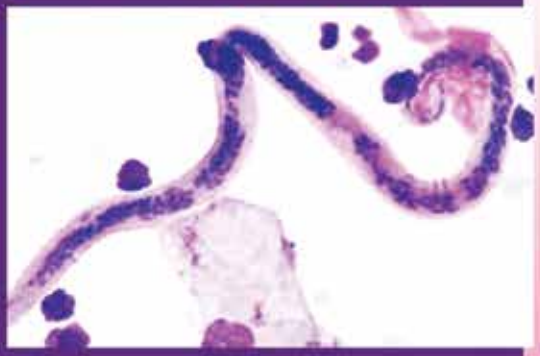
3 ทศวรรษ
(พ.ศ. 2528-2558)

การควบคุมโรคเท้าช้าง ในจังหวัดนราธิวาส ตามโครงการพระราชดำริฯ

3 Decades (1985-2015) of Filariasis control in Narathiwat Province: The Phikul Thong Royal Development Project



สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อ
และการสาธารณสุข
ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง
อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส

3 ทศวรรษ (พ.ศ. 2528-2558) การควบคุมโรคเท้าช้าง ในจังหวัดนราธิวาส ตามโครงการพระราชดำริฯ

3 Decades (1985-2015) of Filariasis control in Narathiwat Province: The Phikul Thong Royal Development Project

หน่วยงาน สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข
ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส

ที่ปรึกษา ดร.นพ.สุวิช ธรรมปาโล
ผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 จังหวัดสงขลา
นายศิริชัย พรรณธนะ
ข้าราชการบำนาญ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
นางสาวสาลินี เซ็นเสถียร
ข้าราชการบำนาญ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

บรรณาธิการ ดร.พัชนี นัครา
นักวิชาการสาธารณสุขชำนาญการ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 จังหวัดสงขลา
นางสาวสุมาศ ลอยเมฆ
นักวิชาการสาธารณสุขปฏิบัติการ สำนักงานโครงการงานโรคติดต่อฯ ศูนย์ฯ พิกุลทอง
นางสาวชนมน เศษพงค์
นักวิชาการสาธารณสุข สำนักงานโครงการงานโรคติดต่อฯ ศูนย์ฯ พิกุลทอง

พิมพ์ครั้งที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2559

จำนวน 130 เล่ม

ปก นางสาวธรณ์นันท์ คีรีพิทักษ์

ISBN 978-616-11-2823-4

พิมพ์ที่ บริษัท นีโอพ้อยท์ (1995) จำกัด
1/59 ถนนราษฎร์อุทิศ ตำบลหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
โทร. 074-425561-2 อีเมล์: neo_point9@yahoo.com

“...ถ้าคนเรามีสุขภาพเสื่อมโทรม ก็จะไม่สามารถพัฒนาชาติได้
เพราะทรัพยากรที่สำคัญของประเทศชาติ ก็คือพลเมืองนั่นเอง...”

พระราชดำรัสของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว

“...ในครั้งที่สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
เสด็จทรงงานในจังหวัดนราธิวาส และประทับ ณ ศูนย์ฯ พิกุลทอง
ได้ทรงติดตามความก้าวหน้าในการดำเนินงานควบคุมโรคเท้าช้างอยู่เป็นเนืองๆ...”

พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าจักรพันธ์เพ็ญศรี

องค์ประธานคณะกรรมการบริหาร ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง

อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส

กิตติกรรมประกาศ

หนังสือ “3 ทศวรรษ (พ.ศ. 2528-2558) การควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส ตามโครงการพระราชดำริฯ” เล่มนี้สามารถจัดทำได้สำเร็จด้วยความช่วยเหลือของผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับงานควบคุมโรคเท้าช้างหลายท่าน

ขอขอบคุณ ผู้บริหารระดับสูงของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ทุกท่านที่ได้สนับสนุน อำนวยการการดำเนินงานควบคุมโรคเท้าช้างตลอดมา

ขอขอบคุณนักวิชาการ กองโรคเท้าช้าง (สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง ในปัจจุบัน) กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข อาจารย์จาก ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล และ ภาควิชากีฏวิทยาการแพทย์ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ดำเนินการศึกษาค้นคว้าวิจัยเรื่องโรคเท้าช้างในประเทศไทยและในพื้นที่จังหวัดนราธิวาส จนได้งานวิจัยที่เป็นประโยชน์ สามารถนำมาใช้ในการวางแผนและเป็นแนวทางการควบคุมโรคเท้าช้าง ให้ลดลงจนไม่เป็นปัญหาสาธารณสุข

ขอขอบคุณ คุณศิริชัย พรรณธนะ ข้าราชการบำนาญ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้เอื้อเฟื้อภาพประกอบและขอขอบคุณ คุณสาลินี เซ็นเสถียร ข้าราชการบำนาญ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้คำแนะนำ ปรึกษา ในการตรวจสอบความถูกต้องของสถานการณ์โรคเท้าช้าง

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 สงขลา ที่ให้งบประมาณในการพิมพ์ รวมทั้งฝ่ายบริหารทั่วไปที่ได้ดำเนินการจัดพิมพ์หนังสือเล่มนี้

คณะผู้จัดทำ

กันยายน 2558

คำนิยม

งานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ เป็นหน่วยงานหนึ่งที่ร่วมดำเนินงานภายใต้โครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองฯ มีภารกิจด้านสาธารณสุขที่เป็นปัญหาในพื้นที่ โดยเฉพาะโรคประจำถิ่นในจังหวัดนราธิวาส อาทิ โรคเท้าช้าง โรคเรื้อน โรคหนอนพยาธิ และโรคอื่นๆ ในขณะเดียวกันได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโรคติดต่ออย่างต่อเนื่อง พร้อมทั้งการให้บริการด้านสาธารณสุขตลอดจนการเผยแพร่ประชาสัมพันธ์ให้ความรู้ความเข้าใจถึงวิธีการควบคุมและป้องกัน เป็นการช่วยลดระดับความรุนแรงของการเกิดโรคในพื้นที่ได้

ช่วงเวลากว่า 3 ทศวรรษที่ผ่านมา งานควบคุมโรคติดต่อฯ มีผลงานเด่นเป็นที่ประจักษ์ชัด ทั้งด้านการศึกษาวิจัยที่สำคัญโดยเฉพาะโรคเท้าช้าง มีการประชาสัมพันธ์โดยมีเจ้าหน้าที่ในหน่วยงานลงพื้นที่เผยแพร่ให้ความรู้ ทำความเข้าใจถึงวิธีการควบคุมและป้องกัน เพื่อลดระดับความรุนแรงของการเกิดโรค จากข้อมูลของงานควบคุมโรคติดต่อฯ ในปี พ.ศ. 2535 ซึ่งได้สำรวจการแพร่ระบาดของโรคเท้าช้างในระดับจังหวัด พบอัตราความชุก 184.13 ต่อประชากรหนึ่งแสนคน จากการที่ได้มีการเฝ้าระวังและควบคุมโรคอย่างต่อเนื่อง ทำให้ในปี พ.ศ. 2558 การแพร่ระบาดของโรคเท้าช้างมีอัตราความชุกลดลงเหลือ 6.13 ต่อประชากรแสนคน

นอกจากนี้งานควบคุมโรคติดต่อฯ ได้มีการจัดแสดงนิทรรศการแสดงพื้นที่การเกิดโรค ตัวอย่างพาหะนำโรค ไว้ภายในอาคารศูนย์การเรียนรู้ด้านสุขภาพพิกุลทอง เป็นจุดดูงานสำหรับคณะที่ได้เข้ามาศึกษาชมงานภายในศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองฯ ซึ่งได้เปิดให้บริการกับผู้มาเยี่ยมชมตั้งแต่ปี พ.ศ. 2552 เป็นต้นมา โดยมีคณะผู้มาเยี่ยมชมในแต่ละปีไม่ต่ำกว่า 3,500 ราย จึงถือได้ว่างานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อฯ มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งต่อการดำรงชีวิตของราษฎรในพื้นที่จังหวัดนราธิวาสและพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค และมีส่วนช่วยให้ราษฎรปลอดภัยจากโรคติดต่อประจำถิ่นมากขึ้น

หนังสือเล่มนี้ได้ดำเนินการรวบรวมผลการดำเนินงานของงานควบคุมโรคติดต่อฯ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงด้านวิชาการโรคติดต่อต่างๆ อันจะก่อให้เกิดประโยชน์กับตนเองและสังคมต่อไป และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่งานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุขทุกท่าน ที่ได้ทุ่มเทการทำงานเพื่อประชาชนให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น อันเป็นการสนองพระราชดำริพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวและพระบรมวงศานุวงศ์ ที่ทรงห่วงใยในการดำเนินชีวิตของพสกนิกรชาวจังหวัดนราธิวาส อย่างหาที่สุดมิได้ ดิฉันหวังเป็นอย่างยิ่งว่าหนังสือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้อ่านทุกท่านต่อไป

นางสายหยุด เพ็ชรสุข
ผู้อำนวยการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองฯ

เมื่อย้อนอดีต.....มองกลับไป ณ จุดเริ่มต้น

“โครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข (โรคฟิลาเรีย)”

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จ.นราธิวาส

“โครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข (โรคฟิลาเรีย)” เป็นโครงการหนึ่งที่ได้ถูกกำหนดขึ้นภายใต้การศึกษาผลกระทบด้านสุขภาพของ “คณะกรรมการเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (กปร.)” ที่กำหนดให้ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส ให้การสนับสนุนการดำเนินการในการดูแลประชาชนเรื่องโรคติดต่อสำคัญที่เป็นปัญหาต่อสุขภาพของประชาชน โดยเฉพาะปัญหาการแพร่กระจายของโรคเท้าช้าง (โรคฟิลาเรีย) ซึ่งมีรายงานการเกิดโรคอย่างต่อเนื่องในพื้นที่จังหวัดนราธิวาส ซึ่งเป็นพื้นที่เป้าหมายของการพัฒนา

กรมควบคุมโรคติดต่อ โดยนายแพทย์ฉันทกรณ์ ชุติดำรงค์ ผู้อำนวยการกองโรคเท้าช้าง จึงได้ขอรับการสนับสนุนการดำเนินการ ต่อคณะกรรมการประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ และได้รับอนุมัติให้มีการก่อสร้างอาคารสำนักงาน และสิ่งอำนวยความสะดวกขั้นพื้นฐานในการปฏิบัติงานในพื้นที่ โดยได้เริ่มดำเนินการก่อสร้างอาคารภายในบริเวณศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ต.กะลุวอเหนือ อ.เมือง จ.นราธิวาส เมื่อปี พ.ศ. 2528 จนเสร็จสิ้นในปี พ.ศ. 2529 ทั้งนี้กรมควบคุมโรคเป็นผู้จัดหาบุคลากร งบประมาณ และการจัดทำแผนงานเพื่อดำเนินการ โดยวัตถุประสงค์หลักคือการควบคุมโรคเท้าช้างให้ลดลงจนไม่เป็นปัญหา และประสานงานการดูแลความเจ็บป่วยโรคติดต่อสำคัญของประชาชนในพื้นที่โครงการฯ

ณ จุดเริ่มต้นของการดำเนินการ ข้าพเจ้า นายจิระพัฒน์ เกตุแก้ว นักวิชาการสาธารณสุข 5 (ตำแหน่งในสมัยนั้น) หัวหน้าศูนย์โรคเท้าช้างเขต 4 จังหวัดกาญจนบุรี ได้รับมอบหมายให้เป็นผู้ดำเนินการโครงการ โดยให้เริ่มเข้าไปวางแผน จัดเตรียมบุคลากร อุปกรณ์ ตั้งแต่วันที่ 2 มกราคม พ.ศ. 2529 ในฐานะ “หัวหน้าศูนย์โรคเท้าช้างเขต 12 จังหวัดปัตตานี” ซึ่งมีพื้นที่รับผิดชอบจังหวัด 7 จังหวัดภาคใต้ตอนล่าง รวมทั้งจังหวัดนราธิวาส ซึ่งเป็นที่ตั้งสำนักงานโครงการฯ อีกแห่งหนึ่งด้วย

บุคลากรของโครงการฯ จำนวน 11 ตำแหน่ง จำแนกเป็น นักวิชาการ 2 ตำแหน่ง เจ้าหน้าที่ธุรการ 1 ตำแหน่ง เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ 1 ตำแหน่ง เจ้าหน้าที่ปฏิบัติการสนาม 5 ตำแหน่ง พนักงานขับรถยนต์ 1 ตำแหน่ง และคนงาน 1 ตำแหน่ง ทั้งหมดได้รับการฝึกอบรมให้ทำหน้าที่ต่างๆ จากกองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ ได้แก่ การเจาะโลหิตสำรวจ การศึกษาด้านกีฏวิทยาของยุงพาหะนำโรค การตรวจวินิจฉัย ซึ่งเป็นงานพื้นฐานสำคัญในการปฏิบัติงานในชุมชน ซึ่งผลการดำเนินการในช่วงเวลาดังกล่าว พบว่ามีประชาชนป่วยเป็นโรคเท้าช้าง ที่ได้รับการขึ้นทะเบียนกว่า 1,000 ราย ในพื้นที่เป้าหมาย อ.เมือง อ.ตากใบ อ.สุไหงโก-ลก อ.สุไหงปาดี (รวมกิ่ง อ.เจาะไอร้อง) และ อ.ระแงะ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพื้นที่โดยรอบของ “พรุโต๊ะแดง” ที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์สำคัญของยุงพาหะนำเชื้อโรคเท้าช้าง จนในปัจจุบัน ไม่มีรายงานผู้ป่วยใหม่ และจะนำไปสู่ “การกำจัดโรคเท้าช้างในประเทศไทย” ภายใต้พันธะสัญญากับองค์การอนามัยโลกในอีกไม่กี่ปีต่อไป

ความประทับใจที่ได้เข้าร่วมงานภายใต้ “โครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ” ระหว่างปี พ.ศ. 2529-2532 คือการได้รับใช้องค์พระมหากษัตริย์ไทย ที่ทรงมีความห่วงใยประชาชน โดย “หม่อมเจ้าจักรพันธ์เพ็ญศิริ จักรพันธ์” เป็นผู้แทนพระองค์ เสด็จเยี่ยมให้ขวัญกำลังใจต่อบุคลากรของสำนักงานฯ และที่สำคัญสูงสุด คือ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ทรงเสด็จเยี่ยมสำนักงานฯ และติดตามงาน โดยได้มีโอกาสถวายรายงานต่อหน้าพระพักตร์ และพระองค์ได้ทรงลง “พระปรมาภิไธย” ไว้เพื่อเป็นขวัญกำลังใจให้กับเจ้าหน้าที่ทุกคน ซึ่งประดับไว้ ณ สำนักงานโครงการฯ ตราบจนปัจจุบัน

นายจิระพัฒน์ เกตุแก้ว
นักวิชาการสาธารณสุขชำนาญการพิเศษ

คำนำ

ด้วยพระมหากรุณาธิคุณของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวที่ทรงห่วงใยในการดำเนินชีวิตของพสกนิกรจังหวัดในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง จึงมีพระราชดำริให้มีการจัดตั้งศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริขึ้นที่จังหวัดนราธิวาส โดยให้หน่วยงานต่างๆ เข้ามาเป็นคณะทำงานของศูนย์เพื่อแก้ไขปัญหาความเดือดร้อนของพสกนิกรในทุกด้าน รวมทั้งด้านสาธารณสุข อันเป็นการสนองพระราชดำริพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวและพระบรมวงศานุวงศ์ ที่ทรงห่วงใยในการดำเนินชีวิตของพสกนิกรของพระองค์

หนังสือ “3 ทศวรรษ (พ.ศ. 2528-2558) การควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส ตามโครงการพระราชดำริฯ” เล่มนี้เป็นหนังสือที่สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองฯ จัดทำขึ้นเนื่องในโอกาสที่สำนักงานโครงการฯ ได้ดำเนินงานควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาสมาครบ 30 ปี ในปี พ.ศ. 2558 ภายในเล่มมีการรวบรวมประวัติความเป็นมาของสำนักงานฯ ความเป็นมาของการดำเนินการควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส สรุปผลการดำเนินงานที่ผ่านมา สถานการณ์โรค ความรู้เรื่องโรค ผลงานทางวิชาการและงานวิจัยที่ผ่านมาของหน่วยงานและสถาบันการศึกษาต่างๆ ในประเทศไทย ซึ่งได้ตีพิมพ์หรือเผยแพร่ในระดับชาติและนานาชาติในช่วงระยะเวลา 30 ปีที่ผ่านมา เพื่อให้นักวิจัย นักวิชาการ นักศึกษา ตลอดจนผู้สนใจสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการดำเนินงานควบคุมโรคหรือเป็นข้อมูลในการอ้างอิงและวางแผนงานโครงการวิจัยอื่นๆ ต่อไป ทั้งนี้เพื่อให้ประชาชนในพื้นที่ปราศจากโรคและมีคุณภาพชีวิตที่ดีต่อไป

ในโอกาสนี้ คณะผู้จัดทำฯ หวังเป็นอย่างยิ่งว่าหนังสือหนังสือ “3 ทศวรรษ (พ.ศ. 2528-2558) การควบคุมโรคเท้าช้างฯ” เล่มนี้ จะมีประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจจะนำไปใช้เพื่อศึกษาหาความรู้และเป็นข้อมูลอ้างอิงต่อไป และหากหนังสือเล่มนี้มีความผิดพลาดประการใด ทางคณะผู้จัดทำยินดีน้อมรับการชี้แนะและแนวทางแก้ไข เพื่อนำไปปรับปรุงให้ดีขึ้นต่อไป

คณะผู้จัดทำ

กันยายน 2558

สารบัญ

หน้า

ความเป็นมาและความรู้เรื่องโรคเท้าช้าง 1

ความเป็นมาของสำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุขฯ 3

ความเป็นมาของศูนย์การเรียนรู้ด้านสุขภาพพิกุลทอง 7

ความเป็นมาของโรคเท้าช้างในประเทศไทย 10

ความเป็นมาของโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาสและจังหวัดใกล้เคียง 12

ความรู้เรื่องโรคเท้าช้าง 14

สถานการณ์โรคเท้าช้างในประเทศไทย 27

สถานการณ์โรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส 30

งานวิจัยโรคเท้าช้างที่ตีพิมพ์ภาษาไทย (พ.ศ. 2529-2547) 39

การศึกษาหายุงพาหะที่มีตัวอ่อนพยาธิโรคฟิลาเรียในท้องที่ มีอัตราการระบาดของโรคสูงกว่า 1% 42

การศึกษาชีวนิสัยของยุงแมนโซเนีย ในจังหวัดนราธิวาส 49

การศึกษาการปรากฏตัวของพยาธิไมโครฟิลาเรีย 68

พื้นที่พรุกับการเกิดและแพร่ระบาดของโรคฟิลาเรีย 82

การพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุง จากแหล่งระบาดของ *Brugia malayi* ในภาคใต้ของประเทศไทย 95

ความชุกชุมของพยาธิ บรูเกีย มาลาไย และบรูเกีย ปาหังไก ในสัตว์ (แมว) ในแหล่งชุกชุม
โรคฟิลาเรีย จังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย 117

การสำรวจพยาธิไมโครฟิลาเรียในแมว ในจังหวัดนราธิวาส 121

ประสิทธิภาพการควบคุมโรคเท้าช้างในพื้นที่จังหวัดนราธิวาส ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2517-2543
(ก่อนเริ่มเข้าโครงการกำจัดโรคเท้าช้าง) 128

การปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียชนิด *Brugia malayi* ในแมว ที่จังหวัดนราธิวาส 137

ปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการดูแลตนเองของผู้ป่วยโรคเท้าช้าง ในตำบลสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส 144

การศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจด้วยเทคนิค PCR เปรียบเทียบกับวิธีการผ่ายุง
ในการตรวจหาพยาธิฟิลาเรียในยุงที่จับได้จากภาคสนาม 155

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ประสิทธิภาพ Diethylcarbamazine citrate และ Albendazole ต่อ *Brugia malayi* 166

การประเมินผลการใช้ยา Ivermectin เพื่อควบคุมโรคเท้าช้าง ชนิด *Brugia malayi* ในแมวที่จังหวัดนราธิวาส.....175

การสำรวจรังโรคเท้าช้างชนิด *Brugia malayi* ในสัตว์ที่จังหวัดนราธิวาส 181

งานวิจัยโรคเท้าช้างที่ตีพิมพ์ภาษาอังกฤษ (ค.ศ. 1953-2015) 189

Filariasis in Thailand 190

Studies on human filariasis in Southern Thailand.....230

The periodicity of *Brugia malayi* in South Thailand.....232

The vectors of *Brugia malayi* in Southern Thailand.....241

Experimental transmission of subperiodic *Wuchereria bancrofti* to the leaf monkey (*Presbytis melalophos*), and its periodicity 251

Improved oviposition medium for *Mansonia* colonization.....256

A simplified key for larval identification of *Mansonia* mosquitoes in Thailand.....261

Brugia malayi in a naturally infected cat from Narathiwat province, Southern Thailand.....267

Lymphatic filariasis caused by *Brugia malayi* in an Endemic area of Narathiwat province, Southern of Thailand 271

Susceptibility of *Mansonia indiana* (Diptera: Culicidae) to Nocturnally Subperiodic *Brugia malayi* (Spirurida: Filariodea) 281

An antigen detection assay for diagnosing filariasis 287

Application of GIS to the characterization of filariasis transmission in Narathiwat province.....306

Surveys for natural host plants of *Mansonia* mosquitoes inhabiting Toh Daeng peat swamp forest, Narathiwat province, Thailand.....316

Bionomics studies of *Mansonia* mosquitoes inhabiting the peat swamp forest.....323

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

Diagnostic value of IgG isotype responses against *Brugia malayi* antifilarial antibodies in the clinical spectrum of Brugian filariasis 334

Laboratory colonization of *Mansonia* mosquitoes with an emphasis on *Ma. annulata* and *Ma. bonneae* 345

Mosquito fauna of “Toh Daeng” swamp forest, Thailand 353

Impact of a filariasis control program on intestinal helminthic infections: a pilot study in Narathiwat province, Thailand 363

A high resolution melting real time PCR for mapping of filaria infection in domestic cats living in Brugian filariasis – endemic areas 373

An ELISA kit with two detection modes for the diagnosis of lymphatic filariasis 389

ความเป็นมาและความรู้เรื่องโรคเท้าช้าง

ความเป็นมาของสำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุขฯ

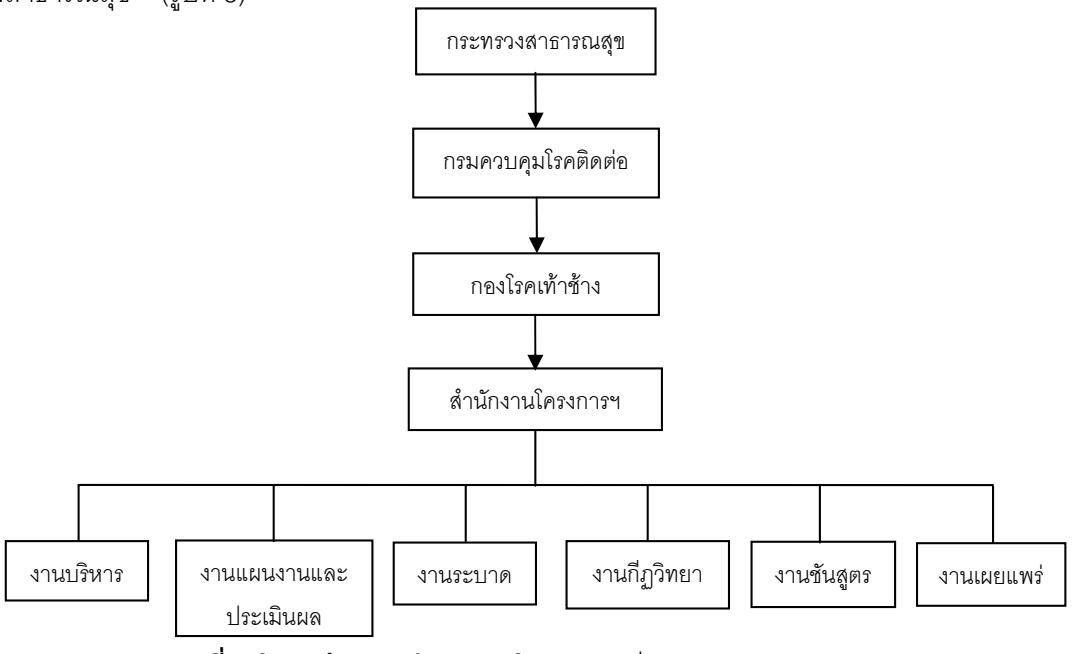
สืบเนื่องมาจาก พระเจ้าวรวงค์เธอ พระองค์เจ้าจักรพันธ์เพ็ญศิริ (พระนามเดิม หม่อมเจ้าจักรพันธ์เพ็ญศิริ จักรพันธ์) องค์ประธานคณะกรรมการบริหาร ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส ได้พิจารณาเห็นว่าโรคเท้าช้างเป็นโรคที่มีความซุกชุมและยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในจังหวัดนราธิวาส จึงเสนอให้มีการดำเนินการควบคุมและป้องกันโรคโดยมอบหมายให้กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข เป็นผู้รับผิดชอบทั้งนี้ที่ประชุมคณะกรรมการบริหารโครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองฯ มีมติเห็นชอบให้มีการดำเนินการงานควบคุมโรคเท้าช้าง เมื่อวันที่ 23 กรกฎาคม พ.ศ. 2527 ภายใต้ชื่อ “งานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข” ทั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยบรรเทาปัญหาความเดือดร้อน อันเกิดจากการแพร่ระบาดของโรคเท้าช้างที่เกิดขึ้นกับราษฎรตลอดจนทำการศึกษาวิจัย เพื่อนำผลมาใช้เป็นแบบอย่างในการควบคุมโรคในพื้นที่อื่นๆ รวมทั้งเพื่อให้บริการด้านสาธารณสุขโรคติดต่อที่จำเป็นแก่ประชาชน ดังนั้นโรคการนี้จึงได้เริ่มดำเนินการตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2528 (ปีงบประมาณ 2529) โดยได้รับสนับสนุนงบประมาณในปีแรกจากสำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อการประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (กปร.) ในการก่อสร้างอาคารสำนักงาน (รูปที่ 1 และ 2) และเป็นค่าใช้จ่ายต่างๆ ในการดำเนินงานในปีงบประมาณต่อไป กรมควบคุมโรคติดต่อเป็นผู้ขอรับสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน[1]

วัตถุประสงค์ของการจัดตั้งสำนักงานโครงการฯ มีดังนี้

1. เพื่อลดอัตราการตรวจพบผู้มีหนอนพยาธิฯ ในโลหิต (ไมโครฟิลาเรีย) ให้น้อยลงหรือหมดไปในพื้นที่ดำเนินการ
2. ลดอัตราการตรวจพบผู้มีหนอนพยาธิฯ ในโลหิต
3. หยุดยับยั้งการแพร่เชื้อในหมู่บ้านบริวาร และหมู่บ้านเสี่ยงต่ำให้ลดลงหรือหมดไป
4. เพื่อศึกษา วิจัย และพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการควบคุมโรคโดยเฉพาะในพื้นที่ป่าพรุ
5. เพื่อติดตามผลกระทบจากการพัฒนาพื้นที่พรุต่อการเกิดโรค
6. เพื่อให้บริการสาธารณสุขด้านโรคติดต่อที่จำเป็นแก่บุคลากรของโครงการฯ

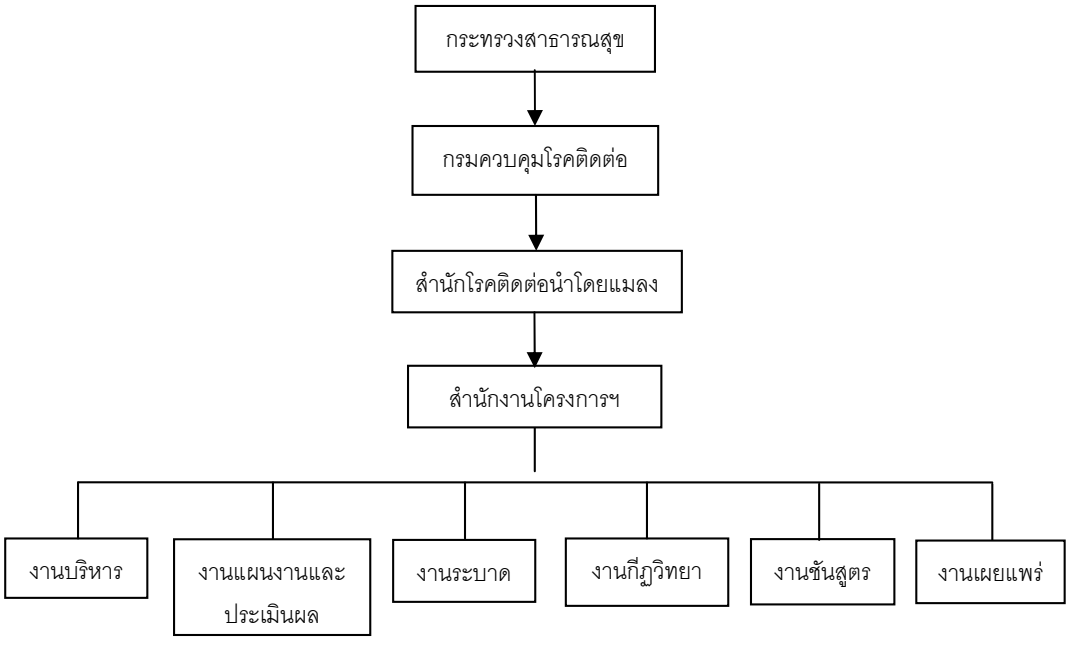
โครงสร้างองค์กร

ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2528 จนถึง ปี พ.ศ. 2545 สำนักงานโครงการฯ ขึ้นตรงกับกองโรคเท้าช้างกรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข[2-5] (รูปที่ 3)



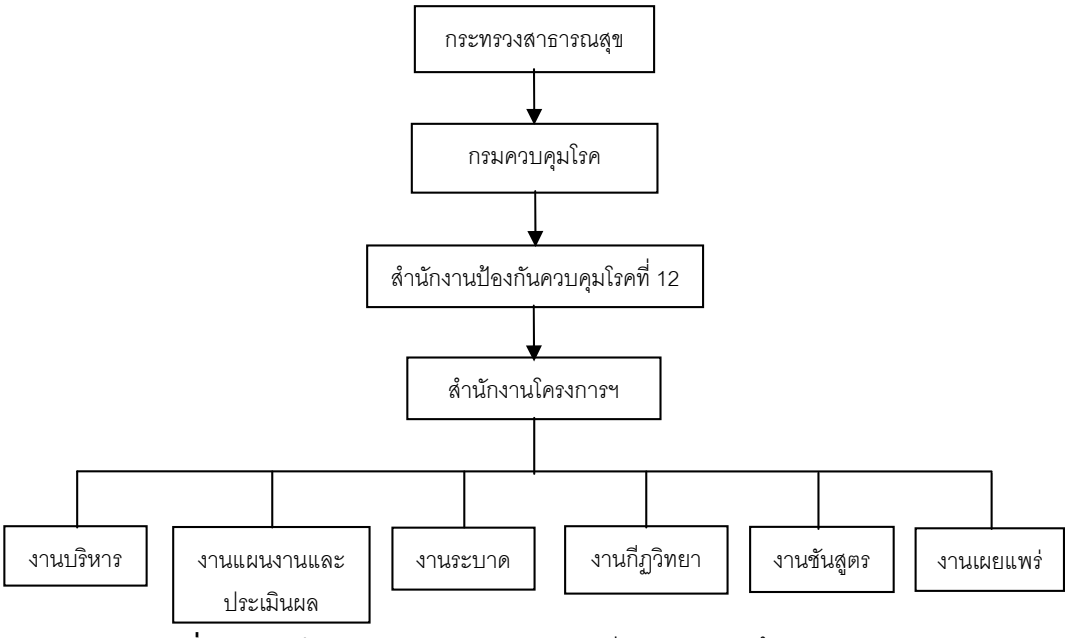
รูปที่ 3 โครงสร้างของสำนักงานโครงการฯ ปี พ.ศ. 2528 - 2545

ปี พ.ศ. 2546 กรมควบคุมโรคติดต่อปรับปรุงโครงสร้าง มีการรวมโรคติดต่อที่นำโดยแมลงเข้าด้วยกัน ซึ่งประกอบด้วยไข้มาลาเรีย ไข้เลือดออก โรคเท้าช้าง จัดตั้งขึ้นเป็นสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง ดังนั้นสำนักงานโครงการฯ จึงสังกัดสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง[6] (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 โครงสร้างของสำนักงานโครงการฯ ปี พ.ศ. 2546 - 2550

ในปี พ.ศ. 2551 สำนักงานโครงการฯ ได้โอนมาสังกัดสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 จังหวัดสงขลา กรมควบคุมโรค จนถึงปัจจุบัน (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 โครงสร้างของสำนักงานโครงการฯ ปี พ.ศ. 2551 ถึง ปัจจุบัน

สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข จังหวัดนราธิวาส แบ่งการบริหารงานออกเป็น 6 งาน ดังนี้

1. งานบริหารทั่วไป

มีหน้าที่รับผิดชอบเกี่ยวกับการบริหารงาน ด้านธุรการ การเจ้าหน้าที่ งบประมาณ การเงินและบัญชี งานพัสดุของสำนักงานโครงการฯ ให้เป็นไปตามกฎหมาย ระเบียบและข้อบังคับต่างๆ ของทางราชการ ตลอดจนติดต่อประสานงานกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

2. งานแผนงานและประเมินผล

มีหน้าที่และความรับผิดชอบในด้านการวางแผน กำหนดแนวทางการจัดทำแผนงานให้สอดคล้องและเหมาะสมกับนโยบายทุกระดับและสถานการณ์ของโรค ดำเนินการนิเทศ ติดตามดูแล การดำเนินงานให้เป็นไปตามแนวทางที่กำหนดตลอดจนศึกษา วิเคราะห์ รวบรวมข้อมูล เพื่อประเมินผลการควบคุมโรค

3. งานระบาดวิทยา

มีหน้าที่และความรับผิดชอบในการศึกษาวิจัยทางด้านระบาดวิทยาตลอดจนรวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ทางด้านระบาดวิทยา

4. งานกีฏวิทยา

มีหน้าที่และความรับผิดชอบในการศึกษายุงพาหะนำโรคเท้าช้าง การสำรวจหาแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงพาหะ พร้อมทั้งศึกษาชีวนิสัย การะแพร่กระจายตลอดจนศึกษาหามาตรการต่างๆ มาใช้ในการควบคุมยุงพาหะ และลูกน้ำยุง

5. งานชันสูตร

มีความรับผิดชอบในการตรวจย้อมฟิล์มโลหิต พร้อมทั้งรวบรวมวิเคราะห์ข้อมูล ผลการตรวจฟิล์มยืนยันการรักษา ทำการศึกษาวิจัย ตามโครงการงานควบคุมโรคเท้าช้าง ตลอดจนให้บริการตรวจฟิล์มโลหิตแก่หน่วยงานทางราชการหรือประชาชนเป็นพิเศษ

6. งานเผยแพร่อบรม

มีหน้าที่ความรับผิดชอบเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการแก่ประชาชน เพื่อให้ได้รับความรู้ในด้านการป้องกันโรคให้ประชาชนมีส่วนร่วมในการควบคุมโรค ประสานงาน ให้คำปรึกษาสนับสนุนด้านวิชาการและปฏิบัติการหน่วยงานที่เกี่ยวข้องจัดให้มีการพัฒนาบุคลากรสาธารณสุข และบุคลากรอื่นๆ ในพื้นที่ที่มีรายงานโรคเท้าช้าง

อัตรากำลังเจ้าหน้าที่

ปัจจุบัน (พ.ศ. 2558) สำนักงานโครงการฯ มีอัตรากำลังเจ้าหน้าที่จำนวน 19 คน ดังนี้

- ข้าราชการ จำนวน 3 คน
- พนักงานราชการ จำนวน 12 คน
- พนักงานจ้างเหมาบริการ จำนวน 4 คน

ในช่วงระยะเวลา 30 ปี ที่ผ่านมา สำนักงานโครงการฯ มีผู้ปฏิบัติหน้าที่ในตำแหน่งหัวหน้าสำนักงานฯ จำนวน 3 คน ดังนี้

1. นายจิระพัฒน์ เกตุแก้ว ปฏิบัติงานตั้งแต่ พ.ศ. 2528 – 2532
2. นายสุรพงค์ ชุมพล ปฏิบัติงานตั้งแต่ พ.ศ. 2533 – 2538
3. นางสาวสุมาศ ลอยเฆม ปฏิบัติงานตั้งแต่ พ.ศ. 2539 – ปัจจุบัน

หมายเหตุ: ในปี พ.ศ. 2550 ทางศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส โดยผู้อำนวยการศูนย์ฯ คือ นายบุญณรงค์ ธานีรัตน์ ได้มอบหมาย ให้ทางสำนักงานโครงการฯ ดูแลกำกับการปฏิบัติงานของกลุ่มงานโภชนาการอีกกลุ่มงานหนึ่ง ซึ่งกลุ่มงานโภชนาการนี้ได้จัดตั้งขึ้นตามพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เพื่อให้ดำเนินการโครงการปรับปรุงภาวะโภชนาการของเด็กอายุ 0-60 เดือน ในปี พ.ศ. 2531 ซึ่งในครั้งแรกให้กรมพัฒนาที่ดินเป็นผู้ดำเนินการในการจัดของบประมาณจากสำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (กปร.) และจัดจ้างผู้มาปฏิบัติงานด้านโภชนาการ และในปี พ.ศ. 2549 ผู้ปฏิบัติงานด้านโภชนาการ ได้รับการบรรจุให้เป็นพนักงานราชการ ให้ไปขึ้นตรงและรับเงินเดือนกับสำนักงานสาธารณสุขจังจังหวัด แต่ยังของบประมาณในการปฏิบัติงาน ของงบฯ กปร. ผ่านศูนย์ฯพิกุลทองเหมือนเดิม โดยสำนักสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดได้ส่งเจ้าหน้าที่โภชนาการจำนวน 8 คนมาปฏิบัติงานช่วยราชการที่ศูนย์ฯ พิกุลทองจนถึงปัจจุบัน (พ.ศ. 2558) ซึ่งปัจจุบันเจ้าหน้าที่โภชนาการได้รับการบรรจุเป็นข้าราชการแล้วทั้งหมด

พื้นที่รับผิดชอบของสำนักงานโครงการฯ

1. พื้นที่หมู่บ้านรอบศูนย์ จำนวน 13 หมู่บ้าน 2 ตำบล ได้แก่ หมู่ที่ 1–12 ตำบลกะลุวอเหนือ และหมู่ที่ 1 ตำบลกะลุวอ อำเภอเมือง จังหวัดนราธิวาส
2. หมู่บ้านรอบนอกศูนย์ ซึ่งมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการแพร่โรค ในพื้นที่ 7 อำเภอ 22 ตำบล 87 หมู่บ้าน ได้แก่ อำเภอเมือง ตากใบ สุไหงโก-ลก เจาะไอร้อง สุไหงปาดี ยี่งอ และบาเจาะ

ความเป็นมาของศูนย์การเรียนรู้ด้านสุขภาพพิกุลทอง[7]

สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุขฯ ร่วมกับหน่วยงานในพื้นที่ได้ดำเนินงานควบคุมโรคเท้าช้างได้อย่างมีประสิทธิผล ทำให้อัตราการติดเชื้อโรคเท้าช้างลดลง จากอัตราความชุกโรคเท้าช้าง 184.49 ต่อประชากรแสนคน ในปี พ.ศ. 2535 ลดลงเหลือ 15.42 ต่อประชากรแสนคนในปี พ.ศ. 2542 รวมทั้งมีการศึกษาวิจัยทำให้เกิดองค์ความรู้ด้านเทคนิคการควบคุมโรค การตรวจวินิจฉัยและรักษาโรคเท้าช้างได้อย่างมีมาตรฐาน เจ้าหน้าที่มีประสบการณ์และความชำนาญเป็นที่ยอมรับของประชาชนและหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง จึงมีผู้สนใจเข้ามาศึกษาเป็นจำนวนมาก ได้แก่ เจ้าหน้าที่สาธารณสุข อาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน นักเรียน นักศึกษาและประชาชนทั่วไปทั้งในและนอกจังหวัดนราธิวาส แต่เนื่องจากไม่มีสถานที่ที่จะรองรับคณะที่มาศึกษาดูงาน ใช้เพียงห้องชันสูตรเป็นห้องศึกษาดูงาน บรรยายและสาธิต ซึ่งคับแคบเกินไป ไม่เหมาะสมกับการศึกษาดูงาน จึงเป็นที่มาของการก่อตั้ง “ศูนย์แห่งการเรียนรู้โรคติดต่อนำโดยแมลง จังหวัดนราธิวาส”

ธันวาคม 2548 สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง เสนอโครงการ เพื่อของบประมาณจากกรมควบคุมโรคจัดตั้งศูนย์แห่งการเรียนรู้โรคติดต่อนำโดยแมลงขึ้น ณ สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

กุมภาพันธ์ 2549 นำโครงการจัดตั้งศูนย์แห่งการเรียนรู้โรคติดต่อนำโดยแมลง ขึ้นทูลเกล้าถวายรายงานสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เพื่อขอพระราชทานคำแนะนำในการจัดตั้งศูนย์แห่งการเรียนรู้ฯ ผ่านผู้อำนวยการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง คือ นายบุญณรงค์ ธานีรัตน์ และที่ปรึกษาส่วนพระองค์ คือ คุณวารินทร์ บุษบรรณ เมื่อครั้งสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เสด็จประทับ ณ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ในครั้งนั้นมีพระราชดำริเห็นชอบให้จัดตั้งศูนย์แห่งการเรียนรู้ฯ ดังกล่าวขึ้น

ปีงบประมาณ 2550 กรมควบคุมโรค อนุมัติงบประมาณในการก่อสร้างศูนย์แห่งการเรียนรู้ฯ 6,597,000 บาท แต่ไม่มีผู้มายื่นประมูล เนื่องด้วยเหตุการณ์ไม่สงบใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ กรมควบคุมโรคจึงได้ประสานขอความร่วมมือจากกองทัพบก โดยกองพันทหารช่างที่ 402 ค่ายอภัยบริรักษ์ อำเภอศรีนครินทร์ จังหวัดพัทลุง เป็นผู้เข้ามาดำเนินการก่อสร้าง

มีนาคม 2551 กองพันทหารช่างที่ 402 ค่ายอภัยบริรักษ์ อำเภอศรีนครินทร์ จังหวัดพัทลุง ได้เริ่มดำเนินการก่อสร้างอาคาร โดยมีผู้แทนจากคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ (กปร.) ได้ติดตามความก้าวหน้าเป็นระยะๆ

15 ธันวาคม 2551 ดำเนินการก่อสร้างแล้วเสร็จและส่งมอบงาน ภายใต้ชื่อ “ศูนย์แห่งการเรียนรู้โรคติดต่อนำโดยแมลง จังหวัดนราธิวาส”

กันยายน 2552 กรมควบคุมโรคทำหนังสือถึงสำนักพระราชวัง เพื่อขอพระราชทานชื่อศูนย์ใหม่จากสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี โดยได้พระราชทานนามใหม่ว่า “ศูนย์การเรียนรู้ด้านสุขภาพพิกุลทอง” (รูปที่ 6)

วัตถุประสงค์การจัดตั้งศูนย์การเรียนรู้ด้านสุขภาพพิกุลทอง

1. จัดตั้งเป็นแหล่งรวบรวมองค์ความรู้โรคติดต่อนำโดยแมลงและโรคติดต่อประจำถิ่นอื่นๆ

2. เป็นศูนย์สาธิตเพื่อการศึกษาดูงาน บุคลากรสาธารณสุข อาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน นักเรียน นักศึกษา ประชาชนทั่วไปทั้งในและนอกจังหวัดนราธิวาส

ภายในศูนย์ศูนย์การเรียนรู้ด้านสุขภาพพิกุลทอง ประกอบด้วย

1. ห้องสมุด เป็นสถานที่เก็บรวบรวม หนังสือ ตำรา และเอกสารข้อมูลทางวิชาการด้านโรคติดต่อและโรคประจำถิ่น ในพื้นที่จังหวัดนราธิวาสและจังหวัดใกล้เคียง เพื่อใช้ในการศึกษาค้นคว้าและอ้างอิง (รูปที่ 7)

2. ห้องบรรยาย สามารถรองรับผู้เข้ามาศึกษาดูงานครั้งละจำนวน 40 คน (รูปที่ 8)

3. ห้องนิทรรศการโรคและแมลง ประกอบด้วยนิทรรศการของโรคติดต่อ โรคประจำถิ่นและตัวอย่างแมลงทางการแพทย์ และแมลงอื่นๆ ที่เป็นปัญหาสาธารณสุข แมลงสวยงาม แมลงที่ใกล้จะสูญพันธุ์ (รูปที่ 9)

4. ห้องสาธิตการชันสูตรโรค เป็นห้องสาธิตและแสดงวิธีการจำแนกเชื้อไข้มาลาเรีย โรคเท้าช้าง และหนอนพยาธิ ซึ่งเป็นปัญหาสาธารณสุขในพื้นที่ (รูปที่ 10)

รูปที่ 1 อาคารสำนักงานโครงการฯ (อดีต)

รูปที่ 2 อาคารสำนักงานโครงการฯ (ปัจจุบัน)

รูปที่ 6 อาคารศูนย์การเรียนรู้ด้านสุขภาพพิกุลทอง

รูปที่ 7 ห้องสมุด

รูปที่ 8 ห้องบรรยาย

รูปที่ 9 ห้องนิทรรศการ

รูปที่ 10 ห้องสาธิตการชันสูตรโรค

ความเป็นมาของโรคเท้าช้างในประเทศไทย[8]

พ.ศ. 2492	กระทรวงสาธารณสุขร่วมกับกระทรวงมหาดไทย ได้ทำการสำรวจค้นหาผู้ป่วยที่มีอวัยวะบวมโตในภาคใต้ พบว่าจังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี พัทลุงและปัตตานี มีผู้ป่วยที่มีอวัยวะบวมโตเป็นจำนวนมาก
พ.ศ. 2494	องค์การอนามัยโลกให้ความช่วยเหลือรัฐบาลไทย โดยส่งผู้เชี่ยวชาญชาวอินเดีย คือ Dr. Iyengar และคณะ สำรวจโรคฟิลาเรีย ระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2494-กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2495 ในจังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และปัตตานี พบอัตราผู้ป่วยที่มีเชื้อพยาธิฯ ชนิด *Brugia malayi* ร้อยละ 20.99 และอัตราผู้ที่มีอวัยวะบวมโต ร้อยละ 5.23
พ.ศ. 2500	ดำเนินการจัดตั้งแผนกโรคเท้าช้างในกองควบคุมไข้มาลาเรียและโรคเท้าช้างมีการขยายงานปรับเปลี่ยนโครงสร้างเป็นระยะๆ เพื่อให้สามารถดำเนินงานอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น
พ.ศ. 2504	จัดตั้งสำนักงานควบคุมโรคเท้าช้างนครศรีธรรมราช ในปีเดียวกัน นายแพทย์สฤษฎ์ วงศ์ถ้วยทอง และคณะ ได้สำรวจในจังหวัดนราธิวาส พบอัตราผู้ป่วยมีเชื้อพยาธิ *Brugia malayi* ร้อยละ 7.30
พ.ศ. 2506	มีพระราชกฤษฎีกาตั้งกองควบคุมโรคเท้าช้าง เมื่อเดือนมกราคม พ.ศ. 2506
พ.ศ. 2508	คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ค้นพบแหล่งระบาดโรคเท้าช้าง *Wuchereria bancrofti* ชนิด nocturnally subperiodic form ในจังหวัดกาญจนบุรีและพบว่ามีอัตราผู้ป่วยมีเชื้อพยาธิในโลหิตร้อยละ 2.3-13.1 และอัตราผู้ที่มีอวัยวะบวมโต ร้อยละ 1.9-8.7
พ.ศ. 2512	จัดตั้งหน่วยโรคเท้าช้างที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี
พ.ศ. 2513	จัดตั้งหน่วยโรคเท้าช้างที่จังหวัดปัตตานี
พ.ศ. 2517	เปลี่ยนชื่อกองควบคุมโรคเท้าช้างเป็น กองโรคเท้าช้าง
พ.ศ. 2522	จัดตั้งหน่วยโรคเท้าช้างที่จังหวัดกาญจนบุรี
พ.ศ. 2528	กรมควบคุมโรคติดต่อเปลี่ยนชื่อหน่วยโรคเท้าช้างเป็น ศูนย์โรคเท้าช้างเขตและได้ขยายการสำรวจในจังหวัดตากพบว่าเป็นแหล่งแพร่เชื้อพยาธิ *Wuchereria bancrofti* เช่นเดียวกับจังหวัดกาญจนบุรี มีอัตราผู้ป่วยที่มีเชื้อพยาธิฯ ร้อยละ 0.01-8.17 และขยายการสำรวจในจังหวัดแม่ฮ่องสอนในเวลาต่อมา
พ.ศ. 2528 **(ปีงบประมาณ** 2529)	จัดตั้งสำนักงานโครงการงานควบคุม ปราบปราม โรคติดต่อและการสาธารณสุข (โรคฟิลาเรีย) ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส
พ.ศ. 2536	ค้นพบเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างสายพันธุ์ nocturnally periodic *Wuchereria bancrofti* ในแรงงานต่างด้าวชาวพม่าที่มาทำงานในประเทศไทย
พ.ศ. 2541	กรมควบคุมโรคได้ปรับโครงสร้างโดยให้กองโรคเท้าช้าง กองมาลาเรียและสำนักไข้เลือดออกรวมเป็นสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง
พ.ศ. 2543	กองโรคเท้าช้าง ได้จัดทำโครงการกำจัดโรคเท้าช้าง ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดโรคเท้าช้างและลดพยาธิสภาพของผู้ป่วยปรากฏอาการ สำหรับเป้าหมายของโครงการมี 2 ประการ คือ

ประการแรก จำนวนผู้ป่วยใหม่สะสมในช่วงเวลา 5 ปี หลังการดำเนินงานไม่เกิน 1 ต่อประชากรพันคน ประการที่สอง ผู้ป่วยปรากฏอาการทุกคนได้รับการดูแลอย่างถูกวิธี โดยมีระยะเวลาการดำเนินการรวม 5 ปี นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545-2549 ครอบคลุมพื้นที่ 336 กลุ่มบ้านใน 10 จังหวัด ซึ่งประกอบด้วยจังหวัดแม่ฮ่องสอน ลำพูน ตาก กาญจนบุรี ราชบุรี ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ และนราธิวาส (จังหวัดราชบุรีและระนองเป็นจังหวัดที่ติดเขตชายแดนและมีการเคลื่อนย้ายเข้าออกของประชากรทั้งไทยและพม่าจึงมีการจ่ายยารักษาจากลุ่มตามโครงการกำจัดโรคเท้าช้าง)

พ.ศ. 2547 เป็นปีที่ยังอยู่ในโครงการกำจัดโรคเท้าช้าง ได้มีการโอนพื้นที่ของกลุ่มบ้านทุ่งต้นงิ้ว จ.ตาก ซึ่งเป็นกลุ่มบ้านแพร่โรคเท้าช้างและเป็นกลุ่มบ้านเป้าหมายตามโครงการกำจัดโรคเท้าช้างมาอยู่ในความดูแลของ อ.อมก๋อย จ.เชียงใหม่ ทำให้จังหวัดที่เป็นพื้นที่เป้าหมายของโครงการกำจัดโรคเท้าช้างรวมเป็น 11 จังหวัด ได้แก่ แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ ตาก ลำพูน กาญจนบุรี ราชบุรี สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ และนราธิวาส

ความเป็นมาของโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาสและจังหวัดใกล้เคียง[8]

พ.ศ. 2504-2505 นายแพทย์สฤษดิ์วงศ์ วงศ์ถ้วยทอง และคณะ ได้ดำเนินการศึกษาภาวะโรคเท้าช้างในท้องที่อำเภอเมือง ตากใบ และระแงะ จังหวัดนราธิวาส สำรวจประชากรทั้งหมด 1,535 ราย อัตราการตรวจพบผู้มีเชื้อพยาธิในโลหิตเฉลี่ย 7.30% ส่วนใหญ่เชื้อพยาธิเป็นชนิด *Brugia malayi* แต่พบว่ามีชนิด *Wuchereria bancrofti* ร่วมด้วยในหมู่ที่ 2 ตำบลบางปอ อำเภอเมือง และหมู่ที่ 3 ตำบลตันหยงลิมอ อำเภอระแงะ จังหวัดนราธิวาส

พ.ศ. 2513 จัดตั้งหน่วยโรคเท้าช้างที่จังหวัดปัตตานี เพื่อดำเนินการสำรวจและควบคุมโรคเท้าช้างในแถบจังหวัดภาคใต้ตอนล่าง ได้แก่ สงขลา พัทลุง ตรัง สตูล ปัตตานี ยะลา และนราธิวาส ต่อมาเปลี่ยนเป็นศูนย์โรคเท้าช้างเขต 12 จังหวัดปัตตานี

พ.ศ. 2528 จัดตั้งสำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข (โรคฟิลาเรีย) ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส เพื่อบรรเทาความเดือดร้อนแก่ประชาชน อันเกิดจากการแพร่ระบาดของโรคเท้าช้าง และให้บริการด้านสาธารณสุขในจังหวัดนราธิวาส

รูปกิจกรรมการดำเนินงานการควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส

สำรวจเจาะเลือดเพื่อตรวจหาเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างในหมู่บ้านแพร่โรค

ตรวจเลือดหาเชื้อพยาธิฯ โดยวิธี Thick film technique

จับยุงในพื้นแพร่ระบาดของโรคเท้าช้าง

เจาะเลือดสำรวจรังโรคในแมว

ฉาย VDO ให้ความรู้เรื่องโรคเท้าช้าง

เยี่ยมติดตามผู้ป่วยขาโต

เอกสารอ้างอิง

1. กองโรคเท้าช้าง. สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. รายงานข้อมูลทั่วไปและผลการดำเนินงานควบคุมโรคเท้าช้าง. (เอกสารอัดสำเนา)
2. กรมควบคุมโรคติดต่อ. กองโรคเท้าช้าง. รายงานประจำปี 2530. (เอกสารอัดสำเนา)
3. กรมควบคุมโรคติดต่อ. กองโรคเท้าช้าง. รายงานประจำปี 2534. (เอกสารอัดสำเนา)
4. กรมควบคุมโรคติดต่อ. กองโรคเท้าช้าง. รายงานประจำปี 2541. (เอกสารอัดสำเนา)
5. กรมควบคุมโรคติดต่อ. กองโรคเท้าช้าง. รายงานประจำปี 2545. นนทบุรี: กรมควบคุมโรคติดต่อ. ม.ป.ป.
6. กรมควบคุมโรค. สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง. รายงานประจำปี 2546. นนทบุรี: กรมควบคุมโรค. ม.ป.ป.
7. กรมควบคุมโรค. สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 จังหวัดสงขลา. หนังสือที่ระลึกเนื่องในวโรกาสที่สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เสด็จพระราชดำเนินทรงเปิดอาคารศูนย์การเรียนรู้ด้านสุขภาพพิกุลทอง ณ สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาส. ม.ป.ท. 2552.
8. กรมควบคุมโรคติดต่อ. กองโรคเท้าช้าง. รายงานการควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส. (เอกสารอัดสำเนา)

ความรู้เรื่องโรคเท้าช้าง

(Lymphatic filariasis)

โรคเท้าช้าง เป็นโรคติดต่อชนิดหนึ่งซึ่งมียุงบางชนิดเป็นพาหะ เกิดจากพยาธิตัวกลมใน Super family Filaridae มีอาการที่สำคัญคือ มีการอักเสบของต่อมและทางเดินน้ำเหลืองเป็นๆ หายๆ เมื่อเป็นนานๆ เข้า อวัยวะส่วนปลายจะบวมโตและกลายเป็นภาวะเท้าช้าง (Elephantiasis) ในที่สุด

ชนิดของเชื้อ

เชื้อพยาธิฟิลาเรียที่พบในประเทศไทยมี 2 ชนิด คือ *Brugia malayi* (รูปที่ 11) และ *Wuchereria bancrofti* (รูปที่ 12)

เชื้อพยาธิฟิลาเรีย แบ่งออกเป็น 4 สายพันธุ์ ตามรูปร่างและการปรากฏตัวของพยาธิชนิดนี้ในกระแสโลหิต (Periodicity) ดังนี้

- *Wuchereria bancroftic* nocturnally subperiodic type long strain พบที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน
- *Wuchereria bancroftic* nocturnally subperiodic type short strain พบที่จังหวัดตาก กาญจนบุรี
- *Brugia malayi* nocturnally subperiodic type พบที่จังหวัดนราธิวาส นครศรีธรรมราช และกระบี่ มีรังโรคในแมว
- *Brugia malayi* diurnally subperiodic type พบที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี

วงจรชีวิตของพยาธิโรคเท้าช้าง (Life cycle)

วงจรชีวิตของพยาธิโรคเท้าช้าง ไม่ว่าชนิดใดจะมีวงจรชีวิตคล้ายกัน โดยแบ่งเป็น 2 ระยะคือ ระยะในยุงและระยะในคน (รูปที่ 13)

1. **ระยะในยุง**

เริ่มจากยุงพาหะไปกัดคนที่มีเชื้อพยาธิไมโครฟิลาเรีย (microfilaria) ในกระแสเลือดและดูดเลือดที่มี microfilaria เข้าสู่ตัวยุง microfilaria จะผ่านเข้าสู่กระเพาะยุงและสลัดปลอกหุ้มลำตัว (sheath) ออกแล้วไชทะลุกระเพาะของยุงเคลื่อนตัวไปสู่กล้ามเนื้อบริเวณส่วนอก มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างให้อ้วนสั้นคล้ายไส้กรอก (sausage shape) โดยส่วนปลายด้านหนึ่งมีหางเรียวแหลมยื่นออกมา เรียกระยะนี้ว่า ตัวอ่อนระยะที่ 1 (L1) ระยะ L1 นี้ไม่มีการเคลื่อนไหวหลังจากนั้น L1 จะลอกคราบเปลี่ยนเป็นตัวอ่อน

ระยะที่ 2 (L2) หรือตัวอ่อนระยะก่อนการติดต่อ (Preinfective larva) มีรูปร่างที่ยาวขึ้น มีหางสั้นและจะพบตุ่ม (papillae) ยื่นออกมาบริเวณปลายหาง 1-2 อัน ระยะ L2 นี้ อาจมีการเคลื่อนไหวเล็กน้อย หลังจากนั้นจะลอกคราบเปลี่ยนเป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 (L3) หรือตัวอ่อนระยะติดต่อ (Infective larva) ซึ่งมีรูปร่างยาวขึ้น มีการเคลื่อนไหวตลอดเวลาและจะเคลื่อนไปสู่ปากยุง โดย L3 มีลักษณะดังนี้

- *W. bancrofti* จะพบว่าบริเวณหาง จะมีตุ่มยื่นออกมา 3 ตุ่ม (Three teat-like papillae) และมีขนาดเท่ากัน

- *Brugia* spp. ตุ่มที่ยื่นบริเวณหางตรงกลางจะเห็นชัดเจน ส่วนตุ่มด้านข้างทั้ง 2 อันเห็นไม่ชัด

ระยะเวลาตั้งแต่ microfilaria เข้าสู่ร่างกายยุงและเจริญจนเป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นกับชนิดของเชื้อพยาธิและอุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิพอเหมาะก็จะเจริญเป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 ได้เร็วขึ้น

- *W. bancrofti* ใช้เวลาเปลี่ยนแปลงรูปร่างจาก microfilaria จนเป็น L3 นาน 10-14 วัน

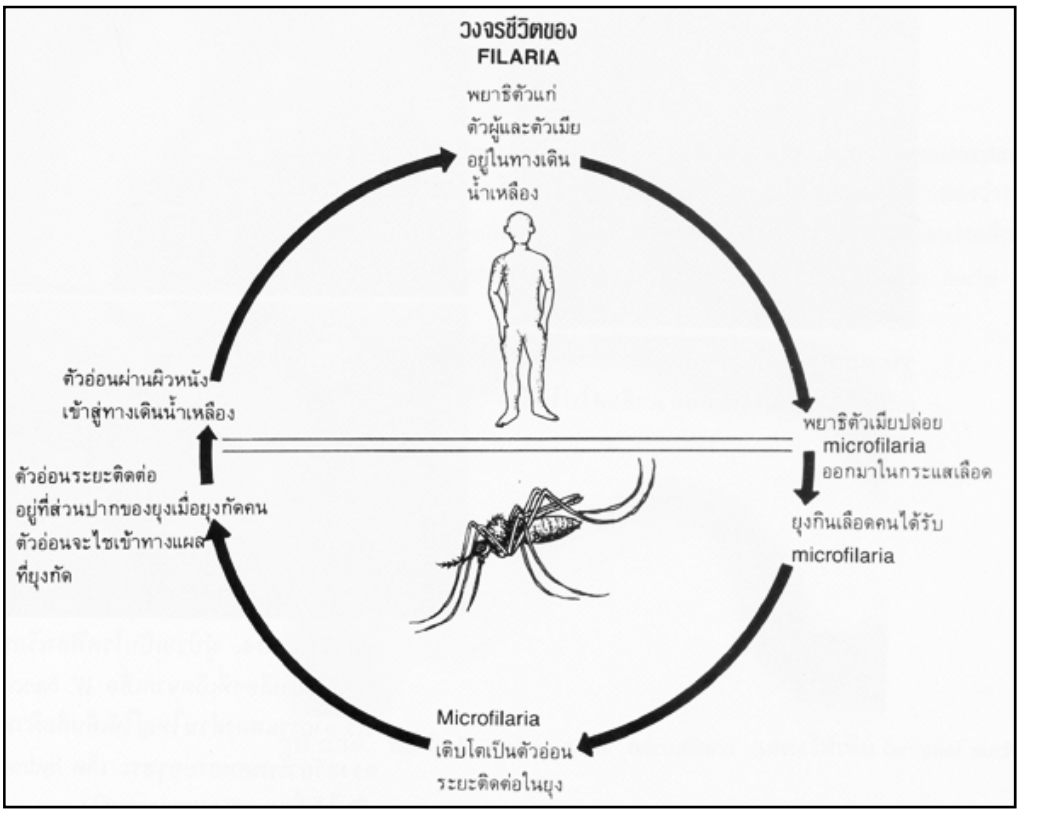
- *B. malayi* ใช้เวลาเปลี่ยนแปลงรูปร่างจาก microfilaria จนเป็น L3 นาน 7-14 วัน

2. ระยะในคน

เมื่อยุงพาหะที่มีตัวอ่อนระยะที่ 3 มากัดคน ตัวอ่อนระยะที่ 3 จะออกมาจากส่วนปากของยุง (proboscis) และตกอยู่บริเวณผิวหนังของคนที่ถูกกัด ตัวอ่อนระยะที่3 จะรีบเคลื่อนมาบริเวณแผลที่ยุงกัดและไชผ่านรอยแผลนั้น เข้าสู่ระบบน้ำเหลืองและมีการเจริญเป็นตัวอ่อนระยะที่ 4 (L4) และตัวเต็มวัย (young adult บางตำราเรียก L5) และตัวแก่ (adult) ตามลำดับ พยาธิตัวแก่เพศผู้และเพศเมียจะมีการผสมพันธุ์ แล้วพยาธิตัวเมียจะปล่อย microfilaria และ microfilaria จะเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตของคน

ระยะเวลาตั้งแต่ตัวอ่อนระยะที่ 3 เข้าสู่ร่างกายคนจนตรวจพบ microfilaria ในกระแสโลหิต (pre-patent period) ในพยาธิชนิด *Brugia* spp. จะใช้เวลาประมาณ 3 เดือน และในพยาธิชนิด *W. bancrofti* ใช้เวลาประมาณ 9 เดือน

อายุของ microfilaria โดยทั่วไปจะมีอายุประมาณ 6-12 เดือน ส่วนพยาธิตัวแก่มีอายุประมาณ 5-10 ปี สูงสุดถึง 40 ปี



รูปที่ 13 วงจรชีวิตพยาธิฟิลาเรีย

การปรากฏตัวของพยาธิโรคเท้าช้างในกระแสโลหิต (periodicity)

โดยปกติ microfilaria จะอาศัยในเส้นเลือดฝอยของปอดเป็นส่วนใหญ่ และออกมาสู่กระแสโลหิต (peripheral blood) เป็นบางช่วงเวลาเท่านั้น (periodic) โดยพบว่ามีส่วนสัมพันธ์กับช่วงเวลาการเข้ากัดของยุงและ Oxygen tension ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. ชนิดที่ปรากฏเชื้อพยาธิในโลหิตเป็นบางเวลา (periodic type) ซึ่งอาจเป็นชนิดที่ปรากฏเชื้อพยาธิในโลหิตเฉพาะเวลากลางคืน (nocturnal periodic) หรือเป็นชนิดที่ปรากฏเชื้อพยาธิในโลหิตเฉพาะเวลากลางวัน (diurnal periodic)

2. ชนิดที่ปรากฏเชื้อพยาธิในโลหิตตลอดเวลา แต่บางช่วงเวลาจะพบเชื้อหนาแน่น (subperiodic type) โดยอาจเป็นชนิดที่พบเชื้อพยาธิในเวลากลางคืนมากกว่ากลางวัน (nocturnal subperiodic) หรือเป็นชนิดที่พบเชื้อพยาธิในโลหิตเวลากลางวันมากกว่ากลางคืน (diurnal subperiodic)

ในคนไทยพบเชื้อพยาธิในโลหิต 2 ชนิด 5 strain คือ

ก. *Wuchereria bancrofti* nocturnally subperiodic type long strain พบที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน

ข. *Wuchereria bancrofti* nocturnally subperiodic type short strain พบที่จังหวัดตาก กาญจนบุรี

ค. *Brugia malayi* nocturnally periodic type ไม่พบในปัจจุบัน

ง. *Brugia malayi* nocturnally subperiodic type พบที่จังหวัดนราธิวาส มีรังโรคในแมว สุนัข

จ. *Brugia malayi* diurnally periodic type พบที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี

รังโรคในสัตว์ (Animal reservoir)

จากการศึกษาพบว่าเชื้อที่เป็น subperiodic *Brugia malayi* จะมีรังโรคอยู่ในสัตว์บางชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเลี้ยงลูกด้วยนมและสามารถแพร่พันธุ์ได้ โดยมียุงบางชนิดมากัดเลือดนำไปแพร่สู่โฮสต์ใหม่ เช่น แมว สุนัข และค่าง ซึ่งสัตว์เหล่านี้จะเป็นเพียงที่ให้พยาธิอาศัยอยู่และไม่ทำให้เกิดอาการบวมโตต่อสัตว์ดังกล่าว ในปี พ.ศ. 2539 มีการสำรวจรังโรคในสัตว์ในประเทศไทย พบแมวและสุนัขในจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีการติดเชื้อประมาณ 8%

ยุงพาหะนำโรคเท้าช้าง (Vectors)

พาหะนำโรคเท้าช้างในปัจจุบัน แบ่งได้ตามชนิดของเชื้อพยาธิ

1. ยุงพาหะที่นำเชื้อพยาธิ *B. malayi* ได้แก่ ยุงสกุลแมนโซเนีย (*Mansonia* spp.) (รูปที่ 14) และยังพบว่ายุงสกุล *Anopheles* spp. บางตัว และ *Coquilletidia* spp. สามารถนำโรคได้

2. ยุงพาหะที่นำเชื้อพยาธิ *W. bancrofti* ได้แก่ ยุงลาย (*Aedes* spp.) (รูปที่ 15) และยุงสกุลแมนโซเนีย *(Mansonia* spp.) บางตัว และยุงรำคาญ (*Culex* spp.) บางชนิด

พื้นที่แหล่งแพร่โรคเท้าช้างในประเทศไทย

ประเทศไทยพบผู้ป่วยโรคเท้าช้างชนิด *Brugia malayi* ส่วนใหญ่พบในบริเวณรอบป่าพรุ (Forest swamp) บางพื้นที่ของสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ และนราธิวาส สำหรับผู้ป่วยโรคเท้าช้างชนิด *Wuchereria*

bancrofti สายพันธุ์เขตชนบท พบในบริเวณป่าชื้นที่มีต้นไผ่ ชายแดนไทย-พม่า จังหวัดแม่ฮ่องสอน ตาก กาญจนบุรี (รูปที่ 16 - 17)

พยาธิสภาพ (Pathology)

พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากตัวแก่และระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีต่อตัวพยาธิ บุคคลที่มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อพยาธิน้อยมักจะไม่ปรากฏอาการ ในขณะที่บุคคลที่มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อพยาธิมากจะพบว่ามีการอุดตันเกิดขึ้น แต่โดยทั่วไปพยาธิจะกดระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายไว้ไม่ให้มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อพยาธิ การเคลื่อนไหวของพยาธิตัวแก่และสารที่ขับออกมาในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่จะทำให้ Endothelial cell ของหลอดน้ำเหลืองขยายกว้างออกซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการคั่งของน้ำเหลืองแต่ไม่ถึงขั้นอุดตัน พยาธิสภาพเหล่านี้จะมีผลทำให้การติดเชื้อจากแบคทีเรียและเชื้อราง่ายขึ้น ซึ่งจะนำไปสู่การเกิดการอักเสบอย่างเฉียบพลันของต่อมและทางเดินน้ำเหลืองเป็นๆ หายๆ การอักเสบเหล่านี้จะเพิ่มการทำลายหลอดน้ำเหลือง และเกิดการคั่งของน้ำเหลืองมากขึ้น การคั่งของน้ำเหลืองที่บริเวณอวัยวะส่วนปลาย เช่น แขน ขา เป็นพยาธิสภาพที่สำคัญของการติดเชื้อ *B. malayi* ขณะที่การคั่งของน้ำเหลืองบริเวณอัณฑะ (hydrocele) เป็นพยาธิสภาพที่สำคัญของการติดเชื้อ *W. bancrofti*

หลังจากที่พยาธิตัวแก่ตายลง ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะกลับสู่ภาวะปกติ ซึ่งส่งผลให้ร่างกายมีปฏิกิริยาต่อพยาธิ โดยมี cell ที่ทำหน้าที่ทำลาย เช่น eosinophils และ mononuclear มาล้อมตัวพยาธิเกิดเป็น granuloma จนในที่สุดจะมีขบวนการเกิดหินปูนมาเกาะและเกิดการอุดตันของหลอดน้ำเหลืองและถ้าหลอดน้ำเหลืองแขนงรอบๆ ถูกทำลายและอุดตันด้วยก็จะทำให้เกิดการคั่งของน้ำเหลืองมากขึ้น เมื่อเป็นนานๆ เข้าจะเกิดพังผืด (fibrosis) ของเนื้อเยื่อบริเวณนั้น รวมทั้งมีการหนาตัวของผิวหนังเกิดเป็นภาวะเท้าช้าง (elephantiasis) การอุดตันของต่อมน้ำเหลืองที่บริเวณช่องหลังเยื่อบุช่องท้องในผู้ติดเชื้อ microfilaria จะเป็นสาเหตุให้น้ำเหลืองไหลกลับไปที่หลอดน้ำเหลืองโดยตรง และจะทำให้เกิดภาวะที่ปัสสาวะมีน้ำเหลืองปนออกมา ซึ่งมีลักษณะขุ่นขาวคล้ายน้ำนม (chyluria) สำหรับ microfilaria โดยปกติตัว microfilaria และสิ่งขับถ่ายจะไม่ทำให้เกิดพยาธิสภาพแต่ในผู้ป่วยบางคนที่ร่างกายมีปฏิกิริยาต่อพยาธิมากจะเกิดการเพิ่มขึ้นของ eosinophils เพื่อที่จะกำจัด microfilaria โดยจะพบส่วนใหญ่ที่บริเวณปอด เนื่องจากมี microfilaria อยู่เป็นจำนวนมากเป็น Tropical Pulmonary Eosinophilia (TPE) ในบางรายอาจจะพบว่ามี Ag-Ab complex ก่อตัวไปติดอยู่ที่ glomeruli ทำให้มีการอักเสบของไต อาการแสดงคือ ปัสสาวะมีโลหิต ซึ่งต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ แต่พบน้อยมาก อาการนี้จะเกิดกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อ microfilaria

อาการ (Symptom)

อาการและอาการแสดงที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกัน ขึ้นกับพื้นที่ที่เกิดโรคซึ่งแบ่งได้ดังนี้

1. ไม่มีอาการ (70-80%) ผู้ป่วยพวกนี้จะไม่มีอาการปรากฏให้เห็น อาจจะพบหรือไม่พบ microfilaria ในกระแสโลหิตก็ได้ การตรวจไม่พบ microfilaria เนื่องจากอยู่ในระยะ prepatent period หรือมี microfilaria น้อยมากที่การตรวจวินิจฉัยโดยวิธีที่เป็นมาตรฐานจะตรวจพบได้ ในผู้ป่วยพวกนี้พบว่ามีความผิดปกติของระบบทางเดินน้ำเหลือง ในบางรายผู้ป่วยจะมี microfilaria อยู่ในโลหิตโดยที่ไม่มีอาการไปตลอดชีวิต

2. ปรากฏอาการ (20-30%) ผู้ป่วยพวกนี้อาจจะพบหรือไม่พบ microfilaria ในโลหิตก็ได้แต่โดยทั่วไปจะไม่พบ อาการแสดงสามารถแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ

2.1 อาการเฉียบพลัน ลักษณะอาการที่เกิดขึ้นจากต่อมน้ำเหลืองที่บวมเกิดการอักเสบอย่างเฉียบพลันซ้ำๆ หลายครั้ง นอกจากนี้จะมีอาการปวด มีไข้ และความรู้สึกไม่สบายกายร่วมด้วย อาการที่เกิดขึ้นเป็นเวลานานประมาณ 3-5 วัน และจะหายไปได้เองโดยไม่ต้องรักษา ความถี่ของการเกิดอักเสบประมาณ 5-10 ครั้ง/ปี อาการเหล่านี้จะสัมพันธ์กับการติดเชื้อซ้ำ (secondary infection) และจะเกิดขึ้นภายหลังจากติดเชื้อพยาธิแล้วประมาณ 3-9 เดือน

2.2 อาการเรื้อรัง อาการจะเริ่มต้นจากมีการบวมของน้ำเหลืองซ้ำๆ หลายครั้ง กดบุ๋ม และในที่สุดเกิดเป็นภาวะเท้าช้าง (elephantiasis) อาการเหล่านี้จะเกิดขึ้นภายหลังจากติดเชื้อพยาธิแล้วประมาณ 5-10 ปี

ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *B. malayi* จะมีอาการแสดงที่สำคัญคือ ขาโต โดยมีพยาธิสภาพตั้งแต่ใต้เข่าลงไป และบางครั้งก็จะพบที่แขนตั้งแต่ใต้ข้อศอกลงไป ในขณะที่ผู้ติดเชื้อ *W. bancrofti* จะเกิดพยาธิสภาพที่บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ได้ โดยถ้าเป็นผู้หญิงอาจจะพบอาการบวมของ vulva และที่หน้าอก ส่วนในผู้ชายพบว่ามีการคั่งของน้ำเหลืองในอัณฑะ (hydrocele) และปัสสาวะเป็นสีขุ่นขาวเหมือนน้ำนม (chyluria) แต่ในบางรายอาจพบการบวมที่แขนขาได้ แต่จะเป็นการบวมตลอดทั้งขาหรือแขน (รูปที่ 18 - 21)

การจัดระดับอวัยวะบวมโต

ระดับ 1 บวมเล็กน้อย กดบุ๋ม ผิวหนังเรียบ ไม่แข็ง หรือขรุขระ (รูปที่ 22)

ระดับ 2 บวมมาก กดไม่บุ๋ม ผิวหนังแข็ง ขรุขระเล็กน้อย (รูปที่ 23)

ระดับ 3 บวมจนเสียรูปทรง กดไม่บุ๋ม ผิวหนังแข็ง ขรุขระมากจนคล้ายดอกกะหล่ำ (รูปที่ 24)

2.3 อาการแสดงอื่นๆ ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *W. bancrofti* อาจมีภาวะไตอักเสบ ซึ่งแสดงออกโดยปัสสาวะมีโลหิต (haematuria) นอกจากนี้อาจพบภาวะ TPE ซึ่งจะมีอาการไอตอนกลางคืน และมี eosinophil ในโลหิตสูง

การวินิจฉัย (Diagnosis)

1. การซักประวัติว่าอยู่ในพื้นที่ที่เป็นแหล่งโรคเท้าช้าง และหรือมีอาการต่อมน้ำเหลืองอักเสบเฉียบพลันเป็นๆ หายๆ

2. การตรวจร่างกาย ตรวจพบต่อมน้ำเหลืองบวมโต หรืออวัยวะบวมโต โดยต้องแยกโรคอื่นๆ ออก เช่นการติดเชื้อจากแบคทีเรีย เนื้องอก ได้รับอุบัติเหตุ ไส้เลื่อน เป็นต้น

3. การตรวจหาตัวพยาธิ มีดังนี้

3.1 ตรวจหา microfilaria ในโลหิตโดยใช้วิธี Thick film technique, Counting chamber, Knott's concentration, Membrane filtration เป็นต้น แต่ละวิธีต้องเจาะโลหิตในเวลาที่ถูกต้อง (รูปที่ 25)

3.2 ตรวจหา Circulate filarial antigen (CFA) วิธีนี้ตรวจหา microfilaria ได้ทุกเวลาแต่ใช้ได้เฉพาะกับเชื้อ *W. bancrofti* เท่านั้น ซึ่งวิธีที่ใช้มีทั้ง ELISA กับ Card test

3.3 ตรวจหา DNA ของพยาธิโดยใช้วิธี PCR ซึ่งวิธีนี้สามารถใช้ได้กับเชื้อ *W. bancrofti* และ *B. malayi* แต่ต้องทำเฉพาะในห้อง Lab ที่ได้มาตรฐานและเจ้าหน้าที่ได้รับการฝึกอย่างชำนาญเท่านั้น

3.4 ตรวจหา Antibody โดยใช้ชุดตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างแบบรวดเร็ว Filaria $DIAG_{RAPID}$ (A rapid immunochromatography test for antifilarial IgG4 antibodies detection in human blood) วิธีนี้ใช้ได้สะดวกสามารถนำไปใช้ในพื้นที่ได้และใช้ในเวลาไหนก็ได้ โดยอ่านผลภายใน 15 นาที (รูปที่ 26) และ BrugiaRapid™ (A rapid immunochromatographic test to detect specific IgG4 antibodies against *Brugia malayi* and *Brugia timori*) สามารถใช้เวลาไหนก็ได้เช่นกัน โดยอ่านผลภายใน 25 นาที (รูปที่ 27)

3.5 ตรวจหาพยาธิตัวแก่โดยใช้ Ultrasound วิธีนี้สามารถมองเห็นการเคลื่อนไหวของพยาธิตัวแก่ที่อาศัยอยู่ที่บริเวณต่อมน้ำเหลือง (lymph node)

การรักษา (Treatment)

1. การรักษาด้วยยา

ยาที่ใช้ คือ Diethylcarbamazine Citrate (DEC) (รูปที่ 28-29) เป็นยาที่รักษาโรคเท้าช้างที่ใช้มานานกว่า 40 ปี และเป็นยาที่ดีอยู่ในปัจจุบัน มีผลข้างเคียงน้อยมาก ยานี้มีฤทธิ์ฆ่า microfilaria ในโลหิตและมีรายงานว่าสามารถฆ่าหนอนพยาธิโรคเท้าช้างตัวเต็มวัยได้และลดการอักเสบของทางเดินน้ำเหลืองด้วย ปัจจุบันยังไม่มีรายงานที่แสดงว่าโรคนี้ดื้อต่อยา DEC

ขนาดของยา: ขนาด 6 มก./น้ำหนักตัว 1 กก./วัน

ชนิดเชื้อ:

- *Wuchereria bancrofti*: กินยา DEC ครั้งละ 1 วัน ทุก 6 เดือน นาน 2 ปี
- *Brugia malayi*: กินยา DEC ครั้งละ 6 วัน ทุก 6 เดือน นาน 2 ปี

จำนวน dose ที่ให้และช่วงระยะเวลาในแต่ละ dose ดังตารางที่ 1 ทั้งนี้ต้องติดตามเจาะเลือดซ้ำทุก 6 เดือน (5 ครั้งในเวลา 2 ปี) และเจาะเลือดก่อนให้ผู้ป่วยรับประทานยา

ตารางที่ 1 การจ่ายยา DEC ขนาด 50 มก./เม็ด ใน 1 วัน โดยแบ่งกลุ่มตามอายุ

กลุ่มอายุ	จำนวนยาต่อมื้อ/วัน (เม็ด)		
	หลังอาหารเช้า	หลังอาหารกลางวัน	หลังอาหารเย็น
15 ปีขึ้นไป	2	2	2
9-14 ปี	2	-	2
4-8 ปี	1	-	1
1-3 ปี	1/2	-	1/2
6-11 เดือน	-	-	1/2

หมายเหตุ: ถ้าผลตรวจเลือด 2 ครั้งสุดท้าย (ครั้งที่ 4, 5) ไม่พบเชื้อพยาธิฯ ให้หยุดยาได้ แต่ถ้ายังพบเชื้อพยาธิฯ ในเลือดให้รับประทานยา DEC ต่อและติดตามเจาะเลือดทุก 6 เดือน จนกว่าผลการตรวจเลือด 2 ครั้งสุดท้ายไม่พบเชื้อพยาธิฯ จึงหยุดยาได้

ผลข้างเคียง แบ่งได้เป็น 2 ประเภท

1. เกิดจากพิษของยา ขึ้นอยู่กับขนาดของยาหรือผู้นั้นมีปฏิกิริยาไวต่อยา กล่าวคือผู้ป่วยจะมีอาการอ่อนเพลียเวียนศีรษะง่วงนอนเบื่ออาหารและคลื่นไส้อาเจียน อาการเหล่านี้เกิดขึ้นหลังจากกินยา 1-2 ชั่วโมง และจะหายไปเองภายในวันนั้น อย่างไรก็ดีถึงแม้จะกินยาติดต่อกันเป็นเวลานานๆ ยังไม่เคยแสดงพิษยาเรื้อรัง

2. เกิดจากการทำลาย microfilaria เมื่อ microfilaria ในโลหิตถูกทำลาย สารโปรตีนจาก microfilaria ที่ตายแล้วจะทำปฏิกิริยาภูมิแพ้ ผู้ป่วยจะมีอาการไข้ ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว ปวดข้อ เวียนศีรษะ เบื่ออาหารและคลื่นไส้อาเจียน อาการเหล่านี้เกิดขึ้น ภายใน 1-2 ชั่วโมง หลังกินยาครั้งแรกหรือวันแรกๆ และจะหายไปเองภายใน 2-3 วัน การทำลายพยาธิตัวเต็มวัยอาจทำให้ต่อมและท่อน้ำเหลืองอักเสบเกิดฝีที่ไข่ดันแล้วแตกออกมีบวมน้ำเหลืองของแขนขาชั่วคราว ในราย Bancroftian filariasis อาจมีการอักเสบที่อวัยวะสืบพันธุ์ ภายหลังกินยา 3 วัน ถึง 4 สัปดาห์ เกิดนาน 1-2 สัปดาห์ และจะหายไปเอง

การรักษาอาการข้างเคียง

1. กินยาพาราเซตามอล (500 มก.) ในกรณีเป็นไข้ ปวดเมื่อย 1/2 เม็ด สำหรับเด็ก 1 เม็ด สำหรับผู้ใหญ่

หมายเหตุ: กินยาเวลามีไข้ หรือทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 2-3 วัน

2. กินยาคลอเฟนิรามีน (4 มก.) ในกรณีเป็นผื่นคัน ลมพิษ และอาการอื่นๆ 1/2 เม็ด สำหรับเด็ก และ 1 เม็ด สำหรับผู้ใหญ่

หมายเหตุ: เวลามีอาการ หรือรับประทาน 3 เวลาหลังอาหารเป็นเวลา 2-3 วัน

ผู้ที่ห้ามรับประทานยา DEC

1. เด็กอายุต่ำกว่า 6 เดือน ในกรณีที่ตรวจพบเชื้อพยาธิ microfilaria ในกระแสเลือดไม่ควรจ่ายยา DEC เพราะอวัยวะขับถ่ายของเสีย ได้แก่ ตับ ไต ยังพัฒนาไม่เต็มที่

2. หญิงมีครรภ์ ผู้ป่วยหญิงมีครรภ์และตรวจพบ microfilaria ในกระแสเลือด ไม่จ่ายยา DEC เพื่อป้องกันภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นกับทารกในครรภ์ สำหรับพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคควรแนะนำให้หญิงมีครรภ์นอนในมุ้ง เพื่อป้องกันมิให้ยุงพาหะกัดและนำเชื้อแพร่ไปสู่คนอื่น

3. ผู้ป่วยโรคเรื้อรัง ได้แก่ โรคตับอักเสบ ไตวาย เป็นต้น รวมทั้งผู้ที่มีสุขภาพอ่อนแอ การกินยา DEC ให้ขึ้นอยู่กับดุลยพินิจของแพทย์

การใช้ยาอื่นๆ เช่น

- Ivermectin 400 microgram/kg
- Ivermectin 200 microgram/kg+DEC 6 mg/kg
- Ivermectin 200 microgram/kg+DEC 6 mg/kg + albendazone 400 mg

ได้ผลดีในการควบคุม microfilaria แต่ไม่สามารถฆ่าตัวแก่และลดการอักเสบของ lymph vessel ได้ ยกเว้น regimen ที่ 3 สามารถฆ่าตัวแก่ได้

2. การรักษาตามอาการ

2.1 การปฏิบัติตัวของผู้ป่วยที่มีต่อมน้ำเหลืองอักเสบ

2.1.1. ให้ยา paracetamol เพื่อบรรเทาอาการปวด บวม ไข้ เท่าที่จำเป็น

2.1.2. พักการใช้อวัยวะที่มีต่อมน้ำเหลืองอักเสบ

2.1.3. ดูแลความสะอาดของร่างกายโดยเฉพาะอวัยวะที่มีต่อมน้ำเหลืองอักเสบ เพื่อป้องกันการติดเชื้อซ้ำ เช่น ทำความสะอาดและตัดเล็บมือ เล็บเท้า

2.1.4. ในกรณีที่ต่อมน้ำเหลืองอักเสบจนเป็นหนอง ควรได้รับการผ่าตัด และติดตามรักษาโดยอยู่ในความดูแลของแพทย์

2.2 การปฏิบัติตัวของผู้ป่วยที่มีอวัยวะบวมโต

2.2.1. ดูแลความสะอาดของร่างกายโดยเฉพาะอวัยวะที่บวมโต โดยฟอกให้สะอาดด้วยสบู่ที่ผสม glycerine 2% หรือสบู่อื่นๆ ที่ไม่ระคายเคืองต่อผิวหนัง (รูปที่ 30)

2.2.2. ถ้ามีเชื้อราควรทายา Whitfield ointment ระหว่างนิ้วเท้าและซอกเล็บเพื่อรักษาและจะช่วยทำให้ผิวหนังอ่อนนุ่ม ทั้งนี้ควรอยู่ในความดูแลของแพทย์ (รูปที่ 31)

2.2.3. ตัดเล็บมือ เล็บเท้าให้สั้นอยู่เสมอ เพื่อป้องกันรอยเกาถลอกที่ผิวหนัง เมื่อเกิดอาการคัน

2.2.4. ระมัดระวังอุบัติเหตุที่อาจเกิดขึ้นกับอวัยวะที่บวมโต

2.2.5. นวดบริเวณที่บวมโตเพื่อกระตุ้นระบบไหลเวียน และลดการคั่งของน้ำเหลือง (รูปที่ 32)

2.2.6. ใส่ถุงน่องผ้ายางยืดเป็นประจำในเวลากลางวัน เพื่อลดการคั่งของน้ำเหลืองที่อวัยวะส่วนปลายในผู้ป่วยที่มีอาการบวมครั้งแรก (รูปที่ 33)

2.2.7. นอนยกขาสูงในเวลากลางคืนและหลังจากเสร็จสิ้นการนวดด้วยมือ

2.2.8. ขันชะเนาะ วิธีนี้จะต้องอยู่ในความดูแลของแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ (รูปที่ 34)

ในผู้ป่วยบางรายแพทย์อาจพิจารณาทำการผ่าตัดให้เป็นรายๆ ไป (รูปที่ 35)

วิธีปฏิบัติในการดูแลผู้ป่วยปรากฏอาการโรคเท้าช้าง

ผู้ป่วยปรากฏอาการโรคเท้าช้างส่วนใหญ่จะแสดงอาการ แบ่งได้เป็น 2 ลักษณะ

ก. มีไข้ ปวดศีรษะ ปวด บวมแดง ร้อน ลักษณะเป็นแนวยาวตรงบริเวณต่อม/ท่อทางเดินน้ำเหลืองซึ่งเกิดจากการอักเสบของต่อม/ท่อทางเดินน้ำเหลือง ทำให้ผู้ป่วยรู้สึกไม่สบายและเจ็บปวดมาก ในขั้นต้นช่วยบรรเทาอาการเจ็บปวดและลดไข้เสียก่อน โดยให้ปฏิบัติ ดังนี้

- ประคบเย็นบริเวณที่ปวด
- ให้ผู้ป่วยพักและยกขาสูงในท่าที่สบาย
- ถ้ามีไข้หรือปวดมากให้รับประทานยาลดไข้ เช่น ยาพาราเซตามอลและดื่มน้ำมากๆ
- ล้างทำความสะอาดขาตามปกติ

ข. อวัยวะบวมโต เกิดจากการคั่งของน้ำเหลืองที่อวัยวะส่วนปลาย ซึ่งส่วนใหญ่จะแสดงอาการขาบวมโต ในผู้ป่วยที่ไม่ดูแลหรือดูแลขาโตไม่ถูกต้อง ทำให้เกิดการติดเชื้อเพิ่มขึ้น ส่งผลให้อาการเลวลงยิ่งขึ้น ดังนั้นผู้ป่วยขาโตจึงควรปฏิบัติ ดังนี้

1. ล้างทำความสะอาด ผู้ป่วยที่ขาโตมักมีปัญหาเรื่องผิวหนัง คือ ผิวจะแห้ง หยาบกร้าน บางรายจะพบว่ามีรอยพับของผิวหนังซึ่งเป็นที่อับชื้นและมีแผลเรื้อรังเกิดขึ้น เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการอักเสบเพิ่มขึ้นส่งผลให้ขาโตมากขึ้นเรื่อยๆ การล้างขาเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดการอักเสบและการบวมโตของขาได้ แต่การล้างต้องทำอย่างถูกวิธี ดังนี้

- ผู้ล้างควรตัดเล็บมือให้สั้น
- ก่อนล้าง ตรวจสอบสภาพผิวหนังก่อนว่าผิวแห้งหรือมีบาดแผลหรือไม่ โดยเฉพาะบริเวณรอยพับง่ามนิ้วเท้า และรอยถลอกขีดข่วน
- ราดน้ำให้ขาเปียก แล้วถูสบู่ให้ทั่วขา เน้นบริเวณที่เป็นรอยพับของผิวหนังและง่าม/ซอกนิ้วเท้า โดยการใช้ผ้านิ่มๆ ผืนเล็กๆ ที่สะอาด ช่วยฟอกและถู จะทำให้ฟอกสบู่ได้ทั่วถึง
- ห้ามใช้แปรงขัดหรือถู
- เมื่อถูสบู่จนทั่วขาแล้วล้างตามด้วยน้ำให้สะอาด
- หลังล้างแล้วต้องซับและเช็ดให้แห้งไม่ปล่อยให้เปียกชื้น
- การล้างขาสามารถทำได้ทุกครั้งขณะอาบน้ำเช้า-เย็น หรือเมื่อขาสกปรก

2. การป้องกันและรักษาบาดแผล

2.1 การสวมรองเท้า จะช่วยป้องกันไม่ให้เกิดบาดแผล แต่รองเท้าควรนุ่มสบายไม่รัดแน่นเกินไป ดังนั้นควรเลือกรองเท้าที่มีลักษณะต่อไปนี้

- ปกป้องเท้าช้างจากสิ่งสกปรก
- สวมใส่สบาย ไม่รัดแน่นเกินไปทำให้ขอบรองเท้ากดรัดเกิดบาดแผล
- อากาศถ่ายเทสะดวก
- ส้นรองเท้าไม่สูงมากนัก

2.2 การรักษาบาดแผล โดยปกติบนผิวหนังมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่ เมื่อใดที่ผิวหนังมีรอยถลอกหรือบาดแผล เชื้อจุลินทรีย์นี้ก็จะเข้าสู่บาดแผลนั้น และหากมีการปนเปื้อนเชื้อโรคชนิดอื่นที่อยู่รอบๆ ตัวเราอีกจะทำให้เชื้อเหล่านั้นเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการอักเสบในเวลาต่อมา ดังนั้นหากพบว่ามีบาดแผลให้แนะนำผู้ป่วยไปพบเจ้าหน้าที่เพื่อตรวจและให้การรักษาที่ถูกต้องต่อไป

3. การบริหารขา เป็นการช่วยส่งเสริมให้การไหลเวียนของเลือดและน้ำเหลืองดีขึ้นการบริหารขาสามารถทำที่ไหนและเมื่อใดก็ได้เท่าที่ผู้ป่วยสะดวกและโอกาสอำนวย มีทั้งหมด 3 ท่า คือ

ท่าที่ 1 “ยืนยกส้นเท้า”

- ยืนตรงโดยให้เท้าทั้ง 2 ข้างห่างกันเล็กน้อย
- เขย่งปลายเท้าทั้ง 2 ข้างขึ้นพร้อมๆ กันและวางเท้าลง เพื่อความสะดวกอาจใช้มือยันกำแพงหรือผนังบ้านก็ได้
- ทำซ้ำเช่นนี้ 5-15 ครั้ง หรือมากเท่าที่สามารถทำได้
- ถ้าผู้ป่วยไม่สามารถยกส้นเท้าทั้ง 2 ข้างในเวลาเดียวกัน ก็สามารถยกส้นเท้าทีละข้างได้

ท่าที่ 2 “กระดกปลายเท้า”

- ผู้ป่วยสามารถบริหารท่านี้ได้ในขณะนั่ง นอน หรือยืน
- กระดกนิ้วเท้าขึ้น-ลง ทีละข้าง ดังแสดงในภาพ
- ทำซ้ำเช่นนี้ 5-15 ครั้ง หรือมากเท่าที่จะทำได้
- ขาอีกข้างทำเช่นเดียวกัน

ท่าที่ 3 “หมุนปลายเท้าเป็นวงกลม”

ขณะกำลังนั่งหรือนอน ให้หมุนปลายเท้าเป็นวงกลมไปทางขวา 5-15 ครั้ง และไปทางซ้าย 5-10 ครั้ง ขาอีกข้างทำเช่นกัน ถ้านั่งที่พื้นควรใช้หมอนหรือผ้ารองเท้าก่อนบริหาร

4. การยกขา เป็นสิ่งสำคัญสำหรับผู้ป่วยเพราะจะช่วยไม่ให้มีการคั่งของของเหลวที่ขาและการบวมจะลดลง เมื่อยกขา ท่ายกขาที่ถูกต้องเป็นสิ่งสำคัญมาก มีดังนี้

ท่านั่ง:

- ใช้หมอนใบเล็กหรือผ้าวางรองใต้เข่าในกรณีผู้ป่วยนั่งที่พื้น
- สำหรับผู้ป่วยที่นั่งบนเก้าอี้ให้วางขาบนเก้าอี้อีกตัว
- ยกขาทั้ง 2 ข้างถ้าเป็นไปได้
- วางเท้าให้สูงระดับเดียวกับสะโพก ถ้าผู้ป่วยรู้สึกไม่สุขสบายก็เพียงยกขาให้สูงที่สุดเท่าที่ทำได้

ท่านอน:

- ยกปลายเตียงให้สูงหรือใช้ของ เช่น หมอน ก้อนอิฐ วางใต้ฟูกที่ปลายเตียง
- ยกปลายเตียงให้สูงอยู่ระดับหน้าอกของผู้ป่วย (ขณะนอน)
- วางหมอนใบเล็กหรือผ้าไว้ใต้เข่า
- ยกทั้งขาไม่ใช่แค่เท้า

คำเตือน: ผู้ป่วยที่มีโรคหัวใจร่วมด้วยไม่ต้องยกขา ถ้าไม่ได้รับคำแนะนำจากแพทย์

5. การนวด จะช่วยกระตุ้นระบบไหลเวียนและลดการคั่งของน้ำเหลือง

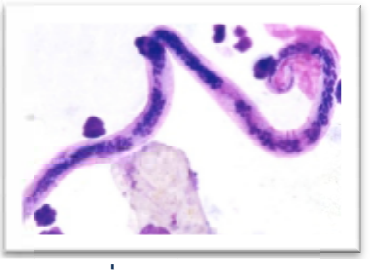
การป้องกัน (Prevention)

- หลีกเลี่ยงการถูกยุงกัด โดยนอนในมุ้ง สวมใส่เสื้อผ้ามิดชิด สุมไฟไล่ยุงหรือทายาป้องกันยุงกัด
- ทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ยุง โดยใช้ฝาปิดภาชนะรองรับน้ำ คว่ำภาชนะและวัสดุที่มีน้ำขัง ถากถางและกำจัดวัชพืชน้ำ เช่น จอกแหน ผักตับชวา ทำลายตอไม้ โพรงไม้ที่น้ำขังเพื่อป้องกันยุงวางไข่
- หากอาศัยอยู่ในพื้นที่มีโรคเท้าช้างชุกชุมหรือทำงานในแหล่งระบาดของโรค ควรตรวจโลหิตหาเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างอย่างน้อยปีละครั้ง

เอกสารอ้างอิง

1. กรมควบคุมโรคติดต่อ. กองโรคเท้าช้าง. โรคเท้าช้าง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. 2541.
2. กรมควบคุมโรคติดต่อ. กองโรคเท้าช้าง. รายงานการควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส. (เอกสารอัดสำเนา)
3. กรมควบคุมโรค. สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง. คู่มือผู้ปฏิบัติงานโรคติดต่อนำโดยแมลง สำหรับอาสาสมัคร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ: สำนักอักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์. 2550.

รูปที่ 11 *B. malayi*

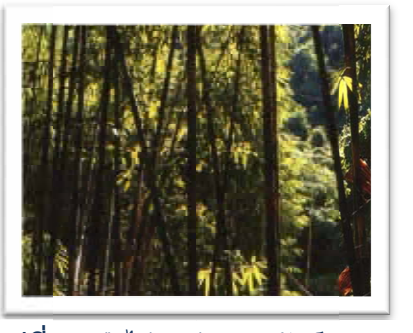


รูปที่ 12 *W. bancrofti*

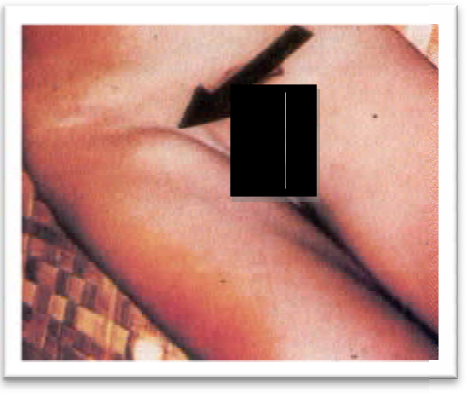
รูปที่ 14 ยุงเสือ (*Mansonia*)

รูปที่ 15 ยุงลาย (*Aedes*)

รูปที่ 16 ป่าพรุแหล่งเพาะพันธุ์ยุงเสือ
(พาหะนำเชื้อ *B. malayi*)



รูปที่ 17 ป่าไผ่แหล่งเพาะพันธุ์ยุงลาย
(พาหะนำเชื้อ *W. bancrofti*)



รูปที่ 18 ต่อมน้ำเหลืองโต

รูปที่ 19 แขนและขาโต

รูปที่ 20 ขาโต

รูปที่ 21 อัณฑะโต

รูปที่ 22 อวัยวะบวมโต
ระดับที่ 1

รูปที่ 23 อวัยวะบวมโต
ระดับที่ 2

รูปที่ 24 อวัยวะบวมโต
ระดับที่ 3

รูปที่ 25 ตรวจหา microfilaria ในโลหิตโดยวิธี Thick film

รูปที่ 26 ชุดตรวจแอนติบอดีโรคเท้าช้าง
สำเร็จรูป Filaria $DIAG_{RAPID}$

รูปที่ 27 ชุดตรวจแอนติบอดีโรคเท้าช้าง
สำเร็จรูป Brugia Rapid™

รูปที่ 28 DEC ขนาด 50 มิลลิกรัม

รูปที่ 29 DEC ขนาด 300 มิลลิกรัม

รูปที่ 30 การดูแลความสะอาดของร่างกายโดยเฉพาะอวัยวะที่บวมโต

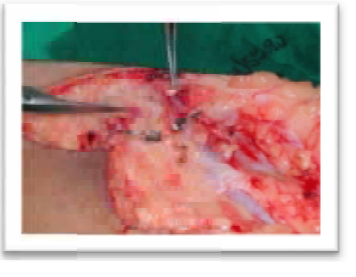
รูปที่ 31 ถ้ามีเชื้อราควรทายา Whitfield ointment

รูปที่ 32 การนวดบริเวณที่บวมโต

รูปที่ 33 การใส่ถุงน่องผ้ายางยืด

รูปที่ 34 การขันชะเนาะ

(ก)



(ข)

(ค)

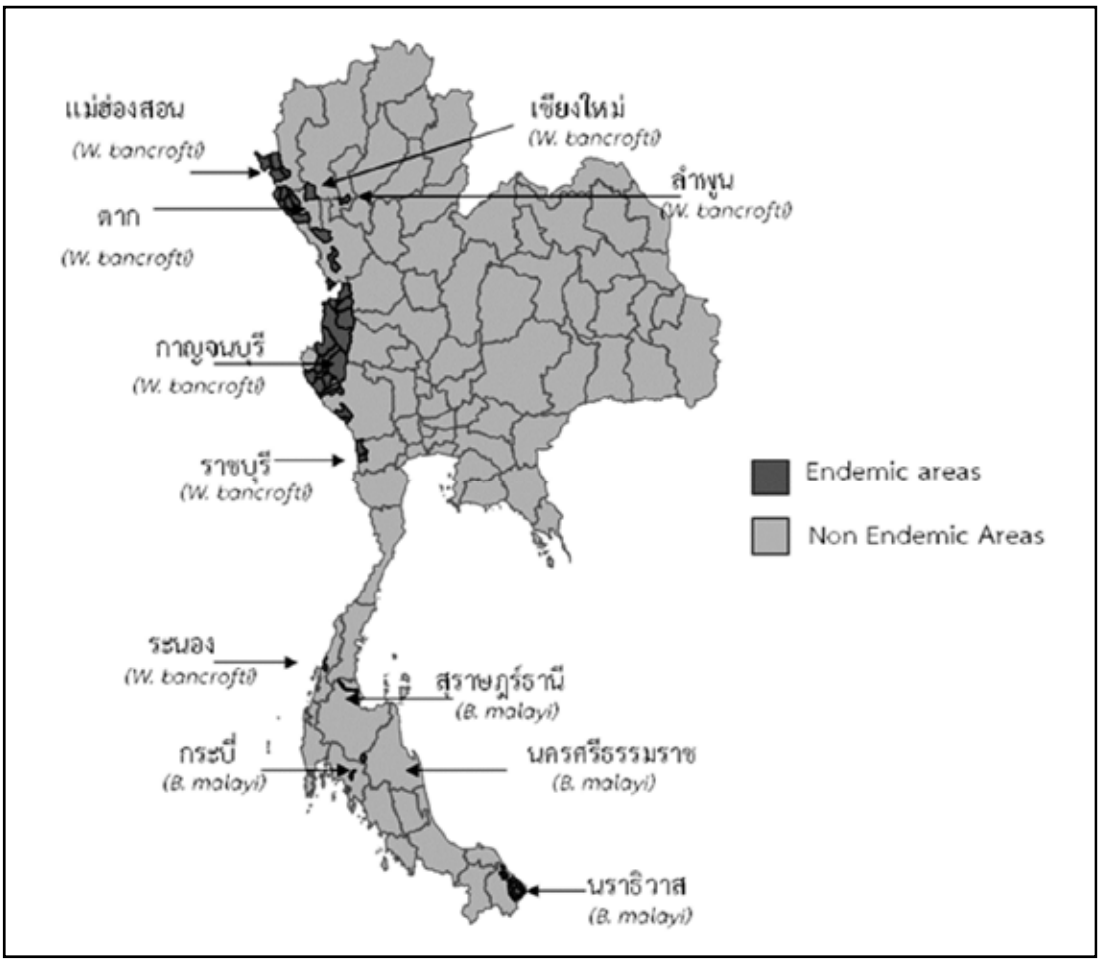
รูปที่ 35 การผ่าตัดเพื่อลดขนาดอวัยวะที่บวมโต (ก) ก่อนผ่าตัด (ข) ขณะผ่าตัด (ค) หลังผ่าตัด

สถานการณ์โรคเท้าช้างในประเทศไทย[1]

โรคเท้าช้างในประเทศไทยเป็นโรคที่พบเฉพาะในชนบท ลักษณะการกระจายและความชุกชุมมีความแตกต่างกันออกไปตามลักษณะของท้องที่และพบโรคอยู่ในวงจำกัด เดิมเชื่อว่าโรคนี้พบเฉพาะในภาคใต้ของประเทศไทยเท่านั้น ปี พ.ศ. 2496 Dr. Iyengar และคณะ สำรวจภาวะโรคเท้าช้างเป็นครั้งแรกในจังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี พัทลุง และปัตตานี พบว่า *B. malayi* เป็นพยาธิที่ทำให้เกิดโรค อัตรา microfilaria เฉลี่ย 21% (อัตรา microfilaria ของแต่ละหมู่บ้านแตกต่างกันไปตั้งแต่ 2.9% ถึง 40.8%) อัตราผู้แสดงอาการของโรค 5.2% การสำรวจต่อมาพบว่าลักษณะการกระจายของโรคคล้ายคลึงกัน และจากการขยายพื้นที่การสำรวจออกไป พบว่าโรคนี้มีความชุกชุมสูงเฉพาะในภาคใต้ฝั่งตะวันออก ได้แก่ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปัตตานี และนราธิวาส สำหรับจังหวัดอื่นๆ มีการสำรวจในวงจำกัด พบผู้มีเชื้อ microfilaria ประปรายและอัตราการการพบเชื้อต่ำมากในบางพื้นที่ ต่อมาในปี พ.ศ. 2507 มีรายงานพบผู้ป่วยเป็น hydrocele หลายราย ในอำเภอสังขละบุรี จังหวัดกาญจนบุรี ในปี พ.ศ. 2513 นายแพทย์จำลอง หะรินสุต และคณะ ได้ทำการสำรวจในพื้นที่นี้พบว่าเป็น *W. bancrofti* และมีอัตรา microfilaria เฉลี่ย 13.1% (อัตรา microfilaria ของแต่ละหมู่บ้านแตกต่างกันไปตั้งแต่ 3.6% ถึง 27.8%) จากการสำรวจต่อมาโดยกองเท้าช้าง พบว่าโรคนี้มีแพร่หลายในพื้นที่ชายแดนไทย-พม่า ได้แก่ จังหวัดตาก แม่ฮ่องสอน และระนอง

ข้อมูลการสำรวจโรคเท้าช้างโดยสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2535-2555 พบว่าความชุกของผู้ป่วยโรคเท้าช้างลดลง โดยปีงบประมาณ 2535 พบอัตราความชุก 11.16 ต่อประชากรแสนคน ปีงบประมาณ 2555 อัตราความชุก 0.43 ต่อประชากรแสนคน

ในปีงบประมาณ 2544-2549 จังหวัดที่มีพื้นที่แพร่โรคเท้าช้างมีจำนวน 11 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดแม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ ตาก ลำพูน กาญจนบุรี ราชบุรี ระนอง สุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช และนราธิวาส (รูปที่ 36)

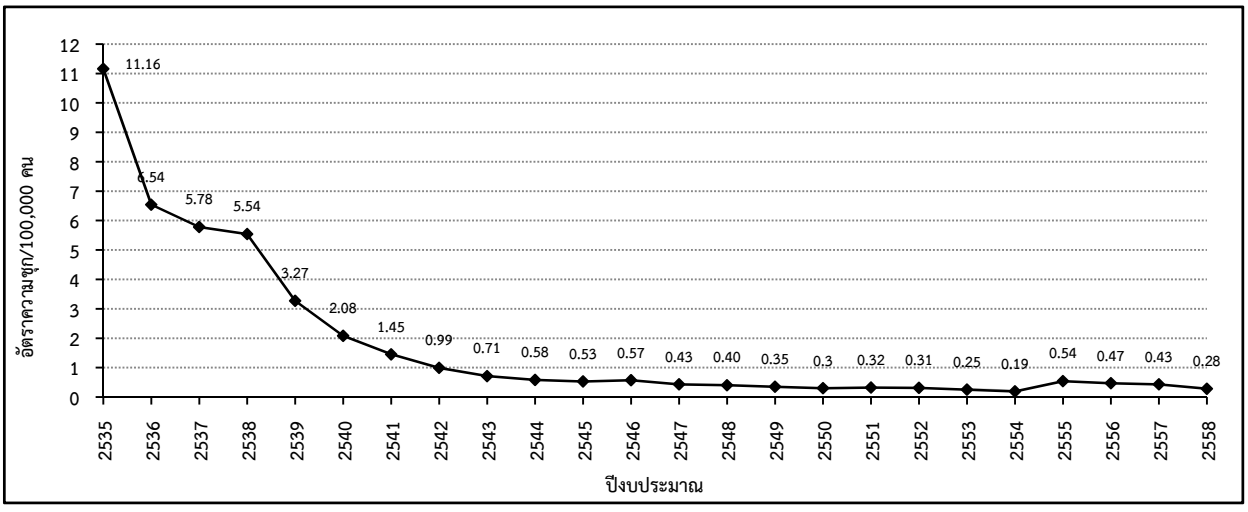


รูปที่ 36 จังหวัดที่พบผู้ป่วยและชนิดเชื้อไมโครฟิลาเรียในเลือด ปีงบประมาณ 2545 – 2549

ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2556 เป็นต้นมา พบว่า 10 จังหวัดสามารถผ่านการประเมินเพื่อประกาศการตัดการแพร่โรค ยกเว้นจังหวัดนราธิวาสที่จะต้องดำเนินการเฝ้าระวังหลังหยุดการจ่ายยารักษากลุ่ม

ปัจจุบัน (ปีงบประมาณ 2558) ประเทศไทยมีความชุกของโรคเท้าช้าง 0.28 ต่อประชากรแสนคน พบผู้ป่วยโรคเท้าช้างเพียงจังหวัดเดียว คือ นราธิวาส (รูปที่ 37)

รูปที่ 37 อัตราความชุกผู้ป่วยโรคเท้าช้าง ประเทศไทย ปีงบประมาณ 2535-2558



แหล่งข้อมูล: สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

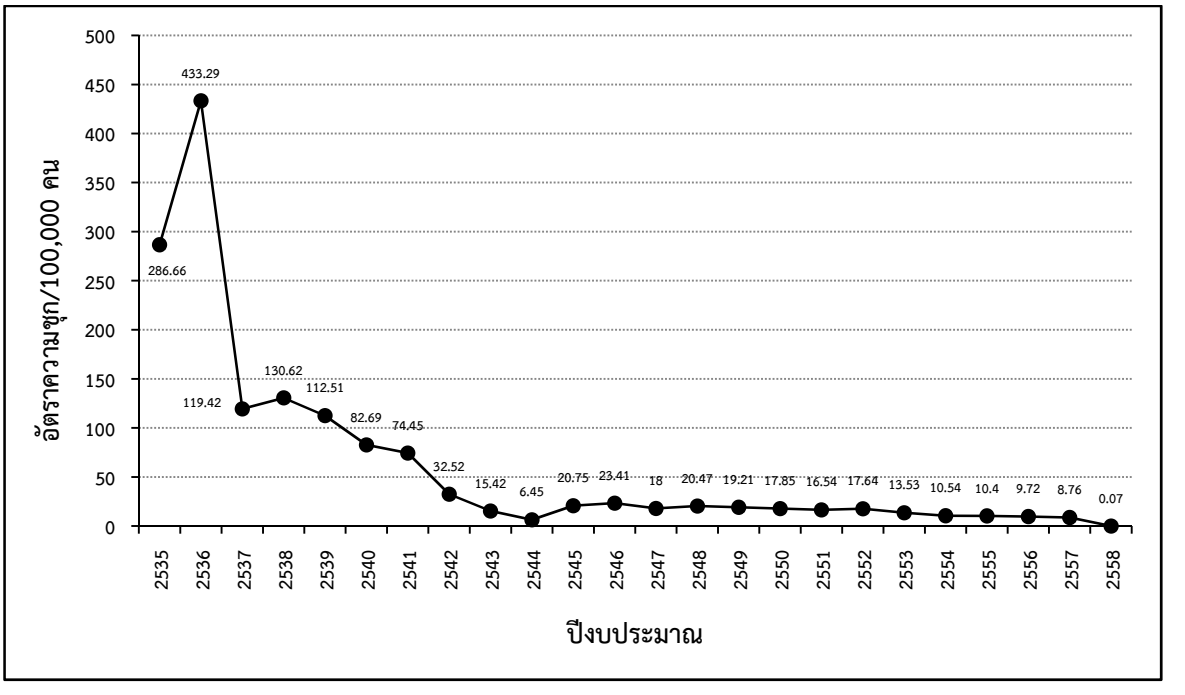
สถานการณ์โรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส

จังหวัดนราธิวาสมีพื้นที่เป็นที่ราบลุ่มชายฝั่งตะวันออกของทะเลอ่าวไทย บางพื้นที่เป็นป่าชายเลนและพรุ ซึ่งเป็นแหล่งน้ำที่ปกคลุมด้วยพื้นน้ำ อากาศร้อนชื้น สภาวะเช่นนี้เหมาะสมที่จะเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงเสือ (*Mansonia* spp.) ซึ่งเป็นยุงพาหะนำโรคเท้าช้างได้

อัตราความชุกของโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2535-2558 พบว่ามีแนวโน้มลดลง โดยตั้งแต่ปีงบประมาณ 2542 เป็นต้นมา อัตราความชุกต่ำกว่า 50 ต่อประชากรแสนคน สำหรับในปีงบประมาณ 2558 พบอัตราความชุก 0.07 ต่อประชากรแสนคน (รูปที่ 38)

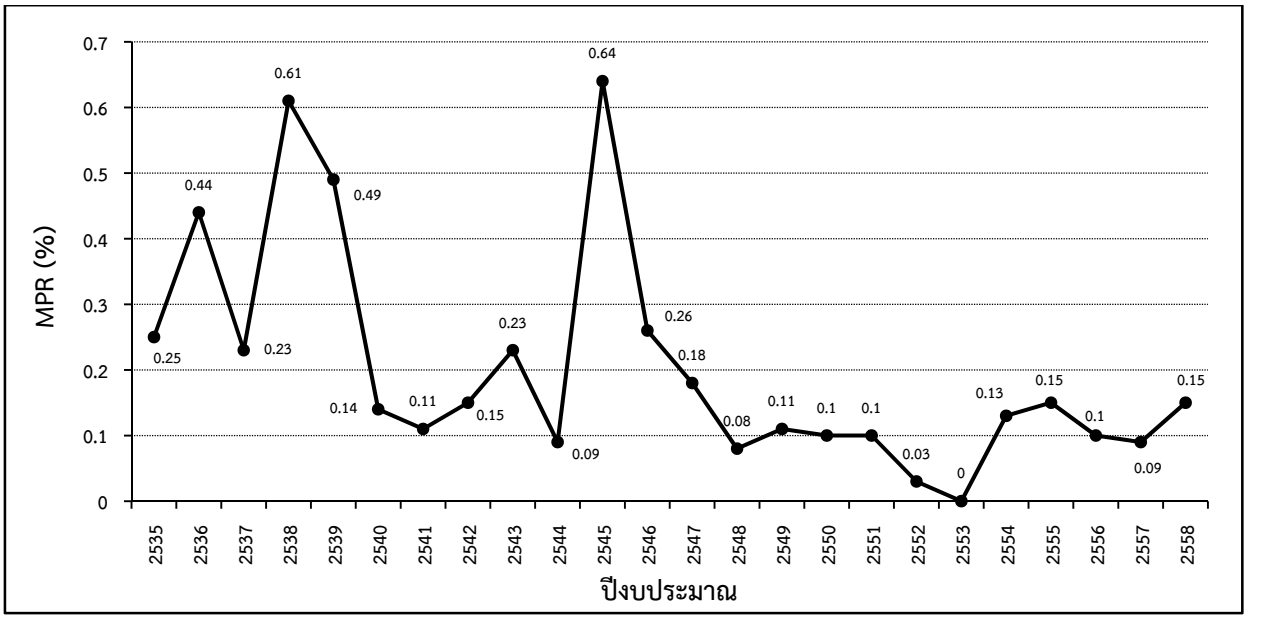
สำหรับอัตราการตรวจพบเชื้อไมโครฟิลาเรียในโลหิต (Microfilaria Positive Rate: MPR) ของจังหวัดนราธิวาสปีงบประมาณ 2535 –2558 พบว่าน้อยกว่า 0.7% (ซึ่งองค์การอนามัยโลกกำหนดไว้ไม่เกิน 1%) ลักษณะอัตราการตรวจพบขึ้นๆ ลงๆ ในปีงบประมาณ 2553 ไม่มีการสำรวจเนื่องจากไม่ได้รับงบประมาณสนับสนุนที่ใช้ในการดำเนินงาน สำหรับในปีงบประมาณ 2558 อัตราการตรวจพบ 0.15% สูงกว่าปีงบประมาณ 2557 (รูปที่ 39)

รูปที่ 38 อัตราความชุกโรคเท้าช้าง จังหวัดนราธิวาส ปีงบประมาณ 2535–2558



แหล่งข้อมูล: สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

รูปที่ 39 อัตราการตรวจพบเชื้อไมโครฟิลาเรียในโลหิต (MPR) จังหวัดนราธิวาส ปีงบประมาณ 2535–2558

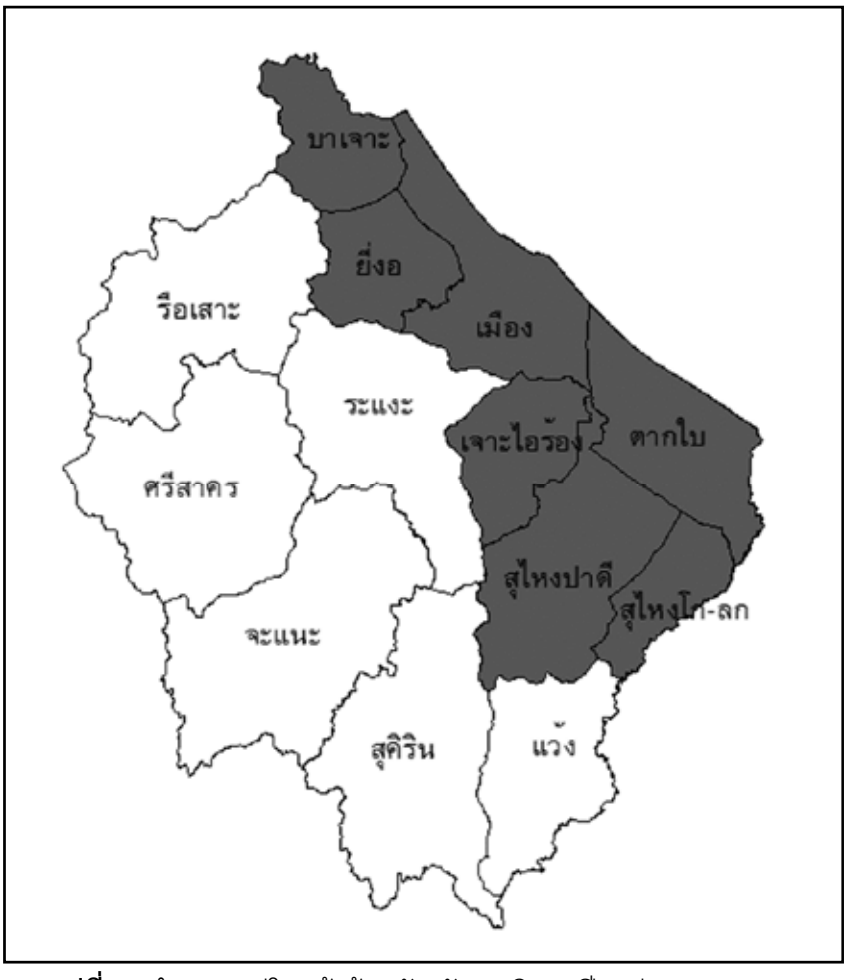


แหล่งข้อมูล: สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

การกระจายของผู้ป่วยโรคเท้าช้างในอำเภอที่มีการแพร่โรค

ในปีงบประมาณ 2558 อำเภอที่มีการแพร่ของโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาสมีจำนวน 7 อำเภอ ประกอบด้วย สุไหงปาดี สุไหงโก-ลก ตากใบ เมือง ยี่งอ บาเจาะ และเจาะไอร้อง (รูปที่ 40) สำหรับอำเภอบาเจาะไม่มีผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนโรคเท้าช้างแต่สภาพภูมิประเทศซึ่งเป็นพรุ ยังมีแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงพาหะนำโรคเท้าช้าง อำเภอสุไหงปาดี มีจำนวนหมู่บ้านที่มีการแพร่ของโรคเท้าช้างสูงสุด (7 หมู่บ้าน)

ผู้ป่วยโรคเท้าช้างที่ขึ้นทะเบียนในจังหวัดนราธิวาส ปีงบประมาณ 2558 มีจำนวน 47 ราย ผู้ป่วยทุกรายอยู่ในระยะแพร่เชื้อพยาธิในโลหิต อำเภอที่มีอัตราความชุกโรคเท้าช้างสูงสุด คือ อำเภอตากใบ (2.59 ต่อประชากรหมื่นคน) รองลงมา ได้แก่ อำเภอสุไหงปาดี (1.83 ต่อประชากรหมื่นคน) และอำเภอสุไหงโก-ลก (1.71 ต่อประชากรหมื่นคน) (ตารางที่ 2)



รูปที่ 40 อำเภอแพร่โรคเท้าช้าง จังหวัดนราธิวาส ปีงบประมาณ 2558

ตารางที่ 2 จำนวนและอัตราความชุกโรคเท้าช้างในคนไทย จำแนกตามระยะของโรคและอำเภอ จังหวัดนราธิวาส ปีงบประมาณ 2558

อำเภอ	จำนวนตำบล	จำนวนหมู่บ้าน	ระยะของโรค				อัตราความชุก (ต่อประชากรหมื่นคน)
			M	L	E	รวม	
สุไหงปาดี	3	7	10	0	0	10	1.83
สุไหงโก-ลก	2	5	13	0	0	13	1.71
ตากใบ	2	5	18	0	0	18	2.59
เมือง	2	3	3	0	0	3	0.25
ยี่งอ	1	2	2	0	0	2	0.45
เจาะไอร้อง	1	1	1	0	0	1	0.26

แหล่งข้อมูล: สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

หมายเหตุ: M หมายถึง ผู้ป่วยระยะแพร่เชื้อพยาธิในโลหิต (Microfilaria)

L หมายถึง ผู้ป่วยระยะต่อมน้ำเหลืองอักเสบ (Lymphadenitis)

E หมายถึง ผู้ป่วยระยะอวัยวะบวมโต (Elephantiasis)

การกระจายของผู้ป่วยโรคเท้าช้างตามลักษณะบุคคล

ในปีงบประมาณ 2558 พบผู้ป่วยเท้าช้างในเพศชายมากกว่าเพศหญิง (อัตราส่วน 1.3:1) ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มอายุ 25-44 ปี และกลุ่มอายุ 45–64 ปี ร้อยละ 25.5 เท่ากันทั้งสองกลุ่มอายุ รองลงมา กลุ่มอายุ 5–14 ปี ร้อยละ 19 และกลุ่มอายุ 15-24 ปี และ 65 ปีขึ้นไป ร้อยละ 15 เท่ากันทั้งสองกลุ่มอายุ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนและร้อยละของผู้ป่วยโรคเท้าช้างที่ขึ้นทะเบียน จำแนกตามเพศ กลุ่มอายุและระยะของโรค จังหวัดนราธิวาส ปีงบประมาณ 2558

กลุ่มอายุ (ปี)	ชาย					หญิง					รวม	
	Ag+	M	L	E	รวม	Ag+	M	L	E	รวม	จำนวน	ร้อยละ
1-4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5-14	0	3	0	0	3	0	6	0	0	6	9	19
15-24	0	3	0	0	3	0	4	0	0	4	7	15
25-44	0	10	0	0	10	0	2	0	0	2	12	25.5
45-64	0	7	0	0	7	0	5	0	0	5	12	25.5
มากกว่า 64	0	4	0	0	4	0	3	0	0	3	7	15
รวม	**0**	**27**	**0**	**0**	**27**	**0**	**20**	**0**	**0**	**20**	**47**	**100**

แหล่งข้อมูล: สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

การดำเนินงานทางกีฏวิทยาในจังหวัดนราธิวาส[2]

ดำเนินการสำรวจทางกีฏวิทยาตามลักษณะของพื้นที่ ดังนี้

1. พื้นที่ดัชนี (Index)

พื้นที่ดัชนีเป็นหมู่บ้านที่คัดเลือกให้เป็นตัวแทนของพื้นที่อื่นๆ ที่ปรากฏอัตราผู้ป่วยมีเชื้อพยาธิฯ หรือ antigenemia สูง มีปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เอื้อต่อการเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงพาหะและมีการใช้มาตรการจ่ายยา Diethylcarbamazine citrate + Albendazole แล้วดำเนินการกิจกรรมทั้งสำรวจกีฏวิทยาและสำรวจเจาะโลหิตเป็นประจำทุกปีอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นการประเมินผลการใช้มาตรการควบคุมโรคดังกล่าว

ปีงบประมาณ 2545 มีการสำรวจทางกีฏวิทยาในพื้นที่ดัชนีในจังหวัดนราธิวาส จำนวน 2 อำเภอ 2 ตำบล 2 หมู่บ้าน คือ หมู่ที่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก และหมู่ที่ 5 ตำบลบางขุนทอง อำเภอตากใบ ปรากฏว่า ทั้ง 2 หมู่บ้านที่ได้ทำการศึกษากีฏวิทยา มียุง *Ma. annulata* เมื่อผ่ายุงพบเชื้อพยาธิชนิด *Brugia* spp. โดยมีอัตราการติดเชื้อ 0.04% และ 1.85% และอัตราการแพร่เชื้อ 0.04% และ 1.85% ตามลำดับ ความหนาแน่นของยุงพาหะในหมู่ที่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อยู่ในเกณฑ์สูงมาก 234.69 ตัว/10 คน-ชม. แต่หมู่ที่ 5 ตำบลบางขุนทอง อยู่ในเกณฑ์ต่ำ 32.14 ตัว/10 คน-ชม.

ปีงบประมาณ 2557 มีการสำรวจทางกีฏวิทยาในพื้นที่ดัชนีเดิม คือ หมู่ที่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก และหมู่ที่ 5 ตำบลบางขุนทอง อำเภอตากใบ ปรากฏว่า ทั้ง 2 หมู่บ้าน พบยุง *Ma. annulata* เมื่อผ่ายุงพบเชื้อพยาธิชนิด *Brugia* spp. โดยมีอัตราการติดเชื้อ 0% และ 0.17% ตามลำดับ ไม่พบอัตราการแพร่เชื้อในยุงทั้งสองพื้นที่ ความหนาแน่นของยุงพาหะในหมู่ที่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อยู่ในเกณฑ์สูง 102.34 ตัว/10 คน-ชม. แต่หมู่ที่ 5 ตำบลบางขุนทอง อยู่ในเกณฑ์ต่ำ 7.67 ตัว/10 คน-ชม.

2. พื้นที่แพร่โรค (Transmission Area: TA)

พื้นที่แหล่งแพร่โรค เป็นพื้นที่พบผู้มีเชื้อพยาธิฯ และอยู่ในโครงการกำจัดโรคเท้าช้าง จากการสำรวจทางกีฏวิทยาในปีงบประมาณ 2545 ดำเนินการในพื้นที่แพร่โรค 2 หมู่บ้าน คือ หมู่ที่ 4 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก และหมู่ที่ 6 ตำบลกะลุวอ อำเภอเมือง ปรากฏว่าทั้ง 2 หมู่บ้าน ไม่มียุงที่มีตัวอ่อนพยาธิโรคเท้าช้าง แม้ว่าจะมีความหนาแน่นของยุงพาหะอยู่ในเกณฑ์สูง หลังจากปีงบประมาณ 2545 ไม่มีการสำรวจทางกีฏวิทยาในพื้นที่แหล่งแพร่โรคอีกต่อไป

3. พื้นที่ไม่เป็นแหล่งแพร่โรค (Non-Transmission Area: NA)

พื้นที่ไม่เป็นแหล่งแพร่โรค เป็นพื้นที่ที่พบผู้มีเชื้อพยาธิฯ ต่ำกว่า 0.2% การสำรวจทางกีฏวิทยาในพื้นที่เหล่านี้เป็นการเฝ้าระวังที่นำไปสู่การป้องกันการแพร่กระจายโรคได้ทันเหตุการณ์

ผลการสำรวจทางกีฏวิทยาแสดงให้เห็นว่าในพื้นที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อสูงส่วนใหญ่อยู่บริเวณริมพรุ ซึ่งเหมาะสมที่จะเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุง *Mansonia* spp. และพบว่าความหนาแน่นของยุงพาหะดังกล่าวสูงมากในพื้นที่เหล่านี้ นอกจากนี้ยังพบอัตราการติดเชื้อและการแพร่เชื้อของยุงในหลายพื้นที่ อย่างไรก็ตามในบางหมู่บ้านที่มีอัตราการตรวจพบไมโครฟิลาเรียในคนสูง แต่ไม่พบอัตราการติดเชื้อและการแพร่เชื้อของยุงในพื้นที่นั้น อาจจะเกิดจากปริมาณยุงที่จับน้อยเกินไป บริเวณที่จับยุงไม่เหมาะสม หรือผู้ป่วยหมู่บ้านนั้นอาจจะติดเชื้อมาจากพื้นที่อื่น

การควบคุมรังโรคเท้าช้างในสัตว์

การควบคุมโรคเท้าช้างในแมวซึ่งเป็นรังโรคในสัตว์ของเชื้อ *Brugia malayi* พบทางภาคใต้ของประเทศไทย ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2537-2558 มีการเจาะโลหิตแมวในพื้นที่แพร่โรคเท้าช้างของจังหวัดนราธิวาส พบอัตราการติดเชื้อ ร้อยละ 0.09-12.02 และได้ดำเนินการรักษาโดยการฉีดยา Ivermectin เพื่อฆ่าเชื้อพยาธิในแมว โดยเริ่มฉีดยาตั้งแต่ปีงบประมาณ 2546 จนถึงปีงบประมาณ 2558 ความครอบคลุม ร้อยละ 10.53-89.67 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการสำรวจเจาะโลหิตแมวในพื้นที่แพร่โรค จังหวัดนราธิวาส ปีงบประมาณ 2537-2558

ปีงบประมาณ	จำนวนอำเภอ	จำนวนตำบล	จำนวนหมู่บ้าน	จำนวนแมวที่สำรวจ (ตัว)	จำนวนแมวที่เจาะ	ความครอบคลุมของการเจาะเลือด (%)	การติดเชื้อ		จำนวนรักษาด้วย Ivermectin	ความครอบคลุมของการรักษา (%)
							จำนวน	(%)		
2537	3	5	31	732	732	100.00	8	1.03	-	-
2538	5	7	37	967	967	100.00	78	8.07	-	-
2539	4	15	47	738	738	100.00	51	6.91	-	-
2540	5	10	18	173	173	100.00	13	7.51	-	-
2541	5	7	18	534	534	100.00	17	3.18	-	-
2542	5	9	16	358	358	100.00	8	2.23	-	-
2543	3	8	24	262	262	100.00	4	1.53	-	-
2544	4	9	16	424	424	100.00	18	4.25	-	-
2545	7	14	28	398	398	100.00	29	7.00	-	-
2546	5	12	16	1,239	965	77.89	13	1.35	532	55.13
2547	2	2	2	211	161	76.30	0	0	114	54.03
2548	3	5	16	953	728	76.39	18	2.47	716	75.13
2549	4	6	19	1,297	951	73.32	10	1.01	477	36.78
2550	4	8	28	2,988	2,122	71.02	32	1.51	1,320	44.18
2551	7	18	67	5,662	5,073	89.6	51	1.01	3,595	63.49
2552	8	20	77	6,322	5,807	91.85	35	0.60	3,616	57.13
2553	5	11	25	3,107	2,187	70.39	2	0.09	1,935	62.28
2554	5	8	20	3,710	3,187	85.88	16	0.99	2,746	74.09
2555	1	1	9	329	329	100.00	6	1.82	295	89.67
2556	ไม่มีการสำรวจ									
2557	3	5	8	422	342	81.04	36	10.53	ไม่ได้ตั้งงบประมาณ	-
2558	4	11	33	2,243	1,902	84.80	16	0.84	940	49.42

แหล่งข้อมูล: สำนักโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองฯ จังหวัดนราธิวาส

โครงการกำจัดโรคเท้าช้าง (Lymphatic Filariasis Disease Elimination Project)

องค์การอนามัยโลกได้จัดให้โรคเท้าช้างอยู่ในกลุ่มโรคที่สามารถจะกำจัดให้หมดไปได้ เนื่องจากมีเทคโนโลยีที่เหมาะสมที่ใช้ในการกำจัดโรคเท้าช้าง โดยองค์การอนามัยโลกมีเป้าหมายที่จะกำจัดโรคเท้าช้างให้หมดไปจากโลกภายในปี พ.ศ. 2563

สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง มีโครงการกำจัดโรคเท้าช้าง (Elimination) ที่ได้ดำเนินงานมาตั้งแต่ปีงบประมาณ 2544 เป็นการเตรียมโครงการกำจัดโรคเท้าช้างด้วยการจัดอบรมเตรียมความพร้อมกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและจัดแบ่งพื้นที่ เป็นพื้นที่ไม่แพร่โรคและแพร่โรค โดยมีพื้นที่แพร่โรค 357 กลุ่มบ้าน ใน 11 จังหวัด คือ เชียงใหม่ ลำพูน แม่ฮ่องสอน ตาก กาญจนบุรี ราชบุรี ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ และนราธิวาส ดำเนินการจ่ายยารักษากลุ่มด้วยยา Diethylcarbarmazine citrate และ Albendazole แก่ประชากรทุกคนในพื้นที่ที่จัดแบ่งแล้วว่าเป็นพื้นที่แพร่โรคทุกปีๆ ละครั้ง และให้การดูแลรักษาผู้ปรากฏอาการตามมาตรการหลักของการกำจัดโรคเท้าช้างในงบประมาณ 2545–2549 หลังจากดำเนินงานจ่ายยารักษาทุกปี ติดต่อกัน 5 ปี ได้ทำการสุ่มสำรวจประเมินผลเพื่อหยุดการจ่ายยารักษากลุ่ม พบว่าสามารถผ่านเกณฑ์หยุดจ่ายยารักษากลุ่มได้ในพื้นที่แพร่โรค 10 จังหวัด ไม่ผ่านเกณฑ์เพียงพื้นที่แพร่โรคในจังหวัดนราธิวาส ที่ยังคงจ่ายยารักษากลุ่มต่อจนถึงปีงบประมาณ 2555 ในขณะที่พื้นที่อื่นๆ เฝ้าระวังหลังหยุดจ่ายยาไปแล้ว จนกระทั่งปีงบประมาณ 2556 ได้สำรวจประเมินเพื่อประกาศการตัดการแพร่เชื้อใน 10 จังหวัด และหยุดการจ่ายยารักษากลุ่มในจังหวัดนราธิวาส โดยมีคณะผู้เชี่ยวชาญจากองค์การอนามัยโลกมาร่วมประเมินกับสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง การสำรวจประเมินการแพร่โรคดังกล่าวฯ ดำเนินงานในโรงเรียนของพื้นที่แพร่โรคเท้าช้าง 11 จังหวัด ด้วยการเจาะโลหิตเด็กอายุ 6-7 ปี หาแอนติบอดีโรคเท้าช้างเปรียบเทียบกับเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก พบว่าอัตราการตรวจพบแอนติบอดีในนักเรียนต่ำกว่าเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลกกำหนด ($\leq$ 2%)[3] ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการเจาะโลหิตประเมินผลการกำจัดโรคเท้าช้างในกลุ่มนักเรียนอายุ 6-7 ปี พื้นที่แพร่โรคในจังหวัดนราธิวาส ปีงบประมาณ 2556

จำนวนนักเรียนที่ได้รับการเจาะโลหิต	จำนวนนักเรียนที่ตรวจพบแอนติบอดี	อัตราการตรวจพบแอนติบอดี (%)
1,018	7	0.69

แหล่งข้อมูล: สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

ในปีงบประมาณ 2557 โครงการกำจัดโรคเท้าช้าง ได้ดำเนินการการเฝ้าระวังหลังหยุดการจ่ายยารักษากลุ่มเฉพาะในจังหวัดนราธิวาส ด้วยการเจาะโลหิตเพื่อหาพยาธิโรคเท้าช้างในผู้ป่วยของโรงพยาบาลในจังหวัดนราธิวาส 3 แห่ง คือ โรงพยาบาลนราธิวาสราชนครินทร์ สุไหงโกลก และรือเสาะ พบว่าไม่มีผู้ป่วยที่ตรวจพบแอนติบอดี[4] (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลการเจาะโลหิตเฝ้าระวังหลังหยุดการจ่ายยารักษากลุ่มตามโครงการกำจัดโรคเท้าช้างในผู้ป่วยของโรงพยาบาลในจังหวัดนราธิวาส ปีงบประมาณ 2557

โรงพยาบาล	**จำนวนประชากรที่ได้รับการตรวจ**	**จำนวนผู้ที่ตรวจพบแอนติบอดี**	**จำนวนผู้พบไมโครฟิลาเรีย (เฉพาะผู้ที่พบแอนติบอดี)**
นราธิวาสราชนครินทร์	854	0	-
สุไหงโกลก	154	0	-
รือเสาะ	261	0	-

แหล่งข้อมูล: สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

เอกสารอ้างอิง

1. กรมควบคุมโรคติดต่อ. กองโรคเท้าช้าง. รายงานการควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส. (เอกสารอัดสำเนา)
2. กรมควบคุมโรคติดต่อ. กองโรคเท้าช้าง. รายงานประจำปี 2545. นนทบุรี: กองโรคเท้าช้าง. ม.ป.ป.
3. กรมควบคุมโรค. สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง. รายงานประจำปี 2556. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์. ม.ป.ป.
4. กรมควบคุมโรค. สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง. รายงานประจำปี 2557. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์. ม.ป.ป.

II งานวิจัยโรคเท้าช้างที่ตีพิมพ์ภาษาไทย (พ.ศ. 2529-2547)

Study of mosquito vectors of filariasis in areas with a microfilarial rate higher than 1%

Chantakorn Shutidamrong M. D.

Kobkan Kanchanopas MSc.

Division of Filariasis, Department of Communicable Disease Control

ABSTRACT

A survey for vectors of filariasis was carried out at Prasang district, Surathani province and Thongpapoom district, Kanchanaburi province, Thailand, by using human bait, animal (cow) bait and light traps with dry ice (CO_2).

Animal bait was best for attracting mosquitoes of all species, but none of the specimens collected from animal bait were infected with third stage filarial larvae. Human bait was successful in attracting mosquitoes infected with both *Brugia malayi* and *Wuchereria bancrofti*. *Mansonia bonneae*, *M. uniformis* and *M. crassipes* were found to be vectors of *B. malayi* while *Aedes niveus* and *Aedes* spp. were found to be vectors of *W. bancrofti*. Neither *M. crassipes* nor *Aedes* spp. had been previously implicated as a vector of filariasis in Thailand.

การศึกษาหายุงพาหะที่มีตัวอ่อนพยาธิโรคฟิลาเรียในท้องที่มีอัตราการระบาดของโรคสูงกว่า 1%

ฉันทกรณ์ ชุติดำรง พ.บ.*
กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ วทม.*

บทคัดย่อ

การค้นหายุงพาหะที่มีตัวอ่อนพยาธิโรคฟิลาเรียในท้องที่มีอัตราการระบาดสูงกว่า 1% ดำเนินการที่ตำบลสินปุน ตำบลไทรขึง อำเภอพระแสง จังหวัดสุราษฎร์ธานี และที่ตำบลหินตาด อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี โดยใช้กับดักยุง 3 แบบ คือ คน วัวเป็นเหยื่อล่อ และกับดักไฟฟ้าใช้ร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์ในรูปน้ำแข็งแห้ง ผลปรากฏว่าการใช้วัวเป็นเหยื่อล่อจะสามารถจับยุงทุกสกุลได้มากที่สุด แต่การใช้คนเป็นเหยื่อล่อจะเป็นวิธีเดียวที่ดีที่สุดในการให้ได้ยุงพาหะที่มีตัวอ่อนพยาธิ *Brugia malayi* หรือ *Wuchereria bancrofti* ยุง *Mansonia bonneae*, *M. uniformis* และ *M. crassipes* เป็นยุงที่นำ *B. malayi* ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ยุง *Aedes niveus* และ *Aedes* spp. นำ *W. bancrofti* ที่จังหวัดกาญจนบุรี สำหรับ *M. crassipes* และ *Aedes* spp. เป็นยุงพาหะชนิดใหม่ที่ไม่เคยปรากฏมีรายงานมาก่อนว่าสามารถนำโรคฟิลาเรียได้ในประเทศไทย

*กองโรคเท้าช้าง

บทนำ

โรคฟิลาเรีย (Filariasis) เป็นโรคติดต่อโดยมียุงเป็นพาหะนำเชื้อพยาธิฯ จากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกบุคคลหนึ่ง และแพร่กระจายจากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่ง เชื้อพยาธิฟิลาเรียในประเทศไทย ในปัจจุบันมี 2 ชนิดด้วยกัน คือ บรูเกียมาลาไย *(Brugia malayi)* และ วูเคอเรอเรีย แบนครอฟไต *(Wuchereria bancrofti)*

เชื้อพยาธิ *B. malayi* แพร่ระบาดอยู่ในหลายจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย ยุงที่เป็นพาหะ คือ ยุงสกุล *Mansonia* ซึ่งมีอยู่ 6 ชนิด[1,2] ได้แก่ *M. uniformis, M. indiana, M. bonneae, M. dives, M. annulifera และ M. annulata*

แหล่งเพาะพันธุ์ธรรมชาติของยุงพาหะเหล่านี้จะเป็นแหล่งน้ำที่มีพืชน้ำ (aquatic plants)[3] เช่น ผักตบชวา จอก แหน แพงพวย ต้นกก หญ้า เป็นต้น ลูกน้ำจะใช้ท่อหายใจตรงส่วนหาง (siphon) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นซี่ฟันเลื่อยแข็งและแหลมคมแทงเข้าไปในราก หรือลำต้นที่อ่อนนุ่มของพืชน้ำแล้วดึงเอาออกซิเจนมาใช้ในการดำรงชีวิต

ส่วนเชื้อพยาธิ *W. bancrofti* จะแพร่ระบาดอยู่ในจังหวัดทางชายแดนไทยกับพม่า เช่น จังหวัดกาญจนบุรี ตาก และระนอง เป็นต้น ยุงที่เป็นพาหะ ได้แก่ ยุง *Aedes niveus, Ae. desmotes* และ *M. dives* [1,4] แหล่งเพาะพันธุ์ของยุงพาหะเหล่านี้จะเป็นแหล่งที่มีน้ำฝนขังเป็นครั้งคราวตามป่าและภูเขา เช่น โพรงไม้ ตอไม้ ตอไผ่ ซอกหรือแอ่งของต้นไม้[5] เป็นต้น

ในท้องที่มีอัตราการระบาดของโรคสูง หรือเป็นท้องที่ซึ่งจากการสำรวจเจาะโลหิตแล้วพบผู้มีเชื้อพยาธิฯ มากจะเป็นข้อมูลชี้บอกถึงความรุนแรงของการแพร่กระจายโรค คาดว่าการสัมผัสระหว่างยุง ผู้ป่วย และคนปกติจะมีความถี่สูงและการพบยุงมีตัวอ่อนพยาธิฯ ก็จะมีความสัมพันธ์กับสภาวะของการเกิดโรคในท้องที่นั้นๆ

ในการค้นหายุงพาหะ สิ่งสำคัญประการหนึ่ง คือ การจับยุงให้ได้จำนวนมาก คนเป็นเหยื่อล่อเพียงอย่างเดียวจะได้ยุงจำนวนน้อย เครื่องมืออุปกรณ์อย่างหนึ่งที่จะช่วยให้สามารถจับยุงได้คราวละมากๆ ได้แก่ กับดักยุงไฟฟ้าที่จะนำมาใช้ร่วมกับคาร์บอนไดออกไซด์ในรูปของน้ำแข็งแห้ง (light trap+CO_2) สามารถจับยุง *Mansonia*, *Aedes*, *Anopheles* และ *Culex* [6] ได้ นอกจากนี้กรณีมียุงบางชนิดชอบกินทั้งเลือดคนและเลือดสัตว์ [7,8] ดังนั้นการใช้สัตว์เป็นเหยื่อล่อ จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยจับยุงให้ได้จำนวนมาก

วัตถุประสงค์

เพื่อค้นหายุงพาหะนำเชื้อ *B. malayi* และ *W. bancrofti* ในท้องที่มีการระบาดของโรคสูงกว่า 1% โดยใช้กับดักยุง 3 แบบ คือ

1. คนเป็นเหยื่อล่อ
2. วัวเป็นเหยื่อล่อ
3. Light trap + CO_2 ในรูปน้ำแข็งแห้ง

ท้องที่ศึกษา

1. จังหวัดสุราษฎร์ธานี ได้แก่

   หมู่ที่ 4 ตำบลสินปุน อำเภอพระแสง

   หมู่ที่ 8 ตำบลไทรขึง อำเภอพระแสง

2. จังหวัดกาญจนบุรี ได้แก่

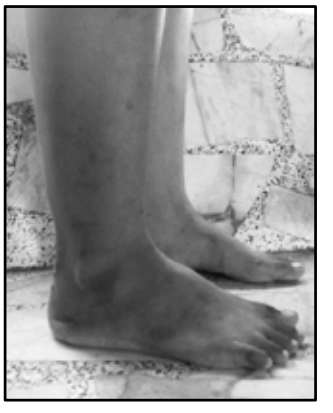
   หมู่ 1, 2 และ 4 ตำบลหินดาด อำเภอทองผาภูมิ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การวางกับดักจับยุง

กับดักทั้ง 3 แบบวางอยู่ใกล้บ้านในบริเวณเดียวกันโดยห่างจากบ้านพักอาศัยประมาณ 5 เมตร

1.1 กับดักแบบใช้คนเป็นเหยื่อล่อ คนหนึ่งคน จะทำหน้าที่ทั้งเป็นเหยื่อล่อยุงและจับยุง โดยเปลือยขาส่วนล่างตั้งแต่ปลายเท้าถึงเข่าเพื่อให้ยุงกัด และใช้ Vial tube เป็นอุปกรณ์จับยุง (ดูภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 คนหนึ่งคนใช้เป็นเหยื่อล่อยุง

1.2 กับดักแบบใช้วัวเป็นเหยื่อล่อ วัว 1 ตัวผูกติดกับหลัก ซึ่งตรึงอย่างแน่นหนากับพื้นดินแล้วใช้มุ้งขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 4 x 5 x 2.5 เมตร ครอบวัวโดยให้วัวอยู่ตรงกลางมุ้ง (ดูภาพที่ 2)

ภาพที่ 2 วัว 1 ตัว ใช้เป็นเหยื่อล่อยุง

1.3 กับดักใช้แบบ light trap+CO_2 ในรูปน้ำแข็งแห้ง Light trap แขวนกับกิ่งไม้สูงจากพื้นดินประมาณ 3 เมตร โดยมีถุงพลาสติกที่เจาะรูไว้รอบๆ และบรรจุ CO_2 แขวนอยู่ที่เดียวกัน (ดูภาพที่ 3)

ภาพที่ 3 Light trap ใช้ล่อยุง

2. ช่วงเวลาจับยุง

1. คนที่เป็นเหยื่อล่อยุง นั่งจับยุงตั้งแต่ เวลา 18.00 - 22.00 น.

2. เปิดปากมุ้งให้ยุงเข้ากัดวัว ตั้งแต่เวลา 18.00 - 06.00 น. ในเวลา 06.00 น. ปิดปากมุ้งแล้วให้คนเข้าจับยุงตามผนังมุ้งด้านใน

3. Light trap + CO_2 แขวนล่อยุงตั้งแต่เวลา 18.00 - 06.00 น. ในเวลา 06.00 น. เก็บยุงจากถุงตาข่ายของ light trap

ยุงทุกตัวที่จับจากการใช้กับดักทั้ง 3 แบบ หลังจำแนกชนิด (identification) แล้วจะนำมาผ่าทีละตัวเพื่อหาตัวอ่อนพยาธิฯ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ 3 มิติ (Stereomicroscope) ส่วนตัวอ่อนพยาธิฯ จะวินิจฉัยชนิดของพยาธิด้วยกล้อง microscope

ผลการศึกษา

จากตารางที่ 1 พบว่ายุงเกือบทุกสกุลที่ได้จากการใช้วัวเป็นเหยื่อล่อ จะมีความหนาแน่นสูงโดยเฉพาะยุง *Mansonia* เมื่อใช้วัวเป็นเหยื่อล่อจะมีความหนาแน่นสูงที่สุด รองลงมาได้จากการใช้คนเป็นเหยื่อล่อและ light trap + CO_2 ตามลำดับ

จากตารางที่ 2 พบว่า ยุงสกุล *Anopheles* และ *Aedes* จากการใช้ light trap + CO_2 และคนเป็นเหยื่อล่อจะมีความหนาแน่นสูงที่สุด ตามลำดับ รองลงมาได้จากการใช้วัวเป็นเหยื่อล่อทั้งสองสกุล ส่วนยุงสกุล *Culex* และ *Armigeres* จากการใช้วัวเป็นเหยื่อล่อยังคงมีความหนาแน่นสูงที่สุด สำหรับสกุล *Mansonia* จากกับดักทั้ง 3 แบบ มีความหนาแน่นต่ำมาก

สำหรับผลการผ่ายุงหาตัวอ่อนพยาธิฯ จากตารางที่ 3 พบว่า ยุงสกุล *Mansonia* 3 ชนิด ได้แก่ *M. uniformis, M. bonneae* และ *M. crassipes*[*] มีตัวอ่อนพยาธิ *B. malayi* ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ยุงสกุล Aedes 2 ชนิด ซึ่งได้แก่ *Ae. niveus* และ *Aedes* spp. มีตัวอ่อนพยาธิ *W. bancrofti* ที่จังหวัดกาญจนบุรี

ตารางที่ 1 ความหนาแน่นของยุง (จำนวนตัว/10 คน-ชม.) ที่จัดได้จากกับดักแบบต่างๆ ในหมู่ 4 ต.สินปุน และหมู่ 8 ต.ไทรขึง อ.พระแสง จ.สุราษฎร์ธานี

สกุลยุง	หมู่ 4 ต.สินปุน			หมู่ 8 ต.ไทรขึง		
	light trap + CO_2	คน	วัว	light trap+ CO_2	คน	วัว
Mansonia spp.	148.96	223.59	364.17	14.17	141.15	117.50
Anopheles spp.	17.71	9.38	195.83	2.50	23.23	203.33
Aedes spp.	0.21	0.39	32.50	0	3.23	0
Culex spp.	0.83	0	53.33	4.17	18.56	49.17
Armigeres spp.	0	0.08	0	0	0	45.83

ตารางที่ 2 ความหนาแน่นของยุง (จำนวนตัว/10 คน-ชม.) ที่จับได้จากกับดักแบบต่างๆ ที่หมู่ 1, 2 และ 4 ต.หินดาด จ.กาญจนบุรี

สกุลยุง	light trap + CO_2	คน	วัว	หมายเหตุ
Mansonia spp.	2.27	0.20	1.67	เป็นการศึกษาระดับตำบล ข้อมูลจึงไม่แยกของแต่ละหมู่บ้าน
Anopheles spp.	97.73	48.57	76.67	
Aedes spp.	9.55	98.88	70	
Culex spp.	35	7.35	270	
Armigeres spp.	8.18	28.37	115	

[*] ปัจจุบันจัดอยู่ในสกุล Coquilletidia จึงเป็นชนิด *Cq. crassipes*[8]

ตารางที่ 3 อัตราการติดเชื้อและแพร่เชื้อพยาธิ *B. malayi* และ *W. bancrofti* จากการใช้กับดักแบบต่างๆ

ท้องที่ศึกษา		ชนิดยุง	อัตราการติดเชื้อ	อัตราการแพร่เชื้อ	ชนิดตัวอ่อนพยาธิ	แบบของกับดัก
หมู่ 4	ต.สินปุน อ.พระแสง	*M. uniformis*	0.54	0.54	*B. malayi*	คน
หมู่ 8	ต.ไทรขึง จ.สุราษฎร์ธานี	*M. bonneae*	1.31	1.22	*B. malayi*	คน
		M. crassipes	18.18	9.09	*B. malayi*	คน
หมู่ 1,4	ต.หินดาด จ.กาญจนบุรี	*Ae. niveus* group	10.56	10.56	*W. bancrofti*	คน
		Aedes spp.	2.74	2.74	*W. bancrofti*	คน

วิจารณ์

จากผลในตารางที่ 1 จะเห็นว่ากับดักแบบที่ใช้วัวเป็นเหยื่อล่อจะมีประสิทธิภาพสูงต่อการจับยุงทุกสกุล แม้จะพบว่ายุงสกุล *Aedes* และ *Anopheles* มีความหนาแน่นสูงและต่ำในลักษณะที่ไม่คล้อยตามกันก็ตาม แต่ความหนาแน่นของยุงที่พบจากหมู่บ้านหนึ่งสูงกว่ายุงสกุลอื่นๆ อย่างชัดเจน จึงน่าจะอนุโลมได้ว่าการใช้วัวเป็นเหยื่อล่อจะสามารถจับยุงได้ทุกสกุลจำนวนมากที่สุด และจากผลในตารางที่ 2 light trap + CO_2 กับคนเป็นเหยื่อล่อจะมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการจับยุงสกุล *Anopheles* และ *Aedes* ตามลำดับที่จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งประเทศมาเลเซียได้นำ light trap + CO_2 ล่อยุงพาหะในท้องที่มีมาลาเรียระบาดสามารถจับยุง *Anopheles* ได้จำนวนมากที่สุด[6] เช่นเดียวกัน

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลของการผ่ายุงเพื่อหาตัวอ่อนพยาธิฯ จากตารางที่ 3 จะเห็นว่ายุงพาหะที่จับได้จากการใช้คนเป็นเหยื่อล่อเท่านั้นมีตัวอ่อนพยาธิ *B. malayi* หรือ *W. bancrofti* ดังนั้น จึงกล่าวได้ว่าการใช้คนเป็นเหยื่อล่อจะเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการใช้จับยุงเพื่อให้ได้ยุงพาหะมีตัวอ่อนพยาธิโรคฟิลาเรีย

ยุง *M. uniformis* และ *M. bonneae* ได้มีผู้รายงานไว้ว่าเป็นพาหะนำ *B. malayi* ทางภาคใต้ของประเทศไทย แต่จากการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า *M. crassipes* มีตัวอ่อนพยาธิ *B. malayi* ด้วยซึ่งยุงชนิดนี้ไม่เคยปรากฏมีรายงานมาก่อนว่าเป็นพาหะนำโรคฟิลาเรียในประเทศไทย ยุงชนิดเดียวกันนี้ที่ประเทศมาเลเซียทำการทดลองทางห้องปฏิบัติการพบว่าสามารถติดเชื้อพยาธิ *B. malayi* 84%[8] ดังนั้น จึงพอจะกล่าวได้ว่า ยุง *M. crassipes* ก็เป็นพาหะชนิดใหม่ที่สามารถนำ *B. malayi* ในประเทศไทยได้ และเช่นเดียวกับยุง *Aedes* spp. ซึ่งมีตัวอ่อนพยาธิฯ *W. bancrofti* โดยไม่เคยปรากฏมีรายงานมาก่อนว่าเป็นพาหะ เนื่องจากลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิด (species) บนตัวยุงชนิดนี้ได้หลุดหายไปในระหว่างทำการจับยุงจึงไม่สามารถระบุแน่ชัดได้ว่าเป็นยุงชนิดใด อย่างไรก็ตามยุงพาหะใหม่นำโรคฟิลาเรียในประเทศไทยทั้ง 2 ชนิดจะมีการศึกษาและวิจัยทั้งทางห้องปฏิบัติการและทางสนามเพื่อให้ได้ข้อมูลทางระบาดวิทยาที่สมบูรณ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Harinasuta C, *et al*. Studies on Malayan filariasis in Thailand. Southeast Asain J Trop Med Pub Hlth 1970; 1: 29-39.
2. Gass RP. Observations on the feeding habits of four species of *Mansonia* (*Mansonioides*) mosquitoes in southern Thailand. J Med Entomol 1983; 20(3): 288-293.
3. Wharton RH. The biology of Mansonia mosquitoes in relation to the transmission of filariasis in Malaya. Bull Institute Med Res Malaya 1978; 11: 144.
4. Gould DJ. Implication of forest mosquitoes in the transmission of *Wuchereria bancrofti* in Thailand. Mosquitoe News 1982; 42(4): 562-564.
5. Sucharit S, Harinasuta C and Vutikes S. Studies on the biting cycle of the natural and potential vectors of *Wuchereria bancrofti* in west Thailand. J Med Ass Thailand 1968; 51(3): 165.
6. Parison RE. Comparison of CDC miniature light traps and human biting collections for mosquito catches during malaria vector survey in Peninsular Malaysia. Mosquito News 1974; 34(2); 211-213.
7. Laing ABG, Edeson JFB and Wharton RH. Studies on filariasis in Malaysia: The vertebrate hosts of *Brugia malayi* and *Brugia pahangi*. Ann Trop Med Parasit 1961; 54: 92.
8. Reid JA. The attraction of mosquitos by human or animal baits in relation to the transmission of disease. Bulletin of Entomological Research 1961: 52: 43-21.
9. Chaing GL, Eng KL and Cheong WH. *Coquilletidia crassipes* as a vector of Brugia in Malaysia. Mosquito-Borne Dis Bull 1984; 1: 15-16.

การศึกษาชีวนิสัยของยุงแมนโซเนีย ในจังหวัดนราธิวาส

Study on Bionomic of *Mansonia* mosquitoes in Narathiwat

กอบกาญจน์ กาญจนโนภาศ [1] หมัดโสด อัครเดชาวุฒิ [2] มานิต ดำรงวุฒิ [2]
ถาวร ดุลย์เภรี [3] สะมะแอ บือราเฮง [4] และสุนทร ขำเอี่ยม [5]

บทคัดย่อ

ชีวนิสัยการออกหากินของยุง *Mansonia* 4 ชนิด คือ *M. bonneae, M. dives, M. indiana* และ *M. uniformis* ในแต่ละพื้นที่ของจังหวัดนราธิวาส มีช่วงเวลาออกหากินที่ต่างกัน โดยอาจมีปัจจัยเกี่ยวกับสภาพภูมิประเทศหรือกิจกรรมการดำเนินชีวิตประจำวันของคนในท้องถิ่นเข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้ยุง *M. bonneae* และ *M. dives* ชอบกัดกินเลือดคนมากกว่าวัวถึง 3:1 และยุงดังกล่าวยังชอบเลือกกัดช่วงเข่า-ปลายเท้ามากกว่ายุง *Mansonia* ชนิดอื่นๆ

บทนำ

นราธิวาสเป็นจังหวัดหนึ่งในหลายจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทยที่มีโรคฟิลาเรียชนิด *Brugia malayi* สภาพพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นที่ราบบางแห่งเป็นที่ลุ่มปกคลุมไปด้วยป่าหนาทึบ มีแหล่งน้ำขังแบบ swamp forest ตลอดปีอันเป็นที่อยู่อาศัยของยุงพาหะ แม้ในฤดูร้อนอุณหภูมิสูงอากาศแห้ง แหล่งน้ำเหล่านี้ยังคงมีเหลืออยู่จึงสามารถพบยุง Mansonia ได้ทุกฤดูกาล โดยเฉพาะฤดูฝนจะมีความชุกชุมสูงมาก ชนิดยุงที่เป็นพาหะหลัก (primary vector) ได้แก่ *M. bonneae* และ *M. dives* ชนิดพาหะรอง (Secondary vector) ได้แก่ *M. uniformis, M. indiana, M. annulata* และ *M. annulifera* บริเวณชายแดนทางด้านประเทศมาเลเซียจะมีสภาพภูมิประเทศที่คล้ายคลึงกับท้องที่ต่างๆ ของจังหวัดนราธิวาสแถบ 2 ฝั่ง ของบ้านแม่น้ำปะหัง รัฐปะหัง จะมี swamp forest เป็นบริเวณกว้างมียุงสกุล Mansonia ชนิดเดียวกับในประเทศไทยเป็นพาหะของ *B. malayi* (Wharton, 1978 and Reid., et al., 1962) ดังนั้น ประชากรที่ไปมาระหว่างสองประเทศจึงต่างสามารถเป็นผู้นำโรคฟิลาเรีย (carriers) แพร่กระจายได้ทั้งสิ้น

1. กองโรคเท้าช้าง
2. ศูนย์โรคเท้าช้างเขต 4 กาญจนบุรี
3. ศูนย์โรคเท้าช้างเขต 11 นครศรีธรรมราช
4. ศูนย์โรคเท้าช้างเขต 12 ปัตตานี
5. ศูนย์โรคเท้าช้างที่ 111 สุราษฎร์ธานี

จากการสำรวจเจาะโลหิตหาผู้มีเชื้อพยาธิในโลหิตศูนย์โรคเท้าช้างเขต 12 ปัตตานี พบอัตราผู้มีเชื้อพยาธิฯ *B. malayi* (Microfilarial rate) ในบริเวณหลายท้องที่สูงกว่า 1% เช่น อำเภอเมือง มีตำบลโคกเคียน ตำบลกะลุวอใต้ ตำบลปะกาฮะรัง อำเภอสุไหงปาดี มีตำบลมะรือโบออก ตำบลสุไหงปาดี ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงโก-ลก มีตำบลปูโย๊ะ เป็นต้น อีกทั้งนราธิวาส ยังเป็นจังหวัดชายแดนที่มีอาณาเขตติดต่อกับประเทศมาเลเซีย ประชากรที่อาศัยอยู่ตามชายแดนของประเทศไทยและประเทศมาเลเซีย มีการเคลื่อนย้ายเข้าเคลื่อนย้ายออกอยู่เสมอ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญอันทำให้การดำเนินงานการควบคุมโรคฟิลาเรียในจังหวัดนี้มีปัญหาตลอดมา โดยอัตราผู้มีเชื้อพยาธิฯ ยังคงสูงแม้จะให้การบำบัดรักษาด้วยยา Diethylcarbamazine แบบ Mass drug treatment แล้วก็ตาม

เพื่อให้การควบคุมโรคเท้าช้างดำเนินไปด้วยดี การศึกษาวิจัยชีวนิสัยของยุงพาหะในพื้นที่ดังกล่าวจึงจะเป็นข้อมูลเสริมสร้างทางด้านการป้องกัน การให้สุขศึกษาและประชาสัมพันธ์แก่ผู้ที่อยู่ในท้องที่ระบาด ซึ่งมีโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นโรคเท้าช้างได้เป็นอย่างดี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการออกหากินของยุงพาหะตลอด 24 ชั่วโมง
2. เพื่อศึกษาชีวนิสัยการกัดกินเลือดสัตว์ (วัว) ของยุงพาหะ
3. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบชีวนิสัยของยุง *Mansonia* ในการเข้ากัดส่วนต่างๆ ของร่างกายมนุษย์

ท้องที่ศึกษา

1. หมู่ที่ 2, 4 และ 5 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก
2. หมู่ที่ 1, 3, 5 และ 7 ตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี, หมู่ที่ 6 และ 7 ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี
3. หมู่ที่ 2, 3 และ 5 ตำบลพร่อน อำเภอตากใบ
4. หมู่ที่ 1 และ 6 ตำบลบางขุนทอง อำเภอตากใบ

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาวิจัยได้เริ่มดำเนินการในช่วงเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม 2529 โดยแบ่งกิจกรรมออกได้ดังนี้

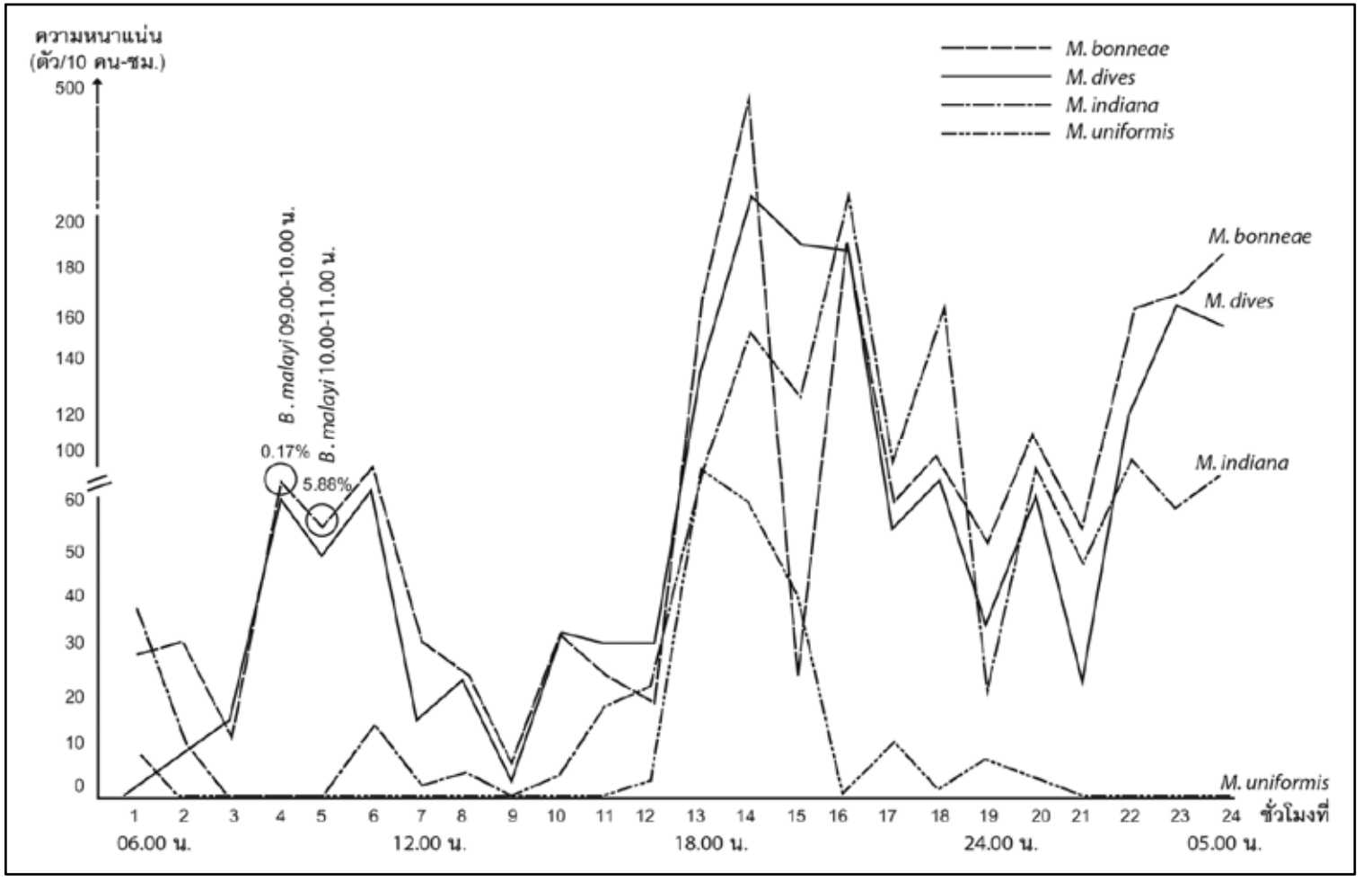
1. การค้นหายุงพาหะนำโรคฟิลาเรียและการออกหากินของยุงพาหะตลอด 24 ชั่วโมง ได้พิจารณาจากข้อมูลของศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองเกี่ยวกับพื้นที่พรุในอำเภอต่างๆ แล้วเลือกสุ่มตัวอย่างพื้นที่ดังกล่าวข้างต้นทำการจับยุงโดยใช้คนเป็นเหยื่อล่อ โดยจับยุงทุกๆ ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง แล้วทำการจำแนกวินิจฉัยชนิดของยุงที่จับได้ในแต่ละพื้นที่
2. ศึกษาชีวนิสัยการกัดกินเลือดสัตว์ (วัว) ของยุงพาหะนำมุ้งขนาดใหญ่ (4x5x2.5 เมตร) ครอบวัว 1 ตัว โดยผูกวัวไว้กับหลักตรงกลางมุ้ง แล้วเปิดปากมุ้งให้ยุงเข้ากัดวัวตั้งแต่เวลา 18.00 น. -16.00 น. ในเวลา 06.00 น. ปิดปากมุ้งแล้วทำการจับยุงตามผนังมุ้งด้านใน โดยใช้ vial tube หรือ sucking tube ทำการจับยุงมาแยกชนิดและผ่ายุงเพื่อหาพยาธิฟิลาเรียระยะต่างๆ ต่อไป

3. ศึกษาเปรียบเทียบชีวนิสัยของยุง *Mansonia* ในการเข้ากัดส่วนต่างๆ ทางร่างกายมนุษย์ โดยใช้คนแต่งกายปกปิดร่างกายเพียงเล็กน้อยยืนล่อยุง และใช้ผู้จับยุง จำนวน 3 คน จับยุงที่กัดตรงช่วงศีรษะ-เอว เอว-หัวเข่า และหัวเข่า-เท้า ตั้งแต่เวลา 18.00-19.30 น. (ใช้ vial tube และ sucking สำหรับจับยุง) นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบข้อแตกต่างระหว่างชนิดของยุง และบริเวณที่ยุงชอบกัดและทำการผ่ายุงเพื่อตรวจหาพยาธิฟิลาเรียระยะต่างๆ ต่อไป

ตารางที่ 1 ความหนาแน่นของยุง *M. bonneae, M. dives, M. indiana* และ *M. uniformis* ในรอบ 24 ชั่วโมงจากหมู่ 5 ต.ปูโย๊ะ อ.สุไหงโก-ลก

ชั่วโมงที่ / ชนิดยุง	1 / 13	2 / 14	3 / 15	4 / 16	5 / 17	6 / 18	7 / 19	8 / 20	9 / 21	10 / 22	11 / 23	12 / 24	การพบตัวอ่อนพยาธิ
M. bonneae	30 / 163.33	33.33 / 473.33	13.33 / 26.67	*80 / 193.33	**56.67 / 66.67	100 / 106.67	33.33 / 53.33	26.67 / 96.67	6.67 / 56.67	36.67 / 163.33	26.67 / 166.67	20 / 190	*เวลา 09.00-10.00 น. พบยุงมีตัวอ่อนพยาธิฯ ระยะที่ 2 คิดเป็นอัตราการติดเชื้อ 0.17% **เวลา 10.00-11.00 น. พบยุงมีตัวอ่อนพยาธิฯ ระยะที่ 2 คิดเป็นอัตราการติดเชื้อ 5.88 %
M. dives	40 / 140	10 / 363.33	16.67 / 193.33	66.67 / 186.67	50 / 56.67	70 / 93.33	16.67 / 36.67	26.67 / 66.67	3.33 / 26.67	36.67 / 123.33	33.33 / 150	33.33 / 140	
M. Indiana	10 / 76.67	0 / 153.33	0 / 123.33	0 / 196.67	0 / 163.33	16.67 / 163.33	3.33 / 23.33	6.67 / 100	0 / 50	6.67 / 103.33	20 / 63.33	23.33 / 93.33	
M. uniformis	3.33 / 83.33	10 / 63.33	0 / 43.33	0 / 0	0 / 13.33	0 / 3.33	0 / 10	0 / 6.67	0 / 0	0 / 0	0 / 0	3.33 / 0	

ชั่วโมงที่ 1	หมายถึงเวลา	06.00 - 07.00 น.
ชั่วโมงที่ 6	หมายถึงเวลา	11.00 -12.00 น.
ชั่วโมงที่ 12	หมายถึงเวลา	17.00 -18.00 น.
ชั่วโมงที่ 13	หมายถึงเวลา	18.00 - 19.00 น.
ชั่วโมงที่ 18	หมายถึงเวลา	23.00 - 24.00 น.
ชั่วโมงที่ 24	หมายถึงเวลา	05.00 - 06.00 น.

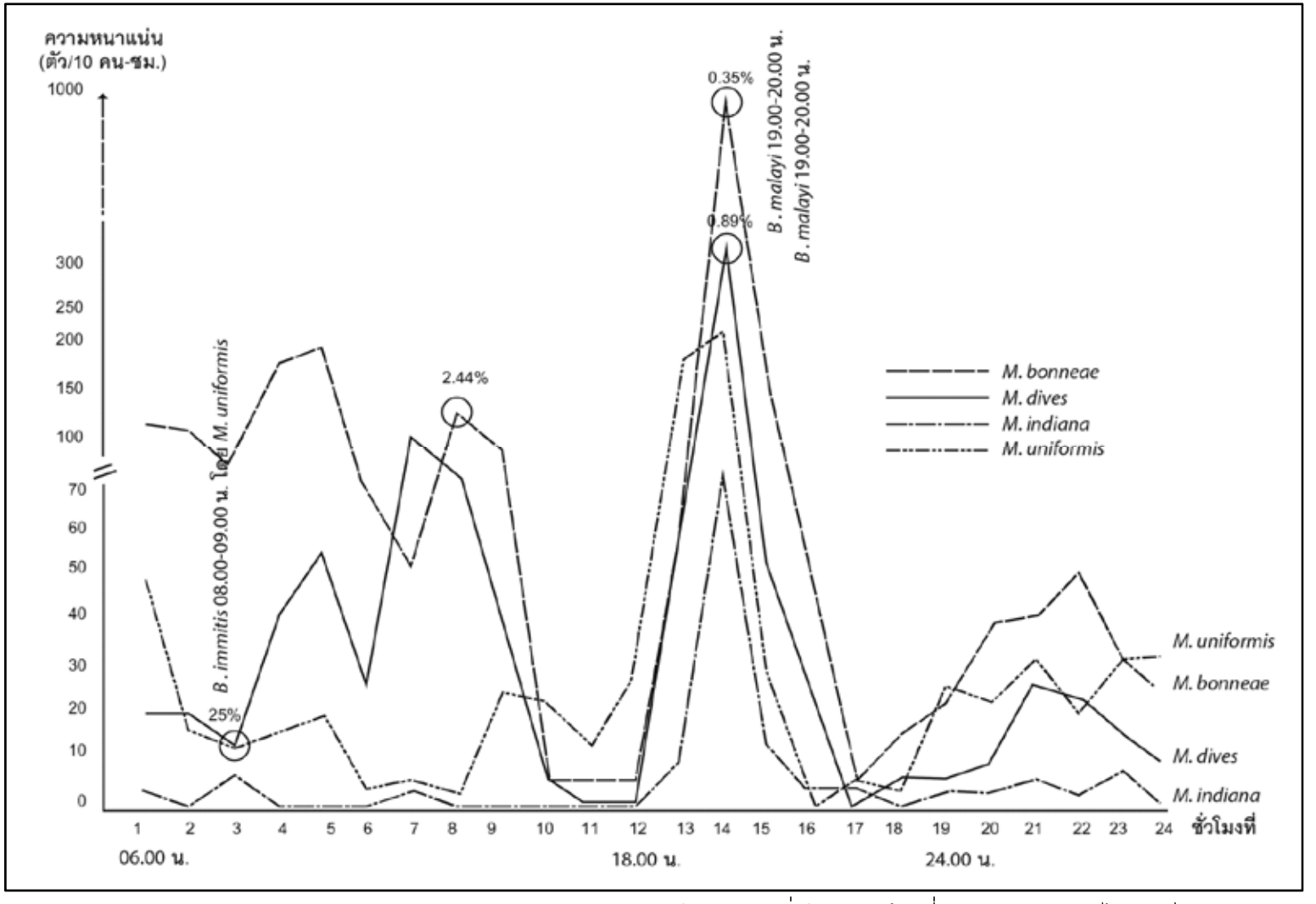


กราฟที่ 1 ความหนาแน่นของยุง *M. bonneae*, *M. dives*, *M. indiana* และ *M. uniformis* ในรอบ 24 ชั่วโมง จากท้องที่หมู่ 5 ต.ปูโย๊ะ อ.สุไหงโก-ลก จ.นราธิวาส (ดูตารางที่ 1 ประกอบ)

ตารางที่ 2 ความหนาแน่นของยุง *M. bonneae*, *M. dives*, *M. indiana* และ *M. uniformis* ในรอบ 24 ชั่วโมง จากหมู่ 6 ต.ปะลุรู อ.สุไหงปาดี

ชั่วโมงที่ / ชนิดยุง	1 / 13	2 / 14	3 / 15	4 / 16	5 / 17	6 / 18	7 / 19	8 / 20	9 / 21	10 / 22	11 / 23	12 / 24	การพบตัวอ่อนพยาธิ
M. bonneae	126.67 / 70	110 ** / 953.33	86.67 / 170	193.33 / 50	213.33 / 6.67	70 / 16.67	50 / 23.33	136.67 * / 40	96.67 / 43.33	6.67 / 53.33	667 / 33.33	6.67 / 26.67	* เวลา 13.00-14.00 น. มีอัตราการติดและแพร่เชื้อ *B. malayi* 2.44%
M. dives	20 / 66.67	20 *** / 373.33	13.33 / 53.33	43.33 / 23.33	56.67 / 0	26.67 / 6.67	113.33 / 6.67	80 / 10	40 / 26.67	6.67 / 23.33	0 / 16.67	0 / 10	** เวลา 19.00-20.00 น. มีอัตราการติดและแพร่เชื้อ *B. malayi* 0.35%
M. Indiana	3.33 / 10	0 / 76.67	6.67 **** / 13.33	0 / 3.33	0 / 3.33	0 / 0	3.33 / 3.33	0 / 3.33	0 / 6.67	0 / 3.33	0 / 6.67	0 / 0	*** เวลา 19.00-20.00 น. มีอัตราการติดและแพร่เชื้อ *B. malayi* 0.89%
M. uniformis	50 / 200	16.67 / 226.67	13.33 / 30	16.67 / 0	20 / 6.67	3.33 / 3.33	6.67 / 26.67	3.33 / 23.33	26.67 / 33.33	23.33 / 20	13.33 / 33.33	30 / 33.33	**** เวลา 08.00-09.00 น. มีอัตราการติดและแพร่เชื้อ *B. malayi* 25%

ชั่วโมงที่ 1 หมายถึงเวลา 06.00 – 07.00 น.
ชั่วโมงที่ 6 หมายถึงเวลา 11.00 – 12.00 น.
ชั่วโมงที่ 12 หมายถึงเวลา 17.00 – 18.00 น.
ชั่วโมงที่ 13 หมายถึงเวลา 18.00 – 19.00 น.
ชั่วโมงที่ 18 หมายถึงเวลา 23.00 – 24.00 น.
ชั่วโมงที่ 24 หมายถึงเวลา 05.00 – 06.00 น.



กราฟที่ 2 ความหนาแน่นของยุง *M. bonneae, M. dives, M. indiana* และ *M. uniformis* ในรอบ 24 ชั่วโมง จากท้องที่หมู่ 5 ต.ปะลุรู อ.สุไหงปาดี จ.นราธิวาส (ดูตารางที่ 2 ประกอบ)

ตารางที่ 3 การพบตัวอ่อนพยาธิฯ ในท้องที่ต่างๆ ของอำเภอสุไหงโก-ลก สุไหงปาดี และตากใบ จังหวัดนราธิวาส

อำเภอ	ตำบล	หมู่ที่	ชนิดยุง	อัตราการติดเชื้อ (%)	อัตราการแพร่เชื้อ (%)	ชนิดตัวอ่อนพยาธิฯ
สุไหงโก-ลก	ปูโย๊ะ	2	*M. uniformis*	3.45	0	immature stage
		4	*M. bonneae*	1.03	1.03	*B. malayi*
			M. dives	8.5	0.85	*B. malayi*
		5	*M. bonneae*	0.15	0	immature stage
			M. dives	0.30	0.30	*B. malayi*
สุไหงปาดี	สุไหงปาดี	1	*M. uniformis*	0.31	0.31	*B. malayi*
			M. bonneae	0.29	0.29	*B. malayi*
		3	*M. dives*	0.18	0.18	*B. malayi*
			M. nigrosignata	0.64	0.64	ไม่ทราบชนิดตัวอ่อน
			M. uniformis	2.17	0	immature stage
		5	*M. indiana*	3.39	3.39	*D. immitis*
			M. bonneae	0.11	0.11	*B. malayi*
			M. dives	0.37	0.37	*B. malayi*
		7	*M. uniformis*	0.37	0.37	*D. immitis*
			M. bonneae	0.23	0.23	ตัวอ่อนพยาธิฯ ชำรุด
			M. dives	0.17	0.17	*B. malayi*
	ปะลุรู	7	*M. bonneae*	0.21	0	immature stage
ตากใบ	พร่อน	5	*M. uniformis*	7.69	7.69	*D. immitis*

ตารางที่ 4 ความหนาแน่นของยุงสกุลต่างๆ ที่จับได้จากการใช้วัวเป็นเหยื่อล่อที่หมู่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก และหมู่ 6 ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส

สกุลยุง	หมู่ 5 ตำบลปูโย๊ะ			หมู่ 6 ตำบลปะลุรู		
	จำนวนยุงที่จับได้	ร้อยละ	ความหนาแน่น (วัว 10 ตัว-ซม.)	จำนวนยุงที่จับได้	ร้อยละ	ความหนาแน่น (วัว 10 ตัว-ซม.)
Mansonia spp.	214	90.30	178.33*	1,682	98.54	1,401.67**
Anopheles spp.	17	7.17	14.17	17	1	14.17
Culex spp.	4	1.69	3.33	8	0.47	6.67
Coquilletidia spp.	2	0.84	1.67	-	-	-
รวม	**237**			**1,707**		

* พบ *M. bonneae* มีตัวอ่อนพยาธิฯ ระยะ immature stage คิดเป็นอัตราการติดเชื้อ 1.28%

** พบ *M. uniformis* มีตัวอ่อนพยาธิฯ *D. immitis* คิดเป็นอัตราการติดเชื้อ 0.36% และอัตราการแพร่เชื้อ 014%

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบความหนาแน่นของยุง *Mansonia* แต่ละชนิดที่จับได้จากการใช้คนและวัว เป็นเหยื่อล่อในท้องที่หมู่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก

ความหนาแน่น (ตัว/10 คน-ซม.) ชนิดยุง	หมู่ 5 ตำบลปูโย๊ะ	
	วัว	คน
M. bonneae	65	183.89
M. dives	56.67	183.06
M. uniformis	5.82	30.28
M. indiana	38.33	61.94
M. annulata	5	11.94
M. nigrosignata	7.50	11.11

ตารางที่ 6 จำนวนและร้อยละของยุงสกุล *Mansonia* แต่ละชนิดที่จับได้ตามส่วนต่างๆ ของร่างกายจากการใช้คนเป็นเหยื่อล่อในท้องที่หมู่ 1 ต.สุไหงปาดี หมู่ 7 ต.ปะลุรู อ.สุไหงปาดี และหมู่ 5 ต.ปูโย๊ะ อ.สุไหงโก-ลก จ.นราธิวาส

6.1 ท้องที่หมู่ 1 ต.สุไหงปาดี อ.สุไหงปาดี

ชนิดยุง	จำนวนยุงที่จับได้ (ตัว)			ร้อยละ		
	ศีรษะ-เอว	เอว-เข่า	เข่า-ปลายเท้า	ศีรษะ-เอว	เอว-เข่า	เข่า-ปลายเท้า
M. bonneae	193	173	333	61.31	14.62	28.15*
M. dives	124	116	230	10.49	9.81	19.44**
M. uniformis	4	8	0	0.34	0.68	0
M. nigrosignata	2	0	0	0.17	0	0
รวม	**1,183 ตัว**					

*, ** พบยุงมีตัวอ่อนพยาธิฯ *B. malayi* คิดเป็นอัตราการติดเชื้อและแพร่เชื้อที่เท่ากันคือ 0.30% และ 0.48% ตามลำดับ

6.2 ท้องที่หมู่ 7 ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี

ชนิดยุง	จำนวนยุงที่จับได้ (ตัว)			ร้อยละ		
	ศีรษะ-เอว	เอว-เข่า	เข่า-ปลายเท้า	ศีรษะ-เอว	เอว-เข่า	เข่า-ปลายเท้า
M. bonneae	18	11	20	14.52	8.87	16.13
M. dives	11	4	16	8.87	3.23	12.90
M. uniformis	13	8	9	10.48	6.45	7.26
M. indiana	1	0	0	0.81	0	0
M. annulata	0	0	1	0	0	0.81
M. nigrosignata	9	3	0	7.26	2.42	0
รวม	**124 ตัว**					

6.3 ท้องที่หมู่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก

ชนิดยุง	จำนวนยุงที่จับได้ (ตัว)			ร้อยละ		
	ศีรษะ-เอว	เอว-เข่า	เข่า-ปลายเท้า	ศีรษะ-เอว	เอว-เข่า	เข่า-ปลายเท้า
M. bonneae	46	53	143	7.09	8..17	22.03
M. dives	45	94	193	6.93	14.48	29.74
M. uniformis	4	10	27	0.62	1.54	4.16
M. indiana	4	4	13	0.62	0.62	2.00
M. annulata	4	0	0	0.62	0	0
M. nigrosignata	4	0	5	0.62	0	0.77
รวม	**649 ตัว**					

ผลการศึกษา

1. การศึกษาชีวนิสัยการออกหากินของยุงพาหะตลอด 24 ชั่วโมง

จากตารางที่ 1 และกราฟที่ 1 ซึ่งเป็นการศึกษาการออกหากินของยุงพาหะ ในท้องที่หมู่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก พบว่ายุง *M. bonneae, M. dives M. indiana* และ *M. uniformis* มีรูปแบบการออกหากินชนิด Nocturnally supperiodic คือ ออกหากินตอนกลางคืนมากกว่าตอนกลางวัน ส่วนตารางที่ 2 และกราฟที่ 2 เป็นการศึกษาการออกหากิน ของยุงพาหะในท้องที่หมู่ 7 ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี พบว่ายุงทั้ง 4 ชนิด ดังกล่าวมีรูปแบบหากินชนิด Diurnally subperiodic คือ ออกหากินตอนกลางวันมากกว่ากลางคืน

จากตารางที่ 1 และ 2 พบว่า *Mansonia* มีความหนาแน่นสูงมากในหมู่บ้านต่างๆ ของตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก ตำบลสุไหงปาดี และตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี แสดงให้เห็นว่าท้องที่เหล่านี้มีแหล่งเพาะพันธุ์ที่มีน้ำขังแบบ swamp forest หลายแห่งและเป็นป่าหนาทึบเหมาะที่ยุง *Mansoia* หลบซ่อนอาศัยในตอนกลางวัน แต่จากการศึกษาชีวนิสัย การออกหากินของยุงพาหะตลอด 24 ชั่วโมง ปรากฏผลที่ไม่สอดคล้องกันจึงไม่อาจจะกล่าวได้ว่าชีวนิสัยการออกหากินของยุงที่แน่นอนในท้องที่นี้เป็นรูปแบบใด อาจเป็นลักษณะการออกหากินเฉพาะแต่ละท้องที่โดยมีปัจจัยบางอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น สภาพภูมิประเทศ กิจกรรมการดำเนินชีวิตประจำของคนในท้องถิ่น เป็นต้น อย่างไรก็ตามยุงที่มีตัวอ่อนพยาธิฯ *B. malayi* นั้น ยังคงพบในตอนกลางวันกับใกล้พลบค่ำเช่นเดียวกับที่เคยศึกษาไว้ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานีและจังหวัดนครศรีธรรมราช เมื่อเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม 2528 และเดือนมกราคม 2529 จากรูปแบบการออกหากินและการพบยุงมีตัวอ่อนพยาธิฯ *B. malayi* ตอนกลางวันนี้จึงอาจจะสรุปได้ว่าโรคฟิลาเรียทางภาคใต้ของประเทศไทยมีการแพร่กระจายตอนกลางวันมากกว่ากลางคืน โดยการคาดคะเนบนพื้นฐานของวิธีการดำเนินชีวิตของคนในหมู่บ้านที่มีการออกทำไร่ ทำสวน (สวนผลไม้ สวนยางพารา ฯลฯ) ตอนกลางวันตั้งแต่เช้าถึงเย็นแล้วกลับบ้าน กอร์ปกับเป็นท้องที่ที่ยุงมีความชุกชุมสูง และ

ชาวบ้านรู้จักปรับตัวในการกางมุ้งนอนป้องกันยุงกัด จากลักษณะการดำเนินชีวิตที่เป็นไปในรูปแบบเดียวกันหลายหมู่บ้าน จึงทำให้ยุงพาหะปรับตัวให้มีชีวนิสัยออกหากินนอกบ้านมากกว่าในบ้าน และกัดกินเหยื่อตามป่าตามสวนตอนกลางวันไปในที่สุด

นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาลักษณะเช่นเดียวกันในหมู่ 6 ตำบลบางขุนทองและหมู่ 5 ตำบลพร่อน อำเภอตากใบ แต่เนื่องจากประชากรยุงน้อยมากในท้องที่ทั้งสองแห่ง ข้อมูลที่ได้รับจึงไม่สามารถใช้เป็นตัวแทนการออกหากินของยุงพาหะในท้องที่จังหวัดนราธิวาส อีกทั้งท้องที่เหล่านี้มีสภาพภูมิประเทศส่วนใหญ่เป็นทุ่งนากว้าง ไม่มีแหล่งน้ำขังตลอดปี ยุงพาหะจึงมีจำนวนน้อยและผลการการผ่ายุงที่จับได้ทั้งสิ้น 437 ตัว ปรากฏว่าไม่พบยุงชนิดใดมีตัวอ่อนพยาธิฯ

จากลักษณะสภาพภูมิประเทศที่แตกต่างกันและส่งผลถึงความหนาแน่นของยุงพาหะมากน้อยไม่เท่ากันในแต่ละท้องที่จึงเป็นเครื่องชี้บอกลักษณะการระบาดของโรคที่แตกต่างกัน โดยพิจารณาจากตารางที่ 3 พบว่าทุกหมู่บ้านที่เข้าสำรวจของตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงปาดี อำเภอสุไหงโก-ลก และตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี พบยุงหลายชนิดมีตัวอ่อนพยาธิ *B. malayi* และยุงบางชนิด แม้จะพบตัวอ่อนพยาธิฯ เป็น immature stage ก็ยังแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการรับเชื้อพยาธิฯ จากคน (microfilaria) ซึ่งอาจมีโอกาสให้เชื้อพยาธิฯ นั้น เจริญสู่ระยะที่ 3 (infective stage) แล้วแพร่กระจายไปสู่บุคคลอื่นต่อไปได้

สำหรับยุง *M. nigrosignata* มีตัวอ่อนพยาธิฯ ที่ยังไม่ทราบชนิดซึ่งอาจเป็นตัวอ่อนพยาธิฯ ของสัตว์ชนิดใดชนิดหนึ่ง เช่น หนูหรือไก่ ดังที่ภาควิชากีฏวิทยาทางการแพทย์คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดลเคยสำรวจพบเชื้อพยาธิฯ ในหนู *Rattus rattus* 16 ตัว และในไก่ 2 ตัว แต่ไม่สามารถบอกชื่อของเชื้อพยาธิฯ นั้นได้ (เพ็ญศรี คุปตะวานิช และคณะ, 2512-2514)

อย่างไรก็ตาม ทุกหมู่บ้านที่พบยุงมีตัวอ่อนพยาธิฯ *B. malayi* จะมีอัตราการติดเชื้อและอัตราการแพร่เชื้อใกล้เคียง 1% แสดงว่าท้องที่เหล่านี้มีการแพร่กระจายโรคระดับต่ำเนื่องจากไม่มีการสำรวจทางกีฏวิทยาก่อนการทำ Mass drug treatment ผลของการศึกษานี้จึงไม่อาจสรุปได้ว่าการบำบัดรักษาด้วยยา Diethylcarbamazine ในคนสามารถลดการแพร่กระจายของโรคได้ แต่เป็นข้อมูลยืนยันว่าท้องที่เหล่านี้แม้ประชากรได้รับการรักษาด้วยยาดังกล่าวด้วย การระบาดของโรคยังคงเกิดขึ้นโดยอยู่ในเกณฑ์ต่ำ ดังนั้นข้อเสนอแนะคือ จักต้องดำเนินการควบคุมโรคอย่างต่อเนื่องด้วยการสำรวจเจาะโลหิตต่ำและให้ยารักษาแก่ผู้มีเชื้อพยาธิฯ แล้วสอบสวนภาวะการระบาดของโรคโดยสำรวจทางกีฏวิทยา หายุงที่มีตัวอ่อนพยาธิฯ *B. malayi* วิธีการแต่ละขั้นตอนไม่ควรทิ้งระยะห่างนานเกินไป เนื่องจากยุงพาหะมีความหนาแน่นสูง ในฤดูฝนจะยิ่งเพิ่มความหนาแน่นมากขึ้น การแพร่กระจายโรคก็ยิ่งสูงขึ้นตามสัดส่วนกัน

2. ศึกษาชีวนิสัยการกัดกินเลือดสัตว์ (วัว) ของยุงพาหะ

จากตารางที่ 5 พบว่า ยุงสกุล *Mansonia* กัดวัวมีความหนาแน่นสูงมาก โดยเฉพาะที่หมู่ 6 ตำบลปะลุรู เมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นแต่ละชนิดของยุงสกุลนี้ จากที่จับได้จากการใช้คนและวัวเป็นเหยื่อล่อในตารางที่ 6 จะเห็นว่ายุงทุกชนิดชอบกัดคนมากกว่า *M. bonneae* กับ *M. dives* ซึ่งเป็นพาหะสำคัญจะมีอัตราการกัดคนต่อกัดวัวประมาณ 3:1 ลักษณะความแตกต่างของยุงต่อความชอบกัดเหยื่อดังกล่าวข้างต้นได้ผล สอดคล้องกับที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี และจังหวัดนครศรีธรรมราช จึงพอจะกล่าวได้ว่า ยุง *Mansonia* ทางภาคใต้ของประเทศไทยนั้นชอบทั้งเลือดคนและวัว แต่ชอบเลือดคนมากกว่า

ยุง (โดยเฉพาะเพศเมีย) เป็นแมลงที่กินเลือดเป็นอาหารสำหรับใช้ในการสร้างไข่และให้พลังงาน ความชอบกินเลือดสัตว์แต่ละชนิดมากน้อยแตกต่างกันจะมีผลโดยตรงต่อการนำเชื้อโรคยุงที่ชอบกินเลือดคน โอกาสนำเชื้อพยาธิฯ ในคนก็มีมาก การเป็นพาหะก็จะมีความสำคัญมาก ยุงที่ชอบกินเลือดสัตว์ก็มีโอกาสนำเชื้อพยาธิฯ ในสัตว์ ซึ่งกินเลือดสัตว์หลายชนิดก็จะนำเชื้อพยาธิฯ ของสัตว์หลายชนิด การเป็นพาหะจึงมีความสำคัญน้อยลง (Reid, 1961) การศึกษานี้พบ *M. bonneae* มีตัวอ่อนพยาธิฯ ระยะที่ 2 (immature stage) ซึ่งเชื้อพยาธิฯ อาจเป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคในคนหรือเป็นเชื้อพยาธิฯ ของสัตว์ เชื้อพยาธิฯ ของสัตว์หลายชนิดที่อาจพบในยุง เช่น *D. immitis, D. repens, B. pahangi* type I, type IV เป็นต้น (Yen et al., 1982) การทำ Precipitin test ซึ่งเป็นการทดสอบชนิดเลือดในยุงว่าเป็นของคนหรือสัตว์ชนิดใด เป็นวิธีหนึ่งที่ทำให้ทราบชีวนิสัยความชอบกินเลือดสัตว์แต่ละชนิดของยุง จะช่วยชี้บอกถึงความเป็นพาหะสำคัญและสามารถทำนายเหตุการณ์การระบาดของโรคในท้องที่ที่เข้าสำรวจได้ (เพ็ญศรีและคณะ, 2508-2509)

3. การศึกษาชีวนิสัยของยุง *Mansonia* ในการชอบกัดส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย

จากตารางที่ 6 พบว่ายุง *Mansonia* ทุกชนิดที่จับได้ กัดร่างกายทั้ง 3 ส่วน แต่มี *M. bonneae* กับ *M. dives* เลือกกัดช่วงเข่า - ปลายเท้า จำนวนสูงที่สุดทุกหมู่บ้าน ส่วนยุงชนิดอื่นเลือกกัดร่างกายแต่ละส่วน ได้ผลไม่สอดคล้องกัน ความแตกต่างนี้เนื่องจากวิธีการจับยุงไม่รัดกุมโดยผู้ทำหน้าที่จับยุงแต่ละคน ซึ่งแยกจับยุงตามส่วนต่างๆ ของร่างกายใช้อุปกรณ์จับยุงไม่เหมือนกัน sucking tube กับ vial tube เป็นอุปกรณ์สำหรับจับยุงครั้งนี้ อุปกรณ์ชนิดแรกสามารถจับยุงได้ครั้งละจำนวนมาก มักใช้กรณียุงพาหะมีความหนาแน่นสูง แต่ยุงบอบช้ำคือเกล็ดตามลำตัวหลุดร่วงหายไปวินิจฉัยชนิดยุงจึงคลาดเคลื่อน อุปกรณ์ชนิดหลังจับยุงได้ครั้งละจำนวนน้อยประมาณ 1-5 ตัว ขึ้นอยู่กับความชำนาญของผู้ใช้ มักใช้กรณียุงพาหะมีความหนาแน่นต่ำ ยุงไม่บอบช้ำ นอกจากนี้ประสิทธิภาพและความชำนาญของผู้จับแต่ละคนไม่เท่ากันอาจมีส่วนเกี่ยวข้องต่อจำนวนยุงที่จับด้วย

อย่างไรก็ตาม จากตารางที่ 6 จะเห็นว่า *M. bonneae* กับ *M. dives* ที่กัดช่วงเข่า - ปลายเท้ามีตัวอ่อนพยาธิฯ *B.malayi* ทำให้มีข้อสงสัยที่ว่ายุงที่มีตัวอ่อนพยาธิฯ ระยะ infective larva ซึ่งเป็นระยะพร้อมจะแพร่ไปยังบุคคลอื่น อาจกัดได้เฉพาะร่างกายส่วนล่างมากกว่าส่วนบน โดยมีข้อสันนิษฐานเนื่องจากตัวอ่อนพยาธิฯ ในตัวยุงเป็นอุปสรรคต่อการบิน เชื้อพยาธิฯ จากคน (microfilaria) หลังเข้าสู่ตัวยุงแล้ว จะเคลื่อนที่มาตรงบริเวณส่วนนอกเพื่อลอกคราบ 2 ครั้ง จึงเจริญเติบโตเป็นระยะที่ 3 (infective stage) ซึ่งเป็นระยะที่แข็งแรงและมีการเคลื่อนไหว (active) หากมีจำนวนมาก อาจก่อกวน ขัดขวางหรือทำลายกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) ที่จะทำให้เกิดพลังงานสำหรับใช้ในการบิน

การศึกษานี้เป็นเพียงการทดลองเบื้องต้นเพื่อต้องการทราบชนิดและปริมาณยุงที่ชอบกัดส่วนต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งผลสอดคล้องกับที่เมื่อปี 1962, Wharton เคยศึกษาและรายงานไว้ว่ายุง *Mansonia* ส่วนใหญ่ชอบกัดร่างกายส่วนล่างมากกว่าส่วนบน (Wharton, 1987) มีข้อคำนึงบางประการเกี่ยวกับวิธีการทดลองนี้ คือ ผู้เป็นเหยื่อล่อ สวมกางเกงขาสั้น เปลือยกายส่วนบนและส่วนล่างยืนล่อยุงให้มากัดเพียงท่าเดียว ควรเพิ่มวิธีให้เหยื่อนอนราบกับพื้นแล้วนำข้อมูลมาเปรียบเทียบทั้ง 2 แบบ จึงจะสรุปความชอบของยุง *Mansonia* ในการเลือกกัดร่างกายส่วนต่างๆ อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ผู้ทำหน้าที่จับยุงสังเกตพบว่าร่างกายเหยื่อส่วนที่มีผ้าปกคลุม (มีกางเกงตรงบริเวณสะโพก) มียุงกัดจำนวนน้อย ดังนั้นการศึกษาเพิ่มเติมเปรียบเทียบชนิดและปริมาณยุงที่ชอบกัดร่างกาย

ระหว่างเหยื่อที่สวมเสื้อผ้ามิดชิดกับสวมเสื้อผ้าไม่มิดชิดจะเป็นความรู้นำไปสู่การคาดคะเนถึงลักษณะผู้ที่สัมผัสกับยุงพาหะบ่อยครั้งและมีโอกาสเป็นโรคฟิลาเรียมากที่สุด

สรุป

จากการปฏิบัติงานกีฏวิทยาในท้องที่ อำเภอสุไหงโก-ลก สุไหงปาดี และตากใบ สรุปได้นี้

1. ยุง *M. bonneae, M. dives, M. indiana และ M. uniformis* ที่หมู่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก มีชีวนิสัยการออกหากินแบบ Nocturnally subperiodic ส่วนที่หมู่ 6 ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี มีการออกหากินแบบ Diurnally subperiodic และยุงที่มีตัวอ่อนพยาธิฯ *B. malayi* ยังคงพบในตอนกลางวันและตอนใกล้พลบค่ำเช่นเดียวกับที่เคยศึกษาพบในจังหวัดสุราษฎร์ธานี และจังหวัดนครศรีธรรมราช โรคฟิลาเรียทางภาคใต้จึงมีการแพร่กระจายมากตอนกลางวันตามป่าที่มีความชื้นสูงสวนผลไม้หรือสวนยางพารา

2. ยุง *Mansonia* ทุกชนิดกินทั้งเลือดคนและวัว แต่ชอบเลือดคนมากกว่า

3. ยุง *Mansonia* กัดร่างกายคน (เหยื่อ) ได้ทุกส่วนตั้งแต่ศีรษะ-ปลายเท้า แต่ *M. bonneae* กับ *M. dives* ชอบกัดช่วงเข่า-ปลายเท้ามากที่สุดและยุงทั้ง 2 ชนิดนี้ พบตัวอ่อนพยาธิฯ *B. malayi* ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ระดับผู้ปฏิบัติงานของศูนย์โรคเท้าช้างเขต 4, 11, 12, 11.1 กำนัน-ผู้ใหญ่บ้านในท้องที่ที่เข้าทำการสำรวจทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการศึกษาวิจัยอย่างดียิ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. เพ็ญศรี คุปตะวานิชและคณะ, *รายงานประจำปี 2508-2509* คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัย-มหิดล หน้า 203 - 211.
2. เพ็ญศรี คุปตะวานิชและคณะ, *รายงานประจำปี 2512-2514* คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัย-มหิดล หน้า 139 - 167.
3. Reid, J.4 (1961) The attraction of mosquittoes by human or animal bites in relation to the transmission of disease. Bull. ent. Res. 52, 43.
4. Reid, J.A., Wilson, T, and Ganapathipillai, A. (1962) Studies on filariasis in Malaya. The mosquito vectors of periodic *Brugia malayi* in North West Malaya. *Annual tropical Meddicine Parasitology*, 56, 332
5. Wharton, R.H. (1978) The biology of *Mansonia* mosquitoes in relation to the transmission of filariasis in Malaya. Bull. 11, 109.
6. Yen, P.K.F., Zaman., V. and Mak, J.W. (1982) Indentification of some common infective filarial larvae in Malaysia. *Journal of Helminthology*. 56, 69-80.

<u>ตารางผนวกที่ 1</u> ความหนาแน่นของยุงแต่ละชนิดที่จับได้จากการใช้คนเป็นเหยื่อล่อในจังหวัดนราธิวาส

ชนิดยุง	ความหนาแน่น (ตัว/10 คน - ชม.)							
	ตำบลสุไหงปาดี				ต.ปะลุรู	ตำบลปูโย๊ะ		
	หมู่ 1	หมู่ 3	หมู่ 5	หมู่ 7	หมู่ 7	หมู่ 2	หมู่ 4	หมู่ 5
M. bonneae	96.11	122.78	302	74.17	129.72	54.54	26.94	183.89
M. dives	159.44	155	179.67	166.67	65	35.45	32.5	183.06
M. uniformis	91.39	12.78	79.67	150.28	49.17	8.79	6.94	30.28
M. annulata	0.28	13.62	13.33	1.11	13.33	-	0.27	11.94
M. indiana	0.28	17.78	19.67	1.94	8.89	6.67	0.56	61.94
M. nigrosignata	2.5	43.33	38.67	0.56	24.17	-	3.89	11.11
Cq. crassipes	1.11	0.28	2.67	-	0.56	-	-	-
A. unbrosus	-	3.06	2	-	1.11	-	-	6.94
An. campestris	0.28	-	0.67	-	-	-	-	-
A. sinensis	0.28	0.83	4	2.22	-	0.90	1.94	-
An. nigerrimus	9.17	-	2.67	-	-	-	-	-
An. aconitus	-	-	0.33	-	-	-	-	-
An. argyropus	-	0.28	-	-	0.28	-	-	-
Ar. subalbatus	-	0.56	0.67	-	10.28	-	0.28	-
Ae. albopictus	0.28	1.39	0.33	-	0.28	-	0.56	1.11
Cx. sitiens	-	-	0.33	-	-	-	-	-
Cx. tritaeniorchynolus	1.39	1.94	1.33	0.28	-	1.82	2.22	0.83
Cx. quinquefasciatus	0.28	-	-	-	-	-	-	-
Cx. bitainiorynchus	-	-	-	6.39	-	0.30	1.11	-
Cx. whitmorei	-	-	-	-	-	0.30	-	-
Ae. poicilus	-	-	-	-	-	-	0.28	-

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ชนิดยุง	ความหนาแน่น (ตัว/10 คน - ชม.)				
	ตำบลพร่อน			ตำบลตากใบ	
	หมู่ 2	หมู่ 3	หมู่ 5	หมู่ 1	หมู่ 6
M. bonneae	0.74	0.37	9.26	13.33	45.56
M. dives	0.37	-	10.7	7.41	18.15
M. uniformis	4.81	4.81	30	18.15	0.74
M. indiana	-	0.74	1.85	4.81	-
M. nigrosignata	0.74	0.37	1.48	0.37	14.07
Cq. crassipes	1.85	0.37	0.74	-	-
C. tritaeniorhynches	8.52	2.22	1.11	4.81	-
C. bitaeniorhynehus	0.74	0.74	2.96	1.11	
C. gelidus	1.48	-	0.74	-	4.81
C. fuscsceqhala	-	-	0.74	-	-
A. barbirostris	-	-	0.37	-	-
A. nigerrimus	0.37	-	4.44	-	-
A. argyopus	1.48	-	1.11		2.22
A. tessellatus	0.74	0.74	0.37	-	-
Ar. subalbatus	0.74	6.67	0.74	-	0.37
Ae. loagirostris	-	0.74	-	-	-
Ae. albopictus	1.48	-	-	0.37	5.93
C. pipiem guingnefasiatus	-	-	-	0.37	-
A. umbrosus	-	-	-	-	1.11
A. sinensis	-	-	-	-	2.96

ตารางผนวกที่ 2 ความหนาแน่นของยุงแต่ละชนิดที่จับจากการใช้วัวเป็นเหยื่อล่อในท้องที่หมู่ 5 ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโก-ลก และหมู่ 6 ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส

ชนิดยุง	หมู่ 5 ตำบลปูโย๊ะ	หมู่ 6 ตำบลปะลุรู
M. bonneae	65	125.83
M. dives	56.67	92.50
M. indiana	38.33	31.67
M. uniformis	5.83	1,150
M. annulata	5	-
M. nigrosignata	7.50	1.67
Cq. crassipes	1.67	0.83
An. umbrosus	5.83	-
An. sinensis	5	2.50
An. nigerrimus	3.33	11.67
Ae. gelidus	1.67	6.67
Cx. tritaeniorhynchus	1.67	-

The periodicity of microfilaria in Thailand

Chantakorn Shutidamrong

Sirichai Phantana

Filariasis Division, Department of Communicable Disease Control

ABSTRACT

The study of periodicity was undertaken in 37 patients from 4 endemic areas during January - December 1985.

One of the endemic areas; Pra - sang district, Surat Thani province was found the diurnal subperiodic *Brugia malayi* (DSBm) and nocturnal subperiodic *Brugia malayi* (NSBm) were found in Sungai-padi and Tak-Bai district, Narathiwat. The nocturnal subperiodic *Wuchereria bancrofti* was found in Thong phaphum district, Kanchanaburi province.

การศึกษาการปรากฏตัวของพยาธิไมโครฟิลาเรีย

กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข

คำนำ

พยาธิไมโครฟิลาเรีย ที่ตรวจพบตามส่วนต่างๆ ของแหล่งระบาดที่มีอยู่ในโลกนี้มักมีลักษณะชีวนิสัยในการปรากฏตัวต่างๆ กัน ดังอาจจำแนกลักษณะของการปรากฏตัวออกได้เป็น 5 ชนิด

- The nocturnally periodic *W. bancrofti* (NPWb) ซึ่งพบได้ทั่วโลก
- The non periodic หรือ the diurnally subperiodic *W. bancrofti* (DSWb) พบในแถบหมู่เกาะแปซิฟิกใต้
- The nocturnally subperiodic *W. bancrofti* (NSWb) พบล่าสุดบริเวณทิศตะวันตกของประเทศไทย
- The nocturnally periodic *B. malayi* (NPBm) ซึ่งพบได้ทั่วไปในเขตเอเชียตะวันออก-ใต้
- The nocturnally subperiodic *B. malayi* (NSBm) จะพบตามแหล่งน้ำ หนอง บึง ในมาเลเซีย อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ ซึ่งจะรวมถึงในประเทศไทยด้วยลักษณะของการปรากฏตัวที่แตกต่างกันนี้ ได้เคยทำการศึกษาถึงในลักษณะของการปรากฏตัวของพยาธิฯ มีสาเหตุมาจากจังหวะการกระตุ้นของตัวพยาธิฯ เอง (Spontaneous rhythm of microfilariae) และปริมาณออกซิเจนในปอด (oxygen barrier in lungs) แต่จากการสรุปสมมุติฐานต่างๆ ของกลุ่มผู้ที่ได้เคยทำการศึกษาในด้านนี้ ในเวลาต่อมา ยังได้กล่าวถึงปัจจัยของ host และ environmental ที่ตอบสนองต่อจังหวะการหมุนเวียนของโลหิต ซึ่งความเห็นส่วนใหญ่ในปัจจุบันพบว่าช่วงเวลาการปรากฏตัวของพยาธิฯ มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับช่วงเวลาออกหากินของ insect species ซึ่งในที่นี้ คือ ยุงพาหะนั่นเอง

การปรากฏตัวของพยาธิฯ ที่พบในท้องที่ระบาดโรคเท้าช้างในประเทศไทยที่ได้มีผู้เคยศึกษาไว้แล้วนั้นมีทั้งชนิดที่เป็น Periodic และ subperiodic โดยเฉพาะ subperiodic *B. malayi* มีรายงานพบว่าในจังหวัดนราธิวาส ชุมพร เป็นต้น ในการศึกษาถึงการปรากฏตัวของพยาธิฯ ในครั้งนี้ได้พิจารณาเลือกพื้นที่ที่น่าสนใจในทางระบาดวิทยาของโรคฟิลาเรียซึ่งได้แก่ท้องที่ดังตารางต่อไปนี้

ประวัติการพบเชื้อพยาธิฯ ของท้องที่ที่นำมาศึกษาการปรากฏตัวของเชื้อพยาธิโรคฟิลาเรีย

ชนิดของเชื้อพยาธิฯ	จังหวัด	อำเภอ	ตำบล	จำนวนหมู่บ้านและเลขที่หมู่บ้าน	อัตราผู้มีเชื้อพยาธิฯ ในโลหิต (%)
B. malayi	นราธิวาส	สุไหงปาดี	สุไหงปาดี	2(#1.3)	2.47
		ตากใบ	พร่อน	3(#3-5)	1.67
	สุราษฎร์ฯ	พระแสง	ไทรขึง	3(#8)	2.39
W. bancrofti	กาญจนบุรี	ทองผาภูมิ	ท่าขนุน	3(#1)	0.28
			ปิล๊อค	แปลงที่ 2,5	1.43
รวม	3	5	6	**9 หมู่ 2 แปลง**	

ข้อมูล ปีงบประมาณ 2528 และปีงบประมาณ 2529

เนื่องจากพื้นที่ในบริเวณนี้มีลักษณะแหล่งเพาะพันธุ์ยุงขนาดใหญ่ แหล่งเกาะพักของยุงได้ตรวจพบยุงพาหะนำโรค สภาพภูมิอากาศมีฝนตกระยะยาว และที่สำคัญก็คือ กองฯ สามารถตรวจพบรังโรคในสัตว์ (แมว) ในบางท้องที่ และพบผู้ปรากฏอาการ อีกทั้งยังพบผู้มีเชื้อพยาธิฯ ในกระแสโลหิตดังข้อมูลที่ได้กล่าวแล้วนั้นประกอบกับพื้นที่นี้ยังมิได้ทำการศึกษาเรื่องการปรากฏตัวของพยาธิฯ มาก่อน

วัสดุและวิธีการ

กองฯ ได้ทำการสำรวจเจาะโลหิตประชากรในเขตท้องที่แผนปฏิบัติงานของกองฯ ซึ่งเป็นงานสำรวจปกติในเวลากลางคืน โดยเจาะโลหิตในปริมาตรรายละ 60 ลบ.มม.ทำเป็นฟิล์มโลหิตหนา (Thick film) เมื่อโลหิตแห้งสนิทแล้วนำไปย้อมด้วยสียิมซ่า (สียิมซ่า 1 ส่วน: บัฟเฟอร์ pH=7.2 19 ส่วน) นาน 10 นาที ล้างน้ำผึ่งสไลด์ให้แห้งนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทัศน์ เพื่อหาพยาธิฯ เมื่อทราบจำนวนผู้ป่วยแล้วได้คัดเลือกเฉพาะผู้ที่ยินยอมร่วมทำการศึกษามาเข้าพักสถานีอนามัย ตำบลใกล้เคียงหรือสถานที่อื่นๆ ตามความเหมาะสมของท้องที่นั้นๆ แล้วทำการเจาะโลหิตผู้ป่วยบริเวณปลายนิ้วมือรายละ 60+3 ลบ.มม. (ผู้ป่วยมี mf density ต่ำจึงจำเป็นต้องหาค่าเฉลี่ยในปริมาตร 60 ลบ.มม.) โดยใช้ heparinized Capillary tube ที่กำหนดปริมาตร 60 ลบ.มม. ไว้แล้วเป็นอุปกรณ์สำหรับเก็บโลหิต จากนั้น นำมาเกลี่ยลงบนสไลด์เป็น 3 เส้น (Three linear smear) โดยใช้เครื่องมือ Modified Sinton's pipette ช่วยเกลี่ยโลหิตดังกล่าว ปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้ทุกๆ 2 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง นำฟิล์มโลหิตที่แห้งสนิทมาทำการย้อมสีและตรวจนับจำนวนพยาธิทุกๆ แผ่น ดังข้อมูลในตารางที่ 1,2,3,4 และ 5 ตามลำดับ

เมื่อได้ผลการตรวจนับจำนวนพยาธิฯ แล้วจะนำมาหาค่าเฉลี่ยต่อ 60 ลบ.มม. ค่า periodicity index ค่าช่วงเวลาการปรากฏตัวของพยาธิ และค่า microfilaria density (k) ซึ่งจะใช้สำหรับหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนพยาธิฯ และชั่วโมงที่ตรวจพบพยาธิฯ ซึ่งจะเป็น harmonic wave หรือไม่จะต้องตรวจสอบค่า significance ต่อไป

สูตรการคำนวณใช้สูตร “Modification of the harmonic equation” ตามวิธีของ Aikat และ Das’s (1976)

y	=	m+b cos 15 h^{o} + c sin 15 h^{o}
y	=	microfilarial ratio
m	=	mean microfilarial ratio
a	=	periodicity index
k	=	peak hour
h	=	hour of the day
a^2	=	$b^2 + c^2$
b	=	$(2*\sum y \cos 15\ h^{o})/n$
c	=	$(2*\sum y \sin 15\ h^{o})/n$
tan 15^{o}k	=	$\frac{c}{b}$
m	=	$\frac{y}{n}$

สูตรทดสอบค่า ความมีนัยสัมพันธ์ของค่า a ซึ่งจะต้องไม่เท่ากับศูนย์ฯ คือ

$$F = \frac{\frac{m}{2}*a^2}{\frac{1}{n-3}(\sum y^2 - \left(\frac{\sum y^2}{n}\right) - \frac{n}{2}*a^2)}$$

ค่า F ควรจะมีค่ามากกว่าค่าทางทฤษฎี 5% ที่ 2 และ n-3 degree of freedom

ผลของการศึกษาได้แสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 1 จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งเจาะจากโลหิตผู้ป่วยจำนวน 8 ราย จากท้องที่ ตำบลพร่อน อำเภอตากใบ จังหวัดนราธิวาส

อันดับผู้ป่วย	จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งนับได้ทุกๆ 2 ชั่วโมง											
	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00	20.00	22.00	24.00	02.00	04.00	06.00
1	1,1,0	0,1,0	0,2,4	3,3,2	0,2,1	0,0,0	4,1,5	2,0,4	2,4,2	1,3,2	3,1,0	2,1,0
2	0,0,3	1,1,0	9,2,9	3,3,3	6,1,4	5,4,6	12,12,9	5,3,5	3,4,2	0,4,7	8,6,8	7,6,7
3	1,1,0	3,4,0	19,14,12	9,15,20	30,22,16	12,40,55	46,82,39	47,69,75	53,41,9	55,34,22	56,36,45	52,62,42
4	0,0,0	0,0,0	1,0,0	0,0,0	0,1,0	1,2,1	0,0,1	0,3,1	1,1,1	0,0,2	0,2,2	1,0,0
5	3,0,0	17,9,10	4,3,6	3,2,11	17,7,7	2,3,1	17,12,16	3,4,3	5,2,0	3,5,3	5,0,8	8,8,8
6	3,4,2	0,1,6	1,3,2	3,1,0	3,1,1	5,2,3	1,4,0	0,1,0	1,1,0	3,1,3	2,0,1	4,2,5
7	1,2,8	1,0,0	3,1,2	3,2,5	2,2,1	5,5,2	4,3,0	3,5,2	5,5,3	7,5,2	1,3,0	2,5,1
8	18,20,22	27,27,21	21,29,19	20,24,36	27,42,36	40,14,39	25,36,31	12,12,4	1,2,15	18,11,16	1,4,9	12,16,18
ค่าเฉลี่ย 60 ลบ. มม.	29.34	43	55.24	66	76.34	82.34	120	87.67	54.34	69	67	89.67
MF ratio	42.37	62.09	79.91	82.31	110.24	118.90	173.28	126.60	78.47	99.64	96.75	129.49

ตารางที่ 2 จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งเจาะโลหิตจากผู้ป่วยจำนวน 13 ราย จากท้องที่ ตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส

อันดับผู้ป่วย	จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งนับได้ทุกๆ 2 ชั่วโมง											
	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00	20.00	22.00	24.00	02.00	04.00	06.00
1	48,44,39	55,24,16	36,26,28	24,51,46	48,65,45	62,54,35	68,36,60	26,33,60	35,37,37	37,45,31	49,42,33	35,40,28
2	4,5,7	2,2,4	2,1,1	2,1,3	1,2,3	3,8,8	22,18,15	9,22,21	13,13,13	0,20,48	28,12,15	13,16,18
3	21,23,10	27,12,15	18,38,31	17,6,17	30,62,40	62,46,60	66,43,48	59,50,74	37,90,65	42,93,34	36,29,39	38,45,26
4	2,1,1	0,0,0	2,1,0	0,0,1	0,0,1	1,2,1	8,7,5	7,8,4	8,11,0	2,3,5	5,4,6	6,1,0
5	1,16,13	14,22,24	12,10,19	15,11,8	19,33,19	35,25,28	30,42,41	25,38,37	20,16,20	10,7,12	14,24,18	4,4,9
6	2,0,0	0,0,0	0,0,0	0,0,0	0,0,0	0,0,1	1,0,0	1,4,1	1,2,2	0,1,1	0,1,2	0,2,3
7	17,17,20	15,12,5	3,8,11	9,10,3	11,5,10	15,13,12	13,13,28	47,27,43	46,32,34	16,13,17	30,41,52	10,13,13
8	1,1,2	2,0,1	1,1,2	0,1,1	0,2,1	0,0,0	4,4,0	0,0,3	6,4,1	2,1,4	2,33,15	5,1,2
9	5,11,12	10,10,29	34,40,50	56,36,38	39,57,59	35,41,50	44,52,45	20,16,6	20,27,32	20,12,10	4,7,7	5,3,8
10	16,8,16	20,4,10	16,18,15	13,10,20	12,11,9	9,20,8	16,12,15	8,11,9	11,5,15	5,9,17	7,9,6	25,21,21
11	37,46,31	34,37,28	20,19,27	22,28,39	32,24,42	36,36,58	36,33,20	36,33,33	27,27,28	23,40,42	27,34,36	30,43,33
12	2,0,2	3,7,2	5,3,11	9,5,6	3,5,6	20,12,8	6,13,12	7,2,3	8,4,7	5,3,6	4,11,7	4,1,2

ตารางที่ 2 จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งเจาะโลหิตจากผู้ป่วยจำนวน 13 ราย จากท้องที่ ตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส (ต่อ)

อันดับ ผู้ป่วย	จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งนับได้ทุกๆ 2 ชั่วโมง											
	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00	20.00	22.00	24.00	02.00	04.00	06.00
13	8,2,4	3,6,9	6,12,11	9,10,4	5,12,13	17,12,18	11,6,1	8,8,6	3,10,8	8,4,9	1,7,5	3,6,2
ค่าเฉลี่ย 60 ลบ. มม.	165	15.457	182.34	174.34	242	284	298	268.34	258.34	219	234	179.67
MF ratio	74.44	69.78	82.26	78.66	109.19	128.14	134.45	121.07	116.56	98.81	105.58	81.06

ตารางที่ 3 จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งเจาะโลหิตจากผู้ป่วยจำนวน 6 ราย จากท้องที่ ตำบลท่าขนุน อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

อันดับ ผู้ป่วย	จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งนับได้ทุกๆ 2 ชั่วโมง											
	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00	20.00	22.00	24.00	02.00	04.00	06.00
1	2,1,1	1,2,1	2,1,4	7,7,5	9,12,8	11,7,7	3,3,9	3,4,4	3,3,3	2,8,5	1,1,4	1,2,4
2	1,0,1	1,3,3	2,2,4	3,7,9	16,4,8	7,11,10	6,4,1	2,26,6	4,4,9	4,8,11	8,6,11	6,10,7
3	2,1,7	2,5,1	3,1,6	21,20,18	26,33,27	22,27,20	42,18,24	35,30,23	24,10,15	21,31,22	18,17,13	9,11,11
4	4,4,0	2,0,4	1,4,2	12,9,15	11,33,19	7,12,5	3,6,8	10,15,11	10,20,17	6,3,0	2,1,3	0,2,1
5	7,10,16	15,19,11	7,14,13	12,13,14	11,9,8	9,24,17	29,17,23	23,16,9	14,37,58	19,19,5	36,22,28	11,8,24
6	3,4,1	2,3,4	2,6,7	2,3,7	4,9,6	4,6,5	16,20,8	13,10,6	8,14,11	6,4,4	6,5,1	5,5,5
ค่าเฉลี่ย 60 ลบ. มม.	21.67	26.33	27	61.33	84.33	70.33	93.33	79.67	67.67	59.33	61	40.67
MF ratio	37.54	45.62	46.78	106.25	146.10	121.35	161.69	138.03	117.24	102.79	105.68	70.46

ตารางที่ 4 จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งเจาะโลหิตจากผู้ป่วย จำนวน 10 ราย ในเขตท้องที่ตำบลไทรขึง อำเภอพระแสง จังหวัดสุราษฎร์ธานี

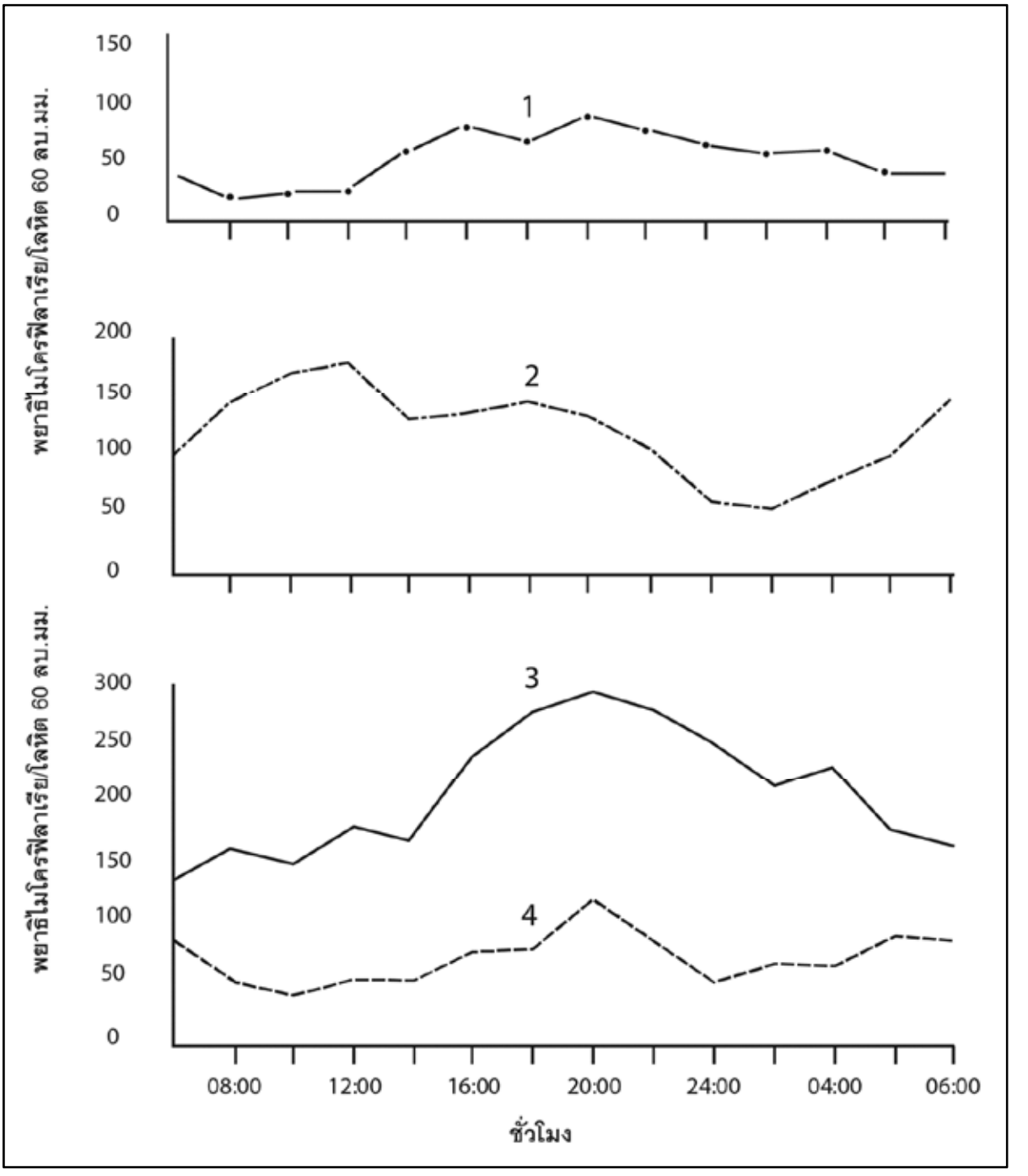
อันดับผู้ป่วย	จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรีย ซึ่งนับได้ทุกๆ 2 ชั่วโมง											
	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00	20.00	22.00	24.00	02.00	04.00	06.00
1	3,12,7	6,4,3	6,7,5	4,0,0	9,11,8	4,4,7	7,12,12	4,2,10	2,3,3	1,3,1	7,4,6	2,1,1
2	37,26,30	32,33,34	19,31,39	12,18,16	18,33,13	37,23,34	17,41,25	23,19,15	14,10,14	18,16,17	16,24,28	31,21,35
3	3,4,0	7,2,6	8,5,2	0,0,0	4,9,5	0,2,1	4,3,4	2,7,10	2,0,4	0,0,4	3,8,3	6,3,3
4	49,13,30	30,29,32	28,30,25	21,19,7	9,16,16	25,24,23	24,22,23	20,23,45	15,27,21	17,18,30	38,23,33	25,37,52
5	28,27,39	42,58,34	57,29,31	28,26,32	51,31,39	44,37,40	38,36,57	8,10,9	6,3,2	4,1,1	1,2,4	4,3,4
6	35,23,29	55,26,41	48,32,40	52,47,49	26,19,22	36,33,34	20,15,17	21,12,11	6,6,6	7,6,6	5,1,3	10,11,10
7	8,6,7	6,7,6	7,9,8	4,5,4	14,10,12	7,5,6	10,5,7	14,17,15	8,7,7	2,2,2	5,3,4	7,7,7
8	4,6,5	2,2,2	16,26,21	12,20,16	8,17,9	3,6,4	3,5,4	8,4,6	5,3,4	3,2,2	1,2,1	3,6,4
9	2,2,2	2,2,2	3,3,3	1,1,1	2,2,2	1,2,1	2,2,2	2,2,2	2,2,2	1,0,1	2,2,2	1,1,1
10	1,1,1	3,1,1	2,3,4	2,1,2	0,0,1	0,0,0	0,0,0	0,0,0	0,1,1	0,0,1	0,0,0	2,3,5
ค่าเฉลี่ย 60 ลบ.มม.	146.67	170.67	182.33	133.33	136.67	147.67	138.67	107	62	55.33	77	102
MF ratio	133.07	154.84	165.42	120.97	124	133.98	125.81	97.08	56.25	50.20	69.86	92.54

ผลการศึกษา สรุปได้ดังนี้

<u>ตารางที่ 5</u> ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์จำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรียในท้องที่ที่มีการระบาดของโรคฟิลาเรีย

ท้องที่ / รายละเอียด	ต.พร่อน	ต.สุไหงปาดี	ต.ท่าขนุน	ต.ไทรขึง
จำนวนผู้ป่วย	8	13	6	10
$\sum y$	1,200.05	1,200.00	1,200.03	1,324.02
$\sum y^2$	133,368.42	125,509.23	138,800.03	161,388.06
m	100	100	100	110.33
b	21.36	20.73	31.56	-44.86
c	-23.01	-19.62	-25.05	-14.75
a	31.40	28.54	40.29	44.38
a^2	985.71	814.67	1,623.53	1,969.82
K (peak)	20.8	21.1	21.4	13.3
Periodicity index	31.40	28.54	40.29	40.22
Length	18.00-24.00	18.00-24.00	18.00-24.00	12.00-18.00
F value	59.59	590.16	80.70	280.76
Type of mf	*B. malayi* Noct. sub-periodic	*B. malayi* Noct. sub-periodic	*W. bancrofti* Noct. sub-periodic	*B. malayi* Diurnal. sub-periodic

กราฟ ช่วงเวลาปรากฏของพยาธิไมโครฟิลาเรีย



1. Nocturnally subperiodic *Wuchereria bancrofti* (ต.ท่าขนุน อ.ทองผาภูมิ)
2. Diurnally subperiodic *Brugia malayi* (ต.ไทรขึง อ.พระแสง)
3. Nocturnally subperiodic *Brugia malayi* (ต.สุไหงปาดี อ.สุไหงปาดี)
3. Nocturnally subperiodic *Brugia malayi* (ต.พร่อน อ.ตากใบ)

วิจารณ์

กองฯ ได้เริ่มดำเนินการศึกษาในเรื่องการปรากฏตัวของเชื้อพยาธิฯ ตั้งแต่เดือนมกราคม-ธันวาคม 2528 รวมเวลาทั้งสิ้น 12 เดือน ผลของการเจาะโลหิตในผู้ป่วยจาก 4 ตำบลได้แสดงไว้ในตารางที่ 1-4 เมื่อได้ทำการทดสอบค่า F-value ปรากฏได้ค่าสูงกว่าค่าทางทฤษฎีที่ 1% F-value ที่ 2 และ 9 degree of freedom และค่า a^2 ของการทดลองนี้ มีนัยสำคัญทำให้พิจารณาจำนวนพยาธิฯ ในช่วงทุกๆ 2 ชั่วโมง มีความสัมพันธ์กับเวลาที่เจาะโลหิตเป็นแบบ harmonic wave เมื่อได้นำไป plot graph

ค่าของ periodicity index คำนวณได้จาก $\frac{a}{m} * 100$ ซึ่งค่า a และ m สามารถคำนวณหาได้โดยตรง การศึกษาในครั้งนี้ ค่า periodicity index ที่ต่ำกว่า 50 จึงถือว่าเป็นพยาธิฯ แบบ Subperiodic type ส่วนค่าของ peak hour (k) สามารถหาได้จาก tan $15k^o$ = c/b โดยไม่ต้องใช้คอมพิวเตอร์ เวลาสูงสุดของการปรากฏตัวของพยาธิฯ ใน

ตำบลพร่อน = 20.8 ชั่วโมง (20.48น.)
ตำบลสุไหงปาดี = 21.1 ชั่วโมง (21.06 น.)
ตำบลท่าขนุน = 21.4 ชั่วโมง (21.24 น.)
ตำบลไทรขึง = 13.3 ชั่วโมง (13.18 น.)

เมื่อพิจารณา ช่วงของการปรากฏตัวของพยาธิฯ ในกระแสโลหิตตามหลักของ Aikat และ Das (1976) พบว่าในเขตตำบลพร่อน สุไหงปาดี และท่าขนุน มีช่วงปรากฏตัวระหว่าง 18.00-24.00 น. (Nocturnal) ในเขตตำบลไทรขึง อำเภอพระแสง จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีช่วงปรากฏตัวระหว่าง 12.00 - 18.00 (Diurnal)

สรุป

1. การศึกษาและการปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียใน 4 ตำบลที่เป็นแหล่งระบาดของโรคฟิลาเรีย โดยเป็นเชื้อชนิด *B. malayi* 3 ตำบล เป็นเชื้อชนิด *W. bancrofti* 1 ตำบล

2. Nocturnally subperiodic *Brugia malayi* (NSBm) มีช่วงปรากฏตัวระหว่าง 18.00 - 24.00 น. มีช่วงสูงสุดเวลา 20.8 ชั่วโมง (20.48 น.)

ตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส พบ Noctumally subperiodic *Brugia malayi* (NSBm) ระหว่างเวลา 18.00-24.00 น. มีช่วงสูงสุดเวลา 21.1 ชั่วโมง (21.06 น.)

ตำบลท่าขนุน อำเภอทองผาภูมิ อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี พบ Noctumally subperiodic *Wuchereria bancrofti* (NSWb) มีช่วงปรากฏเวลา 18.00-24.00 น. มีช่วงสูงสุดเวลา 21.4 ชั่วโมง (21.24 น.)

ตำบลไทรขึง อำเภอพระแสง จังหวัดสุราษฎร์ธานีพบ Diurnally subperiodic *Brugia malayi* (DSBm) มีช่วงปรากฏตัวระหว่าง 12.00 -18.00 น. มีช่วงสูงสุด เวลา 13.3 ชั่วโมง (13.18 น.)

3. จากการศึกษาในท้องที่ ต.ไทรขึง ของจังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่ามีผู้ป่วยโรคนี้อยู่ 1 ราย ที่จำนวนเชื้อพยาธิฯ มีลักษณะปรากฏตัวแบบ Nocturnal แตกต่างไปจากกลุ่มที่ได้ศึกษา (Diurnal) ซึ่งมิได้แสดงข้อมูลไว้ที่นี้ และจากรายงานกีฏวิทยาของกองฯ ได้สนับสนุนเกี่ยวกับการจับยุงตลอด 24 ชั่วโมง พบยุงพาหะมีตัวอ่อนพยาธิฯ *B. malayi* ทั้งในยุงที่จับได้ในเวลากลางวันและกลางคืนซึ่งควรจะได้มีการศึกษาต่อไป

กิติกรรมประกาศ

กองฯ ขอขอบคุณคณะบุคคลต่างๆ ที่ได้ร่วมงานกับนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ของกองฯ ในการปฏิบัติงาน จนทำให้การศึกษาสำเร็จดังเป้าหมาย ดังรายนามต่อไปนี้

- ผู้ใหญ่บ้าน # 1, 3 ต.สุไหงปาดี อ.สุไหงปาดี จ.นราธิวาส
- ผู้ใหญ่บ้าน # 3, 5 ต.พร่อน อ.ตากใบ จ.นราธิวาส
- ผู้อำนวยการ ร.พ.พระแสง อ.พระแสง จ.สุราษฎร์ธานี
- ผู้อำนวยการ ร.พ.ทองผาภูมิ อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี
- หัวหน้าสถานีอนามัย ศูนย์อพยพ ห้วยเขย่ง ต.ท่าขนุน อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี
- สาธารณสุขอำเภอพระแสง จ.สุราษฎร์ธานี
- เจ้าหน้าที่ศูนย์โรคเท้าช้างเขต 4, 12 และหน่วยโรคเท้าช้างที่ 11.1 สุราษฎร์ธานี พนักงานจุลทัศนกรของกองฯ และนักวิชาการควบคุมโรค ฝ่ายระบาดวิทยา - กีฏวิทยาที่ได้ให้ข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. กองโรคเท้าช้าง. “รายงานผลการปฏิบัติงาน”. กรุงเทพฯ กองโรคเท้าช้าง, 2528
2. เติมศรี ชำนิจารกิจ, ยุพา อ่อนท้วม. “สถิติวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์”. กรุงเทพฯ โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2523
3. Aikat, T. K. & Das, M. (1976): A modified statistical method for analysis of periodicity of microfilaria. WHO/FIL/76.142
4. Guptavanij, P. Harinasuta, C. Sucharit, S. and Vutikes, S. (1971): Studies on subperiodic *Brugia malayi* in Southern Thailand SEAJTMPH 2:44
5. Guptavanij, P. Harinasuta, C. (1977): The periodicity of *Brugia malayi* in south Thailand. SEAJTMPH* 5(2): 185-9
6. Guptavanij, P. *et al* (1977): Studies on the prevalence of Malayan filariasis in south Thailand SEAJTMPH* 8(1): 42-52
7. Harinasuta, C., Guptavanij, P, Bell, D.K., Wilson, T., Ramachandran, C.P.& Silvanandam, S. (1970) Studies on the nocturnally sub-periodic strain of *Wuchereria bancrofti* from West Thailand, SEAJTMPH, 1, 152-154
8. Hawking, F. (1987) the periodicity of microfilaria. WHO/FIL/66.67
9. Mak, J.W. (1983): Filariasis: Epidemiology and Control of filariasis, 83-94 pp. Bulletin No19; Institute for Medical Research Press.
10. Sasa, M. *et al* (1976): A studies on the microfilarial density at Bireuen, the type locality of *Brugia malayi*. SEAJTMPH[2] 7(3): 370-6
11. Sasa, M. (1976): Human filariasis: Analysis of the microfilarial periodicity, 701 - 717 pp. University of Tokyo Press (Tokyo) and College Park Press (Baltimore & London)

[2]Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health

Correlation between Swamp Areas and Filariasis Prevalence

Bundit Chunhaswasdikul

M.D, M.P.H, Cert. Board of Prevent. Med.

Jirapat Ketkaew B.Ed

Pissanuvas Panart B.Sc (Biology, M.Sc Trop. Med)

Filariasis Division,

Department of Communicable Disease Control

ABSTRACT

Lymphatic filariasis has been and still is a public health problem in some Asian, Africa and American countries as well as some Caribbean and Pacific islands, including Thailand. In Thailand filariasis occurs in the southern provinces and some Thai-Burmese border areas. One of the important breeding places of mosquitoes, especially *mansonia* species which transmit Brugian filariasis is the humerous swamp area. The objective of this study is to find out the correlation between the distance from the swamp and the density of mosquitoes as well as the prevalence of filariasis. The outcome reveals clearly that the density of *mansonia* and the prevalence of the disease co-relate directly to the distance from the swamp area: There are no significant differences among age groups of the infected patients. The prevalence ratio between male and female is 2:1. Under the present socio-economic conditions the main control measure would be early case finding in high endemic area followed by high coverage and regular chemotherapy to cut the chain of transmission and finally to get rid of the disease.

พื้นที่พรุกับการเกิดและแพร่ระบาดของโรคฟิลาเรีย

บัณฑิต ชุณหสวัสติกุล, พ.บ, M.P.H, อ.ว. (เวชศาสตร์ป้องกัน)
จีระพัฒน์ เกตุแก้ว กศ.บ. (สุขศึกษา)
พิษณุวัฒน์ พานารถ วท.บ. , วท.ม. (อายุรศาสตร์เขตร้อน)

บทคัดย่อ

โรคฟิลาเรียหรือโรคเท้าช้าง (Lymphatic filariasis) ยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขของหลายประเทศทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยด้วย ประเทศไทยมีผู้ป่วยโรคฟิลาเรียเฉพาะจังหวัดภาคใต้และท้องที่บางแห่งตามชายแดนไทย-พม่า ลักษณะภูมิประเทศที่เอื้อต่อการเกิดและแพร่ระบาดของโรคอย่างหนึ่ง คือพื้นที่พรุที่มีน้ำแช่ขัง มีพืชน้ำและหญ้านานาชนิดอย่างอุดมสมบูรณ์ จึงเหมาะแก่การเพาะพันธุ์ยุง โดยเฉพาะยุงแมนโซเนียซึ่งเป็นพาหะนำโรคฟิลาเรียชนิด *Brugia malayi* จากผลการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่าการเกิดและแพร่ระบาดของโรคฟิลาเรียมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระยะห่างจากพื้นที่พรุ กล่าวคือในใจกลางพรุที่ยุงแมนโซเนียชุกชุมจึงมีผู้ป่วยทั้งที่ปรากฏอาการและที่มีหนอนพยาธิในโลหิตมาก ระยะห่างออกไปมีผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่ม ลดน้อยลงตามลำดับ ผู้ป่วยที่มีหนอนพยาธิในโลหิตมีหมวดอายุโดยเฉลี่ยเกือบเท่ากันแต่สูงเล็กน้อยในกลุ่มต่ำกว่า 10 ปี และลดน้อยลงในกลุ่มอายุสูงกว่าอายุ 60 ปี ผู้ป่วย ชาย:หญิง = 2:1 ส่วน มาตราการควบคุมและป้องกันโรคน่าจะเน้นการค้นหารายป่วยและทำกายภาพบำบัดรักษาให้หายหรือไม่เป็นแหล่งแพร่โรคและป้องกันความพิการที่จะเกิดขึ้นในเวลาต่อมา เพราะการทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ยุงไม่อยู่ในวิสัยของบุคคลกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งหรือหน่วยงานย่อยจะกระทำได้

กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ

บทนำ

โรคฟิลาเรียหรือโรคเท้าช้าง (Lymphatic fillariasis) เป็นโรคติดต่อเก่าแก่ที่รู้จักตั้งแต่ก่อนคริสตกาล จนถึงปัจจุบันก็ยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศกำลังพัฒนาต่างๆ ในทวีปเอเชีย แอฟริกา อเมริกา หมู่เกาะแคริเบียน และหมู่เกาะแปซิฟิกบางแห่งรวมทั้งประเทศไทยด้วย[1-4] สำหรับประเทศไทยนั้นโรคฟิลาเรียมีความชุกชุมที่จังหวัดภาคใต้และท้องที่ชายแดนไทย-พม่า[4,5] เมื่อ พ.ศ. 2494 Dr. M.O.T. Iyengar ผู้เชี่ยวชาญองค์การอนามัยโลกและคณะ ได้ทำการสำรวจครั้งแรกในประเทศไทยที่จังหวัดทางภาคใต้ด้านชายฝั่งทะเลตะวันออกจากประชากรที่รับการสำรวจ 4,112 คน พบผู้ป่วยปรากฏอาการขาบวมโต (Elephantiasis) 215 ราย และผู้ที่มีเชื้อหนอนพยาธิในกระแสโลหิต (microfilaremea) 863 ราย โดยมียุงตระกูลแมนโซเนีย (*Mansonia*) เป็นพาหะสำคัญในการนำเชื้อ *Brugia malayi* ติดต่อกันระหว่างคนและยุง[6] ต่อมาภายใต้โครงการควบคุมโรคติดต่อ ได้ดำเนินการสำรวจทางระบาดวิทยาในจังหวัดทางภาคใต้หลายจังหวัดและท้องที่ชายแดนไทย-พม่า พบว่ามีประชาชนป่วยด้วยโรคฟิลาเรียทั้งที่ปรากฏอาการและที่ยังไม่ปรากฏอาการเป็นจำนวนมาก[5] สำหรับท้องที่จังหวัดนราธิวาสกองโรคเท้าช้างได้ทำการสำรวจระหว่าง พ.ศ. 2518-2525 รวมประชากรได้รับการสำรวจ 75,862 คน พบผู้ป่วยอวัยวะบวมโตรวม 141 ราย ผู้ป่วยมีหนอนพยาธิในกระแสโลหิต 413 ราย[4] นอกจากนั้นยังพบว่าการกระจายของผู้ป่วยมีความชุกชุมแตกต่างกันไปตามลักษณะภูมิประเทศ ที่เอื้ออำนวยต่อการเกิดโรค

นราธิวาส เป็นจังหวัดที่อยู่ชายแดนใต้สุดของประเทศไทยติดต่อกับสหพันธรัฐมาเลเซียมีเนื้อที่ประมาณ 2,642,343 ไร่ เป็นพื้นที่ป่าร้อยละ 33 นอกจากนั้นยังมีพื้นที่พรุ (Swamp หรือ Bog) กว้างใหญ่ไพศาลมากมีด้วยกัน 2 พรุใหญ่ คือ พรุโต๊ะแดง อยู่ในเขตอำเภอสุไหงปาดี อำเภอตากใบ และเลยไปถึงอำเภอเมือง เนื้อที่ประมาณ 216,900 ไร่ พรุแห่งที่ 2 ได้แก่ พรุบาเจาะอยู่ในเขตอำเภอเมือง มีเนื้อที่ประมาณ 66,450 ไร่[7] การที่พรุทั้ง 2 แห่งมีซากพืชทับถมและอยู่ในสภาพน้ำแช่ขัง มีพืชน้ำและหญ้านานาชนิดเกิดขึ้น[6] จึงเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ยุงขนาดใหญ่โดยเฉพาะยุงแมนโซเนีย ซึ่งลูกน้ำยุงชนิดนี้ต้องอาศัยรากพืชในการหายใจตามวงจรชีวิต พื้นที่บริเวณใกล้พรุทั้ง 2 แห่ง จึงมียุงแมนโซเนียชุกชุมมาก ลักษณะภูมิประเทศและสิ่งแวดล้อมดังกล่าวนี้น่าจะเอื้ออำนวยต่อการเกิดและแพร่ระบาดของโรคฟิลาเรียเป็นอย่างดียิ่ง

เมื่อ พ.ศ. 2527 คณะกรรมการบริหารโครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง (อันเนื่องมาจากพระราชดำริ) จังหวัดนราธิวาส ได้เห็นถึงความสำคัญของปัญหาโรคฟิลาเรีย จึงได้จัดตั้งสำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข (โรคฟิลาเรีย) จังหวัดนราธิวาสขึ้น โดยมอบหมายหน้าที่ให้ดำเนินการป้องกัน บำบัดรักษา และศึกษาวิจัยโรคฟิลาเรีย และโรคติดต่อชนิดต่างๆ เพื่อนำผลวิจัยไปใช้เป็นแบบอย่างในการควบคุมโรคติดต่อต่อไป[7]

ดังนั้น เพื่อให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่พรุในจังหวัดนราธิวาสกับความชุกชุม และการแพร่ระบาดของโรคฟิลาเรีย ผู้รายงานได้ทำการศึกษาจนได้ผลดังที่จะรายงานต่อไป

วัตถุประสงค์

(1) เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะภูมิประเทศที่เป็นพื้นที่พรุกับการเกิด และแพร่ระบาดของโรคฟิลาเรีย

(2) เพื่อสำรวจหาข้อมูลทางระบาดวิทยาของโรคฟิลาเรียในจังหวัดนราธิวาส

(3) เพื่อดำเนินการควบคุมและป้องกันโรคฟิลาเรียให้ได้ผล จนไม่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขอีกต่อไป

ท้องที่และตัวอย่างศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ ดำเนินการในท้องที่ 6 อำเภอ 24 ตำบล รวม 163 หมู่บ้าน ที่มีลักษณะเสี่ยงต่อการเกิดและการแพร่ระบาดโรคฟิลาเรียรอบพรุโต๊ะแดง ได้แก่ อำเภอสุไหงปาดี อำเภอตากใบ อำเภอสุไหงโก-ลก อำเภอระแงะ อำเภอเมือง และอำเภอแว้ง จังหวัดนราธิวาส

การศึกษาได้ครอบคลุมประชากรตามทะเบียนบ้าน 104,406 คน รวมทุกหมวดอายุทั้งเพศชายและเพศหญิง

วิธีดำเนินการ

ทำการสำรวจพื้นที่รอบพรุโต๊ะแดงตามที่กำหนดไว้ โดยใช้หน่วยเคลื่อนที่จากสำนักงานโครงการฯ และศูนย์โรคเท้าช้างข้างเคียง, แบ่งพื้นที่ออกเป็น 3 ส่วนรอบพรุ รัศมีต่างกันประมาณ 5-10 กิโลเมตร โดยถือใจกลางพรุเป็นจุดศูนย์กลาง คณะสำรวจประกอบด้วยนักวิชาการ พนักงานกีฏวิทยา พนักงานระบาดวิทยาและพนักงานจุลทัศนกร

การศึกษาประกอบด้วยมาตรการหลัก 3 ประการ

(1) สำรวจทางกีฏวิทยา (Entomology survey)

การศึกษาทางกีฏวิทยามุ่งหาความชุกชุมของยุง และอัตราความหนาแน่นของยุงในตระกูลแมนโซเนีย (*Mansonia*) ทีมกีฏวิทยาจะออกสำรวจในท้องที่ศึกษาเวลากลางคืน ด้วยวิธีใช้คนเป็นเหยื่อล่อ (Human bait method) จากยุงที่จับได้นำมาคำนวณหาความชุกชุม โดยคิดเป็นจำนวนยุงต่อเหยื่อ 10 คนต่อชั่วโมง (man-hour ratio) และทำการหาอัตราความหนาแน่นของยุงแมนโซเนีย (*Mansonia*) ต่อประชากรยุงที่จับได้ทั้งหมด[9]

(2) **สำรวจหาผู้ป่วยฟิลาเรียที่ปรากฏอาการอวัยวะบวมโต** (Elephantiasis)

อวัยวะบวมโตเป็นพยาธิสภาพระยะสุดท้าย ซึ่งเกิดจากการที่ระบบไหลเวียนของน้ำเหลืองนั้นถูกอุดตันด้วยหนอนพยาธิฟิลาเรียเต็มวัย วิธีการสำรวจทำโดยการประชาสัมพันธ์และสุขศึกษา เพื่อให้ประชาชนเข้าใจถึงอาการปรากฏของโรค เช่น ขาโต แขนโต หรืออวัยวะสืบพันธุ์โต ต่อไปประชาชนจะเป็นผู้ชี้ช่องทางนำไปสู่ผู้สงสัย เมื่อพบแล้วเจ้าหน้าที่จะตรวจดูลักษณะอวัยวะที่บวมโต ซักประวัติการเจ็บป่วยที่เกี่ยวข้องทั้งอดีตและปัจจุบันเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการวินิจฉัยโรค จากประสบการณ์ที่ปฏิบัติงานด้านนี้มาช้านาน เจ้าหน้าที่สามารถวินิจฉัยผู้ป่วยได้อย่างแม่นยำ

(3) **สำรวจผู้ป่วยที่มีเชื้อหนอนพยาธิในโลหิต** (microfilaremea)

เจ้าหน้าที่สำรวจจะประชุมชี้แจงรวมทั้งให้สุขศึกษาแก่ประชาชนในท้องที่สำรวจล่วงหน้า ก่อนจะทำการเจาะโลหิต ทั้งนี้เพื่อให้ประชาชนเข้าใจถึงปัญหาและให้ความร่วมมือ โดยหวังให้มีอัตราครอบคลุมการเจาะโลหิต ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 60 ของประชากรในท้องที่สำรวจ การเจาะโลหิตดำเนินการในเวลากลางคืน ซึ่งเป็นเวลาที่หนอนพยาธิตัวอ่อน (microfilaria) นั้นได้ออกมาสู่กระแสโลหิตส่วนผิว (peripheral blood) ใช้เข็ม Lancet เจาะที่ปลายนิ้ว (finger prick method) ให้ได้ปริมาตรโลหิต 60 µl ป้ายบนแผ่นสไลด์ทำเป็นฟิล์มโลหิตหนา แล้วย้อมด้วยสี Giemsa ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์หาเชื้อหนอนพยาธิตัวอ่อนต่อไป[9]

ผลการสำรวจ

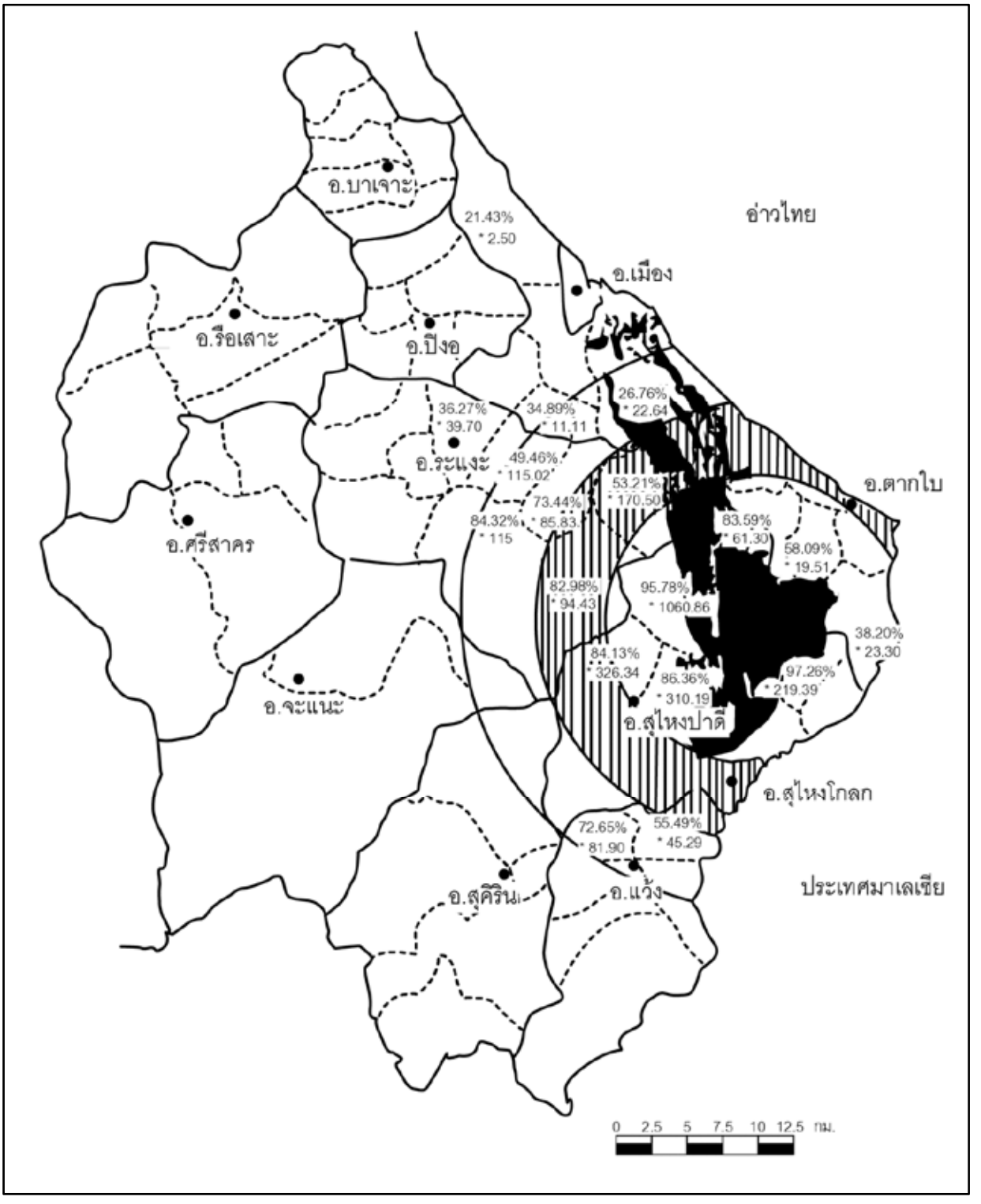
การสำรวจทั้ง 3 มาตรการ ได้ผลดังต่อไปนี้

(1) ความชุกชุมของยุงและความหนาแน่นของยุงตระกูลแมนโซเนีย (*Mansonia*) ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงความชุกชุมของยุงและอัตราส่วนของแมนโซเนียในพื้นที่ต่างๆ

ท้องที่สำรวจ			จำนวนยุงที่จับได้		อัตราความหนาแน่นของยุงแมนโซเนีย (%)		
อำเภอ	ตำบล	หมู่บ้าน (จำนวน)	ทั้งหมด	ตัว/ 10 คน-ชม.	*M. bonneae-dives*	*M. uniformis*	รวม
สุไหงปาดี	สุไหงปาดี	1, 3 , 5, 7, 8, (5)	6,951	1060.86	-	-	95.78
	ปะลุรู	3, 4, 7 (3)	3,256	310.19	66.55	19.81	86.36
	โต๊ะเด็ง	1, 2 (2)	3,491	326.24	76.25	7.88	84.13
ตากใบ	พร่อน	2, 3, 5 (3)	272	19.51	-	-	58.09
	บางขุนทอง	1, 6 (2)	396	61.30	-	-	83.59
สุไหงโก-ลก	ปูโย๊ะ	2, 4, 5 (3)	2,406	219.39	-	-	97.26
	มูโน๊ะ	1, 2, 3 (3)	2,618	23.30	-	-	38.20
ระแงะ	บูกิต	6, 7, 10 (3)	3,343	97.43	50.40	32.58	82.98
	บองอ	3, 4, 5 (3)	491	115.00	57.03	27.29	84.32
	ตันหยงมัส	2, 4, 6 (3)	397	39.70	19.65	16.62	36.27
	ตันหยงลิมอ	2, 4, 5 (3)	411	115.02	-	-	49.46
เมือง	กะลุวอเหนือ	3, 5 (2)	275	25.00	23.27	20.37	43.64
	กะลุวอ	5, 6 (2)	299	22.64	25.42	1.34	26.76
	โคกเคียน	4 (1)	28	2.50	10.71	10.72	21.43
	บางปอ	7 (1)	235	11.11	34.89	0	34.89
แว้ง	กายูคละ	3, 4, 5 (3)	276	45.29	-	-	55.49
	เอราวัณ	1, 2 (2)	947	81.90	54.28	18.37	72.65

ภาพที่ 2 แสดงความหนาแน่นของยุงตระกูล *Mansonia* ในท้องที่ต่างๆ



*ความหนาแน่น = ตัว/10 คน - ชม.

% = อัตรายุง *mansonia*: ประชากรยุงที่กำหนด

ผลการสำรวจอุบัติการณ์ผู้ป่วยทั้งที่ปรากฏอาการ และที่มีหนอนพยาธิในโลหิต ดังแสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 3

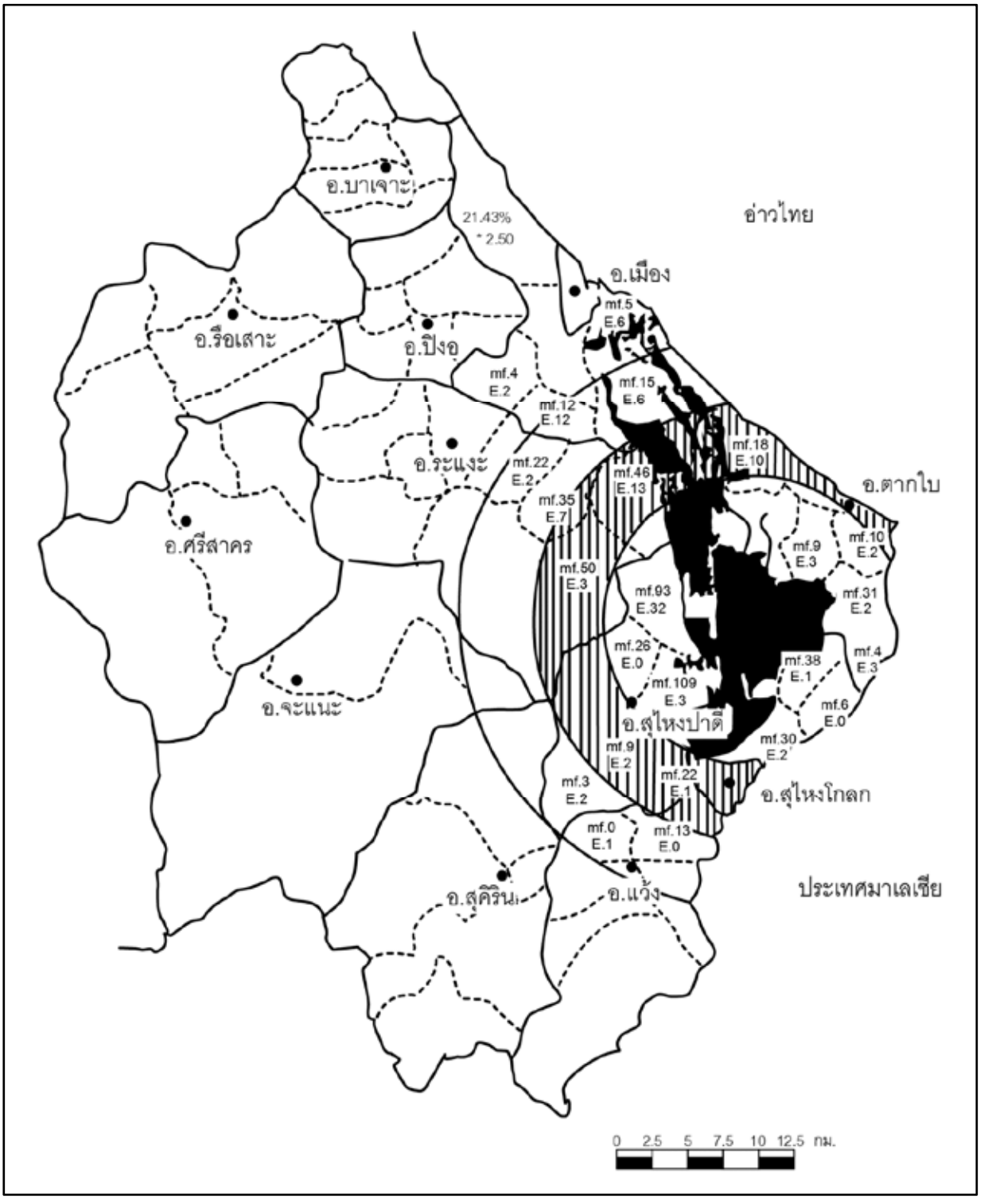
ตารางที่ 2 แสดงอุบัติการณ์ผู้ป่วยในพื้นที่ตามระยะห่างจากใจกลางพรุ

ท้องที่สำรวจ			**จำนวนประชากรในท้องที่ (คน)**	**จำนวนสำรวจ (คน)**	**ผู้ป่วยโรคฟิลาเรีย**				
					ผู้ปรากฏอาการ		**ผู้มีหนอนพยาธิในโลหิต**		
อำเภอ	**ตำบล**	**หมู่บ้าน (จำนวน)**			**จำนวน (คน)**	**%**	**จำนวน (คน)**	**%**	**เฉลี่ย**
สุไหงปาดี	สุไหงปาดี	1-8 (8)	5,235	4,750	32	0.67	93	1.96	
	ปะลุรู	1-8 (8)	7,291	6,607	3	0.05	109	1.65	
	โต๊ะเด็ง	1-5 (5)	3,246	2,870	0	0	26	0.91	
	ริโก๋	1-5 (5)	3,705	3,361	2	0.06	9	0.27	
	กาวะ	1-6 (6)	2,840	2,659	1	0.04	22	0.83	
	สากอ	1-10 (10)	5,499	5,129	2	0.04	3	0.05	1.03
ตากใบ	บางขุนทอง	1-6 (6)	3,361	2,288	11	0.48	42	1.84	
	ไพรวัน	1-9 (9)	4,781	4,087	10	0.24	18	0.44	
	พร่อน	1-6 (6)	3,264	2,778	3	0.10	9	0.07	
	โฆษิต	1-5 (5)	3,077	2,454	2	0.08	31	1.26	
	เกาะสะท้อน	1-6 (6)	4,040	3,374	2	0.06	10	0.30	0.73
สุไหงโก-ลก	ปูโย๊ะ	1-5 (5)	3,526	2,036	1	0.05	38	1.87	
	มูโน๊ะ	1-5 (5)	3,998	3,501	0	0	6	0.17	
	ปาเสมัส	1-5 (5)	4,573	4,025	2	0.05	30	0.75	0.77
ระแงะ	บูกิต	1-10 (10)	7,834	7,248	3	0.04	50	0.69	
	จวบ	1-6 (6)	4,708	4,198	7	0.17	35	0.83	
	มะเรือโบออก	1-7 (7)	5,335	3,607	13	0.36	46	1.28	
	ตันหยงลิมอ	1-6 (6)	4,397	4,263	2	0.05	22	0.52	0.79

ตารางที่ 2 แสดงอุบัติการณ์ผู้ป่วยในพื้นที่ตามระยะห่างจากใจกลางพรุ (ต่อ)

ท้องที่สำรวจ			จำนวนประชากรในท้องที่ (คน)	จำนวนสำรวจ (คน)	ผู้ป่วยโรคฟิลาเรีย				
					ผู้ปรากฏอาการ		ผู้มีหนอนพยาธิในโลหิต		
อำเภอ	ตำบล	หมู่บ้าน (จำนวน)			จำนวน (คน)	%	จำนวน (คน)	%	เฉลี่ย
เมือง	กะลุวอเหนือ	1-8 (8)	4,561	4,151	6	0.14	5	0.12	
	กะลุวอ	1-7 (7)	3,547	3,105	6	0.19	15	0.48	
	บางปอ	1-8 (8)	4,775	4,234	12	0.28	12	0.28	
	มะนังตายอ	1-7 (7)	3,981	3,525	2	0.06	4	0.11	0.24
แว้ง	เอราวัณ	1-7 (7)	2,521	2,314	1	0.04	0	0	
	กายูคละ	1-8 (8)	4,311	4,058	0	0	13	0.32	0.20
รวม/เฉลี่ย	24	(163)	104,406	90,623	123	0.14	648	0.72	

ภาพที่ 3 แสดงจำนวนผู้ป่วยโรคฟิลาเรียในท้องที่ต่างๆ



mf. = mf. positive cases

E. = Elephantiasis cases

(3) เชื้อหนอนพยาธิที่ตรวจพบในผู้ป่วย 648 รายนั้น 646 ราย เป็นชนิด *Brugia malayi* มีเพียง 2 ราย เท่านั้น เป็นชนิด *Wuchereria bancrofti* ซึ่งจากการซักประวัติทั้งสองรายย้ายถิ่นฐานมาจากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก

(4) ผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อหนอนพยาธิทั้ง 648 ราย แบ่งตามหมวดอายุและเพศได้ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อายุ และ เพศ ผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อหนอนพยาธิในโลหิต

เชื้อพยาธิ	*Brugia malayi*				*Wuchereria bancrofti*				**หมายเหตุ**
เพศ / อายุ	**ชาย**	**หญิง**	**รวม**	**%**	**ชาย**	**หญิง**	**รวม**	**%**	
0-10	61	74	135	20.83					
11-20	79	46	125	19.29	1*		1		*ย้ายถิ่นฐานจากอำเภอแม่สอดจังหวัดตาก
21-30	80	23	103	15.90					
31-40	50	14	64	9.88					
41-50	57	27	84	12.96	1*		1		
51-60	49	18	67	10.3					
61-70	24	16	40	6.17					
71-80	16	6	22	3.40					
80+	4	2	6	0.93					
รวม	**420**	**226**	**646**	**99.69**	**2**		**2**	**0.31**	

วิเคราะห์

(1) ตามหลักทฤษฎีระบาดวิทยาการเกิดและแพร่ระบาดของโรคติดต่อแต่ละชนิดจะต้องมีตัวแปรสำคัญ 3 ประการ คือ ตัวเชื้อโรค (Agent) ตัวพาหะและคน (Host) เมื่อสิ่งแวดล้อม (Environment) เอื้ออำนวยจนอยู่ในสภาพเหมาะสมก็จะเกิดและแพร่ระบาดโรคขึ้น พิจารณาจากพื้นที่การศึกษาครั้งนี้มีลักษณะเป็นพรุใหญ่มากซึ่งเหมาะแก่การเพาะพันธุ์ยุง ฉะนั้นบริเวณใกล้พรุจึงมียุงชุกชุมมาก โดยเฉพาะที่อำเภอสุไหงปาดี อำเภอสุไหงโก-ลก และอำเภอตากใบ ตามธรรมชาติยุงจะมีความสามารถในการบินในระยะจำกัด[10] พื้นที่ใกล้เคียงแหล่งเพาะพันธุ์ยุงจึงมียุงชุกชุมมาก และเบาบางลงในระยะห่างไกลออกไป ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงชัดเจนว่ายุงแมนโซเนีย ซึ่งเป็นพาหะนำโรคฟิลาเรีย มีความหนาแน่นกว่ายุงตระกูลอื่น และมีความชุกชุมลดหลั่นไปตามระยะทางห่างจากพรุ จึงมีผลกระทบต่อการเกิดและแพร่ระบาดของโรคฟิลาเรียตามสัดส่วนระยะห่างจากพรุ ดังได้แสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 2

(2) จากตารางที่ 2 และภาพที่ 3 แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่มีหนอนพยาธิในโลหิตมีอุบัติการณ์มากในพื้นที่ใจกลางพรุ คือ ที่อำเภอสุไหงปาดี ลดน้อยลงในพื้นที่รอบกลาง และรอบนอกตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับความชุกชุมมากน้อยของยุงแมนโซเนียในพื้นที่ทั้ง 3 แห่ง

(3) ข้อมูลในตารางที่ 2 และภาพที่ 3 ยังแสดงว่าผู้ป่วยที่ปรากฏอาการอวัยวะบวมโตมีจำนวนมากน้อยเป็นไปตามระยะห่างจากพรุ แต่ท้องที่บางแห่งถึงแม้ห่างจากพรุออกไปก็มีผู้ป่วยกลุ่มนี้มาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีการเคลื่อนย้ายถิ่นฐานหลังจากที่ผู้ป่วยปรากฏอาการแล้ว หรือผู้ป่วยรับเชื้อจากบริเวณเชื้อสูงและไปปรากฏอาการภายหลังในท้องที่อื่นก็ได้

(4) พิจารณาถึงอายุผู้ป่วยที่มีเชื้อหนอนพยาธิในโลหิต จะเห็นได้ว่ามีอัตราติดเชื้อโดยเฉลี่ยเกือบเท่ากันทุกหมวดอายุตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุ 60 ปี แต่มีแนวโน้มสูงเล็กน้อยในกลุ่มอายุน้อย และต่ำในกลุ่มสูงอายุ ทั้งนี้เป็นเพราะประชาชนในท้องที่นี้ส่วนใหญ่ตั้งบ้านเรือนอยู่ในสวนยางหรือใกล้สวนยาง ประกอบกับยุงแมนโซเนียมีชีวนิสัยชอบบินเข้าไปกัดกินเลือดคนถึงบริเวณบ้านเรือนตั้งแต่พลบค่ำ ฉะนั้นประชาชนทุกวัยจึงมีโอกาสเสี่ยงต่อการถูกยุงกัดเกือบเท่าเทียมกัน จึงมีอัตราติดเชื้อใกล้เคียงกัน

(5) ในเรื่องเพศ ค่าเฉลี่ยอัตราติดเชื้อชายต่อหญิงประมาณ 2:1 เมื่อพิจารณาตามตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าเด็กหญิงมีอัตราติดเชื้อสูงกว่าเด็กชายเล็กน้อยในวัยต่ำกว่า 10 ปี ทั้งนี้อาจเพราะในวัยเด็กไม่ว่าชายหรือหญิงการแต่งกายเสื้อผ้าปกปิดมีน้อยเท่ากัน แต่เมื่อหญิงย่างเข้าวัยรุ่นจนเป็นสาวขึ้นไป อัตราเกิดติดเชื้อจะลดน้อยลงตามลำดับอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งแสดงว่าประเพณีท้องถิ่นเพศหญิงมีการแต่งกายปกปิดมิดชิด และอาชีพการงานก็เสี่ยงต่อการถูกยุงกัดน้อยกว่าเพศชาย เช่น เพศชายมักออกทำการประมงในบริเวณพื้นที่พรุเวลากลางคืน จึงเสี่ยงต่อการถูกยุงกัดสูงมากกว่าเพศหญิง

วิจารณ์

การควบคุมโรคที่นำโดยยุง มีหลักการทั่วไปคือ

1. ทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ยุง
2. ทำลายยุงตัวแก่
3. ป้องกันประชาชนไม่ให้ถูกยุงกัด
4. สำรวจค้นหาผู้ป่วยแล้วทำการบำบัดรักษาให้หายเพื่อไม่ให้เป็นแหล่งแพร่โรค

สำหรับการควบคุมโรคฟิลาเรียในจังหวัดนราธิวาส เมื่อพิจารณาถึงแหล่งเพาะพันธุ์ยุงที่กว้างใหญ่แล้วจะเห็นได้ว่าไม่อยู่ในวิสัยที่หน่วยงานเล็กๆ หรือบุคคลกลุ่มหนึ่งกลุ่มใดจะดำเนินการได้ อย่างไรก็ตามขณะนี้หน่วยงานระดับชาติหลายหน่วยงานมีความสนใจที่จะปรับปรุงแหล่งพรุเหล่านี้ให้เป็นพื้นที่เพาะปลูก โดยมีโครงการทำการชลประทานทดน้ำในพื้นที่พรุออกสู่ทะเล ดังเช่นโครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง จังหวัดนราธิวาส (อันเนื่องมาจากพระราชดำริ) ก็มีแผนงานที่จะพัฒนาพรุทั้ง 2 แห่งของจังหวัดนราธิวาส ให้เป็นพื้นที่เพาะปลูกที่อุดมสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังมีโครงการปิเหล็ง โครงการเขื่อนบางนรา เป็นต้น จึงหวังว่าการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อมดังกล่าวจะเป็นสาเหตุนำไปสู่การกำจัดยุง และกำจัดโรคฟิลาเรียในอนาคต

ในเรื่องการทำลายยุงตัวแก่นั้น อาศัยการปฏิบัติงานพ่นเคมีของหน่วยงานกองมาลาเรีย ก็ได้ประโยชน์สอดคล้องกันไป ส่วนการป้องกันไม่ให้ประชาชนถูกยุงกัดนั้นเป็นการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรม และต้องขึ้นกับเงื่อนไขทางสังคมเศรษฐกิจ จึงต้องอาศัยการให้สุขศึกษาและมีการประชาสัมพันธ์ ประชานิเทศ ที่สำคัญคือการพัฒนาประเทศซึ่งต้องใช้เวลานานกว่าจะเห็นผล ฉะนั้นปัจจุบันนี้มาตรการหลักของการควบคุมและป้องกันโรคฟิลาเรียจึงควรเน้นในเรื่องค้นหารายป่วยแล้วการบำบัดรักษาอย่างทั่วถึงและต่อเนื่อง จนผู้ป่วยหายหรือพ้นระยะแพร่โรค ในเวลาเดียวกันก็เป็นการป้องกันมิให้ผู้ป่วยเป็นโรคเรื้อรังจนเกิดความพิการในเวลาต่อมา

สรุป

การศึกษาครั้งนี้ได้ข้อมูลชัดเจนว่า

1. พื้นที่พรุมีผลโดยตรงต่อการเกิดและแพร่ระบาดของโรคฟิลาเรีย เพราะเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ยุง ระยะใกล้พรุจะมียุงชุมทำให้เกิดโรคฟิลาเรียมากและลดน้อยลงในท้องที่ห่างพรุออกไป
2. พาหะนำโรคฟิลาเรียที่สำคัญในท้องที่นราธิวาส คือยุงแมนโซเนีย ซึ่งอาศัยรากของพืชลอยน้ำยังชีพ
3. เชื้อพยาธิโรคฟิลาเรียในจังหวัดนราธิวาสเป็น *Brugia malayi* เกือบทั้งสิ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้รายงานขอขอบคุณนักวิชาการของกองโรคเท้าช้างและเจ้าหน้าที่ศูนย์โรคเท้าช้างทุกคนที่มีส่วนร่วมในการทำการสำรวจเพื่อการศึกษาจนบรรลุวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Mak JW. Fillariasis. Bulletin No.19 from Institute for Medical Research, Malaysia, Kuala Lumpur: Chee Leing Press Sdn. Bhd. 1983.
2. World Health Organization. Lymphatic filariasis, Fourth report of the WHO Expert Committee on Filarissis, Geneva: WHO, 1984.
3. World Health Organization. Control of lymphatic filariasis, a manual for health personnel. Geneva: WHO, 1987.
4. สมบัติ ชัยเพชร. การกระจายทางภูมิศาสตร์และอัตราการเกิดโรค. ใน: สุภัทร สุจริต, บรรณาธิการ. โรคเท้าช้างฟิลาริเอซิสในประเทศไทย. กรุงเทพฯ กรุงสยามการพิมพ์, 2531: 9.
5. ฉันทกรณ์ ชุติดำรง. การควบคุมโรคเท้าช้างฟิลาริเอซิสในประเทศไทย. ใน: สุภัทร สุจริต, บรรณาธิการ. โรคเท้าช้างฟิลาริเอซิส ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : กรุงเทพสยามพิมพ์, 2531: 77.
6. จำลอง หะริณสุต. บทนำ. ใน: สุภัทร สุจริต, บรรณาธิการ. โรคเท้าช้างฟิลาริเอซิสในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กรุงเทพสยามการพิมพ์, 2531: 1.
7. คณะอนุกรรมการจัดทำแผนแม่บท. โครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง. ภาคผนวก แผนการดำเนินงานโครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง (อันเนื่อง มาจากพระราชดำริ) ปี 2527-2531, 2528. (เอกสารอัดสำเนา).
8. คณะทำงานเฉพาะกิจศึกษาสภาวะแวดล้อมเพื่อการพัฒนาพื้นที่พรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาสกรมชลประทาน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. การศึกษาผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมเพื่อการพัฒนาพื้นที่พรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาส. 2530. (เอกสารอัดสำเนา)
9. กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือการปฏิบัติงานเรื่องโรคเท้าช้าง, พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, 2531.
10. Wharton RH. The biology of *Mansonia* mosquitoes in relation to the transmission of filariasis in Malaya. Bulletin No. 11. Institute for Medical Research, Federation of Malaya. Kuala Lumpur: Institute for Medical Research, 1978.

การพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุง จากแหล่งระบาดของ *Brugia malayi* ในภาคใต้ของประเทศไทย

วัลลภ ชูสัตยานนท์
ธนพันธ์ ปัทมานนท์*
อารยา ธรรมครองอาตม์
โกศล รุ่งเรืองชัย
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
**กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข*

บทคัดย่อ

สืบเนื่องจากการตรวจพบเชื้อพยาธิ *Brugia malayi* ในแมวที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ในปี 1987 ทำให้เกิดความสนใจว่าแมวจะเป็นแหล่งกักเก็บโรคพยาธิเท้าช้างในคนได้หรือไม่ งานวิจัยเรื่องนี้จึงมุ่งพิสูจน์ว่ายุงพาหะของพยาธิ *B. malayi* สามารถถ่ายทอดเชื้อ *B. malayi* ระหว่างคนและแมวได้หรือไม่ โดยการพิสูจน์ชนิดของเม็ดเลือดในยุงจากแหล่งระบาดของ *B. malayi* ในพื้นที่ 4 หมู่บ้านของอำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช และ 5 หมู่บ้านของอำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส ซึ่งแมวในสองจังหวัดนี้ก็มีโรคพยาธิชนิดนี้อยู่ งานวิจัยนี้ได้แสดงว่ายุงพาหะของพยาธิ *B. malayi* กัดกินเลือดของทั้งคนและแมวในแหล่งระบาดของโรค จึงสรุปได้ว่าแมวน่าจะเป็นแหล่งกักเก็บโรค และสามารถถ่ายทอดเชื้อ *B. malayi* ไปสู่คนได้โดยอาศัยยุงพาหะนำโรค

บทนำ

Brugia malayi เป็นพยาธิฟิลาเรีย (พยาธิตัวกลม) ชนิดหนึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคเท้าช้าง อาศัยในระบบน้ำเหลือง ตรวจพบตัวอ่อนระยะแรก (microfilarial) ได้ในกระแสโลหิต โดยทั่วไปพาหะนำโรคคือยุง *Aedes* sp., *Anopheles* sp. และ *Mansonia* sp. (Ramachandran *et al*., 1970) จากการสำรวจโดยกองโรคเท้าช้าง กระทรวงสาธารณสุขทำให้ทราบว่ายุงพาหะนำเชื้อ *B. malayi* ในประเทศไทยคือ *Mansonia bonneae-dives, M. indiana, M. uniformis, M. annulata, M. annulifera, Coquilletidia nigrosignata* และ *C. crassipes* โดยทั่วไป *B. malayi* แบ่งได้เป็น 2 strains ได้แก่ Nocturnal periodic คือ microfilaria ปรากฏในกระแสโลหิตตอนกลางคืน และ Nocturnal subperiodic คือ microfilaria ปรากฏในกระแสโลหิตทั้งวัน แต่พบจำนวนสูงสุดตอนกลางคืน (Turner and Edeson, 1957; Wilson *et al*., 1958) ในประเทศไทย นอกจาก 2 strains นี้แล้ว กองโรคเท้าช้าง กระทรวงสาธารณสุข ยังพบว่ามี Dlurnal subperiodic strain ด้วย คือ microfilaria ปรากฏในกระแสโลหิตทั้งวัน แต่พบจำนวนสูงสุดตอนกลางวัน แหล่งระบาดของโรคพยาธิชนิดนี้ในประเทศไทยคือ จังหวัดทางแถบภาคใต้ของประเทศไทย ได้แก่ สุราษฎร์ธานี, นครศรีธรรมราช, ปัตตานี และนราธิวาส (รายงานกองโรคเท้าช้างประจำปี 2528)

Nocturnal subperiodic *B. malayi* นอกจากจะพบในมนุษย์แล้วยังพบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั้งชนิดสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า (Buckley, 1958a) ซึ่งทำให้เชื่อว่าพยาธิชนิดนี้สามารถถ่ายทอดจากสัตว์สู่คนได้ (Zoonosis) และ

ได้มีการทดลองพบว่า เชื้อจากสัตว์นี้สามารถติดต่อสู่คนอาสาสมัครได้ (Buckley, 1958b; Dondero, 1972) ทางหนึ่งที่จะช่วยลดการระบาดของโรคพยาธิชนิดนี้ก็คือการจัด Zoonotic transmission ออกไป แต่วิธีการดังกล่าวจะต้องอาศัยข้อมูลที่ได้จากการสำรวจสัตว์ชนิดต่างๆ ในแหล่งระบาดว่ามีสัตว์ชนิดใดและจำนวนเท่าใดที่เป็นรังโรค (reservoir) ของพยาธิชนิดนี้และเมื่อพบสัตว์ที่เป็นโรคพยาธิชนิดนี้ก็อาจจะสามารถฉีดยา Flubendazole ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าตัวแก่ของพยาธิได้อย่างดีมาก (Chusattayanond and Denham, 1984 a, b) แต่เป็นที่น่าเสียดายว่ายาดังกล่าวยังไม่สามารถใช้กับคนได้ เนื่องจากเกิดการอักเสบบริเวณที่ฉีดยา

การตรวจเลือดของสัตว์ ได้เริ่มการดำเนินการโดยกองโรคเท้าช้าง โดยในขั้นต้นเริ่มเจาะเลือดสัตว์เลี้ยงในบ้านอันได้แก่ สุนัขและแมว ตรวจดูตัวอ่อนของพยาธิในเลือดเท่าที่ผ่านมาได้มีการสำรวจ แมว, สุนัข, ไก่, วัว, แพะ, ลิง, หนู และสัตว์ฟันแทะชนิดอื่นๆ ในหลายจังหวัดทางภาคใต้ของเมืองไทย และมีรายงานว่าพบ Microfilaria ที่มีลักษณะคล้าย *B. malayi* เฉพาะในแมวจำนวนหนึ่ง (Harinasuta 1970, Guptavanij, 1971) โดยไม่ได้มีการพิสูจน์ให้แน่ชัดว่าเป็น *B. malayi* จริงๆ หรือไม่

จากการสำรวจเบื้องต้นของกองโรคเท้าช้างร่วมกับภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม. มหิดล ได้มีการพิสูจน์อย่างแน่ชัดแล้วว่า พยาธิในแมวตัวหนึ่งที่นำมาจาก อ.เวียงสระ จ.สุราษฎร์ธานี เป็นพยาธิชนิด *B. malayi* (Phantana *et al*., 1987) โดยการดูลักษณะของตัวแก่พยาธิทั้งสองเพศ ปกติแล้ว microfilaria ของ *B. malayi* จะมีลักษณะคล้ายคลึงกับ Microfilaria ของ *B. pahangi* ซึ่งเป็นพยาธิฟิลาเรียของสัตว์จำพวกเดียวกับสัตว์ที่เป็นโฮสท์ของ *B. malayi* อันได้แก่ สุนัข แมว แมวป่า ลิง ค่าง เสือ การย้อม microfilaria ด้วยสี Giemsa โดยวิธีพิเศษอาจจะแยกความแตกต่างออกได้ แต่ผลเชื่อถือไม่ได้ 100% นอกจากนั้นระยะติดต่อของทั้งพยาธิ *B. malayi* และ *B. pahangi* ที่พบในยุง ยังมีลักษณะที่แยกออกจากกันได้ยาก นอกจากจะใช้ DNA probe (Sim *et al.,*1986) ซึ่งเป็นวิธีการที่ถึงแม้ว่าจะแยกได้แน่นอน แต่กรรมวิธียุ่งยากและเสียค่าใช้จ่ายสูง ตัวแก่ของพยาธิที่ใช้ในการพิสูจน์นี้ได้มา โดยเริ่มต้นด้วยการให้ยุงดูดเลือดแมวที่มีเชื้อพยาธิ หลังจากนั้น 10-12 วัน เอาตัวอ่อนระยะติดต่อจากยุง ฉีดเข้าไปในช่องท้องของสัตว์ฟันแทะที่เรียกว่า jird หรือ gerbil (*Meriones unguiculatus*) พยาธิจะเป็นตัวแก่ภายใน 2 -2 1/2 เดือน (McCall 1973) นอกจากนี้ทางกองโรคเท้าช้าง ยังได้ตรวจพบแมวที่มี microfilaria ของพยาธิ *Brugia* sp. ใน จ.นครศรีธรรมราช และ จ.นราธิวาส อีกด้วย (รายงานประจำปี 2530 กองโรคเท้าช้าง)

ถึงแม้ว่าสำรวจพบสัตว์ที่เป็นโรค และมีการพิสูจน์แน่นอนว่าเป็นชนิด *B. malayi* ก็ตาม เราจะไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็น zoonosis ถ้าเราพิสูจน์ไม่ได้ว่ายุงที่เป็นพาหะกัดทั้งคนและสัตว์นั่นคือ ถ้ายุงที่เป็นพาหะถ่ายทอดพยาธิได้ในหมู่สัตว์ แต่มันไม่ดูดเลือดคนเลย โรคพยาธิชนิดนั้นก็จะไม่เป็น Zoonosis ตามธรรมชาติ

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อพิสูจน์ว่ายุงซึ่งเป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* ดูดเลือดของทั้งคนและสัตว์ ซึ่งถ้าเป็นเช่นนั้นจริงก็จะสามารถสรุปได้ว่าพยาธิ *B. malayi* สามารถถ่ายทอดจากคนไปยังสัตว์ และสัตว์ไปยังคนได้ ซึ่งการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงได้เริ่มกระทำกันมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1923 โดย Bull และ King และมีการพัฒนาวิธีการใหม่ๆ ขึ้นมาเรื่อยๆ และถึงแม้ว่าจะเป็นที่เชื่อกันมาโดยตลอดว่า noctural subperiodic *B. malayi* เป็น Zoonosis แต่ยังไม่มีการหา Blood meal identification ของยุงที่เป็นพาหะในแหล่งระบาดเลย การทดลองนี้จะช่วยให้รู้ว่า *B. malayi* ในเมืองไทยเป็น Zoonosis หรือไม่

อุปกรณ์และวิธีการ

<u>ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้คัดเลือกพื้นที่ศึกษาดังนี้ คือ</u>

จังหวัดนครศรีธรรมราช ประกอบด้วย

หมู่ 1 ตำบลทางพูน	อำเภอร่อนพิบูลย์
หมู่ 3 ตำบลทางพูน	อำเภอร่อนพิบูลย์
หมู่ 2 ตำบลควนพัง	อำเภอร่อนพิบูลย์
หมู่ 7 ตำบลควนพัง	อำเภอร่อนพิบูลย์

จังหวัดนราธิวาส ประกอบด้วย

หมู่ 3 ตำบลปะลุรู	อำเภอสุไหงปาดี
หมู่ 4 ตำบลปะลุรู	อำเภอสุไหงปาดี
หมู่ 3 ตำบลสุไหงปาดี	อำเภอสุไหงปาดี
หมู่ 7 ตำบลสุไหงปาดี	อำเภอสุไหงปาดี
หมู่ 8 ตำบลสุไหงปาดี	อำเภอสุไหงปาดี

เจาะเลือดคนและแมวลงบนสไลด์ย้อมสี Haematoxylin และตรวจหาพยาธิตัวอ่อนของ *B. malayi* เก็บตัวอย่างเลือดจากยุง โดยมีวิธีจับยุงดังต่อไปนี้

1. จับยุงเกาะพักในบ้าน (Indoor resting mosquitoes)
2. จับยุงตามแหล่งเพาะพันธุ์ยุง เช่น ตามแหล่งน้ำขัง (Outdoor swamp catches)
3. จับยุงโดยใช้เครื่องดักยุง (Outdoor light trap)
4. จับยุงตามแหล่งเกาะพักรอบๆ บ้านและตามคอกสัตว์

ยุงทุกตัวที่จับได้จะถูกตรวจสอบชนิดของยุง และยุงที่มีเลือดจะถูกบี้ลงบนกระดาษกรองแบบกลมเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ซม. ซึ่งได้แบ่งเป็นช่องเท่าๆ กัน 8 ช่องและเขียนชื่อชนิดของยุงลงไปในแต่ละช่อง โดยการกดยุงลงบนกระดาษกรองจะใช้ช้อนโลหะที่เรียบบี้ยุงลงตรงจุดห่างจากขอบกระดาษกรองประมาณ 1 ซม. กระดาษกรองจะถูกปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ระวังอย่าให้ถูกแสงแดดเมื่อแห้งสนิทดีแล้ว เก็บกระดาษกรองแต่ละแผ่นไว้ในถุงพลาสติกปิดให้สนิท แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -200°C (ภาพที่ 1) เมื่อต้องการทดสอบกระดาษกรองตรงส่วนที่มีเลือดจะถูกตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงใน microtitre plate ที่มี normal saline 200 µl ทิ้งไว้ข้างคืนที่ 40°C แล้วจึงนำมาทดสอบกับ antiserum โดยวิธีการทางอิมมิวโนวิทยา Counter-current immunoelectrophoresis (CCIE) ซึ่งได้ดัดแปลงมาใช้สำหรับ Blood meal identification ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ที่ Institute for Medical Research ใน Kuala Lumpur ประเทศมาเลเซีย

หลักของการทำ CCIE ในการทดลองนี้คือ เตรียม antiserum ในกระต่ายให้มีความจำเพาะต่อน้ำเหลืองของสัตว์แต่ละชนิดที่พบอยู่ทั่วไปในแหล่งระบาด เมื่อนำเลือดในตัวยุงที่จับได้มาทำปฏิกิริยากับ antiserum ที่มีความจำเพาะต่อน้ำเหลืองของสัตว์ชนิดใดโดยวิธี CCIE แล้วให้ผลของปฏิกิริยาเป็นบวก ก็แสดงว่ายุงตัวนั้นไปกินเลือดสัตว์ชนิดนั้นมา

การเตรียม antiserum

ได้มีการเตรียม antiserum ในกระต่ายให้มีความจำเพาะต่อน้ำเหลืองของสัตว์ชนิดต่างๆ ที่อาศัยหรือถูกเลี้ยงอยู่ในบริเวณที่ทำการศึกษาได้แก่ ลิง วัว ควาย แพะ สุนัข แมว หมู เป็ด ไก่ หมู และ คน ตามวิธีการของ Boreham and Gill (1973) โดยมีรายละเอียดดังนี้คือ ผสมน้ำเหลืองของสัตว์ปริมาตร 1 ml กับ Freund's complete adjuvant ปริมาตรเท่ากันแล้วฉีดเข้าในต่อมน้ำเหลืองที่ขาหนีบทั้งสี่ขาของกระต่าย (axillary lymph node 2 ข้าง และ inguinal lymph node สองข้าง) โดยฉีดเข้าจุดละ 0.5 ml เจ็ดวันต่อมาฉีดส่วนผสมน้ำเหลืองกับ adjuvant อย่างเดิมเข้าในต่อมน้ำเหลืองเดิมอีก พักกระต่ายไว้ 10 วัน จึงเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่ขอบใบหูกระต่ายเพื่อนำมาทดสอบหา antibody titer ต่อมน้ำเหลืองที่ใช้ฉีดกระต่ายนั้นไว้โดยวิธี immunodiffusion (Ouchterlony, 1948) หากได้ antibody titer เป็น 1:16 หรือ 1:32 จึงทำการเจาะเลือดกระต่ายจากเส้นเลือดแดงกลางใบหูกระต่ายเพื่อนำมาแยก antiserum ให้ได้มากที่สุด แต่ถ้าหากได้ทำ antibody titer ต่ำต้องฉีดกระต่ายซ้ำอีกครั้ง

ตามปกติ antiserum ที่เตรียมได้นี้จะทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (Cross react) กับน้ำเหลืองของสัตว์ที่มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกัน ต้องทำการ absorp โดยการเติมน้ำเหลืองของสัตว์ชนิดที่ทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่มนั้นลงไปในอัตราส่วน 10 µl ต่อ 10 ml ของ antiserum ปล่อยให้ทำปฏิกิริยากันที่ 4 °C เป็นเวลานาน 24 ชม. แล้วปั่นตกตะกอนที่ 2,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เก็บส่วนใสไว้ทำการทดลองต่อไปหากพบว่า antiserum นี้ยังทำปฏิกิริยาข้ามกลุ่มอยู่ต้อง absorp ซ้ำจนปฏิกิริยาข้ามกลุ่มหายไปหมด aniserum ที่นำมาใช้งานได้ต้องทำปฏิกิริยากับน้ำเหลืองที่มีความจำเพาะต่อกันที่ titer ไม่ต่ำกว่า 1:1000 และไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำเหลืองอื่นที่ titer ต่ำกว่า 1:10 ทั้งนี้โดยการตรวจวัดด้วยวิธี Counter-current immunoelectrophoresis

Counter-current immunoelectrophoresis

มีหลักการดังนี้คือ ทั้ง blood meal และ antiserum จากกระต่ายจะถูก electrophorese ใน agarose ที่ pH 8.6 ในแนวระนาบ ดังนั้น albumin ใน blood meal ซึ่งอยู่ในหลุมทางด้านขั้วลบจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วบวกโดย electrical attraction ขณะที่ immunoglobulin ใน antiserum ซึ่งอยู่ในหลุมทางด้านขั้วบวกจะถูกดึงไปในสู่ขั้วลบโดย endo-osmotic flow ผ่านไปในเนื้อ agarose เมื่อ antigen และ antibody ทำปฏิกิริยากันจะเกิดแถบตะกอนขึ้นในเนื้อวุ้น

Buffer ที่ใช้คือ Barbitone buffer pH 8.6 (ดูส่วนประกอบในภาคผนวก) ซึ่งเตรียมด้วยการปรับ pH ด้วย 0.1N NaOH Buffer นี้ใช้ทั้งใน electrophoresis tank และในเนื้อ agarose ซึ่งถูกเตรียมขึ้นเป็น 1.5% ใน barbitone buffer วิธีเตรียมแผ่น agarose ทำได้โดยละลาย 1.5 agarose ที่อุณหภูมิ 80-100°C เท agarose ประมาณ 15 ml บนแผ่นแก้วขนาด 9x8 ซม. หนา 2 มม เจาะรูบนแผ่น agarose เป็นคู่ๆ ให้มีระยะห่าง 5 มม เพื่อใส่เลือดจากยุงในหลุมหนึ่งและ antiserum จากกระต่ายให้อีกหลุมหนึ่ง เลือดจากยุง 1 ตัวอย่าง จะต้องทำปฏิกิริยากับ antiserum 10 ชนิด เมื่อจัด electro-phoresis tank และแผ่น agarose เรียบร้อยแล้ว เปิดกระแสไฟ 0.4-0.5 mA/cm width (160-200 V) เป็นเวลา 10-15 นาที เพื่อ equilibrate system และขจัดเกลือที่อาจจะมีใน agarose gel ใส่เลือดจากยุงและ antiserum ลงในหลุ่มที่เจาะไว้ เปิดกระแสไฟเป็นเวลาประมาณ 100 นาที หลังจากปิดกระแสไฟแล้วจะสามารถเห็นแถบตะกอนเป็นสีขาวขุ่นอยู่ระหว่างหลุม blood meal และ antiserum ซึ่งจะสามารถแปลผลออกมาได้ว่ายุงตัวนั้นกินเลือดสัตว์ชนิดใดมา หรือจะนำแผ่น agarose นี้มาย้อมสีให้เห็น

แถบตะกอนชัดเจนยิ่งขึ้นโดยนำแผ่น agarose ไปล้างใน 0.85% NaCl ทิ้งไว้ข้ามคืนหลังจากนั้นนำกระดาษกรองมาปิดบน agarose และนำไปไว้ใน incubator 37^{O}C เพื่อทำให้แห้ง นำแผ่น agarose ที่แห้งแล้วย้อมสี ใน Amido black และ destain ใน 20% acetic acid 80% Methanol ซึ่งจะเห็นแถบตะกอนเป็นสีน้ำเงิน

ผลการวิจัย

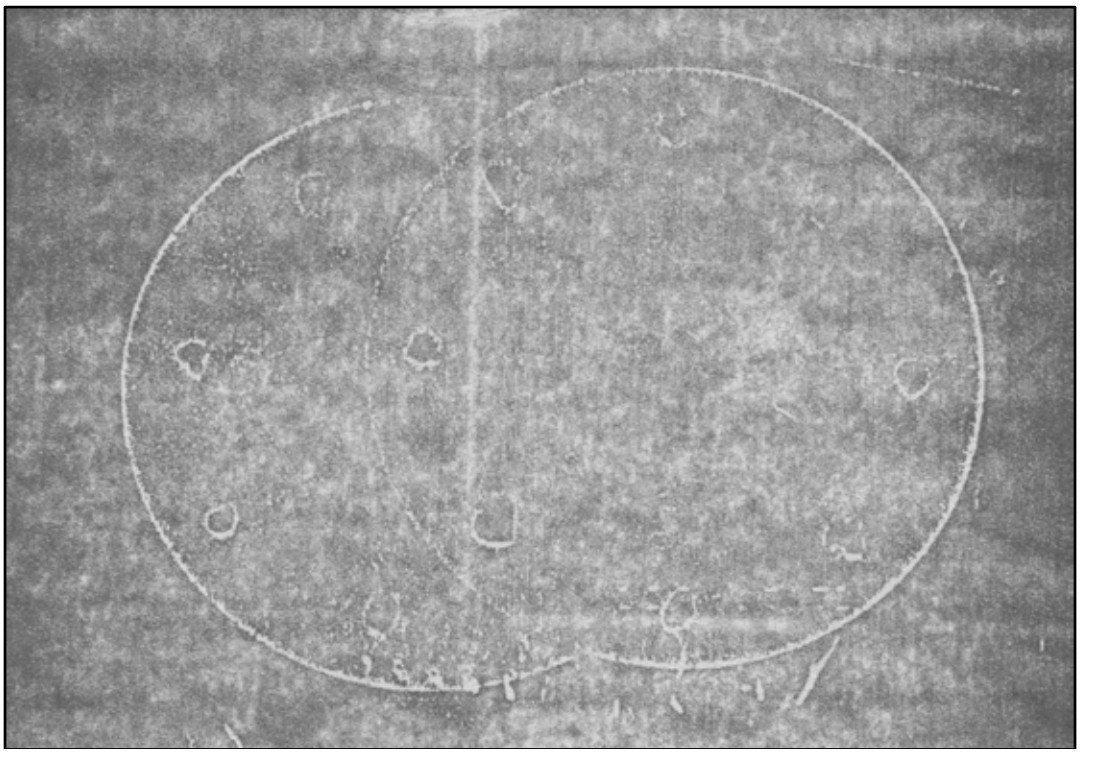
1. **การตรวจหา** microfilaria **ของ** *B. malayi* **ในกระแสโลหิตแมวในจังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดนราธิวาส**

จากการเจาะเลือดแมวจำนวน 425 ตัวใน 8 หมู่บ้านของ อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช และแมว 139 ตัวใน 5 หมู่บ้านของ อ.สุไหงปาดี จ.นราธิวาส เพื่อเตรียมฟิล์มเลือดบนแผ่นแก้วแล้วย้อมหา microfilaria ของ *B. malayi* ในกระแสโลหิตแมว 64 ตัว ใน จังหวัดนครศรีธรรมราช (คิดเป็น 15.06%) และตรวจพบ microfilaria ของ *B. malayi* ในกระแสโลหิตแมว 4 ตัว ใน จังหวัดนราธิวาส (คิดเป็น 2.87%) ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

ส่วนการเจาะตรวจเลือดคนในพื้นที่เดียวกันโดยกองโรคเท้าช้าง กระทรวงสาธารณสุขพบว่าประชากรใน 4 หมู่บ้านของ จังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 4,901 คน มีอยู่ 4 คน ที่ตรวจพบ microfilaria ของ *B. malayi* ในกระแสโลหิต ซึ่งคิดเป็นอัตราส่วน 0.04% สำหรับประชากรใน 5 หมู่บ้านจาก จังหวัดนราธิวาส จำนวน 2,253 คน มีอยู่ 42 คน ที่ตรวจพบ microfilaria ของ *B. malayi* ในกระแสโลหิต ซึ่งเท่ากับอัตราการติดเชื้อ 1.86%

2. **การตรวจเลือดจากยุง** (Blood meal) **โดยวิธี** Counter-current immunoelectrophoresis

ยุงที่จับมาเพื่อทำการวิจัยจากพื้นที่ใน 8 หมู่บ้าน อ.ร่อนพิบูลย์ จ.นครศรีธรรมราช และใน 5 หมู่บ้านของ อ.สุไหงปาดี จ.นราธิวาส ประกอบด้วยยุงที่เป็นพาหะนำ เชื้อ *B. malayi* ได้แก่ *Mansonia* sp. และ *Coquilletidea* sp. และยุงที่ไม่เคยพบว่าเป็นพาหะนำเชื้อ *B. malayi* ในประเทศไทย ได้แก่ *Aedes* sp., *Anopheles* sp. และ *Culex* sp. เป็นต้น เมื่อทำการตรวจเลือดจากยุงแต่ละตัวเพื่อพิสูจน์ว่ายุงนั้นไปกินเลือดสัตว์ชนิดใดมา โดยให้ทำปฏิกิริยากับ antiserum กระต่าย (ดูหัวข้อการเตรียม antiserum กระต่าย) ด้วยวิธีนี้ Counter-current immunoelectrophoresis พบว่าเลือดจากยุงที่จับมาได้ทั้งหมดมีทั้งที่เป็นเลือดคน สุนัข แมว ลิง แกะ วัว ควาย หนู หมู เป็ด ไก่ และมีที่เป็นเลือดคนกับเลือดสัตว์ปนกัน กับที่เป็นเลือดสัตว์มากกว่า 1 ชนิดปนกัน ดังได้แจกแจงรายละเอียดเพื่อแสดงชนิดของยุงและชนิดของสัตว์ที่ถูกยุงกินเลือดมาในแต่ละหมู่บ้านที่ทำการศึกษาวิจัยในตารางที่ 3-11 แต่จากการที่ยุง *Mansonia* sp. และยุง *Coquilletidea* sp. เท่านั้นที่เป็นพาหะนำเชื้อ *B. malayi* ในประเทศไทย และการวิจัยนี้มุ่งศึกษาการนำโรคจากแมวสู่คนเป็นหลัก จึงได้ทำการรวบรวมเฉพาะผลการตรวจเลือดจากยุงชนิดที่เป็นพาหะนำโรคและได้กินเลือดคนกับที่กินเลือดแมวมาแจกแจงดังแสดงในตารางที่ 12 ยุงพาหะนำเชื้อ *B. malayi* 1,696 ตัวที่จับได้ใน จังหวัดนครศรีธรรมราช มีอยู่ 518 ตัว ที่ตรวจพบว่ากินเลือดคนมา และยุง 13 ตัวที่ตรวจพบว่ากินเลือดแมวมาในประชากรในพื้นที่ทำการวิจัยมี 4,901 คน และมีแมวอยู่ 425 ตัว



ภาพ 1 การเก็บเลือดจากยุงโดยการบี้ยุงแต่ละตัวบนแต่ละช่องที่แบ่งไว้บนกระดาษกรอง และเขียนชื่อชนิดของยุงแต่ละตัว เก็บในถุงพลาสติกที่ปิดสนิทที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 ผลการเจาะเลือดแมวในจังหวัดนครศรีธรรมราช และย้อมสี Haematoxylin เพื่อตรวจหา Microfilaria ของ *B. malayi*

ท้องที่ที่ทำการวิจัย	จำนวนแมวที่ถูกเจาะเลือด	จำนวนแมวที่พบว่าติดเชื้อ *B. malayi*
หมู่ที่ 1 ต. ทางพูน อ. ร่อนพิบูลย์	137	16 (11.67%)
หมู่ที่ 3 ต. ทางพูน อ. ร่อนพิบูลย์	105	16 (15.24%)
หมู่ที่ 2 ต. ควนพัง อ. ร่อนพิบูลย์	141	27 (19.0%)
หมู่ที่ 7 ต. ควนพัง อ. ร่อนพิบูลย์	42	5 (11.9%)
	425	**64 (15.06%)**

*จำนวนเลือดที่ใช้ในการตรวจหา microfilaria คือ 60 มม^3

ตารางที่ 2 ผลการเจาะเลือดแมวในจังหวัดนราธิวาส และย้อมสี Haematoxylin เพื่อตรวจหา microfilaria ของ *B. malayi*

ท้องที่ที่ทำการวิจัย	จำนวนแมวที่ถูกเจาะเลือด (ตัว)	จำนวนแมวที่พบว่าติดเชื้อ *B. malayi* (ตัว)
หมู่ 3 ต. ปะลุรู อ. สุไหงปาดี	21	1 (4.78%)
หมู่ 4 ต. ปะลุรู อ. สุไหงปาดี	36	0 (0%)
หมู่ 3 ต. สุไหงปาดี อ. สุไหงปาดี	46	0 (0%)
หมู่ 7 ต. สุไหงปาดี อ. สุไหงปาดี	18	2 (11.11%)
หมู่ 8 ต. สุไหงปาดี อ. สุไหงปาดี	18	1 (5.55%)
	139	**4 (2.87%)**

จำนวนเลือดที่ใช้ในการตรวจหา microfilaria คือ 60 มม^3

ตารางที่ 3 ผลการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงจากหมู่ 1 ตำบลทางพูล อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยวิธี Counter-current immunoelectrophoresis

ชนิดของยุง	จำนวนยุงที่มีเลือดทำปฏิกิริยากับ antiserum ต่อน้ำเหลืองชนิดต่างๆ (ตัว)														
	คน	สุนัข	แมว	ลิง	แกะ	วัว-ควาย	หนู	หมู	เป็ด-ไก่	รวมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	คน วัว-ควาย	วัว-ควาย สุนัข	วัว-ความ หมู	คน แมว	รวม
*Mansonia uniformis**	117	25	9	-	14	364	-	2	13	8	77	2	-	3	650
*M. indiana**	-	-	2	-	-	3	-	-	1	-	2	-	-	-	8
*M. bonneae-dives**	3	-	-	-	2	3	-	-	1	-	-	-	-	-	9
*M. annulifera**	2	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	4
*M. annulata**	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aedes albopictus	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Anopheles vagus	13	1	-	-	2	36	-	-	-	8	1	-	3	1	68
An. barbirostris	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
An. nigerrimus	4	-	1	-	-	47	-	-	-	-	-	-	-	-	52
An. argyropus	9	-	-	-	1	32	-	-	-	1	4	-	-	-	47
An. aconitus	3	-	-	-	-	9	-	-	1	2	-	-	-	-	15
An. sinensis	2	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Culex sp.	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Amigeres subalbatus	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Malaya sp.	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Topomyia sp.	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
															868

*ยุงที่เป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* ในประเทศไทย

ตารางที่ 4 ผลการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงจากหมู่ 3 ตำบลทางพูล อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยวิธี Counter-current immunoelectrophoresis

ชนิดของยุง	จำนวนยุงที่มีเลือดทำปฏิกิริยากับ antiserum ต่อน้ำเหลืองชนิดต่างๆ (ตัว)												
	คน	สุนัข	แมว	ลิง	แกะ	วัว-ควาย	หนู	หมู	เป็ด-ไก่	รวมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	คน วัว-ควาย	วัว-ควาย สุนัข	รวม
*Mansonia uniformis**	43	5	-	-	1	265	-	1	-	-	73	-	388
*M. indiana**	3	-	-	-	-	12	-	-	-	-	2	-	17
*M. bonneae-dives**	1	-	-	-	-	7	-	-	1	-	-	-	9
*M. annulifera**	21	-	-	-	1	12	-	-	-	-	-	-	34
*M. annulata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anopheles vagus	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1	4
An. barbirostris	5	-	-	-	1	28	-	-	-	-	-	-	34
An. nigerrimus	3	-	-	-	2	79	-	-	1	-	3	-	88
An. argyropus	-	-	-	-	2	58	-	-	-	-	3	-	63
An. sinensis	2	-	-	-	-	35	-	-	-	-	1	3	41
*Coquilletidea crassipes**	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
*Coq. nigrosignata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Culex sp.	1	-	-	-	-	6	-	-	-	-	1	-	8
													448

*ยุงที่เป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* ในประเทศไทย

ตารางที่ 5 ผลการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงจากหมู่ 2 ตำบลควนพัง อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยวิธี Counter-current immunoelectrophoresis

ชนิดของยุง	จำนวนยุงที่มีเลือดทำปฏิกิริยากับ antiserum ต่อน้ำเหลืองชนิดต่าง ๆ (ตัว)														
	คน	สุนัข	แมว	ลิง	แกะ	วัว-ควาย	หนู	หมู	เป็ด-ไก่	รวมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	คน + วัว-ควาย	วัว-ควาย+ สุนัข	วัว-ควาย+ หมู	คน+แมว	รวม
*Mansonia uniformis**	64	-	-	-	-	92	-	10	1	3	22	1	-	-	200
*M. indiana**	13	-	-	-	-	1	-	2	2	-	1	-	-	-	19
*M. bonneae-dives**	16	-	-	-	-	13	-	3	2	2	1	-	-	1*	39
*M. annulifera**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*M. annulata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anopheles vagus	8	2	-	-	-	15	-	2	2	-	1	1	-	-	31
An. barbirostris	5	-	-	-	-	3	-	-	-	-	3	-	-	-	11
An. nigerrimus	-	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	3
An. argyropus	4	-	-	-	-	5	-	-	-	1	1	-	1	-	12
An. sinensis	1	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	4
An. campestris	1	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	4
*Coquilletidea crassipes**	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
*Coq. nigrosignata**	2	-	-	-	-	3	-	-	-	-	1	-	-	-	6
Culex sp.	3	-	1	-	-	-	-	-	2	-	1	-	-	-	7
															338

*ยุงที่เป็นพาหะนำเชื้อ *B. malayi* ในประเทศไทย

ตารางที่ 6 ผลการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงจากหมู่ 7 ตำบลควนพัง อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยวิธี Counter-current immunoelectrophoresis

ชนิดของยุง	จำนวนยุงที่มีเลือดทำปฏิกิริยากับ antiserum ต่อน้ำเหลืองชนิดต่างๆ (ตัว)														
	คน	สุนัข	แมว	ลิง	แกะ	วัว-ควาย	หนู	หมู	เป็ด-ไก่	รวมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	คน+วัว-ควาย	วัว-ควาย+สุนัข	วัว-ควาย+เป็ด-ไก่	วัว-ควาย+หมู	รวม
*Mansonia uniformis**	32	18	-	-	8	168	-	21	1	1	8	6	-	-	263
*M. indiana**	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	4
*M. bonneae-dives**	12	2	1	-	1	10	2	1	1	2	-	-	-	-	32
*M. annulifera**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*M. annulata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aedes sp.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Anopheles vagus	2	1	-	-	-	20	-	-	-	-	-	2	-	-	25
An. barbirostris	10	2	-	-	1	109	1	10	3	2	1	4	1	-	144
An. nigerrimus	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
An. argyropus	1	2	-	-	-	44	-	-	-	-	-	-	-	-	47
An. sinensis	3	1	-	-	-	59	-	4	1	-	-	-	-	-	68
An. campestris	2	-	-	-	-	27	-	-	-	-	-	1	-	1	31
Coquilletidea crassipes sp.*	-	1	-	-	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	4
*Coq. nigrosignata**	-	2	-	-	-	2	-	-	1	-	-	-	-	-	5
Culex gelidus	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Cx. tritaeniorhynchus	-	-	-	-	-	2	-	1	1	-	-	-	-	-	4
Cx bitaeniorhynchus	1	-	-	-	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	4
															635

*ยุงที่เป็นพาหะของเชื้อ *B. malayi* ในประเทศไทย

ตารางที่ 7 ผลการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงจากหมู่ 3 ตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส โดยวิธี Counter-current immunoelectrophoresis

ชนิดของยุง	จำนวนยุงที่มีเลือดทำปฏิกิริยากับ antiserum ต่อน้ำเหลืองชนิดต่างๆ (ตัว)													
	คน	สุนัข	แมว	ลิง	แกะ	วัว-ควาย	หนู	หมู	เป็ด-ไก่	รวมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	คน+วัว-ควาย	เป็ด-ไก่+หมู	เป็ด-ไก่+สุนัข	รวม
*Mansonia uniformis**	-	-	-	-	1	3	-	-	1	-	-	-	-	5
*M. indiana**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*M. bonneae-dives**	71	4	-	1	-	26	-	8	26	-	2	1	1	143
*M. annulifera**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*M. annulata**	1	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	-	-	4
Anopheles barbirostris	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
A. sinensis	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
A. separatus	-	-	-	-	1	-	-	2	-	-	-	-	-	3
*Coquilletidea crassipes**	1	-	-	-	1	2	-	1	22	-	-	-	-	27
*Coq. nigrosignata**	2	-	-	-	-	4	-	3	10	-	-	-	-	19
Culex sinesis	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	2
Culex gelidus	-	-	-	-	1	1	-	-	1	-	-	-	-	3
														208

*ยุงที่เป็นพาหะนำเชื้อ B. malayi ในประเทศไทย

ตารางที่ 8 ผลการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงจากหมู่ 7 ตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส โดยวิธี Counter-current immunoelectrophoresis

ชนิดของยุง	จำนวนยุงที่มีเลือดทำปฏิกิริยากับ antiserum ต่อน้ำเหลืองชนิดต่างๆ (ตัว)																
	คน	สุนัข	แมว	ลิง	แกะ	วัว-ควาย	หนู	หมู	เป็ด-ไก่	รวมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	คน + วัว-ควาย	คน + สุนัข	คน + หนู	วัว-ควาย + สุนัข	วัว-ควาย + ลิง	เป็ด-ไก่ + สุนัข	รวม
*Mansonia uniformis**	97	32	3	5	2	99	-	-	1	8	10	4	-	8	3	1	273
*M. indiana**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*M. bonneae-dives**	104	21	-	5	1	45	2	-	1	4	-	5	1	3	1	-	193
*M. annulifera**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*M. annulata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anopheles argyropus	-	2	-	-	-	24	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	27
*Coquilletidea crassipes**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
*Coq. nigrosignata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Culex sp.	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Culex gelidus	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Culex tritaeniorhynchus	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
																	500

*ยุงที่เป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* ในประเทศไทย

ตารางที่ 9 ผลการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงจากหมู่ 8 ตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส โดยวิธี Counter-current immunoelectrophoresis

ชนิดของยุง	จำนวนยุงที่มีเลือดทำปฏิกิริยากับ antiserum ต่อน้ำเหลืองชนิดต่าง ๆ (ตัว)																							
	คน	สุนัข	แมว	ลิง	แกะ	วัว-ควาย	หนู	หมู	เป็ด-ไก่	รวมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	คน + วัว-ควาย	คน + สุนัข	วัว-ควาย + สุนัข	วัว-ควาย + หนู	วัว-ควาย + เป็ด-ไก่	วัว-ควาย + ลิง	วัว-ควาย + แมว	วัว-ควาย + หมู	เป็ด-ไก่ + หมู	เป็ด-ไก่ + สุนัข	เป็ด-ไก่ + หมู	เป็ด-ไก่ + สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	เป็ด -ไก่ + แมว	รวม
*Mansonia uniformis**	3	6	-	-	2	98	1	3	2	-	22	-	14	3	2	-	-	-	1	-	-	-	-	153
*M. indiana**	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
*M. bonneae-dives**	23	8	-	-	-	62	-	-	32	-	-	-	11	1	10	1	2	-	-	2	2	1	-	151
*M. annulifera**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*M. annulata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anopheles barbirostris	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
An. negerrimus	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
An. argyropus	2	2	-	-	-	80	1	-	1	1	20	-	4	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	116
An. sinensis	-	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9
An. separarus	2	-	-	-	-	4	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
An. crawiordi	-	-	-	-	-	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
*Coquilletidea crassipes**	-	-	-	-	-	3	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
*Coq. nigrosignata**	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Culex sinensis	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Culex gelidus	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	4
Cx. tritaeniorhynchus	-	-	-	-	-	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	6
																								465

*ยุงที่เป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* ในประเทศไทย

ตารางที่ 10 ผลการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงจากหมู่ 8 ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส โดยวิธี Counter-current Immunoelectrophoresis

ชนิดของยุง	จำนวนยุงที่มีเลือดทำปฏิกิริยากับ antiserum ต่อน้ำเหลืองชนิดต่างๆ (ตัว)												
	คน	สุนัข	แมว	ลิง	แกะ	วัว-ควาย	หนู	หมู	เป็ด-ไก่	รวมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	คน+วัว-ควาย	วัว-ควาย+เป็ด-ไก่	รวม
*Mansonia uniformis**	3	-	-	1	-	2	-	-	-	1	-	-	7
*M. indiana**	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
*M. bonneae-dives**	20	-	-	1	1	32	-	-	-	1	1	-	56
*M. annulifera**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*M. annulata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aedes albopictus	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Anopheles barbirostris	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	1	-	4
An. argyropus	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	3
*Coquilletidea crassipes**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*Coq. nigrosignata**													
Culex gelidus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cx. tritaeniorhynchus	-	-	-	-	1	14	-	-	-	-	2	-	17
	-	-	1	-	5	56	-	-	-	-	-	1	63
													153

*ยุงที่เป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* ในประเทศไทย

ตารางที่ 11 ผลการพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุงจากหมู่ 4 ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส โดยวิธี Counter-current immunoelectrophoresis

ชนิดของยุง	จำนวนยุงที่มีเลือดทำปฏิกิริยากับ antiserum ต่อน้ำเหลืองชนิดต่างๆ													
	คน	สุนัข	แมว	ลิง	แกะ	วัว-ควาย	หนู	หมู	เป็ด-ไก่	รวมสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	คน+วัว-ควาย	วัว-ควาย+แกะ	วัว-ควาย+สุนัข	รวม
*M. uniformis**	7	2	-	-	2	20	-	-	-	-	-	1	1	33
*M. indiana**	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
*M. bonneae-dives**	23	1	1	1	6	70	-	1	2	2	1	4	1	113
*M. annulifera**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*M. annulata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anopheles barbirostris	-	-	-	-	1	2	-	-	3	-	-	-	-	6
An. orgyropus	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	2
*Coquilletidea crassipes**	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
*Coq. nigrosignata**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Culex gelidus	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
Cx. tritaeniorhynchus	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	1	4
														161

*ยุงที่เป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* ในประเทศไทย

ตารางที่ 12 จำนวนยุงพาหะนำเชื้อ *B. malayi* ที่ตรวจพบว่ากินเลือดคนและเลือดแมวในท้องที่ 4 หมู่บ้าน อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช

ยุงพาหะนำเชื้อ *B. malayi*	จำนวนที่จับได้ (ตัว)	จำนวนที่ตรวจพบเลือด	
		คน*	แมว**
Mansonia bonneae-dives	89	33	1
M. indiana	49	23	2
M. uniformis	1,506	436	9
M. annulata	-	-	-
M. annulifera	38	23	-
Coquilletidea nigrosignata	11	3	-
Coq. crassipes	3	-	1
	1,696	**518**	**13**

* จำนวนประชากรทั้งหมด 4,901 คน
ตรวจพบ microfilaria 2 คน
อัตราการติดเชื้อ (infection rate) 0.04 %

** จำนวนแมวทั้งหมด 425 ตัว
ตรวจพบ microfilaria 64 ตัว
อัตราการติดเชื้อ (infection rate) 15.05%

ตารางที่ 13 จำนวนยุงพาหะนำเชื้อ *B. malayi* ที่ตรวจพบว่ากินเลือดคนและเลือดแมวในท้องที่ 5 หมู่บ้าน อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส

ยุงพาหะนำเชื้อ *B. malayi*	จำนวนที่จับได้ (ตัว)	จำนวนที่ตรวจพบเลือด	
		คน*	แมว**
Mansonia bonneae-dives	658	259	1
M. indiana	3	3	-
M. uniformis	471	140	3
M. annulata	5	2	-
M. annulifera	-	-	-
Coquilletidea nigrosignata	21	2	-
Coq. crassipes	23	3	-
	1,181	**409**	**4**

* จำนวนประชากรทั้งหมด 2,253 คน
ตรวจพบ microfilaria 42 คน
อัตราการติดเชื้อ (infection rate) 1.86 %

** จำนวนแมวทั้งหมด 139 ตัว
ตรวจพบ microfilaria 4 ตัว
อัตราการติดเชื้อ (infection rate) 2.87%

ดังนั้นอัตราส่วนของการถูกยุงกัดกินเลือดของคนจึงคิดเป็น 30% (518/1,696) และของแมวคิดเป็น 3% (13/425) ตามลำดับในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช การตรวจเลือดจากยุงพาหะในจังหวัดนราธิวาส พบว่าจากจำนวนยุงพาหะ 1,181 ตัว ที่จับมาได้จาก 5 หมู่บ้านในอำเภอสุไหงปาดี มีอยู่ 409 ตัวที่ตรวจพบว่ากินเลือดคนมา และ 4 ตัวที่กินเลือดแมวมา ดังแสดงในตารางที่ 13 ในพื้นที่ 5 หมู่บ้านของ อำเภอสุไหงปาดี นี้มีประชาชนทั้งหมด 2,253 คนและมี แมว 139 ตัว ดังนั้นอัตราส่วนของการถูกยุงกัดกินเลือดของคนจึงคิดเป็น 18% (409/2,253) และของแมวคิดเป็น 2.8% (4/139) ตามลำดับ

ข้อวิจารณ์

จากการเจาะเลือดแมวมาตรวจเพื่อหาเชื้อ *B. malayi* ในระยะ microfilaria พบว่าแมวจาก 4 หมู่บ้านใน จ. นครศรีธรรมราช จำนวน 425 ตัว ตรวจพบพยาธิ *B. malayi* 64 ตัว ซึ่งอัตราการติดเชื้อเท่ากับ 15.06% และมีการเจาะเลือดประชาชนใน 4 หมู่บ้านนี้จำนวน 4,901 คนพบว่ามีประชาชนที่ติดเชื้อพยาธิ *B. malayi* จำนวน 4 คน ซึ่งอัตราการติดเชื้อเท่ากับ 0.04%

ส่วนใน จ. นราธิวาส มีการเจาะเลือดคนมาจาก 5 หมู่บ้านจำนวน 139 ตัว พบว่าแมวที่มีพยาธิ *B. malayi* 4 ตัว ซึ่งอัตราการติดเชื้อเท่ากับ 2.87% และมีการเจาะเลือดประชาชนจาก 5 หมู่บ้านจำนวน 2,253 คน พบว่ามีประชาชนติดเชื้อพยาธิ *B. malayi* จำนวน 42 คน ซึ่งอัตราการติดเชื้อเท่ากับ 1.86%

จะเห็นว่าอัตราการติดเชื้อพยาธิ *B. malayi* ในประชาชนจาก จ. นครศรีธรรมราช และ จ. นราธิวาส เท่ากับ 0.04% และ 1.86% ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบอัตราจากการติดเชื้อพยาธิ *B. malayi* ในแมวจาก จ.นครศรีธรรมราช และ จ. นราธิวาส คือ 15.06% และ 2.87% ตามลำดับ พบว่าแมวมีอัตราการติดเชื้อพยาธิสูงกว่าในคน ซึ่งสาเหตุนี้อาจเนื่องมาจากขณะที่กองโรคเท้าช้าง กระทรวงสาธารณสุขมีการเจาะเลือดคนเพื่อหาพยาธิ *B. malayi* เมื่อพบว่าใครติดเชื้อพยาธิ *B. malayi* ก็จะทำการรักษาทันที โดยใช้ยา Diethylcarbamazine (DEC) และในบางหมู่บ้านมีการรักษาแบบ mass treatment คือให้ยา DEC แก่ทุก ๆ คนในหมู่บ้านเพื่อต้องการรักษาครอบคลุมให้ทั่วถึงรายที่ตรวจไม่พบพยาธิตัวอ่อน (microfilaria) ในกระแสเลือดด้วยและเพื่อการศึกษาทางด้านระบาดวิทยาภายหลังจากที่ทุกคนในหมู่บ้านปราศจากพยาธิ *B. malayi* แล้ว ส่วนการเจาะเลือดสัตว์เพื่อตรวจหาพยาธิ *B. malayi* นั้นกระทำเฉพาะในแมวเท่านั้น เพราะแมวเป็นสัตว์เลี้ยงที่นิยมมากในภาคใต้เกือบทุกบ้านในพื้นที่ทดลองเลี้ยงแมวเป็นสัตว์เลี้ยง และแมวเป็นสัตว์เลี้ยงที่ใกล้ชิดกับคนมากเพราะแมวจะอาศัยอยู่ภายในบ้านกับคน ส่วนสุนัขนั้นไม่มีการเจาะเลือดตรวจ สาเหตุจากสุนัขในพื้นที่ทดลองมีน้อยเนื่องจากประชาชนส่วนใหญ่นับถือศาสนาอิสลาม ไม่นิยมเลี้ยงสุนัข และการจับสุนัขเพื่อการเจาะเลือดกระทำได้ยากมาก ประชาชนในบางหมู่บ้านมีการเลี้ยงลิงเพื่อไว้ใช้งานเก็บมะพร้าวซึ่งไม่สามารถเจาะเลือดได้เช่นกัน เพราะลิงดุร้ายมาก เฉพาะเจ้าของลิงเท่านั้นที่สามารถเข้าใกล้ลิงได้

หลังจากการที่เจาะเลือดแมวเพื่อหาพยาธิ *B. malayi* เมื่อพบว่าแมวตัวใดติดเชื้อพยาธิ *B. malayi* แล้วก็ไม่ได้มีการรักษาแต่อย่างใด เนื่องจากไม่มียาที่เหมาะสมสำหรับแมว ดังนั้นคนเท่านั้นที่จะได้รับการรักษาเมื่อตรวจพบว่ามีพยาธิ *B. malayi*

จากพิสูจน์ชนิดของเลือดจากยุง ซึ่งเป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* พบว่ายุงพาหะเหล่านี้กินเลือดคน สุนัข แมว ลิง แพะ แกะ วัว ควาย สัตว์ฟันแทะ (Rodent) หมู เป็ด ไก่ แต่ที่สนใจนำมาศึกษาคือ การกัดกินเลือดของยุงพาหะต่อคนและแมว เพราะพบว่ามีตัวอ่อน (microfilaria) ของพยาธิ *B. malayi* ในเลือดของคนและแมว ซึ่งจะมาวิเคราะห์ว่าจะเป็นสาเหตุของ Zoonosis ในพยาธิ *B. malayi* ได้หรือไม่

ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า คนถูกยุงซึ่งเป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* กัดกินเลือดคิดเป็นอัตราส่วน 30% (518/1696) ใน จ. นครศรีธรรมราช และ 18% (409/2253) ใน จ. นราธิวาส และแมวที่ถูกยุงซึ่งเป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* กัดกินเลือดคิดเป็นอัตราส่วน 3% (13/425) ใน จ. นครศรีธรรมราช และ 2.8% (4/139) ใน จ.นราธิวาส ซึ่งพบว่าการกัดกินเลือดของยุงพาหะของพยาธิ *B. malayi* มีต่อคนมากกว่าต่อแมวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$, t-test) ดังนั้น ยุงซึ่งเป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* นั้นสามารถกัดกินเลือดของทั้งคนและแมวได้ ในการ

วิจัยในครั้งนี้ได้ตรวจพบยุงพาหะ *Mansonia bonneae-dives* 1 ตัวจากหมู่ 2 ต. ควนพัง จ. นครศรีธรรมราช ได้กินทั้งเลือดคนและเลือดแมวมา ซึ่งคาดว่าจะเป็นการกินเลือดในระยะเวลาใกล้เคียงกัน ซึ่งจากผลการทดลองนี้พอจะสรุปได้ว่ามีความเป็นไปได้ของการถ่ายทอดของพยาธิ *B. malayi* จากคนไปสู่แมว และจากแมวไปสู่คนได้โดยอาศัยยุงพาหะ

จากการพิสูจน์ในกระเพาะยุงนั้น พบว่ายุงซึ่งเป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* นั้นยังกัดกินเลือดสัตว์ชนิดอื่นๆ ได้ เช่น วัว ควาย แพะ แกะ สุนัข หมู เป็ด ไก่ ลิง และ สัตว์ฟันแทะ แต่พยาธิ *B. malayi* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสัตว์เหล่านี้ ยกเว้นลิง สัตว์ต่างๆ เหล่านี้ถูกยุงซึ่งเป็นพาหะของพยาธิ *B. malayi* กัดกินเลือดถึง 67% ใน จ. นครศรีธรรมราช และ 79.2% ใน จ. นราธิวาส ซึ่งจากการที่ยุงพาหะกัดกินเลือดสัตว์เหล่านี้ และปล่อยระยะติดต่อของพยาธิ *B. malayi* ให้แก่สัตว์เหล่านี้ พยาธิ *B. malayi* จะไม่สามารถเติบโตในสัตว์เหล่านี้และจะตายไปในที่สุด ซึ่งเป็นผลให้ยุงพาหะซึ่งมีพยาธิระยะติดต่อของพยาธิ *B. malayi* สูญเสียพยาธิระยะติดต่อไป โดยพยาธิไม่สามารถเจริญเติบโตได้

Tempelis (1975) กล่าวว่า อุณหภูมิ, แสงสว่าง, กระแสลม และความหนาแน่นของจำนวนสัตว์มีผลต่อการกัดกินเลือดของยุง Kay (1976) ทำการทดลองพบว่ามีเหตุการณ์ที่เรียกว่า zooprophylaxis กล่าวคือ ยุง *Culex annulirostris* ซึ่งปกติชอบที่จะกัดกินเลือดคนมากกว่าสัตว์เลี้ยงชนิดอื่นๆ จะเปลี่ยนนิสัยการกัดกินเลือดไปกัดกินเลือดสัตว์ที่ดึงดูดน้อยกว่า เช่น สุนัข ซึ่งยุงจะพบก่อนที่จะบินเข้าไปกัดคนในบ้าน ซึ่งเหตุการณ์ zooprophylaxis นี้อาจนำมาอธิบายในการทดลองนี้ได้กล่าวคือ ยุงซึ่งเป็นพาหะเชื้อพยาธิ *B. malayi* เมื่อออกหากินเวลากลางคืน ก่อนที่ยังจะบินเข้าไปกัดคนในบ้าน ก็จะพบกับสัตว์เลี้ยงต่างๆ ที่คนเลี้ยงไว้ เช่น วัว ควาย แพะ แกะ สุนัข สุกร ลิง เป็ด ไก่ ซึ่งถ้ายุงเหล่านี้กัดกินเลือดสัตว์ต่างๆ เหล่านี้จนอิ่มแล้ว ก็จะไม่ไปกัดกินเลือดของคนและแมวภายในบ้าน Kay (1979) พบว่าขนาดของร่างกายมีผลต่อการกัดกินเลือดของยุง วัว ควาย ซึ่งมีขนาดใหญ่จะสามารถดึงดูดยุงไปกัดกินเลือดได้ง่ายกว่าสัตว์ชนิดอื่นๆ ดังนั้นคนและแมวซึ่งอาศัยภายในบ้านจึงมีโอกาสน้อยลงที่จะถูกยุงพาหะกัดกินเลือด และการที่กางมุ้งนอนในเวลากลางคืนก็ยิ่งลดโอกาสที่จะถูกยุงพาหะกัดกินเลือด และปล่อยพยาธิระยะติดต่อเข้าสู่ร่างกายได้

สรุปและข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยในครั้งนี้แสดงว่ายุงที่เป็นพาหะเชื้อพยาธิ *B. malayi* มีอัตราการกินเลือดคนสูงกว่าอัตราการกินเลือดแมว เมื่อเทียบกับจำนวนประชาชนกรทั้งหมดของคนและแมวในพื้นที่ทำการวิจัย นอกจากนี้ยังพบว่ายุงชนิดที่เป็นพาหะสามารถกัดกินได้ทั้งเลือดคนและเลือดแมว ซึ่งสามารถบ่งชี้ว่ายุงพาหะสามารถถ่ายทอดเชื้อพยาธิ *B. malayi* ระหว่างคนกับแมวได้ ดังนั้นหากจะกำจัดโรคพยาธิ *B. malayi* ให้หมดไปจึงควรให้การรักษาโรคแก่ทั้งคนและแมวไปพร้อมกัน นอกจากนี้คณะผู้วิจัยมีความเห็นว่าหากต้องการให้ผลการวิจัยนี้สมบูรณ์เต็มที่ ควรตรวจดูด้วยว่าลิงเก็บมะพร้าว (*Macaca nemestrina*) และลิงป่าในพื้นที่ระบาดของ *B. malayi* เป็นแหล่งกักเก็บเชื้อ *B. malayi* ด้วยหรือไม่ ทั้งนี้ เนื่องจากได้มีรายงานจากต่างประเทศว่ามีลิงหลายชนิดสามารถติดเชื้อพยาธิ *B. malayi* ได้ (Lim and Mak, 1978) แต่เนื่องจากข้อจำกัดที่ว่า ลิงเก็บมะพร้าวมีความสำคัญในทางเศรษฐกิจมาก เพราะลิงแต่ละตัวมีมูลค่าหลายหมื่นบาท และเป็นที่หวงแหนสำหรับเจ้าของเป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงไม่สามารถเจาะตรวจโลหิตเหล่านี้ได้

บรรณานุกรม

รายงานประจำปี 2528 กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข

รายงานประจำปี 2530 กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข

Bareham PFL, GS Serological identifications of reptile feeds of *Glossina*. Acta Trop 1973; 30: 356-365.

Buckley JJC. A new qenus, *Brugia,* for *Wuchereria sp.* of the *malayi* group. Proc 6th Int Congr Trop Med Malaria 1958; 2; 385-391.

Buckley JJC. Occult filarial infections of animal origin as cause of tropical pulmonary eosinophilia. East Afr Med J 1958b, 35: 493-500.

Bull CG, King WV. The identification of the bloodmeal of mosquitoes by means of the precipitin test. Am J Hyq 1923; 3: 491-496.

Chusattayanond W, Denham Da. Chemoprophylactic activity of flubendazole against *Brugia pahangi* in Jirds. J Parasitol 1984a; 70: 191-192.

Chusattayanoud W, Denham Da. Induction of host resistance to *Brugia pahangi* in jirds (*Meriones unquiculatus*) protected by chemoprophylaxis. J Helminthol 1984b; 58: 245-249.

Dondero TJ Jr, Mullin SW, Balsasingam S. Early clinical manifestations in filariasis due to *Brugia malayi*: observations on experimental infections in man. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1972; 3: 569-575.

Guptavanij P, Harinasuta C, Sucharit S, Vutikes S. Studies on subperiodic *Brugia malayi* in Southern Thailand 1971, 2: 44-50.

Guptavanij P, Harinasuta C, Deesin T, Vutikes S. Prevalence of subperiodic *Brugia malayi* in areas near the Thai-Malaysian border. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1971; 2: 100-101.

Harinasuta C, Charoenlarp P, Sucharit S, Dresin T, Surathin K, Vutikes S. Studies on Malayan filariasis in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1970; 1: 29-39.

Harinasuta C, Sucharit S, Guptavanij P. Subperiodic *Brugia malayi* in South Thailand. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1970, 1: 162-163.

Kay BH, Boreham PFL, Edeman JD. Application of the “Feeding Index” concept to studies of mosquito host-feeding patterns. Mosq News 1979; 39: 68-72.

Kay BH, Fanning ID, Wilson R, Tichom M, Smith D. *Culex annulirostris* studies. Ann Qld Inst Med Res 1976; 31: 11-12.

Lim BL, Mak Jw. Non-human primates as reservoir of zoonotic diseases with special reference to Brugian filariasis in Peninsular Malaysia. In: Recent Advances in Primatology 1978; Vol.4, Medicine. Eds. D.J. Chaivers and E.H.R. Ford. Acadamic Press., Lond. pp. 55-56.

McCall JW, Malone JB, Thompson PE. Monglian Jirds (*Meriones unguicalatus*) infected with *Brugia pahangi* by the intraperitoneal route: A rich source of developing larvae, adult filariae and microfilariae. J Parasitol 1973; 59: 436.

Ouchterlony O. In vitro method for testing toxin producing capacity of dipteria bacteria. Acta Path Microbiol Scand 1948; 25: 186-191.

Phantana S, Shutidamrong C, Chusattayanond *W. Brugia malayi* in cat from southern Thailand. Trans R Soc Trop Med Hyg 1987; 81; 173-174.

Ramachandran CP, Cheong WH, Sivanandan S, Abu Hassab B. Omar, Mahadevan S. Filariasis in Ulu Trengganu, West Malaysia. Parasitological and entomological observations. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1970; 1: 505-515.

Sim BKL. Mak JW, cheong WH it al. Identification of *Brugia malayi* in vectors with a species-specific DNA Probe. Am J Trop Med Hyg 1986; 35: 559-584.

Tempelis CH. Host-feeding feeding patterns of mosquitoes, with a review of advances in analysis of blood meals by serology. J Med Entomol 1975; 11: 635-353.

Turner LH, Edeson JFB. Studies on filariasis in Malaya: the periodicity of the microfilariae of *Wuchereria malayi*. Ann Trop Med Parasitol 1957; 51: 271-277.

Wilson T, Edeson JFB, Wharton RH, et al. The occurence of two forms of *Wucereria malyai* in man. Trans R Soc Trop Med Hyg 1958; 52: 480-481.

ความชุกชุมของพยาธิ บรูเกีย มาลาไย และบรูเกีย ปาหังไก ในสัตว์ (แมว) ในแหล่งชุกชุมโรคฟิลาเรีย จังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย

The Prevalence of *Brugia malayi* and *Brugia pahangi* in animal (cat) from filarial endemic areas in Narathiwat, South Thailand.

เสนอโดย

นายศิริชัย พรรณธนะ หัวหน้าโครงการ

กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข

ชื่อโครงการ การศึกษาความชุกชุมของพยาธิบรูเกีย มาลาไย และบรูเกีย ปาหังไก ในสัตว์ (แมว) ในแหล่งชุกชุมโรคฟิลาเรีย จังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย

The Prevalence of *Brugia malayi* and *Brugia pahangi* in animal (cat) from filarial endemic areas in Narathiwat, South Thailand.

หัวหน้าโครงการ นายศิริชัย พรรณธนะ

หน่วยงาน กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข

ผู้ร่วมงาน นางสาวสาลินี เซ็นเสถียร

นางสาวกอบกาญจน์ กาญจโนภาศ

นายสุรพงศ์ ชุมพล

ที่ปรึกษาโครงการ 1. นายแพทย์ใหญ่ (นายแพทย์บัณฑิต ชุณหสวัสดิกุล)
กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข

2. แพทย์หญิงยุพิน เพชรานนท์
รักษาการในตำแหน่งผู้อำนวยการกองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข

3. ดร.วัลลภ ชูสัตยานนท์
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

งบประมาณโครงการ: งบประมาณปกติของทางราชการ

งวดแรก : ดำเนินงานตั้งแต่มิถุนายน - กรกฎาคม 2533 ใช้งบประมาณปกติของทางราชการ รวม 42,713.- บาท

ระยะเวลา 2 เดือน มิถุนายน - กรกฎาคม 2533

บทนำและวัตถุประสงค์

พยาธิโรคฟิลาเรียที่สำรวจพบในกระแสโลหิตของคนในบริเวณภาคใต้ของประเทศไทยเป็นชนิด Nocturnally subperiodic *Brugia malayi* โดยเฉพาะชนิดหลังพบว่ามีรังโรคในสัตว์เลี้ยงตามบ้าน เช่น แมว ซึ่งเลี้ยงอยู่ตามแหล่งชุกชุมโรคฟิลาเรีย ลักษณะเช่นนี้จะมีผลกระทบต่อการควบคุมโรค โดยยุงพาหะที่เหมาะสมสามารถแพร่เชื้อโรคฟิลาเรียจากสัตว์ไปสู่คนหรือสัตว์ได้อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังมีรายงานจากประเทศมาเลเซียเกี่ยวกับการตรวจพบรังโรคฟิลาเรียในแมวเป็นพยาธิชนิด *Brugia malayi* และ *Brugia pahangi* ซึ่งพยาธิทั้ง 2 ชนิด ดังกล่าวนี้หากทำการย้อมวิธีปกติด้วยสี Giemsa จะไม่สามารถแยกความแตกต่างของพยาธิไมโครฟิลาเรียได้เนื่องจากมีลักษณะโดยทั่วไปเหมือนกันทั้ง 2 species

ในการควบคุมโรคฟิลาเรียในประเทศไทยตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา โดยกองโรคเท้าช้างได้ทำการสำรวจพยาธิไมโครฟิลาเรียในสัตว์ (แมว) ควบคู่ไปกับการสำรวจหาผู้ที่มีพยาธิไมโครฟิลาเรีย ในกระแสโลหิตของคนซึ่งพบว่าในปี 2530 ทำการสำรวจแมวในจังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี ปัตตานี และนราธิวาส จำนวนแมวที่สำรวจทั้งสิ้น 4,745 ตัว สำรวจใน 39 ตำบล จำนวนแมว ที่พบพยาธิ *Brugia* spp. รวม 155 ตัว (3.27 %) ในปี 2531 สำรวจแมวในจังหวัดดังกล่าวตามลำดับ รวมจำนวนแมวสำรวจ 3,082 ตัว สำรวจใน 33 ตำบล จำนวนแมวที่พบพยาธิ *Brugia* spp. รวม 119 ตัว (3.86%) และในปี 2532 ทำการสำรวจแมวในจังหวัดดังกล่าวตามลำดับ รวมจำนวนแมวสำรวจ 3,404 ตัว ใน 48 ตำบล จำนวนที่พบพยาธิ *Brugia* spp. 140 ตัว (4.11 %)

จากการปฏิบัติงานที่ผ่านมาการวินิจฉัยพยาธิฯ สามารถจำแนกได้เพียงระดับ *Brugia* spp. ซึ่งเป็นข้อมูลที่ไม่เพียงพอต่อการควบคุมโรคจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จักได้ทำการตรวจหารังโรคในสัตว์โดยใช้วิธีเปรียบเทียบวิธีตรวจระหว่างวิธี Histochemical differentiation: Acid phosphatase activity และวิธีย้อมสีแบบ Innenkorper เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อพยาธิให้ได้อย่างชัดเจนอันจะเป็นส่วนช่วยให้ทราบสถานการณ์รังโรคฟิลาเรียในสัตว์ (แมว) ในแหล่งชุกชุมของโรคฟิลาเรียทางภาคใต้ของประเทศไทย ในปัจจุบันได้อย่างชัดเจนเพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมโรคฟิลาเรียได้อีกทางหนึ่งต่อไป

ผลงานที่ได้ดำเนินการไปแล้ว

1. จัดอบรมฟื้นฟูการวินิจฉัยพยาธิฟิลาเรียด้วยวิธีต่างๆ ร่วมด้วยการย้อมสีพิเศษแก่พนักงานจุลทัศนกร
2. ทำการสำรวจประชากรแมวในพื้นที่ที่มีความชุกชุมของโรคเท้าช้าง ตั้งแต่ 1% ขึ้นไป
3. ทำการเจาะโลหิตแมว เพื่อค้นหาพยาธิ *Brugia* spp.
4. คัดเลือกแมวที่มีพยาธิ *Brugia* spp. โดยการย้อมสี Giemsa ด้วยวิธี Innenkorper เพื่อจำแนกพยาธิดังกล่าว

วิธีดำเนินการ

1. จัดอบรมพนักงานจุลทัศนกร

กองโรคเท้าช้าง ได้ดำเนินการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง "การตรวจจำแนกชนิดของพยาธิฟิลาเรียในสัตว์" แก่พนักงานจุลทัศนกร ที่ปฏิบัติงานประจำศูนย์โรคเท้าช้างเขต รวม 4 เขต คือ เขต 4 กาญจนบุรี เขต 8 จังหวัดตาก เขต 11 นครศรีธรรมราช เขต 11.1 สุราษฎร์ธานี เขต 12 ปัตตานี และสำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข (โรคฟิลาเรีย) จังหวัดนราธิวาสและผู้สังเกตการณ์ประจำศูนย์ฯ ดังกล่าว รวมทั้งสิ้น 23 คน ณ ห้องประชุมของศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง จังหวัดนราธิวาส ระหว่างวันที่ 4-8 กรกฎาคม 2533 โดยมีหัวข้อการฝึกอบรมดังนี้

1. ทำแบบทดสอบก่อนการฝึกอบรม
2. การวินิจฉัยไมโครฟิลาเรียในคน
3. การวินิจฉัยไมโครฟิลาเรียในสัตว์
4. การเตรียมน้ำยาเพื่อการตรวจวินิจฉัยพยาธิฟิลาเรียในคน-สัตว์
5. หลักการย้อมสีด้วยวิธี Histochemical differentiation: Acid phosphatase activity
6. การเตรียมน้ำยาย้อมหา Acid phosphatase activity
7. ฝึกปฏิบัติการเตรียมน้ำยา ทำฟิล์มโลหิตหนา ย้อมฟิล์มโลหิตด้วยวิธีต่างๆ และทำการตรวจวินิฉัยแยกชนิดพยาธิไมโครฟิลาเรีย
8. ฝึกการวัดขนาดของพยาธิไมโครฟิลาเรียด้วยอุปกรณ์ Occular-Stage micrometer
9. ฝึกปฏิบัติเจาะโลหิตจากสัตว์ (แมว) ในพื้นที่สำรวจจริง
10. ทำการทดสอบหลังการอบรม

2. ทำการสำรวจประชากรแมวในพื้นที่ที่มีความชุกชุมของโรคฟิลาเรีย ตั้งแต่ 1% ขึ้นไป

ได้จัดทำแบบสำรวจประชากรแมวในแต่ละหมู่บ้าน โดยแจกแบบสอบถามให้กับนักเรียนที่อยู่ในพื้นที่ที่มีความชุกชุมของโรคฟิลาเรีย (พิจารณามาจากอัตราการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียในแมว) เกิน 1% ใน 3 อำเภอ คือ อำเภอเมือง ตำบลกะลุวอ อำเภอระแงะ ตำบลมะรือโบออก ตัสหยงลิมอ บูกิต และอำเภอสุไหงปาดี ตำบลสุไหงปาดี ปะลุรู โต๊ะเด็ง กาวะ รวมทั้งสิ้น 3 อำเภอ 8 ตำบล 74 หมู่บ้าน สำรวจบ้านจำนวน 929 หลังคาเรือน จำนวนแมวทั้งสิ้น 1,803 ตัว

3. ทำการเจาะโลหิตแมวเพื่อค้นหาพยาธิบรูเกีย

เนื่องจากพื้นที่สำรวจเป็นถิ่นที่อยู่อาศัยของชาวไทยมุสลิมที่พูดภาษายาวี ปัญหาที่จะต้องแก้ไข คือ การขอความช่วยเหลือจากผู้นำท้องถิ่นให้จัดหาคนนำทางที่พูดภาษาไทยและภาษายาวี ได้มาทำหน้าที่นำทาง และเป็นล่ามปฏิบัติงานจะแบ่งเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงเช้า 8.30-12.00 น. ช่วงบ่าย 13.00-18.00 น. ที่เจ้าหน้าที่ทีมสำรวจของสำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อ และการสาธารณสุข (โรคฟิลาเรีย) จังหวัดนราธิวาส จะจับคู่กับพนักงานจุลทัศนกรจากศูนย์ฯ เขตต่างๆ (รวมเป็น 1 ทีม) ซึ่งแต่ละวันจะได้ทีมสำรวจประมาณ 10-12

ทีม พร้อมผู้นำทางอีก 1 คน แต่ละทีมจะถูกปล่อยลงปฏิบัติงานเป็นจุดๆ ตามที่ผู้นำหมู่บ้านได้กำหนดไว้ เพื่อเจาะโลหิตแมวให้ครบตามจำนวนบ้านที่รับผิดชอบ แล้วทุกทีมจะมารวมจุดเพื่อเคลื่อนย้ายไปปฏิบัติงานในหมู่บ้านอื่นต่อไป

การเจาะโลหิตแมวได้ดำเนินการโดยแมวทุกตัวจะได้รับการเจาะโลหิตบริเวณใบหู ตัวละ 3 แผ่นฟิล์มโลหิตปริมาตรแผ่นละประมาณ 60 ลูกบาศก์มิลลิลิตร ทำเป็นฟิล์มโลหิตหนา และฟิล์มโลหิตบางเพื่อใช้เขียนโค้ต แล้วเก็บรักษาไว้ใน Cold box เพื่อรักษาสภาพของ enzyme acid phosphatase ไว้ เมื่อฟิล์มโลหิตแห้งภายใน 6 ชั่วโมง จึงเขียนโค้ตตามลำดับ แล้วสุ่มหยิบฟิล์มโลหิต 1 ใน 3 ขึ้นมาย้อมสี Giemsa แบบตรวจหา innenkorper ส่วนฟิล์มโลหิตที่เหลือเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

ผลการตรวจฟิล์มโลหิต

จากการเจาะโลหิตแมวในวันแรกจำนวน 149 ตัว พบพยาธิ *Brugia* spp. จำนวน 7 ตัว และเมื่อนำฟิล์มโลหิตของตัวที่พบเชื้อดังกล่าว จำนวน 2 แผ่น ที่เหลือย้อม Acid phosphatase activity พบว่า ตรวจไม่พบพยาธิ *Brugia* spp. ในฟิล์มโลหิตดังกล่าว ดังนั้น วิธีการคัดเลือกฟิล์มโลหิต จึงจำเป็นต้องเปลี่ยนไปโดยนำฟิล์มโลหิตที่เจาะได้ตัวละ 3 แผ่นทั้งหมดย้อมสี Giemsa แบบ innenkorper เพื่อการค้นพบ *Brugia* spp. ที่มากขึ้นกว่าเดิม แล้วขึ้นทะเบียนไว้ จากนั้นทำการเจาะโลหิตใหม่เฉพาะรายที่พบ *Brugia* spp. เพื่อนำมาย้อม acid phosphatase activity แยกความแตกต่างต่อไป

ผลการตรวจฟิล์มโลหิตด้วยวิธีย้อมสี Giemsa (innenkorper) ใน 3 อำเภอ 7 ตำบล 13 หมู่บ้าน จำนวนแมว 984 ตัว พบแมวที่มีพยาธิฟิลาเรียจำนวน 80 ตัว เป็นชนิด *Brugia* spp. จำนวน 28 ตัว = 2.84% เป็นชนิด *Dirofilaria repens* จำนวน 50 ตัว = 5.08% เป็นชนิด *Dirofilaria immitis* จำนวน 2 ตัว = 0.20%

งานที่จะดำเนินการต่อไป

1. ทำการสำรวจประชากรแมวและเจาะโลหิตแมวในพื้นที่ที่มีความชุกชุมของโรคฟิลาเรีย ตั้งแต่ 0.5-1% แห่งอื่นๆ ต่อไป
2. ทำการเจาะโลหิตแมวที่ขึ้นทะเบียนพบพยาธิ *Brugia* spp. มาทำการย้อม Acid phosphatase activity เพื่อแยกชนิดของพยาธิฯ
3. วัดขนาดของ innenkorper ในพยาธิ *Brugia* spp. ที่ตรวจพบ
4. ทำการวินิจฉัยพยาธิตัวแก่ในแมวที่ตรวจพบพยาธิ *Brugia* spp.

หมายเหตุ

เนื่องจากในช่วงระยะเวลา มกราคม - พฤษภาคม 2533 คณะผู้ทำการศึกษาวิจัย มีงานของทางราชการอันสำคัญที่จะต้องปฏิบัติให้ลุล่วง จึงทำให้การศึกษาวิจัยเริ่มต้นช้ากว่ากำหนด และได้เริ่มศึกษาวิจัยในเดือนกรกฎาคม 2533 จึงคาดว่างานจะสำเร็จในเดือนมกราคม 2534

การสำรวจพยาธิไมโครฟิลาเรียในแมว ในจังหวัดนราธิวาส

Microfilariae in Cat in Narathiwat, Southern Thailand

ศิริชัย	***พรรณธนะ***	*วท.ม. (โรคติดเชื้อ)**	***Sirichai***	***Phantana***	*M.Sc. (Inf. Dis)**
สาลินี	***เซ็นเสถียร***	*วท.ม. (วิทยาการระบาด)**	***Salinee***	***Sensathien***	*M.Sc. (Epi.)**
สุรพงษ์	***ชุมพล***	*ป. พนักงานอนามัย***	***Suraphong***	***Choomphon***	*Cert. in Health Worker***

** กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ*

***สำนักงานโครงการควบคุมปราบปราม โรคติดต่อและการสาธารณสุข จังหวัดนราธิวาส*

**Filariasis Division, CDC. Department*

***The Royal Development Project, Phikulthong, Narathiwat*

บทคัดย่อ

แมวจำนวน 2,515 ตัวในเขต 5 อำเภอของจังหวัดนราธิวาส ได้แก่ สุไหงปาดี ระแงะ เมือง ตากใบ และสุไหงโก-ลก ได้รับการเจาะโลหิตตรวจพบเชื้อพยาธิ *Brugia* spp. จำนวน 104 ตัว (4.13%) *Dirofilarial repens* 76 ตัว (3.02%) และ *Dirofilaria immitis* 2 ตัว (0.2%) และได้ศึกษาการปรากฏตัวของพยาธิ ไมโครฟิลาเรียชนิด *Brugia* spp. ในแมว 6 ตัวจากตำบลปะลุรู และ 5 ตัวจากตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี พบว่าแมวทั้ง 2 พื้นที่มีพยาธิชนิด Periodic *Brugia* spp. มีช่วงเวลาปรากฏตัวสูงสุด 20.01 น. และ 20.04 น. ตามลำดับ การศึกษาวิจัยเพื่อแยกชนิดของพยาธิไมโครฟิลาเรียชนิด *Brugia* ในแมวควรได้ดำเนินการต่อไป เพื่อเป็นแนวทางการพัฒนาหามาตรการควบคุมรังโรคฟิลาเรียในสัตว์

ABSTRACT

2,515 domestic cats blood in 5 districts of Narathiwat: Su-ngaipadi, Ra-ngae, Muang, Tak-bai and Sud-ngaikolok were examined. *Brugia* spp. were found in 104 cats (4.13%), 76 cases (3.02%) were *Dirofilaria repens*, 2 cases (0.25%) were *Dirofilaria immitis*. The periodicity was examined in 6 infected cats with *Brugia* spp. from Paluru subdistrict and 5 infected cats from Su-ngaipadi subdistrict and the peaks of periodicity were 20.01 hours and 20.04 hours, respectively. Further study should be conducted for *Brugia* spp. Identification.

บทนำ

พยาธิไมโครฟิลาเรียที่สำรวจพบในกระแสโลหิตของคนในบริเวณภาคใต้ของประเทศไทยในปัจจุบันส่วนใหญ่จะเป็นชนิด Nocturnally sub periodic *Brugia malayi*[1] และจากการศึกษาพบว่ามีรังโรคอยู่ในสัตว์เลี้ยงตามบ้าน เช่น แมว[2] ซึ่งเลี้ยงอยู่ตามแหล่งชุกชุมโรคเท้าช้าง ลักษณะเช่นนี้มีผลกระทบต่อการควบคุมโรค โดยยุงพาหะที่เหมาะสมสามารถแพร่เชื้อโรคเท้าช้างจากสัตว์ไปสู่คนหรือสัตว์ได้อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังมีรายงานจากประเทศมาเลเซียเกี่ยวกับการตรวจสอบรังโรคเท้าช้างในแมวเป็นพยาธิชนิด *Brugia malayi* และ *Brugia pahangi*[3] โดยเฉพาะพยาธิ *B. malayi* สามารถแพร่ผ่านยุงพาหะกลับมายังคนได้ ส่วนพยาธิชนิด *B. pahangi* ซึ่งเป็นพยาธิในสัตว์โดยตรงยังไม่มีรายงานตรวจสอบพบในคนพยาธิทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวเมื่อย้อมด้วยสียิมซ่าแล้วตรวจดูผ่านกล้องจุลทรรศน์จะพบลักษณะที่คล้ายกันมาก ผู้ที่ไม่มีความชำนาญจะไม่สามารถแยกความแตกต่างออกจากกันได้

ในประเทศไทย กองโรคเท้าช้างได้ดำเนินการสำรวจพยาธิไมโครฟิลาเรียในแมวควบคู่ไปกับการสำรวจหาเชื้อพยาธิไมโครฟิลาเรียในกระแสโลหิตในคน ซึ่งพบว่าในปี 2530 มีการสำรวจแมวที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี ปัตตานี และนราธิวาสจำนวนทั้งสิน 4,745 ตัวมีพยาธิ *Brugia* spp. 115 ตัว (3.27%) ในปี 2531 และ 2532 สำรวจแมวในจังหวัดดังกล่าว จำนวน 3,082 ตัว และ 3,404 ตัว ตามลำดับ พบพยาธิ *Brugia* spp. 119 ตัว (3.86%) และ 140 ตัว (4.11%) ตามลำดับ[4, 5, 6]

การศึกษารังโรคในสัตว์ในจังหวัดนราธิวาสในครั้งนี้เป็นการศึกษาหาข้อมูลทางระบาดวิทยาของพยาธิไมโครฟิลาเรียที่ตรวจพบในสัตว์ เช่น *Burgia* spp. *Dirofilaria repens* และ *Dirofilaria immitis* เป็นต้น แม้ว่าในขณะที่ทำการวิจัยในครั้งนี้ยังไม่มีเทคนิคการย้อมสีที่เหมาะสมสำหรับใช้แยก *Brugia malayi* และ *Brugia pahangi* อย่างชัดเจนแต่ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะเป็นแนวทางในการพัฒนาหามาตรการควบคุมรังโรคในสัตว์ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

การคัดเลือกพื้นที่ศึกษาได้พิจารณาจากข้อมูล Microfilaria positive (Mf positive rate) ในคนเป็นตัวกำหนดเนื่องจากไม่เคยมีการสำรวจในประชากรแมวมาก่อน กอร์ปกับในบางประเทศมีข้อมูลสนับสนุนเกี่ยวกับค่า mf rate ที่สูงในคนจะสอดคล้องกับค่า mf rate ในแมวเช่นกัน[3] ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ใช้ข้อมูลการสำรวจโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาสประจำปี 2532 ที่มีค่า mf rate ตั้งแต่ร้อยละ 1 ขึ้นไปเป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกพื้นที่ศึกษาสำรวจ ได้แก่ อำเภอสุไหงปาดี ระแงะ เมือง ตากใบ และสุไหงโก-ลก รวมทั้งสิ้น 5 อำเภอ 11 ตำบล 32 หมู่บ้าน เป้าหมายจำนวนแมวที่จะทำการศึกษา ได้กำหนดให้แมวทุกตัวที่แข็งแรงในหมู่บ้านที่คัดเลือกจะได้รับการเจาะเลือดรวมทั้งสิ้นประมาณ 3,000 ตัว (อาศัยข้อมูลการสำรวจจากรายงานประจำปี 2531-2532 เป็นเกณฑ์ในการประมาณการ) ระยะเวลาดำเนินการ กรกฎาคม 2533-มิถุนายน 2534 รวม 1 ปีเต็ม

ผลการศึกษา

จากการสำรวจโลหิตแมวในจังหวัดนราธิวาสจำนวน 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอสุไหงปาดี อำเภอระแงะ เมืองตากใบ และสุไหงโก-ลก ได้เจาะโลหิตแมวทั้งสิ้น 2,515 ตัว จำแนกได้ตามตารางที่ 1

ได้ดำเนินการเจาะโลหิตจากเส้นโลหิตบริเวณปลายใบหูแมวเวลากลางวัน ปริมาตรโลหิตประมาณ 20 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ทำฟิล์มโลหิตหนาเมื่อโลหิตแห้งสนิทแล้วย้อมด้วยสียิมซ่า (ความเข้มข้น 1:20 นาน 10 นาที) แล้วตรวจสอบเพื่อหาพยาธิไมโครฟิลาเรีย

ตารางที่ 1 จำนวนแมวที่ได้รับการตรวจโลหิตและจำแนกชนิดเชื้อพยาธิไมโครฟิลาเรียในจังหวัดนราธิวาส ระหว่างกรกฎาคม 2533-มิถุนายน 2534

อำเภอ	จำนวน		จำนวนแมวที่เจาะโลหิต	จำนวนแมวที่ตรวจพบเชื้อพยาธิไมโครฟิลาเรียชนิดต่างๆ					
	ตำบล	หมู่บ้าน		*Brugia* spp.	%	*Dirofilaria repens*	%	*Dirofilaria immitis*	%
สุไหงปาดี	2	14	984	30	3.05	51	5.18	2	0.20
ระแงะ	2	5	402	2	0.50	11	2.74	0	0
เมือง	2	3	392	15	3.82	0	0	0	0
ตากใบ	2	3	66	1	1.51	5	7.57		0
สุไหงโกลก	2	7	671	56	8.34	9	1.34	0	0
รวม	11	32	2,515	104	4.13	76	3.02	2	0.08

นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ศึกษาการปรากฏตัวของเชื้อพยาธิไมโครฟิลาเรียในแมวที่พบพยาธิฯ *Brugia* spp. โดยเจาะโลหิตจากบริเวณปลายใบหูของแมวทุกๆ 2 ชั่วโมง แต่ละช่วงเวลาจะทำให้ฟิล์มโลหิตหนาครั้งละ 3 แผ่น ปริมาตร 20 ลูกบาศก์มิลลิเมตร ฟิล์มโลหิตที่แห้งสนิทจะทำการย้อมเช่นเดียวกับวิธีที่ได้บรรยายข้างต้น แล้วนับจำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรียทุกตัวจากฟิล์มโลหิตทุกแผ่นตามจำนวนชั่วโมงที่ศึกษา นำค่าเฉลี่ยของจำนวนพยาธิไมโครฟิลาเรียไปคำนวณการหาค่าปรากฏตัวของพยาธิฯ ตามสูตรการคำนวณ Aikat and Das 1976[5, 9]

การสำรวจในเขตอำเภอสุไหงปาดี รวม 3 ตำบล 14 หมู่บ้านได้จำนวนแมวทั้งสิ้น 984 ตัวพบแมวมีพยาธิชนิด *Brugia* spp. 30 ตัว (3.05%) เป็นพยาธิชนิด *Dirofilaria repens* 51 ตัว (5.18%) และ *Dirofilaria immitis* 2 ตัว (0.20%)

อำเภอระแงะสำรวจจำนวน 2 ตำบล 5 หมู่บ้าน แมวที่ทำการสำรวจทั้งสิ้น 402 ตัว พบแมวมีพยาธิชนิด *Brugia* spp. 2 ตัว (0.50%) *Dirofilaria repens* 11 ตัว (2.74%) ไม่พบพยาธิชนิด *Dirofilaria immitis*

ในเขตอำเภอเมืองทำการสำรวจจำนวน 2 ตำบล 3 หมู่บ้าน จำนวนแมวที่ทำการสำรวจทั้งสิ้น 392 ตัวพบแมวมีพยาธิชนิด *Brugia* spp. 15 ตัว (3.82%)

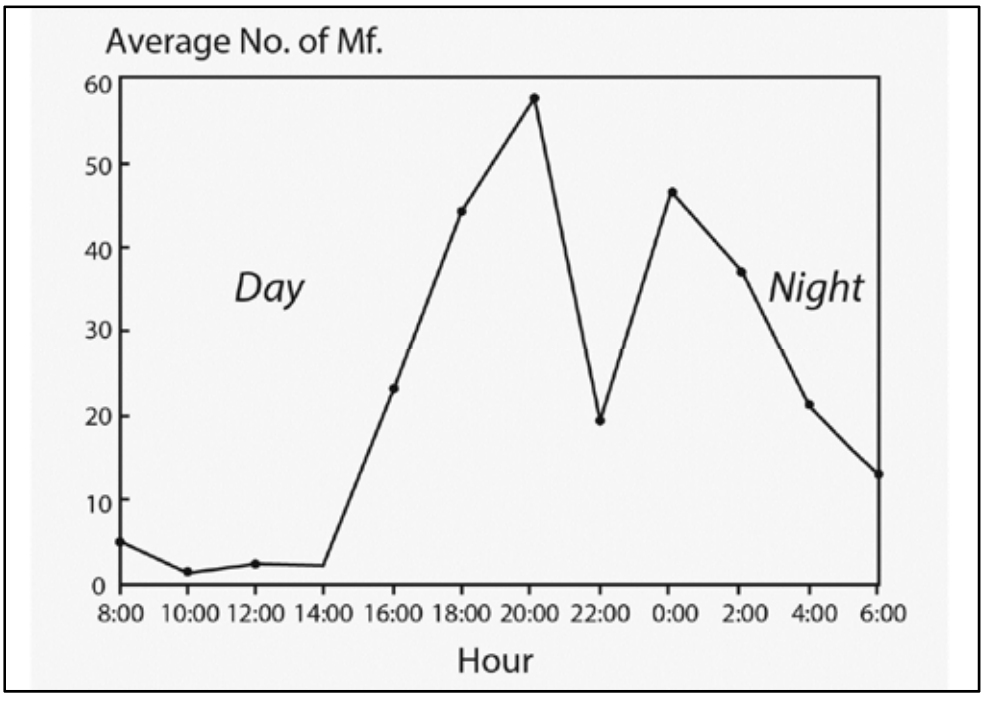
ในเขตอำเภอตากใบทำการตรวจสอบจำนวน 2 ตำบล 3 หมู่บ้าน จำนวนแมวที่ทำการสำรวจทั้งสิ้น 66 ตัว พบแมวมีพยาธิชนิด *Brugia* spp. 1 ตัว (1.15%) *Dirofilaria repens* 5 ตัว (7.57%)

ในเขตอำเภอสุไหงโก-ลกทำการตรวจสอบจำนวน 2 ตำบล 4 หมู่บ้าน จำนวนแมวที่ทำการสำรวจทั้งสิ้นจำนวน 671 ตัว พบแมวมีพยาธิชนิด *Brugia* spp. 56 ตัว (8.34%) *Dirofilari repens* 9 ตัว (1.34%)

รวมจำนวนแมวที่ได้ทำการตรวจสอบจำนวน 5 อำเภอ 11 ตำบล 22 หมู่บ้าน รวมทั้งสิ้น 2,515 ตัว พบแมวมีพยาธิชนิด *Brugia* spp. 104 ตัว (4.13%) *Dirofilaria repens* 76 ตัว *Dirofilaria immitis* 3 ตัว (0.08%)

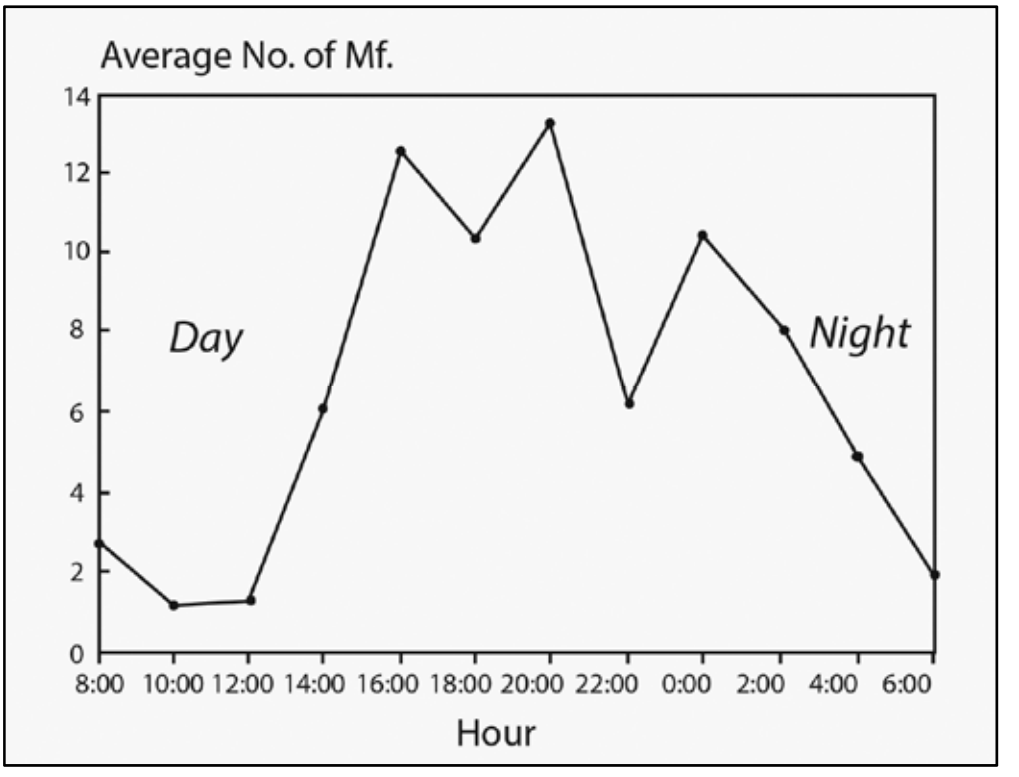
ผลการศึกษาการปรากฏตัวของพยาธิไมโครฟิลาเรีย *Brugia* spp. ในแมวที่ตำบลสุไหงปาดี 5 ตัว และตำบลปะลุรู 6 ตัวพบว่าพยาธิ *Brugia* spp. ซึ่งพบในแมวตำบลสุไหงปาดี มีลักษณะการปรากฏตัวแบบ Nocturnally periodic ช่วงเวลาปรากฏอยู่ระหว่าง 08.00-24.00น. และมีเวลาปรากฏตัวสูงสุดที่ 20 นาฬิกา 1 นาที ซึ่งได้มาจากการคำนวณของ Aikat and Das ส่วนพยาธิ *Brugia* spp.จากแมวจำนวน 5 ตัว ได้มีการปรากฏตัวเช่นเดียวกันกับพยาธิ *Brugia* spp. ในตำบลสุไหงปาดีและมีเวลาปรากฏตัวสูงสุดในเวลา 20 นาฬิกา 4 นาที ดังกราฟที่ 1 และ 2

กราฟที่ 1 แสดงการปรากฏตัวของพยาธิไมโครฟิลาเรียชนิด *Brugia* spp. ในแมว จำนวน 5 ตัว ตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส ระหว่าง กรกฎาคม 2533 - มิถุนายน 2534



ที่มา: กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข

<u>กราฟที่ 2</u> แสดงการปรากฏตัวของพยาธิไมโครฟิลาเรียชนิด *Brugia* spp. ในแมวจำนวน 6 ตัว ตำบลปะลุรู อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส ระหว่าง กรกฎาคม 2533 – มิถุนายน 2534



ที่มา: กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อกระทรวงสาธารณสุข

และเมื่อนำผลการศึกษาการปรากฏตัวของพยาธิในแมวทั้ง 5 พื้นที่ ในอำเภอเดียวกันมาทำการเปรียบเทียบความเท่ากัน (Test of Equality of two series of observations) พบว่าพยาธิทั้ง 2 พื้นที่เหมือนกันและมีเวลาการปรากฏตัวเฉลี่ยสูงสุดในเวลา 22.02 นาฬิกา

วิจารณ์

จากการสำรวจรังโรคในสัตว์ในจังหวัดนราธิวาส ทำให้ทราบถึงสถานการณ์การติดเชื้อพยาธิ *Brugia* spp. ในแมวซึ่งเป็นสัตว์เลี้ยงในบ้าน มีอัตราสูงถึงร้อยละ 4.13 และเมื่อทำการ ศึกษาการปรากฏตัวของพยาธิฯ พบว่าเป็นชนิด Nocturnally periodic type (พยาธิปรากฏตัวในกระแสโลหิตเฉพาะเวลากลางคืนเท่านั้น) ข้อมูลสนับสนุนการศึกษาพยาธิ *Brugia* spp. ในสัตว์ของ Institute of Medical Research ประเทศมาเลเซีย และรายงานขององค์การอนามัยโลก[10,11] พบว่าพยาธิ *Brugia malayi* ชนิด nocturnally subperiodic (พยาธิปรากฏตัวในกระแสโลหิตทั้งกลางวันและกลางคืน แต่กลางคืนจะมีจำนวนมากกว่ากลางวัน) จากคนเมื่อถ่ายทอดไปยังสัตว์ เช่น leaf monkey (ค่าง) แมวหรือ jird จะทำให้ช่วงเวลาการปรากฏตัว (periodicity) เปลี่ยนไปจากเดิม เช่น เมื่อนำเชื้อ *Brugia malayi* subperiodic ถ่ายทอดสู่แมวจะทำให้ช่วงการปรากฏตัวเปลี่ยนเป็น periodic และนอกจากนี้ค่าง (leaf monkey) ที่ติดเชื้อตามธรรมชาติแบบ periodic เมื่อได้ถ่ายทอดสู่แมวจะกลายเป็นชนิด subperiodic ซึ่งเหตุผลดังกล่าวมีสาเหตุเนื่องมาจากการผันแปรของหน่วยพันธุกรรม (genetic variation) ของพยาธิ[12,13,14] และการติดเชื้อ *Brugia malayi* จากคนไปสู่แมวจะสามารถพบได้ทั่วไปในเขตที่มีการระบาดของ

malayi subperiodic และมีการแพร่เชื้อไปยังสัตว์เลี้ยงตามบ้านก็จะเป็นสาเหตุของการเพิ่มอัตราความชุกของพยาธิไมโครฟิลาเรียในคนจะมีส่วนสัมพันธ์กับอัตราการตรวจพบเชื้อพยาธิ ไมโครฟิลาเรียชนิด *Brugia* ในแมวและสามารถเก็บกักเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างไว้ในตัวแมว สภาวะดังกล่าวจะส่งผลกระทบในพื้นที่เหล่านั้นเป็นแหล่งแพร่โรคเท้าช้างได้อย่างต่อเนื่อง ในปัจจุบันจังหวัดนราธิวาสยังคงประสบปัญหาดังกล่าว แม้ว่าการควบคุมโรคเท้าช้างได้ดำเนินการอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานแล้วก็ตาม ดังนั้นจึงสมควรอย่างยิ่งที่จะพิสูจน์จำแนกชนิดพยาธิ โดยวิธีวินิจฉัยลักษณะของพยาธิตัวแก่ในสัตว์ทดลอง (Xenodiagnosis) หรือหาความแตกต่างของ enzyme acid phosphatase ในพยาธิฯ หรือวัดขนาดความแตกต่างของท่อทางเดินอาหาร (innenkorper) ต่อไป และหามาตรการ ในการรักษาแมวที่มีพยาธิไมโครฟิลาเรียโรคเท้าช้างที่มีรังโรคในสัตว์ อันจะทำให้ลดอัตราการแพร่เชื้อพยาธิโรคเท้าช้างได้อย่างมีประสิทธิภาพทางหนึ่ง

สรุป

การศึกษาพยาธิไมโครฟิลาเรียใน 5 อำเภอ ที่มีการระบาดของโรคเท้าช้างโดยมีอัตราการตรวจพบพยาธิตั้งแต่ 1% ขึ้นไปของจังหวัดนราธิวาสในช่วงเดือนกรกฎาคม 2533-มิถุนายน 2534 รวมระยะเวลา 1 ปี ได้สำรวจเจาะโลหิตแมวจำนวน 2,515 ตัว พบแมวติดพยาธิ *B. malayi* subperiodic[14] นอกจากนี้จากการศึกษารังโรคสัตว์ในจังหวัดสุราษฎร์ธานียังพบเชื้อพยาธิชนิด *B. malayi* ในแมวซึ่งได้ทำการตรวจสอบยืนยันจาก London School of Hygiene and Tropical Medicine ประเทศอังกฤษ[2]

จากการสำรวจในครั้งนี้พบว่าพยาธิ *Dirofilaria immitis* (dog heart worm) และ *Dirofilaria repens* โดยธรรมชาติจะเป็นพยาธิฟิลาเรียในสุนัขและแมวตามลำดับ ในประเทศไทยยังไม่เคยมีรายงานการติดเชื้อในคนของพยาธิทั้ง 2 ชนิดนี้ ซึ่งต่างจากในประเทศญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา ที่มีรายงานการติดเชื้อจากพยาธิชนิด *Dirofilaria immitis* หลายราย ซึ่งตรวจพบได้บริเวณหัวใจ ปอด ใต้ผิวหนัง และบริเวณอกของคน[15, 16, 17, 18, 19] ดังนั้นผู้ที่เลี้ยงแมว-สุนัขในประเทศไทยจึงควรที่จะให้ความระมัดระวังการติดเชื้อ ซึ่งอาจเกิดขึ้นในอนาคต อีกทั้งยุงพาหะที่เหมาะสม เช่น ยุงชนิด *Aedes*, *Culex* และ *Anopheles* สามารถพบได้ทั่วไปในแหล่งระบาดของโรคดังกล่าว[15]

แม้ว่าการตรวจสอบพบพยาธิ *Brugia* spp. ในแมวที่จังหวัดนราธิวาส ยังไม่ได้จำแนกชนิด แต่ด้วยลักษณะทางระบาดวิทยาจึงทำให้พิจารณาพยาธิดังกล่าวอาจเป็นชนิด *Brugia pahangi* ซึ่งพบได้ตามธรรมชาติหรือ *Brugia malayi* ก็ได้ซึ่งหากในกรณีที่พยาธิชนิด *Brugia* spp. ตัว คิดเป็นร้อยละ 4.13 การศึกษาการปรากฏตัวของพยาธิ *Brugia* spp. ในเขตตำบลสุไหงปาดี และตำบลปะลุรู อำเภอไหงปาดี พบว่ามีการปรากฏตัวพยาธิชนิด Nocturnally periodic *Brugia* spp. มีช่วงเวลาปรากฏตัวสูงสุด 20.01 น. และ 20.04 น. ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบ Test of Equality of two series of observations พบว่าการปรากฏตัวของพยาธิ 2 พื้นที่เป็นชนิดเดียวกัน มีค่าปรากฏตัวเฉลี่ยสูงสุดเวลาประมาณ 20.02 น.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุขจังหวัดนราธิวาส และพนักงานจุลทัศนกรของฝ่ายชันสูตร กองโรคเท้าช้าง ที่ได้ให้ความร่วมมือในการสำรวจและตรวจวินิจฉัยฟิล์มโลหิตเป็นอย่างดียิ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. ฉันทกรณ์ ชุติดำรง, ศิริชัย พรรณธนะ. การปรากฏตัวของพยาธิไมโครฟิลาเรีย. วารสารโรคติดต่อ 2529; 12: 49-50.
2. Phantana S, Shutidamrong C, Chusattayanond W. *Brugia malayi* in a cat from southern Thailand. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1987; 81: 173-174.
3. Mak JW, Yen PFK, Lim PKC, et al. Zoonotic implications of cats and dogs in filarial transmission in Peninsular Malaysia.Trop Geo Med 1980; 32: 259-264.
4. กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ. รายงานประจำปี 2530. (เอกสารอัดสำเนา).
5. กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ. รายงานประจำปี 2531. (เอกสารอัดสำเนา).
6. กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ. รายงานประจำปี 2532. (เอกสารอัดสำเนา).
7. กองโรคเท้าช้างกรมควบคุมโรคติดต่อ. รายงานประจำปี 2533. (เอกสารอัดสำเนา).
8. Hawking F. The periodicity of microfilariae. Geneva: World Health Organization, 1967.
9. Aikat TK, Das M. A modifieds Statistical method for analysis of periodicity of microfilaria: Geneva: World Health Organization, 1976.
10. Mak JW. Filariasis. Kuala lumpur: Institute for Medical Research, 1983:108.
11. World Health Organization. Lymphatic filariasis: fourth report of the WHO Expert Committee on Filariasis. Geneva: World Health Organization 1984:112.
12. Laing ABC. Influences of the animal host on the microfilarial periodicity of *Brugia malayi*. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1961;55:558.
13. Turner LH, Edeson JFB. Studies on filariasis in Malaya: the periodicity of the microfilariae of *Wuchereria malayi*. Ann Trop Med Parasitol 1957;51:271.
14. Ciba Foundation. Ciba foundation symposium 127; Filariasis.Chichester: John Wiley and Sons Ltd. 1987:305.
15. Risher WH, Crocker EF, Belrman EN, Blalock JB, Ochsner JL. Pulmonary dirofilariasis. J Thorac Cardiovas Surg 1989;79:303-8.
16. Mimori T, Tada I, Takeuchi T. Dirofilaria infection in the breast of a woman in Japan. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1986;17:165-167.
17. Beaver PC, Orihel TC. Human infection with filariae of animals in the United States.Amer J Trop Med Hyg 1965;14:1010.
18. Yoshimura H. Human dirofilariasis in Japan. Muinophagen Medical Review. 1985;30:136. (In Japanese)
19. Kaneda Y, Asami K, Kawai T, Sakuma M. A case of human infection with dirofilaria in the subcutaneous tissue. Jap J Parasitol 1980; 29: 245.

ประสิทธิภาพการควบคุมโรคเท้าช้างในพื้นที่จังหวัดนราธิวาส ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2517-2543 (ก่อนเริ่มเข้าโครงการกำจัดโรคเท้าช้าง)

The effectiveness of filariasis control program

in Narathiwat province, year 1974-2000

กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ วทม, DAP&E, Cert.(Medical Parasitology&Entomology)

สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง

Kobkan Kanjanopas M.Sc, DAP&E, Cert. (Medical Parasitology&Entomology)

Bureau of Vector Borne Disease

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลการสำรวจเจาะโลหิตค้นหาผู้มีพยาธิ *Brugia malayi* และการปฏิบัติงานทางกีฏวิทยา เพื่อชี้บอกประสิทธิภาพการดำเนินงานควบคุมโรคเท้าช้าง ตั้งแต่ปี 2517-2543 โดยใช้ดัชนี 1) ค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิฯ อยู่ในระดับสูงกว่า 1% ต่ำกว่า 1% และเท่ากับ 0 2) ค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่ความหนาแน่นยุงอยู่ในระดับสูง กลาง และต่ำ รวมทั้ง 3) ค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่พบพยาธิระยะ 1, 2 หรือระยะ 3 เป็นเกณฑ์ผลการวิเคราะห์พบว่าข้อมูลมีความชัดเจนอยู่ 2 ช่วง โดยช่วงแรกปี 2517-2539 ค่าร้อยละที่สูงในดัชนีที่ 1 พบกระจายอยู่ในทุกระดับขณะดัชนีที่ 2 ส่วนใหญ่อยู่ในระดับสูงกับต่ำและดัชนีที่ 3 อยู่ในการพบยุงมีพยาธิระยะ 3 มาโดยตลอด แต่ช่วงถัดมาปี 2540-2543 ค่าร้อยละที่สูงในดัชนีแรกได้ลดจากระดับสูงกว่า 1% ลง พร้อมๆ กับระดับเท่ากับ 0 เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกันกับดัชนีที่ 2 ระดับสูงก็ลดลง และระดับต่ำเพิ่มมากขึ้นรวมทั้งดัชนีที่ 3 ไม่พบยุงมีพยาธิที่หมู่บ้านใดๆ จึงเป็นการชี้ให้เห็นว่า ประสิทธิภาพการควบคุมโรคเท้าช้างในพื้นที่จังหวัดนราธิวาสที่ผ่านมาอยู่ในเกณฑ์ดีระดับหนึ่งและมีแนวโน้มที่น่าจะดีขึ้นตามลำดับได้

บทนำ

จังหวัดนราธิวาสเป็นจังหวัดชายแดนไทยภาคใต้ที่มีอาณาเขตติดต่อกับประเทศมาเลเซีย มีเนื้อที่ประมาณ 2,642,343 ไร่ ฝนตกเกือบตลอดปี ด้วยสภาพภูมิประเทศทั่วไปเป็นที่ราบและราบลุ่ม พื้นที่หลายแห่งจึงมีน้ำขังค่อนข้างนาน ก่อเกิดเป็นสภาพป่าพรุ (swamp forest) มากมาย โดยเฉพาะป่าพรุที่มีขนาดใหญ่ 2 แห่ง คือ ป่าพรุโต๊ะแดง เนื้อที่ประมาณ 216,900 ไร่ครอบคลุม พื้นที่ 3 อำเภอ คือ อำเภอตากใบ อำเภอสุไหงปาดี และอำเภอสุไหงโกลก และป่าพรุบาเจาะมีเนื้อที่ 66,450 ไร่ ครอบคลุมพื้นที่ อำเภอเมือง กับอำเภอบาเจาะ[1] ป่าพรุทั้ง 2 แห่ง ถูกจัดไว้เป็นเขตป่าอนุรักษ์ที่คงไว้ซึ่งทรัพยากรธรรมชาติที่แท้จริงของพันธ์พืชและสัตว์นานาชนิดตั้งแต่ปี พ.ศ. 2525 โดยศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริจังหวัดนราธิวาสเป็นหน่วยงานที่ดูแลพร้อมกับพัฒนาพื้นที่พรุให้เกิดประโยชน์สูงสุดแก่ประชาชนทั่วไป[2]

ป่าพรุเป็นสภาพพื้นที่ซากพืชทับถมและน้ำแช่ขังรวมทั้งมีพืชน้ำและหญ้านานาชนิดเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ที่สำคัญของยุงลายเสือ Mansonia โดยเฉพาะชนิด *M. bonneae*, *M. dives, M. uniiformis, M. indiana M. annulata* และ *M. annulifera* รวมทั้ง *Coquilletidia crassipes* กับ *Cq. nigrosignata* เป็นพาหะสำคัญที่นำโรคเท้าช้างชนิด *Brugia malayi* [3-5]

โรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาสโดยเฉพาะอำเภอที่มีพื้นที่พรุทั้งสองแห่งข้างต้น เกิดจากเชื้อพยาธิชนิด *Brugia malayi* และมียุง Mansonia 6 ชนิด ดังที่กล่าวมาแล้วเป็นพาหะ นอกจากนี้ยังมีแมวเป็นรังโรค (reservior host) ที่สำคัญด้วย[6-8] โดยประชากรประมาณร้อยละ 80 เป็นมุสลิมและนิยมเลี้ยงแมวไว้ในบ้านการสำรวจโรคเท้าช้างในพื้นที่จังหวัดนราธิวาสเริ่มต้นเมื่อปี พ.ศ. 2517 พร้อมกับมีการดำเนินงานควบคุมโรคตลอดเรื่อยมาจนถึงในปัจจุบัน

การดำเนินงานป้องกันและควบคุมโรคเท้าช้างที่ผ่านมามีมาตรการหลัก คือ จ่ายยา Diethylcarbamazine citrate (DEC) ขนาด 6 มิลลกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน ให้เฉพาะผู้มีพยาธิฯ ในกระแสโลหิต กรณีพื้นที่สำรวจเมื่อตรวจด้วยฟิล์มหนา ปริมาตรโลหิต 60 ลูกบาศก์มิลลิลิตร พบอัตราผู้มีพยาธิต่ำกว่า 1% โดยรับประทานยาติดต่อกันนาน 6 วันตามเกณฑ์มาตรฐานขององค์การอนามัยโลก (WHO)[9] จนครบ 2 ปี และจ่ายให้ทั้งผู้มีพยาธิฯ กับประชากรอื่นๆ (ไม่ต่ำกว่า 80% ของประชากรแต่ละหมู่บ้าน) ในพื้นที่เดียวกัน โดยประชากรอื่นๆ รับประทานยาเพียงครั้งเดียว กรณีพื้นที่สำรวจพบอัตราผู้มีพยาธิฯ สูงกว่า 1% เพื่อยับยั้งการแพร่กระจายโรคและมาตรการเสริม คือ ให้สุขศึกษาประชาสัมพันธ์แก่ประชาชนได้รู้จักป้องกันตนเองไม่ให้ถูกยุงกัดพร้อมกับทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ยุง

การประเมินการดำเนินงานข้างต้น ใช้ดัชนีข้อมูลอัตราผู้มีพยาธิ *B. malayi* และ อัตราการแพร่หรืออัตราการติดพยาธิฯ ของยุง โดยข้อมูลลำดับแรกได้จากการเจาะโลหิตปริมาตร 60 ลูกบาศก์มิลลิลิตร จากปลายนิ้วมือเวลากลางคืนทำเป็นฟิล์มหนา ย้อมสียิมซ่า แล้วตรวจหาพยาธิฯ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยความครอบคลุมประชากรที่เจาะโลหิต 100% ของแต่ละหมู่บ้าน ส่วนข้อมูลลำดับหลังได้จากการสุ่มตัวอย่างจับยุงมาผ่าหาตัวอ่อนพยาธิฯ ทั้งนี้ ข้อมูลความหนาแน่นยุงและจำนวนชนิดยุงพาหะเป็นดัชนีที่สามารถบอกถึงโอกาสเกิดการแพร่กระจายโรคแต่ละหมู่บ้านได้เช่นเดียวกัน โดยเจ้าหน้าที่ศูนย์โรคเท้าช้างเขต 12 ปัตตานี (เดิม) กับสำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข พิกุลทอง จังหวัดนราธิวาส ร่วมกันปฏิบัติงานกิจกรรมต่างๆ ภายใต้การบริหารจัดการจากส่วนกลาง (Vertical program)

ปัจจุบันโรคเท้าช้างในประเทศไทยเป็นปัญหาทางสาธารณสุขน้อยลง ปี 2540 องค์การอนามัยโลกได้ประชาสัมพันธ์ให้ประเทศต่างๆ ที่มีความพร้อมเข้าสู่การมีโครงการกำจัดโรคเท้าช้างให้หมดไปจากทั่วโลก ปี 2563 ซึ่งกระทรวงสาธารณสุขในนามรัฐบาลไทยเห็นชอบที่จะเข้าร่วมโครงการดังกล่าวระหว่างปี 2545-2549 โดยใช้มาตรการให้ยา DEC ขนาด 300 มิลลิกรัมร่วมกับยา Albendazole ขนาด 400 มิลลิกรัมแก่ประชากรทุกคนในพื้นที่พบอัตราผู้มีเชื้อพยาธิฯ สูงกว่า 0.2% เมื่อตรวจโลหิตด้วยวิธีทำฟิล์มหนา หรือพบอัตราผู้มีแอนติเจนสูงกว่า 1% เมื่อตรวจด้วยวิธี Immunochromatographic Test (ICT) ปีละ 1 ครั้ง ทุกปี ต่อเนื่องกันตลอดทั้ง 5 ปี (Annual single dose mass treatment)[10-12] และให้ยาทั้ง 2 ชนิดแก่เฉพาะผู้มีพยาธิฯ เท่านั้น ในพื้นที่พบอัตราผู้มีพยาธิฯ หรือพบอัตราผู้มีแอนติเจนต่ำกว่า 0.2 หรือ 1% ตามลำดับ โดยมุ่งเน้นชุมชนดำเนินการหรือมีส่วนร่วมในการปฏิบัติงาน เพื่อสร้างชุมชนเข้มแข็งในการป้องกันควบคุมโรคเท้าช้างต่อไป โดยเจ้าหน้าที่หน่วยงานภาคสนามมีบทบาทควบคุมกำกับดูแลในระบบการบริหารจัดการที่อิสระจากส่วนกลาง (Decentralization program) ทั้งนี้ปี 2544 จึงเริ่มวิเคราะห์ข้อมูล จัดแบ่ง และคัดเลือกพื้นที่แพร่โรค (Transmission areas) มาดำเนินการ

จังหวัดนราธิวาสเป็นจังหวัดที่พบผู้มีพยาธิ *B. malayi* มากกว่าจังหวัดอื่นๆ ผู้วิจัยดำเนินการประเมินประสิทธิภาพการควบคุมโรคเท้าช้างในพื้นที่นี้ ตั้งแต่ปี 2517-2543 เพื่อประมวลภาพสถานการณ์โรคทั้งจังหวัดสำหรับชี้บอกแนวโน้มความสำเร็จการควบคุมโรคเท้าช้างในอนาคต

วัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลการควบคุมโรคเท้าช้างในพื้นที่จังหวัดนราธิวาส ตั้งแต่ปี 2517-2543

วิธีการศึกษา

3.1 แหล่งข้อมูล

ได้แก่ รายงานประจำปี 2517-2543 กองโรคเท้าช้าง (เดิม)[13] ศูนย์ข้อมูลโรคเท้าช้าง[14] และเอกสารอัดสำเนาการปฏิบัติงานกีฏวิทยาตามแผนประจำปีงบประมาณ 2530[15]

1.2 ข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่นำมาวิเคราะห์ใช้เป็นดัชนีใช้บอกประสิทธิภาพการควบคุมโรค คือ

3.2.1 ค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิในระดับสูงกว่า 1% ต่ำกว่า 1% และเท่ากับ โดยการนับผลรวมจำนวนหมู่บ้านที่มีค่าอัตราผู้มีพยาธิฯ อยู่ในระดับเดียวกัน แล้วหารด้วยจำนวนหมู่บ้านทั้งหมดที่มีการสำตรวจเจาะโลหิตในปีดังกล่าว คูณกับ 100

<u>ตัวอย่าง</u>

การหาค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิฯ 1% ในปี 2518

ข้อมูลปรากฏว่าจำนวนหมู่บ้านที่สำรวจมีทั้งหมด 24 แห่ง และจำนวนหมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิฯ สูงกว่า 1% มี 7 แห่ง

ดังนั้น ร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิฯ สูงกว่า 1% ในปี 2518 = (7/24) x 100

= 29.17%

หมายเหตุ: บางหมู่บ้านมีการสำรวจเจาะโลหิตมากกว่า 1 ครั้ง เช่น หมู่ 1, 4 ต.สุไหงปาดี อ.สุไหงปาดี เนื่องจากการควบคุมโรคไม่ลดลงในปีที่ผ่านมาหรือยังคงสภาพปัญหาที่จำเป็นต้องมีการจ่ายยารักษาและต้องสำรวจซ้ำอีกในปีเดียวกันหรือปีถัดไป กล่าวคือ เมื่อมีการสำรวจเจาะโลหิตเกิดขึ้นครั้งใด ก็จะนับเป็นจำนวนหนึ่งหมู่บ้านทุกครั้งไป

3.2.2 ค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านความหนาแน่นยุงอยู่ในระดับสูง กลาง และ ต่ำ โดยใช้วิธีคำนวณเดียวกันกับข้อ 3.2.1

เกณฑ์ความหนาแน่นยุงพาหะระดับสูง กลาง และต่ำ ตามกำหนดมาตรฐานของกองโรคเท้าช้าง[16] ชี้บอกถึงความเป็นไปได้ต่อการแพร่กระจายโรคเท้าช้างในพื้นที่พรุจังหวัดนราธิวาส คือ

ระดับสูง มากกว่า 101 ตัว/10 คน-ชม. ขึ้นไป มีโอกาสเกิดการแพร่กระจายโรคสูง

ระดับกลาง ระหว่าง 61-100 ตัว/100 คน-ชม. มีโอกาสแพร่กระจายโรคได้

ระดับต่ำ น้อยกว่า 60 ตัว/10 คน-ชม. ลงมา มีโอกาสเกิดการแพร่กระจายโรคได้ค่อนข้างน้อยหรือไม่เกิดการแพร่กระจายโรคได้

3.2.3 ร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่พบยุงมีตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 1, 2 หรือระยะ 3

ผล

ค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิในแต่ระดับ ปรากฏว่า ช่วงปี 2517-2539 ค่าดังกล่าวไม่คงที่ โดยบางปี (2518, 2523, 2526, 2532, 2534) พบค่าร้อยละที่สูงใกล้เคียงกันทั้ง 3 ระดับ บางปี (2524, 2527-2530) ใกล้เคียงกันที่ระดับสูงกว่า 1% กับต่ำกว่า 1% และบางปี (2531, 2533-2539) ใกล้เคียงกันที่ระดับต่ำกว่า 1% กับเท่ากับ 0 แต่ปี 2540-2543 พบค่าสูงได้มากที่ระดับต่ำกว่า 1% กับ เท่ากับ 0 โดยที่ระดับเท่ากับ 0 มากกว่า (ตารางที่ 1)

ส่วนค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่ความหนาแน่นยุงอยู่ในแต่ละระดับ ปรากฏว่า ปี 2529-2530 พบค่าร้อยละที่สูงได้มากในระดับสูงกับกลาง ปี 2531 ที่ระดับกลางกับต่ำ ช่วงปี 2532-2538 ในระดับสูงกับต่ำ แต่ปี 2539-2543 พบค่าร้อยละที่สูงได้มากในระดับต่ำทั้งหมด (ตารางที่ 2)

สำหรับค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่พบยุงมีพยาธิระยะที่ 1, 2 กับระยะ 3 ปรากฏว่า ช่วงปี 2529-2539 พบค่าร้อยละที่สูงได้ทุกปีในช่วงพยาธิระยะที่ 3 แต่ปี 2540-2543 เป็น 0 ซึ่งแสดงการไม่พบยุงมีพยาธิในหมู่บ้านใดๆ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิฯ อยู่ในแต่ระดับปี 2517-2543

ปี พ.ศ.	จำนวน อำเภอ / ตำบล	จำนวนหมู่บ้านที่สำรวจ (แห่ง)	ระดับอัตราผู้มีเชื้อพยาธิฯ					
			สูงกว่า 1%		ต่ำกว่า 1%		เท่ากับ 0	
			แห่ง	%	แห่ง	%	แห่ง	%
2517	1 / 1	1	1	100	0	0.00	0	0.00
2518	2 / 3	24	7	29.7	9	37.50	8	33.33
2519	1 / 4	24	4	16.67	3	12.50	17	70.83
2520	1 / 2	14	0	0.00	6	42.68	8	57.14
2521	1 / 6	40	9	22.50	23	57.50	8	20.00
2522	6 / 13	122	11	9.02	13	10.66	98	80.33
2523	4 / 8	45	14	31.11	16	35.56	15	33.33
2524	2 / 4	19	7	36.84	9	47.37	3	15.79
2525	2 / 3	13	1	7.69	7	53.85	5	38.46
2526	1 / 3	24	8	33.33	8	33.33	8	33.33
2527	3 / 3	19	6	31.58	11	57.89	2	10.53
2528	1 / 2	6	3	50.00	2	33.33	1	16.67
2529	4 / 4	26	15	57.69	9	34.61	2	7.69
2530	5 / 12	75	20	26.67	42	56.00	13	17.33

ตารางที่ 1 ร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิฯ อยู่ในแต่ระดับปี 2517-2543(ต่อ)

ปี พ.ศ.	จำนวน อำเภอ / ตำบล	จำนวนหมู่บ้านที่สำรวจ (แห่ง)	ระดับอัตราผู้มีเชื้อพยาธิฯ					
			สูงกว่า 1%		ต่ำกว่า 1%		เท่ากับ 0	
			แห่ง	%	แห่ง	%	แห่ง	%
2531	3 / 10	70	3	4.29	30	42.86	37	52.86
2532	7 / 9	60	18	30.00	26	43.33	16	26.67
2533	7 / 10	66	4	6.06	33	50.00	29	43.94
2534	5 / 8	58	12	20.69	25	43.10	21	36.21
2535	5 / 12	77	4	5.19	41	53.25	32	41.56
2536	4 / 10	45	5	11.11	21	46.67	19	42.22
2537	6 / 11	58	2	3.45	22	37.93	34	58.62
2538	5 / 14	63	14	22.22	31	49.21	18	28.57
2539	5 / 17	60	10	16.67	32	53.33	18	30.00
2540	5 / 12	34	2	5.88	9	26.47	23	67.65
2541	4 / 12	36	2	5.55	13	36.11	21	58.33
2542	9 / 24	48	2	4.16	14	29.17	32	66.66
2543	9 / 22	50	3	6.00	20	40.00	27	54.00

ตารางที่ 2 ร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่ความหนาแน่นยุงอยู่ในแต่ละระดับและมีพยาธิฯ ตั้งแต่ปี 2529-2543

ปี พ.ศ.	จำนวน อำเภอ / ตำบล	จำนวนหมู่บ้านที่สำรวจ	ระดับอัตราผู้เชื้อพยาธิฯ						ระยะพยาธิในยุง	
			สูง		กลาง		ต่ำ		ระยะที่ 1, 2 แห่ง / %	ระยะ 3* แห่ง / %
			แห่ง	%	แห่ง	%	แห่ง	%		
2529	4 / 4	13	6	46.15	7	53.84	0	0	5 / 38.46	2 / 15.38
2530	7 / 10	36	20	55.55	10	27.77	6	16.67	2 / 5.55	2 / 5.55
2531	1 / 2	6	0	0	2	33.33	4	66.66	0 / 0	1 / 0
2532	5 / 6	15	5	33.33	2	13.33	8	53.33	0 / 0	2 / 13.33
2533	5 / 9	24	18	75	5	20.83	1	4.17	1 / 4.16	15 / 62.5
2534	3 / 7	8	3	37.50	1	12.50	4	50	1 / 12.5	3 / 37.5
2535	4 / 5	10	7	70	0	0	3	30	1 / 10	2 / 20
2536	5 / 6	15	6	40	2	13.30	7	46.67	0 / 0	3 / 20
2537	6 / 10	15	5	33.33	1	6.67	9	60	0 / 0	2 / 13.33
2538	6 / 12	20	8	40	1	5	11	55	0 / 0	1 / 5
2539	7 / 13	29	18	62.07	8	27.59	3	16.34	2 / 10.52	3 / 10.34
2540	7 / 11	26	8	30.77	2	7.69	16	61.53	0 / 0	0 / 0
2541	5 / 7	17	4	23.53	1	5.88	12	70.59	0 / 0	0 / 0
2542	4 / 10	16	1	6.25	2	12.54	13	81.25	0 / 0	0 / 0
2543	4 / 5	23	1	4.35	3	13.04	19	82.61	0 / 0	0 / 0

วิจารณ์

ค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิฯ ช่วงปี 2517-2539 กระจายทั่วไปในทุกระดับ น่าจะเนื่องจากปัจจัยหลายประการ อาทิ วิธีการควบคุมโรคที่ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของระดับอัตราผู้มีพยาธิฯ ในแต่ละหมู่บ้าน โดยจ่ายยา DEC แบบกลุ่ม (mass treatment) เมื่ออัตราผู้มีพยาธิสูงกว่า 1% แล้วเปลี่ยนเป็นจ่ายยาเฉพาะราย (single treatment) ทันที เมื่ออัตราผู้มีพยาธิต่ำกว่า 1% บางหมู่บ้านเว้นช่วงการควบคุมโรคค่อนข้างนาน คนในหมู่บ้านอาจถูกยุงกัดและได้รับพยาธิฯ เข้าสู่ร่างกายใหม่ ซึ่งข้อมูลสนับสนุนจากค่าร้อยละของจำนวนหมู่บ้านที่ความหนาแน่นยุงอยู่ในระดับสูงและกลางเป็นส่วนมาก รวมทั้งจำนวนหมู่บ้านที่พบยุงมีพยาธิฯ ระยะที่ 3 มาโดยตลอด หรือผู้มีพยาธิฯ อาจรับประทานยา DEC ไม่ต่อเนื่อง ขนาดยาจึงไม่มากพอที่จะทำให้พยาธิตัวแก่ตาย เมื่อตัวแก่สร้าง microfilaria อยู่ในกระแสโลหิตก็ก่อเกิดการแพร่กระจายโรคอีกครั้ง[9] และการจ่ายยาไม่ครอบคลุมประชากรทั้งหมู่บ้านทำให้ผู้มีพยาธิฯ ไม่ได้รับประทานยา จึงทำให้หมู่บ้านที่อัตราผู้มีพยาธิฯ ต่ำกว่า 1% เปลี่ยนเป็นสูงกว่า 1% ได้ แต่หลังปี 2540 ไปแล้วทุกค่ำได้ลดจากระดับสูงสู่ระดับต่ำ ตามลำดับ อันแสดงถึงหมู่บ้านต่างๆ เมื่อความหนาแน่นยุงต่ำลง ก็จะไม่พบยุงมีพยาธิฯ สุดท้ายส่งผลโดยตรงต่อการลดอัตราผู้มีพยาธิฯ ลงได้ จึงอาจกล่าวได้ว่าประสิทธิภาพการควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาสที่ผ่านมาอยู่ในเกณฑ์ดีระดับหนึ่ง และแนวโน้มน่าจะดีขึ้นตามลำดับได้

เอกสารอ้างอิง

1. คณะอนุกรรมการจัดทำแผนแม่บท. โครงการศูนย์ศึกษาการพัฒนาพื้นที่พรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาส กรมชลประทาน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. การศึกษาผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมเพื่อการพัฒนาพื้นที่พรุโต๊ะแดง จังหวัดนราธิวาส. 2530 (เอกสารอัดสำเนา).
2. ธวัชชัย สันติสุข, เต็ม สมิติฉันท์. การอนุรักษ์ธรรมชาติในประเทศไทยในแง่การพัฒนาสังคมและเศรษฐกิจ. ชุติมาการพิมพ์, 2528; 206-20.
3. Wharton RH. The biology of Mansonia Mosquitoes in relation to the transmissions of filariasis in Malaya. *Bull Institute Med Res Malaya* 1978, 11: 144.
4. กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ. บทความพื้นวิชา: ยุงชนิดใหม่นำโรคเท้าช้างในประเทศไทย. *วารสารกรมควบคุมโรคติดต่อ*. 2538; 21(2): 128.
5. Gass Rp. Observation on the feeding habits of four species of Mansonia (Mansonioids) mosquitoes in southem Thailand. *J Med Entomol* 1983; 203(3) : 288-93.
6. Phantans S, Chutidamrong C, Chusattayanond W. *Brugia malayi* in a cat from southem Thailand. *Tran R Soc Trop Med Hyg* 1987; 81: 173-4
7. Kanjanopas K, Choochote W. Jitpadi A, suvanadabba S, Loymak S, Loymak S, Chung pivat S, et al. *Brugia malayi* in a naturally infected cat from Narathiwat province, southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001; 32: 585-7
8. Mak JW, Yen PKF, Lim KC, Ramaih N. Zoonotic implication of cats and dogs in filarial transmission in Peninsular Malaysia. *Trop Geogr Med* 1980: 32: 259-64
9. World Health Organizalion Expert committee on filariasis : Fourth report. WHO Tech Rep Ser 702; 1: 1984
10. World Health Organization. Elimination of lymphatic filariasis as a public health problem. Resolution 50.29 of the world Health Assembly, May 1997.
11. Ottesen EA. Duke BOL, Karam M, Behbehani K. Strategies and tools for control elimination of lymphatic filariasis. *Bull World Health Organ* 1997; 491-503.
12. World Health Organization. Defining the roles of vector control and xenomonitoring in the global programme to eliminate lymphatic filariasis. Report of the infommal consultation WHO/HQ; 2002 Jan 29.-31: Geneva.
13. กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ. รายงานประจำปี 2528-2543.
14. สาลินี เซ็นเสถียร. ศูนย์ข้อมูลโรคเท้าช้าง ปี 2517-2527 (เอกสารอัดสำเนา).
15. กอบกาญจน์ การญจโนภาศ. การปฏิบัติงานกีฏวิทยาตามแผนประจำปีงบประมาณ 2530 ในพื้นที่อำเภอตากใบ จังหวัดนราธิวาส (เอกสารอัดสำเนา)
16. กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ. ระดับความหนาแน่นของยุงที่สามารถแพร่กระจายโรคเท้าช้างได้ตามมาตรฐานกองโรคเท้าช้าง (เอกสารอัดสำเนา)

การปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียชนิด *Brugia malayi* ในแมว ที่จังหวัดนราธิวาส

The microfilarial periodicity of *Brugia malayi* in domestic cats in Narathiwat Province

ธีระยศ กอบอาษา วท.ม. (ปรสิตวิทยาทางการแพทย์) **Theerayot Kob-asa M.Sc. (Medical Parasitology)***

สุมาศ ลอยเมฆ ค.บ. (สุขศึกษา) **Sumart Roymak B.Ed. (Health Education)****

**สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง*

***โครงการควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข*

บทคัดย่อ

การปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือดส่วนปลายในแมวติดเชื้อ *B. malayi* ที่นำมาจากชุมชนแหล่งระบาดของโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส จากการตรวจหาความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียทุก 2 ชั่วโมง ติดต่อกัน จนครบ 24 ชั่วโมง พบว่า ไมโครฟิลาเรียจะปรากฏตัวตลอดวัน แต่พบมากในเวลากลางคืน จากการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สูตรทางคณิตศาสตร์ที่ถูกพัฒนาขึ้นมาช่วยในการอธิบายความสัมพันธ์การปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียในแต่ละช่วงเวลาพบว่าไมโครฟิลาเรียจะปรากฏตัวสูงสุดที่เวลา 00.21 น. และ peridodic index เท่ากับ 18.51 การศึกษาปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียยังมีความจำเป็น เพื่อทราบเวลาที่เหมาะสมในการสำรวจเจาะเลือด ประเมินผลการรักษาและการศึกษาระบาดวิทยาโรคเท้าช้าง

Abstract

The circadian periodicity of *B. malayi* microfilarial intensity in peripheral blood was analyzed in a group of infected individual cats from endemic community in southern Thailand, Narathiwat Province. The microfilarial density was quantified at two-hourly intervals for 24 hours. A clear nocturnally subperiodic pattern was observed. Mathematical analysis of the data indicated a peak at 00.21 h and aperiodic index of 18.51. A periodicity equation was developed describing the average relation between microfilarial intensity and hour of the day for the study area. Based on the observed periodicity pattern in necessary for the best time for blood survey, evaluate treatment and data analysis from epidemiological studies.

บทนำ

โรคเท้าช้างที่เกิดจากเชื้อชนิด *B. malayi* เป็นพยาธิตัวกลมที่อาศัยอยู่ในระบบน้ำเหลือง (Lymphatic filariasis) ส่วนใหญ่พบในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (1) อาการสำคัญของโรค คือมีการอักเสบของต่อมน้ำเหลืองท่อทางเดินน้ำเหลืองอุดตันจน ทำให้อวัยวะบางส่วนมีการบวมโตจนเป็นภาวะเท้าช้าง (Elephentiasis) ในที่สุด ประเทศไทยมีการระบาดของเชื้อชนิดนี้ เฉพาะเขตภาคใต้ และจากการควบคุมโรคอย่างต่อเนื่องทำให้การระบาดของโรคลดลงจาก 11 จังหวัด ปัจจุบันคงมีการระบาดของโรคในบางพื้นที่ของ 3 จังหวัด ได้แก่ นราธิวาส สุราษฎร์ธานี และกระบี่ (2,3) เชื้อชนิดนี้ยังสามารถแพร่จากสัตว์สู่คนและจากคนสู่สัตว์ (zoonotic disease)(4) โดยเฉพาะแมวเป็นสัตว์เลี้ยงที่ใกล้ชิดกับมนุษย์และเป็นรังโรคโดยไม่ก่อให้เกิดอาการอวัยวะบวมโต การควบคุมโรคจะสัมฤทธิ์ต้องดำเนินมาตรการควบคุมโรคทั้งในคนและแมว จากการใช้อัตราการตรวจพบไมโครฟิลาเรียจากการสำรวจรังโรคในแมวสามารถเป็นดัชนีในการเฝ้าระวังโรค แต่ไมโครฟิลาเรียจะมีการปรากฏตัวในกระแสเลือดส่วนปลายบางช่วงเวลา (Periodicity) ส่วนใหญ่ไมโครฟิลาเรียจะอาศัยอยู่ในเส้นเลือดฝอยที่ปวด และเชื้อชนิดเดียวกันการปรากฏตัวของเชื้ออาจแตกต่างกัน จำเป็นต้องมีการศึกษาการปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียในแต่ละพื้นที่ เพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการสำรวจรังโรคเท้าช้างของเชื้อ *B. malayi* ในแมว

วิธีการ

การศึกษานี้ใช้แมวที่ติดเชื้อ *Brugia* spp. ตามธรรมชาติในพื้นที่จังหวัดนราธิวาส จากการสำรวจในปี พ.ศ. 2543 และดำเนินการดังต่อไปนี้

1. วินิจฉัยชนิดไมโครฟิลาเรียในแมวและคัดเลือกเฉพาะแมวที่ติดเชื้อชนิด *B. malayi* โดยวิธีการตรวจย้อมของ Sivannandam และ Fredericks (1966)

2. เจาะเลือดแมวที่ใบหูเพื่อทำฟิล์มเลือดหนา 3 แผ่น ใช้เลือดแผ่นละ 60 ลบ.มม. จากการใช้ capillary tube ตวง ทุก 2 ชั่วโมงจนครบ 24 ชั่วโมง

3. เมื่อฟิล์มเลือดแห้งสนิท นำมาทำการย้อมด้วยสี Giemsa stain ที่ความเข้มข้น 1: 20 (ร้อยละ 5)

4. ทำการตรวจแจงนับจำนวนไมโครฟิลาเรียผ่านกล้องจุลทัศน์โดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของโครงการงานปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุขและกองโรคเท้าช้าง แห่งละ 2 คน และนำมาหาค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียในแมวแต่ละช่วงเวลา

5. วิเคราะห์ประมวลผลความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นในการตรวจพบไมโครฟิลาเรียกับเวลา

การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาความสัมพันธ์ของการปรากฏตัวของเชื้อจากการใช้สูตร “Modification of the harmonic wave” ที่คิดโดย Aikat and Das (1977)(5) จากการนำค่าความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลา จากนั้นนำมาคำนวณปรับค่าเพื่อหาค่าคงที่การปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียที่มีการเปลี่ยนแปลงขึ้นลงเหมือนคลื่น (harmonic wave) เป็นรอบในแต่ละช่วงเวลา 1 วันหรือ 24 ชั่วโมง คำนวณเพื่อหาค่าการปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียในธรรมชาติจากข้อมูลที่ได้จากการทดลอง

ผลการศึกษา

ผลการตรวจนับไมโครฟิลาเรียจากฟิล์มเลือดหนาที่ทำการเจาะทุก 2 ชั่วโมง จากแมวแต่ละตัวจำนวน 11 ตัว พบว่าความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียสูงสุดอยู่ในช่วง 2-141 ตัว/60 ลบ.มม. ในช่วงเวลา 08.00-24.00 น. และต่ำสุดเท่ากับ 0-1 ตัว/ 60 ลบ.มม. ในช่วงเวลา 08.00-18.00 น. ความหนาแน่นเฉลี่ยสูงสุด 54 ตัว/60 ลบ.มม. ที่เวลา 24.00 น. ต่ำสุด 10.27 ตัว/60 ลบ.มม. ที่เวลา 10.00 น. ดังรายละเอียดตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียของแมวที่ติดเชื้อ *B. malayi* ที่จังหวัดนราธิวาสจากการตรวจฟิล์มเลือดและการคำนวณทุก 2 ชั่วโมง

	ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรีย (mf/60 µl) ในแต่ละช่วงเวลา											
อันดับที่	**12.00**	**14.00**	**16.00**	**18.00**	**20.00**	**22.00**	**24.00**	**02.00**	**04.00**	**06.00**	**08.00**	**10.00**
1	0	44	87	92	96	97	98	75	52	33	14	7
2	4	8	12	11	9	7	5	8	10	13	15	10
3	0	0	0	0	0	1	2	2	2	1	0	0
4	1	1	0	1	1	1	1	2	2	2	1	1
5	22	19	36	39	41	65	88	89	89	52	14	18
6	105	93	81	75	69	105	141	139	137	92	46	76
7	1	7	12	14	15	16	17	12	6	4	2	2
8	0	2	3	6	9	12	14	11	7	5	2	1
9	1	2	3	13	22	69	116	82	48	32	15	8
10	2	2	2	12	22	22	21	15	9	6	2	2
11	6	22	37	55	72	59	46	64	81	44	6	6
Observe mean												
Density mean	12.91	18.18	24.82	28.91	32.36	41.27	54	45.64	40.27	25.82	10.64	10.27
Mf ratio	44.9	63.23	86.33	100.56	112.56	143.5	173.9	156.7	140.1	89.8	37	35.72
(% of max)	25.82	36.36	49.64	57.83	64.73	82.52	100	90.11	81.14	51.64	21.28	20.54
Theoretical												
Mf ratio	10.32	11.93	18.05	27.04	36.48	43.85	47.18	45.56	39.44	30.46	21.02	13.64
(% of max)	21.87	25.29	38.26	57.31	77.32	92.94	100	96.57	83.59	64.56	44.55	28.91

ตารางที่ 2 Trigonometric analysis of the observed microfolaria ratios ตามสูตรของ Aikat and Das (1977)

Examination Hour (h)	Observe mean mf ratio(y)	Y^2	(b) y cos 15 h	(c) y sin 15 h
12.00	12.91	166.67	-12.91	0
14.00	18.18	330.51	-15.74	-9.09
16.00	24.82	616.03	-12.41	-21.49
18.00	28.91	835.79	0	-28.91
20.00	32.36	1047.17	16.18	-28.02
22.00	41.27	1703.21	35.74	-20.64
24.00	54.0	2916.0	54.0	0
02.00	45.64	2083.01	39.52	22.82
04.00	40.27	1621.64	20.14	34.87
06.00	25.82	666.67	0	25.82
08.00	10.64	113.21	-5.32	9.21
10.00	10.27	105.47	-8.89	5.14
σ	345.09	12205.41	110.58	-10.29

m = $\sum$yln=345.09/12=28.75

b = 2$\sum$ycos 15h/n=2x110.58/12=18.43

c= 2$\sum$ ysin15h/n = 2x(-10.29)12 =1.71

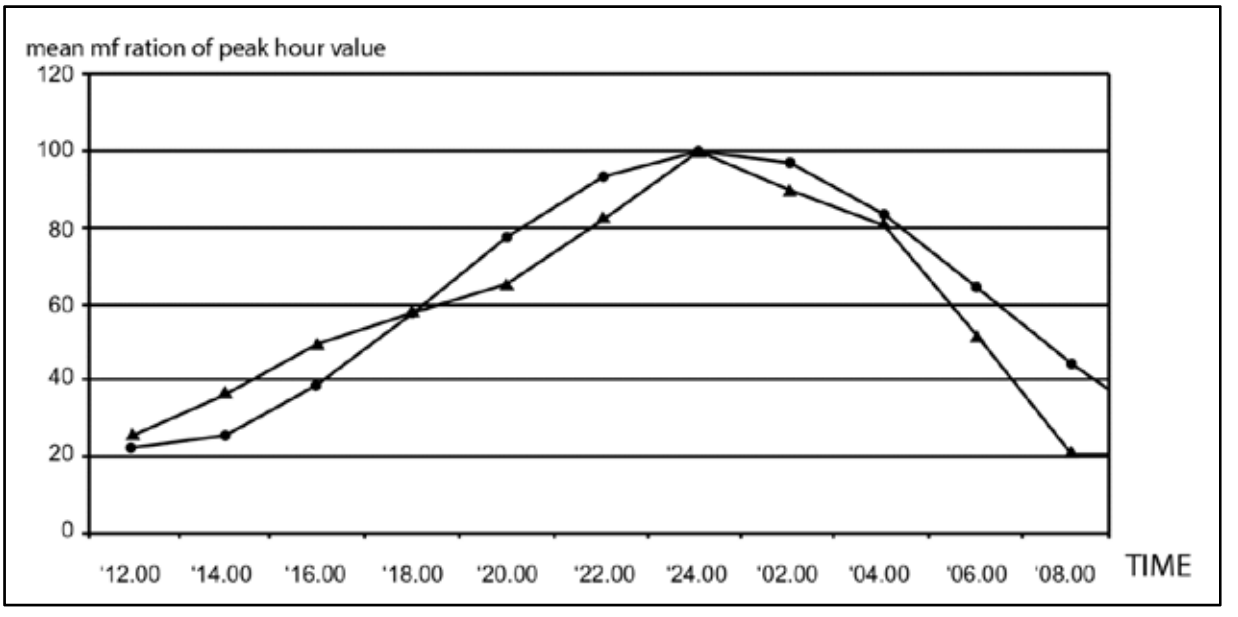
a= $(b + c)^{1/2}$ =18.51

k= $1/15\tan^{-1}c/b= 1/15 \tan^{-1} 1.71/18.43=0.35$

ผลจากการนำอัตราส่วนค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียมาคำนวณหาความสัมพันธ์ของการปรากฏตัวของเชื้อจากการใช้สูตร “Modification of the harmonic wave” รายละเอียดดังตารางที่ 2 ค่า Periodictity index (a) เท่ากับ 18.51 ไมโครฟิลาเรียจะปรากฏตัวสูงสุด (k = 0.35) ในช่วงเวลา 00.21 น. และ เมื่อนำมาคำนวณจากสูตร

y(h)=28.75+18.43cos15h+1.71sin15h

เพื่อหาค่าการปรากฏตัวของเชื้อพยาธิไมโครฟิลาเรียจากการคำนวณ (ตารางที่ 1) และเมื่อนำค่าการปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียจากการตรวจฟิล์มเลือด และการคำนวณมาเปรียบเทียบกัน จะพบว่ามีความใกล้เคียงกัน โดยไมโครฟิลาเรียจะปรากฏตัวมากกว่าร้อยละ 50 ในช่วงเวลา 17.00-07.00 น. และปรากฏตัวน้อยกว่าร้อยละ 50 ในช่วงเวลา 8.00-16.00 น. (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 แสดงช่วงเวลาการปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียชนิด *B. malayi* ในแมว

▲ แทนค่าจากการตรวจในภาคสนาม

● แทนค่าจากการคำนวณในภาคทฤษฎี เปรียบเทียบเป็นร้อยละ กับความหนาแน่นของเชื้อในช่วงเวลาการปรากฏตัวของเชื้อสูงสุด

สรุปและวิจารณ์

การใช้คณิตศาสตร์มาช่วยในการวิเคราะห์ปรากฏการณ์การปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียในกระแสโลหิตส่วนปลายในธรรมชาติ ช่วยให้การศึกษาไม่ต้องใช้ตัวอย่างแมวจำนวนมากและลดจำนวนครั้งที่เจาะเลือดแมว ซึ่งผลจากการตรวจสอบและจากการคำนวณมีความสอดคล้องกันถึงเชื้อ *B. malayi* ที่พบในแมวมีการปรากฏตัวตลอดทั้งวันแต่พบมากในเวลากลางคืน (Nocturnally Subperiodic) เวลาการปรากฏตัวสูงสุดคือ 00.21 น. ซึ่งต่างกับแมวติดเชื้อ *B. malayi* ที่อำเภอท่าชนะ จังหวัดสุราษฎร์ธานีเชื้อจะปรากฏตัวเฉพาะเวลากลางคืนเวลาการปรากฏตัวสูงสุดคือ 00.35 น. (Nocturnally periodic) (6) ในปัจจุบันยังไม่ทราบกลไกที่กระตุ้นหรือเป็นสิ่งเร้าให้เชื้อมีเวลาการปรากฏตัวที่แตกต่างกัน แต่มักพบว่าการเปลี่ยนของช่วงเวลาการปรากฏตัวของเชื้อมักจะมีความสัมพันธ์กับช่วงเวลาการออกหากินของแมลงพาหะ (insect species) (7) ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมทางด้านกีฏวิทยาและความสามารถในการรับเชื้อของยุงในพื้นที่ ในกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงการปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียในพื้นที่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการวางแผนการควบคุมโรค

ความหนาแน่นของเชื้อที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลานั้น มีผลต่อการตรวจพบเชื้อเป็นอย่างยิ่ง จากข้อมูลข้างต้นชี้ชัดถึงการสำรวจเจาะเลือดแมวในทางระบาดวิทยาและการประเมินผลการรักษาควรดำเนินการในช่วงเวลา 22.00 - 02.00 น. เพราะความถูกต้องในการตรวจพบเชื้อมากกว่าร้อยละ 90 แต่ไม่สะดวกทางปฏิบัติในช่วงเวลาดังกล่าว ค่าความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียจากดำเนินการในภาคสนามในช่วงเวลา 10.00-04.00 น. จะต่ำกว่าความเป็นจริงถึงร้อยละ 61.74-71.09 น. ส่วนในแมวที่มีความหนาแน่นของเชื้อสูงสุดเท่ากับ 10 โอกาสตรวจพบเชื้อเพียงร้อยละ 44.44 เท่านั้น นอกจากนี้ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรีย (microfilarial intensity) ที่สามารถใช้ดัชนีเปรียบเทียบความเสี่ยงต่อการแพร่เชื้อในแต่ละพื้นที่ จากความน่าจะเป็นในการรับไมโครฟิลาเรียแต่ละครั้งจากการกินเลือดครั้งละประมาณ 2 ไมโครลิตร และความหนาแน่นของยุงพาหะในพื้นที่

แมวที่นำมาศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงส่วนหนึ่งการสำรวจแมวที่ติดเชื้อในพื้นที่และแมวเหล่านี้สามารถแพร่โรคกลับสู่คน ดังนั้นการควบคุมโรคเท้าช้างให้สัมฤทธิ์ผลต้องดำเนินมาตรการควบคุมทั้งต่อคนและยุง ควรต้องมีการพัฒนาหาวิธีการตรวจที่มีความไวมากกว่าการตรวจหาไมโครฟิลาเรียจากฟิล์มเลือด และผู้ชอบเลี้ยงแมวควรได้ตระหนักถึงปัญหาการติดโรคจากสัตว์เหล่านี้ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้รายงานขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของโครงการงานปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาพัฒนาพิกุลทอง และเจ้าหน้าที่กองโรคเท้าช้างที่ช่วยในการดำเนินงานครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Lynne SG. and David AB. Diagnostic medical parasitology 2nd. Washington DC; Cover photography. 1993.
2. สุภัทร สุจริต, บรรณาธิการ. โรคเท้าช้างฟิลาริเอซีสในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1, กรุงเทพ; กรุงสยามการพิมพ์: 2531: 1-70.
3. กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ, รายงานประจำปี 2543. กรุงเทพ; ชุมนุมสหกรณ์การเกษตร: 243
4. Edeson JFB, Wilson T, Wharton RH and Laing ABG. Experimental transmission of *Brugia malayi* and *Brugia pahungi* to man. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1960; 54: 229-234.
5. Aikat TK and Das M. A modified statistical method for analysis of periodicity of microfilaria. WHO/FIL/76.142; 1976: 1-2.
6. สุพิทย์ ยศเมฆ. การปรากฏตัวของเชื้อไมโครฟิลาเรียชนิด *Brugia malayi* ในแมว. ปริญญานิพนธ์คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2543.
7. Guptavanij P, Harinasuta C, Sucharit S and Vutikes S. Studies in subperiodic *Brugia malayi* in Southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Pub Health* 1971; 2: 44-50.

ปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการดูแลตนเองของผู้ป่วยโรคเท้าช้าง ในตำบลสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส

Factors which Affected the Health Seeking Behavior of Lymphatic Filariasis Patient in Sungaipadi, Narathiwat Province.

ชูวีวรรณ จิระอมรนิมิต กศ.ม. (สุขศึกษา)* Chuvevan Jiraamonnimit M.Ed.(Health Education)*

สุมาศ ลอยเมฆ คบ. (สุขศึกษา)** Sumart Loymek B.Ed. (Health Education)**

มนัสวี อดุลยรัตน์ พย.ม. (การพยาบาลผู้ใหญ่)*** Manusvee Adulyarut M.Ns. (Adult nursing)***

ขวัญตา บาลทิพย์ พย.ม. (การพยาบาลผู้ใหญ่)**** Quantar Baltrip M.Ns. (Adult nursing)******

บุษบง เจาฑานนท์ วท.ม. (สาธารณสุขศาสตร์)* Bussabong Chaotanont M.Sc. (Public Health)*

แสงจันทรา เรือนทองดี พย.บ.* Sangchantra Reunthongdee B.N.*

**สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค* **Filariasis Division, Ministry of Public Health*

***สำนักงานโครงการควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาพิกุลทอง* ***Filariasis Project Phikulthong Royal Development Study Center, Narathiwat Province*

****วิทยาลัยพยาบาลบรมชนนีนราธิวาส* ****Boromratchonnee Narathiwat Nursing College*

*****มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่* *****Prince of Songkhla University*

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงคุณภาพมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการดูแลตนเองของผู้ป่วยโรคเท้าช้างระยะปรากฏอาการ โดยศึกษาในผู้ป่วยโรคเท้าช้างระยะปรากฏอาการ 13 คน ผู้นำชุมชน 11 คน หมอพื้นบ้าน 3 คน และเจ้าหน้าที่สถานีอนามัย 2 คน ณ ตำบลสุไหงปาดี อ.สุไหงปาดี จ.นราธิวาส ระหว่างเดือนมีนาคม-สิงหาคม 2545 เก็บข้อมูลโดยการสัมภาษณ์เชิงลึก การสนทนากลุ่มและการสังเกตร่วมกับการบันทึกภาคสนาม และวิเคราะห์ข้อมูลเชิงเนื้อหา โดยใช้รูปแบบโคไลซ์ซี ผลการศึกษาที่สำคัญพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการดูแลตนเองของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์เชื่อมโยงกับบริบท วิถีชีวิต ระบบนิเวศน์ และวิถีคิดความเข้าใจเกี่ยวกับโรคเท้าช้างของชุมชนในตำบลนี้ ซึ่งส่งผลให้ชุมชนแห่งนี้มีแบบแผนการดูแลรักษาที่ไม่ถูกต้องกล่าวคือในผู้ป่วยระยะต่อมหรือท่อน้ำเหลืองอักเสบส่วนใหญ่ยังคงใช้การรักษาแบบพื้นบ้านตามความเชื่อและประสบการณ์ที่ถ่ายทอดกันมา เช่น มีการใช้พืชสมุนไพร เสกปูนลงคาถา เป็นต้น ส่วนน้อยที่ไปรับการรักษาที่สถานบริการสาธารณสุขและบางคนคิดว่าอาการดังกล่าวหายเองได้แม้ไม่รักษา ดังนั้นเพื่อให้ชุมชนแห่งนี้มีความเข้าใจและสามารถให้การดูแลในแต่ละระยะอาการแสดงของโรคได้อย่างถูกต้องเหมาะสม เจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบจึงควรมีการปรับกลยุทธ์ในการดำเนินการ เช่น การใช้มาตรการเชิงรุกมากกว่าตั้งรับ การให้ชุมชนเข้ามามีส่วนร่วมในการดำเนินงาน สำหรับเนื้อหาสาระที่เกี่ยวข้องต้องสอดคล้องกับวิถีชีวิตและบริบทของชาวบ้าน รวมทั้งการให้ความรู้แก่หมอพื้นบ้านและผู้นำชุมชน เรื่องอาการแสดงของโรคและการให้คำแนะนำการดูแลเมื่อมีอาการ

Abstract

This was a qualitative study to determine the factors on health seeking behavior of symptomatic filariasis cases. The study group composed of 13 comfirmed symptomatic filarasis cases, 11 leaders of the community, 3 traditional healers and 2 staffs of health centers in Tambon Sungaipadi of Sungaipadi District, Narathiwat Province. Data collection was done during March to August 2002 by intensive interviews, discussions, observations, field records and content analysis by using "The Colizzi Phenomenological" technique. The result of the study showed that the factors on self care behaviors of symptomatic lymphatic filariasis cases were related to the Sungaipadi people's lifestyle, ecology and perception about the disease. The health seeking behavior of most of the patients in this community was mainly provided by traditional healers. Only few patients seek treatment from modern medicine at the health centers. Some patients thought that the symptoms would subside by themselves. To improve the knowledge and health seeking behavior, new strategies such as active approach to the community, community participation should be introduced. The information about the disease should be related to life style and ecology. Local traditional leaders and community leaders should be educated to provide right information to the community.

ประเด็นสำคัญ: โรคเท้าช้าง, พฤติกรรมการดูแลตนเอง, จังหวัดนราธิวาส

Keywords: *Filariasis, health seeking behavior, Narathiwat province*

บทนำ

โรคเท้าช้าง (Lymphatic filariasis) เป็นโรคติดต่อโรคหนึ่งที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขจากรายงานขององค์การอนามัยโลกเมื่อปี พ.ศ. 2538 พบว่าโรคเท้าช้างเป็นสาเหตุนำอันดับ 2[1] ในการทำให้เกิดความพิการชนิดถาวร (permanent disability) สาเหตุของโรคเกิดจากพยาธิตัวกลมซึ่งในประเทศไทยพบว่ามี 2 ชนิด คือ ชนิดบรูเกีย มาลาไย (*Brugia malayi*) ที่ส่วนใหญ่พบในภาคใต้และชนิดวูเคอเรอเรีย แบนครอฟไต (*Wuchereria bancrofti*) ซึ่งมักจะพบตามแนวชายแดนไทย-พม่า เข้าไปอาศัยและทำให้เกิดการอักเสบในระบบทางเดินน้ำเหลืองส่งผลให้ผู้ป่วยต้องทนทุกข์ทรมานจากไข้เรื้อรังอันเนื่องมาจากการอักเสบ และการบวมโตของอวัยวะต่างๆ ได้แก่แขน ขา และอวัยวะเพศ สถานการณ์โรคเท้าช้างในประเทศไทยปัจจุบันมีแนวโน้มที่ดีขึ้น โดยอัตราการตรวจพบตัวอ่อนพยาธิโรคเท้าช้างในโลหิตลดลงจากร้อยละ 3.16 ในปี พ.ศ. 2504 ซึ่งเป็นปีที่เริ่มดำเนินการควบคุมเหลือเพียงร้อยละ 0.05 ในปี พ.ศ. 2544 และพบว่าพื้นที่แหล่งแพร่เชื้อลดลงจากเดิมที่พบใน 16 จังหวัดเมื่อปี พ.ศ. 2504 เหลือเพียงบางพื้นที่ของ 8 จังหวัดในปี พ.ศ. 2544 คือจังหวัดตาก นราธิวาส แม่ฮ่องสอน กาญจนบุรี นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี กระบี่ และลำพูนเท่านั้น[2] โดยมีจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด 357 ราย คิดเป็นอัตราความชุกชุมของผู้ป่วยโรคเท้าช้าง เท่ากับ 0.58 ต่อแสนประชากร จากข้อมูลทางระบาดวิทยาพบว่า จังหวัดนราธิวาสนอกจากจะเป็นแหล่งแพร่เชื้อชนิดบรูเกีย มาลาไย แล้วยังเป็นจังหวัดที่มีจำนวนผู้ป่วยโรคเท้าช้างมากเป็นอันดับสองรองจากจังหวัดตากหรือคิดเป็นร้อยละ 29.13 ของจำนวนผู้ป่วยโรคเท้าช้างทั้งหมดและจากผลการศึกษาเรื่อง

ปัจจัยที่มีผลต่อการรักษาผู้ป่วยโรคเท้าช้างที่พบเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างในโลหิตด้วยยา Diethycarbamazine Citrate ที่จังหวัดนราธิวาสพบว่าผู้ป่วยมีอัตราการรักษาครบเพียงร้อยละ 52.4 อัตราการรักษาสม่ำเสมอร้อยละ 40.9 และรักษาหายขาดเพียงร้อยละ 62.4[3] ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพฤติกรรม การดูแลตนเองของผู้ป่วยยังไม่ถูกต้อง พฤติกรรมการดูแลตนเองเมื่อยามเจ็บป่วยของผู้ป่วยแต่ละคนเป็นเรื่องที่สำคัญ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเห็นถึงความจำเป็นที่จะต้องศึกษาให้เข้าใจถึงความคิดความเชื่อเกี่ยวกับพฤติกรรมการดูแลตนเองในมุมมองของผู้ป่วยตามบริบทที่เกิดขึ้นจริง เพื่อนำไปเป็นแนวทางในการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมให้สอดคล้องกับสภาพปัญหาและวิถีชีวิตของผู้ป่วยให้มากที่สุด อันจะส่งผลถึงความครอบคลุมของการรักษาที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการดูแลตนเองของผู้ป่วยโรคเท้าช้างระยะปรากฏอาการ

วัสดุและวิธีการศึกษา

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงคุณภาพ (Qualitative research) เพื่อศึกษาพฤติกรรมการดูแลตนเองของผู้ป่วยโรคเท้าช้างในระยะปรากฏอาการในตำบลสุไหงปาดี อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส ที่มุ่งศึกษาและทำความเข้าใจกับข้อมูลด้านการรับรู้ความเชื่อการให้ความหมายวิธีการดูแลรักษาผลกระทบจากโรคตลอดจนบริบททางสังคมและวัฒนธรรมของบุคคลหรือกลุ่มบุคคลที่ให้ข้อมูลในระหว่าง เดือนมีนาคม-สิงหาคม 2545 กลุ่มศึกษาประกอบด้วยผู้ป่วยที่ปรากฏอาการ จำนวน 13 คน ผู้นำชุมชน จำนวน 11 คน หมอพื้นบ้าน จำนวน 3 คน และเจ้าหน้าที่สถานีอนามัยจำนวน 2 คน เก็บข้อมูลโดยการสัมภาษณ์เชิงลึก การสนทนากลุ่มและการสังเกตร่วมกับการบันทึกภาคสนามและวิเคราะห์ข้อมูลเชิงเนื้อหา (content analysis) โดยดัดแปลงใช้รูปแบบโคไลซ์ซี (Colizzi Phenomenological) นิยามศัพท์ผู้ป่วยโรคเท้าช้างระยะปรากฏอาการ หมายถึง ผู้ป่วยระยะต่อม/ท่อน้ำเหลืองอักเสบและผู้ป่วยระยะอวัยวะบวมโต (ขาโต)

ผลการศึกษา

จากการสัมภาษณ์เชิงลึกผู้ป่วยโรคเท้าช้างระยะปรากฏอาการ 13 คน เป็นผู้ป่วยระยะต่อมน้ำเหลืองอักเสบ (Lymphoedema) จำนวน 9 คน และเป็นผู้ป่วยอวัยวะบวมโต (ขาโต) จำนวน 4 คน ทั้งหมด มีอายุระหว่าง 27-92 ปี ส่วนมากจบการศึกษาระดับประถมศึกษาผู้ป่วยเกือบทุกคนเริ่มมีอาการต่อม* น้ำเหลืองอักเสบตั้งแต่เป็นหนุ่มสาว (15-35 ปี) รวมระยะเวลาตั้งแต่เริ่มมีอาการจนถึงปัจจุบันคือ 1-60 ปี ส่วนใหญ่ล้วนมีประสบการณ์การใช้พืชสมุนไพรในการดูแลรักษาขณะมีอาการอักเสบของต่อมหรือท่อน้ำเหลือง นอกจากนี้ยังพบจำนวน 11 ใน 13 คน นี้มีเครือญาติที่ป่วยเป็นโรคเท้าช้างร่วมด้วย ปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการดูแลตนเองของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์เชื่อมโยงกับบริบท วิถีชีวิต ระบบนิเวศน์ และวิถีคิดความเข้าใจเกี่ยวกับโรคเท้าช้างของชุมชน ในตำบลนี้ มีดังนี้

1. ด้วยตำบลสุไหงปาดีมีพื้นที่ร้อยละ 71.14 เป็นพื้นที่สาธารณะและป่าพรุ (Swamp forest) ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีลักษณะเป็นที่ลุ่มต่ำน้ำแช่ขังตลอดปี บริเวณป่าพรุเป็นแหล่งน้ำ ยาสมุนไพร และที่ทำมาหากินที่ประชาชนทุกคนต่างได้รับผลประโยชน์ประชาชนจึงตั้งบ้านเรือนอยู่บริเวณป่าพรุ ความเป็นอยู่ของประชาชนจึงอยู่คู่กับพรุมาตลอด

2. อุบัติการณ์จริงของผู้ป่วยในพื้นที่ จากการใช้เทคนิคถามต่อ (snowball technique) ทำให้ผู้วิจัยพบผู้ป่วยระยะต่อมน้ำเหลืองอักเสบ 8 คน และผู้ป่วยตรวจพบเชื้อพยาธิในเลือด จำนวน 1 คน แต่ไม่มีรายชื่อในระเบียนการรักษาผู้ป่วยของเจ้าหน้าที่ไม่ครบถ้วนตรงกับปรากฏการณ์ที่เป็นจริง

3. วิธีคิดและการให้ความหมายของการเจ็บป่วยด้วยโรคเท้าช้าง จากการศึกษาพบว่าประชาชนให้ความสำคัญกับการทำงานได้มากกว่าสุขภาพที่เปลี่ยนแปลงหรือภาพลักษณ์ หรืออีกนัยหนึ่งคือประชาชนรับรู้ว่าเป็นโรคหรือเจ็บป่วยเมื่อเชื่อมโยงกับการทำงานว่าทำได้หรือไม่ในขณะที่โรคเท้าช้างที่ประชาชนรับรู้มีเพียงอาการแสดงของขาโตเท่านั้น หรืออาการเจ็บปวดเป็นบางครั้งในระยะต่อมน้ำเหลืองอักเสบ ซึ่งอาการดังกล่าวก็สามารถหายได้เองในเวลาต่อมาโดยไม่ต้องรักษาและในแต่ละปีจะมีอาการแสดง 1-2 ครั้งเท่านั้นที่สำคัญผู้ป่วยยังคงสามารถทำงานได้ตามปกติประกอบกับโรคนี้ไม่ทำให้ถึงตาย ชุมชนแห่งนี้จึงไม่ตระหนักและให้ความสำคัญต่อโรคเท้าช้าง

4. ภาษาถิ่นที่ใช้เรียกอาการของโรคเท้าช้างในตำบลสุไหงปาดี มีภาษาถิ่นที่เป็นคำเฉพาะที่ใช้สื่ออธิบายถึงอาการและอาการแสดงในผู้ป่วยระยะต่อมน้ำเหลืองอักเสบและอวัยวะบวมโต (ขาโต) ได้แก่

***ไข่ดัน ใช้เรียกอาการบวมบริเวณขาหนีบ**

*พั่นเอ็น ให้เรียกอาการแสดงที่เกิดหลังจากอาการบวมมีลักษณะเป็นเส้นลำแดงจากขาหนีบลงไปที่ขา/เท้า

*ไข้ชะมาร ใช้เรียกอาการไข้ ซึ่งจะสูงมากจนบางครั้งถึงกับเพ้อไม่รู้สึกตัว

*บวมหลังเต่า เป็นอาการบวมที่หลังเท้าซึ่งการบวมมีลักษณะคล้ายหลังเต่า

*แข้งทู่/แข้งโท่ ใช้เรียกอาการแข้งบวม หรือขาโต

5. ชาวบ้านคิดว่า “กรรมพันธุ์ การกินตะหวาก (น้ำตาลเมา) และการกินน้ำในป่าเย” เป็นสาเหตุของการเกิดอาการไข่ดันและพั่นเอ็นหรือโรคเท้าช้าง

6. ผลกระทบของโรคเท้าช้างที่ผู้ป่วยได้รับ มีทั้งด้านร่างกาย จิตใจ สังคม และเศรษฐกิจ กล่าวคือ ผู้ป่วยต้องทนทุกข์ทรมานจากความเจ็บปวด ความอับอายจากการถูกล้อเลียน การถูกสังคมรังเกียจเดียดฉันท์โดยเฉพาะในผู้ป่วยขาโตที่บาดแผลเรื้อรังหรือในรายมีรอยโรคปรากฏอย่างถาวร จะมีผลต่อภาพลักษณ์เป็นอย่างมาก และผู้ป่วยบางรายไม่สามารถไปทำงานได้ตามปกติ

7. วิธีการดูแลตนเองของผู้ป่วยเมื่อมีอาการของท่อน้ำเหลืองอักเสบหรือที่ชาวบ้านเรียกว่า “พั่นเอ็น” ซึ่งแม้ผู้ป่วยจะไม่คิดว่าเป็นอาการแสดงของโรคเท้าช้างก็ตาม แต่อาการพั่นเอ็นนี้เป็นสิ่งที่อยู่คู่กับชุมชนแห่งนี้มานาน ดังนั้นจึงได้เกิดการดูแลรักษาแบบพื้นบ้านตามความรู้ความเชื่อและประสบการณ์ที่ตกทอดกันมามีทั้งการใช้พืชสมุนไพร การนวด และการใช้ไสยศาสตร์เสกปูนลงคาถาจากการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยเกือบทุกรายที่มีอาการพั่นเอ็นจะมีการใช้พืชสมุนไพรในการดูแลรักษาบรรเทาอาการ สมุนไพรที่นิยมใช้มีใบพั่นเอ็น ใบพลู ใบมะละกอ ใบสาบเสือ และใบพังกาบ โดยนำมาผสมกันปูนขาวที่มีอยู่แล้วในทุกครัวเรือน (ใช้เคี้ยวหมาก) ขยี้จนเกิดฟองแล้วนำมาทาบริเวณตามแนวที่เป็นพั่นเอ็น ซึ่งผู้ป่วยบอกว่าทาแล้วจะรู้สึกเย็นและรัดตึงเมื่อปูนแห้งทำให้บรรเทาอาการปวดได้

อภิปรายผล

การศึกษานี้ สะท้อนให้เห็นปรากฏการณ์ของปัญหาที่เชื่อมโยงและโยงใยในหลายมิติทางสังคม วัฒนธรรม ความเป็นอยู่ วิถีชีวิต ระบบบริการสาธารณสุข ที่เป็นปัญหาของการควบคุมโรคเท้าช้างของจังหวัดนราธิวาส ซึ่งมีประเด็นสำคัญ 3 ประเด็นคือ

1. พื้นที่ส่วนใหญ่ของตำบลสุไหงปาดีเป็นพื้นที่สาธารณะและป่าพรุ จึงเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงเสือหรือยุงแมนโซเนีย (*MANSONIA*) ยุงพาหะหลักของเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างชนิด *Brugia malayi* ยุงเสือในแถบบริวณพรุมีความหนาแน่นสูงถึงสูงมากและพบได้ตลอดทั้งปี[4] แต่ด้วยความอุดมสมบูรณ์ของป่าพรุ ทำให้มีการเข้าไปตั้งรกรากถิ่นฐานของประชาชน อยู่โดยรอบหรือในเขตพรุ ซึ่งมียุงจำนวนมากจึงมีโอกาสที่ชาวบ้านจะถูกยุงกัดมากขึ้น ตามหลักระบาดวิทยาการเกิดและแพร่ระบาดโรคติดต่อแต่ละชนิดจะต้องมีตัวแปรสำคัญ 3 ประการ คือ ตัวเชื้อโรค (Agent) ตัวพาหะหรือคน (Host) และสิ่งแวดล้อม (Environment) ที่เอื้ออำนวยให้อยู่ในสภาพเหมาะสมก็จะเกิดและแพร่ระบาดโรคได้[5] ดังนั้นหากมีชาวบ้านในตำบลสุไหงปาดีมีเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างในเลือด ความเป็นไปได้ในการแพร่กระจายขึ้นสูงและทำให้โอกาสที่ชาวบ้านคนอื่นๆ จะได้รับเชื้อโรคสูงขึ้นด้วย จากผลการศึกษาของบัณฑิต ชุณหสวัสดิกุล และคณะ[6] พบว่า การเกิดและแพร่ระบาดของโรคเท้าช้างมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระยะห่างจากพื้นที่พรุ คือ ในใจกลางพรุที่ยุงแมนโซเนียชุกชุม พบว่า มีผู้ป่วยทั้งที่ปรากฏอาการและที่มีเชื้อพยาธิในเลือดมาก ระยะห่างออกไปมีผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มลดน้อยลง การศึกษานี้ดำเนินการในพื้นที่ 6 อำเภอ 24 ตำบล 163 หมู่บ้านที่อยู่รอบพรุโต๊ะแดง ได้แก่ อำเภอสุไหงปาดี ตากใบ สุไหงโกลก ระแงะ เมือง และแว้ง การศึกษาครอบคลุมประชากร 104,406 คน พบว่า ตำบลสุไหงปาดี มีความหนาแน่นของยุงแมนโซเนียสูงเป็นอันดับ 2 รองจาก ตำบลปูโย๊ะ อำเภอสุไหงโกลก แต่พบผู้ป่วยโรคเท้าช้างมากเป็นอันดับ 1 สอดคล้องกับข้อมูลการสำรวจเจาะเลือดตรวจหาเชื้อพยาธิฯ ของสำนักงานโครงการควบคุมโรคติดต่อและการสาธารณสุขพิกุลทอง พบว่า อัตราผู้มีเชื้อพยาธิ *B.malayi* ของประชากรในหลายหมู่บ้านของตำบลสุไหงปาดีสูง ซึ่งจัดอยู่ในระดับที่เป็นปัญหาสาธารณสุข และอัตราการแพร่เชื้อฯ ของยุงก็สูงเช่นเดียวกันทุกปี ด้วยเหตุนี้จึงเห็นได้ว่าสภาพการณ์การเกิดและระบาดของโรคเท้าช้างที่เกิดขึ้นตลอดมานับแต่อดีตจนถึงปัจจุบันในตำบลสุไหงปาดี ก็เนื่องมาจากมีปัจจัยครบทั้ง 3 ประการของการเกิดและแพร่ระบาดของโรคคือ การที่มีระบบนิเวศน์วิทยาหรือสิ่งแวดล้อมเป็นป่าพรุที่เป็นแหล่งเพาะพันธ์อันกว้างใหญ่ของยุงพาหะ ทำเลที่อยู่อาศัยของชาวบ้านที่ตั้งอยู่โดยรอบและในป่าพรุ วิถีชีวิตของชุมชน เช่น ประชาชนส่วนใหญ่มีอาชีพกรีดยางที่ต้องทำงานในช่วงเวลากลางคืน หรือการประกอบอาชีพที่ต้องเข้าไปในเขตพรุทำให้ถูกยุงกัดได้ตลอดเวลา

2. ข้อมูลผู้ป่วยโรคเท้าช้างระยะปรากฏอาการของเจ้าหน้าที่ที่รับผิดชอบไม่เป็นปัจจุบัน การพบผู้ป่วยปรากฏอาการระยะต่อมน้ำเหลืองอักเสบ (L) รายใหม่จำนวน 8 ราย และผู้ป่วยระยะไม่ปรากฏแต่ตรวจพบเชื้อพยาธิฯ ในเลือด (M) จำนวน 1 ราย ไม่มีรายชื่อในระเบียนการรักษาทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการได้ข้อมูลจำนวนผู้ป่วยของเจ้าหน้าที่เป็นแบบตั้งรับเฉพาะผู้ป่วยที่เดินเข้ามาหาที่สถานบริการสาธารณสุขขณะที่มีอาการแสดงหรือไม่ก็เพียงใช้ผลจากการเจาะเลือดตรวจหาเชื้อพยาธิฯ เท่านั้น มิได้มีการซักประวัติเกี่ยวกับภูมิสำเนาสภาพแวดล้อมที่อยู่อาศัย สถานที่ประกอบอาชีพหรือประวัติการเกิดต่อมและท่อน้ำอักเสบเป็นๆ หายๆ โดยไม่ต้องรักษา และเป็นซ้ำที่เดิม ซึ่งจากการเฝ้าระวังของกองโรคเท้าช้างพบว่า ผู้ป่วยระยะปรากฏอาการจะตรวจพบว่ามีเชื้อพยาธิฯ หรือไมโครฟิลาเรีย (microfilaria) ในเลือดเพียงร้อยละ 4-6 เท่านั้น[7] อีกประการหนึ่งคือ การรับรู้ต่อการป่วยเป็นโรค

เท้าช้างของประชาชนแตกต่างกับเจ้าหน้าที่ ด้วยเหตุผลที่ประชาชนไม่ทราบการดำเนินของโรค จึงให้ความหมายของผู้ป่วยโรคเท้าช้าง หมายถึง เฉพาะผู้ที่มีอาการขาโตแล้วเท่านั้น ไม่ทราบว่าผู้ที่มีอาการไข่ดัน พั่นเอ็น ซึ่งเป็นภาษาท้องถิ่นที่ชาวบ้านเรียกนั้นเป็นลักษณะอาการแสดงของผู้ป่วยระยะต่อม/ท่อน้ำเหลืองอักเสบตามที่เจ้าสาธารณสุขให้ความหมายไว้

3. ในตำบลแห่งนี้ไม่มีใครที่ไม่เคยเห็นหรือ ไม่เคยได้ยินเกี่ยวกับผู้ป่วยโรคเท้าช้างแม้จะอยู่นัยความหมายของคำว่า “ไข่ดัน” “พั่นเอ็น” หรือแข้งโท่ตามภาษาท้องถิ่นของชาวบ้านก็ตาม แต่ด้วยขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับโรคเท้าช้างที่ถูกต้อง ชาวบ้านจึงมีความคิดการรับรู้ในมุมมองของชาวบ้านเองแล้วถ่ายทอดบอกเล่าต่อๆกันจากรุ่นพ่อถึงรุ่นลูกจากบ้านหนึ่งไปอีกบ้านหนึ่ง ซึ่งเมื่อศึกษาวิเคราะห์ถึงที่มาของความคิดความเชื่อเหล่านั้นก็พบว่ามีเหตุผลรองรับกล่าวคือ

3.1 เกี่ยวกับสาเหตุ การที่ชาวบ้านคิดว่ากรรมพันธุ์ การกินตะหวาก หรือการกินน้ำในป่าเยเป็นสาเหตุของการเกิดอาการไข่ดันและพั่นเอ็น หรือโรคเท้าช้าง ทั้งนี้เพราะผู้ป่วยหลายรายต่างรับรู้ว่าตนเองมีเครือญาติพี่น้องที่ป่วยเป็นโรคเท้าช้าง เช่นเดียวกัน (จากการสัมภาษณ์พบว่าผู้ป่วย 11 ใน 13 รายมีญาติพี่น้องป่วยเป็นโรคเท้าช้างร่วมด้วย) ด้วยเหตุนี้จึงไม่น่าแปลกใจเลยที่ผู้ป่วยและคนอื่นๆ ในชุมชนจะรับรู้ว่า “โรคเท้าช้างเป็นกรรมพันธุ์” เพราะเขาเหล่านั้นไม่มีพื้นฐานความรู้เรื่องโรคสำหรับการกินตะหวาก ซึ่งเป็นน้ำตาลเมาชนิดหนึ่งนั้น เนื่องจากตะหวากเป็นที่รู้จักกันมานานหลายชั่วอายุคน ชาวบ้านมักชอบนั่งดื่มตะหวากตามแนวป่าพรุ เพราะอากาศเย็นสบายและหลบเจ้าหน้าที่ตำรวจได้ด้วยเพราะการกินตะหวากเป็นสิ่งผิดกฎหมาย วัฒนธรรมการกิน ตะหวากเป็นส่วนหนึ่งของวิถีชีวิต โดยเฉพาะผู้ชายที่ชอบมานั่งคุยเรื่องสัพเพเหระ ปรึกษาหารือการทำงานพูดคุยเรื่องราวต่างๆที่เกิดขึ้นในชุนชนตะหวากเป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกฮอล์เมื่อดื่มไประยะหนึ่งก็จะร้อน จึงถอดเสื้อเพื่อความสบายบางรายอาจจะเมาและนอนหลับอยู่ในบริเวณที่ดื่มตะหวากใกล้ป่าพรุนั้นเอง ทำให้คนที่กินตะหวากมีโอกาสสูงในการถูกยุงกัดและรับเชื้อพยาธิฯ ด้วยเหตุนี้ชาวบ้านบางคนจึงคิดว่า “สาเหตุที่เป็นโรคเท้าช้างเพราะกินน้ำตะหวาก” เหตุผลก็เชื่อมโยงกับพฤติกรรมดังกล่าว เช่นเดียวกับผู้ป่วยบางรายที่คิดว่าเกิดจากการกินน้ำในป่าเย เพราะป่าเยเป็นชื่อเรียกป่าพรุแห่งหนึ่งตั้งอยู่ที่หมู่ 10 ในตำบลนี้

”กินตะหวากเย็นๆ ค่ำๆ ..ยุงกัด เพราะเป็นเวลาที่ยุงออกพอดี แล้วเวลากินตะหวากยุงก็ขบ (กัด) เป็นพิเศษแหละ..” (สนทนาเล่มผู้นำชุมชน) ด้วยการรับรู้และความเข้าใจที่ไม่ถูกต้องเกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดโรคเท้าช้าง จึงส่งผลให้ผู้ป่วยดูแลรักษาตนเองตามความเข้าใจหรือการรับรู้ของตนเอง ผู้ที่มีเชื้อพยาธิฯ ในเลือดไม่รับประทานยาฆ่าเชื้อครบขนาด ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อพยาธิฯ จากคนหนึ่งไปสู่อีกคนหนึ่งไปอย่างต่อเนื่อง ส่วนชาวบ้านเองก็ไม่ระวังป้องกันการติดต่อของโรค การระบาดของโรคจึงยังคงมีอยู่ในพื้นที่นี้

3.2 เกี่ยวกับอาการ จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยและชาวบ้านส่วนใหญ่ สามารถบอกเล่าอาการแสดงได้อย่างชัดเจน เช่น อาการไข่ดัน พั่นเอ็น หรือไข้ชะมาร ฯลฯ แต่ไม่ได้รับรู้เลยว่าอาการเหล่านี้เป็นอาการแสดงของโรคเท้าช้าง ดังที่ได้กล่าวแล้วว่าโรคเท้าช้างในความคิดของชาวบ้านหมายถึงโรคที่ทำให้มีเพียงอาการขาโตเท่านั้น ไม่เคยทราบว่าก่อนที่ผู้มีเชื้อพยาธิฯ ในเลือดจะแสดงอาการขาโต นั้นต้องใช้เวลานานนับสิบปี การดำเนินของโรคจะเริ่มตั้งแต่ไม่แสดงอาการ แต่เจาะเลือดพบพยาธิตัวอ่อนต่อมามีอาการต่อมน้ำเหลืองอักเสบโดยต่อมน้ำเหลืองจะบวมโตขึ้น ผิวหนังบริเวณนั้นจะนูนแดง กดเจ็บถ้ามีอาการท่อน้ำเหลืองอักเสบจะพบเป็นเส้นแดงๆ กดเจ็บในบริเวณใกล้เคียงและบริเวณขาด้านในไปสู่ส่วนเข่าและเท้า ในบางรายขาจะบวมแดง และจะมีไข้บางรายถึง

เพ้อคลั่ง คลื่นไส้ อาเจียนร่วมด้วยอาการเช่นนี้จะเป็นอยู่ประมาณ 6-10 วันก็ทุเลาและหายไปเอง แต่อาการเช่นนี้จะเป็นซ้ำๆ ได้อีก[8] การดำเนินของโรคจะใช้เวลานานเป็นปีนับตั้งแต่เริ่มมีอาการกำเริบ กว่าที่ไข่ดันจะเป็นพั่นเอ็น กว่าที่พั่นเอ็นจะกลายเป็นแข้งโท่ ด้วยระยะเวลายาวนานกว่าจะปรากฏอาการแสดงของโรค ทำให้ผู้ป่วยไม่คิดว่าอาการต่างๆ เหล่านี้จะเชื่อมโยงกัน ไม่คิดว่าอาการแข้งโท่จะมีอาการพั่นเอ็นนำมาก่อนหรือจะเป็นผลพวงของพั่นเอ็น อาการแต่ละอาการเป็นเรื่องเฉพาะ จึงเกิดความเข้าใจและให้เหตุผลกันเองโดยไม่ได้คิดว่าอาการและอาการแสดงที่เกิดขึ้นเหล่านี้เป็นอาการของโรคเท้าช้าง อย่างไรก็ตามอาการแสดงดังกล่าวนั้นได้สอดคล้องกับลักษณะทางคลินิกและพยาธิสภาพของผู้ป่วยโรคเท้าช้างกล่าวคือ หลังจากได้รับเชื้อมาประมาณ 3 -12 เดือนจะมีผลทำให้เกิดการอักเสบของท่อทางเดินน้ำเหลืองเป็นครั้งคราว เป็นผลทำให้มี fibrous tissue มากขึ้น ท่อน้ำเหลืองจะหนาและแคบเข้า สุดท้ายจะอุดตันโดยสมบูรณ์จากผลของท่อน้ำเหลืองอุดตัน ทำให้น้ำเหลืองไม่สามารถไหลผ่านกลับไปได้ ทำให้ท่อน้ำเหลืองส่วนต่ำจากที่อุดตันพองและลิ้นของท่อน้ำเหลืองไม่สามารถปิดกั้นน้ำเหลืองได้ น้ำเหลืองจะคั่งมากขึ้นจากผลของการอุดตันของท่อน้ำเหลืองร่วมกับการอักเสบทำให้ท่อน้ำเหลืองค่อยๆ ถูกทำลายจากการอับเสบในแต่ละครั้ง มีผลทำให้ผิวหนังบริเวณนั้นค่อยๆ แข็งและหนาขึ้น ซึ่งเป็นอาการภาวะเท้าช้าง (elephantiasis) ในเวลาต่อมา[9] ดังนั้นหากวิเคราะห์อาการที่ชาวบ้านบัญญัติคำขึ้นเรียกตามภาษาท้องถิ่นนั้นสามารถเทียบเคียงกับลักษณะทางคลินิคและพยาธิสภาพทางวิชาการได้ดังนี้

อาการไข่ดัน เป็นอาการแสดงของต่อมน้ำเหลืองที่บริเวณขาหนีบเกิดการอักเสบ (lymphoedema) ซึ่งจะมีลักษณะปวดบวมแดง ร้อน บางครั้งถึงกับเป็นฝีและอาจแตกเป็นแผลที่ผิวหนังได้

อาการพั่นเอ็น เป็นลักษณะอาการแสดงของท่อน้ำเหลืองเกิดการอักเสบ จะมีลักษณะแดงร้อนเป็นแนวยาวจากตำแหน่งของต่อมน้ำเหลืองซึ่งพบบ่อยที่บริเวณขาหนีบลงมาตามท่อน้ำเหลืองสู่อวัยวะส่วนปลาย ได้แก่ ขา และเท้า ในทางวิชาการอาการแสดงนั้นเป็นอาการสำคัญของการเกิดอาการทางคลีนิคโรคเท้าช้าง [7,8,10]

ไข้ชะมาร หรือไข้โรคเท้าช้าง (Filarial fever)เป็นอาการที่พบบ่อยในผู้ป่วยโรคเท้าช้างลักษณะอาการไข้จะเกิดร่วมกับท่อและต่อมน้ำเหลืองเกิดการอักเสบ อาการไข้จะเป็นอยู่ประมาณ 3-7 วัน อาการไข้จากต่อมน้ำเหลืองอักเสบในผู้ป่วยโรคเท้าช้างที่เกิดจากเชื้อชนิด *B. malayi* จะรุนแรงกว่าเชื้อชนิด *W. bancrofti* [11]

บวมหลังเต่า เป็นลักษณะอาการบวมที่บริเวณหลังเท้าที่เกิดจากการคั่งของน้ำเหลืองที่ไม่สามารถไหลกลับได้ อันเป็นผลพวงที่เกิดขึ้นหลังจากมีการอักเสบของต่อมและท่อน้ำเหลือง

แข้งทู่/แข้งโท่ เป็นอาการแสดงของภาวะเท้าช้าง (elephantiastis) จากภาษาที่ใช้เรียกอาการแสดงแตกต่างกันระหว่างชาวบ้านกับเจ้าหน้าที่สาธารณสุข อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การสื่อสารให้ความรู้เรื่องโรคเท้าช้างและการวินิจฉัยของเจ้าหน้าที่ผิดพลาดได้นอกจากนี้การที่ผู้ป่วยรับรู้แต่เพียงว่าผู้ป่วยโรค เท้าช้างหมายความเฉพาะผู้ที่มีอาการขาโตเท่านั้น

ส่งผลให้ผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อพยาธิฯ ในเลือด (M) ซึ่งพบว่ามีจำนวนมากถึงร้อยละ 70-80 ของผู้ป่วยโรคเท้าช้างทั้งหมด และผู้ป่วยระยะต่อมน้ำเหลืองอักเสบ (L) ไม่ได้รับการรักษาที่หน่วยงานสาธารณสุข ทำให้ผู้ป่วยต้องทนทุกข์ทรมานต่อความเจ็บปวด และการดำเนินของโรคก็ดำเนินต่อไปเรื่อยๆ จนในที่สุดเกิดเป็นภาวะเท้าช้างที่ยากต่อการรักษาให้หายขาด นอกจากนี้ผู้ป่วยดังกล่าวยังเป็นแหล่งแพร่เชื้อเคลื่อนที่ที่สำคัญที่สามารถติดต่อไปยังคนอื่นๆ อีกต่อไปโดยไม่รู้ตัวทำให้การควบคุมโรคเท้าช้างเป็นไปได้ยากที่จะประสบความสำเร็จ

3.3 สำหรับการรักษา นั้นแม้อาการไข่ดันจะเป็นอาการเริ่มแรก ที่ผู้ป่วยรับรู้ได้ถึงความผิดปกติ แต่การที่ชาวบ้านคิดว่าเป็นเรื่องปกติที่ใครๆ ในหมู่บ้านก็เป็นกันประกอบกับมีอาการอยู่ระยะหนึ่งแล้วก็หายได้เอง ผู้ป่วยจึงไม่ได้ใส่ใจดูแลรักษา “ตอนแรกคิดว่าเป็นไข่ดันธรรมดา คนแก่ๆ เขาก็เป็นกัน... ไข่ดันคนแก่ๆ เขาก็เป็นกันโดยปกติอยู่แล้ว” “ถ้าเป็นไข่ดัน มันจะเป็นธรรมดา” จากการศึกษาที่พบว่าผู้ป่วยเกือบทุกรายที่มีอาการพั่นเอ็นจะการนำเอาพืชสมุนไพรมาผสมกับปูนขาวเพื่อใช้ในการดูแลรักษาบรรเทาอาการปวดนั้น โดยผู้ป่วยบอกว่าทาแล้วจะรู้สึกเย็นและรัดตึงเมื่อปูนแห้งทำให้บรรเทาอาการปวดได้ “ที่มันบวมกันก็ค่อยๆ เหี่ยวลงไปรู้ใจกันเสียแล้วใช้.... แต่ไม่หายพอบรรเทา เพราะมันเย็น” (สนทนากลุ่มผู้ป่วย) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าผู้ป่วยใช้พืชสมุนไพรผสมกับปูนขาวเพื่อรักษาอาการปวดบวมแดงร้อนที่เกิดจากการอักเสบของท่อน้ำเหลืองซึ่งลักษณะอาการที่เกิดขึ้นในระยะการอักเสบนี้จะเป็นอยู่ประมาณ 3-7 วันแล้วจะทุเลาหายไปได้เองอยู่แล้วทางคลีนิคของโรค ด้วยเหตุนี้จึงอาจทำให้ผู้ป่วยเข้าใจว่าการใช้พืชสมุนไพรกับปูนขาวนั้นสามารถรักษาอาการ “พั่นเอ็น” ได้ ประกอบกับการใช้พืชสมุนไพรกับปูนขาวมีลักษณะเด่น คือ เรียบง่ายไม่ยุ่งยากซับซ้อนหาได้ทั่วๆ ไป ไม่เสียค่าใช้จ่ายสูงทำเองได้และรู้สึกเย็นสบาย จึงเป็นที่นิยมและบอกกล่าวถึงสรรพคุณต่อๆ กันมาจนถึงปัจจุบันและจากการสัมภาษณ์พบว่าผู้ป่วยที่สูงอายุ หรือเป็นคนรุ่นก่อนที่ระบบการสาธารณสุขจะเข้าถึงไม่ได้ไปรับบริการจากสถานบริการสาธารณสุข เพราะสมัยนั้นสถานบริการส่วนใหญ่ตั้งอยู่ในตัวเมือง “หมออยู่โรงพยาบาล ชาวบ้านอยู่ป่า” “เป็นตอนหนุ่มไม่มีหมอโรงพยาบาลก็ไม่มี...จะไปหาที่ไหนมันไกล” ด้วยเหตุนี้สมัยนั้นจึงทำให้ผู้ป่วยและคนรอบข้าง หรือหมอพื้นบ้านพยายามเสาะแสวงหาการรักษาด้วยการลองผิดลองถูก จนเกิดเป็นภูมิปัญญาชาวบ้าน ในการบรรเทาอาการปวดของพั่นเอ็นขึ้น แต่จากการดูแลรักษาตนเองแบบชาวบ้านนี้ก็เพียงเพื่อบรรเทาอาการปวดเท่านั้นมิใช่เป็นการรักษาที่ถูกต้อง

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาครั้งนี้ ชี้ให้เห็นถึงประเด็นสำคัญของปัญหาในการควบคุมโรคเท้าช้างในจังหวัดนราธิวาส 3 ประเด็น คือ การรับรู้ การให้ความหมายและความตระหนักต่อโรคเท้าช้างของประชาชนที่แตกต่างจากเจ้าหน้าที่สาธารณสุขระบบนิเวศน์ และวิถีชีวิตที่เอื้อต่อการเกิดและแพร่ระบาดของโรคเท้าช้างและอุบัติการณ์ผู้ป่วยในปรากฏการณ์จริงสูงกว่าจำนวนผู้ป่วยในระเบียนการรักษาของเจ้าหน้าที่ ดังนั้นผู้วิจัยจึงขอนำเสนอแนวทางการควบคุมโรคเท้าช้างที่ควรปฏิบัติในจังหวัดนราธิวาส ดังนี้

1. การวางแผนปฏิบัติงานควบคุมโรคเท้าช้างที่เหมาะสมและมีคุณภาพนั้นต้องคำนึงถึงวิถีชีวิต และบริบทของประชาชนในแต่ละพื้นที่อย่างเป็นองค์รวม (holistic)

2. ใช้มาตรการเชิงรุกโดยตั้งหน่วยแพทย์เคลื่อนที่เข้าไปค้นหาผู้ป่วยโรคเท้าช้างทั้ง 3 กลุ่ม คือ ทั้งผู้ป่วยไม่ปรากฏอาการแต่ตรวจพบเชื้อพยาธิในเลือด ผู้ป่วยระยะต่อมน้ำเหลืองอักเสบและผู้ป่วยอวัยวะบวมโตที่ปรากฏอาการให้ครอบคลุมทุกพื้นที่เสี่ยงเพื่อทราบอุบัติการณ์ผู้ป่วยที่แท้จริงและให้การรักษาแต่เนิ่นๆ ไม่ให้ผู้ป่วยต้องทนทุกข์ทรมานหรือพิการต่อไป

3. สื่อสุขศึกษา/ประชาสัมพันธ์ที่ดี คือ สื่อ บุคคล แต่ทั้งนี้บุคคลนั้นจะต้องมีความรู้ความเข้าใจเรื่องโรคเท้าช้างแล้วนำมาปรับใช้ให้เหมาะสมกับบริบทของแต่ละพื้นที่ เช่น การใช้ภาษาถิ่น

4. เน้นการให้ชุมชนเข้ามามีส่วนร่วมในการดำเนินงานควบคุมโรคเท้าช้างโดยจัดสนทนากลุ่ม ผู้นำชุมชน

ซึ่งอาจจะเป็นกำนัน ผู้ใหญ่บ้าน พระ ครู ประธานกลุ่มต่างๆ ฯลฯ เข้ามารับทราบปัญหา และวางแผนการปฏิบัติงานที่เป็นรูปธรรมร่วมกันกับเจ้าหน้าที่สาธารณสุข

5. การใช้พืชสมุนไพรเป็นภูมิปัญญาชาวบ้าน วิธีหนึ่งที่ผู้ป่วยและชาวบ้านทราบกันว่าเป็นวิธีการที่สามารถรักษาและบรรเทาอาการของโรคได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาสรรพคุณของพืชสมุนไพรดังกล่าว ทั้งนี้อาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่ทีมสุขภาพสามารถใช้เป็นวิธีรักษาได้

6. หมอพื้นบ้านและผู้อาวุโสในหมู่บ้านเป็นผู้มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในการค้นหาผู้ป่วย และสามารถให้คำแนะนำเรื่องการดูแล จึงควรมีการจัดประชุม/อบรม แลกเปลี่ยนความคิดเห็นระหว่างเจ้าหน้าที่กับบุคคลเหล่านี้ให้มีความรู้เรื่องการดูแลรักษาผู้ป่วยอย่างถูกวิธี

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Lymphatic filariasis.Weekly epidemiological record 2001; 20 (76): 149 -156.
2. กรมควบคุมโรคติดต่อ, กระทรวงสาธารณสุข.โครงการกำจัดโรคเท้าช้าง. กรุงเทพฯ: อามีโก้สตูดิโอ; 2543.
3. วีณา สันตะบุตร และศันสนีย์ โรจนพนัส.ปัจจัยที่มีผลต่อการรักษาผู้ป่วยโรคเท้าช้างที่พบเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างในโลหิตด้วยยา Diethylcarbamazine Citrate ที่จังหวัดนราธิวาส. วารสารโรคติดต่อ 2543; 25 (3): 288-294.
4. กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ. พรุกับการแพร่กระจาย. วารสารโรคเท้าช้าง 2540;6(4):3.
5. กองระบาดวิทยา, กระทวงสาธารณสุข. คู่มือการดำเนินงานระบาดวิทยา.กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การรับส่งสินค้าและพัสดุภัณฑ์; 2542.
6. บัณฑิต ชุณหสวัสดิสกุล, จิระพัฒน์ เกตุแก้ว และคณะ. พื้นที่พรุกับการเกิดและแพร่ระบาดโรคฟิลาเรีย. วารสารโรคติดต่อ 2532; 15: 23-37.
7. สราวุธ สุวัณณทัพพะ, ศรีวิชา ครุฑสูตร และคณะ. โรคเท้าช้าง. ใน สยมพร ศิรินาวิน และศุภมิตร ชุณห์สุทธิวัฒน์, บรรณาธิการ. แนวทางเวชปฏิบัติโรคติดเชื้อ เล่มที่ 1. กรุงเทพฯ: โหลทองมาสเตอร์พรินท์; 2544.
8. ชูวีวรรณ จิระอมรนิมิต และแสงจันทรา เรือนทองดี. การดูแลอาการบวมโตของขาที่เกิดจากโรคเท้าช้าง. กรุงเทพฯ: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2546.
9. พิสัย กรัยวิเชียร. พยาธิวิทยาและอาการทางคลีนิคใน สุภัทร สุจริต, บรรณาธิการ. โรคเท้าช้างฟิลาริเอซิสในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กรุงสยามการพิมพ์; 2531.
10. J.W. Mak. Filariasis: clinical features. Bulletin of Medical Research 1983; 19: 51–63.
11. สุวิช ธรรมปาโล. Filarial Fever. สารโรคเท้าช้าง 2538; 2: 3.

Comparative Study of the Effectiveness of the PCR-based Assay and the Dissection Technique in Detecting Filarial Worms in Wild-caught Mosquitoes

Kobkan Kanjanopas[1], Suwich Thammapalo[1], Sumas Loymak[2]

[1]Vector-Borne Disease office, Disease Control Department, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000, Thailand

[2]Filariasis Project Pikulthong Development Center, Tambon Pikulthong, Amphoe Muang, Narathiwat 96000, Thailand

Abstract

A PCR- based assay was developed in the laboratory by using DNAzol reagent to extract *Brugia malayi* and *Wuchereria bancrofti* DNA, and the primers *Hha*I and *Ssp*I for their specific amplifications respectively, which was also applied to detect a single L3 larva in pools of 10, 20, 40, 60, 75 and 100 uninfected mosquitoes. The satisfied PCR was compared with the standard dissection technique in a field situation, with mosquitoes collected from Narathiwat, Tak and Ranong provinces every month from December 2000 to August 2001. The study showed that the PCR assay could detect a single L3 in the largest pool of up to 100 uninfected mosquitoes. The precision rates of detecting one L3 in 20 and 100 uninfected mosquitoes were 96.3 and 85.7% respectively. The accuracy and the specificity between *B. malayi* and *B. pahangi* were 100% The PCR assay was also 2 times more effective in detecting filarial worms in wild-caught mosquitoes than the dissection technique. Only the data for negative or positive wild-caught mosquitoes infected with *B. malayi* or *W. bancrofti* are enough to assess the efficiency of mass drug treatment in transmission areas. Therefore, the policy on entomological surveillance of the Lymphatic Filariasis Elimination Programme in Thailand (2001-2006), by the Vector-Borne Disease Offiece, Disease Control Department, is to use the PCR techinque to detect filarial worms in mosquitoes collected from index areas and to confirm the species of parasites by the dissection technique.

Keywords: PCR, dissection technique, *B. malayi*, *W. bancrofti.* mosquitoes, Lymphatic Filariastis Elimination Programme in Thailand

การศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจด้วยเทคนิค PCR เปรียบเทียบกับวิธีการผ่ายุงในการตรวจหาพยาธิฟิลาเรียในยุงที่จับได้จากภาคสนาม

กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ[1], สุวิช ธรรมปาโล[1], สุมาศ ลอยเมฆ[2]

[1]สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี 11000

[2]ศูนย์พัฒนาการศึกษาพิกุลทอง จังหวัดนราธิวาส 96000

บทนำ

โรคเท้าช้างในระบบทางเดินน้ำเหลืองเป็นโรคติดต่อนำโดยยุงที่พบได้ใน 112 ประเทศ ส่วนใหญ่พบในประเทศเขตร้อนและร้อนชื้น (73 ประเทศ) ซึ่งประมาณการประชากรเสี่ยงต่อโรคนี้ 12 ล้านคน [1] สำหรับโรคเท้าช้างในประเทศไทยมีสาเหตุจากพยาธิสายพันธุ์ชนบท (rural type) 2 ชนิดคือ *Brugia malayi* และ *Wuchereria bancrofti* ชนิดแรกมีแหล่งแพร่เชื้อในบางพื้นที่ของ 4 จังหวัดทางภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดนราธิวาส สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และกระบี่ โดยเชื้อพยาธิชนิดนี้มีแมวเป็นรังโรค [2-3] เช่นเดียวกับประเทศมาเลเซีย [4] ชนิดหลังมีแหล่งแพร่เชื้อในพื้นที่ 6 จังหวัดบริเวณชายแดนติดกับประเทศพม่า ได้แก่ จังหวัดแม่ฮ่องสอน ตาก ลำพูน กาญจนบุรี ระนอง และราชบุรี ประชากรเสี่ยงต่อการติดเชื้อ *B. malayi* ประมาณ 3.5 ล้านคน และ *W. bancrofti* ประมาณ 2.9 ล้านคน ประเทศไทย ภายใต้การดำเนินงานของสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขมีโครงการกำจัดโรคเท้าช้างตามคำประกาศเชิญชวนขององค์การอนามัยโลก โดยทำ mass treatment ด้วยยา DEC + Albendazole แก่ประชากรในแหล่งแพร่โรคแบบ annual single dose ทุกปีอย่างต่อเนื่องจนครบ 5 ปี [5-6] ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545-2549 (ค.ศ. 2002-2006) มีการประเมินผลการควบคุมโรคด้วยยาดังกล่าวทุกปี นอกจากการใช้ข้อมูลการสุ่มสำรวจเจาะโลหิตประชากรแล้ว ข้อมูลการสำรวจทางกีฏวิทยามีความสำคัญต่อการวางแผน (monitoring transmission) ระหว่างดำเนินโครงการด้วย [7]

การผ่ายุงหาตัวอ่อนพยาธิภายใต้กล้องจุลทรรศน์เป็นเทคนิคมาตรฐานในการปฏิบัติงานเพื่อใช้ยืนยันการเป็นแหล่งแพร่เชื้อและประเมินผลการควบคุมโรคจนถึงปัจจุบัน แต่เทคนิคนี้มีข้อจำกัดด้านการใช้ลักษณะรูปร่างอวัยวะภายนอก (morphology) เพื่อบ่งชี้พยาธิระยะ L3 ว่าเป็น *B. malayi* หรือ *B. pahangi* รวมทั้งไม่สามารถจำแนกชนิดพยาธิระยะ L1 L2 ได้ [8] อีกทั้งเสียเวลาและจำนวนผู้ปฏิบัติงานค่อนข้างมาก ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Polymerase Chain Reaction-PCR) เป็นการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมจนสามารถติดตาม และตรวจสอบได้ง่าย เทคนิคนี้มีการพัฒนามาใช้ตรวจหา microfilaria ในกระแสโลหิต [9-12] และในเสมหะ [13] หรือระยะ L3 ของเชื้อ *W. bancrofti* และ *B. malayi* ในยุงจำนวนตั้งแต่ 10 ตัวจนถึง 100 ตัวได้ทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม [14-16] นับเป็นเทคนิคที่มีความไวและจำเพาะต่อเชื้อพยาธิแต่ละชนิดค่อนข้างสูง [17-18] องค์การอนามัยโลกให้ความเห็นว่า ประเทศที่มีโครงการกำจัดโรคเท้าช้างควรพัฒนาเทคนิค PCR สำหรับใช้ประเมินผลการควบคุมโรคระหว่างดำเนินการควบคุมโรคของโครงการ [19]

สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค จึงพัฒนาเทคนิค PCR ทางห้องปฏิบัติการขึ้น พร้อมกับนำไปศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อพยาธิฟิลาเรียในยุงกับเทคนิคการผ่าภาคสนาม เพื่อพิจารณาประยุกต์เทคนิค PCR สำหรับใช้ในการสำรวจทางกีฏวิทยาอย่างเหมาะสมต่อไป งานศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแสดงขั้นตอนการพัฒนาเทคนิค PCR และหาค่าร้อยละของจำนวนชนิดยุงที่จับจากภาคสนามที่มีเชื้อพยาธิฟิลาเรียโดย 2 วิธีการ ดังกล่าวข้างต้น

วิธีศึกษา

1. พื้นที่ศึกษา

พื้นที่ศึกษาของเชื้อพยาธิ *B. malayi* ได้แก่ หมู่ 5 ต.ปูโย๊ะ อ.สุไหงโกลก จ.นราธิวาส เนื่องจากเป็นพื้นที่เสี่ยงสูง (high risk area) ที่มีความพร้อมทางองค์ประกอบของการแพร่กระจายโรคหลายประการ จากรายงานของศูนย์ข้อมูลโรคเท้าช้าง สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลงปี 2543 พบอัตราผู้มีเชื้อ *B. malayi* (Microfilarial Positive Rate - MPR) 1.62% ประชากรส่วนใหญ่ตั้งบ้านเรือนอยู่ชิดติดกับป่าพรุโต๊ะแดงที่เป็นแหล่งเพาะพันธุ์สำคัญ (swamp forest) ของยุงพาหะ *Mansonia bonneae, Ma. dives, Ma. uniformis* (พาหะหลัก) *Ma. annulata, Ma. annulifera, Ma. indiana, Cp. quilletidia crassipes* และ *Cq. nigrosignata* (พาหะรอง) [20-21] รวมทั้งนิยมเลี้ยงแมวไว้ในบ้านด้วย

สำหรับโรคเท้าช้างชนิด *W. bancrofti* ในประเทศไทยส่วนใหญ่พบตามพื้นที่เขตชนบท (rural type) โดยมียุงลายป่าสกุล Aedes เป็นพาหะ ซึ่งได้แก่ *Ae. niveus* subgroup (พาหะหลัง) [22-23] *Ae. desmotes, Ae. annandalei* และ *Ae. imitator* (พาหะรอง) [24] ยุงเหล่านี้มีแหล่งเพาะพันธุ์เป็นภาชนะในป่าที่กักขังน้ำฝนได้ เช่น ตอไผ่ โพรงไม้ ซอกตามกิ่งก้านต้นไม้ [22] แต่ในปัจจุบันมีแรงงานพม่าจำนวนมากเข้ามาอยู่อาศัยในพื้นที่เขตเทศบาลแม่สอด จ.ตาก และเทศบาลเมือง จ.ระนอง ซึ่งการสุ่มสำรวจเจาะโลหิตด้วยเทคนิคทำฟิล์มโลหิตหนา พบ MPR ของเชื้อ *W. bancrofti* ชนิด urban type สูงถึง 2-5% [25-26] เชื้อพยาธิชนิดนี้มียุง *Culex quinquefasciatus* เป็นพาหะ ซึ่งพบในหลายประเทศแถบร้อนชื้นรวมทั้งแปซิฟิคตะวันตก [27] แหล่งเพาะพันธุ์เป็นแหล่งน้ำขังสกปรกตามเขตเมือง สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลงมีนโยบายให้ single dose DEC แก่แรงงานชาวพม่าทุกราย ทุก 6 เดือน จึงคิดเลือกพื้นที่ทั้ง 2 แห่ง เป็นพื้นที่ศึกษา เพื่อประเมินผลการเฝ้าระวังโรคเท้าช้างด้วย

2. การเก็บตัวอย่างและยุงที่ศึกษา

ยุงจับจากภาคสนามโดยใช้กับดักคนเป็นเหยื่อล่อ มุ้งครอบวัว และมุ้งครอบแมว กรณีที่ใช้คนเป็นเหยื่อล่อจะให้ประชาชนในหมู่บ้านจำนวน 10 คนจับยุงจากบ้านตนเองโดยใช้เครื่องช็อตยุง (รูปที่ 1) ซึ่งมีถ่านไฟฉายเป็นแหล่งผลิตกระแสไฟโดยจะเริ่มจับตั้งแต่ เวลา 18.00-22.00 น. ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ยุง *Mansonia* มีความหนาแน่นสูง จับยุงทุกเดือน เดือนละ 5 วัน เจ้าหน้าที่สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข จ.นราธิวาส ทำการจำแนกชนิดยุง และแบ่งยุงแต่ละชนิดเป็น 2 ส่วนจำนวนใกล้เคียงกัน หนึ่งส่วนผ่าหาเชื้อพยาธิฟิลาเรีย อีกหนึ่งส่วนส่งสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลงดำเนินการทางเทคนิค PCR

2.1 การผ่ายุง

ผ่ายุงทีละตัวในน้ำเกลือโดยใช้เข็มฉีกยุงภายใต้กล้อง 3 มิติ (stereomicroscope) และจำแนกชนิดของเชื้อพยาธิในยุง โดยการพิจารณาลักษณะรูปร่างโครงสร้างอวัยวะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ (microscope) พร้อมทั้งบันทึกจำนวนยุงแต่ละชนิด แยกตามระยะเชื้อพยาธิ L1, L2 และ L3

2.2 การเก็บตัวอย่างยุงเพื่อทำ PCR

ยุงจากภาคสนามแยกแต่ละชนิด เก็บแช่ ethanol ใน micro tube ขนาด 1.5 ml หลอดละ 100 ตัว กำกับหมายเลขบนฝาปิดให้ตรงกับข้อมูลแสดงชนิดยุงตามหมายเลขดังกล่าวในรายงาน

รูปที่ 1 อุปกรณ์จับยุงที่มีถ่านไฟฉายเป็นแหล่งผลิตกระแสไฟ

3. การพัฒนาเทคนิค PCR

3.1 การสกัดสาร DNA เชื้อพยาธิในยุง

DNA เชื้อพยาธิ *B. malayi* หรือ *W. bancrofti* ในยุงจากภาคสนาม สกัดด้วย DNAzol reagent โดยใช้ยุง 100 ตัว ต่อหลอด ทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง จากนั้นบดละเอียดด้วย pellet pestle แล้วเติม DNAzol reagent สำหรับสกัดสารพันธุกรรม DNA ลงไป ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ต่อมานำไปปั่นด้วยแรงหมุน 10,000x g นาน 10 นาที ดูดสารละลายส่วนบนใส่ micro tube (1.5 ml) อันใหม่แล้วเติม absolute ethanol ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที แล้วนำไปปั่นตกตะกอน ที่จำนวนรอบ 4,000x g นาน 2 นาที ล้างตะกอน DNA ด้วย 75% ethanol 2 ครั้ง นำตะกอนที่ได้มาละลายน้ำกลั่นเพื่อนำไปทำ PCR

3.2 การเพิ่มจำนวน DNA

primer ที่ใช้เพิ่มจำนวน DNA ของเชื้อพยาธิ *B. malayi* คือ *Hha*IF (18-mer) 5'-GCGCATAAATTCATC AGC-3' และ *Hha*IR (23-mer) 5'- GCGCAAAACTTAATTACAAAAGC-3' ส่วน primer ของ *W. bancrofti* คือ NVI (21-mer) 5'-CGTGATGGCATCAAAGTAGCG-3' และ NV2 (22-mer) 5-CCCTCACTTACCATAAGAC AAC-3' เช่นเดียวกันกับวิธีของ Hoti [16] และ Chanteau [15] ตามลำดับ

การทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสที่ปริมาตรสุทธิของส่วนผสม 50 µl ตามวิธีของ Hoti จะใช้องค์ประกอบ DNA ต้นแบบที่สกัดได้จากเชื้อพยาธิ *B. malayi* หรือ *W. bancrofti* ระยะที่ 3 (L3) จากการเลี้ยงยุงที่ให้กินเลือดผู้มี microfilaria เชื้อพยาธิทั้ง 2 ชนิด รวมทั้ง DNA ของยุงภาคสนามในปริมาณ 5 ul และใส่เอนไซม์ *Taq* polymerase ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 2 ยูนิต และ primer ที่มีความจำเพาะกับเชื้อพยาธิแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้นสุดท้าย 0.4 pmol ร่วมกับ dNTP แต่ละตัวที่มีความเข้มข้น 0.2 mM และ 1x buffer โดยมีการตั้งอุณหภูมิของปฏิกิริยา 90 องศาเซลเซียส 5 นาที จำนวน 1 รอบ และตามด้วยการตั้งอุณหภูมิที่จำนวนรอบ 30 รอบ ของ 94 องศาเซลเซียส 1 นาที 55 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 1 นาที และสิ้นสุดด้วย 72 องศาเซลเซียส 10 นาที จากนั้นนำผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (PCR product) ที่ได้มาวิ่งผ่านกระแสไฟฟ้าบนวุ้นอากาโรส (agarose gel) ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.8 แล้วย้อมด้วยเอทิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) เพื่อให้เรืองแสง UV ตรวจหาชิ้นส่วน DNA ที่มีขนาด 322 (*B. malayi*) และ 188 (*W. bancrofti*) bp โดยเปรียบเทียบกับ 100 bp DNA marker

3.3 การทดสอบความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง

ทดสอบความไวที่จำนวน L3 *B. malayi* หรือ *W. bancrofti* 1 ตัว ในกลุ่มยุงที่ไม่มีเชื้อพยาธิฟิลาเรีย (uninfected mosquitoes) จำนวน 10, 20, 40, 60, 75 และ 100 ตัว และเพื่อขจัดปัญหาผลบวกปลอมจึงมีกลุ่มควบคุม (control) ซึ่งเป็นยุงที่ไม่ติดเชื้อพยาธิใดๆ ลงไปทุกครั้งที่สกัด

ทดสอบความจำเพาะ และ ความถูกต้องของเทคนิค PCR ต่อเชื้อพยาธิฟิลาเรีย โดยใส่เชื้อพยาธิฟิลาเรีย 1 ตัว ในกลุ่มยุงที่ไม่มีเชื้อพยาธิ (uninfected mosquitoes) จำนวน 20 ตัว และ 100 ตัว กลุ่มละ 27 ตัวอย่าง และ 7 ตัวอย่าง ตามลำดับ

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของร้อยละจำนวนชนิดยุงที่มีเชื้อพยาธิ *B. malayi* หรือ *W. bancrofti* ระหว่างเทคนิค PCR กับเทคนิคการผ่า โดยทั้งนี้จำนวนชนิดยุงในเทคนิคการผ่าจะพิจารณาเฉพาะยุงที่มีพยาธิระยะ L3 เท่านั้น

ผลการศึกษา

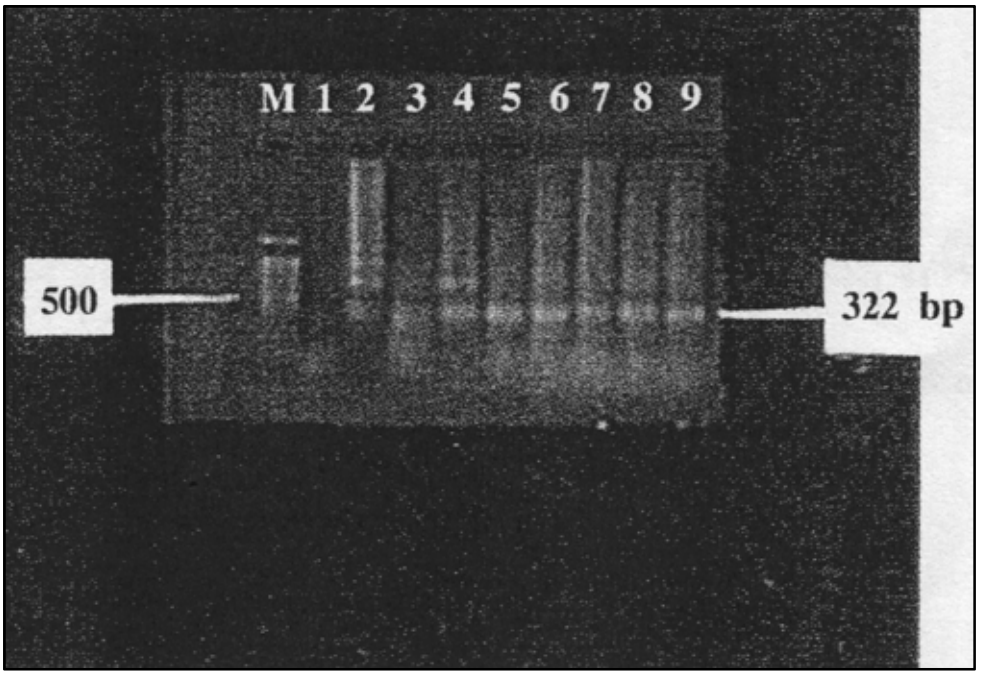
1. การพัฒนา PCR ทางห้องปฏิบัติการ

ความไวของ PCR assay สามารถตรวจหาเชื้อพยาธิโรคเท้าช้าง 1 ตัว ในยุงที่ไม่มีเชื้อพยาธิ (uninfected mosquitoes) จำนวน 20, 40, 60, 75 และ 100 ตัว (รูปที่ 2) และสามารถตรวจในยุงที่กินเลือดผู้ป่วยโรคเท้าช้าง (infected mosquitoes) ได้ (รูปที่ 3) ความถูกต้องและความจำเพาะของเทคนิค PCR จากตัวอย่างที่มีเชื้อพยาธิ 1 ตัว ในกลุ่มยุงที่ไม่มีเชื้อพยาธิ 20 ตัว และ 100 ตัว เท่ากับ 87.17 และ 85.71% ตามลำดับ

2. ประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อพยาธิในยุงของทั้ง 2 เทคนิค

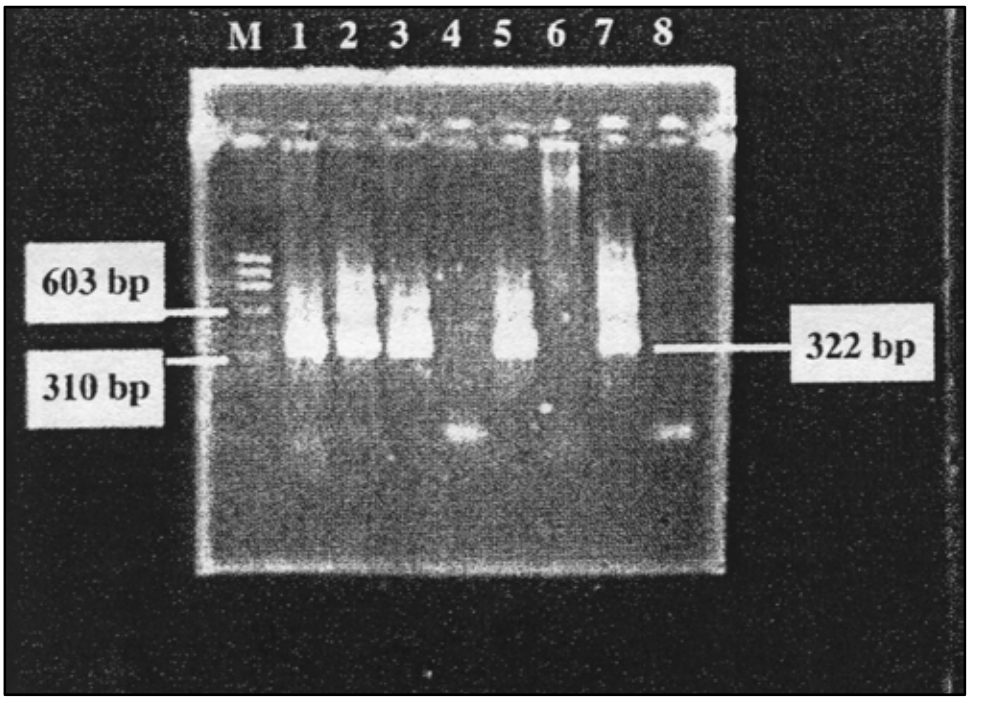
เทคนิค PCR และเทคนิคการผ่า สามารถตรวจพบเชื้อพยาธิในยุงจากพื้นที่หมู่ที่ 5 ต.ปูโย๊ะ อ.สุไหงโก-ลก จ.นราธิวาส โดยค่าเฉลี่ยร้อยละจำนวนชนิดยุงที่มีเชื้อ *B. malayi* ของเทคนิค PCR (เฉลี่ย 30.43%) เป็น 2 เท่าของเทคนิคการผ่า (เฉลี่ย 15.17%) (ตารางที่ 1) ขณะที่ทั้ง 2 เทคนิคตรวจไม่พบเชื้อพยาธิ *W.bancrofti* ในยุงจากพื้นที่

จังหวัดตาก และ จังหวัดระนอง (ตารางที่ 2 และ 3) นอกจากนี้เทคนิค PCR ใช้ตรวจพบเชื้อ *B. malayi* ในยุงได้หลากหลายถึง 10 ชนิด คือ *Ma. bonneae, Ma annulata. Ma. uniformis, Ma. annuliferra, Cq. crassipes, Cq. nigrosignata, Ar. subalbatus, Ae. dux, Aedes* sp. และ *Cx. pseudosinensis* มากกว่าเทคนิคการผ่าซึ่งพบเฉพาะในยุง 7 ชนิดแรกของเทคนิค PCR เท่านั้น



รูปที่ 2 ผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสเชื้อพยาธิ *B. malayi* ใน*กลุ่ม*ยุงไม่มีเชื้อพยาธิจำนวนต่างๆ

M	: 100 bp ladder (marker)
ช่องที่ 1	: ยุงไม่มีเชื้อพยาธิ (negative control)
ช่องที่ 2	: L3 *B. malayi* 1 ตัว (positive control)
ช่องที่ 3	: L3 *B. malayi* 1 ตัวในยุงไม่มีเชื้อพยาธิ จำนวน 20 ตัว
ช่องที่ 4	: L3 *B. malayi* 1 ตัวในยุงไม่มีเชื้อพยาธิ จำนวน 40 ตัว
ช่องที่ 5	: L3 *B. malayi* 1 ตัวในยุงไม่มีเชื้อพยาธิ จำนวน 60 ตัว
ช่องที่ 6	: L3 *B. malayi* 1 ตัวในยุงไม่มีเชื้อพยาธิ จำนวน 75 ตัว
ช่องที่ 7	: L3 *B. malayi* 1 ตัวในยุงไม่มีเชื้อพยาธิ จำนวน 100 ตัว
ช่องที่ 8	: L3 *B. malayi* 1 ตัวในยุงไม่มีเชื้อพยาธิ จำนวน 100 ตัว
ช่องที่ 9	: L3 *B. malayi* 1 ตัวในยุงไม่มีเชื้อพยาธิ จำนวน 100 ตัว



รูปที่ 3 ผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR product) เชื้อพยาธิในยุงที่กินเลือดผู้ป่วยที่มีเชื้อ *B. malayi*

M : ø X174 DNA/ *HaeIII Markers*

แถบ 1 1,353 bp

แถบ 2 1,078 bp

แถบ 3 872 bp

แถบ 4 603 bp

แถบ 5 310 bp

ช่องที่ 1 : ยุงที่กินเลือดตัวผู้มีเชื้อ *B. malayi* (infected mosquitoes) จำนวน 5 ตัว

ช่องที่ 2 : L3 *B. malayi* 1 ตัว (positive control)

ช่องที่ 3 : L3 *B. malayi* 1 ตัวในยุงไม่มีเชื้อฟิลาเรีย (uninfected mosquitoes) จำนวน 10 ตัว

ช่องที่ 4 : ยุงไม่มีเชื้อพยาธิใดๆ (negative control) จำนวน 5 ตัว

ช่องที่ 5 : infected *B. malayi* จำนวน 1 ตัว

ช่องที่ 6 : uninfected mosquito จำนวน 1 ตัว

ช่องที่ 7 : L3 *B. malayi* 20ตัว

ช่องที่ 8 : น้ำ (blank)

ตารางที่ 1 ร้อยละของจำนวนชนิดยุงที่มีเชื้อ *B. malayi* แต่ละเดือนในพื้นที่หมู่ 5 ต.ปูโย๊ะ อ. สุไหงโก-ลก จ.นราธิวาส

เดือน	จำนวนชนิดยุงภาคสนาม	จำนวนยุงทั้งหมด	จำนวนยุงแต่ละเทคนิค		ส่วนต่าง	ร้อยละของชนิดยุงที่มีพยาธิฟิลาเรีย			
			PCR	ผ่า	(%)	PCR	(%)	ผ่า	(%)
ธค. 43	10	7,010	4,103	2,907	17.08	1	10	1 (L1)	0
มค. 44	10	5,657	2,829	2,828	0.02	3	30	1 (L2)	0
กพ. 44	11	8,020	4,267	3,753	6.41	4	6.36	2	18.18
มีค. 44	10	9,022	4,982	4,040	0.44	5	50	3	30
เมย. 44	10	9,537	5,161	4,376	8.23	5	50	4	40
พค. 44	11	7,102	4,047	3,055	13.97	2	20	2	20
มิย. 44	12	10,555	7,194	3,361	36.32	3	25	1	8.33
กค. 44	12	7,402	5,147	2,255	39.07	5	41.67	3	25
สค. 44	10	5,200	2,690	2,510	3.46	1	10	2(L2)	0

ตารางที่ 2 ร้อยละของจำนวนชนิดยุงที่มีเชื้อ *W. bancrofti* แต่ละเดือนในพื้นที่เทศบาลแม่สอด จ.ตาก

เดือน	จำนวนชนิดยุงภาคสนาม	จำนวนยุงทั้งหมด	จำนวนยุงแต่ละเทคนิค		ส่วนต่าง	ร้อยละของชนิดยุงที่มีพยาธิฟิลาเรีย			
			PCR	ผ่า	(%)	PCR	(%)	ผ่า	(%)
ธค. 43	8	8,991	5,482	3,509	21.94	0	0	0	0
มค. 44	10	10,632	5,321	5,311	0.09	0	0	0	0
กพ. 44	10	11,603	5,755	5,848	0.80	0	0	0	0
มีค. 44	8	12,325	6,158	6,167	0.07	0	0	0	0
เมย. 44	10	15,485	7,450	8,035	3.78	0	0	0	0
พค. 44	12	6,893	2,489	4,404	27.78	0	0	0	0
มิย. 44	13	5,663	2,821	2,842	0.37	0	0	0	0
กค. 44	11	4,032	2,015	2,017	0.05	0	0	0	0
สค. 44	13	7,496	4,099	3,397	9.36	0	0	0	0

ตารางที่ 3 ร้อยละของจำนวนชนิดยุงที่มีเชื้อ *W. bancrofti* แต่ละเดือนในพื้นที่เทศบาลเมือง จ.ระนอง

เดือน	จำนวนชนิดยุงภาคสนาม	จำนวนยุงทั้งหมด	จำนวนยุงแต่ละเทคนิค		ส่วนต่าง	ร้อยละของชนิดยุงที่มีพยาธิฟิลาเรีย			
			PCR	ผ่า	(%)	PCR	(%)	ผ่า	(%)
ธค. 43	6	746	365	381	2.14	0	0	0	0
มค. 44	9	1,782	1,061	721	19.08	0	0	0	0
กพ. 44	5	2,687	1,182	1,505	12.02	0	0	0	0
มีค. 44	7	2,096	1,437	659	37.12	0	0	0	0
เมย. 44	4	1,776	1,045	731	17.68	0	0	0	0
พค. 44	5	1,268	686	582	8.20	0	0	0	0
มิย. 44	4	902	500	402	10.86	0	0	0	0
กค. 44	7	2,154	1,038	1,116	3.62	0	0	0	0
สค. 44	8	2,975	1,860	1,115	25.04	0	0	0	0

วิจารณ์

การพัฒนาเทคนิค PCR ทางห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่า DNAzol reagent สามารถสกัด DNA ของเชื้อพยาธิ *B. malayi* และ *W. bancrofti* ในยุงได้ และความไวในการตรวจพบเชื้อพยาธิเพียง 1 ตัว ในกลุ่มยุงที่ไม่มีเชื้อพยาธิจำนวนถึง 100 ตัว ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างสูง ส่วนความจำเพาะต่อเชื้อ *B. pahangi* แม้ว่ากลุ่มตัวอย่างศึกษาค่อนข้างน้อยและไม่มีการทดสอบใส่เชื้อพยาธิจำนวน 1 ตัวในกลุ่มยุงจำนวนต่างๆ กันก็ตาม แต่มีการศึกษาวิจัยอื่นยืนยัน *Hha*I primer จำเพาะต่อ *B. malayi* แน่นอน [16-17] นอกจากนี้ การสำรวจเจาะโลหิตแมวตรวจด้วยเทคนิค acid phosphatase พบอัตราความชุกแมว มีเชื้อ *B. malayi* สูง (MPR 11%) โดยไม่พบแมวมี *B. pahangi* [28] จึงมั่นในการทดสอบนี้ การทดสอบความถูกต้องเป็นการหาความเป็นจริงของชนิดเชื้อพยาธิที่ใส่ในหลอดยุง อันชี้ถึงความไม่ผิดพลาดที่อาจเกิดจากผู้ปฏิบัติงาน ส่วนค่าความแม่นยำในการหาเชื้อ *B. malayi* 1 ตัว ในกลุ่มยุงไม่มีเชื้อพยาธิ 20 และ 100 ตัวเกินกว่า 80% ก็น่าจะยอมรับได้

การใช้เทคนิค PCR ตรวจหาเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างในยุงภาคสนาม จะทำให้ได้ข้อมูลทางกีฏวิทยาที่ถูกต้องและเป็นจริงมากกว่าเทคนิคการผ่า เทคนิคนี้เป็นวิธีการทางคุณภาพ แม้ว่าไม่อาจทราบอัตราการแพร่เชื้อพยาธิโรคเท้าช้างของยุงที่บอกถึงการแพร่กระจายโรค แต่โครงการกำจัดโรคเท้าช้างต้องการเพียงข้อมูลการพบกับไม่พบเชื้อ *B. malayi* หรือ *W. bancrofti* ในยุงเท่านั้น อันเป็นการเพียงพอต่อการประเมินประสิทธิผลการควบคุมโรคเท้าช้างด้วยยาในพื้นที่แหล่งแพร่โรค เนื่องจากมีรายงานการศึกษาวิจัยภาคสนามที่พบว่า ผู้มีเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างเมื่อรับประทานยา DEC + Albendazole ครั้งเดียวแล้วจะไม่พบ microfilaria ในกระแสเลือด นานถึง 1 ปี คิดเป็นอัตรา 99.99% ของผู้มีเชื้อพยาธิทั้งหมด [6] ดังนั้น เมื่อจ่ายยาแบบกลุ่มครอบคลุมประชากรทั้งหมดแล้ว จึงไม่น่าจะมีโอกาสพบเชื้อพยาธิในยุงและปรากฏผู้ป่วยรายใหม่ในที่สุด

เทคนิคการผ่าที่สามารถพบเชื้อ *B. malayi* ในยุง *Aedes* sp. ครั้งนี้นำไปสู่การศึกษาและวิจัยความเป็นไปได้ในการเป็นพาหะชนิดใหม่ของยุงภาคสนามเนื่องจากยุงชนิดนี้มีรายงานนำเชื้อพยาธิดังกล่าวได้ทางห้องปฏิบัติการ [29]

การพัฒนาเทคนิค PCR ทางห้องปฏิบัติการครั้งนี้อยู่ในระดับที่น่าพึงพอใจ และเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพดีกว่าเทคนิคการผ่า ข้อมูลทางชันสูตรได้ชี้ชัดเจนว่าปัจจุบันผู้ป่วยระยะแพร่เชื้อในประเทศไทยมีความหนาแน่นของ microfilaria ในกระแสโสหิตค่อนข้างต่ำมาก (1-3 ตัว/60 µl) เทคนิค PCR ซึ่งมีความไวค่อนข้างสูงจะมีความเหมาะสมมากต่อการใช้ตรวจหาเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างในยุงภาคสนาม ดังนั้น สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค จึงกำหนดนโยบายให้ใช้เทคนิคนี้กับยุงที่จับได้ในพื้นที่ดัชนี (index areas) ซึ่งเป็นตัวแทนพื้นที่อื่นๆ ที่มีลักษณะของการเกิด และการแพร่กระจายโรคที่คล้ายคลึงกันเพื่อใช้อธิบายประสิทธิผลของการควบคุมโรคด้วยยาแต่ละปี ภายใต้โครงการกำจัดโรคเท้าช้างให้หมดไปจากประเทศไทย รวมทั้งตรวจสอบซ้ำ (confirm) ชนิดพยาธิทุกระยะที่พบในยุงภาคสนามจากเทคนิคการผ่า

กิตติกรรมประกาศ

ผู้ศึกษาวิจัยขอขอบคุณ นายแพทย์สราวุธ สุวัณณทัพพะ ผู้ทรงคุณวุฒิ กรมควบคุมโรค อดีตผู้อำนวยการกองโรคเท้าช้าง ที่เห็นชอบในหลักการให้มีการศึกษาวิจัยนี้ขึ้น ขอขอบคุณ รศ. สมใจ ลี้มิ่งสวัสดิ์ หัวหน้าภาควิชากีฏวิทยาการแพทย์ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ผู้ให้คำปรึกษาและชี้แนะเกี่ยวกับการปฏิบัติงานทางห้องปฏิบัติการ และ นางรวีวรรณ ศรีสวัสดิ์ นักวิทยาศาสตร์ในหน่วยงานเดียวกันที่ให้ความช่วยเหลือการทำ PCR ตลอดจนขอขอบคุณคณะเจ้าหน้าที่ของศูนย์ควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง จังหวัดนราธิวาส ที่ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามเป็นอย่างดียิ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Building partnerships for lymphatic filariasis: Stategic plan: Working version: September 1999.
2. Phantana S, Chutidamrong C, Chusttayanond W. *Brugia malayi* in a cat from southern Thailand. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987; 81: 173-4.
3. Kanjanopas K, Choochote W, Jitpadi A, Suvanadabba S, Loymak S, Chungpivat S, et al. *Brugia malayi* in a naturally infected cat from Narathiwat province, southern Thailand. *southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001; 32: 585-7.
4. Mak JW, Yen PKF, Lim KC, Ramaih N. Zoonotic implication of cats and dogs in filarial transmission in Peninsular Malaysia. *Trop Geogr Med* 1980; 32: 259-64.
5. WHA 50.29 Elimination of lymphatic filariasis as a public health problem. Resolution 50.29 of the World Health Assembly, May 1997.
6. Ottesen EA, Duke BOL, Karam M, Behbehani K. Strategies and tools for the control/ elimination of lymphatic filariasis. *Bull World Health Organ* 1997; 75: 491-503.
7. World Health Organization. Defining the roles of vector control and xenomonitoring in the global programme to eliminate lymphatic filariasis. Report of the informal consultation WHO/HQ; 2002 Jan 29-31; Geneva.
8. Mak JW, Yong HS. The identification of infective larvae: control of brugian filarisasis. Proceedings of the WHO Regional Seminar; 1985 Jul 1-5; Kuala Lumpur, Malaysia.
9. Zhong M, McCarthy J, Bierwert L, Lizotte WM, Chanteau S, Nutman TB, et al. A ploymerase chain reaction assay for the detection of the parasite *Wuchereria bancrofti* in hunan blood samples. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 54: 357-63.
10. Pool CB, William SA. A rapid DNA assay for the identification of *Brugia* in blood samples. *Mol Biochem Parasitol* 1990; 40: 129-36.
11. Lizotte Mr, Supali T, Partono F, William SA. A polymerase chain reaction assay for the detection of *Brugia malayi* in blood. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51: 314-21.
12. William SA, Nicolas L, Waniewski ML, Plichart C, Luquiaud P, Nguyen LN, et al. A polymerase chain reaction assay for the detection fo *Wuchereria bancrofti* in blood samples from French Polynesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 384-7.
13. Abbasi I, Hamburger J, Githure J, Ochola JJ, Agure R, Koech DK, et al. Detection of *Wuchereria bancrofti* DNA in patients' sputum by the polymerase chain reaction. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 531-2.
14. Nicolas L, Luquiaud P, Lardeux F, Mercer DR. A polymerase chain reaction assay to determine infection of Aedes polynesienisi by *Wuchereria bancrofti*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 136-9.

15. Chanteau S, Luquiaud P, Failloux AB, Willliam SA. Detection of *Wuchereria bancrofti* larvae in pools of mosquitoes by the polymerase chain reaction. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; 88: 665-6.
16. Hoti SL, Vasuki V, Lizotte MW, Patra G, Ravi G, Vanamail P, et al. Detection of Burgia malayi laboratory and wild-caught *Mansonioides* mosquitoes (Diptera: Culicidae) using *Hha* I PCR assay. *Bull Entomol Res* 2001; 91: 87-92.
17. William SA, De Simone SM, Mc Reynolds LA. Species-specific oligonucleotide probes for the identification of human filarial parasites. *Mol Biochem Parasitol* 1988; 28: 163-70.
18. McReynolds LA, Poole CB, Hong Y, Williams SA, Partono F, Bradley J, Recent advances in the application of molecular biology in filariasis. Southeast *Asian J Trop Med Public Health* 1993; 2: 1-12.
19. World Health Organization. Workshop on DNA diagnositic And Filariasis and symposium on filariasis and onchocerciasis. 1989 Dec 18-20; Jakarta, Indonesia.
20. Gass RP. Observation on the feeding habits of four species of *Mansonia (Mansonioides)* mosquitoes in southern Thailand. *J Med Entomol* 1983; 20: 288-93.
21. Charoenlarp P, Sucharit S, Harinasuta C Aquatic plants as hosts of *Mansonia* larvae in Thailand. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1964; 58: 580.
22. Gould DJ. implication of forest mosquitoes in the transmission of *Wuchereria bancrofti* in thailand. *Mosq News* 1982; 42: 562-4.
23. Sucharit S, Harinasuta C, Vutikes S. Studies on the bithing cycle of the natural and potential vectors of *Wuchereia bancrofti* in west Thailand. *J Med Ass Thailand* 1968;20: 288-93.
24. Knajanopas K. The new mosquito vector of lymphatic filariasis in Thailand, commun Dis J 1995; 21: 128-32.
25. Filariasis Division. Lymphatic filariasis: Annual Report. Filariasis Division, CDC Department, Ministry of Public Health, Thailand; 2001.
26. Triteeraprapad S, Songtrus J. High prevalence of bancroftian filariasis in Myanmar migrant workers: a study in Mae Sot District, Tak Province, Thailand. *J Med Assoc Thai* 1999; 82: 734-9.
27. World Health Organization. Urban vector and pest control. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1988; 767: 1-80.
28. Filariasis Division. Lymphatic filariasis: Annual Report. Filariasis Division, CDC Department, Ministry of Public Health, Thailand; 2002.
29. Ramachandran CP, Edeson JFB, Kershaw WE. *Aedes aegypti* a s an experimental vector of *Brugia malayi*. *Ann Trop Med Parasitol* 1960; 54: 371-5.

ประสิทธิภาพ Diethylcarbamazine citrate และ Albendazole ต่อ *Brugia malayi*

Comparative efficacy of Diethylcarbomazine citrate and Albendazole against *Brugia malayi*

ธีระยศ กอบอาษา วท.ม.* **Theerayot Kob-asa, M.Sc. (Medical Parasitology)***

สุวิช ธรรมปาโล พบ.,ส.ม., M.P.H.&T.M.* **Suwich Thammapalo M.D., M.P.H.&T.M., Dip. Broad Prevention Medicine***

สุมาศ ลอยเมฆ ค.บ.** **Sumart Roymak B.Ed. (Health Education)****

**สำนักงานโรคติดต่อนำโดยแมลง* ** Bureau of Vector-Borne Disease*

***สำนักงานโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข* *** Pikulthong Royal Development Project*

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบประสิทธิผลของยากำจัดไมโครฟิลาเรียของเชื้อชนิด *Brugia malayi* โดยคัดเลือกผู้ป่วยระยะตรวจพบไมโครฟิลาเรียชนิด *B. malayi* จำนวน 18 คน และสุ่มตัวอย่าง แบ่งกลุ่มโดยใช้ block random sampling method กลุ่มละ 6 คน แต่ละกลุ่มจะให้ยา 3 แบบ ที่มีความแตกต่างกัน คือ 1) Diethylcarbamazine citrate (DEC) 6 mg/kg ครั้งเดียว 2) DEC 6 mg/kg เป็นเวลา 6 วัน และ 3) DEC 6 mg/kg ร่วมกับ Albendazole (ALB) 400 mg และทั้ง 3 แบบรับประทานยาซ้ำทุก 6 เดือน ติดตามประเมินผลเป็นเวลา 18 เดือน ผลการศึกษาพบว่า การให้ยาขนาด DEC 6 mg/kg เป็นเวลา 6 วัน ทำให้ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียลดลงร้อยละ 99 ในวันที่ 3 และตรวจไม่พบไมโครฟิลาเรียในวันที่ 7 หลังการให้ยาสำหรับกลุ่มที่ให้ยา DEC 6 mg/kg ร่วมกับ ALB 400 mg ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียจะลดลงร้อยละ 93.1 ในวันที่ 3 และจะตรวจไม่พบเชื้อวันที่ 90 หลังการรักษา ส่วนกลุ่มที่ให้ยา DEC 6 mg/kg ครั้งเดียวทำให้เชื้อลดลงร้อยละ 91.2 ในวันที่ 3 และยังคงสามารถตรวจพบเชื้อไมโครฟิลาเรีย ที่ระดับความหนาแน่น ไมโครฟิลาเรียเฉลี่ย 0.2-3 ต่อ 60 ไมโครลิตร และตรวจไม่พบเชื้อหลังการให้ยาครั้งที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน ดังนั้นการให้ยา DEC ขนาด 6 mg/kg เป็นเวลา 6 วัน มีประสิทธิผลกำจัดไมโครฟิลาเรียได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามเนื่องจากระยะเวลาการรับประทานยานานถึง 6 วัน ประชาชนมักรับประทานยาไม่ครบและขาดความร่วมมือ ทำให้อัตราการรับประทานยาครบค่อนข้างต่ำ ส่วนการให้ยา DEC 6 mg/kg ร่วมกับ ALB 400 mg แบบครั้งเดียว ซึ่งมีประสิทธิผลไม่แตกต่างกับการให้ยา DEC ขนาด 6 mg/kg 6 days มากนัก จึงสมควรพิจารณาใช้ในการรณรงค์กำจัดโรคเท้าช้างเพื่อให้ประชาชนยอมรับและอัตราการรับประทานยาครอบคลุมมากขึ้น รวมทั้งประหยัดทรัพยากรและเวลาในการติดตามให้ยาผู้ป่วย

Abstract

The experiment was operated for comparative efficacy of *Brugia malayi* microfilariacide drug. 18 patients who has *B. malayi* microfilaria were devided by 3 groups with block random sampling method. Each group was taken drugs by 3 regimens. 1) Diethylcarbamazine citrate (DEC) 6 mg/kg 2) DEC 6 mg/kg 6 days and 3) DEC 6 mg/kg combined of Albendazole (ALB) 400 mg and all groups repeated drug every 6 months. Evaluation were carried cut for 18 months. The result showed the 6 mg/kg 6 days of DEC trial has been dramatically reduced microfilaria density 99% in 3 days and microfilaria clearance in 60 days. DEC 6 mg/kg combined of ABL 400 mg trial has been reduced microfilaria density 93.1% in 3 days and microfilaria clearance in 90 days. DEC 6 mg/kg single dose trial has been reduce microfilaria density 91.2% and microfilaria clearance in 30 days after taken second dose. So 6 mg/kg 6 days of DEC trial should be the best efficacy for kill *B.malayi* microfilaria, however compliance has been poor due to usually take uncomplete dosage and refuse and leading to low complete rate in transmission areas. The effectiveness of DEC 6 mg/kg combined of ALB 400 mg single dose was slightly lower than DEC 6 mg/kg 6 days. So it should be considered to use in lymphatic filariasis compaign for increasing people acceptance and complete drug coverage rate including to safe budget and follow up time.

บทนำ

โรคเท้าช้างระบบทางเดินน้ำเหลือง (Lymphatic filariasis) เป็น 1 ใน 6 โรคติดต่อ ที่องค์การอนามัยโลกสนับสนุนให้ดำเนินโครงการกำจัดโรคเท้าช้าง เนื่องจากมีความเชื่อมั่นในประสิทธิภาพจากการรักษาของยา DEC ร่วมกับ ALB และมีการพัฒนาชุดตรวจสำเร็จรูปที่มีประสิทธิภาพ ใช้สำหรับควบคุม กำกับ และประเมินผลการควบคุมโรคกับเชื้อชนิด *Wuchereria bancrofti*[1-2] ประเทศไทยมีการแพร่ระบาดของโรคเท้าช้างในคนทั้งชนิด *W. bancrofti* และ *B. malayi*[3] และได้ประยุกต์ใช้หลักการดังกล่าวมาดำเนินการตั้งแต่ปี 2545 ในการควบคุมการระบาดของเชื้อทั้ง 2 ชนิด โดยมุ่งเน้นมาตรการรักษากลุ่มในพื้นที่ที่มีอัตราการตรวจพบไมโครฟิลาเรีย $\geq$ 0.2 หรือแอนติเจน $\geq$ 1% ให้ครอบคลุมประชากรร้อยละ 100 จ่ายยาปีละครั้งต่อเนื่องเป็นเวลา 5 ปี แต่ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการศึกษาประสิทธิผลของยาทั้ง 2 ชนิด ร่วมกันต่อเชื้อ *B. malayi* ถึงความเหมาะสมในการนำมาใช้ควบคุมการแพร่เชื้อชนิดนี้ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบประสิทธิผลของการใช้ยา 3 แบบ คือ แบบที่ 1 รับประทาน DEC 6 mg/kg ครั้งเดียวใช้ในการรักษากลุ่มแบบเดิม แบบที่ 2 DEC 6mg/kg 6 days ใช้เป็นมาตรฐานในการรักษาผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อชนิด *B. malayi*[3] และแบบที่ 3 DEC 6 mg/kg ร่วมกับ ALB 40 mg ซึ่งองค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้สำหรับการรักษากลุ่มสำหรับใช้ในโครงการกำจัดฯ เพื่อพัฒนานำมาใช้การดำเนินงานควบคุมโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

1. สำรวจหาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *B. malayi* ระยะไมโครฟิลาเรียในพื้นที่แหล่งระบาดและหาค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียของผู้ป่วยแต่ละราย
2. จัดผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่มด้วยวิธี Block random sampling
3. ให้ยาจำแนกเป็น 3 กลุ่มดังนี้ กลุ่มที่ 1 ให้ยา DEC 6 mg/kg ครั้งเดียว กลุ่มที่ 2 ให้ยา DEC 6 mg/kg รับประทานติดต่อกัน 6 วัน และกลุ่มที่ 3 ให้ยา DEC 6 mg/kg ร่วมกับ ALB 400 mg ครั้งเดียว
4. บันทึกอาการข้างเคียงหลังการรับประทานยา
5. การจ่ายยาครั้งที่ 1, 2 และ 3 เว้นระยะเวลาห่างจากกันเป็นเวลา 180 วัน และดำเนินการเจาะเลือดประเมินประสิทธิผลของยา ในวันที่ 3, 7, 30, 60, 180 หลังการได้รับยาครั้งที่ 1 ในวันที่ 7, 30, 60, 180 หลังการได้รับยาครั้งที่ 2 ในวันที่ 60, 120, 180 หลังการได้รับยาครั้งที่ 3
6. วิเคราะห์ประเมินผลเปรียบเทียบประสิทธิผลของยาในการกำจัดไมโครฟิลาเรีย ระหว่างก่อนการให้และหลังการให้ยา โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยร้อยละและ ANOVA

ผล

ข้อมูลทั่วไป กลุ่มตัวอย่างผู้ตรวจพบไมโครฟิลาเรียชนิด *B. malayi* จำนวน 18 ราย เป็นผู้ชายจำนวน 8 คน ผู้หญิงจำนวน 10 คน อายุเฉลี่ย 33.5 ปี ความหนาแน่นไมโครฟิลาเรียเฉลี่ย 14/60 µl และเมื่อแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ค่าเฉลี่ยของอายุผู้ป่วยและความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

อัตราการลดลงของไมโครฟิลาเรียหลังรับประทานยาในแต่ละกลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ผู้ตรวจพบไมโครฟิลาเรียจำนวน 6 คน ความหนาแน่นไมโครฟิลาเรียเฉลี่ย 12/60 µl หลังรับประทานยา 3 วัน ความหนาแน่นไมโครฟิลาเรียลดลงเท่ากับ 1.2/60 µl (91.2%) หลังจากนั้นเชื้อจะลดลงอย่างไม่คงที่และยังคงตรวจพบเชื้อตลอด 180 วันหลังการให้ยาครั้งที่ 1 โดยจะตรวจไม่พบเชื้อหลังการให้ยา ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพยา DEC 6 mg/kg ต่อไมโครฟิลาเรียของเชื้อ *Brugia malayi*

อันดับ	เพศ	อายุ	ความหนาแน่นก่อนให้ยา (ml / 60 µl)	ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรีย mf / 60 µl หลังให้ยา												
				ประเมินผลหลังการให้ยาครั้งที่ 1						ประเมินผลหลังการให้ยาครั้งที่ 2				ประเมินผลหลังการให้ยาครั้งที่ 3		
				3	7	30	60	90	180	7	30	90	180	60	120	180
1	F	23	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
2	M	40	3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	M	15	9	2	2	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	M	61	15	1	8	1	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0
5	F	10	24	2	3	2	1	3	0	1	0	0	0	0	0	0
6	F	10	15	2	-	9	-	5	1	0	-	0	-	-	0	0
Means		26.5	12	1.2	2.8	3	0.33	1.6	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0

กลุ่มที่ 2 ผู้ตรวจพบไมโครฟิลาเรียจำนวน 6 คน ความหนาแน่นไมโครฟิลาเรียเฉลี่ย 15/60 µl หลังรับประทานยา 3 วัน ความหนาแน่นไมโครฟิลาเรียลดลงเท่ากับ 0.35/60 µl (99.9%) และจะตรวจไม่พบเชื้อหลังการให้ยาครั้งที่ 1 เป็นเวลา 7 วัน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพยา DEC full dose ต่อไมโครฟิลาเรียของเชื้อ *Brugia malayi*

อันดับ	เพศ	อายุ	ความหนาแน่นก่อนให้ยา (ml / 60 µl)	ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรีย mf / 60 µl หลังให้ยา												
				ประเมินผลหลังการให้ยาครั้งที่ 1						ประเมินผลหลังการให้ยาครั้งที่ 2				ประเมินผลหลังการให้ยาครั้งที่ 3		
				3	7	30	60	90	180	7	30	90	180	60	120	180
1	M	47	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	M	14	6	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0
3	F	17	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
4	M	46	12	1	0	1	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0
5	F	62	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0
6	F	28	30	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Means		35.7	15	0.35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

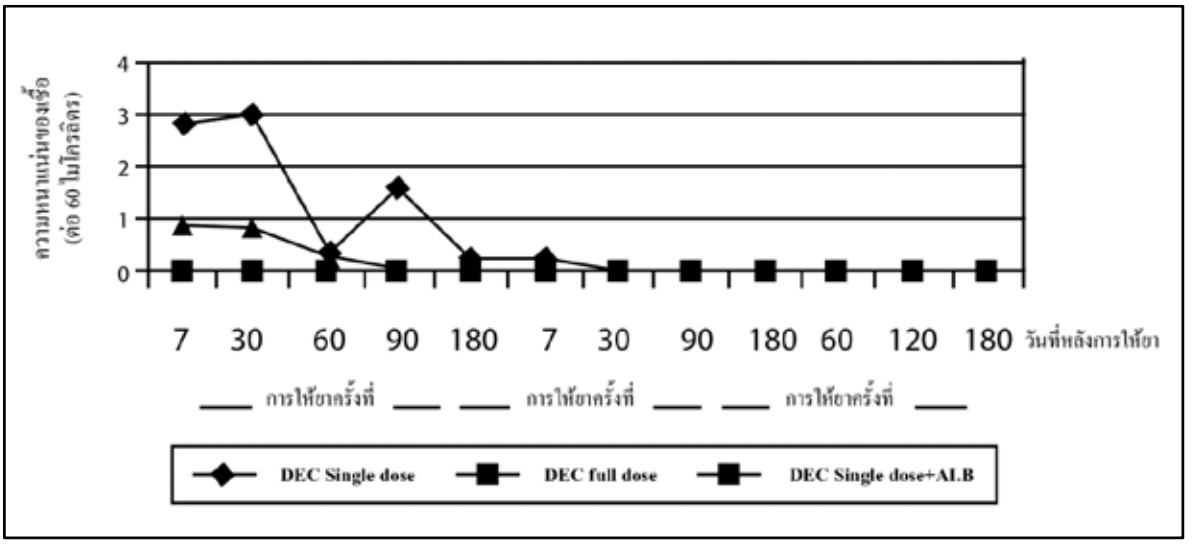
กลุ่มที่ 3 ผู้ตรวจพบไมโครฟิลาเรียจำนวน 6 คน ความหนาแน่นไมโครฟิลาเรียเฉลี่ย 15/60 µl หลังรับประทานยา 3 วัน ความหนาแน่นไมโครฟิลาเรียลดลงเท่ากับ 1.5/60 µl (93.1%) และจะตรวจไม่พบเชื้อหลังการให้ยาครั้งที่ 1 เป็นเวลา 90 วัน (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพยา DEC single dose ร่วมกับ Albendazole 400 mg ต่อไมโครฟิลาเรียของเชื้อ *Brugia malayi*

อันดับ	เพศ	อายุ	ความหนาแน่นก่อนให้ยา (ml / 60 µl)	ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรีย mf / 60 µl หลังให้ยา												
				ประเมินผลหลังการให้ยาครั้งที่ 1						ประเมินผลหลังการให้ยาครั้งที่ 2				ประเมินผลหลังการให้ยาครั้งที่ 3		
				3	7	30	60	90	180	7	30	90	180	60	120	180
1	F	1	3	0.1	1.5	1.5	1.5	0	0	0	0	-	0	0	0	0
2	F	3	6	0.4	2	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	F	3	6	-	-	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0
4	M	1	12	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	F	10	30	5.4	0	1.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	M	9	27	0	0	1.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Means		**38.5**	**15**	**1.5**	**0.88**	**0.82**	**0.25**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการให้ยาทั้ง 3 กลุ่ม หลังการให้ยาครั้งที่ 1 ในวันที่ 3, 7, 30, 60, 90, 180 พบว่าระดับค่าความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียทั้ง 3 กลุ่มลดลงอย่างรวดเร็วมากกว่าร้อยละ 90 โดยระดับความหนาแน่นของกลุ่มที่ 2 ในวันที่ 3 จะลดลงมากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ผู้ป่วยในกลุ่มที่ 1 ยังตรวจพบไมโครฟิลาเรียเป็นเวลานานกว่า 6 เดือน ส่วนการให้ยา DEC full dose และการให้ยา DEC single dose ร่วมกับ ALB ความหนาแน่นไมโครฟิลาเรียลดลงจนตรวจไม่พบตั้งแต่หลังการให้ยาครั้งที่ 1 และเมื่อให้ยาครั้งที่ 2 และ 3 ยังตรวจไม่พบเชื้อต่อเนื่อง รวมระยะการติดตามประเมินผลการรักษา 18 เดือน (รูปที่ 1)

รูปที่ 1 อัตราการลดลงของความหนาแน่นไมโครฟิลาเรียของเชื้อ *Brugia malayi* จากการรักษาด้วย DEC single dose, DEC full dose และ DEC single dose ร่วมกับ ALB 400 mg



การติดตามอาการข้างเคียงหลังรับประทานยา พบในผู้ป่วยเพศหญิง อายุ 19 ปี 1 ราย ในกลุ่มที่ 3 โดยความหนาแน่นของเชื้อก่อนการให้ยาเท่ากับ 10/60 µl หลังรับประทานยามีอาการคลื่นไส้ และก่อนการให้ยาครั้งที่ 2 และ 3 ตรวจไม่พบไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด แต่หลังรับประทานยาผู้ป่วยยังคงมีอาการคลื่นไส้หลังรับประทานยา

วิจารณ์

การเปรียบเทียบประสิทธิผลของการให้ยาในการกำจัดไมโครฟิลาเรียเพื่อตัดวงจรการแพร่เชื้อโดยใช้ผลจากการตรวจจากฟิล์มเลือดหนาที่ดำเนินการเจาะเลือดในเวลา 20.00 น. ซึ่งเป็นช่วงที่ไมโครฟิลาเรียของเชื้อ *B. malayi* ในพื้นที่นี้จะปรากฏตัวสูงสุด[4] จัดทำฟิล์มเลือดหนา 6 แผ่นต่อผู้ป่วย 1 ราย ทำการตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40 เท่า โดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข 3 คน และกลุ่มโรคเท้าช้าง 1 คน และนำมาหาค่าเฉลี่ยทั้ง 3 แบบ

ประสิทธิผลของการให้ยา DEC full dose ทำให้ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียลดลงร้อยละ 99 หลังการกินยา 3 วัน และตรวจไม่พบไมโครฟิลาเรีย 30 วันหลังให้ยา และเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในประเทศมาเลเซียพบว่ายังคงตรวจพบเชื้อตลอดเวลา 5 เดือนหลังการรับประทานยา โดยความหนาแน่นของเชื้อลดลงที่ระดับร้อยละ 93-99 โดยตรวจไม่พบเชื้อหลังการให้ยาครั้งที่ 3 เป็นเวลา 30 วัน[5] ข้อแตกต่างระหว่างการศึกษาทั้ง 2 คือ ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียก่อนการรักษาที่ดำเนินการในประเทศไทยและมาเลเซีย เท่ากับ 12 และ 155 ต่อ 60 ไมโครลิตร อาจเป็นเหตุผลที่ทำให้ระดับการลดลงของความหนาแน่นที่แตกต่างกัน

ประสิทธิผลของการให้ยา DEC single dose จะกำจัดไมโครฟิลาเรียจนไม่สามารถตรวจพบหลังการให้ยา ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน สอดคล้องกับการศึกษาในประเทศอินเดีย[6] และมาเลเซีย[5] ที่การให้ยา DEC single dose เพียงครั้งเดียวสามารถลดความหนาแน่นของเชื้อได้ร้อยละ 95 ตามลำดับ และยังคงตรวจพบพยาธิไมโครฟิลาเรียมากกว่า 180 วัน แสดงว่าการให้ยา DEC single dose ปีละครั้ง น่าจะไม่เพียงพอในการตัดวงจรการแพร่เชื้อ

การให้แบบที่ 1 และ 3 จะได้รับ DEC ในปริมาณเท่ากัน 6 mg/kg พบว่ากลุ่มที่ 3 จะมีระยะเวลาการตรวจพบไมโครฟิลาเรีย 90 วัน ในขณะที่การให้ยากลุ่มที่ 1 ยังตรวจพบเชื้อตลอดการประเมิน 180 วันหลังการรับประทานยาครั้งที่ 1 และจะตรวจไม่พบไมโครฟิลาเรียหลังการรับประทานยาครั้งที่ 2 เป็นเวลา 30 วัน โดยกลุ่มที่ 3 ได้รับประทานยาที่แตกต่างคือ ALB 400 mg ซึ่งยา ALB มีการศึกษาพบว่าออกฤทธิ์เฉพาะในการกำจัดพยาธิตัวแก่บางส่วนแต่ไม่สามารถกำจัดไมโครฟิลาเรีย[7] แต่จากผลการศึกษานี้พบว่ากลุ่มที่รับประทานยา ALB ร่วมกันกับ DEC ให้ผลในการกำจัดไมโครฟิลาเรียดีกว่าการรับประทานยา DEC อย่างเดียวในประมาณยา DEC ที่เท่ากัน และให้ผลใกล้เคียงกับการให้ยารักษาผู้ป่วยโรคเท้าช้าง (full dose) ของเชื้อชนิด *B. malayi* คือ DEC 6 mg/kg เป็นเวลา 6 วัน และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลการศึกษาประสิทธิผลของยากลุ่มที่ 3 ที่นำมาใช้กับผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *W. bancrofti* พบว่าทำให้ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *W. bancrofti* ลดลงมากกว่าร้อยละ 80 หลังรับประทานยาแต่ยังคงครวจพบโมโครฟิลาเรียตลอดเวลา 1 ปีหลังการรับประทานยา[8] แสดงถึงไมโครฟิลาเรียของเชื้อ *B. malayi* มีความไวต่อยาแบบที่ 3 มากกว่าเชื้อ *W. bancrofti* ยา ALB น่าจะเป็นตัว synergistic ทำให้สามารถกำจัดไมโครฟิลาเรียของเชื้อ *B. malayi* ได้ดีขึ้น

โอกาสในการแพร่เชื้อหลังการให้ยา เมื่อเปรียบเทียบกับค่า Infectivity index ของยุง *Mansonia dives* และ *Mansonia bonneae* ที่ทำการศึกษาในประเทศมาเลเซียพบว่า ค่า minimum of microfilaria density ในการแพร่เชื้อ *B. malayi* ในคนอยู่ที่ระดับ 1.2 ต่อไมโครลิตร[9] การให้ยากลุ่มที่ 1 ยังคงมีโอกาสแพร่เชื้อตลอด 90 วันหลังการให้ยา การให้กลุ่มที่ 2 สามารถลดโอกาสการแพร่เชื้อได้สมบูรณ์แบบ และการให้ยาแบบที่ 3 โอกาสที่จะแพร่เชื้อเพียงช่วง 3 วันแรกหลังการให้ยา จะเห็นได้ว่าประสิทธิผลการลดโอกาสแพร่โรคของการให้ยากลุ่มที่ 2 และ 3 แตกต่างกันไม่มากนัก

อาการข้างเคียงหลังการรับประทานยาที่มักเกิดขึ้นในผู้ป่วยหลังรับประทานยา DEC มากกว่ายา ALB ที่พบได้น้อยมาก อาการข้างเคียงที่พบมากมาจากการรับประทานยา DEC เป็นปฏิกิริยาต่อต้านทางภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยกับโปรตีนที่มาจากซากของไมโครฟิลาเรียหลังรับประทานยา โดยผู้ป่วยจะมีอาการไข้ ปวดศีรษะ คลื่นไส้อาเจียน และอาการไม่พึงประสงค์จะมากขึ้นตามจำนวนความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียของผู้ป่วย อีกประการหนึ่งของที่มาอาการไม่พึงประสงค์หลังการรับประทานยา DEC มาจากตัวยา DEC ที่ระคายเคืองทางเดินอาหาร อาการเช่นนี้จะพบไม่มากนัก และอาการดังกล่าวก็ไม่ขึ้นอยู่กับจำนวนไมโครฟิลาเรีย[10] ดังนั้นผู้ป่วยในการศึกษานี้ที่มีอาการคลื่นไส้ทุกครั้งที่รับประทานยาน่าจะมีสาเหตุมาจากยา DEC ที่ระคายเคืองทางเดินอาหาร แนะนำให้รับประทานยาหลังอาหารจะช่วยลดอาการดังกล่าวได้

ข้อเสนอแนะ

แม้ว่าการให้ยา DEC full dose จะมีประสิทธิผลในการกำจัดไมโครฟิลาเรียสูงสุด แต่จำเป็นต้องรับประทานยาติดต่อกันเป็นเวลา 6 วัน เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ประชาชนไม่ให้ความร่วมมือ นำมาสู่อัตราการรับประทานยาครบต่ำ และเมื่อนำประสิทธิผลมาเปรียบเทียบกับการให้ยา DEC 6 mg/kg ร่วมกับ Albendazole 400 mg ครั้งเดียวที่มีความสะดวกมากกว่าแล้ว พบว่าไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ดังนั้นการให้ยา DEC single dose ร่วมกับ Albendazole 400 mg เหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้กับประชาชนในพื้นที่เสี่ยง โดยเฉพาะกิจกรรม Mass drug administration เพื่อทำให้ประชาชนยอมรับและประหยัดค่าใช้จ่าย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ศึกษาวิจัยขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ในสำนักงานโครงการงานปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือจนทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Ottesen EA, Duke BOL, Karam M, Behbehani K. Strategies and tolls for the control/elimination of lymphatic filariasis. *Bull WHO* 1997; 75(6): 491-503.
2. Ottesen EA, Ismail MM, Horton J. The role of Abendazole in Programmes to Eliminate Lymphatic Filariasis. *Parasitology Today* 1999; 15(9): 382-6.
3. กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ. รายงานประจำปี 2546. กรุงเทพ; ชุมนุมสหกรณ์การเกษตร: 2546.
4. ฉันทกรณ์ ชุติดำรง, ศิริชัย พรรณธนะ. การปรากฏตัวของพยาธิฟิลาเรียในประเทศไทย *วารสารโรคติดต่อ* 2529; 12: 277-8.
5. Edson JFB, Wharton RH. Treatment of *Wuchereria malayi* carriers with monthly or weekly dose of Diethycarbamazine. *Ann Trop Med Parassit* 1958; 52(1): 87-92.
6. Mak JW, Navaratnam V, Ramachandran CP. Experimental chemotherapy of Lymphatic filariasis. *Ann Trop Parasitol* 1991; 85(1): 131-7.
7. Shenoy RK, George LM, John A, Suma TK, Kumaraswami V. Treatment of microfilaria in asymptomatic brugian filariasis: the efficacy and safety of the combination of single dose of ivermectin and diethylcarbamazine. *Ann Trop Med Parasit* 1998; 92(5): 579-85.
8. Addiss DG. Comparative efficacy of clearing dose and single high-dose ivermectin and diethylcarbamazine against *Wuchereria bancrofti* microfilaria. *Am J Tro Med Hyg* 1993; 48: 178-85.
9. Wharton RH. *Mansonia* mosquitoes as laboratory vectors of filariasis. The Biology of *Mansonia* mosquitoes in relation to the transmission of filariasis in Malaysia. Reprint[2nd] Malaysia; Divosion of Medical Entomology: 1978.
10. Maizals RM. and Denham DA. Diethyjcarbamazine (DEC): Immunophamacological interactions of anti-filarial drug. *Parasitology* 1992; 105: 49-60.

การประเมินผลการใช้ยา Ivermectin เพื่อควบคุมโรคเท้าช้าง ชนิด *Brugia malayi* ในแมวที่จังหวัดนราธิวาส

The assessment of Ivermectin for control *Brugia malayi* infections in domestic cats in Narathiwat province

ธีระยศ กอบอาษา วท.ม.

สุวิช ธรรมปาโล พบ., ส.ม., M.P.H.&T.M.

สุมาศ ลอยเมฆ ค.บ.

อาหยิ หะมาดุลลาห์ วท.บ.

Theerayot Kob-asa M.Sc. (Medical Parasitology)*

Suwich Thammapalo M.D., M.P.H.&T.M., Dip. Broad Prevention Medicine**

Sumart Loymak B.Ed. (Health Education)*

Ajie Hamadulla B.Sc. (Health Education)***

** สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง*

*** สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 สงขลา*

**** สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดนราธิวาส*

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิผลของยา Ivermectin ในการควบคุมโรคเท้าช้างชนิด nocturnally subperiodic *Brugia malayi* ในแมว โดยนำผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการทดสอบประสิทธิภาพของ Ivermectin ที่เป็นอนุพันธ์ของยา avermectin B1 ในกลุ่มของ macrocyclic lactone ในการกำจัดไมโครฟิลาเรียของเชื้อพยาธิเท้าช้างชนิด nocturnally subperiodic *Brugia malayi* ในแมวโดยการฉีดยาครั้งเดียวเข้าใต้ผิวหนังในขนาด 1,000 μmg/kg โดยประยุกต์ใช้ในภาคสนาม หมู่ที่ 5 ต.ปูโย๊ะ อ.สุไหงโก-ลก และ หมู่ที่ 5 ต.สุไหงปาดี อ.สุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส ในแมวขึ้นทะเบียนจำนวน 79 ตัว ดำเนินการตรวจโลหิตหนาที่ย้อมด้วยสียิมซ่าเพื่อตรวจหาไมโครฟิลาเรียในแมวทุกตัว ตรวจพบเชื้อชนิด *B. malayi* จำนวน 10 ตัว (12.66%) แมวทุกตัวจะได้รับการฉีดยา Ivermectin และติดตามประเมินผลต่อการควบคุมจำนวนไมโครฟิลาเรียของเชื้อชนิด *B. malayi* พบว่ายังมีอัตราการตรวจพบไมโครฟิลาเรีย ร้อยละ 1.2, 3.8 และ 7.59 หลังการให้ยาวันที่ 60, 120 และ 180 วัน ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมากกับการศึกษาประสิทธิภาพของยาในระบบปิดของห้องปฏิบัติการ สามารถลดความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียร้อยละ 99 นาน 600 วัน ส่วนสาเหตุอัตราการตรวจพบเชื้อสูงในภาคสนามอาจจะเป็นผลมาจากความผิดพลาดในการฉีดยา การติดเชื้อตั้งแต่ก่อนและหลังการให้ยา หรืออาจจะมีรังโรคในสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในพื้นที่นอกจากคนและแมว ควรมีการจัดทำมาตรฐานควบคุม กำกับ การให้ยา Ivermectin ในแมว และการศึกษารังโรคเท้าช้างในสัตว์อื่นๆ ของเชื้อชนิด *B. malayi*

บทนำ

รังโรคเท้าช้างในแมว Lymphatic filariasis ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *B. malayi* ยังคงเป็นปัญหาโรคติดต่ออยู่ในหลายพื้นที่ของจังหวัดนราธิวาส เป็นรังโรคไม่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพ และเชื้อสามารถแพร่กลับมาสู่คนได้ ส่วนประเทศไทยทำการศึกษาเฉพาะในแมว ซึ่งได้ดำเนินการสำรวจโรคเท้าช้างในคนควบคู่กับแมว และในปี พ.ศ. 2538 ได้ทำการสำรวจครั้งใหญ่ในแมวจำนวนมากในเขตพื้นที่ 5 อำเภอ ของจังหวัดนราธิวาส จำนวน 2,515 ตัว โดยอัตราการตรวจเชื้อ *Brugia* spp. ร้อยละ 4.13 *Dirofilaria repens* ร้อยละ 3.02 และ *Dirofilaria immitis* ร้อยละ 0.22 และในการสำรวจในปี พ.ศ. 2544 อัตราการพบเชื้อ *B. malayi* ในแมวสูงขึ้นถึงร้อยละ 7 และยังไม่มีมาตรการรักษาที่เหมาะสม ภายหลังในปี พ.ศ. 2546 ได้มีศึกษาประสิทธิผลของการให้ยา Ivermectin มาควบคุมโรคเท้าช้างชนิด nocturnally subperiodic *B. malayi* ในแมวในห้องปฏิบัติการพบว่า การฉีดยาเข้าผิวหนังครั้งเดียวในขนาด 1,000 μmg/kg สามารถลดจำนวนไมโครฟิลาเรียในแมวที่ติดเชื้อลงร้อยละ 99 หลังการฉีดยา 150 วัน และระดับความหนาแน่นที่ลดลงยังคงระดับเดิมอยู่ 600 วัน โดยไม่สังเกตพบอาการข้างเคียงของแมวหลังการฉีดยา จากข้อมูลบ่งชี้ชัดว่ายา Ivermectin สามารถยับยั้งการแพร่โรค จึงได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคเท้าช้างชนิด *B. malayi* ร่วมกับการควบคุมโรคเท้าช้างในคนเป็นครั้ง แรกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2547 อย่างไรก็ตามสมควรที่ต้องมีการประเมินผลการใช้ยา Ivermectin ในภาคสนาม

วิธีดำเนินการ

1. คัดเลือกหมู่บ้านที่มีอัตราการตรวจเชื้อ *B. malayi* ในแมว สูงสุดเป็นอันดับที่ 1 และ 2 ของ จ.นราธิวาส ได้แก่ หมู่ที่ 5 ต. ปูโย๊ะ อ. สุไหงโก-ลก และ หมู่ที่ 5 ต. สุไหงปาดี อ. สุไหงปาดี จ. นราธิวาส

2. ดำเนินการสำรวจโรคเท้าช้างในแมวและจัดทำทะเบียนแมวที่เจาะเลือดทุกตัว ต้องระบุลักษณะที่สำคัญของแมว เช่น สี เพศ อายุ ชื่อเจ้าของแมว เจาะเลือดที่ใบหูแมวเพื่อทำฟิล์มเลือดหนาและย้อมด้วยสียิมซ่า 1:20 เป็นเวลา 10 นาที และนำมาทำการตรวจสอบหาไมโครฟิลาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า โดยเจ้าหน้าที่ปฏิบัติการของโครงการงานควบคุมปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข จำนวน 2 คน และกลุ่มงานเท้าช้าง กรมควบคุมโรคจำนวน 1 คน และนำมาหาค่าเฉลี่ย

3. หลังจากเจาะเลือดแล้วแมวทุกตัวต้องได้รับการฉีดยา Ivermectin ในขนาด 1,000 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนังครั้งเดียว

4. ติดตามความเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของการตรวจพบไมโครฟิลาเรียของแมวทุกตัวหลังการฉีดยาโดยการเจาะเลือดในวันที่ 60, 120 และ 180 วัน

5. สรุปและวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการศึกษา

จากผลการสำรวจเจาะโลหิตแมวในพื้นที่หมู่ที่ 5 ต. ปูโย๊ะ อ. สุไหงโก-ลก และ หมู่ที่ 5 ต. สุไหงปาดี อ. สุไหงปาดี จ. นราธิวาส เจาะโลหิตแมวทั้งหมดจำนวน 79 ตัว ตรวจพบไมโครฟิลาเรียจำนวน 15 ตัว จำแนกตามชนิดเชื้อคือ *B. malayi* จำนวน 9 ตัว (ร้อยละ11.39) เชื้อ *Dirofilaria repens* จำนวน 5 ตัว (ร้อยละ 6.33) และติดเชื้อ 2 ชนิดคือ *B. malayi* และ *D. repens* จำนวน 1 ตัว (ร้อยละ 1.27) รายละเอียด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลตรวจหาไมโครฟิลาเรียในแมวที่อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส

พื้นที่	**จำนวนแมวเจาะโลหิต (ตัว)**	**จำนวนแมวที่ตรวจพบเชื้อ (ตัว)**		
		B. malayi	***D. repens***	***B. malayi* + *D. repens***
ม.5 ปูโย๊ะ	36	4(11.11%)	3(8.33%)	0
ม.5 สุไหงปาดี	43	5(11.63%)	2(4.65%)	1(2.33%)
รวม	79	9(11.39%)	5(6.33%)	1(1.27%)

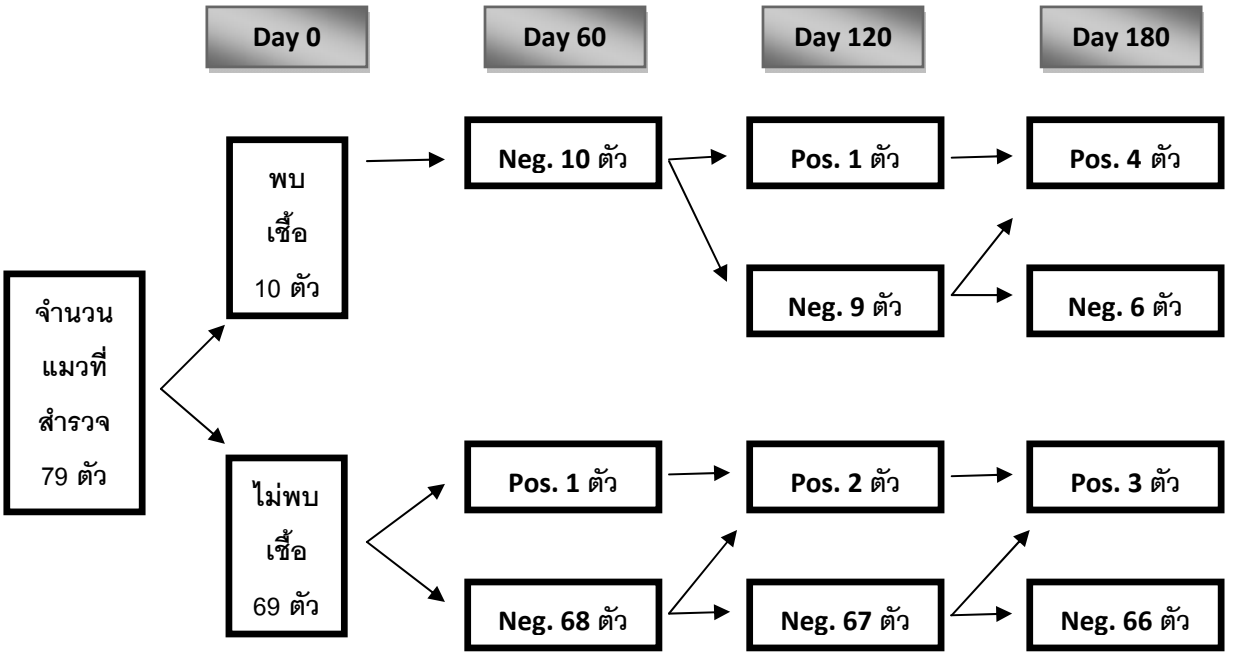
การติดตามประเมินผลการใช้ยา Ivermectin ในภาคสนามในแมวจำนวน 79 ตัว ที่ตรวจพบไมโครฟิลาเรียของเชื้อชนิด *B. malayi* จำนวน 10 ตัว (12.66%) และแมวทุกตัวจะได้รับการฉีดยา Ivermectin เข้าใต้ผิวหนังในขนาด 1,000 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมและติดตามประเมินผลต่อการควบคุมจำนวนไมโครฟิลาเรียของเชื้อชนิด *B. malayi* โดยการตรวจโลหิตหนาที่ย้อมด้วยสียิมซ่า เพื่อตรวจหาไมโครฟิลาเรียในแมวทุกตัวหลังการให้ยาวันที่ 60, 120 และ 180 วัน โดยอัตราการตรวจพบเชื้อร้อยละ 1.2, 3.8 และ 7.59 ตามลำดับ ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียลดลงอย่างรวดเร็วใน 60 วันแรกหลังให้ จากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ รายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การประเมินผลของยา Ivermectin ในการกำจัดไมโครฟิลาเรียชนิด *B. malayi* ในแมว

	ผลการตรวจพบไมโครฟิลาเรียชนิด *B. malayi* ในแมวหลังการให้ยา Ivermectin			
	ก่อนการให้ยา	**หลังการให้ยา**		
		60 วัน	120 วัน	180 วัน
จำนวนแมวที่ตรวจพบเชื้อ (%)	10(12.66%)	1(1.2%)	3(3.8%)	7(7.59%)
ความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียต่อ 60 ลบ.มม.	21	1	2	5

เมื่อทำการจำแนกประเภทของแมวที่ตรวจพบไมโครฟิลาเรียของชนิด *B. malayi* จำนวน 10 ตัว พบว่าหลังการให้ยาวันที่ 60, 120 และ 180 วัน โดยอัตราการตรวจพบเชื้อเท่ากับ 0, 1(10%) และ 4(40%) ตามลำดับ และในกลุ่มแมวที่ไม่พบไมโครฟิลาเรียของชนิด *B. malayi* จำนวน 69 ตัว ก่อนการให้ยาในการติดตามผลหลังการให้ยาวันที่ 60, 120 และ 180 วัน โดยอัตราการตรวจพบไมโครฟิลาเรียของชนิด *B. malayi* เท่ากับ 1(1.45%) 2(2.9%) และ 3(4.35%) ตามลำดับ รายละเอียดดังภาพที่ 1

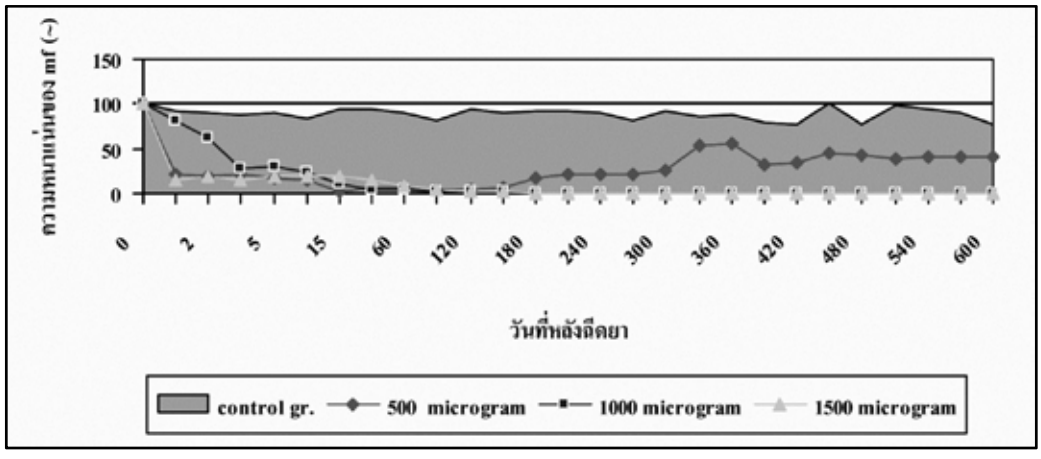
ภาพที่ 1 การติดตามผลยา Ivermectin ในการควบคุมไมโครฟิลาเรียของชนิด B. malayi ในแมว



วิจารณ์

การติดตามประเมินผลใช้ยา Ivermectin เพียงแค่ตัดวงจรการแพร่ชนิด *B. malayi* ในแมว เนื่องจากยามีผลในการกำจัดไมโครฟิลาเรีย แต่ผลของยานี้ต่อพยาธิตัวแก่ยังไม่ชัดเจน ซึ่งผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการสามารถลดจำนวนไมโครฟิลาเรียในแมวที่ติดเชื้อลง ร้อยละ 80, 90 และ 99 หลังการฉีดยา 15, 60 และ 150 วัน ตามลำดับ และระดับความหนาแน่นที่ลดลงยังคงระดับเดิมอยู่ 600 วัน โดยไม่สังเกตพบอาการข้างเคียงของแมวหลังการฉีดยา จากข้อมูลบ่งชี้ชัดว่ายา Ivermectin สามารถยับยั้งการแพร่โรค รายละเอียดดังภาพที่ 2

ภาพที่ 2 เปรียบเทียบผลการให้ยา Ivermectin ขนาด 500, 100 และ 1,500 ไมโครกรัม



ในกลุ่มของแมวที่พบเชื้อชนิด *B. malayi* และภายหลังการให้ยาวันที่ 120 และ 180 วันก็ยังพบเชื้อและอัตราการตรวจพบเชื้อสูงถึง 1(10%) และ 4(40%) ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมากกับการศึกษาประสิทธิภาพของยานี้ที่ระบบปิดในห้องปฏิบัติการสามารถป้องกันการติดเชื้อ ส่วนสาเหตุอัตราการตรวจพบเชื้อสูงในภาคสนามหลังการฉีดยาแก่แมวทุกตัว น่าจะเป็นผลมาจากความผิดพลาดในการฉีดยาที่อาจจะเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ การคำนวณปริมาณยา วิธีการฉีด ในแมวที่ตรวจไม่พบไมโครฟิลาเรียของชนิด *B. malayi* ก่อนได้รับยา และพบเชื้อภายหลังให้ยาระหว่างการติดตามผล 180 วัน อาจเป็นการติดเชื้อก่อนการให้ยา เพราะเชื้อระยะฟักตัวยาวนานถึง 3-6 เดือน ซึ่งยา Ivermectin นั้นจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายและขับออกจากร่างกายแมวภายใน 48 ชั่วโมง เมื่อยาหมดประสิทธิภาพแมวก็สามารถติดเชื้อใหม่ได้เช่นกัน

ประเด็นสำคัญที่ต้องพิจารณาคือ ที่มาของแหล่งแพร่เชื้อชนิด *B. malayi* ทั้งที่ในพื้นที่ศึกษาเป็นพื้นที่ควบคุม มีการจ่ายยารักษากลุ่มแก่ประชาชนทุกคน ยกเว้นหญิงตั้งครรภ์ เด็กอายุต่ำกว่า 2 ปี และผู้ป่วยที่มีสุขภาพอ่อนแอ โดยใช้ยา Diethylcabamazine citrate (DEC) ขนาด 50 mg และขนาด 300 mg ร่วมกับ Albendazole (ALB) ขนาด 400 mg (โดยจ่ายตามกลุ่มอายุคือ อายุ 2-3 ปี จ่าย DEC ขนาด 50 mg 1 เม็ด ALB ขนาด 400 mg 1 เม็ด อายุ 4-8 ปี จ่าย DEC ขนาด 50 mg 2 เม็ด ALB ขนาด 400 mg 1 เม็ด อายุ 9-14 ปี จ่าย DEC ขนาด 50 mg 4 เม็ด ALB ขนาด 400 mg 1 เม็ด อายุ 15 ปีขึ้นไป จ่าย DEC ขนาด 300 mg 1 เม็ด ALB ขนาด 400 mg 1 เม็ด) และมีการใช้ยา Ivermectin ในแมว ความครอบคลุมในการได้รับมากกว่าร้อยละ 95 แต่ยังพบว่าการติดเชื้อใหม่ สาเหตุอาจจะมีรังโรคในสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในพื้นที่ นอกจากคนและแมว

ข้อเสนอ

1. ควรมีการจัดทำมาตรฐาน ควบคุม กำกับ การให้ยา Ivermectin ในแมว
2. การศึกษารังโรคเท้าช้างในสัตว์อื่นของเชื้อชนิด *B. malayi*

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ศึกษาวิจัยขอขอบคุณ ผู้ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือจนทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี อันได้แก่ เจ้าหน้าที่ในสำนักงานโครงการงานปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ. รายงานประจำปี 2547. กรุงเทพ; ชุมนุมสหกรณ์การเกษตร: 2548.

Mak JW, Yen PK, Lim KC, Et al. Zoonotic implications of doc and cats n filarial Transmission in Peninsular Malaysia. Trop Geogr Med 1980; 32(3): 259-264.

Masbar S, Palmieri JR, Marwoto HA, et al. Blood parasites of wild and domestic animals from south Kalimantan, Indonesia. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1981; 12(1): 42-46.

Burren CH. The behaviour of *Brugia malayi* microfilariae in experimentally infected domestic cats. Ann of Trop Med Parasitology 1972; 66(2): 253-242.

กองโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรคติดต่อ. รายงานประจำปี 2538. กรุงเทพ; ชุมนุมสหกรณ์การเกษตร: 2539.

WHO Technical report series, No. 702 (lymphatic filariasis). (fourth report of WHO expert committee on filariasis) Geneva. WHO, 1984.

Mak JW. Navaratnam V and Ramachandran CP. Experimental chemotherapy of Lymphatic filariasis. Ann Trop Parasitol 1991; 85(1): 131-137.

Edwards G, Dingsdale A, Helsby N, et al. The relative systemic availability of ivermectin after adminstration as capsule, tablet and oral solution. European J Clin Pharma 1988; 35: 681-684.

Mc Tier TL. Shanks DJ. 9. Wason P. et al. Prevention of experimentally induced heartworm (*Dirofilaria immitis* infections) in dogs and cats with a single tropical application of selamectin. Vet Parasitol 2000; 91(3-4): 259-268.

การสำรวจรังโรคเท้าช้างชนิด *Brugia malayi* ในสัตว์ที่จังหวัดนราธิวาส

"*Brugia malayi* reservoir surveillance in Narathiwat province"

ธีระยศ กอบอาษา วท.ม. **Theerayot Kob-asa M.Sc. (Medical Parasitology)***

สุมาศ ลอยเมฆ ค.บ. **Sumart Loymak B.Ed. (Health Education)***

ศิริพร ทองอารีย์ วท.ม. **Siripron Thong-aree M.Sc.** (forest biology)**

** สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง*

*** สถานีวิจัย สัตว์ป่า ป่าพรุ ป่าฮาลาบาลา*

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาข้อมูลรังโรคเท้าช้างของเชื้อชนิด *Brugia malayi* ในสัตว์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเฝ้าระวังป้องกันและควบคุมโรคเท้าช้างในพื้นที่จังหวัดนราธิวาส ผลการสำรวจเจาะโลหิตสัตว์ที่มีแนวโน้ม ในพื้นที่หมู่ที่ 5 ต. ปูโยะ อ. สุไหงโก-ลก และหมู่ที่ 5 ต. สุไหงปาดี อ. สุไหงปาดี จ. นราธิวาส เจาะโลหิตแมว 247 ตัว สุนัข 286 ตัว และลิง 129 ตัว ทั้งหมดจำนวน 662 ตัว ตรวจพบ ไมโครฟิลาเรียเชื้อ *B. malayi* ในแมวร้อยละ 4.05 ในลิงร้อยละ 3.1 และในสุนัขร้อยละ 1.05 และสัดส่วนอัตราการเข้ากัดของยุงพาหะนำโรคเท้าช้าง *(Mansonia* spp.*)* คนในบ้าน : คนนอกบ้าน : แมว : ลิง เท่ากับ 30 : 22 : 6 : 1 ตัว/คน/ชั่วโมง ยุงพาหะเข้ากัดตลอดทั้งคืน ช่วงเวลาที่ยุงเข้ากัดสูงสุด 19.00-20.00 น. ผลการสำรวจบ่งชี้ข้อมูลรังโรคใหม่ถึงในพื้นที่ ลิงและสุนัขประกอบกับยุงพาหะมีชีวนิสัยชอบกินทั้งเลือดคน แมว ลิง และสุนัข ซึ่งเป็นปัจจัยเอื้อทำให้เกิดการติดต่อจากคนสู่สัตว์หรือสัตว์สู่คนได้ดังนั้น การดำเนินการควบคุมโรคให้สำเร็จ จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการทั้งในคนและสัตว์ที่เป็นรังโรค

บทนำ

Lymphatic filariasis ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *B. malayi* ยังคงเป็นปัญหาโรคติดต่ออยู่ในหลายประเทศในเอเชีย เช่น ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซียและศรีลังกา ซึ่งเชื้อ *B. malayi* ยังมีการจำแนกตามลักษณะการปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียในกระแสโลหิตส่วนปลาย ส่วนที่พบในประเทศไทยในจังหวัดนราธิวาสเป็น *B. malayi* nocturnally subperiodic type นอกจากในหลายประเทศมีรายงานการพบเชื้อนี้ในคนแล้วยังพบในสัตว์หลายประเภท เช่น ลิง ค่างแว่น แมว หนู โดยเชื้อดังกล่าว ไม่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพในสัตว์เหล่านั้นแต่เชื้อสามารถแพร่ สู่คนผ่านทางยุง ส่วนประเทศไทยจากการสำรวจแมวที่จังหวัดนราธิวาสเมื่อปี พ.ศ. 2530 ในเขตพื้นที่ 5 อำเภอ จำนวน 2,515 ตัว ตรวจพบเชื้อ *Brugia spp.* ร้อยละ 4.13 ปี พ.ศ. 2544 ใน 9 พื้นที่ของ 2 อำเภอในจังหวัดนราธิวาสที่มีการระบาดของโรคจำนวน 293 ตัว ตรวจพบเชื้อ *B. malayi* สูงขึ้นถึงร้อยละ 8.87 (วินิจฉัยชนิดเชื้อโดย morpholometrical และการย้อมสี Acid phosphatase) และได้มีการนำยา Ivermectin มาใช้ในการควบคุมรังโรคในแมวควบคู่กับมาตรการป้องกันและรักษาในคน ทำให้อัตราการตรวจพบเชื้อ *B. malayi* ในคนลดลงเหลือเพียงร้อยละ 0.45 จากมีการควบคุมอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถทำให้เชื้อ *B. malayi*

หมดไปและพบว่าในหลายพื้นที่ยังคงตรวจพบการป่วยรายใหม่ทั้งในคนและแมว อาจมีสาเหตุมาจากความไม่ครอบคลุมของการรับประทานยารักษากลุ่มเพื่อป้องกันการแพร่เชื้อ ซึ่งหน่วยงานควบคุมโรคในพื้นที่ได้จัดกิจกรรมประชาสัมพันธ์และรณรงค์ให้ความรู้และความร่วมมือในการรับประทานยา รวมทั้งมีการประเมินเป็นระยะ หรือในพื้นที่ยังคงมีสัตว์ชนิดอื่นๆ นอกจากแมวที่เป็นรังโรค ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้เพื่อหาข้อมูลรังโรคเท้าช้างของเชื้อ *B. malayi* เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเฝ้าระวังป้องกันและควบคุมโรคเท้าช้างต่อไป

วิธีดำเนินการ

1. คัดเลือกหมู่บ้านที่มีแนวโน้มการมีรังโรคของเชื้อ *Brugia malayi* ในสัตว์ชนิดอื่นๆ จากข้อมูลอัตราป่วยในคน และแมว เช่น หมู่ที่ 5 ต. ปูโย๊ะ อ. สุไหงโก-ลก และ หมู่ที่ 5 ต. สุไหงปาดี อ. สุไหงปาดี จ. นราธิวาส

2. ดำเนินการสำรวจโรคเท้าช้างในแมว ลิง และสุนัข จัดทำทะเบียนสัตว์ที่เจาะเลือดทุกตัว ต้องระบุลักษณะที่สำคัญของสัตว์ เช่น สี เพศ อายุ ชื่อเจ้าของสัตว์และถ่ายรูป เจาะเลือด เพื่อทำฟิล์มเลือดหนาและย้อมด้วยสียิมซ่า 1:20 เป็นเวลา 10 นาที และนำมาทำ การตรวจหาไมโครฟิลาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า โดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของสำนักงานโครงการงานควบคุม ปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข จำนวน 2 คน และกลุ่มงานโรคเท้าช้าง กรมควบคุมโรค จำนวน 1 คน และนำมาหาค่าเฉลี่ย

3. เก็บข้อมูลทางกีฏวิทยา เพื่อศึกษาชีวนิสัยการเข้ากัดของยุงพาหะนำโรคกับ host

4. สรุปและวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการศึกษา

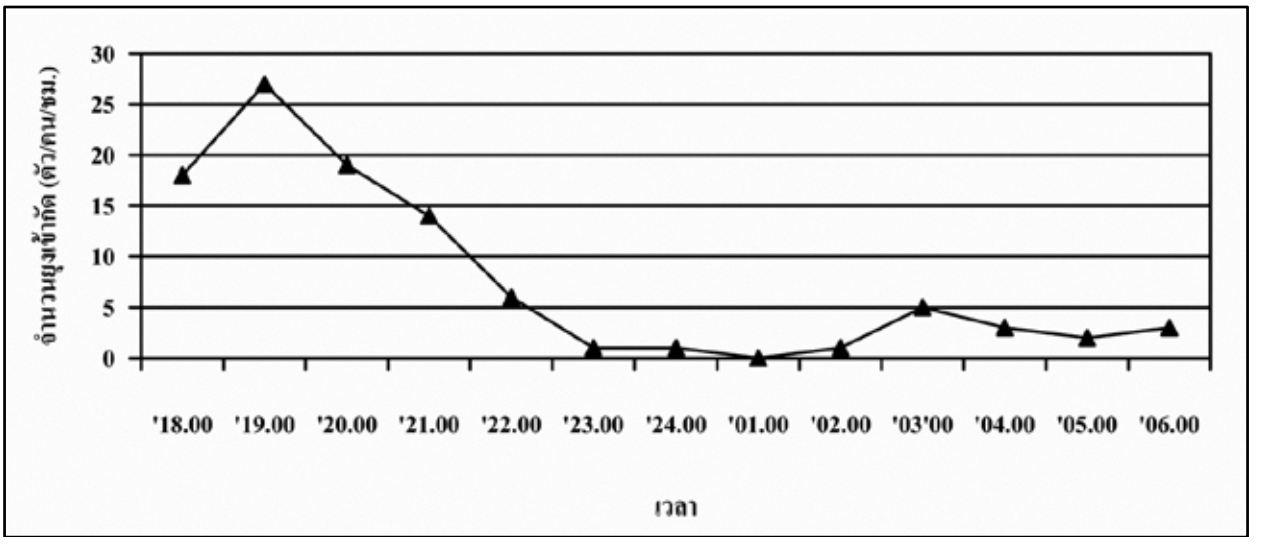
จากผลการสำรวจเจาะโลหิตสัตว์ที่มีแนวโน้ม หมู่ที่ 5 ต. ปูโย๊ะ อ. สุไหงโก-ลก และหมู่ที่ 5 ต. สุไหงปาดี อ. สุไหงปาดี จ. นราธิวาส เจาะโลหิตแมว 247 ตัว สุนัข 286 ตัว และลิง 129 ตัว ทั้งหมดจำนวน 662 ตัว ตรวจพบไมโครฟิลาเรียจำนวน 50 ตัว จำแนกตามชนิดเชื้อคือ เชื้อ *D. immitis* 27 ตัว (ร้อยละ 4.08) *B. malayi* จำนวน 14 ตัว (ร้อยละ 2.15) *D. repens* จำนวน 3 ตัว (ร้อยละ 0.45) และติดเชื้อ 2 ชนิดคือ *B. malayi* และ *D. immitis* จำนวน 3 ตัว (ร้อยละ 0.45) โดยอัตราการตรวจพบเชื้อสูงสุด *D. immitis* ในสุนัขร้อยละ 9.44 เชื้อ *B. malayi* ในแมวร้อยละ 4.05 *D. repens* ในแมวร้อยละ 1.21 และเชื้อ *B. malayi + D. immitis* ในสุนัขจำนวน ร้อยละ 1.05 รายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลตรวจหาไมโครฟิลาเรียในสัตว์ที่อำเภอสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส

พื้นที่	จำนวนเจาะโลหิต (ตัว)	จำนวนที่ตรวจพบเชื้อ (ตัว)			
		D. immitis	*D. repens*	*B. malayi*	*B. malayi + D. immitis*
สุนัข	286	27 (9.44%)	0	0	3 (1.05%)
แมว	247	0	3 (1.21%)	10 (4.05%)	0
ลิง	129	0	0	4 (3.1%)	0
รวม	**662**	**27 (4.08%)**	**3 (0.45%)**	**14 (2.15%)**	**3 (0.45%)**

ยุงพาหะนำโรคเท้าช้างที่จับได้ในเขตป่าพรุที่เป็นแหล่งแพร่โรคเท้าช้าง ส่วนมากเป็นยุงพาหะหลัก *M. boneae/dives* ร้อยละ 90 ที่เหลือเป็นยุงพาหะรอง *M. annulifera, M. annulata* ช่วงเวลาที่ยุงออกหากินสูงสุด 27 ตัว/คน/ชั่วโมง ช่วงเวลาออกหากินต่ำสุดคือ 24.00-01.00 น. ดังภาพที่ 1

ภาพที่ 1 การออกหากินของพาหะนำโรคเท้าช้าง



จำแนกอัตราการเข้ากัดของยุงตามประเภทของเหยื่อคือ คน แมว และลิง โดยคนแบ่งจุดจับยุงออกเป็น 2 ลักษณะ คือ เข้ากัดในบ้านและนอกบ้าน โดยสัดส่วนการเข้ากัด คนในบ้าน : คนนอกบ้าน : แมว: ลิง เท่ากับ 30 : 22 : 6 : 1 นำยุงที่ได้ทุกตัวมาผ่าพบตัวอ่อนพยาธิระยะ 2 ในยุง *M. boneae* ที่จับในบ้านโดยใช้คนเป็นเหยื่อล่อ ซึ่งตัวอ่อนระยะนี้ไม่สามารถจำแนกชนิดของพยาธิได้ รายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 อัตราการเข้ากัดของยุงพาหะนำโรคเท้าช้างจำแนกตามประเภทของเหยื่อ

ชนิด	จำนวนยุงพาหะ	อัตราการกัด (ตัว/คน/ชั่วโมง)	พบตัวอ่อนพยาธิ
คนในบ้าน	1,446	30	0
คนนอกบ้าน	1,098	22	ระยะ 2 ในยุง 1 ตัว
แมว	75	6	0
ลิง	13	1	0

วิจารณ์

เชื้อโรคเท้าช้างชนิด *B. malayi* nocturnally subperiodic ที่เป็นปัญหาในการควบคุมโรคที่จังหวัดนราธิวาส แม้ว่าจะดำเนินการควบคุมทั้งในคนและแมวแล้วก็ตาม แสดงถึงยังมีเหตุปัจจัยอื่นที่เอื้อต่อการแพร่เชื้อในพื้นที่ ซึ่งจากการศึกษานี้พบว่ายังมี ลิง ที่มีอัตราการตรวจพบว่าไมโครฟิลาเรียของเชื้อ *Brugia* spp. รองจากแมว และสุดท้ายเป็นสุนัข สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีอัตราการติดเชื้อที่แตกต่างกันมีชีวนิสัยที่เอื้อต่อการติดและแพร่เชื้อแตกต่างกัน นอกจากนี้ในห้องทดลองยังสามารถใช้หนูบางชนิดในการเพาะเลี้ยงพยาธิโรคเท้าช้างสำหรับใช้ในการศึกษาและการผลิตแอนติเจนในงานวิจัย ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่อาจมีสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่มีความเหมาะสมที่จะเป็นแหล่งเพาะพันธุ์เชื้อ แต่ยังไม่มีการสำรวจพบ

ช่วงเวลาการออกหากินของยุงพาหะในการศึกษานี้ไม่แตกต่างกันนักกับการศึกษาที่ผ่านมา แต่ในปัจจุบันผลจากการบุกรุกพื้นที่ป่าพรุที่เป็นแหล่งยุงพาหะนำโรคเท้าช้างขนาดใหญ่ เพื่อทำสวนยางพาราและที่อยู่อาศัยเป็นการนำสมาชิกทุกคนเข้าอาศัยในพื้นที่ขอบพรุอันเป็นแหล่งแพร่โรค จากรายงานผู้ป่วยรายใหม่ที่พบในช่วงปี พ.ศ. 2544-2548 ส่วนใหญ่เป็นเด็ก อายุต่ำกว่า 12 ปี อายุน้อยที่สุด 1 ปี 8 เดือน การติดเชื้อน่าจะเกิดในบ้านหรือบริเวณบ้านใกล้ป่าพรุมากกว่าการติดเชื้อจากการประกอบอาชีพ สอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่ายุงพาหะชอบกินเลือดคนมากกว่าเลือดสัตว์ และอัตราการเข้ากัดในบ้านมากกว่านอกบ้านโดยออกหากินสูงสุดในช่วงเวลา 18.00-20.00 น. ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่สมาชิกในครอบครัวทำกิจกรรมร่วมกันและเด็กๆ มักขาดการระวังป้องกันยุงกัด แต่เดิมนั้นผู้ป่วยส่วนใหญ่จะเป็นชายมากกว่าหญิง มักเป็นวัยทำงานอายุช่วง 15-24 ปี และอาชีพทำสวนยางพาราหาปลาหรือเก็บผลิตผลจากป่าพรุ ชาวบ้านที่มีกิจกรรมหรืออาชีพใกล้หรือในป่าพรุจึงเสี่ยงต่อการติดเชื้อมากกว่ากลุ่มอื่นๆ

ผลการสำรวจบ่งชี้ข้อมูลรังโรคใหม่ในพื้นที่ คือ ลิงและสุนัข ประกอบกับยุงพาหะมีชีวนิสัยชอบกินเลือดทั้งคน แมว ลิงและสุนัข ซึ่งเป็นปัจจัยเอื้อทำให้เกิดการติดต่อระหว่างคนกับสัตว์ได้ การดำเนินการควบคุมโรคให้สำเร็จมีความจำเป็นต้องดำเนินการทั้งในคนและสัตว์ที่เป็นรังโรคและการสำรวจรังโรคเท้าช้างชนิด *B. malayi* ในสัตว์ควรดำเนินการต่อไป เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนควบคุมโรค

ข้อเสนอ

การสำรวจและควบคุมรังโรคเท้าช้างของเชื้อชนิด *B. malayi* มีความจำเป็นต้องใช้เจ้าหน้าที่ที่มีทักษะอย่างมาก เพื่อป้องกันการถูกกัดและการติดเชื้อ โดยเฉพาะโรคกลัวน้ำ สมควรขอความอนุเคราะห์จากหน่วยงานที่มีความชำนาญ เช่น ปศุสัตว์ ในการดำเนินงานควบคู่การดำเนินการเฝ้าระวังป้องกันควบคุมโรคเท้าช้างในคนของกระทรวงสาธารณสุข

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ศึกษาวิจัยขอขอบคุณ ผู้ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือจนทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี อันได้แก่ เจ้าหน้าที่ในสำนักงานโครงการงานปราบปรามโรคติดต่อและการสาธารณสุข ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงที่ 12.4 และเจ้าหน้าที่สถานีวิจัย สัตว์ป่า ป่าพรุ ป่าฮาลาบาลา จังหวัดนราธิวาส ทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

Division of Filariasis, Department of Diseases Control, Ministry of Public Health 2003: 1-33.

Phantana S., Sensathien S. and Choomphon S. Microfilaria in cats in Narathiwat, Southern Thailand. Com Dis J 1995; 21: 107-13.

Kanjanopas K., Choochote W., Jitpakdi A., et al. *Brugia malayi* in naturally infected cat from Narathiwat province, southern Thailand. Southeast Asia J Trop Med Public 2001; 585-7.

Mak JW, Yen PK, Lim KC, et al. Zoonotic implications of dog and cats in filarial Transmission in Peninsular Malasia. Trop Geogr Med 1980; 32(3): 259-264.

Masbar S, Palmieri JR, Marwoto HA, et al. Blood parasites of wild and domestic animals From south Kalimantan. Indonesia. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1981; 12(1): 42-46.

Burren CH. The behaviour of *Brugia malayi* microfilariae in experimentally infected domestic cats. Ann of Trop Med Parasitology 1972; 66(2): 253-242.

World Health Organization. Lymphatic filariasis: the disease and its control. Fifth report of the WHO Expert Committee on Filariasis. World health Organ Tech Rep Ser 1992; 821: 1-17.

เอกสารอ้างอิง

(งานวิจัยโรคเท้าช้างที่ตีพิมพ์ภาษาไทย)

1. ฉันทกร ชุติดำรง และ กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ. การศึกษาหายุงพาหะที่มีตัวอ่อนพยาธิโรคฟิลาเรียในท้องที่ มีอัตราการระบาดของโรคสูงกว่า 1%. (เอกสารอัดสำเนา)
2. กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ, หมัดโสด อัครเดชาวุฒิ, มานิต ดำรงวุฒิ, ถาวร ดุลย์เภรี, สะมะแอ บือราเอง และสุนทร ขำเอี่ยม. การศึกษาชีวนิสัยของยุงแมนโซเนีย ในจังหวัดนราธิวาส. (เอกสารอัดสำเนา)
3. ฉันทกร ชุติดำรง และ ศิริชัย พรรณธนะ. การศึกษาการปรากฏตัวของพยาธิไมโครฟิลาเรีย. วารสารโรคติดต่อ 2529; 12(3): 227-30.
4. บัณฑิต ชุณหสวัสติกุล, จีระพัฒน์ เกตุแก้ว และ พิษณุวัฒน์ พานารถ. พื้นที่พรุกับการเกิดและแพร่ระบาดของโรคฟิลาเรีย. วารสารโรคติดต่อ 2532; 15: 23-7.
5. วัลลภ ชูสัตยานนท์, ธนพันธ์ ปัทมานนท์, อารยา ธรรมครองอาตม์, และ โกศล รุ่งเรืองชัย. การพิสูจน์ชนิดของเลือดในยุง จากแหล่งระบาดของ *Brugia malayi* ในภาคใต้ของประเทศไทย. (เอกสารอัดสำเนา)
6. ศิริชัย พรรณธนะ. ความชุกชุมของพยาธิ บรูเกีย มาลาไย และบรูเกีย ปาหังไก ในสัตว์ (แมว) ในแหล่งชุกชุมโรคฟิลาเรีย จังหวัดนราธิวาส ประเทศไทย. (เอกสารอัดสำเนา)
7. ศิริชัย พรรณธนะ, สาลินี เซ็นเสถียร และ สุรพงษ์ ชุมพล. การสำรวจพยาธิไมโครฟิลาเรียในแมวในจังหวัดนราธิวาส. วารสารโรคติดต่อ 2538; 21(2): 107-13.
8. กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ. ประสิทธิภาพการควบคุมโรคเท้าช้างในพื้นที่จังหวัดนราธิวาส ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2517-2543 (ก่อนเริ่มเข้าโครงการกำจัดโรคเท้าช้าง). (เอกสารอัดสำเนา)
9. ธีระยศ กอบอาษา และ สุมาศ ลอยเมฆ. การปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียชนิด *Brugia malayi* ในแมวที่จังหวัดนราธิวาส. วารสารมาลาเรีย 2545; 38(3): 75-81.
10. ชูวีวรรณ จิระอมรนิมิต, สุมาศ ลอยเมฆ, มนัสวี อดุลยรัตน์, ขวัญตา บาลทิพย์, บุษบง เจาฑานนท์, แสงจันทรา เรือนทองดี. ปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการดูแลตนเองของผู้ป่วยโรคเท้าช้าง ในตำบลสุไหงปาดี จังหวัดนราธิวาส. วารสารควบคุมโรค 2546; 29(1): 61-9.
11. กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ, สุวิช ธรรมปาโล และ สุมาศ ลอยเมฆ. การศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจด้วยเทคนิค PCR เปรียบเทียบกับวิธีการผ่ายุงในการตรวจหาพยาธิฟิลาเรียในยุงที่จับได้ในภาคสนาม. วารสารอายุรศาสตร์เขตร้อนและปาราสิตวิทยา 2545; 25(2): 71-81.
12. ธีระยศ กอบอาษา และ สุวิช ธรรมปาโล. ประสิทธิภาพ Diethylcarbamazine citrate และ Albendazole ต่อ *Brugia malayi*. วารสารโรคติดต่อนำโดยแมลง 2547; 1(2): 1-9.
13. ธีระยศ กอบอาษา, สุวิช ธรรมปาโล, สุมาศ ลอยเมฆ และ อาหยิ หะมาดุลลาห์. การประเมินผลการใช้ยา Ivermectin เพื่อควบคุมโรคเท้าช้าง ชนิด *Brugia malayi* ในแมวที่จังหวัดนราธิวาส. การประชุมวิจัยโรคติดต่อนำโดยแมลงระดับชาติ ครั้งที่ 1 วันที่ 28-30 มิถุนายน พ.ศ. 2547 ณ โรงแรมเชียงใหม่ภูคำ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่.

14. ธีระยศ กอบอาษา, สุมาศ ลอยเมฆ และ ศิริพร ทองอารีย์. การสำรวจรังโรคเท้าช้างชนิด *Brugia malayi* ในสัตว์ที่จังหวัดนราธิวาส. การประชุมวิชาการ 25 ปี พิกุลทอง ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง อันเนื่องมาจากพระราชดำริ 2550.

งานวิจัยโรคเท้าช้างที่ตีพิมพ์ภาษาอังกฤษ

(ค.ศ. 1953-2015)

FILARIASIS IN THAILAND*

M. O. T. IYENGAR, D.Sc.

WHO Filariasis Consultant

Manuscript received in July 1953

SYNOPSIS

Endemic filariasis in Thailand is restricted to the flat, low-lying, rural areas in the eastern coastal belt of peninsular Thailand. A large number of villages was surveyed, and 4,112 persons were examined, of whom 863 were found to be positive for microfilariae in the peripheral blood and 215 to have filarial disease. The chief manifestation was elephantiasis of the leg, which was sometimes associated with elephantiasis of the arm. The causative organism of endemic filariasis in Thailand is *Wuchereria malayi*.

Nine species of mosquito (four of *Mansonia* and five of *Anopleles*) are vectors of *W. malayi* infection in Thailand. They are found naturally infected with the larval stages of *W. malayi,* the infection rates in the different vector species ranging between 3% and 17%. These mosquitos occur in large number and breed in the extensive marshes in the vicinity of the villages.

The author discusses the feasibility of different measures for the control of filariasis. Under the conditions prevailing in the endemic areas of Thailand, the author considers that halting transmission by spraying dwellings with residual insecticides would be feasible as well as economical. This method was tried experimentally in a restricted area, and it was found that spraying all dwellings on a village with DDT, in a dosage of 170 mg per square foot (approximately 1.8 g per m^2), effectively controlled the transmission of filarial infection and considerably lowered the incidence of vector mosquitos.

*A report on filariasis in the Maldive Islands, prepared by the same author, appeared in *Bull. Wld Hlth Org*. 1952, 7, 375.

Filariasis is an important public-health problem in Thailand. At the request of the Government of Thailand, the World Health Organization provided the services of a consultant on a short-term assignment to investigate the filariasis problem in Thailand and to suggest suitable methods for the control of the disease. The author was appointed as the WHO Filariasis Consultant and, with the assistance of Dr. M. I. Mathew and Mr. M. A. U. Menon, carried out investigations from November 1951 to February 1952 in southern Thailand.

Topography of Thailand

Thailand may be roughly divided into five regions (see fig. 1), as follows:

1. A typically hilly country in the north, situated between the Tenasserim range in the west and the eastern range of mountains. This region is traversed by three small mountain ranges, which divide it into four watersheds, those of the rivers Ping, Wang, Yom, and Nan, all of which flow in a southerly direction.

2. The central alluvial region which is low-lying and flat. This area is largely deltaic in character, with a feeble gradient and a high water-table. During the rainy season, the volume of water coming down from the hilly region into this flat area is considerable, and in consequence the rivers spill over their banks, causing extensive flooding.

3. An undulating dry plateau region to the north-west, with low rainfall and a few relatively small rivers, which flow in an casterly direction to the Indo-China border.

4. South-east Thailand at the head of the Gulf of Siam; this region is densely forested.

5. Peninsular Thailand, consisting of a narrow strip of land situated between the Indian Ocean on the west and the South China Sea on the east.

General Description of Peninsular Thailand

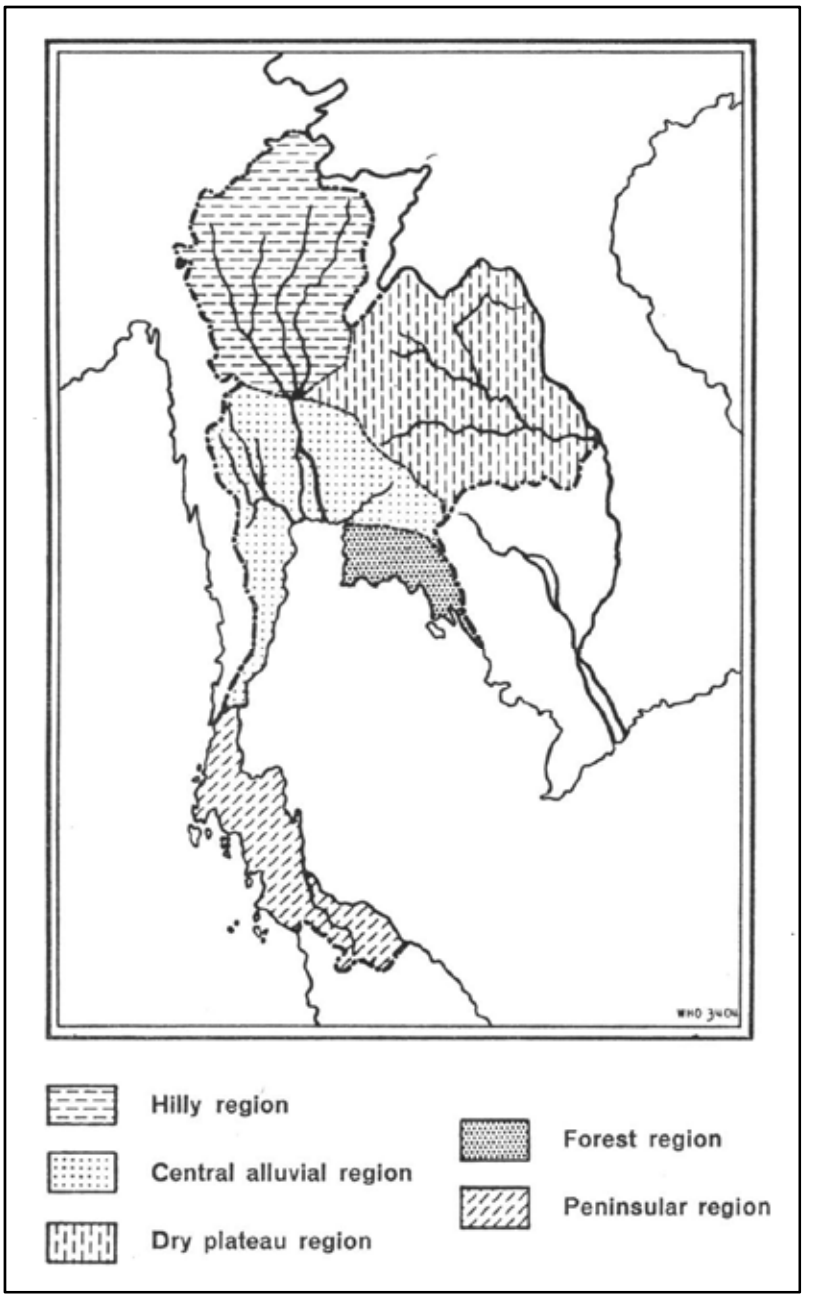
Filariasis is restricted in its distribution to the peninsular region of Thailand, and very largely to the eastern coastal area of that region, which is described here in some detail, with special reference to conditions prevailing in the eastern coastal area.

Topography

Peninsular Thailand, which extends from latitude 12°N to latitude 5°30'N, is a long, narrow strip of land, about 750 km in length and from 15 to 200 km in width. Along its western border runs the Tenasserim range, which terminates near the island of Phuket in the Indian Ocean. To the north-east of this point starts a smaller range, the Nakhon range, which, continuing southwards through Phathalung province, joins the main ridge of the Malayan peninsula.

The western part of peninsular Thailand is hilly and undulating. In the eastern part there is a preponderance of wide alluvial plains, intersected by numerous rivers which, originating in the uplands, flow into the South China Sea. There are three large coastal plains in this area: (1) the eastern part of the province of Suratthani, a considerable part of which is covered with dense rain-forests; (2) the extensive coastal plain to the east of the Nakhon range, the Nakhon plain, with a large, in land, brackish lake, the Thale Sap; and (3) the coastal plain of Pattani and Narathiwat, which is largely sandy.

FIG. 1. MAP OF THAILAND SHOWING MAIN TOPOGRAPHICAL REGIONS



Climate and meteorology

Peninsular Thailand, which is placed between two great oceans, has what may be termed a "tropical-marine" climate. The temperature is uniformly high and there is no cold season. The range of temperature between the warmest and coldest months is small. Atmospheric humidity is high throughout the year. Rainfall is heavy, and the rainy season extends over about nine months of the year, with two peaks of heavy precipitation. The rains are derived from the south-west monsoon (April to June) as well as from the north-east monsoon (October to December). During the other months of the year, local showers of short duration are not infrequent, so that there is no distinct dry season. The three months January to March may be considered the comparatively dry period of the year.

Rainfall is heavier in the western part of the peninsula than in the eastern strip. While the former gets the major part of its rainfall from the south-west monsoon, the latter derives its rain mainly from the north-east monsoon. The annual rainfall in the eastern coastal region of the peninsula ranges from 1,800 mm to 3,000 mm.

The mean meteorological data, covering the four years 1939-42, for Suratthani and Songkhla, two stations in the eastern coastal region, are presented in table I.

In short, southern Thailand is characterized by a uniformly high temperature, absence of a marked cold season, high atmospheric humidity, two rainy seasons, rainfall well distributed throughout the year, and no marked dry season.

Population

Southern Thailand is very sparsely populated, the average density of population, taking the area as a whole, being under 100 per square mile (39 per km^2). Suratthani province has a population density of less than 50 per square mile (20 per km^2). The southern provinces bordering on Malaya have a higher density; in Pattani, the average population density is 265 per square mile (102 per km^2). The area is typically rural in character, with only a few small market towns. The vast majority of the population, well over 90% in southern Thailand, live in rural villages. Many of the so-called towns are not urban in character. The people are largely Thais (Buddhists), with a small proportion of Chinese in the towns. In the extreme southern part of peninsular Thailand, in the area to the south of the latitude of Songkhla, there occurs a fair proportion of Malays who follow the Islamic religion.

TABLE 1. METEOROLOGICAL DATA FOR SURATTHANI AND SONGKHLA SOUTHERN THAILAND*

Month	Rainfall (mm)	Number of rainy days	Relative humidity (%)	Maximum temperature (˚C)	Minimum temperature (˚C)
Suratthani					
January	49.2	8.0	81.1	25.2	17.9
February	16.5	2.5	76.0	25.8	18.0
March	18.5	3.0	77.9	27.0	17.7
April	108.6	9.5	78.8	29.8	21.7
May	231.0	18.0	83.8	28.8	21.9
June	138.6	18.0	84.0	29.3	22.6
July	93.4	15.8	81.4	28.8	22.1
August	152.4	14.8	81.7	28.5	22.0
September	168.6	8.8	83.5	28.9	21.3
October	248.1	17.5	88.8	28.5	21.7
November	273.2	22.5	89.5	24.9	21.6
December	206.3	15.3	85.5	26.0	19.8
Songkhla					
January	225.3	16.0	79.2	31.5	22.6
February	41.5	6.5	76.0	32.6	22.4
March	45.9	5.5	77.0	34.6	23.5
Aprill	114.1	8.5	77.9	36.3	24.4
May	120.6	17.8	77.4	36.1	24.7
June	114.5	13.3	76.9	36.5	24.1
July	37.4	10.8	74.3	36.2	23.9
August	54.1	13.8	73.1	36.4	23.7
September	80.5	15.8	76.5	35.9	23.3
October	243.1	21.8	81.5	33.2	23.6
November	690.3	26.3	86.5	34.0	22.9
December	635.9	20.5	83.3	32.1	22.5

*Averages for the four-year period 1939-42

Administrative division and conditions in villages

There are fifteen provinces in peninsular Thailand. Each province is divided into a number of districts, and each district into a number of cantons. A canton is a group of villages, their number ranging between 3 and 12 and averaging 6 per canton. The villages have populations of generally less than 500. The dwellings are well separated from one another, so that a village often covers a large area, sometimes 3-4 km in length and 1-2 km in width. The land in the eastern coastal area is flat and low-lying and is subject to flooding during the rains. The villages are usually placed on the more elevated parts of flat plains or along the river banks. The approaches to the villages as well as the lower ground within the villages are flooded during heavy rains. The riverine villages are often backed by extensive marshes. The houses are raised on wooden piles; the flooring, which is made of wooden planks or split bamboo, is four to five feet (1.20-1.50 m) above ground-level. The principal occupations of the people are agriculture, coconut farming, fishing, pig farming and those connected with rubber plantations and tin-mines.

Vegetation and fauna

Areas not under cultivation are densely wooded, the vegetation being of the type of tropical rain-forests. In the plains, wild animals are few; but the marshes and streams are often infested with crocodiles, and the land is heavily infested with snakes, many of which are highly poisonous.

Travel facilities

Travel facilities are poor: there are few roads, and most of them are in poor condition, while during the rainy months they are often flooded over in many areas. The only means of travel is by small canoes or on foot.

Previous Investigations into Prevalence of Filariasis

No full investigation of the filariasis problem in Thailand had previously been made, but the available information indicated that the occurrence of filariasis was restricted to peninsular Thailand. During 1949-50, the Public Health Department of Thailand called for statements from headmen of cantons regarding cases of elephantiasis occurring in the areas under their control. The data compiled from these statements are presented in Annex I and give a rough indication of the areas affected with filariasis. Of the fifteen provinces constituting peninsular Thailand, cases of elephantiasis were reported from ten-namely, Pattani, Narathiwat, Phathalung, Nakhon-Srithamrat, Suratthani, Chumphon, Yala, Krabi, Trang, and Ranong. Quite large numbers of cases of elephantiasis were reported from the six provinces along the east coast of the peninsula a namely, Pattani,

Narathiwat, Phathalung, Suratthani, Nakhon-Srithamrat, and Chumphon, The province of Nakhon-Srithamrat heads the list with 1,246 cases, followed by Pattani with 603 cases. As regards the four provinces of Yala, Trang, Krabi, and Ranong, which are not in the eastern coastal area, only small numbers of cases were reported, and it seems likely that they were either sporadic cases or cases imported from endemic zones outside these provinces.

In the six provinces of the eastern coastal area, the different districts with a gross elephantiasis rate of 0.1% or more were the following:

Pattani province:	districts of Panarae, Yaring, Yarung, Muang, Nong-chig, and Ma-yau
Narathiwat province:	districts of Muang, Takbai, and Yeengoh
Phathalung province:	districts of Kuan-kanoon and Muang
Nakhon-Srithamrat province:	districts of Chien-yai, Ronpibul, and Muang
Suratthani province:	districts of Kanchanadit, Pun-pin, and Ban Nasarn
Chumphon province:	districts of Langsuan and Muang

It does not always happen that an entire district is affected; in many districts, only some of the cantons are affected, while others remain free or have only a small number of cases. Cantonal variations in the prevalence of elephantiasis in the four provinces of Pattani, Phathalung, Nakhon-Srithamrat, and Suratthani are shown in Annex 2, which is based on the records returned by the headmen in the 1949-50 survey.

Areas Investigated

In the present survey, field investigations were carried out in several endemic areas in four provinces of peninsular Thailand: Pattani, Phathalung, Nakhon-Srithamrat and Suratthani. The provinces of Narathiwat and Chumphon could not be investigated owing to shortness of time and difficulty of access. During the first two months of the field investigations, heavy rains impeded the progress of the work, and the villages were difficult of access as a result of the extensive flooding that occurred at that time. In spite of these handicaps, sufficiently representative data have been obtained on the prevalence of filarial disease[1] and filarial infection[2] in these areas, as well as regarding the vectors of filarial infection.

Investigation Procedure

Surveys were carried out by house-to-house visits, all persons staying in the house (excluding children one year old and under) being examined and blood smears being taken from each of them. This work was done between 8 p.m. and midnight. In the villages investigated, 15%-30% of the houses were visited. The thick smears were subsequently stained and examined for the presence of microfilariae. The species of microfilaria was determined in every positive smear, and counts were made of the number of microfilariae found in the smear.

The populations were examined for elephantiasis of the limbs, the males also being examined for filarial affections of the genitals. In estimating the incidence of filarial disease in the communities investigated, only definite signs of filariasis, such as elephantiasis, were taken into consideration.

The collection of mosquitos from dwelling-houses was carried out in the mornings. The species were subsequently identified, and the female mosquitos were dissected and examined for the presence of filaria larvae. The stages of development of the filaria larvae were noted, after the morphological characteristics of the larvae had been examined in detail in order to determine the species.

Water collections in the vicinity of villages were examined for mosquito larvae, and the larvae collected were identified. Bush and rank vegetation around villages were searched to see if any of the species of mosquitos rested outside dwelling-houses.

---

[1] "Filarial disease" refers in this article to the occurrence of one or more clinical signs such as elephantiasis of the leg, elephantiasis of the arm, and hydrocele.

[2] "Filarial infection" refers to the finding of one or more microfilariae in thick smears of peripheral (finger) blood taken at night, the quantity of blood taken being approximately 12 mm^3.

Results of Surveys in Four Provinces of Peninsular Thailand

The findings of filariasis surveys carried out in the four provinces of Pattani, Phathalung, Nakhon-Srithamrat, and Suratthani, are discussed below. The data are presented in table II.

Pattani province

In Pattani province, 13 villages were surveyed, three in the district of Yaring, one in Nong-Chig district, and nine in Panarae district. Altogether 1,612 persons were examined. The average filarial-infection rate for Pattani was 29.7%, the average filarial-disease rate 4.2%, and the average filarial-endemicity rate 33.6%.[3] The infection rates of the majority of the villages ranged between 20% and 51%. Two villages, Yamoo 1 and Bangklang 1,[4] showed comparatively low infection-rates of 8.0% and 3.9% respectively. There were no cases of elephantiasis in Bangklang 1, although it had an infection rate of 3.9% and was within two miles of Panarae 1, which had a high filarial-endemicity rate. Bangklang 1 is interesting because of the occurrence of filarial infection in the absence of filarial disease. Evidently, the incidence of the infection is not high enough for filarial disease to manifest itself in the population. In spite of the proximity to highly endemic villages, the maintenance of a low endemicity rate is due to the fact that local conditions are not favourable for a high prevalence of vector mosquitos. This village is situated on the sea-coast, and the depressions on the landward side of the village are connected with the sea by a canal which brings in saline water with the tides, thereby rendering the marsh unsuitable for the breeding of vector mosquitos. Bangklang 1 is an example showing, first, that filarial disease does not manifest itself unless the incidence of the infection is sufficiently high, and, secondly, that if local conditions are not favourable for a relatively massive breeding of vector mosquitos filarial endemicity may continue to be low, even when neighbouring areas have high endemicity.

---

[3] "Filarial-endemicity rate" refers to the percentage of persons with filarial infection of filarial disease or both, among the total number of persons examined.

[4] In many cases, Thai villages are not given names but are simply numbered within their canton.

TABLE II. FILARIASIS SURVEY OF VILLAGES IN SOUTHERN THAILAND- 1951-2

Canton and village	Number of persons examined	Number positive for microfilariae	Filarial infection rate (%)	Number with filarial disease	Filarial disease rate (%)	Number positive for filarial disease filarial Infection or both	Filarial endemicity rate (%)
Pattani province							
Yaring district							
Yamoo 1	163	13	8.0	3	1.8	16	9.8
Yamoo 2	107	21	19.6	2	1.9	23	21.5
Yamoo 4	105	41	39.0	10	9.5	49	46.7
Nong-chig district							
Kok Deepli	76	24	31.6	6	7.9	29	38.2
Penarae district							
Panarae 1	260	61	23.5	6	2.3	67	25.8
Panarae 2 (d)	84	27	32.1	7	8.3	34	40.5
Panarae 2 (b)	45	23	51.1	1	2.2	24	53.3
Panarae 3	304	122	40.1	22	7.2	142	46.7
Panarae 4	98	40	40.8	3	3.1	43	43.9
Bangklang 1	102	4	3.9	0	0.0	4	3.9
Bannok 2	88	22	25.0	6	6.8	28	31.8
Tahkam 1	102	32	31.4	1	1.0	33	32.4
Tahkam 3	78	31	39.7	2	2.6	33	42.3
Total villages surveyed in Pattani province	1,612	461	29.7*	69	4.2*	525	33.6*
Phathalung province							
Kuan-kanoon distict							
Pak-klaung 6	113	9	8.0	5	4.4	14	12.4
Laemtanod 11	47	7	14.9	5	10.6	12	25.5
Total villages surveyed in Phathalung province	160	16	11.5*	10	7.5*	26	18.9*
Nakhon-Srithamrat province							
Ronpibul district							
Southong 4	170	28	16.5	20	11.8	48	28.2

*Average of the rates listed above

TABLE II. FILARIASIS SURVEY OF VILLAGES IN SOUTHERN THAILAND- 1951-2 (continued)

Canton and village	Number of persons examined	Number positive for microfilariae	Filarial infection rate (%)	Number with filarial disease	Filarial disease rate (%)	Number positive for filarial disease filarial Infection or both	Filarial endemicity rate (%)
Chauat subdistrict. Ronpibul district							
Chauat 1	238	75	31.5	19	8.0	92	38.7
Chauat 4	225	16	7.1	4	1.8	20	8.9
Ta-praia 6	64	7	10.9	6	9.4	13	20.3
Ta-samed 6	68	2	2.9	2	2.9	3	4.4
Ta-samed 11	72	9	12.5	8	11.1	17	23.6
Krong 2	130	17	13.1	11	8.5	28	21.5
Muang district							
Tharua 2	184	15	8.2	1	0.5	16	8.7
Tharua 3	146	39	26.7	5	3.4	43	29.5
Tharua 4	167	32	19.1	17	10.2	49	29.3
Tharua 8	149	47	20.8	6	3.4	36	24.2
Total villages surveyed in NaknonSrithamrat province	1,613	271	15.4*	98	6.5*	365	21.6*
Suratthani province							
Pun-pin district							
Bang-bau 4 (a)	131	11	8.4	1	0.8	12	9.2
Bang-bau 4 (b)	87	18	20.7	7	8.0	25	28.7
Nong-sai 1	160	13	8.1	10	6.3	23	14.4
Nong-sai 5	80	19	23.8	2	2.5	21	26.3
Ban Nasarn district							
Kiensah 1	142	24	16.9	4	2.8	28	19.7
Kiensah 5	127	30	23.6	14	11.0	44	34.6
Tolal villages surveyed in Suratthani province	727	115	16.9*	38	5.2*	153	22.2*
Total villages covered in survey	4,112	863	21.0Ü	215	5.2Ü	1,069	26.0Ü

* Average of the rates listed above

Ü Gross rate

Tuyong canton in Nong-chig district was not mentioned in the 1949-50 statement of cases of elephantiasis. On learning that a few cases of elephantiasis were present in this canton, I look up an investigation of the village of Kok Deepli. I found that the filarial-infection rate was as high as 31.6%, and the filarial-disease rate was 7.9%. A high incidence of vector mosquitos occurred in this village, and active transmission of filarial infection was in progress.

Filariasis appears to be widespread in the coastal areas of Pattani province, and the affected areas are probably more extensive than the 1949-50 data would indicate. The spatial distribution of filarial infection appears to be greater than that of filarial disease.

Phathalung province

Only two villages were investigated in this province, both from the district of Kuan-kanoon. A larger number of villages could not be surveyed owing to difficulty of access and shortness of time. Phathalung province was not originally included in the programme drawn up for this investigation, but these two villages were subsequently added with a view to obtaining some information on conditions prevailing in the areas immediately south of the endemic zone of Nakhon-Srithamrat. The infection rates of these two villages were 8.0% and 14.9% respectively, and the filarial-disease rates 4.4% and 10.6% respectively.

Nakhon-Srithamrat province

In this province, I 1 villages were surveyed, 7 from Ronpibul district and 4 from Muang district; the average filarial-infection rate was 15.4% and the average filarial-disease rate 6.5%. The infection rates of the majority of the individual villages ranged between 8% and 32%. Often the degree of endemicity varied even within the same canton. The filarial-endemicity rate of village 2 of Tharua canton was much lower than those of other villages in the same canton. In Ta-samed canton, village 6 had and endemicity rate of 4.4% while that of village 11 was 23.6%.

Suratthani province

In Suratthani province, 6 villages were investigated, 4 from Pun-pin district and 2 from Ban Nasarn district, and 727 persons examined. The average filarial-infection rate was 16.9% and the average filarial-disease rate 5.2%.

Types of Filarial Infection

Out of 4,112 persons examined during this investigation, 863 were found to be positive for microfilariac, giving a gross infection-rate of 21.0%. All the microfilariae (with the exception of those from one case) belonged to the species *Wuchereria malayi*.

The exception was the finding of *Wuchereria bancrofti* infection in a Chinese boy from the village of Bangklang I, in Panarae district, Pattani province. As this was the only case of *W. bancrofti* infection recorded during this investigation, the boy was traced and further blood smears were taken from him for detailed study and confirmation. A detailed history was then taken of the boy. He was 15 years of age, showed no signs or symptoms of filarial disease, and appeared perfectly healthy. There was no enlargement of glands and no history of fever or of lymphangitis. A microfilaria count taken at 9.30 p.m. was 95 per 25 mm^3 of finger blood. The boy was born in Hainan, an island off the mainland of China, and had lived there until the age of 11 years; during 1948 he came over to Panarae. As *W. bancrofti* infection is not endemic in southern Thailand, I am led to believe that the boy contracted the infection in Hainan, and that this case was one of imported infection, rather than of infection contracted in Panarae, where the boy had been staying for the past four years.

Early Occurrence of Filarial Infection

Filarial infection was recorded in several young children during this investigation, the earliest age being three years. Ten children of that age were found to have microfilariae in the peripheral blood taken at night.

Intensity of Microfilarial Infestation

The data obtained during the investigation have been analysed according to the different grades in the intensity of infestation, as determined by counts of microfilariae in normal thick blood smears; the relevant figures are given in table III. It will be seen that quite a large proportion of the positive cases showed low microfilaria counts; in 18.7% the microfilaria count was only 1 or 2, and in approximately 34% it was between 1 and 5. In nearly 48% it was between 1 and 10. However, several persons showed counts of over 100 microfilariae, although they represented only a small proportion (10.3%) of the total positive cases. Two persons showed very high counts, one of 553 and the other of 593.

That 34% of the positive cases should have microfilaria counts of not more than 5 is rather unusual, and the reason is not clear. It seems likely that it is due to partial protection afforded by the extensive use of mosquito curtains. I estimated that about 69% of the people in the rural areas investigated used mosquito curtains regularly, and that 16% used them occasionally. Although they

were often not used in such a manner as to prevent entirely the entry of mosquitos and although they were sometimes in a state of bad repair, they did afford at least partial protection from mosquito bites.

TABLE III. NUMBER OF MICROFILARIAE IN 863 POSITIVE BLOOD SMEARS

Number of microfilariae	Number of smears	Percentage
1-2	161	18.7
3-5	131	16.2
6-10	117	13.6
11-20	118	13.7
21-55	165	19.1
51-100	82	9.5
101-200	61	7.1
201-300	20	2.3
301-400	6	0.7
401-500	0	0.0
501-600	2	0.2

Analysis of Manifestations of Filarial Disease

Out of 4,112 persons examined, 215 had filarial disease. The gross filarial-disease rate for the areas investigated was 5.2%. A classification of the manifestations is given in the following tabulation:

Number examined: 4,112

Number with filariasis: 215

Classification :

elephantiasis -- one leg: 109

elephantiasis -- both legs: 95

elephantiasis -- one leg and both arms: 1

elephantiasis -- both legs and one arm: 7

elephantiasis -- both legs and both arms: 1

hydrocele: 2

Elephantiasis of the leg was the most common manifestation, sometimes associated with elephantiasis of one or both arms; there were 204 cases of elephantiasis of one or both legs, and 9 cases of elephantiasis of the leg associated with elephantiasis of one or both arms.

Apart from the two cases of hydrocele recorded, genital affections, such as elephantiasis of the scrotum of penis, epididymitis, hydrocele, orchitis, or funiculitis, were absent. Since genital affection is a most unusual manifestation in filariasis caused by *W. malayi*, detailed inquiries were made into the two cases of hydrocele. They occurred in a 71-year-old man from Yamoo 1 and a 60-year-old man from Yamoo 2, Panarae district, Pattani province. Both these men were Malays who had travelled extensively outside southern Thailand and had lived in Malaya and India; the first had also made a pilgrimage to Mecca. Both were negative for microfilariae, and it proved impossible to determine the type of filarial infection. However, on the basis of findings in other parts of the world, which, as indicated above, tend to show that filarial affections of the genitals do not result from *W. malayi* infection, and since these persons had resided outside southern Thailand, it seems probable that the cases in question were of *W. bancrofti* infection contracted outside the area under survey.

Relation of Filarial Disease to Filarial Infection

The findings in the endemic areas of southern Thailand are in conformity with observations made in other parts of the world and show that the incidence of demonstrable filarial infection, as indicated by the presence of microfilariae in peripheral blood, is much lower in persons with filarial disease than in those without t. The data for these areas, given in table IV, illustrate this clearly.

TABLE IV. PREVALENCE OF FILARLAL INFECTION IN PERSONS WITH OR WITHOUT FILARIAL DISEASE

	Number Examined	Number positive for microfilariae	Infection-rate (%)
Persons with filarial disease	215	9	4.2
Persons without filarial disease	3,897	854	21.9

The difference in the two groups is statistically: $X^2 = 29.06$

Filarial Disease and Filarial Infection in Relation to Age

The earliest age at which elephantiasis was observed to occur during this investigation was 13 years; the actual onset in the particular boy concerned had occurred at the age of 11. The following are records of cases occurring at an early age:

(1) A boy, aged 13 years, from Nong-sai 1, with elephantiasis of the right leg; onset at the age of 11 years.

(2) A girl, aged 15 years, from Chauat 4, with elephantiasis of the right leg; onset at the age of 12 years.

(3) A girl, aged 17 years, from Kok Deepli. with elephantiasis of the left leg; onset at the age of 13 years.

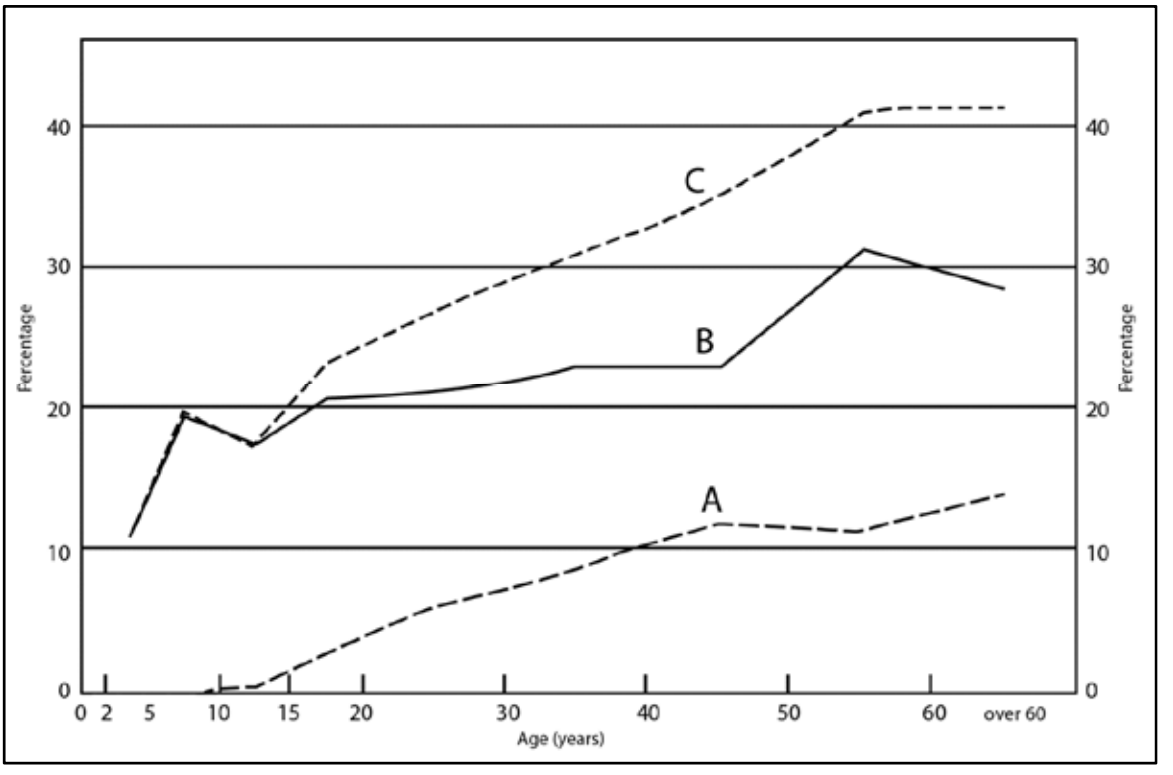
(4) A girl, aged 20 years, from Panarae canton, with elephantiasis of both legs; onset at the age of 14 years.

TABLE V. PREVALENCE OF FILARIAL DISEASE AND OF FILARIAL INFECTION, ACCORDING TO AGE-GROUP

Age group (years)	Number examined	Number with filarial disease	Filarial disease rate (%)	Number with filarial infection	Filarial infection rate (%)	Number with filarial disease, filarial infection or both	Filarial endemicity rate (%)
2-5	221	0	0.0	24	10.9	24	10.9
6-10	530	0	0.0	104	19.6	104	19.6
11-15	608	2	0.3	105	17.3	107	17.6
16-20	547	15	2.7	112	20.5	127	23.2
21-30	765	46	6.0	161	21.0	206	26.9
31-40	559	18	8.6	126	22.5	172	30.8
41-50	501	58	11.6	116	23.2	173	34.5
51-60	257	29	11.3	80	31.1	105	40.9
over 60	124	17	13.7	35	28.2	51	41.1

The findings of the survey, showing the prevalence of filarial disease and that of filarial infection in the different age-groups, are presented in table V and graphically in fig. 2.

FIG. 2. FILARIAL-DISEASE RATE, FILARIAL-INFECTION RATE, AND FILARIAL ENDEMICITY RATE, BY AGE, IN THAILAND -- 1951-2



A - filarial-disease rate per 100 persons examined

B - filarial- infection rate per 100 persons examined

C - filarial- endemicity rate per 100 persons examined

Filarial infection occurs even in the first age-group, 2-5 years. From 10.9% in this age-group, the infection rate rises to 19.6% in the 6-10-year age-group. In the subsequent age-groups, the trend of the curve is a steady rises, but the rise is not proportional to increase in age, and there is a tendency for the curve to flatten out. The filarial-disease rate is zero in the first two age-groups. In the 11-15-year age-group, it is low (0.3%), and in the succeeding age-groups it shows a steady rise, reaching its highest level (13.7%) in the last age-group. The filarial-endemicity rate (which is based on the combined data) shows a progressive rise from 10.9 % in the first age-group to 41.1% in the last age-group. These observations are in conformity with observations made in other areas where endemic filariasis is prevalent, and show that the chances of developing the infection, or the disease which may result from it, vary directly in proportion to age, that is to say, in proportion to the period of exposure to endemic conditions. The curves for Thailand show certain minor differences when compared with those for certain other endemic areas, e.g., Travancore[5] and the Maldive Islands:[6] first, the rise in the filarial-disease rate in the successive age-groups in Thailand is not rapid; and secondly, the flattening out of the curve of the filarial-infection rate is not pronounced.

[5] Iyengar, M. O. T. (1938) *Indian med. Res. Mem*. 30

[6] Iyengar, M. O. T. (1952) *Bull Wld Hlth Org*. 7, 375

Vectors of Filarial Infection

Southern Thailand is rich in mosquito fauna. The following 64 species were recorded during the investigation; those recorded for the first time in Thailand are marked with an asterisk:

Megarhinus splendens

* *Megarhinus amboinensis*

Tripteroides aranoides

* *Harpagomyia genurostris*

Uranotaenia campestris

* *Uranotaenia longirostris*

* *Uranotaenia recondita*

* *Uranotaenia micans (?)*

* *Ficalbia (Mimomyia) aurea*

**Ficalbia (Etorleptiomyia) elegans*

Ficalbia (Ficalbia) minima

Mansonia (Coquilletidia) giblini

Mansonia (Coquilletidia) crassipes

Mansonia (Mansonioides) annulifera

Mansonia (Mansonioides) longipalpis

Mansonia (Mansonioides) indiana

Mansonia (Mansonioides) uniformis

Aedomyia venustipes

* *Aedes (Finlaya) poecilus*

Culex (Lophoceratomyia) rubithoracis

Culex (Culiciomyia) nigropunctatus

Culex (Culiciomyia) fragilis

Culex (Culex) sinensis

Aedes (Stegomyia) aegypti

Aedes (Stegomyia) albopictus

Aedes (Aedimorphus) taeniorhynchoides

Aedes (Aedimorphus) mediolineatus

Aedes (Banksinella) lineatopennis

* *Aedes (Aedes) uncus*

Aedes (Aedes) butleri

Aedes sigmides

* *Aedes (Aedes)* sp.

Armigeres (Armigeres) obturbans

* *Armigeres (Armigeres) malayi*

Armigeres (Leicesteria) annulitarsis

* *Armigeres (Leicesteria) annulitarsis*

* *Armigeres (Leicesteria) magnus*

Culex (Lutzia) fuscanus

Culex (Lutzia) halifaxi

Culex (Neoculex) brevipalpis

Culex (Mochthogenes) malayi

Culex (Lophoceratomyia) fraudatrix

Anopheles hyrcanus sinensis

Anopheles barbirostris

* *Anopheles baezaei*

* *Anopheles albotaeniatus*

Culex (Culex) sitiens	*Anopheles separatus*
Culex (Culex) vishnui	*Anopheles tessellatus*
Culex (Culex) tritaeniorhynchus	*Anopheles aconitus*
Culex (Culex) gelidus	*Anopheles subpictus*
Culex (Culex) mimulus	*Anopheles vagus*
Culex (Culex) bitaeniorhynchus	*Anopheles sundaicus*
Culex (Culex) fatigans	*Anopheles philippinensis*
Culex (Culex) fuscocephalus	*Anopheles annularis*
Anopheles hyreanus nigerrimus	*Anopheles umbrosus*

To determine the vectors of filarial infection, mosquitos collected from dwellings were dissected and examined for the presence of filaria larvae. Altogether 2,499 mosquitos, belonging to 40 different species, were examined; the results of these examinations are shown in table VI. It will be noted that only 10 species were found to be naturally infected, and that in five of these the infection rate was about 7% or higher. The filaria larvae found were all *W. malayi* larvae, in various stages of development. Well-developed larval forms, often reaching the final infective phase, were observed in most of the infected species, and their development was normal in every species except *Culex sitiens*. The one infected specimen of *C. sitiens* showed a few filaria larvae in a very early stage of development, and the worms showed signs of degeneration, such as distortion, swelling, and vacuolation, indicating that the infection was not likely to develop any further. It seems unlikely, therefore, that *C. sitiens* would be capable of transmitting the infection.

Culex fatigans, a fairly common species in southern Thailand, was found to be entirely negative for filarial infection, although as many as 299 specimens were examined, It is well known that *C. fatigans* is refractory to *W. malayi* infection. The absence of natural infection in this species, which is very susceptible to *W. bancrofti* infection, would indicate that *W. bancrofti* infection is not endemic in southern Thailand.

The relative importance of the nine different vectors would depend on their numerical prevalence, which would vary from area to area and from season to season. The season of maximum transmission in this area skill needs to be determined. It is likely that the incidence of mosquito breeding as well as the extent of transmission would be greater during the comparatively dry months of the year than during the rainy months.

TABLE VI. RESULTS OF EXAMINATION OF MOSQUITOS FOR FILARIAL INFECTION

Species of mosquito	Number examined	Number with filarial infection	infection rate (%)
Mansonia annulifera	52	9	17.3
Mansonia uniformis	44	5	11.4
Mansonia indiana	317	28	8.8
Mansonia longipalpis	131	9	6.9
Mansonia giblini	18	0	-
Mansonia crassipes	1	0	-
Anopheles barbirostris	358	42	11.7
Anopheles hyrcanus nigerrimus	81	3	3.7
Anopheles hyrcanus sinensis	83	3	3.6
Anopheles separatus	1	0	-
Anopheles albolaeniatus	25	1	4.0
Anopheles umbrosus	30	1	3.3
Anopheles philippinensis	4	0	-
Anopheles annularis	2	0	-
Anopheles tessellatus	4	0	-
Anopheles econitus	20	0	-
Anopheles vagus	454	0	-
Anopheles subpictus	1	0	-
Ficalbia elegans	1	0	-
Culex fatigans	299	0	-
Culex fuscocephalus	12	0	-

TABLE VI. RESULTS OF EXAMINATION OF MOSQUITOS FOR FILARIAL INFECTION

(Continued)

Species of mosquito	Number examined	Number with filarial infection	infection rate (%)
Culex nigropunctatus	1	0	-
Culex rubithcracus	1	0	-
Culex gelidus	11	0	-
Culex bilaeniorhynchus	16	0	-
Culex tritaeniorhynchus	52	0	-
Culex sitiens	83	1	1.2
Culex sinensis	16	0	-
Culex vishnui	71	0	-
Culex malayi	2	0	-
Culex brevipalpis	6	0	-
Culex fuscanus	2	0	-
Culex fraudatrix	63	0	-
Aedes aegypti	134	0	-
Aedes albopictus	12	0	-
Aedes taeniorhynchoides	67	0	-
Aedes mediolineatus	1	0	-
Aedes butleri	3	0	-
Aedes sp.	18	0	-
Armigeres obturbans	2	0	-

Habits and Habitats of Vector Mosquitos

All the nine species found to be vectors of *W. malayi* infection in southern Thailand feed readily and primarily on man. They were found to rest mainly in dwelling-houses. They preferred to rest on walls, generally within two to three feet (30-60 cm) of floor-level

These mosquitos were found to breed in marshes and depressions in the vicinity of villages. The intensity of breeding was low at the time of the investigation on account of the heavy rainfall and the consequent flooding of the water collections.

Larvae of the different species of *Mansonia* are known to have the peculiar habit of attaching themselves to roots of aquatic plants. The host plants of the larvae of *M. uniformis* and *M. indiana* in southern Thailand were found to be *Pistia* and *Eichhornia*. Their egg-masses were found on the underside of the leaves of *Eichhornia*, *Pistia*, *Salvinia*, and *Marsilea*. Larvae of *M. annulifera* were found attached to roots of *Pistia* and the egg-masses were found on *Pistia* larves. The breeding habitat of *M. longipalpis* could not be determined.

Anopheles barbirostris was found breeding extensively in the ditches and marshes which abound in the vicinity of the villages. It was also found to breed in wells, which are just shallow pits without any masonry lining. The level of water in these wells at the time of the survey was quite high, within two feet (60 cm) of ground-level. *A. hyrcanus* was found breeding in ditches and marshes, and *A. umbrosus* in well-shaded swamps covered over with big trees and bamboo clumps. The breeding places of *A. albotaeniatus* were not determined.

Further study is needed on the breeding habitats and the breeding seasons of the different vectors of filarial infection in southern Thailand.

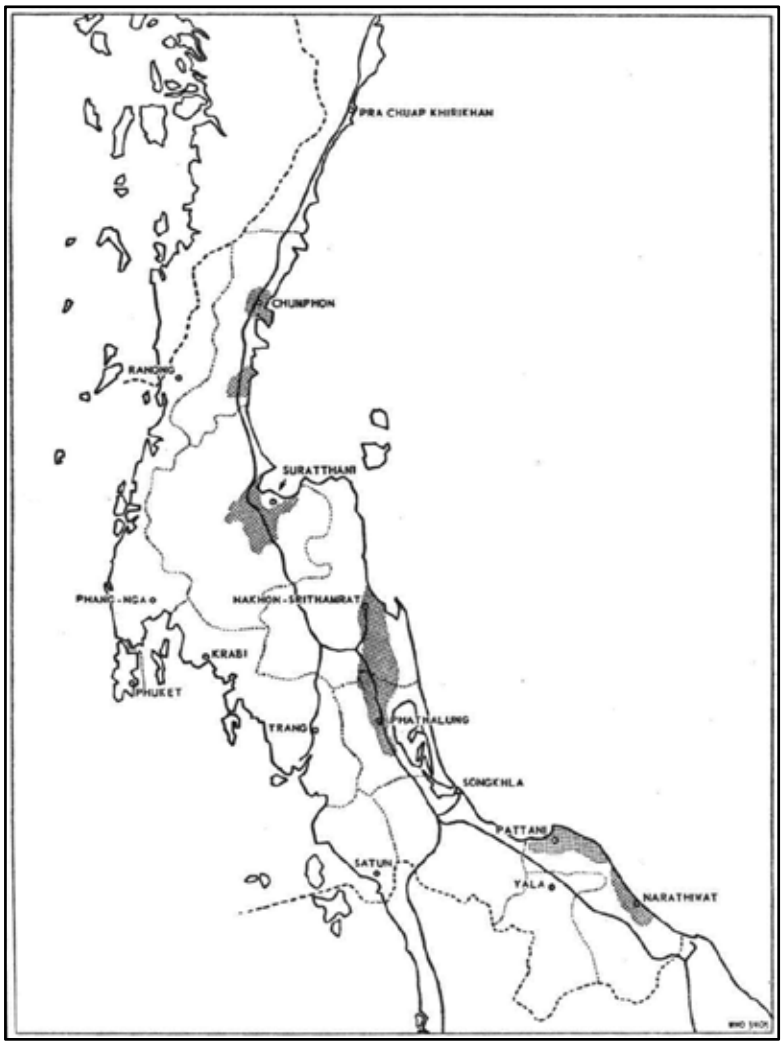
Discussion

Taking the aggregate figures for all the areas investigated, there were four times as many persons with demonstrable filarial infection as there were cases of filarial disease. However, for some reason that is not quite clear, there were wide variations in the ratios of the one to the other in the different villages.

Filarisis in Thailand is characteristically rural in distribution and is associated with a low population density. An increase in population density appears to lower the degree of filarial endemicity. Thus, market towns situated in the midst of endemic zones show lower endemicity rates than the rural areas surrounding them-as, for example, the market town of Chauat 4. Nakhon-Srithamrat province (see table II). The provincial headquarters town of Pattani, which is also in the middle of an endemic zone, is practically free from endemic filariasis.

Low-lying land, with a high subsoil water-table and extensive marshes unlikely to drain away or to dry up, favours filarial endemicity in peninsular Thailand, while an area with a low water-table, where the marshes dry up during the less rainy months of the year, does not. Similarly, if the marshes in the vicinity of a village are connected with tidal creeks bringing in saline water, the village has little or no endemic filariasis. The same is true of areas subject to very heavy flooding, such as would obliterate the marshes. Areas with good natural-drainage facilities--for example, undulating land --are generally free from endemic filariasis, even when they are in close proximity to endemic zones.[7]

FIG. 3. MAP OF SOUTHERN THAILAND SHOWING AREAS OF ENDEMIC FILARIASIS



The shaded areas on the map are those in which the investigation showed filariasis to be endemic.

[7] More detailed information on the zones of endemic filariasis in the provinces of Chumphon, Suratthani, Nakhon-Srithamrat, Phathalung, Pattani, and Narathiwat can be supplied to research workers by WHO on request. --Ed.

The zones where filariasis is endemic are restricted to the flat plains in the eastern coastal region of peninsular Thailand (see fig. 3). The total area of these endemic belts is approximately 2,200 square miles (about 5,700 km^2), and the total population is estimated at 800,000, nearly $1/20^{th}$ of the population of the whole of Thailand.

Feasibility of Different Control-Measures

Control of filariasis can only be effected by preventing the transmission of filarial infection. This could be achieved by: (1) measures to prevent the breeding of vector mosquitos; (2) measures to cut short the life-span of adult mosquitos; and (3) measures to reduce the infectivity of persons with filarial infection. The feasibility of these different methods, under the conditions prevailing in southern Thailand, is discussed below.

Control of the breeding of vector mosquitos

Larvicides. As has been mentioned earlier, the villages are diffuse and cover large areas. The number and extent of marshes and other water collections are often considerable. Periodic treatment of each of these water collections with larvicides would require a large staff and involve considerable expenditure and, in view of the low density of population, would not be economical.

Removal of aquatic vegetation. The breeding habits of the different vector species have not been sufficiently well studied. They breed chiefly in marshes and dtches, and the vector species of *Mansonia* breed in association with certain aquatic plants. Removal of *Eichhornia*, *Pistia*, and other aquatic vegetation from water collections in the endemic zones would certainly reduce the extent of breeding of the various species of *Mansonia*. However, since these plants occur in very large numbers, and since the water collections are extensive, the control of aquatic vegetation would be neither feasible nor economical.

Even if it proved possible to remove (or to kill off by the use of chemicals) the aquatic vegetation that favours the breeding of *Mansonia* mosquitos, it would not be possible by this method completely to control the transmission of *W. malayi* infection. Besides the four vector species of *Mansonia*, there are five species of *Anopheles* that transmit filarial infection in southern Thailand, and their breeding would not be controlled by removal of the aquatic vegetation.

Drainage and reclamation. The endemic areas are flat and low-lying; the fall in the level of the land is slight, and the beds of marshes and depressions are often much lower than the level of the surrounding land. Under such circumstances, it would be difficult to drain away all the marshes in these areas. The heavy rainfall and the high subsoil water-table would also stand in the way of effective drainage operations.

Reclamation of these marshes and depressions would also be difficult. There are, however, a few areas in the coastal plain of Pattani province where the dry-season marshes are comparatively few in number and not very extensive. Reclamation of such marshes might be feasible and would increase the offectiveness of the control measures suggested later.

To summarize, larval control of vector mosqutios under the conditions prevailing in southern Thailand would be both difficult and expensive, whether by periodic treatment of water collections with larvicides, removal or destruction of aquatic vegetation, drainage, or reclamation.

Measures against adult vectors

Control of transmission of filarial infection through measures directed against adult mosquitos would be feasible. The spraying of dwelling-houses with residual insecticides would be effective in killing off mosquitos resting in houses and thereby in controlling transmission.

As an experiment, the dwellings in the village of Kok Deepli, Pattani province, were sprayed with DDT water-dispersible powder in the dosage of 167 mg per square foot (approximately 1.8 g per m^2); only the walls of the rooms were sprayed, the ceilings being left untreated. The effects of the spraying were checked 21 days later; owing to pressure of time it was not possible to wait for a longer period.

TABLE VII. NUMBER OF MOSQUITOS PER MAN-HOUR CATCH IN KOK DEEPLI, PATTANI PROVINCE, BEFORE AND AFTER DDT RESIDUAL SPRAYING

	Before spraying	21 days after spraying
Experiment area		
•Vector mosquitos	44.8	1.3
•All mosquitos	55.1	5.4
Control area		
•Vector mosquitos	27.4	10.8
•All mosquitos	38.5	21.5

As will be seen from table VII, the density of mosquitos was initially much higher in the experimental area than in the control area. After spraying, however, there was a marked reduction in the density of vector mosquitos, as well as of all mosquitos, in the experimental area. The DDT residual spray was effective not only against anophelines but also against the various species of *Mansonia*.

The transmission of filarial infection was also effectively controlled as a result of the residual spraying, Prior to the spraying, the infection rate among the vectors caught in the experimental area was 7.6%; three weeks after spraying, it was zero. On the other hand, active transmission of the infection in the control area continued as before.

These observations show that DDT residual spraying would be effective in controlling the transmission of filarial infection in southern Thailand.

Control by chemoprophylaxis

The principle underlying chemoprophylaxis of filariasis is that transmission of the infection is controlled by lowering the intensity of infestation in microfilariae carriers, thereby rendering them less infective to vector mosquitos. Certain piperazine drugs are known to effect a considerable reduction in the number of microfilariae in peripheral circulation. This has been definitely established in the case of infection with *W. bancrofti*. Certain observations carried out recently indicate that these drugs have a similar effect in *W. malayi* infection. It has been reported, however, that the reactions in persons with *W. malayi* infection treated with these drugs are very much more severe than in persons with *W. bancrofti* infection. Nevertheless, microfilariae carriers who have undergone a full course of treatment with these drugs would be much less infective to vector mosquitos than previously.

While, theoretically, the control of transmission of filarial infection is possible through systematic and vigorous treatment with piperazine drugs of all microfilariae carriers in a community, we have to consider its feasibility from the point of view of practical application and cost.

The implementation of mass chemoprophylaxis in civilian communities would present formidable difficulties. For this measure to be effective, the drug would need to be administered to all microfilariae carriers in the community. In order to determine who were the carriers-and they could be recognized only by an examination of blood samples-entire populations of endemic areas would have to be examined, blood samples being taken from each person at night (since the microfilariae have a definite nocturnal periodicity) and subsequently examined for presence of mocrofilariae. The next step would be to trace the persons found to be positive for microfilariae and to administer the full course of treatment to each one of them. The full course would be 2 mg of the drug per kg of body-weight (approximately 100 mg or 2 tablets per adult) three times a day for 7-15 days. It would not be

possible under field conditions to administer the whole course of treatment under supervision, and the drug would need to be handed over to the persons concerned, to be taken by them as prescribed.

Apart from the cost of the drug, which is expensive, the technical staff that would be needed for the collection of night blood samples from the populations of the several endemic areas of Thailand, the examination of the blood smears, and the subsequent administration of the drug to the microfilariae carriers would involve very considerable expenditure.

It would not be sufficient for a single examination to be made and for the persons found infected to be treated once. It is known that the microfilariae tend to reappear after a period of time, especially among persons who, living in endemic areas, are constantly exposed to fresh infection. Thus the examination of the population and the treatment of carriers would need to be repeated from time to time, at intervals of, say, six months. All this would require a very large technical staff.

Apart from the cost of running a scheme for mass chemoprophylaxis, there are other difficulties to be taken into consideration. In civilian populations, there would be objectors and absences both when blood samples were taken and when the drug was administered. It is often very difficult to induce all the microfilariae carriers to undergo the full course of treatment, especially as the vast majority of them are healthy and symptomless and do not suffer from any disability. Even if they should agree to treatment, there is the possibility of their discontinuing it if severe reactions set in. Severe reactions are by no means uncommon, especially in cases of *W. malayi* infection. Such occurrences might lead to widespread refusal in a community to co-operate in the scheme.

As it is popularly believed that piperazine drugs are a cure for filariasis, it may seem paradoxical to the lay public that only the microfilariae carriers, who are symptomless, should treated, while those suffering from elephantiasis are not. Instances have been observed in which the drug that was issued to a microfilariae carrier was subsequently passed on to a person actually suffering from elephantiasis, in the belief that the latter person was the one really in need of it.

All these practical difficulties should be taken into consideration before any plan of action is decided on. In my view, large-scale chemoprophylaxis is both expensive and difficult to implement. However, there should be no objection to employing this method as an adjuvant to a major scheme for the control of transmission through measures directed against the mosquito vectors.

In this connexion, it is interesting to study the results of a small-scale scheme carried out by the Government of Thailand early in 1951 for controlling filariasis by treating microfilariae carriers with Hetrazan. After an initial examination of the peripheral blood taken from the population of a number of villages, persons found to have filarial infection were given a single course of treatment consisting of 50 mg of Hetrazan three times a day for seven days. This treatment was not given under supervision.

In Panarae district, Pattani province, we have, side by side, a number of similar villages within a compact area, some of which were treated with Hetrazan while other adjoining villages were not. The data for these two sets of villages are therefore comparable. I investigated these villages about 6-10 months after treatment and established the following figures:

(a) Villages treated with Hetrazan

village	Filarial infection rate (%)	Average number microfilariae per positive blood-smear (%)
Panarae 2	38.8	59.0
Panarae 4	40.8	74.5
Bannok 2	25.0	32.2
Average	**34.9**	**55.2**

(b) Villages not treated with Hetrazan

village	Filarial infecton rate (%)	Average number microfilariae Per positive blood-smear (%)
Panarae 1	23.5	22.7
Panarae 3	40.1	50.9
Tahkam 1	31.4	25.5
Tahkam 3	39.7	27.3
Average	**33.9**	**31.6**

It will be observed that there is no significant difference between the figures for the two groups of villages.

Suggested Measures for Filariasis Control

After due consideration of the feasibility of the different methods for controlling the transmission of filarial infection under the conditions prevailing in the endemic areas of southern Thailand, I am of the opinion that residual-insecticide spraying would be the measure that could be employed to best advantage. As a provisional step, until further data are available, I would suggest that in those areas where it is decided to carry out filariasis control, dwellings should be sprayed with DDT twice a year at six-monthly intervals, once during June-July and again during December January, just prior- to what I consider to be the main transmission seasons. The suggested dosage is 200 mg per square foot (approximately 2.2 g per m^2).

Such a procedure might need to be modified when more information is available regarding (a) the transmission seasons, (b) the period of effectiveness of a single application of DDT in the suggested dosage against the vector species of southern Thailand, and (c) the dosage of DDT that would be effective as well as economical.

A scheme for spraying residual DDT in areas of southern Thailand where filariasis is endemic would confer certain collateral benefits. Moderate to high malaria endemicity also occurs in those areas, and the transmission of malaria would also be controlled by the spraying. Since there already exists a malaria-control unit for peninsular Thailand, I suggest that it might economically take charge of filariasis as well. This should not interfere with its malaria-control spraying, which is carried out in February-April; the same staff could be employed for the spraying against filariasis during the periods I have suggested above.

This measure could be supplemented by removal of aquatic vegetation and drainage or reclamation of marshes, where this is feasible. If it was so desired, it might also be further supplemented by the treatment of microfilariae carriers with piperazine drugs.

Of the several endemic areas of peninsular Thailand, the important ones from the point of the population at risk are, first, the endemic zone of Pattani province and, secondly, the endemic zone of Nakhon-Srithamrat and Phathalung provinces. In Pattani province, the affected area covers about 500 square miles (about 1,300 km^2), and the population at risk is estimated at 160,000. The average endemicity-rate of this area is high (33.6%) and the infection is widespread.

The endemic zone of Nakhon-Srithamrat and Phathalung provinces is more extensive, about 900 square miles (about 2,300 km^2), and the population at risk is estimated at 300,000. The average endemicity-rate is 21.2%, somewhat lower than that of Pattani. These two zones should receive priority in regard to filariasis control measures.

Filariasis control is a long-term programme; and it would take many years before the benefits of the control scheme could be appreciated, because, in spite of the control measures undertaken, persons with elephantiasis or filarial infection would continue to have the disease or to be infected for several years. A quick evaluation of the results could, however, be made by estimating the extent of transmission, and this could be done by examining mosquitos caught within the area of operations. Such checks should be made from time to time in all areas where control schemes are in operation. If the results of these checks indicate that transmission has not been controlled, It would be evident that the scheme is not functioning properly and would need to be modified. For a further evaluation of the benefits, I suggest that after the scheme has been running for five years, the newcomers into the area-namely, the children under 5 years of age (those born in the area since the beginning of the scheme) -- be examined for the presence of filarial infection. It should then be possible to demonstrate the degree of protection that the control measures afford to the population.

Need for Further Studies on Filariasis

It would be desirable for all the endemic areas of Thailand to be clearly demarcated and for further work to be done on the vectors of filarial infection in the various endemic areas. Some intensive work is also needed on certain points connected with the transmission of filarial infection. I would suggest that, in order to carry out these studies, three field observation stations, with the necessary equipment and staff (one technician and on field assistant per station), be established at convenient centres in the endemic areas. I suggest that one should be in Pattani Province, one in Nakhon-Srithamrat province, and one in Chumphon, Suratthani, or Phathalung province. At each of these field stations, continuous observations would be made in selected villages within easy reach of the station. The following points are suggested for study:

(1) Relative importance of different vectors and their seasonal prevalence.

(2) Season of maximum transmission of filarial infection.

(3) Bionomics of the different vectors.

(4) Efficacy of DDT residual spraying against different vector species, and the period of effectiveness of different dosages of the insecticide.

If reliable data were obtained on these points, the details of the control programme could, if necessary, be modified in the light of the findings.

I envisage the progressive expansion of the filariasis-control programme, so that in the course of a few years all the endemic areas of southern Thailand would be included in the area of the control operations.

Possibility of the Spread of *Wuchereria bancrofti* Infection

Finally, attention should be drawn to the possibility of the spread of bancroftian filariasis in the urban areas of Thailand. *W. bancrofit* infection has not been observed to be endemic in Thailand; cases of imported infection, however, should not be uncommon. One such case in an immigrant Chinese boy in Panarae has been mentioned earlier in this study.

The urban areas of southern Thailand, and particularly the city of Bangkok, have a high prevalence of *Culex fatigans*, which is a potent transmitter of *W. bancrofti* infection. A high prevalence of an efficient vector is always a grave potential danger. Even assuming that *W. bancrofti* has not already established itself in Thailand, there is always the possibility of microfilariae carriers with *W. bancrofti* infection entering the country and serving as sources of infection. In many of the urban areas of South-East Asia the infection is endemic, and in the presence of a high prevalence of a potent vector it would spread rapidly even if the sources of infection were few. Relatively soon, therefore, it may be found that bancroftian filariasis has become endemic in the city of Bangkok and in other urban areas; it would consequently be desirable that adequate steps be taken to control the incidence of *C. fatigans* in the towns.

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to thank His Excellency the Minister of Public Health of Thailand for the courtesy shown to me and for the facilities given during the investigation. I am also greatly indebted to Dr. Luang Bhayung Vejjasastr, Director-General of Public Health, and Dr. Luang Ayurakitkosol, Director. Division of Malaria Control, for their trouble in arranging for my tours and for providing me with all the assistance needed. Dr. Pradistha Siddhichai Medical Officer, 5th Malaria Control Unit, accompanied me during the greater part of the field investigations and made all arrangements for my stay and for my work in southern Thailand; my thanks are due to him also. Lastly, I wish to express my appreciation of the work done by Dr. M. I. Mathew and Mr. M. A. U. Menon. WHO Field Assistants, in the investigation.

ANNEX 1. CASES OF ELEPHANTIASIS RECORDED IN SOUTHERN THAILAND 1949-50*

Province	District	Population	Number of cases	Gross elephantiasis rate (%)
Nakhon-Sithamrat	Tungsong	40,637	3	0.10
	Cnien-yai	42,913	52	0.1
	Ronpibui	49,636	972	2.0
	Muang	98,726	209	0.2
	Tah-sala	37,325	4	0.01
	Chawang	51,876	1	0.01
	Sichol	20,963	2	0.01
Total		342,076	1,246	0.3
Suratthani	Kanchanadit	28,215	149	0.5
	Pun-pin	26,954	86	0.3
	Muang	31,481	6	0.02
	Chaiya	30,748	3	0.01
	Ban Nasarn	40,674	57	0.1
	Koh Samui	19,902	1	0.01
Total		177,974	302	0.7
Pattani	Muang	23,810	59	0.2
	Saibun	30,058	14	0.05
	Nong-chig	21,277	33	0.1
	Yaring	29,834	219	0.7
	Yarung	25,878	97	0.4
	Ma-yau	22,670	16	0.9
	Panarae	17,766	165	0.9
Total		171,293	603	0.4
Phathalung	Muang	76,645	101	0.1
	Pak-payoon	31,146	7	0.02
	Kuan-kanoon	42,278	125	0.3
Total		149,469	233	0.2

ANNEX 1. CASES OF ELEPHANTIASIS RECORDED IN SOUTHERN THAILAND 1949-50* (continued)

Province	District	Population	Number of cases	Gross Elephantiasis Rate (%)
Narathiwat	Muang	26,220	84	0.3
	Takbai	27,178	37	0.1
	Rangah	29,255	13	0.05
	Yeengoh	14,312	9	0.1
	Bachau	14,365	1	0.01
	Sungaigolok	10,907	2	0.02
Total		122,237	146	0.1
Chumphon	Ta-sah	14,410	5	0.03
	Langsuan	30,927	63	0.2
	Muang	41,903	97	0.2
Total		87,240	165	0.2
Krabi	Muang	28,148	2	0.01
Yala	Muang	33,458	2	0.01
	Bannang Sata	4.814	6	0.1
Total		38,272	8	0.2
Trang	Huayyod	26,126	6	0.02
	Kantang	31,236	8	0.03
	Pa-lien	21,917	4	0.02
Total		79,279	18	0.02
Ranong	Muang	14,498	4	0.03
	Kraburi	6,990	2	0.03
Total		21,488	6	0.03

* Based on returns sent by headmen of cantons ot the Public Health Department of the Government of Thailand

ANNEX 2. CANTONAL ANALYSIS OF ELEPHANTIASIS CASES RECORDED IN SOUTHERN THAILAND --1949-50*

District	Canton	Population	Number of cases	Gross Elephantiasis rate (%)
Pattani province				
Muang	Bana	1,946	2	0.1
	Taluboh	1,234	4	0.3
	Klong-baning	1,117	15	1.3
	Rusamila	1,108	9	0.8
	Pakaharung	1,168	29	2.5
Yaring	Yamoo	2,716	39	1.4
	Ta-kah	1,793	58	3.0
	Taliaye	1,815	19	1.0
	Tanyongdaloh	1,449	3	0.2
	Taloh	1,579	18	1.1
	Manungyong	2,055	3	0.1
	Tanyongchingia	764	6	0.8
	Charung	1,959	7	0.1
	Tohlung	1,286	6	0.5
	Raiapanyong	1,486	40	2.7
	Piyammang	1,668	25	1.6
Yarung	Yarung	2,697	1	0.04
	Pitumudi	2,681	2	0.1
	Sanoh	2,286	28	1.2
	Sadawa	2,747	66	2.4
Panarae	Tahkam	1,258	14	1.1
	Kuan	1,254	5	0.4
	Kuagrabuh	1,449	5	0.3
	Tahnam	1,759	7	0.4

* Based on returns sent by headmen of cantons to the Public Health Department of the Government of Thailand

ANNEX 2. CANTONAL ANALYSIS OF ELEPHANTIASIS CASES RECORDED IN SOUTHERN THAILAND --1949-50 (continued)

District	Canton	Population	Number of cases	Gross elephantiasis rate (%)
Pattani province (continued)				
	Pohming	2,596	4	0.2
	Bangklang	2,627	17	0.6
	Bannok	2,249	49	2.2
	Don	1,880	18	1.1
	Panarae	2,664	46	1.7
Nong-chig	Bulo-puyo	2,323	10	0.4
	Yabee	2,656	4	0.2
	Dah-toh	Ü	9	-
	Dohlohtanyong	3,123	6	0.2
	Bangkao	2,183	2	0.1
	Paiman	2,111	2	0.1
Saiburi	Taluban	4,063	1	0.05
	Maigan	4,237	5	0.1
	Pasehyawoh	3,369	2	0.1
	Pan	2,149	6	0.3
Ma-yau	Trang	1,234	1	0.1
	Sakohman	1,923	1	0.05
	Sakohlai	1,320	1	0.1
	Krawah	1,546	8	0.5
	Pitain	1,288	1	0.1
	Lagna	3,712	4	0.1

Ü Population data not available

ANNEX 2. CANTONAL ANALYSIS OF ELEPHANTIASIS CASES RECORDED IN SOUTHERN THAILAND --1949-50 (continued)

District	Canton	Population	Number of cases	Gross elephantiasis rate (%)
Suratthani Province				
Kanchanadit	Tatong	4,905	94	1.9
	CholKram	928	51	5.3
	Don Sag	2,043	4	0.2
Pun-pin	Pun-pin	2,307	13	0.5
	Ta-ton	2,290	9	0.4
	Tarongchang	1,939	19	1.0
	Nong-sai	Ü	30	-
	Lited	1,309	1	0.1
	Mactavy	1,954	1	0.05
	Bangdaen	1,787	6	0.3
	Tahkam	5,046	8	0.2
Ban Nasarn	Viangsra	9,853	2	0.02
	Pruplee	4,944	4	0.1
	Kiensah	Ü	10	-
	Tachee	Ü	11	-
	Tungluang	Ü	2	-
	Tungtao	Ü	1	-
	Banna	8,243	10	0.1
Prasang subdistrict	Sinpoon	1,347	8	0.6
	Ipun	3,523	8	0.2
	Songprag	1,840	1	0.05
Chaiya (Tachana subdistrict)	Smartong	Ü	2	-
	Prasong	2,306	1	0.04

Ü Population data not available

ANNEX 2. CANTONAL ANALYSIS OF ELEPHANTIASIS CASES RECORDED IN SOUTHERN THAILAND --1949-50 (continued)

District	Canton	Population	Number of cases	Gross Elephantiasis rate (%)
Suratthani Province (continued)				
Koh Samui	Mare	Ü	1	-
Muang	Wat Pradoo	2,033	6	0.3
Nakhon-Srithamrat province				
Tungsong	Bang-kan	747	1	0.1
	Na-born	5,854	1	0.02
	Tee-wang	3,897	1	0.03
Chien-yai	Karaked	4,045	3	0.1
	Chien-yai	3,544	1	0.03
	Chien-kao	3,647	7	0.1
	Ban-nern	4,393	3	0.1
	Sai-marg	4,720	1	0.02
	Kao Prabart	4,020	5	0.1
	Tong Lamchieg	7,081	13	0.2
	Don Traw	2,686	17	0.6
Ronpipul	Kuanbung	6,728	136	2.0
	Kuanchum	Ü	152	-
	Kuankaey	5,409	101	1.9
	Ronpibul	6,997	14	0.2
	Samtambol	5,039	8	0.2
	Saothong	Ü	83	-
	Hintok	5,240	22	0.4

Ü Population data not available

ANNEX 2. CANTONAL ANALYSIS OF ELEPHANTIASIS CASES RECORDED IN SOUTHERN THAILAND --1949-50 (continued)

District	Canton	Population	Number of cases	Gross elephantiasis rate (%)
Nakhon-Srithamrat province (continued)				
Chauat subdistrict	Chauat	6,287	131	2.1
	Ta-samed	8,408	136	1.6
	Ta-praja	5,478	94	1.7
	Krong	Ü	85	-
	Wang-ang	Ü	10	-
Muang	Tharua	8,090	88	1.1
	Chai-montri	Ü	3	-
	Sala-meechai	3,550	12	0.3
	Poh Sadej	5,347	2	0.04
	Tai Sampoa	3,848	37	1.0
	Gang-jak	11,074	8	0.1
	Na	Ü	2	-
	Mamuang Songton	Ü	2	-
	Ta-sak	Ü	1	-
	Na-pru	Ü	2	-
	Chang-sai	5,055	41	0.8
	Pakpoon	13,577	11	0.1
Tah-sala	Taiburi	Ü	3	-
	Klai	4,164	1	0.02
Chawang	Tampanra	2,368	2	0.1
	La-iay	5,708	1	0.02
	Nakacha	4,423	1	0.02
Sichol	Plian	Ü	1	-
	Sichol	7,580	1	0.01

Ü Population data not available

ANNEX 2. CANTONAL ANALYSIS OF ELEPHANTIASIS CASES RECORDED IN SOUTHERN THAILAND --1949-50 (co-cluded)

District	Canton	Population	Number of cases	Gross elephantiasis rate (%)
Phathalung province				
Muang	Chaiburi	8,086	33	0.4
	Kuan-maprao	8,867	10	0.1
	Nanod	Ü	1	-
	Pyakan	Ü	19	-
	Takah	Ü	4	-
	Lampan	3,423	17	0.5
	Tamiram	6,007	1	0.02
Kao Chai Son subdistrict	Tah Madaey	Ü	13	-
Pak Payoon	Napayor	5,212	4	0.1
	Koh-marg	4,297	3	0.1
Kuan-Kanoon	Panangtung	6,390	35	0.5
	Pantah	4,232	47	1.1
	Papayom	5,195	31	0.7
	Kao-yah	Ü	6	-
	Kao-tao	Ü	2	-
	Donsai	Ü	1	-

Ü Population data not available

Studies on human filariasis in Southern Thailand

Principal Investigator : **George S. Manning, CPT, MSC**

Associate Investigator : **Robert Desowitz, Ph.D.**

Assistant Investigator : **Keturat Sukhavat, M.T.**

Vithoon Viyanant, M.T. B.Sc.

Period of Report : *1 July 1967 - 30 September 1967*

Objective

To find and survey areas in the southern provinces of Thailand in which human filariasis is found. Also to determine the species infecting man and its distribution in the population.

Description

Little is known about the extent of human filariasis in Southern Thailand. Perhaps the main reason is that only recently has a good, all--weather road made many of the village accessible. Because this area is so remote even the health centers are few and far between. As a result any one particular village may see the Health Officer for only a few days each year. The provinces of Pattani and Narathiwat were selected for study because of their locality, which is rather remote, and reports that several individuals with elephantiasis had been seen there. In each Province, a reconnaisance was first made to many of the village to locate individuals with elephantiasis. When an area was found in which there were individuals with elephantiasis then a village was selected to be surveyed. Five villages were selected and the area Health Officers contacted. It was necessary to have one of the local health officials accompany us to the villages as many people in this area speak only Malay.

At each village arrangements were made with the Headman to have the people assemble at the school house, as it was usually centrally located, at 2200 hours on a specific day. Because the periodicity of the filarial organism was not known this hour was chosen as representing the best compromise between convenience to the villagers and probable peak microfilaremia. At this time blood smears were taken from everyone and a case history from each individual with elephantiasis. The ages of those examined ranged from 10 to 73 years. The blood smears were then returned to the laboratory in Bangkok for staining and screening for parasites.

All five of the villages were located within ten kilometers of the Gulf of Siam. The economy of the area centres around the three major activities: growing rubber trees, rice, and fishing. The climate is tropical and humid with slight range in extremes.

Progress

Ten males and ten females were found with elephantiasis. There seemed to be no significant differences in the severity of the disease between males and females. In all cases observed involvement was limited to the feet and lower portions of the legs. The range in ages of those found infected was from 27 to 73 years with a mean age of 53. From the case histories it was found that on the average the disease first became noticable at about 35 years of age (range 19-58). The ages of those positive for microfilariae were 14, 16 and 51 years. The data are summarized in Figure no. 1. In no case was an individual with elephantiasis positive for microfilariae. In interviewing those with elephantiasis it was found that none had lived in areas outside of the village in which they then resided.

From examination of the microfilariae it was found to be *Brugia malayi*. No periodicity studies have been made as yet from this area.

Summary

From a survey of five selected villages in Pattani and Narathiwat Provinces. 7% of the population was found to have elephantiasis (*Brugia malayi*) and approximately 2% with microfilaremia. Involvement, as in other areas where *Brugia malayi* is found, is limited to the feet and lower portions of the legs.

Table 1. Incidence of elephantiasis and filariasis in five villages in southern Thailand.

Village	Provinces	Number People Examined	Number with Elephantiasis	Number with Microfilariae
Ban Huaklong	Pattani	27	4	1
Ban Dorn	Pattani	44	4	0
Ban Khekkilek	Narathiwat	48	1	1
Ban Khekkiam	Narathiwat	16	1	0
Ban Galiver the South	Narathiwat	30	1	1
	Total	**165**	**11**	**3**

THE PERIODICITY OF *BRUGIA MALAYI* IN SOUTH THAILAND[†]

PENSRI GUPTAVANIJ and CHAMLONG HARINASUTA

Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

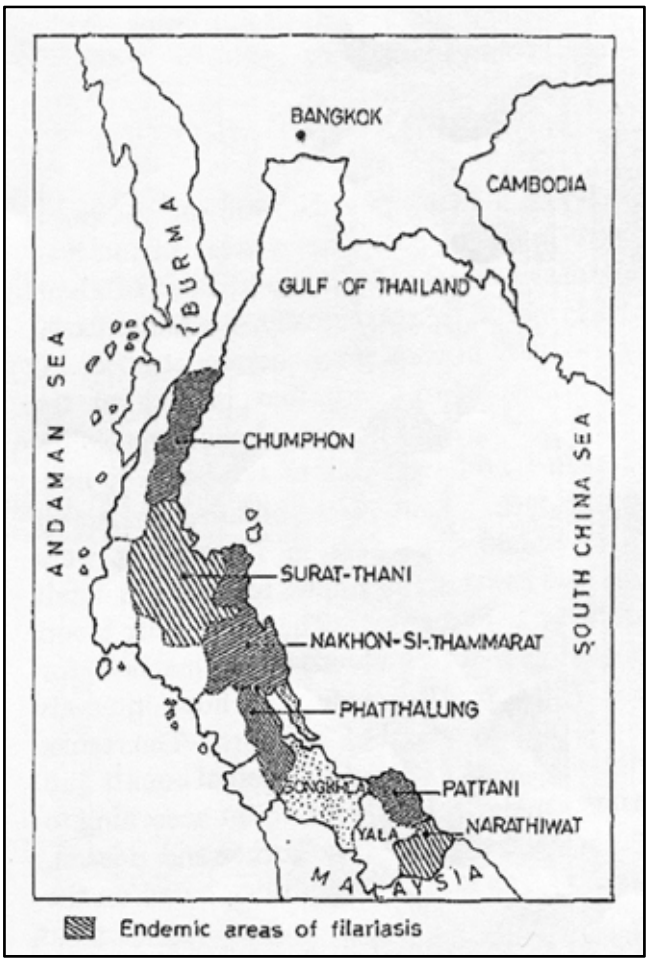
INTRODUCTION

Malayan filariasis is an endemic disease in the rural areas of the six provinces in the eastern coast of the peninsula of South Thailand (Guptavanij *et al.,* 1977). Its mirofilariae have been found to be mostly nocturnal periodicity, while some have been observed to have subperiodic nocturnal character. The former was reported to be in the provinces of Pattani (Nair and Chayabejara, 1961), Surat-Thani (Harinasuta *et al.,* 1964), Nakhon-Si-Thammarat (Vasuvat *et al.,* 1966), and Chumphon (Harinasuta *et al.,* 1970). The latter was found localized in the provinces of Narathiwat (Wongsathuaythong *et al.,* 1963), Nakhon-Si-Thammarat (Vasuvat *et al.,* 1966) and Chumphon (Guptavanij *et al.,* 1971). During the survey on the prevalence of malayan filariasis in South Thailand in 1970 - 1971, we also found both nocturnal periodic and nocturnal sub-periodic forms of *B. malayi* microfilariae in 2 provinces of the filariasis endemic area, namely Pattani and Narathiwat. Additional information on the periodicity of malayan filariasis in South Thailand is presented herein.

[†] This work was supported partly by a grant from the US Army Research and Development Group (Far East), Department of the Army, Grant No. DA-CRD-AFE-S92-544-70-G148, and partly by a grant from Mahidol University.

Description of the area

Pattani and Narathiwat are the 2 adjoining provinces situated about latitude 6.5°N on the eastern part of the peninsula of South Thailand and on the Thai-Malaysian border (Map 1). The eastern section faces the South China Sea, while on the western side is Yala province. The provinces cover an area of about 6,337 square kilometers and are divided into 19 districts, 169 cantons and 889 villages. Most of the area is flat and low lying land, about 3-4 meters above sea level, which is suitable for cultivation of rice and other agricultural crops, coconut plantations and rubber plantations. Rain falls nearly throughout the year, averaging over 83 inches annually, and thus the relative humidity is high, 80-90%. The average temperature is between 24°-30°C throughout the year. The total population in the 2 provinces was about 656,000; (330,000 in Pattani and 326,000 in Narathiwat), most of whom were Thai Moslems who earn their living by growing rice and other agricultural crops, fishing and coconut plantation.



Map 1- Showing Pattani and Narathiwat provinces where the periodicity of *Brugia malayi* was studied, and also other filariasis endemic areas in 4 provinces of South Thailand, i.e. Chumphon, Surat-thani, Nakhon-Si-Thammarat and Phatthalung.

MATERIALS AND METHODS

When Pattani and Narathiwat provinces were found to be endemic areas of malayan filariasis with the microfilarial rates of about 1.6% and 2.8% respectively, the microfilarial periodicity in each province was studied. It was observed roughly that in Pattani the periodicity was of nocturnal character, while that in Narathiwat was of sub-periodic nocturnal type. Thus 3 microfilarial carriers in Pattani and 4 carriers in Narathiwat were selected as random samples for study in detail of their periodicity. The thick film blood smear (40 c.mm blood) examinations for microfilariae were made at 2 hour intervals throughout a period of 24 hours. The results obtained were expressed as actual counts and as percentages of the peak count according to the method described by Turner and Edeson, (1957). The graphs were drawn based on the average percentages from the total selected cases in each province.

RESULTS

Periodicity in Pattani Province: The results of the counts of *B. malayi* microfilariae of the 3 cases in Pattani expressed as actual counts and percentages of the peak count are shown in Table 1 and Fig. 1. All cases showed typical nocturnal periodicity of microfilariae. The microfilariae were easily found at night time with the peak counts at 2400-0400 hours, and practically no microfilariae were observed during day time.

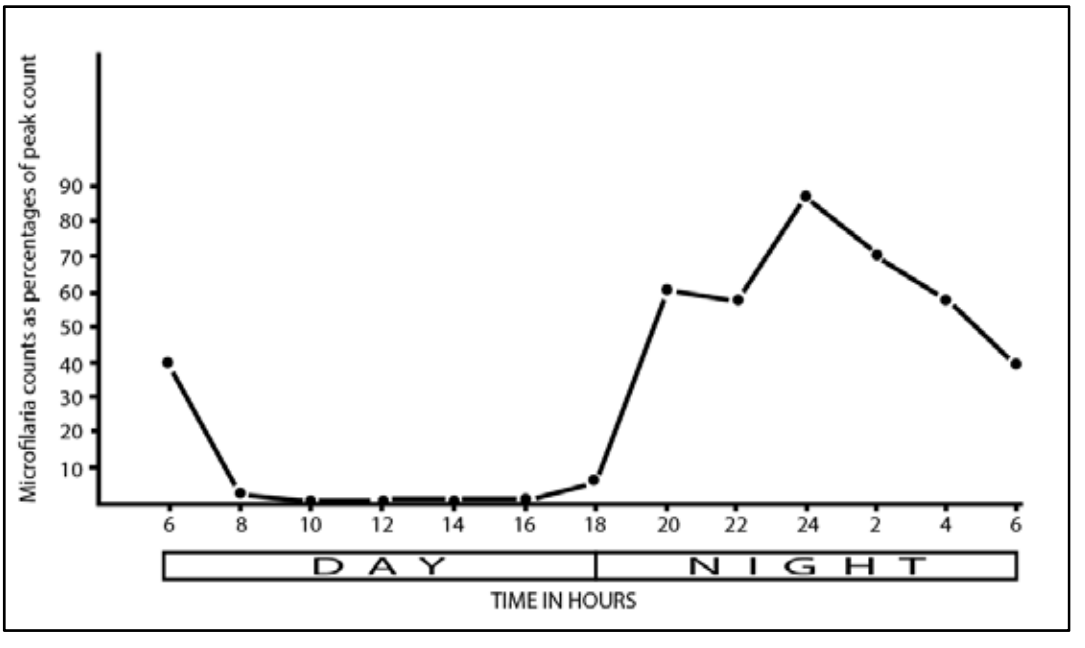


Fig. 1-- Showing the periodicity of *Brugia malayi* microfilariae in Pattani province (based on 3 carriers).

Table 1 Showing the counts of microfilariae of *B. malayi* and the counts expressed as percentages of the peak count (in parenthesis) in 3 microfilaria carriers in Pattani province, taken at 2 hour intervals over a period of 24 hours (maximum counts in bold).

Carrier No.	Microfilaria counts at hours/40 c.mm blood											
	06.00	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00	20.00	22.00	24.00	02.00	04.00
1.	103	7	1	1	0	4	18	170	138	160	156	**175**
	(59)	(4)	(0.6)	(0.6)	(0)	(2)	(10)	(97)	(79)	(91)	(89)	**(100)**
2.	4	1	0	0	0	0	0	5	6	**31**	7	14
	(13)	(3)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(16)	(19)	**(100)**	(23)	(45)
3.	10	1	0	0	0	0	2	14	16	15	**21**	6
	(48)	(5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(67)	(76)	(71)	**(100)**	(29)
Average	**(40.0)**	**(3.1)**	**(0.2)**	**(0.2)**	**(0)**	**(0.7)**	**(6.7)**	**(60.0)**	**(58.0)**	**(87.3)**	**(70.7)**	**(58.0)**

Periodicity in Narathiwat Province: The number of *B. malayi* microfilariae of the 4 cases in Narathiwat province expressed as actual counts and percentages of the peak count are shown in Table 2 and Fig. 2. All cases showed that the microfilariae were present in the peripheral blood at all times (day and night) during 24 hour period of examination. The peak counts were not definite, being at 1800 hours in case 1; 1200 hours in case 2; 2400 hours in case 3; and 0600 hours in case 4. The lowest counts in these 4 cases ranged from 12% to 32% of the peak counts. However, when the data were taken as an average, the lowest density of the microfilariae expressed as percentage of the peak count was 36.3% at 1400 hours and the highest was 85.8% at 2000 hours.

Table 2 Showing the counts of microfilariae of *B. malayi* and the counts expressed as percentages of the peak count (in parenthesis) in 4 microfilaria-carriers in Narathiwat province, taken at 2 hour intervals over a period of 24 hours (maximum counts in bold).

Carrier No.	Microfilaria counts at hours/40 c.mm blood											
	06.00	08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00	20.00	22.00	24.00	02.00	04.00
1.	318	313	149	182	102	332	**421**	395	390	295	294	317
	(76)	(74)	(35)	(43)	(24)	(79)	**(100)**	(91)	(93)	(70)	(70)	(75)
2.	30	60	55	**94**	82	79	71	86	63	41	35	33
	(32)	(64)	(59)	**(100)**	(87)	(84)	(76)	(91)	(67)	(44)	(37)	(35)
3.	18	18	17	12	4	4	9	29	29	**34**	19	21
	(53)	(53)	(50)	(35)	(12)	(12)	(26)	(85)	(85)	**(100)**	(56)	(62)
4.	**58**	30	23	9	13	12	31	44	56	47	37	38
	(100)	(52)	(40)	(16)	(22)	(21)	(53)	(76)	(97)	(81)	(64)	(66)
Average	(65.3)	(60.8)	(46.0)	(48.5)	(36.3)	(49.0)	(63.8)	(85.8)	(85.5)	(73.8)	(56.8)	(59.5)

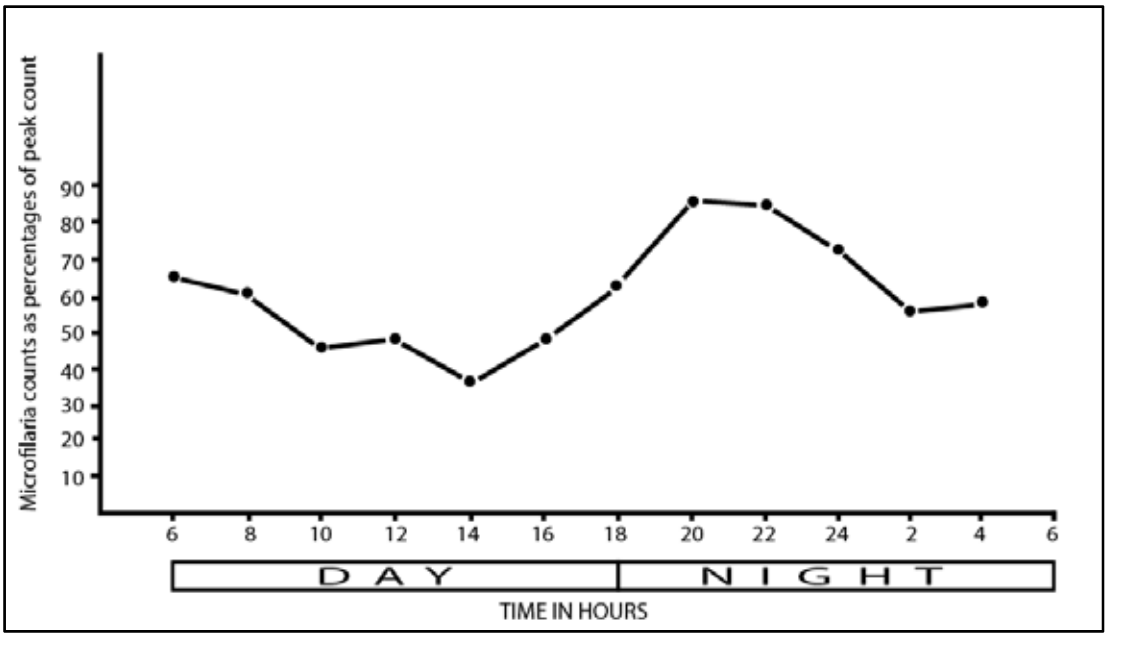


Fig. 2 – Showing the periodicity of *Brugia malayi* microfilariae in Narathiwat province (based on 4 carriers).

The sheathed and unsheathed appearance of microfilariae: It was observed from the microscopic examinations of the Giemsa stained blood films that the microfilariae of Pattani cases usually showed "unsheathed" appearance, while those of Narathiwat cases were mostly "sheathed". To clarify this appearance, a quantitative microscopic examination of the blood films of 2 microfilaria carriers, one from Pattani as periodic nocturnal case and another from Narathiwat as sub-periodic nocturnal one, was carried out in order to determine the percentage of the "sheathed", "partially sheathed" and "unsheathed" character of the microfilariae. The results are shown in Table 3 and Fig. 3.

The results in Table 3 indicated that among the periodic *B. malayi* microfilariae, 71.1% of them showed "unsheathed" character, 15.0% "partially sheathed" and 13.5% "sheathed", while among the microfilariae of sub-periodic type, 93.4% of them had "sheathed" appearance, 5.9% "partially sheathed" and 0.7% "unsheathed".

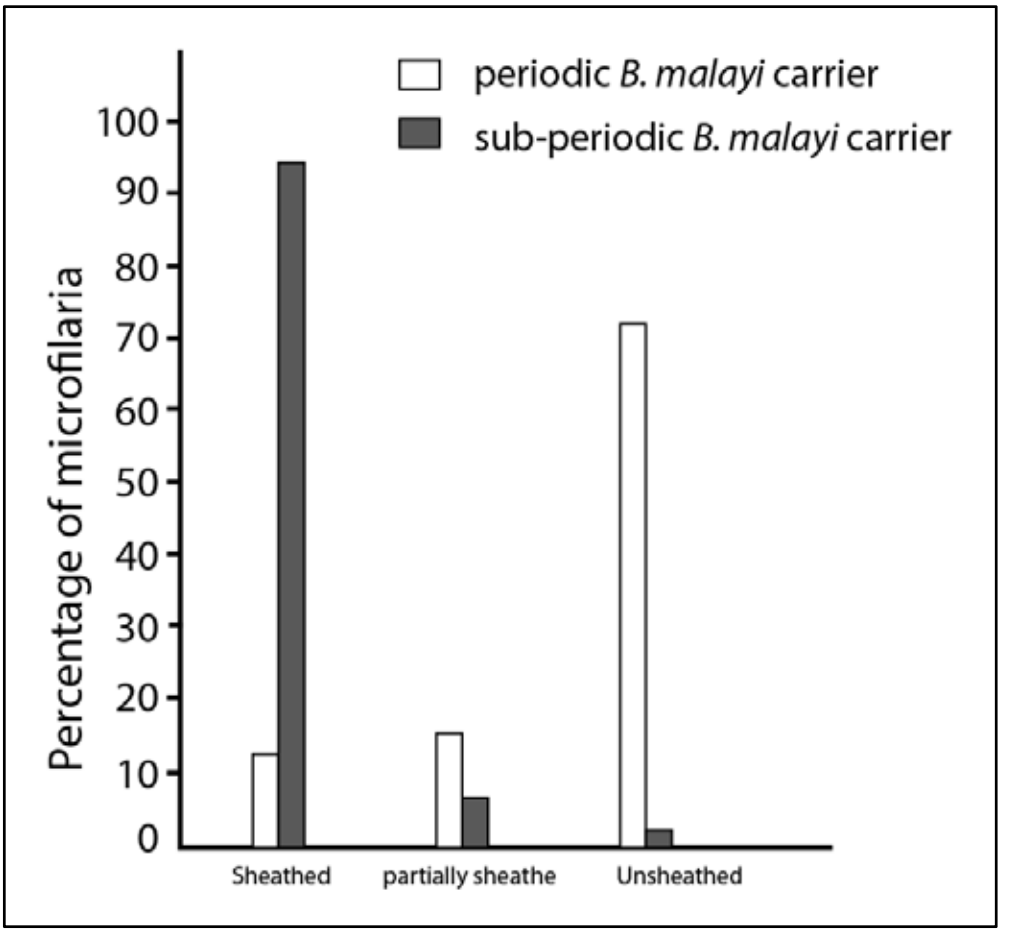


Fig. 3 -- The percentages of sheathed, partially sheathed and unsheathed of *B. malayi* microfilariae from periodic and sub-periodic carriers. 40 c.mm of blood were drawn at 2 hour interval throughout a period of 24 hours.

Table 3 Showing the number and percentages of unsheathed, partially sheathed and sheathed microfilariae of periodic and sub-periodic *B. malayi*, examined at 2 hour intervals throughout a period of 24 hours (each time 40 c.mm blood film being examined).

Time	Periodic *B. malayi* microfilariae (Pattani)						Sub-periodic *B. malayi* microfilariae (Narathiwat)					
	Sheathed		Partially sheathed		Unsheathed		Sheathed		Partially sheathed		Unsheathed	
	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent	No.	Percent
06.00	11	10.7	13	12.6	79	76.7	280	88.1	37	11.6	1	0.3
08.00	2	28.6	1	14.3	4	57.1	259	82.7	48	15.3	6	1.9
10.00	0	0	0	0	0	0	210	95.5	8	3.6	2	0.9
12.00	0	0	1	100	0	0	182	100	0	0	0	0
14.00	0	0	0	0	0	0	102	100	0	0	0	0
16.00	1	25	1	25	2	50	331	99.7	1	0.3	0	0
18.00	7	38.9	2	11.1	9	50	421	100	0	0	0	0
20.00	23	13.5	31	18.2	116	68.2	395	100	0	0	0	0
22.00	32	23.2	30	21.7	76	55.1	363	93.1	22	5.6	5	1.3
24.00	30	17.6	38	22.4	102	60.0	239	81.0	49	16.6	7	2.4
02.00	13	8.3	17	10.9	126	80.8	292	99.3	2	0.7	0	0
04.00	8	4.6	7	4.0	160	91.4	268	84.5	45	14.2	4	1.3

DISCUSSION

The periodicity of *B. malayi* microfilariae in Pattani carriers as in Table 1 and Fig. 1 showed clearly nocturnal periodic character. During the day time from 1000 hours to 1600 hours, practically on microfilariae were found in the peripheral blood. The microfilariae began to appear in the peripheral blood at 1800 hours and increased in the amount rapidly until it reached the peaks at 2400-0400 hours. They then decreased in number at 0600 hours, and were found a few or practically none at 0800 hours and 1000 hours respectively.

On the contrary, the periodicity of *B. malayi* microfilariae in Narathiwat carriers as in Table 2 and Fig. 2 showed a nocturnal sub-periodic character. The microfilariae in all 4 cases could be detected in the peripheral blood 24 hours, day and night with some fluctuations. From Fig. 2, there was a moderate number of density of microfilariae during day time, and a greater number at night time. The lowest density of 36.3% was found at 1400 hours and the highest densities of the peaks of 85.8 to 85.5 % were observed at 2000 - 2200 hours.

In the Giemsa stained blood films the appearances of the microfilariae of nocturnal periodic and of nocturnal sub-periodic were somewhat different so far as “sheathed” character of microfilariae was concerned. The majority of nocturnal periodic microfilariae was “unsheathed” with the empty sheaths lying nearby, while most of nocturnal sub-periodic microfilariae were “sheathed”. These characters were reported previously from filariasis cases from West Malaysia (Wilson *et al.,* 1958)

SUMMARY

The periodicity of *Brugia* microfilariae were studied in the two endemic areas of the South Thailand i.e. in Pattani and Narathiwat provinces. It was found that in Pattani Province the microfilariae had a markedly nocturnal periodicity character, while in Narathiwat province they were of a nocturnal sub-periodic type. Moreover, the microfilariae of periodic form in Giemsa stained blood films usually had “unsheathed” appearance (71.5%), while those of sub-periodic type were mostly of “sheathed” form (93.4%).

REFERENCES

1. GUPTAVANIJ, P., HARINASUTA, C., SUCHARIT, S. and VUTIKES, S., (1971). Studies on subperiodic *Brugia malayi* in Southern Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 2* : 44.
2. GUPTAVANIJ, P., HARINASUTA, C., SURATHIN, K., VUTIKES, S. and DEESIN, T., (1977). Studies on the prevalence of malayan filariasis in South Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 8* : 42.
3. HARINASUTA, C., CHAROENLARP, P., GUPTAVANIJ, P. and SUCHARIT, S., (1964). A pilot project for the control of filariasis in Thailand. *Ann. Trop. Med. Parasit., 58*: 315.
4. HARINASUTA, C., CHAROENLARP, P., SUCHARIT, S., DEESIN, T., SURATHIN, K. and VUTIKES, S., (1970). Studies on malayan filariasis in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 1*: 29.
5. NAIR, C.P. and CHAYABEJARA, S., (1961). Studies on filariasis in Thailand. Periodicity of microfilaria. *Indian J. Malariol., 15*: 249.
6. TURNER, L.H. and EDESON, J.F.B., (1957). Studies on filariasis in Malaya: The periodicity of the microfilariae of *Wuchereria malayi. Ann. Trop. Med. Parasit., 51*: 271.
7. VASUVAT, S., GUPTAVANIJ, P. and HARINASUTA, C., (1966). Studies on the periodicity of microfilariae of *Brugia maiayi* in Nakornsrithammaraj province. *J. Med. Ass. Thailand, 49*: 16.
8. WILSON, T., EDESON, J.F.B., WHARTON, R.H., REID, J.A., TURNER., L.H. and LAING, A.B.G., (1958). The occurrence of two forms of *Wuchereria malayi* in man (Corresp.). *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 52*: 480.
9. WONGSATHUAYTHONG, S., PUNYAGUPTA, S., SIRIVORASARN, P. and CHULAREK, P., (1963). Filariasis in Thailand, a preliminary report. *Roy. Thai Army Med. J., 16*: 101.

THE VECTORS OF *BRUGIA MALAYI* IN SOUTHERN THAILAND*

PENSRI GUPTAVANIJ, CHAMLONG HARINASUTA, SAMRAN VUTIKES, THONGCHAI DEESIN and KAMHAENG SURATHIN

Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok 4, Thailand.

INTRODUCTION

The distribution of the human filarial parasite, *Brugia malayi*, is widespread in Southern Thailand (Guptavanij *et al*., 1977). In most endemic areas in South Asia, species of genus *Mansonia* subgenus Mansonides are considered the main vectors. Six species belonging to this subgenus occur in Thailand, they are *annulata, annulifera, bonneae, dives, indiana and uniformis.* Reports of their vector roles in *B. malayi* transmission in Thailand (Wongsathuaythong *et al*., 1963, Harinasuta *et al*., 1964, Harinasuta *et al*., 1970; Guptavanij *et al.,* 1971) can be summarized as : (1) periodic type - *annulata, bonneae, indiana* and *uniformis,* vectors in Chumphon, and *uniformis,* a vector in Surat Thani; (2) Sub-periodic type- *bonneae* and *uniformis* vectors in Chumphon, and *uniformis,* a vector in Narathiwat and (3) unspecified type - longipalpis (= *dives/bonneae*) a vector in Narathiwat. The present report is the result of further studies on the vectors of *B. malayi* in areas of South Thailand.

The general descriptions of the areas under study have been given elsewhere (Guptavanij *et al*., 1977).

MATERIALS AND METHODS

Field stations were set up in the provinces of Pattani, Narathiwat, Yala, Songkhla, Satun, Trang, Krabi, Phang-nga, Phuket and Ranong during 1970-1972. Mosquito catches by the Bare-Leg-Catch Method (BLC) were carried out in those areas between 18.00-21.00 hours. All mosquitoes were identified to species and dissected for the presence of filarial larvae on the following day. Species of infected mosquitoes were recorded and the stages of infection of filarial worms were studied.

**This work was supported by a grant from the US Army Research and Development Group (Far East), Department of the Army, Grant No. Da CRDAFE-S 92-544-70-G148.*

RESULTS

Pattani: A total of 77 nights of mosquito collections with the BLC method during June-September 1970 and February - April 1971 were performed. Five genera and forty-two species were identified and subsequently dissected. The numbers and species of mosquitoes are presented in Table 1. The predominant mosquito was *Mansonia uniformis* and it is obvious that this species is the most important. It comprised 45% of the total mosquitoes coming to attack man. From 8,699 mosquito dissections, *B. malayi* stage III larvae were found in only one *Ma. uniformis*, and stage I and II in *Mansonia* sp. and *Anopheles nigerrimus*. The infective stage of filarial worms Type I and Type II were found in *Mansonia* spp. (Tables 2 and 3).

Table 1 Species of mosquitoes caught and dissected for filarial larvae in Pattani province in 1970.

Species	Number mosquitoes		
	Collected	Dissected	Infected with *B. malayi* larvae
Aedes			
albopictus	111	75	0
butleri/dux	42	33	0
lineatopennis	179	72	0
mediolineatus	202	159	0
taeniorhynchus	151	61	0
vexans	154	82	0
Anopheles			
aconitus	18	18	0
annularis	2	2	0
campestris	64	21	0
argyropus lesteri	70	70	0
paraliae	19	9	0
nigerrimus	95	62	1
peditaeniatus	50	45	0
sinensis	3	1	0
karwari	6	2	0
kochi	20	12	0
philippinensis	264	160	0

Table 1 Species of mosquitoes caught and dissected for filarial larvae in Pattani provines in 1970.

(Cont' d)

Species	Number mosquitoes		
	Collected	Dissected	Infected with *B. malayi* larvae
ramsayi	3	1	0
separatus	1	0	0
indefinitus	32	25	0
subpictus	167	151	0
sundaicus	2	0	0
tessellatus	25	17	0
umbrosus	1	0	0
vagus	45	37	0
Armigeres			
annulitarsis	6	2	0
subalbatus	62	45	0
Coquillettidia			
crassipes	7	7	0
nigrosignata	5	5	0
Culex			
bitaeniorhynchus	268	219	0
fuscocephala	175	86	0
gelidus	160	135	0
quinquefasciatus	2	0	0
sinensis	60	35	0
sitiens	1,461	879	0
tritaenior hynchus	666	375	0
whitmorei	131	73	0
Mansonia			
annulifera	79	79	1
bonneae	124	124	0
dives	143	143	0
Indiana	658	656	4
uniformis	4,734	4,721	44
Total	**10,467**	**8,699**	**50**

Narathiwat: A total of 3,606 mosquitoes were collected during August-September 1970. Five genera and 39 species were identified and dissected. The predominant species coming to attack man was *Ma. bonneae*; it comprised 40% of the total mosquitoes collected. From 2,242 mosquito dissections, *B. malayi* stage III larvae were found in 2 *Ma. bonneae* and 1 *Ma. dives*, and stage I and II in 29 *Mansonia* spp. (Tables 4, 5 and 6).

Table 2 Filarial larvae found in positive mosquitoes in Pattani province.

Mosquito species	NO. mosquitoes dissected	No. of positive mosquitoes with *B. malayi* larvae					No. of mosquitoes infected wiht larvae Stage III	
		Stage I	Stage II	Stage III	Infected rate	Infective rate	Type I	Type II
Anopheles nigerrimus	62	1	0	0	0	0	0	0
Mansonia annulifera	79	1	0	0	0	0	0	0
Ma. indiana	656	0	4	0	0.61	0	1	0
Ma. uniformis	4,721	25	18	1	0.93	0.02	12	4
Total	**5,518**	**27**	**22**	**1**	**0.91**	**0.02**	**13**	**4**

Table 3 Numbers of *B. mala*yi larvae per positive mosquito found in Pattani province.

Mosquito species	Number of larvae/No. of mosquitoes		
	Stage I	Stage II	Stage III
An. nigerrimus	2/1	0	0
Ma. annulifera	3/1	0	0
Ma. indiana	0	7/4	0
Ma. uniformis	88/25	38/18	2/1

Table 4 Species of mosquitoes caught and dissected for filarial larvae in Narathiwat province in 1970.

Species	Number mosquitoes		
	Collected	Dissected	Infected with *B. malayi* larvae
Aedes			
aegypti	3	0	0
albopictus	15	0	0
butleri/dux	21	0	0
lineatopennis	11	0	0
mediolineatus	43	27	0
poicilius	5	0	0
vexans	64	0	0
Anopheles			
aconitus	1	0	0
annularis	2	0	0
nitidus	3	0	0
lesteri	14	0	0
paraliae	2	0	0
nigerrimus	48	39	0
peditaeniatus	5	0	0
sinensis	5	0	0
philippinensis	2	0	0
separatus	19	0	0
indefinitus	7	0	0
subpictus	6	0	0
sundiacus	9	0	0
tesellatus	7	0	0
umbrosus	2	0	0
vagus	1	0	0
Armigeres			
subalbatus	4	0	0
Coquillettidia			
crassipes	3	1	0
nigrosignata	3	3	0

Table 4 Species of mosquitoes caught and dissected for filarial larvae in Narathiwat province in 1970. (Cont'd)

Species	Number mosquitoes		
	Collected	Dissected	Infected with *B. malayi* larvae
Culex			
bitaeniorhynchus	32	24	0
fuscocephala	75	2	0
gelidus	54	2	0
quinquefasciatus	8	1	0
sinensis	18	0	0
sitiens	4	0	0
tritaeniorhynchus	144	4	0
whitmorei	12	2	0
Mansonia			
annulata	72	44	0
bonneae	1,434	1,108	14
dives	677	504	7
indiana	8	5	0
uniformis	763	476	11
Total	3,606	2,242	32

Table 5 Results of mosquito dissections for *B. malayi* larvae in Narathiwat province in 1970.

Species	NO. dissected	No. of positive mosquitoes with *B. malayi* larvae				
		Stage I	Stage II	Stage III	Infected rate	Infective rate
Ma. bonneae	1,108	5	7	2	1.26	0.18
Ma. dives	504	5	1	1	1.39	0.20
Ma. uniformis	476	6	5	0	2.30	0
Total	2,088	16	13	3	1.53	0.14

Table 6 Numbers of *B. malayi* larvae per positive mosquito found in Narathiwat province.

Species	Number of larvae/No. of mosquitoes		
	Stage I	Stage II	Stage III
Mansonia bonneae	12/5	18/7	11/2
Ma. dives	9/5	3/1	1/1
Ma. uniformis	20/6	14/5	0
Total	41/16	35/13	12/3

In the provinces of Satun, Songkhla, Yala, Trang, Krabi, Phang-nga, Phuket and Ranong, a total of 3,937 mosquitoes were collected from the study areas. Six genera and 51 species were identified and dissected (Table 7). Mosquitoes in the genera of *Anopheles, Culex* and *Mansonia* came to attack man at the same numbers-about 90% of all mosquitoes collected. Dissections of these mosquitoes failed to reveal filarial larvae.

Table 7 Mosquitoes collected and dissected in the provinces of Satun, Songkhla, Yala, Trang, Krabi, Phang-nga, Phuket and Ranong in 1970.

Species	No. of mosquitoes collected and dissected
Aedeomyia catasticta	1
Aedes aegypti	8
albopictus	93
butleri/dux	110
harveyi	1
lineatopennis	36
mediolineatus	35
niveus	10
poicilius	16
vexans	221
Anopheles aconitus	171
annularis	9
balabacensis	1
barbirostris	5
campestris	75
argyropus	26
nitidus	8

Table 7 Mosquitoes collected and dissected in the provinces of Satun, Songkhla, Yala, Trang, Krabi, Phang-nga, Phuket and Ranong in 1970. (Cont'd)

Species	No. of mosquitoes collected and dissected
lesteri paraliae	3
nigerrimus	297
peditaeniatus	163
sinensis	33
jamesii	5
karwari	10
kochi	5
maculatus	13
philippinensis	222
ramsayi	3
separatus	2
subpictus	49
sundaicus	4
tessellatus	13
vagus	66
Armigeres annulitarsis	1
flavus	12
magnus	3
subalbatus	19
Coquillettidia crassipes	1
Culex bitaeniorhynchus	4
fuscocephala	178
gelidus	114
quinquefasciatus	117
Culex sinensis	45
sitiens	12
tritaeniorhynchus	392
vishnui	5
whitmorei	65
Mansonia annulifera	12
bonneae	69
dives	253
indiana	32
uniformis	889
Total	3,937

DISCUSSION

Our previous studies revealed that the endemic focus of malayan filariasis in Southern Thailand is confined to six provinces on the eastern coast of the peninsula. The disease is scattered in rural areas. The nocturnal periodic type was found in Pattani and the nocturnal subperiodic type was found in Narathiwat. The primary aim of this study was to determine the probable vector (s) of malayan filariasis in these areas. It is evident from the dissections that *Ma. uniformis* in Pattani and *Ma. bonneae* and *Ma. dives* in Narathiwat harboured stage III larvae of *B. malayi*. The biting behavior of thees three species of *Mansonia* in similar. This activity begins shortly after sunset with a major peak between 19.00-21.00 hours, and a smaller peak in the early hours of morning. The number of mosquitoes caught outside the house was more than that from inside the house with ratio of outdoor: indoor, 1.6:1. (Guptavanij *et al*., 1973).

It has been known for a long time that filariasis due to *B. malayi* occurs only along the eastern coast of the Thai peninsula. However, why this disease has this distribution is still uncertain. One major factor in spreading the disease is the prevalence and abundance of the vectors. Areas along the eastern coast are low in elevation and have several large swamps with many kinds of aquatic plants such as *Pistia* spp. *Eichhornia* spp., *Salvinia* spp. and *Polygonum* spp. which can be found all year long. These aquatic plants serve as the breeding place for Mansonia larvae. Based on our studies, *Mansonia* mosquitoes are the most prevalent species coming to attack man in this area. Most of the western coastal areas are mountainous, with tin mines and forests, and some small swamps during the rainy season. *Mansonia* spp. as well as *Anopheles* spp. and *Culex* spp. are the mosquitoes commonly coming to attack man in this area. However, further investigations are needed on the biology of *Mansonia* mosquitoes in the western coastal regions.

SUMMARY

Mansonia uniformis, with an infective rate of 0.02, was incriminated as the vector of periodic *Brugia malayi* in Pattani province. *Mansonia bonneae* and *Ma. dives*, with infective rates of 0.18 and 0.20 respectively, were the vectors of *B. malayi* in Narathiwat, where the microfiarial periodicity was the sub-periodic form.

REFRENCES

1. GUPTAVANIJ, P., HARINASUTA, C., SUCHARIT, S. and VUTIKES, S., (1971). Studies on sub-periodic *Brugia malayi* in South Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 2*: 44.
2. GUPTAVANIJ, P., VUTIKES, S. and SURATHIN, K., (1973). The biting cycles of *Mansonia bonneae, M. dives, M. indiana* and *M. uniformis* in Southern Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 4*: 288.
3. GUPTAVANIJ, P., HARINASUTA, C., SURATHIN, K., VUTIKES, S. and DEESIN, T., (1977). Studies on the prevalence of Malayan filariasis in South Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub Hlth., 8*: 42.
4. HARINASUTA, C., CHAROENLARP. P., GUPTAVANIJ, P. and SUCHARIT, S., (1964). A pilot project for the control of Filariasis in Thailand. *Ann. Trop. Med. Parasit., 58*: 315.
5. HARINASUTA, C., CHAROENLARP, P., SUCHARIT, S., DEESIN, T., SURATHIN, K. and VUTIKES, S,. (1970). Studies on Malayan filariasis in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth., 1*: 29.
6. WONGSATHUAYTHONG, S., PUNYAGUPTA, S., SIRIRORASARN, P. and CHULARERK, P., (1963). Filariasis in Thailand (A preliminary report). *The Roy. Thai Army Med. J., 16*: 101.

EXPERIMENTAL TRANSMISSION OF SUBPERIODIC *WUCHERERIA BANCROFTI* TO THE LEAF MONKEY (*PRESBYTIS MELALOPHOS*), AND ITS PERIODICITY*

SUPAT SUCHARIT, CHAMLONG HARINASUTA, AND WEJ CHOOCHOTE

Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Abstract

Infective larvae of nocturnally subperiodic *Wuchereria bancrofti* were obtained from laboratory-raised *Aedes togoi* mosquitoes which had fed on an infected human volunteer from Kanchanaburi, Thailand, and 471 of them were inoculated subcutaneously into the inguinal regions of an immunosuppressed *Presbytis melalophos.* Microfilaremia was first detected 287 days after inoculation, and 77 days later, at 364 days of infection, the number of microfilariae determined at 2-hour intervals reached a maximum of 619/20 mm^3 at 4 hours past midnight, and the daytime levels were 11-35/20 mm^3; the corresponding levels in the human volunteer were 121 and 13-32/20 mm^3. Thus the nocturnal periodicity was relatively greater in the monkey than it was in the human host. Eight days after the periodicity study the monkey died and 77 adult worms were recovered from the popliteal (4), inguinal (58), iliac (6) and para-aortic (9) lymph nodes and 1 each from the ovary and liver. Of 56 females, only half were gravid.

Accepted 4 January 1982.

* This study was supported by the UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases.

Research in filariasis due to *Wuchereria bancrofti* was for a long time hampered because the only known host was man. In the search for a laboratory model, various animal hosts and strains of *W. bancrofti* have been used,[1,2] but adult worms and microfilariae were not recovered until Cross et al.[3] and Dissanaike and Mak[4] succeeded in obtaining mature *W. bancrofti* in experimentally infected monkeys (*Macaca cyclopis* and *M. fascicularis,* respectively). The microfilarial densities were low and erratic, and the periodicity could not be determined. We also have attempted to establish *W. bancrofti* in laboratory animals, and we report here our success in obtaining a patent experimental infection with *W. bancrofti* and determining its periodicity in a leaf monkey, *Presbytis melalophos.*

MATERIALS AND METHODS

Microfilariae from a 42-year-old man from Kanchanaburi, about 200 kilometers west of Bangkok, Thailand, an endemic area for nocturnally subperiodic *W. bancrofti,*[5] were used in the study. The microfilaremia ranged from 13-121 microfilariae per 20 mm^3, and the periodicity was determined by taking two samples of 20 mm^3 of peripheral blood at 2-hour intervals over a period of 26 hours. This carrier was the source of microfilariae for infecting *Aedes togoi,* and the infective larvae obtained from dissection of *Ae. togoi* were inoculated into a female leaf monkey (*P. melalophos*).

Infective larvae of *W. bancrofti* were obtained from direct feeding of *Ae. togoi* on the carrier, and 471 of them were introduced by subcutaneous inoculation into the groin regions of a leaf monkey which had been injected with cortisone acetate solution (8 mg of cortisone acetate each time) once weekly for 6 weeks previously. After infection, the same dosage was continued throughout the experiment. Approximately 3 months after exposure to infection, and weekly thereafter, day bloods were examined for microfilariae in thick blood smears (two 20 mm^3 samples) stained with Giemsa. The periodicity of microfilariae was done at 364 days of infection, or 77 days after the prepatent period, using techniques as in man. Searching for adult worms was based on Schacher's method.[6]

TABLE 1 Counts of microfilariae of *W. bancrofti* in a 42-year-old man and a 2-year-old *P. melalophos*, and (in brackets) the counts expressed as percentages of the peak counts, taken at 2-hour intervals over a period of 26 hours.

Host	Microfilariae/20 mm^3 blood* taken at hours												
	12	14	16	18	20	22	24	2	4	6	8	10	12
Man	13	19	28	45	87	121	73	74	60	28	32	14	18
	(11)	(16)	(23)	(37)	(72)	(100)	(60)	(61)	(50)	(23)	(27)	(12)	(15)
Monkey	15	16	35	41	579	368	400	582	619	97	12	17	11
	(2)	(3)	(6)	(7)	(94)	(60)	(65)	(94)	(100)	(16)	(2)	(3)	(2)

* Average of counts on two samples.

RESULTS

Microfilariae were detected in the monkey's peripheral blood 287 days after inoculation, and the microfilarial counts in 20 mm^3 were 1, 2, 15, 8, 10, 4 and 6 respectively, during the first 7 weeks of patency.

The microfilarial periodicity in man was shown to be nocturnally subperiodic, the highest number being 121 (100%)/20 mm^3 at 2 hours before midnight, and the numbers during the day time were 13-32/20 mm^3 (11-27%) (Table 1).

The microfilarial periodicity in the monkey was shown to be somewhat nocturnally periodic. There were two peaks, the first 4 hours before, and the second 4 hours after, midnight. The highest number was 619 (100%) per 20 mm^3, and the daytime counts were 11-35/20 mm^3, 2-6% of the maximum, i.e., daytime counts were about the same as they were in the carrier but the percentages of the maximum were much lower (Table 1).

The adult worms were recorded as gravid female, nongravid female, and male. They were recovered from popliteal lymph nodes (0 gravid female, 1 nongraved female, and 3 males), superficial inguinal lymph nodes (7, 12, and 11), deep inguinal lymph nodes (11, 9, and 8), iliac lymph nodes (4, 1, and 1), and para-aortic lymph nodes (6, 3, and 0) in both left and right sides. One nongravid female each was also recovered from the left ovary and liver.

DISCUSSION

The prepatent period in our study in the leaf monkey was 287 days or 9.6 months, while it was 8-18 months in nine *Macaca cylopis* infected with periodic *W. bancrofti.*[3] In the experiments described here, when the subperiodic *W. bancrofti* from man was transmitted to a female *P. melalophos* the microfilarial periodicity became somewhat more nocturnal than it was in the human host. This was in accordance with Laing's report of the periodicity of *Brugia malayi.*[7] Natural *W. kalimantani* infection in leaf monkeys reported by Palmieri et al.[8] was also reported to be nocturnally periodic. In all experimentally infected *M. cyclopis* the microfilaremia was low and the periodicity could not be determined.[3]

The number of worms recovered from our leaf monkey was 79, whereas Cross et al. recovered 1-16 worms from each of 78 *M. cyclopis*[3] and Dissanaike and Mak obtained 11 worms from one *M. fascicularis.*[4]

Such a high microfilaremia and large numbers of adult worms obtained from the leaf monkey when compared with the very low levels observed in *Macaca* monkeys suggests that the leaf monkey is the most appropriate animal for studies on *W. bancrofti.*

ACKNOWLEDGMENTS

The authors sincerely thank Mr. Sumran Vutikes, Mr. Kamhang Surathin, and Mr. Chamnarn Apiwathnasorn for their helpful laboratory assistance, and Dr. John H. Cross for helpful advice. Thanks also are expressed to WHO for financial support.

REFERENCES

1. Dissanaike, A. S., and Niles, W. J., 1965. Attempts to transmit *Wuchereria bancrofti* to cats and to a toque monkey. *Ann. Trop. Med. Parasitol., 59:* 189-192.
2. Ash, L. R., and Schacher, J. F., 1971. Early life cycle and larval morphogenesis of *Wuchereria bancrofti* in the jird, *Meriones unguiculatus. J. Parasitol., 57:* 1043-1051.
3. Cross, J. H., Partono, F., Hsu, M. Y., Ash, L. R., and Oemijati, S., 1979. Experimental transmission of *Wuchereria bancrofti* to monkeys. *Am. J. Trop. Med. Hyg., 28:* 56-66.
4. Dissanaike, A. S., and Mak, J. W., 1980. A description of adult *Wuchereria bancrofti* (rural strain) from an experimental infection in the long-tailed macaque, *Macaca fascicularis* (syn. *M. irus*). *J. Helminthol., 54:* 117-122.
5. Harinasuta, C., Sucharit, S., Deesin, T., Surathin, K., and Vutikes, S., 1970. Bancroftian filariasis in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 1:* 23-245.
6. Schacher, J. F., 1962. Developmental stage of *Brugia pahangi* in the final host. *J. Parasitol., 48:* 693-706.
7. Laing, A. B. C., 1961. Influence of the animal host on the microfilarial periodicity of *Brugia malayi. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.,* 55: 558.
8. Palmieri, J. R., Purnomo., Dennis, D. T., and Marwoto, H. A., 1980. Filarial parasites of south Kalimantan (Borneo), Indonesia. *Wuchereria kalimantani* sp. n. (Nematoda: Filarioidea) from the silvered leaf monkey *Presbytis cristatus,* Eschscholtz 1921. *J. Parasitol., 66:* 645-651.

IMPROVED OVIPOSITION MEDIUM FOR *MANSONIA* COLONIZATION[1]

SUPAT SUCHARIT, CHAMNARN APIWATHNASORN, RACHADA RUKKEARTSKUL AND VANIDA KERDPIBULE

Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand

ABSTRACT

In an attempt to develop more suitable oviposition media for *Mansonia* colonization, 6 aquatic plants and styrofoam[2] were offered as substrates to determine oviposition preferences by placing them in the same ovipot. Female *Mansonia* laid eggs on each, i.e.; *Pistia stratiotes, Salvinia cucullata, Lemna minor, Alternanthera philoxeroides, Jussiaea repens, Eichornia crassipes* and styrofoam. The oviposition percentages were 50.2, 23.6, 22.2, 1.3, 0.9, 0.5 and 1.3, respectively. Since the experiment indicated that the mosquitoes would oviposit in the absence of living aquatic plants a new ovipot with sliced styrofoam floating on the surface obtained using Wharton's ovipot, this technique is now routinely used in our laboratory for the oviposition of *Mansonia uniformis, Ma. indiana and Ma. annulifera.*

[1] This study was supported by the UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases.

[2] Styrofoam®, expanded polystyrene.

INTRODUCTION

Because of difficulties in rearing *Mansonia* mosquitoes, important vectors of Brugian fiariasis, various procedures to improve their colonization have been tried in our laboratory where colonies of *Mansonia uniformis, Ma. indiana* and *Ma. annulifera* have been established. Some well known aquatic plants such as *Pistia stratiotes* were used for oviposition by Wharton (1957) but the drawbacks are: 1) the plants are not always available, 2) they die before the experiment ends and 3) they can be infested with insects or worms. Laurence et al. (1962) used impregnated paper discs instead of aquatic plants but that type of paper is expensive and difficult to obtain. This paper describes an easy, practical and successful medium for mansonia oviposition.

MATERIALS AND METHODS

Three species of *Mansonia*, *uniformis* (Theobald), *indiana* Edwards and *annulifera* (Theobald) collected from Bangluke canton, Chumphon province, south Thailand were used. They have been established and maintained in our laboratory for 30, 26 and 26 generations, respectively by a modification of Wharton (1957) using *Jussiaea repens* as host plant for the larvae.

The aquatic plants used in the experiment (*Pistia stratiotes, Salvinia cucullata, Lemna minor, Jussiaea repens, Alternanthera philoxeroides and Eichornia crassipes*) were collected locally around Bangkok.

The sliced styrofoam (1-2 mm thick, cut into pieces 1x1 cm) used for oviposition was the common expanded styrofoam used for packing electronic equipment.

Our ovipot was modified from that described by Wharton (1957) and differs as described below. The sliced styrofoam pieces were placed on the surface of the tap water contained in a plastic jar, 9.5 cm diam x 10 cm covered with a netting lid. Only a small amount of water was used and the foam pieces were so arranged that little exposed water surface was left. Gravid *Mansonia* mosquitoes were placed into the jar for oviposition.

To study the oviposition preference on host plants and styrofoam, the 6 species of aquatic plants and styrofoam were placed in Wharton's ovipot of 20 cm diam and 30 cm height. The surface area of each oviposition substrate was approximately the same. Twenty gravid females of each species that had been held in small paper cups for 2-3 days after feeding on human blood were placed into the ovipot. Oviposition results were subsequently recorded until no egg-clusters were deposited.

The relative efficacy of Wharton's ovipot and the new ovipot were compared by using the numbers and hatching rates of egg-clusters and mortality rates of adults. All experiments were carried oud in the insectary with 28-30°C and 80-90% relative humidity with 4 replicates.

RESULTS

Egg-clusters were deposited on *P. stratiotes, S. cucullata, L. minor, A. philoxeroides, J. repens, E. crassipes* and styrofoam. While most egg-clusters were found on *P. stratiotes*, some were found on *S. cuculata* and *L. minor* and few on the rest of the plants and styrofoam. All *Mansonia* species had similar patterns of host plants preference (Table 1). The presence of egg-clusters on foam led to further experiments using sliced styrofoam for oviposition.

In a direct comparison, gravid female mosquitoes of *Ma. uniformis, Ma. indiana* and *Ma. annulifera* were allowed to lay eggs in Wharton's ovipot containing only *P. stratiotes* and in the new ovipot containing sliced styrofoam. Collectively, for the 3 species, 95.8% of the females deposited in the new ovipot and 95.0% in Wharton's ovipot (Table 2). All egg-clusters from foam substrates showed hatching and 91% of all eggs hatched. In Wharton's ovipot, 100% of the egg-clusters showed hatching and 93% of the eggs hatched. Some females died on the surface of the water and accounted for mortality rates of 2.1% in our ovipot and 2.9% in Wharton's ovipot (Table 2).

Table 1. Oviposition preference of *Mansonia* mosquitoes on various kinds of host plant and foam (20 mosquitoes/test for 4 replicates)

Species of *Mansonia*	Percentages and total numbers of egg-clusters( )							Total
	P. stratiotes	*S. cucullata*	*L. minor*	*A. philoxeroides*	*J. repens*	*E. crassipes*	Foam	
uniformis	45.4(35)	26.0(20)	23.4(18)	1.3(1)	1.3(1)	0(0)	2.6(2)	100.0(77)
indiana	50.7(38)	17.3(13)	26.7(20)	2.7(2)	0(0)	1.3(1)	1.3(1)	100.0(75)
annulifera	54.8(40)	27.4(20)	16.4(12)	0(0)	1.4(1)	0(0)	0(0)	100.0(73)
Total	**50.2(113)**	**23.6(53)**	**22.2(50)**	**1.3(3)**	**0.9(2)**	**0.5(1)**	**1.3(3)**	**100.0(225)**

Table 2. Comparison between Wharton's ovipot and the new ovipot on egg-laying and mortality rate of *Mansonia* mosquitoes (20 mosquitoes/test for 4 replicates)

Species of *Mansonia*	Wharton's ovipot (*P. stratiotes* as medium)		New ovipot (Styrofoam as medium)	
	% and no. of egg-clusters ( )	% and no. of dead mosquitoes ( )	% and no. of egg-clusters ( )	% and no. of dead mosquitoes ( )
uniformis	95.0(76)	2.5(2)	100(80)	0(0)
indiana	97.5(78)	2.5(2)	95.0(76)	2.5(2)
annulifera	92.5(74)	3.6(3)	92.5(74)	3.6(3)
Total	95.0(228)	2.9(7)	95.8(230)	2.1(5)

DISCUSSION

The results suggest that the gravid females of these 3 *Mansonia* species have particular oviposition preferences on aquatic plants. When given a choice, they select *P. stratiotes* (Table 1).

The observation that a few egg-clusters were laid under the rough surfaces of styrofoam suggested that egg-laying could be induced in the absence of living plants. Thus, a new ovipot using sliced styrofoam was developed. In direct comparisons between Wharton's ovipot and the new ovipot, the gravid females readily laid eggs in the latter as well as in the former. The similarity of egg-hatching between both ovipots clearly demonstrated that the new ovipot could be used. The advantages of the new ovipot are that egg-clusters are more clearly observed, it is inexpensive and reusable. The sliced foam is always available and easily arranged in the ovipot so that little water surface is available, preventing the mosquitoes from drowning. The new ovipot is now routinely used in our laboratory.

Styrofoam was also successful for larvae and pupae of *Mansonia* and *Coquillettidia* (Breeland et al. 1981). Ten percent of adults emerged when the rough surfaced styrofoam was used and it was about the same rate as in our observations, using *M. uniformis*. Further research on using styrofoam for larval and pupal development is needed.

References cited

1. Breeland, S. G., L. Hackbarth, R. E. Parsons and F. L. Wilson. 1981. An artificial attachment medium and submerged air source for larvae and pupae of *Mansonia* and *Coquillettidia.* Mosq. News 41: 800-802.
2. Laurence, B. R., R. Page and S. A. Smith, 1962. Laboratory colonization of *Mansonia* mosquitoes. Bull. Entomol. Res. 53:515-519.
3. Wharton, R. H. 1957. Studies on filariasis in Malaya: Notes on the breeding of *Mansonia* (*Mansonioides*) mosquitoes in the laboratory. Ann. Trop. Med. Parasitol. 51:297-300.

A simplified key for larval identification of *Mansonia* mosquitoes in Thailand

Chamnarn Apiwathnasorn, Narumon Komalamisra, Supatra Thongrungkiat and Supat Sucharit

Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

Abstract

To simplify the identification key of *Mansonia (Mansonioides)* larvae in Thailand, *Ma. annulata, Ma. annulifera, Ma. bonneae, Ma. dives, Ma. indiana* and *Ma. uniformis* were studied morphologically. Some points of identification in Wharton's (1962) key (e.g. pigmentation and body colouration) were replaced by more easily determined characters noted in the study. Illustrations of the important characteristics are provided together with the improved key.

Mosquitoes of the genus *Mansonia* are the major vectors of Brugian filariasis in many countries of Southeast Asia. In Thailand, all species are in the subgenus *Mansonioides*: *Ma. annulata* Leicester, *Ma. annulifera* (Theobald), *Ma. bonneae* Edwards, *Ma. dives* (Schiner), *Ma. indiana* Edwards and *Ma. uniformis* (Theobald). Information concerning ecology and population dynamics of the immature stages needs precise identification of the species involved. Keys identification are usually produced through taxonomic study of field-collected and laboratory-colonized specimens. *Mansonia* mosquitoes, however, are difficult to rear in the laboratory owing to their long developmental period (>20 days) and the requirement of aquatic plants for attachment during immature stages. This is an obstacle to bionomic study of the mosquitoes. At present *Ma. annulifera, Ma. bonneae, Ma. dives, Ma. indiana,* and *Ma. uniformis* can be established successfully in the insectary using the technique described by Rukkeartskul (1981). Mass rearing of the mosquitoes facilitates study of population dynamics and taxonomy. During the study on "The biology and bionomics of *Mansonia* mosquitoes in Thailand and on methods for their control" in 1980-1982, it was found that some characters (e.g. pigmentation, body colouration, prothoracic setae (4-P) and the saddle index) in the key to identification of the larval *Mansonia* by Wharton (1962) were obscure, leading to misidentification. This was particularly true for *Ma. Indiana* and *Ma. uniformis*. Hence, this study attempts to improve and simplify the key to the larval *Mansonia*, hopefully assisting ecological study of these mosquitoes in the field.

MATERIALS AND METHODS

The individual egg clusters obtained from feral mosquitoes collected in Phra Nakhon Si Ayutthaya Province (*Ma. annulifera, Ma. indiana* and *Ma. uniformis*) and in Surat Thani Province (*Ma. annulata, Ma. bonneae* and *Ma. dives*) were separately raised in the laboratory using the technique developed by Rukkeartskul (1981). The study included all *Mansonia* species except *Ma. annulata* which failed to rear in the laboratory. However, four slides of *annulata* larvae (Malaysian strain) were obtained by loan from the British Natural History Museum. Ten 4th-stage larvae per replication were randomly selected from a single colony and mount on slides with Hoyer's medium. These specimens were used for chaetotaxy and measurements of the characters in Wharton's key (1962), as well as other possibly useful characters. Each species was examined for 5 replications. Data analysis was based on comparative study and was summarized by descriptive statistics from which the identification key was developed.

Terminology of larval characters mentioned it the present study is listed below, quoted from Harbach and Knight (1980, 1982).

ACICULA - A small, slender, rigid, needle - or thornlike spicule.

SETA -A cuticular projection which arises from a basal alveolus.

Aciculate - Furnished with slender needlelike processes along the stem; the processes are somewhat flexible but often appear to be rigid.

Dendritic - Branched to resemble a tree in form; having a stemlike part bearing irregular or dichotomous branches which may be repeatedly forked or branched in turn.

SADDLE INDEX - The ratio of the saddle (X) length to the saddle width.

SADDLE LENGTH - The middorsal length of the saddle (X) measured along a straight line parallel to the longitudinal axis of abdominal segment X.

SADDLE WIDTH - The width at the midlength of the saddle (X) measured at a right angle to the longitudinal axis.

The abbreviations for larval chaetotaxy are as follow:

Table1. Determination of important setal branching and characters on larvae of *Mansonia* mosquitoes.

Characters	Species of *Mansonia*					
	annulata	*annulifera*	*bonneae*	*dives*	*indiana*	*uniformis*
No examined	4	50	50	50	50	50
Seta						
1-P Range	2	2-3	2	2	2-3	2
Mode	2	3	2	2	2	2
2-P Range	1	1	1	1	1	1
Mode	1	1	1	1	1	1
3-P Range	2-3	3-5	2-4	2-3	2-3	1
Mode	3	4	3	2	2	1
4-P Range	-	2-6	4-8	3-5	6-8	3-4
Mode	-	5	5	3	6	4
6-III Range	1	1	2	2	1-2	1
Mode	1	1	2	2	1	1
6-IV Range	1	1	2	2	1	1
Mode	1	1	2	2	1	1
6-V Range	1	1	2	2	1	1
Mode	1	1	2	2	1	1
3-VIII Range	2	3-4	1	1-2	2	1-2
Mode	2	3	1	1	2	2
1-A : 2, 3-A Position from base						
$\bar{x}$	0.65	0.47	0.52	0.56	0.45	0.49
S.D.	0.02	0.02	0.27	0.02	0.16	0.01
Range	0.62-0.67	0.43-0.56	0.47-0.57	0.52-0.58	0.41-0.48	0.48-0.50
Saddle Idex						
$\bar{x}$	1.89	2.22	2.31	1.58	1.96	1.41
S.D.	0.10	0.18	0.16	0.08	0.11	0.08
Range	1.81-2.04	1.97-2.44	2.06-2.59	1.46-1.71	1.70-2.06	1.30-1.52

1-A = Seta 1 on the larval antenna.

7-C = Seta 7 on the larval head.

3-P = Seta 3 on the larval prothorax.

6-III = Seta 6 on the larval abdominal segment III.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 summarizes quantitative measurements. Although it was confirmed by the study that some points of identification present in Wharton's key (e.g., seta 4-P, setae 6-III-V and saddle index) are consistent (Table 1). Other characters in the key (antennal pigmentation and body colouration) are always obscure owing to variation in clearing during the process of slide preparation or due to mounting media itself. Use of these obscure characters is a major obstacle to identification because the characters appear at the beginning of the key.

Additional useful for separating the species is also documented in Table 1. Seta 7-C is simple in *Ma. annulata* and *Ma. annulifera*. Seta 3-P is always single in *Ma. uniformis*; whereas it branches in the others. The presence of strong obvious spicule on the larval head and double branches of abdominal setae 6-III-V are found only in *Ma. bonneae* and, *Ma. dives*. The difference in branching of seta 7-C helps differentiate *Ma. bonneae* from, *Ma. dives*. The combination of the afore-mentioned additional characters and the reliable ones from the previous key make a more reliable key. Key to *Mansonia* larvae of Thailand.

1. Cuticle on dorsum of head covered with strong aciculae arranged singly, not grouped; seta 6-III-V double branched (Fig. 1a).....2

   Cuticle on dorsum of head usually covered with weak aciculae arranged in row-like groups of 3-5 spicules sometimes difficult to see; seta 6-III-V single (Fig. 1b).....3

2(1). Saddle index greater than 2.0; seta 7-C with sparse acilulate branches, particularly on apical half (Fig. 2a).....*bonneae*

   Saddle index less than 2.0; seta 7-C with more abundant aciculate dendritic branches (Fig. 2b)……..*dives*

3(1). Seta 7-C with smooth branches or inapparent sparse aciculate branches (Fig. 3a).....4

   Seta 7-C with aciculate dendritic branches (Fig. 3b).....5

4(3). Setae 6-III-V smooth; seta 3-VIII with 3-4 branches (Fig. 4a).....*annulifera*

   Setae 6-III-V aciculate; seta 3-VIII double branched (Fig. 4b).....*annulata*

5(3). Seta 3-P single; seta 4-P with 3-4 smooth branches (Fig. 5a).....*uniformis*

   Seta 3-P branched; seta 4-P with 6-8 aciculate branches (Fig. 5b).....*indiana*

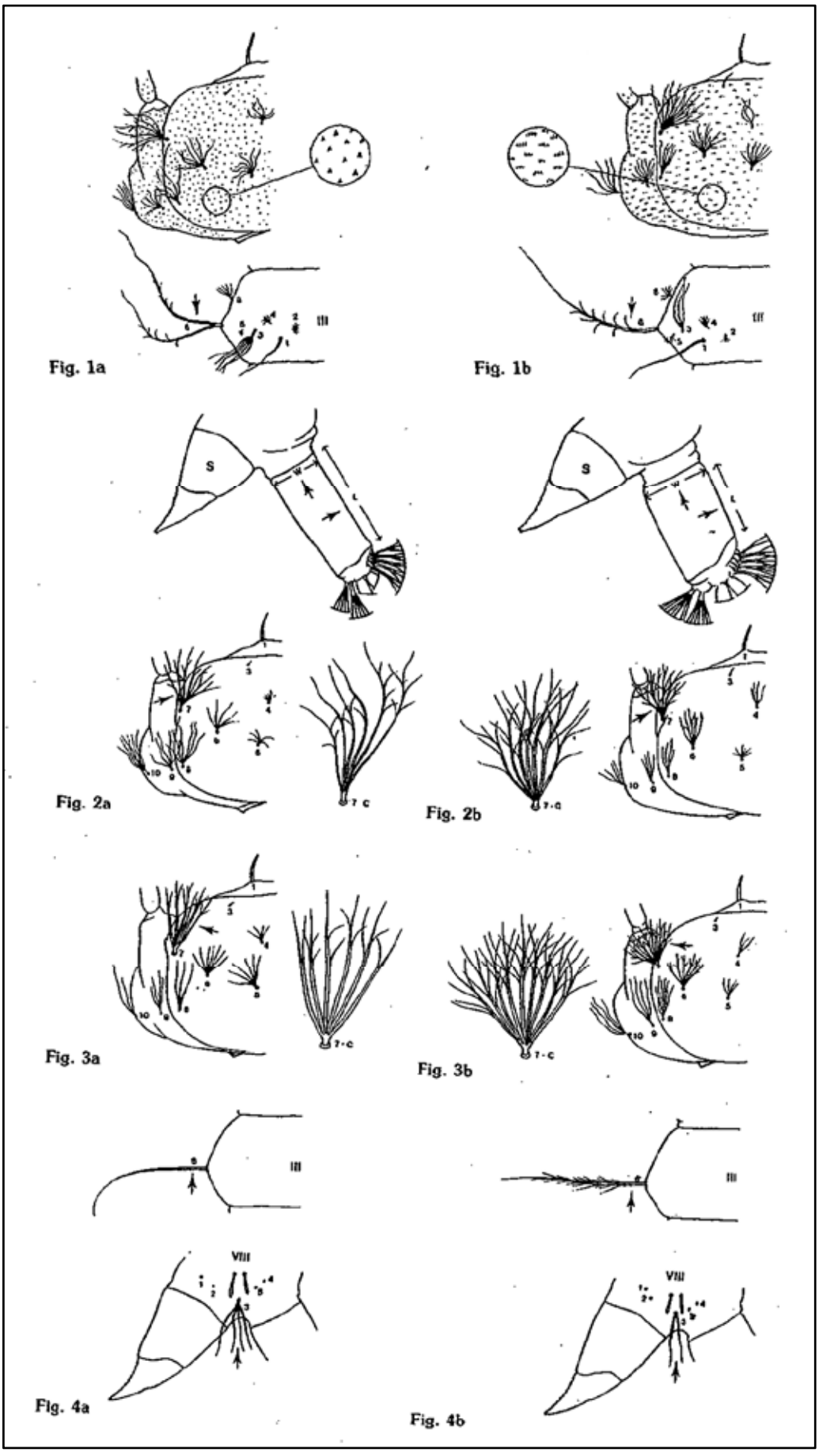


Fig. 1a

Fig. 1b

Fig. 2a

Fig. 2b

Fig. 3a

Fig. 3b

Fig. 4a

Fig. 4b

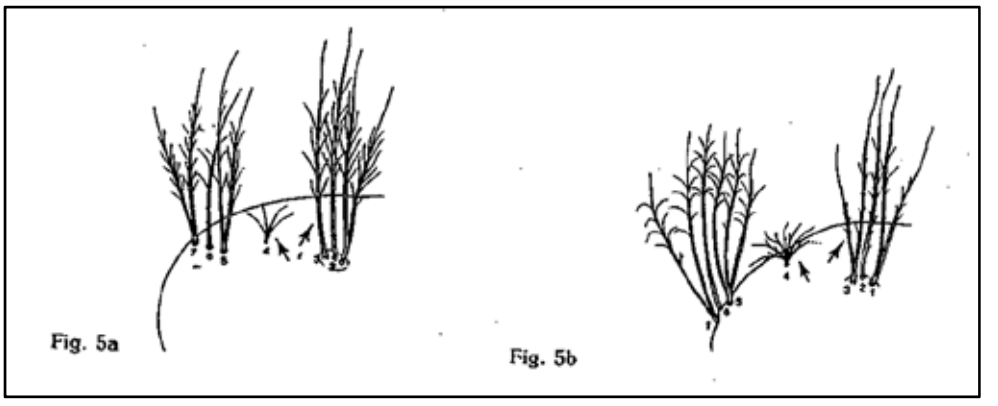


Fig. 5a

Fig. 5b

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Daniel Strickman and Rampa Rattanarithikul, Department of Entomology US Army Medical Component, Armed Forces Research Institute of Medical Sciences (AFRIMS), Bangkok, Thailand, for their advice and critical review of the menuscript. The present work was made possible by a contribution of specimens from the British Natural History Museum. We would also like to thank Prachong Panthusiri, AFRIMS, for preparing the illustration.

REFERENCES

1. Harbach RE, Knight KL. Taxonomists glossary of mosquito anatomy. Marlton, New Jersey: Plexus Publishing, 1980. 415 pp.
2. Harbach RE, Knight KL. Corrections and additions to taxonomists' glossary of mosquito anatomy. *Mosq Syst* 1982; 13: 201-17.
3. Rukkeartskul R. Laboratory rearing of *Mansonia (Mansonioides)*. Bangkok, Thailand: Mahidol University, 1981, 119 pp, MSc Thesis.
4. Wharton RH. The biology of *Mansonia* mosquitoes in relation to the transmission of filariasis in Malaya. Bull *Inst Med Res Fed Malaya* 1962: 1-114.

BRUGIA MALAYI IN A NATURALLY INFECTED CAT FROM NARATHIWAT PROVINCE, SOUTHERN THAILAND

Kobkan Kanjanopas[1], Wej Choochote[2], Atchriya Jitpakdi[2], Saravudh Suvannadabba[1], Sumas Loymak[1], Sudchit Chungpivat[3] and Suwannee Nithiuthai[3]

[1]Division of Filariasis, Department of Communicable Disease Control, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000, Thailand; [2]Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand; [3]Parasitology Unit, Faculty Of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bnagkok 10330, Thailand

Abstract

Brugia malayi-like from an infected cat from Narathiwat Province, southern Thailand was identified intensively by microfilarial morphometry, acid phosphatase activity, and adult morphology. The results indicated that both microfilarial and adult characteristics conformed to the topotypic *B. malayi*.

Filariasis due to *Brugia malayi* is still a public health problem in many countries of Asia, particularly in India, Indonesia, Malaysia, Philippines, Sri lanka and Thailand (WHO, 1992), So far, at least four physiological types have been declared, *ie* the nocturnally periodic, nocturnally subperiodic (Wilson *et al*, 1958), diurnally subperiodic and non-periodic (Sudjadi *et al*, 1984). In Thailand, only two. the nocturnally subperiodic and diurnally subperiodic types, have been differentiated (Division of Filariasis, 1998). For the nocturnally subperiodic type, the endemic areas are located in five provinces of southern Thailand, *i.e.* Nakhon Si Thammarat, Phattalung, Pattani, Yala and Narathiwat. The areas are rural semiforest, and *Mansonia uniformis* and *Ma. Bonnae* are the primary vectors in open swamps and swampforest, respectively, while *Ma. dives*, *Ma. indiana*, *Ma. annulata* and *Ma. annulifera* are considered as secondary vectors. For the diurnally subperiodic type, the endemic area is limited to Surat Thani Province, southern Thailand, and *Coquilletidia crassipes* in the important vector (Guptavanij *et al*,

Correspondence: Wej Choochote, Department of Parasitology, Faculty of medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand. Tel; 66-53) 945342-5; Fax: (66-53) 217144
E-mail: wchoocho@mailmed.cmu.ac.th

1971; Division of Filariasis, 1998). Comparison among six provinces, Narathiwat is the most highly endemic area, with approximately 50% of reported brugian filariasis cases. This may be a result of suitable mosquito breeding-places or large areas of swamp, and the existence of animal reservoir-hosts. Blood examination of both stray and domestic cats in Narathiwat Province revealed that 104 of 2,515 cats (4.13%) were positive for *B. malayi*-like microfilariae (Phantana *et al,* 1995), but no exact species identification of the parasite has been carried out. The possibility that this *B. malayi*-like was *B. pahangi*, a common, natrual parasite of cats (Buckley and Edeson, 1956), needs to be considered. In this paper, we have confirmed the *B. malayi* in a naturally infected cat from Narathiwat Province by means of microfilarial morphometry, acid phosphatase activity, and adult morphology.

One microfilaremic female cat from an endemic area in Narathiwt Province, southern Thailand was examined in the present study. The microfilariae found in the Giemsa-stained thick blood smear were tentatively identified as *B. malayi* by staff of the Filariasis Control Center in Narathiwat Province. The standard smear method (Sas, 1976) was used to prepare the microfilariae. The Giemsa-stained microfilariae were examined under a compound microscope and the dimensions of the body were assessed using camera lucida drawing. For microfilarial acid phosphatase activity, the blood films were processed following the method of Barka and Anderson (1963). *B. pahangi* microfilariae were obtained from a naturally infected cat at Lat Krabang district, an outskirt area of eastern Bangkok outside the endemic area for *B. malayi* were used as the control. For adult worms, sixty harvested infective stages from *Aedes togoi*-infected *B. malayi*-like microfilariae were suspended in 0.5 ml of Hanks' balanced salt solution (HBSS) and inoculated intraperitoneally into a male Mongolian jird *(Meriones unguiculatus*). Four months after inoculation, the jird was killed, and peritoneal and pleural cavities were rinsed several times with HBSS to recover any worms. The harvested adult worms were killed with hot 70% ethanol, mounted in glycerine on a cavity slide and examined under a compound microscope.

Morphometric measurement of thirty microfilariae in Giemsa staining revealed that the average and range of body length, body width at the nerve ring and innenkorper length were 221.30 (189.54-242.19) µm, 4.51 (3.33-5.55) µm and 32.29 (21.06-42.12) µm, respectively, The average innenkorper length of 32.29 µm conformed to *B. malayi* [*B. malayi* = 30.7 (24-34) µm, *B. pahangi* = 53.1 (44-63) µm (Sivanandam and Fredericks, 1966)]. Acid phosphatase staining demonstrated that intensely positive sites were found at amphids, excretory vesicles, anal vesicles and phasmids, and the remainder of the body showed very diffuse activity (Fig 1A). These were similar to the pattern of *B. malayi*, whereas in *B. pahangi*, the activity was found along the entire body (Fig 1B) (Yen and Mak, 1978). The examination of 11 females and 7 males showed that all adult worms had the morphological characteristics of *B. malayi*, *i.e.* the tail region of the female bore minute cuticular bosses or tubercles,

which were absent from *B. pahangi*, the left spicule of the male terminated in the spatulate tip (Fig 1C), whereas it was sharply pointed tip in *B. pahangi* (Buckley and Edeson, 1956). Judged from the above results, it could be confidently declared that the *B. malayi*-like in cat from Narathiwat Province, southern Thailand was *B. malayi*. Further survey for the prevalence of *B. malayi* in more cat samples needs to be determined the exact role of cats as the natural reservior hosts of *B. malayi* prior to the application of control program in Narathiwat Province, particularly, by using once-yearly, single-dose, 2-drug treatment [albendazole (400 mg. same dose for all ages) + DEC (6 mg/kg) or albendazole (400 mg) + ivermectin (200 µg/kg)] recommend by WHO (1998).

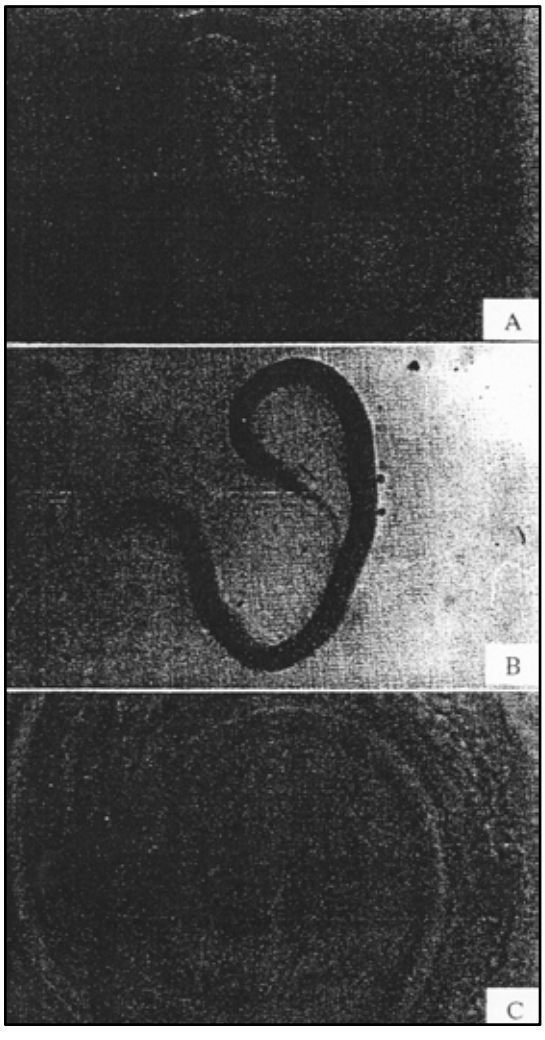


Fig 1 - *B. malayi* microfilaria from cat (Narathiwat). A) Acid phosphatase activity at amphids (am), excretory (ex) and anal (an) vesicles, and phasmids (ps). B) *B. pahangi* micorfilaria from cat (Bangkok). Acid phosphatase activity along entire body (B). C) Tail end of 4-month-old adult male *B. malayi* From intraperitoneal infected jird. Showing spatulated tip of the left spicule (sp).

ACKNOWLEGEMENTS

The authors sincerely thank the staff member of Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, and Parasitology Unit, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University for their cooperation.

REFERENCES

1. Barka T, Anderson PJ. Histochemistry, theory, practice and bibliography. New York: Hoeber Medical Division, 1963: 242-6.
2. Buckleyt JJC, Edeson JFB. On the adult morphology of *Wuchereia* sp (*malayi* ?) from a monkey (*macaca irus*) and from cats in Malaya, and on *Wuchereria pahangi* n sp from a dog and a cat. *J Helminthol* 1956; 30: 1-20.
3. Division of Filariasis, Department of Communicable Disease Control, Ministry of Public Health 1998: 1-33.
4. Guptavanij PC, Harinasuta S, Sucharit S, Vutikes S. Studies on subperiodic *Brugia malayi* in Southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1971; 2: 44-50.
5. Phantana S, Sensathien S, Choomphon S. Microfilariae in cat in Narathiwat, southern Thailand. *Commun Dis J* 1995; 21: 107-13.
6. Sasa M. Human filariasis: A global survey of epidemiology and control. Tokyo: University of Tokyo Press, 1976.
7. Sirivanandam S, Fredericks HJ. The “innenkorper” in differentiation between the microfilariae of *Brugia pahangi* and *B. malayi* (sub-periodic form). *Med J Malaya* 1966; 20: 337-8.
8. Sudjadi FA, Soeyoko, Noerhajati S. Diurnally subperiodic and non-periodic Brugia type in Balikpapan, East Kalimantan, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1984; 15: 425-6.
9. WHO. Lymphatic filariasis: The disease and its control. World Health Organization, Genevea. *WHO Tech Rep Ser* 1992; 821: 1-5.
10. WHO. Epidemiologic approaches to lymphatic filariasis elimination: initial assessment, monitoring and certification. World Health Organization, Atlanta, Georgia, USA. *WHO/FIL/99*. 195; 1998: 1.35.
11. Wilson T. Edeson JFB. Wharton RH, Reid JA. Turner LH. Laing ABG. The occurrence of two forms of *Wuchereria malayi* in man. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1958; 52: 480-1.
12. Yen PKF, Mak JW. Histochemical differentiation of *Brugia, Wuchereria, Dirofilaria* and *Breinlia* microfilariae. *Ann Trop Med Parasitol* 1978; 72: 157-62.

Lymphatic Filariasis Caused by *Brugia malayi* in an Endemic Area of Narathiwat Province, Southern of Thailand

SURANG TRITEERAPRAPAB, M.D., M.P.H., Ph.D*, KOBKARN KARNJANOPAS, M.Sc., D.A.P.&E.,**
CHANTIMA PORKSAKORN, B.Sc.*, ARKHOM SAI-NGAM, M.Sc.*,
SUTIN YENTAKAM*, SUMAS LOYMAK, B.Ed.***

Abstract

Lymphatic filariasis caused by *Brugia malayi* is highly prevalent in Narathiwat province of Thailand. The World Health Organization has aimed to eliminate the disease globally by the year 2020. To achieve the goal, assessment of the real disease situation should be integrated as part of the control program. The preliminary data for long-term study of the disease situation in this endemic area is necessary for the elimination program of lymphatic filariasis. By using the conventional microscopic method, the microfilarial rate of *B. malayi* in an endemic area of Narathiwat province was 1.38 per cent. The microfilarial densities ranged from 17 microfilariae/ml to 1,250 microfilariae/ml median = 50. The highest prevalence was found in the age group > 45-60 (4.69%). The lowest microfilarial rate was in the age group ≤15 (0.37%). The infection in males was about three fold the number in females. A PCR-based method was employed to detect a *B. malayi*-specific *Hha* I repetitive DNA sequence with high specificity and sensitivity. The PCR assay will be useful in assisting the elimination program of lymphatic filariasis in control and monitoring the disease in Thailand.

Key word : Lymphatic Filariasis, *Brugia malayi*, Thailand

TRITEERAPRAPAB S, KARNJANOPAS K, PORKSAKORN C,
SAI-NGAM A, YENTAKAM S, LOYMAK S
J Med Assoc Thai 2001; 84(Suppl 1): S182-S188

*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330,
**Filariasis Division, Department of Communicable Disease Control, Ministry of Public Health, Nonthaburi 11000, Thailand.
***The Royal Development Project, Phikultorng Center, Narathiwat 96000.

Lymphatic filariasis is a mosquito-borne disease caused by filarial nematode parasites, mainly *Wuchereria bancrofti* and *Brugia malayi*. More than 120 million persons are infected with the parasites, with the people at risk of more than 1 billion.[1,2] After being bitten by infected mosquitoes, humans obtain the infective third-stage larvae, from the mosquitoes. The larvae migrate through the skin and go to the lymphatics, where they develop into adult worms. After mating, the female will produce microfilariae into the blood circulation. When the mosquito vectors take their next blood meal from the patients, microfilariae will be taken up and develop into the infective stage in the vectors. In infected cases, the hostparasite interactions will lead to chronic pathology including lymphedema, hydrocele and elephantiasis. Therefore, the disease could seriously affect socio-economic status of the endemic areas.

Lymphatic filariasis caused by *B. malayi* is endemic in Asian countries including the South of Thailand, mainly Narathiwat Province.[3] The disease has been declared by the international task force to be eliminated by the year 2020.[4] To achieve the goal, before the initiation of the national control program in Thailand beginning in the year 2001, close monitoring of the Filariasis control program is necessary, Long-term assessment of the real burden of disease situation in the endemic area should be implemented. This study will serve as preliminary data of the prevalence of brugian filariasis in this endemic area of Thailand before the elimination program in launched. Furthermore, to increase the sensitivity for detection of *B. malayi*, we also set up a PCR-based method using primers specific for *Hha* I repeat sequence.

PATIENTS AND METHOD

Study area

The study was performed in cooperation with health personnel from The Royal Development Project, Phikultorng Center, Narathiwat Province and the Filariasis Division, Department of Communicable Disease Control, Ministry of Public Health. The study area is an endemic area of *B. malayi* infection including sungai Padee, Tak Bai, Cho I Rong and Sungai Kolok districts, in Narathiwat province. Narathiwat is the southernmost Thai coastal province facing the Thai Gulf and borders northeast Malaysia. The provincial capital is 1,437 kilometers south of Bangkok by road and 1,116 kilometers by train. The province covers some 4,475 square kilometers, two thirds of which are forested mountains. The inhabitants of Narathiwat are largely farmers and fishermen. The area is endemic for lymphatic filariasis caused by *B. malayi*. Narathiwat has an average rainfall of 1,100-4,000 mm/year. The average temperature of this area is 26-28°C. There are plenty of tropical forests and water sources suitable for breeding of mosquito vectors of *B. malayi*.[3] The temperature, moisture and several swamps, both open swamp and closed swamp, are suitable for the development of the main mosquito vectors, *Mansonia* sp, of *B. malayi*.[5]

Study population

The study population was 2,469 Thais residing in the study area mentioned above. Verbal informed consent was obtained from each individual and child's parents or guardian in the presence of two witnesses. All individuals were well informed about the dangers of filariasis and the disease's consequences. Individuals who were microfilaremic were treated with standard treatment, diethylcarbamazine (DEC), as provided by the health personnel from Filariasis Division, CDC Department, Ministry of Public Health, Thailand.

Detection of *Brugia malayi* microfilariae

Baseline demographic data, previous history of lymphatic filariasis and DEC treatment were obtained from all participants. Duplicate of approximately 60-µl blood samples from fingerprick sterile technique were obtained and smeared onto microscope slides as previously described.[6,7] After being air-dried, the blood films were stained with Giemsa's technique. All identified microfilariae were *Brugia malayi* which were counted and the number found in each patient was recorded.

Extraction of DNA

The QIAamp blood method (Qiagen, Chatsworth, CA) was used to extract DNA as described by the manufacture's protocol.

Polymerase chain reaction conditions

Forward and reverse PCR Primers were designed based on the consensus sequence of the *Hha* I repeat.[8] The sequences of these primers. which allow amplification of a 322 bp DNA fragment from *B. malayi*, were as follows; forward primer (18-mer):

5'-GCGCATAAATTCATCAGC-3', reverse primer (23-mer):

5'-GCGCAAAACTTAATTACAAAAGC-3' Reagents for PCR were obtained from Perkin Elmer Cetus (Norwalk, CT).

PCR reactions were performed using 2 µL of the DNA extracts prepared from blood samples as described above. Reagents were used at the following concentrations in a 50 µL total reaction volume: 10 mM Tris-HCl, pH 9.2, 1.5 mM $MgCl_2$, 75 mM KCl, 0.1 mM of each primer, 0.2 mM of each deoxynucleotide triphosphate, and 2 units of *Taq* polymerase. The temperature programme for the PCR was 35 cycles of 30 sec at 94°C, 30 sec at 55°C, and 1 min at 72°C. and final extension of 10°C, min at 72°C. A negative control for the PCR assay using DNA extract from non-infected individuals in the reaction mixture was included with all runs of PCR. A positive control was also included using 10 pg of *B. malayi* genomic DNA.

Analysis of the polymerase chain reaction products

Ten µL of the PCR products were loaded on to 1.5 per cent agarose gel and a unique band of 322 bp was visualized using as ultraviolet transluminator after ethidium bromide staining.

Data analysis

Data were recorded and analyzed by using Microsoft Ecxel version 6.0.

RESULTS

Characteristice of study population in Narathiwat Province

A total of 2,462 individuals participated in this study (Table 1). There were more females (1,275; 52%) than males (1,186; 48%). Most were in the young age group; 33 per cent (819) were less than 15 years old (36% for males and 31% for females). They were 28 per cent (684), 21 per cent (517), 11 per cent (277), and 7 per cent (165) in the age groups > 15-30, > 30-45, > 45-60, and > 60, respectively.

Microfilaremia classified by age and sex

The prevalence of brugian filariasis as assessed by microfilaremia was 1.38 per cent (34 cases; 25 males and 9 females) (Table 1). The microfilarial densities ranged from 17 microfilariae/ml to 1,250 microfilariae/ml with the median of 50. The prevalence was lowest in the youngest age group (0.37%; 3 cases) and increased to the peak at > 45-60 age group (4.69%; 13 cases). Then the prevalence declined to 3.64 per cent (6 cases) at the age group > 60. More men were infected with *B. malayi* than women. The ratio of infection in males to females was 2.8 : 1.

Table 1. The prevalence of *Brugia malayi* infection classified by age and sex.

Age group (years)	Male			Female			Total		
	Number of sample	Number Infected	%	Number of sample	Number Infected	%	Number of sample	Number Infected	%
≤15	423	2	0.47	396	1	0.25	819	3	0.37
>15-30	305	5	1.64	379	3	0.79	684	8	1.17
>30-45	236	3	1.27	281	1	0.36	517	4	0.77
>45-60	138	10	7.25	139	3	2.16	277	13	4.69
> 60	84	5	5.95	81	1	1.23	165	6	3.64
Total (%)	1,186	25	2.11	1,275	9	0.71	2,462	34	1.38

PCR for *Hha* I repeat sequence

A PCR-based assay to detect specific *Hha* I repeat of *B. malayi* has been developed to identify infected cases with high sensitivity and spectitcity.[8-11] However, this sensitive and specific method has not been employed to evaluate the disease burden in Thailand. Therefore, we setup a PCR-based system for detection of *B. malayi Hha* I repeat. Our results showed that the test could detect as little as 10 fg of genomic DNA form adult *B. malayi* (Fig. 1). The PCR assay could detect the microfilaremic cases. Fig. 2 shows an example of *Hha* I repeats amplified from DNA extraction of blood from seven microfilaremics. The PCR assay did not detect the DNA extracted from the blood of healthy volunteers.

Fig. 1. Sensitivity of a PCR assay to detect *Hha* I repeat DNA (322 bp) by using specific primers described in Materials and Method. Lane M: 100 bp marker; Lane 1-6: adult *B. malayi* genomic DNA 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg, 10 fg and 1 fg, respectively; Lane 7: negative control.

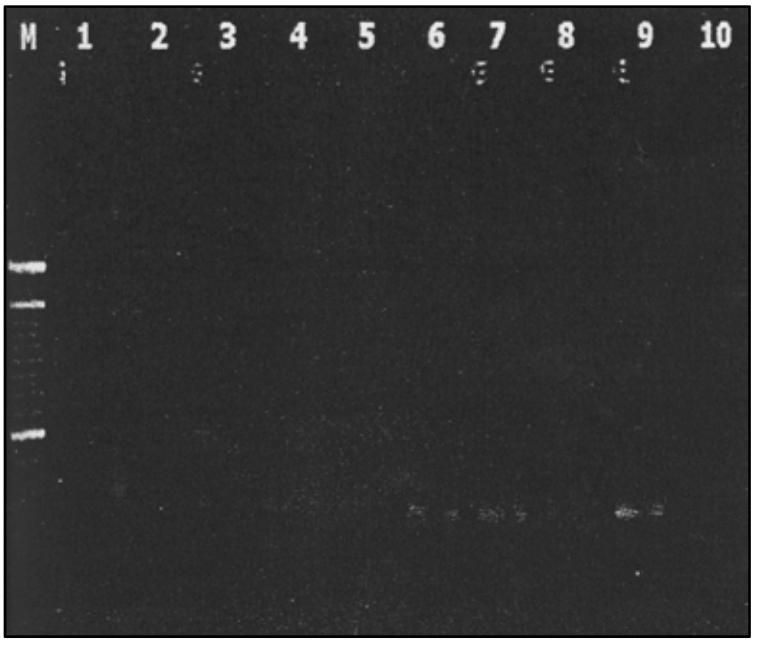


Fig. 2. Detection of *Hha* I repeat DNA (322 bp) by a PCR assay using specific primers described in Materials and Method. Lane M: 100 bp marker; Lane 1: positive control using 10 pg *B. malayi* genomic DNA; Lane 2: negative control; Lane 3-9: *Hha* I repeats amplified from blood samples of seven microfilaremics; Lane 10: negative control.

DISCUSSION

Basically, the control of vector-borne diseases include vector control and treatment of infected cases as well as prevention. The main strategy for each vector-borne disease in different from each other, which depends of the nature of each pathogen and vector. For lymphatic filariasis, the main strategy of the elimination program of the disease includes mass treatment in the transmission area (microfilarial positive rate ≥ 0.2%), selective drug administration for infected cases, and rehabilitation in chronic cases with clinical manifestations.[12] For mass treatment, the use of diethylcarbamazine (DEC) (6 mg/kg) combined with albendazole (400 mg), recommended by the World Health Organization, has been used with high effectiveness for the treatment of lymphatic filariasis.[13,14] The high microfilarial rate (1.38%) in our study area compared with that reported previously in an indicator for mass treatment in this area.[3,12] As part of the elimination program, Thailand will launch a national control program using DEC combined with albendazole for mass treatment in high risk areas in the year 2001. The annual mass treatment will continue for 5 years. Besides the main strategy, health education and community cooperation will be emphasized. Furthermore, the program will include evaluation of the disease situation, before and after the program implementation, together with close monitoring and interim assessments of the input, process and output of the program. However, to detect *B. malayi* infection, we, here in Thailand, still have to use the only available conventional microscopic method, which is insensitive. The procedures may fail to identify amicrofilaremics of individuals with very low microfilaria levels. To assess the real prevalence of the disease, highly sensitive and specific assays are required to evaluate the lymphatic filariasis control program.[7]

Currently, for lymphatic filariasis caused by *Wuchereria bancrofti*, the highly sensitive and diagnostic method is detecting the specific circulating antigen of the parasite in patients's blood by ELISA[7,15-17] or by immunochromatographic test.[18-20] Both antigen tests could detect more than 2-3 times the case detected by the conventional microscopic method to identify microfilaria from blood. However, such effective diagnostic test for diagnosis of lymphatic filariasis caused by *B. malayi* are not available. The molecular diagnostic test using polymerase chain reaction (PCR) by amplifying the *Hha* I repeats of *B. malayi* DNA show high sensitivit and specificity.[8] Although a PCR-based assay is mainly useful to detect lymphatic filarial parasites in mosquito vectors,[21-24] our preliminary results suggest that the PCR can be used to diagnose the active cases who are microfilaremics while no other better tests are available for diagnosis of *B. malayi*. We have set up the PCR assay of *Hha* I repeat sequence that can detect as little as 10 fg of *B. malayi* genomic DNA. The application for use in field studies should be useful for the national control programme of lymphatic filariasis in Thailand.

Acknowledgement

This study was supported by the Molecular Biology Research Fund, Research Affairs, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand. The authors wish to thank Dr. Saravudh Suwannadabba for his kind advice and all staff at The Development Project, Phikuntorng Center, Narathiwat Province and the Filariasis Division, CDC Department, Ministry of Public Health, Thailand for their technical help. We also wish to thank Dr. Issarang Nuchprayoon and Ms Narak Triteeraprapab for manuscript preparation, and all the staff at Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University for their laboratory assistance.

ST was supported by Thailand Research Fund (TRF), and CP by the Royal Golden Jubilee Ph.D. Fund.

REFERENCES

1. Ottesen Ea, Ramachandra CP. Lymphatic Filariasis infection and disease; control strategies. parasitology Today 1995; 11: 129-31.
2. World Health Organization. Fourth report of the WHO expert committee on filariasis. World Health Organization Technical Report Series 1984: 702.
3. Filariasis Division. Annual Report, Filariasis division, CDc Department, Ministry of Public Health Bangkok, Thailand. 1999. (in Thai)
4. Behbehani K. Candidate parasitic diseases. Bull World Health Organ 1998; 76 (Suppl 2): 64-7.
5. Filariasis Division. Annual Report, Filariasis division, CDC Department, Ministry of Public Health, Bangkok, Thailand. 1998. (in Thai)
6. Triteeraprapab S, Songtrus J. High prevalence of bancroftian filariasis in Myanmar migrants : A Study in Mae Sot, Tak province, Thailand. J Med Assoc Thai 1999; 82: 734-9.
7. Triteeraprapab S, Thumpanyawt B, Sangprakarn S. *Wuchereria bancrofti*-specific circulating antigen for diagnosis of bancroftian filariasis. Chula Med j 1998; 42: 267-77.
8. Lizotte RM, Supali T, Partono F, Williams AS. A polymerase chain reaction assay for the detection of *Brugia malayi* in blood. Am J Trop Med Hyg 1994; 51: 314-21.
9. Cox Singh J, Pomrehn AS, Rahman Ha, Zakaria R, Miller AO, Singh B. Simple blood-spot sampling with nested polymerase chain reaction detection for epidmiology studies on *Brugia malayi*. Int J Parasitol 1999; 29: 717-21.
10. Rahmah N, Ashikin AN, Anuar AK, *et al.* PCR-ELISA for the detection of *Brugia malayi* infection using finger-prick blood. Trans R Soc Trop Med Hyg 1998; 92: 404-6.
11. Fischer P, Supali T, Wibowo H, Bonow I, Williams SA. Detection of DNA of nocturnally periodic *Brugia malayi* in night and day blood samples by a ploymerase chain reaction-ELISA-based method using an internal control DNA. Am J Trop Med Hyg 200; 62: 291-6.
12. Filariasis Division. The elimination program for lymphatic filariasis. Filariasis Division, CDC Department, Ministry of Public Health, Thailand. 2000. (in Thai)
13. Shenoy RK, Dalia S, John A, Suma TK, Kumaraswami V. Treatment of the microfilaraemia of asymptomatic brugian filariasis with single dose of ivermectin, diethylcarbamazine or albendazole, in various combinations. Ann Trop Med Parasitol 2000; 93: 643-51.
14. Ismail MM, Jayakody RL, Weil GJ, *et al.* Efficacy of single dose combinations of albendazole, ivermectin and diethylcaramazine for the treatment of bancroftian filariasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 1998; 92: 94-7.
15. Triteeraprapab S. Update in lymphatic filariasis: a re-emerging disease of Thailand. Chula Med J 1997; 41: 611-22. (in Thai)

16. Turner P, copeman B, Gerisi D, Speare R. A comparison of the Og4C3 antigen capture ELISA, the Knott test, an IgG4 assay and clinical signs, in the diagnosis of bancroftian filariasis. Trop Med Parasitol 1993; 44: 45-8.
17. More SJ, Copeman DB. a highly specific and sensitive monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis. Trop Med Parasitol 1990; 41: 403-6.
18. Weil GJ, Jain DC, Snathanam s, *et al.* A monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for detecting parasite antigenemia in bancroftian filariasis. J Infect Dis 1987; 156: 350-5.
19. Weil Ranzy RMR, Chandrashekar R, Gad AM, Lowrie Jr RC, Faris R. Parasite antigenemia without microfilaria in bancroftian filariasis. Am J Trop Med Hyg 1996; 55: 333-7.
20. weil GJ, Lammie PJ, Weiss N. The ICT filariasis test: a rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. Parasitol Today 1997; 13: 401-4.
21. Triteeraprapab S, Kanjanopas K, Suwannadabba S, Sangprakarn S, Poovorawan Y, Scott AL. Transmission of the noctrrnal periodic strain of *Wuchereria bancrofti* by *culex quinquefasciat*us: Establishing the potential for urban filariasis in Thailand. Epidemiol Infect 2000; 125: 207-12.
22. Chanteau S, Luquiaud P, Failoux AB, Williams SA. Detection of *Wuchereria bancrofti* larvae in pools of mosquitoes by the polymerase chain reaction. Trans R Soc Trop Med Hyg 1994; 88: 665-6.
23. Nicolas L, Luquiaud P, Lardeux F, Mercer DR. A polymerase chain reaction assay to determine infection of *Aedes polynesiensis* by *wuchereria bancrofti*. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996; 90: 136-9.
24. Vythilingam I, Boaz L, Wa N. Detection of *Brugia malayi* in mosquitoes by the polymerase chain reaction. J Am Mosq Control Assoc 1998; 14: 243-7.

Susceptibility of *Mansonia indiana* (Diptera: Culicidae) to Nocturnally Subperiodic *Brugia malayi* (Spirurida: Filariodea)

NOPPORN SARATAPHAN,[1] SIRICHAI PHANTANA,[2] AND KOSUM CHANSIRI[3]

J. Med. Enomol. 39(1): 215-217 (2002)

ABSTRACT

Mosquitoes, *Mansonia indiana* Edwards, 1930, were collected from non-endemic area of human lymphatic filariasis and tested for their susceptibility of infection using nocturnally subperiodic *Brugia malayi* Buckley & Edeson, 1956. Three cats naturally infected with *B. malayi* were used in the experiment for mosquitoes feeding. The data revealed that the susceptibility of mosquito infection ranged from 30 to 70%. The results also revealed that the susceptibility rates were not linearly correlated to the microfilarial densities in the cat at the time of feeding. The microfilarial density in cats ranged from 15 to 27 per 10 µl of blood whereas the mean number of third stage larvae in the infective mosquitoes ranged from 21.6 to 26.8. In addition, statistical analysis showed no significant difference ($P > 0.05$) between the mean number of third-stage larvae in mosquitoes and the density of microfilaria in cats. The study indicated that *Ma. indiana*, collected from non-endemic areas, is capable for transmitting the nocturnlly subperiodic *B. malayi*.

KEY WORDS *Mansonia indiana, Brugia malayi*, human lymphatic filariasis, elephantiasis, Malaysia

[1] Parasitology Section, National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, Bangkhen, Bangkok 10900, Thailand.

[2] Filariasis Division, Department of Communicable Disease Control, Ministry of Public Health, Nontaburi.

[3] To whom reprint requests should be addressed: Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Sukhumvit 23, Bangkok 10110, Thailand (e-mail: kosum@psm.swu.ac.th).

ELEPHANTIASIS is a human lymphatic filariasis caused by *Brugia malayi* Buckley & Edeson, 1956. It is commonly found on the Malaysian peninsula where the mosquitoes of the genus *Mansonia* are known to be important vectors (Iyengar 1953, Wharton 1962, Guptavanij et al. 1971a). In Thailand, human *B. malayi* infection has mainly been found in three provinces, e.g., Narathiwat (Wongsathuaythong et al. 1963), Nakhon Sri Thammarat (Vasuvat et al. 1966), and Chumphon (Harinasuta et al. 1970, Guptavanij et al. 1971b). Iyengar (1953) reported that four species of *Mansonia* and five species of *Anopheles* were the competent vectors of *B. malayi* infection in these provinces. Similarly, Guptavanij et al. (1971b) has demonstrated that *Ma. dives* Schiner, 1868. *Ma. uniformis* Theobald, 1930, and *Ma. bonneae* Edwards, 1930 were the possible natural vectors of *B. malayi* in the southern area of Thailand. In addition, Harinasuta and Sucharit (1977) had reported that seven species of *Mansonia (Ma. nigrosignatus* Edwards, 1971, *Ma. bonneae, Ma. dives, Ma. indiana* Edwards, 1930, and *Ma. uniformis)* were found in Chumphorn province, an endemic area of the elephantiasis. However, susceptibility studies of the *Mansonia* sp. to *B. malayi* were limited. Although *Ma. indiana* is not commonly found in the filarial endemic area, it is abundant in suburban regions around Bangkok, the capital city of Thailand. Hence, the study of its susceptibility to *B. malayi* will be useful for gaining fundamental knowledge of filariasis control. Information gained can be used as a model for production and molecular studies of third-stage larvae (L3). The data will also be beneficial for epidemiological studies on the distribution of parasite susceptible and parasite-resistant strains of the mosquitoes as well as for prevention, protection, and eradication plans of filariasis in Thailand.

Materials and Methods

Mosquitoes. Adult female *Ma. indiana* mosquitoes were collected from Samuthprakan province, a nonendemic area of human lymphatic filariasis. The technique of bare-leg-catch method (BLC) was used. Approximately 1,000 mosquitoes were caught. From these, 100 mosquitoes were transferred to each of 10 plastic cups, covered with nylon netting. Each mosquito-containing cup was used for feeding on the naturally *B. malayi* infected cats.

Feeding Process. Four cats, naturally infected with *B. malayi*, were obtained from Narathiwat province. They were used for feeding all of the mosquitoes, and were anesthetized with nembutal and their abdomen were shaved to allow mosquito feeding process at the time of the microfilarial peak (~2200 hours). The microfilarial (mf) counts were recorded before and after the feeding by the observation of 10 µl thick film blood smear. After incubation for 11 d, the mosquitoes were dissected in saline buffer. Third-stage larvae were isolated from the proboscis, head, and thoracic of infected mosquitoes and subsequently collected by observation under a stereoscopic microscope.

Statistical Analysis. Statistical analysis of the mean number of third stage larvae per infected mosquito was made by using analysis of variance and the SPSS/PC^{+} program.

Table 1. Results of susceptibility of *Ma. indiana* from non-endemic area to nocturnally subperiodic *B. malayi*

No. of cats	Microfilaria density (per 10 µl blood)	No. of survived/infected mosquitoes	% infection	Mean no. of larvae		Total mean no. of larvae
				Proboscis & Head	Thorax	
1	15	15/10	66.7	21.2±15.7	5.6±7.3	26.8±22.4
2	18	10/7	70.0	10.8±6.9	13.2±12.0	24.0±14.6
3	27	50/15	30.0	11.6±8.3	10.0±7.9	21.6±12.9

The experiment was approved by the ethic committee of Faculty of Medicine Srinakharinwirot University.

Results

Three groups of 100 female *Ma. indiana* were fed on each of three cats naturally infected with *B. malayi*. The initial microfilaria density per 10 µl of blood was 15, 18, and 27% (Table 1). After an 11d incubation period, 15, 10, and 50 of mosquitoes survived from cats 1, 2, and 3, respectively. Among mosquitoes that survived, 10, 7, and 15 were infected for cats 1, 2, and 3, respectively. This corresponded to an overall prevalence rate of infection of 0.11% (32 out of 300). The infected mosquitoes were subsequently dissected in saline buffer and the number of the third stage larvae in different locations were recorded. The mean total number of microfilaria in dissected mosquitoes, including proboscis, head, and thorax, were 26.8, 24.0, and 21.6 in cats 1, 2, and 3, respectively. However, statistical analysis showed no significantly difference ($P > 0.05$) between the mean of the number of third stage larvae in mosquitoes and microfilarial density (18-27 mf/µl). In addition, the percent of infection of survived female positive mosquitoes of cats 1, 2, and 3 were 66.7, 70, and 30%, respectively.

Table 2 compares the number of examined mosquitoes and percentage of infection among *Mansonia* sp. from different geographical area of Malaysia, Indonesia, and Thailand. The total number of survived mosquitoes (25 mosquitoes) and mean percent of infection (68%) of cat one and two were reported.

Table 2. Showing the number of examined mosquitoes and percentage of infection among *Mansonia* sp. from different geographical area of Malaysia (1) Thailand (2) and Indonesia (3)

Species[a]	No. of mosquito examined	% infection	Area
Ma. annulata	148	83	Sumatra (3)
	138	95	Sabak Bernam (1)
Ma. annulifera	91	74	Java (3)
	485	82	Sabak Bernam (1)
	78	90	Kedah (1)
Ma. dives/bonneae	109	93	Sumatra (3)
	237	96	Sabak Bernam (1)
Ma. uniformis	7	100	Sumatra (3)
	12	67	Java (3)
	400	98	Sabak Bernam (1)
	24	100	Kedah (1)
Ma. indiana	7	71	Java (3)
	47	62	Sabak Bernam (1)
	39	84	Kedah (1)
	25[b]	68[c]	Bangkok (2)

[a] Wharton (1962).

[b] Total number of survived mosquitoes of cats 1 and 2.

[c] Men percent of infection of cats 1 and 2.

Discussion

The main two species of *Mansonia*, *Ma. bonneae* and *Ma. umiformis*, are currently recognized as natural vectors of *B. malayi* in Southeast Asia. This study demonstrated that the *Ma. indiana*, obtained from non-endemic area of human lymphatic filariasis, is also susceptible to nocturnally subperiodic *B. malayi*. The results were corresponded to those of Chiang et al. (1989) that the *Ma. indiana* from endemic and non-endemic area were susceptible for *B. malayi*.

As shown in Table 1, the proportion of infected female *Ma. indiana* to the mean total number of microfilaria in dissected mosquitoes ranged from 30 to 70%. The data indicate that the infective rates were decreased, whereas the microfilarial densities in the cat increased. When mosquito consumed an excess number of microfilaria (>18 microfilaria per 10 µl blood), it could not survive due to

the increase in sizes of the parasites after their development to third-stage larvae. This was confirmed by data of the mean total number of third stage larvae in *Ma. indiana* which was 26.8 per infective mosquito, whereas the highest microfilaria density in a cat was 15 microfilariae per 10 µl of blood. The results were in contrast to those of Chiang et al. (1989) who reported that the number of third stage larvae developed in *Ma. uniformis* was continuously increased (from 1.54 to 27.8 per mosquito) in correlation with the densities of microfilariae in cat (from 9 to 262 per 20 µl). This study also revealed that the minimum number of microfilarial density in cat at the time of feeding was nine microfilaria per 10 µl blood. Table two shows that the percentage of infection obtained from *Ma. indiana* of our study were positively similar to those of *Ma. indiana* from Malaysia. However, its susceptibility of Ma*. indiana* to *B. malayi* was significantly lower than that of known vectors, *Ma. bonneae* and *Ma. uniformis*. In conclusion, the results of this study suggest that *Ma. indiana* from non-endemic areas are capable of transmitting nocturnally subperiodic *B. malayi*.

References Cited

1. Chiang, C.L., K. P. Loong, and K. L. Eng 1989. Comparative susceptibility of five strains of *Mansonia uniformis* (Diptera: Culicidae) in Malaysia to infection with subperiodic *Brugia malayi.* Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 20: 169-174.
2. Guptavanij, P., C. Harinasuta, T. Deesin, and S. Vutikes. 1971a. Prevalence of sub-periodic *Brugia malayi* in areas near the Thai-Malaysian border. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 2: 100-101.
3. Guptavanij, P., C. Harinasuta, S. Sucharit, and S. Vutikes.1971b. Studies on sub-periodic *Brugia malayi* in Southern Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 2: 44-50.
4. Harinasuta, C., and S. Sucharit. 1977. Observation on the reduction of the prevalence of Malayan filariasis in Chumphon Province of South Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 8: 179-84.
5. Harinasuta, C., S. Sucharit, and P. Guptavanij. 1970. Subperiodic *Brugia malayi* in South Thailand Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 1: 162.
6. Iyengar,M.O.T. 1953. Filariasis in Thailand. Bull. WHO 9: 731-766.
7. SPSS. 1999. SPSS/PC for Windows 98, version 10.0.1. SPSS, Chicago, IL.,
8. Vasuvat, C., P. Guptavanij, and C. Harinasuta. 1966. Studies on the periodicity of microfilariae of *Brugia malayi* in Nakornsrithammaraj Province. J. Med. Assoc. Thailand 49: 16.
9. Wongsathuaythong, S., S. Punyagupta, P. Sirivorasarn, and P. Chularek. 1963. Filariasis in Thailand, a preliminary report. R. Thai Army Med. J. 16: 101.
10. Wharton, R. H. 1962. The biology of *Mansonia* mosquitoes in relation to the transmission of filariasis in Malaya. Bull. Inst. Med. Res. (Malaysia). 11: 114.

An Antigen Detection Assay for Diagnosing Filariasis

Sirichit Wongkamchai[1], Wej Choochote[2], Achariya Jitpuckdee[2], Saravud Suvannadabba[3]
Sumart Loymak[4], Yuwaporn Sakolvaree[5], Pramuan Tapchaisri[5] and Wanpen Chaicumpa[5]

SUMMARY

In this study we examined the diagnostic potential of monoclonal antibodies (MAb) reactive to antigen of adult *Brugia malayi,* their microfilariae and antigen of *Dirofilaria immitis.* The MAb of clone 17E10, which were of IgM isotype, reacted to the inner cuticles and internal content of both male and female worms and also to the sheath and internal content of microfilariae *in utero.* However, these MAb did not react to the sheath of blood circulating microfilariae. The MAb 17E10 produced a smear pattern between 37 to > 200 kDa in the Western blot analysis against a SDS-PAGE separated extract of *B. malayi.* The epitopes were non-protein in nature as indicated by their resistance to proteinase-K treatment. The MAb 17E10 were applied in a sandwich ELISA to detect filarial antigen in the buffy coat and plasma of patients. We tested patients with different clinical manifestations of brugian filariasis, i.e. microfilaremia (M), lymphangitis (L) and elephantiasis (E), as well as non-symptomatic inhabitants of a filariasis endemic area (NE), and compared them to samples from non-symptomatic inhabitants of disease non-endemic areas (NNE). It was found that 22 of 31 (70.9%) of M, 7 of 13 (53.8%) of L, 2 of 14 (14.2%) of E, 10 of 100 (10.0%) of NE and none (0%) of the NNE were positive for antigenaemia. The assay was also positive in 14 of 15 (93.3%) blood samples from *B. malayi* microfilaremic cats and in 7 of 7 (100%) blood samples of *Dirofilaria immitis* microfilaremic dogs. The so-developed test has a high potential for routine diagnosis of active filariasis, for epidemiological studies in both humans and reservoir animals and for monitoring treatment efficacy.

From: the [1]Department of Microbiology and Immunolgy, Faculty of Tropical Medicine Mahidol University, Bangkok, [2]Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, [3]Filaria Division, Ministry of Public Health, Nonthaburi, [4]Filariasis Project, Phikulthong Royal Development Center, Narathiwat, [5]Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat Univesrsity, Rangsit Campus, Pathumthani, Thailand. Correspondence: Wanpen Chaicumpa

Lymphatic filariasis, commonly known as elephantiasis, is a profoundly disfiguring disease that has a major social and economic impact. The disease is endemic in Asia, Africa, the Western Pacific and The Americas (http://www.who.int/ctd). It is caused by filarial nematodes, namely *Wuchereria bancrofti, Brugia malayi* and *Brugia timori.*[1] In Thailand, two species of the causative filarial worms have been reported. Bancroftian filariasis is endemic in a limited area in the western part of the country while cases of brugian filariasis caused by *B. malayi* are found in southern Thailand.[2] The infection is transmitted by both zoonotic and nonzoonotic mosquitoes, e.g. *Mansonia* spp., *Anopheles* spp. and *Culex* spp.[3]

Filarial infection is initially asymptomatic when microfilaremia (M) may or may not be present (http://www.who.int/ctd). Clinical manifestations of filariasis require repeated inoculations of the parasite's infective larvae through vector bites in order for the parasite to successfully mature to adult worms, which reside in the lymphatic vessels and nodes and mate. Female worms may produce thousands microfilariae per day. Adult filarial parasites have a life span of 10 years or more in their hosts[5-6] (http://www.who.int/ctd). The acute stage involves episodes of acute inflammation of lymphatic vessels and nodes (lymphangitis, L) with fever and intermittent swelling of limbs and the scrotal sac[7] (http://www.who.int/ctd). The prolonged presence of maturing larvae and adult worms causes the lymphatic vessels to dilate and later thicken with cellular infiltration which results in a restricttion of the lymph flow, causing an accumulation of fluid in the skin, subcutaneous tissues and body spaces, and eventually lead to swollen legs and genitalia known as elephantiasis (E). At this time, microfilariae have usually disappeared from the bloodstream of the patient.[8] But elephantiasis is not an invitable consequence of chronic filariasis[9] (http://www.who.int/ctd).

Until recently, diagnosis of filarial infection depended on the direct demonstration of the parasite (almost always microfilariae) in the blood or skin biopsies using relatively cumbersome techniques and having to take into account the periodicity (nocturnal or diurnal) of microfilarial presentation in the blood (http://www.who.int/ctd). AIternative methods based on the detection of antibodies failed to distinguish between active and past infections and were insensitive due to immune complex formation.[10] Moreover, antibody detection assays showed low specificity due to cross reactivity of the ill-defined antigens used in the assays with antibodies incited by other parasites[11] (http://www.filariasis.org). Circulating filarial antigen (CFA) detection should now be regarded as the "gold standard" for diagnosing acute/current filariasis. At present, two versions of antigen detection assays are available for the diagnosis of bancroftian filariasis in humans and for canine dirofilariasis. One is based on ELISA technology that yields semi-quantitative results[11-13] (http:// www.who.int/ctd) and another one is based on a simple immunochromatographic test which yields only positive or negative answers.[13-14] However,

no antigen detection assay has been successfully developed as yet for the routine diagnosis of brugian filariasis.

In this communication, monoclonal antibodies reactive to *B. malayi* and *D. immitis* antigens were produced. They were used in a monoclonal antibody-based anitgen detection assay for the diagnosis of current brugian filariasis using plasma plus coat as target specimen. The assay could also detect antigens of *Dirofilaria immitis* in animal samples. The details of the experiments for the assay development from the basis of this research article.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of filarial antigen

A *B. malayi* infected cat with a high density of microfilariae in the blood was used as source of filarial antigen. The species of microfilariae were identified by histochemical staining for acid phosphatase activity using the method established by Chalifoux *et al.*[15] Four to five day old female *Aedes togoi* (Nomsao strain) mosquitoes, which are susceptible to *B. malayi* infection,[16] were allowed to feed on the blood of the anaesthesized microfilaremic cat. Infective third stage *B. malayi* larvae were recovered by dissection from the mosquitoes fourteen days after they had fed on the cat's blood. The live infective larvae were injected intraperitoneally into young adult Mongolian gerbils *(Meriodes unguiculatus)*. Four months thereafter, adult *B. malayi* and their microfilariae were harvested from the infected gerbils by means of peritoneal washing with normal saline solution (NSS). Adult worms were picked individually using a needle, and washed thoroughly with distilled water. The microfilariiae in the NSS were recovered by filtering the peritoneal lavage through a membrane filter (8 μm pore size) connected to a suction flask. The microfilariae retained on the filter membrane were washed alternately with NSS and distilled water in order to get rid of blood cells and other debris. The membrane filter was then placed in a petri-dish which contained NSS. The microfilariae moved out from the membrane into the NSS which was then centrifuged at 10,000 x *g* at room temperature for 20 minutes. The pellets containing microfilariae were resuspended in a small volume of distilled water. Adult *B. malayi* and their microfilariae were ground separately in distilled water containing protease inhibitors (0.1 M PMSF, 0.1 M TPCK and 0.1 M EDTA). The preparations were individually subjected 10 times to sonication at 20 kHz per second (Labline Ultratip, Melrose Park, USA) at 4ºC for 5 minutes and dialyzed against distilled water at 4ºC overnight. The protein contents and the dry weights of the preparations were determined.[17] Homogenates of adult worms and microfilariae were obtained and kept at -20ºC in small aliquots until use.

Preparation of heterologous antigens

Heterologous antigens were prepared from various parasites including nematodes, cestodes, trematodes and protozoa (Table 1). Homogenates of all parasites were prepared as for the adult *B. malayi* and their microfilariae.

Human specimens

Two sets of human specimens were obtained from May 1999 to August 2002 from various parts of Thailand. Oral informed consent was obtained from each subject before collecting the specimen.

The first set of specimens were plasma samples collected during May 1999 to December 2000 from 104 inhabitants of various districts of Thailand; i.e. Sugai-Padi, Yi-Ngo, Cho-Ai-Rong, Tak Bai and Sugai-Kolok of Narathiwat Province in southern Thailand, which are endemic areas of brugian filariasis. The samples were classified into four groups: group I consisting of 26 microfilaremic individuals (M1); group 2 consisting of 24 individuals with lymphangitis (L1); group 3 consisting of 14 individuals with elephantiasis (E1); and Group 4 consisting of 40 normal inhabitants residing in the filariasis endemic areas (NE1). Examination of stool samples of all included subjects of the filaremic areas by direct stool smear and formalinether concentration method revealed that most of them harbourd mixed intestinal parasites, i.e., *Ascaris, Trichuris,* hookworms*, Entamoeba histolytica, E. coli, Giardia lamblia* and/or *Strogyloides stercoralis.* Plasma of 40 normal individuals of a filariasis non-endemic area (Bangkok) was collected as negative controll (NNE1). Their stool samples at the time of the blood sample collection did not contain any intestinal parasites (group 5). Aliquots of the first set of samples were used in the antigen detection assay either directly or after treatment with disodium ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) or sodium dodecyl sulphate and Triton X-100.

The second set of specimens consisted of finger prick blood samples collected into EDTA hematocrit tubes from 159 inhabitants of the same brugian filariasis endemic areas as for the first set during October 2001 to August 2002. They were also divided into four groups: group I consisting of 31 asymptomatic microfilaremic individuals (M2); group 2 consisting of 13 individuals with lymphangitis (L2); group 3 consisting of 14 individuals with elephantiasis (E2); and group 4 consisting of 100 normal individuals living in the brugian endemic areas (NE2) (different subjects from NE1). Similar intestinal parasites to those of the first set were found in the stools of the second set of subjects. Blood samples were also collected from 40 normal, parasite-free individuals of a filariasis non-endemic area, i.e. Bangkok (NNE2) (different subjects from NNE1). Three hematocrit tubes (about 180 µl) of blood samples of each subject were centrifuged and the buffy coat and about 50-60 µl of plasma were collected together in an Eppendorf tube. Fifty microliters of distilled water, 25 µl of 10% SDS and 25 µl

of 2% Triton X-100 solution were added to the sample tube, mixed and boiled for 20 minutes. These samples were subsequently used in the sandwich ELISA for antigen detection.

Cat samples

Blood samples were collected into EDTA hematocrit tubes from 15 microfilaremic cats from endemic areas, i.e. Narathiwat Province, naturally infected with *B. malayi.* Samples were also collected from 5 other amicrofilaremic cats from similar areas. The samples were processed like the second set of human specimens.

Dog samples

Blood samples were collected from 12 Bangkok dogs into EDTA haematocrit tubes. Seven dogs were positive for *Dirofilaria immitis* microfilariae, 5 dogs were healthy and parasite free. AII samples were processed similarly to the second set of human samples.

Production of hybridomas secreting specific monoclonal antibodies (MAb) to filarial antigen

Four BALB/c mice, 6 weeks old at the beginning of the immunezation, were individually immunized intraperitoneally with 100 µg of adult *B. malayi* homogenate emulsified in complete Freund's adjuvant. Each mouse was given three booster doses containing 200 µg of the same antigen in incomplete Freund's adjuvant at 14-day intervals. Seven day after the last booster dose. The serum antibody titers against the homologous antigen were determined by an indirect ELISA. The mouse with the highest serum antibody titer was used as thesplenocyte donor during the cell hybridization for hybridoma production.[18] The mouse was given an intravenous booster of 200 µg of the same antigen. Three days after the intravenous booster, the selected mouse was bled and the serum collected as an immune serum (IS). Splenocytes of the mouse were hybridized with P3x-63-Ag8.653 non Ig secreting myeloma cells.[19] The spent culture media of all wells containing growing hybrids were screened for antibodies against the homologous antigen by an indirect ELISA. Cells from antibody positive wells were cloned using the limiting dilution method. Spent media of wells which contained single clones were rechecked for antibodies to the homologous antigen and for cross-reacting antibodies against the panel of heterologous antigens prepared from other parasited listed in Table 1 by indirect ELISA. Selected cells were subjected to expanded growth in a serum-free medium the spent culture media of individual clones (hybridomas) at their maximum growth were collected, dialyzed against distilled water and checked by the indirect ELISA for antibody titers and immunoglobulin isotypes. The antigenic specificities of antibodies were checked by Westem blot analysis against the SDS-PAGE-separated homologous antigen. Localizations of the MAb specific epitopes in the worm sections were determined by immune-alkaline phosphatase staining.[20, 21]

Table 1 Parasites of which the antigens were used for checking the cross-reactivity of the monoclonal antibodies

Name of parasite	Developmental stage		Source
	Adult	Larva	
Nematodes			
1. Angiostrongy lus cantonensis	✓	-	Experimentally infected rats[40]
2. Ascaris lumbricoides	✓	-	Stools of patients
3. Capillaria philippinensis	✓	-	Stools of infecter individuals after purgation
4. Dirofilaria immitis	✓	-	Autopsy from dog's heart
5. Human hookworms	-	✓	*In vitro* cultured ova obtained from stools of infected children
6. Gnathostoma spinigerum	-	3 rd stage larvae	Livers of naturally intected eels[41]
7. Strongyloides stercoralis	-	Filari form larvae	*In vitro* culture of rhabditi form larvae obtained from stoots of infected children[42]
8. Trichinella spiralis	-	✓	Experimentally infected mice [43]
9. Toxocara canis	✓	-	Autopsy from dogs
Cestodes			
10. Hymenotepis nana	✓	-	Stools of infected individuals after purgation
11. Taenia saginata	✓	-	Stools of infected individuals after purgation
12. Echinococcus granulosus	-	✓	Hydatid fluid
13. Cysticercus cellulosae	-	✓	Autopsy from hill tribe swine
Trematodes			
Liver flukes			
14. Opisthorchis viverrini	✓	-	Hamsters experimentally infected with metacercariae[44]
*15. Fasciola gigantic*a	✓	-	Autopsy from cow
Lung fluke			
16. Paragonimus heterotremus	✓	-	Cats experimentally infected with metacercariae[24]
Medium sized intestinal flukes			
17. Echinostoma ilocanum	✓	-	Stools of infected individuals after purgation
18. Echinostoma malayanum	✓	-	Stools of infected individuals after purgation
19. Echinostoma revolutum	✓	-	Stools of infected individuals after purgation
Minute intestinal flukes			
20. Haplochis taichui	✓	-	Stools of infected individuals after purgation
Blood flukes			
21. Schistosoma japonicum	✓	-	Mice infected with cercariae obtained from infected snails[28]
22. Schistosoma mansoni	✓	-	Mice infected with cercariae obtained from infected snails[28]
23. Schistosoma mekongi	✓	-	Mice infected with cercariae obtained from infected snails[28]

Table 1 Parasites of which the antigens were used for checking the cross-reactivity of the monoclonal antibodies (Continued)

Name of parasite	Developmental stage		Source
	Adult	Larva	
Protozoa			
24. Entarmoeba histolytica	✓	-	*In vitro* cultured trophozoites
25. Plasmodium falciparum	✓	-	Blood stage culture
26. Plasmodium vivax	✓	-	Blood of infected individuals
27. Toxoplasma tachyzoites	✓	-	Experimentally infected mice

Preparation of rabbit polyclonal antibodies (PAb) against filarial antigen

A rabbit, weighing about 2 kg, was immunized intramuscularly with 500 µg of adult *B. malayi* extract mixed with an equal volume of complete Freund's adjuvant. Three booster doses of the some antigen in an incomplete Freund's adjuvant were given to the rabbit at two week-intervals using the same route and dose. Two weeks after the last booster dose, the animal was test bled and the antibody titer against the homologous antigen was determined. IgG were purified from the rabbit antiserum by ammonium sulphate precipitation[22] and protein A-Sepharose column chromatography (Pharmacia, Uppsala, Sweden).[23] The polyclonal anti-filarial IgG (PAb) were subsequently used as capture antibody in the sandwich ELISA for antigen detection.

The indirect ELISA

An indirect ELISA was used for checking antibody titers in the mouse/rabbit immune sera, for screening for antibodies in spent media of growing hybrid cells, for cross-reactivity checking of antibodies secreted by hybridomas and for the quantitative determination of monoclonal antibodies. It was performed as previously described[24] using microplates coated individually with 100 µl of antigen diluted in a carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.6 (5 µg dry weight per ml.) A result was declared positive when the read-out OD was ≥ 0.05. One indirect ELISA unit (EU) was the smallest amount of the antibody preparation the still gave a positive indirect ELISA result.

The sandwich ELISA

The wells of polyvinyl microtiter plate (Maxi-sorb, Nunc, USA) were coated overnight at 4°C with 100 µl of rabbit polyclonal IgG to filarial antigen (PAb as capture reagent; 20 µg per ml in carbonate/bicarbonate buffer, pH 9.6). The wells were washed with PBS-T and uncoated sites were blocked with 200 µl per well of PBS-T/1%, BSA/0.2% gelatin at 37°C for 1 hour. After another washing with PBS-T, the plates were kept at -20°C in a plastic wrap until use. For use, the plates were allowed to warm up at room temperature; 100 µl of the sample to be tested for the presence of filarial antigen was

added into the PAb-coated well and incubated at 37°C for 2 hours. The plate were washed and 100 µl of MAb (the detection regent) containing 256 EU per ml of specific antibodies to filarial antigen was added, incubated at 37°C for 2 hours and washed, after which 100 µl of rabbit antimouse immunoglobulin-biotin conjugate (Dakopatts, Glostrup, Denmark, 1:1,000) was added, incubated at 37°C for 1 hour, and washed. Then streptavidin-HRP conjugate (Dakopatts, Glostrup, Denmark, 1:1,000) was added. After incubating for 1 hour at 37°C, the plates were washed and freshly prepared peroxidase substrate was added. The enzyme-substrate reaction was stoppen after 30 minutes of reaction by adding 50 µl of 1 N NaOH. The optical density (OD) of the contect of each well was read at 492 nm against the blank (PBS or spent medium of myeloma cells) using an ELISA reader (Labsystem, MultiScan *Ex,* Finland). The OD of the mean (*X)* plus 3 or 4 standard deviation (SD) of the normal inhabitants of the non-filariasis endemic areas was used as a cut-off level between positive and negative presence of filarial antigen in the tested samples. The precision of the assay was determined by testing the same serial dilution of adult *B. malayi* homogenate more than 8 times. The OD values were determined and the coefficient of variation (%CV) was calculated with the formula:

$$\%\text{CV} = \frac{SD}{X\ of\ OD} \text{x } 100$$

Reproducibility of the assay according to the criteria of Palmer and Cavallero was met.[25]

Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blot analysis (WB)

SDS-PAGE was carried out in a vertical slab gel apparatus (Miniproteam, Bio-Rad Laboratories, USA) according to the system of Laemmli.[26] A 4% acrylamide stacking gel and 12% acrylamide separating gel were used in the procedure. Western blot analysis (WB) was performed as previously described.[27.28]

RESULTS

Hybridoma production

Twelve hybridoma clones were established. The MAb secreted by these clones could be classified into four different groups according to their reactivity to the homologous and heterologous antigens tested by the indirect ELISA. Group 1 reacted not only to the homologous antigen, but also to *D. immitis* antigen; however, it did not react to any other non-filarial heterologous antigen listed in Table 1. Group 2 gave reaction to *B. malayi, A. lumbricoides* and *D. immitis.* Group 3 reacted to *B. malayi, A. lumbricoides, D. immitis* and *E. malayanum,* while those of group 4 reacted to *B. malayi, A. cantonensis, A. lumbricoides, D. immitis, E. malayanum, E. revolutum, G. spinigerum* and *T. spiralis.* A representative hybridoma of

group 1, i.e. clone 17E10 ,was selected for subsequent use in the and wich ELISA for the detection of filarial antigen. This hybridoma clone 17E10 selected IgM-kappa isotypes of immunoglobulin. At a stationary phase of cell growth, the spent culture medium always had a titer of 1:256 when tested by indirect ELISA against the homologous antigen, implying cell stability. The Western blot pattern of the MAb 17E10 against the SDS-PAGE separated *B. malayi* homogenate is shown in lane B of Fig. 1. The MAb reacted to adult *B. malayi* antigen in a smear pattern from approximately 37 kDa to > 200 kDa. A similar Western blot pattern was seen when the SDS-PAGE separated-microfilarial homogenate was used (data not shown). The smear Western blot pattern was reproduced using the proteinase-K treated antigens, implying the nonprotein nature of the MAb 17E10 epitope.

Immunoalkaline-phosphatase staining revealed that the MAb 17E10 reacted to the internal cuticle and various internal organs of both female and male worms (Fig. 2A, C and E) as well as to the sheath and internal content of microfilariae *in utero* (Fig. 2G). However, the MAb did not react to the sheath of blood circulating microfilariae (Fig. 2A). Overall anatomical location in the worm of the specific epitopes targeted by the MAb 17E10 are shows in Fig. 2.

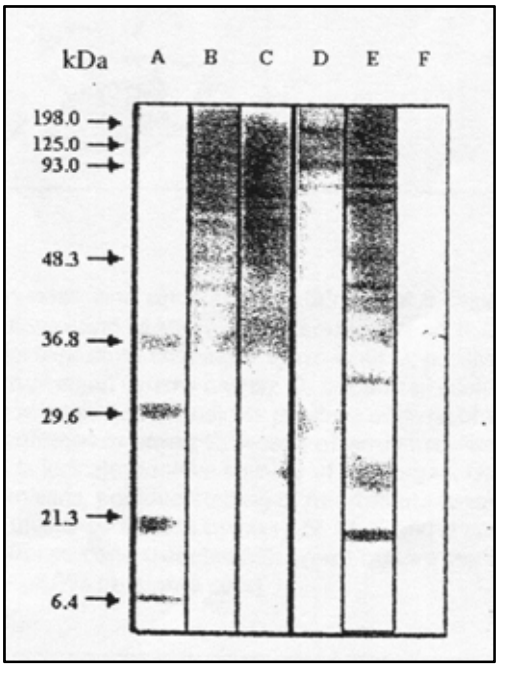


Fig.1 Western blot analysis (WB) showing patterns of immune mouse serum (IS) and MAb of hybridoma clones against SDS-PAGE separated-crude extract of adult *B. malayi;* lane A, molecular weight markers (kDa); lane B, MAbs of group 1 hybridoma clone; lane C, MAbs of group 2 hybridoma clone, lane D, MAbs of group 3 hybridoma clone; lane E, immune mouse serum (IS); lane F, culture supernatant of mouse myeloma cells (negative control).

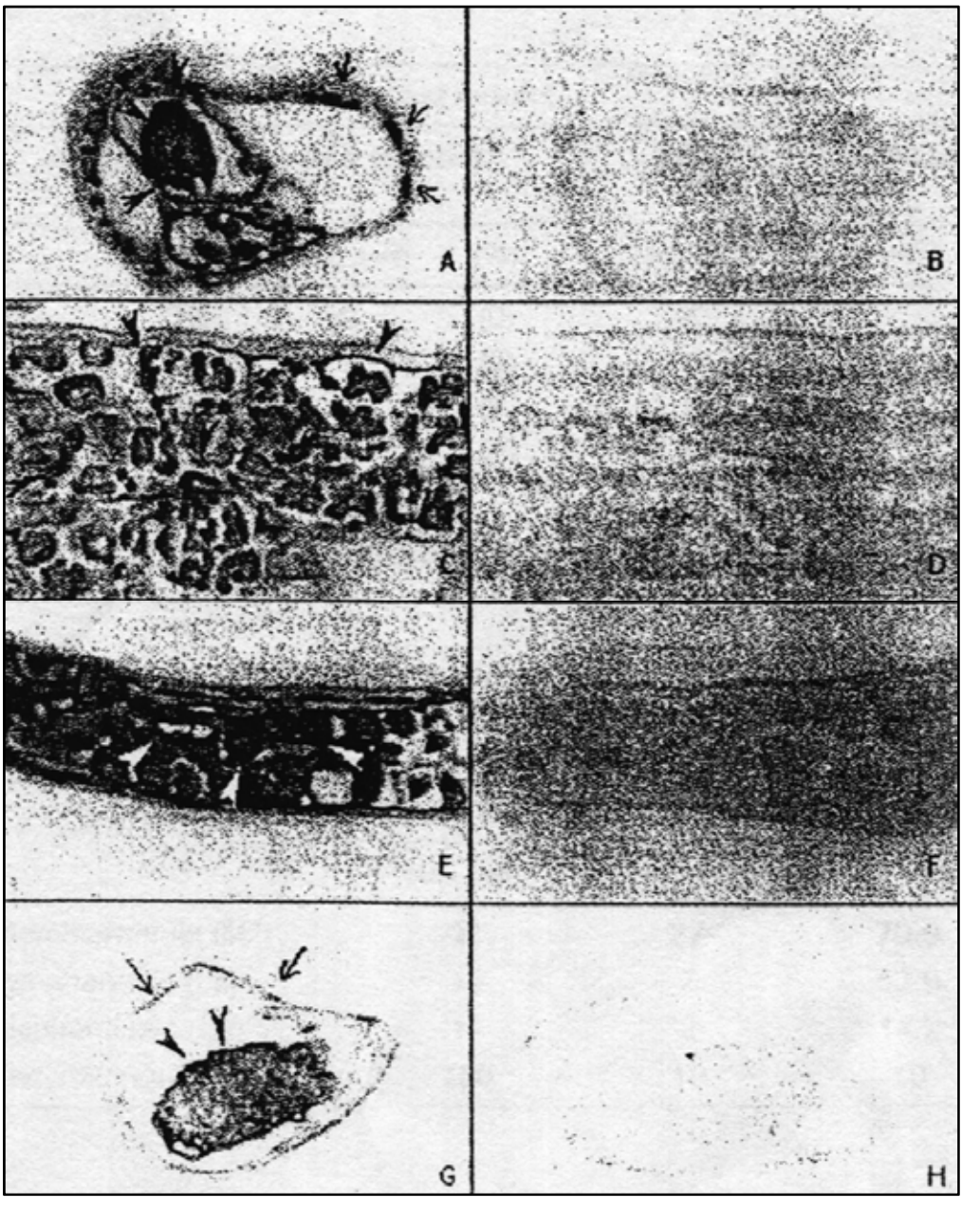


Fig.2 Immunoalkaline phosphatase staining of *B. malayi* paraffin sections using MAb 17E10. A, section of adult worm, arrows indicate positive staining of worm cuticle; positive staining of internal organ (arrow heads); C, section of adult female worm; arrow heads indicate positive staining of sheathed microfilariae *in utero*; E, section of adult male worm; arrow heads indicate positive staining of sex organ; G, section of microfilaria, positive staining of microfilaria (arrow heads) and the unstained sheath (arrow); B, D, F and H are the negative control sections (reacted with spent culture medium of P3x- 63-Ag8.653 myeloma cells).

Antigen detection

The sandwich ELISA was performed on serially diluted adult *B. malayi* homogenates and it was found that the lowest amount of the antigen that the sandwich ELISA could detect was 7.8 ng. For the untreated plasma samples of the 40 individuals of the NNE1 group, the mean (*X*) optical density (OD) was 0.026 and the standard deviation (SD) was 0.0065. *X* + 4 SD, which was 0.052, was used as cut-off limit between antigen positive and antigen negative status. None of the NNE1 samples was positive, which indicates a high specificity of the assay. The overall results of the antigen detection in the first set of specimens are shown in Table 2.

From the first set of specimens, it seemed that treatment of semples with SDS + Triton X-100 prior to antigen testing yielded the highest sensitivity of antigen detection by this sandwich ELISA. Thus, similar treatment was applied for all human samples of the second set which all consisted of plasma plus buffy coat (P+B), and also for the cat and dog samples, prior to subjecting them to the sandwich ELISA.

For the second set of specimen, the *X* of the OD was 0.028 and the SD was 0.008 for NNE2 samples. The cut-off limit between positive and negative filarial antigenemia was set at *X* + 3 SD which was 0.052. The overall results of the antigen detection of the second set of specimens are shown in Table 3. Among the 7 of 13 cases of L2 which were antigen negative, it was later revealed that three patients had received diethyl carbamazine (DEC) treatment prior to specimen collection.

Normal cat samples, i.e. P + B, gave a sandwich ELISA *X* at 0.024 and a SD at 0.019. The cut-off used for differentiating positive and negative antigenemia in the microfilaremic cats was set at *X*+3 SD which was 0.081. It was found that 14 of 15 (93.3%) of the microfilaremic cats gave a positive antigen test.

The P + B of the five non-microfilaremic dogs gave ODs of 0.302, 0.049, 0.062, 0.068 and 0.038 in the sandwich ELISA for antigen detection. The cut-off limit was set at *X* + 3 SD (0.068) to differentiate positive and negative antigenemia using the MAb-based sandwich ELISA; it was found that all of the *D. immitis* microfilaremic samples (100%) were positive.

Table 2 Results of antigen detection in the first set of specimens

Clinical status	Antigen detection test results								
	Untreated plasma			EDTA treated plasma			SDS + Triton X-100 treated plasma		
	No. test	No. +ve	(%)	No. test	No. +ve	(%)	No. test	No. +ve	(%)
Microfilaraermia (M1)	17	1	(5.8)	10	0	(0)	23	9	(39.1)
Lymphangitis (L1)	22	5	(22.7)	8	0	(0)	17	8	(47)
Elephantiasis (E1)	14	2	(14.2)	3	0	(0)	9	1	(11.1)
Endemic normal (NE1)	40	6	(15)	40	0	(0)	40	5	(12.5)

Table 3 Results of antigen detection in the second set of specimens

Clinical status	Antigen detection test results (SDS + Triton X-100 treated plasma + buffy coat)		
	No. test	No. +ve	% +ve
Microfilaraemia (M2)	31	22	70.9
Lymphangitis (L2)	13	7	53.8
Elephantiasis (E2)	14	2	14.2
Endemic normal (NE2)	100	10	10

DISCUSSION

Although antigen detection assays are commercially available for bancroftian filariasis in humans and dirofilariasis in dogs, no such assay is available for the routine diagnosis of brugian filariasis. Most research reports on the detection of circulating *B. malayi* antigen in human sera showed unsatisfactory sensitivity and specificity or the assay was evaluated using serum pools rather than individual sera.[29-31] In this study, attempts have been made to develop a specific serodiagnosis, i.e. a monoclonal antibody based – sandwich ELISA for current Brugian filariasis by detecting antigenemia in individual subjects with different stages of filariasis, as well as in normal counterparts of disease endemic areas. The same assay was also used for detection of filarial antigenemia in infected animals.

In this study, hybridomas secreting monoclonal antibodies to filarial antigen were produced from a mouse immunized with *B. malayi* antigen. The MAb secreted by the clone 17E10 were selected for further use in a sandwich ELISA for detecting filarial antigen in human and animal blood samples. These MAb reacted only to *B. malayi* and *D. immitis* and not to any non-filarial parasites. Unfortunately other filarial worms, e.g. *W. bancrofti, Onchocera*, *B. timori*, *Loa loa*, were not available for cross-reactivity testing of the MAb.

The MAb 17E10 produced a smear pattern in the Western blot analysis against SDS-PAGE separated-homogenate of adult *B. malayi* (lane B, Fig. 1). A similar pattern was obtained when the microfilarial extract was used (data not shown) indicating that the MAb specific epitope is not a stage specific antigen. The epitope is non-protein in nature as indicated by its proteinase-K resistant nature. The smear Western blot pattern of the MAb 17E10 against SDS-PAGE separated-filarial antigen tends to indicate a highly repetitive polymeric structure, with large numbers of identical antigenic determinants. The strength of the signal obtained through the binding of monoclonal antibodies as detection reagent in an antigen detection assay will be much greater with such antigen (containing highly repetitive epitopes) than when there is only a single antigenic determinant per molecule.[22]

It has been known that a multitude of antigens of parasites including filaria are public antigens, i.e. they are shared not only by different developmental stages but also by members of different species.[32] The antigens associated with internal organs performing basic functions essential to the survival of the worms are likely to be shared by many parasite stages and species.[33] Results of immunoalkaline phosphatase staining confirmed that MAb 17E10 reacted to a common epitope of adult *B. malayi* and microfilariae and also to *D. immitis* homogenate. Similar findings have been reported previously by Wenger *et al.*[34] and Gonzaga and Santos.[35]

A major problem in detecting circulating parasite antigens in the host serum or plasma is the host's antibody response to such antigenic molecules, thereby reducing their availability for antigen detection. Ideally, the best target molecules would those that are non-immunogenic in humans but immunogenic in other species, e.g. rabbits, mice, such that specific antibodies could be produced in these animals and used as an antigen capture/detection tool for human infection. In filariasis, circulating immune complexes have been demonstrated, both in experimental animal models and in humans[29,36-38] and several methods have been used to identify/detect the antigenic moieties in the so-formed circulating immune complexes. Lunde *et al.*[38] used a two-step method to treat the circulating immune complexes in serum samples of patients infected with *W. bancrofti.* The serum sample was mixed with EDTA and 12% polyethylene glycol 6,000 (PEG); after centrifugation, the pellet was washed in a 2.4% PEG solution and the antigen-antibody complexes were dissociated with a glycine-HCI solution, before being used in an ELISA for antigen detection. In other studies, samples of *W. bancrofti* infected-subjects were treated with disodium EDTA, and heated to precipitate the complexes prior to antigen testing. In this study, the buffy coat and the plasma of the studied subjects and animals were used as of source the antigenic target for our polyclonal-monoclonal antibody based-antigen detection assay. The buffy coat was used because independent of whether the antigens were free in the blood or already had formed immune complexes the had to be engulfed by blood phagocytes and processed, either for further presentation to T lymphocytes in order to induce the host immune response or for being broken down to the smallest units, e.g. amino acids, sugars, etc. which might be re-used or discarded. Moreover spinning of the anticoagulated blood should also concentrate the intact microfilariae, if there were any, to the buffy coat area. Plasma was included in order not to miss any of the circularting antigen, which had escaped phagocytosis. For antigen detection, blood collected in three hematocrit tubes was used. SDS and Triton X-100 were added to lyse the leucocyte cytoplasmic membrane, the endosomal/lysosomal membrane as well as the sheath of the microfilariae thus releasing the respective intracellular contents including the target antigens. It was found that the addition of the SDS, Triton X-100 and distilled water not only prevented

sample coagulation but also eliminated the background endogenous enzymes that would otherwise interfere with the immuno-assay interpretation.

The sandwich ELISA performed on SDS and Triton X-100 treated samples yielded the highest sensitivity when compared with the assay performed on untreated or EDTA-treated samples. The sensitivity of the ELISA for the microfilaremic group (M2) was 70.9% while for samples of patients with lymphangitis (L2) and elephantiasis (E2) was 53.8 and 14.2%, respectively. Weil *et al*.[39] also found samples of microfilaremic and amicrofilaremic patients with clinical bancroftian filariasis, i.e. lymphangitis, and elephantiasis, which were negative by an antigen test. Several reasons may be given for these findings which were also observed in this study about brugian filarialsis. The negative results in some of the cases may be first due to the patients no longer harboring the adult parasites (most probable in elephantiasis cases, but also possible in lymphangitics and microfilaremics).[11] Second, these results may be due to the pathway of clearance of the parasite antigens from the blood. It is known that besides the clearance of the circulating antigen or immune complexes by phagocytosis, other mechanisms also deprive the antigen from the plasma and phagocytes. Much of the complement component (C3b, C4b) coated antigens could be efficiently bound by red blood cells via the CR1 (CD 35), which is a complement derived opsonin receptor found abundantly on the erythrocyte membranes. As the blood circulates, the complement coated antigens would subsequently be destroyed in the liver and spleen. It is also possible that the negative antigen results of the microfilaremic samples (~30%) in this study were due to the inadequate amount of blood samples used for preparing the test samples. Three hematocrit tubes might not contain detectable levels of antigen for the sandwich ELISA in some cases (detection limit is 7.8 ng of adult worm homogenate); thus, larger volumes of blood might be needed. Unfortunately, owing to the limited amount of blood originnally obtained and the subsequent mass treatment of the microfilaremic cases in the endemic areas launched by the Ministry of Public Health, Thailand, it was not possible to retest the blood samples of the antigen negative, microfilaria positive cases by the sandwich ELISA. Filarial antigen was detected in patients with lymphangitis and elephantiasis in whom microfilariae could not be detected by microscopic examination and in 10% of normal inhabitants of the filarial endemic areas. These findings agreed with the work of Weil *et al*.[39] who performed an antigen detection assay of bancroftian filariasis and found the antigen in samples of amicrofilaremic patients with clinical manifestations.

The sandwich ELISA, using MAb 17E10 as detection reagent, could also detect antigens of *D. immitis* in animal samples. Ideally the sandwich ELISA developed in this study should be tested on anticoagulated blood samples of patients or animals infected with other filarial parasites in order to see whether the test is positive in those cases as well. Unfortunately, such samples were not available. Thus, it is too early to speculate whether the assay could be used for pan diagnosis of filarial infection.

Nevertheless, it offers an alternative to the current standard diagnostic procedures for filariasis, especially brugian filariasis, for which no antigen test is presently available. The target antigen of the sandwich ELISA is heat stable and can be obtained from the subject at any time of the day, which is an advantage over the detection of circulating microfilariae for which only nocturnal blood samples can be used. The test has a high sensitivity and specificity; it is rapid and inexpensive. Several samples can be tested at the same time without much increase in the overall test time. All of these characteristics make this sandwich ELISA attractive as an alternative routine diagnostic test for clinical use as well as for mass screening of samples in an epidemiological survey of filariasis. Moreover, the test may be used for evaluation of the treatment efficacy as it is reasonable to speculate that a positive antigen result should be reversed after successful chemotherapy.

ACKNOWLEDGEMENTS

The work was supported by the Thailand Research Fund (TRF) through the Senior Researcher grant given to Professor Dr. Wanpen Chaicumpa. The supply of the BALB/c mice from the US Component of the Armed Forces Research Institute of Medical Sciences (AFRIMS), Bangkok, is acknowledged with thanks. The authors thank Dr. Mark Roselieb, Science Development and Management Ltd., Bangkok, for reading the manuscript.

REFERENCES

1. McMahon JE, Simonsen PE. Filariases. In: Cook G.C. (Ed.). Manson's Tropical Diseases. London, WB Saunders, 1996; pp. 1321-8.
2. Annual Report of the Division of Filariasis. Department of Communicable Disease Control, Ministry of Public Health of Thailand, 1998.
3. Stone A, Knihgt K, Starcke H. A synoptic catalogue of the mosquitoes of the world. Washington DC, Entomological Society of America, 1959.
4. Leeuwin R. Microfilaremia in Surinamese living in Amsterdam. Trans Geogr Med 1962; 14: 335-60.
5. Partono F. Filariasis in Indonesia: clinical manifestation and basic concept of treatment and control. Trans R Soc Trop Med Hyg 1984; 78: 9-12.
6. Nanduri J, Kazora J. Clinical and laboratory aspects of filariasis. Clin Microbiol Rev 1989; 2: 39-50.
7. Ottesen EA. Infection and disease in lymphatic filarasis: an immunological perspective. Parasitol 1992; 104: S71-9.
8. Zaman V, Keong L.A. Handbook of Medical Parasitology. 3rd edition, Singapore, KC Ang Publishing, 1994; pp. 205-10.
9. Wakelin D. Immunity to parasites. In: How parasitic infections are controlled. 2nd edition, London, Cambridge Unitversity Press, 1996; pp. 146-59.
10. Huijun Z, Zhengghou T, Reddy MVP, Harinath B, Piessens WF. Parasite antigens in sera and urine of patients with bancroftian and brugian filariasis detected by sandwich ELISA with monoclonal antibodies. Am J Trop Med Hyg 1987; 36: 554-60.
11. Weil GJ, Jain DC, Santhanam S, Malhotra A, Kumar H, Sethumadhavan KU, Liftis F, Ghosh TK. A monoclonal antibody-based enzyme immuneassay for detecting parasite antigenemia in bancroftian filariasis. J Infect Dis 1987; 156: 350-5.
12. More SJ, Copeman DB. A highly specific and sensitive momoclonal antibody based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filarialsis. Trop Med Parasitol 1990; 4: 403-6.
13. Atkins CE. Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. J Am Vet Med Assoc 2003; 222: 1221-3.
14. Weil GJ, Lammie PJ, Weiss N. The ICT filariasis test: a rapid format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. Parasitol Today 1997; 13: 401-4.
15. Chalifoux L, Hunt R, Ndrade L. Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum.* J Am Vet Med Assoc 1971; 158: 601-5.

16. Choochote W, Keha P, Keturat S, Khamboonruang C, Sukontason K, *Aedes (Finlaya) togoi* Theobald 1907,Chantaburi strain: a laboratory vector in studies of filariasis in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1984; 18: 259-60.
17. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 27: 248-54.
18. Chaicumpa W, Srimanote P, Sakolvaree Y, Kalampaheti T, Chongsanguan M, Tapchaisri P, Eampokalap B, Moolasart P, Nair GB, Echevrria P. Rapid diagnosis of cholera caused by *Vibrio cholera* O139. J Clin Microbiol 1998; 36: 3595-600.
19. Kearney JF, Radbruch A, Liesengang B, Rajewsky K. A new mouse myeloma cell line that has lost immunoglobulin expression but permits the construction of antibody secreting hybrid cell lines. J Immunol 1979; 123: 1548-50.
20. Wongsaroj T, Sakolvaree Y, Chaicumpa W, Maleewong W, Kitikoon V, Tapchaisri P, Chongsanguan M, Cross JH. A ffinity purified oval antigen for diagnosis of *Opisthorchiasis viverrini.* Asian Pac J Allergy Immunol 2001; 19: 245-58.
21. Taweethavonsawat P, Chaicumpa W, Chaisri U, Chuenbal U, Sakolvaree Y, Tapchaisri P, Wongsaroj T. Specific monoclonal antibodies to *Strongyloides stercoralis:* a potential diagnostic reagent for strongyloidiasis. Asian Pac J Allergy Immuno. 2002; 20: 247-56.
22. Goding, J.W., Monoclonal antibodies: Principle and Practice, 3rd edition, London, Academic Press, 1996.
23. Ey PL, Prowse SJ, Jenkin CR. Isolation of pure IgG_1 IgG_{2a} IgG_{2b} immunoglobulin from mouse serum using protein A-Sepharosc. Lmmunochemistry 1978;15: 429-36.
24. Indrawati I, Chaicumpa W, Setasuban P, Ruangkunapom Y. Studies on immunodiagnosis of human paragonimiasis and specific antigen of *Paragonimus heterotremus.* Int J Parasitol 1991; 21: 395-401.
25. Palmer DF, Cavallero JK. Some concepts of quality control in immunoserology. In: Rose NR, Friedman H, eds. Manual of Clinical Immunology, ^{2nd} edition, Washington DC, American Society of Microbiology, 1980; pp.1078-82.
26. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970; 227: 680-5.
27. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheet: procedure and some application Proc Natl Acad Sci 1979; 76: 4350-4.
28. Ittiprasert W, Butraporn P, Kitikoon V, Klongkamnuankarn K, Pholsena K. Vanisaveth V, Sakolvaree Y, Chongsanguan M, Tapchaisri P, Mahakunkij Charoen Y, Kurazano H, Hayashi

H, Chaicumpa W. Differential diagnosis of Schistosomiasis mekongi and trichenellosis in human. Parasitol Int 2000; 1: 1-9.

29. Au AC, Denham DA, Steward MW, Draper CC, Ismail MM, Rao CK, Mak JW. Detection of circulating antigens and immune complexes in feline and human lymphatic filariasis. Southeast Asian J Trop Meb Public Health 1981: 12: 492-8.
30. Haque A, Aggarwal A, Cuna W, Oulaque G, Cesbron JY, Capron A. The use of monoclonal antibodies in studies of filarial parasite antigens. Dev Biol Stand 1985; 59: 63-8.
31. Maizels RM., Sutanto I, Gomez-Priego A, Lillywhite J, Denharm DA. SpecificIty of surface molecules of adult Brugia parasites: cross-reactivity with antibody from *Wuchereria, Onchocarca* and other human filarial infections. Trop Med Parasitol 1985; 36: 233-7.
32. Maizels RM, Partono F, Oemijati S, Denham DA, Oglivie MB. Crossreactive surface antigens on three stages of *Brugia malayi*, *B. pahangi* and *B. timori*. Parasitology 1983; 87: 249-63.
33. Piessens WF, mckenZie CD. Immunology of lymphatic filarasis and onchocerciasis. In: Cohen S, Warren KS, eds. Immunology of Parasitic Infections. USA, Blackwell Science, 1982; pp. 622-53.
34. Wenger JD, Forsyth KP, Kazura JW. Identification of phosphorylcholine epitope-containing antigens in *Brugia malayi* and relation of serum epitope levels to infection status of jirds with brugian filariasis. Am J Trop Med Hyg 1988; 38: 133-41.
35. Gonzaga L, Santos D. Diagnosis of *Wuchereria bancrofti* filariasis by immunofluorescene using microfilariae as antigen. Ann Trop Med Parasitol 1976; 70: 219-25.
36. Karavodin LM, Ash LR. Circulating immune complexes in experimental filariasis. Clin Exp Immunol 1980; 40: 312-7.
37. Gajanara A, BheemaRao US, Manonmani LM. Preliminary study in circulating immune complexes in bancroftian filariasis. Indian J Med Res 1982; 76: 146-50.
38. Lunde MN, Paranjape R, Lowley TJ, Ottesen EA. Filarial antigen in circulating immune complexes from patients with *Wuchereria bancrofti* filariasis. Am J Trop Med Hyg 1988; 138: 366-7.
39. Weil GJ, Ramzy RM, Chandrashekar R, Gad AM, Lowrie RC Jr. Faris R.Parasite antigenemic without microfilaremic in bancroftian filaraisis. Am J Trop Med Hyg 1996; 55: 333-7.
40. Eamsobhana P, Mak JW, Young HS Development of specific immunodiagnosis for human parastrongyliasis Proceeding of the 8th SEMIC/IMFJ Technical Meeting in Molecular Biology andImmunology in the Diagnosis of Parasitic Diseases with Emphasis on Malaria, 1995; pp. 159-65.

41. Tapchaiari P, Nopparatana C, Chaicumpa W, Setasuban P. Specific antigen of *Gnathostoma spinigerum* for immunodiagnosis of human gnathostomiasis Int J Parasitol 1991; 21: 315-9
42. Mangali A, Chaicumpa W, Nontasut P, Chantavanij P, Tapchaisri P, Viravan C Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of human strongyloidiasis. Sontheast Asian J Trop Med Public Health 1991; 22: 88-92.
43. Mahannop P, Setasuban P, Morakote N, Tapchaisri P, Chaicumpa W. Immunodiagnosis of human trichinellosis and Identification of specific antigen for Trichinella spiralis.Int J Parasitol 1995; 25: 87-94.
44. Chaicumpa W., Ybanez L, Kitikoon V, Pungpak S, Ruangkunaporn Y, Chongsa-Nguan M, Sornmani S. Detection of *Opisthorchis viverrini* antigens in stools using specific monoclonal antibody. Int J Parasitol 1992; 22: 527-31.

APPLICATION OF GIS TO THE CHARACTERIZATION OF FILARIASIS TRANSMISSION IN NARATHIWAT PROVINCE

Chamnarn Apiwathnasorn[1], Kobkan Kanjanopas[2], Suwich Thammapalo[2], Sumart Loymak[2], Yudthana Samung[1], Samrerng Prummongkol[1] and David Molyneux[3]

[1]*Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand;*

[2]*Filariasis Section, Department of Disease Control, Ministry of Public Health,Bangkok, Thailand;*

[3]*Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, United Kingdom*

Abstract

The geographical information system (GIS) and available survey data (both from the Filariasis Annual Reports, 1985-1999 and from the published literature) for the microfilarial infection rates are used to develop the first subdistrict-level endemicity maps of lymphatic filariasis in Narathiwat Province. The maps demonstrated the subdistrict-level geographical distribution of filariasis and the subdistricts at varied degrees of infection rate. The maps also indicate that, since 1985, there was a marked decrease in endemicity at the subdistrict level and in some areas, the infection rates were zero. However, transmission remained in the subdistricts surrounding peat swamp forest (Su-ngai Padi, Paluru, Puyo, Pasemat, Bang Khunthong and Phron subdistricts). The house locations of infection cases, as well as the vector breeding places were geo-registered and placed as symbolic dots on the base maps obtained from Landsat 's Thematic Mapper (TM) 5 and the land use map of Narathiwat to display the distribution of filariasis foci. Of 102 houses mapped, there were 40 house in primary peat swamp forest (39.22%), 26 in rice fields (25.49%), 15 in fruit orchards (14.70%), 10 in coconut fields (9.80%) and others (10.78%). All the house were close to the larval habitats presented in the survey. A 2-km buffer zone around the conservation boundary of primary peat swamp forest was created to locate rick areas of filariasis transmission. The buffer zone covered an area of 544.11 km^2 and included 88.89% of the houses of infected cases found in 2002. It was able to identify 54 villages located in the buffer area, which might help in the determination of resource needs and resource allocation for filariasis control in Narathiwat Province.

Correspondence: Chamnarn Apiwathnasorn, Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, 420/6 Rajvithi Road, Bangkok 10400, Thailand

Tel: 66 (0) 246 9000 ext 1575; Fax: 66 (0) 2246 8340 E-mail: tmcaw@mahidol.ac.th

INTRODUCTION

Filariasis is still a health problem in some rural areas of Thailand. The microfilarial positive rate was reduced from 3.16% in 1961 to less than 0.05% in 2001, owing to the success of the filariasis control program, as indicated in the annual report for the national program to eliminate lymphatic filariasis of Thailand (Ministry of Public Health, 2002). At present, the highest microfilarial rates 27.14 and 20.03 cases per 100,000 population, were found in Tak and Narathiwat for Bancroftian and brugian filariasis, respectively. Endemic foci, with microfilarial positive rates of at least 0.2%, remain in 323 villages of eight provinces, including Kanchanaburi, Krabi, Lamphun, Mae Hong Son, Nakhon Si Thammarat, Narathiwat, Surat Thani and Tak. Thailand joined the "global elimination of lymphatic filariasis" initiated by the World Health Organiztion (WHO) in 2001. Therefore, it requires detailed maps for initial assessment and monitoring effectiveness of the elimination programs, as recommended by WHO (2000). The maps will be utilized to display spatial variation in infection prevalences at local geographical scales and prioritization of target areas for intervention. At present, the Geographical Information System (GIS) computer software with built-in mapping tools has made the construction of such maps considerably less complicated. The main aim of the present study is to assemble endemicity maps of brugian filariasis in Narathiwat Province at the subdistrict level using a GIS, available published and unpublished survey data, and data of the geo-registered locations of houses of infected people.

MATERIALS AND METHODS

Study site

Narathiwat (Fig 1) is the southernmost Thai coastal province facing the Gulf of Thailand and borders on pattani to the north, Kelantan State of Malaysia to the south, Yala to the east and the Indian Ocean to the west. the provincial capital is 1,437 km south of Bangkok by road, and 1,116 km by train. The provice covers some 4,475 km^2 , two thirds of which are forested mountains. The province is noted as a land of gold mines and boasts extensive peat swamp forests, as well as seaside resorts along the coast of the Indian Ocean. Narathiwat is administratively divided info 13 districts: Mueang Narathiwat, Bacho, Chanae, Ra-ngae, Rueso, Si Sakhon, Sukhirin, Su-ngai Kolok, Su-ngai Padi, Tak Bai, Waeng, Yi-ngo, and Cho-airong.

It has a total population of 690,001 with a ratio of 1:1 male to female (As of 31 December 2001). The inhabitants of Narathiwat are mainly of thai nationality (99.8%) being Muslim (88.2%) and Buddhist (17.9%). Average household size is 4.6. They are largely farmers and fisherman, with 56.3% in the agricultural sector. Migration of people in Narathiwat is uncommon. The percentage of

the population who migrated within the 5 years 1995-2000 was merely 3.2%. and the population not living in the province of birth was 9.7%. 24.6% lived in municipal areas.

In 1963, Wongsathuaythong *et al* investigated elephantiasis in Narathiwat Province and reported a 7.3% infection rate among the 1,535 people examined. At present, Narathiwat remains an important endemic focus of the subperiodic form of brugian filariasis, owing to the presence of peat swamp forest as a source of reservoir hosts and breeding places.

Fig 1- Map of Thailand showing Narathiwat Province

Data soures for filariasis database

The microfilarial rate and mosquito biting density estimates derived here were mainly obtained from the filariasis investigation at village level performed by the Division of Filariasis Control and published as annual reports, during the period 1985-1999. The intection rates were presented as microfilarial slide positive rates (generally based on 20 µl samples of night blood from each investigated community). The mosquito data were presented as the number of mosquitos per 10 persons collected in many villages in epidemiological investigations. The subdistrict-level data were principally of filarial endemicity (infection rates) and biting densities and distribution of Mansonia vectors. All attribute data, including microfilarial infective rates, vector biting densities, population size, and number of houses,

were stored in a MS Excel spreadsheet and were then transferred to the relational database management system within the GIS, for visualization of filariasis distribution and characteristics.

In addition, data on the house locations of infected cases and the surveyed points (positive and negative sites) of the vector breeding places were geo-registered. The positions were mapped using Garmin GPS 12XL instrument. The location data were placed into the subdistrict boundaries as scattered dots on the base maps.

Subdistrict-level digital maps of Narathiwat, created by MapInfo (scale 1:50,000), Landsat's Thematic Mapper (TM) 5 and the land use map were used as base maps for undertaking the present study. Maps of subdistrict-level endemicity, including distribution and prevalence rates of microfilaremia, were constructed, managed, and visualized in shading the range of infection to display the distribution pattern of the filariasis foci.

GIS software

Maps of filariasis distribution and characteristics were made in the GIS MapInfo Professional version 7 with base maps of Narathiwat Province at subdistrict level (scale 1:50,000), a product of Lotus Consulting International Co Ltd.

RESULTS AND DISCUSSION

Maps of filariasis distribution in Narathiwat at the subdistrict level

Lymphatic filariasis in Naratthiwat appears to be a particular problem of the eastern part of the province. Surveys of brugian filariasis have been conducted in 187 villages of 77 subdistricts. The population in each village is greatly varied, from 131 to 1,531 per village during the study period. Blood examinations for the parasites were determined in more than 100,000 people, which accounted for 75.92-98.82% coverage of the total population. The maps of filariasis distribution by subdistrict over the past 10 years are presented in Fig 2. It appears that the observed pattern of endemicity was not stable until 1990, with new foci of low and high endemicity reporting each year. The number of subdistricts found to be endemic for filariasis transmission rose steadily, from I in 1985 to 11 subdistricts in 1988. As survey coverage increased, 9 additional subdistrict foci were discovered in 1989. As of 1985-1990, filariasis was endemic in 14 subdistricts. Since 1990, investigations were limited to areas of high endemicity in the eastern part of the province.

Table 1 Record of microfilarial positive rates at village level in subdistrict with high prevalence.

Village No.	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Puyo subdistrict														
4	3.46	ND	ND	3.86	ND	ND	ND	0.69	ND	1.47	0.21	0	ND	0.84
5	8.25	ND	ND	6.25	3.45	ND	ND	0	ND	0	1.96	1.02	0.88	0
Su-ngai Padi subdistrict														
1	ND	2.96	ND	1.15	ND	2.3	ND	1.61	ND	1.26	0.44	0.22	ND	0
7	ND	2.76	ND	3.03	ND	2.94	ND	1.27	ND	3.55	3.35	1.44	0.72	0
8	ND	4.41	ND	1.73	ND	0.59	ND	1.84	ND	1.04	2.42	0	0	ND
10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0	5.62	2.44	0	0	2.38
Bang Khun Thong subdistrict														
1	ND	ND	3.16	0.23	ND	0.9	ND	0.84	ND	0.79	0.72	0.42	0.41	ND
6	ND	ND	4.72	3.79	ND	0.28	ND	ND	ND	0.99	0.29	ND	0.45	ND
Kaluwo subdistrict														
4	ND	1.76	ND	1.03	0.42	ND	0.21	ND	0.23	ND	0.87	0	ND	0.21
6	ND	1.24	ND	2.37	1.22	ND	1.34	ND	0.97	0.84	0	0	ND	0
Paluru subdistrict														
5	1.61	ND	ND	0.73	ND	0.8	0.78	ND	0.78	0.69	0.19	ND	0	0
6	1.76	ND	ND	1.11	ND	0.29	0.83	ND	1.78	1.79	0	ND	ND	0
7	1.31	ND	ND	1.24	ND	0.21	0.52	ND	0.36	0.36	0	ND	0.70	0.19

ND = not determined

Filariasis was endemic in 136 villages within the 35 subdistricts investigated during the period 1985 to 1999, with average microfilarial rates ranging from 0.02 in Kaluwo Nua and Lochut subdistricts to 2.42 in Puyo subdistrict. However, microfilarial rates at village level ranged from 0.07 in Chuap to as high as 8.25 in Puyo subdistrict. The maps indicate that a marked decrease in infection rates has occurred in all filariasis foci but the distribution was confined to the eastern part where 9 subdistricts (Bang Khunthong, Kaluwo, Paluru, Pasemat, Phron, Puyo, Sala Mai, Sungai Padi, and Tapoyo) remained endemic foci of filariasis. In 1999, infection rate ranged from 0.08 in Sala Mai to 0.42% in Su-ngai Padi. Many villages with high prevalence were regularly investigated and control program was provided continuously by the Division of Filariasis Control so that the prevalence was decreased obviously within 5 years after the foci discovered. Nevertheless it seemed that filariasis infection would be recovered within few years after the prevalence rate was decreased to 0% as seen in some villages of Puyo (4 and 5), Su-ngai Padi (10), Kaluwo (4) and Paluru (7) where located around the primary peat swamp forest (Table 1). This would be an evidence for further confirmative study on the disease resurrection and consideration in planning surveillance program particular for the foci nearby conservative peat swamp forest.

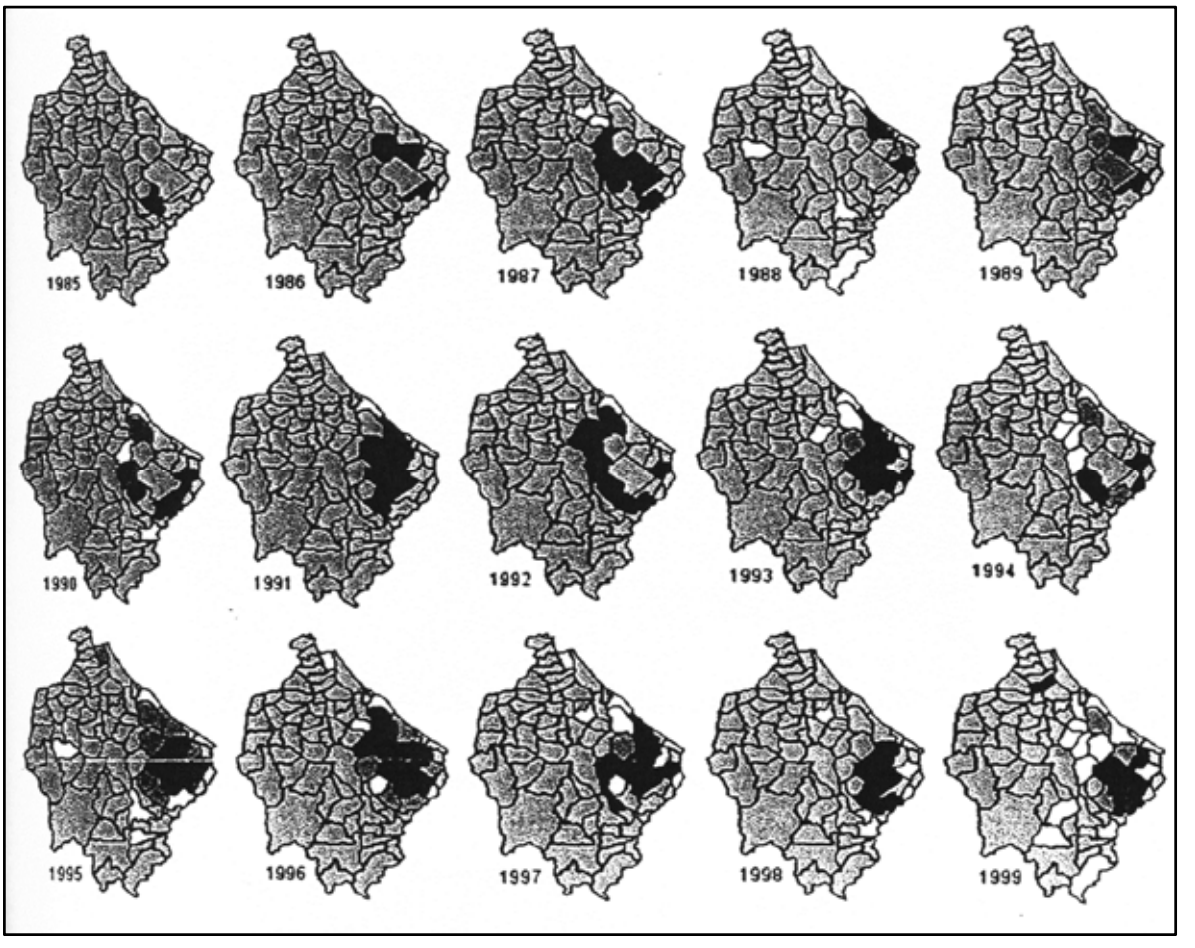


Fig.2 - GIS maps showing annual investigations of brugian filariasis in Narathiwat province 1985-1999 (Black = endemic foci; grey = no data)

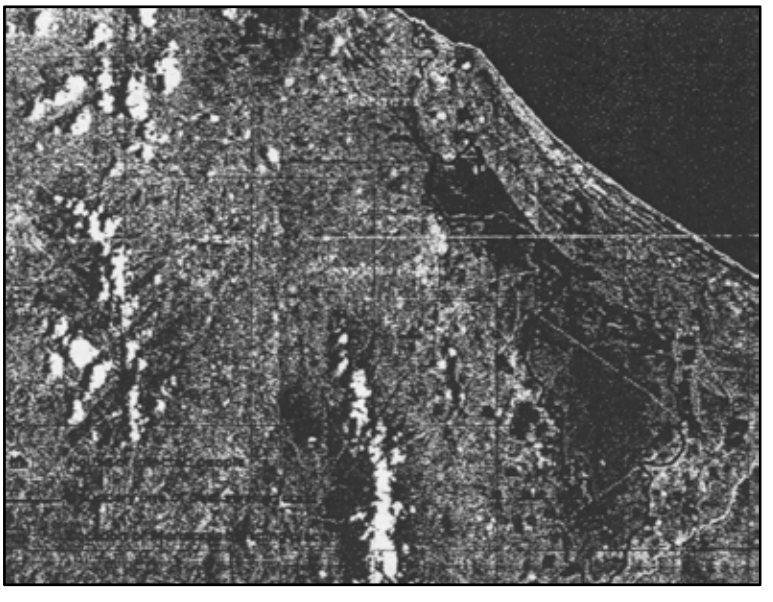


Fig 3 - Distribution of houses of the filariasis-infected people and *Mansonia* breeding places overlaid on the Landsat TM 5 image of Narathiwat Province.

House location of infected people investigated during 1995-2002 and larval positive collection sites of *Mansonia* mosquitos were geo-registered and overlayed on satellite image of Narathiwat taken by Landsat Thematic Mapper 5 (RGB) in the filariasis GIS system, to determine their distribution pattern. There were 113 house, of which 11 were located in new foci around Bacho swamp forest in the northern part of the province. The map revealed that the houses were distributed around forest conservation area of Toh Daeng peat swamp forest and close to *Masonia* breeding places as shown in Fig 3. By adding the border boundary of the peat swamp forest. and using the Mapinfo ruler tool. the distance from the houses to the peat swamp forest was found to vary from 0-4.5 km.

Fig 4 – Risk area of brugian filariasis created by GIS.

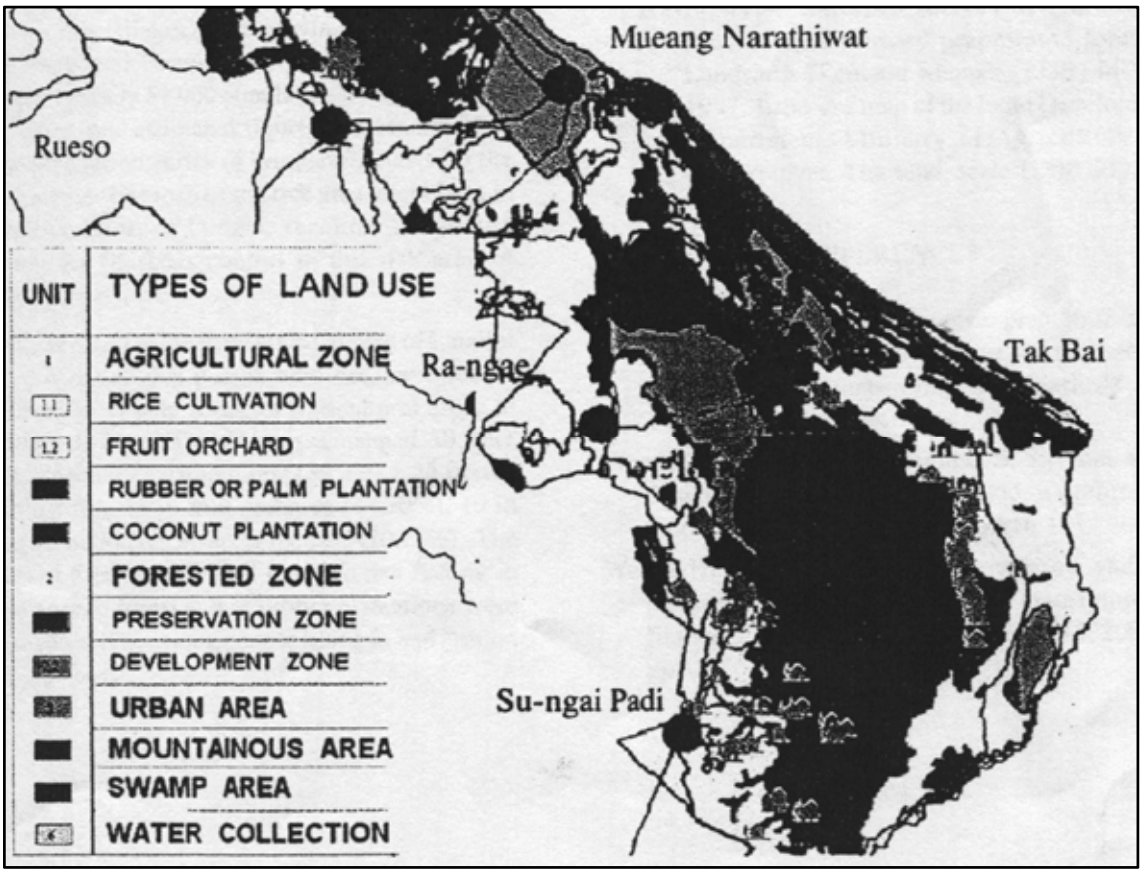


Fig 5 – Distribution of houses of infected people over land – use map.

The risk area was then constructed by using the boundary of the conservation forest area of peat swamp forest and the fight range of *Mansonia* (2 km) as the distance parameter (Fig 4). The risk area was 386.06 km^2 and covered 15 subdistricts, Lam Phu, Bang Po, Chuap, Marubo Tawanok, Phraiwan, Bang Khunthong, Su-ngai Padi. Phron, Kosit, Pu Yo, Paluru. Pasemat, Kawa and Su-ngai Kolok. It was found thet 79 of 102 houses (77.45%) were within this risk area. In addition, 54 villages of 11 subdistricts were located in the risk area. Among the 15 subditricts within the risk area, 4 subdistricts (Lam Phu, Chuap, Marubo Tawanok and Su-ngai Kolok) had no villages. The population at risk was calculated by multiplying the population density with the risk area of each subdistrict. Excluding the four subdistricts mentioned above, the total population at risk was estimated to be 43,370. The Division of Filariasis Control reported, in 2001, that there were 108 villages of six provinces (Narathiwat, Pattani, Nakhon Si Thammarat, Krabi and Surat Thani) with approximately 81,000 population living in the risk area. Hence, our estimated figure represents half of the total population at risk of brugian filariasis for the whole country. The map of the risk area might help in the determination of budget, resource needs and allocation for filariasis control in this risk area of Narathiwat Province.

When the land use map was used instead of Landsat TM5, it revealed that people who became infected lived either in swamp forest or agricultural areas at the ratio 1:1.1 (Fig 5). Of 102 houses mapped, 40 were located in primary swamp forest (39.22%), 26 in rice fields (25.49%), 15 in fruit orchards (14.70%), 10 in coconut plantations (9.80%), and others (10.78%), 10 in coconut plantations (9.80%), and others (10.78%). The Division of Filariasis Control reported that fishing in the peat swamp forest and in rubber plantations were occupations at risk among people living in and around the swamp forest.

In conclusion, GIS for filariasis transmission in Narathiwat demonstrated: annual investigation of brugian filariasis, 1985-1999; success in filariasis control, 1985-1999; evidence of re-emergence of filariasis infection in some endemic foci; distribution of endemic foci around primary peat swamp forest; land use and filariasis endemic foci; risk area constructed by GIS system; estimated population at risk; number of villages within the risk area; and distribution and biting density of mosquito vectors.

Summary of GIS structure for mapping filariasis

Attribute data

Database: Microfilarial positive rate (MPR) at subdistrict level.

Locations: Total houses with filarasis cases (1990-2002); data of 2002 includes age and sex of cases. *Mansonia* breeding places from survey collections.

Census: Total population: male, female, total houses.

Base map

Vector type: Narathiwat Province at subdistrict level, scale 1:50,000. Border boundary of conservation forest area of peat swamp forest.

Raster type: Satellite images of Narathiwat Province and primary peat swamp forest by Landsat 5 Thematic Mapper (RGB) in May, 1997. Land-use map of the Land Development Department, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand. scale 1:290,000.

REFERENCES

1. Ministry of Public Health. Strategic plan 2002-2006: Current situation. Annual report for the national program to eliminate lymphatic filariasis from Thailand. 2002: 22 pp.
2. Wongsathuaythong S, Punyagupta S. Sirivorasarn P, Chularek P. Filariasis in Thailand, a preliminary report. *R Thai Army Med J* 1963; 16: 101.
3. World Health Organization. Preparing and implementing a national plan to eliminate lymphatic filariasis *WHO/CDS/CPE/CEE/2000*.15, 2000: 65 pp.

SURVEYS FOR NATURAL HOST PLANTS OF *MANSONIA* MOSQUITOES INHABITING TOH DAENG PEAT SWAMP FOREST, NARATHIWAT PROVINCE, THAILAND

Chamnarn Apiwathnasorn, Yudthana Samung, Samrerng Prummongkol, Achara Asavanich and Narumon Komalamisra

Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok. Thailand

Abstract

Surveys were carried out monthly from April-October 2002 to examine 68 sampling sites around "Toh Daeng" peat swamp forest in Narathiwat Province, Thailand, of which 38 were known *Mansonia*-positive habitats and 30 were *Mansonia*-negative sites. The present larval surveys were qualitative owing to features of the host plants (location, distribution, and abundance), difficulties in locating and selecting the host plants in the swamp forest, and time constraints. Twenty attempts were made for asch species for larvae. The presence of *Mansonia* larvae on each plant species was confirmed 6 times for each plant and location. Larvae of *Ma. bonneae* and *Ma. uniformis* were obtained form 18 plant species (10 families): *Metroxylon sagu, Melaleuca cajuputi, Pandanus militaris, Pandanus immerses, Hanguana malayana, Typha angustifolia, Hymenachne acutigluma, Scirpodendron ghaeri, Scleria sumatrensis, Rhynchospora corymnosa, Sacclolepis indica, Cyperus babakan, Cyperus corymbosus, Lepironia articulata, Leersia hexandra, Eichhornia crassipes, Pistia stratriotes* and ferns. The emergent grasses, *S. ghaeri, S. sumatrensis, H. acutigluma, R. corymnosa. S. indica, C. babakan, C. corymbosus* and *L. articulata*. were the preferred host phants. Samples from larger trees, *M. sagu* and *M. cajuputi*, yielded low numbers of 1-7 larvae per scraping. *Ma. uniformis* was recovered from most of the host plants, while *Ma. bonneae* preferred submerged plants and was not found on the floating aquatic plants, *E. crassipes* and *P. stratriotes*. The description of modified dipper and dipping techniques are given and discussed

Correspondence: Dr Chamnarn Apiwathnasorn, Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, 420/6 Ratchawithi Road, Bangkok 10400, Thailand.

Tel : 66 (0) 2354-9100-19 ext 1571, Fax : 66 (0) 2643-5582

E-mail: tmcaw@mahidol.ac.th

INTRODUCTION

Wharton (1962) published a detailed study of the biology of *Mansonia* mosquitoes in relation to filariasis in Malaysia. He reported that *Ma. annulata* and *Ma. bonneae* bred in dense swamp forests where larvae attached to the pneumatophores of trees, while *Ma. indiana* and *Ma. uniformis* inhabited open swamp forest where the immature stages attached to the roots of floating aquatic plants, such as water lettuce *(Pistia stratriotes)* and water hyacinths *(Eichhornia crassipes).* Reports regarding the peat swamp forest area as a breeding place for *Mansonia* mosquitoes are few (Wharton 1962; Chiang, 1993; Krishnamoorthy *et al,* 1994). Harinasuta *et al* (1971) conducted a brief bionomics study of *Mansonia* mosquitoes in Chumphon Province, southern Thailand. They investigated their biting habits, host preferences, and breeding places, mainly in the open swamps, The study on the immature stages of *Mansonia* mosquitoes inhabiting swamp forest in relation to host plants has not yet been attempted in Thailand. This is partly due to difficulties in sampling techniques and identifying immature *Mansonia*, and accessibility to peat swamp forests. The present study attempted to identify where *Mansonia* larvae are concentrated and to determine whether there is a specific preference for the host plants.

MATERIALS AND METHODS

Peat swamp forest is comprised of big trees and emergent plants with root systems anchored to the bottom, where water depth ranges from 0.5-5.0 m. A survey of the prevalence of host plants for *Mansonia* mosquitoes was carried out around peat swamp forest using dippers modified from the device described by Batzer (1993). The sampling equipment was designed to be very strong and long enough to reach plant roots in virtually all cases. The bottom-screened dipper is 25.0 cm in diameter with a 10-cm stainless rim welded onto a handle made from a 2-m long of 2.5-cm metal pipe. The mesh screen size is 1.0 mm.

Prior to larval collections, a list of plant species in the peat swamp forest, “Phru Toh Daeng” was checked (Phlengklai *et al,* 1991) to identify potential host plants naturally growing in the study area. It was assumed that mosquitoes were adapted to almost every conceivable type of aquatic vegetation. Larval dipping took place randomly in larval sampling stations during the day time, each day of the field visit (April-October, 2002). There was no limit to the sampling sites and numbers of larval surveyed in order to obtain as many specimens as possible. All plants that were abundant in the swamp forest, either floating plants (*Eichhornia crassipes, Pistia stratriotes*), submerged plants (grasses and ferns), or standing big trees (sago and cajeput), were sampled. At least five dips per each species of aquatic plants were taken. Whichever plant species was found positive for *Mansonia* larvae, the dipping was repeated six times at different sampling sites to confirm the presence of larvae. The larvae were then collected with an eye-dropper and put in plastic film vials. Date, time, plant name and location of collection were recorded.

To obtain *Mansonia* larvae attached to the roots or stems of trees/emergent plants, the dipper was oriented so that the edge of screen rim was at the base of the plant. The dipper was forcibly pushed against the plant stem and was then scraped up vertically through the plant root mass, along the plant stem to the water surface. Larvae were sorted on-site by backwashing water through the screen until most of the fine sediment was eliminated and the larvae could be seen clearly. The collected larvae were then killed in hot water, preserved in 90% alcohol, and mounted on clean slides using Hoyer's medium as described by Rattanarithikul (1982). All larval specimens were identified as to species using the key of Apiwathnasorn *et al* (1991).

Table 1 Collections of *Mansonia* larvae obtained from various host plants in Toh Daeng peat swamp forest, Narathiwat Province.

Plant species	Mosquito species	
	Ma. bonneae	*Ma. uniformis*
Family Palmae		
Metroxylon sagu	+	+
Family Myrtacae		
Melaleuca cajuputi	-	+
Family Pandanaceae		
Pandanus militaris	+	+
Pandanus immerses	-	+
Family Hanguanaceae		
Hanguana malayana	+	-
Family Typhaceae		
Typha angustifolia	-	+
Family Gramineae		
Hymenachne acutigluma	+	+
Family Cyparaceae		
Scirpodendron ghaeri	+	+
Scleria sumatrensis	+	+
Rhynchospora corymnosa	+	+
Sacclolepis indica	+	+
Cyperus babakan	+	+
Cyperus corymbosus	+	+
Lepironia articulate	-	+
Family Gramineae		
Leersia hexandra	-	+
Family Pontederiaceae		
Eichhornia crassipes	-	+
Family Araceae		
Pistia stratriotes	-	+
Ferns	+	+

RESULTS

The surveys were carried out monthly from April-October, 2002. Sixty-eight sampling sites around the peat swamp forest were examined, of which 38 were known *Mansonia*-positive habitats and 30 were *Mansonia*-negative sites. The present larval survey was qualitative due to features of the host plants (location, distribution and abundance), difficulties in locating and selecting host plants in the swamp forest, and time constraints. Since submerged plants in the swamp were dense, dips were made on a cluster of each plant species instead of a single plant. Twenty attempts were made to search each host plant species. The presence of *Mansonia* larvae on each plant species was confirmed six times of the same plant in different locations.

Larvae of *Ma. bonneae* and *Ma. uniformis* were obtained from 18 plant species, of which *Scirpodendron ghaeri, Scleria sumatrensis, Hymenachne acutigluma, Rhynchospora corymnosa, Sacclolepis indica, Cyperus babakan, Cyperus corymbosus,* and *Lepironia articulata,* were the common host plants (Table 1). Samples from larger trees, *Metroxylon sagu* and *Melaleuca cajuputi* yielded low numbers (1-7) of larvae per scraping. *Ma. uniformis* was recovered from most of the host plants, while *Ma. bonneae* preferred submerged plants and was not collected from the floating aquatic plants, *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratriotes.*

DISCUSSION

The characteristics of peat swamp forest, such as vegetation, acid water, and wild animals, may play an important role in favoring production of the two main *Mansonia* species. The peat swamp forest is comprised mainly of big trees and emergent plants with their root systems anchored to the bottom. During the wet season (September-December), monthly rainfall exceeds 600 mm, compared to 50 mm in the dry period (February-April). Continuous rainfall throughout the year ensures that the peat swamp forest has a constantly high water table, supporting populations of the host plants preferred by *Mansonia* spp. In addition, *Ma. bonneae* and *Ma. annulata* may have a strong affinity for acidic water conditions and thus be restricted to the areas of peat swamp forest in southernmost Thailand. Breeding habitats are plentiful in places close to hosts (villages and swamp forest). In this study, it was found that *Mansonia* mosquitoes inhabiting peat swamp forest were able to choose their breeding places from a variety of trees and plants. The relationship of host plants and immature stages of *Mansonia* species is likely to be site specific rather than plant species specific, since *Ma. bonneae* and *Ma. uniformis* were both found on the same host plant species but in different locations. *Ma. bonneae* was commonly collected from plants grown in the peat swamp forest while *Ma. uniformis* was collected from swamps at the periphery with a more open environment. This finding suggests that local distribution can result from factors affecting adult mosquitoes rather than larvae.

A variety of submerged plants ranging from grasses and sedges (*L. articulata*) to big trees (*M. cajuputi* and *M. sagu*), were found to be suitable hosts for immature *Mansonia.* Most of the host plant for *Mansonia* larvae found in the present study were newly recorded as hosts, namely *M. sagu, M. cajuputi, P. militaris, P. immerses, H. malayana, T. angustifolia, S. ghaeri, S. Sumaternsis, H. acutigluma. R. corymnosa, S. indica, C. babakan, C. corymbosus, L. articulata* and *L. hexandra*. Since the modified dipper used could pick up only small numbers of *Mansonia* larvae, dipping techniques and newly designed dippers are needed for further study to yield quantified data suitable for statistical analyses.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financially supported by the Leverhulme Trust, Liverpool School of Tropical Medicine, UK.

REFERENCES

1. Apiwathnasorn C, Komalamisra N, Thongrungkiat S, *et al.* A simplified key for larval identification of *Mansonia* mosqutoes in Thailand. *Mosq-Borne Dis Bull* 1991; 8: 1-5.
2. Batzer DP. Technique for surveying larval populations of *Coquillettidia perturbans. J Am Mosq Control Assoc* 1993; 9: 349-51.
3. Chiang GL. Update on the bionomics of *Mansonia* vectors of brugian filariasis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1993; 24 (suppl 2): 69-75.
4. Harinasuta C, Sucharit S, Vutikes S, *et al*. Investigations on bionomics of *Mansonia* mosquitoes vectors of *Brugia malayi* in Southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1971; 2: 103-5.
5. Krishnamoorthy K, Rajendran G, Panicker KN. Aquatic vegetation and their natural hospitability to the immatures of *Mansonia* mosquitoes, the vectors of *Brugia malayi* in Shertallai, Kerala, India. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1994; 25: 760-5.
6. Phlengklai C, Niyomdham C, Ueachirakan W. Flora in peat swamp areas of Narathiwat, Thailand. Phikun Thong Study Centre, Bangkok: Sombun Press, 1991.
7. Rattanarithikul R. A guide to the genera of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Thailand with illustrated keys, biological notes and preservation and mounting techniques. *Mosq Syst* 1982; 14: 139-208.
8. Wharton RH. The biology of *Mansonia* mosquitoes in relation to the transmission of filariasis in Malaya. *Bull Inst Med Res (Malaysia)* 1962; 11: 114.

BIONOMICS STUDIES OF *MANSONIA* MOSQUITOES INHABITING THE PEAT SWAMP FOREST

Chamnarn Apiwathnasorn[1], Yudthana Samung[1], Samrerng Prummongkol[1], Achara Asavanich[1], Narumon Komalamisra[1] and Philip Mccall[2]

[1]Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand; [2]Liverpool School of Tropical Medicine, University of Liverpool, Liverpool, United Kindom

Abstract

The present study was conducted in the years 2000-2002 to determine the bionomics of *Mansonia* mosquitoes, vectors of nocturnally subperiodic *Brugia malayi,* inhabiting the peat swamp forest, "Phru Toh Daeng", Narathiwat Province, Thailand. Fifty-four species of mosquitoes belonging to 12 genera were added, for the first time, to the list of animal fauna in the peat swamp forest. *Mansonia* mosquitoes were the most abundant (60-70%) by all collection methods and occurred throughout the year with a high biting density (10.5-57.8 bites per person-hour). *Ma. bonneae* was most prevalent (47.5%) and fed on a variety of animal hosts, including domestic cats, cows, monkeys, and man with a maximum biting density of 24.3 bites per person-hour in October. The infective bites were found for the first time in *Ma. annulata* collected at Ban Toh Daeng (13 00-14 00 hours) and also *Ma. boneae* at forest shade (16 00-17 00 hours) and in a village (20 00- 21 00 hours) with rates of 0.6, 1.1 and 1.0%, respectively. The biting activities of these two species occurred in both the day and night time, with two lower peaks at 10 00 hours (18.5 bites per person-hour) and 13 00- 15 00 (8.5- 10.0 bites per person-hour) hours, but the highest peak was 19 00-21 00 hours (31.5-33.0 bites per person-hour) The biting activity patterns corresponded with the periodicity found in man and domestic cats and may play an important role on either transmission or maintenance of the filarial parasites in the peat swamp forest. The relative role of *Ma. bonneae* and *Ma. uniformis* in different environmental settings (primary swamp forest and open swamp) on the transmission of nocturnally subperiodic *B. malayi* merits further study.

Correspondence: Dr Chamnarn Apiwathnasorn, Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, 420/6 Ratchawithi Road, Bangkok 10400, Thailand.

Tel: 66 (0) 2354-9100-19 ext 1571: Fax: 66 (0) 2643-5582

E-mail: tmcaw@mahidol.ac.th

INTRODUCTION

Mosquito species of the genus *Mansonia*, subgenus *Mansonioides*, are vectors of lymphatic filariasis in Thailand. Six species in this subgenus have been shown to be natural vectors of lymphatic filariaisis (WHO, 1984). In Thailand, *Ma. bonneae*, *Ma. indiana* and *Ma. uniformis* were firstly incriminated as vectors of brugian filarasis by Harinasuta *et al* (1970). Since filariasis transmission and epidemiology can be locally specific, vector ecology in different environments should be investigated. Differences in the species and strains of the mosquitoes and differences in the strains of the parasites can affect mosquito susceptibility to infection (Edeson and Wilson, 1964). In spite of the epidemiological importance of *Mansonia* mosquitoes in Narathiwat Province, few observations have been carried out regarding their bionomics, although data on biting densities has been collected by field workers from the Division of Filariasis Control, Ministry of Public Health.

Considerable information exists regarding the bionomics of Thai mosquitoes (Iyengar and Menon, 1956; Thurman, 1959, 1963; Bram, 1967; Harrison and Scanlon, 1975; Huang, 1979; Gass *et al*, 1982), but little is known of the ecology of mosquitoes inhabiting peat swamp forests. The peat swamp in Thailand is estimated to occupy approximately 64,000 hectares (Phlengklai, 1989), of which 26,600 hectares are in Narathiwat Province (Vijarnson and Pinichapong, 1987). Geographically, the study area was rather homogeneous, occupied by an extensive area of peat swamp forest with some variation in density of trees and vegetation. The average annual rainfall was 2,560 mm with 171 rainy days; relative humidity and average temperature were 77-83% and 28°C, respectively (Phlengklai, 1989).

This study aimed to determine the mosquito fauna of the peat swamp forest and the bionomics of the vector species in relation to brugian filariasis, such as seasonal variation, biting behavior, and vector incrimination.

MATERIALS AND METHODS

Study areas

The present study was carried out in a peat swamp forest, Sirindhorn Research and Nature Study Center located in Su-ngai Kolok District, Narathiwat Province, Thailand (6° 4'N, 101° 58'E). In 1991, the Royal Forest Department declared approximately 50,000 acres (20,234 hectares), or 66.8 % of the total Phru Toh Daeng area, as a wildlife conservation zone in honor of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn. The research center was established to be a field station for research study and a recreation place for people to learn and understand the peat swamp forest by observation along the study trail. Topographically, the peat swamp forest is low-lying flatland and year-round water logged. Rain-fed water drains out of the forest floor very slowly. The peat water is

brownish in color resulting from decomposition of tannic substances disintegrated from dead plants in water with a pH of 4.5-6.0. This peat swamp forest has a high level of biodiversity with a recorded 470 plant species and 335 animal species, including birds (196), mammals (62), reptiles (50), amphibians (17), and rare animals (10). The plant community is made up of large trees, shrubs, vines and various short-lived herbaceous flora. There is no record of mosquito fauna and mosquito vectors inhabiting the peat swamp forest.

The selected village, Ban Toh Daeng, which has a population of 129, is 1.5 km from the research center. In 1986, in the Annual Report of the Division of Filarasis Control, the highest microfilarial infection rate in this region was reported as 8.25% (Ministry of Public Health, 1986). The average annual temperature is 27.6°C, with 77-83% relative humidity, and an average annual rainfall of 2,560 mm with 171 rainy days. The heaviest part of the rainy season, causing yearly flooding, is from November-December and the driest period is from February-April.

Human biting and landing rates

The collection stations were set at Ban Toh Daeng and Sirindhorn Research and Nature Study Center. Previously, the seasonal prevalence of *Mansonia* mosquitoes was determined in the swamp-fringed areas in Khosit Subdistrict by the Division of Filariasis Control (Ministry of Pubic Health, 1999). This was used as a guideline to set an appropriate sampling period (April-October) and time for the present study.

Guptavanij *et al* (1973) reported that the ratio of outdoor/indoor collections of *Mansonia* mosquitoes in Narathiwat Province was 1.6:1, therefore, outdoor collections were performed in the present study. To determine monthly density of *Mansonia* species, mosquito collections were conducted outdoors between 18 00-22 00 hours for two consecutive nights per month at Ban Toh Daeng from April-October 2000. It was not possible to extend the sampling period into the following year because of heavy flooding in the collection sites.

To determine mosquito biting cycles, human biting and landing counts were made hourly for 50 minutes for two groups, each with two persons, for three consecutive nights per month in September and October 2000. The captures were performed at 06 00-17 00 hours in the forest shade near the walking trail at the research center, and at 13 00-23 00 hours at Ban Toh Daeng.

Mosquito identification and dissection for filarial parasites were performed at a field laboratory at the Pikun Thong Development Study Center. All mosquito specimens were identified as to species using a standard dissecting microscope using taxonomic keys (Thurman, 1959; Wharton, 1962; Peyton and Scanlon, 1966; Bram, 1967; Harrison and Scanlon, 1975; Huang, 1979; Rattanarihikul, 1982). Dissection for filarial parasites was performed on the head and thorax portions of *Mansonia* mosquitoes as described by Leemingsawat *et al* (1987).

RESULTS

Seasonal abundance of *Mansonia* sp

A total of 1,361 mosquitoes belonging to 19 species were collected at Ban Toh Daeng, of which 1,192 were *Mansonia* mosquitoes: *Ma. annulata, Ma. annulifera, Ma. bonneae, Ma. dives, Ma. indiana*, and *Ma. uniformis*. The remainder were *Aedes albopictus, Ae. caecus, Anopheles letifer, An. nigerrimus, Armigeres subalbatus, Coquillettidia crassipes, Cq. nigrosignata, Culex bitaeniorhynchus, Cx. gelidus, Cx. pseudosinensis, Cx. sinensis, Cx. tritaeniorhynchus,* and *Cx. vishnui.* The most abundant species was *Ma. bonneae* (47.5%) followed by *Ma. annulata* (32.8%), *Ma. uniformis* (9.8%), *Ma. indiana* (6.0%), and *Ma. dives* (3.9%).

Wharton (1962) published a detailed study of the biology of *Mansonia* mosquitoes in relation to filariasis in Malaysia. He reported that *Ma. annulata* and *Ma. bonneae* bred in dense swamp forests where larvae were attached to the pneumatophores of trees, while *Ma. indiana* and *Ma. uniformis* inhabited open swamp forests where the immature stages attached to the roots of floating aquatic plants, such as water lettuces (*Pistia stratiotes*) and water hyacinth (*Eicchornia crassipes*). Our findings for *Ma. annulata, Ma. bonneae, Ma. dives, Ma. indiana and Ma. uniformis* are shown in Fig 1a and 1b. The seasonal patterns for *Ma. annulata* and *Ma. bonneae* were similar with bimodal peaks; a small peak in May-August and a big peak after August. *Ma. uniformis* and *Ma. indiana* both had a unimodal peak in April-October. The biting of *Ma. bonneae* occurred in high numbers throughout the study period, ranging from 4.3 bites per person-hour in April to 24.3 bites per person-hour in October *Ma. indiana* had lower rates (0.2-5.7 bites per person-hour). *Ma. annulata* bit people at the highest rate of 31.7 bites per person-hour in October but on bites in April and August. The biting of *Ma. uniformis* was fluctuated, with the highest rate of 11.5 bites per person-hour in July. *Ma. dives* displayed a low biting activity with the highest biting peak of 3.0 bites per person-hour in May. The average biting rate of the five major Mansonia species was 25.2 bites per person-hour, reaching a maximum of 57.8 bites per person-hour in October. Overall, *Mansonia* mosquito activity increased gradually from April to October with the first peak (28.5 bites person-hour) in July followed by a greater peak in October (Fig 1). *Ma. uniformis* and *Ma. indiana* were the main species comprising the highest biting density in April-August, while *Ma. annulata, Ma. bonneae* and *Ma. dives* formed the bigger subsequent peak in August-December.

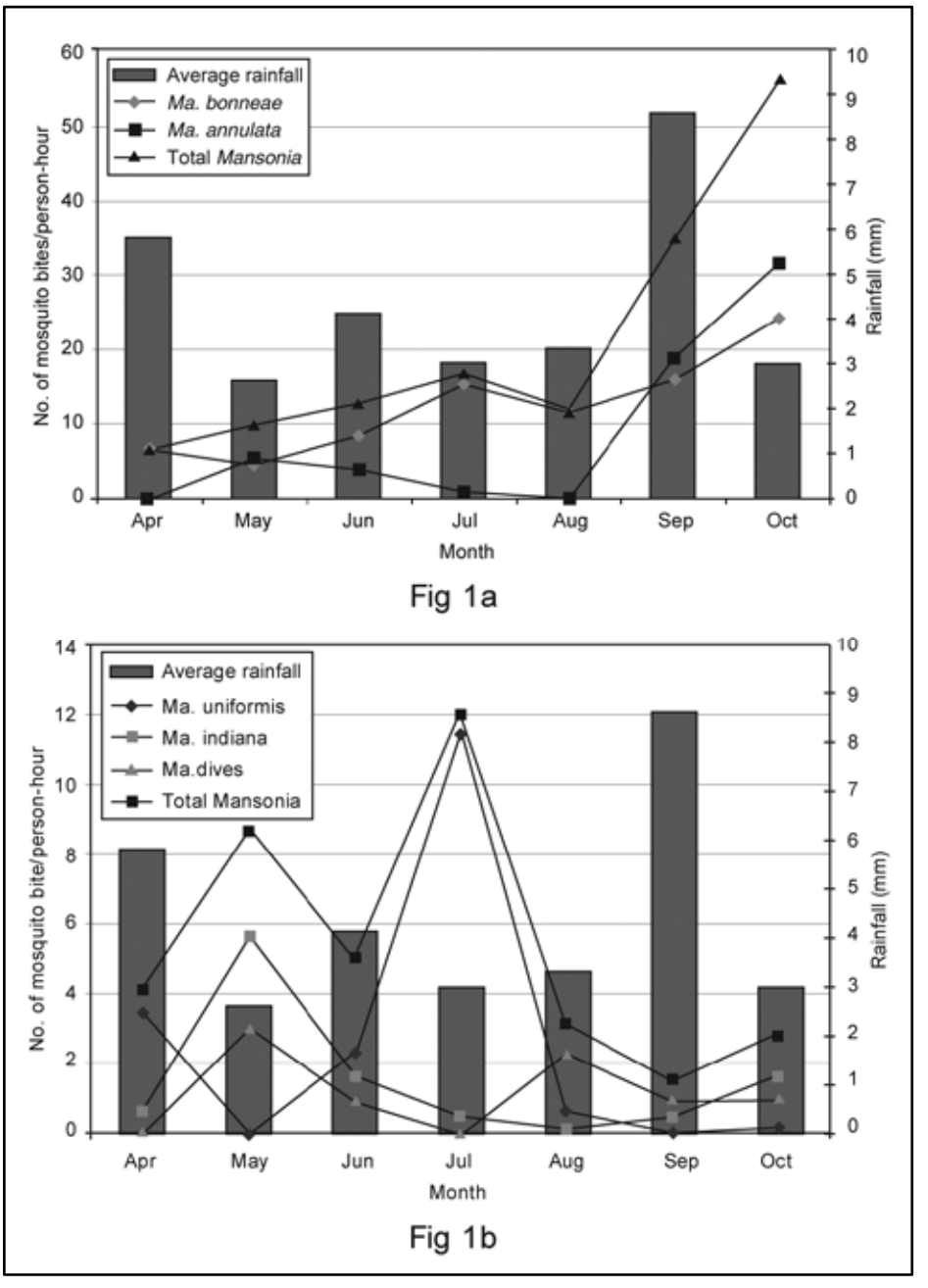


Fig1- Monthly variation in man-biting rates (total no. of mosquitoes collected per person-hour) of *Mansonia* mosquitoes and rainfall patterns at Ban Toh Daeng, Puyo Subdistrict (a. *Ma. bonneae Ma. annulata;* b. *Ma. uniformis, Ma. indiana, Ma.dives*).

Biting cycles of *Mansonia* mosquitoes

Biting cycles of *Mansonia* mosquitoes were determined by landing rates in the forest shade of the Sirindhorn Research and Nature Study Center and at Ban Toh Daeng village. There were 22 species of mosquitoes collected during the biting cycle study. These were: *Ae. albopictus, Ae. caecus, Ae. niveus subgroup, An. letifer, An. nigerrimus, Ar. kuchingensis, Ar. subalbatus, Ar. theobaldi, Cq. crassipes, Cq. nigrosignata, Cx. bitaeniorhynchus, Cx. gelidus, Cx. pseudosinensis, Cx. sinensis, Cx. tritaeniorhynchus, Cx. vishnui, Heizmannia reidi, Ma. annulata, Ma. bonneae, Ma. dives, Ma. indiana* and *Ma. uniformis*. Four of 17 species (*Ae. niveus* subgroup, *Ar. kuchingensis, Ar. theobaldi* and *Hz. reidi*) representing forest inhabiting mosquitoes were captured only in the forest, while 6 of 19 species (*An. nigerrimus, Cx. bitaeniorhynchus, Cx. gelidus, Cx. sinensis, Cx. tritaeniorhynchus* and *Cx. vishnui*) representing domestic rural mosquitoes were collected only from the village. *Ma. annulata* and *Ma. bonneae* were the most abundant species collected from both sites, accounting for 49.0% and 46.8%, respectively of all *Mansonia* collected (570) at Ban Toh Daeng, and 52.2% and 32.6%, respectively, of all *Mansonia* collected (301) at the Sirindhorn Research Center. More mosquitoes were collected at the village than at the Research Center.

Overall patterns of biting activity for *Mansonia* mosquitoes collected at the Sirindhorn Research Center and Ban Toh Daeng are shown in Fig 2. Biting of *Mansonia* mosquitoes in the forest at the Research Center occurred throughout out the collection period (06 00-17 00 hours) with different biting patterns and lower densities when compared to those from the Ban Toh Daeng collections. Biting activity of *Ma. annulata* was bimodal in pattern and commenced at the highest rate recorded of 18.5 bites per person-hour at 10 00 hours, immediately after 09 00 hours, with a smaller biting peak (8.0-8.5 bites per person-hour) between 12 00 and 17 00 hours (Fig 2a). Biting activity of *Ma. bonneae* was also bimodal in pattern with peaks between 06 00 and 11 00 hours, and 15 00 hours (Fig 2a). *Ma. dives, Ma. indiana* and *Ma. uniformis* had very low biting densities (Fig 2a). The biting activity for *Mansonia* mosquitoes collected in Ban Toh Daeng is shown in Fig 2b. *Ma. annulata* and *Ma. bonneae* were caught biting after 17.00 hours, with the highest peaks at 19 00 hours (31.5 bites per person-hour) and at 20 00 hours (24.0 bites per person-hour), respectively.

Combining biting activities of *Ma. annulata* and *Ma. bonneae* for both stations, there were two peaks during the daytime (at 08 00-11 00 hours followed by a smaller peak at 13. 00-16.00 hours) and one prolonged peak at night (17.00-23 00 hours) (Fig 3). *Ma. annulata* and *Ma. bonneae* were caught biting after 17.00 hours, with the highest peaks at 19.00 hours (31.5 bites per person-hour) and at 20.00 hours (24.00 bites per person-hour), respectively.

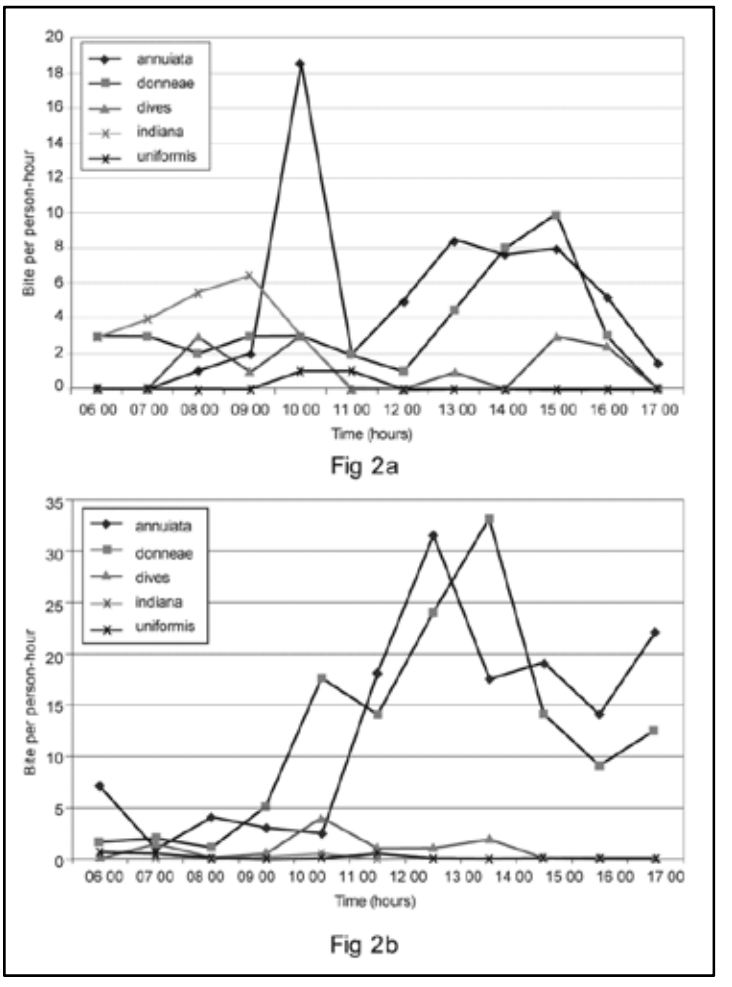


Fig 2- Average biting activities of *Mansonia* mosquitoes captured on landing human bait at the Sirindhorn Research and Nature Study Center (a), and Ban Toh Daeng (b).

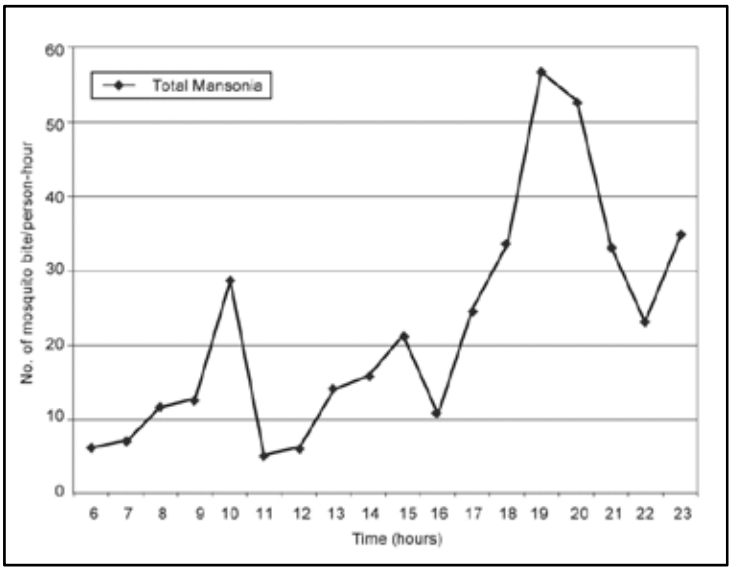


Fig 3- Overall biting activity of *Mansonia* mosquitoes at 06 00-23 00 hours, combining biting cycles from both collecting stations.

Vector infection rates with brugian filariasis in the peat swamp forest

Ma. bonneae and *Ma. annulata* were incriminated as vectors of *Brugia malayi* in the present study. In September, infected *Ma. bonneae* were found at both the Sirindhorn Research Center and Ban Toh Daeng village, with the infective rates of 1.1% (1/90 mosquitoes dissected) and 1.0% (1/97 mosquitoes dissected), respectively. *Ma. annulata* was also collected from the village with an infection rate of 0.6% (1/157 mosquitoes dissected). In addition, *Ma. bonneae* collected from the village in October was found infected with stages I and II filarial larvae (1.8% infection rate; 3/170 mosquitoes dissected). The infective mosquitoes were collected at 13 00-14 00 hours for *Ma. annulata*, and during 16 00-17 00 hours and 20 00-21 00 hours for *Ma. bonneae.*

DISCUSSION

Primary peat swamp forest was particularly rich mosquito fauna, 22 species belonging to seven genera were obtained during a brief survey period. In the previous studies on subperiodic *B. malayi* in southern Thailand, 39 species representing six genera of mosquitoes were collected by means of human-bait catches in Narathiwat Province (Guptavanij *et al,* 1978), and 43 mosquito species representing five genera in Chumphon Province (Guptavanij *et al*, 1971). Data on the presence and relative abundance of *Mansonia* mosquitoes could provide valuable information on species that is more likely to be infected by the parasites in a natural setting.

The peak numbers of *Mansonia* mosquitoes occurred in October and January, following the early and late monsoon season. This was different from the single big peak, from July to December, recorded in Tanjong Karang, Malaysia (Chiang *et al,* 1984). Tanjong Karang, however, has steady rainfall throughout the peak mosquito period. Chang *et al* (1991) reported that there was no clear correlation between the biting densities of *Ma. bonneae, Ma. dives* and *Ma. uniformis* and total rainfall in a coastal swamp area in Sarawak, while Sudomo *et al* (1984) reported that the densities of *Ma. annulata* and *Ma. dives* in Sumatra, Indonesia were significantly correlated to rainfall. In Narathiwat, evidence from the present study certainly indicates that although the area is wet all year round, rainfall patterns may well determine the abundance of *Mansonia* mosquitoes.

Ma. bonneae and *Ma. annulata* were the vectors of subperiodic form of *B. malayi* in the primary peat swamp forest. The infected filarial parasites were detected by dissection in both *Ma. bonneae* and *Ma. annulata* collected in the afternoon. A recent study by Kanjanopas *et al* (2001) reported that all filarial parasites found in *Mansonia* mosquitoes in Puyo Subdistrict were confirmed as *B. malayi* by polymerase chain reaction (PCR). The microfilariae found in domestic cats in Narathiwat have been previously confirmed as *B. malayi* (Kanjanopsa *et al*, 2001; Chansiri *et al*, 2002). It was assumed that the infective filarial parasites found in this study were also *B. malayi*.

Guptavanij *et al* (1971) studied subperiodic *B. malayi* in Chumphon Province and dissected 1,367 *Ma. annulata* for filarial parasites. Only one mosquito was infected by the second stage larvae. In 1978, Guptavanij *et al* found that two *Ma. bonneae* and one *Ma. dives* from 2,242 *Mansonia* mosquitoes in Narathiwat were infective with subperiodic *B. malayi*, and none of the *Ma. annulata* were infected or infective. Gass *et al* (1983) considered *Ma. annulata* only as a potential vector. This study, therefore, was the first report to incriminate *Ma. annulata* as a vector of subperiodic *B. malayi*. Infection with filarial worms in *Ma. bonneae* and *Ma. annulata* was observed in September before their peaks in October with infection rates of 1.1% (at the Research Center) and 1.0% (at Ban Toh Daeng) for *Ma. bonneae*, and 0.6% for *Ma. annulata*. The infection rates are higher than those reported by Guptavanij *et al* (1978) which were 0.18% for *Ma. bonneae* and 0.20% for *Ma. dives.*

The predominant *Mansonia* species which attacked man at daytime and night time were *Ma. bonneae* and *Ma. annulata*. Their biting densities were very high, reaching 50 bites per person-hour at peak periods in Ban Toh Daeng village and 25 bites per person-hour in the forest of the peat swamp forest. Daytime-biting occurred during 09 00-11 00 hours and 14 00-16 00 hours and night time-biting occurred from 18 00 through 23 00 hours. These biting times appear to coincide with the nocturnal subperiodicity of *B. malayi*, which peaks in the peripheral blood at 06 00 hours (03 00-10 00 hours) and 20 00 hours (16 00-02 00 hours) as reported by Guptavanij and Harinasuta (1997) and the nocturnally periodic type detected in domestic cats at 21 00 hours and 24 00 hours detected by Phantana *et al* (1995). The biting patterns of these two species possibly play an important role in the transmission and maintenance of nocturnal subperiodic *B. malayi* in the peat swamp forest.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to all the personnel at the Pikun Thong Royal Development Study Center, Narathiwat Province for their help in the field collection of mosquitoes. We thank Professor David Molyneux, Lymphatic Filariasis Support Center, Liverpool school of Tropical Medicine for his helpful discussions on this study. We also thank the Leverhulme Trust, Liverpool School of Tropical Medicine, for kindly providing funds for this work.

REFERENCES

1. Bram RA. Contributions to the mosquito fauna of Southeast Asia. II. The genus *Culex* in Thailand (Diptera: Culicidae). *Contrib Am Entomol Inst (Ann Arbor)* 1967; 2: 1-296.
2. Chang MS, Chan KL, Ho BC. Comparative transmission potential of three *Mansonia* mosquitoes (Diptera: Culicidae) for filariasis in Sarawak, Malaysia. *Bull Entomol Res* 1991; 81: 437-44.
3. Chansiri K, Tejangkura T, Kwaosak P, Sarataphan N, Phantana S, Sukhumsirichart W. PCR based method for identification of zoonostic *Brugia malayi* microfilariae in domestic cats. *Moll Cell Probes* 2002; 16: 129-35.
4. Chiang GL, Cheong WH, Samarawickrema WA, Yap HH. Species composition, seasonal abundance and filarial infections of *Mansonia* in two ecotypes in Peninsular Malaysia. *Trop Biomed* 1984; 1: 41-7.
5. Edeson JFB, Wilson T. The epidemiology of filariasis due to *Wuchereria bancrofti* and *Brugia malayi. Ann Rev Entomol* 1964; 245-68.
6. Gass RF, Deesin T, Sucharit S, Surathin K, Vutikes S. Dispersal and flight range studies on *Mansonia anulata, Ma. indiana, and Ma. uniformis* (Diptera: Culicidae) in southern Thailand. *J Med Entomol* 1983; 20: 288-93.
7. Gass RF, Deesin T, Surathin K, Vutikes S, Sucharit S. Observations on the feeding habits of four species of *Mansonia (Mansonioides)* mosquitoes in southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1982; 13: 211-5.
8. Guptavanij P, Harinasuta C. The periodicity of *Brugia malalyi* in south Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1977; 8: 185-9.
9. Guptavanij P, Harinasuta C, Sucharit S, Vuitkes S. Studies on sub-periodic *Brugia malayi* in southern Thiland. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1971; 2: 44-50.
10. Guptavanij P, Harinasuta C, Vuttibes S. Deesin T, Surathin K. The vectors of *Brugia malayi* in southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1978; 9: 543-8.
11. Guptavanij P, Vutikes S, Surathin K. The biting cycles of *Mansonia bonneae, M. dives, M. indiana* and *M. uniformis* in southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1973; 4: 288-9.
12. Harinasuta C, Charoenlarp P, Sucharit S, Deesin T, Surathin K, Vutikes S. Studies on malayan filariasis in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1970; 1: 29-39.
13. Harrison BA, Scanlon JE. Medical entomology. II. The subgenus *Anopheles* in Thailand (Diptera: Culicidae). *Contrib Am Entomol Inst (Ann Arbor)* 1975; 12: 1-307.
14. Huang YM. Medical entomolohy studies. XI. The subgenus *Stegomyia* of *Aedes* in the oriental

region with keys to the species (Diptera: Culicidae). *Contrib Am Entomol Inst (Ann Arbor)* 1979; 15: 1-79.

15. Iyengar MOT, Menon MAU. The mosquitoes of south Thailand. Bull *Entomol Res* 1956; 47: 785-94.
16. Kanjanopas K, Choochote W, Jitpakdi A, *et al. Brugia malayi* in a naturally infected cat from Narathiwat Province, southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001; 32: 585-7.
17. Leeminsawat S, Deesin T, Vutikes S. Determination of filariae in mosquitoes. In: Sucharit S, Supavej S, eds. Practical entomology, malaria and filariasis. Bangkok: Siriyod Printong, 1987: 42-6.
18. Ministry of Public Health. Annual report of the Division of Filariasis Control. 1986.
19. Ministry of Public Health. Annual report of the Division of Filariasis Control. 1999.
20. Peyton EL, Scanlon JE. Illustrated key to the female *Anopheles* mosquitoes of Thailand. Bangkok: US Army Medical Component, Southeast Asia Treaty Organization, 1966.
21. Phantana S, Sensathien S, Choomphon S. Microfilariae in cat in Narathiwat, southern Thailand. *Com dis J* 1995; 21: 107-13.
22. Phlengklai C. Peat swamp forest of Thailand. *Thai Forest Bull (Bot)* 1989; 18: 1-42.
23. Rattanarithikul R. A guide to the genera of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Thailand with illustrated keys, biological notes and preservation and mounting techniques. *Mosq Syst* 1982; 14: 139-208.
24. Sudomo M, Suwarto, Lim BL. Studies of filariasis in Keban Agung and Gunung Agung villages in South Bengkulu, Sumatra, Indonesia. IV. Ecological and seasonal aspect of four *Mansonia species. Bull Penelitian Kesehatan* 1984; 12: 51-60.
25. Thurman EB. A contribution to a revision of the Culicidae of northern Thailand. *Univ Md Agric Exp Sta Bull* 1959; A-100: 1-177.
26. Thurman EB. The mosquito fauna of Thiland (Diptera: Culicidae). Proceedings of the 9th Pacific Science Congress, Bangkok, Thailand. 1963; 9: 47-57.
27. Vijarnsorn P, Pinichapong S. General distribution of saline and peat/acid sulfate soils in Thailand from the meterological, topographical and pedological view points. Coastal and inland salty- affected soils in Thailand. Tokyo: Tokyo University of Agriculture, 1987: 7-18.
28. Wharto RH. The biology of *Mansonia* mosqutioe in relation to the transmission of filariasis in Malaya. *Bull Inst Med Res (Malaysia)* 1962; 11: 114.
29. World Health Organization. Lymphatic filariasis. Fourth Report of the WHO Expert Committee on Filariasis. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1984; 702: 8-12.

Diagnostic value of IgG isotype responses against *Brugia malayi* antifilarial antibodies in the clinical spectrum of brugian filariasis

S. Wongkamchai[1*], C. Rochjanawatsiriroj[2], N. Monkong[1], H. Nochot[1], S. Loymek[2], C. Jiraamornnimit[2], S. Hunnangkul[3] and W. Choochote[4]

[1]Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, 2 Parnnok Road, Bangkok-Noi, Bangkok, Thailand: [2]Bureau of Vector Borne Diseases, Ministry of Public Health, Nonthaburi Province, Thailand: [3]Research and Development Centre, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Bangkok, Thailand: [4]Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

Abstract

To study the diagnostic significance of antifilarial IgG subclasses in the clinical spectrum of brugian filariasis, IgG1, IgG3 and IgG4 antifilarial antibodies were determined in an exposed population comprising 74 asymptomatic amicrofilaraemics, 30 microfilaraemics, 20 lymphangitis and 16 elephantiasis patients resident in Narathiwat province, an area endemic for *Brugia malayi* lymphatic filariasis in southern Thailand. The dominant isotype of antifilarial antibody was IgG4. A significantly higher percentage of individuals were positive for IgG1 in the microfilaraemic and lymphangitis groups compared with the elephantiasis and endemic normal patients, while a significantly higher positive rate of IgG3 was found in those with lymphangitis. The possible role of these isotypes for diagnostic purposes and the pattern of antibody response in various clinically manifesting groups are discussed.

*Fax:+66 02 4112084

E-mail: siswk@mahidol.ac.th

Introduction

Lymphatic filariasis, commonly known as elephantiasis, is a profoundly disfiguring disease that has a major social and economic impact. The disease, which is endemic in Asia, Africa, the Western Pacific and the Americas (http://www.who.int/ctd) is caused by filarial nematodes, namely *Wuchereria bancrofti, Brugia malayi* and *Brugia timori* (McMahon & Simonsen, 1996). In Thailand, two species of the causative filarial worms have been reported. Bancroftian filariasis is endemic in a limited area in the western part of the country while cases of brugian filariasis caused by *B. malayi* are found in southern Thailand (Ministry of Public Health, Thailand, 1998). Narathiwat province of Thailand is an endemic area of lymphatic filariasis caused by *B. malayi.* The microfilarial prevalence in the endemic area was found to be 1.38% (Triteeraprapab *et al.,* 2001).

Until recently, the diagnosis of brugian filarial infection depended on the direct demonstration of microfilariae in the blood using relatively cumbersome techniques, having to take into account the periodicity (nocturnal or diurnal) of microfilariae in the blood (http://www.who.int/ctd). Nocturnal examination of blood for microfilaraemia has been used for the diagnosis of brugian filariasis.

Antifilarial antibody assays have been reported as potential monitoring tools. For example, antibody responses to *W. bancrofti* develop prior to antigenemia, making them early markers of exposure and infection (Lammie *et al.,* 1998; Weil *et al.,* 1999). Detection of antifilarial IgG4 antibody proved to be a good alternative diagnostic tool for brugian filariasis, as this antibody subclass has been shown to be elevated in active infections and to decline post-treatment (McCarthy *et al.,* 1995; Haarbrink *et al*., 1999; Rahmah *et al*., 2001). Nevertheless, little is known about the responses of other antibody subclasses to brugian filariasis and their possible roles for diagnostic purposes (Zhang *et al*., 1999). Moreover, analyses of immune responses in individuals with different clinical manifestations will be of interest in order to understand the immunological events associatedwith disease development in the brugian filarial infected populations living in endemic areas. Therefore, in this study, IgG subclass-specific antifilarial antibodies in patent and sub-patent infections were investigated and their diagnostic roles studied in patients with brugian filariasis residing in endemic areas.

Materials and methods

Study population

The study population were inhabitants of Sugai-Padi, Yi-Ngo, Cho-Ai-Rong, Tak Bai and Sugai-Kolok districts of Narathiwat Province in southern Thailand which are endemic areas of brugian filariasis. Subjects were interviewed and examined for evidence of clinical filariasis (lymphangitis, lymphoedema or elephantiasis). Microfilariae were detected by microscopic examination of stained thick blood films prepared with night blood collected by finger prick. Individuals were classified into four clinical groups as follows: (1) microfilaraemics with patent infection but no clinical symptoms; (2) patients with lymphangitis and suffering from acute filariasis, manifested by recurrent episodes of filarial fever accompanied by typical lymphandenitis and/or retrograde lymphangitis; (3) patients with elephantiasis who develop chronic obstructive filariasis, manifested by elephantiasis (patients in the latter two groups are amicrofilaraemic); and (4) endemic normal individuals with no past history or current evidence of lymphoedema and who were amicrofilaraemic. Plasma samples were collected from 30 microfilaraemic; 20 lymphangitis; 16 elephantiasis; and 74 endemic normal inhabitants residing in the filariasis endemic areas. Examination of stool samples of these endemic normal inhabitants were performed by direct wet smear and formalin-ether concentration method. Sera from 100 normal individuals of a non-filariasis endemic area (Bangkok, Thailand) were used to establish the cut-off for the developed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of the IgG isotype. Stool samples at the time of the blood sample collection did not contain any intestinal parasites. For study of the cross reactivity of the assays, 20 sera obtained from patients living outside the endemic area (Bangkok) with established infections of *Angiostrongylus cantonensis* (*n*=2), *Gnathostoma spinigerum* (*n*=3), *Cysticercus cellulosae* (*n*=2), *Opisthorchis viverrini* (*n*=2), *Strongyloides stercoralis* (*n*=2), hookworm (*n*=2), *Ascaris lumbricoides* (*n*=2), *Entamoeba histolytica* (*n*=2), *Toxoplasma gondii* (*n*=1), and *Giardia lamblia* (*n*=2) were used in this study.

Preparation of *Brugia malayi* antigen

Mixed-sex adult and microfilariae stages of *B. malayi* were recovered from the peritoneal cavity of infected jirds and used to prepare soluble antigen extract. Adult worms were ground in distilled water containing protease inhibitors (0.1 M phenylmethysulfonyl fluoride (PMSF), 0.1 M tosyl-amide-2-phenylethyl chloromethyl ketone (TPCK) and 0.1 M ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)) using a glass tissue grinder. Preparations were subjected to sonication at 20 $kHzs^{-1}$ (Labline Ultratip, Melrose Park, USA) at 4°C and dialysed against distilled water at 4°C overnight. Microfilariae were sonicated and dialysed and the protein contents of the preparations determined (Bradford,

1976). Extracts of adult worms and microfilariae were kept in a lyophilized form at -40°C in small aliquots until used.

An indirect ELISA for filarial-specific IgG subclass antibodies against adult stage antigen

An indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was developed and performed for detection of brugian filarial-specific IgG1, IgG3 and IgG4 antibodies in the studied population. Microtitre plate wells were coated individually with 100 µl of antigen diluted in carbonatebicarbonate buffer, pH 9.6 (5µg ml^{-1}). Plates were incubated at 4°C overnight. The unbound antigen was washed away using phosphate buffered saline, pH 7.4 (PBS), containing 0.05% Tween-20 (PBS-T). Uncoated sites were blocked with PBS/1% bovine serum albumin (BSA)/0.2% gelatin for 1h at 37°C. After washing as above, 100 µl of plasma samples (dilution 1:100) of the study population was added to the antigen coated wells. Blank wells with only PBS as well as positive and negative controls were included in each plate. The plates were incubated at 37°C for 1 h, and washed, then 100 µl of goat anti-human immunoglobulin- horseradish peroxidase conjugate (ZYMED) (dilution 1:1000) was added and incubated at 37°C for 1 h. After the final wash, 100 µl of substrate (ABTS, 2,2'-azino-di (3-ethyl benzthiazoline sulphonate), ZYMED) was added to each well. The enzymatic reaction was allowed to proceed at room temperature in the dark for 10 min. The optical density (OD) was determined at 405 nm using an ELISA reader (TECAN, Austria) with positive results being recorded when the read-out OD was above or equal to the cut-off OD value. The OD of the mean ($\bar{x}$) plus 5 standard deviations (SD) of the negative control was used as a cut-off level between the positive and negative presence of IgG1, IgG3 or IgG4 antifilarial antibody in the tested samples.

An indirect ELISA for filarial-specific IgG4 antibodies against microfilarial stage antigen

IgG4 antibody to *B. malayi* microfilariae extract was detected by indirect ELISA using the same method as described above except that the extract of microfilariae was used as antigen for the assay instead. Only the microfilaraemic group was tested.

Results

Table 1 summarized the study population. There were differences in age profiles of the study groups (one way ANOVA; $P < 0.0001$). Endemic normals were significantly younger than the elephantiasis and lymphangitis groups (Bonferroni's multiple comparison test; $P < 0.001$ and $P < 0.01$). The indirect ELISA was performed with plasma samples of the negative control group. The $\bar{x}$+5 SD of OD was used as a cut-off limit between positive and negative values. Figure 1 shows the OD of IgG1, IgG3 and IgG4 antifilarial antibodies of the study group. Percentages of positive IgG1, IgG3 and IgG4 antifilarial

antibodies in various clinical manifestation groups are shown in table 2. All 20 sera from patients living outside the endemic area who were infected with other parasites showed a negative result for IgG1, IgG3 and IgG4 anti-filarial antibodies. IgG4 antibody to microfilarial stage antigen determined by indirect ELISA in the microfilaraemic group gave only a 10% positive (3/30 subjects) result.

Table1. Summary of data of the clinical groupings in the study population.

Clinical grouping	No.	Male	Female	Age range (years)	Mean age ± SD
Microfilaraemic	30	23	7	12-87	43.7 ± 21.08
Lymphangitis	20	14	6	14-73	49.8 ± 13.47
Elephantiasis	16	14	2	31-80	62.0 ± 11.76
Endemic normal	74	35	45	12-68	34.7 ± 14.99

Discussion

In the present study, the efficacy of specific antifilarial IgG subclass detection has been evaluated in various clinical groups of brugian filariasis in endemic areas of Narathiwat province, southern Thailand. Differences in age profiles of the study groups confirmed previous prevalence of infection and disease (Bundy *et al.,* 1991; Day *et al.,* 1991). Pathology in this area mainly affected male members of the population, although there is no evidence to suggest that host sex alters the results in immunodiagnosis.

The results of IgG4 in the microfilaraemic group confirmed previous reports that IgG4 is a diagnostic marker for active infections (Kwan-Lim *et al.,* 1990). A number of long term follow up studies of endemic normal showed that filarial disease (lymphoedema, hydrocele) developed and was detected in 15-22% who previously had no demonstrable microfilaraemia (Ravindran, 2003). So, detection of antifilarial IgG4 antibodies in 25% of endemic normal in the present study might not be a false positive result, but may indicate cryptic infection in this group. Therefore, drug treatment is necessary for these subjects as well.

The IgG3 was found in only 5% of the microfilaraemic group, and 2.6% of endemic normals while significantly higher positive rates were found in the lymphangitis followed by elephantiasis patients, suggesting that IgG3 is associated with pathology in lymphatic filariasis (Yazdanbakhsh *et al.,* 1993) and it might be used to confirm filarial lymphangitis/lymphoedema cases.

Rahmah *et al.* (1996) indicated that antifilarial IgG1 and IgG3 showed cross-reactivity with soil-transmitted helminth infections with no significant differences in optical densities among

the subjects with different presentations of brugian filariasis. This finding was not confirmed by the current study, which found that the IgG1 subclass is considerably more prominent in individuals with microfilaremia and lymphangitis than in elephantiasis or endemic normals. A previous study by Washington *et al.* (2004) on bancroftian filariasis reported an antifilarial IgG1 prevalence rate of 58% in microfilaraemic subjects and found that antifilarial IgG1 prevalence decreased significantly after mass treatment. The authors concluded that antifilarial IgG1 levels may be a marker of ongoing transmission and increases in antifilarial IgG1 levels may represent continued exposure to the worms and therefore, correspond to inadequate treatment coverage. Thus, for brugian filariasis, IgG1 can not only be used for diagnosis of amicrofilaraemic clinical filariasis, but also for measuring filarial exposure and treatment coverage of the elimination programme.

Individuals with circulating microfilariae possess elevated levels of antifilarial IgG4 (Haarbrink *et al.,* 1999), however the antigen used was adult worm extract. The present study used antigen prepared from extracts of microfilariae and a low prevalence of antifilarial IgG4 was found in the microfilaraemic group. This may indicate that the immune response of the microfilaraemic carrier (elevated antifilarial IgG4) was elicited not by a microfilarial stage, but to antigen released by adult worms. Karuza & Davis (1982) reported that *B. malayi* antimicrofilarial antibodies associated with protective immunity in the murine model of microfilaremia are of the IgG2a subclass and microfilarial immunity may be associated with host immunosuppression.

One limitation of antifilarial antibody assay using crude *B. malayi* antigen is cross reactivity with other nematode parasites, including *Stronglyloides stercoralis* (Muck *et al.,* 2003). Intestinal nematode infections were known to be common in our study areas (Loymek *et al.,* 2004). A cross reactivity study in 20 patients who lived outside the endemic areas and were infected with other parasites showed no influence on the result of antifilarial antibody assays. Examination of stool samples of normal subjects in the filaraemic areas (endemic normal) revealed that 48.8% were found to be infected with intestinal parasites. Most of them harboured mixed intestinal parasites, i.e. *Ascaris, Trichuris,* hookworms, *Entamoeba historytica, E. Coli, Giardia lamblia* and/or *Strongyloides stercoralis.* Thus, positive results of antifilarial antibody assays might not be false positives. But this intestinal parasitic infection status showed no influence on the result of antifilarial antibody assays in the present study. This result agreed with other studies on both IgG1 and IgG4 (Simonsen *et al.,* 2002; Washington *et al.* 2004). Rahmah *et al*. (2004) produced the recombinant antigen, BmR1 for antifilarial IgG4 antibody detection and found that BmR1-ELISA format was less sensitive (albeit equally specific) than BmR1 rapid test in detecting *B. malayi* infection. The authors also satated that for the ELISA format to determine the prevalence of IgG4 antibodies, using crude parasite extract antigen would detect

significantly more positives than recombinant BmR1 antigen. Thus, whole parasite extract antigen-ELISA is still useful for the detection of antifilarial antibody.

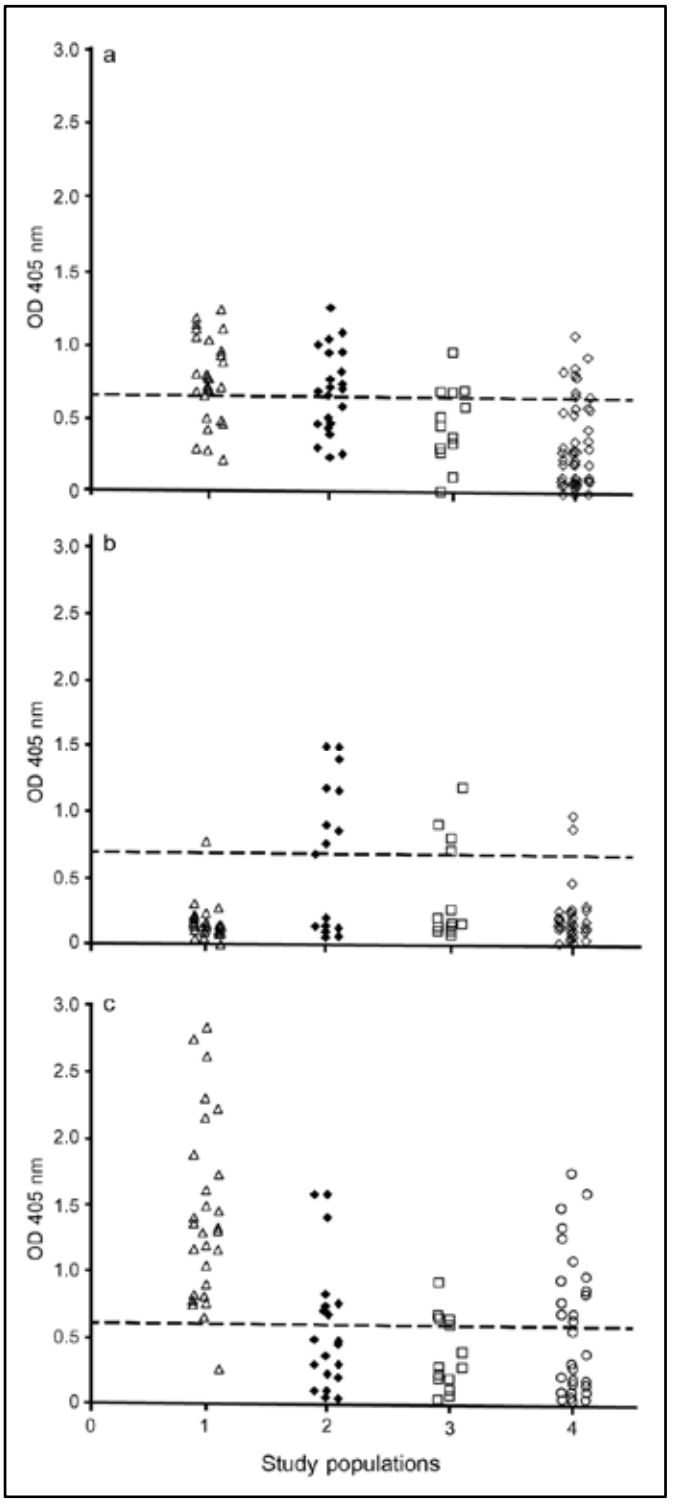


Fig.1. A dot plot of Ig isotype-ELISA shows OD of (a) IgG1, (b) IgG3 and (c) IgG4 antifilarial antibodies in the population (1, microfilaraemia; 2, lymphangitis; 3, elephantiasis; 4, endemic Normal). The dashed-line shows the cut-off value (COV).

Table 2. Antifilarial antibodies IgG1, IgG3 and IgG4 in plasma samples from patients with various clinical manifestations using indirect ELISA.

Clinical status	Number of positives of samples tested (% positive)		
	IgG1	IgG3	IgG4
Microfilaraemia (*n = 30*)	21 (70)	2 (6.67)	29 (97)
Lymphangitis (*n = 20*)	13 (65)	10 (50)	8 (40)
Elephantiasis (*n = 16*)	3 (18.7)	5 (31)	5(31)
Endemic normal (*n = 74*)	9 (12)	2 (2.6)	20(25)

Many limitations of blood examination for microfilariae, including the inability to detect very low adult worm loads or unisexual infections or in other clinical groups of lymphatic filariasis as well as endemic normals could be overcome by using an antigen detection assay. But no such assay is available for brugian filariasis. Thus, IgG subclass antifilarial antibody-based assays can be a good alternative diagnostic tool for brugian filariasis. Moreover, these assays can be used to measure filarial exposure and help to define pockets of ongoing filarial transmission. This includes an estimation of transmission intensity in appropriate subsections of the population, such as children of a defined age group (Chanteau *et al.,* 1995). These assays can also be used for monitoring the filarial elimination programme and for conducting surveillance for residual transmission.

Acknowledgements

This work was supported by Ministry of Public Health Thailand. Sincere gratitude is extended to Dr Kendrick Nelson Kahler, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University for grammatical correction and final proof of the article.

References

1. **Bradford, M.** (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry* **27**, 248-254.
2. **Bundy, D.A.P., Grenfell, B.T. & Rajagopalan, P.K.** (1991) Immunoepidemiology of lymphatic filariasis: the relationship between infection disease. *Parasitology Today* **7**, A71-A75.
3. **Chanteau, S., Glaziou, P., Plichart, C., Luquiaud, P., Moulia-Pelat, J.P., N'Guyen, L. & Cartel, J.L. (**1995) *Wuchereria bancrofti* filariasis in French Polynesia: agespecific patterns of microfilaraemia, circulating antigen, and specific IgG and IgG4 responses according to transmission level. *Journal of Parasitology* **25**, 81-85.
4. **Day, K.P., Grenfell, B.T., Spark, R., Karuza, J.W. & Alpers, M.P.** (1991) Age specific patterns of change in the dynamics of *Wuchereria bancrofti* infection in Papua New Guinea. *American Journal Tropical Medicine and Hygiene* **44**, 18-27.
5. **Harrbrink, M., Terhell, A.J., Abadi, K., M., Medeiros, F.D. & Yazdanbakhsh, M.** (1999) antifilarial IgG4 in men and woman living in *Brugia malayi* endemic areas. *Tropical Medicine and International Health* ***4, 95-97.***
6. **Karuza, W.J. & Davis, R.S.** (1982) Soluble *Brugia malayi* microfilarial antigens protect mice against challenge by an antibody-dependent mechanism. *Journal of Immunology* **128**, 1792-1796.
7. **Kwan-Lim, G.E., Forsvth, K.P. & Maizels, R.M.** (1990) Filarial specific IgG4 response correalates with active *Wuchereria bancrofti* infection *Journal of Immunology* **145**, 4298.
8. **Lammie, P.J., Reiss, M.D., Dimock, K.A., Streit, T.G. Roberts, J.M. & Eberhard, M.L.** (1998) Longitudinal analysis of the development of filarial infection and antifilarial immunity in a cohort of Haitian children *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **59**, 217-221.
9. **Loymek, S., Wongkamchai, S., Kob-asa,T., Choochote, W., Monkong, N., Chitnabut, P., Onrochanakul, J., Suvatho, S. & Sermsart, B.** (2004) Impact of filariasis Control programme on intestinal helminthic infection, A pilot study in Narathiwart province, Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **35**, 65-70.
10. **McMahon, J.E. & Simonsen, P.E.** (1996) Filariases. pp. 1321-1328 *in* Cook, G.C. (*Ed*.) *Manson's tropical diseases.* London, WB Saunders Company Ltd Press.
11. **McCarthy, J.S., Guinea, A., Weil, G.J. & Ottesen, E.A.** (1995) Clearance of circulating filarial antigen as a measure of the microfilaricidal activity of diethylcarbamazine in *Wuchereria bancrofti* infection. *Journal of Infectious Diseases* **172**, 521-526.

12. **Ministry of Public Health, Thailand** (1998) Annual report of the Department of Communicable Disease Control, Division of Filariasis, Ministry of Public Health of Thailand.
13. **Muck, A.E., Pires, M.L. & Lammie, P.J** (2003) Influence of infection with non-filarial helminths on the specificity of serological assays for antifilarial immunoglobulin G4. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **97**, 88-90.
14. **Kahmah, N., Anuar, A.K., Karim, R., Mehdi, R., Sinniah, B. & Omar, A.W.** (1994) Potential use of IgG2-ELISA on the diagnosis of chronic elephantiasisand IgG4-ELISA in the follow-up to microfilaraemic patients infected with *Brugia malayi. Biochemical and Biophysical Research Communications* **30**, 202-227.
15. **Rahmah, N., Taniawati, S., Shenoy, R.K., Lim, B.H., Kumaraswami, V., Anuar, A.K., Hakim, S.L., Hayati, M.I., Chan, B.T., Suharni, M. & Ramachandran, C.P.** (2001) Specificity and sensitivity of a rapid dipstick test (Brugia Rapid) in the detection of *Brugia malayi* infection. *Transactions of the Royal Society of TropicalMedicine and Hygiene* **95**, 601-604.
16. **Rahmah, N., Wahyuni, S., Mangali, A., Huat, L.B., Yazdannakhsh, M. & Sartono, E.** (2004) Comparison of IgG4 assays using whole parasite extract and BmR1 recombinant antigen in determining antibody prevalence in brugian filariasis. *Filarial Journal* **3**, 8.
17. **Ravindran, B.** (2003) Aping Jane Goodall: insights into human lymphatic filariasis. *Trends in Parasitology* **19**, 105-109.
18. **Simonsen, P.E., Meyrowitsch, D.W., Jaoko, W.G., Malecela, M.N., Mukoko, D., Pedersen, E.M., Ouma, J.H., Rwegoshora, R.T., Masese, N., Magnussen, P., Estamabale, B.A. & Michael, E.** (2002) Bancroftian filariasis infection, disease, and specific antibody response patterns in a high and low endemicity in east Africa. *American Journal of Medicine and Hygiene* **66**, 550-559.
19. **Triteeraprapab, S., Karnjanopas, K., Porksakorn, C., SaiNgam, A., Yentakam, S. & Loymek, S.** (2001) Lymphatic filariasis caused by *Brugia malayi* in an endemic area of Narathiwat province, southern of Thailand*. Journal of the Medical Association of Thailand* **84**, Suppl. 1, S182-S188.
20. **Washington, C.H., Radday, J., Streit, T.G., Boyd, H.A., Beach, M.J., Addiss, D.G., Lovince, R., Lovegrove, M.C., Lafontant, J.G., Lammie, P.J. & Hightower, A.W.** (2004) Spatial clustering of filarial transmission before and after a mass drug administration in a setting of low infection prevalence. *Filarial Journal* **3**, 1-14.
21. **Weil, G.J., Ramzy, R.M., El. Setouhy, M., Kandil, A.M., Ahmed, E.S. & Faris, R.** (1999) A longitudinal study of Bancroftian filariasis in the Nile Delta of Egypt: baseline data and one-year follow-up. *American Journal of Medicine and Hygiene* **61**, 53-58.

22. Yazdanbakhsh, M., Paxton, W.A., Kruise, Y.M.C., Sartono, E., Kurniawan, A., Wuot, A., Selkirk, M.E., Partono, F. & Maizels, R.M. (1993) T cell responsiveness correlates differentially with antibody isotype levels in clinical and asymptomatic filariasis. *Journal of Infectious Diseases* **167**, 925-931.
23. Zhang, S., Li, B. & Weil, G.J. (1999) Human antibody responses to *Brugia malayi* antigens in brugian filariasis. *International Journal for Parasitology* **29**, 429-436.

LABORATORY COLONIZATION OF *MANSONIA* MOSQUITOES WITH AN EMPHASIS ON *MA. ANNULATA* AND *MA. BONNEAE*

Yodthana Samung, kaewmala Palakul, Chamnarn Apiwathnasorn, Samrerng Prummongkol, Achara Asavanich and Somjai Leemingsawat

Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Abstract

The present study records the first successful colonization of *Mansonia* annulata and describes colony maintenance with modification of rearing medium and host plants. Three species of *Mansonia* mosquitoes (*Ma. uniformis, Ma. indiana* and *Ma. annulifera*) were successfully reared in ambient environments with adult emergence rates>50%, while *Ma. bonneae* and *Ma. dives* yielded emergence rates> 30%. Colonization fo *Ma. annulata* was modified and improved so that they were successfully raised to adult with emergence rates of 23%. Tube sedge, *Lepironia articulata*, was utilized as a host plant and peat swamp water was used as a rearing medium. Yeast and small lizard droppings were added daily to the larva medium to maintain microorganisms and pH in the infusion. However, identifying suitable culture medium remains an obstacle to establishing colonies of *Ma. aunulata*, as the culture medium is difficult to mimic in the laboratory. Further study, focusing particularly on larval attachment substrates and rearing medium, is needed to develop a standardized and practical rearing technique for *Mansonia* mosquitoes.

Correspondence: Yudthana Samung, Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, 420/6 Ratchawithi Road, Bangkok 10400, Thailand.

Tel: 66(0) 3254-9100 ext 1572, 2109

E-mail: tmysm@mahidol.ac.th

INTRODUCTION

Information on the basic aspects of the mosquito life cycle, such as oviposition, developmental biology of immature stages, adult longevity, and behavior, are important parameters for understanding the biology of insect vectors of tropical diseases, and transmission related to diseases, and transmission related to disease control. In many instances (*eg* most Culicidae) such biology can be obtained from field observations; however, in other vectors, such as phlebotomine sandiflies, information is only partly or rarely available owing to the difficulty of obtaining immature stages from breeding habitats. In such cases, colonization in the laboratory represents the most feasible and accessible source of information on these stages. In addition, the vectorial status of some insects can only be determined and confirmed through laboratory strains. All these concerns have contributed to growing efforts to colonize various species of insect vectors, including mosquitoes. The colonies are then used to study vector-parasite relationships, bionomics, physiology, genetics, and insecticide susceptibility of individual species and local varieties.

Mansonia mosquitoes have proven difficult to rear in the laboratory because of problems with food availability in the rearing medium and their dependence on host plants (Laurnce, 1964). Since *Mansonia* larvae feed while attaching to the roots and stems of aquatic plants, the major difficulty in maintaining them has been the preparation of aquatic culture media with adequate food for larval development, and the provision of host plants for attachment of immature stages. Moreover, the life cycle of *Mansonia* mosquitoes is normally > 20 days at 28-29°C (Chiang, 1993).

Attempts have been made to colonize these mosquitoes in different insectaries since 1952. Several authors developed rearing techniques by providing various kinds of larval medium and attachment sources, either naturally or artificially (Jayewickreme and Niles, 1952; Smith, 1956; Laurence and Smith, 1958; Samrawickrema, 1958; Ramachandran, 1960). Wharton (1962) described a technique using rabbit dung infusion and *Eichhornia crassipes* for rearing six species of *Mansonia* mosquitoes. In his experiment, an outdoor insectarium was arranged to prolong the survival of host plants in the rearing infusion. The overall adult emergence rate was highest (40%) in *Ma. uniformis* and lowest (0.3%) in *Ma. annulata*. Apiwathnasorn (1987) reported a mass-rearing technique for *Ma. annulifera, Ma. indiana and Ma. uniformis,* which was adapted from Wharton (1962), using *Ludwigia adscendens* as the host plant and a 1:4 diluted infusion of guinea-pig-dung powder as a rearing medium, with a daily provision of yeast under insectary and verandah conditions. Styrofoam slices were used instead of aquatic plants for oviposition (Sucharit et al, 1982). The average emergence rate was >50% in all species and the colonies were maintained for >7 years. Chiang *et al* (1985) reported successful colonization of *Ma. uniformis, Ma. indiana* and *Ma. bonneae* by replacement of aquatic plants with a special kind of paper (“Keaycolor” ruffia snow-white paper,

manufactured by Wiggins Teape Paper, Ltd). This system also worked for *Ma. dives* (Chan *et al*, 1991). However, the adult emergence rates of those 3 species were < 30%. In addition, there was no report of successful colonization of *Ma. annulata.*

The present study aimed to demonstrate development and improvement of rearing techniques to establish a laboratory colony of *Mansonia* mosquitoes and to raise successfully *Ma. annulata*, Narathiwat strain.

MATERIALS AND METHODS

The rearing technique for *Mansonia* mosquitoes used in the present study was modified from Apiwathnasorn (1987). Wild-caught *Ma. annulata, Ma. bonneae* and *Ma. dives* females were obtained from cow-baited trap collections in Narathiwat Province and those of *Ma. annulifera, Ma. indiana* and *Ma. uniformis* from Phra Nakhon Si Ayuthaya Province. Fully engorged females of each species were kept separately in paper drinking cups (HARN CUP, 20 $cm^{3,}$ NISSHO SANGYO Japan) covered with screening material; they were fed with 5% solution of multi-vitamin syrup with 2% sucrose for 5 days. They were then transferred to an oviposition pot (plastic container, 9.5 cm in diameter and 9.0 cm high) covered with a netting lid containing polystyrene strips (1.5 x1.5 cm, 1 mm thick) lying on the entire surface of distilled water, for egg laying. The females were held in the oviposition pot until they oviposited (usually 2-3 days) and then removed and fed on an anesthetized hamster to obtain another oviposition.

Egg clusters of each species were collected and transferred to separate plastic cups containing distilled water. After hatching (5-7 days), 300 larvae were put into a plastic jar (20 cm^3) containing 2 liters of larval rearing medium ground dried guinea-pig dung for stock and working (diluted) larval media] and fresh aquatic plants (*Ludwigia adscendens* and *Lepironia articulata*). Each aquatic plant species was tested for suitability as a host plant by determining tolerance to rearing infusion and mosquito emergence rate. A small amount of powdered yeast (Fermipan® red DSM Bakery Ingredients Mijlweg 77, Dordrecht, Holland) was added daily to each rearing jar. After 10 days. the rearing medium and aquatic plants were searched for larvae and the medium was replaced with fresh rearing infusion and fresh plants. The infusion was slightly acidic at first, (pH 6.5-6.9) and was neutral to slightly alkaline (pH 7.0-7.2) by the time it was refreshed. Yeast was provided daily until adult emergence. Adult male and female mosquitoes were the transferred by aspirator to a paper cup, provided with a 5% solution of multi-vitamin syrup, where mating occurred. A few days after emergence, the females were provided with a blood meal and were ready to oviposit within 5-6 days.

The insectary was maintained at 24±2°C, 80% RH. It was illuminated with a combination of natural daylight and fluorescent lighting for approximately 12 hours for 2 days.

Experiment setup

Treatment 1. Rearing mosquitoes under insectary and ambient conditions as described by Apiwathnasorn (1987). Six species of *Mansonia* (*Ma. annulata, Ma. annulifera, Ma. uniformis*) were used. The number of 1st-instar stage larvae used was 300/jar/experiment. The rearing medium was 1:4 diluted guinea-pig infusion (5 g per 1,000 ml tap water). Creeping water primrose, *Ludwigia adscendens*, was used as the host plant during treatment. The mosquitoes were reared under insectary conditions and partially shaded verandah (28-41°C).

Treatment 2. Rearing mosquitoes in swamp water under field conditions. Three species of *Mansonia* (*Ma. annulata, Ma. bonneae. and Ma. dives*) were used. The number of 1st-instar larvae used was 300/jar/experiment. The rearing medium was swamp water plus small lizard droppings (10 pieces daily). *Lepironia articulata* was used during treatment as the host plant. The mosquitoes were reared in a partially shaded verandah at Pikun Thong Development Study Center, in the peat swamp forest, Narathiwat Province, Thailand.

RESULTS

In Treatment 1, the rearing jars were held under insectary conditions for 10 days and later on a partially shaded verandah until adult emergence. It demonstrated that the combination of insectary and verandah conditions, using plants with strong stems (*L. adscendens*) resulted in the satisfactory rearing of *Ma. uniformis, Ma. indiana* and *Ma. annulifera,* which were open-swamp dwellers, with adult emergence rates > 50% but less successful for the swamp-forest dwellers, *Ma. bonneae* and *Ma. dives* (Table 1).

As indicated in Table 1, *Mansonia* mosquito breeding in Treatment 1 achieved varying success, with the highest adult emergence rates for *Ma. uniformis* (78.6%) and the lowest for *Ma. annulata* (0%). No adult emergence occurred for *Ma. annulata*.

Table 1 Laboratory colonization of *Mansonia* mosquitoes under insectary and ambient conditions, usign *L. adscendens* as host plant.

Mansonia species	No. of experiment	Mean percentage of survival to day 10	Mean percentage of adult emergence (range)	Developmental time from larva to adult (days)
uniformis	10	81.3	78.6 (72.6-84.2)	16-24
indiana	10	82.4	63.8 (58.8-69.4)	16-26
annulifera	10	65.6	57.3 (52.5-62.5)	16-25
bonneae	10	37.3	24.6 (20.4-30.1)	16-25
dives	10	31.2	21.7 (17.3-26.6)	15-24
annulata	10	11.3	0	-

Treatment 2 was an attempt to raise *Ma. bonneae, Ma. dives* and *Ma. annulata* under a partially shaded verandah, replacing rearing infusion with swamp water (pH 4.5-6.0), and *L. adscendens* with the local plant, *Lepironia articulata*. In addition, lizard droppings were added daily instead of yeast. To obtain fresh rearing medium (swamp water), this trial was conducted at a field station in the peat-swamp forest of Narathiwat Province. Colonization of these 3 species was satisfactory. Adult emergence rates of *Ma. bonneae* and *Ma. dives* increased to >30% and *Ma. annulata* to >20% (Table 2).

Table 3 summarizes the emergence rates obtained from laboratory colonization of *Mansonia* mosquitoes. The wide range and high standard deviation of all results revealed that the rearing procedures were not adequately standardized. Variations were possibly due to rearing medium, ambient temperature, or host plants. However, the mosquito colonization yields were satisfactory.

Table 2 Laboratory colonization of *Mansonia* mosquitoes under rearing medium and local host plants from peat-swamp forest.

Mansonia species	No. of experiment	Mean percentage of survival to day 10	Mean percentage of adult emergence (range)	Developmental time from larva to adult (days)
bonneae	10	37.6	33.5 (27.3-40.3)	20-26
dives	10	31.7	31.0 (26.7-36.7)	29-37
annulata	10	30.3	23.0 (16.3-27.7)	41-52

Table 3 Summary of laboratory colonization of *Mansonia* mosquitoes.

Mosquito species	Treatment	Adult emergence rate			
		Range	Mean	Standard deviation	Confidence level (95%)
Ma. uniformis	1	72.6-84.2	78.62	4.43	3.17
Ma. indiana	1	58.8-69.4	63.83	3.81	2.72
Ma. annulifera	1	52.6-62.5	57.30	3.68	2.63
Ma. bonneae	1	20.4-30.1	24.60	3.37	2.41
	2	27.3-40.3	33.50	4.38	3.13
Ma. dives	1	17.3-26.6	21.70	3.04	2.17
	2	26.7-36.7	31.02	3.31	2.37
Ma. annulata	1	0	0	0	0
	2	16.3-27.7	23.0	3.71	2.65

DISCUSSION

An attempt was made to improve laboratory colonization of *Mansonia* mosquitoes, to increase yields from rearing techniques, measured by either larval survival or adult emergence rates, with a focus on rearing medium and aquatic host plants. Although Chiang *et al* (1985) and Chan *et al* (1991) improved colonization of *Mansonia* mosquitoes by using paper for larval attachment, adult emergence rates were <30%. In the present study, the rearing technique was based on using local aquatic plants under local environmental conditions.

Owing to the long duration of the life cycle of all *Mansonia* species, the main obstacle to colonization was the maintenance of host plants in fresh condition in the larval medium, and larval

infusion. The creeping water primrose, *Ludwigia adscendens*, was found to be a suitable host plat, as shown in Table 1, yielding optimized developmental times and adult emergence rates for *Ma. annulifera, Ma. indiana*, and *Ma. uniformis,* but less success for *Ma. bonneae* and *Ma. dives, L. adscendens* is a perennial creeper herb that can be found along the shoreline, floating on the water surface, or growing upright. Its round, soft, yellowish green or reddish-purple stems have a spongy bladder-like structure, and rooting at nodes provides suitable sites for larval attachment. The plants are common, and easy to collect, clean, and maintain in the laboratory. *L. adscendens* remained fresh after immersion in larval infusion for several days.

Successful colonization of *Ma. annulata* to the adult stage was obtained by rearing in their swamp forest environments, using either swamp water as breeding medium or the local host plant, *Lepironia articulata*. However, the low emergence rete (23%) for *Ma. annulata* reflected the micro-environment in nature and hence limited the ability to propagate this species. *L. articulata* is an evergreen, slow-growing wetland sedge that occurs naturally in the low-lying acidic areas of peat-swamp forest in Narathiwat Province, particularly in an open environment. The tube sedge is a reed-like, perennial plant in the Family Cyperaceae. The plant can grow up to 2.3 m tall with tubular, hollow, bright-green stems 2-3 cm in diameter. The stems arise from creeping, under-ground rhizomes in clumps. It is typically grown in swamps with strongly acidic sulfate soil. The pH of the water (4.0-5.5) and plants with a particular root system of short taproots, stilt roots and strong, widespread lateral roots to support themselves on the soft ground in the peat swamp forest (Phlengklai, 1989), may play an important role in rearing *Ma. annulata* and *Ma. bonneae*.

A suitable culture medium for establishing *Ma. annulata* in the laboratory is needed, as it is difficult to mimic in the laboratory. Further study focusing particularly on larval attachment substrates and rearing medium in essential to develop a more standardized rearing technique for *Mansonia* to yield higher larval survival and adult emergence rates, as well as reducing the development period.

REFERENCES

1. Apiwathnasorn C. Rearing techniques for mosquitoes: laboratory colonization of *Mansonia.* In: Sucharit S, Supavej S, eds. Practical entomology, malaria and filariasis. Bangkok: Siriyod Printing, 1987: 56-8.
2. Chiang GL. Update on the bionomics of *Mansonia* vectors of brugian filiariasis. Southeast Asian *J Trop Med Public Health* 1993; 24 (suppl 2); 69-75.
3. Chiang GL. Cheong WH, Loong KP, Eng KL, Samarawickrema WA. Laboratory colonization *of Mansonia uniformis, Ma. indiana* and *Ma. bonneae* in Malaysia. J *Am Mosq Control Assoc* 1985; 1: 186-90.
4. Jayewickreme SH, Niles WJ. A technique for rearing *Mansonioides* larvae in the laboratory. *Ceylon J Sci B Zoo* 1952; 25: 1.
5. Laurence BR. The problem of stabilising conditions of larval culture in mosquito colonies. *Bull World Health Organ* 1964; 31: 457-8.
6. Laurence BR, Smith SA. The breeding of *Taeniorhynchus* (subgenus *Mansonioides*) mosquitoes in the laboratory. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1958; 52: 518.
7. Phlengklai C. Peat swamp forest of Thailand. *Thai Forest Bull (Bot)* 1989; 18: 1-42. (in Thai).
8. Ramachandran CP. The culture of *Mansonia*, using an aquatic plant-Salvinia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1960; 54: 56.
9. Samarawickrema WA. Yeast and liver media for the culture of *Taeniorhynchus (Mansonioides) uniformis* and *Taeniorhynchus (Mansonioides) annulifera*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1958; 52: 17.
10. Chan MS, Chuan HB, Lok CK. Colonization of *Mansonia dives* Schiner in a field insectary. *Southeast Asian J Trop Med Public Heaith* 1991; 22: 229-34.
11. Smith SA. Some observations on the breeding of *Taeniorhynchus (Mansonioides) africanus* (Theobald*)* in the laboratory. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1956; 50: 458.
12. Sucharit S, Apiwathnasorn C, Rukkeartskul R, Kerdpibule V. Improved oviposition medium for *Mansonia* colonization. *Mosq News* 1982; 42: 357-9.
13. Wharton RH. The biology of *Mansonia* mosquitoes in relation to the transmission of filariasis in Malaya. *Bull Inst Med Res* (*Malaysia*) 1962; 11: 114.

MOSQUITO FAUNA OF "TOH DAENG" SWAMP FOREST, THAILAND

Chamnarn Apiwathnasorn[1], Yudthana Samung[1], Samrerng Prummongkol[1], Chotechuang Panasoponkul[1] and Sumat Loymek[2]

[1]*Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok;*

[2]*Bureau of Vector Borne Disease, Department of Disease Control,*

Ministry of Public Health, Nonthaburi, Thailand

Abstract

Entomlogical surveys (2001-2005) were carried out in Narathiwat Province to determine mosquito fauna of the peat swamp forest. Fifty-four species belonging to 13 genera were identified from 837 larval specimens and 3,982 adult mosquitoes. These included the major vectors for Brugian fillariasis; *Mansonia annulata*, *Ma. dives, Ma. uniformis* and *Ma. indiana, Ma. annulata* and *An. letifer* were reported for the first time in Thailand as lymphatic filariasis vectors. Three species inhabiting *Nepenthes* pitchers (*N. mirabilis*): *Tripteroides tenax, Toxorhynchites manopi* and *Uranotaenia edwardsi*, were recorded for the first time in Thailand; *Zeugnomyia gracilis* was also found common in the peat swamp forest.

Correspondence: Chamnarn Apiwathnasorn, Department of Medical Entomolgy, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, 420/6 Ratchawithi Road, Bangkok 10400, Thailand.

Tel: 66 (0) 2354 9100-19 ext 1571

E-mail: tmcaw@mahidol.ac.th

INTRODUCTION

Peat swamp forests in Thailand cover about 64,000 ha, and are located mostly in the South. "Toh Daeng" is the largest swamp forest occupying 8,000 ha (Phengklai *et al*, 1991). This forest supports primary peat swamp, *Melaleuca* woodland and scrub and degraded grasslands. These unique habitats support a large variety of flora and fauna. Some 470 plant species in 124 families have been recorded; 217 bird, 52 reptile, 62 fish, 19 amphibian, 106 butterfly and 60 mammal species have been identified (Phlengklai *et al*, 1991; Vijarnsorn, 1996; Hankaew, 2003). Lymphatic filariasis is a serious mosquito-borne disease associated with this peat swamp forest, where little is known about the mosquito fauna. The present study describes the current mosquito fauna in the Toh Daeng peat swamp.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The "Toh Daeng" peat swamp forest is located in Narathiwat Province, 1,149 km south of Bangkok. The site lies parallel to the eastern coastline of southern Thailand, about 7 km inland. The northern and southern parts of the swamp drain into the Bang Nara River and Su-ngai Kolok River, respectively. Toh Daeng contains a research and visitor's facility, "Sirindhorn Research and Nature Study Center", located in the wildlife conservation area. The surrounding areas are privately owned and used for agricultural purposes (rice, rubber and fruit plantations) and settlements. The peat swamp forest is characterized by low-lying flat land with 1.0-1.5 m water present throughout the year. The deposited organic material causes the water to be acidic (pH of 4.0-5.5). The poor nutrient content of the acidic soil impedes agricultural use preventing other trees, except *Melaleuca cajuputi*, from becoming established in the swamp due to lack of soil within the peat swamp. The area has a constant mean temperature of 26-27°C with an annual rainfall of 2,560.2 mm and an average of 171 days of rain per year with the heaviest rainfall in November-December. There is on distinct dry season; the average humidity is 77-83% (Phlengklai *et al,* 1989). Five sites from different habitats were chosen to capture the mosquitoes. The habitats were located in the core or preservation zone (primary swamp forest), periphery or conservation zone (secondary swamp forest) and development or agricultural zone.

Mosquito collection

To optimize the diversity of insects collected, five collection methods were utilized in the study: animal-baited traps (cow and cat, 2 traps per night), human-landing catches (5 persons per night), light traps (5 traps per night), and direct search from breeding places by dippers, pipettes and oviposition traps (30 traps per site). The collections were conducted 4 days per month. Insect

monitoring traps, oviposition and light traps, were placed at random on the wildlife conservation areas while the others were conducted at all three collection sites.

In order to develop practical, effective and inexpensive oviposition traps, discarded soft-drink bottles, such as 1-liter Coca-Cola or Sprite plastic bottles were cut in half and used, the lower part hanging from tree trunks in the forest throughout the period of investigation. Mosquito larvae found in oviposition traps were collected monthly and brought back to the laboratory for identification.

Special attention was also given to the collection of *Mansonia* larvae from submerged plants and trees in the swamp forest. The collecting equipment was modified from the device made by Batzer (1993) and the collecting technique was recently described by Apiwathnasorn *et al* (2006a). The larvae were mounted on slides and the species identified using the key of Apiwathnasorn *et al* (1991).

Processing of collected specimens

As Narathiwat Province is an area endemic with Brugian filariasis, dissection for filarilal parasites was carried out on the head and thorax portions of *Mansonia* mosquitoes and other potential species obtained from the human-landing and cow-baited catches. The details of this dissection technique are described by Leemingsawat *et al* (1987). Some adult mosquitoes were pinned and the remainder was preserved dry for further examination. Immature stages collected from ovitraps were kept alive and reared to adults either in single or in mass. Dead specimens and/or larval and pupal skins were removed daily and preserved in 70% alcohol. Larval and pupal specimens were slide-mounted using Hoyer's medium (Rattanarithikul, 1982). Adult specimens were examined un-mounted or on pin-mounted paper points. The species of the mosquito specimens were identified using standard light microscopy and a range of taxonomic authorities and keys (Thurman, 1959; Wharton *et al*, 1962; Peyton and Scanlon, 1966; Bram, 1967; Harrison and Scanlon, 1975; Huang, 1979; Rattanarithikul, 1982).

RESULTS

A total of 3,982 mosquitoes were collected, 1,704 from human-landing catches, 2,009 from animal-baited traps, 269 from light traps and 837 larval specimens from 54 species in 13 genera (Table 1). Of the collection methods used, the animal-baited traps yielded the greatest number of species, comprising 50.0% of the total number of species caught, followed by human landing catches (44.4%), light traps (29.6%) and oviposition traps (18.5%).

Table 1 Mosquito species composition and abundance in Toh Daeng peat swamp forest, September 2001 to December 2005.

Mosquito species	Adult mosquitoes collected by method			Immature mosquitoes collected	
	Human-landing catches	Cow-baited catches	Light traps	Oviposition traps	Pitcher plants
Aedes (Aedimorphus) caecus	1	0	0	-	-
Aedes (Aedimorphus) mediolineatus	0	14	0	-	-
Aedes (Aedimorphus) stenoetrus	0	0	0	+	-
Aedes (Aedimorphus) vexans	0	38	0	-	-
Aedes (Fredwardsius) vittatus	0	3	0	-	-
Aedes (Stegomyia) albopictus	111	0	5	+	-
Aedes (Verrallina) sp	0	0	0	+	-
Anopheles (Anopheles) barbirostris	0	8	0	-	-
Anopheles (Anopheles) barbumbrosus	0	46	0	-	-
Anopheles (Anopheles) campestris	0	5	0	-	-
Anopheles (Anopheles) nigerrimus	1	168	0	-	-
Anopheles (Anopheles) peditaeniatus	0	186	0	-	-
Anopheles (Anopheles) letifer	46	45	0	-	-
Anopheles (Anopheles) sinensis	0	2	0	-	-
Anopheles (Cellia) nivipes	0	7	0	-	-
Anopheles (Cellia) tessellatus	0	9	0	-	-
Anopheles (Cellia) vagus	0	4	0	-	-
Armigeres (Armigeres) kuchingensis	1	0	0	-	-
Armigeres (Armigeres) subalbatus	86	3	0	-	-
Armigeres (Armigeres) theobaldi	2	0	0	-	-
Coquillettidia crassipes	14	44	0	-	-
Coquillettidia nigrosignata	83	0	37	-	-
Coquillettidia ochracea	1	1	3	-	-

Table 1 Mosquito species composition and abundance in Toh Daeng peat swamp forest, September 2001 to December 2005 (Continued).

Mosquito species	Adult mosquitoes collected by method			Immature mosquitoes collected	
	Human-landing catches	Cow-baited catches	Light traps	Oviposition traps	Pitcher plants
Culex (Culex) annulus	0	0	3	-	-
Culex (Culex) bitaeniorhynchus	4	10	2	-	-
Culex (Culex) fuscocephala	0	4	0	-	-
Culex (Culex) gelidus	29	88	37	-	-
Culex (Culex) pseudosinensis	6	0	0	-	-
Culex (Culex) pseudovishnui	9	0	23	-	-
Culex (Culex) sinensis	5	0	0	-	-
Culex (Culex) tritaeniorhynchus	14	113	27	-	-
Culex (Culex) vishnui	9	4	0	-	-
Culex (Culex) whitmorei	0	9	0	-	-
Culex (Culiciomyia) pallidothorax	0	0	42	-	-
Culex (Eumelanomyia) brevipalpis	0	0	7	+	-
Culex (Lophoceraomyia) curtipalpis	0	0	0	-	+
Heizmannia (Heizmannia) reidi	89	0	0	-	-
Mansonia (Mansonioides) annulata	391	0	31	-	-
Mansonia (Mansonioides) bonneae	566	653	0	-	-
Mansonia (Mansonioides) dives	46	26	0	-	-
Mansonia (Mansonioides) indiana	72	15	0	-	-
Mansonia (Mansonioides) uniformis	117	502	0	-	-
Mimomyia elegans	0	0	5	-	-
Mimomyia fusca	0	0	18	-	-
Ochlerotatus (Finlaya) albotaeniatus	0	0	0	+	-
Ochlerotatus (Finlaya) niveus subgroup	0	0	0	-	-

Table 1 Mosquito species composition and abundance in Toh Daeng peat swamp forest, September 2001 to December 2005 (Continued).

Mosquito species	Adult mosquitoes collected by method			Immature mosquitoes collected	
	Human-landing catches	Cow-baited catches	Light traps	Oviposition traps	Pitcher plants
Ochlerotatus (Kenknightia) dissimillis	1	0	0	+	-
Ochlerotatus (Mucidus) quasiferinus	0	2	0	-	-
Tripteroides (Rachionotomyia) tenax	0	0	0	-	+
Toxorhynchites (Toxorhynchites) manopi	0	0	0	-	+
Uranotaenia (Uranotaenia) annandalei	0	0	7	-	-
Uranotaenia (Uranotaenia) edwardsi	0	0	17	-	-
Uranotaenia (Uranotaenia) longirostris	0	0	5	-	-
Zeugnomyia gracilis	0	0	0	+	+
Total	1,704	2,009	269	+	+

The mosquitoes collected were: *Mansonia* (61.0%), *Anopheles* (13.2%), *Culex* (11.2%), *Coquillettidia* (4.6%), *Aedes* (4.3%), *Armigeres* (2.3%), *Heizmannia* (2.2%) and others (2.2%; *Ochlerotatus*, *Uranotaenia*, *Mimomyia*, *Toxorhynchites*, *Tripteroides* and *Zeugnomyia*). Animal-baited traps and landing catches were similar in recording the most abundant species (*Mansonia* spp), while a greater number of uncommon species were recorded with other collecting means; for instance, a large number of *Ze. gracilis* specimens was obtained from oviposition traps. The discovery of *Ze*. *gracilis* in Narathiwat Province provided an additional distribution record that was previously reported from a fallen leaf axil found in Trang Province, southern Thailand by Benjaphong and Rattanarithikul (1991).

Owing to breeding place surveys, habitat features associated with each mosquito species were mainly paddy fields, riverine habitats and primary swamp forest. Larvae and pupae of various mosquito species obtained from natural containers of plant origin (tree holes and pitcher plants) and oviposition traps were reported for the first time. Immature *Cx. curtipalpis, Tp. tenax* and *Tx. manopi* were recovered from pitchers of *Nepenthes mirabilis* with larval density varying from 2 to 73 larvae per pitcher cup, *Cx. curtipalpis* was the most abundant. *Ae. albopictus, Oc. albotaeniatus, Oc. dissimillis* and *Oc. niveus* subgroup were collected from tree holes and oviposition traps in the wildlife

conservation zone. The oviposition traps also yielded many immature specimens, including the genus *Aedes*, *Culex*, *Ochlerotatus*, *Tripteroides* and *Zeugnomyia*. Apart from landing catches, *An. letifer* larvae were also dipped from peat swamp water in varying densities (1-16 larvae/dip). Paddy fields in the development zone around the peat swamp favored breeding habitats for various zoophilic species of the genus *Aedes (Ae. caecus, Ae. mediolineatus, Ae. vexans), Anopheles (An. barbirostris, An. campestris, An. donaldi, An. nigerrimus, An. peditaeniatys, An. sinensis, An. nivipes, An. tessellatus*and *An. vagus)* and *Culex*, particularly the vectors of Japanese B encephalitis *(Cx. fuscocephala, Cx. gelidus, Cx. pseudovishnui, Cx. Tritaeniorhynchus* and *Cx. vishnui)* most of which were captured by cow-baited traps.

DISCUSSION

Brugian filariasis transmitted by *Mansonia* mosquitoes is the only main vector borne disease occurring in the peat swamp forest of Narathiwat Province with wild and domestic animals as reservoir hosts (Phantana *et al*, 1987; 1995; Kobasa *et al*, 2004; Apiwathnasorn *et al*, 2006b). In our study, *Mansonia* mosquitoes were collected with each method used except for oviposition traps, and were found widely distributed throughout the peat swamp, particularly in the wildlife conservation area. The most abundant species were *Ma. bonneae* (26.8% of all mosquitoes collected) followed by *Ma. uniformis* (13.6%) and *Ma. annulata* (9.3%). The prevalence of mosquitoes infected with *B. malayi* was 0.47% for *Ma. annulata* and 0.25% for *Ma. bonneae* by dissection. Immature *bonneae* and *uniformis* were obtained from common sedges of the family Cyperaceae: *Cyperus babakan, C. corymbosus, Lepironia articulata, Rhynchospora corymbosa, Scirpodendron ghaeri, Scleria sumatrensis,* and *Sacclolepis indica*. The larvae were also collected from larger trees, *Metroxylon sagus* and *Melaleuca cajuputi*, but in fewer numbers of larvae per scraping (1-7). *Ma. uniformis* was recovered from most of the host plants, however, *Ma. bonneae* preferred submerged plants rather than floating aquatic plants, *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes.*

Ninety-one *An. letifer* specimens were captured by human landing and cow-baited methods with an infection rate of 2.2% by dissection for *B. malayi. An. letifer* was reported for the first time in Thailand as an additional vector for Brugian filariasis with outdoor biting habit during the day and the night. *An. letifer* has been reported as a vectors for filariasis and malaria in Malaysia and is predominant in peat swamp areas (Wharton *et al*, 1962; Thevasagayam and Fah, 1980; Rahman *et.al*, 1997). *An. letifer* was earlier reported in Thailand by Iyengar and Menon (1956), Reid (1963) and Scanlon *et al* (1968), however, no specimens were available for confirmation of species presence (Harrison and Scanlon, 1975). The present study confirms the presence of *An. letifer* in the peat swamp forest of Narathiwat Province, where adults were captured from baited traps and the larvae were found breeding in peat water.

In summary, the abundance and species distribution varied by swamp topography (the wildlife conservation area in the central zone surrounded by arboreal lowland and riverine vegetation with agricultural development areas in the outmost areas). Many species collected in the present study are known to be vectors of diseases: *Ae. albopictus* (a vector of dengue fever), *An. barbirostris* and *An. letifer* (vectors of malaria and lymphatic filariasis); *Oc. niveus* subgroup (vectors of bancroftian filariasis, rural type), and *Cx. fuscocephala, Cx. gelidus and Cx. tritaeniorhynchus* (vectors of Japanese B encephalitis). Notably *Ae. Aegypti* was absent from the specimens collected, possibly be cause this species is more commonly found indoors in urban areas. The roles of these species in transmitting disease have not been determined in Narathiwat Province. Three species of mosquitoes were found for the first time breeding in pitcher plants (*N. mirabilis*): *Cx. curtipalpis; Tp. tenax and Tx. manopi. Zeugnomyia gracilis*, recovered from oviposition traps, was also reported for the first time in the peat swamp forest of Thailand. Information regarding mosquito fauna in the Toh Daeng peat swamp is still inadequate. Some endemic species have yet to be discovered and identified.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Professor David Molyneux and Dr Philip J McCall for their valuable comments and suggestions during data analysis. We thank the Leverhulme Trust for the financial support provided throughout the present study and special thanks to the Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University for providihg the research facilities.

REFERENCES

1. Apiwathnasorn C, Komalamisra N, Thongrungkiat S, Sucharit S. A simplified key for larval identificatio of *Mansonia* mosquitoes in Thailand. *Mosq-Borne Dis Bull* 1991; 8: 1-5.
2. Apiwathnasorn C, Samung Y, Prummongkol S, Asavanich A, Komalamisra N. Surveys for natural host plants of *Mansonia* mosquitoes in inhibiting Toh Daeng peat swamp forest, Narathiwat Province, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006a; 37: 279-82.
3. Apiwathnasorn C, Samung Y, Prummongkol S, Asavanich A, Komalamisra N, Mccall P. Bionomics studies of *Mansonia* mosquitoes inhabiting the peat swamp forest. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006b; 37: 272-8.
4. Batzer DP. Technique for surveying larval populations of *Coquillettidia perturbans*. *J Am Mosq Control Assoc* 1993; 9: 349-51.
5. Benjaphong N, Rattanarithikul R. *Zeugnomyia gracilis* Leicester (Diptera: Culicidae), a new genus and species occurrence record form Thailand. *Mosq Syst* 1991; 23: 53.
6. Bram RA. Contributions to the mosquito fauna of Southeast Asia.-II. The genus *Culex* in Thailand (Diptera: Culicidae). *Contrib Am Entomol Inst (Ann Arbor)* 1967; 2: 1-296.
7. Hankaew C. Integrated management plan on peat swamp forests, Southern Thailand. Workshop on approaches for integrated and wise use of peat lands in Thailand. Royal Princess Hotel, Narathiwat, Thailand. 9-11 April, 2003: 9pp.
8. Harrison Ba, Scanlon JE. Medical entomology-II. The subgenus *Anopheles* in Thailand (Diptera: Culicidae). *Contrib Am Entomol Inst (Ann Abor)* 1975; 12: 1-307.
9. Huang YM. Medical entomology studies-XI. The subgenus *Stegomyia* of *Aedes* in the Oriental Region with keys to the species (Diptear: Culicidae). *Contrib Am Entomol Inst (Ann Amor)* 1979; 15: 1-79.
10. Iyengar MOT, Menon MAU. The mosquitoes of south Thailand. *Bull Entomol Res* 1956; 47: 785-95.
11. Kobasa T, Thammapalo S, Suvannadabba S, et al. Identification of *Brugia malayi* - like microfilariae in naturally - infected cats from Narathiwat province, Southern Thailand. *J Trop Med Parasitol* 2004; 27: 21-5.
12. Leeminsawat S, Deesin T, Vutikes S. Determination of filariae in mosquitoes. In: Sucharit S, Supavej S, eds. *Practical Entomology, malaria and filariasis*. Bangkok: Siriyod Printing (Thailand), 1987: 42-6.
13. Peyton EL, Scanlon JE. Illustrated key to the female *Anopheles* mosquitoes of Thailand. Bangkok: US Army Medical Component, Southeast Asia Treaty Organization, 1966: 47pp.
14. Phantana S, Sensathien S, Choomphon S. Microfilariae in cat in Narathiwat, southern Thailand. *Commun* Dis J 1995; 21: 107-13.

15. Phantana S, Shutidamrong C, Chusattayanon W. *Brugia malayi* in a cat from southern Thailand. *Tran R Soc Trop Med Hyg* 1987; 81: 173-4.
16. Phengklai C, Niyomdham C, Premrasmi A, Chirathanakorn K, Phuma R. Peat swamp forest of Thailand. *Thai Forest Bull* 1989; 18: 1-42.
17. Phlengklai C, Niyomdham C, Ueachirakan W. Flora in peat swamp areas of Narathiwat, Thailand. Phikun Thong Study Centre. Bangkok: Sombun Press, 1991.
18. Rahman WA, Che'Rus A, Ahmad AH. Malaria and *Anopheles* mosquitos in Malaysia, *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997; 28; 599-605.
19. Rattanarithikul R. A guide to the genera of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Thailand with illustrated keys, biological notes and preservation and mounting techniques. *Mosq Syst* 1982; 14: 139-208.
20. Reid JA. Notes on anopheline mosquitoes from Malaya, with descriptions of three new species. *Ann Trop Med Parasitol* 1963; 57: 97-116.
21. Scanlon JE, Peyton EL, Gould DJ, An annotated checklist of the *Anopheles* of Thailand. *Thai Natl Sci Pap Fauna Ser* 1968; 2: 1-35.
22. Thevasagayam ES, Fah LC. Studies on the biology of *Anopheles letifer* Sandsham (Diptera, Culicidae), and its response to residual s praying, carried out in Sarawak, Malaysia. *Med J Malaysia* 1980; 35: 254-64.
23. Thurman EB. A contribution to a revision of the Culicidae of northern Thailand. *Univ Md Agric Exp Sta Bull* 1959; A-100: 1-177.
24. Vijarnsorn, P. Peatlands in Southeast Asia: a regional perspective. In: Maltby, E, Immirzi, CP, Safford RJ, ed. Tropical lowland peatlands of Southeast Asia. Gland: Switzerland: IUCN, 1996.
25. Wharton RH, Laing ABG, Cheong WH. Studies on the distribution and transmission of malaria and filariasis among aborigines in Malaya. *Ann Trop Med Parasito* 1962; 57: 235-54.

IMPACT OF A FILARIASIS CONTROL PROGRAM ON INTESTINAL HELMINTHIC INFECTIONS: A PILOT STUDY IN NARATHIWAT PROVINCE, THAILAND

Sumart Loymek[1] , Sirichit Wongkamchai[2] , Therayot Kob-asa[3] , Wej Choochote[4] , Nantiya Monkong[2] , Pisit Chitnabut[2] , Jerawan Onrochanakul[2] , Surasak Suvutho[2] and Bunguorn Sermsart[5]

[1]Filaria Project, Phikulthong Royal Development Study Center, Narathiwat; [2]Department of Parasitology, Faculty of Medicine at Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok; [3]Filaria Division, Ministry of Public Health, Nonthaburi; [4]Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai; [5]Department of Parasitology, Faculty of Medical Technology, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Abstract

This study was conducted in 9 villages located in endemic areas for brugian filariasis in Narathiwat Province, Thailand. Parasitological and anthropometric examinations were cross-sectionally performed to assess the prevalence of intestinal parasitic infections of 539 villagers. Paired stool samples were collected before and after mass treatment for the filariasis control program in 150 participants in order to study the impact of the filariasis control program on intestinal helminthiasis. The results found that 50.3% of the villagers were infected with one or more types of intestinal parasites. Double and triple infections were found in 10.9% and 1.6% of infected individuals respecttively. The prevalence of intestinal parasitic infection peaked in the 1-10 year old age-group, which are pre-school and young school-age children. A significant reduction of intestinal helminthic infections in the post-treatment stool sample was observed in the 150 participants who were examined six months after mass treatment. Integrating an intestinal helminthic control program along side the existing filariasis control program would be and appropriate and cost effective strategy in the control of intestinal helminthes. However, reinfection of parasites was observed.

Correspondence: Sirichit Wongkamchai, Department of Parasitology, Faculty of Medicine at Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand.

INTRODUCTION

The high prevalence of intestinal helminthic infection is closely related to poverty, poor environmental hygiene and an impoverished health service (WHO, 1996). Children and pregnant women are particularly vulnerable to helminthiasis, which decreases work capacity (Crompton and Stepheson, 1990) and fitness and in children, influences the nutritional status, which in turn causes growth retardation (Adam *et al*, 1994) and reduced learning ability (Nokos, 1992). Some of the morbid conditions attributed to intestinal helminthiasis are malnutrition, growth retardation, anemia Vitamin A deficiency and impaired intellectual performance.

This problem and its impact have contributed to the need to design appropriate and cost-effective strategies for treatment and control based upon sound knowledge of epidemiological patterns (Anderson, 1986, Tomkin and Watson, 1989). At the beginner of a control program for helminthiasis, baseline surveys are recommended (WHO, 1996). Baseline surveys provide a sound basic for estimating the present status and the need for intervention in a population. It provides essential data for guiding the development of control program at the national, regional and district levels.

The aim of control measures is to sustain a reduction in the intensity of soil-transmitted helminthic in the infections. These control measures will take a long time to implement and are costly (WHO 1987). To optimize resources, any helminthic control program can be integrated with other existing national health programs. The availability of drugs such as diethyl carbamazine (DEC) and albendazole, which have anthelminthic and anti-filarial properties, opens the possibility of integrating an intestinal helminth control program with a filariasis control program. The co-administration of DEC and albendazole raises several issues relating to frequency of administration, efficacy and cost effectiveness (Burman *et al*, *1970*).

Intestinal helminths are abundant in the southern part of Thailand due to a suitable climate for egg development and the unsanitary conditions of the inhabitants (Muennoo *et al*, *2001*). Narathiwat Province is an endemic area of filariasis and is located in southern Thailand. It is surrounded by big open swamp forest, which is a huge breeding place for *Mansonia*. In this area, *Mansonia* spp is the main vector for *Brugia malayi*, a causative agent of brugian lymphatic filariasis. This area is noted for having the nation's highest brugian filariasis rate (Filaria Division, 2001). On the contrary, no update data of the epidemiological status of the intestinal parasites or prevalence of parasites in the area is available. Recently, the Filaria Division, Ministry of Public Health in co-operation with the WHO have established a filariasis control program in Narathiwat Province. The aim of this study was to examine the impact of the filariasis control program on intestinal helminthiasis, to assess the prevalence of intestinal parasitic infections, and to evaluate the possible epidemiological impact of some social-behavioral practices in the endemic areas for filariasis in Narathiwat Province, Thailand.

MATERIALS AND METHODS

Study design

A cross-sectional intestinal parasitic infection survey was carried out in endemic areas of brugian filariasis in Narathiwat Province. Since the studied area is homogeneous regarding climate, humidity, ecology and soil, villages were randomly selected for data and stool collection (Montresor *et al*, 1998).

Study population

To study the prevalence of intestinal parasitic infection, one-time stool sample were collected from 539 villagers from 9 villages located in endemic areas of brugian filariasis in Narathiwat Province, Thailand as follows: 4 Kuba Egor, 5 Ban Todang, 4 Kubasalaw, 3 Ban Mai, 1 Ban Youyo, 5 Cok Chumbok, 7 Pileng, 10 Payae and 2 Daoh.

To study the impact of the filariasis control program on intestinal helminthiasis, two sets of stool samples were collected from 150 participants who live in 3 villages, 3 Su-ngai Padi, 1 Bang Khuntong, 5 Ban Khuntong. The first set of stool samples was collected in Febuary 2002 before DEC and albendazole mass treatment, which was conducted in June 2002. The second set of stool samples was collected from the same participants in December 2002, six month after mass treatment. Only the participants who gave both pre-treatment and post-treatment stool samples were included in the study.

Oral consent to participate in the present study was given by the willing inhabitants in each village.

Data Collection

A questionnaire was designed to obtain information on demographic characteristics (age, sex, level of education, socio-economic and sanitary condition etc). The data was collected using multiple methods, which included personal interviews, in-depth interviews and participant observation.

Sample collection and parasitological diagnosis

Each stool sample was collected and preserved in 10% aqueous formalin and transported to the laboratory of Department of the Parasitology, Faculty of Medicine at Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand for detection of intestinal parasites by means of simple saline smear and formalin-ether concentration techniques.

Data analysis

The percentage prevalence of intestinal parasitic infection was determined for each age grouping within the studied villages. Data was interpreted by descriptive statistics and expressed as percentages (%) for comparison of infected groups, demographic characteristics, etc.

RESULTS

The demographic characteristics of the inhabitants of 9 villages in the endemic areas for brugian filariasis are summarized in Table 1. The overall prevalence of intestinal parasitic infection and distribution and prevalence of various parasitic infection and different age groups and villages are presented in Table 2. The prevalence rates of intestinal parasitic infection in the studied villages were compared using a bar charge diagram (Fig 1). The results revealed that 50.3% of the villagers were infected with one or more types of intestinal parasites. Double and triple infections were found in 10.9% and 1.6% of infected individuals respectively. The highest prevalence of intestinal parasitic infections was found in the 1-10 year-old group, which are pre-school and school-age children, followed by those in the 11-20 year-old age range group, then slowly declining in the older age groups, Table 2 shows the age distribution and results of the stool examinations of the participants before and after DEC and albendazole mass treatment.

Table 1 Demographic characteristics (sex, education, household etc) surveyed in 9 villages located in endemic areas of brugian filariasis in Narathiwat Province.

Characteristic	Villeges								
	4 Kuba Egor	5 Ban Todang	4 Kuba-salaw	3 Ban Mai	1 Ban Youyo	5 Cok Chumbok	7 Pileng	10 Payae	2 Daoh
Sex (%)									
Male	56.0	50.0	31.8	63.0	40.0	47.0	100.0	50.0	33.0
Female	44.0	50.0	68.2	37.0	60.0	53.0	0	50.0	67.0
Education (%)									
No	16.0	37.5	41.0	18.5	32.0	3.0	12.5	25.0	0
Primary	64.0	48.0	54.5	66.7	60.0	68.2	87.5	50.0	67.0
Secondary	20.0	14.5	4.5	7.4	8.0	19.7	0	25.0	33.0
University	0	0	0	7.4	0	9.1	0	0	0
Accomodation (%)									
Good	8.0	87.5	0	51.8	0	62.3	0	87.5	0
Fair	92.0	12.5	100	48.2	100	37.7	100.0	12.5	100.0
Poor	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Quality of latrine (%)									
Good	0	87.5	19	62.5	0	68.6	37.5	100.0	0
Fair	100	12.5	81	32.2	92.0	31.4	37.5	0	75.0
Poor	0	0	0	5.3	8.0	0	25.0	0	25.0
Defecation outside latrine (%)									
Yes	44	12.5	95.5	29.6	28.0	0	87.5	12.5	0
Water supply (%)									
Rain water	12	0	4.5	29.6	8.0	0	100	25.0	25.0
Pond, canal	88	100	95.5	70.4	68.0	100.0	0	75.0	75.0
Underground	0	0	0	0	24.0	0	0	0	0
Pet (%)									
Have	84	100	69.2	92.6	68.0	100.0	75.0	100.0	100.0
Wearing shoes out-doors (%)									
Every time	80	75	19.0	55.5	24.0	95.5	37.5	49.5	67.0
Some times	20	25	81.0	44.5	76	4.5	62.5	50.5	33.0
Never	0	0	0	0	0	0	0	0	0

DISCUSSION

Control of the soil-transmitted helminthic infections requires the deployment of resources, including money, man power and support by government-related agencies. The problem of lack of these resources is compounded by the fact that these infections are still regarded as a low priority where public health is concerned, despite their high prevalence worldwide and the growing data on their morbid effects in growing children (Holland *et al,* 1996). In developing countries, the most important issue is finding a cost-effective manner, either through selective or mass chemotherapy of controlling intestinal parasites. In the filariasis control program, a single dose of albendazole and DEC was given to villagers in endemic areas. A single oral dose treatment annually with albendazole (500 mg) or albendazole (400 mg) is claimed to be very effective, safe and inexpensive. Although some infections are not completely cured by single dose treatment, the direct benefit of chemotherapy is that the worm burden is removed, which immediately alleviates morbidity and may reduce the rate of transmission. In Kenya, the treatment of hookworm in undernourished school boys showed improved physical fitness only seven weeks after treatment, despite continual exposure to re-infection and some incomplete cures (Savioli *et al*, 1992). The potential impact on multiple diseases control is also illustrated by the experience in Zanzibar in the control of schistosomiasis. The control of morbidity due to intestinal helminthes has been added to this program as a natural process of progresssively integrating the control of other communicable diseases (Revolutionary Government of Zanzibar, 1991).

Table 2 Results of stool examinations of 150 participants who live in an endemic area of brugian filariasis in Narathiwart Province before and after receiving DEC and albendazole mass treatment.

Participant age group (years)	Sex		Total	No. infection	
	Male	Female		Before (%)	After (%)
1-10	26	18	44	27 (61.4)	5 (11.4)
11-20	9	7	16	8 (50.0)	2 (12.5)
21-50	21	36	57	23 (40.4)	12 (21.0)
>50	13	20	33	9 (27.3)	4 (10.8)
Total	68	81	150	67 (44.7)	33 (22.0)

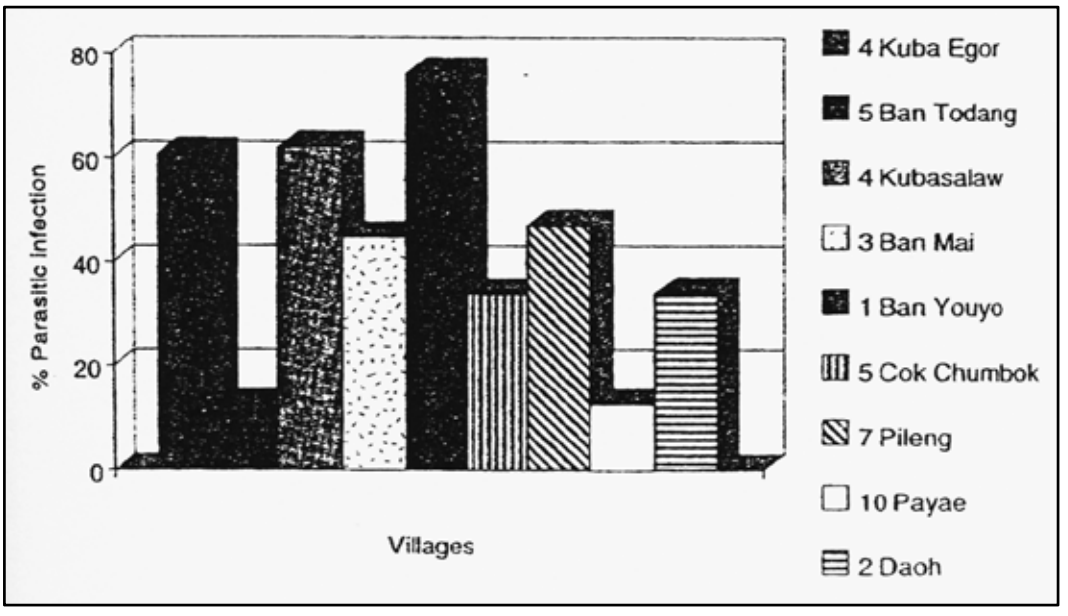


Fig 2-Intestinal parasitic infection rate (%) in 539 inhabitants live in 9 villages located in an endemic area of brugian filariasis in Narathiwat Province, Thailand.

Factors examined in this study included stool examination traditional beliefs, behavioral risk factors and socio-economic status. Various socio-cultural and behavioral factors have impact on the prevalence of parasitic infection. In the villages that had a low prevalence of helminthiasis, most inhabitant had a good socio-economic status, sanitary living conditions and a more hygienic life-style. Results also indicate that poor knowledge and indigenous beliefs contribute to high-risk behaviors and inappropriate preventive behavior, as well a absenteeism of some villagers from drug treatment. The proportion of untreated villagers is likely to influence the impact of the control program, since the remaining members of the infected population not receiving treatment serve as a potential reservoir in the cyclical transmission of not only the intestinal helminths but also of the filarial parasite.

This study revealed that mass treatment with DEC and albendazole is helpful for the treatment and prevention of helminthiasis. The observed reductions in the percentage of parasitic infections after mass treatment in the filariasis control program are encouraging and are worth of further attention. Coupling the provision of anthelminthic treatment with more effective skill-based health education which encourages a change in attitude and practices of personal hygiene within the village environment has been suggested as the most promising intervention and may reach the non-enrolled villagers (Holland *et al*, 1996). The study conducted by Paul and Gnanamani (1995) of helminthic infections revealed that by the end of the ninth month, the post-treatment prevalence of helminthic infection had exceeded the pre-intervention level, but the intensity of infection was significantly lower.

Thus, a half-year round repeated mass treatment of the population is recommended for a more effective control program due to re-infection with the parasites.

It has been shown from many locations worldwide, that children aged 5-15 years harbor many of the most intense infections of *Ascaris* and *Trichuris* (Anderson, 1986; Bundy *et al*, 1988 Asaolu *et al*, 1991). This study also found that the prevalence of intestinal parasitic infections peaked in the 1-10 year-old age group, which are pre-school and school-age children. Therefore, the control of worm infections through chemotherapy in school-age children is in great need, and could lead to a beneficial collaboration between the Ministry of Health and the Ministry of Education.

In conclusion, integrating an intestinal helminthiasis control program along with the existing filariasis control program in Narathiwat Province, Thailand, would be an appropriate and cost-effective strategy to control intestinal helminthes. From the evaluation of this type of program, other models may be developed to help in the prediction of resource requirements for future control of helminthic infections, which will alleviate the morbidity caused by them and improve the overall health of the community.

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to Dr Suwith Thammapaolo, Dr Saravudh Suvannadabba, Bureau of Vector-borne Disease Control, Ministry of Public Health, for supporting this project and to Saovarak Hantakun for statistical advice.

REFERENCES

1. Adarn EJ, Stephenson LS, Latham MC, Kinoti SN. Physical activity and growth of Kenyan schoolchildren with hookworms, *Trichuris trichiura* and *Ascaris lumbricoides* infections are improved after treatment with albendazole. *J Nutrition* 1994; 124: 1199-206.
2. Anderson RM. The population dynamics and epidemiology of intestinal nematode infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986; 80: 686-96.
3. Asaolu SO, Holland CV, Crompton DWT. Community control of *Ascaris lumbricoides* in rural Oyo State, Nigeria: mass, targeted and selective treatment with Levamisole. *Parasitology* 1991; 103: 291-8.
4. Bundy DAP, Cooper ES, Thompson DE, Anderson RM, Didier JM. Age-related prevalence and intensity of *Trichuris trichiura* infection in the St. Lucian Community. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987;81:85-94.
5. Burman NN, Sehgali AK, Chakravarti RN, Sodai JG, Chuttani RN. Morphological and absorption studies in hookworm infestation. *Indian J Med Res* 1970; 58: 317-25.
6. Crompton DWT, Stephenson CS. Hookworm infections, nutritional status and productivity. In: Sehad GA, ed London and Philadelphia: Francis, 1990: 231-64.
7. Filaria Divisison, Ministry of Public Health. Annual report. 2001.
8. Holland CV, Asaolu SO, Crompton DWT, Whitehead RR, Coombs I. Targeted anthelminthic treatment of schoolchildren: effect of frequency of application on the intensity of *Ascaris lumbricoides* infection in children from rural Nigerian villages. *Parasitology* 1996; 113: 87-95.
9. Montresor A, Crompton DWT, Hall A, Bundy DAP, Savioli L. Guidelines for the evaluation of soil transmitted helminthiasis and schistosomiasis at a community level: a guide for managers of control programme. *WHO/CTD/SIP/98.1*. 1998.
10. Muennoo C, Maipanich W, Sanguankiat S, Anantaphruti M. Soil-transmitted helminthiasis among fisherman, farmer, gardeners and towns people in sounthern Thailand. *J Trop Med Parasitol* 2000; 23: 7-11.
11. Nokos C, Grantham-McGregor SM, Sawyer AW, Cooper ES, Bundy DAP. Parasitic helminth infection and cognitive function in schoolchildren. *Proc R Soc London* 1992*; 247:* 77-81.
12. Paul I, GnanamaniG. Quantitative assessment of *Ascaris Lumbricoides* infection in schoolchildren from a slum in Visakhapatnam, South India. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999; 30: 572-5.
13. Revolutionary Govemment of Zanzibar. Priority plan for health services 1991/2-1995/6. Zanzibar: AlKhayria Press, 1991.

14. Savioil L, Bundy D, Tomkins A. Intestinal parasitic incections: a soluble public health problem. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; 86: 353-4.
15. Stephenson LS. Impact of helminth infections on human nutrition. London and Philadelphia: Taylor and Francis, 1987.
16. Tomkins A, Watson F. Malnutrition and infection: a review. New York: United Nations Administrative Committee on Coordination/Subcommittee on Nutrtion, State of the Art Series, Nutrition Policy Discussion Paper. 1989: 5.
17. WHO. Report of the WHO informal consultion on the use of chemotherapy for the control of morbidity due to soil-transmitted nematodes in humans. Geneva: World Health Organization, *WHO/CTD/SIP/96.2.* 1996.
18. WHO. Prevention and control of intestinal parasitic infections. *WHO Techn Rep Ser* 1987; 749:1-88.

A high resolution melting real time PCR for mapping of filaria infection in domestic cats living in brugian filariosis – endemic areas

Sirichit Wongkamchai[a,*], Hathai Nochote[a,c], Suporn Foongladda[b], Paron Dekumyoy[c], Suvit Thammapalo[d], John J. Boitano[a], Wej Choochote[e]

[a] *Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand*

[b] *Department of Microbiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand*

[c] *Department of Helminthology, Faculty Tropical medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand*

[d] *The Office of Disease Prevention and control,12 Songkhla, Ministry of Public Health, Thailand*

[e] *Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chiangmai University, Chiangmai, Thailand*

ABSTRACT

We present here a real time PCR with high resolution melting (HRM) analysis for determining the prevalence and distribution of filarial species in domestic cats residing in brugian filariosis endemic areas of Narathiwat province, Thailand. Fialarial species can be clearly distinguished in a single well using a single pair of primers. Blood samples were taken from a total of 2039 domestic cats living in endemic areas. Microfilariae were detected in 5.7% of the sample, while the overall prevalence of filaria infection by HRM analysis was 6.6%. The filariae species found in the infected cats were *Brugia malayi, Dirofilaria immitis, D. repens as well as Acanthocheilonema* (*Dipetalonema*) *reconditum*. This is the first report of *A. reconditum* infection from Thailand. The study also observed and overlapping of the distribution prevalence of these nematodes warrant an appropriate drug-based prophylaxis to be administered to cats in the endemic areas to reduce the number of diseased carriers. Furthermore, this molecular approach is more sensitive than microfilariae detection, enables species identification and greatly facilitates the collection of epidemiological data. Thus, the present study may help to bridge human – animal interface by coordinating research outcomes with the control of zoonoses that is vitally important for human and veterinary public health.

Keywords: HRM real time PCR, Lymphatic filariasis, *Brugia malayi*, *Dirofilaria immitis*, *Acanthocheilonema* (*Dipetalonema*) *reconditum*

*Corresponding author. Tel.:+66 24196468; fax: +66 24112084

E-mail address: sirichit.won@mahidol.ac.th (S. Wongkamchai)

1. Introduction

In Thailand, endemic areas of brugian filariosis, caused by nocturnally subperiodic *Brugia malayi*, are located in the southern part of the country (Zielke et al., 1993). Several wild and domestic animals in endemic areas of Thailand, Indonesia, Malaysia, and Pacific island have been reported to be naturally infected with subperiodic *B. malayi* (Mak et al., 1982; Mak, 1984; Zielke et al., 1993). In domestic cats from Indonesia, two studies recorded infectivity rates at 7% (Masber et al., 1981) and 6.1% (Palmeiri et al., 1985) while in Peninsular of Malaysia, the infectivity rate was 6.9% (Mak et al., 1980).

A survey of 66 domestic cats and 98 stray dogs in brugian filariosis endemic area in Chumphon province, southern Thailand, *B malayi*-like microfilariae were observed in one cat while *Dirofilaria repens* and *D. immitis* were found in 2 cats and 34 dogs, respectively (Guptavanij et al. 1971a). Further south in Narathiwat province, a blood sample from 93 cats showed the presence of *B. malayi*-like mf with an infectivity rate of 4.3% (Guptavanij et al., 1971b.)

Brugian filariosis in Narathiwat province appears to be a particular problem of the eastern part of the province which includes Mueang, Bacho, Ra-ngae, Su-ngai Kolok, Su-ngai Padi, Tak Bai and Joh Ai Rong Districts. It is speculated that the prevalence of brugian filariosis may be due to the presence of a large peat-swamp forest (Phru Toh Daeng) encompassing approximately 303 km^2 (Chaipattana Network, 1996) which may serve as a breeding place for *Mansonia*, the main vector of the nocturnally subperiodic *B. malayi* (Sucharit et al., 1975). The majority of the households in the endemic areas prefer cats as a family pet, thereby facilitating a ready opportunity for filarial transmission with humans due to co-habitation. Human infectivity with filariae of animals, referred to as zoonotic filariasis, occurs worldwide. Since the first report of zoonotic filariasis in the modern literature occurred more than 100 years ago (Babes, 1880; Addario, 1885), the numbers of cases and parasitic species has steadily increased (Orihel and Eberhard, 1998).

This emphasizes the urgent need to focus on these reservoir/infective hosts. However, the current state of knowledge about the filarial species, their prevalence and distribution in domestic cats living in acknowledged endemic areas is obviously limited due to the marked morphological similarities of these parasites (Harbut et al., 1995). In the case of *B. malayi* and *B. pahangi*, it is extremely difficult to differentiate the microfilaia of filarial species by Giemsa staining (Yen and Mak, 1978).

Diagnosis is essential in the management of disease, both at the level of individual animals and at the level of disease control in populations. Either microscopic detection or serodiagnosis that are widely used for diagnostic purposes, confer little guarantee of species identification in areas where both the human and animal filarial species coexist. The application of molecular technology could have a marked impact in distinguishing closely related species or subspecies.

We present here a real time PCR with high resolution melting (HRM) analysis for the screening of the status of endemicity in the acknowledged endemic areas. Filarial species can be clearly distinguished in a single well using a single pair of primers. Moreover, a large number of cat samples can be rapidly performed in a single run. This method offers the advantage of detecting at least 5 species of the filarial parasites in a single step PCR, which, in turn, supports the continued prophylactic treatment of the infected cats as well as the current state of knowledge about the extent and frequency of occurrence of the filarial species in domestic cats staying in recognized endemic areas.

2. Materials and methods

2.1 Animal ethical approval

The study protocol was approved by the Animal Ethics Committee of Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, based on the Ethics of Animal Experimentation of the National Research Council of Thailand. The Certificate of Approval number is 004/2555.

2.2 Source of positive and negative control

The microfilariae (mf) of *B. malayi*, *B. pahangi*, *D. immitis*, *D. repens* and *Acanthocheilonema* (*Dipetalonema*) *reconditum* whose species were confirmed by the acid phosphatase staining method and HRM analysis, were used as positive controls. A parasite-free cat blood sample served as the negative control.

2.3 Study areas

This study surveyed filarial infection in the occasional feral cat and mostly domestic cats residing in households located in the brugian filariosis endemic areas of Narathiwat province. This data was obtained from the Filariasis Project, Pikhunthong Royal Development Study Center, Narathiwat province, Thailand. A total of 2039 domestic cats were randomly selected from 44 villages surrounding the central peat swamp forest, located in 4 districts, i.e. Su-ngai Kolok, Su-ngai Padi, Tak Bai and Mueng.

2.4 Blood samples

Using an ear-pricking procedure, blood samples were collected from the study population. Three thick blood smear slides were prepared from each cat. One slide was used in Giemsa staining, a second slide was used for DNA extraction and the last slide was used as a spare. The individual characteristics of each cat, including name, owner's name and address, date of extraction, gender and age were cataloged and entered into a standard record form.

Study samples consisted of stray and domestic cats from 8 sub-districts; i.e. 377 from Kaluwor Nuea, 458 from Kaluwor, 73 from Phraiwan, 293 from Bang Khuntong, 218 from Kosit, 310 from Sugnai Padi, 205 from Puyo and 105 from Prasemat.

2.5 Microscopic detection of microfilariae in the study samples using Giemsa staining

Giemsa staining was performed according to the standard WHO procedure (World Health Organization, 1991). Briefly, the dehaemoglobinized thick blood smear slides were immersed in freshly prepared working Giemsa stain for 45-60 min. Then, it was removed and rinsed by dipping 3-4 times in the Giemsa buffer. After air-drying, the slides were examined under a microscope (40×) for the detection of mf.

2.6 Extraction of filarial DNA from thick blood smear slides

Filarial DNA was extracted from the samples as follows: 100 µL of Tris-EDTA buffer solution was added onto a dehaemoglobinized thick blood smear slide and left for 5 min. Then the blood was scraped off the smear, transferred into a 1.5 mL microcentrifuge tube, and was centrifuged for 10 min at 15,520 × g. The Tris-EDTA buffer was discarded. The remaining sediment was kept for further DNA extraction. A high pure PCR template preparation kit (Roche Germany) was used for DNA extraction according to the manufacturer's instruction. The concentration of the extracted DNA was measured by the Nanodrop spectrophotometric procedure (Thermo Fisher Scientific) according to the manufacturer's instructions. The extracted DNA was used as a template in HRM real time PCR.

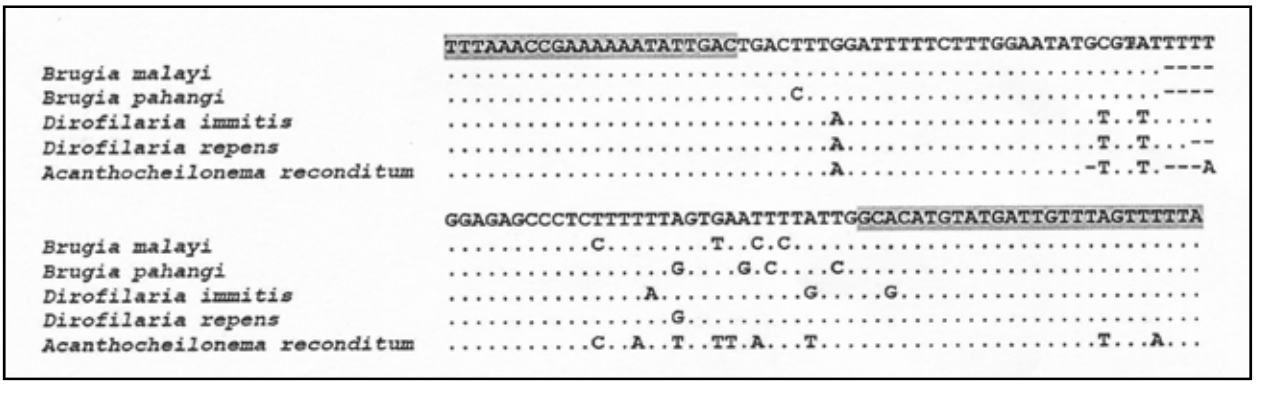


Fig 1. Alignment of partial mitochondrial 125 rRNA gene sequences of *B. malayi* (GenBank accession number AJ544843; positions 177-287), *B. pahangi* (GenBank accession number AM779851; positions 154-264), *D. immitis* (GenBank accession number FN391554, positions 161-275), *D. repens* (GenBank accession number AM779776; position 145-258), and *A. reconditum* (GenBank accession number AJ544853, position 180-291). Dots indicate identity; dashes indicate deletion from the above consensus sequence; and gray areas indicate primers.

2.7 HRM real time PCR analysis for *B. malayi*, *D. imitis*, *D. repens* and *Acanthocheilonema* (*Dipetalonema*) *reconditum*

Previously designed primers (Wongkamchai et al., 2013) used for identifying the 3 filaria species, i.e. *B. malayi*, *B. pahangi* and *D. immitis* was used in this study. It was found that the sequences of the primers previously designed also recognized a 115-bp region of the mitochondrial partial 125 rRNA gene of *D. repens* and *A. (Dipetalonema) reconditum*. A BLAST search (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) was performed to check the specificity of these primers to their respective DNA targets. The presence of the 115-bp amplification products was verified by 2% agarose gel electrophoresis (data not shown).

Fig. 1 shows the primers that are based on alignments of the mitochondrial partial 125 rRNA genes of 5 Filaria spp., i.e. *B. malayi* (GenBank accession number AJ544843; positions 177-287), *B. pahangi* (GenBank accession number AM779851; positions 154-264), *D. immitis* (GenBank accession number FN391554; positions 161-275), *D. repens* (GenBank accession number AM779776; position145-258); and *A. reconditum* (GenBank accession number AJ544853; position 180-291).

The HRM were performed in a single run on a Light-Cycler LC480 instrument (Roche Diagnostics, Penzberg, Germany) as previously described (Wongkamchai et al., 2013). Briefly the 10 µL reaction mixture contained 3 µL of DNA, 0.25 pmol of each primer, and 3 mM $MgCl_2$ in 5 µL of the LightCycler 480 High-Resolution Melting Master mixture containing ResoLight dye (Roche Diagnostics). Nuclease-free water replaced the DNA template for negative controls. Positive controls were included in each run. The reaction conditions included an activation step at 95°C for 5 min followed by a 40-step amplifiction of 10 s at 95°C, 10 s at 58°C, and 10 s at 72°C. Subsequently, the products were heated to 95.8°C for 1 min and then cooled to 40°C for 1 min. HRM was performed from 65°C to 95°C, rising at 1°C/s with 25 acquisitions per degree. The final cooling step was 40°C for 10 s.

2.8 HRM real time PCR analysis for D. repens

Since the two species of *Dirofilaria* (*D. immitis* and *D. repens*) gave little different melting temperature (Tms) (<0.5°C), they had to be further distinguished using a COXI gene primer pair designed by Rihniw et al. (2006).

3. Results

Of the total number of cats surveyed over the 4 districts, the gender comparison was significant ($p<0.01$) as 58% were females and 42% were males. The number of younger cats between 1 and 3 years of age were significantly ($p<0.000$) more prevalent (85%) than all the other cats combined. Young cats were evenly distributed over all the 4 districts with percentages ranging from an 80% to 89%.

The HRM result of the amplified product of the positive controls (Bm, *B. malayi*; Bp, *B. pahangi*; Di, *D. immitis*, Dr, *D. repens* and Ar, *A. reconditum*) and the study samples, as well as the HRM results of mix infection are shown in Fig. 2(A-C). Using the pair of primers which amplified the partial mitochondrial 125 rRNA gene of the filariae, the amplified products of the positive controls (Bm, *B. malayi*; Bp, *B. pahangi*; Di, *D. immitis*, Dr, *D. repens* and Ar, *A. reconditum*) obtained from the LightCycler 480 software, were recognized by the HRM assay at melting peaks (Tms) of 75.8±0.3°C, 77.46±0.24°C, 74.20±0.42°C, 74.10±0.28°C and 72±0.25°C, respectively. In the mix infection, two separate fluorescence peaks at different melting temperatures of species and heteroduplex melting peaks were observed at 68.5°C and 71°C (Fig. 2).

The DNA extract from 59 cat samples recognized by the HRM assay at melting peaks (Tms) of 74.20±0.42°C or 74.10±0.28°C, when using the pair of primers which amplified partial mitochondrial 125 rRNA gene of the filariae, were furthered amplified using the primer specific for *D. repens* COX I gene. The amplified product of the *D. repens* positive control was recognized by the HRM assay at melting peak (Tms) of 75.98+0.3°C, whereas the results were negative when tested with *D. immitis* or with negative cat blood samples (Fig. 3). Twelve out of the 59 samples were positive for *D. repens* (Table 1).

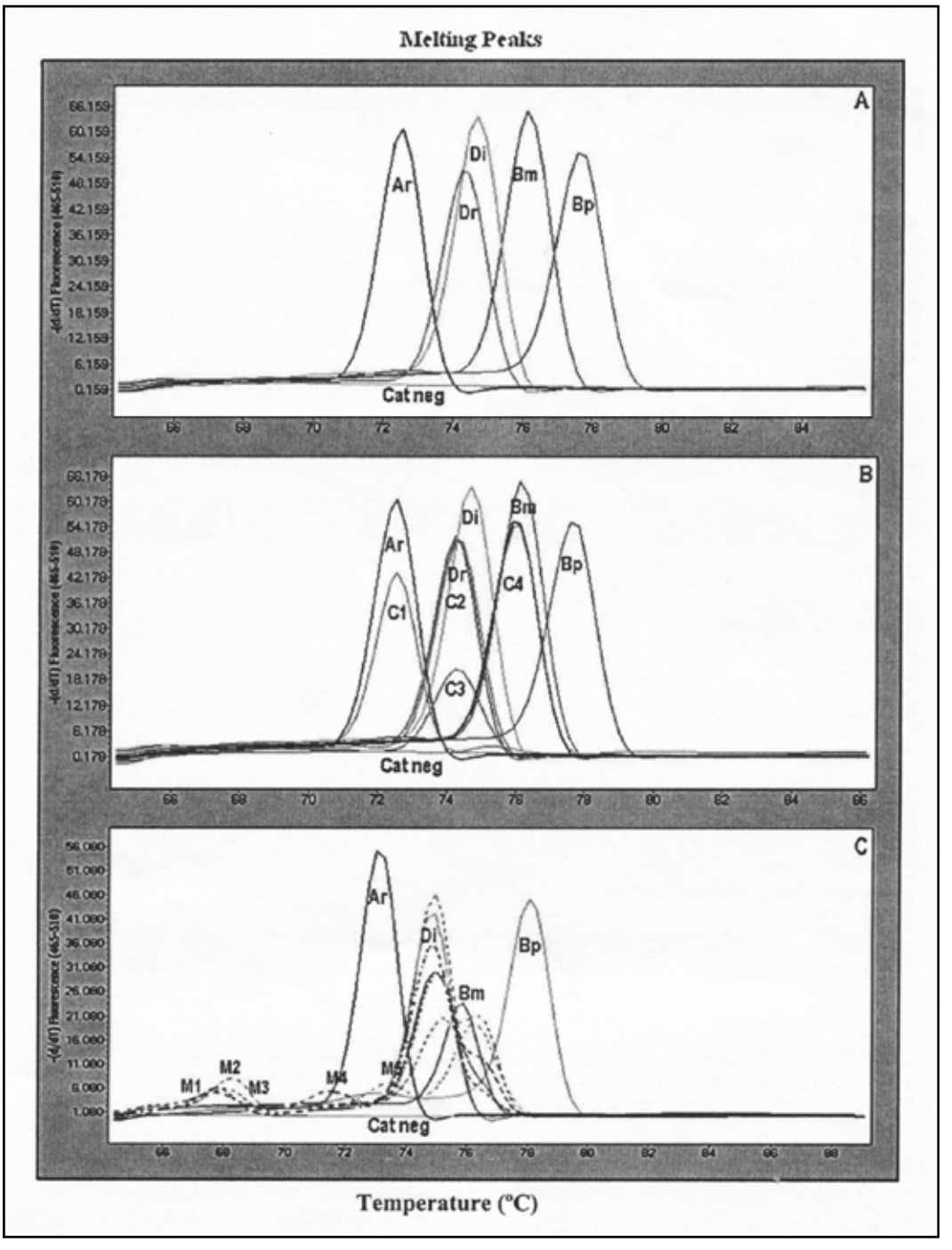


Fig. 2. Melting peaks (A) of the amplified product of the positive controls (Bm, *B. malayi*; Bp, *B. pahangi*; Dr, *D. repens* and Ar, *A. reconditum*) as obtained from the LightCycler 480 software; (B) melting peaks of the HRM results of the study cat samples (C1-C4), and control; (C) melting peaks of the HRM results of mix infection (M1-M5, dotted lines). Two separate fluorescence peaks at different melting temperatures of species and heteroduplex melting peaks are present at 68.5°C and 71°C.

Table 1 The prevalence of filaria species identified in domestic cats in Narathiwat province, Thailand by HRM real time PCR and microscopy.

Species detected by HRM analysis	Microfilaria detection by microscopy (Giemsa staining)						HRM detection
	Brugia spp.	*D. immitis*	*D. Repens*	*A. reconditum*	*Brugia* spp. and *D. immitis*	Mf negative	
B. malayi	57	0	0	0	0	10	67 (3.3%)
D. immitis	0	41	0	0	0	6	47 (2.3%)
D. repens	0	0	12	0	0	0	12 (0.6%)
A. reconditum	0	0	0	2	0	1	3 (0.15%)
B. malayi and *D. immitsis*	0	0	0	0	4	1	5 (0.25%)
Negative	0	0	0	0	0	1905	1905 (93.43%)
Total	**57 (2.8%)**	**41 (2%)**	**12 (0.59%)**	**2 (0.098%)**	**4 (0.19%)**	**1923 (94.3%)**	**2039 (100%)**

Mf, microfilaria.

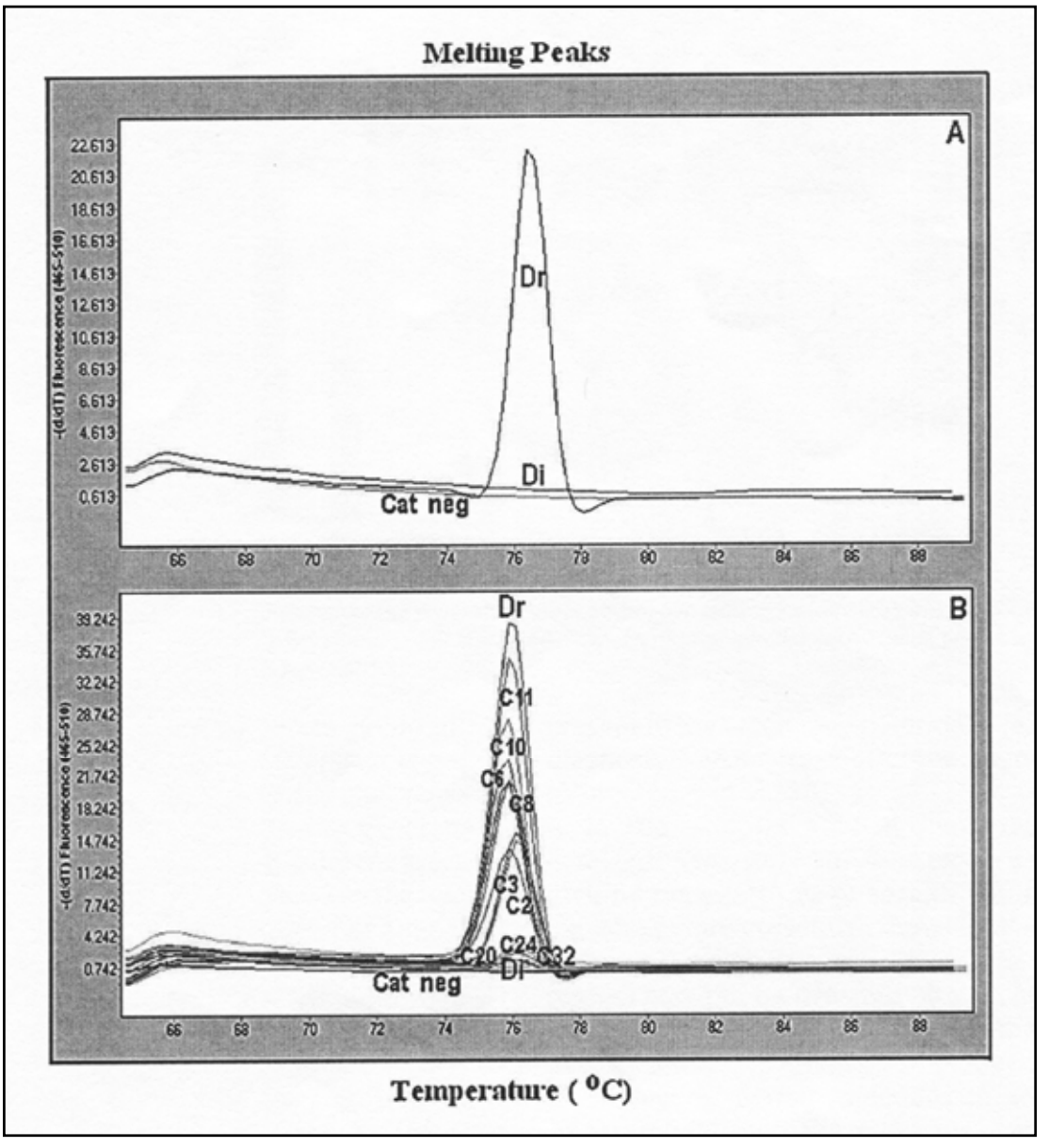


Fig. 3. Melting peaks (A) of the amplified product of the positive controls (Dr, *D. repens*) as obtained from the LightCycler 480 software using COX I gene primer; no amplicons were obtained when using the DNA of Di, *D. immitis*; (B) melting peaks of the HRM results of the study cat samples identified as *D. repens* (C2, C3, C6, C8, C10 and C11); no amplicons were obtained for the DNA of *D. immitis* (C20, C24, and C32).

The prevalence of Filaria species identified in domestic cat in Narathiwat province, by HRM real time PCR and microscopy are summarized in Table 1. The overall prevalence of Filaria infection was 6.6% by HRM analysis, whereas microfilariae were detected via Giemsa staining in only 5.7%. Eighteen positive cats by HRM were found to be negative by Giemsa staining whereas no microfilariae positive cats which found to be negative by HRM. Thus, it is suggested that HRM-PCR analysis

showed more positive rates, and therefore, may be considered a more sensitive measure. *B. malayi* was the most dominant filarial species detected in the infected cats, followed by *D. immitis*. The *B. malayi* infected cats were distributed in 3 districts indicated as high risk areas for brugian filariosis, i.e. Su-ngai Padi, Su-ngai Kolok and Takbai (Fig. 4)

The map of Narathiwat province depicts the location of the study sites and the distribution of cats infected with Filarial parasites in each of the sub-districts (Fig. 4). The overall prevalence of filarial infection in study cats in each sub-district 0.8% (3/377); 6.3% (29/458); 15% (11/73); 3.1% (9/293); 9.2% (20/218); 15.8% (49/310); 7.3% (15/205) and 0% (0/105) in Kaluwor Nuea, Kaluwor, Phraiwan, Bang Khuntong, Kosit, Su-ngai Padi, Puyo and Prasemat, respectively. This results in an overall prevalence rate of 6.6% (136/2039).

4. **Discussion**

In the present study, filarial infected cats were found to be clustered in households. Both human and animal Filariae were detected and their distribution areas were found to overlap. The highest prevalence of *B. malayi* infected cats (3.3%) was reported from villages surrounding the Phru Toh Daeng swamp forest, which coincided with the distribution of *B. malayi* infected people at the village level. The animal filaria, *D. immitis*, was the predominant filaria species detected in domestic cats inhabiting North Kaluvor in the Mueng district, which is an urban area of this province. Previous research has observed that *Culex* spp., the main vector of *Dirofilaria* is a common mosquito species in urban areas since *Culex* “thrives and proliferates excessively in crowed city areas” (Simonsen and Mwakitalu, 2013, p. 35). It is noted that the cats surveyed from Tak Bai district were found to be infected with all species of animal and human filariae identified in this study. This can be explained by the location of this district. Tak-Bai is located between the Mueang district where animal filariae are predominant and the Su-ngai Padi district where *B. malayi* is the major filarial species. This finding suggests that the transmission cycle of the filaria has the potential to generate infection in (a) active endemic areas, (b) in adjacent areas due to movements of microfilaraemic cats between the two districts and (c) through an inadequate control of animal reservoir hosts. Moreover, no *B. pahangi* infected cats were identified in the present survey suggesting the absence of host-resources for this parasite in this province.

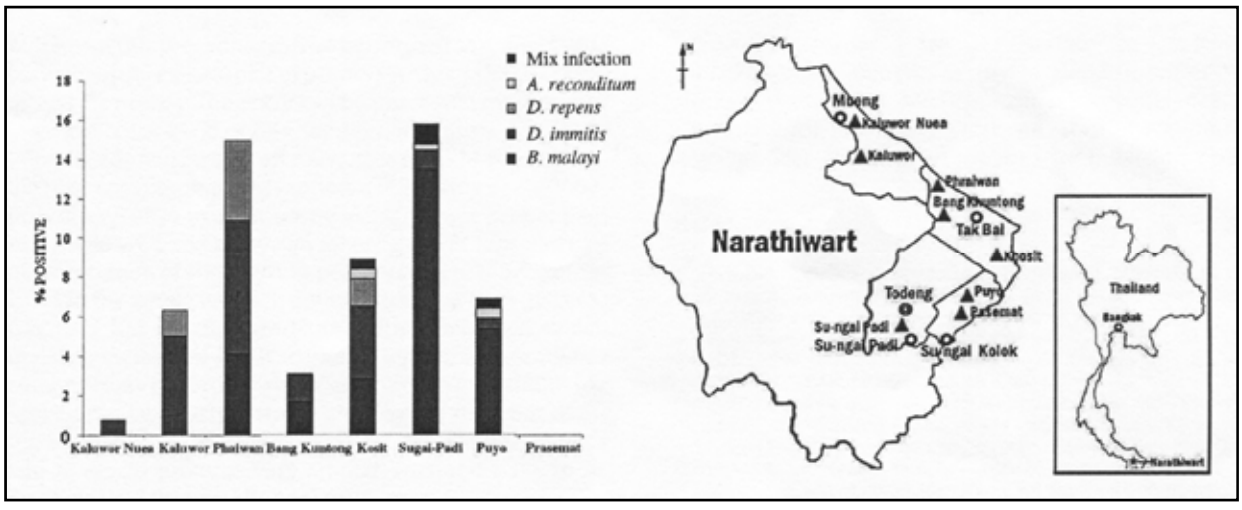


Fig. 4. The map of Narathiwat province showing the location of the study sites; areas outlined in rectangles indicate sampling locations; the circle indicate study districts; double circle indicate Todeng swamp forest and graph shows distribution of cats infected with Filarial parasites (% positive = number of filarial infected cats/number of study samples of each sub-district).

A. reconditum was also identified, which to our knowledge is the first reported incidence in Thailand. *A. reconditum* is mostly specific to canines and its infective stage found in the subcutis of intermediate hosts as fleas, ticks and chewing lice (Albrechtová et al., 2011; Pantchev et al., 2011). Usually *A. reconditum* is non-pathogenic but Hargis found a filariasis evidently due to an *Acanthocheilonema*-like parasite in 10 dogs exhibiting plaques and pruritic papules concurrent with scarring, alopecia, erythema in the head neck and shoulders region (Hargis et al., 1999), thus, emphasizing the need to treat *A. reconditum* infected cats as well as to eradicate fleas, ticks and chewing lice.

By using a molecular technique, the prevalence of filarial infection obtained from the present study was greater than the prevalence of microfilaria detected by the microscopic procedure. A similar observation has been demonstrated by Albrechtová et al. (2011). The reason may due to the ability of the real time PCR to capture positive cases even amongst those individuals diagnosed as amicrofilariaemic in which the parasitological method cannot help identify the parasite. Rawlings et al. (1982) enumerated four different types of occult infections: (a) infection with adult filarial worm in the absent of circulating microfilariae, i.e. prepatency which is evident up to 6 months after infection; (b) unisexual infections; (c) drug-induced sterility of adult worms; a condition which could be due to macrocyclic lactone or doxycycline treatment; or (d) an immune-mediated clearance of microfilariae by means of antibody-dependent cellular cytotoxicity (Gary and Lawrence, 2002). DNA released from adults or remnants of dead microfilaria present in the blood may potentially lead to a PCR-positive diagnosis even before or after the stage of microfilariaemia (Albrechtová et al., 2011).

In the samples studied here, mix infections were detected. Two separate fluorescence peaks at different melting temperatures of species and heteroduplex melting peaks were present as shown in Fig. 2C. However, mix infections of the two species of *Dirofilaria* (*D. immitis* and *D. repens*) may not be detected by the chosen primer due to the small temperature differential (Tm <0.5°C) of the HRM peaks.

Surveys of filarial infections in animals using blood smear staining methods might mistakenly lead to incorrect diagnoses due to the similarity of the morphology of microfilariae of filariae and when fatigue occurs due to the huge number of slides to be examined under the microscope. In 1995, a survey of filarial infection in cats in Narathiwat province reported that 4.13% (104 of 2515) cats were positive for *B. malayi*-like microfilariae (Phantana et at., 1995). In 2007, another survey of cats, dogs and monkeys from Su-ngai Padi and Su-ngai Kolok, in Narathiwat province reported that *B. malayi*-like microfilariae were detected in 4.05% (10/247) of cats, 3.1% (4/129) of monkeys and mixed infections of *B. malayi*-like and *D. immitis* in 1.05% (3/286) dogs. There were less species of microfilariae detected in these surveys compared to the present study which was undoubtedly due to reliance on morphological (microscopic) assessment only. The unavailability of reliable techniques has hampered epidemiologic surveys that attempt to ascertain the true prevalence of these zoonotic infections. Subsequently, prophylaxis practices of the Filariasis Division, Ministry of Public Health of Thailand which treating all *Brugia* spp. positive cats with a single dose of 100 µg/kg of Ivermectin by subcutaneous injection (Nuchprayoon et al., 2006). If recruitment of the infected cats is based on the microfilarae detection, a number of infected cats with densities of microfilariae below microscopic detection limit may be missing.

The real time PCR with HRM analysis is much more sensitive than blood smear methods for identifying, especially, the microfilarial carriers with low parasite densities. Moreover, this procedure can be performed in a single tube (or well) using single pair of primers without the necessity of specific probes. The assay can be processed rapidly with large sets, such as 96 or 384 samples, in a single run of the PCR procedure. The cost effectiveness of HRM is comparable to or cheaper than conventional PCR (Zhou et al., 2005; Ririe et al., 1997). In addition, by using a single primer pair, in a single well, the assay can identify the PCR product by differentiation of the melting peak based on 3-5 different bases in the amplicon. Each double-stranded DNA (dsDNA) fragment has its characteristic melting behavior, which depends mainly on its GC content, length, and sequence compositions (Dobrowolski et al., 2009). Thus, the filaria species can be clearly distinguished by the different melting temperatures of each species dsDNA. Only *D. immitis* and *D. repens* produce very similar Tms and have to be distinguished using additional primers.

Beside human filarial worms, human also reported to be infected with zoonotic filariae and the number of cases has steadily increased worldwide (Orihel and Eberhard, 1998). Since the first report of dirofilariasis in Hungary in 1879 (Babes, 1880), prevalence of human dirofilariasis is increasing (Kramer et al., 2007). Numerous human dirofilariasis (pulmonary, subcutaneous and ocular cases) have been reported from the European Union, Russia, Sri Lanka, Taiwan, north and south Americas (Orihel and Eberhard, 1998; Tsung and Liu, 2003; Kramer et al., 2007; Genehi et al., 2011; Simon et al., 2012).

The other zoonotic filariae are *Brugia* spp. which dwells in the lymph system. Thailand started a program to eliminate lymphatic filariasis in the year 2003. Annually mass drug treatment had been given to people living in the endemic areas. At present, Thailand is move to the post-MDA surveillance and certification process for elimination (World Health Organization, 2010). The fact that endemic diseases could re-emerge at any time, even in thoroughly controlled endemic regions, where the environmental factors provide suitable conditions for the re-emergence of the transmission-cycle, emphasizes the urgent need to focus on controlling of filarial infection in reservoir hosts.

In conclusion, this study can be used to bridge this human-animal interface by linking research knowledge to the control of zoonoses of human public health and veterinary public health importance. These findings might help in the determination of the public health value of its control efforts in targeting feral and domestic cats important for the successful prevention and control of filariasis in the nocturnally subperiodic *B. malayi* endemic areas. A large number of cat blood samples can be handled in a relatively short time by the real time PCR with HRM analysis. Moreover, the method offers greater sensitivity and validity in species identification than microscopic analysis of Giemsa stained mf slides. This eventually will facilitate the distribution and determination of filarial disease in specified populations, which in turn, supports a continued prophylactic treatment of infected cats in endemic areas.

Acknowledgements

This work was supported by The Thailand Research Fund to Wej Choochote (TRF Senior Research Scholar: RTA5480006). Thanks are also extended to Ms. Nuntiya Mongkong, Ms. Bungon Sermsart, Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj hospital, Mahidol University for laboratory work and staff of Pikhunthong Royal project, Narathiwart province for the field works.

References

1. Albrechtová, K., Sedlák, K., Petrželková, K.J., Hlaváč, J., Mihalca, A.D., Lesingirian, A., Kanyari, P.W., Modrý, D., 2011. Occurrence of filaria in domestic dogs of Samburu pastoralists in Northern Kenya and its associations with canine distemper. Vet. Parasitol. 182, 230-238.
2. Babes, V., 1880. Uber einen in menschihen Peritonaum gefunden nematoden. Arcs Anat. Physiol. Klin. Med. 81, 158-165.
3. Chipattana Network, 1996. Phu Toh Daeng: the last peatswamp forest in Thailand. Chaipattana Found J., Available from: www.chaipat.or.th/journal/apr99/eng/phru.htm
4. Dobrowolski, S.F., Hendrickx, A.T., van den Bosch, B.J., Smeets, H.J., Gray, J., Miller, T., Sears, M., 2009. Identifying sequence variants in the human mitochondrial genome using high-resolution melt (HRM) profiling. Hum. Mutat. 30, 891-898.
5. Genehi, C., Kramer, L.H., Rivasi, F., 2011. Dirofilarial infection in Europe.Vector Borne Zoonotic Dis. 11, 1307-1317.
6. Gray, C.A., Lawrence, R.A., 2002. A role for antibody and Fc receptor in the clearance of *Brugia malayi* microfilariae. Eur. J. Immunol. 32, 1114-1120.
7. Guptavanij, P., Harinasuta, C., Sucharit, S., Vutikes, S., 1971a. Studies on sub-periodic *Brugia malayi* in Southern Thailand. Suntheast Asian J. Trop. Med. Public Health 2, 44-50.
8. Guptavanij, P., Harinasuta, C., Deesin, T., Vutikes. S., 1971b. Prevalence of sub-periodic *Brugia malayi* in areas near the Thai-Malaysian Border. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 2, 100-101.
9. Hargis, A.M., Lewis, T.P., Duclos, D.D., Loeffler, D.G., Rausch, R.L., 1999. Dermatitus associated with microfilariae (Filariodea) in 19 dogs. Vet. Dermatol. 10, 95-107.
10. Kramer, L,H., Kartashev, V.V., Grandi, G., Morchón, R., Nagornii, S.A., et al., 2007. Human subcutaneous dirofilariasis, Russia. Emerg. Infect. Dis. 3, 150-152.
11. Mak, J.W., Yen, P.K., Lim, K.C., Ramiah, N., 1980. Zoonotic implications of cats and dogs in filarial transmission in Peninsular Malaysia. Trop. Geogr. Med. 32, 259-264.
12. Mak, J.W., 1984. Zoonotic filariasis in Malaysia. Malays. Vet. Journal. 8, 9-12.
13. Masbar, S., Palmieri, J.R., Marwoto, H.A., Purnomo, Darwis, F., 1981. Blood parasites of wild and domestic animals from South Kalimantan (Borneo). Indonesia. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 12, 42-46.
14. Nuchprayoon, S., Jumpee, A., Nithiuthai, S., Chungpivat, S., Suvannadabba, S., Poovorawan, Y., 2006. Detection of filarial parasites in domestic cats by PCR-RFLP of ITS1. Vet. Parasitol. 140, 366-372.

15. **Orihel, T.C., Eberhard M.L., 1998.** Zoonotic filariasis. Clin. Microbiol. Reb. 11, 366-381.
16. **Palmeiri, J.R., Masbar, S., Purnomo, Marwoto, H.A., Tirtokusumo, S., Darwis, F., 1985.** The domestic cat as a host for Brugian filariasis in South Kalimantan (Borneo), Indonesia. J. Helminthol. 59, 277-281.
17. **Pantchv, N., Etzold, M., Daugschies, A., Dyachenko. V., 2011.** Diagnosis of imported canine filarial infections in Germany 2008-2010.Parasitol. Res. 109, S61-S76, http://dx.doi.org/ 10.1007/s00436-011-2403-7.
18. **Phantana, S., Sensathien, S., Choomphon, S., 1995.** Microfilariae in cat in Narathiwat, southern Thailand. Commun. Dis. J. 21, 107-113.
19. **Rawlings, C.A., Dawe, D.L., McCall, J.W., Keith, J.C, Prestwood, A.K., 1982.** Four types of occult *Dirofilaria immitis* infection in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 180, 1323-1326.
20. **Ririe, K.M., Rasmussen, R.P., Wittwer, C.T., 1997.** Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction. Anal. Biochem. 245, 154-160.
21. **Rishniw, M., Barr, S.C., Simpson, K.W., Frongillo, M.F., Franz, M., et al., 2006.** Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction. Vet. Parasitol. 135, 303-314.
22. **Simón. F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., et al., 2012.** Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. Clin. Microbiol. Rev. 25, 507-544, http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00012-12.
23. **Simonsen, P,E., Mwakitalu, M.E., 2013.** Urban lymphatic filariasis. Parasitol. Res. 112, 35-44.
24. **Sucharit, S., Harinasuta, C., Viraboonchai, S., Smithanonda, S., 1975.** The differentiation of *Brugia malayi, B. pahangi, B. tupaiae* and *Wuchereria bancrofti.* Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 6, 549-554.
25. **Tsung, S.H., Liu, C.C., 2003.** Human pulmonary dirofilariasis in Taiwan. J. Formos. Med. Assoc. 102, 42-45.
26. **Wongkamchai, S., Monkong, N., Mahannol, P., Taweethavonsawat, P., Loymak, S., Foongladda, S., 2013.** Rapid detection and identification of *Brugia malayi*, *B. pahangi*, and *Dirofilaria immitis* by high-resolution melting assay. Vector Borne Zoonotic Dis. 13, 31-36.
27. **World Health Organization, 1991.** Basic Laboratory Methods in Medical Parasitology. World Health Organization, Geneva, pp. 1-114.
28. **World Health Organization, 2010.** Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis (GPELF). Progress Report 2000-2009 and Strategic Plan 2010-2020., pp. 58-62, Available from: whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241500722_eng.pdf.
29. **Yen, P.K., Mak, J.W., 1978.** Histochemical differentiation of *Brugia, Wuchereria, Dirofilaria* and *Breinlia microfilariae.* Ann. Trop. Med. Parasitol. 72, 157-162.

30. Zhou, L., Wang, L., Palais, R., Pryor, R. Wittwer, C.T., 2005. High-resolution DNA melting analysis for simultaneous mutation scanning and genotyping in solution. Clin. Chem. 51, 157-162.
31. Zielke, E., Hinz1, E., Sucharit, S., 1993. Lymphatic filariasis in Thailand: a review on distribution and transmission. Mitt. Osterr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 15, 141-148.

An ELISA kit with two detection modes for the diagnosis of lymphatic filariasis

S. Wongkamchai[1*], W. Satimai[2], S. Loymek[3], H. Nochot[1] and J.J. Boitano[1]

[1]*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand:*

[2] *Bureau of Vector-Borne Disease, Department of Disease Control, Nonthaburi Province, Thailand:*

[3]*Filaria Project, Phikulthong Royal Development Study Center, Narathiwatt, Thailand*

Abstract

The aim of this study was to develop a low-cost antifilarial immunoglobulin (Ig) G4 detection kit for the diagnosis of lymphatic filariasis. The kit was designed to be used by minimally trained personnel without the constraints of expensive laboratory equipment. We provide a description of the development and validation of a single-serum-dilution based enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit with ready-to-use reagents for measuring antifilarial IgG4 antibodies. The kit was tested on residents in *Brugia malayi*-endemic areas in southern Thailand. Detection was performed by naked-eye observation of the resultant colour of the immunological reactivity. The coefficient of variation (CV) was used to assess the reproducibility of the results. Long-term stability was measured over a 6-month period. Sensitivity of the test kit was 97% when compared with microfilariae detection in thick blood smears. Specificity was 98.7% based on the sera of 57 patients living outside the endemic areas who were infected with other parasites and 100 parasite-free subjects. All positive CVs were<10%. The test kit was remarkably stable over 6 months. Field validation was performed by the detection of antifilarial IgG4 in 4365 serum samples collected from residents of brugian filariasis-endemic areas and compared with outcome colours of the test samples by the naked eye. Subsequent ELISA evaluation of these results using an ELISA reader indicated high agreement by the kappa statistic. These results demonstrate that the test kit is efficient and useful for public health laboratories as an alternative tool for the diagnosis of lymphatic filarial infection.

*Fax: +66-2-4112084

E-mail: sirichit.won@mahidol.ac.th

Introduction

Lymphatic filariasis (LF) has been identified as one of six infectious diseases that have the potential for elimination as a public health problem. Ever since the Global Alliance to Eliminate Lymphatic Filariasis was formed in 2000 at a meeting in Santiago de Compostela, Spain, in support of the World Health Organization's Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis (GPELF), efforts have been dedicated to eliminating lymphatic filariasis as a public health problem and also reducing suffering in infected populations (GAELF, 2012). The GPELF incorporates disability management to ensure 'a visible impact' on those who are already affected by the disease, along with interrupting the transmission of LF by annual mass drug administration (MDA) (Ottesen, 2000). The GPELF recommends that all those living in at-risk communities should be treated orally, once per year, with an appropriate, two-drug combination (Molyneux & Zagaria, 2002). Engels, addressing the seventh GPELF mapping the worldwide distribution of lymphatic filariasis, indicated that as of 2011, 73 endemic countries required MDA to 1.39 billion people, even though 538.6 million people were treated in 2010-2011. The South-East Asia Region of nine endemic countries accounted for 63.4%, i.e. 883.7 million, of the population requiring MDA (Engels, 2012).

For a successful GPELF, a strong system of evaluation and monitoring of programme outcomes and MDA coverage of transmission interruption is essential. Much of the available information on the geographical distribution of this disease is historical and based on utilizing the microscopic examination of thick blood smears collected at night. However, this method is labour-intensive while being deficient in detecting amicrofilaraemics (Weil, 2005). The development of the immunochromatography test (ICT) for filariasis was a 'breakthrough' in this field (Weil *et al*., 1997), as it facilitated filarial diagnostics by enabling antigens from adult *Wuchereria bancrofti* to be detected in fingerprick samples of blood collected at any time of the day, thereby obviating the need for inconvenient blood sampling during the night. It also facilitated the rapid mapping of each country's levels of endemic lymphatic filariasis and, subsequently, defining implementation units.

The testing for brugian filariasis did not keep pace with the assays for detecting *W. bancrofti* due to the absence of a responsive antigen test. However, antibody detection is still desirable over the parasitological methods that estimate transmission in the here and now, as it represents, over time, a cumulative history of the contamination (Lammie, 2004). A significantly higher prevalence of immunoglobulin (Ig) G4 than microfilaraemia in microfilaraemics has been demonstrated, indicating that this antibody may serve as a measure of active infections, and could therefore provide a more inclusive and detailed mapping of endemic areas (Haarbrink *et al.*, 1999). Antibody testing has become a viable option with the development of the Brugia rapid dipstick test, which pairs antifilarial antibodies with a *Brugia malayi* recombinant antigen (*Bm* RI) (Rahmah *et al., 2003;* Lammie *et al.,*

2004), indicating high specificity and sensitivity of the Brugia rapid dipstick test in detecting filariasis caused by the *B. malayi* parasite.

Although a commercial test kit for antifilarial IgG4 detection is available, its cost prohibits extensive use and mass testing in endemic regions of countries with constrained financial resources. We previously demonstrated and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) procedure for the detection of isotype antibodies, specifically IgG4, in residents of brugian filariasis-endemic areas in Narathiwat province, southen Thailand, who manifested a spectrum of clinical disorders. The developed assay was sensitive and specific for the diagnosis of brugian filariasis (Wongkamchai *et al*., 2006). Thus, the overall goal of the present study was to develop a simple and readily transferable ELISA for the detection of antifilarial IgG4 antibodies in human serum samples that could subsequently be subjected to and appropriate clinical assessment.

A single-serum-dilution based ELISA procedure with ready-to-use reagents was designed and optimized to quantify the antifilarial IgG4 antibodies as a response to lymphatic filarial infection. The complete process from research to development of the initial assay, resulting in a prototype test kit, is described, along with its evaluation and validation by an independent collaborative laboratory. This single-serum-dilution based ELISA test kit exhibits two modes of detection for the diagnosis of lymphatic filarial infections.

Materials and methods

Detection of antifilarial IgG4 antibodies

An antifilarial IgG4 antibody assay was performed following a method established previously (Wongkamchai *et al.,* 2006), with some modification. Microtitre wells were coated with *B. malayi* somatic antigen diluted in a carbonate buffer, pH 9.6. The plate was incubated at 4°C overnight. The unbound antigen was washed away using a washing buffer. The non-specific binding sites of each well were blocked by incubating with 200 µl of a milk-free blocking solution and 100 µl diluent were added into each well. Then 1 µl of each test sample was pipetted into the wells, one serum sample/well. The plate was shaken for 2 min using a low-frequency vortex mixer before being incubated for 1h at 37°C. After washing, 100 µl of mouse monoclonal antibody to human IgG4-horseradish peroxidase (HRP) were added into each well and incubated for another 1h at 37°C. After washing, 100 µl of ABTS (2, 2′-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)) substrate solution were added into each well, after which the plate was kept in the dark at ambient room temperature for 10 min. The optical density (OD) of each test sample was measured at 405 nm.

Optimal reagent concentration

To optimize the antigen concentration, microtitre wells were coated with various concentrations of *B. malayi* somatic antigen, i.e. 10, 5, 2.5 and 1.25 µg/ml. The assays were performed, as mentioned above, using the control samples, i.e. high-positive control, low-positive control, negative control and bovine serum albumin. Graphs of the OD of samples against each antigen concentration were plotted. The optimal antigen concentration was chosen.

To optimize the concentration of the conjugate, mouse monoclonal antibody to human IgG4-HRP, assays were performed using various concentrations of the conjugate, i.e. 2, 1, 0.5, 0.25 and 0.12 µg/ml. Graphs of the OD of samples against each concentration of the conjugate were plotted. The optimal concentration of the conjugate was selected.

Cut-off point determination

A total of 100 serum samples obtained from parasite-free healthy subjects living outside the endemic areas of lymphatic filariasis were tested in duplicate using the optimal antigen and conjugate concentrations. The mean OD and standard deviation (SD) were calculated.

A receiver operating characteristic (ROC) curve was used to determine the sensitivity and specificity of the assay (Akobeng, 2007a, b).

Preparation of the ELISA test

Wells of a 96-well flat-bottomed microplate (Costar, Corning, Union City, California, USA) were coated with *B. malayi* somatic antigen using the optimal concentration of 0.5 µg/well in carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.4, 100 µl/well. The microplate was incubated overnight at 4°C and washed with phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.2, and containing 1% Tween 20 in preservative. The non-specific binding sites of each well were blocked by incubation with 200 µl of a milk-free solution. The microplate was wrapped in a sealed, foil-lined bag and silica was added.

The 10 x washing solution of PBS, pH 7.2, containing 1% Tween 20, and its preservative were added. The diluents, consisting of PBS, pH 7.2, containing 1% bovine serum albumin (Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, USA), and 0.05% polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20; Sigma Chemicals) were conjugated and the preservative was added. The conjugate solution consisting of an optimized concentration, i.e. 1:1000, of HRP-mouse monoclonal antibody to human IgG4 (HRP-mouse anti-human IgG4; Invitrogen Laboratories, Grand Island, New York, USA) was prepared. The ABTS substrate solution was composed of one vial of ABTS substrate (KPL, Gaithersburg, Maryland, USA). A set of control samples of 2 ml/vial comprised a high-positive control, a cut-off control and a negative control. The in house test kit was stored refrigerated at 2-8°C.

Assay protocol

The ready-for-use washing solution was prepared by adding 900 ml of sterile distilled water to the 10 x washing buffer. The washing solution was stored at 2-8°C. The assay was performed as follows. A set of control samples, i.e. high-positive control, cut-off control and negative control sample, were added into wells A1, B1 and C1, respectively, at 100 µl/well. The diluents were added into the other wells, at 100 µl/well, and 1 µl of each serum sample was pipetted into the wells, at one serum sample/well. To promote mixing, the plate was shaken for 2 min using a low-frequency vortex mixer before being incubated for 1 h at 37°C. After washing, 100 µl of mouse monoclonal antibody to human IgG4-HRP were added into each well and incubated for another 1 h at 37°C. After washing, 100 µl of ABTS substrate solution were added into each well, and the plate was kept in the dark at room temperature for 10 min.

The assay result was measured and interpreted using two detection modes. First, OD was measured using the ELISA reader at 405 nm. Second, the colour of the test sample's well was compared with the colour of the cut-off control well by the naked eye. The test sample was considered positive of the intensity of the green colour of the sample's well was equal to or higher than the green colour of the cut-off well, whereas the sample was considered negative if the test well showed no colour, or if the intensity of the green colour was less than that of the cut-off well.

Sensitivity and specificity

To determine the sensitivity of the developed test kit, 4 and 30 microfilaraemic cases of bancroftian and brugian filariasis, respectively, were considered true positives and were used as the 'gold standard test'. A total of 100 serum samples from parasitic-free healthy subjects living in a non-endemic area were considered true negatives. Our cross-reactivity sample comprised 57 subjects infected with other parasites who lived outside lymphatic filariasis-endemic areas.

Gastrointestinal parasitic infections were detected from stools of the 57 subjects using the formalin-ethyl acetate concentration technique. *Ascaris lumbricoides* was detected in 3 subjects, *Strongyloides stercoralis* in 33 subjects, hookworm in 2 subjects, *Capillaria phillipphinensis* in 2 subjects, *Ophistorchis viverrini* in 4 subjects, *Echinostoma* spp. in 1 subject and *Taenia* in 2 subjects. Tissue-dwelling parasites, i.e. *Angiostrongylus cantonensis* in 3 subjects, *Gnathostoma spinigerum* in 4 subjects and *Cysticercus* in 3 subjects, were diagnosed by the detection of specific antibodies against these parasites. Both healthy subjects and other parasite-infected subjects were used to determine the specificity of the test kit. The positive and negative predictive values of the kit were also determined.

Intra- and inter-assays

These assays were determined by repeated testing of three individual serum samples representing strongly positive, positive and negative levels of antigenic reactivity. Positive controls were also used. The intra-assay variation of the developed test kit was determined by performing 12 precision runs of the same samples at the same time. The reproducibility of results was assessed by calculating coefficient of variation (CV) values [%CV = (SD/mean) x 100]. The inter-assay variation was determined by performing 21 precisions runs on 21 separate days and evaluating the same serum samples in 21 consecutive assay runs. CV values were calculated to compare mean ODs for the same samples on different days.

Stability and reliability of the test kit

To monitor the stability of the test kit, an assay was conducted monthly for 7 months using the high-positive, low-positive as a cut-off, and negative controls provided in the kit package, and tracked over time. The results were based on the manual calculation of means and 2 x SD values of data. A complete record of the results was maintained. A test was considered valid when all the mean OD values of the controls were within the ± 2 SD limits as prescribed.

To compare the two detection modes, fingerprick daytime blood samples were collected from 4365 children living in brugian filariasis-endemic areas in Narathiwart province. The ages of the children ranged from 2 to 6 years and they resided in the seven districts of Sugai-Padi, Sugai-kolok, Tak-Bai, Yi-Ngo, Bacho, Jong Ailong and Muang, comprising 22 subdistricts and 87 villages. All personnel were provided with hands-on training for test kit usage prior to actually using the test kit. To ascertain the reliability of the test results, the same set of test samples was evaluated in the Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Bangkok.

Data analysis

SPSS 13 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) was used for all parametric and non-parametric descriptive measures, which included all means, SDs and correlations where appropriate. A percentage measure of dispersion, the CV, of intra-and inter-assay validation was also calculated. The kappa statistic was used to measure the extent of agreement between the naked-eye determination from the test kit and the output of ELISA.

Results

Detection of antifilarial IgG4 antibodies

Optimization of reagent and condition

Titration curves were plotted between the OD of the control sample and various concentrations of the *B. malayi* somatic antigen and the reciprocal titre of the HRP conjugate (fig. 1). The antigen concentration of 5 µg/ml and the conjugate diluted at 1:1000 were chosen as optimal for the test kit.

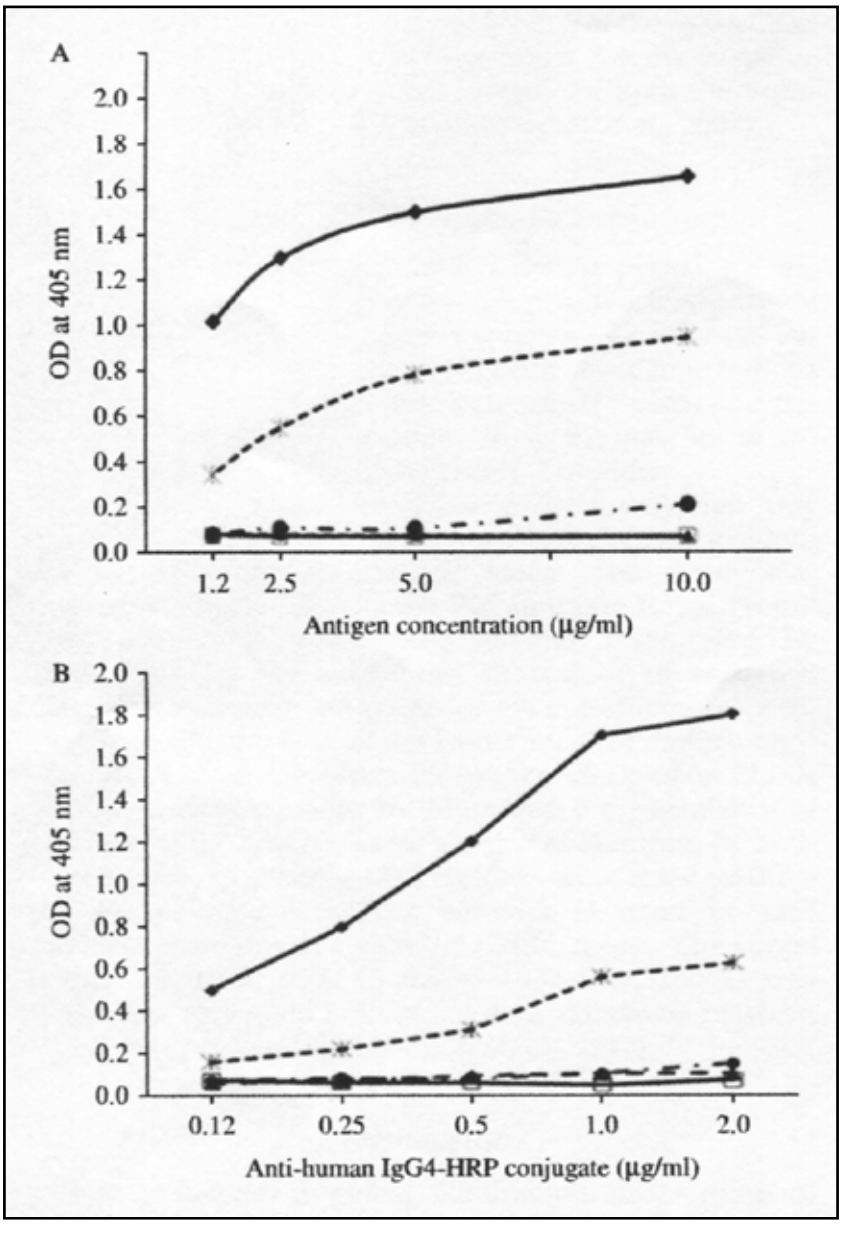


Fig. 1. Relationship between optical density (OD) values and (A) antigen concentrations and (B) anti-human immunoglobulin (Ig) G4-horseradish peroxidase (HRP) conjugate concentrations. (-♦-), high-positive serum; (-∗-), low-positive serum; (-●-), negative serum; (-□-), bovine serum albumin; (-▲-), substrate blank.

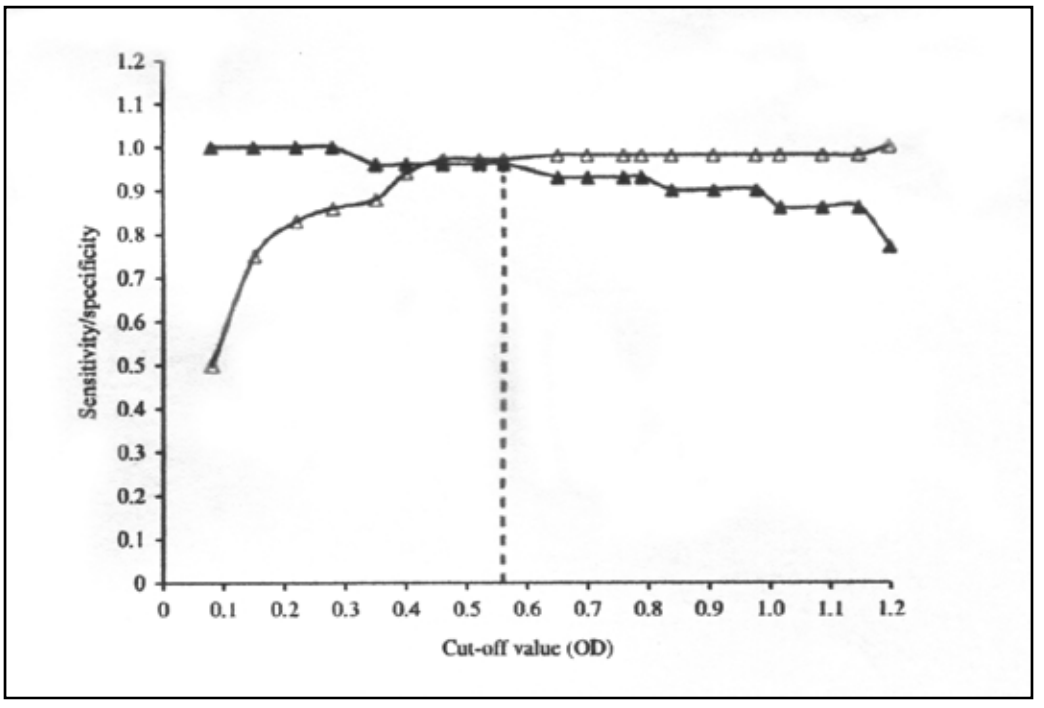


Fig. 2. Receiver operating characteristic curve of the relationship between sensitivity / specificity of the test kit and cut-off values of the antifilarial immunoglobulin (Ig) G4 antibodies. (---), optimal cut-off value; (-▲-), sensitivity; (-Δ-), specificity.

Cut-off determination

ROC curve analysis was used to determine the sensitivity and specificity of the prototype test kit for the detection of antifilarial IgG4 at various cut-off OD values, i.e. 0.1-1.3, from mean + 0.5 SD to mean + 10.0 SD. The true positive rate, or sensitivity, was plotted as a function of the false-positive rate, i.e. 1 - specificity, for different cut-off points (fig. 2). Each points (fig. 2). Each point on the ROC plot represents a sensitivity-specificity pair corresponding to a particular cut-off OD value. The optimal cut-off value, giving the highest index for both specificity and sensitivity, was 0.56, with a sensitivity of 0.97 and a specificity of 0.97. Therefore the OD of 0.56 was chosen as the cut-off value for the test kit.

Sensitivity and specificity

When compared with the 'gold standard' method of microfilariae detection, the sensitivity of the test kit was found to be 97%, as the kit detected antibodies in 33 of the 34 infected cases. Serum samples from 57 patients living outside the endemic areas who were infected with other parasites and serum samples from 100 normal parasitefree subjects were used to determine the specificity of the test kit. The specificity of the developed test kit was found to be 98.7%, as antibodies were detected in only 2 of the 157 subjects. The positive and negative predicitve values were 94.2% and 99.3%, respectively.

Intra-and inter-assays

The CVs for intra-and inter-assays were determined by repeated testing of three individual serum samples representing three levels of antigenic reactivity, i.e. strongly positive, positive and negative, and the positive control. Differences in CVs in both assays, with respect to positive variables, were relatively low, being 1.94% and 2.58% in the repeated testing of intra-and inter-assays, respectively (table 1). However, the very high CVs of 100% of both intra-and inter-assays of the negative serum sample reflect a weak or near-zero value of the mean ODs. A better and more appropriate index for the negative serum would be mean ± SD, which for both the intra- and inter-assays would be 0-2% (Servat *et al.,* 2007).

Table 1. Intra- and inter-assay validation for the ELISA. Mean optical density values (± SD) obtained in validating intra-and inter-assays for the ELISA test using 12 (*) and 21 (**) repeats of test and control sera.

Serum samples	Positive control	Strongly positive	Positive	Negative
Intra-assay*				
Optical density	1.66 ± 0.1	1.81 ± 0.09	0.96 ± 0.07	0.01 ± 0.01
% Coefficient of variation	5.91	4.86	6.80	100
Inter-assay**				
Optical density	1.73 ± 0.07	1.92 ± 0.10	1.08 ± 0.10	0.01 ± 0.01
% Coefficient of variation	4.23	5.37	7.95	100

Stability and reliability of the test kit

ODs were measured over a 7-month period for the antigenic activity attributed to high-positive, low-positive and negative controls (fig. 3). The mean OD values of the controls were all within the 2 SD limits over time but did manifest a gradual reduction between the sixth and the seventh month of observation. Thus, the stability of the developed test kit is approximately 7 months.

For field validation, antifilarial IgG4 detection was performed on the blood taken from 4365 children residing in brugian filariasis-endemic areas. The assay was performed by the staff of the Pikhunthong Royal Project and the result was measured and interpreted by comparing by the naked eye the colour of each test sample's well with the colour of the cut-off control well. Additionally, the staff of the Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital performed

an ELISA using an ELISA reader to determine the prevalence of antifilarial IgG4 in the same sample of children. By both procedures, 18 cases of 4365 children were rated positive by the naked-eye reading whereas 11 cases of 4365 children were positive with the ELISA reader. The kappa metric of 0.758, 95% CI 0.584-0.932 ($P< 0.0001$) was judged as very good in its strength of agreement between these two procedures (Landis & Koch, 1977).

Discussion

For a successful global elimination programme of lymphatic filariasis, a strong system of evaluation and sensitive tools for monitoring are essential. Problems arise when measuring the extent of brugian filariasis, especially when using thick blood smears and night blood collection, which are often inaccurate and inconvenient, respectively. Additionally, unlike the measurement of *W. bancrofti,* no antigen detection assay is available for *B. malayi.*

We previously developed an ELISA assay for the detection of isotype antibodies including IgG4 antibodies in residents of a brugian filariasis-endemic area in Narathiwart province, southern Thailand. This assay was sensitive and specific for the diagnosis of brugian filariasis in subjects displaying a wide spectrum of clinical manifestations (Wogkamchai *et al*., 2006). When compared with similar commercially available products, the cost of this in-house assay is significantly reduced and could readily be used diagnostically, thereby overcoming the disadvantages of the microfilariae detection method.

Nevertheless, the in-house ELISA assay has some shortcomings. It takes a long time to perform, including overnight incubation; it requires the preparation of many regents; it involves the use of expensive equipment such as the ELISA washer and reader; and it requires trained personnel with appropriate expertise. In resource-poor endemic areas, satisfying these requirements is unsuitable and virtually impossible. Thus, we report here the development and validation of a single-serum-dilution based ELISA test kit with ready-to use reagents for detecting antifilarial IgG4 antibodies.

The intention of this project was to develop an ELISA assay that could be performed successfully by any laboratory lacking the necessary sophisticated equipment, and by an analyst with no, or only minimal, experience. To fulfil these requirements, the potential test kit must be sufficiently rigorous and robust in demonstrating specificity, sensitivity, reliability/repeatability and validity. The developed test kit, when used to analyse patient serum samples, revealed high sensitivity and specificity. The CVs for both intra- and inter-assay variability were less than 10% for postitve samples, while for the negative samples, the CV was relatively high due to the very low OD value, which was near zero. The absolute SDs for both tests were comparable for all positive samples. In general terms, the CV percentage indicated that the developed test kit was precise and consistent. The validity

requirement was satisfied in at least two ways. First, the test kit was in 97% agreement with microfilariae detection by blood film examination and second, the kappa statistic may be interpreted as better than substantial agreement between the results of the test kit and the outcome of ELISA (Viera & Garrett, 2005).

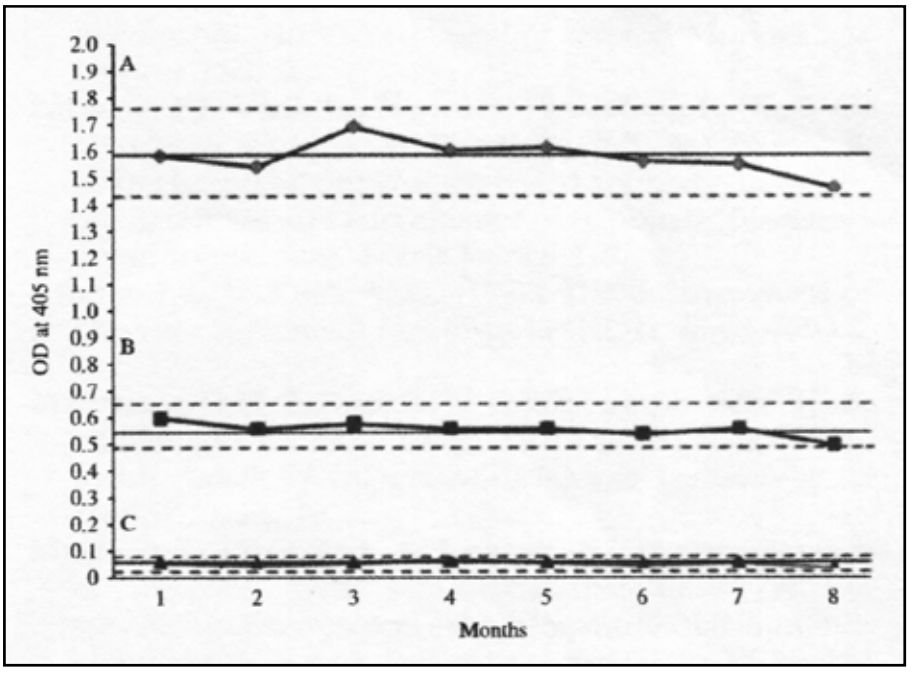


Fig. 3. Optical density (OD) of three controls plotted over monthly intervals. --- mean ± 2 standard deviation (mean ± 2SD): (A) high-positive control, (B) low-positive control (cut-off control), (C) negative control.

One possible limitation of the antifilarial antibody assay using crude *B. malayi* is the cross-reactivity with other nematode parasites, including *S. stercoralis* (Muck *et al.,* 2003). This caveat was negated in our cross-reactivity sample of 57 patients living outside the *B. malayi*-endemic areas, who were infected with other parasites, including *S. stercoralis.* Only 2 of 33 cases with *S. stercoralis* showed infectivity, indicating a negligible influence on the IgG4 antibody response.

Besides being sensitive and specific, an ideal serodiagnostic test, especially for developing countries, should be cheap, simple and easy to perform (Voller & De Savigny, 1981). The results presented here demonstrate that the developed test kit is simplified by the ready-to-use reagent provided. Moreover, in the sample application step, diluents fill the 96 wells within 2 min. Then 1 µl of each test serum or plasma sample is added into each well, followed by shaking the plate for 2 min using a vortex mixer. No pre-diluted serum in Eppendorf tubes is needed. Moreover, the assay result

can also be interpreted by the naked eye. Thus, this procedure would reduce the number of procedural manipulations needed to physically perform the assay, and eliminate the need for a full set of standard equipment, leading to a greater simplification of the interpretation of the results.

In conclusion, this study presents a process of development and validation of a single-serum-dilution based ELISA test kit with ready-to-use reagents for detecting antifilarial IgG4 antibodies. With a minimum of common laboratory equipment, this assay may be completed successfully by district public health laboratories assessing the burden of lymphatic filariasis in residents of disease-endemic areas.

Acknowledgements

Special thanks are extended to Ms Bungon Sermsart from the Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University for technical assistance. Thanks are also offered to the staff of the Filaria division, Disease Control Department, Ministry of Public Health and the staff of the Filaria Project, Phikhunthong Royal Project for the field validation of the developed test kit.

Financial support

This work was supported by grant number 2551-197 from the Thailand Research Council.

Conflict of interest

The ELISA test kits have been produced and used in Thailand.

Ethical standards

The authors assert that all procedures contributing to this work comply with the ethical standards of the relevant national guidelines on human experimentation and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2008, and has been approved by the Ethics Committee on Research Involving Human Subjects, from the Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, Thailand.

References

1. Akobeng, A.K. (2007a) Understanding diagnostic tests 1: sensitivity, specificity and predictive values. *Acta Paediatrica* **96**, 338-341.
2. Akobeng, A.K. (2007b) Understanding diagnostic tests 3: receiver operating characteristic curves. *Acta Paediatrica* **96**, 644-647.
3. Engels, D. (2012) PC- and WHO's strategic plan for NTDs. Seventh meeting of GAELF, Washington, DC. Available at http://www.filariasis.org/documents/allpresdayone.pdf (accessed July 2013).
4. GAELF (2012) Global Alliance to Eliminate Lymphatic Filariasis, history. Available at http://www.filariasis.org/history.html (accessed July 2013).
5. Haarbrink, M., Terhell, A.J., Abadi, K., Asri, M., de Medeiros, F. & Yazdanbakhsh, M. (1999) Anti-filarial IgG4 in men and women living in *Brugia malayi*-endemic areas. *Tropical Medicine and International Health* **4**, 93-97.
6. Lammie, P.J. (2004) Research directly linked with GPLF activities (Operational Research). 2.1 Essential tools - diagnostics. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **71**, 3-6.
7. Lammie, P.J., Weil, G., Noordin, R., Kaliraj, P., Steel, C., Goodman, D., Lakshmikanthan, V.B. & Ottesen, E. (2004) Recombinant antigen-based antibody assays for the diagnosis and surveillance of lymphatic filariasis - a multicenter trial. *Filaria Journal* **3**, 9.
8. Landis, J.R. & Koch, G.G. (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* **33**, 159-174.
9. Molyneux, D.H. & Zagaria, N. (2002) Lymphatic filariasis elimination progress in global programme development. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **96** (Suppl. 2), 15-40.
10. Muck, A.E., Pires, M.L. & Lammie, P.J. (2003) Influence of infection with non-filarial helminths on the specificity of serological assays for antifilarial immunoglobulin G4. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **97**, 88-90.
11. Ottesen, E.A. (2000) The Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. *Tropical Medicine and International Health* **5**, 591-594.
12. Ottesen, E.A. (2000) The Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. *Tropical Medicine and International Health* **5**, 591-594.
13. Rahmah, N., Shenoy, R.K., Nutman, T.B., Weiss, N., Gilmour, K., Maizels, R.M., Yazdanbakhsh, M. & Sartono, E. (2003) Multicentre laboratory evaluation of Brugia Rapid Dipstick test for detection of brugian filariasis. *Tropical Medicine and International Health* **8**, 895-900.

14. **Servat, A., Feyssaguet, M., Blanchard, I., Morize, J.L., Schereffer, J.L., Boue, F. & Cliquet, F.** (2007) A quantitative indirect ELISA to monitor the effectiveness of rabies vaccination in domestic and wild carnivores. *Journal of Immunological Methods* **318,** 1-10.
15. **Viera, A.J. & Garrett, J.M.** (2005) Understanding interobserver agreement: the kappa statistic. *Family Medicine* **37**, 360-363.
16. **Voller, A. & De Savigny, D.** (1981) Diagnostic serology of tropical parasitic diseases. *Journal of Immunological Methods* **46,** 1-29.
17. **Weil, G.J.** (2005) Annex 6. Diagnostic tools for filariasis elimination programmes. Report of the Scientific Working Group on Lymphatic Filariasis. Available at http://www.who.int/tdr/publications/publications/swg_lymph_fil.htm (accessed June 2013).
18. **Weil, G.J., Lammie, P.J. & Weiss, N.** (1997) The ICT filariasis test: a rapid-format antigen test for diagnosis of Bancroftian filariasis. *Parasitology Today* **13,** 401-404.
19. **Wongkamchai, S., Rochjanawatsiriroj, C., Monkong, N., Nochot, H., Loymek, S., Jiraamornnimit, C., Hunnangkul, S. & Choochote, W.** (2006) Diagnostic value of IgG isotype responses against *Brugia malayi* antifilarial antibodies in the clinical spectrum of brugian filariasis. *Journal of Helminthology* **80,** 363-367.

เอกสารอ้างอิง

(งานวิจัยโรคเท้าช้างที่ตีพิมพ์ภาษาอังกฤษ)

1. Iyengar M. Filariasis in Thailand. Bull World Health Organ. 1953; 9(6): 731-66.
2. Manning SG, Desowitz R, Sukhavat K, Viyanant. Studies on human filariasis in Southern Thailand. 1967. (research report)
3. Guptavanij P, Harinasuta C. The periodicity of *Brugia malayi* in South Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1977; 8(2): 185-9.
4. Guptavanij P, Harinasuta C, Vutikes S, Deesin T, Surathin K. The vectors of *Brugia malayi* in Southern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1978; 9(4): 543-8.
5. Sucharit S, Harinasuta C, Choochote W. Experimental transmission of subperiodic *Wuchereria bancrofti* to the leaf monkey (Presbytis melalophos), and its periodicity. Am J Trop Med Hyg. 1982; 31(3 Pt 1): 599-601.
6. Sucharit S, Apiwathnasorn C, Rukkeartskul R, Kerdpibule V. Improved oviposition medium for *Mansonia* colonization [Laboratory rearing of mosquitos]. Mosquito News. 1982; 42(3): 357-9.
7. Apiwathnasorn C, Komalamisra N, Thongrungkiat S, Sucharit S. A simplified key for larval identification of *Mansonia* mosquitoes in Thailand. Mosq-Borne Dis Bull. 1991; 8: 1-5.
8. Kanjanopas K, Choochote W, Jitpakdi A, Suvannadabba S, Loymak S, Chungpivat S, et al. *Brugia malayi* in a naturally infected cat from Narathiwat Province, southern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2001; 32: 585-7.
9. Triteeraprapab S, Karnjanopas K, Porksakorn C, Sai-Ngam A, Yentakam S, Loymak S. Lymphatic Filariasis Caused by *Brugia malayi* in an Endemic Area of Narathiwat Province, Southern of Thailand. J Med Assoc Thai 2001; 84(Suppl 1): s182-8.
10. Sarataphan N, Phantana S, Chansiri K. Susceptibility of *Mansonia indiana* (Diptera: Culicidae) to Nocturnally Subperiodic *Brugia malayi* (Spirurida: Filariodea). J Med Entomol. 2002; 39(1): 215-7.
11. Wongkamchai S, Choochote W, Jitpuckdee A, Suvannadabba S, Loymak S, Sakolvaree Y, et al. An antigen detection assay for diagnosing filariasis. Asian Pac J Allergy Immunol. 2003; 21(4): 241-52.
12. Apiwathnasorn C, Kanjanopas K, Thammapalo S, Loymak S, Samung Y, Prummongkol S, et al. Application of GIS to the characterization of filariasis transmission in Narathiwat Province. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2003; 34: 61-6.
13. Apiwathnasorn C, Samung Y, Prummongkol S, Asavanich A, Komalamisra N. Surveys for natural host plants of *Mansonia* mosquitoes inhabiting Toh Daeng peat swamp forest, Narathiwat Province, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2006; 37(2): 279-82.

14. Apiwathnasorn C, Samung Y, Prummongkol S, Asavanich A, Komalamisra N, Mccall P. Bionomics studies of *Mansonia* mosquitoes inhabiting the peat swamp forest. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2006; 37(2): 272-8.
15. Wongkamchai S, Rochjanawatsiriroj C, Monkong N, Nochot H, Loymek S, Jiraamornnimit C, et al. Diagnostic value of IgG isotype responses against *Brugia malayi* antifilarial antibodies in the clinical spectrum of brugian filariasis. J Helminthol. 2006; 80(4): 363-7.
16. Samung Y, Palakul K, Apiwathnasorn C, Prummongkol S, Asavanich A, Leemingsawat S. Laboratory colonization of *Mansonia* mosquitoes with an emphasis on *Ma. annulata* and *Ma. bonneae*. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2006; 37(4): 656-61.
17. Apiwathnasorn C, Samung Y, Prummongkol S, Panasoponkul C, Loymek S. Mosquito fauna of "Toh Daeng" swamp forest, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2009; 40(4): 720-6.
18. Loymek S, Wongkamchai S, Kob-asa T, Choochote W, Monkong N, Chitnabut P, et al. Impact of a filariasis control program on intestinal helminthic infections; a pilot study in Narathiwat Province, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2004; 35(1): 63-7.
19. Wongkamchai S, Nochote H, Foongladda S, Dekumyoy P, Thammapalo S, Boitano JJ, et al. A high resolution melting real time PCR for mapping of filaria infection in domestic cats living in brugian filariosis-endemic areas. Vet Parasitol. 2014; 201(1): 120-7.
20. Wongkamchai S, Satimai W, Loymek S, Nochot H, Boitano J. An ELISA kit with two detection modes for the diagnosis of lymphatic filariasis. J Helminthol. 2015; 89(5): 552-8.

3 Decades

The Phikul Thong Royal Development Project