รายการอ้างอิง

(1) Allison NaJPG. Enteric pythiosis in a horse. J Am Vet Med Assoc. 1990;196(3):462-4.

(2) Austwick PKaC, J.W. Swamp cancer. Nature(*Lond*). 1974;250:84.

(3) Bissonnette KW, Sharp NJ, Dykstra MH, Robertson IR, Davis B, Padhye AA, et al. Nasal and retrobulbar mass in a cat caused by *Pythium insidiosum*. J Med Vet Mycol. 1991;29(1):39-44.

(4) Briard M, Rouxel, F. and Brygoo, Y. Ribosomal RNA sequence divergence within the Pythiaceae. Mycological Research. 1995;99:1119-27.

(5) Bridges CHaE, C.W. A phycomycosis of horses caused by *Hyphomycosis destruens*. J Am Vet Med Assoc. 1961;38:579-89.

(6) Brown CC, J. J. McClure, P. Triche, and C. Crowder. Use of immunohistochemical methods for dinosis of equine pythiosis. Am J Vet Resl. 1988;49:1866-68.

(7) Cooke DE, Drenth, A., Duncan. J. M., Wagels, G. and Brasier, C. M. A molecular phylogeny of *Phythopthora* and related Oomycetes. Fungal Genet Biol. 2000;30:17-32.

(8) De Cock AW, Mendoza L, Padhye AA, Ajello L, Kaufman L. *Pythium insidiosum* sp. nov., the etiologic agent of pythiosis. J Clin Microbiol. 1987 Feb;25(2):344-9.

(9) de Haan J. Basartige Schimmelkrankheit des pferdes(Hyphomycosis destruens equi). Zentbl Nakteriol Parasitenkd Infektionskr. 1902;31:758-63.

(10) de Haan JaH, L. Hyphomycosis destruens. Veeartsenijk Bl v Ned Indie. 1901;13:350-74.

(11) Drouin V. Sur une nouvelle mycose de cheval. Rec Med Vet. 1896;30(337-44).

(12) Dykstra MJ, et al. A description of cutaneous-subcutaneous pythiosis in fifteen dogs. Med Mycol. 1999;37.(6): 427-33.

(13) E.M.Moller GB, H. Sanderman and H.H.Geiger. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. Nucleic Acids Research. 1992;20(22):6115-116.

(14) Fischer JR, Pace, L, W., et al. Gastrointestinal pythiosis in Missouri dogs: eleven cases. J Vet Diagn Invest. 1994;6:380-2.

(15) Fish PA. Leeches: a historical investigation of two cases of equine mycosis with a historical account of supposed similar disease, called bursatte, occurring in India. 12th and 13th Annual Report of the Bureau of Animal Industry. 1985-96:229-59.

(16) Foil CS, Short, B.G., et al. A report of subcutaneous pythiosis in five dogs and a reveiw of the etiology agent *Pythium ssp.* J Am Animm Hosp Assoc. 1984;20:959-66.

(17) Fraco DMaP, D. *Pythium insidiosum* keratitis. Aust N Z J Ophthalmol. 1997;25:177-9.

(18) Goad ME. Pulmonary pythiosis in a horse. Vet Pathol. 1984;21(2):261-2.

(19) Grooster AM, E. C. Hodgin, R. W. Bauer, C. J. Detrisac, N. R. Znajda and R. C. Thomas. Clinicopathologic findings associated with *Lagenidium* sp. infection in six dogs: initial description of an emerging oomycosis. J Vet Intern. 2003;17:637-46.

(20) Grooters AM, Gee MK. Development of a nested polymerase chain reaction assay for the detection and identification of *Pythium insidiosum*. J Vet Intern Med. 2002 Mar-Apr;16(2):147-52.

(21) Grooters AM, Leise BS, Lopez MK, Gee MK, O'Reilly KL. Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of pythiosis in dogs. J Vet Intern Med. 2002 Mar-Apr;16(2):142-6.

(22) Ichitani TaA, J. *Pythium gracile* isolated from foci of granular dermatitis in the horse(*Equus caballus*). Trans Mycol Soc Jpn. 1980;21:263-5.

(23) Imwidthaya P. Mycotic keratitis in Thailand. J Med Vet Mycol. 1995;33:81-2.

(24) Krajaejun T, Kunakorn M, Niemhom S, Chongtrakool P, Pracharktam R. Development and evaluation of an in-house enzyme-linked immunosorbent assay for early diagnosis and monitoring of human pythiosis. Clin Diagn Lab Immunol. 2002 Mar;9(2):378-82.

(25) Krajaejun T, Sathapatayavongs B, Pracharktam R, Nitiyanant P, Leelachaikul P, Wanachiwanawin W, et al. Clinical and epidemiological analyses of human pythiosis in Thailand. Clin Infect Dis. 2006 Sep 1;43(5):569-76.

(26) Martin FN. Phylogenetic relationships among some *Pythium* species inferred from sequence analysis of the mitochondrially encoded cytochrome oxidase II gene. Mycologia. 2000;92:711-27.

(27) McMeekin DaML. *In vitro* effect of streptomycin on clinical isolates of *Pythium insidiosum*. Mycologia. 2000;92:711-27.

(28) Mendoza L, Kaufman L, Standard P. Antigenic relationship between the animal and human pathogen *Pythium insidiosum* and nonpathogenic Pythium species. J Clin Microbiol. 1987 Nov;25(11):2159-62.

(29) Mendoza L, Alfaro AA, Villalobos J. Bone lesions caused by *Pythium insidiosum* in a horse. J Med Vet Mycol. 1988 Feb;26(1):5-12.

(30) Mendoza L, Prendas J. A method to obtain rapid zoosporogenesis of *Pythium insidiosum*. Mycopathologia. 1988 Oct;104(1):59-62.

(31) Mendoza L, Marin G. Antigenic relationship between *Pythium insidiosum* de Cock et al. 1987 and its synonym *Pythium destruens* Shipton 1987. Mycoses. 1989 Feb;32(2):73-7.

(32) Mendoza L, Hernandez F, Ajello L. Life cycle of the human and animal oomycete pathogen *Pythium insidiosum*. J Clin Microbiol. 1993 Nov;31(11):2967-73.

(33) Mendoza L, Kaufman L, Mandy W, Glass R. Serodiagnosis of human and animal pythiosis using an enzyme-linked immunosorbent assay. Clin Diagn Lab Immunol. 1997 Nov;4(6):715-8.

(34) Mendoza L, Mandy W, Glass R. An improved *Pythium insidiosum*-vaccine formulation with enhanced immunotherapeutic properties in horses and dogs with pythiosis. Vaccine. 2003 Jun 20;21(21-22):2797-804.

(35) Mendoza L, Newton JC. Immunology and immunotherapy of the infections caused by *Pythium insidiosum*. Med Mycol. 2005 Sep;43(6):477-86.

(36) Mendoza L, Kaufman, and P. G. Standard. Immunodiffusion test for diagnosing and monitering pythiosis in horses. J Clin Microbiol. 1986;23:813-16.

(37) Mendoza LaA, A.A. Equine pythiosis in Costa Rica: report of 39 cases. *Mycopathologia*. 1986;94:123-9.

(38) Miller RI, and R. S. Campbell. Immunological studies on equine phycomycosis. Aust Vet J. 1982;58:227-31.

(39) Miller RI, B.M. Olcott, and M. Archer. Cutaneous pythiosis in beef calves. J Am Vet Med Assoc. 1985;186(9):984-6.

(40) Patton CS, Hake R, Newton J, Toal RL. Esophagitis due to *Pythium insidiosum* infection in two dogs. J Vet Intern Med. 1996 May-Jun;10(3):139-42.

(41) Petersen ABaRS. Phylogeny of the *Peronosporomycetes*(*Oomycota)* base on partial sequences of the lare ribosomal subunit (LSU rDNA). Mycological Research. 2000;104:1295-303.

(42) Ravishankar JP, Davis CM, Davis DJ, MacDonald E, Makselan SD, Millward L, et al. Mechanics of solid tissue invasion by the mammalian pathogen *Pythium insidiosum*. Fungal Genet Biol. 2001 Dec;34(3):167-75.

(43) Rinaldi MG, Seidenfeld, S.M., et al. *Pythium insidiosum* causes severe diease in a healthy boy. Mycol Observer. 1989;9:7.

(44) Rivierre C, Laprie C, Guiard-Marigny O, Bergeaud P, Berthelemy M, Guillot J. Pythiosis in Africa. Emerg Infect Dis. 2005 Mar;11(3):479-81.

(45) Santurio JM, Monteiro , A.B., et al. Cutaneous pythiosis in claves from Pantal region of Brazil. *Mycopathologia.* 1998;141:123-5.

(46) Sathapatayavongs B, Ledachaikul, P., et al. Human pythiosis associated with thalassemia hemoglobinopathy syndrome. J Infect Dis. 1989;159:274-80.

(47) Schurko A, Mendoza, L., et al. Evidence for geographic cluster: molecular genetic difference among strains of *Pythium insidiosum* from Asia, Australia and the Americas are explored. Mycologia. 2003;95:200-8.

(48) Schurko AM, Mendoza L, Levesque CA, Desaulniers NL, de Cock AW, Klassen GR. A molecular phylogeny of *Pythium insidiosum*. Mycol Res. 2003 May;107(Pt 5):537-44.

(49) Schurko AM, Mendoza L, de Cock AW, Bedard JE, Klassen GR. Development of a species-specific probe for *Pythium insidiosum* and the diagnosis of pythiosis. J Clin Microbiol. 2004 Jun;42(6):2411-8.

(50) Shenep JL, English BK, Kaufman L, Pearson TA, Thompson JW, Kaufman RA, et al. Successful medical therapy for deeply invasive facial infection due to *Pythium insidiosum* in a child. Clin Infect Dis. 1998 Dec;27(6):1388-93.

(51) Shipton WA. Zoospore inductiom and release in a *Pythium* causing equine phycomycosis. Trans Br Mycol Soc. 1985;84:147-55.

(52) Smith F. The pathology of bursattee. Vet J. 1884;19(16-7).

(53) Thianprasit M, Chaiprasert A, Imwidthaya P. Human pythiosis. Curr Top Med Mycol. 1996 Dec;7(1):43-54.

(54) Thitithanyanont A, Mendoza L, Chuansumrit A, Pracharktam R, Laothamatas J, Sathapatayavongs B, et al. Use of an immunotherapeutic vaccine to treat a life-threatening human arteritic infection caused by *Pythium insidiosum*. Clin Infect Dis. 1998 Dec;27(6):1394-400.

(55) Thomas RCaL, D.T. Pythiosis in dogs and cats. Compendium. 1998;20:63-75.

(56) Trisscott JA, Weedon, D. and Cabana, E. Human subcutaneous pythiosis. Compendium. 1993;20:63-75.

(57) van der Plaats-Niterink AJ. Momograph of the genus *Pythium*. Utrecht , The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures 1981.

(58) Vanittanakom N, Supabandhu J, Khamwan C, Praparattanapan J, Thirach S, Prasertwitayakij N, et al. Identification of emerging human-pathogenic *Pythium insidiosum* by serological and molecular assay-based methods. J Clin Microbiol. 2004 Sep;42(9):3970-4.

(59) Virgile R, Perry HD, Pardanani B, Szabo K, Rahn EK, Stone J, et al. Human infectious corneal ulcer caused by *Pythium insidiosum*. Cornea. 1993 Jan;12(1):81-3.

(60) Wanachiwanawin W, Thianprasit M, Fucharoen S, Chaiprasert A, Sudasna N, Ayudhya N, et al. Fatal arteritis due to *Pythium insidiosum* infection in patients with thalassaemia. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1993 May-Jun;87(3):296-8.

(61) Witkamp J. Bijdrage tot de kennis van der hyphomycosis destruens. Ned Ind Bland Diergenaeskd Dierenteelt. 1924;36:229-345.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

Sabouraud Dextrose Agar (Sonofi, France)

Sabouraud dextrose agar powder	65	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ผสมทั้งหมดให้เข้ากัน และ ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน(autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

Sabouraud Dextrose Broth

Sabouraud dextrose broth powder	30	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ผสมทั้งหมดให้เข้ากัน และ ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

Luria-Bertani (LB) Broth

Bactopeptone	1	กรัม
Yeast Extract	0.5	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ผสมทั้งหมดให้เข้ากัน และ ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

Luria-Bertani Agar

Bactopeptone	1	กรัม
Yeast Extract	0.5	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
Agar	1.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ผสมทั้งหมดให้เข้ากัน และ ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

Ampicillin (50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ละลาย 500 มิลลิกรัม Ampicillin ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร กรองผ่านแผ่นเมมเบรนขนาด 0.22 ไมโครเมตร และ เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

10X Tris-borate EDTA buffer (10X TBE)

Tris base	10.8	กรัม
Boric acid	5.5	กรัม
Na_2EDTA	9.3	กรัม

เติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

1X TBE

นำ 10X TBE 100 มิลลิลิตร มาเติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

1% Agarose gel

ชั่ง Agarose 1 กรัม ละลายใน 1X TBE ให้มีปริมาตรทั้งหมด 100 มิลลิลิตร

1% Agarose low melting gel

ชั่ง low melting Agarose 1 กรัม ละลายใน 1X TBE ให้มีปริมาตรทั้งหมด 100 มิลลิลิตร

Lysis buffer

3% SDS	6	มิลลิลิตร
0.5 M Tris HCl (pH7.5)	2	มิลลิลิตร
0.5 M EDTA (pH7.5)	2	มิลลิลิตร
Mercaptoethanol	200	ไมโครลิตร
Protenase K	0.002	กรัม
น้ำกลั่น	2.8	มิลลิลิตร

Induction medium (32)

Solution I ประกอบด้วย

K_2HPO_4	87.09	กรัม
KH_2PO_4	8.05	กรัม
$(NH_4)_2HP0_4$	446.04	กรัม

นำทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร

Solution II ประกอบด้วย

$MgCl_2.6H_20$	25.42	กรัม
$CaCl_2$	118.38	กรัม

นำทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร

จากนั้นนำ solution I ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร + solution II ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรผสมในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตรและปรับเท่ากับ pH 7.1

เครื่องมือและวัสดุที่ใช้ในการวิจัย

Electro-transformation, BIO-RAD, USA

Freezer -70°C , Forma Scientific, USA

Microcentrifuge tube 1.5 ml, Fermentas, USA

Microcentrifuge tube 0.5 ml, Fermentas, USA

Microcentrifuge tube 0.2 ml, Fermentas, USA

Pipette tips 0.1-1,000 ul, Fermentas, USA

Power supply, Power Pac200, BIO-RAD, USA

Thermal cycler 9600/Perkin-Elmer, Cetus, USA

Autoclave, TOMY, SS-325, Japan

Freezer -20°C , Sharp, Japan

Timer, CitiZen, Japan

Refrigerate Centrifuge, Kubota, Japan

Microcentrifuge, Hanil, Micro 12 , Korea

Refrigerator, LG, Korea

สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

สารเคมี	แหล่ง
EDTA	USB, USA
Tris base	USB, USA
Agarose	USB, USA
Agarose low melting gel	USB, USA
Proteinase K	USB, USA
1 X TE buffer	Promega, USA
QIAquick PCR purification Kit	QIAGEN, USA
QIAEX II Agarose gel Gel Extraction	QIAGEN, USA
InsTAclone™ PCR Cloning Kit	Fermentas, USA
λ Hind III DNA ladder	Fermentas, USA
Mercaptoethanol	Plusone, Sweden
SDS	Plusone, Sweden
Ethidium bromide	Sigma, Germany
High-Speed Plasmid Mini kit	RBC,Taiwan
NaCl	UNIVAR, New zealand
Yeast Extract	Oxiod, England
SDA	BIO-RAD, France

SB	Difco, France
Phenol	Fisher Scientific, UK
Glycerol	Fisher Scientific, UK
Iso-propanol	Merck, Germany
98% ethanol	Merck, Germany
iso-amyl alcohol	Merck, Germany
Chloroform	Merck, Germany

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายวิชิต ทวีกาญจน์ เกิดวันพุธที่ 18 มีนาคม พ.ศ. 2524 ที่ จ.เพชรบุรี จบการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ปีการศึกษา 2545 และจากนั้นเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปี พ.ศ. 2546 จนกระทั่งสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2549