

ประสิทธิภาพการตรวจวิเคราะห์เชื้อวัณโรค เชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน และเชื้อกลุ่มมัยโคแบคทีเรีย ด้วยเทคนิค Real-time PCR ระหว่างระบบ Xpert® MTB/RIF Assay เทียบกับ Anyplex® MTB/NTM Real time detection และ Anyplex® II MTB/MDR detection ในโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา

จารุกรณ์ วิศาลสวัสดิ์, ประยุทธ์ แก้วมะลิ่ง

Received: April 26, 2019

Revised: July 4, 2019

Accepted: August 30, 2019

บทคัดย่อ

โรควัณโรคปอด เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ Mycobacterium tuberculosis (MTB) ซึ่งมีทั้งชนิดดื้อยารุนแรง (XDR-TB) ชนิดดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) หรือชนิดไม่ดื้อยา ทำให้อาการของผู้ติดเชื้อมีความรุนแรงและอัตราการรักษาให้หายด้วยยาปฏิชีวนะแตกต่างกัน โอกาสในการรักษาจะได้ผลหรือไม่ ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อโดยห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบศักยภาพของระบบตรวจวินิจฉัยเชื้อ MTB ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา ที่แพทย์สงสัยว่าเป็นวัณโรคปอด ของกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมาไว้ใช้ ประกอบไปด้วย 2 ระบบ คือ ระบบ Anyplex® MTB/NTM real time detection (Anyplex®) และ Anyplex® II MTB/MDR detection, Seegene Inc., South Korea (Anyplex® II) และ ระบบ Xpert® MTB/RIF Assay, Cepheid AB, Sweden (Xpert®) โดยทั้ง 2 ระบบอาศัยหลักการ Real-time PCR ในการตรวจสอบสารพันธุกรรมของเชื้อ MTB และเชื้อ MDR-TB โดยศึกษาจากตัวอย่างเสมหะผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นวัณโรคปอดจำนวน 200 ราย ซึ่งได้ส่งมายังห้องปฏิบัติการให้ตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB และ MDR-TB ด้วยระบบ Xpert® จากนั้นทางผู้วิจัยได้นำตัวอย่างที่เหลือมาศึกษาด้วยระบบ Anyplex® และ Anyplex® II โดยได้แบ่งตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่ม ซึ่งอ้างอิงจากผลการทดสอบด้วย Xpert® ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ให้ผลลบของ MTB จำนวน 100 ตัวอย่าง กลุ่มที่ 2 ให้ผลบวกของ MTB และให้ผลลบของดื้อยา Rifampicin (Rif-R) จำนวน 50 ตัวอย่าง และกลุ่มที่ 3 ให้ผลบวกของ MTB และ Rif-R จำนวน 50 ตัวอย่าง

จากผลการทดสอบพบว่า กลุ่มที่ 1 เมื่อนำมาตรวจด้วยน้ำยา Anyplex® แล้วได้ผลบวกของ MTB จำนวน 1 ราย และผลบวกของ Mycobacteria spp. (NTM) จำนวน 11 ราย อีก 88 รายให้ผลลบ MTB ตรงกับน้ำยา Xpert® คิดเป็นร้อยละ 1, 11 และ 88 ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 เมื่อนำมาตรวจด้วยน้ำยา Anyplex® II แล้วได้ผลบวกของ MTB และผลบวกของดื้อยา Isoniazid (INH-R) จำนวน 6 ราย อีก 44 รายให้ผลบวก MTB และผลลบ Rif-R ตรงกับน้ำยา Xpert® คิดเป็นร้อยละ 12 และ 88 ตามลำดับและตัวอย่างกลุ่มที่ 3 เมื่อนำมาตรวจด้วยน้ำยา Anyplex® II แล้วได้ผลบวกของ MTB และ Rif-R จำนวน 6 ราย ได้ผลบวกของ MTB และ Rif+INH-R (MDR-TB) จำนวน 44 ราย คิดเป็นร้อยละ 12 และ 88 ตามลำดับ

เนื่องจากน้ำยา Xpert® มีข้อจำกัดในการตรวจหาเชื้อ NTM และเชื้อ MTB ที่ดื้อต่อยา Isoniazid ทำให้ข้อมูลที่ได้อาจการตรวจวิเคราะห์ไม่ครบถ้วน ดังนั้นห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลศูนย์และโรงพยาบาลทั่วไป จึงจำเป็นต้องมีระบบตรวจวิเคราะห์เชื้อวัณโรคที่สามารถวินิจฉัยเชื้อวัณโรคได้ครอบคลุมทั้งหมด โดยน้ำยา Anyplex® และ น้ำยา Anyplex® II เป็นระบบที่สามารถตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB, MDR-TB และเชื้อ NTM ได้อย่างครอบคลุม

คำสำคัญ: วัณโรค, วัณโรคดื้อยา, Real-time PCR, การวินิจฉัยวัณโรค

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา

*ผู้รับผิดชอบบทความ



The efficiency of Xpert® MTB/RIF assay compare with Anyplex® MTB/NTM real time detection and Anyplex® II MTB/MDR detection base on real-time PCR for MTB, MDR-TB and NTM diagnostics, study in Maharat Nakhon Ratchasima Hospital

Jarukorn Visalsawadi*, Prayuth Keawmalang

Abstract

Pulmonary tuberculosis (TB) is the disease which cause from *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) that belonging in three types depending on the severity such as first line drug resistance TB (MDR-TB), second line drug resistance TB (XDR-TB) or Wild type TB (MTB). Difference type of TB will make patient have different severity of symptom and the successful of treatment. Thus, the medical laboratory should have the high performance system to identify the type of MTB for diagnostics pulmonary tuberculosis.

This study aims to evaluate the diagnostics performance of two Real-time PCR systems for detect MTB and MDR-TB which implement in Maharat Nakhon Ratchasima Hospital's Medical laboratory by study in 200 cases of patient's sputum which the doctor suspect pulmonary TB and request to identify MTB and MDR-TB by Xpert® MTB/RIF Assay, Cepheid AB, Sweden (Xpert®) We divided all sample to three groups refer to the results from Xpert®. First, the result shows MTB negative for 100 cases, second, the result shows MTB positive and Rif-R negative for 50 cases and last is the result shows MTB and Rif-R positive for 50 cases and tests all sample with Anyplex® MTB/NTM real time detection (Anyplex®) and Anyplex® II MTB/MDR detection, Seegene Inc., South Korea (Anyplex® II)

In first group when testing with Anyplex® the result shows MTB positive for 1 case from 100 cases, *Mycobacteria* spp. (NTM) positive for 11 cases and MTB negative for 88 cases which are 1%, 11% and 88% respectively. Second group when testing with Anyplex® II the result shows MTB positive and isoniazid resistance TB (INH-R TB) for 6 cases from 50 cases and other 44 cases are same as the result from Xpert® which are 12% and 88% respectively. The third group when testing with Xpert® the result shows MTB and Rif-R positive for 6 cases and MTB, Rif-R and INH-R (MDR-TB) positive for 44 cases which are 12% and 88% respectively.

Because of the limitation of Xpert® that can't identify NTM and INH-R TB which makes the doctor can't get the useful and fully information for diagnosis patients correctly. Thus the Advanced Level And Secondary Care Medical Laboratory have to provide the useful and fully data for help doctor to diagnosis TB and treat the patient with antibiotics correctly for decreasing the mortality rate and the spreading of MDR-TB to the environment.

Keywords: Tuberculosis, Drug-resistance TB, Real time PCR, MTB Diagnostics

Medical Technology and Clinical Pathology Group, Maharat Nakhon Ratchasima Hospital, Nakhon Ratchasima

*Corresponding author: (e-mail: pankorat@gmail.com)

บทนำ

วัณโรค (Tuberculosis, TB) เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) จากรายงานขององค์การอนามัยโลก (WHO) ในปี พ.ศ. 2559 รายงานว่ามีผู้ป่วยที่คาดว่าจะ เป็น TB รายใหม่ทั่วโลกอยู่ที่ประมาณ 10.4 ล้านราย แต่จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับรายงานจริงว่าเป็น TB จริงมีอยู่เพียง 6.3 ล้านรายเท่านั้น นอกจากนี้ WHO ยังมีรายงานอีกว่า TB จัดอยู่ 1 ใน 10 ของโรคที่เป็นสาเหตุของการเสียชีวิตสูงสุด โดยในปี พ.ศ. 2559 มีผู้ป่วยเสียชีวิตจากโรคนี้ทั่วโลกถึง 1.7 ล้านราย และมีผู้ป่วยที่ติดเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) ที่เป็นเชื้อ TB ดื้อต่อยาที่ใช้ในการรักษามากกว่า 2 ชนิดขึ้นไปโดยผู้ป่วยกลุ่มนี้มีมากถึง 490,000 ราย แต่มีผู้ป่วย MDR-TB ที่ได้รับการรักษามีเพียง 129,689 รายเท่านั้น ซึ่งคิดเป็นเพียงร้อยละ 54 ของผู้ป่วย MDR-TB ที่ได้รับการรักษาอย่างถูกต้อง¹

สำหรับสถานการณ์ของโรควัณโรค และวัณโรคดื้อยาในประเทศไทยจากรายงานของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ในปี พ.ศ. 2560 พบว่ามีผู้ป่วยขึ้นทะเบียนรักษาวัณโรคจำนวน 73,756 ราย และผู้ป่วย MDR-TB ทั้งหมด 1,034 ราย ซึ่งเมื่อเทียบกับจำนวนผู้ป่วย TB ที่ WHO คาดการณ์ไว้มีทั้งหมด 120,000 ราย และผู้ป่วย MDR-TB ที่ WHO คาดการณ์ไว้มีทั้งหมด 4,500 ราย² โดยจะเห็นว่ามีผู้ป่วยที่ตรวจพบว่าติดเชื้อ MTB คิดเป็นร้อยละ 61.46 และผู้ป่วยที่ติดเชื้อ MDR-TB คิดเป็นร้อยละ 22.98 เท่านั้น จากข้อมูลนี้พบว่ามีผู้ป่วย TB อีกมากกว่าร้อยละ 30 และผู้ป่วย MDR-TB อีกมากกว่าร้อยละ 70 ที่ยังไม่ได้รับการวินิจฉัยอย่างถูกต้อง ทำให้มีความผิดพลาดในการรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ ซึ่งเป็นเหตุให้มีอัตราการแพร่กระจายของเชื้อสู่ชุมชนที่เพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยเพิ่มสูงขึ้นด้วยเช่นเดียวกัน

นอกจากเชื้อ MDR-TB ที่เป็นปัญหาในการรักษาผู้ป่วยวัณโรคในปัจจุบันแล้วนั้น เชื้อ MTB ที่ดื้อต่อยา Isoniazid แต่ไวต่อยา Rifampicin หรือที่เรียกว่า isoniazid-resistance tuberculosis (Hr-TB) ก็เป็นอีกหนึ่งปัญหาในการรักษาผู้ป่วยวัณโรคในปัจจุบันเช่นเดียวกัน เนื่องจากยาที่ใช้ในการรักษาเชื้อ Hr-TB ต้องใช้สูตรยา

ที่แตกต่างจากผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ที่ไม่ติดเชื้อ MTB ที่ไม่ดื้อต่อยา Isoniazid^{3,4} หากยังคงใช้ยาสูตรเดียวกับผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ที่ไม่ติดเชื้อ MTB ที่ไม่ดื้อต่อยา Isoniazid อาจส่งผลให้ผู้ป่วยมีโอกาสติดเชื้อ MDR-TB เพิ่มขึ้นร้อยละ 12 และอัตราในการรักษาล้มเหลวมีมากถึงร้อยละ 11 อีกทั้งยังมีโอกาสกลับมาเป็นวัณโรคซ้ำอีกครั้งสูงถึงร้อยละ 10⁵ จากข้อมูลของ WHO ในปี พ.ศ. 2560 รายงานว่ามีผู้ป่วยวัณโรคที่ติดเชื้อ Hr-TB เฉลี่ยทั่วโลกประมาณร้อยละ 8.5 ในที่นี้เป็นผู้ป่วยรายใหม่ร้อยละ 7.3 และผู้ป่วยที่รักษาซ้ำสูงถึงร้อยละ 14¹ สำหรับในประเทศไทย ข้อมูลจากสำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข พบว่ามีผู้ป่วยวัณโรคที่ติดเชื้อ Hr-TB ประมาณร้อยละ 6.8 ในกลุ่มผู้ป่วยทั้งหมด และร้อยละ 6.5 ในกลุ่มผู้ป่วยรายใหม่ และสูงถึงร้อยละ 9.6 ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการรักษาซ้ำ⁶

จากข้อมูลในปัจจุบัน ยังไม่มีหลักฐานแสดงให้เห็นว่าผู้ป่วย Hr-TB มีลักษณะทางคลินิกแตกต่างจากผู้ป่วย drug-susceptible tuberculosis^{7,8} การตรวจเสมหะด้วยการย้อม acid fast staining ไม่สามารถทำนายโอกาสการติดเชื้อ Hr-TB ได้ ส่วนการเอกซเรย์ปอดผลการศึกษายังขัดแย้งกันว่ามีโอกาสพบใน Hr-TB มากกว่ากลุ่มที่ติดเชื้อ drug susceptible tuberculosis^{8,9} ดังนั้นในปัจจุบันยังไม่มีลักษณะทางคลินิกหรือการตรวจทางห้องปฏิบัติการใดที่ช่วยทำนายโอกาสการติดเชื้อ Hr-TB ได้

โรคติดเชื้อมิใช่โคแบคทีเรียอื่นๆ (Non-Tuberculous Mycobacterial, NTM) เกิดจากการติดเชื้อกลุ่ม *Mycobacteria* spp. สายพันธุ์อื่นๆ มีทั้งกลุ่มที่ติดเชื้อนอกปอด เช่น ผิวหนัง และที่ติดเชื้อในปอด โดยถ้าติดเชื้อในปอดจะมีลักษณะอาการคล้ายกับการติดเชื้อ MTB แต่การให้ยารักษาจะแตกต่างกัน ซึ่งส่วนใหญ่แล้วเชื้อ NTM จะก่อโรคในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ หรือภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ผู้ป่วยสูงอายุ หรือผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิในการผ่าตัดเปลี่ยนอวัยวะ¹⁰

ในการตรวจวินิจฉัย หรือตรวจคัดกรองผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นวัณโรค หากอาการของผู้ป่วยมีลักษณะคล้ายกับอาการของวัณโรคปอด (Pulmonary TB) แพทย์จะทำการเอกซเรย์ปอด (Chest X-Ray) และส่งตรวจ Acid Fast Bacilli Staining (AFB Staining) เพื่อย้อมสีหาเชื้อ

TB ในกรณีที่สงสัยว่าผู้ป่วยเป็นวัณโรคปอด เพื่อวินิจฉัยว่าผู้ป่วยเป็นวัณโรคหรือไม่ แต่ข้อจำกัดของทั้ง 2 วิธีนี้ คือไม่สามารถแยกเชื้อ MTB ออกจาก MDR-TB หรือ NTM ได้ จึงต้องใช้เทคนิคการเพาะเชื้อ (TB Culture) และการทำ Drug-Susceptibility Test (DST) มาวินิจฉัยร่วมด้วย แต่มีข้อจำกัดในเรื่องของระยะเวลาที่ใช้ในการวินิจฉัย โดยจะใช้เวลามากกว่า 14 วัน^{10,11} จึงสามารถวินิจฉัยได้ว่าผู้ป่วยติดเชื้อ MTB, MDR-TB หรือ NTM ซึ่งอาจทำให้ผู้ป่วยไม่ได้รับยาการรักษาที่ถูกต้องในระหว่างที่รอผลตรวจวิเคราะห์ ทำให้ระยะเวลาในการรักษายาวนานขึ้น ส่งผลให้อัตราการแพร่กระจายเชื้อวัณโรคดียาเข้าสู่ชุมชนสูงมากยิ่งขึ้น ทำให้จำนวนผู้ป่วยวัณโรคดียาเพิ่มสูงขึ้นได้

ปัจจุบัน หอปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา โรงพยาบาลมหาสารคามราชสีมา ได้ให้บริการตรวจวินิจฉัยหาเชื้อก่อโรควัณโรคและวัณโรคดื้อยา จากสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นวัณโรค วัณโรคดื้อยา เพื่อตรวจคัดกรอง หรือติดตามการรักษาผู้ป่วยเหล่านั้นได้ โดยมีระบบสำหรับตรวจวิเคราะห์ทั้งหมด 2 ระบบ โดยแต่เดิมได้ใช้ระบบตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Real-time PCR โดยอาศัยเทคโนโลยีจาก Seegene Inc. ประเทศเกาหลีใต้ ซึ่งอาศัยหลักการทำปฏิกิริยา Real-time PCR กับสารพันธุกรรมของเชื้อบนเครื่อง CFX96™ Real-Time PCR detection และแปลผลด้วยโปรแกรม Seegene Viewer โดยชุดน้ำยาของ Seegene Inc. ที่ใช้ในการทดสอบหาเชื้อก่อโรควัณโรคและวัณโรคดื้อยาได้อาศัยเทคโนโลยีเฉพาะได้แก่ เทคโนโลยี Dual Priming Oligonucleotide (DPO® Technology) ในชุดน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex® MTB/NTM Real time Detection สำหรับตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB และ NTM บนยีน 2 ชนิด คือ IS6110 และ MPB64¹² และเทคโนโลยี Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension (TOCE® Technology) ในชุดน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex® II MTB/MDR Detection สำหรับตรวจวิเคราะห์เชื้อ MDR-TB โดยสามารถตรวจวิเคราะห์เชื้อดื้อยาได้ 2 ชนิดของยา ได้แก่ เชื้อวัณโรคที่ดื้อต่อยา Rifampicin (Rif-R TB) ตรวจวิเคราะห์ Mutation gene ของเชื้อ Rif-R TB ได้ 18 ตำแหน่ง ของยีน *rpoB* และเชื้อวัณโรคที่ดื้อต่อยา Isoniazid (INH-R TB)

ตรวจวิเคราะห์ Mutation gene ของเชื้อ INH-R TB ได้ 7 ตำแหน่ง แบ่งเป็น 4 ตำแหน่งของยีน *katG* และ 3 ตำแหน่งของยีน *InhA*¹³ โดยมีงานวิจัยรายงานผลการประเมินประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์เชื้อวัณโรคด้วยระบบ Anyplex® MTB/NTM Real time Detection เปรียบเทียบกับผลการทดสอบด้วยวิธี Gold Standard คือวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ได้ค่าความไวร้อยละ 100 ค่าความจำเพาะร้อยละ 96 ค่าทำนายผลบวกร้อยละ 93 และ ค่าทำนายผลลบร้อยละ 100 สำหรับเชื้อ MTB และ ได้ค่าความไวร้อยละ 100 ค่าความจำเพาะร้อยละ 97 ค่าทำนายผลบวกร้อยละ 75 และ ค่าทำนายผลลบร้อยละ 100 สำหรับเชื้อ NTM¹⁴ และรายงานผลการประเมินประสิทธิภาพของการตรวจวิเคราะห์เชื้อวัณโรคดื้อยาด้วยระบบ Anyplex® II MTB/MDR Detection เปรียบเทียบกับผลการทดสอบด้วยวิธี Gold Standard คือวิธี Agar Proportion ได้ค่าความไวร้อยละ 97.9 และค่าความจำเพาะร้อยละ 100 สำหรับการดื้อยา Rifampicin และได้ค่าความไวร้อยละ 91.5 และค่าความจำเพาะร้อยละ 100 สำหรับการดื้อยา Isoniazid¹⁵

เนื่องจากนโยบายของสำนักวัณโรค กรมควบคุมโรคในปี พ.ศ. 2560 ได้กำหนดให้ห้องปฏิบัติการฯ ใช้ระบบของ Cepheid AB ประเทศสวีเดน โดยใช้ชุดน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay ซึ่งอาศัยเทคนิค Real-time PCR เช่นเดียวกัน ในการให้บริการตรวจวิเคราะห์หาเชื้อก่อโรควัณโรค¹⁶ โดยชุดน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay อาศัยหลักการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในตำแหน่งที่สนใจ และใช้สารเรืองแสงติดฉลากกับ probes จำนวน 6 ชนิด ประกอบด้วย wild type probes 5 ชนิด ซึ่งครอบคลุมตำแหน่งกลายพันธุ์ของยีน *rpoB* และ Sample processing control probe 1 ชนิด เป็น internal control ทำให้สามารถตรวจวัดปริมาณสารพันธุกรรมเป้าหมายที่เพิ่มขึ้นมาได้จริงทันทีจากสัญญาณของสารเรืองแสงซึ่งมีสีแตกต่างกัน 6 สีตามชนิดของ Probes จากนั้นเครื่อง GeneXpert ตรวจวัดปริมาณของสารพันธุกรรมและแปลผลด้วยโปรแกรม GeneXpert Dx โดยระบบดังกล่าวสามารถตรวจวิเคราะห์ได้เพียงเชื้อ MTB และ ตรวจวิเคราะห์เชื้อวัณโรคดื้อยาได้เพียงชนิดเดียว คือ Rif-R TB

โดยสามารถตรวจวิเคราะห์ Mutation Gene ของเชื้อ Rif-R TB ได้เพียง 5 ตำแหน่งเท่านั้น¹⁷ ซึ่งอาจทำให้ศักยภาพของห้องปฏิบัติการฯ ในการตรวจคัดกรองผู้ที่ถูกสงสัยว่าป่วยเป็นวัณโรค, วัณโรคดื้อยา หรือตรวจติดตามการรักษาผู้ป่วยวัณโรคลดลง จากการที่ระบบน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์เชื้อ NTM และ MDR-TB ได้ สำหรับชุดน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay มีงานวิจัยรายงานผลการประเมินประสิทธิภาพของการตรวจหาเชื้อวัณโรคดื้อยา Rifampicin เปรียบเทียบกับผลการทดสอบด้วยวิธี Gold Standard คือวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้แบบอาหารเหลว BACTEC-MGIT 960 (MGIT960-DST) ได้ค่าความไวร้อยละ 98.1 ค่าความจำเพาะร้อยละ 96.7 ค่าทำนายผลบวกร้อยละ 94.5 และ ค่าทำนายผลลบร้อยละ 98.9¹⁸

สำหรับการศึกษานี้เป็นการศึกษาเพื่อ ประเมินประสิทธิภาพ และศักยภาพของระบบตรวจวิเคราะห์ ทั้ง 2 ระบบ ในการให้บริการตรวจคัดกรองผู้ที่ถูกสงสัยว่าป่วยเป็นวัณโรค วัณโรคดื้อยา หรือตรวจติดตามการรักษาผู้ป่วยวัณโรค เพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา ในการตรวจวินิจฉัยการรักษา และการติดตามผลรักษาอาการติดเชื้อวัณโรค เชื้อมัยโคแบคทีเรียชนิดอื่นๆ และเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างเสมหะจากผู้ป่วยในโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา ที่แพทย์สงสัยว่าป่วยเป็นวัณโรคปอด และทำการส่งมายังห้องปฏิบัติการฯ ตั้งแต่เดือนมกราคม 2560 ถึง เดือนกันยายน 2561 เพื่อตรวจหาเชื้อวัณโรคด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay(Cepheid, Sweden) เมื่อทราบผลการตรวจวิเคราะห์แล้ว จึงนำตัวอย่างที่ผ่านการตรวจคัดกรองด้วยระบบน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay มาตรวจวิเคราะห์เพื่อประเมินประสิทธิภาพด้วยระบบน้ำยา Anyplex® MTB/NTM Real time Detection และ Anyplex® II MTB/MDR Detection (Seegene Inc., South Korea)

2. จริยธรรมการวิจัย

ทางคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา ได้พิจารณาในการประชุมครั้งที่ 8/2561 เมื่อวันที่ 23 สิงหาคม 2561 มีมติว่าโครงการวิจัยนี้เข้ากรณีได้รับการยกเว้นตามข้อกำหนดประเภทของโครงการวิจัยที่ไม่ต้องผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัยเป็นตัวอย่างที่เหลือจากการตรวจคัดกรองให้กับคนไข้ และไม่มีข้อมูลเชื่อมโยงถึงบุคคลที่เป็นเจ้าของ

3. วิธีการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง

คัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเสมหะที่ทราบผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay(Cepheid, Sweden) โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตัวอย่าง ดังนี้

1. ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ส่งตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay (Cepheid, Sweden) แล้วให้ผลลบทั้ง MTB และ Rif-R TB จำนวน 100 ตัวอย่าง

2. ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ส่งตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay(Cepheid, Sweden) แล้วให้ผลบวก MTB และให้ผลลบ Rif-R จำนวน 50 ตัวอย่าง

3. ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ส่งตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay(Cepheid, Sweden) แล้วให้ผลบวกทั้ง MTB และ Rif-R TB จำนวน 50 ตัวอย่าง

4. ขั้นตอนการวิจัย ตัวอย่างเสมหะของผู้ป่วยที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay(Cepheid, Sweden)ในกลุ่มตัวอย่างที่ 1 จะได้รับการตรวจวิเคราะห์หาเชื้อวัณโรคและเชื้อมัยโคแบคทีเรียอื่นๆ ด้วยน้ำยา Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection (Seegene Inc., South Korea) สำหรับกลุ่มตัวอย่างที่ 2 และ 3 จะตรวจวิเคราะห์เชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนานด้วยน้ำยา Anyplex™ II MTB/MDR Detection (Seegene Inc., South Korea)

4.1 การดำเนินการต่อตัวอย่าง และการสกัดสารพันธุกรรมตัวอย่างเสมหะทั้งหมด หลังจากที่ได้ตรวจวิเคราะห์จากน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay (Cepheid, Sweden) แล้วจะถูกคัดเลือกมาทำการ Pre-treatment ทันทีเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนและทำให้อยู่ในสภาพเหลวตามขั้นตอนที่ระบุในคู่มือน้ำยา Seegene Inc.^{12,13} จากนั้นนำไปสกัดสารพันธุกรรมด้วยเครื่องสกัดสารพันธุกรรมอัตโนมัติรุ่น MagLead 12gC (Precision Sciences System, Japan) โดยใช้ น้ำยา MagDEA DX SV (Precision Sciences System, Japan) และดำเนินการตามคำแนะนำของผู้ผลิต¹⁹ สารพันธุกรรมที่สกัดได้ถูกเก็บไว้ใน Elution Buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบของ Seegene Inc.

4.2 การตรวจหาเชื้อวัณโรค (MTB), เชื้อมัยโคแบคทีเรียอื่นๆ (NTM) และเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) ด้วยวิธี Real-time PCR

ตัวอย่างสารพันธุกรรมที่สกัดจากเสมหะของกลุ่มตัวอย่างที่ 1 จะได้รับการตรวจหาเชื้อวัณโรคและเชื้อมัยโคแบคทีเรียอื่นๆ โดยใช้ น้ำยา Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection (Seegene Inc., South Korea) โดยการใช้สารพันธุกรรมที่สกัดเก็บไว้ปริมาตร 5 ไมโครลิตรใส่ลงใน Anyplex MTB/NTM Real-time detection master mix ปริมาตร 15 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย 10X MTB/NTM OM 2 ไมโครลิตร, EM3 10 ไมโครลิตร และ RNase-free water 3 ไมโครลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่อง CFX96™ real-time PCR system (BioRad Laboratories, Seoul, Republic of Korea) โดยเริ่มจากขั้นตอน Denaturation 95 องศาเซลเซียส 15 นาที ต่อด้วยปฏิกิริยาฟิวส์ 45 รอบ (Denaturation 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที, Annealing และ Extension 60 องศาเซลเซียส 60 วินาที ต่อด้วยปฏิกิริยาในขั้นตอนของการตรวจจับสัญญาณของสารเรืองแสง ผลจะแสดงออกมาเป็น Amplification Curve สารเรืองแสง FAM, Cal Red 610 และ Quasar 670 ใช้สำหรับตรวจจับปฏิกิริยาการมีอินเป้าหมาย MTB โดย Primer จะจับกับยีนเป้าหมายของเชื้อ MTB ได้แก่ IS6110 และ MPB64,

ยีนเป้าหมายของเชื้อ NTM โดย Primer จะจับกับยีนเป้าหมายของเชื้อ NTM ได้แก่ 16s rRNA และ internal control ตามลำดับ จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ผลการทดสอบจากโปรแกรมอัตโนมัติ Seegene Viewer 2.0 (Seegene Technologies) ควบคุมกระบวนการทดสอบโดย positive และ negative control ที่มาพร้อมกับชุดทดสอบ

สำหรับตัวอย่างสารพันธุกรรมที่สกัดจากเสมหะของกลุ่มตัวอย่างที่ 2 และ 3 จะตรวจหาเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน โดยใช้ น้ำยา Anyplex™ II MTB/MDR Detection (Seegene Inc., South Korea) โดยการใช้สารพันธุกรรมที่สกัดเก็บไว้ปริมาตร 5 ไมโครลิตรใส่ลงใน Anyplex II MTB/MDR Detection PCR master mix ปริมาตร 15 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย 4XMTB/MDR TOM 5 ไมโครลิตร, EM1 5 ไมโครลิตรและ RNase-free water 5 ไมโครลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่อง CFX96™ real-time PCR system โดยเริ่มจากขั้นตอน Denaturation 95 องศาเซลเซียส 15 นาที ต่อด้วยปฏิกิริยาฟิวส์ 50 รอบ (Denaturation 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที, Annealing 60 องศาเซลเซียส 60 วินาทีและ Extension 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที) ต่อด้วยปฏิกิริยาในขั้นตอน ของการตรวจจับสัญญาณของสารเรืองแสงอุณหภูมิ ของปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นจาก 55 องศาเซลเซียส ไปจนถึง 85 องศาเซลเซียส โดยวัดสัญญาณของสารเรืองแสงที่เกิดขึ้นทุก 5 วินาที และแสดงผลออกมาเป็น Melting curve สารเรืองแสง FAM ใช้สำหรับตรวจจับปฏิกิริยาการมีอินเป้าหมาย MTB โดย Primer จะจับกับยีน MPB64 ของเชื้อ สารเรืองแสง HEX ใช้สำหรับตรวจจับยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยา RIF โดย Primer จะจับกับยีน rpoB สารเรืองแสง Cal Red 610 ใช้สำหรับตรวจจับยีนที่เกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยา INH โดย Primer จะจับกับยีน inhA และ katG สารเรืองแสง Quasar 670 ใช้สำหรับตรวจจับ internal control ค่า melting Tm ของสารเรืองแสง HEX มีค่าระหว่าง 62.0-70.0 องศาเซลเซียส ส่วนค่า melting Tm ของสาร เรืองแสง Cal Red 610 มีค่าระหว่าง 62.0-64.5 องศาเซลเซียส (*katG*) และ 69.5-72.0 องศาเซลเซียส (*inhA*) จากนั้นจึงทำการ

วิเคราะห์ผลการทดสอบจากโปรแกรมอัตโนมัติ Seegene Viewer 2.0 (Seegene Technologies) ควบคุมกระบวนการทดสอบโดย positive และ negative control ที่มาพร้อมกับชุดทดสอบ

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์โดยใช้หลักสถิติสำหรับประเมินเปรียบเทียบผลตรวจวิเคราะห์ระหว่างน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay (Cepheid, Sweden) และ น้ำยา Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection (Seegene Inc., South Korea), Anyplex™ II MTB/MDR Detection (Seegene Inc., South Korea) โดยเปรียบเทียบในเชิงร้อยละของความสามารถในการตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB, NTM, Rif-R MTB และ Inh-R MTB

ผลการศึกษา

จากการนำตัวอย่างเสมหะที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay ทั้ง 3 กลุ่มตัวอย่าง มาตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection และน้ำยา Anyplex™ II MTB/MDR Detection ได้ผลการศึกษาโดยแบ่งเป็นกลุ่มตัวอย่างดังนี้

ผลการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay และ Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection ในกลุ่มตัวอย่างที่ 1

กลุ่มตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างเสมหะที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay แล้วได้ผล MTB เป็นลบ จำนวน 100 ตัวอย่าง เมื่อนำตัวอย่างทั้งหมดมาตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบ Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection แล้วพบว่า มีตัวอย่างจำนวน 12 ราย ที่ให้ผลไม่ตรงกัน โดยแบ่งเป็น 1 ราย ได้ผลบวกของ MTB คิดเป็นร้อยละ 1 เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด, มีตัวอย่างจำนวน 11 ราย ได้ผลบวกของ NTM คิดเป็นร้อยละ 11 เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด และ

มีตัวอย่างจำนวน 88 ราย ที่ให้ผลตรงกันคือ ได้ผลลบของ MTB คิดเป็นร้อยละ 88 เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด (ตารางที่ 1)

ผลการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay และ Anyplex™ II MTB/MDR Detection ในกลุ่มตัวอย่างที่ 2 และ 3

กลุ่มตัวอย่างที่ 2 ตัวอย่างเสมหะที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay แล้วได้ผล MTB เป็นบวก และผล Rif-R เป็นลบ จำนวน 50 ตัวอย่าง เมื่อนำตัวอย่างทั้งหมดมาตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบ Anyplex™ II MTB/MDR Detection แล้วพบว่า มีตัวอย่างจำนวน 6 ราย ที่ให้ผลไม่ตรงกัน โดยได้ผลบวก MTB และ INH-R (MDR-TB) ทั้ง 6 รายคิดเป็นร้อยละ 12 เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด และมีตัวอย่างจำนวน 44 ราย ที่ให้ผลตรงกันคือ ได้ผลบวกของ MTB และได้ผลลบของ Rif-R คิดเป็นร้อยละ 88 เมื่อเทียบกับจำนวนตัวอย่างทั้งหมด (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ตารางแสดงผลการตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB ในตัวอย่างกลุ่มที่ 1 ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay และน้ำยา Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection

		Gene Xpert (N)
		MTB Negative (100)
Seegene® Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection	MTB Positive (%)	1 (1%)
	MTB Negative (%)	88 (88%)
	NTM Positive only (%)	11 (11%)

ตารางที่ 2 ตารางแสดงผลการตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB ในตัวอย่างกลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay และน้ำยา Anyplex™ II MTB/MDR Detection

		Gene Xpert (N)	
		MTB Positive (100)	
		Rif-R (50)	Rif-S (50)
Seegene® Anyplex™ II MTB/MDR Detection	MTB Positive (%)	0	44 (88%)
	MTB Pos, Rif-R (%)	6 (12%)	0
	MTB Pos, INH-R (%)	0	6 (12%)
	MTB Pos, MDR (%)	44 (88%)	0

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

โรควัณโรคปอด เป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) ซึ่งมีทั้งชนิดดื้อยารุนแรง (XDR-TB) ชนิดดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB) หรือชนิดไม่ดื้อยา ทำให้อาการของผู้ติดเชื้อมีความรุนแรงและอัตราการรักษาให้หายด้วยยาปฏิชีวนะจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อที่คนไข้ได้รับมา²⁰ โอกาสในการรักษาให้หายได้ด้วยยาปฏิชีวนะ จะได้ผลดีหรือไม่ ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อโดยห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ หากห้องปฏิบัติการฯ มีศักยภาพสูงก็จะสามารถวินิจฉัยเชื้อได้อย่างถูกต้องครอบคลุม แม่นยำ รวดเร็ว และสามารถระบุชนิดของเชื้อได้ว่าเป็นชนิดดื้อยา หรือไม่ดื้อยา หรือดื้อยาชนิดใดบ้าง ส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ถูกต้อง รวดเร็ว อีกทั้งยังช่วยลดอัตราการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยา และทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสหายจากโรคได้เร็วยิ่งขึ้น และลดอัตราการเกิดวัณโรคซ้ำ

สำหรับผลจากการศึกษาวิจัยนี้พบว่า ในตัวอย่างกลุ่มที่ 1 ซึ่งทดสอบในตัวอย่างเสมหะที่แพทย์สงสัยว่าติดเชื้อ MTB และ ส่งตัวอย่างตรวจด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay โดยผลการตรวจวิเคราะห์ได้เป็นผลตรวจเชื้อ MTB ลบจำนวน 100 ราย แต่เมื่อนำมาทดสอบด้วยน้ำยา Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection พบว่ามีถึงร้อยละ 11 (11 ราย) ที่ได้ผลเป็นผลบวก NTM ซึ่งการที่ได้ผลขัดแย้งกันนั้นเกิดจากชุดน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay มีข้อจำกัดที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์เชื้อ NTM ได้ จึงทำให้ผลตรวจวิเคราะห์จากชุดน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ NTM ในตัวอย่างได้ ทั้งนี้ผู้ป่วยที่มีอาการติดเชื้อ NTM ในปอดจะมีอาการคล้ายกับอาการติดเชื้อ MTB ในปอด แต่วิธีการรักษาแตกต่างกัน¹⁰ ทำให้หากแพทย์ได้รับผลการตรวจวิเคราะห์เชื้อไม่ครบถ้วน อาจส่งผลให้วินิจฉัยโรคได้ผิดพลาด และอาจทำให้แนวทางการรักษาไม่ถูกต้อง ซึ่งกระทบกับผู้ป่วยทำให้ใช้เวลาในการรักษานานขึ้น ไม่หายจากการติดเชื้อ หรือรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้

ในส่วนของผลที่ MTB เป็นบวกจำนวน 1 ตัวอย่าง เมื่อตรวจด้วยน้ำยา Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection ซึ่งแตกต่างจากผลการตรวจด้วย Xpert® MTB/RIF Assay อาจเนื่องมาจากข้อจำกัดของชุดน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay ที่สามารถตรวจจับได้เฉพาะยีน *rpoB* ของเชื้อ MTB เท่านั้น^{17,21} ซึ่งชุดน้ำยา Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection สามารถตรวจจับได้ถึง 2 ยีน คือ IS6110 และ MPB64 ของเชื้อ MTB¹²

สำหรับตัวอย่างกลุ่มที่ 2 ที่นำตัวอย่างเสมหะของผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยว่าติดเชื้อ MTB มาตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay จำนวน 50 ตัวอย่าง แล้วได้ผล MTB เป็นบวก และ Rif-R เป็นลบ จากข้อจำกัดของชุดน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay ที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB ที่ดื้อยา Isoniazid ได้²¹ ทำให้เมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Anyplex™ II MTB/MDR Detection พบว่ามีตัวอย่างถึงร้อยละ 12 (6 ราย) ที่ได้ผลเป็น MTB บวก และ INH-R บวก จากข้อมูลงานวิจัยต่างๆ พบว่า ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ MTB ที่ดื้อยา Isoniazid แต่ไวต่อยา Rifampicin (isoniazid-resistant tuberculosis (Hr-TB)

ถ้าได้รับการรักษาเหมือนผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ จะมีโอกาสเกิดการติดเชื้อ MDR-TB ในภายหลัง (acquired MDR-TB) สูงถึงร้อยละ 12 ในขณะที่ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ MTB ที่ยังไวต่อยา Isoniazid จะเกิด acquire MDR-TB เพียงร้อยละ 0.8 เท่านั้น นอกจากนี้ผลการรักษาก็มีโอกาสล้มเหลวได้มากถึงร้อยละ 11 และอัตราการกลับเป็นซ้ำมากถึงร้อยละ 11 ในขณะที่กลุ่มที่ไวต่อยา Isoniazid พบอัตราการรักษาล้มเหลวเพียงร้อยละ 1 และอัตราการกลับเป็นซ้ำเพียงร้อยละ 5^{4,7,8,9} นอกจากนี้ทางองค์การอนามัยโลกจึงได้ออกคำแนะนำการรักษา Hr-TB ในปี 2018 มาเป็นฉบับเสริมคำแนะนำในการรักษาวัณโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ Hr-TB โดยเฉพาะ^{3,4} ดังนั้นจากการศึกษานี้ ทางผู้วิจัยเห็นว่าระบบตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB ที่สามารถตรวจได้อย่างครอบคลุมสามารถให้ข้อมูลการวินิจฉัยเชื้อแก่แพทย์ผู้รักษาได้อย่างครบถ้วน โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลของเชื้อ MTB ที่ดื้อต่อยา Isoniazid จะมีประโยชน์ต่อการรักษาวัณโรคดื้อยาเป็นอย่างมาก เพื่อลดอัตราการล้มเหลวในการรักษา และลดอัตราการเกิดการกลับมาเป็นซ้ำ ซึ่งมีโอกาสที่ผู้ป่วยจะติดเชื้อ MDR-TB ได้ในอนาคต ส่งผลให้ลดอัตราผู้ป่วยวัณโรคที่ดื้อยาหลายขนาน การเกิดการแพร่กระจายของเชื้อสู่ชุมชน และอัตราการสูญเสียในสังคมจากการติดเชื้อวัณโรคดื้อยา

และในตัวอย่างกลุ่มที่ 3 ที่นำตัวอย่างเสมหะของผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยว่าติดเชื้อ MTB มาตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay จำนวน 50 ตัวอย่างแล้วได้ผล MTB และ Rif-R เป็นบวก แต่เมื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยน้ำยา Anyplex™ II MTB/MDR Detection พบว่ามีเพียงร้อยละ 88 (44 ราย) เท่านั้นที่ให้ผลบวกของ MDR-TB (Rif-R and INH-R) มีตัวอย่างอีกจำนวนถึงร้อยละ 12 (6 ราย) ที่ให้ผลบวก Rif-R เพียงอย่างเดียวจากข้อมูลตรงนี้จะเห็นได้ว่าชุดน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay มีข้อจำกัดในการตรวจดื้อยา Isoniazid ของเชื้อ MTB ไม่ได้²¹ ทำให้เมื่อได้ผลตรวจวิเคราะห์ที่เป็น MTB และ Rif-R บวกจากระบบน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay ออกมา ทางแพทย์ผู้ให้การรักษาจะไม่สามารถทราบได้เลยว่าผู้ป่วยติดเชื้อ MTB ที่เป็นชนิดดื้อยา MDR หรือไม่ส่งผลให้แพทย์ไม่สามารถเลือกใช้ยาในการรักษาคนไข้

ได้อย่างถูกต้อง โดยอาจจะใช้ยาในกลุ่ม Second line Drug ทดแทน First line Drug ในการรักษาคนไข้ที่ไม่ได้ติดเชื้อ MDR-TB เนื่องจากแพทย์อาจวินิจฉัยผิดจากข้อมูลของผลตรวจที่ไม่ครบถ้วนทำให้สูญเสียต้นทุนค่าใช้จ่ายในการใช้ยารักษาที่เกินจำเป็น เนื่องจากค่าใช้จ่ายในการรักษาด้วยยา Second line Drug มีค่าใช้จ่ายที่สูงกว่าการใช้ยา First line Drug ถึง 10 เท่า อีกทั้งยังส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับผลข้างเคียงจากยารุนแรงกว่าเมื่อรักษาด้วยยาในกลุ่ม Second line Drug เนื่องจากยาในกลุ่ม Second line Drug จะมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยมากกว่ายาในกลุ่ม First line Drug²²

เนื่องจากชุดน้ำยา Xpert® MTB/RIF Assay มีข้อจำกัดในการตรวจวินิจฉัย คือไม่สามารถตรวจหาเชื้อ NTM และเชื้อ MTB ที่ดื้อต่อยา Isoniazid ทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์ ในกรณีที่แพทย์สงสัยว่าคนไข้มีอาการติดเชื้อ MTB อาจจะได้ผลวิเคราะห์หรือจำแนกเชื้อได้ไม่ครอบคลุมตามที่แพทย์ต้องการ ซึ่งอาจทำให้แพทย์วินิจฉัยโรคได้ไม่ถูกต้อง ส่งผลให้คนไข้ได้รับการรักษาไม่เต็มประสิทธิภาพ ได้รับยาฆ่าเชื้อที่ให้ผลไม่ดีพอ ทำให้ใช้เวลาในการรักษาที่ยาวนานขึ้นรวมถึงมีแนวโน้มที่จะเกิดความล้มเหลวในการรักษาผู้ป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ผลตรวจโดย Xpert® MTB/RIF Assay ให้ผลบวกต่อ MTB และผลลบต่อ Rif-R แล้วคนไข้ได้รับการรักษาแบบผู้ป่วยรายใหม่ คือ การรักษาสำหรับเชื้อ MTB ไม่ดื้อยา ถ้าหากผู้ป่วยติดเชื้อ Hr-TB แต่แพทย์ได้ข้อมูลของเชื้อไม่ครบถ้วน ก็จะทำให้การรักษาล้มเหลว หรือ คนไข้มีโอกาสสูงที่จะติดเชื้อ MDR-TB ซ้ำได้ในภายหลัง ทำให้เกิดปัญหาการเพิ่มจำนวนผู้ป่วยดื้อยาตามมาในอนาคต หรือในทางกลับกัน หากผลตรวจโดย Xpert® MTB/RIF Assay ให้ผลบวกต่อ MTB และ Rif-R ซึ่งผู้ป่วยอาจจะไม่ได้ติดเชื้อ MDR-TB แต่แพทย์ได้ข้อมูลของเชื้อไม่ครบถ้วน ก็อาจจะให้การรักษาคนไข้ในแนวทางของการรักษาเชื้อ MDR-TB ทำให้ผู้ป่วยอาจได้รับยาเกินความจำเป็น ต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายที่เพิ่มมากขึ้น และได้รับผลข้างเคียงจากยาที่รุนแรงขึ้น ดังนั้นหากห้องปฏิบัติการฯ สามารถวินิจฉัยเชื้อวัณโรคได้ครอบคลุมทั้งหมด ก็จะทำให้ผู้ป่วยได้รับประโยชน์ที่จะได้รับการวินิจฉัยโรคได้อย่างถูกต้อง ส่งผลให้ได้รับการรักษาที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งจะช่วยลดระยะเวลา

ในการรักษา และช่วยลดการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยา
สู่ชุมชน อีกทั้งยังลดอัตราการเกิดเชื้อดื้อยา และโอกาส
ล้มเหลวในการรักษาจากการใช้ยาผิดประเภทได้ในที่สุด
โดยน้ำยา Anyplex® MTB/NTM real time detection
และ น้ำยา Anyplex® II MTB/MDR detection
เป็นระบบที่สามารถตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB, MDR-TB
และเชื้อ NTM ได้อย่างครอบคลุม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกัน
วิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลมหา
นครราชสีมา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับศึกษาวิจัย และ
ขอขอบคุณบริษัท เอ็มพี กรุ๊ป (ประเทศไทย) จำกัด
ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือ และชุดน้ำยาสำหรับตรวจวิเคราะห์
ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- World Health Organization Geneva, Global Tuberculosis report 2017; 2017.
- Bureau of Tuberculosis, Department of Disease Control, Ministry of Public Health, Thailand, Situation of Tuberculosis in Thailand; 10 Nov 2017.
- World Health Organization Geneva, WHO treatment guidelines for isoniazid-resistant tuberculosis: supplement to the WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis; 2018.
- Worawat Chumpangern, Wipa Reechaipichitkul, Isoniazid-resistant Tuberculosis: WHO Treatment Guidelines 2018., KKU Journal of Medicine 2018; 4: 1-9.
- Gegia M, Winter N, Benedetti A, Van Soolingen D, Menzies D. s.l., Treatment of isoniazid-resistant tuberculosis with first-line drugs: a systematic review and meta-analysis., Lancet Infect Dis 2017; 17: 223-34.
- Bureau of Tuberculosis, Department of Disease Control, Ministry of Public Health, Thailand, Surveillance information of resistant tuberculosis in Thailand, 4th edition 2012-2013 2014.
- Chierakul N, Saengthongpinij V, Foongladda S., Clinical features and outcomes of isoniazid mono-resistant pulmonary tuberculosis., J Med Assoc Thai 2014; 97: 86-90.
- Cattamanchi A, Dantes RB, Metcalfe JZ, et al., Clinical characteristics and treatment outcomes of patients with isoniazid-monoresistant tuberculosis., Clin Infect Dis 2009; 48: 179-85.
- Forssbohm M, Loddenkemper R, Rieder HL., Isoniazid resistance among tuberculosis patients by birth cohort in Germany., Int J Tuberc Lung Dis 2003; 7: 973-9.
- Griffith David E., Aksamit Timothy, Brown-Elliott Barbara, et al., American Thoracic Society Guidelines: Diagnosis, Treatment and Prevention of Nontuberculous Mycobacterial Diseases., Am. J. Respiratory and Critical Care Medicine 2007; 175(4): 367-417.
- World Health Organization Geneva, Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis 2014.
- Seegene Inc. South Korea, Anyplex TM MTB/NTM Real-time Detection, 2017.
- Seegene Inc. South Korea, Anyplex TM II MTB/MDR Detection 2018.
- Michael D. Perry, a P. Lewis White, a Michael Ruddyb, Potential for Use of the Seegene Anyplex MTB/NTM Real-Time Detection Assay in a Regional Reference Laboratory, Journal of Clinical Microbiology 2014; 52 (5): 1708-1710.

15. Pérez-García F. , Ruiz-Serrano M.J. , López Roa P. , Fermín Acosta, LauraPérez-Lago, García-De-Viedma D. and Bouza E. , Diagnostic performance of Anyplex II MTB/MDR/XDR for detection of resistance to first and second line drugs in *Mycobacterium tuberculosis*, Journal of Microbiological Methods 2017; 139: 74-78.
16. Bureau of Tuberculosis, Department of Disease Control, Ministry of Public Health, Thailand, National Tuberculosis control Programme Guidelines, Thailand 2013.
17. Cepheid AB Sweden, Xpert MTB/RIF 2012.
18. Ngamlert K., Efficiency of Drug Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Detection between Xpert MTB/RIF and Line Probe Assay Using REBA MTB-MDR, Public Health Laboratory Office, Department of Health, Bangkok Metropolitan Administration: J Med Tech Assoc Thailand 2016; 44: 5535-5549.
19. PSS Precision System Science Co., Ltd. Japan, Magtration Reagent MagDEA Dx SV (GC) 2015.
20. Lawn SD, Zumla AI., Tuberculosis., Lancet 2011; 378 (9785): 57-72.
21. Pratikshya P., Narayan D. P., Komal R. R., Bhawana S., Sirita K., Megha R. B.,et al , Diagnostic Accuracy of GeneXpert MTB/RIF Assay in Comparison to Conventional Drug Susceptibility Testing Method for the Diagnosis of Multidrug-Resistant Tuberculosis, PLoS One 2017; 12(1): e0169798.
22. World Health Organization (WHO) Geneva, Global Tuberculosis Report 2018; 2018.