บทความฟื้นวิชา

ซิฟิลิสกับการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

อรุณรัฐ ร่มพฤกษ์ และ ยุพา เอื้อวิจิตรอรุณ

ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ซิฟิลิสเป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ มีลักษณะอาการแสดงของโรคได้หลากหลาย เป็นโรคที่รักษาหายได้เมื่อได้รับการวินิจฉัยและรักษาอย่างถูกต้อง ซิฟิลิสมีสาเหตุจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Treponema pallidum* subspecies *pallidum* (*T. pallidum*)

T. pallidum มีรูปร่างเป็นเกลียว (spirochete) มี flagella ย้อมติดสีแดงแต่ไม่ชัดเจน (atypical gram negative) ขนาด 0.1-1.2 x 5-20 ไมครอน จัดอยู่ใน Order *Spirochaetales*, Family *Spirochaeceae* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (artificial media) หรือในเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง (tissue culture) สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อ *T. pallidum* ได้ในอัณฑะของกระต่าย ใช้เวลาในการแบ่งตัวนานถึง 30 ชั่วโมง คนเป็นแหล่งติดเชื้อที่จำเพาะของเชื้อนี้ (specific host) และก่อให้เกิดอาการของโรคซิฟิลิส *T. pallidum* มีชีวิตอยู่ภายนอกร่างกายที่อุณหภูมิห้องได้ 2-3 ชั่วโมง หรือ ประมาณ 72 ชั่วโมงที่ 4 องศาเซลเซียส หรือเป็นเวลาหลายๆ ปีเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -78 องศาเซลเซียส[1]

การติดต่อ

เชื้อจะมีอยู่จำนวนมากในบาดแผลหรือน้ำเหลืองของผู้ที่ติดเชื้อในระยะปฐมภูมิ และระยะทุติยภูมิ (primary and secondary syphilis) เมื่อมีการสัมผัสกับผู้ติดเชื้อในบริเวณดังกล่าว เชื้อสามารถไชทะลุผ่านผิวเยื่อเมือกของผู้ที่สัมผัส โดยเฉพาะระหว่างการมีเพศสัมพันธ์ หรือผู้ไม่ติดเชื้อแต่มีบาดแผลเปิดได้รับเชื้อนี้จำนวนมาก ด้วยการสัมผัสกับผู้ติดเชื้อบริเวณที่มีเชื้อจำนวนมาก หรือได้รับเลือดหรือส่วนประกอบของเลือดที่ไม่ผ่านการตรวจกรองที่ดี นอกจากนี้เชื้อยังสามารถติดต่อจากมารดาที่กำลังตั้งครรภ์ไปสู่ทารกในครรภ์ได้ และยังติดต่อจากมารดาสู่ทารกในขณะคลอดได้ด้วย

เมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกาย ผู้ป่วยจะแสดงอาการได้หลายรูปแบบขึ้นกับระยะของโรคและการตอบสนองต่อเชื้อนี้ของผู้ป่วย (individual response) ซึ่งอาจแตกต่างในละคน

การวินิจฉัยโรคซิฟิลิสประกอบด้วย อาการแสดงของโรค ประวัติผู้ป่วย และการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ลักษณะอาการแสดงของโรคซิฟิลิส

อาการแสดงของโรคซิฟิลิสที่มีการติดต่อกันโดยทั่วไป (acquired syphilis) สามารถแบ่งได้ตามระยะเวลาของอาการแสดงได้ดังนี้

1. Early syphilis เป็นกลุ่มอาการของโรคที่เกิดขึ้นภายในเวลา 2 ปี หลังติดเชื้อแบ่งได้เป็น

- Primary syphilis มีแผลริมแข็ง (chancre) แผลขอบแข็งไม่เจ็บ พบแผลได้ภายใน 10-90 วันหลังได้รับเชื้อ ส่วนใหญ่จะพบประมาณสัปดาห์ที่ 3 หลังได้รับเชื้อ และพบแผลบริเวณที่สัมผัสกับตัวเชื้อ เช่น บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ รอบทวารหนัก ในช่องปาก หรือริมฝีปาก อาจพบต่อมน้ำเหลืองโตในบริเวณใกล้เคียงรอบๆ แผล

ได้รับต้นฉบับ 19 กรกฎาคม 2548 ให้ลงตีพิมพ์ 1 สิงหาคม 2548
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ ผศ.อรุณรัฐ ร่มพฤกษ์ ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

แผลนี้จะหายได้เองแม้ไม่ได้รับการรักษา

● Secondary syphilis มีผื่นเป็นจ้ำขึ้นตามตัว แขน ขา ฝ่ามือ ฝ่าเท้า ไม่คัน มีอาการไม่สบายตัว อาจมีผมร่วงเป็นหย่อมๆ หรืออาจมีหูด (chondylomata lata) ขึ้นที่บริเวณผิวหนังที่มีความชื้น เช่น บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ หรือบริเวณรอบทวารหนัก มีต่อมน้ำเหลืองโตกระจายทั่วร่างกาย อาการนี้เกิดขึ้น ภายใน 6 สัปดาห์ถึง 6 เดือนหลังได้รับเชื้อ หรือ 1 ถึง 5 สัปดาห์หลังจากแผลริมแข็งหาย และอาการแสดงในระยะนี้หายได้เองแม้ไม่ได้รับการรักษา หรืออาจกลับมามีอาการอีกใน 1 ถึง 4 ปีต่อมา

● Early latent syphilis เป็นระยะที่ไม่มีอาการแสดงของโรค แต่ยังมีเชื้ออยู่ในร่างกาย สามารถวินิจฉัยได้ด้วยการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ระยะนี้จะอยู่ในช่วง 2 ปีหลังได้รับเชื้อ ผู้ป่วยอาจหายจากการเป็นโรคเลย หรือกลับมามีอาการแสดงของโรคได้อีก

2. Late syphilis เป็นระยะของโรคภายหลังติดเชื้อ 2 ปี และไม่ได้รับการรักษา แบ่งได้เป็น 2 ระยะ

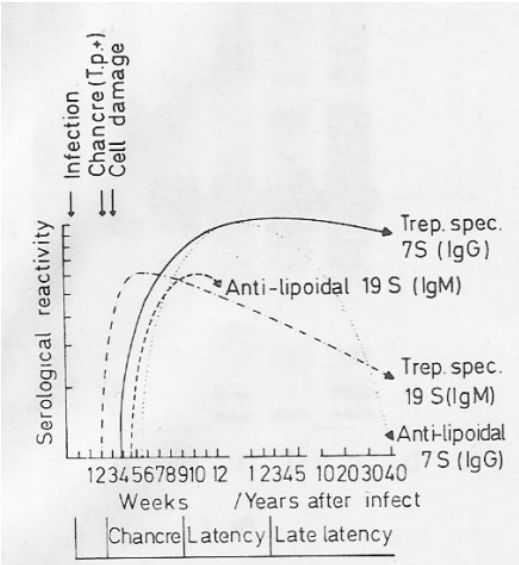
● Late latent syphilis เป็นระยะที่ผู้ป่วยไม่มีอาการ และ 50-70% ไม่มีอาการเลยตลอดชีวิต คือ อาจมีเชื้อแฝงอยู่ในร่างกายแต่ไม่แสดงอาการ และอาจหายจากโรคได้เอง

● Tertiary syphilis or late stage เป็นระยะที่เชื้อแฝงในร่างกายกำเริบแสดงอาการ พบได้ประมาณ 40% ของผู้ป่วยซิฟิลิสที่ไม่ได้รับการรักษา มีอาการแสดงได้ 3 แบบ คือ แบบแรกเกิดแผลที่เรียกว่า gumma ที่บริเวณผิวหนัง กระดูก ตับ หรืออวัยวะอื่นๆ เกิดจากการที่ร่างกายมีปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันต่อตัวเชื้อที่อยู่ในบริเวณนั้น แบบที่สอง คือ มีพยาธิสภาพที่หัวใจและหลอดเลือด โดยเฉพาะหลอดเลือดแดงใหญ่ ซึ่งจะแสดงอาการตามพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นกับหัวใจหรือหลอดเลือด แบบสุดท้าย คือ การติดเชื้อในระบบประสาทส่วนกลาง หรือที่เรียกว่า neurosyphilis ซึ่งอาจไม่มีอาการแสดง หรือมีอาการแสดงหากมีการทำลายเซลล์ในระบบประสาทส่วนกลาง หรือ การติดเชื้อที่เยื่อหุ้มสมอง อาการแสดงมีตั้งแต่เล็กน้อย เช่น อัมพฤกษ์ (pararesis) ความผิดปกติของการทำงานของกล้ามเนื้อ (tabes dorsalis) จนถึงวิกลจริต

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อซิฟิลิส

หลังจากได้รับเชื้อ *T. pallidum* ประมาณ 10-14 วัน ร่างกายจะสร้างแอนติบอดีต่อตัวเชื้อชนิด IgM ขึ้นมา และหลังจากนั้นประมาณ 4-8 วัน จะพบแอนติบอดีต่อตัวเชื้อชนิด IgG ร่วมตามมา แอนติบอดีที่ถูกสร้างขึ้นนี้จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว[2] และในขณะที่ร่างกายกำลังสร้างแอนติบอดีต่อตัวเชื้อ เชื้อจะแบ่งตัวและแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองบริเวณใกล้เคียงกับที่ได้รับเชื้อ ทำให้เซลล์ของผู้ติดเชื้อถูกทำลายและปล่อยสาร phospholipid (lipoidal substance) ที่เป็นส่วนประกอบของไมโตคอนเดรียของเซลล์ที่ถูกทำลายจากการอักเสบจากการติดเชื้อนี้ สารที่เซลล์ปล่อยออกมานี้จะเป็นแอนติเจนที่ร่างกายยังไม่เคยรับรู้มาก่อน ทำให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีต่อต้านต่อสารนี้ แอนติเจนชนิดนี้สามารถกัดได้จากกล้ามเนื้อหัวใจวัวที่เรียกว่า cardiolipin แอนติบอดีที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นของแอนติเจนชนิดนี้เดิมเรียกว่า reagin หรือ anti-lipoidal ปัจจุบันนิยมเรียกว่า anti-cardiolipin ร่างกายจะสร้างแอนติบอดีชนิด IgM ก่อน หลังจากนั้นในช่วงเวลาสั้นๆ ก็จะสร้างแอนติบอดีชนิด IgG ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าร่างกายมีการสร้างแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อซิฟิลิสได้ 2 ประเภท คือ เริ่มสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อตัวเชื้อ (specific treponemal antibody) ก่อนเป็นชนิด IgM และตามด้วยชนิด IgG หลังจากนั้นในช่วงเวลาสั้นๆ ร่างกายก็จะสร้างแอนติบอดีที่ไม่จำเพาะต่อตัวเชื้อ (non-specific treponemal antibody) ชนิด IgM และตามด้วยชนิด IgG เช่นเดียวกัน (รูปที่ 1)

จากการติดตามผลการรักษาจะพบว่า เมื่อมีการรักษาหายแล้ว แอนติบอดีชนิดที่ไม่จำเพาะต่อตัวเชื้อจะลดลง



รูปที่ 1 Syphilis Serological Profiles[2]

และหายไปในที่สุด ส่วนแอนติบอดีที่จำเพาะต่อตัวเชื้อชนิด IgM ก็จะหายไป แต่ชนิด IgG จะคงอยู่ในกระแสเลือดได้นานหรือตลอดชีวิต

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. Direct detection of *T. pallidum* คือการตรวจหาเชื้อโดยตรงจากสิ่งส่งตรวจ ทำได้หลายวิธี คือ

1.1 Rabbit infectivity test (RIT) เป็น gold standard สำหรับประเมินค่าความไวของวิธีทดสอบอื่นๆ โดยการฉีดตัวอย่างที่สงสัยว่ามีเชื้อ *T. pallidum* เข้าไปในอัณฑะของกระต่าย[3] กระต่ายจะไม่แสดงอาการของโรคซิฟิลิส แต่จะสร้างแอนติบอดีตอบสนองในลักษณะเดียวกับที่พบในคน ทดสอบหา syphilis antibodies ในกระต่ายเป็นระยะ ถ้าตรวจไม่พบแอนติบอดีหลัง 90 วัน แปลผลได้ว่า ไม่มีเชื้อ *T. pallidum* จากตัวอย่างตรวจ

เนื่องจากยังไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อ *T. pallidum* แบบ in vitro ได้ ดังนั้น RIT จึงเป็นวิธีเดียวที่จะใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนของ *T. pallidum* เพื่อการวิจัยหรือผลิตแอนติเจนของตัวเชื้อ

RIT เป็นวิธีที่ยุ่งยาก ซับซ้อนใช้เวลานานและต้องเลี้ยงกระต่าย จึงไม่สามารถใช้ในงานตรวจวินิจฉัยทั่วไปได้

1.2 Dark-field (DF) microscopy เป็นการตรวจหาเชื้อ *T. pallidum* สดในน้ำเกลือ สังเกตลักษณะรูปร่างและการเคลื่อนไหวด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด dark field

1.3 Direct fluorescent antibody (DFA) test โดยใช้แอนติบอดีต่อ *T. pallidum* ที่ติดสลากสารเรืองแสงทำปฏิกิริยากับตัวเชื้อ *T. pallidum* ในตัวอย่างตรวจโดยตรง แล้วนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเรืองแสง (fluorescent microscope)

การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทั้งสองวิธี อาจให้ผลบวกปลอมจากเชื้อแบคทีเรียอื่นที่เป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) ซึ่งมีลักษณะรูปร่างคล้ายคลึงกับ *T. pallidum* โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวอย่างตรวจจากปากและระบบสืบพันธ์

ความไวของการตรวจวิธี DF และ DFA อยู่ที่ร้อยละ 73-79 และร้อยละ 73-100 ตามลำดับ[4,7] เหมาะสำหรับวินิจฉัยโรคซิฟิลิสระยะแรกที่ร่างกายยังไม่สร้างแอนติบอดีต่อเชื้อหรือสร้างน้อย เช่น ระยะ primary และ early congenital syphilis ในเด็กทารก

อย่างไรก็ตามวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์นี้ทำได้ค่อนข้างยาก ต้องการวิธีการเก็บตัวอย่างที่ถูกต้องเหมาะสม ผู้ทำการทดสอบต้องมีความชำนาญในการอ่านผล อาจพบผลลบปลอมจากตัวอย่างตรวจที่มีปริมาณเชื้อจำนวนน้อย หรือมีเศษเซลล์ (cell debries) เจือปนมาก นอกจากนี้ยังต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเรืองแสง ซึ่งราคาแพง ต้องทดสอบหาตัวเชื้อสดในตัวอย่างทีละราย จึงไม่เหมาะที่จะใช้ในงานตรวจประจำวันทั่วไป

2. Serological tests โดยการตรวจหาแอนติบอดีในซีรั่มหรือพลาสมา ประกอบด้วย

2.1 Non-treponemal antibody test หรือ non-specific treponemal antibody test หรือ reagin test เป็นวิธีตรวจหาแอนติบอดีชนิดไม่จำเพาะต่อ

แอนติเจนของ *T. pallidum* โดยตรวจหาแอนติบอดีต่อสาร phospholipid โดยใช้ cardiolipin ซึ่งสกัดจากกล้ามเนื้อหัวใจวัว เป็นแอนติเจน ร่วมกับ cholesterol และ lecithin ปัจจุบันมักนิยมเรียกแอนติบอดีชนิดนี้ว่า Anti-cardiolipin antibody ได้แก่

2.1.1 Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) เป็นวิธีทดสอบหา non-treponemal antibody ดั้งเดิมด้วยหลักการของ flocculation แต่ต้อง inactivate ซีรั่มก่อนเพื่อทำลายคอมพลีเมนท์ที่มีผลต่อการทำปฏิกิริยา อ่านผลปฏิกิริยาโดยดูการเกิด flocculation ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา วิธี VDRL ต้องใช้ซีรั่มเป็นตัวอย่างตรวจ ไม่สามารถใช้พลาสมาได้ และเป็นวิธีตรวจใน CSF เพื่อวินิจฉัย neurosyphilis

2.1.2 Rapid Plasma Reagin (RPR) มีหลักการคล้ายคลึงกับวิธี VDRL ใช้ตรวจหา non-treponemal antibody ในซีรั่มหรือพลาสมา แต่แนะนำให้ใช้ซีรั่มเป็นตัวอย่างตรวจเพราะสามารถตรวจได้ทั้ง non-treponemal และ treponemal antibody

RPR มีหลักการตรวจคล้ายคลึงกับ VDRL แต่ไม่ต้อง inactivate ตัวอย่าง เพราะมีส่วนผสมของ Choline chloride ซึ่งยับยั้งการทำงานของคอมพลีเมนท์ และยังประกอบด้วย EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) ที่ช่วยรักษาสภาพของ cardiolipin-cholesterol-lecithin ให้คงสภาพ ไม่ต้องเตรียมบ่อยๆ เช่นเดียวกับน้ำยา VDRL นอกจากนี้การเติมผงถ่าน (carbon particle) ในน้ำยา RPR ช่วยให้อ่านปฏิกิริยา flocculation ได้ด้วยตาเปล่า ไม่ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ช่วย จึงทำให้การทดสอบสะดวก ง่าย และทำได้ครั้งละหลายๆ ราย นอกจากนี้ยังมีราคาถูกอีกด้วย แต่วิธี RPR ใช้ตรวจใน CSF ไม่ได้

VDRL และ RPR มีความสามารถตรวจแอนติบอดีแบบรวมทั้งชนิด IgM และ IgG ทำได้ทั้งการตรวจแบบคุณภาพ (qualitative) ว่ามีหรือไม่มีแอนติบอดีในสิ่งส่งตรวจ หรือตรวจแบบกึ่งปริมาณ (semiquantitative) เพื่อหาความแรงของแอนติบอดี โดยหาเป็นไตเตอร์ ด้วยการเจือจางซีรั่มแบบ two-fold dilution หาค่าของ titer ซึ่งหมายถึง ส่วนกลับของ dilution สุดท้ายของซีรั่มที่ให้ผลบวก

VDRL/RPR titer มีประโยชน์สำหรับช่วยวินิจฉัยระยะของโรคและติดตามการรักษา หรือการดำเนินของโรค ตัวอย่างเช่น ในกรณีติดเชื้อระยะแรก จะพบการเพิ่มขึ้นของ titer เป็น 4 เท่าหรือมากกว่า ภายในระยะเวลาประมาณ 4 สัปดาห์ และเมื่อได้รับการรักษา VDRL/RPR titer จะลดลงอย่างน้อย 4 เท่า ภายใน 3-4 เดือน และลดลง 8 เท่าภายใน 6-8 เดือน[8,9] โดยทั่วไป primary syphilis ที่ตอบสนองต่อการรักษา แอนติบอดีไตเตอร์จะลดลงอย่างต่อเนื่องและจะตรวจไม่พบภายใน 1 ปี[10,11] อย่างไรก็ตามในกรณีที่มีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของ VDRL/RPR titer ประมาณ 4 เท่าภายหลังการรักษา แสดงถึงการรักษาไม่ได้ผล หรือรักษาไม่เพียงพอ หรือการติดเชื้อซ้ำ จะต้องทำการรักษาใหม่ต่อไป นอกจากนี้ยังพบกรณีของ serofast ในผู้ติดเชื้อที่ได้รับการรักษาอย่างถูกต้องเพียงพอและหายจากโรคแล้ว แต่ยังให้ผล VDRL/RPR titer ต่ำๆ ตลอดเวลาได้บ้าง

Biological false positive (BFP)inVDRL/RPR

การตรวจหาแอนติบอดีต่อ cardiolipin หรือแอนติบอดีชนิดไม่จำเพาะต่อเชื้อ *T. pallidum* ให้ผลบวกกับผู้ป่วยโรคอื่นๆ ได้ ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยโรคติดเชื้อ เช่น ไวรัสตับอับเสบ วัณโรค โรคเรื้อน เป็นต้น และพบได้ร้อยละ 1-2 ในหญิงตั้งครรภ์ นอกจากนี้ยังพบในผู้ป่วยโรคออโตอิมมูน หรือผู้สูงอายุ โดยที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ *T. pallidum* ซึ่งเรียกว่า biological false positive (BFP) โดยทั่วไปมักพบไตเตอร์ไม่เกิน 8 ยกเว้นในกลุ่มผู้ติดยาเสพติดชนิดฉีดเข้าเส้นพบ BFP ไตเตอร์สูงกว่า 8 ได้ถึงร้อยละ 10[12] ในประเทศไทยเคยมีการรายงาน BFP ด้วยวิธี VDRL โดยศาสตราจารย์แพทย์หญิงสดใส เวชชาชีวะ[13] ดังนี้

VDRL titer	% Biological false positive
1:1 - 1:4	13%
1:8	1.8%
1:16	0.73%
1:32	0%

อนึ่งการทดสอบ VDRL/RPR อาจให้ผลผิดพลาดได้ ถ้าอุณหภูมิที่ทำการทดสอบไม่เหมาะสม กล่าวคือ ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 23 องศาเซลเซียส การทำปฏิกิริยาจะลดลง และที่อุณหภูมิสูงกว่า 29 องศาเซลเซียส การทำปฏิกิริยาจะสูงขึ้นกว่าความเป็นจริง ดังนั้นจึงควรทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 23-29 องศาเซลเซียส เพื่อหลีกเลี่ยงผลบวกปลอมหรือลบปลอม[14]

2.2 Treponemal antibody test (specific treponemal antibody test) เป็นวิธีการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ *T. pallidum* ในซีรัมและ CSF สามารถตรวจได้ทั้งแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG หรือ ทั้ง 2 ชนิดรวมกัน (total antibodies) การตรวจพบแอนติบอดีชนิด IgG หรือ total antibodies (IgM+IgG) บ่งชี้ถึงร่องรอยการติดเชื้อซิฟิลิส ซึ่งอาจยังติดเชื้ออยู่ หรือไม่มีเชื้อแล้วก็ตาม ดังนั้นจึงไม่เหมาะสำหรับใช้ติดตามผลการรักษา หรือติดตามการดำเนินโรค มีหลายวิธี ได้แก่

2.2.1 Treponema pallidum immobilization (TPI) อาศัยหลักการ complement fixation test ให้ซีรัม ทำปฏิกิริยากับ living *T. pallidum* (Nichols strain) แอนติบอดีในซีรัมและคอมพลีเมนท์จะทำปฏิกิริยาอย่างจำเพาะกับตัวเชื้อ หยุดการเคลื่อนไหวของเชื้อ *T. pallidum* อ่านผลปฏิกิริยาด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด dark field วิธีนี้ในปัจจุบันมิได้ใช้ทั่วไป เพราะต้องใช้ *T. pallidum* ที่มีชีวิต วิธีการยุ่งยาก นอกจากนี้ยังมีความจำเพาะน้อยกว่าวิธีอื่น[15,16]

2.2.2 Fluorescent terponemal antibody absorption test (FTA-ABS) อาศัยหลักการ Indirect immunofluorescent antibody test ตรวจได้ทั้งแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG โดยใช้ตัวเชื้อ *T. pallidum* : Nichols strain เป็นแอนติเจนป้ายบนสไลด์ และเพิ่มขั้นตอนการดูดซับ non-specific antibody ออกจากซีรัมด้วย sorbent ที่ได้จาก *T. phage-denis* : Reiter strain เพื่อป้องกัน non-specific reaction แล้วนำซีรัมที่ดูดซับแล้วมาทำปฏิกิริยากับแอนติเจนบนแผ่นสไลด์ แล้วย้อมด้วยสารเรืองแสงที่ติดสลากบน anti-human IgG หรือ IgM ตามชนิดที่ต้องการทดสอบ นำไปอ่านผลดูการเรืองแสงด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดเรืองแสง กรณีผลบวกจะเห็นแสงเรืองบนตัวเชื้อ แสดงถึงมีแอนติบอดีที่จำเพาะต่อตัวเชื้อหรือร่องรอยการติดเชื้อซิฟิลิส แต่ถ้าไม่มีแอนติบอดีจะมืดไปทั้งสไลด์ จึงได้มีการประยุกต์วิธี FTA-ABS double staining (FTA-ABS DS) โดยย้อมสีเพิ่มอีกขั้นตอนหนึ่งก่อนอ่านผลด้วย anti-treponema antibody ที่ติดสลากกับสารเรืองแสงอีกชนิดหนึ่ง การอ่านผลอาศัยดูการเรืองแสงของสีที่แตกต่างกันด้วย filter ของกล้องจุลทรรศน์ที่เหมาะสมสำหรับสารเรืองแสงแต่ละชนิด วิธีนี้ช่วยให้มั่นใจว่าผลลบที่อ่านได้ มิได้เกิดจากการหลุดรอกของตัวเชื้อบนแผ่นสไลด์ระหว่างการทดสอบ

2.2.3 Passive agglutination test เป็นวิธีทดสอบหา treponemal antibodies โดยใช้แอนติเจนจากเชื้อ *T. pallidum* มาเคลือบบนตัวกลาง เช่น เม็ดเลือดแดง หรือเม็ดเจลาติน เป็นต้น โดยมีหลักการการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีในซีรัมกับ *T. pallidum* specific antigens ที่เคลือบอยู่บนตัวกลางเหล่านั้น แล้วเกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง หรือเม็ดเจลาตินมองเห็นด้วยตาเปล่า ในขณะที่ผลลบจะไม่เกิดการจับกลุ่มของอนุภาคเหล่านั้น ตัวอย่างของการทดสอบในหลักการนี้ได้แก่ microhemagglutination treponemal pallidum test (MHA-TP) หรือ treponema pallidum hemgglutination test (TPHA) ซึ่งใช้เม็ดเลือดแดงเป็นตัวกลาง ในปัจจุบันไม่มีการผลิตน้ำยา

MHA-TP แล้ว นอกจากนี้ยังมี TP-PA หรือ treponema pallidum particle agglutination ซึ่งใช้เม็ดเจลาตินเคลือบสี sensitized ด้วย *T. pallidum* antigen : Nichols strain ทดสอบในตัวอย่างตรวจได้ทั้งในซีรั่มและพลาสมา

2.2.4 Enzyme Immunoassay (EIA) เทคนิคที่ใช้ความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยสาร เพื่อบ่งถึงการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี ได้ถูกพัฒนามาใช้ช่วยในการหา non -specific treponemal antibodies เช่น Visuwell Reagin test และการหา specific treponemal antibodies เช่น Captia syphilis, Mor G test, RecomWell Treponema test, Spirotek, ICE Syphilis (Immunecapture EIA), EIA-Tmp A (recombinant treponemal antigen ELISA) และ Bio ELISA เป็นต้น มีทั้งชนิดที่ใช้ตรวจหาเฉพาะ IgM antibody, IgG antibody หรือ total antibodies (IgM+IgG) อาศัยหลักการแตกต่างกันไป เช่น indirect ELISA, sandwich ELISA, competitive ELISA, IgM capture ELISA เป็นต้น[17] การเลือกใช้น้ำยาจะต้องศึกษารายละเอียดหลักการทดสอบ วิธีทดสอบ คุณสมบัติ และผลการประเมินประสิทธิภาพด้านความไวและความจำเพาะ ราคาน้ำยาให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ ความจำเป็น และความคุ้มค่าของการทดสอบ

2.2.5 Immunoblot (IB) คือเทคนิคที่ใช้ในหลักการ Western blot เพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อโปรตีนส่วนต่างๆ ของ *T. pallidum* ตามขนาดของน้ำหนักโมเลกุลที่แยกด้วย gel-electrophoresis แล้วนำไป blot ลงบน nitrocellulose membrane เป็นแถบแอนติเจนสำหรับทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีในซีรัม ด้วยหลักการ indirect ELISA อย่างไรก็ตาม ถึงแม้วิธี IB จะให้ความไวและความจำเพาะในการตรวจหา specific treponema antibody ได้ค่อนข้างสูง (ตารางที่ 1) มีประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัย congenital syphilis[18] แต่วิธีทำค่อนข้างยุ่งยาก ใช้เวลา อ่านผลและแปลผลยาก และราคาค่อนข้างแพง นอกจากนี้ยังพบผลบวกปลอมในโรคติดเชื้อชนิดอื่นด้วย

3. การตรวจหา DNA ด้วยเทคนิค PCR เทคนิค PCR ถูกนำมาใช้ตั้งแต่ ค.ศ. 1990 เพื่อตรวจหา DNA ของ *T. pallidum*[19] และได้มีการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่อง โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะใช้ตรวจการติดเชื้อ ในระยะแรกติดเชื้อ late latent syphilis, neurosyphilis และ congenital syphilis ที่ไม่แสดงอาการ ซึ่งการตรวจด้วยเทคนิคทางซีโรซีย์มีความไวไม่เพียงพอ ผลการศึกษาพบว่าการใช้ whole blood เป็นตัวอย่างจะให้ผลความไวสูงกว่าการใช้ซีรัมในวิธี PCR[20] นอกจากนี้ยังพบว่าการศึกษาในสัตว์ทดลองวิธี PCR ให้ผลสอดคล้องกับวิธี RIT ร้อยละ 100 บ่งถึงภาวะที่มีเชื้อ *T. pallidum* ในกระแสเลือด[21] อย่างไรก็ตามเทคนิค PCR มีข้อจำกัดหลายด้าน ทั้งในแง่ของความยุ่งยากของวิธีทดสอบ ต้องใช้เครื่องมือและน้ำยาที่มีราคาแพง ตลอดจนโอกาสปนเปื้อนที่จะให้ผลบวกปลอมจากเทคนิคการทดสอบ นอกจากนี้การศึกษาวิจัยด้านประสิทธิภาพและประสิทธิผลต่อการวินิจฉัยซิฟิลิส ในผู้ป่วยซิฟิลิสยังมีน้อย จำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติม

ความสำคัญและความสัมพันธ์ของแอนติบอดีชนิดที่ไม่จำเพาะและจำเพาะต่อเชื้อ *T. pallidum*

การตรวจหาแอนติบอดีต่อ cardiolipin หรือ non-specific treponemal antibody แม้ว่าจะมีความจำเพาะต่ำ คือ มี biological false positive แต่ก็มีความจำเป็นต้องใช้ตรวจร่วมกับ specific treponemal antibody เพื่อประเมินภาวะติดการเชื้อ และติดตามผลการรักษาโรคนี้เสมอ เนื่องจากว่าหากพบผลบวกและยืนยันด้วยการตรวจพบแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ *T. pallidum* แสดงว่ากำลังติดเชื้อจริง แอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ *T. pallidum* จะมีอยู่ในร่างกายผู้นั้นเป็นสิบปียี่สิบปีหรือตลอดชีวิต บ่งชี้ถึงร่องรอยการติดเชื้อ

ตารางที่ 1 Sensitivity and specificity in various stages of syphilis by different tests

Tests	Sensitivity				specificity	reference
	primary	secondary	early latent	late latent		
VDRL	78(74-87)	100	95(88-100)	71(37-94)	98(96-99)	26
RPR	86(77-99)	100	98(95-100)	73	98(93-99)	27
FTA-ABS	84(70-100)	100	97(97-100)	96	97(94-100)	14
FTA-ABS-DS	80(69-90)	100	100		98(97-100)	14
MHA-TP	76(69-90)	100	97(97-100)	94	99(98-100)	14
Immunoblot*	90	98	100		99	18
Spirotek**	93	100	100		94	28
RecomWell**	89	100	100	100	97	29
Syphilis screening ELISA**	84	100	100	100	95	29
Captia syphilis M***	82-94	85	100		97-100	30,31

* = Westerm blot principle; ** = Enzyme immunoassay principle; *** = IgM capture EIA principle

ตารางที่ 2 Interpretation of Syphilis Serological Testing

VDRL/RPR	TPHA	FTA-ABS	
-	-	-	Non treponemal disease or incubation period
+	-	-	Biological false positive
-	+	+	Treated treponemal disease
+	+	+	Treponemal disease or untreatment or during treatment
-	-	+	Early or treponemal disease
+	-	+	1° syphilis or old treponemal disease --> repeat testing
+	+	-	Problem serum --> repeat testing

ซิฟิลิส แต่แอนติบอดีต่อ cardiolipin จะลดลง และหายไปเมื่อได้รับการรักษาอย่างพอเพียง การลดหรือหายของแอนติบอดีที่ไม่จำเพาะต่อเชื้อขึ้นอยู่กับระยะเวลาของการเป็นโรคนี้ หากเป็นนาน หรือได้รับการรักษาช้า แม้ได้รับยาที่เพียงพอแล้ว แต่ระดับแอนติบอดีชนิดนี้จะใช้เวลาในการลดลงหรือหายไป ผู้ป่วยระยะ primary syphilis ที่ได้รับการรักษาจะหายไปใน 3 เดือน ส่วนระยะอื่นๆ จะหายไปภายในปีครึ่งถึงสองปี และมีบางกรณีแม้ได้รับการรักษาอย่างเพียงพอแล้วแต่ระดับแอนติบอดีต่อ cardiolipin ยังพบในระดับต่ำๆ นานกว่า 2 ปี กรณีนี้เรียกว่า serofast ซึ่งไม่ได้เป็นโรคแล้วแต่ยังมีแอนติบอดีต่อ cardiolipin ค้างอยู่ บ่งถึงมีการติดเชื้อซ้ำ (reinfection) หรือ BFP[17]

ไตเตอร์ที่สูงของแอนติบอดีต่อ cardiolipin จะบ่งชี้ภาวะติดเชื้อได้ดีกว่าไตเตอร์ต่ำๆ นั่นคือ ที่ไตเตอร์ต่ำๆ พบว่าเป็น BFP ได้มากกว่าไตเตอร์สูง มีข้อมูลที่ศึกษา

ในประเทศไทยโดยศาสตราจารย์แพทย์หญิงสดใส เวชชาชีวะ[13] พบว่าไตเตอร์ของ VDRLน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 มี BFP ประมาณร้อยละ 13 ที่ 8 และ 16 มี BFP ร้อยละ 1.8 และร้อยละ 0.76 ตามลำดับ ในขณะที่ไตเตอร์ 32 ไม่พบ BFP

การเพิ่มขึ้นของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อก่อโรค[23] ซิฟิลิสอย่างมีนัยสำคัญคือเพิ่มมากกว่า 4 เท่าในระยะเวลาที่ตรวจห่างกันตั้งแต่ 2 สัปดาห์ขึ้นไป สามารถบ่งชี้ว่าผู้ป่วยกำลังมีการติดเชื้ออยู่มิใช่เกิดจากการเคยติดเชื้อและหายแล้ว แต่โดยทั่วไประดับแอนติชนิดนี้จะเพิ่มสูงในระยะเวลาอันสั้น ในทางปฏิบัติจึงมักจะตรวจไม่ค่อยทัน

ระดับแอนติบอดีทั้งชนิดที่ไม่จำเพาะและจำเพาะต่อ *T. pallidum* ไม่สามารถบอกความรุนแรงของโรค นั่นคือ ผู้ติดเชื้อที่มีไตเตอร์ของแอนติบอดีสูงมากมิได้แสดงว่ามีอาการของโรครุนแรง หรือมีพยาธิสภาพที่รุนแรง แต่ถ้าปริมาณแอนติบอดีต่อ cardiolipin สูง อาจเกิด prozone และให้ผลการทดสอบเป็นลบปลอมได้ เมื่อทดสอบด้วยหลักการ flocculation โดยเฉพาะเมื่อเป็นโรคในระยะ secondary syphilis จะพบได้ร้อยละ 1-2[22,] ดังนั้นหากสงสัยต้องเจือจางซีรัมในการทดสอบด้วย (ไม่เกิน 1:16)

การตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อตัวเชื้อชนิด IgM จะสามารถจำแนกถึงภาวะที่ร่างกายกำลังติดเชื้อหรือเคยติดเชื้อ หรือได้รับแอนติบอดีจากมารดาโดยเฉพาะในทารกที่สงสัยว่าเป็น congenital syphilis ในทารกการตรวจแอนติบอดีชนิด IgM จะมีประโยชน์ เพราะแอนติบอดีชนิด IgG จากมารดาสามารถผ่านมาสู่ทารกได้ทางรก (placenta) หรือการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อชนิด IgG ในกรณีผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็น neurosyphilis จะไม่ช่วยในการวินิจฉัย เพราะแอนติบอดีชนิด IgG ในกระแสเลือดก็สามารถผ่านเข้าไปในน้ำไขสันหลัง (IgG สามารถผ่าน blood brain barrierได้)

วิธีการทดสอบที่ดีที่สุดสำหรับ neurosyphilis ก็คือ การตรวจหาแอนติบอดีทั้งที่จำเพาะและไม่จำเพาะต่อเชื้อในซีรัม และตรวจ VDRL ในน้ำไขสันหลัง (CSF-VDRL) ร่วมกับการตรวจวิเคราะห์น้ำไขสันหลัง (CSF examination) เพิ่มเติม

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัย Neurosyphilis

Neurosyphilis เกิดจากการติดเชื้อซิฟิลิสและเชื้อเข้าไปสู่ระบบประสาทส่วนกลาง ผู้ป่วยกว่าร้อยละ 50 ไม่มีอาการแสดงของโรคแต่ก็สามารถกลับมาแสดงอาการอีกได้ มีบางรายที่ไม่แสดงอาการเลยตลอดชีวิต การตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อตัวเชื้อชนิด IgM ในน้ำไขสันหลังจึงมีความสำคัญ เพราะเป็นการแสดงว่าเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันในระบบประสาทส่วนกลางสร้างแอนติบอดีชนิดนี้ขึ้นมาเอง มิใช่จากการส่งผ่านแอนติบอดีชนิด IgG จากกระแสเลือดเข้าสู่ไขสันหลังทาง blood brain barrier แต่การตรวจ VDRL ในน้ำไขสันหลังก็มีความจำเพาะต่อการบ่งชี้ neurosyphilis และทั้งนี้ควรตรวจน้ำไขสัน (CSF examination) ร่วมด้วย CSF examination เป็นการทดสอบที่มีความจำเพาะต่ำแต่มีความไวมากที่สุดสำหรับ อาการดำเนินของ neurosyphilis คือ จะพบ mononuclear cells มากกว่า 5 เซลล์/ลบ.มม. ระดับโปรตีนมากกว่า 40 มก./ดล. ระดับน้ำตาลปกติ การรักษา neurosyphilis ที่ได้ผลดีจะพบผลการตรวจน้ำไขสันหลังลดลงสู่ระดับปกติก่อนการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัย congenital syphilis

มารดาที่ติดเชื้อซิฟิลิสและไม่ได้รับการรักษา สามารถส่งผ่านเชื้อสู่ทารกได้โดยผ่านทางรก (placenta) หรือทารกติดเชื้อในขณะคลอด โอกาสที่ทารกในครรภ์จะติดเชื้อจากมารดามีมากหรือน้อยขึ้นกับระยะของโรคของ

มารดาหากมารดาเป็นซิฟิลิสในระยะ secondary ทารกมีโอกาสเชื้อร้อยละ 100 หรือร้อยละ 40-80 เมื่อมารดาติดเชื้อระยะearly latent หรือ ประมาณร้อยละ 30 เมื่อมารดาติดเชื้อระยะ late latent[24] ทารกที่ติดเชื้อผ่านทางรกมีโอกาสแท้ง คลอดก่อนกำหนด เสียชีวิตตั้งแต่อยู่ในครรภ์มารดา หรือเสียชีวิตหลังคลอด เชื่อว่าเชื้อ *T. pallidum*สามารถไชผ่านรกได้ตั้งแต่อายุครรภ์ 2-4 เดือน แต่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงพยาธิภาพในทารกเมื่อมีอายุครรภ์ 5 เดือน ทารกติดเชื้ออาจมีอาการเล็กน้อยเมื่อคลอด และมีอาการชัดเจนหลังคลอด 3 สัปดาห์ถึง 6 เดือน ซึ่งจัดเป็นการติดเชื้อแต่กำเนิดแบบ early congenital syphilis ทารกที่ติดเชื้อแต่แสดงอาการเมื่ออายุ 2 ปีขึ้นไป จัดเป็นกลุ่มติดเชื้อซิฟิลิสแบบ late congenital syphilis อาการแสดงของโรคคล้ายกับอาการแสดงของโรคระยะ secondary syphilis ในผู้ใหญ่ หากไม่ได้รับการรักษาก็จะมีพยาธิดำเนินเหมือนผู้ใหญ่

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัย congenital syphilis อาจมีปัญหาจากแอนติบอดีที่จำเพาะและไม่จำเพาะชนิด IgG ของมารดาซึ่งสามารถผ่านรกจากมารดาสู่ทารกได้ จึงจำเป็นต้องหาแอนติบอดีชนิด IgM ที่ทารกสร้างขึ้นเอง และไม่สามารถผ่านรกได้ โดยวิธี IgM FTA-ABS แต่จากการศึกษาพบว่าวิธีนี้ให้ผลลบปลอมถึงร้อยละ 20-39[24] อาจเกิดจากทารกยังมีการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันไม่เต็มที่ และอาจมีผลบวกปลอมจาก rheumatoid factor ได้ (เกิดจากทารกสร้างแอนติบอดีต่อ IgG ของมารดาที่ผ่านรกเข้าสู่ทารก) หรืออาจใช้วิธีเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีในทารกกับมารดา หากระดับแอนติบอดีในทารกสูงกว่าแอนติบอดีในมารดาอย่างมีนัยยะ คือมากกว่า 4 เท่า แสดงว่าแอนติบอดีที่มีระดับสูงในทารกเกิดจากการสร้างแอนติบอดีของทารกเอง บ่งชี้ถึงการติดเชื้อแต่กำเนิดจริง แต่พบว่ามีทารกที่ติดเชื้อแต่กำเนิดสร้างแอนติบอดีสูงกว่ามารดาเพียงร้อยละ 22[25] หากทารกไม่ติดเชื้อจากมารดาระดับ IgG ที่ได้รับจากมารดาควรลดลงอย่างมีนัยยะสำคัญภายใน 4 เดือนหลังคลอด ซึ่งแสดงว่าแอนติบอดีที่ได้รับมาถูกแคทตาโบไลซ์หมดไป ดังนั้นการป้องกันซิฟิลิสแต่กำเนิด มารดาจึงควรที่จะได้รับการฝากครรภ์ที่ดี และได้รับการรักษาที่เพียงพอหากเป็นโรคซิฟิลิสติด

ความไวและความจำเพาะของการทดสอบหาแอนติบอดีทั้งแบบที่ไม่จำเพาะและจำเพาะต่อเชื้อก่อโรคซิฟิลิส

การตรวจหาแอนติบอดีชนิดต่างๆ ที่เกิดจากการติดเชื้อ *T. pallidum* มักไม่มีปัญหาเมื่อมีการติดเชื้อในระยะ secondary syphilis คือตรวจได้ร้อยละ 100 ทุกวิธีการทดสอบ แต่จะพบปัญหาในระยะ primary, late latent syphilis หรือ congenital syphilis ซึ่งในระยะแรกของการติดเชื้อร่างกายเริ่มสร้างแอนติบอดี หรือมีการสร้างแอนติบอดีลดลงในระยะที่เชื้อแฝงอยู่ในร่างกาย ใน congenital syphilis ระบบภูมิคุ้มกันของทารกยังพัฒนาไม่เติมที่ นอกจากนี้การสร้างแอนติบอดียังขึ้นกับการตอบสนองของผู้ป่วยแต่ละคนด้วย (individual response) ทำให้การทดสอบต่างๆ ที่ใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีที่มีหลักการและวิธีการที่ต่างกัน มีความไวและความจำเพาะในการทดสอบต่างกัน การประเมิน (evaluation) ความไวและความจำเพาะของการทดสอบของแต่ละหลักการและวิธีการในแต่ระยะของโรคจึงมีความสำคัญดูตารางที่ 1

ปัจจุบันประชากรมีความรู้เกี่ยวกับโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์มากขึ้น รู้จักวิธีป้องกันโรคและดูแลตนเองได้เร็วเมื่อมีอาการแสดงของโรค รวมทั้งวงการแพทย์ได้พัฒนาวิธีการป้องกัน การวินิจฉัย และการรักษาที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นเช่นกัน ทำให้พบผู้ป่วยรายใหม่น้อยลง การประเมินความไวและความจำเพาะของน้ำยาในระยะต่างๆ ของโรคจึงค่อนข้างยาก เนื่องจากตัวอย่างน้อยและไม่หลากหลาย ดังนั้นวิธีการทดสอบใหม่ๆ ที่พัฒนาขึ้นมาจึงมักประเมินโดยรวมๆ หรือประเมินด้วยการเทียบกับวิธีเดิมที่ยอมรับว่ามีความสอดคล้องตรงกัน

การทดสอบทางห้องปฏิบัติการ สำหรับช่วยวินิจฉัยโรคซิฟิลิสที่เป็นที่นิยมและยอมรับในปัจจุบันยังเป็นการทดสอบเพื่อหาแอนติบอดีทั้งชนิดที่จำเพาะและไม่จำเพาะต่อเชื้อก่อโรค และใช้ร่วมกันเสมอในการช่วยวินิจฉัยและติดตามการรักษา การหาแอนติบอดีชนิดที่จำเพาะต่อเชื้อก่อโรคมีการทดสอบหลายหลักการ มีการพัฒนาวิธีการใหม่ๆ เพื่อเพิ่มความไวและความจำเพาะในการทดสอบ ที่เห็นชัดเจนคือ การพัฒนา recombinant antigen เฉพาะส่วนที่มีความจำเพาะต่อตัวเชื้อก่อโรคสูง และผลิตได้ปริมาณมากๆ ในเวลาอันรวดเร็ว และเป็นส่วนที่ร่างกายของผู้ป่วยสามารถสร้างแอนติบอดีขึ้นมาต่อต้านได้ ซึ่งมักนำไปใช้ในหลักการ EIA, Immuno Blot รวมทั้งพัฒนาให้ใช้ได้กับเครื่องอัตโนมัติสำหรับตรวจสิ่งส่งตรวจจำนวนมากๆ โดยยังคงใช้หลักการ EIA เป็นส่วนใหญ่ ส่วนการทดสอบที่ทดสอบสิ่งส่งตรวจจำนวนน้อยๆ หรือนานๆ ตรวจครั้งมักใช้หลักการ immuno chromatography แม้จะมีความไวและความจำเพาะต่ำกว่าบ้าง แต่สะดวกรวดเร็วและประหยัดกว่า

การตรวจทางห้องปฏิบัติการที่กล่าวมาทั้งหมดแม้ว่าจะช่วยวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคซิฟิลิสได้ดี แต่ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการอย่างเดียวยังไม่สามารถแยกโรคซิฟิลิสออกจากโรคคุดทะราด (Yaws) โรค Bejel และโรค Pinta ซึ่งโรคเหล่านี้มีสาเหตุจากเชื้อ *T. pallidum* subsp. *pertenue*, *T. pallidum* subsp. *endemicum* และ *T. caratecum* ซึ่งเป็นเชื้อในกลุ่มเดียวกับโรคซิฟิลิส แต่การเกิดโรคไม่ได้ติดจากเพศสัมพันธ์ (nonvenereal treponemal diseases) แต่โรคเหล่านี้พบได้น้อยยังไม่มีรายงานในคนไทย และยังไม่มีการประเมินความจำเพาะของการทดสอบในโรคเหล่านี้

เอกสารอ้างอิง

1. *Centers of Disease Control. Sexually transmitted diseases clinical practices guidelines. Centers of Disease Control, Atlanta 1991.*
2. *Muller F. New developments in the immunological understanding and of serodiagnosis in syphilis. Yonsei Med J 1985;26:18-23. Review.*
3. *Centers for Disease Control and Prevention. Passage and maintenance of Treponema pallidum by intratesticular infection of rabbits. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta. 1994.*
4. *Kennedy Jr EJ, Creighton ET. Darkfield microscopy for the detection and identification of T. pallidum. In: Larssen SA, Pope V, Johnson R, Kennedy Jr EJ (eds). A manual of tests for syphilis, 9th edition. Washington DC: Am Public Health Assoc 1998:120-34.*
5. *Daniels KC, Ferneyhough HS. Specific direct immunofluorescent antibody detection of Treponema pallidum. Health Lab Sci 1977;14:164-71.*
6. *Romanowski B, Forsey E, Prasad E, Lukehart SA, Tam M, Hook III EW. Detection of Treponemal pallidum by Fluorescent monoclonal antibody test. Sex Transm Dis 1987;14:156-9.*
7. *George RW, Hunter EF, Fears MB. Direct fluorescent antibody test for Treponemal pallidum (DFA-TP). In: Larssen SA, Pope V, Johnson R, Kennedy Jr EJ (eds). A manual of tests for syphilis, 9th edition. American Public Health Association Washington DC 1998: 135-46*
8. *Brown S, Zaidi T, Larsen SA, Reynolds GH. Serological response to syphilis treatment: a new analysis of old data. JAMA 1993;253:1296-9.*
9. *Jurado RL, Campbell J, Martin PD. Prozone phenomenon in secondary syphilis: Has its time arrive? Arch Intern Med 1993;153:2496-8.*
10. *Fiumara NJ. Treatment of early latent syphilis of less than on year's duration. Sex Transm Dis 1978;5: 85-8.*
11. *Fiumara NJ. Treatment of primary and secondary syphilis; serological response. JAMA 1980;243: 2500-2.*
12. *Larsen SA. Current status of laboratory tests for syphilis. In: Rippey J, Nakamuraa R (ed). Diagnostic immunology: Technology assessment. American College of Pathologist, Skokie III 1983:162-70.*
13. *สดใส เวชชาชีวะ. Syphilis Serology. ใน: สดใส เวชชาชีวะ (บรรณาธิการ) หลักการและการแปลผล: การศึกษาเรื่องแอนติเจน แอนติบอดี และภาวะภูมิคุ้มกัน. พิมพ์ครั้งที่ 1 โรงพิมพ์จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย 2521:46-52.*

14. *Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. Clin Microbiol Rev 1995;8:1-21. Review.*
15. *Hedersted B. Studies on the Treponemal pallidum immobilizing activity in normal human serum. 2 serum factors participating in the normal immobilization reaction. Acta Pathol Microbiol Scand Sect C 1976;84:135-41.*
16. *Rein MF, Banks GW, Logan LC, Larsen SA, Feeley JC, Kellogg DS, Wiesner PJ. Failure of the Treponema pallidum immobilization test to provide additional diagnostic information about contemporary problem sera. Sex Trans Dis 1980;7:101-7.*
17. *Wicher K, Horowitz HW, Wicher V. Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium. Microbes Infect 1999;1:1035-49. Review.*
18. *George RW, Pope V, Larsen SA. Treponemal Western Blot Test (TWB). In: Larssen SA, Pope V, Johnson R, Kennedy Jr EJ (eds). A manual of tests for syphilis, 9th edition. American Public Health Association Washington DC 1998:346-61.*
19. *Hay PE, Clarke JR, Strungnel RA, Taylor-Robinson D, Goldneire D. Use of the polymerase chain reaction to detect DNA sequences specific to pathogenic treponemes in cerebrospinal fluid. FEMS Microbiol. Lett 1990;68:233-8.*
20. *Wicher K, Noordhoek GT, Abbruscato F, Wicher V. Detection of Treponema pallidum in early syphilis by DNA amplification. J Clin Microb 1992;30:497-500.*
21. *Wicher K, Abbruscato F, Wicher V, Collins DN, Auger I, Horowitz HW. Identification of persistent infection in experimental syphilis by PCR. Infect Immun. 1998;66:2509-13*
22. *Jurado,RL, Campbell J, Martin PD. Prozone phenomenon in secondary syphilis: Has its time arrived: Arch Intern Med 1993;153:2496-8.*
23. *189 Spangler AS Jackson JH, Fiumara NJ, Warthin TA. Syphilis with a negative blood test reaction. JAMA 1964;284:87-90*
24. *Division of Neonatology, Cedars-Sinai Medical Centre, Los Angeles, California. Teaching files: Syphilis. WWW.neonatology.org/syllabus/syphilis.html.*
25. *Stoll BJ, Lee FK, Larsen SA, Hale E, Schwartz D, Rice RJ, Ashby R, Holmes R, Nahmias AJ. Improved serodiagnosis of congenital syphilis with combined assay approach. J Infect Dis 1993;167:1093-9.*
26. *Kennedy Jr EJ, Creighton ET. Venereal disease research laboratory (VDRL) slide tests. In: Larssen SA, Pope V, Johnson R, Kennedy Jr EJ (eds). A manual of tests for syphilis, 9th edition. American Public Health Association Washington DC. 1998: 157-78.*
27. *Larsen SA, Creighton ET. Rapid plasma reagin (RPR) in 18 mm circle card test. In: Larssen SA, Pope V, Johnson R, Kennedy Jr EJ (eds). A manual of tests for syphilis, 9th edition. American Public Health Association Washington DC, 1998:193-207*
28. *Pope V, Fears MB. Spirotek syphilis: An enzyme immunoassay for treponemal antibodies. In: Larssen SA, Pope V, Johnson R, Kennedy Jr EJ (eds). A manual of tests for syphilis, 9th edition. American Public Health Association Washington DC 1998: 318-31*
29. *Sambri V, Marangoni A, Simone MA, D'Antuono A, Negosanti M, Cevenini R. Evaluation of recom Well Treponema, a novel recombinant antigen-based enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of syphilis. Clin Microbiol Infect. 2001;7:200-5.*
30. *Lefevre JC, Bertrand MA, Bauriaud R. Evaluation of the Captia enzyme immunoassays for detection of immunoglobulins G and M to Treponema pallidum in syphilis. J Clin Microbiol 1990;28:1704-7.*
31. *Stoll BJ, Lee FK, Larsen S, Hale E, Schwartz D, Rice RJ, Ashby R, Holmes R, Nahmias AJ. Clinical and serologic evaluation of neonates for congenital syphilis: a continuing diagnostic dilemma. J Infect Dis 1993;167:1093-9.*

คติธรรมนำกำจัดจุดอ่อน

คนจะดีเพราะมีวินัย
คนเหลวไหลเพราะวินัยไม่มี

พระครูปริยัติปัญญาวุธ
วัดโคกงาม อ.ด่านซ้าย จ.เลย