LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

11 MAY 1992

DIAGNOSIS OF PULMONARY TUBERCULOSIS BY ANTIGEN DETECTION IN SPUTUM USING DIRECT AND INDIRECT DOT BLOT IMMUNOASSAY COMPARISON WITH PEROXIDASE ANTI-PEROXIDASE TEST

SUPAWAN NANTAWASS

ขอรับหนังสือ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหิดล

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (PUBLIC HEALTH)
MAJOR IN INFECTIOUS DISEASES

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1991

Copyright by Mahidol University

18846

ชื่อวิทยานิพนธ์ การวินิจฉัยวัณโรคปอดโดยการตรวจหาแอนติเจนในเสมหะ ด้วยการเปรียบเทียบระหว่าง วิธี ด็อท บล็อท อิมมิวโนเอสเส ทั้งทางตรงและทางอ้อมกับวิธีเปอร์ออกซิเดส แอนติ เปอร์ออกซิเดส

ผู้วิจัย ศุภวรรณ นันทวาส

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาธารณสุขศาสตร์)
สาขาวิชาเอกโรคติดเชื้อ

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์
วรัญญา แสงเพ็ชร์ส่อง, Ph.D.
อนงค์ ปริยานนท์, M.Sc.
ธีระเดช พงษ์รอจน์, B.Sc.
อมรรัตน์ โพธิพรรค, Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 28 ตุลาคม พ.ศ. 2534

บทคัดย่อ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อชนิดเรื้อรัง ที่ยังคงเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของโลก โดยเฉพาะในประเทศกำลังพัฒนารวมถึงประเทศไทย ซึ่งมีอันตรายจากวัณโรคอยู่ในระดับสูงสุดของโรคติดต่อทั้งหมด การค้นหาผู้ป่วยวัณโรคให้ได้มาก และรวดเร็วที่สุด รีบให้การรักษาให้เชื้อหมดไปโดยเร็วเป็นสิ่งสำคัญ ถือเป็นมาตรการหลักในการควบคุมวัณโรค ทั้งนี้ การค้นหาผู้ป่วยขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเครื่องมือที่ใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรค การศึกษาครั้งนี้ จึงพยายามที่จะพัฒนาวิธีการตรวจหาแอนติเจนในเสมหะด้วยวิธี DDBI, IDBI และ PAP staining เพื่อช่วยในการวินิจฉัยวัณโรค

การตรวจเสมหะทำในผู้ป่วยวัณโรค 204 ราย มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 39.43±13.66 ปี และผู้ป่วยด้วยโรคทางทรวงอกอย่างอื่น จำนวน 254 ราย เป็นกลุ่มควบคุมซึ่งมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 49.53±17.45 ปี ทั้งสองกลุ่มเป็นเพศชายมากกว่าเพศหญิง ผู้ป่วยวัณโรคได้รับการรักษา 34.35 %

Copyright by Mahidol University

เปรียบเทียบการใช้ substrate โดยวิธี DDBI พบว่า 4-chloro-1-naphthol (CN) ให้ความไวและความจำเพาะเท่ากับ 29.21% และ 86.61% ในขณะที่ 3,3'-diaminobenzidine (DAB) ให้ความไวและความจำเพาะเท่ากับ 54.95% และ 72.44% ซึ่งความไวและความจำเพาะของการใช้ substrate ทั้งสองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้ จึงเลือกใช้ DAB เป็น substrate การทดสอบด้วยวิธี DDBI, IDBI และ PAP staining สามารถตรวจหาโปรตีนแอนติเจนของเชื้อ *M. tuberculosis* ได้ในระดับ 2.5, 5 และ 1.25 ng/dot ตามลำดับ และผลการทดสอบด้วยวิธี IDBI จะให้ความไวและความจำเพาะเท่ากับ 38.07% และ 82.68% ในทำนองเดียวกัน PAP ให้ผลความไวและความจำเพาะ เท่ากับ 70.74% และ 64.14% ในการเปรียบเทียบ ผลการทดสอบทั้ง 3 วิธี มีความไวและความจำเพาะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

เมื่อใช้การทดสอบ 2 วิธีร่วมกัน พบว่า ความไวของการทดสอบเพิ่มขึ้น แต่ความจำเพาะของการทดสอบจะลดลง กล่าวคือ วิธี DDBI กับ IDBI ให้ความไวและความจำเพาะเท่ากับ 64.68% และ 69.29% วิธี DDBI กับ PAP ให้ความไวและความจำเพาะเท่ากับ 84.18% และ 54.76% วิธี IDBI กับ PAP ให้ความไวและความจำเพาะเท่ากับ 76.04% และ 60.32% ซึ่งทั้งความไวและความจำเพาะของทั้ง 3 วิธีที่ใช้การทดสอบร่วมนี้ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ยกเว้นความจำเพาะของวิธี DDBI กับ PAP เปรียบเทียบด้วยวิธี IDBI กับ PAP ($p > 0.05$)

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า การทดสอบทั้ง 3 วิธี ให้ความไวและความจำเพาะ อยู่ในระดับต่ำเกินกว่าที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยทั่วไปได้ ถึงแม้ว่าจะมีข้อได้เปรียบในแง่ของเวลา (5-7 ช.ม.) และวิธีการไม่ยุ่งยาก แต่เทคนิควิธีการทั้ง 3 ยังจะต้องพัฒนาให้ดีขึ้น

Copyright by Mahidol University

Thesis Title Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis by Antigen Detection in Sputum Using Direct and Indirect Dot Blot Immunoassay Comparison with Peroxidase Anti- Peroxidase Test.

Name Supawan Nantawass

Degree Master of Science (Public Health) major in Infectious Diseases

Thesis Supervisory Committee

Varanya Sangpetchsong, Ph.D.

Anong Pariyanonda, M.Sc.

Theradetch Pongrodge, B.Sc.

Amornrath Podhipak, Ph.D.

Date of Graduation 28 October B.E. 2534 (1991)

ABSTRACT

Tuberculosis, a chronic infectious disease, remains a major global health problem especially in developing countries, including Thailand, and is the most important cause of death among infectious diseases.

The important principle in tuberculosis control, case-finding, must be done practically for case detection and early treatment, therefore prompt and accurate diagnosis is desired. In this study, a validity of immunological tests for tuberculosis antigen in sputum using DDBI, IDBI and PAP staining was undertaken.

Copyright by Mahidol University

The 204 sputa were obtained from pulmonary tuberculosis patients and 254 sputum specimens were obtained from other lung disease patients as a control group. The average age and standard deviation of tuberculosis patients were 39.43 and 13.66 years. The corresponding figures for the control group were 49.53 and 17.45 years respectively. Most of tuberculosis and control patients were males . A 34.35 % of tuberculosis patients had received chemotherapy.

Sensitivity and specificity of DDBI were 29.21 % and 86.61 % by using 4-chloro-1- naphthol (CN) as a substrate. The sensitivity and specificity for 3,3'-diaminobenzidine (DAB) were 54.95 % and 72.44 % respectively, and there were significant difference (Z-test;$P<0.05$); thus we selected the DAB as a substrate.

It was found that 2.5, 5, and 1.25 ng of protein antigen per dot were detected by DDBI,IDBI and PAP staining respectively. The sensitivity of IDBI and PAP staining were 38.07 % and 70.74 %, the specificity were 82.68 % and 64.14% respectively. The difference of these three assays were statistically significant (Z-test;$P<0.05$).

In parallel combination methods, the sensitivity increased but specificity decreased. The sensitivity and specificity of the combined tests (DDBI and IDBI) were 64.68 % and 69.29 % respectively, whereas those of DDBI and PAP were

Copyright by Mahidol University

84.14 % and 54.76 % of sensitivity and specificity respectively; IDBI and PAP were 76.04 % and 60.32 % of sensitivity and specificity respectively. There were statistically significant (Z-test; $p<0.05$) in both of sensitivity and specificity of the combination tests, except the specificity of DDBI and PAP compared with IDBI and PAP (Z-test; $p > 0.05$)

The sensitivity and specificity of these three tests were rather low, thus they were still not suitable to be used as diagnostic method for tuberculosis. The tests were not cumbersome and less time-consuming than standard method, though. The further technical development is needed to improve the validity of the tests.

Copyright by Mahidol University