การตรวจวินิจฉัยโรควัณโรคในกระบือปลัก ด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนังและการตรวจหาสาร γ-interferon

อุดม เจือจันทร์ * อรุณพรรณ ดุงสูงเนิน บพิธ ปุยะติ

การศึกษาในฝูงกระบือปลักของฟาร์มแห่งหนึ่งในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างที่เคยมีประวัติสัตว์ป่วยตายด้วยโรควัณโรคจำนวน 358 ตัว โดยใช้วิธีทดสอบทางผิวหนังบริเวณโคนหาง (caudal fold intradermal skin test) และวิธีตรวจหาสาร gamma-interferon (γ-IFN) ที่กระบือสร้างขึ้นและจำเพาะต่อการติดเชื้อ *Mycobacterium bovis* โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป จากการทดสอบพบว่าวิธีทดสอบทางผิวหนังให้ผลบวก สงสัยและลบ จำนวน 38, 68 และ 252 ตัวอย่างตามลำดับ เมื่อทดสอบหาสาร γ-IFN พบให้ผลบวกและลบ จำนวน 161 และ 197 ตัวอย่าง ตามลำดับ ผลการทดสอบทั้งสองวิธี พบว่าให้ผลบวกและลบตรงกันจำนวน 32 และ 168 ตัวอย่างตามลำดับ ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในช่วงอายุมากกว่า 3- 6 ปี นอกจากนี้พบว่า วิธี γ-IFN มีค่าความไว (sensitivity) ร้อยละ 72.6 และค่าความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 66.7 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และมีความสอดคล้องกันของทั้งสองวิธีอยู่ในระดับต่ำ (ค่า kappa=0.342)

คำสำคัญ : วัณโรค, กระบือปลัก, วิธีทดสอบทางผิวหนัง, gamma (γ)-interferon

บทนำ

Mycobacterium bovis เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งทำให้เกิดโรควัณโรคในโคกระบือ (bovine tuberculosis ส่วนใหญ่พบอาการของโรคแบบเรื้อรังแต่อาจพบลักษณะเฉียบพลันมีอาการรุนแรงได้บ้าง อาการที่พบในสัตว์ เช่น ผอม อ่อนแรง เบื่ออาหาร หายใจลำบาก และพบต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ พบ tubercles ที่อวัยวะต่างๆ ได้แก่ ต่อมน้ำเหลืองที่ช่องอกและหัว ปอด เยื่อหุ้มปอด ตับ ม้าม เยื่อหุ้มช่องท้อง และลำไส้ (Kanameda *et al.,* 1997) โดยทั่วไปการทดสอบโรคนี้ในสัตว์มีชีวิตนิยมใช้วิธีการทดสอบโรคทางผิวหนัง(single intradermal test, SID) อาศัยหลักการทำให้เกิดปฏิกิริยาภูมิแพ้ (delayed hypersensitivity test) ด้วยการฉีดแอนติเจน เช่น โบไวน์ทูเบอคูลิน (bovine tuberculin) เข้าในผิวหนังและอ่านผลการทดสอบหลังฉีด 3 วัน (72 ชั่วโมง) วิธีนี้เป็นวิธีมาตรฐานสากลที่นิยมใช้ในการรับรองการตรวจโรควัณโรคก่อนการซื้อหรือขายสัตว์ (OIE, 2008) ปัจจุบันนิยมใช้แอนติเจนที่มีความบริสุทธิ์ที่เรียกว่า bovine tuberculin purified protein derivative(PPD) เนื่องจากมีความจำเพาะ(specificity) มากกว่า สำหรับตำแหน่งที่ทดสอบโดยทั่วไปนิยมใช้บริเวณโคนหาง(caudal fold of the tail) หรือกลางแผงคอ(mid-neck) ซึ่งมีความไวต่อการทดสอบมากกว่า จากมาตรการของกรมปศุสัตว์ที่ให้ทดสอบโรควัณโรคด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนังเพื่อคัดกระบือที่ให้ผลบวกออกจากฝูงพบว่ากระบือให้ผลบวกลดลงแต่ยังมีกระบือที่เป็นโรคหรือมีเชื้ออยู่ในฝูง เนื่องจากแม้ว่าการทดสอบทางผิวหนังจะถือเป็นวิธีมาตรฐานแต่หลายครั้งที่พบกระบือที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบ แต่เมื่อผ่าซากชันสูตรกระบือที่ป่วยและตายกลับพบมีรอยโรคของโรควัณโรคอย่างเด่นชัดและตรวจพบเชื้อ *Mycobacterium*

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ต.นาบัว อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

*ผู้รับผิดชอบ: โทรศัพท์ 0-4454-6104 โทรสาร 0-4454-6147 e-mail:udomc@dld.go.th

bovis ด้วย จึงเป็นข้อจำกัดของวิธีทดสอบทางผิวหนังที่ไม่สามารถตรวจพบโรควัณโรคในกรณีที่โรคดำเนินไปมากแล้ว (chronic stage) และกรณีที่ติดเชื้อระยะเริ่มต้น (early infection) ได้ (Doherty and Cassidy, 2002) จึงมีการศึกษาวิธีการทดสอบอื่นๆ เพื่อใช้ตรวจสัตว์มีชีวิตควบคู่ไปกับการทดสอบทางผิวหนัง โดยการตรวจจากตัวอย่างเลือด (Blood-based laboratory test) ได้แก่ การตรวจหาสาร Gamma(γ)-interferon (γ-IFN), Lymphocyte proliferation ที่สร้างขึ้นต่อ specific TB antigen และวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เป็นต้น โดยเฉพาะวิธี γ-IFN ที่สร้างขึ้นจำเพาะต่อการติดเชื้อนั้น เป็นวิธีที่มีการนำมาใช้ควบคุมโรควัณโรคในหลายประเทศ ได้แก่ ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ไอร์แลนด์ บราซิล โรมาเนีย สเปน อิตาลี และสหรัฐอเมริกา (Wood and Jones, 2001) วิธีนี้สามารถที่จะตรวจหาโรควัณโรคโดยเฉพาะการติดเชื้อในระยะแรก (early infection) ได้

สำหรับพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 เป็นต้นมา ได้มีการตรวจพบโรควัณโรคในกระบือที่แสดงอาการป่วยตายหลายตัวและจากการชันสูตรโรคยืนยันพบว่าติดเชื้อ *M. bovis* ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง จึงทำการศึกษาข้อมูลด้านระบาดวิทยา อาการ รอยโรคและวิธีการชันสูตรยืนยันหาเชื้อดังกล่าวทางห้องปฏิบัติการให้ได้รวดเร็ว แม่นยำ เพราะมีความสำคัญอย่างยิ่งที่จะใช้ในการวางมาตรการบริหารจัดการฝูงกระบือที่เกิดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีวินิจฉัยโรควัณโรคในสัตว์มีชีวิตด้วยวิธีการตรวจ γ-IFN ร่วมกับวิธีทดสอบทางผิวหนังบริเวณโคนหางซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการคัดกรองเพื่อการควบคุมการแพร่กระจายของโรควัณโรคในฝูงกระบือ ซึ่งจะเป็นประโยชน์สำหรับกรมปศุสัตว์ใช้อ้างอิงและเป็นแนวทางในการวางมาตรการกำจัดโรควัณโรคให้หมดไปจากฝูงให้ได้อย่างรวดเร็วต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การดำเนินการ: ทดสอบโรควัณโรคในฝูงกระบือจำนวน 358 ตัวอย่าง ในฟาร์มแห่งหนึ่งที่มีอายุตั้งแต่หย่านม (8 เดือน) ขึ้นไป โดยทดสอบทุก 6 เดือน ควบคู่กัน 2 วิธี คือ การทดสอบทางผิวหนัง และ การทดสอบ γ-IFN และแบ่งกลุ่มกระบือเป็น 3 ช่วงอายุ คือ อายุ 8 เดือน - 3 ปี มากกว่า 3 - 6 ปี และมากกว่า 6 ปีขึ้นไป

การทดสอบทางผิวหนัง: ทำความสะอาดโคนหางข้างขวาบริเวณทดสอบและวัดความหนาของผิวหนังด้วยเวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ (vernier caliper) แล้วฉีด bovine tuberculin purified protein derivative (PPD) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร (2,000 I.U.) จากนั้นอ่านผลการทดสอบหลังจากฉีด 72 ชั่วโมง โดยการวัดความหนาของผิวหนังที่บวมในบริเวณที่ฉีดสาร bovine PPD ดูผลต่างที่วัดได้เปรียบเทียบก่อนและหลังฉีด โดยแปลผล ดังนี้

- ผลลบ (negative) : ไม่มีลักษณะการบวมและผลต่างน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร
- ผลสงสัย(inconclusive) : มีลักษณะการบวมและผลต่างอยู่ระหว่าง 2-4 มิลลิเมตร
- ผลบวก(positive) : มีลักษณะการบวมและผลต่างมากกว่า 4 มิลลิเมตร

การทดสอบ Gamma(γ)-interferon assay (γ-IFN): เก็บตัวอย่างเลือดหลังจากการทดสอบทางผิวหนังภายในเวลา 3-30 วัน ปริมาตร 5 ซี.ซี.ใส่ในหลอดที่มี heparin เป็นสารกันเลือดแข็งตัว แบ่งเลือดออกเป็น 3 ส่วน เพื่อผสมกับ specific antigen คือ bovine tuberculin, avian tuberculin และ phosphate buffer solution (PBS) นำมาบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้บรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5 % เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บพลาสมา(plasma supernatant) แล้วนำมาตรวจวัดปริมาณ γ-IFN ด้วยวิธี enzyme-immunoassay (EIA) โดยใช้ชุดตรวจทดสอบสำเร็จรูป Prionic® (Switzerland) ผลการทดสอบที่เป็นผลบวกแปลค่าจากผลต่างระหว่างค่า optical density (OD) ของ γ-IFN ที่ถูกกระตุ้นด้วย bovine tuberculin กับ avian tuberculin และ bovine tuberculin กับ PBS ต้องมีค่า ≥ 0.1

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลมาแจกแจงตามกลุ่มอายุ และ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเปรียบเทียบหาค่าความไว (sensitivity) ค่าความจำเพาะ(specificity) และความสอดคล้องกันของวิธีทดสอบทั้งสองวิธี (kappa) ด้วยโปรแกรม Win Episcope 2.0

ผล

การทดสอบทางผิวหนัง(SID): การทดสอบกระบือจำนวน 358 ตัว ให้ผลการทดสอบทางผิวหนังเป็นบวก ผลสงสัยและผลลบจำนวน 38, 68 และ 252 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

การทดสอบ γ-IFN : พบให้ผลบวกต่อการทดสอบ γ-IFN จำนวน 161 ตัวอย่าง และให้ผลลบ 197 ตัวอย่าง โดยให้ผลบวกและผลลบตรงกันจำนวน 32 และ 168 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดสอบด้วยวิธีทดสอบทางผิวหนังและตรวจหาสาร γ-interferon ด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป

ผล skin test / ผล γ-interferon	บวก(+) (จำนวนตัวอย่าง)	ลบ(-) (จำนวนตัวอย่าง)	สงสัย(±) (จำนวนตัวอย่าง)	รวม (จำนวนตัวอย่าง)
บวก	32	84	45	161
ลบ	6	168	23	197
รวม	38	252	68	358

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล:

ผลการทดสอบที่แบ่งตามอายุ: จากการศึกษาพบกระบือที่ให้ผลบวกและลบตรงกันจำนวน 200 ตัวอย่าง คิดเป็น 55.8 % เมื่อนำมาแบ่งตามช่วงอายุพบว่าอายุมากกว่า3-6 ปีให้ผลตรงกันมากที่สุด คือ 82.3 % รองลงมาคือ อายุ 8 เดือนถึง 3 ปี (42.6%) และ อายุมากกว่า 6 ปีขึ้นไป (36.9%) ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การแจกแจงจำนวนกระบือที่ให้ผลบวกและลบตรงกันต่อการทดสอบวัณโรคทั้งสองวิธีตามอายุ

ผลการทดสอบ	อายุ 8 เดือน- 3 ปี พบ/จำนวนที่ตรวจ (%)	มากกว่า 3 - 6 ปี พบ/จำนวนที่ตรวจ (%)	มากกว่า 6 ปีขึ้นไป พบ/จำนวนที่ตรวจ(%)	จำนวนรวม พบ/จำนวนที่ตรวจ (%)
บวก	4/68(5.9)	21/141(14.9)	7/149(4.7)	32/358(8.9)
ลบ	25/68(36.8)	95/141(67.4)	48/149(32.2)	168/358(46.9)
รวม	29/68(42.6)	116/141(82.3)	55/149(36.9)	200/358(55.8)

ค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) : จากการเปรียบเทียบโดยใช้วิธีทดสอบทางผิวหนังเป็นวิธีมาตรฐานในการทดสอบสัตว์มีชีวิต กับการทดสอบ γ-IFN พบว่าวิธี γ-IFN มีความไว ร้อยละ 72.6 และ ค่าความจำเพาะ ร้อยละ 66.7 (กลุ่มบวกที่เป็นโรคคิดจากจำนวนสัตว์ที่ให้ผลบวกและสงสัยรวมกัน) เมื่อวัดความสอดคล้องของทั้งสองวิธีพบให้ค่า kappa(k) เท่ากับ 0.342

วิจารณ์

การเปรียบเทียบผลระหว่างการทดสอบทางผิวหนังและวิธี γ-IFN แล้วพบว่าให้ผลบวกและลบตรงกันจำนวน 32 และ 168 ตัวอย่างตามลำดับ (ตารางที่ 1) รวมแล้วให้ผลการทดสอบตรงกัน 200 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 55.8 เท่านั้น (ตารางที่ 2) แสดงว่ามีตัวอย่างที่ให้ผลการทดสอบทั้งสองวิธีไม่ตรงกันสูงถึงร้อยละ 44.2 ซึ่งอาจเนื่องจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ระยะของการติดเชื้อ การเกิดปฏิกิริยาข้าม (cross reaction) ของเชื้ออื่นที่ไม่ใช่ *M. bovis* แต่สามารถหลั่งสาร γ-IFN ออกมาได้หลังถูกกระตุ้น (Wood *et al*.,1991) รวมทั้งรายงานของ Ivarez *et al*. (2009) พบว่าในฝูงสัตว์ที่มีการติดเชื้อ *M. bovis* และ เชื้อ *M. avium paratuberculosis* ร่วมกัน ความไวในการตรวจวิธี γ-IFN ลดลงเหลือร้อยละ 50 เท่านั้น ในขณะที่การตรวจทางพยาธิวิทยาพบรอยโรคสูงถึงร้อยละ 78.3 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเชื้อ นอกจากนี้ผลที่ไม่ตรงกันทั้งสองวิธีนี้ควรศึกษาเพิ่มเติมในการนำวิธีตรวจยืนยันโดยการเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียหรือเทคนิคทางอณูชีววิทยาด้วย (Llamazaresa *et al*.,1999)

กระบือในช่วงอายุมากกว่า 3 - 6 ปี พบให้ผลบวกมากกว่ากลุ่มอายุอื่นๆ(14.9%) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kanameda *et al*. (1999) รองลงมาคืออายุ 8 เดือนถึง 3 ปี (5.9%) และอายุมากกว่า 6 ปีขึ้นไป (4.7%) ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

จากการทดสอบทางผิวหนังที่ใช้เป็นวิธีมาตรฐานเปรียบเทียบกับการทดสอบ γ-IFN จำนวน 358 ตัวอย่าง พบว่าวิธี γ-IFN มีค่าความไวร้อยละ 72.6 และความจำเพาะร้อยละ 66.7 ซึ่งค่าความไวที่ได้จะต่ำกว่าการศึกษาของ Llamazaresa *et al*. (1999) ที่ทดสอบในโคพบว่ามีความไวร้อยละ 90.8 และการศึกษาของ Domingo *et al*. (1995) ที่ศึกษาในโคนมพบว่าทดสอบมีความไวร้อยละ 87 และเมื่อวัดความสอดคล้องของทั้งสองวิธีพบให้ค่า kappa(k) เท่ากับ 0.342 ซึ่งอยู่ในระดับที่ต่ำ ซึ่งอาจเกิดจากชนิดของสัตว์หรือมีการติดเชื้อร่วมของเชื้อบางชนิด (Ivarez *et al*.,2009)แสดงว่าผลการตรวจจากทั้งสองวิธีแทบไม่มีความสอดคล้องกันเลยซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Llamazaresa *et al*. (1999) ที่พบให้ค่า kappa(k) เท่ากับ 0.63 และ Domingo *et al*. (1995) ที่พบให้ค่า kappa(k) เท่ากับ 0.67 ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ ส่วนผลการศึกษาการชันสูตรวัณโรคในโคโดยวิธีการทดสอบทางผิวหนังร่วมกับ วิธี γ-IFN ผลประเมินการทดสอบโดยใช้การเพาะแยกเชื้อเป็นวิธีมาตรฐานพบว่า ค่าความไวของทั้งสองวิธีเท่ากัน คือ 93.8% ส่วนค่าความจำเพาะโดยวิธีการทดสอบทางผิวหนัง 66.7% และวิธี γ-IFN 33.3% (เรขา และคณะ, 2544) นอกจากนี้ Llamazaresa *et al*.(1999) ยังได้เปรียบเทียบระหว่างการทดสอบทั้งสองวิธีกับการเพาะแยกเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการชันสูตรยืนยันโรควัณโรคพบว่าวิธีทดสอบทางผิวหนังมีความไวสูงถึงร้อยละ 92.9 และจากการศึกษาของ Wood *et al*. (1991) ในประเทศออสเตรเลีย พบว่าการทดสอบทางผิวหนังมีความไวร้อยละ 63.4 ในขณะที่วิธี γ-IFN พบมีความไวถึงร้อยละ 81.6

สำหรับการนำการทดสอบทั้งสองวิธีนี้มาใช้ควบคู่กันสามารถพิจารณาได้เป็น 2 แบบ คือ มาตรการแบบ parallel testing เป็นการตัดสินโดยกระบือที่ให้ผลบวกจากการทดสอบอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งคู่เป็นบวก ถือว่าให้ผลเป็นบวก จะใช้ในกรณีที่ต้องการคัดทิ้งหรือกำจัดกระบือที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อหรือเป็นโรคออกจากฝูงให้หมดโดยเร็ว ซึ่งในการทดลองนี้ถ้าใช้การตัดสินแบบ parallel testing จะมีกระบือที่ถูกคัดทิ้งทั้งสิ้น 167 ตัว จากตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อวิธี γ-IFN จำนวน 161 ตัว และ อีก 6 ตัว เป็นตัวอย่างที่ให้ผลลบโดยวิธี γ-IFN แต่ให้ผลเป็นบวกโดยวิธีการทดสอบทางผิวหนัง (ตารางที่ 1) ส่วนมาตรการอีกวิธีหนึ่ง คือ แบบ serial testing เป็นการตัดสินจากผลการทดสอบที่มีผลบวกทั้งสองวิธีเท่านั้นและต้องถูกคัดทิ้ง มาตรการนี้ใช้เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าสัตว์นั้นให้ผลเป็นบวกจริงๆ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้จะมีกระบือที่ถูกคัดทิ้งเพียง 32 ตัว (ตารางที่ 1) แต่อาจยังมีกระบือที่ติดเชื้ออยู่ในฝูงและสามารถแพร่เชื้อได้และเพิ่มระยะเวลา

ที่ฝูงจะปลอดจากเชื้อนานขึ้นไปอีกและมีความเสี่ยงสูงในการแพร่กระจายเชื้อในวงกว้างเนื่องจากการเลี้ยงกระบือในฟาร์มจะมีการแลกเปลี่ยนและหมุนเวียนระหว่างฟาร์มเครือข่าย ทำให้มีการแพร่เชื้อจากกระบือที่มีโรควัณโรคไปสู่ฝูงอื่นได้ง่าย แต่จากการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นว่าการทดสอบโรควัณโรคในกระบือระหว่างการทดสอบทางผิวหนังและการตรวจ γ-IFN นั้นมีความสอดคล้องกันในระดับต่ำ (ค่า kappa=0.342) จึงควรศึกษาวิจัยเพิ่มเติมในการนำวิธีอื่นมาใช้ทดสอบโรคควบคู่กับวิธีทดสอบทางผิวหนังต่อไป เช่น การตรวจทางอณูชีววิทยาในสัตว์มีชีวิตเป็นต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชันสูตรโรคและการควบคุมโรคของประเทศ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าของฟาร์มที่อำนวยความสะดวกในการทดสอบโรคและเก็บตัวอย่างในกระบือ สพ.ญ.มนยา เอกทัตร์ ที่ช่วยให้คำแนะนำในการเขียนเอกสารจน สมบูรณ์ น.สพ.บงกาล บุญตาราษฎร์ คุณสุธี เสตะพยัคฆ์ และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการปฏิบัติงานทั้งภาคสนามและในห้องปฏิบัติการทำให้ผลงานฉบับนี้สำเร็จลงได้

เอกสารอ้างอิง

เรขา คณิตพันธ์ ธนศักดิ์ บุญเสริม วิวัฒน์ ชัยชนะศิริวิทยา และมนยา เอกทัตร์. 2544. การชันสูตรวัณโรคในโคโดยวิธี Gamma interferone assay ร่วมกับการทดสอบทางผิวหนัง ประมวลเรื่องการประชุมสรุปผลการดำเนินงานวิจัยประจำปี 2544 สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ และศูนย์วิจัยและชันสูตรโรคสัตว์ 19-22 มิถุนายน 2544 โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว อ. เมือง จ. เชียงใหม่. หน้า 46-54.

Domingo, M., LieÂbana, E., Vilafranca, M., Aranaz, A., Vidal, D., Prats, N., Mateos, A. Casal, J. and DomõÂnguez, L. 1995. A field evaluation of the interferon-g assay and the intradermal tuberculin test in dairy cattle in Spain. Proceedings of the Second International Conference on *Mycobacterium bovis*. Dunedin, New Zealand, 304-306.

Doherty, M. L. and Cassidy, J. P.2002. New perspectives on bovine tuberculosis. *Vet. J.* 163: 109 –110.

Ivarez, J. A., Juan, L. de, Bezos, J., Romero, B., Saez, J. L., Marques S., Domınguez, C., Mınguez O., Fernandez-Mardomingo, B., Mateos A., Domınguez, L. and Aranaz A. 2009. Effect of paratuberculosis on the diagnosis of bovine tuberculosis in a cattle herd with a mixed infection using interferon-gamma detection assay. Vet Microbiol. 135: 389–393.

Kanameda, M., M. Ekgatat, S. Wongashemjit, C. Sirivan, T. Patchimasiri, C. Kongkrong, K. Buchaphan and B. Boontarat. 1999. An evaluation of tuberculin skin tests used to diagnose tuberculosis in swamp buffaloes *(Bubalus bubalis)*. Preventive Veterinary Medicine. 39: 129 – 135.

Kanameda, M., M. Ekgatat, T. Patchimasiri, S. Wongashemkit, C. Sirivan, C. Kongkrong, B. Apiwatnakorn W. Narongwanichasan, B. Boontarat and S. Shoya. 1997. The pathology of bovine tuberculosis in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis)*. Buffalo J. 3: 351 – 362.

Llamazaresa, O.R.G., MartõÂna, C.B.G., Nistala, D.A., Redondoa, V.A., de la Puente, R. Â. L. D. and Ferria, E.F.R. 1999. Field evaluation of the single intradermal cervicaltuberculin test and the interferon-g assay for detection and eradication of bovine tuberculosis in Spain. Vet Microbiol. 70: 55-66.

Marassi, C.D., Medeiros, L. and Lilenbaum, W. 2009. The use of a Gamma-Interferon assay to

confirm a diagnosis of bovine tuberculosis in Brazil. Acta Trop. 113(2): 199-201.

Office International des Epizooties (OIE). 2008. Bovine Tuberculosis. *In* Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees), 6th Edition. 12 rue de Prony, 75017 Paris, France. p. 77-92.

Wood, P.R., Corner, L.A., Rothel, J.S., Baldock, C., Jones, S.L., Cousins, D.V., McCormick, B.S., Francis, B.R.,Creeper, J. and Tweddle, N.E. 1991. Field comparison of the g-IFN assay and the intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. Aust. Vet. J. 68: 286-290.

Wood, P.R. and Jones, S.L. 2001. BOVIGAM: an in vitro cellular diagnostic test for bovine tuberculosis.Tuberculosis (Edinb). 81(1-2):147-55.

Detection of bovine tuberculosis in swamp buffaloes by intradermal skin test and γ-interferon immnunoassay

Udom Chuachan* **Aroonpan Doongsoongnern** **Bopit Puyati**

Veterinary Research and Development Center (Lower Northeastern Region), Surin, Thailand

*corresponding author: Tel. 044-546104, FAX. 044-546147, e-mail:udomc@dld.go.th

Tuberculosis testing was performed by caudal fold intradermal skin test and gamma -interferon (γ-IFN) assay test kits which specific for *Mycobacterium bovis* in 358 swamp buffaloes of known tuberculosis-positive herd at lower northeastern region. The intradermal skin test showed positive, suspicious and negative in 38, 68 and 252 heads, respectively. The γ-IFN assay showed positive 161 heads and negative 197 heads. It revealed that both tests gave the same positive and negative results of 32 and 168 samples, respectively, and shown in > 3 - 6 years of age. In this study, the γ-IFN assay showed 72.6% sensitivity and 66.7% specificity at 95% of confidence with low correlations (k=0.342).

Key words: tuberculosis, swamp buffaloes, intradermal skin test, gamma (γ)-interferon