บทที่ 4

วิจารณ์

แอนติเจนของเชื้อเลปโตสไปราทั้ง 3 ชนิดที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เตรียมขึ้นจากเชื้อ *Leptospira interrogans* ซีโรวาร์ Bataviae ขณะที่แอนติเจนส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในชุดน้ำยาสำเร็จรูปทางพาณิชย์สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสด้วยวิธีอิมมูโนเอสเสย์ มักเตรียมขึ้นจากเชื้อ *Leptospira biflexa* ซีโรวาร์ Semaranga (Patoc I) ซึ่งเป็นเชื้อชนิดไม่ก่อโรคและมีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มค่อนข้างกว้าง จากการศึกษาของ Petchclai และคณะ (1992) และ Appasakij และคณะ (1995) พบว่าซีรั่มจากผู้ป่วยที่มีระดับแอนติบอดีไตเตอร์สูงด้วยวิธี MAT มักจะทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่เตรียมจากเชื้อซีโรวาร์ Bataviae รุนแรงกว่าแอนติเจนที่เตรียมจากซีโรวาร์ Semaranga (Patoc I) ซึ่งไม่น่าประหลาดใจ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *Leptospira interrogans* ซีโรวาร์ Bataviae เป็นซีโรวาร์ที่พบได้บ่อยในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางภาคใต้ของประเทศ (Pradutkanchana *et al*., 2002) นอกจากนั้นแอนติเจนที่เตรียมจากเชื้อซีโรวาร์ Bataviae ยังสามารถเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับเชื้อซีโรวาร์อื่นๆด้วยเมื่อทดสอบด้วยวิธี ELISA (Petchclai *et al*., 1992) หรือ IFA (Appasakij *et al*., 1995) ดังนั้นแอนติเจนที่เตรียมจากเชื้อซีโรวาร์ Bataviae จึงน่าจะเป็นแอนติเจนที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้อซีโรวาร์ Bataviae

จากการวิเคราะห์กราฟ ROC (ภาพประกอบ 10-12) พบว่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการทดสอบหาแอนติบอดีชนิด IgM ด้วยวิธี ELISA ที่เตรียมจากแอนติเจน SA และ DEA มีค่าไม่แตกต่างจากพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี IHA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน SA แสดงว่าการทดสอบทั้ง 3ชนิด สามารถนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสในมนุษย์ได้ไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเมื่อศึกษาในรายละเอียดโดยเลือกจุดตัดที่เหมาะสม แล้วพิจารณาประสิทธิภาพของน้ำยาทดสอบจากค่าความไวและความจำเพาะ พบว่าวิธีทดสอบ IHA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน SA มีความไวสูงสุดร้อยละ 98.8 รองลงมาคือวิธี ELISA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน SA และ DEA มีความไวร้อยละ 97.6 เท่ากัน ขณะที่ความจำเพาะของวิธีทดสอบ IHA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน SA เท่ากับร้อยละ 94.1 ซึ่งต่ำกว่าเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี ELISA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน SA ซึ่งมีความจำเพาะสูงสุดร้อยละ 96.5 และวิธี ELISA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน DEA มีความจำเพาะร้อยละ 94.1 เนื่องจากโรคเลปโตสไปโรซิสเป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่สัตว์และจากสัตว์สู่คนที่มีอาการของโรคส่วนใหญ่ไม่รุนแรงนัก มีความชุกร้อยละ 33-36 (Heisey et al., 1988;

Pradutkanchana *et al*., 2002) หากพิจารณาจากค่าความไวของการทดสอบเป็นหลัก การทดสอบด้วยวิธี IHA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน SA จึงเป็นการทดสอบที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิส เนื่องจากมีความไวสูงสุด ขณะที่ความจำเพาะไม่แตกต่างกันมากนัก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Levett and Whittington (1998) ที่พบว่าการทดสอบด้วยวิธี IHA มีความไวสูงกว่าวิธี ELISA สำหรับตรวจหา IgM ทั้งนี้อาจเนื่องจากวิธี IHA สามารถตรวจแอนติบอดีได้ทั้งชนิด IgM และ IgG ขณะที่ วิธี ELISA ตรวจเฉพาะแอนติบอดีชนิด IgM หรือเฉพาะ IgG

การวิเคราะห์หาความเหมาะสมของการทดสอบวิธี ELISA ที่จะนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิส โดยวิเคราะห์จากพื้นที่ใต้กราฟ ROC (ภาพประกอบ 10-11) พบว่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้จากการทดสอบหาแอนติบอดีชนิด IgM ด้วยวิธี ELISA ที่เตรียมจากแอนติเจนทั้งสามชนิดมีค่ามากกว่าการทดสอบหาแอนติบอดีชนิด IgG ด้วยวิธี ELISA แสดงว่า การทดสอบหาแอนติบอดีชนิด IgM ด้วยวิธี ELISA มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสได้ดีกว่าการทดสอบหาแอนติบอดีชนิด IgG ด้วยวิธี ELISA ทั้งนี้เนื่องจากแอนติบอดีชนิด IgM เป็นแอนติบอดีชนิดแรกที่ร่างกายสร้างขึ้นในการตอบสนองต่อการเกิดโรค ก่อนที่จะสร้างแอนติบอดีชนิดอื่น เช่น IgG เป็นต้น

กราฟ ROC แสดงการวิเคราะห์การตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ด้วยวิธี ELISA โดยการใช้แอนติเจนที่แตกต่างกัน 3 ชนิด (ภาพประกอบ 10) แม้ว่าแอนติเจน SA และแอนติเจน DEA จะมีพื้นที่ใต้กราฟเท่ากัน แต่เมื่อเลือกจุดตัดที่เหมาะสม พบว่า แอนติเจน SA จะมีความไวร้อยละ 97.6 เท่ากับแอนติเจน DEA แต่มีความจำเพาะร้อยละ 96.5 ซึ่งสูงกว่าความจำเพาะของแอนติเจน DEA เล็กน้อย (ร้อยละ 94.1) เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า มีรายงานความไวอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 85-93 และมีความจำเพาะอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 89-94 (Cumberland *et al*., 1999; Gussenhoven *et al*., 1997; Naigowit *et al*., 2000) แสดงว่าการทดสอบหาแอนติบอดีชนิด IgM ด้วยวิธี ELISA ที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพใกล้เคียงหรือดีกว่าการทดสอบที่มีก่อนหน้านี้ โดยเฉพาะเมื่อใช้แอนติเจน SA ในการเคลือบหลุมไมโครไตเตอร์เพลต จะทำให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด

สำหรับกราฟ ROC แสดงการวิเคราะห์การตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG ด้วยวิธี ELISA โดยการใช้แอนติเจนที่แตกต่างกัน 3 ชนิด (ภาพประกอบ 11) พบว่า แอนติเจน DEA มีพื้นที่ใต้กราฟมากที่สุด รองลงมาคือ แอนติเจน SA และ แอนติเจน HEA ตามลำดับ เมื่อเลือกจุดตัดที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบที่ใช้แอนติเจนแต่ละชนิด พบว่า การใช้แอนติเจน DEA เคลือบหลุม

ไมโครไตเตอร์เพลตสำหรับการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG ด้วยวิธี ELISA มีความไวและความจำเพาะสูงที่สุด (ร้อยละ 84.7และ 79.2 ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามความไวและความจำเพาะที่ได้ยังค่อนข้างต่ำกว่าความไวและความจำเพาะที่ได้จากการตรวจหา IgM ด้วยวิธี ELISA ค่อนข้างมาก แสดงให้เห็นว่า การตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG ด้วยวิธี ELISA ไม่เหมาะสมในการใช้ตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสในมนุษย์

การเปรียบเทียบการทดสอบวิธี IHA เมื่อใช้แอนติเจนที่แตกต่างกัน พบว่า การเคลือบเม็ดเลือดแดงแกะด้วยแอนติเจน HEA ไม่สามารถศึกษาได้ เนื่องจากมีปริมาณแอนติเจนน้อยเกินไปสำหรับการเคลือบผิวเม็ดเลือดแดง ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาเกาะกลุ่มกับตัวควบคุมบวก ขณะที่แอนติเจนอีกสองชนิดนั้นสามารถเกิดปฏิกิริยาเกาะกลุ่มกับตัวควบคุมบวกได้ชัดเจน วิธี IHA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน SA มีพื้นที่ใต้กราฟ ROC มากที่สุด รองลงมาคือ วิธี IHA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน DEA เช่นเดียวกับการพิจารณาประสิทธิภาพการทดสอบจากค่าความไว และความจำเพาะ พบว่าวิธี IHA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน SA มีความไวร้อยละ 98.8 และความจำเพาะร้อยละ 94.1 ส่วนวิธี IHA ที่เคลือบด้วยแอนติเจน DEA มีความไวร้อยละ 81.2 และความจำเพาะร้อยละ 95 เปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่รายงานความไวของการทดสอบด้วยวิธี IHA ร้อยละ 83-100 และความจำเพาะร้อยละ 94-99 (ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์ และคณะ, 2543; Levett and Whittington, 1998; Effler *et al*., 2000) ดังนั้นแอนติเจน SA จึงมีความเหมาะสมมากที่สุดที่จะใช้เป็นแอนติเจนสำหรับเคลือบผิวเม็ดเลือดแดงแกะสำหรับใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรา เพื่อตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิส

การศึกษาครั้งนี้ มีค่าความไวของการทดสอบทุกชนิดทั้งการทดสอบหาแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG ในซีรั่มครั้งแรกค่อนข้างต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 33) เปรียบเทียบกับรายงานก่อนหน้านี้ที่รายงานความไวของการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM ด้วยวิธี ELISA ในซีรั่มครั้งแรกร้อยละ 52 และความไวของวิธี MAT ในซีรั่มครั้งแรกร้อยละ 30 (Cumberland *et al*., 1999) ทั้งนี้อาจเนื่องจากสาเหตุของความแตกต่างในแง่เกณฑ์การวินิจฉัยการป่วยเป็นโรค (Case definition) และระยะเวลาเฉลี่ยตั้งแต่เริ่มมีอาการป่วยจนเก็บซีรั่มได้ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยโดยคัดเลือกเฉพาะผู้ป่วยที่มีการเก็บตัวอย่างเลือดได้อย่างน้อย 2 ครั้ง ห่างกันอย่างน้อย 1 สัปดาห์ เมื่อตรวจด้วยวิธี MAT ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิส ผู้ป่วยจะต้องแสดงการเพิ่มขึ้นของระดับแอนติบอดี ตั้งแต่ 4 เท่าขึ้นไป ดังนั้นจึงมีผู้ป่วยกลุ่มหนึ่งที่มีระดับแอนติบอดีในซีรั่มระดับสูง แต่แสดงการเพิ่มขึ้นของแอนติบอดีน้อยกว่า 4 เท่าไม่ถูกคัดเลือกเข้ามาศึกษา นอกจากนั้นระยะเวลาเฉลี่ยตั้งแต่เริ่มแสดงอาการของโรคจนกระทั่งเก็บซีรั่มครั้งแรกได้

สำหรับการศึกษานี้เท่ากับ 4 วัน ซึ่งสั้นมากและสั้นเกินไปสำหรับร่างกายที่จะสร้างแอนติบอดีขึ้นมา

การประเมินความแม่นยำของวิธี ELISA โดยศึกษาจากตัวควบคุมบวกและตัวควบคุมลบอย่างละ 1 ตัวอย่าง ศึกษาทั้งชนิด within-run precision โดยทดสอบตัวควบคุมบวกและตัวควบคุมลบ จำนวน 20 ซ้ำในการทดสอบคราวเดียวกัน และชนิด between-run precision โดยทดสอบตัวควบคุมบวกและตัวควบคุมลบครั้งละ 1 ซ้ำ เป็นเวลา 20 วันติดต่อกัน พบว่าตัวควบคุมทั้งสองชนิดให้ผลตรงกันทุกครั้ง การทดสอบส่วนใหญ่ให้ค่า %CV (% coefficient of variance) น้อยกว่าร้อยละ 10 แสดงให้เห็นว่าการทดสอบด้วยวิธี ELISA มีความแม่นยำและความน่าเชื่อถือสูง เช่นเดียวกับการทดสอบวิธี IHA แม้ว่าจะรายงานผลเป็นค่าไตเตอร์ทำให้ไม่สามารถคำนวนค่า %CV ได้เมื่อทดสอบโดยใช้ตัวควบคุมบวกและตัวควบคุมลบ คราวละ 1 ตัวอย่างเป็นเวลา 20 วันติดต่อกัน พบว่าการทดสอบวิธี IHA ที่เคลือบด้วยแอนติเจนทั้งสองชนิดคือ SA และ DEA ให้ค่าไตเตอร์ไม่เปลี่ยนแปลง แสดงว่าการทดสอบวิธี IHA เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีความแม่นยำสูง สามารถทำซ้ำได้โดยผลการทดสอบไม่เปลี่ยนแปลง

การประเมินความเสถียรของน้ำยาทดสอบวิธี IHA พบว่า การเคลือบเม็ดเลือดแดงแกะด้วยแอนติเจน SA มีความเสถียร 4 สัปดาห์ ขณะที่การเคลือบเม็ดเลือดแดงแกะด้วยแอนติเจน DEA มีความเสถียรไม่น้อยกว่า 6 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าการเคลือบเม็ดเลือดแดงแกะด้วยแอนติเจน SA สามารถใช้ทดสอบได้เพียงช่วงสั้นๆภายหลังการเตรียมชุดน้ำยาเท่านั้น (Imamura *et al*., 1972) ทั้งนี้อาจเนื่องจากวิธีการเก็บรักษาเม็ดเลือดแดงแตกต่างกัน โดย Imamura และคณะ ใช้ formalin ในการเก็บรักษาก่อนที่จะนำมาเคลือบแอนติเจนโดยใช้ tannic acid ขณะที่การศึกษาครั้งนี้ ใช้ glutaraldehyde ในการเก็บรักษาเม็ดเลือดแดงก่อนที่จะนำมาเคลือบแอนติเจนด้วย tannic acid เช่นเดียวกัน การใช้สารรักษาสภาพเม็ดเลือดแดงที่แตกต่างกัน อาจมีผลให้ความเสถียรของการเคลือบแอนติเจน SA แตกต่างกัน นอกจากนั้น Imamura และคณะรายงานว่า การเคลือบเม็ดเลือดแดงด้วยแอนติเจน DEA สามารถเก็บรักษาและใช้ทดสอบได้ ไม่น้อยกว่า 1 ปี แม้ว่าการศึกษาครั้งนี้จะทดสอบความเสถียรของน้ำยาที่เคลือบด้วยแอนติเจน DEA เพียง 6 สัปดาห์ แต่แนวโน้มของความเสถียรของชุดน้ำยาทดสอบที่เคลือบด้วยแอนติเจน DEA น่าจะเก็บรักษาได้นานกว่านั้น โดยไม่มีผลกระทบต่อระดับไตเตอร์ของตัวอย่างตรวจ

จากการศึกษาแบบแผนโปรตีนของแอนติเจนแต่ละชนิดพบว่า แอนติเจนทั้งสามชนิดมีโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันอยู่ 2 แถบ คือโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 68 และ 60 กิโลดาลตัน

นอกจากนี้ยังมีโปรตีนที่พบร่วมกันในแอนติเจน HEA และ SA แต่ไม่พบในแอนติเจน DEA อีก 2 แถบ ได้แก่โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 41 และ 36 กิโลดาลตัน อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้ศึกษาถึงคุณสมบัติการเป็นแอนติเจนของโปรตีนแต่ละแถบโดยการย้อมด้วยแอนติบอดีจำเพาะ จึงไม่สามารถบอกรายละเอียดได้ว่าแอนติเจนทั้งสามชนิดมีแอนติเจนร่วมหรือไม่ รายงานวิจัยก่อนหน้านี้ มีการศึกษาแอนติเจน 3 ชนิด ได้แก่ sonicated antigen, ethanol extracted antigen และ low ionic antigen ที่สกัดจากเชื้อ *Leptospira biflexa* ซีโรวาร์ Patoc I พบว่ามีแถบโปรตีนร่วมกันถึง 7 แถบ ได้แก่ 203 135 86 62 55 41.5 และ 38 กิโลดาลตัน แต่แถบโปรตีนเหล่านี้ มีโปรตีนเพียง 2 แถบที่เป็นแอนติเจนร่วม คือ โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 41.5 และ 38 กิโลดาลตัน (Soogarun *et al*., 2002) จะเห็นได้ว่าแถบโปรตีนที่ได้จากการศึกษาทั้งสองนี้ แตกต่างกันค่อนข้างมาก ทั้งนี้อาจเนื่องจาก เชื้อเลปโตสไปราที่นำมาศึกษาเป็นคนละสปีซีส์ โดยการศึกษานี้ ศึกษาในเชื้อ *Leptospira interrogans* ซีโรวาร์ Bataviae ขณะที่การศึกษาของ Soogarun และคณะ ศึกษาในเชื้อ *Leptospira biflexa* ซีโรวาร์ Patoc I อย่างไรก็ตามการใช้สาร Triton X-100 หรือ Triton X-114 สกัดแอนติเจนออกจากตัวเชื้อ จะได้โปรตีนในส่วนที่เป็น outer membrane protein รายงานวิจัยของ Yang และคณะ (2002) พบว่า outer membrane protein ที่สกัดจากเชื้อ *Leptospira interrogans* ซีโรวาร์ Shermani เมื่อนำไปแยกแถบโปรตีนด้วยวิธีเอส ดี เอส โพลิอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตฟอริซิส จะพบแถบโปรตีน 2 แถบ น้ำหนักโมเลกุล 32 และ 41 กิโลดาลตันตามลำดับ ขณะที่โปรตีนสกัดจากเชื้อ *Leptospira biflexa* ซีโรวาร์ Patoc I ไม่พบแถบโปรตีนทั้งสองนี้ นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนน้ำหนักโมเลกุล 32 กิโลดาลตัน เป็นโปรตีนที่มีความสัมพันธ์กับการก่อโรค tubulointerstitial nephritis ในหนู จากการทดลองในครั้งนี้ ไม่พบแถบโปรตีนน้ำหนักโมเลกุล 32 กิโลดาลตันเลยในแอนติเจนทั้งสามชนิด ทั้งนี้อาจเนื่องจากเป็นการศึกษาในเชื้อเลปโตสไปราซีโรวาร์ต่างกัน

แอนติเจนที่สกัดจากเชื้อเลปโตสไปราด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกันทั้ง 3 ชนิดนี้มีส่วนประกอบที่เป็นโปรตีนที่แตกต่างกัน แอนติเจน HEA ที่สกัดโดยการใช้ความร้อน น่าจะเป็นส่วนของโปรตีนทนร้อน (heat stable protein) แอนติเจน SA ได้จากการทำให้เซลล์ของเชื้อแตก แอนติเจนส่วนใหญ่จึงเป็น crude antigen เมื่อทำโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรฟอรีซิสจึงพบว่ามีแถบโปรตีนมากกว่าแอนติเจนชนิดอื่น และแอนติเจน DEA ได้จากการสกัดด้วยสาร deoxycholate สารนี้มีคุณสมบัติในการละลายไขมัน ดังนั้นแอนติเจนที่ได้น่าจะเป็นส่วนของโปรตีนที่มีไขมันจับอยู่ (lipoprotein) แอนติเจนเหล่านี้ล้วนสามารถละลายในสารละลายได้ (soluble antigen) โดยมีความเหมาะสมในการนำไปใช้พัฒนาการทดสอบที่แตกต่างกัน แอนติเจน SA เหมาะสมที่จะนำไป

ใช้ในการพัฒนาการทดสอบด้วยวิธี ELISA และ IHA มากที่สุด เนื่องจากให้การทดสอบที่มีความไวและความจำเพาะสูง ขณะที่แอนติเจน DEA เมื่อในไปใช้เคลือบผิวเม็ดเลือดแดงสำหรับทำการทดสอบ IHA จะทำให้สามารถเก็บน้ำยาทดสอบได้เป็นเวลานานขึ้น

วิธี IHA เป็นวิธีทดสอบที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ไม่ต้องการเครื่องมือราคาแพง น้ำยาเก็บได้ค่อนข้างนาน นอกจากนี้ยังสามารถตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปราได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ ขณะที่วิธี ELISA มีขั้นตอนการตรวจที่ยุ่งยากกว่าวิธี IHA ใช้เครื่องมือราคาแพง น้ำยาที่เตรียมขึ้นจำเป็นต้องใช้ให้หมดในคราวเดียว และตรวจได้เฉพาะแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปราที่ก่อโรคในมนุษย์เท่านั้น หากต้องการตรวจโรคเลปโตสไปโรซิสที่เกิดในสัตว์ จะต้องเปลี่ยนคอนจูเกตให้มีความจำเพาะต่อสัตว์แต่ละชนิด สำหรับการตรวจด้วยวิธี ELISA สามารถบอกชนิดของแอนติบอดีได้ว่าเป็นชนิด IgM หรือ IgG ทำให้ทราบรายละเอียดของผู้ป่วยเพิ่มเติมว่ากำลังป่วยเป็นโรค หรือเคยสัมผัสกับโรคเลปโตสไปโรซิสในอดีตหรือไม่ อย่างไรก็ตามการตรวจด้วยวิธี IHA และวิธี ELISA ไม่สามารถบอกรายละเอียดของการเกิดโรคระดับซีโรวาร์ได้ แตกต่างจากวิธี MAT ข้อมูลการก่อโรคของเชื้อระดับซีโรวาร์เป็นประโยชน์ค่อนข้างมากในงานด้านระบาดวิทยาเพื่อใช้ในการควบคุมโรค พัฒนาวัคซีน หรือใช้ป้องกันการระบาดที่อาจเกิดขึ้นได้ แต่ข้อมูลเหล่านี้ไม่มีผลต่อการรักษาผู้ป่วย