

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการภาพประกอบ	(9)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(11)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	26
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	27
วัสดุ	27
อุปกรณ์	32
วิธีการ	33
3. ผลการทดลอง	41
4. วิจารณ์	69
5. บทสรุป	75
บรรณานุกรม	77
ภาคผนวก	85
ประวัติผู้เขียน	103

รายการตาราง

ตาราง		หน้า
1	ซีโรกรุปและบางซีโรวาร์ของเชื้อ <i>Leptospira interrogans sensu lato</i>	6
2	Genomospecies ของเชื้อเลปโตสไปราและซีโรกรุป	7
3	Genomospecies และซีโรกรุปที่สัมพันธ์กัน	8
4	เชื้อเลปโตสไปราที่เคยตรวจพบในประเทศไทย	15
5	ผลการตรวจโรคเลปโตสไปโรซิสในฝูงปศุสัตว์ที่พบปัญหาตั้งแต่ พ.ศ. 2540	17
6	เชื้อเลปโตสไปรา 23 ซีโรวาร์ที่ใช้ในการทดสอบ	27
7	ค่าการดูดกลืนแสงของการทดสอบเมื่อสุ่มเลือกเชื้อจากแอนติเจน HEA SA และ DEA เป็น 1:500 และเชื้อจากคอนจูเกตชนิด IgM และ IgG เป็น 1:2,000	41
8	ความเข้มข้นของแอนติเจนแต่ละชนิดและความเข้มข้นของคอนจูเกตแต่ละชนิด ที่นำไปใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการทดสอบ ELISA	42
9	ค่าการดูดกลืนแสงของการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติเจน HEA และคอนจูเกตชนิด IgM สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA	51
10	ค่าการดูดกลืนแสงของการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติเจน HEA และคอนจูเกตชนิด IgG สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA	52
11	ค่าการดูดกลืนแสงของการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติเจน SA และคอนจูเกตชนิด IgM สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA	53
12	ค่าการดูดกลืนแสงของการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติเจน SA และคอนจูเกตชนิด IgG สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA	54
13	ค่าการดูดกลืนแสงของการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติเจน DEA และคอนจูเกตชนิด IgM สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA	55

รายการตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
14	ค่าการดูดกลืนแสงของการหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติเจน DEA และคอนจูเกตชนิด IgG สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA	56
15	การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติเจนแต่ละชนิดในการเคลือบบนผิวเม็ดเลือดแดงแกะ สำหรับใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปราด้วยวิธี IHA	58
16	ความแม่นยำของการทดสอบ ชนิด within-run precision และ between-run precision สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG ต่อเชื้อเลปโตสไปรา โดยวิธี ELISA เมื่อเคลือบไมโครไตเตอร์เพลตด้วยแอนติเจนชนิดต่างๆ	59
17	ผลการประเมินการตรวจด้วยวิธี ELISA ในการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG และวิธี IHA เมื่อใช้แอนติเจนที่แตกต่างกันในกลุ่มควบคุมบวก 85 รายและกลุ่มควบคุมลบ 202 ราย	65
18	ความไวของการทดสอบด้วยวิธี ELISA ในการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG และวิธี IHA เมื่อใช้แอนติเจนที่แตกต่างกัน โดยประเมินในซีรัมครั้งแรกจำนวน 85 ตัวอย่าง	66

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 เชื้อ <i>Leptospira interrogans</i> ซีโรวาร์ Icterohaemorrhagiae บนกระดาษกรองที่มีรูขนาด 0.2 ไมโครเมตร ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	4
2 จำนวนผู้ป่วยและอัตราการป่วย (ต่อประชากรแสนคน) ของโรคเลปโตสไปโรซิสในประเทศไทย ช่วงปี พ.ศ. 2538-2543	10
3 การทดสอบในระยะต่างๆ ของโรคเลปโตสไปโรซิส	19
4 ผลของการใช้สาร polyoxyethylene-sorbitan monolaurate (Tween-20) ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นสารเจือจางตัวอย่างตรวจ สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA เมื่อเคลือบหลุมไมโครไตเตอร์เพลตด้วยแอนติเจนชนิด HEA	43
5 ผลของการใช้สาร polyoxyethylene-sorbitan monolaurate (Tween-20) ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นสารเจือจางตัวอย่างตรวจ สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA เมื่อเคลือบหลุมไมโครไตเตอร์เพลตด้วยแอนติเจนชนิด SA	44
6 ผลของการใช้สาร polyoxyethylene-sorbitan monolaurate (Tween-20) ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นสารเจือจางตัวอย่างตรวจ สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA เมื่อเคลือบหลุมไมโครไตเตอร์เพลตด้วยแอนติเจนชนิด DEA	45
7 ผลของการใช้สาร BSA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็น blocking reagent สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA เมื่อเคลือบหลุมไมโครไตเตอร์เพลตด้วยแอนติเจนชนิด HEA	47
8 ผลของการใช้สาร BSA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็น blocking reagent สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA เมื่อเคลือบหลุมไมโครไตเตอร์เพลตด้วยแอนติเจนชนิด SA	48
9 ผลของการใช้สาร BSA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็น blocking reagent สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธี ELISA เมื่อเคลือบหลุมไมโครไตเตอร์เพลตด้วยแอนติเจนชนิด DEA	49

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ		หน้า
10	กราฟ receiver operating characteristic (ROC) แสดงการวิเคราะห์การตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ด้วยวิธี ELISA โดยการใช้แอนติเจนที่แตกต่างกัน 3 ชนิด	62
11	กราฟ receiver operating characteristic (ROC) แสดงการวิเคราะห์การตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG ด้วยวิธี ELISA โดยการใช้แอนติเจนที่แตกต่างกัน 3 ชนิด	63
12	กราฟ receiver operating characteristic (ROC) แสดงการวิเคราะห์การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปราด้วยวิธี IHA โดยการใช้แอนติเจนที่แตกต่างกัน 2 ชนิด	64
13	แบบแผนโปรตีนของแอนติเจนต่อเชื้อเลปโตสไปรา ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยใช้ 12% เอส ดี เอส โพลีอะคริลาไมด์เจล ย้อมด้วยสี คูมาซี บริลเลียนบลู	68

ตัวย่อและสัญลักษณ์

ANA	=	anti nuclear antibody
BB	=	blood bank (คลังเลือด)
BSA	=	bovine serum albumin
CSF	=	cerebo spinal fluid
DEA	=	deoxycholate extracted antigen
DN	=	dengue fever (ไข้เลือดออก)
ELISA	=	enzyme-linked immunosorbent assay
g	=	gram (กรัม)
HEA	=	heat extracted antigen
IFA	=	indirect immunofluorescent assay
IgG	=	immunoglobulin G
IgM	=	immunoglobulin M
IHA	=	indirect hemagglutination assay
M	=	molar
MAT	=	microscopic agglutination test
ml	=	milliliter (มิลลิลิตร)
MT	=	murine typhus
NC	=	negative control (ตัวควบคุมลบ)
NSS	=	normal saline solution
OD	=	optical density (ค่าการดูดกลืนแสง)
PBS	=	phosphate buffer saline
PC	=	positive control (ตัวควบคุมบวก)
pH	=	log hydrogen ion concentration
RIA	=	radioimmunoassay
ROC	=	receiver operating characteristic
SA	=	sonicated antigen
SDS PAGE	=	sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

ST	=	scrub typhus
SY	=	syphilis
%	=	per cent (ร้อยละ)
μ	=	microliter (ไมโครลิตร)