

การตรวจหา *Microfilaria* ในแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่าด้วยวิธี modified Knott's concentration

รุ่งนภา ปานกล้า^{1*}, วันเพ็ญ จีศรี^{1,2}, จารุวรรณ ขาวพลับ¹, สุนทรียา ลายปักษ์¹, Kencho Chophel¹,
ภาวนา พนมเขต^{3*}

Received: October 19, 2012

Revised & Accepted: January 10, 2013

บทคัดย่อ

โรคเท้าช้างที่พบในประเทศไทยมีสาเหตุมาจากเชื้อ *Wuchereria bancrofti* (*W. bancrofti*) และ *Brugia malayi* (*B. malayi*) ซึ่งมีแหล่งชุกชุมอยู่ในพื้นที่ติดชายแดนไทย-พม่า เช่น จังหวัดตาก และมีการแพร่กระจายผ่านแรงงานอพยพ ปัจจุบันจำนวนผู้ใช้แรงงานจากพม่าในประเทศไทยเพิ่มสูงขึ้นในแต่ละปีและอาจเป็นสาเหตุทำให้อุบัติการณ์ของโรคนี้สูงขึ้นในประชาชนชาวไทย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบวิธีการตรวจหาไมโครฟิลาเรีย 2 วิธี คือ การตรวจหาไมโครฟิลาเรียจากเลือดสด (wet mount preparation) และการตรวจจากเลือดที่ทำให้เข้มข้น (modified Knott's concentration) ศึกษาในตัวอย่างเลือด 400 ตัวอย่าง จากแรงงานชาวพม่าที่อาศัยอยู่ในอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ผลการศึกษาพบว่าการตรวจจากเลือดที่ทำให้เข้มข้นสามารถตรวจหาไมโครฟิลาเรียได้ร้อยละ 10 ในขณะที่วิธีตรวจจากเลือดสดนั้นให้ผลเป็นลบ นอกจากนี้การตรวจจากเลือดที่ทำให้เข้มข้นยังสามารถจำแนกชนิดของไมโครฟิลาเรียได้โดย ไมโครฟิลาเรียที่จำแนกได้ในการศึกษานี้เป็นไมโครฟิลาเรียของ *W. bancrofti* โดยมีจำนวนไมโครฟิลาเรียเฉลี่ย 1 ตัว ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร คิดเป็นความชุกของโรคเท่ากับ 10 ต่อแรงงานสัญชาติพม่า 1,000 คน จากการศึกษาวิธีวิธีการตรวจจากเลือดที่ทำให้เข้มข้นเป็นวิธีที่เหมาะสมในการวินิจฉัยและควบคุมโรคเท้าช้าง เนื่องจากมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ง่ายและให้ความไวมากกว่าการตรวจหาไมโครฟิลาเรียจากเลือดสดถึง 10 เท่า และสามารถจำแนกชนิดของไมโครฟิลาเรียได้

คำสำคัญ: Microfilaria, Wet mount preparation, Modified Knott's concentration

¹ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก

²กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลแม่สอด อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก

³วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Detection of microfilaria in Myanmar immigrant workers by modified Knott's concentration technique

Rungnapa Pankla^{1*}, Wanpen Jeekeeree^{1,2}, Jaruwat Khaoplab¹, Suntariya Laypak¹,
Kencho Chophel¹, Pawana Panomket^{3*}

Abstract

Filariasis in Thailand is caused by *Wuchereria bancrofti* (*W. bancrofti*) and *Brugia malayi* (*B. malayi*). It is endemic in the border areas of Thailand and Myanmar in such places as Tak province and is often spread by immigrant laborers. Currently, the number of immigrant workers from Myanmar is increasing each year and this may increase the incidence of the disease for Thai people. This study aimed to compare the efficiency of two methods of detecting microfilaria, the wet mount preparation and the modified Knott's concentration, in 400 blood samples of Myanmar immigrant workers living in Mae Sot district of Thailand. The results showed the modified Knott's concentration can detect microfilaria in 10% of blood samples while the wet mount preparation provided a negative result. Moreover, the modified Knott's concentration was also able to identify that all microfilaria found in this study was *W. bancrofti* with a density of 1 microfilaria per 1 ml of a blood sample. The prevalence of the disease among the immigrant workers was 100 per 1,000 of the population. The study suggests that the modified Knott's concentration is an appropriate method in the diagnosis and control of filariasis as it is easy to perform, is ten times more sensitive in the detection of microfilaria than the wet mount preparation, and can also classify the type of microfilaria.

Keywords: Microfilaria, Wet mount preparation, Modified Knott's concentration

¹Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University, Phitsanulok

²Medical Technology group, Maesot Hospital, Maesot District, Tak

³College of Medicine and Public Health, Ubon-Ratchathani University, Ubon Ratchathani

* Corresponding author: (e-mail: rungnapapa@nu.ac.th and panomketp@yahoo.com)

บทนำ

โรคเท้าช้าง หรือ Filariasis เป็นโรคที่เกิดจากหนอนพยาธิฟิลาเรีย ที่อาศัยอยู่ในอวัยวะและเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphatic filaria) ซึ่งในประเทศไทยพบหนอนพยาธิที่เป็นสาเหตุอยู่สองชนิด ได้แก่ *Wuchereria bancrofti* (*W. bancrofti*) ซึ่งมีพื้นที่ระบาดอยู่ในจังหวัดที่มีเขตติดต่อกับชายแดนไทย-พม่า และ *Brugia malayi* (*B. malayi*) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเท้าช้างที่ระบาดในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย⁽¹⁾ โรคเท้าช้างเป็นโรคติดต่อที่มีเยื้องเป็นพาหะนำโรค ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่มักไม่แสดงอาการ จึงเป็นการยากที่จะค้นหาผู้ติดเชื้อและให้การรักษาเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของโรค ข้อมูลจากรายงานโรคในระบบเฝ้าระวัง ปี พ.ศ. 2554 ของสำนักโรคติดต่อ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งตรวจหาไมโครฟิลาเรียในเลือดจากการทำฟิล์มเลือดแบบหนา (thick blood film) และวิธี modified Knott's concentration และตรวจหาแอนติเจนของพยาธิในเลือดด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) พบว่ามีผู้ป่วยโรคเท้าช้างจำนวน 21 ราย จาก 13 จังหวัดทั่วประเทศ โดยพบเป็นแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่าถึงร้อยละ 57.1⁽²⁾

ปัจจุบันมีการอพยพของแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่าเข้ามาทำงานในประเทศไทยมากขึ้นอันเนื่องมาจากการขาดแคลนแรงงานภายในประเทศ ด้านพรมแดนแม่สอด-เมียวดี ที่อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก เป็นเส้นทางหนึ่งที่แรงงานต่างด้าวเหล่านี้ใช้อพยพเข้าสู่ประเทศไทย ข้อมูลจากสำนักงานแรงงาน จังหวัดตาก พบว่าในปี พ.ศ. 2554 มีแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่าที่ขอขึ้นทะเบียนเป็นแรงงานอย่างถูกต้องตามกฎหมายถึง 55,384 คน คิดเป็นร้อยละ 99.89 ของแรงงานต่างด้าวทั้งหมดในจังหวัดตาก⁽³⁾ ซึ่งแรงงานเหล่านี้ต้องเข้ารับการตรวจสุขภาพเพื่อคัดกรองโรคเท้าช้างก่อนการขอขึ้นทะเบียนหรือขอต่อทะเบียนแรงงานต่างด้าว

ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ในประเทศไทย ตรวจคัดกรองโรคเท้าช้างโดยตรวจหาการเคลื่อนที่ของไมโครฟิลาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากเลือดสด (wet mount preparation) หรือการตรวจจากฟิล์มเลือดหนา (thick blood film) ซึ่งวิธีดังกล่าวนี้มีความไว (sensitivity) ต่ำ เนื่องจากใช้เลือดปริมาณน้อย และไม่สามารถจำแนกชนิดของหนอนพยาธิได้⁽¹⁾ มีรายงานว่า การตรวจหาไมโครฟิลาเรียจากตัวอย่างเลือดที่มีปริมาณมากขึ้นและทำให้เข้มข้นขึ้น เช่น วิธี modified Knott's concentration สามารถเพิ่มความไวในการตรวจ

ตรวจหาไมโครฟิลาเรียได้^(4, 5) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความไวของวิธีในการตรวจหาไมโครฟิลาเรียในเลือด ระหว่างวิธี wet mount preparation ที่ใช้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการ กับวิธี modified Knott's concentration โดยทำการศึกษาในตัวอย่างเลือดของแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่า จำนวน 400 ตัวอย่าง ที่มาขอรับการตรวจสุขภาพ ณ โรงพยาบาลแม่สอด เพื่อขึ้นทะเบียนหรือต่อทะเบียนแรงงานต่างด้าว ตั้งแต่เดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2555

วัสดุและวิธีการศึกษา

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างเลือดปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ที่มี ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA) เป็นสารกันเลือดแข็ง จำนวน 400 ตัวอย่าง ของแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่าที่มาขอรับบริการตรวจคัดกรองการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้าง ณ โรงพยาบาลแม่สอด จังหวัดตาก ตั้งแต่เดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 เพื่อขึ้นทะเบียนหรือต่อใบอนุญาตทำงาน ตัวอย่างเลือดทั้งหมดเป็นเลือดที่เหลือจากงานตรวจประจำวันของโรงพยาบาลแม่สอด อ.แม่สอด จ.ตาก การศึกษานี้ได้ผ่านการรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่รับรองโครงการ 55 01 04 0010 และได้รับการรับรองโครงการวิจัยโดยคณะกรรมการจริยธรรมวิจัย โรงพยาบาลแม่สอด เอกสารเลขที่ 3/2555

การตรวจหาไมโครฟิลาเรียด้วยวิธีการตรวจจากเลือดสดหรือ wet mount preparation

ตัวอย่างเลือดจะถูกเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยการคว่ำ-หงาย สลับไปมา เพื่อให้มีการกระจายตัวของไมโครฟิลาเรียอย่างทั่วถึง จากนั้นดูดตัวอย่างเลือดปริมาตร 60 ไมโครลิตร หยดลงบน microscopic slide ปิดด้วย cover glass แล้วนำไปตรวจหาไมโครฟิลาเรียโดยการสังเกตการเคลื่อนที่ของไมโครฟิลาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ⁽⁴⁾

การตรวจหาไมโครฟิลาเรียด้วยวิธี modified Knott's concentration

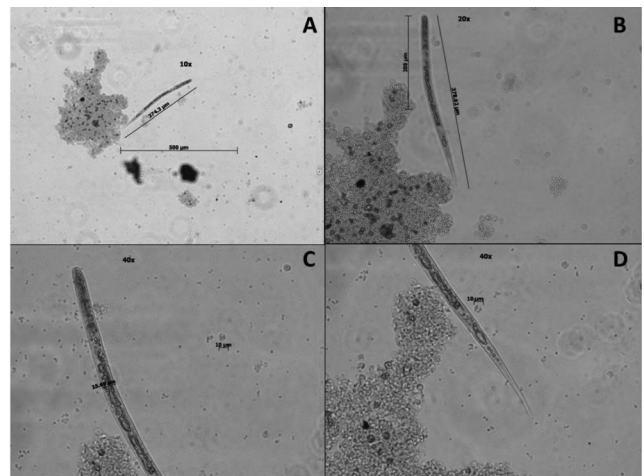
ดูดสารละลายปริมาตร 9 มิลลิลิตร ที่มีส่วนผสมของฟอร์มาลินอยู่ร้อยละ 2 ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นดูดตัวอย่างเลือดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปและเขย่าให้เข้ากันโดยการคว่ำ-หงาย สลับไปมาและตั้งทิ้ง

ไว้เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เม็ดเลือดแดงแตกจากนั้น นำหลอดทดลองไปปั่นที่ความเร็ว 300 x g เป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลา เทส่วนใสทิ้งโดยการคว่ำหลอดทดลอง และซับปากหลอดให้แห้ง จากนั้นเติมสีย้อมที่มีส่วนผสมของ Methylene blue ร้อยละ 0.1 ละลายในน้ำกลั่น ลงบนตะกอนในหลอดทดลอง 1 หยดหรือประมาณ 60 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วจึงดูดตะกอนทั้งหมดมาหยดลงบนmicroscopic slide ปิดทับด้วย cover glass แล้วจึงนำไปตรวจหาไมโครฟิลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ⁽⁴⁾

ผลการศึกษา

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นเลือดที่เก็บจากแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่าที่เข้ารับบริการตรวจคัดกรองการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้าง ณ โรงพยาบาลแม่สอด โดยคัดเลือกตัวอย่างเลือดแบบสุ่มจนครบ 400 ตัวอย่าง ประกอบด้วยตัวอย่างเลือดจากแรงงานเพศหญิง 190 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 47.5 และแรงงานเพศชายจำนวน 210 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 52.5 แรงงานทั้งหมดมีอายุระหว่าง 17-71 ปี (เฉลี่ย 34.6 ปี) เมื่อนำตัวอย่างเลือดทั้งหมดมาทำการตรวจหาไมโครฟิลาเรียด้วยวิธี wet mount preparation และวิธี modified Knott's concentration พบว่า ตัวอย่างเลือดทั้งหมดให้ผลลบด้วยวิธี wet mount preparation แต่เมื่อตรวจด้วยวิธี modified Knott's concentration พบว่า มีตัวอย่างเลือดจำนวน 40 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบไมโครฟิลาเรีย คิดเป็นอัตราการตรวจพบไมโครฟิลาเรีย (Microfilaria positive rate) ร้อยละ 10 (ตารางที่ 1) โดยตรวจพบในตัวอย่างเลือดของแรงงานเพศหญิง จำนวน 21 ตัวอย่าง เพศชาย 19 ตัวอย่าง คิดเป็นอัตราการตรวจพบไมโครฟิลาเรียในแรงงานเพศหญิงและเพศชายร้อยละ 11.05 และ 9.05 ตามลำดับ โดยพบว่าตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธีนี้มีความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียในเลือด (Microfilarial density) จำนวน 1 ตัว ต่อ

เลือดปริมาตร 1 มิลลิเมตร การศึกษานี้ทำการย้อมตะกอนด้วย สีย้อม Methylene blue และพบว่าการย้อมตะกอนด้วยสีย้อมชนิดนี้ทำให้เห็นรูปร่างและองค์ประกอบภายในของไมโครฟิลาเรียได้ชัดเจนขึ้น (รูปที่ 1) เมื่อตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ไม่พบterminal nuclei ที่ปลายหางของไมโครฟิลาเรีย (รูปที่ 1D) ดังนั้นไมโครฟิลาเรียที่พบในการศึกษานี้ น่าจะเป็นไมโครฟิลาเรียของ *W. bancrofti* อย่างไรก็ตาม การจำแนกชนิดของไมโครฟิลาเรียที่ถูกต้อง ต้องอาศัยการตรวจยืนยันในเชิงชีวโมเลกุลด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา เช่นการตรวจหาสารพันธุกรรมด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) หรือการตรวจลำดับสารพันธุกรรมโดยเทคนิค DNA sequencing ต่อไป อัตราความชุกของโรคเท้าช้างในแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่าจากการศึกษานี้คิดเป็น 10,000 ต่อ 100,000 ประชากร เมื่อพิจารณาตามเพศพบว่าอัตราความชุกของโรคเท้าช้างในแรงงานเพศหญิงและเพศชายคิดเป็น 11,053 และ 9,048 ต่อแสนประชากร ตามลำดับ (ตารางที่ 1)



รูปที่ 1 ไมโครฟิลาเรียของ *W. bancrofti* ย้อมด้วยสีย้อม methylene blue และตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า (A), 200 เท่า (B), และ 400 เท่า (C; หัว, D; หาง)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจหาไมโครพลาเรียด้วยวิธี wet mount preparation และวิธี modified Knott's concentration ในตัวอย่างเลือดแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่าจำนวน 400 คน

	เพศชาย	เพศหญิง	รวม
จำนวนตัวอย่าง (ร้อยละ)	210 (52.5)	190 (47.5)	400 (100)
อายุเฉลี่ย (ต่ำสุด-สูงสุด)	35 ปี (17-67)	34.3 ปี(17-71)	34.6 ปี (17-71)
ตัวอย่างที่พบไมโครพลาเรีย ต่อตัวอย่างทั้งหมด			
- วิธี wet mount preparation	0 / 210	0 / 190	0 / 400
- วิธี modified Knott's concentration	19 / 210	21 / 190	40 / 400
อัตราการตรวจพบไมโครพลาเรียโดยวิธี modified Knott's concentration	9.05	11.05	10
ความชุกของโรคเท้าช้าง ต่อแสนประชากร	9,048	11,053	10,000

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การตรวจเพื่อวินิจฉัยโรคพยาธิเท้าช้างในปัจจุบันทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจหาสารพันธุกรรมของพยาธิด้วยเทคนิค real-time PCR⁽⁶⁾ การตรวจหาระดับแอนติเจนในซีรัมของผู้ป่วยด้วยเทคนิค ELISA หรือ Immunochromatographic test (ICT)^(7,8) แม้วิธีดังกล่าวนี้จะความไวและความจำเพาะสูง แต่มีราคาแพงและต้องการเครื่องมือเฉพาะ ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่จึงนิยมใช้เทคนิคทางปรสิตวิทยา เช่น wet mount preparation, thick blood smear และ thin blood smear เพื่อตรวจวินิจฉัยโรคดังกล่าว โดยตรวจหาไมโครพลาเรียของพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ แม้วิธีนี้จะทำได้ง่ายและราคาถูก แต่มีความไวต่ำเนื่องจากใช้เลือดปริมาณน้อยในการตรวจ⁽⁸⁾ จึงมีโอกาที่จะตรวจได้ผลลบปลอมในผู้ป่วยที่มีปริมาณไมโครพลาเรียในกระแสเลือดต่ำ การตรวจจากเลือดที่มีปริมาณมากขึ้น และทำให้เข้มข้นด้วยวิธี modified Knott's concentration อาจเพิ่มความไวในการตรวจพบไมโครพลาเรียในผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าว

การศึกษานี้เป็นการเปรียบเทียบการตรวจหาไมโครพลาเรียในสิ่งส่งตรวจที่เป็นเลือด ด้วยวิธี wet mount preparation ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการและวิธี modified Knott's concentration เพื่อให้ทราบถึงความไวของแต่ละวิธี ผลการศึกษาที่ได้อาจใช้เป็นข้อมูลในการเลือกวิธีที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการตรวจหาผู้ติดเชื้อโรคเท้าช้างต่อไป ผลการตรวจหาไมโครพลาเรียจากเลือดในตัวอย่างเลือดจำนวน 400 ตัวอย่าง พบว่าทุกตัวอย่างให้ผลลบด้วยวิธี wet mount preparation แต่เมื่อนำมาตรวจด้วยวิธี modified Knott's

concentration พบว่าตัวอย่างเลือดจำนวน 40 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 400 ตัวอย่าง ให้ผลบวกด้วยวิธีดังกล่าว คิดเป็นอัตราการตรวจพบไมโครพลาเรียร้อยละ 10 ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษาของสุรางค์ นุชประยูร และคณะ⁽⁸⁾ และสุรางค์ ไตรธีระประภาพร และคณะ^(9,10) ที่ศึกษาด้วยวิธี thick blood smear ในกลุ่มผู้ป่วยพวพม่าที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เดียวกัน โดยมีอัตราการตรวจพบไมโครพลาเรียที่ร้อยละ 3.3-8.0 การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าผลลบจากการตรวจด้วยวิธี wet mount preparation เป็นผลลบปลอม ซึ่งอาจเกิดจากแรงงานกลุ่มนี้มีความหนาแน่นของไมโครพลาเรียในกระแสเลือดต่ำ คือ 1 ตัวต่อเลือด 1 มิลลิลิตร เมื่อเพิ่มปริมาณเลือดและตรวจด้วยวิธี modified Knott's concentration จึงสามารถตรวจพบไมโครพลาเรียได้ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธี modified Knott's concentration มีความไวในการตรวจพบไมโครพลาเรียในเลือดมากกว่าวิธี wet mount preparation ถึง 10 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากการตรวจด้วยวิธี modified Knott's concentration นั้นใช้ปริมาณเลือดมากกว่าวิธี wet mount preparation ถึง 16.6 เท่า ดังนั้นจึงมีโอกาสนในการตรวจพบไมโครพลาเรียในเลือดได้มากกว่า ผลดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Ralwins SC และคณะ⁽⁵⁾ ที่พบว่าวิธี modified Knott's concentration มีความไวในการตรวจหาไมโครพลาเรียของพยาธิ *W. bancrofti* ในเลือดของผู้ป่วยเท่ากับร้อยละ 90.2 ซึ่งสูงกว่าวิธี thick blood smear ที่มีความไวร้อยละ 75.6 การศึกษาในเลือดของสัตว์ก็ให้ผลสอดคล้องกัน โดย Bino Sundar ST และคณะ⁽⁴⁾ พบว่า วิธี modified Knott's concentration มีความไวในการตรวจหาไมโครพลาเรียของ

พยาธิ *Setaria* ในเลือดของสัตว์เท่ากับร้อยละ 89.79 ซึ่งสูงกว่าวิธี wet mount preparation (ร้อยละ 65.30) และวิธี thick blood smear (ร้อยละ 59.18) การศึกษานี้ยังพบว่า การตรวจด้วยวิธี modified Knott's concentration นั้นสามารถตรวจพบไมโครฟิลาเรียได้ง่ายกว่าวิธี wet mount preparation เนื่องจากพยาธิไม่ถูกบดบังด้วยเม็ดเลือดแดงและสารละลายฟอร์มาลินจะทำให้ไมโครฟิลาเรียมีรูปร่างเหยียดตรง เมื่อย้อมด้วยสี methylene blue จะทำให้เห็นองค์ประกอบภายในไมโครฟิลาเรียชัดเจน เช่น รูปร่างและการเรียงตัวของนิวเคลียส รวมถึง terminal nuclei ซึ่งหากผู้ตรวจมีประสบการณ์และความชำนาญ อาจช่วยให้สามารถจำแนกชนิดของไมโครฟิลาเรียได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในเชิงระบาดวิทยาของโรคเท้าช้าง แม้ไมโครฟิลาเรียที่ตรวจพบในการศึกษานี้จะสังเกตไม่พบ terminal nuclei แต่การจำแนกว่าเป็นไมโครฟิลาเรียของ *W. bancrofti* จำเป็นต้องยืนยันด้วยวิธีการตรวจเชิงชีวโมเลกุล เช่น การตรวจหาชิ้น SspI ด้วยวิธี PCR⁽¹¹⁾ หรือการตรวจด้วยวิธี polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) โดยเพิ่มปริมาณของยีน internal transcribed spacer I (*ItsI*) แล้วตัดด้วยเอนไซม์ *AseI*⁽¹²⁾

ถึงแม้ว่าปัจจุบันวิธี wet mount preparation หรือวิธี capillary blood examination จะเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจหาไมโครฟิลาเรียในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปเพราะเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว แต่อาจให้ผลลบปลอมได้ ดังที่พบในการศึกษานี้ เนื่องจากวิธีนี้ใช้เลือดที่มีปริมาตรเพียง 60 ไมโครลิตร ทำให้โอกาสในการพบเชื้อต่ำ และทั้งสองวิธีนี้ไม่สามารถจำแนกชนิดของไมโครฟิลาเรียได้

ตัวอย่างเลือดทั้ง 40 ราย ที่ตรวจพบไมโครฟิลาเรียด้วยวิธี modified Knott's concentration ในครั้งนี้มีความหนาแน่นของไมโครฟิลาเรียในเลือดต่ำมาก คือพบไมโครฟิลาเรีย 1 ตัวต่อเลือด 1 มิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าแรงงานต่างด้าวเหล่านี้เป็นผู้ติดเชื้อโรคเท้าช้างที่อยู่ในระยะแพร่เชื้อซึ่งสามารถแพร่กระจายไปสู่คนอื่นได้โดยยุงพาหะ การค้นหาผู้ติดเชื้อเหล่านี้ด้วยวิธีตรวจที่มีความไวสูงจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการควบคุมการแพร่ระบาดของโรค การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธี modified Knott's concentration นั้นเป็นวิธีที่เหมาะสมเนื่องจากมีความไวมากกว่าวิธี wet mount preparation มีขั้นตอนเตรียมตัวอย่างที่ไม่ยุ่งยาก สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปเนื่องจากไม่ต้องการเครื่องมือ

พิเศษ สามารถใช้ได้กับกลุ่มตัวอย่างจำนวนมากเนื่องจากสารละลายฟอร์มาลินมีคุณสมบัติในการตรึงและรักษาสภาพไมโครฟิลาเรีย ทำให้สามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้นานขึ้นก่อนการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลแม่สอด จังหวัดตาก ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลและตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ การศึกษานี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากทุนอุดหนุนโครงการวิชาชีพ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก

เอกสารอ้างอิง

1. สุรางค์ นุชประยูร. โรคเท้าช้าง : ความรู้พื้นฐานสู่การประยุกต์: หน่วยปฏิบัติการวิจัยโรคเท้าช้าง ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2550.
2. สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. รายงานโรคในระบบเฝ้าระวัง ปี2554.Filariasis. [Online]. 2011 [cited 2012 Aug 24] Available from: http://www.boe.moph.go.th/boedb/surdata/506wk/y55/d76_4055.pdf
3. สำนักแรงงานจังหวัดตาก. รายงานสถานการณ์ด้านแรงงานจังหวัดตาก ประจำปี 2554.[Online]. 2011 [cited 2012 Jul 20] Available from: http://tak.mol.go.th/sites/tak.mol.go.th/files/raayngaan-sthaankaarnaerngngaancchhanghwadtaak___prac-champii_2554.pdf
4. Bino Sundar ST, Ravindran R. Comparison of various methods for the detection of microfilaria of *Setaria* in the blood of cattle. Tamilnadu J Veterinary & Animal Sciences 2010; 1: 45-8.
5. Rawlins SC, Chailett P, Ragoonanansingh RN, Baboolal S, Stroom V. Microscopical and serological diagnosis of *Wuchereria bancrofti*. West Indian Med J 1994; 43:75-9.
6. Fink DL, Fahle GA, Fischer S, Fedorko DF, Nutman TB. Toward molecular parasitologic diag-

- nosis: Enhanced diagnostic sensitivity for filarial infections in mobile populations. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 42-7.
7. El-Moamly AA-R, 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; 11: 1379-83.
 8. 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.
 9. Tritteerapapab S, Songtrus J. High prevalence of bancroftianfilariasis in Myanmar-migrant workers: A study in Mae Sot District, Tak Province, Thailand. *J Med Assoc Thai* 1999; 82: 734-9.
 10. Tritteerapapab S, Nuchprayoon I, Porksakorn C, Poovorawan Y. Prevalence of *Wuchereria bancrofti* infection among Myanmar migrants in Thailand. *Ann Trop Med Parasitol* 2001; 95: 535-8.
 11. Nassef NE, El-Shafey OK, El-Kersh WM, El-Nahas NS, Rady AA, El-Nabi SEH. Assessment of diagnosis and DNA damage in microfilaremic and amicrofilaremic patients in Menoufiya Governorate. *Parasitol United J* 2009; 2: 15-24.
 12. Nuchprayoon S, Junpee A, Poovorawan Y, Scott A. 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.