รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ดรุณี ทันตสุวรรณ, ทัศนีย์ ขมภูจันทร์, มนทกานติ์ วงศ์ภากร และกิ่งดาว หม้อแก้ว. 2539. การพัฒนาการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ*ทริปปาโนโซมา อีแวนซัย* ในสุกร ด้วยวิธี enzyme linked immunosorbent assay. สัตวแพทยสาร 47: 45-52.

ชิต ศิริวรรณ์, อำนวยพร เกษมสันต์, หม่อมราชวงศ์ และรื่นฤดี บุญยะโหตระ. 2532. โรคทริปปาโนโซมิเอซิสในสุกร 3. ค่าสูญเสียทางเศรษฐกิจในระยะการเกิดการระบาดของโรคทริปปาโนโซมิเอซิส. สัตวแพยสาร 40: 21-27.

เทพ บุญญวงศ์, พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป และมานพ ม่วงใหญ่. 2518. โรคเซอร่าในม้า. เวชชสารสัตวแพทย์ 5: 666-667.

วรพล ปัจฉิมาศิริ, ดวงทอง โตจันทร์, วารุณี ชลยุทธ และมานพ ม่วงใหญ่. 2526. การสำรวจสภาวะอมโรคเซอร่าในกระบือไทย. เวชชสารสัตวแพทย์ 13: 81-91.

วิทยา ทิมสาด, ศุภกิจ เนตรพระ, วิกรานต์ แสนทวีสุข และนิทัศน์ อ่อนหวาน. 2528. ข้อสังเกตบางประการเกี่ยวกับการติดเชื้อ *ทริปปาโนโซมา อีแวนซัย* และการแท้งลูกในแม่กระบือ. ประมวลเรื่องประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 4.

วีระ เทพสุเมธานนท์, คัมภีร์ กอธีระ และพรเทพ จุลละทรัพย์. 2527. รายงานการระบาดของทริปปาโนโซมในฟาร์มแม่สุกร. การประชุมวิชาการสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทยฯ ครั้งที่ 11: 53.

สนั่นรักษ์สัตว์ ,พันเอกหลวง. 2492. โรค Surra ในเมืองไทย. สัตวแพทยสาร 1: 22-25.

สุรีย์ ธรรมศาสตร์ และสุรพงษ์ วงศ์เกษมจิตต์. 2538. การพัฒนาการเตรียมแอนติเจนเพื่อใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีย์ต่อ *ทริปปาโนโซมา อีแวนไซ* โดยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนต์. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 9: 81-88.

อัมพวัน ตฤษณะรมย์, สุกิจ มากมี และชาญ เพชรอักษร. 2530. การระบาดของ *Trypanosoma evansi* ในโคนมที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่. เรื่องย่อการประชุมสัมมนาทางวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 6: 1-12.

อิทธิพล ชัยชนะพูลผล, ชัยวัธน์ วิฑูระกูล, พัชรา สุวรรณวาสี, วัชรา นพคุณ, สุพล ปานพาน, และกรรณิการ์ ศักดิ์ดีชุมพล. 2530. การศึกษาการติดเชื้อ *ทริพพาโนโซมา อีแวนซาย* ในโคนม. เรื่องย่อการประชุมสัมมนาทางวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 6: 13-20.

เอ็นดู ธีระประเสริฐ และคณะ. 2527. รายงานการพบเชื้อ *Trypanosoma evansi* ในสุกรพันธุ์. ประมวลเรื่องประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ ครั้งที่ 12: 186-197.

เอ็นดู ธีระประเสริฐ และสุรพงษ์ อุดมพันธ์. 2528. การทดลองฉีดเชื้อ *Trypanosoma evansi* เข้าในสุกรขุน. ประมวลเรื่องการประชุมทางวิชาการสัตวแพทย์ ครั้งที่ 12.

ภาษาอังกฤษ

Basagoudanavar, S. H., Rao, J. R.,Singh, R. K. and Butchaiah, G. 1999. Random Amplification of Polymorphic DNA fingerprinting of *Trypanosoma evansi*. Veterinary Research Communications 23: 249-255.

Beltrame-Botelho, I. T., Gasper-Silva, D., Steindel, M., Davila, A. M. R. and Grisard, E. C. 2005. Internal transcribed spacers (ITS) of *Trypaosoma rangeli* ribosomal DNA (rDNA): a useful marker for inter-spicific differentiation. Infection, genetics and evolution 5: 17-28.

Campbell, N. A., Reece, J. B. and Mitchell, L. G. 1999. Biology. 5 th ed. Addison Wesley Longman, Inc.

Chansiri, K., Khuchareontaworn, S. and Sarataphan, N. 2002. PCR-ELISA for diagnosis of *Trypanosoam evansi* in animals and vector. Molecular Cell Probes 16: 173-177.

Cooper, G. M. 2000. The Cell: A Molecular Approach. 2 nd ed. ASM press: Washinton, D.C.

Escalante, A. A. and Ayala, F. J. 1995. Evolutionary origin of *Plasmodium* and other Apicomplexa based on rRNA genes. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA 92: 5793-5797.

Hagg. J., O'hUigin, C. and Overath, P. 1998. The molecular phylogeny of trypanosomes: evidence for an early divergence of the Salivaria. Molecular and Biochemical Parasitology 91: 37-49.

Halland, W. J. ,et al. 2001. A comparative evaluation of parasitological tests and a PCR for *Trypanosoma evansi* diagnosis in experimentally infected water buffaloes. Veterinary parasitology 97: 23-33.

Herbert, W. J. and Lumsden, W. H. R. 1976. *Trypanosoma brucei*: a rapid "matching" method for estimating the host's parasitemia. Experimental parasitology 40: 427-431.

Hoare, C. A. 1972. The Trypanosomes of mammals. Oxford : Blackwell Scientific Publications.

Ijaz, M. K., Nur-E-Kamal, M. S. A., Mohamed, A. I. A. and Dar, F. K. 1998. Comparative studies on the sensitivity of polymerase chain reaction and microscopic examination for the detection of Trypanosoma evansi in experimentally infected mice. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases 21: 215-223.

Kawashita, S. Y., Sanson, G. F. O., Fernandes, O., Zingales, B. and Briones, M. R. S. 2001. Maximum-likelihood divergence date estimates based on rRNA gene sequences suggest two scenarios of *Trypanosoma cruzi* intraspecific evolution. Molecular biology and evolution 18(12): 2250-2259.

Khuchareontaworn, S. 2003. Molecular phylogenetic analysis of *Trypanosoma evansi* based on small subunit ribosomal DNA and internal transcribed spacers. master' thesis. molecular biology, faculty of medical science, Srinakharinwirot university.

Lanham, S. M. and Godfrey, D. G. 1970. Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE-cellulose. Experimental parasitology 28: 521-534.

Levine, N. D. 1985. Veterinary Protozoology. The Iowa state university press.

Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Balimore, D. and Darnell, J. 2001. Molecular Cell Biology. 4 th ed. New York: W. H. Freeman and Company.

McLeod, A., Turner, C. M. R. and Tait, A. 1999. A high level of mixed *Trypanosoma brucei* infections in tsetse flies detected by three hypervariable minisatellites. Molecular and Biochemical Parasitology 102: 237-248.

MacLeod, A., Tweedie, A., Welburn, S. C., Mandlin, I., Turner, C. M. R. and Tait, A. 2000. Minisatellite marker analysis of *Trypanosoma brucei*: reconciliation of clonal, panmictic, and epidemic population genetic structures. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA 97: 13442-13447.

Maslov, D. A., Lukes, J., Jirku, M. and Simpson, L. 1996. Phylogeny of trypanosomes as inferred from the small and large subunit rRNAs: implications for the evolution of

parasitism in the trypanosomatid protozoa. Molecular and Biochemical Parasitology 75: 197-205.

Nei, M. and Li, W. H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the national Academy of Sciences of USA 76: 5269-5273.

Omanwar, S., Rao, J. R., Singh, R. K. and Butchaiah, G. 2001. DNA polymorphism in *Trypanosoma evansi* isolates defined by randomly amplified polymorphic DNA-PCR. Veterinary Record 148: 244-246.

Quieroz, A. O., Cabello, P. H. and Jansen, A. M. 2000. Biological and biochemical characterization of isolates of *Trypanosoma evansi* from Pantanal of Matogrosso-Brazil. Veterinary Parasitology 92: 107-118.

Simo, G., Herder, S., Njiokou, F., Asonganyi, T., Tilley, A. and Cuny, G. 2005. Trypanosoma brucei s.l.: characterization of stocks from Central Africa by PCR analysis of mobile genetic elements. Experimental parasitology 110: 353-362.

Smith, J. C., Levine, R. F. and Mansfield, J. M. 1982. Cloning of African trypanosomes in mice immunosuppressed by cyclophosphamide treatment. American journal of tropical medicine and hygiene 31: 1098-1102.

Tilley, A., Welburn, S. C., Fever, E. M., Feil, E. J. and Hide, G. 2003. *Trypanosoma brucei*: Trypanosome strain typing using PCR analysis of mobile genetic elements (MGE-PCR). Experimental parasitology 104: 26-32.

Tuntasuvan, D., Sarataphan, N. and Nishikawa, H. 1997. Cerebral trypanosomiasis in native cattle. Veterinary Parasitology 73: 357-363.

Tuntasuvan, D. and Luckins, A. G. 1998. Status of Surra in Thailand. Journal of Tropical Medicine and parasitology 21(2): 1-8.

Turner, C. M. R., Aslam, N. and Dye, C. 1995. Replication, differentiation, growth and the virulence of *Trypanosoma brucei* infections. Parasitology 111: 289-300.

Viseshakul, N. 1989. Development of DNA probe for sensitivity detection and strain differentiation in *Trypanosoma evansi*. Master's thesis, department of biochemistry, graduate school, Mahidol university.

Viseshakul, N. and Panyim, S. 1990. Specific DNA probe for the sensitive detection of *Trypanosoma evansi*. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Hygiene 21: 21-27.

Watanapokasin, Y., tanayuthawongese, C., Uthaisang, W., Chansiri, K., Boonmatit, C. and Sarataphan, N. 1998. Intra-species differentiation of *Trypanosoma evansi* by DNA fingerprinting with arbitrary primered polymerase chain reaction. Veterinary Parasitology 78: 259-264.

Witola, H. M., Sarataphan, N., Inoue, N., Ohashi, K. and Onuma, M. 2005. Genetic and variability in ESAG6 genes among *Trypanosoma evansi* isolates and in other trypanozoon member. Acta tropica 93: 63-73.

Wuyts, N., Chokesajjawatee, N. and Panyim, S. 1994. A simplified and highly sensitive detection of *Trypanosoma evansi* by DNA amplification. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Hygiene 25: 266-271.

Zhang, Z. Q. and Baltz, T. 1994. Identification of *Trypanosoma evansi, Trypanosoma equiperdum and Trypanosoma brucei brucei* using repetitive DNA probes. Veterinary Parasitology 53: 197-208.

Zhao, X., Duszynski, D. W. and Loker, D. E. 2001. A simple method of DNA extraction for Eimeria species. Journal of microbiological methods 44: 131-137.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

	เครื่องหมายการค้า
Absolute eyhanol	Merk
Agarose gel powder	USB
Ampicillin	BIO BASIC Inc
Boric acid	Sigma
Chloroform	Merk
cetryltrimethylammonium bromide (CTAB)	Sigma
DNA ladder	SibEnzyme
dNTP mix	Eppendorf
*Eco*R I	Promega
Ethidium bromide	Bio-Rad
Ethylene diaminetetra acetic acid (EDTA)	Pharmacia Biotech
Glacial acetic acid	Sigma
Heparin	Leo
Luria Bertani agar	Bacto
Luria Bertani broth	Bacto
N-Lauroylsarcosine	Amresco
Phenol	Amresco
Isoamylalcohol	Sigma
pGEM®-T Easy Vector system I	Promega
Platinum Taq DNA polymerase	Invitrogen
Primers	Proligo
QIAquick® PCR purification kit	QIAGEN
QIA prep® Miniprep kit	QIAGEN
Taq DNA polymerase	Invitrogen
Tris base	Amresco
IPTG (Isopropyl-β-D-Thiogalactopyranoside)	BIO BASIC Inc

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

	เครื่องหมายการค้า
5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-β-D- Galactopyranoside (X-GAL)	BIO BASIC Inc

วิธีการเตรียม PSG buffer (Phophate saline glucose buffer)

PSG buffer ประกอบด้วย 50mM Na_2HPO_4 2mM $NaH_2PO_4.H_2O$ และ 36mM NaCl และเติม glucose ให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1.5% glucose

วิธีการเตรียม 20% glycerol PSG **เพื่อใช้ในการเก็บเชื้อ** *T. evansi* **ที่อุณหภูมิ** –70 **องศาเซลเซียส**

นำ glycerol มาผสมกับ PSG buffer ที่เตรียมไว้แล้ว ให้ความเข้มข้นสุดท้ายของ glycerol เป็น 20%

วิธีการเตรียม Stock PS buffer (Phosphate saline) **ดัดแปลงมาจาก** Lanham **และ** Godfrey (1970)

Stock PS buffer ประกอบด้วย Na_2HPO_4(anhydrous) 13.48 กรัม $NaH_2PO_4.H_2O$ 0.69 กรัม และ NaCl 4.25 กรัม และเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม 10 μM primer

ผสม 100 μM primer 5 ไมโครลิตรกับน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 45 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วิธีการเตรียม 1% **และ** 2% agarose gel

ชั่ง agarose 0.3 กรัม และ 0.6 กรัม สำหรับ 1% และ 2% agarose ตามลำดับ นำ agarose ที่ชั่งมาละลายใน 1X TAE ปริมาตร 30 มิลลิลิตร อุ่นให้ผง agarose ละลายในไมโครเวฟจนผง agarose ละลายหมด จากนั้นเติม Ethidium bromide 3 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน รอจนสารละลาย agarose อุ่นจึงเทลงบนถาด รอให้gel แข็ง ดึง comb ออก แล้วจึงนำไปใช้ในการทำ electrophoresis

วิธีการเตรียม 5X TBE (Tris-Borate)

ชั่งสารดังนี้ Tris base 54 กรัม Boric acid 27.5 กรัม และ 0.5M EDTA (pH8.0) 20 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม 50X TAE (Tris-Acetate)

ชั่ง Tris 24กรัม ละลายในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 500 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 0.5M EDTA (pH8.0) 100 มิลลิลิตร และ Glacial acetic acid 57.1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตร 1000มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม loading dye

Loading dye ประกอบด้วย bromphenol blue 0.25%(M/V) และ glycerol 30% (V/V) โดยเตรียมปริมาตร 50 มิลลิลิตร ชั่ง bromphenol blue 0.125 กรัม และตวง glycerol 15 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 35 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วิธีการเตรียม 100 bp+1.5 Kb DNA ladder และ 1000 bp DNA ladder (SibEnzyme)

ผสม DNA ladder กับ 20 ไมโครลิตร กับ loading dye 2 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วิธีการเตรียม Lysis buffer pH9.1

ชั่ง EDTA 24.6 กรัม และ N-lauroylsarcosine 1.3 กรัม เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ปริมาตร 80 มิลลิลิตร และใช้ NaOH (ผลึก)ปรับ pH จนได้ pH เท่ากับ 9.1 จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม CTAB buffer

การเตรียม CTAB buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ประกอบด้วย CTAB 2 กรัม NaCl 8.2 กรัม β-mercapto-ethanol 0.2 มิลลิลิตร EDTA 0.74 กรัม Tris 1.214 กรัม และเติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

การเตรียม stock ampicillin **ความเข้มข้น** 10,000 ppm

เตรียม stock ampicillin ความเข้มข้น 10,000 ppm ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยชั่ง ampicillin มา 0.5 กรัม และเติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์จนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และไม่ให้โดนแสง จนกว่าจะนำมาใช้

วิธีการเตรียม Bacto® Luria Bertani agar (LB agar) **ผสม** Ampicillin 100 ppm

ละลาย LB agar ในน้ำกลั่นบริสุทธ์ โดยใช้ LB agar 35 กรัมต่อน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 1000 มิลลิลิตร นำไปอบฆ่าเชื้อ (Autoclave) หลังจากนั้นรอจน LB agar อุ่น จึงเติม Ampicillin ที่มีความเข้มข้น 1000 ppm ให้ความเข้มข้นสุดท้ายของ Ampicillin เป็น 100 ppm ผสมให้เข้ากัน เทลงบน plastic plate รอให้ LB agar แข็งตัว แล้วจึงนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส รอนำมาใช้งานต่อไป

วิธีการเตรียม Bacto® Luria Bertani broth (LB broth) **ผสม** Ampicillin 100 ppm

ละลาย LB broth ในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ โดยใช้ LB broth 25 กรัมต่อน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 1000 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดแก้ว หลอดละ 18 มิลลิลิตร นำไปอบฆ่าเชื้อ รอจน LB broth อุ่น จึงเติม Ampicillin ที่มีความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 2 มิลลิลิตรให้ความเข้มข้นสุดท้ายของ Ampicillin เป็น 100 ppm ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง รอนำมาใช้งานต่อไป

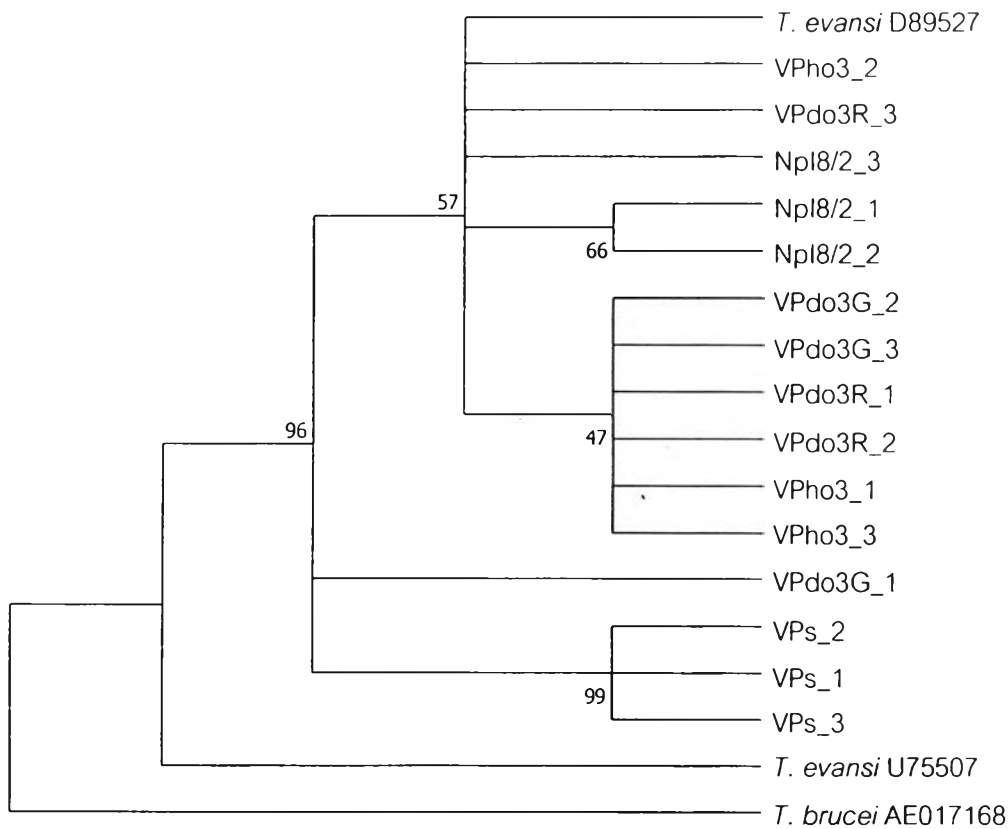
วิธีการเตรียม IPTG (Isopropyl-β-D-Thiogalactopyranoside)

เตรียม 0.1M IPTG โดยชั่ง IPTG 0.024 กรัม ละลายในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

วิธีการเตรียม X-GAL (5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-β-D-Thiogalactopyranoside)

ละลาย X-gal 100 มิลลิกรัม ใน DMF (N,N-dimethylformamide (C_3H_7NO)) 2มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และไม่ให้โดนแสง

ภาคผนวก ข



รูป phylogenetic tree ของ small subunit rRNA gene ที่สร้างด้วยวิธี Maximum Likelihood ของเชื้อ *T. evansi* isolate ต่างๆที่ทำการศึกษา และ *T. evansi* และ *T. brucei* ที่มีข้อมูลอยู่ใน GenBank

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวศุภรินทร์ จิรสุขประเสริฐ เกิดวันที่ 25 พฤศจิกายน พ.ศ. 2523 เกิดที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาบัณฑิตจากคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา ในปีการศึกษา 2544