

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์การทดลอง

1. สัตว์ทดลอง

1.1 ไก่บ้าน Gallus gallus domesticus

1.2 ลูกไก่ปลอดพยาธิอายุ 7 วัน

1.3 พยาธิตัวตืด Hymenolepis sp. จากไก่บ้าน

1.4 มด family Formicidae ปลอดพยาธิตัวตืด (ภาพที่ 3)

1.5 ตัวงมุลสัตว์ family Histeridae ปลอดพยาธิตัวตืด (ภาพที่ 4)

1.6 แมลงแกลบ Blatella germanica ปลอดพยาธิตัวตืด (ภาพที่ 5)

2. อาหารเลี้ยงสัตว์ทดลอง

2.1 อาหารไก่

2.2 ดินผ่านการอบฆ่าเชื้อ

2.3 อุจจาระไก่บ้านที่มีไข่พยาธิตัวตืด Hymenolepis sp.

2.4 น้ำ

2.5 แปะ

2.6 เชื้อยีสต์

3. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการประกอบการศึกษา

3.1 กล้องจุลทรรศน์

3.1.1 กล้องจุลทรรศน์ 2 ตา แบบ B.H.A. พร้อมอุปกรณ์วาดภาพ
และอุปกรณ์ถ่ายภาพจากกล้อง

3.1.2 กล้องจุลทรรศน์ 2 ตา ธรรมดา (compound
microscope) พร้อม ocular และ stage micrometer

3.1.3 กล้องผ่าตัด (dissecting microscope)

3.2 Triple beam balance

3.3 อุปกรณ์ผ่าตัดได้แก่ กรรไกร, มีดผ่าตัด, ปากคีบ, เข็มเย็บ

3.4 เครื่องอบนึ่งฆ่าเชื้อ

3.5 อุปกรณ์เลี้ยงไก่ ได้แก่กรงเลี้ยงไก่สแตนเลส ขนาด 55 x 50 ตารางเซนติเมตร พร้อมทั้งให้น้ำและวางอาหาร

3.6 อุปกรณ์ทำสไลด์ถาวร (Permanent slide) ได้แก่ กระดาษสไลด์ (slide glass), กระจกปิด (cover slip), coupling jar, ขวดใส่ แอลกอฮอล์เปอร์เซนต์ต่าง ๆ

3.7 อุปกรณ์อัดขยายภาพ, กระดาษอัดภาพ, กล้องล้างฟิล์ม, ฟิล์ม

3.8 อุปกรณ์อื่น ๆ เช่น แกลบ, สำลี, label paper, ดินสอ, สมุดบันทึก ยางรัด, ถังพลาสติก, ถังมือผ่าตัด, กระดาษหิซซู, dropper, ภูกัน, สีเมจิก, หลอดเข็มฉีดยา, ไม้บรรทัด

4. สารเคมี

4.1 น้ำกลั่น

4.2 Ringer's solution (ภาคผนวก ก)

4.3 Bouin's fixation (ภาคผนวก ก)

4.4 สารเคมีที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ethyl alcohol 95 %, n-butyl alcohol, xylene, glycerol, gelly และ permount

4.5 สีย้อมได้แก่ Delafield Alum haematoxyline, Borax camine (ภาคผนวก ก)

4.6 น้ำยาล้างฟิล์มและอัดภาพ (สูตร Kodak) (ภาคผนวก ก)

วิธีการวิจัย

ระหว่างเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2530 ถึงเดือน กันยายน พ.ศ. 2531

เริ่มลุ่มออกสำรวจบริเวณ อ. หางดง จ. เชียงใหม่ ซึ่งเป็นแหล่งที่พยาธิตัวติด Hymenolepis sp. ระบาดในไก่บ้านของจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งบริเวณดังกล่าวพบมด family Formicidae (ภาพที่ 3), ตัวมดลูก family Histeridae (ภาพที่ 4) และแมลงแกลบ Blatella germanica (ภาพที่ 5) เป็นจำนวนมาก จึงคาดว่าแมลงทั้ง 3 ชนิดดังกล่าวข้างต้นน่าจะเป็น intermediate host ของพยาธิตัวติด Hymenolepis sp. ที่ระบาดมากในไก่บ้านของจังหวัดเชียงใหม่ จึงได้แยกการทดลองออกเป็น 3 แบบ

การทดลองแบบที่ 1

ทำการเก็บมด, ตัวมดลูก และแมลงแกลบ ที่พบบริเวณแหล่งที่มีการเลี้ยงไก่ ที่มี Hymenolepis sp. ระบาด ทั้งหมด ทำการผ่าเปิด haemocoel ตรวจหาตัวอ่อนของพยาธิระยะ cysticeroid ที่ถูก infection โดยวิธีธรรมชาติ (natural infection)

การทดลองแบบที่ 2

2.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

2.1.1 มด family Formicidae ปลอดพยาธิลุ่มจับจากบ้านเชิงดอย

สุเทพ อ. เมือง จ. เชียงใหม่

2.1.2 ตัวมดลูก family Histeridae ปลอดพยาธิ ลุ่มเก็บจากมูล

วัว-ควาย กลางทุ่งนา บ้านดำนก อ. เมือง จ. เชียงใหม่

2.1.3 แมลงแกลบ Blatella germanica ปลอดพยาธิโดยลุ่มจับจาก

บ้านแม่เหิยะใน อ. เมือง จ. เชียงใหม่ นำมาเลี้ยงในกล่อง

พลาสติก ขนาด 10x7 ตารางเซนติเมตร ซึ่งเจาะรูขนาดเส้นผ่า

ศูนย์กลาง 0.4 ซม. ที่ฝา โดยให้แกลบ, อาหารไก่และสาลีชุบน้ำ

เป็นอาหาร จนกระทั่งได้ลูกในรุ่นต่อไป ซึ่งถือว่าเป็นแมลงแกลบที่

ปลอดพยาธิ เพื่อนำมาใช้ในการทดลอง

- 2.1.4 ไก่บ้านที่มีพยาธิตัวตืด Hymenolepis sp. ชื่อจาก อ.ทางตง จ. เชียงใหม่ นำมาเลี้ยงที่โรงเลี้ยงไก่ ภาควิชาชีววิทยาโดยให้อาหาร ทุกวันเวลา 8.00-9.00 น.
- 2.1.5 ลูกไก่ปลอดพยาธิ ชื่อจากห้างหุ้นส่วนจำกัด เอเซียปศุสัตว์ หน้าสนามกีฬาเทศบาลนครเชียงใหม่ อ.เมือง จ. เชียงใหม่

2.2 การทดลอง

- 2.2.1 ทำการตรวจหาผลและตัวงมูลสัตว์ที่ปลอดพยาธิตัวตืด โดยตรวจหาพยาธิ ที่ haemocoel ชนิดละ 50 ตัว เพื่อให้แน่ใจว่า กลุ่มที่ลุ่มมานั้นไม่มีตัวอ่อนของพยาธิตัวตืดที่ติดค้างมากับตัวแมลง ถ้าตรวจไม่พบเลยถือว่าแมลงกลุ่มนั้นปลอดพยาธิ
- 2.2.2 ทำการอดอาหารมด, ตัวงมูลสัตว์ และแมลงจากข้อ 2.1.1, 2.1.2 และ 2.1.3
- 2.2.3 นำไก่จากข้อ 2.1.4 มาเปิดหน้าท้องเอาทางเดินอาหารและตรวจหาพยาธิตัวตืด Hymenolepis sp. ที่มี gravid proglottid
- 2.2.4 นำพยาธิตัวตืด Hymenolepis sp. บางส่วนทำ permanent slide ถ่ายรูป วาดรูป ศึกษาและเขียนรายละเอียดเกี่ยวกับสัณฐานวิทยาทั้งหมด
- 2.2.5 นำ gravid proglottid จากข้อ 2.2.3 ใส่ในกล่องพลาสติกที่มีแมลงจากข้อ 2.2.2
- 2.2.6 ตรวจหาตัวอ่อนระยะ oncosphere ในแมลงทั้ง 3 ชนิด
- 2.2.7 ตรวจหาตัวอ่อนระยะ cysticeroid ในแมลง พร้อมบันทึกการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาทั่วไปในระยะ cysticeroid ทำ permanent slide, ถ่ายรูปและวาดรูปส่วนต่าง ๆ โดยละเอียด

2.2.8 ป้อนแบบบังคับ (force fed) ตัวอ่อนระยะ cysticeroid

เข้าไปในลูกไก่จากข้อ 2.1.5

2.2.9 ตรวจหาการเปลี่ยนแปลงของลักษณะวิทยาทั่วไปในระยะเข้าสู่ตัว

เต็มวัย ทำ permanent slide, ถ่ายรูป และวาดรูปส่วนต่าง ๆ

โดยละเอียด

การทดลองแบบที่ 3

3.1 เก็บอุจจาระไก่จากข้อ 2.1.4 มาทำส่วนผสมอาหารลูกไก่ปลอดเชื้อ

จากข้อ 2.1.5 โดยเลียนแบบจากสภาพธรรมชาติที่ไข่สามารถมีชีวิต

อยู่ได้ โดยใช้สูตรอัตราส่วนอาหารดังนี้.

อาหารไก่ : อุจจาระไก่ที่มีโซฟยาธิ : ดินปลอดเชื้อ : น้ำ

3 : 1 : 1 : 6

แล้วนำไปให้ลูกไก่จากข้อ 2.1.5 ซึ่งผ่านการอดอาหาร 24 ช.ม. โดย

ให้กิน 2 เวลา ช่วงเช้า 8.00 น. และ 16.00 น. ซึ่งถือว่าเป็น

วันที่ 1 ของการทดลอง

3.2 ทำการตรวจการเจริญของตัวอ่อนของพยาธิ โดยการผ่าเปิดลำไส้ลูกไก่

ในวันที่ 2 ของการทดลองเรื่อยไปจนกระทั่งพบตัวพยาธิ พร้อมบันทึก

การเปลี่ยนแปลงการเจริญของพยาธิทุกระยะ โดยทำสไลด์ถาวร, ถ่าย

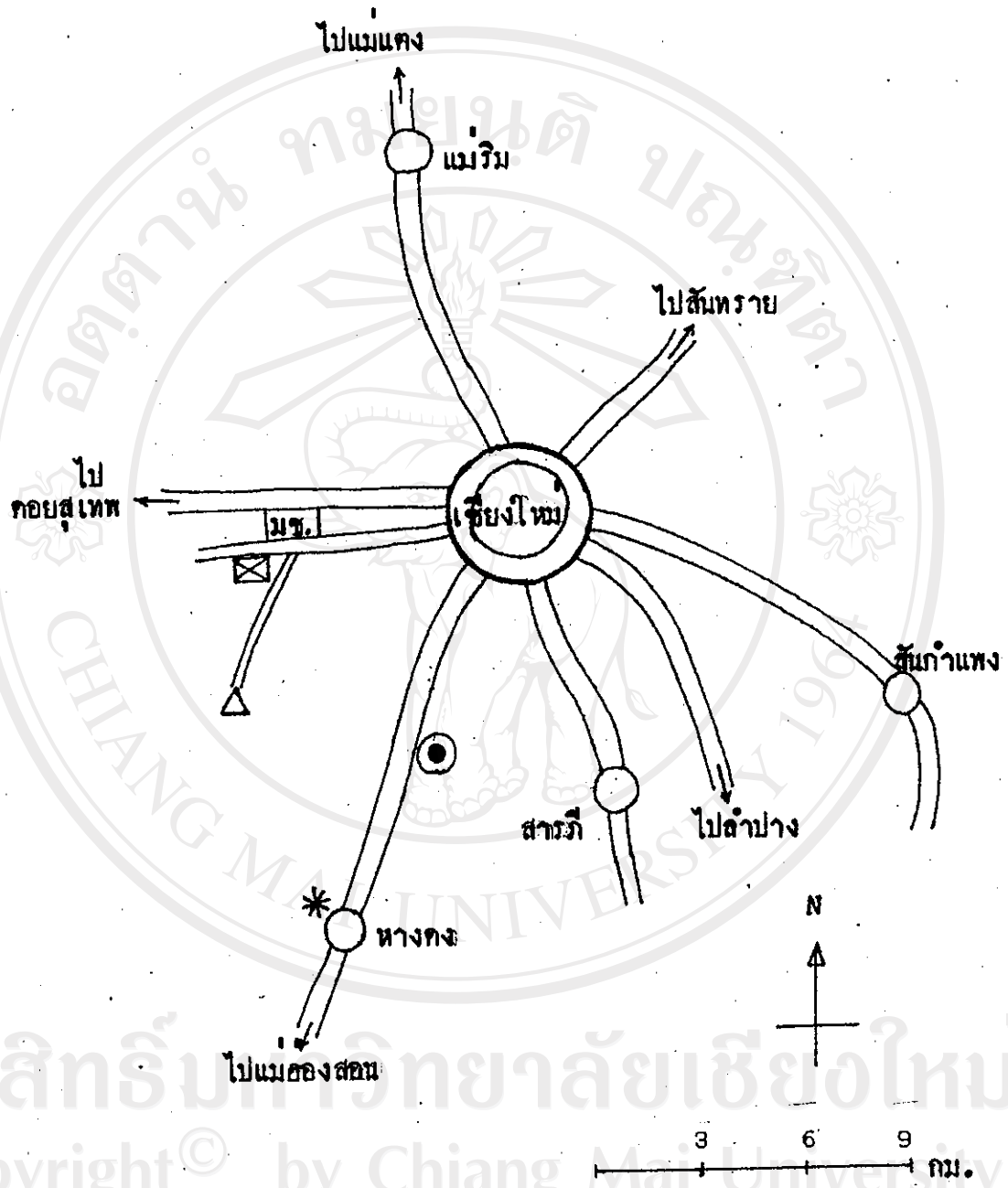
รูป วาดรูปได้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ drawing tube

อนึ่งในการวัดขนาดของตัวอ่อนระยะต่าง ๆ ใช้จำนวน 1-6 ตัว ขึ้นอยู่กับว่าพบ

ตัวอ่อนของพยาธิมากน้อยแค่ไหน

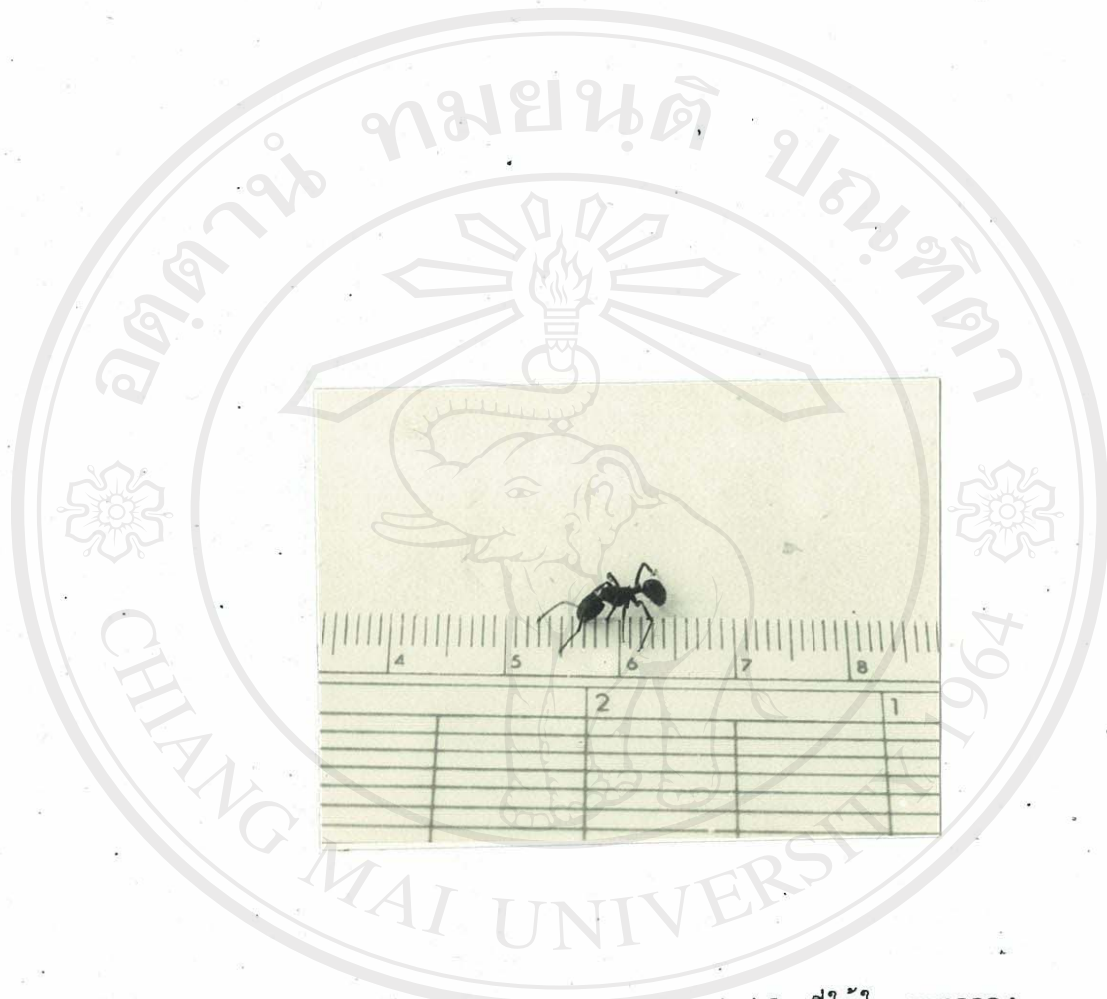
สถานที่ทำการวิจัย

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



ภาพที่ 2 แผนที่แสดงเส้นทางและแหล่งจับสัตว์ทดลอง

- ◎ - จังหวัด
- - อำเภอ
- // - ถนน
- ⊠ - แหล่งเก็บตัวอย่างมก
- ◎ - แหล่งเก็บตัวอย่างกว้างมูลสัตว์
- △ - แหล่งเก็บตัวอย่างแมลงกลบ
- * - แหล่งเก็บตัวอย่างไถ่ถอน



ภาพที่ 3 ภาพถ่ายแสดงมด family Formicidaeที่ใช้ในการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved



ภาพที่ 4 ภาพถ่ายแสดงด้วงมูลสัตว์ family Histeridae. ที่ใช้
ในการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

ภาพที่ 5 ภาพถ่ายแสดงแมลงแกลบ Blatella germanica
ที่ใช้ในการทดลอง