

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Article

การเปรียบเทียบวิธี Xpert CT/NG กับการย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อ สำหรับ ตรวจหาเชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*

Comparison of Xpert CT/NG Assay with Gram Stain and Culture for Identifying *Neisseria gonorrhoeae*

อนุกุล บุญคง

ปฐมพงศ์ แยมปั่น

ศุภณัฐ พรหมพลอย

สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3

จังหวัดนครสวรรค์

Anugoon Bunkhong

Patompong Yampun

Supanat Promploy

Office of Disease Prevention and Control Region 3,

Nakhon Sawan Province

Received: February 15, 2022 | Revised: June 17, 2022 | Accepted: September 23, 2022

บทคัดย่อ

โรคหนองในเป็นหนึ่งในโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่สำคัญ ประเทศไทยมีอุบัติการณ์สูงในกลุ่มวัยรุ่น โรคนี้เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Neisseria gonorrhoeae* เป็นเชื้อเจริญยาก ปัจจุบันมีวิธีทางอณูชีววิทยา Xpert CT/NG สามารถตรวจเชื้อได้จากตัวอย่างปัสสาวะ วัตถุประสงค์การวิจัยนี้ต้องการเปรียบเทียบการใช้วิธี Xpert CT/NG กับวิธีดั้งเดิม ได้แก่ การย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อ ในการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ผู้ป่วยจำนวน 81 ราย ได้รับการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยโรคหนองใน ณ คลินิกโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2563 ถึง มกราคม 2564 ผลพบว่าวิธี Xpert CT/NG ให้ผลบวก 40 ตัวอย่าง (ร้อยละ 49.4, 95% CI ร้อยละ 38.5 – 60.3) การย้อมสีแกรมให้ผลบวก 33 ตัวอย่าง (ร้อยละ 40.7, 95% CI ร้อยละ 30.0 – 51.4) การเพาะเชื้อให้ผลบวก 27 ตัวอย่าง (ร้อยละ 33.3, 95% CI ร้อยละ 23.0 – 43.6) ความสอดคล้องของวิธี Xpert CT/NG กับการย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อ มี % Agreement เท่ากับร้อยละ 91.4, Kappa เท่ากับ 0.83 และ % Agreement เท่ากับร้อยละ 84.0, Kappa เท่ากับ 0.68 ตามลำดับ ระยะเวลาเฉลี่ยของการรายงานผลด้วยวิธี Xpert CT/NG เท่ากับ 1.1 วัน ข้อดีของวิธี Xpert CT/NG เป็นวิธีที่มีอัตราการตรวจพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* ที่สูง ตรวจได้รวดเร็ว และเก็บตัวอย่างได้ง่าย แต่เนื่องจากยังมีราคาแพง ควรใช้วิธี Xpert CT/NG เป็นการทดสอบเสริมจากวิธีดั้งเดิมเพื่อป้องกันผลลบปลอม และทำให้การวินิจฉัยโรคหนองในมีความถูกต้องยิ่งขึ้น

ติดต่อผู้พิมพ์: อนุกุล บุญคง

อีเมล: ulnuka@hotmail.com

Abstract

Gonorrhoea is one of the most important sexually transmitted diseases (STDs). In Thailand, the incidence is high among adolescents. This disease is caused by the contagious bacterium *Neisseria gonorrhoeae*. Nowadays, the molecular biology test Xpert CT/NG is used to diagnose *N. gonorrhoeae* from urine samples. The aim of this study was to compare the detection of *N. gonorrhoeae* between the Xpert CT/NG assay and the conventional assays, Gram stain and culture. 81 patients were screened for gonorrhoea at the STD clinic of the Office of Disease Prevention and Control Region 3, Nakhon Sawan, between May 2020 and January 2021. The Xpert CT/NG assay, Gram stain and culture yielded 40 positive samples (49.4%, 95% CI 38.5% – 60.3%), 33 positive samples (40.7%, 95% CI 30.0% – 51.4%) and 27 positive samples (33.3%, 95% CI 23.0%–43.6%), respectively. For agreement between the Xpert CT/NG assay with Gram stain and culture, the percent agreement and kappa were 91.4%, 0.83 and 84.0%, 0.68, respectively. The average turnaround time of the Xpert CT/NG was 1.1 days. The advantages of the Xpert CT/NG test were the high detection rate of *N. gonorrhoeae*, the rapid test and the simple sample collection. Due to the high costs, the Xpert CT/NG assay should be an additional test to the conventional assays to reduce false negative results and increase the accuracy of the results.

Correspondence: Anugoon Bunkhong

E-mail: ulnuka@hotmail.com

คำสำคัญ

เชื้อ *Neisseria gonorrhoeae*

วิธี Xpert CT/NG

การย้อมสีแกรม

Keywords

Neisseria gonorrhoeae

Xpert CT/NG assay

Gram stain

บทนำ

โรคหนองใน (Gonorrhoea) เป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ โดยเชื้อก่อโรค ได้แก่ *N. gonorrhoeae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบเซลล์อยู่ติดกันเป็นคู่ (Gram-negative diplococci) องค์การอนามัยโลก (World Health Organization : WHO) รายงานอุบัติการณ์ผู้ติดเชื้อ *N. gonorrhoeae* ทั่วโลกในปี พ.ศ. 2563 ไว้ที่ 82.4 ล้านราย โดยในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบอุบัติการณ์ 21.1 ล้านราย⁽¹⁾ สำหรับโรคหนองในนั้นพบว่าการดื้อยาเพิ่มขึ้น⁽²⁾ ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งสหภาพยุโรป (European Centre for Disease Prevention and Control : ECDC) รายงานในปี พ.ศ. 2561 พบผู้ป่วยหนองในดื้อยาแบบ Extensively drug-resistant (XDR) มีความสัมพันธ์กับการเดินทางมาท่องเที่ยวในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้⁽³⁾ สำหรับประเทศไทย โรคหนองในเป็นหนึ่งในโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์หลัก 5

ประเภทที่สำคัญ ได้แก่ หนองใน (Gonorrhoea), หนองในเทียม (Non-specific urethritis : NSU หรือ Nongonococcal urethritis: NGU), ซิฟิลิส (Syphilis), กามโรค ต่อม และ ท่อน้ำเหลือง (Lymphogranuloma venereum: LGV) และแผลริมอ่อน (Chancroid) ปี พ.ศ. 2564 โรคหนองในพบอัตราป่วยมากเป็นอันดับที่สอง รองจากโรคซิฟิลิส โดยมีอัตราป่วยเท่ากับ 7.7 ต่อแสนประชากร พบมากที่สุดในช่วงอายุ 15 – 24 ปี (ร้อยละ 64.3)⁽⁴⁾

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการมีความสำคัญในการช่วยวินิจฉัยและยืนยันเชื้อก่อโรค การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยโรคหนองในของประเทศไทย ส่วนใหญ่ยังคงใช้วิธีดั้งเดิม ได้แก่ การย้อมสีแกรม (Gram stain) แล้วตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ สามารถตรวจได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป สำหรับการเพาะเชื้อ (Culture) มีการตรวจในบางห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมด้านบุคลากรและเครื่องมือ แม้การย้อมสีแกรมจะเป็นวิธีที่ทำได้รวดเร็ว และมีความจำเพาะ (Specificity) สูง แต่พบว่ามี ความไว (Sensitivity) ค่อนข้างต่ำในผู้ติดเชื้อที่ไม่มีอาการ⁽⁵⁾ อีกทั้งมีรายงานว่าเชื้อ *N. meningitidis* ซึ่งมีรูปร่างเหมือนกับ *N. gonorrhoeae* ทำให้เกิดท่อปัสสาวะอักเสบ (Urethritis) ได้^(6,7,8) อาจทำให้การวินิจฉัยเชื้อ *N. gonorrhoeae* จากการย้อมสีแกรมผิดพลาดได้เช่นกัน สำหรับวิธีเพาะเชื้อเป็นวิธีมาตรฐานซึ่งมีความไวความจำเพาะสูง⁽⁹⁾ แต่ทดสอบได้เฉพาะเชื้อที่มีชีวิต และเนื่องจากเชื้อสาเหตุ คือ *N. gonorrhoeae* เป็นเชื้อเจริญยาก (Fastidious bacteria) อาจตายได้จากกระบวนการเก็บตัวอย่างและขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการที่ไม่เหมาะสม ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีตรวจทางอณูชีววิทยาที่ให้ผลรวดเร็ว โดยหนึ่งในนั้น คือ การตรวจด้วยวิธี Xpert CT/NG (Cepheid, USA) ใช้หลักการ Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) สามารถตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* (NG) และ *Chlamydia trachomatis* (CT) ได้จากตัวอย่างปัสสาวะ (Urine) มีความสะดวก และรวดเร็ว โดยไม่จำเป็นต้องใช้ตัวอย่างส่งตรวจจากการป้าย (Swab) ที่ท่อปัสสาวะ (Urethra) หรือช่องคลอด (Vagina) หรือปากมดลูก (Cervix) แบบวิธีดั้งเดิม เป็นที่มาของการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจหา *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธี Xpert CT/NG กับวิธีดั้งเดิม เพื่อใช้เป็นแนวทางของห้องปฏิบัติการโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ในการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัย และการเฝ้าระวัง ป้องกัน ควบคุมโรคหนองใน ที่ปัจจุบันยังคงเป็นปัญหาในพื้นที่เขตสุขภาพที่ 3 และประเทศไทย

วัสดุและวิธีการศึกษา

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาข้อมูลย้อนหลัง โดยใช้ข้อมูลตัวอย่างส่งตรวจวินิจฉัยโรคหนองใน ด้วยวิธีการย้อมสีแกรม การเพาะเชื้อ และวิธี Xpert CT/NG ของห้องปฏิบัติการโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ ในช่วงเดือน พฤษภาคม 2563 ถึง มกราคม 2564 โดยคณะผู้วิจัยเลือกเฉพาะตัวอย่างส่งตรวจเพื่อการวินิจฉัยโรคหนองในของผู้ป่วยไม่ซ้ำราย ที่มีข้อมูลการย้อมสีแกรม การเพาะเชื้อ และการตรวจ Xpert CT/NG ครบถ้วน ซึ่งมีจำนวนทั้งสิ้น 81 ราย โดยไม่มีการสุ่มตัวอย่าง

การตรวจวินิจฉัยเชื้อ *N. gonorrhoeae* ทางห้องปฏิบัติการ เป็นสองวิธี คือ วิธีดั้งเดิม และ วิธี Xpert CT/NG ดังนี้

วิธีดั้งเดิม เป็นการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ในตัวอย่างส่งตรวจจากการ Swab ซึ่งมีวิธีการตรวจดังนี้

การย้อมสีแกรม ทำการเก็บตัวอย่าง Swab โดยเพศชายเก็บ 1 ตำแหน่ง ได้แก่ Urethra สำหรับเพศหญิงเก็บ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ Urethra, Vagina และ Cervix ทำการสเมียร์ตัวอย่างบนกระจกสไลด์ เมื่อตัวอย่างแห้งทำการตรึงผ่านเปลวไฟ นำไปย้อมสีแกรม แล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า โดยตรวจหาเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear (PMN) และตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย Gram-negative diplococci ที่อยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PMN

การเพาะเชื้อและพิสูจน์ชนิดเชื้อ *N. gonorrhoeae* ทำการเก็บตัวอย่าง Swab โดยเพศชายเก็บ 1 ตำแหน่ง ได้แก่ Urethra สำหรับเพศหญิงเก็บ 2 ตำแหน่ง ได้แก่ Urethra และ Cervix ทำการป้ายตัวอย่างลงบนอาหาร Bangrak I medium⁽¹⁰⁾ เป็นรูปตัว Z ใช้ Loop ปราสจากเชื้อทำการ Cross streak นำอาหารใส่ Candle jar บ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 36 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 24 - 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นตรวจสอบการเจริญของเชื้อ โดยดูลักษณะโคโลนี และย้อมสีแกรม แล้วพิสูจน์ชนิดของเชื้อ *N. gonorrhoeae* ทางชีวเคมีเบื้องต้นด้วย Oxidase test และ Superoxol test ($30\%H_2O_2$) เมื่อผลการทดสอบทั้งสองวิธีให้ผลบวก ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดย Subculture ลงบนอาหาร Chocolate agar นำเชื้อที่แยกได้มาพิสูจน์ชนิดของเชื้อด้วยวิธี Carbohydrate utilization test กับน้ำตาล Glucose, Maltose และ Sucrose ซึ่งเชื้อ *N. gonorrhoeae* สามารถหมักน้ำตาลได้เพียงชนิดเดียว คือ Glucose

วิธี Xpert CT/NG เป็นการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* จากตัวอย่างปัสสาวะช่วงแรก (First catch urine) ซึ่งเก็บหลังจากการทำ Swab โดยตรวจหาสารพันธุกรรมในโครโมโซมของเชื้อด้วยหลักการ Real-time PCR สำหรับเชื้อ *N. gonorrhoeae* ตรวจหาพื้นที่จำเพาะสองตำแหน่ง ได้แก่ NG2 และ NG4 และเชื้อ *C. trachomatis* ตรวจหาพื้นที่จำเพาะหนึ่งตำแหน่ง ได้แก่ CT1 การทดสอบทำตามเอกสารกำกับน้ำยาของผู้ผลิต⁽¹¹⁾ โดยดูดปัสสาวะปริมาตร 1 ml ใส่ในตลับทดสอบ Xpert CT/NG จากนั้นนำไปใส่เครื่อง GeneXpert เครื่องใช้เวลาตรวจวิเคราะห์ 90 นาที

การวิเคราะห์ทางสถิติ ข้อมูลของตัวอย่างส่งตรวจวินิจฉัยโรคหนองในถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ ได้แก่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่ามัธยฐาน (Median) ใช้บรรยายลักษณะทั่วไปของข้อมูล ค่า 95% Confidence interval (95% CI) ใช้ประมาณค่าช่วงอัตราผลบวกของการตรวจแต่ละวิธี ค่า % Agreement และ Kappa ใช้เปรียบเทียบความสอดคล้องของผลการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วย Xpert CT/NG กับการย้อมสีแกรมและการเพาะเชื้อ โดยการแบ่งระดับความสอดคล้องระหว่างวิธีตรวจด้วยค่า Kappa ใช้เกณฑ์ของ Landis และ Koch⁽¹²⁾ ดังนี้ ระดับแย่ (Poor) ค่า Kappa < 0.40, ระดับดี (Good) ค่า Kappa = 0.40-0.75 และระดับยอดเยี่ยม (Excellent) ค่า Kappa > 0.75

ผลการศึกษา

นำเสนอตามวัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธี Xpert CT/NG กับวิธีดั้งเดิม

ตัวอย่างส่งตรวจวินิจฉัยโรคหนองในของผู้ป่วย 81 ราย ผลการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ทางห้องปฏิบัติการด้วยการย้อมสีแกรมหาเชื้อ Gram-negative diplococci พบผลบวก 33 ตัวอย่าง โดยพบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PMN 70 ตัวอย่าง การเพาะเชื้อพบผลบวก 27 ตัวอย่าง สำหรับการตรวจ Xpert CT/NG พบผลบวกรวม 40 ตัวอย่าง โดยแยกเป็นผลบวกที่พบเฉพาะเชื้อ *N. gonorrhoeae* อย่างเดียว (NG+, CT-) 30 ตัวอย่าง และพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* ร่วมกับ *C. trachomatis* (NG+, CT+) 10 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังพบการติดเชื้อ *C. trachomatis* ในตัวอย่างที่ให้ผลลบกับเชื้อ *N. gonorrhoeae* (NG-, CT+) 10 ตัวอย่าง รายละเอียดดังตารางที่ 1 อัตราการตรวจพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* ทั้งสามวิธีพบว่าวิธี Xpert CT/NG ให้ผลบวกสูงสุดร้อยละ 49.4 (95% CI ร้อยละ 38.5 – 60.3) รองลงมาเป็นการย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อ โดยให้ผลบวกร้อยละ 40.7 (95% CI ร้อยละ 30.0 – 51.4) และร้อยละ 33.3 (95% CI ร้อยละ 30.0 – 51.4) ตามลำดับ รายละเอียดดังตารางที่ 2 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกกับการทดสอบทั้งสามวิธีพบว่าให้ผลบวกกับ PMN ทั้งหมด ระยะเวลาเฉลี่ยของการรายงานผลทางห้องปฏิบัติการสำหรับวิธี Xpert CT/NG เท่ากับ 1.1 วัน ในขณะที่การเพาะเชื้อมีระยะเวลาเฉลี่ยของการรายงานผลเท่ากับ 2.8 วัน

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวินิจฉัยโรคหนองในทางห้องปฏิบัติการ (n = 81)

วิธีการตรวจ	จำนวน	ร้อยละ
การย้อมสีแกรม		
Gram-negative diplococci		
Negative	48	59.3
Positive	33	40.7
PMN		
Negative	11	13.6
Positive	70	86.4
การเพาะเชื้อ		
Negative	54	66.7
Positive	27	33.3
Xpert CT/NG		
Negative NG and CT (NG-, CT-)	31	38.3
Negative NG but Positive CT (NG-, CT+)	10	12.3
Positive only NG (NG+, CT-)	30	37.1
Positive NG and CT (NG+, CT+)	10	12.3

ตารางที่ 2 อัตราการตรวจพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* จากการตรวจด้วยวิธีการย้อมสีแกรม การเพาะเชื้อ และ Xpert CT/NG (n = 81)

วิธีการตรวจ	จำนวนผลบวก	อัตราผลบวก (ร้อยละ)	95% CI
การย้อมสีแกรม	33	40.7	30.0 – 51.4
การเพาะเชื้อ	27	33.3	23.0 – 43.6
Xpert CT/NG	40	49.4	38.5 – 60.3

การเปรียบเทียบผลการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* รายตัวอย่าง ระหว่างวิธี Xpert CT/NG กับวิธีดั้งเดิม ได้แก่ การย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อ พบว่าตัวอย่างที่ให้ผลลบจากวิธี Xpert CT/NG 41 ตัวอย่าง ให้ผลตรงกันทั้งหมดกับการตรวจทั้งการย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อ ในขณะที่ตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากวิธี Xpert CT/NG เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการย้อมสีแกรม พบว่าให้ผลตรงกัน 33 ตัวอย่าง ให้ผลต่างกัน 7 ตัวอย่าง และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเพาะเชื้อ พบว่าให้ผลตรงกัน 27 ตัวอย่าง ต่างกัน 13 ตัวอย่าง ความสอดคล้องของวิธี Xpert CT/NG กับการย้อมสีแกรมพบ % Agreement เท่ากับร้อยละ 91.4 ค่า Kappa เท่ากับ 0.83 ซึ่งอยู่ในระดับยอดเยี่ยม สำหรับสอดคล้องของวิธี Xpert CT/NG กับการเพาะเชื้อพบ % Agreement เท่ากับร้อยละ 84.0 ค่า Kappa เท่ากับ 0.68 ซึ่งอยู่ในระดับดี รายละเอียดดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความสอดคล้องของผลการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ระหว่างวิธี Xpert CT/NG กับการย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อ (n = 81)

วิธีการตรวจ	การย้อมสีแกรม		การเพาะเชื้อ	
Xpert CT/NG	Negative	Positive	Negative	Positive
Negative	41	0	41	0
Positive	7	33	13	27
% Agreement (Kappa)	91.4 (0.83)		84.0 (0.68)	

เมื่อพิจารณาปัจจัยส่วนบุคคลของตัวอย่างผู้ป่วยที่ส่งตรวจกับผลการตรวจปัสสาวะหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธี Xpert CT/NG ในด้านของเพศพบว่า เพศชายมีจำนวนตัวอย่างส่งตรวจมากกว่าเพศหญิงในอัตราส่วน 3.8:1 และเพศชายมีอัตราการตรวจพบเชื้อร้อยละ 53.1 มากกว่าเพศหญิงที่พบร้อยละ 35.3 ค่ามัธยฐานของอายุผู้ป่วยเท่ากับ 31.0 ปี (15 – 79 ปี) ช่วงอายุที่มีอัตราพบเชื้อมากที่สุด ได้แก่ 11 – 20 ปี พบเชื้อสูงถึงร้อยละ 84.6 สถานภาพที่พบเชื้อมากที่สุด ได้แก่ สถานภาพโสด พบเชื้อร้อยละ 61.2 สำหรับในด้านการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่มีการศึกษาระดับปริญญาตรีขึ้นไปมีอัตราพบเชื้อมากกว่าผู้ป่วยที่มีการศึกษาต่ำกว่าปริญญาตรี โดยพบร้อยละ 59.2 และ 49.2 ตามลำดับ อาชีพสามอันดับแรกที่มีอัตราพบเชื้อมากที่สุด ได้แก่ นักเรียน/นักศึกษา, รับราชการ และค้าขาย โดยพบเชื้อร้อยละ 90.0, 66.7 และ 55.6 ตามลำดับ รายละเอียดดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปัจจัยส่วนบุคคลและผลการตรวจพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธี Xpert CT/NG (n = 81)

ปัจจัยส่วนบุคคล	จำนวน	ร้อยละ	ผลพบเชื้อ NG ด้วยวิธี Xpert CT/NG	
			จำนวนผลบวก	อัตราผลบวก (ร้อยละ)
เพศ				
ชาย	64	79.0	34	53.1
หญิง	17	21.0	6	35.3
อายุ				
11 – 20	13	16.0	11	84.6
21 – 30	27	33.3	17	63.0
31 – 40	14	17.3	4	28.6
41 – 50	7	8.7	3	42.9
51 – 60	11	13.6	4	36.4
> 60	9	11.1	1	11.1
สถานภาพ				
โสด	49	60.5	30	61.2
สมรส	23	28.4	5	21.7
หม้าย/หย่าร้าง	7	8.6	4	57.1
ไม่ระบุ	2	2.5	1	50.0
การศึกษา				
ต่ำกว่าปริญญาตรี	63	77.8	31	49.2
ตั้งแต่ปริญญาตรี	17	21.0	9	52.9
ไม่ระบุ	1	1.2	0	0.00
อาชีพ				
รับราชการ	6	7.4	4	66.7
พนักงานบริษัท	6	7.4	3	50.0
เกษตรกรกรรม	7	8.7	1	14.3
ค้าขาย	9	11.1	5	55.6
ธุรกิจส่วนตัว	10	12.3	4	40.0
นักเรียน/นักศึกษา	10	12.3	9	90.0
รับจ้าง	25	30.9	12	48.0
อื่นๆ	8	9.9	2	25.0

วิจารณ์

เชื้อ *N. gonorrhoeae* ติดต่อจากคนสู่คน ซึ่งคนถือเป็นแหล่งรังโรคเดียวของเชื้อ โดยเชื้อเจริญเติบโตที่ทางเดินปัสสาวะและอวัยวะสืบพันธุ์ (Urogenital tract) ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่ไม่มีอาการ

โดยเฉพาะในเพศหญิง เชื่อใช้ Pili ช่วยในการยึดกับเซลล์ และมีการใช้โปรตีนในกลุ่ม Gonococcal adhesin จับกับ Receptor ของเซลล์ เชื่อสามารถกระตุ้นให้เกิดการอักเสบและเหนี่ยวนำเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PMN มาจับกินเชื้อ ทำให้เกิดเป็นหนอง (Purulent exudate)⁽¹³⁾ ที่ผ่านมาใช้การตรวจแบบดั้งเดิมทั้งการย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อเพื่อช่วยยืนยันการวินิจฉัยโรคหนองใน การเก็บตัวอย่างจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์หย�เข้าไปในทางเดินปัสสาวะและอวัยวะสืบพันธุ์และทำการ Swab หนองหรือสารคัดหลั่ง ส่งตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ทางห้องปฏิบัติการ แต่ด้วยการพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจหาสารพันธุกรรมที่จำเพาะกับเชื้อ ซึ่งมีความไวสูง โดยสามารถเก็บตัวอย่างปัสสาวะเพื่อตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ได้ ทำให้ลดวิธีการเก็บตัวอย่างที่ต้องลุกเข้าไปในอวัยวะของผู้ป่วย⁽¹⁴⁾ โดยหนึ่งในวิธีการตรวจทางอณูชีววิทยาที่ได้รับการพัฒนาขึ้นมา คือ วิธี Xpert CT/NG สามารถใช้งานได้ง่าย และตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ได้จากตัวอย่างปัสสาวะ ผู้ป่วยสามารถทำการเก็บตัวอย่างได้เอง สำหรับงานวิจัยนี้เป็นการเปรียบเทียบการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธีดั้งเดิมและวิธี Xpert CT/NG จาก 81 ตัวอย่างพบว่าวิธี Xpert ให้ผลบวกจำนวน 40 ตัวอย่าง (ร้อยละ 49.4) สูงกว่าวิธีดั้งเดิม ได้แก่ การย้อมสีแกรมให้ผลบวก 33 ตัวอย่าง (ร้อยละ 40.7) การเพาะเชื้อให้ผลบวก 27 ตัวอย่าง (ร้อยละ 33.3) สอดคล้องกับการศึกษาของ Situ และคณะ⁽¹⁵⁾ ที่ศึกษาตัวอย่างของผู้ป่วยเพศชายจำนวน 95 ตัวอย่าง พบว่าผลการตรวจ Xpert CT/NG และการย้อมสีแกรม ให้ผลบวกสูงสุด โดยให้ผลบวกจำนวนเท่ากันที่ 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 32.6) สำหรับการเพาะเชื้อให้ผลบวกน้อยที่สุดโดยให้ผลบวก 10 ตัวอย่าง (ร้อยละ 10.5)

เป็นที่น่าสังเกตว่า จากผลการวิจัยในครั้งนี้ ตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากการย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อทั้งหมดให้ผลบวกตรงกับวิธี Xpert CT/NG และอัตราผลบวกจากการตรวจด้วยวิธี Xpert CT/NG มีค่าใกล้เคียงกับผลบวกจากการย้อมสีแกรม ซึ่งทั้งสองวิธีดังกล่าวสามารถตรวจพบเชื้อได้แม้เป็นเชื้อที่ไม่มีชีวิต ในขณะที่การเพาะเชื้อสามารถตรวจพบได้เฉพาะเชื้อที่มีชีวิตเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบความสอดคล้องของผลการตรวจ พบว่าวิธี Xpert CT/NG กับการย้อมสีแกรมมี % Agreement เท่ากับร้อยละ 91.4 และค่า Kappa เท่ากับ 0.83 ถือได้ว่ามีความสอดคล้องของผลอยู่ในระดับยอดเยี่ยม ในขณะที่ความสอดคล้องของวิธี Xpert CT/NG กับการเพาะเชื้อมี % Agreement เท่ากับร้อยละ 84.0 และค่า Kappa เท่ากับ 0.68 ซึ่งเป็นความสอดคล้องที่อยู่ในระดับดี การศึกษาของ Han และคณะ⁽¹⁶⁾ พบว่าวิธี Xpert CT/NG มีความไวและความจำเพาะสูงทั้งการตรวจจากตัวอย่างปัสสาวะและตัวอย่าง Swab จาก Cervix เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิงด้วย DNA sequence analysis ทั้งนี้การศึกษาของ Xie และคณะ⁽¹⁷⁾ ซึ่งเป็นการทบทวนอย่างเป็นระบบ (Systematic review) ของประสิทธิภาพวิธี Xpert CT/NG พบว่าการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* จากตัวอย่างปัสสาวะมีค่า Pooled sensitivity และ Pooled specificity เท่ากับ 0.94 (95% CI 0.88 – 0.97) และ 1.00 (95% CI 1.00 – 1.00) ตามลำดับ จากที่กล่าวมาวิธี Xpert CT/NG เป็นหนึ่งในวิธีทางอณูชีววิทยาที่ประสิทธิภาพและให้ผลการตรวจที่รวดเร็วกว่าการเพาะเชื้อในการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* อย่างไรก็ตามการเพาะเชื้อยังคงมีความจำเป็นในการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อ *N. gonorrhoeae* ที่มีการพบเชื้อดื้อยาและมีแนวโน้มการดื้อยาเพิ่มมากขึ้น^(18,19,20)

ผลการตรวจตัวอย่างด้วยวิธี Xpert CT/NG นอกจากพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* แล้ว ยังตรวจพบการติดเชื้อร่วมระหว่าง *N. gonorrhoeae* และ *C. trachomatis* รวมทั้งตรวจพบเชื้อ *C. trachomatis* เพียงเชื้อเดียว สำหรับเชื้อ *C. trachomatis* เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่เจริญได้เฉพาะภายในเซลล์ ซึ่งพบเฉพาะในคน⁽²¹⁾ เป็นเชื้อสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคหนองในเทียม นอกจากนี้ยังมีเชื้ออื่นๆ ที่ก่อโรคหนองในเทียมได้ทั้งแบคทีเรีย เช่น *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma parvum*, *Gardnerella vaginalis* เชื้อไวรัสได้แก่ Herpes simplex virus (HSV) และ Epstein-Barr virus (EBV) เชื้อโปรโตซัว ได้แก่ *Trichomonas vaginalis* และเชื้อยีสต์กลุ่ม *Candida species*^(22,23) เนื่องจากเชื้อ *C. trachomatis* มีขนาดเล็กไม่สามารถย้อมสีแกรมและตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์พื้นสว่างที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป วิธีมาตรฐานต้องทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง^(24,25) ซึ่งมีขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อน การศึกษาที่ผ่านมาพบประสิทธิภาพของการหาเชื้อ *C. trachomatis* จากตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธี Xpert CT/NG มีค่า Pooled sensitivity และ Pooled specificity เท่ากับ 0.90 (95% CI 0.87 – 0.93) และ 1.00 (95% CI 0.99 – 1.00)⁽¹⁷⁾ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าวิธี Xpert CT/NG เป็นวิธีเสริมที่ดีในการช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อ *C. trachomatis*

ปัจจัยส่วนบุคคลกับอัตราผลบวกที่ตรวจพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธี Xpert CT/NG นั้น เพศชายมีอัตราผลบวกสูงกว่าเพศหญิง โดยอัตราส่วนจำนวนผลบวกเพศชายต่อเพศหญิงเท่ากับ 1:0.18 (34:6) สอดคล้องกับข้อมูลของประเทศไทยปี พ.ศ. 2564 ที่มีอัตราส่วนผู้ป่วยโรคหนองในเพศชายต่อเพศหญิงอยู่ที่ 1:0.16⁽⁴⁾ และสอดคล้องกับสถานการณ์ของโลก จากรายงานขององค์การอนามัยโลกพบว่าปี พ.ศ. 2563 พบผู้ป่วยโรคหนองในเพศชายจำนวน 46.4 ล้านราย ในขณะที่ผู้ป่วยเพศหญิงมีจำนวน 35.9 ล้านราย⁽¹⁾ ช่วงอายุผู้ป่วยที่มีอัตราการพบเชื้อสูงสุด ได้แก่ ช่วงอายุ 11 – 20 ปี ซึ่งเป็นช่วงวัยรุ่นสัมพันธ์กับอาชีพที่พบอัตราการพบเชื้อสูงสุด คือ นักเรียน/นักศึกษา กลุ่มเยาวชนเหล่านี้จำเป็นต้องได้รับการส่งเสริมให้มีความฉลาดทางสุขภาพ (Health literacy) ด้านเพศศึกษา และการป้องกันโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ทั้งจากครอบครัว โรงเรียน หน่วยงานด้านสาธารณสุข รวมทั้งกลุ่มเพื่อนด้วยกัน นอกจากนี้การตรวจคัดกรองโรคหนองในและติดต่อทางเพศสัมพันธ์อื่นๆ ตลอดจนการดูแลรักษาอย่างเหมาะสม ถือว่ามีความสำคัญที่ควรเร่งดำเนินการในเยาวชนกลุ่มเสี่ยงที่อาจถูกมองข้ามไป⁽²⁶⁾ เพื่อการป้องกันควบคุมโรคหนองในและโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์อื่นๆ โดยมีข้อเสนอแนะ สำหรับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์โรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่มีความพร้อม ควรมีการนำวิธีทางอณูชีววิทยามาใช้ในการวินิจฉัยโรคหนองใน โดยเฉพาะวิธีที่สามารถเก็บตัวอย่างได้ง่าย สะดวกต่อเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และให้ผลตรวจที่รวดเร็ว ดังเช่น วิธีการตรวจ Xpert CT/NG อย่างไรก็ตามวิธีดั้งเดิม ได้แก่ การเพาะเชื้อยังมีประโยชน์ในการทดสอบความไวต่อยาเพื่อเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา และวิธี Xpert CT/NG เองยังมีราคาแพงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิม สำหรับห้องปฏิบัติการที่มีข้อจำกัดด้านงบประมาณอาจใช้เป็นวิธีการทดสอบเสริมจากวิธีดั้งเดิมเพื่อประหยัดต้นทุน โดยให้ผลการตรวจที่ถูกต้องมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่คลินิกโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ และทุกท่านที่เกี่ยวข้อง ซึ่งกรุณาช่วยให้งานวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. Geneva: WHO; 2021.
2. Tien V, Punjabi C, Holubar MK. Antimicrobial resistance in sexually transmitted infections. J Travel Med 2020; 27(1): taz101.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid risk assessment: extensively drug-resistant (XDR) *Neisseria gonorrhoeae* in the United Kingdom and Australia [Internet]. [cited 2022 Jan 14]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-extensively-drug-resistant-xdr-neisseria-gonorrhoeae-united>
4. สำนักระบาดวิทยา. ระบบรายงานการเฝ้าระวังโรค 506 [อินเทอร์เน็ต]. [เข้าถึงเมื่อ 14 ม.ค. 2565]. เข้าถึงได้จาก: http://doe.moph.go.th/surdata/506wk/y64/d38_5164.pdf
5. Otero-Guerra L, Fernández-Blázquez A, Vazquez F. Rapid diagnosis of sexually transmitted infections. Enferm Infecc Microbiol Clin 2017; 35(7): 444-50.
6. Tongtoyai J, Tatakham N, Cherdtrakulkiat T, Sirivongrangson P, Hickey A. *Neisseria meningitidis* urethritis in a Thai male. J Health Sci Med Res 2021; 39(3): 251-5.
7. Bazan JA, Peterson AS, Kirkcaldy RD, Briere EC, Maierhofer C, Turner AN, et al. Notes from the field: increase in *Neisseria meningitidis*-associated urethritis among men at two sentinel clinics – Columbus, Ohio, and Oakland county, Michigan, 2015. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2016; 65(21): 550-2.
8. Retchless AC, Kretz CB, Chang HY, Bazan JA, Abrams AJ, Turner AN, et al. Expansion of a urethritis-associated *Neisseria meningitidis* clade in the United States with concurrent acquisition of *N. gonorrhoeae* alleles. BMC Genomics 2018; 19: 176.
9. Vickerman P, Peeling RW, Watts C, Mabey D. Detection of gonococcal infection: pros and cons of a rapid test. Mol Diagn 2005; 9(4): 175-9.
10. กลุ่มบางรักโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค. คู่มือการตรวจวินิจฉัยโรคหนองในทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนดี้ไซน์; 2563.

11. Cepheid. Xpert® CT/NG package insert. USA: Cepheid; 2019.
12. Gordis L. Epidemiology. 5th ed. Philadelphia (PA): Elsevier Saunders; 2013.
13. Unemo M, Seifert HS, Hook III EW, Hawkes S, Ndowa F, Dillon JAR. Gonorrhoea. Nat Rev Dis Primers 2019; 5(1): 79.
14. Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, Van Der Pol B. Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*–2014. MMWR Recomm Rep 2014; 63: 1–19.
15. Situ SF, Ding CH, Nawi S, Jonar A, Ramli R. Conventional versus molecular detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* among males in a sexually transmitted infections clinic. Malays J Pathol 2017; 39(1): 25–31.
16. Han Y, Shi MQ, Jiang QP, Le WJ, Qin XL, Xiong HZ, et al. Clinical performance of the Xpert® CT/NG test for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*: a multicenter evaluation in Chinese urban hospitals. Front Cell Infect Microbiol 2022; 11: 784610.
17. Xie TA, Liu YL, Meng RC, Liu XS, Fang KY, Deng ST, et al. Evaluation of the diagnostic efficacy of Xpert CT/NG for *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. BioMed Res Int 2020; 2892734.
18. Kueakulpattana N, Wannigama DL, Luk-in S, Hongsing P, Hurst C, Badavath VN, et al. Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* infection in heterosexual men with reduced susceptibility to ceftriaxone, first report in Thailand. Sci Rep 2021; 11: 21659.
19. Adamson PC, Van Le H, Le HHL, Le GM, Nguyen TV, Klausner JD. Trends in antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in Hanoi, Vietnam, 2017–2019. BMC Infect Dis 2020; 20: 809.
20. Fletcher-Lartey S, Dronavalli M, Alexander K, Ghosh S, Boonwaat L, Thomas J, et al. Trends in antimicrobial resistance patterns in *Neisseria gonorrhoeae* in Australia and New Zealand: a meta-analysis and systematic review. Antibiotics 2019; 8(4): 191.
21. Witkin SS, Minis E, Athanasiou A, Leizer J, Linhares IM. *Chlamydia trachomatis*: the persistent pathogen. Clin Vaccine Immunol 2017; 24(10): e00203–17.
22. Sarier M, Kukul E. Classification of non-gonococcal urethritis: a review. Int Urol Nephrol 2019; 51(6): 901–7.
23. Bradshaw CS, Tabrizi SN, Read TRH, Garland SM, Hopkins CA, Moss LM, et al. Etiologies of nongonococcal urethritis: bacteria, viruses, and the association with orogenital exposure. J Infect Dis 2006; 193(3): 336–45.

24. Minof GRG. A new gold standard for the detection of *Chlamydia trachomatis*? Infect Dis Obstet Gynecol 1998; 6(1): 44–5.
25. Shao L, Guo Y, Jiang Y, Liu Y, Wang M, You C, Quanzhong Liu Q. Sensitivity of the standard *Chlamydia trachomatis* culture method is improved after one additional in vitro passage. J Clin Lab Anal 2016; 30(5): 697–701.
26. Shannon CL, Klausne JD, The growing epidemic of sexually transmitted infections in adolescents: a neglected population. Curr Opin Pediatr 2018; 30(1): 137–43.