

รหัสโครงการ : MRG4980114

ชื่อโครงการ : การศึกษาบทบาทและความสัมพันธ์ของเชื้อ *Wolbachia* ยุงพาหะนำโรคและหนอนพยาธิหัวใจสุนัข

ชื่อนักวิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.สนทยา เตียวศิริทรัพย์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address : sonthaya.t@chula.ac.th, thaya18@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ : วันที่ 1 กรกฎาคม 2549 ถึงวันที่ 30 มิถุนายน 2551

ทำการศึกษาการติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* ในยุง ตัวอ่อนระยะไมโครฟิลาเรียและตัวอ่อนระยะที่ 3 (ตัวอ่อนระยะติดโรค) ของหนอนพยาธิหัวใจสุนัข (*Dirofilaria immitis*) และในสุนัขที่มีการติดเชื้อหนอนพยาธิหัวใจสุนัข ทำการทดสอบยุงชนิดต่างๆ ที่จับได้จากบริเวณวัดไผ่ล้อม จังหวัดปทุมธานี ในปี พ.ศ. 2549 และยุงลายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (polymerase chain reaction) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* ในยุงแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน โดยเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อในยุง *Aedes albopictus*, *Armigeres subalbatus*, *Culex gelidus* และ *Culex tritaeniorhynchus* เป็น 100% (9/9), 100% (1/1), 54% (15/28) และ 0% (0/20) ตามลำดับ และทำการสุ่มตรวจเลือดจากสุนัขจรจัดในพื้นที่ต่างๆ ในเขตกรุงเทพมหานคร ในระหว่างปี พ.ศ. 2549-2551 จำนวน 500 ตัวอย่าง พบว่ามีสุนัขจำนวน 50 ตัวอย่าง (10%) ที่มีการติดเชื้อหนอนพยาธิหัวใจสุนัขโดยการตรวจด้วยเทคนิคทางปรสิตวิทยา ได้แก่ การทำแผ่นฟิล์มเลือดสด การทำแผ่นฟิล์มเลือดบาง การทำแผ่นฟิล์มเลือดหนา และได้ทำการนับจำนวนของตัวอ่อนระยะไมโครฟิลาเรียในกระแสดเลือดของสุนัขจำนวน 37 ตัวอย่าง ซึ่งพบว่ามีปริมาณของไมโครฟิลาเรียในกระแสดเลือดตั้งแต่ จำนวนน้อยกว่า 50 ไมโครฟิลาเรีย จนถึงจำนวน 78,417 ไมโครฟิลาเรีย ต่อเลือดจำนวน 1 มิลลิลิตร โดยจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าทุกตัวอย่างของตัวอ่อนระยะไมโครฟิลาเรียและตัวอ่อนระยะที่ 3 มีการติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* จากการตรวจด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส แต่เมื่อทำการตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* ในกระแสดเลือดของสุนัขที่มีการติดเชื้อและไม่มีการติดเชื้อหนอนพยาธิหัวใจสุนัขนั้นพบว่าไม่สามารถตรวจพบเชื้อในสุนัขเลยเมื่อตรวจด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส สำหรับการศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของสุนัขต่อเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* ในสุนัขที่มีการติดเชื้อและไม่มีการติดเชื้อหนอนพยาธิหัวใจสุนัขด้วยเทคนิค Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) นั้นพบว่าสุนัขทั้งสองกลุ่มนี้มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (total IgG) ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในทางปฏิบัติวิธีดังกล่าวนี้อาจไม่สามารถนำมาใช้ได้จริงในการตรวจวินิจฉัยเนื่องจากค่าความไว (sensitivity) ของการทดสอบค่อนข้างต่ำ

Project Code : MRG4980114

Project Title : The role and relationship of *Wolbachia*, mosquito vectors, and canine heartworm

Investigator : Sonthaya Tiawsirisup, Department of Pathology,
Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

E-mail Address : sonthaya.t@chula.ac.th, thaya18@hotmail.com

Project Period : 1 July 2006 - 30 June 2008

Wolbachia bacteria infection in mosquitoes, microfilariae and infective stage larvae of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*), and *Dirofilaria immitis* infected dogs were investigated. Different species of field's collected mosquitoes from Phailom temple, Pathumthani province in 2006 and laboratory strain of *Aedes albopictus* were tested for *Wolbachia* infection using polymerase chain reaction (PCR). *Wolbachia* infection percentage in *Aedes albopictus*, *Armigeres subalbatus*, *Culex gelidus* and *Culex tritaeniorhynchus* were 100% (9/9), 100% (1/1), 54% (15/28) and 0% (0/20), respectively. Blood samples were collected from stray dogs in Bangkok metropolitan area during 2006 and 2008. There were 10% (50/500) of stray dogs were infected with *Dirofilaria immitis* which indicated by using parasitology methods (fresh blood smear, thin blood smear, thick blood smear, and modified knott's test). Microfilaremia level were evaluated from 37 infected dogs and range of microfilaremia level was between less than 50 and 78,417 microfilaria per milliliter of blood. All microfilaria samples from field samples and infective stage larva samples from laboratory rearing were tested for *Wolbachia* infection by using PCR and all of them were infected. Serum samples from *Dirofilaria immitis* infected dogs also tested for *Wolbachia* infection by using PCR and all of them were negative. Fifty serum samples from *Dirofilaria immitis* infected dogs and 84 serum samples from non-infected dogs were used in the study of total IgG response for *Wolbachia* infection by using Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) and there was the statistical significant difference of the optical density (O.D.) between the serum samples from infected and non-infected dogs ($P < 0.0001$). However the ELISA from this study which detects the total IgG may be not a useful method for using as a diagnostic tool to distinguish between *Dirofilaria immitis* infected and non-infected dogs because its sensitivity is low.