



การตรวจกรองหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* โดยวิธี melioidin-dot ELISA

มณฑิรา สกกุลเจีย¹, มาลีรัตน์ จมปุมสาร¹, ศรีวิไล วโรภาสตระกูล²

เมลิออยโดซิส (melioidosis) เป็นโรคติดเชื้อที่สำคัญและเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขในเขตภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* ผู้ป่วยโรคนี้ถ้าไม่ได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้องและรวดเร็วจะมีอัตราการเสียชีวิตสูง การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการพัฒนาวิธีการตรวจกรองหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* โดยอาศัยหลักการ indirect ELISA ด้วยวิธี Dot immunoassay โดยใช้ melioidin ที่สกัดจากเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* สายพันธุ์ arabinose negative เป็นแอนติเจนในการทดสอบ การศึกษาครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ melioidin ในการเคลือบแผ่น nitrocellulose membrane คือ 10 µg/dot ส่วนการเจือจางของซีรัมทดสอบ และ conjugate (horseradish peroxidase labelled rabbit anti human immunoglobulins antibody) ที่ให้ผลบวกชัดเจนและไม่มีผลบวกปลอม คือ ความเข้มข้น 1:1,000 และ 1:2,000 ตามลำดับ จากการทดสอบในซีรัมผู้ป่วยเมลิออยโดซิส 23 ราย และคนปกติ 21 ราย พบว่ามีความไวและความจำเพาะเท่ากับ 91.30% และ 95.23% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้พบว่า วิธี melioidin-dot ELISA นี้ให้ผลบวกปลอมกับซีรัมผู้ป่วยโรค scrub typhus (n=5) และ leptospirosis (n=5) ได้ถึง 100%

¹นักศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Melioidin-dot ELISA for screening of anti-*Burkholderia pseudomallei* antibody

Montira Sakunjia¹, Maleerut Jumpusarn¹, Srivilai Waropastrakul²

Melioidosis, the sanitarian problem in southeast asia, is an infectious disease. Its gram negative bacteria, causative agent of melioidosis is *Burkholderia pseudomallei*. Patient who is suffering infection this disease has highly mortality rate unless the diagnosis and treatment are correct. The purpose of this study is to develop Dot ELISA assay for screening of anti-*Burkholderia pseudomallei* antibodies in serum. Melioidin, the antigen used for detection of anti-*Burkholderia pseudomallei* antibodies was prepared from *Burkholderia pseudomallei* biotype arabinose negative. In experimental study, the optimal concentration of melioidin for coating nitrocellulose membrane is 10 µg/dot and the optimal dilution of serum and conjugate (horseradish peroxidase labelled rabbit anti human immunoglobulins antibody) is 1:1,000 and 1:2,000, respectively. As applying to 23 serum sample confirmed cases of melioidosis and 21 serum samples of healthy people, it was found that Dot ELISA had sensitivity and specificity of 91.30% and 95.23%. Unfortunately this developed melioidin-dot ELISA method shows 100% false positive with scrub typhus (n=5) and leptospirosis (n=5) sera.

¹The 4th year student, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

²Department of Clinical Immunology, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University