การตรวจวัณโรคปอดด้วยวิธี polymerase chain reaction จากเสมหะในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี

ประวิทย์ โพธิ์ทอง, พ.บ.*
นภัทร เขียวอ่อน, พ.บ., วท.ม.*

บทคัดย่อ

การตรวจยืนยันโรควัณโรคปอดทางห้องปฏิบัติการมีหลายวิธี ซึ่งมีความไว กับความจำเพาะ และมีข้อดีกับข้อเสียที่แตกต่างกัน วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้ คือ หาคุณค่าของการตรวจเสมหะด้วยวิธี (polymerase chain reaction หรือ PCR) เพื่อวินิจฉัยโรควัณโรคปอดในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี โดยใช้ผลการเพาะเชื้อวัณโรคจากเสมหะเป็นมาตรฐาน โดยรวบรวมผู้ป่วยย้อนหลัง ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นวัณโรคปอดและติดเชื้อเอชไอวี ที่มีค่า CD4 เฉลี่ยต่ำกว่า 200/มม^3 กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา ระหว่างวันที่ 1 กันยายน 2556 ถึง 1 กันยายน 2558 คัดเลือกเฉพาะผู้ป่วยที่ได้รับการส่งเสมหะตรวจทั้งวิธี PCR และเพาะเชื้อพร้อมกัน ซึ่งมีผู้ป่วยทั้งหมด 93 ราย เพาะเชื้อขึ้น 84 ราย ไม่ขึ้น 9 ราย คำนวณค่าความไวและความจำเพาะได้เท่ากับ ร้อยละ 90.3 และร้อยละ 100 ตามลำดับ ส่วน Positive predictive value และ Negative predictive value ร้อยละ 100 และ 0 ตามลำดับ ส่วนการตรวจเสมหะย้อม AFB มีความไว ร้อยละ 86.0 และ ความจำเพาะ ร้อยละ 100 สรุปว่าการส่งเสมหะตรวจ PCR for TB มีความไวและความจำเพาะสูง ใช้เสริมการตรวจ Sputum AFB ช่วยวินิจฉัยวัณโรคปอดได้ดี และยังสามารถตรวจหาเชื้อดื้อยา Isoniazid และ Rifampicin ได้ทำให้การรักษาทำได้เร็วขึ้น

คำสำคัญ: การตรวจเสมหะด้วยวิธี PCR, การเพาะเชื้อวัณโรค, วัณโรคปอด

Abstract: **The polymerase chain reaction of the sputum for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in HIV-infected patients**

Prawit Potong, M.D.*
Nabhathara Kheawon, M.D., M.Sc.*
* Department of Medicine, Maharat Nakhon Ratchasima Hospital, Nahkon Ratchasima 30000

Nakhon Racth Med Bull 2018; 40: 85-94.

* กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา จ.นครราชสีมา 30000

There are many laboratory methods for confirmation of the diagnosis of pulmonary tuberculosis with various sensitivity, specificity, advantage or disadvantage. The objective of this research is to study the validity of the polymerase chain reaction (PCR) method of the sputum for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in cases of HIV-infected patients, compared with the sputum mycobacterial culture as the gold standard. Patients who were diagnosed as having pulmonary tuberculosis and HIV infection with the mean CD4 less than 200/mm^3 during 1 Sep 2013 – 1 Sep 2015 in the department of Medicine, Maharat Nakhon Ratchasima Hospital, were retrospectively studied. Only 93 patients who had concurrently sputum tested for PCR method and biological culture were recruited and 84 of them had positive culture for *M. tuberculosis* whereas 9 had negative culture. The calculated sensitivity and specificity were 90.3 % and 100 %, respectively. The positive predictive value and negative predictive value were 100 % and 0 %, respectively. Likewise the sensitivity and specificity of sputum AFB stain were 86.0 % and 100 %, respectively. In conclusion, The PCR of the sputum for TB had very high sensitivity and specificity and should be used after negative AFB stain. Furthermore, it was able to detect the mycobacterial resistance to Isoniazid as well as Rifampicin leading to the early and proper management for tuberculosis.

Key Words: PCR for tuberculosis of sputum, Mycobacterial culture, Pulmonary tuberculosis

บทนำ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่สำคัญและเป็นปัญหาสาธารณสุข เป็นสาเหตุของการป่วยและการตายในหลายประเทศ สาเหตุที่ทำให้วัณโรคกลับมามีปัญหาใหม่ทั่วโลก เนื่องจากการระบาดของโรคเอดส์ ความยากจน การอพยพ และแรงงานเคลื่อนย้าย ตลอดจนการละเลยปัญหาวัณโรคของเจ้าหน้าที่สาธารณสุขในระดับต่าง ๆ[1,2]

สถานการณ์วัณโรคของโลกปัจจุบัน มีผู้ป่วยวัณโรคประมาณ 12 ล้านคน ครึ่งหนึ่งเป็นกลุ่มที่กำลังแพร่เชื้อ และในแต่ละปีมีผู้ป่วยใหม่ประมาณ 8.6 ล้านคน ผู้ป่วยวัณโรคเสียชีวิตปีละประมาณ 1.3 ล้านคน[3]

องค์การอนามัยโลกจัดไทยให้อยู่ในกลุ่ม 22 ประเทศที่มีปัญหาวัณโรคสูงมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2541 โดยจำนวนผู้ป่วยใหม่ในกลุ่มประเทศเหล่านี้ คิดเป็นประมาณร้อยละ 80 ของผู้ป่วยทั่วโลก ประเทศที่มีผู้ป่วยวัณโรคมากที่สุดในโลกได้แก่ อินเดีย รองลงมาคือ จีน ซึ่งมีผู้ป่วยใหม่เกิน 1 ล้านคนต่อปี ในปี พ.ศ. 2555 องค์การอนามัยโลกคาดว่าไทยมีผู้ป่วยวัณโรครายใหม่ ประมาณ 80,000 รายต่อปี หรือคิดเป็นอัตราอุบัติการณ์ 119 ต่อประชากรแสนคน สูงกว่าประเทศตะวันตกบางประเทศถึง 30 เท่า[2]

ผู้ติดเชื้อเอชไอวี เสี่ยงต่อการติดเชื้อวัณโรคมากกว่าคนปกติ 20-37 เท่า และวัณโรคเป็นสาเหตุหลักของการเสียชีวิตในผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2554 (รายงาน ณ วันที่ 27 มีนาคม 2555) พบว่าร้อยละ 91 ของผู้ป่วยวัณโรคทุกประเภทได้รับการให้คำปรึกษา และยินยอมตรวจเลือดปรากฏว่าติดเชื้อเอชไอวี ร้อยละ 15 และผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ตรวจพบใหม่ ได้รับการคัดกรองวัณโรคร้อยละ 90 มีผู้มีอาการสงสัยและได้รับการตรวจวินิจฉัยร้อยละ 68 พบว่าเป็นวัณโรคร้อยละ 15 ของผู้ที่ได้รับการคัดกรองวัณโรค[2]

โรคติดเชื้อฉวยโอกาสที่พบมากที่สุดในผู้ป่วยเอดส์ คือ M. tuberculosis ปอด และนอกปอด 112,519 ราย (ร้อยละ 29.9)[4]

การติดเชื้อเอชไอวีทำให้มีโอกาสติดวัณโรคง่ายโดย วัณโรคเป็นโรคแทรกซ้อนที่พบบ่อยที่สุด ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีในประเทศไทย เชื้อวัณโรคทำให้

เชื้อเอชไอวี มีการดำเนินโรคเร็วขึ้น ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีภูมิต้านทานต่ำจะพบการติดเชื้อวัณโรคนอกปอดเพิ่มขึ้น และตรวจพบเชื้อในเสมหะจากการย้อม Acid fast bacilli (AFB) น้อยลง การติดเชื้อร่วมกันของเชื้อเอชไอวี และวัณโรคทำให้การวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ป่วยมีความยุ่งยากมากขึ้น[4] ในประเทศไทย มีการวินิจฉัยวัณโรคปอด จากการตรวจเสมหะพบเชื้อประมาณร้อยละ 65 และอัตราส่วนลดลงในพื้นที่ ที่มีการระบาดของเชื้อเอชไอวี [5]

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

ศึกษาความไว และความจำเพาะของการตรวจเสมหะโดยวิธี PCR เพื่อค้นหาเชื้อวัณโรคปอดในผู้ติดเชื้อเอชไอวี ในโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา

คำจำกัดความ

การวินิจฉัยวัณโรคปอด

Definite diagnosis pulmonary tuberculosis

หมายถึง ผู้ที่มีการติดเชื้อที่เสมหะส่งเพาะขึ้นเชื้อวัณโรคหรือมีผลตรวจทางพยาธิวิทยาที่สนับสนุนการติดเชื้อ เช่น molecular line probe assay

Probable diagnosis pulmonary tuberculosis

หมายถึง ผู้ที่มีอาการ/อาการแสดงที่น่าสงสัยวัณโรค อาการที่พบบ่อยที่สุด คือ ไอมีเสมหะเกิน 2 สัปดาห์ อาจมีอาการอื่น ๆ ทางระบบหายใจ (หายใจถี่ เจ็บอก ไอเป็นเลือด) และ/หรืออาการทั่วไป (เบื่ออาหาร น้ำหนักลด ไข้ เหงื่อออกตอนกลางคืน อ่อนเพลีย) ร่วมกับพบความผิดปกติของเอกซเรย์ปอด โดยแพทย์ผู้รักษา แต่ย้อม AFB ในเสมหะไม่พบเชื้อ

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวิเคราะห์ค้นหาเชื้อวัณโรค

1. **การตรวจหาเชื้อในสิ่งส่งตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic examination)**

1.1 การตรวจหาเชื้อในสิ่งส่งตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (Light microscopy)

Acid Fast Bacilli (AFB stain) คือการตรวจเสมหะหรือสิ่งส่งตรวจด้วยวิธี Ziehl Neelsen (ZN) ด้วยกล้องจุลทรรศน์พบเชื้อเป็นแท่งสีแดงจากสี Carbol fuchsin และไม่สามารถล้างออกได้ด้วยแอลกอฮอล์ที่มีฤทธิ์เป็นกรด (Acid alcohol) จึงเรียกว่าเป็น acid-fast bacilli (AFB)

1.2 การตรวจหาเชื้อในสิ่งส่งตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบเรืองแสง (Fluorescence microscopy)

สิ่งส่งตรวจจะต้องผ่านการย้อมด้วยสารเรืองแสง (โดยทั่วไปใช้ Auramine O) แล้วจึงตรวจด้วยกล้องที่สามารถตรวจจับสารเรืองแสงได้ลักษณะของเชื้อที่ตรวจพบจากการตรวจวิธีนี้ จะพบเป็นแบคทีเรียชนิดแท่งที่เรืองแสงสีเขียว หรือสีเขียวเหลืองบนพื้นดำ

2. การเพาะเชื้อวัณโรคจากสิ่งส่งตรวจ (Mycobacterial culture with drug susceptibility testing)

เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะค่อนข้างสูง (80-93 % และ 98 % ตามลำดับ) เนื่องจากจะได้ผลและพบได้ง่ายแม้สิ่งส่งตรวจนั้น จะมีเชื้อเพียง 10-100 เซลล์เท่านั้น โดยทั่วไปการเพาะเชื้อวัณโรคสามารถทำได้ทั้งในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งแบบ solid และ liquid แต่โดยทั่วไปการเพาะเชื้อบนอาหาร solid จะได้ผลช้ากว่าแบบ liquid ดังนั้นหากต้องการผลเร็วและทราบความไวของเชื้อ ควรเลือกใช้ liquid media สำหรับการเพาะเชื้อในหลอด (Broth media) นั้นเมื่อนำเชื้อมาทำการเพาะเลี้ยงในระบบที่สามารถตรวจจับการเจริญเติบโตหรือเพิ่มจำนวนของเชื้อได้ เช่น BACTEC 460TB และ BACTEC MB9000 ซึ่งใช้วิธีการตรวจจับ 14C ในหลอดเพาะเชื้อ หรือ Mycobacterial Growth Indicator Tube และ Septi-Check TB system ซึ่งใช้วิธีการตรวจจับความร้อน ที่เกิดขึ้นในหลอดเพาะเชื้อ สามารถตรวจหาเชื้อได้ใน 2 สัปดาห์ ซึ่งทำให้การวินิจฉัยวัณโรครวดเร็วมากขึ้น

3. การตรวจหาโมเลกุลซึ่งเป็นส่วนประกอบของเชื้อ (Molecular testing)

3.1 การตรวจ Gene Xpert MTB/RIF assay อาศัยหลักการเดียวกันกับการตรวจ NAA assay ซึ่งเป็นการขยายจำนวน nucleic acid ด้วยวิธี real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) มีขั้นตอนต่างๆ คือ การสลายตัวเชื้อ แยกส่วน nucleic acid ออกมาทำการเพิ่มจำนวนเพื่อให้ตรวจพบง่าย แต่ความแตกต่างของการตรวจวิธีนี้คือ เมื่อเพิ่มจำนวน nucleic acid ก็จะมีส่วนของ gene ในเชื้อเรียกว่า *rpoB* gene ซึ่งเป็น gene ที่เกิดขึ้นจากการกลายพันธุ์ทำให้เชื้อสามารถต้านยา rifampicin เพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นหากตรวจหา gene นี้ควบไปกับการตรวจ RT-PCR ก็จะทำให้ได้ทั้งการวินิจฉัยวัณโรค และยังสามารถบอกถึงการดื้อต่อยา rifampicin ของเชื้อได้ด้วย

3.2 การตรวจด้วยวิธี Line probe assay (LPA)/ PCR อาศัยหลักการ PCR/hybridization เพื่อตรวจจับชิ้นส่วนของเชื้อวัณโรคในสิ่งส่งตรวจในเวลาเดียวกันก็จับส่วนของ nucleotide ในยีนที่สัมพันธ์ กับการดื้อยา (single nucleotide polymorphisms: SNPs) ได้ด้วยการตรวจวิธีนี้ WHO รับรองในปี ค.ศ. 2008 ว่าใช้ตรวจหาภาวะดื้อยาต้านวัณโรคในกรณีพบเชื้อแล้ว และสงสัยว่าจะเป็น MDR-TB ได้ผลดีการตรวจ LPA ในปัจจุบันมีอยู่ 2 แบบคือ INNO-LiPA Rif.TB test และ Geno Type MTBDR *plus* test

ทบทวนวรรณกรรม

การวินิจฉัยวัณโรคปอดด้วยการส่งเสมหะย้อม AFB ทำได้ง่าย รวดเร็วและไม่ซับซ้อน แต่มีข้อจำกัดหลายประการที่สำคัญที่สุดคือ มีความไวไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับความชุกของวัณโรคในชุมชนนั้น ๆ และจำนวนเชื้อในสิ่งส่งตรวจ Mathew และคณะ พบความไวและความจำเพาะร้อยละ 67.5 และ 97.5 ตามลำดับ[12] ในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวี Cattamanchi และคณะ พบร้อยละ 51 และ 99 ตามลำดับ[11] Kivihya-Ndugga และคณะ พบความไวจากการตรวจ sputum PCR for TB ในกลุ่มผู้ป่วยเอชไอวี ร้อยละ 89 เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยทั่วไปที่มีค่าความไวร้อยละ 95[15]

ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการส่งตรวจ Gene expert MTB/RIF assay เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีความไวสูงแม้ในราย ที่ตรวจเสมหะแล้วไม่พบเชื้อ และยังหาภาวะดื้อยา Rifampicin ได้ด้วยความไว และความจำเพาะของการส่งตรวจเสมหะโดยวิธีนี้ในกลุ่มผู้ป่วยวัณโรคปอดที่ตรวจเสมหะ ไม่พบเชื้อจากการย้อม AFB ของ Reechaipichitkul และคณะ คือ ร้อยละ 83.9 และ 92.1 ตามลำดับ[13]

ข้อมูลจากองค์การอนามัยโรค ความไวจากการตรวจเสมหะโดยวิธี PCR คือ มากกว่าร้อยละ 95 ในผู้ที่เสมหะพบเชื้อจาก AFB และ ร้อยละ 60 ถึง 70 ในผู้ที่ย้อมไม่พบเชื้อ ความจำเพาะ คือ ร้อยละ 98 ถึง 100[6]

วิธีการศึกษา

1. ประเภทของงานวิจัย

เป็นการศึกษาย้อนหลังเชิงวิเคราะห์ (Retrospective analytic) ผู้ป่วยเอชไอวี ที่มีวัณโรคปอด เพื่อศึกษาความไวและความจำเพาะของการตรวจเสมหะโดยวิธี RT-PCR เพื่อหาเชื้อวัณโรคปอดในผู้ป่วยเอชไอวี

2. ประชากรที่ศึกษา

Inclusion criteria: ผู้ป่วยเอชไอวีที่ได้รับการวินิจฉัยวัณโรคปอด และได้ส่งเสมหะตรวจ AFB stain, RT-PCR for TB และส่งเพาะเชื้อวัณโรคตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน 2556 ถึง 1 กันยายน 2558 ใช้ PCR รุ่น Anyplex MTB/NTM Real time detection version 2.0 ของบริษัท Seegene และเพาะเชื้อวัณโรค (Culture) แบบที่เป็น liquid (MGIT) media

Exclusion criteria: ผู้ป่วยที่มีประวัติในเวชระเบียนไม่สมบูรณ์

3. สถานที่ทำวิจัย แผนกอายุรกรรมโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา

4. วิธีดำเนินการ

แบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่มคือ

4.1 ผู้ป่วยเอชไอวีที่มีผลการตรวจเสมหะเพาะเชื้อเป็นบวก และส่งตรวจ PCR

4.2 ผู้ป่วยเอชไอวีที่มีผลการตรวจเสมหะเพาะเชื้อเป็นลบ และส่งตรวจ PCR

Gold standard ในการศึกษานี้คือ **การตรวจเพาะเชื้อวัณโรคจากเสมหะ** (Sputum culture for TB)

การคำนวณขนาดตัวอย่าง

เพื่อการประมาณค่าสัดส่วนของประชากรกลุ่มเดียว เพราะค่าความไวและความจำเพาะ เป็นค่าสัดส่วน ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้

$N = n_0 \times 100$ / อัตราการเป็นโรค โดยคำนวณ n_0 จากสูตร $n_0 = (Z_{á/2})^2 P(1-P)/e^2$

N = ขนาดตัวอย่าง

n_0 = จำนวนผู้เป็นโรคใน กรณีต้องการหาค่าความไว

P = ค่าความไว (sensitivity)

á = ความผิดพลาดของการสุ่มตัวอย่างเพื่อสรุป ค่าสัดส่วนของประชากร

e = ความกระชับของการประมาณค่า

ข้อมูลจากองค์การอนามัยโรค ความไวจากการตรวจเสมหะโดยวิธี PCR คือ มากกว่าร้อยละ 95

allowable error (e) = 10 % , $Z_{á/2} = 1.96$, อัตราการเกิดโรคเท่ากับร้อยละ 29.87

$n_0 = (1.96)^2\ 0.95\ (1-0.95)/(0.10)^2 = 18.24$,

$N = 18.24 \times 100/29.87 = 61$

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์เชิงบรรยาย (descriptive statistic) โดยรายงานผลจำนวน ร้อยละ อัตราส่วน ค่าเฉลี่ย ค่ามัธยฐาน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และพิสัย โดยใช้โปรแกรม SPSS

ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

ได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย โรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา

ผลการศึกษา

มีผู้ป่วยทั้งหมด 232 ราย ที่ติดเชื้อเอชไอวี และได้รับการวินิจฉัยวัณโรคปอด ระหว่าง 1 กันยายน 2556 ถึง 1 กันยายน 2558 รวม 2 ปี อายุเฉลี่ย 37 ± 9.17 ปี เป็นชาย 163 ราย (ร้อยละ 70.3) เป็นหญิง 69 ราย (ร้อยละ 29.7) ส่วนใหญ่ประกอบอาชีพรับจ้าง 193 ราย (ร้อยละ 83.2)

โรคประจำตัวอื่น ๆ ที่พบร่วมมากที่สุดคือ เบาหวาน 9 ราย (ร้อยละ 3.9) รองลงมาคือ ไตวาย เรื้อรัง 6 ราย (ร้อยละ 2.6) ไขมันในเลือดผิดปกติ 4 ราย (ร้อยละ 1.7) ความดันโลหิตสูง หรือ โรคลมชัก อย่างละ 3 ราย (ร้อยละ 1.3) ธาลัสซีเมีย หรือ ตับแข็ง อย่างละ 2 ราย (ร้อยละ 0.9) โรคหลอดเลือดสมอง หรือ โรคถุงลมโป่งพอง อย่างละ 1 ราย (ร้อยละ 0.4) ค่าเฉลี่ย CD4 13178 ± 159.1 ผู้ป่วยได้รับยาต้านไวรัสมาก่อน เพียง 43 ราย (ร้อยละ 18.5)

เอกซ์เรย์ปอดที่เข้าได้กับวัณโรค (typical CXR for TB) คือ มีรอยโรคที่ปอดกลีบบน (infiltration at upper lung), เนื้อปอดเป็นโพรง (cavity), milliary pattern จำนวน 178 ราย (ร้อยละ 76.7) เอกซ์เรย์ปอดที่ไม่เข้ากับวัณโรค 32 ราย (ร้อยละ 13.8) และเอกซ์เรย์ปอดปกติ (Normal CXR) จำนวน 22 ราย (ร้อยละ 9.5) มีผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจเอกซ์เรย์คอมพิวเตอร์ปอด 16 ราย (ร้อยละ 6.9) เป็น Consolidation จำนวน 11 ราย (ร้อยละ 68.8), Cavity 2 ราย (ร้อยละ 12.5) และ Nodular patterrn 3 ราย (ร้อยละ 18.8)

วัณโรคนอกปอดที่พบร่วมได้แก่ ที่ต่อมน้ำเหลือง 60 ราย (ร้อยละ 25.9) ที่เยื่อหุ้มสมอง 7 ราย

ตารางที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วย

	จำนวน (ร้อยละ)
Sex	
- Male	163 (70.3%)
- Female	69 (29.7%)
Age (18-74 ปี)	37±9.2
Occupation	
- เกษตรกร	16 (6.9)
- รับจ้าง	193 (83.2)
- รับราชการ	1 (4)
- นักเรียน	5 (2.2)
- นักบวช	4 (1.7)
- นักโทษ	5 (2.2)
- ค้าขาย	2 (0.9)
- แม่บ้าน	6 (2.6)
Underlying disease	
- No underlying	201 (86.6)
- Diabetic mellitus	9 (3.9)
- Hypertension	3 (1.3)
- Old CVA	1 (0.4)
- CKD	6 (2.6)
- Thalassemia	2 (0.9)
- Cirrhosis	2 (0.9)
- Dyslipidemia	4 (1.7)
- COPD	1 (0.4)
- Epilepsy	3 (1.3)
CD4 (cells)	131.8±159.1
CXR	
- Typical for pulmonary TB.	178 (76.7)
- Atypical for pulmonary TB.	32 (13.8)
- Normal	22 (9.5)
CT Chest	16 (6.9)
- Cavity	2 (0.9)
- Consolidation	11 (4.7)
- Nodular	3 (1.3)
ARV	
- On ARV	43 (18.5)
- No ARV	189 (81.5)
Drugs resistance	
- MDR	26 (20.0)
- TB	11 (8.46)

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนผู้ป่วยที่มีวัณโรคนอกปอดร่วมด้วย (Extrapulmonary TB)

Extrapulmonary TB	**จำนวน (ร้อยละ)**
No extrapulmonary	141 (60.8)
TBLymph node	60 (25.9)
GI tract	16 (6.9)
Meninges	7 (3.0)
Bone marrow	6 (2.6)
Spleen	4 (1.7)
Spine	2 (0.9)
Liver	2 (0.9)
Total	232 (100)

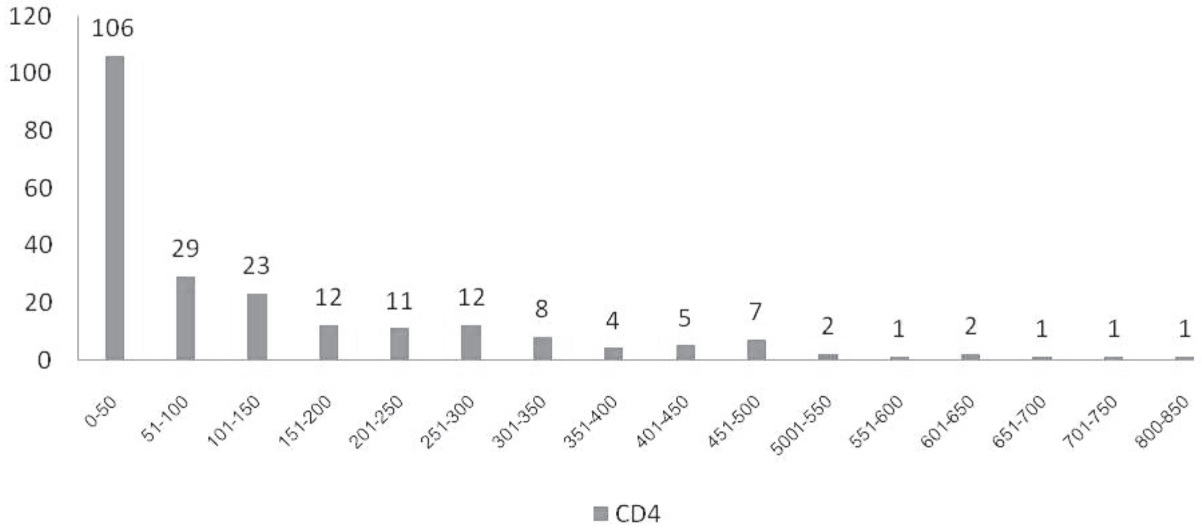
(ร้อยละ 3) ในทางเดินอาหาร 16 ราย (ร้อยล 6.9) ในไขกระดูก 6 ราย (ร้อยละ 2.6) ม้าม 4 ราย (ร้อยละ 1.7) และที่กระดูกสันหลัง 2 ราย (ร้อยละ 0.9)

โรคติดเชื้อที่พบร่วม (Co-infection) ได้แก่ ไวรัสตับอักเสบบี 18 ราย (ร้อยละ 7.8) ไวรัสตับอักเสบซี 4 ราย (ร้อยละ 1.7) และ ซิฟิลิส 9 ราย (ร้อยละ 3.9) ภาวะติดเชื้อฉวยโอกาสที่เกิดขึ้นในระหว่างการรักษาวัณโรคปอด (Opportunistic infection) ได้แก่ Non tuberculosis mycobacterium (NTM) 6 ราย (ร้อยละ 2.6), Cryptococcal meningitis 22 ราย (ร้อยละ 9.5), Cerebral toxoplasmosis 3 ราย (ร้อยละ 1.3), Cytomegalovirus retinitis 9 ราย (ร้อยละ 3.9) และ PCP pneumonia 18 ราย (ร้อยละ 7.8)

ผู้ป่วยตอบสนองต่อการรักษา 154 ราย (ร้อยละ 66.4) ไม่ตอบสนอง 1 ราย (ร้อยละ 0.4) เสียชีวิต 45

ตารางที่ 3 การตอบสนองต่อการรักษา (Response)

	จำนวน (ร้อยละ)
Response	154 (66.4)
Not response	1 (0.4)
Dead	45 (19.4)
Loss follow up	32 (13.8)
Total	232 (100)



แผนภูมิที่ 1 แสดงการกระจายตัวของค่า CD4 ของกลุ่มผู้ป่วยที่ศึกษา

ตารางที่ 4 ภาวะแทรกซ้อนจากการรักษา (Complication)

ภาวะแทรกซ้อน	**จำนวน (ร้อยละ)**
- Hepatitis/jaundice	35 (15.1)
- Rash/Drugs allergy	10 (4.3)
Total	45 (19.4)

ราย (ร้อยละ 19.4) และไม่มาติดตามการรักษา 32 ราย (ร้อยละ 13.8) ภาวะแทรกซ้อนจากการรักษาได้แก่ ตับอักเสบหรือดีซ่าน 35 ราย (ร้อยละ 15.1) และผื่นแพ้ยาทั้งชนิดรุนแรงและไม่รุนแรง 10 ราย (ร้อยละ 4.3) การส่งเสมหะย้อม AFB พบเชื้อ 162 ราย (ร้อยละ 69.8) ไม่พบเชื้อ 70 ราย (ร้อยละ 30.2)

ตารางที่ 5 โรคติดเชื้อที่พบร่วมกับเอชไอวี (Co-infection)

Co-infection	**จำนวน (ร้อยละ)**
- HBV	18 (7.8)
- HCV	4 (1.7)
- Syphilis	9 (3.9)
Total	31 (13.4)

ส่งเสมหะเพาะเชื้อวัณโรค (Sputum culture for TB) ทั้งหมด 147 ราย (ร้อยละ 63.36) เชื้อขึ้น 130 ราย (ร้อยละ 88.4) ไม่ขึ้น 17 ราย (ร้อยละ 11.6) มีเชื้อดื้อยา 26 ราย (ร้อยละ 20) และเป็นเชื้อดื้อยาหลายขนานทั้ง Isoniazid และ Rifampicin (MDR-TB) 11 ราย (ร้อยละ 8.5)

มีเสมหะตรวจ PCR for TB 107 ราย แต่มีผู้ที่ได้รับการตรวจทั้ง PCR และ culture 93 ราย (ร้อยละ 40.1) ตรวจพบเชื้อ 84 ราย และไม่พบเชื้อ 9 ราย จากตารางที่ 7 คำนวณคุณค่าของการส่งเสมหะตรวจ PCR for TB เทียบกับการเพาะเชื้อซึ่งถือเป็น Gold standard พบว่าความไว เท่ากับร้อยละ 90.32 และ ความจำเพาะ

ตารางที่ 6 ภาวะติดเชื้อฉวยโอการที่เกิดขึ้นในระหว่างการรักษาวัณโรคปอด (Opportunistic infection)

Opportunistic infection	**จำนวน (ร้อยละ)**
- NTM	6 (2.6)
- Cryptococcal meningitis	22 (9.5)
- Cerebral toxoplasmosis	3 (1.3)
- CMV retinitis	9 (3.9)
- PCP	18 (7.8)
Total	58 (25.1)

ตารางที่ 7 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบระหว่างการตรวจ sputum PCR และ culture ซึ่งเป็น gold standard

	Sputum Culture for TB.		
Sputum PCRF or TB.	**Positive**	**Negative**	**Total**
Positive	84	0	84
Negative	9	0	9
Total	93	0	93

จากตารางสามารถคำนวณค่าต่าง ๆ ได้ดังนี้

ค่าความไวของการตรวจ sputum PCR เพื่อหาเชื้อวัณโรค (Sensitivity) มีค่าเท่ากับร้อยละ 90.32

ค่าความจำเพาะของการตรวจ sputum PCR เพื่อหาเชื้อวัณโรค (Specificity) มีค่าเท่ากับร้อยละ 100

ค่า Positive predictive value มีค่าเท่ากับร้อยละ 100

ค่า Negative predictive value มีค่าเท่ากับร้อยละ 0

เท่ากับร้อยละ 100 ค่า Positive predictive value ร้อยละ 100 และค่า Negative predictive value ร้อยละ 0

จากตารางที่ 8 ข้อมูลเปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยที่ส่งตรวจเสมหะทั้ง AFB, PCR และ Culture for TB ความไวของการตรวจ sputum AFB ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ คือ ร้อยละ 86.0 และค่าความจำเพาะร้อยละ 100

บทวิจารณ์

การศึกษานี้เป็นการศึกษาย้อนหลังผู้ป่วยเอชไอวี และได้รับการวินิจฉัยวัณโรคปอดร่วมด้วย พบว่าส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยวัยกลางคนอายุเฉลี่ย 37 ปี เป็นเพศชายมากกว่าเพศหญิง ประกอบอาชีพรับจ้างมากที่สุด รองลงมา เกษตรกรรม โรคประจำตัวอื่น ๆ ที่พบร่วมมากที่สุดคือ เบาหวาน

ค่าเฉลี่ย CD_4 ในผู้ป่วยกลุ่มนี้เท่ากับ 137 เซลล์ (น้อยกว่า 200 เซลล์) ซึ่งเสี่ยงต่อการติดเชื้อวัณโรคปอดและวัณโรคนอกปอดมากขึ้น การศึกษานี้พบวัณโรคนอกปอดคือ วัณโรคต่อมน้ำเหลือง ทางเดินอาหาร เยื่อหุ้มสมองตามลำดับ ผู้ป่วยส่วนใหญ่ ยังไม่เคยได้รับยาต้านไวรัสเอชไอวีมาก่อน ส่วนมากตอบสนองต่อการรักษาดี แต่มีอัตราการเสียชีวิตค่อนข้างสูงคือ 45 ราย (ร้อยละ 19.4) ภาวะแทรกซ้อนที่พบบ่อยที่สุดคือ ตับอักเสบและดีซ่าน เชื้อฉวยโอกาสที่พบบ่อยที่สุดคือ การติดเชื้อรา Cryptococcus spp. ในเยื่อหุ้มสมอง

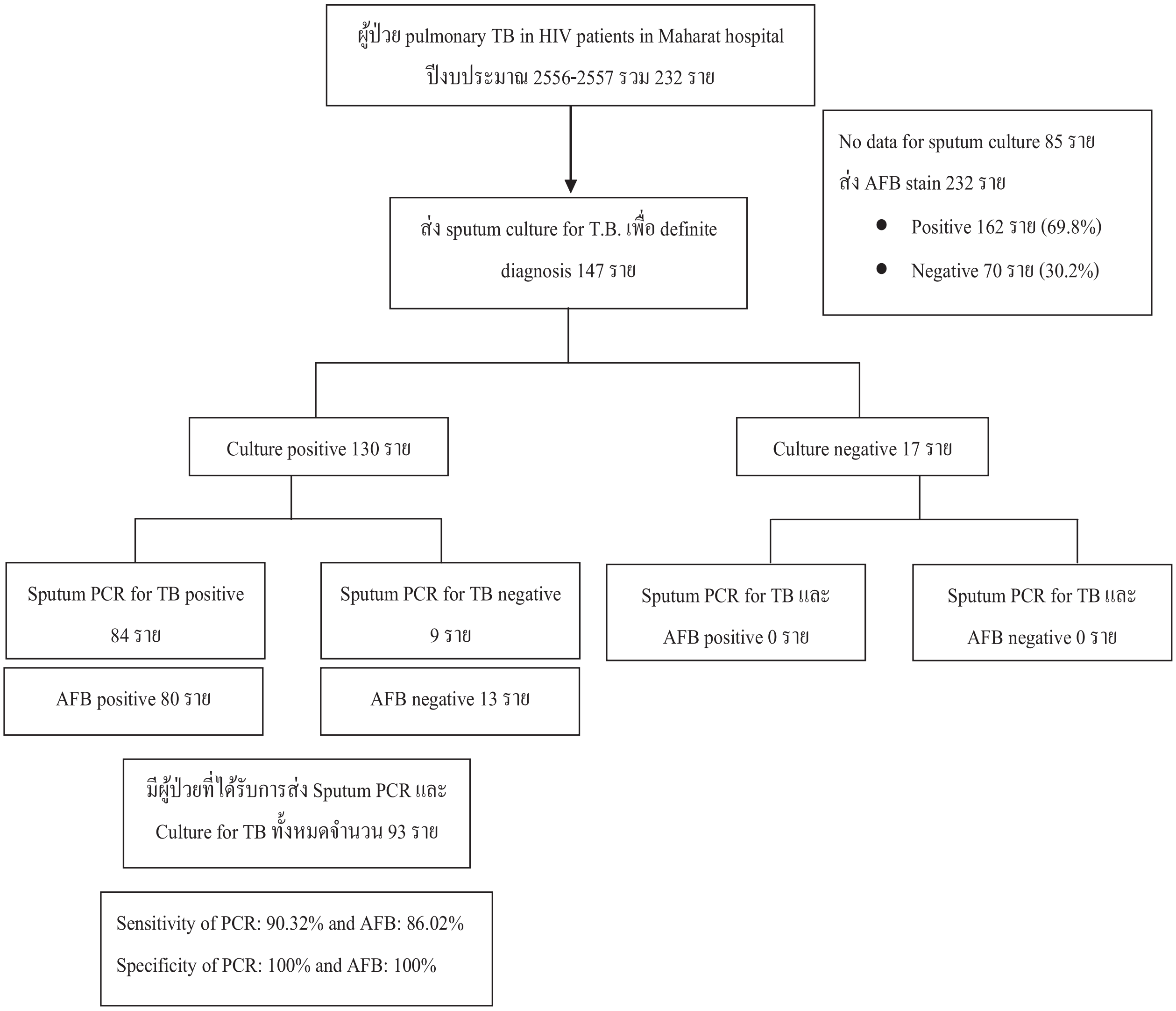
อัตราการติดเชื้อวัณโรคดื้อยาหลายขนาน คือร้อยละ 8.5 เทียบกับข้อมูลจากสำนักวัณโรค กรมควบคุมโรค ที่ศึกษาในกลุ่มพิเศษ ได้แก่ผู้ป่วยวัณโรคในเรือนจำ ในโรงพยาบาลเขตเมืองใหญ่ แนวชายแดน และพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของ เอชไอวี/เอดส์สูง ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีปัญหาในการควบคุมวัณโรค พบอัตราการดื้อยาหลายขนานที่ไม่เคยรักษามาก่อนร้อยละ 5-7 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันกับการศึกษานี้

ความไวและความจำเพาะของการตรวจ sputum AFB คือร้อยละ 86.0 และ100 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าความไวที่สูงกว่าและค่าความจำเพาะใกล้เคียงกับการศึกษาของ Cattamanchi และคณะที่ศึกษา ถึงความไวและ ความจำเพาะของการตรวจหาเชื้อวัณโรคปอดจากเสมหะ (sputum AFB) ในกลุ่มผู้ป่วยเอชไอวีจำนวน 279 ราย พบว่าความไว และความจำเพาะจากการตรวจ sputum AFB คือ ร้อยละ 51 และ 99 ตามลำดับ[11]

ตารางที่ 8 สรุปข้อมูลเปรียบระหว่างการตรวจ sputum PCR, AFB และ culture ซึ่งเป็น gold standard

	Culture positive			Culture negative	
Sputum PCR For TB.	**AFB positive**	**AFB negative**	**Total**	**AFB positive**	**AFB negative**
- Positive	75	9	84	0	0
- Negative	5	4	9	0	0
Total	80	13	93	0	0

ค่าความไวและความจำเพาะของการตรวจ sputum PCR for TB คือร้อยละ 90.32 และ 100 ตามลำดับ ซึ่งค่าความไวใกล้เคียงกับการศึกษาของ Kivihya-Ndugga และคณะได้ศึกษาถึงความไวจาก การตรวจ sputum PCR for T.B. ในกลุ่มผู้ป่วยเอชไอวี พบว่าค่าความไวคือ ร้อยละ 89[15]



แผนภาพที่ 1 แสดงภาพรวมการศึกษาวิจัย (Study flow diagram)

สรุปและข้อเสนอแนะ

การส่งเสมหะตรวจ PCR เพื่อวินิจฉัยวัณโรค ปอด ในกลุ่มผู้ป่วยเอชไอวีในโรงพยาบาลมหาราช นครราชสีมา ตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน 2556 ถึง 1 กันยายน 2558 มีผู้ที่ได้รับการส่งเสมหะตรวจทั้ง PCR และ culture 93 ราย (ร้อยละ 40.1) ของผู้ป่วยตรวจ พบเชื้อ 84 ราย คำนวณค่าความไว และความจำเพาะ จากการส่งเสมหะตรวจ PCR for TB เทียบกับการเพาะเชื้อซึ่งเป็น Gold standard เท่ากับร้อยละ 90.3 และร้อยละ 100

การส่งเสมหะตรวจ PCR for TB มีความไวและความจำเพาะสูง ใช้เสริมการตรวจ Sputum AFB ช่วยวินิจฉัยวัณโรคปอด สามารถตรวจหาเชื้อดื้อยา Isoniazid และ Rifampicin ได้ ทำให้การรักษาได้เร็วขึ้น เนื่องจากเป็นการศึกษาย้อนหลัง ทำให้ขาดข้อมูลที่สำคัญบางประเด็น ในอนาคตจึงควรมีการศึกษาแบบ

ไปข้างหน้าและเพิ่มขนาดจำนวนประชากรที่ศึกษาเพื่อความครบถ้วนและถูกต้องมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. ข้อมูลเฝ้าระวังการดื้อยาวัณโรคของประเทศไทยปี 2540-2549 สำนักวัณโรค. กรมควบคุมโรค.
2. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา สถานการณ์วัณโรคและโรคเอดส์ปี 2550-2555 สำนักระบาดวิทยา. กรมควบคุมโรค.
3. รายงานข้อมูลวัณโรคปีงบประมาณ 2553 สำนักวัณโรค. กรมควบคุมโรค.
4. วิเคราะห์สถานการณ์โรคเอดส์ในประเทศไทย สำนักโรคเอดส์ วัณโรคและโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ปี 2554. กรมควบคุมโรค.
5. แนวทางการดำเนินงานควบคุมวัณโรคแห่งชาติ พ.ศ. 2556 กรมควบคุมโรค. กระทรวงสาธารณสุข
6. WHO/TDR Tuberculosis Diagnostic Economic Working Group. Diagnostics for tuberculosis. Global demand and market potential. World Health Organization; 2006.
7. Clarridge JE, 3rd, Shawar RM, Shinnick TM, Plikaytis BB. Large-scale use of polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in a routine mycobacteriology laboratory. J Clin Microbiol 1993; 31: 2049-56.
8. Abe C, Hirano K, Wada M, Wada M, Kazumi Y, Takahashi M, Fukasawa Y, et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens by polymerase chain reaction and Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test. J Clin Microbiol 1993; 31: 3270-4.
9. Wobeser WL, Krajden M, Conly J, Simpson H, Yim B, D'costa M, et al. Evaluation of Roche Amplicor PCR assay for *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1996; 34: 134-9.
10. Kambashi B, Mbulo G, McNerney R, Tembwe R, Kambashi A, Tihon V, et al. Utility of nucleic acid amplification techniques for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in sub-Saharan Africa. Int J Tuberc Lung Dis 2001; 5: 364-9.
11. Cattamanchi A, Dowdy DW, Davis JL, Worodria W, Yoo S, Joloba M, et al. Sensitivity of direct versus concentrated sputum smear microscopy in HIV-infected patients suspected of having pulmonary tuberculosis. BMC Infect Dis 2009; 9: 53. doi: 10.1186/1471-2334-9-53
12. Mathew P, Kuo YH, Vazirani B, Eng RHK, Weinstein MP. Are three sputum acid-fast bacillus smears necessary for discontinuing tuberculosis isolation? J Clin Microbiol 2002; 40: 3482-4.
13. Reechaipichitkul W, Phetsuriyawong A, Chaimanee P, Ananta P. Diagnostic test of sputum GeneXpert MTB/RIF for smear negative pulmonary tuberculosis. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2016; 47: 457-66.
14. Sharma SK, Mohan A, Kadhiravan T. HIV-TB co-infection: epidemiology, diagnosis and management. Indian J Med Res 2005; 121: 550-67.
15. Kivihya-Ndugga L, van Cleeff M, Juma E, Kimwomi J, Githui W, Oskam L, et al. Comparison of PCR with the routine procedure for diagnosis of tuberculosis in a population with high prevalences of tuberculosis and human immunodeficiency virus. J Clin Microbiol 2004; 47: 1012-5.