

## A one-step two-minute test for Typhoid fever based on particle separation in tube D2-1

Lim Pak-leong

### Abstrak

Telah digambarkan suatu perangkat diagnostik yang baru untuk demam tifoid di mana antibodi O9 pada pasien dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam menghambat pengikatan monoklonal antibodi (mAb) anti O9 yang dikonjugasikan dengan partikel lateks berwarna dan lipopolisakarida (LPS) *Salmonella typhi* yang dikonjugasikan dengan partikel lateks magnetik. Reaktan dicampur pada tabung kecil (microtube) khusus selama 2 menit dan setelah dilakukan pengendapan dari butir magnetik, hasilnya dibaca berdasarkan warna suspensi yang timbul. Pada keadaan di mana tidak ada antibodi penghambat, terjadi perubahan warna (biru menjadi merah) karena ko-sedimentasi dari partikel indikator, sementara adanya antibodi akan mencegah terjadinya perubahan sampai pada konsentrasi tertentu. Uji awal perangkat diagnostik ini dengan menggunakan inhibitor anti-O9 mAb dan mAb yang tak relevan, menunjukkan bahwa uji ini spesifik dan dapat diulang. Pada uji 16 serum yang didapat dari 14 kasus yang terbukti demam tifoid dan 69 sampel serum penderita non-tifoid didapatkan bahwa uji tersebut mempunyai sensitivitas 92,9% dan spesifisitas 100%. Kasus non-tifoid berasal dari 26 donor darah sehat, 30 pasien ANA-(anti-nuclear antibody), 9 pasien ANA + dan 4 pasien tifus. Di samping itu, semua serum yang didapatkan dari 11 pasien dengan diagnosis klinis demam tifoid menunjukkan hasil positif dengan tes ini. Uji ini mempunyai korelasi dengan enzyme-linked immunoassay (ELISA) yang menggunakan format deteksi (penghambatan) dan reagen yang sama. Uji ini mempunyai korelasi yang sangat baik dengan ELISA dalam mendeteksi antibodi anti LPS *S. typhi* dari pasien demam tifoid: IgM ( $r=0,58$ ,  $p=0,003$ ) atau IgG ( $r=0,54$ ,  $p=0,006$ ). Uji ini dapat mendeteksi IgM dan IgG dengan baik, hal ini penting sebab beberapa serum rendah pada satu kelas atau kelas lainnya. Uji ini tak dapat dilakukan pada gelas alas (melainkan pada tabung) dan menggunakan antigen yang dapat larut (bukan antigen yang terkonjugasi dengan butiran magnet). Aglutinasi langsung dari LPS yang dikonjugasi dengan partikel indikator, baik pada gelas alas maupun pada microwell, juga gagal mendeteksi adanya antibodi dari sebagian besar (69-76%) pasien tifoid.

### Abstract

A new diagnostic kit for typhoid fever is described in which anti O9 antibodies in patients are detected by their ability to inhibit the binding between an anti-O9 monoclonal antibody (mAb) conjugated to colored latex particles and *Salmonella typhi* lipopolysaccharide (LPS) conjugated to magnetic latex particles. The reactants are mixed in a specially-designed microtube for 2 min. and the result is read based on the resultant color of suspension following forced sedimentation of the magnetic beads. In the absence of inhibitory antibodies, there is a color change (from blue to red) due to co-sedimentation of the indicator particles, whereas the presence of the antibodies would prevent such a change to a degree dependent on their concentration. Preliminary examination of the kit using the anti-O9 mAb and irrelevant mAbs as inhibitor revealed the test to be specific and reproducible. In the examination of 16 stored sera obtained from 14-typhoid-proven cases and a serum sample from each of 69 non-typhoid subjects, the test was found to be 92.9 % sensitive and 100% specific. The non-typhoid cases comprised 26 healthy blood donors, 30 ANA- (anti-nuclear antibody) patients, 9 ANA+ patients and 4 typhus patients. In addition, all sera obtained from 11 patients clinically diagnosed as having typhoid fever were positive in the test. The test correlated to some extent with an enzyme-linked immunoassay (ELISA) which used a similar detection format (inhibition) and reagents (*S. typhi* LPS and anti-O9 antibody, the latter, enzyme-linked). The test correlated very well with ELISAs with detected IgM ( $r=0.58$ ,  $p=0.003$ ) or IgG ( $r=0.54$ ,  $p=0.006$ ) anti-*S. typhi* LPS antibodies from the typhoid patients. The test detected both IgM and IgG antibodies which is important since some of the sera were low in one class or the other. The test could not be performed on slides (instead of tubes) and using soluble antigen (instead of antigen-conjugated magnetic beads). Direct agglutination of LPS-conjugated indicator particles either on slides or in microwells also failed to detect antibodies from the majority (69-76%) of the typhoid patients.