

นิพนธ์ต้นฉบับ

**ประสิทธิภาพของการตรวจพบการติดเชื้อโรคเรื้อน โดยวิธี PGL-1
(Phenolic glycolipid 1) Rapid flow test เปรียบเทียบกับ Slit skin smear Neelsen
ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเรื้อน และผู้สัมผัสโรคเรื้อนรวมบ้าน พื้นที่จังหวัดเชียงใหม่
เชิงราย พะเยา และลำปาง**

วรศักดิ์ สุทชัย* วิรัช นีราวุธ* กมลวรรณ บุญโปร่ง*

บทคัดย่อ

ความเป็นมา: การวินิจฉัยโรคเรื้อนปัจจุบันใช้วิธีตรวจร่างกายดูรอยโรค ควบคู่กับการใช้วิธีทางห้องปฏิบัติการ คือวิธีกรีดผิวหนัง (Slit-skin smear) แล้วย้อมด้วยวิธี Ziehl-Neelsen แต่การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อพิสูจน์โรคเรื้อนได้มีพัฒนาการจนสามารถตรวจให้มีความไว มีความจำเพาะต่อโรคเรื้อน และยังสามารถตรวจผู้สัมผัสที่ยังไม่มีอาการได้ เช่น วิธีตรวจหา Anti-PGL-1

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาเปรียบเทียบอัตราการตรวจพบ ผู้ป่วยโรคเรื้อนและผู้สัมผัสโรคเรื้อนที่ได้รับเชื้อมาตรฐาน Slit skin smear & Zeihl Neelsen staining กับวิธี PGL-1 rapid flow test และใช้ผลการตรวจศึกษาผู้เข้าข่ายที่ต้องเฝ้าระวังติดตาม อาการ การเกิดโรคหลังจากนั้นอีก 1 ปี

วิธีการ: คัดรายชื่อผู้ป่วย จากทะเบียนผู้ป่วยโรคเรื้อนปี 2547 ที่ทราบผลและขึ้นทะเบียนรักษา ผู้สัมผัสร่วมบ้าน เข้าพื้นที่ สัมภาษณ์ และตรวจร่างกาย ผู้ป่วย และผู้สัมผัสร่วมบ้าน รายที่มีรอยโรค ทำ Slit skin smear และย้อมสีวิธี Ziehl – Neelsen จากนั้นวินิจฉัยเชื้อมาตรฐานกล้องจุลทรรศน์ และ เจาะเลือดปั่นเก็บซีรัมตรวจ Anti PGL-1 สรุปลักษณะ อัตราตรวจพบในวิธีการตรวจต่างๆ แล้วใช้ผลติดตามการเกิดโรคหลังจากนั้น 1 ปี

ผลการศึกษา: จากการตรวจโรคเรื้อนทางห้องปฏิบัติการ โดยวิธี Slit skin smear & Ziehl Neelsen staining และ PGL-1 Rapid flow test ในกลุ่มผู้ป่วยโรคเรื้อนทั้งหมด 25 ตัวอย่าง พบผลบวก 6 (24 %) และ 13 (59%) ตัวอย่าง ในกลุ่มผู้สัมผัสโรคเรื้อนร่วมบ้านทั้งหมด 55 ตัวอย่าง พบผลบวก 0 (ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้เพราะไม่มีรอยโรค) และ 25 (45.5%) ตัวอย่าง ตามลำดับ และผลศึกษาติดตามการเกิดโรคในอีก 1 ปีภายหลัง ยังไม่พบการเกิดโรคในกลุ่ม ผู้สัมผัสที่ตรวจพบผลผิดปกติทางห้องปฏิบัติการ

สรุป ผลจากการศึกษาพบว่า Slit skin smear เป็นวิธีมาตรฐานแต่มีความไวต่ำ ส่วนวิธี PGL-1 ความไวในการตรวจสูงกว่า การเก็บตัวอย่างตรวจทำได้ง่ายกว่า วิธีตรวจไม่ซับซ้อน จึงเหมาะสมที่จะเป็นวิธีใช้ในการค้นหา โรคเรื้อนในพื้นที่ และสามารถหาจุดที่ต้องเฝ้าระวัง ป้องกัน ได้อย่างดีเป็นประโยชน์ต่อการควบคุมโรคเรื้อนในอนาคต วารสารเทคนิค การแพทย์เชียงใหม่ 2552; 42: 120-127.

คำรหัส: ประสิทธิภาพการตรวจโรคเรื้อน slit skin smear ย้อม Ziehl – Neelsen PGL-1 Rapid flow test

*สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่

Abstract: Efficiency of detection of leprosy infection by PGL-1 (Phenolic glycolipid 1) Rapid flow test compared with Slit skin smear in clinical diagnosed patients and contact persons in Chiang Mai, Chiang Rai, Payao, and Lampang

Vorasak Sutacha,* Wirat Niraroot,* Kamolwun Boonprong*

Rationale: Leprosy disease's diagnosis method is to observe disease lesion on skin and investigate with laboratory method by slit skin smears & Ziehl Neelsen staining. Improving of laboratory methods for more sensitivity test and more specific test such as Anti PGL-1 test are available now and can also detect clinical and subclinical contact positive cases.

Objective: To study positive rate of laboratory methods for detecting leprosy infection from patients and subclinical contact persons and observe clinical break-down for leprosy disease from subclinical contact persons 1 year later.

Method: Collected list of patients and contact persons' names from registered book of leprosy record in the year 2004. Interview was done to recruit the subject. In case of abnormal skin; Slit skin smears & Ziehl Neelsen staining and PGL-1 Rapid flow test were performed. Results were analyzed and used for observing clinical break-down of leprosy diseases from subclinical contact persons for a period of 1 year later.

Result: The result of 25 patients' Slit skin smear & Ziehl-Neelsen staining and PGL-1 Rapid flow test showed positive for 6(24%) and 13 (52%), respectively. Fifty five patients' contact persons Slit skin smear & Ziehl-Neelsen staining and PGL-1 Rapid flow test resulted in 0 (0%) and 25 (45.5%), respectively. There was no contact person who has clinical break-down for leprosy after 1 year later.

Conclusion: According to the results from this study, we could indicate that slit skin smear which is a standard method has sensitivity lower than to PGL-1 Rapid flow test. Therefore, PGL-1 Rapid flow test could be used to detect in order to prevent and control leprosy disease in the field area due to its simple and uncomplicated method. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2009; 42: 120-127.*

Keywords: Efficiency of detection for leprosy infection, slit skin smear, Ziehl neelsen staining, PGL-1 Rapid flow test

* The office of Disease Prevention and Control 10, Chiang Mai, Thailand.

บทนำ

โรคเรื้อนเป็นโรคติดต่อเรื้อรัง เกิดจากเชื้อ *Mycobacterium leprae* ค้นพบโดย Dr.G.H.Armauer Hansen ปี พ.ศ. 2416 อาศัยและเจริญเติบโตอยู่ภายในเซลล์โดยเฉพาะเซลล์ระบบ Reticuloendothelial จึงมีรอยโรคเกิดที่ผิวหนัง นอกจากนี้ ยังชอบอาศัยในเซลล์ประสาท (Schwann cell) และมีการทำลายเซลล์ประสาทส่วนปลายทำให้มีอาการชา ตลอดจนลุกลามจนเกิดความพิการให้เห็นได้ การติดต่ออาจเกิดจากผิวหนังที่แตกเป็นแผล แต่การติดต่อทางเดินหายใจ (droplet) ทางเยื่อจมูกเป็นไปได้มากที่สุด¹ ในผู้ป่วยโรคเรื้อนชนิดที่มีเชื้อในตัวมาก สามารถปล่อยเชื้อโรคผ่านทางเยื่อจมูกออกมาในสิ่งแวดล้อมได้มากถึงวันละ 10 ล้านตัว และสามารถอยู่นอกร่างกายได้นานถึง 9 วัน ในประเทศไทยพบโรคเรื้อนกระจายโดยทั่วไป ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบมากที่สุด จากรายงานในประเทศไทย เมื่อ 10 ตุลาคม 2546 มีจำนวนผู้ป่วยโรคเรื้อนขึ้นทะเบียนรักษาทั้งหมด 1920 ราย คิดเป็นอัตราชุก 0.31 รายต่อประชากร 10,000 คน¹

Ridley และ Jopling² แบ่งโรคเรื้อนเป็นชนิดต่างๆ ตามลักษณะรอยโรคที่กระจายตามผิวหนังและตามภูมิคุ้มกันต่อโรคเรื้อนของผู้ป่วย ดังนี้

1) โรคเรื้อนประเภทเชือน้อย (Paucibacillary leprosy: PB) ซึ่งแบ่งย่อยเป็นโรคเรื้อนประเภทเชือน้อยชนิดต่างๆ ตามเกณฑ์วินิจฉัยดังนี้

- Indeterminate (I): รอยโรคเป็นวงขาว สีจาง ขอบเขตไม่ชัดเจน มีจำนวนน้อยประมาณ 1-3 แห่ง กระจายอยู่ข้างเดียวของร่างกาย มีอาการชาไม่ชัดเจน เส้นประสาทไม่โต การตรวจเชื้อโรคเรื้อนด้วยวิธี Slit skin smear และย้อมสี ไม่พบเชื้อ

- Tuberculoid (TT): รอยโรคเป็นวงดำ หรือ ผื่นนูนแดง ผิวแห้ง เหงื่อไม่ออก ขอบเขตชัดเจน มีจำนวนน้อยประมาณ 1-3 แห่ง กระจายอยู่ข้างเดียวของร่างกาย มีอาการชาชัดเจน เส้นประสาทโต การตรวจเชื้อโรคเรื้อนด้วยวิธี Slit skin smear และย้อมสี ไม่พบเชื้อ

- Borderline Tuberculoid (BT): รอยโรคเป็นวงดำ หรือผื่นนูนแดง ผิวแห้ง เหงื่อไม่ออก ขอบเขตชัดเจนแต่ไม่เรียบ (irregular) และอาจพบผื่นเล็กกระจาย

จากผื่นใหญ่ (satellite) จำนวนที่พบ 1-5 แห่ง กระจายอยู่ข้างเดียว มีอาการชาชัดเจน เส้นประสาทโต การตรวจเชื้อโรคเรื้อนด้วยวิธี Slit skin smear และย้อมสี ไม่พบเชื้อ

- 2) โรคเรื้อนประเภทเชื้อมาก (Multibacillary leprosy: MB) ซึ่งแบ่งย่อยเป็นโรคเรื้อนประเภทเชือน้อยชนิดต่างๆ ตามเกณฑ์วินิจฉัยดังนี้

- Borderline Tuberculoid (BT): เช่นเดียวกับประเภทเชือน้อย แต่ BT ชนิดนี้มีลักษณะดังนี้คือ จำนวนวงผื่นที่พบไม่เกิน 5 แห่งแต่ผลการตรวจเชื้อโรคเรื้อนด้วยวิธี Slit skin smear และย้อมสี พบเชื้อ 1+ ถึง 2+ หรือผลเป็นลบแต่จำนวนวงผื่นมากกว่า 5 แห่ง กระจายอยู่สองข้างของร่างกายก็ได้ แต่ถ้าผลเป็นลบมีรอยโรคมากกว่า 5 แห่ง แต่กระจายอยู่ข้างเดียวให้ถือเป็น BT ประเภทเชือน้อย

- Mid borderline (MB): รอยโรคเป็นวงแหวน ขอบแดงนูนหนา ผิวเป็นมัน ขอบนอกลาดเทและไม่ชัดเจน จำนวนที่พบไม่แน่นอน กระจายอยู่ข้างเดียวหรือสองข้างร่างกาย มีอาการชาไม่ชัดเจน เส้นประสาทโต การตรวจเชื้อโรคเรื้อนด้วยวิธี Slit skin smear และ ย้อมสี พบเชื้อ 1+ ถึง 3+

- Borderline lepromatous (BL): รอยโรคเป็นวงแหวนและผื่น หรือ ตุ่มแดงเป็นมัน ขอบเขตไม่ชัดเจน จำนวนที่พบมาก กระจายอยู่สองข้างร่างกายแต่ไม่สมมาตร มีอาการชาเฉพาะผื่นขนาดใหญ่หรือผื่นวงแหวน เส้นประสาทมักจะโต การตรวจเชื้อโรคเรื้อนด้วยวิธี Slit skin smear และย้อมสี พบเชื้อ 3+ ถึง 5+

- Lepromatous (LL): รอยโรคเป็นผื่นนูนหนา และตุ่มแดงเป็นมัน ขอบเขตไม่ชัดเจน จำนวนที่พบมากมาย กระจายอยู่สองข้างร่างกายและสมมาตรไม่มีอาการชา เส้นประสาทมักจะโตภายหลัง การตรวจเชื้อโรคเรื้อนด้วยวิธี Slit skin smear และย้อมสี พบเชื้อ 4+ ถึง 6+

ดังนั้นการวินิจฉัยผู้ป่วย โรคเรื้อนที่มีเชือน้อยชนิด I, TT หรือ BT จึงอาศัยการตรวจจากการแสดง ทางผิวหนังเป็นหลัก เนื่องจากการทำ Slit skin smear และย้อมสีมักให้ผลลบเป็นส่วนใหญ่ การทดสอบภูมิคุ้มกันทางร่างกายโดยวิธี Lepromin test บอกได้ว่าเคยสัมผัสเชื้อโรคเรื้อนแล้ว ระบบภูมิคุ้มกันสามารถสร้างขึ้นเป็น

ปกติหรือไม่เท่านั้น ส่วนใหญ่แล้วมักพบว่ามีผลบวกสูงในผู้ป่วยโรคเรื้อนชนิด TT, BT และมักพบผลเป็นลบในผู้ป่วยโรคเรื้อน BL, LL ส่วนผู้ป่วยโรคเรื้อนชนิด I มักให้ผลไม่แน่นอน บางครั้งพบเป็นผลบวกต่ำๆ หรือเป็นลบ¹ สำหรับคนทั่วไป หากผลเป็นบวกแสดงว่าเคยสัมผัสเชื้อและมีการสร้างภูมิต้านทานเกิดขึ้น การเพาะเลี้ยงเชื้อโรคเรื้อนในห้องปฏิบัติการปัจจุบัน ยังไม่สามารถทำได้ แต่สามารถเพาะในสิ่งมีชีวิต เช่น อังเท้าหนู (mouse foot pad) และตัวนิ่มเก้าลาย (nine banded amadillo) ที่สถาบันราชประชาสมาสัยเคยใช้ nude mice ที่ไม่มีต่อมไทมัสทำการเพาะเลี้ยงเชื้อได้ผลเช่นกัน แต่วิธีการค่อนข้างยุ่งยาก การลงทุนสูง ใช้เวลานาน สำหรับวิธีอื่นๆ ได้มีการพัฒนาวิธีทดสอบ เช่น การตรวจหาภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อเชื้อโรคเรื้อนซึ่งมีประโยชน์ คือ ตรวจผู้ที่อาการโรคเรื้อนที่ยังไม่ปรากฏให้เห็นชัดแต่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรคเรื้อนได้ เช่นวิธี FLA-ABS (Fluorescence Leprosy Antibody absorption) ELISA และ PCR เป็นวิธีที่มีการศึกษากันมาก และมีข้อมูลบ่งชี้ว่าเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถใช้ตรวจค้นหาผู้ป่วยโรคเรื้อนระยะแรกได้ แต่วิธีการมีความซับซ้อนต้องใช้เครื่องมือและการฝึกฝนในเทคนิคการดำเนินงานที่ดี ทำให้ไม่มีความสะดวกปฏิบัติในพื้นที่ภาคสนาม

พัฒนาการล่าสุดของการตรวจโรคเรื้อนที่น่าสนใจคือการค้นพบสาร PGL-1³ เมื่อผู้ป่วยเป็นโรคเรื้อนหรือสัมผัสโรคเรื้อนร่างกายจะสร้างภูมิคุ้มกันขึ้น เนื่องจากที่ผนังเซลล์ของเชื้อโรคเรื้อนมีโครงสร้าง เป็นสาร Phenolic glycolipid 1 (PGL-1) ทำให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันทั้งชนิด IgM (Immunoglobulin M) และ IgG (Immunoglobulin G) จากการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณ IgM กับ IgG จำเพาะต่อ PGL-1 ในผู้ป่วยโรคเรื้อนพบว่า มีปริมาณแปรตามปริมาณแบคทีเรีย (Bacillary load) ของผู้ป่วยโรคเรื้อนประเภทต่างๆ ตั้งแต่ Tuberculoid ถึง lepromatous นอกจากนี้ยังไม่พบการเกิด Cross reactivity ของสาร PGL-1 ในผู้ติดเชื้อที่อยู่ในวงศ์เดียวกับโรคเรื้อน เช่น *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium avium* และ *Mycobacterium intracellulare*⁴ แสดงว่า สาร PGL-1 เป็นสารที่มีความจำเพาะต่อเชื้อโรคเรื้อนสูง ปัจจุบันมีผู้พัฒนาชุดตรวจ

ที่สะดวก (chromatography test kit) เหมาะสำหรับปฏิบัติการค้นหาโรคเรื้อนในภาคสนาม⁵⁻⁶

วัสดุและวิธีการ

จากทะเบียนผู้ป่วยโรคเรื้อนปี 2547 ที่ทราบผลและขึ้นทะเบียนแล้วทำการคัดรายชื่อผู้ป่วย และผู้สัมผัสร่วมบ้าน โดยคัดเลือกดังนี้

ผู้ป่วย ได้แก่ ผู้ป่วยรายใหม่ ขึ้นทะเบียนรักษาช่วงระยะเวลา 1 ตุลาคม 2546 ถึง 30 กันยายน 2547

ผู้สัมผัสร่วมบ้าน ได้แก่ ผู้อยู่อาศัยร่วมบ้านเดียวกันกับผู้ป่วยก่อนการรักษาเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 5 วัน ต่อสัปดาห์และนานเกิน 1 เดือนขึ้นไป ไม่ป่วย หรือเคยป่วยเป็นโรคเรื้อน และไม่ป่วย หรือ เคยป่วยเป็นวัณโรค ถ้าเป็นเด็กต้องอายุเกิน 5 ปีขึ้นไป ไม่เป็นหญิงที่กำลังตั้งครรภ์

หลังจากได้รายชื่อแล้วประสานกับผู้รับผิดชอบโรคเรื้อนประจำจังหวัดและประจำโรงพยาบาล นัดผู้ป่วยและผู้สัมผัส จากนั้นเดินทางเข้าพื้นที่ สัมภาษณ์ และตรวจร่างกาย ผู้ป่วย ผู้สัมผัสร่วมบ้าน ตามความสนใจ เช่นตีไบอินยอม รายที่มีรอยโรค ทำ Slit skin smear และย้อมสีวิธี Ziehl – Neelsen จากนั้นวินิจฉัยเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ และเจาะเลือดปั่นเก็บซีรัมตรวจ Anti PGL-1 โดยวิธี PGL-1 rapid flow test จากนั้นศึกษาติดตามการเกิดโรคในอีก 1 ปี ภายหลัง ในผู้สัมผัสที่ให้ผลบวก ดังรายละเอียดวิธีทำทางเทคนิคดังนี้

การตรวจเชื้อโรคเรื้อนด้วยวิธีกรีดผิวหนัง (Slit skin smear) และย้อมด้วย Ziehl – Neelsen

การกรีดผิวหนัง (Slit skin smear)

สังเกตรอยโรคก่อนเก็บตัวอย่าง ตำแหน่งที่มักเกิดโรคคือ ดั้งหูทั้งสองข้าง แขนทั้งสองข้าง ขาหรือหน้าแข้งทั้งสองข้าง เมื่อพบแล้วเก็บตัวอย่างดังนี้

- ผู้ป่วยประเภทเชือน้อย กรีด 3 ตำแหน่งคือ ดั้งหู 2 ข้าง และรอยโรคที่กำเริบมากที่สุดอีก 1 ตำแหน่ง
- ผู้ป่วยประเภทเชื้อมาก กรีด 4 ตำแหน่ง คือ ดั้งหู 2 ข้าง และรอยโรคที่กำเริบมากที่สุดอีก

2 ตำแหน่ง

smear ลงบนสไลด์เป็นวงกลมเรียงกันเป็นลำดับ
แทนตำแหน่งแต่ละแห่งที่กรีด ทิ้งเสมียร์ให้แห้ง เก็บใน
ที่มีด อย่าให้โดนแสง เพราะมีผลต่อการย้อมติดสี

การย้อมสี ย้อมด้วยสีทึบกรดตามวิธี Ziehl –
Neelsen (สูตรและวิธีเตรียม เช่นเดียวกับการย้อมเชื้อ
วัณโรค) แต่ปรับปรุงขั้นตอนให้เหมาะกับการตรวจเชื้อ
โรคเรื้อนโดยเพิ่มเวลาย้อม Carbon fuchsin เป็น 8 นาที
เสร็จแล้วปล่อยให้แห้งนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

การอ่านผล แบ่งเกร็ดเสมียร์บวกเป็น bacterial
index หรือ BI ตาม Ridley's logarithmic scale²
การคำนวณ BI ทำได้โดย นำ BI แต่ละตำแหน่งรวมกัน
หารด้วยจำนวนตำแหน่งที่อ่านทั้งหมดสรุปเป็นผลบวก
ต่อผู้ป่วยคนนั้น

การตรวจเชื้อโรคเรื้อนด้วยวิธี PGL-1 Rapid flow test

PGL-1 Rapid flow test เป็นการวิเคราะห์ภูมิคุ้มกัน
โดยหลักการโครมาโตกราฟี ชุดทดสอบประกอบด้วย
แถบทดสอบ Test line และแถบสีควบคุม (control line)
เป็นแถบที่ใช้ตรวจสอบการทำปฏิกิริยากับชุดทดสอบ
แถบสีควบคุม ซึ่งต้องเกิดทุกครั้ง เพื่อเป็นการบ่งบอก
การทดสอบถูกต้องแปลผลได้ ถ้าในซีรัมมีแอนติบอดี
ต่อเชื้อโรคเรื้อน บริเวณแถบทดสอบจะเกิดปฏิกิริยา
มองเห็นเป็นแถบสีม่วง ดังนั้นหากปรากฏแถบสีขึ้น
2 แถบแสดงว่าผลเป็นบวก ถ้าแถบสีปรากฏขึ้น 1 แถบ
แสดงว่าผลเป็นลบ

วิธีการเก็บตัวอย่าง เจาะเลือดประมาณ 2-3 mL
เก็บในหลอดพลาสติก ทิ้งไว้ 30 นาทีให้เลือดแข็งตัว หรือ
ปั่นแยกซีรัม ดูดซีรัมเก็บในหลอดพลาสติกขนาดเล็ก 1.5

mL ที่มีฟาปิด แช่ในกล่องน้ำแข็ง มายังห้องปฏิบัติการ
ถ้ายังไม่ตรวจเก็บที่ -20 °C

วิธีตรวจ

1) หยด ซีรัม 1 หยด (ประมาณ 40 uL) ลงใน
หลุมทดสอบซึ่งทำเป็นหลุมอยู่ตรงปลายด้านหนึ่งของแถบ
กระดาษทดสอบ

2) หยด Buffer 2-3 หยดลงในหลุมทดสอบ
ปล่อยให้ Buffer วิ่งนำซีรัมวิ่งกระจายจากหลุมทดสอบ
สู่กระดาษโครมาโตกราฟีจากปลายด้านหนึ่งของแถบ
ทดสอบมายังอีกปลายหนึ่งของแถบทดสอบ

3) ทิ้งไว้ 10 นาที สังเกตแถบสีที่ปรากฏขึ้น

ผลการศึกษา

จากผู้ป่วยทั้งหมด 25 ราย เป็นชาย 13 ราย หญิง
12 ราย อยู่กระจายตามจังหวัดต่างๆ คือเชียงใหม่ 14 ราย
เชียงราย 7 ราย พะเยา 2 ราย ลำปาง 2 ราย เมื่อดูตาม
ลักษณะอาการทางคลินิกของผู้ป่วย สามารถแบ่งได้
เป็นชนิดเชื้อมาก (MB) 17 ราย เป็นชนิดเชื่อน้อย (PB)
8 ราย พบผู้ป่วยมีผลบวกหรือพบเชื้อจากการกรีดผิวหนัง
และย้อมสี 6 ราย (24%) โดยผลบวกทั้งหมดพบใน
ผู้ป่วยชนิดเชื้อมาก (MB) สำหรับผู้ป่วยชนิดเชื่อน้อย (PB)
ลักษณะรอยโรคเข้าได้กับลักษณะอาการทางคลินิก
ของโรค แต่เมื่อตรวจโดยกรีดผิวหนังกลับไม่พบผลบวก
ดังแสดงในตารางที่ 1 ในขณะที่ผู้สัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วย
ทั้งหมด 55 ราย เป็นผู้สัมผัสกับผู้ป่วยชนิดเชื้อมาก (MB)
จำนวน 41 ราย และสัมผัสกับผู้ป่วยชนิดเชื่อน้อย (PB)
จำนวน 14 ราย ไม่สามารถทำการกรีดผิวหนังได้
เนื่องจากไม่มีรอยโรคปรากฏให้เห็น

ตารางที่ 1 สรุปจำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วย Slit skin smear & Ziehl-Neelsen staining

จำนวนตัวอย่างตรวจ	MB=17	PB=8	รวมทั้งหมด
	Positive	Positive	Positive
ผู้ป่วย (25 ตัวอย่าง)	6/17 35.3%	0/8 0 %	6/25 24%

ผลการตรวจ PGL-1 Rapid flow test สามารถทำการเก็บตัวอย่างตรวจได้ครบ ทั้งหมด 25 ราย พบรายบวกทั้งหมด 13 ราย (52%) เมื่อทำการเก็บเลือด

จากผู้สัมผัสกับผู้ป่วย สามารถทำการเก็บตัวอย่างตรวจได้ทั้งหมด 55 ราย พบผลบวกทั้งหมด 25 ราย (45.5%) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการตรวจซีรัมของผู้ป่วยและผู้สัมผัสกับผู้ป่วยโดยใช้วิธี PGL-1 Rapid flow test

จำนวนตัวอย่างตรวจ	MB=17, C= 41		PB= 8, C= 14		รวมทั้งหมด	
	Reactive	Non-reactive	Reactive	Non-reactive	Reactive	Non-reactive
ผู้ป่วย (n = 25)	12/17 70.6%	5/17 29.4%	1/8 12.5%	7/8 87.5%	13/25 52%	12/25 48%
ผู้สัมผัส (n = 55)	21/41 51.2%	20/41 48.8%	4/14 28.6%	10/14 71.4%	25/55 45.5%	30/55 54.5%
รวม (n = 80)	33/58 56.9%	25/58 43.1%	5/22 22.7%	17/22 77.3%	38/80 47.5%	42/80 52.5%

หมายเหตุ : C = contacts, MB = Mid Borderline, PB = Paucibacillary Leprosy

จากตารางพบว่าเปอร์เซ็นต์ของผลบวกจะมากขึ้นในผู้ป่วยที่เป็นชนิดเชื้อมาก (MB) รวมทั้งตรวจผู้สัมผัสกับผู้ป่วยชนิดเชื้อมากด้วย เห็นได้ชัดว่ามากกว่าผู้ป่วยเชื่อน้อย (PB) โดยที่อัตราผลบวกในผู้ป่วยมากกว่าในผู้สัมผัส ส่วนผู้ป่วยชนิดเชื่อน้อย (PB) จะพบผลบวกลดลงมาก แต่ผู้สัมผัสผู้ป่วยชนิดเชื่อน้อยกลับพบผลบวกมากกว่าผู้ป่วยชนิดเชื่อน้อยประมาณ 2 เท่า

หลังจากทราบผลบวกในแต่ละรายแล้วใช้ผลบวกในผู้สัมผัสติดตามผู้สัมผัสต่อเนื่อง 1 ปี พบว่า ผู้สัมผัสทุกรายยังไม่มีพัฒนาเป็นอาการผิดปกติของผู้ป่วยโรคเรื้อน

วิจารณ์

การวินิจฉัยโรคเรื้อน WHO ไม่ได้แนะนำวิธี Slit skin smear & Ziehl Neelsen staining โดยตรงแต่แนะนำให้ใช้ช่วยยืนยันได้ในกรณีที่ผลเป็นบวกเพื่อยืนยันอาการทางคลินิก แบ่งชนิดโรคเรื้อน และเพื่อติดตามการรักษา แต่หากผลเป็นลบให้ดูอาการทางคลินิกเป็นสำคัญ⁷

หากจะใช้วิธีการทางห้องปฏิบัติการช่วยยืนยันควรทำ biopsy หรือ PCR ร่วมด้วย สำหรับ PGL-1 Rapid flow test เป็นชุดทดสอบใหม่ ผู้ใช้ยังไม่รู้จัก การสั่งซื้อน้อยจึงยังมีผลิตขายไม่มาก มีแหล่งผลิตในหลายประเทศ เช่น ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ การทดสอบครั้งนี้ ผู้ศึกษาได้ใช้ PGL-1 Rapid flow test ผลิตจากประเทศ เกาหลี ราคาประมาณ 200 บาทต่อการทดสอบ ซึ่งจะทำให้ห้องปฏิบัติการโดยทั่วไป ได้เข้าใจและใช้ประโยชน์ จากผลการศึกษาเนื่องจาก PGL-1 Rapid flow test ยังไม่แพร่หลายหรือเป็นที่รู้จัก ห้องปฏิบัติการต่างๆ จึงยังไม่นำมาใช้งาน แต่จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ถ้าใช้ PGL-1 Rapid flow test ตรวจ สามารถทำให้พบผลบวกมากขึ้นทั้งในผู้ป่วยและผู้สัมผัส ในรายที่เป็นผู้ป่วย วิธีกรีดผิวหนัง (Slit skin smear & Ziehl-Neelsen staining) ยุ่งยากกว่าหากมีการปฏิบัติงานจริงในพื้นที่ ตัวอย่างมีคุณภาพด้อยกว่าแม้ว่าทำโดยผู้ชำนาญ อาจทำให้ได้ผลลบ แม้ผู้ป่วยจะมีอาการชัดเจน ดังจะเห็นจากผู้ป่วยมีอาการที่ผิวหนังและมีผล PGL-1 เป็นบวกเพิ่มขึ้น 7 คน (ตารางที่ 1 และ

2) ในขณะที่วิธีกรีดผิวหนังได้ผลลบ ทำให้ทราบว่าในผู้ป่วยที่มีอาการแสดงทางผิวหนังแล้ว จะช่วยยืนยันอย่างแน่นอนได้ว่าเป็นโรคเรื้อน เพราะภูมิคุ้มกันที่เกิด (anti-PGL1) มีความจำเพาะสูงต่อโรคเรื้อน สอดคล้องกับการศึกษาในต่างประเทศว่า เป็นวิธีที่มีความไวในการแยกผู้ป่วยโรคเรื้อนดีมาก 97.2% และมีความจำเพาะต่อเชื้อโรคเรื้อน 90.2 %^{5,6}

สำหรับในผู้สัมผัสพึงตระหนักว่า การตรวจด้วย PGL-1 Rapid flow test เป็นการค้นพบการติดเชื้อของผู้สัมผัสเท่านั้น แต่จะก่อโรคหรือไม่ขึ้นกับภูมิคุ้มกันของบุคคลนั้น การติดเชื้อแล้วอาจไม่ก่อให้เกิดโรค หากภูมิคุ้มกันดี ร่างกายผู้สัมผัสสามารถกำจัดเชื้อ จึงไม่ก่อให้เกิดโรคตามหลักการที่ว่าเชื้อโรคเรื้อนมีความสามารถติดเชื้อได้สูง แต่ก่อโรคได้ต่ำ อ้างอิงตามสถิติตัวเลขอุบัติการณ์อัตราชุก 0.31 รายต่อประชากร 10,000¹ คนซึ่งต่ำกว่าโรคอื่นมาก เช่น โรคอุจจาระร่วง 500-2000 ราย ต่อประชากร 100,000 คน^๑ เช่นเดียวกับเชื้อในกลุ่ม *Mycobacterium* เช่น วัณโรคมีอัตราชุก 142 รายต่อประชากร 100,000 คน^๑ จึงควรได้มีการศึกษาเฝ้าติดตามการก่อโรคต่อไปในผู้สัมผัสที่รับเชื้อแล้วเป็นระยะเวลา 5-10 ปี หรืออาจนานกว่านั้น อย่างไรก็ตาม การตรวจช่วยทำให้มีจุดเฝ้าระวังที่แน่นอน ได้แก่ ผู้สัมผัสเชื้อที่ติดเชื้อแล้วพบว่าพบที่ใดบ้าง

สรุป

การวินิจฉัยผู้ป่วยโรคเรื้อนเมื่อพบผู้ป่วยอาการเข้าได้กับโรคเรื้อนโดยรวมตามหลักเกณฑ์แล้ว หากสามารถใช้วิธีมาตรฐาน คือ การกรีดผิวหนังและย้อมสีพบว่าผลเป็นบวกจะเป็นวิธีการบอกให้ทราบอย่างแน่นอนว่าเป็นโรคเรื้อนอย่างแน่นอน แต่ในรายที่ผลเป็นลบหากมีความผิดปกติเข้าได้กับโรคเรื้อนแต่กรีดผิวหนังแล้วผลเป็นลบ อาจเป็นผลจากผู้กรีดไม่มีความชำนาญในการกรีดผิวหนัง หรือผู้ป่วยเป็นโรคเรื้อนชนิดเชื้อน้อย ควรใช้วิธี PGL-1 Rapid flow test ยืนยัน เนื่องจากมีความจำเพาะสูง มีความไวในการตรวจสูงกว่า เมื่อใช้การวินิจฉัยจากอาการ ควรสนใจอาการที่จำเพาะแน่นอนกับโรคเรื้อน คือ อาการชาตามปลายประสาทของ

แขนขาที่เป็นรอยโรค หากไม่มีอาการชามีโอกาสสูงที่จะไม่ใช่โรคเรื้อน และควรเฝ้าระวังผู้ไม่มีอาการที่มีผล PGL-1 Rapid flow test เป็นบวกต่อไปอย่างน้อย 5-10 ปี หรือ จนกว่าจะมีการศึกษาเวลาที่แน่นอนที่ผู้สัมผัสจะเปลี่ยนเป็นมีอาการแสดงโรคในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนการดำเนินงานจากสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่ ด้านงบประมาณการดำเนินงานในพื้นที่ ขอขอบคุณผู้ประสานงานโรคเรื้อนประจำจังหวัดเชียงราย ลำปาง เชียงใหม่ พะเยา ผู้ประสานงานโรคเรื้อนและวัณโรคของสำนักงานสาธารณสุขและโรงพยาบาลทุกแห่งที่ได้อำนวยความสะดวกต่างๆ ทั้งการนัดผู้ป่วย ติดตามผู้สัมผัส การวิจัยนี้ได้รับอนุมัติให้ดำเนินการได้โดยผ่านการพิจารณาของกรรมการวิจัยในมนุษย์ จากกรมควบคุมโรค ขอขอบคุณ ดร.เบญจวรรณ เพชรสุศิริ ฝ่ายโรคเรื้อนและมัยโคแบคทีเรียสถาบันวิทยาศาสตร์ สาธารณสุข ที่ได้สนับสนุนชุดตรวจ PGL-1 และขอขอบพระคุณทุกท่านตลอดจนผู้ที่เกี่ยวข้องที่มีได้กล่าวถึงด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. กองโรคเรื้อน กระทรวงสาธารณสุข คู่มือการวินิจฉัยและรักษาโรคเรื้อน, พิมพ์ครั้งที่ 1 2543; 5-6.
2. Ridley, D.S.; Jopling, W.H. Classification of leprosy according to immunity: a five group system. International of leprosy 34(1966), no. 3, p.255-73.
3. Cho SN, Yanagihara DL, Hunter SW et al. Serological specificity of phenolic glycolipid I from *Mycobacterium leprae* and use in serodiagnosis of leprosy. Infect Immun, 1983; 41: 1077-83.
4. Brett, SJ, Drapper P, Payne SN, Ree RJ. Serological activity of a characteristic phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae* in sera from patient leprosy and tuberculosis. Clin Exp Immunol, 1983; 52: 271-9.
5. Buhner-Sekura S, Cunha MG, Ferrareira

- WA,Klatser PR. The use of whole blood in adipstick assay for antibodies to Mycobacterium leprae: a field evaluation. FEMS Immunol Med Microbiol, 1998;21:197-201.
6. Buhrer SS,Smit HL, Gussenhoven GC et al. A simple dipstick assay for the detection of antibodies to phenolic glycolipid-I of Mycobacterium leprae. Am J trop Med Hyg, 1998; 58: 133-6.
7. Fifth report/WHO Expert Committee on Leprosy.- Geneva: World Health Organization, 1977 (Technical Report Series no.607).
8. สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา ภาคเหนือตอนบน, 2552 ปีที่ 20 ฉบับที่ 3 มีนาคม.หน้า 4-6
9. กระทรวงสาธารณสุข : แนวทางการดำเนินงานควบคุมวัณโรคแห่งชาติ , 2551,หน้า 2 พิมพ์ครั้งที่ 4