

*Brugia pahangi* เป็นหนึ่งในพยาธิฟิลาเรียที่ก่อให้เกิดโรค Lymphatic filariasis มีสุนัขเป็นโฮสต์แท้งและแมวเป็นตัวกักเก็บโรค การระบาดของพยาธิชนิดนี้พบได้ในประชากรสุนัขและแมวของกรุงเทพมหานคร และจังหวัดภาคใต้ ที่มีการระบาดของโรคเท้าช้างในคนร่วมด้วย *B. pahangi* มียุงชนิดต่างๆเป็นพาหะนำโรค ได้แก่ยุง *Aedes* spp. ยุง *Armigeres* spp. และยุง *Mansonia* spp. เนื่องจากตัวอ่อนระยะที่ 3 (L3) เป็นตัวอ่อนระยะติดต่อนของพยาธิฟิลาเรียชนิดนี้ และมีลักษณะคล้ายคลึงกับพยาธิ *Brugia malayi* (ที่ก่อโรคในคน) และ *Dirofilaria immitis* (ที่ก่อโรคพยาธิหนอนหัวใจในสุนัข) ดังนั้น เมื่อพบ L3 ของพยาธิฟิลาเรียเหล่านี้ใช้ยุงชนิดเดียวกันเป็นพาหะ จึงเป็นการยากที่จะจำแนกชนิดตัวอ่อนของพยาธิฟิลาเรียในยุง การศึกษาครั้งนี้ทำการเปรียบเทียบระยะพัฒนาและลักษณะรูปร่างของตัวอ่อน L1, L2 และ L3 ของพยาธิ *B. pahangi* และ *D. immitis* ด้วยการย้อมเอ็นไซม์ acid phosphatase พบตัวอ่อนพยาธิ *B. pahangi* ที่จัดว่าเป็น L1 ในวันที่ 1-5 หลังยุงได้รับไมโครฟิลาเรีย พบ L2 ในวันที่ 6-11 และ L3 ในวันที่ 12 เป็นต้นไป ในขณะที่พบ L1 ของ *D. immitis* ในวันที่ 5-9 พบ L2 ในวันที่ 10-14 และพบ L3 ตั้งแต่วันที่ 15 หลังได้รับเชื้อ งานวิจัยนี้ได้นำเทคนิค Reverse Transcription-PCR (RT-PCR) มาใช้ในการตรวจหาทรานสคริปของยีนโทรโปนินและโทรโปไมโอซินที่แสดงออกจำเพาะต่อระยะตัวอ่อนของพยาธิ *B. pahangi* ที่พัฒนาอยู่ในยุง *Aedes aegypti* (Thailand strain) ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และทดสอบความไวเพื่อตรวจหาทรานสคริปใน L3 จำนวน 60 ตัว (เก็บตัวอ่อนในวันที่ 14 หลังจากยุงติดพยาธิ) พบผลิตภัณฑ์ RT-PCR (ขนาด 226 bp) ที่แสดงถึงการแสดงออกของยีนโทรโปไมโอซินที่มีมากกว่า การแสดงออกของยีนโทรโปนิน (221 bp) การศึกษานี้ ยังพบทรานสคริปของยีนโทรโปนินใน *B. pahangi* ในวันที่ 7-10 ซึ่งเป็นระยะ L2 และ ทรานสคริปของยีนโทรโปไมโอซิน ในวันที่ 7-8 และ 11-12 ซึ่งเป็นระยะ L2 ระยะปลาย และ L3 ระยะต้น ตามลำดับ แต่การทดสอบครั้งนี้พบปฏิกิริยาข้ามของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอของ *B. malayi* ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า เทคนิค RT-PCR ถึงแม้จะมีปฏิกิริยาข้ามกับ L2 และ L3 ของ *B. pahangi* ก็ตาม แต่ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นของการตรวจหาโทรโปไมโอซินของ L2 และ L3 (วันที่ 8-12 หลังได้รับเชื้อ) ได้

*Brugia pahangi* is one of the filarial worms causing lymphatic filariasis in various mammals. For instance, dogs served as the final host for *B. pahangi* while cats were classified as a reservoir host. There were at least 3 species of filarial worms known to the veterinary and medical importance; *B. pahangi*, *B. malayi* and *D. immitis*. These species were transmitted by similar mosquitoes species; *Aedes* spp., *Armigeres* spp. and *Mansonia* spp.. When carried by the same mosquito species, these worms could not be differentiated easily by any means. In this study, the larval morphology and developmental stages using acid phosphatase staining technique of *B. pahangi* could slightly be separated from *D. immitis*. The studies of the larval developmental stages and morphological differentiation showed that L1 of *B. pahangi* could be found in mosquitoes at day 1 to 5 post infection (DPI). L2 was found in mosquitoes at 6-11 DPI and L3 was at 12-15 DPI. While L1 of *D. immitis* had an early development on 5-9 DPI, L2 was 10-14 DPI and L3 was on 15-20 DPI. The molecular technique of Reverse Transcription-PCR (RT-PCR) was developed to specifically identify L3 of *B. pahangi* using gene specific primers of *Troponin* and *Tropomyosin*. The RT-PCR primers were able to amplify the transcripts of the expressed *Troponin* (221 bp) and *Tropomyosin* (226 bp) derived from 60 larvae. The RT-PCR specific reaction revealed that *Tropomyosin* had expressed more than *Troponin* during the larval stage L3, at 14 DPI. *Troponin* expressed at the stage of L2 (7-10 DPI) while *Tropomyosin* expressed at 2 intervals, the middle L2 (7-8 DPI) and the early stage of L3 (11-12 DPI). However, there was a cross reaction occurred to *B. malayi* DNA (700 bp). It is concluded that the RT-PCR technique was able to determine the development of L2 and L3 of *B. pahangi* in mosquitoes. The expression of *Tropomyosin* and *Troponin* could be a preliminary approach as a specific marker to identify *B. pahangi* larval development in mosquitoes.