Thesis Title	Diagnosis of Human Strongyloidiasis by Coproantigen Detection Using a Monoclonal Antibody-based Enzyme-linked Immunosorbent Assay	
Author	Ms. Watcharee Kongrat	
M.S.	Parasitology	
Examining Committee:	Asst. Prof. Dr. Pichart Uparanukraw	Chairman
	Assoc. Prof. Dr. Nimit Morakote	Member
	Assoc. Prof. Dr. Prachya Kongtawelert	Member

Abstract

A monoclonal antibody-based sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was developed for detecting *Strongyloides stercoralis* antigens in the feces of infected human. First, attempt was made to produce mAb against 41-kDa protein which was reported to be specific antigen of *S. stercoralis* L3, however, the monoclonal antibody against this protein could not be obtained from spleen cells of mice immunized with partially purified 41-kDa protein. Four monoclonal antibodies were produced from spleen cells of a mouse immunized with crude antigens of third-stage larva. All of them gave consistently high optical densities by ELISA but they did not recognize any specific band when tested by Western blotting. They all reacted with crude antigens of first- and third-stage larvae and adult by ELISA except for one monoclonal antibody that did not recognize adult antigens. The unlabeled and biotinylated monoclonal antibodies and rabbit IgG against third-stage larval antigens were used in the sandwich ELISA to detect coproantigen in human feces. It was found that the sandwich ELISA could not differentiate feces of *S. stercoralis*-infected individuals from uninfected ones.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การวินิจฉัยโรคสตรองจิลอยดิเอสิสในคน โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีตรวจหาแอนติเจนของพยาธิในอุจจาระด้วยวิธีอีไลซา
ชื่อผู้เขียน	นางสาววัชรี คงรัตน์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชาปรสิตวิทยา
กรรมการสอบวิทยานิพนธ์:	ผศ. ดร. น.พ. พิชาติ อุปรานุเคราะห์ ประธานกรรมการ รศ. ดร. นิมิตร มรกต กรรมการ รศ. ดร. ปรัชญา คงทวีเลิศ กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคพยาธิสตรองจิลอยดิเอสิสในคนโดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีในการตรวจหาแอนติเจนพยาธิในอุจจาระ ในเบื้องต้นการศึกษานี้ต้องการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรตีนขนาด 41 กิโลดาลตัน ซึ่งมีรายงานว่าโปรตีนนี้มีความจำเพาะและความไวอย่างมากต่อซีรั่มของคนไข้ที่ติดเชื้อพยาธิ *S. stercoralis* แต่ก็ไม่สามารถผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรตีนนี้จากเซลล์ม้ามของหนูที่ได้รับการฉีดกระตุ้นภูมิต้านทานด้วยโปรตีนขนาด 41 กิโลดาลตันที่ค่อนข้างบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตาม ก็สามารถผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีได้ 4 ชนิดจากหนูที่ได้รับการฉีดกระตุ้นภูมิต้านทานด้วยโปรตีนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 โมโนโคลนอลแอนติบอดีทั้ง 4 ชนิดให้ค่าดูดกลืนแสงที่สูงอย่างสม่ำเสมอต่อแอนติเจนโดยวิธีอีไลซา แต่โมโนโคลนอลแอนติบอดีเหล่านี้ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนของตัวอ่อนระยะที่ 3 ให้เห็นอย่างชัดเจนโดยวิธี Western blot โมโนโคลนอลแอนติบอดีทั้ง 4 ชนิดสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนของตัวอ่อนระยะที่ 1, ตัวอ่อนระยะที่ 3 และตัวแก่โดยวิธีอีไลซา ยกเว้นโมโนโคลนอลแอนติบอดีหนึ่งชนิดที่ไม่ทำปฏิกิริยากับโปรตีนของตัวแก่ เมื่อใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี และแอนติบอดีชนิด IgG ของกระต่ายต่อตัวอ่อนระยะที่ 3 (ทั้งที่ติดฉลากและไม่ติดฉลากด้วย biotin) ในการตรวจหาแอนติเจนในอุจจาระของคนด้วยวิธี sandwich ELISA พบว่าไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างอุจจาระคนที่ติดเชื้อและคนที่ไม่ติดเชื้อ *S. stercoralis*