การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดี ในผู้ป่วยก่อนและหลังการรักษาโรคพยาธิตัวจี๊ดระหว่าง ยาอัลเบนดาโซลและยาไอเวอร์เมกติน



นางสาว มัทนียา ภัทรธีรฉัตร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปรสิตวิทยาทางการแพทย์ ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2547 ISBN 974-17-6332-8 ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPARISION OF ANTIBODY LEVEL IN PATIENTS GNATHOSTOMIASIS BETWEEN PRE AND POST – TREATMENT WITH ALBENDAZOLE AND IVERMECTIN

Miss Mattaneeya Pattarateerachat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medical Parasitology

Department of Parasitology

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN 974-17-6332-8

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดี ในผู้ป่วยก่อนและ

หลังการรักษาโรคพยาธิตัวจี๊ดระหว่างยาอัลเบนดาโซลและไอเวอร์

เมกติน

โดย

นางสาว มัทนียา ภัทรดีรจัตร

สาขาวิชา

ปรสิตวิทยาทางการแพทย์

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ. กัญญรัตน์ กรัยวิเชียร

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ. ดร. เผด็จ สิริยะเสถียร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

> คณบดีคณะแพทยศาสตร์ (ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนล์

(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง สุรางค์ นุชประยูร)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง กัญญรัตน์ กรัยวิเชียร)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. เผด็จ สิริยะเสถียร)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประเสริฐ สิทธิเจริญชัย)

ประชา ริชาใน กรรมการ

9

นางสาว มัทนียา ภัทรธีรฉัตร : การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดี ในผู้ป่วย ก่อนและหลังการรักษาโรคพยาธิตัวจี๊ดระหว่างยาอัลเบนดาโซลและไอเวอร์เมกติน.

(COMPARISON OF ANTIBODY LEVEL IN PATIENTS GNATHOSTOMIASIS BETWEEN PRE AND POST - TREATMENT WITH ALBENDAZOLE AND IVERMECTIN) อ. ที่ ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ.กัญญรัตน์ กรัยวิเชียร, อ.ที่ปรึกษาร่วม :

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ.เผด็จ สิริยะเสถียร 71 หน้า. ISBN 974-17-6332-8.

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีใน น้ำเหลืองของผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจี๊ด ซึ่งตรวจวัดโดยวิธี ELISA และ การเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดี ต่อโปรตีนจำเพาะที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 24 kDa ตรวจวัดโดยวิธี Western Blot ในผู้ป่วยก่อนและหลัง ได้รับการรักษาระหว่างยาอัลเบนดาโซล จำนวน 14 ราย หรือยาไอเวอร์เมกติน จำนวน 15 ราย พบว่า การตรวจวัดระดับแอนติบอดีในน้ำเหลืองโดยวิธี ELISA มีการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา จากนั้นนำค่าคนปกติมาหาค่า cut - off (ค่าเฉลี่ย + ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และติดตามผู้ป่วยทั้งสอง กลุ่มทั้ง ก่อนและหลังการรักษา 14 วัน 30 วัน 60 วัน 90 วัน 120 วัน และ 1 ปี พบว่าให้ผลบวกทุกราย และให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ในการทดสอบน้ำเหลืองของผู้ป่วยโรค พยาธิตัวจี๊ดโดยวิธี Western Blot เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีต่อโปรตีนจำเพาะที่มีน้ำหนักโมเลกุล 24 kDa พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีต่อโปรตีนจำเพาะที่มีน้ำหนักโมเลกุล 24 kDa หลังการรักษาในผู้ป่วยที่ได้รับายาอัลเบนดาโซลโดยให้ผลการทดสอบเป็นลบ 3 ราย ในผู้ป่วย ที่ได้รับยาไอเวอร์เมกตินให้ผลการทดสอบเป็นลบ 1 ราย สรุปว่าการเปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีในผู้ ป่วยโรคพยาธิตัวจี๊ดที่ผิวหนัง ทดสอบโดยวิธี ELISA และ Western Blot ก่อนและหลังการรักษา ระหว่างยาอัลเบนดาโซล และ ยาใจเวอร์เมกติน ไม่มีความแตกต่างกัน

ภาควิชา ปรสิตวิทยา สาขาวิชา ปรสิตวิทยาทางการแพทย์ ปีการศึกษา 2547

 ##457 52402 30 : MAJOR MEDICAL PARASITOLOGY

KEY WORD: ELISA/ WESTERN BLOT / ANTIBODY IgG/ PATIENTS GNATHOSTOMIASIS

MATTANEEYA PATTARATEERACHAT: COMPARISON OF ANTIBODY LEVEL IN PATIENTS GNATHOSTOMIASIS BETWEEN PRE AND POST – TREATMENT BETWEEN ALBENDAZOLE AND IVERMECTIN. THESIS ADVISOR: KANYARAT KRAIVICHIAN, ASST PROF., MD., THESIS COADVISOR: PADET SIRIYASATIEN, ASST PROF., MD., Ph.D. 71 pp. ISBN 974-17-6332-8.

The objective of this study were to compare the changing of antibody level by ELISA and the changing of specific antibody by Western Blot, in serum of cutaneous gnathostomiasis patients between pre and post – treatment with albendazole in 14 patients and ivermectin in 15 patients. By ELISA technique, checkerboard titration of antigen and conjugate was performed against pooled positive and negative sera. The cut – off value was the mean + 1SD of those of healthy control sera. All sera which pre and post – treatment for 14 days, 30 days, 60 days, 90 days, 120 days and 1 year with albendazole in 14 patients and ivermectin in 15 patients gave ELISA value above the mean (+1SD) of normal controls, which was arbitrarily used as a cut – off point. There were no significant difference in ELISA OD (p>0.05) in both groups. Sera from 2 groups were studied by sodium dodecyl sulphate – polyacrylamide gel electrophoresis(SDS – PAGE) and Western Blot analysis for specific antigen of *G.spinigerum* with a MW. of 24 kDa. The cutaneous gnathostomiasis 3 of 14 patients who received albendazole and 1 of 15 patients who received ivermectin were seronegative after treatment. We concluded that there were no different in changing of antibody level by ELISA but changing of specific antibody by Western Blot but there was no statically significant difference.

Department Parasitology
Field of study Medical Parasitology
Academic year 2004

Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างยิ่งในความกรุณาของ ผู้ช่วย ศาสตราจารย์ แพทย์หญิง กัญญรัตน์ กรัยวิเชียร อาจารย์ที่ปรึกษา และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นาย แพทย์ ดร. เผด็จ สิริยะเสถียร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ความกรุณาให้ความรู้ ความช่วยเหลือ ให้คำ แนะนำ และข้อคิดต่างๆอันเป็นประโยชน์ ตลอดจนการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆในการศึกษาวิจัย ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ดร. สุรางค์ นุชประยูร ที่กรุณาให้ คำแนะนำ และข้อคิดต่างๆอันเป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัย และขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาค วิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความรู้ และคำแนะนำในการ ศึกษาวิจัย

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พารณ ดีคำย้อย ภาควิชาหนอนพยาธิ คณะ เวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความกรุณาอนุเคราะห์สารเคมี อุปกรณ์ ให้ความรู้ คำ แนะนำ ข้อคิดต่างๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ และให้การสนับสนุน วัสดุอุปกรณ์ต่างในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ และพี่ๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังที่ดี เสมอมา

สุดท้าย ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ได้ให้โอกาสทางการศึกษาตั้งแต่เริ่มต้น จวบจนกระทั่งปัจจุบัน ซึ่งท่านได้เป็นแรงผลักดัน และเป็นกำลังใจที่ดีตลอดเวลา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	۱۱
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	นิ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ល្ង
คำย่อ	<u>¶</u>
- บทที่ 1 บทนำ	1
- บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
- บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	19
- บทที่ 4 ผลการทดลอง	37
- บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และอภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	56
รายการอ้างอิง	62
ภาคผนวก	66
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	71

สารบัญตาราง

	หน้า	١
ตารางที่ 1	กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซล และ ยาไอเวอร์เมกติน	
	โดยแยกตามเพศ37	
ตารางที่ 2	อายุของกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซลและ	
	กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาไอเวอร์เมกติน38	
ตารางที่ 3	ภูมิลำเนาของผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซลและกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับ	
	ยาไอเวอร์เมกติน39	
ตารางที่ 4	ประวัติการรับประทานอาหาร กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซล	
	และยาไอเวอร์เมกติน40	
ตารางที่ 5	ระยะเวลาที่เกิดอาการบวมก่อนมาพบแพทย์ (วัน) ของกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับ	
	ยาอัลเบนดาโซล และ กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาไอเวอร์เมกติน42	
ตารางที่ 6	จำนวนครั้งของการเกิดผื่นก่อนได้รับการรักษาของผู้ป่วยที่ได้รับ	
	ยาอัลเบนดาโซลและ ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาไอเวอร์เมกติน43	
ตารางที่ 7	ตำแหน่งที่เกิดอาการของโรคพยาธิตัวจี๊ด44	
ตารางที่ 8	อาการบวมเคลื่อนที่ กับอาการร่วมอื่นๆของผู้ป่วยที่ได้รับ	
	ยาอัลเบนดาโซลและยาไอเวอร์เมกติน45	
ตารางที่ 9	แสดงอาการบวมไม่เคลื่อนที่ และอาการร่วมอื่นๆของผู้ป่วยที่ได้รับ	
	ยาคัลเขนดาโซลและยาไคเวคร์เมกติน	

สารบัญตาราง(ต่อ)

	9	ν
V	99.	IJ

ตารางที่ 10	ผลการทดสอบ ELISA ของผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาอัลเบนดาโซล48
ตารางที่ 11	ผลการทดสอบ ELISA ของผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาไอเวอร์เมกติน49
ตารางที่ 12	ผลการทดสอบ Western Blot ของกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาอัลเบนดาโซล52
ตารางที่ 13	ผลการทดสอบ Western Blot ของผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาไอเวอร์เมกติน54

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1	การกระจายของโรค (Geographic Distribution)6
รูปที่ 2	ตัวแก่ (Adult) ของพยาธิตัวจี๊ด7
รูปที่ 3	ตัวอ่อนระยะที่ 3 ขั้นปลาย (Advanced third stage larva;AL ₃)
	ของพยาธิตัวจี๊ด
รูปที่ 4	ไข่ (Egg) ของพยาธิตัวจี๊ด9
รูปที่ 5	วงจรชีวิต (Life cycle) ของพยาธิตัวจี๊ด11
รูปที่ 6	กราฟแสดงการเปรียบเทียบผู้ป่วยภูมิภาคต่างๆ40
รูปที่ 7	ตัวอย่างการทำการทดสอบ Western Blot
	แสดงผลบวกและลบ55

คำย่อ

°C = degree Celsius

kDa = kilodalton

ml = millite

 μ I = microlitre

APS = Ammonium persulphate

ddH₂O = Double-distilled deionised water

g = Gram

l = litre

mg = milligram

M = Molar

MW = molecular weight

rpm = Revolutions per minute

SDS-PAGE = Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis

TEMED = N' – tetramethylethylenediamine

Tris = 2-amino-2(hydroxymethyl)-propane-1,3-diol

v/v = volume per volume

V = volt

w/v = weight per volume

Bis = N,N'-methyl-bis-acrylamide

OD = optical density

 μg = microgram

et al = et alii

IgG = Immonoglobulin G

IgE = Immonoglobulin E