



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บทคัดย่อ

วิธีการเพาะเลี้ยงพยาธิฟิลาเรียชนิด nocturnally subperiodic *Brugia malayi* สายพันธุ์ นราธิวาส ในหลอดทดลองได้มีการพัฒนาวิธีการเลี้ยงแบบง่ายๆ ได้โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสองชนิด คือ Iscove's Modified Dolbecco's medium และ NCTC-135 medium ผสมกันในอัตราส่วนที่ เท่ากัน เติมด้วย 20% fetal bovine serum และนำไปเพาะเลี้ยงใน candle jar ที่เก็บไว้ในตู้อบ อุณหภูมิ 37 °C แทนการใช้ตู้ CO₂ incubator ซึ่งจะได้ส่วนผสมของอากาศเหมือนกับการใช้ CO₂ incubator (90% N₂, 5% O₂, 5% CO₂) และได้ทำการทดลองเพื่อหาวิธีการเพาะเลี้ยงพยาธิที่เหมาะสมโดยการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 แบบ คือ แบบที่ 1 เปลี่ยนอาหารทุกวัน, แบบที่ 2 เปลี่ยนอาหารทุก 2 วัน และแบบที่ 3 เปลี่ยนอาหารวันที่ 7 หลังจากนั้นเปลี่ยนอาหารทุกสองวัน ผล การทดลองพบว่าอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนพยาธิในแบบที่ 1 เท่ากับ 50% (70/140) ในวันที่ 10, ในแบบที่ 2 เท่ากับ 49% (82/166) ในวันที่ 6 และแบบที่ 3 เท่ากับ 53% (105/200) ในวันที่ 9 จากการใช้วิธีการเพาะเลี้ยงแบบง่ายนี้พบอัตราการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนพยาธิเท่ากับ 50% เมื่อ ทำการเพาะเลี้ยงนาน 10 วัน และสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานประมาณ 1 เดือนในการทดลองทั้งสาม แบบแต่จะมีอัตราการมีชีวิตรอดต่ำในอาทิตย์ที่ 4 นอกเหนือจากนั้นตัวอ่อนพยาธิสามารถลอก คราบจากตัวอ่อนระยะที่ 3 เป็นตัวอ่อนระยะที่ 4 ได้หลังทำการเพาะเลี้ยงหลังวันที่ 7 โดยการนำตัว อ่อนมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เมื่อนำตัวอ่อนพยาธิที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ อิลเลคตรอนแบบส่องกราดพบว่าลักษณะบริเวณผิวหนังลำตัวของตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 3 จะมีลักษณะ เป็นเส้นลายตามขวางบริเวณส่วนหัวจะพบส่วนปาก, ปุ่มรับสัมผัสจำนวน 8 ปุ่มเรียงเป็นรูปวงกลม จำนวน 2 แถว ปุ่มรับสัมผัสด้านในมีขนาดเล็กจำนวน 4 ปุ่ม และปุ่มรับสัมผัสด้านนอกมีขนาด ใหญ่จำนวน 4 ปุ่ม บริเวณหางมีทวารหนักที่มีรูปร่างคล้ายพระจันทร์เสี้ยวและที่ปลายหางจะพบ ปุ่มรับสัมผัสจำนวน 3 ปุ่ม ส่วนหัวของตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 4 จะมีลักษณะกลมและไม่เรียวยาว เหมือนตัวอ่อนระยะที่ 3 และที่ปลายหางของตัวอ่อนระยะที่ 4 จะมีลักษณะเรียวและไม่พบปุ่มรับ สัมผัสทั้ง 3 ปุ่ม วิธีการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนพยาธิฟิลาเรียอย่างง่ายในหลอดทดลองเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย และมีประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนพยาธิฟิลาเรียเพื่อนำมาใช้ในการศึกษาถึงผลของยาที่ใช้ ในการรักษาโรคเท้าช้างต่อตัวอ่อนพยาธิฟิลาเรียในหลอดทดลองโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิลเลค ตรอนแบบส่องกราดในการศึกษาคุณลักษณะภายนอกของตัวอ่อนพยาธิต่อไป



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ABSTRACT

A simple system for *in vitro* cultivation of nocturnally superperiodic (NSP) *Brugia malayi* (Narathiwat strain) was modified. The manner of cultivation system consisted of a 1:1 (v/v) mixture of Iscove's Modified Dulbecco's medium and NCTC-135 medium supplemented with 20% fetal bovine serum by using candle jar technique (90% N₂, 5% O₂ and 5% CO₂) incubation at 37 °C in an incubator instead of CO₂ incubator. The result of changing media; every 2 days, 3 days and changing media on day 7, then every 2 days on consecutive days showed larval survival rate of 50% (70/140) on day 10, 49% (82/166) on day 6 and 53% (105/200) on day 9, respectively. In this technique, larvae survived up to 50% within 10 days and had long life upward of 1 month in all experiments with low larval survival rate in the fourth week. In addition, the culture system promoted molting the third stage larva (L3) to the fourth stage larvae (L4) after 7 days as seen by light microscope. Scanning electron microscopy (SEM) was employed to observe *B. malayi* larvae *in vitro*. The cuticular surface of L3 showed transversed striations with periodic annulations. SEM showed the head region of larva. The mouth was circular-shaped. There were eight cephalic papillae arranged in two concentric circles. The four smaller inner papillae were nipple-like protuberances, and the four bigger outer papillae were spherical-shaped. The tail end showed the crescent-shaped anus and three caudal papillae. The characteristic changed in shape of tapering head of L3 to the globular head of L4. In addition, the characteristic three caudal papillae were lost and the tail end appears rounded. This culture system is easy, thus making it a useful tool for studying the development and maintenance of NSP *B. malayi* larvae. In addition it is benefit for *in vitro* drug sensitivity of filaricidal drugs against these larvae in the further study by using SEM.

All rights reserved