

ABSTRACT

In providing laboratory diagnostic service for *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), there is a need to develop an accurate and affordable test kit. This study aimed to assess efficiency and cost of in-house real-time PCR assay as compare to commercial real-time PCR test kit in the diagnosis of *C. trachomatis* infection in routine service sexually transmitted infections (STIs) laboratory. In this study, known 100 positive and 30 negative samples for *C. trachomatis* as identified by cell culture, a standard method in diagnosis of *C. trachomatis*, were used in the comparison. All 130 samples were tested by in-house real-time PCR in which primer and probe was developed to specify with *C. trachomatis* at cryptic plasmid, and commercial test kit (Anyplex CT/NG real-time detection (V3.1) kit, Gene Excellence Co. LTD., South Korea). Sensitivity, specificity, positive and negative predictive value were analyzed both for in-house real-time PCR and commercial kit against cell culture. Costs of the two tests were compared.

Results showed that tests performed by in-house real time PCR was accurate and comparable with commercial real time PCR kit. The sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values of the in-house real time PCR were 100%, 96.7%, 99% and 100%, respectively. Cost of the in-house real-time PCR was 177 baht/test while commercial kit was 808 baht/test.

One of the samples negative for *C. trachomatis* by cell-culture was found to be positive both by in-house real-time PCR and commercial kit. It is possible that real-time PCR technique may have higher sensitivity value over cell culture method. Based on the finding from this study, it can be concluded that in house real time PCR has excellent accuracy similar to commercial real-time PCR kit but with lower cost. The in-house real-time PCR for *C. trachomatis* detection kit can be used in routine service STIs Laboratory.

Keywords: *Chlamydia trachomatis*, Polymerase Chain Reaction (PCR), In-house real-time PCR

บทคัดย่อ

ในงานบริการห้องปฏิบัติการโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์มีความจำเป็นต้องพัฒนาและใช้ชุดตรวจคัดกรองการติดเชื้อ *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) ซึ่งมีความถูกต้องแม่นยำ ราคาไม่แพง การศึกษาวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ประเมินประสิทธิภาพและราคาต้นทุน เปรียบเทียบระหว่างวิธี In-house real-time PCR กับชุดตรวจสำเร็จรูปที่ใช้ในปัจจุบัน เพื่อตรวจหาการติดเชื้อ *C. trachomatis* ในขั้นตอนการศึกษาวิจัย ผู้วิจัยได้นำตัวอย่างจำนวน 100 ตัวอย่างที่พบผลบวก และ 30 ตัวอย่างที่พบผลลบ ต่อเชื้อ *C. trachomatis* ด้วยวิธี cell culture ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานมาศึกษาเปรียบเทียบกัน ตัวอย่างทั้งหมด 130 ตัวอย่าง ได้ถูกนำไปทดสอบด้วยชุดตรวจ in-house real-time PCR ซึ่งได้พัฒนา primer และ probe ตำแหน่ง Cryptic Plasmid (CP) ที่จำเพาะต่อเชื้อ *C. trachomatis* เปรียบเทียบกับชุดตรวจสำเร็จรูป จากนั้นได้วิเคราะห์ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก ค่าทำนายผลลบ ของชุดตรวจ In-house real-time PCR เปรียบเทียบกับชุดตรวจสำเร็จรูป (ชุดตรวจ Anyplex CT/NG real-time detection (V3.1), บริษัทยีนเอ็กเซลเลนซ์, ประเทศเกาหลีใต้) พร้อมทั้งได้คำนวณต้นทุนเปรียบเทียบระหว่างสองวิธี ผลการศึกษาวิจัยพบว่า ชุดตรวจ in-house real-time PCR kit ให้ผลถูกต้องเทียบเท่ากับชุดตรวจสำเร็จรูป การศึกษานี้พบความไว ร้อยละ 100 ความจำเพาะ ร้อยละ 96.7 ค่าทำนายผลบวก ร้อยละ 99 และค่าทำนายผลลบ ร้อยละ 100 ตามลำดับ ราคาต้นทุนวิธี In-house real-time PCR 177 บาท/test ส่วนชุดตรวจสำเร็จรูป ราคา 808 บาท/test

ในการศึกษาครั้งนี้ พบตัวอย่าง 1 ตัวอย่าง ที่ให้ผลบวก *C. trachomatis* ทั้งสองวิธี คือ In-house real-time PCR และชุดตรวจสำเร็จรูป ขณะที่ผลเพาะเลี้ยงเซลล์ให้ผลลบ อาจเป็นไปได้ว่าวิธี real-time PCR มีความไวสูงกว่าวิธีเพาะเลี้ยงเซลล์ และผลจากการวิจัยชี้ชัดว่า การตรวจหาการติดเชื้อ *C. trachomatis* ด้วยวิธี In-house real-time PCR ให้ผลถูกต้องเทียบเท่าชุดตรวจสำเร็จรูป แต่มีราคาถูกกว่ามาก ชุดตรวจ In-house real-time PCR นี้สามารถนำมาใช้ตรวจงานประจำในห้องปฏิบัติการโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์

คำสำคัญ: เชื้อคลอมาอีเดีย ทราโคมาติส, เทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง, วิธีเรียลไทม์พีซีอาร์ที่พัฒนาขึ้นเอง