บทความฟื้นวิชา

Is it a Time to Replace Tuberculin Skin Test ?
การทดสอบทุเบอร์คุลิน

อังกูร เกิดพาณิช
หน่วยโรคติดเชื้อ กองกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

ทุเบอร์คุลินเป็นการทดสอบหาการติดเชื้อวัณโรคที่ใช้กันมานานทั้งๆ ที่ความไวและความจำเพาะไม่สูงนักแต่ยังนิยมใช้กันอยู่ เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีการทดสอบการติดเชื้อวัณโรคที่ทำง่ายและราคาถูกกว่านี้ น้ำยาใช้สำหรับทดสอบมีสองชนิดคือ

1) น้ำยา Old Tuberculin (OT) ใช้สำหรับทดสอบแบบ multiple puncture method

2) น้ำยา Purified Protein Derivative (PPD) ใช้สำหรับทดสอบแบบฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (intradermal, Mantoux method) และแบบ multiple puncture devices ประเทศไทยน้ำยา PPD ที่ใช้อยู่ส่วนใหญ่ผลิตโดยสภากาชาดไทย (PPD-TRC, ของ Chiron, Italy) น้ำยาฉีด 0.1 ซีซี. มีขนาดเท่ากับ 10 TU ความแรงเทียบเท่ากับน้ำยา PPD-S ขนาด 5 TU ขององค์การอนามัยโลกที่ถือเป็นน้ำยามาตราฐาน

การทดสอบโดยใช้ multiple puncture devices ทำได้ง่าย สะดวกและรวดเร็วไม่จำเป็นต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญ เพราะใช้ tuberculin-coated prongs วิธีนี้มีข้อจำกัดคือควบคุมปริมาณน้ำยาค่อนข้างยาก การแปลผลมีผลบวกลวงและผลลบลวงสูง แนะนำให้ใช้บางกรณีเท่านั้น เช่นทำการทดสอบในประชากรจำนวนมากที่คาดว่ามีความชุกของการติดเชื้อวัณโรคต่ำ การอ่านผลต้องทำด้วยความระมัดระวังอย่างยิ่ง เมื่อให้ผลการทดสอบเป็นบวกจากวิธี multiple puncture ต้องทำการทดสอบโดยวิธี Mantoux method อีกครั้งเพื่อการแปลผลที่แม่นยำ ส่วนการทดสอบโดยการฉีดน้ำยาเข้าใต้ผิวหนัง (intradermal) โดยวิธี Mantoux method ถือเป็นวิธีมาตรฐานที่นิยมใช้กัน การฉีดและการแปลผลต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญจึงจะได้ผลที่น่าเชื่อถือ

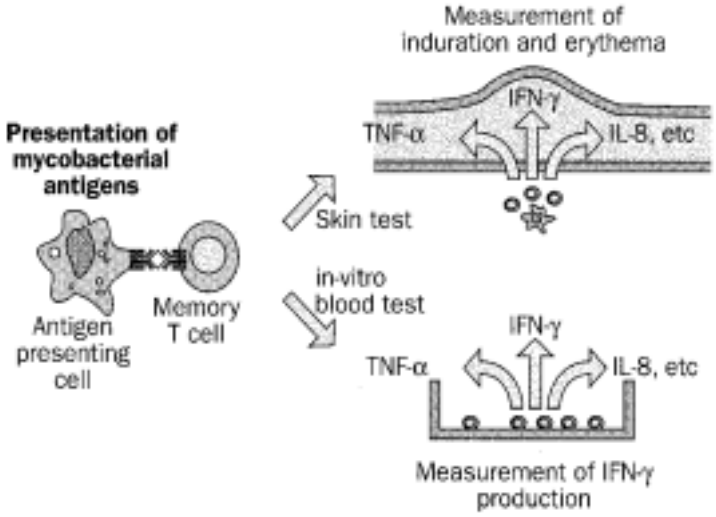
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ พ.อ.อังกูร เกิดพาณิช หน่วยโรคติดเชื้อ กองกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กทม. 10400

กระบอกฉีดยาที่ใช้ แนะนำให้ใช้กระบอกฉีดยาอินซูลิน (insulin syringe) ขนาด 50 หรือ 100 IU เนื่องจากเวลาดูดน้ำยา PPD จะใช้เพียง 0.1 ซีซี เท่านั้น ไม่ต้องดูดน้ำยามามากกว่า 0.1 ซีซี เผื่อไว้สำหรับน้ำยาในส่วนกระเปาะของหัวเข็ม syringe ชนิด 1 ซีซี (tuberculin syringe) ที่ต้องเปลี่ยนหัวเข็มใหม่เวลาฉีด ทำให้เปลืองน้ำยา PPD มากกว่าเพราะต้องมีน้ำยาอยู่ในส่วนของหัวเข็มด้วยและต้องไล่อากาศที่อยู่ตรงกระเปาะของหัวเข็มออก ส่วนเข็มเบอร์ 29 ที่ติดมากับ insulin syringe ไม่ต้องเปลี่ยนหัวเข็มและเข็มนั้นมีความคมเพียงพอที่จะใช้ดูดน้ำยา PPD และใช้ฉีด intradermal ได้ ดังนั้นปริมาณน้ำยาที่ฉีดเข้าในผู้ถูกทดสอบจะถูกต้องมากกว่าและไม่ต้องระวังว่าน้ำยาจะรั่วออกตรงข้อต่อของเข็ม

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นหลังจากฉีดน้ำยา PPD ที่ผิวหนัง จะเป็นการตอบสนองแบบ delayed (cellular) hypersensitivity reaction เม็ดเลือดขาวชนิด T-cell ที่ครั้งหนึ่งเคยถูกกระตุ้นจากการติดเชื้อวัณโรคมาก่อนจะเคลื่อนมาในตำแหน่งที่ฉีดน้ำยา PPD และจะปล่อย lymphokines[1] ออกมา ซึ่ง lymphokines ชนิดต่างๆ ที่หลั่งออกมานี้จะทำให้เส้นเลือดมีการขยายตัว มีการบวมของเนื้อเยื่อเกิดขึ้น มี fibrin มาสะสมและมี inflammatory cells ชนิดต่างๆ เข้ามาสู่บริเวณนี้ จึงเห็นเป็นรอยนูนเกิดขึ้น[2] แสดงไว้ในรูปที่ 1 ถ้าเป็นการตรวจในห้องปฏิบัติการจะเป็นการตรวจหาปริมาณ lymphokines ที่หลั่งออกมาจาก T-cell เช่น การวัดปริมาณ IFN-γ โดยวิธี ELISA

ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินจะเริ่มเกิดภายใน 5-6 ชั่วโมงหลังฉีด รอยนูน (induration) ที่เกิดขึ้นจะสูงสุดที่เวลา 48-72 ชั่วโมงหลังจากนั้นรอยนูนจะเริ่มเล็กลงค่อยๆ จางหายไป ในบางคนเช่นคนแก่หรือคนที่ทำการทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นครั้งแรกปฏิกิริยาอาจจะไม่สูงสุดจนกว่า 72 ชั่วโมงไปแล้ว[4] นอกจากนี้ใน 24 ชั่วโมงแรก

รูปที่ 1 แสดงปฏิกิริยาการทดสอบการติดเชื้อวัณโรค[3]



หลังฉีดน้ำยาทุเบอร์คุลินอาจเกิดปฏิกิริยา immediate hypersensitivity ต่อน้ำยาทุเบอร์คุลิน หรือส่วนผสมอื่นๆ ในน้ำยาทุเบอร์คุลินได้ จะเห็นเป็นรอยแดงเกิดขึ้นแต่ไม่มีรอยนูน ปฏิกิริยาเหล่านี้จะหายไปภายใน 24 ชั่วโมง

การอ่านผลโดยทั่วไปแนะนำให้อ่านที่เวลาระหว่าง 48-72 ชั่วโมงหลังจากฉีดน้ำยา โดยวัดและบันทึกรอยนูนที่เกิดขึ้นเป็นมิลลิเมตร ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะสูงสุดที่เวลา 72 ชั่วโมง แต่ถ้าหลังจาก 72 ชั่วโมงไปแล้วรอยนูนยังปรากฏอยู่และมีขนาดใหญ่กว่าให้ถือผลการทดสอบ ณ ที่เวลาหลังจาก 72 ชั่วโมงนั้นเป็นผลการทดสอบ นอกจากนี้มีคนไข้ส่วนหนึ่งประมาณร้อยละ 10 ให้ผลการทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นลบทั้งที่ตรวจพบเชื้อวัณโรคจากสิ่งส่งตรวจ[5] คนเหล่านี้เมื่อให้การรักษาไประยะหนึ่งแล้วนำมาทดสอบทุเบอร์คุลินซ้ำจะให้ผลบวก และร้อยละ 50 ของคนไข้ที่เป็นวัณโรคเยื่อหุ้มสมองหรือวัณโรคชนิดแพร่กระจาย (Miliary disease) จะให้ผลการทดสอบเป็นลบในช่วงแรกก่อนการรักษา[5] ผลลบลวงนี้อาจเนื่องมาจาก คนไข้มีภาวะทุพโภชนาการ มีการติดเชื้อที่มีปริมาณมาก (overwhelming infection) หรือภาวะภูมิคุ้มกันถูกกดอยู่จากโรคเองหรือจากยา ปัจจัยทำให้เกิดผลลบลวงแสดงไว้ในตาราง 1 ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินไม่ใช่เป็นตัวตัดสิน (diagnosis) ว่าคนไข้จะเป็นวัณโรคหรือไม่ เป็นเพียงเครื่องมือช่วยอันหนึ่งเท่านั้น (suggesstion) นอกจากนี้วัคซีนมีชีวิตบางชนิดเช่น วัคซีนหัด-หัดเยอรมัน-คางทูม วัคซีนโปลิโอชนิดกิน วัคซีนอีสุกอีใส วัคซีนไทฟอยด์ชนิดกิน (TY21a) สามารถทำให้ผลการทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นลบลวงได้ เนื่องจากเชื้อมีชีวิตจากวัคซีนจะกดการตอบสนองของร่างกายต่อน้ำยา PPD ที่ใช้ทดสอบ ดังนั้นควรทำการทดสอบทุเบอร์คุลินในวันเดียวกันกับที่ได้รับวัคซีนเหล่านี้ หรือเลื่อนทำการทดสอบทุเบอร์คุลินออกไปประมาณ 4-6 สัปดาห์หลังจากได้วัคซีนมีชีวิต[6]

เพื่อให้การอ่านผลการทดสอบทุเบอร์คุลินได้ผลถูกต้องมากยิ่งขึ้น แนะนำให้อ่านที่เวลา 48 ชั่วโมงหลังฉีดเป็นครั้งที่หนึ่ง ถ้ารอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตรให้ถือว่าผลเป็นบวก ไม่ต้องมาอ่านผลอีกครั้งที่ 72 ชั่วโมง ถ้ารอยนูนน้อยกว่า 10 มิลลิเมตรจะยังไม่ตัดสินว่าเป็นลบให้คนไข้กลับมาอ่านผลอีกครั้งที่เวลา 72 ชั่วโมง เพราะบางคนจะให้ปฏิกิริยาสูงสุดที่เวลา 72 ชั่วโมง ถ้าอ่านที่เวลา 72 ชั่วโมงเพียงครั้งเดียวโดยไม่อ่านผลที่เวลา 48 ชั่วโมงจะทำให้แปลผลผิดได้ เพราะบางคนให้ผลบวกที่เวลา 48 ชั่วโมงแต่ให้ผลลบที่เวลา 72 ชั่วโมง ดังตารางที่ 2 จากการศึกษาเปรียบเทียบการอ่านผลที่เวลา 48 ชั่วโมงและ 72 ชั่วโมง[7] จะเห็นว่ามี 55 รายให้ผลลบที่ 48 ชั่วโมงแต่ที่ 72 ชั่วโมงกลับกลายเป็นผลบวก ในทางกลับกันมี 45 รายให้ผลลบที่ 72 ชั่วโมงแต่ให้ผลบวกที่ 48 ชั่วโมง ดังนั้นถ้าอ่าน ณ ที่เวลาเดียวจะทำให้แปลผลของคนคนนั้นผิดไปความเป็นจริง

การแปลผลทุเบอร์คุลิน

การทดสอบทุเบอร์คุลินมีความจำเพาะสูงถึงร้อยละ 99 ในคนที่ไม่เคยได้รับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมมาก่อน หรือไม่เคยได้วัคซีนบีซีจี ประเทศที่มีอัตราการติดเชื้อวัณโรคต่ำเช่น ทวีปยุโรปและประเทศสหรัฐอเมริกา การทำทุเบอร์คุลินจะช่วยในการวินิจฉัยโรค

ตารางที่ 1 ปัจจัยที่ทำให้ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินเป็นลบลวง[6]

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับตัวคนไข้

- มีการติดเชื้อ ไวรัส แบคทีเรีย หรือเชื้อรา อยู่
- ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อมีชีวิตมาไม่นานเช่น วัคซีน MMR
- มีความผิดปกติทางเมตาบอลิก เช่น ไตวายเรื้อรัง
- ภาวะโภชนาการ เช่นขาดโปรตีนอย่างรุนแรง
- โรคของระบบ lymphoid เช่น lymphoma, Chronic leukemia
- ยา เช่น corticosteroid, immunosuppressive agents
- อายุ เด็กแรกเกิด คนสูงอายุที่มี waning จากการติดเชื้อวัณโรค
- ภาวะ stress เช่น surgery, burns, mental illness

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับน้ำยาทดสอบ

- เก็บไม่ดี ถูกความร้อนหรือแสง
- ผสมไม่ถูกส่วน เจือจางไป
- มีการปนเปื้อน
- Chemical denaturation
- Adsorption ของน้ำยากับภาชนะ(แก้ไขโดยใช้ Tween 80)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับวิธีการฉีด

- น้ำยาน้อยเกินไป
- ฉีด subcutaneous ไม่ได้ฉีด intradermal
- ฉีดช้าเกินไปหลังจากดูดน้ำยามาแล้ว
- ฉีดใกล้กับจุดที่ทำการทดสอบทางผิวหนังอื่นๆ เช่น candida

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการอ่านผลและการบันทึก

- ผู้อ่านไม่มีประสบการณ์ในการอ่าน
- Bias (concious & unconcious)
- บันทึกผลผิดพลาด

ตารางที่ 2 ผลทุเบอร์คุลินที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง[7]

เวลาที่อ่านผล/ขนาดรอยนูน	48 ชม. ≥ 10 มม	48 ชม. < 10 มม	รวม (คน)
72 ชม. ≥ 10 มม	367	55	422
72 ชม. < 10 มม	45	237	282
รวม (คน)	412	292	704

ได้มาก ส่วนประเทศไทยมีอัตราการติดเชื้อวัณโรคสูง เด็กทุกคนได้รับวัคซีนบีซีจีตั้งแต่แรกเกิดจะทำให้การแปลผลยาก

ขนาดของรอยนูนที่ใช้ในการแปลผลเป็นผลบวกมี 3 ขนาดคือ

1) มากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร ใช้สำหรับคนที่มีประวัติสัมผัสกับคนที่เป็นวัณโรคในระยะติดต่อมีเสมหะ AFB ให้ผลบวก และไม่เคยได้รับวัคซีนบีซีจี หรือมีภาพรังสีทรวงอกเป็น fibrotics scars เข้าได้กับว่าเคยเป็นวัณโรคมาก่อน หรือคนที่มีภูมิคุ้มกันผิดปกติเช่น ติดเชื้อเอชไอวี ได้รับยา immunosuppressive หรือทำ organ transplant บุคคลเหล่านี้มีความเสี่ยงสูงที่จะป่วยเป็นวัณโรคขึ้นมาจึงใช้ cut off point ต่ำเพื่อที่จะให้การรักษาก่อนที่จะกลายเป็นวัณโรค

2) มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ใช้สำหรับคนปกติทั่วไปหรือมีความผิดปกติเล็กน้อยในด้านภูมิคุ้มกัน (mildly impaired immunity) และใช้ในคนที่มี risk factors ที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อวัณโรคเช่น คนอยู่ในถิ่นที่มีอุบัติการณ์วัณโรคสูงเช่นไทย เจ้าหน้าที่สถานพยาบาล ผู้ดูแลผู้ป่วยเอดส์ ผู้ที่ใช้ยาเสพติด นักโทษ คนจรจัด คนที่มีโรคที่ทำให้ภูมิคุ้มกันต่ำเล็กน้อยเช่น เบาหวาน มะเร็ง ไตวายเรื้อรัง เด็กอายุน้อยกว่า 4 ปี หรือเด็กโตที่มีประวัติสัมผัสกับผู้ใหญ่ในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูง

3) มากกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิเมตร ใช้สำหรับกลุ่มคนที่มีความเสี่ยงน้อยที่จะเกิดเป็นวัณโรคไม่มี risk factors ดังกล่าวข้างต้น และใช้ในคนเคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การแปลผลทุเบอร์คุลิน

รอยนูน	กลุ่มคนที่ให้ถือว่าปฏิกิริยาเป็นบวก
≥ 5 มม.	ผู้ที่สัมผัสกับผู้ป่วยวัณโรคชนิดเสมหะบวก และไม่เคยได้วัคซีน บีซีจี มาก่อน ผู้ที่มีภาพรังสีทรวงอกเข้าได้กับวัณโรค ผู้ที่เป็นโรคภูมิต้านทานต่ำเช่น HIV, organ transplant, steroid treatment
≥ 10 มม.	คนอยู่ในถิ่นที่มีอุบัติการณ์วัณโรคสูงเช่น ไทย กลุ่มคนที่มีความเสี่ยงเช่น เจ้าหน้าที่สถานพยาบาล ผู้ดูแลผู้ป่วยเอดส์ ผู้ที่ใช้ยาเสพติด นักโทษ คนจรจัด คนที่มีโรคที่ทำให้ภูมิคุ้มกันต่ำเล็กน้อยเช่น เบาหวาน มะเร็ง ไตวายเรื้อรัง เด็กอายุน้อยกว่า 4 ปี หรือเด็กโตที่มีประวัติสัมผัสกับผู้ใหญ่ในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูง
≥ 15 มม.	กลุ่มคนที่มีความเสี่ยงน้อยที่จะเกิดเป็นวัณโรค ไม่มี risk factors ดังกล่าวข้างต้น คนที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อน

การได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อน เมื่อทดสอบทุเบอร์คุลิน ขนาดรอยนูนที่มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร อาจเนื่องมาจากวัคซีนบีซีจี หรือเป็นการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียมอื่นๆ หรือเป็นการติดเชื้อวัณโรคจริง ไม่สามารถแยกออกจากกันได้ แต่รอยนูนที่มีขนาดใหญ่โดยเฉพาะถ้ามากกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิเมตร น่าเป็นผลจากการติดเชื้อวัณโรคมากกว่า เพราะการทำทุเบอร์คุลินหลังจากได้วัคซีนบีซีจี พบ conversion rate ไม่ถึงร้อยละ 100 รอยนูนที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มีขนาดไม่เกิน 10 มิลลิเมตร ส่วนน้อยที่มีขนาดปฏิกิริยา 11-14 มิลลิเมตร และน้อยมากที่มีขนาดปฏิกิริยาเท่ากับหรือมากกว่า 15 มิลลิเมตร และมี waning เกิดขึ้นได้เช่นเดียวกับการติดเชื้อวัณโรคในธรรมชาติและมีบู๊สเตอร์ (booster)ได้[8]

บีซีจี และปฏิกิริยาทุเบอร์คุลิน

เด็กทารกทุกคนในประเทศไทยได้รับวัคซีนบีซีจีตั้งแต่แรกเกิด ดังนั้นการแปลผลของปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินในเด็กเหล่านี้จึงมีข้อถกเถียงกันเป็นประจำว่าควรใช้ค่าที่เท่าไรจึงจะเหมาะสมสำหรับ 1) ใช้ช่วยวินิจฉัยว่าเป็นวัณโรค (TB disease) 2) ใช้ช่วยวินิจฉัยว่าติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง (latent tuberculosis infection: LTBI) เพื่อจะให้การรักษาต่อไป จากการประชุมตกลงโดยผู้เชี่ยวชาญโรคติดเชื้อในเด็กและกองวัณโรคกระทรวงสาธารณสุข (วันที่ 8 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2550) เป็นดังนี้

การพิจารณาเลือกใช้ขนาดของปฏิกิริยาทุเบอร์คุลิน เพื่อการวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝง ไม่ต้องคำถึงถึงประวัติการได้รับวัคซีนบีซีจี ให้ดูอายุของผู้สัมผัสเป็นหลักร่วมกับชนิดของการสัมผัสว่าเป็นการสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ผลบวก (ความเสี่ยงสูงหรือปานกลาง) หรือมีเสมหะ AFB ผลลบ (ความเสี่ยงต่ำ)

อายุน้อยกว่า 5 ปี กรณีสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ให้ผลบวก (ความเสี่ยงสูงหรือปานกลาง) ไม่ต้องทำการทดสอบทุเบอร์คุลินเพื่อมาตัดสินการรักษา LTBI เพราะต้องให้การรักษา LTBI ทุกรายหลังจากตรวจเพิ่มเติมแล้วไม่ป่วยเป็นวัณโรค (active disease) อยู่ในขณะนั้น

อายุน้อยกว่า 5 ปี ถ้าสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ให้ผลลบ (ความเสี่ยงต่ำ) ควรทำการทดสอบทุเบอร์คุลินเพื่อมาตัดสินการรักษา LTBI ถ้ารอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ต้องให้การรักษา LTBI ถ้ารอยนูนน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ให้สังเกตอาการอย่างใกล้ชิดเป็นเวลา 2 ปี หรือพิจารณาให้การรักษา LTBI โดยเฉพาะในเด็กเล็กอายุน้อยกว่า 2 ปี เพราะมีความเสี่ยงต่อการเกิดวัณโรคนอกปอดมากกว่าเด็กโต

อายุระหว่าง 5 ปีถึง 18 ปี กรณีสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ให้ผลบวก (ความเสี่ยงสูงหรือปานกลาง) ต้องทำการทดสอบทุเบอร์คุลินเพื่อมาตัดสินการรักษา LTBI ถ้ารอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิเมตร ต้องให้การรักษา LTBI ถ้ารอยนูนอยู่ระหว่าง 10-14 มิลลิเมตร พิจารณาให้การรักษา LTBI เป็นรายๆ ไป ถ้าสัมผัสกับผู้ที่มีเสมหะ AFB ให้ผลลบ (ความเสี่ยงต่ำ) ถ้ารอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิเมตร พิจารณาให้การรักษา LTBI ถ้ารอยนูนน้อยกว่า 15 มิลลิเมตร ไม่ต้องให้การรักษา LTBI ควรใช้วิธีสังเกตอาการอย่างใกล้ชิด

ส่วนการวินิจฉัยว่าเป็นวัณโรค (TB disease) ยังคงใช้ค่าปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินที่ 5 มิลลิเมตรสำหรับเด็กที่มีประวัติสัมผัสโรคใกล้ชิดหรือเด็กที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ไม่ว่าเด็กคนนั้นจะมีประวัติฉีดวัคซีนบีซีจีมาแล้วหรือไม่ก็ตาม เพราะถือว่าเด็กเหล่านี้มีปัจจัยเสี่ยงสูงต่อการเกิดเป็นวัณโรค (TB disease) และใช้ค่า 10 มิลลิเมตร ในเด็กปกติทั่วไปที่ไม่มีปัจจัยเสี่ยงดังกล่าว เพราะปฏิกิริยาทุเบอร์คุลิน เป็นเพียงตัวช่วยตัวหนึ่งเท่านั้นที่สนับสนุนว่าเป็นภาวะติดเชื้อวัณโรค (TB infection) ไม่ได้บ่งชี้ว่ากำลังเป็นวัณโรค (TB disease) อย่างไรก็ตามการที่จะวินิจฉัยว่าเป็นวัณโรคหรือไม่นั้น ต้องใช้หลักเกณฑ์ข้ออื่นๆ ประกอบด้วย โดยทั่วไปในเด็กที่เคยฉีดวัคซีนบีซีจี หรือไม่เคยฉีดวัคซีนบีซีจี เมื่อเด็กติดเชื้อวัณโรคส่วนใหญ่จะมีปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินไม่แตกต่างกันและปฏิกิริยาทุเบอร์คุลิน มักใหญ่กว่า 15 มิลลิเมตร

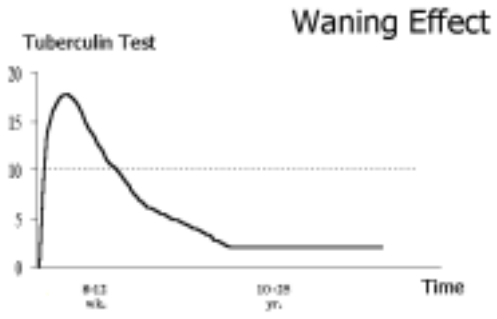
เด็กปกติที่ฉีดวัคซีนบีซีจี ถ้าทำการทดสอบทุเบอร์คุลินภายหลังฉีด 8-12 สัปดาห์ ร้อยละ 90 ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินที่เกิดขึ้นจะมีขนาดใหญ่กว่า 10 มิลลิเมตร เมื่อเวลาผ่านไป 6-12 เดือน ส่วนใหญ่ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินจะมีขนาดน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร เมื่ออายุ 5 ปี ร้อยละ 80-90 ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินจะน้อยกว่า 10 มิลลิเมตร (ส่วนใหญ่จะ nonreactive)[9-11] เมื่อเวลาผ่านไป 10-15 ปี ร้อยละ 80-90[12,13] ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินจะเป็นลบ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันในระหว่างคนที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อนหรือไม่เคยได้รับวัคซีนบีซีจี ในรายที่มีปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินเกิดขึ้นส่วนมากจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กกว่า 10 มิลลิเมตร ดังนั้นถ้าพบว่าปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินมีขนาดใหญ่กว่า 15 มิลลิเมตร น่าจะเกิดจากการติดเชื้อวัณโรคมากกว่า ส่วนปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินที่มีขนาดระหว่าง 10-14 มิลลิเมตร สามารถพบได้ทั้งจากการติดเชื้อวัณโรคและจากการฉีดวัคซีนบีซีจี ต้องแยกด้วยวิธีอื่นต่อไปเช่นการตรวจ

หาเชื้อวัณโรค การเอกซเรย์ปอด หรือตรวจหาปริมาณ interferon gamma (IFN-γ) เป็นต้น

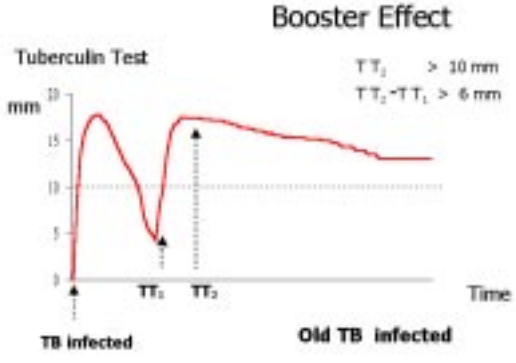
ปรากฏการณ์บู๊สเตอร์ (Booster Phenomenon)

หลังจากติดเชื้อวัณโรคแล้ว เมื่อทดสอบทุเบอร์คุลินจะให้ผลบวก และผลบวกนี้จะคงอยู่ตลอดไปซึ่งแสดงว่าครั้งหนึ่งเคยมีการติดเชื้อวัณโรคมาแล้วในอดีต เมื่อระยะเวลาผ่านไปการทดสอบทุเบอร์คุลินจะให้ผลกลับกลายเป็นลบเรียกว่ามี waning เกิดขึ้นทำให้เข้าใจผิดว่าไม่เคยมีการติดเชื้อวัณโรคมาก่อนดังแสดงไว้ในรูปที่ 2 ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินที่เป็นลบลวงจาก waning นี้สามารถกระตุ้นกลับมาให้เป็นผลบวกที่แท้จริงได้โดยทำการทดสอบทุเบอร์คุลินซ้ำอีกครั้งใน 1-5 สัปดาห์ต่อมาหลังจากการทดสอบทุเบอร์คุลินในครั้งแรกที่เป็นลบ จะให้ผลกลับมาเป็นบวกเรียกว่ามี booster phenomenon เกิดขึ้น ดังแสดงไว้ในรูปที่ 3 คนที่ไม่เคยติดเชื้อวัณโรคมาก่อน การทดสอบทุเบอร์คุลินซ้ำหลายๆ ครั้งจะไม่ทำให้ผลการทดสอบกลายเป็นบวกไปได้ booster effect ในคนไทยพบว่ามีสูงถึงร้อยละ 37.2[7]

รูปที่ 2 แสดง Waning Effect



รูปที่ 3 แสดง Booster Phenomenon



การที่มีรอยนูน (induration) เพิ่มขึ้นจากการทดสอบทุเบอร์คุลินในครั้งที่สองโดยที่ไม่ได้มีการติดเชื้อวัณโรคใหม่ที่เรียกว่าบู๊สเตอร์นี้ เกิดจาก T-cell ที่ครั้งหนึ่งเคยจำได้ว่ามีการติดเชื้อวัณโรคมาแล้วหลายปีต่อมามี waning เกิดขึ้นทำให้ความจำลืมเลือนไปว่าเคยมีการติดเชื้อมาแล้ว ต่อเมื่อมีการกระตุ้นอีกครั้งจากการทำทุเบอร์คุลินในครั้งแรกทำให้เริ่มจำได้ว่าเคยติดเชื้อมาแล้ว (recall of waned cell-mediated immunity) เมื่อทำทุเบอร์คุลินในครั้งที่สอง T-cell ซึ่ง recall กลับมาแล้ว จะมีการตอบสนองทันทีขนาดรอยนูนในครั้งที่สองนี้จะมีขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตรและมีขนาดเพิ่มขึ้นจากเดิมมากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตรด้วย บู๊สเตอร์จะมีค่าสูงสุดในช่วง 1-5 สัปดาห์[14,15] หลังจากการทดสอบครั้งแรก ถ้าทำทุเบอร์คุลินซ้ำเร็วกว่า 48 ชั่วโมง[14] หรือนานกว่า 2 เดือน[16] บู๊สเตอร์จะมีค่าต่ำกว่า ผู้เชี่ยวชาญบางคนเชื่อว่าบู๊สเตอร์นี้สามารถอยู่ได้นานถึงหนึ่งปีหลังจากการทดสอบทุเบอร์คุลินที่ให้ผลเป็นลบในครั้งแรก ค่าของบู๊สเตอร์จะขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยเช่น อายุที่เพิ่มขึ้น หรือประวัติการได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อน

ดังนั้นในการทดสอบทุเบอร์คุลินครั้งแรกเพื่อหาผู้ติดเชื้อวัณโรคในอดีตหรือหาผู้ที่ไม่เคยติดเชื้อวัณโรคมาก่อน เช่นในบุคลากรทางการแพทย์ควรทำการทดสอบสองครั้ง (Two-step Tuberculin Test) การทดสอบครั้งแรกถ้าให้ผลเป็นบวกแสดงว่าเคยติดเชื้อวัณโรคในอดีตหรือกำลังเป็นวัณโรคอยู่ไม่จำเป็นต้องทำการทดสอบครั้งที่สอง ถ้าให้ผลเป็นลบจะไม่สามารถบอกได้ว่าบุคคลนั้นยังไม่เคยติดเชื้อวัณโรคหรือติดเชื้อวัณโรคแล้วแต่อยู่ในช่วงมี waning เกิดขึ้น ต้องทดสอบซ้ำอีกครั้ง ภายในระยะเวลา 1-5 สัปดาห์ต่อมาเพื่อดูว่ามีบู๊สเตอร์หรือไม่ ระยะเวลาทำการทดสอบครั้งที่สองนี้ไม่ควรเกิน 8-10 สัปดาห์ เพราะระยะเวลาที่นานออกไปมากกว่า 8-10 สัปดาห์ คนไข้อาจจะได้รับเชื้อวัณโรคมาใหม่ในช่วงระยะเวลาดังกล่าวทำให้ผลการทดสอบเป็นบวกจากการติดเชื้อใหม่ไม่ใช่ผลบวกจากบู๊สเตอร์ เพราะปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินสามารถให้ผลเป็นบวกได้ภายใน 2-10 สัปดาห์หลังจากติดเชื้อวัณโรค[17] เนื่องจากเชื้อต้องมีการแบ่งตัวจนมีจำนวนมากถึง 10^3-10^4 ตัวจึงจะเพียงพอที่กระตุ้น cellular immune response ได้ซึ่งจะสามารถเห็นได้โดยการทดสอบทุเบอร์คุลิน[18,19]

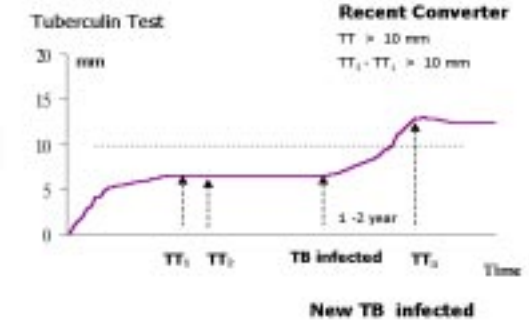
การทดสอบครั้งที่สองนี้ถ้ารอยนูนมีขนาดมากกว่า 10 มิลลิเมตร และรอยนูนเพิ่มขึ้นจากเดิมมากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตรขึ้นไป แสดงว่ามีบู๊สเตอร์เกิดขึ้น ให้แปลผลเป็นผลบวก แสดงว่า

เคยติดเชื้อวัณโรคมาแล้วในอดีตแต่มี waning เกิดขึ้น ถ้ารอยนูนมีขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตรและรอยนูนเพิ่มขึ้นจากเดิมไม่ถึง 6 มิลลิเมตรให้แปลผลเป็นผลบวกเช่นกันแต่ไม่มีบู๊สเตอร์ อาจเป็นผลผิดพลาดจากการอ่านในครั้งแรก และให้ถือว่าผลการทดสอบครั้งที่สองนี้เป็นผลที่ถูกต้อง ส่วนผู้ที่มีรอยนูนในการทดสอบครั้งที่สองนี้ไม่ถึง 10 มิลลิเมตรแสดงว่าคนคนนั้นไม่เคยมีการติดเชื้อวัณโรคมาก่อนถือว่าเป็นผลลบจริง (true negative) บุคคลนี้เมื่อทำการทดสอบซ้ำใน 1-2 ปีต่อมา ถ้ารอยนูนมีขนาดมากกว่า 10 มิลลิเมตรและรอยนูนเพิ่มขึ้นจากเดิมมากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตรขึ้นไป (ในรายที่ไม่เคยได้รับวัคซีนบีซีจี) หรือมากกว่าหรือเท่า 10 มิลลิเมตรขึ้นไปในรายที่ได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อนl ในประเทศสหรัฐอเมริกาถือว่าได้รับเชื้อวัณโรคมาใหม่ในช่วงระยะเวลาดังกล่าวถือว่าเป็น recent converter จำเป็นต้องให้ยารักษา ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4

การอ่านรอยนูนที่เกิดจากการทดสอบทุเบอร์คุลินนี้พบว่ามีความคลาดเคลื่อนได้มาก แม้แต่ในคนคนเดียวกันการอ่าน (intra-reader) จะคลาดเคลื่อนได้ 1.3-1.9 มิลลิเมตร (1 Standard deviation, SD) ถ้าอ่านโดยคนหลายคน (inter-reader) ความคลาดเคลื่อนจะยิ่งมากขึ้นเป็น 2.3-2.5 มิลลิเมตร (1 SD) เมื่อมีการทดสอบมากกว่าหนึ่งครั้งขึ้นไปจะต้องมีการอ่านผลมากกว่าหนึ่งครั้ง ความคลาดเคลื่อนโดยรวมจะมากขึ้นด้วย เพื่อให้ครอบคลุมความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดขึ้นจากการอ่าน จึงกำหนดให้ความคลาดเคลื่อนที่มากที่สุดเป็น 2 SD ซึ่งมีค่าประมาณ 6 มิลลิเมตร ดังนั้นการอ่านผลที่แตกต่างจากเดิมไม่ถึง 6 มิลลิเมตรน่าเป็นผลจากความคลาดเคลื่อนในการอ่านมากกว่า ถ้าเพิ่มขึ้นมากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตรในการอ่านครั้งต่อๆ มา ควรที่จะเป็นผลจากการทดสอบที่เปลี่ยนไปจริงๆ ไม่ใช่คลาดเคลื่อนจากการอ่านรอยนูนในแต่ละครั้ง[20] ในต่างประเทศเองขนาดรอยนูนที่เพิ่มขึ้นที่จะจัดว่าเป็นผลของบู๊สเตอร์นั้นมีหลายตัวเลขเช่น 12, 15, 18 มิลลิเมตร แล้วแต่ละการศึกษาและอัตราชุกของวัณโรคในแต่ละพื้นที่[20] แต่โดยทั่วไปนิยมใช้ตัวเลขที่ 6 มิลลิเมตร

ในประเทศสหรัฐอเมริกา ถ้าทำการทดสอบปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินในประชากรทั่วๆไป มักจะได้ผลน้อยกว่า 10 มิลลิเมตรหรือส่วนใหญ่ไม่มีรอยนูนเกิดขึ้นเนื่องจากประชากรไม่เคยสัมผัสกับเชื้อวัณโรคมาก่อน ดังนั้นการวินิจฉัยว่าเป็นการติดเชื้อวัณโรคใหม่ (recent conversion) โดยใช้ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินมาช่วย จึงต้องกำหนดให้ขนาดรอยนูนเพิ่มขึ้นกว่าเดิมให้สูงมากถึง 10 มิลลิเมตร เพื่อให้ครบเกณฑ์การวินิจฉัยทั้ง 2 ข้อ (รอยนูนมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร และมากกว่าเดิมมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร) สำหรับประเทศไทยประชากรทั่วไปเมื่อทำทุเบอร์คุลิน ส่วนใหญ่จะมีปฏิกิริยาเกิดขึ้นทุกรายเพราะความชุกของวัณโรคสูงกว่าประเทศสหรัฐอเมริกามากและเด็กแรกเกิดทุกคนจะต้องได้รับวัคซีนบีซีจี ระหว่างที่เด็กเจริญเติบโตขึ้นมาจะมีโอกาสสัมผัสกับเชื้อวัณโรคบ่อยกว่า ดังนั้นพื้นฐานของปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินในเด็กไทยจะมีขนาดของรอยนูนที่ใหญ่กว่า ถ้าจะใช้ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินมาช่วยตัดสินว่าเป็นการติดเชื้อวัณโรคใหม่ ขนาดรอยนูนที่เพิ่มขึ้นกว่าเดิมไม่ควรใช้ค่า 10 มิลลิเมตรเท่าในประเทศสหรัฐอเมริกา ควรใช้ขนาดรอยนูนที่เพิ่มขึ้นมากกว่าเดิม 6 มิลลิเมตรก็เพียงพอ ให้เป็นการตัดความคลาดเคลื่อนจากการอ่านผล (inter-intra reader error) ออกไปเท่านั้น ผลที่อ่านได้ครั้งหลังจึงเป็นผลแตกต่างจริงของการทดสอบทั้งสองครั้ง ดังนั้นในคนไทยคำจำกัดความของการติดเชื้อวัณโรคใหม่ (recent conversion) ควรใช้เกณฑ์การวินิจฉัย 2 ข้อดังนี้ รอยนูนในการทดสอบครั้งที่สองต้องมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร และมากขึ้นกว่าเดิมมากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตรขึ้นไป

รูปที่ 4 แสดงการติดเชื้อวัณโรคใหม่



การแยกบู๊สเตอร์และคอนเวอร์ชั่น

คำจำกัดความ บู๊สเตอร์ (booster) กำหนดให้รอยนูนในการอ่านปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินในครั้งต่อมาต้องมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร รวมกับรอยนูนที่เพิ่มขึ้นต้องมากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตร แต่คำจำกัดความของการติดเชื้อวัณโรคใหม่ “recent converter” หรือ “conversion” จากคำจำกัดความของ American Thoracic Society ในปี 2543[6] กำหนดให้ขนาดรอยนูนจากการอ่านปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินในครั้งต่อมาจะต้องมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร รวมกับขนาดของรอยนูนที่เพิ่มขึ้นต้องมากกว่า

หรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ในระยะเวลา 1-2 ปี จึงจะถือว่าเป็น conversion สำหรับประเทศไทยปัจจุบันแนะนำให้ใช้ค่าที่เพิ่มขึ้นจากเดิม 6 มิลลิเมตรเท่านั้น

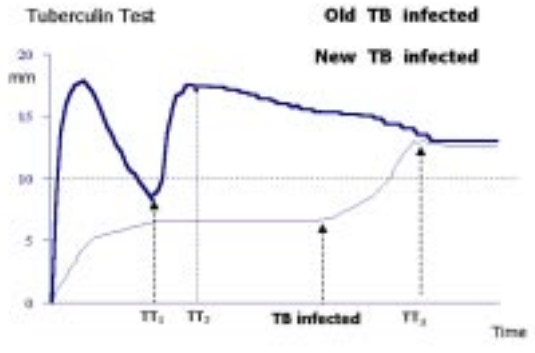
การทดสอบทุเบอร์คุลินครั้งแรก การทดสอบทุเบอร์คุลินสองครั้ง (2-step-tuberculin test) จะมีประโยชน์ช่วยแยกคนที่เคยติดเชื้อวัณโรคมาแล้วในอดีต ออกจากคนที่ไม่เคยติดเชื้อวัณโรคมาก่อน เหลือคนที่ยังไม่เคยได้รับเชื้อวัณโรคจริงๆ (true negative) เมื่อติดตามบุคคลที่ไม่เคยติดเชื้อวัณโรคเหล่านี้โดยทดสอบทุเบอร์คุลินซ้ำอีก (TT_3) ในระยะทุก 1-2 ปี ต่อมาถ้ารอยนูน (induration) ที่เกิดขึ้นมีขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร และมีขนาดเพิ่มขึ้นจากเดิมมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร จะสามารถบอกได้ว่าคนคนนั้นได้ติดเชื้อวัณโรคมาแล้วในช่วงระยะ 1-2 ปีที่ผ่านมานี้ ต้องให้การตรวจและรักษาต่อไป ถ้าครั้งแรกที่ทำการทดสอบทุเบอร์คุลินทำเพียงครั้งเดียว (TT_1) และมาทำอีกครั้ง (TT_3) ใน 1-2 ปีต่อมา ดังรูปที่ 5 โดยไม่ทำครั้งที่สอง (TT_2) ผลการทดสอบที่เป็นบวกในครั้งหลังนี้จะเป็นผลของบู๊สเตอร์หรือเป็นจากการติดเชื้อวัณโรคใหม่ไม่สามารถบอกได้ เพราะยังไม่ได้แยกคนที่ติดเชื้อวัณโรคมาก่อนและมี waning เกิดขึ้นออกไป การทำทดสอบในครั้งหลังนี้จึงอาจจะเป็น

1) ผลของบู๊สเตอร์ดังกราฟเส้นสีทึบด้านบน แสดงว่าติดเชื้อมาแล้วในอดีต ไม่ต้องให้ยารักษา

2) ติดเชื้อวัณโรคใหม่ (conversion) ต้องตรวจเพิ่มเติมและให้ยารักษา

กรณีที่บุคคลนั้นยังไม่เคยได้รับเชื้อวัณโรคมาก่อนดังกราฟเส้นบางด้านล่าง และเพิ่งได้รับเชื้อวัณโรคมาใหม่ในระหว่างการทำทุเบอร์คุลินครั้งที่ 1 และ 3 ซึ่งจะแยกไม่ได้เลยว่าผลบวกครั้งหลัง

รูปที่ 5 ปรียบเทียบบุคคล 2 คน ที่เคยติดเชื้อวัณโรคมาก่อนในอดีต และคนที่เพิ่งได้รับเชื้อใหม่



สุดนี้เป็นผลจากการติดเชื้อวัณโรคในอดีต หรือเพิ่งได้รับเชื้อมาใหม่ ดังนั้นถ้าในบุคลากรที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อวัณโรคซึ่งมีความจำเป็นต้องทำทุเบอร์คุลินเป็นระยะ การทำทดสอบทุเบอร์คุลินสองครั้ง (2-step-tuberculin test) ในการทดสอบครั้งแรกจะถือว่ามีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อการแปลผลทุเบอร์คุลินที่ถูกต้องในครั้งต่อๆ มา

การทดสอบทุเบอร์คุลินสองครั้ง (2-step-tuberculin test) นิยมใช้สำหรับการติดตามบุคลากรทางการแพทย์ เพราะมีความเสี่ยงต่อการรับเชื้อวัณโรคในระหว่างการทำงาน และเป็นส่วนหนึ่งของขบวนการการควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล ไม่ได้แนะนำให้ใช้ในการค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรค (contact investigation) แต่ถ้านำมาใช้ในคนที่มีประวัติสัมผัสวัณโรคมานานไม่เกิน 2-3 เดือน ผลการทดสอบครั้งที่สองถ้าให้ผลบวก (มากกว่า 10 มิลลิเมตร) จะถือว่าเป็นการติดเชื้อใหม่ (recent converter) ไม่ถือว่าเป็นบู๊สเตอร์[21] เพราะมีประวัติสัมผัสชัดเจน การทำทุเบอร์คุลินครั้งแรกอาจจะยังอยู่ในช่วงที่ปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินให้ผลไม่เต็มที่การทดสอบจึงได้ผลลบ

รีเวอร์ชั่น (Reversion)

เมื่อผลการทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นบวก ไม่มีความจำเป็นต้องทำทุเบอร์คุลินอีกต่อไป เพราะแสดงว่าติดเชื้อวัณโรคหรือเป็นวัณโรคแล้ว ผลการทดสอบจะเป็นบวกตลอดไปแต่มี waning เกิดขึ้นได้เมื่อเวลาผ่านไป ดังนั้นการทำทุเบอร์คุลินในครั้งต่อๆ มาหลังจากที่เป็นบวกแล้วอาจให้ผลกลับมาเป็นลบได้เรียกว่ามี "รีเวอร์ชั่น" (Reversion) เกิดขึ้น รีเวอร์ชั่นพบได้ประมาณร้อยละ 8[22] ต่อปี พบบ่อยในคนสูงอายุ หรือคนที่มีรอยนูน (induration)ในการทดสอบครั้งแรกอยู่ระหว่าง 5-9 มิลลิเมตร และ 10-14 มิลลิเมตร จะพบมากในคนที่มีผลของบู๊สเตอร์ ผลของรีเวอร์ชั่นในทางคลินิกจะบอกได้เพียงว่าครั้งหนึ่งเคยมีรอยนูนจากปฏิกิริยาทุเบอร์คุลิน มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตรแล้วต่อมามีขนาดเล็กลงกว่า 10 มิลลิเมตร ไม่ถือว่ามีความสำคัญทางคลินิกหรือทางระบาดวิทยาแต่อย่างใด

ข้อจำกัดของทุเบอร์คุลิน

การวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝงในทศวรรษที่ผ่านมาไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก คงใช้ "ทุเบอร์คุลิน" เป็นหลักอยู่ในหลายๆ ประเทศรวมทั้งประเทศไทย การทดสอบโดยวิธีนี้มีข้อจำกัดอยู่

มาก น้ำยาที่ใช้ทดสอบคือ purified protein derivative (PPD) เป็นแอนติเจนที่ไม่ดีนัก แอนติเจนบางชนิดในน้ำยา PPD พบได้ในเชื้อหลายชนิดเช่น M.tuberculosis, M.bovis, BCG และเชื้อมัยโคแบคทีเรียมอื่นๆ (NTM) อีกหลายชนิด ทำให้มีความจำเพาะต่ำในประชากรที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจี หรือเคยสัมผัสกับเชื้อมัยโคแบคทีเรียมอื่นๆ จากสิ่งแวดล้อมมาก่อน ความไวของการทดสอบจะต่ำในคนที่มีปัญหาเรื่องภูมิคุ้มกันผิดปกติไม่ว่าเกิดสาเหตุใดก็ตาม เช่น โรคเอดส์ ภาวะทุโภชนาการ หรือคนป่วยเป็นวัณโรคขั้นรุนแรง การอ่านผลทดสอบและการแปลผลทำได้ยาก แพทย์ผู้รักษาเกิดการสับสนหรือไม่แน่ใจในผลการทดสอบทุเบอร์คุลินอยู่เสมอ นอกจากนี้ความไวและความจำเพาะของการทดสอบทุเบอร์คุลิน มีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่ขนาดรอยนูนที่ใช้เป็นเกณฑ์ตัดสินว่าเป็นบวก ปัจจุบันมีวิธีใหม่ๆ สำหรับทดสอบหาผู้ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง (LTBI) หรือผู้ป่วยวัณโรค (TB disease) เพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น วิธีใหม่เช่น QuantiFERON-TB การตรวจนี้ยังไม่แพร่หลายเนื่องจากมีราคาแพงและต้องใช้เทคนิคระดับสูง ไม่สามารถนำไปใช้ชุมชนหรือในประเทศยากจนได้

Immunodiagnosis of Tuberculosis

การตรวจวิธีใหม่ๆ ทางห้องปฏิบัติการ โดยใช้ตัวอย่างเลือดของคนไข้นำมาแยกเม็ดเลือดขาวเพื่อให้ ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนจากเชื้อ *M. tuberculosis* ในหลอดทดลอง เม็ดเลือดขาว (T-cells) จะหลั่ง cytokines ชนิดต่างๆ ออกมารวมทั้ง interferon gamma (IFN-γ) วัดปริมาณ IFN-γ ที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้น T-cells โดยวิธี ELISA หรือนับจำนวน T-cells ที่ถูกกระตุ้นแล้วหลั่ง IFN-γ ได้เช่นกัน การทดสอบในหลอดทดลองนี้ให้ความไวและความจำเพาะสูงกว่าการวัดรอยนูนจากการทดสอบทุเบอร์คุลิน โดยหลักการแล้ววิธีทดสอบใหม่นี้สามารถแยกได้ว่าเป็นการติดเชื้อ *M. tuberculosis* หรือเป็นผลจากการฉีดวัคซีนบีซีจีในอดีต หรือเกิดจากการติดเชื้อมัยโคแบคทีเรียอื่นๆ ที่ไม่ใช่ *M. tuberculosis* ขึ้นกับแอนติเจนที่ใช้กระตุ้นเม็ดเลือดขาว

ปี พ.ศ. 2541 หลังจากถอดรหัสสาย DNA ของเชื้อ *M. tuberculosis* ได้ทั้งหมด จึงสามารถเปรียบเทียบกับสาย DNA ของ *M. bovis* และ M.bovis BCG ทำให้ทราบว่ายีนในตำแหน่งที่เรียกว่า RD1 (region of difference) พบเฉพาะใน *M. tuberculosis*, pathogenic *M. bovis* และใน mycobacterium non-tuberculosis (NTM) 4 ชนิดเท่านั้น (*M. kansasii, M. szulgai, M. flavescens, M. marinum*) และอาจจะพบได้ใน *M. leprae* ด้วย[23] เนื่องจาก *M. kansasii* ทำให้มีอาการคล้ายกับ *M. tuberculosis* แต่เชื้อนี้พบไม่บ่อยในการทำให้เกิดโรค ส่วนเชื้ออีก 3 ชนิด อาการทางคลินิกสามารถแยกจากการติดเชื้อ *M. tuberculosis* ได้ ดังนั้น **'RD1 region encodes antigens'** ถือว่ามีความจำเพาะต่อเชื้อ M.tuberculosis จึงนำมาพัฒนาต่อสำหรับการตรวจวินิจฉัยวัณโรค แอนติเจน early secreted antigen 6 (ESAT6) และ culture filtrate protein 10 (CFP-10) เป็นแอนติเจนในตำแหน่ง RD1 region ที่นิยมนำมาใช้สำหรับการทดสอบดังกล่าว

QuantiFERON-TB (QFT) จะใช้น้ำยา PPD เป็นแอนติเจนเพื่อกระตุ้นเม็ดเลือดขาว (CD4+ T-cells) ของคนไข้ ที่ครั้งหนึ่งเคยถูกกระตุ้นมาแล้วจากการติดเชื้อวัณโรค ทดสอบโดยใช้เลือด (whole blood) คนไข้ไป incubate กับน้ำยา PPD ทิ้งไว้ข้ามคืน แล้ววัดปริมาณ IFN-γ ที่ปล่อยมาจากเม็ดเลือดขาว (CD4+ T-cells) โดยวิธี ELISA เนื่องจาก PPD เป็นแอนติเจนที่ไม่จำเพาะกับเชื้อ *M. tuberculosis* เท่านั้น ดังนั้นผลการตรวจที่ได้ไม่แตกต่างจากการทำทุเบอร์คุลิน คืออาจเป็นผลเนื่องมาจากการติดเชื้อ NTM หรือจากการฉีดวัคซีนบีซีจี ก็ได้ ความไวและความจำเพาะจะเท่ากับหรือดีกว่าการทดสอบทุเบอร์คุลิน QuantiFERON-TB จะช่วยลดผลการทดสอบที่เป็น "บวกลวง" จากการทำทุเบอร์คุลินในคนที่เคยได้วัคซีนบีซีจีมาก่อน Food and Drug Administration (FDA) ประเทศสหรัฐอเมริการับรองให้ใช้ QuantiFERON-TB สำหรับช่วยในการวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝง ในปี พ.ศ. 2544 แต่หลังจากที่มี QuantiFERON-TB Gold (QFT-G)ผลิตออกมาใช้ QFT จึงเลิกผลิตให้ใช้ QFT-G ทดแทนเพราะสามารถวินิจฉัยได้ทั้ง active tuberculosis และวัณโรคระยะแฝง

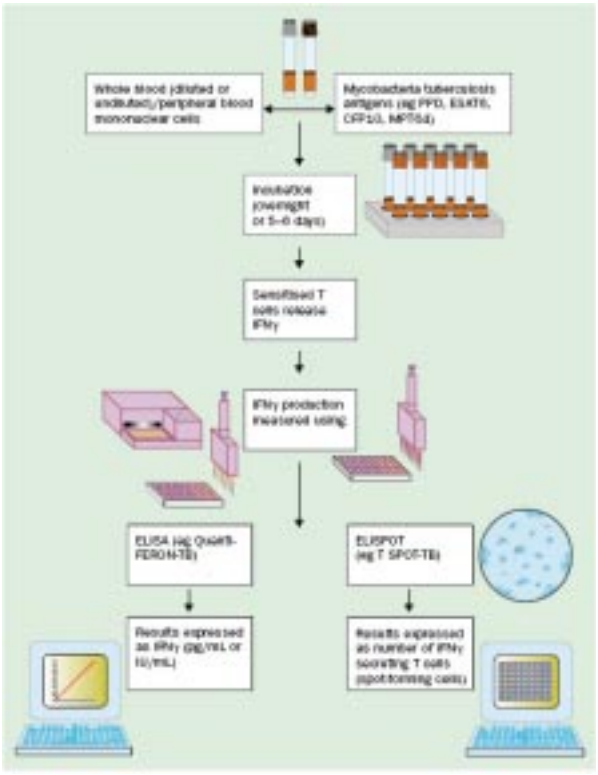
เมื่อนำ QuantiFERON-TB มาปรับปรุงโดยใช้แอนติเจนที่มาจาก RD1 region (ESAT-6 และ CFP-10) แทนน้ำยา PPD พัฒนามาเป็นการตรวจ QuantiFERON-TB Gold สำหรับค้นหาผู้ที่เป็น latent tuberculosis infection (LTBI) และ active tuberculosis เพื่อใช้แทนการตรวจโดยวิธีทุเบอร์คุลิน จะให้ผลที่ดีกว่า เพราะแอนติเจน 2 ชนิดนี้มีความจำเพาะต่อ *M. tuberculosis* มากกว่า แม้ว่าผู้ถูกทดสอบจะได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อนจะไม่มีผลต่อการตรวจโดยวิธีนี้ สามารถแยกผู้ติดเชื้อวัณโรคจริงได้ ประสิทธิภาพโดยรวมมีความไวประมาณร้อยละ 90 และความ

จำเพาะร้อยละ 98[24] QFT-G ไม่สามารถแยกคนที่เป็น LTBI และ active tuberculosis ออกจากกันได้ ต้องอาศัยอาการทางคลินิก การตรวจเสมหะ ภาพถ่ายรังสีทรวงอก และการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ มาช่วยในการแยกโรค

การตรวจโดยวิธี QuantiFERON-TB Gold สามารถทดแทนการตรวจโดยวิธี "ทุเบอร์คุลิน" ได้ทุกกรณี วิธีนี้ยังใหม่อยู่ ข้อมูลส่วนใหญ่มาจากการศึกษาในผู้ใหญ่ ข้อมูลในเด็กอายุน้อยกว่า 18 ปี และข้อมูลในคนไข้ภูมิคุ้มกันผิดปกติยังไม่มีมากพอ จึงยังมีข้อจำกัดใช้ในบุคคลบางกลุ่ม ต้องรอให้มีข้อมูลเพียงพอก่อนจึงจะนำมาใช้ได้ทั่วไป ปัจจุบันสามารถนำ QFT-G มาใช้สำหรับ "contact investigation" ในผู้ใหญ่ได้ดี รวมทั้งค้นหาผู้ติดเชื้อใหม่สำหรับบุคลากรทางการแพทย์ (health care workers) และผู้อพยพ ช่วยในการวินิจฉัยวัณโรค (active disease) ได้เมื่อนำไปพิจารณาร่วมกับข้อมูลอื่นๆ การตรวจ QFT-G ที่ให้ผลลบไม่สามารถบอกได้ว่าคนคนนั้นไม่ติดเชื้อวัณโรคได้ทั้งหมด เพราะบุคคลนั้นอาจจะเพิ่งไปได้รับเชื้อมา ต้องรอไปอีกสักระยะหนึ่ง ควรตรวจ QFT-G ซ้ำอีกครั้ง แต่เวลาที่เหมาะสมยังไม่ทราบ ปัจจุบันแนะนำให้ตรวจซ้ำภายใน 8-10 สัปดาห์ต่อมา (หลังจากสิ้นสุดการสัมผัส) กรณีที่มีภาวะภูมิต้านทานบกพร่อง (ติดเชื้อเอชไอวี โรคเอดส์ ได้รับยากดภูมิต้านทาน ได้รับยาสเตียรอยด์ขนาดสูง ได้รับยา TNF-antagonists เป็นมะเร็งในระบบเม็ดเลือด ไตวายเรื้อรัง เป็นต้น) จะทำให้ T-cell มีการตอบสนองที่ลดลงจึงมีผลต่อการสร้าง IFN-γ จากการตรวจ QFT-G เช่นเดียวกับการตรวจทุเบอร์คุลินซึ่งจะให้ผลลบเช่นกัน ดังนั้นการตรวจ QFT-G อาจให้ผลลบได้ทั้ง ๆ ที่คนไข้ติดเชื้อวัณโรคอยู่ในขณะนั้นได้ การตรวจ QFT-G ที่ให้ผลบวก ให้ถือว่ามีความสำคัญ ถึงแม้ว่าคนไข้ไม่มีอาการและอาการแสดงใดๆ ที่บ่งบอกว่าเป็นวัณโรค ต้องตรวจค้นหาเพิ่มเติมว่าไม่ได้เป็นวัณโรคที่ active disease อยู่ เพราะคนเหล่านี้ถือว่าติดเชื้อวัณโรคแล้ว ต้องให้การรักษา LTBI หลังจากแยกได้ว่าบุคคลนั้นไม่ได้เป็นวัณโรคอยู่[25,26]

ELISPOT technique (T-SPOT-TB™) เป็นการตรวจหาผู้ติดเชื้อวัณโรคเช่นเดียวกัน แต่เป็นการตรวจนับ peripheral blood IFN-γ secreting T-cells ที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ESAT-6 และ CFP-10 แทนการวัด IFN-γ การตรวจนี้มีความไวในการตรวจหาผู้ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงร้อยละ 85 เมื่อใช้การทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นตัวเทียบ ให้ความไวสูงถึงร้อยละ

รูปที่ 6 การตรวจ ELISPOT และ QuantiFERON-TB



96 ในคนที่เป็นวัณโรค (active disease) และสูงถึงร้อยละ 100 ในคนที่เป็นวัณโรคนอกปอด คนปกติทั่วไปที่ไม่ได้สงสัยว่าติดเชื้อวัณโรคและเคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาแล้ว ELISPOT จะให้ผลลบ การตรวจทั้ง 2 วิธีแสดงไว้ในรูปที่ 6

ข้อดีของการวัดปริมาณ IFN-γ คือหลังจากให้แอนติเจนทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดขาวแล้ว 16-24 ชั่วโมง IFN-γ ที่เกิดขึ้นจะอยู่ใน supernatant เราสามารถเก็บรวบรวม supernatant นั้นไว้ตรวจวัดปริมาณ IFN-γ ได้ภายหลัง (เก็บ 2-8°C นาน 4 สัปดาห์ หรือ -20°C นาน 3 เดือน) สำหรับ QuantiFERON-TB Gold ปริมาณ IFN-γ ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0.35 IU/ml ถือว่าเป็นผลบวก (positive control ต้องมากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 IU/ml) ส่วนวิธี ELISPOT จะนับจำนวนจุด (spot) ที่เกิดขึ้น แต่ละจุดจะแสดงถึง T-cell ที่ถูกกระตุ้นแล้วหลั่ง IFN-γ ออกมา สามารถนับด้วยตาเปล่าหรือใช้ plate-reader ถ้านับได้มากกว่า 5 จุดถือว่าเป็นผลบวก (positive control ต้องมีอย่างน้อย 20 จุด) วิธี ELISPOT ต้องทำทันทีหลังจากได้ตัวอย่างเลือดมาไม่สามารถเก็บไว้ทำภายหลังได้เพราะต้องการ T-cells ที่มีชีวิตทำปฏิกิริยากับแอนติเจน การตรวจทั้งสองวิธีสามารถทราบผลได้ภายใน 24 ชั่วโมง

การตรวจแบบใหม่นี้ให้ผลเป็นตัวเลขที่ชัดเจนจากเครื่องมือวัด ไม่เหมือนกับการทำทุเบอร์คุลินที่ต้องอาศัยคนวัดขนาดรอยนูนซึ่งมีข้อผิดพลาดจากตัวบุคคลมาก ข้อดีอีกประการหนึ่งคือคนไข้ไม่ต้องมาหลายครั้ง ระยะแรกของการพัฒนาการตรวจวัดปริมาณ IFN-γ ตั้งใจใช้สำหรับการค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงเป็นหลัก ต่อมาพบว่าการตรวจวิธีนี้สามารถนำไปใช้ในอีกหลายๆ กรณี เช่น 1) วินิจฉัยวัณโรค (active tuberculosis) 2) แยกว่าเป็นการติดเชื้อ NTM หรือ *M. tuberculosis* 3) แยกว่าเป็นการติดเชื้อ *M. tuberculosis* หรือเป็นผลมาจากการฉีดวัคซีนบีซีจี 4) บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของวัคซีน (vaccine efficacy) 5) ช่วยทำนายว่าจะเป็นวัณโรค (reactivation disease) ในคนที่ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง 6) ใช้เป็นตัวช่วยในการติดตามผลการรักษาวัณโรค[28]

ปัจจุบัน ELISPOT และ QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) ได้รับการยอมรับให้ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝง แทนการทดสอบทุเบอร์คุลิน ในทุกประเทศแถบทวีปยุโรป ส่วนประเทศสหรัฐอเมริกา FDA ยอมรับให้เฉพาะ QFT-G ใช้สำหรับช่วยในการวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝงและวัณโรคที่ active disease เมื่อ พฤษภาคม 2548 ข้อดีในการตรวจ QFT-G คือ ตรวจเลือดจากคนไข้เพียงครั้งเดียวทำให้ทราบผลได้ ไม่จำเป็นต้องมาอ่านผลการทดสอบอีกครั้งเหมือนกับการทดสอบทุเบอร์คุลิน เหมาะสำหรับการค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคในชุมชน และ infection control ในโรงพยาบาลด้วย ชุดทดสอบที่มีวางขายในขณะนี้มี QuantiFERON-TB gold (QFT-G: Cellestis Limited, Carnegie, Victoria, Australia) สำหรับตรวจวัดปริมาณ IFN-γ และ T SPOT-TB test (Oxford Immunotec, Oxford, UK) สำหรับตรวจวัด CD4+ T-cells ที่ถูกกระตุ้นแล้วหลั่ง IFN-γ โดยตรง ประเทศไทยยังไม่มีหน่วยงานใดใช้ชุดทดสอบเหล่านี้สำหรับการตรวจหาผู้ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงหรือช่วยในการวินิจฉัยวัณโรค

การวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรค (active tuberculosis) และวัณโรคระยะแฝง (Latent Tuberculosis Infection)

การศึกษาส่วนใหญ่ทำในประเทศที่มีอัตราการเกิดวัณโรคต่ำ และใช้การทดสอบผิวหนังทุเบอร์คุลินเป็นตัวเปรียบเทียบกับวิธี IFN-γ assay พบว่าผู้ป่วยที่เป็นวัณโรค ความไวในการทดสอบแตกต่างกันมากในแต่ละการศึกษา แต่เมื่อเปรียบเทียบคนต่อคน พบว่าปฏิกิริยาทุเบอร์คุลินมีความไวกว่าวิธี IFN-γ assay ถ้าเปรียบเทียบวิธี IFN-γ assay ด้วยกันเองโดยใช้แอนติเจนที่แตกต่างกัน ความไวของ PPD-based จะสูงกว่า ESAT6-based หรือ CFP10-based ถ้าใช้แอนติเจนทั้งสองตัว ESAT6+CFP10 ความไวจะใกล้เคียงหรือสูงกว่า PPD-based คนที่ได้รับการรักษาวัณโรคแล้วความไวในการตรวจโดย IFN-γ assay จะต่ำกว่าทุเบอร์คุลิน แต่การศึกษาเหล่านี้ไม่ได้เปรียบเทียบความรุนแรงของวัณโรคกับความไวจากการตรวจทั้งสองวิธี Chapman และคณะ[28] พบว่าวิธี ELISPOT assay (EAST6 or CFP10) ให้ความไวร้อยละ 100 ในผู้ไม่ติดเชื้อเอชไอวี และความไวร้อยละ 90 ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี ต่างจากการศึกษาของ Elliot และคณะ[29] พบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีจะให้ผลความไวในการตรวจที่ต่ำกว่ามากไม่ว่าจะใช้แอนติเจนเป็น PPD หรือ CFP10

กรณีที่ไม่ได้ป่วยเป็นวัณโรค จากการศึกษาในประเทศที่อัตราการเกิดวัณโรคต่ำ ความจำเพาะจากการตรวจวิธีทุเบอร์คุลินและ IFN-γ assay ให้ผลใกล้เคียงกันเมื่อเทียบคนต่อคน ส่วน RD1-based ให้ความจำเพาะสูงกว่า PPD-based แต่ความไวจะสู้ PPD-based ไม่ได้ และถ้าใช้ RD1 antigens หลายๆ ตัวจะให้ความไวและความจำเพาะสูงสุด[27]

คนที่มีประวัติสัมผัสผู้ป่วยวัณโรค เมื่อตรวจร่างกายพบว่าปกติ ไม่มีอาการของวัณโรค ภาพถ่ายรังสีทรวงอกปกติ ทุเบอร์คุลินให้ผลบวก การตรวจโดยวิธี IFN-γ assay จะมีความไวมากกว่าร้อยละ 80 ไม่ว่าจะใช้แอนติเจนเป็น PPD-based หรือ RD1-based แต่ถ้าเปรียบเทียบคนต่อคนพบว่า PPD-based ให้ความไวสูงกว่า RD1-based[27]

ความสอดคล้องระหว่างทุเบอร์คุลินและ IFN-γ assay

การตรวจหาผู้ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงไม่มีการทดสอบที่เป็นมาตรฐาน จึงใช้ทุเบอร์คุลินเป็นตัวเปรียบกับวิธี IFN-γ assay การศึกษาส่วนใหญ่ทำในประเทศพัฒนาแล้วซึ่งมีอัตราการเกิดวัณโรคต่ำและประชากรไม่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อน การตรวจทั้งสองวิธีมีความสอดคล้อง (agreement) สูงร้อยละ 60-80 [kappa (k) พิสัย -0.03 — 0.87][27] แต่บางรายงานพบว่าการตรวจทั้งสองวิธีไม่มีความสอดคล้องเช่น ทุเบอร์คุลินให้ผลบวกแต่ QTF-TB (PPD IFN-γ assay) ให้ผลลบ ส่วนใหญ่พบในคนที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อน[30] หรือในคนที่เป็นวัณโรค (active disease) การตรวจ QTF-TB ให้ผลบวกสูงถึงร้อยละ 91 ขณะที่ทุเบอร์คุลินให้ผลบวก

เพียงร้อยละ 65 ถ้าตรวจพบว่า QTF-TB ให้ผลบวกแต่ทุเบอร์คุลินให้ผลลบ มักพบว่าบุคคลเหล่านั้นมีความเสี่ยงต่อวัณโรคอยู่ เช่น อายุมาก ติดสุราเรื้อรัง ไตวาย ได้รับยา เสตียรอยด์ หรือเป็นโรคมะเร็ง[31] Ewer และคณะ[32] ศึกษาเด็กในโรงเรียนที่มีวัณโรคระบาด ที่ประเทศเดนมาร์กตรวจสองวิธีเปรียบเทียบกัน ระหว่าง Heaf test และ ELISPOT (EAST6 andCFP10) พบว่าทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องสูงร้อยละ 89 (k=0.72)เด็กที่เคยได้รับวัคซีนบีซีจีจะให้ผล Heaf test ขนาดใหญ่กว่าเด็กที่ไม่ได้วัคซีนบีซีจี ส่วนรายที่ ELISPOT เป็นบวกแต่ Heaf test เป็นลบจะได้ประวัติการสัมผัสวัณโรค แต่ถ้า ELISPOT เป็นลบแต่ Heaf test เป็นบวก จะไม่ได้ประวัติการสัมผัสวัณโรค การตรวจโดย IFN-γ assay สามารถบอกถึงระดับของการสัมผัสวัณโรคได้ดีด้วย ซึ่งทุเบอร์คุลินไม่สามารถบอกระดับของการสัมผัสได้[33-35]

Pai M และคณะ[36] ศึกษาใน ประเทศอินเดียซึ่งมีอัตราการเกิดวัณโรคสูง ประชากรส่วนใหญ่ได้รับวัคซีนบีซีจีมาแล้ว รวมทั้งในพื้นที่นั้นมีเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดอื่น ๆ จากสิ่งแวดล้อมในปริมาณที่สูง ศึกษาในบุคลากรทางการแพทย์ เพื่อดูว่าการตรวจวิธี RD1-based IFN-γ assay จะสอดคล้องกับการตรวจโดยทุเบอร์คุลิน อย่างไร พบว่าถ้าใช้ทุเบอร์คุลินที่ cut-off 10 มิลลิเมตร การตรวจทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องกันถึงร้อยละ 81.4 (k=0.61; 95% CI, 0.56-0.67) การได้รับวัคซีนบีซีจีมาก่อนไม่มีผลต่อการตรวจโดยวิธีทุเบอร์คุลิน หรือ RD1-based IFN-γ assay ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญคืออายุยิ่งมากและการทำงานมานาน จะยิ่งเสี่ยงต่อการติดเชื้อวัณโรค การตรวจด้วย ทุเบอร์คุลิน และ RD1-based IFN-γ assay จะให้ผลบวกมากขึ้น

การศึกษาในประเทศเกาหลี[37] เพื่อดูว่า IFN-γ assay สามารถช่วยในการวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝงได้ดีหรือไม่ เพราะประชากรส่วนใหญ่ได้รับวัคซีนบีซีจีมาแล้ว 1-2 ครั้ง (แรกเกิดและอายุ 12-13 ปีถ้าทุเบอร์คุลินให้ผลลบ) โดยแยกคนกลุ่มต่างๆ 4 กลุ่มตามความเสี่ยงต่อการติดเชื้อวัณโรค 1. ไม่มีความเสี่ยง 2. casual contact 3. close contact 4. ผู้ป่วยวัณโรค เปรียบเทียบกับการทดสอบทุเบอร์คุลิน พบว่าโดยรวมการตรวจทั้งสองวิธีไม่มีความสอดคล้องกัน (k=0.16) แต่จะให้ผลการตรวจเป็นบวกมากขึ้นเมื่อมีความเสี่ยงสูงขึ้น IFN-γ assay ให้ผลบวกในกลุ่ม 1 และ 2 เพียงร้อยละ 4 และ 10 ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าความจริงมาก ความชุกของวัณโรคระยะแฝงในประเทศเกาหลีประมาณร้อยละ 33 การที่ IFN-γ assay ให้ผลตรวจต่ำอาจเนื่องมาจาก antigenicity ของ ESAT-6 และ CFP-10 ที่ไม่สามารถครอบคลุมแอนติเจนจากเชื้อ M.tuberculosis ได้ทั้งหมด หรือเป็นผลจาก human leucocyte antigens หรือเวลาที่ให้ memory T cells ในหลอดทดลองน้อยเกินไปที่จะทำให้มีการตอบสนองต่อแอนติเจนที่นำมากระตุ้น ยังไม่มีข้อสรุป กลุ่ม 4 ผู้ป่วยที่เป็นวัณโรคอยู่ IFN-γ assay ให้ผลบวกร้อยละ 81 ขณะที่ทุเบอร์คุลินที่ cut-off 10 มิลลิเมตร ให้ผลบวกร้อยละ 78 ที่ cut-off 15 มิลลิเมตร ให้ผลบวกร้อยละ 70 แสดงว่า IFN-γ assay ช่วยในการวินิจฉัยวัณโรค (active disease) ได้ดี อย่างไรก็ตาม IFN-γ assay ช่วยในการค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงได้ถูกต้องกว่าวิธีทดสอบทุเบอร์คุลินในประเทศที่มีการฉีดวัคซีนบีซีจีและมีความชุกของวัณโรคสูงอยู่ ถึงแม้ว่าจะตรวจพบได้ต่ำกว่าความเป็นจริงก็ตาม

ข้อคิดเห็นสำหรับประเทศไทย

เนื่องจากวิธี RD1-based IFN-γ assay มีราคาแพงและต้องอาศัยเทคนิคในห้องปฏิบัติการชั้นสูง ไม่สามารถตรวจได้ทุกโรงพยาบาลในประเทศไทย ดังนั้นผู้ป่วยเด็กที่มีประวัติสัมผัสวัณโรค การทำทุเบอร์คุลิน หลังจากซักประวัติและตรวจร่างกายเรียบร้อยแล้วจะเหมาะสม อาจจะถ่ายภาพรังสีทรวงอกไปพร้อมๆ กันหรือทำต่อเมื่อทุเบอร์คุลินให้ผลบวกก็ได้ ถ้าทุเบอร์คุลินให้ผลบวก แต่ภาพถ่ายภาพรังสีทรวงอกปกติหรือไม่ชัดเจน และแพทย์ผู้รักษาไม่แน่ใจต่อผลการตรวจ สามารถตรวจเพิ่มเติมโดย RD1-based IFN-γ assay ถ้าให้ผลบวกแสดงว่าติดเชื้อวัณโรคต้องทำการรักษา LTBI ต่อไป (หลังจากตรวจแล้วว่าไม่ได้เป็นวัณโรค) ถ้ามีอาการเข้าได้กับวัณโรคต้องรักษาวัณโรค กรณีที่ RD1-based IFN-γ assay ให้ผลลบและมีประวัติสัมผัสจริงต้องตรวจซ้ำอีกครั้งในระยะเวลา 8-10 สัปดาห์ต่อมา ถ้ายังให้ผลลบแสดงว่าไม่ติดเชื้อวัณโรค แต่ถ้าให้ผลบวกแสดงว่าติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงต้องให้ยารักษาต่อไป กรณีที่ประวัติและตรวจร่างกายสงสัยว่าเป็นวัณโรค (active tuberculosis) โดยเฉพาะวัณโรคนอกปอด ถ้าทุเบอร์คุลินให้ผลบวก แต่ภาพถ่ายภาพรังสีทรวงอกปกติ และยังสงสัยอยู่การตรวจ RD1-based IFN-γ assay จะช่วยในการวินิจฉัยได้มาก

สำหรับผู้ใหญ่ไม่นิยมทำทุเบอร์คุลิน เพราะประชากรในประเทศไทยได้รับวัคซีนบีซีจีตั้งแต่แรกเกิด ในสิ่งแวดล้อมมีเชื้อมัยโคแบคทีเรียมชนิดอื่นๆ มาก ทำให้ได้รับการกระตุ้นตลอด

เวลา รวมทั้งความชุกของวัณโรคสูง ผลการตรวจทุเบอร์คุลินในประชากรทั่วไปส่วนใหญ่ร้อยละ 70-80 ให้ผลบวก จึงไม่ช่วยในการวินิจฉัยวัณโรคทั้ง LTBI และ active tuberculosis ในด้านการควบคุมการติดเชื้อในโรงพยาบาล การทำทุเบอร์คุลินยังคงใช้อยู่เพราะใช้ติดตามในคนที่ให้ผลการทดสอบทุเบอร์คุลินเป็นลบทุก 2 ปีเพื่อดูการได้รับเชื้อวัณโรคใหม่ซึ่งจำเป็นต้องให้การรักษา สำหรับผู้ป่วยผู้ใหญ่การตรวจ RD1-based IFN-γ assay จะมีประโยชน์มากโดยเฉพาะในรายที่สงสัยวัณโรคนอกปอด เนื่องจากไม่สามารถนำเชื้อวัณโรคมาตรวจยืนยันได้ ถ้าผลการตรวจ QTF-G ให้ผลบวกและมีอาการเข้ากันได้แสดงว่าเป็นวัณโรคจริง ผู้ป่วยทั่วไปที่ไม่ได้สงสัยว่าป่วยเป็นวัณโรคและไม่มีอาการ เมื่อตรวจร่างกายและถ่ายภาพรังสีทรวงอกปกติ ผลการตรวจ QTF-G ให้ผลบวก ถือว่ามีความสำคัญ แสดงว่าติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงควรให้ยารักษา ถ้าผลการตรวจให้ผลลบ แสดงว่าไม่ติดเชื้อวัณโรค

เอกสารอ้างอิง

1. Tsicopolous A, Hamid Q, Varney V, Ying S, Moqbel R, Durham R et al. Preferential messenger RNA expression of Th1-type cells (IFN-gamma+, IL-2+) in classical delayed-type (tuberculin) hypersensitivity reactions in human skin. J Immunol 1992;148: 2058-61.
2. Colvin RB, Mosesson MW, Dvorak HF. Delayed-type hypersensitivity skin reactions in congenital afibrogenemia: lack of fibrin deposition and induration. J Clin Invest 1979;63:1302-6.
3. Anderson P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet 2000;356:1099-104.
4. Robertson JM, Burtt DS, Edmonds KL, et al. Delayed tuberculin reactivity in persons of Indochinese origin: implications for preventive therapy. Ann Intern Med 1996;124:779-84.
5. Starke JR. Diagnosis of tuberculosis in children. Pediatr Infect Dis J 2000;19:1095-6.
6. American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. Am J Resp Crit Care Med 2000;161:1376-95.
7. Kerdpanich A, Sitthisan T, Wimonchalola V, et al. A comparison study of tuberculin skin test results at 48 vs. 72 Hours. 2002,(in press)
8. Centers for Disease Control and Prevention. The role of BCG vaccine in the prevention and control of tuberculosis in the United Statea. MMWR 1996:45:RR-4.
9. Lifschitz M. The value of the tuberculin skin test as a screening test for tuberculosis among BCG-vaccinated children. Pediatrics 1965;36:624-7.
10. Landi S, Ashley MJ, Grzybowski S. Tuberculin sensitivity following the intradermal and puncture methods of BCG vaccination. Can Med Assoc J 1967;97:222-5.
11. Joncas LH, Robitaille R, Gauthier T. Ithe PPD skin test in BCG-vaccinated children. Can Med Assoc J 1975;113:127-8.
12. Johnson H, Lee B, Doherty E, et al. Tuberculin sensitivity and the BCG scar in tuberculosis contacts. Tuber Lung Dis 1995; 76:122-5.
13. Menzies R, Vissandjee B. Effect of bacille Calmette-Guerin vaccination on tuberculin reactivity. Am Rev Respir Dis 1992; 145:621-5
14. Cauthen, GM, Snider DE, Onorato IM. Boostering of tuberculin sensitivity among Southeast Asian refugees. Am J Respir Crit Care Med 1994;149:1597-1600.
15. Ferebee SH Controlled chemoprophylaxis trials in tuberculosis. Adv Tuberc Res. 1969;17:28-106.
16. Thompson NJ, Glassroth JL, Snider DE, Farer LS. The booster phenomenon in serial tuberculin testing. Am Rev Respir Dis 1979;119:587-97.
17. American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis. Am Rev Respir Dis 1990;142:725-35.
18. Dannenberg AM. Pathogenesis of pulmonary tuberculosis: host-parasite interactions, cell-mediated immunity, and delayed-type hypersensitivity. In D. Schlossberg, editor. Basic Principles in Tuberculosis 3rd ed. Springer Verlag, New York. 1992.
19. Smith D, E Wiengeshaus. What animal models can teach us about the pathogenesis of tuberculosis in humans. Rev Infect Dis 1989;11:S385-93.
20. Menzies D. Interpretation of repeated tuberculin tests: boostering, conversion, and reversion. Am J Respir Crit care Med 1999; 159:15-21.
21. National Tuberculosis Controllers Association and CDC. Guidelines for the investigation of contacts of persons with infectious tuberculosis. MMWR 2005;54(RR15):1-37.
22. Grzybowski S, E.A. Allen. The challenge of tuberculosis in decline. Am Rev Respir Dis 1964;90:707-20.
23. Geluk A, Van Meligaarden KE, Franken KL, et al. Identification and characterization of the EAST-6 homologue of Mycobacterium leprae and T-cell cross-reactivity with Mycobacterium tuberculosis. Infect Immun 2002;70:2544-8.
24. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-bases assay using new antigens. Am J Respir Crit Care Med 2004;170:59-64.
25. Mazurek G, Jereb J, LoBue P, et al. Guidelines for using the

QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United State. MMWR 2005;54(RR15)49-55.
26. National Tuberculosis Controllers Association and CDC. Guidelines for the investigation of contacts of persons with infectious tuberculosis. MMWR 2005;54(RR15):1-37.
27. Pai M, Riley LW, Colford JM, Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect Dis 2004;4:761-76.
28. Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of Mycobacterium tuberculosis-specific T cells. AIDS 2002;16:2285-93.
29. Elliott AM, Hurst TJ, Balyeku MN, et al. The immune response to Mycobacterium tuberculosis in HIV-infected and uninfected adults in Uganda: application of a whole bolld cytokine assay in an epidemiological study. Int J Tuberc Lung Dis 1999;3:239-47.
30. Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL, et al. Comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent Mycobacterium tuberculosis infection. JAMA 2001;286:1740-7.
31. Fietta A, Meloni F, Cascina A, et al. Comparison of a whole-blood interferon gamma assay and tuberculin skin testing in patients with active tuberculosis and individuals at high or low risk of Mycobacterium tuberculosis infection. Am J Infect Control 2003;31:347-53.
32. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in a school tuberculosis outbreak. Lancet 2003;361:1168-73.
33. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follman F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. Am J Respir Crit Care Med 2004;170:65-9.
34. Lalvani A, Pathan AA, Durkan H, et al. Enhanced contact tracing and spatial tracking of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells. Lancet 2001;357:2017-21.
35. Richeldi L, Ewer K, Losi M, et al. Tcell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infection after brief exposure. Am J Respir Crit Care Med 2004;170:288-95.
36. Pai K, Gokgale K, Joshi R, et al. Mycobacterium tuberculosis infection in health case workers in rural India. JAMA 2005;293: 2746-55.
37. Kang YA, Lee HW, Yoon HI, et al. Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. JAMA 2005;293:2756-61.