

ประสิทธิภาพของน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection
ในการตรวจหาเชื้อ *Chlamydia trachomatis* และ *Neisseria gonorrhoeae* จากตัวอย่าง
อื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์

Performance of the Anyplex™ CT/NG Real-time Detection for extra-genital
Chlamydia trachomatis and *Neisseria gonorrhoeae* detection

ศิริมล ภูมิเนียม¹

Siwimol Phoomniyom¹

พงศธร แสงประเสริฐ²

Pongsathorn Sangprasert²

รุ่งนภา เหลืองประสิทธิ์²

Rungnapa Luenprasit²

รศพร กิตติเยาวมารณ²

Rossaphorn Kittiyaowamarn²

¹สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 11

¹Office of Disease Prevention and Control, Region 11

นครศรีธรรมราช

Nakhon Si Thammarat

²กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์

²Division of AIDS and STIs,

กรมควบคุมโรค

Department Of Disease Control

DOI: 10.14456/dcj.2022.67

Received: October 5, 2021 | Revised: March 8, 2022 | Accepted: March 16, 2022

บทคัดย่อ

C. trachomatis และ *N. gonorrhoeae* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์มากที่สุด แม้ว่าการติดเชื้อทั้งสองชนิดนี้จะสามารถรักษาได้ด้วยยาปฏิชีวนะ แต่ผู้ป่วยมักไม่มีอาการแสดง ดังนั้นหากไม่ได้ตรวจหาเชื้อและไม่ได้รับการรักษาอาจนำไปสู่การติดเชื้อที่รุนแรงมากยิ่งขึ้นซึ่งเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อในช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์ การเพาะเชื้อยังคงเป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ขณะที่ปัจจุบันวิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเป็นวิธีที่นิยมมากยิ่งขึ้น การศึกษาวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของน้ำยาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection เปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในงานประจำวันสำหรับตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ในตัวอย่างช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์ ตัวอย่างทดสอบเก็บในช่วงเดือนมกราคม 2563 ถึงมกราคม 2564 ซึ่งให้ผลบวกและให้ผลลบต่อเชื้อ *C. trachomatis* ด้วยวิธี in-house real time PCR อย่างละ 30 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ให้ผลบวกและให้ผลลบต่อเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธีเพาะเชื้ออย่างละ 30 ตัวอย่าง ตัวอย่างทั้งหมด 120 ตัวอย่างถูกนำมาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยน้ำยา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection จากนั้นทำการประเมินความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวกและค่าทำนายผลลบ ผลการศึกษาพบว่าน้ำยา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection ให้ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวกและค่าทำนายผลลบเปรียบเทียบกับวิธี in-house real time PCR สำหรับเชื้อ *C. trachomatis* คิดเป็น 100%, 93.33%, 93.75%, 100% ตามลำดับ และให้ค่าการประเมินประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* เปรียบเทียบกับวิธีเพาะเชื้อและวิธี in-house real time PCR ที่

พัฒนาขึ้นคิดเป็นร้อยละ 100 ในทุกค่าการทดสอบ การศึกษานี้พบผลที่ไม่สอดคล้องกัน 2 ตัวอย่าง ซึ่งให้ผลลบต่อเชื้อ *C. trachomatis* ด้วยวิธี in-house real time PCR แต่ให้ผลบวกด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป และจากข้อมูลบางส่วนเพิ่มเติมจากข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ความไวความจำเพาะพบว่าน้ำยาสำเร็จรูปสามารถตรวจพบเชื้อ *C. trachomatis* ร่วมกับ *N. gonorrhoeae* 6 ตัวอย่าง โดย 3 ใน 6 ตัวอย่างมาจากตัวอย่างในกลุ่มที่ให้ผลลบต่อเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธีเพาะเชื้อที่นำมาทดสอบ โดยพบว่าน้ำยา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection สามารถตรวจพบเชื้อ *C. trachomatis* ร่วมกับเชื้อ *N. gonorrhoeae* ในขณะที่ผลจากวิธีที่ใช้ในงานประจำวันเป็นลบ ขณะที่อีก 3 ตัวอย่างมาจากตัวอย่างในกลุ่มที่ให้ผลลบต่อเชื้อ *C. trachomatis* ด้วยวิธี in-house real time PCR ที่นำทดสอบพบว่าน้ำยา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection สามารถตรวจพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* ร่วมกับเชื้อ *C. trachomatis* ในขณะที่ผลจากวิธีที่ใช้ในงานประจำวันเป็นลบ แสดงให้เห็นว่าน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมเชื้อ แม้ว่าเชื้ออาจจะตายไปแล้วและมีประสิทธิภาพสูงในการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ในตัวอย่างอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์

ติดต่อผู้พิมพ์ : ศิริมล ภูมินิยม

อีเมล : ssiwimolp@gmail.com

Abstract

C. trachomatis and *N. gonorrhoeae* are the two most common sexually transmitted infections. Although these pathogens can be treated with antibiotics, infection with *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* is frequently asymptomatic. Therefore, it often goes undetected and is left untreated, representing an important health concern, especially when infection occurs in extra-genital sites. Culture method has remained the ‘gold standard’ for *N. gonorrhoeae* detection, while nucleic acid amplification tests have increasingly become a preferred method. Therefore, the objective of this study is to evaluate the performance of Anyplex™ CT/NG Real-time Detection in comparison with the routine methods for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* from extra-genital specimens. Thirty *C. trachomatis* positive and thirty *C. trachomatis* negative samples tested by in-house real time PCR and thirty *N. gonorrhoeae* positive and thirty *N. gonorrhoeae* negative samples tested by culture during January 2019 – January 2020 were selected. All 120 samples were amplified by Anyplex™ CT/NG Real-time Detection. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were analyzed. The sensitivity, specificity, PPV and NPV of Anyplex™ CT/NG Real-time Detection for *C. trachomatis* compared with in-house real time PCR was 100%, 93.33%, 93.75%, 100%, respectively. In the meantime, the performance of this kit for *N. gonorrhoeae* was 100% in all parameters, compared with culture and in-house real time PCR. Two discrepancy results for *C. trachomatis* detection were found, which were negative by in-house real time PCR, but positive by the commercial PCR kits. Furthermore, we also found six samples were reported as CT/NG co-infection by Anyplex™ CT/NG Real-time Detection. 3 of 6 samples were positive for *N. gonorrhoeae* from culture method. The Anyplex™ CT/NG Real-time Detection result was also positive for *C. trachomatis*, whereas the routine method result was negative. In addition, another 3 samples were positive for *C. trachomatis* by in-house real time PCR method. The Anyplex™ CT/NG Real-time Detection result was also positive for *N. gonorrhoeae*, whereas the routine method result was negative.

C. trachomatis negative by in-house real time PCR, while another 3 samples were *N. gonorrhoeae* negative by culture. These results indicated that Anyplex™ CT/NG Real-time Detection has efficiency to detect pathogen's DNA, although pathogen died, and has highly acceptable performance characteristics for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in extra-genital specimens.

Correspondence: Siwimol Phoomniyom

E-mail: ssiwimolp@gmail.com

คำสำคัญ

เชื้อคลาไมเดีย ทราโคมาติส, เชื้อไนซีเรีย
โกโนเรียอี, ช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์,
นํ้ายาลําเร็จรูปเอนีเพล็กซ์ ซีที/เอ็นจี เรียลไทม์ ดีเทคชั่น

Keywords

Chlamydia trachomatis, *Neisseria gonorrhoeae*, extragenital,
Anyplex™ CT/NG Real-time Detection

บทนำ

C. trachomatis และ *N. gonorrhoeae* เป็นแบคทีเรียก่อโรคหนองในเทียมและโรคหนองใน ซึ่งเป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่พบมากที่สุดทั่วโลก⁽¹⁾ สถานการณ์โรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ 5 โรคหลักในประเทศไทย ได้แก่ ซิฟิลิส หนองใน หนองในเทียม แผลริมอ่อน กามโรคของท่อและต่อมน้ำเหลือง มีแนวโน้มอัตราป่วยเพิ่มขึ้นจาก 23 ต่อประชากรแสนคน ในปี 2559 เป็น 33.6 ต่อประชากรแสนคน ในปี 2563 โดยพบอัตราป่วยมากที่สุดในโรคหนองใน ซึ่งเกิดจากเชื้อ *N. gonorrhoeae* มีอัตราป่วย 14.3, 15.8, 14.6, 14.8 และ 11.9 ต่อประชากรแสนคน ในปี 2559-2563 ตามลำดับ แต่ในปี 2563 พบโรคซิฟิลิสมีอัตราป่วยสูงกว่าโรคหนองในที่ 16.4 ต่อประชากรแสนคน ขณะที่โรคหนองในเทียม ซึ่งเกิดจากเชื้อ *C. trachomatis* มีอัตราป่วย 3.5, 3.2, 3.4, 3.3 และ 3.1 ต่อประชากรแสนคน ในปี 2559-2563 ตามลำดับ⁽²⁾

แม้ว่าการติดเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* สามารถรักษาได้ด้วยยาปฏิชีวนะแต่ผู้ป่วยมักไม่แสดงอาการ จึงอาจจะไม่สามารถตรวจพบและไม่ได้รับการรักษา จนนำไปสู่การติดเชื้อที่รุนแรงมากขึ้น การติดเชื้อ *N. gonorrhoeae* ที่ปากมดลูกไม่แสดงอาการในผู้หญิงถึงประมาณร้อยละ 50 นำไปสู่โรคกระดูกเชิงกรานอักเสบ การตั้งครรภ์นอกมดลูกและภาวะมีบุตรยาก⁽³⁾ โดยทั่วไปการติดเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้

เป็นการติดเชื้อผ่านอวัยวะสืบพันธุ์ แต่ปัจจุบันการติดเชื้อช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์หรือ extragenital ได้แก่ ช่องทางทวารหนักและช่องคอ เพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นที่นิยมในคูรักรหลายคู่ การติดเชื้อช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์ เป็นแหล่งสะสมเชื้อที่สำคัญ และส่งผลให้มีการแพร่ของเชื้อเพิ่มขึ้นข้อมูลจาก Kent และคณะ พบว่า ร้อยละ 53 ของการติดเชื้อหนองในเทียม และร้อยละ 64 ของการติดเชื้อหนองใน ในกลุ่มชายรักชาย ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อที่ท่อปัสสาวะ⁽⁴⁾ ขณะที่ Jones และคณะ พบว่า ร้อยละ 6.4 ของผู้หญิงที่ติดเชื้อ *chlamydial* มีเชื้ออยู่ที่ช่องทางทวารหนักเท่านั้น⁽⁵⁾ ดังนั้นการตรวจคัดกรองการติดเชื้อในช่องทางอื่นที่มีการร่วมเพศ จึงมีความสำคัญและข้อมูลการส่งตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ในงานประจำวัน ศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ประเทศไทย ระหว่างปี 2562-2563 พบมีความหลากหลายของตัวอย่างส่งตรวจจากผู้มารับบริการ ได้แก่ ตัวอย่างท่อปัสสาวะ (urethral) ปากมดลูก (cervical) ทวารหนัก (rectal) และช่องคอ (pharyngeal)

การตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* สามารถทำได้หลายวิธี และแม้ว่าวิธีเพาะเชื้อจะยังคงเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับ *N. gonorrhoeae* ในตัวอย่างช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์⁽⁶⁻⁷⁾ แต่ผลการศึกษาวิจัยมากมายแสดงให้เห็นว่าวิธี Nucleic acid amplification test (NAATs) หรือการเพิ่มปริมาณ

สารพันธุกรรมเชื้อ มีข้อดีกว่าหลาย ๆ วิธี เนื่องจากมีความไว ความจำเพาะสูง และยังสามารถตรวจหาเชื้อได้ในตัวอย่างส่งตรวจที่หลากหลาย นอกจากนี้วิธีเพาะเชื้อยังใช้ระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์นาน ขั้นตอนการตรวจยุ่งยาก เจ้าหน้าที่ต้องมีทักษะ ความชำนาญในการเลี้ยงเชื้อ และต้องมีความระมัดระวังในการขนส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการ⁽⁸⁾ และปัญหาที่สำคัญในการตรวจหาเชื้อจากตัวอย่างช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์โดยวิธีเพาะเชื้อ คือ เชื้อมักมีความสามารถในการมีชีวิตต่ำ เมื่ออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อในขณะที่มีการขนส่งตัวอย่าง⁽⁹⁾ จึงอาจทำให้เกิดผลลบปลอมได้ และในตัวอย่างช่องคอ มักมีปริมาณของเชื้อน้อย และมักถูกเชื้อตัวอื่นในช่องคอเจริญเติบโตทับ⁽¹⁰⁻¹¹⁾

วิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเชื้อได้รับความนิยมมากขึ้น ด้วยความไว และความจำเพาะที่สูง อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีชุดน้ำยาที่ใช้หลักการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเชื้อ ได้รับการรับรองโดยองค์การอาหารและยาสหรัฐ (US FDA) หรือ CE mark สำหรับใช้ตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ในตัวอย่างส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนักและสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากช่องคอ ดังนั้นหากนำมาใช้ตรวจวิเคราะห์ ห้องปฏิบัติการควรทำการประเมินประสิทธิภาพของชุดน้ำยาก่อนนำมาใช้ในงานประจำวัน⁽¹²⁾

ห้องปฏิบัติการศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ให้บริการตรวจหาเชื้อก่อโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์จากตัวอย่างท่อปัสสาวะ (urethra swab/urine) ตัวอย่างปากมดลูก (cervical swab) ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนัก (rectal swab) และตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากช่องคอ (pharyngeal swab) โดยตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธีย้อมสีแกรม วิธีเพาะเชื้อและวิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่พัฒนาขึ้น หรือ in-house real time PCR สำหรับเชื้อ *C. trachomatis* ห้องปฏิบัติการใช้วิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่พัฒนาขึ้นในงานประจำวัน แม้ว่าวิธีการเพาะเชื้อเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* แต่ก็มีความไวเพียง 70-90%⁽¹³⁾

ขณะที่วิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่พัฒนาขึ้น สามารถตรวจหาเชื้อทั้งสองชนิดจากตัวอย่างสารพันธุกรรมเดียวกัน แต่ยังคงต้องทำการทดสอบแยกหลอดปฏิกิริยาโดยวิธีนี้ผ่านการทดสอบประเมินประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* แล้ว⁽¹⁴⁻¹⁵⁾ และห้องปฏิบัติการศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ มีน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection ที่ใช้หลักการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมซึ่งสามารถตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ได้พร้อมกันภายในหลอดปฏิกิริยาเดียวกัน ใช้งานง่ายและมีโปรแกรมอัตโนมัติในการแปลผลช่วยลดความยุ่งยาก และการแปลผลการทดสอบผิดพลาดโดยทั่วไปแล้วน้ำยาสำเร็จรูปมักมีความไวและความจำเพาะสูงกว่าน้ำยา in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้น ห้องปฏิบัติการศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ จึงมีน้ำยาสำเร็จรูปไว้ใช้ตรวจหาเชื้อทั้งสองชนิดในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนักและสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากช่องคอร่วมด้วย คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการประเมินประสิทธิภาพของน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time ในการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ในตัวอย่างอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์เปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในงานประจำวัน ได้แก่ วิธีเพาะเชื้อและวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้น

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1) เพื่อประเมินประสิทธิภาพของน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection ในการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* เปรียบเทียบกับวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้นในตัวอย่างช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์

2) เพื่อประเมินประสิทธิภาพของน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection ในการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* เปรียบเทียบกับวิธีเพาะเชื้อและวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้นในตัวอย่างช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์

วัสดุและวิธีการศึกษา

การคัดเลือกตัวอย่าง

ตัวอย่าง คือ ผู้มารับบริการเพศชายและหญิง ทุกช่วงอายุ ณ ศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ในช่วงเดือนมกราคม 2563 ถึงมกราคม 2564 โดยเป็นผู้ที่มีความเสี่ยงทางเพศสัมพันธ์และมีการใช้ช่องทางทวารหนัก และหรือช่องคอ ในการมีเพศสัมพันธ์ ทั้งแสดงและไม่แสดงอาการทางคลินิก รวม 120 ตัวอย่าง จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาโดยใช้สูตรการคำนวณขนาดตัวอย่างเพื่อการประมาณค่าความไวและความจำเพาะสำหรับการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการตรวจวินิจฉัย⁽¹⁶⁾ ดังนี้

สูตรการคำนวณขนาดตัวอย่างเพื่อการประมาณค่าความไว คือ

$$n_{se} = \frac{Z^2_{1-\alpha/2} \times Se \times X (1-Se)}{d^2 \times P}$$

สูตรการคำนวณขนาดตัวอย่างเพื่อการประมาณค่าความจำเพาะ คือ

$$n_{sp} = \frac{Z^2_{1-\alpha/2} \times Sp \times X (1-Sp)}{d^2 \times (1-P)}$$

เมื่อ n_{se} คือ ขนาดตัวอย่างที่ต้องการใช้เพื่อการประมาณค่าความไว

n_{sp} คือ ขนาดตัวอย่างที่ต้องการใช้เพื่อการประมาณค่าความจำเพาะ

$Z^2_{1-\alpha/2}$ คือ Z-score for type I error กำหนดให้ $\alpha=0.05$ ดังนั้น $Z^2_{0.975} = 1.96$

Se คือ ความไวที่คาดการณ์ไว้ที่ 95%

Sp คือ ความจำเพาะที่คาดการณ์ไว้ ที่ 90%

d คือ ค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ในการประมาณค่า ความไว/ความจำเพาะเป็นค่าคงที่ 0.10 (ไม่เกิน 10%) (d=0.10)

P คือ ความชุกของโรค (ใช้ค่าความชุกของเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ในกลุ่มตัวอย่างเท่ากับร้อยละ 50 (เนื่องจากนํ้าการณที่ให้ผลบวกและให้ผลลบมาจำนวนเท่ากัน)

ดังนั้น คำนวณขนาดตัวอย่างเพื่อการประมาณ

ค่าความไว ดังนี้

$$\begin{aligned} n_{se} &= \frac{Z^2_{1-\alpha/2} \times Se \times X (1-Se)}{d^2 \times P} \\ &= \frac{1.96^2 \times 0.95 \times (1-0.95)}{(0.10)^2 \times 0.50} \\ &= 36 \end{aligned}$$

ดังนั้น คำนวณขนาดตัวอย่างเพื่อการประมาณค่าความจำเพาะ ดังนี้

$$\begin{aligned} n_{sp} &= \frac{Z^2_{1-\alpha/2} \times 2 \times Sp \times X (1-Sp)}{d^2 \times (1-P)} \\ &= \frac{1.96^2 \times 0.90 \times (1-0.90)}{(0.10)^2 \times 0.50} \\ &= 69 \end{aligned}$$

กลุ่มตัวอย่างสำหรับประเมินค่าความไวเท่ากับ 36 ตัวอย่าง และกลุ่มตัวอย่างสำหรับประเมินค่าความจำเพาะเท่ากับ 69 ตัวอย่าง ต้องใช้กลุ่มตัวอย่างศึกษา 69 ตัวอย่าง แต่เนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนักในช่วงเวลาดังกล่าวค่อนข้างหายาก ผู้วิจัยจึงใช้ตัวอย่างที่ให้ผลบวกทั้งหมดมาทำการศึกษา ดังนั้นการประเมินประสิทธิภาพของนํ้ายาสำเร็จรูปในการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* จึงทำการศึกษาจากตัวอย่างจำนวน 60 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างที่ให้ผลบวก 30 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ให้ผลลบ 30 ตัวอย่าง และในการประสิทธิภาพของนํ้ายาสำเร็จรูปในการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ทำการศึกษาจากตัวอย่างจำนวน 60 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างที่ให้ผลบวก 30 ตัวอย่างและตัวอย่างที่ให้ผลลบ 30 ตัวอย่างเช่นเดียวกัน

การเก็บตัวอย่างและการขนส่ง

ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนัก (rectal swab) และสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากช่องคอ (pharyngeal swab) จำนวน 60 ตัวอย่าง ที่ทราบผลการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธีเพาะเชื้อถูกเก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ (MEM transport medium) โดยพยาบาลวิชาชีพ (ภาพที่ 1) และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศา

เซลเซียส ณ ห้องปฏิบัติการศูนย์การแพทย์บางรักด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ สำหรับตัวอย่างเพื่อตรวจเชื้อ *C. trachomatis* สามารถใช้สารพันธุกรรมที่เหลือจากการ

ตรวจในงานประจำวัน ด้วยวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้น จำนวน 60 ตัวอย่าง มาใช้ในกระบวนการทดสอบต่อไปได้



ภาพที่ 1 ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนัก (rectal swab) และตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากช่องคอ (pharyngeal swab) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

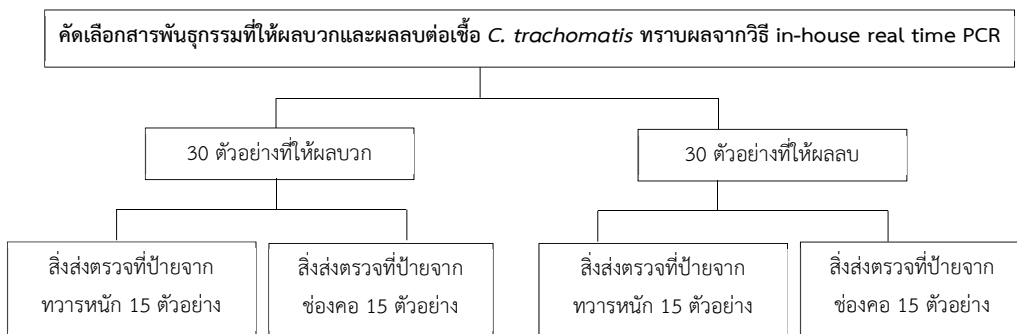
เชื้อ *C. trachomatis* นำมาทดสอบด้วยชุด น้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection ขณะที่เชื้อ *N. gonorrhoeae* ทดสอบด้วยวิธีเพิ่มปริมาณ

สารพันธุกรรมโดยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection และน้ำยา in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้น

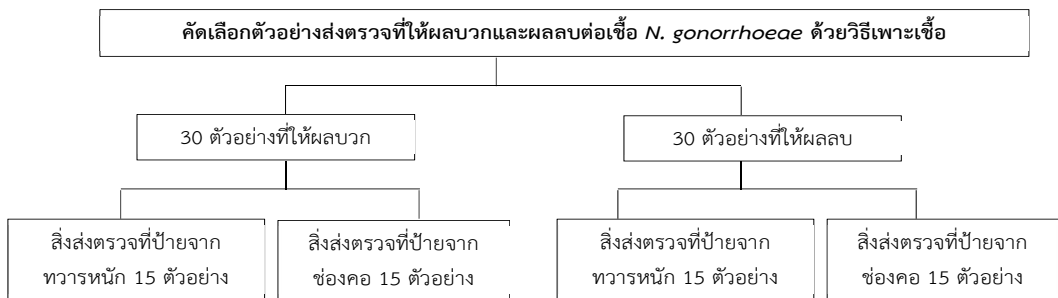
วิธีการทดสอบ

1. การคัดเลือกตัวอย่าง

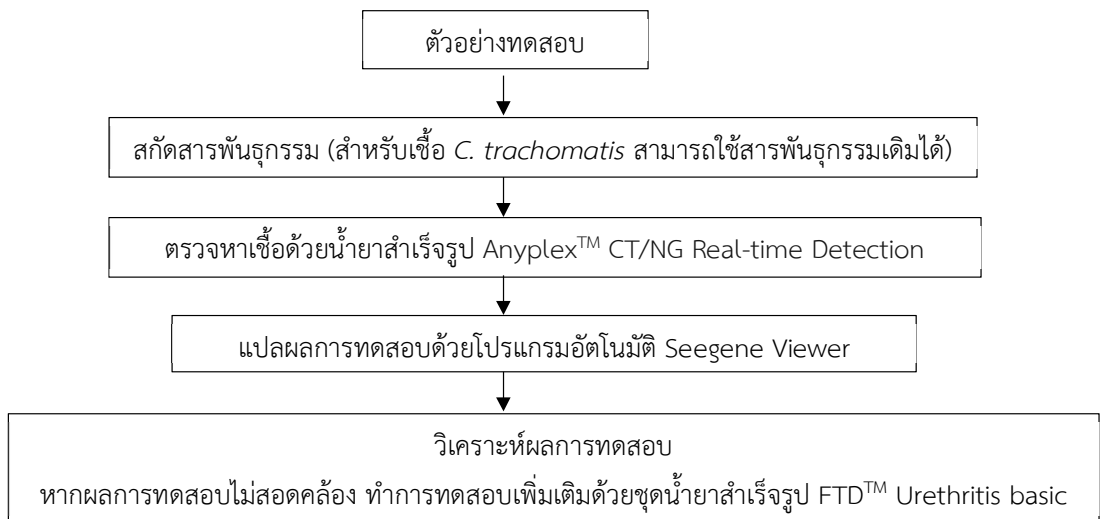
1.1 การคัดเลือกตัวอย่าง *C. trachomatis*



1.2 การคัดเลือกตัวอย่าง *N. gonorrhoeae*



2. ขั้นตอนการทดสอบ



2.1 วิธีสกัดสารพันธุกรรม

ผสมตัวอย่างให้เข้ากัน แบ่งตัวอย่าง 190 µl ใส่ในหลอด แล้วเติมนํ้ายา CT/NG IC ปริมาตร 10 µl ลงในหลอด จากนั้นเติมนํ้ายาละลาย PBS 1,000 µl ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 15 นาที เมื่อครบเวลา นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 g นาน 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง และซับด้วยกระดาษกรองจากนั้นเติม Lysis solution 30 µl ผสมให้เข้ากัน และปั่นตก 10 วินาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60°C นาน 60 นาที และบ่มต่อที่อุณหภูมิ 95°C นาน 10 นาที เมื่อครบเวลา ให้ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปทดสอบ

1) วิธีตรวจหาเชื้อด้วยนํ้ายาสำเร็จรูป Anyplex™

CT/NG Real-time Detection

นํ้ายา Anyplex™ CT/NG Real-Time Detection ใช้ตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ด้วยเทคนิค Real-time PCR จากสารพันธุกรรมเชื้อ โดยใช้เทคโนโลยี Dual Priming Oligonucleotide (DPOTM) ซึ่งคิดค้นโดยบริษัท Seegene โดยการออกแบบ primer ที่มีประสิทธิภาพในการตรวจจับดีเอ็นเอเป้าหมาย ด้วยความจำเพาะและความไวสูง ชุดนํ้ายาสามารถเพิ่มจำนวนและตรวจจับสารพันธุกรรมเป้าหมายเชื้อ *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG) และ Internal control (IC) ได้ในปฏิกิริยาเดียวกัน (Multiplex real-time PCR) (ภาพที่ 2)

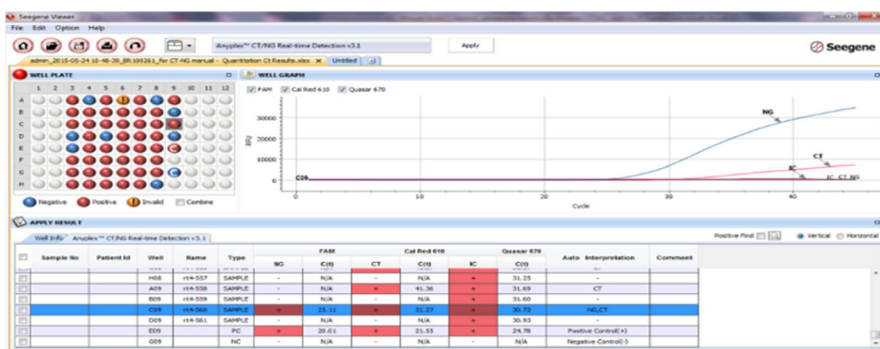


ภาพที่ 2 ชุดน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection

2) การเตรียม Master mix เตรียมส่วนประกอบต่อ 1 reaction ดังนี้ น้ำยา 5X CT/NG OM ปริมาตร 5 µl น้ำยา 5X Anyplex PCR Master Mix (with UDG) ปริมาตร 5 µl RNase-free Water ปริมาตร 10 µl ได้ปริมาตรรวม 20 µl ผสมให้เข้ากันแล้วดูดน้ำยา master mix 20 µl ใส่ในหลอด PCR แต่ละหลอด เติมตัวอย่างสารพันธุกรรม 5 µl ลงไป ดังนั้น ใน 1 หลอด PCR มีปริมาตรรวม 25 µl ตัวควบคุมผลลบ (Negative control) ให้เติม RNase-free Water 5 µl และตัวควบคุมผลบวก (Positive control) ให้เติม CT/NG PC 5 µl แทนสารพันธุกรรม

3) การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Real time PCR ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง CFX96 Real-Time system โดยใช้โปรแกรม CFX Manager ตามรายละเอียดขั้นตอนการตรวจหาเชื้อในเอกสารคู่มือการใช้งาน และอ่านสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ FAM สำหรับเชื้อ *N. gonorrhoeae* สี Cal Red 610 สำหรับเชื้อ *C. trachomatis* และสี Quasar 670 สำหรับตัวควบคุมภายใน การแปลผลการตรวจด้วยโปรแกรมแปลผลอัตโนมัติ Seegene Viewer

เปิดไฟล์ข้อมูลที่บ้านทีกแล้วเลือกน้ำยาตรวจ Anyplex™ CT/NG Real-time Detection กดปุ่ม Apply โปรแกรมจะแปลผลการทดสอบให้อัตโนมัติ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ตัวอย่างผลการตรวจด้วยชุดน้ำยา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection โดยใช้โปรแกรม Seegene Viewer

2.4 วิธีการตรวจหาเชื้อด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป FTDTM Urethritis basic (ในกรณีผลไม่สอดคล้องกัน) สามารถตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, *C. trachomatis* และตัวควบคุมภายในได้พร้อมกัน แพลตฟอร์มการตรวจวิเคราะห์จาก Amplification curve ที่เกิดขึ้น แพลตฟอร์ม FAM สำหรับเชื้อ *N. gonorrhoeae* สี VIC สำหรับเชื้อ *M. genitalium* สี ROX สำหรับเชื้อ *C. trachomatis* และสี Cy5 สำหรับตัวควบคุมภายใน

การวิเคราะห์ข้อมูล

ประเมินประสิทธิภาพน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection ในการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* เปรียบเทียบกับวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้นและการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* เปรียบ

เทียบกับวิธีเพาะเชื้อและวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้น โดยวิเคราะห์ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวกและค่าทำนายผลลบ

ผลการศึกษา

ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนักและสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากช่องคลอดจากผู้มารับบริการ 60 ตัวอย่างให้ผลการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time เปรียบเทียบกับวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้นด้วยความไว 100% ความจำเพาะ 93.33% ค่าทำนายผลบวก 93.75% และค่าทำนายผลลบ 100% (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time ในการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis*

<i>C. trachomatis</i>	In-house real time PCR		Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
	Positive	Negative				
Anyplex™ CT/NG Positive	30	2	100.00	93.33	93.75	100.00
Anyplex™ CT/NG Negative	0	28				

ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนักและสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากช่องคลอดจากผู้มารับบริการ 60 ตัวอย่างให้ผลการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time เปรียบเทียบ

กับวิธีเพาะเชื้อและวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้นด้วยความไว 100% ความจำเพาะ 100% ค่าทำนายผลบวก 100% และค่าทำนายผลลบ 100% (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time ในการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae*

<i>N. gonorrhoeae</i>	Culture		In-house real time PCR		Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
	Positive	Negative	Positive	Negative				
Anyplex™ CT/NG Positive	30	0	30	0	100.00	100	100	100
Anyplex™ CT/NG Negative	0	30	0	30				

การตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* เปรียบเทียบกับวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้นให้ผลไม่สอดคล้องใน 2 ตัวอย่างโดยให้ผลลบด้วยวิธี in-house real time PCR แต่ให้ผลบวกด้วยน้ำยา Anyplex™ CT/

NG Real-time ทั้ง 2 ตัวอย่างเป็นตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนัก จากนั้นนำตัวอย่างทั้ง 2 ตัวอย่างนี้มาทำการทดสอบด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป FTDTM Urethritis basic ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบในตัวอย่างที่ให้ผลไม่สอดคล้องกัน

Sample No.	Sample site	In-house real time PCR	Anyplex™ CT/NG	Test result Urethritis basic		
				Ct value ต่อเชื้อ <i>C. trachomatis</i>	FTD™ Urethritis basic	Ct value ต่อเชื้อ <i>C. trachomatis</i>
			Real-time			
001R	Rectal	Negative	Positive	35.40	Positive	36.52
005R	Rectal	Negative	Positive	38.16	Positive	38.87

Cycle threshold (Ct) value หมายถึง ค่าจำนวนรอบการทำงานของ real time PCR ที่ให้ค่าแสงฟลูออเรสเซนซ์ตัดกับเส้น Threshold เป็นค่าที่บ่งชี้ความเข้มข้นของเชื้อเป้าหมายที่ต้องการทดสอบ มีความสัมพันธ์แบบผกผันกับความเข้มข้นเชื้อ

ในระหว่างการเก็บข้อมูลสำหรับการศึกษานี้ยังพบว่านัยยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time สามารถตรวจพบเชื้อ *C. trachomatis* ร่วมกับ *N. gonorrhoeae* (co-infection) ในตัวอย่าง 6 ตัวอย่าง

โดยตัวอย่าง 3 ใน 6 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างจากกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธีเพาะเชื้อในงานประจำวันที่นำมาทำการทดสอบ ใน 30 ตัวอย่างนี้เมื่อนำมาทดสอบด้วยนัยยา Anyplex™ CT/NG Real-time เพื่อดูผลของการตรวจพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* ในการประเมินความไว ความจำเพาะของนัยยา ผลการทดสอบปรากฏผลบวกต่อเชื้อ *N. gonorrhoeae* ทั้ง 30 ตัวอย่างตามข้อมูลในตารางที่ 2 ในขณะเดียวกันใน 30 ตัวอย่างนี้ผลจากนัยยา Anyplex™ CT/NG Real-time สามารถตรวจพบเชื้อ *C. trachomatis* ร่วมกับเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยจำนวน 3 ตัวอย่าง โดยทั้ง 3 ตัวอย่างเมื่อย้อนกลับไปดูผลการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* ด้วยวิธี in-house real time PCR ในงานประจำวันปรากฏผลเป็นลบ

ในขณะเดียวกันตัวอย่างอีก 3 ตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ *C. trachomatis* ร่วมกับ *N. gonorrhoeae* เป็นตัวอย่างจากกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อเชื้อ *C. trachomatis* ด้วย in-house real time PCR ในงานประจำวันที่นำมาทำการทดสอบ ใน 30 ตัวอย่างนี้เมื่อนำมาทดสอบด้วยนัยยา Anyplex™ CT/NG Real-time

เพื่อดูผลของการตรวจพบเชื้อ *C. trachomatis* ในการประเมินความไว ความจำเพาะของนัยยา ผลการทดสอบปรากฏผลบวกต่อเชื้อ *C. trachomatis* ทั้ง 30 ตัวอย่างตามข้อมูลในตารางที่ 1 และใน 30 ตัวอย่างนี้ ผลจากนัยยา Anyplex™ CT/NG Real-time ตรวจพบเชื้อ *N. gonorrhoeae* รวมด้วยจำนวน 3 ตัวอย่าง โดยทั้ง 3 ตัวอย่างเมื่อย้อนกลับไปดูผลการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธีเพาะเชื้อในงานประจำวันปรากฏผลเป็นลบ (ข้อมูลนี้เป็นข้อมูลส่วนเพิ่มนอกเหนือจากข้อมูลในตารางที่ 2)

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่านัยยาสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ในตัวอย่างช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์

สรุป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากทวารหนักและสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากช่องคลอดด้วยนัยยาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมสำเร็จรูป Anyplex™ CT/NG Real-time Detection เปรียบเทียบกับวิธี in-house real-time PCR สำหรับเชื้อ *C. trachomatis* มีความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวกและค่าทำนายผลลบคิดเป็น 100%, 93.33%, 93.75% และ 100% ตามลำดับ ในขณะเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเชื้อและวิธี in-house real-time PCR ในการตรวจหาเชื้อ *N. gonorrhoeae* นัยยา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection มีประสิทธิภาพทั้งสี่ด้านคิดเป็น 100%

ทวารหนักและช่องคอ เป็นแหล่งสะสมเชื้อก่อโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่สำคัญ การติดเชื้อ *N. gonorrhoeae* มากกว่า 70% และการติดเชื้อ *C. trachomatis* มากกว่า 85% ในชายรักชายไม่ได้ติดเชื้อที่อวัยวะสืบพันธุ์⁽¹⁷⁾ และแม้ว่าการติดเชื้อทางทวารหนักและช่องคอก็ไม่ส่งผลให้เกิดความเจ็บป่วยอย่างมีนัยสำคัญ แต่มักทำให้เกิดการสะสมเชื้อ ความไวต่อการรักษาลดลงและทำให้เชื้อติดต่อยาปฏิชีวนะ ข้อมูลวารสารเรื่องการติดเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ช่องทางทวารหนักและช่องคอระบุว่า การตรวจหาเชื้อจากทวารหนักและช่องคอไม่ได้เป็นเกณฑ์หนึ่งในการคัดกรองโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ในงานประจำวันโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ผู้ป่วยไม่มีอาการแสดง การติดเชื้อช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์จึงมักไม่ได้รับการตรวจวินิจฉัยและไม่ได้รับการรักษา มีความเป็นไปได้ที่จะเป็นแหล่งส่งผ่านเชื้อ และนำไปสู่ความเสี่ยงที่สูงขึ้นต่อการได้รับเชื้อ HIV ดังนั้นจึงควรตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* จากทวารหนักและช่องคอทั้งในผู้ชายและผู้หญิง⁽¹⁸⁾

การศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าวิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเชื้อมีประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อได้ดีกว่าวิธีอื่น ๆ⁽¹⁹⁾ ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคสหรัฐฯ (Centers for Disease Control and Prevention - CDC) แนะนำให้ใช้วิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเชื้อในตัวอย่างส่งตรวจที่ปัสสาวะ ปากมดลูก ทวารหนักและช่องคอได้ แม้ว่ายังไม่มีนํ้ายาที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration: FDA) สำหรับการตรวจในช่องทางอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์⁽²⁰⁾ การศึกษาโดยใช้นํ้ายา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection ในงานวิจัยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเพื่อหาความชุกของเชื้อ⁽²¹⁻²³⁾ การศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพนํ้ายาในปี ค.ศ. 2020 โดย Munros J และคณะศึกษาในกลุ่มผู้หญิงที่สงสัยว่ามีภาวะอุ้งเชิงกรานอักเสบจากตัวอย่างปากมดลูกและปัสสาวะเปรียบเทียบกับนํ้ายา GeneXpert CT/NG assay พบว่านํ้ายาทั้งสองชนิดสามารถตรวจหาเชื้อ

C. trachomatis และ *N. gonorrhoeae* ได้สอดคล้องกัน 100%⁽²⁴⁾ การศึกษาส่วนใหญ่ที่ผ่านมาเป็นการประเมินประสิทธิภาพนํ้ายาในตัวอย่างจากอวัยวะสืบพันธุ์ ยังไม่มีการประเมินประสิทธิภาพนํ้ายาในตัวอย่างอื่นนอกเหนือจากอวัยวะสืบพันธุ์ อย่างไรก็ตามข้อมูลจากวารสารมากมายบ่งชี้ว่าการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ด้วยวิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยชุดนํ้ายาสำเร็จรูปมีความไวมากกว่าวิธีเพาะเชื้อในตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ประเภทต่าง ๆ ภายใต้สภาวะที่หลากหลาย^(17,25) สอดคล้องกับการศึกษานี้ซึ่งพบว่านํ้ายา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection มีประสิทธิภาพสอดคล้องกับการตรวจด้วยวิธีเพาะเชื้อและวิธี in-house real time PCR ที่พัฒนาขึ้นและสอดคล้องกับผลจากนํ้ายาสำเร็จรูปอีกชุดซึ่งตรวจพบเชื้อที่ค่ารอบการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Ct) มากกว่า 35 ในตัวอย่างทดสอบ 2 ราย บ่งชี้ว่าตัวอย่างทั้งสองรายนี้อาจจะมีปริมาณเชื้อน้อยแต่นํ้ายา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection ก็ยังสามารถตรวจพบได้ด้วยความไวสูง มากไปกว่านั้นนํ้ายา Anyplex™ CT/NG Real-time Detection สามารถตรวจพบการติดเชื้อร่วมกันของเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ใน 6 ตัวอย่าง แม้ว่านํ้ายา Real time PCR จะมีความไวและความจำเพาะสูงแต่ก็มีโอกาสเกิดผลบวกปลอมได้เช่นเดียวกัน ผู้วิจัยไม่ได้นำข้อมูลทางคลินิกและผลการตรวจหาเชื้อในช่องทางอวัยวะสืบพันธุ์มาประกอบผลการศึกษาและจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลบวกต่อเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* จากช่องทางทวารหนักมีจำนวนน้อยจึงเป็นข้อจำกัดในการศึกษานี้ ค่าทำนายผลบวกและค่าทำนายผลลบในการศึกษานี้อาจตีความได้ยากเนื่องจากเป็นการนำตัวอย่างที่เป็นและไม่เป็นจำนวนเท่ากันซึ่งไม่มีความชุกของโรคในผู้ป่วยในสถานการณ์จริง นํ้ายา วัสดุวิทยาศาสตร์ในการตรวจหาเชื้อ *C. trachomatis* และ *N. gonorrhoeae* ด้วยนํ้ายาสำเร็จรูปมีต้นทุนสูงกว่าวิธี in-house real time PCR และวิธีเพาะเชื้อแต่นํ้ายาสำเร็จรูปชนิดนี้สามารถตรวจหาเชื้อทั้งสองชนิดได้พร้อมกันในหลอดปฏิกิริยาเดียวกันจึงช่วยลดระยะเวลาการปฏิบัติงานและมีโปรแกรม

วิเคราะห์ผลอัลติเมตช่วยลดความผิดพลาดและความ
ยุ่งยากในการรายงานผลการทดสอบ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการกองโรคเอดส์และ
โรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ หัวหน้าศูนย์การแพทย์บางรัก
ด้านโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรคและ
เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organisation: Global strategy for the prevention and control of Sexually transmitted infections: 2006–2015: breaking the chain of transmission [Internet]. [cited 2020 Sep 10]. Available from http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43853/9789241563475_eng/Pdf;jessionid=B-5D9ED847DD81C1795D67FFECE-7D98AF?sequence=1
2. Division of AIDS and STIs. HIV info hub [Internet]. [cited 2020 Sep 10]. Available from: <https://hivhub.ddc.moph.go.th/epidemic.php> (in Thai)
3. Cates W, Wasserheit JN. Genital *Chlamydia infections*; epidemiology and 3 reproductive sequelae. Am J Obstet Gynecol. 1991;164: 1771–81.
4. Kent CK, Chaw JK, Wong W, Liska S, Gibson S, Hubbard G, et al. Prevalence of rectal, urethral, and pharyngeal *chlamydia* and *gonorrhea* detected in 2 clinical settings among men who have sex with men: San Francisco, California, 2003. Clin Infect Dis. 2005;41(1):67–74.
5. Jones RB, Rabinovitch RA, Katz BP, Batteiger BE, Quinn TS, Terho P, et al. *Chlamydia trachomatis* in the pharynx and rectum of hetero- sexual patients at risk for genital infection. Ann Intern Med. 1985;102(6):757–62.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Clinic-based testing for rectal and pharyngeal *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections by community-based organizations—five cities, United States, 2007. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2009;58:716–9.
7. Alexander S. The challenges of detecting gonorrhea and *chlamydia* in rectal and pharyngeal sites: could we, should we, be doing more? Sex Transm Infect. 2009;85:159–60.
8. Taylor SN, Liesenfeld O, Lillis RA, Body BA, Nye M, Williams J, et al. Evaluation of the Roche cobas(R) CT/NG test for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in male urine. Sex Transm Dis. 2012;39:543–9.
9. Graver MA, Wade JJ. Survival of *Neisseria gonorrhoeae* isolates of different auxotypes in six commercial transport systems. J Clin Microbiol. 2004;42:4803–4.
10. Page-Shafer K, Graves A, Kent C, Balls JE, Zapitz VM, Klausner JD. Increased sensitivity of DNA amplification testing for the detection of pharyngeal gonorrhea in men who have sex with men. Clin Infect Dis. 2002;34:173–6.
11. Palmer H, Mallinson H, Wood RL. Evaluation of the specificities of five DNA amplification methods for the detection of *Neisseria gonorrhoeae*. J Clin Microbiol. 2003;41:835–7.
12. Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, Van Der Pol B. Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*—2014. MMWR Recomm Rep. 2014; 63(RR-02):1–19.
13. Harper M, Johnson R. The predictive value of

- culture for the diagnosis of gonorrhea and *Chlamydia* infections. Clin Microbiol Newslet. 1990;12:54-6.
14. Bamrungsak B, Phoomniyom S, Luengprasit R. Development and validation of an in-house real-time PCR assay for the detection of *Chlamydia trachomatis* in sexually transmitted infections clinic. Thai AIDS Journal. 2020; 32:28-41. (in Thai)
15. Phoomniyom S, Bamrungsak B, Boonprathueng K, Sangprasert P, Luengprasit R, Ngarmjiratam N, et al. Efficiency evaluation of an in-house real-time PCR assay for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in urine specimens. Thai AIDS Journal. 2020; 33:9-20. (in Thai)
16. Sudjai N. Sample size calculation for diagnostic test studies. J Med Health Sci. 2020;27(2): 167-82. (in Thai)
17. Patton ME, Kidd S, Llata E, Stenger M, Braxton J, Asbel L, et al. Extragenital gonorrhea and chlamydia testing and infection among men who have sex with men-STD Surveillance Network, United States, 2010-2012. Clin Infect Dis. 2014;58(11):1564-70.
18. Chan PA, Robinette A, Montgomery M, Almon-te A, Cu-Uvin S, Lonks JR, et al. Extragenital Infections Caused by *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*: A Review of the Literature. Infect Dis Obstet Gynecol. 2016;2016:5758387. doi: 10.1155/2016/5758387.
19. Gaydos CA, Theodore M, Dalesio N, Wood BJ, Quinn TC. Comparison of three nucleic acid am-plication tests for detection of *Chlamydia tra-chomatis* in urine specimens. J Clin Microbiol. 2004;42(7):3041-5.
20. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for the laboratory-based de-tection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*-2014. MMWR Recomm Rep. 2014;63(RR-02):1-19.
21. Carnicer-Pont D, González V, López-Corbeto E, Turu E, the Prison Health working Group. Prevalence and predictive factors of *Chlamydia trachomatis* genital infection in inmates 25 to 65 years old in four Catalan prisons. Rev Esp Sanid Penit. 2019;21(3):126-37.
22. Riera-Monroig J, Corbeto EL, Bosch J, Fuertes I. Screening for asymptomatic *Chlamydia tra-chomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Mycoplasma genitalium* in medical students in Barcelona. J Skin Sex Transmitted Dis. 2020;2(2):134-6.
23. Jongen VW, Loeff MF, Botha MH, Sudenga SL, Abrahamsen ME, Giuliano AR. Incidence and risk factors of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* among young women from the Western Cape, South Africa: The EVRI study. PLoS One. 2021:1-14.
24. Munrós J, Vergara A, Bataller E, Restovic G, García-Lorenzo B, Alvarez-Martínez MJ, et al. Performance and impact of using a rapid molec-ular test to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in women suspected of having pelvic inflammatory disease. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2020:1-27.
25. Bamberger DM, Graham G, Dennis L, Gerkovich MM. Extragenital Gonorrhea and Chlamydia among Men and Women According to Type of Sexual Exposure. Sex Transm Dis. 2019;46 (5):329-34.