

Comparison of the QuantiFERON-TB Gold Plus and Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma), Interferon-gamma Release Assays

Mewadee Preecha*, Mongkol Kunakorn, Chavachol Setthaudom and Onchuma Lohjai

Clinical Immunology Laboratory, Department of Pathology, Faculty of Medicine-Ramathibodhi Hospital, Mahidol University Bangkok, Thailand

Abstract

Detection of latent tuberculosis infection (LTBI) is an important step for the reduction of tuberculosis (TB) spreading. Currently, the most popular method of LTBI detection is interferon-gamma (IFN- γ) release assay (IGRA) by QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus), however, it requires multiple steps of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In 2019, a novel technique for IFN- γ detection, the Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma), has been developed. The test used the automated analyzer to decrease workload and turnaround time. This study aimed to compare the performance and examine the correlation between IFN- γ quantified by QFT-Plus and Standard F TB-Feron FIA. One hundred specimens were analyzed using the QFT-Plus and Standard F TB-Feron FIA. The results showed 74% (20/27) agreement between the positive IFN- γ by QFT-Plus and Standard F TB-Feron FIA, 92% (58/63) agreement between the negative samples, and 90% (9/10) agreement between the indeterminate results. The total agreement of both methods was 87% with Cohen's kappa values of 0.734 and 13 discordant results. In summary, the Standard F TB-Feron FIA showed a correlation with QFT-Plus in the IFN- γ assay. Pearson's correlation coefficient of either TB1 or TB2 antigen of the QFT-Plus and the Standard F TB-Feron FIA was 0.82. Therefore, to reduce workload, Standard F TB-Feron FIA could be applied as an alternative test for the detection of LTBI.

Keywords: Latent tuberculosis infection, Interferon-gamma release assay, QuantiFERON-TB Gold Plus, Standard F TB-Feron FIA

*Corresponding author E-mail address: mewadee.preecha8@gmail.com

Received: 1 May 2021

Revised: 14 September 2021

Accepted: 14 December 2021

การเปรียบเทียบวิธีการตรวจอินเตอร์เฟียร์รอนแกมมา ด้วยชุดทดสอบ QuantiFERON-TB Gold Plus กับ Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma)

เมวดี ปรีชา* มงคล คุณากร ชวชล เศรษฐอุดม และ อรชุนา ถ่อใจ

ห้องปฏิบัติการหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

บทคัดย่อ

ตามเป้าหมายที่จะลดการแพร่ระบาดของโรควัณโรค การตรวจวิเคราะห์การติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงถือเป็นขั้นตอนสำคัญในการลดการแพร่เชื้อได้ ซึ่งปัจจุบันวิธีที่นิยมใช้คือการตรวจวัดระดับ interferon-gamma (IFN- γ) ใน IFN- γ release assay (IGRA) โดยชุดทดสอบ QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) แต่ชุดทดสอบนี้มีการทดสอบหลายขั้นตอนโดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ต่อมาในปี พ.ศ. 2562 ได้มีเทคนิคใหม่สำหรับตรวจวัดระดับ IFN- γ คือการทดสอบด้วยวิธี Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma) การทดสอบนี้ใช้เครื่องอัตโนมัติ เพื่อลดภาระงานและเพิ่มความรวดเร็วในการรายงานผล วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้คือการเทียบประสิทธิภาพและความสัมพันธ์ของค่า IFN- γ ในกลุ่มตัวอย่าง 100 รายที่วิเคราะห์โดย QFT-Plus และ Standard F TB-Feron FIA ผลการศึกษาพบว่า ผลบวกมีความสอดคล้องร้อยละ 74 (20/27) ผลลบมีความสอดคล้องร้อยละ 92 (58/63) และผล indeterminate มีความสอดคล้องร้อยละ 90 (9/10) ผลรวมความสอดคล้องของทั้งสองวิธีอยู่ที่ร้อยละ 87 ค่า Cohen's kappa = 0.734 ให้ผลที่ไม่สอดคล้องกัน 13 ราย จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ระดับ IFN- γ เมื่อตรวจวัดด้วย Standard F TB-Feron FIA มีค่าความสอดคล้องกับวิธี QFT-Plus ค่าความสัมพันธ์ของการทดสอบ QFT-Plus ไม่ว่าจะจาก แอนติเจน TB1 หรือ TB2 มีความสัมพันธ์กับการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA เท่ากันแสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สันคือ 0.82 ดังนั้นเพื่อช่วยลดภาระงาน Standard F TB-Feron FIA สามารถนำมาใช้เป็นการทดสอบทางเลือกและใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงได้

คำสำคัญ: การติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง Interferon-gamma release assay, QuantiFERON-TB Gold Plus, Standard F TB-Feron FIA

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: mewadee.preecha8@gmail.com

รับบทความ: 1 พฤษภาคม 2564

แก้ไขบทความ: 14 กันยายน 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 14 ธันวาคม 2564

บทนำ

วัณโรค (tuberculosis, TB) เป็นโรคติดเชื้อที่เป็นปัญหาด้านสาธารณสุขในหลายประเทศทั่วโลก รวมถึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต และที่สำคัญองค์การอนามัยโลกได้ประกาศให้เป็นปัญหาฉุกเฉินระดับโลก⁽¹⁾ วัณโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* ซึ่งเกิดได้ในทุกอวัยวะของร่างกาย แต่มักก่อโรคที่ปอดเป็นส่วนใหญ่ โดยเชื้อสามารถแพร่กระจายได้ง่ายทางละอองขนาดเล็กที่เกิดจากการไอ จาม หรือเสมหะของผู้ป่วย ซึ่งผู้ที่สัมผัสผู้ป่วยวัณโรคมีประมาณร้อยละ 10 ที่จะเป็นวัณโรค (active tuberculosis infection, ATBI) ส่วนร้อยละ 90 เป็นการติดเชื้อระยะแฝงที่ไม่แสดงอาการ และไม่สามารถแพร่เชื้อได้ (latent tuberculosis infection, LTBI)⁽²⁾ ในกลุ่มผู้ที่ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงมีความเสี่ยงร้อยละ 10 ที่จะเป็นวัณโรค โดยครึ่งหนึ่งจะแสดงอาการป่วยใน 1-2 ปีแรกหลังได้รับเชื้อ⁽³⁾ ประเมินการติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงถึง 1 ใน 4 ของประชากรทั่วโลก⁽⁴⁾ และยังมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง เมื่อได้รับเชื้อจะเป็นปัจจัยหลักสำคัญที่สุดที่ทำให้ผู้ป่วยเป็นวัณโรคปัจจุบัน⁽⁵⁾ การตรวจคัดกรองหาเชื้อวัณโรคระยะแฝงจึงเป็นเป้าหมายสำคัญทางสาธารณสุขที่จะช่วยลดการแพร่เชื้อ รวมถึงการได้รับยาตั้งแต่ระยะแฝงสามารถทำให้ผู้ป่วยหายจากการติดเชื้อได้ถึงร้อยละ 90⁽⁶⁾

ปัจจุบันการทดสอบวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝงมีทั้งการทดสอบทางผิวหนัง หรือ tuberculin skin test (TST) ซึ่งจะฉีดโปรตีนบริสุทธิ์ของ *M. tuberculosis* ทางผิวหนัง แต่วิธีนี้ก็ยังมีความจำกัดหลายอย่าง เช่น ผู้ป่วยต้องมาพบแพทย์หลายครั้งเพื่ออ่านผลการทดสอบ อาจจะมีผลบวกปลอมถ้าผู้ทดสอบได้รับวัคซีน Bacillus Calmette Guerin (BCG) มาก่อน และอาจทำให้เกิดผลลบปลอมในกรณีที่ผู้ทดสอบมี

ภูมิคุ้มกันต่ำ ส่วนอีกวิธีที่ได้รับความนิยมคือ การวัดระดับ interferon-gamma release assay (IGRA) จะเป็นการตรวจหา interferon-gamma (IFN- γ) จาก T-cells ซึ่งถูกกระตุ้นโดยแอนติเจนของเชื้อวัณโรค วิธีนี้เป็นการทดสอบหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อวัณโรคนอกร่างกาย โดยนำเลือดของผู้ป่วยมาใส่ในหลอดที่มี TB specific antigen ถ้าผู้ป่วยมีการติดเชื้อวัณโรค เม็ดเลือดขาวจะถูกกระตุ้นให้หลั่ง IFN- γ ออกมา ซึ่งใช้เป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพ (biomarker) ที่บ่งชี้การติดเชื้อ⁽⁷⁾ ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์มีการทดสอบ IGRA โดยใช้ชุดทดสอบ QFT-Plus เพื่อช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง แต่การทดสอบ QFT-Plus ต้องทำในรูปแบบ ELISA plate format ที่ต้องรวบรวมตัวอย่างทำเป็น batch analysis เพื่อช่วยลดค่าใช้จ่าย จึงใช้ระยะเวลาในการทดสอบ รวมถึงการรายงานผล ปัจจุบันได้มีการผลิตชุดทดสอบ IGRA ที่ใช้เครื่องอัตโนมัติ Standard F 2400 ในการตรวจวัดระดับ IFN- γ ด้วยหลักการ อิมมูโนฟลูออเรสเซนส์ ซึ่งมีความน่าสนใจที่เครื่องอัตโนมัติจะสามารถช่วยลดภาระงาน ลดระยะเวลาในการรายงานผลการทดสอบ มีความไวสูง และยังสามารถทดสอบตัวอย่างเดี่ยว (single analysis) ได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาชุดทดสอบในกลุ่ม IGRA โดยเทียบประสิทธิภาพและความสัมพันธ์กันของ QFT-Plus โดยหลักการ ELISA กับ Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma) โดยหลักการฟลูออเรสเซนส์อิมมูโนแอสเซย์ ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Standard F 2400

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา

กลุ่มประชากรเป้าหมายในงานวิจัยคือ ผู้ป่วยใน ผู้ป่วยนอก ผู้ตรวจสุขภาพที่แพทย์สงสัยว่าเป็นวัณโรคระยะแฝงและได้ส่งตรวจ QFT-Plus

ณ โรงพยาบาลรามาริบัติ ที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา ระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2563 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2564 โดยใช้จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา 100 ราย มีเกณฑ์คัดเข้าคือ เลือดในหลอดลิเทียมเฮปารินที่เจาะจากผู้ป่วยต้องนำส่งห้องปฏิบัติการไม่เกิน 16 ชั่วโมง และปริมาณของเลือดที่ใช้ต้องมากกว่า 7 มิลลิลิตร การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติโดยคณะกรรมการสิทธิมนุษยชนที่เกี่ยวข้องการวิจัยเกี่ยวกับมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาริบัติ มหาวิทยาลัยมหิดล (ID 1805)

การวิเคราะห์ค่า IFN- γ ด้วย TB-Feron FIA (IFN-gamma), SD Biosensor

ตัวอย่างเลือดจากหลอดลิเทียมเฮปาริน แบ่งใส่หลอด Standard F TB-Feron FIA 3 ชนิด ต่อ 1 ตัวอย่าง โดยใส่เลือดหลอดละ 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 1) หลอด Nil: negative control (สีเทา) 2) หลอด TB antigen (TB Ag) (สีแดง) และ 3) หลอด mitogen: positive control (สีม่วง) ตามลำดับ จากนั้นพลิกหลอดกลับไปมาในแนว 180 องศา 10 ครั้ง แล้วนำไปบ่ม ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำหลอดทั้งหมด มาปั่นแยกพลาสมาด้วยความเร็วรอบ 2,200-2,300 g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแบ่งพลาสมา 100 ไมโครลิตรไปผสมกับคอนจูเกตให้เป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนจะหยอดลงบนตลับทดสอบเพื่อวัดค่า IFN- γ โดยเครื่องอัตโนมัติ Standard F 2400 ด้วยหลักการอิมมิวโนฟลูออเรสเซนส์ และแปลผลการทดสอบดังนี้

1. ผลการทดสอบจากหลอด Nil วัดค่าได้ ≤ 8.0 IU/mL ต้องพิจารณาร่วมกับค่า TB Ag- γ Nil และค่า mitogen- γ Nil จึงจะสามารถแปลผลการทดสอบได้ การรายงานผลส่วนนี้แบ่งเป็น 3 กรณีคือ

1.1 ค่าจาก TB Ag- γ Nil ≥ 0.35 IU/mL และค่าที่วัดได้ $\geq$ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil

จะแปลผลได้ทันที โดยไม่ต้องพิจารณาค่า mitogen- γ Nil กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นบวก แสดงว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.2 ค่าจาก TB Ag- γ Nil < 0.35 IU/mL หรือ ≥ 0.35 IU/mL แต่ค่าที่วัดได้ $<$ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil และค่าจากหลอด mitogen- γ Nil ≥ 0.5 IU/mL กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นลบ แสดงว่าไม่พบเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.3 ค่าจาก TB Ag- γ Nil < 0.35 IU/mL หรือ ≥ 0.35 IU/mL แต่ค่าที่วัดได้ $<$ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil และค่าจากหลอด mitogen- γ Nil < 0.5 IU/mL กรณีนี้ไม่สามารถแปลผลการทดสอบได้

2. ผลการทดสอบจากหลอด Nil วัดค่าได้ > 8.0 IU/mL กรณีนี้จะไม่สามารถแปลผลการทดสอบได้ทันที (Table 1)

การวิเคราะห์ค่า IFN- γ ด้วย QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus), Qiagen

ตัวอย่างเลือดจากหลอดลิเทียมเฮปาริน แบ่งใส่หลอด QFT-Plus 4 ชนิดต่อ 1 ตัวอย่าง โดยใส่เลือดหลอดละ 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 1) หลอด Nil: negative control (สีเทา) 2) หลอด TB1 antigen (TB1 Ag) (สีเขียว) 3) หลอด TB 2-antigen (TB2 Ag) (สีเหลือง) และ 4) หลอด mitogen: positive control (สีม่วง) ตามลำดับ หลังจากนั้นพลิกหลอดกลับไปมาในแนว 180 องศา ทำซ้ำ 10 ครั้ง แล้วนำหลอดไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำหลอดทั้งหมด มาปั่นแยกพลาสมาด้วยความเร็วรอบ 2,000-3,000 g เป็นเวลา 15 นาที เพื่อนำไปทดสอบโดยวิธี ELISA ขั้นตอนแรกคือ เติมน้ำ working conjugate 50 ไมโครลิตรลงในทุกหลุมของเพลท 96 หลุม จากนั้นเติมน้ำสารมาตรฐาน และ ตัวอย่างทดสอบ หลุมละ 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่า (micro-

Table 1 Interpretation of Standard F TB-Feron FIA results

Nil (IU/mL)	TB Ag-Nil (IU/mL)	Mitogen-Nil (IU/mL)	Standard F TB-Feron FIA results	Report/ Interpretation
≥8.0	≥0.35 and ≥25% of Nil value	Any	Positive ¹	<i>M. tuberculosis</i> infection likely
	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	≥0.5	Negative	<i>M. tuberculosis</i> infection NOT likely
	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	<0.5	Indeterminate	Results are indeterminate for TB Antigen responsiveness
>8.0	Any	Any	Indeterminate	

¹ Where *M. tuberculosis* infection is not suspected, initially positive results can be confirmed by retesting the original plasma samples in duplicate in the Standard F TB-Feron FIA. If repeat testing of one or both replicates is positive, the individual should be considered test positive.

plate shaker) นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 120 นาที เมื่อครบเวลานำเพลทไปล้างด้วยสารละลายวอชบัฟเฟอร์ 400 ไมโครลิตร เติมสับสเตรทของเอนไซม์ 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืดอีกครั้งเป็นเวลา 30 นาที แล้วเติมสารละลายสำหรับหยุดปฏิกิริยา 50 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรและช่วงคลื่นอ้างอิงที่ 620 ถึง 690 นาโนเมตร สุดท้ายนำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลด้วย QuantiFERON-TB Gold Plus Analysis Software สามารถแปลผลการทดสอบดังนี้

1. ผลการทดสอบจากหลอด Nil วัดค่าได้ ≤ 8.0 IU/mL จะต้องพิจารณาร่วมกับค่า TB1 Ag-Nil, TB2 Ag-Nil และค่า mitogen-Nil จึงสามารถแปลผลการทดสอบได้ การรายงานผลส่วนนี้แบ่งเป็น 4 กรณีคือ

1.1 ค่าจาก TB1 Ag-Nil ≥ 0.35 IU/mL และค่าที่วัดได้ ≥ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil จะแปลผลได้ทันที ไม่ต้องพิจารณาค่า TB2 Ag-Nil และ mitogen-Nil กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นบวก ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.2 ค่าจาก TB2 Ag-Nil ≥ 0.35 IU/mL และค่าที่วัดได้ ≥ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil จะแปลผลได้ทันที โดยไม่ต้องพิจารณาค่า TB1 Ag-Nil และ mitogen-Nil กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นบวก ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.3 ค่าจากทั้ง TB1 Ag-Nil และ TB2 Ag-Nil < 0.35 IU/mL หรือ ≥ 0.35 IU/mL แต่ค่าที่วัดได้ < ร้อยละ 25 ของหลอด Nil และค่าจากหลอด mitogen-Nil ≥ 0.5 IU/ml กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นลบ ซึ่งแสดงว่าไม่พบเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.4 ค่าจากทั้ง TB1 Ag-Nil และ TB2 Ag-Nil < 0.35 IU/mL หรือ ≥ 0.35 IU/mL แต่ค่าที่วัดได้ < ร้อยละ 25 ของหลอด Nil และค่าจากหลอด mitogen-Nil < 0.5 IU/mL กรณีนี้ไม่สามารถแปลผลการทดสอบได้

2. ผลการทดสอบจากหลอด Nil วัดค่าได้ > 8.0 IU/mL กรณีนี้จะไม่สามารถแปลผลการทดสอบได้ทันที (Table 2)

Table 2 Interpretation of QFT-Plus results

Nil (IU/mL)	TB1-Nil (IU/mL)	TB2-Nil (IU/mL)	Mitogen-Nil (IU/mL)	QFT-Plus Result	Report/ Interpretation
≤ 8.0	≥ 0.35 and $\geq 25\%$ of Nil value	Any	Any	Positive†	<i>M. tuberculosis</i> infection likely
	Any	≥ 0.35 and $\geq 25\%$ of Nil value			
	< 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil value	< 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil value	≥ 0.5	Negative	<i>M. tuberculosis</i> infection NOT likely
	< 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil value	< 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil value	< 0.5	Indeterminate‡	Likelihood of <i>M.</i> <i>tuberculosis</i> infection cannot be determinate
> 8.0 §	Any				

* Responses to the Mitogen positive control (and occasionally TB Antigens) can be outside the range of the microplate reader. This has no impact on test results. Values > 10 ml are reported by the QFT-Plus software as > 10 IU/ml.

† Where *M. tuberculosis* infection is not suspected, initially positive results can be confirmed by retesting the original plasma samples in duplicate in the QFT-Plus ELISA. If repeat testing of one or both replicates is positive, the individual should be considered test positive.

‡ Refer to the "Troubleshooting" section for possible causes.⁽¹⁴⁾

§ In clinical studies, less than 0.25% of subjects had IFN- γ levels of > 8.0 IU/ml for the Nil value.⁽¹⁴⁾

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบผลการทดลองของ Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus ใช้โปรแกรม Statistics Package for the Social Sciences (SPSS) v 18.0 ทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลโดยใช้สถิติ Kolmogorov-Smirnov ใช้ Cohen's kappa coefficient เป็นสถิติที่ใช้ในการเปรียบเทียบความสอดคล้องของสองวิธี ค่า Cohen's kappa coefficient คือ < 0.00 , $0.00-0.20$, $0.21-0.40$, $0.41-0.60$, $0.61-0.80$, $0.81-1.00$ บ่งชี้ระดับความสอดคล้อง ไม่มีความสอดคล้อง ความสอดคล้องเล็กน้อย ความสอดคล้องพอใช้ ความสอดคล้องปานกลาง ความสอดคล้องดี และความสอดคล้องดีมาก ตามลำดับ ใช้โปรแกรม Grapher 15 ในการสร้างกราฟ correlation plots ใช้สถิติวิเคราะห์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's correlation

coefficient) ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระดับ IFN- γ ของวิธี Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus สำหรับการทดสอบความแตกต่างระดับ IFN- γ ในแต่ละวิธีใช้สถิติ Wilcoxon matched pairs signed rank test ในการวิเคราะห์ข้อมูล โดยกำหนดความเชื่อมั่นที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

ลักษณะกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่าง 100 ราย มีค่าเฉลี่ยของอายุคือ 42 ปี (1-86 ปี) เป็นเพศชาย 49 ราย เพศหญิง 51 ราย เมื่อศึกษาแต่ละช่วงอายุพบว่า กลุ่มตัวอย่างที่แพทย์ส่งตรวจจำนวนมากที่สุดคือ ผู้ป่วยช่วงอายุ 40-60 ปี (ร้อยละ 27) รองลงมาคือ ช่วงอายุมากกว่า 60 ปี (ร้อยละ 25) ส่วนช่วงอายุน้อยกว่า 18 ปี และ 18-40 ปี มีจำนวนเท่ากันคือ ร้อยละ 24 (Table 3)

Table 3 The sex and age groups of study population

Age (years)	Male	Female	Total (%)
<18	16	8	24 (24)
18-40	12	12	24 (24)
40-60	10	17	27 (27)
>60	11	14	25 (25)
Total (%)	49 (49)	51 (51)	100 (100)

Table 4 Qualitative comparison of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus

Standard F TB-Feron FIA	No. of subjects	QFT-Plus				
		Positive			Indeterminate	Negative
		Both TB1-Nil and TB2-Nil	TB1-Nil only	TB2-Nil only		
Negative	63	2	2	2	3	58
Positive	27	20	17	19	0	7
Indeterminate	10	1	1	0	9	0
Total	100	23	20	21	12	65

เปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่าง Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus

ในกลุ่มตัวอย่าง 100 รายพบว่าผลบวกมีความสอดคล้องร้อยละ 74 (20/27) ทั้งสองวิธีให้ผลตรงกัน 20 ราย ผลลบมีความสอดคล้องร้อยละ 92 (58/63) ให้ผลตรงกัน 58 ราย ส่วนผล indeterminate มีค่าความสอดคล้องร้อยละ 90 (9/10) ให้ผลตรงกัน 9 ราย (Table 4) ผลความสอดคล้องของทั้งสองวิธีโดยใช้ Cohen's kappa coefficient อยู่ที่ร้อยละ 87 มีค่า Kappa = 0.734 สำหรับผลความสอดคล้องหลอด TB Ag ของวิธี Standard F TB-Feron FIA และหลอด TB1 Ag ของวิธี QFT-Plus ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 74 มีค่า Kappa = 0.641 ผลระหว่างหลอด TB Ag ของวิธี Standard

F TB-Feron FIA และหลอด TB2 Ag ของวิธี QFT-Plus ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 78 มีค่า Kappa = 0.727 นอกจากนี้มี 13 รายที่ให้ผลไม่ตรงกันระหว่างสองวิธี สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกมี 7 รายที่ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นบวกแต่ QFT-Plus ให้ผลเป็นลบ จากเกณฑ์การแปลผลการทดสอบที่ระบุในเอกสารทั้งสองชุดตรวจ หลังจากพิจารณาค่า Nil ≤ 8.0 IU/mL สามารถแปลผลเป็นบวกได้เมื่อหลอด TB Ag-Nil มีระดับ IFN- γ ที่วัดได้ ≥ 0.35 IU/mL ซึ่งผลทั้ง 7 รายให้ค่า IFN- γ อยู่ที่ 0.59-1.48 IU/mL จึงแปลผลได้เป็นบวก ส่วนหลอด TB1 Ag และ TB2 Ag ให้ค่า IFN- γ ที่ใกล้เคียงกันคือ ระหว่าง 0-0.18 IU/mL จึงแปลผลได้เป็นลบ กลุ่มที่สองมี 2 ราย ที่ Standard

F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นลบแต่ QFT-Plus ให้ผลเป็นบวก กลุ่มที่สามมี 1 รายที่ Standard F TB-Feron FIA ให้ผล indeterminate โดย TB Ag-Nil วัดค่าได้ 0 IU/mL แต่ mitogen วัดค่าได้ 0.14 IU/mL จึงทำให้ไม่สามารถแปลผลได้แต่ในส่วน 1 รายนี้ QFT-Plus กลับให้ผลเป็นบวก เกณฑ์ที่พิจารณาแปลผลเป็น indeterminate คือหลอด TB Ag-Nil มีระดับ IFN- γ ที่วัดได้ <0.35 IU/mL และ

mitogen-Nil วัดระดับ IFN- γ ได้ < 0.5 IU/mL และกลุ่มสุดท้ายมี 3 รายที่ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นลบแต่ QFT-Plus ให้ผล indeterminate โดยผลการทดสอบหลอด mitogen-Nil ของ QFT-Plus วัดค่าได้ 0.22 IU/mL จึงทำให้ไม่สามารถแปลผลได้ สำหรับผลที่ไม่ตรงกันทั้ง 13 รายไม่สามารถคำนวณข้อมูลทางสถิติได้เนื่องจากเป็นกลุ่มตัวอย่างขนาดเล็ก (Table 5)

Table 5 Discordant results of Standard F TB-Feron FIA versus QFT-Plus

No.	Subject No.	Age (yr.)	Sex	Standard F TB-Feron FIA			QFT-Plus			
				TB Ag-Nil	Mitogen-Nil	Results	TB1 Ag-Nil	TB2 Ag-Nil	Mitogen-Nil	Results
1	W51613	60	Female	0.62	10	Positive	0.13	0.02	10	Negative
2	W51620	32	Female	1.48	10	Positive	0	0	10	Negative
3	W51675	38	Male	1.17	10	Positive	0.01	0	10	Negative
4	W51694	59	Female	0.65	10	Positive	0.016	0.025	10	Negative
5	W51702	46	Male	0.59	10	Positive	0.01	0.01	10	Negative
6	W51704	71	Male	0.92	10	Positive	0	0.01	10	Negative
7	W51717	44	Female	0.59	9.19	Positive	0.13	0.18	10	Negative
8	W51628	84	Male	0.09	7.33	Negative	0.84	1.44	10	Positive
9	W51632	60	Female	0	10	Negative	0.61	0.83	10	Positive
10	W51643	39	Male	0	0.145	Indeterminate	0.44	0.17	1.8	Positive
11	W51605	51	Female	0	0.52	Negative	0.02	0.01	0.13	Indeterminate
12	W51622	6	Male	0	4.15	Negative	0	0	0.22	Indeterminate
13	W51712	78	Female	0	2.75	Negative	0	0	0.19	Indeterminate

* Criteria for interpretation of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus (The Nil value $\leq$ 8.0 IU/ml).

1. If TB Ag-Nil of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus in both (TB1 and TB2) or either TB tube $\geq$ 0.35 IU/ml, irrespective of the Mitogen-Nil, the result was considered positive
2. If TB Ag-Nil of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus (TB1 and TB2) <0.35 IU/ml, when the Mitogen-Nil $\geq$ 0.5 IU/ml, the result was considered negative
3. If TB Ag-Nil of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus (TB1 and TB2) <0.35 IU/ml, when the Mitogen-Nil <0.5 IU/ml, the results was considered indeterminate.

การเปรียบเทียบระดับ IFN- γ ระหว่าง Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus

กลุ่มตัวอย่าง 100 รายแสดงระดับ IFN- γ ที่แตกต่างกัน โดยค่าเฉลี่ยของหลอด TB Ag คือ 1.25 IU/mL หลอด TB1 Ag คือ 0.74 IU/mL และหลอด

TB2 Ag คือ 0.73 IU/mL ทั้งสองการทดสอบมีช่วงของระดับ IFN- γ ที่วัดได้เท่ากันคือ 0-15 IU/mL จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่าค่าเฉลี่ยของระดับ IFN- γ จากวิธี Standard F TB-Feron FIA มีค่าสูงกว่า QFT-Plus เมื่อนำผลของระดับ IFN- γ ระหว่าง

หลอด TB Ag กับหลอด TB1 Ag และระหว่างหลอด TB Ag กับหลอด TB2 Ag มาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ Wilcoxon matched pairs signed rank test พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.003$ และ $p = 0.002$ ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าหลอด TB Ag มีการกระตุ้น T-cell ให้หลั่ง IFN- γ สูงกว่าหลอด TB1 Ag และหลอด TB2 Ag อย่างเห็นได้ชัด สำหรับการทดสอบ QFT-Plus เมื่อนำระดับ IFN- γ มาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ Wilcoxon matched pairs signed rank test เช่นกัน ผลการวิเคราะห์ข้อมูลระหว่างหลอด TB1 Ag และหลอด

TB2 Ag ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.742$) ซึ่งค่า IFN- γ มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันทั้ง 2 หลอด โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สันระหว่างหลอด TB1 Ag และหลอด TB2 Ag ที่ $R = 0.98$ (Fig 1. C) โดยรวมแล้วพบว่าระดับ IFN- γ ของ Standard F TB-Feron FIA กับ QFT-Plus TB1 Ag มีค่าความสัมพันธ์ดีเท่ากับค่าความสัมพันธ์ของ Standard F TB-Feron FIA กับ QFT-Plus TB2 Ag โดยแสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน $R = 0.82$ (Fig 1. A และ Fig 1. B)

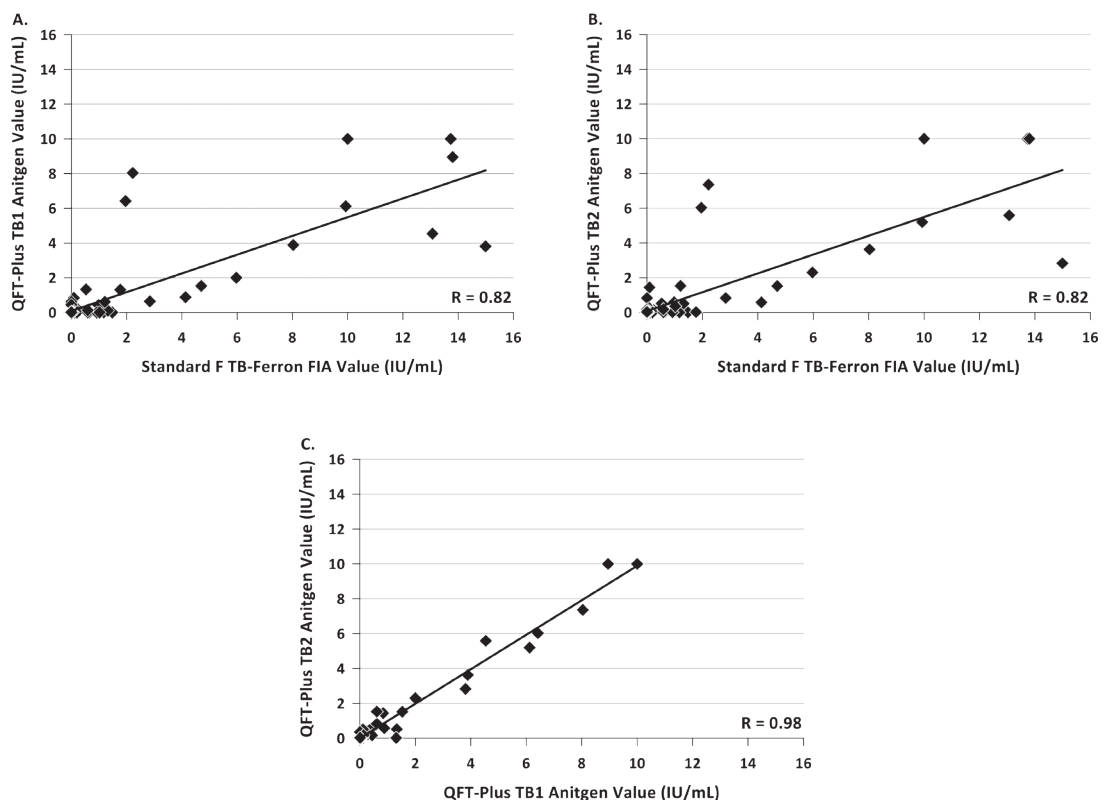


Fig. 1 Correlation of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus quantitative IFN- γ values. Graphs show correlations between quantitative results for the Standard F TB-Feron FIA TB antigen tube and QFT-Plus TB1 tube (A), the Standard F TB-Feron FIA TB antigen tube and QFT-Plus TB2 tube (B), and the QFT-Plus TB1 tube and QFT-Plus TB2 tube (C). R, Pearson's correlation coefficient.

สรุปและวิจารณ์

งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลการวิเคราะห์การติดเชื้อวัณโรคจากระดับ IFN- γ ด้วยวิธี Standard F TB-Feron FIA เปรียบเทียบกับวิธี QFT-Plus จากจำนวนตัวอย่าง 100 ราย ผลการศึกษาแสดงให้เห็นความสอดคล้องของทั้งสองวิธีอยู่ในระดับสูงคือร้อยละ 87 โดยมีค่า Kappa = 0.734 แต่มีจำนวน 13 รายที่ผลการทดสอบไม่ตรงกันทั้งสองวิธีสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มตาม Table 6 โดยผลที่ไม่ตรงกันมีค่า IFN- γ อยู่ระหว่าง 0-1.48 IU/mL

สำหรับกลุ่มแรกมี 7 ราย (W51613, W51620, W51675, W51694, W51702, W51704, W51717) ที่ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นบวกแต่ QFT-Plus ให้ผลเป็นลบ ในขณะที่ผลที่ไม่ตรงกันในกลุ่มที่ 2 มี 2 ราย (W51628, W51632) ผลการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นลบ แต่ QFT-Plus ให้ผลเป็นบวก สำหรับสองกลุ่มนี้ผลที่ไม่ตรงกันอาจเกิดจากความคลาดเคลื่อนระหว่างการทดสอบ เช่น ขั้นตอนก่อนการทดสอบคือ ความผิดพลาดในการเจาะเก็บเลือดผู้ป่วยที่ไม่ถูกต้อง ส่วนขั้นตอนระหว่างการทดสอบคือ ความไม่แม่นยำในการดูปริมาณสิ่งส่งตรวจหรือน้ำยาทดสอบโดยใช้ปิเปตต์ ซึ่งมีผลทำให้เกิดทั้งผลบวกปลอมและผลลบปลอม จึงควรตรวจสอบปริมาณเลือด พลาสมาและน้ำยาที่ใช้ปิเปตต์

ควรให้ถูกต้องแม่นยำทุกครั้งเพื่อลดการเกิดความคลาดเคลื่อนดังกล่าว^(8, 9) นอกจากนี้ปัจจัยข้างต้นทั้งสองชุดทดสอบยังมีความแตกต่างในส่วนหลักการวิธีการทดสอบคือ Standard F TB-Feron FIA ใช้หลักการฟลูออเรสเซนส์ ส่วน QFT-Plus ใช้หลักการ ELISA จึงอาจเป็นไปได้ที่จะเป็นอีกปัจจัยให้ผลการทดสอบแตกต่างกัน และความแตกต่างสุดท้ายของทั้งสองการทดสอบคือ จำนวนแอนติเจนที่ใช้ซึ่ง Standard F TB-Feron FIA มีแอนติเจน 3 ชนิดที่ใช้ในการกระตุ้นการหลั่ง IFN- γ คือ ESAT6, CFP10 และ TB 7.7 ต่างจาก QFT-Plus ที่ใช้แอนติเจน 2 ชนิดคือ ESAT6 และ CFP10 ในส่วนของแอนติเจน TB 7.7 ที่เพิ่มมานั้นเป็นแอนติเจนที่มีความจำเพาะต่อเชื้อวัณโรคซึ่งสามารถกระตุ้น T-cell ให้มีการหลั่ง IFN- γ ได้เช่นเดียวกัน⁽¹⁰⁾ ความแตกต่างในส่วนนี้จึงอาจเป็นไปได้ที่ทำให้ผลของการทดสอบทั้งสองวิธีไม่สอดคล้องกัน

กลุ่มที่ 3 มี 1 ราย (W51643) ที่ผลไม่ตรงกันโดย Standard F TB-Feron FIA ให้ผล indeterminate (ไม่สามารถแปลผลได้) ส่วน QFT-Plus ให้ผลเป็นบวกซึ่งในรายนี้มีการเจาะเก็บและทำตัวอย่างเลือดพร้อมกัน แต่ที่น่าสังเกตคือระดับ IFN- γ หลอด mitogen ของ QFT-Plus มีค่า 1.8 IU/mL ซึ่งสูงกว่าค่าที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการแปลผลได้เพียงเล็กน้อยและพบว่าผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น

Table 6 The summary of discordant results in each group

Group No.	Standard F TB-Feron FIA	QFT-Plus	No. of discordant
1	Positive	Negative	7
2	Negative	Positive	2
3	Indeterminate	Positive	1
4	Negative	Indeterminate	3

โรค Eales disease นอกจากสาเหตุความแตกต่างที่กล่าวไว้ในกลุ่มที่หนึ่งและสองข้างต้น มีอีกหนึ่งสาเหตุที่ส่งผลต่อการทดสอบเมื่อได้ติดตามการวินิจฉัยของแพทย์คือ ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยากดภูมิมาก่อน การตอบสนอง T-cell ของผู้ป่วยยังทำงานได้ปกติ เห็นได้จากการตอบสนองในหลอด mitogen ของ QFT-Plus แต่อาจมีประสิทธิภาพในการตอบสนองต่อการถูกกระตุ้นได้ไม่ดีเท่าที่ควร ซึ่งยากดภูมิจะมีผลไปรบกวนการหลั่ง IFN- γ จาก T-cell และเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานรวมถึงความไวของวิธี IGRA ลดลง⁽¹¹⁾ จึงส่งผลให้การทดสอบทั้งสองวิธีในผู้ป่วยรายนี้ไม่สอดคล้องกัน

กลุ่มสุดท้ายที่ผลไม่สอดคล้องกันมี 3 ราย (W51605, W51622, W51712) ผลการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นลบแต่ QFT-Plus ให้ผล indeterminate เนื่องจากผล mitogen-Nil มีค่าต่ำกว่า 0.5 IU/mL บ่งชี้ว่าประสิทธิภาพของ T-cell ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ตอบสนองต่อการถูกกระตุ้นได้ไม่ดี ในกรณีนี้ทั้งสามรายมีการเก็บสิ่งส่งตรวจและทำการทดสอบพร้อมกัน เมื่อพิจารณาขั้นตอนต่าง ๆ ระหว่างทำการทดสอบทำให้สามารถตัดตัวแปรที่ไม่ส่งผลต่อการทดสอบได้ เช่น วิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจ ระยะเวลาในการนำส่งสิ่งส่งตรวจมายังห้องปฏิบัติการรวมถึงขั้นตอนการวิเคราะห์ สิ่งส่งตรวจ จึงอาจมีความเป็นไปได้ว่าผลการตอบสนองของ T-cell ที่ต่ำเกิดจากปริมาณเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยทั้งสามรายที่แสดงในค่า CBC มีค่าน้อยกว่าค่าปกติทำให้เซลล์ที่นำมาทดสอบมีประสิทธิภาพไม่ดี

นอกจากนี้ผลการเปรียบเทียบ IFN- γ ระหว่าง 2 การทดสอบพบว่า ค่าเฉลี่ยของ Standard F TB-Feron FIA มีค่าสูงกว่า QFT-Plus และแสดงค่าความสัมพันธ์ที่สูง ($R > 0.82$) ความแตกต่างระหว่างสองการทดสอบนอกจากหลักการที่ต่างกันยังมีชนิดของ Ag ที่ต่างกัน โดยหลอด QFT-Plus

ประกอบด้วย TB1 Ag หลอดนี้ถูกออกแบบให้มีการกระตุ้น IFN- γ ผ่าน CD4 T-cell ส่วนหลอด TB2 Ag ถูกออกแบบให้มีการกระตุ้น IFN- γ ผ่านทั้ง CD4 และ CD8 T-cell ซึ่งทั้งสองหลอดประกอบด้วยแอนติเจนชนิด ESAT6 และ CFP10 แต่ในส่วน Standard F TB-Feron FIA นั้นหลอด TB Ag มีแอนติเจนเพิ่มขึ้นไปอีก 1 ชนิดคือ TB 7.7 มีการศึกษาก่อนหน้านี้ได้ตรวจสอบการทำงานของแอนติเจนที่นำมาใช้ในน้ำยาของวิธี IGRA พบว่า TB 7.7 เป็นแอนติเจนที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้น T-cell ให้หลั่ง IFN- γ แต่น้อยกว่า ESAT6 และ CFP10⁽¹⁰⁾ และยังมีการศึกษาที่ทดสอบเปรียบเทียบการใส่และไม่ใส่แอนติเจน TB 7.7 โดยพบว่าผลการทดสอบไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเทียบค่า IFN- γ พบว่าการทดสอบในส่วนที่ใส่แอนติเจน TB 7.7 ให้ค่าที่สูงกว่าทั้งในผู้ป่วยที่เป็น ATBI และ LTBI^(12, 13) จึงอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ค่า IFN- γ ในการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA สูงกว่า QFT-Plus สำหรับในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างหลอด TB1 Ag และหลอด TB2 Ag ค่า IFN- γ มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน และไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยผลการทดสอบแสดงค่าความสัมพันธ์ที่สูงมาก ($R > 0.98$) ส่วนหนึ่งอาจอธิบายได้ถึงความแม่นยำของการทดสอบ QFT-Plus เนื่องจากทั้งสองหลอดมีการกระตุ้นการหลั่ง IFN- γ ผ่าน CD4 T-cell ส่วนข้อจำกัดของการทดสอบนี้คือ 1) ไม่สามารถระบุผลการวินิจฉัยโรคของผู้ป่วยจากแพทย์ได้ทุกราย โดยเฉพาะในกลุ่มที่ผลไม่สอดคล้องกัน เนื่องจากบางกลุ่มโรคจะมีผลต่อประสิทธิภาพการทดสอบ IGRA เช่น ในกลุ่มโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง 2) ปริมาณเลือดไม่เพียงพอที่จะสามารถทำการทดสอบซ้ำ และอีกหนึ่งข้อจำกัดคือ 3) ไม่สามารถประเมินความไวและความจำเพาะได้เพราะยังไม่มีวิธีมาตรฐานของการวินิจฉัย LTBI ดังนั้นจึงไม่สามารถประเมินความแม่นยำที่

แท้จริงของวิธี Standard F TB-Feron FIA ได้รวมถึงไม่อาจระบุผลการทดสอบที่แท้จริงในรายที่ผลไม่ตรงกันจากทั้งสองวิธีได้ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า Standard F TB-Feron FIA มีค่าความสอดคล้องใกล้เคียงกับ QFT-Plus ในระดับสูง ค่า IFN- γ โดยรวมของการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA ให้ค่าสูงกว่าใน QFT-Plus ทั้ง 2 หลอด และแสดงค่าความสัมพันธ์ในระดับสูง อย่างไรก็ตาม การศึกษาในอนาคตควรมีการตรวจสอบเพิ่มเติมว่าผลการทดสอบที่ไม่สอดคล้องกันระหว่างวิธี Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus มีสาเหตุจากความไวของวิธีการทดสอบหรือจากผลบวกปลอมที่สูงขึ้นของวิธี Standard F TB-Feron FIA โดยอาจต้องมีการควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่อาจส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนในทุกขั้นตอนของการทดสอบเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธี Standard F TB-Feron FIA สามารถใช้เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการช่วยลดภาระงานตรวจวิเคราะห์หาวัณโรคระยะแฝงวิธีนี้มีข้อดีคือ ช่วยเพิ่มความสะดวก มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก และลดเวลาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ สามารถใช้ทดแทนในกรณีการตรวจคัดกรองเบื้องต้นในงานตรวจสุขภาพ ซึ่งมีปริมาณงานมาก ส่วนวิธี QFT-Plus อาจใช้เวลาทำการทดสอบนานกว่า แต่วิธีนี้มีข้อดี คือมีมาตรฐานซึ่งสามารถใช้ตรวจสอบคุณภาพน้ำยาและตรวจสอบความถูกต้องของขั้นตอนการทดสอบ บ่งบอกถึงความแม่นยำของผลการทดสอบในแต่ละครั้ง ดังนั้นในรายที่ไม่สามารถแปลผลได้จึงควรตรวจซ้ำด้วยวิธี QFT-Plus ซึ่งต้องอาศัยผู้ปฏิบัติการที่มีความรู้ ความชำนาญในการทำการทดสอบรวมถึงทักษะการใช้โปรแกรมเพื่อวิเคราะห์และแปลผล โดยในอนาคตเมื่อวิธี Standard F TB-Feron FIA มีการพัฒนาเพิ่มเติมในส่วนนี้จะเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับห้องปฏิบัติการที่มีหน้าที่วิเคราะห์หาวัณโรคระยะแฝงในงานประจำวัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รองหัวหน้าหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยานายอนุชาติ อ่วมขันธ์ นางกาญจนา ศรีวานิชรักษ์ และนางสาวริสรา สมุทรพอง ผู้ปฏิบัติการหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ให้ความช่วยเหลืองานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณ บริษัท เอ็มพี กรุป (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ชุดทดสอบ Standard F TB-Feron FIA และเครื่อง Standard F 2400 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Harding E. WHO global progress report on tuberculosis elimination. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 19.
2. Maiolini M, Gause S, Taylor J, *et al.* The War against Tuberculosis: A Review of Natural Compounds and Their Derivatives. *Molecules* 2020; 25: 3011.
3. Hartman-Adams H, Clark K, Juckett G. Update on latent tuberculosis infection. *Am Fam Physician* 2014; 89:889-96.
4. Houben RM, Dodd PJ. The global burden of latent tuberculosis infection: a re-estimation using mathematical modelling. *PLoS medicine*. 2016; 13: e1002152.
5. Theel ES, Hilgart H, Breen-Lyles M, *et al.* Comparison of the QuantiFERON-TB Gold Plus and QuantiFERON-TB Gold In-Tube interferon gamma release assays in patients at risk for tuberculosis and in health care workers. *J Clin Microbiol* 2018; 56.

6. Kiazayk S, Ball T. Tuberculosis (TB): Latent tuberculosis infection: An overview. *Can Commun Dis Rep* 2017; 43: 62.
7. Doan TN, Eisen DP, Rose MT, Slack A, Stearnes G, McBryde ES. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection: a latent-class analysis. *PloS one* 2017; 12: e0188631.
8. Banaei N, Gaur RL, Pai M. Interferon gamma release assays for latent tuberculosis: what are the sources of variability? *J Clin Microbiol* 2016; 54: 845-50.
9. Pai M, Denkinger CM, Kik SV, *et al.* Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27: 3-20.
10. Arlehamn CSL, Sidney J, Henderson R, *et al.* Dissecting mechanisms of immunodominance to the common tuberculosis antigens ESAT-6, CFP10, Rv2031c (hspX), Rv2654c (TB7.7), and Rv1038c (EsxJ). *The J Immunol* 2012; 188: 5020-31.
11. Wong SH, Gao Q, Tsoi KKF, *et al.* Effect of immunosuppressive therapy on interferon γ release assay for latent tuberculosis screening in patients with autoimmune diseases: a systematic review and meta-analysis. *Thorax* 2016; 71: 64-72.
12. Yi L, Sasaki Y, Nagai H, *et al.* Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in Japan. *Scientific reports* 2016; 6: 1-8.
13. Petruccioli E, Vanini V, Chiacchio T, *et al.* Analytical evaluation of QuantiFERON-Plus and QuantiFERON-Gold In-tube assays in subjects with or without tuberculosis. *Tuberculosis* 2017; 106: 38-43.
14. Qiagen. QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA package insert. Hilden Germany; 2019.