

ชื่อวิทยานิพนธ์ การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อมาลาเรีย ชนิดฟัลซิพารัม (Plasmodium falciparum) ในระยะต่าง ๆ ของการเจริญในเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยมาลาเรีย

ชื่อผู้เขียน นางสาวารลักษณ์ สัจจาตุระ

วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 2528

บทคัดย่อ

มาลาเรียเป็นโรคระบาดที่สำคัญโรคหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งมาลาเรียที่เกิดจากเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม (Plasmodium falciparum) เป็นมาลาเรียที่ร้ายแรงที่สุด และมีภาวะแทรกซ้อนต่อระบบอวัยวะต่าง ๆ มาก อาจมีอันตรายร้ายแรงถึงชีวิตได้ โรคมาลาเรียดังกล่าวยังคงระบาดอยู่ในประเทศเขตร้อน ในประเทศไทย ยังคงพบมากอยู่ โดยเฉพาะพื้นที่ที่เป็นป่าเขา อุปสรรคสำคัญในการควบคุมโรคมาลาเรียก็คือ การที่ยุงพาหะ และเชื้อมาลาเรียคือต่อया การศึกษาถึงภูมิคุ้มกันชนิดแอนติบอดีในผู้ป่วยมาลาเรีย และในคนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้อมาลาเรีย มีประโยชน์ในการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อมาลาเรีย และภาวะภูมิคุ้มกันต่อโรคนี้นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ในการประเมินผลการควบคุมและกำจัดโรคนี้น ในการศึกษานี้ ได้ศึกษาถึงระดับของแอนติบอดี ทั้งชนิดจี (Ig G) และชนิดเอ็ม (Ig M) ต่อเชื้อมาลาเรียในระยะต่าง ๆ ของการเจริญในเม็ดเลือดแดง ได้แก่ระยะวงแหวน (ring form) ระยะตัวอ่อน (trophozoite) และระยะตัวแก่ (schizont) ในผู้ป่วยมาลาเรีย 100 ราย เปรียบเทียบกับคนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้อมาลาเรีย 100 ราย และคนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่ไม่มีการระบาดของเชื้อมาลาเรีย 100 ราย เชื้อที่นำมาใช้ในการศึกษานี้ได้มาจากผู้ป่วยมาลาเรียที่อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก โดยนำเชื้อมาลาเรียที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยนี้มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าหลังจากเติมซอร์บิทอล

(sorbital) ลงไปในช่วงที่มีระยะวงแหวนมาก ทำให้เหลือเชื่อมมาลาเรียเฉพาะระยะวง-
แหวนที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงเท่านั้น ส่วนเชื่อมมาลาเรียระยะอื่น ๆ ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง จะ
ถูกทำลายหมด หลังจากที่ทำการเพาะเลี้ยง เชื้อในระยะวงแหวนนี้ต่อไป สามารถเก็บเชื้อ
ในระยะตัวอ่อน และระยะตัวแก่ได้ในระยะเวลาที่เหมาะสม โดยวิธีนี้สามารถแยกเชื่อมมาลา-
เรียแต่ละระยะที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงออกจากกันได้เป็นอย่างดี จากนั้นนำมาเตรียมเป็นแอนติ
เจนแต่ละระยะ โดยการทำให้เม็ดเลือดแดงที่มีเชื่อมมาลาเรียแต่ละระยะนี้อยู่ให้แตกด้วยสาร
ซาโปนิน (saponin) จากนั้นนำเชื่อมมาลาเรียที่ได้มาทำให้เป็นสารละลาย โดยการใช้น้ำ
กลั่นเสียงความถี่สูง เชื่อมมาลาเรียแต่ละระยะนี้ พบว่ามีแอนติเจนบางส่วนที่ต่างกัน ได้ใช้
แอนติเจนที่เตรียมได้นี้ ในการตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะต่อแต่ละระยะของ เชื่อมมาลาเรีย
โดยวิธีอินไคเร็ค เอ็นซิมลิงค์อิมมูโน ซอบเบนท์แอสเสย์ ได้พบว่าแอนติเจนแต่ละระยะที่
เตรียมได้นี้สามารถใช้หาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแต่ละระยะได้เป็นอย่างดี แอนติบอดี ทั้งชนิด
จี และชนิดเอ็ม ที่จำเพาะต่อแต่ละระยะของ เชื่อมมาลาเรียนี้ วัดออกมาเป็นค่าออปทิกัล ดีนซิติ
(optical density) และค่าความเข้มข้นเป็นไมโครกรัมเปอร์เซ็นต์ จากวิธีการนี้ พบว่า
ในคนที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่ไม่มีภาระระบาดของ เชื่อมมาลาเรีย ตรวจไม่พบแอนติบอดี ทั้งชนิดจี และ
ชนิดเอ็มที่จำเพาะต่อทั้ง 3 ระยะของ เชื่อมมาลาเรีย คือ ระยะวงแหวน ระยะตัวอ่อน และ
ระยะตัวแก่ ส่วนผู้ป่วยมาลาเรีย จะมีแอนติบอดีทั้งชนิดจีและชนิดเอ็มที่จำเพาะต่อทั้ง 3 ระยะ
ของ เชื่อมมาลาเรีย โดยมีเปอร์เซ็นต์บวกของแอนติบอดีชนิดจีจำเพาะต่อแต่ละระยะ เท่ากับ 100
และเปอร์เซ็นต์บวกของแอนติบอดีชนิดเอ็มจำเพาะต่อแต่ละระยะ เท่ากับ 96, 99 และ 100
ตามลำดับ และระดับของแอนติบอดีทั้งชนิดจีและชนิดเอ็มสูงกว่าระดับที่ตรวจพบในคนที่อยู่ใน
พื้นที่ที่มีการระบาดของ เชื่อมมาลาเรียอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$) ส่วนคนที่อยู่ในพื้นที่ที่
มีการระบาดของ เชื่อมมาลาเรีย ซึ่งตรวจไม่พบ เชื่อมมาลาเรียในเลือด จะตรวจพบเฉพาะแอน-
ติบอดีชนิดจีเท่านั้น ส่วนชนิดเอ็มตรวจไม่พบ อย่างไรก็ตาม ระดับของแอนติบอดีชนิดจีใน
กลุ่มนี้ต่ำกว่าระดับที่ตรวจพบในผู้ป่วยมาลาเรียอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$) แต่สูงกว่า
ระดับที่ตรวจพบในคนที่อยู่ในพื้นที่ที่ไม่มีภาระระบาดของ เชื่อมมาลาเรียอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$)

จากการศึกษานี้ วิเคราะห์ออกมาได้ว่า ในการศึกษาระบาดวิทยาของ เชื้อมาลาเรีย จะต้องตรวจหาแอนติบอดีชนิดจี และสามารถใช่เชื้อมาลาเรียระยะใดก็ได้เป็นแอนติเจน แต่ถ้าใช่เชื้อในระยะวงแหวนจะดีที่สุด ส่วนการช่วยวินิจฉัยโรคนั้น การตรวจหาแอนติบอดีชนิดจี จะมีประโยชน์ก็ต่อเมื่อตรวจพบในระดับสูง ๆ เท่านั้น แต่ถ้าตรวจหาแอนติบอดีเอ็มแล้ว จะมีประโยชน์มากกว่า โดยเฉพาะถ้าใช่เชื้อมาลาเรียในระยะตัวแก่เป็นแอนติเจน

วิธีการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ในการศึกษาระบาดของโรคนี้ และสามารถใช่ติดตามดูประสิทธิภาพของวัคซีนที่จะมีใช้ในอนาคต รวมทั้งประเมินผลของมาตรการป้องกันและควบคุมโรคได้ นอกจากนี้ ถ้าผลจากวิธีการนี้มีความสัมพันธ์กับผลของนิวทราไลซ์เซชันเทสต์ การใช้วิธีการนี้จะเป็นวิธีที่สะดวกกว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

THESIS TITLE Detection of Antimalarial Antibody in Malarial
 Patients Against Different Erythrocytic Stages
 of Plasmodium falciparum

NAME Miss Volaluck Supajatura

THESIS FOR Master of Science in Microbiology
 Chiang Mai University 1985

ABSTRACT

Malaria is one of the epidemic disease and has long been a major public health problem in tropical countries. The disease especially due to Plasmodium falciparum is very harmful, almost all organs are affected. In Thailand, this disease remains widely endemic, especially in hill forest area. The impediments to control include the spread of drug resistance and the resistance of mosquito vectors to insecticides. The seroepidemiologic study of malaria is a useful tool in studying the prevalence of malarial parasite and the immune status of the population. In this study, using indirect ELISA assay, the Ig G and Ig M antibodies specific to the three stages of erythrocytic development of Plasmodium falciparum, ring stage, trophozoite stage and schizont stage were evaluated in 100 cases of malarial patients, 100 persons lived in endemic area and, 100 persons lived in nonendemic area. The antigen used in this study was prepared from Plasmodium falciparum which was isolated from a

patient living in Mae Sod, Tak province. Synchronization of cultures by sorbital treatment, each specific stage in excellent synchrony was obtained. Each specific stage antigen was prepared by saponin lysis of parasitized erythrocyte at the specific stage and solubilized by sonication. Each specific stage antigen was proved by adsorption process to have different antigen in addition to common antigen. These specific stage antigens were found to be suitable for using to detect stage specific antibodies in the indirect ELISA assay after properly adsorption of the serum. The Ig G and Ig M antibodies specific to each stage were measured in optical density value and in ug% concentration. The patients with positive blood film for Plasmodium falciparum had both Ig G and Ig M antibodies specific to every stages of falciparum malaria and both were significantly high when compared with those of persons lived in endemic area ($p < 0.0001$). The percentage of Ig G positivity of patients were 100 to every stages of falciparum malaria and the percentage of positive Ig M antibodies were 96, 99 and 100 % respectively. The persons lived in endemic area had only Ig G, no Ig M, antibody specific to falciparum malaria. The antibody was significantly lower than those of patients ($p < 0.0001$) and was significantly higher than the persons lived in nonendemic area ($p < 0.0001$). It was also found that in the study of epidemiology of malaria, the antibody to be evaluated should be Ig G antibody against malaria and all of the three stage antigens could be used but the best antigen was ring stage antigen. While in the diagnosis,

detection of Ig G antibody would be helpful only when detected in high titer. Detection of Ig M antibody specific to schizont stage antigen verify the diagnosis and may be helpful in the diagnosis of patients with negative blood film. Our detection of either Ig G or Ig M antibody by indirect ELISA assay will be suitable in evaluation of effectiveness of the vaccine being developed and in measurement of the success of control in eradicating the disease. In addition study should be done to see whether any of these stage specific antibody are protective antibody by correlation with the neutralization test.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved