การประเมินวิธี Indirect Immunofluorescent Assay (IFA) เปรียบเทียบกับวิธี Microscopic Agglutination Test (MAT) สำหรับการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสในสุกร

นพรัตน์ อิงคามระธร[1] โศภิษฐ์ จันทบุตร[1] ยศสรัล ชาลาอาดิศัย[1] อนุชัย นิเวศน์ปฐมวัฒน์[2,*] กัลลยานี ดวงฉวี[3] และปรานอม ภูชฎาภิรมย์[3]

[1]นิสิตชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[2]ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ 10330

[3]ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ 10400

[*]ผู้รับผิดชอบบทความ: E-mail address: anuchai.n@chula.ac.th

เบอร์โทรศัพท์ 662 218 9412; แฟกซ์ 662 255 3910

บทคัดย่อ

โรคเลปโตสไปโรซีสในสุกร เป็นโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคนที่มีความสำคัญและทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ การวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซีสมาตรฐานในปัจจุบันใช้วิธี Microscopic agglutination test (MAT) แต่วิธีการดังกล่าวทำได้ยุ่งยากไม่เหมาะจะใช้ในพื้นที่ปฏิบัติงาน การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซีสในสุกรด้วยวิธี Microscopic agglutination test (MAT) และวิธี Indirect immunofluorescent assay (IFA) โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างวิธี MAT และวิธี IFA โดยใช้เชื้อมาตรฐาน *Leptospira interrogans* serovar grippotyphosa ทำปฏิกิริยากับซีรัมตัวอย่างทั้งสิ้น 132 ตัวอย่าง ในกลุ่มที่ให้ผลลบด้วยวิธี MAT จำนวน 30 ตัวอย่าง ให้ผลลบกับการตรวจด้วยวิธี IFA ทั้งหมด กลุ่มที่ให้ผลบวกกับวิธี MAT จำนวน 102 ตัวอย่าง ให้ผลบวกกับวิธี IFA 101 ตัวอย่าง โดยมี IFA Titer อยู่ระหว่าง 1:25-1:150 ค่าร้อยละความไวและความจำเพาะของวิธี IFA เมื่อเทียบกับวิธี MAT เท่ากับ 99.01 และ 100 ตามลำดับ ฉะนั้นวิธี IFA สามารถใช้สำหรับการวินิจฉัยคัดกรองโรคเลปโตสไปโรซีสในสุกรได้

คำสำคัญ : สุกร, โรคเลปโตสไปโรซีส, Microscopic agglutination test, Indirect immunofluorescent assay

บทนำ

โรคเลปโตสไปโรซิส เป็นโรคติดต่อระหว่างสัตว์และคน เกิดได้กับสัตว์หลายชนิด สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรียชนิดเกลียว คือ *Leptospira interrogans* (Faine, 1982) การแพร่กระจายของโรคพบในประเทศที่มีอากาศร้อนชื้น มากกว่าในประเทศที่มีอากาศหนาวเย็น (Levett, 2001) ในสุกรเชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญของการระบาดในประเทศสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย และยุโรปได้แก่ *L.pomona* และ *L.tarassovi* ในประเทศอังกฤษ ได้แก่ *L.canicola L. icterohaemorrhagi*ae และ *L.australis* (Taylor, 1995)

วิธีการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่ใช้อยู่ทั่วไปมี 3 วิธี คือ วิธีทางจุลชีววิทยา วิธีทางอิมมูโนวิทยา และการตรวจหาสารพันธุกรรม วิธีทางจุลชีววิทยาเป็นการตรวจหาเชื้อโรคโดยตรงจากเลือด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พื้นมืด (Dark field microscope) หรือใช้วิธี direct immunofluorescent ซึ่งจะให้ความไวที่ดีกว่า หรือการเพาะเชื้อจากสิ่งส่งตรวจ (ปัสสาวะหรือเลือด) แต่วิธีนี้ใช้เวลาตรวจนานอาจมากถึง 16 สัปดาห์ และต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดพิเศษที่มีราคาแพง และวิธีการตรวจหาแอนติบอดีในซีรั่ม โดยวิธี Microscopic agglutination test (MAT) เป็นวิธีการตรวจหาแอนติบอดีในซีรั่มที่ได้รับการแนะนำจากองค์การอนามัยโลก วิธีนี้มีความจำเพาะสูงและสามารถใช้ในการพิสูจน์แยก *L.interrogans* และ *L.biflexa* ในสิ่งส่งตรวจได้ วิธีนี้จำเป็นต้องใช้เชื้อที่มีชีวิต การใช้เชื้อที่ถูกฆ่าด้วยฟอร์มาลินจะมีค่าความจำเพาะต่ำกว่าเชื้อที่มีชีวิต (Palmar *et al.*, 1987)

สำหรับวิธี Indirect immunofluorescent assay (IFA) ได้มีการศึกษาถึงการนำไปประยุกต์ใช้ตรวจคัดกรองในผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซีส เช่น Appassakij *et al.* (1995) ได้ทำการศึกษาการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซีสในคน พบว่าจากการเก็บซีรั่มผู้ป่วยที่สงสัยว่าป่วยเป็นโรคเลปโตสไปโรซีส จำนวน 175 ตัวอย่าง แล้วทดสอบด้วยวิธี IFA เปรียบเทียบกับวิธี MAT พบว่าในตัวอย่างซีรั่มจากผู้ป่วยเฉียบพลัน วิธี IFA มีค่าความจำเพาะ 97% และค่าความไว 48% ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Joshi *et al.* (2002) ซีรั่มในผู้ป่วยระยะเฉียบพลันมา 13 ตัวอย่าง และ 10 ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่พึ่งฟื้นจากไข้ แยกตรวจซีรั่มด้วย MAT และ IgM-IFA พบว่าค่าความไวของวิธี IFA ที่ได้ สูงกว่าวิธี MAT ในประเทศไทย Pradutkanchana *et al.* (2003) ทำการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยในโรงพยาบาลหาดใหญ่จำนวน 100 ราย ซึ่ง 80 ราย มีอาการป่วยแบบเฉียบพลัน มีค่าไตเตอร์สิ้นสุดที่ 1:400 หรือมากกว่า ในการตรวจหา IgM ด้วยวิธี IFA (IFA-IgM) ได้ค่าความจำเพาะ 95.1% และค่าความไว 89.2% พบว่าค่าความจำเพาะและความไวสูงกว่าการตรวจหาอิมมูโนกลอบบูลินโดยรวมด้วยวิธี Indirect imunofluorescent assay (IFA-Igs) ซึ่งได้ค่าความจำเพาะ 91.6% ค่าความไว 86.5% นอกจากนี้ยังได้มีการประยุกต์ใช้วิธี IFA ในการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซีสในสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น Rad *et al.* (2001) ได้ทำการศึกษาในสุนัขที่ป่วยด้วยโรคเลปโตสไปโรซีสในประเทศอิหร่าน โดยทำการเจือจางซีรั่ม 1:400 ทดสอบซีรั่มวิทยาด้วยเชื้อ 3 เซโรไทป์ คือ *L.canicola, L.icterohaemorrhagiae* และ *L.grippotyphosa* พบว่าความจำเพาะและค่าความไวที่ได้ในการตรวจสอบด้วยวิธี IFA และ MAT มีค่าที่ใกล้เคียงกัน

จากผลการศึกษาที่ผ่านมา วิธี IFA เป็นวิธีที่ใช้ประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซีส โดยเฉพาะในการติดเชื้อในระยะเริ่มแรก การใช้วิธี IFA-IgM จะให้ผลที่ดีกว่า MAT เนื่องจากมีค่าความไวและค่าความจำเพาะสูงกว่า ถึงแม้ว่า MAT จะเป็นวิธีที่เป็นมาตรฐานที่องค์การอนามัยโลกแนะนำ แต่ก็มีความยุ่งยากในการปฏิบัติดังที่กล่าวไว้แล้ว จึงต้องนำวิธี IFA มาพิจารณาใช้เปรียบเทียบกับวิธี MAT เพื่อที่จะนำวิธี IFA นั้นไปใช้ประโยชน์ในทางปฏิบัติจริง และได้รับการยอมรับเพิ่มมากขึ้น ซึ่ง ณ ปัจจุบัน วิธี IFA ยังไม่เป็นวิธีที่มีการใช้อย่างแพร่หลายเมื่อเทียบกับวิธี MAT

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการวินิจฉัยทางซีรั่มวิทยาด้วยวิธี MAT และ IFA สำหรับเป็นวิธีการวินิจฉัยคัดกรองโรคเลปโตสไปโรซิสในสุกร เพื่อนำไปประยุกต์ใช้จริงในทางปฏิบัติต่อไป

วัสดุ และวิธีการ

ตัวอย่างทดลอง

แบ่งซีรัมจากสุกรทั้ง 132 ตัวอย่าง เป็น 2 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมลบคือ ซีรัมจากสุกรปกติที่ให้ผลลบต่อการตรวจด้วยวิธี MAT จำนวน 30 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มควบคุมบวกคือ ซีรัมจากสุกรที่ให้ผลบวกต่อเชื้อ Leptospira interrogans serovar grippotyphosa จากการทดสอบด้วยวิธี MAT จำนวน 102 ตัวอย่าง

เชื้อเลปโตสไปโรซีส

เชื้อ *Leptospira interrogans* serovar grippotyphosa มาตรฐานเพาะเลี้ยงในนีโอเปปโตนมีเดีย (neopeptone media) มีอายุประมาณ 6-8 วัน มีความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 1-2 x 10^8 ตัว/มิลลิลิตร ทำการทดสอบกับซีรัม Rabbit anti leptospira serovar grippotyphosa ให้ผลบวก และไม่ให้ผลบวกข้ามกับซีโรวาร์อื่นๆ

การตรวจหาระดับไตเตอร์ของแอนติบอดี้ในซีรั่มสุกรด้วยวิธี MAT

หลังจากเพาะเชื้อแล้วได้ตามมาตรฐานที่กล่าวไว้ ก็นำเชื้ออ้างอิงที่ได้มาทำการทดสอบด้วยวิธีการ MAT ด้วยวิธีทำการเจือจางซีรัมด้วยฟอสเฟตบัพเฟอร์ซาลีน (phosphate-buffered saline: PBS) ในอัตราส่วน 1: 25 หลังจากนั้นหยดซีรัมที่เจือจางแล้ว ลงใน Microtiter plate จำนวนหลุมละ 25 ไมโครลิตร นำเชื้อมาตรฐานที่ต้องการนำมาทดสอบมาหยดลงไปทุกหลุมในแถวหลุมละ 25 ไมโครลิตร เขย่าไมโครไตเตอร์เพรต และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาอ่านผลการเกิดการจับกลุ่มของเชื้อกับซีรัม (agglutination) ด้วยกล้องจุลทรรศน์พื้นมืด หากได้พบปฏิกิริยาการจับกลุ่ม จะทำการเจือจางครั้งละ 2 เท่า จนกว่าปฏิกิริยาการจับกลุ่มต่ำกว่า 50% ระดับแอนติบอดีไตเตอร์ของวิธี MAT คือความเข้มข้นสุดท้ายที่มีปฏิกิริยาการจับกลุ่มเท่ากับ 50% **(รูปที่ 1)**

การตรวจหาแอนติบอดีในซีรัมด้วยวิธี IFA

นำเชื้อ leptospireที่อายุ 6-8 วัน มีความเข้มข้นประมาณ 108 ตัว/มิลลิลิตร จำนวน 5 ไมโครลิตร มาป้ายลงในวงที่ขีดไว้บนสไลด์ที่เคลือบด้วยด้วยไซเลน (xylane) ทิ้งไว้ให้แห้งนำไปยึดตัวเชื้อในอะซีโตน (acetone) ที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ใส่ซีรัมสุกรที่เจือจางแล้วที่อัตราส่วน 1: 25 จำนวน 10 ไมโครลิตร ลงบนสไลด์ที่มีแอนติเจนแห้งแล้ว ในแต่ละวง ทิ้งไว้ในกล่องควบคุมความชื้น (moist chamber) ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที นำสไลด์มาล้างด้วย PBS จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาทีจากนั้นหยด rabbit-anti swine immunoglobulin conjugated with FITC (KPL, Inc.) ที่เจือจางแล้วที่อัตราส่วน 1: 50 จำนวน 10 ไมโครลิตร ลงไปในแต่ละวง และทิ้งไว้ในกล่องควบคุมความชื้นที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที จากนั้นล้างด้วย PBS 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ทิ้งไว้ให้หมาดหยดบัพเฟอร์กลีเซอรอล (buffer glycerol) ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์แล้วไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง จะเห็นเชื้อเลปโตสไปร่าเป็นสีเขียวแอปเปิลรูปร่างเกลียว จึงถือว่าเป็นผลบวก แต่ถ้าไม่มีการเรืองแสง ถือว่าเป็นผลลบ ซีรัมที่ให้ผลบวกจะทำการเจือจาง จนได้ค่าการเจือจางสุดท้ายที่ยังสามารถให้ผลเป็นบวก ให้เป็นระดับไตเตอร์ของวิธี IFA **(รูปที่ 2)**

การแปลผล และการคำนวณค่าทางสถิติ

นำผลการทดลองที่ได้ของระดับไตเตอร์ของผลการทำการทดลองด้วยวิธี MAT และ IFA มาหาความสัมพันธ์ เพื่อดูระดับของค่าไตเตอร์ต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างวิธี MAT และ IFA จากนั้นนำผลที่ได้จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างวิธี MAT และ IFA ดัง**ตารางที่ 1**

ผล

จากการทดลองพบว่า ซีรัมจำนวน 30 ตัวอย่างที่ให้ผลลบต่อการตรวจด้วยวิธี MAT ทั้งหมดให้ผลลบกับวิธี IFA ส่วนซีรัมจำนวน 102 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อวิธี MAT เมื่อทดสอบด้วยวิธี IFA จะให้ผลบวก 99.01% (101 จากตัวอย่างทั้งสิ้น 102 ตัวอย่าง) โดยมี titer อยู่ระหว่าง 1:25 - 1:150 (ตารางที่ 2) ซีรัมเมื่อตรวจด้วยวิธี MAT แล้วให้ผลไตเตอร์ระดับ 1:50 - 1:200 มีจำนวน 80 ตัวอย่าง (78.4 %) เมื่อทดสอบด้วยวิธี IFA ให้ผลที่ระดับไตเตอร์ส่วนใหญ่ที่ 1:50 จำนวน 25 ตัวอย่าง (31.3%) รองลงมา คือที่ระดับไตเตอร์ที่ 1:25 จำนวน 21 ตัวอย่าง (26.3%) ส่วนซีรัมเมื่อตรวจด้วยวิธี MAT ให้ผลที่ระดับไตเตอร์ที่ มากกว่า หรือเท่ากับ 1:400 มีจำนวน 22 ตัวอย่าง (21.6 %) ซึ่งเมื่อนำซีรั่มกลุ่มนี้ไปทดสอบด้วยวิธี IFA ให้ระดับไตเตอร์ส่วนใหญ่ที่ 1:25 จำนวน 11 ตัวอย่าง (50%) รองลงมาคือที่ระดับไตเตอร์ 1:50 จำนวน 5 ตัวอย่าง (22.72 %) เมื่อคำนวณความสัมพันธ์ ระหว่างวิธี IFA เปรียบเทียบกับวิธี MAT มีค่าความไว คิดเป็น 99.01%, ค่าความจำเพาะคิดเป็น 100%, ค่าผลบวกเท็จคิดเป็น 0%, ค่าผลลบเท็จ คิดเป็น 0.98%, ค่าประเมินผลบวก คิดเป็น 100%, ค่าประเมินผลลบคิดเป็น 96.77% และ ค่าความถูกต้องแม่นยำคิดเป็น 99.24% **(ตารางที่ 3)**

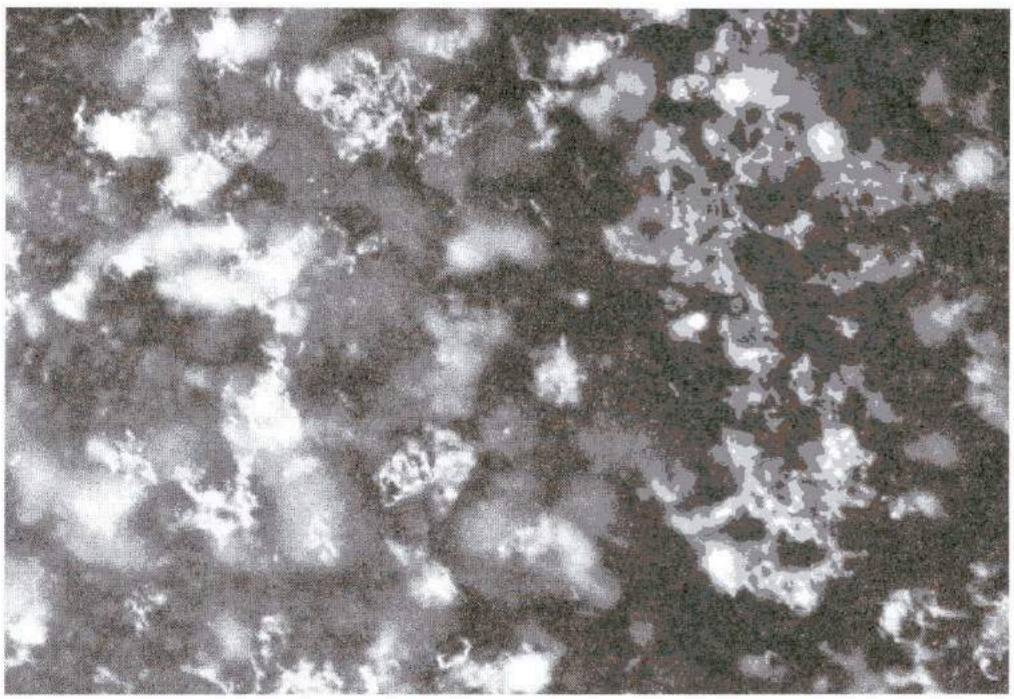
วิจารณ์

จากการศึกษาพบว่าการตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสในสุกร ด้วยวิธี IFA ให้ผลความไวและความจำเพาะสูงและสามารถนำไปจริงในทางปฏิบัติ สอดคล้องกับการศึกษาการใช้ในผู้ป่วยเช่น Appassakij *et al.* (1995) ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซีสระยะเฉียบพลันด้วยวิธี IFA และ MAT พบว่าที่ระดับไตเตอร์ของ IFA เท่ากับ 1:100 หรือมากกว่ามีค่าความจำเพาะ 97% และมีค่าความไวสูงกว่าวิธี MAT แต่อย่างไรก็อดีอาจพบ cross-reactivity กับโรคซิฟิริสได้ ต่อมามีการศึกษาพบว่าการตรวจหา IgM specific antibody โดยใช้วิธี IFA (IFA-IgM) พบว่ามีค่าไตเตอร์สิ้นสุดที่ 1:400 หรือมากกว่าจะมีค่าความจำเพาะ 95.1% ค่าความไว 89.2% การศึกษาของ kemapunmanus *et al.* (2004) โดยทำการเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยทางภูมิคุ้มกันของโรคเลปโตสไปโรซิสในผู้ป่วย จังหวัดสงขลา ประเทศไทย ด้วย 4 วิธี ประกอบด้วยวิธี IFA, MAT, LEPTO dipstick test kit และ Latex agglutination (LA) test ผลการศึกษาพบว่ามีค่าความไว ของวิธี IFA, MAT, Dipstick and LA เท่ากับ 91.9 , 76.6 , 77.4 และ 83.1% ตามลำดับ ส่วนค่าความจำเพาะของวิธี IFA, MAT, Dipstick and LA เท่ากับ 100, 100, 89.3 และ 83.5 %ตามลำดับ จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธี IFA มีทั้งค่าความไวและความจำเพาะสูงที่สุด Joshi *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาบทบาทของ IgM-IFA ในการวินิจฉัย สรุปว่า วิธี IFA เป็นวิธีที่รวดเร็วกว่า สามารถตรวจหาแอนติบอดีของผู้ป่วยต่อเชื้อเลปโตสไปโรซีสได้ในระยะเริ่มแรกของการติดเชื้อ ซึ่งวิธี MAT จะมีความไวน้อยกว่าการทดลองของกลุ่มพบว่า การตรวจซีรั่มสุกรด้วยวิธี IFA นั้น มีค่าความไวถึง 99.01%

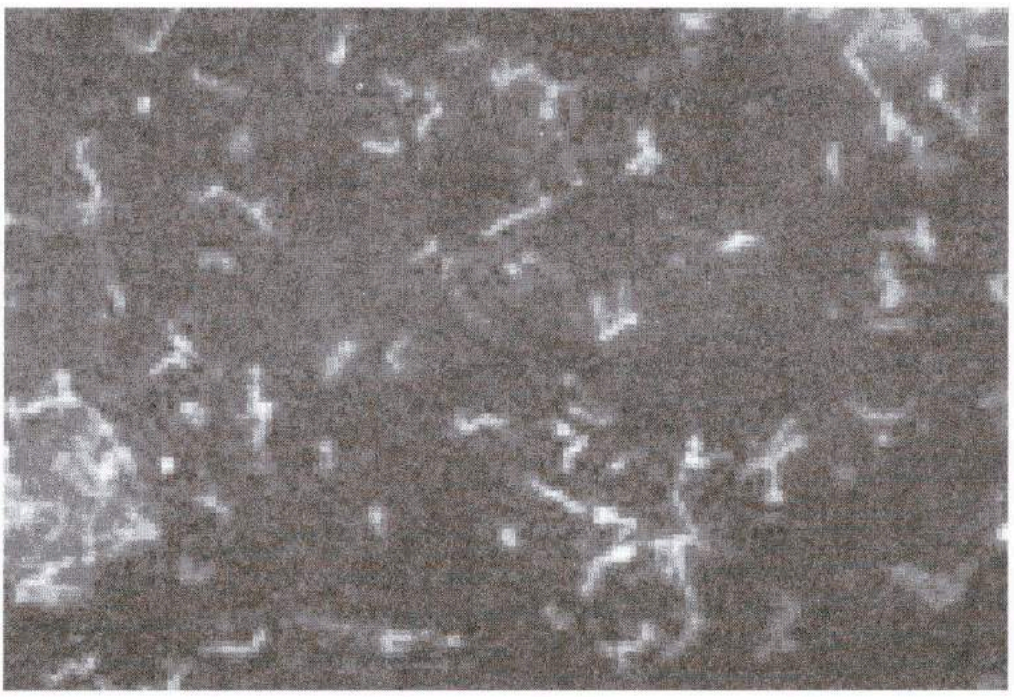
ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสามารถจะนำวิธี IFA มาใช้สำหรับการตรวจคัดกรองเบื้องต้นสำหรับโรคเลปโตสไปโรซิสในสุกรได้โดยใช้ระดับค่าไตเตอร์ที่ 1:25

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนโครงการเสริมทักษะการวิจัยของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์-มหาวิทยาลัย ปีพ.ศ. 2548 ที่สนับสนุนทุนวิจัยครั้งนี้ คุณสุชาดา แก้วดวงเล็ก ภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับ เทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์สำหรับทำงานวิจัย



รูปที่ 1 แสดงการเกิดการจับกลุ่มตกตะกอนระหว่าง เชื้อ *Leptospira interrogans* serovar grippotyphosa กับ ตัวอย่างซีรัมสุกร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พื้นมืด กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 2 แสดงการเกิดปฏิกิริยาเรืองแสงของเชื้อ *Leptospira interrogans* serovar grippotyphosa หลังจากทำปฏิกิริยา กับตัวอย่างซีรัมสุกรที่ให้ผลบวกด้วยวิธี IFA ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเรืองแสง กำลังขยาย 1000 เท่า

ตารางที่ 1 ตารางแสดงผลที่ได้จากการสรุปประเมินเปรียบเทียบ 2 วิธีการทดลอง เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างวิธี MAT และ IFA

ผลต่อ IFA	ผลต่อ MAT		Total (n)
	Positive (n)	Negative (n)	
Positive (n)	a	b	a + b
Negative (n)	c	d	c + d
Total (n)	a + c	b + d	a + b + c + d

หมายเหตุ

ร้อยละของค่าความไว (% sensitivity) = a x 100/ (a + c)

ร้อยละของค่าความจำเพาะ(% specificity) = d x 100/ (b + d)

ร้อยละของค่าผลบวกเท็จ (% false positive) = b x 100/ (b + d)

ร้อยละของค่าผลลบเท็จ (% false negative) = c x 100/ (a + c)

ร้อยละค่าประเมินผลบวก (%Positive predictive value)= a x 100/ (a + b)

ร้อยละค่าประเมินผลลบ (%Negative predictive value)= d x 100/ (c + d)

ร้อยละค่าความถูกต้องแม่นยำ (% Accuracy) = (a + d) x 100/ (a + b + c + d)

ตารางที่2 ตารางแสดงระดับไตเตอร์ จากการตรวจด้วยวิธี MAT เปรียบเทียบกับวิธี IFA

ผลทดสอบด้วยวิธี MAT	**จำนวนตัวอย่างสุทธิ**	**จำนวนตัวอย่างที่ตอบสนองต่อวิธี IFA ในระดับไตเตอร์ต่างๆ (%)**						
		Neg.	**1:25**	**1:50**	**1:75**	**1:100**	**1:125**	**1:150**
ไม่พบไตเตอร์	30	30	-	-	-	-	-	-
ระดับไตเตอร์ที่ 1: 50 – 1:200	80	1 (1.3%)	21 (26.3%)	25 (31.3%)	13 (16.3%)	10 (12.5%)	7 (8.8%)	3 (3.8%)
ระดับไตเตอร์ที่ ≥1:400	22	- (0%)	11 (50%)	5 (22.7%)	1 (4.5%)	3 (13.6%)	2 (9.1%)	- (0%)

ตารางที่ 3 ตารางแสดงค่าดัชนีทางสถิติของวิธี IFA เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน MAT

ค่าคำนวณจากสถิติ	ร้อยละ
ค่าความไว	99.01
ค่าความจำเพาะ	100
ค่าผลบวกเท็จ	0
ค่าผลลบเท็จ	0.98
ค่าประเมินผลบวก	100
ค่าประเมินผลลบ	96.77
ค่าความถูกต้องแม่นยำ	99.24

เอกสารอ้างอิง

Appassakij, H., Silpapojakul, K., Wansit, R. and Woodtayakorn, J. 1995. Evaluation of the immunofluorescent antibody test for the diagnosis of human leptospirosis. Am. *J. Trop. Med. Hyg.* 61(5): 340-343.

Faine , S. 1982. Leptospirosis. In : Guidelines for the control of leptospirosis (WHO Offset Publication no. 67). World Health Organization, Geneva, Switzerland. p. 161.

Joshi, S., Bal, A., Bharadwaj, R., Kumbhar, A. and Arjunwadkar, V. 2002. Role of IgM specific indirect immunofluorescent assay in diagnosis an outbreak of leptospirosis. Indian. *J. Pathol. Microbiol.* 45(1): 75-77.

Kemapunmanus, M., Sretrirutchai, S., Khuntikij, P., Pradutkanchana, S. and Pradutkanchana, J. 2004. A prospective evaluation of four immunodiagnotic assays for human leptospirosis. Southeast Asian *J. Trop. Med. Public Health.* 35(4): 863-867.

Levett, P.N. 2001. Leptospirosis. Clin. Microbiol. Rev. 14(2): 296-326.

Palmer, M.F., Waitkin, S.A. and Wanyangu, S.W. 1987. A comparison of live and formalized leptospiral microscopic agglutination test. Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. [A]. 265(1-2): 151-159.

Pradutkanchana, S., Pradutkanchana, J. and Khuntikij, P. 2003. Detection of IgM specific antibody using indirect immunofluorescent assay for diagnosis of acute leptospirosis. *J. Med. Assoc. Thai.* 86(7): 641-646.

Rad, M.A., Zeinali, A., Yousofi, J.V. and Tabatabal, A.H. 2001. Seroepidemiologic study of canine leptospirosis in Tehran, Iran. Proceeding of World Small Animal Veterinary Association World Congress-Vancouver 2001 (Oral presentation).

Taylor, D.J. 1995. Leptospirosis. In: Pig Diseases. 6thed. St. Edmundsbury Press, Glasgow, England. p. 98-102.

Evaluation of Indirect Immunofluorescent Assay (IFA) by Comparison with Microscopic Agglutination Test (MAT) for Swine Leptospirosis Diagnosis

Nopparat Ingkamarathon[1], Sopit Juntabut[1], Yotsaran Chalaardisai[1], Anuchai Niwetpathomwat[2*], Galayanee Doungchawee[3] and Pranom Puchadaphirom[3]

[1]Sixth year's student, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

[2]Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University Bangkok 10330

[3]Department of Path biology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400

[*]Corresponding author: E-mail address: anuchai.n@chula.ac.th

Tel.: 662 218 9412; Fax: 662 255 3910

Abstract

Leptospirosis is an important zoonosis and major economic lost problems in pigs. The recently standard method for diagnosis of Leptospira is a microscopic agglutination test (MAT). This method is sophisticated and difficult to apply in field practices. The objective of this study is to compare between MAT and Indirect immunofluorescent assay (IFA) methods. The reference *Leptospira interrogans* serovar grippotyphosa was reacted with 132 swine sera by both MAT and IFA. The result showed that all 30 negative MAT sera were negative with IFA. One hundred and one of 102 positive MAT sera were positive with IFA by titer ranging 1:25-1:150. The percentage of sensitivity and specificity of IFA comparative with MAT were 99.01 and 100 respectively. Therefore IFA can be used as screening test for swine leptospirosis.

Keywords : pigs, Leptospirosis, Microscopic agglutination test (MAT), Indirect immunofluorescent assay (IFA)