

บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

Fasciola spp. เป็นพยาธิใบไม้ตับขนาดใหญ่ก่อให้เกิดโรค Fascioliasis ซึ่งถูกจัดให้เป็นโรคที่มีความสำคัญ และมีผลกระทบต่อสุขอนามัยของประชากร (WHO, 1995) ประเมินการว่ามีผู้ป่วยด้วยโรค Fascioliasis ถึง 17 ล้านคนทั่วโลก (Mas-Coma et al., 2001) โดยทั่วไปแล้วจัดว่าคนเป็นโฮสต์โดยบังเอิญของพยาธิชนิดนี้ (Magalhaes et al., 2004) ในปัจจุบันมีรายงาน 2 ชนิดคือ *F. hepatica* และ *F. gigantica* พบการกระจายตัวของ *F. hepatica* อย่างกว้างขวางทั่วโลก และมีการระบาดหนาแน่นในประเทศที่มีลักษณะภูมิอากาศแบบอบอุ่น (temperate zone) มีรายงานการศึกษาที่เกี่ยวกับการตรวจสอบพยาธิใบไม้ *F. hepatica* อย่างต่อเนื่องเช่น การตรวจสอบระยะตัวอ่อนพยาธิในหอย *Lymnaea columella* โดยวิธี multiplex PCR (Magalhaes et al., 2004) การตรวจสอบระยะตัวอ่อนพยาธิในหอย *L. columella* และ *L. viatrix* โดยวิธี PCR (Cucher et al., 2006) การศึกษาปัจจัยเสี่ยงต่อการติดพยาธิ *F. hepatica* ในเด็ก (Macros et al., 2006) ส่วน *F. gigantica* มีการระบาดในประเทศเขตร้อน (tropical zone) โดยเฉพาะในทั้งประเทศไทย มีรายงานการติดพยาธิ *F. gigantica* จากผู้ป่วย 2 ราย (Tesana et al., 1989) รายงานพบในผู้หญิงอายุ 67 ปีจากจังหวัดอ่างทอง มีอาการหนักลด ตับโต ดีซ่าน โลหิตจาง นิวในถุงน้ำดี (Kanoksil et al., 2006) พบการระบาดในคนวัยเตาะแตะ จากผู้ป่วยที่เป็นเด็กหญิงวัย 11 ปี เริ่มมีอาการเป็นไข้ น้ำหนักลดลงถึง 12 กิโลกรัม ปวดท้อง แพทย์ให้ยาปฏิชีวนะเพราะคิดว่าเป็นโรคเกี่ยวกับตับ หลังจากนั้น 6 เดือนมีอาการปวดเข้า และบวมเมื่อเจาะเข้าดูพบว่าเป็นพยาธิใบไม้ตับขนาดใหญ่ *F. gigantica* (Le et al., 2007) โฮสต์กึ่งกลางของพยาธิ *F. gigantica* พบในหอยน้ำจืด *Lymnaea auricularia* (Velusamy et al., 2004) พบในหอย *L. natalensis* และ *Galba truncatula* (Dar et al., 2004)

สำหรับการศึกษาพยาธิใบไม้กระเพาะปัสสาวะในประเทศไทยนั้น พบพยาธิกลุ่มนี้ในวัวและควายหลายชนิด ได้แก่ *G. crumenifer*, *Camyerius spatiosus*, *F. elongatus*, *O. streptocoelium*, *O. dicranocoelium*, *O. parvipapillatum*, *P. epiclitum*, *P. ichikawai*, and *C. calicophorum* มีการศึกษาโดย (Sey et al., 1997), *P. cervi* (Anuracpreeda et al., 2008; Panyarachun et al., 2010) ขณะที่ในภาคเหนือพบพยาธิกลุ่มนี้ 3 ชนิด ได้แก่ *O. streptocoelium*, *P. epiclitum* และ *F. elongatus* (Sripalwit, 2007) ซึ่งมีความแตกต่างจากพยาธิใบไม้กระเพาะปัสสาวะที่พบในประเทศอื่น ๆ เช่น พยาธิ *P. daubneyi* พบในประเทศฝรั่งเศส

(Szmídt-Adjíde *et al.*, 2000) *P. ichikawai* พบในประเทศ Moravia (Kotrla and Chroustacta, 1978) *P. microbothrium* มีรายงานพบในประเทศ Sardinia, Yugoslavia และ Hungary (Horak, 1971) *P. cervi* พบในประเทศ Mexico (Rangel-Ruiz *et al.*, 2003), Bangladesh (Uddin *et al.*, 2006), *Calicophoron microbothrium*, *C. clavula* และ *Ceylonocotyle dicranocoelium* มีรายงานพบในประเทศ Zimbabwe (Dube *et al.*, 2010) ขณะที่ *Fischoederius upiensis* พบในประเทศ Philippines (Eduardo and Javellana 2008) สำหรับพยาธิ *F. elongatus* และ *F. cobboldi* มีรายงานพบในประเทศ India, Bangladesh และ Thailand (Horak, 1971; Sey and Prasitirat, 1994)

ปัจจุบันเทคนิคทางอณูชีววิทยาเป็นการศึกษาโดยใช้สารพันธุกรรมในระดับ DNA ได้ถูกนำมาใช้ในการศึกษาทางปรสิตวิทยาอย่างแพร่หลาย ไม่เพียงแต่นำมาใช้ในการจำแนกความแตกต่างของหนอนพยาธิชนิดต่างๆ เท่านั้น แต่ยังมีการพัฒนาเพื่อสร้างเป็นตัวติดตามที่จำเพาะต่อพยาธิชนิดนั้นๆ โดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาแบบต่าง ๆ เช่น RAPD และเทคนิคอื่นๆ เช่น การตรวจสอบพยาธิใบไม้ตับโดยการพัฒนา mitochondrial-based multiplex PCR สำหรับตรวจสอบและจำแนกพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* และ *Clonorchis sinensis* พบว่า *O. viverrini* เกิด PCR product ขนาด 1,357 bp ส่วน *Clonorchis sinensis* เกิด PCR product ขนาด 612 bp (Le *et al.*, 2006) หลังจากเทคนิค High Annealing Temperature Random Amplify Polymorphic DNA (HAT-RAPD) ได้ถูกพัฒนาขึ้น โดย Anuntalabhochai *et al.* (2000) ในภายหลังมีการนำมาใช้ในการหาตัวติดตามดีเอ็นเอแบบจำเพาะของพยาธิใบไม้ขนาดเล็ก *S. falcatus* (Sripalwit *et al.*, 2003) การศึกษาคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่เหมาะสมของพยาธิใบไม้หลายชนิดจากกระยะไข่ เมตาเซอร์คาเรีย และตัวเต็มวัย โดยเทคนิค HAT-RAPD (Wongsawad *et al.*, 2006) การสร้างไพรเมอร์แบบจำเพาะสำหรับตรวจสอบพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก *Haplorchis taichui* โดยใช้เทคนิค HAT-RAPD (Wongsawad *et al.*, 2009) นอกจากนี้ Sermsawan *et al.* (1991) และ Sirasinha *et al.* (1991a) ได้สร้าง DNA probe ที่มีความจำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ได้แก่ pOV-A6 ซึ่งเป็นชิ้นส่วน DNA ขนาด 334 bp ซึ่งพบว่าเป็นตำแหน่งที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำไปซ้ำมาจำนวนมากบนสาย DNA ของพยาธิใบไม้ตับจึงสร้างเป็น primer OV-6F ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็น 5'-CTGAATCTC GTTTGTTCA-3' และ OV-6R ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็น 5'-GTTCCAGGTGAGTCTCTCTA-3' เพื่อใช้ตรวจหา complementary DNA ของไข่พยาธิใบไม้ตับที่ปนมากับอุจจาระ โดยพบว่ามีประสิทธิภาพในการตรวจหาปริมาณ DNA ได้น้อยที่สุด คือ 2.5 pg หรือไข่พยาธิประมาณ 5 ฟอง และไม่เกิดปฏิกิริยาข้าม กับ DNA ของพยาธิใบไม้ชนิดอื่น ซึ่งได้ช่วยในการแก้ปัญหาการตรวจสอบไข่

พยาธิใบไม้ตับ ต่อมา Hamburger *et al.* (1998a) ได้ประยุกต์ใช้เทคนิค PCR ในการตรวจหาเชอร์คาเรียของพยาธิ *Schistosoma mansoni* ที่ปนเปื้อนในน้ำ และที่ infect ในหอยซึ่งเป็นโฮสต์กึ่งกลาง PCR primers ที่ใช้ถูกออกแบบมาจาก genomic DNA ของพยาธิ PCR product ที่ได้จะมีขนาด 121 bp ซึ่งเป็นส่วน highly repeat sequence ผลการศึกษาพบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างหอยที่มีพยาธิ และไม่มีพยาธิได้ ในหอยที่มีพยาธิสามารถตรวจสอบได้ตั้งแต่ในระยะแรกที่ miracidium เพียงหนึ่งตัวไซเข้าไปในหอย และยังได้ศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจสอบ (sensitivity) ด้วยเทคนิคการทำ DNA pool โดยการนำ DNA ของหอยที่มีการ infect พยาธิหนึ่งตัว ผสมรวมกับ DNA ของหอยที่ไม่ได้ infect พยาธิ ในอัตราส่วน 1 : 10, 20, 30, 40, 50 และ 100 ตัว พบว่าสามารถตรวจสอบได้ โดยเกิด PCR product ขนาด 121 bp ในทุกอัตราส่วน ผลที่ได้สามารถนำไปใช้ศึกษา และควบคุมการระบาดของโรค schistosomiasis ต่อไปได้ ต่อมาในปีเดียวกันนี้ Dinkel *et al.* (1998) ได้ศึกษาการตรวจหาพยาธิตัวตืด *Echinococcus multilocularis* ในโฮสต์เฉพาะโดยวิธี Nested PCR ซึ่ง specific primers ที่ใช้ออกแบบมาจาก mitochondrial 12S rRNA gene ของพยาธิตัวตืด *E. multilocularis* และทำการทดสอบโดยเทียบกับ cestodes ชนิดอื่น ๆ อีก 11 ชนิด รวมทั้งพยาธิ *E. granulosus* ผลการศึกษาพบว่า สามารถเกิด PCR product ที่มีขนาด 250 bp ที่มีความจำเพาะกับ *E. multilocularis* และเมื่อทำ hybridization ก็ให้ผลที่จำเพาะต่อพยาธิชนิดนี้ เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบได้จากไข่พยาธิที่ปนกับอุจจาระเพียง 1 ฟอง นอกจากนี้ Hamburger *et al.* (1998) ได้พัฒนาเทคนิค PCR ในการติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนของตัวอ่อนพยาธิ *S. mansoni* ในน้ำ primers ที่ใช้ใน PCR ได้ออกแบบมาจากชิ้นส่วน DNA ขนาด 121 bp highly repeat sequence ที่พบใน genome ของ *S. mansoni* ผลการศึกษาพบว่า สามารถตรวจหาพยาธิได้ โดยมีปริมาณ DNA เป้าหมายน้อยที่สุด คือ 1×10^{-6} ng และสามารถตรวจสอบได้ในเชอร์คาเรียเพียง 1 ตัว ซึ่งผลที่ได้นี้จะเป็ประโยชน์ในการศึกษาระบาดวิทยาของพยาธิชนิดนี้ต่อไป ต่อมา Jannotti Passos and Souza (2000) ได้ศึกษา susceptibility ของการติดพยาธิ *S. mansoni* ของหอย *Biomphalaria straminea* และ *B. tenagophila* โดย expose กับ miracidium แล้วนำไปตรวจสอบโดยเทคนิค Low Stringency PCR โดยใช้ specific primers, EF5'-ACCTACCGTACTATGACG-3' และ ER 5'-GGTTTCTTAGTGTTATAG-3' พบว่า *B. tenagophila* มี susceptibility มากกว่า *B. straminea* และสามารถตรวจสอบการติดพยาธิโดยวิธี LS-PCR ได้ในวันที่ 7 หลังจากที่มีการ expose กับ miracidium นอกจากนี้ Barber *et al.* (2000) ได้ศึกษาวิธีการตรวจสอบพยาธิ *S. haematobium* และ *S. bovis* โดยใช้ส่วนของ ITS2 ของ ribosomal gene complex และใช้เทคนิค PCR-RFLP ในการตรวจสอบ พบว่าพยาธิสอง

ชนิดที่มีลักษณะคล้ายกัน และอาจจะพบในแหล่งเดียวกันนี้ สามารถจำแนกความแตกต่างได้ โดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด คือ *Sau* 3A1 และ *Taq* 1 จากการตัดด้วย *Sau* 3A1 *S. haematobium* จะเกิด fragment ที่มีขนาด 260 bp ส่วน *S. bovis* จะเกิด fragment ขนาด 350 bp ส่วนจากการตัดด้วย *Taq* 1 *S. haematobium* จะเกิด fragment ที่มีขนาด 200 และ 160 bp ส่วน *S. bovis* จะเกิด fragment ขนาด 200 และ 230 bp ในปีเดียวกันนี้ Hamburger *et al.* (2000) ได้ศึกษาการใช้ highly repeated sequence ของพยาธิ *S. haematobium* ในการติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนของตัวอ่อนพยาธิในน้ำ โดยวิธี PCR พบว่าสามารถตรวจสอบได้ โดยจะต้องมีปริมาณ DNA เป้าหมาย อย่างน้อย 10 fg เนื่องจากส่วนที่เป็น repeated sequence มีปริมาณมากถึงประมาณ 15% ของ genome แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อนำไปทำ dot blot Hybridization พบว่าสามารถเกิด cross hybridization กับพยาธิ Schistosome ชนิดอื่น ๆ อีก จึงไม่สามารถนำมาใช้เป็น species specific probe ได้ ต่อมา Wongratanacheewin *et al.* (2001) ได้พัฒนาเทคนิค PCR เพื่อให้สามารถตรวจหาปริมาณ DNA ของพยาธิใบไม้ตับ โดยใช้ primers ที่มีความจำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับคือ OV-6F และ OV-6R ซึ่ง primers ชุดนี้สร้างตามลำดับนิวคลีโอไทด์ของ pOV-A6 specific probe ที่มีความจำเพาะต่อพยาธิใบไม้ตับ และให้ PCR product ที่มีขนาด 334 bp พบว่าสามารถตรวจหาปริมาณ DNA ของพยาธิใบไม้ตับได้ใน ปริมาณที่น้อยที่สุด คือ 2×10^{-17} ng และสามารถตรวจหาไข่พยาธิใบไม้ตับจำนวน 1 ใบ ทั้งที่ผสม และไม่ได้ผสมอยู่ในอุจจาระของหนูแฮมสเตอร์ และไม่เกิดปฏิกิริยาข้าม กับ DNA ของพยาธิใบไม้ชนิดอื่นด้วย ต่อมา Hertel *et al.* (2002) ได้ศึกษาวิธีการตรวจหาพยาธิ Schistosoma sp. ที่มีการระบาดในนก จากตัวอย่างน้ำจากทะเลสาบ โดยวิธี PCR และ Filtered Hybridization ซึ่งได้ศึกษาและพัฒนาจนได้ primers ที่ทำให้เกิด PCR product ขนาด 396 bp ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของ tandem repeat DNA ของพยาธิ *Trichobilharzia ocellata* ซึ่งเป็น schistosome ของนกแล้วนำไปตรวจสอบในน้ำจากทะเลสาบที่คาดว่าจะมี ระยะเชอร์คาเรียพยาธิชนิดนี้ปนอยู่ ผลการศึกษาพบว่าสามารถตรวจสอบได้แม้จะมีปริมาณ DNA เป้าหมายน้อยเพียง 100 fg หรือ เชอร์คาเรีย 1 ตัว ในแพลงก์ตอน 0.5 g หรือ เชอร์คาเรีย 2 ตัว ในหอยหนึ่งตัว จากการ ทำ Hybridization พบว่าถ้ามีปริมาณ DNA น้อยกว่า 100 pg จะเกิด cross reaction กับพยาธิ ชนิดอื่นๆ ในสกุลเดียวกัน จึงยังไม่สามารถนำไปใช้ตรวจสอบในบริเวณที่มีการระบาดของพยาธิ ในกลุ่ม Schistosomes หลายชนิด ต่อมาในปีเดียวกันนี้ Wongratanacheewin *et al.* (2002) ทำการศึกษาการตรวจสอบพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* จากตัวอย่างอุจจาระของคน โดยวิธี PCR พบว่ามี sensitivity ในการตรวจสอบ 80% และกล่าวว่าวิธีนี้มีความจำเพาะ มากกว่าวิธีที่ใช้ DNA probe ในการตรวจสอบ แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังให้ผลดีกว่าวิธี

formalin-ether sedimentation ซึ่งอาจเป็นเพราะใช้ปริมาณอุจจาระน้อยกว่ามาก ข้อจำกัดของวิธีนี้ คือต้องมี DNA เป้าหมายอย่างน้อย 200 pg หรือ มีไข่ประมาณ 200 ฟองจึงจะตรวจสอบได้ Pontes *et al.* (2002) ได้ศึกษาวิธีการตรวจสอบพยาธิ *S. mansoni* ในตัวอย่าง serum และอุจจาระของคน โดยใช้เทคนิค P CR ซึ่ง primers ที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้านี้ออกแบบมาจาก ส่วนที่เป็น highly repeat sequence ผลการศึกษาพบว่า สามารถตรวจสอบการติดพยาธิได้ แม้จะมีไข่พยาธิเพียง 2.4 ฟอง ต่อ อุจจาระ 1 กรัม ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่าวิธี Kato-Katz examination ถึง 10 เท่า และสามารถตรวจสอบพบพยาธิ แม้จะมี DNA เป้าหมายเพียง 1 fg นอกจากนั้น ยังไม่เกิด cross reaction กับพยาธิชนิดอื่น ๆ ที่นำมาทดสอบด้วย หลังจากนั้น Maleewong *et al.* (2003) ได้ประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ในการตรวจหาพยาธิใบไม้ตับในโฮสต์กึ่งกลาง ได้แก่ หอยในกลุ่ม bithynid และปลาในกลุ่ม cyprinoid โดยใช้ primers OV-6F และ OV-6R เช่นกัน ผลที่ได้พบว่า มีค่า sensitivity ในการตรวจสอบถึง 100% คือสามารถตรวจพบระยะเซอร์คาเรียเพียง 1 ตัว ที่ผสมอยู่ในเนื้อหอย และเมตาเซอร์คาเรียเพียง 1 cyst ที่ผสมอยู่ในเนื้อปลา และพบว่าจะไม่เกิดปฏิกิริยาข้าม กับ DNA ของพยาธิใบไม้ชนิดอื่น ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพยาธิใบไม้ขนาดเล็กที่ปนอยู่ในปลา หรือในหอย ตัวเดียวกันอีกด้วย ต่อมา Sripalwit *et al.* (2003) ได้นำเทคนิค HAT-RAPD (High Annealing Temperature Random Amplified Polymorphic DNA) มาใช้ในการหาความแตกต่างระหว่างพันธุกรรม ของพยาธิใบไม้ลำไส้ ขนาดเล็ก Family Heterophyidae ที่สามารถติดถึงคน 4 ชนิด คือ *Stellantchasmus falcatus*, *Haplorchis taichui*, *Centrocestus caninus* และ *Metagonimus yokokawai* ไม่ติดถึงคน 1 ชนิด คือ *Haplorchoides* sp. และพยาธิใบไม้ในกลุ่มอื่นที่ใกล้เคียงกันที่มีการระบาดในประเทศไทย คือ *Opisthorchis viverrini* โดยใช้ 20 random primers (Kit A, Operon Technologies Inc.) พบว่ามี 19 primers ที่สามารถสังเคราะห์ DNA สายใหม่ที่มีความแตกต่างของแบบแผนลายพิมพ์ DNA ของพยาธิทั้งหมดที่ใช้ทดสอบ และได้เลือกแถบ DNA ของ *S. falcatus* ที่มีขนาด 318 bp ที่เกิดจาก primer OPA-08 ซึ่งมีความแตกต่างจากพยาธิชนิดอื่นๆ อย่างชัดเจน ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ แล้วนำไปใช้ในการออกแบบ specific primer เพื่อใช้ตรวจสอบพยาธิ *S. falcatus* Caldeira *et al.* (2004) ทำการศึกษาวิธีการตรวจสอบชนิดของหอย *Biomphalaria* sp. และพยาธิ *S. mansoni* จาก organic material trace จากเปลือกหอยที่ตายแล้ว โดยวิธี PCR- RFLP (เฉพาะหอย) และ LS-PCR (เฉพาะพยาธิ) พบว่าสามารถตรวจสอบชนิดของหอยจากเปลือกหอยที่ตายแล้วได้ และยังสามารถตรวจพบพยาธิ *S. mansoni* จากเปลือกหอยที่ทดลอง infect พยาธิ แม้ว่าหอยนั้นจะตายมานานกว่า 8 สัปดาห์ Magalhaes *et al.* (2004) ได้ศึกษาวิธีการตรวจสอบหอย *Lymnea collumella* ที่ติดพยาธิ *Fasciola hepatica* โดยวิธี multiplex PCR และ

primers ที่ใช้ออกแบบมาจากลำดับของ mitochondrial DNA คือ FASCF และ FASCR และ primers ที่ใช้ร่วมกันอีกคู่หนึ่งคือ ETTS 1 และ ETTS 2 เพื่อให้ไปเกาะส่วนที่เป็น ITS region ของ ทั้งหอยและพยาธิ นอกจากนี้ primers คู่นี้ยังทำหน้าที่เป็น internal control ในปฏิกิริยา ผล การศึกษาพบว่า สามารถตรวจพบพยาธิแม้จะอยู่ในช่วง prepatent period Intapan *et al.* (2005) ได้พัฒนาเทคนิคในการตรวจสอบพยาธิใบไม้ปอด *Paragonimus heterotremus* โดยได้ ทำการทดสอบป้อนพยาธิในแมว และตรวจสอบโดยใช้เทคนิค PCR โดยใช้ primer ที่ออกแบบมา จาก pPH-13 specific DNA probe พบว่าสามารถเกิด PCR product ที่มีขนาด 0.5 kb และ สามารถตรวจพบไข่ปริมาณน้อยที่สุด 5 ฟองที่ปนมากับอุจจาระ นอกจากนี้ยังสามารถตรวจ พบปริมาณ genomic DNA เพียง 1×10^{-4} ng และมีค่า sensitivity ในการตรวจสอบ ถึง 100% อีกด้วย

ปัจจุบันในประเทศไทยมีการประยุกต์ใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาเพื่อใช้วิจัยทางด้าน ปรสิตวิทยามากขึ้น เช่น การศึกษาคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่เหมาะสมของพยาธิใบไม้ หลายชนิดจากกระยะไข่ เมตาเซอร์คาเรีย และตัวเต็มวัยโดยเทคนิค HAT-RAPD (Wongsawad *et al.* 2006) การตรวจหาตัวติดตามพยาธิใบไม้ *Stellantchasmus falcatus* (Sripalwit *et al.* 2003) และ *H. taichui* (Wongsawad *et al.* 2009) ซึ่งเป็นวิธีการที่ดีที่สุดที่นิยมใช้มากในขณะนี้ เพื่อเป็นต้นแบบของการนำไปใช้ตรวจสอบชนิดที่ถูกต้องทั้งในระยะตัวอ่อน ไข่ และตัวเต็มวัย ในกรณีที่มีการติดเชื่อร่วมกันของพยาธิทั้งสองชนิดนี้ เพื่อการรักษาและป้องกันกำจัดพยาธิให้ ถูกต้องและแม่นยำ สามารถตรวจหาการระบาดของพยาธิชนิดนี้ในคน สัตว์บก และสัตว์น้ำ และอาจนำไปจดสิทธิบัตรได้ต่อไป