



DETECTION OF OPISTHORCHIS VIVERRINI INFECTION
BY ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY USING
PARTIALLY PURIFIED ANTIGENS

1 7 ๕ ๐ ๖ ๕ ๖ ๖

NITAYA POOPYRUCHPONG
^

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1988

Copyright by Mahidol University

ฉันทนันทนาการ

จาก

บัณฑิตวิทยาลัย ส. มหิดล.

12073

ชื่อวิทยานิพนธ์ การทดสอบภูมิคุ้มกันต่อโรคพยาธิใบไม้ในตับโดยใช้แอนติเจน
ซึ่งสกัดจากตัวเต็มวัยของพยาธิ

ผู้วิจัย นางสาว นิตยา ภูไพบรุษ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. วิฑูรย์ ไวยนันท์

รศ.ดร. สุชาติ อุดมภ์

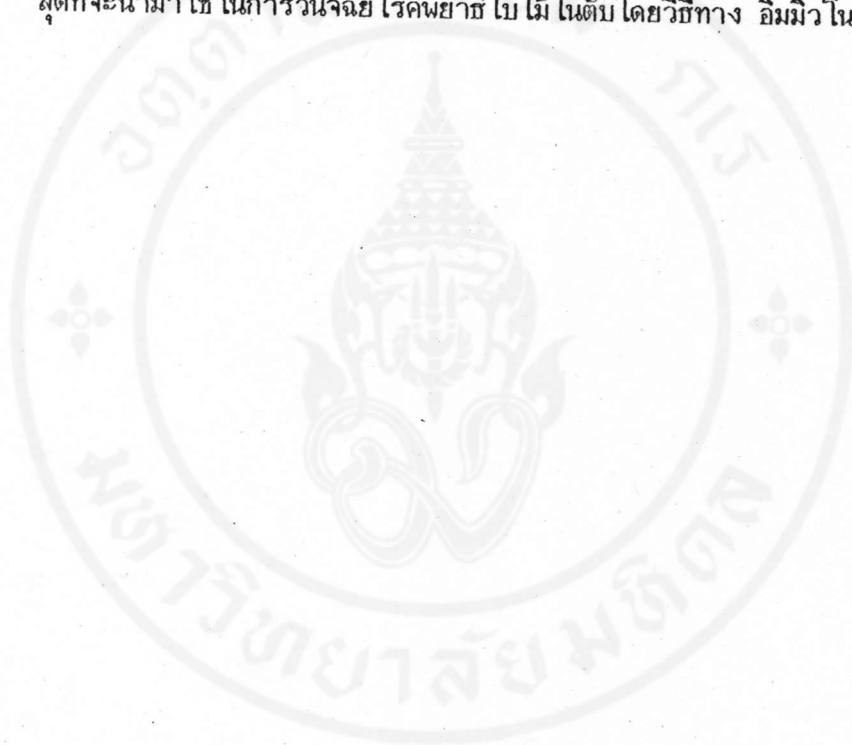
ดร. เพชรินทร์ ศรีวัฒนกุล

วันที่สำเร็จการศึกษา 9 พฤษภาคม 2531

บทคัดย่อ

โรคพยาธิใบไม้ในตับเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่ง ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การวินิจฉัยโรคในปัจจุบันทำได้โดยการตรวจหาไข่พยาธิในอุจจาระของผู้ป่วย แต่วิธีการในการตรวจค่อนข้างจะยุ่งยาก และให้ผลไม่แน่นอนในกรณีที่มีพยาธิจำนวนน้อย และ/หรือมีการอุดตันของท่อน้ำดี ดังนั้นวิธีการต่างๆทางอิมมูโนวิทยาจึงเข้ามามีบทบาทที่จะช่วยในการวินิจฉัยโรค แอนติเจนที่ใช้ส่วนมากจะเป็นแอนติเจนซึ่งสกัดจากตัวเต็มวัยของพยาธิ อย่างไรก็ตามผลของการวินิจฉัยก็ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ ทั้งในแง่ความจำเพาะแม่นยำและความไว ในการศึกษานี้ได้ทำการเตรียมแอนติเจนซึ่งสกัดจากตัวเต็มวัยของพยาธิให้บริสุทธิ์ขึ้น เพื่อใช้ตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะชนิดต่างๆในน้ำเหลืองของผู้ป่วยโรคพยาธิใบไม้ในตับ โดยวิธี ELISA โดยเก็บตัวเต็มวัยของพยาธิออกมาจากตับของหนู hamster ที่ให้กิน metacercariae ไปแล้วเป็นเวลาประมาณ 1 เดือน แล้วจึงสกัดเอาส่วนผิวของพยาธิ (tegument) โดยวิธีทางเคมี นำส่วนที่เหลือไปทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยวิธี gel filtration chromatography ซึ่งจะแยกโปรตีนเป็น 3 ส่วน แล้วจึงนำแอนติเจนทั้งห้าชนิด integument, crude ($P_1 + P_2 + P_3$), P_1 , P_2 และ P_3 มาศึกษาเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยโรค

พยาธิใบไม้ในตับโดยวิธี ELISA จากการศึกษาพบว่า crude extract, integument extract และ P_1 ทำปฏิกิริยากับน้ำเหลืองผู้ป่วยโรคพยาธิใบไม้ในตับทุกคน นั่นคือจะมีความไวสูงถึง 100% ในขณะที่ P_2 และ P_3 จะมีความไว 96.1% และ 83.3% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า integument extract มีความจำเพาะแม่นยำสูงที่สุดคือ 94.9% ส่วน crude extract, P_1 , P_2 และ P_3 มีความจำเพาะแม่นยำ 84.0%, 57.1%, 76.4% และ 62.1% ตามลำดับ จากผลการทดลองทั้งหมดพอจะสรุปได้ว่า surface tegument เป็นแอนติเจนที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำมาใช้ในการวินิจฉัยโรคพยาธิใบไม้ในตับโดยวิธีทาง อิมมูโนวิทยา



Thesis Title Detection of Opisthorchis viverrini
infection by Enzyme-Linked Immunosorbent
Assay using Partially Purified Antigens

Name Nitaya Poopyruchpong

Degree Master of Science (ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

Thesis Supervisory Committee

 Vithoon Viyanant, Ph.D.
 Suchart Upatham, Ph.D.
 Petcharin Srivatanakul, Ph.D.

Date of Graduation May 9, 1988

ABSTRACT

Opisthorchiasis is one of the diseases of public health and economic importance in Thailand. Current methods for the diagnosis of Opisthorchis viverrini infection are based on the demonstration of Opisthorchis eggs in either stool, duodenal fluid or bile. But the techniques are tedious and unreliable in some cases, especially in cases of light infection and in cases of bile duct obstruction. For these reasons, several attempts have been made to develop immunological methods for the diagnosis of the liver fluke infection. Because the antigens used were mostly the total adult worm extracts, the results are still not satisfactory due to the low sensitivity and cross reactivity of the technique.

In this study, partially purified antigens were prepared from adult O.viverrini. The parasites were collected from the liver and extrahepatic biliary system of the infected hamsters. Integument fraction was obtained by chemical extraction, whereas the other fractions were purified by Sephadex G-200 gel filtration chromatography. Five fractions of O.viverrini antigens were obtained namely integument extract, crude extract, fraction 1 (P)₁, fraction 2 (P)₂ and fraction 3 (P)₃, respectively. Reactivity of the five partially purified antigens were compared by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. The sensitivity and specificity of all five antigens were compared by testing against the sera of 78 O.viverrini infected individuals from O.viverrini endemic area, and 70 individuals infected with hookworm, Trichuris and Ascaris including 49 individuals with no parasitic infection from non-endemic areas. The results showed that the crude extract, integument extract and the P₁ fraction were found to have 100 % sensitivity, whereas the sensitivity of P₂ and P₃ were 96.1 % and 83.3 %, respectively. As regarded to the specificity of the test, it was found that the integument extract had the highest specificity of 94.9 %, while crude extract, P₁, P₂ and P₃ had the specificity of 84.0 %, 57.1 %, 76.4 % and 62.1 %, respectively. From the results, it appears that the surface tegument is the most suitable antigen for immunodiagnosis of opisthorchiasis.