ก้าวทันโรคเท้าช้าง : อันตรายที่กำลังกลับมา

สุรางค์ ไตรธีระประภาพ

คัดจากวารสารจุฬาลงกรณ์เวชสาร ปีที่ 41 ฉบับที่ 8 สิงหาคม 2540

บทฟื้นฟูวิชาการ

ก้าวทันโรคเท้าช้าง : อันตรายที่กำลังกลับมา

สุรางค์ ไตรธีระประภาพ*

Triteeraprapab S. Update in lymphatic filariasis: A re-emerging disease of Thailand. Chula Med J 1997 Aug;41(8):611-22

Despite recent advances in vector control and chemotherapy, lymphatic filariasis, caused by nematode parasites, mainly Wuchereria bancrofti and Brugia malayi, is still a major public health problem and seriously affects the socio-economic situation in many areas of the world. Although the disease is limited to 5 provinces of Thailand with low microfilarial rates, the high infection rate of bancroftian filariasis among Myanmar migrants and the prevalence of the mosquito vector (Culex quinquefasciatus) throughout Thailand should cause public concern. The standard technique for diagnosis of lymphatic filariasis is detection of microfilariae from night blood, which is not practical and has low sensitivity. Detection of filarial specific antigens, antibodies and DNA have been developed for early detection of infections caused by filarial parasites. However, the cost and ease of use in the endemic areas needs to be considered. Together with strategies for treatment and control of the filarial parasites and mosquito vectors, health education is one of the most important elements to control the disease.

Key words : *Lymphatic filariasis, Vector, Diagnosis.*

Reprint request : Triteeraprapab S. Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. June 15, 1997.

* ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

โรคเท้าช้างเป็นโรคติดเชื้อทางเขตร้อนที่เกิดจากพยาธิตัวกลม *Wuchereria bancrofti* *Brugia malayi* และ *B. timori* ซึ่งมีแหล่งชุกชุมของโรคในแถบร้อนและเขตชิดร้อนของทวีปอเมริกา อัฟริกา และเอเชีย ประมาณว่าประชากรทั่วโลกกว่า 751 ล้านคนที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการติดโรคเท้าช้าง ในจำนวนนี้มีประมาณ 120 ล้านคนที่กำลังติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้าง พบว่าสาเหตุของโรคเท้าช้างเกิดจากเชื้อ *W. bancrofti* มีถึง 90%[1] สำหรับประเทศไทยนั้น จากผลการสำรวจของกองโรคเท้าช้าง กระทรวงสาธารณสุขใน 52 จังหวัด มียอดผู้ป่วยลงทะเบียนในปี 2539 คิดเป็น prevalence rate 3.27 ต่อแสนประชากร โดยจังหวัดที่ยังคงเป็นแหล่งแพร่เชื้อในปัจจุบัน ได้แก่ แม่ฮ่องสอน ตาก กาญจนบุรี สุราษฎร์ธานี และนราธิวาส ผู้ติดเชื้อส่วนมากเป็นผู้ที่อยู่กลุ่มอายุ 25-44 ปี และมีอัตราพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง คือ 2.74:1 สำหรับ *W. Bancrofti* และ 2.02:1 สำหรับ *B. Malayi* พบผู้ที่เป็นพยาธิโรคเท้าช้างที่เกิดจากเชื้อ *W. Bancrofti* ชนิด nocturnally subperiodic type ซึ่งตรวจพบพยาธิโรคเท้าช้างระยะตัวอ่อน microfilaria ในเวลากลางคืนมากกว่ากลางวัน ที่เป็น long strain* ในเขตจังหวัดแม่ฮ่องสอน สำหรับ *W. bancrofti* ชนิด nocturnally subperiodic form ที่เป็น short strain** พบที่จังหวัดตากและกาญจนบุรี ส่วน *W. bancrofti* ชนิดที่มี nocturnal periodicity ซึ่งตรวจพบ microfilaria ได้เฉพาะเวลากลางคืนนั้น ตรวจพบในชาวพม่าที่อพยพเข้ามาแถบจังหวัดสมุทรสาคร พังงา ภูเก็ต และอื่นๆ (รายงานการตรวจสุขภาพแรงงานคนต่างชาติ 2540)

สำหรับพยาธิโรคเท้าช้าง *B. malayi* นั้น ในประเทศไทยเคยพบทั้งชนิด nocturnally periodic และ nocturnally subperioidic forms โดยจังหวัดที่เคยพบได้แก่ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง ปัตตานี นราธิวาส[2-6] และชนิดที่เป็น diurnal subperiodicity (ตรวจพบ microfilaria ตอนกลางวันมากกว่ากลางคืน) ซึ่งพบที่สุราษฎร์ธานี[7] อย่างไรก็ตามเนื่องมาจากมาตรการควบคุมและป้องกันที่มีประสิทธิภาพของกองโรคเท้าช้าง ทำให้ปัจจุบันพบผู้ป่วยที่มีเชื้อ *B. malayi* ใน 2 จังหวัดภาคใต้เท่านั้นคือ สุราษฎร์ธานี ซึ่งเป็น *B. malayi* ชนิด diurnally periodic type และ นราธิวาส ซึ่งเป็นชนิด nocturnally subperiodic type[8]

พยาธิโรคเท้าช้าง *W. bancrofti* ซึ่งพบในคนไทยที่อาศัยตามชายแดนไทย-พม่ามียุงพาหะที่สำคัญคือยุงในสกุลยุงลาย ได้แก่ *Aedes niveus, Ae annandalei, Ae desmotes และ Ae imitator*[9] สำหรับยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*)เป็นพาหะหลักของ *W. bancrofti* ชนิด urban type หรือ *W. bancrofti* nocturnally periodic form ซึ่งพบในพวกพม่าที่เข้ามาทำงานในประเทศไทยพยาธิ *B. malayi* ชนิด subperiodic นั้นมีพาหะที่สำคัญคือ ยุงเสือ ได้แก่ *Mansonia bonneae, M. dives, M. uniformis, M. indiana, M. annulata* และ *M. annulfera* สำหรับ *B. malayi* ชนิด diurnal type นั้นมียุง *Coquilletidia crassipes* เป็นพาหะหลัก

---

* long strain หมายถึง microfilaria ของ *W. bancrofti* ที่พบจากผู้ป่วยในเขตจังหวัดแม่ฮ่องสอน มี ขนาดโดยเฉลี่ยยาวกว่า 300 µm ซึ่งยาวกว่าที่พบเคยทั่วไป จึงเรียกว่า long strain

** microfilaria ของ *W.bancrofti* ที่พบในผู้ป่วยเขตจังหวัดตากและกาญจนบุรี มีขนาดสั้นกว่า 300 µm เมื่อเทียบกับที่พบในเขตแม่ฮ่องสอน จึงเรียกว่า short strain

สถานการณ์ปัจจุบันของโรคเท้าช้างในประเทศไทย

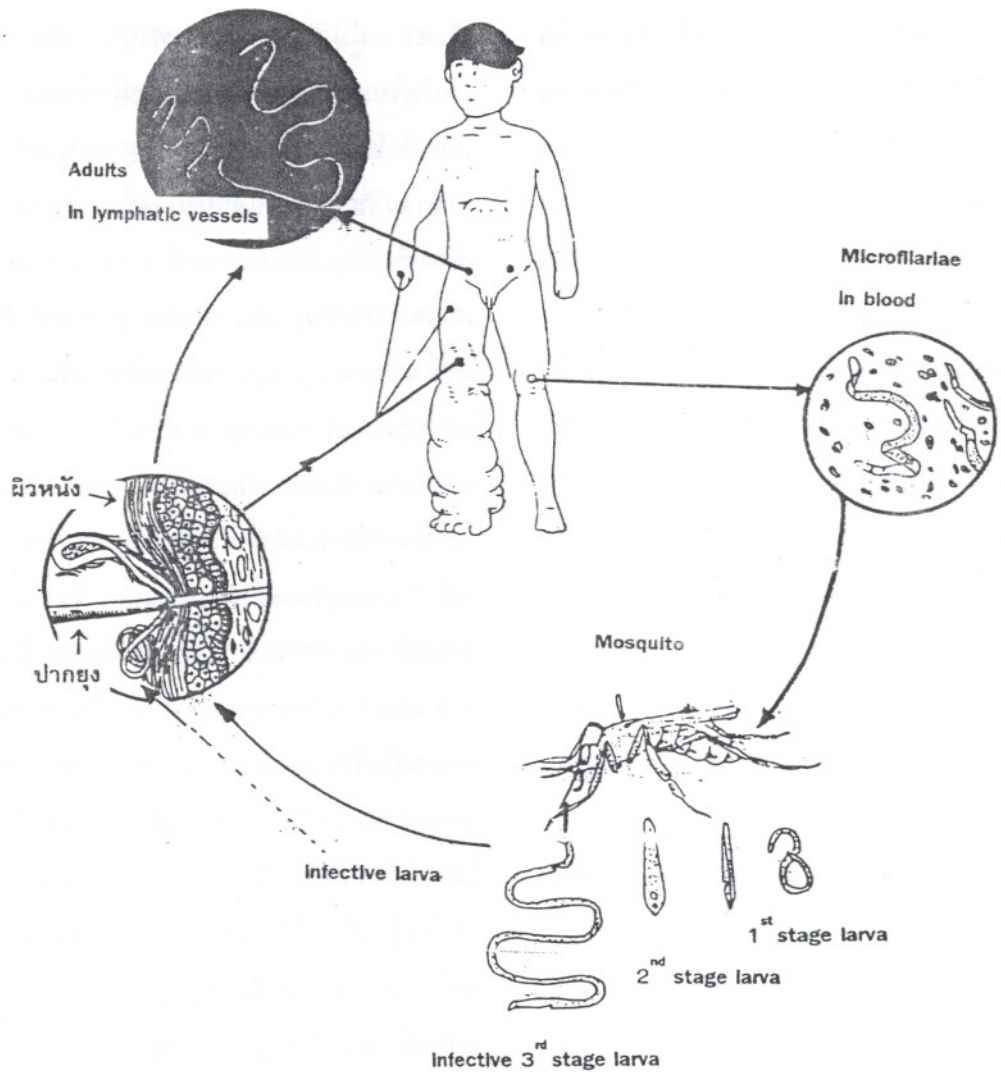
ข้อมูลจาก นายแพทย์สราวุธ สุวัณณทัพพะ ผู้อำนวยการกองโรคเท้าช้าง (2540)[8] พบว่าอัตราความชุกชุมของโรคเท้าช้างในแหล่งชุกชุมของประเทศไทย ทั้งจากเชื้อ *W. bancrofti* และ *B. malayi* มีแนวโน้มว่าจะลดลง เนื่องจากการควบคุมโรคที่กระจายจากส่วนกลางสู่ระดับท้องถิ่น แต่ปัจจุบันนี้ความต้องการแรงงานภายในประเทศไทย ประกอบกับปัญหาทางเศรษฐกิจของประเทศเพื่อนบ้าน ทำให้แรงงานจากประเทศเพื่อนบ้านเข้ามาประกอบอาชีพรับจ้างในประเทศไทยเป็นจำนวนมาก ซึ่งคาดว่ามีมากกว่าล้านคน ประมาณว่า 60-70% ของแรงงานต่างชาติเหล่านี้เป็นชาวพม่าที่มีฐานะยากจนและมีโรคติดต่อต่างๆ จากการสุ่มตรวจแรงงานพม่าเหล่านี้โดยสำนักงานสาธารณสุข พบว่ามีพยาธิโรคเท้าช้าง *W. bancrofti* ชนิด urban type ที่มี nocturnal periodicity ในอัตรา 2-5 % ซึ่งข้อมูลดังกล่าวหมายถึง มีแรงงานพม่าในไทยนับหมื่นๆ คนที่เป็นรังโรคของเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างชนิดนี้ จากการศึกษาของภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาฯ พบว่า การตรวจอัตราการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างสูงถึง 15-20 % เมื่อตรวจสอบหา antigen และ antibody ที่จำเพาะต่อพยาธิโรคเท้าช้าง (Triteeraprapab *et al.*, unpublished data) นอกจากนี้พบว่ายุง *Culex quinquefasciatus* ซึ่งพบได้ทั่วไปในประเทศไทย สามารถเป็นพาหะของโรคได้ [10] ดังนั้นเราจึงไม่ควรละเลยความสำคัญของโรคเท้าช้าง ซึ่งคาดว่าจะก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขแก่ประเทศไทยในอนาคตอันใกล้นี้ ทางองค์การอนามัยโลกยังได้ตั้งเป้าหมายไว้ว่าโรคเท้าช้างเป็นโรคที่จะสามารถถูกกำจัดได้ภายใน 10 ปี ข้างหน้านี้ ซึ่งความสำเร็จจะเกิดขึ้นได้หรือไม่ต้องอาศัยความร่วมมือจากทุกฝ่ายทั้งการติดตามรักษาผู้ป่วย การควบคุมยุงพาหะของโรค ซึ่งต้องอาศัยยารักษาที่มีประสิทธิภาพ การวินิจฉัยที่ถูกต้อง รวดเร็วและแม่นยำ มีความไวและความจำเพาะสูง ตลอดจนการประชาสัมพันธ์ให้คนไทยรู้จักและเข้าใจถึงการป้องกันโรค การวางแผนหามาตรการควบคุมป้องกันโรคเท้าช้างอย่างรัดกุมและมีประสิทธิภาพเป็นสิ่งที่จำเป็นที่จะละเลยไม่ได้สำหรับประเทศไทยในขณะนี้

วงชีวิตของพยาธิโรคเท้าช้าง

ยุงพาหะตัวเมียจะได้รับเชื้อ microfilaria (ตัวอ่อนระยะที่ 1 ของพยาธิโรคเท้าช้าง) ขณะที่ดูดเลือดจากผู้มีเชื้อพยาธิโรคเท้าช้าง เมื่อ microfilaria เข้าไปในยุงจะไชผ่านกระเพาะอาหารของยุงไปสู่กล้ามเนื้อบริเวณทรวงอกภายใน 1-2 ชั่วโมง โดยที่ microfilaria ที่อยู่ภายในตัวยุงนี้จะมีการลอกคราบ 2 ครั้ง เพื่อเจริญเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 และที่ 3 ตามลำดับ โดยใช้เวลาการเจริญในยุงประมาณ 2 สัปดาห์ ตัวอ่อนระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะติดต่อ (infective stage) จะเคลื่อนตัวไปที่บริเวณปากของยุงระหว่างที่ยุงดูดเลือดจากคนในครั้งต่อไป ตัวอ่อนระยะที่ 3 นี้จะออกมาสู่แผลบริเวณที่ยุงกัดและไชผ่านผิวหนังเข้าสู่กระแสเลือด โดยในที่สุดจะไปอาศัยอยู่ในระบบทางเดินน้ำเหลืองของคนเพื่อที่จะเจริญเป็นพยาธิตัวแก่ ระยะเวลาตั้งแต่ระยะตัวอ่อนระยะที่ 3 เริ่มเข้าสู่ร่างกายคนจนเจริญเป็นตัวแก่และสามารถสืบพันธุ์ได้ใช้เวลาประมาณ 1 ปี พยาธิตัวเมียจะออกลูกเป็น microfilaria ซึ่ง microfilaria นี้จะออกมาอยู่ในกระแสเลือดของผู้ป่วย และรอเวลาที่ยุงพาหะจะมากัดและดูดเลือดที่มี microfilaria เพื่อจะไปเจริญในยุงต่อไป พยาธิตัวแก่ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินน้ำเหลืองโดยเฉลี่ยจะมีชีวิตอยู่ได้ ประมาณ 5-8 ปี แต่มีรายงานพบว่าพยาธิโรคเท้าช้างอาจอยู่นานได้ถึง 40 ปี [11] ระยะ microfilaria จะมีชีวิตอยู่ได้นานประมาณ 6 เดือนในกระแสเลือดของคน

พยาธิสภาพ

พยาธิสภาพในผู้ป่วยที่ติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างนอกจากจะเกิดจากพยาธิโรคเท้าช้างโดยตรงแล้ว อาการอาจรุนแรงมากขึ้นเนื่องจากเกิดจากปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีต่อสารหลั่งจากตัวพยาธิโดยเฉพาะจากพยาธิที่กำลังจะตายหรือพยาธิที่ตายแล้ว[12] ปฏิกิริยาอักเสบที่เกิดขึ้นจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของผนังทางเดินน้ำเหลือง โดยผนังทางเดินน้ำเหลืองจะหนาตัว และยืดยาวคดเคี้ยวซึ่งจะปรากฏชัดเจนในระยะเรื้อรัง ก่อให้เกิดการอุดตันของท่อน้ำเหลืองในที่สุด อาการเรื้อรังที่มีภาวะเท้าช้างเกิดขึ้นนี้มักจะพบได้ในผู้ป่วยที่อาศัยอยู่ในแหล่งชุกชุมของโรคเท้าช้าง (endemic areas) ซึ่งผู้ป่วยพวกนี้จะได้รับเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างหลายๆ ครั้งเป็นเวลานานจากการที่ยุงพาหะกัดโดยไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้อง



รูปที่ 1. วงชีวิตของพยาธิโรคเท้าช้างดัดแปลงจากปาราสิตวิทยาทางการแพทย์, ภาควิชาปรสิตวิทยา, คณะแพทยศาสตร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดย พิสัย กรัยวิเชียร และคณะ

การตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันต่อเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างในผู้ป่วยแต่ละรายมีความแตกต่างกันทำให้อาการและอาการแสดงของผู้ป่วยเหล่านี้แตกต่างกันไป สามารถแบ่งผู้ป่วยเป็น 4 กลุ่มดังนี้

1. กลุ่มที่อยู่ในระยะแพร่เชื้อ คือ ตรวจพบระยะ microfilaria ในกระแสเลือด แต่ผู้ป่วยเหล่านี้ มักไม่มีอาการหรืออาการแสดง(asymptomatic microfilaremia)

2. กลุ่มที่มีอาการทางต่อม และทางเดินน้ำเหลืองอักเสบ (lymphadenitis, lymphangitis) ซึ่งมักพบร่วมกับการมีไข้ หนาวสั่น

3. กลุ่มที่มีระยะอาการเรื้อรังโดยมีอวัยวะบวมโตและเกิดภาวะเท้าช้าง (lymphedema, elephantiasis)

4. กลุ่มที่มีอาการแสดงทางปอดที่เรียกว่า tropical pulmonary eosinophilia (TPE)

ผู้ติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการของโรคเลยทั้งที่สามารถตรวจพบ microfilaria ในเลือดได้เป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามพบว่าผู้ป่วยเหล่านี้จะมีความผิดปกติของระบบทางเดินน้ำเหลืองเมื่อตรวจโดยวิธี nuclear imaging technique[13] ในบางรายสามารถตรวจพบความผิดปกติทางไตได้ เช่น มีภาวะ microscopic hematuria[14]

ในผู้ติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างและปรากฏอาการนั้น ในระยะแรกอาการที่พบบ่อย คือ มีไข้ และเกิดการอักเสบของระบบทางเดินน้ำเหลืองโดยเฉพาะบริเวณแขนขา ทำให้บวมและกดเจ็บ ซึ่งอาการเหล่านี้จะอยู่นานเป็นสัปดาห์ ผู้ป่วยที่ปรากฏอาการมักเป็นผู้ที่มีช่วงอายุระหว่าง 10-30 ปี อาการอาจจะเป็นบ่อยมากขึ้นในบางราย จนในที่สุดเกิดภาวะการอุดตันของระบบทางเดินน้ำเหลือง (lymphedema) ของแขนขา และในระยะเรื้อรังจะเกิดภาวะเท้าช้างในที่สุด โดยทั่วไปผู้ป่วยที่มีอาการเรื้อรังดังกล่าวมักจะไม่สามารถตรวจพบเชื้อ microfilaria ในกระแสเลือดได้

ภาวะ Tropical pulmonary eosinophilia นั้นเกิดเนื่องจากปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันชนิด immediate hypersensitivity ต่อ antigens ของ microfilaria[15] อาการจะมีลักษณะเฉพาะคือไอเวลากลางคืน หอบและมีเสียง wheeze เวลาหายใจ ตรวจทางรังสีวิทยาจะพบปอดมีลักษณะ interstitial infiltration หรือ reticulonodular density การตรวจทางโลหิตวิทยาจะพบว่าผู้ป่วยส่วนมากมีระดับของเม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil สูงมากกว่า 3,000/mm^3 ซึ่ง eosinophils เหล่านี้จะมาที่บริเวณปอดและมีการหลั่งสารที่เป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อปอดชนิดต่างๆ เช่น major basic protein นอกจากนี้ผู้ป่วยจะมีระดับ IgE antibody สูงมาก สำหรับ antibodies อื่นๆ ที่จำเพาะต่อพยาธิโรคเท้าช้างจะมีระดับสูงเช่นกัน เป็นที่น่าสนใจว่าการรักษาภาวะ TPE ด้วยยา diethylcarbamazine citrate สามารถทำให้อาการของผู้ป่วยดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

การวินิจฉัย

1. การตรวจหา microfilaria

การวินิจฉัยซึ่งเป็น definitive diagnosis คือ การตรวจพบพยาธิ microfilaria ซึ่งสามารถทำได้โดยการตรวจเลือดโดยวิธีย้อมด้วย Giemsa เพื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยทั่วไปนั้นวิธีมาตรฐานที่ทำกันคือการไถเลือด ที่ได้จากการเจาะปลายนิ้ว บนแผ่น slide เป็น thin blood film หรือทำ thick blood film โดยใช้เลือดประมาณ 20-60 µl ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวต่ำ (low sensitivity) คือสามารถตรวจพบเมื่อ microfilaria มีมากกว่า 100 ตัว ต่อเลือด 1 ml เมื่อใช้วิธี thin film หรือมากกว่า 60 ตัว ต่อเลือด 1 ml เมื่อใช้วิธี thick film[16] ในบางรายที่ผู้ป่วยมีปริมาณ microfilaria ในกระแสเลือดจำนวนน้อย อาจจะต้องใช้วิธีการตรวจเข้มข้นได้แก่ Knott's technique หรือ filtration technique[17] เพื่อเพิ่มความไว (sensitivity) ในการ

ตรวจ สำหรับวิธี Knott's test นั้นสามารถทำโดยใช้เลือดในปริมาณ 1 ml ผสมกับ 2% formalin 9 ml เมื่อเขย่าให้เม็ดเลือดแดงแตก และปั่นให้ microfilaria นอนก้นจะสามารถนำมาย้อมและตรวจดู microfilaria ด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ต่อไป การตรวจ microfilaria โดยวิธี filtration technique ทำได้จากการเจาะเลือดผู้ป่วย ประมาณ 1-10 ml ผ่านแผ่น filter (Nucleopore) ที่มีช่อง (pore size) ขนาด 3-5 µl microfilaria จะติดอยู่บน filter สามารถนำมาตรวจดูเชื้อพยาธิ microfilaria ได้ต่อไป วิธีการตรวจหา microfilaria ดังกล่าวข้างต้นทั้งหมดต้องใช้เวลาอย่างน้อย 30-60 นาที ซึ่งขึ้นอยู่กับความชำนาญของผู้ตรวจ

นอกจากนี้ ด้วยคุณสมบัติที่จำเพาะของ microfilaria เราสามารถจะตรวจดู microfilaria ได้โดยวิธีซึ่งรวดเร็วและสะดวกโดยใช้ microhematocrit tube technique[18, 19] วิธีนี้จะใช้เลือดเจาะจากปลายนิ้วประมาณ 60 µl ภายหลังการปั่นเลือดที่อยู่ใน microhematocrit tube จะพบ microfilaria ที่บริเวณชั้น buffy coat ซึ่งสามารถสังเกตได้โดยดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยหัวเลนซ์วัตถุ x 50 ซึ่งจะตรวจพบการเคลื่อนไหวของ microfilaria นอกจากนี้การย้อม microfilaria ด้วย fluorescence dye ที่ชื่อ acridine orange[20] โดยใช้ QBC™ capillary blood tubes และตรวจดูด้วยกล้อง fluorescence microscope จะทำให้แยก species ของ microfilaria ได้ ซึ่งจะพบลักษณะ terminal และ subterminal nuclei ตลอดจน cephalic space ที่ยาวของ *B. malayi* microfilaria สำหรับ microfilaria ของ *W. bancrofti* จะตรวจพบลักษณะ caudal nuclei และ cephalic space ที่สั้น วิธีนี้สามารถวินิจฉัยได้ด้วยความไวระดับหนึ่งกล่าวคือ ในกรณีที่ microfilaria มีจำนวนไม่น้อยกว่า 16 microfilaria ต่อเลือด 1 ml ซึ่งความไวจะน้อยกว่าวิธีที่ใช้ filter technique ที่สามารถตรวจ microfilaria ได้ในกรณีที่มากกว่า 1 microfilaria ต่อเลือด 1 ml อย่างไรก็ตามข้อดีของ QBC™ capillary blood tube คือสามารถทำได้รวดเร็วโดยเจาะเลือดจากปลายนิ้วและขั้นตอนต่างๆ สามารถทำเสร็จได้ใน 10 นาที ซึ่งสะดวกโดยเฉพาะในกรณีที่ผู้ป่วยไม่ต้องการให้เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ

เนื่องจากเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างที่พบในประเทศไทยเป็นชนิด nocturnal periodicity หรือ nocturnal subperiodicity โอกาสที่จะสามารถตรวจพบ microfilaria ได้สูงนั้นจำเป็นต้องเจาะเลือดจากผู้ป่วยในเวลากลางคืน การที่จะตรวจพบ microfilaria ในช่วงเวลาอื่นอาจสามารถทำได้โดยการให้ยา diethylcarbamazine (DEC)[21] 2-6 mg ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม แก่ผู้ป่วยที่จะรับการตรวจโดยให้ก่อนเจาะเลือดเป็นเวลา 20-60 นาที ซึ่งพบว่าวิธีนี้ทำให้สามารถตรวจพบเชื้อ microfilaria ได้ในเวลากลางวัน อย่างไรก็ตามแม้ว่าความไวของการตรวจจะดีพอๆ กับการตรวจหาเชื้อ microfilaria ในเวลากลางคืน ผลที่ได้จะแตกต่างกันตามการศึกษาแต่ละแห่ง

2. การตรวจหา antibody ที่จำเพาะต่อพยาธิโรคเท้าช้าง

การใช้วิธีการตรวจทางน้ำเหลือง (serological methods) เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถช่วยลดปัญหาความไม่สะดวกที่จำเป็นจะต้องเจาะเลือดผู้ป่วยในเวลากลางคืนเพื่อตรวจหา microfilaria ได้แม้ว่าโดยทั่วไปการตรวจหา antibody จะไม่สามารถแยกภาวะการติดเชื้อในปัจจุบันจากภาวะที่เคยติดเชื้อในอดีต ตลอดจนมี cross-reaction กับพยาธิชนิดอื่น แต่ในปัจจุบันนี้การตรวจหา antibody เพื่อวินิจฉัยโรคเท้าช้างได้มีการพัฒนาให้มีความจำเพาะมากขึ้นโดยการตรวจหา

specific antibody isotype และใช้ antigens จำเพาะต่อโรคเท้าช้างในการทดสอบ (ดูด้านล่าง)

การตรวจระดับ anti-filarial specific IgG4 antibodies สามารถเพิ่มความจำเพาะในการวินิจฉัยโรคเท้าช้างได้[22-24] พบว่าการตรวจระดับ anti-filarial specific IgG4 antibodies สัมพันธ์กับการตรวจพบ microfilaria ในเลือดของผู้ป่วย[25, 26, 27] และภายหลังจากให้การการรักษา ผู้ป่วยจะมีระดับของ anti-filarial specific IgG4 ลดลงสัมพันธ์กับการลดลงของระดับ microfilaria ในกระแสเลือด ซึ่งบ่งว่า anti-filarial specific IgG4 สามารถใช้เป็นดรรชนีบ่งถึงภาวะการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างในปัจจุบัน (active infection) ได้ด้วย[28, 27]

นอกจากนี้การศึกษายังพบว่าเราสามารถตรวจพบ anti-filarial specific IgG4 antibodies ในผู้ป่วยที่ไม่สามารถตรวจพบ microfilaria ด้วยวิธี filtration technique ที่มีความไวของการวินิจฉัยสูง[29] เป็นสิ่งที่ยืนยันถึงความสามารถในการวินิจฉัยโรคเท้าช้างโดยการตรวจระดับ anti-filarial specific IgG4 โดยเฉพาะในกรณีที่ผู้ป่วยมีการติดเชื้อระยะเคลือบแฝง (cryptic infection) อย่างไรก็ตามปัญหาในระยะแรกของการตรวจด้วยวิธีนี้คือ ต้องใช้โปรตีนสกัดจากเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างโดยตรง ซึ่งขั้นตอนที่จะได้พยาธิในปริมาณที่เพียงพอเพื่อนำมาสกัดโปรตีนในการวินิจฉัยโรคนั้นเป็นไปด้วยความลำบาก เนื่องจากต้องใช้พยาธิจำนวนมากเพื่อนำมาสกัดโปรตีนซึ่งจะทำได้โดยการเพาะเลี้ยงพยาธิในห้องทดลอง และในปัจจุบันนี้มีห้องทดลองเพียงไม่กี่แห่งในโลกเท่านั้นที่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างได้

ด้วยความก้าวหน้าของความรู้ทางด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลทำให้มีการผลิต recombinant clones เพื่อใช้ในการสร้างโปรตีนที่จำเพาะ (recombinant antigens) เพื่อการวินิจฉัยโรคเท้าช้างได้[30] การใช้ recombinant antigens จะสามารถช่วยให้การวินิจฉัยโรครวดเร็วและสะดวกมากยิ่งขึ้น เนื่องจากสามารถผลิต antigens ที่จำเพาะในการวินิจฉัยโรคเท้าช้าง ในปริมาณที่มากเพียงพอแก่ความต้องการได้จากห้องปฏิบัติการ ดังนั้นการใช้ recombinant antigens จึงเป็นแนวทางที่จะช่วยให้การวินิจฉัยโรคเท้าช้างง่ายขึ้นซึ่งค่าใช้จ่ายจะอยู่ในระดับที่ไม่สูงเกินไปนัก

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการใช้ recombinant antigens ในการวินิจฉัยโรคเท้าช้างทั้งที่เกิดจาก *W. bancrofti* และ *B. malayi* จะให้ผลดีพอสมควรในขณะนี้ แต่ก็สามารถจะพัฒนาให้ดีขึ้นได้อีก เพื่อเพิ่มความไวและความจำเพาะให้สูงขึ้นกว่าที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน การใช้ cocktail ของ recombinant antigens 3 ชนิดร่วมกันสามารถตรวจวินิจฉัยผู้ที่อยู่ในระยะก่อนจะพบเชื้อ (prepatent และ early patent period) ได้ใน filariasis ที่เกิดจากเชื้อ *Onchocerca volvulus*[31] ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูงเป็นที่ยอมรับ ดังนั้น ควบคู่ไปกับการพัฒนาการวินิจฉัยโรคโดยวิธีอื่นๆ ปัจจุบันจึงมีความพยายามในการปรับปรุงการตรวจวินิจฉัยโรคด้วยการตรวจหา specific antibodies ให้มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้นโดยเสียค่าใช้จ่ายน้อย เพื่อให้สามารถนำไปใช้ในพื้นที่ที่มีความชุกชุมของโรคสูงได้

ปัญหาอีกประการหนึ่งในการตรวจทางน้ำเหลือง คือ ต้องใช้วิธีเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ ซึ่งพบว่าบางพื้นที่มีปัญหาประชาชนไม่ให้ความร่วมมือในเจาะและเก็บเลือดจากเส้นเลือดดำ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจระดับ anti-filarial specific IgG4 antibody โดยใช้วิธี filter paper technique[32, 29] ซึ่งทำได้โดยการเจาะเลือดจากปลายนิ้วมือในปริมาณ 25 µl ซึ่งจะเทียบเท่ากับซีรั่ม 12.5 µl โดยประมาณหยดบนกระดาษ Whatman No.3 แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องแล้วจึงเก็บในถุงที่แห้ง ณ. อุณหภูมิ 4°C ก่อนนำมาตรวจหา anti-filarial specific IgG4 antibody

ต่อไป พบว่าผลการตรวจที่ได้จากการเจาะเลือดปลายนิ้วมีค่าใกล้เคียงกับผลที่ได้จากการใช้เลือดจากเส้นเลือดดำ

3. การตรวจหา circulating antigen ที่จำเพาะต่อพยาธิโรคเท้าช้าง

การใช้ monoclonal antibodies ที่จำเพาะต่อเชื้อพยาธิโรคเท้าช้าง เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถช่วยในการวินิจฉัยโรคได้[33, 34, 35] ซึ่งวิธีนี้มีความไวและความจำเพาะสูง แต่ปัญหาที่สำคัญในพื้นที่ที่มีโรคชุกชุมคือค่าใช้จ่ายในการผลิต monoclonal antibodies เพื่อใช้ในการตรวจสอบยังคงสูงอยู่ เมื่อเทียบกับการตรวจหา specific antibodies ต่อพยาธิโรคเท้าช้าง อย่างไรก็ตามข้อดีของการตรวจ circulating antigen คือสามารถบอกได้ว่าผู้ป่วยกำลังมีเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างอยู่ หลังการรักษาพบว่าระดับ circulating antigen จะลดลงสัมพันธ์กับระดับ microfilaria ที่ลดลง นอกจากนี้ได้มีการพัฒนาการตรวจโดยใช้ immunochromatography technique ทำให้การตรวจวิธีนี้สามารถทำได้โดยเจาะเลือดปลายนิ้วและทราบผลภายใน 15-20 นาที ซึ่งถ้าสามารถใช้ monoclonal antibody ในการตรวจสอบที่มีความไวและความจำเพาะสูง และควบคุมราคาของการตรวจด้วยวิธีดังกล่าวได้ จะสามารถนำไปใช้ในแหล่งโรคชุกชุมได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมาก

4. ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Polymerase Chain Reaction : PCR)

ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสนั้นมีหลักการ คือ การเพิ่มจำนวนของส่วนยีน (gene) ที่ต้องการโดยใช้ primer ที่จำเพาะต่อยีนส่วนนั้น โดยอาศัยเอ็นไซม์ Taq polymerase สารเคมีที่จำเป็นประกอบกับการปรับความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสม ส่วนของยีนที่ใช้ในการวินิจฉัย *W. bancrofti* คือ *Ssp* I ในขณะที่ส่วนของยีนที่ใช้วินิจฉัย B. malayi เรียกว่า *Hha* I

ความก้าวหน้าของชีววิทยาระดับโมเลกุล ในปัจจุบันได้ช่วยให้การวินิจฉัยโรคเท้าช้าง มีความไวและความจำเพาะมากยิ่งขึ้น จากการศึกษาพบว่าการจัดเรียงลำดับของยีนส่วนที่เป็น noncoding repetitive DNA ทั้งชนิด tandem repeats และ interspersed repeats ของทั้ง *B. malayi*[36] และ *W. bancrofti*[21, 37, 38] ทำให้ทราบถึงการจัดเรียงลำดับของ species-specific primers เพื่อใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR และ DNA probe ที่จำเพาะในการวินิจฉัยโรคเท้าช้าง[39] การวินิจฉัยด้วยวิธีนี้สามารถตรวจได้ด้วยความไวถึง 95 % และมีความจำเพาะ 100% และยังสามารถวินิจฉัยผู้ป่วยที่อยู่ในพื้นที่โรคชุกชุม แต่ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ microfilaria ด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นได้ถึง 30% อย่างไรก็ตาม เนื่องจากการทำ PCR จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือซึ่งราคาค่อนข้างแพง ตลอดจนผู้ที่จะปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวินิจฉัยด้วยวิธี PCR จำเป็นต้องได้รับการฝึกอบรมให้สามารถปฏิบัติงานได้ถูกต้อง และเข้าใจถึงหลักการแปลผล ตลอดจนการควบคุมคุณภาพของการทดสอบไม่ให้มีผลบวกหรือผลลบปลอม (false postifive or false negative) จึงไม่สะดวกในการที่จะนำไปใช้ในแหล่งโรคชุกชุมทั่วไป

5. การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีอื่น ๆ

การใช้ ultrasound technique มาตรวจดูการเคลื่อนไหวของพยาธิตัวแก่ในทางเดินน้ำเหลืองของ scrotal lymphatics ทำให้พบการเคลื่อนไหวแบบเต้นรำที่เรียกว่า dancing movement ของพยาธิ โรคเท้าช้างได้ นอกจากนี้การตรวจโดยดูระบบทางเดินน้ำเหลืองด้วยวิธี lymphangiography และ lymphoscintiography สามารถวินิจฉัยแยกโรคเท้าช้างจากความผิดปกติอื่น เช่น ความผิดปกติที่มีมาแต่กำเนิด หรือ

neoplastic lymphatic abnormalities ชนิดต่าง ๆ ได้ อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวสามารถทำได้ในโรงพยาบาล บางแห่งเท่านั้น

หลักการรักษา

1. การรักษาที่จำเพาะในปัจจุบันสำหรับประเทศไทยยังคงใช้ยา DEC ในการรักษาซึ่งจัดเป็นยาที่ปลอดภัยสามารถฆ่าเชื้อพยาธิ microfilaria ขนาดของยาใช้ 6 mg ต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัมต่อวันโดยแบ่งให้ 3 เวลา โดยรักษาติดต่อกันนาน 12 วัน สำหรับ bancroftian filariasis และให้ 6 mg ต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัมต่อวัน เป็นเวลา 6 วัน ในผู้ป่วย brugian filariasis ในพื้นที่ที่พบ microfilarial rate มากกว่า 1% ทางกองโรคเท้าช้างจะให้ยาสำหรับการรักษากลุ่มหรือที่เรียกว่า Mass Drug Administration (MDA) โดยให้ยา DEC แก่ประชาชนทุกคนในท้องที่ 6 mg ต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ครั้งเดียว (single dose) ทุกปี

2. การรักษาตามอาการ โดยยาลดไข้ แก้ปวด ถ้ามีอาการอักเสบของระบบทางเดินน้ำเหลือง ตลอดจนป้องกันและรักษาภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยแนะนำให้ผู้ป่วยรักษาความสะอาดของอวัยวะที่ผิดปกติจากโรคเท้าช้าง ในบางรายอาจจำเป็นต้องได้รับการผ่าตัดเพื่อแก้ไขความพิการ

การควบคุมป้องกัน

หลักการควบคุมป้องกันโรคที่สำคัญคือ การให้สุขศึกษาแก่ประชาชนให้รู้จักถึงสาเหตุและการติดต่อของโรคเท้าช้างโดยยุง ตลอดจนเน้นถึงการรู้จักป้องกันตนเอง นอกจากนี้มาตรการที่จำเป็นในด้านการควบคุมโรคเท้าช้างซึ่งจะขาดเสียไม่ได้คือการควบคุมยุงพาหะ ซึ่งต้องอาศัยความร่วมมือของทุกคนในการกำจัดแหล่งเพาะพันธุ์ยุงพาหะเหล่านั้น ตลอดจนลดการสัมผัสระหว่างคนกับยุงโดยนอนในมุ้งและใช้ยากันยุงเป็นต้น

สรุป

แม้ว่าอัตราการเกิดโรคเท้าช้างในคนไทยในปัจจุบันจะกำลังลดลงอย่างเป็นที่น่าพอใจ แต่จากการอพยพของแรงงานพม่าที่มีเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างเป็นจำนวนหลายหมื่นคนเข้ามาในประเทศไทย ประกอบกับภาวะที่มียุงพาหะ พบได้ทั่วไปในประเทศนั้น ทำให้ประเทศไทยอยู่ในภาวะที่ต้องเตรียมตัวเผชิญกับปัญหาโรคเท้าช้างในคนไทยภายใน 5-10 ปีข้างหน้า ถ้าไม่ได้มีมาตรการควบคุมป้องกันที่มีประสิทธิภาพ การวินิจฉัยพยาธิโรคเท้าช้างที่มีประสิทธิภาพกว่าวิธีการตรวจดูเชื้อ microfilaria ด้วยวิธีต่างๆ ที่กล่าวมาจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่หลีกเลี่ยงไม่ได้การติดตามรักษาพวกแรงงานพม่าที่เข้ามาทำงานในประเทศไทย ตลอดจนเฝ้าระวังการเกิดโรคในคนไทย จึงเป็นสิ่งสำคัญ นอกจากนี้การตรวจสอบยุงชนิดต่างๆ ถึงความสามารถในการเป็นพาหะก็เป็นปัจจัยที่สำคัญและสิ่งที่จะขาดไม่ได้คือ การให้สุขศึกษาและชี้ให้เห็นถึงอันตรายของโรคเท้าช้างแก่ประชาชนทั่วไป

อ้างอิง

1. WHO Lymphatic filariasis: the disease and its control. Expert committee on filariasis. Fifth report of the World Health Organ Tech Rep Ser 1992;821:1-71
2. Guptavanij P, Harinasuta C, Sucharit S, Vutikes S. Studies on sub-periodic Brugia malayi in southern Thailand. Sontheast Asian Trop Med Public Health 1971Mar; 2(1): 44-50
3. Guptavanij P, Harinasuta C, Vutikes S, Deesin T. A trial on the transmission of periodic Brugia malayi from man to cats. Southeast Asian Trop Med Public Health 1971 Mar; 2(1):98-99

4. Guptavanij P, Harinasuta C, Deesin T, Vutikes S. Prevalence of sub-periodic Brugia malayi in areas near Thai-Malaysia border. Southeast Asian Trop Med Public Health 1971 Mar; 2(1):100-101

5. Harinasuta C, Sucharit S, Deesin T, Suarthin K, Vutikes S. Bancroftian filariasis in Thailand. Southeast Asian Trop Med Public Health 1970 Jun;1(2):233- 45

6. Harinasuta C, Charoenlarp P, Guptavanij P, Sucharit S. A pilot project to the control of filariasis in Thailand. Ann Trop Med Parasitol 1964; 58:315-27

7. Shutidamrong C. Pantana S. The Periodicity of microfilaria in Thailand. Com Dis J 1986 Jul-Sep; 12(3):227-37

8. สราวุธ สุวัณณทัพพะ. 2540 แรงงานต่างชาติกับแนวโน้มโรคเท้าช้างในอนาคต เอกสารประกอบคำบรรยาย 50 ปี แพทย์จุฬาฯ วิชาการ 3-6 มิ.ย. 2540

9. วันเพ็ญ สิตไทย. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการปรากฏตัวของพยาธิไมโครฟิลาเรีย ชนิด Wuchereria bancrofti และการออกหากินของยุงพาหะในจังหวัดตาก ประเทศไทย. วารสารโรคติดต่อ 2531เม.ย-มิ.ย; 14(2): 120-30

10. กอบกาญจน์ กาญจโนภาศ. ความสามารถการเป็นพาหะนำเชื้อพยาธิ Nocturnal periodic Wuchereria bancrofti ของยุง Culex quinquefasciatus ในประเทศไทย. วารสารสาธารณสุขศาสตร์ 2540 ; 27(3): (in press)

11. Carme B. Laigret J. 1979 Longevity of Wuchereria bancrofti var pacifica and mosquito infection acquired from a patient with low level parasitemia. Am J Trop Med Hyg 1979 Jan; 28(1): 53-5

12. Nutman TB. Immune responses in lymphatic dwelling filarial infections. In : Molecular Approaches to Parasitology, New York Wiley-Liss, 1995; 511-23

13. Witte MH, Jamal S, Williams WH, Witte CL, Kumaraswami V, McNeill GC, Case TC, Panicker TM. Lymphatic abnormalities in human filariasis as depicted by lymphangioscintigraphy. Arch Intern Med 1993 Mar 22; 153(6):737-44

14. Dreyer G , Ottesen EA, Galdino E, Andrade L, Rocha A, Medeiros Z, Moura I, Casimiro I, Beliz F, Coutinho A. Renal abnormalities in microfilaremic patients with Bancroftian filariasis. Am J Trop Med Hyg 1992 Jun; 46(6):745-51

15. Ottesen EA, Nutman TB. Tropical pulmonary eosinophilia. Annu Rev Med 1992; 43:417-24

16. Dreyer G, Pimentael A, Medeiros Z, Beliz F et al. Studies on the periodicity and intravascular distribution of Wuchereria bancrofti microfilariae in paired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. Trop Med Intern Health 1996 Apr; 1(2):264-72

17. Chularerk P, Desowitz RS. A simplified membrane filtration technique for the diagnosis of microfilaremia. J Parasitol 1970 Jun; 56(3):623-4

18. Goldsmid JM. Studies on the laboratory diagnosis of human filariasis : preliminary communication. J Clin Pathol 1970 Oct; 23(7):632-5

19. Goldsmid JM, Mahomed K, Makanji H, Muir M. Microhaematocrit centrifuge technique for the laboratory diagnosis of filarial infections. South African Med J 1972 Feb 19;46(8):171-4

20. Long GW, Rickman LS, Cross JH. Rapid diagnosis of Brugia malayi and Wuchereria bancrofti filariasis by an acridine orange/microhematocrit tube technique. J Parasitol 1990 Apr;76(2):278-81

21. WHO Expert Committee on filariasis. Lymphatic filariasis : diagnosis 1993; and pathogenesis. Bulletin of the World Health Orgnaization 71(2):135-41

22. Ottesen EA, Skvaril F, Tripathy SP, Poindexter RW, Hussain R. Prominence of IgG4 in the IgG antibody response to human filariasis. J Immunology 1985 Apr;134 (4): 2707-12

23. Lal RB, Ottesen EA. Phosphocholine epitopes on helminth and protozoal parasites and their presence in the circulation of infected human patients. Trans R Soc Trop Med Hyg 1989 Sep; 83 (5):625-55

24. Simonsen PE, Lemnge MM, Msangeni HA, Jakobsen PH, Bygbjerg IC. Bancroftian filariasis: the patterns of filarial-specific immunoglobulin G1 (IgG1), IgG4, and circulating antigens in an endemic community of Northeastern Tanzania. Am J Trop Med Hyg 1996 Jul; 55 (1):69-75

25. Kwan-Lim GE, Forsyth KP, Maizels RM. Filarial-specific IgG4 response correlates with active Wuchereria bancrofti infection. J Immunol 1990 Dec; 145 (12):4298-305

26. Kurniawan A, Yazdanbakhsh M, van Ree R, Aalberse R, Selkirk ME, Partono F, Maizels RM. Differential expression of IgE and IgG4 specific antibody responses in asymptomatic and chronic human filariasis. J Immunol 1993 May; 150 (9): 3941-50

27. Atmadja AK, Atkinson R, Sartono E, Partono F, Yazdanbakhsh M, Maizels RM. Differential decline in filaria-specific IgG1, IgG4, and IgE antibodies in Brugia Malayi-infected patients after diethycarbamazine chemotherapy. J Infect Dis 1995 Dec; 172 (6): 1567-72

28. Wamae CN, Roberts JM, Eberhard ML, Lammie PJ. Kinetics of circulating human IgG4 after diethycarbamazine and ivermectin treatment of bancroftian filariasis. J Infect Dis 1992 Jun; 165(6): 1158-60

29. Terhell AJ, Haarbrink M, Abadi K, Bronneberg DC, Tieleman MC, Asri M, Yazdanbakhsh M. A filter paper technique for the detection of anti-filarial IgG4 in lymphatic filariasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 1996 Mar-Apr; 90 (2): 196-8

30. Dissanayake S, Xu M, Piessens WF. A cloned antigen for serological diagnosis of Wuchereria bancrofti microfilaremia with daytime blood samples. Mol Biochem Parasitol 1992 Dec; 56 (2): 269-77

31. Ramachandran CP. Improved immuno-diagnostic tests to onchocerciasis control programmes- a multicenter effort. Parasitol Today 1993; 9: 76-9

32. Chanteau S, Plichart R, Spiegel A, Martin PM, Cartel JL. Diagnostic values of ELISA-IgG4 as compared to ELISA-IgG and indirect immunofluorescence for the routine diagnosis of bancroftian filariasis in the South Pacific. Application on capillary blood collected on filter paper. Trop Med Parasitol 1991 Dec; 42(4):339-42

33. Dissanayake S, Forsyth KP, Ismail MM, Mitchell GF. Detection of circulating antigen in bancroftian filariasis by using a monoclonal antibody. Am J Trop Med Hyg 1984 Nov; 33 (6): 1130-40

34. More SJ, Copeman DB. A highly specific and sensitive monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis. Trop Med Parasitol 1990 Dec; 41 (4): 403-6

35. Weil GJ, Sethumadhavan KV, Santhanam S, Jain DC, Ghosh TK. Persistence of parasite antigenemia following diethylcarbamazine therpay of bancroftian filariasis. Am J Trop Med Hyg 1988 May; 38 (3): 589-95

36. McReynolds LA, Poole C, Hong Y, Williams SA, Partono F, Bradley J. Recent advances in the application of molecular biology in filariasis. Proceedings of the 34th SEAMEO TROPMED regional seminer. Current stotus of filariasis in southeast Asia. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1993; 24 (Suppl 2): 55-63

37. McCarthy JS, Zhong M, Gopinath R, Ottesen EA, Williams SA, Nutman TB . Evaluation of a polymerase chain reaction-based assay for diagnosis of Wuchereria bancrofti infection. J Infect Dis 1996 Jun; 173 (6): 1510-4

38. Zhong M, McCarthy J, Bierwert L, Lizotte-Waniewski M, Chanteau S, Nutman TB, Ottesen EA, Williams SA. A polymerase chain reaction assay for detection of the parasite Wuchereria bancrofti in human blood samples. Am J Trop Med Hyg 1996 Apr; 54(4): 357-63

39. Nutman TB, Zimmerman PA, Kubofcik J, Kostyu DD. A universal applicable diagnostic approach to filarial and other infections. Parasitol Today 1994; 10(6):239-43