

ผลการตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคนอกปอดด้วยวิธี Gene Xpert MTB/RIF Assay โรงพยาบาลชลบุรี

วัชร จรุงวัชร*

Received: February 4, 2019

Revised & Accepted: March 15, 2020

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจหาเชื้อวัณโรคนอกปอดด้วยวิธี Xpert MTB/RIF G4, Xpert MTB/RIF Ultra และวิธีย้อมสีเสมียร์สไลด์ จากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจากน้ำไขสันหลัง ของเหลวจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย ของเหลวจากกระเพาะอาหาร หนอง และชิ้นเนื้อจากต่อมน้ำเหลือง 95 ตัวอย่าง extrapulmonary ได้รับการทดสอบหาเชื้อวัณโรคด้วยวิธีการย้อมสีดูลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF G4 และ 31 ตัวอย่างสำหรับการวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์และการตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra เมื่อเปรียบเทียบโดยใช้การเพาะเชื้อวัณโรคเป็นวิธีมาตรฐานพบว่ามีค่าความไวและความจำเพาะร้อยละ 66.67, 98.80 และร้อยละ 75.00, 96.30 ตามลำดับ จากผลการศึกษาในครั้งนี้ การตรวจด้วยวิธี Xpert MTB/RIF Ultra ที่พัฒนาขึ้นมา มีความไวมากกว่าวิธี Xpert MTB/RIF G4 และจากการดูตัวเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจนอกปอด

คำสำคัญ: วัณโรค, Xpert Ultra, Xpert G4



Utilization of Xpert MTB/RIF assay in tertiary care hospital: Diagnostic accuracy of extrapulmonary tuberculosis specimens

Wacharee Charoonwach*

Abstract

The performance of the Xpert MTB/RIF G4, the Xpert MTB/RIF Ultra and the AFB smear microscopy in detecting TB in extrapulmonary specimens from cerebrospinal fluid (CSF), body fluid, gastric content pus and lymphnode tissue and were submitted to laboratory for Mycobacteria diagnosis evaluated. Each sample from 95 of extrapulmonary specimens was divided for diagnosis using microscopy and Xpert MTB/RIF G4 assays, and each sample from 31 of extrapulmonary specimens was divided for diagnosis using microscopy and Xpert MTB/RIF Ultra assays; these were all comparatively evaluated, using the TB culture as a gold standard. For extrapulmonary specimen, the sensitivity and specificity were respectively: 66.67%, 98.80%, and 75.00, 96.30%. This result show that the new and improved Xpert MTB/RIF Ultra assay was more sensitive than GeneXpert G4 and AFB smear in extrapulmonary specimens.

Keywords: Tuberculosis, Xpert Ultra, Xpert G4

บทนำ

วัณโรค (Tuberculosis: TB) เป็นปัญหาทางสุขภาพที่สำคัญ องค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) รายงานผู้ป่วยวัณโรคประมาณ 10 ล้านคนต่อปี และโรคนี้อยู่เป็น 1 ใน 10 ของสาเหตุหลักของการเสียชีวิตของประชากรในโลกมากกว่าการเสียชีวิตจากโรคเอดส์ ประเทศไทยเป็น 1 ใน 14 ประเทศที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มประเทศที่มีภาวะวัณโรคสูง (High Burden Country: HBC) ทั้ง 3 กลุ่ม คือ กลุ่มวัณโรค (TB) วัณโรคที่ติดเชื้อเอชไอวี (TB/HIV) และวัณโรคดื้อยาหลายขนาน (MDR-TB)⁽¹⁾ โดยปี พ.ศ. 2559 องค์การอนามัยโลกได้กำหนดยุทธศาสตร์ยุติวัณโรค (The End TB Strategy) มีเป้าหมายลดอุบัติการณ์วัณโรคให้ต่ำกว่า 10 ต่อแสนประชากรโลกภายในปี พ.ศ. 2578 (ค.ศ. 2035) ประเทศไทยมีแผนยุทธศาสตร์วัณโรคระดับชาติ พ.ศ. 2560-2564 เพื่อเป็นกรอบการดำเนินงาน โดยมีมาตรการหลักในการจะบรรลุเป้าหมายการลดอุบัติการณ์วัณโรคให้เหลือ 88 ต่อประชากรแสนคน เมื่อสิ้นปี 2564⁽²⁾ โดยมุ่งเน้น “ค้นให้พบ จบด้วยหาย พัฒนาระบบและเครือข่าย นโยบายมุ่งมั่น สร้างสรรค์นวัตกรรม” ซึ่งหนึ่งในนั้นคือการนำเทคโนโลยีด้านการตรวจวินิจฉัย เพื่อค้นหาและวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรคให้รวดเร็วขึ้นตั้งแต่ระยะเริ่มแรกที่ยังไม่มีอาการ และตรวจทดสอบความไวต่อยาเพื่อวินิจฉัยวัณโรคดื้อยาให้ครอบคลุมมากขึ้น เพื่อให้การรักษาที่รวดเร็ว ลดอัตราการเสียชีวิตและลดการแพร่กระจายเชื้อวัณโรค นำไปสู่การลดความชุกและอุบัติการณ์วัณโรคให้เป็นไปตามเป้าหมายการควบคุมวัณโรคของประเทศไทยและของโลก

วัณโรคปอดและวัณโรคที่พบในบริเวณ endobronchial tree ในประเทศไทย พบได้ประมาณร้อยละ 80 ของวัณโรคทั้งหมด สำหรับวัณโรคนอกปอด (extra-pulmonary tuberculosis: EPTB) พบได้ประมาณร้อยละ 20 แต่ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วยสัดส่วนของวัณโรคนอกปอดมักจะพบมากขึ้น อวัยวะที่พบบ่อยได้แก่ ต่อม้ำเหลือง กระดูก (มักพบที่กระดูกสันหลัง) เยื่อหุ้มปอด ระบบทางเดินปัสสาวะ ลำไส้ เยื่อหุ้มสมอง เยื่อหุ้มหัวใจ ผิวหนัง⁽³⁾ องค์การอนามัยโลก แนะนำให้ประเทศที่มีภาวะวัณโรคสูง ตรวจวินิจฉัยวัณโรคและวัณโรค

ดื้อยาในกลุ่มเสี่ยงด้วยวิธี XpertMTB/RIF[®] assay (GeneXpert MTB/RIF) ซึ่งเป็นการตรวจแบบรวดเร็ว (rapid diagnosis test)⁽⁴⁾ ทดแทนการย้อมสีเสมียร์สไลด์ ร่วมกับการเพาะเชื้อโดยวิธี Solid culture หรือ Liquid culture ควบคู่กับการทดสอบยาต้านวัณโรค (Drug Susceptibility Test) ในรายติดตามการรักษา เนื่องจากมีค่าความไวและความจำเพาะในการตรวจหาเชื้อวัณโรคอยู่ที่ร้อยละ 88 และ 99 เมื่อทำการตรวจหาวัณโรคดื้อยาจะมีความไวร้อยละ 95 และความจำเพาะร้อยละ 98 และเมื่อตรวจจากสิ่งส่งตรวจนอกปอด (Extrapulmonary specimen) จะมีความไวประมาณร้อยละ 17-84 ความจำเพาะร้อยละ 92-98⁽⁵⁾

โรงพยาบาลชลบุรี ได้รับการสนับสนุนเครื่อง Xpert/RIF จากกองทุนโลกเช่นเดียวกับหลายโรงพยาบาลในประเทศไทย เพื่อนำมาใช้ตรวจหาเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยา ด้วยวิธี Xpert MTB/RIF G4 ตั้งแต่ พ.ศ. 2556 เป็นต้นมาและเมื่อปี พ.ศ. 2562 ได้เปลี่ยนมาใช้วิธี Xpert MTB/RIF Ultra ซึ่งองค์การอนามัยโลกแนะนำว่า มีความไวสูงกว่า GeneXpert MTB/RIF G4 ในการตรวจหาวัณโรคนอกปอด ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษา เพื่อประเมินความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของวิธี GeneXpert MTB/RIF G4 วิธี GeneXpert MTB/RIF และการย้อมสีเสมียร์สไลด์ เปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน ตรวจหาเชื้อวัณโรค เพื่อเป็นข้อมูลสำคัญประกอบการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ เพื่อผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ ประโยชน์ในการวินิจฉัย ป้องกันและการรักษาให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่าง

สิ่งตัวอย่างส่งตรวจของผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อวัณโรค นอกปอดที่ถูกส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเพื่อตรวจหาเชื้อวัณโรค จำนวนทั้งหมด 893 ตัวอย่าง โดยมีเกณฑ์คัดเข้าได้แก่สิ่งตัวอย่างส่งตรวจที่มีการตรวจทั้ง 3 วิธี คือ ย้อมสีเสมียร์สไลด์ วิธีXpert/MTB/RIF และวิธีเพาะเชื้อ และมีเกณฑ์คัดออกได้แก่สิ่งตัวอย่างส่งตรวจที่ตรวจเพียง 1 หรือ 2 วิธี ได้ขนาดตัวอย่าง 126 ตัวอย่าง ในจำนวนนี้

95 ตัวอย่าง ตรวจด้วยวิธีย้อมสีและวิธี Xpert/MTB/RIF G4 จำนวน 31ตรวจวิธีคือ ย้อมสีเสมียร์สไลด์ และวิธี Xpert/MTB/RIF Ultra

2. วิธีย้อมสีเสมียร์สไลด์

ป้ายสิ่งตัวอย่างส่งตรวจลงบนแผ่นสไลด์ fix ให้แห้ง หยดสี 0.1% Auramine O ให้ท่วมแผ่นสไลด์ทิ้งไว้ 15-20 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด ฟอกสีด้วย 0.5% Acid alcohol ทิ้งไว้ 2 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด ย้อมทับด้วย 0.5% KMnO₄ ล้างด้วยน้ำสะอาด เมื่อสไลด์แห้งนำไปตรวจหาเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ Fluorescence

3. วิธี Xpert MTB/RIF G4 และ วิธี Xpert MTB/RIF Ultra

สิ่งตัวอย่างส่งตรวจที่มีการปนเปื้อน จะทำการลดปริมาณเชื้อปนเปื้อนด้วยการเติมน้ำยา NALC-NaOH (N-acetyl-L-cystiene-sodium hydroxide) ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ปั่นที่ 30000 g นาน 15 นาที เทส่วนใสทิ้ง เหลือตะกอน แล้วเติมด้วย PBS buffer 1-2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ดูดมา 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง จากนั้นเข้าขั้นตอนทดสอบด้วย GeneXpert ด้วยการเติมน้ำยา sample reagent 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที เขย่าผสมอีกครั้ง ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นดูดส่วนใสด้านบน 2 มิลลิลิตร ใส่ใน cartridge นำเข้าเครื่องตรวจวิเคราะห์ GeneXpert เครื่องจะทำการตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมแบบอัตโนมัติ ซึ่งจะใช้เวลาตรวจวิเคราะห์ประมาณ 2 ชั่วโมง แสดงผลผ่านโปรแกรม GeneXpert Dx รายงานผลสองส่วน คือ ตรวจพบหรือไม่พบเชื้อวัณโรค และผลดีหรือไม่ดีต่อยาไรแฟมพิซินของเชื้อวัณโรคที่ตรวจพบ

4. วิธีเพาะเชื้อวัณโรคด้วยอาหารเหลว

วิธีนี้เป็นวิธีวินิจฉัยมาตรฐาน (gold standard method) โดยเฉพาะเชื้อวัณโรค ด้วยวิธี liquid culture เป็นการเพาะเชื้อระบบอัตโนมัติด้วยหลักการ non-radiometric สิ่งส่งตรวจจะถูกเพาะในหลอด growth

indicator ซึ่งมีอาหารเหลว middlebrook 7H9 ดูดตัวอย่างที่ได้ทำการลดการปนเปื้อนแล้ว 0.5 มิลลิลิตร ใส่ใน หลอดน้ำยา MGIT growth indicator แล้วเข้าเครื่องบ่มอัตโนมัติ เมื่อให้ผลบวก ทำการทดสอบวินิจฉัยเชื้อ และทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรค ตามวิธีการของ BACTEC MGIT960 (Becton Dickinson, USA)⁽⁴⁾

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อวัณโรค วิเคราะห์ผลโดยคำนวณค่าความไว ค่าความจำเพาะ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (95% CI)

ผลการศึกษา

ในช่วงเดือนมกราคม 2561 ถึง เมษายน 2562 จำนวนตัวอย่างที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลชลบุรี เพื่อวินิจฉัยเชื้อวัณโรคนอกปอด 95 ตัวอย่าง แบ่งเป็น สิ่งส่งตรวจจากน้ำไขสันหลัง (CSF) 35 ตัวอย่าง ของเหลวจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย (Body Fluid) 26 ตัวอย่าง ของเหลวจากกระเพาะอาหาร (Gastric content) 15 ตัวอย่าง หนอง (Pus) 13 ตัวอย่าง และ ชิ้นเนื้อจากต่อมน้ำเหลือง (LN tissue) 6 ตัวอย่าง ที่ส่งวินิจฉัยเชื้อทั้ง 3 วิธีพร้อมกัน คือ การตรวจหาเชื้อด้วยการย้อมสีเสมียร์สไลด์ ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (AFB smear microscopy) การตรวจเพาะเชื้อวัณโรคจากสิ่งส่งตรวจ (TB culture) และการตรวจทางชีวโมเลกุลซึ่งเป็นส่วนประกอบของเชื้อด้วยวิธี Xpert G4

จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 95 ตัวอย่าง พบว่า ผลตรวจด้วยวิธีย้อมสี ให้ผลเป็นบวก 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.16) ผลลบจำนวน 92 ตัวอย่าง (ร้อยละ 96.84) วิธีเพาะเชื้อ ให้ผลบวก 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 9.47) และผลลบจำนวน 86 ตัวอย่าง (ร้อยละ 90.53) และวิธี Xpert G4 ผลบวก 12 ตัวอย่าง (ร้อยละ 12.63) และผลลบจำนวน 83 ตัวอย่าง (ร้อยละ 87.37) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 General characteristic of sample in smear, culture, Xpert G4

Smear result	CSF	fluid	gastric content	pus	tissue	Total
positive	0	0	0	2	1	3
negative	35	26	15	11	5	92
total	35	26	15	13	6	95
Culture result						
positive	2	2	0	4	1	9
negative	33	24	15	9	5	86
total	35	26	15	13	6	95
Xpert G4 result						
Positive (TB detected)	2	3	0	6	1	12
Negative (TB not detect)	33	23	15	7	5	83
total	35	26	15	13	6	95

เมื่อนำผลวิธีย้อมสไลด์และวิธี Xpert G4 เปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน แยกตามชนิดของสิ่งส่งตรวจ ให้ผลค่าความไว (Sensitivity) ค่าความจำเพาะ (Specificity) ค่าทำนายผลบวก (PPV) และค่าทำนายผลลบ (NPV) ดัง**ตารางที่ 2** จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 95 ตัวอย่าง พบว่า ตรวจพบเชื้อวัณโรคโดยทั้ง 2 วิธีตรงกัน 4 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบเชื้อวัณโรคตรงกัน 12 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อวัณโรคโดยวิธี Xpert G4 แต่ตรวจไม่พบโดยวิธีย้อมสไลด์ 12 ตัวอย่าง และตรวจไม่พบเชื้อวัณโรคโดยวิธี Xpert G4 แต่ตรวจพบโดยวิธีย้อมสไลด์ 0 ตัวอย่าง วิเคราะห์ค่าความไว ค่าความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบ (**ตารางที่ 2**)

ในระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2562 ถึงมกราคม ปี พ.ศ. 2563 จำนวนสิ่งตัวอย่างส่งตรวจที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลชลบุรี เพื่อวินิจฉัย

เชื้อวัณโรคนอกปอด 31 ตัวอย่าง แบ่งเป็น สิ่งส่งตรวจจากน้ำไขสันหลัง 13 ตัวอย่าง ของเหลวจากส่วนต่างๆ ของร่างกาย 8 ตัวอย่าง ของเหลวจากกระเพาะอาหาร 4 ตัวอย่าง หนอง 3 ตัวอย่าง และชิ้นเนื้อจากต่อมน้ำเหลือง 3 ตัวอย่าง โดยส่งวินิจฉัยเชื้อพร้อมกันทั้ง 3 วิธี คือ การตรวจหาเชื้อทากรดในสิ่งส่งตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ การตรวจเพาะเชื้อวัณโรคจากสิ่งส่งตรวจ และการตรวจหาโมเลกุลซึ่งเป็นส่วนประกอบของเชื้อด้วยวิธี Xpert Ultra จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 31 ตัวอย่าง พบว่า ผลตรวจด้วยวิธีย้อมสไลด์ให้ผลเป็นบวก 0 ตัวอย่าง (ร้อยละ 00.00) ผลลบจำนวน 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 100.00) วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ให้ผลบวก 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 12.90) และผลลบจำนวน 27 ตัวอย่าง (ร้อยละ 87.10) และวิธี Xpert Ultra ผลบวก 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 12.90) และผลลบจำนวน 27 ตัวอย่าง (ร้อยละ 87.10) (**ตารางที่ 3**)

ตารางที่ 2 The performance of smear, Xpert G4 compare to culture

Sample	CSF		Fluid	
Parameter	Smear	Xpert G4	Smear	Xpert G4
True Positive	0	1	0	2
True Negative	33	32	24	23
False Positive	2	1	2	0
False Negative	0	1	0	1
Total	35	35	26	26
Sensitivity (CI),%	0	50.00(1.26-98.74)	0	66.67(9.43-99.16)
Specificity (CI),%	94.29(80.84-99.30)	96.97(84.2499.92)	92.31(74.87-99.05)	100.00(85.18-100.00)
PPV (CI),%	0	50.00(8.50-91.50)	0	100.00
NPV (CI),%	100.00	96.97(88.88-99.23)	100.00	95.83(82.28-99.13)
Sample	Gastric content		Pus	
Parameter	Smear	Xpert G4	Smear	Xpert G4
True Positive	0	0	1	4
True Negative	15	15	8	8
False Positive	0	0	3	0
False Negative	0	0	1	1
Total	15	15	13	13
Sensitivity (CI),%	0	0	50.00(1.26-98.74)	50.00(1.26-98.74)
Specificity (CI),%	100(78.20-100.00)	100.00(78.20-100.00)	72.73(39.03-93.98)	72.73(39.03-93.98)
PPV (CI),%	0	0	25.00(5.80-64.34)	25.00(5.80-64.34)
NPV (CI),%	100.00	100.00	88.89(65.63-97.10)	88.89(65.63-97.10)
Sample	Tissue		Total sample	
Parameter	Smear	Xpert G4	Smear	Xpert G4
True Positive	1	1	2	8
True Negative	5	5	85	82
False Positive	0	0	7	1
False Negative	0	0	1	4
Total	6	6	95	95
Sensitivity (CI),%	100.00(2.50-100.00)	100.00(2.50-100.00)	66.67(9.43-99.16)	66.67(34.89-90.08)
Specificity (CI),%	100.00(47.82-100.00)	100.00(47.82-100.00)	92.39(84.95-96.89)	98.80(93.47-99.97)
PPV (CI),%	100.00	100.00	22.22(8.92-45.47)	88.89(52.26-98.32)
NPV (CI),%	100.00	100.00	98.84(94.49-99.76)	95.35(90.20-97.86)

PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; *: 95% confidence interval

ตารางที่ 3 General characteristic of sample in smear, culture, Xpert Ultra

Smear result	CSF	fluid	gastric content	pus	tissue	Total sample
positive	0	0	0	0	0	0
negative	13	8	4	3	3	31
total	13	8	4	3	3	31
Culture result						
positive	0	2	0	0	2	4
negative	13	6	4	3	1	27
total	13	8	4	3	3	31
Xpert Ultra result						
positive (TB detected)	0	1	0	1	2	4
negative (TB not detect)	13	7	4	2	1	27
total	13	8	4	3	3	31

เมื่อนำผลวิธีย้อมสไลด์และวิธี Xpert Ultra เปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน แยกตามชนิดของสิ่งส่งตรวจ ให้ผลค่าความไว (Sensitivity) ค่าความจำเพาะ (Specificity) ค่าทำนายผลบวก (PPV) และค่าทำนายผลลบ (NPV) ดัง**ตารางที่ 4** จากจำนวน ตัวอย่างทั้งหมด 31 ตัวอย่าง พบว่า ตรวจพบเชื้อวัณโรค โดยวิธีย้อมสไลด์เปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ให้ผล ทั้ง 2 วิธีตรงกัน 0 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบเชื้อวัณโรคตรงกัน 4 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อวัณโรคโดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ แต่ตรวจไม่พบโดยวิธี AFB smear 4 ตัวอย่าง และตรวจ ไม่พบเชื้อวัณโรคโดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ แต่ตรวจพบโดยวิธี AFB smear 0 ตัวอย่าง วิเคราะห์ค่าความไว ค่าความ จำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบ (**ตาราง ที่ 4**)

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การเปรียบเทียบวิธีการตรวจพบเชื้อวัณโรค ด้วยวิธีย้อมสไลด์ วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อและวิธี Xpert G4 จาก ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจวัณโรคนอกปอด 95 ตัวอย่าง พบว่าวิธี ย้อมสไลด์ สามารถตรวจพบผลบวกเพียง 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.16) วิธี Xpert G4 สามารถตรวจพบผลบวกถึง

12 ตัวอย่าง (ร้อยละ 12.63) วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นวิธี มาตรฐานตรวจพบผลบวก 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.16) ดังนั้น วิธี Xpert G4 ตรวจพบได้มากกว่าวิธีย้อมสไลด์ 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 9.47) และตรวจพบได้มากกว่าวิธีเพาะ เลี้ยงเชื้อ 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.16) และเมื่อเปรียบเทียบ วิธีการตรวจพบเชื้อวัณโรคด้วยวิธีย้อมสไลด์ วิธีเพาะเลี้ยง เชื้อ และวิธี Xpert Ultra จากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจวัณโรค นอกปอด 31 ตัวอย่าง พบว่า วิธีย้อมสไลด์ ตรวจไม่พบเชื้อ วัณโรค แต่วิธี Xpert Ultra และวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ตรวจพบ ผลบวกตรงกันถึง 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 100) และค่าทำนาย ผลลบ (NPV) จะพบว่าวิธีย้อมสไลด์ และวิธี Xpert G4 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ให้ค่าความไว (ร้อยละ 66.67) เท่ากัน แต่วิธี Xpert G4 ให้ค่าความจำเพาะ (ร้อยละ 98.80) และค่าทำนายผลบวก (ร้อยละ 88.89) ซึ่งมากกว่าวิธีย้อมสไลด์ ในขณะที่วิธีย้อมสไลด์ และวิธี Xpert Ultra เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ให้ค่า ความไว (ร้อยละ 75.00) ความจำเพาะ (ร้อยละ 96.30) และค่าทำนายผลบวก (ร้อยละ 75.00) มากกว่าวิธีย้อม สไลด์ และค่าทำนายผลลบของทั้งวิธี Xpert G4 และวิธี Xpert Ultra ให้ค่าน้อยกว่าวิธีย้อมสไลด์ คิดเป็นร้อยละ 95.35 และร้อยละ 96.30 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการ

ศึกษาในประเทศอเมริกาได้ ผลการตรวจเชื้อวัณโรคด้วยวิธี Xpert Ultra เปรียบเทียบกับ Xpert G4 วิธี Line probe assays (LPA) และ auramine smear microscopy พบว่าวิธี Xpert Ultra มีความไวมากกว่าวิธี GeneXpert G4 และ LPA จากตัวอย่างที่ส่งสัณยโรคปอดและนอกปอด⁽⁶⁾ ซึ่งวิธี Xpert® MTB/RIF assay (Cepheid, Sunnyvale, USA) เป็นการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยวัณโรคและการดื้อยาไรแฟมพิซินอย่างกว้างขวาง⁽⁷⁾ แต่อย่างไรก็ตามวิธียังมีความไวในการทดสอบน้อย โดยเฉพาะในรายที่ให้ผลลบกับการตรวจด้วยวิธีย้อมสไลด์ อีกทั้งในผู้ป่วยวัณโรคที่ติดเชื้อเอชไอวี⁽⁸⁾ อีกทั้งยังมีข้อจำกัดในการหาการดื้อยาไรแฟมพิซิน⁽⁹⁾ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาวิธี Xpert® MTB/RIF Ultra assay (Cepheid, Sunnyvale, USA) ขึ้น⁽¹⁰⁾ เพื่อเพิ่มความไวในการตรวจหาเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปี ค.ศ. 2018 ผลการตรวจเชื้อวัณโรคด้วยวิธี Xpert Ultra เปรียบ

เทียบกับ Xpert G4 ให้ความไวร้อยละ 63 และร้อยละ 46 ตามลำดับ จากตัวอย่างเสมหะผู้ป่วย 137 คนที่ให้ผลย้อมสไลด์เป็นลบแต่ผลบวกต่อวิธีการเพาะเชื้อ และให้ความไวร้อยละ 90 และร้อยละ 77 จากตัวอย่างเสมหะผู้ป่วยเอชไอวี 115 ที่ให้ผลบวกต่อวิธีการเพาะเชื้อ⁽¹¹⁾ ซึ่งในประเทศไทย สำนักวัณโรคได้นำวิธี Xpert Ultra มาทดแทนการใช้ Xpert G4 ในห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิเคราะห์เชื้อวัณโรคด้วยเทคนิคดังกล่าวในทุกพื้นที่ ดังนั้นผลการศึกษานี้พบว่าเทคนิคการตรวจด้วยวิธี Xpert Ultra มีประสิทธิภาพในการตรวจเชื้อวัณโรคได้ถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น ลดการเพิ่มผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ ทั้งนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในช่วงเวลาต่างๆ มากขึ้น เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครอบคลุม เพิ่มจำนวนตัวอย่าง รวมถึงข้อมูลในการทดสอบความไวต่อยา ซึ่งเชื้อวัณโรคดื้อยาซึ่งเป็นปัญหาสำคัญทั่วโลก

ตารางที่ 4 The performance of smear, Xpert Ultra compare to culture

Sample	CSF		Fluid	
Parameter	Smear	Xpert Ultra	Smear	Xpert Ultra
True Positive	0	0	0	1
True Negative	13	13	6	6
False Positive	0	0	2	1
False Negative	0	0	0	0
Total	13	13	8	8
Sensitivity (CI),%	0	0	0	100.00(2.5-100.00)
Specificity (CI),%	100.00(75.29-100.00)	100.00(75.29-100.00)	75.00(34.91-96.81)	85.71(42.13-99.64)
PPV (CI),%	0	0	0	50.00(14.01-85.99)
NPV (CI),%	100.00	100.00	100	100.00
Sample	Gastric content		Pus	
Parameter	Smear	Xpert Ultra	Smear	Xpert Ultra
True Positive	0	0	0	0
True Negative	4	4	3	2
False Positive	0	0	0	0
False Negative	0	0	0	1
Total	4	4	3	3
Sensitivity (CI),%	0	0	0	0.00(0.00-97.50)
Specificity (CI),%	100.00(39.76-100.00)	100.00(39.76-100.00)	100.00(29.24-100.00)	100.00(15.81-100.00)
PPV (CI),%	0	0	0	0
NPV (CI),%	100.00	100.00	100.00	66.67(66.67-66.67)

ตารางที่ 4 The performance of smear, Xpert Ultra compare to culture (cont.)

Sample	Tissue		Total sample	
Parameter	Smear	Xpert Ultra	Smear	Xpert Ultra
True Positive	0	2	0	3
True Negative	1	1	27	26
False Positive	2	0	4	1
False Negative	0	0	0	1
Total	3	3	31	31
Sensitivity (CI),%	0	100.00(15.81-100.00)	0	75.00(19.14-99.37)
Specificity (CI),%	33.33(0.84-90.57)	100.00(2.50-100.00)	87.10(70.17-96.37)	96.30(81.03-99.91)
PPV (CI),%	0	100.00	0	75.00(28.78-95.70)
NPV (CI),%	100.00	100.00	100.00	96.30(82.62-99.30)

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2019. Geneva; 2019.
2. Department of Disease Control; Ministry of Public Health. Monitoring and Evaluation of Thailand Operational Plan to End TB 2017-2021. 1st ed. Bangkok: Printing Aksorn Graphic and Design Publishing House; 2018
3. Bureau of Tuberculosis: Department of Disease Control; Ministry of Public Health. National Tuberculosis control Programme Guidelines, Thailand, 2018.1st ed. Bangkok: Printing Aksorn Graphic and Design Publishing House;2018
4. Heinrich N, Rachow A, Hoelscher M. Rapid molecular detection of tuberculosis. N Engl J Med. 2011; 364(2): 184-5.
5. World Health Organization. Policy statement: automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system. Geneva; 2011.
6. Osei Sekyere J, Maphalala N, Malinga LA, Mbelle NM, Maningi NE. A Comparative Evaluation of the New Genexpert MTB/RIF Ultra and other Rapid Diagnostic Assays for Detecting Tuberculosis in Pulmonary and Extra Pulmonary Specimens. Sci Rep. 2019; 9(1): 16587.
7. Denkinger CM, Schumacher SG, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Eur Respir J. 2014; 44(2): 435-46.
8. Bahr NC, Nuwagira E, Evans EE, Cresswell FV, et al. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF Ultra for tuberculous meningitis in HIV-infected adults: a prospective cohort study. Lancet Infect Dis. 2018; 18(1): 68-75.
9. Dorman SE, Schumacher SG, Alland D, Nabeta P, Armstrong DT, King B, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampicin resistance: a prospective multicentre diagnostic accuracy study. Lancet Infect Dis. 2018; 18(1): 76-84.

10. World Health Organization. WHO Meeting Report of a Technical Expert Consultation: Non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. Geneva; 2017.
11. Chakravorty S, Simmons AM, Rowneki M, Parmar H. et al. The New Xpert MTB/RIF Ultra: Improving Detection of Mycobacterium tuberculosis and Resistance to Rifampin in an Assay Suitable for Point-of-Care Testing. *mBio*. 2017; 8(4).