SPECIFIC IMMUNODIAGNOSIS FOR *STRONGYLOIDES STERCORALIS*

USA CHUENBAL

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (PUBLIC HEALTH)
MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2002

ISBN 974-04-3291-3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การวินิจฉัยทางภูมิคุ้มกันวิทยาเฉพาะหนอนพยาธิสตรองจิรอยดิ์เดส สเตอร์โคราลิส
(SPECIFIC IMMUNODIAGNOSIS FOR *STRONGYLOIDES STERCORALIS*)

อุษา ชื่นบาล 4336218 PHPH/M

วท.ม. (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาโรคติดเชื้อและวิทยาการระบาด

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : พักตร์พิมล มหรรณพ, Ph.D., วันเพ็ญ ชัยคำภา, Ph.D., อุไร ไชยศรี,Ph.D.

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อจากพยาธิสตรองจิรอยดิ์เดส สเตอร์โคราลิส ยังคงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญในประเทศแถบร้อนและแถบอบอุ่นรวมทั้งประเทศไทย วิธีวินิจฉัยการติดเชื้อพยาธิชนิดนี้ที่ยังคงใช้อยู่คือวิธี Direct saline simple smear และวิธี Harada mori culture ซึ่งมีข้อจำกัดคือมีความไวต่ำและใช้เวลานาน การศึกษาในครั้งนี้ ผู้วิจัยได้พัฒนาวิธีการตรวจหาแอนติบอดี ต่อพยาธิสตรองจิรอยดิ์เดส สเตอร์โคราลิส โดยวิธี Dot-ELISA, Indirect ELISA และวิธี Western blot technique ตัวอ่อนระยะที่ 3 ของพยาธิสตรองจิรอยดิ์เดส สเตอร์โคราลิส ถูกเตรียมมาจากอุจจาระของผู้ติดเชื้อโดยวิธี Harada-Mori culture technique แล้วนำมาบดให้ละเอียดเพื่อใช้เป็นแอนติเจนในวิธีทดสอบที่พัฒนาขึ้น ซีรั่มที่ใช้ในการศึกษาจัดเป็น 5 กลุ่ม ผลการศึกษาพบว่า วิธี Dot-ELISA มีความไว, ความจำเพาะและความถูกต้อง คิดเป็น ร้อยละ 79.56, 62.20 และ 68.92 วิธี Indirect ELISA มีความไว, ความจำเพาะและความถูกต้อง คิดเป็น ร้อยละ 90.8, 33.6 และ 55.72 สำหรับวิธี Western blot analysis จะให้ค่าความไว, ความจำเพาะและความถูกต้องคิดเป็นร้อยละ 68.75, 63.10, 65.5 และพบแอนติบอดีจากซีรั่มของผู้ติดเชื้อที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่มีขนาดโมเลกุลเท่ากับ 24, 28, 41, 46, 64, 92 และ 120 กิโลดาลตัน เมื่อใช้แอนติเจนที่นำไปทำลายส่วนที่เป็นโปรตีนจะให้ค่าความไว, ความจำเพาะและความถูกต้องคิดเป็นร้อยละ 64.6, 69.57 และ 68.3 และพบแอนติบอดีจากซีรั่มของผู้ติดเชื้อที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่มีขนาดโมเลกุลเท่ากับ 28, 41, 46 และ 64 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ผลการศึกษาพบปฏิกริยาข้ามในผู้ติดเชื้อจากพยาธิชนิดอื่นๆ ด้วยในทุกการทดสอบ เช่น พยาธิ์เท้าช้าง, พยาธิ์ตัวจี๊ด, พยาธิ์ปากขอ, พยาธิ์ในลำไส้เล็ก, พยาธิ์ใบไม้ในตับ, พยาธิ์ใบไม้ในเลือด, พยาธิ์ตัวตืด, และพยาธิ์ในกล้ามเนื้อ เป็นต้น

135 หน้า. ISBN 974-04-391-3

SPECIFIC IMMUNODIAGNOSIS FOR *STRONGYLOIDES STERCORALIS*

USA CHUENBAL 4336218 PHPH/M

M.Sc.(PUBLIC HEALTH) MAJOR INFECTIOUS DISEASE

THESIS ADVISORS PAKPIMOL MAHANNOP,Ph.D WANPEN CHAICUMPA, Ph.D.,URAI CHAISRI, Ph.D.

ABSTRACT

Human infection due to strongyloidiasis is still a public health problem in tropical and subtropical regions of the world including Thailand Stool examination, such as direct saline smear and Harada-Mori culture technique, are routinely used in many parasitological laboratory. The disadvantage of these tests are low sensitivity and time consuming. In this study, an indirect enzyme linked immunosorbent assay (dot) ELISA, (indirect) ELISA, and Western blot analysis were performed for diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. Third stage larvae of the worms were collected from stools of individual host infected with *S.stercoralis* by using Harada-Mori culture technique. Crude larval extract of the worms (*Ss*Ag) was prepared in distilled water containing proteinase inhibitors. Proteinase K-treated larval antigen was also prepared from the crude worm extract and was used as an antigen in dot-ELISA and indirect-ELISA, while both proteinase K- treated antigen and non-treated antigen were used as antigen in Western blot analysis. Five batches of serum samples were used in this study. The first batch included 240 serum samples of strongyloidiasis only .Batch 2 consisted of 56 serum samples of strongyloidiasis mixed infection with other parasites. Batch 3 consisted of 53 serum samples of mixed infection. Batch 4 were 471 serum samples of the other parasite infections, and there were 100 serum samples of normal healthy Thai in the fifth batch. The results from this study showed that the diagnostic sensitivity, specificity and accuracy of dot- ELISA were 79.58 , 62.20 and 65.92 % respectively, indirect ELISA were 90.8 , 33.6 and 55.72 % The diagnostic sensitivity, specificity and accuracy of Western blot analysis using untreated antigen were 68.75 , 63.10 and 65.57 % respectively. The most prominent components of the worm antigen that reacted with *S. stercoralis* sera of infected persons were 24, 28, 41, 46, 64, 92 and 120 KDa. the sensitivity, specificity and accuracy of Western blot analysis using proteinase K- treated antigen were 64.6 , 69.57 and 68.3 % respectively. The most prominent components of the worm antigen that reacted with the sera from *S. stercoralis* infected persons were 28, 41, 46, and 64 KDa. The results of all assays showed cross- reactivity of other parasitic infections such as filariasis, gnathostomiasis, hook worm infection, intestinal fluk infection, opisthrochiasis, schistosomiais, taeniasis and trichinellosis.

KEY WORD : IMMUNODIAGNOSIS / *STRONGYLOIDES STERCORALIS*

135 P. ISBN 974-04-3291-3