

การประเมินการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อรา *Candida albicans* ในช่องคลอด ด้วยวิธีอิมมูโนโครมาโตกราฟี ในโรงพยาบาลน่าน

สาณิตย์ คำวัง¹*, สุชาติ ศิริใจชิงกุล², ศรีวิไล วโรภาสตระกูล², วิทยบุญ วงศ์ประทุม², วรพงศ์รัตน์ เอกอนันต์กุล³

Received: October 12, 2011

Revised & Accepted: April 4, 2012

บทคัดย่อ

อาการช่องคลอดอักเสบมีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และพยาธิทริโคโมแนส ที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อรา ประมาณร้อยละ 80-90 เกิดจาก เชื้อราชนิด *Candida albicans* การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วย การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ การย้อมสีแกรม และการเพาะเชื้อ การเพาะเชื้อถือเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับยืนยันการติดเชื้อราในช่องคลอด แต่เป็นการตรวจที่ต้องใช้ทักษะ อุปกรณ์ราคาแพง และใช้เวลานาน การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินวิธีการตรวจหาการติดเชื้อราแบบรวดเร็วด้วยวิธี *C. albicans* rapid test strip โดยการตรวจในผู้ป่วยที่เข้ามารับการรักษาที่คลินิกสูตินรีเวชกรรม โรงพยาบาลน่าน ระหว่างเดือนมกราคม ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2553 จำนวน 100 ราย โดยเก็บตัวอย่างจากช่องคลอดรายละ 2 ตัวอย่าง ทำการตรวจด้วย *C. albicans* rapid test strip การทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ การย้อมสีแกรมและการเพาะเชื้อ ผลการศึกษาพบว่า การตรวจด้วยวิธี rapid test strip มีค่า ความไว ความจำเพาะ การทำนายผลบวก และการทำนายผลลบ ร้อยละ 98.7, 79.2, 93.8 และ 95.0 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเชื้อ ส่วนการย้อมสีแกรมและการทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีความไวร้อยละ 86.8 และ 85.5 ความจำเพาะร้อยละ 83.3 และ 87.5 ค่าการทำนายผลบวกร้อยละ 94.3 และ 95.6 และค่าการทำนายผลลบร้อยละ 66.7 และ 65.6 ตามลำดับ การตรวจหาการติดเชื้อราในช่องคลอดด้วยวิธี *C. albicans* rapid test strip ให้ผลการตรวจที่รวดเร็ว มีความไวและความจำเพาะสูง ใกล้เคียงกับวิธีการทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์และการย้อมสีแกรมที่นิยมใช้ในงานประจำวัน

คำสำคัญ: ช่องคลอดอักเสบ, การตรวจหาการติดเชื้อรา *Candida* แบบรวดเร็วด้วย strip test

¹ นักศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4

² สายวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ คลินิกสูตินรีเวชกรรม โรงพยาบาลน่าน

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Evaluation of immunochromatographic assay for detection of *Candida albicans* in vaginal discharge at Nan Hospital

Sanit Comwang^{1*}, Suchat Sirijaichingkul², Srivilai Waropastrakul²,
Winyou Wongpratoom², Warangrat Ek-anankul³

Abstract

The major etiologic agents of vulvovaginitis are bacteria, fungi, and trichomonas. About 80 to 90 % of fungal vulvovaginitis is caused by *Candida albicans*, which can be examined by wet smear preparation, Gram stain and yeast culture. Culture method is regarded as a gold standard method but it requires skill, expensive equipment, and takes several days to obtain a result. The aim of this study is to evaluate a rapid vaginal yeast assay by *C. albicans* rapid test strip for detection of *C. albicans* in vaginal discharge. One hundred women with itching and vulvovaginitis attended at Obstetrics Gynecologic clinic in Nan Hospital during January to June 2010, were investigated prospectively. Two vaginal swabs were collected from each participant and tested by the rapid test strip, saline wet smear microscopic examination, Gram-stained smear and yeast culture. The rapid test strip showed 98.7 % sensitivity, 79.2 % specificity, 93.8 % positive predictive value and 95.0 % negative predictive value as compared to the gold standard yeast culture. The Gram stain and wet mount methods showed 86.8 % and 85.5 % sensitivity, 83.3% and 87.5% specificity, 94.3% and 95.6% positive predictive value and 66.7 % and 65.6% negative predictive value, respectively. In conclusion, the *C. albicans* rapid test strip could provide a rapid result and is easy to perform with high sensitivity and specificity comparable to routine saline wet smear microscopic examination and Gram-stained smear commonly used for the diagnosis of *C. albicans* vulvovaginitis.

Keywords: Vulvovaginitis, *C. albicans* rapid test strip

¹ The fourth year Medical Technology student,

² Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

³ Obstetric-Gynecology Clinic, Nan Hospital

* Corresponding author (e-mail: sanit_cnan@yahoo.co.th)

บทนำ

อาการคันบริเวณช่องคลอดเป็นอาการเด่นของการอักเสบของช่องคลอดสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Vulvovaginal candidiasis* (VVC) และเชื้อพยาธิทริโคโมแนส เป็นปัญหาที่พบบ่อยในคลินิกสูติ-นรีเวชกรรม ประมาณ 3 ใน 4 ของสตรีเคยประสบอาการคันบริเวณช่องคลอดอย่างน้อยหนึ่งครั้งในชีวิต⁽¹⁾ ซึ่งการอักเสบของช่องคลอดส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา *Candida albicans* (ร้อยละ 80-92) มีส่วนน้อยเกิดจาก *Candida* ชนิดอื่น (non-*albicans* species) เช่น *C. glabrata*, *C. parapsilosis* และ *C. tropicalis* เป็นต้น สามารถตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการได้โดยวิธีการต่างๆ เช่น การตรวจด้วยวิธีดูสด (wet mount preparation) การย้อมสีแกรม (Gram stain smear) การเพาะเชื้อ (yeast culture) และการตรวจด้วยวิธี immunochromatography

การตรวจหาเชื้อราโดยวิธี immunochromatography เป็นวิธีการตรวจแยกชนิดของแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่พัฒนาขึ้นให้เป็นวิธีการตรวจที่รวดเร็ว⁽²⁾ การตรวจด้วยวิธี *C. albicans* rapid test strip เป็นการตรวจหา outer membrane protein ของ *C. albicans* โดยแถบทดสอบประกอบด้วยส่วนที่หนึ่งสำหรับใส่สิ่งส่งตรวจ ส่วนที่สองซึ่งเป็นส่วนที่มี *C. albicans* polyclonal antibodies ที่ติดฉลากด้วย colloidal gold และปลายอีกด้านเป็นส่วนแสดงปฏิกิริยา (test line, T) ซึ่งมีแอนติบอดีของ *C. albicans* ตรึงอยู่เป็นแถบพร้อมกับแถบควบคุม (control line, C) ซึ่งมี goat anti-*C. albicans* antibody เคลือบอยู่ เมื่อเติมสิ่งส่งตรวจลงไป แอนติเจนในสิ่งส่งตรวจจะเคลื่อนที่ไปทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่มี colloidal gold เคลือบอยู่เกิดเป็น Ag-Ab complex ซึ่งจะเคลื่อนที่ตามแนวราบไปยังส่วนปลายของแถบที่มีแอนติบอดีของ *C. albicans* เคลือบอยู่ ทำให้เกิดปฏิกิริยาเห็นเป็นแถบสีชมพู ส่วนแอนติบอดีที่มี colloidal gold ที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยาจะเคลื่อนที่ผ่านไปทำปฏิกิริยากับแถบควบคุมซึ่งเคลือบด้วย goat anti-*C. albicans* antibody เกิดเป็นแถบสีชมพู เช่นเดียวกัน ผลบวกจะเห็นเป็นแถบสี 2 แถบ ขณะที่ผลลบเกิดแถบสีชมพูบนแถบควบคุมเท่านั้น ถ้าไม่มีแถบสีชมพูเกิดขึ้นที่แถบควบคุมหรือเกิดเฉพาะแถบทดสอบจะต้องทำการทดสอบใหม่ การศึกษาในครั้งนี้ได้ประเมินการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อรา *C. albicans* ในช่องคลอดด้วยวิธี *C. albicans* rapid test strip โดยเปรียบเทียบกับวิธีดูสด วิธีการย้อมสีแกรม และวิธี

การเพาะเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน ที่ใช้ตรวจในโรงพยาบาลนาน เพื่อใช้เป็นแนวทางในการนำไปใช้ตรวจหาเชื้อรา *C. albicans* ในกรณีต้องการผลเร่งด่วน

วัสดุและวิธีการศึกษา

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

เก็บตัวอย่างสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดของผู้ป่วยที่สงสัยว่ามีการติดเชื้อราในช่องคลอดที่มารับการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลนาน จำนวน 100 ราย ระหว่างเดือนมกราคมถึงมิถุนายน พ.ศ. 2553 โดยเก็บตัวอย่างในน้ำเกลือจากผู้ป่วยรายละ 2 ตัวอย่าง

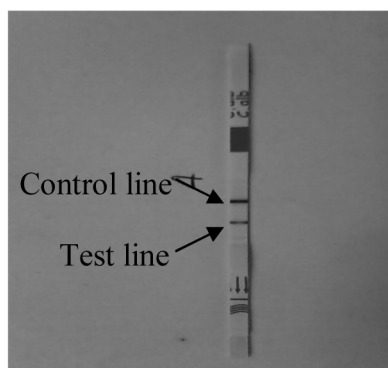
การตรวจด้วยวิธี Rapid immunochromatography

ตรวจวิเคราะห์ด้วยชุดตรวจ *C. albicans* rapid test strip (JD Biotech, Taipei, Taiwan) โดยใช้หลักการ immunochromatographic assay⁽³⁾ ทดสอบโดยดูดน้ำยาบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 5 มิลลิลิตร นำ swab ที่ป้ายตัวอย่างมาแล้วจุ่มลงในหลอดทดลองที่มีน้ำยาบัฟเฟอร์อยู่ จุ่มแถบชุดตรวจลงในหลอดทดลองที่มีน้ำยา อ่านผลภายใน 15 นาที ผลบวกจะปรากฏแถบสีชมพูทั้งบริเวณ แถบควบคุม (C) และแถบทดสอบ (T) ผลลบจะปรากฏแถบสีชมพูที่แถบควบคุม (C) เท่านั้น (รูปที่ 1) และผล invalid จะไม่ปรากฏแถบสีใดๆ ขึ้นหรือไม่ปรากฏแถบสีชมพูที่แถบควบคุม ควรทำการทดสอบใหม่

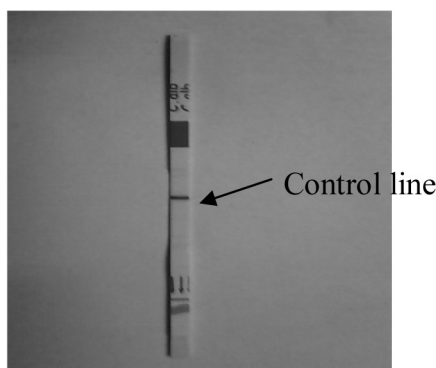
การตรวจด้วยวิธีดูสด หยดสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดลงบนแผ่นสไลด์ ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตรวจหาเชื้อรา *Candida* ผลบวกจะพบสายราเทียม (pseudohyphae) และเซลล์ยีสต์

การตรวจด้วยวิธีการย้อมสีแกรม ป้ายสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดบนแผ่นสไลด์เมื่อแห้ง ตรึงสไลด์แล้วย้อมด้วยสีแกรม ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ผลบวกกับเชื้อรา *Candida* จะพบสายราเทียมและเซลล์ยีสต์ซึ่งติดสีม่วง

การเพาะเชื้อ นำสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดขวดที่ 2 ไปเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ chromogenic *Candida* agar (Oxoid, Hampshire, UK) อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อ่านผลภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง ถ้าพบลักษณะโคโลนีเป็นสีเขียวแสดงว่าเป็น *C. albicans* ถ้าไม่ใช่สีเขียวแสดงว่าเป็นเชื้อรา *Candida* ชนิดอื่น



ผลบวก



ผลลบ

รูปที่ 1 แสดงผลการตรวจด้วยชุดตรวจ *C. albicans* rapid test strip ที่ใช้ในการศึกษา

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาการติดเชื้อรา *C. albicans* ในช่องคลอด จากจำนวนผู้ป่วยที่มีอาการคันและตกขาวจำนวน 100 ราย โดยวิธีเพาะเชื้อพบว่าให้โคโลนีสีเขียวซึ่งแสดงว่าเป็นผลบวก สำหรับ *C. albicans* จำนวน 76 ราย และผลการเพาะเชื้อไม่พบโคโลนีสีเขียวแสดงว่าไม่ใช่ *C. albicans* จำนวน 24 ราย อัตราความชุกของ *C. albicans* เท่ากับร้อยละ 76.0 โดยกลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุระหว่าง 31-40 ปี มีอัตราความชุกมากกว่าช่วงอายุอื่นๆ (ตารางที่ 1) เมื่อตรวจด้วยวิธี *C. albicans* rapid test strip ให้ผลบวก 80 ราย คิดเป็นค่า ความไวร้อยละ 98.7 ความจำเพาะร้อยละ 79.2 การทำนายผลบวก และการทำนายผลลบ ร้อยละ 93.8 และ 95.0 ตามลำดับ การตรวจด้วยวิธีการย้อมสีแกรมให้ผลบวก 70 ราย มีความไวร้อยละ 86.8 ความจำเพาะร้อยละ 83.3 ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบ ร้อยละ 94.3 และ 66.7 ตามลำดับ ส่วนการตรวจด้วยวิธีดูสไลด์ให้ผลบวก 68 ราย มีความไวร้อยละ 85.5 ความจำเพาะร้อยละ 87.5 ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบ ร้อยละ 95.6 และ 65.6 ตามลำดับ ดังแสดงใน ตารางที่ 2

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการประเมินการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อรา *C. albicans* ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการคันและการอักเสบในช่องคลอดของสตรีด้วยวิธี *C. albicans* rapid test strip พบว่ามีความไวมากกว่าวิธีดูสไลด์และการย้อมสีแกรม เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจกับการตรวจหาเชื้อรา *C. albicans* ด้วยวิธี *C. albicans* rapid test strip ใน

การศึกษานี้กับการศึกษาอื่นๆ พบว่าให้ผลการศึกษาใกล้เคียงกับการศึกษาของ Marot-Leblond และคณะ⁽⁴⁾ และการศึกษาของ Matsui และคณะ⁽⁵⁾ แต่ต่างกับการศึกษาของคณะอื่นๆ⁽⁶⁻⁸⁾ (ตารางที่ 3) การที่มีความไวสูงใกล้เคียงกับการศึกษาของ Marot-Leblond และคณะ แต่มีความจำเพาะน้อยกว่าการศึกษาอื่นนั้นอาจขึ้นอยู่กับกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาและวิธีการตรวจที่อาจแตกต่างกันไป การศึกษานี้มีค่าความจำเพาะของวิธี *C. albicans* rapid test strip ต่ำกว่าวิธีการตรวจด้วยวิธีดูสไลด์เล็กน้อยอาจเกิดเนื่องจาก วิธี *C. albicans* rapid test strip เป็นการตรวจหาส่วนของ antigen โดยใช้ polyclonal antibody ที่จำเพาะต่อ outer membrane protein ซึ่งเป็น common antigen ของ *Candida spp.* และ ความไวและความจำเพาะของ chromogenic *Candida* agar สำหรับ *C. albicans* จากรายงานของ Biaxench และคณะ⁽⁹⁾ มีค่าเท่ากับร้อยละ 96.6 และร้อยละ 100

การตรวจหาเชื้อรา *C. albicans* ด้วยวิธี *C. albicans* rapid test strip มีขั้นตอนการทดสอบที่ง่าย ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือ สามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่า เนื่องจากใช้หลักการ immunochromatographic assay ซึ่งมีความไวสูงกว่าการตรวจด้วยวิธีดูสไลด์ สามารถนำมาใช้ในการตรวจในงานบริการที่ไม่มีกล้องจุลทรรศน์ และช่วยในการตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น นอกจากนี้สามารถนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *C. albicans* ในช่องคลอดได้ในกรณีที่ต้องการผลการตรวจเร่งด่วนและสามารถใช้ในการตรวจเพื่อประกอบการวินิจฉัยการติดเชื้อ *C. albicans* และช่วยแพทย์ในการรักษาที่ถูกต้องแก่ผู้ป่วยในโรงพยาบาลน่านได้

ตารางที่ 1 ตัวอย่างที่ศึกษาและจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธีเพาะเชื้อจำแนกตามอายุของผู้ป่วย

อายุ (ปี)	จำนวน	จำนวนผลบวกกับวิธีเพาะเชื้อ (ร้อยละ)
< 20	5	4 (4.0)
20 - 30	29	20 (20.0)
31 - 40	40	33 (33.0)
41 - 50	17	14 (14.0)
> 50	9	5 (5.0)
รวม	100	76 (76.0)

ตารางที่ 2 ความไว ความจำเพาะ ค่าการทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบ ของวิธีดูสด การย้อมสีแกรม และ *C. albicans* rapid test strip ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *C. albicans* ในตัวอย่างจากช่องคลอดเมื่อใช้วิธีการเพาะเชื้อเป็นวิธีมาตรฐาน

Tests	ผลการเพาะเชื้อ <i>C. albicans</i>		ความไว (%)	ความจำเพาะ (%)	ค่าการทำนาย ผลบวก (%)	ค่าการทำนาย ผลลบ (%)
	ผลบวก (N = 76)	ผลลบ (N = 24)				
Wet mount			85.5	87.5	95.6	65.6
Positive	65	3				
Negative	11	21				
Gram stain			86.8	83.3	94.3	66.7
Positive	66	4				
Negative	10	20				
Rapid test strip			98.7	79.2	93.8	95.0
Positive	75	5				
Negative	1	19				

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลการตรวจหาเชื้อรา *C. albicans* ด้วยวิธี *C. albicans* rapid test strip กับการศึกษาอื่น การศึกษาทั้งหมดใช้การเพาะเชื้อเป็นวิธีมาตรฐาน ND = not done

การศึกษา	วิธีการศึกษา	จำนวนตัวอย่าง	ความไว (%)	ความจำเพาะ (%)	ค่าการทำนายผลบวก (%)	ค่าการทำนายผลลบ (%)
Chatwani และคณะ (2007)	- Savvy Check vaginal yeast test (Savvy-on Diagnostic, Israel) - Wet mount	70 (asymptomatic) 34 (symptomatic)	73.1 49.3	79.4 88.9	69.8 72.0	82.0 70.9
Marot-Leblond และคณะ (2009)	- Immunochromatography Candi -Vagi assay (SR2B, France) - Wet mount	130 (asymptomatic) 75 (symptomatic)	96.6 61.6	98.6 100.0	96.6 100.0	98.6 86.3
Matsui และคณะ (2009)	Immunochromatography (Anti-Candida mannan Ig G)	200 (symptomatic)	80.3	99.3	98.0	92.0
Gaur และคณะ (2009)	Immunochromatography	70 (symptomatic)	77.0	ND	ND	ND
Dan และคณะ (2010)	- Rapid yeast test by Savvycheck - Gram stain	231 (symptomatic)	79.0 93.0	96.0 95.0	94.0 89.0	87.0 87.0
การศึกษานี้	- <i>C. albicans</i> rapid test strip - Wet mount - Gram stain	100 (symptomatic)	98.7 85.5 86.8	79.2 87.5 83.3	93.8 95.5 94.3	95.0 65.6 66.7

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของภาคนิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยขอนแก่น และได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. Rodgers CA, Beardall AJ. Recurrent vulvovaginal candidiasis; why does it occur? Int J STD AIDS 1999; 10: 435-41.
2. อรวดี หาญวิวัฒน์วงศ์. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีและคลินิก. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัด ภาพพิมพ์; 2551: 171-2.
3. Instruction manual, *Candida albicans* (C.albs) rapid test strip, JD Biotech, Taipei, Taiwan.
4. Marot-Leblond A, Nail-Billaud S, Pilon F, Beucher B, Poulain D, Robert R. Efficient diagnosis of vulvovaginal candidiasis by use of a new rapid immunochromatography test. J Clin Microbiol 2009; 47: 3821-5.
5. Matsui H, Hanaki H, Takahashi K, Yokoyama A, Nakae T, Sunakawa K, et al. Rapid detection of vaginal *Candida* species by newly developed immunochromatography. Clin Vaccine Immunol 2009; 16: 1366-8.
6. Chatwani AJ, Mehta R, Hassan S, Rahimi S, Jeronis S, Dandolu V. Rapid testing for vaginal yeast detection: a prospective study. Am J Obstet Gynecol 2007; 196: 309-10.
7. Gaur SK, Frick KD, Dandolu V. A cost effectiveness analysis of rapid yeast detection kits. Womens Health Issues 2010; 20: 75-9.
8. Dan M, Leshem Y, Yeshaya A. Performance of a rapid yeast test in detection *Candida* spp. in the vagina. Diagn Microbiol Infect Dis 2010; 67: 52-5.
9. Biachen MT, Taillandier A, Paugam A. Clinical and experimental evaluation of a new chromogenic medium (OCCA, Oxoid) for direct identification of *Candida albicans*, *C. tropicalis*, and *C. krusei*. Mycoses 2006; 49: 311-5.