

ความชุกและความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไมโครพลาเรียในกระแสดเลือดโคนม และสุนัข/แมว พื้นที่จังหวัดชุมพร

อิสมาแอล ยุมาดีน¹ กำชัย กิจศิลป์¹ วงศพัทธ์ จันไชยยศ²

บทคัดย่อ

โรคพยาธิพลาเรีย เป็นโรคปรสิตในสัตว์ ที่พบได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อน ก่อปัญหาสุขภาพต่อสัตว์ และเป็นแหล่งแพร่โรคสู่คนผ่านพาหะซึ่งเป็นแมลงดูดเลือด โรคพลาเรียที่ติดต่อสู่คนมีสุนัขและแมวเป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญ การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบสถานการณ์ความชุกและความสัมพันธ์ของการติดโรคพยาธิพลาเรียในโค และสุนัข แมว ในฟาร์มโคนม จังหวัดชุมพร ทำการตรวจเลือดสัตว์ที่เตรียมด้วยวิธีฟิล์มโลหิตหนา และ วิธี Hematocrit capillary tube แล้วย้อมสียิมซ่าเพื่อตรวจและจำแนกประเภทพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ และอธิบายความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไมโครพลาเรียในโคนมและในสุนัข/แมว ในฟาร์มด้วยค่าสัมประสิทธิ์ ϕ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยวิธี Fisher exact probability test จากสถิติ Chi-square test ที่ความเชื่อมั่น 95% เก็บตัวอย่างเลือดในฟาร์มโคนมทุกแห่ง รวม 21 ฟาร์ม ประกอบด้วยตัวอย่างเลือดแม่โครีดนม 277 ตัว สุนัข 68 ตัว และแมว 24 ตัว ความชุกของพยาธิจำแนกตามชนิดสัตว์ได้ดังนี้ *Setaria spp.* ในโคร้อยละ 1.4 (4/277; 95%CI 0.4-3.4) *Dirofilaria spp.* และ *Brugia spp.* ในสุนัขร้อยละ 1.4 (3/68; 95%CI 0.9-12.4) และ 4.4 (7/68; 95%CI 4.2-20.1) ตามลำดับ และ *Brugia spp.* ในแมว ร้อยละ 4.2 (1/24; 95%CI 0.1-21.0) ความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไมโครพลาเรียในโคนมและในสุนัข/แมวในฟาร์มอยู่ในระดับเล็กน้อยไม่มีความสำคัญ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ ϕ เท่ากับ 0.14 และไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value=0.53) ผลการศึกษานี้สอดคล้องและสนับสนุนองค์ความรู้ที่มีรายงานมาก่อนคือ พบการติดเชื้อไมโครพลาเรียในโฮสต์จำเพาะ คือ *Setaria spp.* ในโค และ *Dirofilaria spp.* และ *Brugia spp.* ในสุนัขและแมว และความสัมพันธ์ของการติดเชื้อในโฮสต์ต่างชนิดอยู่ในระดับต่ำ สามารถนำข้อมูลไปถ่ายทอดให้กับเกษตรกรฟาร์มโคนมในการรักษาและป้องกันโรคพยาธิพลาเรียในโคนม สุนัข และแมว เป็นข้อมูลประกอบการวางแผนการป้องกันควบคุมโรคในคน ควรติดตามโรคพยาธิพลาเรียในโคนม สุนัขและแมว อย่างต่อเนื่อง และใช้วิธีการตรวจที่มีความไวมากขึ้นที่สามารถระบุสายพันธุ์พยาธิได้ เพื่อให้ข้อมูลที่ถูกต้องแม่นยำสำหรับการวางแผนป้องกันและควบคุมโรค

คำสำคัญ: ความชุก ความสัมพันธ์ โรคพยาธิพลาเรีย โคนม *Setaria spp.* *Dirofilaria spp.* *Brugia spp.*

เลขทะเบียนผลงานวิชาการ: 65(2)-0116(8)-115

¹ สำนักงานปศุสัตว์เขต 8 อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี 84000

² สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดภูเก็ต อ.เมือง จ.ภูเก็ต, 83000

Prevalence and Correlation of Microfilaria Infection in Dairy Cattle and Dogs/Cats in Chumphon Province

Ismael Yumadeen¹ Kamchai Kidsin¹ and Wongsaphat Janchaiyot²

Abstract

Filariasis is a parasitic zoonotic disease of animals in tropical regions. Blood-sucking insects transmit microfilaria, an infective stage of filarial, to animals and humans. Dogs and cats are important reservoirs of zoonotic filariasis. This study aimed to describe prevalence of microfilaria infection in cows, dogs and cats and correlation between microfilaria infection in cows and dogs/cats in dairy farms in Chumphon Province. The microscopic examination was used to detect and defined parasite genus from Giemsa's stain smeared blood samples prepared by thick blood smear and hematocrit capillary tube techniques. Correlation of microfilaria infection in cattle and dogs/cats was determined by phi (ϕ) correlation coefficient. The relationship was analyzed by Fisher exact probability test from Chi-square test with 95% confidence. We collected samples from 277 milking cows, 68 dogs and 24 cats from all 21 dairy farms. The prevalence of *Setaria spp.* in cows was 1.4% (4/277; 95%CI 0.4-3.4); *Dirofilaria spp.* and *Brugia spp.* in dogs were 1.4% (3/68; 95%CI 0.9-12.4) and 4.4% (7/68; 95%CI 4.2-20.1), respectively; *Brugia spp.* in cat was 4.2% (1/24; 95%CI 0.1-21.0). The ϕ of 0.14 and was not statistically significant (p -value=0.53) indicated negligible association of microfilaria infection in cows and in dogs/cats in the farms. Our results identified *Setaria spp.* in cows, *Dirofilaria spp.* and *Brugia spp.* in dogs and cats as well as negligible association of microfilaria infection across host species conformed to previous knowledge that filarial infections are host specific. This information shall be transferred to the farmers for treatment and control microfilaria infection in their animals and public health for planning zoonotic filariasis prevention activities. Monitoring of microfilaria infection in animals in the farms should be continued and using more sensitive and specific tests.

Keyword: Prevalence, Correlation, Filariasis, Dairy Cattle, *Setaria spp.*, *Dirofilaria spp.*, *Brugia spp.*

Register No.: 65(2)-0116(8)-115

¹Office of Regional Livestock 8, Meuang Surat Thani, Surat Thani 84000

²Phuket Provincial Livestock Office, Meuang Phuket, Phuket 83000

คำนำ

โรคพยาธิฟิลาเรีย (Filariasis) เป็นโรคปรสิตในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นก สัตว์เลี้ยงคาน สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ ที่พบได้ทั่วโลกโดยเฉพาะในเขตร้อน ก่อปัญหาสุขภาพต่อสัตว์ และบางสายพันธุ์ติดต่อสู่คน พยาธิฟิลาเรียมีหลายประเภทและสายพันธุ์ มีความหลากหลายของประเภทของโฮสต์กึ่งกลางและโฮสต์จำเพาะ (Kaikuntod, et. al, 2018) เฉพาะพยาธิฟิลาเรียที่มีสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็นโฮสต์จำเพาะเท่านั้นที่มีการรายงานติดต่อสู่คน เช่น *Dirofilaria immitis*, *D. repens*, *Brugia malayi*, *B. pahangi*, *Onchocerca volvulus* และ *Wuchereria bancrofti* ซึ่งมีสุนัขและแมวเป็นแหล่งรังโรคสำคัญ (Anderson, 2000) การติดต่อของโรค โดยไมโครฟิลาเรียซึ่งเป็นตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิที่เจริญในโฮสต์กึ่งกลางซึ่งเป็นพาหะคือแมลงดูดเลือด ในสกุลต่างๆ เข้าสู่ร่างกายของสัตว์ซึ่งเป็นโฮสต์จำเพาะผ่านทางกรัด (Bowman, 2009) โรคพยาธิฟิลาเรียมีรายงานเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ขยายพื้นที่ ชนิดของโฮสต์ และตำแหน่งที่พบในร่างกาย เช่น การพบการติดเชื้อ *Onchocerca lupi* ที่มีโคเป็นโฮสต์จำเพาะในสุนัขป่า (Domenico et al., 2012) การพบการติดเชื้อ *Onchocerca spp.* ในช่วงในประเทศไทยที่จังหวัดสุรินทร์ (Pabutta, et al, 2021) หรือการพบ *D. immitis* และ *B. malayi* จากเห็บของช้างและสิงโต (Koray et al., 2022) และพบ *B. malayi* จากแผลผิวหนังอักเสบของยีราฟ (Sushan et al., 2022) เป็นต้น ทั้งนี้ปัจจัยสำคัญในการแพร่ระบาดของโรคพยาธิฟิลาเรีย ได้แก่ สภาพแวดล้อมซึ่งมีอิทธิพลกับการคงอยู่และเพิ่มจำนวนของแมลงดูดเลือดซึ่งเป็นพาหะของพยาธิ แหล่งรังโรค และกิจกรรมและพฤติกรรมของมนุษย์ (Center for Disease Control and Prevention, 2021)

ประเทศไทยมีรายงานโรคและความชุกของพยาธิฟิลาเรียรวมทั้งไมโครฟิลาเรีย ในคน สุนัข แมว โค สัตว์เลี้ยง และสัตว์ป่า (Kaikuntod, et. al, 2018) ถึงแม้ปัจจุบันสามารถควบคุมโรคพยาธิฟิลาเรียที่ก่อโรคเท้าช้างในคนได้สำเร็จแต่ยังมีความเสี่ยงจากการเคลื่อนย้ายคนและสัตว์และสัตว์พาหะ (สีใส, 2555) และยังมีโรคพยาธิฟิลาเรียที่ยังไม่มีการควบคุมในสัตว์ เช่น *D. immitis* จึงต้องติดตามสถานการณ์ของโรคอย่างต่อเนื่องเพื่อควบคุมป้องกันโรคในคน และในสัตว์ซึ่งเจ็บป่วยหรือตายจากโรคและเป็นแหล่งรังโรค ทั้งนี้ Tiawsirisup, (2010) ตั้งข้อสังเกตว่า หากความชุกของไมโครฟิลาเรียต่างๆ สูงทั้งในสัตว์และในคน ก็จะมีเพิ่มความเสี่ยงในการติดเชื้อและถ่ายทอดเชื้อระหว่างสัตว์และคน ทั้งนี้ ในสภาพแวดล้อมของครัวเรือนฟาร์มเลี้ยงปศุสัตว์ในประเทศไทย โดยเฉพาะฟาร์มโคนม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นฟาร์มเปิดขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มักมีการเลี้ยงสุนัขและแมว และใช้แรงงานคนในการจัดการฟาร์ม สัตว์และคน จึงมีความใกล้ชิดกันมาก มีโอกาสสูงที่จะได้รับการถ่ายทอดเชื้อโรคผ่านแมลงพาหะในพื้นที่หากสัตว์ในฟาร์มมีเชื้อ จึงควรทราบสถานการณ์การติดเชื้อพยาธิฟิลาเรียในสัตว์ในพื้นที่เหล่านี้ เพื่อเป็นข้อมูลในการวางแผนควบคุมป้องกันโรคได้อย่างเหมาะสม แต่ข้อมูลนี้ยังมีจำกัดและยังไม่เคยมีรายงานในพื้นที่จังหวัดชุมพร ด้วยเหตุนี้ จึงทำการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นในฟาร์มโคนมในพื้นที่จังหวัดชุมพร เพื่อทราบสถานการณ์ความชุกและความสัมพันธ์ของการติดโรคพยาธิฟิลาเรียในโคนม และสุนัข แมว ในฟาร์ม

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

รูปแบบการศึกษา

การศึกษาเชิงพรรณนาแบบภาคตัดขวาง (Cross sectional study) ในโคนม สุนัข และแมว ในฟาร์มโคนมในพื้นที่จังหวัดชุมพร ระหว่างเดือน เมษายน ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2562 เพื่อทราบความชุกและความสัมพันธ์ของการติดโรคพยาธิฟิลาเรียในโคนม และสุนัข แมว จากการตรวจเชื้อไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์

พื้นที่และประชากรที่ศึกษา

จังหวัดชุมพร มีการเลี้ยงโคนมมาเป็นเวลา 30 ปี ในพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ เมืองชุมพร ท่าแซะ และปะทิว ปัจจุบันมีจำนวนฟาร์มโคนมรวมทั้งหมด 21 ฟาร์ม โคนมรวมประมาณ 1,000 ตัว ประชากรเป้าหมายในการศึกษาคือ โคนมในฟาร์มโคนมทุกฟาร์มในพื้นที่จังหวัดชุมพร และสุนัข แมว ทุกตัว ภายในฟาร์ม ประชากรที่ศึกษาคือ โครีดนมทุกตัว และสุนัข แมว ทุกตัวในครัวเรือนฟาร์มโคนมที่มีอายุประมาณ 1 ปีขึ้นไป และ ไม่ได้รับยากดภูมิคุ้มกันพยาธิหนอนหัวใจภายในระยะเวลา 6 เดือน นับถึงวันที่ทำการเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างเลือดสัตว์

เก็บตัวอย่างเลือดโคนมโดยใช้ไซริงค์ 3 มล. เข็มเบอร์ 18 ความยาว 1 นิ้ว ฉေးเลือดปริมาตร 2 มล. จากเส้นเลือดดำตำแหน่งโคนหาง เก็บตัวอย่างเลือด สุนัข และแมว โดยใช้ไซริงค์ 3 มล. เข็มเบอร์ 23 ความยาว 1 นิ้ว ฉေးเลือดปริมาตร 1 มล. จากเส้นเลือดดำตำแหน่งปลายขาหน้า บรรจุเลือดสดที่เก็บได้ทันทีในหลอดเก็บเลือดที่มีสาร EDTA ป้องกันเลือดแข็งตัว เขย่าให้เลือดและสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเข้ากันดี บันทึกหมายเลขตัวอย่างข้างหลอด แล้วเก็บรักษาตัวอย่างในกล่องควบคุมอุณหภูมิ 4 C° บันทึกประวัติสัตว์รายตัว ชื่อฟาร์ม ชื่อสัตว์ อายุ เพศ

การตรวจหาเชื้อไมโครฟิลาเรีย

เตรียมตัวอย่างในวันที่เก็บตัวอย่าง ตามขั้นตอนดังนี้

วิธีฟิล์มโลหิตหนา ผสมเลือดให้เข้ากันดี ใช้ไมโครปิเปตหยดเลือดปริมาณ 30 μ l. ลงบนสไลด์ที่สะอาด ปราศจากไขมัน แล้วใช้ไม้จิ้มฟันละเลงแผ่หยดเลือดให้เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางครึ่งนิ้ว ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำมาทำการสลายเม็ดเลือดแดงโดยจุ่มในแนวนอนลงไปในปีเกอร์บรรจุน้ำกลั่นหันด้านที่มีเลือดลง เป็นเวลา 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วตรึงสไลด์ด้วย Methanol 95% 30 วินาที แล้วนำไปย้อมสีิมซา (สุริย์พร, 2551)

วิธี Hematocrit capillary tube ผสมเลือดให้เข้ากันดีจุ่มปลายหลอด capillary tube ดูดเลือดตัวอย่าง เซ็ดคราบเลือดที่ติดข้างหลอด อดปลายด้านล่างหลอดด้วยดินน้ำมัน นำหลอดไปปั่นด้วยความเร็ว 12,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที นำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย $\times 40$ ตรวจหาการเคลื่อนไหวของไมโครฟิลาเรียที่ชั้นเม็ดเลือดขาว (buffy coat) บันทึกผลการตรวจ จากนั้นใช้ใบเลื่อยขนาดเล็กตัด capillary tube ได้ชั้น buffy coat ประมาณ 2 มม. หักออกแล้วเคาะส่วนของเม็ดเลือดขาวให้หยดลงบนปลายสไลด์ข้าง

หนึ่ง เคลือบให้เป็นแผ่นบางโดยใช้แผ่นโกลด์ ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง และตรึงสไลด์ด้วย Methanol 95% เป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำไปย้อมสียิมซ่า (สุรียพร, 2551)

การย้อมสียิมซ่า (Giemsa's stain) นำสไลด์จากการเตรียมตัวอย่าง ทั้ง 2 วิธี จุ่มลงในโถย้อมที่มี Methanol 95% นานประมาณ 2-3 นาที แล้ววางทิ้งไว้ให้แห้งในอากาศ จากนั้นนำไปจุ่มลงในโถย้อมที่มีสียิมซ่า pH 7.0-7.2 นานประมาณ 10 นาที เมื่อครบกำหนดแล้วนำสไลด์ขึ้นมาล้างสีที่เหลือออกให้หมดด้วย น้ำกลั่นบัพเพอร์หรือน้ำประปา และตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง (อาคม, 2541)

การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ อ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย $\times 40-100$ ที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาปรสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ตรวจและจำแนกลักษณะของไมโครฟิลาเรียทางกายสัณฐาน ซึ่งมีคุณลักษณะจำเพาะในการพิจารณาคือ *Brugia spp.* ทุกสายพันธุ์จะมีปลอกหุ้มลำตัว (sheathed) ติดสีชมพูชัดเจน ปลายหางมีนิวเคลียส จำนวน 2 อัน อันปลายสุดมีขนาดเล็กแยกกันชัดเจน ส่วน *Dirofilaria spp.* จะไม่มีปลอกหุ้มลำตัว มีรูปร่างเรียวยาว ส่วนหัวมีลักษณะเป็นรูปกรวย (cone shape) และมีนิวเคลียสเรียงตัวเป็นระเบียบ สำหรับ *Setaria spp.* ลำตัวมีลักษณะโค้งมน ด้านหน้า เรียว และแหลมไปด้านหลัง และเต็มไปด้วยนิวเคลียสรูปร่างกลม ปลายหางมีลักษณะเรียกว่า hyaline ovoid process ส่วนที่ย้อมด้วยสียิมซ่าสว่างขึ้นในบริเวณ cephalic space, excretory pore, nerve ring และ anal pore (อาคม, 2541)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้สถิติเชิงพรรณนา ความถี่ ร้อยละ มัธยฐาน ค่าต่ำสุด และสูงสุด อธิบายลักษณะของตัวอย่างตามฟาร์ม ชนิดสัตว์ เพศ และอายุ และประมาณการความชุกเป็นร้อยละของการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียใน โค สุนัข และแมว โดยคำนวณจาก จำนวนสัตว์ที่พบเชื้อไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด/จำนวนสัตว์ทั้งหมดที่ทำการตรวจเลือด $\times 100$ และคำนวณช่วงค่าประมาณการประชุกที่ความเชื่อมั่น 95% แสดงแผนที่การกระจายเชิงพื้นที่ ของฟาร์มโคนมและฟาร์มที่ตรวจพบการติดเชื้อไมโครฟิลาเรีย โดยใช้โปรแกรม QGIS (<http://www.qgis.org/>) แสดงความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียในแมวและสุนัขกับการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียในโคในฟาร์มด้วยสัมประสิทธิ์ ϕ (phi coefficient) (Chedzoy, 2006) ซึ่งเป็นสถิติที่ใช้วัดระดับความสัมพันธ์ของ 2 ตัวแปรชนิดนามบัญญัติ (nominal variable) ที่แสดงผลในรูปแบบตัวแปรฐานสอง ϕ แสดงระดับความสัมพันธ์ มีค่าระหว่าง -1 - 1 โดยค่าที่เข้าใกล้ -1 หรือ +1 หมายถึงความสัมพันธ์สูง และ 0 หมายถึงไม่มีความสัมพันธ์ การแปลผลเบื้องต้นคือ $\pm 0.70-\pm 1$ มีความสัมพันธ์สูงมาก $\pm 0.40-\pm 0.69$ มีความสัมพันธ์สูง $\pm 0.30-\pm 0.39$ มีความสัมพันธ์ปานกลาง $\pm 0.20-\pm 0.29$ มีความสัมพันธ์น้อยไม่สำคัญ และ 0 ไม่มีความสัมพันธ์ (Glen, 2016) แล้ววิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยวิธี Fisher exact probability test จากสถิติ Chi-square test ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS version 29 และมีสมการการคำนวณ ϕ เป็นดังนี้

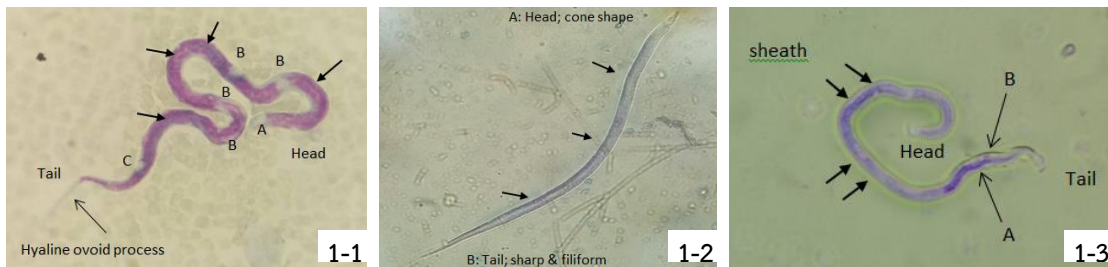
	Y=0	Y=1	
X=0	A	B	; $\phi = (AD-BC) / \sqrt{(A+B)(C+D)(A+C)(B+D)}$
X=1	C	D	

ผลการศึกษา

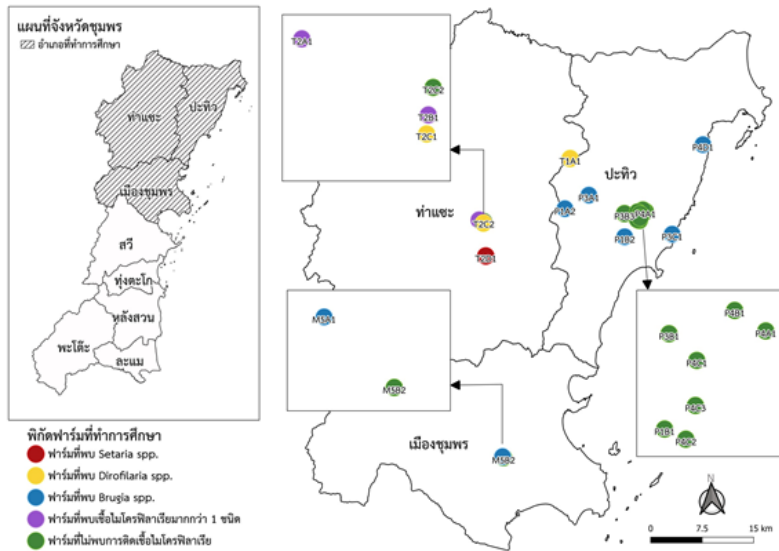
ทำการศึกษาในฟาร์มโคนมทั้งหมดในจังหวัดชุมพร รวม 21 ฟาร์ม อำเภอท่าแซะ 6 ฟาร์ม ปะทิว 13 ฟาร์ม และ เมืองชุมพร 2 ฟาร์ม เก็บตัวอย่างเลือดโคจากแม่โครีดนมทุกตัวทุกฟาร์ม รวม 277 ตัว ค่ามัธยฐานอายุแม่โค 4 ปี (3-8 ปี) สุนัข 68 ตัว จาก 19 ฟาร์ม เพศผู้ 33 ตัว เพศเมีย 35 ตัว ค่ามัธยฐานอายุ 2 ปี (1-8 ปี) และ แมว 24 ตัว จาก 13 ฟาร์ม เพศผู้ 10 ตัว เพศเมีย 14 ตัว ค่ามัธยฐานอายุ 3 ปี (1-8 ปี)

ความชุกและการกระจายเชิงพื้นที่ของการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียในโคนม สุนัขและแมว

ผลการตรวจหาไมโครฟิลาเรียในเลือดและจำแนกประเภททางกายสัณฐาน จำแนกเชื้อได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่ *Setaria spp.*, *Dirofilaria spp.* และ *Brugia spp.* (รูปที่ 1) ทั้งนี้ ในโคนมพบ *Setaria spp.* ร้อยละ 1.4 (4/277) ความชุกที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ร้อยละ 0.4-3.4 ในสุนัขพบ *Dirofilaria spp.* ร้อยละ 4.4 (3/68) ช่วงความชุก 0.9-12.4 และ *Brugia spp.* ร้อยละ 10.3 (7/68) ช่วงความชุก 4.2-20.1 สำหรับในแมวพบ *Brugia spp.* ร้อยละ 4.2 (1/24) ช่วงความชุก 0.1-21.0 (ตารางที่ 1) ทั้งนี้พบ *Brugia spp.* ทั้งในสุนัขและแมว และมีการติดเชื้อร่วมกันระหว่าง *Dirofilaria spp.* และ *Brugia spp.* ในสุนัข 1 ตัว พบการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียในเลือดตัวอย่างจากพื้นที่ทั้ง 3 อำเภอ โดยพบ *Dirofilaria spp.* ใน สุนัขพื้นที่อำเภอท่าแซะ เท่านั้น ส่วน *Brugia spp.* พบในสุนัขทั้ง 3 อำเภอ และพบในแมวอำเภอปะทิว สำหรับ *Setaria spp.* พบในโค พื้นที่ อำเภอท่าแซะ (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 ไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด ย้อมด้วยสียิมซ่าและดูผ่านกล้องจุลทรรศน์ x40-100 (1-1) ไมโครฟิลาเรียของ *Setaria spp.* ในกระแสเลือดโค ลำตัวโค้งมนด้านหน้า เรียวแหลมไปด้านหลัง เต็มไปด้วยนิวเคลียสรูปรางกลม (ลูกศรชี้) ปลายหางเรียกว่า hyaline ovoid process ส่วนที่ย้อมด้วยสียิมซ่าสว่างขึ้นในบริเวณ (A) cephalic space, (B) excretory pore และ (C) anal pore (1-2) ไมโครฟิลาเรียของ *dirofilaria spp.* จากตัวอย่างเลือดสุนัข มีรูปร่างเรียวยาว ไม่มีปลอกหุ้มลำตัว (A) ส่วนหัวลักษณะเป็นรูปกรวย (cone shape) (B) ส่วนหางยาวเรียว และ นิวเคลียสเรียงตัวเป็นระเบียบ (ลูกศรชี้) (1-3) ไมโครฟิลาเรียของ *Brugia spp.* จากตัวอย่างเลือดสุนัข มีรูปร่างเรียวยาว และมีปลอกหุ้มตัว (sheath) (ลูกศรชี้) ภายในพบนิวเคลียสรูปรางไม่แน่นอน ขนาดเล็กกระจายซ้อนกันไม่เป็นระเบียบ ที่ปลายหางมีนิวเคลียส 2 อัน (A) Subterminal nuclei (B) Terminal nuclei ขนาดเล็กแยกกันชัดเจน



รูปที่ 2 แผนที่แสดงการกระจายของฟาร์มโคนมและฟาร์มโคนมที่ตรวจพบการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียในจังหวัดชุมพร

ตารางที่ 1 ความถี่ การกระจาย และประมาณการความชุกของการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียในโค สุนัข และแมว ในฟาร์มโคนม จังหวัดชุมพร

อำเภอ	ฟาร์ม	จำนวนตัวอย่างที่ทดสอบและที่พบเชื้อไมโครฟิลาเรีย (%)						
		โค		สุนัข		แมว		
		ทดสอบ	พบเชื้อ	ทดสอบ	พบเชื้อ		ทดสอบ	พบเชื้อ
			<i>Setaria</i> spp.		<i>Dirofilaria</i> spp.	<i>Brugia</i> spp.		<i>Brugia</i> spp.
ท่าแซะ	T1A1	9	0	5	1(20.0)	0	2	0
	T2A1	20	1(5.0)	5	1*(20.0)	1*(20.0)	3	0
	T2B1	34	1(2.9)	5	0	1(20.0)	1	0
	T2C1	9	0	3	1(33.3)	0	2	0
	T2C2	10	0	7	0	0	3	0
	T2D1	16	2(12.5)	4	0	0	1	0
ปะทิว	P1A2	2	0	1	0	1(100.0)	4	0
	P1B1	23	0	5	0	0	ns	-
	P1B2	7	0	1	0	0	1	1(100.0)
	P3B1	8	0	4	0	0	ns	-
	P3B3	5	0	ns	-	-	ns	-
	P3C1	23	0	3	0	1(33.3)	3	0
	P3A1	31	0	2	0	1(50.0)	ns	-
	P4A1	14	0	4	0	0	1	0
	P4B1	20	0	5	0	0	ns	-
	P4C1	6	0	ns	-	-	1	0
	P4C2	6	0	4	0	0	ns	-

ตารางที่ 1 (ต่อ)

อำเภอ	ฟาร์ม	จำนวนตัวอย่างที่ทดสอบและที่พบเชื้อไมโครพลาเรีย (%)						
		โค			สุนัข			แมว
		ทดสอบ	พบเชื้อ	ทดสอบ	พบเชื้อ		ทดสอบ	พบเชื้อ
			<i>Setaria spp.</i>		<i>Dirofilaria spp.</i>	<i>Brugia spp.</i>		<i>Brugia spp.</i>
ปะทิว	P4C3	3	0	3	0	0	ns	-
	P4D1	6	0	4	0	1(25.0)	ns	-
เมือง	M5A1	16	0	1	0	1(100.0)	2	0
	M5B1	9	0	2	0	0	ns	-
รวม	21	277	4	68	3	7	24	1
ความชุก (95%CI)			1.4 (0.4-3.4)		4.4 (0.9-12.4)	10.3 (4.2-20.1)		4.2 (0.1-21.0)

หมายเหตุ: * = ติดเชื้อร่วม *Dirofilaria spp* และ *Brugia spp* ; ns = ไม่มีตัวอย่าง; - = ไม่มีการทดสอบ

ความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไมโครพลาเรียในกระแสเลือดโคและสุนัข/แมวในฟาร์มโคนม

จากผลการตรวจการติดเชื้อไมโครพลาเรียในกระแสเลือดโคนมในฟาร์มและสุนัขและแมว ในฟาร์ม 20 แห่ง ซึ่งมีการตรวจเลือดโค และสุนัข/แมว มี 2 ฟาร์ม ที่ตรวจพบการติดเชื้อไมโครพลาเรียในกระแสเลือดโค และสุนัข/แมว และ 9 ฟาร์มที่ตรวจไม่พบการติดเชื้อไมโครพลาเรียในโคและสุนัข/แมว ความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไมโครพลาเรียในเลือดโคและสุนัข/แมว ในฟาร์มโคนมอยู่ในระดับต่ำ มีค่าสัมประสิทธิ์ ϕ เท่ากับ 0.14 และไม่พบความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value=0.53)

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไมโครพลาเรียในโคนมกับการติดเชื้อไมโครพลาเรียในสุนัข/แมว ในฟาร์มโคนม 20 แห่ง ในจังหวัดชุมพร

		ฟาร์มมีการติดเชื้อไมโครพลาเรียในโค		รวม
		ใช่	ไม่ใช่	
ฟาร์มมีการติดเชื้อไมโครพลาเรียในสุนัข/แมว	ใช่	2	1	3
	ไม่ใช่	8	9	17
รวม		10	10	20

สรุปและวิจารณ์

พบการติดเชื้อไมโครพลาเรียในโค และสุนัข แมว ในฟาร์มโคนม ของจังหวัดชุมพร จากการตรวจเลือดสัตว์ที่เตรียมด้วยวิธีฟิล์มโลหิตหนา และ วิธี Hematocrit capillary tube และย้อมสียิมซ่าแล้วตรวจและจำแนกประเภทด้วยกล้องจุลทรรศน์ เป็นการติดเชื้อไมโครพลาเรียในโฮสต์จำเพาะ คือ *Setaria spp.* ในโค และ *Dirofilaria spp.* และ *Brugia spp.* ในสุนัขและแมว ความชุกของพยาธิจำแนกตามชนิดสัตว์ได้ดังนี้ *Setaria spp.* ในโคร้อยละ 0.4-3.4 *Dirofilaria spp.* และ *Brugia spp.* ในสุนัขร้อยละ 0.9-12.4 และ 4.2-

20.1 ตามลำดับ และ *Brugia spp.* ในแมว ร้อยละ 0.1-21.0 ความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียในโคนม และในสุนัข/แมวในฟาร์มต่ำ ในระดับที่ไม่มีความสำคัญและอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ความชุกของ *Setaria spp.* ในโคนมจากการศึกษาครั้งนี้ สอดคล้องกับรายงานในโคเนื้อในหลายพื้นที่ของประเทศไทย เช่น ในภาคใต้ตอนบนพบไมโครฟิลาเรียร้อยละ 1.9 (ศุภชัยวิชัยและพัฒนการสัตวแพทย์ภาคใต้ตอนบน, 2563) ในโคชนในพื้นที่ภาคใต้ร้อยละ 2.7 (Ngasaman *et al.*, 2021) ในโคเนื้อจังหวัดน่านร้อยละ 1 (Kaewthammasorn, 2006) เช่นเดียวกันสำหรับในสุนัขความชุกของ *Dirofilaria spp.* ที่พบเป็นไปในทางเดียวกับผลการศึกษาในสุนัขในภาคเหนือที่พบไมโครฟิลาเรียร้อยละ 6.2 (Kaikuntod *et al.*, 2018) ในกรุงเทพมหานครและปริมณฑลในสุนัขพบ *D. immitis* ร้อยละ 0.43 (Jitsamai *et al.*, 2021) และในสุนัข ภาคใต้ จังหวัดสงขลาและสตูลพบร้อยละ 7.7 (Kamyngkerd *et al.*, 2017) ซึ่งสอดคล้องสถานการณ์ความชุกร้อยละ 1-47 ของ *D. immitis* ในสุนัขในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Kaikuntod *et al.*, 2018) ต่างจากความชุกของ *Brugia spp.* ในสุนัข ซึ่งพบว่าสูงกว่าในพื้นที่กรุงเทพและปริมณฑล ที่พบ *B. pahangi* ต่ำกว่าร้อยละ 1 (Jitsamai *et al.*, 2021) การพบการติดเชื้อร่วมระหว่าง *Dirofilaria spp.* และ *Brugia spp.* ในสุนัข (1/68) เช่นเดียวกับในสุนัขในภาคเหนือซึ่งพบการติดเชื้อร่วมระหว่าง *D. immitis* และ *B. pahangi* (Kaikuntod *et al.*, 2018) ส่วน ในแมว พบการติดเชื้อ *Brugia spp.* เพียงประเภทเดียว ซึ่งต่างจากผลการศึกษาในแมวในพื้นที่กรุงเทพมหานคร และในแมว ภาคใต้ จังหวัดสงขลา และสตูลที่พบ *D. immitis* เพียงประเภทเดียว ที่ความชุกร้อยละ 20 และร้อยละ 36 ตามลำดับ (Thenchaisri *et al.*, 2022; Kamyngkerd *et al.*, 2017) อย่างไรก็ตามระดับความชุก *Brugia spp.* ที่พบในการศึกษาครั้งนี้ สอดคล้องกับการศึกษาเชื้อ *Brugia spp.* สายพันธุ์ติดต่อสู่คนในแมววัด จังหวัดนครปฐม ที่พบความชุกของ *B. pahangi* ร้อยละ 4 (Rawangchue *et al.*, 2022) ความแตกต่างของประเภทพยาธิที่ตรวจพบและระดับความชุก นอกจากเกี่ยวข้องกับพื้นที่และสภาพแวดล้อมที่ต่างกันแล้ว มีโอกาสเกิดขึ้นจากปัจจัยอื่นๆ เช่น ชนิดตัวอย่างที่ศึกษา วิธีการตรวจ ช่วงเวลาหรือฤดูกาลที่ศึกษา การจัดการเลี้ยงดูสัตว์รวมทั้งประวัติการใช้ยา benzimidazole และ macrocyclic lactone (Kaikuntod *et al.*, 2018)

ในแง่การกระจายของเชื้อเชิงพื้นที่ การพบ *Dirofilaria spp.* ในสุนัข และ *Setaria spp.* ในแม่โค ในอำเภอท่าแซะ เท่านั้น อาจเนื่องมาจากอำเภอนี้มีที่ตั้งทางทิศตะวันตกติดป่าร้อนชื้นของเทือกเขาตะนาวศรี ซึ่งเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ที่เหมาะสมของ ยุงรำคาญ ยุงลาย และ ยุงก้นปล่อง ซึ่งเป็นพาหะของเชื้อทั้ง 2 ประเภท (Tiawsirisup and Nithiuthai, 2006; Cornelia *et al.*, 2017; Cancrini *et al.*, 1997; Sauli *et al.*, 2009) สำหรับ *Brugia spp.* พบทั้งในสุนัขและแมว ในทั้ง 3 อำเภอ เนื่องสภาพจากพื้นที่เหมาะสมกับพาหะหลักของเชื้อนี้คือยุงเสื่อ ซึ่งชอบหากินบริเวณหนองน้ำที่มีวัชพืชหรือป่าพรุในที่ราบชายฝั่งตะวันออกของภาคใต้ (ชูศักดิ์และคณะ, 2548; Budi *et al.*, 2019; Peter *et al.*, 2007)

การศึกษานี้ได้ผลสอดคล้องกับองค์ความรู้ที่มีมาก่อนหน้าซึ่งระบุว่าพยาธิฟิลาเรียแต่ละสายพันธุ์ไม่สามารถติดเชื้อผ่านโฮสต์ชนิดอื่นที่ไม่ใช่โฮสต์จำเพาะภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน (Taylor *et al.*, 2016) แม้ว่าจะมีการพบเชื้อเหล่านี้ในยุงหลายชนิดตามธรรมชาติ (ชูศักดิ์ และคณะ, 2548; Budi *et al.*, 2019; Cancrini *et al.*, 1997) ทั้งนี้ ผลการศึกษานี้พบความสัมพันธ์ของการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียของโคนม และ

สุนัขแมวในฟาร์มอยู่ในระดับต่ำ และพบการติดเชื้อไมโครฟิลาเรียในโฮสต์จำเพาะ คือ *Setaria spp.* ในโค และ *Dirofilaria spp.* และ *Brugia spp.* ในสุนัขและแมว อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดเรื่องความไวและความจำเพาะของวิธีการตรวจที่ใช้ วิธีการกล้องจุลทรรศน์มีความไวต่ำ และไม่สามารถยืนยันสายพันธุ์ของพยาธิได้ มีโอกาสตรวจไม่พบเชื้อในสัตว์ติดเชื้อบางส่วน อย่างไรก็ตาม ข้อมูลจากการศึกษานี้ สามารถนำไปใช้ในการวางแผนทางให้ความรู้แก่เกษตรกรเจ้าของสัตว์ในการรักษาและป้องกันโรคในโคและสุนัขแมว เป็นข้อมูลสนับสนุนการป้องกันควบคุมโรคติดเชื้อฟิลาเรียในคน และควรมีการเฝ้าระวังติดตามการติดเชื้อพยาธิฟิลาเรียในสัตว์อย่างต่อเนื่อง รวมทั้งเลือกใช้วิธีการตรวจที่มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดชุมพร สนับสนุนเจ้าหน้าที่และยานพาหนะในการปฏิบัติงานภาคสนาม สำนักงานปศุสัตว์เขต 8 สนับสนุนอุปกรณ์การเก็บตัวอย่าง ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ชุมพร อำนาจความสะดวกด้านสถานที่พักและห้องปฏิบัติการ ความร่วมมือจากเกษตรกรเจ้าของฟาร์มโคนมจังหวัดชุมพร นักวิชาการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ตอนบน (นครศรีธรรมราช) อาจารย์สาขาวิชาสัตวแพทย์ สาธารณสุข และภาควิชาปรสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร ที่ร่วมปฏิบัติงานภาคสนามและห้องปฏิบัติการ ได้ให้คำแนะนำ ตรวจทานและแก้ไข จนผลงานสำเร็จจุล่งด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- ชูศักดิ์ นิธิเกตุกุล สุภาภรณ์ วรรณภิญโญชีพ ประเสริฐ สายเชื้อ และ มยุรา นิธิเกตุกุล. 2548. โรคเท้าช้างโรคที่อาจกลับเป็นปัญหาของประเทศไทย. สงขลานครินทร์เวชสาร. ปีที่ 24 ฉบับที่ 1 ม.ค.-ก.พ. 2549
- สีใส ยี่สุนแสง. 2555. สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค ประจำปี 2555. เข้าถึงได้ที่;
https://appsdoe.moph.go.th/boeeng/annual/Annual/AESR2012/main/AESR55part1/file/2/0755_Filariasis.pdf
- สุรีย์พร ทองหมื่น. 2551. การตรวจวินิจฉัยเชื้อมาลาเรียในฟิล์มโลหิตหนาด้วยกล้องจุลทรรศน์ สำหรับเจ้าหน้าที่ปฏิบัติการชั้นสูตกรประจำโรงพยาบาล; เข้าถึงได้ที่;
<http://www.longhosp.go.th/UserFiles/File/Malaria%20finding%20in%20thick%20film>.
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ตอนบน. 2563. รายงานประจำปี 2562. หน้า 37 ตารางที่ 26-2 เข้าถึงได้ที่;
http://vrdsp.dld.go.th/webnew/images/stories/report/ANNUAL2019/ANNUAL_REPORT_
- อาคม สังข์วรานนท์. 2541. ปรสิตวิทยาคลินิกทางสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. หน้า 3-4, 156-186
- Anderson, R.C. 2000. The Superfamily Filarioidea. In Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and transmission. 2nd ed. CABI Publishing. New York. p. 467-529.

- Bowman, D.D., 2009. Georgan's parasitology for veterinarians. 9th ed. Saunders Elsevier, Missouri, pp. 115-239.
- Budi M., S. R. Umniyati, S Hadisusanto, and E. Edyansyah. 2019. Study on vector mosquito of zoonotic *Brugia malayi* in Musi Rawas, South Sumatera, Indonesia. Published online 2019 Nov 7. doi: 10.14202/vetworld.2019.1729-1734
- Cancrini G., M. Pietrobelli, A. Frangipane di Regalbono and M. P. Tampieri. 1997. Mosquitoes as vectors of *Setaria labiatopapillosa*. International Journal for Parasitology. Volume 27, Issue 9, September 1997, Pages 1061-1064
- Center for Disease Control and Prevention (CDC). 2021. Parasites - Lymphatic Filariasis. Available from: <https://www.cdc.gov/>
- Chedzoy, O. B. (2006). Phi-Coefficient. In Phi-coefficient. Encyclopedia of Statistical Sciences: John Wiley and Sons, Inc. http://flowjo.typepad.com/the_daily_dongle/files/Phi-coefficient.pdf
- Cornelia S., R. Beck, G. Capelli, F. Montarsi and A. Mathis. 2017. Development of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in *Aedes japonicus* and *Aedes geniculatus*. Parasites & Vectors (2017); doi: 10.1186/s13071-017-2015-x
- Domenico O., F. Dantas-Torres, Z. Cebeci, B. Yeniac, N. Buyukbabani, O. B. Boral, A. Gustinelli, T. Mounir, Y. Mutafchiev and O. Bain. 2012. Human ocular filariasis: further evidence on the zoonotic role of *Onchocerca lupi*. Available from: <http://www.parasitesandvectors.com/5/1/84>
- Glen, S. 2016. "Phi Coefficient (Mean Square Contingency Coefficient)" From StatisticsHowTo.com: Elementary Statistics for the rest of us! <https://www.statisticshowto.com/phi-coefficient-mean-square-contingency-coefficient/>
- Jitsamai W., P. Kamkong, S. Asawakarn and P. Taweethavonsawat 2021. Emergence of *Dirofilaria repens* (*Spirurida: Onchocercidae*) in dogs in Eastern Thailand. doi: 10.14202/vetworld.2021.2851-2854.
- Kaewthamasorn M. and S. Wongsamee. 2006. A preliminary survey of gastrointestinal and haemoparasites of beef cattle in the tropical livestock farming system in Nan Province, northern Thailand. Parasitol Res (2006) 99: 306–308 DOI 10.1007/s00436-006-0148-5
- Kaikuntod M., Thongkorn, K., Tiwananthagorn, S., and Boonyapakorn, C. 2018. Filarial worms in dogs in Southeast Asia. Veterinary Integrative Science. 16(2): 1-17.

- Kamyngkird K., Junsiri, W., Chimnoi, W., Kengradomkij, C., Saengow, S., Sangchuto, K., Kajeerum, W., Pangjai, D., Nimsuphan, B., Inpankeaw, T. and Jittapalapong, S. 2017. Prevalence and 50 risk factors associated with *Dirofilaria immitis* infection in dogs and cats in Songkhla and Satun provinces, Thailand. *Agriculture and natural resources* 51(4): 299-302.
- Koray E., M. Mutinda, B. Bourke, S. A. Justi, L. Caicedo-Quiroga, J. Kamau, S. Mutura, I. K. Akunda, E. Cook, F. Gakuya, P. Omondi, S. Murray, D. Zimmerman and Y. M. Linton. 2022. Metagenomic Investigation of Ticks from Kenyan Wildlife Reveals Diverse Microbial Pathogens and New Country Pathogen Records. [Doi.org/10.3389/fmicb.2022.932224](https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.932224)
- Ngasaman R., N. Keawchana and P.Rakwong. 2021. Haemoparasites infection in bullfighting cattle in southern of Thailand *Veterinary Integrative Sciences*; 19(2): 133-140. DOI; 10.12982/VIS.2021.012
- Pabutta C., N. Bangkaew, P. Inthawong, P. Mahadthai, W. Jairak, N. Soda, M. Sukmak and S. Sripiboon. 2021. The first report on internal transcribed spacer region-based characterization of microfilaria in Asian elephants (*Elephas maximus*) in Thailand. *Veterinary World*, EISSN: 2231-0916 Available at; www.veterinaryworld.org/Vol.14/August-2021/36.pdf
- Peter F., S. M. Erickson, K. Fischer, J. F. Fuchs, R. U. Rao, B. M. Christensen and G. J. Weil. 2007. Persistence of *Brugia Malayail* DNA in Vector and Non-Vector Mosquitoes: Implications for Xenomonitoring and Transmission Monitoring of Lymphatic Filariasis. *Am J Trop Med Hyg.*; 76(3): 502–507.
- Rawangchue T., N. Sripirom and S. Sungpradit. 2022. Surveillance of zoonotic *Brugia pahangi* in monastery cats, Samphran district, Nakhon Pathom, Thailand. *Thai J Vet Med*. 52(1): 117-125.
- Sauli L., M. Solismaa, R. Kortet, J. Kuusela and A. Oksanen. 2009. Vectors and transmission dynamics for *Setaria tundra* (Filarioidea; Onchocercidae), a parasite of reindeer in Finland. *Parasites & Vectors* 2009, 2:3 doi:10.1186/1756-3305-2-3
- Sushan H., L. Dadone, S. Ferguson, P. Bapodra-Villaverde, P. M. Dennis, R. Aruho, M. J. Sadar, J. Fennessy, M. Driciru, A. B. Muneza, M. B. Brown, M. Johnston, and K. Lahmers. 2022. Giraffe skin disease: Clinicopathologic characterization of cutaneous filariasis in the critically endangered Nubian giraffe (*Giraffa camelopardalis camelopardalis*). *Veterinary Pathology*; Doi: 10.1177/03009858221082606

- Taylor M. A., R. L. Coop and B. L. Wall, 2016. Veterinary parasitology. 4th. ed. Wiley Blackwell. West Sussex, pp. 1-109.
- Thengchaisri N., T. Inpankaew, S. Arthitwong, J. M Steiner and Panpicha Sattasathuchana. 2022. Molecular prevalence of *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia* infections in pet and semi-domesticated cats in Bangkok, Thailand. doi: 10.14202/vetworld.2022.239-243. Epub 2022 Feb 3.
- Tiawsirisup S. and N. Suwannee. 2006. Vector competence of *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say) for *Dirofilaria immitis* (Leidy). Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2006;37 Suppl 3:110-4.
- Tiawsirisup S., 2010. Canine heartworm (*Dirofilaria immitis*, Leidy) and risk of infection in human. Chula. Med. J. 54, 625-635.