นิพนธ์ต้นฉบับ

การประเมินเปรียบเทียบชุดตรวจ Enzyme-Linked Immunosorbent Assay สามชนิด และ RPR ที่ใช้ตรวจหาแอนติบอดีต่อซิฟิลิสในผู้บริจาคโลหิต

เกรียงศักดิ์ ไชยวงค์, ปาริชาติ เพิ่มพิกุล*, วิโรจน์ จงกลวัฒนา* และ สมศรี รัตนวิจิตราศิลป์**

*ฝ่ายคัดกรอง จ่ายโลหิตและผลิตภัณฑ์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย, *ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด, **สถานวิทยามะเร็ง คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล*

บทคัดย่อ: *ซิฟิลิสเป็นโรคติดต่อเรื้อรังชนิดหนึ่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียชื่อ Treponema pallidum subspecies pallidum ซึ่งการตรวจทางน้ำเหลืองวิทยา (serologic tests) เพื่อวินิจฉัยโรคซิฟิลิส จำแนกได้ 2 ชนิด คือ การตรวจแอนติบอดีที่ไม่จำเพาะต่อเชื้อโดยตรง เช่น Venereal Disease Research Laboratory test (VDRL) และ Rapid Plasma Reagin(RPR) อีกชนิดคือ การตรวจหาแอนติบอดีต่อ T.pallidum โดยตรง เช่น Treponema pallidum heamagglutination (TPHA), Fluorescent Treponema Antibody absorption (FTA-ABS) เป็นต้น ปัจจุบันยังไม่มีการตรวจที่สามารถตรวจหาการติดเชื้อซิฟิลิสได้อย่างสมบูรณ์ถึงร้อยละ 100 โดยไม่มีผลบวกลวง ในปัจจุบันมีการพัฒนาชุดตรวจที่ใช้หลักการ enzyme link immunosorbent assay (ELISA) ขึ้นโดยผู้ผลิตจากหลายบริษัท เมื่อมีการพัฒนาวิธีการตรวจหรือน้ำยาใหม่ขึ้นมาจึงมีความจำเป็นที่จะต้องประเมินความไว และ ความจำเพาะของการตรวจหรือน้ำยานั้น โดยเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจที่ใช้อยู่ในปัจจุบันก่อนนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการต่อไป* ***วัตถุประสงค์:*** *เพื่อประเมินเปรียบเทียบความไวและความจำเพาะของชุดตรวจอีไลซ่า (ELISA) จากผู้ผลิตสามบริษัท และเปรียบเทียบกับวิธี RPR ซึ่งปัจจุบันใช้ สำหรับตรวจคัดกรองหาการติดเชื้อซิฟิลิสในโลหิตบริจาค* ***วิธีการศึกษา:*** *ทดสอบตัวอย่างซีรัมผู้บริจาคโลหิต จำนวน 1,250 ราย และ ตัวอย่างซีรัมจากผู้บริจาคที่ให้ผลบวกต่อซิฟิลิสโดยวิธีTPHA จำนวน 206 ราย ซึ่งได้จากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ชุดตรวจอีไลซ่าที่ใช้ในการศึกษาคือ Bioelisa SYPHALIS (Bioelisa), Ice Syphilis and SYPHILIS EIA 480 (New Market EIA) เปรียบเทียบกับวิธี SyphScreen™-RPR โดยใช้วิธี TPHA เป็นวิธีอ้างอิงทำการทดสอบตามวิธีที่ผู้ผลิตกำหนด* ***ผลการศึกษา:*** *ความไวของชุดตรวจอีไลซ่าทั้งสามชนิด ซึ่งประกอบด้วยชุดตรวจ Bioelisa, Ice Syphilis และ New Market EIA คือร้อยละ 92.72, 98.06, 98.06 ตามลำดับ ขณะที่ความไวของวิธี RPR คือร้อยละ 75.24 ส่วนความจำเพาะของชุดตรวจ Bioelisa, Ice Syphilis, New Market EIA และ RPR คือร้อยละ 99.18, 99.51, 99.92, 99.75 ตามลำดับ* ***สรุป:*** *ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าชุดตรวจอีไลซ่า มีความไวสูงกว่าและ มีความจำเพาะใกล้เคียงกับวิธี RPR ดังนั้นชุดตรวจอีไลซ่าจึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ตรวจคัดกรองหาซิฟิลิสในโลหิตของผู้บริจาคโลหิต*

Key Words : ● *Syphilis* ● *T. pallidum* ● *ELISA* ● *Evaluation*

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2548;15:147-53.

ได้รับต้นฉบับ 26 สิงหาคม 2548 ให้ลงตีพิมพ์ 10 กันยายน 2548

ต้องการสำเนาต้นฉบับกรุณาติดต่อ นายเกรียงศักดิ์ ไชยวงค์ ฝ่ายคัดกรอง จ่ายโลหิตและผลิตภัณฑ์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 103300

การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการทำวิทยานิพนธ์เพื่อปริญญามหาบัณฑิตสาขา เวชศาสตร์การบริการโลหิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

ซิฟิลิสเป็นโรคติดต่อเรื้อรังชนิดหนึ่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียใน Order *Spirochaetales*, family *Spirochaetaceae*, and genus *Treponema*, species *pallidum* ซึ่งทำให้เกิดโรคซิฟิลิสที่ติดต่อทางเพศสัมพันธ์ และติดต่อผ่านการให้เลือดได้[1] การตรวจทางน้ำเหลืองวิทยา (serologic tests) เป็นการตรวจวิเคราะห์และตรวจกรองการติดเชื้อซิฟิลิสในคนซึ่งได้มีการพัฒนาการตรวจนี้มานานแล้วและได้จำแนกออกเป็น 2 ชนิด คือ "non-treponemal tests" ซึ่งเป็นการตรวจที่ไม่จำเพาะต่อเชื้อโดยตรงเป็นการตรวจหา แอนติบอดี reagin การตรวจชนิดนี้ที่รู้จักและใช้กันแพร่หลายคือ Venereal Disease Research Laboratory test (VDRL) และ Rapid Plasma Reagin (RPR) การตรวจอีกชนิดหนึ่งคือ treponemal test ซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อ *T. pallidum* โดยตรง การตรวจในกลุ่มนี้ประกอบด้วย *Treponema pallidum* heamagglutination (TPHA), Fluorescent Treponema Antibody absorption (FTA-ABS) และ ล่าสุดมีการพัฒนาการตรวจที่ใช้หลักการ การ enzyme link immunosorbent assay (ELISA)[24] เพื่อใช้ตรวจหา antibody ต่อ *T. pallidum* เนื่องจากซิฟิลิสติดต่อผ่านการให้เลือดได้ มาตรฐานงานธนาคารเลือดจึงกำหนดให้มีการตรวจกรองการติดเชื้อซิฟิลิสในเลือดบริจาคก่อนนำไปให้ผู้ป่วย[5,12] ซึ่งในประเทศไทยนั้นการตรวจกรองการติดเชื้อซิฟิลิสทำโดยการตรวจ RPR หรือ VDRL มานานหลายสิบปี การตรวจเหล่านี้ต้องทำโดย "manual method" ในขณะนี้เมื่อมีการพัฒนาชุดตรวจซิฟิลิสโดยใช้หลักการ ELISA ซึ่งสามารถตรวจด้วยเครื่องมืออัตโนมัติ อ่านผลโดยใช้เครื่องวัด optical density และยังทำให้สามารถเชื่อมโยงข้อมูลของตัวอย่างตรวจ และผลการตรวจ เข้าระบบฐานข้อมูล ทำให้มีความปลอดภัย ลดโอกาสเกิดความผิดพลาดทั้งการตรวจสอบ การลอกผลได้ดี จึงเป็นวิธีการตรวจที่เหมาะสมกับการตรวจกรองเลือดบริจาคที่มีการทำในปริมาณมาก[6-10] การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา ความไว และ ความจำเพาะ ของการตรวจโดยใช้ชุดตรวจที่ใช้หลักการ ELISA เปรียบเทียบกับ RPR ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ตรวจการติดเชื้อซิฟิลิสในโลหิตบริจาคในขณะนี้ โดยใช้ TPHA ซึ่งเป็นการตรวจยืนยันที่ใช้อยู่ในปัจจุบันเมื่อผลการตรวจ RPR เป็นบวก เป็นวิธีอ้างอิง (reference test)

วัตถุประสงค์

เพื่อประเมินเปรียบเทียบความไว และ ความจำเพาะของชุดตรวจที่ใช้หลักการ ELISA 3 ชนิด เปรียบเทียบกับวิธี RPR ซึ่งปัจจุบันใช้ สำหรับตรวจคัดกรองหาซิฟิลิสในผู้บริจาคโลหิต โดยใช้วิธีการตรวจ TPHA เป็นวิธีอ้างอิง (reference test)

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างตรวจ

1. ตัวอย่างโลหิตจากผู้บริจาคโลหิตโดยวิธีสุ่มเก็บ ณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยระหว่างเดือนตุลาคม ถึงธันวาคม 2545 จำนวน 1,250 ราย

2. ตัวอย่างตรวจจากผู้บริจาคโลหิตจากภาคบริการโลหิตแห่งชาติต่างๆ ที่มีผลบวก (positive samples) โดยการตรวจ TPHA ซึ่งเก็บระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงกันยายน 2545 เป็นน้ำเหลืองของผู้บริจาคโลหิตจำนวน 206 ราย ที่ให้ผลการตรวจซิฟิลิสโดยวิธี TPHA เป็นบวก แล้วเก็บแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -20 °ซ. จนถึงวันที่นำมาทดสอบ

ชุดตรวจที่ใช้ทดสอบ

1. ชุดตรวจ ELISA ได้แก่ Bioelisa SYPHALIS (BIOKIT, BARCELONA, SPAIN), Ice Syphilis (Murex, Dartford, UK) และ SYPHILIS EIA 480 (New Market Laboratories, Kentford, UK)

2. ชุดตรวจ TPHA (TPHA Screening 1000: New Market Laboratories, Kentford, UK)

3. ชุดตรวจ RPR (SyphScreen™-RPR: Axis-Shield Diagnostic, Dundee, UK)

วิธีการศึกษา: นำตัวอย่างทั้งหมดมาตรวจด้วยชุดตรวจที่ใช้หลักการ ELISA ทั้ง 3 ชนิด ด้วยเครื่องตรวจอัตโนมัติ Behring ELISA Processing III ที่ได้ปรับสภาวะตามที่ผู้ผลิตชุดตรวจกำหนด และทดสอบวิธี TPHA และ RPR แบบ manual method ตามคู่มือการใช้น้ำยาของแต่ละบริษัท ตัวอย่างทั้งหมดที่มีผลการตรวจเบื้องต้นเป็นบวก (initial reactive) นำไปตรวจซ้ำ ด้วยชุดตรวจเดิม แบบ duplicate

การแปลผล: ตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจเป็นบวกอย่างน้อยสองในสามครั้งถือว่าตัวอย่างนั้นเป็นบวกจริงสำหรับชุดตรวจนั้น นำข้อมูลผลการศึกษามาคำนวณหาความไวและความจำเพาะ ที่ช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม StatXact version 6

ผลการศึกษา

ผลการตรวจในกลุ่มตัวอย่างเลือดบริจาคที่เลือกโดยวิธีสุ่ม จำนวน 1,250 ตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 1 และผลการตรวจในกลุ่มตัวอย่างที่ TPHA บวก (positive samples) จำนวน 206 ตัวอย่างแสดงในตารางที่ 2 ส่วนความไวและความจำเพาะของการตรวจชนิดต่างๆ แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 1 ผลการตรวจในกลุ่มตัวอย่างเลือดบริจาคที่เลือกโดยวิธีสุ่ม จำนวน 1,250 ราย

ชุดตรวจ	IR	RR	NR	concordant with TPHA	
				Positive (n = 21)	Negative (n = 1229)
ELISA : New Market	18	16	1229	15	1228
ELISA : Ice Syphilis	23	20	1230	14	1223
ELISA : Bioelisa	30	23	1227	13	1219
RPR : Shield	13	13	1237	10	1226

Abbreviation: IR- initial reactive, RR- repeatedly reactive, NR- non-reactive

ตารางที่ 2 ผลการตรวจในกลุ่มตัวอย่างที่มีผลการตรวจ TPHA เป็นบวก จำนวน 206 ตัวอย่าง

ชุดตรวจ	RR	non-reactive
ELISA :New Market	202	4
ELISA: Ice Syphilis	202	4
ELSA: Bioelisa	191	15
RPR : Shield	155	51

ตารางที่ 3 ความจำเพาะ และ ความไว ของแต่ละชุดตรวจ เมื่อใช้ TPHA เป็นวิธีอ้างอิง

Trade Name	Specificity (%) (95% CI)	Sensitivity (%) (95% CI)
ELISA : New Market	99.92 (99.55 - 100)	98.06 (95.10 - 99.47)
ELISA : Ice Syphilis	99.51 (98.94 - 99.82)	98.06 (95.10 - 99.47)
ELISA : Bioelisa	99.18 (98.51 - 99.61)	92.72 (88.27 - 95.87)
RPR : Shield	99.75 (99.29 - 99.95)	75.24 (68.77 - 80.98)

หมายเหตุ: 95% CI คำนวณโดยใช้โปรแกรม StatExact version 6

วิจารณ์

การศึกษานี้ได้ใช้วิธี TPHA เป็น reference method เนื่องจากเป็น test ที่ใช้ตรวจยืนยันการติดเชื้อซิฟิลิสในเลือดบริจาคหลังจากการตรวจด้วย non-treponemal test เช่น RPR หรือ VDRL ให้ผลบวก ซึ่งตามทฤษฎีแล้ว TPHA จะช่วยยืนยันว่าเป็นผลบวกจริง และแยกรายที่มี Biological false positive จากการตรวจ non-treponemal test ออกไป[6] จากผลการศึกษาพบว่า ชุดตรวจที่ใช้หลักการ ELISA มีความไวมากกว่าชุดตรวจที่ใช้วิธี RPR เมื่อใช้ TPHA เป็นวิธีอ้างอิง และความไวของ ELISA ต่ำกว่าของ TPHA ในกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจ TPHA เป็นบวก เนื่องจากการศึกษานี้ได้ใช้ตัวอย่างตรวจที่ TPHA บวก เป็นเกณฑ์ ทำให้มี “selection bias” ซึ่งอาจจะมีตัวอย่างที่ผลการตรวจ ELISA เป็นบวก โดย TPHA เป็นลบ ก็ได้แต่ไม่พบในการศึกษานี้ เพราะตัวอย่างเหล่านี้ไม่ถูกเลือกมาตรวจ เมื่อพิจารณาดูผลการตรวจของแต่ละชุดตรวจที่สอดคล้องกันกับผลการตรวจของ TPHA พบว่า ชุดตรวจ ELISA: New Market จะมีจำนวนตัวอย่าง (15 ราย) ที่ผลการตรวจสอดคล้องกับ TPHA มากกว่าชุดตรวจอื่นๆ ตรงกันข้ามกับชุดตรวจ RPR Shield ที่มีผลบวกที่สอดคล้องกับ TPHA น้อยที่สุด (10 ราย) ซึ่งเป็นไปตามความคาดหมาย เพราะชุดตรวจ ELISA และ TPHA ต่างก็เป็น Treponemal testควรมีผลสอดคล้องกันมากกว่า และประชากรที่ศึกษาเป็นผู้บริจาคเลือด ซึ่งอาจติดเชื้อซิฟิลิสในระยะแฝงซึ่ง non-treponemal test ไม่สามารถตรวจพบได้[6] นอกจากนี้ในกลุ่มที่หายจากการติดเชื้อแล้ว RPR จะให้ผลลบแต่ TPHA ให้ผลบวก ในกลุ่มของชุดตรวจที่ใช้หลักการ ELISA ทั้ง 3 ชนิดเมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของ initial reactive (IR) กับrepeatedly reactive (RR) แล้วพบว่า New Market มีอัตราของ IR และ RR ที่ ใกล้เคียงกันที่สุด ซึ่งลักษณะของชุดตรวจที่พึงประสงค์ของห้องปฏิบัติการคือชุดตรวจที่มี IR และ RR ใกล้เคียงกันที่สุด เนื่องจากจำนวนตัวเลขเหล่านี้จะสัมพันธ์กับค่าใช้จ่ายที่ไม่จำเป็นที่ต้องเสียเพิ่มขึ้น แต่ก็ต้องเสียไปในการตรวจซ้ำ (repeat) หาก IR และ RR ห่างกันมากก็จะเสียค่าใช้จ่ายมากตามนั้น ในการศึกษานี้พบว่าชุดตรวจที่ใช้หลักการ ELISA ทุกชนิดที่นำมาศึกษา มีความจำเพาะและความไวที่สูงเพียงพอสำหรับการใช้ตรวจกรองเลือดบริจาคคือสูงกว่าร้อยละ 90 โดยชุดตรวจ New Market มีความไวและความจำเพาะสูงสุด เมื่ออ้างอิงกับวิธี TPHA สำหรับการศึกษาอื่นๆ ที่เคยทำนั้น ในปี ค.ศ. 1997 Ebel et al. ได้ศึกษาประเมินชุดตรวจ Bioelisa โดยใช้ตัวอย่างที่บวกด้วย TPHA และ FTA-ABS จำนวน 434 ราย และตัวอย่างลบด้วย TPHA และ FTA-ABS จำนวน 358 ราย พบว่าชุดตรวจ Bioelisa มีความไวร้อยละ 99.5 และ ความจำเพาะร้อยละ 99.4[10] ซึ่งสูงกว่าผลการศึกษานี้ แต่สิ่งที่แตกจากการศึกษาของ Ebel et al. ในผู้ป่วยระยะต่างๆ แต่การศึกษานี้ทำในผู้บริจาคโลหิต และมิได้ทำการตรวจ FTA-ABS เพิ่มเติมจาก TPHAดังนั้นการตัดสินว่าการที่ให้ผลไม่สอดคล้องกันนั้น TPHA อาจเป็นบวกแต่ FTA-ABS อาจไม่เป็นบวกก็ได้ นอกจากนี้ H. Young et al. ได้รายงานการศึกษาความไวและความจำเพาะของชุดตรวจ Ice Syphilis ในปี 1997 โดยใช้ตัวอย่าง unselected samples จำนวน 1,184 ราย และตัวอย่างบวกเป็นซีรัมผู้ป่วยซิฟิลิสระยะต่างๆ จำนวน 101 ราย ผลการศึกษาพบว่า ชุดตรวจ Ice Syphilis มีความไวร้อยละ 99 และความจำเพาะร้อยละ 99.8[11] ซึ่งได้ค่าใกล้เคียงกับผลการศึกษานี้ ต่อมาในปี ค.ศ. 1999 ได้มีการประเมินเปรียบเทียบความไวของชุดตรวจ ELISA 9 ชนิด ซึ่งรวมถึงชุดตรวจ Bioelisa และ Ice syphilis (ชุดตรวจ New Market EIA ไม่รวมอยู่ในการศึกษา) โดยใช้ตัวอย่างเป็นซีรัมของผู้ป่วยซิฟิลิสระยะแรกจากผลการศึกษาพบว่า ชุดตรวจ Bioelisa มีความไวร้อยละ 67.3 ขณะที่ความไวของชุดตรวจ Ice syphilis คือร้อยละ 75.0[12] ซึ่งต่ำกว่าค่าที่ได้จากการศึกษานี้มาก

เมื่อพิจารณาคุณลักษณะของชุดตรวจ ELISA แต่ละ

ตารางที่ 4 ลักษณะ รายละเอียดของชุดตรวจ ELISA ทั้ง 3 ชุด

Trade Name/Characteristic	Bioelisa	Ice Syphilis	New Market
Predilution (serum+diluent)	Yes (10+200)	No	No
Serum (μL)	100	50	50
Diluent (μL)	0	50	0
Dilution	1:21	1:2	0
Antigen	Rec.TpN15	Rec.TpN15	Rec.TpN15
	Rec.TpN17	Rec.TpN17	Rec.TpN17
		Rec.TpN47	Rec.TpN47
Principle	Sandwich	Capture	Sandwich
Incubation time	120	120	90
Cutoff OD	NC+0.300	NC+0.200	NC+0.100
Detection of Ig type	IgM+IgG	IgM+IgG	IgM+IgG+IgA

ชนิด (ตารางที่ 4) เห็นได้ว่าชุดตรวจที่ไม่มีการเจือจางตัวอย่าง คือ Ice Syphilis และ New Market ให้ผลดีในการศึกษานี้ ชุดตรวจ New market จะใช้เวลาในการอบ(incubate) น้อยกว่าชุดตรวจอื่นและทำให้ใช้เวลาในการทดสอบน้อยกว่าชุดตรวจอื่นด้วย ส่วนแอนติเจนที่ใช้เคลือบ ในหลุมไมโครเพลทของชุดตรวจ Bioelisa จะใช้เพียง RecTpN15 และ RecTpN17 แต่ชุดตรวจ Ice Syphilis และ New Market จะเพิ่มแอนติเจน RecTpN47 เข้ามา ซึ่งในคนที่เป็นซิฟิลิสระยะแรกแอนติบอดีตัวแรกที่สร้างขึ้นคือแอนติบอดีต่อ TpN.47 ตามมาด้วยแอนติบอดีต่อTpN15และTpN17[11,12] ดังนั้นชุดตรวจที่เคลือบแอนติเจน RecTpN.47 ร่วมกับแอนติเจนชนิดอื่นด้วยจึงทำให้มีความไวเพิ่มขึ้น ควรสามารถตรวจพบการติดเชื้อในระยะแรกได้ดีขึ้น ชุดตรวจ ELISA ทั้งสามชนิดสามารถตรวจหาแอนติบอดีได้ทั้ง IgG และ IgM โดยมีเพียงชุดตรวจ New Market เท่านั้นที่สามารถตรวจหา IgA ได้[13,14]

สรุป

จากผลการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่าชุดตรวจที่ใช้หลักการ ELISA ที่ใช้ทำการทดสอบในการศึกษานี้ มีความจำเพาะใกล้เคียงกับชุดตรวจ RPR แต่มีความไวมากกว่าชุดตรวจ RPR และระหว่างชุดตรวจ ELISA ทั้งสามชนิดก็มีความไวต่างกัน ชุดตรวจที่มีความไวและความจำเพาะสูงจึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาพิจารณาร่วมกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ราคา ความสะดวก เวลาที่ใช้ทดสอบ ในการเลือกใช้ชุดตรวจเพื่อคัดกรองหาแอนติบอดีต่อเชื้อซิฟิลิสในผู้บริจาคโลหิต

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ที่อนุญาตให้ทำการทดสอบและใช้ตัวอย่างโลหิตของผู้บริจาคโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ กราบขอบคุณอาจารย์ (รวมทั้งอาจารย์ ดร. จุฬาลักษณ์ โกมลตรี) และผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่กรุณาให้คำปรึกษาชี้แนะ จนการศึกษานี้สำเร็จลงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. *Norris SJ, Larsen SA. Treponema and other host-associated spirochetes. Manual of clinical microbiology. 6th ed. 1995:636-51.*
2. *Miao RM, Fieldsteel AH. Genetic relationship between Treponema pallidum and Treponema pertenue, two noncultivable human pathogens. J Bacteriol 1980;141: 427-9.*
3. *Young H, Moyes A, McMillan A, Patterson J. Enzyme immunoassay for anti-treponemal IgG: screening or confirmatory test?. J Clin Pathol 1992;45:37-41.*
4. *Magnuson HJ, Thomas EW, Olansky S et al. Inoculation syphilis in human volunteers. Medicine (Baltimore) 1956;35:33-42.*
5. *New York State Council on Human Blood and Transfusion Service. Donor Screening. Guidelines for the Evaluation of Transfusion-associated Infectious, 1996.*
6. *Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. Clin Microbiol Rev 1995;8:1.*
7. *Edmund C. Tramont. Treponema pallidum (Syphilis). Principles and Practice of Infectious Disease. 5th ed. 2000;2:2474-90.*
8. *Veldkamp J, Visser AM. Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of syphilis. Br J Vener Dis 1975;51:227-31.*
9. *Chan Yuin Chew. Serological Diagnosis of Syphilis. NSC bulletin 1995.*
10. *Anne Ebel, Loic Bachelart, Jean Michel Alonso. Evaluation of a new competitive immunoassay for screening for Treponema pallidum antibodies at various stage of syphilis. J Clin Microbiol 1998;36: 358-61.*
11. *Young H, Moyes A, Seagar L, McMilan A. Novel recombinant antigen enzyme immunoassay for serological diagnosis of syphilis. J Clin Microbiol 1998;36:913-7.*
12. *Bruno L. Schmidt, Marzieh Edjlalipour, Anton Luger. Comparative evaluation of nine different enzyme-linked immunosorbent assays for determination of antibodies against T. pallidum in patients with primary syphilis. J Clin Microbiol 2000;38:1279-82.*
13. *Schouls LM, Ijsselmuiden OE et al. Overproduction and purification of Treponemal pallidum recombinant DNA-derived proteins TmpA and TmpB and their potential use in serodiagnosis of syphilis. Infect Immun 1989;57:2612-23.*
14. *Centurion-Lara A, Castro C, Castillo R, Shaffer JM, Van Voorhis WC, Lukehart SA. The flanking region sequences of the 15-kDa lipoprotein gene differentiate pathogenic treponemes. J Infect Dis 1998;177: 1036-40.*

Comparative Evaluation of Three Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Test Kits and RPR for Determination of Antibodies to Syphilis in Blood Donors

Kriangsak Chaiwong, Parichart Permpikul*, Viroje Chongkolwatana* and Somsri Ratanawichitrasin**

Blood Screening and Distribution Section, National Blood Centre, Thai Red Cross Society:
** Department of Transfusion Medicine; ** Siriraj Cancer Center, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand*

Abstract: *Syphilis is a chronic disease, caused by the spirochete: Treponema pallidum: subspecies pallidum. Syphilis can transmit via blood transfusion thus donated blood have to be screened for syphilitic infection before giving to the patients. The serological tests for syphilis fall into two categories: "non-treponemal tests" which are non-specific tests including Venereal Disease Research Laboratory test (VDRL) and Rapid Plasma Reagin (RPR) and "Treponemal tests" which are specific tests for syphilis such as Treponema pallidum heamagglutination (TPHA), Fluorescent Treponema Antibody absorption (FTA-ABS). The perfect test for syphilis has not yet been developed. RPR is currently used for syphilisscreening in donated blood for decades. Now there are enzyme link immunosorbent assay (ELISA) for Syphilis screening tests developed by many company, which are proper and convenient for screening of donated blood. The new technology must be evaluated for performance in intended use compare with the current technology and the reference one.* ***Objective:*** *To evaluate the sensitivity and specificityof three different ELISA test kits in comparison to rapid plasma reagin (RPR) assay which is currently used for syphilis screening in donated blood.* ***Materials/Method:*** *One thousand two hundred and fifty unselected donors'serum samples and 206 TPHA positive serum samples from National Blood Centre, Thai Red Cross Society were included in this study. All samples were tested with three different ELISA test kits, which were Bioelisa SYPHALIS (Bioelisa), Ice Syphilis and SYPHILIS EIA 480 (New Market EIA) compared to SyphScreen™-RPR. TPHA was used as reference test. All methods were performed according to the manufacturer instructions.* ***Results:*** *the sensitivity of ELISA test kits: Bioelisa, Ice Syphilis and New Market EIA were 92.72%, 98.06% and 98.06% respectively while the sensitivity of RPR was 75.24%. The specificity of Bioelisa,Ice Syphilis, New Market EIA and RPR were 99.18%, 99.51%, 99.92%, and 99.75% respectively.* ***Conclusion:*** *It was found that all three ELISA test kits had higher sensitivity and comparable specificity to RPR. Therefore, ELISA test kits are suitable for syphilis screening in donated blood.*

Key Words : ● *Syphilis* ● *T. pallidum* ● *ELISA* ● *Evaluation*

Thai J Hematol Transf Med 2005;15:147-53.

คติธรรมนำกำจัดจุดอ่อน

น้ำบ่อน้ำคลอง ยังเป็นรองน้ำใจ
น้ำที่ไหนๆ ก็สู้น้ำใจไม่ได้

พระครูปริยัติปัญญาวุธ
วัดโคกงาม อ.ด่านซ้าย จ.เลย