ก้าวใหม่ของการทดสอบน้ำเหลือง เพื่อวินิจฉัยโรคซิฟิลิส *

สดใส เวชชาชีวะ พ.บ.**

ฤทัย สกุลแรมรุ่ง พ.บ.**

เสาวลักษณ์ ชูศิลป์ พ.บ.**

ขจร ประนิจ พ.บ., M.Sc.**

การตรวจน้ำเหลืองเพื่อวินิจฉัยโรคซิฟิลิสได้เริ่มมีขึ้นในปี ค.ศ. ๑๙๐๖ โดย Wasserman, Neisser และ Bruck[1] โดยใช้ Saline extract ของ Syphilitic tissue เป็น antigen ตรวจสอบหา Syphilitic antibodies ในน้ำเหลือง ดังนั้น Wassermann test จึงเป็นการทดสอบซิฟิลิสที่รู้จักกันแพร่หลายมาแต่ดั้งเดิม ต่อมาจึงพบว่าอาจใช้ Saline extracts ของ normal tissue เป็น antigen ได้เหมือนกัน และถ้าใช้ ethanol extracts ของกล้ามเนื้อหัวใจวัวแทน ยิ่งทำให้ปฏิกิริยาทดสอบไวขึ้นด้วย ซึ่ง Pangborn[2] พบว่า antigen จากกล้ามเนื้อหัวใจวัวนั้น คือ Cardiolipin ซึ่งเป็น non — nitrogenous Phospholipid antigen. Cardiolipin นี้เมื่อผสมกับ lecithin และ Cholesterol ในสัดส่วนที่พอเหมาะแล้ว จะทำให้ปฏิกิริยาไวขึ้นอีก เมื่อถึงขั้นนี้แล้วเราจะเห็นได้ว่า antigen ที่ใช้ทดสอบ แบ่งออกเป็น ๒ พวก คือ Syphilitic tissue antigen และ Lipoidal antigen

เพื่อให้เข้าใจง่ายเราจึงแบ่งการทดสอบออกเป็น ๒ กลุ่ม โดยใช้ antigen เป็นหลัก

กลุ่มที่หนึ่ง ใช้ Cardiolipin เป็น antigen จึงเป็นการตรวจสอบหา antilipodial antibodies (Reagin) ซึ่งการทดสอบในกลุ่ม

* งานนี้ได้รับเงินทุนอุดหนุนการวิจัยจากมูลนิธิวิจัยทางแพทย์วชิรพยาบาล

** แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

นิยมมากมาย และใช้กันแล้ว แต่ความนิยมในสถานที่ต่าง ๆ ดังจะยกตัวอย่างไว้ดังนี้

๑. Kahn Standard test (Kahn 1922)

๒. Venereal Disease Research Laboratories (VDRL, Harris 1946)

๓. Kolmer complement fixation test (Kolmer 1922)

๔. Rapid Plasma Reagin (RPR, Portony 1963)

ในกลุ่มนี้ Kahn flocculation นับว่าล้าสมัยและเลิกใช้แล้วในห้องทดลองทั่ว ๆ ไป แต่คำว่า Kahn มักจะติดปากคนทั่ว ๆ ไปอยู่ เนื่องจากว่าเป็นการทดสอบที่รู้จักกันแพร่หลายมานาน ส่วน Kolmer CFT นั้นมีการดัดแปลงต่อมาและยังใช้กันอยู่ แต่เป็นวิธีค่อนข้างยากและกินเวลา ปัจจุบันจึงมักใช้ VDRL, RPR หรือการทดสอบที่คล้าย ๆ กัน ซึ่งทำได้ง่ายกว่า เป็นวิธี Screening น้ำเหลืองจำนวนมาก ๆ นอกจากนั้นยังสามารถหา antibodies titer ออกมาเป็น (๑:๑, ๑:๒, ๑:๔, ๑:๘.....) ประโยชน์ของการทำ titer มีหลายอย่าง เช่น ติดตามผลของการรักษา โดยดูว่า titer ลดลงหลังการรักษาหรือไม่ ถ้า titer สูงขึ้นแสดงว่ามี Relapse เนื่องจากการรักษาไม่ได้ผล หรือมี Reinfection นอกจากนี้อาจต้องนึกถึง Anamnestic reaction จากการถูกกระตุ้นด้วย antigen ชนิดอื่นด้วย (การเปลี่ยนแปลงของ titer ต้องเปลี่ยนแปลงจากเดิมเป็นจำนวน ๔ เท่า เช่น จาก ๑:๒ เป็น ๑:๘ จึงจะเป็นการเปลี่ยนแปลงแน่ ๆ ถ้าน้อยกว่านี้อาจเป็นเพียง technical error ก็ได้)

สำหรับการทดลองในกลุ่มนี้ผลเสียอยู่ตรงที่ให้ Biological false positive (B.F.P.) ในโรคต่าง ๆ ได้มากมาย แต่อย่างไรก็ตาม ถ้า antibodies titer สูง เช่น VDRL titer สูงกว่า ๑:๘ dil. แล้ว โอกาสที่จะเป็น BFP มีน้อยมาก[3] ถ้า titer ต่ำกว่า ๑:๘ ลงมา เราจะต้องตัดสินแยกระหว่าง BFP และ Latent Syphilis โดยใช้ข้อมูลอื่น ๆ เช่น จากประวัติและการทดสอบใน Contacts เข้าช่วยตัดสิน ประกอบกับผลของการทดสอบในกลุ่มที่สอง ก็จะสามารถบอกได้ว่าคนไข้เป็นซิฟิลิส หรือโรค Treponematoses อื่น ๆ จริงหรือไม่

กลุ่มที่สอง ใช้ antigen ที่ได้จาก Treponema pallidum ดังนั้นจึงเป็นการทดสอบหา Treponemal antibodies นับเป็น

specific test หรือ Verification test ตัวอย่างของการทดสอบเหล่านี้ได้แก่

๑. Treponema Pallidum Immobilization test (TPI, Nelson and Mayer 1949)

๒. Fluorescent Treponemal Antibodies Absorption test (FTA—ABS, Deacon and Hunter 1964)

๓. Treponema Pallidum Hemagglutination Test (TPHA, Tomizawa and Kasamatsu 1966, Rathev 1967)

ในกลุ่มนี้อาจเติม Reiter Protein Complement Fixation Test (RPCFT) เข้าไปอีกอย่าง การทดสอบนี้ใช้เชื้อ Reiter strain ของ Treponema pallidum เป็น antigen แต่ค่าของการทดสอบ RPCFT มีน้อยและล้าสมัย เนื่องจาก Reiter strain นี้เป็น Non—pathogenic strain ต่อมนุษย์ เราใช้ Absorb group หรือ genus specific antibodies ออกจาก serum ที่ใช้ทดสอบ FTA—ABS และ TPHA เพื่อขจัด antibodies ที่อาจเกิดจากเชื้อ Saprophytic Treponema นอกจากนี้ยังมีผู้พบ BFP ได้ ๐.๓๖%[4] ๐.๙๖%[5]

สำหรับ TPI นั้นทำยากและมีอันตรายจากการติดเชื้อ Virulent T. pallidum ต่อผู้ทำการทดลอง และยังต้องลำบากในการเพาะเชื้อใน Testis ของกระต่ายไว้ใช้ด้วย จึงทำกันเฉพาะในห้องทดลองบางแห่งเท่านั้น แต่ก็ยังเป็นการทดสอบที่นับเป็น Verification test ที่เชื่อถือได้ แม้ว่า Sensitivity จะแพ้การทดสอบแบบใหม่ อันได้แก่ FTA—ABS และ TPHA

ส่วน FTA—ABS นั้นใช้แทน TPI ในปัจจุบันได้ดี[6-8] แต่ก็ต้องการเครื่องมือพิเศษคือ Fluorescent Microscope นอกนี้ยังทำได้จำนวนจำกัดเนื่องจากผู้อ่านผลจะมี Eye Fatique หลังจากอ่านผลด้วยกล้องไปประมาณ ๒๐ ราย เป็นอย่างมาก ส่วน Biological False Positive นั้นต้องระวังในคนไข้กลุ่ม Autoimmune diseases และพวกที่มี Abnormal globulin[7]

TPHA เป็นความหวังใหม่ของการทดสอบในกลุ่มหลังนี้ ซึ่งมีคุณสมบัติของการทำง่าย ไม่ต้องการเครื่องมือพิเศษ และทำได้ครั้งละจำนวนมาก ๆ มีความไวสูง แต่เนื่องจากการทดลองนี้ยังใหม่อยู่ จึงต้องมีการทดสอบดูในหลายแง่ โดยเฉพาะในเรื่องของ Specificity ขณะนี้ยายังแพงอยู่ แต่

ถ้ามีการใช้กันแพร่หลายขึ้น ราคาอาจต่ำลง นอกจากนั้นยังมีผู้ทดลองลดส่วนลง $\frac{1}{5}$ โดยวิธี Automated Microhemagglutination assay แล้ว(9) ซึ่งคิดว่าถ้าลดส่วนโดย manual technic ก็ควรจะได้ผลเช่นเดียวกัน ราคาของน้ำยาก็จะต่ำลงอีกมาก

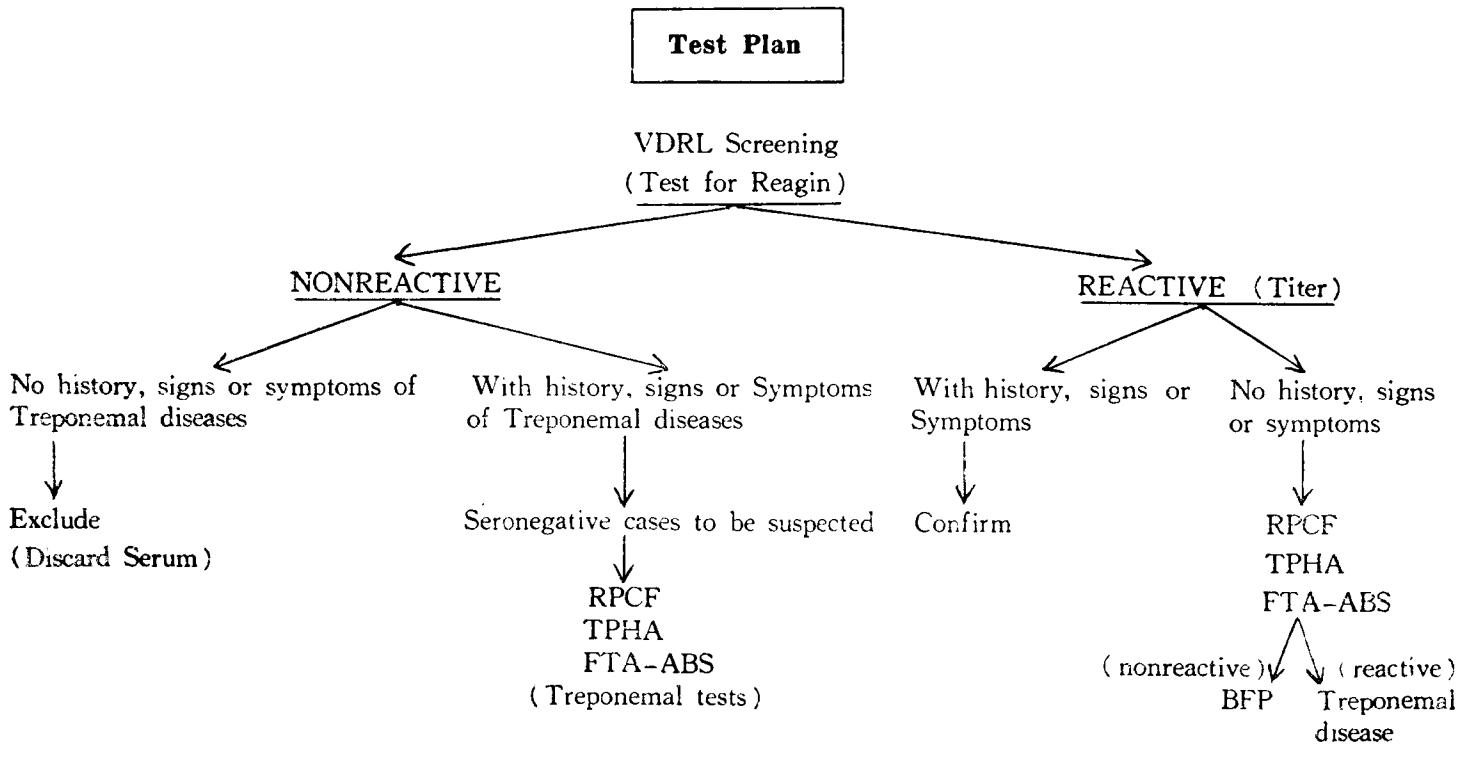
ประโยชน์ของการทดสอบในกลุ่มที่สอง คือการใช้แยก Latent Syphilis จาก BFP และช่วยวินิจฉัย Late Syphilis ในรายที่ระดับ Reagin ได้ลดต่ำลงจนให้ผลลบ (False Negative) ในการทดสอบกลุ่มที่หนึ่ง ซึ่ง Seronegatve cases นี้จะพบได้ ๑๐% ของ late benign syphilis (mucocutaneous, osseous and visceral) ๒๐% ของ cardiovascular syphilis และ ๓๓% ใน Tabes Dorsalis(10) สำหรับประโยชน์ในด้านการติดตามผลของการรักษานั้น กลุ่มที่สองไม่มีประโยชน์เหมือนดังกลุ่มที่หนึ่ง เนื่องจาก Treponemal antibodies อาจอยู่เป็นสิบ ๆ ปี หลังจากได้รับการรักษาอย่างถูกต้องแล้ว และการทำ titer ในกลุ่มที่สองนี้ก็จะทำได้อย่างดี ถ้าใช้วิธี TPHA แต่ประโยชน์ของการหา titer ยังไม่เป็นที่แน่นอน

โดยสรุปจะเห็นได้ว่าการทดสอบต่าง ๆ แม้จะมีมากมาย แต่หลักการของการใช้และการแปลผลแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มดังกล่าวข้างต้น และเพื่อให้ได้ประโยชน์เต็มที่ ในการส่งเลือดไปยังห้องทดลอง จึงควรทราบวิธีการโดยลำดับที่ห้องทดลองจะตรวจสอบน้ำเหลืองที่ส่งมาดังในแผนผังที่ ๑

โดยสรุปจะเห็นได้ว่าการทดสอบต่าง ๆ แม้จะมีมากมาย แต่หลักการของการใช้และการแปลผลแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มดังกล่าวข้างต้น และเพื่อให้ได้ประโยชน์เต็มที่ ในการส่งเลือดไปยังห้องทดลอง จึงควรทราบวิธีการโดยลำดับที่ห้องทดลองจะตรวจสอบน้ำเหลืองที่ส่งมาดังในแผนผังที่ ๑ จากแผนผังดังกล่าวจะเห็นได้ว่าน้ำเหลืองที่ไม่มีประวัติของโรคเมื่อ Nonreactive จากการ screen แล้วก็จะถูกเทิ้งไป ไม่นำมาทำต่อ ดังนั้นถ้าเป็นคนไข้ที่สงสัย Late Syphilis ก็ควรจะเขียนข้อมูลมาในใบส่ง จึงจะได้รับการสนใจศึกษาด้วย Treponemal test ต่อไป

อนึ่ง Sensitivity ของ test ในที่ต่าง ๆ อาจไม่เหมือนกันฉะนั้นในรายที่มี Antibody titer ต่ำ ๆ อาจทำให้ผลที่ได้ค้านกัน และยิ่งกว่านั้น Technicoal errors ต่าง ๆ ก็มีได้เมื่อมีงานจำนวนมาก ๆ เช่นนี้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำซ้ำเสมอเมื่อเกิดความสงสัยขึ้น

แผนผังที่ ๑



ที่มา: ดุษฎีนิพนธ์ ๔๘

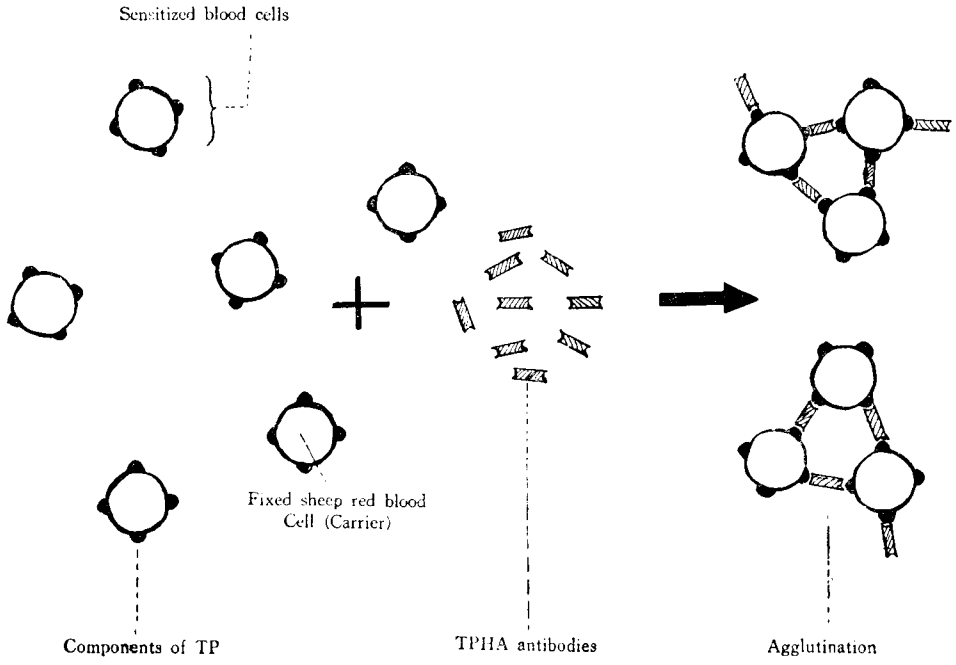
วัตถุประสงค์

คณะผู้ทำการวิจัยได้เคยทำการทดสอบ TPHA ในคนไข้ที่สงสัยว่าเป็นโรคซิฟิลิส และในคนปรกติกลุ่มหนึ่ง และได้รายงานไว้ใน จ.พ.ส.ท. ฉบับประจำเดือนเมษายน ๒๕๑๔[44] ได้ผลเหมือนผู้ทดสอบอื่น ๆ คือ พบว่าทำง่าย ความไวสูง แต่ผลของการศึกษาในด้าน Specificity ยังไม่มากพอจะสรุปได้ จึงเห็นควรที่จะศึกษาปฏิกิริยา TPHA ในน้ำเหลืองคนไข้โรคอื่น ๆ ที่อาจให้ผล BFP ด้วย

ใช้ปฏิกิริยา Passive Hemaggutination โดยใช้เม็ดเลือดแดงของแกะเป็นที่เกาะของ Antigen ที่ได้จาก Treponema pallidum (Sensitized cells) ส่วนน้ำเหลืองของผู้ป่วยจะถูก absorb เอาส่วนที่จะทำให้เกิด BFP ทิ้ง โดยใช้เม็ดเลือดแดงของแกะ และ Reiter Protein เป็นต้น เมื่อผสมน้ำเหลือง

หลักการของการทดสอบ (แผนผังที่ ๒)

แผนผังที่ ๒. Indirect (passive) hemagglutination



กับ Sensitized cells แล้วทิ้งไว้ ดูผลของ Hemagglutination ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อน้ำเหลืองนั้นมี Treponemal antibodies

แผนการทดลอง

๑. ได้ศึกษาปฏิกิริยา TPHA ในน้ำเหลืองผู้ป่วยโรคต่าง ๆ นอกเหนือจากโรคที่เกิดขึ้นจากเชื้อ Treponema จำนวน ๑๕๓ ราย

น้ำเหลืองผู้ป่วยที่นำมาทดสอบแบ่งออกเป็นกลุ่ม ๆ ได้ดังนี้

ไข้มาลาเรีย ๓๓ ราย

โรคเรื้อน ๖ ราย

โรคติดเชื้อและการอักเสบต่างๆ ๒๓ ราย

โรคเกี่ยวกับความผิดปรกติของภาวะคุ้มกัน ๑๐ ราย

โรคตับ ๒๓ ราย

โรคอื่น ๆ เช่นโรคหัวใจ มะเร็ง โรคเลือด โรคไต เป็นต้น ๕๗ ราย

๒. ได้ศึกษาปฏิกิริยา TPHA ในคนปรกติ ๕๒ ราย

๓. ได้นำน้ำเหลืองเกือบทั้งหมดมาทดสอบปฏิกิริยา VDRL, RPCFT และ FTA—ABS เพื่อการเปรียบเทียบ

๔. การทดสอบ TPHA เริ่มตั้งแต่น้ำเหลือง dilution ๑ : ๘๐ ถ้ามีผลบวกที่ ๑ : ๘๐ ได้ทำ dilution ๑ : ๓๒๐, ๑ : ๑๒๐๘, ๑ : ๕๑๒๐ ต่อ เพื่อหา antibody titer

แต่ถ้าผล ๑ : ๘๐ นั้น Equivocal (±) ก็จะทดสอบซ้ำใน serum dilution ๑ : ๒๐ เพิ่มขึ้นอีกขั้นหนึ่ง

๕. ในการทดสอบ TPHA ทุก ๆ ครั้ง จะต้องมีน้ำเหลือง ผล Reactive และ Nonreactive เป็น Control ด้วยอีกอย่างละราย

๖. วิธีการทดสอบทำตามวิธีที่แนบมากับน้ำยาทุกประการ*

ผลของการทดลอง

แสดงไว้ในตารางที่ ๑—๒

---

* น้ำยาที่ใช้เป็นของบริษัท Fuji Zoki Pharmaceutical Company of Tokyo Japan แบบเดียวกับการทดลองครั้งแรก[11] แต่มีการปรับปรุงน้ำยาที่ใช้ Absorbed ให้ดีขึ้น โดยที่ครั้งนี้ใช้น้ำยา Absorbing diluent ใส่เข้าไปในน้ำเหลืองแล้วทิ้งไว้ครึ่งชั่วโมง และทำการทดสอบกับ Sensitized cells ได้เลย โดยไม่ต้องมีการปั่นแบบครั้งแรก

ตารางที่ ๑

ผลการทดลองในผู้ป่วยโรคต่าง ๆ ๑๕๓ คน

	VDRL	*RPCFT*	*FTA – ABS*	*TPHA*	จำนวน
ผลเหมือนกันหมด	–	–	–	–	๑๑๕
	–	–	–	±*	๑๐
	+	+	+	+	๔
ผลต่างกัน	–	+	+	+	๕
	–	–	+	+	๑๐
	–	–	–	+**	๒
	–	+	+	–	๐
	–	–	+	–	๐
	+	+	+	–	๐
ผลชี้บ่ง BFP	+	–	–	–	๑
	+	+	–	–	๑***
	–	+	–	–	๐

* ผล TPHA Equivocal ที่ serum dilution ๑ : ๘๐ เมื่อทำซ้ำที่ serum dilution ๑ : ๒๐ ให้ผลดังนี้

๒ รายให้ผลลบ

๓ รายให้ผล Equivocal

๕ รายให้ผลบวก

ทุกรายให้ผลลบต่อ FTA–ABS

** ผล TPHA บวกเพียงอย่างเดียว ๒ ราย ให้ผลบวกอ่านได้ ๑+ ที่ serum dilution ๑ : ๘๐

ผล BFP มีแน่นอนเพียง ๑ ราย ส่วนอีก ๑ ราย *** น่าจะเป็น BFP เหมือนกัน

ตารางที่ ๒

ผลการทดลองในคนปกติ ๕๒ คน

	VDRL	*RPCFT*	*FTA – ABS*	*TPHA*	จำนวน
ผลเหมือนกันหมด	–	–	–	–	๔๓
	–	–	–	±*	๓
	+	+	+	+	๐
ผลต่างกัน	–	+	+	+	๔
	–	–	+	+	๒
	–	–	–	+	๐
	–	+	+	–	๐
	–	–	+	–	๐
	+	+	+	–	๐
ผลชี้บ่ง BFP	+	–	–	–	๐
	+	+	–	–	๐
	–	+	–	–	๐

* น้ำเหลืองที่ให้ผล Equivocal ๓ ราย เมื่อทำซ้ำที่ serum dilution ๑:๒๐ ให้ผลดังนี้

๒ ราย ให้ผล equivocal

๑ ราย ให้ผลบวก

ทั้ง ๓ รายให้ผลลบต่อ FTA–ABS

เครื่องหมาย – = Nonreactive

\+ = Reactive

± = Equivocal

ในกลุ่มผู้ป่วยมีน้ำเหลืองไม่พอทำ VDRL และ RPCF ๔ ราย มีผล RPCF Anti-complementary ๗ ราย

Sensitivity ของ test ต่าง ๆ เรียงตามลำดับจากมากไปหาน้อย คือ TPHA, FTA—ABS, RPCF, VDRL

คำนวณผลที่เหมือนกัน ระหว่าง FTA—ABS และ TPHA ให้กลุ่มผู้ป่วย และกลุ่มคนปกติ ได้ ๙๘.๖๙% และ ๑๐๐% ตามลำดับ เฉลี่ยได้ ๙๙.๓๔๕%

ส่วนผลแตกต่างระหว่าง FTA—ABS และ TPHA ในสองกลุ่มคือ ๑.๓๐ %, ๐% และ ๐.๖๕๕% ตามลำดับ เช่นเดียวกัน

วิจารณ์ผล

๑. เมื่อเปรียบเทียบผลของ FTA—ABS และ TPHA พบว่าให้ผลเหมือนกันในคนปกติ ๑๐๐% ในผู้ป่วย ๙๘.๖๙% รวมทั้ง ๒ กลุ่ม ๙๙.๓๔๕% และได้ผลแตกต่าง ๐%, ๑.๓๐%, และ ๐.๖๕๕% ตามลำดับ ผลของการทดสอบทาง FTA—ABS และ TPHA จึงไม่ต่างกัน (๒=.๐๒)

ถ้าเปรียบเทียบกับผลงานของผู้อื่น อันได้แก่ผลงานของ Logan และคณะ[9] ซึ่งได้แก่วิธี Automated Microhemagglutination Assay พบว่าได้ผลบวก TPHA ในคนไข้โรคซิฟิลิส ระยะต่าง ๆ ๙๖.๔% เทียบกับผลบวกของ FTA—ABS ๙๕.๙% ในกลุ่มคนปกติ มีผลบวก ๐.๙% ของ TPHA และ ๐.๓% ใน FTA—ABS ซึ่งคำนวณผลของความแตกต่างระหว่าง TPHA และ FTA—ABS แล้ว ๑.๑% และได้รายงานว่า TPHA ให้ผลบวกน้อยกว่า FTA—ABS ใน Untreated cases และ Primary Syphilis แต่เมื่อรวมผลทั้งหมดแล้ว TPHA ให้ผลบวกมากกว่า FTA—ABS ปัญหา TPHA บวกช้ากว่า test อื่นใน Primary Syphilis นั้น ไม่ใช่ปัญหาใหญ่ เพราะปกติเราจะต้องติดตามตรวจเลือดในคนไข้ที่สงสัย Primary Syphilis ทุก ๆ เดือนเป็นเวลาอย่างน้อย ๓ เดือน ก่อนที่จะสรุปว่าคนไข้เป็นหรือไม่เป็น Primary Syphilis

ผลงานอีกแห่งหนึ่งคือ ของ Tringali[13] ทำในคนไข้ซิฟิลิสในระยะต่าง ๆ ทั้งที่รักษาแล้วและไม่ได้รักษา ผลบวกที่ได้มีค่า ๘๒.๐๗% ของ TPHA ๘๐.๖๙% ใน FTA—ABS และ ๔๙.๖๖% ใน TPI เพราะฉะนั้น คำนวณผลแตกต่างของ TPHA และ FTA—ABS ได้เท่ากับ ๑.๓๘%

๒. ผลของความแตกต่างอันได้แก่ TPHA ได้ผล ๑$^{+}$ ที่ ๑:๘๐ และ FTA—ABS

กับการทดสอบอื่น ๆ ให้ผลลบใน ๒ รายนั้น รายหนึ่งมีประวัติเป็นกามโรคเมื่อ ๕ ปี ก่อนการตรวจครั้งนี้และได้รับการรักษามาบ้าง ฉะนั้นผล TPHA จึงอาจบวกโดยที่ FTA—ABS อาจให้ผลลบ ส่วนอีกรายคนไข้มีน้ำดีอยู่ในน้ำเหลืองมาก จึงไม่ควรจะนำมาวิจารณ์ผล เพราะว่าน้ำเหลืองเช่นนี้อาจให้ผลผิดจากความจริงได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ผลด้านนี้ไม่แสดงว่าการทดสอบ TPHA ให้ผลบวกเท็จ

ผลงานของผู้อื่นที่ทำในคนไข้โรคต่าง ๆ คือผลงานของ Tringali ได้ทำไว้ ๕๕ ราย ไม่พบ TPHA และ FTA—ABS ให้ผลบวกเลย (ใช้วิธี Absorbed แบบวิธีเก่า) เช่นเดียวกับผลงานของ Fukuoka และคณะ[14] ได้ทำในคนไข้โรคต่าง ๆ ๔๐ ราย เปรียบเทียบการใช้ Absorbing dilution อย่างเก่าและใหม่ ปรากฏว่าให้ผลลบทั้งหมด ซึ่งแสดงว่าผลงานของทั้งสองคณะไม่แสดงผลบวกเท็จในโรคอะไรเลยเช่นกัน

อนึ่ง เป็นที่น่าสังเกตว่า น้ำเหลืองที่นำมาศึกษาทั้งหมด ในรายงานนี้มีผลบ่งถึงผลบวกเท็จต่อการทดสอบ Reagin เพียง ๑ ราย ผู้ศึกษาจึงเห็นควรที่จะศึกษาน้ำเหลืองที่ให้ผลบวกเท็จต่อการทดสอบอื่น ๆ เป็นพิเศษต่อไป

๓. ผล Equivocal (±) ใน titer ๑:๘๐ จำนวน ๑๓ ราย คิดเป็น ๖.๓๔% ของทั้งหมด นั้นปรากฏในรายที่ FTA—ABS ให้ผลลบ และเมื่อทำซ้ำใน dilution ๑:๒๐ ปรากฏผลมีทั้ง Equivocal อย่างเดิม บ้างมีผลลบ และบ้างมีผลบวก จึงแสดงว่าผลบางครั้งอ่านไม่ชัดจากความผิดพลาดบางอย่าง หรือบางครั้งในน้ำเหลืองอาจมีสารที่ทำให้เกิดผล Equivocal แม้ใน dilution ที่ต่ำลงมา ผลเหล่านี้จึงไม่น่ามีความหมาย นอกจากพวกที่ได้ผลบวกที่ ๑:๒๐ ซึ่งควรที่จะศึกษาเป็นพิเศษต่อไป

จากผลงานของบริษัท Fuji—Zoki Pharmacentical Co., Ltd. ซึ่งเป็นผู้ทำน้ำยา TPHA ออกจำหน่าย ได้ให้ผลงานเกี่ยวกับผล Equivocal ไว้และแนะนำให้ทำ dilution ๑:๒๐ และ ๑:๔๐ ซ้ำ ถ้าผลที่ได้อ่านสูงกว่า (±) ให้ถือเป็นผลบวก แต่ถ้าต่ำกว่านั้นให้ถือเป็นผลลบ และแนะว่า ผลบวกพวกนี้อาจเกิดได้ในซิฟิลิสระยะแรก ซิฟิลิสที่เป็นนานมาก หรือได้รับการรักษาแล้ว รวมทั้ง Non—Specific reaction ด้วย ดังนั้นในน้ำเหลืองที่ให้ผลเช่นนี้จะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม ร่วมไปกับหลักฐานและข้อมูลอื่น ๆ ของคนไข้ ก่อนที่

จะตัดสินว่าเป็นผลบวก หรือลบ และควรจะมีการติดตามดูผลการทดสอบ TPHA และอื่น ๆ ในคนไข้เหล่านี้เป็นระยะต่อไป

๔. เปรียบเทียบผลกับการทดสอบอื่น ๆ อันได้แก่ VDRL และ RPCF พบว่า การทดสอบทั้งสองอย่างนี้ได้ผลบวกน้อยกว่า ซึ่งคงจะเป็นเพราะคนไข้เหล่านี้เป็นโรคซิฟิลิส มานาน ซึ่งระดับ Reagin ลดลงจนตรวจไม่พบ หรือความไวน้อยกว่า TPHA และ FTA—ABS ดังผลงานที่ Deacon และคณะ[16] และ Sparling[15] ได้รวบรวมและดัดแปลงดังแสดงไว้ในตารางที่ ๓ แสดงว่าผลบวกของ VDRL ส่วนใหญ่น้อยกว่า FTA—ABS

ตารางที่ ๓

Reactivity of VDRL, FTA—ABS และ TPI Test during Various Stages of Syphilis

Category	*No. Tested*	*% Reactive*		
		FTA-ABS	*TPI test*	*VDRL test*
Primary Syphilis	191	85	56	78
Secondary Syphilis	270	99	94	97
Late Syphilis	117	95	92	77
Latent Syphilis	954	95	94	74
Presumably normal	384	1	0	0

สรุปผล

TPHA เป็นวิธีใหม่ในการทดสอบหา Treponemal antibody ในโรคซิฟิลิส ซึ่งทำง่ายและสะดวกกว่าวิธีอื่น ๆ เช่น FTA—ABS และ TPI คณะผู้ทดลองได้ทดสอบความไว และความจำเพาะของ TPHA ในคนปกติ ๕๒ คน และผู้ป่วยที่ไม่มีอาการของซิฟิลิส ๑๕๓ คน โดยนำน้ำเหลืองทั้งหมด

มาตรวจหา Reagin (VDRL test) กับหา Treponemal antibody (RPCFT, FTA—ABS และ TPHA test) แล้วเปรียบเทียบผลที่ได้ทั้งหมดพบว่า VDRL เป็นวิธีที่ปฏิกิริยาไวน้อย และอาจทำให้เกิดผลบวกเท็จ (Biological False Positive หรือ BFP) ได้ส่วน RPCFT นั้นมีความไวน้อยกว่า FTA—ABS และ TPHA วิธี FTA—ABS กับ TPHA เป็นวิธีที่ไวที่สุดและมีปฏิกิริยาจำเพาะสูง ผลของวิธีทั้ง ๒ นี้ ไม่มีความแตกต่างกับทางสถิติ ($\chi = .01$) ดังนั้นจึงขอแนะนำให้ใช้ TPHA แทน FTA—ABS ในการตรวจหา Late, latent syphilis และ BFP แล้วใช้ FTA—ABS ซึ่งเป็นวิธีที่ยุ่งยากกว่า เข้าช่วยในรายที่เป็นปัญหาเท่านั้น อย่างไรก็ตามเรายังเห็นควรที่จะศึกษาถึงปฏิกิริยาของ TPHA ในกลุ่มของ BFP และปัญหาเรื่องปฏิกิริยา Equivocal ต่อไป แม้ว่าจะไม่พบปฏิกิริยา BFP ของ TPHA ในการทดลองนี้ อย่างชัดเจน เมื่อใช้ FTA—ABS เป็นหลักเกณฑ์ในการตัดสิน

เอกสารอ้างอิง

1. Wasserman, A. Von, Neisser, A, and Bruck, C. (1906) : Quoted by Wilkin Son, A.E. : The Positive Wassermann-Reaction : Investigation and Interpretation. Brit. J. Hosp Med. 4 : 47, 1970.

2. Pangborn, M.C. : New Serologically Active Phospholipid from Beef Heart. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 48 : 484, 1941,

3. Fiumara, N.J. : Problem of the Biological False Positive Reaction. Proceeding, World Forum on Syphilis and Other Treponematoses, publication 997, US Public Health Service. 1964, pp. 262, 268.

4. Förström, L., Lassus, A., Jokinen E.J. : False Positive Reactions to the Reiter Protein Complement Fixation (RPCF) Test. Birt. J. Vener. Dis. 45 : 128, 1968.

5. Bekker, J.H., De Bruijn, J.H., Miller, J.N. : Performance and Use of the Reiter Protein Complement Fixation (RPCF) Test. Brit. J. vener. Dis. 24 : 42, 1966.

6. Deacon, W.E., Lucsas, J.B., and Price, E.V. : Fluorescent Treponemal Antibody Absorption (FTA-ABS) Test for Syphilis. JAMA. 198 : 624, 1966

7. Mackey, D.M., Price, E.V., Knox, J.M., and Scotti, A : Specificity of the FTA-ABS Test for Syphilis. An evaluation-JAMA 207 : 1683, 1969.

8. Beau, W.E., Deadeaus, J.D., and Humes, J.J. : Evaluation of the FTA-ABS Test for Syphilis. Amer J. Clin. Path. 47 : 404, 1969.

9. Logan, L.C., Cox, P.M. : Evaluation of a Quantitative Automated Micro hemagglutination Assay for Antibodies to Treponema pallidum. Am. J. Clin. Path. 53 : 163-166, 1970.

10. Nicholas, L. : Serodiagnosis of Syphilis, Arch. Derm. 96 : 327, 1967.

11. Vejjajiva, S., Sakulramrung, R. and Suvanamalix, S. : A Prliminary Study of the Treponema Pallidum Haemagglutination Test (TPHA). JMAT. 54 : 4, 1971.

12. Le clair, R.A. : Evaluation of a Qualitative Hamagglutination Test for Antibodies to Treponema Pallidum The Journal of Infectious Dissases 123 : 668, 1971.

13. Tringali, G., Hemagglutination Test Utilizing Pathogenic T. Pallidum (TPHA). Ann. Sclavo. 12 : 311, 1970.

14. Fukuoka, Y, Aikawa, K., and Katagami K.: Report from Central Clinical Laboratories, School of Medicine, Tokyo Medical and Dental University.

15. Sparling, P : Diagnosis and Treatment of Syphilis. New. Eng. J. Med. 284 : 644 1971.

Summary in English

THE PROSPECT TREPONEMAL PALLIDUM HEMAGGLUTINATION*

Sodsai Vejjajiva, M.D.**

Reutai Skulramrung, M.D.**

Sauwaluck Chusilpa, M.D.**

Kachorn Pranich, M.D., M.Sc.

TPHA, a new Treponemal antibody test for syphilis is much more simple and convenient compared to the other namely, FTA-ABS and TPI. Its specificity and sensitivity were tested in 52 normal healthy persons and 153 patients without symptoms and signs of syphilis. All sera were tested for reagin (VDRL test) and Treponemal antibody (RPCF, FTA-ABS and TPHA test) and all results were compared. VDRL is relatively less specific and produce Biological False Positive (BFP) whereas RPCFT is less sensitive than FTA-ABS and TPHA. FTA-ABS and TPHA test are the most sensitive tests with high specificity and the difference of both tests is not significant at $<.01$. Therefore the anthors recommend TPHA to be used in place of FTA-ABS for the detection of late, latent syphilis and BFP. Thus FTA-ABS test a much more difficult and complicate test is employed only in problem cases. However the reaction of TPHA in BFP sera and the problem of equivocal results still demand further investigation although the result of this investigation did not show any obvious BFP.

* This investigation was supported by Vajira Medical Reseach Foundation.

** Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.