-5 AUG 1999

LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

THE SUSCEPTIBILITY OF SOME MOSQUITOES to *WUCHERERIA BANCROFTI*

JINRAPA PHOTHIKASIKORN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

With compliments
of
บัณฑิตวิทยาลัย มหิดล

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1991

Copyright by Mahidol University

310735

ชื่อวิทยานิพนธ์ การทดสอบความสามารถในการนำเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างชนิด *Wuchereria bancrofti* ของยุงบางชนิด

ผู้วิจัย จินรภา โพธิกสิกร

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

สุชาติ อุปถัมป์, Ph.D.

วัลลภ ชูสัตยานนท์, Ph.D.

ฉันทกรณ์ ชุติดำรง, M.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 27 พฤษภาคม พ.ศ. 2534

บทคัดย่อ

1. การคัดเลือกเนื้อเยื่อของสัตว์เพื่อใช้ในเครื่องมือประกอบการให้อาหารยุง

การคัดเลือกเนื้อเยื่อของสัตว์เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญของเครื่องมือการให้อาหารยุงนั้นได้นำเอาหนังจากสัตว์สามชนิดมาทดสอบเพื่อคัดเลือก ได้แก่ หนังหนู หนังลูกไก่ และผนังลำไส้เล็กของหมู โดยใช้ยุงชนิดที่มีความสามารถในการนำเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างชนิด *Wuchereria bancrofti* ได้ดี (มี fm gene) มาเป็นตัวทดสอบตลอดการทดลอง ได้แก่ ยุงลายชนิด *Aedes aegypti*, Liverpool strain โดยให้ยุงนี้ดูดกินเลือดของคนไข้โรคเท้าช้างชนิดดังกล่าว โดยใช้วิธีนำเลือดใส่ในเครื่องประกอบการให้อาหารยุงที่หุ้มด้วยหนังชนิดต่าง ๆ ทั้งสามชนิด และให้ยุงเลือกที่จะเจาะเพื่อดูดกินเอง พร้อมกับมีชุดควบคุมการทดลอง โดยให้ยุงดังกล่าวเกาะกินจากคนไข้โดยตรงอีกหนึ่งชุด (control) ผลการทดลองพบว่าทั้งเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของยุง เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อพยาธิสู่ตัวยุง และจำนวนการเจริญเติบโตเป็นระยะติดต่อของเชื้อพยาธิ (infective stage) ต่อตัวยุง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญจากชุดควบคุม (control) ที่ $P > 0.05$ อย่างไรก็ตามผลการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์การตอบสนองเพื่อเกาะกินของยุงต่อหนังชนิดต่าง ๆ นี้พบว่าหนังลูกไก่ให้ผลสูงสุดคือ 75.3 % รองลงมาคือหนังหนูได้ 70.0 % และสุดท้ายคือผนังลำไส้หมูได้ 32.0 % ขณะที่ชุดควบคุม (control) ได้ 84.0 % ฉะนั้นจึงสรุปได้ว่าจากการทดลองคัดเลือกหนังชนิดต่าง ๆ ทั้งสามชนิดนี้ หนังลูกไก่ให้ผลดีที่สุดต่อการนำมาประกอบกับเครื่องมือการให้อาหารยุง

Copyright by Mahidol University

2. วิธีการเพื่อรักษาความมีชีวิตของพยาธิโรคเท้าช้างชนิด *Wuchereria bancrofti* ในเลือดของผู้ป่วย

สารป้องกันเลือดแข็งตัวทั้งห้าสูตร คือ heparin, ACD, ACD-D5, CPD และ CPDA-1 ได้ถูกนำมาใช้ในการทดสอบเพื่อคัดเลือกหาชนิดที่ดีที่สุดในการที่จะนำไปผสมกับเลือดผู้ป่วยโรคเท้าช้างชนิด *Wuchereria bancrofti* ให้พยาธิในเลือดผู้ป่วยได้มีชีวิตอยู่ได้นานที่สุดเพื่อผลดีต่อการขนส่งและการทดสอบในห้องปฏิบัติการโดยใช้ยุงชนิด *Aedes aegypti*, Liverpool strain ซึ่งเป็นยุงที่มีความสามารถในการนำเชื้อพยาธินี้ได้ดีเป็นตัวทดสอบ ผลการทดสอบพบว่า CPDA-1 เป็นสูตรของสารป้องกันเลือดแข็งตัวที่ให้ผลในการรักษาความมีชีวิตของพยาธิในเลือดได้ดีที่สุดขณะที่ heparin ให้ผลต่ำสุด สำหรับอัตราการตอบสนองของยุงต่อการเข้าดูดกินเลือดที่ผสมด้วยสารป้องกันเลือดแข็งตัวสูตรต่างๆ ทั้งห้าสูตรนี้พบว่าตลอดทั้งสิบวันที่เก็บเลือดไว้ อัตราการตอบสนองของยุงให้ผลเท่าเทียมกันและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $P > 0.05$

อัตราการอยู่รอดของยุง หลังจากดูดกินเลือดที่ผสมด้วยสารกันเลือดแข็งตัวทั้งห้าสูตรในระยะเวลาของการเก็บเลือดผู้ป่วยต่าง ๆ กันแล้ว พบว่ายุงที่กินเลือดที่ผสมด้วย heparin สามารถกินเลือดที่ผสมสารนี้ที่เก็บได้นานเพียงเจ็ดวันเท่านั้น ขณะที่กินเลือดผู้ป่วยที่ผสมด้วยสารสูตรอื่น ๆ มีอัตราการตายไม่มาก และสามารถกินเลือดเหล่านี้ที่เก็บต่อไปได้ตลอดทั้งสิบวันโดยยังมีอัตราการอยู่รอดที่น่าพอใจ

อัตราการติดเชื้อพยาธิในตัวยุง หลังจากกินเลือดผู้ป่วยที่ผสมด้วยสารป้องกันเลือดแข็งตัวทั้งห้าชนิดแล้วพบว่า อัตราการติดเชื้อพยาธิได้ลดลงไปตามลำดับของการเวลาที่นานขึ้น และในเลือดที่ผสมด้วย heparin เริ่มให้ผลการติดเชื้อเป็นศูนย์หลังจากเก็บได้แปดวัน ACD-D5 เริ่มเป็นศูนย์หลังจากที่เก็บได้เก้าวัน และ ACD เริ่มเป็นศูนย์หลังจากที่เก็บได้สิบวันขณะที่ CPD และ CPDA-1 ยังให้อัตราการติดเชื้อพยาธิอยู่ได้ตลอดทั้งสิบวันที่เก็บเลือดผู้ป่วยไว้

3. การทดสอบหาความสามารถในการนำเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างชนิด *Wuchereria bancrofti* ของยุงบางชนิด

Copyright by Mahidol University

ชนิดของยุงต่าง ๆ คือ *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. desmotes*, *Ae. niveus* complex, *Anopheles dirus* A, *An. maculatus*, *An. minimus*, *Armigeres subalbatus*, *Culex*

quinquefasciatus และ *Mansonia uniformis* ได้ถูกนำมาใช้ในการทดสอบให้ผ่านการดูดกินเลือดผู้ป่วยโรคเท้าช้างชนิด *Wuchereria bancrofti* ประเภท sub-periodic form โดยวิธีให้เลือดยุงด้วยเครื่องมือประกอบการให้อาหารยุงในห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบหาว่ายุงทั้งสิบชนิดนี้มีชนิดใดบ้างที่มีความไวต่อการติดเชื้อพยาธิโรคเท้าช้างได้ดีที่สุด จากผลการทดลองได้แสดงให้เห็นว่า *An. maculatus* ให้ผลความไวในการติดเชื้อได้ดีที่สุด (73.5 %) รองลงมาได้แก่ *An. minimus* (61.3 %) ขณะที่ยุง *Ae. niveus* complex ซึ่งเป็นตัวหลักในการนำเชื้อพยาธิชนิดนี้ในท้องที่ ให้ความไวเพียง 27.6 % เช่นเดียวกับ *Ae. desmotes* ซึ่งเป็นตัวนำรองให้ผลเพียง 24.8 % นอกจากนั้นยังพบว่า *An. dirus* A ให้ผล 24.5 % *Cx. quinquefasciatus* ให้ผล 19.4 %, *Mn. uniformis* 9.5 % และต่ำสุดคือ *Ae. albopictus* ให้ผล 0.8 % ขณะที่ *Ae. aegypti* และ *Ar. subalbatus* ไม่พบความสามารถในการนำเชื้อพยาธิชนิดนี้ สำหรับจำนวนการเจริญเติบโตของเชื้อพยาธิเป็นระยะติดต่อ(infective stage) ในตัวยุงหนึ่งตัวพบว่า *An. maculatus* ยังคงให้ผลสูงสุดคือ 5.7 ขณะที่ *Ae. albopictus* ให้ผลต่ำสุดคือ 1.0

Copyright by Mahidol University

Thesis Title The Susceptibility of Some Mosquitoes to *Wuchereria bancrofti*

Name Jinrapa Phothikasikorn

Degree Master of Science (Environmental Biology)

Thesis Supervisory Committee

Suchart Upatham, Ph.D.

Wanlop Chusattayanond, Ph.D.

Chantakorn Shutidamrong, M.D.

Date of Graduation 27 May B.E. 2534 (1991)

ABSTRACT

1. Membrane selection for artificial feeding technique

Membrane selection for an artificial feeding technique experiment was performed by feeding *Aedes aegypti* Liverpool strain, on the blood of patients infected with *Wuchereria bancrofti* microfilariae using three types of membranes, namely, mouse skin, chicken skin, and layer of swine intestine. Direct feeding on patients by *Ae. aegypti* was used as a control. The data obtained concerning the survival rate of mosquitoes, the rates of infection of mosquitoes, and the numbers of the third infective stage larvae per mosquito did not differ significantly from those of the control ($P>0.05$). However, the results obtained concerning the response of mosquitoes

Copyright by Mahidol University

to feeding of blood through different types of membranes differed significantly: 75.3%, 70.0%, 32.0% and 84.0% for chicken skin, mouse skin, layer of swine intestine, and direct feeding on patients, respectively ($P < 0.05$). Therefore, it can be concluded from this experiment that chicken skin is the best skin to be used for artificial feeding technique.

2. Techniques for preservation of microfilariae of *Wuchereria bancrofti*.

Five different types of anti-coagulants, namely, heparin, ACD, ACD-D5, CPD and CPDA-1, were used to preserve microfilariae of *Wuchereria bancrofti* obtained from blood of infected patients in order to ascertain as to which one would be the best type of anti-coagulant. *Aedes aegypti*, Liverpool strain, was the mosquito selected to feed on preserved blood. The data indicated that microfilariae of *W. bancrofti* could be preserved in blood by all five anti-coagulant formulae, with CPDA-1 the most and heparin the least satisfactory formulae.

The responses of mosquitoes to feeding of patient's blood mixed with five anti-coagulant formulae did not differ significantly on each day from the third to the tenth day ($P > 0.05$).

Copyright by Mahidol University

Concerning the survival rates of mosquitoes from feeding on patients' blood mixed with five anti-coagulant

formulae, the mosquitoes fed on blood mixed with heparin survived until the seventh day, whereas those fed on blood mixed with the other four anti-coagulant formulae survived throughout the tenth day.

Regarding the rates of infection of mosquitoes from feeding on patients' blood mixed with five anti-coagulant formulae, the rates of infection generally decreased as the duration of preservation increased. There were no infections in the mosquitoes fed with blood mixed with heparin, ACD and ACD-D5 on the eighth, the tenth and the ninth day, respectively, whereas those fed with blood mixed with CPD and CPDA-1 infections occurred throughout the tenth day.

3. The susceptibility of some mosquitoes to microfilariae of *Wuchereria bancrofti*

Ten species of mosquitoes, namely, *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. desmotes*, *Ae. niveus* complex, *Anopheles dirus* A, *An. maculatus*, *An. minimus*, *Armigeres subalbatus*, *Culex quinquefasciatus* and *Mansonia uniformis* were exposed to microfilariae of the sub-periodic form of *Wuchereria bancrofti* under laboratory conditions in order to determine their susceptibility to the parasite. The results showed that *An. maculatus* (73.5%) was the most susceptible to the parasite, followed by *An. minimus* (61.3%), *Ae. niveus* complex (27.6%), *Ae. desmotes* (24.8%), *An. dirus* A (24.5%), *Cx. quinquefasciatus* (19.4%), *Mn.*

Copyright by Mahidol University

uniformis (9.5%) and *Ae. albopictus* (0.8%). *Ae. aegypti* and *Ar. subalbatus* were not susceptible to the parasite. *An. maculatus* rendered the highest number of infective larvae, 5.7, and *Ae. albopictus* the least number of infective larvae, 1.0.

Copyright by Mahidol University