

ระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิ  
ไมโครฟิลาเรีย

SEMI – AUTOMATED MICROFLUIDIC SYSTEM FOR MICROFILARIAL  
DETECTION



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิศวกรรมไมโครอิเล็กทรอนิกส์  
คณะวิศวกรรมศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
พ.ศ. 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SEMI – AUTOMATED MICROFLUIDIC SYSTEM FOR MICROFILARIAL  
DETECTION



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF ENGINEERING IN MICROELECTRONICS ENGINEERING  
SCHOOL OF ENGINEERING  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
2023

KMITL-2023-EN-M-043-079

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2023

SCHOOL OF ENGINEERING

เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์โดยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ๒๕๖๕ ใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรีย
นักศึกษา	นายภูกรินทร์ ทองเกลี้ยง
รหัสประจำตัว	59601183
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมไมโครอิเล็กทรอนิกส์
พ.ศ.	2566
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.นรินทร์ อติวงศ์แสงทอง

### บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ นำเสนอเครื่องสำหรับตรวจหาหนอนพยาธิตัวกลมไมโครพลาเรียในกระแสเลือดซึ่งเป็นต้นเหตุของโรคเท้าช้างซึ่งมีอยู่เป็นพาหะนำเชื้อมาสู่คน มีการกระจายของโรคบริเวณชายแดนไทย-เมียนมาร์และภาคใต้ของประเทศไทย โดยปกติห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ใช้เทคนิคมาตรฐานโดยการย้อมสีฟิล์มเลือดหนา ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำและใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมง

ในปัจจุบัน มีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจจับเชื้อโรค ซึ่งเทคนิคไมโครฟลูอิดิกส์ดังกล่าวมีข้อดีหลายประการสำหรับการตรวจจับเชื้อโรค เช่น การใช้ปริมาณตัวอย่างในการทดสอบที่ลดลง อุปกรณ์มีขนาดเล็กทำให้พกพาได้สะดวก และการลดเวลาในการทดสอบวินิจฉัยโรค จึงได้พัฒนาระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรียขึ้น ระบบประกอบด้วยไมโครปั๊มชนิดรีดท่อใช้มอเตอร์ขนาด 12VDC แรงบิด 1 กิโลกรัม พร้อมถังใส่ตัวอย่างและอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์แบบหลายช่องทางเดินของไหลรหัส FnD51 ซึ่งมีลักษณะ 5 Inlet และ 1 Outlet ถูกออกแบบให้สามารถตรวจ 5 ตัวอย่างในครั้งเดียว และจำเป็นต้องใช้สารละลายเม็ดเลือดแบบไม่สมบูรณ์เพื่อสร้างชั้นเมมเบรนสำหรับช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดักจับได้ดีมากยิ่งขึ้น

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ สามารถออกผลได้ภายใน 60 นาที ระบบดังกล่าวสามารถดักจับไมโครพลาเรียในตัวอย่างเลือดได้ โดยสามารถตรวจนับได้อย่างชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นอกจากนี้ ระบบมีขนาดเล็ก ทำให้สะดวกการติดตั้งและเคลื่อนย้าย เพื่อให้สามารถลดระยะเวลาและเพิ่มขีดความสามารถจำนวนการตรวจให้มากขึ้น เพื่อตอบสนองความต้องการของการให้บริการตรวจวินิจฉัยโรค

ดังนั้นสรุปได้ว่าระบบไมโครฟลูอิดิกกึ่งอัตโนมัติเป็นอุปกรณ์วินิจฉัยที่ง่ายรวดเร็วและสะดวกสำหรับการตรวจจับไมโครพลาเรีย

Thesis	Semi – Automated Microfluidic System for Microfilarial Detection
Student	Mr.Pukarin Tongkliang
Student ID.	59601183
Degree	Master of Engineering
Program	Microelectronics Engineering
Year	2023
Thesis Advisor	Asst. Prof. Narin Atiwongsangthong

## ABSTRACT

This thesis reveals a system for detecting microfilarial nematodes in the bloodstream, the causative agent of lymphatic filariasis which is transmitted by mosquito vectors. The disease spread on the Thai- Myanmar border and southern Thailand. Normally, thick blood smear staining is the gold standard technique for microfilarial detection, which is inefficient and time-consuming.

Recently, microfluidic technology has been applied for pathogen detection. The microfluidic technique offers numerous advantages for pathogen detection, such as the use of a smaller sample volume for testing. The small size of the device makes it easier to transport and reduce diagnostic testing time. A semi-automated microfluidic system for detecting microfilaria has been developed. The system consists of a 12VDC motorized micropump with 1 kg of torque, a sample chamber and a multi-channel fluid microfluidics device coded FnD51, which features 5 inlets and 1 outlet.

For the semi-automated microfluidic system testing, the total time spent is 60 minutes per run. The microfilariae were detected in the microfluidic chip which were clearly detectible under light microscope. Furthermore, the small size of the system makes it convenient and portable, allowing it to reduce time and increase the number of tests available to meet the demands of diagnostic services.

In conclusion, semi-automated microfluidic system provides a simple, rapid and convenient diagnostic device for microfilarial detection.

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นรินทร์ อติวงศ์แสงทอง ที่ให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางและการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในงานวิจัย ตลอดจนการอบรมสั่งสอนให้ความรู้ ทั้งเรื่องเรียนและบอกเล่าประสบการณ์เพื่อเป็นแนวทาง ในการเรียน การทำงานและการดำเนินชีวิต จนบรรลุตามเป้าหมายที่ตั้งใจไว้ด้วยดีทุกประการ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วิสุทธิ ฐิติรุ่งเรือง, รองศาสตราจารย์ ดร.สุรศักดิ์ เนียมเจริญ, และคณาจารย์ทุกท่าน ที่ให้ความเมตตาประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ตลอดจน ให้คำปรึกษาทางวิชาการ รวมไปถึงปลูกฝังสิ่งที่ดีงามให้แก่ลูกศิษย์

ขอขอบคุณ ดร.วุฒินันท์ เจียมศักดิ์ศิริ ผู้อำนวยการศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (TMEC), คุณวิศรุต ศรีพุ่มไข, คุณภัทรลักษณ์ ปัดมั่ง และนักวิจัยศูนย์เทคโนโลยีไมโครอิเล็กทรอนิกส์ทุกท่าน สำหรับการสนับสนุนเทคโนโลยีในการสร้างและเครื่องมือในวิเคราะห์ผลการทดลอง ช่วยแก้ไขปรับปรุงการเสนอผลงานประชุมวิชาการที่จัดขึ้น ณ เกาะฮ่องกง ตลอดจนจัดหาทุนการศึกษา และให้ข้อคิดและคำแนะนำต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินชีวิตและการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณศาสตราจารย์ ทนุญ ดร.สิริจิต วงศ์กำชัย อาจารย์ประจำสาขาวิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล และ ดร.อชิณญา เพ็ชรรอด ที่สนับสนุนการทำงานวิจัยขั้นทดสอบ ณ ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องทุกท่านที่ให้ความอุปการะ ทุนการศึกษา การอบรมสั่งสอน สนับสนุนด้านการศึกษิต่าง ๆ ค่อยเป็นกำลังใจโดยตลอดมา รวมทั้งบุคคลอื่น ๆ ที่ไม่ได้กล่าวนามทุกท่านที่ช่วยให้คำแนะนำและช่วยเหลือ จนทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สำหรับคุณประโยชน์อันพึงเกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบให้แก่คณาจารย์ที่เคารพทุกท่าน ตลอดจนผู้ซึ่งเป็นสถานที่ให้ความรู้และประสบการณ์ ในการทำวิจัยจนกระทั่งจบการศึกษา

ภูกรินทร์ ทองเกลี้ยง

# สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญรูป.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1. ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3. ขอบเขตงานวิจัย.....	3
1.4. ระเบียบขั้นตอนงานวิจัย.....	3
1.5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1. โรคเท้าช้าง.....	5
2.2. สัณฐานวิทยา.....	6
2.3. วงจรชีวิตพยาธิตัวกลมไม่โครพลาเรีย.....	7
2.4. ระบาดวิทยา.....	8
2.5. การเกิดโรคและอาการของโรค.....	8
2.6. การป้องกันโรค.....	11
2.7. การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการโรคเท้าช้าง.....	12
2.8. การรักษาโรคเท้าช้าง.....	14
2.9. Lab on a Chip.....	15
2.10. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์.....	16
2.11. การสร้างแม่พิมพ์ซิลิกอน (Si- Mold).....	16
2.12. พอลิเมอร์ Polydimethylsiloxane (PDMS).....	17
2.13. Lysis Buffer สำหรับการสลายเม็ดเลือด.....	18
บทที่ 3 การออกแบบและการดำเนินงานวิจัย.....	19
3.1. การทดสอบความเหมาะสมของระบบปั๊มแบบปริตท่อ.....	19
3.1.1. การทดลองที่ 1 Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm)..	20
3.1.2. การทดลองที่ 2 Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor cn16-01901 130 rpm).....	21

## สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
3.1.3. การทดลองที่ 3 Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm).....	21
3.1.4. การทดลองที่ 4 Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm).....	23
3.2. การออกแบบและจัดสร้าง ระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรีย.....	25
3.2.1. ถังบรรจุสารตัวอย่าง (Tank).....	26
3.2.1.1. ถังบรรจุสารแบบเดี่ยว (Single Tank).....	26
3.2.1.2. ถังบรรจุสารแบบหลายช่องบรรจุ (Multichannel Tank).....	27
3.2.2. ระบบบันทึกภาพ (USB Microscope).....	28
3.2.2.1. แหล่งกำเนิดแสงสำหรับกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์ยูเอสบีไมโครสโคป (USB Microscope).....	29
3.2.3. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ (Microfluidic chip).....	31
3.2.3.1. การออกแบบ (Design).....	31
3.2.3.2. การสร้าง (Fabrication).....	32
3.2.3.3. การสร้างท่อทางเดินของไหลและประกบ PDMS ด้วยกระจกหรือ PDMS.....	32
3.2.3.4. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ ชนิดท่อตรง.....	33
3.2.3.5. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FD44.....	33
3.2.3.6. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FnD51.....	34
3.3. การทดสอบต้นแบบในระดับห้องปฏิบัติการ ณ โรงพยาบาลศิริราช.....	35
3.3.1. การผสมไมโครพลาเรียลงในตัวอย่างเลือด.....	35
3.3.1.1. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วยสารละลายสุตรสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์.....	35
3.3.1.2. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วยสารละลายสุตรสลายเม็ดเลือดแบบไม่สมบูรณ์.....	35
3.3.2. การศึกษาความต้านทานภายใต้สภาวะเลียนแบบที่ใกล้เคียงสภาวะแวดล้อมจริงในช่องทางเดินของไหลในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51.....	36
3.3.2.1. การทดสอบประสิทธิภาพระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรียใช้กับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 แบบ 2 ช่องทางเดินของไหล.....	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

## สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	38
4.1. การทดสอบความเหมาะสมของระบบปั๊มแบบรีดท่อ.....	38
4.1.1. Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm) .....	38
4.1.2. Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor cn16-01901 130 rpm) .....	39
4.1.3. Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm) .....	39
4.1.4. Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm) .....	40
4.1.5. Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 50 rpm) .....	41
4.1.6. ระบบดูด-จ่ายสารตัวอย่างอัตโนมัติ.....	43
4.1.7. ถังบรรจุสารตัวอย่าง (Tank).....	44
4.1.7.1. ถังบรรจุสารแบบเดี่ยว (Single Tank).....	44
4.1.7.2. ถังบรรจุสารแบบหลายช่องบรรจุ (Multichannel Tank).....	47
4.2. การทดสอบต้นแบบในระดับห้องปฏิบัติการ ณ โรงพยาบาลศิริราช.....	47
4.2.1. การผสมไมโครฟิลาเรียลงในตัวอย่างเลือด.....	47
4.2.1.1. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วย สารละลายสูตรสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์.....	47
4.2.1.2. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วย สารละลายสูตรสลายเม็ดเลือดแบบไม่สมบูรณ์.....	48
4.2.2. ผลการศึกษาความต้านทานภายใต้สภาวะเลียนแบบที่ ใกล้เคียงสภาวะแวดล้อมจริงในช่องทางเดินของไหลใน อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51.....	49
4.2.2.1. การทดสอบประสิทธิภาพระบบกึ่งอัตโนมัติของ อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิ ไมโครฟิลาเรียใช้กับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 แบบ 2 ช่องทางเดินของไหล.....	50
4.2.2.1.1. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบ ฯ ด้วยสารละลายสูตรสลายเม็ดเลือด แบบสมบูรณ์.....	50
4.2.2.1.2. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบ ฯ ด้วยสารละลายสูตรสลายเม็ดเลือด แบบไม่สมบูรณ์.....	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 VI  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	53
1.1. สรุปผลการวิจัย.....	53
1.2. ข้อเสนอแนะ.....	54
เอกสารอ้างอิง.....	55
ภาคผนวก.....	59
ประวัติผู้เขียน.....	68



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
4.1. ตารางแสดงอัตราการไหลของสารละลายของ Peristaltic Pump.....	42
4.2 ผลการทดลองความต้านทานระหว่างช่องทางเดินของไหล.....	49



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 วงจรชีวิตของพยาธิพลาเรียชนิด <i>W. Bancroft</i> .....	7
2.2. พยาธิสภาพระยะเรื้อรังในผู้ป่วยโรคเท้าช้าง: การบวมของขา.....	11
2.3. กระบวนการสร้างแม่พิมพ์ซิลิกอน (Si- mold).....	17
2.4. รูปโครงสร้างทางเคมี Polydimethylsiloxane.....	18
3.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลกับแรงดันไฟฟ้า.....	19
3.2. Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm) .....	20
3.3. แผนผังระบบควบคุมอัตราการไหลด้วยแรงดันไฟฟ้าโดยใช้คอลโทรลเลอร์ในการควบคุม.....	20
3.4 รูปชุดการทดลองจริงของ Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor cn16-01901)..	21
3.5 แบบสามมิติของหัวแปลงแกน 4 มิลลิเมตร เป็น 2 มิลลิเมตร.....	22
3.6 หัวแปลงแกน 4 มิลลิเมตร เป็น 2 มิลลิเมตร.....	22
3.7 รูปชุดการทดลองจริงของ Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm) .....	22
3.8 แบบ 3 มิติของตัวยึดมอเตอร์กับปั๊ม.....	23
3.9 กล่องควบคุมอัตราการไหลของ Peristaltic Pump.....	23
3.10 แผนผังความคิดการเขียนโปรแกรมควบคุมเพื่อใช้ในการทดสอบอัตราการไหลของ Peristaltic Pump.....	24
3.11 อุปกรณ์ Peristaltic Pump ที่ประกอบเข้ากับตัวยึดมอเตอร์ซึ่งใช้ในการทดลองจริง	25
3.12 รูปโมเดลระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรียโดยมีขนาด 21x21x16 เซนติเมตร.....	25
3.13 ต้นแบบระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรีย.....	26
3.14 ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่ไม่สามารถต่อกันได้.....	27
3.15 ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่สามารถต่อกันได้.....	27
3.16 เครื่องพิมพ์ 3D Wanhao.....	27
3.17 ลำดับขั้นตอนการสร้างถังบรรจุสารตัวอย่างแบบ.....	28
3.18 รูปจำลองวิธีการวางตำแหน่ง LED กับกล่องจุลทรรศน์.....	28
3.19 รูปแท่นสำหรับติดตั้งแหล่งกำเนิดแสง.....	29
3.20 รูปต้นแบบอุปกรณ์การถ่ายภาพ.....	30
3.21 วิธีการวางตำแหน่ง LED กับกล่องจุลทรรศน์.....	30
3.22 รูปถ่ายบริเวณตำแหน่งดักจับละเอียดในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์.....	31
3.23 แบบแสดงลักษณะทางเดินของไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ชนิดต่อตรง.....	33
3.24 รูปอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ชนิดต่อตรง.....	33
3.25 แบบแสดงลักษณะทางเดินของไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์รหัส FD44.....	33
3.26 อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ชนิด FD44.....	34
3.27 แบบแสดงลักษณะทางเดินของไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์รหัส FnD51.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

## สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.28 รูปอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ชนิด FnD51.....	34
3.29 ขั้นตอนการใส่พยาธิลงในเลือด.....	35
3.30 เจ็อนไซและวิธีการใส่สารละลายตัวอย่างลงในถังบรรจุสาร.....	36
3.31 รูปวิธีการเจาะรูบนอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์.....	37
4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล(ml/min) และแรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm) .....	38
4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล(ml/min) และแรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor cn16-01901 130 rpm).....	39
4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล(ml/min) กับ แรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm).....	40
4.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล(ml/min) กับ แรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm).....	41
4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล(ml/min) กับ แรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 50 rpm).....	42
4.6 ภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล( $\mu$ l/min) กับแรงดันไฟฟ้า (V)	43
4.7 ถึงบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่ไม่สามารถต่อกันได้.....	44
4.8 ถึงบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่สามารถต่อกันได้.....	44
4.9 การรั่วไหลของสารตัวอย่างบริเวณรอยต่อ.....	45
4.10 ลักษณะการเจาะท่อทางเดินของไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์.....	45
4.11 ถึงบรรจุสารตัวอย่างขณะทำการต่อกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกแบบท่อตรง.....	45
4.12 การอุดตันของเศษซีพพอร์ตลักษณะเป็นตะกอนสีขาว.....	46
4.13 ถึงบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวชนิดต่อกันได้เมื่อเทียบกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ ชนิด FnD51.....	46
4.14 ถึงบรรจุสารตัวอย่างแบบหลายช่องบรรจุเมื่อต่อเข้ากับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51.....	47
4.15 ภาพการทดสอบต้นแบบด้วยสารละลายสูตรสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์.....	47
4.16 ภาพการทดสอบต้นแบบด้วยสารละลายสูตรสลายเม็ดเลือดแบบไม่สมบูรณ์.....	48
4.17 พยาธิที่ถูกดักจับอยู่ในบริเวณชั้นเมมเบรนภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์.....	48
4.18 รูปตำแหน่งไมโครฟิลาเรียที่ถูกดักจับได้ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์.....	50
4.19 รูปการณีก่อตัวของเมมเบรนบริเวณด้านข้างของช่องทางเดินของไหล.....	51
4.20 รูปตัวอย่างการเกิดฟองอากาศหลังบริเวณตำแหน่งกรองหยาบ.....	51
4.21 รูปพยาธิไมโครฟิลาเรียขณะติดอยู่กับเมมเบรนภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์.....	52

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1. ที่มาและความสำคัญ

โรคเท้าช้าง (lymphatic filariasis) เป็นโรคที่พบการระบาดในประเทศต่างๆ ที่อยู่ในเขตร้อน (tropics) และกึ่งเขตร้อน (subtropics) เป็นโรคที่ไม่มีอันตรายถึงชีวิตแต่ก่อให้เกิดความพิการต่อตัวผู้ป่วยได้ โดยองค์การอนามัยโลกจัดให้โรคเท้าช้างเป็นสาเหตุอันดับสองของความพิการถาวรของประชากรโลก จากสถิติขององค์การอนามัยโลกพบว่ามีประชากรมากกว่า 90.2 ล้านคนที่เป็นโรคเท้าช้าง และประชากรกว่า 40 ล้านคน พิจารณาจากการติดเชื้อโรคเท้าช้าง

โรคเท้าช้าง มีสาเหตุจากหนอนพยาธิตัวกลมพิลารีเรีย สำหรับติดเชื้ออยู่ในคนมีอยู่ 3 ชนิด คือ *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* และ *Brugia timori* ซึ่งมีอยู่เป็นพาหะนำเชื้อมาสู่คน โดยในประเทศไทยพบการแพร่ระบาดอยู่ 2 ชนิด คือ *Wuchereria bancrofti* พบทางชายแดนไทย – พม่า ในจังหวัดตาก แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ ลำพูน กาญจนบุรี ราชบุรี ระนอง และ *Brugia malayi* พบทางภาคใต้ ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ และนราธิวาส

เมื่อลูกยุงที่มีเชื้อหนอนพยาธิตัวกลมพิลารีเรียกัด พยาธิจะเข้าไปอาศัยในระบบน้ำเหลือง ทำให้ต่อมน้ำเหลืองอักเสบและท่อน้ำเหลืองอุดตันเรื้อรัง ส่งผลให้แขนขาหรืออวัยวะเพศบวมโต หากไม่ได้รับการรักษา จะเกิดความพิการถาวร คือผู้ป่วยจะมีลักษณะเท้าโต ผิวนิ่งหนา หยาบกร้าน ขรุขระ ลักษณะคล้ายเท้าช้าง แต่ในระยะแรกของการติดเชื้อ ผู้ป่วยจะไม่แสดงอาการใด ๆ แต่จะมีตัวอ่อนระยะที่ 1 ของพยาธิอยู่ในกระแสเลือดเรียกว่า “ไมโครพิลารีเรีย” ซึ่งสามารถแพร่เชื้อไปยังผู้อื่นได้ ดังนั้นการสืบค้นหาผู้ติดเชื้อให้การรักษาและเพื่อตัดวงจรการแพร่ของหนอนพยาธิตัวกลมพิลารีเรียจึงทำได้ยาก

นอกจากนี้หนอนพยาธิตัวกลมพิลารีเรีย *B. malayi* ยังมีสัตว์รังโรคซึ่งสามารถแพร่เชื้อมาสู่คนได้ โดยเฉพาะแมว ซึ่งเป็นสัตว์เลี้ยงที่ใกล้ชิดกับคน และยังพบหนอนพยาธิตัวกลมพิลารีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ ในแมวได้ เช่น *B. pahangi* ที่มีรูปร่างคล้าย *B. malayi* อีกด้วย ดังนั้น การเฝ้าระวังและควบคุมโรคอย่างใกล้ชิดในสัตว์รังโรคจึงจำเป็นและสำคัญต่อการกำจัดโรคเท้าช้างได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่ใช้มานานและยังคงใช้อยู่ในปัจจุบันได้แก่วิธีการตรวจทางปริสตีวิทยาเพื่อตรวจหาไมโครพิลารีเรียในกระแสเลือดได้แก่ วิธีย้อมฟิล์มเลือดแบบหนา (Thick blood smear) วิธีนี้เป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ในการตรวจวินิจฉัยหนอนพยาธิตัวกลมพิลารีเรีย แต่วิธีนี้มีความไวต่ำ และหากปริมาณไมโครพิลารีเรียในเลือดต่ำ อาจตรวจไม่พบและยังมีโอกาสไมโครพิลารีเรียอาจหลุดออกจากฟิล์มเลือดได้ในระหว่างขั้นตอนการย้อมสี โดยใช้เวลาในการตรวจมากกว่า 24 ชม. ต่อหนึ่งตัวอย่างการส่งตรวจ

นอกจากวิธีย้อมฟิล์มเลือดหนาแล้ว ก็มีวิธี Knott's technique ซึ่งสามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้ และพบว่ามีค่าความไวสูงขึ้นคือสามารถตรวจพบไมโครพิลารีเรียได้ต่ำสุด คือ 1 ตัวต่อเลือด 1 มิลลิลิตร แต่วิธีนี้ไม่สามารถใช้กับเลือดของผู้ติดเชื้อที่มีปริมาณโปรตีนโกลบูลินสูง (high plasma gamma globulin) (ซึ่งเป็นภาวะที่มักพบในประชากรที่อยู่ในประเทศกำลังพัฒนา) เนื่องจากน้ำยา ฟอรัมาลิน (formalin) ที่ใช้ในการตรวจจะไปตกตะกอนโปรตีน ทำให้มองเห็นไมโครพิลารีเรียไม่ชัดเจน อีกทั้งต้องใช้

ตัวอย่างปริมาณมาก จึงไม่สามารถเจาะเลือดจากปลายนิ้วได้ ใช้เวลาในการตรวจ 1 ชั่วโมง ต่อเลือด 1 ตัวอย่าง ทำให้มีขั้นตอนที่ยุงยาก จึงเป็นข้อจำกัดที่ทำให้ไม่สามารถตรวจตัวอย่างในปริมาณมากต่อวันได้

แม้ว่าประเทศไทย โดยสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กระทรวงสาธารณสุขร่วมกับองค์การอนามัยโลก ได้เริ่มโครงการกำจัดโรคเท้าช้างตั้งแต่ปี ค.ศ. 2002 โดยการให้ยารักษาประชาชนทุกคนที่อาศัยในแหล่งระบาดของโรค (Mass treatment) โดยให้ยา Diethylcarbamazine (DEC) ร่วมกับยา Albendazole ทุกปี ติดต่อกันนาน 5 ปี ซึ่งขณะนี้เข้าสู่ระยะการเฝ้าระวังและตรวจติดตามการดำเนินของโรคในแหล่งระบาดเกือบทุกแห่งก็ตาม แต่ปัญหาการแพร่ระบาดก็ยังไม่หมดไป โดยจังหวัดที่ยังมีการแพร่ระบาดของโรคเท้าช้างคือ จังหวัดนราธิวาส ซึ่งมีพื้นที่เป็นป่าพรุขนาดใหญ่อยู่ จึงเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ยุงเสื่อซึ่งเป็นพาหะหลักของพยาธิเท้าช้าง อีกทั้งสัตว์เลี้ยงที่นิยมของประชาชนที่อาศัยอยู่ในแหล่งระบาดคือแมว ซึ่งเป็นสัตว์รังโรคเชื้อของพยาธิปลาเรีย ชนิด *B. malayi* จึงทำให้นราธิวาส เป็นจังหวัดที่มีผู้ป่วยโรคเท้าช้างมากที่สุดในประเทศไทย นอกจากนี้ ในปี พ.ศ. 2557 และ 2558 มีรายงานพบการติดเชื้อพยาธิ *B. pahangi* ในเด็กทารกวัย 3 เดือนและเด็กชายอายุ 1 ขวบที่อาศัยอยู่นอกแหล่งระบาดของพยาธิเท้าช้าง (personnel communication จากสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง) ดังนั้นมีความจำเป็นต้องมีการสำรวจความชุกของการติดเชื้อพยาธิปลาเรียในสัตว์เช่น สุนัข แมว เป็นต้น เพื่อทำการรักษาสัตว์ที่ติดเชื้อ ซึ่งจะช่วยป้องกันการติดเชื้อของพยาธิปลาเรียสัตว์มาสู่คน และจากรายงานโรคในระบบเฝ้าระวัง ปีพ.ศ. 2554 ของ สำนักโรคระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข พบว่า ผู้ป่วยโรคเท้าช้างที่ตรวจพบ ในประเทศไทยนั้น เกินครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยเป็นแรงงานต่างด้าวสัญชาติพม่า

การพัฒนานวัตกรรมทางวิทยาศาสตร์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการคัดกรองและการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิตัวกลมปลาเรียในการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้าง ในโรงพยาบาลหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการเฝ้าระวังโรคเท้าช้างทั้งในคนไทยที่อาศัยในแหล่งระบาดและในแรงงานต่างด้าวชาวพม่า ตลอดจนใช้วินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิตัวกลมปลาเรียของสัตว์ เพื่อทำการรักษาสัตว์ที่ติดเชื้อ ซึ่งจะช่วยป้องกันการติดเชื้อของพยาธิตัวกลมปลาเรียจากสัตว์มาสู่คน

ในปัจจุบัน มีเทคโนโลยีอุปกรณ์ห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก (LAB on a Chip) เป็นอุปกรณ์ที่รวมความสามารถของห้องปฏิบัติการหนึ่งหรือหลายส่วนบนวงจรรวมเดียว เช่น การผสมสาร การแยกสาร การเลี้ยงเซลล์ และทำหน้าที่เป็นตัวกรอง เป็นต้น จากประโยชน์ของเทคโนโลยีดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์เพื่อพัฒนานวัตกรรมทางวิทยาศาสตร์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการคัดกรองและการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิตัวกลมปลาเรียในการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้าง

โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีการพัฒนาระบบไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้าง โดยใช้อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ทำหน้าที่ในการดักจับร่วมกับสารเคมีเพื่อทำลายเม็ดเลือดแต่ไม่ทำลายตัวไมโครฟิลาเรีย โดยระบบดังกล่าวสามารถดักจับไมโครฟิลาเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยใช้ระยะเวลาในการตรวจอยู่ที่ประมาณ 45 นาที ซึ่งเร็วกว่าวิธีมาตรฐานที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน โดยระบบดังกล่าวยังมีความจำเป็นต้องใช้เข็มฉีดยาเพื่อนำสารละลายตัวอย่างเข้าสู่อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ ซึ่งไม่สะดวกและเป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน จึงมีแนวความคิดที่จะพัฒนาวิธีการแบบใหม่ในการนำสารละลายเข้าสู่อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

ดังนั้นงานวิจัยนี้มุ่งมั่นที่จะต่อยอดนวัตกรรมทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับระบบไมโครฟลูอิดิก จึงพัฒนา “ระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาไมโครพลาเรียของพยาธิเท้าช้าง” ขึ้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการคัดกรองและการวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิตัวกลมไมโครพลาเรียให้สะดวกและรวดเร็วยิ่งขึ้นกว่าวิธีการในปัจจุบัน

## 1.2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1. ออกแบบและพัฒนาระบบชุด-จ่ายสารตัวอย่างอัตโนมัติเพื่อนำสารตัวอย่างเข้าสู่อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์
- 1.2.2. ออกแบบและพัฒนาระบบตรวจจับพยาธิตัวกลมไมโครพลาเรียในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์
- 1.2.3. ออกแบบและสร้างระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาไมโครพลาเรียของพยาธิเท้าช้าง
- 1.2.4. ทดสอบระดับห้องปฏิบัติการกับตัวอย่างจริง โดยทีมศิริราชพยาบาล เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจที่พัฒนาขึ้น กับวิธีย้อมฟิล์มเลือดหนา (thick blood smear staining) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ

## 1.3. ขอบเขตของงานวิจัย

สามารถออกแบบและสร้างระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาไมโครพลาเรียของพยาธิเท้าช้าง โดยอุปกรณ์ดังกล่าวสามารถกักจับไมโครพลาเรียไว้ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ และสามารถถ่ายภาพเพื่อคัดแยกและตรวจวินิจฉัยได้

## 1.4. ระเบียบขั้นตอนของงานวิจัย

- 1.4.1. เริ่มต้นศึกษาทฤษฎีกระบวนการสร้างอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์และการไหลของสารในท่อขนาดเล็กและระบบถ่ายภาพ
- 1.4.2. ออกแบบและพัฒนาระบบชุด - จ่ายสารตัวอย่างอัตโนมัติเพื่อนำสารตัวอย่างเข้าสู่อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์
- 1.4.3. สร้างอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์เพื่อใช้ทดสอบระบบชุด - จ่ายสารอัตโนมัติ
- 1.4.4. ทดสอบระบบชุด-จ่ายสารร่วมกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์เพื่อแก้ไขปัญหาต่างๆ
- 1.4.5. ออกแบบและพัฒนาระบบตรวจจับพยาธิตัวกลมไมโครพลาเรียในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์
- 1.4.6. นำผลการศึกษาจากข้อ 1.4.2. และ 1.4.5. มาออกแบบและสร้างระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาไมโครพลาเรียของพยาธิเท้าช้างและทดสอบเพื่อเปรียบเทียบค่ามาตรฐาน
- 1.4.7. ทดสอบระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาไมโครพลาเรียของพยาธิเท้าช้างในระดับห้องปฏิบัติการ
- 1.4.8. สรุปผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 1.5.ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้

- 1.5.1. ได้รับความรู้พื้นฐานและระเบียบวิธีทางการแพทย์ในด้านการตรวจวินิจฉัยเกี่ยวกับโรคเท้าช้าง
- 1.5.2. ได้รู้ถึงกระบวนการออกแบบและสร้างแม่พิมพ์ซิลิโคนสำหรับการสร้างอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์
- 1.5.3. ได้มีโอกาสเข้าร่วมเป็นส่วนหนึ่งของทีมวิจัย จากหลากหลายสาขา เพื่อพัฒนาต่อยอดผลงานวิจัยให้ถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง
- 1.5.4. ได้เรียนรู้วิธีการทำงานจริง การวางแผน และการทำงานเป็นทีม รวมถึงได้ความรู้และประสบการณ์จากผู้เชี่ยวชาญเฉพาะทางจากหลากหลายสาขา
- 1.5.5. สามารถใช้องค์ความรู้ทางด้านวิศวกรรมและความเชี่ยวชาญของสาขาวิชาที่เรียนมาประยุกต์ใช้ในการแก้ปัญหาโจทย์วิจัยทางการแพทย์อย่างบูรณาการ
- 1.5.6. สร้างโอกาสและสามารถนำความรู้และประสบการณ์ที่ได้เพื่อต่อยอดในงานวิจัยในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและหลักการ

### 2.1. โรคเท้าช้าง (lymphatic filariasis)

โรคเท้าช้าง (lymphatic filariasis) เป็นโรคที่พบการระบาดในประเทศเขตร้อน (tropics) และกึ่งเขตร้อน (subtropics) แม้ว่าโรคเท้าช้างจะไม่ก่ออันตรายถึงชีวิต แต่ทำให้เกิดความพิการซึ่งก่อปัญหาทั้งทางด้านสังคมและเศรษฐกิจของประเทศในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน โดยองค์การอนามัยโลกจัดให้โรคเท้าช้าง เป็นสาเหตุอันดับสองของความพิการถาวร ของประชากรโลก จากสถิติขององค์การอนามัยโลก พบว่ามีประชากรโลกกว่า 120 ล้านคนที่เป็นโรคเท้าช้างและ กว่า 40 ล้านคนที่พิการจากสาเหตุการติดเชื้อเท้าช้าง สองในสามของผู้ติดเชื้ออาศัยในอินเดีย หรือ อินโดนีเซีย ที่เหลืออาศัยในประเทศต่าง ๆ ในทวีปเอเชียและแปซิฟิก รวมทั้งประเทศไทย โรคเท้าช้างเป็นโรคที่สามารถรักษาและควบคุมได้ เนื่องจากพยาธิไม่ต่ออายุที่ใช้รักษา องค์การอนามัยโลกได้เริ่มโครงการกำจัดโรคเท้าช้างในแหล่งระบาดทั่วโลก ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2002 และตั้งเป้าไว้ว่าภายในปี ค.ศ. 2020 โรคเท้าช้าง (lymphatic filariasis) จะถูกควบคุมและกำจัดให้หมดไปหรือจำกัดให้เหลือจำนวนผู้ติดเชื้อน้อยที่สุด

โรคเท้าช้าง (lymphatic filariasis) เป็นโรคติดต่อที่มียุงเป็นพาหะนำโรค โดยมีสาเหตุจากพยาธิตัวกลม (nematode) เท้าช้าง *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, และ *B. timori* โดยมีลักษณะคล้ายเส้นด้าย มีขนาดเล็กถูกจัดอยู่ในเหนือวงศ์ (superfamily) Filarioidea และวงศ์ (family) Onchocercidae ตามอนุกรมวิธาน ซึ่งในประเทศไทยพบการระบาดของพยาธิเท้าช้างอยู่ 2 ชนิดคือ *W. bancrofti* และ *B. malayi* โดยคนเป็นพาหะจำเพาะ (Definitive host) พยาธิตัวโตเต็มวัยของพยาธิทั้งสองชนิด โดยพยาธิตัวโตเต็มวัยจะอาศัยอยู่ในระบบน้ำเหลืองของมนุษย์ หลักจากผสมพันธุ์แล้วพยาธิตัวเมียจะออกลูกเป็นพยาธิตัวอ่อนเรียกว่าไมโครฟิลาเรีย (microfilaria) ซึ่งจะเข้าไปอยู่ในระบบไหลเวียนเลือด และจะออกสู่กระแสเลือดอยู่ในระยะระบาด (periodicity) โดยไมโครฟิลาเรียจะปรากฏตัวในกระแสเลือดตลอดเวลา แต่จะพบมากในเวลา 22.00 – 02.00 น. อย่างไรก็ตามการปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียจะสัมพันธ์กับช่วงเวลาของยุงซึ่งเป็นพาหะในการนำโรคติดต่อจากคนสู่คน หรือคนสู่สัตว์

ดังนั้น การเฝ้าระวังและควบคุมโรคอย่างใกล้ชิดในสัตว์รังโรคจึงจำเป็นและสำคัญต่อการกำจัดโรคเท้าช้างได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## 2.2. สัณฐานวิทยา

- พยาธิตัวเต็มวัย (adult) มีลักษณะลำตัวยาวคล้ายเส้นด้าย สีขาวขุ่น ผนังลำตัวเรียบ ส่วนหัวปลายหัวค่อนข้างกลม มีปุ่ม (papillae) ซึ่งเป็นอวัยวะรับความรู้สึกสัมผัส ไม่มีริมฝีปาก ปลายหางเรียว
- พยาธิตัวเต็มวัยเพศเมียของ *W. bancrofti* ยาว 8 – 10 เซนติเมตร กว้าง 240 – 300 ไมโครเมตร ส่วน *B. malayi* ยาว 4.3-5.5 เซนติเมตร กว้าง 160 ไมโครเมตร
- พยาธิตัวเต็มวัยเพศผู้ของ *W. bancrofti* ยาว 4 เซนติเมตร กว้าง 0.24 -0.1 มิลลิเมตร ส่วน *B. malayi* ยาว 1.3 – 2.3 เซนติเมตร กว้างประมาณ 85 ไมโครเมตร โดยทั้งสองสายพันธุ์มีลักษณะพื้นฐานที่เหมือนกันคือ ปลายหางงอ มี spicules 2 อัน ซึ่งมักยาวไม่เท่ากัน ตอนปลายมีปุ่ม (papillae) รอบทวาร 12 คู่ และมี gubernaculum รูปพระจันทร์เสี้ยว
- ไมโครฟิลาเรียมีลักษณะส่วนหัวมน ปลายหางเรียว มีปลอกหุ้มตัว (sheathed) อวัยวะภายในยังไม่เจริญเติบโตเต็มที่เห็นแต่เซลล์ทั่วไป เมื่อย้อมสีจะเห็นนิวเคลียสติดสีเข้มเป็นจำนวนมากตลอดความยาวของลำตัว ยกเว้นส่วนหัว (anterior) ที่ไม่มีนิวเคลียสเรียกว่า cephalic space ลักษณะเด่นของไมโครฟิลาเรียของ *W. bancrofti* คือมีขนาด 244 – 296 ไมโครเมตร ลำตัวโค้งสวยงาม ไม่หงิกงอ นิวเคลียสบริเวณลำตัวมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ไม่ซ้อนทับกัน มีความยาวต่อความกว้างของ cephalic space เท่ากับ 1:1 ในส่วนของไมโครฟิลาเรีย *B. malayi* จะมีลักษณะพื้นฐานที่เหมือนกันกับ *W. bancrofti* แต่มีลักษณะที่ต่างกัน คือ มีขนาด 177 – 230 ไมโครเมตร ลำตัวหงิกงอนิวเคลียสบริเวณลำตัวทับซ้อนกัน มีความยาวต่อความกว้างของ cephalic space เท่ากับ 2:1 และเมื่อย้อมสียิมซ่า ปลอกหุ้มจะย้อมติดสีชมพู

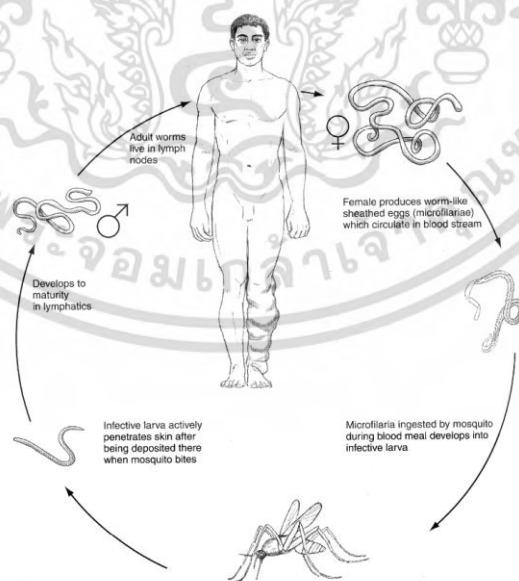
## 2.3. วงจรชีวิตพยาธิตัวกลมไมโครฟิลาเรีย

โรคเท้าช้างติดต่อโดยยุงเป็นพาหะในการนำโรค ยุงที่เป็นพาหะของ *W. Bancriffti* คือ ยุงลาย, ยุงรำคาญและยุงก้นปล่อง ส่วนยุงลายเสือนั้น เป็นพาหะของ *W. Bancriffti* และ *B. malayi* สำหรับโรค-

เท้าข้างจากประเทศพม่ามียุงรำคาญเป็นพาหะโดยส่วนใหญ่

โดยวงจรชีวิตของ *W. bancrofti* (รูปที่ 2.1) เมื่อยุงพาหะไปดูดเลือดคนที่ เป็นโรคเท้าช้าง และรับเอาไมโครฟิลาเรียเข้าสู่กระเพาะอาหารจากนั้นไมโครฟิลาเรียจะสลัดเปลือกหุ้ม (sheathed) ทิ้งไป ภายในเวลา 15 – 30 นาที หลังจากนั้นไมโครฟิลาเรียจะทะลุจากกระเพาะอาหารเข้าสู่ช่องท้อง (abdominal haemocoel) และไขต่อไปยังกล้ามเนื้อบริเวณทรวงอกของยุง (thoracic muscle) ภายในเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น 2 วันถัดมาจะเจริญเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ลอกคราบเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ใช้เวลาประมาณ 14 - 20 วัน โดยตัวอ่อนระยะที่ 3 เป็นระยะติดต่อก (infective stage) จะเคลื่อนที่ไปอาศัยอยู่บริเวณงอปากของยุง เมื่อยุงพาหะไปกัดมนุษย์ ตัวอ่อนระยะที่ 3 จะเข้าสู่ร่างกาย และไขเข้าสู่ท่อน้ำเหลืองและต่อมน้ำเหลืองของมนุษย์เพื่อเจริญเติบโตเป็นตัวโตเต็มวัย อาศัยอยู่ในระบบน้ำเหลือง กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อเกี่ยวพันและช่องว่างลำตัวของมนุษย์ เมื่อมีการสืบพันธุ์ไมโครฟิลาเรียจะออกมาล่องลอยอยู่ในระบบท่อน้ำเหลืองและกระแสเลือด พร้อมทั้งจะติดต่อกไปคนอื่นผ่านยุงที่เป็นพาหะนำเชื้อ มีระยะเวลาในการฟักตัวสำหรับ *W. bancrofti* ในมนุษย์ซึ่งเป็นพาหะจำเพาะก่อนพร้อมแพร่กระจายเชื้อไมโครฟิลาเรียจากในกระแสเลือดผ่านยุงพาหะภายในเวลา 8 – 12 เดือน ส่วนระยะฟักตัว *B. malayi* ในสัตว์ทดลองใช้เวลาประมาณ 67 – 98 วัน โดยตัวโตเต็มวัยของทั้งสองสายพันธุ์สามารถมีชีวิตอยู่ในระบบทางเดินน้ำเหลืองนานกว่า 5 – 8 ปี

ในกรณีของพยาธิเท้าช้าง *B. malayi* ตัวอ่อนระยะที่ 3 สามารถพัฒนาเป็นระยะตัวเต็มวัยได้ทั้งในคนซึ่งเป็นพาหะจำเพาะ และในสัตว์รังโรค (reservoir host) ซึ่งได้แก่ แมว สุนัข ลิง ค่าง ชะนี และตัวนึ่ง ซึ่งต่างจากพยาธิเท้าช้าง *W. bancrofti* ซึ่งคนเท่านั้นที่เป็นพาหะจำเพาะ นอกจากนี้มีรายงานการพบพยาธิโรคเท้าช้าง *B. malayi* ในสัตว์รังโรคซึ่งสามารถแพร่เชื้อเข้าสู่คนได้ โดยเฉพาะแมว ซึ่งเป็นสัตว์เลี้ยงที่ใกล้ชิดกับคน แล้ว ยังมีรายงานการพบพยาธิเท้าช้างอื่น ๆ ในแมวได้ เช่น *B. pahangi* ที่มีรูปร่างคล้าย *B. malayi* อีกด้วย



รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตของพยาธิฟิลาเรียชนิด *W. bancrofti* (Markell EK, John DT, Krotoski W. 1999. *Markell and Vogle's Medical Parasitology*. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4. ระบาดวิทยา

พื้นที่ที่เป็นแหล่งระบาดของ *W. bancrofti* พบได้ในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน ได้แก่ ทวีปเอเชีย อเมริกากลางและอเมริกาใต้ แอฟริกา หมู่เกาะแปซิฟิก อินเดีย ส่วน *B. malayi* พบในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ประเทศอินเดีย ญี่ปุ่น เกาหลี และสาธารณรัฐประชาชนจีน โดยพบผู้ติดเชื้อประมาณ 120 ล้านคนใน 80 กว่าประเทศทั่วโลก และพบผู้ที่ปรากฏอาการประมาณ 40 ล้านคน ส่วนใหญ่ติดเชื้อ *W. bancrofti* ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์มีการติดเชื้อ *B. malayi*

สำหรับประเทศไทยพบการระบาดของพยาธิเท้าช้างอยู่ 2 ชนิดคือ *W. bancrofti* และ *B. malayi* ปัจจุบันพบว่าความชุกของโรคเท้าช้างลดลง โดยเหลือจังหวัดที่ยังเป็นแหล่งระบาดเหลือเพียง 7 จังหวัด ได้แก่ แม่ฮ่องสอน ตาก กาญจนบุรี ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ สตูล และนราธิวาส

## 2.5. การเกิดโรคและอาการของโรค

เมื่อตัวอ่อนพยาธิโรคเท้าช้างระยะที่ 3 ของพยาธิเท้าช้างเข้าไปสู่ร่างกายจะเข้าไปอาศัยอยู่ในระบบน้ำเหลือง เมื่อมีการเจริญเติบโต จะปล่อยสารออกมากระตุ้นให้ระบบน้ำเหลืองมีปฏิกิริยาตอบสนอง หรือกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ เช่น มีผื่นหรือการบวม ทำให้หลอดน้ำเหลืองขยายขึ้น การไหลเวียนของน้ำเหลืองช้าลง

ในเวลาต่อมา ไมโครฟิลาเรียมีการเจริญเติบโตยิ่งขึ้น กระตุ้นให้มีปฏิกิริยาของภูมิคุ้มกันมากขึ้น มีการแทรกซึมของเม็ดเลือดขาว เช่น macrophage, eosinophilic และ plasma cell บ่อยครั้งที่มีการอักเสบของต่อมน้ำเหลืองทำให้เกิดอาการบวม หากเกิดอาการอักเสบและบวมเรื้อรังจะทำให้ลิ้นปิดเปิด หลอดน้ำเหลืองพิการ การพิการเช่นนี้จะทำให้มีแรงดันภายใน (hydrostatic pressure) ในหลอดน้ำเหลืองเพิ่มขึ้น ผนังของหลอดน้ำเหลืองมีการให้ซึมผ่านได้ของหลอดน้ำเหลือง (permeability) ทำให้ของเหลวที่มีโปรตีนสูงซึมผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อรอบข้างได้ง่าย ทำให้เกิดอาการบวมของอวัยวะที่มีพยาธิสภาพ สำหรับปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อรอบ ๆ จะมีเซลล์เม็ดเลือดขาวเข้ามาทำลายพยาธิเท้าช้างที่มาบุกรุก เมื่อมีเซลล์เม็ดเลือดขาวหลายชนิดมารวมตัวกัน หลอดน้ำเหลืองจะเริ่มตีบและบีบรัดส่งผลให้พยาธิเท้าช้างตายได้ บางครั้งพยาธิเท้าช้างสามารถหลุดออกไปได้จะทำให้เกิดปฏิกิริยาค้ำคั่งกันใหม่ที่ใหม่อีก

จนกระทั่งพยาธิเท้าช้างเจริญเติบโตเป็นตัวโตเต็มวัยและมีการสืบพันธุ์ออกลูกเป็นไมโครฟิลาเรีย ทั้งตัวโตเต็มวัยและไมโครฟิลาเรียจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาข้างต้นอีกแพร่กระจายไปตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย

สำหรับโรค Bancroftian filariasis และ brugian filariasis สามารถแยกตามอาการทางคลินิก ออกได้เป็น 2 ชนิด ซึ่งแตกต่างกันออกไปตามแหล่งระบาด คือ

2.5.1. โรคเท้าช้าง (lymphatic filariasis) ซึ่งเกิดจากตัวอ่อนหรือตัวโตเต็มวัยที่อาศัยอยู่ในระบบน้ำเหลืองของพาหะ อาการข้างเคียงของโรคเท้าช้าง (Occult filariasis) ส่วนใหญ่เป็นปฏิกิริยาต่อต้านทางภูมิคุ้มกันของพาหะต่อไมโครฟิลาเรีย เช่น tropical pulmonary eosinophilia โดยโรคเท้าช้างมีอาการทางคลินิกที่หลากหลาย โดยสามารถแบ่งได้ 3 ระยะ คือ

2.5.1.1. ระยะไม่แสดงอาการ (asymptomatic) บุคคลส่วนใหญ่ที่ได้รับเชื้อของโรคเท้าช้างจะอยู่ในกลุ่มของผู้ป่วยไม่แสดงอาการ โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ตามการตรวจพบไมโครฟิลาเรียในเลือด คือ

2.5.1.1.1. ระยะไม่แสดงอาการและตรวจไม่พบไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด (asymptomatic amicrofilaraemia) ผู้ป่วยกลุ่มนี้สามารถตรวจพบความผิดปกติของระบบน้ำเหลืองโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง หรือตรวจพบแอนติเจนจำเพาะของพยาธิในกระแสเลือด จึงเชื่อว่าผู้ป่วยเหล่านี้มีการติดพยาธิโรคเท้าช้างแล้ว แต่อยู่ในระยะก่อนปรากฏอาการให้เห็นหรือเรียกว่า prepatent period

2.5.1.1.2. ระยะไม่มีอาการ แต่ตรวจพบไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด (asymptomatic microfilaraemia) โดยทั่วไปจำนวนผู้ป่วยกลุ่มนี้จะมีมากที่สุดกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถตรวจพบแอนติเจนจำเพาะหรือไมโครฟิลาเรียของพยาธิเท้าช้างในเลือดได้ ยังพบความผิดปกติของระบบน้ำเหลืองจากการตรวจด้วยกัมมันตรังสี โดยจะพบระบบน้ำเหลืองมีการคดเคี้ยวและมีการขยายตัวขึ้น แต่ไม่พบการอักเสบ การที่ผู้ป่วยไม่แสดงอาการ เชื่อว่ามีแอนติเจนจากพยาธิเท้าช้างทำหน้าที่กดภูมิคุ้มกันของร่างกายผู้ป่วย ทำให้พยาธิเท้าช้างสามารถอาศัยอยู่ในร่างกายของผู้ป่วยโดยไม่แสดงอาการของโรคอย่างชัดเจน

### 2.5.1.2 ระยะเวลาแสดงอาการเฉียบพลัน (acute manifestations) ระยะเวลาแสดง

อาการเฉียบพลันจะสัมพันธ์กับระยะพยาธิตัวโตเต็มวัยเพศเมียเจริญเติบโตเต็มที่และปล่อยไมโครฟิลาเรียเข้าสู่กระแสเลือด โดยพยาธิตัวโตเต็มวัยในระบบน้ำเหลืองจะก่อให้เกิดอาการระคายเคือง ผู้ป่วยจะมีการอักเสบของระบบน้ำเหลืองซ้ำ ๆ โดยเรียกสภาวะนี้ว่า “adenolymphangitis (ADL)” เกิดอาการบวมแดง และปวดเฉพาะที่ ซึ่งพบได้มากบริเวณ ขาหนีบ รักแร้ แขน เต้านม บริเวณ epitrochlear และอวัยวะสืบพันธุ์เพศชาย และอาจมีไข้หนาวสั่นร่วมด้วย โดยอาการไข้จะลดลงไปเองภายในระยะเวลา 3 – 5 วัน และเมื่อหายแล้วจะกลับมาเป็นซ้ำในตำแหน่งเดิมได้ 1 – 2 ครั้ง/ปี แต่ในบางรายอาจพบอาการได้ทุก 1-2 เดือน

### 2.5.1.3. ระยะเวลาเรื้อรัง (chronic manifestations) มักจะมีอาการหลังระยะเฉียบพลัน

นานหลายปี คือ มีการอุดตันของระบบน้ำเหลือง เนื่องจากมีอาการอักเสบของระบบน้ำเหลืองซ้ำ ๆ กันเป็นเวลานาน โดยความรุนแรงของโรคจะเพิ่มขึ้นตามเวลา ผู้ป่วยจะมีอาการอวัยวะบวมโต ซึ่งผู้ป่วยมีอาการผิดปกติมากจนไม่สามารถดำรงชีวิตได้ตามปกติ องค์การอนามัยโลกได้แบ่งระดับความรุนแรงของอาการบวมต่างๆ ไว้ 4 ระดับ ทั้งนี้อาการในระยะเวลาเรื้อรังอาจแบ่งตามการเกิดพยาธิสภาพ โดยตำแหน่งที่พบอยู่ได้แก่ ภาวะการอุดตันของระบบน้ำเหลืองบริเวณแขน ขา และถุงอัณฑะ และพบว่าพยาธิเข้าข้างต่างชนิดกัน จะทำให้เกิดพยาธิสภาพในตำแหน่งที่ต่างกัน เช่น *B. malayi* มักทำให้เกิดอาการบวมของขา ระดับต่ำกว่าเข่า หรือแขนบริเวณข้อศอก ไม่พบบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ ส่วน *W. bancrofti* มักทำให้เกิดอาการบวมตลอดทั้งแขน ขา มีการบวมบริเวณถุงอัณฑะ หรือผิวหนังบริเวณถุงอัณฑะหนาขึ้นมีลักษณะคล้ายผิวส้ม ในสตรีอาจพบอาการบวมบริเวณอวัยวะเพศและเต้านม โดยทั่วไปผู้ป่วยที่มีอาการเรื้อรังดังกล่าวมักตรวจไม่พบไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด

นอกจากนี้ผู้ป่วยบางรายมีอาการแสดงทางปอดที่เรียกว่า Tropical pulmonary eosinophilia (TPE) คือ ภาวะที่พื้อจากปฏิกิริยาภูมิไวเกินชนิดที่ 1 (type-I hypersensitivity) ต่อแอนติเจนของพยาธิโรคเท้าช้างระยะไมโครฟิลาเรีย โดยผู้ป่วยมีอาการของระบบทางเดินหายใจคล้ายกับเป็นโรคหอบหืด คือ ไอมากช่วงกลางคืน หอบเหนื่อย หายใจลำบาก ตรวจพบเสียงหวีด (wheezing) และภาพรังสีปอดพบ pulmonary infiltration มีเม็ดเลือดขาวชนิดอีโอสิโนฟิลสูงมากกว่า 3,000 เซลล์/มิลลิเมตร โดยเม็ด -



รูปที่ 2.2 พยาธิสภาพระยะเรื้อรังในผู้ป่วยโรคเท้าช้าง: การบวมของขา  
(WHO 2018 : [https://www.who.int/lymphatic\\_filariasis/disease/en/](https://www.who.int/lymphatic_filariasis/disease/en/))

เลือดขาวชนิดอีเลือดขาวชนิดอีโอสิโนฟิลนี้ จะหลั่งสารซึ่งเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อปอด นอกจากนี้ยังพบค่าแอนติบอดี (antibody) ชนิด serum Immunoglobulin E (IgE) สูงมาก

## 2.6. การป้องกันโรคเท้าช้าง

- 2.6.1. สำหรับบุคคลที่ต้องเข้าไปในแหล่งระบาดควรระวังยุงกัด โดยการนอนกางมุ้งและทายากันยุง
- 2.6.2. รักษาประชากรจำนวนมากในแหล่งแพร่ระบาด เพื่อลดการแพร่กระจายของไมโครฟิลาเรียสู่ยุงพาหะ
- 2.6.3. ควบคุมยุงพาหะ เช่น การพ่นยา (DDT) กำจัดแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงพาหะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4. การควบคุมทางชีววิทยา (biological control) มีการทดลองใช้แบคทีเรีย *Bacillus sphaericus* โดยสามารถทำลายลูกน้ำของยุงลาย (*Culex spp.*) ได้ดี และยังมีการใช้ สัตว์น้ำ ในการกำจัดลูกน้ำของยุงอีกด้วย

## 2.7. การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการสำหรับโรคเท้าช้าง

การตรวจหาตัวพยาธิระยะไมโครฟิลาเรีย หรือส่วนประกอบของพยาธิโรคเท้าช้าง เช่น แอนติเจน ที่จำเพาะ (specific antigen) และสารพันธุกรรมของพยาธิด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล แบ่งได้ 5 แบบ หลักๆ คือ

### 2.7.1. การตรวจหาไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด

การตรวจหาไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือดมีหลายวิธี ได้แก่ การตรวจจากเลือดสด (fresh blood), การตรวจจากฟิล์มเลือด (blood film) ทั้งชนิดหนาและชนิดบาง, การตรวจเลือดด้วยวิธีเข้มข้น (concentration technique) และ การใช้ยา diethylcarbamazine (DEC) เพื่อกระตุ้นให้ไมโครฟิลาเรียปรากฏตัวในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นก่อนเจาะตรวจ

วิธีการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่ใช้มานานและยังคงใช้อยู่ในปัจจุบันได้แก่ วิธีการตรวจทางปรสิตวิทยาเพื่อตรวจหาไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือดได้แก่ วิธีย้อมฟิล์มเลือดแบบหนา (Thick blood smear) (Guptavanij *et al.*, 1971). แต่วิธีนี้มีความไวต่ำ เนื่องจากเวลาที่ไมโครฟิลาเรียปรากฏเป็นระยะในกระแสเลือด ที่เรียกว่า periodicity ซึ่งไมโครฟิลาเรียมักจะออกมาในกระแสเลือดในเวลากลางคืน จึงเป็นอุปสรรคที่สำคัญเจาะเลือดเพื่อตรวจหาไมโครฟิลาเรียในการวินิจฉัยโรค

### 2.7.2. การตรวจหาแอนติเจนที่จำเพาะต่อโรคเท้าช้าง

การตรวจหาแอนติเจนที่จำเพาะต่อพยาธิโรคเท้าช้าง โดยการนำ monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อพยาธิแต่ละชนิดมาใช้ โดยอาศัยหลักการโครมาโตกราฟีด้านภูมิคุ้มกันวิทยา ที่เรียกว่า Immunochromatographic test (ICT) วิธีนี้เหมาะสมในการตรวจภาคสนามเพราะทำได้ง่าย สะดวกเนื่องจากไม่ต้องเจาะเลือดในเวลากลางคืน รวดเร็วเพราะสามารถรู้ผลตรวจได้ภายในเวลา

ประมาณ 10 – 15 นาที อีกทั้งสามารถบอกภาวะการติดเชื้อในปัจจุบันและยังสามารถใช้ติดตามผลการรักษาได้อีกด้วย

### 2.7.3. การตรวจหาสารพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล

การตรวจหาสารพันธุกรรมของพยาธิทำได้โดยการตรวจหาดีเอ็นเอของพยาธิด้วยวิธี PCR- based technique ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูง มีความถูกต้องแม่นยำ และรวดเร็วกว่าการตรวจหาไมโครฟิลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ การวินิจฉัยด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลนั้นเป็นวิธีที่มีรายละเอียดและข้อควรระวัง ซึ่งจำเป็นต้องทำโดยผู้มีความเชี่ยวชาญ ตลอดจนเครื่องมือที่มักไม่มีตามห้องปฏิบัติการทั่วไปตามแหล่งชุมชนของโรค และมีความไวในการวินิจฉัยไม่ดีเท่าวิธีการตรวจหาแอนติเจน จึงมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ในงานภาคสนาม

### 2.7.4. การตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อพยาธิเท้าช้าง

การตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อพยาธิเท้าช้างถูกพัฒนาขึ้น เพื่อลดปัญหาการตรวจหาไมโครฟิลาเรียในผู้ป่วยที่ต้องเจาะเลือดในเวลากลางคืน แต่การตรวจหาแอนติบอดีอาจเกิดปฏิกิริยาข้าม (cross reactivity) ระหว่างพยาธิโรคเท้าช้างกับพยาธิชนิดอื่น ๆ ทำให้เกิดผลบวกปลอม (false positive) ได้ และเป็นผลทำให้การวินิจฉัยผิดพลาด ทำให้ในปัจจุบันมีการพัฒนาและปรับปรุงการตรวจวินิจฉัยโรคด้วยการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะ ให้มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้น และเสียค่าใช้จ่ายน้อยลงเพื่อให้สามารถนำไปใช้ในการภาคสนามได้

### 2.7.5. การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีอื่นๆ

นอกจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการแล้ว ยังมีการตรวจวินิจฉัยโรคเท้าช้างด้วยวิธีอื่นๆ ซึ่งไม่จำเพาะต่อโรค แต่มีประโยชน์ในการพิจารณาประกอบการวินิจฉัยโรค เช่น ระดับเม็ดเลือดขาวอีโอซิโนฟิล (eosinophil) และระดับแอนติบอดีชนิด IgE ที่สูงขึ้น ซึ่งทั้งสองนี้พบได้ทั่วไปในโรคติดเชื้อปรสิตอื่น และโรคภูมิแพ้ โดยยังมีวิธีการตรวจด้วยคลื่นความถี่สูง เพื่อดูการเคลื่อนไหวของพยาธิตัวแก่ในระบบน้ำเหลือง และการถ่ายภาพรังสีของหลอดน้ำเหลือง ซึ่งจะเห็นความผิดปกติของระบบน้ำเหลืองในผู้ป่วยได้ แต่อย่างไรก็ตาม วิธีการเหล่านี้ไม่สามารถวินิจฉัยแยกโรคเท้าช้างออกจากความผิดปกติจากสาเหตุอื่น

## 2.8. การรักษาโรคเท้าช้าง

การรักษาโรคเท้าช้างแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ

### 2.8.1. การรักษาเป็นรายบุคคล

เนื่องจากผู้ป่วยโรคเท้าช้างมีหลากหลายรูปแบบ ขึ้นอยู่กับระยะของโรคและพยาธิสภาพหลายอย่างประกอบเข้าด้วยกัน โดยในการรักษาต้องคำนึงปัจจัยอื่น ๆ ที่ก่อให้เกิดลักษณะพยาธิสภาพ

2.8.1.1. ระยะไม่แสดงอาการ หากตรวจพบไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือด หรือพบพยาธิเท้าช้างตัวโตเต็มวัย หรือพบเม็ดเลือดแดงหรือโปรตีนในปัสสาวะ ควรให้รับการรักษาด้วยการทานยาดีอีซี (diethylcarbamazine (DEC)) ขนาด 6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ติดต่อกัน นาน 12 วัน และทำการรักษาซ้ำทุก 6 เดือนเป็นระยะเวลานาน 2 ปี ในกรณีที่ยังตรวจพบอาการข้างต้นอยู่ และควรติดตามอาการซ้ำทุก ๆ 6 เดือนเป็นระยะเวลานาน 1 ปี และในเพศชายอาจตรวจพยาธิตัวเต็มวัยภายในถุงอัณฑะหลังได้รับการรักษา 15 – 30 วันโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง

2.8.1.2. ระยะแสดงอาการเฉียบพลัน หากตรวจพบต่อมน้ำเหลืองอักเสบจากพยาธิโดยตรง (adenolymphangitis (AFL)) หรือต่อมน้ำเหลืองบริเวณผิวหนังอักเสบจากเชื้อแบคทีเรีย (acutedermatolymphangiadenitis(ADLA)) จะรักษาโดยการประคบอาการ โดยการประคบเย็น ให้อาบน้ำสะอาด นอนยกขาสูงเหนือระดับหัวใจ 30 เซนติเมตร นาน 30 นาที วันละ 2 – 4 ครั้ง และนวดเพื่อเพิ่มการไหลเวียนของน้ำเหลือง หยุดพักและรักษาความสะอาดโดยเฉพาะผิวหนังและเล็บ หากตรวจพบไมโครฟิลาเรียในกระแสเลือดในประเภท ADLA จะให้ทานยาดีอีซี (DEC) และให้ยาปฏิชีวนะ ส่วนประเภท AFL นั้นควรรักษาแบบประคบอาการ เนื่องจากการให้ยาดีอีซี (DEC) จะทำให้เกิดการอักเสบเนื่องจากการตายของพยาธิเพิ่มขึ้นได้

2.8.1.3. ระยะแสดงอาการเรื้อรัง หากตรวจพบอาการขาโตและภาวะเท้าช้าง ใช้วิธีการรักษาแบบประคบอาการ เช่น การให้ยาลดอาการบวม นอนยกขาสูงเหนือระดับหัวใจ 30 เซนติเมตร นาน 30 นาที วันละ 2 – 4 ครั้ง และการใช้ผ้ายืดพันและนวดเพื่อเพิ่มระดับการไหลเวียนของน้ำเหลือง เป็นต้น และเน้นให้ผู้ป่วยรักษาความสะอาดเพื่อป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราซ้ำ และให้ยา

ปฏิชีวนะหรือใช้ยาต้านเชื้อราทันทีเมื่อตรวจพบการติดเชื้อ ส่วนในกรณีที่ถูกอ้นทะมีน้ำขังเฉพาะที่ จะทำการรักษาด้วยกระบวนการผ่าตัดเพื่อระบายน้ำออก และหากตรวจพบภาวะปัสสาวะขาวขุ่น ควรให้ผู้ป่วยรับประทานอาหารที่มีไขมันต่ำโปรตีนสูงควบคู่กับการดื่มน้ำมาก ๆ เพื่อลดการจับตัวเป็นลิ่มของน้ำเหลือง และในอาการข้างต้น ควรให้ผู้ป่วยทานยา ดีอีซี (DEC) ควบคู่ไปด้วยหากตรวจพบไมโครฟิลลาเรียในกระแสเลือด โดยในผู้ป่วยบางรายจะแสดงอาการที่พีอี (TPE) ควรให้ทานยาดีอีซี (DEC) ขนาด 6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะสามารถเห็นผลภายใน 1 – 3 สัปดาห์หลังการรักษา และมีผู้ป่วยประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ที่เกิดอาการซ้ำขึ้นมาอีก จึงต้องให้ยาดีอีซี (DEC) ขนาด 6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม นาน 2 – 4 สัปดาห์ ทั้งอาจพิจารณาให้ยาขยายหลอดเลือดร่วมด้วย

### 2.8.2. การรักษาแบบหมู่

เนื่องจากข้อจำกัดในการตรวจวินิจฉัยโรค และอาการที่แสดงออกไม่ชัดเจนในระยะเริ่มแรก องค์การอนามัยโลกจึงแนะนำให้มีการให้ทานยาแบบหมู่ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคเพื่อลดการแพร่กระจายของโรค โดยให้ประชาชนในแหล่งระบาดของโรคทานยาดีอีซี (DEC) ขนาด 6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หรือไอเวอร์เมกติก (ivermectin) ขนาด 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ร่วมกับยาอัลเบนดาโซล (albendazole) ขนาด 400 มิลลิกรัม ครั้งเดียว ทุก 6 หรือ 12 เดือน เป็นเวลานาน 4 – 6 ปี และจากการใช้เกลือไอโอดีนผสมยาดีอีซี (DEC-fortified salt) ในประเทศอินเดียและจีนยาวนานกว่า 40 และ 50 ปีตามลำดับ พบว่าสามารถลดปริมาณไมโครฟิลลาเรียในกระแสเลือดและความชุกของโรคโดยไม่มีผลข้างเคียง เนื่องจากประชาชนได้รับปริมาณยาน้อยมาก ๆ เป็นเวลานาน

## 2.9. Lab on a Chip

Lab on a Chip หรือ LoC เป็นอุปกรณ์ขนาดเล็กที่มีวัตถุประสงค์เพื่อย่อขนาดห้องปฏิบัติการขนาดมาตรฐานมาไว้บนอุปกรณ์ขนาดเล็ก มีความสะดวกแก่การพกพาไปใช้ในสถานที่ต่าง ๆ ประหยัดค่าใช้จ่ายสำหรับสร้างห้องปฏิบัติการขนาดมาตรฐาน ใช้สารเคมีสำหรับทำปฏิกิริยาน้อย ส่งผลให้การเกิดปฏิกิริยาเคมีเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว โดยนำมาประยุกต์ใช้กับงานด้านการแพทย์ การเกษตร อิเล็กทรอนิกส์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

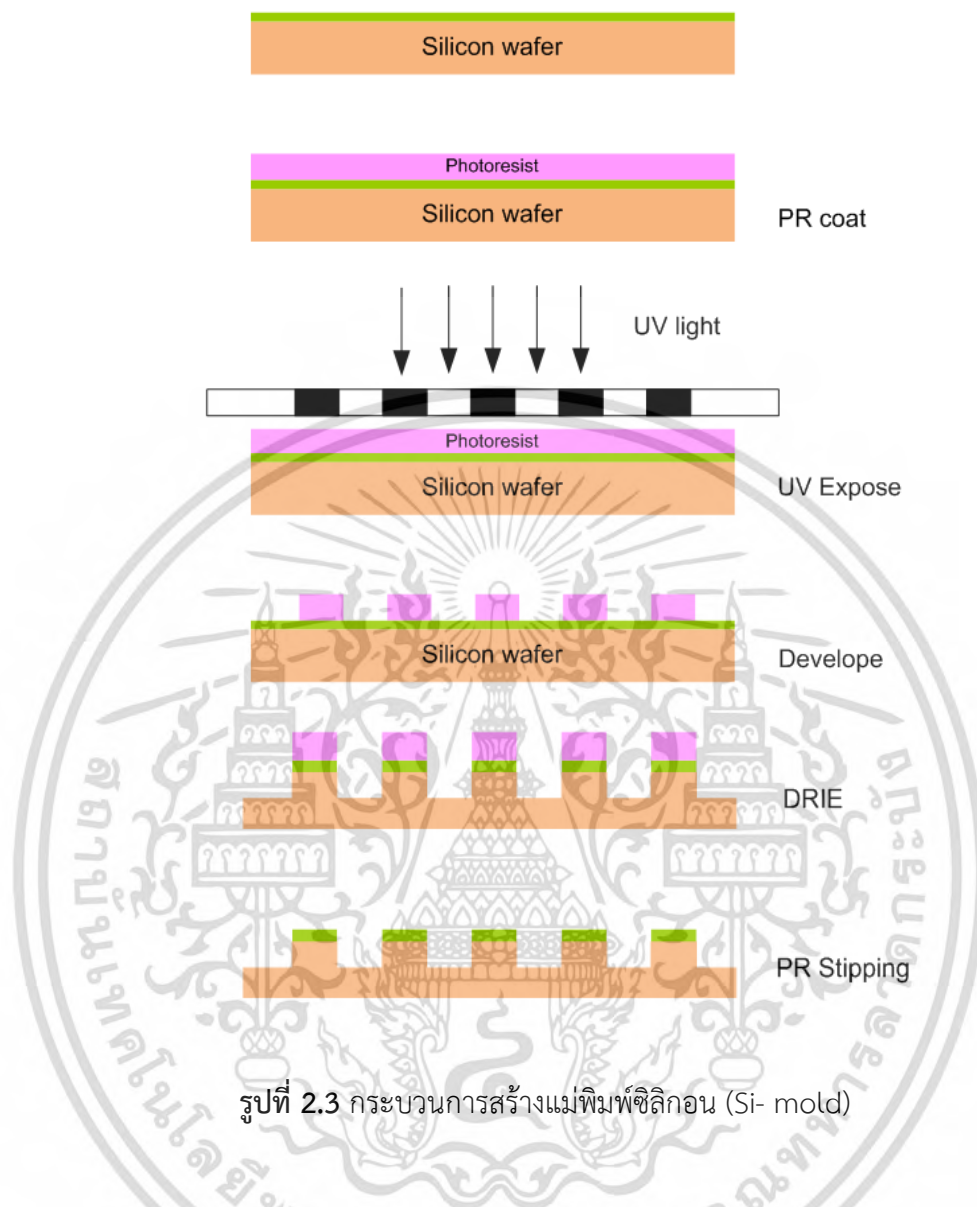
## 2.10. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ถูกพัฒนาจากพื้นฐานเทคโนโลยีการสร้างไมโครอิเล็กทรอนิกส์ (Microelectronic industry) โดยใช้ฐานรองเป็นแผ่นซิลิกอนและกระจก แต่เนื่องจากต้นทุนในการสร้างที่สูงและไม่ยืดหยุ่นในการนำไปประยุกต์ใช้ จึงเริ่มพัฒนาอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์บนวัสดุที่เป็นโพลิเมอร์ เพราะมีคุณสมบัติเข้ากันได้กับร่างกาย ไม่ทำลายเซลล์ ไม่ก่อให้เกิดเซลล์ที่ผิดปกติ (Biocompatibility) และมีต้นทุนการสร้างที่ต่ำ สามารถผลิตแบบใช้ครั้งเดียวได้ จึงเหมาะสมกับการนำมาประยุกต์ใช้กับงานทางการแพทย์

ปัจจุบันมีใช้เทคโนโลยีซอฟท์ลิโทกราฟี (Soft lithography) ซึ่งเป็นเทคนิคการสร้างอุปกรณ์ไมโครอิเล็กทรอนิกส์นำมาประยุกต์สร้างเทคโนโลยีแม่พิมพ์ (Mold) แอสตมบ์ยาง (Elastomeric stamps) และเทคโนโลยีหน้ากากกันแสง (Photomask)

## 2.11. การสร้างแม่พิมพ์ซิลิกอน (Si- mold)

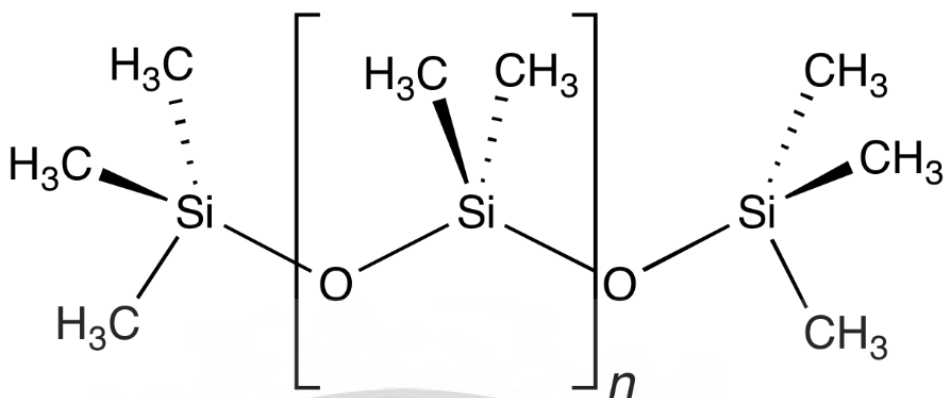
- 2.11.1. ทำความสะอาดแผ่นซิลิกอนที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 150 มิลลิเมตรเพื่อกำจัดฝุ่นละอองและสิ่งปนเปื้อน
- 2.11.2. สร้างฟิล์มฉนวนซิลิกอนไดออกไซด์ ( $\text{SiO}_2$ )
- 2.11.3. สร้างลวดลายด้วยกระบวนการ Photolithography โดยใช้น้ำยาไวแสงชนิดบวก (Positive Photo-resist) ด้วยวิธีการหมุนเคลือบ จากนั้นทำการเขียนลวดลายตามแบบ โดยเครื่อง Direct Write Laser (DWL) และล้างน้ำยาไวแสงออกด้วยน้ำยาล้างน้ำยาล้างสารไวแสง
- 2.11.4. ทำการกัดฟิล์มออกไซด์ส่วนที่ไม่มีสารไวแสงอยู่ด้วยกระบวนการกัดขั้นรอยด้วยไอออนแบบรีแอคทีฟ (Reactive Ion Etching; RIE)
- 2.11.5. ทำการกัดซิลิกอนด้วยเครื่อง Deep Reactive Ion Etching; DRIE
- 2.11.6. ทำการลอกน้ำยาชั้นไวแสงออกทั้งหมด



## 2.12. พอลิเมอร์ Polydimethylsiloxane(PDMS)

Polydimethylsiloxane (PDMS) หรือที่เรียกว่า dimethylpolysiloxane หรือ dimethicone เป็นกลุ่มของสารประกอบโพลีเมอร์ Organosilicon หรือเรียกว่า “ซิลิโคน PDMS” เป็นวัสดุที่ใช้ได้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทางการแพทย์ เพราะมีคุณสมบัติไม่เป็นพิษ และไม่ติดไฟ มีความโปร่งแสง สามารถมองเห็นทะลุผ่านเนื้อซิลิโคนได้ โดยมีโครงสร้างทางเคมีคือ  $\text{CH}_3[\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{O}]_n\text{Si}(\text{CH}_3)_3$  โดยที่  $n$  คือเลขของจำนวน monomer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 รูปโครงสร้างทางเคมี Polydimethylsiloxane

([en.wikipedia.org/wiki/Polydimethylsiloxane#/media/File:PmdsStructure.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Polydimethylsiloxane#/media/File:PmdsStructure.png))

PDMS มีความหยุ่นหนืด (Viscoelasticity) โดยมีลักษณะเป็นของแข็งที่มีลักษณะยืดหยุ่น (elastic) และของเหลวหนืด (viscous) โดยคุณสมบัติดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ เวลา ความเค้น (stress) และอัตราการความเครียด (strain rate) มีความทนทานต่ออุณหภูมิ และเป็นฉนวนไฟฟ้า เมื่อ PDMS เปลี่ยนสถานะจากของเหลวหนืดไปเป็นของแข็งยืดหยุ่นแล้วจะไม่สามารถเปลี่ยนสถานะของเหลวหนืดได้อีก

เมื่อเท PDMS ที่มีสถานะเป็นของเหลวหนืดไปตามพื้นผิวลักษณะต่าง ๆ PDMS มีความสามารถแทรกซึมตามลักษณะของพื้นผิวและเมื่อ PDMS เปลี่ยนสถานะเป็นของแข็งจะมีลักษณะตามลวดลายของพื้นผิวนั้น ๆ ตามคุณสมบัติที่กล่าวข้างต้นจึงนิยมนำ PDMS มาใช้ในการทำระบบไมโครฟลูอิดิกส์และระบบไมโครอิเล็กทรอนิกส์

### 2.13. Lysis Buffer สำหรับการสลายเม็ดเลือด

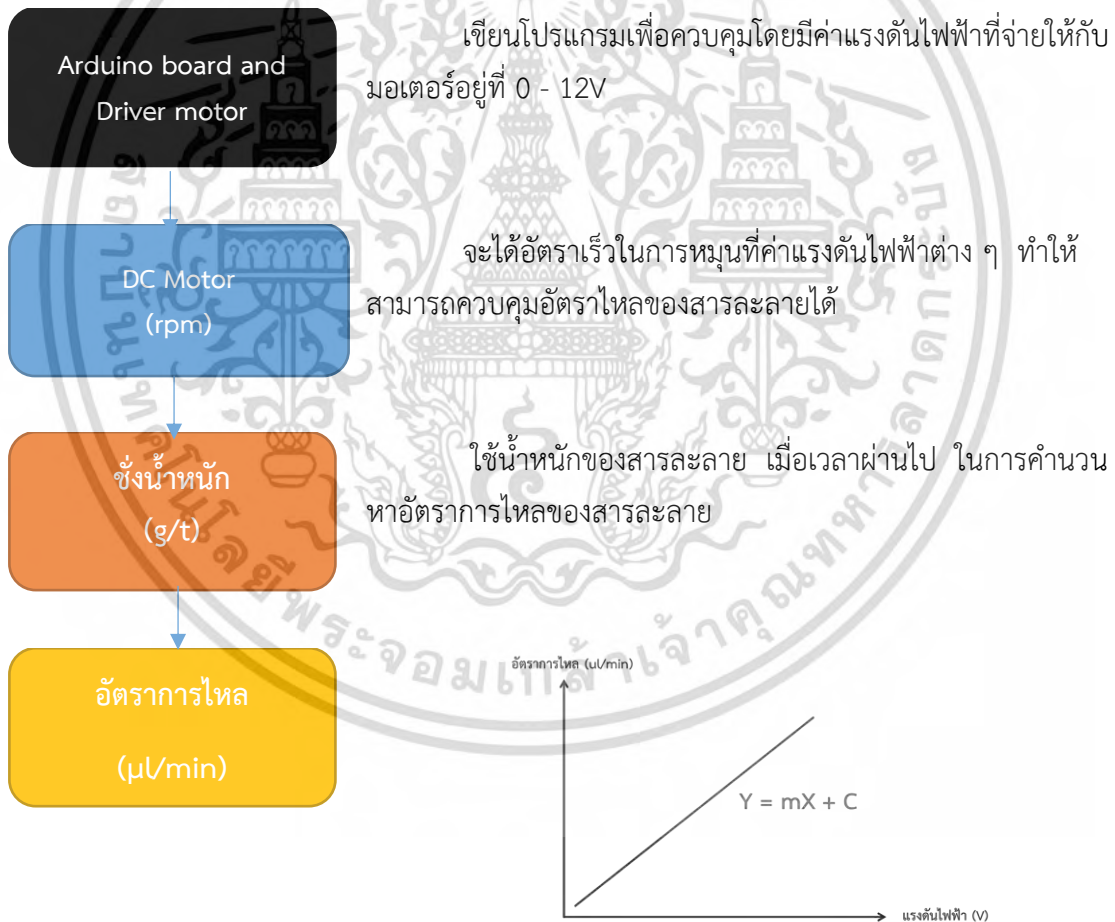
TritonX-100 เป็นสารชะล้างประเภทไม่มีประจุ จัดอยู่ในกลุ่มของ Polyoxyethylene อีกทั้งยังเป็นสารชะล้างยอदनิยม ซึ่งมีคุณสมบัติที่ดีและโดดเด่นคือความเหมาะสมในการละลายของเมมเบรนเพื่อแยกโปรตีนเมมเบรนได้อย่างสมบูรณ์ TritonX-100 มีคุณสมบัติยับยั้งการจับตัวของโปรตีน-โปรตีนและโปรตีน-ไขมัน นอกจากนี้ TritonX-100 เป็นสารลดแรงตึงผิวเอนกประสงค์ที่มีคุณสมบัติทางเคมีที่สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำและไขมัน ซึ่งเป็นคุณสมบัติของน้ำยาสที่ใช้ในการสลายเซลล์ โดยการสลายไขมันในผนังเซลล์โดยการสลายตัวของสารลดแรงตึงผิวที่เพิ่มขึ้นอีกด้วย

### บทที่ 3

## การออกแบบและการดำเนินงานวิจัย

บทนี้กล่าวถึงกระบวนการออกแบบและพัฒนาระบบสำหรับดักจับพยาธิไมโครฟีลาเรีย โดยจะกล่าวถึงการออกแบบและสร้างระบบชุด – จ่ายสารละลายตัวอย่างเข้าสู่อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์และระบบตรวจจับพยาธิไมโครฟีลาเรีย เมื่อแล้วเสร็จจึงนำองค์ความรู้เพื่อสร้างเป็นต้นแบบ “ระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาไมโครฟีลาเรียของพยาธิเท้าช้าง” เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพระดับห้องปฏิบัติการโดยเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

### 3.1. การทดสอบความเหมาะสมของระบบปั๊มแบบรีดท่อ



รูปที่ 3.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลกับแรงดันไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำค่าที่ได้มาทำการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล( $\mu\text{L}/\text{min}$ )กับแรงดันไฟฟ้า(V) จะได้ลักษณะตามรูปที่ 3.1

โดยขั้นตอนนี้ได้ทำการพัฒนาระบบไมโครปั๊มเพื่อใช้ทำการดูด-จ่ายสารละลายตัวอย่างแบบอัตโนมัติเพื่อใช้งานกับ LAB on a Chip โดยมีการประยุกต์ใช้มอเตอร์ดีซี 12 โวลต์ในการทำปั๊มรีดท่อ (Peristaltic pump) โดยทำการทดลองควบคุมอัตราการไหลด้วยแรงดันไฟฟ้า โดยมีขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยดังนี้

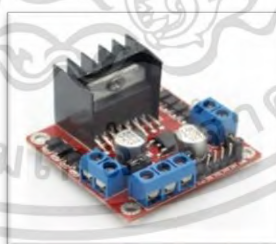
### 3.1.1. การทดลองที่ 1 Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm)



รูปที่ 3.2 Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm)



Controller (Arduino)



Driver Motor  
Module



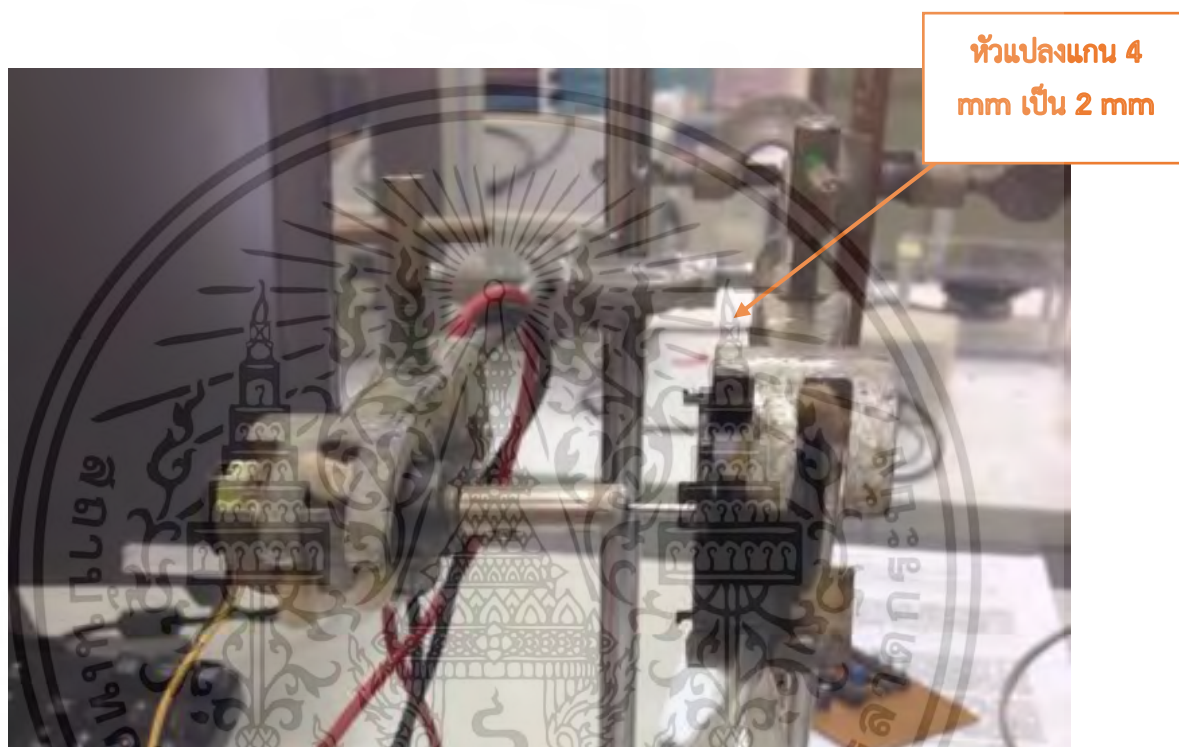
Peristaltic Pump 12V  
DC

รูปที่ 3.3 แผนผังระบบควบคุมอัตราการไหลด้วยแรงดันไฟฟ้าโดยใช้คอลโทรลเลอร์ในการควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง ใช้คำสั่งจาก Controller ในการควบคุมปั๊มผ่าน Driver Motor Module โดย Driver Motor Module จะทำการแปลงคำสั่งจาก Controller และจ่ายแรงดันไฟฟ้า 0 – 12V เข้าสู่มอเตอร์โดยนำสารละลายเมื่อเทียบกับเวลาไปซึ่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาอัตราการไหล

### 3.1.2. การทดลองที่ 2 Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor cn16-01901 130 rpm)

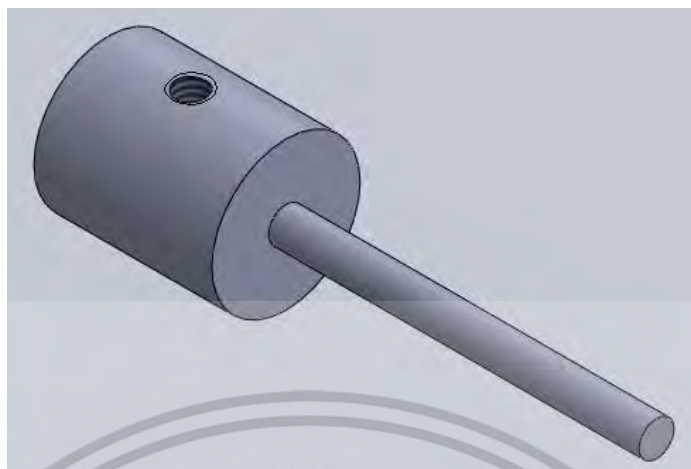


รูปที่ 3.4 รูปชุดการทดลองจริงของ Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor cn16-01901)

ใช้วิธีการทดลองตามการทดลองที่ 1 (ข้อที่ 3.1.1.) โดยเปลี่ยนมอเตอร์มาเป็นเกียร์มอเตอร์ (Gear Motor cn16-01901) เพื่อแก้ไขปัญหาเรื่องแรงบิดเริ่มต้น โดยใช้หัวแปลงแกนจาก 4 มิลลิเมตร เป็น 2 มิลลิเมตร เพื่อให้สามารถใช้ได้กับ Peristaltic Pump

### 3.1.3. การทดลองที่ 3 Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm)

ใช้วิธีการทดลองตามการทดลองที่ 1 (ข้อที่ 3.1.1.) โดยเปลี่ยนมอเตอร์มาเป็นเกียร์มอเตอร์แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 รอบต่อนาที โดยทำการออกแบบและสร้างหัวแปลงแกนจาก 4 มิลลิเมตรเป็น 2 มิลลิเมตรใหม่ เพื่อให้ต่อเข้ากับปั๊มได้ดียิ่งขึ้น



รูปที่ 3.5 แบบสามมิติของหัวแปลงแกน 4 มิลลิเมตร เป็น 2 มิลลิเมตร



รูปที่ 3.6 หัวแปลงแกน 4 มิลลิเมตร เป็น 2 มิลลิเมตร



Peristaltic Pump

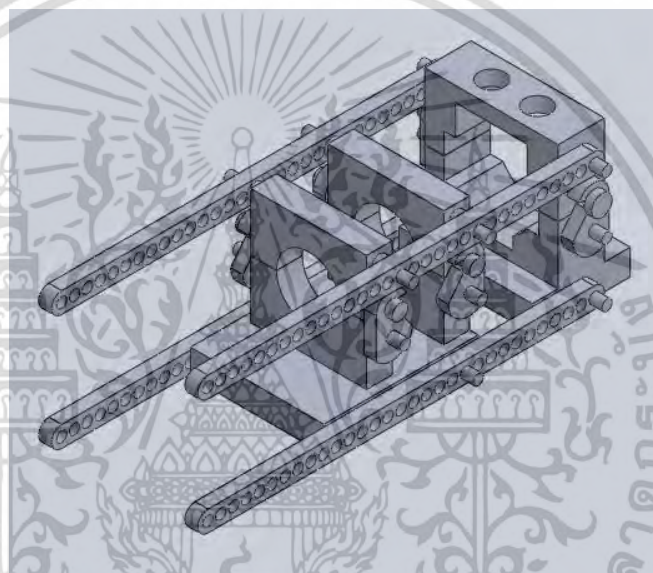
DI water

รูปที่ 3.7 รูปชุดการทดลองจริงของ Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1.4. การทดลองที่ 4 Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm)

ใช้วิธีการทดลองตามการทดลองที่ 1 (ข้อที่ 3.1.1.) และใช้มอเตอร์มาเป็นเกียร์มอเตอร์แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 รอบต่อนาทีโดยประกอบเข้ากับตัวยึดมอเตอร์ (รูปที่ 3.8) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและเสถียรภาพการทำงานของ Peristaltic Pump และยังได้สร้างอุปกรณ์อำนวยความสะดวกในการควบคุมอัตราการไหลด้วยการสร้างกล่องคอลโทรลลักษณะตามรูปที่ 3.9 ซึ่งสามารถใส่ค่าอัตราการจ่ายแรงดันไฟฟ้าและกำหนดเวลาในการจ่ายแรงดันไฟฟ้า โดยมีแผนผังความคิดตามรูปที่ 3.10 และเมื่อประกอบแล้วเสร็จจะเป็นดังรูปที่ 3.11

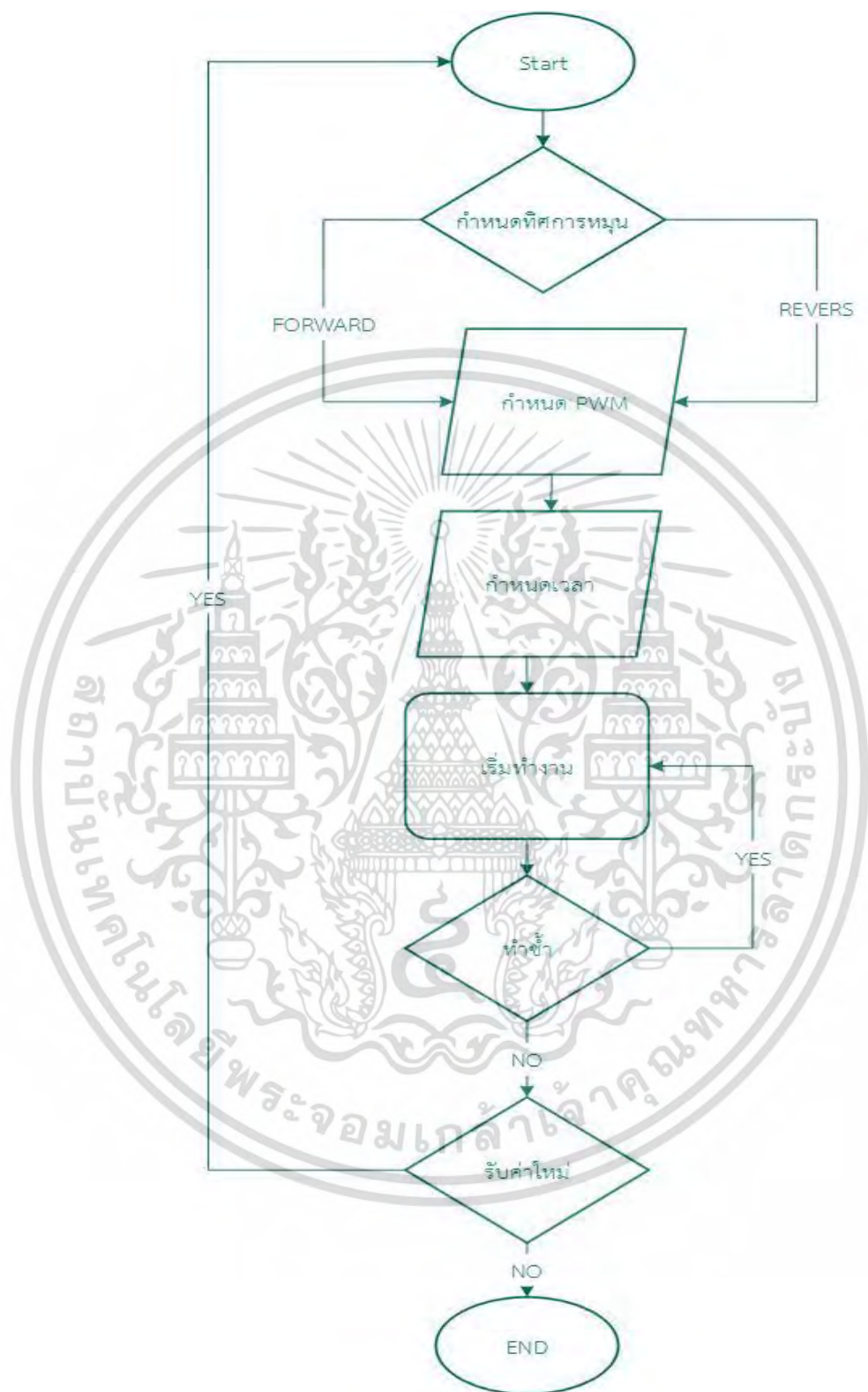


รูปที่ 3.8 แบบ 3 มิติของตัวยึดมอเตอร์กับปั๊ม



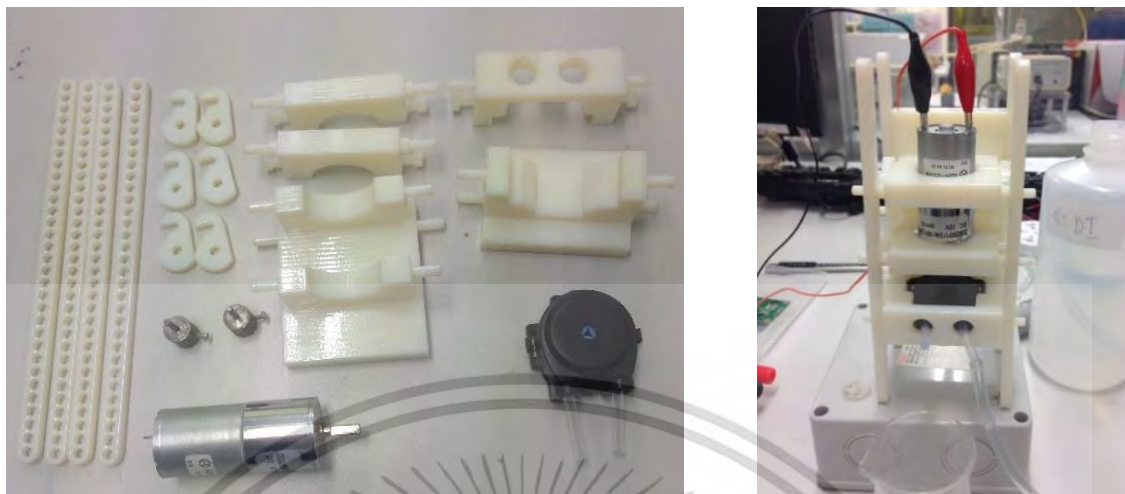
รูปที่ 3.9 กล่องควบคุมอัตราการไหลของ Peristaltic Pump

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.10 แผนผังความคิดการเขียนโปรแกรมควบคุมเพื่อใช้ในการทดสอบอัตราการไหลของ Peristaltic Pump

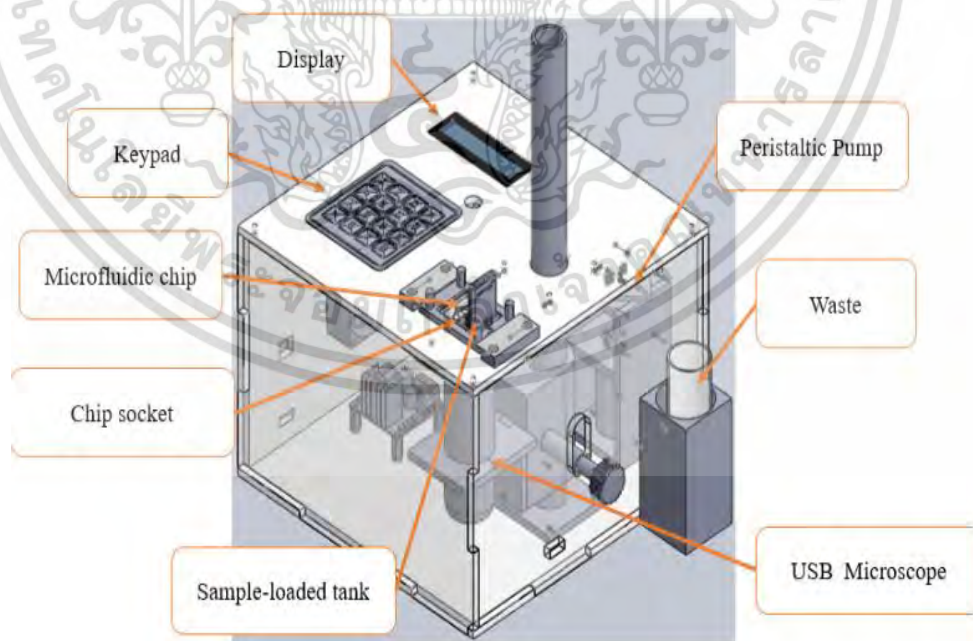
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.11 อุปกรณ์ Peristaltic Pump ที่ประกอบเข้ากับตัวยัดมอเตอร์ซึ่งใช้ในการทดลองจริง

### 3.2. การออกแบบและจัดสร้าง ระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรีย

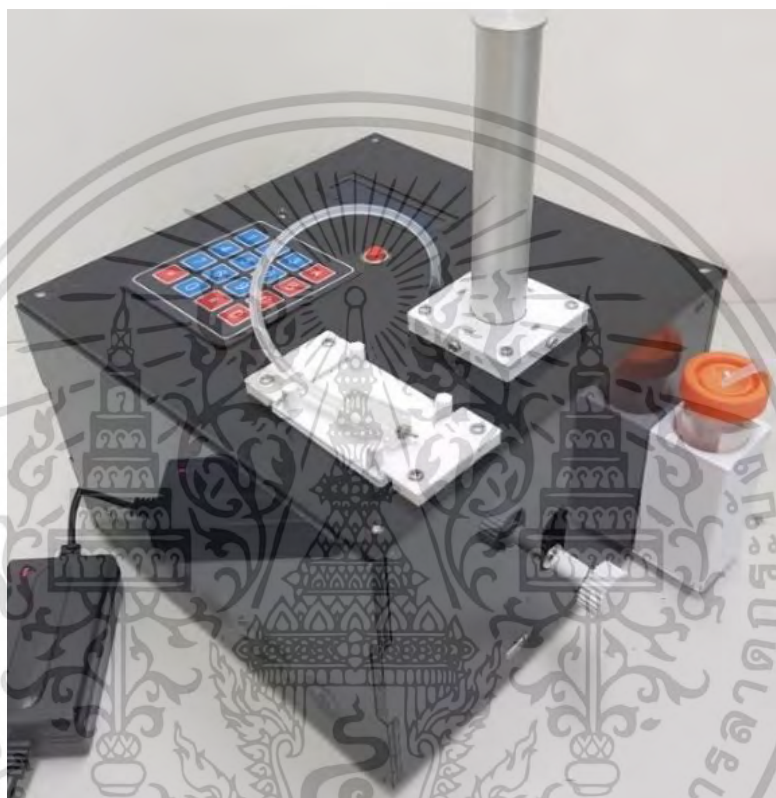
จากการทดลองที่ทดลองมาก่อนหน้านี้ ทางผู้วิจัยได้ออกแบบและสร้างระบบ ดูด-จ่ายสาร ตัวอย่างขึ้นเป็นที่สำเร็จ และสามารถใช้ร่วมกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 ได้ จึงมีแนวความคิดที่จะรวมระบบทั้งหมดไว้ในเครื่องมือเพียงชิ้นเดียว จึงได้ออกแบบต้นแบบ “ระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์ สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรีย” ขึ้นด้วยโปรแกรม Solid work มีลักษณะดังรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.12 รูปโมเดลระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรียโดยมีขนาด 21x21x16 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และออกแบบแท่นวางอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ (Chip socket) ให้มีขนาดพอดีกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 หรือ FD44 เพื่อให้ตำแหน่งดักจับ (Detection Zone) อยู่ตรงกับกล้องจุลทรรศน์ชนิดเชื่อมต่อผ่าน USB (USB Microscope) เพื่อบันทึกภาพส่งเข้าสู่คอมพิวเตอร์ที่ต่อกับกล้องจุลทรรศน์ เมื่อออกแบบประกอบทุกระบบเข้าด้วยกันและจัดสร้างจึงได้ต้นแบบระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรีย ดังรูปที่ 3.13



รูปที่ 3.13 ต้นแบบระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรีย

### 3.2.1. ถังบรรจุสารตัวอย่าง (Tank)

โดยในส่วนแรกได้เริ่มพัฒนาส่วนของถังบรรจุสารตัวอย่าง โดยมีเป้าหมายคือสามารถบรรจุสารตัวอย่างได้อย่างน้อย 200  $\mu\text{l}$  และสามารถนำไปเชื่อมต่อกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ และไม่มีกรั่วไหลของสารตัวอย่างออกมาภายนอก

#### 3.2.1.1. ถังบรรจุสารแบบเดี่ยว (Single Tank)

ทำการออกแบบโดยโปรแกรม Solid work และใช้เทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติ (3D Printer) ในการสร้าง โดยการสร้างถังบรรจุสารแบบเดี่ยวนั้นได้แบ่งออกเป็น 2 รูปแบบคือ 1. ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่ไม่สามารถต่อกันได้ (รูปที่ 3.14) 2. ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่สามารถต่อกันได้ (รูปที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.15 ) โดยการสร้างด้วยเทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติแบบฉีดพลาสติกจำเป็นต้องมีพลาสติกลักษณะบาง ๆ (Support) เป็นตัวรองรับ



รูปที่ 3.14 ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดียวกันที่ไม่สามารถต่อกันได้



รูปที่ 3.15 ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดียวกันที่สามารถต่อกันได้

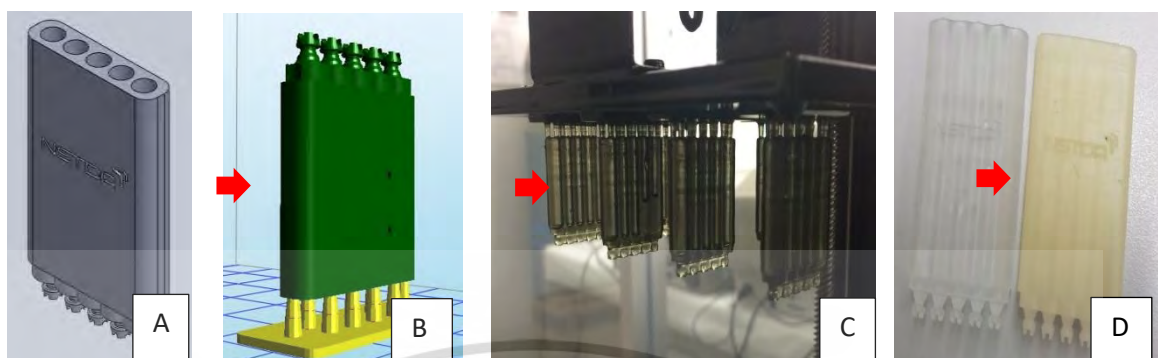
### 3.2.1.2. ถังบรรจุสารแบบหลายช่องบรรจุ (Multi channel Tank)

จากปัญหาเศษซัพพอร์ตเข้าไปอุดตันในช่องทางเดินของไหลบริเวณดักจับ (Detection Zone) และการออกแบบที่ฉีดพลาสติก ที่ทำให้ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดียวกันที่สามารถต่อกันได้ เมื่อต่อกันแล้วไม่สามารถต่อเข้ากับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ได้ จึงนำมาออกแบบแก้ไขและปรับปรุงเพื่อให้ได้ถังบรรจุสารตัวอย่างที่เหมาะสมกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 โดยใช้เทคโนโลยีการขึ้นรูปสามมิติที่ใช้แสง UV ในการทำให้เรซินแข็งตัว (Digital Light Processing technique (DLP)) โดยเครื่องพิมพ์สามมิติ 3D Wanhao Duplicator



รูปที่ 3.16 เครื่องพิมพ์ 3D Wanhao

(รูปที่ 3.16) โดยออกแบบตัวถังบรรจุสารตัวอย่างให้มีลักษณะ 5 ช่อง ติดกัน(รูปที่ 3.17A) เพื่อให้สามารถต่อเข้ากับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FnD51 ได้ และต้องมีความสามารถบรรจุสารละลายตัวอย่างได้อย่างน้อย 200  $\mu$ l เมื่อได้แบบสามมิติแล้วต้องนำแบบเข้าโปรแกรม Creation Workshop (รูปที่ 3.17B) เพื่อสร้างซัพพอร์ตสำหรับใช้พิมพ์ เมื่อสร้างถังบรรจุสารตัวอย่างแล้วเสร็จจะมีลักษณะตามรูปที่ 3.18C หลังจากนั้นต้องผ่านกระบวนการล้างทำความสะอาดคราบเรซินด้วยการล้างด้วย IPA แล้วเป่าแห้งด้วยอากาศหรือ N<sub>2</sub> จึงนำไปฉาย UV หรือตากแดดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จึงได้เป็นถังบรรจุสารตัวอย่างแบบหลายช่องสำหรับต่อกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 (รูปที่ 3.17D)

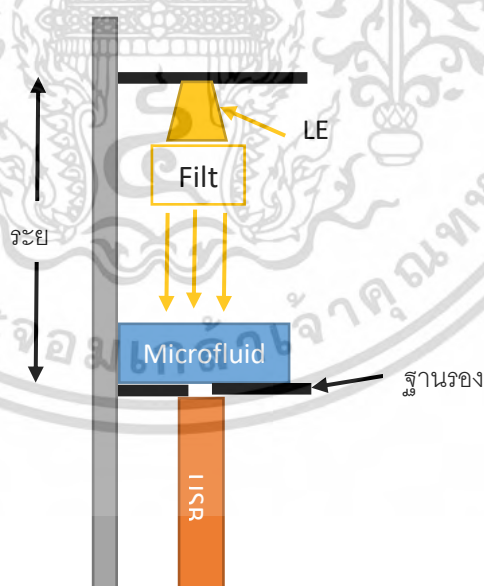


รูปที่ 3.17 ลำดับขั้นตอนการสร้างถังบรรจุสารตัวอย่างแบบ

### 3.2.2. ระบบบันทึกภาพ (USB Microscope)

ระบบบันทึกภาพที่ถูกพัฒนาขึ้น ประกอบด้วย ระบบถ่ายภาพที่ต้องมีความสามารถทั้งในการถ่ายภาพนิ่งและภาพเคลื่อนไหวภายในของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ในบริเวณโซนดักจับได้อย่างชัดเจน โดยสามารถส่งภาพเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อให้ผู้เชี่ยวชาญสามารถนำไปวิเคราะห์ผลได้

อุปกรณ์บันทึกภาพมีตำแหน่งการวางอุปกรณ์ตามรูปที่ 3.18 โดยให้แสง (LED) ส่องผ่านอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์วัตถุที่ต้องการมอง ผ่านลงไปยังกล้องจุลทรรศน์ (USB microscope) ที่ติดตั้งอยู่ด้านล่าง



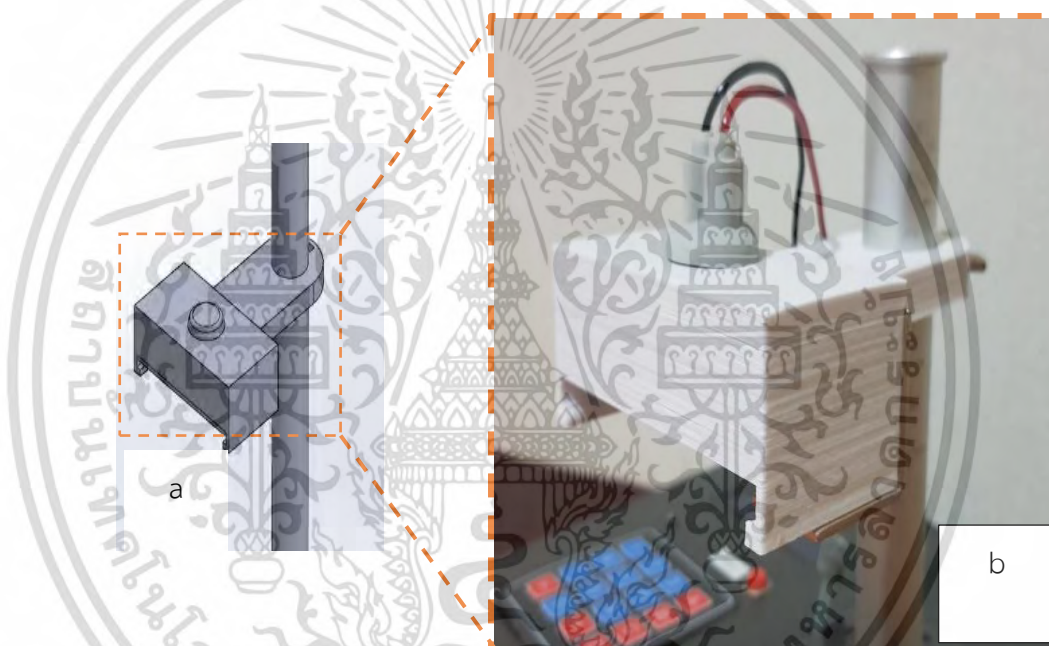
รูปที่ 3.18 รูปจำลองวิธีการวางตำแหน่ง LED กับกล้องจุลทรรศน์

ซึ่งใช้หลักการการหักเหและแทรกสอดของแสงที่ไม่เท่ากัน ทำให้กล้องสามารถสร้างภาพลักษณะภายในวัตถุขึ้นมาได้ ซึ่งระบบบันทึกภาพนี้ ได้ออกแบบให้กล้องจุลทรรศน์อยู่ด้านล่างและแหล่งกำเนิดแสงอยู่

ด้านบน เพราะเมื่อนำไปติดตั้งในกล่องต้นแบบ ตัวกล้องจุลทรรศน์จะอยู่ภายในกล่องต้นแบบ ซึ่งลดความเสี่ยงที่จะเกิดความเสียหายจากอุบัติเหตุ และเพื่อความสะดวกต่อการเคลื่อนย้าย

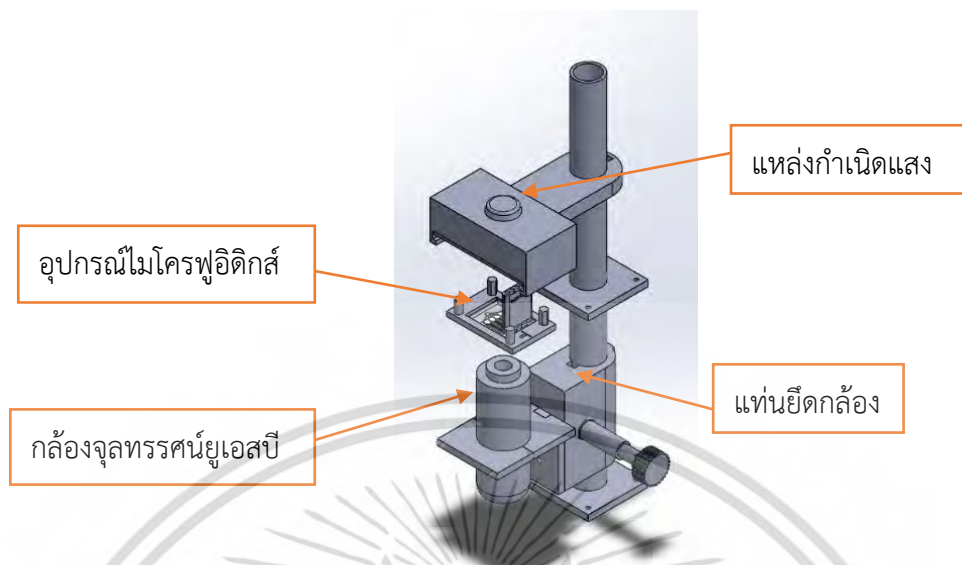
### 3.2.2.1. แหล่งกำเนิดแสงสำหรับกล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์ยูเอสบีไมโครสโคป (USB Microscope)

แหล่งกำเนิดแสงที่นำมาปรับใช้กับระบบบันทึกภาพนี้ คือ Light Emitting Diode (LED) ขนาดแรงดัน 12 โวลต์ เป็นแหล่งกำเนิดแสง โดยยึด LED ติดไว้กับแท่นด้านบนเพื่อให้แสงส่องผ่านลงมาที่กล้องจุลทรรศน์ แท่นสำหรับติดยึด LED ออกแบบโดยใช้โปรแกรม Solid work (3.19a) และสร้างโดยใช้เทคโนโลยีการพิมพ์ 3 มิติ (Fused Deposition Modeling (FDM 3D Printer)) (รูปที่ 3.19b)

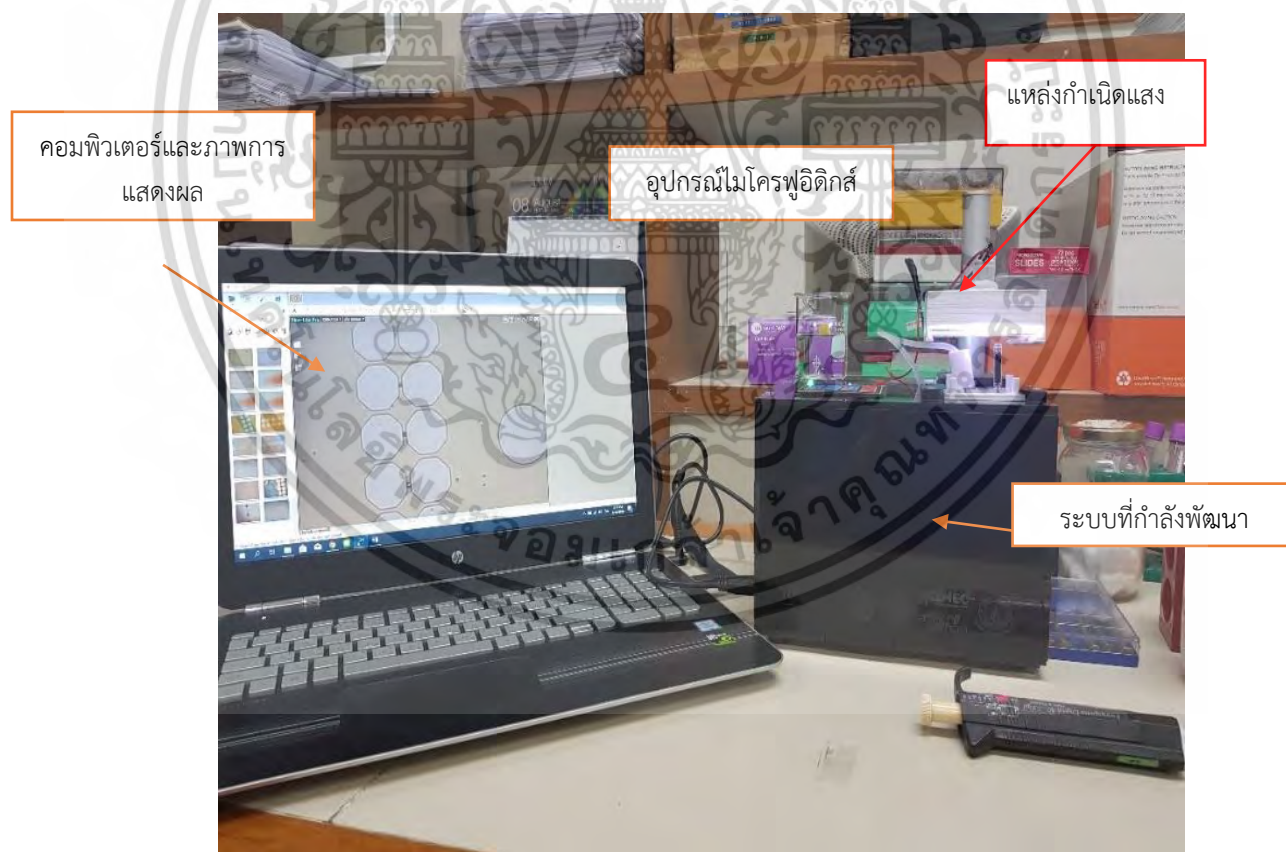


รูปที่ 3.19 รูปแท่นสำหรับติดตั้งแหล่งกำเนิดแสง

ในส่วนของกล้องจุลทรรศน์ใช้กล้อง Dino-line AM-413T5 กำลังขยาย 500 เท่า ติดตั้งอยู่บนแท่นยึดกล้องที่สามารถปรับขึ้นลงในแนวแกน Z เพื่อปรับค่าความคมชัด โดยกล้องมีความสามารถเพียงพอที่สามารถถ่ายภาพไมโครฟิลาเรียที่อยู่ภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ได้ และเมื่อติดตั้งทั้งแหล่งกำเนิดแสงและกล้องจุลทรรศน์ตามรูปที่ 3.20 และเชื่อมต่อเข้ากับระบบคอมพิวเตอร์ มีลักษณะดังรูปที่ 3.21 ซึ่งสามารถเห็นภาพภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ตลอดเวลาและสามารถบันทึกภาพได้ทั้งภาพนิ่ง (ดังรูปที่ 3.22) และภาพเคลื่อนไหว

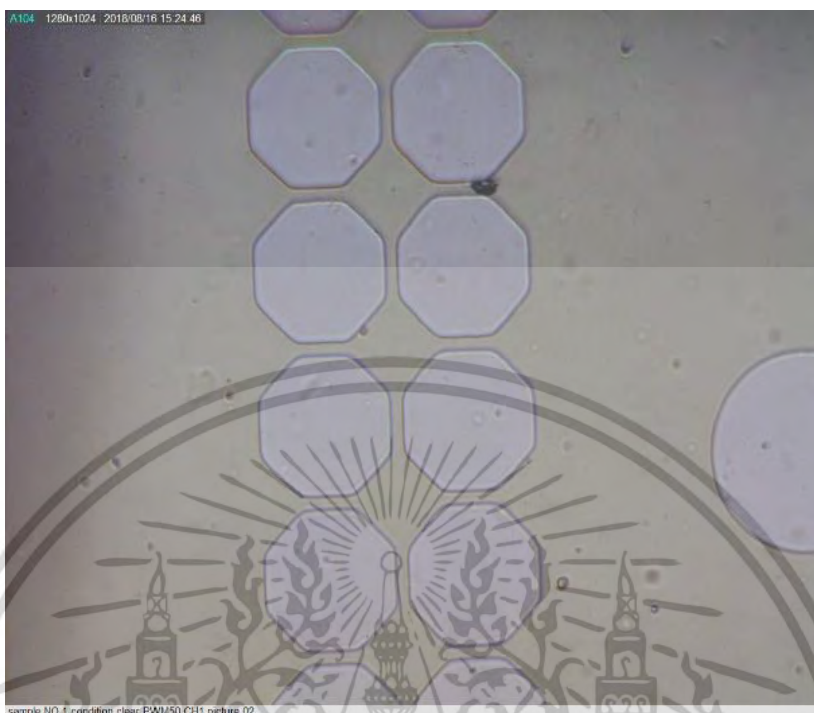


รูปที่ 3.20 รูปต้นแบบอุปกรณ์การถ่ายภาพ



รูปที่ 3.21 วิธีการวางตำแหน่ง LED กับกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.22 รูปถ่ายบริเวณตำแหน่งดักจับละอียดในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

### 3.2.3. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ (Microfluidic chip)

#### 3.2.3.1. การออกแบบ (Design)

ในการออกแบบครั้งนี้จะควรวรรบระบบทำในความยุ่งยากในการติดตั้งน้อยลงในส่วนของทางออก และยังทำให้จำนวนวงจรบนชุดทดสอบมีมากขึ้น ในการออกแบบชุดทดสอบจึงจำเป็นต้องคำนวณให้ความดันตกคร่อมเท่ากันในแต่ละทางเข้าและทางออก เพื่อไม่ให้สารตัวอย่างจากวงจรหนึ่งย้อนเข้าไปอีกวงจรหนึ่ง ในที่นี้ความดันตกคร่อมที่ใช้เป็นค่าเริ่มต้นได้คำนวณมาจากชุดทดสอบเดิม รูปที่ 6 (FD44) ซึ่งคำนวณโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์เชิงพาณิชย์จากบริษัท ANSYS Inc ที่มีชื่อว่า ANSYS FLUENT รุ่น R16.2 การคำนวณนี้ได้ขึ้นอยู่กับกรไหลแบบราบเรียบ (Laminar Flow) โดยกำหนดทางเข้าเป็นแบบอัตราการไหลของมวลคงที่ และทางออกเป็นแบบความดันคงที่เท่ากับความดันบรรยากาศ เมื่อได้ค่าความดันตกคร่อมของชุดทดสอบจากตัวต้นแบบมาแล้วนั้น การที่ทำให้ การควรวรรบทางออกเข้าด้วยกันนั้น จำเป็นต้องลดความยาวของวงจรลง และทำการชดเชยความดันให้เท่าเดิม เหมือนค่าต้นแบบ ในที่นี้จะใช้ท่อตรง ที่มีหน้าตัดเป็นสี่เหลี่ยมจตุรัส โดยที่ความกว้าง และความลึกได้ถูกกำหนดโดยค่าเดิม แต่ความยาวของท่อได้ถูกคำนวณมาจากสมการของ Hagen–Poiseuille เพื่อชดเชยความดันที่หายไปจากการลดขนาดวงจร ซึ่งจะทำให้ได้ วงจรรวมแสดงดังรูปที่ 6 (FnD51) และเพิ่มในส่วนของเขา

เพื่อค้ำท่อทางเดินของไหลไม่ให้ยุบตัวลงมาเนื่องจากแรงดูดของปั๊มแบบรีดท่อ ส่วนของการคำนวณและออกแบบวงจรดำเนินการโดยทีมวิจัยจาก TMEC

### 3.2.3.2. การสร้าง (Fabrication)

จะเป็นผลต่อเนื่องจากการออกแบบซึ่งจะประกอบด้วย 2 ส่วน คือ การสร้างแม่พิมพ์ และการสร้างอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก สำหรับการสร้างแม่พิมพ์ซิลิโคนของวงจร FnD51 จะใช้งบประมาณในการสร้างน้อยกว่า FD44 ประมาณ 10 เท่า ซึ่งเป็นผลจากการลดความซับซ้อนและออกแบบเพื่อปรับปรุงวงจร สำหรับการสร้างอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ ก็ส่งผลให้ในหนึ่งระบบสามารถตรวจตัวอย่างได้ 5 ตัวอย่าง

### 3.2.3.3. การสร้างท่อทางเดินของไหลและประกบ PDMS ด้วยกระจกหรือ PDMS

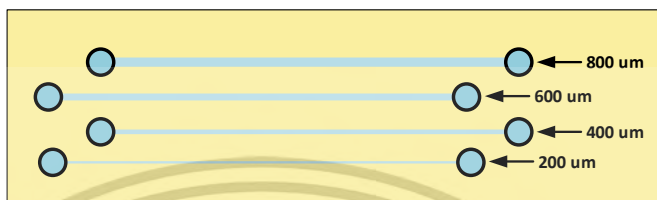
การสร้างท่อทางเดินของของไหลด้วยวัสดุพอลิเมอร์ PDMS โดยจะนำ PDMS ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวใสเทลงใน Si-mold ที่สร้างขึ้น จากนั้นไล่ความชื้นด้วยความร้อนและลอก PDMS ออกจาก Si-mold โดยมีรายละเอียดดังนี้

- 3.2.3.3.1. เตรียม Liquid-PDMS โดยทำการผสมระหว่าง PDMS elastomer : Curing agent ในอัตราส่วน 10:1 w/w ผสมให้เข้ากัน
- 3.2.3.3.2. กำจัดฟองอากาศใน PDMS ให้หมด
- 3.2.3.3.3. นำ Liquid-PDMS เทลงใน Si-mold ที่เตรียมไว้
- 3.2.3.3.4. อบโดยใช้ความร้อน 70 องศาเป็นเวลา 120 นาที
- 3.2.3.3.5. นำชิ้นงานออกจากเตาอบรอให้อุณหภูมิลดลงจนเท่าอุณหภูมิห้อง
- 3.2.3.3.6. ลอกชิ้น PDMS ออกและลอกตัดแบ่งชิ้นงานตามรูปแบบและเจาะรู In-Outlet ให้เรียบร้อย
- 3.2.3.3.7. จากนั้นนำ PDMS ที่เตรียมเรียบร้อยแล้วเข้าปรับสภาพพื้นผิวเป็นชอบน้ำ
- 3.2.3.3.8. ทำความสะอาดกระจกและประกบเข้าด้วยกันและหากเป็น PDMS เหมือนกันสามารถประกบได้ทันทีโดยการปรับสภาพพื้นผิวของทั้งสองแผ่นให้ เป็นลักษณะชอบน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.3.4. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ ชนิดท่อตรง

อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ชนิดท่อตรง จัดทำขึ้นเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการรักษาอัตราการไหลของปฏิกิริยาตามขนาดท่อที่มีลักษณะที่เปลี่ยนไป โดยมีลักษณะการออกแบบดังนี้ มีความกว้างของท่อทางเดินของไหลขนาด 200, 400, 600 และ 800  $\mu\text{m}$

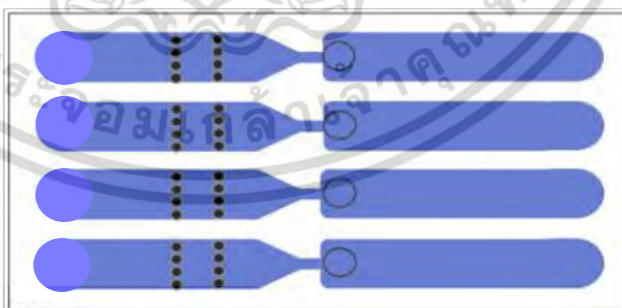


รูปที่ 3.23 แบบแสดงลักษณะทางเดินของไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ชนิดท่อตรง



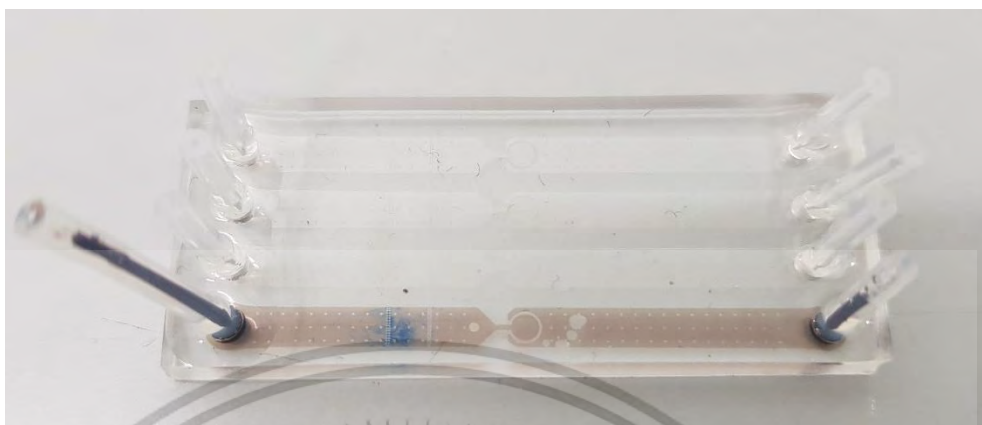
รูปที่ 3.24 รูปอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ชนิดท่อตรง

### 3.2.3.5. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FD44



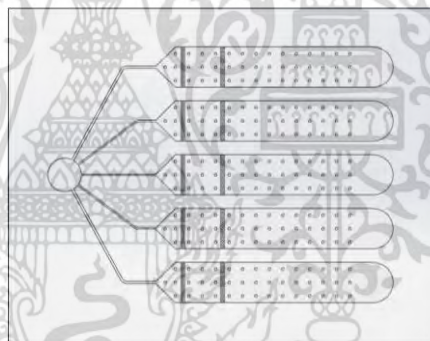
รูปที่ 3.25 แบบแสดงลักษณะทางเดินของไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์รหัส FD44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

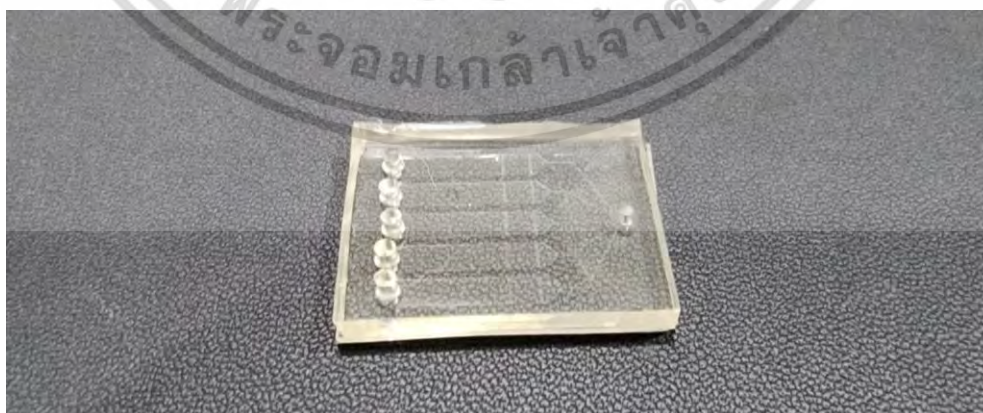


รูปที่ 3.26 อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ชนิด FD44

### 3.2.3.6. อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FnD51



รูปที่ 3.27 แบบแสดงลักษณะทางเดินของไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์รหัส FnD51



รูปที่ 3.28 รูปอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก ชนิด FnD51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3. การทดสอบต้นแบบในระดับห้องปฏิบัติการ ณ โรงพยาบาลศิริราช

#### 3.3.1. การผสมไมโครฟีลาเรียลงในตัวอย่างเลือด

เตรียมตัวอย่างเลือดที่มีไมโครฟีลาเรีย โดยมีวิธีการดังรูปที่ 3.28 คือ นับปริมาณไมโครฟีลาเรียใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นผสมไมโครฟีลาเรียเข้ากับตัวอย่างเลือด (EDTA blood) ให้ได้ตามปริมาณที่ต้องการ โดยใช้การคำนวณตามสูตรคณิตศาสตร์ ดังสมการที่ 1

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (1)$$

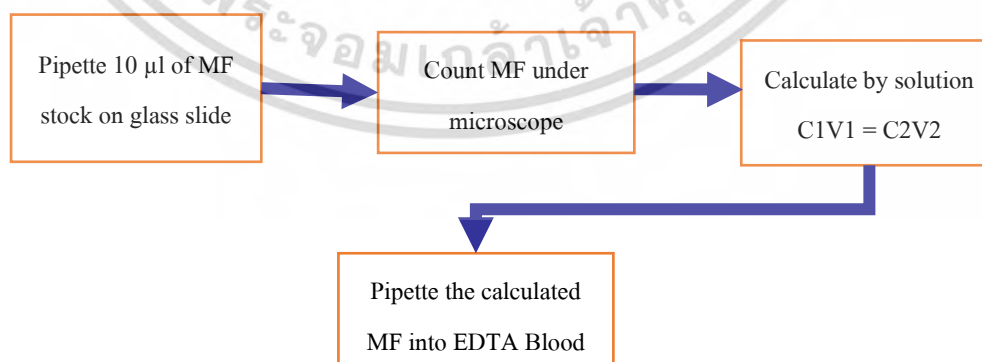
นำตัวอย่างเลือดที่เตรียมได้ มาทดสอบประสิทธิภาพของระบบ โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

#### 3.3.1.1. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วยสารละลายสูตรสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์

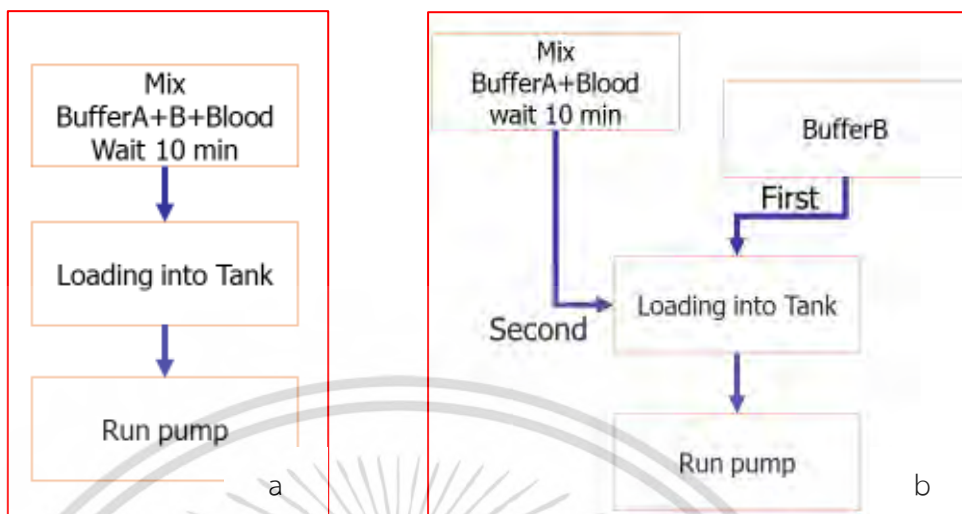
การทดสอบประสิทธิภาพ คือ ใช้ BufferA ปริมาตร 100  $\mu\text{L}$  BufferB ปริมาตร 100  $\mu\text{L}$  เลือด (Blood) ปริมาตร 50  $\mu\text{L}$  เข้าด้วยกัน โดยวิธีการผสมเป็นดังรูปที่ 3.29a และใช้อัตราการไหลที่ 60  $\mu\text{L}/\text{min}$  โดยใช้ปริมาตรรวมสำหรับการทดสอบที่ 165  $\mu\text{L}$

#### 3.3.1.2. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วยสารละลายสูตรสลายเม็ดเลือดแบบไม่สมบูรณ์

การทดสอบประสิทธิภาพ คือ ใช้ BufferA ปริมาตร 100  $\mu\text{L}$  BufferB ปริมาตร 15  $\mu\text{L}$  เลือด (Blood) ปริมาตร 50  $\mu\text{L}$  เข้าด้วยกัน โดยวิธีการผสมเป็นดังรูปที่ 3.29b และใช้อัตราการไหลที่ 60  $\mu\text{L}/\text{min}$  โดยใช้ปริมาตรรวมสำหรับการทดสอบที่ 165  $\mu\text{L}$



รูปที่ 3.29 ขั้นตอนการใส่พยาธิลงในเลือด



รูปที่ 3.30 เงื่อนไขและวิธีการใส่สารละลายตัวอย่างลงในถังบรรจุสาร

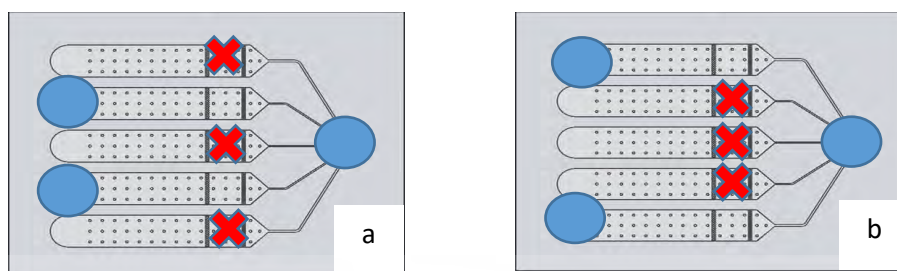
### 3.3.2. การศึกษาความต้านทานภายใต้สภาวะเลียนแบบที่ใกล้เคียงสภาวะแวดล้อมจริงในช่องทางเดินของไหลในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51

เนื่องจากปัญหาการไหลของสารละลายไม่หมดพร้อมกันทั้ง 5 ช่อง จึงต้องมีการทดสอบความต้านทานในช่องทางเดินของไหล ซึ่งทำการทดสอบด้วยอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FnD51 ที่มีฐานรองเป็น PDMS และกระจกสไลด์

จากนั้นมีการออกแบบการทดลอง โดยตั้งสมมติฐานว่า ถ้าช่องทางเดินของไหลมีระยะทางเท่ากัน ควรมีความต้านทานรวมเท่ากัน จึงออกแบบการทดลอง โดยการเจาะช่องทางเดินของไหลช่องที่ 2 กับ 4 โดยปิดช่องที่ 1,3 และ 5 ตามรูปที่ 3.30a และเจาะช่องทางเดินของไหลที่ 1 กับ 5 โดยปิดช่องที่ 2, 3 และ 4 ตามรูปที่ 3.30b และกำหนดการสารละลายที่ใช้ทดสอบ คือ

- สารละลาย Bovine Serum Albumin: BSA ความเข้มข้นสาร 4, 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
- ละลายสูตรสลายเม็ดเลือดสมบูรณ์(รูปที่ 3.18a)
- น้ำ DI

ซึ่งกำหนดปริมาตรสารละลายและน้ำ DI ไว้คงที่ที่ 165  $\mu\text{l}$  และใช้อัตราการไหล 60  $\mu\text{l}/\text{min}$  โดยใช้เวลาในการเปรียบเทียบความต้านทานแต่ละช่องทางเดินของไหล



รูปที่ 3.31 รูปวิธีการเจาะรูบนอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

### 3.3.2.1. การทดสอบประสิทธิภาพระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรียใช้กับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 แบบ 2 ช่องทางเดินของไหล

สืบเนื่องจากความต้านทานของช่องทางเดินของไหลจึงทดสอบระบบซ้ำตามข้อ 3.3.1 แต่ใช้เพียง 2 ช่องทางเดินของไหล โดยใช้เงื่อนไขตามรูปที่ 3.30a

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 4.1. การทดสอบความเหมาะสมของระบบปั๊มแบบรีดท่อ

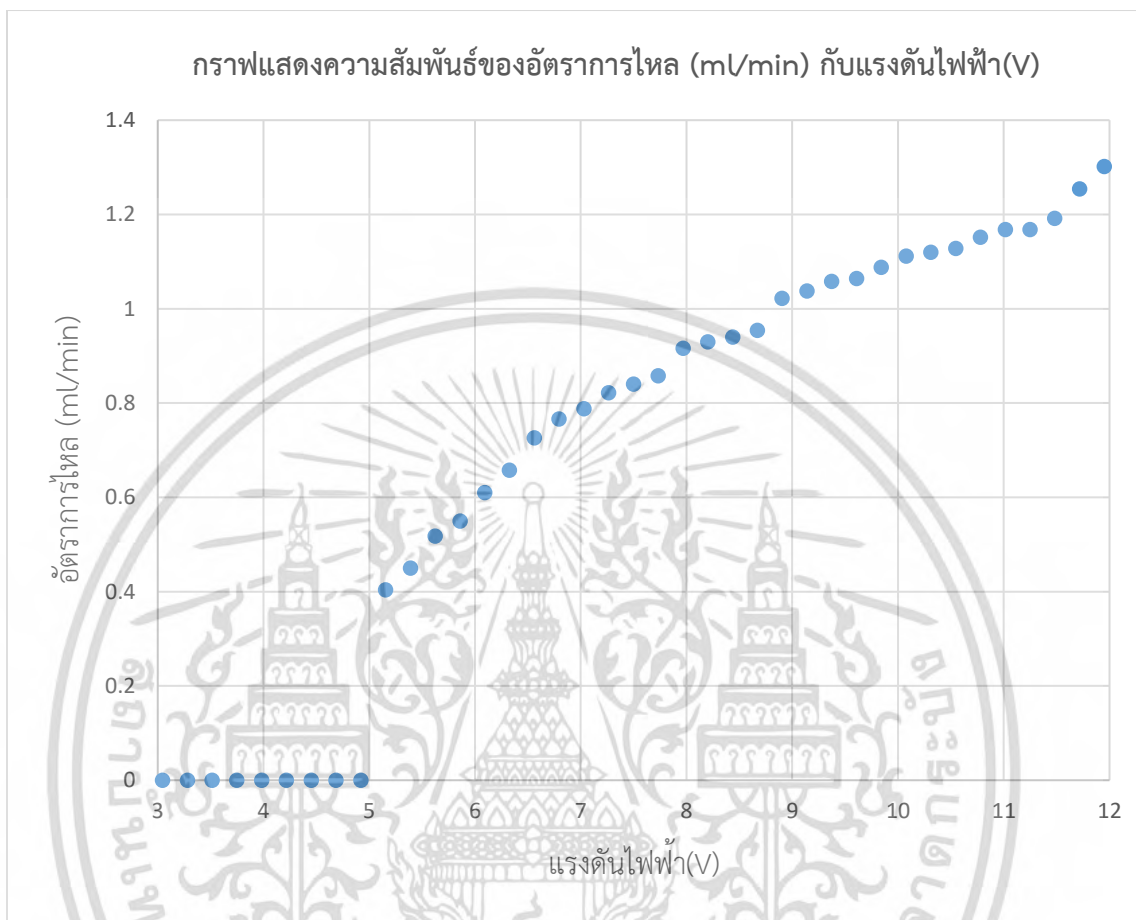
##### 4.1.1. Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm)



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล(ml/min) และแรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC (5000 rpm)

จากรูปที่ 4.1 พบว่ามอเตอร์เริ่มทำงานที่แรงดันไฟฟ้า 7V ให้อัตราการไหลของสารละลาย 19.464 ml/min และที่แรงดันไฟฟ้า 12V ให้อัตราการไหลของสารละลาย 53.172 ml/min ซึ่งไม่ได้อยู่ในช่วงที่ต้องการ และมอเตอร์ไม่สามารถเริ่มหมุนได้ในแรงดันไฟฟ้าที่ต่ำกว่า 7V จึงได้ทำการปรับเปลี่ยนมอเตอร์ให้มีความเร็วรอบที่ต่ำลงและเพิ่มกำลังของมอเตอร์โดยการใช้เกียร์เพื่อทดรอบทำให้มีแรงบิดเพิ่มมากขึ้น

#### 4.1.2. Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor cn16-01901 130 rpm)



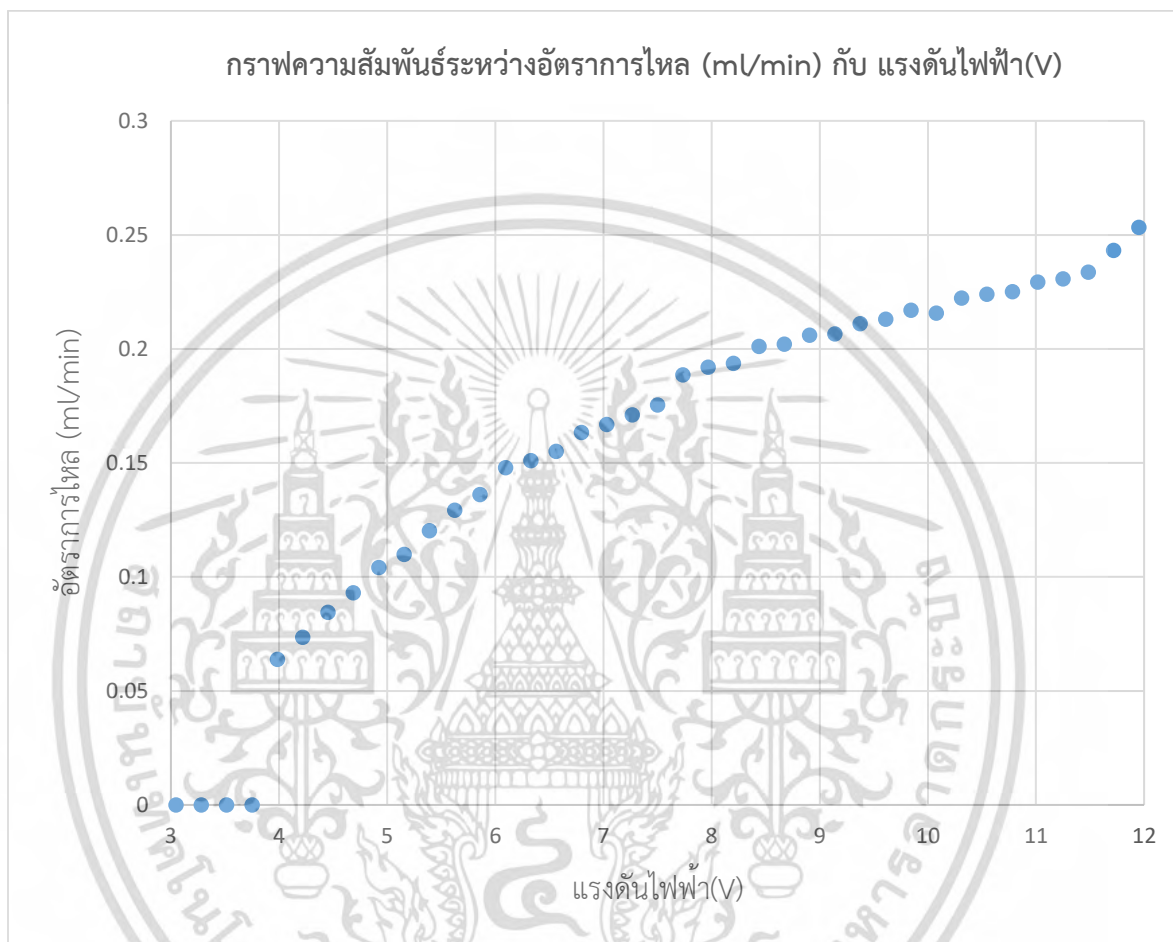
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล(ml/min) และแรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor cn16-01901 130 rpm)

จากรูปที่ 4.2 พบว่ามอเตอร์เริ่มทำงานที่แรงดันไฟฟ้า 5 V และมีอัตราการไหลของสารละลายที่ 404  $\mu\text{L}/\text{min}$  และที่แรงดัน 12 V มีอัตราการไหลของสารละลายที่ 1.302 ml/min โดยระหว่างการทดลองได้พบปัญหาการใช้หัวแปลงแกนจาก 4 มิลลิเมตรเป็น 2 มิลลิเมตร เนื่องจากแกนไม่พอดีกับปั๊มจึงทำให้อัตราการไหลแตกต่างกันออกไป จึงออกแบบหัวแปลงแกนมอเตอร์จาก 4 มิลลิเมตรเป็น 2 มิลลิเมตรใหม่ และทำการเปลี่ยนมอเตอร์เป็นมอเตอร์เกียร์แรงบิดขนาด 1 กิโลกรัม

#### 4.1.3. Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm)

จากรูปที่ 4.3 พบว่ามอเตอร์เริ่มทำงานที่แรงดันไฟฟ้า 4V มีอัตราการไหลของสารละลาย 64  $\mu\text{L}/\text{min}$  และแรงดันไฟฟ้า 12V มีอัตราการไหลของสารละลาย 253  $\mu\text{L}/\text{min}$  โดยระหว่างการทดลองได้

พบปัญหามอเตอร์เคลื่อนที่หนีออกจากปั๊มทำให้อัตราการไหลของสารละลายในแต่ละรอบเปลี่ยนแปลงไปไม่เท่ากัน จึงได้ออกแบบและพัฒนาตัวยึดมอเตอร์ขึ้นมาเพื่อทำการทดลองในตอนต่อไป

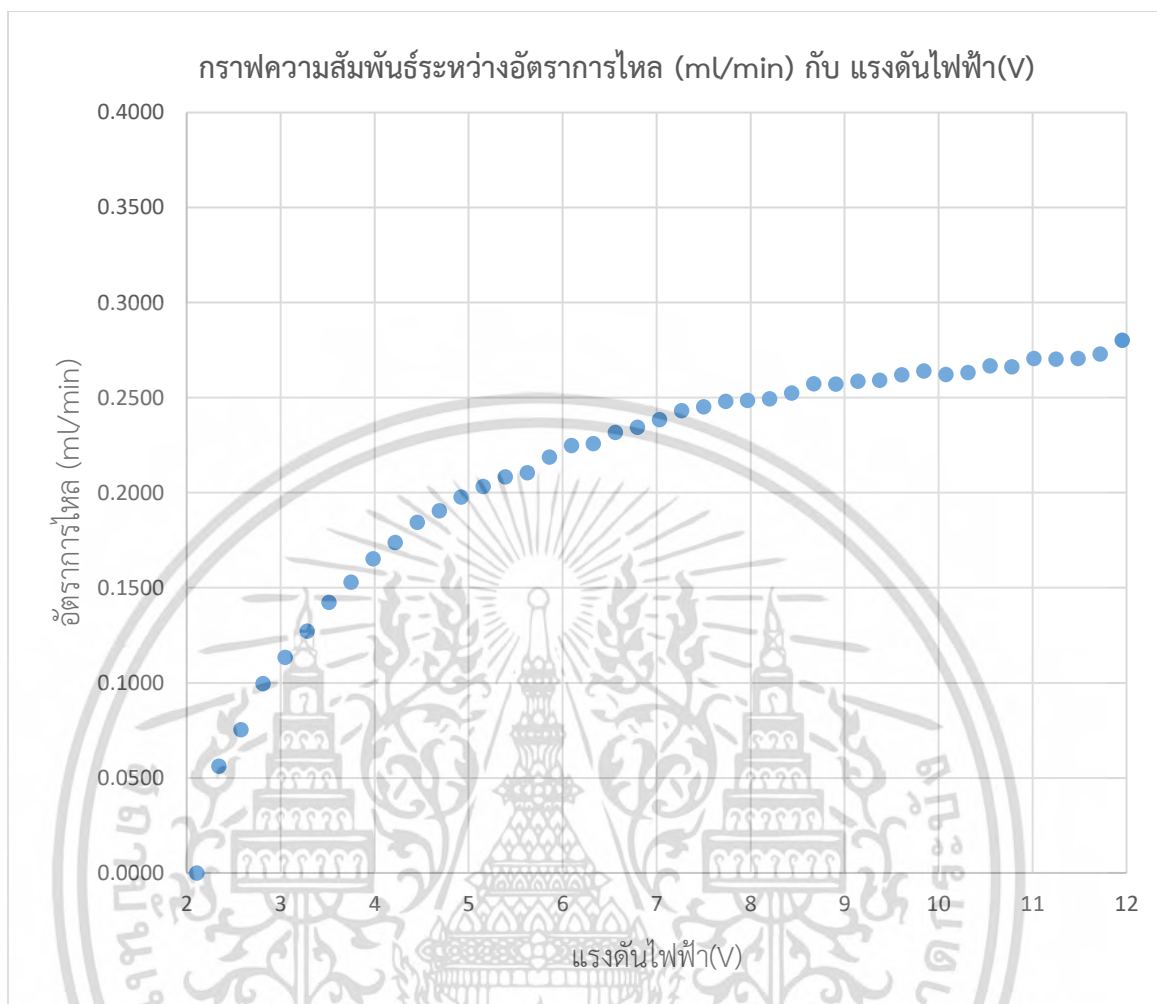


รูปที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล (mL/min) กับ แรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm)

#### 4.1.4. Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm)

จากรูปที่ 4.4 พบว่ามอเตอร์เริ่มทำงานที่แรงดันไฟฟ้า 2.34V มีอัตราการไหลของสารละลาย 56  $\mu\text{L}/\text{min}$  และแรงดันไฟฟ้า 12V มีอัตราการไหลของสารละลาย 280  $\mu\text{L}/\text{min}$  โดยลักษณะของความชันของกราฟไม่ได้เป็นในลักษณะเชิงเส้นตามทฤษฎี จึงตั้งสมมติฐานถึงปัญหาที่เกิดขึ้น อาจเกิดจากข้อผิดพลาดการออกแบบตัวยึดมอเตอร์ ซึ่งทำให้มอเตอร์และปั๊มไม่ได้ยึดกันอย่างสมบูรณ์

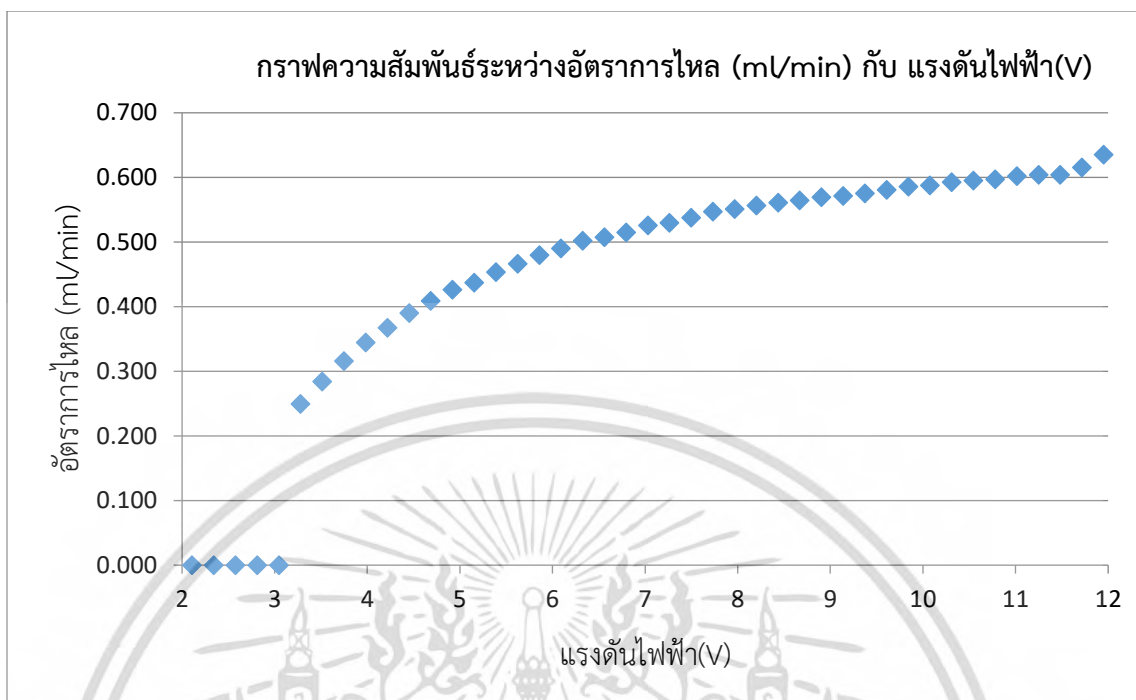
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล(mL/min) กับ แรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 20 rpm)

#### 4.1.5. Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 50 rpm)

ใช้วิธีการทดลองตามการทดลองที่ 3.12 โดยทำการเปลี่ยนเกียร์มอเตอร์เป็น เกียร์มอเตอร์ แรงบิดขนาด 1 กิโลกรัมและมีความเร็ว 50 รอบต่อนาทีโดยประกอบเข้ากับตัวยึดมอเตอร์และใช้กล่องควบคุมอัตราการไหลของ Peristaltic Pump ในการควบคุมการทดลอง ได้ผลการทดลองตามรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล(mL/min) กับ แรงดันไฟฟ้า (V) ของ Peristaltic Pump 12V DC ประกอบเข้ากับฐานยึด (Gear Motor แรงบิด 1 กิโลกรัม 50 rpm)

จากรูปที่ 4.5 พบว่ามอเตอร์เริ่มทำงานที่แรงดันไฟฟ้า 3.28V มีอัตราการไหลของสารละลาย 249  $\mu\text{L}/\text{min}$  และแรงดันไฟฟ้า 12V มีอัตราการไหลของสารละลาย 635  $\mu\text{L}/\text{min}$  พบว่าลักษณะความชันของกราฟมีความคล้ายคลึงกับรูปที่ 4.4 อาจเกิดจากข้อผิดพลาดการออกแบบตัวยึดมอเตอร์ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.12 ซึ่งมีการวางแผนจะแก้ไขต่อไปในอนาคต

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงอัตราการไหลของสารละลายของ Peristaltic Pump

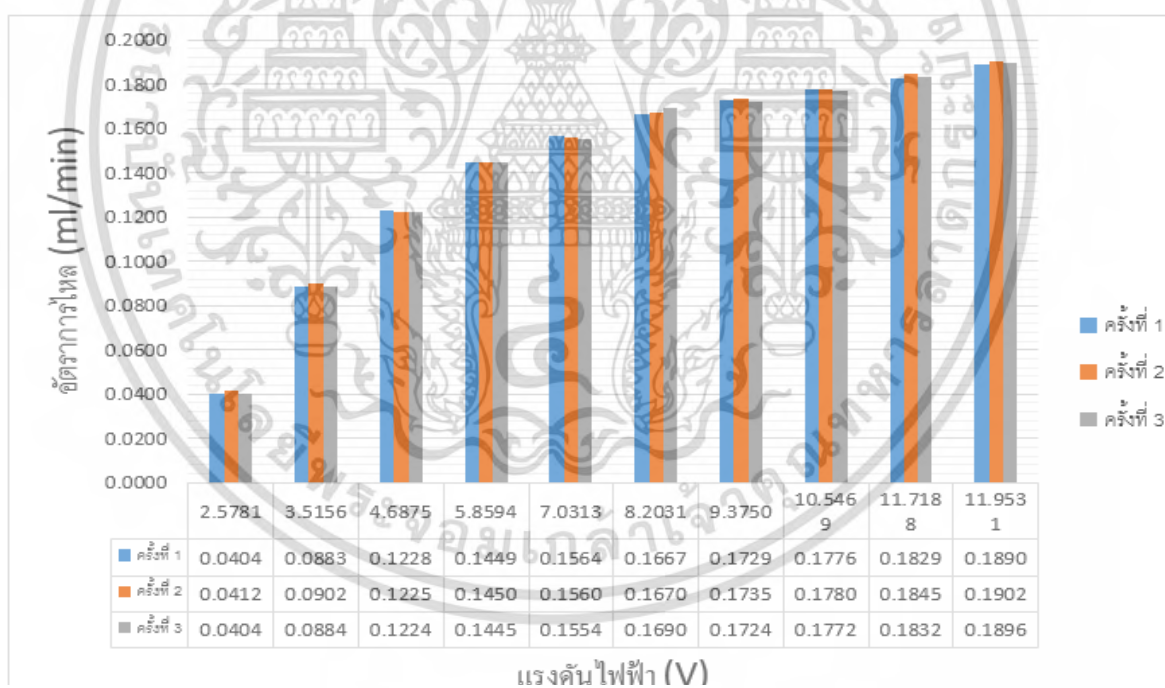
Motor 12 VDC	Flow Rate	Error
Peristaltic Pump 12VDC (5000rpm) (การทดลองที่ 1)	19.464 – 53.172 mL/min	+ - ประมาณ 4 mL/min
Peristaltic Pump 12VDC Gear Motor cn16-01901 (การทดลองที่ 2)	404 – 1,302 $\mu\text{L}/\text{min}$	+ - ประมาณ 150 $\mu\text{L}/\text{min}$
Peristaltic Pump 12VDC Gear Motor แรงบิด 1 Kg 20 rpm (การทดลองที่ 3)	64 – 253 $\mu\text{L}/\text{min}$	+ - ประมาณ 50 $\mu\text{L}/\text{min}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1(ต่อ) ตารางแสดงอัตราการไหลของสารละลายของ Peristaltic Pump

Motor 12 VDC	Flow Rate	Error
Peristaltic Pump 12VDC Gear Motor แรงบิด 1 Kg 20 rpm ประกอบเข้ากับฐานยึด มอเตอร์ (การทดลองที่ 4)	56 – 280 $\mu\text{L}/\text{min}$	+/- ประมาณ 30 $\mu\text{L}/\text{min}$
Peristaltic Pump 12VDC Gear Motor แรงบิด 1 Kg 50 rpm ประกอบเข้ากับฐานยึด มอเตอร์ (การทดลองที่ 5)	249 – 635 $\mu\text{L}/\text{min}$	+/- ประมาณ 30 $\mu\text{L}/\text{min}$

#### 4.1.6. ระบบชุด-จ่ายสารตัวอย่างอัตโนมัติ



รูปที่ 4.6 ภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล( $\mu\text{L}/\text{min}$ ) กับแรงดันไฟฟ้า (V)

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของปั๊มที่สร้างขึ้น โดยเลือกใช้ปั๊ม Peristaltic Pump 12VDC Gear Motor แรงบิด 1 Kg 20 rpm จากความสามารถในการควบคุมอัตราการไหล และความสามารถในการทำซ้ำ โดยทำการเขียนโปรแกรมควบคุมความเร็วในการหมุนของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มอเตอร์เพื่อดูดสารละลายตัวอย่างที่อยู่ในถังบรรจุสารละลายตัวอย่างทางด้านขาเข้าผ่านอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์และนำสารละลายที่ออกจากทางด้านขาออกไปซึ่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาค่าอัตราการไหลที่ค่าของการควบคุมค่าต่าง ๆ ซึ่งแสดงได้รูปที่ 4.6 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปั๊มมีประสิทธิภาพในการควบคุมอัตราการไหลของสารละลายได้ มีค่าความคาดเคลื่อนไม่เกิน 2  $\mu\text{l}$  และพบปัญหาการตีบตันของสายเมื่อไม่ได้ใช้งานเป็นเวลามากหลายสัปดาห์

#### 4.1.7. ถังบรรจุสารตัวอย่าง (Tank)

จากการพัฒนาระบบดูด-จ่ายสารเคมีในส่วนของระบบปั๊มแบบรีดท่อไปแล้วนั้น จึงมีการพัฒนาในส่วนต่อไปคือ ส่วนของถังบรรจุสารตัวอย่าง (Tank) ตลอดจนทดสอบปัญหาต่างๆ และการพัฒนาอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับดักจับพยาธิตัวกลมไมโครฟิลาเรีย เพื่อให้ทุกส่วนสามารถทำงานอย่างสอดคล้องกัน เพื่อจัดสร้างต้นแบบของ ระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครฟิลาเรีย เพื่อนำไปทดสอบในห้องปฏิบัติการของภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

โดยในส่วนแรกได้เริ่มพัฒนาส่วนของถังบรรจุสารตัวอย่าง โดยมีเป้าหมายคือสามารถบรรจุสารตัวอย่างได้อย่างน้อย 200  $\mu\text{l}$  และสามารถนำไปเชื่อมต่อกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ และไม่มีการรั่วไหลของสารตัวอย่างออกมาภายนอก

##### 4.1.7.1. ถังบรรจุสารแบบเดี่ยว (Single Tank)

ทำการออกแบบโดยโปรแกรม Solid work และใช้เทคโนโลยีการพิมพ์สามมิติ (3D Printer) ในการสร้าง โดยการสร้างถังบรรจุสารแบบเดียวนั้นได้แบ่งออกเป็น 2 รูปแบบคือ 1. ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่ไม่สามารถต่อกันได้ (รูปที่ 4.7) 2. ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่สามารถต่อกันได้ (รูปที่ 4.8 )

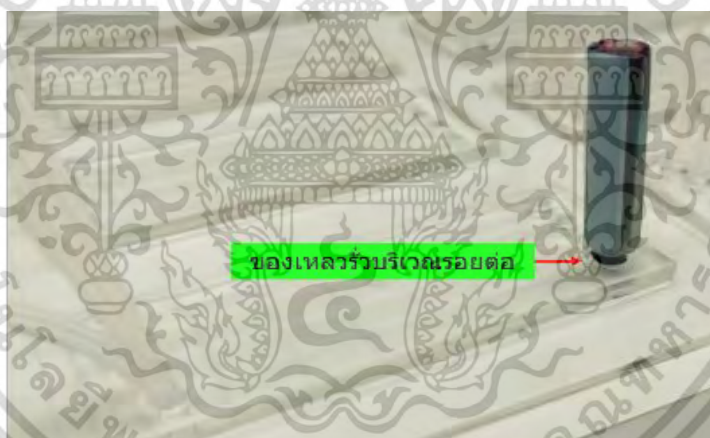


รูปที่ 4.7 ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่ไม่สามารถต่อกันได้

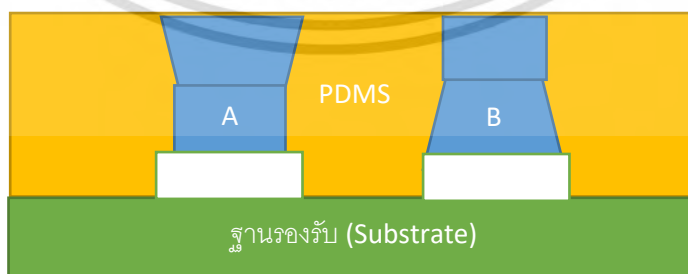


รูปที่ 4.8 ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวที่สามารถต่อกันได้

ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยว (Single Tank) ได้พบปัญหาผนังของถังบรรจุสารที่บางเกินไปทำให้ถังบรรจุตัวอย่างแตกเสียหายได้ง่าย จึงได้ปรับปรุงแก้ไขโดยการเพิ่มความหนาของผนังบรรจุสารตัวอย่าง และจากการนำไปทดสอบต่อเข้ากับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์พบปัญหาการรั่วซึมของสารตัวอย่างบริเวณรอยต่อกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ซีพ (รูปที่ 4.9) จึงได้ปรับเปลี่ยนวิธีการเจาะทางเข้าของสารใหม่ จาก การเจาะทางด้านบน (รูปที่ 4.10A) เปลี่ยนเป็นเจาะจากทางด้านล่างอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์แทน (รูปที่ 4.10B) และเมื่อแก้ปัญหานี้เบื้องต้นได้หมดแล้วจึงนำไปทดสอบความสมบูรณ์ของการทำงานกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์แบบท่อตรง (รูปที่ 4.11) ซึ่งไม่พบการรั่วซึมของสารละลายตัวอย่าง และสามารถส่งสารละลายตัวอย่างเข้าสู่อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ได้ จึงมีการต่อยอดด้วยการนำไปทดสอบกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์แบบมีตัวกรอง (Detection zone) สำหรับดักจับ ชื่อรหัส FD44 ซึ่งเป็นอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ที่ถูกพัฒนาขึ้นสำหรับให้สารละลายผ่านโดยใช้การผลัก (Active pump) เมื่อนำมาทดสอบด้วยระบบดูด - จ่ายสารละลายจึงพบปัญหาการยุบตัวของช่องทางเดินของไหลเนื่องจากการดูดของระบบปั๊มแบบปริดท่อ (Passive pump) จึงได้มีการออกแบบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ขึ้นใหม่เพื่อให้เหมาะสมกับระบบดูด - จ่ายสารเคมีโดยเปลี่ยนอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์เป็นแบบ FnD51 และได้พบปัญหาการอุดตันเนื่องจากเศษซิลิโคนที่ใช้ในการขึ้นรูปสามมิติ (รูปที่ 4.12)

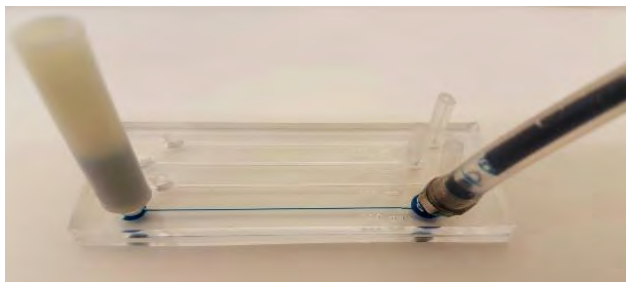


รูปที่ 4.9 การรั่วไหลของสารตัวอย่างบริเวณรอยต่อ



รูปที่ 4.10 ลักษณะการเจาะท่อทางเดินของไหลของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 ถังบรรจุสารตัวอย่างขณะทำการต่อกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์แบบท่อตรง



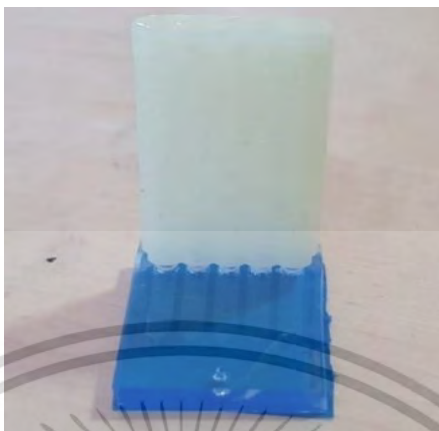
รูปที่ 4.12 การอุดตันของเศษซัพพอร์ตลักษณะเป็นตะกอนสีขาว



รูปที่ 4.13 ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวชนิดต่อกันได้เมื่อเทียบกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ ชนิด FnD51

โดยเมื่อพบปัญหาเศษซัพพอร์ตจึงแก้ปัญหาโดยใช้วิธีการล้างด้วยกระบวนการอัลตราโซนิก แต่พบว่าเมื่อถังบรรจุสารตัวอย่างผ่านกระบวนการอัลตราโซนิก 30 นาทีนั้น ทำให้ถังบรรจุสารตัวอย่างมีลักษณะอ่อนตัวลงจึงนำไปฉายด้วยเครื่องฉายยูวี แต่พบว่าไม่สามารถทำให้ถังบรรจุสารละลายตัวอย่างกลับมาแข็งตัวได้อย่างเดิมและถังบรรจุสารแบบเดี่ยวที่สามารถต่อกันได้ จากการทดสอบพบปัญหาเดียวกันกับถังบรรจุสารแบบเดี่ยวแบบต่อกันไม่ได้ และพบว่ามีความผิดพลาดในการออกแบบ คือไม่ได้คำนวณความหนาและความผิดพลาดจากเครื่องพิมพ์สามมิติจึงทำให้ถังบรรจุสารแบบเดี่ยวชนิดต่อกันได้ไม่สามารถเชื่อมต่อกับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 ดังรูปที่ 4.13

#### 4.1.7.2. ถังบรรจุสารแบบหลายช่องบรรจุ (Multichannel Tank)



รูปที่ 4.14 ถังบรรจุสารตัวอย่างแบบหลายช่องบรรจุเมื่อต่อเข้ากับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิก FnD51

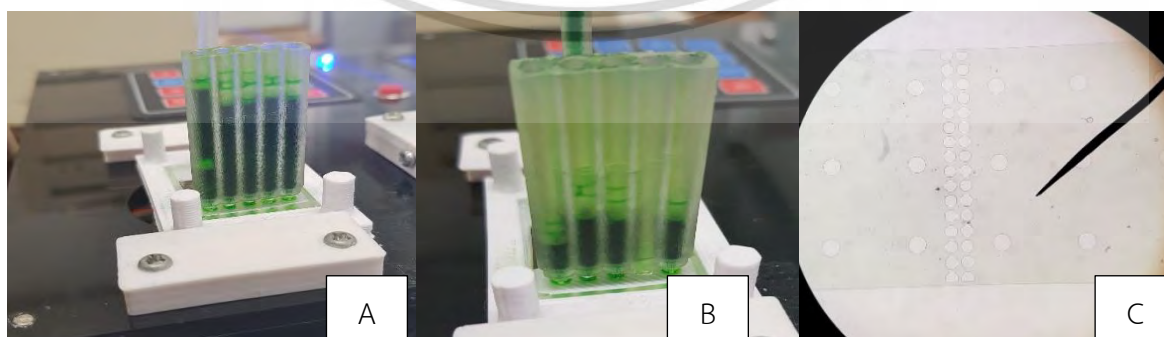
จากปัญหาที่พบในการออกแบบและสร้างถังบรรจุสารแบบเดี่ยวได้นำมาประยุกต์และปรับใช้ในการสร้างถังบรรจุสารตัวอย่างแบบหลายช่องบรรจุ โดยปรับวิธีการสร้างถังบรรจุสารตัวอย่างเป็นการพิมพ์สามมิติแบบ DLP ช่วยแก้ปัญหาเศษซัพพอร์ตที่เข้าไปติดในบริเวณดักจับ (Detection zone) และแก้ปัญหาจากถังบรรจุสารตัวอย่างแบบเดี่ยวชนิดต่อกันได้ โดยการออกแบบใหม่ให้มีผนังติดกันทั้งหมด เพื่อลดความสูงของถังบรรจุสารลงแต่คงปริมาตรที่ 200  $\mu\text{l}$  ไว้ และเมื่อต่อเข้ากับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 จะมีลักษณะดังรูปที่ 4.14

### 4.2. การทดสอบต้นแบบในระดับห้องปฏิบัติการ ณ โรงพยาบาลศิริราช

#### 4.2.1. การผสมไมโครฟิลาเรียลงในตัวอย่างเลือด

##### 4.2.1.1. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วยสารละลายสุตรสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์

ใช้ปริมาตรสารละลายทั้งหมด 165  $\mu\text{l}$  โดยใส่พยาธิตัวกลมไมโครฟิลาเรียลงไปในการทดสอบพบว่าสารละลายไม่หมดถึงพร้อมกันและพบว่าไม่สามารถดักจับตัวพยาธิไมโครฟิลาเรียไว้ภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ได้ (รูปที่ 4.15C)

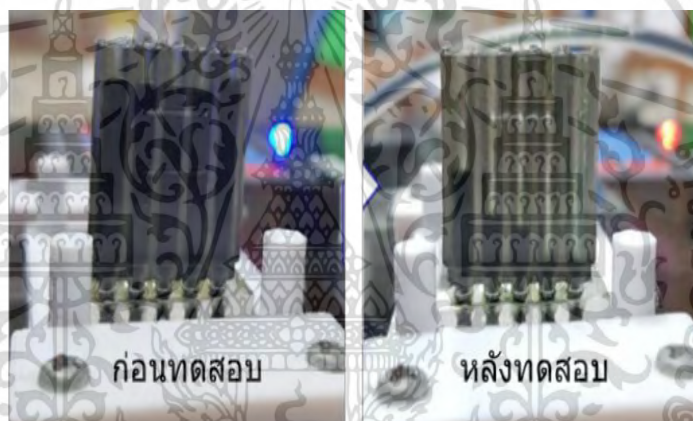


รูปที่ 4.15 ภาพการทดสอบต้นแบบด้วยสารละลายสุตรสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์

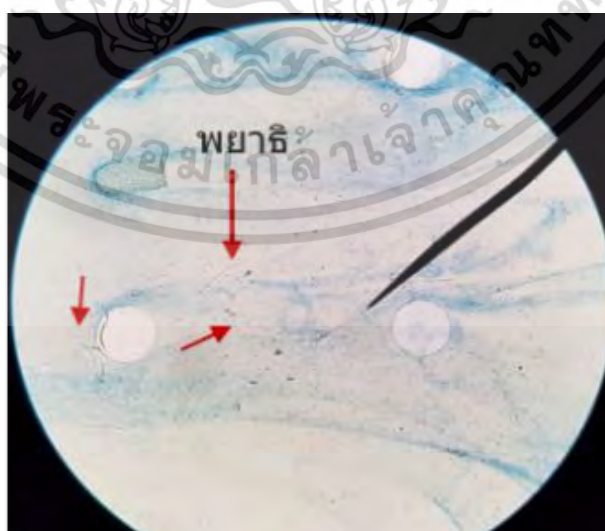
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2.1.2. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วยสารละลายสูตรสลายเม็ดเลือดแบบไม่สมบูรณ์

ใช้ปริมาตรสารละลายทั้งหมด 165  $\mu\text{l}$  โดยใส่พยาธิตัวกลมไมโครพลาเรียลงไปในเลือด พบว่าเมื่อปั๊มทำงานได้ประมาณ 20 นาที ปริมาตรสารหมดไปประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 35 นาที พบว่าปริมาตรสารลดลงไปประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการไหลลดลงอย่างเห็นได้ชัด และเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 45 นาที พบว่าปริมาตรสารยังคงลดลงแต่น้อยมาก โดยพบปริมาตรสารอยู่ที่ ประมาณ 40 – 50 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรสารเริ่มต้นในบางช่องทางเดินของไหล โดยจากตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าการก่อดตัวของเมมเบรนได้ดี ซึ่งเป็นผลดีต่อความสามารถดักจับพยาธิได้ แต่ปัญหาหนึ่งที่พบคือการเกิดตัวของเมมเบรนไม่สม่ำเสมอในแต่ละช่องทำให้ค่าความต้านทานภายในท่อไม่เป็นไปตามการออกแบบ ซึ่งเป็นเหตุที่ทำให้สารตัวอย่างในแท็งค์หมดไม่พร้อมกัน ดังรูปที่ 4.16 แต่คงประสิทธิภาพในการดักจับพยาธิไว้ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ได้ตามรูปที่ 4.17



รูปที่ 4.16 รูปแสดงผลการทดสอบสารละลายตัวอย่างก่อนและหลังการทดสอบ



รูปที่ 4.17 พยาธิที่ถูกดักจับอยู่ในบริเวณชั้นเมมเบรนภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2. ผลการศึกษาความต้านทานภายใต้สภาวะเลียนแบบที่ใกล้เคียงสภาวะแวดล้อมจริง  
ในช่องทางเดินของไหลในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51

ตารางที่ 4.2 ผลการทดลองความต้านทานระหว่างช่องทางเดินของไหล

แผ่นรอง	สารละลาย ตัวอย่าง	ช่องทางที่ 2 กับ 4		ช่องทางที่ 1 กับ 5	
		เวลาที่สารหมด (นาทีก)	เฉลี่ย (นาทีก)	เวลาที่สารหมด (นาทีก)	เฉลี่ย (นาทีก)
กระจกสไลด์	BSA 4%	ครั้งที่ 1 : 13 ครั้งที่ 2 : 14 ครั้งที่ 3 : 13	13.33	ครั้งที่ 1 : 19 ครั้งที่ 2 : 21 ครั้งที่ 3 : 19	19.66
กระจกสไลด์	BSA 7%	ครั้งที่ 1 : 14 ครั้งที่ 2 : 13 ครั้งที่ 3 : 14	13.66	ครั้งที่ 1 : 18 ครั้งที่ 2 : 20 ครั้งที่ 3 : 20	19.33
กระจกสไลด์	BSA 10%	ครั้งที่ 1 : 13 ครั้งที่ 2 : 14 ครั้งที่ 3 : 14	13.66	ครั้งที่ 1 : 20 ครั้งที่ 2 : 19 ครั้งที่ 3 : 20	19.66
กระจกสไลด์	สลายเม็ดเลือด สมบูรณ์	ครั้งที่ 1 : 33 ครั้งที่ 2 : 31 ครั้งที่ 3 : 32	32.00	ครั้งที่ 1 : 35 ครั้งที่ 2 : 37 ครั้งที่ 3 : 33	35.00
กระจกสไลด์	น้ำDI	ครั้งที่ 1 : 13 ครั้งที่ 2 : 14 ครั้งที่ 3 : 14	13.66	ครั้งที่ 1 : 19 ครั้งที่ 2 : 21 ครั้งที่ 3 : 18	19.33
PDMS	BSA 4%	ครั้งที่ 1 : 20 ครั้งที่ 2 : 20 ครั้งที่ 3 : 22	21.00	ครั้งที่ 1 : 28 ครั้งที่ 2 : 27 ครั้งที่ 3 : 30	27.66
PDMS	BSA 7%	ครั้งที่ 1 : 20 ครั้งที่ 2 : 24 ครั้งที่ 3 : 22	22.00	ครั้งที่ 1 : 27 ครั้งที่ 2 : 26 ครั้งที่ 3 : 32	28.33
PDMS	BSA 10%	ครั้งที่ 1 : 20 ครั้งที่ 2 : 23 ครั้งที่ 3 : 19	21.00	ครั้งที่ 1 : 29 ครั้งที่ 2 : 32 ครั้งที่ 3 : 31	30.66
PDMS	สลายเม็ดเลือด สมบูรณ์	ครั้งที่ 1 : 35 ครั้งที่ 2 : 37 ครั้งที่ 3 : 34	35.33	ครั้งที่ 1 : 39 ครั้งที่ 2 : 40 ครั้งที่ 3 : 36	38
PDMS	น้ำDI	ครั้งที่ 1 : 21 ครั้งที่ 2 : 21 ครั้งที่ 3 : 23	21.66	ครั้งที่ 1 : 28 ครั้งที่ 2 : 25 ครั้งที่ 3 : 30	27.66

จากตารางที่ 2 สามารถเห็นได้อย่างชัดเจนว่า เวลาของสารละลายตัวอย่างที่ไหลผ่านช่องทางเดินของไหลในแต่ละคู่ นั้น ใช้เวลาที่ไม่เท่ากัน จึงสรุปได้ว่า ความต้านทานภายในอุปกรณ์ไมโคร

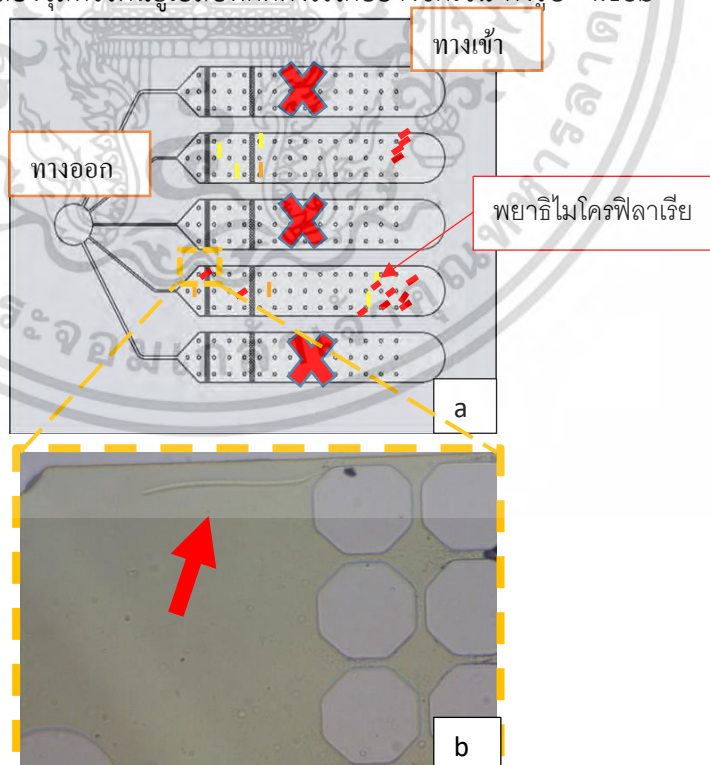
ฟลูอิดิกส์ รหัส FnD51 ไม่สามารถสร้างขึ้นมาให้เป็นไปตามแบบที่ผ่านการคำนวณไว้ได้ จึงทำให้สารละลายตัวอย่างไหลหมดถึงเก็บสารได้ไม่พร้อมกัน โดยสามารถแก้ปัญหาเบื้องต้นได้ด้วยวิธีการเลือกใช้งานช่องทางเดินของไหล เพียงคู่ใดคู่หนึ่งเท่านั้น และยังพบว่าหากแผ่นรองเป็นกระดาษสไลด์ช่วยให้ความต้านทานภายในช่องทางเดินของไหลลดลง

#### 4.2.2.1. การทดสอบประสิทธิภาพระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรียใช้กับอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 แบบ 2 ช่องทางเดินของไหล

การทดสอบประสิทธิภาพของระบบ โดยใช้อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ FnD51 ที่มีการเจาะช่องทางเดินของไหลเพียงช่องที่ 2 กับ 4 เท่านั้น และทำการทดสอบโดยใช้ตัวอย่างเลือดที่มีการผสมไมโครพลาเรีย

##### 4.2.2.1.1. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วยสารละลายสูตรสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์

การทดสอบด้วยสารละลายสูตรสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์ พบว่าสามารถดักจับไมโครพลาเรียได้เพียงบางส่วน ซึ่งส่วนใหญ่จะติดอยู่บริเวณช่องทางเดินของไหลบริเวณทางเข้าส่วนต้นกับบริเวณดักจับละเอียด (รูปที่ 4.18a) โดยมีเปอร์เซ็นต์การดักจับอยู่ประมาณ 5 – 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถสังเกตเห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ยูเอสบีที่ติดตั้งไว้ได้อย่างชัดเจน ดังรูป 4.18b

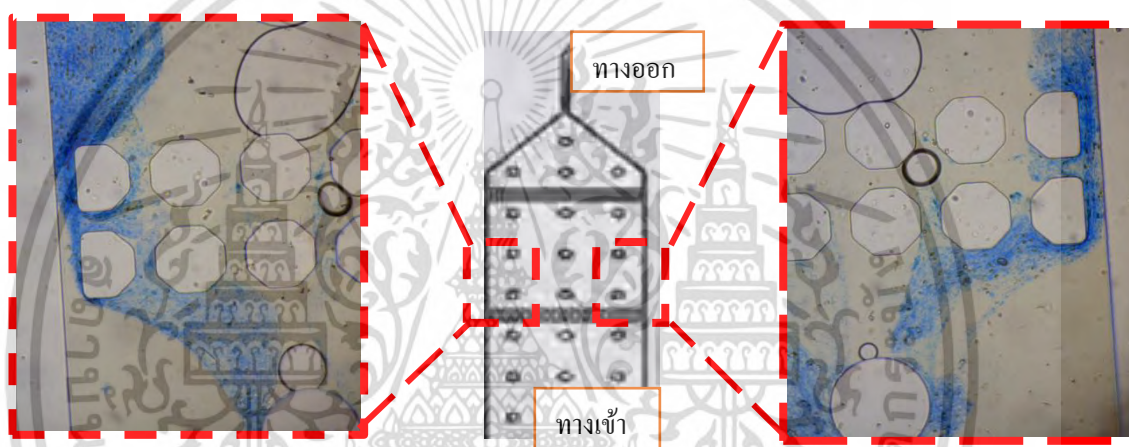


รูปที่ 4.18 รูปตำแหน่งไมโครพลาเรียที่ถูกดักจับได้ในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

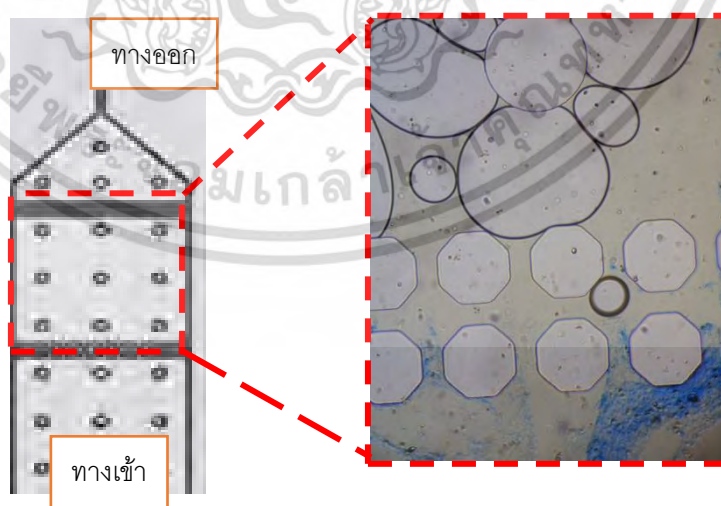
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4.2.1.2. การทดสอบประสิทธิภาพของระบบฯ ด้วยสารละลายสเตรสลายเม็ดเลือดแบบไม่สมบูรณ์

ส่วนการทดสอบด้วยสารละลายสลายเม็ดเลือดไม่สมบูรณ์นั้น ยังคงเจอปัญหาการก่อตัวของเมมเบรนที่ไม่สม่ำเสมอ พบการสะสมของเมมเบรนอยู่บริเวณขอบทั้งด้านซ้ายและขวาดังรูปที่ 4.19 โดยเมมเบรนไม่กระจายตัวเต็มทั้งช่องทางเดินของไหล และเกิดฟองอากาศจำนวนมากหลังบริเวณตำแหน่งดักจับหยาดดังรูปที่ 4.20 ส่งผลต่ออัตราการไหลของสารละลายตัวอย่าง



รูปที่ 4.19 รูปการก่อตัวของเมมเบรนบริเวณด้านข้างของช่องทางเดินของไหล



รูปที่ 4.20 รูปตัวอย่างการเกิดฟองอากาศหลังบริเวณตำแหน่งกรงหยาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ เมื่อมองภาพภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ พบว่าพยาธิไมโครฟีลาเรียจะเข้าไปติดอยู่ในเมมเบรนดังรูปที่ 4.21 และเมื่อนำสารละลายตัวอย่างทางด้านช่องทางออกไปตรวจหาพยาธิไมโครฟีลาเรีย พบว่าไม่มีพยาธิหลุดออกมาจากอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์



รูปที่ 4.21 รูปพยาธิไมโครฟีลาเรียขณะติดอยู่กับเมมเบรนภายในอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

เนื่องจากปัญหาการเกิดเมมเบรนและการเกิดฟองอากาศภายในช่องทางเดินของไหล ทำให้ความต้านทานภายในช่องทางเดินของไหลเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สารละลายไหลไม่หมดถึงบรรจุสารหรือไหลหมดไม่พร้อมกันทั้งสองช่อง จึงอาจจะเกิดการตกค้างของพยาธิไมโครฟีลาเรียอยู่ภายในถังบรรจุสารได้ ส่งผลถึงค่าประสิทธิภาพที่แท้จริงของเงื่อนไขสลายเม็ดเลือดไม่สมบูรณ์

## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัย

### 5.1. สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองเพื่อสร้างต้นแบบระบบกึ่งอัตโนมัติของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์เพื่อใช้สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรียประกอบไปด้วย Peristaltic Pump, กล้องจุลทรรศน์และแหล่งกำเนิดแสง, ถังบรรจุตัวอย่าง, อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ ตลอดจนสูตรสารเคมีเฉพาะและอัตราการไหลที่เหมาะสมเพื่อสร้างชิ้นเมมเบรนสำหรับดักจับพยาธิไมโครพลาเรีย

จากการทดลองระบบ Peristaltic Pump จำนวน 3 คุณสมบัติ 5 สถานะการพบว่า Peristaltic Pump 12VDC Gear Motor แรงบิด 1 Kg 20 rpm ยึดติดกับฐานเหมาะสมสำหรับต้นแบบอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรียเนื่องจากสามารถสร้างอัตราการไหลที่ 40 – 280  $\mu\text{L}/\text{min}$  อยู่ในช่วงเหมาะสมสำหรับการใช้งานของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FnD51

ระบบกล้องจุลทรรศน์ผู้ทำวิจัยเลือกเป็น Dino-line AM-413T5 กำลังขยาย 500 เท่า เนื่องจากสามารถครอบคลุมบริเวณพื้นที่ดักจับของอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FnD51

การผลิตถังบรรจุสารตัวอย่างทางผู้วิจัยพบว่าการใช้ 3D Printer แบบ Resin 3D Printer เหมาะสมกับการสร้างถังบรรจุสารตัวอย่าง เนื่องจากไม่มีการสร้างพื้นที่คอยรับที่ทำให้เกิดการอุดตันภายในตัวอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

การใช้สารละลายชนิดสลายเม็ดเลือดแบบสมบูรณ์นั้น ไม่สามารถดักจับพยาธิไมโครพลาเรียได้ เนื่องจาก วัสดุที่ใช้ผลิตไมโครฟลูอิดิกส์นั้นเป็น PDMS มีลักษณะยืดหยุ่น ซึ่งมีโอกาสที่จะทำให้พยาธิหลุดลอดออกจากแนวดักจับได้ จึงจำเป็นต้องใช้สารละลายชนิดสลายเม็ดเลือดไม่สมบูรณ์เพื่อให้มีการสร้างชิ้นเมมเบรนบางๆ ไว้สำหรับเป็นตัวช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการดักจับได้มาก เนื่องจากเมื่อเอาสลายลายในถังทิ้งของเสียไปส่งใต้กล้องจุลทรรศน์นั้นไม่พบพยาธิในถังทิ้งของเสีย

จากอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับต้นแบบระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์เพื่อใช้สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรีย คืออุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FnD51 เนื่องจากภายในมีการออกแบบให้มีเสาค้ำภายในช่องทางเดินของไหล เหมาะกับการใช้ร่วมกับระบบดูดสารละลายผ่านตัวอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ แต่เนื่องจากข้อจำกัดในด้านวิธีการสร้างและการก่อตัวของเมมเบรนที่ไม่สามารถกำหนดชั้นความหนาได้ทำให้ความตันของช่องทางเดินของไหลไม่เท่ากันจึงจำเป็นต้องปรับเปลี่ยนไปใช้ช่องทางเดินของไหลที่ 2 และ 4 หรือ 1 กับ 5 เท่านั้น เพื่อเพิ่มโอกาสประสบความสำเร็จในการทำงานของตัวระบบ

ส่วนอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ รหัส FD44 นั้นเหมาะกับระบบที่มีการผลัดสารละลายตัวอย่างผ่านตัวอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ ซึ่งไม่เหมาะสมที่จะใช้งานร่วมกับต้นแบบระบบกึ่งอัตโนมัติของไมโครฟลูอิดิกส์เพื่อใช้สำหรับการตรวจหาพยาธิไมโครพลาเรีย

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

การใช้ทิศทางในการผลึกสารผ่านอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ จะลดปัญหาท่อทางเดินของไหลตีบตัน และลดระยะเวลาทำงานของระบบลงได้ และควรใช้อัตราการไหลไม่เกิน 100  $\mu\text{L}/\text{min}$  เนื่องจากแรงดันในท่อจะทำให้พลาสมาหลุดจากโหนดกักจับ ตลอดจนพัฒนาระบบ Image Processing เข้ามาตรวจวิเคราะห์ผลแทนบุคคลากรทางการแพทย์เพื่อลดภาระงานลง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Chandy A., Thakur A. S., Singh M. P. and Manigauha A., “**A review of neglected tropical diseases: filariasis**”. Asian Pacific journal of tropical medicine, 4(7), 581-58. 2011.
- [2] Wongkamchai S., Nochote H., Foongladda S., Dekumyoy P., Thammapalo S., Boitano J. J. and Choochote W., “**A high resolution melting real time PCR for mapping of filaria infection in domestic cats living in brugian filariasis-endemic areas**”. Veterinary parasitology, 201(1), 120-127. 2014.
- [3] Melrose W. D., “**Lymphatic filariasis: new insights into an old disease**”. International journal for parasitology, 32(8), 947-960. 2002.
- [4] Nanduri J. and Kazura J.W., “**Clinical and laboratory aspects of filariasis**”. Clinical microbiology reviews, 2(1), 39-50. 1989.
- [5] Denham D., Dennis D., Ponnudurai T., Nelson G. and Guy F., “**Comparison of a counting chamber and thick smear methods of counting microfilariae**”. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 65(4), 521-526. 1971.
- [6] Desowitz R., Southgate B. and Mataika J., “**Studies on filariasis in the Pacific. 3. Comparative efficacy of the stained blood-film, counting-chamber and membranefiltration techniques for the diagnosis of Wuchereria bancrofti microfilaraemia in untreated patients in areas of low endemicity**”. The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health, 4(3), 329. 1973.
- [7] Huikko K., Kostianen R. and Kotiaho T., “**Introduction to micro-analytical systems: bioanalytical and pharmaceutical applications**”. European journal of pharmaceutical sciences, 20(2), 149-171. 2003.
- [8] Amrit R., Sripumkhai W., Porntheeraphat S., Jeamsaksiri W., Tangchitsomkid N. and Sutapun B. “**Multichannel microfluidic chip for rapid and reliable trapping and imaging plant-parasitic nematodes**”. 2013. Paper presented at the SPIE SeTBio.
- [9] Weibel D. B., DiLuzio W. R. and Whitesides G. M. “**Microfabrication meets microbiology**”. Nature Reviews Microbiology, 5(3), 209-218. 2007.

## เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- [10] World Health Organization. "Global programme to eliminate lymphatic filariasis: progress report on mass drug administration, 2010." *Weekly Epidemiological Record= Relevé épidémiologique hebdomadaire* 86.35 (2011): 377-387.
- [11] Edeson, J. F. B., et al. "Experimental transmission of *Brugia malayi* and *B. pahangi* to man." *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 54.3 (1960): 229-34.
- [12] Poole, Catherine B., and Steven A. Williams. "A rapid DNA assay for the species-specific detection and quantification of *Brugia* in blood samples." *Molecular and biochemical parasitology* 40.1 (1990): 129-136.
- [13] Huikko, Katri, Risto Kostianen, and Tapio Kotiaho. "Introduction to micro-analytical systems: bioanalytical and pharmaceutical applications." *European journal of pharmaceutical sciences* 20.2 (2003): 149-171.
- [14] Su, Wentao, et al. "Microfluidic platform towards point-of-care diagnostics in infectious diseases." *Journal of Chromatography A* 1377 (2015): 13-26.
- [15] Hou, Han Wei, et al. "Deformability based cell margination—a simple microfluidic design for malaria-infected erythrocyte separation." *Lab on a Chip* 10.19 (2010): 2605-2613.
- [16] Kim, Jinho, et al. "A high-efficiency microfluidic device for size-selective trapping and sorting." *Lab on a Chip* 14.14 (2014): 2480-2490.
- [17] Laki, András J., et al. "Integrated microcapillary system for microfluidic parasite analysis." 2013 IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS). IEEE, 2013.
- [18] AJ, L., et al. "Integrated Microcapillary System for Microfluidic Parasite Analysis Fac of Inf Technol & Bionics." Hungary IEEE, Budapest (2013): 118-121.
- [19] Amrit, Ratthasart, et al. "Multichannel microfluidic chip for rapid and reliable trapping and imaging plant-parasitic nematodes." *Sensing Technologies for Biomaterial, Food, and Agriculture 2013*. Vol. 8881. SPIE, 2013.

## เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- [20] Knott, James. "A method for making microfilarial surveys on day blood." Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene 33.2 (1939).
- [21] Melrose, W. D., et al. "An improved Knott's concentration test for the detection of microfilariae." Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 94.2 (2000).
- [22] Harrison, D. Jed, et al. "Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip." Analytical chemistry 64.17 (1992): 1926-1932.
- [23] McPherson, Amy L., and Glenn M. Walker. "A microfluidic passive pumping Coulter counter." Microfluidics and nanofluidics 9 (2010): 897-904.
- [24] Jenkins, Gareth, and Colin D. Mansfield, eds. "Microfluidic diagnostics: methods and protocols". Humana Press, 2013.
- [25] Yager, Paul, et al. "Microfluidic diagnostic technologies for global public health." Nature 442.7101 (2006): 412-418.
- [26] Stanley, Claire E., et al. "Soil-on-a-Chip: microfluidic platforms for environmental organismal studies." Lab on a Chip 16.2 (2016): 228-241.
- [27] Liu, Zongbin, Xin Han, and Lidong Qin. "Recent progress of microfluidics in translational applications." Advanced healthcare materials 5.8 (2016): 871-888.
- [28] Gao, Dongli, et al. "Microfluidic chip and isothermal amplification technologies for the detection of pathogenic nucleic acid." Journal of Biological Engineering 16.1 (2022): 33.
- [29] Gascoyne, Peter, Jutamaad Satayavivad, and Mathuros Ruchirawat. "Microfluidic approaches to malaria detection." Acta tropica 89.3 (2004): 357-369.
- [30] Warkiani, Majid Ebrahimi, et al. "Malaria detection using inertial microfluidics." Lab on a Chip 15.4 (2015): 1101-1109.
- [31] Horning, Matthew P., et al. "A paper microfluidic cartridge for automated staining of malaria parasites with an optically transparent microscopy window." Lab on a chip 14.12 (2014): 2040-2046.
- [32] Nguyen, John, et al. "On-chip sample preparation for complete blood count from raw blood." Lab on a Chip 15.6 (2015): 1533-1544.
- [33] Yeo, Leslie Y., et al. "Microfluidic devices for bioapplications." small 7.1 (2011): 12-48.

## เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- [34] Sajid, Muhammad, Abdel-Nasser Kawde, and Muhammad Daud. "Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review." *Journal of Saudi Chemical Society* 19.6 (2015): 689-705.
- [35] Partono, F., and K. N. Idris. "Some factors influencing the loss of microfilariae from stained thick blood films." *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 8.2 (1977): 158-164.
- [36] Phantana, Sirichai, et al. "Microfilaricidal efficacy of ivermectin on zoonotic *Brugia malayi* in naturally infected cats." *J Trop Med Parasitol* 25.25 (2002): 11-16.
- [37] Asawakarn, Sariya, et al. "Application of a novel rectangular filtering microfluidic device for microfilarial detection." *Frontiers in Veterinary Science* 9 (2022).



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลงานทางวิชาการของงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่

- [1] Tongkliang, Pukarin, et al. "Semi-automated System Microfluidic Machine for Microfilarial Detection." Proceedings of the International MultiConference of Engineers and Computer Scientists. Vol. 2. 2018.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Lecture Notes in Engineering and Computer Science**

**IMECS 2018**

International MultiConference of  
**Engineers and Computer  
 Scientists 2018**

Volume II

**Hong Kong  
 14-16 March, 2018**

S. I. Ao  
 Oscar Castillo  
 Craig Douglas  
 David Dagan Feng  
 A. M. Korsunsky (Eds.)

**IA ENG**

International Association of Engineers

ISBN: 978-988-14048-8-6

ISSN: 2078-0958

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# Semi – automated System Microfluidic Machine for Microfilarial Detection

Pukarin Tongkliang, Witsaroot Sripumkhai, Pattaraluck Pattamang, Wutthinan Jamsaksiri, Nuttapon Patcharasardtra, Achinya Phuakrod, Sirichit Wongkamchai, Narin Atiwongsangthong, Member, IAENG

**Abstract** — Lymphatic filariasis, the disease caused by filarial nematodes consists of *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* and *Brugia timori* and transmitted by mosquitoes. The distributions of the disease are Thailand-Myanmar border and southern Thailand. The gold standard technique for filarial detection is thick blood smear staining technique, which has low efficiency and time-consuming. Recently, microfluidic based devices design strategies for pathogen detection. Microfluidic technique offers many advantages for pathogen detection such as miniaturization, small sample volume, portability, shorten the detection time and point-of-care diagnosis. In this study, we develop a semi-automated microfluidic system to detect microfilariae of filarial parasites. The system contains a peristaltic pump with multichannel tank for sample loading and multichannel microfluidic chip. For the semi-automated microfluidic system testing, microfilariae were detected in the microfluidic chip. In conclusion, semi-automated microfluidic system provides a simple, rapid and convenient diagnostic device for microfilariae detection.

**Index Terms** — microfluidic device, lymphatic filariasis, microfilariae, peristaltic pump

## I. INTRODUCTION

Lymphatic filariasis (LF) is one of the neglected tropical diseases which is the second leading cause of permanent and long term disability worldwide [1]. The human filarial infection is caused by the filarial nematode parasites i.e. *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, and *B. timori* [2]. More than 90% of the infections are infected with *W. bancrofti* that can be found in the tropical and in some sub-tropical areas. *B. malayi* is mostly found in Southeast and Eastern Asia and *B. timori* is found only in Timor and its nearby islands [3].

Understanding of several aspects of filariasis has led to an improved means of controlling the infection. A specific and sensitive assay for case diagnosis would permit accurately

longitudinal assessment of the impact of the control, vector eradication, chemotherapy and vaccine program [4].

A thick blood smear staining method is a conventional method which is still being use. The detection limit of this method is between 1.5-2.5 Mf/ml blood or  $> 1$  Mf/slide. It may cause false negative in an infected person with low densities of microfilariae or after the success of GPELF. Moreover, a loss of 10 to 50% of microfilariae during the staining process [4]-[6].

Recently, microfluidic based devices and lab-on-chip (LOC) design strategies for pathogen detection with the main focus on the integration of different techniques that led to the development of sample-to-result devices have been developed [7]. Microfluidic lab-on-a-chip (LOC) devices offer many advantages for pathogen detection such as miniaturization, small sample volume, portability, shorten the detection time and point-of-care diagnosis.

In Thailand, Amrit and colleagues developed a faster and reliable testing technique to count and identify nematode species resided in plant roots. This work proposes utilizing a multichannel microfluidic chip with an integrated flow-through microfilter to retain the nematodes in a trapping chamber [3]. From this proposed microfluidic chip technology for the plant parasitic nematode. It can apply to develop the diagnosis tool for the infection of human parasites.

Filarial infections are among many diseases that pose particular problems in diagnostic aspect, thus, it could potentially benefit from the introduction of such microfluidic based diagnostic methods. Thus, the objective of the present study is to develop a semi-automated microfluidic system to enable an efficient diagnosis of the filarial infection in both human and reservoir hosts.

This semi-automated microfluidic system as an alternative method for effective diagnosis of filarial infection. It provides a simple, rapid and convenient diagnostic device for microfilariae detection. Moreover, this diagnosis device may helpful for management of the disease, both at the level of individual patient care and at the level of disease control in populations.

## II. EXPERIMENT

### A. The fabrication of sample-loaded tank and chip socket

The sample-loaded tank was designed by using engineering drawing program and constructed by Digital Light Processing technique (DLP). In brief, the designed tank was cast with 50 microns per layer and cure time for 4.5 sec. After that, rinsed with isopropylalcohol (IPA) and

Manuscript received January 29, 2018; revised February 22, 2018. (Write the date on which you submitted your paper for review.) This work was supported in part by Thai Microelectronic Center, National Electronics and Computer Technology Center and Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University.

P. Tongkliang is with Department of Electronics Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand (corresponding e-mail: pukarin.tong@gmail.com)

W. Sripumkhai is with Thai Microelectronic Center, National Electronics and Computer Technology Center, 112 Thailand Science Park, Pahol Yothin Rd., Klong Luang, Pathumthani 12120, Thailand. (corresponding e-mail: Witsaroot.Sripumkhai@nectec.or.th)

N. Atiwongsangthong is with Department of Electronics Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok Thailand ; e-mail: narin.at@kmitl.ac.th

ISBN: 978-988-14048-8-6  
ISSN: 2078-0958 (Print); ISSN: 2078-0966 (Online)

IMECS 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

brought to cure with UV for 2 hours. And then, the support was removed from the sample-loaded tank.

For the fabrication of chip socket, a filament plastic was injected to form a socket by using Fused Deposition Modeling (FDM 3D Printer). This chip socket was designed to proper with the microfluidic chip and to provide the microscope USB for parasite detection. The model of sample-loaded tank and chip socket was shown in Fig. 1.

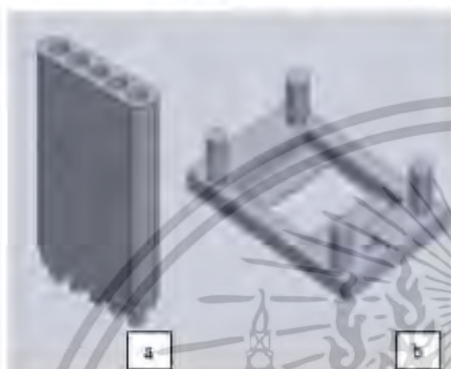


Fig. 1. Model of sample-loaded tank (a) and model of chip socket (b)

#### B. The fabrication of multichannel microfluidic chip

The five-channeled microfluidic chip was adapted from the previous study [9]. In brief, the microfluidic chip was fabricated from polydimethylsiloxane (PDMS) with patterned Photoresist on Si wafer [9]. The pattern features were created on a silicon wafer through PL and DRIE processes. The resulting Si master is a molding template for casting PDMS. A 10:1 mixture of PDMS prepolymer and curing agent was cast with the silicon master and cured the polymer at 75 °C for 2 h, then removed the PDMS replica from the master mold and cut to the required shape using a sharp cutter. Inlet and outlet parts are done by punching holes through the PDMS chip using the desired hold puncher. The PDMS replica is sealed to a PDMS substrate after interface bonding with oxygen plasma process. For this microfluidic chip, five samples can be run simultaneously. The model of semi-automated microfluidic machine was shown in Fig. 2.

#### C. The construction of semi-automated microfluidic machine

The semi-automated microfluidic machine was constructed with two important parts consist of sample injection part by the peristaltic pump which connected to multichannel microfluidic chip and parasite detection part by microscope USB. The machine can adjust the flow rate for sample injection and alarm when the process is complete.



Fig. 2 Model of semi-automated microfluidic machine

#### D. Testing of semi-automated microfluidic system

For testing of a semi-automated microfluidic system EDTA blood was washed with blood cell lysis buffers and then loaded into the multichannel tank. Turn on the peristaltic pump, each sample was then introduced into the microfluidic device. The microfilariae were trapped in the microfluidic chip while the remaining solution flew out of the microfluidic chip via the outlet port, into the waste tube. Then the trapped microfilariae were inspected by using USB microscope.

### III. RESULTS AND DISCUSSION

#### A. The fabrication of sample-loaded tank and chip socket

The multichannel sample-loaded tank contains 5 channels. Each channel can load 100 µl maximum volume of sample. The tank can fixable connected with a multichannel microfluidic chip.

The chip socket was used as a state to place the microfluidic chip which fits the area with Microscope USB for the result inspection. The multichannel sample-loaded tank and chip socket was shown in Fig. 3.



Fig. 3. The multichannel sample-loaded tank (a) and chip socket (b)

#### B. The fabrication of multichannel microfluidic chip

The multichannel microfluidic chip contains 5 channels which have 5 inlets and 1 outlet. The multichannel microfluidic chip size is 3.2 cm x 3.2 cm and can be properly connected to the multichannel sample-loaded tank. The multichannel microfluidic chip was shown in Fig. 4.



Fig. 4. Multichannel microfluidic chip

#### C. The construction of semi-automated microfluidic machine

The semi-automated microfluidic machine size is 21 x 16 x 21 cm. This machine has two important parts consist of sample injection part by the peristaltic pump which connected to the multichannel microfluidic chip and parasite detection part by microscope USB. The AC 220V power supply was applied to control the flow rate. The semi-automated microfluidic machines has a keypad and display which easy to use for time adjustment and machine control. The Semi-automate microfluidic machines was shown in Fig. 5.



Fig. 5. Prototype of semi-automated microfluidic machine

#### D. Testing of semi-automated microfluidic system

A semi-automated microfluidic system was developed for parasite detection. Up to five samples with a volume of 150  $\mu$ l were delivered to the microfluidic chip in parallel using peristaltic pump. Each channel of microfluidic chip contains the microfilter which use for trapping microfilariae in the desired area whereas the other can flow throughout. For the detection, the trapped microfilariae were inspected by microscope USB.

For the semi-automated microfluidic system testing, the microfluidic system was able to detect microfilariae. These microfilariae were clearly detectable under microscope USB.

For further development, the image processing system will develop to helpful for result analysis. This image processing system can detect the trapped microfilariae and automated analyze the result without a trained technician.

The testing of semi-automate microfluidic machines were shown in Fig. 6.



Fig. 6. The trapped Microfilaria in the microfluidic chip

#### IV. CONCLUSION

The semi-automated microfluidic system was developed with two important parts consist of sample injection part by the peristaltic pump which connected to five- multichannel microfluidic chip and parasite detection part by microscope USB. For the system testing the microfilariae can be trapped in the microfluidic chip and clearly detectable under microscope USB.

Thus, the semi-automated microfluidic system provides a simple, rapid and convenient diagnostic device for microfilariae detection.

#### ACKNOWLEDGMENT

We would like to thank for all staffs of Thai Microelectronic Center (IMEC), National Electronics and Computer Technology Center (NSTDA), Mr. Jiramer Intasom and staffs of Department of Electronics Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang and all staffs of Department of Parasitology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University for their assistance. This work was supported by Thailand Graduate Institute of Science and Technology (TGIST), National Science and Technology Development Agency, Ministry of Science and Technology, Thailand [grant number TG-44-22-60-074M].

## REFERENCES

- [1] Chandy A., Thakur A. S., Singh M. P. and Maniganda A., "A review of neglected tropical diseases: filariasis". *Asian Pacific Journal of tropical medicine*. 4(7), 581-58. 2011.
- [2] Wongkamchai S., Nuchote H., Foongladda S., Dekunvyoy P., Thammapala S., Boitano J. I. and Choochote W., "A high resolution melting real time PCR for mapping of filaria infection in domestic cats living in brugian filariasis-endemic areas". *Veterinary parasitology*. 201(1), 120-127. 2014.
- [3] Mahrose W. D., "Lymphatic filariasis: new insights into an old disease". *International journal for parasitology*. 32(8), 947-960. 2002.
- [4] Nasduri I. and Kazura T.W., "Clinical and laboratory aspects of filariasis". *Clinical microbiology reviews*. 2(1), 39-50. 1989.
- [5] Denham D., Dennis D., Pramudawati T., Nelson G. and Guy F., "Comparison of a counting chamber and thick smear methods of counting microfilariae". *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 63(4), 521-526. 1971.
- [6] Desowitz R., Southgate B. and Matalaka J., "Studies on filariasis in the Pacific. I. Comparative efficacy of the stained blood-film, counting-chamber and membrane-filtration techniques for the diagnosis of *Wuchereria bancrofti* microfilaraemia in untreated patients in areas of low endemicity". *The Southeast Asian Journal of tropical medicine and public health*. 4(3), 329. 1973.
- [7] Huikko K., Kotiamen P. and Kotiaho T., "Introduction to micro-analytical systems: bioanalytical and pharmaceutical applications". *European journal of pharmaceutical sciences*. 20(2), 149-171. 2003.
- [8] Amrit E., Sripunkhai W., Porntheeraphat S., Jeamsakorn W., Tangchitsomkid N. and Sutapun B., "Multichannel microfluidic chip for rapid and reliable trapping and imaging plant-parasitic nematodes". 2015 Paper presented at the SPIE SoTEBio.
- [9] Weibel D. B., DiLuzio W. R. and Whittierides G. M. "Microfabrication meets microbiology". *Nature Reviews Microbiology*. 5(3), 209-218. 2007.



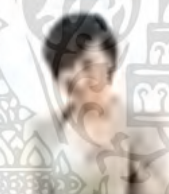
**Pularin Tongkiang** received B.Sc. degree in Applied Physics Science from King Mongkut's institute of technology Ladkrabang, Thailand.

Currently, is the Postgraduate Student at the Microelectronics Engineering Department of Electronics Engineering Faculty of Engineering of King Mongkut's institute of technology Ladkrabang, Thailand. His research focuses on Microfabrication and application of microfluidic chip.



**Witaroot Sripunkhai** received the M.S. degrees in science and nanotechnology from College of Nanotechnology, KMUTL, Thailand.

He is currently working as a Assistant Researcher at Thai Microelectronics Center, Thailand. His interests are microfabrication, microfluidic device, and MEMS.



**Pattaraluck Pattamang** received the M.S. degrees in science and nanotechnology from College of Nanotechnology, KMUTL, Thailand.

She is currently working as a Assistant Researcher at Thai Microelectronics Center, Thailand. Her interests are microfabrication and microfluidic device.



**Narin Athiwongsaengthong** received the B.Sc degree in Material Science from Chiangmai University, Thailand and M.Eng and D.Eng degree in Electrical Engineering from King Mongkut's institute of technology Ladkrabang, Thailand.

Currently, is the Lecturer in Department of Electronics Engineering Faculty of Engineering of King Mongkut's institute of technology Ladkrabang, Thailand. His research interest nanomaterial and thin film technology.

2 WANGLANG RD. BANGKOKNOI  
BANGKOK 10710



Tel. +66 2419 2607-12  
Fax. +66 2419 2162

Siriraj Institutional Review Board

Certificate of Approval

COA no. SI129/2016

Protocol Title : Development of a microfluidic system for lymphatic filarial parasites detection

Protocol number : 142Q558(EC4)

Principal Investigator/Affiliation: Assoc. Prof. Siricha Wongwantha, Ph.D. / Department of Parasitology  
Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

Research site : Faculty of Medicine Siriraj Hospital

Approval includes :

1. SIRB Submission Form
2. Certificate of approval

Approval date : February 24, 2016

Expired date : February 23, 2017

This is to certify that Siriraj Institutional Review Board is in full compliance with international guidelines for human research protection such as the Declaration of Helsinki, the Belmont Report, CIOMS Guidelines and the International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

  
 (Prof. Chairat Shaykhal, M.D.)  
 Chairperson

1 MAR 2016  
date

  
 (Prof. Dr. Prasit Watanaga, M.D., Ph.D.)  
 Dean of Faculty of Medicine Siriraj Hospital

- 1 MAR 2015  
date

Page 1/1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



2 WANG LANG ROAD  
BANGKOKNOI  
BANGKOK 10700  
THAILAND

Tel. (662) 419-5436  
FAX (662) 418-3387

## Siriraj Animal Care and Use Committee (SiACUC)

### Certificate of Approval

COA No. 011/2559

**Protocol Title :** Development of a microfluidic system for lymphatic filarial parasites detection

**SIACUP No. :** SI-ACUP-005/2559

**Principal Investigator / Affiliation :** Associate Professor Dr. Sirichit Wongkamchai /  
Department of Parasitology  
Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

**Research site :** Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

1. ANIMAL CARE AND USE PROTOCOL No. 005/2559

2. ....

3. ....

**Approval date :** July 15, 2016

**Expired date :** July 14, 2017

This is to certify that Siriraj Animal Care and Use Committee is in full Compliance with International Guidelines for Animal Research Protection such as International Guiding Principles for Biochemical Research Involving Animals.

*(Signature)*  
.....  
(Assoc. Prof. Somruadee Chatsiricharekul, M.D.)

Chairman

*(Signature)*  
2 Aug 2016  
.....  
Date

*(Signature)*  
.....

(Prof. Dr. Prasit Watanapa, M.D.)

Dean of Faculty of Medicine Siriraj Hospital

4 Aug 2016  
.....  
Date

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นายภูครินทร์ ทองเกลี้ยง  
 วัน เดือน ปีเกิด 12 กันยายน 2535  
 ที่อยู่ 8/46 หมู่ 6 ตำบลหอมเกร็ด อำเภอสามพราณ จังหวัดนครปฐม  
 73110  
 ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2558 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาฟิสิกส์ประยุกต์ สถาบัน  
 เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
 ความชำนาญเฉพาะด้าน 1.อุปกรณ์เครื่องมือแพทย์สำหรับใช้งานภายในโรงพยาบาล  
 2.อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์

ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

- [1] Tongkliang, Pukarin, et al. "Semi-automated System Microfluidic Machine for Microfilarial Detection." Proceedings of the International MultiConference of Engineers and Computer Scientists. Vol. 2. 2018.