

การประเมินความน่าเชื่อถือในการวินิจฉัยการติดเชื้อมาลาเรีย
โดยใช้หลักการตรวจหาแอนติเจน pLDH (OPTIMAL-IT)
ศึกษาในกลุ่มประชากรตามแนวชายแดนไทย-พม่า



นางสาว ศาริกา พัฒนสิน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาสาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการพัฒนาระบบสาธารณสุข

วิทยาลัยการสาธารณสุข จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-9599-10-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EVALUATION OF PARASITE LACTATE DEHYDROGENASE
(pLDH) ASSAY (OPTIMAL-IT) FOR DETECTION OF MALARIA
ON THAI-BURMESE BORDER**



Miss Sarika Pattanasin

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Public Health in Health Systems Development**

College of Public Health

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-9599-10-1

Copyright of Chulalongkorn University


Thesis Title : Evaluation of Parasite Lactate Dehydrogenase (pLDH) Assay
(OptiMAL-IT) for Detection of Malaria on Thai-Burmese Border

By : Sarika Pattanasin

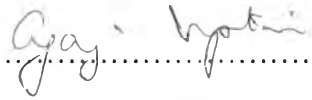
Program : Master of Public Health (Health Systems Development)
College of Public Health


Thesis Advisor : Assistant Professor Sathirakorn Pongpanich, M.A., Ph.D.


Accepted by the College of Public Health, Chulalongkorn University, Bangkok
Thailand in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree



..... Dean of the College of Public Health
(Samlee Plianbangchang, M.D., Dr.P.H.)

THESIS COMMITTEE


..... Chairperson
(Associate Professor Ong-arj Viputsiri, M.D., Dr. P.H.)

 
..... Thesis Advisor
(Assistant Professor Sathirakorn Pongpanich, M.A., Ph.D.)


..... Thesis Co-advisor
(Professor Francois Henry Nosten, Ph.D.)


..... Member
(Kanungnit Congpuong, Ph.D.)

ศาริกา พัฒนสิน : การประเมินความน่าเชื่อถือในการวินิจฉัยการติดเชื้อมาลาเรีย โดยใช้หลักการตรวจหาแอนไฮน์ pLDH (OPTIMAL-IT) ศึกษาในกลุ่มประชากรตามแนวชายแดนไทย-พม่า (EVALUATION OF PARASITE LACTATE DEHYDROGENASE (pLDH) ASSAY (OPTIMAL-IT) FOR DETECTION OF MALARIA ON THAI-BURMESE BORDER) อาจารย์ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิเศษ ดร. สติกร พงศ์พานิช ; 106 หน้า ISBN 974-9599-10-1

ความสามารถในการตรวจวินิจฉัยมาลาเรียของชุดตรวจสำเร็จรูป 2 ชนิด ได้แก่ OptiMAL-IT® (DiaMed, Switzerland) และ Paracheck-Pf® (Orchid Biomedical, Goa, India) ได้ถูกศึกษาในผู้ป่วยมาลาเรียที่มีอาการไม่รุนแรง ค่าความไว (sensitivity), ความจำเพาะ (specificity), Positive Predictive Value (PPV) และ Negative Predictive Value (NPV) ของชุดตรวจแต่ละชนิด คำนวณโดยถือเอาวิธีการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์เป็นมาตรฐาน (gold standard)

ค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของชุดตรวจ OptiMAL-IT ต่อการตรวจหาเชื้อ *P. falciparum* เท่ากับ 88% และ 92% ตามลำดับ และต่อการตรวจหาเชื้อที่ไม่ใช่ *P. falciparum* (*plasmodium non-falciparum*) มีความไวเท่ากับ 66% และความจำเพาะเท่ากับ 99%

ค่าความไวและความจำเพาะของชุดตรวจ Paracheck-Pf ต่อการตรวจหาเชื้อ *P. falciparum* เท่ากับ 90% และ 96% ตามลำดับ

สำหรับการตรวจหา *Plasmodium falciparum* พบว่า ค่าความไวของชุดตรวจทั้ง 2 ชนิด ลดลง เมื่อความหนาแน่นของปรสิตในเลือด (*parasitaemia*) < 500 ตัว/1ไมโครลิตรเลือด (0.01% ของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ) ที่ระดับความหนาแน่นของปรสิตในเลือด < 100 ตัว/1ไมโครลิตรเลือด (0.002% ของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ) ค่าความไวของชุดตรวจทั้ง 2 ชนิดเหลือเพียง 20% ค่าความไวของชุดตรวจ OptiMAL-IT ต่อเชื้อที่ไม่ใช่ *P. falciparum* (*non-falciparum*) ลดลงเมื่อความหนาแน่นของปรสิตในเลือด < 5000 ตัว/1ไมโครลิตรเลือด (0.1% ของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ) และเหลือเพียง 10% เมื่อความหนาแน่นของปรสิตในเลือด < 100 ตัว/1ไมโครลิตรเลือด (< 0.002% ของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ)

ความสามารถในการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *Plasmodium falciparum* ของชุดตรวจทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันโดยมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

สาขาวิชา การพัฒนาระบบสาธารณสุขลายมือชื่อนิสิต.....
ปีการศึกษา 2545.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

PH: 012254 : MAJOR HEALTH SYSTEMS DEVELOPMENT PROGRAMME

KEY WORD : MALARIA/pLDH/HRP-2/RAPID TESTS/OPTIMAL-IT/PARACHECK PF

SARIKA PATTANASIN: EVALUATION OF PARASITE
LACTATE DEHYDROGENASE (pLDH) ASSAY (OPTIMAL-IT)

FOR DETECTION OF MALARIA ON THAI-BURMESE BORDER

THESIS ADVISOR: ASSISTANT PROFESSOR SATHIRAKORN

PONGPANICH, M.A., Ph.D., 106 pp. ISBN 974-9599-10-1

The performances of OptiMAL- IT®(DiaMed, Switzerland) and Paracheck-Pf® (Orchid Biomedical, Goa, India) malaria rapid tests were evaluated in symptomatic patients with uncomplicated falciparum malaria. The sensitivity, specificity, positive predictive and negative predictive values of the tests were calculated taking microscopy as the “gold standard”. The sensitivity and specificity of OptiMAL-IT® for the diagnosis of *Plasmodium falciparum* parasites were 88% and 92% respectively. For *Plasmodium non-falciparum*, the sensitivity was 65% and specificity was 99%. The sensitivity and specificity of Paracheck-Pf® for *Plasmodium falciparum* was 90% and 96% respectively. For *Plasmodium falciparum* the sensitivity of both tests decreased markedly at parasitaemia < 500 parasites/μL (0.01% of infected RBC). At parasitaemia < 100 parasites/μL (0.002% infected RBC) the sensitivity was only 20% for both tests. The sensitivity of OptiMAL-IT® for *non-falciparum* species decreased markedly at parasitaemia < 5000 parasites/μL (0.1% IRBC) and was only 10% at the parasitaemia less than 100 parasites/μL (< 0.002% IRBC). The performances of both tests for *Plasmodium falciparum* detection were not significantly different ($p > 0.05$).

Field of study Health Systems Development

Academic year 2002

Student's signature

Advisor's signature

Co-advisor's signature

Sarika Pattanasin
Sathirakorn Pongpanich
AMP

ACKNOWLEDGEMENTS

First of all, I would like to give a special thanks to Dr. François Nosten and The Shoklo Malaria Research Unit (SMRU), MaeSot, Tak province, Thailand for giving me the permission to develop the project as my thesis. This study would not have been completed without the great support of Dr. François Nosten and Mr. Stephane Proux of SMRU and DiaMed Switzerland for giving the OptiMAL-IT tests used in the study. The study protocol was organized by the collaboration of Dr. François Nosten and Dr. Patrick Jacquire of DiaMed, Switzerland. The dedication of the lab staff of SMRU contributed to the success of this study. I would like to give a special thanks to Lily, Naw Htoo Paw, Naw Sher Gay, Berney Htoo, P Sam, Day Thee, Thida, A Micho, Siam and Thaku for their excellent and experienced microscopy skills. Particular thanks to Maw Jaw Dee (Mr. Paracheck) for crossing the Moei river during the hide tide period of the rainy season everyday and Ban Maw Ker Thai medic team: Lucy, Samya, Htoo Wah, Saw Tah and Mia Oo. Thanks also to Mr. Tip Ruchaitrakul and Mr. Prayad for organizing the transportation to Ban Mor Ker Thai. Particular thanks to Khun Alan Brockman and Khemajitra Jenjaroen for maintaining the record and location for the specimens. Would like to thanks also Dr. Rose McGready for her enthusiaistics and excellent comments for the project. Finally I would like to thanks again and again to the project advisor, Dr. François Nosten, for his academic and intellectual contribution from the beginning until the end.

TABLE OF CONTENTS

	Page
ACKNOWLEDGEMENTS	v
TABLE OF CONTENTS	vii
LIST OF TABLES	ix
LIST OF FIGURES	x
ABBREVIATIONS	xi
CHAPTER I ESSAY	1
References	21
CHAPTER II PROPOSAL	25
References	36
CHAPTER III RESULTS	37
CHAPTER IV DISCUSSION	53
References	57
CHAPTER V PRESENTATION	59
CHAPTER VI ANNOTATED BIBLIOGRAPHY	68
References	80

APPENDICES

APPENDIX 1 : Consent form (Thai)	86
APPENDIX 2 : Consent form (English).....	87
APPENDIX 3 : Consent form (Karen).....	88
APPENDIX 4 : Microscopy form I.....	89
APPENDIX 5 : Microscopy form II.....	90
APPENDIX 6 : Microscopy form III.....	91
APPENDIX 7 : OptiMAL Result form.....	92
APPENDIX 8 : Paracheck Result form.....	93
APPENDIX 9 : EDTA List.....	94
APPENDIX 10 : PCR List.....	95
APPENDIX 11 : OptiMAL Time Record.....	96
APPENDIX 12 : Microscopic Examination Procedure	97
APPENDIX 13 : OptiMAL-IT® Assay Procedure.....	98
APPENDIX 14 : Paracheck PF® Assay Procedure.....	99
APPENDIX 15 : OptiMAL-IT® Leaflet.....	100
APPENDIX 16 : Paracheck PF® Leaflet.....	103
 CURRICULUM VITAE	 105

LIST OF TABLES

		Page
Table 1 :	Selected recent field studies that evaluated the accuracy of malaria dipsticks	11
Table 2 :	Activities plan for OptiMAL-IT evaluation study.....	33
Table 3 :	Estimate expenditure for study evaluation.....	34
Table 4 :	Age group * Sex Crosstabulation.....	38
Table 5 :	OptiMAL-IT result*Species result 2 nd level Crosstabulation Count.....	39
Table 6 :	Paracheck result* Species result 2 nd level Crosstabulation Count.....	39
Table 7 :	Parasitaemia group* Species result 2 nd level Crosstabulation Count.....	40
Table 8 :	Overall numbers of microscopy, OptiMAL-IT and Paracheck results.....	40
Table 9 :	Summary of diagnostic performance of OptiMAL-IT and Paracheck Pf.....	49
Table 10 :	Summary of sensitivity & Parasitaemia of OptiMAL-IT and Paracheck Pf.....	50

LIST OF FIGURES

	Page
Figure 1 : Areas with reduced susceptibility of <i>P.falciparum</i> to chloroquine and sulfadoxine-pyrimethamine (SP) and areas designated as multi-drug resistant according to WHO.(From The Lancet Infectious Diseases Vol.2, 2002).....	4
Figure 2 : Schematic diagram of the first OptiMAL assay, based on the detection of lactate dehydrogenase from the parasites (pLDH).....	13

ABBREVIATIONS

χ^2	Chi square test
°C	Degree Celcius
μ L	Microliter
AO	Acridine-Orange
BCP	Benzothiocarboxypurine
CI	Confident Interval
cu.mm	cubic milimeter
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylene Diamine Tetracetic Acid
Hct	Hematocrit
HRP	Histidine Rich Protein
HTD	Hospital for Tropical Disease
LDH	Lactate dehydrogenase
M/S	Malaria smear
n	Number of cases
Neg	Negative
non PF	Non <i>Plasmodium falciparum</i>
NPV	Percent of negative tests that are truly negative
OPD	Out Patient Department
OR	Oregon
PCR	Polymerase Chain Reaction
PF	<i>Plasmodium falciparum</i>

PFG	<i>Plasmodium falciparum</i> gametocyte
PM	<i>Plasmodium malariae</i>
PO	<i>Plasmodium ovale</i>
PV	<i>Plasmodium vivax</i>
pLDH	Parasite Lactate Dehydrogenase
PPV	Percent of positive tests that are truly positive
QBC	Quantitative Buffy Coat
Q.C	Quality Control
R-123	Rhodamine-123
RBC	Red Blood Cell
RDTs	Rapid Diagnostic Tests
ICT	Immunochromatographic Test
IT	Individual Test
sd	Standard deviation
SP	Sulfadoxine-pyrimethamine
SPSS	Statistical Package for Social Science
STD	Sexual Transmitted Diseases
SMRU	Shoklo Malaria Research Unit
VBDC	Center of Vector Borne Disease
WBC	White Blood Cell
WHO	World Health Organization