

ชื่อ เรื่องวิทยานิพนธ์

การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อไลโปโพลีแซ็กคาไรด์และโปรตีนของ  
เชื้อ Salmonella typhi ในผู้ป่วยไข้ไทฟอยด์

ชื่อผู้เขียน

นางสาวยุพิน เมฆรา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยา

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์วิชาญ วิทยาศาสตร์ ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร. สนิท มกรแก้วเกียร กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงประคอง วิทยาศาสตร์ กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิวัฒน์ มณีกาญจน์ กรรมการ

บทคัดย่อ

แม้ว่า Widal test จะเป็นวิธีการทดสอบที่มีราคาถูก ทำได้ง่าย และนิยมใช้ทั่วไป ในการวินิจฉัยทางน้ำเหลืองวิทยา สำหรับไข้ไทฟอยด์ แต่วิธีนี้ยังมีปัญหาในด้านความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ซึ่งบางครั้งได้ผลที่ไม่แน่นอน การศึกษาครั้งนี้ได้นำเอา วิธี Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) มาใช้ในการตรวจวัด ระดับของแอนติบอดี (antibodies) ต่อโปรตีน (protein) และต่อไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) แอนติเจน (antigen) ของเชื้อ Salmonella typhi ในคนกลุ่ม ต่าง ๆ โดยเปรียบเทียบผลที่ได้กับ Widal test โปรตีนแอนติเจนที่ใช้ในวิธี ELISA นี้ เตรียม ได้จากการสกัดเชื้อ S. typhi ด้วย Veronal buffer ส่วนไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ เตรียมได้ จากการสกัดเชื้อด้วยสารผสมระหว่างฟีนอลกับน้ำ ผลจากการศึกษาพบว่าในกลุ่มคนปกติ มีเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ของคนในกลุ่มนี้ที่มี IgG แอนติบอดีต่อโปรตีนแอนติเจน แต่ไม่พบ IgG แอนติบอดีต่อ ไลโปโพลีแซ็กคาไรด์แอนติเจน และ IgM แอนติบอดีต่อทั้งโปรตีนและไลโปโพลีแซ็กคาไรด์แอนติเจนเลย ส่วนการตรวจด้วย Widal test ให้ผลบวกของแอนติบอดีต่อโอแอนติเจน เท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ และแอนติบอดีต่อเอช แอนติเจน เท่ากับ 17.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกลุ่มผู้ชายเลือด ให้ผลบวกเป็นเปอร์เซ็นต์ที่ค่อนข้างสูง ทั้งโดยวิธี ELISA และ Widal test โดยมีเปอร์เซ็นต์ ที่ให้ผลบวกของ IgG แอนติบอดีต่อโปรตีน, IgM แอนติบอดีต่อโปรตีน, IgG แอนติบอดีต่อไลโปโพลี แซ็กคาไรด์ และ IgM แอนติบอดีต่อไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ เท่ากับ 36.67, 26.66, 30 และ 40 ตามลำดับ ในขณะที่ Widal test ให้ผลบวกของแอนติ-โอ แอนติบอดีเท่ากับ 23.33 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลบวกของแอนติ-เอช แอนติบอดีเท่ากับ 36.67 เปอร์เซ็นต์ คนในกลุ่มผู้ชายเลือด

นี้ไม่มีบันทึกประวัติที่ค้นได้ อาจเป็นไปได้ว่าคนในกลุ่มนี้บางคนอาจเคยได้รับเชื้อ S. typhi มาก่อน ดังนั้นจึงทำให้พบว่าคนในกลุ่มนี้ให้ผลบวกต่อ S. typhi ในเปอร์เซ็นต์ที่สูงโดยวิธี ELISA และ Widal test นอกจากนี้ยังได้ศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยใช้ไทฟอยด์ที่มีเชื้อ S. typhi ในเลือด และในผู้ป่วยอื่นที่มีเชื้อซึ่งไม่ใช่ S. typhi ในเลือดด้วย ผลการศึกษาพบว่าในผู้ป่วยใช้ไทฟอยด์ให้ผลบวกของ IgG และ IgM แอนติบอดีต่อโปรตีนและต่อไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ โดยวิธี ELISA เท่ากับ 88.89 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Widal test ให้ผลบวกของแอนติ-โอ แอนติบอดี เท่ากับ 61.00 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลบวกของแอนติ-เอช แอนติบอดีเท่ากับ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผู้ป่วยที่มีเชื้อตัวอื่น ส่วนใหญ่แล้วให้ผลลบโดยวิธี ELISA มีเพียง 5 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่ให้ผลบวกของ IgG แอนติบอดีต่อโปรตีนแอนติเจน และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ให้ผลบวกของ IgM แอนติบอดีต่อโปรตีน และ IgG แอนติบอดีต่อไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ เมื่อเปรียบเทียบกับ Widal test พบว่าให้ผลบวกของแอนติ-โอ แอนติบอดีเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ และแอนติ-เอช แอนติบอดี เท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การศึกษานี้ยังได้ศึกษาในผู้ป่วยอีก 2 กลุ่ม คือ ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับการตรวจวินิจฉัยจากอาการว่าเป็นผู้ป่วยใช้ไทฟอยด์ และให้ผลบวกโดย Widal test แต่ตรวจไม่พบเชื้อในเลือดรวมทั้งกลุ่มที่ไม่มีรายงานผลของการเพาะเชื้อในเลือด ซึ่งทั้งสองกลุ่มนี้ให้ผลบวกโดยวิธี ELISA เท่ากับ 68.42 ถึง 70.18 เปอร์เซ็นต์และ 28 ถึง 44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

กล่าวโดยสรุปจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจวินิจฉัยใช้ไทฟอยด์ โดยวิธี ELISA โดยใช้โปรตีนและไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ เป็นแอนติเจน มีความไวและความจำเพาะต่อเชื้อ S. typhi มากกว่า Widal test และเหมาะที่จะนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยทางน้ำเหลืองวิทยา สำหรับผู้ป่วยใช้ไทฟอยด์ต่อไป

Thesis Title      Determination of Antibody against Lipopolysaccharide and Protein Antigens from Salmonella typhi in Typhoid Patients

Author              Miss Yupin Mekara

M.Sc.                Microbiology

Committee:        Assist.Prof.Dr.Vicharn Vithayasai      Chairman

Examining        Assoc.Prof.Dr.Sanit      Makonkawkeyoon Member

                     Assist.Prof.Dr.Prakong Vithayasai      Member

                     Assist.Prof.Dr.Niwat      Maneekarn      Member

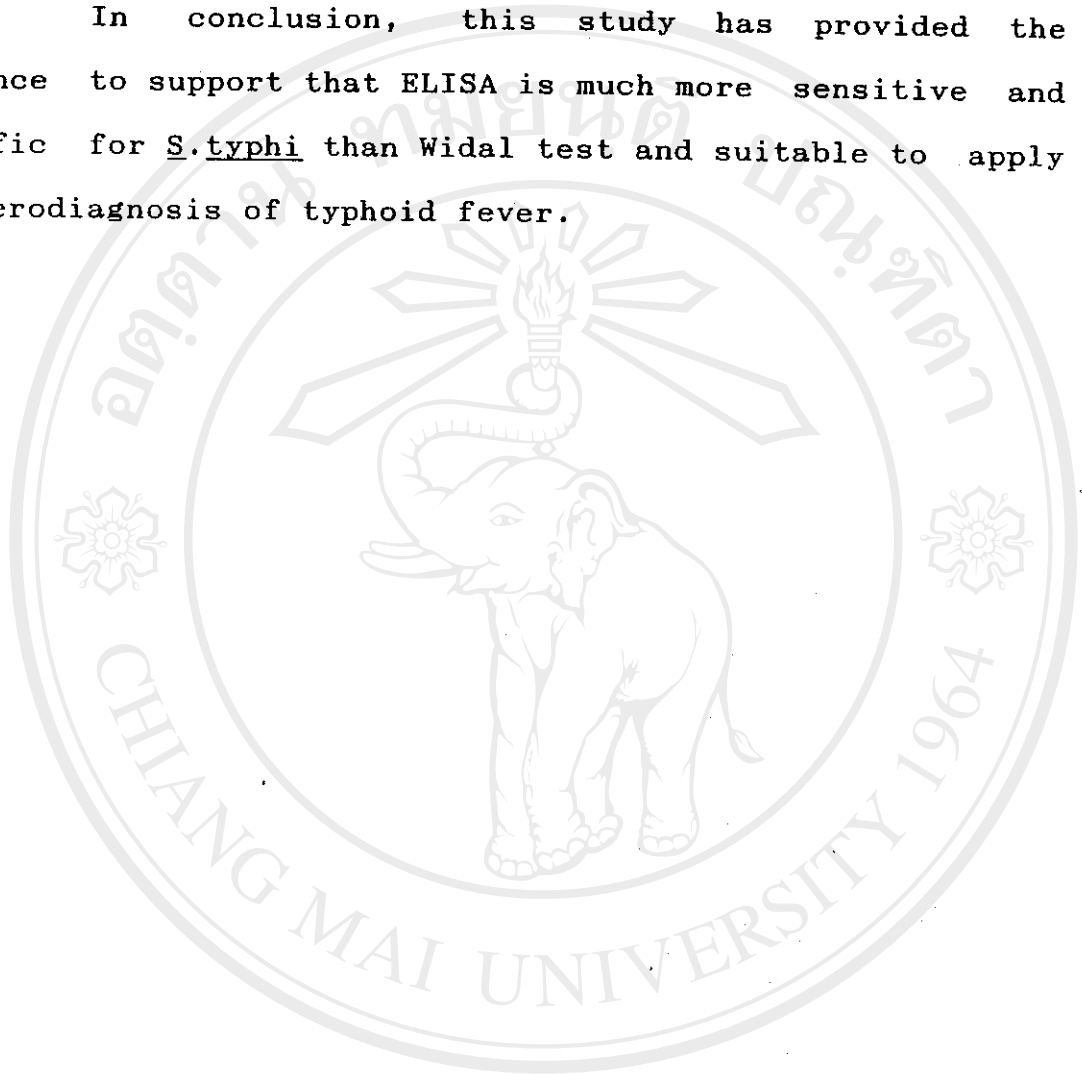
#### ABSTRACT

Although the Widal test is a simple, inexpensive and most widely used for serodiagnosis of typhoid fever, the sensitivity and specificity of this test is sometime doubtful. In this study, the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) was developed and used for the detection of IgG and IgM antibodies to extracted protein and LPS antigens of Salmonella typhi in various groups of subjects and the results were compared with those of Widal test. The protein antigen used in ELISA was prepared from S.typhi by extracting with Veronal buffer while LPS was prepared by phenol-water extraction. In healthy control group, only 5% of serum samples were positive for IgG antibody to protein antigen and none was positive for IgG anti-LPS, IgM anti-protein and anti-LPS while the Widal test gave 7.5% positive

for anti-O antibody and 17.5% for anti-H antibody. In blood bank donor group, relatively high percentages of their sera were positive by both ELISA and Widal test. It was found that ELISA gave 36.67, 26.66, 30 and 40% positive for IgG anti-protein, IgM anti-protein, IgG anti-LPS and IgM anti-LPS respectively while Widal test gave 23.33% positive for anti-O and 36.67% for anti-H antibodies. This group of subjects had no history record available, it is possible that some of them might be recently or currently infected with S.typhi and therefore their sera were positive for antibody to S.typhi at high percentages by both methods. The typhoid patients with hemoculture positive for S.typhi as well as the patients with hemoculture positive for other bacteria were also tested. The percentages of typhoid patients positive for IgG and IgM antibodies to protein and LPS antigens by ELISA were as high as 88.89-100% while Widal test showed 61.11% positive for anti-O and 83.33% for anti-H antibodies. Most of the patients with hemoculture positive for other bacteria were negative by ELISA except that 5% were positive for IgG anti-protein and 2.5% for IgM anti-protein and IgG anti-LPS. In contrast, the Widal test showed 15% positive for anti-O and 40% for anti-H antibodies. The last two groups of patients were those with clinical diagnosis of typhoid fever and positive by Widal test but hemoculture either negative for S.typhi or the records are not available showed 68.42-70.18 and 28-44% positive by

ELISA for IgG and IgM antibodies to protein and LPS antigens respectively.

In conclusion, this study has provided the evidence to support that ELISA is much more sensitive and specific for S.typhi than Widal test and suitable to apply for serodiagnosis of typhoid fever.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

## ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my deep gratitude<sup>d</sup> and appreciation to Dr. Vicharn Vithayasai, my advisor, for his guidance, valuable advice and his encouragement which has enabled me to carry on my study successfully.

I am particularly grateful to Dr. Niwat Maneekarn and Dr. Sanit Makonkawkeyoon, my co-advisor and Acharn Chatchawann Apichartpiyakul for their helps and valuable advices throughout this study.

I am indebted to the Serological Laboratory Unit of Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital for giving me the specimens for this study.

Finally, special appreciation is also given to all the patients and donors for their cordiality and cooperation during the course of my study.

This research was partly financed by the National Research Council of Thailand.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved