong Phra)       |
| 2. กลางดง (Klang Dong)    | 8. โป่งตาลอง (Pong Talong)     |
| 3. จันทึก (Chanthuek)     | 9. คลองม่วง (Khlung Muang)     |
| 4. วังกะทะ (Wang Katha)   | 10. นองน้ำแดง (Nong Nam Daeng) |
| 5. หมูสี (Mu Si)          | 11. วังไทร (Wang Sai)          |
| 6. นองสาวราย (Nong Sarai) | 12. พญาเย็น (Phaya Yen)        |



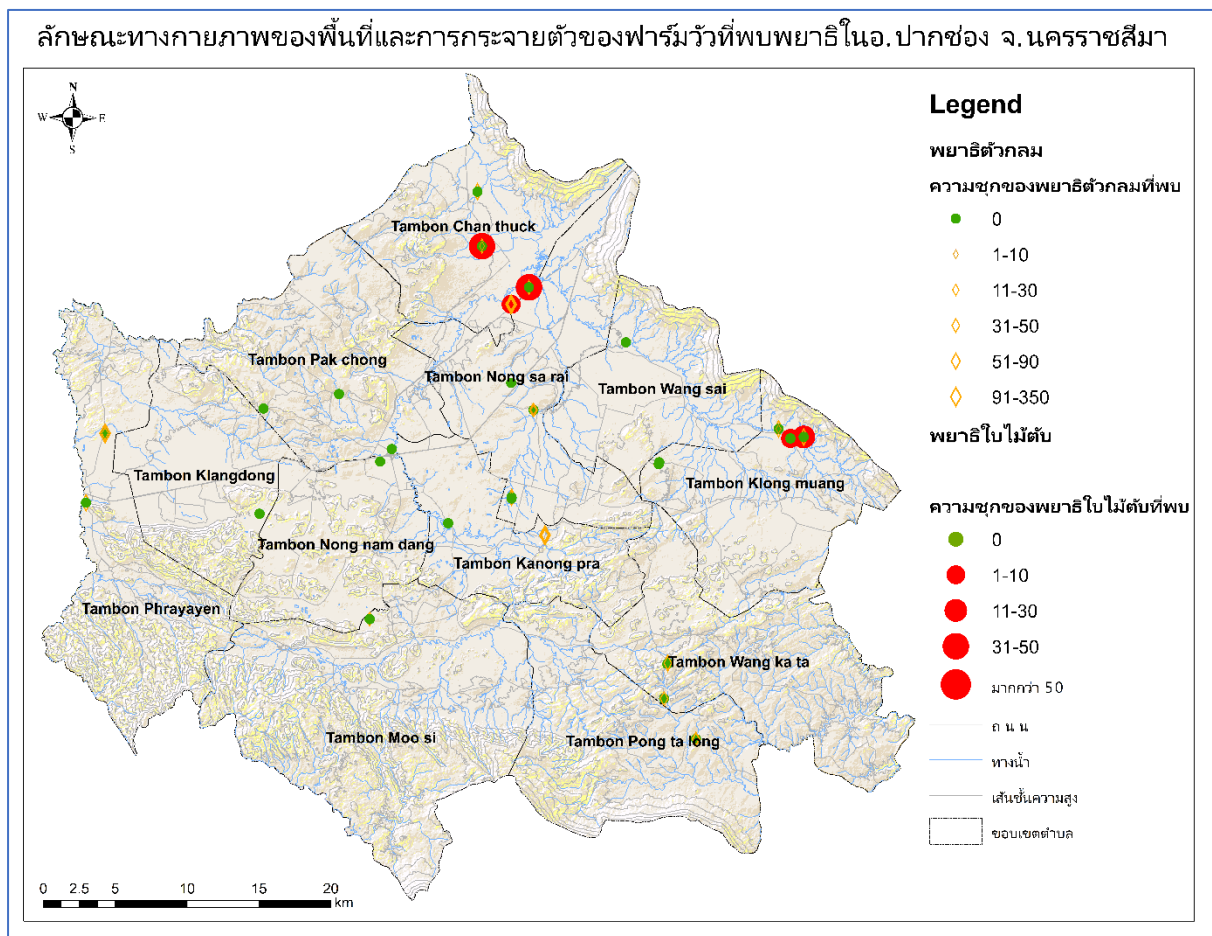
ภาพที่ 19 แสดงตำแหน่งหมู่บ้านและขอบเขตตำบลต่างๆ ในอำเภอปากช่อง

พื้นที่อำเภอปากช่องประกอบด้วยพื้นที่ป่าอนุรักษ์บริเวณตอนใต้ของพื้นที่ โดยที่มีการกระจายตัวของป่าสงวนแห่งชาติรอบๆ พื้นที่ ซึ่งปัจจุบันรัฐบาลได้ทำการจัดสรรให้พื้นที่บางส่วนของป่าสงวนแห่งชาติเป็นที่ทำกินของเกษตรกรในลักษณะเอกสารสิทธิ์สปก. ดังนั้นจะเห็นได้ว่าบริเวณพื้นที่สปก. จะแทรกตัวอยู่ในพื้นที่ป่าสงวนแห่งชาติทั่วไป ก่อให้เกิดการขยายตัวและการตั้งถิ่นฐานบ้านเรือนเป็นชุมชนอยู่ตั้งแต่ขอบของพื้นที่สปก. ไปจนถึงบริเวณรอบๆ เขื่อนลำตะคอง ในขณะที่พื้นที่เกษตรมีอยู่ทั่วไปกระจายตัวในบริเวณใจกลางพื้นที่ที่ถัดจากชุมชน เมื่อมีการตัดถนนเข้าในพื้นที่อำเภอปากช่อง ประชาชนที่ตั้งถิ่นฐานบ้านเรือนใกล้แหล่งน้ำก็มีการขยายตัวไปตามแนวถนนมากขึ้น อีกทั้งเนื่องจากพื้นที่อำเภอปากช่องมีพื้นที่ป่าสูงสุดในจังหวัดนครราชสีมา และในพื้นที่ป่าบางส่วนยังเป็นทุ่งหญ้าอุดมสมบูรณ์ ซึ่งเกษตรกรผู้เลี้ยงโค มักจะนำโคมาเล็มหญ้าในพื้นที่เหล่านี้ พื้นที่ป่าต่างๆ ในอำเภอปากช่องได้แก่ ป่าสงวนแห่งชาติ ป่าอนุรักษ์ เมื่อนำข้อมูลข้างต้น มาออกแบบฐานข้อมูลในระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ ทำให้ได้ชั้นข้อมูลซึ่งแสดงให้เห็นความเชื่อมโยงของทรัพยากรการใช้ประโยชน์พื้นที่ แหล่งน้ำ และอิทธิพลของมนุษย์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาพยาธิไปไม่ในโคดังนี้



ภาพที่ 20 แผนที่แสดงตำแหน่งหมู่บ้านและการใช้ประโยชน์ที่ดินในอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

จากการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพื้นที่ด้วย โปรแกรม ArcGIS เพื่อแสดงข้อมูลที่มีนัยสำคัญเชิงพื้นที่ที่สามารถแสดงตำแหน่งของฟาร์มโคที่พบพยาธิใบไม้ตับและพยาธิตัวกลมในโค จำนวนมาก ดังภาพที่ 21



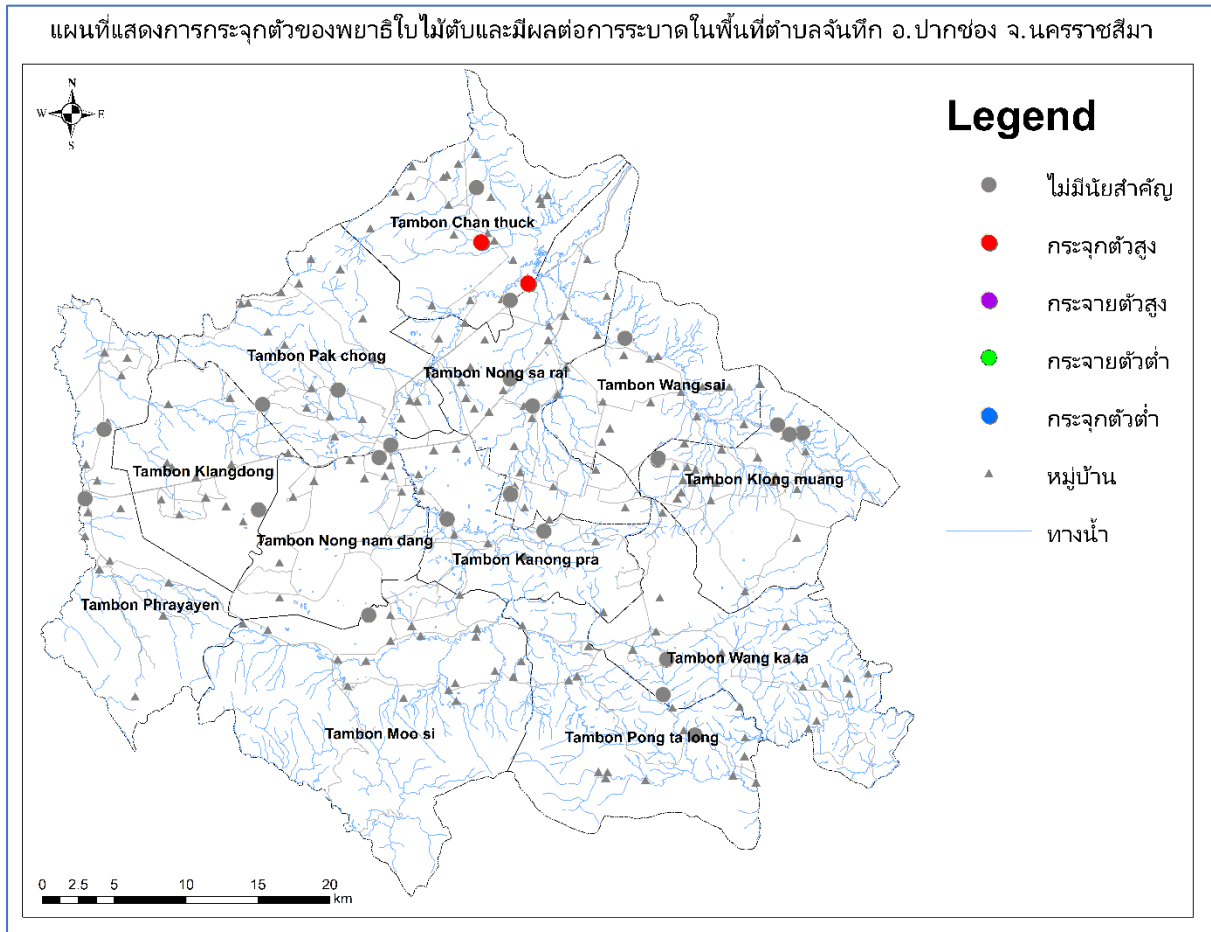
ภาพที่ 21 ลักษณะทางกายภาพของพื้นที่อำเภอปากช่องและตำแหน่งที่มีความชุกของการระบาดของพยาธิใบไม้ตับและพยาธิตัวกลม

ตารางที่ 9 แสดงค่าการกระจุกตัวของข้อมูลพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

Z score	p-value	Confidence level
< -2.58 หรือ >2.58	0.01	99%
-2.58 - -1.96 หรือ 1.96 - 2.58	0.05	95%
-1.96 - -1.65 หรือ 1.65 - 1.96	0.10	90%



จากการพิจารณาความสัมพันธ์ของข้อมูลการตรวจพบพยาธิในพื้นที่อ.ปากช่อง พบว่าการกระจุกตัวของพยาธิใบไม้ตับในโคมีรูปแบบการกระจุกตัวอย่างสูงในบางพื้นที่ อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับการแสดงผลบนแผนที่ (ภาพที่ 21) จะเห็นได้ว่า พยาธิใบไม้ตับมีการกระจุกตัวสูงในบริเวณตำบลจันทึก อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา



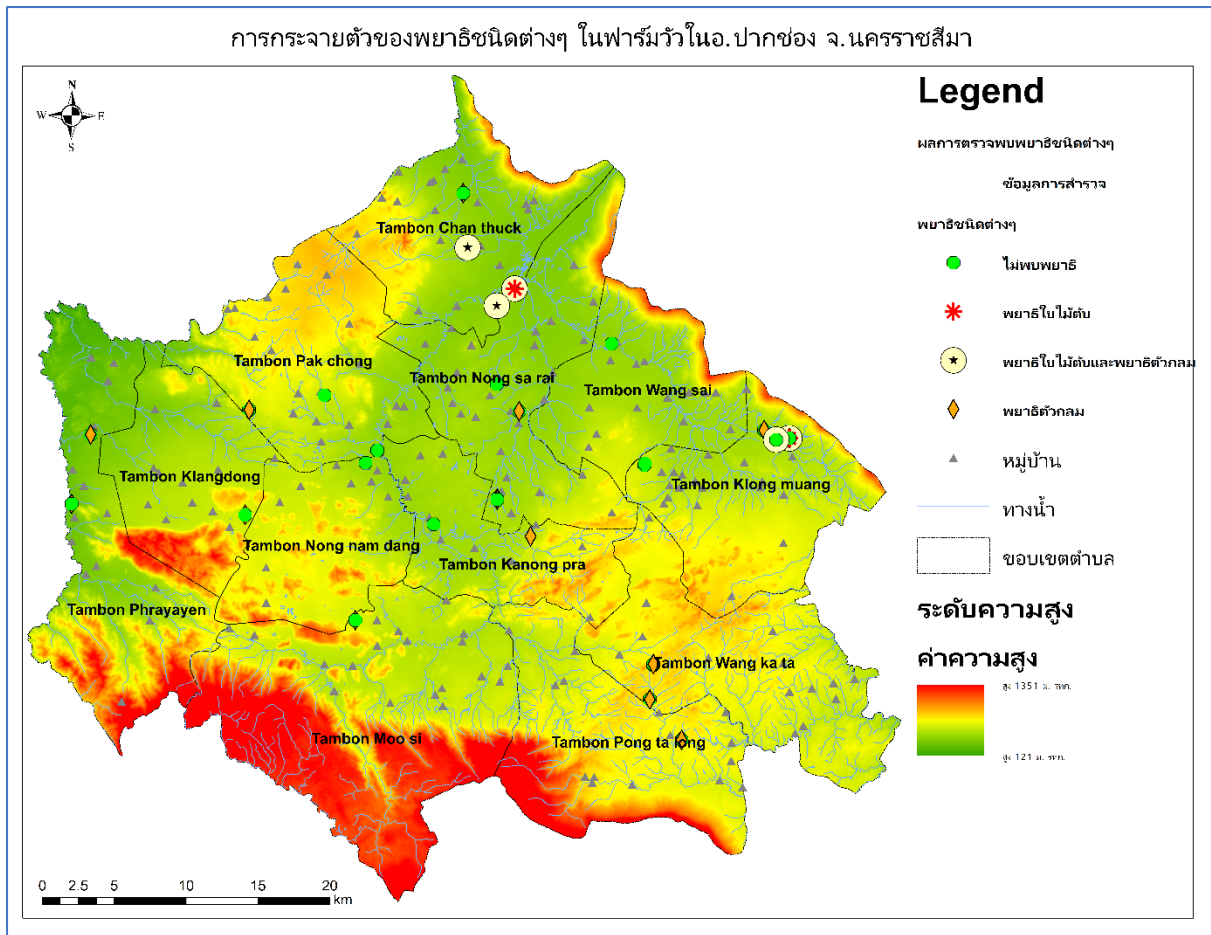
ภาพที่ 22 ความชุกของพยาธิใบไม้ตับและบริเวณที่เสี่ยงต่อการระบาดอย่างรุนแรงในตำบลจันทึก อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

ตารางที่ 10 แสดงค่าสถิติจากการวิเคราะห์ Global Moran's I ของความสัมพันธ์เชิงพื้นที่และรูปแบบการกระจายตัวของข้อมูลพยาธิใบไม้ตับ ในอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

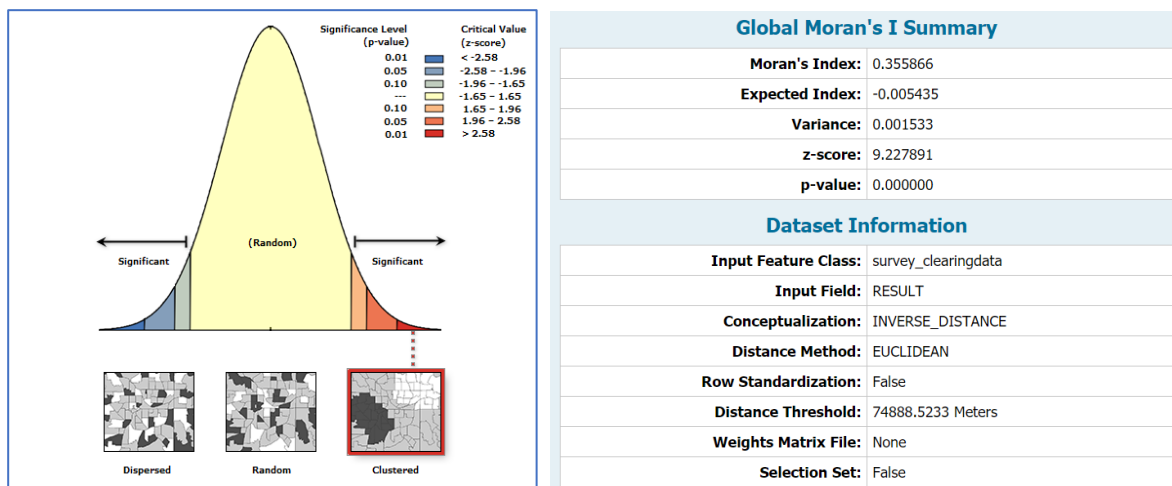
Z-score	p-value	Confidence level
< -2.58 หรือ > 2.58	0.01	99 %
-2.58 - -1.96 หรือ 1.96 - 2.58	0.05	95 %
-1.96 - -1.65 หรือ 1.65 - 1.96	0.10	90 %

จากภาพที่ 21-22 แสดงให้เห็นว่า จากผลการตรวจพยาธิใบไม้ตับจากมูลโคในฟาร์มที่ตั้งอยู่ในตำบลจันทิก พบปริมาณไข่พยาธิ (EPG) ใบไม้ตับ ปริมาณสูงและมีการกระจุกตัวเชิงพื้นที่อย่างมีนัยสำคัญ จึงแสดงให้เห็นว่า นอกจากบริเวณตำบลจันทิกจัดว่าเป็นบริเวณที่มีความชุกของพยาธิใบไม้ตับในโคแล้วยังจัดได้ว่าเป็นพื้นที่ที่มีความเสี่ยงต่อการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับอย่างรุนแรงด้วย

นอกจากนั้น ผลการตรวจสอบชนิดของพยาธิจากมูลสัตว์โคที่เก็บตัวอย่างสุ่มจากฟาร์มทั่วอำเภอปากช่องแล้ว ที่มวิจัย (โครงการวิจัยย่อยที่ 1) ยังพบการระบาดของพยาธิตัวกลมในมูลโค อีกเป็นจำนวนมากเช่นกัน (ตารางที่ 6)



ภาพที่ 23 แผนที่แสดงการกระจายตัวของพยาธิชนิดต่างๆ ที่พบจากฟาร์มโคบริเวณที่ลุ่มๆ ใน อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

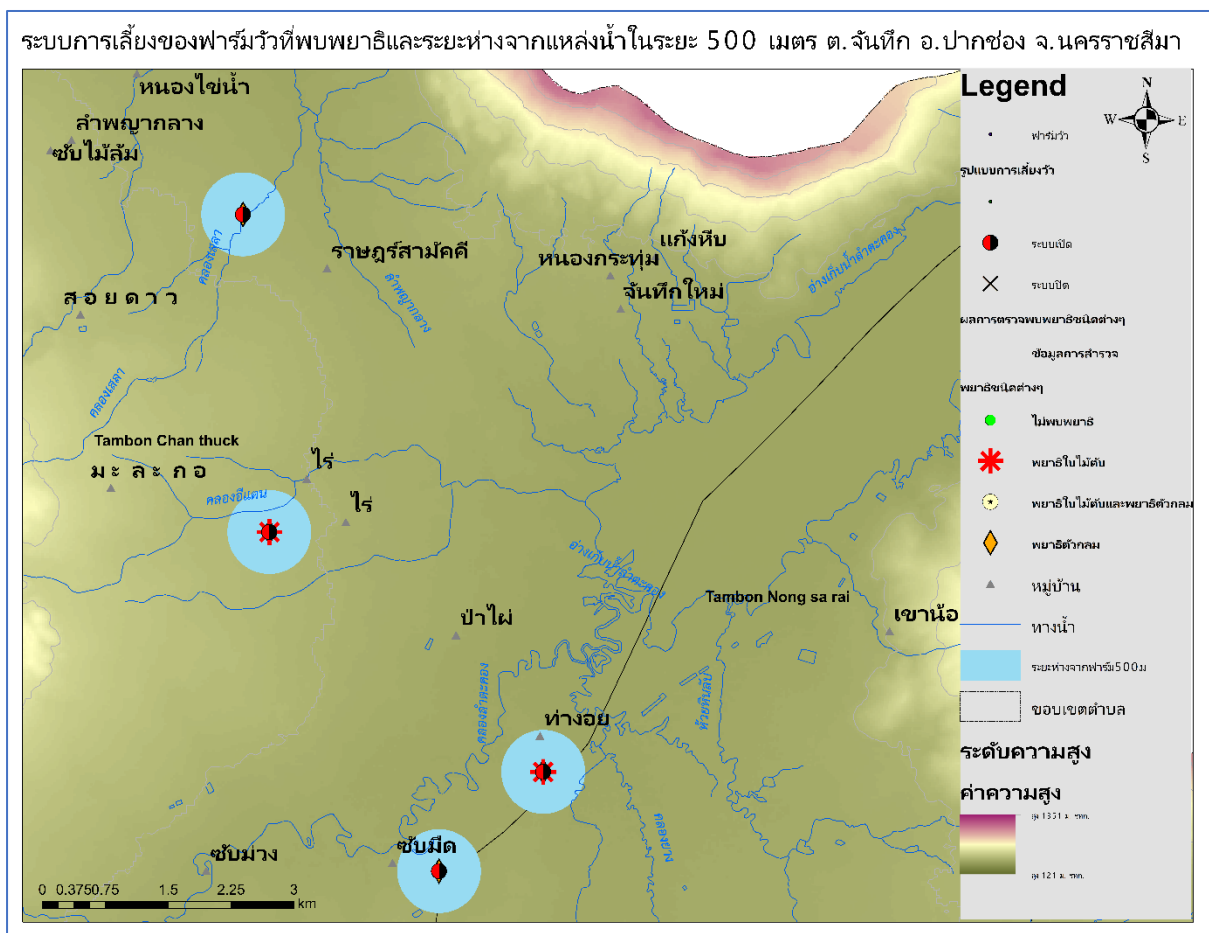


ภาพที่ 24 กราฟแสดง Spatial auto-correlation ของผลการตรวจพบพยาธิต่างๆ ในพื้นที่ศึกษา

อัตสหสัมพันธ์เชิงพื้นที่ (Spatial auto-correlation) เป็นวิธีการทางสถิติวิธีการหนึ่งในการหาโครงสร้างเชิงพื้นที่ของสารสนเทศภูมิศาสตร์ อัตสหสัมพันธ์เชิงพื้นที่ คือ องค์ประกอบสหสัมพันธ์ระหว่าง 2 เหตุการณ์ ที่อยู่ตำแหน่งที่แตกต่างกัน ในกรณีที่มีอัตสหสัมพันธ์เชิงพื้นที่สูง จะสามารถทำการประมาณค่าในช่วงพื้นที่สำหรับตัวอย่างที่มีความหนาแน่นต่ำได้อย่างมีแม่นยำสูงด้วย จากผลการศึกษาพบว่าตำแหน่งที่มีการกระจุกตัวสูงของพยาธิใบไม้ตับมีผลให้เกิดอัตสหสัมพันธ์เชิงพื้นที่สูง จึงสามารถทำการประมาณค่าความสัมพันธ์ในพื้นที่สำหรับตัวอย่างตำแหน่งพยาธิที่มีความหนาแน่นต่ำ เช่น ข้อมูลเชิงพื้นที่ของพยาธิตัวกลมในอำเภอปากช่อง

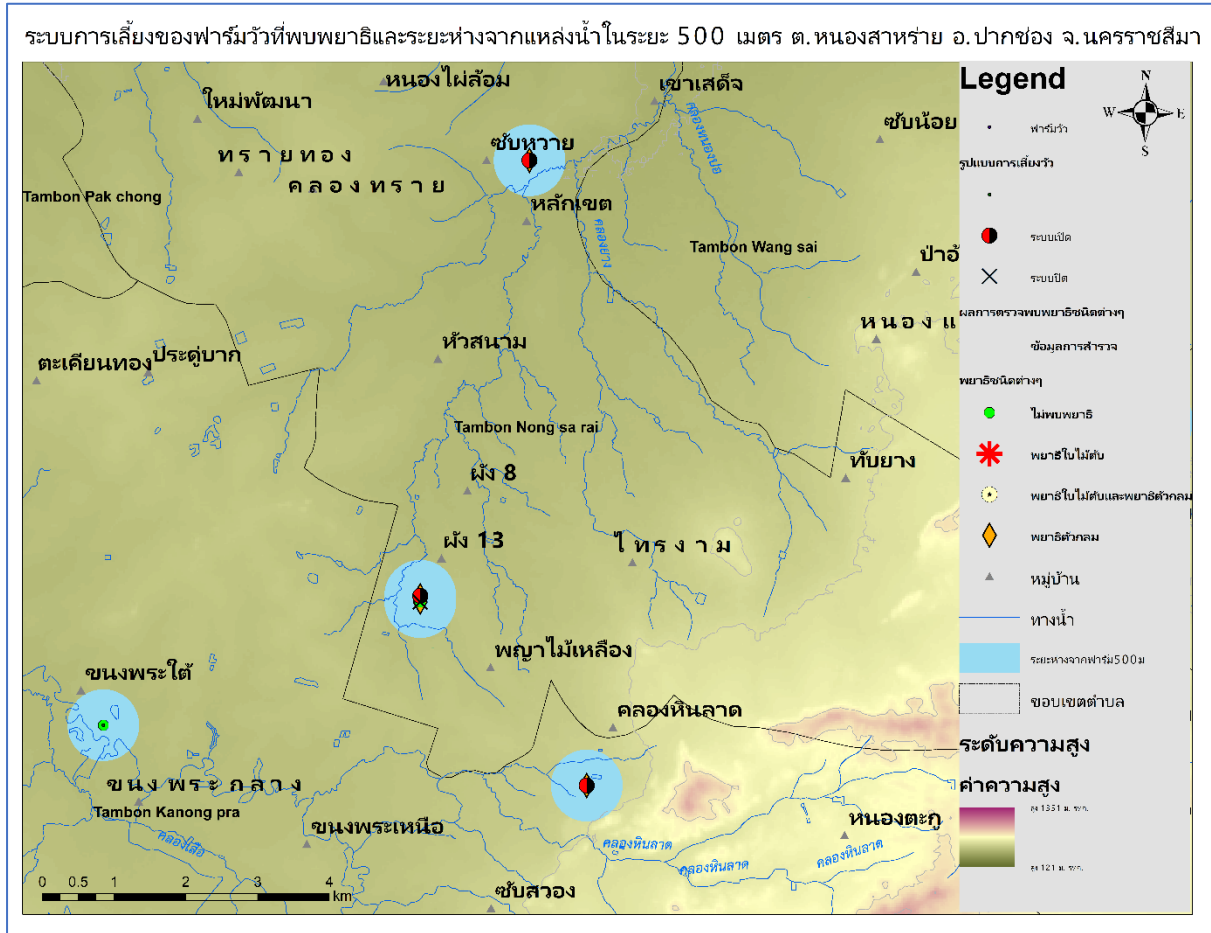
จากแผนที่ข้างต้นจะเห็นได้ว่า การระบาดของพยาธิใบไม้ตับจะอยู่ที่ด้านเหนือและตะวันออกของอำเภอปากช่อง โดยเฉพาะตำบลจันทน์ทีกและตำบลคลองม่วง ในขณะที่การระบาดของพยาธิตัวกลมกระจายอยู่ทั่วทั้งพื้นที่ในอำเภอปากช่อง ด้วยเหตุนี้ จึงได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการแพร่ระบาดของพยาธิต่างๆ ในพื้นที่ศึกษา ซึ่งสามารถแสดงผลที่มีความสัมพันธ์เชิงพื้นที่จากตัวแปรเหล่านี้

- การเลี้ยงโคในระบบเปิดและปิด มีความสัมพันธ์กับการระบาดของพยาธิใบไม้ตับ



ภาพที่ 25 การเลี้ยงโคแบบเปิดและตำแหน่งของฟาร์มที่พบพยาธิใน ต. จันทน์ทีก อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

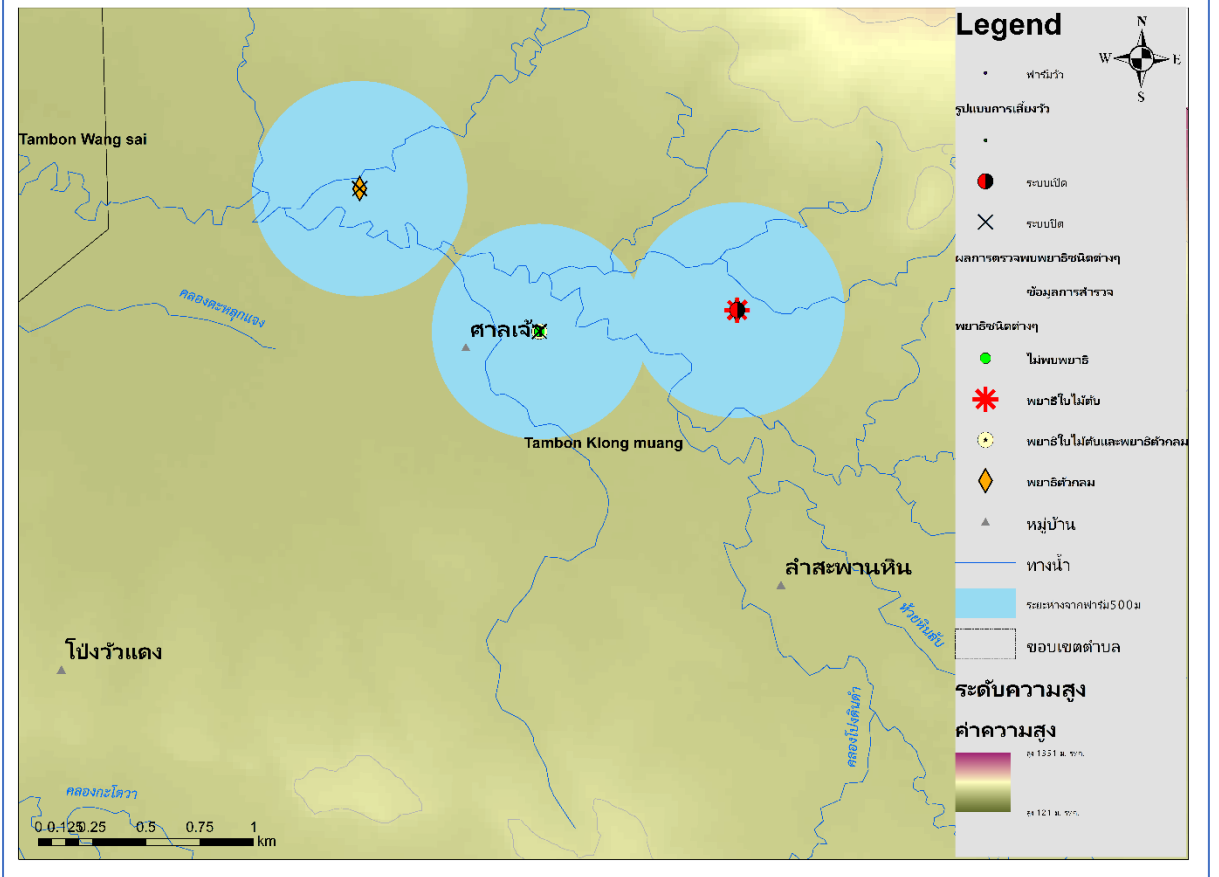
จะเห็นได้ว่า ฟาร์มทั้ง 4 แห่งในตำบลจันทน์ทีกที่ถูกสุ่มตรวจพยาธิใบไม้ตับ ตรวจพบพยาธิใบไม้ตับ 2 แห่ง และพบพยาธิตัวกลม 2 แห่ง ฟาร์มโคทั้ง 4 แห่งนี้มีที่ตั้งอยู่ใกล้แหล่งน้ำในระยะไม่เกิน 500 เมตร มีการเลี้ยงแบบระบบเปิด คือ ปล่อยให้โคออกมาหากิน ถ่ายมูลสัตว์ และต้อนน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติเอง จึงเป็นต้นเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ตับไปยังพื้นที่อื่นๆ ได้



รูปที่ 26 การเลี้ยงโคแบบเปิดและตำแหน่งของฟาร์มที่พบพยาธิใน ต. หนองสาหร่าย อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

สำหรับในพื้นที่ตำบลหนองสาหร่าย พบว่า พยาธิตัวกลมเป็นปัญหาสำคัญในตำบลนี้ที่ต้องควบคุมการแพร่ระบาด เนื่องจากส่วนใหญ่ ฟาร์มโคเหล่านี้มีการเลี้ยงโคแบบระบบเปิด คือ ปล่อยให้โคหาอาหาร ถ่ายมูลสัตว์ กินหญ้า และต้อนน้ำในบริเวณแหล่งน้ำที่อยู่ใกล้กับฟาร์มโค ภายในระยะ 500 เมตร

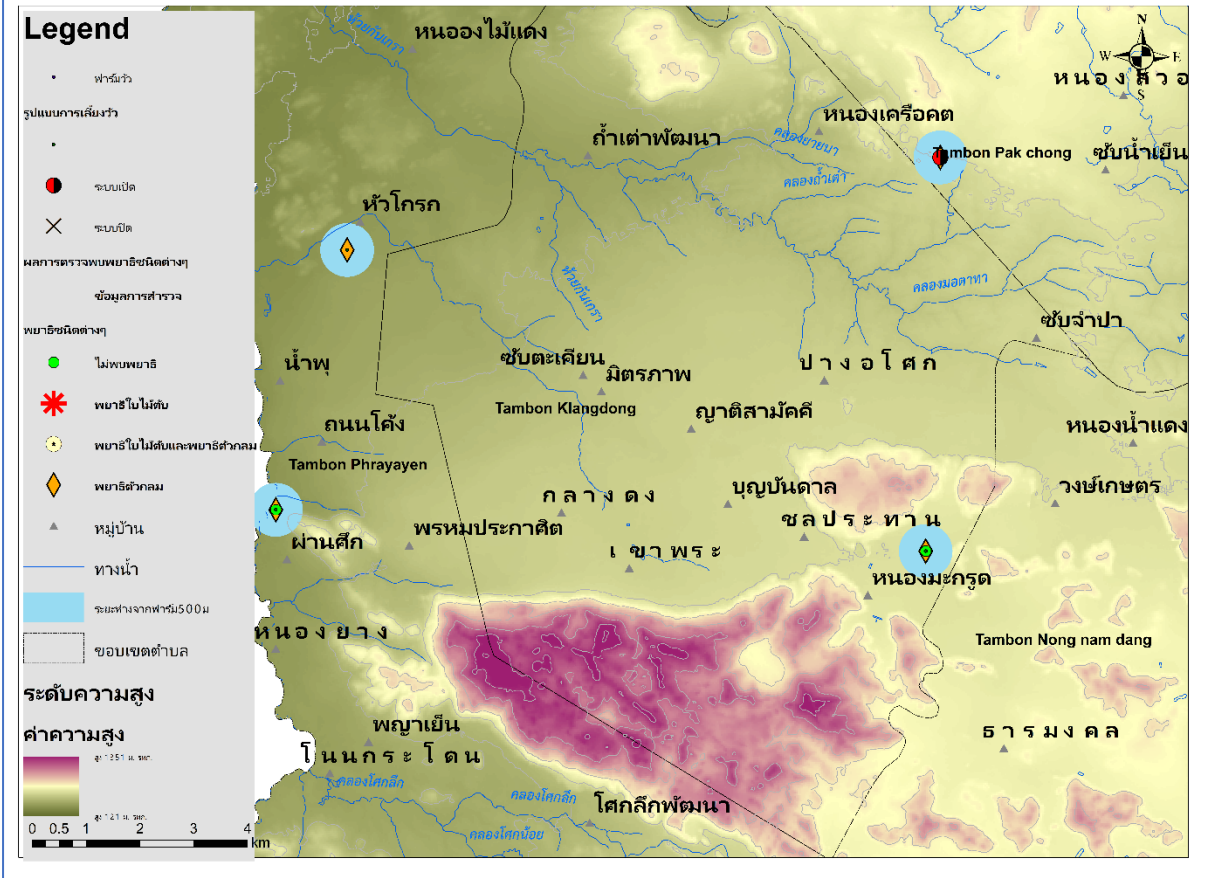
ระบบการเลี้ยงของฟาร์มวัวที่พบพยาธิและระยะห่างจากแหล่งน้ำในระยะ 500 เมตร ต. คลองเมือง อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา



ภาพที่ 27 การเลี้ยงโคแบบเปิดและตำแหน่งของฟาร์มที่พบพยาธิใน ต. คลองม่วง อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

ในตำบลคลองม่วง มีการตรวจพบพยาธิตัวกลม และพยาธิใบไม้ตับในจำนวน 2 ใน 3 ฟาร์ม อย่างไรก็ตามฟาร์มที่ตรวจพบพยาธิตัวกลมเป็นฟาร์มในระบบปิด ในขณะที่ฟาร์มโคที่พบการระบาดของพยาธิใบไม้จำนวน 1 แห่งนั้น มีที่ตั้งอยู่ใกล้แหล่งน้ำและมีการเลี้ยงแบบระบบเปิด คือ ปล่อยให้โคหากิน ถ่ายมูลสัตว์และต้อนน้ำในแหล่งน้ำเอง

ระบบการเลี้ยงของฟาร์มวัวที่พบพยาธิและระยะห่างจากแหล่งน้ำในระยะ 500 เมตร ต. พญาเย็น กลางดง และปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา



ภาพที่ 28 ระบบการเลี้ยงโคและการตรวจพบพยาธิใน ต. พญาเย็น ต. กลางดง ต. ปากช่อง อ. ปากช่อง จ.นครราชสีมา

เมื่อพิจารณาข้อมูลการตรวจพยาธิในมูลโคจากฟาร์มโคในตำบลพญาเย็น กลางดง และปากช่อง พบว่า การมีระบาดของพยาธิตัวกลม เป็นปัญหาสำคัญของทั้ง 3 ตำบลนี้ ในขณะที่ฟาร์มโคที่พบพยาธิตัวกลมในตำบลปากช่องมีการเลี้ยงในระบบเปิด อยู่ใกล้แหล่งน้ำในระยะไม่เกิน 500 เมตร

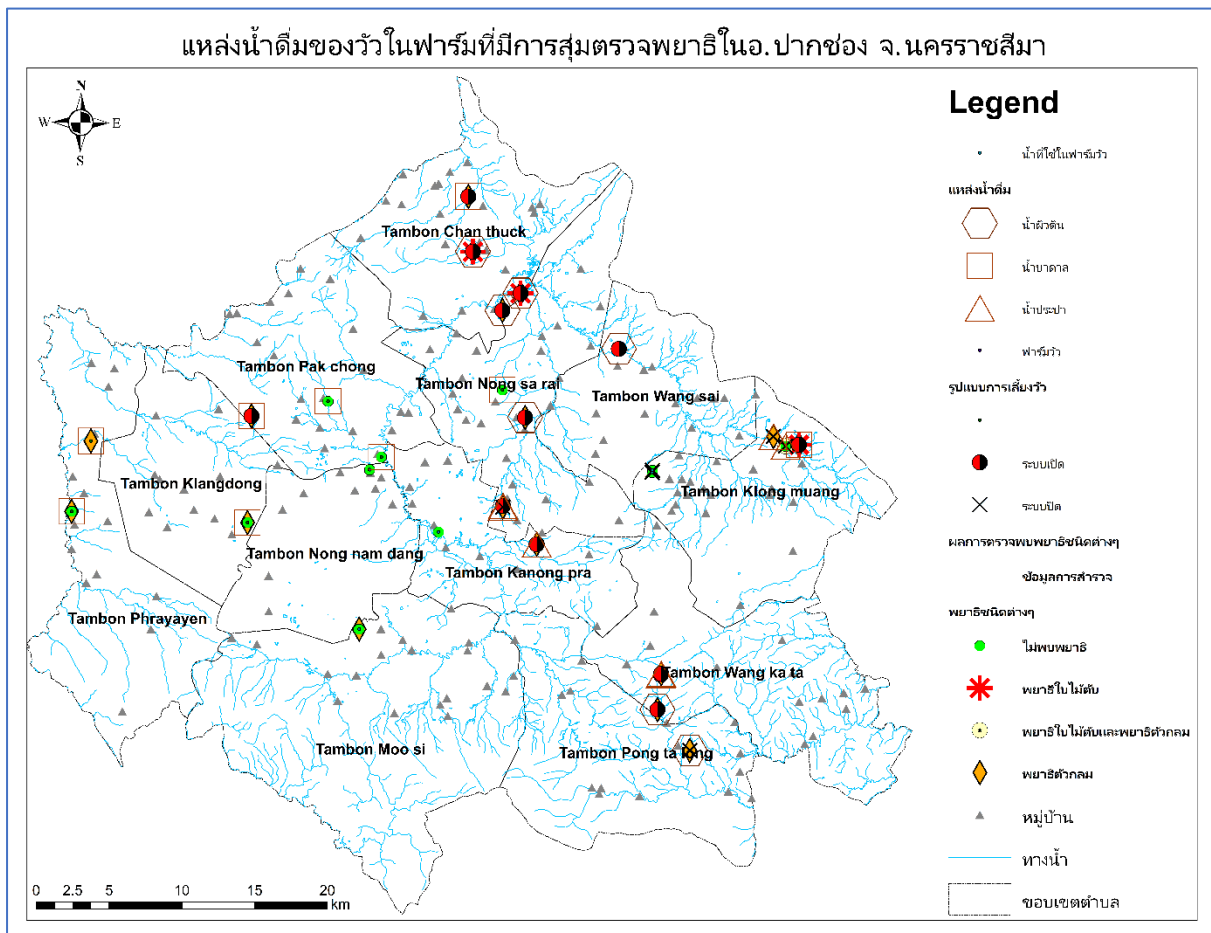






- แหล่งน้ำดื่มของโคในฟาร์มที่ตรวจพบพยาธิ

นอกจากระบบการเลี้ยงโคแบบเปิด หรือการปล่อยให้โคได้เดินอิสระของฟาร์มส่วนใหญ่ที่ตรวจพบพยาธิชนิดต่างๆ แล้ว แหล่งน้ำดื่มที่โคใช้ดื่มก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่สามารถทำให้พยาธิชนิดต่างๆ เดินทางเข้าไปฝังตัวอยู่ในโคได้อีกด้วย แผนที่ 30 แสดงให้เห็นแหล่งน้ำดื่มของโคในฟาร์มที่ตรวจพบพยาธิต่างๆ ในอำเภอปากช่อง



ภาพที่ 30 แสดงแหล่งน้ำที่ใช้เลี้ยงโคและการแสดงผลการพบพยาธิในฟาร์มโค ใน อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

จากภาพที่ 30 จะเห็นได้ว่า ฟาร์มโคส่วนใหญ่ที่ใช้น้ำผิวดินในการเป็นแหล่งน้ำดื่มของโค มีที่ตั้งอยู่ทางด้านเหนือและตะวันออกของพื้นที่ ซึ่งถือเป็นแหล่งต้นน้ำลำธารที่มีน้ำมากกว่าด้านอื่นๆของอำเภอปากช่อง และที่สำคัญเป็นแหล่งที่มีความชุกของพยาธิใบไม้ตับสูงสุด (p-value = 0.02) เป็นที่สังเกตว่า ฟาร์มโคที่พบพยาธิใบไม้ตับเหล่านี้มีระบบการเลี้ยงแบบเปิด โดยปล่อยโคออกมาหากินหญ้า ดื่มน้ำ และถ่ายมูลสัตว์ลงบริเวณรอบๆ แหล่งน้ำ ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของพยาธิใบไม้จากมูลสัตว์โคสู่แหล่งน้ำได้โดยง่าย เมื่อฟาร์มข้างเคียงปล่อยโคออกมาหากินหญ้าบริเวณรอบๆ แหล่งน้ำ และดื่มน้ำบริเวณนั้น พยาธิใบไม้ตับก็สามารถเดินทางเข้าสู่โคได้ เป็นการระบาดของพยาธิใบไม้ตับนี้สามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบพยาธิใบไม้ตับ, การเลี้ยงระบบเปิด และ บริเวณแหล่งน้ำที่พบใกล้ฟาร์มโคในระยะ 500 เมตร อย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้ในบริเวณตอนกลางของพื้นที่ ได้แก่ ตำบลปากช่อง ตำบลชนงพระ และตำบลวังกะทะ พบจำนวนพยาธิตัวกลมในฟาร์มจำนวนมาก โดยที่ฟาร์มเหล่านี้ใช้น้ำบาดาลเป็นแหล่งน้ำดื่มของโค แต่มีการเลี้ยงโคแบบระบบเปิด ประกอบกับการพบมูลโคบริเวณใกล้แหล่งน้ำ ทำให้สันนิษฐานว่า การเลี้ยงแบบระบบเปิด น่าจะเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดการระบาดของพยาธิตัวกลมในพื้นที่นี้

ทางด้านทิศตะวันตกของพื้นที่ ในตำบลพญาเย็น กลางดง และหมูสี พบการแพร่กระจายของพยาธิตัวกลมในฟาร์มที่ทำการสุ่มสำรวจและพบว่า ฟาร์มโคเหล่านั้นใช้แหล่งน้ำบาดาลเป็นแหล่งหลักในการเลี้ยงโคในฟาร์ม

## ข้อวิจารณ์ (Discussion)

ผลการศึกษาในโครงการย่อยที่ 1 เรื่อง การศึกษาระบาดวิทยาระดับโมเลกุลและความหลากหลายทางพันธุกรรมของพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* ในโคเนื้อ โคนม และโฮสต์ตัวกลางของพยาธิ ในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมาในช่วงปีแรกของโครงการวิจัยที่เสนอต่อสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) นั้น ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาได้มากกว่าที่วางแผนไว้หลายประการ เช่น จำนวนตัวอย่างที่เก็บได้มากกว่าที่ระบุในข้อเสนอโครงการ รวมถึงได้ทำการวิจัยบางส่วนของปีที่ 2 ซึ่งได้เริ่มดำเนินการในช่วงโครงการปีแรก เช่น การเก็บตัวอย่างไขพยาธิ ตลอดจนตัวอย่างหอย Lymnaeid ซึ่งเป็นโฮสต์ตัวกลางชนิดที่ 1 ของพยาธิเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและอัตราการติดเชื้อ เป็นต้น

สำหรับตัวอย่างเลือดและมูลสัตว์ของโคเนื้อและโคนม ผู้วิจัยได้เสนอข้อเสนอโครงการวิจัยโดยวางแผนการเก็บตัวอย่างมูลสัตว์และซีรัมจากโคเนื้อและโคนมจำนวน 130 ตัวอย่าง แบ่งเป็นโคเนื้อและโคนมอย่างละ 65 ตัวอย่าง แต่ในการวิจัยปีแรกสามารถเก็บตัวอย่างได้ 231 ตัวอย่าง ซึ่งมากกว่าที่เสนอไว้ 101 ตัวอย่าง และครอบคลุมพื้นที่ทั้ง 12 ตำบลของอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ทำให้การศึกษาของโครงการมีความน่าเชื่อถือมากขึ้น โดยเมื่อตรวจหาการติดเชื้อในมูลสัตว์ด้วยวิธีเข้มข้นพบ *Fasciola* spp.-like eggs ทั้งสิ้นร้อยละ 5.97 ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าการรายงานของกรมปศุสัตว์ในปี 2546 - 2549 ที่พบความชุกราวร้อยละ 1-2 เท่านั้น (สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ, 2549) อาจเนื่องจากการกระจุกตัวของปศุสัตว์ในเขตอำเภอปากช่อง ซึ่งอาศัยและกินอาหารในแหล่งที่ไม่ได้ห่างกันมากนัก นอกจากนั้น การตรวจในซีรัม (seroprevalence) ยังพบอัตราการติดเชื้อสูงถึงร้อยละ 27.27 ซึ่งอยู่ในอัตราที่สูง แม้ว่าจะต่ำกว่าในบางพื้นที่ เช่น รอบทะเลสาบสงขลาที่พบสูงถึงร้อยละ 85 (บอย บุญเอื้อ, 2556) และชายแดนไทยลาวกับชายแดนกัมพูชาที่พบสูงสุดถึงร้อยละ 94.7 (ณัฐภาส โภษะรัมย์, 2559) แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจการติดเชื้อในซีรัมภายใต้โครงการวิจัยนี้ใช้แอนติเจนที่แตกต่างออกไปจากการศึกษาก่อนหน้าคือ โปรตีนลูกผสม cathepsin-L (recombinant FgCat-L) (Grams, 2001) แทนการใช้ excretory-secretory products (E/S products) ซึ่งจะลดการเกิดปฏิกิริยาข้าม (cross-reaction) กับพยาธิชนิดอื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มของพยาธิใบไม้ในลำไส้ ทำให้ผลที่ได้มีอัตราการติดเชื้อที่น้อยกว่าแต่มีความแม่นยำมากกว่า (Gupat, 2015; Sriveny, 2006) แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจหาการติดเชื้อในซีรัมนั้นยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ไม่สามารถแยกสัตว์ที่เคยติดเชื้อและสัตว์ที่กำลังติดเชื้ออยู่ได้ จึงอาจไม่ใช่วิธีการที่ต้นักสำหรับการใช้ในการตรวจวินิจฉัยเพื่อการรักษา

จากผลการตรวจทั้งหมดเป็นไปตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ คือ ในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งมีฟาร์มโคเนื้อและโคนมจำนวนมากนั้น น่าจะพบการติดเชื้อในอัตราสูง โดยพบการติดเชื้อในโคเนื้อมากกว่าโคนมทั้งในตัวอย่างมูลสัตว์และซีรัม ในส่วนของการตรวจมูลสัตว์ที่ให้ผลบวกน้อย เนื่องจากโคอาจมีปริมาณเชื้อปรสิตในร่างกายต่ำ (low-parasitemia) แต่อย่างไรก็ตามการพบไขพยาธิในมูลสัตว์ของสัตว์นั้นบ่งบอกได้ว่ายังมีการระบาดของพยาธิในพื้นที่ ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจหาในซีรัมที่พบว่าโคบางตัวมี titer ของแอนติบอดีสูงมากกว่า 5 เท่าของ negative control serum ซึ่งนั่นหมายถึงมีการติดเชื้อซ้ำแล้วซ้ำอีกในเวลาไม่นานนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโคเนื้อซึ่งมีการเลี้ยงในระบบเปิดและปล่อยให้สัตว์มีการกินหญ้าเองใกล้แหล่ง

น้ำธรรมชาติ มากกว่าในโคนมที่เลี้ยงในระบบปิดเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ปัจจัยที่กล่าวมาแล้ว ยังพบว่าโคเพศเมียติดเชื้อสูงกว่าเพศผู้และโคช่วงอายุน้อยกว่า 3 ปี พบการติดเชื้อสูงที่สุด โดยไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัด ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากตัวอย่างส่วนมากที่เก็บได้ในการศึกษารุ่นนี้มีโคเพศเมียมากกว่าเพศผู้ ส่วนปัจจัยด้านแหล่งน้ำรวมถึงการเจริญเติบโตของโคที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยยะสำคัญ จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าปัจจัยหลายอย่างที่ส่งเสริมการติดเชื้อในโคทั้งสองชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งที่มาของอาหารและพฤติกรรมในการหากินของสัตว์ ซึ่งพบว่าพื้นที่ที่มีการติดเชื่อน้อยมักใช้อาหารสำเร็จรูปและเลี้ยงในฟาร์มระบบปิด

สำหรับปัจจัยทางด้านประวัติการรับยาถ่ายพยาธินั้น กลับพบว่า สัตว์ที่ได้รับยาถ่ายพยาธิไม่เกิน 1 ปี มีอัตราการติดเชื้อมากกว่าสัตว์ที่ไม่เคยรับยาถ่ายพยาธิ (รูปที่ 15) ซึ่งจากข้อมูลที่ได้จากเกษตรกร พบว่า ยาถ่ายพยาธิที่ใช้เป็นยาในกลุ่ม albendazole ซึ่งเป็นยาสำหรับกำจัดพยาธิตัวกลม ไม่สามารถใช้กำจัดพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* ได้ ทำให้ผลการศึกษาในปัจจัยนี้ไม่สอดคล้องกันในทางทฤษฎี ดังนั้นเกษตรกรควรเพิ่มชนิดของยาถ่ายพยาธิสำหรับกำจัดพยาธิกลุ่มตัวแบนด้วย

การศึกษาในหอยตัวกลางในเบื้องต้นพบว่า หอยที่กระจายตัวอยู่ในตำบลหนองสาหร่ายเป็นชนิด *Redix rubiginosa* ซึ่งเป็น 1 ใน 3 สายพันธุ์หลักของหอยที่ถูกรายงานว่าเป็นโฮสต์ตัวกลางที่หนึ่งของพยาธิใบไม้ *F. gigantica* ในประเทศไทย โดยพบอัตราการติดเชื้อในหอยสูงถึงร้อยละ 39.4 ซึ่งสูงกว่าการรายงานของ Kaset และคณะที่ร้อยละ 8.37 (Kaset et al, 2010)

จากการศึกษาในโครงการย่อยที่ 2 เรื่อง การจัดการเชิงพื้นที่ในการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในโคเนื้อ โคนม และมนุษย์ ด้วยเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ พื้นที่ศึกษา อำเภopakช่อง จังหวัดนครราชสีมา พบว่า

1) ปัจจัยเชิงพื้นที่ที่ส่งผลต่อความชุกของการตรวจพบพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่อำเภopakช่อง

จะเห็นว่าพื้นที่ตำบลจันทิกและตำบลคลองม่วง เป็นพื้นที่ทางด้านเหนือและตะวันออกของอำเภopakช่อง ที่ตรวจพบพยาธิใบไม้ตับในมูลสัตว์โคสูงสุด โดยเป็นที่สังเกตว่า ฟาร์มโคเหล่านี้มีการเลี้ยงแบบระบบเปิด ซึ่งจากการสำรวจภาคสนามยืนยันพบมูลโคบริเวณและรอบๆ แหล่งน้ำในระยะ 50 เมตร และมีระยะห่างจากฟาร์มโคที่พบพยาธิใบไม้ในระยะเพียง 200 เมตร จึงเป็นการยืนยันว่า ไข่พยาธิใบไม้ตับ มีโอกาสลงสู่แหล่งน้ำก่อให้เกิดการแพร่กระจายของพยาธิใบไม้ตับได้

2) การกระจายตัวของพยาธิตัวกลมในพื้นที่อำเภopakช่อง

จากข้อมูลการกระจายตัวของฟาร์มที่ตรวจพบพยาธิตัวกลมในพื้นที่อำเภopakช่องนั้น จะเห็นว่า มีการกระจายตัวอยู่ในพื้นที่อำเภopakช่องหลายตำบล โดยที่บางฟาร์มมีการเลี้ยงระบบปิดและบางฟาร์มมีการเลี้ยงแบบระบบเปิด ถึงแม้โครงการวิจัยนี้จะมุ่งเน้นการวิเคราะห์และผลการศึกษาเฉพาะพยาธิใบไม้ตับ แต่การกระจายตัวและการพบจำนวนไข่พยาธิตัวกลมรวมถึงพยาธิตัวกลมเป็นจำนวนมากจากมูลสัตว์โคของฟาร์มในพื้นที่ศึกษา ดังนั้นจึงเห็นสมควรว่าน่าจะมีการเฝ้าระวังและหาทางแก้ปัญหาทั้งเชิงพื้นที่และเชิงการจัดการกับฟาร์มโคที่ตรวจพบพยาธิตัวกลมอย่างเร่งด่วน

3) การไม่พบผู้ป่วยโรคตับอักเสบจากพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* ในโรงพยาบาลท้องถิ่น

ด้วยศักยภาพของเครื่องมือและจำนวนผู้เชี่ยวชาญทางด้านอายุรกรรมระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะทางด้านตับและท่อน้ำดีในโรงพยาบาลท้องถิ่นไม่มีแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางด้านนี้ ทำให้ผู้ป่วยที่ถูกวินิจฉัยว่าเป็นโรคตับอักเสบซึ่งได้รับการรักษาในเบื้องต้นแล้วอาการไม่ดีขึ้น ถูกส่งตัวไปรักษาต่อยังโรงพยาบาลประจำจังหวัด เพื่อการตรวจวินิจฉัย ตรวจทางห้องปฏิบัติการพิเศษ และการรักษาขั้นสูงต่อไป จึงส่งผลให้ทางเวชระเบียนของโรงพยาบาลท้องถิ่น ไม่ปรากฏผู้ป่วยโรคตับอักเสบที่เกิดจากสาเหตุของพยาธิใบไม้ในตับ *F. gigantica* ในปัจจุบันจนถึง 10 ปีย้อนหลัง จึงทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งที่พบผู้ป่วยโรคพยาธิใบไม้ตับกับตำแหน่งที่พบพยาธิใบไม้ตับในพื้นที่ได้

## สรุปและขอเสนอแนะ (Conclusion and Recommendation)

จากผลการศึกษาและข้อวิจารณ์ที่เกิดขึ้น คณะผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะที่สำคัญ ดังนี้

1. การป้องกันการแพร่ระบาด จากสภาพทางกายภาพของฟาร์มโคในพื้นที่ สามารถเสนอแนะแนวทางในการป้องกันและลดการแพร่ระบาดบนพื้นฐานของข้อมูลเชิงพื้นที่ได้ดังนี้

1.1 หากเป็นไปได้ควรแนะนำให้เกษตรกรเลี้ยงโคในระบบปิด แต่หากไม่สามารถทำได้ ปศุสัตว์ในพื้นที่ควรให้ความรู้กับเกษตรกรเกี่ยวกับเชื้อปรสิต และแนะนำให้หลีกเลี่ยงการหากินใกล้แหล่งน้ำที่มีเชื้อปรสิตหรือหอยตัวกลางของเชื้อปรสิตที่พบอัตราการติดเชื้อสูง เช่น แหล่งน้ำในตำบลจันทิก ตำบลหนองสาหร่าย และตำบลคลองม่วง

1.2 แนะนำให้มีการถ่ายพยาธิทุกๆ 6 เดือน โดยนอกจากยาถ่ายพยาธิที่ใช้เป็นประจำ เช่น albendazole แล้ว ควรมีการใช้ยาถ่ายพยาธิตัวแบนและพยาธิใบไม้ร่วมด้วย เช่น praziquantel เพื่อลดอัตราการติดเชื้อและลดอัตราการป่วย

1.3 เรื่องการใช้น้ำสำหรับเลี้ยงสัตว์นั้น ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตาม มีปัจจัยอื่นที่สนับสนุนการติดเชื้อร่วมด้วย เช่น แหล่งอาหาร จึงไม่อาจสรุปได้ว่าควรใช้น้ำจากแหล่งใดในการเลี้ยงสัตว์ อย่างไรก็ตามปศุสัตว์ควรควบคุมและทำการถ่ายพยาธิโคในฟาร์มที่ใกล้แหล่งน้ำในระยะ 500 เมตรเป็นพิเศษเนื่องจากเป็นฟาร์มที่สามารถแพร่เชื้อไปยังฟาร์มโคที่ใช้น้ำจากแหล่งเดียวกันได้

1.4 ไม่ระบายน้ำล้างคอกโคลงแหล่งน้ำธรรมชาติโดยตรง เนื่องจากพื้นคอกส่วนใหญ่เป็นพื้นดิน การระบายน้ำล้างคอกโดยตรงสู่แหล่งน้ำจะทำให้พยาธิปนลงสู่แหล่งน้ำได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะฟาร์มที่อยู่ในพื้นที่บ้านไร่เหนือ บ้านไร่ใต้ บ้านท่าออย และบ้านซั่มมีด

2. คัดกรองและติดตามข้อมูลของผู้อยู่อาศัยในพื้นที่เสี่ยงสูง

ในการตรวจสอบเวชระเบียนของผู้ป่วยโรคตับอักเสบจากพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* ย้อนหลัง 10 ปี เป็นไปได้ยากเนื่องจากจำนวนเวชระเบียนของผู้ป่วยจำนวนมากและหลายรายไม่มีการระบุสาเหตุของโรคตับอักเสบเกิดจากพยาธิใบไม้ตับ ดังนั้น การใช้ข้อมูลเชิงพื้นที่เพื่อเป็นสมมติฐานเบื้องต้นและยังสามารถคัดกรองเวชระเบียนของผู้ป่วยตับอักเสบจากพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* จำนวนมากได้อีกด้วย โดยอาศัยข้อมูลจากการวิเคราะห์ในแผนที่ภาพที่ 26-29

ตารางที่ 11 แสดงหมู่บ้านที่อยู่ในพื้นที่เสี่ยงสูงจากโรคตับอักเสบที่เกิดจากพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* ในอำเภอปากช่อง

ชื่อหมู่บ้าน	ตำบล
บ้านไร่เหนือ บ้านไร่ใต้ บ้านท่าออย และบ้านซั่มมีด	จันทิก และ หนองสาหร่าย
บ้านศาลเจ้า	คลองม่วง

3. ให้ความรู้ประชาชนในพื้นที่เสี่ยงสูงตามตารางที่ 3 ถึงวงจรชีวิตของพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* และการเกิดโรคของคนในชุมชนที่อยู่ในพื้นที่เสี่ยงสูง

จากข้อมูลการศึกษาทั้งหมดในปีที่ 1 พบว่า อัตราการติดเชื้อของโคเนื้อและโคนมในพื้นที่อำเภอปากช่องสูงมากเพียงพอที่จะใช้เป็นพื้นที่สำหรับการพัฒนาระบบภูมิสารสนเทศในการประเมินความเสี่ยงด้านภูมิศาสตร์ที่เกี่ยวข้องและส่งเสริมการติดพยาธิ *F. gigantica* ในสัตว์เศรษฐกิจ ซึ่งยังต้องการการต่อยอดการวิจัย โดยอาศัยการศึกษาด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมของทั้งตัวพยาธิและหอยตัวกลางเพื่อหาคอบคลุมทุกมิติของการควบคุมป้องกัน เพื่อให้ระบบสามารถใช้งานได้และนำไปสู่การลดอัตราการติดเชื้อแบบยั่งยืน ที่จะทำให้เกษตรกรได้ผลผลิตจากสัตว์เหล่านี้ได้อย่างเต็มเม็ดเต็มหน่วยต่อไป

## เอกสารอ้างอิง (References)

- กลุ่มระบาดวิทยาทางห้องปฏิบัติการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติและศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ประจำภูมิภาค. สถิติการชันสูตรโรคสัตว์ 2546-2549 [serial online]. 2012 [cited 30 มกราคม 2564]. Available from: [http://niah.dld.go.th/th/index.php?option=com\\_content&view=article&id=315%3Adiag25462549&catid=119%3Adiagnosis&Itemid=345&showall=1](http://niah.dld.go.th/th/index.php?option=com_content&view=article&id=315%3Adiag25462549&catid=119%3Adiagnosis&Itemid=345&showall=1).
- บอย บุญเชื้อ, วิษณุวัฒน์ ฉิมน้อย, วีระชัย วิโรจน์แสงอรุณ, ทศนีย์ มุ่งเมือง, สถาพร จิตตपालพงศ์ และบุรินทร์ นิ้มสุพรรณ. ความชุกของการติดพยาธิใบไม้ตับชนิด *Fasciola gigantica* ในโคและกระบือรอบทะเลสาบสงขลาโดยการตรวจด้วยวิธี ELISA โดยใช้ Excretory-Secretory แอนติเจน. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2556;3:98-109.
- ณัฐภาส โกยรัมย์, คมกริช พิมพ์ภักดี และ ชุติพร ศักดิ์สว่างวงศ์. การเปรียบเทียบความชุกของพยาธิใบไม้ตับในโคพื้นเมืองระหว่างชายแดนไทย-ลาวกับชายแดนไทย-กัมพูชา.วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 2559;32:182-188.
- Anselin, L. (1995). Local Indicators of Spatial Association -LISA. Geographical Analysis
- Anselin, L. (2002). Under the hood: issues in the specification and interpretation of spatial regression models. – Agriculture Economics, 17: 247-267.
- Grams R, Vichasri-Grams S, Sophon P, Upatham ES, Viyanant V. (2001). Molecular cloning and characterization of cathepsin L encoding genes from *Fasciola gigantica*. Parasit Intern, 50(2):105-114.
- Gupta A, Dixit AK, Dixit P, Mahajan C. (2015). Performance characteristics of *Fasciola gigantica* cathepsin-L cysteine proteinase (FgCL3) based dipstick ELISA in naturally acquired bubalian fasciolosis. Buffalo Bull, 34(3): 333-337.
- Kaset C, Eursitthichai V, Vichasri-Grams S, Viyanant V, Grams R. (2010). Rapid identification of lymnaeid snails and their infection with *Fasciola gigantica* in Thailand. Exp Parasitol 126: 482-8.
- Moran, P. A. P. (1948). The interpretation of statistical maps. Journal of the Royal Statistical Society, Series B, 10: 243-251.



- Raina OK, Yadev SC, Sriveny D, Gupta SC. (2006). Immuno-diagnosis of buffaline fasciolosis with *Fasciola gigantica* cathepsin-L and recombinant cathepsin L 1-D proteases. *Acta Trop*, 98(2): 145-151.
- Sriveny D, Raina OK, Yadav SC, Chandra D, Jayraw AK, Singh M, Velusamy R, Singh BP. (2006). Cathepsin L cysteine proteinase in the diagnosis of bovine *Fasciola gigantica* infection. *Vet Parasit*, 135:25-31.
- Tobin, P. C. (2004). Estimation of the spatial autocorrelation function: consequences of sampling dynamic populations in space and time. *Ecography*, 27(6): 767-775.
- Villa-Mancera A, Molina-Mendoza P, Hernandez-Guzman K, Olivares-Perez J, Sarracent-Perez J, Zumaquero-Rios J. (2016). Comparative diagnosis of serum IgG1 and coproantigen ELISA for fasciolosis detection of goats in Mexico. *BioMed Res Intern*, 2016: Article ID 3860928.

## ภาคผนวก

1. คลิปไฟล์วิดีโอสอนการสร้างและการใช้งาน Google Form การลงข้อมูลในระบบ Geographic Information System (GIS) สำหรับแผนงานวิจัย จำนวน 5 ไฟล์  
[https://drive.google.com/folderview?id=1zhJi8NRoczV\\_4MOWOKRPXzzPsi5ZwaD](https://drive.google.com/folderview?id=1zhJi8NRoczV_4MOWOKRPXzzPsi5ZwaD)
2. คู่มือการเผยแพร่ข้อมูล GIS บนเว็บไซต์

## คู่มือ การเผยแพร่ข้อมูล GIS บนเว็บไซต์

แผนงานวิจัย “การศึกษาเพื่อการวางแผน การควบคุมและป้องกัน โรคติดต่อพยาธิใบไม้ตับในโคเนื้อและโคนม โดยใช้โมเดลการศึกษาในพื้นที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา”

โครงการย่อยที่ 2 “การจัดการเชิงพื้นที่ในการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคติดต่อพยาธิใบไม้ตับในโคเนื้อ โคนม และมนุษย์ ด้วยเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ พื้นที่ศึกษา อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา”

“Spatial management for prevention and control the liver fluke infection in beef cattle, dairy cattle, and human by applying Geoinformatics technology, study area Pak Chong district, Nakhon Ratchasima province”

สนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

คลังเตอร์สัตว์เศรษฐกิจ ปีงบประมาณ 2563

## คำนำ

คู่มือการเผยแพร่ข้อมูล GIS บนเว็บไซต์ จัดทำขึ้นเพื่อเป็นสื่อการเรียนรู้ในการสร้าง Web GIS ด้วยการใช้งาน Google Services ได้แก่ วิธีการสร้างและใช้งาน Google Account วิธีการสร้างและใช้งาน Google Forms วิธีการสร้างและใช้งาน Google Sheets วิธีการสร้างและใช้งาน Google Drive และวิธีการสร้างและใช้งาน Google Maps โดยนักวิจัยในโครงการ การจัดการเชิงพื้นที่ในการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในโคเนื้อ โคนม และมนุษย์ ด้วยเทคโนโลยีภูมิสารสนเทศ พื้นที่ศึกษา อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา หวังเป็นอย่างยิ่งว่าคู่มือการเผยแพร่ข้อมูล GIS บนเว็บไซต์นี้จะสามารถช่วยให้ผู้ศึกษาสร้าง Web GIS ด้วยการใช้งาน Google Services ได้ และหากมีข้อผิดพลาดประการใดคณะผู้จัดทำต้องขออภัยและจะนำไปปรับปรุงให้ดียิ่งขึ้น

คณะนักวิจัย

มกราคม 2564

## การเผยแพร่ข้อมูล GIS บนเว็บไซต์

Web GIS คือ การใช้เว็บไซต์เพื่อการจัดเก็บ การเรียกค้น การจัดการ และที่สำคัญคือการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพื้นที่ โดยการทำ Web GIS ต้องอาศัย Map Server เพื่อรองรับข้อมูลเชิงพื้นที่ เช่น แผนที่ ซึ่งส่วนใหญ่มีราคาค่อนข้างแพง ในขณะที่ปัจจุบันเราสามารถทำ Web GIS อย่างง่ายได้ โดยการใช้งาน Google Services ต่างๆ ซึ่งเป็นโปรแกรมออนไลน์ฟรี ซึ่งองค์ประกอบของ Web GIS มีด้วยกันทั้งหมด 4 องค์ประกอบ ได้แก่

1. การจัดเก็บ เป็นการรวบรวมข้อมูลผ่านระบบออนไลน์
2. การจัดการ สามารถทำการเพิ่ม ลบ และแก้ไข ข้อมูล GIS ผ่านระบบออนไลน์
3. การเรียกค้น เป็นการเรียกค้นข้อมูลที่จัดเก็บผ่านระบบออนไลน์ และ
4. การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพื้นที่ Web GIS สามารถวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพื้นที่ได้โดยการเรียกดูข้อมูลในชั้นข้อมูลที่สร้างขึ้น นอกจากนี้การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพื้นที่ขั้นสูง อาจต้องใช้โปรแกรมทางด้าน GIS เช่น ArcGIS และ QGIS เป็นต้น

ทั้ง 4 องค์ประกอบ สามารถทำงานได้โดยการใช้ Google Services และแสดงผล Web GIS ผ่านทางแพลตฟอร์มบนคอมพิวเตอร์หรือสมาร์ตโฟน ซึ่ง Google Services ต่างๆ ที่สามารถนำมาใช้ร่วมกับการจัดทำ Web GIS ได้แก่

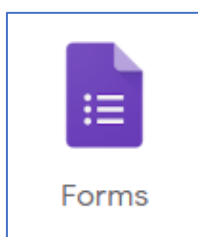
1. Google Account เนื่องจากการใช้งาน Google Services ทำ Web GIS จะต้องมี Google Account เป็นสำคัญ
2. Google Forms เป็น Template ที่ช่วยให้ผู้ใช้งานสามารถจัดเก็บและบันทึกข้อมูลได้ และสามารถ Export ข้อมูลไปทำงานบน Google Sheets ได้
3. Google Sheets มีลักษณะการทำงานคล้ายโปรแกรม Excel และสามารถ Export file เป็นนามสกุล .xlsx หรือ .csv เป็นต้น เพื่อนำไฟล์ข้อมูลไปวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพื้นที่กับโปรแกรมทางด้าน GIS ได้
4. Google Drive เป็นที่สำหรับจัดเก็บและบันทึกข้อมูล ซึ่งสามารถเรียกใช้งาน Google Forms และ Google Sheets ได้อีกครั้งใน Google Drive
5. Google Maps ใช้ในการแสดงผลข้อมูลเชิงพื้นที่ และสามารถวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพื้นที่เบื้องต้นได้จาก Google Services ต่างๆ ดังกล่าว สามารถสร้าง Web GIS อย่างง่ายได้ โดยการศึกษาวิธีการสร้างและการใช้งาน Google Services ต่างๆ ได้ในสื่อการเรียนรู้ตามลำดับ ดังนี้

1. การสร้างและใช้งาน Google Account



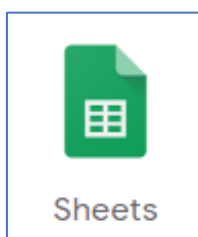
รูปที่ 1 Google Account

2. การสร้างและใช้งาน Google Forms



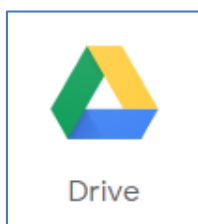
รูปที่ 2 Google Forms

3. การสร้างและใช้งาน Google Sheets



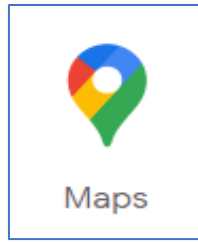
รูปที่ 3 Google Sheets

4. การสร้างและใช้งาน Google Drive



รูปที่ 4 Google Drive

5. การสร้างและใช้งาน Google Maps

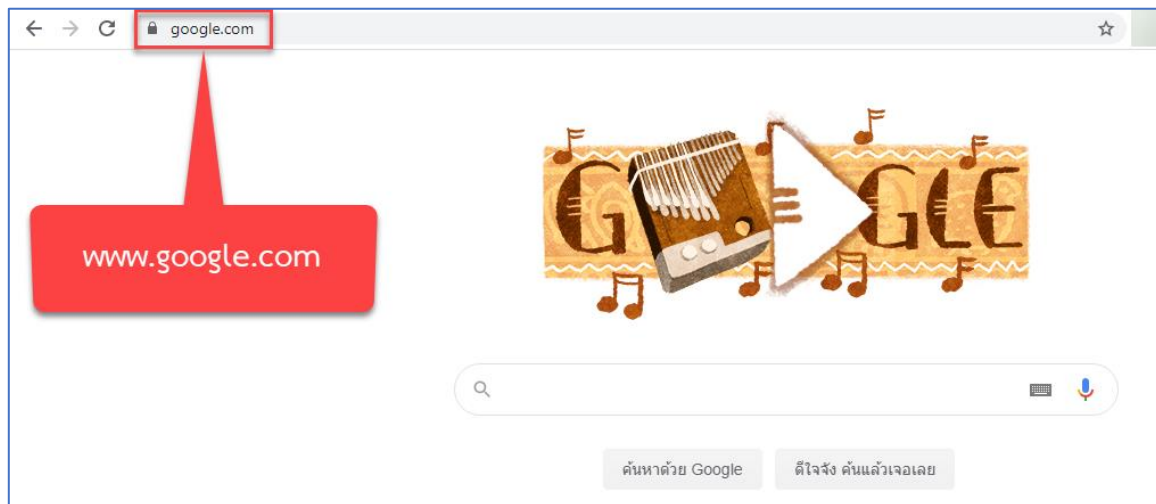


รูปที่ 5 Google Maps

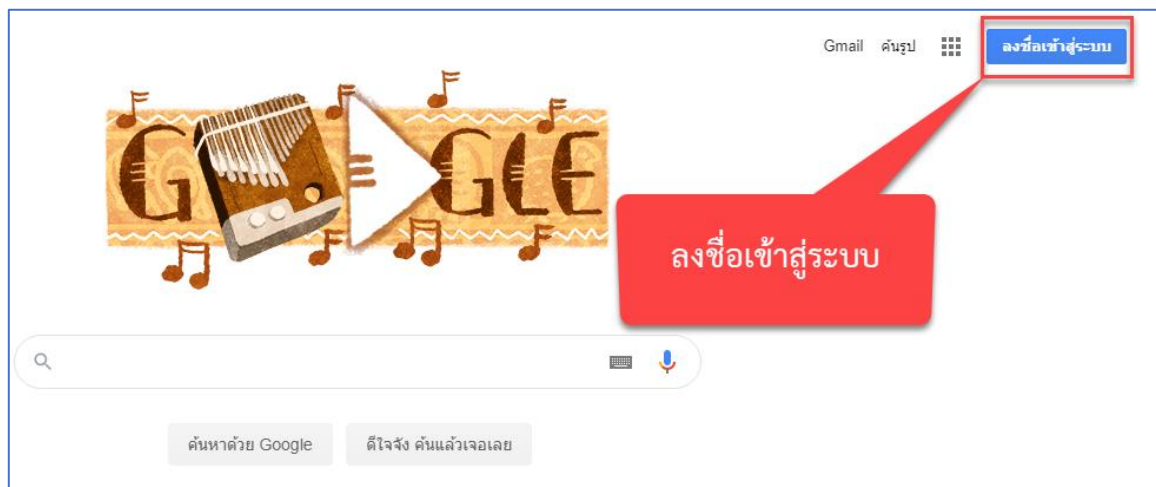
## การสร้างและใช้งาน Google Account

การสร้างและใช้งาน Google Account มีขั้นตอน ดังนี้

1. เปิด web browser chrome แล้วเข้า Link : [www.google.com](http://www.google.com)



2. สังเกตกล่องข้อความ “ลงชื่อเข้าสู่ระบบ” แล้ว คลิก ไปที่กล่องข้อความเพื่อเข้าสู่ระบบ

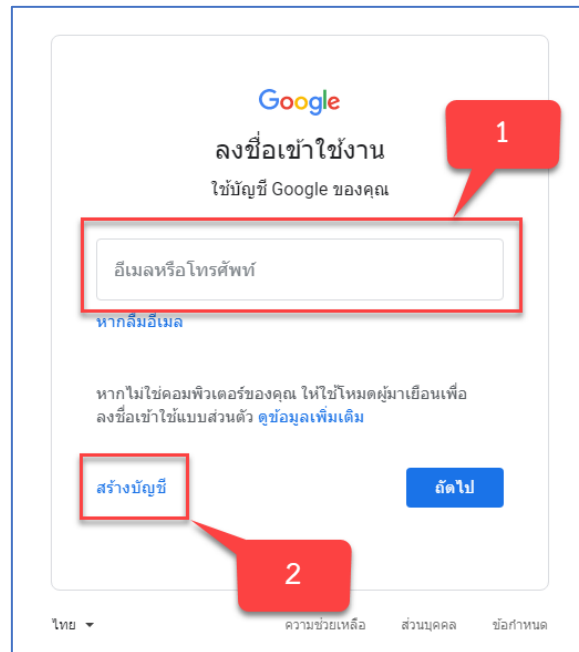




### 3. ระบบจะถามถึง Google Account เพื่อเข้าสู่ระบบ

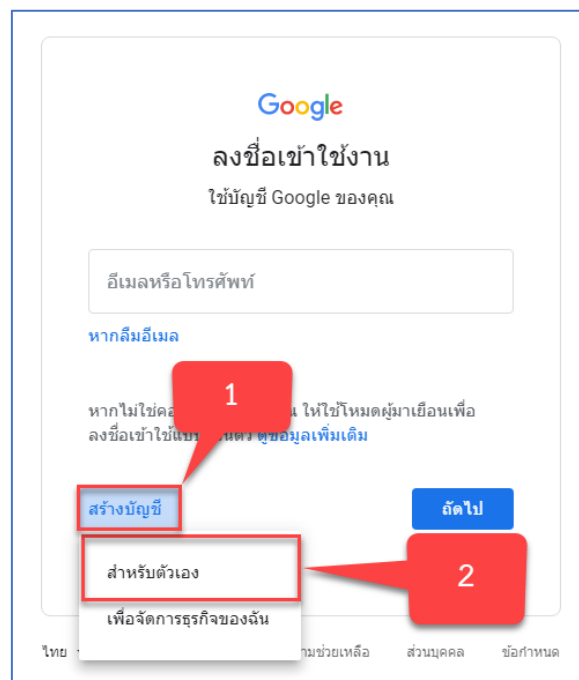
#### 3.1. ลงชื่อเข้าใช้ด้วย Google Account

#### 3.2. หากไม่มี Google Account ให้ไปที่ข้อความ “สร้างบัญชี” แล้ว คลิก ที่ข้อความเพื่อสร้างบัญชีใหม่



### 4. การสร้างบัญชี Google Account มีขั้นตอน ดังนี้

#### 4.1. คลิก ที่ข้อความ “สร้างบัญชี” แล้ว คลิก ที่ข้อความเพื่อสร้างบัญชีใหม่ จากนั้น คลิก เลือกตัวเลือก “สำหรับตัวเอง”



4.2. กรอก ข้อมูลของตนเองให้ถูกต้องตามกล่องข้อความ เพื่อสร้าง Google Account ได้แก่

- (1) กรอก ข้อมูลชื่อในกล่องข้อความ “ชื่อ”
- (2) กรอก ข้อมูลนามสกุลในกล่องข้อความ “นามสกุล”
- (3) ตั้งชื่อ “Google Account” โดยสามารถใช้ตัวอักษรภาษาอังกฤษ ตัวเลข และจุดได้เท่านั้น
- (4) ตั้ง “รหัสผ่าน” ของ Google Account โดยสามารถใช้ตัวอักษร ตัวเลข และสัญลักษณ์ร่วมกันได้ จำนวน 8 ตัวขึ้นไป
- (5) “ยืนยันรหัสผ่าน” ของ Google Account จะต้อง กรอก ข้อมูลให้เหมือนกับกล่องข้อความ “รหัสผ่าน” เท่านั้น
- (6) คลิก ที่กล่องข้อความ “ถัดไป” เพื่อดำเนินการต่อ

The image shows the Google Account creation interface. At the top left is the Google logo and the text 'สร้างบัญชี Google'. Below this are several input fields: 'ชื่อ' (Name) and 'นามสกุล' (Surname) are grouped by callout 1; 'ชื่อผู้ใช้' (Username) with a placeholder '@gmail.com' is pointed to by callout 2; 'รหัสผ่าน' (Password) and 'ยืนยัน' (Confirm) are grouped by callout 4. A blue 'ถัดไป' (Next) button is pointed to by callout 6. A blue shield icon with a person silhouette is on the right, with callout 3 pointing to the text 'มีเพียงบัญชีเดียวที่เข้าถึงทุกผลิตภัณฑ์และบริการของ Google ได้'. Callout 5 points to the 'ถัดไป' button. At the bottom, there is a language dropdown set to 'ไทย' and a 'ส่วนบุคคล' (Personal) link.

- 4.3. เมื่อ กรอก ข้อมูลของตนเองในการสร้าง Google Account เรียบร้อยแล้ว ระบบจะทำการยืนยันบุคคลโดยการให้ กรอก ข้อมูลส่วนตัวเพิ่มเติม ได้แก่
- (1) กรอก ข้อมูลเบอร์โทรศัพท์ในกล่องข้อความ “เบอร์โทรศัพท์” และ
  - (2) กรอก ข้อมูลอีเมลอื่นๆ (ถ้ามี) ในกล่องข้อความ “อีเมล”
  - (3) ซึ่งข้อมูลในข้อ (1) และข้อ (2) นี้จะช่วยให้เข้าถึง Account ที่สร้างใหม่นี้ได้ หากเกิดกรณี ลืมรหัสผ่านของ Account ซึ่งในขั้นตอนนี้จะใส่หรือไม่ใส่ก็ได้ และสามารถใส่ข้อมูลนี้ได้ในภายหลังหากต้องการ
  - (4) กรอก ข้อมูลวัน เดือน ปีเกิด โดยปีเกิดให้ใช้เป็นปี ค.ศ. เท่านั้น
  - (5) เลือกข้อมูล เพศ
  - (6) คลิก ที่กล่องข้อความ “ถัดไป” เพื่อดำเนินการต่อ

- 4.4. จากนั้น Google จะอธิบายความเป็นส่วนตัวและข้อกำหนดในการใช้งาน Account หากอ่านรายละเอียดเรียบร้อยแล้ว สามารถ คลิก ไปที่กล่องข้อความ “ฉันยอมรับ” ได้เลย

**Google**

### ความเป็นส่วนตัวและข้อกำหนด

หากต้องการสร้างบัญชี Google คุณจะต้องยอมรับข้อกำหนดในการให้บริการด้านล่าง นอกจากนี้ เมื่อคุณสร้างบัญชี เราจะดำเนินการกับข้อมูลของคุณตามที่ได้อธิบายไว้ในนโยบายความเป็นส่วนตัว รวมถึงประเด็นสำคัญต่อไปนี้

**ข้อมูลที่เราประมวลผลเมื่อคุณใช้ Google**

- เมื่อคุณตั้งค่าบัญชี Google เราจะจัดเก็บข้อมูลที่ให้ไว้ เช่น ชื่อ ที่อยู่เมล และหมายเลขโทรศัพท์ของคุณ
- เมื่อคุณใช้บริการของ Google ในการทำสิ่งต่างๆ เช่น เขียนข้อความใน Gmail หรือแสดงความคิดเห็นในวิดีโอ YouTube เราจะจัดเก็บข้อมูลที่คุณสร้างไว้
- ตัวอย่างเช่น เมื่อคุณค้นหาร้านอาหารบน Google Maps หรือดูวิดีโอบน YouTube เราจะประมวลผลข้อมูลเกี่ยวกับกิจกรรมดังกล่าว เช่น ข้อมูลเกี่ยวกับวิดีโอที่คุณดู, รหัสอุปกรณ์, ที่อยู่ IP, ข้อมูลคุกกี้ และสถานที่ตั้ง
- เรายังประมวลผลข้อมูลประเภทที่ได้อธิบายไว้ข้างต้นเมื่อคุณใช้แอปหรือเว็บไซต์ที่ใช้บริการของ Google เช่น โฆษณา Analytics และโปรแกรมเล่นวิดีโอ YouTube

**สาเหตุที่เราประมวลผลข้อมูล**

เราดำเนินการกับข้อมูลนี้เพื่อจุดประสงค์ตามที่อธิบายไว้ในนโยบายของเรา รวมถึงเพื่อ

- ช่วยให้บริการของเราแสดงเนื้อหาที่เป็นประโยชน์ยิ่งขึ้นและกำหนดค่าได้เอง เช่น ผลการค้นหาที่เกี่ยวข้องมากกว่าเดิม
- ปรับปรุงคุณภาพของบริการและพัฒนาบริการใหม่ๆ
- แสดงโฆษณาที่ปรับให้เหมาะกับแต่ละบุคคลทั้งในบริการของ Google และในเว็บไซต์และแอปที่เป็นพาร์ทเนอร์กับ Google ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับที่ตั้งค่าบัญชีของคุณด้วย
- ปรับปรุงความปลอดภัยโดยป้องกันการประพฤติมิชอบและการละเมิด ตลอดจน
- วิเคราะห์และวัดผลเพื่อศึกษาการใช้บริการของเรา เรามีพาร์ทเนอร์ที่วัดผลการใช้งานบริการของเราด้วย ดูข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับพาร์ทเนอร์โฆษณาและการวัดผลที่เจาะจงเหล่านี้

**รวมข้อมูล**

เรายังรวมข้อมูลนี้ไว้ในบริการต่างๆ ของเราและในอุปกรณ์ต่างๆ ของคุณเพื่อจุดประสงค์เหล่านี้ด้วย เช่น ขึ้นอยู่กับที่ตั้งค่าบัญชีของคุณ เราแสดงโฆษณาให้คุณรับชมโดยอิงจากข้อมูลเกี่ยวกับสิ่งที่คุณสนใจ ซึ่งเรานำมาจากการใช้ Search และ YouTube ของคุณ และเราใช้ข้อมูลจากคำค้นหาหลายล้านรายการเพื่อสร้างโฆษณาแก่ผู้ใช้การสะกดคำที่ใช้ในบริการทั้งหมดของเรา

**คุณสามารถดูได้**

ขึ้นอยู่กับที่ตั้งค่าบัญชี ข้อมูลบางส่วนอาจจะเกี่ยวข้องกับบัญชี Google ของคุณ เราจะถือว่าข้อมูลเหล่านี้เป็นข้อมูลส่วนบุคคล คุณจะควบคุมวิธีการเก็บรวบรวมและใช้ข้อมูลของเราได้โดยคลิกที่ "ตัวเลือกเพิ่มเติม" ด้านล่าง คุณจะปรับเปลี่ยนการควบคุมหรือถอนคำยินยอมสำหรับในอนาคตได้ทุกเมื่อด้วยการไปที่บัญชีของคุณ (myaccount.google.com)

ตัวเลือกเพิ่มเติม ▾

ยกเลิก

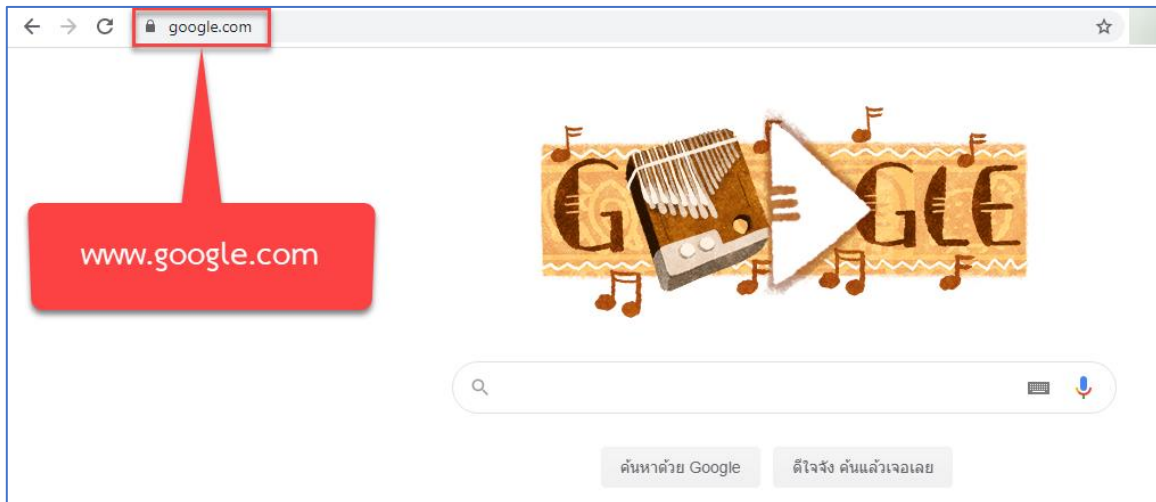
คุณคือผู้ควบคุมข้อมูลที่เรารวบรวมและวิธีที่เราใช้ข้อมูลนั้น

ไทย ▾ ความช่วยเหลือ ส่วนบุคคล ข้อกำหนด

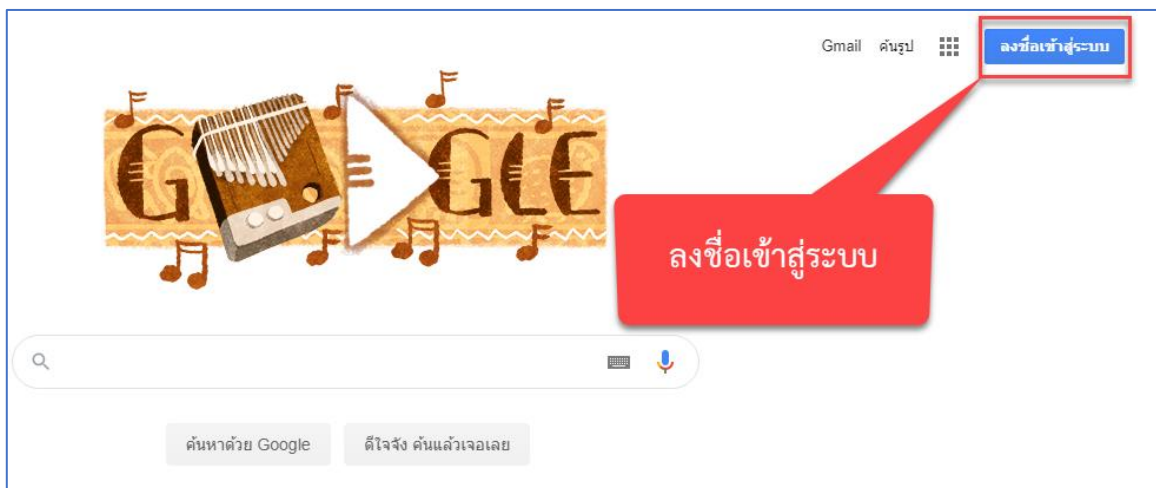
4.5. สิ้นสุดขั้นตอนการสมัคร Google Account โดยหลังจากนี้สามารถลงชื่อเข้าสู่ระบบโดยใช้ Google Account ที่สมัครใหม่ได้แล้ว

5. วิธีเข้าใช้งานบัญชี Google Account มีขั้นตอน ดังนี้

5.1. เปิด web browser chrome แล้วเข้า Link : [www.google.com](http://www.google.com)



5.2. คลิก ที่กล่องข้อความ “ลงชื่อเข้าสู่ระบบ”



5.3. กรอก Google Account ด้วย “อีเมลหรือเบอร์โทรศัพท์” แล้ว คลิก ที่กล่องข้อความ “ถัดไป”

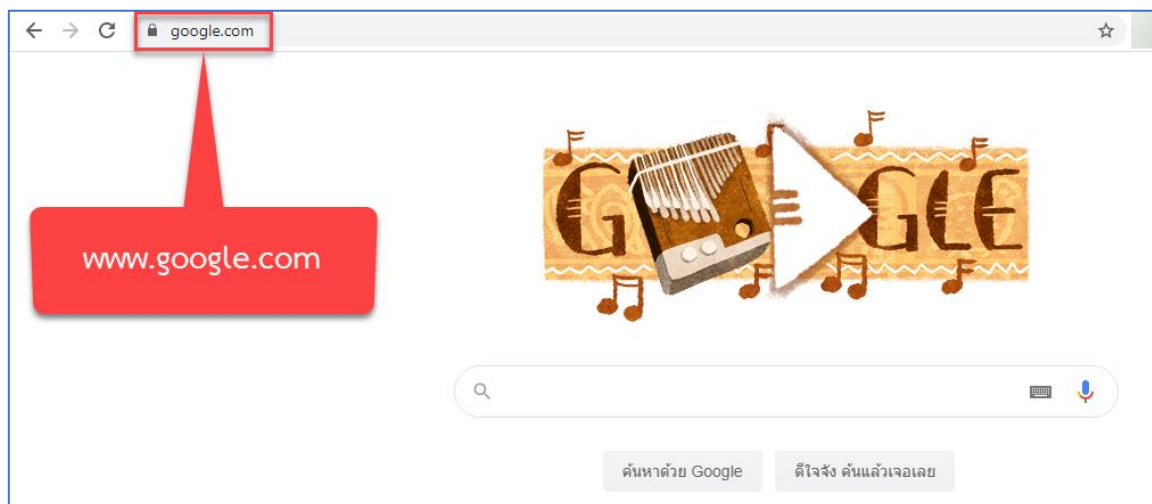
5.4. กรอก “รหัสผ่าน” ของ Account แล้ว คลิก ที่กล่องข้อความ “ถัดไป”

5.5. สิ้นสุดขั้นตอนการลงชื่อเข้าสู่ระบบด้วย Google Account โดยหลังจากนี้จะสามารถเข้าใช้งาน Google Services ต่างๆ ของ Google ได้ตามต้องการ

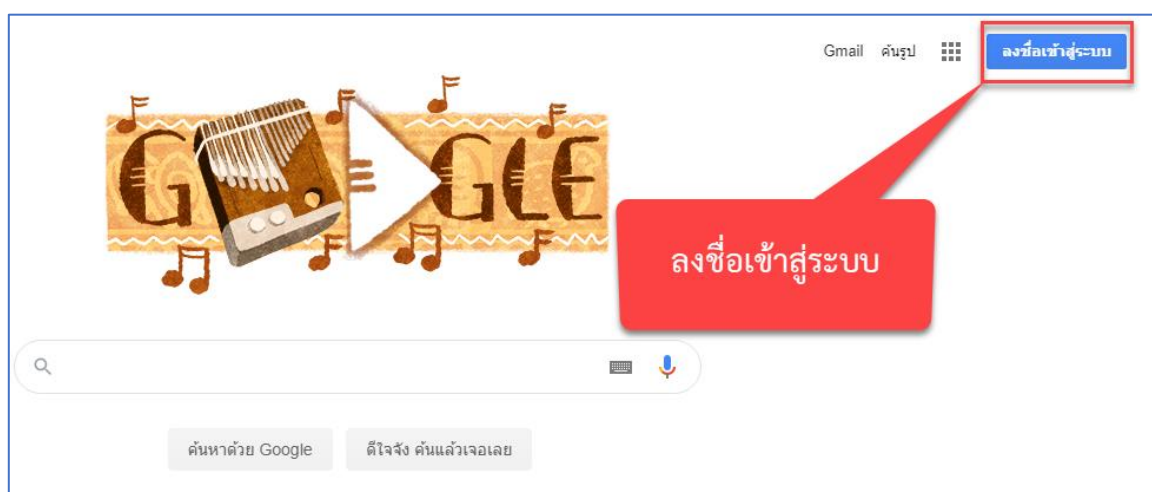
## การสร้างและการใช้งาน Google Forms

การสร้างและใช้งาน Google Forms มีขั้นตอน ดังนี้

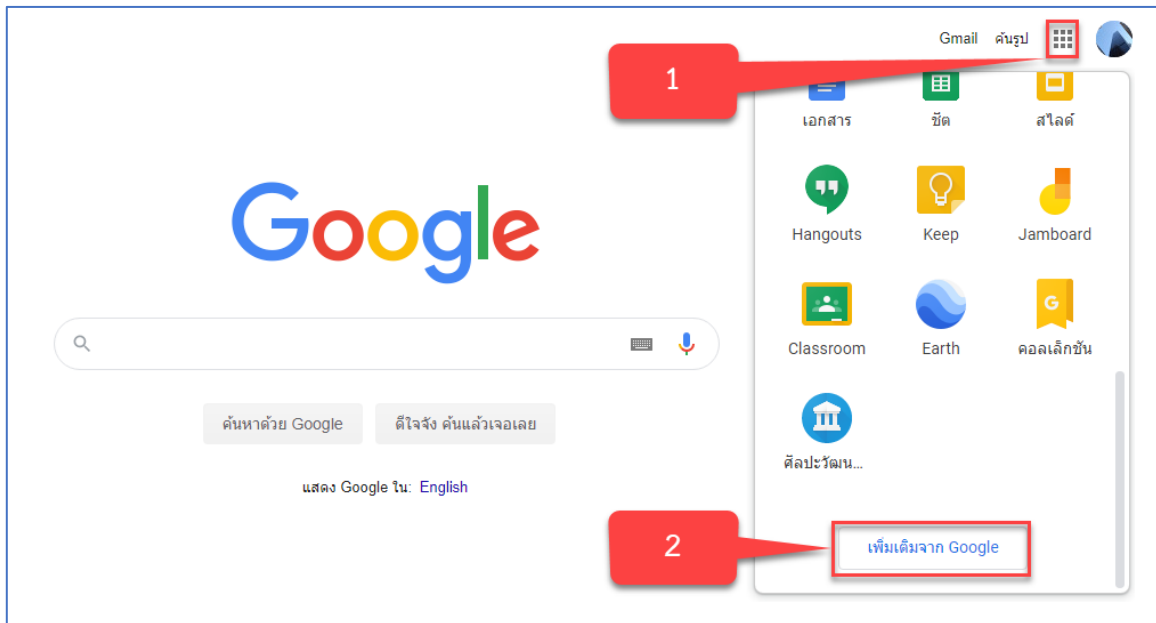
1. เปิด web browser chrome แล้วเข้า Link : [www.google.com](http://www.google.com)



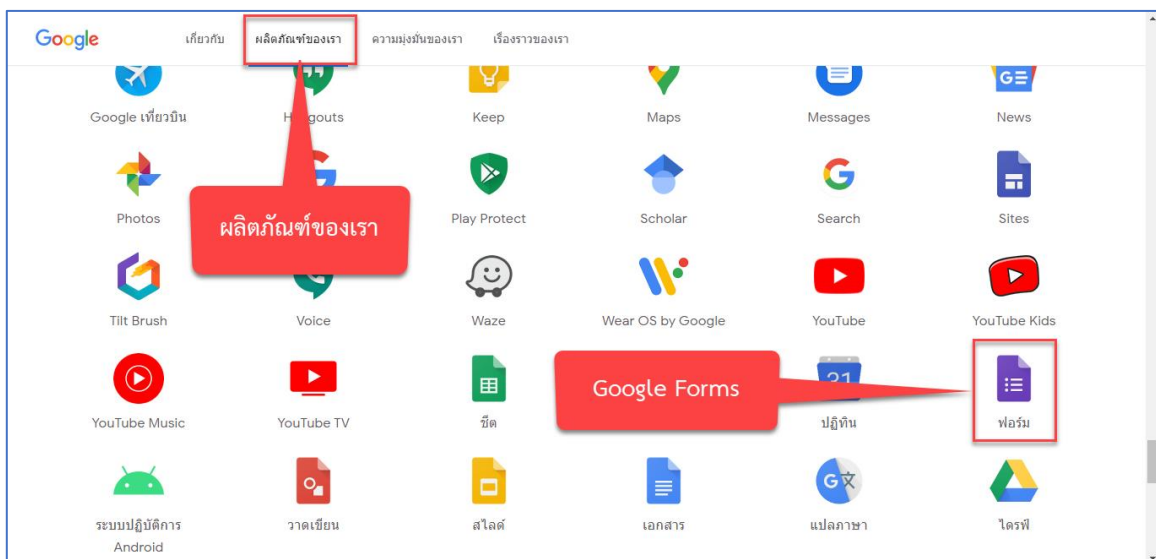
2. คลิก ที่กล่องข้อความ “ลงชื่อเข้าสู่ระบบ” และลงชื่อเข้าสู่ระบบด้วย Google Account เพื่อเข้าใช้งาน Google Services ต่างๆ ของ Google



3. คลิก ที่ Icon App Google แล้วเลื่อนลงด้านล่าง จากนั้นให้ คลิก ที่กล่องข้อความ “เพิ่มเติมจาก Google”

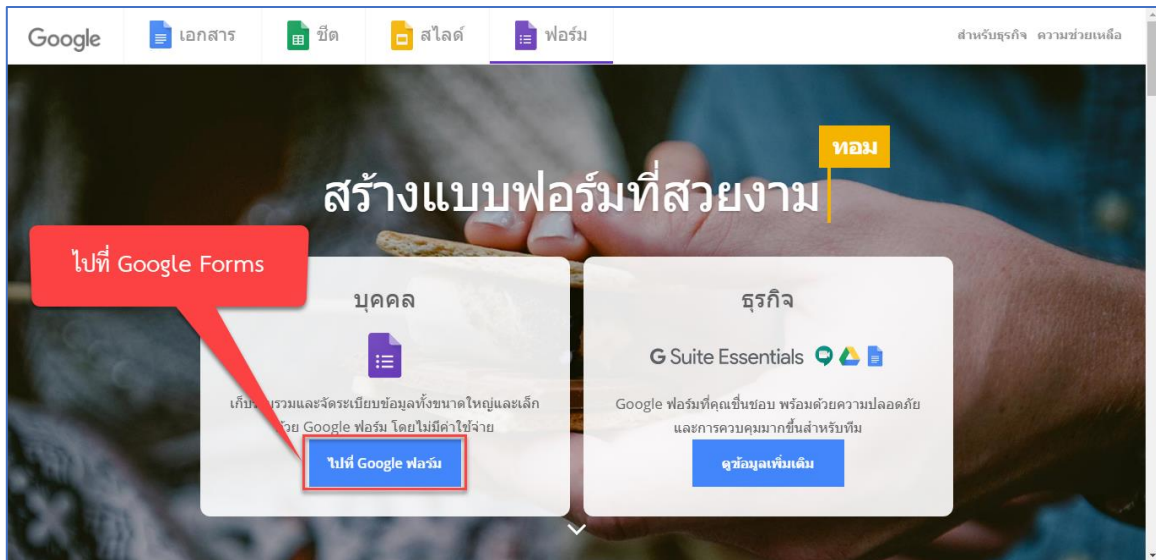


4. เลือก “ผลิตภัณฑ์ของเรา” เพื่อแสดงผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของ Google แล้วเลื่อนลงด้านล่าง จากนั้นให้ คลิก ที่ Icon Google Forms

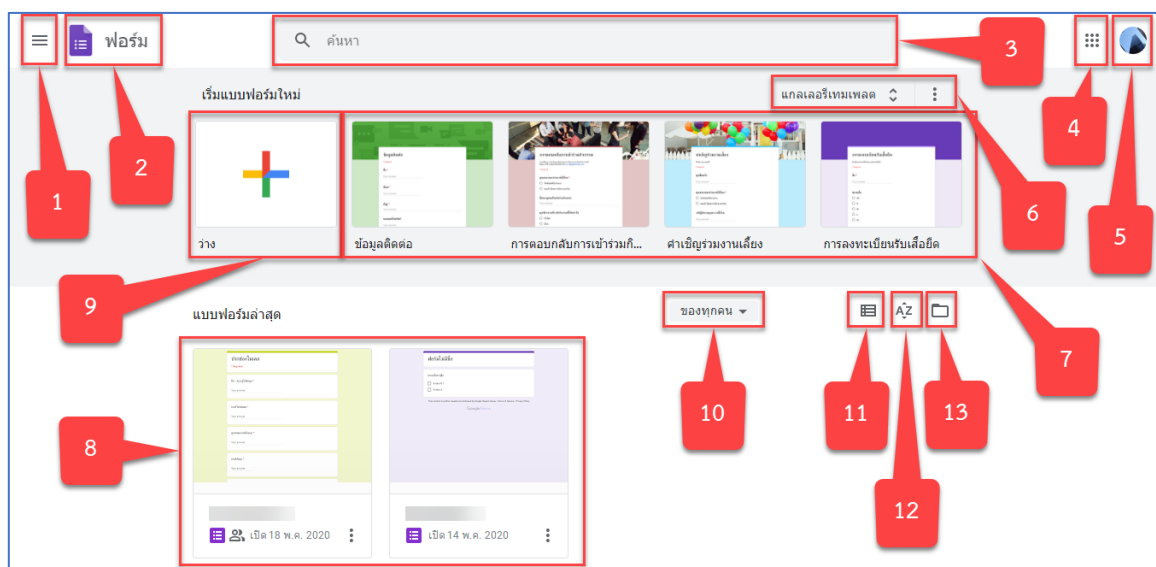




5. คลิก ไปที่กล่องข้อความ “ไปที่ Google Forms”

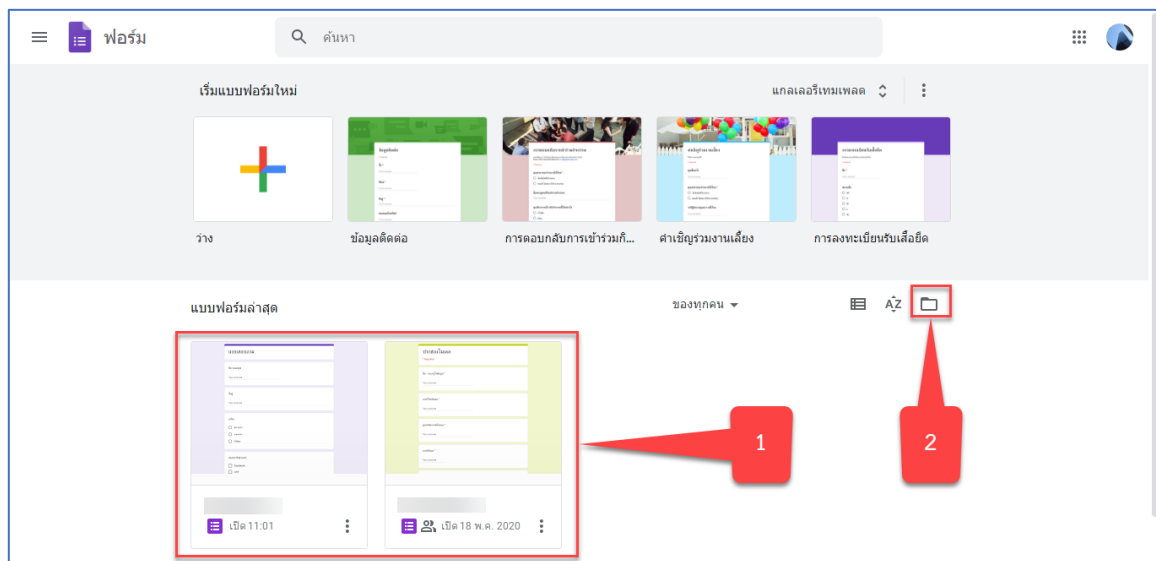


6. หน้าหลักของ Google Forms ประกอบด้วย
  - 6.1. เมนูหลัก
  - 6.2. หน้าหลักของ Google Forms
  - 6.3. กล่องค้นหาของ Google Forms
  - 6.4. Icon App Google
  - 6.5. Google Account
  - 6.6. ปรับแก้รูปแบบ Templates ของ Google Forms
  - 6.7. รูปแบบ Templates ของ Google Forms
  - 6.8. แสดงฟอร์มล่าสุดในการทำงานบน Google Forms
  - 6.9. สร้างฟอร์มใหม่
  - 6.10. เลือกการแสดงผลของ Google Forms
  - 6.11. รูปแบบการแสดงผลของ Google Forms
  - 6.12. จัดลำดับการแสดงผลของ Google Forms
  - 6.13. เปิดไฟล์ Google Forms



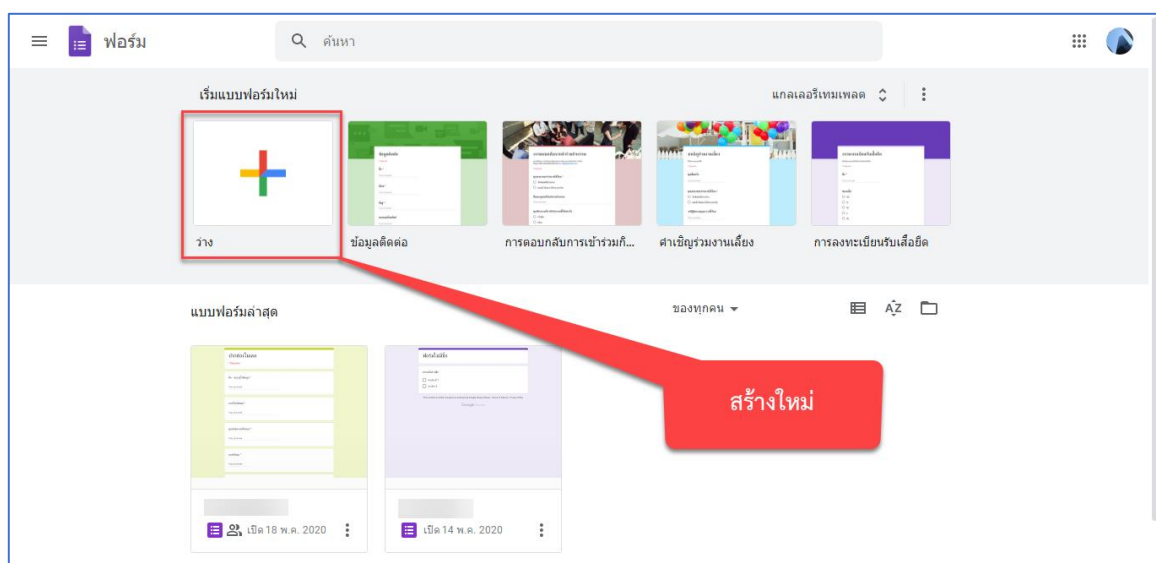
## 7. การเปิดงานเก่าของ Google Forms

- 7.1. คลิก (1) เปิดไฟล์ Google Forms จากงานล่าสุด หรือ
- 7.2. คลิก (2) เปิดไฟล์ Google Forms จากการค้นหาไฟล์



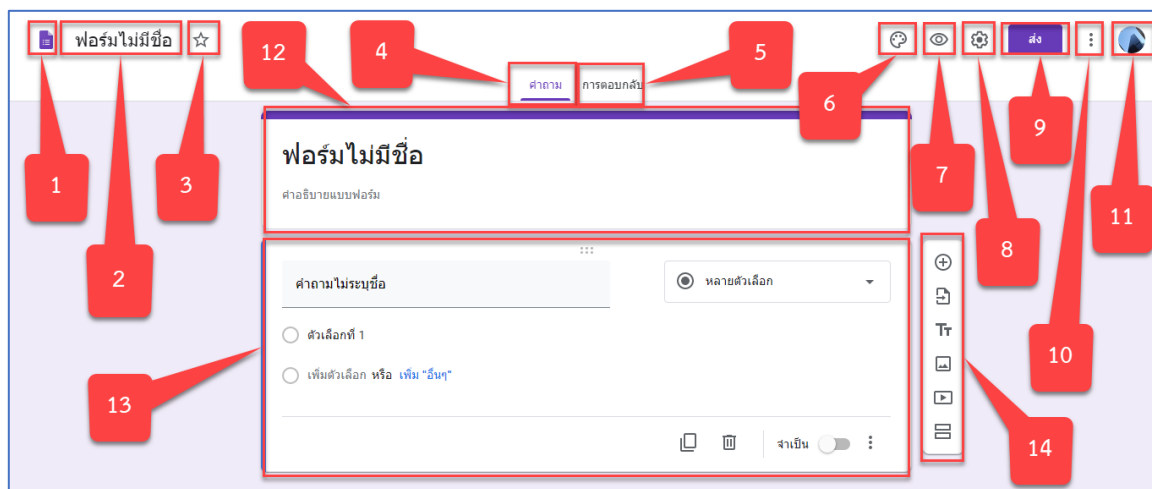
## 8. การสร้าง Google Forms มีขั้นตอน ดังนี้

- 8.1. คลิก ที่เครื่องหมาย + เพื่อสร้าง Google Forms ใหม่

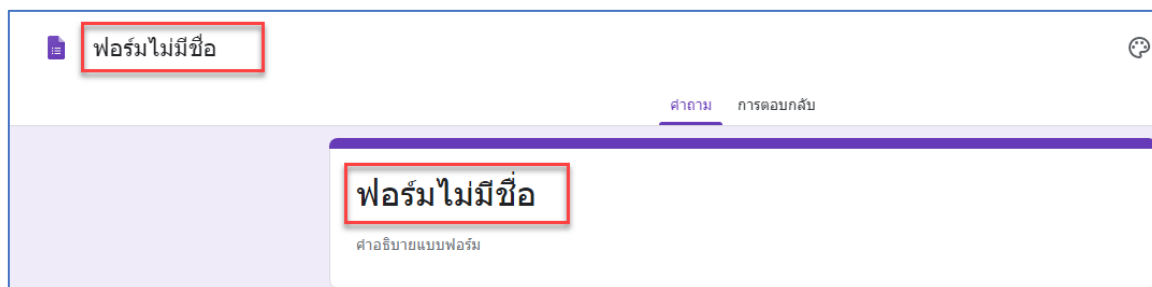


## 8.2. การทำงานของ Google Forms ประกอบด้วย

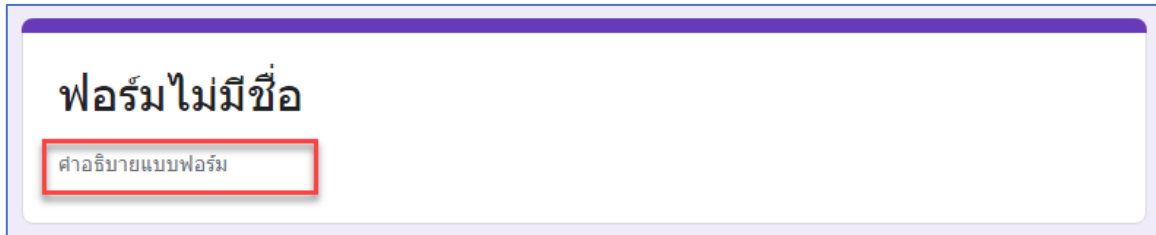
- (1) หน้าหลักของ Google Forms
- (2) ชื่อ Google Forms
- (3) ติดตามให้กับฟอร์มสำคัญ
- (4) หน้าการทำงานของ คำถาม
- (5) หน้าการทำงานของ การตอบกลับ
- (6) ปรับแต่งธีมของ Google Forms
- (7) แสดงตัวอย่างของ Google Forms
- (8) การตั้งค่าของ Google Forms
- (9) การส่งของ Google Forms
- (10) เมนูเพิ่มเติมของ Google Forms
- (11) Google Account
- (12) ชื่อและคำอธิบายของ Google Forms
- (13) คำถามของ Google Forms
- (14) เครื่องมือในการจัดการ Google Forms



## 8.3. ตั้งชื่อฟอร์ม (ควรใช้ชื่อเดียวกัน)

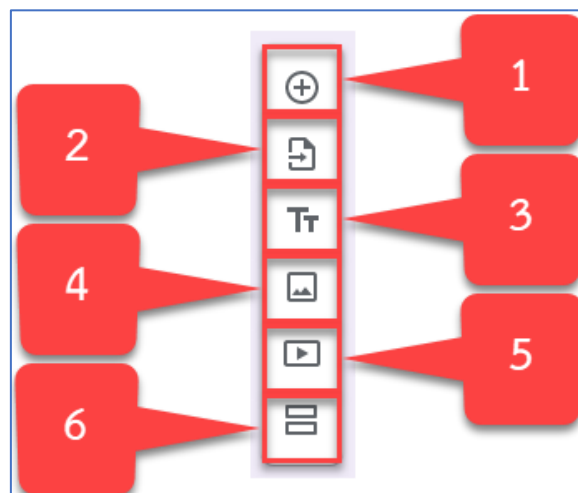


8.4. คำอธิบาย เพื่ออธิบายข้อมูลเกี่ยวกับฟอร์มให้ผู้ใช้งานเข้าใจ ซึ่งสามารถเลือกใส่หรือไม่ใส่ก็ได้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของงาน



8.5. เครื่องมือในการจัดการ Google Forms ได้แก่

- (1) เพิ่มคำถาม
- (2) นำเข้าคำถามจากฟอร์มอื่น
- (3) เพิ่มหัวข้อและคำอธิบาย
- (4) เพิ่มรูปภาพ
- (5) เพิ่มวิดีโอ
- (6) เพิ่มส่วน

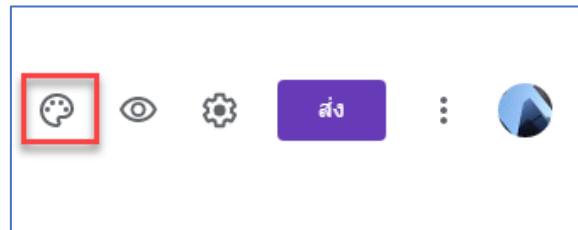


## 8.6. เครื่องมือในการจัดการคำถามและคำตอบ ได้แก่

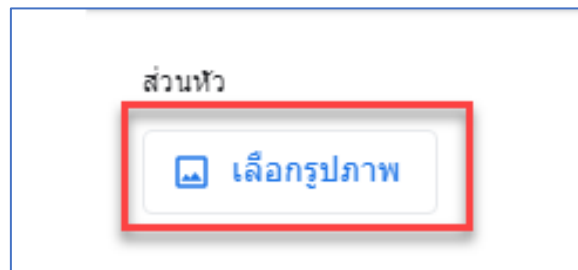
- (1) ทำสำเนา คือ การสำเนารูปแบบคำถามและคำตอบ
- (2) ลบ คือ การลบคำถามและคำตอบนั้นทิ้ง
- (3) จำเป็น คือ การแสดงถึงความจำเป็นในการให้ผู้ตอบแบบฟอร์มต้องตอบคำถามนี้
- (4) เครื่องมืออื่นๆ คือ ส่วนที่ช่วยในการจัดการคำถามและคำตอบ เช่น การเพิ่มคำอธิบายของคำถาม หรือการกำหนดรูปแบบคำตอบให้เป็นตัวเลขเท่านั้น เป็นต้น



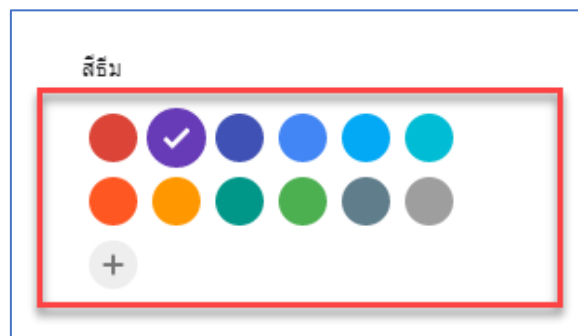
## 9. คลิก ปรับแต่งธีม เพื่อปรับแต่งให้แบบฟอร์มมีความน่าสนใจและเหมาะสมกับงาน



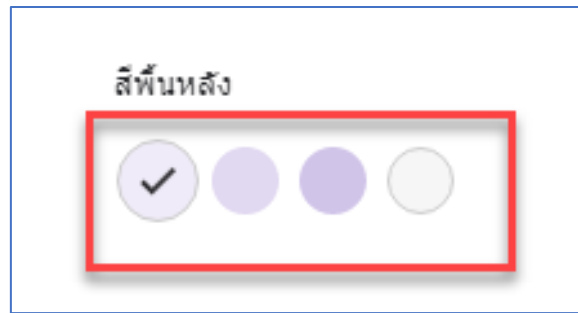
### 9.1. ปรับแต่งส่วนหัวของฟอร์ม



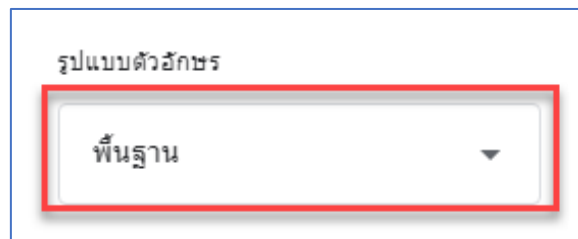
### 9.2. สีของฟอร์ม



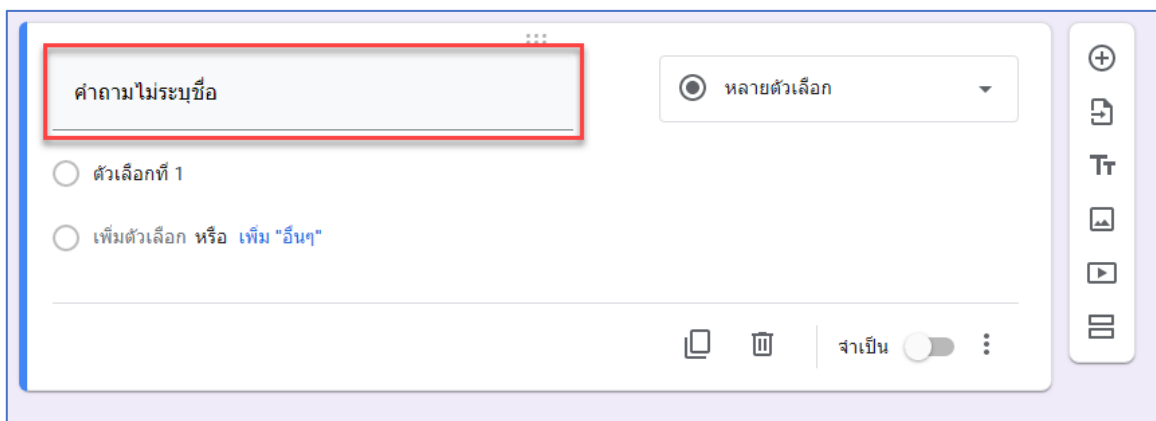
### 9.3. สีพื้นหลังของฟอร์ม



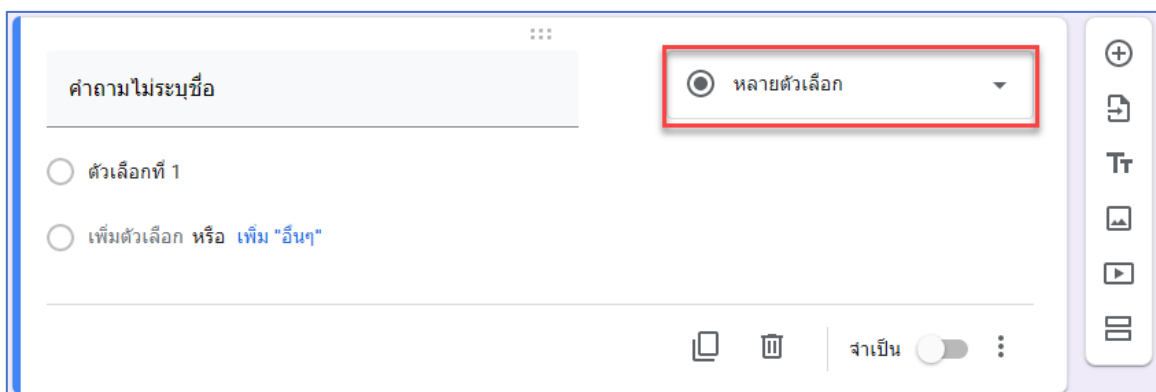
### 9.4. รูปแบบตัวอักษรของฟอร์ม



## 10. ใส่ คำถาม

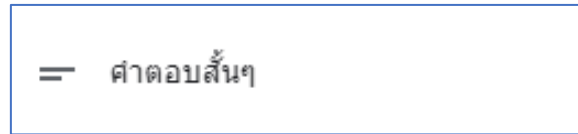


## 11. คลิก เลือกรูปแบบคำตอบ

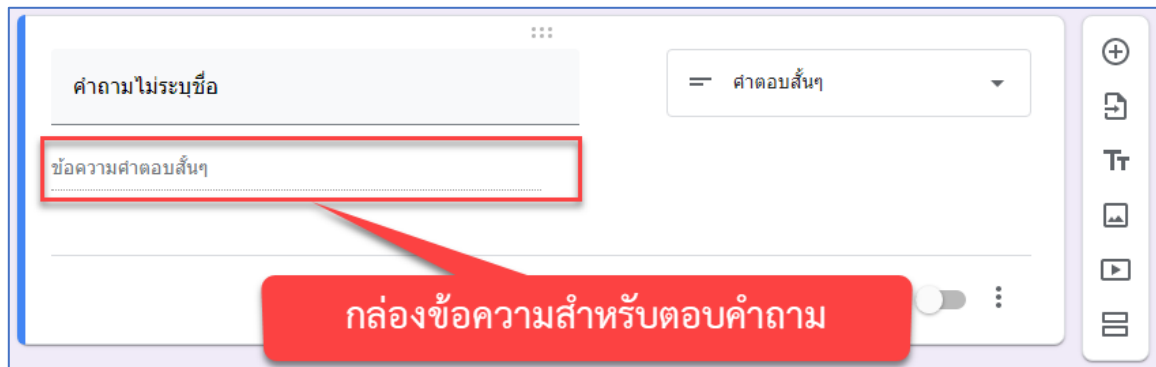


### 11.1. รูปแบบ คำตอบสั้นๆ

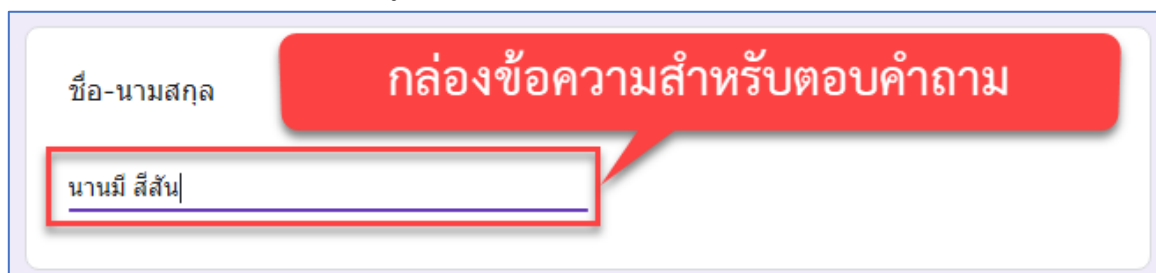
- (1) คลิกเลือกรูปแบบ คำตอบสั้นๆ



- (2) คำตอบสั้นๆ เป็นการตอบคำถามแบบ ข้อความสั้น



- (3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ คำตอบสั้น



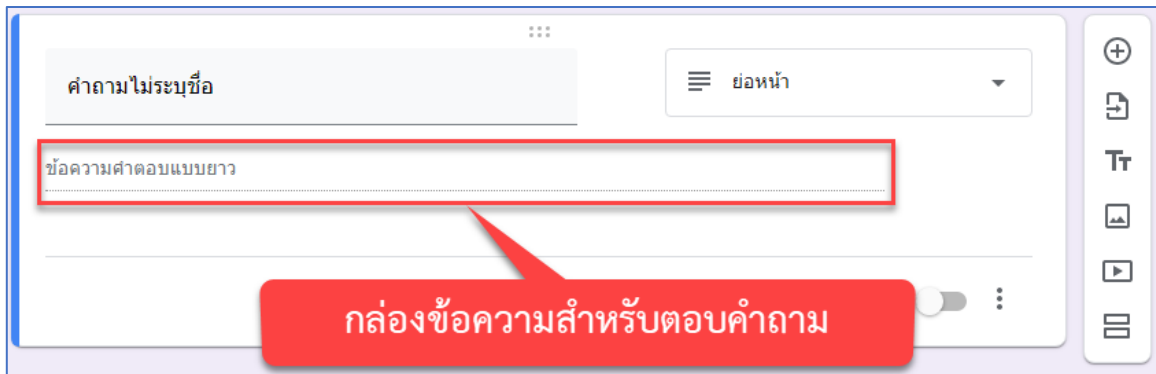
### 11.2. รูปแบบ ย่อหน้า

- (1) คลิกเลือกรูปแบบ ย่อหน้า

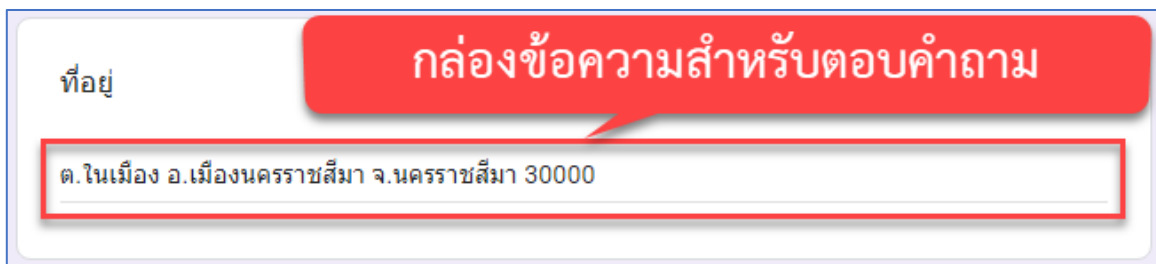




(2) ย่อหน้า เป็นการตอบคำถามแบบ ข้อความยาว

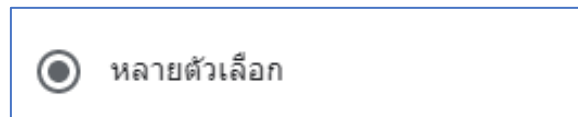


(3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ ข้อความยาว

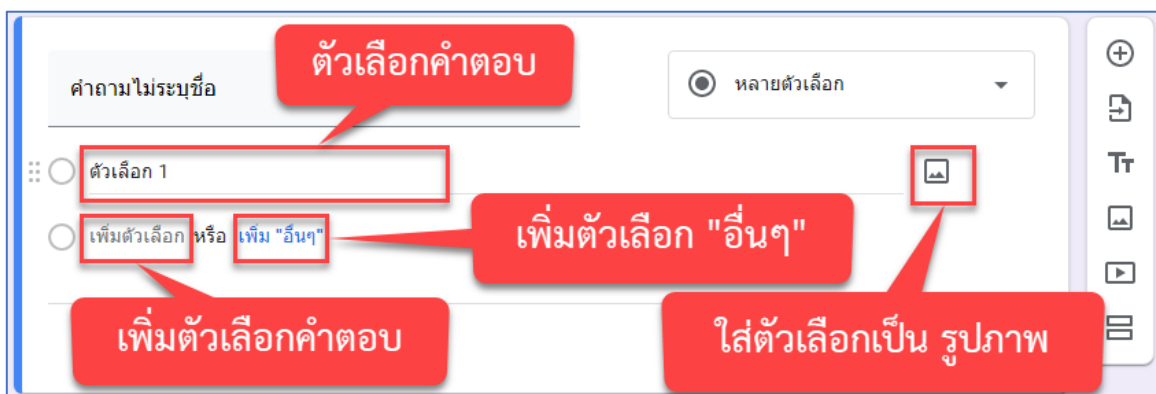


### 11.3. รูปแบบ หลายตัวเลือก

(1) คลิก เลือกรูปแบบ หลายตัวเลือก



(2) หลายตัวเลือก เป็นการตอบคำถามแบบ ตัวเลือก



(3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ หลายตัวเลือก

อาชีพ

ข้าราชการ

เกษตรกร

อื่นๆ: \_\_\_\_\_

เลือกคำตอบ

11.4. รูปแบบ ช่องทำเครื่องหมาย

(1) คลิกเลือกรูปแบบ ช่องทำเครื่องหมาย

ช่องทำเครื่องหมาย

(2) ช่องทำเครื่องหมาย เป็นการตอบคำถามแบบ ตัวเลือก

คำถามไม่ระบุชื่อ

ช่องทำเครื่องหมาย

ตัวเลือก 1

เพิ่มตัวเลือก หรือ เพิ่ม "อื่นๆ"

ใส่ตัวเลือกเป็น รูปภาพ

เพิ่มตัวเลือกคำตอบ

เพิ่มตัวเลือก "อื่นๆ"

ใส่ตัวเลือกเป็น รูปภาพ

(3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ ช่องทำเครื่องหมาย

ช่องทางรับข่าวสาร

Facebook

Line

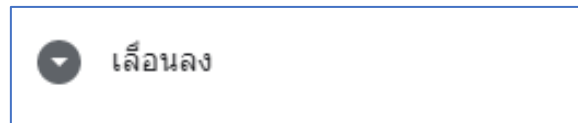
Website

อื่นๆ: \_\_\_\_\_

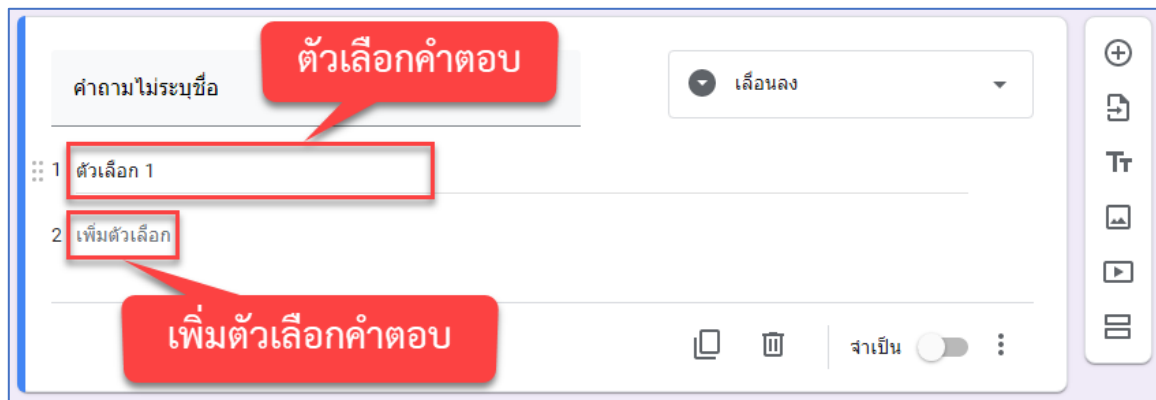
เลือกคำตอบ

### 11.5. รูปแบบ เลื่อนลง

(1) คลิกเลือกรูปแบบ เลื่อนลง



(2) เลื่อนลง เป็นการตอบคำถามแบบ ตัวเลือก



(3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ เลื่อนลง

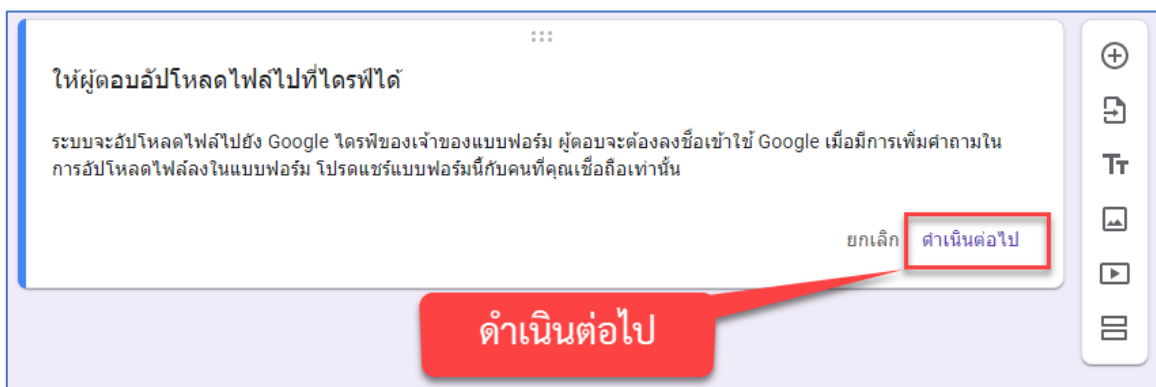


## 11.6. รูปแบบ อัปโหลดไฟล์

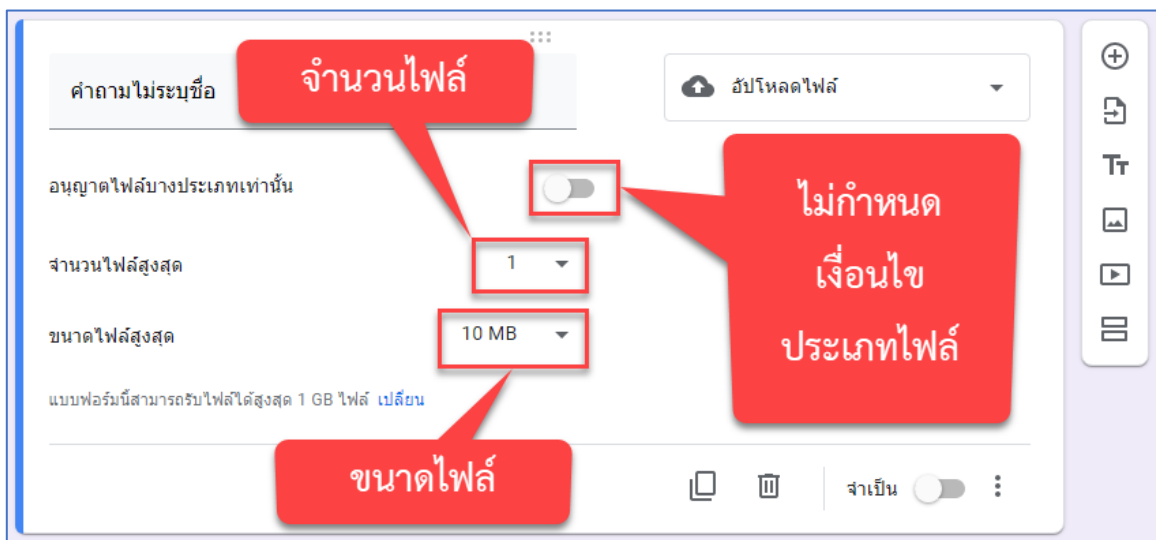
- (1) คลิกเลือกรูปแบบ อัปโหลดไฟล์



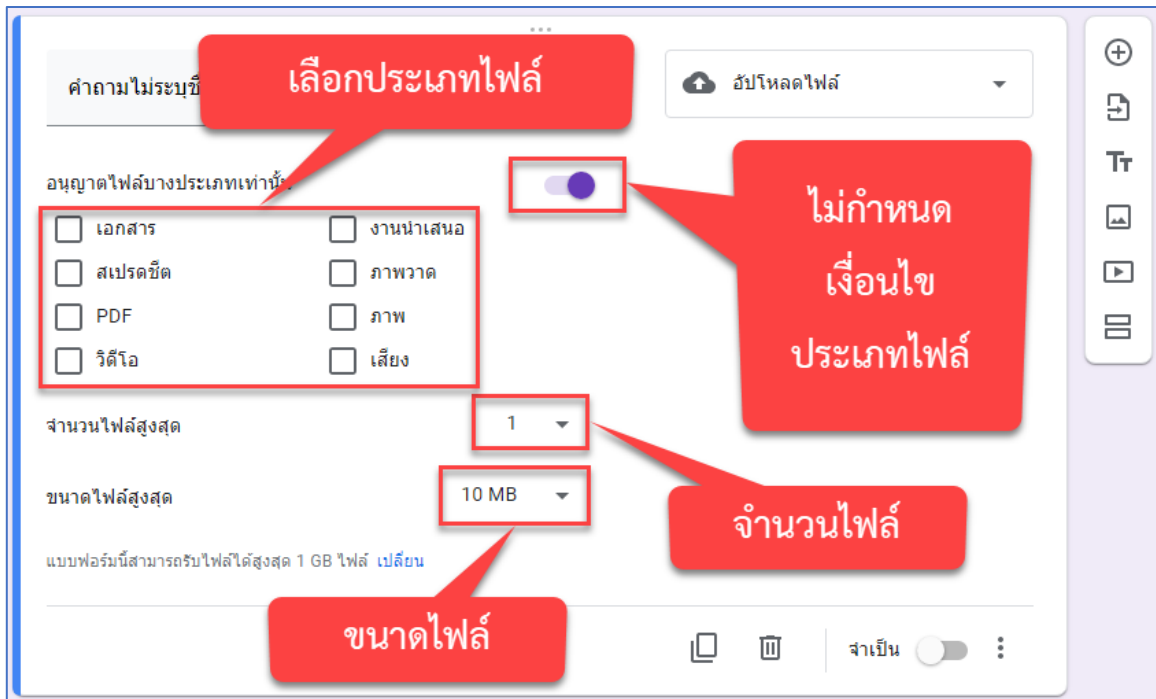
- (2) อัปโหลดไฟล์ เป็นการตอบคำถามแบบ อัปโหลดไฟล์ โดยไฟล์ที่อัปโหลดเข้ามาจะถูกเก็บไว้ใน Google Drive ของผู้สร้างแบบฟอร์ม และผู้ตอบแบบฟอร์มจะต้องมี Google Account ในการตอบข้อมูลเช่นกัน เมื่อยอมรับเงื่อนไขการอัปโหลดไฟล์แล้ว สามารถคลิกที่กล่องข้อความ "ดำเนินการต่อไป" เพื่อกำหนดรูปแบบการอัปโหลดไฟล์



- (3) อัปโหลดไฟล์ โดยไม่กำหนดเงื่อนไขประเภทไฟล์



(4) อัปโหลดไฟล์ โดยกำหนดเงื่อนไขประเภทไฟล์



(5) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ อัปโหลดไฟล์



11.7. รูปแบบ สเกลเชิงเส้น

(1) คลิกเลือกรูปแบบ สเกลเชิงเส้น



(2) สเกลเชิงเส้น เป็นการตอบคำถามแบบ การให้ค่าคะแนน

คำถามไม่ระบุชื่อ

สเกลเชิงเส้น

1 ถึง 5

กำหนดช่วงคะแนน

1 ป้ายกำกับ (ตัวเลือก)

5 ป้ายกำกับ (ตัวเลือก)

ป้ายกำกับ

จำเป็น

(3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ สเกลเชิงเส้น

ความพึงพอใจในการใช้งานระบบ

เลือกคำตอบ

1 2 3 4 5

น้อย มาก

11.8. รูปแบบ ตารางตัวเลือกหลายข้อ

(1) คลิกเลือกรูปแบบ ตารางตัวเลือกหลายข้อ

ตารางตัวเลือกหลายข้อ

(2) ตารางตัวเลือกหลายข้อ เป็นการตอบคำถามแบบ การให้ค่าคะแนน

The screenshot shows a question titled 'คำถามไม่ระบุชื่อ' (Unlabeled question). It features a grid for multiple-choice options. The grid has two rows and two columns. The first row is labeled 'แถว' (Row) and the first column is labeled 'คอลัมน์' (Column). The first row, first column option is 'แถวที่ 1' (Row 1) and the first row, second column option is 'คอลัมน์ที่ 1' (Column 1). The second row, first column option is 'เพิ่มแถว' (Add row) and the second row, second column option is 'เพิ่มคอลัมน์' (Add column). Red callouts point to these options with labels: 'กำหนดแถว' (Set row) points to 'แถวที่ 1', 'เพิ่มแถว' (Add row) points to 'เพิ่มแถว', 'กำหนดคอลัมน์' (Set column) points to 'คอลัมน์ที่ 1', and 'เพิ่มคอลัมน์' (Add column) points to 'เพิ่มคอลัมน์'. At the bottom right, there is a toggle switch labeled 'ต้องมีคำตอบทุกแถว' (Must answer every row) which is currently turned off.

(3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ ตารางตัวเลือกหลายข้อ

The screenshot shows a Likert scale response grid for the question 'ความพึงพอใจด้านการใช้งานระบบ' (System usability satisfaction). The grid has three rows and five columns. The columns are labeled 5, 4, 3, 2, 1 from left to right. The rows are labeled 'ระบบใช้งานง่าย' (System is easy to use), 'ความสมบูรณ์ของระบบ' (System completeness), and 'ความสวยงามของระบบ' (System aesthetics). The grid is enclosed in a red box. A red callout labeled 'เลือกคำตอบ' (Select answer) points to the grid. The selected answers are: 'ระบบใช้งานง่าย' (3), 'ความสมบูรณ์ของระบบ' (4), and 'ความสวยงามของระบบ' (5).

	5	4	3	2	1
ระบบใช้งานง่าย	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
ความสมบูรณ์ของระบบ	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
ความสวยงามของระบบ	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

### 11.9. รูปแบบ ตารางกริดช่องทำเครื่องหมาย

(1) คลิกเลือกรูปแบบ ตารางกริดช่องทำเครื่องหมาย

The screenshot shows a grid icon (a 3x3 grid of squares) next to the text 'ตารางกริดช่องทำเครื่องหมาย' (Grid checkbox form).

(2) ตารางกริดช่องทำเครื่องหมาย เป็นการตอบคำถามแบบ การให้ค่าคะแนน

The screenshot shows a user interface for a grid-based question. At the top, there is a header "คำถามไม่ระบุชื่อ" and a dropdown menu "ตารางกริดช่องทำเครื่องหมาย". Below the header, there are two columns: "แถว" (Rows) and "คอลัมน์" (Columns). The "แถว" column has two rows: "แถวที่ 1" and "เพิ่มแถว". The "คอลัมน์" column has two columns: "คอลัมน์ที่ 1" and "เพิ่มคอลัมน์". Red callouts point to these elements: "กำหนดแถว" points to the "แถวที่ 1" row, "เพิ่มแถว" points to the "เพิ่มแถว" row, "กำหนดคอลัมน์" points to the "คอลัมน์ที่ 1" column, and "เพิ่มคอลัมน์" points to the "เพิ่มคอลัมน์" column. At the bottom, there is a toggle switch labeled "ต้องมีคำตอบทุกแถว" which is currently turned off.

(3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ ตารางกริดช่องทำเครื่องหมาย

The screenshot shows a user interface for a grid-based question. The title is "ด้านการรับข้อมูลข่าวสาร". Below the title, there are five columns: "Facebook", "Line", "Website", "TV", and "Email". There are three rows of data: "ได้รับข้อมูล A จาก", "ได้รับข้อมูล B จาก", and "ได้รับข้อมูล C จาก". A red callout "เลือกคำตอบ" points to the "Website" column. The table is as follows:

	Facebook	Line	Website	TV	Email
ได้รับข้อมูล A จาก	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ได้รับข้อมูล B จาก	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
ได้รับข้อมูล C จาก	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

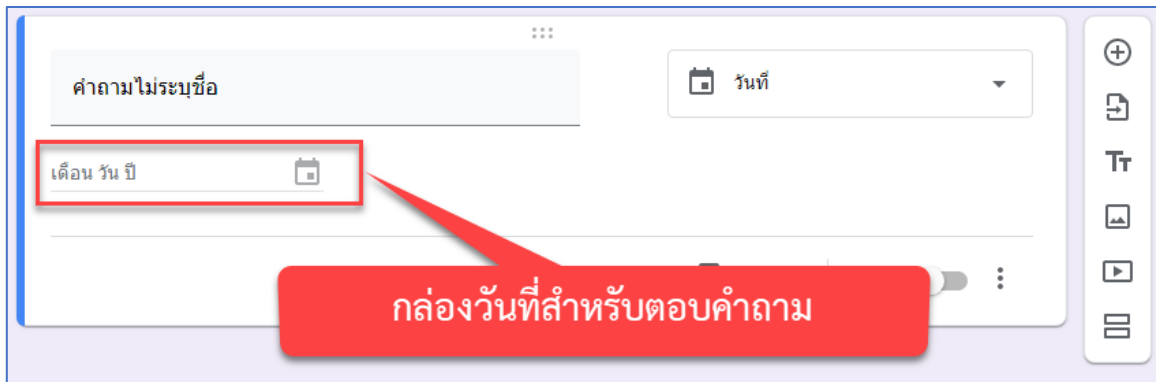
11.10. รูปแบบ วันที่

(1) คลิกเลือกรูปแบบ วันที่

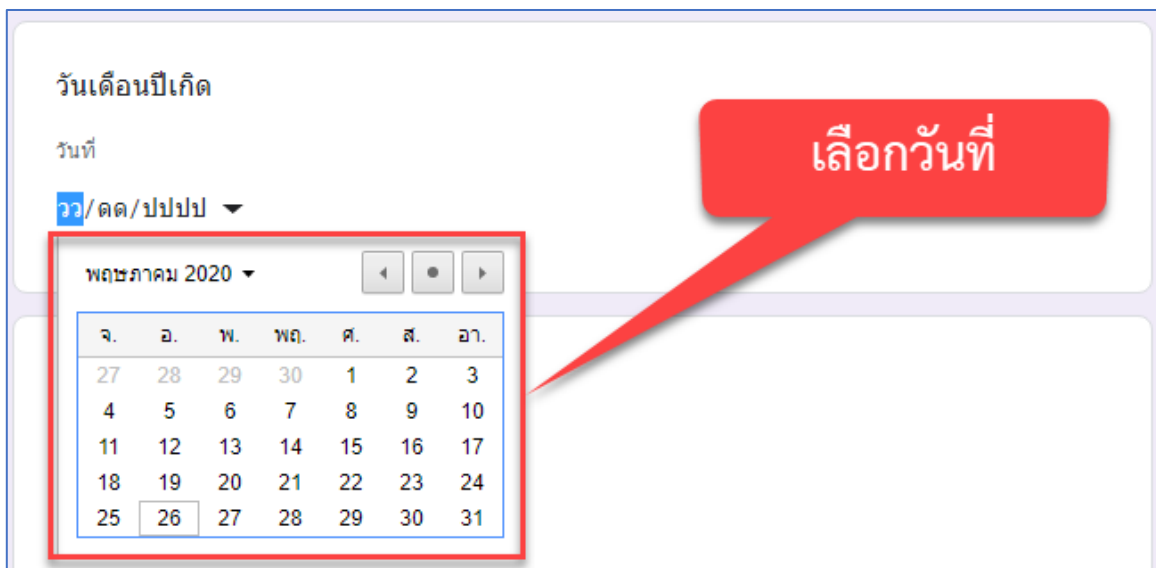
The screenshot shows a date selection input field. It consists of a calendar icon followed by the text "วันที่". The entire input field is enclosed in a blue border.



(2) วันที่ เป็นการตอบคำถามแบบ เดือน วัน ปี

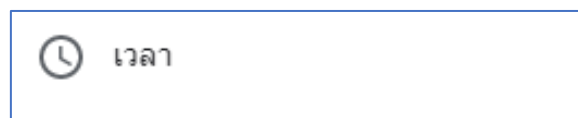


(3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ วันที่

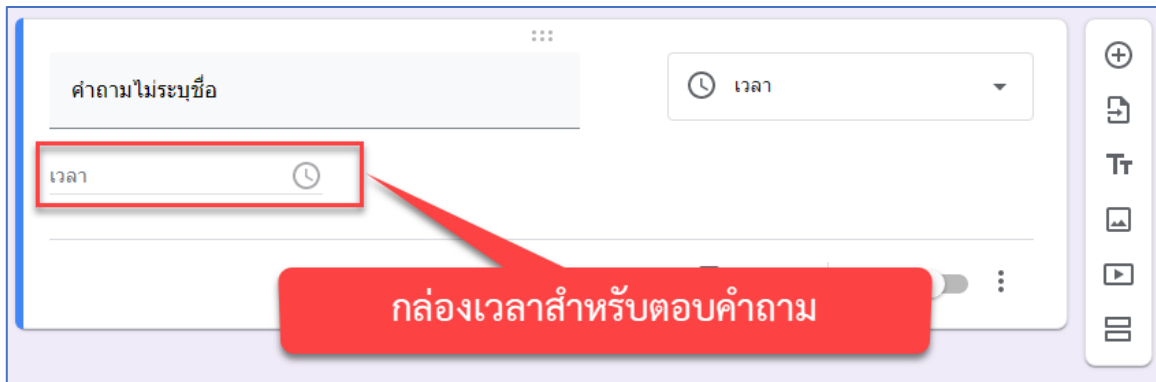


11.11. รูปแบบ เวลา

(1) คลิกเลือกรูปแบบ เวลา



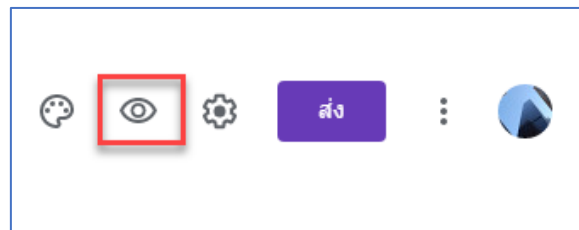
(2) เวลา เป็นการตอบคำถามแบบ เวลา



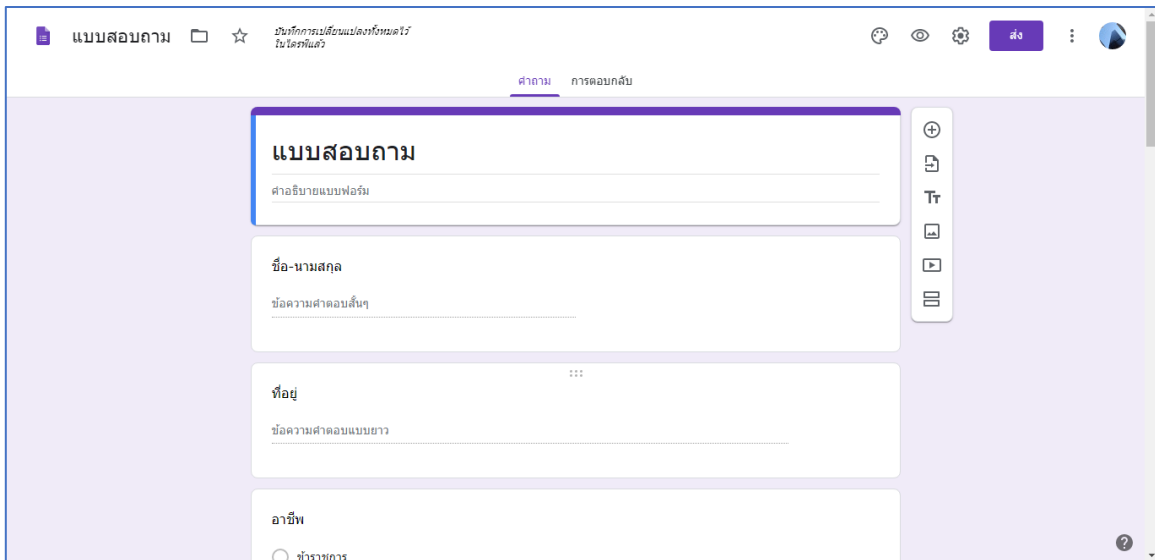
(3) ตัวอย่าง การตอบของรูปแบบ เวลา



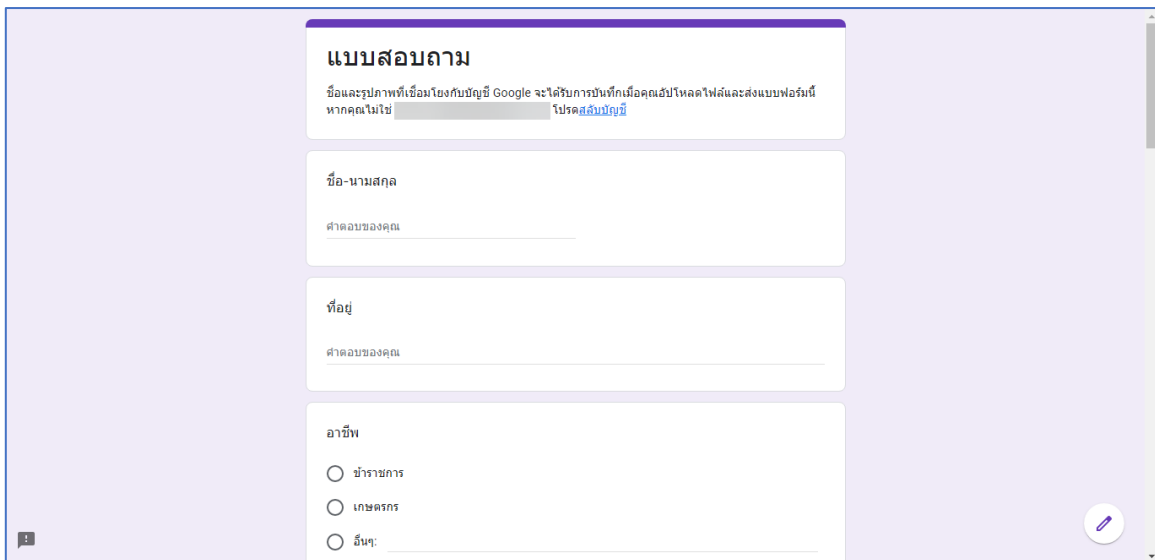
12. คลิก Icon แสดงตัวอย่าง เพื่อดูตัวอย่างแบบฟอร์ม



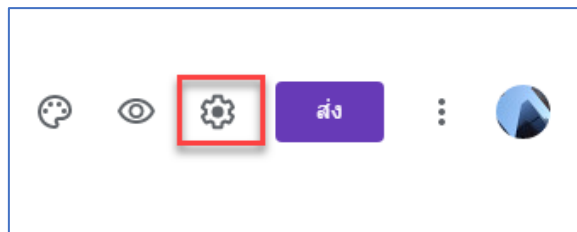
### 12.1. หน้าการจัดการแบบฟอร์มโดยเจ้าของ (ก่อน คลิก แสดงตัวอย่าง)



### 12.2. หน้าการแสดงผลโดยผู้ตอบแบบฟอร์ม (หลัง คลิก แสดงตัวอย่าง)

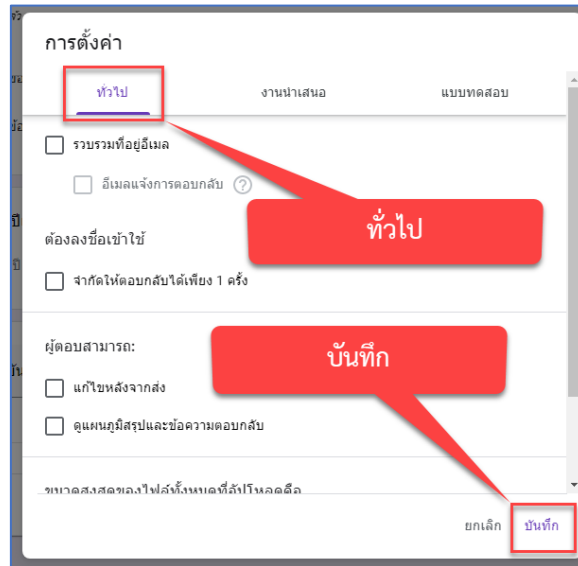


### 13. คลิก การตั้งค่า เมื่อต้องการตั้งค่าในการจัดการ Google Forms



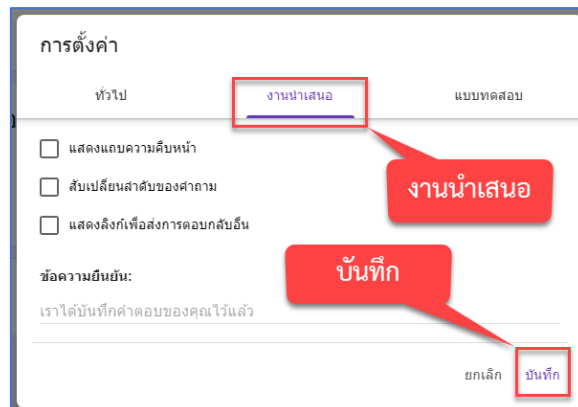
13.1. การตั้งค่าทั่วไป โดย คลิก ที่กล่องข้อความ “ทั่วไป” และทำการตั้งค่าต่างๆ แล้วจึง คลิก ที่กล่องข้อความ “บันทึก”

- (1) รวบรวมที่อยู่อีเมล คือ การเก็บอีเมลของผู้ใช้งานแบบฟอร์ม
- (2) ต้องลงชื่อเข้าใช้ คือ การจำกัดจำนวนครั้งในการการตอบแบบฟอร์ม
- (3) ผู้ตอบสามารถ คือ ผู้ใช้งานสามารถ แก้ไข หรือดูสรุปข้อมูลของแบบฟอร์ม
- (4) ขนาดสูงสุดของไฟล์ทั้งหมดที่อัปโหลด คือ การกำหนดขนาดของไฟล์ที่ให้ผู้ใช้งานอัปโหลด



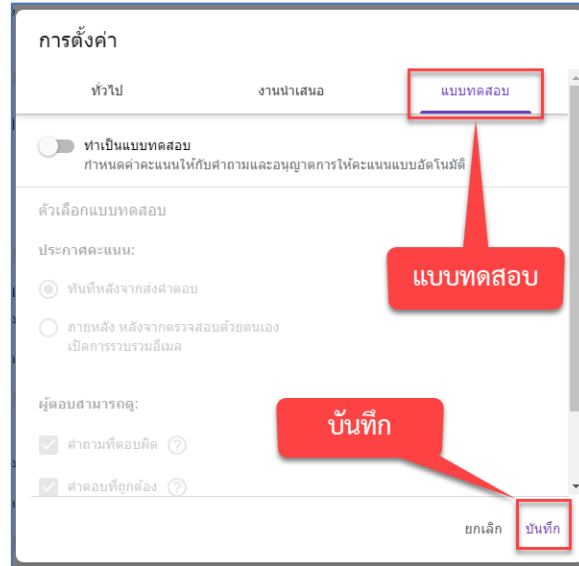
13.2. การตั้งค่างานนำเสนอ โดย คลิก ที่กล่องข้อความ “งานนำเสนอ” และทำการตั้งค่าต่างๆ แล้วจึงคลิก ที่กล่องข้อความ “บันทึก”

- (1) แสดงแถบความคืบหน้า คือ การให้ผู้ใช้งานสามารถมองเห็นความคืบหน้าในการใช้งานแบบฟอร์ม
- (2) สับเปลี่ยนลำดับของคำถาม คือ การเปลี่ยนแปลงลำดับของคำถามแบบสุ่ม
- (3) แสดงลิงก์เพื่อส่งการตอบกลับอื่น คือ ผู้ใช้งานสามารถใช้ลิงค์กลับมาทำแบบฟอร์มซ้ำได้อีกครั้ง
- (4) ข้อความยืนยัน คือ การแสดงข้อความยืนยันเพื่อให้ผู้ใช้งานรับทราบถึงผลการบันทึกข้อมูล

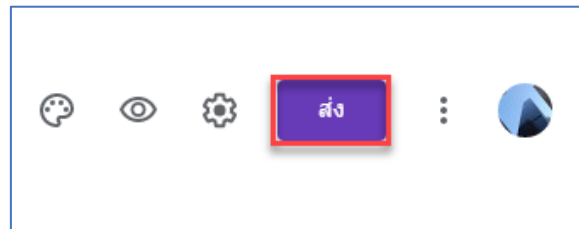


13.3. การตั้งค่าแบบทดสอบ โดย คลิก ที่กล่องข้อความ “แบบทดสอบ” และทำการตั้งค่าต่างๆ แล้วจึงคลิก ที่กล่องข้อความ “บันทึก”

- (1) กรณี ปิด ทำเป็นแบบทดสอบ จะไม่สามารถปรับแก้การตั้งค่าใดๆ ในแบบทดสอบได้
- (2) กรณี เปิด ทำเป็นแบบทดสอบ จะสามารถปรับแก้การตั้งค่าต่างๆของแบบทดสอบ ได้แก่ ประกาศคะแนน หรือสิ่งที่ผู้ตอบสามารถดูได้



14. คลิก ที่กล่องข้อความ “ส่ง” เพื่อส่งฟอร์มให้ผู้ใช้งานสามารถเข้ามาทำแบบฟอร์มได้



#### 14.1. การส่งฟอร์มผ่าน Email

- (1) คลิก ที่ Icon Email
- (2) ใส่ Email ผู้รับ
- (3) ชื่อเรื่องของแบบฟอร์ม
- (4) ข้อความที่ต้องการส่งถึงผู้รับ
- (5) คลิก ที่กล่องข้อความ “ส่ง” เพื่อส่งข้อมูล

The screenshot shows the 'ส่งฟอร์ม' (Send Form) dialog box. It has a title bar with a close button (X). Below the title bar, there is a checkbox for 'รวมรวมที่อยู่อีเมล' (Include email addresses) which is unchecked. The 'ส่งผ่าน' (Send via) section shows an email icon selected, with a red box and callout '1' pointing to it. Below this, there are social media icons for Facebook and Twitter. The 'อีเมล' (Email) section contains three text input fields: 'ถึง' (To) with a red box and callout '2', 'เรื่อง' (Subject) with the text 'แบบสอบถาม' (Survey) and a red box and callout '3', and 'ข้อความ' (Message) with the text 'สนใจให้คุณกรอกข้อมูลในแบบฟอร์ม:' (Interested in you filling out the form:) and a red box and callout '4'. At the bottom, there is a checkbox for 'รวมฟอร์มในอีเมล' (Include form in email) which is unchecked, and a 'ส่ง' (Send) button with a red box and callout '5'. There is also a 'ยกเลิก' (Cancel) button and a '+ เพิ่มผู้ทำงานร่วมกัน' (Add collaborators) link.

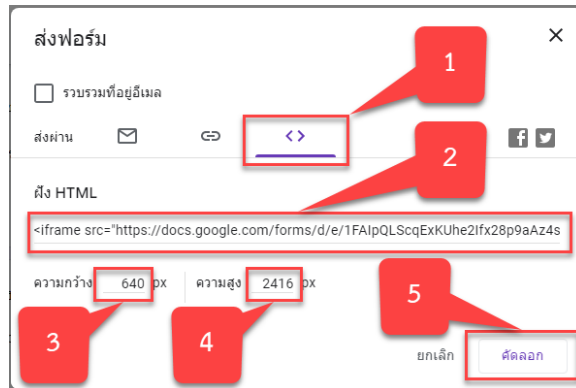
#### 14.2. การส่งฟอร์มผ่าน Link

- (1) คลิก ที่ Icon Link
- (2) Link ที่ใช้ในการเข้าทำแบบฟอร์ม
- (3) ตัด URL ให้สั้นลง เพื่อสะดวกในการคัดลอกข้อมูล
- (4) คลิก ที่กล่องข้อความ “คัดลอก” แล้วส่งต่อให้ผู้ใช้งาน

The screenshot shows the 'ส่งฟอร์ม' (Send Form) dialog box. It has a title bar with a close button (X). Below the title bar, there is a checkbox for 'รวมรวมที่อยู่อีเมล' (Include email addresses) which is unchecked. The 'ส่งผ่าน' (Send via) section shows a link icon selected, with a red box and callout '1' pointing to it. Below this, there are social media icons for Facebook and Twitter. The 'ลิงก์' (Link) section contains a text input field with the URL 'https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLScqExKUhe2Ifx28p9aAz4shK3QZlrswM' and a red box and callout '2'. Below the input field, there is a checkbox for 'ตัด URL ให้สั้นลง' (Shorten URL) which is unchecked, with a red box and callout '3'. To the right of the checkbox is a 'คัดลอก' (Copy) button with a red box and callout '4'.

### 14.3. การส่งฟอร์มผ่าน การฝัง HTML คือการนำแบบฟอร์มนี้ไปโฮวบนเว็บไซต์

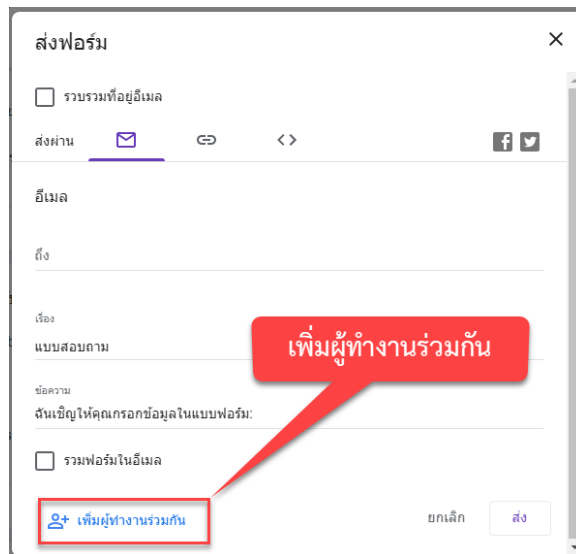
- (1) คลิก ที่ Icon HTML
- (2) HTML สำหรับนำไปใช้บนเว็บไซต์
- (3) ขนาดความกว้าง
- (4) ขนาดความสูง
- (5) คลิก ที่กล่องข้อความ “คัดลอก” เพื่อนำ HTML ไปใช้งาน
- (6) กรณี ในแบบฟอร์มมีการให้ผู้ตอบอัปโหลดไฟล์จะไม่สามารถใช้งานการฝัง HTML ได้



### 14.4. คลิก ที่ Icon App เพื่อส่งฟอร์มผ่าน App อื่นๆ ได้แก่ Facebook หรือ Twitter



#### 14.5. คลิก เพิ่มผู้ทำงานร่วมกัน เมื่อต้องการให้ผู้อื่นเข้ามาปรับแก้แบบฟอร์ม

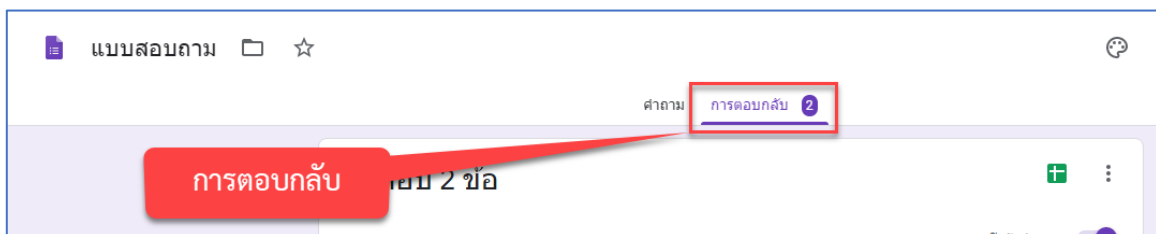


- (1) คลิก ที่ Icon ตั้งค่า เพื่อกำหนดสิทธิ์การใช้งานแบบฟอร์มของผู้รับ
- (2) ใส่ Email ผู้รับ
- (3) คลิก ที่กล่องข้อความ “เสร็จสิ้น” เพื่อส่งข้อมูล
- (4) หรือ คลิก ที่กล่องข้อความ “คัดลอกลิงก์” เพื่อส่งลิงก์ให้ผู้รับ



#### 15. การตรวจดูคำตอบของ Google Forms มีขั้นตอน ดังนี้

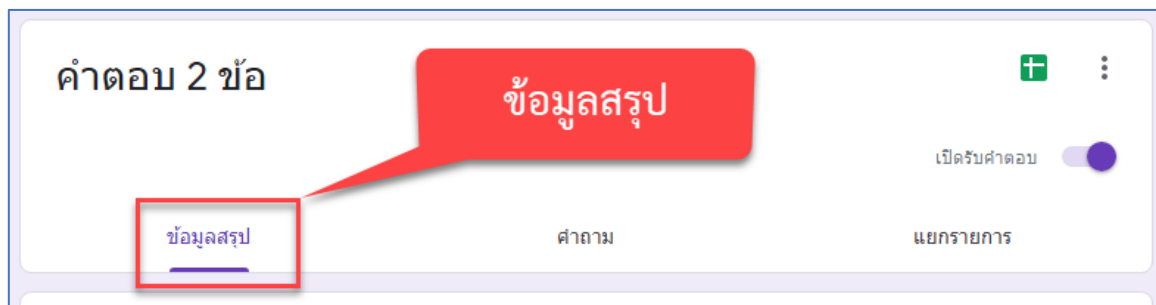
- 15.1. คลิก ที่กล่องข้อความ “การตอบกลับ” โดยตัวเลขด้านหลังแสดงถึงจำนวนของคำตอบที่มีการตอบกลับมา





## 15.2. ดูข้อมูลการตอบกลับแบบ ข้อมูลสรุป

(1) คลิก ที่กล่องข้อความ “ข้อมูลสรุป”

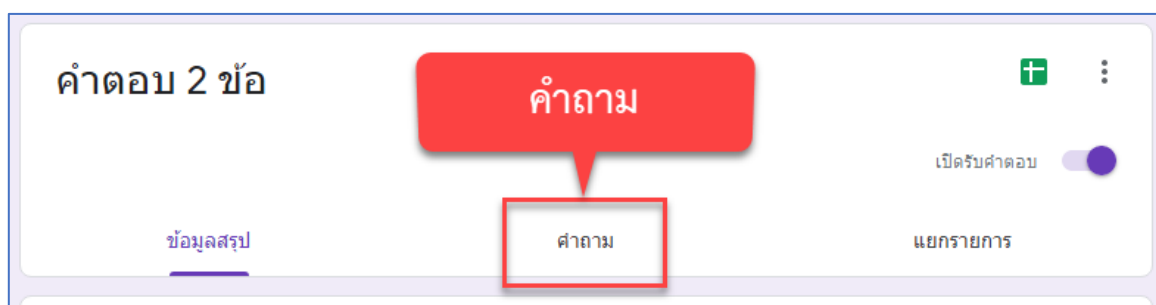


(2) ตัวอย่างการแสดงผลของ ข้อมูลสรุป



## 15.3. ดูข้อมูลการตอบกลับแบบ คำถาม

(1) คลิก ที่กล่องข้อความ “คำถาม”



(2) ตัวอย่างการแสดงผลของ คำถาม

The screenshot shows a quiz interface with a header bar containing a dropdown menu labeled "ชื่อ-นามสกุล" (Name-Surname) and a progress indicator "1 จาก 10" (1 of 10). Below the header are three question cards. The first card is titled "ชื่อ-นามสกุล" and has a red callout box pointing to the dropdown menu with the text "เลือกคำถาม" (Select question). The second card is titled "นามมี สีสัน" and the third is titled "มานี มานะ". Both the second and third cards have a blue link below them that says "การตอบกลับ 1 รายการ" (1 response).

15.4. ดูข้อมูลการตอบกลับแบบ แยกรายการ

(1) คลิก ที่กล่องข้อความ “แยกรายการ”

The screenshot shows a quiz interface with a header bar containing the text "คำตอบ 2 ข้อ" (2 questions) and a red callout box with the text "แยกรายการ" (Separate items) pointing to a button in the bottom right corner. The button is labeled "แยกรายการ" and is highlighted with a red box. To the left of the button is a toggle switch labeled "เปิดรับคำตอบ" (Accept answers) which is currently turned on. Below the header bar are three tabs: "ข้อมูลสรุป" (Summary), "คำถาม" (Questions), and "แยกรายการ" (Separate items), with the "แยกรายการ" tab being the active one.

(2) ตัวอย่างการแสดงผลของ แยกรายการ

1 จาก 2

ไม่สามารถแก้ไขการตอบกลับได้

### แบบสอบถาม

ชื่อ-นามสกุล  
นามมี สีสัน

ที่อยู่  
จังหวัดนครราชสีมา

เลือกชุดคำตอบ

16. การ Export ข้อมูลไปอยู่ในรูปแบบ Google Sheets เพื่อไปทำการจัดการข้อมูลในลำดับต่อไป

16.1. คลิก ที่ Icon Google Sheets

คำถาม การตอบกลับ 2

### คำตอบ 2 ข้อ

ข้อมูลสรุป คำถาม แยกรายการ

Google Sheets

เปิดรับคำตอบ

16.2. ในการ Export ครั้งแรก ระบบจะถามถึงที่อยู่ไฟล์ ให้ คลิก ที่กล่องข้อความ “สร้าง”

เลือกปลายทางของการตอบกลับ

สร้างสเปรดชีตใหม่ แบบสอบถาม (การตอบกลับ) [ดูข้อมูลเพิ่มเติม](#)

เลือกสเปรดชีตที่มีอยู่

1

2

ยกเลิก สร้าง

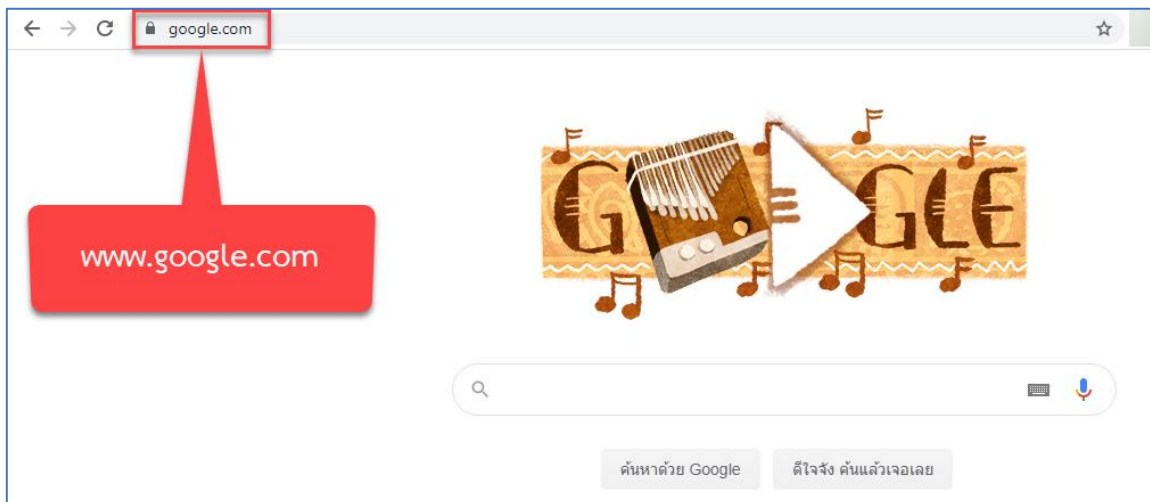
### 16.3. ตัวอย่างข้อมูลในรูปแบบ Google Sheets ซึ่งหากมีการเพิ่มหรือลบข้อมูล จาก Google Forms หรือ Google Sheets ก็จะได้แสดงผลทั้ง 2 ที่เช่นกัน

pr	ประหิณเวลา	ชื่อ-นามสกุล	ที่อยู่	อาชีพ	ช่องทางรับข่าวสาร	เพศ	ความพึงพอใจในการใช้งาน	ความพึงพอใจด้านการใช้งาน	ความพึงพอใจด้านบริการ
2	28/5/2020, 9:51:05	นายมี สีสัน	จังหวัดนครราชสีมา	ข้าราชการ	Facebook, Line	ชาย	4	4	4
3	28/5/2020, 9:52:16	นายมี นานะ	จังหวัดนครราชสีมา	เกษตรกร	Website	หญิง	4	4	5

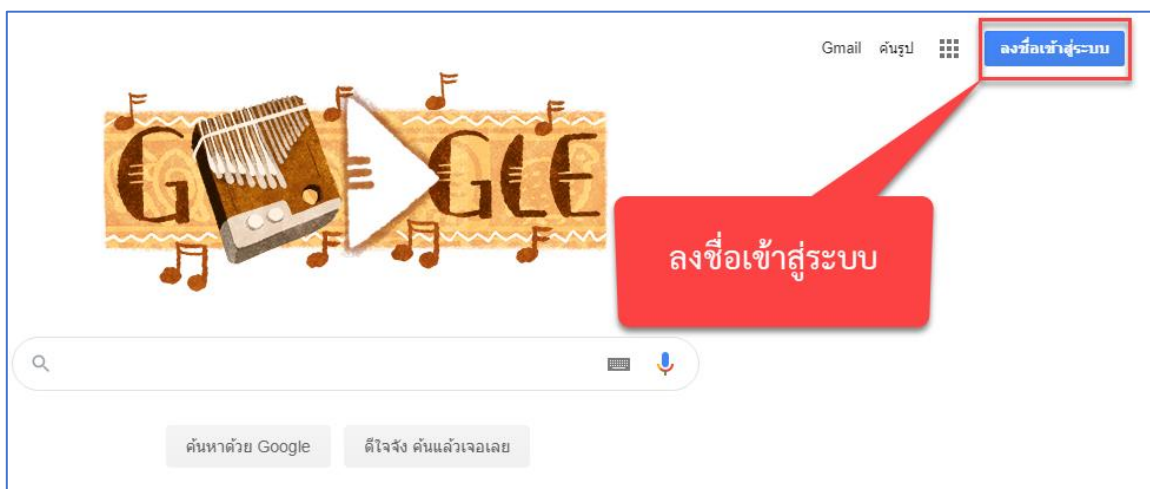
## การสร้างและการใช้งาน Google Sheets

การสร้างและใช้งาน Google Sheets มีขั้นตอน ดังนี้

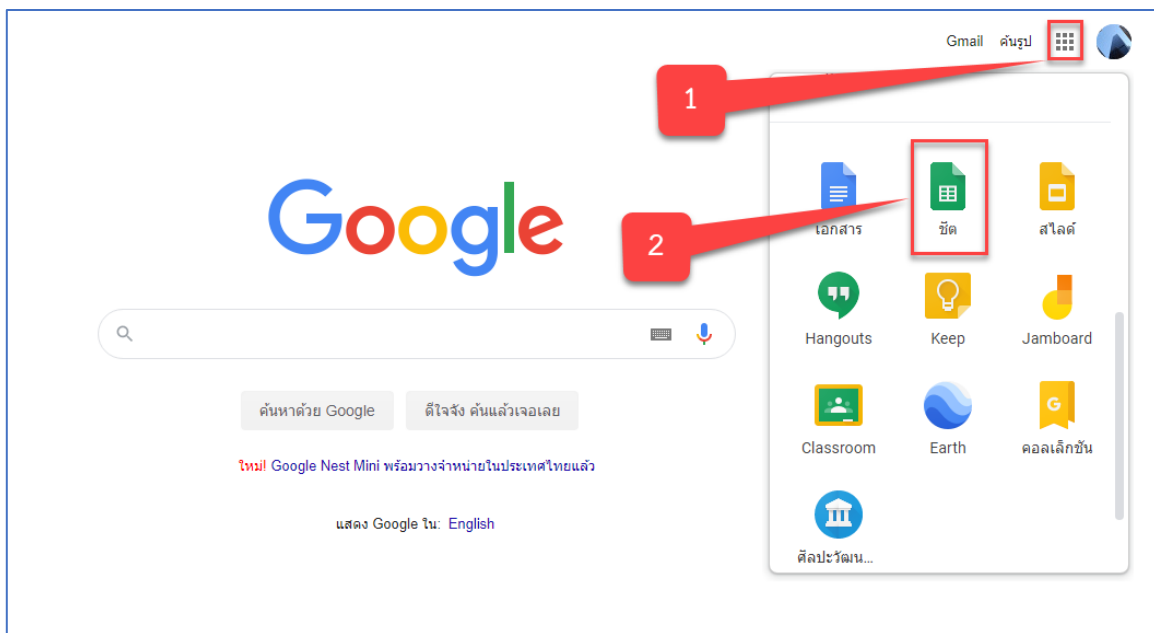
1. เปิด web browser chrome แล้วเข้า Link : [www.google.com](http://www.google.com)



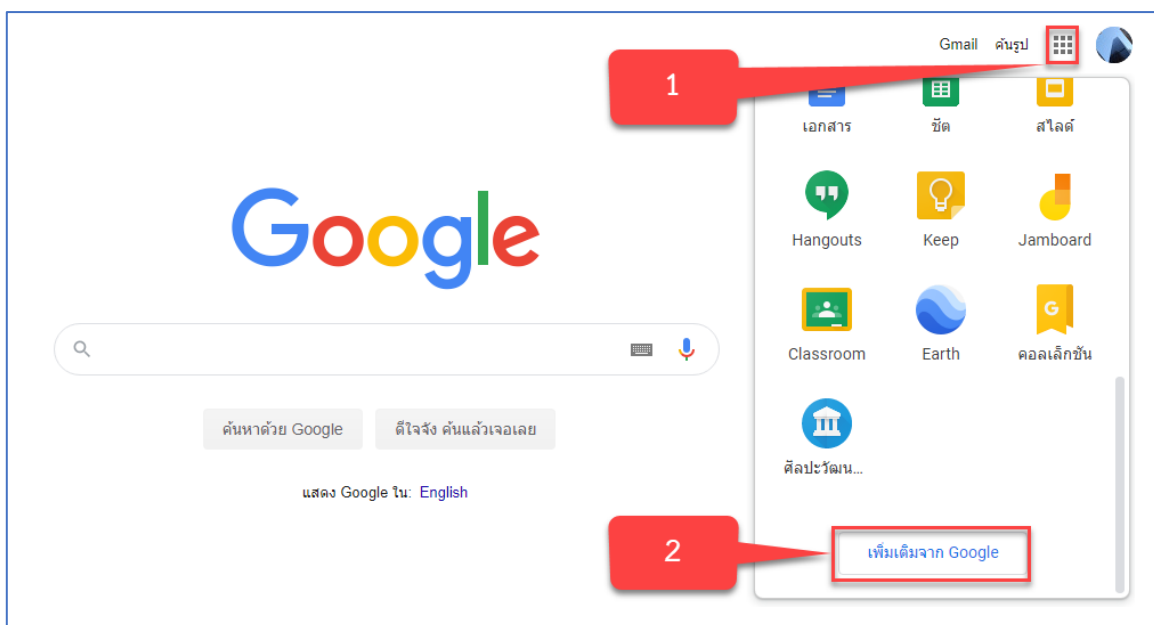
2. คลิก ที่กล่องข้อความ “ลงชื่อเข้าสู่ระบบ” และลงชื่อเข้าสู่ระบบด้วย Google Account เพื่อเข้าใช้งาน Google Services ต่างๆ ของ Google



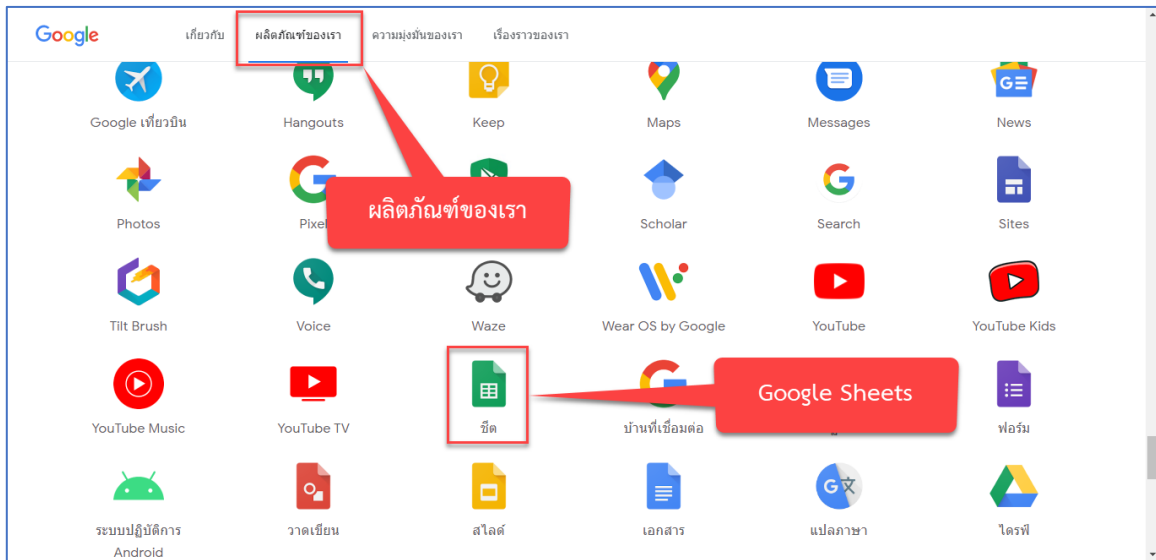
3. คลิก ที่ Icon App Google แล้วเลื่อนลงด้านล่าง จากนั้นให้ คลิก ที่ Icon Google Sheets



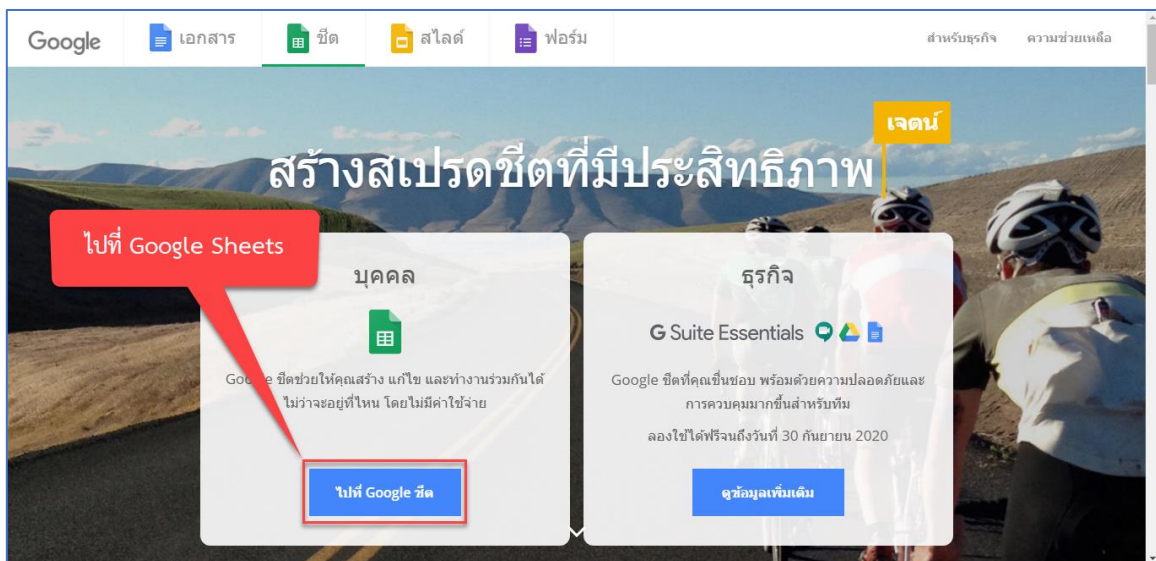
4. กรณี ไม่พบ Icon Google Sheets ให้ คลิก ที่กล่องข้อความ “เพิ่มเติมจาก Google”



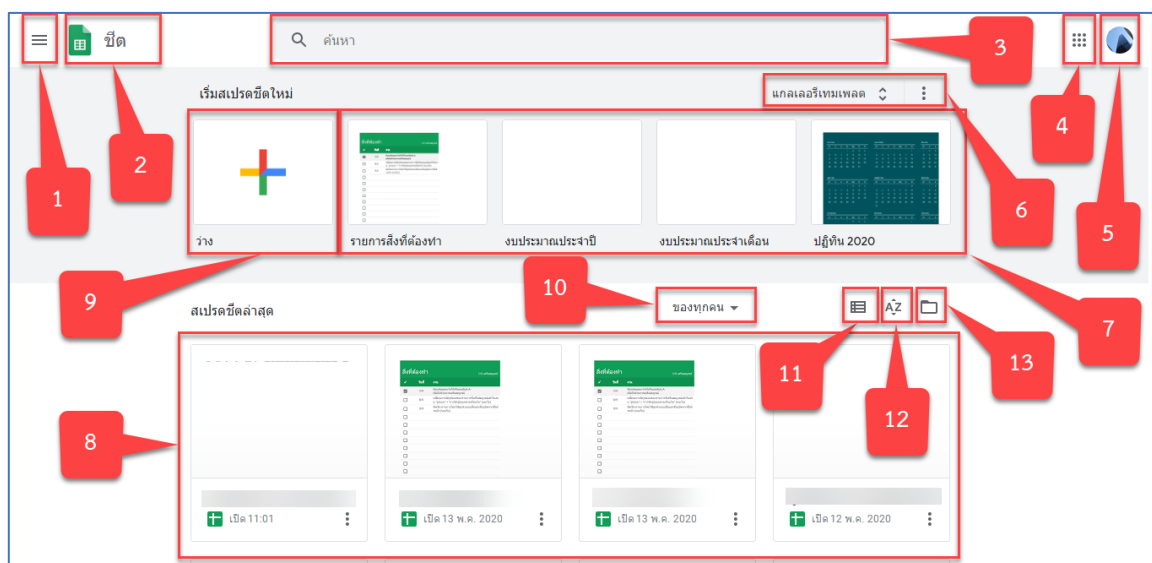
4.1. เลือก “ผลิตภัณฑ์ของเรา” เพื่อแสดงผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของ Google แล้วเลื่อนลงด้านล่าง จากนั้นให้คลิก ที่ Icon Google Sheets



4.2. คลิก ไปที่กล่องข้อความ “ไปที่ Google Sheets”



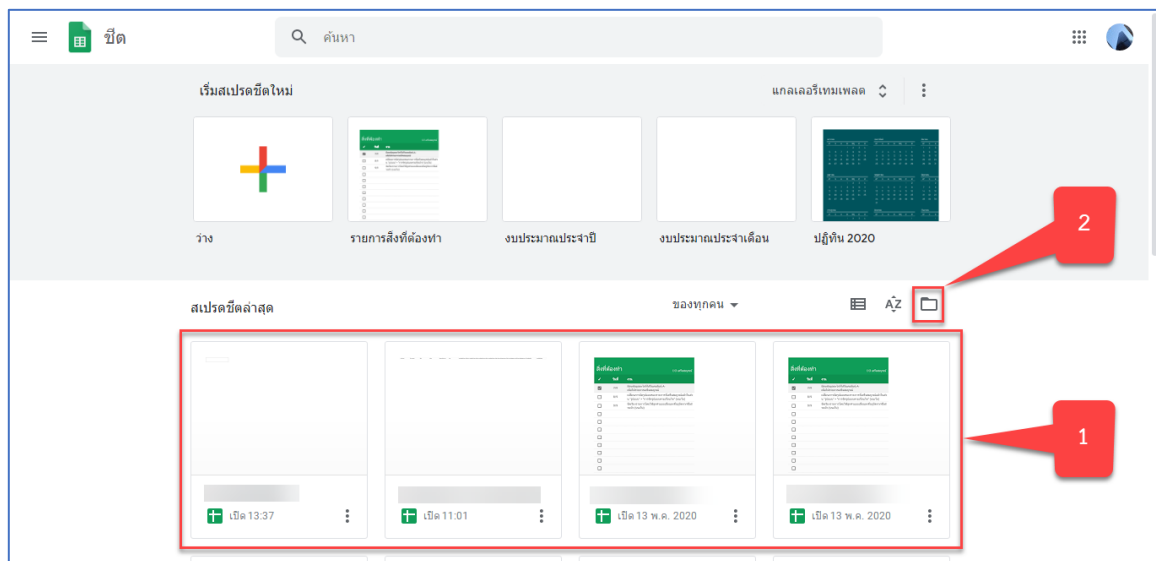
5. หน้าหลักของ Google Sheets ประกอบด้วย
  - 5.1. เมนูหลัก
  - 5.2. หน้าหลักของ Google Sheets
  - 5.3. กล่องค้นหาของ Google Sheets
  - 5.4. Icon App Google
  - 5.5. Google Account
  - 5.6. ปรับแก้รูปแบบ Templates ของ Google Sheets
  - 5.7. รูปแบบ Templates ของ Google Sheets
  - 5.8. แสดงฟอร์มล่าสุดในการทำงานบน Google Sheets
  - 5.9. สร้างฟอร์มใหม่
  - 5.10. เลือกการแสดงผลของ Google Sheets
  - 5.11. รูปแบบการแสดงผลของ Google Sheets
  - 5.12. จัดลำดับการแสดงผลของ Google Sheets
  - 5.13. เปิดไฟล์ Google Sheets



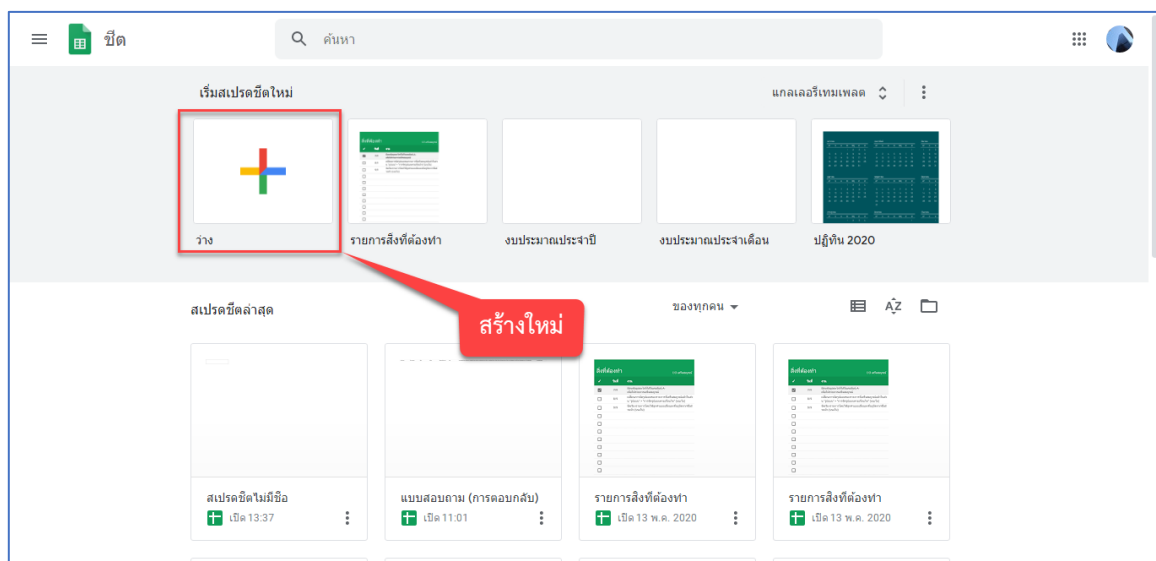


## 6. การเปิดงานเก่าของ Google Sheets

- 6.1. คลิก (1) เปิดไฟล์ Google Sheets จากงานล่าสุด หรือ
- 6.2. คลิก (2) เปิดไฟล์ Google Sheets จากการค้นหาไฟล์



## 7. คลิก ที่เครื่องหมาย + เพื่อสร้าง Google Sheets ใหม่





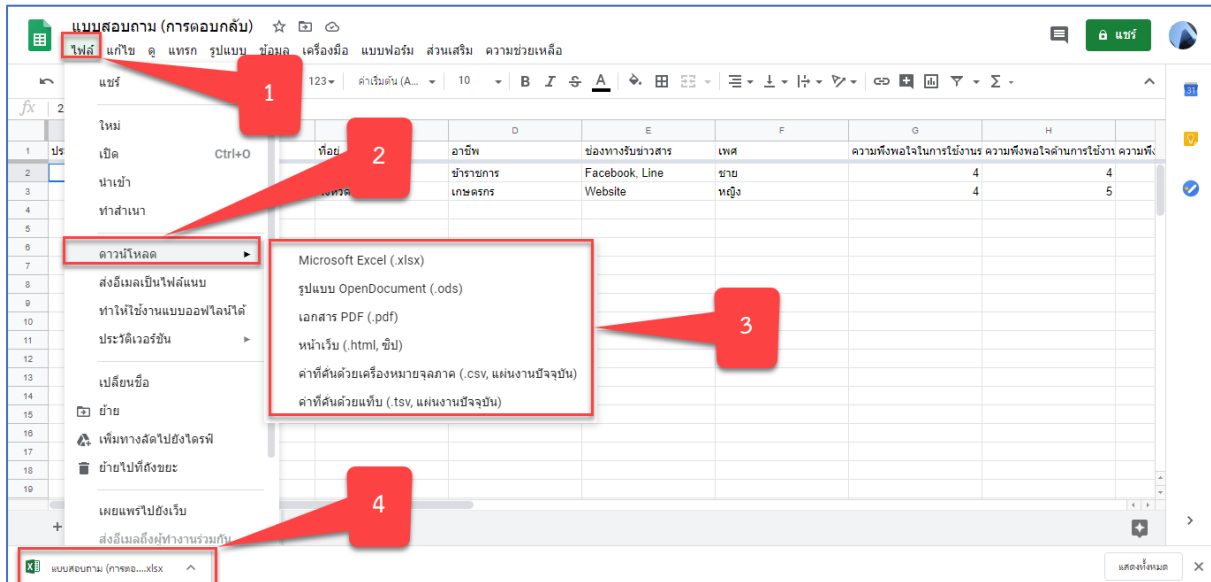
9. การ ดาวน์โหลด ข้อมูลจาก Google Sheets เพื่อนำไปวิเคราะห์หรือใช้งาน

9.1. คลิก ที่เมนู “ไฟล์”

9.2. คลิก ที่กล่องข้อความ “ดาวน์โหลด”

9.3. คลิก เลือกนามสกุลของไฟล์งานที่ต้องการนำไปใช้งานต่อไป

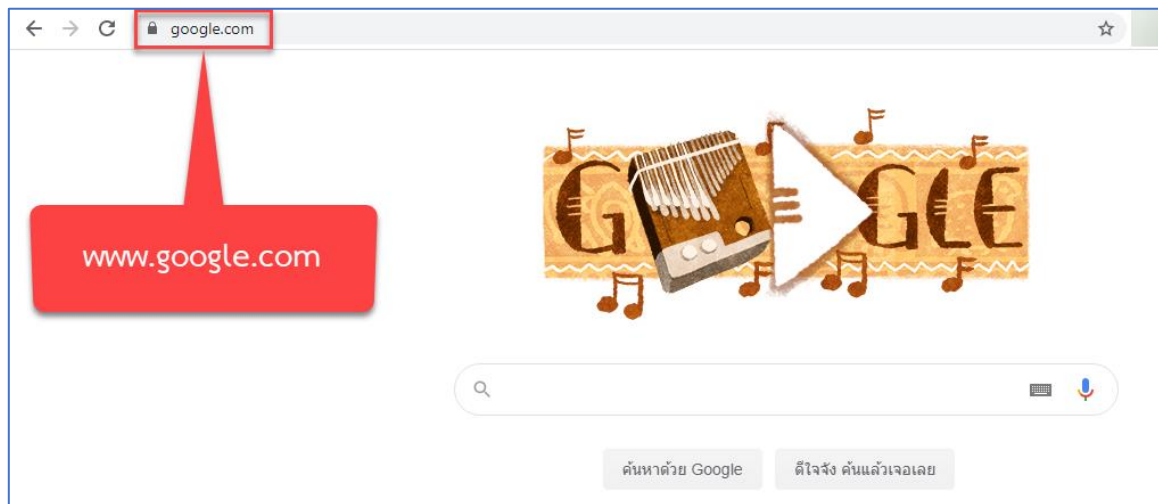
9.4. ไฟล์ที่ ดาวน์โหลด เสร็จสิ้นแล้ว



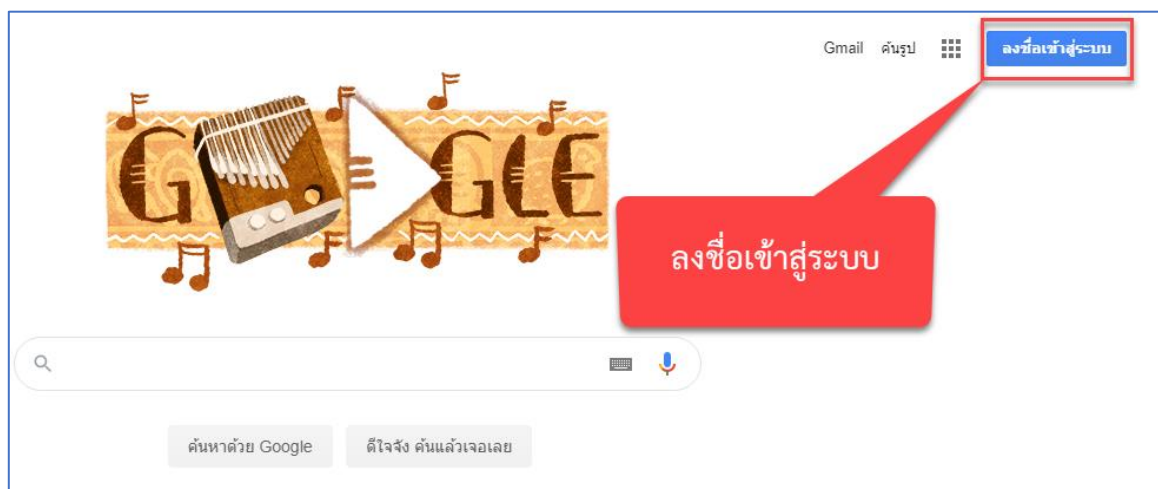
## การสร้างและการใช้งาน Google Drive

การสร้างและใช้งาน Google Drive มีขั้นตอน ดังนี้

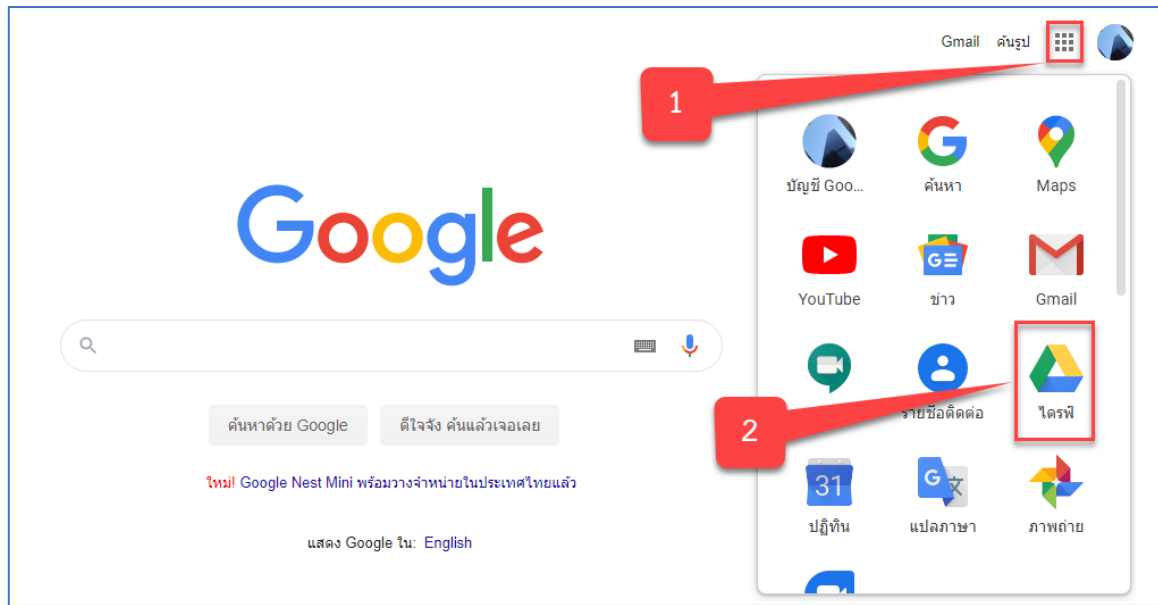
1. เปิด web browser chrome แล้วเข้า Link : [www.google.com](http://www.google.com)



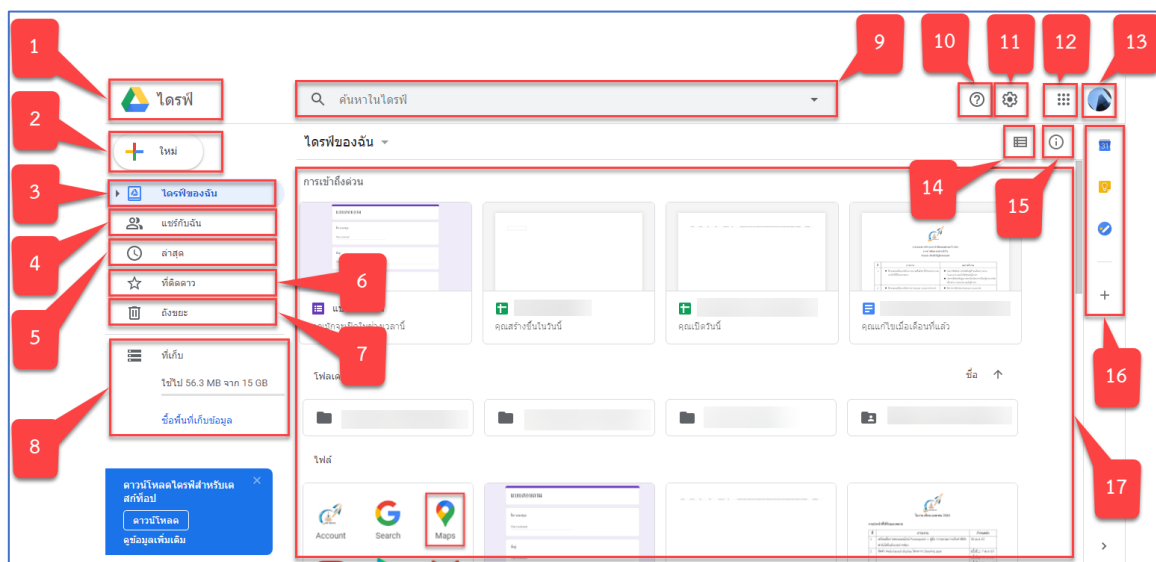
2. คลิก ที่กล่องข้อความ “ลงชื่อเข้าสู่ระบบ” และลงชื่อเข้าสู่ระบบด้วย Google Account เพื่อเข้าใช้งาน Google Services ต่างๆ ของ Google



3. คลิก ที่ Icon App Google จากนั้นให้ คลิก ที่ Icon Google Drive

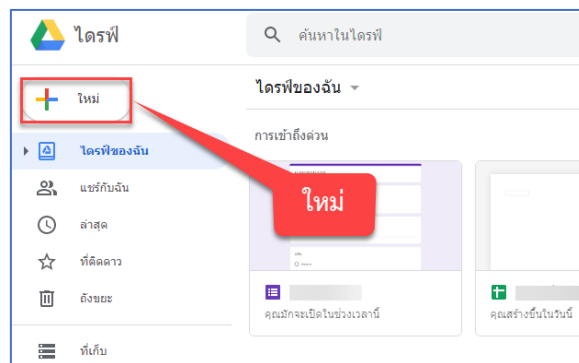


4. หน้าหลักของ Google Drive ประกอบด้วย
  - 4.1. หน้าหลักของ Google Drive
  - 4.2. สร้างไฟล์ใหม่ใน Google Drive
  - 4.3. ไดรฟ์ของฉัน เพื่อแสดงไฟล์ทั้งหมดใน Google Drive
  - 4.4. แชร์กับฉัน เพื่อแสดงไฟล์ที่ผู้อื่นแชร์การใช้งานร่วมกันใน Google Drive
  - 4.5. ล่าสุด เพื่อแสดงไฟล์ที่ใช้งานล่าสุดใน Google Drive
  - 4.6. ที่ติดดาว เพื่อแสดงไฟล์ที่ติดดาว (สำคัญ) ใน Google Drive
  - 4.7. ถังขยะ เพื่อแสดงไฟล์ที่ถูกลบทิ้งใน Google Drive
  - 4.8. ที่เก็บ เพื่อแสดงขนาดของพื้นที่สำหรับเก็บข้อมูลใน Google Drive
  - 4.9. กล่องค้นหา เพื่อใช้ค้นหาไฟล์ใน Google Drive
  - 4.10. การสนับสนุน เพื่อใช้ช่วยเหลือหากเกิดปัญหาในการใช้งาน
  - 4.11. การตั้งค่า เพื่อใช้จัดการ Google Drive
  - 4.12. Icon App Google
  - 4.13. Google Account
  - 4.14. มุมมองรายการ เป็นรูปแบบการแสดงผลไฟล์ใน Google Drive
  - 4.15. ดูรายละเอียด เพื่อดูข้อมูลไฟล์ใน Google Drive
  - 4.16. ส่วนเสริมอื่นๆ ของ Google
  - 4.17. แสดงไฟล์ใน Google Drive



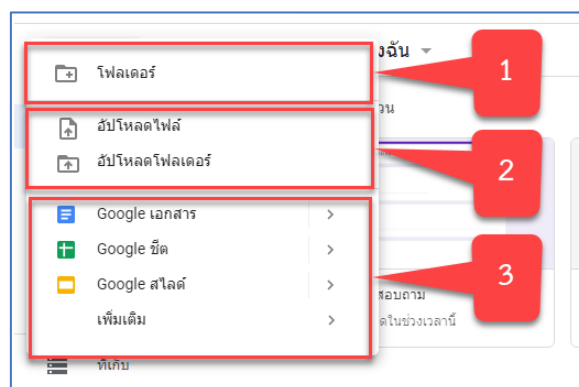
## 5. การสร้างไฟล์ใหม่ใน Google Drive

### 5.1. คลิก ที่กล่องข้อความ “ใหม่”

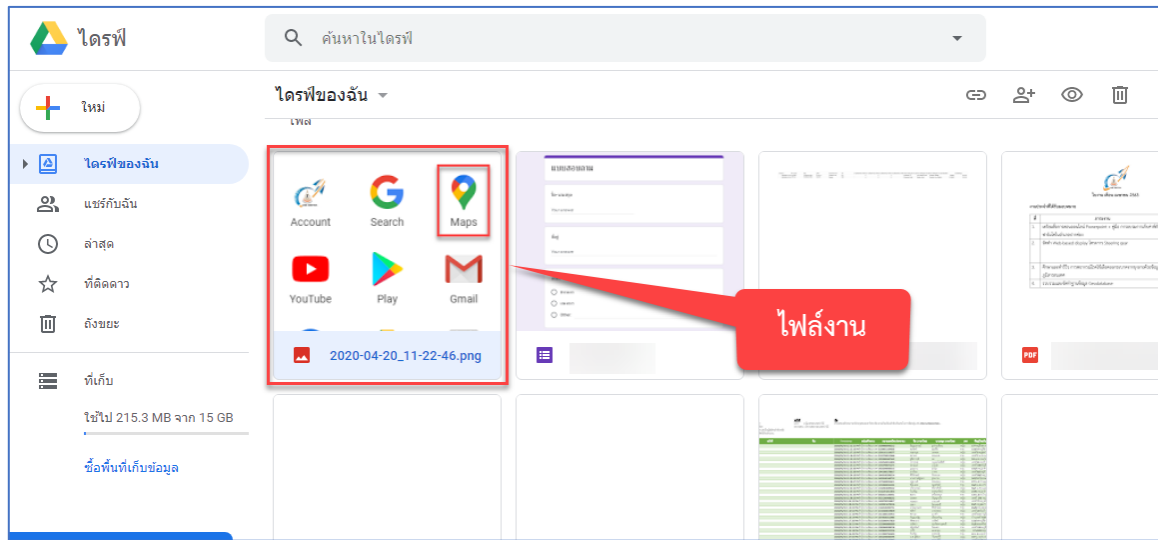


### 5.2. เมนูสำหรับการสร้างไฟล์ใหม่ ได้แก่

- (1) คลิก ที่กล่องข้อความ “โฟลเดอร์” เพื่อสร้างโฟลเดอร์งานใน Google Drive
- (2) คลิก ที่กล่องข้อความ “อัปโหลดไฟล์” หรือ “อัปโหลดโฟลเดอร์” เพื่ออัปโหลดงานเข้ามาใน Google Drive
- (3) คลิก ที่กล่องข้อความ “Google Docs” หรือ “Google Sheets” หรือ “Google Slides” หรือ “เพิ่มเติม” เพื่อสร้างงานใหม่ใน Google Drive



6. การจัดการไฟล์ใน Google Drive มีขั้นตอน ดังนี้
- 6.1. คลิกขวา ที่ไฟล์งาน หรือโฟลเดอร์งานที่ต้องการจัดการ





## 6.2. เมนู สำหรับจัดการไฟล์งาน ได้แก่

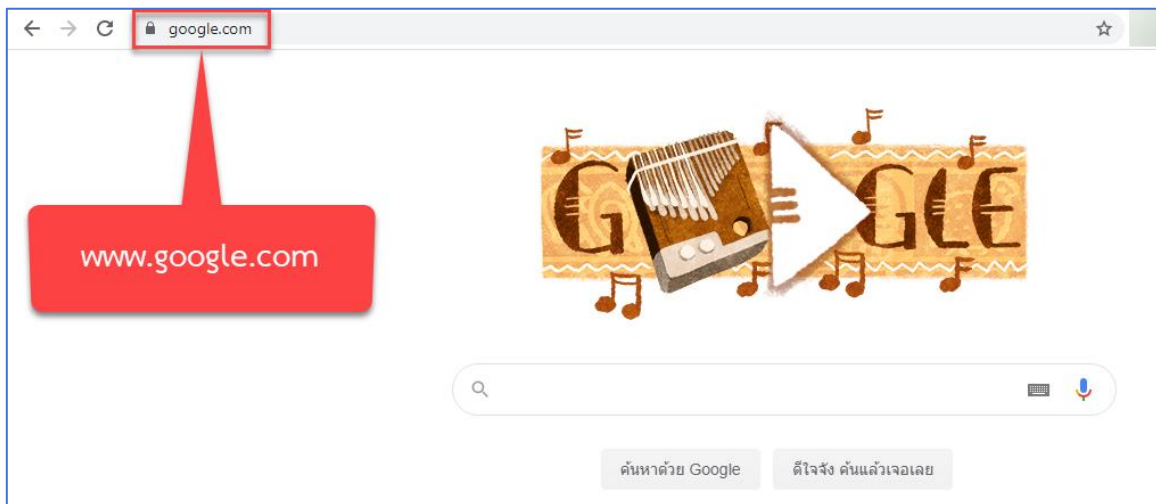
- (1) ดูตัวอย่าง คือ การเปิดเพื่อดูตัวอย่างไฟล์
- (2) เปิดด้วย คือ การเปิดด้วย App Google อื่นๆ ที่เหมาะสมกับไฟล์
- (3) แชร์ คือ การส่งไฟล์ให้ผู้อื่นสามารถใช้งานไฟล์ร่วมกันได้
- (4) รับลิงก์ที่แชร์ได้ คือ การส่งลิงก์ให้ผู้อื่นสามารถใช้งานไฟล์ร่วมกันได้
- (5) เพิ่มทางลัดไปยัง卓รฟ์ คือ การแสดงไฟล์ต่างๆ ใน卓รฟ์
- (6) ย้ายไปที่ คือ การย้ายไฟล์ไปยังที่ที่ต้องการเก็บไว้
- (7) เพิ่มไปยังรายการที่ติดดาว คือ ไฟล์ที่มีความสำคัญ เพื่อให้ง่ายต่อการค้นหา
- (8) เปลี่ยนชื่อ คือ การเปลี่ยนชื่อไฟล์
- (9) ดูรายละเอียด คือ การดูข้อมูลรายละเอียดของไฟล์
- (10) จัดการเวอร์ชัน คือ บางไฟล์สามารถเลือกเวอร์ชันการทำงานได้
- (11) ทำสำเนา คือ การสำเนาไฟล์
- (12) รายงานการละเมิด คือ การแจ้งไฟล์งานเมื่อมีการละเมิดนโยบายของ Google
- (13) ดาวน์โหลด คือ การดาวน์โหลดไฟล์
- (14) ลบ คือ การลบไฟล์



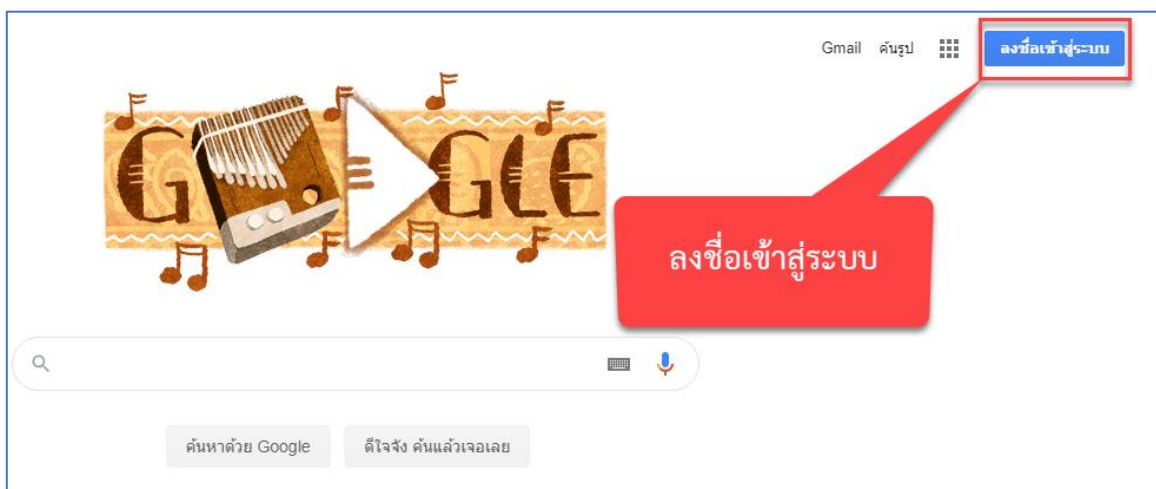
## การสร้างและใช้งาน Google Maps

การสร้างและใช้งาน Google Maps มีขั้นตอน ดังนี้

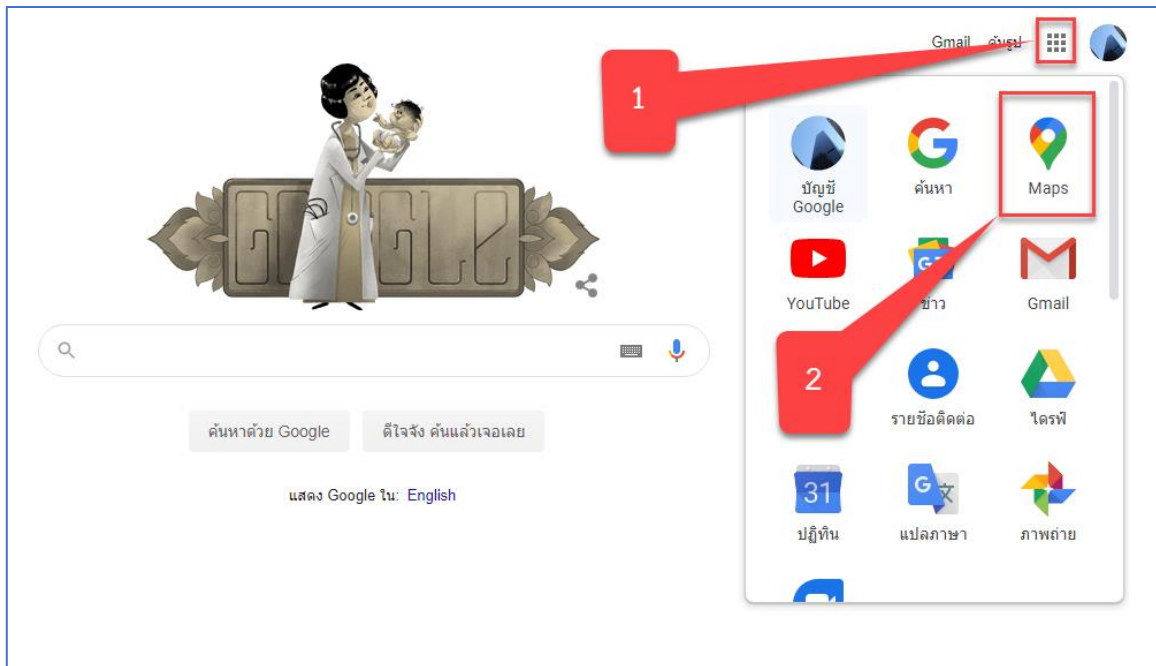
1. เปิด web browser chrome แล้วเข้า Link : [www.google.com](http://www.google.com)



2. คลิก ที่กล่องข้อความ “ลงชื่อเข้าสู่ระบบ” และลงชื่อเข้าสู่ระบบด้วย Google Account เพื่อเข้าใช้งาน Google Services ต่างๆ ของ Google

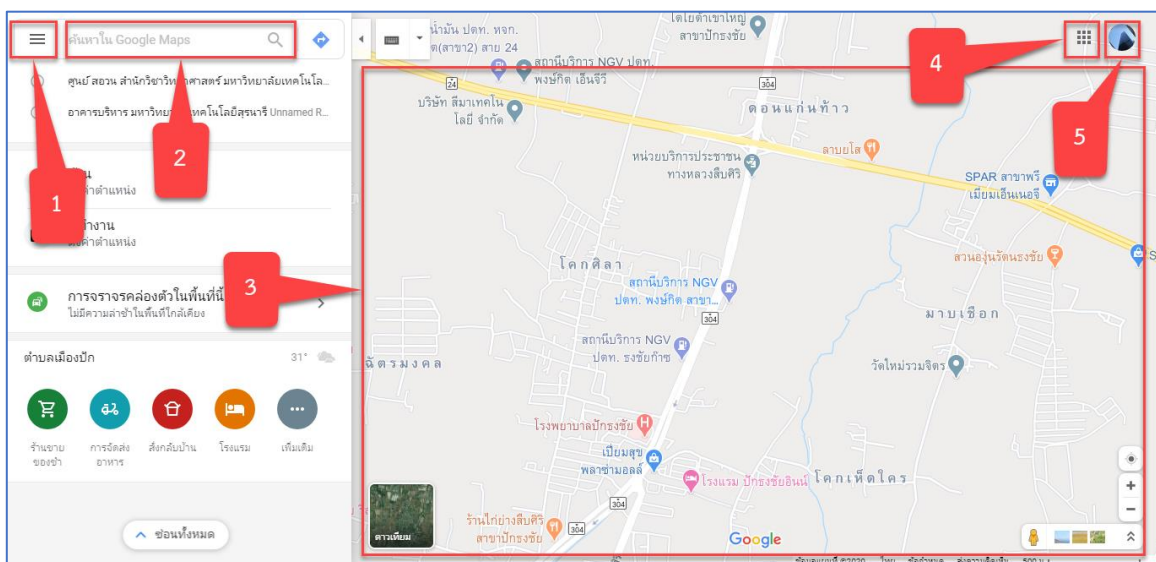


3. คลิก ที่ Icon App Google จากนั้นให้ คลิก ที่ Icon Google Maps



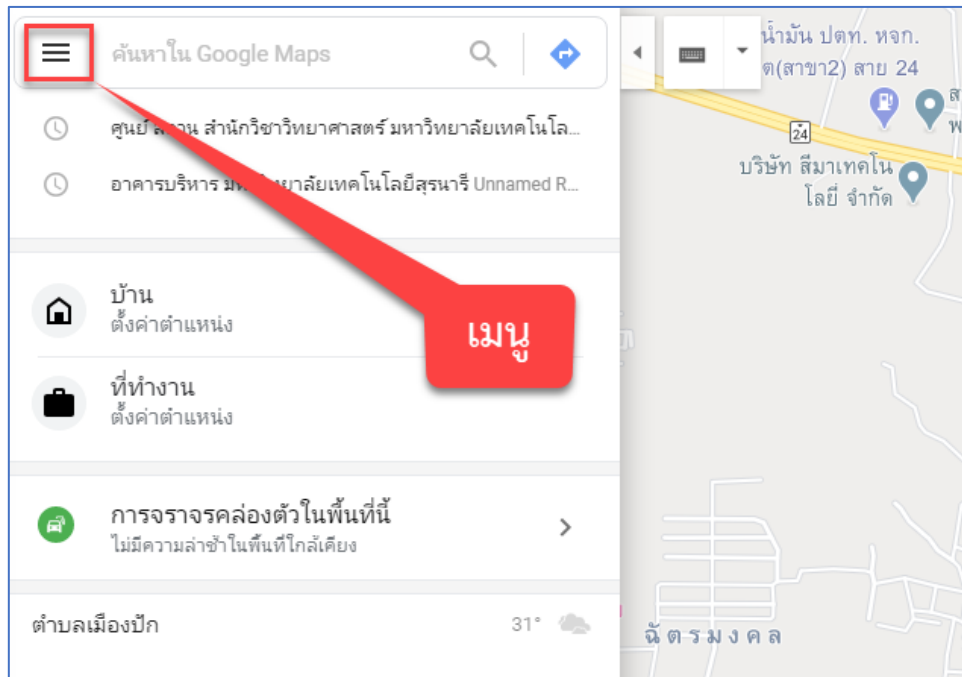
4. หน้าหลักของ Google Maps ประกอบด้วย

- 4.1. เมนูของ Google Maps
- 4.2. กล่องค้นหาของ Google Maps
- 4.3. แสดงแผนที่
- 4.4. Icon App Google
- 4.5. Google Account

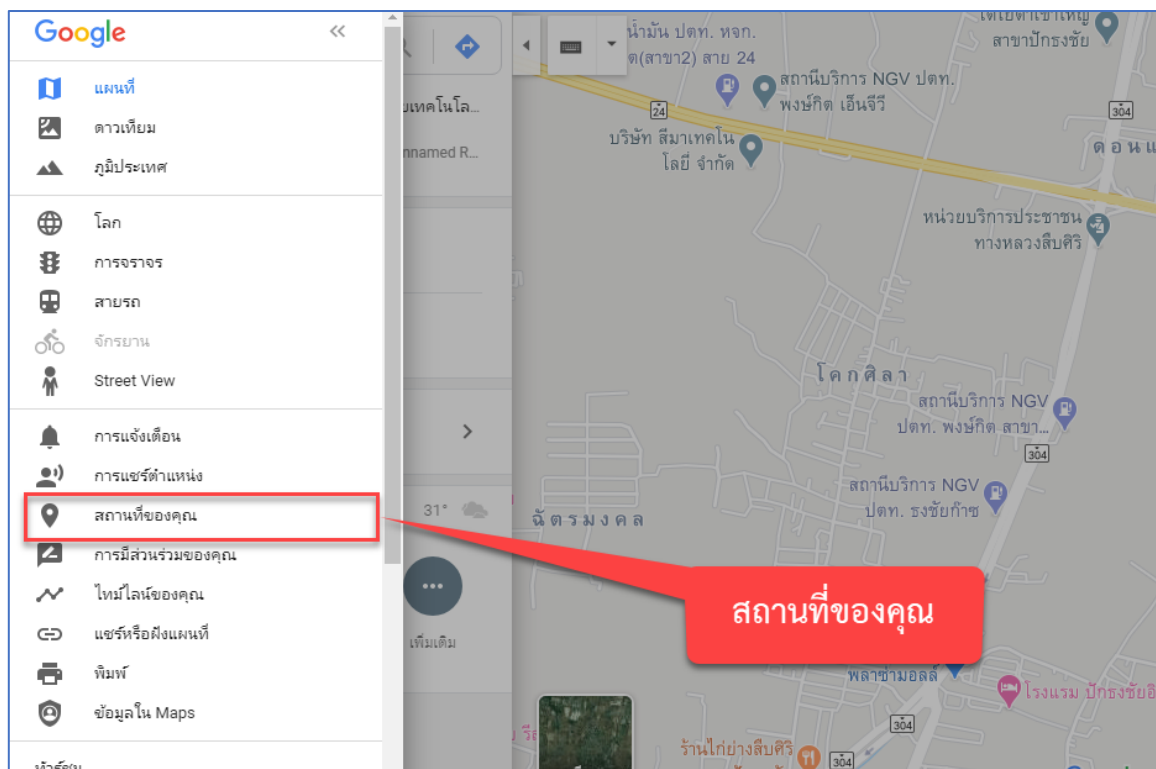


## 5. การสร้าง Google My Maps มีขั้นตอน ดังนี้

### 5.1. คลิก ที่ Icon เมนู

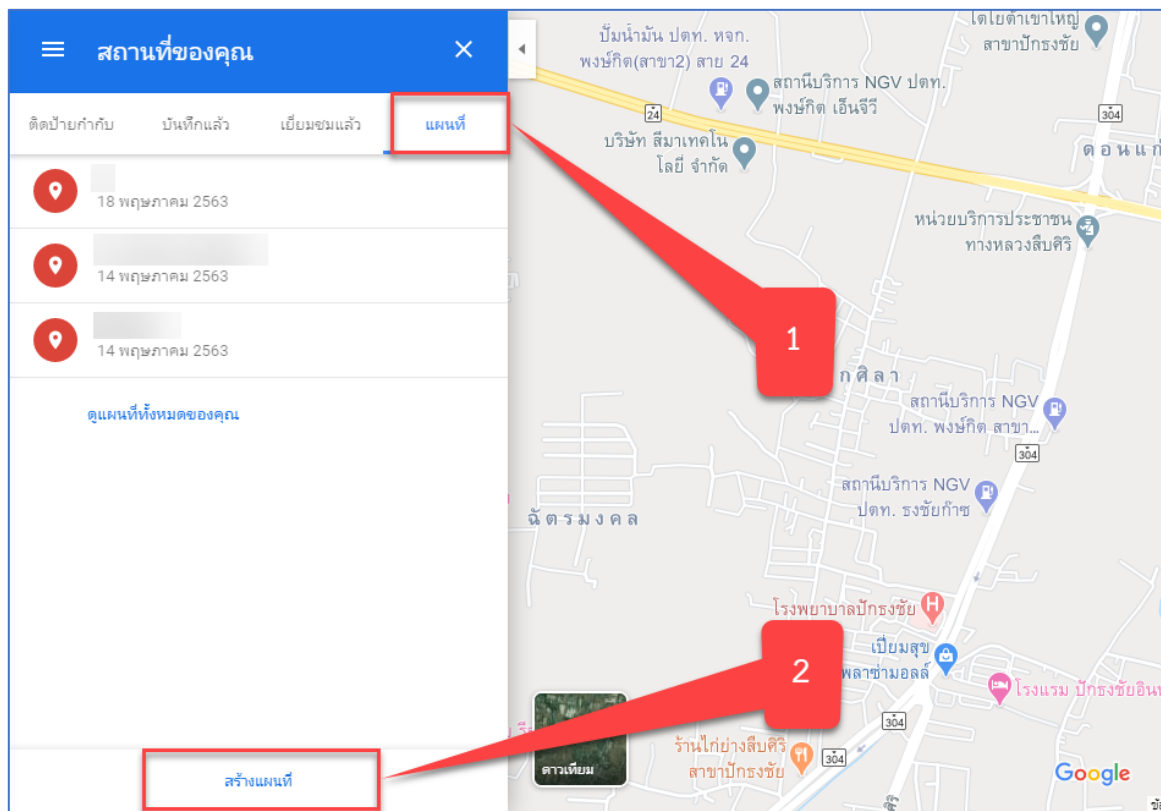


### 5.2. คลิก ที่เมนู “สถานที่ของคุณ”



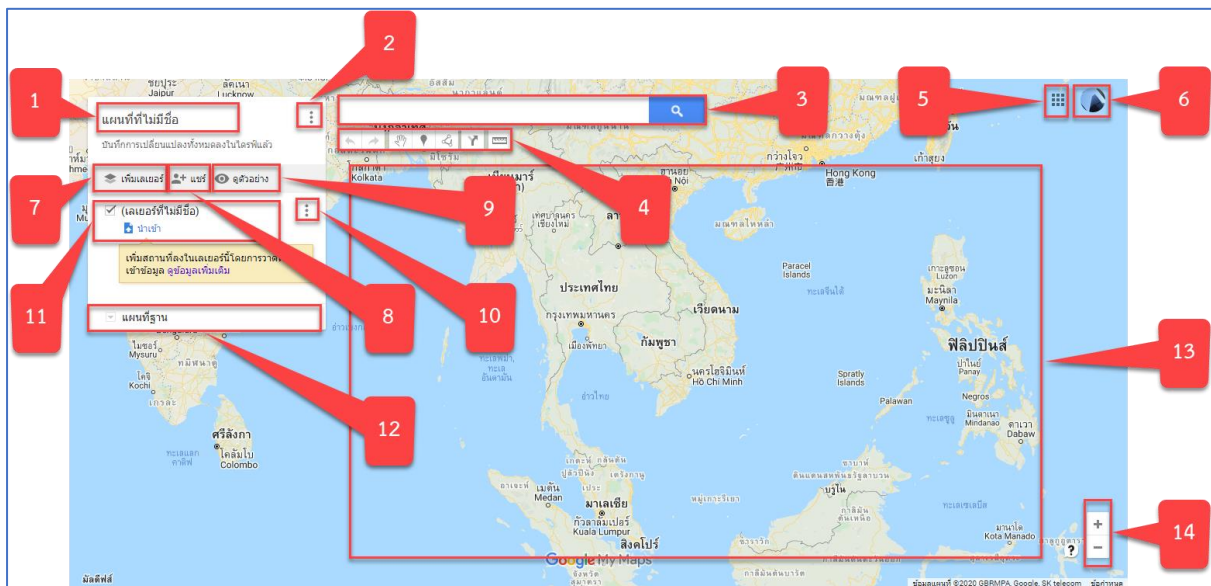
### 5.3. การสร้างแผนที่ใหม่

- (1) คลิก ที่กล่องข้อความ “แผนที่”
- (2) คลิก ที่กล่องข้อความ “สร้างแผนที่”



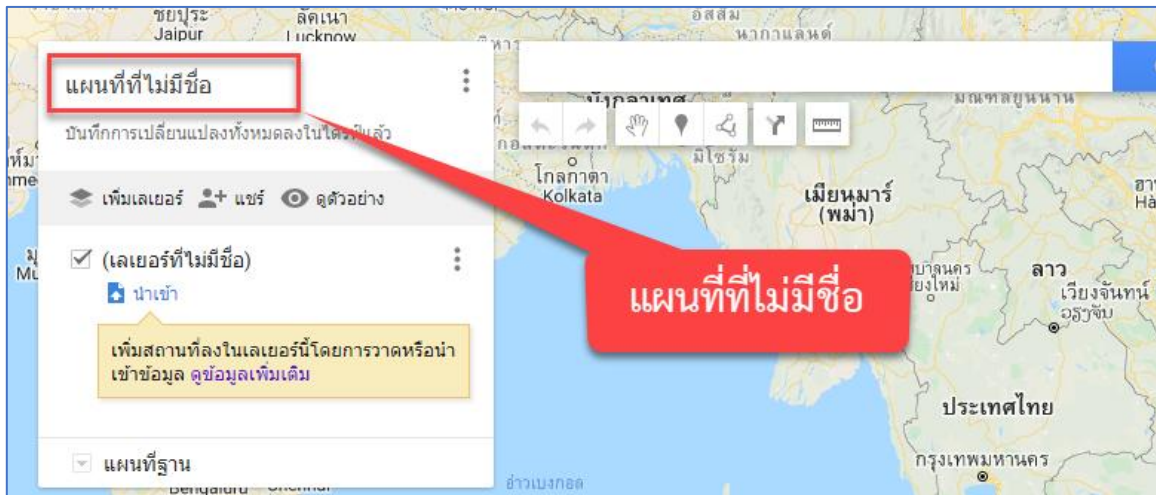
#### 5.4. หน้าหลังของ Google My Maps ประกอบด้วย

- (1) ชื่อแผนที่
- (2) เมนูสำหรับจัดการแผนที่
- (3) กล่องค้นหาของ Google My Maps
- (4) เครื่องมือ ของ Google My Maps
- (5) Icon App Google
- (6) Google Account
- (7) เพิ่มเลเยอร์
- (8) แชนร์
- (9) ดูตัวอย่าง
- (10) เมนูของ เลเยอร์
- (11) แสดงข้อมูล เลเยอร์
- (12) แผนที่ฐาน
- (13) แสดงแผนที่
- (14) เพิ่ม/ลด ขนาดแผนที่



## 5.5. การตั้งชื่อแผนที่

(1) คลิก ที่กล่องข้อความ “แผนที่ที่ไม่มีชื่อ”



(2) ใส่ชื่อแผนที่

แก้ไขชื่อและคำอธิบายของแผนที่

ชื่อแผนที่

คำอธิบาย

เพิ่มคำอธิบายเพื่อให้ผู้อื่นเข้าใจแผนที่ของคุณ

บันทึก ยกเลิก

(3) คำอธิบายแผนที่ (ใส่หรือไม่ใส่ก็ได้ ตามความเหมาะสม)

แก้ไขชื่อและคำอธิบายของแผนที่

ชื่อแผนที่

คำอธิบาย

บันทึก ยกเลิก

(4) คลิก ที่กล่องข้อความ “บันทึก”

แก้ไขชื่อและคำอธิบายของแผนที่

ชื่อแผนที่  
แผนที่ที่ไม่มีชื่อ

คำอธิบาย  
เพิ่มคำอธิบายเพื่อให้ผู้อื่นเข้าใจแผนที่ของคุณ

บันทึก ยกเลิก

## 5.6. การจัดการเลเยอร์

(1) คลิก ที่เมนู เพิ่มเลเยอร์ เพื่อแสดงข้อมูลบนแผนที่

แผนที่ที่ไม่มีชื่อ  
ดู 2 ครั้ง

บันทึกการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดลงในไดรฟ์แล้ว

เพิ่มเลเยอร์ + แชร์ ดูตัวอย่าง

(เลเยอร์ที่ไม่มีชื่อ)

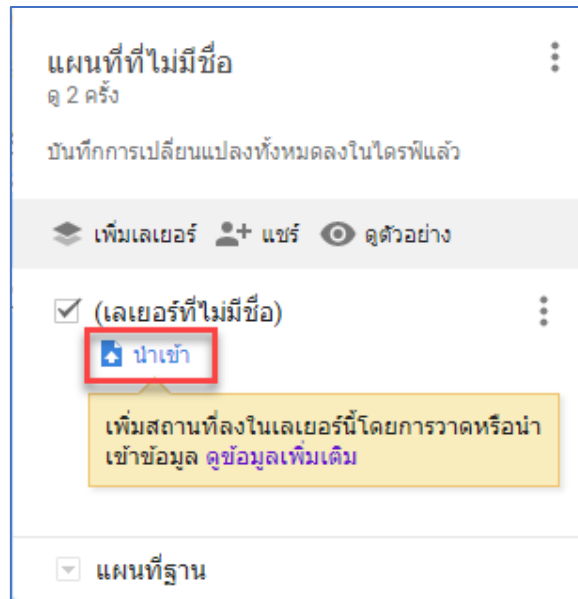
นำเข้า

เพิ่มสถานที่ลงในเลเยอร์นี้โดยการวาดหรือนำเข้าข้อมูล ดูข้อมูลเพิ่มเติม

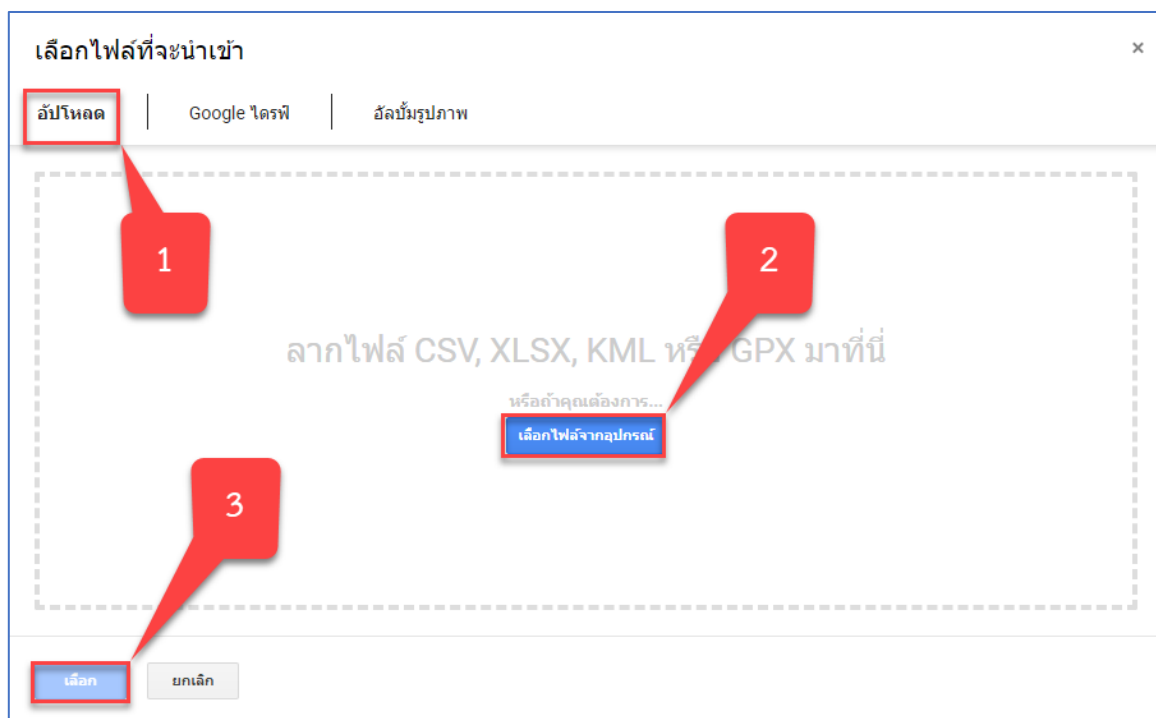
แผนที่ฐาน



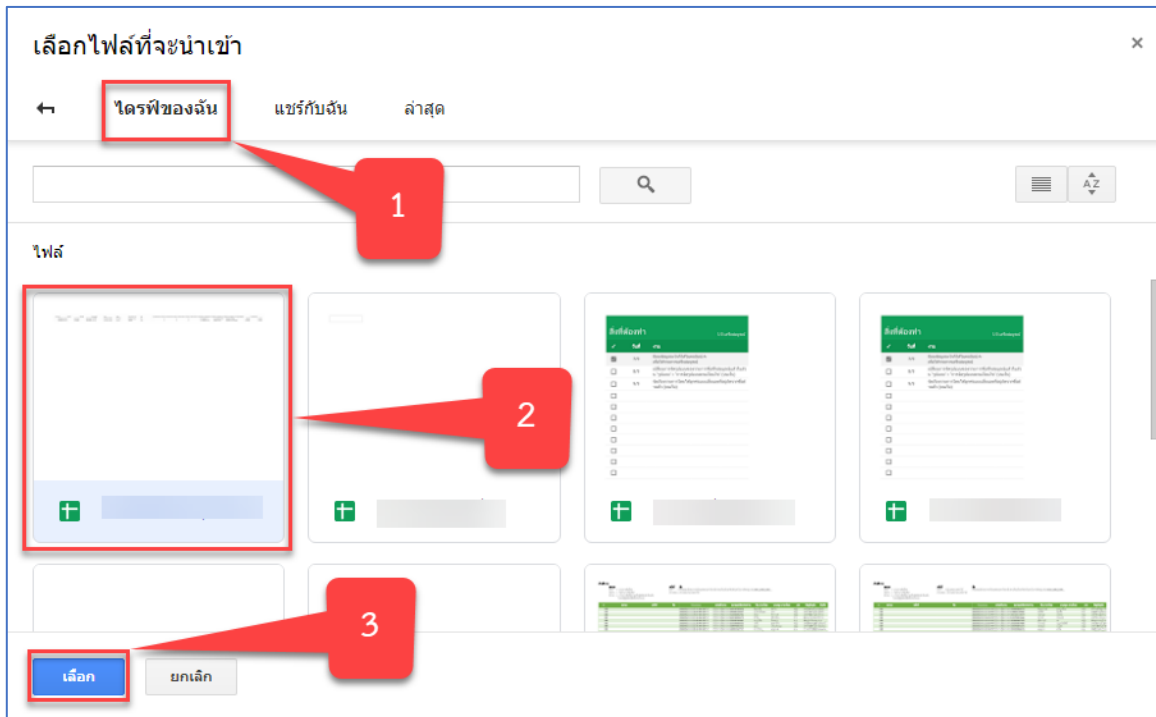
(2) คลิก ที่กล่องข้อความ “นำเข้า” เพื่อนำเข้าข้อมูลเลเยอร์



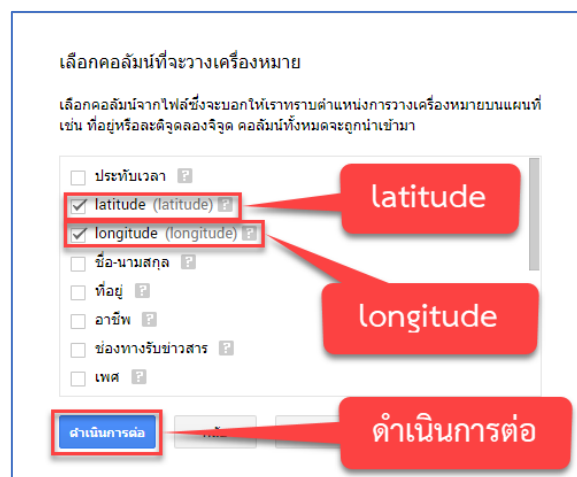
(3) การนำเข้าเลเยอร์จากคอมพิวเตอร์ โดย คลิก ที่เมนู “อัปโหลด” แล้ว คลิก เลือกที่กล่องข้อความ “เลือกไฟล์จากอุปกรณ์” เพื่อเลือกไฟล์งาน จากนั้น คลิก ที่กล่องข้อความ “เลือก”



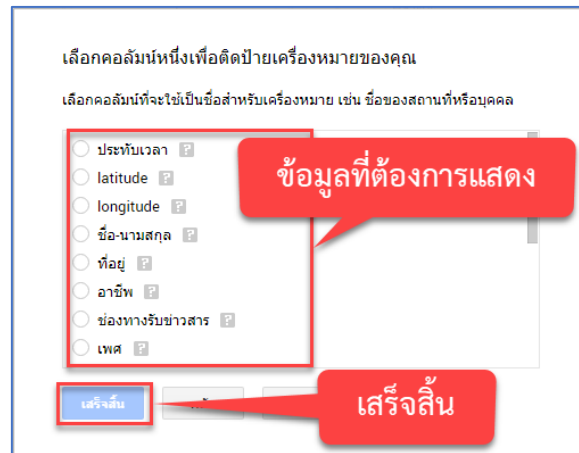
- (4) การนำเข้าเลเยอร์จาก Google Drive โดย คลิก ที่เมนู “Google Drive” แล้ว คลิก เลือกไฟล์งาน จากนั้น คลิก ที่กล่องข้อความ “เลือก”



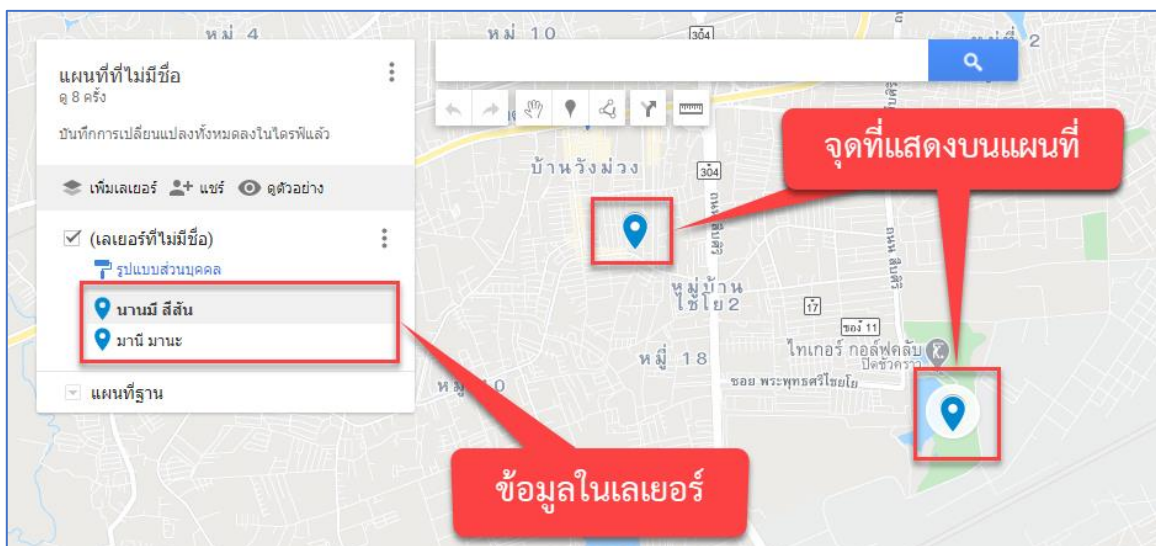
- (5) ไฟล์งานที่นำเข้าจะต้องมีค่าพิกัด x (longitude) และค่าพิกัด y (latitude) โดยระบบจะถามหา ค่าพิกัด ให้ทำการเลือกให้ตรงกับข้อมูลที่นำเข้า จากนั้น คลิก ที่กล่องข้อความ “ดำเนินการต่อ”



- (6) คลิก เลือก ข้อมูลที่ต้องการแสดง เช่น ชื่อของสถานที่หรือบุคคล จากนั้นให้ คลิก ที่กล่องข้อความ “เสร็จสิ้น”

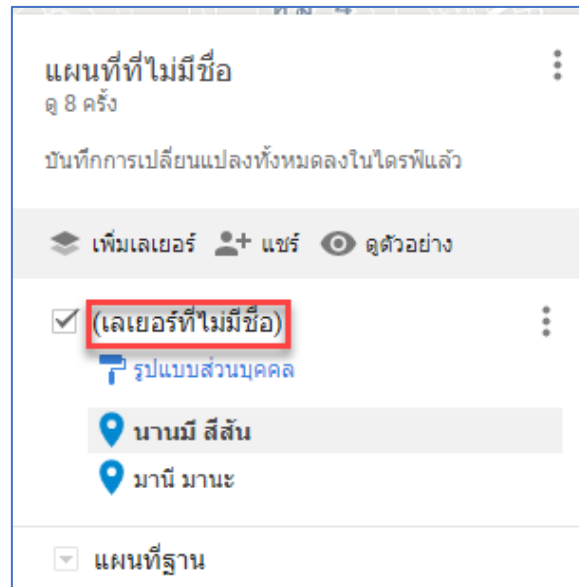


- (7) หลังจากนำเข้าเลเยอร์เรียบร้อยแล้ว จะมีข้อมูลแสดงในแถบเลเยอร์ และแสดงข้อมูลจุดบนแผนที่ที่ด้วยเช่นกัน

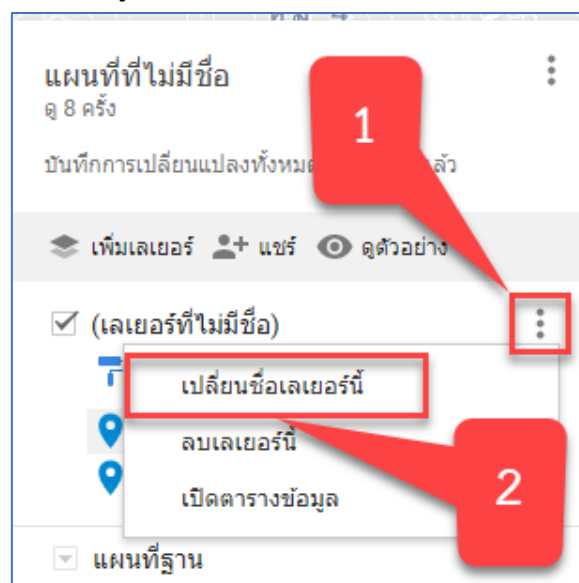


## 5.7. การเปลี่ยนชื่อเลเยอร์

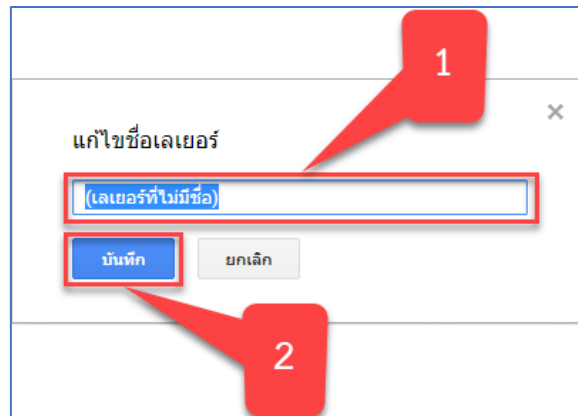
- (1) คลิก ที่ “เลเยอร์ที่ไม่มีชื่อ” เพื่อเปลี่ยนชื่อเลเยอร์



- (2) หรือ คลิก ที่ไอคอน เมนู เพื่อเลือก “เปลี่ยนชื่อเลเยอร์นี้”

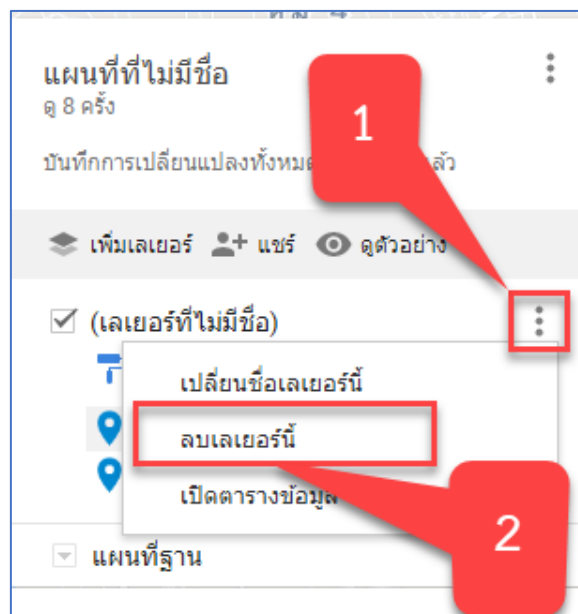


(3) จากนั้นให้ พิมพ์ ชื่อเลเยอร์ แล้ว คลิก ที่กล่องข้อความ “บันทึก”

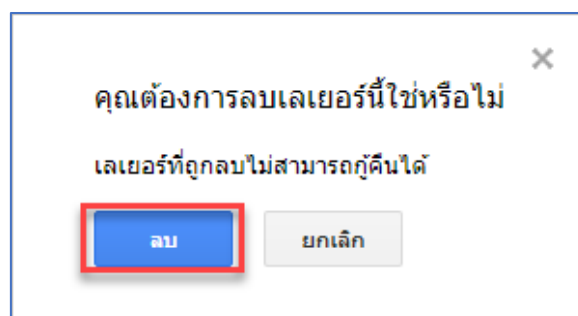


#### 5.8. การลบเลเยอร์

(1) คลิก ที่ไอคอน เมนู เพื่อเลือก “ลบเลเยอร์นี้”

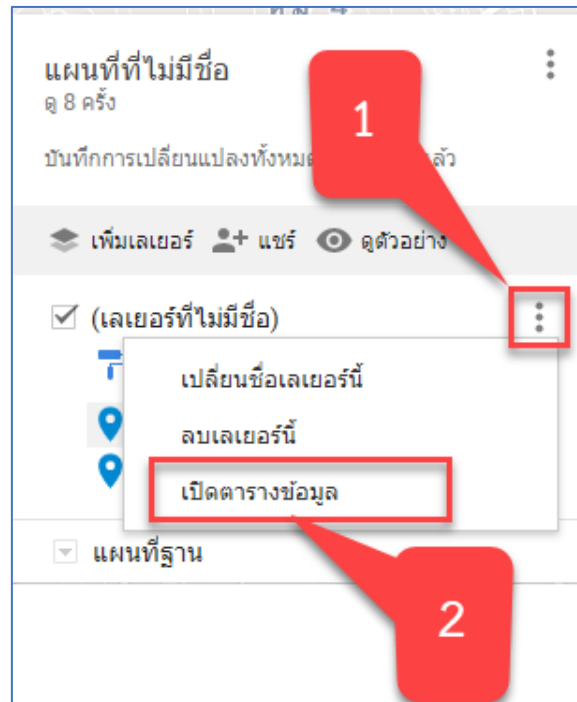


(2) คลิก ที่กล่องข้อความ “ลบ” เพื่อทำการลบเลเยอร์



## 5.9. การเปิดตารางข้อมูล

(1) คลิก ที่ไอคอน เมนู เพื่อเลือก “เปิดตารางข้อมูล”

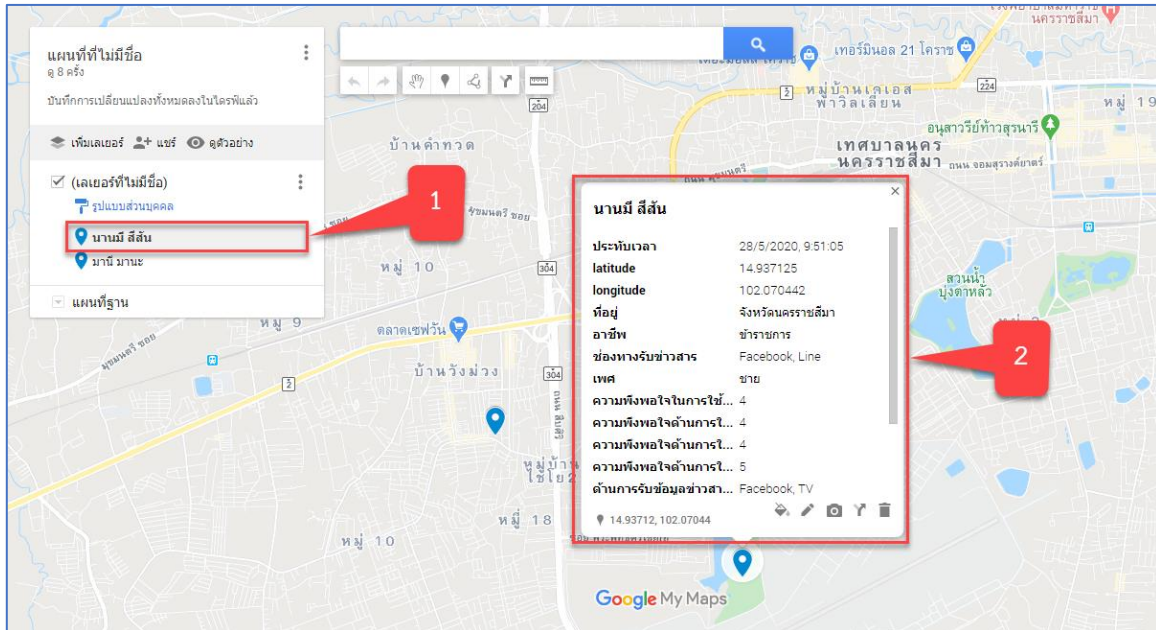


(2) แสดงตารางข้อมูล

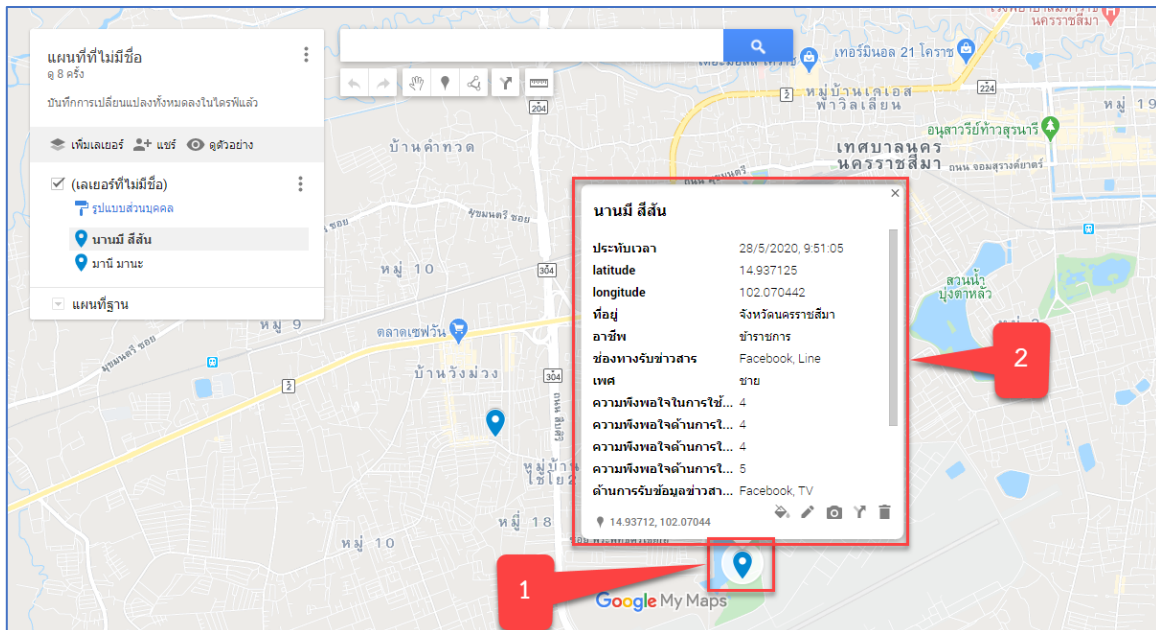
	ประหับเวลา	latitude	longitude	ชื่อ-นามสกุล	ที่อยู่	อาชีพ	ช่องทางรับข่าวสาร
1	28/5/2020, 9:51:05	14.937125	102.070442	นานมี สีสัน	จังหวัดนครราชสีมา	ข้าราชการ	Facebook, Line
2	28/5/2020, 9:52:16	14.949398	102.048298	มานี มานะ	จังหวัดนครราชสีมา	เกษตรกร	Website

## 5.10. การดูข้อมูลบรรยายของแต่ละจุด

(1) คลิก ที่ “ข้อมูล” ในเลเยอร์ จะมีกล่องข้อมูลบรรยายแสดงขึ้นมา



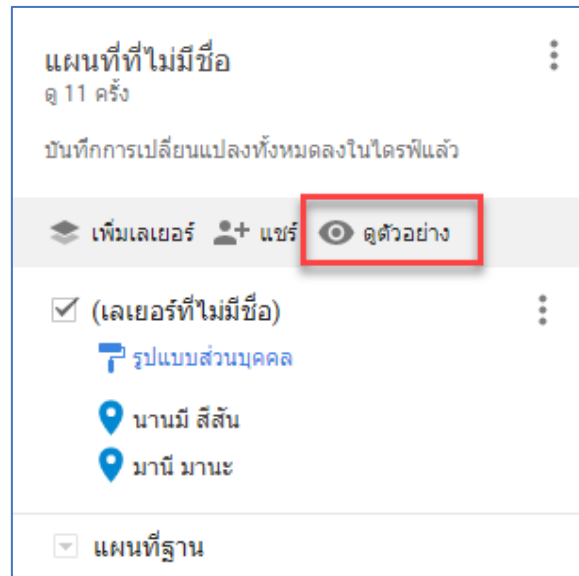
(2) หรือ คลิก ที่ไอคอน จุด บนแผนที่ จะมีกล่องข้อมูลบรรยายแสดงขึ้นมา



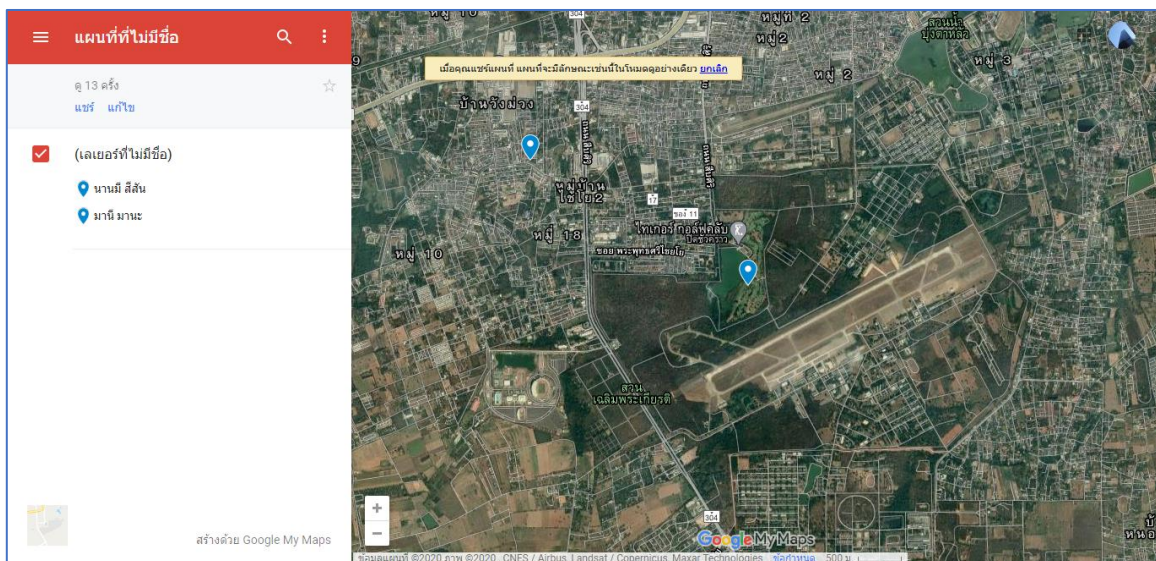


## 5.11. การดูตัวอย่าง

(1) คลิก เลือกเมนู “ดูตัวอย่าง”



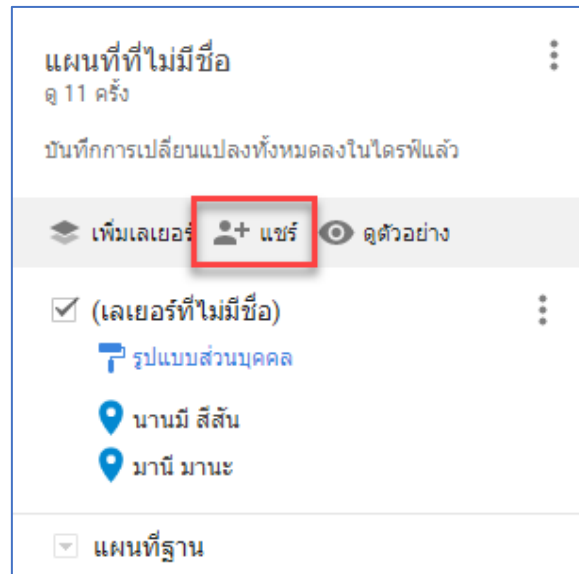
(2) ตัวอย่างการแสดงผลแผนที่





## 5.12. การแชร์แผนที่

- (1) คลิก เลือกเมนู “แชร์” เพื่อทำการแชร์แผนที่ให้ผู้อื่นเข้าร่วม

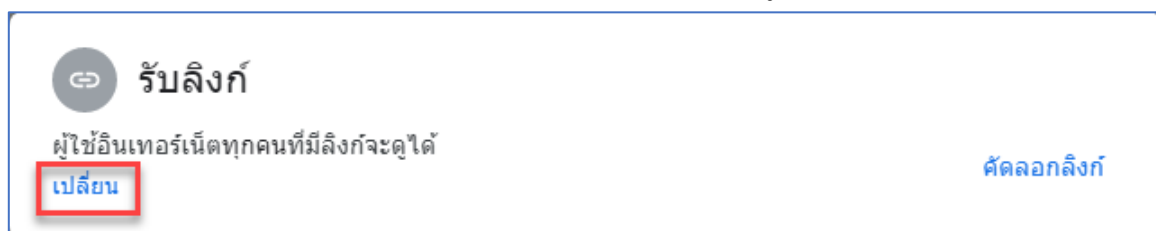


- (2) การแชร์แบบเชิญทาง Email โดยผู้เข้าร่วมนี้จะสามารถเข้ามาจัดการ เพิ่ม ลบ แก้ไข ข้อมูล ภายในแผนที่ได้ ซึ่งเจ้าของแผนที่ต้อง พิมพ์ Email ของผู้ที่จะให้มาเข้าร่วมงานในแผนที่นี้ จากนั้นให้ คลิก ที่กล่องข้อความ “เสร็จสิ้น”

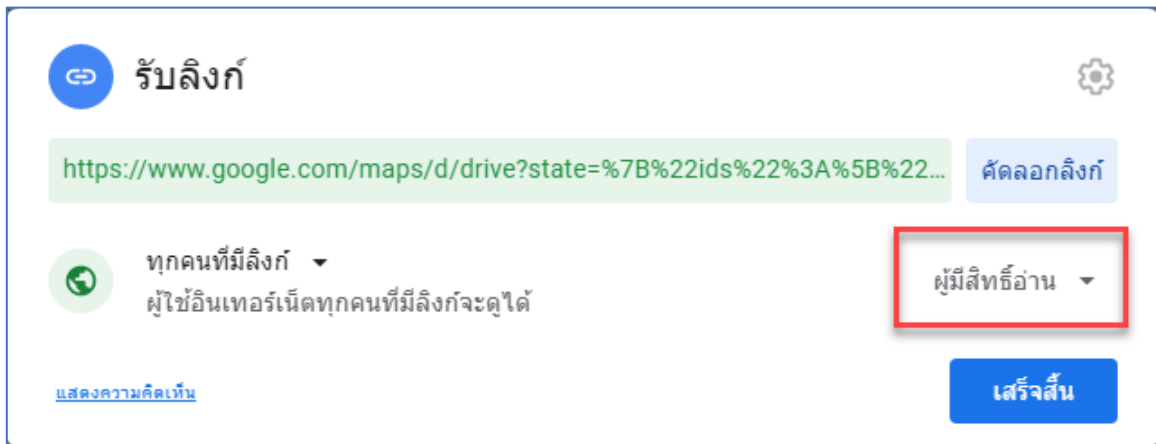


- (3) การแชร์แบบ Link เพื่อให้ผู้รับ Link นี้สามารถเข้ามาดูหรือจัดการแผนที่ได้

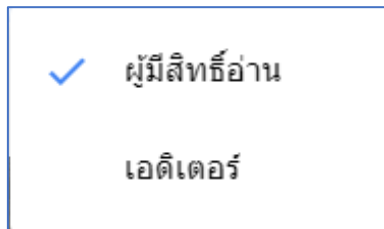
- คลิก ที่ข้อความ “เปลี่ยน” เพื่อตั้งค่าการเข้าถึงข้อมูล



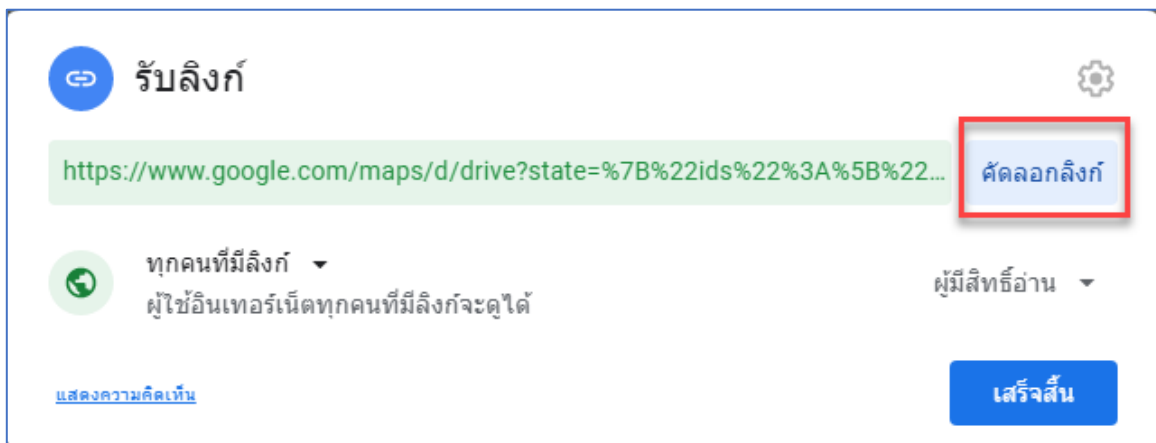
- คลิก เลือกลิขสิทธิ์ของผู้ใช้งาน



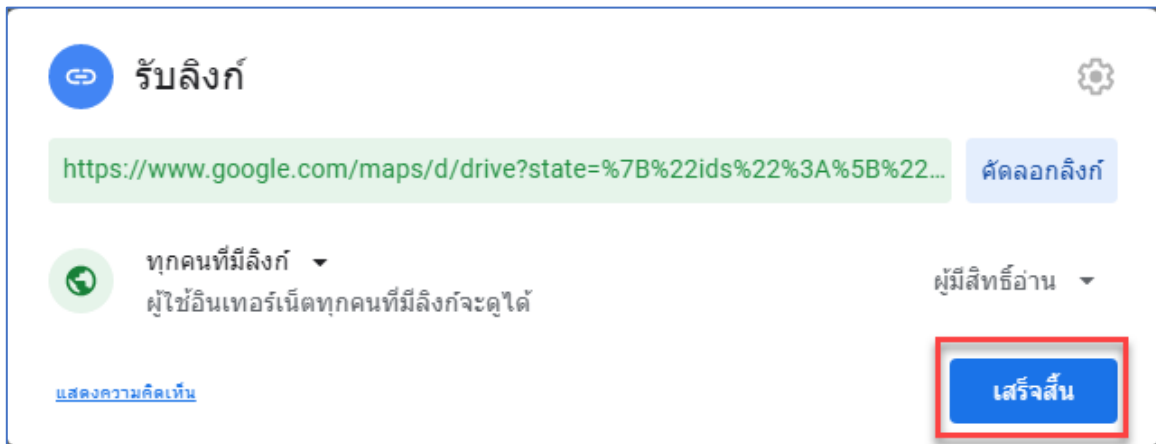
- คลิก เลือก “ผู้มีสิทธิ์อ่าน” เพื่อให้ผู้ใช้งานเข้ามาดูแผนที่เท่านั้น หรือ “เอดิเตอร์” เพื่อให้ผู้ใช้งานเข้ามาจัดการข้อมูลภายในแผนที่



- คลิก ที่กล่องข้อความ “คัดลอกลิงก์” เพื่อทำการคัดลอก Link และส่งต่อให้กับผู้ใช้งาน

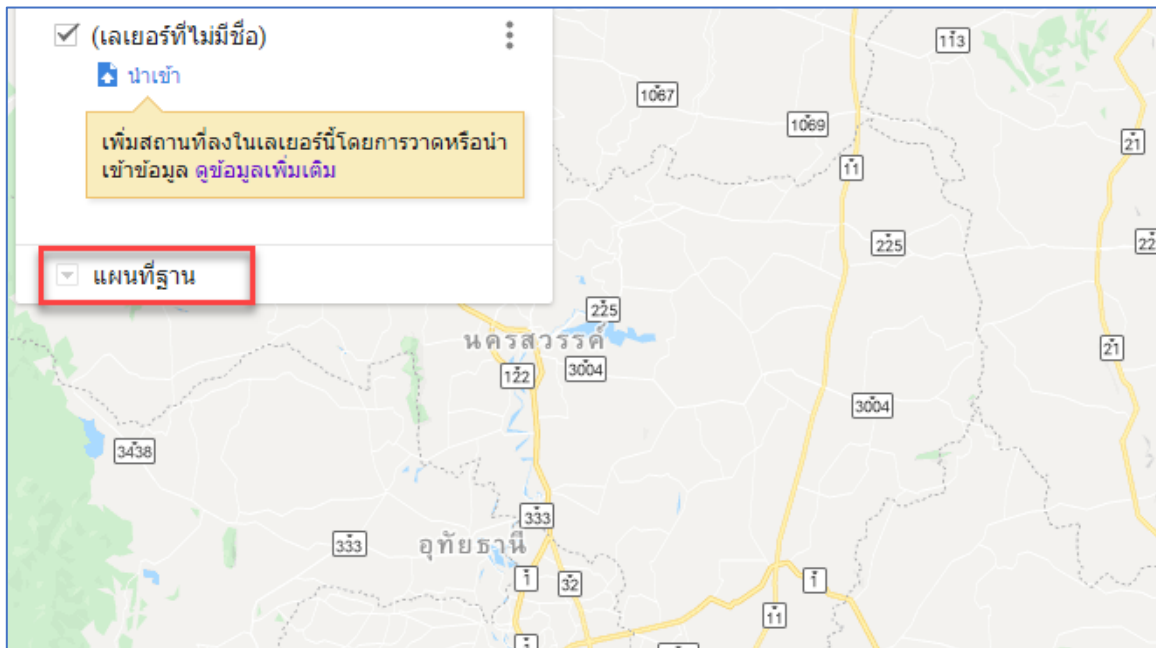


- คลิก ที่ล่องข้อความ “เสร็จสิ้น” เพื่อจบการทำงาน

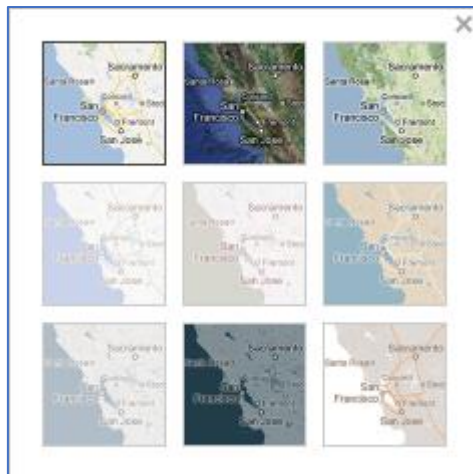


### 5.13. การใช้งานแผนที่ฐาน

- (1) คลิก แผนที่ฐาน



(2) คลิก เลือกแผนที่ฐานที่ต้องการใช้งาน



(3) ตัวอย่างการเลือกแผนที่ฐานที่แบบ “ดาวเทียม”

