

Thesis Title	A Study of Gnathostomiasis in Experimental Animals: Antibody and Eosinophil Responses.
Name	Mr. Wanchai Maleewong
Thesis For	Master of Science in Parasitology Chiang Mai University 1985.

## ABSTRACT

Eosinophil and antibody responses to larval gnathostome infection were examined in mice, rats and rabbits. There were two peaks of peripheral blood eosinophil responses in mice and rats. In infected mice, peaks of absolute eosinophil counts were observed at weeks 3 and 6 after infection. Differential eosinophil counts also showed two peaks at weeks 2 and 8 respectively. In infected rats, there were 2 peaks of absolute eosinophil counts at week 2 and 8 after infection but differential eosinophil counts showed no definite pattern. Dead larva-injected rats also show high eosinophil counts. Nevertheless, this response fluctuated widely in experimental rabbits. Trichinella and hookworm infected mice also showed peripheral blood eosinophilia as demonstrated by both absolute and differential cell counts. Eosinophils accumulating around gnathostome larva were seen in infected tissues indicating that this parasitic larval nematode is capable of inciting a marked eosinophilic inflammation. Worm growth was detectable in mice 90 days after infection with Gnathostoma advanced third-stage larvae. Active cutaneous

anaphylactic (ACA) responses against somatic larval antigen were observed at 30, 60 and 90 days after infection in mice and rats. ACA responses were significantly greater in Gnathostoma infected mice and rats than those of control groups ( $p < 0.01$ ). The responses were also detected in mice infected with Trichinella and hookworms but to a lesser degree. Serum antibodies assayed by indirect hemagglutination test (IHA) could be detected against adult worm excretory-secretory (ES) antigen, but not against somatic larval antigen in all of infected animals. Mode of infection, oral or subcutaneous inoculation of worm, appears not important in formation antibodies to somatic larval antigen. Little or no host tissue antigen was present in Gnathostoma advanced third-stage larva extract as assayed by inhibition of hemagglutination reaction by larval, cyst wall and eel's liver extract. No significant difference in antibody titer of same serum could be observed between the use of whole larval extract and head antigen but the use of tail antigen clearly yielded lower antibody titer. Sera from mice infected with Trichinella spiralis and human hookworm did not react with gnathostome somatic larval antigen or adult worm ES antigen. However, cross-reactivity was noted against adult ES antigen with sera from mice infected with Toxocara cati. On the basis of the above finding, it is suggested that Gnathostoma infection induces eosinophilia and active cutaneous anaphylaxis response. In addition the use of adult worm ES antigen is more appropriate than the use of larval somatic antigen in demonstration of larval gnathostome infection in rabbits and mice.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การศึกษาโรคพยาธิตัวจืดในสัตว์ทดลอง:

การตอบสนองของแอนติบอดีและอีโอสิโนฟิล

ชื่อผู้เขียน

นายวันชัย มาลีวงษ์

วิทยานิพนธ์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาปรสิตวิทยา

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ๒๕๒๔

บทคัดย่อ

การตอบสนองของแอนติบอดีและอีโอสิโนฟิลต่อตัวอ่อนพยาธิตัวจืด (Gnathostoma) ได้ทำการศึกษาในหนูถีบจักร, หนูขาวใหญ่และกระต่าย. ในหนูถีบจักรและหนูขาวใหญ่ มีการตอบสนองของอีโอสิโนฟิลเป็นสองระยะ, หนูถีบจักรที่ได้รับตัวอ่อนพยาธิ แสดงระยะของการตอบสนองของอีโอสิโนฟิลในกระแสโลหิตเป็นจำนวนสมบูรณ์ของอีโอสิโนฟิลต่อไมโครลิตรของเลือด มาถึงจุดสูงสุดที่สัปดาห์ที่ ๓ และ ๖ ของการติดเชื้อและแสดงระยะของการตอบสนองของอีโอสิโนฟิล เป็นจำนวนร้อยละของอีโอสิโนฟิลจากฟิล์มเลือดย้อมสี มาถึงจุดสูงสุดที่สัปดาห์ที่ ๒ และ ๔ ภายหลังการติดเชื้อ. ส่วนหนูขาวใหญ่ที่ได้รับตัวอ่อนพยาธิแสดงระยะของการตอบสนองของอีโอสิโนฟิลในกระแสโลหิตเป็นจำนวนสมบูรณ์ของอีโอสิโนฟิลต่อไมโครลิตรของเลือดมาถึงจุดสูงสุดที่สัปดาห์ที่ ๒ และ ๔ ภายหลังการติดเชื้อ แต่การนับแยกอีโอสิโนฟิลเป็นจำนวนร้อยละจากฟิล์มเลือดย้อมสีให้รูปแบบที่ไม่แน่นอน, ส่วนหนูขาวใหญ่ที่ได้รับตัวอ่อนพยาธิตัวจืดที่ทำให้ตายก่อนแล้ว ยังแสดงการตอบสนองของอีโอสิโนฟิลในกระแสโลหิตในระดับสูงด้วย. ในกระต่ายที่ได้รับตัวอ่อนพยาธิตัวจืด พบว่ามีการตอบสนองของอีโอสิโนฟิลในกระแสโลหิตสับสนไม่แน่นอน. หนูถีบจักรที่ได้รับ Trichinella spiralis ระยะติดต่อหรือพยาธิปากขอของคนระยะติดต่อ ยังมีการตอบสนองของอีโอสิโนฟิลในกระแสโลหิตเกิดขึ้นดังเห็นได้จากการนับจำนวนสมบูรณ์ของอีโอสิโนฟิลและการนับแยกจากฟิล์มเลือดย้อมสี. ส่วนการศึกษาการตอบสนองของอีโอสิโนฟิลทางจุลพยาธิวิทยา พบว่ามีการอักเสบทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรังในเนื้อเยื่อของสัตว์ทดลองที่มีตัวอ่อนของพยาธิตัวจืดอาศัยอยู่ และยังพบว่าอีโอสิโนฟิลมาชุมนุมรอบพยาธิในระดับแตกต่างกันในแต่ละระยะเวลาของการติดเชื้อ.

พยาธิตัวจิ๊ดตัวอ่อนระยะที่ ๓ ที่นำมาจากหนูถีบจักรที่ได้รับตัวอ่อนพยาธิทางใต้ผิวหนังเป็นเวลา ๔๐ วันพบว่ามีการเจริญเติบโต. หนูถีบจักรและหนูขาวใหญ่ที่ได้รับตัวอ่อนพยาธิมีการตอบสนองชนิด active cutaneous anaphylaxis ต่อแอนติเจนชนิด somatic larval antigen ที่ ๓๐, ๖๐ และ ๘๐ วัน หลังรับเชื้อ อย่างไรก็ตามมีปฏิกิริยา active cutaneous anaphylaxis ต่อแอนติเจนชนิด somatic larval antigen ในหนูถีบจักรที่ได้รับพยาธิ Trichinella spiralis และพยาธิปากขอของคนระยะติดต่อ แต่มีปฏิกิริยาต่ำกว่า.

ส่วนการวัดการตอบสนองของแอนติบอดีในเซรัม โดยวิธี indirect hemagglutination test นั้น พบว่ามีการตอบสนองของแอนติบอดี ในหนูถีบจักรและกระต่ายที่ได้รับตัวอ่อนของพยาธิตัวจิ๊ดระยะที่ ๓ ต่อแอนติเจนชนิด adult worm excretory-secretory (ES) antigen แต่ไม่สามารถตรวจวัดการตอบสนองของแอนติบอดีต่อแอนติเจนชนิด somatic larval antigen ได้ การได้รับตัวอ่อนของพยาธิตัวจิ๊ดทางต่าง ๆ กัน คือทางการกินและการฉีดพยาธิเข้าใต้ผิวหนัง ไม่มีความสำคัญต่อการตรวจวัดการตอบสนองของแอนติบอดีโดยวิธี indirect hemagglutination test ต่อแอนติเจนชนิด somatic larval antigen. เมื่อทำการศึกษาโดยวิธีข้างนี้ ปฏิกิริยาของ hemagglutination ด้วย larval, cystwall และ eel's liver extracts พบว่าไม่มีเนื้อเยื่อของโฮสต์ติดอยู่กับพยาธิตัวจิ๊ดตัวอ่อนระยะที่ ๓ ที่นำมาจากตับปลาไหล. แอนติเจนชนิด whole larval extract และ head larval extract พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในการตรวจวัดระดับแอนติบอดีในเซรัมชนิดเดียวกัน โดยวิธี indirect hemagglutination test, แต่ให้ค่าระดับแอนติบอดีอยู่ในระดับต่ำกว่า เมื่อใช้ tail larval extract. เซรัมจากหนูถีบจักรที่ได้รับ Trichinella spiralis และพยาธิปากขอของคนระยะติดต่อไม่ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนชนิด somatic larval antigen และ adult worm ES antigen แต่เซรัมจากหนูถีบจักรที่ได้รับ Toxocara cati ทำปฏิกิริยาระดับต่ำกับแอนติเจนชนิด adult worm ES antigen.

จากผลการศึกษาทดลองครั้งนี้เป็นไปได้ว่า การติดเชื้อตัวอ่อนของพยาธิตัวจิ๊ดในสัตว์ทดลอง กระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของอีโอซิโนฟิลและการตอบสนองทาง active cutaneous anaphylaxis นอกจากนั้นการใช้ ES antigen จากพยาธิตัวแก่จะเหมาะสมกว่าการใช้ somatic antigen ของพยาธิตัวอ่อนในการแสดงการติดเชื้อพยาธิตัวอ่อนของพยาธิตัวจิ๊ดในกระต่ายและหนูถีบจักร.

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my deep gratitude and appreciation to my advisor, Dr. Nimit Morakote, for his intensive supervision, suggestion and guidance throughout my study and this thesis work.

I deeply express my sincere gratitude to Associated Professor Chirasak Khamboonruang, Head of Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, for his encouragement, criticism and valuable suggestion.

I would like to thank Miss Wannapa Thamasonthi, Miss Kanokwan Charuchinda and all the members of the Department of Parasitology for their valuable teaching and suggestion.

Finally, my heartfelt thanks is due to my lovely friend, Miss Pewpan Intapan, for her assistance in preparation of this thesis.

Part of this work is supported by China Medical Board of New York Grant.