

Efficiency of Malaria Rapid Diagnostic Test

Tippawan Sungkapong*

*Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences,
Naresuan University, Phitsanulok Province*

Abstract

At present, malaria is still an important public health problem in many countries, including Thailand. Correct identification of malaria species is very important for the treatment. Popular methods for the diagnosis of malaria in hospital laboratories are microscopic examination and rapid diagnostic tests. The microscopic examination remains the standard reference method for malaria diagnosis. The disadvantage of microscopy is that it requires a high level of expertise and training of the diagnostician. While still being effective and efficient tests for identifying the malaria species present, the advantage of rapid diagnostic tests is that they need less technical skill. Given this, it is important for technicians to study and understand the many rapid diagnostic tests currently in use, know their limitations, become competent in using these tests, and be able to select the suitable tests, and correctly interpret the results.

Keywords: Malaria rapid diagnostic test, Laboratory diagnosis, Efficiency

*Corresponding author E-mail address: tippawans@nu.ac.th

ประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย ด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป

ทิพวรรณ ตั้งขงษ์*

ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

บทคัดย่อ

ปัจจุบันโรคมาลาเรียยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของหลายประเทศทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย การรักษาด้วยยาต้านมาลาเรียขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยแยกชนิดของเชื้อมาลาเรียจึงมีความสำคัญอย่างมาก การตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียทางห้องปฏิบัติการที่นิยมทำในโรงพยาบาลได้แก่ การตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ และการตรวจด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป การตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์เป็นวิธีมาตรฐานที่มีความแม่นยำสูง แต่ขึ้นกับทักษะของผู้ตรวจ ส่วนการตรวจด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป เป็นวิธีที่อาศัยทักษะและประสบการณ์น้อยกว่าวิธีแรก ปัจจุบันมีการผลิตชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปออกมาจำนวนมาก และมีการใช้เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคมาลาเรียทางห้องปฏิบัติการมากขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงควรศึกษาข้อจำกัด และข้อควรระวังในการใช้ เพื่อช่วยประกอบการตัดสินใจเลือกใช้ชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปชนิดที่เหมาะสม และสามารถแปลผลการตรวจวิเคราะห์มาลาเรียได้อย่างถูกต้อง

คำสำคัญ: ชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ ประสิทธิภาพ

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: tippawans@nu.ac.th

บทนำ

โรคมาลาเรียเป็นโรคติดเชื้อโปรโตซัว ที่ยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของหลายประเทศทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2558 มีพื้นที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อมาลาเรียมากถึง 97 ประเทศ และมีจำนวนผู้ที่อยู่ในพื้นที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อมาลาเรียประมาณ 3.2 พันล้านคน รายงานจากองค์การอนามัยโลก พบว่ามีผู้ป่วยโรคมาลาเรียประมาณ 214 ล้านคน และมีผู้เสียชีวิต 438,000 คน โดยผู้ที่เสียชีวิตส่วนใหญ่เป็นเด็กที่อยู่ในทวีปแอฟริกาใต้แถบสะฮารา⁽¹⁾ สำหรับประเทศไทย รายงานจากสำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่โดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขของประเทศไทย วันที่ 1 มกราคม - 10 มีนาคม พ.ศ. 2559 พบว่ามีผู้ป่วยโรคมาลาเรีย 1,223 คน⁽²⁾ เชื้อมาลาเรียที่สามารถติดต่อกันได้ ได้แก่ *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* และ *P. knowlesi*^(3,4) โดยเชื้อมาลาเรียจะติดต่อกันจากการที่คนถูกยุงก้นปล่องเพศเมียที่มีเชื้อมาลาเรียกัดอาการโดยทั่วไปของผู้ป่วยเป็นโรคมาลาเรียคือ มีไข้หนาวสั่น เหงื่อออก ปวดหัว เมื่อยตัว คลื่นไส้ อาเจียน ผู้ป่วยบางรายอาจเป็นโรคมาลาเรียชนิดรุนแรง เช่น มาลาเรียขึ้นสมอง โลหิตจางรุนแรง และไตวายเฉียบพลัน ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตได้ โดยส่วนใหญ่เชื้อมาลาเรียที่ก่อให้เกิดโรคชนิดรุนแรงได้แก่ *P. falciparum*⁽³⁾ โรคมาลาเรียชนิดรุนแรงมักพบในผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียครั้งแรก เนื่องจากผู้ป่วยที่เคยติดเชื้อมาลาเรียมาแล้วจะสร้างแอนติบอดี ซึ่งสามารถลดความรุนแรงของโรค และลดปริมาณของเชื้อมาลาเรียได้⁽⁵⁾ การรักษาโรคมาลาเรียในปัจจุบัน องค์การอนามัยโลกแนะนำให้รักษาด้วยการรับประทาน artemisinin-based combination therapies (ACTs) สำหรับรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* แต่มีอาการไม่รุนแรง ซึ่งเป็นการใช้ยาต้านมาลาเรียในกลุ่ม artemisinin

ร่วมกับยาชนิดอื่น โดยหลักการในการเลือกยาอีกชนิดขึ้นกับผลการรักษาโรคมาลาเรียในพื้นที่นั้นๆ สำหรับการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. vivax* ให้รับประทานยา chloroquine แต่สำหรับในพื้นที่ที่มีการดื้อยาต้านมาลาเรียชนิดนี้แล้ว ให้รักษาโดยรับประทานยาในกลุ่ม artemisinin ร่วมกับยาตัวอื่นสำหรับการรักษาผู้ป่วยที่เป็นโรคมาลาเรียชนิดรุนแรงให้รักษาด้วยยา artesunate โดยการฉีดยาเข้าในชั้นกล้ามเนื้อหรือหลอดเลือดดำ หลังจากนั้นให้รักษาต่อโดยการรับประทานยาในกลุ่ม artemisinin ร่วมกับยาชนิดอื่น⁽⁶⁾ เนื่องจากการรักษาโรคมาลาเรียด้วยยาต้านมาลาเรียขึ้นกับชนิดของเชื้อ ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยแยกชนิดของเชื้อมาลาเรียจึงมีความสำคัญอย่างมาก วิธีมาตรฐานที่ใช้วินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการได้แก่การตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง ทั้งนี้ขึ้นกับทักษะและประสบการณ์ของผู้ดูฟิล์มเลือด ปัจจุบันมีวิธีการตรวจวิเคราะห์โรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปซึ่งอาศัยทักษะน้อยกว่า และมีความไวและความจำเพาะต่อการวินิจฉัยโรคมาลาเรียสูง อย่างไรก็ตาม การตรวจด้วยวิธีนี้ยังมีข้อจำกัด และข้อควรระวังที่สำคัญหลายประการ

การตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียทางห้องปฏิบัติการ

1. การตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์
วิธีมาตรฐานในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ วิธีการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยนำตัวอย่างเลือดที่ต้องการวิเคราะห์มาเตรียมฟิล์มเลือดชนิดหนาและบาง ซึ่งหน่วยงาน Centers for Disease Control and Prevention (CDC) แนะนำให้ใช้สีย้อมฟิล์มเลือดชนิด Giemsa เนื่องจากจะทำให้เห็นลักษณะรูปร่างและองค์ประกอบในเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียชัดเจน การตรวจด้วยวิธีนี้ สามารถรายงาน

ชนิด จำนวน และระยะของเชื้อมาลาเรียได้ จึงเป็นวิธีที่มีประโยชน์มาก ทั้งในด้านการช่วยวินิจฉัยโรคและการติดตามการรักษา การตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์เป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูงเนื่องจากการตรวจเชื้อมาลาเรียในฟิล์มเลือด โดยสามารถแยกชนิดและระยะของเชื้อมาลาเรียได้จากรูปร่างของเชื้อที่พบในฟิล์มเลือดชนิดบาง และสามารถตรวจนับจำนวนเชื้อมาลาเรียต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงที่พบในฟิล์มเลือดชนิดบาง หรือต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวที่พบในฟิล์มเลือดชนิดหนา⁽⁷⁾ โดยความไว และความจำเพาะในการตรวจวิเคราะห์โรคมาลาเรียด้วยวิธีนี้ขึ้นกับคุณภาพของฟิล์มเลือด จำนวนของเชื้อมาลาเรียในฟิล์มเลือด และที่สำคัญคือทักษะและประสบการณ์ของผู้ตรวจฟิล์มเลือด⁽⁸⁾ จากการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์กับวิธีทางอณูชีววิทยา ได้แก่วิธี polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะที่สูงมากในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียทางห้องปฏิบัติการ⁽⁹⁾ พบว่าการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์อาจให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้ โดยเฉพาะกรณีที่มีตัวอย่างเลือดมีจำนวนเชื้อมาลาเรียน้อย นอกจากนั้น การติดเชื้อมาลาเรียหลายชนิดในผู้ป่วยคนเดียวกัน (mixed infection) จะทำให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้มากยิ่งขึ้น^(10, 11)

2. การตรวจด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป

วิธีการตรวจด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปเป็นการตรวจหาโปรตีนที่สร้างจากตัวเชื้อมาลาเรียในกระแสเลือดซึ่งอาศัยหลักการ immunochromatography โดยนำตัวอย่างเลือดที่ต้องการทดสอบมาหยดใส่ในชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป และคูปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ระหว่างแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียที่มีอยู่ในกระแสเลือดของผู้ป่วยกับแอนติบอดีที่อยู่ในชุดตรวจ ทำให้เกิดเป็นแถบสีขึ้นมา

แสดงว่ามีเชื้อมาลาเรียในตัวอย่างเลือดที่ทดสอบ โดยส่วนใหญ่เป็นชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปสำหรับตรวจหาแอนติเจนชนิด histidine-rich protein 2 (HRP-2) และ parasite lactate dehydrogenase (pLDH) ปัจจุบันมีชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปที่ผลิตจากหลายบริษัท และมีองค์การอนามัยโลกดูแลด้านการควบคุมคุณภาพ เพื่อให้การตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีนี้มีมาตรฐาน โดยได้จัดทำเอกสารแนะนำวิธีการใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป และตรวจสอบคุณภาพของชุดตรวจสำเร็จรูปที่นำมาใช้ตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย โดยเกณฑ์สำหรับชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปที่ดีคือ ควรสามารถตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียที่มีปริมาณเชื้อน้อย ได้อย่างน้อยร้อยละ 75 และให้ผลบวกดวงน้อยกว่าร้อยละ 10 นอกจากนี้ควรให้ผลเป็น invalid น้อยกว่าร้อยละ 5⁽¹²⁾ ซึ่งค่าความไวและความจำเพาะของการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป ขึ้นกับชนิดของแอนติบอดี ขั้นตอนการผลิต และวัสดุที่นำมาใช้ในการผลิต ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาวิธีการใช้ และหลักการของชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปให้เข้าใจก่อนนำมาใช้ตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย

ประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป

ชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปแต่ละชนิดมีความสามารถในการวินิจฉัยโรคมาลาเรียที่แตกต่างกัน จากการศึกษาการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป และการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจทางอณูชีววิทยาได้แก่วิธี nested PCR พบว่าการตรวจด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปมีค่าความไวร้อยละ 96 และค่าความจำเพาะร้อยละ 56 ส่วนการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์มีค่าความไวร้อยละ 37.6 และมีค่าความจำเพาะร้อยละ 97.6 จากผลการทดลอง

แสดงว่าการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจสำเร็จรูปมีความไวในการตรวจวินิจฉัยสูงกว่าวิธีการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ แต่มีความจำเพาะต่ำ เนื่องจากการตรวจด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปเป็นการตรวจหาแอนติเจนในตัวอย่างเลือด จึงอาจเกิด cross reaction ระหว่างแอนติบอดีในชุดตรวจกับโปรตีนชนิดอื่น ๆ ในตัวอย่างที่นำมาทดสอบ ต่างจากการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้อง

จุลทรรศน์ ซึ่งตรวจวินิจฉัยว่าเป็นโรคมาลาเรียจากการพบตัวอย่างเชื้อมาลาเรียในตัวอย่างเลือดจึงมีความจำเพาะมากกว่า⁽¹³⁾ ดังแสดงใน Table 1 ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ali และคณะ ซึ่งพบว่า การตรวจวินิจฉัยด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปส่วนใหญ่จะมีค่าความไวในการวินิจฉัยโรคมาลาเรียสูง แต่จะมีค่าความจำเพาะค่อนข้างต่ำ⁽¹⁴⁾ อย่างไรก็ตาม ค่าความจำเพาะและความไวในการตรวจ

Table 1 Comparison of specificity and sensitivity for malaria diagnosis between the examination of thick and thin blood films and the malaria rapid diagnostic test^(13,15)

	Malaria rapid diagnostic test	Examination of thick and thin blood films
Specificity (%)	56, 81.6	97.6, 98.9
Sensitivity (%)	96, 80.6	37.6, 52.1

วินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป และการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ยังขึ้นกับพื้นที่ที่ทำการศึกษาด้วย จากการศึกษาการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียในบริเวณที่เป็นแหล่งระบาดของโรค โดยนำตัวอย่างเลือด 4,433 ตัวอย่าง มาตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป และตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบกับวิธี PCR พบว่าการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป มีค่าความไวเฉลี่ยร้อยละ 80.6 และมีค่าความจำเพาะเฉลี่ยร้อยละ 81.6 ในขณะที่การตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีค่าความไวเฉลี่ยร้อยละ 52.1 และมีค่าความจำเพาะเฉลี่ยร้อยละ 98.9⁽¹⁵⁾ สำหรับในพื้นที่ควบคุมการระบาดของโรคมาลาเรีย เมื่อนำตัวอย่างเลือดจากผู้ที่ไม่มีอาการไข้ 555 ตัวอย่าง มาทดสอบวินิจฉัยหาเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* และ *P. vivax*

พบว่าตัวอย่างทั้งหมดให้ผลลบต่อการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ และชุดตรวจสำเร็จรูป แต่ให้ผลเป็นบวกต่อเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* จำนวน 29 ตัวอย่าง (ร้อยละ 5.2) ให้ผลเป็นบวกต่อเชื้อมาลาเรียชนิด *P. vivax* จำนวน 24 ตัวอย่าง (ร้อยละ 4.3) และให้ผลเป็น mixed infection จำนวน 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.2) เมื่อตรวจเปรียบเทียบด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูงมากในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรีย แสดงว่าชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปและการตรวจด้วยวิธีมาตรฐานมีความไวไม่เพียงพอสำหรับการตรวจวิเคราะห์หาเชื้อมาลาเรียที่มีปริมาณน้อยมาก⁽¹⁶⁾ วิธีทางอณูชีววิทยาจึงเป็นทางเลือกสำหรับการตรวจหาเชื้อมาลาเรียในระดับ DNA ในกรณีที่มีเชื้อมาลาเรียปริมาณน้อย เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความจำเพาะและความไวที่สูงมาก^(9 - 11)

ข้อควรระวังในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป

1. ชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปแบบตรวจหาแอนติเจนชนิด HRP-2

จากการศึกษาประสิทธิภาพของชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปชนิดที่ตรวจหาแอนติเจนชนิด HRP-2 ซึ่งเป็นโปรตีนที่ถูกสร้างจากเชื้อมาลาเรียในระยะที่เชื้ออยู่ในเซลล์เม็ดเลือดแดง มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี และพบได้ในปริมาณมากในกระแสเลือดของผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรีย จึงเป็นโปรตีนที่ถูกนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป⁽¹⁷⁾ ตัวอย่างชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป ที่ใช้หลักการตรวจหาแอนติเจนชนิด HRP-2 ได้แก่ Paracheck-Pf Device, ICT Malaria Pf Cassette Test, SD Bioline Malaria Antigen P.f และ First Response Malaria (HRP2) Antigen เป็นต้น⁽¹⁸⁾ จากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดทั้งสิ้น 2,576 ตัวอย่าง พบว่าให้ค่าความไวเฉลี่ยร้อยละ 92.5 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์สูง และให้ค่าความจำเพาะเฉลี่ยร้อยละ 50.8 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างต่ำ⁽¹⁸⁾ โดยแอนติบอดีต่อ PfHRP-2 สามารถเกิด cross reaction กับ rheumatoid factor (RF) ได้ ซึ่งยืนยันผลการทดสอบหลังจากดูดซับส่วนของ RF ออกจากตัวอย่างดังกล่าวแล้วนำมาทดสอบอีกครั้ง⁽¹⁹⁾ นอกจากนี้ การตรวจหาแอนติเจนชนิดนี้อาจเกิดการวินิจฉัยผิดพลาดได้จากปรากฏการณ์ prozone ซึ่งเกิดจากการมีปริมาณของแอนติบอดีหรือแอนติเจนมากเกินไป จึงทำให้ไม่พบแถบสีบนชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเกิดผลลบลงจำนวนหนึ่ง จากการนำตัวอย่างเลือดที่มีเชื้อมาลาเรียจำนวนมาก (parasitemia มากกว่าร้อยละ 4) มาตรวจวิเคราะห์ด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป⁽²⁰⁾

2. ชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปแบบตรวจหาแอนติเจนชนิด pLDH

จากการศึกษาประสิทธิภาพของชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปชนิดที่ตรวจหาแอนติเจนชนิด pLDH ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ในการเปลี่ยน lactate เป็น pyruvate โดย LDH พบได้ในสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิด รวมทั้งในเชื้อมาลาเรียด้วยก่อนถูกสร้างจากเชื้อมาลาเรียได้ทั้งในระยะ asexual stage และ ระยะ sexual stage และเนื่องจาก pLDH เป็นโปรตีนที่มีคุณลักษณะแตกต่างกันระหว่างเชื้อมาลาเรียแต่ละชนิด⁽¹⁷⁾ จึงถูกนำมาใช้ในการแยกชนิดของเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* และ non-falciparum ตัวอย่างชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป ที่ใช้หลักการตรวจหาแอนติเจนชนิด pLDH ได้แก่ CareStart™ Malaria pLDH (Pan), CareStart™ Malaria pLDH (Pan, Pf) และ OptiMAL-IT® เป็นต้น⁽²¹⁾ โดยจากการวิเคราะห์ตัวอย่างเลือด 1,004 ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่เป็นโรคมาลาเรียชนิด *P. vivax* 213 ราย ชนิด *P. falciparum* 98 ราย และเป็นโรคมาลาเรียชนิดอื่น 43 ราย พบว่าการตรวจด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปมีความไวเฉลี่ยร้อยละ 89.2 และความจำเพาะเฉลี่ยร้อยละ 96.8 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจฟิล์มเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปที่ใช้หลักการตรวจหาแอนติเจนชนิด pLDH ให้ค่าความไว และความจำเพาะที่อยู่ในเกณฑ์สูง⁽²¹⁾ โดยแอนติบอดีต่อแอนติเจนชนิด pLDH มีความจำเพาะสูงกว่าแอนติบอดีต่อ HRP-2⁽¹⁹⁾ อย่างไรก็ตามหากนำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับวิธีทางอนุชีววิทยา ซึ่งเป็นวิธีที่มีค่าความไวและความจำเพาะที่สูงมาก อาจได้ค่าความไวและความจำเพาะที่ต่างไปจากนี้⁽¹⁶⁾ และจากการศึกษาประสิทธิภาพการตรวจวิเคราะห์โรค

มาลาเรียชนิด *P. vivax* มาทดสอบกับตัวอย่างเลือดที่มีเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* ที่มีเชื้อปริมาณมาก (parasitemia มากกว่าร้อยละ 2) พบว่ามีชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปบางส่วนเกิดผลบวกหลง โดยลักษณะแถบที่เกิดขึ้นมีทั้งแบบจางจนถึงเข้มชัดเจน แสดงว่าการมีเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* จำนวนมากส่งผลให้เกิดผลบวกหลงในชุดตรวจสำเร็จรูปสำหรับตรวจวินิจฉัยเชื้อมาลาเรียชนิด *P. vivax* ได้ อย่างไรก็ตาม การเกิดผลบวกหลงนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับจำนวนเชื้อมาลาเรียในตัวอย่างเลือดที่นำมาทดสอบ⁽²²⁾

3. การเกิดผลบวกหลงจากการคงอยู่ของแอนติเจนหลังจากได้รับการรักษาแล้ว

หลังจากเชื้อมาลาเรียถูกทำลายด้วยยาต้านมาลาเรียแล้วอาจยังคงมีแอนติเจนหลงเหลืออยู่ในกระแสเลือดผู้ป่วยได้ ซึ่งแอนติเจนที่อยู่ในกระแสเลือดของผู้ป่วยนี้ ส่งผลให้การตรวจวินิจฉัยด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปยังคงให้ผลบวกได้แม้ว่าเชื้อมาลาเรียจะถูกทำลายไปแล้ว จากการศึกษาการคงอยู่ของแอนติเจนชนิด HRP-2, pLDH และ panmalarial antigen (PMA) ในชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป 2 ชนิด ในผู้ป่วย 240 รายที่ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* ที่ให้ผลบวกต่อชุดตรวจทั้ง 2 ชนิด พบว่าในวันที่ 3 ของการติดตามการรักษา เชื้อมาลาเรียหายไปจากตัวอย่างเลือดผู้ป่วย 229 ราย แต่ยังคงให้ผลบวกประมาณร้อยละ 82.1 และ 32.8 สำหรับแอนติเจนชนิด HRP-2 และ PMA ตามลำดับในชุดตรวจแรก และยังคงให้ผลบวกประมาณร้อยละ 38.4 และ 14.8 สำหรับแอนติเจนชนิด pLDH และ PMA ตามลำดับในชุดตรวจที่สอง จากผลการทดลองแสดงว่าชุดตรวจแบบที่ตรวจหาแอนติเจนชนิด pLDH ให้ผลตรวจการวินิจฉัยมาลาเรียที่ดีกว่าในด้านของการติดตามการรักษา เนื่องจากระดับแอนติเจนชนิด pLDH ลดจำนวนลงได้รวดเร็วกว่า

แอนติเจนชนิด HRP-2 หลังจากผู้ป่วยได้รับการรักษาแล้ว⁽²³⁾ นอกจากนี้ จากการศึกษาการคงอยู่ของแอนติเจนชนิด HRP-2 และ PMA ในตัวอย่างเลือดผู้ป่วยหลังจากที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านมาลาเรียชนิดต่าง ๆ โดยได้นำตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านมาลาเรียแล้วมาทดสอบด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป พบว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียยังคงให้ผลบวกต่อการตรวจด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปอยู่ระยะหนึ่ง และพบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับของเชื้อมาลาเรียในระยะสืบพันธุ์ที่พบในตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย⁽²⁴⁾

การเตรียมตัวอย่างสำหรับตรวจสอบคุณภาพของชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป

ประสิทธิภาพของชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป นอกจากจะขึ้นกับชนิดของสาร วัสดุ และขั้นตอนการผลิตแล้ว ที่สำคัญยังขึ้นกับ ขั้นตอนการขนส่ง และ อุณหภูมิ และความชื้นในระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษาจะส่งผลต่อคุณภาพของชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปได้ จึงควรมีการควบคุมคุณภาพ และตรวจสอบคุณภาพของชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป โดยการนำตัวอย่างเลือดที่มีเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* มาทำให้แห้ง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 25 หรือ 35 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำมาละลายเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับการวินิจฉัยโรคมาลาเรียทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการตรวจด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปได้⁽²⁵⁾

สรุป

การตรวจวินิจฉัยโรคมาลาเรียด้วยชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูป เป็นวิธีที่นำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการมากขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้ทักษะความชำนาญน้อย ทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ปัจจุบันได้มีการพัฒนาชุดตรวจ

มาลาเรียสำเร็จรูปออกจำหน่ายอย่างหลากหลาย โดยประสิทธิภาพการวินิจฉัยโรคมาลาเรียของชุดตรวจแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันมาก ขึ้นกับชนิดของสารวัสดุ ขั้นตอนการผลิตของชุดตรวจสำเร็จรูป และชนิดของแอนติบอดีที่นำมาใช้ตรวจหาแอนติเจนของเชื้อมาลาเรียในตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ แอนติเจนที่นิยมตรวจหา ได้แก่ HRP-2 และ pLDH ซึ่งเป็นโปรตีนที่สร้างจากเชื้อมาลาเรีย จากการศึกษาพบว่าแอนติเจนชนิด HRP-2 ยังคงอยู่ในกระแสเลือดของผู้ป่วยได้นานกว่า ดังนั้นการตรวจหาแอนติเจนชนิด

pLDH จึงเหมาะสำหรับนำมาใช้ติดตามการรักษาผู้ป่วยมากกว่า นอกจากนี้แอนติบอดีต่อ HRP-2 ยังสามารถให้ผลบวกวงได้จากการเกิด cross reaction กับโปรตีนชนิดอื่นๆ ดังนั้นผู้ใช้งานจำเป็นต้องทราบหลักการและข้อจำกัดของชุดตรวจมาลาเรียสำเร็จรูปแต่ละชนิด (Table 2) เพื่อนำมาพิจารณาประกอบการตัดสินใจเลือกใช้ชุดตรวจสำเร็จรูปที่เหมาะสม และสามารถแปลผลการตรวจวิเคราะห์มาลาเรียได้อย่างถูกต้องต่อไป

Table 2 Summary of advantages and limitations of the Malaria rapid diagnostic test

Advantages	Limitations
1. Needs less skill for diagnosis	1. Does not provide quantitative information
2. Gives a rapid result	2. Gives false positive as antigen persistence after treatment
3. Can identify <i>P. falciparum</i> and non-falciparum (depending on tests)	3. Has cross reaction with other antigens
4. Provides high sensitivity and high specificity (depending on tests)	4. Gives false negative from prozone phenomenon

เอกสารอ้างอิง

- World Health Organization [Internet] Geneva: World Health Organization; 2016 [cited 2016 March 18]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>
- Malaria situation in Thailand [Internet] Thailand: Bureau of the Vector - borne Diseases, Department of Disease Control, Ministry of Public Health; 2016 [cited 2016 March 18] Available from: <http://www.thaivbd.org/n/home> (in Thai)
- White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolu OA, Dondorp AM. Malaria. Lancet 2014; 383: 723-35.
- Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, *et al.* *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. Clin Infect Dis 2008; 46: 165-71.

5. Doodoo D, Staalsoe T, Giha H, *et al.* Antibodies to variant antigens on the surfaces of infected erythrocytes are associated with protection from malaria in Ghanaian children. *Infect Immun* 2001; 69: 3713-8.
6. Overview of malaria treatment [Internet] Geneva: World Health Organization; 2016 [cited 2016 March 18]. Available from: <http://www.who.int/malaria/areas/treatment/overview/en/>
7. Diagnostic Procedures [Internet] USA: Centers for Disease Control and Prevention; 2013 [cited 2016 March 18] Available from: <http://www.cdc.gov/dpdx/diagnosticProcedures/blood/staining.html>
8. Ayalew F, Tilahun B, Taye B. Performance evaluation of laboratory professionals on malaria microscopy in Hawassa Town, Southern Ethiopia. *BMC Res Notes* 2014; 7: 839.
9. Snounou G. Detection and identification of the four malaria parasite species infecting humans by PCR amplification. *Methods Mol Biol* 1996; 50: 263-91.
10. Johnston SP, Pieniazek NJ, Xayavong MV, Slemenda SB, Wilkins PP, da Silva AJ. PCR as a confirmatory technique for laboratory diagnosis of malaria. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1087-9.
11. Mekonnen SK, Aseffa A, Medhin G, Berhe N, Velavan TP. Re-evaluation of microscopy confirmed *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria by nested PCR detection in southern Ethiopia. *Malar J* 2014; 13: 48.
12. Rapid Diagnosis Test [Internet] Geneva: World Health Organization; 2016 [cited 2016 March 18]. Available from: http://www.who.int/malaria/areas/diagnosis/rapid_diagnostic_tests/en/
13. Alareqi LM, Mahdy MA, Lau YL, *et al.* Field evaluation of a PfHRP-2/pLDH rapid diagnostic test and light microscopy for diagnosis and screening of falciparum malaria during the peak seasonal transmission in an endemic area in Yemen. *Malar J* 2016; 15: 49.
14. Ali IM, Bigoga JD, Forsah DA, *et al.* Field evaluation of the 22 rapid diagnostic tests for community management of malaria with artemisinin combination therapy in Cameroon. *Malar J* 2016; 15: 31.
15. Nankabirwa JI, Yeka A, Arinaitwe E, *et al.* Estimating malaria parasite prevalence from community surveys in Uganda: a comparison of microscopy, rapid diagnostic tests and polymerase chain reaction. *Malar J* 2015; 14: 528.

16. Tadesse FG, Pett H, Baidjoe A, *et al.* Submicroscopic carriage of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in a low endemic area in Ethiopia where no parasitaemia was detected by microscopy or rapid diagnostic test. *Malar J* 2015; 14: 303.
17. Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 66-78.
18. Chinkhumba J, Skarbinski J, Chilima B, *et al.* Comparative field performance and adherence to test results of four malaria rapid diagnostic tests among febrile patients more than five years of age in Blantyre, Malawi. *Malar J* 2010; 9: 209.
19. Iqbal J, Sher A, Rab A. *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2-based immunocapture diagnostic assay for malaria: cross-reactivity with rheumatoid factors. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1184-6.
20. Gillet P, Scheirlinck A, Stokx J, *et al.* Prozone in malaria rapid diagnostic tests: how many cases are missed?. *Malar J* 2011; 10: 166.
21. Ashley EA, Touabi M, Ahrer M, *et al.* Evaluation of three parasite lactate dehydrogenase-based rapid diagnostic tests for the diagnosis of falciparum and vivax malaria. *Malar J* 2009; 8: 241.
22. Maltha J, Gillet P, Cnops L, van den Ende J, van Esbroeck M, Jacobs J. Malaria rapid diagnostic tests: *Plasmodium falciparum* infections with high parasite densities may generate false positive *Plasmodium vivax* pLDH lines. *Malar J* 2010; 9: 198.
23. Iqbal J, Siddique A, Jameel M, Hira PR. Persistent histidine-rich protein 2, parasite lactate dehydrogenase, and panmalarial antigen reactivity after clearance of *Plasmodium falciparum* mono-infection. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4237-41.
24. Tjitra E, Suprianto S, McBroom J, Currie BJ, Anstey NM. Persistent ICT malaria P.f/P.v panmalarial and HRP2 antigen reactivity after treatment of *Plasmodium falciparum* malaria is associated with gametocytemia and results in false-positive diagnoses of *Plasmodium vivax* in convalescence. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1025-31.
25. Aidoo M, Patel JC, Barnwell JW. Dried *Plasmodium falciparum*-infected samples as positive controls for malaria rapid diagnostic tests. *Malar J* 2012; 11: 239.