บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การใช้แอนติเจนของ 3 เชื้อ (*L. interrogans*, *B. pseudomallei* และ *O. tsutsugamushi*) มาเคลือบแยกกันบนสไลด์หลุมเดียวกัน แล้วทดสอบกับกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 200 ตัวอย่างด้วยวิธี IgM-IFA พบว่าความไว ความจำเพาะ ประสิทธิภาพ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบ เป็นร้อยละ 86.0, 99.1, 93.0, 98.8 และ 88.3 ตามลำดับ โดยมีความสอดคล้องกันในระดับสูงกับวิธีมาตรฐานที่ระดับ κ = 0.85 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P-value < 0.05 พบผลบวกปลอมจากโรคเมลิออยโดซิสจากซีรัมของผู้ที่อยู่ในพื้นที่ระบาดจำนวน 1 ตัวอย่าง พบผลลบปลอมจากซีรัมผู้ป่วยโรคเมลิออยโดซิสจำนวน 13 ตัวอย่าง นอกจากนี้ ยังพบการติดเชื้อร่วมระหว่างโรคเมลิออยโดซิสกับโรคสครับไทฟัสจำนวน 1 ตัวอย่างอีกด้วย ซึ่งวิธีการทดสอบที่พัฒนาขึ้น จะมีประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการตรวจวินิจฉัยระยะเริ่มแรกในผู้ป่วยทั้งสามโรคและผู้ป่วยที่ติดเชื้อร่วมกันภายในการทดสอบเดียว ซึ่งจะช่วยประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายของการทดสอบอีกด้วย

อภิปรายผล

จากการศึกษานี้ พบว่าวิธี IgM-IFA สำหรับการวินิจฉัยโรคในกลุ่มไข้ไม่ทราบสาเหตุทั้งสามโรคมีค่าความสอดคล้องในระดับสูงกับผลการวินิจฉัยโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (κ = 0.85 p-value < 0.05) ซึ่ง Appassakij H และคณะ (Appassakij H. 1995) พบว่าวิธี IFA ในการทดสอบหาแอนติบอดีต่อเชื้อเลปโตสไปรามีความไวและความจำเพาะอยู่ในระดับสูงถึง 84-100% ในขณะที่อรุณ และคณะ (อรุณ ชูศรียิ่ง. 2546) ที่ได้ดัดแปลงวิธีดังกล่าวขึ้นก็พบว่ามีความสัมพันธ์กันในระดับสูงโดยการทดสอบสหสัมพันธ์ (r = 0.88-0.94) กับการตรวจด้วยแอนติเจนเพียงชนิดเดียวเช่นกัน

ผู้วิจัยพบว่ามีผลบวกปลอมเกิดขึ้น 1 ตัวอย่างจากซีรัมของผู้ที่อยู่ในพื้นที่การระบาดของจังหวัดบุรีรัมย์ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าเป็นผู้ที่เคยติดเชื้อ *B. pseudomallei* มาก่อนทำให้ระดับแอนติบอดีสูงเกินกว่าค่าตัดสินผลบวกที่เลือกใช้คือ 1:200 ซึ่งมีรายงานเกี่ยวกับปัญหาการเลือกใช้ค่าตัดสินผลบวกจากงานวิจัยของ Cheng AC และคณะ (Cheng AC. 2006) ที่พบว่าในกลุ่มพื้นที่การระบาดจะมีปัญหาในการแยกกลุ่มผู้ที่เคยเป็นโรคและผู้ที่กำลังเป็นโรคเนื่องจากระดับแอนติบอดีต่อเชื้อของคนทั้งสองกลุ่มจะอยู่ในระดับค่อนข้างสูงทั้งคู่

ในขณะที่ผลการตรวจจากตัวอย่างผู้ป่วยเมลิออยโดซิสมี 1 ตัวอย่างให้ผลบวกกับรูปแบบการเรืองแสงของเชื้อสครับไทฟัส ที่ระดับไตเตอร์ 1 : 800 ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยติดเชื้อ *Orientia tsutsugamushi* และ *Burkhoderia pseudomallei* ร่วมกัน และเนื่องจากลักษณะอาการที่คล้ายคลึงกันระหว่างโรคทั้งสองทำให้แพทย์ส่งตรวจเฉพาะเมลิออยโดซิสเพียงอย่างเดียว แต่เมื่อได้ทำการทดสอบโดยวิธีการดังกล่าวทำให้ตรวจพบโรคสครับไทฟัสเพิ่มขึ้นอีกด้วย ลักษณะดังกล่าวเคยมีการรายงานการติดเชื้อร่วมกันของโรคเลปโตสไปโรซิส เมลิออยโดซิสและสครับไทฟัส ในกลุ่มทหารที่เสียชีวิตของใต้หวัน จากการศึกษาของ Lu PL และคณะ (Lu PL. 2005) ทำให้เห็นว่าโรคทั้งสามโรคมีความสำคัญในการตรวจวินิจฉัยในระยะเริ่มต้นเป็นอย่างยิ่ง

สำหรับการตรวจโดยใช้แอนติเจนของเชื้อทั้งสามชนิดนั้น มีรายงานของการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มระหว่างการทดสอบจากตัวอย่างผู้ป่วยโรคอื่นๆได้แก่การศึกษาของ Chimsumang S และคณะ(Chimsumang S. 2005) ซึ่งได้พัฒนาวิธี IIP ในการตรวจวินิจฉัยโรคเลปโตสไปโรซิสและสครับไทฟัส ก็พบว่าให้ผลข้ามกลุ่มกับตัวอย่างโรคสครับไทฟัสได้เช่นกัน หรือการศึกษาของ Appassakij H และคณะ โดยหลักการ IFA ก็พบปฏิกิริยาข้ามกลุ่มระหว่างผู้ป่วยเลปโตสไปโรซิสกับผู้ป่วยโรคซิฟิลิส เนื่องจากลักษณะโครงสร้างของเชื้อก่อโรคมีลักษณะคล้ายคลึงกัน ซึ่งผู้วิจัยเองก็ได้ใช้ตัวอย่างซีรัมที่ให้ผลบวกกับการทดสอบทั้ง TPHA และ VDRL จำนวน 10 ตัวอย่าง แต่พบว่าให้ผลลบ นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับการทดสอบโดยใช้หลักการที่มีความจำเพาะต่ำเช่นหลักการ IHA ซึ่งจะมีโอกาสให้ผลบวกปลอมได้ในกรณีที่ทดสอบกับกลุ่มประชากรในพื้นที่ที่มีการระบาดสูง (Cheng AC. 2006; Vadivelu J. 1995)

สำหรับในกรณีผลลบปลอมนั้น จากตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยโรคเมลิออยโดซิส พบว่าให้ผลลบปลอม 13 ตัวอย่าง โดยมี 1 ตัวอย่างให้ผลบวกกับโรคสครับไทฟัสดังที่ได้กล่าวแล้วข้างต้น ผู้วิจัยได้นำตัวอย่างทดสอบที่ให้ผลลบปลอม มาตรวจยืนยันผลอีกครั้งด้วยหลักการ hemagglutination และ IFA โดยเปลี่ยนคอนจูเกตจากเดิมที่ใช้ anti human IgM เป็น anti human IgG, IgM และ IgA พบว่าตัวอย่างดังกล่าวให้ผลการทดสอบเป็นบวก แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่ให้ผลลบปลอมนี้ เกิดขึ้นจากการเก็บตัวอย่างในระยะ convalescent phase มากกว่าที่จะเป็นระยะ acute phase จึงทำให้ระดับของ IgM ลดต่ำลงจนตรวจพบในระดับที่ต่ำกว่าค่า cut off (ตัวอย่างที่ให้ผลลบปลอม 13 ตัวอย่างให้ผลการทดสอบเป็นบวกที่ระดับ titer 1:100) แต่เนื่องจากมีค่าต่ำกว่า cut off ของการวินิจฉัยโรค (1:200) จึงทำให้ต้องรายงานว่าทั้ง 13 ตัวอย่างนี้มีผลเป็นลบ

สำหรับการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทดสอบเพิ่มเติมโดยการใช้ตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยทั้งสามโรคผสมกันแล้วนำมาทดสอบ พบว่าให้ผลบวกในแต่ละรูปแบบการเรืองแสงพร้อมกัน โดยไม่มีปัญหาเรื่องของการอ่านผล และได้ทำการศึกษาการใช้แอนติเจนแบบผสม เปรียบเทียบกับการใช้แอนติเจนแยก เพื่อความสะดวกในการเตรียม แต่พบว่า แม้การเตรียมแอนติเจนแบบผสมจะมีความสะดวกกว่า แต่การอ่านผลรูปแบบการเรืองแสงในแต่ละแอนติเจนจะมีปัญหาในเรื่องการอ่านผลบวกที่ซ้อนทับกัน

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นในการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคทั้งสามพร้อมกันในการทดสอบเดียว ซึ่งควรจะมีการเพิ่มจำนวนตัวอย่างทดสอบโดยเฉพาะกลุ่มตัวอย่างซีรัมในพื้นที่การระบาดที่ให้ผลบวกปลอม และตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยโรคเมลิออยโดซิสที่เก็บในระยะเฉียบพลัน (acute phase serum) ซึ่งช่วยสนับสนุนผลการทดสอบและให้ผลการศึกษาที่มีความน่าเชื่อถือ สำหรับนำไปใช้ในการตรวจกรองโรคในกลุ่มอาการไข้ไม่ทราบสาเหตุทั้งสามโรคต่อไป

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ HUACHIEW CHALERMPRAKIET UNIVERSITY 華僑崇聖大學