

ทิศทางวิธีการการวินิจฉัยที่ทันสมัยของโรคเท้าช้างในคน

Toward Update Tools for Human *Lymphatic filariasis* Diagnosis

ต้องจิตร์ ถันชนนัง¹

Tongjit Thanchomnang¹

Received : 6 June 2012 ; Accepted : 15 September 2012

บทคัดย่อ

โรคเท้าช้าง (*Lymphatic filariasis*) เกิดจากพยาธิตัวกลมในกลุ่มฟิลาเรียคือ *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* และ *B. timori* โดยมีผู้เป็นพาหะนำโรค ซึ่งเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขของประเทศเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยด้วย โดยมีประชากรประมาณ 120 ล้านคนติดพยาธิโรคเท้าช้าง กระจายอยู่ใน 83 ประเทศทั่วโลก ซึ่งร้อยละ 90 มีสาเหตุจากพยาธิ *W. bancrofti* และอีกร้อยละ 10 เกิดจากพยาธิ *B. malayi* และ *B. timori* ถึงแม้ว่าผู้ป่วยโรคเท้าช้างส่วนใหญ่ไม่เป็นอันตรายถึงชีวิต แต่พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยระยะเรื้อรังของโรคเป็นเหตุให้เกิดภาวะทุพพลภาพ และพิการอย่างถาวร โดยองค์การอนามัยโลกจัดให้โรคเท้าช้างเป็น 1 ใน 6 โรค ที่สามารถกำจัดให้หมดสิ้นไป สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้าง หากเป็นผู้ที่อยู่ในแหล่งระบาด และยังไม่ปรากฏอาการ แพทย์จะให้ความสำคัญในการซักประวัติ และผลการตรวจร่างกายเป็นหลัก การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่ถูกต้อง คือ การตรวจหาระยะไมโครฟิลาเรียในกระแสดเลือด โดยเจาะเลือด และทำฟิล์มเลือดหนา (thick blood film) นามาย้อมสี Giemsa และดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งถือเป็นวิธีมาตรฐาน ที่ทำได้ง่าย ราคาถูก สะดวก แต่การตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญด้านปรสิตวิทยา และหากมีปริมาณการติดเชื้อต่ำอาจทำให้มีโอกาสเกิดผลลบปลอมสูง ดังนั้นวิธีการทางวิทยาภูมิคุ้มกันและวิธีการตรวจทางอณูชีววิทยาจึงได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อช่วยสนับสนุนการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างให้มีความไวและความจำเพาะมากขึ้น บทความฉบับนี้จึงได้รวบรวมการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้าง เพื่อเป็นแนวทางให้แพทย์และบุคลากรด้านสาธารณสุขได้ใช้เป็นแนวทางในการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อไป

คำสำคัญ: โรคเท้าช้าง *Wuchereria bancrofti* *Brugia malayi* วิธีการตรวจวินิจฉัย

Abstract

Human lymphatic filariasis, a mosquito-borne disease, is caused by the nematodes *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* and *Brugia timori*. It is a major public health problem, particularly in the tropics and subtropics, including Thailand. Approximately 120 million people of 83 country worldwide are infected, of these 90% are caused by *W. bancrofti* and the other 10% are caused by *B. malayi* and *B. timori*. Although it does not cause major mortality, chronic pathology occurred in patients causes permanent disability and handicap. World Health Organization has categorized lymphatic filariasis as one of the most six disease which can be totally eliminated. For lymphatic filariasis diagnosis in asymptomatic patients, profile interview and physical examination is emphasized. The precise laboratory diagnosis is blood microfilaria investigation. This procedure can be archived by blood collection and microscopic thick blood film preparation for Giemsa staining. It is standardized, simple, cheap and convenient. However, microscopic determination may need the parasitological experts. When specimens are less infected intensity, false negative results may be found, suggesting that this procedure is low sensitivity. Thus, immunological and molecular biology methods to identify the lymphatic filariasis were developed to improve sensitivity and specificity of diagnostic tools. This review article aims to compile all lymphatic filariasis diagnostic methods in order to obtain the suitable guideline for the effective diagnosis of lymphatic filariasis.

Keyword: lymphatic filariasis, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* diagnostic method

¹ อาจารย์, คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150, E-mail: Thanchomnang@yahoo.com

¹ Lecturer, Faculty of Medicine, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150, E-mail: Thanchomnang@yahoo.com

บทนำ

โรคเท้าช้าง (*Lymphatic filariasis*) หรือที่เรียกว่า elephantiasis มีสาเหตุจากพยาธิตัวกลมในกลุ่มฟิลาเรียคือ *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* และ *B. timori* โดยมียุงเป็นพาหะนำโรค^{1,2} ยุงเช่น *Culex*, *Aedes*, *Anopheles* และ *Mansonia* sp. ซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลางไปกัดคนที่มียุงไม่โครฟิลาเรียอยู่ในกระแสเลือด ไมโครฟิลาเรียจะเจริญพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ตัวอ่อนระยะที่ 2 และตัวอ่อนระยะที่ 3 ตามลำดับ เมื่อยุงไปกัดคนที่เป็โฮสต์จำเพาะ พยาธิตัวอ่อนระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะติดต่องจะเข้าสู่คนเจริญพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 4 และพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย ในระบบน้ำเหลือง โดยพยาธิ *W. bancrofti* มีเฉพาะคนเท่านั้นที่เป็นโฮสต์จำเพาะที่สำคัญ ในขณะที่พยาธิ *B. malayi* มี สุนัข แมว ชะนี ลิง และค้าง เป็นโฮสต์กักตุนเชื้อซึ่งสามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้³⁻⁵ ระยะเวลาตั้งแต่ตัวอ่อนระยะติดต่องเข้าสู่ร่างกายคนจนสามารถตรวจพบไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด โดยพยาธิ *W. bancrofti* ใช้เวลาประมาณ 6-12 เดือน และพยาธิ *B. malayi* ใช้เวลาประมาณ 3 เดือน ซึ่งไมโครฟิลาเรียสามารถมีชีวิตอยู่ในกระแสเลือดได้นาน 6-12 เดือน⁶ ปัจจุบันโรคเท้าช้างมีแหล่งระบาดของโรคอยู่ในประเทศเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย ถึงแม้ว่าโรคเท้าช้างเป็นโรคที่ไม่เป็นอันตรายถึงชีวิต แต่พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยระยะเรื้อรังของโรคเป็นเหตุให้เกิดภาวะทุพพลภาพ และพิการอย่างถาวร⁷ ปัจจุบันมีผู้ติดพยาธิโรคเท้าช้างประมาณ 120 ล้านคน กระจายอยู่ใน 83 ประเทศทั่วโลก⁸ ซึ่งร้อยละ 90 มีสาเหตุจากพยาธิ *W. bancrofti* และอีกร้อยละ 10 เกิดจากพยาธิ *B. malayi* และ *B. timori*⁹ ประเทศไทยมีรายงานพบพยาธิฟิลาเรีย 2 ชนิด คือ *W. bancrofti* และ *B. malayi* ซึ่งพยาธิ *W. bancrofti* พบ 2 แบบคือแบบ nocturnal subperiodicity เป็น *W. bancrofti* สายพันธุ์ไทย พบในคนไทยกะเหรี่ยง โดยมียุง *Ochlerotatus* (*Aedes*) *niveus* เป็นพาหะหลัก^{10,11} อีกชนิดคือ แบบ nocturnal periodicity เป็น *W. bancrofti* สายพันธุ์พม่า โดยพบในแรงงานชาวพม่าที่เข้ามาทำงานในประเทศไทย มีความชุกร้อยละ 3-8¹²⁻¹⁴ โดยมียุง *Culex quinquefasciatus* เป็นพาหะหลัก¹⁵ ซึ่งพยาธิชนิดนี้พบระบาดมากในแถบชายแดนไทยที่ติดกับประเทศพม่า เช่น กาญจนบุรี ตาก แม่ฮ่องสอน¹⁶ เป็นต้น สำหรับ *B. malayi* ในประเทศไทยพบ 2 แบบคือ แบบ nocturnal subperiodicity โดยมียุง *Mansonia uniformis* เป็นพาหะหลัก¹⁷ อีกชนิดคือ แบบ diurnal subperiodicity¹⁸ พยาธิโรคเท้าช้างชนิดนี้พบมากทางภาคใต้ในจังหวัดแถบชายฝั่งทะเลตะวันออก เช่น สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และ นราธิวาส¹⁹ โรคเท้าช้างพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง²⁰ แม้ว่าอัตราการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างมีแนวโน้มลดลง แต่สถานการณ์โรคเท้าช้างในคน

ไทยยังคงถูกจัดเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขที่สำคัญและต้องเฝ้าระวัง เนื่องจากมีแรงงานต่างด้าวที่เป็นพาหะนำโรคเข้ามาทำงานในประเทศไทยเป็นจำนวนมาก

ถึงแม้ว่ามีการควบคุมโรคโดยกำหนดโรคเท้าช้างเป็นโรคต้องห้าม ซึ่งแรงงานต่างด้าวทุกรายต้องได้รับการตรวจโรคเท้าช้างและไม่พบโรคนี้จึงจะได้รับอนุญาตให้เข้ามาทำงานในประเทศไทย แต่ยังมีแรงงานบางส่วนที่ติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ²¹ รวมถึงแรงงานจำนวนมากที่ลักลอบเข้ามาทำงานในประเทศไทยโดยผิดกฎหมายจึงเป็นกลุ่มบุคคลที่มีโอกาสแพร่เชื้อโรคเท้าช้างมาสู่คนไทยได้ เนื่องจากยากต่อการควบคุมโรคเพราะต้องอาศัยอยู่แบบหลบซ่อนจึงไม่ได้รับการตรวจสุขภาพและไม่ได้รับการรักษา

พยาธิสภาพและอาการทางคลินิกของโรคเท้าช้าง

พยาธิสภาพและอาการทางคลินิกของผู้ป่วย โรคเท้าช้างจะมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป บางคนอาจไม่แสดงอาการ ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับตัวพยาธิทำให้เกิดผลระยะยาวเคืองต่อระบบน้ำเหลืองหรือการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย นอกจากนี้อาจเกิดจากการติดเชื้อซ้ำจากแบคทีเรียหรือเชื้อรา²²⁻²⁴ ผู้ป่วยระยะแรก มีการอักเสบของระบบน้ำเหลืองร่วมกับมีไข้ที่เรียกว่าไข้ ฟิลาเรียหรือไข้โรคเท้าช้าง เมื่อระยะเวลาผ่านไปทำให้มีการหนาตัวของผนังท่อน้ำเหลือง เป็นผลให้เกิดการอุดตันของระบบน้ำเหลือง มีการโป่งพองออกและเกิดการคั่งของน้ำเหลือง ในที่สุดน้ำเหลืองแตกออกแล้วไหลไปยังอวัยวะข้างเคียง หรือป้อนออกมากับปัสสาวะทำให้ปัสสาวะสีขาวขุ่นเรียกว่า chyluria นอกจากนี้ผิวหนังบริเวณที่มีการอุดตันของน้ำเหลืองมีลักษณะเป็นผื่นแดงบวมแข็ง ต่อมาค่อยๆ หนาตัวขึ้น จากการที่มีภาวะพังพืด (fibrosis) ภายใน อาจทำให้เกิดภาวะเท้าช้างตามมา²⁵ นอกจากนี้ยังพบผู้ป่วยเกิดพยาธิสภาพที่ปอดเรียกว่า Tropical pulmonary eosinophilia (TPE)²⁶ โดยมีอาการและลักษณะเฉพาะ คือ ไอเวลากลางคืน หอบ หายใจมีเสียงหวีด และมีไข้ นอกจากนี้ผู้ป่วยยังพบภาวะเท้าช้างและภาวะถุงอัณฑะมีน้ำขังเฉพาะที่ (hydrocele) อีกด้วย¹⁷ โดยพยาธิสภาพที่เกิดจาก *W. bancrofti* พบบริเวณระบบน้ำเหลืองเหนือเข้าขึ้นไปจนถึงอวัยวะสืบพันธุ์ เนื่องจาก *W. bancrofti* มีคนเท่านั้นที่เป็นโฮสต์เฉพาะซึ่งถูกทำลายได้ยากกว่า ในขณะที่ *B. malayi* มีวิวัฒนาการจากสัตว์สู่คนยังไม่ดีมากนัก เมื่อเข้าสู่ร่างกายคนจะถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันได้ง่าย ทำให้พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นมักพบเฉพาะบริเวณที่ถูกยุงกัด²⁷ หรือบริเวณต่ำกว่าเข่าลงมา ปัจจุบันสรุปได้ว่าการจัดแบ่งลักษณะอาการทางคลินิกของโรคเท้าช้างออกเป็น 4 กลุ่ม คือ 1) ผู้ป่วยไร้อาการ (asymptomatic patients) ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มนี้มีทั้งตรวจพบและ

ไม่พบไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด 2) ผู้ป่วยที่มีอาการแสดงเฉียบพลัน (patients with acute manifestation) เป็นระยะที่พยาธิตัวเต็มวัยมีการเจริญเต็มที่ และปล่อยไมโครฟิลาเรียออกมาในกระแสเลือด ผู้ป่วยจะมีไข้ร่วมกับอาการอักเสบของต่อมและหลอดน้ำเหลืองเกิดขึ้นซ้ำๆ เรียกว่า adenolymphagitis (ADL) 3) ผู้ป่วยที่มีอาการแสดงเรื้อรัง (patients with chronic manifestation) เป็นระยะที่มีการอุดตันของระบบน้ำเหลือง ผู้ป่วยจะมีอาการหลังระยะเฉียบพลัน ความรุนแรงจะเพิ่มขึ้นตามเวลาระยะนี้ผู้ป่วยมีอวัยวะบวมโต และเกิดภาวะเท้าช้าง และ 4) ผู้ป่วยที่มีอาการแสดงทางปอด ที่เรียกว่า ทีพีอี (patients with TPE)^{21,22}

การตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้าง

สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างนั้นแพทย์ผู้วินิจฉัยให้ความสำคัญกับการสอบถามประวัติและการตรวจร่างกายผู้ป่วย สำหรับการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการมีความสำคัญต่อการช่วยแพทย์วินิจฉัยโรคเท้าช้าง โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ไม่แสดงอาการ และมีประวัติอาศัยอยู่ในแหล่งระบาดของโรคเท้าช้าง การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่แน่นอนคือการตรวจหาระยะไมโคร ฟิลาเรียในกระแสเลือด ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน แต่ยังมีข้อจำกัดของวิธี ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการอีกหลายวิธี เช่น การตรวจทางวิทยาภูมิคุ้มกัน การตรวจหาสารพันธุกรรมโดยวิธีทางอนุชีววิทยา เพื่อช่วยให้การวินิจฉัยมีประสิทธิภาพ มีความถูกต้องแม่นยำ ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) สูง ทั้งนี้เพื่อให้การวินิจฉัยที่ถูกต้องเหมาะสม อันจะเป็นประโยชน์สำหรับการรักษา ป้องกัน และควบคุมต่อไป โดยวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างในคนในปัจจุบันได้แก่

1. การตรวจหาไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด

การตรวจหาไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด เป็นวิธีที่มีความน่าเชื่อถือที่สุด (gold standard method) เนื่องจากการพบตัวพยาธิในกระแสเลือด ดังนั้นวิธีนี้จึงจัดเป็นวิธีมาตรฐานของการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างวิธีการคือ เจาะเลือดผู้ป่วยจากหลอดเลือดดำหรือจากปลายนิ้ว จากนั้นนำมาไลบนแผ่นสไลด์ เพื่อทำฟิล์มเลือดหนา (thick blood film) ซึ่งใช้เลือดประมาณ 60 ไมโครลิตร หรือทำฟิล์มเลือดบาง (thin blood film) ใช้เลือดประมาณ 20 ไมโครลิตร จากนั้นนำฟิล์มเลือดที่ได้ไปย้อมสี Giemsa แล้วตรวจหาพยาธิภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อดูรูปร่างลักษณะของไมโครฟิลาเรีย (รูปที่ 1) โดยไมโครฟิลาเรียของ *W. bancrofti* มีความยาวประมาณ 240-300 ไมโครเมตร หัวมีลักษณะโค้งมนหางแหลม ผิวเรียบ มีปลอกหุ้มและมีช่องว่างในลำตัว (cephalic space) อัตราความยาวต่อความกว้าง เท่ากับ 1:1 ภายในมีอวัยวะไม่ชัดเจน แต่มี

นิวเคลียสติดสีทึบ เรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ นิวเคลียสเรียงตัวไม่ถึงปลายหาง²⁸(รูปที่ 1A) ในขณะที่ไมโครฟิลาเรีย *B. malayi* ขนาดยาวประมาณ 200-280 ไมโครเมตร มี cephalic space อัตราความยาวต่อความกว้างเท่ากับ 2:1 นิวเคลียสเรียงตัวซ้อนทับกันเป็นชั้น ไม่เป็นระเบียบ และลักษณะเด่น คือ มีนิวเคลียสที่ปลายหาง 2 นิวเคลียส²⁸(รูปที่ 1B) ส่วนไมโครฟิลาเรียของ *B. timori* พบความยาวขนาดเฉลี่ย 310 ไมโครเมตร cephalic space มีความยาวต่อความกว้างประมาณ 3 : 1 นิวเคลียสของเซลล์ในลำตัวซ้อนทับกัน การวางลำตัวทวิงอคล้าย *B. malayi* เมื่อย้อมสี Giemsa ไม่ติดปลอกหุ้ม เชื่อว่าปลอกหุ้มจะหลุดง่าย ซึ่งหลุดออกขณะเตรียมแผ่นฟิล์มเลือด การตรวจด้วยฟิล์มเลือดหนาจะมีความไวมากกว่าฟิล์มเลือดบางเนื่องจากใช้เลือดปริมาณมากกว่า อย่างไรก็ตามการตรวจด้วยฟิล์มเลือดทั้งสองแบบยังเป็นวิธีที่มีความไวต่ำ เนื่องจากวิธี thin film ต้องมีไมโครฟิลาเรียมากกว่า 100 ตัว ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร หรือเมื่อตรวจด้วยวิธี thick film ต้องมีไมโครฟิลาเรียมากกว่า 60 ตัว ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร²⁹ จึงจะสามารถตรวจพบพยาธิได้ ข้อดีของวิธีนี้คือเป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง ประหยัด ราคาถูก สะดวก ในขณะที่ข้อเสียคือต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญด้านปรสิตวิทยาในการจำแนกชนิดของพยาธิ และถ้ามีจำนวนตัวอย่างส่งตรวจจำนวนมาก จะใช้เวลานาน เกิดความเมื่อยล้าในการตรวจโดยเฉพาะสายตา ทำให้มีโอกาสเกิดผลลบปลอมได้

ข้อจำกัดอีกประการหนึ่งที่ทำให้การตรวจไมโครฟิลาเรียในเลือดมีความไวต่ำ เนื่องจากระยะเวลาที่ ไมโครฟิลาเรียปรากฏเป็นช่วงในกระแสเลือด ที่เรียกว่า periodicity ซึ่งแตกต่างกันตามชนิดและสายพันธุ์ของพยาธิโรคเท้าช้าง³⁰ ดังนั้นช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่างเลือดจึงมีความสำคัญมาก และควรสอดคล้องกับระยะเวลาที่ไมโครฟิลาเรียปรากฏตัวในกระแสเลือดสูงสุด โดยส่วนใหญ่พบไมโครฟิลาเรียออกมาในกระแสเลือดในช่วงเวลากลางคืน ทำให้เป็นปัญหาที่สำคัญของทั้งบุคลากรปฏิบัติการและผู้ป่วยที่มารับการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีเจาะเลือดเพื่อตรวจหาไมโครฟิลาเรีย นอกจากการตรวจวินิจฉัยจากแผ่นฟิล์มเลือดที่ย้อมสีโดยวิธีมาตรฐานแล้วยังมีการตรวจหาไมโครฟิลาเรียจากเลือดอีกหลายวิธี ได้แก่

การตรวจเลือดสด (fresh blood) ทำได้โดยหยดเลือดที่เจาะจากปลายนิ้วลงบนสไลด์แก้ว แล้วปิดด้วย cover glass แล้วตรวจหาไมโครฟิลาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำ สามารถมองเห็นการเคลื่อนไหวของไมโครฟิลาเรียได้ โดยมีการเคลื่อนไหวคล้ายกับงู (snake-like movement) ซึ่งการตรวจจากเลือดสดนี้มีข้อจำกัดของวิธีคือไม่สามารถแยกชนิดของไมโครฟิลาเรียได้³¹

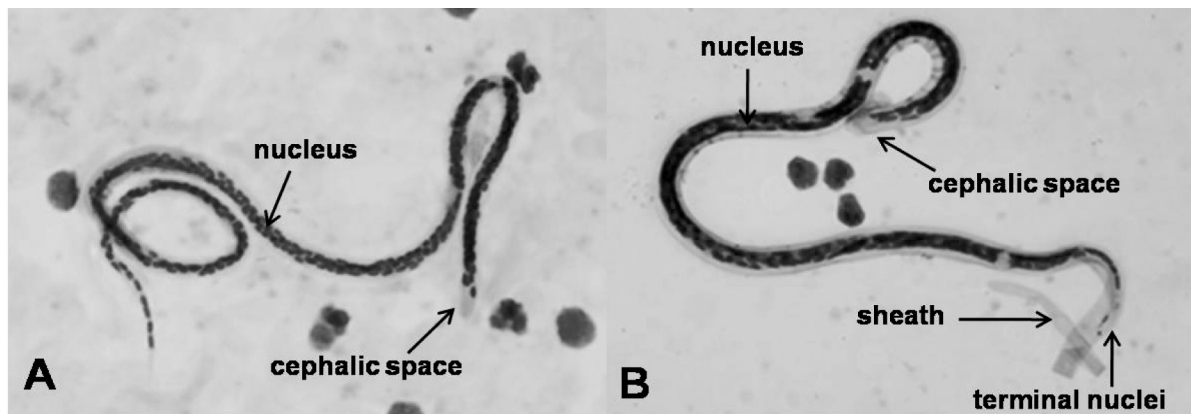


Figure1 Microscopic examination of *Wuchereria bancrofti* (A) and *Brugia malayi* (B) from Giemsa stain

การตรวจหาไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือดโดยวิธีของ นอต (Knott's technique)³² โดยใช้เลือดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับ 2% ฟอรัมาลินปริมาตร 9 มิลลิลิตร ในหลอดทดสอบ เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,500-2,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เพื่อให้ไมโครฟิลาเรียตกตะกอนอยู่ด้านล่าง หลังจากนั้นนำตะกอนมาย้อมสีและตรวจหาไมโครฟิลาเรียโดยการ ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งพบไมโครฟิลาเรียเหี้ยดยาว เนื่องจากถูกตรึงสภาพด้วยฟอรัมาลิน โดยไมโครฟิลาเรียมี ลักษณะแตกต่างจากที่ตรวจจากการไถเลือดบนสไลด์ที่มีลำ ตัวโค้งงอ ข้อดีของการตรวจหาไมโครฟิลาเรียโดยวิธีของนอต คือ ทำได้ง่าย ใช้วัสดุและสารเคมีที่มีราคาถูก และมีความไว เพิ่มขึ้นโดยสามารถตรวจพบไมโครฟิลาเรีย 1 ตัวต่อเลือด 1 มิลลิลิตร นอกจากนี้ฟอรัมาลินยังช่วยทำลายเชื้อโรคชนิดอื่น ที่อยู่ในตัวอย่างเลือดซึ่งอาจมีอันตรายติดต่อสู่ผู้ได้อีก

การตรวจโดยวิธีใช้หลอดฮีมาโตคริต (microhematocrit tube technique) ทำโดยเจาะเลือดจากปลายนิ้วผู้ป่วย ประมาณ 60 ไมโครลิตร นำมาใส่ในหลอดฮีมาโตคริต จากนั้น นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000-15,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที โดยจะพบการเคลื่อนไหวของไมโครฟิลาเรียที่ ชั้นบัฟฟีโคต (buffy coat) หรือชั้นที่มีเม็ดเลือดขาว ซึ่งสามารถ ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์³³ ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว ข้อเสียคือไม่สามารถแยกชนิดของพยาธิ ได้

การตรวจโดยวิธีการกรองผ่านแผ่นเยื่อ (membrane filtration technique)³⁴ เป็นการตรวจด้วยวิธีการกรองผ่าน เยื่อชนิดโพลีคาร์บอเนต ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 3-5 ไมโครเมตร วิธีการนี้ทำได้โดยใช้เลือด 1 มิลลิลิตร ที่ผสม กับสารกันเลือดแข็งและสารละลายที่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก นำมากรองผ่านเยื่อโพลีคาร์บอเนต ด้วยเครื่องดูดสุญญากาศ

หรือใช้แรงดันจากกระบอกฉีดยาผลักดันการกรอง ทำให้ไมโคร ฟิลาเรียติดอยู่บนเยื่อโพลีคาร์บอเนตจากนั้นนำไปย้อมสีและ ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

การตรวจโดยวิธีการย้อมสารเรืองแสงโดยใช้ Quan- titative buffy coat (QBC) capillary tube technique³⁵ โดย ใส่สารกันเลือดแข็งและสารเรืองแสงสีส้ม acridine orange ลงในหลอดฮีมาโตคริต ที่เรียกว่า QBCTM capillary blood tubes จากนั้นใส่เลือดประมาณ 60 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่น โดย acridine orange มีคุณสมบัติย้อมติดสารพันธุกรรมใน นิวเคลียสของไมโครฟิลาเรียทำให้มองเห็นติดสีส้มเรืองแสง เมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ วิธีนี้สามารถใช้ แยกชนิดของไมโครฟิลาเรียได้จากลักษณะนิวเคลียสที่ปลาย หาง ตลอดจนช่องว่างส่วนหัวได้ ข้อดีวิธีนี้คือ สามารถแยก ชนิดของไมโครฟิลาเรียได้ ทำได้ง่าย สะดวกรวดเร็ว แต่ต้อง ใช้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์

วิธีการตรวจโดยกระตุ้นไมโครฟิลาเรียให้ออกมา ในกระแสเลือด ภายหลังให้ผู้ผู้ป่วยรับประทานยา diethylcar- bamazine เป็นเวลา 15-90 นาที จะทำให้สามารถตรวจหา ไมโครฟิลาเรียในเวลากลางวันได้ทั้งในผู้ป่วยที่ติดพยาธิโรค ทำซ้ำทั้งจาก *W. bancrofti* และ *B. malayi* แบบ nocturnal periodicity และ nocturnal subperiodicity^{36,37} การให้ยา กระตุ้นไมโครฟิลาเรียออกมาในกระแสเลือดจึงเป็นการทำให้ เกิดความสะดวกต่อการตรวจวินิจฉัยทั้งในผู้ป่วยและผู้ตรวจ วินิจฉัย เนื่องจากการเจาะเลือดในเวลากลางคืนเพื่อตรวจหา ไมโครฟิลาเรียของพยาธิโรคทำซ้ำนั้นทำได้ไม่สะดวกนัก อย่างไรก็ตามถึงแม้จะมีการพัฒนาวิธีการตรวจไมโครฟิลาเรีย ในกระแสเลือดให้มีความถูกต้อง และรวดเร็วมากขึ้น ดังวิธีที่ ได้กล่าวมาแล้ว แต่ยังเป็นวิธีการวินิจฉัยที่มีความไวต่ำ ทั้งนี้ ยังต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการจำแนกชนิดของพยาธิด้วย

ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจทางด้านวิทยาภูมิคุ้มกัน และวิธีทางอนุชีววิทยา เพื่อให้มีความไว ความจำเพาะสูงชัน และสามารถตรวจได้ง่ายและรวดเร็วมากยิ่งขึ้น

2. การตรวจหาแอนติเจน (antigen) และ แอนติบอดี (antibody) ที่จำเพาะต่อผู้ป่วยโรคเท้าช้าง

เนื่องจากผู้ป่วยโรคเท้าช้างบางราย อาจตรวจไม่พบ ไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด ซึ่งอาจเกิดจากผู้ป่วยติดเชื้อในระยะแรกหรืออยู่ในช่วงระยะ prepatent period หรือติดเชื้อพยาธิเพียงเพศเดียวทำให้ไม่มีการสืบพันธุ์ได้ตัวอ่อนระยะ ไมโครฟิลาเรีย ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีการตรวจหาแอนติเจน ที่จำเพาะต่อพยาธิโรคเท้าช้าง ทำให้สามารถตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น โดยใช้ยาโมโนโคลนอล แอนติบอดี (monoclonal antibody) ที่จำเพาะต่อพยาธิโรคเท้าช้างแต่ละชนิดมาใช้ตรวจวัดแอนติเจน การวินิจฉัยผู้ป่วยโรคเท้าช้างที่เกิดจาก *W. bancrofti* มีรายงานการใช้ยาโมโนโคลนอลแอนติบอดีชนิด AD12.1³⁸ และ Og4C3³⁹ ซึ่งมีความไว และความจำเพาะสูงมาตรวจวัด สำหรับการใช้อย่างโมโนโคลนอลแอนติบอดีชนิด AD12.1 มาตรวจวัดแอนติเจนที่จำเพาะต่อการวินิจฉัยโรคเท้าช้างโดยวิธี immunochromatographic test (ICT) ซึ่งอาศัยหลักการโครมาโตกราฟีร่วมกับปฏิกิริยาทางนำเหลืองวิทยา⁴⁰ การตรวจวัดทำได้โดยการหยดเลือดที่เจาะจากปลายนิ้วประมาณ 100 ไมโครลิตร ลงบริเวณที่กำหนดเฉพาะบนแผ่นทดสอบ จากนั้นอ่านผลการเกิดปฏิกิริยา 10-15 นาที ข้อดีวิธีนี้คือ เหมาะสมในการตรวจภาคสนาม สะดวก รวดเร็ว ทำได้ง่าย และไม่ต้องอาศัยบุคลากรที่ชำนาญหรือมีเครื่องมือเป็นพิเศษ อีกทั้งมีความไวและความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 95.7-97 และร้อยละ 100 ตามลำดับ^{14,41-44}

นอกจากนี้มีการตรวจหาแอนติเจนที่จำเพาะของโรคเท้าช้าง โดยใช้ยาโมโนโคลนอลแอนติบอดีชนิด Og4C3 เป็นตัวเคลื่อนในสภาพพลาสติกโดยวิธีอีไลซ่า (enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA) พบว่าเป็นวิธีที่มีความไว และความจำเพาะสูงกว่าวิธีการตรวจหาสารพันธุกรรมของพยาธิโรคเท้าช้างโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR)^{4,39,45}

สำหรับการตรวจแอนติเจนของพยาธิโรคเท้าช้าง *B. malayi* ได้มีการพัฒนาชุดตรวจ วิธีอีไลซ่า โดยใช้ยาโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ *B. malayi* ชื่อ 17E10 ซึ่งมีความไวในการตรวจวินิจฉัยร้อยละ 93.3 แต่พบปฏิกิริยาข้ามเกี่ยวกับพยาธิหนอนหัวใจสุนัข (*Dirofilaria immitis*)⁴⁶ อย่างไรก็ตาม การตรวจหาแอนติเจนที่จำเพาะของพยาธิโรคเท้าช้าง ทำให้การตรวจวินิจฉัยโรคสะดวกมากขึ้น เนื่องจากสามารถเจาะเลือดได้ตลอดเวลา ทั้งยังบอกสถานะการติดเชื้อในปัจจุบันและ

ใช้ติดตามผลการรักษาได้ เนื่องจากระดับของแอนติเจนจะลดลงภายหลังการรักษา^{47,48} แต่ยังมีข้อจำกัดคือ ราคาค่อนข้างสูง

นอกจากนี้การพัฒนาการตรวจแอนติบอดีที่จำเพาะต่อพยาธิโรคเท้าช้าง แต่ยังให้ผลไม่ดีมากนัก เนื่องจากพบการเกิดปฏิกิริยาข้ามเกี่ยว ระหว่างการตรวจพยาธิโรคเท้าช้างกับพยาธิตัวกลมชนิดอื่น เช่น โรคพยาธิปากขอหรือโรคพยาธิไส้เดือน^{49,50} ทำให้การตรวจวินิจฉัยไม่ถูกต้องได้ และการตรวจหาแอนติบอดียังไม่สามารถแยกสถานะติดเชื้อในปัจจุบันกับที่เคยติดเชื้อในอดีตได้ เนื่องจากการติดเชื้อแต่ละครั้งร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะบางชนิดที่สามารถอยู่ในร่างกายได้นานแม้จะมีการรักษาหายแล้วก็ตาม สำหรับการตรวจแอนติบอดีชนิด IgG4 subclass antibody ที่จำเพาะต่อโรคเท้าช้าง (anti-filarial specific IgG4 antibodies) เป็นวิธีที่มีความไวสูง สามารถวินิจฉัยผู้ป่วยโรคเท้าช้างที่ตรวจด้วยวิธีมาตรฐานไม่พบไมโครฟิลาเรียได้⁵¹⁻⁵⁴ โดยพบว่าระดับของแอนติบอดีที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับระดับไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือดของผู้ป่วย⁵⁵ นอกจากนี้ภายหลังจากการรักษา ระดับของแอนติบอดีที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับการลดลงของไมโครฟิลาเรียที่พบในกระแสเลือด ดังนั้นการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG4 จึงสามารถบ่งชี้ถึงการติดเชื้อในสภาวะปัจจุบัน⁵⁶ และนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดในการติดตามผลการรักษาได้⁵²

3. การตรวจวินิจฉัยทางอนุชีววิทยาของโรคเท้าช้าง

การตรวจวิธีทางอนุชีววิทยาของพยาธิโรคเท้าช้าง โดยมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น DNA hybridization, วิธี polymerase chain reaction (PCR), วิธี PCR-linked restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) และวิธี PCR-ELISA โดยวิธีทางอนุชีววิทยาดังกล่าวได้มีการนำมาใช้หรือตรวจหาสารพันธุกรรมของพยาธิฟิลาเรียรวมทั้งพยาธิโรคเท้าช้าง ซึ่งเป็นวิธีที่ตรวจได้รวดเร็ว ถูกต้อง และแม่นยำ กว่าตรวจหาไมโครฟิลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์^{4,5} ทั้งนี้วิธี PCR ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ สามารถตรวจหาไมโครฟิลาเรีย ทั้งในอุ้งพหะและในเลือดด้วยความไวและความจำเพาะสูง โดยสามารถตรวจหาได้ต่ำสุดไมโครฟิลาเรียเพียง 1 ตัว หรือมีปริมาณดีเอ็นเอของพยาธิเพียง 0.04 พิโคกรัม⁵⁷ เช่น การตรวจ repetitive DNA ของ *W. bancrofti* ใช้ชนิด *Ssp I* repeat DNA และการตรวจวินิจฉัยพยาธิ *B. malayi* ใช้ *Hha I* repeat DNA^{20,45} ทั้งนี้มีการพัฒนาเทคนิค PCR-RFLP โดยการเพิ่มจำนวนส่วนของยีนบริเวณ internal transcribed spacer I (ITS I) แล้วย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Ase I* สามารถใช้ตรวจ

แยกชนิดของพยาธิฟิลาเรียที่เป็นปัญหาทั้งในคนและสัตว์ในประเทศไทยได้ เช่น *W. bancrofti*, *B. malayi*, *B. pahangi*, *D. immitis*, และ *D. repens*^{4,5}

นอกจากนี้มีการพัฒนาเทคนิค real-time PCR ขึ้นแทนที่วิธี conventional PCR แบบดั้งเดิม เนื่องจากวิธีนี้สามารถตรวจวัดปริมาณของดีเอ็นเอได้ มีความไวและความจำเพาะสูง สามารถรายงานผลได้อย่างรวดเร็ว โดยทำการทดสอบในเครื่องมือที่มีความมิดชิดทำให้ไม่มีปัญหาการปนเปื้อนของดีเอ็นเอแปลกปลอม ไม่ต้องอาศัยการทำ agarose gel electrophoresis ในการแสดงผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอสามารถใช้แยก Genus และ species ของเชื้อปรสิตได้ โดยวิเคราะห์จาก melting peak ของชิ้นผลผลิต PCR ทั้งนี้มีรายงานการนำเทคนิค real-time PCR มาตรวจหาเชื้อพยาธิฟิลาเรียทั้งในตัวอย่างเลือดและยูงพาหะที่ติดเชื้อพยาธิ *W. bancrofti*⁵⁸⁻⁶⁴ และ *B. malayi*⁶⁵⁻⁶⁹ เร็วๆ นี้ มีการพัฒนาวิธี loop-mediated isothermal amplification เพื่อตรวจหาดีเอ็นเอของพยาธิ *W. bancrofti* ในเลือดคนและยูงพาหะ⁷⁰ โดยวิธีนี้ไม่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพง แต่มีปัญหาของผลบวกปลอมและยังไม่มีรายงานการพัฒนาใช้ในตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยจริง และการทดสอบในภาคสนาม

บทสรุป

การวินิจฉัยโรคเท้าช้าง ทำได้โดยการสอบถามประวัติและการตรวจร่างกายผู้ป่วย กรณีถ้าพบว่าเป็นผู้ที่อาศัยอยู่ในแหล่งระบาดของโรคและยังไม่แสดงอาการ การตรวจทางห้องปฏิบัติการจึงมีความสำคัญเพื่อช่วยยืนยันการวินิจฉัยโรคที่ถูกต้อง การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการซึ่งถือเป็นวิธีมาตรฐาน คือ การตรวจหาไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด แต่อาจตรวจไม่พบตัวพยาธิหากเก็บตัวอย่างเลือดในช่วงเวลาไม่เหมาะสม เนื่องจากไมโครฟิลาเรียมักปรากฏตัวในกระแสเลือดในเวลากลางคืนมากกว่ากลางวัน จึงทำให้มีความไวในการตรวจต่ำ ทั้งนี้มีการพัฒนาหรือคิดค้นวิธีการต่างๆ เพื่อช่วยเพิ่มความไวของการตรวจหาไมโครฟิลาเรียจากเลือดได้แก่ การตรวจหาไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือดโดยวิธีของนอต (Knott's technique) การตรวจโดยวิธีการกรองผ่านแผ่นเยื่อ การตรวจโดยวิธีการย้อมสารเรืองแสงโดยใช้ Quantitative buffy coat (QBC) capillary tube technique การให้ผู้ป่วยรับประทานยา diethyl-carbamazine เป็นเวลา 15-90 นาที ก่อนการเจาะเลือด เพื่อกระตุ้นให้พยาธิออกมาในกระแสเลือด เป็นต้น นอกจากนี้ในปัจจุบันมีรายงานการตรวจหาแอนติเจนที่จำเพาะของโรคเท้าช้าง โดยวิธีที่นิยมมากที่สุด คือ วิธี ICT ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูง แต่เนื่องจากชุดตรวจวินิจฉัยนี้มีราคาค่อนข้างสูง

จึงทำให้การใช้ชุดตรวจนี้จำกัดเฉพาะในบางหน่วยงานเท่านั้น สำหรับการตรวจทางอนุชีววิทยาซึ่งใช้ในการตรวจหาไมโครฟิลาเรียของโรคเท้าช้าง ได้แก่ วิธี DNA hybridization วิธี PCR วิธี PCR-RFLP วิธี PCR-ELISA และวิธี real-time PCR ซึ่งเป็นวิธีที่ให้ความไวและความจำเพาะของการวินิจฉัยโรคสูง และควรได้รับการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ต่อไปอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้จากประสบการณ์ของผู้นิพนธ์ได้ศึกษาพัฒนาชุดตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างทางอนุชีววิทยาพบว่าองค์ความรู้ที่มีประโยชน์มากในการเฝ้าระวังเพื่อควบคุมโรคเท้าช้างในประเทศไทยและเพื่อรองรับการแพร่กระจายของโรคจากการเคลื่อนไหวของประชากรซึ่งเป็นผลลัพธ์ของการรวมกลุ่มประชาคมอาเซียนเป็นหนึ่งเดียว ในปี พ.ศ. 2558 โดยเป้าหมายของการพัฒนาชุดตรวจวินิจฉัยให้มีความไวและความจำเพาะสูง ราคาไม่แพง ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้สามารถประเมินและติดตามสถานการณ์การติดเชื้อ อันจะเป็นประโยชน์ต่อการเฝ้าระวังและการควบคุมการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างโดยเฉพาะในประเทศที่เป็นแหล่งระบาดของโรคให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Lymphatic filariasis: the disease and its control. Fifth report of the WHO Expert Committee on Filariasis. Tech Rep Ser 1992; 821: 1-71.
2. Weil GJ, Ramzy RM. Diagnostic tools for filariasis elimination programs. Trends Parasitol 2007; 23: 78-82.
3. Mak, JW. Filariasis in Southeast Asia. Annals of Academy of Medicine. Singapore 1981; 10(1): 112-9.
4. Nuchprayoon S, Junpee A, Poovorawan Y, Scott AL. Detection and differentiation of filarial parasites by universal primers and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis. Am J Trop Med Hyg 2005; 73: 895-900.
5. Nuchprayoon S, Sangprakarn S, Junpee A, Nithiuthai S, Chungpivat S, Poovorawan Y. Differentiation of *Brugia malayi* and *Brugia pahangi* by PCR-RFLP of ITS1 and ITS2. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003; 34 Suppl 2: 67-73.
6. Vanamail P, Ramaiah KD, Pani SP, Das PK, Grenfell BT, Bundy DA. Estimation of the fecund life span of *Wuchereria bancrofti* in an endemic area. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996; 90(2): 119-21.

7. World Health Organization. The state of the world health. World health Report-Bridging the gaps. Geneva: World Health Organization; 1995. p. 1-42.
8. World Health Organization. Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis. Wkly Epidemiol Rec 2006; 22: 221-32.
9. Ravindran B. Aping Jane Good all: Insights unto human lymphatic filariasis. Trends Parasitol 2003; 19(3):105-9.
10. Gould DJ, Bailey CL, Vongpradist S. Implication of forest mosquitoes in the transmission of *Wuchereria bancrofti* in Thailand. Mosq News, 1982; 42: 560-4.
11. Kanjanopas K. The new mosquito vector of lymphatic filariasis in Thailand. Commun Dis J 1995; 21: 128-32.
12. Tritteeraprapab 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: 735-9.
13. Tritteeraprapab S, Nuchprayoon I, Porksakorn C, Poovorawan Y, Scott AL. High prevalence of *Wuchereria bancrofti* infection among Myanmar migrants in Thailand. Ann Trop Med Parasitol 2001; 95: 535-8.
14. Nuchprayoon S, Porksakorn C, Junpee A, Sanprasert V, Poovorawan Y. Comparative assessment of an Og4C3 ELISA and an ICT filariasis test: a study of Myanmar migrants in Thailand. Asian Pac J Allergy Immunol; 2003; 21, 253-7.
15. Macdonald WW. Control of *Culex quinquefasciatus* in Myanmar (Burma) and India: 1960-1990. Ann Trop Med Parasitol 1991; 85: 165-72.
16. Tritteeraprapab S, Kanjanopas K, Suwannadabba S, Sangprakarn S, Poovorawan Y, Scott AL. Transmission of the nocturnal periodic strain of *Wuchereria bancrofti* by *Culex quinquefasciatus*: establishing the potential for urban filariasis in Thailand. Epidemiol Infect 2000; 125(1): 207-12.
17. กลุ่มโรคเท้าช้าง. รายงานประจำปี 2546 สำนักโรคติดต่อ นำโดยแมลง. สำนักโรคติดต่อ นำโดยแมลงกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ; 2546.
18. ฉันทภรณ์ ชุตติดำรง และศิริชัย พรณนนะ. การปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรีย. วารสารโรคติดต่อ 2529; 12(3): 227-37.
19. Jiraamonnimit C, Wongkamchai S, Boitano J, Nochot H, Loymek S, Chujun S, Yodmek S. A cohort study on anti-filarial IgG4 and its assessment in good and uncertain MDA-compliant subjects in brugian filariasis endemic areas in southern Thailand. J Helminthol 2009; 83(4): 351-60.
20. Tritteeraprapab 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.
21. สุรงค์ ไตรธีระประภาพ. ก้าวทันโรคเท้าช้าง. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2540; 8: 611-22.
22. ศิริญา ไชยะกุล และ สุรงค์ นุชประยูร. การรักษาโรคเท้าช้างในปัจจุบัน. วารสารจุฬาลงกรณ์เวชสาร 2548; 49: 401-21.
23. Olszewski WL, Jamal S, Manokaran G, Pani S, Kumaraswami V, Kubicka U, Lukomska B, Tripathi FM, Swoboda E, Meisel-Mikolajczyk F, Stelmach E, Zaleska M. Bacteriological studies of blood, tissue fluid, lymph and lymph nodes in patients with acute dermatolymphangioadenitis (DLA) in course of 'filarial' lymphedema. Acta Trop 1999; 73(3): 217-24.
24. McPherson T, Persaud S, Singh S, Fay MP, Addiss D, Nutman TB, Hay R. Interdigital lesions and frequency of acute dermatolymphangioadenitis in lymphoedema in a filariasis-endemic area. Br J Dermatol 2006; 154(5): 933-41.
25. Dreyer G, Ottesen EA, Galdino E, Andrade L, Rocha A, Medeiros Z, Moura I, Casimiro I, Beliz F, Coutinho A. Renal abnormalities in microfilaremic patients with Bancroftian filariasis. Am J Trop Med Hyg 1992; 46(6): 745-51.
26. Tandon V, Singh H, Dwivedi US, Mahmood M, Singh PB. Filarial chyluria: long-term experience of a university hospital in India. Int J Urol 2004; 11(4): 193-8.
27. สุภัทร สุจริต, ประมวลมัลย์ สุจริต. ฟิลาเรียซิส ใน: กัญญาวิทยาทางการแพทย์: สุภัทร สุจริต, บรรณาธิการ. กรุงเทพฯ: พิธีกรรมการพิมพ์; 2531. หน้า 639-54.

27. Zaman V, Keong LA. Filarial Parasites. Handbook of Medical Parasitology. 3rd ed. Singapore: KC Aung Publishing Ltd; 1994. p. 205-21.
28. Dreyer G, Pimentael A, Medeiros Z, Béliz F, Moura I, Coutinho A, de Andrade LD, Rocha A, da Silva LM, Piessens WF. Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae in paired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. Trop Med Int Health 1996; 1(2): 264-72.
29. Kapila K, Verma K. Diagnosis of parasites in fine needle breast aspirates. Acta Cytol 1996; 40(4): 653-6.
30. สุรางค์ นุชประยูร. โรคเท้าช้าง: ความรู้พื้นฐานสู่การประยุกต์ (Lymphatic Filariasis: Basics to Applications). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: หสน. วิทยาลัยการพิมพ์; 2549.
31. Knott J. A method for making microfilarial survey on day blood. Trans R Soc trop Med Hyg 1939; 33: 191.
32. Woo PT. Evaluation of the haematocrit centrifuge and other techniques for the field diagnosis of human trypanosomiasis and filariasis. Acta Trop 1971; 28(3): 298-303.
33. Bell D. Membrane filters and microfilariae: a new diagnostic technique. Ann Trop Med Parasitol 1967; 61(2): 220-3.
34. Long GW, Rickman LS, Cross JH. Rapid diagnosis of *Brugia malayi* and *Wuchereria bancrofti* filariasis by an acridine orange/microhematocrit tube technique. J Parasitol 1990; 76(2): 278-281.
35. McMahon JE. The examination-time/dose interval in the provocation of nocturnally periodic microfilariae of *Wuchereria bancrofti* with diethylcarbamazine and the practical uses of the test. Tropenmed Parasitol 1982; 33(1): 28-30.
36. Fan PC. Determination of the earliest appearance and peak count of microfilariae of *Wuchereria bancrofti* and *Brugia malayi* after taking a single dose of diethylcarbamazine at noon. J Helminthol 1994; 68(4): 301-4.
37. Weil GS, Liftis F. Identification and partial characterization of a parasite antigen in sera from humans infected with *Wuchereria bancrofti*. J Immunol 1987; 138: 3035-41.
38. 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(4): 403-6.
39. Weil GS, Lammie PJ, Weiss N. The ICT filariasis test: a rapid format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. Parasitol Today 1997; 13: 401-4.
40. Zheng H, Tao Z, Fang R, Chang B, Zhang Y, Turner P. Application of immunochromatographic test for diagnosis and surveillance of bancroftian filariasis. Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi 1998; 16(3): 168-71.
41. Wattal S, Dhariwal AC, Ralhan PK, Tripathi VC, Regu K, Kamal S, Lal S. Evaluation of Og4C3 antigen ELISA as a tool for detection of bancroftian filariasis under lymphatic filariasis elimination programme. J Commun Dis 2007; 39(2): 75-84.
42. Dreyer G, Lins R, Norões J, Rizzo JA, Figueredo Silva J. Sensitivity of the immunochromatographic card test relative to detection of adult *Wuchereria bancrofti* worms by ultrasound. Am J Trop Med Hyg 2008; 78(1): 28-34.
43. El-Moamly AA, El-Sweify MA, Hafez MA. Using the AD12-ICT rapid-format test to detect *Wuchereria bancrofti* circulating antigens in comparison to Og4C3-ELISA and nucleopore membrane filtration and microscopy techniques. Parasitol Res 2012; Mar 6. [Epub ahead of print]
44. uchprayoon S, Yentakam, S, Sangprakarn S, Junpee A. Endemic bancroftian filariasis in Thailand: detection by Og4C3 antigen capture ELISA and the Polymerase Chain Reaction. Journal of the Medical Association of Thailand 2001; 84(9): 1300-7.
45. Wongkamchai S, Choochote W, Jitpuckdee A, Suvannadabba S, Loymak S, Sakolvaree Y, Tapchaisri P, Chaicumpa W. An antigen detection assay for diagnosing filariasis. Asian Pac J Allergy Immunol 2003; 21(4): 241-51.
46. Simonsen PE, Magesa SM, Meyrowitsch DW, Malecela-Lazaro MN, Rwegoshora RT, Jaoko WG, Michael E. The effect of eight half-yearly single-dose treatments with DEC on *Wuchereria bancrofti* circulat-

- ing antigenaemia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2005; 99(7): 541-7.
47. azura J, Greenberg J, Perry R, Weil G, Day K, Alpers M. Comparison of single-dose diethylcarbamazine and ivermectin for treatment of bancroftian filariasis in Papua New Guinea. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 49(6): 804-11.
 48. Lal RB, Ottesen EA. Enhanced diagnostic specificity in human filariasis by IgG4 antibody assessment. *J Infect Dis* 1988; 158(5): 1034-7.
 49. Ata AH, el Bassiouny AE, Shaker ZA, Attia MM, el Khashab MN, el Gammal NE, Mourad AA, el Ghoneimy S. Antifilarial IgM versus IgG antibody determination in the diagnosis of *Wuchereria bancrofti* infection in Egyptians. *J Egypt Soc Parasitol* 1993; 23(1): 277-88.
 50. Terhell AJ, Haarbrink M, Abadi K, Bronneberg DC, Tieleman MC, Asri M, Yazdanbakhsh M. A filter paper technique for the detection of anti-filarial IgG4 in lymphatic filariasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 196-8.
 51. Nuchprayoon S, Sanprasert V, Porksakorn C, Nuchprayoon I. Prevalence of bancroftian filariasis on the Thai-Myanmar border. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2003; 21(3): 179-88.
 52. Rahmah N, Anuar AK, Karim R, Mehdi R, Sinniah B, Omar AW. Potential use of IgG2-ELISA in the diagnosis of chronic elephantiasis and IgG4-ELISA in the follow-up of microfilaraemic patients infected with *Brugia malayi*. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 205(1): 202-7.
 53. Noordin R, Itoh M, Kimura E, Abdul Rahman R, Ravindran B, Mahmud R, Supali T, Weerasooriya M. Multicentre evaluations of two new rapid IgG4 tests (WB rapid and panLF rapid) for detection of lymphatic filariasis. *Filaria J* 2007; 6: 9.
 54. Kwan-Lim GE, Forsyth KP, Maizels RM. Filarial-specific IgG4 response correlates with active *Wuchereria bancrofti* infection. *J Immunol* 1990; 145(12): 4298-305.
 55. Atmadja AK, Atkinson R, Sartono E, Partono F, Yazdanbakhsh M, Maizels RM. Differential decline in filaria-specific IgG1, IgG4, and IgE antibodies in *Brugia malayi*-infected patients after diethylcarbamazine chemotherapy. *J Infect Dis* 1995; 172(6): 1567-72.
 56. Hoti SL, Vasuki V, Patra KP, Hariths VR, Ravi G, Sushma S. Laboratory evaluation of Sspl PCR assay for the detection of *Wuchereria bancrofti* infection in *Culex quinquefasciatus*. *Indian J Med Res* 2001; 114: 59-64.
 57. Lulitanond V, Intapan PM, Pipitgool V, Choochote W, Maleewong W. Rapid detection of *Wuchereria bancrofti* in mosquitoes by LightCycler polymerase chain reaction and melting curve analysis. *Parasitol Res* 2004; 94(5): 337-41.
 58. Rao RU, Atkinson LJ, Ramzy RM, Helmy H, Farid HA, Bockarie MJ, Susapu M, Laney SJ, Williams SA, Weil GJ. A real-time PCR-based assay for detection of *Wuchereria bancrofti* DNA in blood and mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 74(5): 826-32.
 59. Rao RU, Huang Y, Bockarie MJ, Susapu M, Laney SJ, Weil GJ. A qPCR-based multiplex assay for the detection of *Wuchereria bancrofti*, *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* DNA. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2009; 103(4): 365-70.
 60. Boakye DA, Baidoo HA, Glah E, Brown C, Appawu M, Wilson MD. Monitoring lymphatic filariasis interventions: Adult mosquito sampling, and improved PCR-based pool screening method for *Wuchereria bancrofti* infection in *Anopheles* mosquitoes. *Filaria J* 2007; 6: 13.
 61. Intapan PM, Thanchomnang T, Lulitanond V, Maleewong W. Rapid detection of *Wuchereria bancrofti* and *Brugia malayi* in mosquito vectors (Diptera: Culicidae) using a real-time fluorescence resonance energy transfer multiplex PCR and melting curve analysis. *J Med Entomol* 2009; 46(1): 158-64.
 62. Laney SJ, Ramzy RM, Helmy HH, Farid HA, Ashour AA, Weil GJ, Williams SA. Detection of *Wuchereria bancrofti* L3 larvae in mosquitoes: a reverse transcriptase PCR assay evaluating infection and infectivity. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4(2): e602.

63. Fink DL, Fahle GA, Fischer S, Fedorko DF, Nutman TB. Toward molecular parasitologic diagnosis: enhanced diagnostic sensitivity for filarial infections in mobile populations. *J Clin Microbiol* 2011; 49(1): 42-7.
64. Rao RU, Weil GJ, Fischer K, Supali T, Fischer P. Detection of *Brugia* parasite DNA in human blood by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3887-93.
65. Fischer P, Erickson SM, Fischer K, Fuchs JF, Rao RU, Christensen BM, Weil GJ. Persistence of *Brugia malayi* DNA in vector and non-vector mosquitoes: implications for xenomonitoring and transmission monitoring of lymphatic filariasis. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76(3): 502-7.
66. Thanchomnang T, Intapan PM, Lulitanond V, Choochote W, Manjai A, Prasongdee TK, Maleewong W. Rapid detection of *Brugia malayi* in mosquito vectors using a real-time fluorescence resonance energy transfer PCR and melting curve analysis. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78(3): 509-13.
67. Intapan PM, Thanchomnang T, Lulitanond V, Maleewong W. Rapid detection of *Wuchereria bancrofti* and *Brugia malayi* in mosquito vectors (Diptera: Culicidae) using a real-time fluorescence resonance energy transfer multiplex PCR and melting curve analysis. *J Med Entomol* 2009; 46(1): 158-64.
68. Rahmah N, Nurulhasanah O, Norhayati S, Zulkarnain I, Norizan M. Comparison of conventional versus real-time PCR detection of *Brugia malayi* DNA from dried blood spots from school children in a low endemic area. *Trop Biomed* 2010; 27(1): 54-9.
69. Takagi H, Itoh M, Kasai S, Yahathugoda TC, Weerasooriya MV, Kimura E. Development of loop-mediated isothermal amplification method for detecting *Wuchereria bancrofti* DNA in human blood and vector mosquitoes. *Parasitol Int* 2011; 60(4): 493-7.