

บทคัดย่อ

โรคเท้าช้าง (Lymphatic filariasis) เกิดจากหนอนพยาธิ 2 ชนิดหลัก คือ *Wuchereria bancrofti* และ *Brugia malayi* ทางองค์การอนามัยโลกได้กำหนดให้โรคเท้าช้างเป็นโรคทางปรสิตที่ควรกำจัดให้หมดไปภายในปี พ.ศ. 2563 โดยมีแนวทางหลักในการควบคุมและป้องกันโรคเท้าช้างคือการทำให้มีโปรแกรมการรักษาแบบหมุนเวียนประชากรในพื้นที่ที่มีความชุกของโรคสูง และการควบคุมพยาธิภาวะ ทั้งนี้ โครงการกำจัดโรคเท้าช้างขององค์การอนามัยโลกได้กำหนดเป้าหมายในการควบคุมโรคให้มีอัตราความชุกของการติดเชื้อเหลืออยู่ร้อยละ 1 จากการตรวจแอนติเจนที่จำเพาะหรือร้อยละ 0.2 เมื่อตรวจหาไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่สำคัญของการประเมินผลการสำเร็จของโครงการจำเป็นต้องมีวิธีการวินิจฉัยที่มีความไวสูง เพื่อสามารถประเมินสถานการณ์ที่แท้จริงของโรคได้ ชุดตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างที่มีขายในปัจจุบัน สามารถวินิจฉัยได้เฉพาะโรคเท้าช้างที่เกิดจาก *W. bancrofti* ยังไม่มีชุดตรวจที่มีความไวสูงสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคที่เกิดจาก *B. malayi* การศึกษานี้จึงได้พัฒนาชุดตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้าง โดยตรวจหาแอนติเจนและ/หรือแอนติบอดีต่อแบคทีเรีย *Wolbachia* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ตรวจพบได้ในพยาธิฟิลาเรียเท่านั้น และตรวจพบทั้งในพยาธิ *W. bancrofti* และ *B. malayi* เพื่อนำมาพัฒนาชุดตรวจที่สามารถวินิจฉัยโรคเท้าช้างได้ทั้งสองชนิด และไม่พบปฏิกิริยาข้ามกับปรสิตชนิดอื่นๆ ทั้งนี้จากการทบทวนวรรณกรรมผู้วิจัยได้คัดเลือกแอนติเจน 2 ชนิด ซึ่งเป็นแอนติเจนที่มีปริมาณมากที่สุดของแบคทีเรีย และมีความเป็นแอนติเจนสูง ได้แก่ *Wolbachia* Surface Protein (WSP) และ peptidoglycan-associated lipoprotein (PAL) โดยผลการศึกษาในปีแรกนี้ ได้ทำการสกัด โปรตีนจากแบคทีเรียโวลบาเซียที่แยกจากหนอนพยาธิหัวใจสุนัข และผลิต recombinant antigen ทั้งสองชนิด ตลอดจนผลิต polyclonal anti-*Wolbachia* antibodies, polyclonal anti-rWSP antibodies และ polyclonal anti-rPAL antibodies พร้อมทั้งทำการแยกแอนติบอดีบริสุทธิ์ เพื่อทำการสังเคราะห์อนุภาคทองคำระดับนาโน (AuNPs) และนำมาติดกับแอนติบอดีเพื่อพัฒนาชุดตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้าง ชนิด lateral flow strip ต่อไป

นอกจากนี้ ยังได้ทำการสำรวจโรคเท้าช้างในแรงงานชาวพม่า ในจังหวัดสมุทรสาคร และชาวกะเหรี่ยงกับชาวมอญในจังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งเป็นแหล่งชุกชุมของโรคเท้าช้าง โดยการเจาะเลือดในเวลากลางวัน สามารถรวบรวมอาสาสมัครได้จำนวนทั้งสิ้น 142 ราย อย่างไรก็ตาม จากการตรวจวินิจฉัยโดยชุดตรวจวินิจฉัย Og4C3 ELISA และตรวจหาไมโครฟิลาเรียกระแสเลือด ไม่พบการติดเชื้อโรคเท้าช้างในอาสาสมัครทั้ง 142 ราย ผู้วิจัยจึงได้รวบรวมตัวอย่างซีรัมของผู้ป่วยโรคเท้าช้างจากโครงการก่อนหน้า ซึ่งสามารถรวบรวมได้ทั้งสิ้น 195 ตัวอย่าง ขณะนี้ผู้วิจัยอยู่ระหว่างการรวบรวมตัวอย่างผู้ติดเชื้อปรสิตอื่น เพื่อนำตัวอย่างเลือดผู้ป่วยโรคเท้าช้าง คนปกติในพื้นที่ชุกชุมของโรค และผู้ติดเชื้อปรสิตอื่น มาทดสอบความไวและความจำเพาะของชุดตรวจ lateral flow strip ต่อไป

Abstract

Lymphatic filariasis, caused by *Wuchereria bancrofti* and *Brugia malayi*, is targeted to be eliminated globally as a public health problem by the year 2020. The main intervention tool employed by the national elimination program is mass drug administration (MDA) to endemic populations, and control of morbidity. The criterion for elimination program was set at a prevalence rate below 1% antigenemia (Ag), or below 0.2% microfilaraemia. However, diagnostic tools with high sensitivity are needed to evaluate the real situation of the disease to sustain success in lymphatic filariasis elimination. Diagnostic test kits are available only for lymphatic filariasis caused by *W. bancrofti*. There are no diagnostic kits commercially available for *B. malayi* infection. In this study, we developed a diagnostic test kit by detecting *Wolbachia* antigen and/or specific antibodies against *Wolbachia* antigens. *Wolbachia* is bacterium found only in filarial nematodes (both *W. bancrofti* and *B. malayi*). Therefore, this test kit can be used in diagnosis for both *W. bancrofti* and *B. malayi* infections without cross-reaction with other parasites. We selected 2 candidate *Wolbachia* antigens to develop the diagnostic test kit, including *Wolbachia* Surfactant Protein (WSP) and peptidoglycan-associated lipoprotein (PAL). From a proteomic study of *Wolbachia* of *B. malayi*, WSP and PAL are the most abundant and highly immunogenic antigens. In the first year of the study, we extracted *Wolbachia* from *Dirofilaria immitis*, and prepared *Wolbachia* crude antigen. Moreover, we prepared recombinant WSP and rPAL. Polyclonal anti-*Wolbachia* antibodies, polyclonal anti-rWSP antibodies and polyclonal anti-rPAL antibodies were produced and purified. These antibodies will be conjugated to gold nanoparticles (AuNPs) and develop the later flow strip for diagnosis of lymphatic filariasis.

Moreover, we collected night blood samples from Myanmar migrant workers in Samut Sakorn province, Thai Karens and Thai Mon in Kanchanaburi province which are the endemic areas of lymphatic filariasis in Thailand. All of 142 night blood samples were examined for microfilaraemia and circulating filarial antigens by Og4C3 ELISA. However, all of them were negative. Therefore, we recruited 195 serum samples of patients with lymphatic filariasis from the previous studies. Blood samples from patients with other parasitic infections will be collected. Evaluation of sensitivity and specificity of the lateral flow strip will be performed.