ชื่อวิทยานิพนธ์ ความสามารถในการติดเชื้อ การกระจาย และความสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์และปรสิตของ *Haplorchis taichui* ในสัตว์ทดลอง

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์ นางสาวสุภาภรณ์ เสาวลักษณ์

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.เดือนใจ ศรีสว่างวงศ์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพบูลย์ สิทธิถาวร)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดรุณี จินตกานนท์ เจริญศิริ)

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับ ความสามารถในการติดเชื้อและการกระจายของ *Haplorchis taichui* ในลำไส้ของแฮมสเตอร์รวมทั้งการตอบสนองของสัตว์ทดลองต่อพยาธิด้วย

จากการศึกษาพบว่า ตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิสามารถมีชีวิตรอดและเจริญเติบโตได้ดีในลำไส้เล็ก ทั้งส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย ตลอดระยะเวลา 16 สัปดาห์ จำนวนเฉลี่ยของพยาธิที่พบจะสูงใน 4 สัปดาห์แรก โดยมีจำนวนเฉลี่ยสูงสุดถึง 77เปอร์เซนต์ในสัปดาห์ที่หนึ่งจากนั้นจำนวนพยาธิจะค่อยๆ ลดลงและมีพยาธิเหลือเพียง 4.5 เปอร์เซนต์ ในแฮมสเตอร์ที่ติดเชื้อนาน 16 สัปดาห์ พยาธิส่วนใหญ่มักอาศัยอยู่ในลำไส้ส่วนกลางและส่วนปลาย ในสัปดาห์แรกพยาธิส่วนใหญ่จะอยู่ในลำไส้ส่วนกลางและในสัปดาห์ที่ 2-7 พยาธิจะอยู่ในลำไส้ส่วนปลายมากที่สุด ต่อจากนั้นจำนวนพยาธิในส่วนกลางและส่วนปลายจะเท่า ๆกัน ในลำไส้ส่วนต้นจะมีจำนวนพยาธิน้อยที่สุด ซึ่งในสัตว์บางตัวจะไม่พบพยาธิในลำไส้ส่วนนี้เลยตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 พยาธิที่อยู่ในลำไส้ของแฮมสเตอร์นั้น

จะแทรกอยู่ในช่องว่างระหว่าง villi ของลำไส้เล็ก มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ผนังลำไส้บริเวณที่มีพยาธิเข้าไปอยู่คือเซลล์บุผิวของ villi ที่สัมผัสกับพยาธิจะถูกพยาธิเบียดทำให้เซลล์ดังกล่าวแบนลงกว่าปรกติ และในสัตว์ทดลองบางตัวยังพบว่ามีเซลล์อักเสบแทรกซึม (mononuclear cell),villi ขยายใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่ามี goblet cells เพิ่มมากขึ้นในสัตว์บางตัว

การทดสอบหาระดับ IgG ในซีรั่มของแฮมสเตอร์ต่อ *H.taichui* โดยวิธี ELISA พบว่าระดับแอนติบอดีจะเริ่มวัดได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 หลังการติดเชื้อเป็นต้นไปและพบระดับแอนติบอดีสูงสุดที่สัปดาห์ที่ 13 และจากการแยกส่วนประกอบของแอนติเจนด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าโปรตีนของพยาธิตัวแก่และตัวอ่อนระยะติดต่อของ *H. taichui* คล้ายคลึงกัน คือพบโปรตีนที่มีปริมาณมากเหมือนกันถึง 3 ชนิดคือ โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 50.5,56.5 และ 69.8 กิโลดาลตัน และยังพบโปรตีนที่มีปริมาณน้อยอีกหลายชนิดที่เหมือนกันอีกด้วย และเมื่อเปรียบเทียบกับพยาธิตัวแก่ของ *O.viverrini* พบว่ามีโปรตีนปริมาณมากที่มีขนาดเท่ากัน 2 ชนิดคือ โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 56.5 และ 69.8 กิโลดาลตัน แต่ไม่มีโปรตีนที่เหมือนกับโปรตีนจากแอนติเจนของ *E.malayanum* ในการหาปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนของ*H.taichui* กับแอนติบอดีต่อ *H. taichui*,*O.viverrini* และ *E.malayanum* โดยวิธี immunoblotting พบว่าแอนติบอดีต่อ *H.taichui* สามารถทำปฏิกิริยาได้ดีกับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 105.1 และ 78.1 กิโลดาลตัน ของแอนติเจนจากตัวอ่อนระยะติดต่อและพยาธิตัวแก่ของ *H.taichui* และยังพบว่าแอนติบอดีต่อ *O.viverrini* ก็สามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนดังกล่าวได้เช่นเดียวกัน นอกเหนือจากโปรตีนดังกล่าวแล้วโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล >215.5,183.9, 92.6 และ 49.6 กิโลดาลตันของตัวอ่อนระยะติดต่อ และ 92.6 กิโลดาลตันของพยาธิตัวแก่ยังทำปฏิกิริยาได้ดีต่อแอนติบอดีของ O.viverrini ได้อีกด้วย ส่วนแอนติบอดีต่อ *E.malayanum* จะสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 78.1 กิโลดาลตันของพยาธิตัวแก่ *H.taichui* ได้

THESIS TITLE : INFECTIVITY,DISTRIBUTION AND HOST-PARASITE RELATIONSHIP OF *HAPLORCHIS TAICHUI* IN EXPERIMENTAL ANIMAL

AUTHOR : MISS SUPAPORN SAOWALUCK

THESIS ADVISORY COMMITTEE :

.....Tuanchai Srisawangwong.....Chairman

(Associate Professor Dr.Tuanchai Srisawangwong)

.....P. Sithithaworn.....Member

(Associate Professor Dr.Paiboon Sithithaworn)

.....D. J. Charoensiri.....Member

(Associate Professor Darunee Jintakanon Charoensiri)

ABSTRACT

This study concerned with infectivity and distribution of *Haplorchis taichui* in the intestine of hamsters. Host immunological responses to the infection were also studied in hamsters. The results showed that metacercariae of *H.taichui* survived and developed well in these animals during the experimental period of 16 weeks. The mean worm recoveries were high during the first four weeks after infection. The highest was 77 percent at one week and thereafter it decreased to only 4.5 percent at 16 weeks after infection. The worms inhabited along the length of the small intestine especially in the mid and hind portions. In the first week,most of them occupied in the mid portion and then in the hind portion during weeks

2-7. The number of worms in the mid and hind portions became more or less the same thereafter. The lowest number was present in the front part and none was found in some animals since 4 weeks after infection.
The worms occupied the interspace of the intestinal villi. At the area of contact, flattened epithelial cells, infiltration of mononuclear cells in the intestinal villi, villous enlargement and increase in goblet cells in some animals were demonstrated.

As measured by ELISA the levels of parasite-specific IgG in sera of infected hamsters were detected from two weeks and peaked at 13 weeks after infection.

Characterization of *H.taichui* antigens by SDS-PAGE revealed similar protein compositions between the antigens extracted from metacercariae and adult worms. Three major proteins with molecular weight of 50.5, 56.5 and 69.8 kD as well as several minor proteins were observed. *H.taichui* antigens shared two similar proteins, i.e. 56.5 and 69.8 kD with adult *O.viverrini* antigen but no common protein with *E.malayanum* was observed.
By using peroxidase conjugated protein A as a probe, it was found from immunoblotting that the antibody against *H.taichui* as well as antibody against *O.viverrini* reacted with *H.taichui* antigens at the molecular weight of 105.1 and 78.1 kD. In addition to the antigens mentioned above proteins with molecular weight of >215.5, 183.9, 92.6 and 49.6 kD from metacercarial antigen and 92.6 kD from adult *H.taichui* antigen also reacted with *O.viverrini* antibody. Antibody against *E.malayanum*, however, reacted with the protein of molecular weight of 78.1 kD of adult *H.taichui* antigen.