

การพัฒนา dipstick colloidal dye ในการทดสอบในท้องที่สำหรับโรคที่เกิดจาก เชื้อโปรโตซัวและแบคทีเรียในโคนม

สุรีย์ ธรรมศาสตร์ มนยา เอกทัต สุรพงษ์ วงศ์เกษมจิตต์
สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

การพัฒนาวีธี dipstick colloidal dye (DIA) ในการทดสอบโรคทางโปรโตซัว พบว่า Monoclonal antibodies (McAb) ที่ผลิตจากเชื้อ *Trypanosoma evansi*, *Babesia* spp. และ *Anaplasma* spp. เมื่อทดสอบกับซีรัมควบคุมที่ยืนยันว่าให้ผลบวกและลบ โดยผลบวกยืนยันจากวิธีการตรวจพบเชื้อจากการทำ thin blood smear ให้ผลที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างผลบวกและลบได้อย่างเด่นชัด จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนา McAb ของเชื้อโปรโตซัว ทั้ง 3 ชนิดต่อไป

ผลการทำ DIA สำหรับโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะโรค Brucellosis พบว่าเมื่อนำไปตรวจซีรัมโคนมที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคมี diagnostic sensitivity (DSn) 92.9% และมี diagnostic specificity (DSp) 97.7% แต่ในการตรวจโรค Tuberculosis (TB) และ Paratuberculosis (Para TB) ด้วย DIA ให้ผลที่ไม่เด่นชัด พบว่ามี DSn และ DSp น้อยมาก จึงได้พัฒนาวีธี Dot ELISA มาใช้ในการทดสอบโรค TB และ Para TB ซึ่งพบว่าจากการตรวจซีรัมที่ให้ผลบวกและลบจริงด้วย Dot-ELISA มี DSn 25% และ DSp 100% สำหรับโรค TB และ DSn 87.5% และ DSp 100% สำหรับโรค Para TB ตามลำดับ แต่ซีรัมควบคุมบวกของทั้งสองโรคมีจำนวน 28 ตัวอย่างและ 16 ตัวอย่าง ตามลำดับ ซึ่งค่าของ DSn และ DSp ของทั้งสองโรคควรจะมีการศึกษาต่อไป และเมื่อนำ Dot ELISA มาใช้กับ Brucellosis พบว่ามี DSn 96.5% และ DSp 99.5% ดังนั้นวิธี Dot ELISA จึงน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมที่นำมาใช้ตรวจโรคทั้งสามได้พร้อมกัน

คำสำคัญ : dipstick colloidal dye (DIA), โปรโตซัว, แบคทีเรีย, โคนม

**Development of dipstick colloidal dye immunoassay for
the field diagnosis of bovine protozoal and bacterial diseases in dairy cattle**

Suree Thammasart

Monaya Ekgatat

Surapong Wongkasemjit

National Institute of Animal Health Department of Livestock Development, Kaset-Klang
Chatuchak Bangkok 10900

Development of Dipstick colloidal dye assay (DIA) for protozoa diseases was developed using Monoclonal antibodies (MAb)s against *Trypanosoma evansi*, *Babesia spp.* and *Anaplasma spp.* as the stationary phase. The DIA was tested against positive and negative control sera. The positive control sera were confirmed by finding the parasites in thin blood smear. The result of the test could not differentiate between the positive and negative control sera. So it needs to continue development of those protozoa McAbs.

The DIA result of Brucellosis sera in dairy cattle showed 92.9% diagnostic sensitivity (DSn) and 97.7% diagnostic specificity (DSp). But, the results of DIA in Tuberculosis (TB) and Paratuberculosis (Para TB) were found to have low DSn and DSp. For this reason the Dot ELISA was developed. When Dot ELISA was used for testing true positive and true negative sera, the result showed 25% DSn and 100% DSp for TB and 87.5% DSn and 100% DSp for Para TB. Because of the low number of positive control sera in both diseases (28 and 16 samples respectively), the values of DSn and DSp should be continuously studied. When Dot ELISA was used to examine Brucellosis control sera ,it had that 96.5% DSn and 99.5% DSp. It appears that the dot ELISA could be appropriate method which can detect 3 bacterial diseases in the same time.

Keywords : dipstick colloidal dye (DIA), protozoa, bacteria, dairy cattle