

**STUDY ON THE MEMBRANE PROTEIN ANTIGENS OF
LEPTOSPIRA THAT REACT WITH LEPTOSPIROSIS PATIENTS'
SERA**

YUPHIN KONGPHRAI

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT OF SCIENCE
(TROPICAL MEDICINE)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2006

ISBN 974-04-6970-1

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การศึกษามembrane โปรตีนของเชื้อเลปโตสไปรา ที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมจากผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิส (STUDY THE MEMBRANE PROTEIN ANTIGENS OF LEPTOSPIRA THAT REACT WITH LEPTOSPIROSIS PATIENTS' SERA)

ยุพิน คงไพร 4637707 TMTM/M

วท.ม. (อายุรศาสตร์เขตร้อน)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ชาริรัตน์ กลัมพะเหติ Ph. D. (Microbiology),; วิชาวิ
จำปาเงิน, Dr. Med Sc., วิจิตร ฟุ้งลัดดา , MD. D.T.M&H, M.P.H, Dr.P.H.,
วาริ ว่องโชติกุล, Ph. D. (Microbiology), สุนทร ชินประศาสตร์ศักดิ์, MD., Dip. Thai
Board of Internal Medicine.

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้ เป็นการศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติของผู้ป่วยที่ติดเชื้อเลปโตสไปรา การวิเคราะห์หาโปรตีนแอนติเจนของเลปโตสไปรา ที่สร้างขึ้นในระหว่างการติดเชื้อนั้น สามารถนำไปสู่การพัฒนาโปรตีนเพื่อใช้ในการวินิจฉัยทางซีรัมวิทยา ในการศึกษาครั้งนี้ใช้แอนติบอดี ที่สร้างขึ้นจากระบบภูมิคุ้มกันเป็นตัวตรวจจับ โปรตีนแอนติเจนของเลปโตสไปราที่สร้างขึ้นในระหว่างการติดเชื้อ กระบวนการ Immunoblot ได้ใช้ซีรัมจากกลุ่มผู้ป่วยที่มีผลการตรวจยืนยันว่าเป็นโรคเลปโตสไปโรซิส จำนวน 115 ตัวอย่าง เพื่อเปรียบเทียบกับซีรัมจากผู้ป่วยโรคเมืองร้อนอื่นๆที่มีอาการคล้ายกับโรคเลปโตสไปโรซิส เช่นโรคไข้เลือดออก และโรคสครับไทฟัส รวมทั้งกลุ่มคนปกติ ผลการศึกษาพบว่าแถบโปรตีนที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมมีประมาณ 23 แถบ ที่น้ำหนักโมเลกุล อยู่ในช่วงระหว่าง 18-125 kDa และได้เลือกแถบโปรตีนจำนวน 10 ชนิดที่มีเปอร์เซ็นต์การตรวจพบสูง ซึ่งได้แก่ แถบโปรตีน 19 21 32 36 37 48 58 62 67 และ 76 kDa เพื่อนำมาวิเคราะห์ต่อไป ในการศึกษาเปรียบเทียบแถบโปรตีนกับกลุ่มศึกษาอื่นๆ ได้เสนอแถบโปรตีนจำเพาะ 3 ชนิดคือ แถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุล 19, 21 และ 48 kDa ซึ่งมีแนวโน้มว่ามีความจำเพาะต่อการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิส กับทั้งสามารถวิเคราะห์ความแตกต่างจากโรคไข้เลือดออก และโรคสครับไทฟัสได้ นอกจากนี้ยังใช้เพื่อจำแนกผู้ป่วยที่กำลังติดเชื้อ หรือเพิ่งผ่านการติดเชื้อมา กับผู้เคยติดเชื่อนานๆ มาแล้ว

STUDY THE MEMBRANE PROTEIN ANTIGENS OF LEPTOSPIRA THAT
REACT WITH LEPTOSPIROSIS PATIENTS'SERA

YUPHIN KONGPHRAI 4637707 TMTM/M

M.Sc., (TROPICAL MEDICINE)

THESIS ADVISORS: THAREERAT KALAMBAHETI, Ph. D. (Microbiology),
WIPAWEE JUMPANGERN, Dr. Med Sc., WIJITR FUNGLADDA, MD, D.T.M&H,
M.P.H, Dr.P.H., VAREE WONGCHOTIGUL, Ph.D. (Microbiology), SOONTHORN
CHINPRASATSAK, MD., Dip. Thai Board of Internal Medicine.

ABSTRACT

Leptospirosis is an emerging zoonosis caused by pathogenic spirochetes belonging to the genus *Leptospira*. The identification of the leptospiral antigens expressed during infection is important implications for the development of new serodiagnostic test. We used the humoral immune response to detect leptospiral protein antigens expressed during infection. The immunoblot analysis was performed using sera from confirmed leptospirosis patients and sera from patients with other febrile diseases in addition to healthy individuals as controls. The immunoblot analysis was performed among 115 sera of confirmed leptospirosis patients. The 23 distinct leptospiral bands with molecular weight ranged from 18-125 kDal were detected. Ten proteins, p76, p67, p62, p58, p48, p37, p36, p32, p21 and p19 were predominant and included for further analysis. The identifying of these protein bands by comparative study among patients and control subjects revealed three immunoreactive protein bands of p19, p21 and p48 as potentially specific for diagnosis and able to differentiate from other febrile disease such as scrub typhus and dengue fever investigated in this study. These three proteins are also the indicator presented during recent infection as healthy person living in the endemic area who may be exposed to leptospirosis in the past, could not be detect with their sera.

KEY WORDS: LEPTOSPIRA/ TOTAL MEMBRANE PROTEIN/ IMMUNOBLOT
ANALYSIS

106 P. ISBN 974-04-6970-1