นิพนธ์ต้นฉบับ Original Articles

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยของชุดตรวจสำเร็จรูปมาลาเรียชนิด Paracheck-Pf และ Opti MAL-IT

Factors influencing the efficiency of malaria rapid tests; Paracheck-Pf and OptiMAL-IT

ธีระยศ กอบอาษา วท.ม. Theerayot Kobasa. M.Sc. (Medical Parasitology)
สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง Bureau of Vector Borne Diseases

Abstract

This study evaluated the influence of temperature and humidity to the efficiency of 2 malaria rapid diagnostic tests (MRDT); OptiMal – IT and Paracheck – Pf. Five exposure conditions were 35°C, 40 °C, 45 °C, 28 – 37 % relative humidity, 80 – 90% relative humidity and control (4 – 7 °C). In each exposure, 3 standards; positive Plasmodium falciparum, positive *P. vivax* and negative were evaluated. The parasite densities of the positive controls were in the range of 500-1,000/μL which were confirmed by the previous studies as low density but with high accuracy for 2 types of the diagnostic tests. Semi-nested polymerase chain reaction (PCR) based on the detection of small subunit ribosomal ribonuclei acid (SSU rRNA) gene was exploited as gold standard for malaria species confirmation. Result revealed that humidity had no influence on the efficiency of 2 diagnostic test kits MRDTs. High temperature of more than 40 °C affected the diagnosing efficiency of OptiMAL – IT more than Paracheck – Pf. Storing the test kits at 40 °C for 5 days resulted in declining of the efficiency of OptiMAL – IT from 100 to 83.33 compared to from 100 to 94.44% of Paracheck – Pf. The exposure of the test kits to 45 °C for 5 days reduced the efficiency of OptiMAL – IT from 96.66 to 77.78 and Paracheck – Pf from 100 to 88.89 with high frequency of false positive, false negative and cross reaction resulting the decline sensitivity and specificity. Storing MRDT at 4 – 7 °C for 5 days affected the average diagnostic test of more than 95%. Our results suggest that suitable storage temperature was at 4 – 7 °C. Transportation and storage temperature in fields/ remote areas should be less than 35 °C. However this study was carried out with short period of time, continuation of the study to 1 year will give strong evidence for improving the logistic system.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ประเมินผลของอุณหภูมิและความชื้นต่อประสิทธิภาพการวินิจฉัยเชื้อของ Malaria Rapid Diagnostic Test (MRDT) 2 ชนิด คือ OptiMAL-IT และ Paracheck-Pf โดย MRDT จะถูกจัดแบ่งกลุ่มเก็บให้อยู่ในสภาวะ 5 แบบ คือ ที่อุณหภูมิ 35 ˚C, 40 ˚C และ 45 ˚C, ร้อยละความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 28-37 และ 80-90 เป็นเวลา 1-5 วัน และกลุ่มควบคุมจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-7 ˚C จากนั้นนำ MRDT มาทดสอบกับตัวอย่างมาตรฐาน 3 กลุ่ม คือ 1) พบเชื้อ *Plasmodium falciparum* 2) พบเชื้อ *P. vivax* และ 3) ไม่มีเชื้อมาลาเรีย โดยกลุ่มพบเชื้อจะเลือกที่มีความหนาแน่นเชื้อในช่วง 500-1,000/μL ซึ่งมีผลการศึกษาบ่งชี้เป็นระดับความหนาแน่นของเชื้อน้อย แต่ความไวในการวินิจฉัยของ MRDT ทั้งสองมากกว่าร้อยละ 100 และใช้วิธี Semi-nested PCR ในส่วนของ Small-Subunit rRNA gene ในการยืนยันชนิดเชื้อของตัวอย่างมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบและจากการผลศึกษาพบว่าร้อยละความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศไม่มีผลต่อการลดประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยของ MRDT ทั้งสองชัดเจน ส่วนอุณหภูมิที่สูงจะมีผลต่อประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยจำแนกชนิดเชื้อ *P. falciparum* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT มากกว่า Paracheck-Pf ที่อุณหภูมิมากกว่า 40 ˚C โดยพบว่า MRDT ในสภาวะที่อุณหภูมิ 40 ˚C นาน 5 วัน ประสิทธิภาพของ OptiMAL-IT จะลดจากร้อยละ 100 เป็น 83.33 ส่วน Paracheck – Pf จะลดจากร้อยละ 100 เป็น 94.44 และในสภาวะ MRDT อยู่ที่อุณหภูมิ 45 ˚C นาน 5 วัน ประสิทธิภาพการตรวจของ OptiMAL-IT จะลดลงจากร้อยละ 96.66 เหลือ 77.78 ส่วน Paracheck-Pf จะลดลงจากร้อยละ 100 เหลือ 88.89 รวมทั้งพบการเกิด False negative, False positive, Cross reaction มีความถี่มากขึ้น และค่า Sensitivity, Specificity ที่ลดลง เมื่อ MRDT เก็บในที่อุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะในการเก็บสำรองควรอยู่ที่ 4-7 ˚C และระหว่างการขนส่งหรือในที่ทุรกันดารควรหลีกเลี่ยงการเก็บที่อุณหภูมิเกิน 35 ˚C อย่างไรก็ตามการศึกษาเป็นการศึกษาในระยะสั้นควรศึกษาผลกระทบต่อเนื่องเป็นเวลา 1 ปี และควรนำข้อมูลจากการศึกษานี้มาพิจารณาปรับใช้ในการบริหารจัดการระบบ logistic เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการทำงานสูงสุด

บทนำ

โรคมาลาเรียเป็นปัญหาของหลายประเทศในเขตร้อน จากข้อมูลสำนักนโยบายและแผนสำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุขในปีงบประมาณ 2553 รายงานอัตราการเกิดโรคมาลาเรียต่อแสนประชากรเท่ากับ 0.93 ผู้ป่วยรายใหม่จำนวน 24,847 ราย เพิ่มขึ้นจากปี 2552 จำนวน 2,004 ราย หรือร้อยละ 8.77 และจำนวนผู้ป่วยตายด้วยโรคมาลาเรียในปี 2553 ทั้งหมด 88 ราย เท่ากับ 0.14 ต่อแสนประชากรเพิ่มขึ้นจากปี 2552 ที่อัตราป่วยตายเท่ากับ 0.11 ต่อแสนประชากร ปัจจัยที่ทำให้สถานการณ์โรคมาลาเรียเพิ่มขึ้น เกิดจากการเคลื่อนย้ายของแรงงานต่างชาติ ภาวะความไม่สงบของสถานการณ์ทางภาคใต้ และปัญหาเชื้อดื้อยา

มาตรการสำคัญในการควบคุมโรคคือ การเร่งรัดการดำเนินการค้นหาและให้การรักษาผู้ป่วยอย่างรวดเร็ว เพื่อตัดการแพร่เชื้อและรักษาก่อนที่ผู้ป่วยจะมีอาการแทรกซ้อนรุนแรง โดยดำเนินการทั้งเชิงรุกและตั้งรับ (Active and passive case detection) ด้วยการตรวจหาเชื้อจากฟิล์มเลือดหนาผ่านกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งพบว่ามีปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจผิดหลายอย่าง เช่น ปัจจัยส่วนตัว ปัจจัยสิ่งแวดล้อม การปฏิบัติงาน ภาระงาน คุณภาพการย้อมการตรวจ และปัจจัยด้านความรู้[1] และในพื้นที่ทุรกันดารการ

สนับสนุนกล้องจุลทรรศน์ไม่ครอบคลุม จึงทำให้มีการประยุกต์ใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป (Malaria Rapid Diagnostic Test; MRDT) มาใช้ในพื้นที่แหล่งระบาดที่การคมนาคมไม่สะดวกหรือไม่มีกล้องจุลทรรศน์ เพื่อเพิ่มจุดการให้บริการให้ครอบคลุม เกิดความคล่องตัวสะดวกรวดเร็ว ชุดตรวจเหล่านี้ถูกพัฒนาให้สะดวกในการใช้ ง่ายต่อการแปรผล สามารถฝึกให้แก่บุคคลที่ไม่มีทักษะในเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง ก็สามารถใช้ชุดตรวจได้ โดยผลตรวจสอดคล้องกับการตรวจผ่านกล้องจุลทรรศน์จากผู้มีทักษะ[2] และถูกนำมาใช้งานมากขึ้น ในปี พ.ศ. 2548 มีการสำรวจการใช้ MRDT ทั่วโลกพบว่าชุดตรวจถูกใช้กว่า 12 ล้านชุด การใช้แพร่หลายกระจายครอบคลุมสู่ระดับสาธารณสุขชุมชนในพื้นที่ระบาดของโรคมาลาเรีย[3] ซึ่งส่วนใหญ่ ต้องใช้เวลาในการขนส่งไปยังจุดให้บริการ ชุดตรวจต้องสัมผัสกับอากาศที่เปลี่ยนแปลง มีผลการศึกษาพบว่าชุดตรวจที่เก็บในที่อุณหภูมิ 35 ˚C และ 45 ˚C นาน 60 วัน มีผลทำให้ความถูกต้องในการตรวจพบเชื้อลดลงอาจสูงมากกว่า ร้อยละ 25 ในชุดตรวจบางชนิด ดังนั้นองค์การอนามัยโลกจึงแนะนำให้ทุกหน่วยงานที่ใช้ชุดตรวจควรจัดเตรียมระบบควบคุมอุณหภูมิระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษา[4] แต่เนื่องจากแหล่งระบาดของโรคมาลาเรียส่วนมากเป็นพื้นที่ทุรกันดาร บางพื้นที่ขาดอุปกรณ์การเก็บรักษาที่เหมาะสม จึงจำเป็นต้องทราบผลกระทบหากชุดตรวจต้องอยู่ในที่อุณหภูมิความชื้นไม่เหมาะสมระยะเวลาไม่มากนัก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการทราบผลกระทบของการเก็บ MRDT ที่อุณหภูมิกับความชื้นสัมพัทธ์สูงในระยะเวลา 1-5 วัน ต่อประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยเชื้อมาลาเรีย (diagnostic efficiency)

วัสดุและวิธีการศึกษา

ระเบียบวิธีวิจัย เป็นการศึกษาเชิงทดลอง (Experimental study) เพื่อศึกษาผลของปัจจัยด้านความร้อนและความชื้นต่อการเปลี่ยนแปลงประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยของ MRDT โดยแบ่งสภาวะที่ชุดตรวจจะพบก่อนการนำมาใช้ทดสอบเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ชุดทดสอบทั้งซองจะถูกเก็บในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 35 ˚C, 40 ˚C และ 45 ˚C ในแต่ละระดับอุณหภูมิจะแบ่งออกเป็นอีก 5 กลุ่มย่อย โดยเก็บที่อุณหภูมิเดียวกันแต่จำนวนวันที่ต่างกันคือ 1, 2, 3, 4 และ 5 กลุ่มย่อย ในแต่ละกลุ่มย่อยจะใช้ชุดทดสอบกลุ่มละ 30 MRDT

กลุ่มที่ 2 ชุดทดสอบจะถูกนำออกจากซองกันชื้นให้สัมผัสกับอากาศภายนอก โดยใช้หน่วยวัดเป็นร้อยละความชื้นสัมพัทธ์ (Relative Humidity) คือ อัตราส่วนโดยมวลของไอน้ำในอากาศในขณะหนึ่ง (ที่อุณหภูมิหนึ่ง) ต่อไอน้ำสูงสุดที่อากาศสามารถแบกรับไว้ได้ในการวัดความชื้นสัมพัทธ์โดยใช้ Hygro meter วัดทุก 6 ชั่วโมงแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ

2.1 แผ่นทดสอบถูกนำออกจากซองเพื่อสัมผัสกับอากาศช่วงฤดูที่ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศประมาณร้อยละ 20-40 และอุณหภูมิประมาณ 25-40 ˚C เป็นพื้นที่เขตเมือง ทำการบันทึกข้อมูลทุก 6 ชั่วโมง และรายงานค่าสูงสุดและต่ำสุด และระบุในภาวะที่ 1 และแบ่ง MRDT ออกเป็น 5 กลุ่มย่อย โดยเก็บที่ความชื้นและอุณหภูมิเดียวกันแต่จำนวนวันที่คือ 1, 2, 3, 4 และ 5 กลุ่มย่อยละ 30 ชุดทดสอบ

2.2 นำแผ่นทดสอบถูกนำออกจากซองเพื่อสัมผัสกับอากาศช่วงต้นฤดูหนาวที่ความชื้นในอากาศประมาณร้อยละ 70–90 และอุณหภูมิประมาณ 21-29 ˚C เป็นพื้นที่แหล่งระบาดของโรคช่วงฤดูฝน ทำการบันทึกข้อมูลทุก 6 ชั่วโมง และรายงานค่าสูงสุดและต่ำสุด และระบุในภาวะ ที่ 2 และแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มย่อย โดยเก็บที่ความชื้นและอุณหภูมิเดียวกันแต่จำนวนวันคือ 1, 2, 3, 4 และ 5 เป็นกลุ่มย่อยละ 30 ชุดทดสอบ

กลุ่มที่ 3กลุ่มควบคุม ชุดทดสอบทั้งซองจะถูกเก็บอุณหภูมิตามคำแนะนำของ WHO คือ 4-7 ˚C เพื่อใช้เป็นกลุ่มมาตรฐานในการเปรียบเทียบ โดยจะนำมาทดสอบในจำนวนที่เท่ากันกับกลุ่มที่ 1 และ 2 มาศึกษาเปรียบเทียบ

วัสดุ

ชุดตรวจ MRT ในรูปแบบหลักการทำงานของ Immunochromatographic test ที่นิยมนำมา ใช้ในงานสำรวจโรคมาลาเรียและงานวิจัย 2 ชนิด คือ

- DiaMed OptiMAL® test (Dia Med Cresier Sur Morate, Switzerland) Cat no. REF 710000 batch 04651

- Paracheck Pf® test (Orchid bio-medical Systems, India) Cat no. 600-000 batch 32122

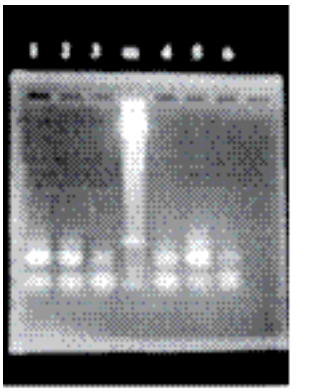
ตัวอย่างเชื้อมาตรฐาน ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อมาลาเรียที่มาลาเรียคลินิกแม่ตะวอ อำเภอท่าสองยาง จังหวัดตาก จำแนกตัวอย่างเลือดที่เก็บออกเป็น 3 ประเภท ตรวจไม่พบเชื้อมาลาเรีย พบเชื้อชนิด *P. falciparum* และพบเชื้อชนิด *P. vivax*

การตรวจนับความหนาแน่นและการจำแนกชนิดเชื้อมาลาเรีย ใช้ตรวจจากฟิล์มเลือดหนาที่ย้อมด้วยสียิมซ่าความเข้มข้นร้อยละ 10 นาน 10 นาที ตรวจผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า โดยเจ้าหน้าที่ที่ผ่านการอบรมและมีประสบการณ์ในการตรวจเลือดมาลาเรีย จำนวน 3 คน รายที่ตรวจไม่พบเชื้อต้องตรวจไม่น้อยกว่า 200 กล้อง ในรายพบเชื้อให้จำแนกชนิดเชื้อ และตรวจนับจำนวนเชื้อเพื่อหาความหนาแน่นของเชื้อดังสูตร :

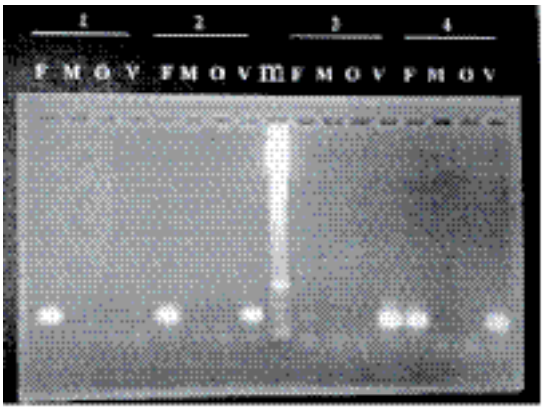
$$\frac{\text{จำนวนเชื้อมาลาเรีย} \times 8{,}000 \text{ เม็ดเลือดขาว/mcL}}{100 \text{ เม็ดเลือดขาว}} = \text{จำนวนเชื้อ /mcL}$$

การยืนยันผลการจำแนกชนิดเชื้อของตัวอย่างมาตรฐานอีกครั้ง ด้วยวิธี PCR โดยการสกัด DNA โดยใช้ Wizard Genomic DNA Purification System (Promega) kit จากนั้นนำ DNA ที่ได้มาทำ Semi-nested PCR ในส่วนของ SSU r RNA gene ของเชื้อมาลาเรีย[5] โดยใช้ Oligonucleotide ที่เป็น inter-species primers P1:5 ACGATCAQTAC-CGTCQTAATCTT-3, P2:5-GAACCCAAA GACTTTGATTTCTC AT-3 และที่เป็น species–specific primers สำหรับ *P. falciparum* (F2):-5-CAATCTAAAAGTCACCTCGAA AGATG-3, *P. malariae* (M1):5-GGAAGCTATCTA-AAAGAAACACTCATAT-3, *P. ovale* (O2): 5ACTG AA GGAAGCAATCTAAGAAATTT-3, *P. vivax* (V1)5-CAATCTAAGAATAAACTCC-GAAGAG AAA-3 โดยใช้ Automatic thermal cycle (Perkin Elmer)

การคัดเลือกตัวอย่างมาตรฐาน สำหรับใช้ทดสอบชุดตรวจในการยืนยันชนิดเชื้อมาลาเรียที่ตรวจพบ โดยใช้ผลจากฟิล์มหนาที่สอดคล้องกับผลการตรวจด้วยวิธี Semi-nested PCR เพื่อความชัดเจนในการแปลผลกรณีการเกิด cross-reaction ของชุดตรวจเลือด และคัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่มีความหนาแน่นของเชื้อประมาณ 500-1000/mcL ซึ่งเป็นระดับความหนาแน่นน้อย แต่ความถูกต้องในการตรวจของ MRDT ที่ใช้ RHP-2 หรือ pLDH มีความไวมากกว่าร้อยละ 95 และ จากการศึกษาในประเทศไทยและเปรูการตรวจหา Pf ด้วย MRDT พบว่าความไวเท่ากับร้อยละ 100 เมื่อความหนาแน่นของเชื้อมากกว่าหรือเท่ากับ 500/mcL และความไวในการตรวจจะลดลงอย่างมีนัยสัมพันธ์กับการลดลงของความหนาแน่นของเชื้อในกระแสเลือด[6] มาใช้ความหนาแน่นของเชื้อเพื่อทดสอบกับ MRDT ที่ถูกจัดเตรียมให้อยู่สภาวะแวดล้อมที่มีปัจจัยที่อาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของชุดตรวจ แบ่งตัวอย่างเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 6 ตัวอย่าง คือกลุ่มที่ 1 พบเชื้อ *P. falciparum* กลุ่มที่ 2 พบเชื้อ *P. vivax* กลุ่มที่ 3 ไม่พบเชื้อ



ภาพที่ 1 แสดงผลผลิต PCR รอบแรก จากการใช้ inter-species primers ในส่วนของ SSUrRNA gene



ภาพที่ 2 แสดงผลผลิต PCR รอบที่สองจากการใช้ species-specific primers ในส่วนของ SSUrRNA gene

การวิเคราะห์ข้อมูล จากผลการทดสอบคำนวณค่า sensitivity-specificity. Cross-reaction, False positive, False negative ของชุดตรวจ Paracheck-Pf และ OptiMAL-IT กับตัวอย่างมาตรฐานที่ใช้ Thick film และ PCR เป็น gold standard เพื่อนำมาใช้ในการประเมินประสิทธิภาพ ของการตรวจ (diagnostic efficiency)[7] โดยใช้สูตร

$$1- \frac{\text{False negative + False Positive x100}}{\text{Total samples}}$$

โดยชุดตรวจถูกจัดในอุณหภูมิ 35 ˚C 40 ˚C และ 45 ˚C เป็นเวลา 1-5 วัน และถูกจัดให้อยู่ในสภาวะที่มีความชื้นในอากาศ ร้อยละ 70-85 และความชื้นร้อยละ 25-40 โดยการเปิดซองชุดตรวจ

ผลการศึกษา

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่สูงขึ้นจากระดับ 35 ˚C 40 ˚C และ 45 ˚C ในจำนวนวันที่มากขึ้นมีผลต่อความสามารถในการตรวจหาเชื้อ *P. falciparum* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT โดยค่า diagnostic efficiency ต่ำกว่าระดับร้อยละ 95 ที่อยู่ในสภาวะระดับอุณหภูมิ 35 ˚C เป็นเวลา 1 วันและค่า diagnostic efficiency ลดลงจากร้อยละ 100 เหลือร้อยละ 77.78 เมื่อชุดตรวจอยู่ในสภาวะอุณหภูมิ 45 ˚C ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน รวมทั้งพบการเกิด False negative, False positive, Cross reaction มีความถี่มากขึ้น และค่า Sensitivity, Specificity ที่ลดลงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงปัจจัยด้านอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยเชื้อชนิด *P. falciparum* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT

ดัชนี (%)	อุณหภูมิ (˚C)	วันที่					หมายเหตุ
		1	2	3	4	5	
Sensitivity	control	100.00	83.33	83.33	100.00	100.00	Aver. = 93.33
	35	83.33	100.00	100.00	100.00	100.00	Aver. = 96.67
	40	100.00	100.00	100.00	100.00	83.33	Aver. = 96.67
	45	100.00	100.00	83.33	100.00	83.33	Aver. = 93.34
Specificity	control	100.00	100.00	100.00	100.00	91.67	Aver. = 98.34
	35	91.67	91.67	91.67	100.00	91.67	Aver. = 93.34
	40	100.00	91.67	83.33	83.33	83.33	Aver. = 88.34
	45	91.67	83.33	83.33	75.00	75.00	Aver. = 65.00
Diagnosis	control	100.00	94.44	94.44	100.00	94.44	Aver. = 96.66
efficiency	35	94.44	94.44	94.44	100.00	94.44	Aver. = 95.56
	40	100.00	94.44	88.89	77.78	83.33	Aver. = 88.89
	45	94.44	88.89	83.33	83.33	77.78	Aver. = 85.56

ตารางที่ 1 (ต่อ) แสดงปัจจัยด้านอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยเชื้อชนิด *P. falciparum* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT

ดัชนี (%)	อุณหภูมิ (˚C)	วันที่ 1	2	3	4	5	หมายเหตุ
Cross-reaction	control	0	16.67	0	0	0	Aver. = 3.34
	35	0	16.67	0	16.67	0	Aver. = 6.67
	40	0	16.67	16.67	16.67	16.67	Aver. = 13.34
	45	16.67	16.67	16.67	16.67	16.67	Aver. = 16.67
False positive	control	0	0	0	0	0	Aver. = 0.
	35	0	0	0	0	0	Aver. = 0.
	40	0	0	0	0	0	Aver. = 0.
	45	0	0	0	0	0	Aver. = 0.
False negative	control	0	0	16.67	0	0	Aver. = 3.30
	35	0	0	0	0	0	Aver. = 0.
	40	0	0	16.67	16.67	16.67	Aver. = 10.01
	45	0	16.67	16.67	16.67	33.33	Aver. = 13.34

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่สูงขึ้น จากระดับ 35 ˚C 40 ˚C 45 ˚C และในจำนวนวันที่มากขึ้น มีผลต่อความสามารถในการตรวจหาเชื้อ *P. vivax* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT โดยค่า Diagnostic efficiency ต่ำกว่าระดับร้อยละ 95 โดยชุดตรวจ OptiMAL-IT ที่อยู่ในสภาวะระดับอุณหภูมิ 40 ˚C เป็นเวลา 1 วันค่า Diagnostic efficiency อยู่ที่ระดับร้อยละ 94.44 และลดลงอยู่ที่ระดับร้อยละ 83.33 เมื่อชุดตรวจอยู่ในสภาวะอุณหภูมิ 45 ˚C ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน รวมทั้งพบการเกิด False negative, Cross reaction มีความถี่มากขึ้น และค่า Specificity ลดลง ส่วนค่า Sensitivity และ False positive เปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของอุณหภูมิต่อความไว ความและความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อ *P. vivax* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT

ดัชนี (%)	อุณหภูมิ (˚C)	วันที่ 1	2	3	4	5	หมายเหตุ
Sensitivity	control	100.00	100.00	100.00	83.33	100.00	Aver.= 96.67
	35	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	Aver.= 100.00
	40	100.00	83.33	100.00	100.00	100.00	Aver.= 96.67
	45	100.00	100.00	100.00	83.33	83.33	Aver.= 96.67
Specificity	control	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	Aver.= 93.34
	35	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	Aver.= 100.00
	40	91.67	100.00	91.67	83.33	83.88	Aver.= 90.00
	45	83.33	91.67	75.00	83.33	83.33	Aver.= 83.34

ตารางที่ 2 (ต่อ) ผลของอุณหภูมิต่อความไว ความและความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อ *P. vivax* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT

ดัชนี (%)	อุณหภูมิ (˚C)	วันที่					หมายเหตุ
		1	2	3	4	5	
Diagnosis	control	100	100	100	94.44	100	Aver.= 98.89
efficiency	35	100	100	100	100	100	Aver.= 100.0
	40	94.44	94.44	94.44	88.89	88.89	Aver.= 92.22
	45	88.89	94.44	83.33	83.33	83.33	Aver.= 86.67
Cross-reaction	control	0	0	0	0	0	Aver.= 0.
	35	0	0	0	0	0	Aver.= 0
	40	16.67	0	16.67	16.67	16.67	Aver.= 13.34
	45	16.67	16.67	16.67	16.67	33.33	Aver.= 20.01
False positive	control	0	0	0	0	0	Aver.= 0
	35	0	0	0	0	0	Aver.= 0
	40	0	0	0	0	0	Aver.= 0
	45	0	0	0	16.67	0	Aver.= 3.34
False negative	control	0	0	0	0	0	Aver.= 0
	35	0	0	0	0	0	Aver.= 0
	40	0	0	16.67	16.67	16.67	Aver.= 10.01
	45	16.67	0	33.33	16.67		Aver.= 16.67

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่สูงขึ้นจากระดับ 35 ˚C 40 ˚C 45 ˚C และในจำนวนวันที่มากขึ้น มีผลต่อความสามารถในการตรวจหาเชื้อ *P. falciparum* ของชุดตรวจ Paracheck Pf โดยค่า diagnostic efficiency ต่ำกว่าระดับร้อยละ 95 เมื่ออยู่ในสภาวะระดับอุณหภูมิ 40 ˚C เป็นเวลา 4 วัน ค่า diagnostic efficiency ลดลงจากร้อยละ 94.44 มาอยู่ที่ร้อยละ 83.33 เมื่อชุดตรวจอยู่ในสภาวะอุณหภูมิ 45 ˚C ต่อเนื่องเป็นเวลา 5 วัน รวมทั้งพบว่าค่า Specificity, Sensitivity, False negative, False positive และ Cross reaction มีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการเปลี่ยนอุณหภูมิต่อความไว ความและความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อ *P. falciparum* ของชุดตรวจ Paracheck-Pf

ดัชนี (%)	อุณหภูมิ (˚C)	วันที่					หมายเหตุ
		1	2	3	4	5	
Sensitivity	control	100	100	100	100	100	Aver. = 100.00
	35	100	100	100	100	100	Aver. = 100.00
	40	100	100	100	100	94.44	Aver. = 98.89
	45	100	100	100	100	100	Aver. = 100.00
Specificity	control	100	100	100	91.67	100	Aver. = 98.34
	35	100	100	100	100	91.67	Aver. = 98.34
	40	100	100	100	91.67	91.67	Aver. = 96.67
	45	100	100	91.67	91.67	83.33	Aver. = 93.34

ตารางที่ 3 (ต่อ) ผลการเปลี่ยนอุณหภูมิต่อความไว ความและความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อ *P. falciparum* ของชุดตรวจ Paracheck-Pf

ดัชนี (%)	อุณหภูมิ (˚C)	วันที่ 1	2	3	4	5	หมายเหตุ
Diagnosis	control	100	100	100	94.44	100	Aver.= 98.89
efficiency	35	100	100	100	100	94.44	Aver. = 98.89
	40	100	100	100	94.44	94.44	Aver. = 97.78
	45	100	100	91.44	91.44	83.33	Aver. = 93.25
Cross-reaction	control	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	35	0	0	0	0	16.67	Aver. = 3.34
	40	0	0	0	16.67	16.67	Aver. = 6.68
	45	0	0	16.67	16.67	33.33	Aver. = 13.34
False positive	control	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	35	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	40	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	45	0	0	0	0	0	Aver. = 0
False negative	control	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	35	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	40	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	45	0	0	0	0	0	Aver. = 0

ชุดตรวจ OptiMAL-IT ที่ถูกแกะออกจากซองเพื่อให้สัมผัสกับอากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ระดับร้อยละ 26-32 และ 80-90 ระยะเวลา 1-5 วัน ไม่มีผลกระทบมากนักต่อประสิทธิภาพการตรวจพบเชื้อของชุดตรวจเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่พบความถี่ในการเกิด Cross reaction มากขึ้นในการตรวจหาเชื้อ *P. falciparum* ในกลุ่มชุดตรวจ OptiMAL-IT ที่สัมผัสกับความชื้นสูง ดังตารางที่ 4 และ 5 ส่วนผลของความชื้นกับเวลาที่สัมผัสในภาวะดังกล่าวไม่ส่งผลที่ชัดเจนต่อการเปลี่ยนแปลงของประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยเชื้อชนิด *P. vivax* ของชุดตรวจชนิด Paracheck Pf และไม่พบการเกิด Cross reaction (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

ตารางที่ 4 ผลของสภาวะที่1 : ความชื้นสัมพัทธ์ 26-32 % อุณหภูมิ 28-37 ˚C และ สภาวะที่ 2 : ความชื้นสัมพัทธ์ 80-90 % อุณหภูมิ 21-29 ˚C ต่อประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยเชื้อชนิด *P. falciparum* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT

ดัชนี (%)	อุณหภูมิ (˚C)	วันที่ 1	2	3	4	5	หมายเหตุ
Sensitivity	control	100.00	100.00	100.00	83.33	100.00	Aver. = 93.33
	1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	Aver. = 100
	2	100.00	83.33	100.00	100.00	100.00	Aver. = 96.67

ตารางที่ 4 (ต่อ) ผลของสภาวะที่1 : ความชื้นสัมพัทธ์ 26-32 % อุณหภูมิ 28-37 ˚C และ สภาวะที่ 2 : ความชื้นสัมพัทธ์ 80-90 % อุณหภูมิ 21-29 ˚C ต่อประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยเชื้อชนิด *P. falciparum* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT

ดัชนี (%)	อุณหภูมิ (˚C)	วันที่					หมายเหตุ
		1	2	3	4	5	
Specificity	control	100	100	100	100	100	Aver.= 100
	1	100	100	100	100	100	Aver. = 100
	2	91.67	91.67	100	100	91.67	Aver. = 100
Diagnosis	control	100	94.44	100	94.44	100	Aver.= 96.67
efficiency	1	100	100	100	94.44	100	Aver. = 98.89
	2	94.44	94.44	100	100	94.44	Aver. = 95.01
Cross-reaction	control	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	1	0	0	0	16.67	0	Aver. = 3.34
	2	16.67	16.67	0	0	16.67	Aver. = 10.01
False positive	control	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	1	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	2	0	16.67	0	0	0	Aver. = 3.34
False negative	control	0	16.67	0	16.67	0	Aver. = 6.67
	1	0	0	16.67	0	0	Aver. = 3.34
	2	0	0	0	0	0	Aver. = 100

ตารางที่ 5 ผลของสภาวะที่1: ความชื้นสัมพัทธ์ 26-32 % อุณหภูมิ 28-37 ˚C และ สภาวะที่ 2: ความชื้นสัมพัทธ์ 80-90 % อุณหภูมิ 21-29 ˚C ต่อประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยเชื้อชนิด *P. vivax* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT

ดัชนี (%)	อุณหภูมิ (˚C)	วันที่					หมายเหตุ
		1	2	3	4	5	
Sensitivity	control	100	100	100	100	100	Aver.= 100
	1	100	100	100	83.33	100	Aver. = 96.67
	2	100	100	100	100	100	Aver. = 100
Specificity	control	100	100	83.33	100	100	Aver.= 96.67
	1	100	100	100	100	100	Aver. = 100
	2	100	100	100	100	91.67	Aver. = 100
Diagnosis	control	100	100	94.44	100	100	Aver.= 98.89
efficiency	1	100	100	100	94.44	100	Aver. = 98.89
	2	100	100	100	100	94.44	Aver. = 98.89
Cross-reaction	control	0	0	0	0	0	Aver. = 0
	1	0	0	0	16.67	0	Aver. = 3.34
	2	0	0	0	0	16.67	Aver. = 3.34
False positive	control	0	0	16.67	0	0	Aver. = 3.34
	1	0	0	0	0	0	Aver. = 100
	2	0	0	0	0	0	Aver. = 100
False negative	control	0	0	0	0	0	Aver. = 100
	1	0	0	0	0	0	Aver. = 100
	2	0	0	0	0	0	Aver. = 100

วิจารณ์

MRDT ทำงานโดยใช้หลักการของ Immunochromatographic test ให้ Clinical Sample ที่เป็นของเหลวเคลื่อนไปบนพื้นผิวของแผ่น Nitrocellulose Membrane คล้ายหลักการทำงานของ Capillary Action โดย Target Parasite Antigen จะจับกับแอนติบอดีอย่างจำเพาะ และแอนติบอดีที่มีความจำเพาะได้รับการยอมรับผ่านการทดสอบนำมาใช้ในชุดตรวจมี 3 ชนิดคือ 1.) Histidine Rich protein-2 (HRP-2) เป็น Antigen ที่มีความจำเพาะกับ *P. falciparum* specific monoclonal antibody HRP-2 เป็นโปรตีนที่ละลายในน้ำ พบในซัยโตพลาสซึมและเมมเบรนของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ พบมากใน asexual stage โดยเฉพาะช่วงที่เชื้อระยะวงแหวนจะพัฒนาเป็นระยะ Trophazoite[8] HRP-2 ยังสามารถพบได้ในเชื้อระยะ Young Gametocyte[9] 2.) Plasmodium Lactase Dehydrogenase (pLDH) เป็น Enzyme ที่พบในช่วงท้ายของขบวนการ Glycolytic Pathway (เป็นปฏิกิริยาเคมีที่พบทั้งใน Prokaryote และ Eukaryote โดยใน Eukaryote นั้นพบ Enzyme นี้ ใน Cytoplasm ใช้ในการสังเคราะห์โมเลกุล ATP กับ NADH จากกลูโคส) ในเชื้อมาลาเรียสามารถพบ Antigen นี้ได้ทั้งในระยะมีเพศและไม่มีเพศ ซึ่ง Monoclonal Antibody ในชุดตรวจสามารถตรวจหาเชื้อมาลาเรียทุกสปีชี่ย์ในคน (Pan-Malarial) pLDH ถูกพัฒนาให้จำเพาะกับเชื้อ *P. falciparum* หรือ *P. vivax*[10] และ 3.) Aldolase Enzyme เป็นเอ็นซัยม์หลักใน Glycolytic Pathway ของเชื้อมาลาเรีย โดยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ enzyme นี้ สามารถตรวจหาเชื้อมาลาเรียทุกสปีชี่ย์ในคน (Pan-Malarial)[11]

ผลการศึกษาในช่วงปี พ.ศ. 2545-2549 พบว่า MDRT ใช้การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *P. falciparum* ในผู้ป่วยที่มีอาการจะมีความไวในการตรวจพบเชื้อมากกว่าร้อยละ 90 แต่ MDRT ที่นำเอา Aldolase Assay เข้าไปร่วมด้วยพบว่าทำให้ความไวลดลง[12-3] สำหรับ pLDH assay ผลการตรวจมีความแกว่งมากในแต่ละ lot อยู่ในช่วงร้อยละ 80-90 และใช้ได้ดีมีความไวในการตรวจเท่ากับร้อยละ 100 ในกลุ่มนักท่องเที่ยวที่ไม่มีภูมิต้านทาน โดย HRP-2 สามารถตรวจพบเชื้อในผู้ป่วยที่มีความหนาแน่นของเชื้อน้อยได้ดีกว่า Aldolase[14] HRP-2 ถูกนำมาประเมินผลการใช้ใน 19 ประเทศ ให้ผลที่แตกต่างกัน และมีรายงานประเมินผลการใช้ในพื้นที่ Asia-Pacific พบความไวจะลดลงเหลือร้อยละ 84 เมื่อใช้ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความหนาแน่นของเชื้อน้อยกว่า 250/μL[15]

MRDT เป็นธุรกิจที่เติบโตอย่างรวดเร็ว ในปี พ.ศ. 2533 มีการผลิต MRDT ออกจำหน่ายประมาณ 20 ชนิด แต่ปี พ.ศ. 2552 พบว่ามีมากกว่า 200 ชนิด โดยใช้แอนติบอดีทั้ง 3 ชนิดมาพัฒนารูปแบบต่างกันให้สอดคล้องกับความต้องการของผู้ใช้ มีการนำ MRDT หลายชนิด เช่น CareStartTM, HiSens-Malaria, One Step Maralia, OnsightTM, Onsite Rapid test, First Response Malaria, FirstSignTM, ParaHIT, Falcivax Rapid Test, Maleriscan, DD BIOLINE Malaria, Paramax-3 เพื่อประเมินผลกระทบของอุณหภูมิกับประสิทธิภาพในการวินิจฉัย โดยนำ MDRT มาจัดกลุ่มที่ใช้แอนติบอดีเหมือนกัน MDRT แต่ละชนิดจะถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย กลุ่มที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ˚C ความชื้นในอากาศประมาณร้อยละ 75 เหมาะสมที่สุดในการรักษาคุณภาพของชุดตรวจตามที่ WHO แนะนำ กลุ่มที่ 2 และ 3 นำอบที่อุณหภูมิ 35˚C และ 45 ˚C ตามลำดับ MDRT ทุกชนิดต้องอยู่ในภาวะทั้ง 3 แบบ นาน 60 วัน จากนั้นเปรียบเทียบความสามารถในการตรวจพบเชื้อที่ระดับความหนาแน่น 200/μL พบว่า MDRT แต่ละชนิดในกลุ่มที่ 1 ความถูกต้องในการตรวจพบเชื้อแตกต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 30-100[4] โดยทั่วไปประสิทธิภาพในการตรวจของ MDRT ควรใกล้เคียงกันเพราะใช้แอนติบอดีชนิดเดียวกัน ถูกเก็บไว้ตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลกเหมือนกัน ผลการตรวจที่ต่างกันอาจเป็นผลจากขบวนการผลิต การใช้ คุณภาพของวัสดุ หรืออายุการใช้งาน และ MDRT ที่ถูกเก็บในที่อุณหภูมิสูงขึ้นความถูกต้องในการตรวจพบเชื้อของ MDRT ที่นำมาทดสอบทุกชนิดลดลงในอัตราที่แตกต่างกัน

แสดงถึงทั้งปัจจัยการเก็บที่อุณหภูมิมากกว่า 35 ˚C นาน 60 วัน มีผลลดความถูกต้องในการตรวจวินิจฉัย ซึ่งมีผลจากการศึกษาเรื่องการประเมินความถูกต้องในการตรวจหาเชื้อมากกว่า 100 งานวิจัย ไม่ใช่เรื่องง่ายในการนำมารวมเปรียบเทียบกัน เพราะมีความต่างของแนวทางการศึกษาต่างกัน ลักษณะอาการของผู้ป่วย ปัจจัยทางระบาดวิทยาต่างกัน มาตรฐานอ้างอิงต่างกัน เครื่องมือ คนต่างกัน ปัจจัยด้านการผลิต ระบบการประกันคุณภาพ การขนส่งจนถึงการใช้งานก็ต่างกันในแต่ละแหล่งผลิต และช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม จากการ ศึกษานี้ MRDT ในกลุ่มควบคุมปัจจัยแวดล้อมผลการการทดสอบสมควรถูกต้องร้อยละ 100 แต่พบว่า ค่าร้อยละเฉลี่ยของ sensitivity = 95.84, specificity = 97.51 และ diagnostic efficiency = 97.78 อาจเป็นผลกระทบจากปัจจัยดังกล่าว แต่ผลการตรวจยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

การศึกษานี้เลือกใช้ MRDT ชนิด OptiMAL-IT และ Paracheck-Pf ซึ่งเป็น MDRT ที่ถูกนำมาใช้มากในงานควบคุมโรคมาลาเรียในพื้นที่ทุรกันดารการคมนาคมไม่สะดวกของประเทศไทย ซึ่งเป็นประเทศในเขตร้อนชื้น บางพื้นที่ในเวลากลางวันของฤดูร้อนอุณหภูมิอาจสูงถึง 40 ˚C ในฤดูหนาวอุณหภูมิต่ำสุดประมาณ 5 ˚C และในฤดูฝนความชื้นในอากาศอาจสูงเกินร้อยละ 80 ซึ่งคำแนะนำจากผู้ผลิตให้เก็บรักษาชุดตรวจ OptiMAL-IT ที่อุณหภูมิ 2-30 ˚C ส่วน Paracheck-Pf ควรเก็บที่อุณหภูมิ 4-40 ˚C ชุดตรวจทั้งสองถูกบรรจุในซองป้องกันความชื้น แม้ว่าจะได้มีการเน้นย้ำว่าควรเก็บรักษา MDRT ให้อยู่ในภาวะที่เหมาะสม บางครั้งก็ไม่สามารถทำได้ตามคำแนะนำได้ตลอดเวลา ชุดตรวจอาจต้องอยู่ในที่ร้อนและชื้นได้ โดยทั่วไปค่าประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยเครื่องมือทางการแพทย์ควรมากกว่า ร้อยละ 95 จากผลการศึกษานี้พบว่า MRDT ชนิด OptiMAL-IT และ Paracheck-Pf ที่ใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ HRP-2 ของเชื้อ *P. falciparum* ชนิดเดียวกัน ที่ระดับอุณหภูมิตั้งแต่ 40 ˚C ขึ้นไประยะเวลาเพียง 1-2 วัน มีผลลดประสิทธิ ภาพการตรวจพบเชื้อลงร้อยละ 5.56-11.11 (รายละเอียดดังตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 แสดงผลของปัจจัยด้านอุณหภูมิในการเก็บต่อค่าประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อ *P. falciparum* ของชุดตรวจ OptiMAL-IT และ Paracheck-Pf

อุณหภูมิเก็บชุดตรวจ (˚C)	ชนิดชุดตรวจ	ค่า Diagnostic efficiency (%)				
		จำนวนวันที่เก็บชุดตรวจ				
		1	2	3	4	5
control	OptiMAL-IT	100	100	100	94.44	100
	Paracheck-Pf	100	100	100	94.44	100
35	OptiMAL-IT	100	100	100	100	100
	Paracheck-Pf	100	100	100	100	94.44
40	OptiMAL-IT	94.44	94.44	94.44	88.89	88.89
	Paracheck-Pf	100	100	100	94.44	94.44
45	OptiMAL-IT	88.89	94.44	83.33	83.33	83.33
	Paracheck-Pf	100	100	91.44	91.44	83.33

MRDT ชนิด OptiMAL-IT ที่ใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ pLDH ของเชื้อ *P. vivax* ที่ระดับอุณหภูมิ ตั้งแต่ 40 ˚C ขึ้นไประยะเวลา 1-2 วัน ประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อลดลงใกล้เคียงกับกลุ่มแรก แต่เมื่อรวมค่าเฉลี่ยร้อยละของประสิทธิภาพการตรวจพบเชื้อพบว่าแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ pLDH จะมีสภาพคงทนหรือประสิทธิภาพการตรวจในที่อุณหภูมิสูงได้ดีกว่าแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ HRP-2 และมีรายงานว่าความร้อนยังมีผลต่อ nitrocellulose membrane และ signaling antibody ทำให้บิดงอเสียรูป และการเปลี่ยนอุณหภูมิอย่างรวดเร็วมีผลในการลดประสิทธิภาพการตรวจ[15] จากผลการศึกษา MDRT ที่สัมผัสกับอากาศที่มีความชื้นร้อยละ 26-32 หรือสัมผัสกับอากาศที่มีความชื้นร้อยละ 80-90 เป็นเวลา 1-5 วัน พบว่าค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพในการตรวจเชื้อมากกว่าร้อยละ 95 ไม่แตกต่างกับชุดตรวจกลุ่ม control อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า MRDT สัมผัสกับความชื้นสูงเป็นเวลานานจะลดความสามารถในการ conjugate ของ signal antibody-indicator complex ทำให้แถบแสดงผลบวกไม่ชัดเจน และในการศึกษายังพบว่าความถี่ในการเกิด cross reaction สูงขึ้นในกลุ่มชุดทดสอบที่สัมผัสกับอากาศที่มีความชื้นสูง ดังนั้น MDRT ควรบรรจุในซองป้องกันความชื้น

ในสถานการณ์ที่โรคมาลาเรียยังเป็นภัยที่คุกคามชีวิตมนุษย์ในหลายประเทศในเขตร้อน และยังพบเชื้อที่สามารถต้านยารักษามาลาเรีย ดังนั้นการพัฒนายารักษายังมีความจำเป็นที่ต้องดำเนินการควบคู่มากับการพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัย แต่ก็ยังคงพบว่าในพื้นที่แหล่งระบาดจำนวนมากในหลายประเทศยังใช้การวินิจฉัยโรคมาลาเรียจากอาการ โดยทั่วไปความรุนแรงของอาการมักมีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นของเชื้อ แต่อาการของโรคมาลาเรียอาจมีความคล้ายคลึงกับหลายโรคที่พบในเขตร้อนหรืออาจเป็นการติดเชื้อร่วม ที่เป็นเชื้อมาลาเรียต่างชนิดกันหรือการติดเชื้อโรคในกลุ่มอื่นๆ ในเขตพื้นที่ Sub-Saharan ของอัฟริกา พบว่าผู้ป่วยมาลาเรียจะมีอาการที่หลากหลายและอาการยังไม่สัมพันธ์กับความหนาแน่นของเชื้อในกระแสเลือด รวมทั้งผู้ป่วยที่อยู่ในภาวะ Sequestration ของ *P. falciparum*[14] เป็นต้น ดังนั้นผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ถูกต้อง ช่วยลดอัตราการป่วยและตาย MDRT เป็นเทคโนโลยีทางเลือกที่ดีอันหนึ่งที่มีประโยชน์สามารถใช้ทดแทนวิธีมาตรฐานคือการตรวจจากฟิล์มเลือดผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่มีความไวและความจำเพาะสูง แต่ก็พบข้อจำกัดคือการดูรักษาเครื่อง ต้องใช้ผู้ที่มีทักษะชำนาญ ใช้เวลาพอสมควร ต้องพิจารณาเลือกใช้อย่างเหมาะสม

ข้อเสนอแนะ

การใช้ MDRT ที่ใช้ในงานควบคุมโรคมาลาเรีย ต้องเลือกที่ได้รับการประกันคุณภาพที่แหล่งผลิตมีระบบควบคุมคุณภาพ และผู้ใช้ต้องมีทักษะที่ถูกต้องในการใช้เครื่องมือ มีการควบคุมภาวะแวดล้อมที่มีผลต่อคุณภาพของชุดตรวจ จากผลการศึกษานี้พบว่าความร้อนและความชื้นมีผลทำให้ค่า Diagnostic Efficiency ลดลง ดังนั้นต้องระบุให้ชัดเจนตั้งแต่ขั้นตอนสั่งซื้อเกี่ยวกับบรรจุภัณฑ์และการบรรจุสารดูดซับความชื้น และอุณหภูมิที่เหมาะในการเก็บสำรองควรอยู่ที่ 4-7 ˚C โดยใช้ตั้งแต่การวางแผนการสั่งซื้อ การขนส่ง เพื่อลดต้นทุนในการสูญเสีย และลดพื้นที่ในเก็บ และควรมีคำแนะนำที่ชัดเจนระหว่างการขนส่งและเก็บสำรอง ในพื้นที่ที่ไม่ไฟฟ้า ให้เก็บชุดตรวจที่ควบคุมอุณหภูมิในสถานที่ที่แห้งสะอาด หากไม่มีให้เก็บในห้องภายในอาคารที่ร่มเพื่อไม่ร้อนมากในเวลากลางวันอุณหภูมิไม่เกิน 35 ˚C ระยะเวลาไม่เกิน 1 วัน และไม่ควรเก็บสำรองชุดตรวจจำนวนมากเกินไป เพื่อเกิดประโยชน์สูงสุดในการควบคุมโรคมาลาเรีย

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ประสบความสำเร็จจากความร่วมมือด้วยความเต็มใจของผู้ป่วยที่มารับบริการที่มาลาเรียคลินิกแม่ตะวอ และความเอื้อเฟื้อสถานที่ของมาลาเรียคลินิกแม่ตะวอ ตำบลท่าสองยาง อำเภอท่าสองยาง จังหวัดตาก

เอกสารอ้างอิง

1. Konchom S., Bualombai P. and Buafuengklin A. Factors influencing the microscopists misdiagnosis in malaria clinics in high malaria endemic province. Com Dis J 1999; 25(3): 246-254.
2. Bualombai P., Pralakwong S., Aussawatheerakul N., etal. Determining cost-effectiveness and costcomponent of three malaria diagnostic models being used in remote non-microscope areas. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003; 34(2): 322-333.
3. Bell D., Wongsridhanalai C. and Martin LB. Ensuring quality and access for malaria diagnosis: how can it be achieved? Nat Rev Microbiol 2006; 4: S7-S20.
4. World Health Organization. Malaria rapid diagnostic test performance. WHO press, World Health Organization, Geneva Switzerland, 2009.
5. Kimura M., Kaneko O., Lui Q., et al. Identification of the four species of human malaria parasite by nested PCR that targets variant sequences in the small subunit rRNA gene. Parasitol International 1997; 46: 91-95.
6. Wongsrichanalai C., Barcus MJ., Muth S., Sutamihardja A. and Wernsdorfer WH. A review of malaria diagnostic tool: Microscopy and Rapid Diagnostic Test (RDT). Am J Trop Med Hyg 2007; 77(S6): 119-127.
7. Joseph A., Frederick M., Lawrence A., et al. Biostatistics in clinical medicine 2nd New York, Macmillan publishing company, 1995.
8. Howard RJ., Uni S.,Aikawa M., Aley BS., Leech JH. et al. Secretion of a malarial histidine-rich protein (Pf-HRP-II) from *Plasmodium falciparum* infected erythrocytes. J Cell Biol 1986; 103: 1269 – 1277.
9. Hayward RE., Sullivan DJ. and Day KP. Plasmodium falciparum: histidine protein II is expressed during gametocyte development. Exp Parasitol 2000; 96: 139 – 146.
10. Makler MT., Piper RC. and Milhous Wk. Lactase dehydrogenase and the diagnosis of malaria. Parasitol Today 1998; 14: 376-377.
11. Lee N., Baker J., Bell D., McCarthy J and Cheng Q. Assessing the genetic diversity of the aldolasegenes of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* and its potential effect on performance of aldolase – detecting rapid diagnostic test. J Clin Microbiol 2006; 44: 4547-4549.
12. Forney JR., Wongsrichanalai C., Magill AJ., Craig LG., Sirichaisinthop J., et al. Devices for rapid diagnosis of malaria: evaluation of prototype assays that detect *Plasmodium falciparum* histidine rich protein 2 and a *Plasmodium* vivax-specific antigen. J Clin Microbiol 2003; 41: 2358-2366.
13. Ferando SD., Karunaweera ND. and Fernando WP. Evaluation of a rapid whole blood immunochromatographic assay for diagnosis of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria. Ceylon Med J 2004; 49: 7-11.
14. Grobusch MP ., Hanscheid T., Gobels K., Slevote H., Zoller T., et al. Comparision of three antigen detection tests for diagnosis and follow-up of falciparum malaria in travelers return to Berlin, Germany. Parasitol Res 2003; 89: 354-357.
15. Clinton KM., Robert AGJ., Alan JM. And Miller RS. Update on rapid diagnostic testing for malaria. Clin Micribiol 2008; 97-110.