

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
คำอุทิศ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญภาพ	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ท
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตและข้อจำกัดของการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ข้อมูลทั่วไป	4
2.2 รูปร่างลักษณะและวงจรชีวิตของพยาธิตัวจิ๊ด	5
2.3 ระบาดวิทยา และการติดต่อ	11
2.4 การเกิดพยาธิสภาพ และพยาธิวิทยา	13
2.5 อาการ และอาการแสดง	14
2.6 การวินิจฉัย	16
2.7 การจำแนกชนิดแอนติเจนที่สกัดจากพยาธิตัวจิ๊ด	20
2.8 แอนติเจนที่สกัดจากหนอนพยาธิตัวจิ๊ด	21
2.9 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้านแอนติบอดีต่อแอนติเจนของพยาธิตัวจิ๊ด	23
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	
3.1 สัตว์ทดลอง	24
3.2 การเตรียมพยาธิตัวจิ๊ด <i>G. spinigerum</i> ตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นแก้วหน้า	24
3.3 การสกัดแอนติเจน จากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นแก้วหน้า, ตัวแก่เพศผู้และเมีย	25

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 การแยกชนิดแอนติเจน โดยวิธี two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-PAGE)	25
3.5 Western blot analysis	35
3.6 การจำแนกชนิดแอนติเจนของพยาธิตัวจิ๊ด โดยวิธี one dimensional polyacrylamide gel electrophoresis	36
3.7 ตัวอย่างซีรัม	37
3.8 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล	37
บทที่ 4 ผลการศึกษาวิจัย	
4.1 การจำแนกชนิดแอนติเจนที่สกัดจากพยาธิตัวจิ๊ด โดยวิธี two dimensional gel electrophoresis	39
4.2 การทำปฏิกิริยาของแอนติเจนกับซีรัมของผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด	39
4.3 การทำปฏิกิริยาของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้นหน้าของพยาธิตัวจิ๊ดกับซีรัมผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกคล้ายโรคพยาธิตัวจิ๊ด	42
4.4 การทำปฏิกิริยาของแอนติเจนที่สกัดจากพยาธิตัวจิ๊ดกับผู้ป่วยโรคพยาธิชนิดอื่น	53
4.5 การทำปฏิกิริยาของแอนติเจนจากพยาธิตัวจิ๊ดกับซีรัมรวมของคนปกติ	53
4.6 การจำแนกชนิดของแอนติเจนที่สกัดจากพยาธิตัวจิ๊ด โดยวิธี one dimensional gel electrophoresis	58
บทที่ 5 การอภิปรายผลและสรุปการวิจัย	
5.1 การจำแนกชนิดแอนติเจนจากพยาธิตัวจิ๊ด	66
5.2 การศึกษาเปรียบเทียบโปรตีนที่สกัดจากพยาธิตัวจิ๊ด	68
5.3 สรุปผลการศึกษาวิจัย	68
เอกสารอ้างอิง	70
ภาคผนวก	78
ประวัติผู้เขียน	89

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงค่าน้ำหนักโมเลกุลและpIของแถบหรือจุดโปรตีนที่อยู่ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 20-30 kD ของ 2D-PAGE gel ของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าน้ำของพยาธิตัวจิ๊ด	41
ตารางที่ 2 แสดงค่าน้ำหนักโมเลกุลและpIของแถบหรือจุดโปรตีนที่อยู่ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 20-30 kD ของ 2D-PAGE gel ของแอนติเจนที่สกัดจากตัวแก่เพศผู้ตัวแก่เพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด	44
ตารางที่ 3 ค่าน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ของแถบหรือจุดโปรตีนที่อยู่ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 20-30 kD บนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนมาจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าน้ำของพยาธิตัวจิ๊ด ที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด 6 ราย	46
ตารางที่ 4 ค่าน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ของแถบหรือจุดโปรตีนที่อยู่ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 20-30 kD บนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนมาจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวแก่เพศผู้และตัวแก่เพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด ที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด 3 ราย	49
ตารางที่ 5 ค่าน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ของแถบหรือจุดโปรตีนที่อยู่ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 20-30 kD บนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนมาจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าน้ำของพยาธิตัวจิ๊ด ที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกคล้ายโรคพยาธิตัวจิ๊ด 5 ราย	51
ตารางที่ 6 ค่าน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ของแถบหรือจุดโปรตีนที่อยู่ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 20-30 kD บนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนมาจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าน้ำของพยาธิตัวจิ๊ด ที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิหอยโข่ง 1 รายและพยาธิคืดหมู 1 ราย	54
ตารางที่ 7 ค่าน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ของแถบหรือจุดโปรตีนที่อยู่ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 20-30 kD บนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนมาจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวแก่เพศผู้และตัวแก่เพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด ที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิหอยโข่ง 1 รายและพยาธิคืดหมู 1 ราย	56

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 8	แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 20-30 kD ของแอนติเจนที่สกัดจาก ตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้ำวหน้า ของพยาธิตัวจิ๊ดบนแผ่น nitrocellulose ที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด, ซีรัมผู้ป่วยที่มีอาการทาง คลินิกคล้ายโรคพยาธิตัวจิ๊ด, ซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิคืดหมู, ซีรัมผู้ป่วย โรคพยาธิหอยโข่ง และซีรัมรวมของคนปกติ	65
ตารางที่ 9	แถบหรือจุดโปรตีนของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้ำวหน้าของพยาธิตัวจิ๊ดที่มีน้ำหนักโมเลกุล 23-25 kD และค่า pI 8.3-8.5 ที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยต่างๆ	69

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	พยาธิตัวจิ๊ด <i>G. spinigerum</i>	6
ภาพที่ 2	ตัวอ่อนพยาธิตัวจิ๊ด <i>G. spinigerum</i>	8
ภาพที่ 3	วงจรชีวิตของพยาธิตัวจิ๊ด <i>G. spinigerum</i>	10
ภาพที่ 4	แผนภูมิการเตรียมแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้วหน้าของพยาธิตัวจิ๊ด	26
ภาพที่ 5	Calibration curve แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Isoelectric point (pI) กับระยะทางที่เคลื่อนที่ของ Standard isoelectric focusing marker จากขั้วบวก (anode) ใน IEF gel	30
ภาพที่ 6	Calibration curve แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักโมเลกุลกับระยะทางสัมพัทธ์ (Rf) ของ Standard MW marker ใน 10-18 % gradient SDS-PAGE gel	33
ภาพที่ 7	การ calibrate ค่าของ prestained low range standard MW marker กับ low range standard MW marker	34
ภาพที่ 8	2D-PAGE gel แสดงการจำแนกแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้วหน้าพยาธิตัวจิ๊ด โดยวิธี two dimensional gel electrophoresis ที่ย้อมสี silver stain	40
ภาพที่ 9	แสดงจำนวนแถบหรือจุดโปรตีนของ 2D-PAGE gel ของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้วหน้าพยาธิตัวจิ๊ด ที่นับจากเครื่องคอมพิวเตอร์	40
ภาพที่ 10	2D-PAGE gel แสดงการจำแนกแอนติเจนที่สกัดจากตัวแก่เพศผู้และเพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ดที่ย้อมสี silver stain	43
ภาพที่ 11	แสดงจำนวนแถบหรือจุดโปรตีนของ 2D-PAGE gel ของแอนติเจนที่สกัดจากตัวแก่เพศผู้และเพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด ที่นับจากเครื่องคอมพิวเตอร์	43
ภาพที่ 12	จำนวนแถบหรือจุดโปรตีนบนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้วหน้า ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด 6 ราย	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 13	แถบหรือจุดโปรตีนที่มีค่าน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 23-25 kD และค่า pI ระหว่าง 8.3-8.5 บนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนสกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าน้ำของ พยาธิตัวจิ๊ดที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด 6 ราย	47
ภาพที่ 14	จำนวนแถบหรือจุดโปรตีนบนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวแก่เพศผู้ของพยาธิ ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด 3 ราย	48
ภาพที่ 15	จำนวนแถบหรือจุดโปรตีนบนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวแก่เพศเมียของพยาธิ ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด 3 ราย	48
ภาพที่ 16	จำนวนแถบหรือจุดโปรตีนบนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าน้ำ ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกคล้ายโรคพยาธิตัวจิ๊ด 5 ราย	50
ภาพที่ 17	แถบหรือจุดโปรตีนที่มีค่าน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 23-25 kD และค่า pI ระหว่าง 8.3-8.5 บนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนสกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าน้ำของ พยาธิตัวจิ๊ดที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกคล้ายโรค พยาธิตัวจิ๊ด 5 ราย	52
ภาพที่ 18	จำนวนแถบหรือจุดโปรตีนบนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าน้ำของพยาธิตัวจิ๊ดที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคตีคหมู 1 ราย และพยาธิหอยโข่ง 1 ราย	54
ภาพที่ 19	จำนวนแถบหรือจุดโปรตีนบนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวแก่เพศผู้ของพยาธิ ตัวจิ๊ดที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคตีคหมู 1 รายและพยาธิหอยโข่ง 1 ราย	55

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

- ภาพที่ 20 จำนวนแถบหรือจุดโปรตีนบนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวแก่เพศผู้ของพยาธิ ตัวจิ๊ดทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคคิตหมู 1 รายและพยาธิหอยโข่ง 1 ราย 55
- ภาพที่ 21 จำนวนแถบหรือจุดโปรตีนบนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนจาก 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าวน้ำ, ตัวแก่เพศผู้และตัวแก่เพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ดทำปฏิกิริยากับ ซีรัมรวมของคนปกติ 1 ตัวอย่าง 57
- ภาพที่ 22 แถบโปรตีนของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าวน้ำ, ตัวแก่เพศผู้และตัวแก่เพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด ที่ถูกแยกชนิดโดยเทคนิค IEF แล้วย้อมสี Coomassie brilliant blue R-250 แสดงแถบโปรตีนที่ pH 8.5 59
- ภาพที่ 23 แถบโปรตีนของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าวน้ำ, ตัวแก่เพศผู้และตัวแก่เพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด ที่ถูกแยกชนิดโดยเทคนิค 1D-PAGE แล้วย้อมสี Coomassie brilliant blue R-250 แสดงแถบโปรตีน ที่น้ำหนักโมเลกุล 24 kD 60
- ภาพที่ 24 แถบโปรตีนของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าวน้ำ, ตัวแก่เพศผู้และตัวแก่เพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด บนแผ่น nitrocellulose ที่ ย้ายโปรตีนจาก IEF gel ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ดและซีรัม รวมของคนปกติ 61
- ภาพที่ 25 แถบโปรตีนของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าวน้ำ, ตัวแก่เพศผู้และตัวแก่เพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด บนแผ่น nitrocellulose ที่ ย้ายโปรตีนจาก 1D-PAGE gel ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด 62
- ภาพที่ 26 แถบโปรตีนของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าวน้ำของ พยาธิตัวจิ๊ดบนแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายมาจาก 1D-PAGE gel ทำปฏิกิริยา กับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด, ซีรัมผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกคล้ายโรค พยาธิตัวจิ๊ด, ซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิคิตหมู, ซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิหอยโข่ง และ ซีรัมรวมของคนปกติ 64

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
1D-PAGE	one dimensional polyacrylamide gel electrophoresis
2D-PAGE	Two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis
g	gram
IEF	Isoelectric focusing
IEF-PAGE	Isoelectric focusing polyacrylamide gel electrophoresis
IgA	Immunoglobulin A
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
IHA	Indirect haemagglutination test
IFAT	Indirect fluorescent antibody test
kD	kilodalton
ml	mililitre
MW	Molecular weight
ng	nanogram
nm	nanometre
OD	Optical density
PBS	Phosphate buffered saline
pI	Isoelectric point
RIA	Radioimmunoassay
Rf	Relative migration
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis
TEMED	N,N,N',N'- tetramethyl ethylenediamine
µg	microgram
µl	microlitre