

นิพนธ์ต้นฉบับ

การประเมินชุดตรวจหาการติดเชื้อ *Treponema pallidum* ในโลหิตบริจาควัฒนกุล ด้วยหลักการ Immuno Chromatographic Strip

เกรียงศักดิ์ ไชยวงศ์ ดวงนภา อินทรสงเคราะห์ รจนา กิมพัร์ อุดม สงอุบล วารุณี วัฒนกุล

นิภาวรรณ คำพันธ์ และ สิริณัฐ อูทา

ฝ่ายตรวจคัดกรองโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ การตรวจหาการติดเชื้อ *Treponema pallidum* ที่ทำให้เกิดโรคซิฟิลิสทางซีโรโลยีมีอยู่ 2 วิธี คือวิธีที่ไม่จำเพาะเจาะจง เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย เช่น Rapid Plasma Reagin (RPR) และวิธีที่จำเพาะ *Treponemal test* สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อโดยตรง แต่ละชุดตรวจจะมีความไว ความจำเพาะ และ หลักการต่างกันเช่น Chemiluminescence microimmuno assay (CMIA) และ Immuno Chromatographic Strip (ICS) เป็นต้น **วัตถุประสงค์** เพื่อประเมินผลชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ซึ่งใช้หลักการ ICS เปรียบเทียบกับชุดตรวจ Architect Syphilis TP ซึ่งใช้หลักการ CMIA **วัสดุและวิธีการ** ซีรัมผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจด้วย Architect Syphilis TP ได้ผลเป็นลบ 1,000 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ได้ผลเป็นบวก 253 ตัวอย่าง แยกเป็น 199 ตัวอย่างให้ผลบวกด้วยชุดตรวจ CMIA, *Treponema pallidum* particle agglutination (TPPA), RPR และอีก 54 ตัวอย่างให้ผลบวกด้วยชุดตรวจ CMIA, TPPA และให้ผลลบด้วยชุดตรวจ RPR ทดสอบซีรัมโดยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP อ่านผลการทดสอบทุกตัวอย่างโดยเจ้าหน้าที่คนเดียวกัน และทบทวนผลด้วยเจ้าหน้าที่อีกคน บันทึกผลและเก็บข้อมูล คำนวณหาค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) **ผลการศึกษา** ผลการตรวจซีรัมที่ให้ผลเป็นลบ 1,000 ตัวอย่าง และซีรัมที่ให้ผลบวก 253 ตัวอย่าง เมื่อตรวจด้วยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP พบว่า ให้ผลตรงกับการทดสอบโดยชุดตรวจอ้างอิงหลักการ CMIA ทุกตัวอย่าง ความไว 100% ความจำเพาะ 100% **สรุป** ชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ที่ประเมินผลในการศึกษาที่มีความไวและความจำเพาะเช่นเดียวกับชุดตรวจอ้างอิง สามารถนำมาใช้พิจารณาเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะใช้ในการตรวจกรองหรือตรวจยืนยันซิฟิลิสทางซีโรโลยีในโลหิตบริจาควัฒนกุลได้

Keywords : ● Immuno Chromatographic Strip ● Syphilis rapid diagnostic test
● Chemiluminescence microimmuno assay

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2557;24:261-7.

บทนำ

ซิฟิลิส (syphilis) เป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่เกิดจากเชื้อ *Treponema pallidum* การตรวจหาการติดเชื้อชนิดนี้โดยวิธี nucleic acid testing ยังไม่สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป การตรวจทางซีโรโลยีจึงถูกนำมาใช้ในการวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคซิฟิลิส¹ การทดสอบมี 2 วิธี คือวิธีที่ใช้แอนติเจนไม่จำเพาะ (non-treponemal test) เป็นวิธีที่ไม่ได้ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อโดยตรง แต่เป็นการตรวจหาแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นมาต่อเนื้อเยื่อ แอนติบอดีชนิดนี้เรียกว่า reagin สามารถพบได้ใน

โรคอื่นๆ ที่มีการทำลายของเนื้อเยื่อ วิธีการที่ใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีเหล่านี้ได้แก่ rapid plasma reagin (RPR) ที่ใช้อย่างแพร่หลาย การตรวจอีกวิธีเป็นการตรวจที่ใช้แอนติเจนจำเพาะจากตัวเชื้อ (treponemal test) ซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Treponema pallidum* โดยตรงซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังการติดเชื้อ ชุดตรวจที่ใช้วิธีแบบจำเพาะนี้มีหลักการต่างๆ กัน เช่น chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA), enzyme immunoassay (EIA), *Treponemal pallidum* heamagglutination (TPHA) หรือ *Treponema pallidum* particle agglutination (TPPA) ในประเทศไทย ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้จัดทำข้อเสนอแนะหรือ guideline สำหรับการตรวจซิฟิลิสเพื่อให้ทันการเลือกตั้งต่างๆ ได้นำไปเป็น

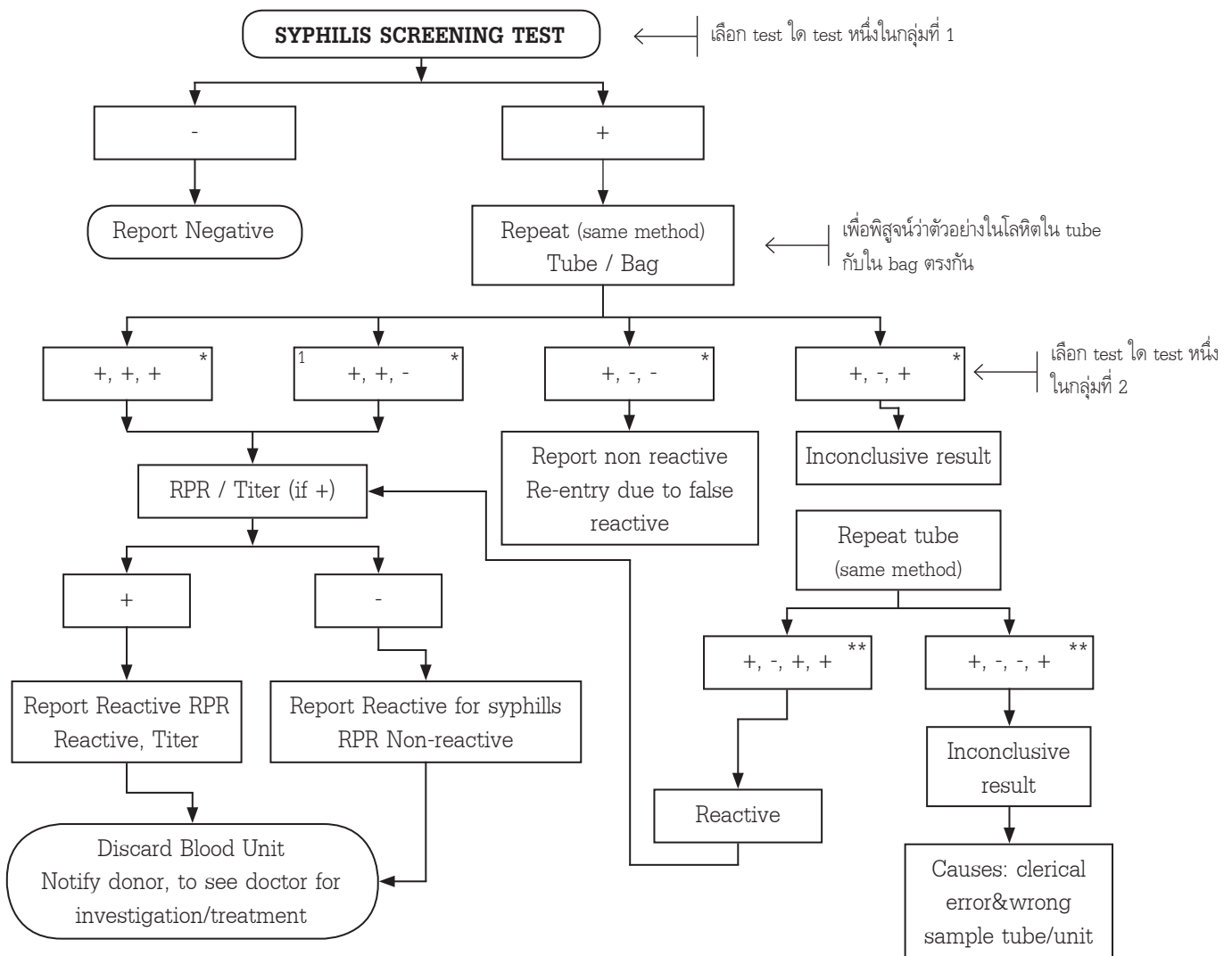
ได้รับต้นฉบับ 30 ตุลาคม 2556 รับลงตีพิมพ์ 1 พฤษภาคม 2557

ต้องการสำเนาต้นฉบับ ติดต่อ เกรียงศักดิ์ ไชยวงศ์ ฝ่ายตรวจคัดกรองโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

แนวทางในการปฏิบัติให้เป็นแนวเดียวกัน โดยแบ่งกลุ่มน้ำยาที่ใช้ในการตรวจออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ น้ำยากุ่มแรกคือ น้ำยาสำหรับตรวจคัดกรอง (screening) แนะนำให้ใช้ชุดตรวจหลักการ CMIA, EIA น้ำยากุ่มที่สองคือ กลุ่มที่ใช้สำหรับตรวจยืนยันผลบวก (repeat, confirm) โดยน้ำยาในกลุ่มที่สองนี้ต้องใช้หลักการต่างจากกลุ่มที่หนึ่งและได้ทำการทดสอบหรือประเมินคุณภาพแล้วว่ามีควมไว ความจำเพาะ เทียบเท่ากับน้ำยากุ่มที่หนึ่ง แนะนำน้ำยาที่ใช้หลักการ TPPA, TPHA ส่วนน้ำยากุ่มที่สามคือ น้ำยาสำหรับตรวจติดตาม หรือ บอกระยะของโรค (monitoring, staging)

แนะนำน้ำยาที่ใช้หลักการ RPR, VDRL ซึ่งจะใช้ตรวจกับตัวอย่างที่น้ำยาในกลุ่มที่สองได้ผลการตรวจเป็นบวก และ ต้องหา titer ด้วย ตัวอย่างละเอียดดัง Figure 1

ระหว่างทำการศึกษานี้ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติได้ใช้ชุดตรวจหลักการ CMIA เป็น screening test สำหรับตรวจคัดกรองโลหิตบริจาคและนำตัวอย่างที่ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกไปตรวจยืนยันด้วยชุดตรวจที่ใช้หลักการ TPPA และนำตัวอย่างที่ผลการตรวจยืนยันเป็นบวกไปตรวจด้วยชุดตรวจหลักการ RPR-titer ต่อไป



*ผลการทดสอบเรียงดังนี้: ตัวอย่างโลหิตจากหลอด ผลการตรวจซ้ำจากหลอด (วิธีเดิม) ผลการตรวจซ้ำจากสาย bag (วิธีเดิม)
 **ผลการทดสอบเรียงดังนี้: ตัวอย่างโลหิตจากหลอด ผลการตรวจซ้ำจากหลอด (วิธีเดิม)¹ ผลการตรวจซ้ำจากหลอด (วิธีเดิม)² ผลการตรวจซ้ำจากสาย bag (วิธีเดิม)
 เนื่องจาก ผลการตรวจซ้ำจากหลอด (วิธีเดิม)¹ ไม่ตรงกับครั้งแรกจึงต้องตรวจซ้ำจากหลอดอีกครั้ง [ผลการตรวจซ้ำจากหลอด (วิธีเดิม)²] เพื่อนำผล 2 ใน 3 มาตัดสินว่าเป็น บวก หรือ ลบ
¹อาจเกิดจากการเก็บตัวอย่างโลหิตสลับกับยูนิตอื่น ต้องทำการพิสูจน์ต่อด้วยการตัดสาย bag ทุกยูนิตของตัวอย่างโลหิตที่ซัดมาตรวจซ้ำ

Figure 1 Flow chart of syphilis screening for donated blood in Thailand

ชุดตรวจหาการติดเชื้อ *Treponema pallidum* ได้มีการพัฒนา นำยาให้มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้น โดยใช้แอนติเจนแบบจำเพาะจากตัวเชื้อ หรือ recombinant antigen และใช้หลักการต่างกัน วิธีตรวจแบบ rapid test เป็นวิธีหนึ่งที่กำลังพัฒนาขึ้นคือ Immuno Chromatographic Strip (ICS) โดยแอนติบอดีต่อเชื้อ *Treponema pallidum* ในตัวอย่างจะทำปฏิกิริยาหรือจับกับแอนติเจนบนแถบทดสอบ(strip) ที่ conjugate อยู่กับ selenium colloid ผลของปฏิกิริยาจะเห็นเป็นสารสีแดงในช่องบนแถบทดสอบ² ใช้เวลาในการทดสอบน้อย (rapid test syphilis) ทำให้ทราบผลการตรวจได้เร็วขึ้น

ชุดตรวจที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ Alere Determine Syphilis TP ซึ่งเป็นชุดตรวจหลักการ ICS² สำหรับใช้ตรวจหาการติดเชื้อ *Treponema pallidum* ในโลหิตแบบ rapid test ใช้เวลาประมาณ 15 นาที สามารถอ่านผลได้ โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบกับชุดตรวจ Architect Syphilis TP (CMIA)³ ซึ่งใช้สำหรับตรวจคัดกรองโลหิตของผู้บริจาคในงานประจำวันของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษา ความไว ความจำเพาะ ของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP

วัสดุและวิธีการ

- ชุดตรวจที่ใช้ในการศึกษา
 - Architect Syphilis TP, Abbott laboratories, USA (หลักการ CMIA, ชนิดแอนติเจนที่ใช้คือ TpN15 TpN17 TpN47)
 - Alere Determine Syphilis TP, Alere, Japan (หลักการ ICS, ชนิดแอนติเจนที่ใช้คือ whole lysate (จดหมายยืนยันจากผู้ผลิต))
 - Serodia TP-PA, Fujirebio, Japan (หลักการ TPPA, ชนิดแอนติเจนที่ใช้คือ TpN15 TpN17 TpN47)
 - RPR500, Lab21 Health care, UK
- ตัวอย่างซีรัมที่ศึกษา
 - ตัวอย่างซีรัมของผู้บริจาคที่มีผลการตรวจเป็นลบด้วยชุดตรวจ Architect Syphilis TP ที่เหลือจากการทดสอบในงานประจำวัน ปริมาตรอย่างน้อย 1,000 ไมโครลิตร จำนวน 1,000 ตัวอย่าง
 - ตัวอย่างซีรัมของผู้บริจาคโลหิตจำนวน 253 ตัวอย่าง ที่ผลการตรวจหาการติดเชื้อ *Treponema pallidum* เป็น

บวก และเก็บแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -20 °C นานไม่เกิน 4 เดือน นำออกมละลายที่อุณหภูมิห้อง และปั่นที่ 3,500 rpm. นาน 15 นาที ก่อนนำไปทดสอบซึ่งการแช่แข็ง/ละลาย ทำไม่เกิน 2 ครั้ง หากจำเป็นต้องทำการตรวจใหม่ ตัวอย่างชุดนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

- 2.2.1 กลุ่มที่มีผลบวกด้วยชุดตรวจที่ใช้หลักการ CMIA, TPPA (ระดับปฏิกิริยา w⁺ 4⁺), RPR-titer (undiluted - 512) จำนวน 199 ตัวอย่าง
- 2.2.2 กลุ่มที่ให้ผลบวกด้วยชุดตรวจที่ใช้หลักการ CMIA, TPPA และให้ผลลบด้วย RPR-titer จำนวน 54 ตัวอย่าง

3. วิธีการ

- นำซีรัมในข้อ 2.1 มาตรวจด้วยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP (ระดับปฏิกิริยาเป็น 0, w⁺, 2⁺, 4⁺ เมื่อเทียบกับ control) โดยทำการตรวจภายในวันเดียวกัน
 - นำซีรัมในข้อ 2.2 มาตรวจด้วยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP (ระดับปฏิกิริยาเหมือนข้อ 3.1) ในคราวเดียวกันทั้งหมด
 - นำตัวอย่างที่ให้ผลบวก (ข้อ 3.1) และผลลบ (ข้อ 3.2) ด้วยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP มาตรวจอีกครั้ง ด้วยชุดตรวจ Architect Syphilis TP และ Alere Determine Syphilis TP หากได้ผลเช่นเดิม ให้เก็บตัวอย่างแช่แข็งไว้อย่างน้อย 500 ไมโครลิตร เพื่อใช้ในการตรวจยืนยันผลด้วยวิธีอื่นต่อไป
 - อ่านผลทั้งหมดด้วยเจ้าหน้าที่คนเดียว ทบทวนผลทั้งหมดด้วยเจ้าหน้าที่อีกคน บันทึกผลการตรวจและเก็บข้อมูลทุกอย่างให้ครบถ้วน
4. เปรียบเทียบผลการตรวจของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP และ Architect Syphilis TP นำมาคำนวณหาค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) โดยใช้ 2 x 2 table และ โปรแกรม excel

ผลการศึกษา

จาก Table 1 พบว่าชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP สามารถให้ผลการตรวจเป็นลบกับตัวอย่างซีรัมของผู้บริจาคที่มีผลการตรวจเป็นลบด้วยชุดตรวจ Architect Syphilis TP (2.1) ทั้ง 1,000 ตัวอย่าง และผลการตรวจเป็นบวกกับตัวอย่างซีรัมของผู้บริจาคโลหิตที่มีผลการตรวจหาการติดเชื้อ *Treponema pallidum* เป็นบวก (2.2.1, 2.2.2) ทั้ง 253 ตัวอย่าง

Table 1 Result of Alere Determine Syphilis TP and reference assays

Alere Determine Syphilis TP	Reference assays		Total
	Positive*	Negative**	
Positive	253	0	253
Negative	0	1,000	1,000
Total	253	1,000	1,253

*Architect Syphilis TP/CMIA, Serodia TP-PA/TPPA and/or RPR; **Architect Syphilis TP/CMIA

Table 2 Grading of Alere Determine Syphilis TP by signal ratio (s/co) of Architect Syphilis TP

Architect Syphilis TP (Interval of signal ratio: s/co)	Total samples	Alere Determine Syphilis TP		
		W	2+	4+
1-9	42	5	19	18
10-19	49	3	18	28
20-29	105	2	30	73
30-39	54	1	9	44
≥ 40	3	0	0	3
Total	253	11	76	166

ชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ได้ผลสอดคล้องกับชุดตรวจที่ใช้อ้างอิงทุกตัวอย่าง และจาก Table 2 เมื่อนำค่าผลการตรวจ หรือ Signal ratio [Sample/Cut-off (s/co)] ของชุดตรวจ Architect Syphilis TP ของตัวอย่างบวกทั้ง 253 ตัวอย่าง มาเรียงลำดับและแบ่งออกเป็นช่วงต่างๆ 5 ช่วง คือ 1-9, 10-19, 20-29, 30-39 และ ≥ 40 ตามที่พบจริงในงานประจำวัน และนำระดับปฏิกิริยาของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ของแต่ละตัวอย่างที่อยู่ในแต่ละช่วง Signal ratio มาแยกกลุ่มเป็น W⁺, 2⁺, 4⁺ เพื่อดูว่าจำนวนตัวอย่างที่ชุดตรวจ Architect Syphilis TP ให้ผลเป็นบวกในแต่ละช่วง Signal ratio มีสัดส่วนเป็นอย่างไร และระดับปฏิกิริยาของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ของแต่ละตัวอย่างในช่วง Signal ratio นั้น พบว่าร้อยละ 41.5 (105/253) ของตัวอย่างที่ตรวจด้วยชุดตรวจ Architect Syphilis TP อยู่ในช่วง Signal ratio 20-29 และช่วงนี้มีตัวอย่างร้อยละ 69.5 (73/105) ที่ระดับปฏิกิริยาของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP เป็น 4⁺ มากที่สุด และเป็นกลุ่มที่ใหญ่ที่สุดซึ่งคิดเป็นร้อยละ 28.8 (73/253) เมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่ระดับปฏิกิริยาต่างๆ ในช่วง Signal ratio อื่นๆ ช่วง Signal ratio ที่มีจำนวนตัวอย่างมากรองลงมาคือ 30-39 (54/253) และ 10-19 (49/253) ตามลำดับ โดยทั้งสองช่วง Signal ratio ยังคงมีจำนวนตัวอย่างที่ปฏิกิริยาของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP

เป็น 4⁺ มากที่สุด (44/253, 28/253 ตามลำดับ) สัดส่วนของตัวอย่างในแต่ละระดับปฏิกิริยา (W⁺, 2⁺, 4⁺) ของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP เมื่อรวมจากทุกช่วง Signal ratio พบว่าจำนวนตัวอย่างที่ปฏิกิริยาเป็น 4⁺ มากที่สุด 65.6% (166/253) รองลงมาคือ กลุ่มตัวอย่าง 30.0% (76/253) ที่ระดับปฏิกิริยาเป็น 2⁺ แสดงว่าตัวอย่างที่มีผลเป็นบวกด้วยชุดตรวจ Architect Syphilis TP เมื่อนำมาตรวจด้วยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ส่วนใหญ่ (95.6% หรือ 242/253) มีปฏิกิริยาเป็นบวกชัดเจนคือตั้งแต่ 2⁺ ขึ้นไปซึ่งส่งผลดีกับผู้ตรวจที่สามารถอ่านและแปลผลได้ง่าย ส่วนกลุ่มตัวอย่างที่มีระดับปฏิกิริยา W⁺ มีจำนวนมากที่สุดที่ช่วง signal ratio 1-9 และลดลงตามลำดับเมื่อ signal ratio สูงขึ้น จาก Table 3 เมื่อนำกลุ่มตัวอย่างที่ชุดตรวจ Architect Syphilis TP, Serodia TP-PA, RPR ได้ผลเป็นบวก ทั้ง 199 ตัวอย่าง มาแบ่งออกเป็นกลุ่มตาม RPR titer ต่างๆ ตั้งแต่ undiluted จนถึง 512 และนำระดับปฏิกิริยาของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ของแต่ละตัวอย่างที่อยู่ในแต่ละ titer มาแยกกลุ่มเป็น W⁺, 2⁺, 4⁺ เพื่อดูว่าจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกและมี titer ต่างๆ มีสัดส่วนเป็นอย่างไร และแต่ละ titer มีจำนวนตัวอย่างที่ระดับปฏิกิริยาของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP เป็น W⁺, 2⁺, 4⁺ มีสัดส่วนเป็นอย่างไร พบว่า กลุ่มตัวอย่างที่มีผล RPR titer เป็น undiluted มากที่สุด (32% หรือ 63/199) รองลงมาคือกลุ่ม

Table 3 Grading of Alere Determine Syphilis TP reaction and RPR titer

Alere Determine SyphilisTP (Grading)	No. samples	RPR titer									
		Undiluted	2	4	8	16	32	64	128	256	512
4 ⁺	147	37	34	20	17	10	19	7	1	1	1
2 ⁺	47	25	6	5	2	4	2	3	0	0	0
W ⁺	5	1	2	0	0	0	0	1	1	0	0
Total	199	63	42	25	19	14	21	11	2	1	1

Table 4 Grading of Alere Determine Syphilis TP reaction and Serodia TPPA

Alere Determine Syphilis TP	Serodia TPPA			
	W	2 ⁺	4 ⁺	Total
W	0	3	9	12
2 ⁺	2	15	60	77
4 ⁺	4	8	152	164
Total	6	26	221	253

ที่มี titer 2 (21% หรือ 42/199) และ 4 (12% หรือ 25/199) ตามลำดับ จากตัวอย่างทั้ง 199 ตัวอย่าง มีตัวอย่างที่ชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP มีระดับปฏิกิริยาเป็น 4⁺ มากที่สุดคือ 147 ตัวอย่าง (73.9% หรือ 147/199) โดยตัวอย่างกลุ่มนี้กระจายอยู่ที่ RPR titer ต่างๆ โดย titer ที่มีกลุ่มตัวอย่างมากที่สุดคือ undiluted (25.2% หรือ 37/147) รองลงมาคือ titer 2 (23.1% หรือ 34/147) และ ลดลงตามลำดับเมื่อ titer สูงขึ้น เช่นเดียวกับที่ปฏิกิริยา 2⁺ ที่กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่จากทั้งหมด 47 ตัวอย่าง จะอยู่ที่ RPR titer ต่ำ เช่น titer undiluted (25/47) และ 2 (6/47) ตามลำดับ จากตารางนี้แสดงให้เห็นว่าชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ให้ผลปฏิกิริยาเป็นบวกที่ชัดเจนเหมือน Table 2 ถึงแม้ว่าตัวอย่างของผู้ติดเชื้อจะมี RPR titer ต่ำก็ตาม

จาก Table 4 เมื่อนำตัวอย่างบวกทั้ง 253 ตัวอย่าง มาแบ่งกลุ่มตามระดับปฏิกิริยาของชุดตรวจ Serodia TP-PA ที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติใช้ตรวจยืนยันผลบวก และ Alere Determine Syphilis TP โดยแบ่งออกเป็น 3 ระดับเหมือนกันคือ w⁺, 2⁺, 4⁺ เพื่อดูว่าทั้งสองชุดตรวจซึ่งอ่านผลของปฏิกิริยาด้วยตาเหมือนกันมีความแรงของปฏิกิริยาสอดคล้องกันหรือไม่ พบว่ามีตัวอย่าง 66.0% หรือ 167/253 ที่ทั้งสองชุดตรวจให้ผลสอดคล้องกัน โดยระดับปฏิกิริยาที่สอดคล้องกันคือ 2⁺ และ 4⁺ ซึ่งแสดงถึงชุดตรวจทั้งสองมีผลการตรวจเป็นบวกที่ชัดเจน และสอดคล้องกับข้อมูลผลการตรวจของชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ใน

Table 2 และ 3 อย่างไรก็ดีตามในงานประจำวันที่ชุดตรวจทั้งสองต้องอ่านผลด้วยตาเปล่า จึงมีโอกาสที่ผู้อ่านผลแต่ละคนอาจให้ระดับของปฏิกิริยาแตกต่างกันในบางตัวอย่าง

วิจารณ์

คณะผู้วิจัยได้รับจดหมายยืนยันจากผู้ผลิตว่าชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ที่ใช้ในการศึกษานี้ใช้ lysate ของเชื้อ มาทำเป็นแอนติเจนและฉาบ (coated) ไว้บนแถบทดสอบ (strip) ทำให้ชุดตรวจนี้มีแอนติเจนที่หลากหลายในการตรวจจับกับแอนติบอดีต่อเชื้อ *Treponema pallidum* ในตัวอย่างโลหิตที่นำมาทดสอบ นอกจากนี้ยังใช้เวลาในการตรวจและอ่านผลประมาณ 15 นาที (rapid test) โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีคุณลักษณะเฉพาะใดๆ ชุดตรวจนี้มีการใช้งานง่าย ขั้นตอนการตรวจไม่ยุ่งยากและให้ผลการตรวจเร็ว จากตารางเปรียบเทียบผลทั้ง 3 ตาราง จะเห็นได้ว่าผลการตรวจของกลุ่มตัวอย่างบวก ชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ส่วนใหญ่มีความแรงของปฏิกิริยาเป็น 2⁺ และ 4⁺ แสดงให้เห็นว่าการอ่านและแปลผลที่เป็นบวกของชุดตรวจนี้ส่วนใหญ่ชัดเจนไม่คลุมเครือ จากการศึกษาของ Truong Xuan Lien และคณะ เมื่อปี ค.ศ. 2000 พบว่า ในกลุ่มตัวอย่างบวกด้วย RPR 72 ตัวอย่าง ชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP ให้ผลเป็นบวก 72 ตัวอย่าง ขณะที่ TPPA ให้ผลบวก 71 ตัวอย่าง⁴ ซึ่งได้ผลเท่าเทียมกันกับการศึกษาของคณะผู้วิจัยครั้งนี้คือในกลุ่มตัวอย่าง

บวก 253 ตัวอย่าง ชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP สามารถให้ผลเป็นบวกทุกตัวอย่าง ในปี ค.ศ. 2001 Theresa Diaz และคณะได้ทำการศึกษาโดยใช้ตัวอย่างบวกด้วยวิธี TPHA และ VDRL มาทดสอบด้วยชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP โดยให้เจ้าหน้าที่อ่านผลของปฏิกิริยา 3 คนแล้วหาความไวของชุดตรวจที่แต่ละคนอ่านได้ พบว่าชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP มีความไวอยู่ระหว่าง 95.6 - 98.4%⁵ ในการศึกษาคั้งนี้คณะผู้วิจัยได้กำหนดให้มีผู้อ่านผลของตัวอย่างทั้งหมดเพียงคนเดียว และให้เจ้าหน้าที่อีกคนมาทบทวนผลอีกครั้งเพื่อลดความคลาดเคลื่อนในการอ่านผล นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 2006 Campos และคณะได้ทำการศึกษาโดยใช้ whole blood finger stick จากหญิงขายบริการพบว่า ในกลุ่มที่มีผลบวกด้วย RPR (titer > 8 ขึ้นไป) Alere Determine Syphilis TP มีความไว 64 - 70%⁶ แสดงให้เห็นได้ว่าการตรวจโดยใช้โลหิตจากปลายนิ้วไม่เหมาะสมสำหรับชุดตรวจนี้เพราะมีความไวต่ำ การศึกษาคั้งนี้ผู้วิจัยเลือกใช้ตัวอย่างโลหิตบริจาดที่เหลือใช้ในงานประจำวันทำการทดสอบ จากผลการศึกษาที่ผ่านมาของคณะผู้วิจัยทั้ง 3 เรื่องที่นำมาวิจารณ์ใช้ชุดตรวจหลักการ RPR หรือ TPHA ซึ่งมีความไวไม่สูงเท่า CMIA มาเป็นชุดตรวจอ้างอิงจึงเป็นไปได้ทั้งตัวอย่างอาจให้ผลเป็น false positive หรือ false negative ขณะที่การศึกษาของผู้วิจัยนี้ใช้ชุดตรวจอ้างอิงหลักการ CMIA และ TPPA ซึ่งมีความไวสูงจึงไม่พบตัวอย่างที่เป็น false positive หรือ false negative อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการตรวจคัดกรองคุณภาพโลหิตที่มีตัวอย่างโลหิตในแต่ละวันจำนวนมากชุดตรวจนี้อาจไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็นการตรวจคัดกรองเบื้องต้น เนื่องจากชุดตรวจใช้วิธีการตรวจแบบ manual และอ่านผลด้วยตาเปล่า แต่สามารถใช้ชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP นี้เป็นการตรวจเสริมเพื่อตรวจยืนยันผลการตรวจคัดกรองเบื้องต้นของตัวอย่างที่เป็นบวกได้

สรุป

จากผลการศึกษาในคั้งนี้พบว่า ชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP มีความไว 100 % และความจำเพาะ 100% เนื่องจากให้ผลการตรวจตรงกับชุดตรวจอ้างอิงทุกตัวอย่าง และสามารถนำชุดตรวจ Alere Determine Syphilis TP มาใช้พิจารณาเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *Treponema pallidum* ที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคซิฟิลิสในโลหิตบริจาด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะผู้บริหารของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ทุกท่านที่ให้โอกาสคณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาวิจัยในคั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Arlene CS, Becky LW, and Sparling PF. Novel treponema pallidum serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clin Infect Dis* 2010;51:700-8.
2. Package insert of Alere Determine Syphilis TP Japan: Alere, 2012.
3. Package insert of Architect Syphilis TP USA: Abbott Laboratories Co.Ltd., 2012.
4. Truong XL, Nguyen TKT, Chanpong GF, et al. Evaluation of rapid diagnostic tests for the detection of human immunodeficiency virus types 1 and 2, hepatitis B surface antigen and syphilis in Ho Chi Minh City. *Vietnam Corwin Am J Trop Med Hyg* 2000;62:301-9.
5. Theresa D, Almeida MGB, Ingebourg G, Suely CM, Rogerio VS, Lauri EM. Evaluation of the determine rapid syphilis TP assay using sera. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:98-101.
6. Campos PE, Buffardi AL, Chiappe M, et al. Utility of the determine syphilis TP rapid test in commercial sex venues in Peru. *Sex Transm Infect* 2006;82:v22-5.

Evaluation of Test Kit for Detect *Treponema Pallidum* Antibodies in Donated Blood with Immuno Chromatographic Strip

Kriangsak Chaiwong, Duangnapa Intharasongkroh, Rotjana Kimila, Udom Songubol,

Varunee Wattanakul, Nipawan Khumnan and Sineenart Oota

Blood Testing Section, National Blood Centre, Thai Red Cross Society

Abstract: Serologic tests for syphilis infection comprised of non-treponemal, which detected nonspecific antibody (for example, Rapid plasma reagin; RPR) and treponemal test, detected antibody to *Treponema pallidum*. Available test kits are different in sensitivity specificity and principle. For example, chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA) and Immuno Chromatographic Strip (ICS). **Objective:** To evaluate the result of Alere Determine Syphilis TP (ICS) compared with the referent kit, Architect Syphilis TP (CMIA). **Materials and methods:** One thousands of negative serum of blood donors, tested by Architect Syphilis TP, 253 positive serum comprised of 199 positive samples by CMIA TPPA, RPR and 54 positive samples with CMIA, TPPA but RPR negative. All samples were tested with Alere Determine Syphilis TP. One technologist read the results of all samples and another rechecked. Sensitivity and specificity of Alere Determine Syphilis TP were calculated, using 2x2 table and Excel program. **Results:** The tested results of Alere Determine Syphilis TP in 1,000 negative samples and 253 positive samples were concordant with reference kit (CMIA). It had 100% both sensitivity and specificity. **Conclusion:** Alere Determine Syphilis TP had sensitivity and specificity equal to reference kit. Therefore, Alere Determine Syphilis TP kit can be considered as screening or confirming test for syphilis serologic testing in donated blood.

Keywords : ● Immuno Chromatographic Strip ● Syphilis rapid diagnostic test
● Chemiluminescence microimmuno assay

J Hematol Transfus Med 2014;24:261-7.

